



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ECZACILIKTA BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**SİLENE VULGARİS (MOENCH) GARCKE
BİTKİSİNİN DERMOKOZMETİK ALANDA
KULLANILABİLME POTANSİYELİNİN
İNCELENMESİ**

Mohammed ASHKAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Sermet YILDIRMIŞ

TRABZON-2025

BEYAN

Bu tez çalışmasının Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak yapıldığını ve yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kullanılan kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

15.01.2025

Mohammed ASHKAR

İthaf

Bu tezi, hayatım boyunca yanımda olan, bana sürekli destek veren ve sevgilerini esirgemeyen aileme ithaf ediyorum. Sizlerin varlığı ve desteği, bu başarıyı elde etmemde büyük bir rol oynadı. Her şey için sonsuz teşekkürler.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmamda benden desteklerini esirgemeyen tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Sermet YILDIRMIŞ'a, Labotauvar çalışmalarında bana her türlü deteği veren sayın Doç. Dr. Burak BARUT hocama ve anabilim dalı araştırma görevlileri Arş.Gör. Didem AKKAYA ve Arş Gör. Gökçe SEYHAN hocalarıma ve bitki temini ve tür tayinde yardımcı olan, Dr. Öğr. Üyesi Nurdan YAZICI BEKTAŞ hocalarıma teşekkür ederim.

Hayatım boyunca bana sürekli destek veren ve her zaman yanımda olduklarını hissettiren aileme ve manevi katkılarıyla bana güç veren herkese sonsuz minnettarlığımı ifade etmek istiyorum. Sizlerin varlığı ve desteği, bugünlere gelmemde büyük bir rol oynadı ve başarılarımı sizinle paylaşmaktan büyük mutluluk duyuyorum.

Mohammed ASHKAR

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK SAYFASI	
ONAY	
BEYAN	
İthaf	
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
RESİMLER DİZİNİ	xi
KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ	xii
ÖZET	xiv
ABSTRACT	xv
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Botanik Bilgiler	3
2.1.1. Caryophyllaceae Familyası	3
2.1.2. <i>Silene vulgaris</i>	4
2.1.3. <i>Silene vulgaris</i> Ekstraktı Üzerinde Yapılan Çalışmalar	5
2.2. Serbest Radikaller	5
2.2.1. Serbest Radikallerin ve Oksidanların Üretimi	6
2.2.2. Serbest Radikal Kaynakları	7
2.2.2.1. Endojen Kaynaklar	7
2.2.2.2. Eksojen Kaynaklar	8
2.2.3. Serbest Radikallerin ve Oksidanların Yararlı Aktiviteleri	8
2.2.4. Serbest Radikallerin ve Oksidanların Zararlı Aktiviteleri	8
2.3. Antioksidanlar	10
2.3.1. Antioksidan Sınıflandırması	10
2.3.1.1. Endojen Antioksidanlar	12
2.3.2. Fenoller	17
2.3.3. Flavonoidler	20
2.3.4. Antioksidan Tayin Sistemleri	21

2.3.4.1. Hidrojen atomu transferine dayalı yöntemler	21
2.3.4.2. Elektron transferine dayalı yöntemler	22
2.4. Enzimler	25
2.4.1. Tirozin ve Tirozinaz Enzimi Hakkında Genel Bilgi	25
2.4.1.1. Tirozinaz İnhibitörlerinin Uygulama Alanları	26
2.4.2. Elastin ve Elastaz Enzimi Hakkında Genel Bilgi	28
2.4.3. Kollajen ve Kollajenaz Enzimi Hakkında Genel Bilgi	28
3. GEREÇ ve YÖNTEM	31
3.1. Gereç	31
3.1.1. Kullanılan Cihazlar	31
3.1.2. Kimyasal Maddeler ve Ekipmanlar	31
3.1.3. Çalışmada Kullanılan Bitki	32
3.1.4. Kullanılan Çözeltiler	33
3.2. Yöntem	34
3.2.1. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması	34
3.2.2. Toplam Fenolik ve Flavonoid Madde Miktarı Tayini	35
3.2.2.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini	35
3.2.2.2. Toplam Flavonoid Madde Miktarı Tayini	35
3.2.3. Antioksidan Aktivitenin İncelenmesi	36
3.2.3.1. DPPH Radikal Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi	36
3.2.3.2. Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP) Aktivitesi	36
3.2.4. Enzim İnhibisyon Çalışmaları	37
3.2.4.1. Tirosinaz Enzimi	37
3.2.4.2. Elastaz Enzimi	37
3.2.5. DNA Etkileşim Çalışmaları	37
3.2.5.1. DNA Hasarı Çalışmaları	37
3.2.5.2. Fenton Reaktifi ile oluşturulan DNA Hasarının Korunması	38
4. BULGULAR	39
4.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini	39
4.2. Toplam Flavonoid Madde Miktarı Tayini	39
4.3. Antioksidan Aktivitenin İncelenmesi	40
4.3.1. DPPH Radikal Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi	40
4.3.2. FRAP Aktivitesinin Belirlenmesi	41

4.4. Enzim İnhibisyonları	42
4.4.1. Tirosinaz İnhibisyonu	42
4.4.2. Elastaz İnhibisyonu	43
4.5. DNA Etkileşim Çalışmaları	44
4.5.1. DNA Hasarı Etkisi	44
4.5.2. Fenton Hasarına Karşı Ekstrenin DNA Hasarını Koruma Etkisi	44
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	46
6. KAYNAKLAR	52
ÖZGEÇMİŞ	65



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa
Tablo 1. Ana reaktif oksijen (ROS) ve nitrojen (RNS) türler	6
Tablo 2. DPPH yönteminin avantajları ve dezavantajları	23
Tablo 3. FRAP yönteminin avantajları ve dezavantajları	24
Tablo 4. Kullanılan cihazlar ve markaları	31
Tablo 5. Kullanılan kimyasallar, marka ve kodları	32
Tablo 6. Ekstrelerin toplam fenolik madde miktarı	39
Tablo 7. Ekstrelerin toplam flavonoid madde miktarı	40
Tablo 8. Ekstrelerin DPPH aktivitesi	41
Tablo 9. Ekstrelerin FRAP aktivitesi	41
Tablo 10. Ekstrelerin tirozinaz enzime karşı inhibisyon etkisi	43
Tablo 11. Ekstrelerin elastaz enzime karşı inhibisyon etkisi	43

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa
Şekil 1. Bitkinin Türkiye’deki dağılımı	4
Şekil 2. L-arginin’in sitriline oksidasyonu ve nitrik oksit radikalının (NO•) oluşumu	7
Şekil 3. Vücuttaki serbest radikallerin başlıca kaynakları ve serbest radikallerin sonuçları	9
Şekil 4. Serbest radikallerin insan vücudundaki olumsuz etkileri	10
Şekil 5. Endojen antioksidanlar kaynakları	11
Şekil 6. Ekzojen antioksidanlar kaynakları	12
Şekil 7. Glutasyonun yapısı	13
Şekil 8. Melatoninin yapısı	13
Şekil 9. Ürik Asitin yapısı	14
Şekil 10. Tokoferol ve tokotrienollerin yapısı	16
Şekil 11. Askorbik asitin yapısı	17
Şekil 12. Fenoliklerin ana sınıfları	18
Şekil 13. Fenol alt birimlerinin sayısına göre fenoliklerin sınıflandırılma şeması	19
Şekil 14. Flavonoidlerin temel yapısı	20
Şekil 15. Bir antioksidan tarafından DPPH radikalının indirgenmesi	23
Şekil 16. FRAP Testinin İndirgeme Reaksiyonu	24
Şekil 17. Bazı Basit Fenolik Bileşiklerin Kimyasal Yapıları	26
Şekil 18. Eumelaninlerin ve feomelaninlerin biyosentetik yolunun şeması	27
Şekil 19. Normal ve yaşlı cilt arasındaki cilt yapısındaki farklılıklar	29
Şekil 20. Ekstrelerin toplam fenolik madde miktarı	39
Şekil 21. Ekstrelerin toplam flavonoid madde miktarı	40
Şekil 22. Ekstrelerin FRAP aktiviteleri	42
Şekil 23. SB Ekstresinin plasmid DNA hasarı üzerindeki etkisi	44
Şekil 24. SB Ekstresinin fenton reaktifine karşı plasmid DNA’yı koruma etkisi	45

NİRESİMLER DİZİ

Resim No

Sayfa

Resim 1 . *Silene vulgaris* genel görünüşü

5



KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

·OH	Hidroksil Radikali
AD	Alzheimer Hastalığı
Ala	Alanin
AOA	Antioksidan Aktivite
AOK	Antioksidan Kapasite
BchE	Büttilenmiş kolin Esteraz
BHA	Bütillenmiş Hidroksianizol
BHAE	Bütirillenmiş Hidroksianisol Eş Değeri
BHT	Bütillenmiş Hidroksitoluen
Cl⁻	Klorür İyonu
COX	Siklooksijenaz
CUPRAC	Bakır İyonunu Azaltan Antioksidan Kapasitesi
DHFR	Dihidrofolat Redüktaz
DOPA	Dihidroksifenilalanin
DPPH	Difenil Pikrilhidrazil
EB	Etil Bromür
ECM	Hücre Dışı Matriks
ES	Enzim-Substrat Kompleksi
ESI	Enzim Substrat İnhibitör Kompleksi
ET	Elektron Transfer
FCR	Folin-Ciocalteu Reaktifi
Fe⁺²	Demir (II) İyonu
Fe⁺³	Demir (III) İyonu
FRAP	Demir İndirgeyici Antioksidan Güç
DNA	Deoksi ribonükleik Asid
GAE	Gallik Asit Eşdeğeri
H⁺	Hidrojen İyonu
HAT	Hidrojen Atomu Transferi
HT	Hidrojen Transferi
HAS	İnsan Serum Albümini
IC₅₀	Yarı Maksimum İnhibitör Konsantrasyonu

KE	Kersetin Eşdeğeri
MAP-kinaz	Mitogenle Aktive edilmiş Protein Kinaz
MDA	Malondialdehit
MMP	Matris Metaloproteinaz
MT-MMP	Membran Tipi Metalloproteinazlar
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat Hidrojen
NOX	NADPH Oksidaz
O² •-	Süperoksit Anyonu
PAL	Fenilalanin Amonyak Liyaz
PIH	Postinflamatuvar Hiperpigmentasyon
Gly	Glisin
Pro	Prolin
RAF	Radikal Adükt Oluşumunu
RNA	Ribonükleik Asit
RNS	Reaktif Azot Türleri
SOD	Süperoksit Dismutaz
ROS	ReaktiOksijen Türleri
SASP	Yaşlanmayla İlişkili Salgı Fenotipleri
SB	Butanol Ekstresi
TAE	Tris Asetat EDTA
TPTZ	2,4,6-Tris(2-Piridil)-S-Triazin
UV	Ultraviyole

Simgeler

e⁻	Elektron
mL	Mililitre
Mmol	Milimol
g	Gram
°C	Derece Celsius
µg	Microgramme
Rpm	Dakikadaki Devir Hızı

Formüller

AlCl₃	Alüminyum Klorür
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
FeSO₄	Demir sülfat
H₂O₂	Hidrojen Peroksit
HCl	Hidroklorik Asit
HOCl	Hipokloröz Asit
K₃[Fe(CN)₆]	Potasyum Ferrosiyanür
Na₂CO₃	Sodyum Karbonat
NO	Nitrik Oksit
NO₂	Nitrojen Dioksit
ONOO⁻	Peroksinitrit

ÖZET

***Silene vulgaris* (Moench) Garcke Bitkisinin Dermokozmetik Alanda Kullanılabilme Potansiyelinin İncelenmesi**

Bu tez kapsamında *Silene vulgaris* bitkisinin su, metanol, bütanol ve kloroform ekstraktlarının biyolojik aktivitesi incelenerek farmasötik alanda kullanım imkanı araştırılmıştır. Fenolik ve flavonoid maddelerin toplam miktarının belirlenmesine yönelik çalışmalar yapılmıştır. Ekstraktların antioksidan aktivitesi, DNA etkileşim çalışmaları ve enzimatik inhibisyonu incelenmiştir. Ekstrelerin, toplam fenolik değerler 166.00 ± 4.36 mg GAE/g kuru ağırlık ile en yüksek bütanol ekstraktında, en düşük konsantrasyon ise 24.20 ± 1.51 mg GAE/g kuru ağırlık ile sulu ekstraktta görülmüştür. Flavonoid değerlerinin toplam miktarı ise en yüksek bütanol ekstraktında olup 144.16 ± 8.55 mg GAE/g kuru ağırlığa ulaşırken, sulu ekstrakttaki en düşük konsantrasyon ise 18.97 ± 1.26 mg GAE/g kuru ağırlık olarak tespit edilmiştir. Ekstrelerin DPPH radikal temizleme ve FRAP aktiviteleri incelenmiş olup n-butanol ekstresinin konsantrasyona her iki yöntemde de en yüksek antioksidan aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir. Tirosinaz inhibisyon deneylerinde ise metanol ve n-butanol ekstrelerinde orta derece inhibisyon gözlenirken, su ve kloroform ekstrelerinde inhibitör etkinlik gözlenmemiştir. Elastaz inhibisyon deneyinde de en yüksek etkinlik methanol ekstresinde gözlenirken, en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olan n-butanol ekstraktının plazmid DNA'ya zarar verme yeteneğini belirlemek için uygulanan agaroz jel elektroforez deneyi sonrasında DNA'da herhangi bir hasar gözlenmediği belirlenmiştir. Fenton reaktifinin ürettiği hasara karşı ise n-butanol ekstresinin koruma etkisi gösterdiği tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Antioksidan, Elastaz, Plazmid DNA, *Silene vulgaris*, Tirozinaz

ABSTRACT

Investigation of the Potential of *Silene vulgaris* (Moench) Garcke Plant in Dermocosmetic Field

Within the scope of this thesis, the biological activity of water, methanol, butanol and chloroform extracts of *Silene vulgaris* plant was examined and the possibility of use in pharmaceutical field was investigated. Studies were carried out to determine the total amount of phenolic and flavonoid substances. Antioxidant activity, DNA interaction studies and enzymatic inhibition of the extracts were performed. Total phenolic values of the extracts were highest in butanol extract with 166.00 ± 4.36 mg GAE/g dry weight and the lowest concentration was observed in aqueous extract with 24.20 ± 1.51 mg GAE/g dry weight. The total amount of flavonoid values was highest in the butanol extract and reached 144.16 ± 8.55 mg GAE/g dry weight, while the lowest concentration in the aqueous extract was 18.97 ± 1.26 mg GAE/g dry weight. DPPH radical scavenging and FRAP activities of the extracts were tested and it was determined that n-butanol extract showed the highest antioxidant activity in both methods. In tyrosinase inhibition assays, moderate inhibition was observed in methanol and n-butanol extracts, while no inhibitory activity was observed in water and chloroform extracts. In the elastase inhibition experiment, the highest activity was observed in the methanol extract, while no DNA damage was observed after the agarose gel electrophoresis experiment applied to determine the ability of the n-butanol extract, which has the highest antioxidant activity, to damage the plasmid DNA. It was determined that n-butanol extract showed protection effect against the damage produced by Fenton reagent.

Key words: Antioxidant, Elastase, Plasmid DNA, *Silene vulgaris*, Tyrosinase

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Son yıllarda bitkiler üzerine yapılan bilimsel araştırmalar önemli ölçüde dikkat çekmiştir. Bu artan ilgi, kimyasal bileşimdeki dikkate değer çeşitlilik ve doğal olarak oluşan ikincil metabolitlerin biyolojik aktiviteleri de dahil olmak üzere çeşitli faktörlere bağlanabilir. Doğal ürünler, dünya çapında insan hastalıklarının tedavisi ve önlenmesinde önemli bir rol oynamıştır ve tıbbi bitkiler yeni ilaçların önemli kaynaklarıdır. Dünya üzerindeki yüksek bitki türlerinin sayısı yaklaşık olarak 250.000 tür olarak tahmin edilmektedir. Bu türlerin yaklaşık %6'sı biyolojik aktiviteleri için taranmıştır ve sadece %15'i fitokimyasal olarak değerlendirilmiştir (1).

Nüfus artışı, yetersiz ilaç arzı, yüksek tedavi maliyetleri, birçok sentetik ilacın yan etkileri ve bulaşıcı hastalıkları tedavi etmek için günümüzde kullanılan ilaçlara direnç gelişimi, önleyici önlemlere daha fazla vurgu yapılmasına neden olmuştur. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, tıbbi özelliklere sahip yaklaşık 21.000 bitki türü bulunmaktadır. Mevcut verilere göre, küresel nüfusun üçte ikisinden fazlasının sağlık ihtiyaçlarını karşılamak için başlıca bitkiler ve bitki özlerine başvurduğu belirtilmektedir.

Farklı bitkilerin terapötik özelliklerine sahip olduklarına dair etkinliklerini doğru sonuçlara ulaşmak için kapsamlı araştırmalar ve deneyler yapılmıştır. Bu şekilde geliştirilen ilaçların çoğunluğunun yan etkisi veya etkileşimi bulunmamaktadır ve en önemli gerçek, bitkisel tedavilerin yaş grubu veya cinsiyetle sınırlı olmamasıdır. Bu nedenle, bitkisel tedavi dünya genelinde popülerlik kazanmaktadır. Tıbbi bitkiler, genellikle tedavi edilmesi zor olduğuna inanılan birçok hastalığın tedavisinde mantıklı bir yaklaşım sunar (2).

Vücudumuzda meydana gelen fizyolojik ve biyokimyasal olayların yanı sıra zararlı dış etkenlere maruz kalma sonucunda reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS) gibi yüksek reaktif moleküller oluşur. Vücut, bu serbest radikalleri ve oksidanları nötralize etmek için çeşitli iç savunma mekanizmalarına sahiptir. Ancak, bu reaktif türlerin aşırı üretimi, vücutta önemli zararlara yol açabilen oksidatif strese neden olur.

Oksidatif stres, hücre zarları, proteinler, lipidler, lipoproteinler ve deoksiribonükleik asit (DNA) gibi biyomolekülleri oksidatif olarak modifiye edebilir. Bu değişiklikler, hücresel işlevlerin bozulmasına ve çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasına neden olur. Oksidatif stres, kanser, nörodejeneratif hastalıklar ve kardiyovasküler bozukluklar gibi sağlık sorunlarının yanı sıra cilt yaşlanması ve diğer güzellik problemlerine de yol açabilir.

Bu bağlamda vücutta ROS ve RNS üretimiyle mücadele eden ve bu reaktif türlerin zararlı etkilerini azaltan antioksidan sistemler büyük önem taşımaktadır. Ancak bu savunma mekanizmaları yetersiz olduğunda eksojen antioksidanlar oksidatif stresin olumsuz etkilerini azaltabilir.

Türkiye, konumu ve coğrafi yayılımı nedeniyle tıbbi ve endemik türler açısından zengin bir ülke olarak değerlendirilmektedir ve bu nedenle bitki araştırmaları için uygun bir kaynaktır. *Silene* cinsi, Kuzey Yarımküre'nin ılıman bölgelerinde yaygın olarak bulunur ve 700'den fazla türle Caryophyllaceae familyasının en büyük üyesidir. Türkiye'de yetişen 141 türün 59'u endemiktir. Bu çalışmada, *Silene vulgaris* (Moench) Garcke bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen kloroform, butanol ve ham metanol ekstraktlarının antioksidan aktivite ve DNA etkileşim çalışmaları, ayrıca aynı bitkinin ekstraktı için tirozinaz ve elastaz inhibisyon deneyleri incelenmiştir.

Bu araştırmalar, *Silene vulgaris* bitkisinin dermatolojik ve kozmetik alanda potansiyel kullanımını desteklemekte ve bu bitkinin biyolojik aktivitesini ortaya koymaktadır. Elde edilen bulgular, Türkiye'nin zengin bitki çeşitliliğinin değerlendirilmesi ve tıbbi bitki araştırmalarının önemini vurgulamaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bilgiler

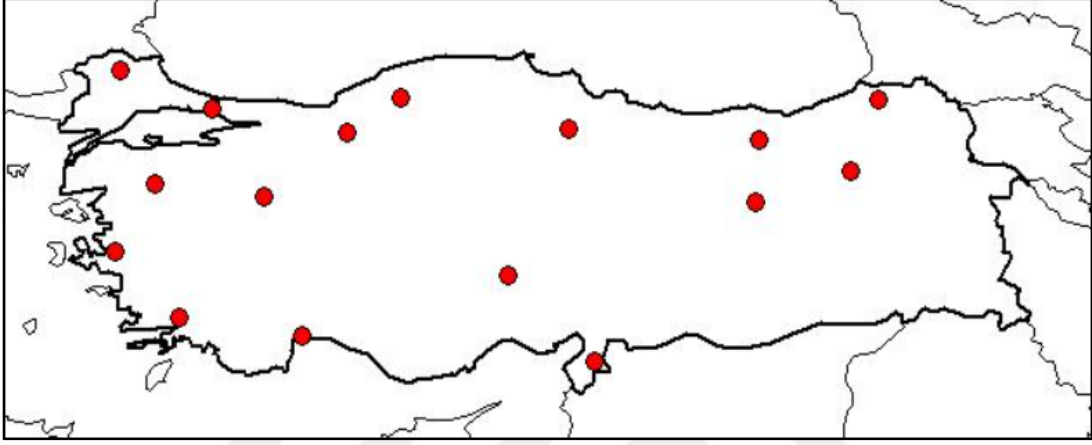
2.1.1. Caryophyllaceae Familyası

Caryophyllaceae, karanfil veya pembe çiçekli bitkilerden (Caryophyllales takımı) oluşan, yaklaşık 100 cins ve 2200 türden oluşan, ılıman bölgelerde yetişen ve çoğunlukla süs bitkisi olarak kullanılan bir familyadır. Bu ailenin üyeleri görünüş ve yaşam alanı bakımından farklılık gösterir ve çoğu çok yıllık veya yıllık otsu. Çoğu türde yaprak ve gövde eklemleri şişmiştir. Çiçekleri beş adet sepal ve petaldan oluşur. Stamenlerin iki yumurtalığı vardır. Yumurtalıklar çoğunlukla duvarsız olan yumurtalık boşluğunda bulunmaktadır. Tüm dünyaya Yaygın *Silene vulgaris* de dahil olmak üzere bunların birçoğu kayalarda veya sınır bitkisi olarak yetişen süs bitkileridir (3). Familya bitkileri, saponinler gibi yüksek miktarda ikincil metabolitler ve yağ asidi türevleri, benzenler, vinil barbanoidler, izoprenoidler ve nitrojen içeren bileşikler gibi bir dizi bileşiğe sahiptir. Aslında, bu bileşiklerin varlığı nedeniyle bitkiler çeşitli geleneksel tıp sistemlerinde kullanılmış ve çok sayıda biyokimyasal aktivite göstermektedir. Caryophyllaceae familyası, farmasötik öneme sahip geniş bir bitki yelpazesini içerir. Ayrıca, birçok bitki biyomedikal aktiviteler açısından test edilmiş ve antikanser, antiinflamatuvar, antioksidan, antibakteriyel, antifungal ve antiviral aktiviteler sergilemiştir (4).

Silene cinsi, Kuzey Yarımküre'nin ılıman bölgelerinde yaygın olarak bulunur ve 700'den fazla türle Caryophyllaceae familyasının en büyük üyesidir. Türkiye'de yetişen 141 türün 59'u endemiktir (5). *Silene* cinsine ait türler tıbbi amaçlarla ve besin kaynağı olarak kullanılan aromatik bitkilerdir (6). Etnobotanik kanıtlar, *S. alba* ve *S. conoidea* ve *S. dikotoma* ve *S. italica* ve *S. Subina* ve *Silene vulgaris* gibi birçok *Silene* türünün varlığını göstermektedir. Anadolu'da tıbbi amaçla kullanılmakta ve gıda olarak tüketilmektedir. *S. conoidea*'nın kökleri yumuşatıcı olarak, yaraları ve saçları yıkamak için, özsuğu ise oftalmi tedavi etmek için kullanılmaktadır. *S. italica* tohumları boğaz ağrısını gidermek için kullanılmaktadır. Özellikle *Silene vulgaris*'in narin yaprakları İtalya'da zeytinyağında ve yumurtada kızartılarak tüketilmektedir (7). Bir çalışma ayrıca *Silene vulgaris*'in yapraklarının ve köklerinin anti-tümör özelliklerini ortaya koydu ve bu da onun geleneksel tıptaki etkinliğini doğrulamıştır (8).

2.1.2. *Silene vulgaris*

Silene vulgaris, Avrupa'nın ve Kuzey Amerika'nın büyük bölümünde bulunan, köklü çok yıllık bir bitkidir. *Silene vulgaris* otlaklar, çayırlar, bozulmuş alanlar, yol kenarları, çorak alanlar ve tarım arazileri gibi çeşitli habitatlarda yetişir ve ayrıca güneşli yerleri tercih etme eğilimindedir.



Şekil 1. Bitkinin Türkiye'deki dağılımı (Tübives'ten, 9)

S. Vulgaris'in Taksonomik Hiyerarşisi (10).

Alem : Plantae

Bölüm : Tracheophyta

Sınıf : Magnoliopsida

Alt Sınıf : Caryophyllidae

Takım: Caryophyllales (Karanfil takımı)

Familya: Caryophyllaceae (Karanfilgiller)

Cins: *Silene* (Yabani karanfil)

Tür: *Silene vulgaris* (Moench) Garcke

Silene vulgaris türleri çeşitli yaşam formlarında ortaya çıkmaktadır, farklı şekiller, boyutlar veya fiziksel yapılar vardır. Bu farklılıklar, *Silene vulgaris*'in farklı örnekleri arasındaki büyüme alışkanlıkları, yaprak yapıları, çiçek aranjmanları veya diğer fiziksel özelliklerdeki farklılıkları içerebilir (11).

Boyları 80 cm'ye kadar büyüyebilir, Çok sayıda gövde görülür, bunlar dik ya da yükselici biçimde ve tüysüzdür. Taç çok simetrik, beyaz renkli, 2 cm genişliğindedir.

Çanak kaynaşık, oval, 5 loblu ve tüysüzdür. 10 adet ercik vardır. Boyuncuk sayısı üçtür. Çiçeklenme 20 ila 50 arası çiçekten oluşmaktadır. Çiçekler baş aşağı durumdadır. Yapraklar karşılıklı dizilişli, taban yaprakları saplı, gövde yaprakları sapsızdır. Tohumlar temmuz ve eylül aylarında olgunlaşmaktadır. Meyveler, çiçek açtıktan sonra kendine özgü mesane benzeri tohum kapsülleri oluşturmaktadır, dolayısıyla ortak adı "mesane kampı"dır.



Resim 1. *Silene vulgaris* genel görünüşü (12).

2.1.3. *Silene vulgaris* Ekstraktı Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Silene vulgaris üzerinde yapılan önceki çalışmalar, kinik asit, malik asit, klorojenik asit, p-kumarik asit, hesperidin, protokateşuik asit, rutin hiperositin gibi birçok farklı aktif bileşenin yanı sıra fenolik türevlerin ve flavonoidlerin çeşitli bileşikleri (flavonoller, flavan-3-oller, flavanonlar, antosiyanidinler, dihidrokalkon, fluoridazin, phloretin, hidroksisinnamik asitler, hidroksibenzoik asitler) içerdiğini göstermiştir (7, 13).

2.2. Serbest Radikaller

Yüzey yörüngelerinde tek, eşlenmemiş bir elektron içeren bağımsız molekül veya atom bileşikleridir. Bu bileşiklerde bağlanmamış bir elektronun varlığı, tüm serbest radikallerin ortak bir özelliğidir; bu da onları kararsız ve oldukça reaktif kılar. Diğer moleküllere elektron verme veya onlardan elektron alma yetenekleri vardır, böylece oksitleyici ajanlar veya indirgeyici ajanlar olarak işlev görmektedirler (14). Birçok hastalık durumunda, sağlık üzerinde önemli bir etkiye sahip olan serbest radikaller ve oksidanlar

arasında hidroksil radikali, süperoksit anyon radikali, hidrojen peroksit, oksijen singleti, hipoklorit, nitrik oksit radikali ve peroksinitrit radikali bulunmaktadır.

Tablo 1. Reaktif oksijen (ROS) ve nitrojen (RNS) türler (15).

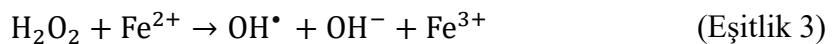
Radikaller	$O_2^{\cdot-}$	Süperoksit anyonu
	$\cdot OH$	Hidroksil
	$NO\cdot$	Nitrik oksit
	$NO_2\cdot$	Nitrojen dioksit
Radikal olmayanlar	H_2O_2	Hidrojen peroksit
	$HOCl$	Hipokloröz asit
	$ONOO^-$	Peroksinitrit

2.2.1. Serbest Radikallerin ve Oksidanların Üretimi

Hücrelerde reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot türlerinin (RNS) oluşumu, temel olarak enzimatik ve enzimatik olmayan mekanizmalar aracılığıyla gerçekleşir. Enzimatik mekanizmalar, çeşitli biyokimyasal süreçler tarafından düzenlenir ve bu süreçler arasında mitokondriyal solunum zinciri, fagositoz sırasında reaktif moleküllerin üretilmesi, prostaglandinlerin biyosentezi ve toksik maddelerin metabolizmasında rol oynayan sitokrom P450 enzim sistemi yer alır. Örneğin, süperoksit anyon radikali ($O_2^{\cdot-}$) gibi reaktif türler, NADPH oksidaz, ksantin oksidaz ve peroksidazlar gibi farklı hücresel oksidaz sistemleri aracılığıyla üretilir. Bu türler, hücresel bileşenler üzerinde oksidatif stres yaratabilir ve biyomoleküllere zarar verebilir. Oluşumunun ardından, hidrojen peroksit, hidroksil radikali ($\cdot OH$), peroksinitrit ($ONOO^-$) ve hipokloröz asit ($HOCl$) gibi farklı ROS ve RNS türlerinin oluştuğu çeşitli reaksiyonlara katılır (16).

Kullandığımız O_2 'nin yaklaşık %1-3'ünün $O_2^{\cdot-}$ 'ye dönüştüğü tahmin edilmektedir. Bazı geçiş metali iyonları (özellikle Fe^{2+}), H_2O_2 ile reaksiyona girerek hidroksil radikalının üretilmesinde önemli bir rol oynamaktadır (17).

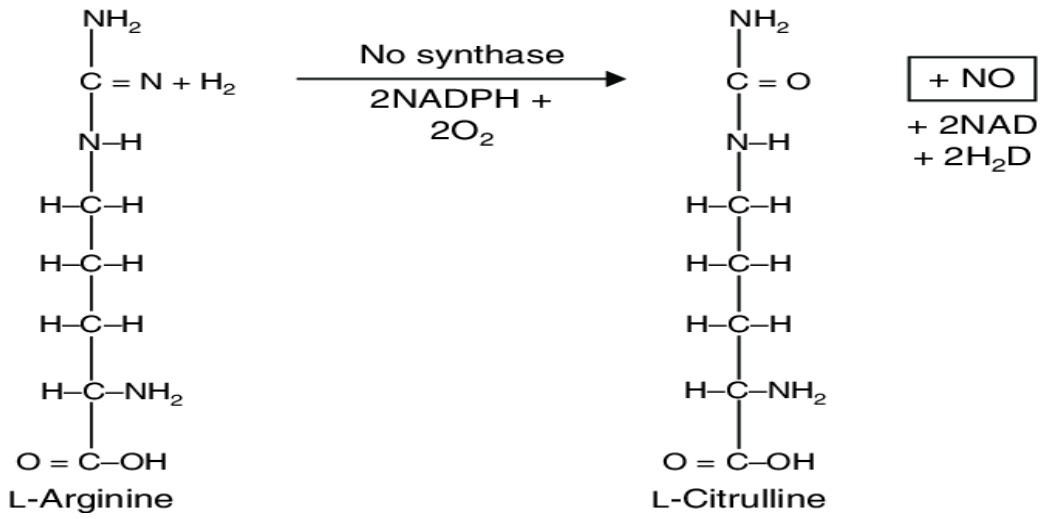
Süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalının oluşumu (17, 18)



Hipokloröz asit (HOCl), H₂O₂'nin varlığında, klorür iyonlarını oksitleyen nötrofil türevi bir enzim olan miyeloperoksidaz tarafından üretilmektedir (19).



Nitrik oksit radikali (NO[•]), biyolojik dokularda L-arginin'in nitrik oksit sentaz tarafından sitrulline oksidasyonu sonucu oluşmaktadır (20).



Şekil 2. L-arginin'in sitrülline oksidasyonu ve nitrik oksit radikalının (NO[•]) oluşumu

2.2.2. Serbest Radikal Kaynakları

ROS ve RNS, hem endojen hem de ekzojen kaynaklardan üretilmektedir.

2.2.2.1. Endojen Kaynaklar

- Bağışıklık hücresi aktivasyonu (enfeksiyon sırasında)
- İltihaplanma (sitokinlerin salınımı)
- Zihinsel stres (kortizol gibi stres hormonlarını serbest bırakır)
- Aşırı egzersiz (Kaslarda oksijen tüketimini artırır)
- Kanser (yüksek metabolik aktivite)
- İskemi
- Yaşlanma

2.2.2.2. Ekzojen Kaynaklar

- Hava ve su kirliliği
- Sigara ve alkol (aşırı tüketim)
- Bazı ağır veya geçiş metalleri (Cd, Hg, Pb, Fe, As)
- Bazı ilaçlar (siklosporin, takrolimus, gentamisin)
- Endüstriyel solventler
- Etin yanması veya kullanılmış yağın kullanılması
- Radyasyon (hücrelerdeki iyonlaştırıcı moleküller)

Bu ekzojen bileşikler ya doğrudan metabolize edilir ya da çeşitli yollarla vücuda girdikten sonra serbest radikallere dönüşebilir (21-30). Serbest radikaller, oksijenin organik bileşiklerle girdiği enzimatik olmayan reaksiyonlar sonucunda veya iyonlaştırıcı radyasyonun tetiklediği kimyasal süreçlerle oluşabilir. Ayrıca mitokondride gerçekleşen oksidatif fosforilasyon sırasında, elektron taşıma zincirindeki elektronların oksijenle etkileşime girmesi, süperoksit anyon radikali ($O_2^{\cdot-}$) gibi reaktif türlerin üretilmesine yol açar. (21, 22, 25).

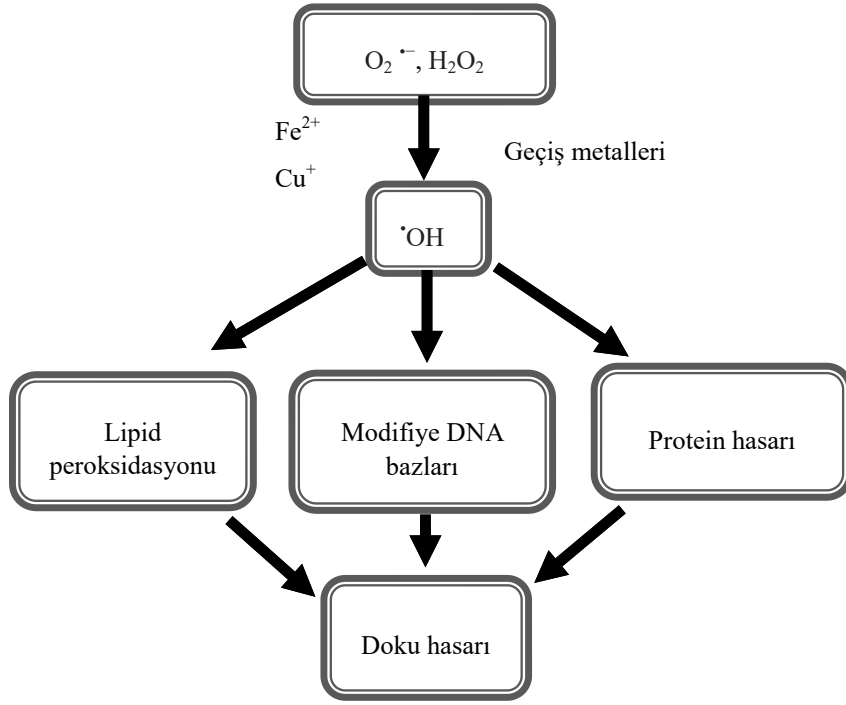
2.2.3. Serbest Radikallerin ve Oksidanların Yararlı Aktiviteleri

Daha düşük veya kontrollü seviyelerde, reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS), hücre yapısının gelişiminde önemli rol oynar ve konak savunma sistemi içinde araç olarak işlev görür. Özellikle fagositler (nötrofiller, makrofajlar, monositler) gibi bağışıklık hücreleri, vücudun hastalıklara karşı savunma mekanizmasının önemli bir parçası olan zararlı patojenleri ortadan kaldırmak için serbest radikaller salgılanmaktadır (22, 27)

2.2.4. Serbest Radikallerin ve Oksidanların Zararlı Aktiviteleri

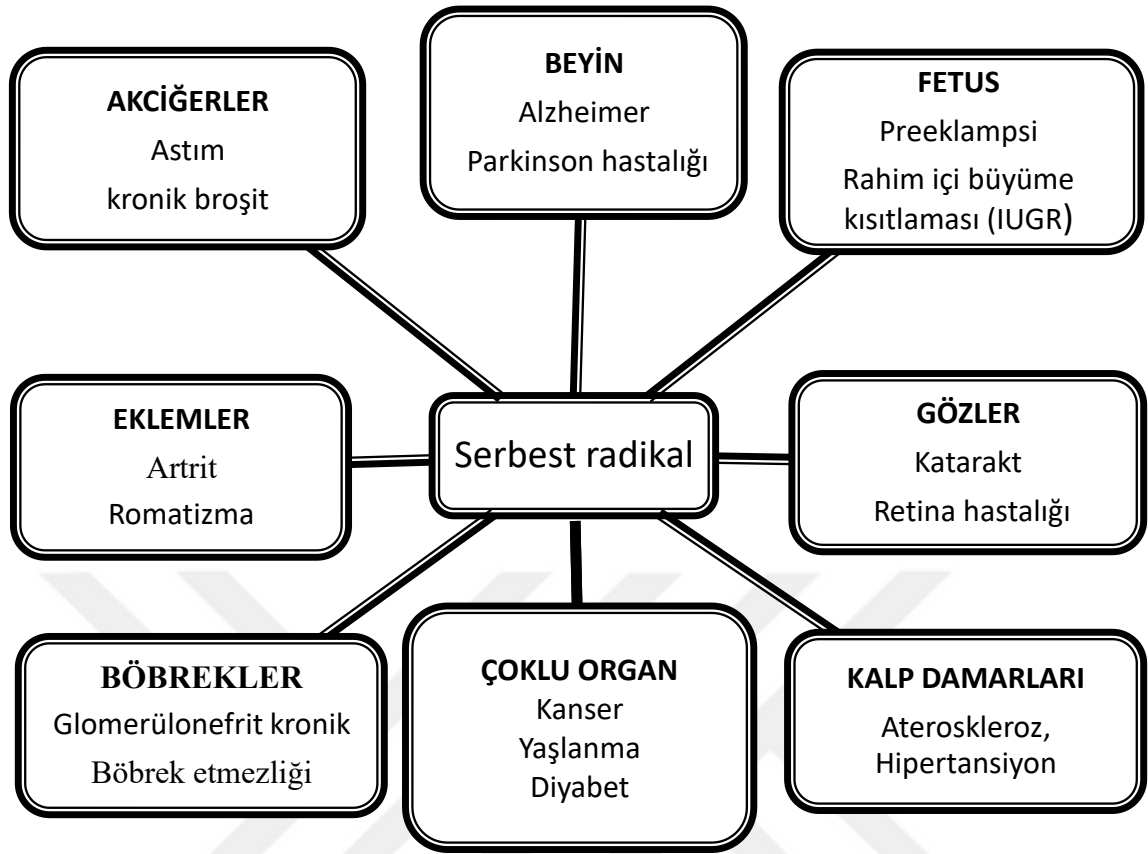
Serbest radikallerin ve oksidanların aşırı üretimi, hücre zarlarını ve proteinler, lipitler, lipoproteinler ve deoksiribonükleik asit (DNA) gibi çeşitli yapıları önemli ölçüde değiştirebilen ve birçok hastalığa ve sağlığa yol açan olumsuz bir olay olan oksidatif strese yol açmaktadır. Hücre düzeyinde oksidatif stres, hücrelerdeki aşırı serbest radikalleri yok etme yeteneğinin yetersiz olmasından kaynaklanmaktadır. Örneğin, hidroksil ($OH^{\cdot}$) ve peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$) gibi bazı radikaller, hücre zarlarına zarar verebilir ve lipoproteinleri, lipit peroksidasyonu olarak bilinen bir mekanizma yoluyla hedefleyebilmektedir. Bu işlem, sitotoksik ve mutajenik özellikleriyle bilinen malondialdehit (MDA) ve konjuge dienlerin

oluşumuna yol açmaktadır (16). Oksidatif kaynaklı DNA hasarı, mutasyonları tetikleyebilen çeşitli oksidatif DNA lezyonları oluşturmaktadır. Bu, DNA ile doğrudan etkileşim yoluyla veya DNA'nın bakımından sorumlu proteinleri etkileyerek gerçekleşebilmektedir.



Şekil 3. Vücuttaki serbest radikallerin başlıca kaynakları ve serbest radikallerin sonuçları (Pizzino'dan, 16)

Oksidatif stres, uygun şekilde düzenlenmediğinde çeşitli kronik ve dejeneratif hastalıklara yol açabilmektedir, yaşlanma sürecini hızlandırabilmektedir ve travma ve felç gibi bazı ciddi hastalıklara katkıda bulunabilmektedir.



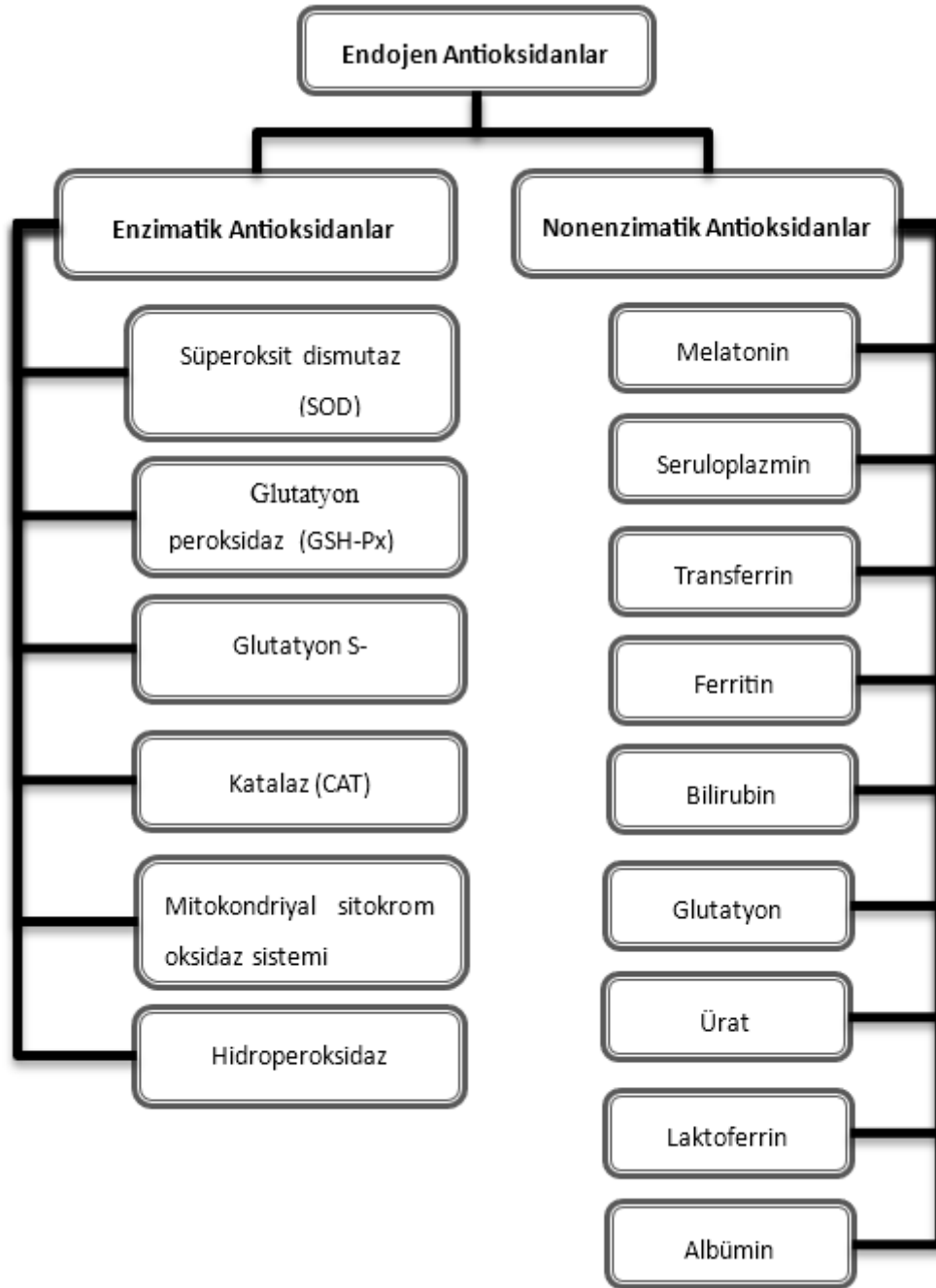
Şekil 4. Serbest radikallerin insan vücudundaki olumsuz etkileri (Sarkar'dan, 31)

2.3. Antioksidanlar

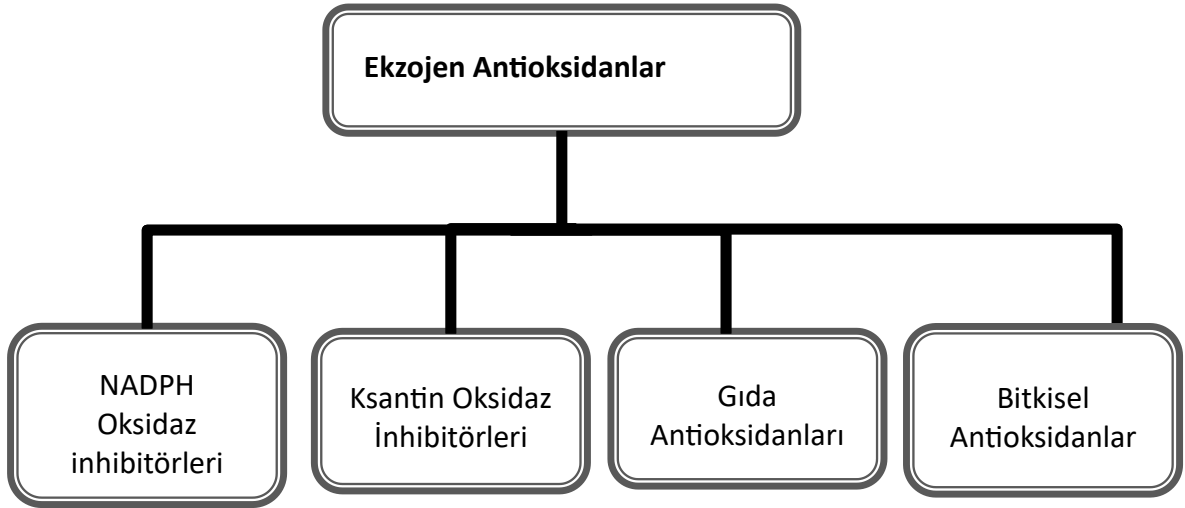
Antioksidanlar, serbest radikallerden farklı olarak stabil durumda bulunan yararlı kimyasal moleküllerdir ve serbest radikalleri ve diğer oksitleyici maddeleri nötralize etmek ve etkisini ortadan kaldırmak amacıyla elektronlarından birini verme yeteneğine sahiptirler. hücreler ve diğer hücresel bileşenler üzerindeki zararlı etkisini azaltır. Antioksidanların etki prensibi serbest radikalleri temizleme özelliğine dayanmaktadır (32). İç veya dış kaynaklı antioksidanlar, serbest radikallerle seçici olarak etkileşime girebilmektedir ve hücresel moleküllerde hasara ve yıkıma neden olmadan zincir reaksiyonlarını sonlandırabilmektedir (33).

2.3.1. Antioksidan Sınıflandırması

Vücutta etkili olan antioksidan sistemler kaynaklarına göre iki ana gruba ayrılır: endojen kaynaklı (vücut tarafından üretilen) ve ekzojen kaynaklı (dışarıdan alınan) sistemler (34).



Şekil 5. Endojen antioksidan kaynakları (Badem'den, 34)



Şekil 6. Ekzojen antioksidanlar kaynakları (Badem'den, 34)

2.3.1.1. Endojen Antioksidanlar

Hücrelerdeki endojen antioksidanlar enzimatik antioksidanlar ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak ikiye ayrılmaktadır.

Enzimatik Antioksidanlar

ROS ve RNS'yi nötralize etmeyi ve değiştirmeyi amaçlayan bir dizi reaksiyonda yer alan üç ana enzim şunlardır: süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) (35). Bu serideki ilk ve en önemli enzim, ilk savunma hattı olarak kabul edilen SOD'dur. Süperoksit anyon radikalının ($O_2^{\cdot-}$) indirgeme reaksiyonları yoluyla hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüşümünü indüklemektedir. Bu enzimatik kademelerin ikinci aşaması, katalaz (CAT) veya glutatyon peroksidaz (GPx) enziminin hidrojen peroksiti su (H_2O) ve oksijen (O_2) moleküllerine parçalaması için katalize edilmesiyle başlamaktadır (36).

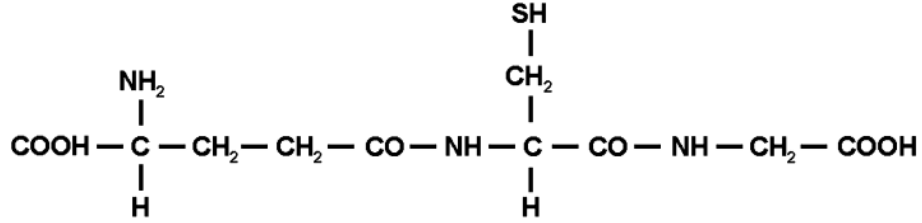
Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

Enzimatik olmayan antioksidanların örnekleri arasında glutatyon, melatonin, ürik asit, seruloplazmin, bilirubin, albümin, ferritin, laktoferrin ve transferrin bulunur.

Glutatyon

Sisteinin yapısal bileşeninde bulunan ve indirgeyici bir ajan olarak görev yapan bir tiyol grubunun varlığı nedeniyle antioksidan özelliklere sahip olan ve geri dönüşümlü

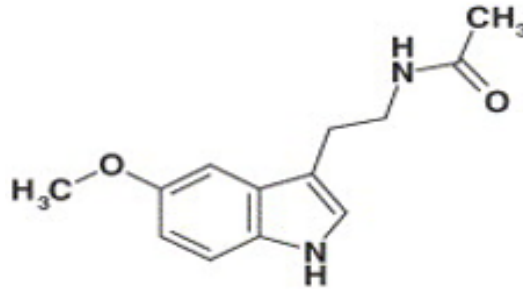
olarak oksitlenip indirgenebilen bir peptittir. Hücrelerde glutatyonun indirgenmiş formu, glutatyon redüktaz enzimi tarafından korunur (37).



Şekil 7. Glutatyonun yapısı (38).

Melatonin

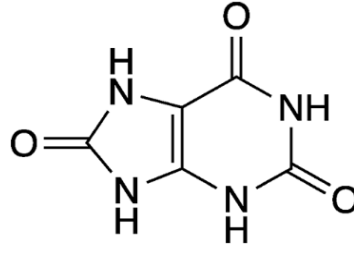
Melatonin: Epifiz bezinden düzenli olarak salgılanan bir hormondur. Melatoninin biyolojik saati düzenlemek, inflamatuvar ve bağışıklık tepkisini düzenlemek gibi birçok işlevi vardır. Aynı zamanda güçlü bir antioksidandır ve hücre zarlarını ve kan-beyin bariyerini kolaylıkla geçebildiği için serbest radikallere ve oksidantlara karşı hayati bir role sahiptir (39). Melatonin aynı zamanda intihar antioksidanı olarak da bilinir çünkü serbest radikallerle reaksiyona girdikten sonra diğer antioksidanlar gibi geri dönmezler (40).



Şekil 8. Melatoninin yapısı (Hickman'den, 41)

Ürik Asit

Plazmadaki baskın antioksidanlardan biridir. Gıdalarda bulunan pürinlerin son ürünü olarak esas olarak karaciğerde, bağırsaklarda ve kan damarlarının astarında üretilir (42).



Şekil 9. Ürik asitin yapısı (El Radi'den, 42)

Seruloplazmin

Bakırın kana taşınmasından sorumlu bir serum ferroksidazıdır. Seruloplazmin, pozitif bir akut faz reaktanıdır ve SOD benzeri aktivite göstererek eritrosit membranındaki doymamış yağ asitlerini oksidatif strese karşı korumakta rol oynar (43, 44).

Bilirubin

Hem metabolizmasının son ürünüdür ve hücrel koruma sağlayabilen güçlü bir antioksidandır. Bilirubin güçlü antioksidan aktiviteye sahiptir ve 10.000 molar fazla hidrojen peroksite karşı koruma sağladığı gösterilmiştir (45, 46).

Albümin

Toplam plazma proteinlerinin %60'ını temsil eden glikosile edilmemiş bir proteindir ve plazmadaki normal konsantrasyonu 35 ila 50 g/L arasında değişir. HSA, her ikisi de yapısıyla yakından ilişkili olan çoklu bağlanma kapasiteleri ve serbest radikal temizleme özellikleri nedeniyle spesifik antioksidan işlevlere sahiptir (47).

Ferritin

Ferritin küresel bir protein kompleksidir ve ferritinin birincil işlevi, demir toksisitesini önlemek için demiri hücreler içinde depolamaktır. Hücredeki ferröz demir (Fe^{+2}) miktarını azaltarak Fenton reaksiyonunun önlenmesinde rol oynadığı bilinmektedir (48, 49).

Laktoferrin

Memelilerde bulunan demir bağlayan bir glikoproteindir. Laktoferrin önemli bir konakçı savunma molekülüdür ve antimikrobiyal/viral aktiviteler, immünomodülatör aktivite ve antioksidan aktivite gibi çeşitli fizyolojik fonksiyonlara sahiptir (50, 51).

Transferrin

Transferrin, ferrik-iyon iletiminden sorumlu olan ve demir metabolizmasında merkezi bir rol oynayan bir kan plazması glikoproteinidir. Transferrin ayrıca serbest ferroz iyonu konsantrasyonunu azaltarak bir antioksidan görevi görür (52, 53).

2.3.1.2. Ekzojen Antioksidanlar

Ksantin Oksidaz İnhibitörleri

Ksantin oksidaz (XOD) hiperürisemide rol oynayan önemli bir enzimdir ve hipoksantinin ksantine ve ardından ürik aside oksidasyonunu katalize eder. Ksantin oksidaz inhibitörleri öncelikle hiperürisemi ile ilişkili gut hastalığını önlemek ve tedavi etmek için kullanılır. Allopurinol tipik bir ksantin oksidaz inhibitörüdür ve kan damarlarındaki reaktif oksijen türlerini azaltmak gibi başka yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir (54).

NADPH Oksidaz İnhibitörleri

NADPH oksidazlar (NOX'ler), ana işlevi reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi olan bir elektron taşıyan membran enzimleri ailesini oluşturur (55). ROS üretimi mikropları öldürmek ve patojenlere karşı savunmak için gerekli olduğundan NADPH oksidaz, bağışıklık yanıtında çok önemli bir rol oynar. Bazı patolojik durumlarda, NADPH oksidaz tarafından aşırı ROS üretimi oksidatif strese, inflamasyona, doku hasarına ve kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif bozukluklar dahil olmak üzere çeşitli hastalıklara yol açabilir (56).

Gıda Antioksidanları

Bütillenmiş hidroksianizol (BHA) ve bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), serbest radikalleri temizleyerek ve lipid peroksidasyonunu engelleyerek sıvı yağların, katı yağların ve katı yağların oksidatif bozulma ve ekşimeyi önlemek için kullanılan sentetik bir gıda antioksidanıdır. Propil gallat, n-propil ve gallik asitin (3,4,5-trihidroksibenzoik asit) esteridir. Propil gallat, kozmetik ürünlerde antioksidan olarak kullanılır ve genellikle yağları, katı yağları ve yağ içeren gıdaları peroksitlerden kaynaklanan ekşimeden korumak için güvenli bir antioksidan olarak kabul edilir (57-59).

Bitkisel Antioksidanlar

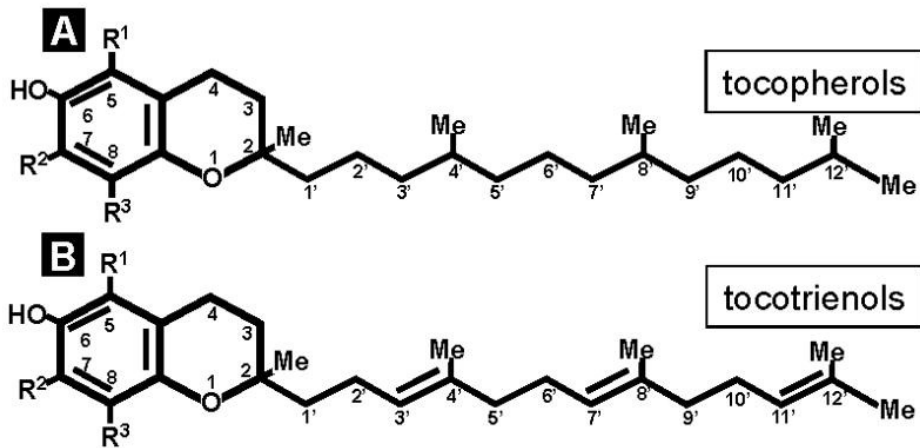
Bitkiler çeşitli antioksidanlar içerir; bunların en önemlileri fenolik bileşikler, flavonoidler, E vitamini, C vitamini ve karotenoidlerdir.

Fenolik Bileşikler ve Flavonoidler

Bitkilerin sekonder metabolitleri arasında yer alır ve en az bir hidroksil grubu taşıyan aromatik bir halka içerirler. Flavonoidler, radikaller tarafından oksitlenir ve daha stabil, daha az reaktif bir radikal oluşur (60, 61).

Tokoferoller ve Tokotrienoller

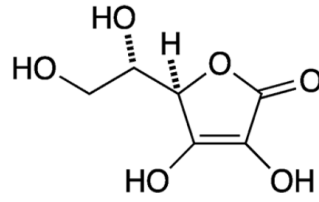
Tokoferol ve tokotrienol, E vitaminini oluşturan iki ana bileşik grubudur. Bu gruplar toplamda sekiz farklı bileşikten oluşur (62). α -tokofenol formunun, lipitte çözünen en önemli antioksidan olduğu ve lipit peroksidasyon basamaklı reaksiyonunda üretilen lipit radikalleri ile etkileşime girerek membranları oksidasyondan koruduğu iddia edilmektedir (63).



Şekil 10. Tokoferol ve tokotrienollerin yapısı (Lee'den, 64)

Askorbik Asit

Vitamin C olarak da bilinen, hem hayvanlarda hem de bitkilerde bulunan bir antioksidandır. Çoğu hayvanın aksine, insanlar içsel olarak sentezleyemez ve diyetleri aracılığıyla almak zorundadırlar, bu da onu temel bir vitamin yapar (65). Hücreler içinde, glutatyon ile etkileşim yoluyla aktif formunda tutulur. Ascorbic asit bir indirgeyici madde olarak işlev görerek, hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerine karşı önlem alır (66).



Şekil 11. Askorbik asitin yapısı (Yin'den, 67)

Karotenoidler

Fotosentetik bakteri, alg ve bitkilerde bulunan tetraterpen pigmentleridir. Genel olarak hayvanlar yeni karotenoidleri sentezlemezler, dolayısıyla hayvanlarda bulunan karotenoidler doğrudan gıdalardan elde edilir. Onbirden fazla konjuge çift bağ içeren karotenoidler, tekli oksijenleri söndürme konusunda dikkate değer bir yetenek gösterir (68).

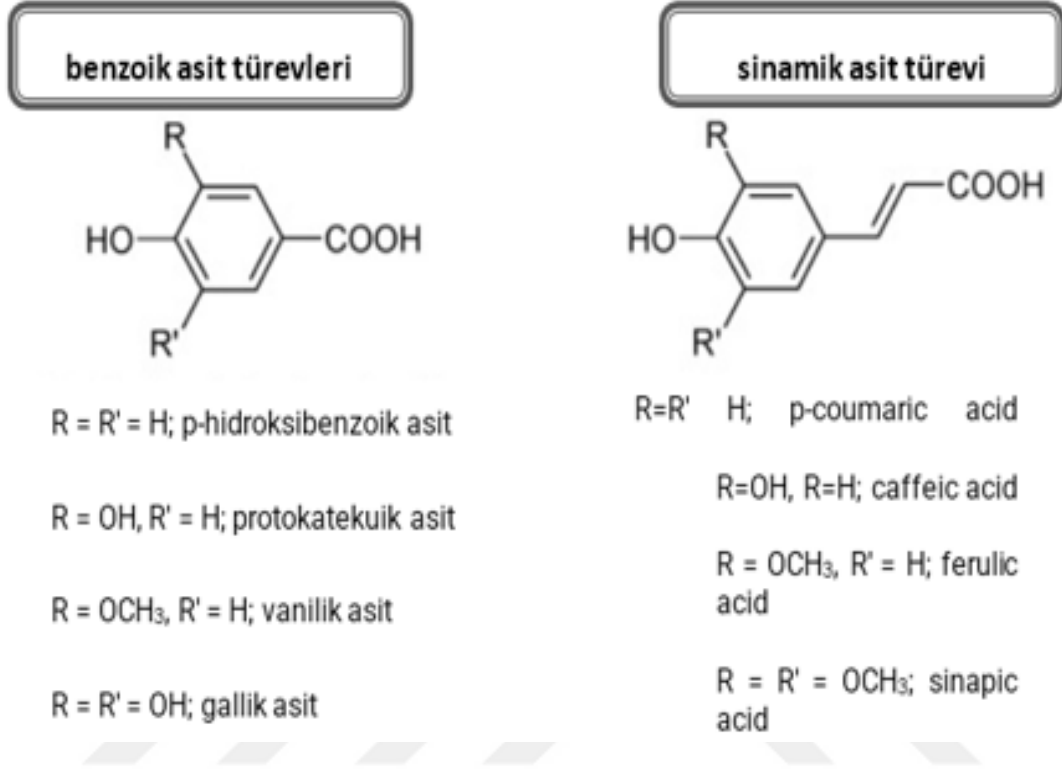
2.3.2. Fenoller

Fenolik asitler, bitki fenollerinin bir alt sınıfını oluşturur ve yapılarında bulunan fenol bileşiği, hidrojen atomu bağışlama yeteneği sayesinde antioksidan özellik göstermelerini sağlar. Bu antioksidan özellik, fenolik yapıların rezonansla stabilize edilmiş olması ve serbest radikal temizleme mekanizması yoluyla gerçekleşir.

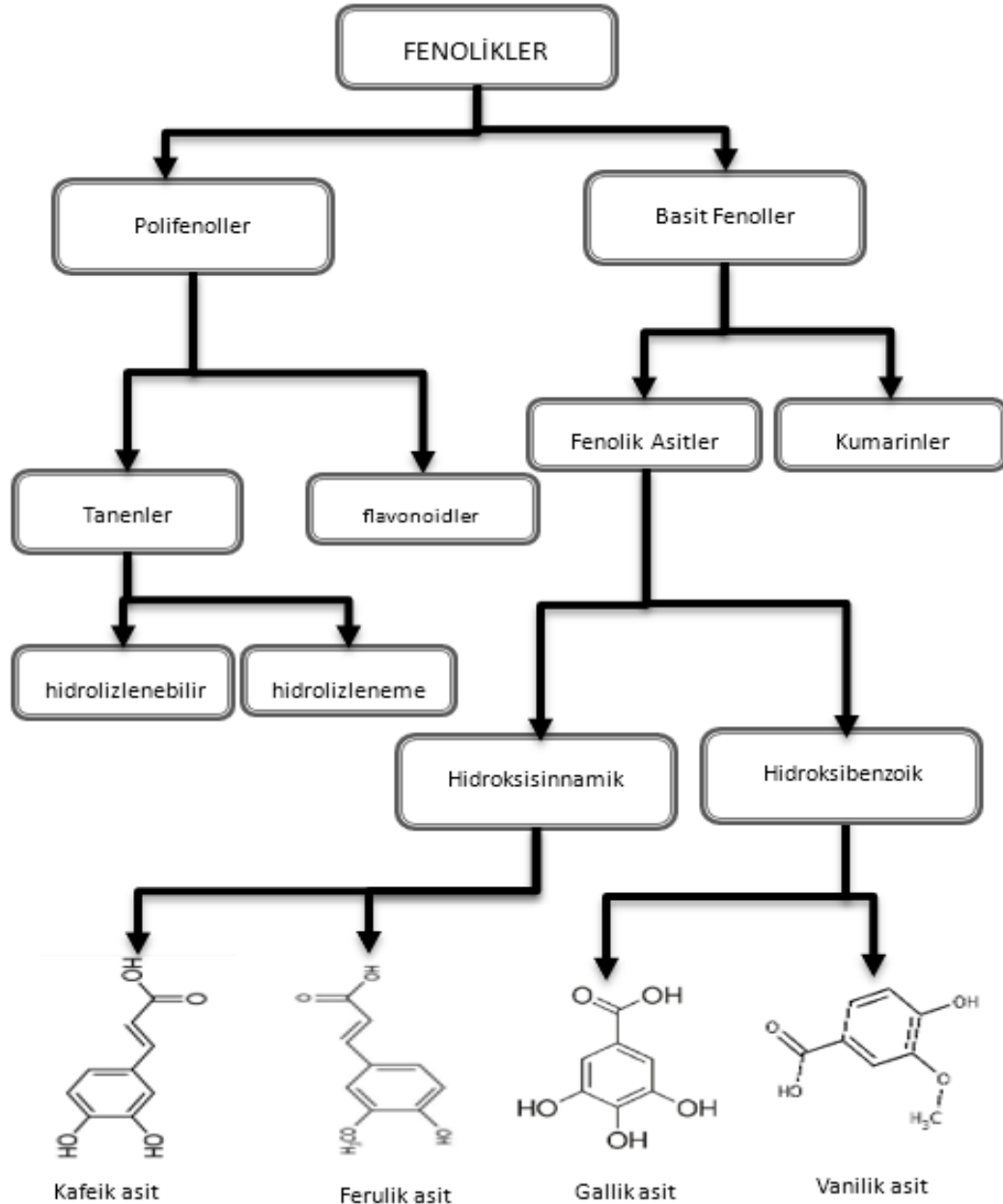
Fenolik asitler, bitkilerde şikimik asit yolu ve fenilpropanoid yolu aracılığıyla sentezlenir. Şikimik asit yolu, pentoz fosfat yolu ve glikolizden türeyen basit karbonhidrat moleküllerini kullanarak fenilalanin ve triptofan sentezini sağlar. Bu metabolik yollar, bakteriler, mantarlar ve bitkilerde fenolik bileşiklerin biyosentezinde temel öneme sahiptir. Fenilalanin, fenilalanin amonyak liyaz (PAL) enziminin katalitik etkisiyle trans-sinamik aside dönüştürülür ve bu işlem sırasında amonyak açığa çıkar. PAL enziminin bu reaksiyondaki rolü, fenolik asitlerin biyosentezi açısından kilit bir adımı temsil etmektedir.

Çeşitli biyolojik uygulamalarıyla bilinen fenolik asitler, terapötiklerde, kozmetiklerde ve gıda endüstrisinde düzenli olarak kullanılan biyoaktif moleküllerin öncüleri olarak hareket eder. Ultraviyole ışınlarına maruz kalmanın, güneş yanığı , DNA hasarına, bağ dokusu organ fonksiyon bozukluğuna, cilt kanserine ve erken cilt yaşlanmasına neden olabileceği bilinmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar, güneş kremleri ve güneş koruyucularının UVB'ye bağlı cilt kanserini tamamen durduramadığını

göstermektedir. Bu nedenle, araştırmacılar doğal antioksidanlar ve bunların türevleri, özellikle fenolik asitler, flavonoidler ve diğer fenoller üzerinde odaklanmışlardır (69).



Şekil 12. Fenoliklerin ana sınıfları (Pereire'den, 70)



Şekil 13. Fenol alt birimlerinin sayısına göre fenoliklerin sınıflandırılma şeması (Robbins ve Nicolas'dan, 71, 72)

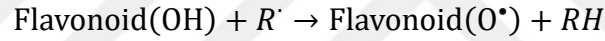
2.3.3. Flavonoidler

Flavonoidler, özellikle bitki ikincil metabolitler sınıfına ait olan ve polifenolik bir yapıya sahip olan doğal ürünlerin önemli bir sınıfını oluşturur; meyvelerde, sebzelerde ve belirli içeceklerde yaygın olarak bulunurlar (73-75). Flavonoidler, sağlığı teşvik edici geniş bir etki spektrumu ile ilişkilendirilmişlerdir ve çeşitli besin takviyeleri, farmasötik, tıbbi ve kozmetik uygulamalarında vazgeçilmez bir bileşendirler. Bu, antioksidan, anti-enflamatuar, anti-mutajenik ve anti-kanserojen özelliklerinin yanı sıra ana hücrel enzim

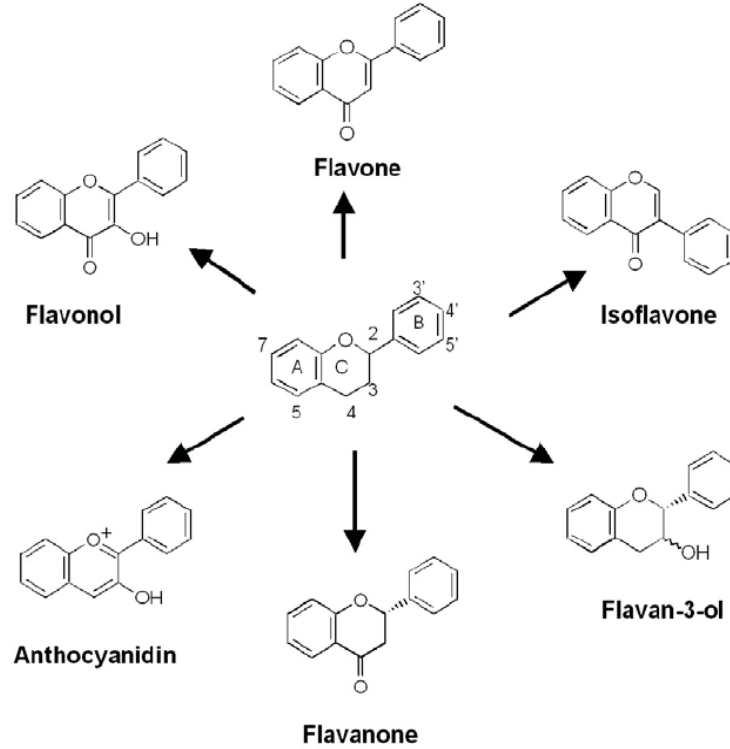
fonksiyonlarını modüle etme kapasiteleri ile birleştiklerinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca, ksantin oksidaz (XO), siklooksijenaz (COX), lipojenaz ve fosfoinositid 3-kinaz gibi birçok enzim için etkili inhibitörler olduğu bilinmektedir (76-78).

Bitkilerden elde edilen flavonoidler, metal iyonları ile kompleksler oluşturabilirler; bu, onların metaloenzimlerle etkileşim kurma yeteneğine sahip oldukları ve dolayısıyla metabolik yolları değiştirebilecekleri veya inhibe edebilecekleri anlamına gelir. Flavonoid-metal komplekslerinin, süperoksit dismutaz benzeri aktivite gösterebilecek potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir (61). Flavonoidlerin belirli türleri, özellikle flavonlar ve flavonoller, bitki özlerinden elde edilen aktif bileşenler formunda kozmetik olarak kullanılmıştır (79).

Flavonoidler, flavonoidlerin oksitlendiği ve daha kararlı, daha az reaktif bir radikalin olduğu doğrudan temizleme işlemi yoluyla serbest radikallerin neden olduğu hasarı önleyebilir. Flavonoidlerin hidroksil grubunun yüksek reaktivitesi nedeniyle radikaller etkisiz hale getirilir, aşağıdaki denkleme göre (80).



Burada (R') bir serbest radikaldır ve (O') bir oksijensiz radikaldır.



Şekil 14. Flavonoidlerin temel yapısı (Nishiumi'den, 81)

2.3.4. Antioksidan Tayin Sistemleri

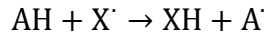
Antioksidan kapasitenin analizinde çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Genellikle, bu yöntemlerde antioksidan aktivite (AOA) ölçümleri reaksiyon kinetiği ile ilişkilendirilerek belirlenirken, antioksidan kapasite (AOK) ölçümleri reaksiyon termodinamiği ile bağlantılıdır. Bu yöntemler ayrıca in vivo ve in vitro, doğrudan ve dolaylı, enzimatik ve enzimatik olmayan olarak da sınıflandırılabilir. Toplam antioksidan kapasitenin tespitinde en yaygın kabul gören yöntem sistematiği, hidrojen atomu transferine (HAT) veya elektron transferine (ET) dayalı analiz yöntemlerine dayanmaktadır (82).

Bağ ayrışma enerjisi ve iyonlaşma potansiyeli, antioksidanların nasıl çalıştığını ve etkililiğini belirleyen iki ana değişkendir. ET ve HAT mekanizmaları tüm örneklerde sıklıkla mevcut olup, bunların ayrımlarını ayırt etmek zordur.

Toplam fenol analizi, elektron transfer (ET) mekanizmasını kullanan yöntemler altında Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR), Trolox eşdeğer antioksidan kapasitesi (TEAC) ve 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal temizleme kapasitesi testleri kullanılarak değerlendirilmiştir. diğer çalışmalar, bu radikalleri inhibe etme mekanizmalarının yorumlanmasında zorluklar nedeniyle bu mekanizmaların bazılarını ET ve HAT mekanizmalarını kullanan yöntemler halinde sınıflandırmıştır.

2.3.4.1. Hidrojen Atomu Transferine Dayalı Yöntemler

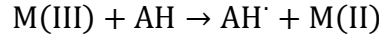
Hidrojen atomu transferine (HAT) dayalı yöntemler, bir antioksidanın, stabil bileşikler oluşturmak için hidrojen bağış yoluyla serbest radikalleri temizleme yeteneğini ölçmektedir. HAT bazlı yöntemler, radikal zincir kıran antioksidan kapasitesiyle daha ilgilidir.



HAT yöntemlerindeki göreceli reaktivite, H₂ veren grubun antioksidan potansiyeli ve iyonizasyon potansiyelindeki bağ ayrışma enerjisi ile belirlenmektedir. HAT reaksiyonları solvante ve pH'a bağlıdır ve çok hızlıdır. Çoğu HAT tabanlı yöntem, rekabetçi reaksiyonun kinetiğini izler ve niceliklendirme, kinetik eğrilerden türetilmektedir

2.3.4.2. Elektron Transferine Dayalı Yöntemler

Elektron transferine (ET) dayalı yöntemler, potansiyel bir antioksidanın metaller, karboniller ve radikaller dahil herhangi bir bileşiği bir elektron geçirerek ne kadar iyi azaltabildiğini ölçmektedir.



Elektron transfer (ET) yöntemlerinde oksidan, antioksidandan elektron alarak renk değişimine neden olur. Renk değişiminin derecesi numunede bulunan antioksidan bileşiğin konsantrasyonu ile ilgilidir. ET bazlı yöntemler solvent seviyesi ve pH'dan etkilenir ve oluşması HAT bazlı yöntemlere göre daha uzun sürer (83).

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Serbest Radikal Süpürücü Aktivite Tayini

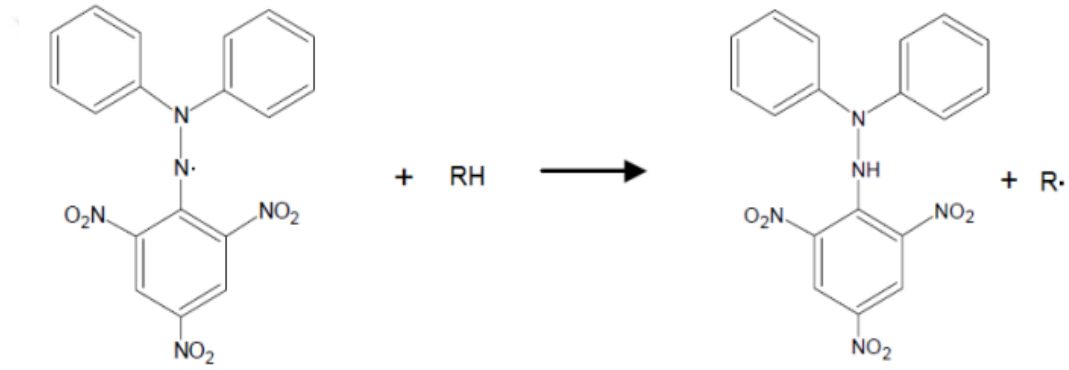
2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikal temizleme yöntemi, bir bileşiğin, ekstraktın veya diğer biyolojik kaynakların antioksidan potansiyelini değerlendirmek için ilk yaklaşımı sağlar. Bu yöntem Blois (1958) tarafından geliştirilmiştir ve kararlı bir serbest radikal olan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH; $C_{18}H_{12}N_5O_6$, MA = 394.33) kullanılarak gerçekleştirilir. DPPH'deki nitrojen atomunun yalnız elektronu, antioksidandan karşılık gelen hidrazine bir hidrojen atomu kabul edilerek indirgenir. DPPH, molekül üzerindeki yedek elektronun bir bütün olarak delokalizasyonu sayesinde stabil bir serbest radikaldir, böylece moleküller diğer birçok serbest radikal gibi çürümez. DPPH, eşleşmemiş elektronu nedeniyle 517 nm'de güçlü bir absorbans bandı gösterir ve bu, çözeltiye koyu mor bir görünüm kazandırır. Absorbans, genellikle antioksidanlarla reaksiyona girerek eşleşmemiş elektronun nötralize edilmesiyle azalır.

Başlangıçtaki DPPH konsantrasyonunu %50 oranında azaltmak için gereken antioksidan konsantrasyonu olan EC_{50} değeri, antioksidan aktiviteyi tanımlamak için sıklıkla kullanılmaktadır (84, 85).

DPPH yöntemi, bileşiklerin serbest radikal temizleyici veya hidrojen donörü olarak hareket etme yeteneğini ölçmek ve gıdaların antioksidan aktivitesini değerlendirmek için hızlı, basit, ucuz ve yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemin avantajı, DPPH'nin numunenin tamamıyla reaksiyona girmesine izin verilmesi ve yöntemde verilen yeterli sürenin, DPPH'nin zayıf antioksidanlarla bile yavaş reaksiyona girmesine izin vermesidir. DPPH yöntemi sulu ve polar olmayan organik çözücülerde kullanılabilir (86).

Tablo 2. DPPH yönteminin avantajları ve dezavantajları (87).

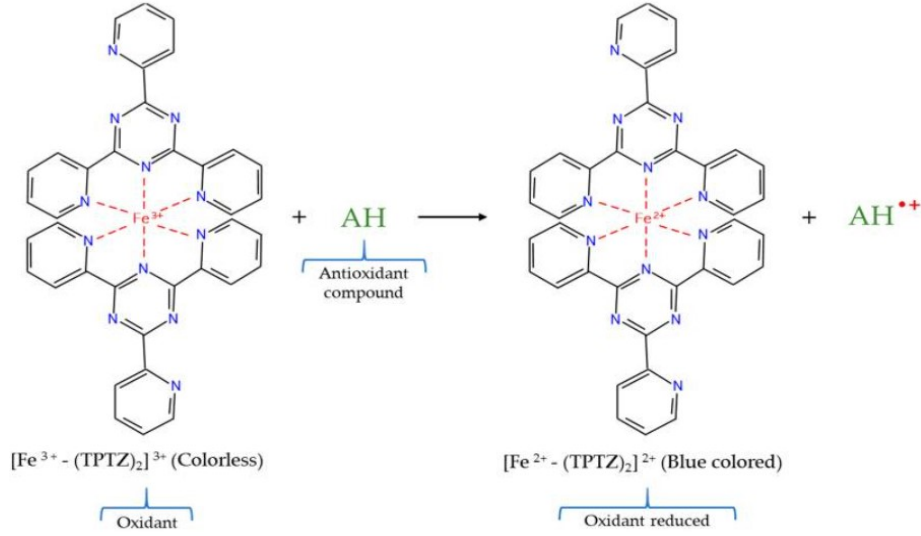
DPPH yöntemi	
Avantaj	Dezavantaj
• Basit yöntem • Hızlı test reaksiyonu • DPPH'nin önceki nesle ihtiyacı yoktur • Özel bir ekipman yok	• Büyük moleküller ve DPPH arasındaki reaksiyonun sterik engellenmesi • DPPH gibi emilimi olan maddeler girişim görevi görür • Hidrofilik antioksidanlar için uygun değildir • Biyolojik radikal değil • Emülsiyonlar için uygun değildir • Protein çökelmesine neden olur



Şekil 15. Bir antioksidan tarafından DPPH radikalinin indirgenmesi (Özkan'dan 88)

Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP) Testi

İlk olarak Benzie ve Strain tarafından rapor edilen FRAP testi tipik bir ET-tabanlı testtir. Bu teknik, antioksidanların ferrik iyonu (Fe^{3+}) ferröz iyonuna (Fe^{2+}) indirgeme kabiliyetini ölçer. Bunun için FRAP tahlilinde normalde FRAP reaktifi olarak bilinen asit ortamında 2,4,6-tripiridil-s-triazin (TPTZ) ve FeCl_3 karışımından üretilen bir demir tuzu olan ferrik 2,4,6-tripiridil-s-triazin kompleksi $[\text{Fe}^{3+}-(\text{TPTZ})_2]^{3+}$ kullanılır. Bu şekilde, renksiz ferrik kompleks $[\text{Fe}^{3+}-(\text{TPTZ})_2]^{3+}$ antioksidan bileşiklerin varlığında lacivert renkli ferröz kompleksine $[\text{Fe}^{2+}-(\text{TPTZ})_2]^{2+}$ indirgenebilir (Şekil 16).



Şekil 16. FRAP testinin indirgeme reaksiyonu.

FRAP yönteminin avantajları ile ilgili olarak, bunlar basitliği, hızı ve özel ekipmana ihtiyaç duyulmaması ile bağlantılıdır, dezavantajları ise tekniğin temelleri ile ilgilidir. Bunlar aşağıdaki tabloda belirtilecektir.

Tablo 3. FRAP yönteminin avantajları ve dezavantajları (87).

FRAP yöntemi	
Avantaj	Dezavantaj
- Basit yöntem - Hızlı Test - Özel Ekipman Yok	$\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ 'den daha düşük redoks potansiyeline sahip maddeler girişim görevi görür -SH grupları ile antioksidanları ölçmez - Biyolojik sistemlerin temsili koşulları değil - Protein çökmesini destekleyen pH koşulları - Absorbans ölçümünde olası girişimler

Toplam Fenolik Madde Miktarı

Toplam fenolik bileşiklerin belirlenmesine yönelik Folin-Ciocalteu yöntemi çeşitli farmakopelerde anlatılmıştır. Bu yöntem kolorimetrik bir analiz olarak kabul edilir ve bu nedenle bir referans materyalin kullanılmasını gerektirir. Bitki ekstraktlarındaki polifenoller belirli redoks reaktifleriyle (Folin-Ciocalteu reaktifi) reaksiyona girerek görünür ışık spektrofotometrisi ile ölçülebilen mavi bir bileşik oluşturur. Reaksiyon, bir

fosfomolibden ve fosfotungstik bileşiklerden oluşan mavi bir kromofor oluşturur; burada kromoforların maksimum absorpsiyonu, alkalın çözeltiye ve fenolik bileşiklerin konsantrasyonuna bağlıdır (89). FCR yöntemi, antioksidan aktivitesinin belirlenmesinde sıklıkla tercih edilen basit, tekrarlanabilir ve güvenilir bir yöntem olmasına rağmen; uygulama süresinin uzun olması, reaksiyonun sulu ortamda gerçekleşmesi ve lipofilik bileşikler için uygun olmaması, fenolik bileşenlerin yalnızca alkali ortamda tepkime vermesi gibi nedenlerle yöntemin kullanımını kısıtlamaktadır (90).

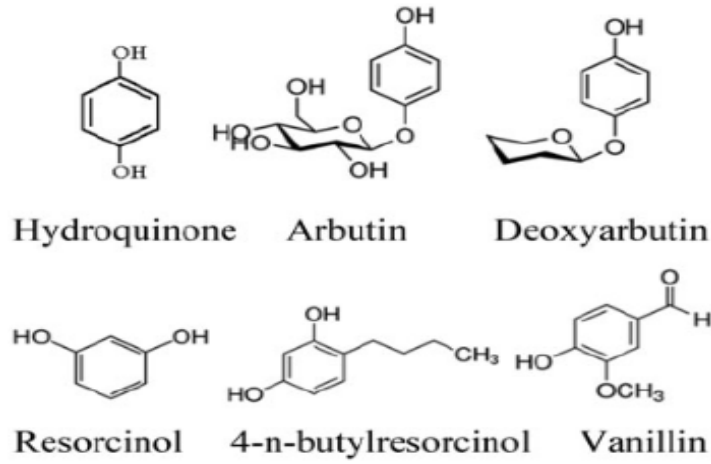
2.4. Enzimler

Enzimler, makromoleküler biyolojik katalizörlerdir. Enzimler, substrat moleküllerinin ürün moleküllerine dönüşümünü kolaylaştırarak kimyasal reaksiyonları hızlandırırlar. Tüm katalizörler gibi, enzimler reaksiyon hızını aktivasyon enerjisini düşürerek artırır ve kimyasal reaksiyonlarda tüketilmezler, ayrıca reaksiyonun dengesini değiştirmezler. İnhibitörler enzim aktivitesini azaltan moleküller, aktivatörler ise aktiviteyi artıran moleküllerdir. Birçok tedavi edici ilaç ve zehir enzim inhibitörleridir (90).

2.4.1. Tirozin ve Tirozinaz Enzimi Hakkında Genel Bilgi

Tirozinaz, farklı organizmalarda yaygın olarak bulunan ve melanogenez ve enzimatik esmerleşmede önemli bir rol oynayan çok bakırlı bir enzimdir. Bu enzim insanlarda melanin biyosentetik yolunun hız sınırlayıcı ilk iki basamağından ve dolayısıyla cilt, saç ve göz renginden sorumludur (91).

Tirozinazın inhibitörlerin melanogenezi engellediği bilindiğinden, kozmetik ajanlar olarak incelenmiştir. Ticari olarak temin edilebilen cilt beyazlatma ürünlerinin çoğu, tirozinaz inhibitörlerine dayanmaktadır ve birçok umut verici tirozinaz inhibitörü, farmasötik, kozmetik veya tarımsal amaçlarla kullanılmıştır. Önceki çalışmalar flavonoidlerin yeni keşfedilen doğal tirozinaz inhibitörlerinin büyük bir bölümünü oluşturduğunu göstermiştir. Arbutin, azelaik asit ve hidrokinon, cildin rengini açmada ve hiperpigmentasyonu tedavi etmede etkili olduğu gösterilen güçlü tirozinaz inhibitörleridir.



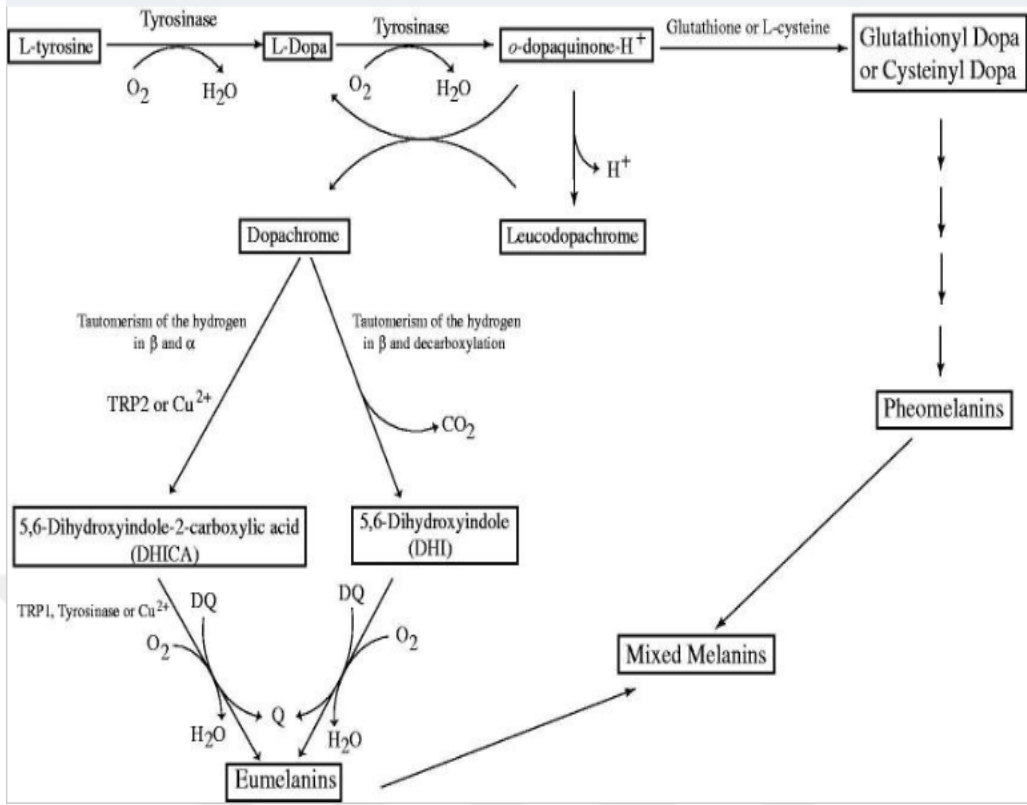
Şekil 17. Bazı basit fenolik bileşiklerin kimyasal yapıları (Zolghadri'den, 92)

Ancak, bu ürünlerin böbrek, bağışıklık sistemi, kemik iliği ve melanosit toksisiteleri ile olası karsinojenik etkileri gibi çeşitli sağlık ve güvenlik endişelerini beraberinde getirdiği bilinmektedir. Bu nedenle, bu istenmeyen etkilerle etkili bir şekilde başa çıkabilen yeni tirozinaz inhibitörlerinin bulunmasına hâlâ acil bir ihtiyaç vardır (93).

Bilinen bir tirozinaz inhibitörü olan kojik asit, bazı mantar türlerinden elde edilir. Cildi beyazlatmak için kozmetik ürünlerde ve enzimatik esmerleşmeyi önlemek için gıda katkı maddesi olarak kullanılır (94). Ancak, ışık ve havadar ortamlarda kararsız olması nedeniyle kozmetik kullanımı sınırlıdır. Bu yüzden, daha stabil bir ester türevi olan kojik dipalmitat, kozmetik formülasyonlarda alternatif bir seçenek olarak yaygın şekilde tercih edilir; ancak, esterin kojik asit kadar etkili olduğunu gösteren bilimsel araştırmalar bulunmamaktadır. Kojik asit, diğer inhibitörlerin aktivitelerini karşılaştırmak için literatürde sıkça pozitif kontrol olarak kullanılmaktadır (95).

2.4.1.1. Tirozinaz İnhibitörlerinin Uygulama Alanları

Tirozinaz, L-tirozinin L-Dopa'ya ve ardından L-Dopa'nın Dopa-kinonona dönüşümünü düzenler ve bu süreç eumelanin ve feomelanin oluşumuna yol açar. Eumelanin ve feomelanin birikimi cilt altında melaninle ilişkili hastalıklara neden olabilir. Bu nedenle, tirozinazı inhibe eden bileşikler, melaninle ilişkili bozuklukların iyileştirilmesine yardımcı olabilir ve bu süreçte aşağı yönlü sinyal yollarını engelleyebilir (96, 97).



Şekil 18. Eumelaninlerin ve feomelaninlerin biyosentetik yolunun şeması (Zolghadri'den, 92)

Genellikle hamilelik maskesi olarak bilinen melazma, bu hormonal değişikliklerin dengesizliği nedeniyle ciltte gelişir ve sonuçta vücutta özellikle yüzün her iki tarafında ve pelvik bölgelerde koyu lekeler neden olur (98). Ayrıca yaşlanmayla birlikte cilt pigmentasyonunda yaşlılık lekeleri (solar lentijinler) gibi lokal değişiklikler meydana gelebilir (99).

Akne, atopik dermatit veya liken planus gibi diğer cilt bozuklukları, melanin aşırı üretimi veya epidermis veya dermis bölgelerinde anormal melanin birikmesinden kaynaklanan lokalize postinflamatuvar hiperpigmentasyon (PIH) nedeniyle ortaya çıkar (100).

Vitiligo, lokalize cilt rengi kaybıyla karakterize, etiyolojisi bilinmeyen edinilmiş bir pigmenter bozukluktur (101). Ayrıca genodermatoz adı verilen çeşitli genetik hastalıklar da cilt pigmentasyonunu etkiler (102).

2.4.2. Elastin ve Elastaz Enzimi Hakkında Genel Bilgi

Elastin, lizil-oksidaz enzimi tarafından gerçekleştirilen oksidasyonun ardından Lys kalıntıları arasında büyük çaplı çapraz bağ oluşumunu gösteren hidrofobik bir proteindir, bu da elastine yüksek düzeyde çözünmezlik kazandırır. Yüksek omurgalıların elastini, %30'dan fazla Gly ve geri kalanı Val, Ala ve Pro kalıntılarından oluşur. Deri, arterler, akciğerler ve bağlar gibi dokulara esneklik sağlamak için hayati önem taşıyan benzersiz elastik gerilme özelliklerine sahiptir (103, 104).

Elastaz, proteazların kimotripsin ailesinin bir üyesidir ve elastinin seçici parçalanmasından birincil olarak sorumludur. Elastinin yanı sıra kolajen, fibronektin ve diğer hücre dışı matriks (ECM) proteinlerini de parçalayabilir (104).

Kollajenazlar ve elastazlar gibi ECM parçalayan proteinlerin aktivitesinin inhibe edilmesi, UV'ye maruz kalmış cilt hasarlarını ve erken yaşlanmayı önlemede faydalı olabilir. Doğal antioksidanlar tarafından ROS'ların temizlenmesi, bu enzimlerin aktivasyonunda önemli bir rol oynadığı için böyle bir cilt bozucu enzimlerin inhibe edilmesi için bir seçenek olabilir (105).

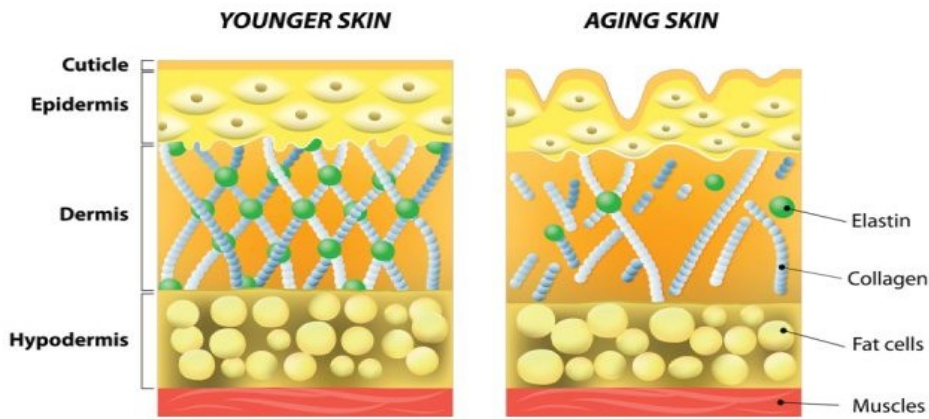
2.4.3. Kollajen ve Kollajenaz Enzimi Hakkında Genel Bilgi

Kolajen, hücre dışı matriksin büyük kısmını oluşturan benzersiz üçlü sarmal bir moleküldür ve kuru ağırlığının yaklaşık %30'unu temsil ederek vücutta en bol bulunan proteindir. Kollajen, ciltte, tendonlarda, kemiklerde, kıkırdakta ve diğer tüm bağ dokularında bulunan beyaz liflerin (kollajen fibrilleri) temelini oluşturan lifli bir yapısal bileşen olarak işlev görür. Kollajen, çok hücreli organizmalara mekanik güç ve elastikiyet sağlamanın yanı sıra, hücresel şekil ve davranışı belirleyen sinyal molekülleri olarak da işlev görmektedir.

Kollajenin parçalanması ve yeniden şekillenmesi, öncelikle kollajenazların ve matris metaloproteinazlar (MMP'ler) ailesine ait diğer birkaç enzimin etkisi yoluyla gerçekleşir (106). Kollajenazlar, fizyolojik koşullar altında in vivo ve in vitro olarak doğal kolajeni parçalayabilen proteinlerdir (107). Kollajenin enzimatik olarak parçalanması embriyonik gelişimde ve normal doku yenilenmesi ve onarımında esastır, ancak anormal parçalanma kanser, artrit, arterioskleroz ve karın aortik anevrizmalar gibi hastalıkların ilerlemesi ile ilişkilendirilir (108). Kolajenaz enzimleri cilt hücresi proliferasyonunu, anjiyogenezi ve migrasyonu artırarak yara iyileşme sürecinde rol oynar. Bu enzimler, yara

bölgesindeki nekrotik dokuların sağlıklı dokuya zarar vermeden uzaklaştırılmasını kolaylaştırır. (109).

Cilt yaşlanması, birçok içsel ve dışsal nedenden kaynaklanabilen karmaşık bir biyolojik olgudur. İçsel faktörler yaşlanma ile meydana gelirken dışsal faktörler genellikle güneşe maruz kalma sonucunda ortaya çıkar. UV ışınlarına maruz kalma, karmaşık yollarla ciltte fiziksel değişikliklere neden olarak sonunda reaktif oksijen türleri veya ROS, matriks metalloproteinazlar (MMP'ler) ve elastaz salınımını oluşturur. ROS, cilt lipidleri, proteinleri ve DNA'sına oksidatif hasar vererek cilt yaşlanmasına doğrudan neden olur. ROS ayrıca MAP-kinaz yolu aracılığıyla MMP'lerin üretimini dolaylı olarak uyarabilir. MMP'ler, etki ettikleri substrata göre beş sınıfa ayrılan çeşitli enzimler grubunu içerir: kollajenaz, jelatinaz, stromelin, membran tipi MMP'ler (MT-MMP'ler) ve diğerleri. Kollajenaz, kollajenin parçalanması da dahil olmak üzere ekstraselüler matriksin (ECM) yeniden şekillenmesinden sorumludur. Elastaz, ECM içinde elastinin parçalanmasından sorumludur. Kollajen ve elastinin cilt yapısının bütünlüğünü ve esnekliğini korumak için temel olduğu göz önüne alındığında, kollajen ve elastin kaybı istenmeyen kırışıklıkların ve cilt yaşlanmasının katkıda bulunur (111).



Şekil 19. Normal ve yaşlı cilt arasındaki cilt yapısındaki farklılıklar (Agadi'den, 111)

Son çalışmalar, flavonoidlerin yaşlanan hücreleri ortadan kaldırarak, yaşlanmayla ilişkili salgı fenotiplerini (SASP'ler) inhibe ederek ve metabolik homeostaziyi koruyarak yaşlanmayı geciktirebildiğini ve sağlıklı yaşam süresini uzatabildiğini göstermiştir (111).

Genistein, kersetin, nobiletin ve baicalin gibi bazı flavonoidler MMP-1 ekspresyonunu düzenler.

Bu alışmalar aynı zamanda topikal olarak uygulanan bazı flavonoidlerin, özellikle kersetinin, kolajenazı inhibe ederek ve/veya kolajen indüksiyonunu aşağı doğru düzenleyerek kolajen bozulmasına karşı koruyabileceğini göstermektedir (112).



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kullanılan Cihazlar

Çalışmada kullanılan cihazlar Tablo 4’de verilmiştir.

Tablo 4. Kullanılan cihazlar ve markaları

Cihazın Adı	Marka
Buzdolabı (+4 °C)	Arçelik
Derin dondurucu (-20 °C)	Arçelik
Hassas analitik terazi	Ohaus
Manyetik karıştırıcı	Heidolph MR
UV-Vis Spektrofotometre	Thermo Scientific Multiskan Go
Orbital çalkalayıcı	Bio-Rad UltraRocker™ Rocking platform
Otomatik pipetler	Socorex
pH metre	Ohaus
Rotary evaporatör	Heidolph
Su banyolu çalkalayıcı	Memmert
Soğutmalı santrifüj	Sigma
Elektroforez güç kaynağı	Bio-Rad
Görüntüleme sistemi	Bio-Rad
Vorteks	Wisd Wisd

3.1.2. Kimyasal Maddeler ve Ekipmanlar

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve ekipmanlar Tablo 5’de verilmiştir.

Tablo 5. Kullanılan kimyasallar, marka ve kodları

Kimyasal Adı	Marka/ Kodu
Agaroz	Sigma/ A9539
Alüminyum klorür (AlCl ₃)	Fluka/ 06220
Amonyum asetat (NH ₄ CH ₃ CO ₂)	Isolab/ 903.026.1000
Bütillenmiş hidroksianisol (BHA)	Sigma-Aldrich/ A5751
Demir (III) Klorür (FeCl ₃)	Sigma-Aldrich/ F2877
3,4-Dihidroksi-L-fenilalanin (L-DOPA)	Sigma Aldrich/ D9628
2,2-difenil-1-pikril hidrazil (DPPH)	Sigma Aldrich/ D9132
Elastaz	Sigma Aldrich/E1250
Epigallokateşin gallat	Sigma Aldrich/E4143
Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)	Sigma/ 216763
N-(3-[2-Furyl]acryloyl)-Leu-Gly-Pro-Ala (FALGPA)	Sigma Aldrich/EF5135
Folin-Ciocalteu fenol reaktifi	Sigma Aldrich/ F9252
Gallik asit	Sigma Aldrich/ G7384
Kojik asit	Sigma Aldrich/ K3125
Kollajenaz	Sigma Aldrich/ C9891
96 Kuyulu plaka	Nest/ 701001
Metanol	Isolab/ 947.046.2500
N-Süksinil-Ala-Ala-Ala-nitroanilit (AAAPVN)	Sigma Aldrich/ S4760
pBR322 plazmid DNA	Thermo Scientific/ SD0041
Potasyum ferrisiyanür (K ₃ [Fe(CN) ₆])	Sigma-Aldrich/ 244023
Sodyum karbonat	Sigma Aldrich/ 222321
Trisma baz	Sigma Aldrich/ 93362
Tirosinaz	Sigma Aldrich/ T3824

3.1.3. Çalışmada Kullanılan Bitki

Bu tez çalışmasında kullanılan *Silene vulgaris* (Moench) Garcke bitkisi çiçekli durumda iken toprak üstü kısımları 29 Mayıs 2022 tarihinde Trabzon Çaykara Soğanlı köyünden toplanmıştır. Bitkinin tespiti Doç. Dr. Yeter YEŞİL CANTÜRK ve Dr. Öğr. Üyesi Nurdan YAZICI BEKTAŞ tarafından yapılmıştır ve İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'na bir numune örneği bırakılmıştır (ISTE 118083).

Ekstraksiyon çalışmaları Karadeniz Teknik Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Meslek Bilimleri Bölümü Farmakognozi Anabilim Dalı Laboratuvarlarında Dr. Öğr. Üyesi Nurdan YAZICI BEKTAŞ'ın desteğiyle gerçekleştirilmiştir.

3.1.4. Kullanılan Çözeltiler

0.5 N Folin reaktifi çözeltisinin hazırlanması

5 mL 2 N Folin-Ciocalteu fenol reaktif çözeltisi deiyonize suyla hacmi 20 mL'ye tamamlanmıştır.

10 mg/mL gallik asit çözeltisinin hazırlanması

5 mg gallik asit, 500 µL metanolde çözölmüştür.

%10'luk Na₂CO₃ çözeltisinin hazırlanması

5 g Na₂CO₃, 25 mL deiyonize suda çözölüp hacmi 50 mL'ye tamamlanmıştır.

10 mg/mL kersetin çözeltisinin hazırlanması

10 mg kersetin, 1000 µL metanolde çözölmüştür.

1 M amonyum asetat çözeltisinin hazırlanması

1.5416 g amonyum asetat, 20 mL deiyonize suda çözölmüştür.

0.2 mM DPPH çözeltisinin hazırlanması

6.4 mg DPPH 81.152 µL metanolde çözölmüştür.

%1'lik K₃[Fe(CN)₆] çözeltisinin hazırlanması

50 mg K₃[Fe(CN)₆] tartılıp deiyonize su ile 5 mL'ye tamamlanmıştır.

%10'luk TCA çözeltisinin hazırlanması

2 g TCA tartılıp deiyonize su ile 20 mL'ye tamamlanmıştır.

%0.15'lik FeCl₃ çözeltisinin hazırlanması

30 mg FeCl₃ tartılıp deiyonize su ile 30 mL'ye tamamlanmıştır.

500 U/mL Tirosinaz çözeltisinin hazırlanması

1.8 mg Tirozinaz enzimi tartılıp bir miktar 100 mM pH=6.8 Fosfat tamponunda çözölerek 11 mL'ye tamamlanmıştır.

3 mM L-DOPA çözeltisinin hazırlanması

5.91 mg L-DOPA tartılıp 100 mM pH=6.8 Fosfat tamponu ile 11 mL'ye tamamlanmıştır.

10 mg/mL kojik asit çözeltisinin hazırlanması

10 mg kojik asit tartılıp 100 mM pH=6.8 Fosfat tamponu ile 1 mL'ye tamamlanmıştır.

0.22 U/mL elastaz çözeltisinin hazırlanması

0.26 mg elastaz enzimi tartılıp 50 mM pH=8 Tris-HCl tamponu ile 1 mL'ye tamamlanmıştır.

10 mg/mL epigallocateşin gallat çözeltisinin hazırlanması

10 mg epigallocateşin gallat tartılıp metanol ile 1 mL'ye tamamlanmıştır.

50 mM Tris-HCl (pH 7) tamponu hazırlanması

605.5 mg trizma baz bir miktar saf 75 mL deiyonize suda çözüldükten sonra seyreltik HCl ile pH değeri 7'ye ayarlanmıştır. Son olarak hacmi 100 mL'ye tamamlanmıştır.

Agaroz jel yürütme tamponu hazırlanması (pH 8)

Bir şişeye 12.1 gram trizma bazı, 2.8 mL asetik asit ve 5 mL 0.5 M EDTA ilave edildikten sonra 200 mL deiyonize suda çözülüp, hacmi 250 mL'ye tamamlanmıştır.

%0.8'lik agaroz jel

800 mg agaroz, 100 mL 1×TAE'de ısıtıcıda kaynatarak çözülmüştür.

5 mg/mL etidyum bromür çözeltisi

50 mg etidyum bromür, 10 mL deiyonize suda çözülmüştür.

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması

Silene vulgaris bitkisine ait çiçekli toprak üstü kısımlar gölgede açık havada kurutulmuş ve bitki değirmeni kullanılarak toz haline getirilmiştir. 20 gram materyal metanol ile oda sıcaklığında ultrasonik banyoda 30 dakika süresince ekstre edilmiştir. Süre sonunda elde edilen ekstre Watman filtre kağıdı ile süzölmüş ve rotary evaporatörde 40 °C de çözücüsünden uzaklaştırılmıştır. Bu işlem sonunda ham metanol ekstresi elde edilmiş (SM). Ham metanol ekstresinden bir kısım deneysel çalışmalar için ayrıldıktan sonra geri kalan kısım distile su ile çözündürölüp ayırma hunisine alınmıştır. Ekstredeki klorofillerin

uzaklaştırılabilmesi için ilk olarak n-hekzan ile sıvı-sıvı ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur. Devamında sırasıyla kloroform ve n-butanol ile sıvı-sıvı ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur. Elde edilen kloroform (SK), n-butanol (SB) ve su (SS) ekstraktları 40 °C de rotary evaporatörde kuruluğa kadar yoğunlaştırılmıştır (6, 13).

3.2.2. Toplam Fenolik ve Flavonoid Madde Miktarı Tayini

Silene vulgaris (Moench) Garcke bitkisinin ekstraktlarının toplam fenolik ve flavonoid madde miktarı tayini spektrofotometrik yöntem kullanılarak tespit edilmiştir.

3.2.2.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

Ekstraktların toplam fenolik madde miktarı tayini Folin-Coicalteu reaktifi kullanılarak spektrofotometrik olarak incelenmiştir (113).

Çalışmada üçer tekrar olacak şekilde 5 mg/mL konsantrasyondaki ekstraktlardan 20 µL alınarak deney tüplerine eklenmiştir. Standart fenolik bileşik olarak gallik asit kullanılmıştır. Deney tüplerine farklı konsantrasyonlarda gallik asit eklenmiştir. Her bir tüpe 400 µL 0.5 N Folin-Coicalteu reaktifi, 680 µL deiyonize su ve 400 µL %10'luk Na₂CO₃ eklenip karıştırılmıştır. Elde edilen karışımlar 120 dakika karanlıkta bekletildikten sonra 96 kuyucuklu plakaya aktarılmıştır. Spektrofotometre cihazıyla 760 nm'de metanolden oluşan köre karşı absorbansları ölçülmüştür. Ekstraktların toplam fenolik madde miktarı gallik asit kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/ekstrenin gram kuru ağırlığı olarak verilmiştir.

3.2.2.2. Toplam Flavonoid Madde Miktarı Tayini

Ekstraktların toplam flavonoid madde miktarı tayini alüminyum nitrat kolorimetrik yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Çalışmada üçer tekrar olacak şekilde 2.5 mg/mL konsantrasyondaki ekstraktlardan 250 µL alınarak deney tüplerine eklenmiştir. Standart bileşik olarak kersetin kullanılmıştır. Deney tüplerine farklı konsantrasyonlarda kersetin eklenmiştir. Daha sonra her deney tüpüne sırasıyla 25 µL %10'luk AlCl₃, 25 µL 1 M NH₄CH₃CO₂ ve 700 µL deiyonize su eklenmiştir. Karışımlar 30 dakika karanlıkta inkübasyona bırakıldıktan sonra 96 kuyucuklu plakaya aktarılmış ve 415 nm'de etanolden oluşan köre karşı absorbansları spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Ekstraktların toplam flavonoid madde miktarı mg kersetin eşdeğeri (KE)/ekstrenin gram kuru ağırlığı olarak verilmiştir (113).

3.2.3. Antioksidan Aktivitenin İncelenmesi

3.2.3.1. DPPH Radikal Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi

DPPH radikal süpürme aktivitesi, spektrofotometrik yöntem kullanılarak incelenmiştir. Bu çalışmada, standart bileşik olarak gallik asit tercih edilmiştir. Ekstreler, 96 kuyucuklu plakalarında farklı konsantrasyonlarda (20-200 µg/mL) test edilmiştir. Her bir kuyucuğa, 200 µL 0.2 mM DPPH çözeltisi eklenmiş ve karanlık ortamda 30 dakika boyunca inkübe edilmiştir. Ardından, 517 nm dalga boyunda absorbans değerleri spektrofotometre ile ölçülmüştür (A₁). Kör grubu için ise metanolde hazırlanmış 0.2 mM DPPH çözeltisinin 517 nm dalga boyundaki absorbans değerleri kaydedilmiştir (A₀). Farklı konsantrasyonlar için DPPH radikal inhibisyonu, aşağıda belirtilen “Eşitlik 5” formülü kullanılarak hesaplanmıştır. Deneyler, üç gün boyunca, her birinde üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçların standart sapmaları hesaplanmıştır.

$$\%İnhibisyon = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \quad (\text{Eşitlik 5})$$

A₀: Numunelerin ilavesi olmaksızın ölçülen absorbans; A₁: ekstrelerin ilavesi sonrasında ölçülen absorbans.

3.2.3.2. Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Güç Aktivitesi

Ekstrelerin Demir(III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Güç Aktivitesi(FRAP)Oyaizu ve arkadaşlarının geliştirdiği Fe⁺³’ün Fe⁺²’ye indirgenmesine dayanan metot kullanılarak araştırılmıştır (114).

Standart grafik oluşturmak üzere BHA’nın 100, 200, 400, 600 ve 1000 µM konsantrasyonları tercih edilmiştir. Bu metotta öncelikle 250 µL ekstre (5 mg/mL), 250 µL fosfat tamponu (200 mM, pH 6.6) ve 250 µL K₃[Fe(CN)₆] (%1) çözeltileri karıştırılmıştır. Ardından bu karışık su banyosu kullanılarak 50°C’de 20 dakika inkübe edilmiştir. Bu sürenin ardından 250 µL TCA (%10) ilave edilip 3000 rpm’de 5 dakika santrifüj gerçekleştirilmiştir. Santrifüj işleminin ardından süpernatant kısmından 200 µL alınıp üzerine 200 µL FeCl₃ (%0.15) ilave edildikten sonra 30 dakika karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda 700 nm’de absorbanslar ölçülmüş olup sonuçlar µM BHA eş değeri (BHAe)/ ekstrenin gram kuru ağırlığı cinsinden verilmiştir.

3.2.4. Enzim İnhibisyon Çalışmaları

3.2.4.1. Tirosinaz Enzimi

Ekstrelerin tirosinaz inhibisyon aktivitesi spektrofotometrik yöntemle değerlendirilmiştir (115). Bu amaçla hazırlanan numuneler (20-200 µg/mL), her birinden 20 µL alınarak 100 µL fosfat tamponu (pH 6.8) eklenmiş kuyucuklara ilave edilmiştir. Ardından her kuyucuğa 250 U/mL tirosinaz çözeltisinden 20 µL eklenmiş ve karışımlar 10 dakika boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresini takiben, kuyucuklara 3 mM L-DOPA çözeltisinden 20 µL eklenmiş ve ikinci bir 10 dakikalık inkübasyon gerçekleştirilmiştir. İşlem sonunda mikroparka kuyucuklarındaki çözeltilerin absorbans değerleri 475 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Tirosinaz inhibisyon oranları, aşağıda verilen formül yardımıyla numune konsantrasyonlarına bağlı olarak hesaplanmıştır. Pozitif kontrol grubu olarak kojik asit kullanılmıştır. Tüm deneyler, üç tekrarlı şekilde gerçekleştirilmiş ve sonuçlar “Eşitlik 5” formülü ile analiz edilmiştir.

3.2.4.2. Elastaz Enzimi

Ekstrelerin elastaz inhibisyon etkinliği spektrofotometrik yöntem ile incelenmiştir (116) İlk olarak toplam hacim 250 µL olacak şekilde, Tris-HCl buffer (pH 8.0) tamponu ortamında 1 µg/mL elastaz enzimi ve 25 µL ekstrelerin çeşitli konsantrasyonları (20-200 µg/mL) eklenecek ve karışım 15 dakika inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda substrat olarak 0.8 mM N-Süksinil-Ala-Ala-Ala-nitroanilit (AAPVN) ilave edildikten sonra karışım 20 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Ardından karışımların absorbansları 402 nm’de ölçülmüştür. Pozitif kontrol olarak epigallokateşin gallat kullanılmıştır. Tüm deneyler üç tekrarlı gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar “Eşitlik 5” kullanılarak hesaplanmıştır.

3.2.5. DNA Etkileşim Çalışmaları

3.2.5.1. DNA Hasarı Çalışmaları

Bu çalışma en yüksek antioksidan etkinlik gösteren SB ekstrelerinin süpersarmal pBR322 plazmid DNA üzerinde oluşabilecek hasarı tespit amacıyla gerçekleştirilmiştir. Agaroz jel kuyu içerikleri 10 µL olacak şekilde oluşturulmuştur. Kuyu içerisinde 1 µL süpersarmal pBR322 plazmid DNA, 7 µL tampon çözelti (50 mM Tris-HCl (pH 7)) ve 2 µL farklı konsantrasyonlarda (100, 200 ve 500 µg/mL) ekstre eklenmiştir. Kuyu içeriği 30 ve 60 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Negatif kontrol olarak saf su kullanılmıştır. Standart bileşik olarak ise gallik asit kullanılmıştır. Oluşturulan karışımlar jel yükleme

boyasıyla %0.8'lik agaroz jele (0.25 µg/mL EB içeren) yüklenmiştir. 1×TAE yürütme tamponu ilavesinden sonra 100 V, 400 mA akım uygulanarak 90 dakika boyunca jelde yürütülmüştür. Sonuçlar BioRad Gel Doc XR system cihazı yardımıyla görüntülenip, Image Lab Version 4.0.1 programı ile nükleaz yüzdeleri hesaplanmıştır (117).

3.5.2.2. Fenton Reaktifi ile oluşturulan DNA Hasarının Korunması

Bu çalışmada süpersarmal pBR322 plazmid DNA üzerinde Fenton reaktifi kullanılarak hasar meydana getirilmiştir. SB ekstresinin oluşturulan DNA hasarlarına karşı koruyup korumadığını belirlemek amaçlanmıştır. Bu amacı gerçekleştirmek için agaroz jel elektroforez yöntemi kullanılmıştır. Agaroz jel kuyu içerikleri 10 µL olacak şekilde oluşturulmuştur. Kuyu içerisinde 1 µL süpersarmal pBR322 plazmid DNA, 5 µL tampon çözelti (50 mM Tris-HCl (pH 7)), 2 µL farklı konsantrasyonlarda (100, 200 ve 500 µg/mL) ekstre ve 1 µL 1 mM FeSO₄ ve 1 µL %2 H₂O₂ eklenmiştir. Kuyu içeriği 60 dakika inkübasyon bırakılmıştır. Negatif kontrol olarak saf su kullanılmıştır. Standart bileşik olarak ise gallik asit kullanılmıştır. Oluşturulan karışımlar jel yükleme boyasıyla %0.8'lik agaroz jele (0.25 µg/mL EB içeren) yüklenmiştir. 1× TAE yürütme tamponu ilavesinden sonra 100 V, 400 mA akım uygulanarak 90 dakika boyunca jelde yürütülmüştür. Sonuçlar BioRad Gel Doc XR system cihazı yardımıyla görüntülenip, Image Lab Version 4.0.1 programı ile nükleaz yüzdeleri hesaplanmıştır (118).

4. BULGULAR

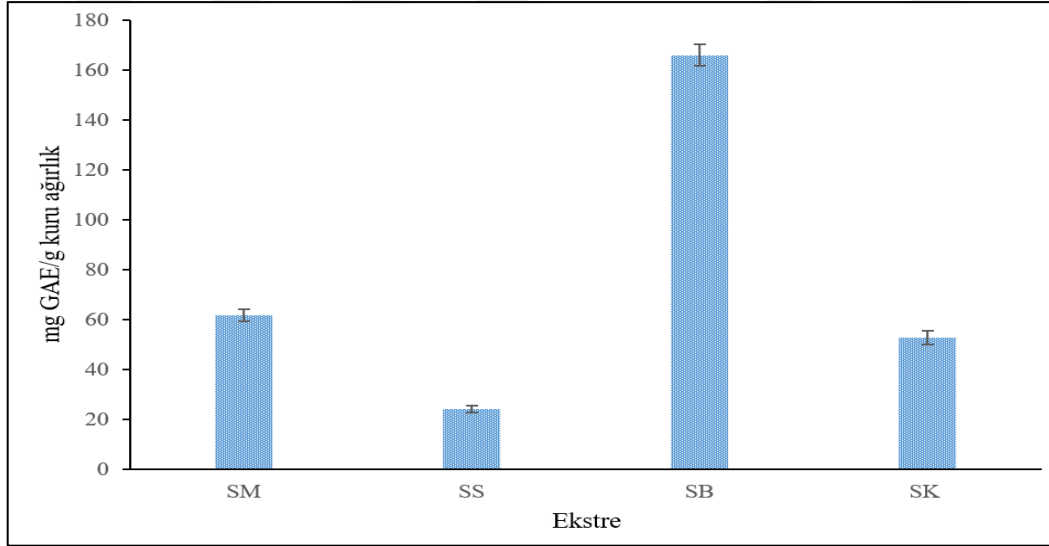
4.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

Ekstrelerin toplam fenolik madde miktarı tayini spektrofotometrik yöntemler kullanılarak incelenmiştir. Sonuçlar Tablo 6 ve Şekil 20’de gösterilmektedir. SM’nin toplam fenolik madde miktarı 61.62 ± 2.43 mg GAE/g kuru ağırlık bulunurken, SB’nin ise 166.00 ± 4.36 mg GAE/g kuru ağırlık ile en yüksek fenolik içeriğe sahip bileşik olarak tespit edilmiştir. Ekstreler arasında en düşük etkinlik SS’de görülmüştür.

Tablo 6. Ekstrelerin toplam fenolik madde miktarı

Toplam fenolik içerik	
mg *GAE/g kuru ağırlık	
SM	61.62 ± 2.43
SS	24.20 ± 1.51
SB	166.00 ± 4.36
SK	52.73 ± 2.82

*GAE: Gallik Asit Eş Değeri.



Şekil 20. Ekstrelerin toplam fenolik madde miktarı

4.2. Toplam Flavonoid Madde Miktarı Tayini

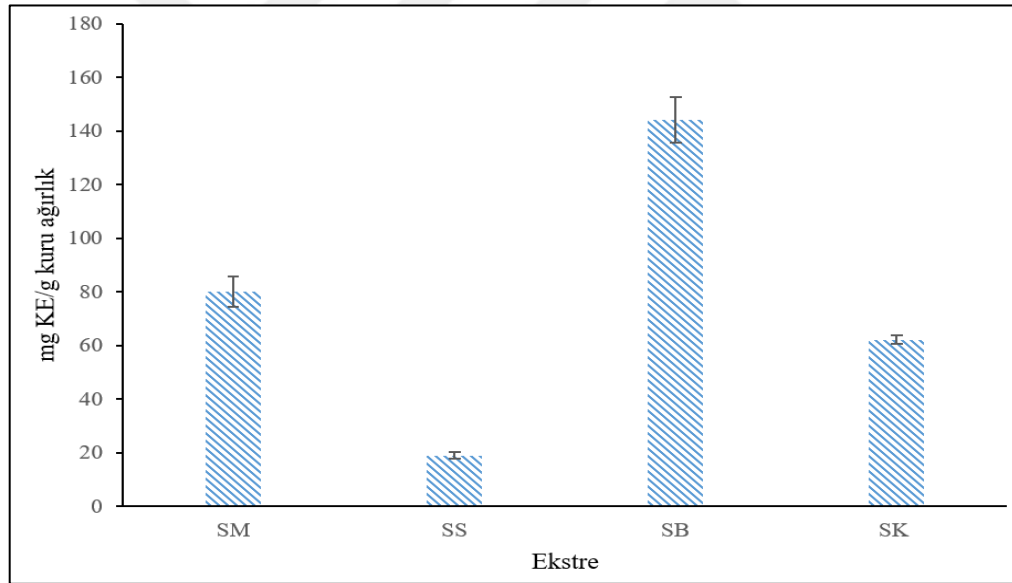
Ekstrelerin flavonoid madde miktarı tayini spektrofotometrik yöntemler kullanılarak incelenmiştir. Sonuçlar Tablo 7 ve Şekil 21’de gösterilmektedir. SM’nin

toplam flavonoid madde miktarı 80.09 ± 5.56 mg KE/g kuru ağırlık bulunurken, SB'nin ise 144.16 ± 8.55 mg KE/g kuru ağırlık ile en yüksek flavonoid içeriğe sahip bileşik olarak tespit edilmiştir. Ekstreler arasında en düşük etkinlik 18.97 ± 1.26 mg KE/g kuru ağırlık ile SS'de görülmüştür.

Tablo 7. Ekstrelerin toplam flavonoid madde miktarı

Toplam flavonoid içerik	
mg *KE/ g kuru ağırlık	
SM	80.09 ± 5.56
SS	18.97 ± 1.26
SB	144.16 ± 8.55
SK	62.14 ± 1.58

*KE: Kersetin Eş Değeri



Şekil 21. Ekstrelerin toplam flavonoid madde miktar

4.3. Antioksidan Aktivitenin İncelenmesi

4.3.1. DPPH Radikal Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi

Ekstrelerin radikal süpürme etkileri, DPPH yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Sonuçlar Tablo 8'te sunulmuştur. Bu çalışmada pozitif kontrol olarak gallik asit kullanılmıştır. Sonuçlara incelendiğinde SB'nin konsantrasyona bağlı olarak radikal süpürme etkinliği gösterdiği ortaya konulmuştur. $200 \mu\text{g/mL}$ 43.12 ± 0.88 olarak tespit

edilmiştir. Diğer ekstrelerin düşük radikal süpürme yüzdesine sahip olduğu görülmektedir. Pozitif kontrol kullanılan gallik asit ile kıyaslandığında ekstrelerin düşük DPPH radikal süpürme etkinliğine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 8. Ekstrelerin DPPH aktivitesi

$\mu\text{g/mL}$	20	50	100	200
SM	-	7.61 $\pm$ 2.01	10.32 $\pm$ 0.61	20.20 $\pm$ 0.40
SS	-	-	-	10.17 $\pm$ 2.83
SB	5.18 $\pm$ 3.14	13.96 $\pm$ 0.79	22.51 $\pm$ 1.42	43.12 $\pm$ 0.88
SK	-	-	-	6.98 $\pm$ 2.34
Gallik asit	36.57 $\pm$ 2.05	57.49 $\pm$ 3.04	84.05 $\pm$ 3.95	87.54 $\pm$ 3.59

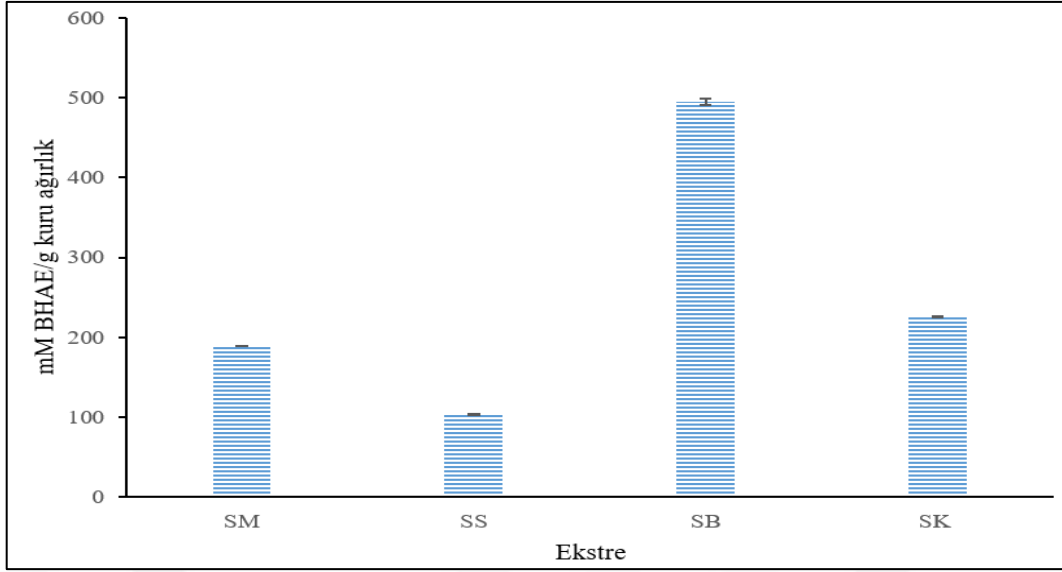
4.3.2. FRAP Aktivitesinin Belirlenmesi

Ekstrelerin FRAP aktiviteleri, spektrofotometrik yöntem kullanılarak incelenmiştir. Sonuçlar Tablo 9 ve Şekil 22’de verilmiştir. Bu çalışmada pozitif kontrol olarak BHA kullanılmıştır. Çalışma sonuçları incelendiğinde SB’nin 495.40 $\pm$ 3.94 mM BHAE/g kuru ağırlık ile en yüksek etkinliğe sahip olduğu tespit edilmiştir. Ekstreler arasında en düşük etkinlik ise SS’de bulunmuştur.

Tablo 9. Ekstrelerin FRAP Aktivitesi

	FRAP
	mM*BHAE/g kuru ağırlık
SM	188.83 $\pm$ 0.16
SS	103.58 $\pm$ 0.47
SB	495.40 $\pm$ 3.94
SK	225.70 $\pm$ 0.14

*BHAE: Bütirillenmiş Hidroksianisol Eş Değeri



Şekil 22. Ekstrelerin FRAP aktiviteleri

4.4. Enzim İnhibisyonları

4.4.1. Tirosinaz İnhibisyonu

Ekstrelerin tirosinaz inhibisyonu spektrofotometrik yöntem kullanılarak incelenmiştir. Sonuçlar Tablo 10'de verilmiştir. Bu çalışmada pozitif kontrol olarak kojik asit kullanılmıştır. Tablo 10'da görüldüğü üzere, 100 $\mu\text{g/mL}$ ve 200 $\mu\text{g/mL}$ 'de SM ekstraktları için 14.55 ± 0.33 ve 27.52 ± 0.44 inhibisyon oranları görülmüştür. Çalışma sonuçları incelendiğinde SB ekstresi 200 $\mu\text{g/mL}$ 'de 22.55 ± 0.14 tirosinaz enzimine karşı inhibisyon görülmüştür. SS ve SK ekstraktlarında ise herhangi bir inhibisyon etkisi görülmemiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan kojik asite ait sonuçlar incelendiğinde inhibisyon yüzdeleri sırasıyla 83.33 ± 3.18 , 91.58 ± 0.41 , 95.84 ± 0.76 ve 98.63 ± 0.09 olarak tespit edilmiştir.

Tablo 10. Ekstrelerin tirosinaz enzime karşı inhibisyon etkisi

$\mu\text{g/mL}$	20	50	100	200
SM	-	-	14.55 $\pm$ 0.33	27.52 $\pm$ 0.44
SS	-	-	-	-
SB	-	5.93 $\pm$ 0.22	10.00 $\pm$ 0.57	22.55 $\pm$ 0.14
SK	-	-	-	-
Kojik asit	83.33 $\pm$ 3.18	91.58 $\pm$ 0.41	95.84 $\pm$ 0.76	98.63 $\pm$ 0.09

4.4.2. Elastaz İnhibisyonu

Ekstrelerin elastaz inhibisyonu spektrofotometrik yöntem kullanılarak incelenmiştir. Sonuçlar Tablo 11’de verilmiştir. Bu çalışmada pozitif kontrol olarak epigallokateşin gallat kullanılmıştır. Çalışma sonuçları incelendiğinde ekstreler arasında SM ekstresinin 200 $\mu\text{g/mL}$ ’de 28.69 $\pm$ 0.55 oranında inhibisyona sebep olduğu belirlenmiştir. Diğer ekstreler incelendiğinde ise herhangi bir inhibitör etkiye rastlanılmamıştır. Pozitif kontrol olarak kullanılan epigallokateşin gallat incelendiğinde inhibisyon yüzdeleri sırasıyla 24.55 $\pm$ 0.11, 33.58 $\pm$ 0.41, 46.27 $\pm$ 1.95 ve 57.02 $\pm$ 1.03 olarak tespit edilmiştir. SK ekstresi pozitif kontrol ile kıyaslandığında düşük inhibitör özellik gösterdiği ortaya konulmuştur.

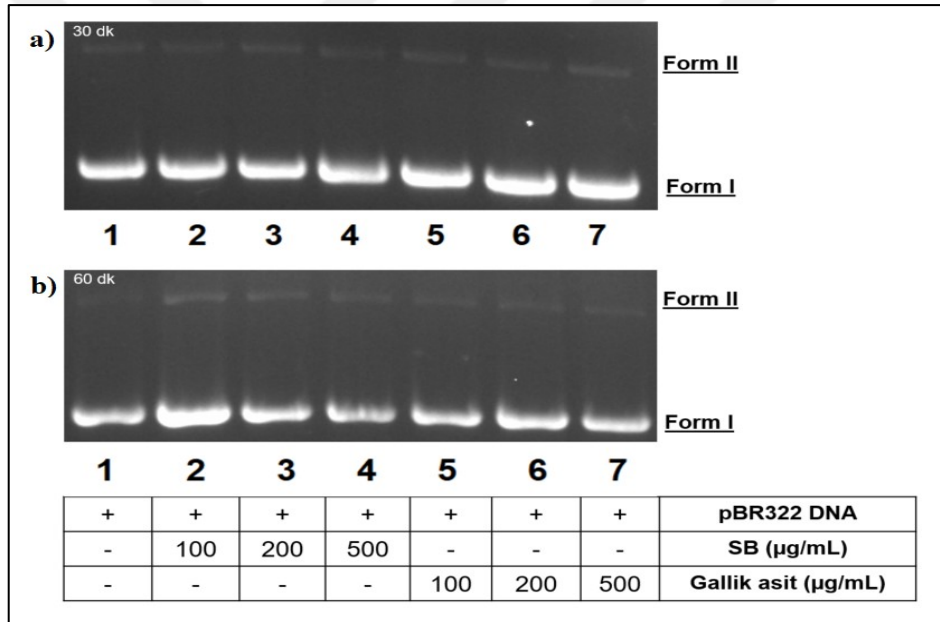
Tablo 11. Ekstrelerin elastaz enzime karşı inhibisyon etkisi

$\mu\text{g/mL}$	20	50	100	200
SM	-	5.04 $\pm$ 0.44	13.88 $\pm$ 0.21	28.69 $\pm$ 0.55
SS	-	-	-	-
SB	-	-	-	-
SK	-	-	-	-
Epigallokateşin	24.55 $\pm$ 0.11	33.58 $\pm$ 0.41	46.27 $\pm$ 1.95	57.02 $\pm$ 1.03

4.5. DNA Etkileşim Çalışmaları

4.5.1. DNA Hasarı Etkisi

Antioksidan etkinliği en yüksek olan SB ekstresinin plasmid DNA üzerindeki etkisi agaroz jel elektroforez yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Sonuçlar Şekil 29'de sunulmuştur. Şekil 29'de de görüldüğü üzere ekstrenin artan konsantrasyonu ilave edildiğinde form I yüzdesinde herhangi bir değişiklik görülmemektedir. Bu durum ekstrenin DNA üzerinde herhangi bir hasar yaratmadığını göstermektedir. Pozitif kontrol olarak kullanılan gallik asit incelendiğinde yine DNA hasarı görülmemiştir. Bu sonuçlar hem konsantrasyona bağlı hem de zamana bağlı olarak SB ekstresinin güvenli olduğuna dair önveri sunmaktadır.

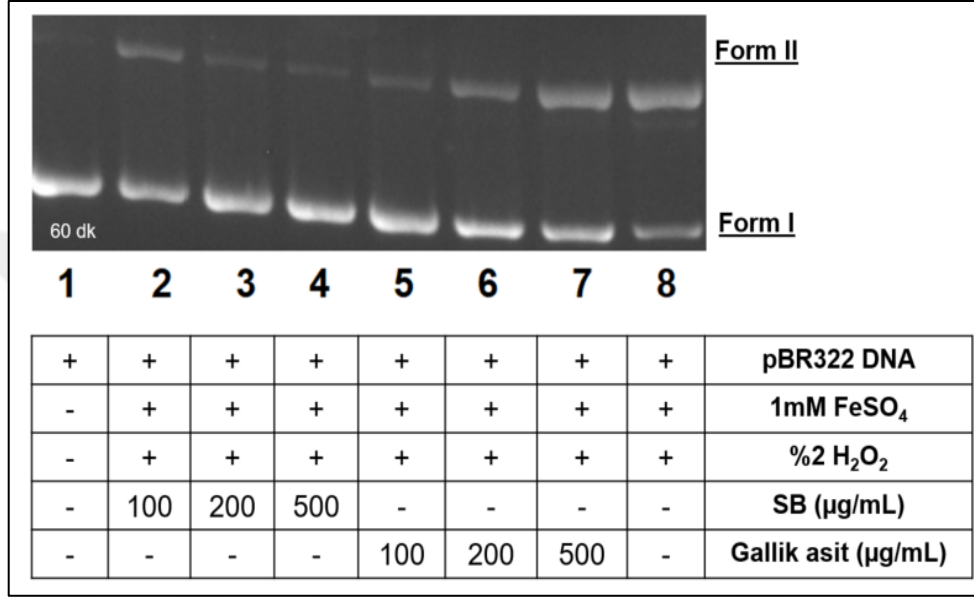


Şekil 23. SB ekstresinin plasmid DNA hasarı üzerindeki etkisi

4.5.2. Fenton Hasarına Karşı Ekstrenin DNA Hasarını Koruma Etkisi

Antioksidan etkinliği en yüksek olan SB ekstresinin DNA'ya fenton hasarına karşı koruma etkisi agaroz jel elektroforez yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Sonuçlar Şekil 30'de sunulmuştur. Pozitif kontrol olarak gallik asit kullanılmıştır. Şekil 30, bant 1'de plasmid DNA'nın form I yüzdesi yaklaşık 100 olduğu tespit edilmiştir. Fenton reaktifi DNA'ya ilave edildiğinde form II'nin yüzdesi artarken, form I'in yüzdesinin azaldığı görülmektedir (Şekil 30, bant 8). Ardından ekstrenin çeşitli konsantrasyonları ilave

edildiğinde form I yüzdesinin yeniden arttığı tespit edilmiştir (Şekil 30, bant 2-4). Bu durum ekstrenin DNA'yı fenton reaktifi tarafından oluşturulan hidroksil radikalinden koruduğunu ortaya koymaktadır. Çalışmada kullanılan gallik asit incelendiğinde düşük dozda DNA hasarını koruduğu tespit edilirken, gallik asidin konsantrasyonu arttıkça hasarı indüklediği tespit edilmiştir (Şekil 30, bant 5-7).



Şekil 24. SB ekstresinin fenton reaktifine karşı plasmid DNA'yı koruma etkisi

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Caryophyllaceae, çoğu ılıman bölgelerde yetişen, yaklaşık 100 cins ve 2.200 türden oluşan, karanfil veya pembe çiçekli (Caryophyllales takımı) bir bitki ailesidir. *Silene* cinsine ait bitki türleri aromatik bitkiler olup tıbbi amaçlı ve besin kaynağı olarak kullanılmaktadır (3). Bu ailenin bitkileri yüksek miktarlarda saponinler gibi ikincil metabolitler ve yağ asidi türevleri, benzen, fenilbarbanoidler, izoprenoidler ve nitrojen içeren bileşikler gibi bir dizi bileşik içerir. Aslında bu bileşiklerin varlığı nedeniyle bitkiler birçok geleneksel tıp sisteminde kullanılmış ve çok sayıda biyokimyasal aktivite sergilemiştir (4).

Silene cinsi, 700'den fazla tür ile Caryophyllaceae familyasının en büyük üyesidir. Türkiye'de yetişen 141 türün 59'u endemik olup bunların arasında mesane kampı olarak da bilinen *Silene vulgaris* yer almaktadır (5). *Silene vulgaris* üzerine yapılan önceki çalışmalar, kinik asit, malik asit, klorojenik asit ve p-kumarik asit gibi çeşitli aktif maddeler içerdiğini göstermiştir. Bir çalışma ayrıca *Silene vulgaris*'in yapraklarının ve köklerinin anti-tümör özelliklerini ortaya çıkardı ve geleneksel tıptaki etkinliğini doğruladı (8).

Fenolik bileşikler ve flavonoidler, bitkilerin sekonder metabolitleri arasında yer alır ve en az bir hidroksil grubu taşıyan aromatik bir halka içerirler. Bu bileşiklerin yarısının, aglikonlar, glikozitler ve metillenmiş türevler gibi çeşitli formlarda bulunan flavonoidler olduğu belirtilmektedir (60, 119). Bu bileşikler, antioksidan, antikanser, antibakteriyel, anti-inflamatuar ve bağışıklık sistemini güçlendirici gibi çeşitli özelliklere sahiptirler (60, 120-123).

Serbest radikaller, son yörüngelerinde eşlenmemiş bir elektron içeren moleküller veya atomlardır(14). Serbest radikaller erken yaşlanma, fotoyaşlanma, DNA hasarı, iltihaplanma ve hiperpigmentasyon gibi birçok cilt probleminde önemli bir rol oynar. Cildi oksidatif stresten ve serbest radikal hasarından korumak, sağlıklı cildi korumak, erken yaşlanmayı önlemek ve cilt bozuklukları riskini azaltmak için gereklidir (124).

Son yıllarda tıbbi bitkilerdeki fenolik bileşiklerin antioksidan etkilerinin incelenmesi giderek önem kazanmıştır (88). Fenoller ve flavonoidler antioksidan özelliklerinden dolayı farmasötik ve tıbbi uygulamalar için ilgi çekici adaylar arasındadır. Flavonoidler fotokoruyucu etkilere ve antioksidan özelliklere sahiptirler çünkü hücre zarlarındaki lipitleri ve proteinleri yok edebilen şelatlı demir gibi çeşitli sinyal yollarını

modüle etme ve oksidatif strese katkıda bulunan bir ROS kaynağı olan ksantin oksidazı inhibe etme yeteneğine sahiptirler (125, 126).

Çeşitli araştırmalar, flavonoid türevlerinin cildin ultraviyole (UVB) ışınlarından kaynaklanan güneş yanığı semptomlarını azaltmada etkili olduğunu göstermektedir (127). Ayrıca, UVB radyasyonunun neden olduğu DNA hasarının onarılmasını teşvik ederek fotokarsinogenezele mücadelede önemli bir rol oynadığı rapor edilmiştir. Bunun yanı sıra, UVB kaynaklı DNA hasarını engelleyerek fotokarsinogeneze karşı koruyucu bir molekül olduğu da belirtilmiştir (128).

Bu çalışma kapsamında, *Silene vulgaris* bitkisinden elde edilen metanol, su, bütanol ve kloroform ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı, toplam flavonoid miktarı ve antioksidan kapasite özellikleri (DPPH radikal temizleme aktivitesi ve FRAP ferrik indirgeme gücü) incelenmiştir. Ayrıca, tirozinaz enziminin inhibisyonu değerlendirilmiştir. Ancak ilk kez elastazın enzimatik inhibisyonuna yönelik testler yapılmış ve ayrıca plazmid DNA'daki potansiyel hasarın ve ekstraktın Fenton hasarına karşı DNA hasarını koruyucu etkisinin belirlenmesine yönelik testler de gerçekleştirilmiştir.

Yapılan literatür taramalarında Zengin ve ark. *Silene vulgaris*'in toprak üstü kısımlarından elde edilen metanol ekstresinde fenolik ve flavonoid madde içeriğini 23.1 ± 0.3 mg GAE/g ve 26.8 ± 0.2 g KE/mg numune olarak bulmuştur (7). Thakur ve ark. Yaptıkları çalışmada *Silene vulgaris*'in metanol ekstraktlarındaki fenolik ve flavonoid madde içeriğini 9.33 ± 0.056 mg GAE/g ve 1.87 ± 0.073 g KE/mg numune olarak bulmuştur (129). Çalışmamızda *Silene vulgaris*'in metanol, su, bütanol ve kloroform ekstraktlarındaki fenolik madde miktarlarının gallik asite eşdeğer olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonucunda ekstraktlardaki toplam fenolik madde miktarları sırasıyla 61.62 ± 2.43 , 24.20 ± 1.51 , 166.00 ± 4.36 , 52.73 ± 2.82 mg GAE/g kuru ağırlık olarak belirlenmiştir. Bitki ekstrelerine ait toplam flavonoid miktar tayini kuersetin standart çalışma grafiği ile belirlenmiş olup metanol, su, bütanol ve kloroformda sırasıyla 80.09 ± 5.56 , 18.97 ± 1.26 , 144.16 ± 8.55 , 62.14 ± 1.58 mg KE/g kuru ağırlık olarak bulunmuştur. Ekstraktları içerdikleri miktarlara göre değerlendirdiğimizde en yüksek fenolik ve flavonoid bileşiğin bütanol ekstraktında olduğu tespit edilmiştir.

Toplam fenolik madde miktarına ilişkin sonuçlar, iklim, tarımsal süreç, ışık ve hasat zamanı gibi birçok dış faktörün devreye girmesi nedeniyle aynı bitki türünde farklı olabilir, ancak kullanılan solventlerin ve ekstraksiyon işlemlerinin çeşitliliği de bu olumsuz

etkiden sorumlu olabilir. Ancak, sadece toplam fenolik içeriğin ve flavonoid içeriğin belirlenmesi, bileşiğin antioksidan kapasitesi hakkında yeterli bir değerlendirme sağlamaz. Bu nedenle, fenolik içerik sonuçlarının diğer antioksidan kapasite yöntemlerinin sonuçlarıyla birlikte değerlendirilmesi ve yorumlanması gerekmektedir. Bitkilerde antioksidan kapasite tayininin belirlenmesinde kullanılan birçok yöntem mevcuttur. Bu yöntemler birbirleri ile kıyaslandığında her birinin kendi içinde avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır (87). Çalışma kapsamında bitkiye ait metanol, su, bütanol ve kloroform ekstralarında antioksidan kapasitenin belirlenmesi amacıyla DPPH ve FRAP yöntemleri birlikte çalışılmıştır. Çalışmamızda en yüksek fenolik ve flavonoid madde miktarlarının bütanol ekstresinde olduğu görülmüştür.

Literatür taramalarında Zengin ve ark. tarafından yapılan çalışmada , *Silene vulgaris* metanolik ekstraktının antioksidan aktivitesi, serbest radikal süpürme (DPPH ve ABTS), enerji indirgeme (CUPRAC ve FRAP) dahil olmak üzere çeşitli testler kullanılarak değerlendirilmiş, sonuçlar sırasıyla 95 ± 1 , 95 ± 3 , 114 ± 2 ve 84 ± 2 olarak bulunmuş, antioksidan aktiviteler mg trolox eşdeğeri (mg TE/g ekstrakt) olarak ifade edilmiştir. Yapılan diğer testler fosfomolibden ve metal şelasyonu olup sonuçlar 1.0 ± 0.1 (mmolTE/g ekstrakt) ve 17 ± 0.3 (mg EDTAE/g ekstrakt) olarak bulunmuştur (7).

Thakur ve ark. *Silene vulgaris*'in radikal süpürücü aktivitesini DPPH yöntemi ile değerlendirerek metanol ekstralarında IC_{50} değerlerini $2.303 \mu\text{g/mL}$, FRAP değerlerini $71.760 \mu\text{g/mL}$ ve ABTS değerlerini de 4.0375 mg/ml olarak bulmuştur (129).

Literatür taramalarında Zengin ve ark. tarafından yapılan çalışmada *Silene vulgaris*'in metanolik ekstraktının antioksidan aktivitesi, serbest radikal süpürme (DPPH ve ABTS), enerji indirgeme (CUPRAC ve FRAP) ve fosfomolibden dahil olmak üzere çeşitli testler kullanılarak değerlendirilmiş, sonuçlar sırasıyla 95 ± 1 , 95 ± 3 , 114 ± 2 , 84 ± 2 ve 17 ± 0.3 olmuştur. Antioksidan aktiviteler mg trolox eşdeğeri olarak ifade edilmiştir (ekstrakt mg TE/g) (7). Thakur ve ark. *Silene vulgaris*'in radikal süpürücü aktivitesini DPPH yöntemi ile değerlendirerek metanol ekstralarında IC_{50} değerlerini $2.303 \mu\text{g/mL}$, FRAP değerlerini $71.760 \mu\text{g/mL}$ ve ABTS değerlerini de 4.0375 mg/ml olarak bulmuştur (129).

Çalışmamızda türün metanol, su, bütanol ve kloroform ekstraktlarının toplam antioksidan kapasiteleri DPPH ve FRAP yöntemleri kullanılarak hesaplanmış. Azot elektronlarının indirgenmesi esasına dayanan DPPH yönteminde sonuçlar GAE eşdeğeri olarak verilmiş. Sonuçlar incelendiğinde SB'nin konsantrasyona bağlı olarak radikal

süpürücü aktivite gösterdiği tespit edilmiş. 200 µg/mL ise 43.12±0.88 olarak belirlenmiştir. Fe⁺³ iyonlarının indirgenmesine dayanan FRAP yönteminde sonuçlar BHA eşdeğeri olarak verildi ve SB'nin 495.40±3.94 mM BHAE/g kuru ağırlık ile en yüksek verime sahip olduğu gösterilmiştir. Diğer ekstraktların düşük antioksidan kapasiteye sahip olduğu görülmektedir. Ekstraktlarda bulunan fenol ve flavonoid miktarları ile elde edilen antioksidan aktivite sonuçları arasında doğrudan bir ilişki olduğu gözlemlenmiştir. Özellikle, yüksek oranda fenolik madde içeren butanol ekstraktının yüksek radikal temizleme aktivitesine sahip olduğu gösterilmiştir.

Enzim, kimyasal reaksiyonlarda katalizör görevi gören bir protein molekülüdür. Enzim inhibitörleri düşük molekül ağırlıklı kimyasal bileşiklerdir. Enzimin katalitik aktivitesini geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz olarak azaltabilir veya tamamen inhibe edebilirler. Enzim etkileşimleri, enzim ile enzimin aktif bölgesindeki substrat arasındaki kovalent veya kovalent olmayan kimyasal etkileşimlerdir (130). Enzimlerin iltihaplanma, diyabet, mikrobiyal enfeksiyonlar, HIV, neoplastik ve diğerleri gibi birçok patolojik durumda rol oynadığı bilinmektedir. Enzim inhibisyonu, yukarıda belirtilen koşulları tedavi etmek veya ilgili mekanizmayı aydınlatmak için evrensel olarak kabul edilen bir strateji olarak kabul edilmektedir. İlaç tasarım sürecinde, güçlü enzim inhibitörlerinin tasarımı, ilaç geliştirmenin uzun yolunda çok önemli bir adımdır (131).

Derideki bazı önemli enzimlerin enzimatik inhibitörleri pigmentasyon, hiperpigmentasyon, inflamasyon, UV hasarı ve yara iyileşmesinde hayati bir rol oynar (105, 109, 110, 132, 133).

Tirozinaz, canlı organizmalarda cilt, saç ve göz renginden sorumlu pigment olan melanin sentezinde rol oynayan ana enzimdir (91). Tirozinaz sistemini engellemenin önemi, cilt pigmentasyonunu düzenlemedeki rolünde yatmaktadır. Aşırı tirozinaz aktivitesi melanin aşırı üretimine yol açarak melazma, yaşlılık lekeleri, çiller ve iltihap sonrası hiperpigmentasyon gibi durumlara neden olabilir (96, 97). Bu pigmentasyon bozuklukları, etkilenen bireylerde önemli kozmetik ve psikolojik etkilere sahip olabilir ve bu durum, cilt rengini açmayı ve hatta cilt tonunu eşitlemeyi amaçlayan tedavi seçeneklerine yönelik isteklere yol açabilir. Literatür taramasında Zengin ve arkadaşlarının *Silene* türlerinde tirozinaz inhibisyonu üzerine yaptıkları çalışmalarda *Silene vulgaris*'in metanolik ekstraktlarındaki inhibisyon yüzdesi 19±2 B (mg CAE/g ekstrakt) olarak bulunmuştur (7). Çalışma kapsamında bitki ekstraktlarının tirozinaz inhibitör aktivitesi kojik asit standardı

kullanılarak değerlendirilmiş. *Silene vulgaris*'in metanol, su, bütanol ve kloroform ekstraktları için inhibisyon testleri yapılmış. Sonuçlara bakıldığında, düşük konsantrasyonlarda ekstraktlar için herhangi bir inhibitör etki gözlenmemiş. SM ekstraktındaki 100 µg/mL ve 200 µg/mL konsantrasyonda sonuçlar sırasıyla 14.55 ± 0.33 ve 27.52 ± 0.44 idi. Benzer şekilde SB ekstrelerinde sırasıyla 10.00 ± 0.57 ve 22.55 ± 0.14 bulunmuş. Kojik asitin pozitif kontrol olarak kullanılmasının sonuçları incelendiğinde inhibisyon yüzdeleri 83.33 ± 3.18 , 91.58 ± 0.41 , 95.84 ± 0.76 ve $98.63 \pm$ olarak belirlenmiş. 20, 50, 100 ve 200 µg/mL konsantrasyonlar için sırasıyla 0.09. SS ve SK ekstraktlarında herhangi bir inhibitör etki gözlenmiştir.

Elastin, deri, arterler, akciğerler ve bağlar gibi dokulara esneklik kazandırmak için hayati öneme sahip olan, benzersiz elastik gerilim özelliğine sahip önemli bir ECM (ekstraselüler matriks) proteindir. Elastaz, kimotripsin ailesine ait bir proteazdır ve elastinin seçici parçalanmasından sorumludur. Kollajenazlar ve elastazlar gibi ECM parçalayan proteinlerin aktivitesinin inhibe edilmesi, UV'ye maruz kalmış cilt hasarlarını ve erken yaşlanmayı önlemede faydalı olabilir. Doğal antioksidanlar tarafından reaktif oksijen türlerinin (ROS) temizlenmesi, bu enzimlerin aktivasyonunda önemli bir rol oynadığı için, böyle bir cilt bozucu enzimlerin inhibe edilmesi için bir seçenek olabilir (103, 105).

Önceki literatürü incelediğimizde elastaz inhibisyonu ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlamadık ve dolayısıyla literatürümüz bu testi *Silene vulgaris* ekstraktlarına uygulayan ilk çalışma olacaktır. Çalışmanın sonuçları incelendiğinde standart maddeye göre nispeten düşük etkili olan metanolik ekstrakt (SM) dışında hiçbir ekstraktın enzimi inhibe etme yeteneği göstermediği tespit edilmiştir. SM ekstraktı için 100 ve 200 µg/mL konsantrasyonlarında elde edilen sonuçlar sırasıyla 13.88 ± 0.21 ve 28.69 ± 0.55 olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada pozitif kontrol olarak Epigallocateşin Gallat kullanılmıştır. 200 ve 100 µg/ml konsantrasyonundaki standart maddenin sırasıyla 57.02 ± 1.03 , 46.27 ± 1.95 oranında inhibitör etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) neden olduğu DNA hasarının, kanser ve yaşlanmaya bağlı hastalıklar da dahil olmak üzere çok sayıda insan hastalığının etiyolojisindeki rolü son yıllarda gün ışığına çıkmıştır (134). Bu anlayış, DNA'yı çevresel fiziksel ve/veya kimyasal uyarıların neden olduğu oksidatif hasardan koruyabilen,

özellikle doğal olarak bulunanlar olmak üzere yeni kimyasallara yönelik araştırmaları teşvik etmiştir (135).

Literatürün incelenmesi üzerine, *Silene vulgaris* ekstraktlarının DNA üzerindeki potansiyel olumsuz etkileri veya bunların oksidanların neden olduğu DNA hasarını hafifletme yetenekleri ile ilgili daha önce herhangi bir araştırmaya rastlanmamıştır. Dolayısıyla bu çalışma, bilimsel literatürde bu soruya yanıt veren ilk yanıtı temsil etmektedir. En yüksek antioksidan aktiviteye sahip olan SB ekstraktının plazmid DNA üzerindeki etkisi agaroz jel elektroforez yöntemi ve pozitif kontrol olarak gallik asit kullanılarak incelenmiştir. Sonuçlar, artan konsantrasyonda ekstrakt eklendiğinde ilk formun yüzdesinde bir değişiklik olmadığını göstermiştir. Bu da ekstraktın DNA'ya herhangi bir zarar vermediğini gösteriyor. Bu sonuçlar SB ekstraktının güvenli, konsantrasyona ve zamana bağlı olduğuna dair ön veriler sağlar. En yüksek antioksidan aktiviteye sahip olan SB ekstraktının DNA'yı Fenton hasarından korumadaki etkisi agaroz jel elektroforez yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Pozitif kontrol olarak gallik asit kullanıldı. Bu, ekstraktın reaksiyon sırasında oluşan hidroksil radikallerini nötralize edebildiğini ve düşük dozlarda DNA hasarını koruyabildiğini ortaya koyuyor. Artan gallik asit konsantrasyonlarının hasara neden olduğu belirlenmiştir.

6. KAYNAKLAR

1. Hosseinzadeh S, Jafarikukhdan A, Hosseini A, Armand R (2015). The application of medicinal plants in traditional and modern medicine: A review of thymus vulgaris. International Journal of Clinical Medicine 6(9): 635-642.
2. Vyshnavi N (2021). Importance of medicinal plants in medicine. Journal of Medicinal and Organic Chemistry 1 volume(1 issue).
3. Encyclopedia Britannica (2021). Caryophyllaceae. Encyclopedia britannica [online]. Available from: www.britannica.com/plant/Caryophyllaceae.
4. Chandra S, Rawat DS (2015). Medicinal plants of the family caryophyllaceae: A review of ethno-medicinal uses and pharmacological properties. Integrative Medicine Research 4(3): 123-131.
5. Mamadalieva NZ, Lafont R, Wink M (2014). Diversity of secondary metabolites in the genus *silene* l.(caryophyllaceae)—structures, distribution, and biological properties. Diversity 6(3): 415-499.
6. Aygün R (2021). İki *silene* (s. Caramanica ve s. Otites) türünün antioksidan özellikleri ve enzim inhibitör etkilerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı, Konya.
7. Zengin G, Mahomoodally MF, Aktumsek A, Ceylan R, Uysal S, Mocan A, Yilmaz MA, Picot-Allain CMN, Ćirić A, Glamočlija J, Soković M (2018). Functional constituents of six wild edible *Silene* species: A focus on their phytochemical profiles and bioactive properties. Food Bioscience 23: 75-82.
8. Mohti H, Bogie JFJ, Dierckx T, Bocken C, Boeykens A, Hendriks JJA, Zaid A (2023). Inhibition of carcinoma cell growth and promotion of inflammatory properties of macrophages by *Silene vulgaris* (moench) garcke subsp. Macrocarpa ethanolic extract. Journal of Herbal Medicine 42: 100813.
9. Tübives (2022). Türkiye bitkileri veri servisi.
10. The plants database [online]. Available from: <http://plants.usda.gov>, 02/04/2024.
11. Pettersson MW (1991). Pollination by a guild of fluctuating moth populations: Option for unspecialization in *Silene vulgaris*. Journal of Ecology 79(3): 591-604.

12. Doğan H (2023). Anadolu türk uygarlığında bitkiler. Doktora tezi, Kocaeli Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, Tarih Ana Bilim Dalı, Kocaeli.
13. Mohti H, Taviano M, Cacciola F, Dugo P, Mondello L, Abdelhamid Z, Cavò E, Miceli N (2019). *Silene vulgaris* subsp. Macrocarpa leaves and roots from morocco: Assessment of the efficiency of different extraction techniques and solvents on their antioxidant capacity, brine shrimp toxicity and phenolic characterization. Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology 154(5): 1-14.
14. Cheeseman KH, Slater TF (1993). An introduction to free radical biochemistry. British Medical Bulletin 49(3): 481-493.
15. Di Meo S, Reed TT, Venditti P, Victor VM (2016). Role of ros and rns sources in physiological and pathological conditions. Oxid Med Cell Longev 2016: 1245049.
16. Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, Squadrito F, Altavilla D, Bitto A (2017). Oxidative stress: Harms and benefits for human health. Oxid Med Cell Longev 2017: 8416763.
17. Halliwell B, Adhikary A, Dingfelder M, Dizdaroglu M (2021). Hydroxyl radical is a significant player in oxidative DNA damage in vivo. Chem Soc Rev 50(15): 8355-8360.
18. Mahmood A, Abdullah M, Khalaf H (2022). Use of flavonoids and green tea extracts as antioxidants induced by oxidative stress: A review article. Galore International Journal of Health Sciences and Research 7: 4-12.
19. Nizer W, Inkovski V, Overhage J (2020). Surviving reactive chlorine stress: Responses of gram-negative bacteria to hypochlorous acid. Microorganisms 8: 1220.
20. Cheung AH, Marsden PA (1996). structural characterization of human neuronal nitric oxide synthase gene: Methodologic approach to a complex transcription unit. Maines MD (Ed). Methods in neurosciences. Academic Press, 184-196.
21. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 39(1): 44-84.

22. Droge W (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiology Review* 82(1): 47-95.
23. Willcox JK, Ash SL, Catignani GL (2004). Antioxidants and prevention of chronic disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 44(4): 275-295.
24. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L (2007). Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev* 87(1): 315-424.
25. Genestra M (2007). Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. *Cellular Signalling* 19(9): 1807-1819.
26. Halliwell B (2007). Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical Society Transactions* 35(5): 1147-1150.
27. Young I, Woodside J (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology* 54(3): 176-186.
28. Valko M, Rhodes C, Moncol J, Izakovic M, Mazur M (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions* 160(1): 1-40.
29. Valko M, Morris H, Cronin M (2005). Metals, toxicity and oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry* 12(10): 1161-1208.
30. S, Santanam N, Ramachandran S, Meilhac O (1999). Oxidants and antioxidants in atherogenesis: An Appraisal. *Journal of Lipid Research* 40(12): 2143-2157.
31. Sarkar A, Ghosh U (2016). Natural antioxidants -the key to safe and sustainable life. *International Journal of Latest Trends in Engineering and Technology* 6: 460-466.
32. Halliwell B (1995). How to characterize an antioxidant: An update. *Biochemical Society Symposia* 61: 73–101.
33. Shi H, Noguchi N, Niki E (1999). Comparative study on dynamics of antioxidative action of α -tocopheryl hydroquinone, ubiquinol, and α -tocopherol against lipid peroxidation. *Free Radical Biology and Medicine* 27(3-4): 334-346.

34. Badem M (2019). *Barbarea auriculata* var. *Paludosa*, b. *Integrifolia* ve b. *Plantaginea* (brassicaceae)'nin biyokimyasal, fitokimyasal ve biyolojik aktivitelerinin araştırılması. Doktora tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı, Trabzon.
35. CE, Browne RW, Armstrong D (1998). Regulatory antioxidant enzymes. Free radical and antioxidant protocols. Humana Press 108: 299-313.
36. Ighodaro OM, Akinloye OA (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. Alexandria Journal of Medicine 54(4): 287-293.
37. Meister A (1988). Glutathione metabolism and its selective modification. Journal of Biological Chemistry 263(33): 17205-17208.
38. National Center for Biotechnology Information (2024). PubChem Compound Summary for CID 124886: Glutathione. Available from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Glutathione>.
39. Reiter RJ, Carneiro RC, Oh C-S (1997). Melatonin in relation to cellular antioxidative defense mechanisms. Hormone and Metabolic Research 29(8): 363-372.
40. Tan D-X, Manchester LC, Reiter RJ, Qi W-B, Karbownik M, Calvo JR (2000). Significance of melatonin in antioxidative defense system: Reactions and products. Neurosignals 9(3-4): 137-159.
41. Hickman AB, Klein DC, Dyda F (1999). Melatonin biosynthesis: The structure of serotonin n-acetyltransferase at 2.5 Å resolution suggests a catalytic mechanism. Molecular Cell 3(1): 23-32.
42. El Ridi R, Tallima H (2017). Physiological functions and pathogenic potential of uric acid: A review. J Adv Res 8(5): 487-493.
43. Lopez MJ, Royer A, Shah NJ (2020). Biochemistry, ceruloplasmin.
44. Chauhan A, Chauhan V, Brown WT, Cohen I (2004). Oxidative stress in autism: Increased lipid peroxidation and reduced serum levels of ceruloplasmin and transferrin--the antioxidant proteins. Life Sci 75(21): 2539-2549.

45. Sedlak TW, Saleh M, Higginson DS, Paul BD, Juluri KR, Snyder SH (2009). Bilirubin and glutathione have complementary antioxidant and cytoprotective roles. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106(13): 5171-5176.
46. Adin CA (2021). Bilirubin as a therapeutic molecule: Challenges and opportunities. *Antioxidants* 10(10): 1536.
47. Taverna M, Marie AL, Mira JP, Guidet B (2013). Specific antioxidant properties of human serum albumin. *Ann Intensive Care* 3(1): 4.
48. Imam MU, Zhang S, Ma J, Wang H, Wang F (2017). Antioxidants mediate both iron homeostasis and oxidative stress. *Nutrients* 9(7): 671.
49. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int J Biomed Sci* 4(2): 89-96.
50. Wakabayashi H, Yamauchi K, Takase M (2006). Lactoferrin research, technology and applications. *International Dairy Journal* 16(11): 1241-1251.
51. Satué-Gracia MT, Frankel EN, Rangavajhyala N, German JB (2000). Lactoferrin in infant formulas: Effect on oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(10): 4984-4990.
52. Ogun AS, Adeyinka A (2022). *Biochemistry, transferrin*. StatPearls Publishing.
53. Chauhan A, Chauhan V, Brown WT, Cohen I (2004). Oxidative stress in autism: Increased lipid peroxidation and reduced serum levels of ceruloplasmin and transferrin - the antioxidant proteins. *Life Sciences* 75(21): 2539-2549.
54. Unno T, Sugimoto A, Kakuda T (2004). Xanthine oxidase inhibitors from the leaves of *lagerstroemia speciosa* (L.) pers. *J Ethnopharmacol* 93(2-3): 391-395.
55. Cipriano A, Viviano M, Feoli A, Milite C, Sarno G, Castellano S, Sbardella G (2023). NADPH oxidases: From molecular mechanisms to current inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry* 66(17): 11632-11655.
56. Brown DI, Griendling KK (2015). Regulation of signal transduction by reactive oxygen species in the cardiovascular system. *Circulation research* 116(3): 531-549.
57. Verhagen H, Schilderman PA, Kleinjans JC (1991). Butylated hydroxyanisole in perspective. *Chem Biol Interact* 80(2): 109-134.

58. Yehye WA, Rahman NA, Ariffin A, Abd Hamid SB, Alhadi AA, Kadir FA, Yaeghoobi M (2015). Understanding the chemistry behind the antioxidant activities of butylated hydroxytoluene (BHT): A review. *European Journal of Medicinal Chemistry* 101: 295-312.
59. Silva, A. S., & Nabavi, S. M. (2022). Antioxidants effects in health: Concluding remarks and future perspectives. *Elsevier* 851-858.
60. Kumar S, Pandey AK (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *The Scientific World Journal* 2013(1): 162750.
61. Kostyuk VA, Potapovich AI, Strigunova EN, Kostyuk TV, Afanas'ev IB (2004). Experimental evidence that flavonoid metal complexes may act as mimics of superoxide dismutase. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 428(2): 204-208.
62. Nguyen LA, He H, Pham-Huy C (2006). Chiral drugs: An overview. *International Journal Of Biomedical Science: IJBS* 2(2): 85.
63. Traber MG, Atkinson J (2007). Vitamin e, antioxidant and nothing more. *Free Radical Biology And Medicine* 43(1): 4-15.
64. Lee GY, Han SN (2018). The role of vitamin e in immunity. *Nutrients* 10(11): 1614.
65. Smirnoff N (2001). L-ascorbic acid biosynthesis. *Vitamins & Hormones* 61: 241-266.
66. Meister A (1994). Glutathione-ascorbic acid antioxidant system in animals. *The Journal Of Biological Chemistry* 269(13): 9397-9400.
67. Yin X, Chen K, Cheng H, Chen X, Feng S, Song Y, Liang L (2022). Chemical stability of ascorbic acid integrated into commercial products: A review on bioactivity and delivery technology. *Antioxidants* 11: 153.
68. Maoka T (2020). Carotenoids as natural functional pigments. *J Nat Med* 74(1): 1-16.
69. Kumar N, Goel N (2019). Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnol Rep* 24: e00370.
70. Pereira DM, Valentão P, Pereira JA, Andrade PB (2009). Phenolics: From chemistry to biology. *Molecules* 14(6): 2202-2211.

71. Robbins R, Bean S (2004). Development of a quantitative high-performance liquid chromatography-photodiode array detection measurement system for phenolic acids. *Journal of Chromatography A* 1038: 97-105.
72. Nicolás García M, Perucini-Avendaño M, Jimenez Martinez C, Perea-Flores MJ, Gómez-Patiño M, Arrieta-Baez D, Dávila Ortiz G (2021). Bean phenolic compound changes during processing: Chemical interactions and identification. *Journal Of Food Science* 86(3), 643-655.
73. Burak M, Imen Y (1999). Flavonoids and their antioxidant properties. *Turkiye Klin Tip Bil Derg* 19(1): 296-304.
74. Castañeda-Ovando A, de Lourdes Pacheco-Hernández M, Páez-Hernández ME, Rodríguez JA, Galán-Vidal CA (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry* 113(4): 859-871.
75. Lee YK, Yuk DY, Lee JW, Lee SY, Ha TY, Oh KW, Yun YP, Hong JT (2009). epigallocatechin-3-gallate prevents lipopolysaccharide-induced elevation of beta-amyloid generation and memory deficiency. *Brain Research* 1250: 164-174.
76. Metodiewa D, Kochman A, Karolczak S (1997). Evidence for antiradical and antioxidant properties of four biologically active n, n-diethylaminoethyl ethers of flavaone oximes: A comparison with natural polyphenolic flavonoid rutin action. *IUBMB Life* 41(5): 1067-1075.
77. Hayashi T, Sawa K, Kawasaki M, Arisawa M, Shimizu M, Morita N (1988). Inhibition of cow's milk xanthine oxidase by flavonoids. *Journal Of Natural Products* 51(2): 345-348.
78. Walker EH, Pacold ME, Perisic O, Stephens L, Hawkins PT, Wymann MP, Williams RL (2000). Structural determinants of phosphoinositide 3-kinase inhibition by wortmannin, ly294002, quercetin, myricetin, and staurosporine. *Molecular Cell* 6(4): 909-919.
79. Sin BY, Kim HP (2005). Inhibition of collagenase by naturally-occurring flavonoids. *Archives of Pharmacal Research* 28(10): 1152-1155.

80. Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DEC, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PAM (2001). Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications¹²³. The American Journal of Clinical Nutrition 74(4): 418-425.
81. Nishiumi S, Miyamoto S, Kawabata K, Ohnishi K, Mukai R, Murakami A, Ashida H, Terao J (2011). Dietary flavonoids as cancer-preventive and therapeutic biofactors. Frontiers in Bioscience 3(3): 1332-1362.
82. Özyürek M, Güçlü K, Apak R (2011). The main and modified cuprac methods of antioxidant measurement. TrAC Trends in Analytical Chemistry 30(4): 652-664.
83. Karadag A, Ozcelik B, Saner S (2009). Review of methods to determine antioxidant capacities. Food Analytical Methods 2: 41-60.
84. Brand-Williams W, Cuvelier M-E, Berset C (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food Science and Technology 28(1): 25-30.
85. Villaño D, Fernández-Pachón MS, Moyá ML, Troncoso A, García-Parrilla M (2007). Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards dpph free radical. Talanta 71(1): 230-235.
86. Kedare SB, Singh RP (2011). Genesis and development of dpph method of antioxidant assay. J Food Sci Technol 48(4): 412-422.
87. Echegaray N, Pateiro M, Munekata P, Lorenzo JM, Chabani Z, Farag M, Domínguez-Valencia R (2021). Measurement of antioxidant capacity of meat and meat products: Methods and Applications. Molecules 26(13), 3880.
88. Özkan MT (2015). *Primula vulgaris* (Çuha Çiçeği) ekstraktlarının HPLC İle Karakterizasyonu ve biyolojik aktivitesinin İncelenmesi. Yüksek lisans tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı, Trabzon.
89. Blainski A, Lopes GC, de Mello JC (2013). Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from limonium brasiliense l. Molecules 18(6): 6852-6865.
90. Phillips J (2019). Fundamentals of enzymology Scientific e-Resources, 1-6.

91. Chiari ME, Vera DMA, Palacios SM, Carpinella MC (2011). Tyrosinase inhibitory activity of a 6-isoprenoid-substituted flavanone isolated from *dalea elegans*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 19(11): 3474-3482.
92. Zolghadri S, Bahrami A, Hassan Khan MT, Munoz-Munoz J, Garcia-Molina F, Garcia-Canovas F, Saboury AA (2019). A comprehensive review on tyrosinase inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 34(1): 279-309.
93. Hassan M, Shahzadi S, Kloczkowski A (2023). Tyrosinase inhibitors naturally present in plants and synthetic modifications of these natural products as anti-melanogenic agents: A review. *Molecules* 28(1): 378.
94. Chang TS (2009). An updated review of tyrosinase inhibitors. *Int J Mol Sci* 10(6): 2440-2475.
95. Ayuhastuti A, Syah I, Megantara S, Chaerunisaa A (2023). A comprehensive review of the cosmetic application of kojic acid dipalmitate: Kojic acid derivative with improved properties.
96. Hassan M, Abbas Q, Ashraf Z, Moustafa AA, Seo S-Y (2017). Pharmacoinformatics exploration of polyphenol oxidases leading to novel inhibitors by virtual screening and molecular dynamic simulation study. *Computational Biology and Chemistry* 68: 131-142.
97. Kumar N, Goel N (2019). Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports* 24: e00370.
98. Handel AC, Miot LDB, Miot HA (2014). Melasma: A clinical and epidemiological review. *Anais Brasileiros Dermatologia* 89: 771-782.
99. Chen N, Hu Y, Li WH, Eisinger M, Seiberg M, Lin CB (2010). The role of keratinocyte growth factor in melanogenesis: A possible mechanism for the initiation of solar lentigines. *Experimental Dermatology* 19(10): 865-872.
100. Davis EC, Callender VD (2010). Postinflammatory hyperpigmentation: A review of the epidemiology, clinical features, and treatment options in skin of color. *The Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology* 3(7): 20.

101. Alikhan A, Felsten LM, Daly M, Petronic-Rosic V (2011). Vitiligo: A comprehensive overview: Part i. Introduction, epidemiology, quality of life, diagnosis, differential diagnosis, associations, histopathology, etiology, and work-up. *Journal of the American Academy of Dermatology* 65(3): 473-491.
102. Yamaguchi Y, Hearing VJ (2014). Melanocytes and their diseases. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 4(5): a017046.
103. Marinaccio L, Stefanucci A, Scioli G, Della Valle A, Zengin G, Cichelli A, Mollica A (2022). Peptide human neutrophil elastase inhibitors from natural sources: An overview. *Int J Mol Sci* 23(6): 2924.
104. Azmi N, Hashim P, Hashim DM, Halimoon N, Majid NM (2014). Anti-elastase, anti-tyrosinase and matrix metalloproteinase-1 inhibitory activity of earthworm extracts as potential new anti-aging agent. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 4: 348-352.
105. Wittenauer J, Mäcke 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.
106. Deshmukh SN, Dive AM, Moharil R, Munde P (2016). Enigmatic insight into collagen. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology* 20(2): 276-283.
107. Holmbeck K, Birkedal-Hansen H (2013). Collagenases. *Encyclopedia of biological chemistry* (second edition). Academic Press: 542-544.
108. Yu Z, Visse R, Inouye M, Nagase H, Brodsky B (2012). Defining requirements for collagenase cleavage in collagen type iii using a bacterial collagen system. *Journal of Biological Chemistry* 287(27): 22988-22997
109. Alipour H, Raz A, Zakeri S, Dinparast Djadid N (2016). Therapeutic applications of collagenase (metalloproteases): A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 6(11): 975-981.
110. Pientaweeratch S, Panapisal V, Tansirikongkol A (2016). Antioxidant, anti-collagenase and anti-elastase activities of phyllanthus emblica, manilkara zapota and silymarin: An in vitro comparative study for anti-aging applications. *Pharmaceutical Biology* 54(9): 1865-1872.

111. Agati G, Azzarello E, Pollastri S, Tattini M (2012). Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. *Plant Sci* 196: 67-76.
112. Sin BY, Kim HP (2005). Inhibition of collagenase by naturally-occurring flavonoids. *Arch Pharm Res* 28(10): 1152-1155.
113. Yazıcı Bektaş N, Barut B, Mataracı Kara E, Yeşil Y (2021). Total phenolic, total flavonoid contents, and in vitro biological activities of *cephalaria procera* fisch. *İstanbul Journal of Pharmacy* 51(3): 365-371.
114. Oyaizu M (1986). Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics* 44(6): 307-315.
115. Şöhretoğlu D, Bakır SD, Barut B, Şoral M, Sari S (2022). Multiple biological effects of secondary metabolites of *ziziphus jujuba*: Isolation and mechanistic insights through in vitro and in silico studies. *European Food Research and Technology* 248(4): 1059-1067.
116. Bahadır Acıkara Ö, İlhan M, Kurtul E, Šmejkal K, Küpeli Akkol E (2019). Inhibitory activity of *podospermum canum* and its active components on collagenase, elastase and hyaluronidase enzymes. *Bioorg Chem* 93: 103330.
117. Barut B, Yalçın C, Sari S, Çoban Ö, Keleş T, Biyiklioglu Z, Abudayyak M, Demirbaş Ü, Özel A (2019). Novel water soluble bodipy compounds: Synthesis, photochemical, DNA interaction, topoisomerases inhibition and photodynamic activity properties. *Eur J Med Chem* 183: 111685.
118. Renda G, Özel A, Barut B, Korkmaz B, Yayli N (2018). In vitro protection by *crataegus microphylla* extracts against oxidative damage and enzyme inhibition effects. *Turk J Pharm Sci* 15(1): 77-84.
119. Ahmed SI, Hayat MQ, Tahir M, Mansoor Q, Ismail M, Keck K, Bates RB (2016). Pharmacologically active flavonoids from the anticancer, antioxidant and antimicrobial extracts of *cassia angustifolia* vahl. *BMC Complement Altern Med* 16(1): 460.
120. Chen X, Dang T-TT, Facchini PJ (2015). Noscapine comes of age. *Phytochemistry* 111: 7-13.

121. Andreu L, Nuncio-Jáuregui N, Carbonell-Barrachina ÁA, Legua P, Hernández F (2018). Antioxidant properties and chemical characterization of spanish opuntia ficus-indica mill. Cladodes and fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 98(4): 1566-1573.
122. Działo M, Mierziak J, Korzun U, Preisner M, Szopa J, Kulma A (2016). The potential of plant phenolics in prevention and therapy of skin disorders. *International Journal of Molecular Sciences* 17(2): 160.
123. Meng X-H, Liu C, Fan R, Zhu L-F, Yang S-X, Zhu H-T, Wang D, Yang C-R, Zhang Y-J (2018). Antioxidative flavan-3-ol dimers from the leaves of camellia fangchengensis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 66(1): 247-254.
124. Tungmunthum D, Thongboonyou A, Pholboon A, Yangsabai A (2018). Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview. *Medicines* 5(3): 93.
125. Ferrali M, Signorini C, Caciotti B, Sugherini L, Ciccoli L, Giachetti D, Comporti M (1997). Protection against oxidative damage of erythrocyte membrane by the flavonoid quercetin and its relation to iron chelating activity. *FEBS Letter* 416(2): 123-129.
126. Cos P, Ying L, Calomme M, Hu JP, Cimanga K, Van Poel B, Pieters L, Vlietinck AJ, Vanden Berghe D (1998). Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *J Nat Prod* 61(1): 71-76.
127. Katiyar SK, Mantena SK, Meeran SM (2011). Silymarin protects epidermal keratinocytes from ultraviolet radiation-induced apoptosis and DNA damage by nucleotide excision repair mechanism. *Plos One* 6(6), e21410.
128. Moore JO, Wang Y, Stebbins WG, Gao D, Zhou X, Phelps R, Lebwohl M, Wei H (2006). Photoprotective effect of isoflavone genistein on ultraviolet b-induced pyrimidine dimer formation and pcna expression in human reconstituted skin and its implications in dermatology and prevention of cutaneous carcinogenesis. *Carcinogenesis* 27(8): 1627-1635.

129. Thakur A, Singh S, Puri S (2021). Nutritional evaluation, phytochemicals, antioxidant and antibacterial activity of *stellaria monosperma* buch.-ham .Ex d. Don and *Silene vulgaris* (moench) garcke: Wild edible plants of western himalayas. Jordan Journal of Biological Sciences 14(1).
130. Sharma R (2012). Enzyme inhibition: Mechanisms and scope. Enzyme Inhibition and Bioapplications 3-36.
131. Geronikaki A (2020). Recent trends in enzyme inhibition and activation in drug design. Molecules 26(1): 17.
132. Fisher GJ, Datta SC, Talwar HS, Wang ZQ, Varani J, Kang S, Voorhees JJ (1996). Molecular basis of sun-induced premature skin ageing and retinoid antagonism. Nature 379(6563): 335-339.
133. Hassan M, Abbas Q, Ashraf Z, Moustafa AA, Seo SY (2017). Pharmacoinformatics exploration of polyphenol oxidases leading to novel inhibitors by virtual screening and molecular dynamic simulation study. Comput Biol Chem 68: 131-142.
134. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. Proceedings of the National Academy of Sciences 90(17): 7915-7922.
135. Kumar SS, Chaubey RC, Devasagayam TPA, Priyadarsini KI, Chauhan PS (1999). Inhibition of radiation-induced DNA damage in plasmid pbr322 by chlorophyllin and possible mechanism(s) of action. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis 425(1): 71-79.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Soyadı, Adı : ASHKAR Mohammed

Uyruğu : Suriye Cumhuriyeti

Doğum Tarihi ve Yeri :

Telefon :

E-Posta :

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık BilimleriEnstitüsü eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı	2024
Lisans	İdlib Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2021

YABANCI DİL

İngilizce