BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ORIGANUM ONITES L. UÇUCU YAĞINDAN KARVAKROL ELDESİ VE KOZMETİKTE KULLANILMAK ÜZERE KARVAKROL YÜKLÜ NANOFORMÜLASYON GELİŞTİRİLMESİ

DOKTORA TEZİ

Tuğba AYDIN

Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Anabilim Dalı

Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Doktora Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Murat KARTAL

ŞUBAT 2025

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ORIGANUM ONITES L. UÇUCU YAĞINDAN KARVAKROL ELDESİ VE KOZMETİKTE KULLANILMAK ÜZERE KARVAKROL YÜKLÜ NANOFORMÜLASYON GELİŞTİRİLMESİ

DOKTORA TEZİ

Tuğba AYDIN

185312004

Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Anabilim Dalı

Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Doktora Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Murat KARTAL

ŞUBAT 2025

Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün 185312004 numaralı Doktora Öğrencisi Tuğba AYDIN ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "*ORIGANUM ONITES* L. UÇUCU YAĞINDAN KARVAKROL ELDESİ VE KOZMETİKTE KULLANILMAK ÜZERE KARVAKROL YÜKLÜ NANOFORMÜLASYON GELİŞTİRİLMESİ" başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. Murat KARTAL** .....
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU** .....
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Prof. Dr. Oğuz ÖZTÜRK .....
İstanbul Üniversitesi

Doç. Dr. Halil ŞENOL .....
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Doç. Dr. Çağla KIZILARSLAN HANÇER .....
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Tuğba KUŞMAN SAYĞI .....
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi

Teslim Tarihi : 28 Şubat 2025

Savunma Tarihi : 17 Şubat 2025

Babama…

ÖNSÖZ

Bu tez çalışması süresince ve akademik yolculuğum boyunca bana rehberlik eden, bilgi ve deneyimleriyle gelişimime katkı sağlayan değerli hocalarıma en içten teşekkürlerimi sunarım.

Öncelikle, tez sürecimde bana yol gösteren, bilgi ve tecrübeleriyle destek olan, yardım ve desteğini esirgemeyen kıymetli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Murat KARTAL'a teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca karşılaştığım her zorlukta desteğini hissettiğim, akademik ve manevi anlamda yol göstericiliğiyle bana büyük katkılar sunan Sayın Prof. Dr. Gülaçtı Topçu'ya teşekkür ederim. Kendisinin kıymetli bilgileri, yol gösterici önerileri ve teşvik edici tutumu, bu süreci daha verimli ve anlamlı hale getirmiştir.

Deneylerimde gerekli imkanları sunan, bilgi ve tecrübelerini paylaşarak çalışmamın her aşamasında maddi ve manevi desteğini hissettiğim Doç. Dr. Yasemin Budama Kılınç'a teşekkür ederim. Laboratuvar çalışmalarındaki destekleri ve verdikleri değerli öneriler sayesinde bu araştırma başarıyla tamamlanmıştır.

Tez izleme jürimde yer alan Dr. Öğr. Üyesi Tuğba KUŞMAN SAYĞI'ya süreç boyunca verdiği destek ve öneriler için teşekkür ederim.

Tez sürecime her türlü bilgi birikimini ve yardımını paylaşarak destek olan Dr. Öğr. Üyesi İlker DEMİRBOLAT'a teşekkür ederim.

Deney sürecinde birlikte çalıştığım kıymetli arkadaşım Dr. Bahar GÖK'e tüm yardımları için ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Bu süreçte akademik gelişimimi destekleyen tüm hocalarıma, laboratuvar arkadaşlarıma ve bana her daim moral veren aileme ve dostlarıma da teşekkür ederim.

Bu tez, bana kazandırdığı bilgi ve deneyimlerin yanı sıra, akademik hayattaki zorlukları aşmanın ve sabrın önemini bir kez daha göstermiştir. Bu yolculukta bana katkı sağlayan herkese sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Şubat 2025

Tuğba AYDIN
Eczacı

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tuğba AYDIN

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ …. iv
BEYAN …. v
KISALTMALAR viii
SEMBOLLER x
TABLO LİSTESİ xi
ŞEKİL LİSTESİ xii
ÖZET …. xiii
SUMMARY xiv
1. GİRİŞ ve AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 4
2.1. Botanik Bilgiler 4
2.1.1. Lamiaceae (Labiatae, Ballıbabagiller) familyası 4
2.2. *O. onites* Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar 9
2.2.1. Fenolik asitler 9
2.2.2. Flavonoitler 10
2.2.3. Diterpen, triterpen asitler ve steroller 11
2.2.4. *O. onites* uçucu yağ bileşikleri 12
2.2.4.1 Monoterpen hidrokarbonlar 13
2.2.4.2. Oksijenlenmiş monoterpenler 14
2.2.4.3. Seskiterpen hidrokarbonlar 16
2.2.4.5. Fenilpropanoitler 18
2.3. *O. onites* Uçucu Yağı ve Karvakrolün Biyolojik Aktivitesi 18
2.3.1. Antioksidan aktivite 18
2.3.2. Antibakteriyel aktivite 19
2.3.3. Antiparaziter aktivite 19
2.3.4. Antifungal aktivite 20
2.3.5. İnsektisidal aktivite 21
2.3.6. Sitotoksik, antikanserojen, antimutajen, antiproliferatif etkiler 22
2.3.7. Asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz inhibisyonu 24
2.3.8. Hepatoprotektif etkiler 24
2.3.9. Gastrointestinal sistem üzerindeki etkiler 26
2.3.10. Analjezik aktivite 26
2.3.11. Kozmetik aanayiinde kullanıma yönelik çalışmalar. 26
2.3.11.1. Deri pigmentasyonu üzerindeki etkiler 26
2.3.11.2. Antikollajenaz aktivite 26
2.3.12. Karvakrol bileşiğine ait diğer biyolojik aktivite çalışmaları 27
3. GEREÇ ve YÖNTEM 29
3.1. Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar 29
3.1.1 Cihazlar 29
3.1.2. Kimyasallar 29
3.2. Uçucu Yağdan Karvakrol Eldesi 30
3.3. GC-FID/MS ile Uçucu Yağ Analizi 31
3.3.1. GC-FID şartları (Gaz Kromatografisi Alev İyonlaşma Dedektörü) 31
3.3.2. GC-MS şartları (Gaz kromatografisi kütle spektroskopisi) 31

3.6. Karvakrol-NP'lerin Hazırlanması 32
3.7. Karvakrolün Spektrofotometrik Analizi 33
3.8. Karvakrol-NP'lerin Ortalama Parçacık Boyutu, PdI ve ZP Analizleri 33
3.9. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) 33
3.10. Enkapsülasyon Verimi ve Yükleme Kapasitesinin Belirlenmesi 34
3.11. Karvakrol-PCL-NP'lerin *In Vitro* Salım Profili 34
3.12. Sitotoksik Aktivitenin Belirlenmesi 34
3.13. Antikollajenaz Aktivitenin Belirlenmesi 35
3.14. İstatiksel Analiz 36
4. BULGULAR ve TARTIŞMA 37
4.1. *O. onites* uçucu yağı ve karvakrol uçucu yağ ekstraktının bileşimi 37
4.2. Ortalama Parçacık Boyutu, PdI ve ZP Analiz Sonuçları 39
4.4. Karvakrol Yüklü PCL Nanopartiküllerinin SEM Mikrografı 41
4.5. Enkapsülasyon Verimi ve Yükleme Kapasitesinin Belirlenmesi 42
4.7. Karvakrol-PCL-NP *In Vitro* Salım Profili 44
4.8. Sitotoksik Aktivite Bulguları 46
4.9. Antikollajenaz Aktiviteye Ait Bulgular 48
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER 50
5.1. Sonuçlar 50
5.2. Öneriler 51
KAYNAKLAR 52
EKLER … 62
ÖZGEÇMİŞ 64

KISALTMALAR

ALT : Alanin aminotransferaz
AST : Aspartat aminotransferaz
cm : Santimetre
CREB : cAMP Tepki Elemanı Bağlayıcı Protein
CT26 : Fare kolon kanser hücre hattı
dak : Dakika
DCM : Diklorometan
DLS : Dinamik saçılım spektrofotometresi
DMEM : Dulbecco's modified eagle medium
DMSO : Dimetil sülfoksit
DPPH : 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
dw : Kuru ağırlık
EGCG : Epigallocatechin gallate
eV : Elektronvolt
FALGPA : N-(3-(2-furyl) acryloyl)-Leu-Gly-Pro-Ala
FBS : Fetal bovine serum
GC-FID : Gaz kromatografisi alev iyonlaşma dedektörü
GC-MS : Gaz kromatografisi kütle spektrometresi
HCT116 : Taramalı Elektron Mikroskobu
Hep G2 : Polidispersite İndeksi
HPLC : Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
HT29 : Kolon kanser hücre hattı
IC50 : Taramalı Elektron Mikroskobu
IL-1β : İnterlökin-1beta
kg : Kilogram
kV : Kilovolt
m :meta
MDA : Malondialdehit
MFC : Minimum fungusidal konsantrasyon
mg : Miligram
MIC : Minimum inhibitör konsantrasyonu
mL : Mililitre
mm : Milimetre
MTT : 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide
MTT : Metil Tiazol Tetrazolium
mV : Milivolt
NF-κB : Nükleer faktör kappa beta
nm : Nanometre
NP : Nanopartikül
o :orto
p :para
PCL : Polikaprolakton
PdI : Polidispersite İndeksi

PVA : Polivinil alkol
QE : Kuersetin eşdeğeri
RATEC : Sıçan yağ dokusu endotel hücreleri
RRI : Relatif alıkonma indeksi
SEM : Taramalı Elektron Mikroskobu
TAS : Total antioksidan durum
tGSH : Total glutatyon
TNBS : 2,4,6-trinitrobenzensülfonik asit
TNF- α : alfa-Tümör nekroz faktörü
TOS : Total oksidan
TRP-1 : Tirozinazla ilişkili protein 1
TRP-1 : Tirozinaz ilişkili protein 1
TRP-2 : Tirozinaz ilişkili protein 2
ZP : Zeta Potansiyel
µg : Mikrogram
µl : Mikrolitre
µM : Mikrometre

SEMBOLLER

ºC	**:** Santigrat derece
α	**:** Alfa
β	**:** Beta
γ	**:** Gama
σ	**:** Sigma

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 4.1 : *O. onites* uçucu yağ bileşimi 38
Tablo 4.2 : Karvakrol uçucu yağ ekstraktının bileşimi 39

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : *O. onites* illere göre Türkiye'deki dağılımı 6
Şekil 2.2 : *O. onites* bölgelere göre Türkiye'deki dağılımı 7
Şekil 2.3 : *O. onites* 8
Şekil 2.4 : *O. onites* (ISTE 44842) bitkisinin botanik yapısı. 9
Şekil 2.5 : *O. onites* bitkisinde bulunan fenolik asit bileşikleri. 10
Şekil 2.6 : *O. onites* bitkisinde bulunan flavonoit bileşikleri. 11
Şekil 2.7 : *O. onites* bitkisinde bulunan diterpen, triterpen asitler ve steroller. .. 12
Şekil 2.8. : *O. onites* bitkisinde bulunan monoterpen hidrokarbonlar. 13
Şekil 2.9 : *O. onites* bitkisinde bulunan oksijenlenmiş monoterpen bileşikler.... 16
Şekil 2.10 : *O. onites* bitkisinde bulunan seskiterpen hidrokarbonlar. 17
Şekil 2.11 : *O. onites* bitkisinde bulunan oksijenlenmiş seskiterpenler. 17
Şekil 2.12 : Öjenol. 18
Şekil 2.13 : Furfural. 18
Şekil 3.1 : Karvakrol-NP'lerin tekli emülsiyon yöntemiyle hazırlanması 33
Şekil 3.2 : Antikollajenaz Aktivitenin Belirlenmesi 36
Şekil 4.1 : Boş NP DLS analizi 40
Şekil 4.2 : Karvakrol-PCL NP DLS analizi 40
Şekil 4.3 : SEM image of the Karvakrol-PCL NPs 42
Şekil 4.4 : Karvakrol standart eğrisi 44
Şekil 4.5 : Karvakrol *in vitro* salım profili (%) 44
Şekil 4.6. : HaCat hücre hattında karvakrol ve karvakrol-PCL NP'lerin hücre canlılığı 47
Şekil 4.7 : Antikollajenaz aktivite sonuçları. 49

ORIGANUM ONITES L. UÇUCU YAĞINDAN KARVAKROL ELDESİ VE KOZMETİKTE KULLANILMAK ÜZERE NANOFORMÜLASYON GELİŞTİRİLMESİ

ÖZET

Karvakrol molekülü önemli birçok biyolojik aktiviteye sahip monoterpenik bir uçucu yağ bileşiğidir. *Origanum* türlerinin birçoğunda mayör bileşen olarak bulunur ve bu bitkilerde uçucu yağdaki aktiviteden sorumlu bileşik olarak değerlendirilir. Ancak bileşiğin biyolojik aktivitelerinin yanında kolay okside olması, keskin kokusu ve tahriş edici özellikleri kullanımını zorlaştırmaktadır. Bu çalışmada karvakrol ülkemizde önemli bir ticari değere sahip olan *Origanum onites* L. bitkisinin uçucu yağından elde edilmiş ve kozmetikte yaşlanma karşıtı potansiyel ürün olarak kullanılmak üzere polikaprolakton (PCL) nanopartiküller (NP) halinde formüle edilmiştir. Öncelikle uçucu yağdan elde edilen karvakrol ekstraktı GC-MS ile analiz edilmiştir. Karvakrol tek emülsiyon yöntemiyle PCL nanopartiküllerine yüklenmiş ve sentezlenen karvakrol-PCL-NP'lerin Dinamik Işık Saçılımı (DLS), UV-Vis spektroskopisi ve Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM) ile karakterizasyonu yapılmıştır. Karakterizasyonu yapılan karvakrol-PCL-NP'ler için antikollajenaz aktivite ve HaCaT hücre hattı kullanılarak sitotoksik aktivite çalışmaları yapılmıştır. Sonuçlara göre karvakrol, uçucu yağ içerisinde %85 oranında tespit edilmiştir. DLS ile yapılan karakterizasyon sonucunda polidispersite indeksi (PdI) 0,070 ± 0,015; zeta potansiyeli (ZP) -8,51 ± 0,76 mV ve ortalama partikül boyutu 199,5 ± 0,91 nm olarak bulunmuştur. SEM ile yapılan morfolojik analizler ortalama partikül boyutu ile uyumlu sonuçlar vermiş ve homojen dağılım gösteren nanopartiküler yapıların varlığını doğrulamıştır. Karvakrol-PCL-NP'ler %98,55 oranında enkapsülasyon verimi göstermiş ve %20 oranında yükleme verimi tespit edilmiştir. Yapılan *in vitro* kontrollü salım çalışmalarıyla karvakrolün 48 saatte karvakrol-PCL-NP'lerden %95,55 oranında salındığı görülmüştür. Antikollajenaz aktivite sonuçları ile karvakrol-PCL-NP'lerin serbest karvakrolün iki katı oranda aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. *In vitro* sitotoksisite çalışmalarında serbest karvakrol en düşük konsantrasyonda (0,125 mg/mL) bile toksik etki gösterirken, PCL ile enkapsülasyon bu etkiyi elimine etmiş ve karvakrol-PCL-NP'ler 1 mg/mL konsantrasyonda %81,45±1,84 oranında hücre canlılığı göstermiştir. Böylece başarıyla sentezlenen karvakrol-PCL-NP'ler sayesinde elde edilen karvakrolün toksik etkisi giderilmiş ve antikollajenaz aktivitesi iki katına çıkarılmıştır. Aynı zamanda serbest karvakrolün sahip olduğu keskin koku ortadan kaldırılmış ve biyouyumluluğu arttırılmıştır. Sonuç olarak yüksek antikolajenaz aktivite ve düşük oranda toksisite ile biyouyumluluğu arttırılan karvakrol-PCL-NP'lerin kozmetik endüstrisi için potansiyel yaşlanma karşıtı ürün adayları olabileceği öngörülmüştür.

Anahtar Kelimeler: *Origanum onites* L; karvakrol; polikaprolakton; nanopartikül; antikollajenaz aktivite; *in vitro* hücre kültürü

OBTAINING CARVACROL FROM *ORIGANUM ONITES* L. ESSENTIAL OIL AND DEVELOPING CARVACROL-LOADED NANOFORMULATION FOR USE IN COSMETICS

SUMMARY

Carvacrol molecule is a monoterpenic essential oil compound with many important biological activities. It is found as a major component in many *Origanum* species and is considered as the compound responsible for the activity in the essential oil in those plants. However, in addition to its biological activities, the easy oxidation of carvacrol, strong odor and irritating properties make its use difficult. In this study, carvacrol was obtained from the essential oil of *Origanum onites* L. plant, which has an important commercial value in our country, and formulated as polycaprolactone (PCL) nanoparticles (NP) to be used as a potential anti-aging product in cosmetics. First of all, the carvacrol extract obtained from the essential oil was analyzed by GC-MS. Carvacrol was loaded onto PCL nanoparticles by single emulsion method and the synthesized carvacrol-PCL-NPs were characterized by Dynamic Light Scattering (DLS), UV-Vis spectroscopy and Scanning Electron Microscopy (SEM). For the characterized carvacrol-PCL-NPs, anticollagenase activity and cytotoxic activity studies were carried out using HaCaT cell line. According to the results, carvacrol was detected in the essential oil at a rate of 85%. The result of characterization by DLS, polydispersity index (PdI) was found to be 0.070 ± 0.015; zeta potential (ZP) was -8.51 ± 0.76 mV and mean particle size was 199.5 ± 0.91 nm. Morphological analyzes performed by SEM showed results compatible with the mean particle size and confirmed the presence of nanoparticle structures showing homogeneous distribution. Carvacrol-PCL-NPs showed 98.55% encapsulation efficiency, and 20% loading efficiency was determined. *In vitro* controlled release studies showed that carvacrol was released at a rate of 95.55% from carvacrol-PCL-NPs in 48 hours. Anticollagenase activity results showed that carvacrol-PCL-NPs had twice the activity of free carvacrol. According to *in vitro* cytotoxicity studies, while free carvacrol showed toxic effects even at the lowest concentration (0.125 mg/mL), encapsulation with PCL eliminated this effect and carvacrol-PCL-NPs showed 81.45 ± 1.84% cell viability at 1 mg/mL concentration. Thus, thanks to the successfully synthesized carvacrol-PCL-NPs, the toxic effect of the obtained carvacrol was eliminated and the anticollagenase activity was doubled. At the same time, the pungent odor of free carvacrol was eliminated and its biocompatibility was increased. As a result, it was predicted that carvacrol-PCL-NPs, which have high anticollagenase activity and low toxicity and increased biocompatibility, could be potential antiaging product candidates for the cosmetics industry.

Keywords: *Origanum onites* L.; carvacrol; polycaprolactone; nanoparticle; anti-collagenase activity; *in vitro* cell culture

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Yaşlanma birçok iç ve dış faktörden kaynaklanan karmaşık bir süreci ifade eder. Dünya Sağlık Örgütü biyolojik yaşlanmayı, zaman içerisinde biriken çeşitli moleküler ve hücresel hasarların sebep olduğu kademeli fiziksel ve zihinsel kapasite azalması, artan hastalık riski ve son olarak ölüm olarak açıklar. Bu tanımlamadaki gibi hücresel metabolizma, hormonlar, genetik, kimyasallar, kirlilik, güneş ışığı, radyasyon ve toksinler gibi iç ve dış faktörler yaşlanmanın sebebidir. Sonuç olarak ise ciltte elastikiyet kaybı ve yaraların geç iyileşmesi gibi sorunlar oluşur. Ciltte incelme, donukluk, pürüzlü hal, kuruluk ve kırışıklık meydana gelebilir. Tüm bu durumlar yaşlanmaya dahildir ve patolojik bir durum olarak kategorilendirilmez; biyolojik ve kaçınılmaz bir süreçtir [1, 2].

Günümüzde bu süreç modern toplumlarda önemli bir konu haline gelmiş ve özellikle kadınlar olmak üzere birçok insan yaşlanma karşıtı ürünlerle ilgilenmeye başlamıştır. Bu doğrultuda kozmetik endüstrisi de her geçen gün farklı bir ürünü piyasaya sürmektedir [3]. Bu ürünler güneş kremleri, antioksidanlar, topikal retinoidler gibi farklı türde preparatlardır. Bu gibi ürünlerle içsel ve dışsal cilt yaşlanması geciktirilebilir, kırışıklıklar giderilebilir ve cilt yenilenebilir. Bunun yanında güneşten korunmak ve koruyucu giysiler giymekte alınabilecek önlemler arasındadır [4]. Bahsedilen kozmetik ürünler bu etkiyi içerisindeki birçok doğal veya kimyasal bileşen ile yapar. Bunlar; omega-3 ve omega-6 yağ asitleri, A ve C vitamini, çinko, selenyum gibi mineraller ve karnitin gibi aminoasitler olabilir. Bunun yanında polifenoller, triterpenler ve steroller de yaşlanma karşıtı aktivite gösteren bitkisel metobolitlerdir [5].

Literatürde yer alan bazı çalışmalarda bitkilerde bulunan uçucu yağ bileşiklerinin antioksidan, antimikrobiyal etkileri ile beraber yaşlanma karşıtı aktivitelere de sahip oldukları görülmüştür. Bu bileşikler kokuları sebebiyle de kozmetik ürünler için çok

ideal doğal ürünlerdir [6, 7]. Literatüre baktığımızda Lamiaceae familyasına ait olan *O. onites* bitkisinden elde edilen uçucu yağ kullanılarak yapılmış herhangi bir yaşlanma karşıtı çalışmaya rastlanılmamaktadır. Ancak içerisindeki aktif bileşenler değerlendirildiğinde, aynı mayör bileşikleri barındıran uçucu yağlarla yapılan çalışmalar vardır. *Oregano* türlerinden elde edilen uçucu yağlar üzerinde yapılan bu çalışmalar bitkinin uçucu yağında antikollajenaz, antihiyalüronidaz ve antielastaz aktivite olduğunu ortaya koymuştur. Bu bitkilerin ortak özelliği ise uçucu yağlarında ana bileşen olarak karvakrol molekülünü içermeleridir [8]. Türk Farmakopesi, *O. onites* bitkisinde bulunan uçucu yağı şu şekilde tanımlar: Karvakrol kemotipine sahip *O. onites* bitkisinin taze veya kurutulmuş toprak üstü bileşenleri kullanılarak buhar distilasyonu yoluyla elde edilen uçucu yağdır. Görünümü sarı, akışkan, şeffaf bir sıvı şeklindedir. Kekiği andıran karakteristik bir kokuya sahiptir. En fazla %1,5 α-pinen; %12,0 p-simen; %9,0 γ-terpinen; %10,0 linalol; %2,0 timol; en az ise %60,0 karvakrol içerir [9]. Yapılan çalışmalar, karvakrol molekülünün oksidatif stresi önlediğini ve antioksidan özelliğe sahip olduğunu böylece farelerin karaciğerinde yaşlanmaya bağlı oluşan hasarın gelişiminin önüne geçebileceğini göstermiştir [10]. Bununla birlikte, karvakrol yüksek uçuculuğa ve düşük stabiliteye sahip bir fenolik bileşiktir. Fiziksel ve kimyasal tepkimeler onu çok hızlı oksitleyebilir ve aktivitesi azalabilir. Bu istenmeyen özellikleri sebebiyle uçucu yağların enkapsülasyonu günümüzde çok sık kullanılan bir yöntem haline gelmiştir. Enkapsülasyon sayesinde uçucu yağların stabilizasyonu sağlanmakta, kokuları maskelenmekte, tahriş edici özellikleri azaltılmakta, yüksek yükleme kapasitesi ve yüksek verim elde edilmekte ve aktiviteleri artırılmaktadır [11-13].

Son zamanlarda, nanotaşıyıcı sistemlerle kapsülleme de yaygın bir teknik haline gelmiştir. Nanoteknoloji sayesinde; kontrollü salım, arttırılmış etki ve azaltılmış toksisite gibi geleneksel yöntemlerle elde edilemeyen birçok sonuç başarılmıştır. Cilt bakımı için de aktif bileşen enkapsüllendiğinde kontrollü salımı sağlanabilir ve etki arttırılabilir [14, 15]. Çalışmalar, nanopartiküller ile enkapsülasyon yapıldığında cildin daha iyi nemlendirildiğini, UV radyasyonuna karşı korumanın ve yaşlanma karşıtı etkinin arttığını göstermiştir [16]. Son 20 yılda biyolojik olarak parçalanabilen polimerik nanopartiküller üzerinde yapılmış çok sayıda çalışma vardır. Daha yüksek biyoyararlanım, kontrollü salım, daha iyi kapsülleme ve daha az toksik etki gibi özellikleri sayesinde ilaç dağıtım sistemlerinde sıklıkla kullanılmaktadırlar [17]. PCL

nanopartikülleri de *in vitro* kalite değerlendirmelerinden başarıyla geçmiş biyouyumlu polimerlerdir [18]. Bunun yanı sıra, PCL polimerinin bazı çalışmalarda cilt doku mühendisliği için kullanıldığı görülmektedir [19].

Bu çalışmada, karvakrol bileşiği öncelikle *O. onites* uçucu yağından ekstrakte edilmiş ve ardından GC-FID/MS ile analizi yapılmıştır. Ardından, tek emülsiyon tekniği kullanılarak karvakrol-PCL-NP'ler sentezlenmiştir. NP'lerin ortalama partikül boyutu, PdI ve ZP'si DLS kullanılarak belirlenirken, SEM analizi ile NP'lerin morfolojisi kontrol edilmiştir. Karvakrol-PCL-NP'lerin enkapsülasyon etkinliği ve yükleme kapasitesi, *in vitro* salım profili değerlendirilmiştir. Karvakrol-PCL-NP'lerin sitotoksisitesi HaCaT hücre hattı üzerinde test edilmiştir. Karvakrol-PCL-NP'lerin yaşlanma karşıtı aktivitesini değerlendirmek için antikollajenaz aktivite deneyi yapılmıştır.

Bu çalışmada amaç nanotaşıyıcı sayesinde güçlendirilmiş bir ürünü ticari olarak kozmetik endüstrisine kazandırmaktır. Şu ana kadar yapılan tüm çalışmalar ve analizler çalışmanın ilk basamağını oluşturmaktadır. Sonrasında *in vivo* çalışmalarla daha da ileriye götürülerek piyasaya sürülebilecek bir ürün haline getirilebilir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. Lamiaceae (Labiatae, Ballıbabagiller) familyası

Lamiaceae familyasında yaklaşık 236 cins ve 7200 tür bulunmaktadır. Akdeniz Bölgesi'nde yoğunlaşan 3500 türe sahiptir. Ailede bulunan en büyük cinsler *Salvia* (900), *Scutelleria* (360), *Coleus* (325), *Plectranthus* (300), *Hyptis* (280), *Teucrium* (250), *Thymus* (220) ve *Nepeta*'dır (200). Avustralya, Güneybatı Asya ve Güney Amerika'da da bölgesel olarak küçük gruplar halinde dağılımı mevcuttur. Antik çağlardan beri Lamiaceae familyası bitkileri çay, baharat ve geleneksel tıp için kullanılmaktadır. Ailede bulunan bazı bitkiler uçucu yağ kaynağıdır ve günümüzde de geniş bir kullanım alanı mevcuttur [20, 21].

Genellikle ot veya çalı halinde aromatik bitkilerden oluşan Lamiaceae familyasında; gövdeler 4 açılıdır ya da değildir. Yapraklar stipulasız, basittir ve bazen pinnat olabilir ancak her zaman karşılıklıdır. Yapraklar aynı zamanda kavislidir veya gövde boyunca vertisillasterler halinde toplanmıştır. Mızrak şeklinde, yumurta şeklinde veya çok daha farklı şekillerde olup sapsız veya saplı olabilirler. Yaprak kenarı ise tam veya dişli olabilir. Çiçekler hermafrodit, zigomorfik veya aktinomorfiktir. Bunlar genellikle vertisillasterlerde toplanan tetramerler veya pentamerlerdir. Bunların her biri 2'den 20'ye kadar çok sayıda çiçekten oluşur ve iki büyük, yapraklı, dönüşümlü brakte üzerinde dairesel olarak yer alırlar. Bu brakteler subulat veya dikenli olup tamamen renkli yapıdadır. Brakteler, yapraklardan anlaşılır biçimde farklı olabilirken benzer bir yapıda da olabilir, brakteoller bazen vardır, bazen olmayabilir. Kaliks gamosepal ve aktinomorfiktir. Beş düz mızrak şeklindedir veya üçgen bir lobdan oluşur. Kaliks tüpünde yaklaşık 10 yüzeysel damarlanma bulunur. Kaliks genellikle 5 loblu olup, üst kısmı 3 dişli, alt kısmı 2 dişlidir, nadiren loblar veya dişler 1 ve 1 veya 1 ve 4'tür. Korolla gamopetal, zigomorf; genellikle orak (hilal), düz veya konkav şekilde belli belirsiz 2 loblu üst dudak ve 3 loblu alt dudakla birlikte bilabiat; nadiren üst dudak küçülmüş olabilir ve alt dudak 5 loblu veya üstte 1, altta 4 loblu olabilir veya korolla aktinomorftur. Stamenler, korollaya bağlı bir şekildedir ve birlikte gelişmiştir.

Lamiaceae familyasındaki bitkiler genellikle 4 stamene sahip olurlar, didinamdırlar (ikisi uzun, ikisi kısa yapıda), bazen 2 tane de olabilirler; çoğunlukla üsttekiler alttakilerden daha kısadır. Anter tekaları 2 ya da tek hücreli, paralel veya ıraksak olabilir. Ovaryum üst durumlu, 2 karpelli, 4 gözlü ve her gözde 1 ovül bulunur. Stilus genellikle korolladan daha uzundur ve ginobaziktir; yani stilus ovaryumun tabanından çıkar. Meyve, 4 nukstan oluşan bir şizokarptır. Her nuks bir tohum içermektedir. Meyve, tepe noktasında yuvarlatılmış dört kuru ve etli çekirdekten oluşan bir şizokarptır. Meyve yüzeyi pürüzsüz, tüysüz, tüylüdür veya siğilli gibidir ve endospermi olmayan sperma son derece hızlı bir şekilde salınır [22, 23].

2.1.2. *Origanum* cinsi

Origanum cinsi Lamiaceae familyasına ait olan, yaygın olarak 42 tür ve 18 melezden oluşan bir türdür. Dağılımı Avrasya, Kuzey Afrika, Avrupa ve Asya'da görülür. Dağlık kısımlara özgüdür. *Origanum* cinsinin sistematiğinin tam yapılamamış olması birçok yanılmaya sebep olmaktadır. Bu cinsin %70 'i ülkemizde endemik olarak bulunmaktadır. Dünyada bulunan 52 *Origanum* türlerinin 22'si ülkemizde bulunmaktadır. *Origanum* cinsi 10 seksiyon içerir: *Amaracus* (Gleditsch) Bentham, *Anatolicon* Bentham, *Brevifilamentum* Ietswaart, *Longitubus* Ietswaart, *Chilocalyx* (Briquet) Ietswaart, *Majorana* (Miller) Bentham, *Campanulaticalyx* Ietswaart, *Elongatispica* Ietswaart, *Origanum*, *Prolaticorolla* Ietswaart [24, 25].

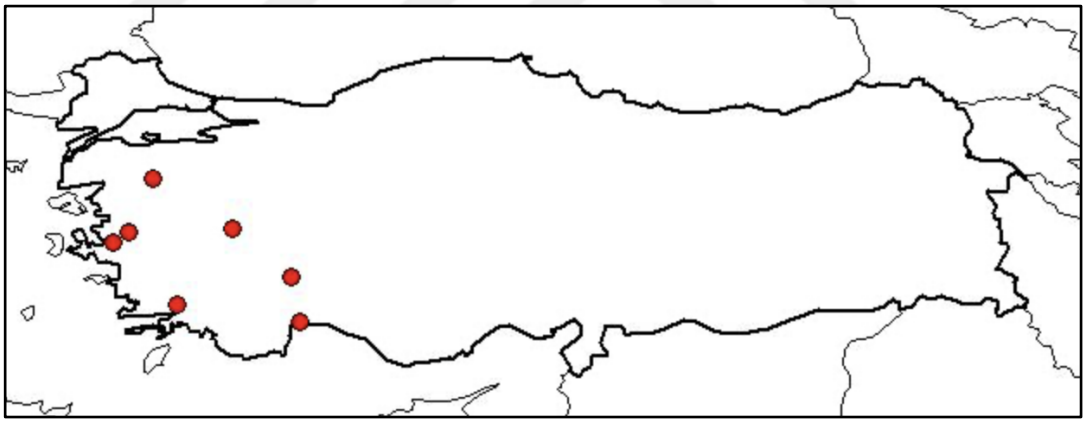
Origanum mutfakta yemeklerde lezzet ve koku veren bir bitki cinsi olmanın yanı sıra eczacılık, gıda, parfümeri-kozmetik sanayide ve veterinerlikte de kullanılan tıbbi ve aromatik bir bitkidir. Dünyada en çok ihracatının yapıldığı ülke Türkiye'dir. Son dönemde kültürüne geçilmiş ve bu şekilde daha verimli ürünler elde edilmeye başlanmıştır [24, 26].

Origanum türlerinin tamamının yer altı kısımları az çok odunsu yapıdadır. Özellikle Doğu Akdeniz bölgesindeki türlerin çok kalın, odunsu yapıda kökleri vardır. Hemen hemen tüm türlerde gövdeler dik veya yukarı doğru çıkmaktadır. Sapların odunsu olmayan ve dik kısımları genellikle sadece 1-2 mm çapındadır ancak 5 mm'ye kadar ulaşabilir. Genellikle bir bitkide çok sayıda gövde bulunur. Gövde uzunlukları oldukça değişkendir. Bazı türlerin gövde uzunlukları 10 cm ile 30 cm arasında değişmektedir. Türlerin çoğunda gövde uzunluğu 30-60 cm'dir. Bazı türlerde bu uzunluk 60 cm'den 1 m'ye kadar çıkabilmektedir. Yapraklar bazı türlerde (alt)sapsız, diğer birçok türde

ise özellikle de alt nodlarda saplıdır. Yapraklar eliptik, ovat, kordat veya suborbikular şekildedir; kenarları düz veya az çok dişlidir, uç kısmı obtus veya akuminanttır. Çiçekler hermafrodit veya ginodioiktir. Kaliks değişken, aktinomorfik, 5 dişli ya da zigomorf, 1-2 dudaklı olabilir.13 veya yaklaşık 10 damarlıdır, boğaz yapısı genelde tüylüdür. Korollalar mori beyaz, pembe renkte olabilir. Eşit 2 dudağa sahiptir. Korolla tüpü sakkat veya yassılaşmıştır. Üst dudaklar emerginant veya kısa 2 loblu; alt dudaklar ise 3 loblu olur. Stamenler 4, korollaya alttan bağlanan çiftin boyu daha uzun durumdadır. Genellikle üst dudaktan taşmıştır. Filamentler eşit olabilir veya olmayabilir, tekalar ise karşılıklıdır [27, 28].

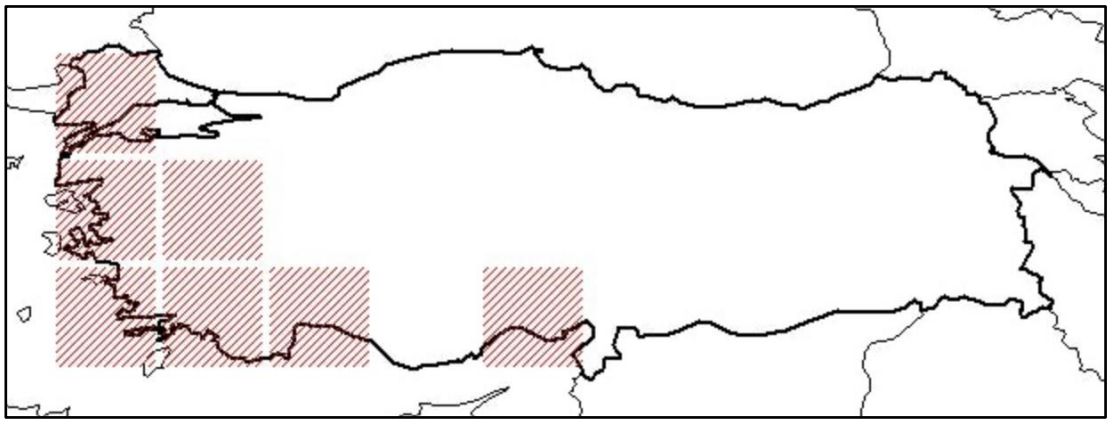
2.1.3. *O. onites* türünün özellikleri ve yayılışı

Bilyalı kekik, İzmir kekiği, İzmir mercanköşkü, taş kekiği (Elmalı-Antalya) ve dağ kekiği olarak bilinen *O. onites* Türkiye'de Batı ve Güney Anadolu'da bulunan Antalya, Balıkesir, Isparta, İzmir, Manisa, Muğla ve Uşak'ta görülür. Genel dağılımları ise Sicilya, Yunanistan ve Ege Bölgesidir. TÜBİVES'te yer alan bu verilere göre bitkinin illere göre dağılımı aşağıdaki gibidir [29]:



Şekil 2.1 : *O. onites* illere göre Türkiye'deki dağılımı [29].

Bitkinin Türkiye'deki dağılımı bölgesel olarak incelendiğinde ise TÜBİVES'te yer alan bilgilere göre Batı ve Güney Anadolu'da görülmektedir.



Şekil 2.2 : *O. onites* bölgelere göre Türkiye'deki dağılımı [29].

O. onites bitkisi sistematik olarak TÜBİVES'in verilerine göre aşağıdaki gibidir.

Alem: *Plantae*

Alt alem: *Tracheobionta*

Üst şube: *Spermatophyta*

Şube: *Magnoliophyta*

Sınıf: *Magnoliopsida*

Alt sınıf: *Asteridae*

Takım: *Lamiales*

Familya: *Lamiaceae*

Cins: *Origanum* L.

Tür: *O. onites* L [29].

O. onites ayrım anahtarı Sadıkoğlu 2005'in yaptığı çalışmada aşağıdaki gibi verilmiştir:

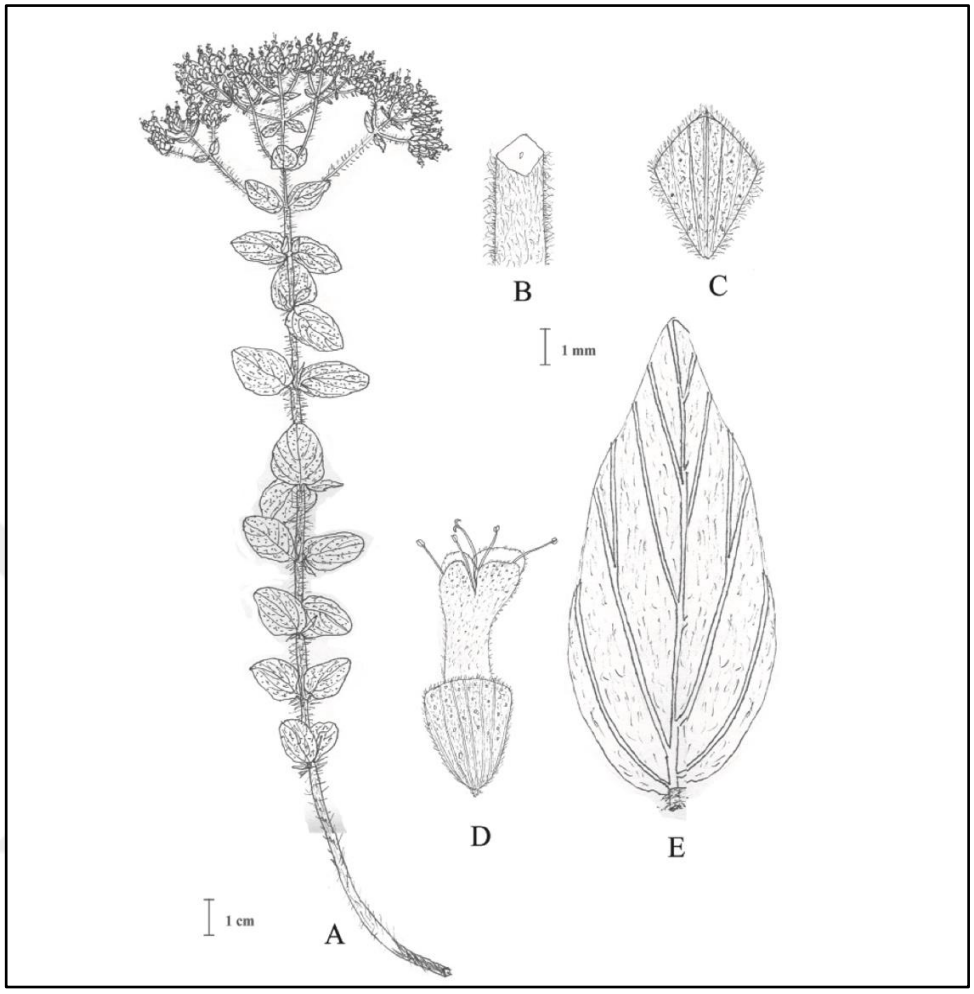
1.Spikalar yalancı korimboz halinde düzenlenmiş; yapraklar genellikler serrat veya serrulat

2.Spikalar panikül halinde düzenlenmiş; yapraklar genellikle tam [30].

Şekil 2.3 : *O. onites* [31].

Bitki yarı çalımsı yapıdadır. Kökler 1,5 cm çapına kadar olabilir, genç sürgünler hirsut tüylü yapıdadır. Gövdeler dik-yaslanıcı, bazen tabanda dallanmış, 50-120 cm kadar uzunlukta, açık kahverengi, hirsut ve glandular pilos tüylüdür. İlk sıra dallar gövdenin 1/5'lik üst kısmından başlar ve 8-10 çift, 1,0-8,0 cm uzunluğundadır. Yapraklar her gövde için 25-30 çifttir. En alt yapraklar kısa petiolatlı, kordat, ovat veya oval şeklindedir, uçtakiler ise az çok akut veya akuminat, 3-22 x 2-20 mm, hirsut ve glandular pilos tüylü, peltat salgı tüyleri 1300-1500/cm2 dir. Spikalar yalancı korimbus üzerinde dizilmiş haldedir, glabros, ovoid veya dört köşeli silindirik olabilirler. Boyutları 3-16 x 2-4 mm'dir. Brakteler her spikada 4-30 çift olabilir; ovat, oval veya obovat, uçtakiler akut, akuminat veya obtuz, tam, 2-5 x 1-3 mm, açık yeşil, dış yüz tomentos tüylüdür. Kaliks 1 dudaklı, brakteye benzer, 2-3 mm boyutta, ovat, obovat veya biraz romboid, dış yüz pilosellos; üst dudak tam veya dentikulattır. Korolla 2 dudaklı, 3-7 mm, beyaz, dış yüz biraz pilosellos; üst dudak 2 loblu, 0,2 mm; alt dudak 3 eşit loblu, 1-2 mm boyutunda loblardır. Stamenler dışa taşmış; filamentler

4-5 mm boyutundadır. Stil 10 mm uzunluğa kadar erişebilir. Çiçeklenme zamanı 5-8. aylardır [32, 33].



Şekil 2.4 : *O. onites* (ISTE 44842) bitkisinin botanik yapısı. A. Genel görünüm, B. kök, C. brakte, D. çiçek, E. yaprak [32].

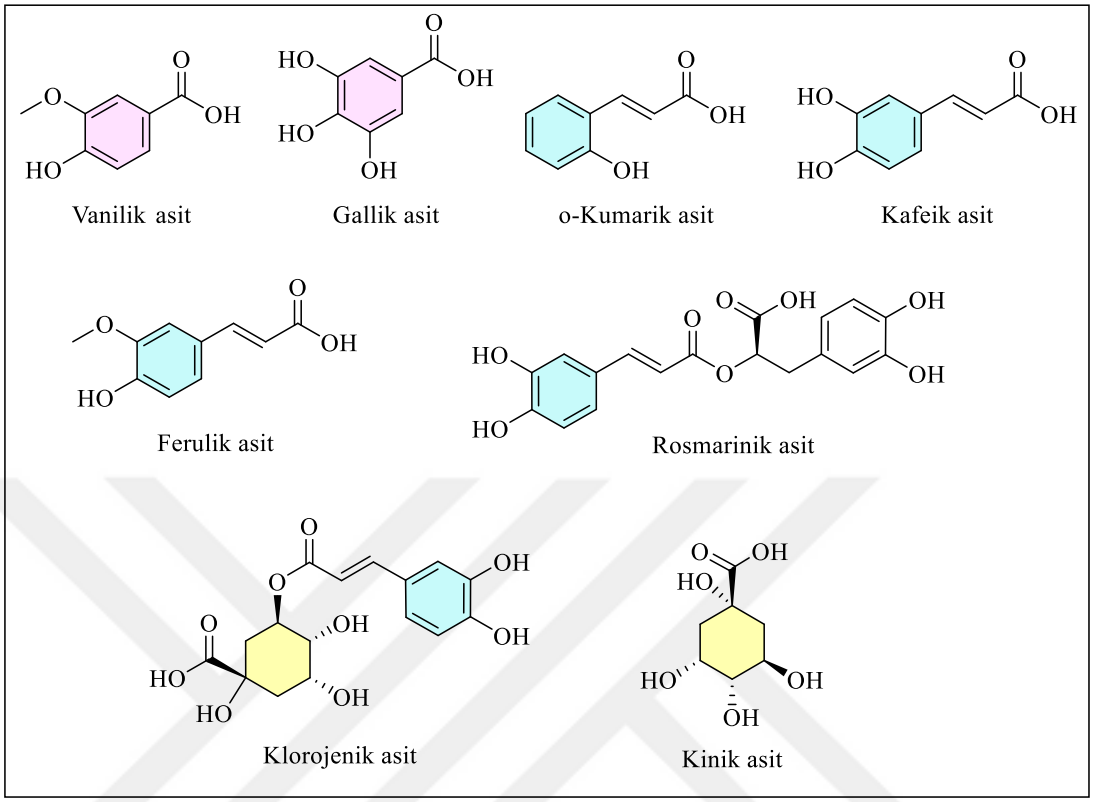
2.2. *O. onites* Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

Bu bitkinin toprak üstü kısımlarında günümüze kadar terpenoidler, triterpen asitler, fenolik asitler, hidrokinonlar, flavonoidler, hidrokarbonlar, steroller, pigmentler, yağ asitleri, tokoferoller ve inorganik bileşiklerin birkaç farklı sınıfı tespit edilmiştir [34].

2.2.1. Fenolik asitler

Özkan ve Özcan. (2014) yaptıkları çalışmada kafeik asit, rosmarinik asit, rutin, akasetin ve apigenin ana bileşik olarak belirlemiştir [35]. Bir başka çalışmada ise fenolik asit bileşiği olan rosmarinik asit ve bir flavon bileşiği olan akasetin ana bileşen

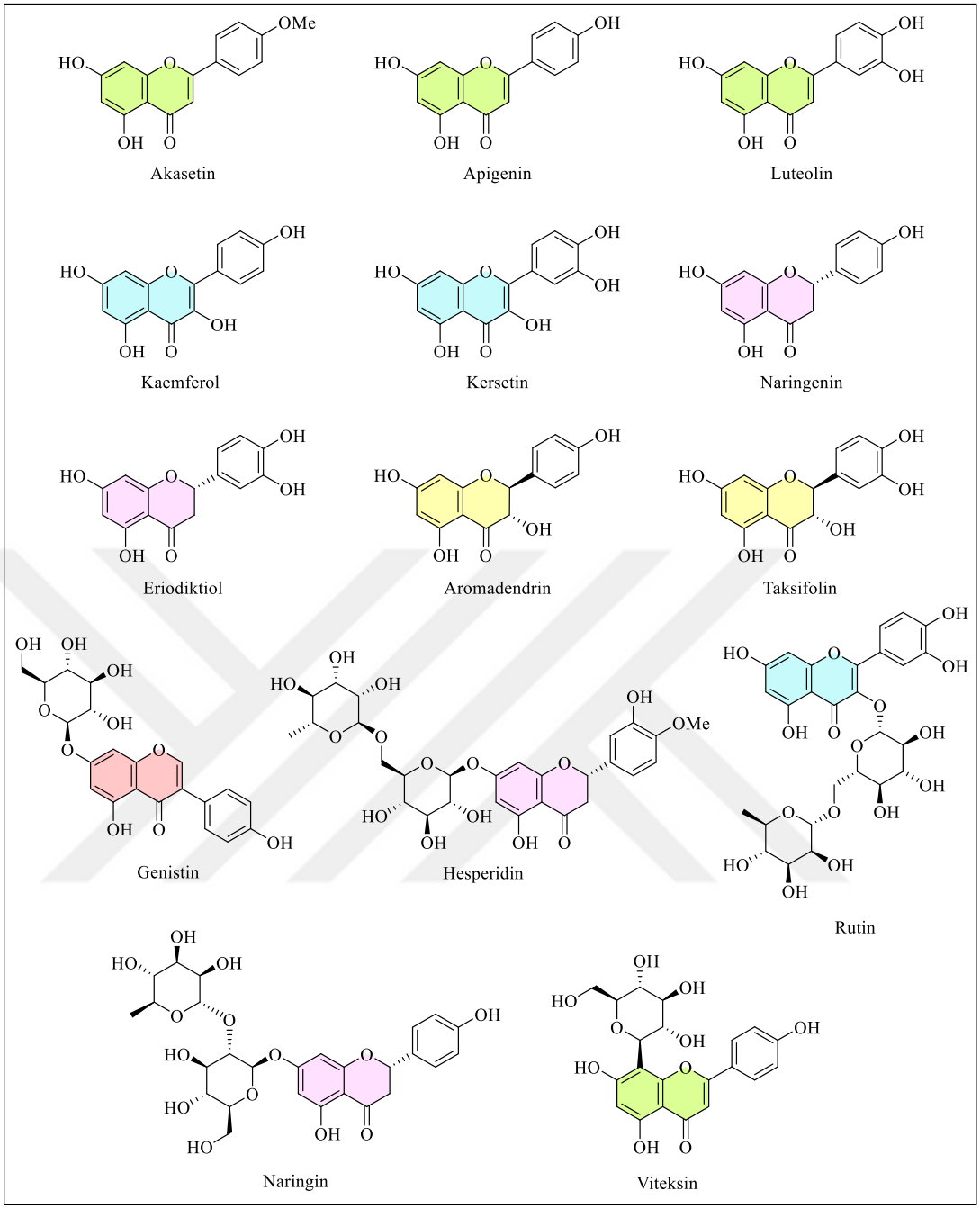
olarak tespit edilmiştir. Özellikle temmuz ayında hasat edilen bitkide bu bileşiklerin oranı daha fazladır. Bitkide bulunan fenolik asitler Şekil 2.5'te gösterilmiştir.



Şekil 2.5: *O. onites* bitkisinde bulunan fenolik asit bileşikleri.

2.2.2. Flavonoitler

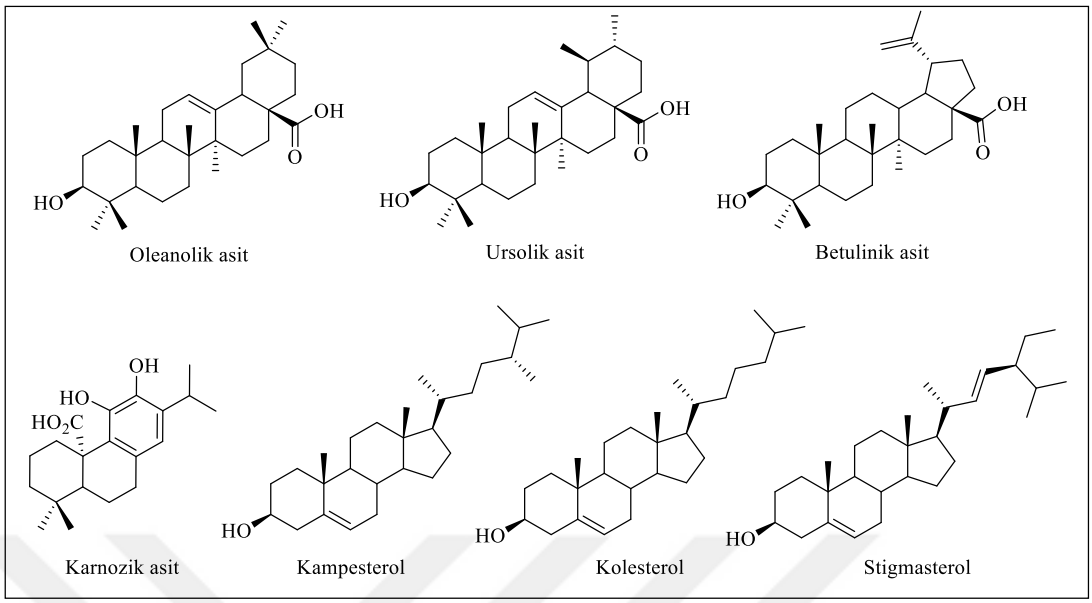
O. onites bitkisinin flavonoit içeriği için Fidan ve ark. (2020) yaptıkları çalışmada % 95 ve % 70 olmak üzere farklı oranlarda etanol ekstraktı ile flavonoit içeriğini kontrol etmiş sırasıyla % 3,08 ± 0,05 QE/g dw ve %5,16±0,11 QE/g dw bulmuştur. %70 etanol ekstraktı en yüksek oranda flavonoit içeriğini göstermiştir [36]. Bitkinin içerdiği flavonoit bileşikleri Şekil 2.6'da gösterilmiştir.



Şekil 2.6: *O. onites* bitkisinde bulunan flavonoit bileşikleri.

2.2.3. Diterpen, triterpen asitler ve steroller

Terpenler 5 C'lu izopren birimlerinden oluşurlar ve literatürde antimikrobiyel, antialerjik, antikanser ve antienflamatuvar gibi birçok aktivitesi olduğu görülmektedir. Bitkilerde bulunan bu ikincil metabolitler ilaç, gıda, kozmetik ve tıp endüstrisinde potansiyel uygulama için alternatif olarak değerlendirilmektedirler [37]. Bitkinin barındırdığı terpen türevi bileşikler Şekil 2.7'de gösterilmiştir [34].



Şekil 2.7 : *O. onites* bitkisinde bulunan diterpen, triterpen asitler ve steroller.

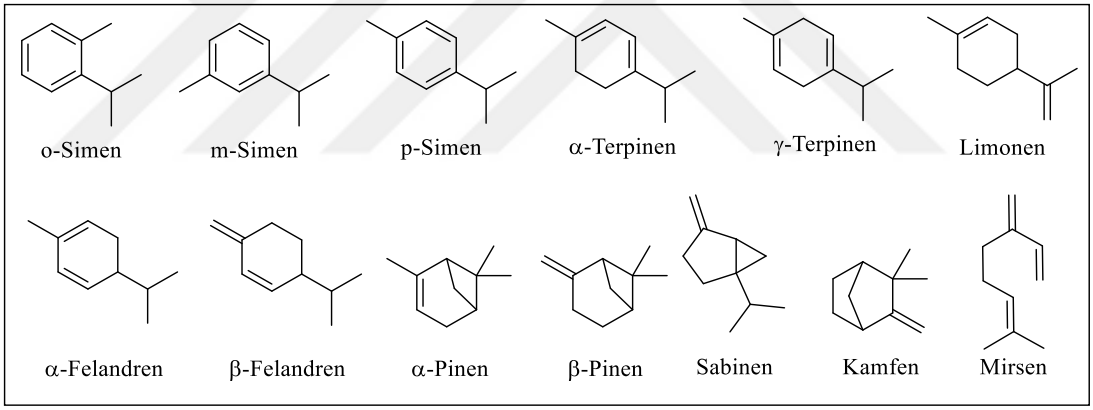
2.2.4. *O. onites* uçucu yağ bileşikleri

O. onites uçucu yağı majör bileşik olarak genelde timol ve karvakrol moleküllerini içerir. İçerisindeki moleküllerin oranı hasat zamanına ve stres faktörlerine bağlı olarak değişebilir [38, 39]. Özer. (2020) yaptığı çalışmada yapraktan elde edilen uçucu yağda %69,2 oranla en yüksek oksijenli monoterpenlerin bulunduğunu tespit etmiştir. Ana bileşik %64,9 oranla karvakrol olarak bulunmuştur. Çiçek esansiyel yağında ise %73,5 oranla seskiterpen hidrokarbonların baskın olduğunu ve bu moleküllerden kubebenin %36,4 oranla majör bileşik olduğunu tespit etmiştir. Yapraktan elde edilen uçucu yağ karvakrol ve p-simen taşıdığı için yüksek oranda antioksidan aktivite belirlenmiştir. Bu da bitkinin uçucu yağının yaşlanma geciktirici aktivitesi için bir avantaj sağlar [40].

Özkan ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada Haziran-Eylül aylarındaki hasatlardan elde edilen yağları karşılaştırmalı olarak değerlendirmiştir. Bu çalışmada en yüksek uçucu yağ verimi yapraklarda temmuz ayı ortasında hasat edilen yağda görülmüştür. Yağın ana bileşenleri karvakrol, timol, γ-terpinen, p-simen, α-terpinen ve α-pinendir. Karvakrol miktarı temmuz ayında hasat edilen yağda en yüksek seviyede görülmüştür. Haziran ayında hasat edilen yaprakların uçucu yağı ise en yüksek antioksidan aktiviteyi göstermiştir [38].

2.2.4.1 Monoterpen hidrokarbonlar

Literatürde yapılan çalışmalarda *O. onites* uçucu yağının içerdiği monoterpen hidrokarbonların oranlarına bakıldığında Özer. (2020) yaptığı çalışmada uçucu yağı bitkinin çiçek ve yaprağından elde etmiştir. Yapılan GC-MS analizinde yapraktan elde edilen uçucu yağ %27,4 çiçekten elde edilen yağda ise %9,5 oranında bu bileşikleri tespit etmiştir. Yaprak ve çiçekte sırasıyla sabinen % 0,1'den daha az oranda, β-pinen % 0,1 ve %0,1'den daha az oranda; α-felandren %1,3 ve % 0,7; α-terpinen % 2,4 ve % 0,9; p-simen % 11,2 ve % 3,9; β-felandren % 0,6 ve % 0,3; γ-terpinen % 0,4 ve 5 0,3; kamfen %0,3 ve % 0,1'den daha az oranda tespit edilmiştir. Bu yağ üzerinde yapılan antioksidan çalışmalarda uçucu yağın önemli bir aktiviteye sahip olduğu belirlemiştir. Bu aktivitede yapraktan alınan uçucu yağ daha iyi sonuç verirken karvakrol ve p-simen bileşenlerinin bu aktivitede önemli rol oynadığı düşünülmüştür [40]. Bitkinin uçucu yağında bulunan monoterpen hidrokarbon bileşikler Şekil 2.8'de gösterilmiştir.



Şekil 2.8: *O. onites* bitkisinde bulunan monoterpen hidrokarbonlar.

Sarıkaya. (2019) *O. onites* uçucu yağının yaprak ve çiçek uçucu yağları ile yaptığı çalışmada monoterpen hidrokarbon grubu bileşikleri %32,49 oranında tespit etmiştir. Bu grup bileşiklerden p-simen %11,45; γ-terpinen %11,89 oranında en yüksek miktarda bulunan uçucu yağ bileşenleri olmuştur. Uçucu yağda α-pinen % 0,94; kamfen % 0,40; β-pinen % 0,18; β-mirsen; % 2,33; α-felandren % 0,38; α-terpinen % 1,84; p-simen % 11,45; limonen, % 1,37; γ-terpinene % 11,89 tespit edilmiştir [41].

Demirci ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada Antalya'dan toplanan bitkinin uçucu yağında karvakrol (%57,4) ve timolün (%11,6) yanında %8,1 oranında p-simen ve %5,2 γ-terpinen tespit etmiştir. Bu bitkinin uçucu yağında antiangiogenik etki

Chorioallantoic Membrane (CAM) testi ile kontrol edilmiştir. Uçucu yağ ve majör bileşenler CAM ile test edildiğinde antiinflamatuvar ve antiangiogenik etki tespit edilememiştir. Yapılan GC-MS analizinde diğer monoterpenik hidrokarbonlar α-pinen %0,7; kamfen % 0,4; β-pinen % 0,1; mirsen % 1,5; α-terpinen % 1,4; limonen % 0,3; β-felandren % 0,2; γ-terpinen % 5,2 tespit edilmiştir [42].

Vanti ve ark. (2021) Yunanistan'dan topladıkları *O. onites* uçucu yağında %21,2 oranında monoterpen hidrokarbon bileşiği tespit etmiştir. Bu bileşiklerden p-simen %7,9; γ-terpinen ise %4,9 oranında tespit edilmiştir. Bu çalışmada uçucu yağ nanoveziküllere yüklenmiş antifungal ve antibakteriyel aktivitesi test edilmiştir. Ayrıca HaCaT hücre hattında sitotoksisite kontrolü yapılmış ve sonuç olarak bu partiküllerin gıda patojenlerine karşı uzatılmış ve uzun süreli salımları ve korunmuş fonksiyonel özellikleri ile potansiyel biolojik kontrol ajanları olabileceği öngörülmüştür. Uçucu yağ içerisindeki %1 α-pinen; %0,6 kamfen; %2,1 mirsen; %0,4 α-felandren; %2 α-terpinen; %0,8 β-felandren; %4,9; γ-terpinen diğer monoterpen hidrokarbon bileşikleri oluşturmuştur [43].

Tomsuk ve ark. (2024) İzmir'den toplanan bitkinin içeriğinde majör bileşenler içerisinde %0,6 α-terpinen; %0,7 γ-terpinen; %0,3 oranında p-simen bileşiğini GC-MS analizi ile tespit etmiştir [44].

Fidan ve ark. (2020) Yozgat bölgesinden topladıkları *O. onites* bitkisinin yapraklarından %4,12 verimle çiçeklerinden elde ettikleri uçucu yağda GC-MS analizi ile %1,89 α-pinen; %0,41 β-pinen; %0,89 mirsen; %6,34 α-terpinen; %9,86 p-simen; %0,91 limonen; %6,90 γ-terpinen; %0,34 kamfen; %0,12 sabinen olmak üzere uçucu yağda %21,54 oranında monoterpen hidrokarbon tespit etmiştir [36].

2.2.4.2. Oksijenlenmiş monoterpenler

Özer. (2020) yaptığı çalışmada uçucu yağı bitkinin çiçek ve yaprağından elde etmiştir. Bitkinin yaprağında %69,2 çiçeğinde ise %16,4 oranında oksijenlenmiş monoterpenleri tespit etmiştir. Bu gruptan yaprak ve çiçekte sırasıyla kafur %0,8 ve %0,1; karvakrol % 64,5 ve % 16,0 oranında tespit edilmiştir. Karvakrol majör bileşen olarak antioksidan aktiviteden sorumlu bileşiklerden biri olarak kabul edilmiştir. Bu bileşiğe yaprakta %11,2 oranında bulunan p-simen eşlik etmiştir ve antioksidan aktivite göstermiştir [40].

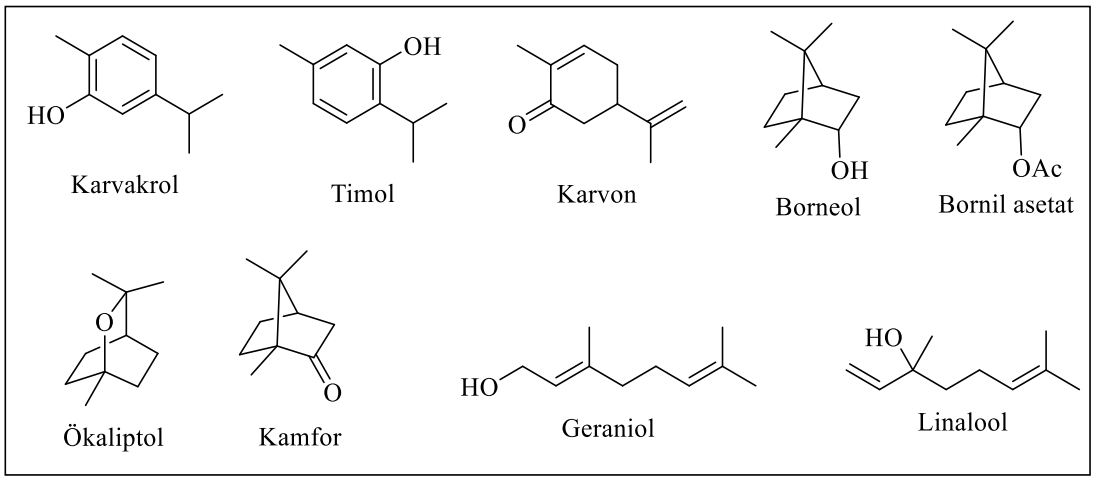
Sarıkaya. (2019) %0,8 oranda 1,8-sineol, %14,35 linalol, %20,03 timol ve %26,91 oranda karvakrol tespit etmiştir. Oksijenlenmiş hidrokarbonlar uçucu yağın %0,16'sını oluştururken karvakrol ve timol uçucu yağda en yüksek oranda bulunan bileşikler olmuştur [41].

Demirci ve ark. (2004) %1,8 oranda ökaliptol, % 0,1 linalol; % 0,1'in altında bornil asetat; %2,6 borneol, % 0,2 karvon; % 0,1'in altında geraniol; %11,6 timol ve majör bileşik olarak % 57,4 oranında karvakrol tespit etmiştir [42].

Vanti ve ark. (2021) bitkinin uçucu yağında %0,4 linalol; %2,8 borneol; %0,1 karvon; %1 timol ve % 66 karvakrol tespit etmiştir [43].

Tomsuk ve ark. (2024) bitkinin herbasından elde ettikleri uçucu yağda %3,8 oranında linalool, %1,1 borneol ve majör bileşenler olarak %7,6 timol ile % 72 karvakrol tespit etmiştir. Bu çalışmada HepG2 hücrelerinde hepatotoksisite çalışılmış ve sonuç olarak hem uçucu yağ hem de karvakrol antikanser ajan olarak öngörülmüştür. Hepatotoksisite dizisi sonuçlarında, her iki örnekte de hepatotoksisite ile ilişkili birçok genin ekspresyonunu indükleyici etki gözlemlenmemiştir. Bu da onların hepatoselüler karsinom hücreleri üzerinde hepatotoksik etkiler göstermeyeceğine işaret etmiştir. Ayrıca tedavi edilen hücrelerde çok sayıda karsinojenite ile ilişkili genin aşağı regülasyonu (hücre yüzeyinde bulunan reseptör sayısının azalması), uçucu yağ ve karvakrolün potansiyel antikanser etkilerini göstermiştir. Dahası, hepatotoksisite ile ilişkili birçok genin uçucu yağ ve karvakrol ile iyileştirilmesi, hepatoprotektif etkileri ortaya koyulmuştur [44].

Fidan ve ark. (2020) %0,78 ökaliptol; β- linalol % 0,58; borneol % 0,38; timol % 0,17 ve karvakrol majör bileşik olarak % 48,22 oranında tespit edilmiştir. Oksijenlenmiş monoterpenler uçucu yağın %13,81'ini oluşturmuştur [36]. *O. onites* bitkisinde bulunan oksijenlenmiş monoterpen hidrokarbon bileşikler Şekil 2.9'da gösterilmiştir.



Şekil 2.9 : *O. onites* bitkisinde bulunan oksijenlenmiş monoterpen bileşikler.

2.2.4.3. Seskiterpen hidrokarbonlar

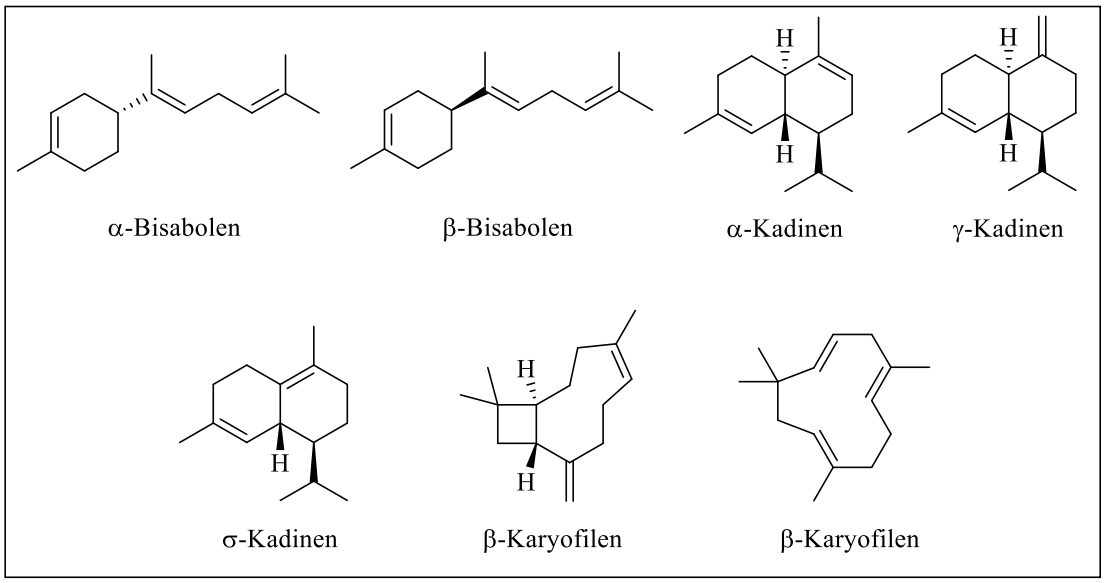
Özer (2020) yaprak ve çiçekten elde edilen uçucu yağda sırasıyla %0,2 ve %0,1'den daha az oranda α-humulen tespit etmiştir. Uçucu yağ yaprakta %3,1; çiçekte ise %73,5 seskiterpen hidrokarbon içermiştir.

Sarıkaya. (2019) uçucu yağın %2,32 oranında karyofilen, % 0,17 .α.-humulen; % 0,12 β- bisabolen içerdiğini tespit etmiştir [41].

Demirci ve ark. (2004) %0,1 β-karyofilen; %0,1 α-humulen; %1,2 β- bisabolen; %0,1 δ – kadinen; %0,1 γ-kadinen; % 0,1'den az oranda (E) α-bisabolen tespit etmiştir [42].

Vanti ve ark. (2021) bitkinin uçucu yağında %0,7 β-karyofilen; %0,7 β-kubeben; %2,3 β-bisabolen; %0,1 δ-kadinen tespit etmiştir. Uçucu yağın %4,1 oranında seskiterpen hidrokarbon taşıdığı belirlenmiştir [43].

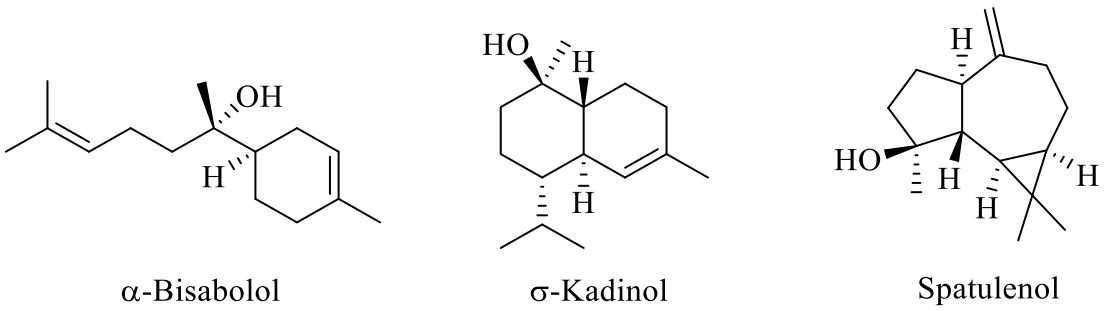
Tomsuk ve ark. (2024) uçucu yağda %0,7 β-karyofilen ve %2 β-bisabolen tespit etmiştir [44]. Fidan ve ark. (2020) %3,09 β-karyofilen; %0,37 α-karyofilen; %0,99 β-bisabolen tespit etmiştir. Uçucu yağın %4,77'si seskiterpen hidrokarbonlardan oluşmaktadır [36]. *O. onites* bitkisinde bulunan seskiterpen hidrokarbon bileşikler Şekil 2.10'da gösterilmiştir.



Şekil 2.10: *O. onites* bitkisinde bulunan seskiterpen hidrokarbonlar.

2.2.4.4. Oksijenlenmiş seskiterpenler

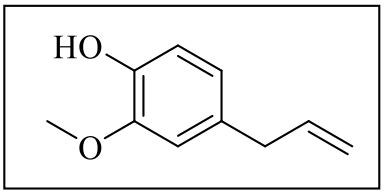
Özer. (2020) bitkinin yaprak ve çiçeğinden elde edilen uçucu yağda yalnızca çiçekte %0,1 oranda α-kadinol, spatulenol ise yaprakta %0,2 ve çiçekte %0,1 oranlarındadır. Yaprak ve çiçekten elde edilen uçucu yağın her ikisinde de %0,2 oranında oksijenlenmiş seskiterpen tespit edilmiştir [40]. Sarıkaya. (2019) %0,16 oranında oksijenlenmiş seskiterpen tespit etmiştir [41]. Demirci ve ark. (2004) %0,3 oranında T-kadinol ve %0,3 spatulenol tespit etmiştir [42]. Vanti ve ark. (2021) %0,2 oranında uçucu yağ içerisinde oksijenlenmiş seskiterpen tespit etmiştir [43]. Bu gruptan spatulenol %0,1 oranında yağın içerisinde belirlenmiştir. Fidan ve ark. (2020) %0,22 spatulenol; % 0,32 α-kadinol; %0,20 α-bisabolol bulmuştur. Oksijenlenmiş seskiterpenler yağın %1,48'ini oluşturmuştur [36]. *O. onites* bitkisinde bulunan seskiterpen hidrokarbon bileşikler Şekil 2.11'de gösterilmiştir.



Şekil 2.11 : *O. onites* bitkisinde bulunan oksijenlenmiş seskiterpenler.

2.2.4.5. Fenilpropanoitler

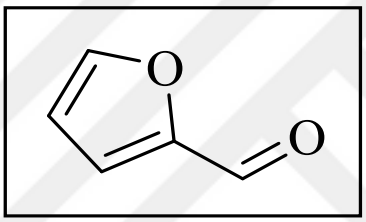
Demirci ve ark. (2004) %0,1 ‘den daha az oranda öjenol (Şekil 2.12) tespit etmiştir [42].



Şekil 2.12 : Öjenol.

2.2.4.6. Diğer bileşenler

Demirci ve ark. (2004) %0,1‘den daha az oranda furfural (Şekil 2.13) tespit etmiştir [42].



Şekil 2.13 : Furfural.

2.3. *O. onites* Uçucu Yağı ve Karvakrolün Biyolojik Aktivitesi

2.3.1. Antioksidan aktivite

Antioksidan aktivite, serbest radikallerin insan vücudundaki zararlı etkilerini azaltma anlamına gelir. Bu sayede vücuttaki hücre hasarı engellenir veya yavaşlatılır. *O. onites* bitkisinin antioksidan aktivitesi birçok çalışmada gösterilmiştir. Canli ve ark. (2023) *O. onites* DPPH radikal süpürme aktivitesi testinde etanol ekstraktının aktivitesini askorbik asitten yüksek bulmuştur. Bu değer 200.000 µg/mL konsantrasyonda (en yüksek konsantrasyon) askorbik asit için %94,67 iken *O. onites* etanol ekstraktı için %99,34; 1,075 µg/mL konsantrasyonda (en düşük konsantrasyon) askorbik asit için %8,74 iken; *O. onites* etanol ekstraktı için % 59,83 değeriyle yaklaşık 7 kat daha fazla aktivite göstermiştir [45].

Kubiliene ve ark. (2023) *O. onites* etanol ekstraktı ve lipozomal halde enkapsüle edilmiş %95,04 oranında karvakrol taşıyan uçucu yağ ile *in vivo* bir çalışma yapmış

ve her iki ekstraktın da farelerin beyin ve karaciğerinde antioksidan etkiye sahip olduğunu tespit etmiştir [46].

O. onites ekstraktlarında görülen bu yüksek oranda antioksidan aktivite varlığı, bitkinin içerdiği fenolik bileşiklere dayandırılmaktadır [36].

2.3.2. Antibakteriyel aktivite

O. onites uçucu yağı yüzyıllardır antibakteriyel amaçla kullanılmaktadır. Bakteriyel enfeksiyonları tedavi etme ve gıdaları bakterilerden korumak için bu uçucu yağdan yararlanılır.

Kotan ve ark. (2014) *O. onites* uçucu yağı, hekzan ekstraktı üzerinde 14 farklı fitopatojenik bakteriye (*Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis, Erwinia amylovora , Erwinia carotovora* ssp. *atroceptica, Erwinia chrysanthemi, Pseudomonas cichorii, Pseudomonas syringae* pv. *syringae, Pseudomonas syringae* pv. *tomato, Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum, Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria, Xanthomonas axonopodis* pv. *campestris, Xanthomonas axonopodis* pv. *vitians, Xanthomonas axonopodis* pv. *pelargonii, Xanthomonas campestris* pv. *raphani, Xanthomonas campestris* pv. *zinniae)* karşı antibakteriyel aktivite çalışmıştır. Uçucu yağ %70,50 karvakrol taşırken, hekzan ekstraktı %80,50 oranında karvakrol taşımaktadır. Çalışmada ekstrakt ve uçucu yağ tüm patojenlere karşı 36-8 mm'lik inhibisyon bölgeleriyle güçlü etki göstermiştir. Ancak hekzan ekstraktı *X. campestris pv. zinniae* bakterisine karşı herhangi bir aktivite göstermemiştir. İnhibisyon zonları ve MIC değerleri uçucu yağda hekzan ekstraktından daha yüksek çıkmıştır [47].

2.3.3. Antiparaziter aktivite

Paraziter hastalıklar dünyada 2 milyardan fazla insanı etkilemektedir. Etkilenen popülasyonda özellikle yoksul insanlar arasında ciddi ölümlere ve hastalıklara sebep olur. Günümüzde özellikle protozoa ve helmintik enfeksiyonların tedavisine odaklanılmaktadır [48].

Tasdemir ve ark. (2019) *O. onites* uçucu yağı ve uçucu yağ bileşenleri ile antiprotozoal aktivite çalışması yapmıştır. Bu çalışmada yağın ana bileşenini %70,6 ile karvakrol ve %1,8 oranında timol oluşturmaktadır. *Trypanosoma brucei rhodesiense, Plasmodium falciparum, Tripomastigot* formları ve *T. cruzi* ve *Leishmania donovani* parazitleri antiprotozoal aktivite için kullanılmıştır. Uçucu yağ *Trypanosoma brucei rhodesiense*

parazitine karşı önemli bir *in vitro* aktivite göstermiştir. *Plasmodium falciparum* ve *Leishmania donovani* 'ye karşı ise orta derecede aktivite göstermiştir. Memeli hücre hattıyla yapılan toksisite çalışmasında en yüksek dozda (>90 µg/mL) bile sitotoksik aktivite göstermemiştir. Karvakrol ve timol bileşenleri ise bu parazitlerde çok düşük aktivite göstermiştir. Çalışma sonucunda *O. onites* uçucu yağının protozoal enfeksiyonlarda tedavi için bir aday olabileceği sonucuna ulaşılmıştır [49].

Coşkun ve ark. (2008) *O. onites* uçucu yağı ile yaptığı çalışmada karvakrol %64,3 ile majör bileşiktir ve *Rhipicephalus turanicus*'a karşı test edilmiştir. %1,5; %3,2; %6,25; %12,5; %25; %50 ve %100 (h/h)'lük konsantrasyonlar hem uçucu yağ hem de karvakrol için kullanılmıştır. Saf karvakrol 6 saatlik maruziyetten sonra tüm parazitleri öldürürken, uçucu yağ %25 ve daha yüksek konsantrasyonlarda 24 saatlik maruziyetten sonra parazitleri öldürmede etkili olmuştur (p<0,05). %6,25 ve %12,5'lik konsantrasyonlar ise 2. günde tüm parazitleri öldürmüştür. Bu çalışma sonucunda bitkinin uçucu yağının kene istilasını önlemede uygun konsantrasyonlarda kullanım potansiyeli olduğu sonucuna ulaşılmıştır [50].

2.3.4. Antifungal aktivite

Antifungaller enfeksiyondan sorumlu mantar ve sporların gelişimini inhibe eden veya ortadan kaldıran maddelerdir. Özellikle gıdaların korunmasında doğal ürünler günümüzde antifungal aktiviteleriyle tercih edilmektedir. Sivrikaya ve ark. (2021) *O. onites* uçucu yağı ile yaptığı çalışmada *O. onites* uçucu yağı, uygulanan üç dozda (1, 2 ve 4 µl ml-1) *Fusarium solani*'nin misel gelişiminde %78,91-%82,70 oranları arasında bir engelleme göstermiştir. Çalışma sonucunda sentetik fungisitlere bitkilerden elde edilen yağların alternatif olabileceği düşünülmüştür [51].

Korukluoğlu ve ark. (2009) *O. onites* uçucu yağı ile *Alternaria alternata, Aspergillus flavus* (iki suş), *Aspergillus niger* (iki suş), *Aspergillus parasiticus, Fusarium semitectum, Fusarium oxysporum, Mucor racemosus* ve *Penicillium roqueforti*'nin üzerinde disk difüzyon metodu ile antifungal aktivite çalışmaları yapmıştır. *O. onites* uçucu yağı test mantarlarının hepsini inhibe etmiştir. Sırasıyla 8,5 mg/mL ve 9,0 mg/mL ile en düşük MIC değeri ve MFC değerini vermişlerdir (P <0,005). Ancak yağ içeriğinde karvakrol ve timol bulunmasına rağmen mayör bileşen p-simen olarak tespit edilmiştir [52].

Altıntaş ve ark. (2019) *O. onites* uçucu yağını hidrodistilasyon ve mikrodalgalı hidrodistilasyon ile elde etmiş ve yağın analizinde karvakrol sırasıyla %76,8 ve %79,2 oranlarda tespit edilmiştir. Timol ise sırasıyla %4,7 ve %4,4 oranda diğer majör bileşen olmuştur. Bu bileşenler *Colletotrichum acutatum, C. fragariae, and C. gloeosporioides* türlerine karşı değerlendirilmiş ve yalnızca karvakrol bu türler üzerinde seçici olmayan bir aktivite göstermiştir. 96 kuyucuklu mikrodilüsyon broth assay ile yapılan deneyde 30 µM dozun altında bu üç türe ait herhangi bir aktivite saptanmamıştır [53].

Koca ve Çevikbaş. (2014) yaptıkları çalışmada *O. onites* uçucu yağını *Astacus leptodactylus* Eschscholtz üzerinde formaline alternatif bir antifungal olarak gözlemlemişlerdir. Bu organizmanın yapay inkübasyonu sıklıkla *Saprolegniales* mantarlarından etkilenir. Yumurtalarda su küfü enfeksiyonuna sebep olabilir ve tedavisi zordur. Deney öncesi analizi yapılan yağda karvakrol oranı %80,58; timol oranı ise %0,31 olarak bulunmuştur. Çalışma sonucunda 1000 ppm dozda *O. onites* uçucu yağı daldırma tedavisi ile organizmanın yumurtalarındaki yapay inkübasyonda yumurtadan çıkma oranını iyileştirmek için formaline alternatif olarak değerlendirilmiştir [54].

2.3.5. İnsektisidal aktivite

İnsektisidal aktivite için birçok pestisitten faydalanılsa da daha çok çevre dostu ürünler günümüzde bir alternatif olarak araştırılmaktadır. Bitkilerden elde edilen uçucu yağlar ve ekstraktlar da bu amaçla kullanılmak için düşünülebilecek önemli adaylardır. Alkan. (2020) *Rhyzopertha dominica, Tribolium confusum, Sitophilus granarius* ve *Sitophilus oryzae* ile *O. onites* uçucu yağınının fumigant aktivetisini ölçmüştür. Bu çalışmada *O. onites*'in ana bileşenleri, thymol %22,9; γ-terpinene %13,0; p-simen %12,9; karvakrol %7,2 olarak tespit edilmiştir. Yağ %0,1 oranında aseton ile hazırlanmış ve 10 µl dozda uygulanmıştır. Yapılan çalışmada *Rhyzopertha dominica* ve *T. confusum* erginlerinde *O. onites* uçucu yağı %100 ölüme neden olmuştur ve sırasıyla 24 saat sonra %91,0±2,08 ve % 52,7±2,05 oranında aktivite göstermiştir. *Sitophilus oryzae* için ise %70,3±2,50 oranında ölüm oranı saptanmıştır. Ancak *Sitophilus granarius* için önemli bir aktivite saptanmamıştır [55].

Ayvaz ve ark. (2010) *O. onites* uçucu yağınının insektisidal aktivitesini *Ephestia kuehniella, Plodia interpunctella, Acanthoscelides obtectus* üzerinde incelemiştir.

Elde edilen sonuçta uçucu yağ *P. interpunctella* ve *E. kuehniella*'ya karşı sırasıyla 9 ve 25 mikrol/l havada 24 saat sonra %100 ölüm oranı göstermiştir. Yağ içeriğinde %70,27 karvakrol, %9,34 timol taşımaktadır. *Acanthoscelides obtectus* için ise diğerleri kadar yüksek bir aktivite tespit edilememiş ve maruziyet süresinin aktivite için daha önemli olabileceği düşünülmüştür [56].

Erenler ve ark. (2018) *O. onites* uçucu yağının insektisidal aktivitesini *S. granarius* ve *S. oryzae* için sırasıyla 1 µL/insekt doz için 24 saatte %99,86 ± 0,42 ve %97,96 ± 0,07 olarak bulmuştur. Yağ içeriği %88,7 oranında karvakrol ve %0,24 timol taşımaktadır. Buradan karvakrolün mükemmel bir insektisidal aktiviteye sahip olduğu ve saflaştırılarak kullanılması gerektiği sonucuna varılmıştır [57].

2.3.6. Sitotoksik, antikanserojen, antimutajen, antiproliferatif etkiler

Dünya Sağlık Örgütü tarafından sağlanan verilere göre kanser dünyada en çok ölüme sebep olan 2. hastalıktır. 2018 yılında bu hastalıktan 9,6 milyon kişinin öldüğü tahmin edilmektedir. Bu sebeple hastalık için birçok tedavi yöntemi var olmakla beraber yeni doğal tedavi yöntemleri aranmakta ve uçucu yağlar bu noktada umut vadedici olarak düşünülmektedir [58].

Becer ve ark. (2022) *O. onites* uçucu yağı ve karvakrolün HCT116 ve HepG2 hücreleri üzerinde sitotoksik aktivitelerini incelemiştir. Uçucu yağ içeriği %78,4 karvakrol ve %0,2 oranında timol taşımaktadır. Uçucu yağ ve karvakrol 4 farklı dozda (100-400 µg/ml) 24 ve 48 saat boyunca hücrelere uygulanmıştır. Çalışma sonucunda 48 saat boyunca 400 µg/ml dozda karvakrol ve uçucu yağ en yüksek sitotoksik aktiviteyi göstermiştir ve kanser tedavisi için uçucu yağların farmasötik ürünlere iyi bir alternatif olabileceği düşünülmüştür [59].

Sivas ve Tomsuk. (2011) *O. onites* uçucu yağı ve karvakrolün HepG2 hücreleri üzerinde antiproliferatif ve apoptotik aktivitesini incelemiştir. Uçucu yağ %74 oranında karvakrol ve %4,4 oranında timol taşırken, karvakrol %98 saflıktadır. Çalışma sonunda 24 saat içerisinde ikisinin de hücreler üzerinde antiproliferatif ve apoptotik etkisi olduğu tespit edilmiştir ve bu etki doza bağlı olarak artış göstermiştir. Yağ içeriğinde karvakrolün majör bileşen olması sebebiyle karvakrolün insan kanserli karaciğer hücreleri için iyi bir antikanser ajan olabileceği düşünülmüştür [44].

Özkan ve Erdoğan. (2011) *O. onites* uçucu yağı, karvakrol ve timol uçucu yağının karşılaştırmalı olarak antikanser aktivitelerini araştırmıştır. Yağ analiz edildiğinde uçucu yağın en önemli üç bileşeni sırasıyla linalol (%50,53), karvakrol (%24,52) ve timol (%15,66) olarak tanımlanmıştır. Hücre canlığı ve Hep G2 hücrelerinde hidrojen peroksidin indüklediği sitotoksisite ve membran hasarına karşı koruyucu etkisi araştırılmıştır. HepG2 hücreleri H_2O_2 uygulamasından önce, düşük konsantrasyonlarda *O. onites* uçucu yağı, karvakrol ve timol (<IC50) ile ön uygulamaya maruz bırakıldığında hücreler H_2O_2 tarafından indüklenen sitotoksisiteye karşı korunmuştur. Uçucu yağ, timol ve karvakrolden daha yüksek oranda membran koruyucu aktivite göstermiştir. Çalışma sonucunda bitkiden elde edilen uçucu yağ, karvakrol ve timolün karsinogenezi azaltabileceği tespit edilmiştir [60].

Spyridopoulou ve ark. (2019) *O. onites* uçucu yağı insan (HT29) kolon kanser hücre hattı ve fare (CT26) kolon kanser hücre hattı üzerinde antikanser aktivitesini test etmek için denemiştir. Yağ içeriği %47,99 karvakrol, %0,43 timol içermekte ve karvakrol majör bileşendir. Çalışmada kolon kanseri hücreleri uçucu yağa karşı yüksek duyarlılık göstermiştir. Uçucu yağ ile maruziyetlerinde 72 saatte HT-29 0,35 ± 0,20 µg/mL yağa, CT26 ise 1,10± 0,30 µg/mL yağa duyarlılık göstererek hücre büyümesinde azalma sağlanmıştır. Uçucu yağ farelerde kolon karsinoma tümörlerinin büyümesini oral alımda inhibe etmiştir. Çalışma uçucu yağın oral alımda antitümöral potansiyele sahip olduğunu öngörmüştür [39].

Bostancıoğlu ve ark. (2012) *O. onites* uçucu yağı için antiangiojenik ve antitümöral aktivite testleri gerçekleştirdi. Çalışmada yağ içeriği %64,3 karvakrol ve %1,4 timol şeklinde tespit edildi. Çalışmada 5RP7 sıçan fibroblast hücresi ve RATEC sıçan yağ dokusu endotel hücreleri üzerinde MTT testi ile uçucu yağın anti-tümöral aktivitesi incelendi. 62,5 µg/mL dozda yağ uygulandığında 4 gün boyunca her iki hücrede de önemli bir hücre canlılığı azalması görülmedi. Ancak 125, 250 ve 500 µg/mL'lik tedavide zaman ve konsantrasyona bağlı hücre canlılığında azalma meydana geldi. Bu üç konsantrasyonda yağ sağlıklı hücrelerden (RATEC) daha çok kanser hücre hattına (5RP7) toksik etki gösterdi. Böylece uçucu yağın proliferasyona karşı seçini aktivite gösterdiği ve sitotoksik aktiviteye sahip olduğu gösterildi. Yapılan antianjiyojenik testlerde ise 62,5 ve 125 µg/mL'lik konsantrasyonlarda sadece kanser hücre hattına (5RP7) oldukça toksik etki gösterdi. Böylece antianjiyojenik bir ajan olarak da iyi bir

aday olabileceği düşünüldü ve kanseri önleme stratejisi için iyi bir alternatif olarak öngörüldü [61].

Rasgele ve Altın. (2023) *O. onites* uçucu yağı için antimutajenik aktivite çalışması yapmıştır. Antimutajenik etki <%20 negatif, %20-40 orta, >%40 yüksek aktivite olarak belirlenmiştir. Yağ içeriğinde timol %21,41 oranla majör bileşen olarak bulundu. *O. onites* uçucu yağının en düşük konsantrasyonda (0,01 µl/plate) orta düzeyde antimutajenik etkiye ve *Salmonella typhimurium* TA98 suşu üzerindeki diğer tüm konsantrasyonlarda güçlü antimutajenik etkiye sahip olduğu görüldü. *O. onites*'nin uçucu yağının 0,01; 0,05 ve 0,1 µl/plaka konsantrasyonları *S. typhimurium* TA100 suşuna karşı güçlü bir antimutajenik etki göstermiştir. Uçucu yağın *S. typhimurium* TA100 üzerindeki NaN_3'e karşı inhibisyon oranları %93,38 ile %99,83 arasında değişmiştir [62].

2.3.7. Asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz inhibisyonu

Asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz çeşitli kimyasal bileşiklere duyarlı hafıza ve bilişte önemli bir yeri olan iki enzimdir. Özellikle alzheimer hastalığı için tedavi arayışı olan birçok araştırma bu iki enzim üzerinde çalışmaktadır [63, 64].

Jukic ve ark. (2007) timol ve karvakrolün asetilkolinesteraz inhibisyonunu incelemiş her iki molekülünde asetilkolinesteraz inhibitörleri olduğu sonucuna ulaşmıştır. Alzheimer hastalığı ve bilişsel hastalıkların tedavisinde her ikisinin de olası tedavi olarak daha fazla incelenmesi gerektiği düşünülmüştür [65].

Caputo ve ark. (2023) karvakrol molekülünün antikolinesteraz, α-amilaz ve nöroprotektif aktivitesini araştırmıştır. Karvakrol için IC50 değeri asetilkolinesteraz inhibisyonu için 3,8 ± 1,3 (µg/mL), bütirilkolinesteraz inhibisyonu için 32,7 ± 5,5 (µg/mL), α-amilaz inhibisyonu için ise 171,2 ± 10,8 (µg/mL) olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak karvakrol kolinesteraz enzimlerini inhibe etmiş ve molekülün nöroprotektif olarak aday olduğunu ispatlamıştır [66].

2.3.8. Hepatoprotektif etkiler

Barzan ve ark. (2023) erkek sıçanlarda diklofenak kaynaklı karaciğer hasarına karşı karvakrolün hepatoprotektif etki gösterdiğini tespit etmiştir. Diklofenak tedavisi sıçanlarda antioksidan sistemi indirgerken karvakrol katalaz, süperoksit dismutaz,

glutatyon peroksidaz ve glutatyon gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini arttırarak karaciğeri koruyucu aktivite göstermiştir [67].

Cerrah ve ark. (2023) akrilamidin sebep olduğu oksidatif stres ve inflamatuvar kaynaklı karaciğer toksisitesi için karvakrol molekülünü sıçanlar üzerinde araştırmıştır. Bunun için karvakol introperitoneal olarak 50 mg/kg olarak enjekte edilmiş daha sonra 20 mg/kg akrilamid oral olarak verilmiştir. Bu işlem 30 gün boyunca tekrar edilmiş ve fareler öldürüldükten sonra karaciğer dokularındaki malondialdehit (MDA) ve total glutatyon (tGSH) düzeyleri, total oksidan (TOS) ve total antioksidan durum (TAS), tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-α), interlökin-1beta (IL-1β) ve nükleer faktör kappa b (NF-κB) ölçülmüştür. Kan serum örneklerinde alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) düzeyleri belirlenmiştir. Karaciğer dokuları histopatolojik olarak da incelenmiştir. Akrilamit grubunda malondialdehit, TOS, ALT, AST düzeyleri ve NF-κB, IL-1β ve TNF-α düzeyleri yüksek, tGSH ve toplam antioksidan durum düzeyleri düşük bulunmuştur. Ayrıca akrilamit grubunda karaciğer dokularında hepatositlerde yaygın dejeneratif değişiklikler ve nekroz, portal bölgede orta düzeyde inflamasyon tespit edilmiştir. Buna karşılık karvakrol akrilamidin neden olduğu biyokimyasal değişiklikleri önlerken histolojik yapıdaki hasarı da hafifletmiştir. Çalışma sonucunda karvakrolün akrilamidin verdiği karaciğer hasarını engellemek için kullanılabileceği sonucuna varılmıştır [68].

Khan ve ark. (2019) fareler üzerinde yaptığı çalışmada karvakrolün 50 ve 100 mg/kg dozlarda uygulanan ön tedavisi ile etanol kaynaklı karaciğer fonksiyonu, antioksidan markerları, matris metalloproteinaz aktivite ve histolojik değişiklikler kaynaklı negatif etkileri tersine çevirdiği tespit edilmiştir. Ayrıca karvakrol sitokrom P450'ye bağlanır ve ekspresyonunu inhibe etmektedir. Böylece çalışmada karvakrolün alkol kaynaklı karaciğer toksisitesini iyileştirmek için iyi bir adjuvan olarak kullanılabileceği gösterilmiştir [69].

Emre ve ark. (2023) karvakrolün formaldehite maruz kalan sıçan karaciğerini oksidatif stresi, asprosin ve subfatin hormonlarını düzenleyerek koruduğunu göstermiştir [70].

2.3.9. Gastrointestinal sistem üzerindeki etkiler

Türk etnobotanisinde *O. onites* birçok gastrointestinal hastalık için kullanılmaktadır. Dundar ve ark. (2008) *O. onites* esansiyel yağının intra-rektal ve intraperitonal uygulamasının sıçanlarda TNBS kaynaklı kolit üzerine etkilerini incelemiş ve %64,3 karvakrol ve %1,4 timol taşıyan uçucu yağın kolon yaralanmalarında 0,1 veya 1 mg/kg/gün konsantrasyonda yağın önemli bir koruyucu etkisi olduğunu tespit etmiştir [71].

Foote ve ark. (2023) karvakrolü insan bağırsak mikrobiyatasına sahip farelere uygulamış ve akut kampilobakteriyozu hafiflettiğini tespit etmiştir [72].

2.3.10. Analjezik aktivite

O. onites uçucu yağının analjezik aktivitesi olduğu bilinmektedir ancak bu alanda daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır. Aydın ve ark. (1996) *O. onites* uçucu yağının analjezik aktivitesi olduğunu tespit etmiş ve bu etkinin önceki çalışmalara da bakarak yağ içeriğindeki karvakrol miktarına bağlı olarak değiştiğini düşünmüştür [73]**.**

2.3.11. Kozmetik aanayiinde kullanıma yönelik çalışmalar.

2.3.11.1. Deri pigmentasyonu üzerindeki etkiler

Karvakrol günümüzde cilt üzerine etki eden birçok kozmetik üründe kullanılmaktadır. Jeon ve ark. (2018) karvakrolün antimelanojenik aktivitesini araştırmıştır. Çalışma sonucunda karvakrolün melanojenezde yer aldığı bilinen CREB proteininin, TRP-1 ve tirozinazın sentezini güçlü bir şekilde engellediğini göstermiştir. Ayrıca karvakrol melanin sentezinde yer alan çeşitli enzimlerin protein ekspresyon seviyelerini de düzenleyebilmektedir. Tüm bu sonuçlar karvakrolün melanin sentezi için önemli olan enzim ekspresyon seviyelerini azaltarak melanin sentezini inhibe edebileceğini işaret etmiştir [74].

2.3.11.2. Antikollajenaz aktivite

Literatürde *O. onites* uçucu yağı üzerinde yapılmış antikollajenaz aktivite çalışması bulunmamaktadır. Ancak uçucu yağ drogları ile yapılan birçok çalışma mevcuttur. Karvakrol gibi monoterpenoitler ve fenolik bileşikleri barındıran drogların da antikollajenaz aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Antikollajenaz aktivitenin

drogtaki monoterpenlerden veya fenolik bileşiklerden kaynaklandığı düşünülmüştür [75-78].

Laothaweerungsawat ve ark. (2020) *Origanum vulgare* L. uçucu yağı ile yaptıkları çalışmada tropikal bölge ve Akdeniz bölgesinden iki farklı bitki kullanmıştır ve her iki bitki de karvakrol bileşiğini majör bileşik olarak içermektedir. Karvakrol miktarı tropikal bölgeden alınan bitkide %79,5 ve Akdeniz bölgesinden alınan bitkide ise %64,6 oranındadır. Çalışma sonucunda tropikal bölgede yetiştirilmiş ve karvakrolü daha yüksek oranda taşıyan bitkinin antikollajenaz aktivite sonucunda da Akdeniz bölgesinden alınan bitkiye göre daha yüksek aktivite göstermiştir. Bu sonuç türün kozmetik endüstrisinde doğal bir yaşlanma karşıtı ürün adayı olabileceğini göstermiştir [8].

O. onites bitkisi ve karvakrol bileşeni gıda, ilaç, kozmetik endüstrisinde kullanılmaktadır ve literatürde bu iki önemli doğal ham madde üzerine çalışmalar devam etmektedir. Günümüzde yapılan çalışmalarda karvakrol bileşeni farklı polimerik yapılara yüklenmektedir ve böylece istenmeyen etkileri azaltılmaktadır. Kozmetik endüstrisinde kullanılmak üzere molekülün antibakteriyel, antioksidan etkilerinden faydalanılmaktadır. Ayrıca çevre dostu doğal ürünler olmaları da endüstride kullanılmaları için avantaj sağlamaktadır. [79].

Özen ve ark. (2024) timol ve karvakrol içeren polimeri lifli yapıları incelemiş insan sağlığında yara iyileşmesi ve doku mühendisliğinin yanı sıra hijyen ve koruyucu bakım, konfor ve refah alanlarında da yeni ve çeşitli uygulamalara olanak tanıyacağını öngörmüştür [80].

2.3.12. Karvakrol bileşiğine ait diğer biyolojik aktivite çalışmaları

Karvakrol bileşeni *O. onites* uçucu yağında majör bileşen olarak asıl etkiyi gösteren moleküldür. Bu etkiden daha fazla yararlanabilmek için molekül izole edilerek gösterdiği aktiviteler test edilmektedir. Yapılan çalışmalarda antimikrobiyal, antiinflamatuvar ve antioksidan aktivite gibi birçok biyolojik aktivite tespit edilmiştir.

Maczka ve ark. (2023) yaptıkları özet çalışmada karvakrolün tek başına veya diğer bileşenlerle beraber insan sağlığına zarar veren ve ekonomik anlamda zarar verebilecek birçok mantar ve bakteri üzerinde güçlü bir antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bildirmiştir. Aynı zamanda vücuttaki proinflamatuar sitokinlerin

seviyesini azaltarak güçlü antiinflamatuvar özellik gösterdiği de bilinmektedir. Karvakrolün insanlardaki metabolizması hakkındaki veriler sınırlı olmasına rağmen güvenilir bir bileşik olarak kabul edilmektedir [81].

Rathod ve ark. (2021) bitkisel kaynaklı karvakrol ve timol gıdaların raf ömrünü uzatma potansiyelini vurgulamıştır. Karvakrolün antiviral aktivitesinin SARS-CoV-2 virüs mücadelesinde destekleyici bir bileşen olabileceğini bildirmiştir. Ayrıca timol ve karvakrol gösterdiği birçok biyolojik aktiviteleri sayesinde nütrasötiklerde yer alan önemli bileşenler olarak vurgulanmıştır [82].

Karvakrol ve karvakrol içeren uçucu yağların aktivitesi özetlendiğinde yukarıda da bahsedildiği gibi antimikrobiyel , antioksidan , antigenotoksik , antimutajenik, antitümör, antifungal, akarisidal, insektisidal, larvasidal aktivite, antispasmodik, antiürolitik, antinosiseptive ve antiinflamatuvar aktivite, antidiyabet, antiobesite, antiangiojenik, vazorelaksant ve kardiyovasküler aktivite, terapötik hipotermik etki, antidepresan ve anksiyolitik aktivite, antiplatelet aktivitelere sahip olduğu bilinmektedir [11, 83].

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar

3.1.1 Cihazlar

UV-Vis spektrofotometre (Shimadzu, Kyoto, Japonya)

Zeta Sizer Nano ZS (Malvern Instruments, Malvern, UK),

Manyetik karıştırıcı

Liyofilizatör (Biobase, Shandong, Çin)

Santrifüj (Universal 320R, Tuttlingen, Almanya)

Homojenizatör (Bandelin HD, Berlin, Almanya)

Agilent 7890B GC-FID Agilent 5977E MS Dedektörlü (Santa Clara, CA, USA).

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Vortex (Biocote)

Hassas terazi (Ohaus/ PA214C)

3.1.2. Kimyasallar

O. onites uçucu yağ (Fitovizyon Doğal ve Sağlıklı Yaşam San. Tic. Ltd. Şti, İstanbul, Türkiye).

Polikaprolakton (PCL) (Merck Millipore Burlington, MA, USA)

Polivinil alkol (PVA) (Merck Millipore Burlington, MA, USA)

Diklorometan (DCM) (Merck Millipore Burlington, MA, USA)

Sodyum klorür (NaCl) (Merck Millipore Burlington, MA, USA)

Hidroklorik asit (HCl) (Merck Millipore Burlington, MA, USA)

Sodyum karbonat (Na_2CO_3) (Merck Millipore Burlington, MA, USA)

n-Hekzan (C_6H_{14}) (Merck Millipore Burlington, MA, USA)

Sitrik asit ($C_6H_8O_7$) (Merck Millipore Burlington, MA, USA)

Sodyum sülfat (Na_2SO_4) (Merck Millipore Burlington, MA, USA)

Sodyum hidroksit (NaOH) (Merck Millipore Burlington, MA, USA).

HaCaT hücre hattı (Thermo Fisher Scientific).

Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (Merck Millipore Burlington, MA, USA)

*Clostridium histolyticum'*dan elde edilmiş kollajen (Merck Millipore Burlington, MA, USA)

N-(3-(2-furyl) acryloyl)-Leu-Gly-Pro-Ala (FALGPA) (Merck Millipore Burlington, MA, USA)

Trisin buffer (Merck Millipore Burlington, MA, USA)

Epigallokateşin gallate(EGCG) (Merck Millipore Burlington, MA, USA)

3-(4,5-Dimetiltiazol-2-yl)-2,5-Difenilltetrazolyum Bromit (MTT) (Biomatik (Ontario, Kanada).

Penisilin-Streptomisin Solusyonu (Biyolojik Endüstri)

Fetal Bovin Serum (FBS) (Biyolojik Endüstri)

3.2. Uçucu Yağdan Karvakrol Eldesi

Karvakrol ekstraksiyonu Assadi ve ark. (2014)'ın yaptığı ekstraksiyon metodu geliştirilerek edilerek uygulanmıştır [84]. *O. onites* uçucu yağı ilk olarak %10'luk Na_2CO_3 çözeltisi ile karıştırılmış ve böylece yağ içerisindeki fenolik bileşiklerin kullanılan baz ile reaksiyona girmesi sağlanmıştır. Ayırma hunisinde alt faz alınarak atılmış sadece karvakrolün bulunduğu üst faz alınmıştır. Bu fazın pH değeri $C_6H_8O_7$ ile 3,4'e ayarlanmıştır. Tekrar ayırma hunisine alınan uçucu yağın üst fazında karvakrolün ayrıldığı gözlemlenmiş ve alt faz atılarak karvakrol elde edilmiştir. Elde edilen karvakrol susuz Na_2SO_4 çözeltisi ile neminden kurtarılmıştır.

3.3. GC-FID/MS ile Uçucu Yağ Analizi

Uçucu yağ bileşenlerinin tanımlanması Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi, bağıl yüzdelerin belirlenmesi ise Gaz Kromatografisi Alev İyonlaşma Dedektörü kullanılarak yapılmıştır.

3.3.1. GC-FID şartları (Gaz Kromatografisi Alev İyonlaşma Dedektörü)

Bezmialem Vakıf Üniversitesi Fitoterapi merkezinde uçucu yağ analizinde kullanılan yöntem kullanılarak analizler gerçekleştirilmiştir.

Sistem: Agilent 7890B Gaz Kromatografi Sistemi

Kolon: Agilent DB-Wax (60m x 0,25mm x 0,25 µm)

Dedektör: FID (Alev İyonlaşma Dedektörü)

Enjeksiyon Sıcaklığı: 220^0C

Dedektör Sıcaklığı: 220^0C

Sıcaklık Programı: 70^0C(15 dak), 2^0C/dak → 180^0C (5 dak), 5^0C/dak → 230^0C (15 dak),

Toplam Analiz Süresi: 100 dakika

Taşıyıcı Gaz: 1,5 mL/dak Helyum

Enjeksiyon Hacmi: 1 µL

Split Oranı: 1:50

FID Hidrojen akış hızı: 30 mL/dak

FID Hava akış hızı: 400 mL/dak

GC-MS cihazı şematik gösterimi Ek A'da verilmiştir.

3.3.2. GC-MS şartları (Gaz kromatografisi kütle spektroskopisi)

Bezmialem Vakıf Üniversitesi Fitoterapi merkezinde uçucu yağ analizinde kullanılan yöntem kullanılarak analizler gerçekleştirilmiştir.

Sistem: 5977E

İyon Kaynağı Sıcaklığı: 230°C

İyonizasyon Modu: EI

Elektron Enerjisi: 70 eV

MS Detektör transfer hat sıcaklığı: 250°C

Quadropol Sıcaklığı: 150°C

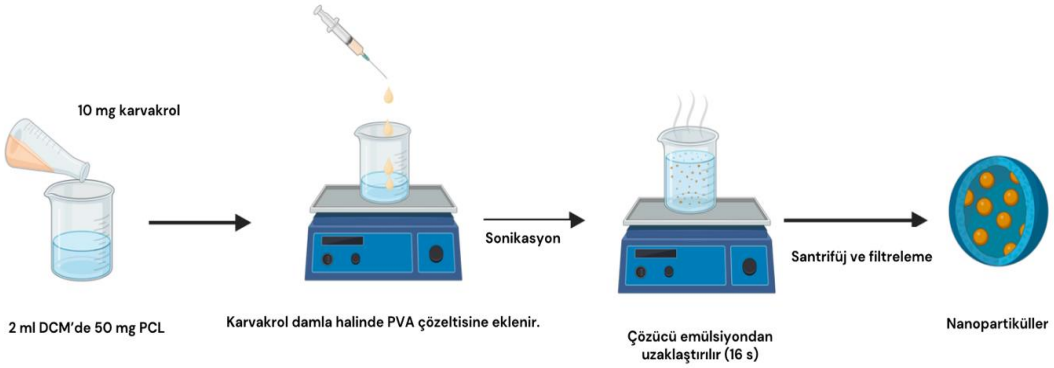
Kütle Aralığı: 45-450 m/z

Tanımlamalar: Wiley 9-NIST 11 Mass Spectral Database

Uçucu yağ kimyasal bileşenleri; Wiley Mass Spectral Data Registry ve NIST 11 Mass Spectral Library (NIST11/2011/EPA/NIH) kütüphanesinden elde edilen kütle spektrumlarının karşılaştırılması ile tanımlanmıştır. DB-WAX kolonu üzerindeki bileşiklerin relatif alıkonma indislerine (RRI) dayanan tanımlama yöntemi, FID verilerinden elde edilen doymuş n-alkan serisine (C7-C40) göre hesaplanmıştır. Sonuçlar, NIST online web kütüphanesi ve literatürdeki önceki çalışmalar kullanılarak değerlendirilmiştir. GC-FID/MS'de aynı çalışma koşulları için üç ayrı eşzamanlı otomatik enjeksiyon gerçekleştirilerek bileşiklerin relatif yüzde miktarları FID kromatogramlarından hesaplanmıştır.

3.6. Karvakrol-NP'lerin Hazırlanması

Karvakrol NP'ler tekli emülsiyon metodu ile Şekil 3.1'de gösterildiği gibi Ercin ve ark. (2022)' nın metoduna göre hazırlanmıştır [76] .PCL çözeltisi 50 mg PCL 2 ml DCM'de çözülerek hazırlanmıştır. Daha sonra 10 mg karvakrol PCL çözeltisine eklenmiş ve manyetik karıştırıcı ile karvakrolün çözelti içerisinde uniform dağılımı sağlanmıştır. Karvakrol-PCL çözeltisi damla damla %3'lük PVA sulu çözeltisine bir enjektörler eklenmiştir. Böylece emülsifikasyon sağlanarak ilk emülsiyon elde edilmiş ve sonikasyon (Bandelin, Sonopuls, Berlin, Germany) ile homojen hale getirilmiştir. Sonikasyon 3 dk boyunca 70 W enerji ile buz banyosunda yapılmıştır. Böylelikle nanopartikülün formüle edilmesi sağlanmıştır. Manyetik karıştırıcıya alınarak 16 saat boyunca DCM çözeltisi uçurulmuş ve hazırlanan karvakrol-NP'ler çözücüden kurtarılmıştır. Saflaştırılmaları için ise 3 çevrimli santrifüj adımı 8000 rpm'de 40 dk boyunca uygulanmıştır. Son olarak karvakrol-NP'ler 0.45 µm selüloz membran filtrelerden geçirilerek kalan büyük partiküllerden arındırılmıştır.



Şekil 3.1: Karvakrol-NP'lerin tekli emülsiyon yöntemiyle hazırlanması [85].

3.7. Karvakrolün Spektrofotometrik Analizi

Karvakrol spektrofotometrik analizi UV-Vis spektrometresi kullanılarak yapılmıştır. Karvakrol 7 farklı konsantrasyonda etanol içerisinde çözülmüştür. Bu konsantrasyonlar 22; 11; 5,5; 2,75; 1,375; 0,6875 ve 0,34375 µg/mL'dir. Bu konsantrasyonlar ile 276,7 nm'de karvakrolün kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Kalibrasyon eğrisi karvakrolün enkapsülasyon verimi, *in vitro* salım profili ve yükleme kapasitesini hesaplamak için kullanılmıştır.

3.8. Karvakrol-NP'lerin Ortalama Parçacık Boyutu, PdI ve ZP Analizleri

Ortalama parçacık boyutu, PdI ve zeta potansiyel değerleri 25 °C'de 4.0 mV He-Ne lazer (633 nm) ile donatılmış ZetaSizer Nano ZS cihazı kullanılarak yapılmıştır. Her bir örnek taze olarak hazırlanmış ve karvakrol-PCL-NP süspansiyonu 1:10 oranında distile su ile hazırlanarak 3 tekrarlı ölçüm alınmıştır.

3.9. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Karvakrol-NP'lerinin morfolojik tayini SEM ile yapılmıştır. Karvakrol-NP'ler 15 dk boyunca ultrasonik banyoda ultra su içerisinde karıştırılarak çözülmüş ve daha sonra 10 µL örnek cam içerisine damlatılarak voda sıcaklığında 72 saat boyunca kurutulmuş ve böylece hazır hale getirilmiştir. SEM görüntüleri 3,53 KX büyütme, 10.00 kV elektron yüksek gerilimi ve 6,0 mm çalışma mesafesinde ikincil elektron dedektörü kullanılarak elde edilmiştir.

3.10. Enkapsülasyon Verimi ve Yükleme Kapasitesinin Belirlenmesi

Enkapsülasyon verimi solvent ekstraksiyon metodu ile belirlenmiştir [86]. Karvakrol-PCL NP'ler dimetil sülfoksit (DMSO) içinde çözülmüş, vortekslenmiş ve 8000 rpm'de 15 dk santrifüjlenmiştir. Süpernatanlar 276,7 nm'de UV-Vis spektrofotometrisi ile analiz edilmiştir. Boş NP'ler referans olarak kullanılmıştır. Toplam karvakrol içeriğinin belirlenmesi için standart karvakrol eğrisi kullanılmıştır. Kapsülleme verimliliği, Denklem (3.1)'e göre, yükleme kapasitesi Denklem (3.2)'ye göre hesaplanmıştır.

$$Enkapsülasyon\ verimi(\%) = \frac{Toplam\ yüklü\ karvakrol\ miktarı}{Başlangıçtaki\ yüklenen\ karvakrol\ miktarı} \times 100 \quad (3.1)$$

$$Yükleme\ kapasitesi\ (\%) = \frac{Yüklenen\ toplam\ karvakrol\ miktarı}{Dondurarak\ kurutma\ sonrası\ yüklenen\ karvakrol-PCL-NP\ miktarı-Karvakrolün\ ağırlığı} \times 100 \quad (3.2)$$

3.11. Karvakrol-PCL-NP'lerin *In Vitro* Salım Profili

Karvakrolün *in vitro* salım profili, 5 mg karvakrol-PCL NP'nin distile su içinde dağıtılması ve bir diyaliz kapsülüne konulmasıyla belirlenmiştir. Salım ortamı toplamda 50 mL fosfat tamponlu salin (%60; pH 5,5) + %40 etanolden oluşmuştur. Numuneler, ortam sıcaklığında yatay çalkalamalı su banyosunda 120 rpm'de inkübe edilmiştir [87]. Numuneler belirli zaman aralıklarında alınmış ve eşdeğer hacimde taze ortam ile değiştirilmiştir. Salım ortamından alınan numuneler bir UV-Vis spektrofotometre kullanılarak analiz edilmiştir. Karvakrolün PCL-NP'lerden salınma miktarı (%) Denklem (3.3) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$Salım\ (\%) = \frac{Salınan\ karvakrol}{Toplam\ karvakrol} \times 100. \quad (3.3)$$

3.12. Sitotoksik Aktivitenin Belirlenmesi

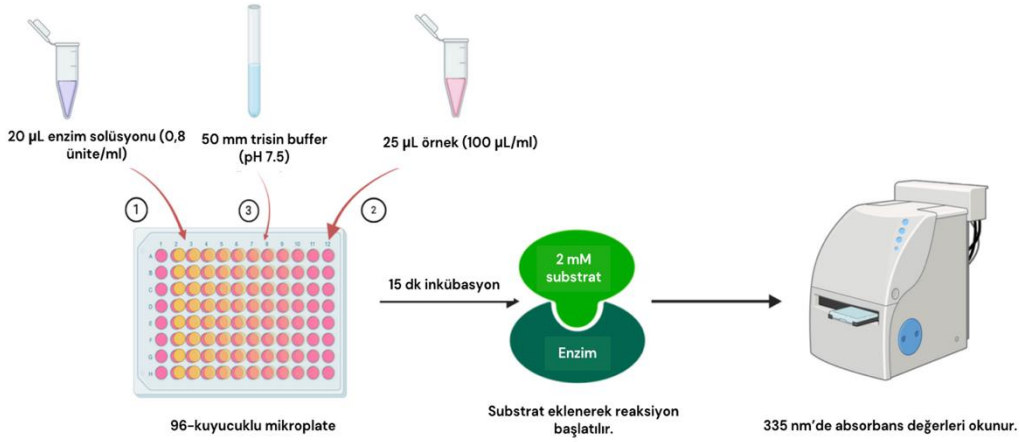
Karvakrol ve karvakrol-PCL-NP'lerin sitotoksisitesinin belirlenmesi, HaCaT hücre hattı kullanılarak MTT testi ile gerçekleştirilmiştir [88]. Hücre hattı 1 mL kültür ortamında (%10 FBS ve 100 µg/mL streptomisin ve 100 U/mL penisilin içeren DMEM) 105 hücre ile hazırlanmıştır. Daha sonra, 100 µL hücre solüsyonu, kuyucuk başına 1 x 104 hücre olacak şekilde 96 kuyucuklu bir mikroplakaya ekilmiştir.

Mikroplak, hücreleri büyütmek için %5 CO_2 inkübatöründe 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra besiyeri kuyucuklardan çıkarılmış ve her kuyucuğa 100 µL numune eklenmiştir. Her numunenin beş farklı konsantrasyonu (0,25, 0,5, 1, 1,5 ve 2 mg/mL) hücrelere eklenmiş ve 24 saat inkübe edilmiştir. Kontrol kuyucuklarına 100 µL DMEM ortamı; karvakrol için %0,1 DMSO eklenmiştir. 24 saatlik inkübasyonun sonunda 5 mg/mL MTT eklenerek 4 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra her kuyucuğa 100 µL DMSO eklenmiş ve 570 nm'deki absorbans değerleri kaydedilmiştir. Karvakrol ve Karvakrol-PCL NP'lerin hücre canlılığı Denklem (3.4) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$Hücre\ Canlılığı\ (\%) = \frac{Deney\ grubu\ absorbans\ değeri}{Kontrol\ grubu\ absorbans\ değeri} \times 100 \qquad (3.4)$$

3.13. Antikollajenaz Aktivitenin Belirlenmesi

Antikollajenaz aktivite, kollajenaz inhibitörlerinin varlığında kollajenaz ve sentetik substrat (FALGPA-N-(3-[2-Furil]-akriloil)-Leu-Gly-Pro-Ala) arasındaki proteolitik bozunmaya dayanmaktadır [89]. Bu çalışmada antikollajenaz aktivite *Clostridium histolyticum*'dan elde edilen enzim ile gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonu başlatmak için kollajenaz substratı olarak N-(3-(2-furil) akriloil)-Leu-Gly-Pro-Ala (FALGPA) kullanılmıştır. Deneyde, 96 kuyucuklu bir mikroplakaya 20 µL enzim çözeltisi (0,8 birim/mL), ardından 25 µL konsantrasyonda test edilen maddeler (100 µg/mL) ve son olarak 50 mM trisin tamponu (pH 7,5) yerleştirilmiş ve daha sonra 15 dakika boyunca inkübe edilmiştir. Daha sonra reaksiyonu başlatmak için 2 mM substrat ilave edilmiş ve bir mikroplaka okuyucu kullanılarak absorbanslar 335 nm'de ölçülmüştür (Şekil 3.2). Negatif kontrol olarak su kullanılmış ve pozitif kontrol olarak iyi bilinen doğal bir kollajenaz olan EGCG kullanılmıştır [90].



Şekil 3.2: Antikollajenaz Aktivitenin Belirlenmesi [85].

3.14. İstatiksel Analiz

MTT testinin istatistiksel analizi Tukey testi ile yapılmıştır. Tüm istatistiksel analiz çalışmalarında $P<0,05$ düzeyi anlamlı kabul edilmiştir. Tüm deneyler üç tekrarlı gerçekleştirilmiş ve veriler ortalama ± standart sapma olarak sunulmuştur.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. *O. onites* uçucu yağı ve karvakrol uçucu yağ ekstraktının bileşimi

O. onites esansiyel yağı farklı oranlarda oksijenli monoterpenler, monoterpen hidrokarbonlar, seskiterpen hidrokarbonlar, oksijenli seskiterpenler ve diterpenlerden oluşmaktadır. Karvakrol bu bileşikler arasında en yüksek miktarda bulunmasıyla majör bileşik olarak tanımlanır. Bazen ise timolün majör bileşik olduğu görülmektedir. Uçucu yağda bulunan karvakrol oranı iç ve dış birçok stres faktörüne bağlı olarak değişir. Bunlar; sıcaklık, nem ve ışık gibi stres faktörleri olabilmektedir. [39, 49].

Kızıl ve ark. (2008) karvakrol içeriğini gelişim aşamalarına göre kontrol etmiş %25,81 ile %57,00 arasında değiştiğini bildirmiştir [91]. Taşdemir ve ark., (2019) tarafından yapılan çalışmada bu değerin %70,6 olduğu görülmüştür [49]. Spyridopoulou ve ark. (2019) ise uçucu yağdaki karvakrol bileşimini %47,99 olarak tespit etmiştir [39]. Tüm bu çalışmalarda karvakrol uçucu yağın ana bileşiği olarak belirlenmiştir.

Karvakrol en yüksek miktarda majör bileşen olarak uçucu yağda bulunur, bu ise onun biyolojik aktiviteyi gösteren ana bileşik olduğunu düşünmemizi sağlar. Bu nedenle *Origanum vulgare* gibi ana bileşik olarak karvakrol içeren diğer *Origanum* türlerinin uçucu yağlarında bulunan karvakrolün aktivitesinden daha çok yararlanılmak istenmiş, bu sebeple bazı farklı teknikler denenmiştir. Laothaweerungsawat ve ark. (2020) yaptığı HPLC analizi ile *Origanum vulgare* L. uçucu yağında %83,7 karvakrol tespit etmiştir. Transdermal salımını arttırmak istediği için ise mikroemülsiyon halinde formülasyonunu yapmıştır [8].

Tablo 4.1 : *O. onites* uçucu yağ bileşimi [85].

Nu	Bileşik	R.T (Dakika)	R.IL	R.IC	Miktar (%)
1	α-Pinen	6.251	1012-1040	1014	0.682
2	Mirsen	10.093	1145-1169	1163	1.276
3	α-Terpinen	11.013	1170-1188	1180	1.214
4	γ-Terpinen	14.896	1221-1291	1246	3.039
5	p-Simen	16.620	1261-1283	1271	7.003
6	Karyofilen	39.890	1570-1617	1591	1.565
7	4-Terpineol	40.439	1594-1635	1599	1.807
8	Borneol	46.242	1704-1719	1706	3.538
9	Beta Bisabolen	47.856	1718-1741	1741	2.111
10	Timol	70.473	2189-2198	2191	11.802
11	Karvakrol	71.892	2210-2239	2220	65.964

* Bu sayılar bileşenlere aittir. R.T: Tutulma süresi (dak). R.IL: Literatürden ve NIST web kitabı veri tabanından elde edilen tutulma endeksleri. R.IC: Hesaplanan tutulma endeksleri.

Yaptığımız çalışmada endüstriyel ürün olarak *O. onites* uçucu yağı satın alınmıştır. Öncelikle yağın GC-MS ile bileşimi analiz edilmiştir. Analiz sonucunda %65,96 karvakrol tespit edilmiştir (Tablo 4.1). Karvakrol dışındaki yan bileşiklerden kurtulmak ve istenilen terapötik aktiviteyi arttırmak için karvakrol, *O. onites* uçucu yağından ekstrakte edilerek yaklaşık %61,9 verimle elde edilmiştir [84]. Bu sayede karvakrol oranı %85,02'e çıkarılmış ve %14,68 timol ve %0,30 borneol içeren, majör bileşiği karvakrol olan uçucu yağ ekstraktı elde edilmiştir (Tablo 4.2). Yapılan bu ekstraksiyon işlemi sayesinde karvakrol oranı literatürdeki diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında daha yüksek bir orana çıkarılmıştır [39, 49, 91]. Literatürdeki diğer çalışmalar, izolasyon yöntemlerinin saf bir karvakrol bileşiği sağladığını göstermektedir; ancak bakıldığında tüm bu süreç için için çok daha fazla zaman, pahalı cihazlar ve malzemeler gerektiği görülmektedir. Kullanılan bu ekstraksiyon yöntemiyle ise karvakrol çok daha düşük maliyetle ve çok daha kısa sürede elde edilmiştir [92, 93]. Bu nedenle, bu ekstraksiyon yönteminin, uçucu yağdan karvakrol eldesi için iyi bir endüstriyel yöntem olduğu düşünülebilir.

Tablo 4.2 : Karvakrol uçucu yağ ekstraktının bileşimi [85].

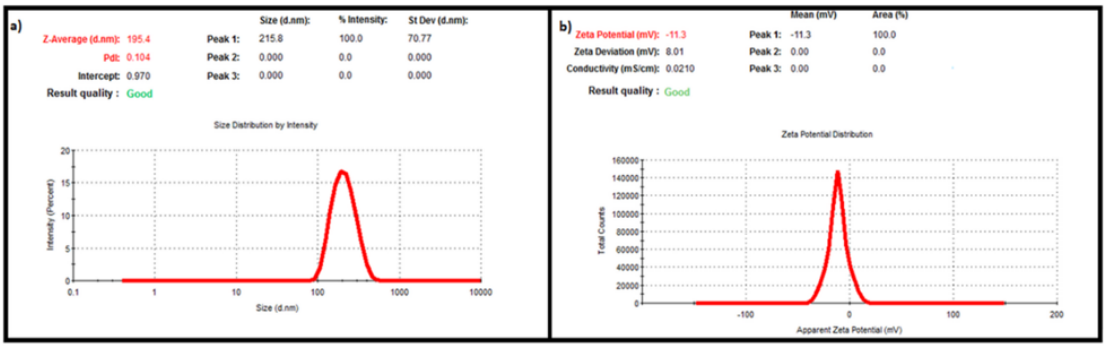
Nu	Bileşik	R.T (Dakika)	R.IL	R.IC	Miktar (%)
1	Borneol	49.281	1704-1719	1706	0.303
2	Timol	74.655	2189-2198	2191	14.676
3	Karvakrol	76.932	2210-2239	2220	85.021

* Bu sayılar bileşenlere aittir. R.T: Tutulma süresi (dak). R.IL: Literatürden ve NIST web kitabı veri tabanından elde edilen tutulma endeksleri. R.IC: Hesaplanan tutulma endeksleri.

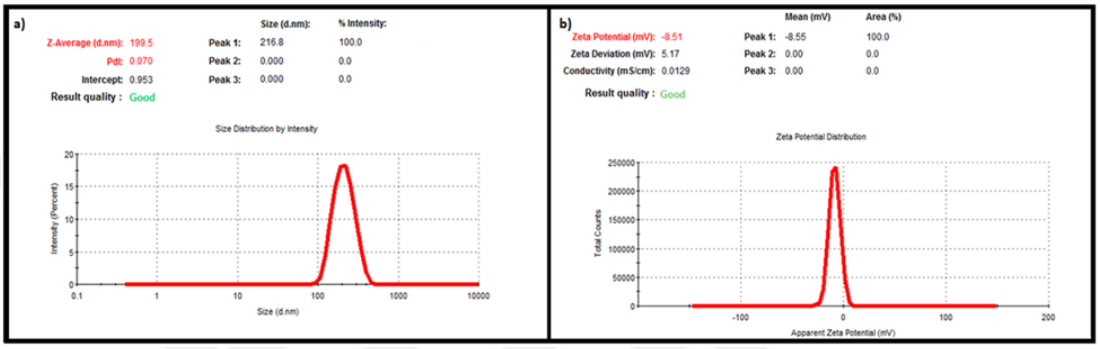
4.2. Ortalama Parçacık Boyutu, PdI ve ZP Analiz Sonuçları

Günümüzde özellikle nanopartikül parçacık boyutunun tespit edilmesinde dinamik saçılım spektrofotometresi (DLS) birçok bilimsel çalışmada ve endüstriyel alanda kullanılan güçlü bir araç olarak görülmektedir. Bu yöntemle ortalama parçacık boyutunun yanında nanopartiküllerin PdI ve ZP değeri belirlenir. Bu parametreler nanopartiküllerin karakterizasyonu için kullanılır. Ortalama parçacık boyutu ve PdI, nanoparçacığın biyodağılımı, hücresel emilimi ve ilaç salım profili için önemlidir. ZP değeri, ilaçların negatif ve pozitif yükleri arasındaki dengeyi ifade etmektedir. Hücresel alım ve aktif madde salınım profilleri hakkında yeterli öngörüyü sağlar ve rehberlik eder. Bu nedenle DLS, kozmetik endüstrisinde yeni preparatların formülasyonu, nanopartikül agregasyon araştırma ve geliştirme çalışmaları ve ilaçların kontrollü salım sistemleri için önemli bir yere sahiptir [94, 95].

Bu çalışmada nanopartiküllerin ortalama partikül boyutu, PdI ve ZP değerleri DLS analizi ile belirlenmiştir. Boş NP'ler için ortalama parçacık boyutu ve PdI değeri sırasıyla 195,4 ± 1,23 nm ve 0,104 ± 0,016 olarak bulunmuştur. ZP değeri −11,3 ± 0,85 mV olarak ölçülmüştür (Şekil 4.1). Karvakrol- PCL NP'lerin ortalama parçacık boyutu ve PdI değeri sırasıyla 199,5 ± 0,91 nm ve 0,070 ± 0,015'tir. ZP değeri ise −8,51 ± 0,76 mV olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.1: Boş NP DLS analizi: (a) ortalama parçacık boyutu ve (b) zeta potansiyel grafiği [85].



Şekil 4.2 : Karvakrol-PCL NP DLS analizi:(a) ortalama parçacık boyutu ve (b) zeta potansiyel grafiği [85].

Literatürde Cacciatore ve ark. (2022) karvakrol yüklü chia müsilajı için 179,0 ± 2,3 parçacık boyutu ve -11±1,4 mV değerinde ZP tespit etmiştir [13]. Akhlaq ve ark. (2023) karvakrol yüklü kitosan nanopartiküllerinin ortalama parçacık boyutunu 80 nm, PdI değerini 0,221 ve ZP değerini +35,4 mV olarak bulmuşlardır [96]. Gamal ve ark. (2023) karvakrol yüklü invazom nanopartiküllerini geliştirmiş ve ZP değerini −4,37 ± 0,52 mV, PdI değerini 0,230 ± 0,05 ve parçacık boyutunun 267 ± 2,25 nm ölçmüştür [97].

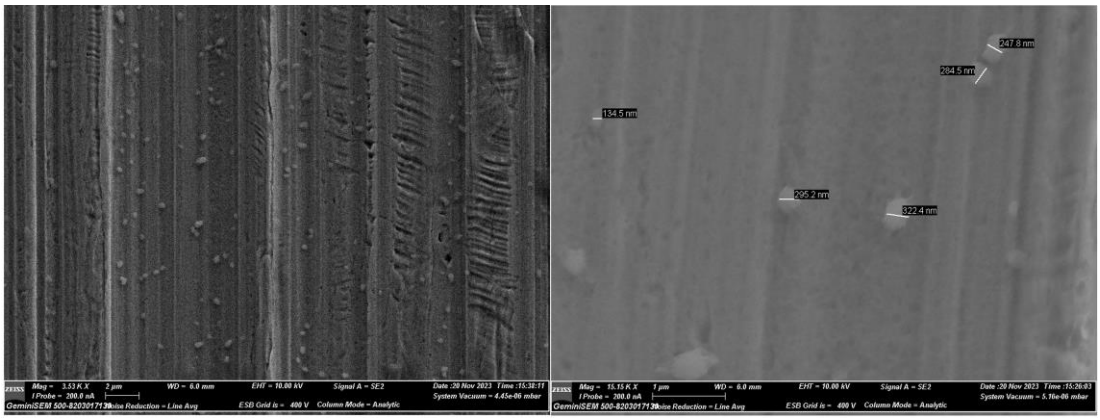
Coco ve ark. (2023) karabiber ekstraktını PCL nanopartiküllerine yüklemişler ve ortalama partikül boyutunu 374±6,4 nm, PdI değerini 0,07±0,01 ve ZP değerini ise -1,17±0,26 mV bulmuşlardır. Boş nanopartiküllerin partikül büyüklüğünün 391±6,4 nm, PdI değerinin 0,05±0,04 ve ZP değerinin-1,06±0,02 mV olduğu gözlenmiştir [98]. Zanetti ve ark. (2019), geranil sinnamat yüklü PCL nanoparçacıklarında 177,6 nm parçacık boyutu ve 0,173 PdI değeri tespit etmiştir. Boş nanopartiküllerin partikül boyutu 168,8 nm ve PdI değeri 0,165 olarak bulunmuştur. Yüklenen parçacıkların -31 ile -42 mV arasında ZP değerine sahip olduğu görülmüştür [99].

Abamor ve ark. (2018) çörek otu esansiyel yağını PCL nanopartiküllerine farklı dozlarda yüklemişler ve partikül boyutunun 212±17 ile 389±37 arasında değiştiği görülmüştür. PdI değeri 0,101 ile 0,164 arasındadır. ZP değeri -6,57±0,70 ile -8,29±1,04 aralığında tespit edilmiştir. Boş nanopartiküller ise 202±24 parçacık boyutuna ve 0,080 PdI değerine sahiptir. ZP değeri -4,92±0,88 olarak belirlenmiştir [100]. Mir ve ark. (2019), karvakrol yüklü PCL nanopartiküllerinin DLS analizi ile parçacık boyutunu 198 nm bulmuş, PdI değerini 0,04 ölçmüştür. Boş nanopartiküller 184 nm'de ortalama parçacık boyutundadır ve 0,07 PdI değeri göstermiştir. Karvakrol yüklü PCL nanopartiküllerinin ZP'değeri -17,7 ± 7,21 mV iken boş nanopartiküllerin zeta potansiyeli -13,7 ± 5,96 mV olarak belirlenmiştir [101]. Çalışmamızda PdI ve ZP değeri ile parçacık boyutu daha önceki çalışmalarla karşılaştırıldığında sonuçların aynı doğrultuda olduğu görülmüştür.

4.4. Karvakrol Yüklü PCL Nanopartiküllerinin SEM Mikrografı

Karvakrol-PCL NP'leri, öncelikle 25 saniye boyunca dağınık modda bir püskürtme kaplayıcı (EM ACE200, Leica) kullanılar altın-paladyum ile kaplanmıştır. Karvakrol-PCL NP'lerin morfolojisi Gemini SEM 500, zeiss kullanılarak tespit edilmiştir. SEM görüntüsü (Şekil 4.3), küresel yapıda karvakrol-PCL NP'lerin sentezini doğrulamış ve karvakrol-PCL NP'lerin homojen bir boyut dağılımına sahip olduğunu göstermiştir. Karvakrol-PCL NP'leri için boyutlar 134,5 nm ile 386,3 nm aralığında gözlemlenmiştir.

Sentezlenen karvakrol-PCL-NP'lerin morfolojik tanımlanması ve dağılımı, cilt için kullanılan kozmetik ürünlerinin topikal, dermal kullanımı ve transdermal geçişi için önemlidir [102].



Şekil 4.3 : SEM image of the Karvakrol-PCL NPs [85].

4.5. Enkapsülasyon Verimi ve Yükleme Kapasitesinin Belirlenmesi

Nanopartiküler dağılım sistemlerinde en önemli parametrelerden birini ilacın yükleme verimliliği ve kapsülleme verimliliği oluşturmaktadır. Yüklenen ilacın boyutu nanopartiküler sistemlerde geleneksel alışılagelmiş kozmetik preparatlar ve ilaç dağıtım sistemleri ile kıyaslandığında çok küçük olduğundan, partiküllerdeki aktif bileşiklerin oranlarını bilmek kritik önem taşır. Bunun için kapsülleme verimliliği ve yükleme kapasitesi hesaplamaları gereklidir ve bu hesaplamaların hangi metotla yapıldığı da önem taşımaktadır [103, 104].

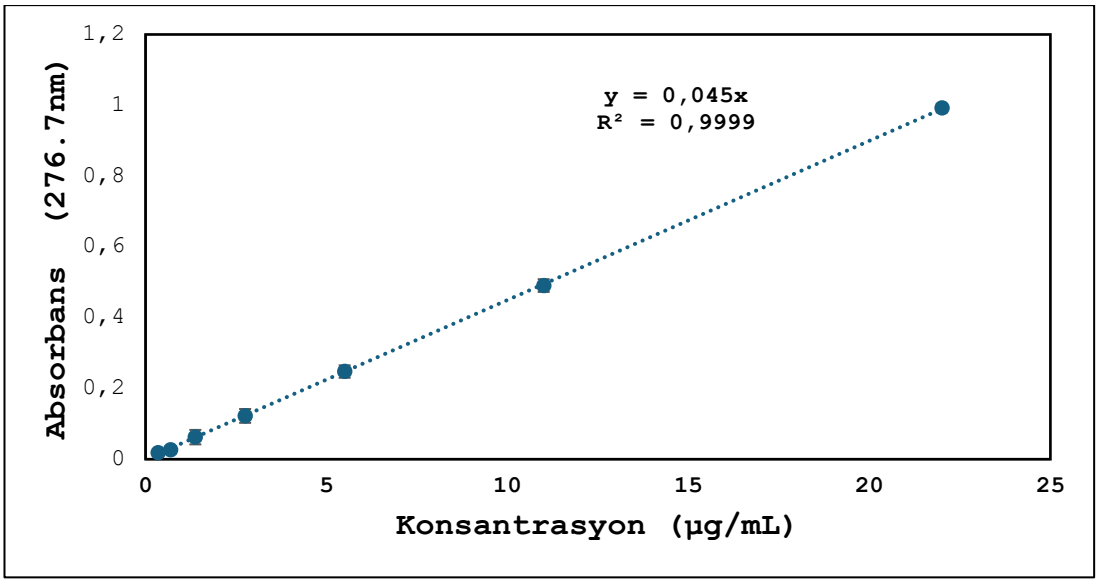
Çalışmamızda öncelikle karvakrol-PCL NP'lerin enkapsülasyon verimi ve yükleme kapasitesini hesaplamak için karvakrolün standart eğrisi hazırlanmıştır (Şekil 4.4). Denklem 3.1 ve Denklem 3.2'ye göre karvakrol-PCL NP'lerin kapsülleme verimliliği ve yükleme kapasitesi sırasıyla %98,55 ve %20 olarak bulunmuştur.

Literatürde Vitali ve ark. (2021) karvakrol molekülünü kitosan nanopartiküllerine yüklemişler ve kapsülleme veriminin %56, yükleme kapasitesinin ise %25,5 olduğunu görmüşlerdir [105]. Cacciatore ve ark. (2022) karvakrol molekülünü keten tohumu müsilajı ve chia müsilajı ile nanopartikül olarak sentezlemiştir. Enkapsülasyon verimi ve yükleme kapasitesi sırasıyla %98,02 ± %0,04 ve %98,65±0,06 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada, chia ve keten tohumu müsilajlarının hidrofilik olması ve karvakrol molekülünün hidrofobik olması nedeniyle kapsülleme verimliliğinin yüksek olduğu düşünülmüştür [13]. Gamal ve ark. (2023) karvakrol yüklü invasom nanopartiküllerini geliştirmiş ve enkapsülasyon verimi %90,24 ± 0,92 olarak hesaplanmıştır [97]. Keawchaoon ve ark. (2011), karvakrol yüklü kitosan nanopartikülleri sentezlemiş ve kapsülleme verimliliğini %14-31 arasında, yükleme kapasitesini ise %3-21 arasında

bulmuştur [106]. Akhlaq ve ark. (2023) ayrıca karvakrolü kitosan nanopartiküllerine yüklemiş ve kapsülasyon verimliliğini %80, yükleme kapasitesini ise %40 olarak hesaplamıştır [96]. Zheng ve ark. (2022) karvakrol yüklü zein nanopartikülleri için kapsülleme verimliliğini %82,19 ve yükleme verimliliğini %24,9 olarak bulmuştur [107].

Ünal ve ark. (2022) PCL polimerine paklitaksel yüklemişler ve kapsülleme verimini %59,4 ile %64,7 arasında, yükleme kapasitesini ise %5,2 ile %8,4 arasında hesaplamışlardır [108]. Byun ve ark. (2011), tokoferol yüklü PCL'nin kapsülleme verimliliğinin %24,91 ± 1,83 ile %96,42±4,27 arasında, yükleme kapasitesini ise %2,12 ±0,34 ile 3,51±0,35 arasında olduğunu görmüştür. Bu değerler yağ fazındaki solvent, PCL miktarı ve ultrasonifikasyon süresine bağlı olarak değişiklik göstermektedir [109]. Abamor ve ark. (2018) çörek otu uçucu yağı yüklü PCL nanoparçacıkları için %98,8 ile %71,6 arasında değişen kapsülleme verimliliği değerleri bulmuşlardır. Bu değerler formülasyona bağlı olarak değişmiştir [100]. Zanetti ve ark. (2019), farklı geranil sinamat ve PCL oranları içeren geranil sinamat yüklü PCL nanopartikülleri geliştirmiştir. Kapsülleme verimliliği %71,38 ± 1,60 ile %97,73±1,30 arasında değişmiştir [99]. Coco ve ark. (2023) karabiber yüklü PCL nanopartiküllerinin kapsülleme verimliliğini %84,8 ± 3,5 olarak hesaplamışlardır [98]. Mir ve ark. (2019) karvakrol yüklü PCL nanopartiküllerinin kapsülleme verimliliği değerini %83,28 ± 3,62 olarak tespit etmiştir [110].

Literatürdeki çalışmalara bakılarak bir karşılaştırma yapıldığında çalışmamızdaki kapsülleme verimliliği ve yükleme kapasitesi değeri karvakrol ve PCL arasındaki etkileşim sebebiyle en iyi sonuçlardan biri olarak değerlendirilebilir. Her ne kadar karvakrol molekülünün polar yapı ile emülsifikasyonu kendisi apolar bir yapıya sahip olduğu için zor olsa da önceki çalışmalar artan polimer konsantrasyonuyla birlikte tutulumun da artabileceğini göstermiştir. Çalışmamızda hesaplanan yüksek kapsülleme verimliliği bununla ilişkilendirilebilir.

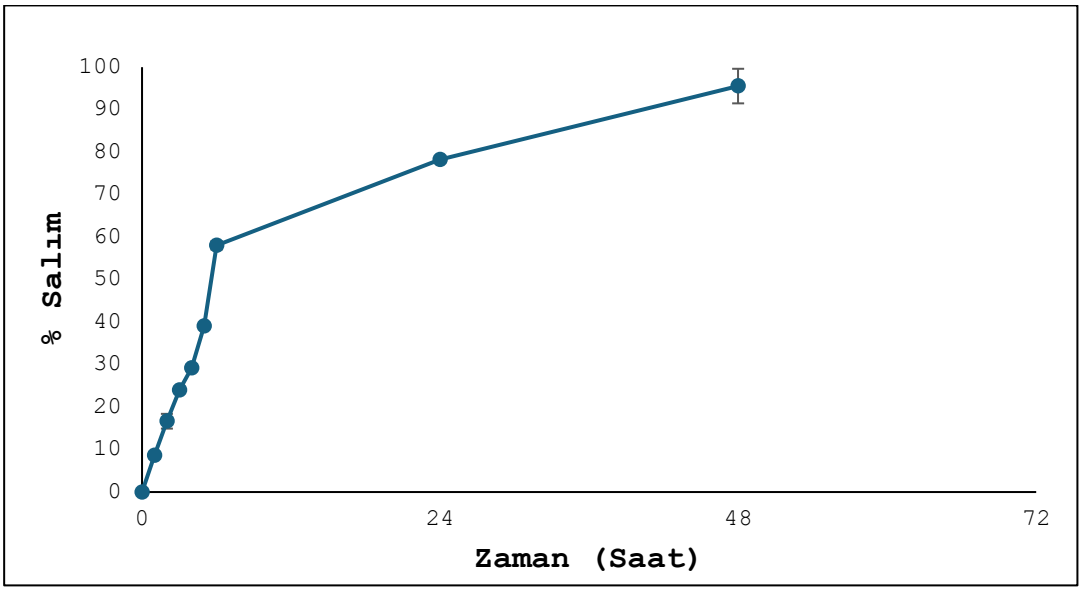


Şekil 4.4 : Karvakrol standart eğrisi[85].

4.7. Karvakrol-PCL-NP *In Vitro* Salım Profili

Kontrollü salım çalışmaları, ilacın uygulama alanındaki minimum etkili konsantrasyon ile minimum toksik konsantrasyonu arasındaki terapötik doz düzeyinin kontrol edilebilmesini sağlar. Bu sebeple salım kinetiğini anlamak ve tespit etmek büyük önem taşır [111, 112].

Çalışmamızda karvakrol-PCL NP'lerin kontrollü salım profili zamana karşı değerlendirilmiştir. Deney sonucunda karvakrol 48 saatte %95,55'lik bir kontrollü salım profili göstermiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5 : Karvakrol in vitro salım profili (%) [85].

Literatürde PCL polimeri ile yapılan çalışmalarda Abamor ve ark. (2018), çörek otu esansiyel yağını PCL nanopartiküllerine yüklemiş ve 288 saat sonra %85 oranında salındığını gözlemlemiştir. Bu çalışmada yağın ilk üç günde sadece %34'ü salınmıştır; ancak nanopartikül sisteminin bozulmasından sonra salım miktarı hızlı bir şekilde artmıştır [100]. Zanetti ve ark. (2019), geranil sinamat yüklü PCL nanopartikülleri ile kontrollü salım çalışması yapmıştır. Ancak 72 saat sonra bile sulu fazda herhangi bir salım gözlemlenmemiştir. Bu nedenle polimer matrisini degrede etmek için bir tetikleyici yağ fazına ihtiyaç duyulmuştur [99]. Coco ve ark. (2023), karabiber yüklü PCL nanopartiküllerinin salınımında sürekli ve uzun süreli bir salım profili gözlemlemiştir. Bu sonucun PCL nanopartiküllerinin kullanıldığı daha önceki çalışmalarla uyumlu olduğu düşünülmüştür [98]. Mir ve ark. (2020) karvakrol yüklü PCL polimerinin kontrollü salım çalışmasını yaptığında karvakrol molekülünün 24 saatte %40-49 oranında salım yaptığını gözlemlemiştir. Düşük salım oranını karvakrol molekülünün hidrofobik yapısıyla ilişkilendirmişlerdir [101].

Literatürdeki çalışmalarla karşılaştırıldığında çalışmamızda karvakrol molekülü taklit edilmiş cilt sıvısında çok daha hızlı bir kontrollü salım profili göstermiştir. Başlangıçta görülen hızlı salım karvakrol molekülünün nanoparçacık yüzeyine yakınlığı ile ilişkilendirilebilir [76]. Bununla birlikte salımın başlangıçta hızlı olup sonrasında yavaşlaması nanopartikül sisteminin bozulmadan olağan şekilde sürekli ve aşamalı bir salım sağladığını göstermektedir [100].

Kontrollü salım çalışmaları, karvakrol-PCL-NP'ler için sürekli ve kademeli olarak devam eden bir profil göstermiştir. Bu salım süresi, yaşlanma karşıtı aktivitenin daha uzun sürmesini sağlar. Bu nedenle, yaşlanma karşıtı uygulamaların daha uzun süreli bir etkiye sahip olacağı öngörülmektedir. Karvakrol PCL-NP'lerden karvakrolün sürekli salımı, aktif bileşenin uzun bir süre boyunca kademeli ve kontrollü bir şekilde etki sağlayarak cilt bakım ürünlerinde uzun süreli etkinliğe katkıda bulunur. Bu mekanizma, ciltte karvakrolün tutarlı bir terapötik konsantrasyonunu korumaya yardımcı olur, sık uygulama ihtiyacını azaltmakla beraber koruyucu ve yaşlanma karşıtı etkilerini artırır. Tüketici perspektifinden bakıldığında, sürekli salım, kullanıcı deneyimini ve uyumunu iyileştiren çeşitli avantajlar sunar. Karvakrolün uzun süreli etkisi, gün boyunca cilt nemlendirmesini, elastikiyetini ve oksidatif strese karşı korumayı teşvik ederek sürekli antioksidan ve yaşlanma karşıtı etkiler sağlar. Ek olarak, azaltılmış yeniden uygulama sıklığı, cilt bakım rutinlerini daha rahat ve verimli

hale getirerek tüketici memnuniyetini artırır. Dahası, kontrollü salım karvakrole aşırı maruziyeti önleyerek cilt tahrişi, kızarıklık veya hassasiyet riskini en aza indirir ve bu da uzun vadeli kullanıcı uyumunu artırabilir. Genel olarak, karvakrol-PCL-NP'lerin sürekli salım profili, ürünün etkinliğini ve kullanım rahatlığını artırarak cilt bakım formüllerini daha çekici ve yaygın tüketici kullanımı için ticari olarak uygulanabilir hale getirir.

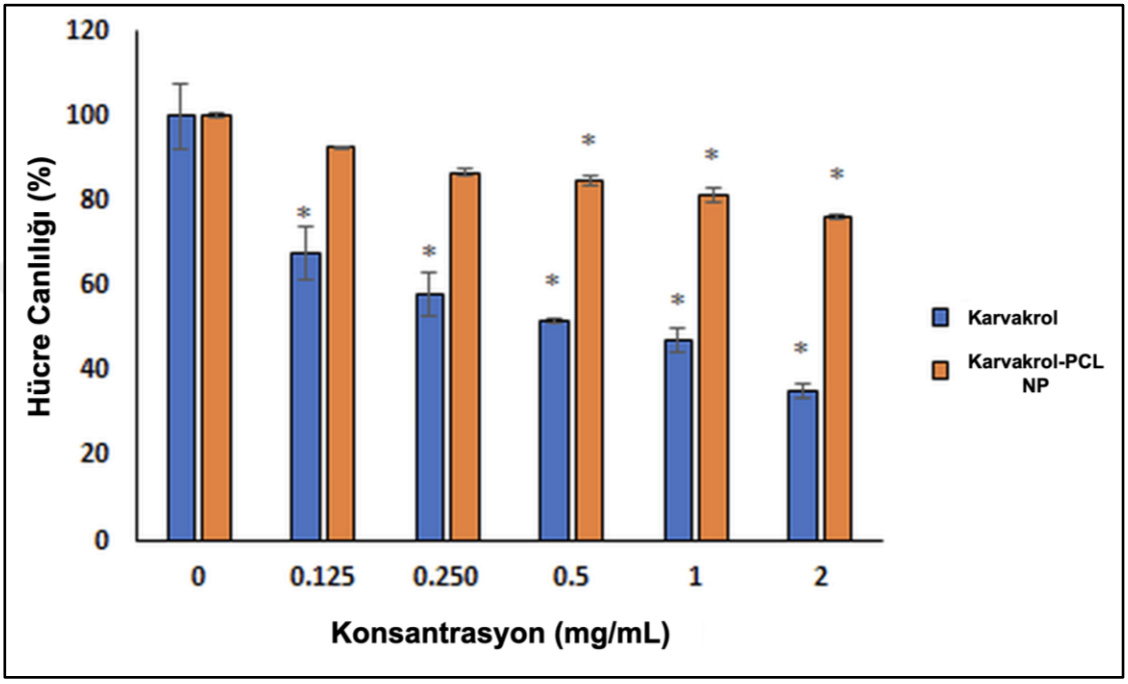
4.8. Sitotoksik Aktivite Bulguları

HaCaT hücre hatları spontane bir şekilde immortilize edilmiş insan keratinositleridir. Epidermal homeostazı, cilt biyolojisini, patofizyolojisini ve farklılaşma çalışmaları için yaygın olarak kullanılmaktadırlar [113, 114]. Çalışmalar, nanomalzemelerin dermal toksisitesini değerlendirirken HaCaT hücre hattının erken aşama güvenli tasarım kararları için iyi bir model olduğunu göstermiştir [115, 116]. Toksisite taramasında birincil keratinositlerden daha iyi destek sağladığını gösterilmiştir. Ayrıca birincil keratinositlerden çok daha yakından insan epidermisi ile ilişkili olduğu gözlemlenmiştir. Bu nedenle dermal toksisiteyi incelediğimiz bu çalışmada, HaCaT hücre hattının gelecekte uygulanabilecek kozmetik formülasyonlar için daha doğru sonuçlar sağlayacağı düşünülmüştür [117].

Karvakrol bileşiğinin, doza bağlı olarak HaCaT hücre hattı üzerinde farklı etkiler gösterdiği bilinmektedir. Karvakrol molekülü, 100 μM'nin altındaki konsantrasyonlarda HaCaT hücrelerinin çoğalmasını sağlarken, 300 μM'de hücre canlılığını azaltır ayrıca monotonik olmayan proliferatif etkiyi de düşürür [118].

Bu çalışmada kozmetik uygulamalarda kullanılmak üzere hazırlanan karvakrol ve karvakrol-PCL-NP'lerin sitotoksisitesi HaCaT hücre hattı kullanılarak tespit edilmiştir [119]. HaCaT hücreleri, 24 saat boyunca farklı karvakrol ve karvakrol-PCL NP konsantrasyonlarına maruz bırakılmıştır. Sonuçlar Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Şekil 4.6'ya göre karvakrol ve karvakrol-PCL NP'lerin konsantrasyonu arttıkça hücre canlılığı azalmaktadır (p<0.05). Ancak polimere yüklenmeyen karvakrol konsantrasyonu arttıkça hücre canlılığının nanopartikül formülasyonu arttığındaki sonuca göre çok daha önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir (p<0.05). Serbest karvakrolün en yüksek konsantrasyonunda hücre canlılığı %35,53 ±1,73 değerindedir. Karvakrol kullanılan en düşük konsantrasyonda (0,25 mg/mL) bile sitotoksik etkiye

sahiptir (%67,73± 6,38). Ancak karvakrol-PCL NP'lerin en yüksek konsantrasyonda hücre canlılığı %76,42±0,54 (P<0,05) olarak tespit edilmiştir. Karvakrol, PCL ile kapsüllendiğinde 1 mg/mL'de (%81,45 ± 1,84) sitotoksik etki göstermemiştir. Elde edilen sonuçlar, serbest karvakrolün PCL ile kapsüllendiğinde HaCaT hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisinin azaldığını ve biyouyumluluğunun arttığını göstermektedir.



Şekil 4.6 : HaCat hücre hattında karvakrol ve karvakrol-PCL NP'lerin hücre canlılığı [85]. Yıldız işareti (*), kontrol ve tedavi grupları arasındaki farkın P<0,05 düzeyinde anlamlı olduğunu gösterir.

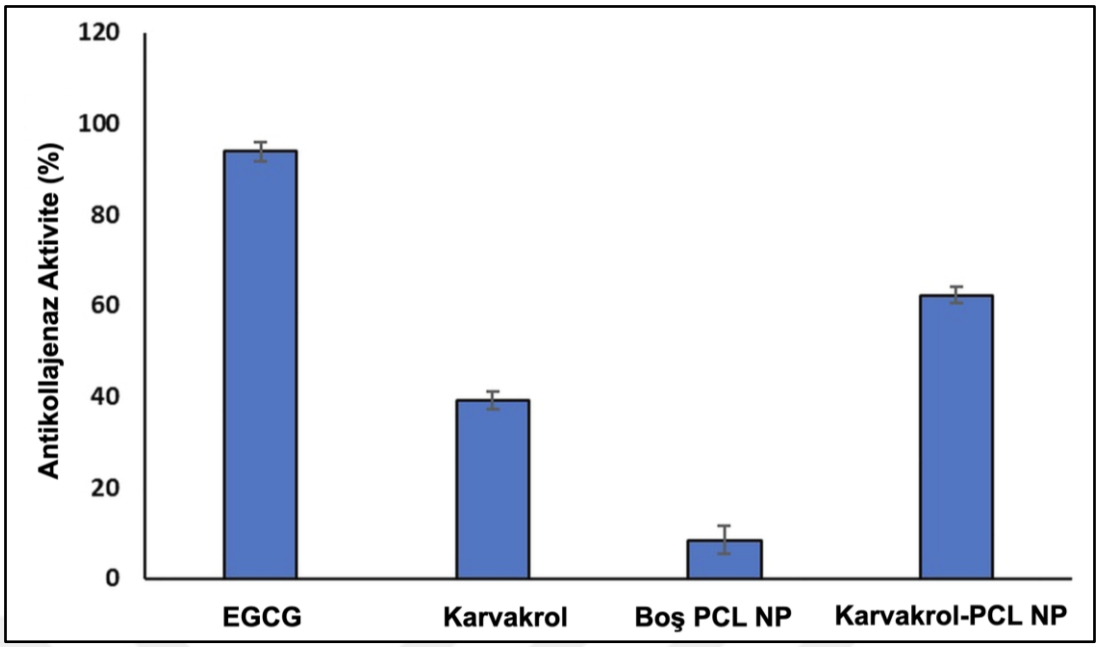
Literatürde karvakrolün hücre canlılığı üzerindeki etkisi ile ilgili çalışmalara bakıldığında, Rojo-Ruvalcaba ve ark. (2020) sitotoksik etkinin doza bağlı olarak arttığını tespit etmiştir. Serbest karvakrolün sitotoksik etkisi 0,028 M dozunda %33, 06 ± 5,35; 0,042 M dozda%10,28 ± %1,29 ve 0,056 M dozda %9,95 ± 2,06 oranında bulunmuştur (önem P < 0,0001) [120] . Literatürde karvakrolün sitotoksik etkisinin azaltılması ile ilgili çalışmalar mevcuttur. Majidi Yazdi ve ark. (2024), lipozomal kapsüllemenin karvakrolün sitotoksik aktivitesini azalttığı gözlemlenmiştir. Karvakrolün toksik etkisinin ilaç salım sistemlerine yüklenerek azaldığı da çalışmalarda mevcuttur [121]. Bu çalışmalara dayanarak karvakrol uçucu yağ ekstraktının sitotoksik aktivitesinin nanopartikül içerisine yüklenerek azalacağı öngörülmüştür. Çalışmamızda karvakrol varlığında hücre canlılığı doza bağlı olarak en düşük dozda (0,25 mg/mL) %67,73 ± 6,38; en yüksek dozda (2 mg/mL) %35,53 ± 1,73 olarak tespit edilmiştir (önem P <0.05). Karvakrol-PCL NP'lerin sitotoksik

etkisinin karvakrole göre çok daha az olduğu bulunmuştur. Hücre canlılığı konsantrasyona bağlı olarak değişmektedir; ancak bu çalışmada karvakrol-PCL-NP'lerin en yüksek konsantrasyonunda bile hücre canlılığı referans değere son derece yakındır.

Karvakrol-PCL-NP'lerin sitotoksisitesini serbest karvakrol ile karşılaştırırsak, bu nanopartiküllerin insan cildi uygulamaları için güvenlik profiline ilişkin değerli bilgiler sağlar. Serbest karvakrol, kapsüllenmemiş haliyle, hidrofobik yapısı, hızlı hücresel alımı ve daha yüksek konsantrasyonlarda membran bozulması potansiyeli nedeniyle daha yüksek sitotoksisite gösterebilir. Ancak, PCL nanopartiküllerine kapsüllendiğinde, karvakrol kademeli olarak kontrollü bir şekilde salınır ve biyoaktivitesini korurken akut toksisite riskini azaltır. Karvakrol-PCL-NP'lerin serbest karvakrole kıyasla daha düşük sitotoksisitesi, topikal uygulamalar için iyileştirilmiş biyouyumluluk ve güvenlik anlamına gelir.

4.9. Antikollajenaz Aktiviteye Ait Bulgular

Kollajen aminoasitlerden oluşmuş protein molekülleridir. Sert olması ve gerilmeye karşı dirençli yapısı vücudumuzdaki cilt, kemikler, bağlar ve tendonlar için çok iyi bir matrikstir. Bu sebeple yaşlanma sürecinde bu yapının bozunması önemli bir faktördür [122]. Bunun yanında kollajenin esneklik, yeniden şekillenme gibi fiziksel özellikleri yara iyileşme sürecinde önemli bir yer tutar. Hidrojeller, kremler ve kompozit nanofiberler gibi birçok kollajen içeren formülasyon doku mühendisliğinde kullanılmaktadır [123]. Literatürde serbest karvakrolün antikollajenaz aktivitesi üzerine yeterli çalışmaya rastlanılmamaktadır. Ancak Laothaweerungsawat ve ark. (2020), *Origanum vulgare* L. uçucu yağının antikollajenaz aktivitesini değerlendirmiştir ve karvakrolü majör bileşen olan bir uçucu yağ olarak antikollajenaz aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur [8]. Ayrıca Lee ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada, karvakrolün insan tip I kollajen sentezini aktive ettiğini ispatlamıştır [124]. Bu çalışmalar temel alınarak karvakrolün yaşlanma karşıtı kozmetik preparatlar için çok iyi bir aday olabileceği öngörülmüştür.



Şekil 4.7 : Antikollajenaz aktivite sonuçları [85].

Çalışmamızda karvakrolün antikollajenaz aktivitesi dikkate alınmış, karvakrolün ve karvakrol-PCL NP'lerinin antikollajenaz aktivitesi araştırılmıştır. Analizde karvakrol-PCL NP'lerin antikollajenaz aktivitesi %62,31±1,84 olarak bulunmuştur, serbest karvakrol ise %39,23±1,93 oranında aktivite göstermiştir (Şekil 4.7). Böylece, serbest karvakrolün antikollajenaz aktivitesinin, NP'lere yüklenerek arttırıldığı tespit edilmiştir. Çalışma, PCL polimerine yüklenen karvakrol-PCL NP'lerin, antikollajenaz aktiviteye sahip kozmetik preperatlar için biyolojik olarak uyumlu alternatif bir ürün olabileceğini göstermiştir.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Kozmetik ürünlerde birçok bitki kaynaklı ekstre ve saf bileşenler yaşlanma karşıtı etkileri sebebiyle kullanılmaktadır. Bu ürünlerde bulunan aktif bileşenler genellikle vitaminler, mineraller, antioksidanlar ve lipitlerdir olabilmektedir. Ayrıca doğal hammaddeler de yaygın olarak kullanılmaktadır. Kozmetik endüstrisinde tüm bu doğal hammaddeler arasında özellikle son dönemde uçucu yağlar ön plana çıkmaktadır. Bu sebeple uçucu yağlar diğer alanlarda olduğu gibi kozmetik endüstrisi için de büyük önem taşımaktadır. Literatüre bakıldığında bu konu hakkında çalışmalar mevcuttur; ancak uçucu yağ bileşeni olan karvakrol molekülü ile ilgili yaşlanma karşıtı aktivitesini ölçen herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Karvakrol ile yaşlanma karşıtı çalışmalar yapmak cazip görünmektedir ancak karvakrol molekülünün tahriş edici özellikleri ve keskin kokusu onun kullanımını engellemektedir. Aynı zamanda kolay bozunması da çalışma açısından molekün negatif yanlarındandır.

Bu çalışmada karvakrol-PCL NP'leri tek emülsiyon yöntemiyle sentezlenmiştir ve karakterizasyonu yapılmıştır. Karakterizasyon çalışmaları ile, karvakrol-PCL NP'lerin küresel bir şekle sahip olduğunu ve süspansiyonda iyi bir dağılıma sahip olduğu görülmüştür. Ek olarak, karvakrol-PCL NP'leri karvakrolün cilt pH'sinde 48 saatlik kontrollü salımını sağlamıştır. Karvakrol-PCL NP'lerin HaCaT hücre hatları üzerinde toksisitesinin olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca karvakrol molekülünün, PCL polimeri ile kapsüllendiğinde serbest karvakrole kıyasla iki kat daha fazla antikollajenaz aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Böylece karvakrol molekülünün kapsüllenmesiyle bu aktivitenin arttırılabileceği ispatlanmıştır. Ayrıca serbest karvakrolün keskin kokusu kapsülleme sonrasında tespit edilememiştir. Böylece molekülün negatif yanları enkapsülasyon ile giderilmiştir.

Elde edilen karvakrol-PCL NP'lerin sitotoksisitesinin azalması ve antikollajenaz aktivitesinin artmasıyla olumsuz etkileri önlenmiş ve çok sayıda yan etki de ortadan kaldırılmıştır. Uçucu özelliği, kolay oksidasyonu ve tahriş edici özellikleri, özellikle de keskin kokunun ortadan kaldırılmasıyla, çok daha fazla biyouyumluluğa sahip

biyolojik olarak parçalanabilir formülasyon elde edilmiştir. Sonuç olarak, karvakrol-PCL NP'leri sentezlenerek karvakrolün artan antikollajenaz aktivitesi ve azalmış sitotoksik etkisi ile yaşlanma karşıtı kozmetik preparatlarda kullanım için potansiyel bir aday olabileceği öngörülmüştür. Gönüllü bireyler üzerinde *in vivo* çalışmaların planlanması ve gerçekleştirilmesi ile ürünün ticarileşme potansiyelinin yüksek olduğu düşünülmüştür.

5.2. Öneriler

Antikollajenaz aktiviteye sahip karvakrol-PCL NP'ler ciltte doku bütünlüğünü sağlayan kollajenlerin tutulmasını artırabilir. Bu özellikleri sayesinde sadece yaşlanma karşıtı ürünler için değil aynı zamanda yara tedavisinde kullanılan ürünler için de bir alternatif olabilir.

İlerideki *in vivo* çalışmalarda, karvakrol-PCL-NP'ler topikal bir krem formülasyonuna dahil edilmesi halinde cilt yaşlanması tedavilerinde etkinliğini değerlendirmek için insan gönüllü denemeleri yapılabilir. Bu çalışmalar, cilt emilimi ve ciltte tutulumu gibi temel parametreleri ölçmeli, nanopartiküllerin farklı cilt katmanlarında ne kadar süre kaldığını ve dermise nüfuz edip etmediğini veya epidermis içinde kalıp kalmadığını, transdermal bir geçişin olup olmadığını belirlemelidir. Ayrıca dokudaki ve plazmadaki başlangıç konsantrasyonu ve terapötik dozu ve bu dozu korudukları süre dahil olmak üzere farmakokinetikleri incelenmelidir. Güvenliği sağlamak için, tahriş, iltihaplanma veya uzun süreli kullanımda alerjik reaksiyonlar gibi olası lokal ve sistemik yan etkileri izlemek için toksisite çalışmaları yapılmalıdır. Ayrıca, cilt gençleştirmede uzun vadeli etkinlikleri, cildi nemlendirme, elastikiyet ve oksidatif stres belirteçlerinde azalma gibi etkileri değerlendirilebilir. Bu kapsamlı *in vivo* değerlendirmeler sayesinde, karvakrol-PCL-NP'lerin etkinliği ve güvenliği hakkında kritik veriler sağlanabilir, kozmetikte ve dermatolojideki potansiyel uygulamaları desteklenebilir. Kim. (2009), yaptığı patent çalışmasında karvakrol bileşiğinin kırışıklık önleyici aktivitesinden yararlanarak kozmetik ürünlerde kullanılmasını önermiştir [125]. Bu kılavuz çalışmaya dayanarak, sentezlenen karvakrol-PCL NP'lerle yapılacak kapsamlı *in vivo* çalışmalar sonrasında çok daha yüksek ticari kullanıma sahip bir ürün üretilebilir.

KAYNAKLAR

[1] **World Health Organization (WHO)**. Erişim tarihi : 25.03.2024 https://www.who.int/health-topics/ageing#tab=tab_1.

[2] **Ganceviciene, R., Liakou, A. I., Theodoridis, A., Makrantonaki, E., & Zouboulis, C. C. (2012).** Skin anti-aging strategies. Dermato-endocrinology, 4(3), 308–319. https://doi.org/10.4161/derm.22804

[3] **He, X., Wan, F., Su, W., & Xie, W. (2023).** Research Progress on Skin Aging and Active Ingredients. Molecules, 28(14), 5556. https://doi.org/10.3390/molecules28145556

[4] **McCullough, J. L., & Kelly, K. M. (2006).** Prevention and treatment of skin aging. Annals of the New York Academy of Sciences, 1067, 323–331. https://doi.org/10.1196/annals.1354.044

[5] **Bjørklund, G., Shanaida, M., Lysiuk, R., Butnariu, M., Peana, M., Sarac, I., Strus, O., Smetanina, K., & Chirumbolo, S.** (2022). Natural Compounds and Products from an Anti-Aging Perspective. Molecules (Basel, Switzerland), 27(20), 7084. https://doi.org/10.3390/molecules27207084

[6] **Frezza, C., Venditti, A., Serafini, M., Bianco, A.** (2019). Phytochemistry, Chemotaxonomy, Ethnopharmacology, and Nutraceutics of Lamiaceae. 10.1016/B978-0-444-64185-4.00004-6.

[7] **Prommaban, A., Kheawfu, K., Chittasupho, C., Sirilun, S., Hemsuwimon, K., Chaiyana W.** (2022). Phytochemical, Antioxidant, Antihyaluronidase, Antityrosinase, and Antimicrobial Properties of Nicotiana tabacum L. Leaf Extracts. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, **2022**(1).

[8] **Laothaweerungsawat, N., Sirithunyalug, J., & Chaiyana, W.** (2020). Chemical Compositions and Anti-Skin-Ageing Activities of Origanum vulgare L. Essential Oil from Tropical and Mediterranean Region. Molecules (Basel, Switzerland), 25(5), 1101. https://doi.org/10.3390/molecules25051101

[9] **Türkiye ve Tıbbi Cihaz Kurumu.** (2021). Ankara www.Turkfarmakopedergisi.gov.tr TÜRK FARMAKOPE DERGI ̇SI ̇ 2 2021 6. (n.d.).

[10] **Samarghandian, S., Azimi-Nezhad, M., & Farkhondeh, T.** (2017). Preventive Effect of Carvacrol Against Oxidative Damage in Aged Rat Liver. International journal for vitamin and nutrition research. Internationale Zeitschrift fur Vitamin- und Ernahrungsforschung. Journal international de vitaminologie et de nutrition, 87(1-2), 59–65. https://doi.org/10.1024/0300-9831/a000393

[11] **Baser, K.H.C. and F. Demirci.** (2006). *Turkish Oregano: Chemistry & Biological Activities.* Planta Medica, **72**(11).

[12] **Mauriello, E., Ferrari, G., & Donsì, F**. (2021). Effect of formulation on properties, stability, carvacrol release and antimicrobial activity of carvacrol emulsions. Colloids and surfaces. B, Biointerfaces, 197, 111424. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111424

[13] **Cacciatore, F. A., Maders, C., Alexandre, B., Barreto Pinilla, C. M., Brandelli, A., & da Silva Malheiros, P.** (2022). Carvacrol encapsulation into nanoparticles produced from chia and flaxseed mucilage: Characterization,

stability and antimicrobial activity against Salmonella and Listeria monocytogenes. Food microbiology, 108, 104116. https://doi.org/10.1016/j.fm.2022.104116

[14] **Oliveira, C., Coelho, C., Teixeira, J. A., Ferreira-Santos, P., & Botelho, C. M.** (2022). Nanocarriers as Active Ingredients Enhancers in the Cosmetic Industry-The European and North America Regulation Challenges. Molecules (Basel, Switzerland), 27(5), 1669. https://doi.org/10.3390/molecules27051669

[15] **Gupta, S., Bansal, R., Gupta, S., Jindal, N., & Jindal, A.** (2013). Nanocarriers and nanoparticles for skin care and dermatological treatments. Indian dermatology online journal, 4(4), 267–272. https://doi.org/10.4103/2229-5178.120635

[16] **Garcês, A., Amaral, M. H., Sousa Lobo, J. M., & Silva, A. C.** (2018). Formulations based on solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) for cutaneous use: A review. European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences, 112, 159–167. https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.11.023

[17] **Kumari, A., Yadav, S. K., & Yadav, S. C.** (2010). Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. Colloids and surfaces. B, Biointerfaces, 75(1), 1–18. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2009.09.001

[18] **Łukasiewicz, S., Mikołajczyk, A., Błasiak, E., Fic, E., & Dziedzicka-Wasylewska, M.** (2021). Polycaprolactone Nanoparticles as Promising Candidates for Nanocarriers in Novel Nanomedicines. Pharmaceutics, 13(2), 191. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13020191

[19] **Mondal, D., M. Griffith, and S.S. Venkatraman.** (2016). *Polycaprolactone-based biomaterials for tissue engineering and drug delivery: Current scenario and challenges.* International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials, **65**(5).

[20] **Kokkini, S., Karousou, R., HANLIDOU, E.** (2003). *HERBS | Herbs of the Labiatae.* Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition, 2003: p. pp.3082-3090.

[21] **Venkateshappa., S.M., Sreenath, K.P.** (2013). *Potential Medicinal Plants of Lamiaceae.* International Association of Scientific Innovation and Research, 2013.

[22] **Güneş, F. and Özhatay, N.** (2000). *Flora of Turkey and East Aegean Islands.* Edinburgh University Press, 2000. **11**: p. 656.

[23] **Edmondson, W.T.** (1982). *Daphnia in Lake Washington.* Limnology and Oceanography. **27**: p. 272-293.

[24] **Sancaktaroğlu, S., & Bayram, E.** (2011). DETERMINATION ON THE AGRICULTURAL AND QUALITY PROPERTIES OF URTICA PILULIFERA L. (ISIRGAN) UNDER BORNOVA ECOLOGICAL CONDITIONS. Journal of Faculty of Pharmacy of Istanbul University. **40**: p. 77-87.

[25] **Chishti, S., Kaloo, Z.A. and Sultan, P.** (2013). *Medicinal Importance of Genus Origanum: A Review.* Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy, **5**: p. 170-177.

[26] **Gürbüz, B., İpek, A., Ayvaz, N.** (2019). *Türkiye Florasındaki Origanum Türlerinin Yayılış Alanları ve Ticareti.* Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 2019. **4(2)**: p. 55-58.

[27] **Ietswaart, J.H.** (1980). *A Taxonomic Revision of the Genus Origanum (Labiatae).* Leiden Botanical Series. **4**(1): p. 1- 153.

[28] **Akyalçın, H.** (1998). *Türkiye'nin origanum L. taksonlarının polen morfolojisi*, in *Fen Bilimleri Enstitüsü*. 1998, Bursa Uludag University: Available from ProQuest Dissertations & Theses Global.

[29] **TÜBİVES.** Erişim tarihi : 03.03.2024. http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php.

[30] **Sadıkoğlu, N.** (2005). Kekik Olarak Kullanılan Türler Üzerinde Farmasötik Botanik Araştırmalar., in İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. İstanbul Üniversitesi p. 11-12.

[31] **Saltan İşcan H.G**. Origanum onites L. uçucu yağı ve ekstresinin elde edilmesinde kullanılan farklı distilasyon ve ekstraksiyon tekniklerinin ürün kalitesine etkilerinin değerlendirilmesi. 2022, Ankara Üniversitesi

[32] **Özhatay, N., Sadıkoğlu, N.** (2016) , *Morphological characteristics of exported taxa as Oregano from Turkey I: Origanum.* Journal of Faculty of Pharmacy of Istanbul University. **45(2)**: p. 87-126.

[33] **Temel, M., & Tokur, S.** (2013). Origanum onites ve O. majorana Lamiaceae türleri üzerinde anatomik, morfolojik ve ekolojik çalışmalar. Biological Diversity and Conservation, 2013. **6(2).** p. 123-133.

[34] **Tepe, B., Cakir, A., & Sihoglu Tepe, A.** (2016). Medicinal Uses, Phytochemistry, and Pharmacology of Origanum onites (L.): A Review. Chemistry & biodiversity, 13(5), 504–520. https://doi.org/10.1002/cbdv.201500069

[35] **Ozkan, G., Ozcan, M**. (2014). Some phenolic compounds of extracts obtained from Origanum species growing in Turkey. Environmental monitoring and assessment. **186**.

[36] **Fidan, H., Stankov, S., Petkova, N., Dincheva, I., Stoyanova, M., Stoyanova, A., Koleva, Y., Coşge, B., Doğan, H., Uskutoglu, T., Abanoz, E.** (2020). *Biological Potential of Origanum onites L. From Turkey* Oxidation Communications, **43**: p. 477-488.

[37] **Câmara, J.S., Perestrelo, R., Ferreira, R., Berenguer, C. V., Pereira, J. A. M., & Castilho, P. C.** (2024). Plant-Derived Terpenoids: A Plethora of Bioactive Compounds with Several Health Functions and Industrial Applications—A Comprehensive Overview.. Molecules. **29(16)**: p. 3861.

[38] **Ozkan, G., Baydar, H., & Erbas, S.** (2010). The influence of harvest time on essential oil composition, phenolic constituents and antioxidant properties of Turkish oregano (Origanum onites L.). Journal of the science of food and agriculture, 90(2), 205–209. https://doi.org/10.1002/jsfa.3788

[39] **Spyridopoulou, K., Fitsiou, E., Bouloukosta, E., Tiptiri-Kourpeti, A., Vamvakias, M., Oreopoulou, A., Papavassilopoulou, E., Pappa, A., & Chlichlia, K.** (2019). Extraction, Chemical Composition, and Anticancer Potential of Origanum onites L. Essential Oil. Molecules (Basel, Switzerland), 24(14), 2612. https://doi.org/10.3390/molecules24142612

[40] **Ozer Z.** (2020). Chemical Composition and Antioxidant Activities of Leaf and Flower Essential Oils of Origanum onites L. (Lamiaceae) Growing in Mount Ida-Turkey. JOTCSA. **7(3)**: p. 813–20.

[41] **Sarıkaya, A.G.** (2019) Leaf and Flower Volatile Oil Components of Two Thyme Taxa Origanum onites L. and Thymbra spicata var. spicata L. in Turkey. Avrupa Bilim Ve Teknoloji Dergisi. **17**: p. 346-350.

[42] **Demirci, F., Paper, D. H., Franz, G., & Başer, K. H.** (2004). *Investigation of the Origanum onites L. essential oil using the chorioallantoic membrane (CAM) assay.* Journal of agricultural and food chemistry, 2004. **52(2)** p. 251–254.

[43] **Vanti, G., Tomou, E.-M., Stojković, D., Ćirić, A., Bilia, A. R., & Skaltsa, H.** (2021).Nanovesicles Loaded with Origanum onites and Satureja thymbra Essential Oils and Their Activity against Food-Borne Pathogens and Spoilage Microorganisms. . Molecules. **26(8)**: p. 2124.

[44] **Tomsuk, Ö., Kuete, V., Sivas, H., & Kürkçüoğlu, M.** (2024). Effects of essential oil of Origanum onites and its major component carvacrol on the expression of toxicity pathway genes in HepG2 cells. BMC complementary medicine and therapies. **24(1)**: p. 265.

[45] **Canli, K., Bozyel, M. E., Turu, D., Benek, A., Simsek, O., & Altuner, E. M.** (2023). Biochemical, Antioxidant Properties and Antimicrobial Activity of Steno-Endemic *Origanum onites*. *Microorganisms*, *11*(8), 1987. https://doi.org/10.3390/microorganisms11081987

[46] **Canli, K., Bozyel, M. E., Turu, D., Benek, A., Simsek, O., & Altuner, E. M**. (2023). Biochemical, Antioxidant Properties and Antimicrobial Activity of Steno-Endemic Origanum onites. Microorganisms, 11(8), 1987. https://doi.org/10.3390/microorganisms11081987

[47] **Cakir, A., Ozer, H., Kordali, S., Çakmakçı, R., Dadaşoğlu, F., Dikbas, N., Aydin, T., Kazaz, C.** (2014). Antibacterial effects of Origanum onites against phytopathogenic bacteria: Possible use of the extracts from protection of disease caused by some phytopathogenic bacteria. Scientia Horticulturae. 172. 210–220. 10.1016/j.scienta.2014.03.016.

[48] **Kappagoda, S., Singh, U., & Blackburn, B. G.** (2011). Antiparasitic therapy. Mayo Clinic proceedings, 86(6), 561–583. https://doi.org/10.4065/mcp.2011.0203

[49] **Tasdemir, D., Kaiser, M., Demirci, B., Demirci, F., & Baser, K. H. C.** (2019). Antiprotozoal Activity of Turkish Origanum onites Essential Oil and Its Components. Molecules (Basel, Switzerland), 24(23), 4421. https://doi.org/10.3390/molecules24234421

[50] **Coskun, S., Girisgin, O., Kürkcüoglu, M., Malyer, H., Girisgin, A. O., Kirimer, N., & Baser, K. H.** (2008). Acaricidal efficacy of Origanum onites L. essential oil against Rhipicephalus turanicus (Ixodidae). Parasitology research, 103(2), 259–261. https://doi.org/10.1007/s00436-008-0956-x

[51] **Saraç, S., I., Tosun, B., Karakaya, E.** (2021). Origanum onites L. ve Rosmarinus officinalis L. Uçucu Yağlarının Kimyasal İçerikleri ve Fusarium solani' ye Karşı Antifungal Aktivitelerinin Belirlenmesi. Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences, 8(2), 329-335. https://doi.org/10.30910/turkjans.825090

[52] **Korukluoglu, M., Gurbuz, O., Sahan, Y.,Yigit, A., Kacar, Oya., Rouseff, R.** (2009). CHEMICAL CHARACTERIZATION AND ANTIFUNGAL ACTIVITY OF ORIGANUM ONITES L. ESSENTIAL OILS AND EXTRACTS. Journal of Food Safety, **29**(1).

[53] **Altintas, A., Tabanca, N., Tyihák, E., Ott, P. G., Móricz, A. M., Mincsovics, E., & Wedge, D. E.** (2013). Characterization of volatile constituents from Origanum onites and their antifungal and antibacterial activity. Journal of AOAC International, 96(6), 1200–1208. https://doi.org/10.5740/jaoacint.sgealtintas

[54] **Koca, S.B. and Cevikbas, M.** (2015). Antifungal effect of Origanum onites essential oil as an alternative to formalin in the artificial incubation of narrow-clawed crayfish (Astacus leptodactylus Eschscholtz, 1823). Aquaculture Research. **46**(9).

[55] **Alkan, M.** (2020). Chemical composition and insecticidal potential of different Origanum spp. (Lamiaceae) essential oils against four stored product pests. Türkiye Entomoloji Dergisi **44**(2).

[56] **Ayvaz, A., Sagdic, O., Karaborklu, S., & Ozturk, I.** (2010). Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored-product insects. Journal of insect science (Online), 10, 21. https://doi.org/10.1673/031.010.2101

[57] **Erenler, R., Demirtas, I., Karan, T., Gül, F., Kayir, O., Karakoç, Ö.** (2018). Chemical constituents, quantitative analysis and insecticidal activities of plant extract and essential oil from Origanum onites L.

[58] **Niksic, H., Becic, F., Koric, E., Gusic, I., Omeragic, E., Muratovic, S., Miladinovic, B., & Duric, K.** (2021). Cytotoxicity screening of Thymus vulgaris L. essential oil in brine shrimp nauplii and cancer cell lines. Scientific reports, 11(1), 13178. https://doi.org/10.1038/s41598-021-92679-x

[59] **Becer, E., Altundag, E., Baser, K. H.C., Vatansever, H.** (2022). Cytotoxic activity and antioxidant effects of Origanum onites essential oil and its two major contents, carvacrol and p -cymene on human colorectal (HCT116) and hepatocelluler carcinoma (HepG2) cell lines. Journal of Essential Oil Research. 34. 1-10. 10.1080/10412905.2022.2107101.

[60] **Özkan, A and Erdogan, A.** (2011). A comparative evaluation of antioxidant and anticancer activity of essential oil from Origanum onites (Lamiaceae) and its two major phenolic components. Turkish Journal of Biology. 35(6).

[61] **Bostancıoğlu, R. B., Kürkçüoğlu, M., Başer, K. H., & Koparal, A. T**. (2012). Assessment of anti-angiogenic and anti-tumoral potentials of Origanum onites L. essential oil. Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association, 50(6), 2002–2008. https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.03.074

[62] **Rasgele, P. and Altin, N.**(2023) . Characterization of Essential Oils from Medicinal Plants and Assessment of Their Antimutagenic Effects Using Ames Salmonella/Microsomal Test. Proceedings of the Bulgarian Academy of Sciences. **76**(2).

[63] **Kostelnik, A. and M. Pohanka** (2018). Inhibition of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase by a Plant Secondary Metabolite Boldine. BioMed Research International. **2018**(1).

[64] **Cavdar, H., Senturk, M., Guney, M., Durdagi, S., Kayik, G., Supuran, C. T., & Ekinci, D.** (2019). Inhibition of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase with uracil derivatives: kinetic and computational studies. Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry, 34(1), 429–437. https://doi.org/10.1080/14756366.2018.1543288

[65] **Jukic, M., Politeo, O., Maksimovic, M., Milos, M., & Milos, M.** (2007). In vitro acetylcholinesterase inhibitory properties of thymol, carvacrol and their derivatives thymoquinone and thymohydroquinone. Phytotherapy research : PTR, 21(3), 259–261. https://doi.org/10.1002/ptr.2063

[66] **Caputo, L., Amato, G., De Martino, L., De Feo, V., & Nazzaro, F.** (2023). Anti-Cholinesterase and Anti-α-Amylase Activities and Neuroprotective Effects of Carvacrol and p-Cymene and Their Effects on Hydrogen Peroxide

Induced Stress in SH-SY5Y Cells. International journal of molecular sciences, 24(7), 6073. https://doi.org/10.3390/ijms24076073

[67] **Barzan, M., Heydari, M., Mirshekari-Jahangiri, H., Firouzi, H., Dastan, M., Najafi, M., Khaledi, M., Nouri, A., & Shah-Abadi, M. E.** (2023). Carvacrol Exerts Anti-Inflammatory, Anti-Oxidative Stress and Hepatoprotective Effects Against Diclofenac-Induced Liver Injury in Male Rats. International journal of preventive medicine, 14, 61. https://doi.org/10.4103/ijpvm.ijpvm_178_21

[68] **Cerrah, S., Ozcicek, F., Gundogdu, B., Cicek, B., Coban, T. A., Suleyman, B., Altuner, D., Bulut, S., & Suleyman, H.** (2023). Carvacrol prevents acrylamide-induced oxidative and inflammatory liver damage and dysfunction in rats. Frontiers in pharmacology, 14, 1161448. https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1161448

[69] **Khan, I., Bhardwaj, M., Shukla, S., Min, S. H., Choi, D. K., Bajpai, V. K., Huh, Y. S., & Kang, S. C.** (2019). Carvacrol inhibits cytochrome P450 and protects against binge alcohol-induced liver toxicity. Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association, 131, 110582. https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110582

[70] **Emre, E., Ogeturk, M., Aydın, S., Kuloglu, T., Aksu, F., & Kavakli, A.** (2023). Carvacrol protects rat liver exposed to formaldehyde by regulating oxidative stress, and asprosin and subfatin hormones. Biotechnic & histochemistry : official publication of the Biological Stain Commission, 98(5), 336–345. https://doi.org/10.1080/10520295.2023.2187462

[71] **Dundar, E., Olgun, E. G., Isiksoy, S., Kurkcuoglu, M., Baser, K. H., & Bal, C.** (2008). The effects of intra-rectal and intra-peritoneal application of Origanum onites L. essential oil on 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid-induced colitis in the rat. Experimental and toxicologic pathology : official journal of the Gesellschaft fur Toxikologische Pathologie, 59(6), 399–408. https://doi.org/10.1016/j.etp.2007.11.009

[72] **Foote, M. S., Du, K., Mousavi, S., Bereswill, S., & Heimesaat, M. M.** (2023). Therapeutic Oral Application of Carvacrol Alleviates Acute Campylobacteriosis in Mice Harboring a Human Gut Microbiota. Biomolecules, 13(2), 320. https://doi.org/10.3390/biom13020320

[73] **Aydin, S., Ozturk, Y., Arslan, R., Baser, K. H. C.** (1996). Investigation ofOriganum onites, Sideritis congesta andSatureja cuneifolia Essential Oils for Analgesic Activity. Phytotherapy Research - PHYTOTHER RES. 10. 342-344.

[74] **Jeon, N.J., Kim, Y.S, Kim, E.K., Dong, X., Lee, J.W., Park, J.S., Shin, W.B., Moon, S.H., Jeon, B.T., Park, P.J.** (2018). Inhibitory effect of carvacrol on melanin synthesis via suppression of tyrosinase expression. Journal of Functional Foods. 45. 199-205. 10.1016/j.jff.2018.03.043.

[75] **Thring, T.S., Hili, P., & Naughton, D. P.** (2009). Anti-collagenase, anti-elastase and anti-oxidant activities of extracts from 21 plants. BMC complementary and alternative medicine, 2009. **9**: p. 27.

[76] **Ercin, E., Kecel-Gunduz, S., Gok, B., Aydin, T., Budama-Kilinc, Y., & Kartal, M.** (2022). Laurus nobilis L. Essential Oil-Loaded PLGA as a Nanoformulation Candidate for Cancer Treatment. Molecules (Basel, Switzerland), 27(6), 1899. https://doi.org/10.3390/molecules27061899

[77] **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. https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1133658

[78] **Oulebsir, C., Mefti-Korteby, H., Djazouli, Z.-E., Zebib, B., & Merah, O.** (2022). Essential Oil of Citrus aurantium L. Leaves: Composition, Antioxidant Activity, Elastase and Collagenase Inhibition. Agronomy, 12(6), 1466. https://doi.org/10.3390/agronomy12061466

[79] **Mondéjar-López, M., López-Jimenez, A. J., García Martínez, J. C., Ahrazem, O., Gómez-Gómez, L., & Niza, E.** (2022). Comparative evaluation of carvacrol and eugenol chitosan nanoparticles as eco-friendly preservative agents in cosmetics. International journal of biological macromolecules. **206**: p. 288–297.

[80] **Özen, İ., Demir, A., Bahtiyari, M. İ., Wang, X., Nilghaz, A., Wu, P., Shirvanimoghaddam, K.** (2024). Multifaceted applications of thymol/carvacrol-containing polymeric fibrous structures. Advanced Industrial and Engineering Polymer Research. **7**(2): p. 182-200.

[81] **Mączka, W., Twardawska, M., Grabarczyk, M., & Wińska, K.** (2023). Carvacrol-A Natural Phenolic Compound with Antimicrobial Properties. Antibiotics (Basel, Switzerland). **12(5)**: p. 824.

[82] **Rathod, N., Kulawik, P., Ozogul, F.,Regenstein, J., Özogul, Y.** (2021). Biological activity of plant-based carvacrol and thymol and their impact on human health and food quality. Trends in Food Science & Technology. 116. 10.1016/j.tifs.2021.08.023.

[83] **Karadayı, M., Yıldırım, V., Güllüce, M.** (2020). Antimicrobial Activity and Other Biological Properties of Oregano Essential Oil and Carvacrol. Anatolian Journal of Biology 1 2 52–68.

[84] **Assadi, M., E, R., Najavand, S., Mahkam, M., Mohammadzadeh, N.** (2014). Isolation of carvacol from Origanum vulgare, synthesis of some organosilicon derivatives, and investigating of its antioxidant, antibacterial activities. Standard Scientific Research and Essays.

[85] **Aydın, T., Gök, B., Kılınç, Y., & Kartal, M**. (2025). Obtaining carvacrol from Origanum onites L. essential oil and developing carvacrol-loaded nanoformulation for use in cosmetics. . INDUSTRIAL CROPS AND PRODUCTS. **226**: p. 1-12.

[86] **Falcão, D., Santos, A., Ortiz-Silva, B., Louro, R., Seiceira, R., Finotelli, P., Luiz, J., Ferreira, P., SimoneS., Amaral, A**. (2011). Development of Nanoencapsulation Forms from Cymbopogon citratus Essential Oil. LATIN AMERICAN JOURNAL OF PHARMACY. 30. 765-72.

[87] **Ma, Y., Liu, P., Ye, K., He, Y., Chen, S., Yuan, A., Chen, F., & Yang, W.** (2022). Preparation, Characterization, In Vitro Release, and Antibacterial Activity of Oregano Essential Oil Chitosan Nanoparticles. Foods (Basel, Switzerland), 11(23), 3756. https://doi.org/10.3390/foods11233756

[88] **Gok, B., Budama-Kilinc, Y., & Kecel-Gunduz, S.** (2024). Anti-aging activity of Syn-Ake peptide by in silico approaches and in vitro tests. Journal of biomolecular structure & dynamics, 42(10), 5015–5029. https://doi.org/10.1080/07391102.2023.2223681

[89] **Sim, Y.Y. and K.L. Nyam.** (2021). Application of Hibiscus cannabinus L. (kenaf) leaves extract as skin whitening and anti-aging agents in natural cosmetic prototype. Industrial Crops and Products. **167**.

[90] **Madhan, B., Krishnamoorthy, G., Rao, J. R., & Nair, B. U.** (2007). Role of green tea polyphenols in the inhibition of collagenolytic activity by collagenase. International journal of biological macromolecules, 41(1), 16–22. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2006.11.013

[91] **Kizil, S., Ipek, A., Arslan N., Khawar, K.M.** (2008) Effect of different developing stages on some agronomical characteristics and essential oil composition of Oregano (*Origanum onites*), New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 36:1, 71-76, DOI: 10.1080/01140670809510222

[92] **Liolios, C., Gortzi, O., Lalas, S., Tsaknis, John I., Chinou, I.** (2009). Liposomal incorporation of carvacrol and thymol isolated from the essential oil of Origanum dictamnus L. and in vitro antimicrobial activity. Food Chemistry. 112. 77-83. 10.1016/j.foodchem.2008.05.060.

[93] **Harvala, C., Menounos, P., & Argyriadou, N.** (1987). Essential Oil from Origanum dictamnus. Planta medica, 53(1), 107–109. https://doi.org/10.1055/s-2006-962640

[94] **Rodriguez-Loya, J., Lerma, M., & Gardea-Torresdey, J. L.** (2023). Dynamic Light Scattering and Its Application to Control Nanoparticle Aggregation in Colloidal Systems: A Review. Micromachines, 15(1), 24. https://doi.org/10.3390/mi15010024

[95] **Jia, Z., Li, J., Gao, L., Yang, D., & Kanaev, A.** (2023). Dynamic Light Scattering: A Powerful Tool for In Situ Nanoparticle Sizing. Colloids and Interfaces. **7(1)**: p. 15.

[96] **Akhlaq, A., Ashraf, M., Omer, M. O., & Altaf, I.** (2023). Carvacrol-Fabricated Chitosan Nanoparticle Synergistic Potential with Topoisomerase Inhibitors on Breast and Cervical Cancer Cells. ACS omega, 8(35), 31826–31838. https://doi.org/10.1021/acsomega.3c03337

[97] **Gamal, A., Aboelhadid, S. M., Abo El-Ela, F. I., Abdel-Baki, A. S., Ibrahium, S. M., El-Mallah, A. M., Al-Quraishy, S., Hassan, A. O., & Gadelhaq, S. M.** (2023). Synthesis of Carvacrol-Loaded Invasomes Nanoparticles Improved Acaricide Efficacy, Cuticle Invasion and Inhibition of Acetylcholinestrase against Hard Ticks. Microorganisms, 11(3), 733. https://doi.org/10.3390/microorganisms11030733

[98] **Coco, J. C., Silvério, L. A. L., Santos, É. M. d., Sueiro, A. C., Ataide, J. A., Paiva-Santos, A. C., & Mazzola, P. G.** (2023). Piperine Extraction and Encapsulation in Polycaprolactone Nanoparticles. Cosmetics, 10(6), 152. https://doi.org/10.3390/cosmetics10060152

[99] **Zanetti, M., Mazon, L. R., de Meneses, A. C., Silva, L. L., de Araújo, P. H. H., Fiori, M. A., & de Oliveira, D.** (2019). Encapsulation of geranyl cinnamate in polycaprolactone nanoparticles. Materials science & engineering. C, Materials for biological applications, 97, 198–207. https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.12.005

[100] **Abamor, E. S., Tosyali, O. A., Bagirova, M., & Allahverdiyev, A.** (2018). Nigella sativa oil entrapped polycaprolactone nanoparticles for leishmaniasis treatment. IET nanobiotechnology, 12(8), 1018–1026. https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2018.5115

[101] **Mir, M., Permana, A. D., Ahmed, N., Khan, G. M., Rehman, A. U., & Donnelly, R. F.** (2020). Enhancement in site-specific delivery of carvacrol for potential treatment of infected wounds using infection responsive nanoparticles loaded into dissolving microneedles: A proof of concept study. European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics : official journal of

Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V, 147, 57–68. https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2019.12.008

[102] **Khater, D., Nsairat, H., Odeh, F., Saleh, M., Jaber, A., Alshaer, W., Al Bawab, A., & Mubarak, M. S.** (2021). Design, Preparation, and Characterization of Effective Dermal and Transdermal Lipid Nanoparticles: A Review. Cosmetics, 8(2), 39. https://doi.org/10.3390/cosmetics8020039

[103] **Calis, S., Öztürk, K., Arslan, F., Eroglu, H., Capan, Y.** (2019). Nanopharmaceuticals as Drug-Delivery Systems. 10.1016/B978-0-12-814033-8.00004-7.

[104] **Amini, Y., Amel Jamehdar, S., Sadri, K., Zare, S., Musavi, D., & Tafaghodi, M.** (2017). Different methods to determine the encapsulation efficiency of protein in PLGA nanoparticles. Bio-medical materials and engineering, 28(6), 613–620. https://doi.org/10.3233/BME-171705

[105] **Vitali, A., Stringaro, A., Colone, M., Muntiu, A., & Angiolella, L.** (2021). Antifungal Carvacrol Loaded Chitosan Nanoparticles. Antibiotics (Basel, Switzerland), 11(1), 11. https://doi.org/10.3390/antibiotics11010011

[106] **Keawchaoon, L., & Yoksan, R.** (2011). Preparation, characterization and in vitro release study of carvacrol-loaded chitosan nanoparticles. Colloids and surfaces. B, Biointerfaces, 84(1), 163–171. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.12.031

[107] **Zheng, H., Wang, J., You, F., Zhou, M., & Shi, S.** (2022). Fabrication, Characterization, and Antimicrobial Activity of Carvacrol-Loaded Zein Nanoparticles Using the pH-Driven Method. International journal of molecular sciences, 23(16), 9227. https://doi.org/10.3390/ijms23169227

[108] **Ünal, S., Doğan, O., & Aktaş, Y.** (2022). Paclitaxel-loaded polycaprolactone nanoparticles for lung tumors; formulation, comprehensive in vitro characterization and release kinetic studies. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 46(3).

[109] **Byun, Y., Hwang, J., Bang, S., Darby, D., Cooksey, K., Dawson, P., Park, H., Whiteside, S.** (2011). Formulation and characterization of α-tocopherol loaded poly ε-caprolactone (PCL) nanoparticles. LWT - Food Science and Technology. 44. 24-28. 10.1016/j.lwt.2010.06.032.

[110] **Tampau, A., González-Martinez, C., & Chiralt, A.** (2017). Carvacrol encapsulation in starch or PCL based matrices by electrospinning. Journal of Food Engineering, 214.

[111] **Ariyasena, D., Ranathunga, H., Thrikawala, S., & Perera, I.** (2022). Controlled drug release and drug delivery applications from mesoporous nanoparticles. Novel Platforms for Drug Delivery Applications. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91376-8.00016

[112] **Lee, J. H., & Yeo, Y.** (2015). Controlled Drug Release from Pharmaceutical Nanocarriers. Chemical engineering science, 125, 75–84. https://doi.org/10.1016/j.ces.2014.08.046

[113] **Seo, M. D., Kang, T. J., Lee, C. H., Lee, A. Y., & Noh, M.** (2012). HaCaT Keratinocytes and Primary Epidermal Keratinocytes Have Different Transcriptional Profiles of Cornified Envelope-Associated Genes to T Helper Cell Cytokines. Biomolecules & therapeutics, 20(2), 171–176. https://doi.org/10.4062/biomolther.2012.20.2.171

[114] **Wilson V. G.** (2014). Growth and differentiation of HaCaT keratinocytes. Methods in molecular biology (Clifton, N.J.), 1195, 33–41. https://doi.org/10.1007/7651_2013_42

[115] **Yang, X., Liu, J., He, H., Zhou, L., Gong, C., Wang, X., Yang, L., Yuan, J., Huang, H., He, L., Zhang, B., & Zhuang, Z.** (2010). SiO2 nanoparticles induce cytotoxicity and protein expression alteration in HaCaT cells. Particle and fibre toxicology, 7, 1. https://doi.org/10.1186/1743-8977-7-1

[116] **Zaiter, T., Cornu, R., El Basset, W., Martin, H., Diab, M., & Béduneau, A.** (2022). Toxicity assessment of nanoparticles in contact with the skin. Journal of Nanoparticle Research, 24. https://doi.org/10.1007/s11051-022-05523-2

[117] **McLean, P., Marshall, J., García-Bilbao, A., Beal, D., Katsumiti, A., Carrière, M., & Boyles, M. S. P.** (2024). A comparison of dermal toxicity models; assessing suitability for safe(r)-by-design decision-making and for screening nanomaterial hazards. Toxicology in vitro : an international journal published in association with BIBRA, 97, 105792. https://doi.org/10.1016/j.tiv.2024.105792

[118] **Wang, Y., Li, H., Xue, C., Chen, H., Xue, Y., Zhao, F., Zhu, M. X., & Cao, Z.** (2021). TRPV3 enhances skin keratinocyte proliferation through EGFR-dependent signaling pathways. Cell biology and toxicology, 37(2), 313–330. https://doi.org/10.1007/s10565-020-09536-2

[119] **Crosera, M., Prodi, A., Mauro, M., Pelin, M., Florio, C., Bellomo, F., Adami, G., Apostoli, P., De Palma, G., Bovenzi, M., Campanini, M., & Filon, F. L.** (2015). Titanium Dioxide Nanoparticle Penetration into the Skin and Effects on HaCaT Cells. International journal of environmental research and public health, 12(8), 9282–9297. https://doi.org/10.3390/ijerph120809282

[120] **Rojo-Ruvalcaba, B. E., García-Cobián, T. A., Pascoe-González, S., Campos-Bayardo, T. I., Guzmán-García, L. M., Gil-Gálvez, M. C., Escobar-Millán, Z., Huerta-García, E., & García-Iglesias, T.** (2020). Dose-Dependent Cytotoxicity of the Origanum vulgare and Carvacrol on Triple Negative Breast Cancer Cell Line. Proceedings, 61(1), 6. https://doi.org/10.3390/IECN2020-07000

[121] **Maarouf, F., & Rahman, H.** (2024). Preparation, characterization, and sub-chronic toxicity of carvacrol-self-nano-emulsifying drug delivery system towards healthy Sprague Dawley rats. Natural Product Communications, 19. https://doi.org/10.1177/1934578X241230820

[122] **Wu, M., Cronin, K., & Crane, J. S.** (2023). Biochemistry, Collagen Synthesis. In StatPearls. StatPearls Publishing.

[123] **Sharma, S., Rai, V. K., Narang, R. K., & Markandeywar, T. S.** (2022). Collagen-based formulations for wound healing: A literature review. Life sciences, 290, 120096. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.120096

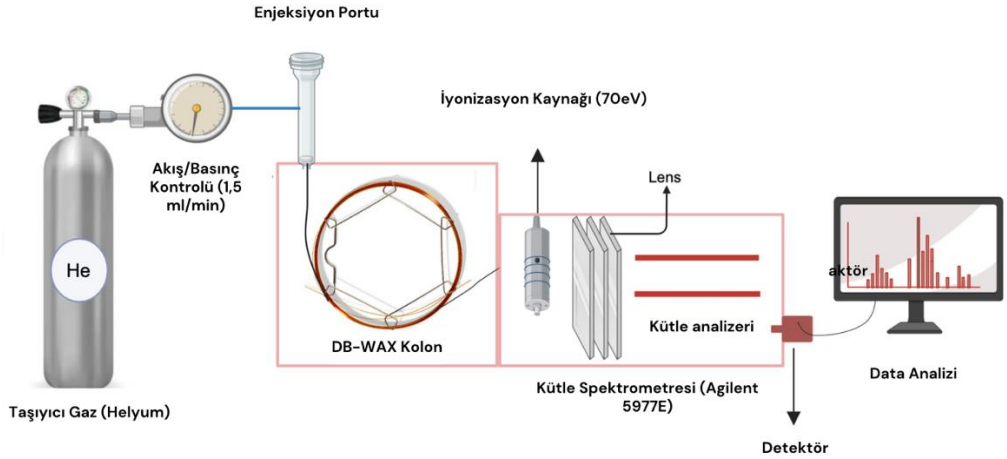
[124] **Lee, J., Jung, E., Yu, H., Kim, Y., Ha, J., Kim, Y. S., & Park, D.** (2008). Mechanisms of carvacrol-induced expression of type I collagen gene. Journal of dermatological science, 52(3), 160–169. https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2008.06.007

[125] **Kim, H.J.** (2009). Agents for improving skin wrinkles comprising carvacrol as an active ingredient. (Korean Patent No. KR100893162B1).

EKLER

Ek A: GC-MS analizi şematik gösterimi

Ek A


Enjeksiyon Portu
İyonizasyon Kaynağı (70eV)
Akış/Basınç Kontrolü (1,5 ml/min)
He
Lens
aktör
DB-WAX Kolon
Kütle analizeri
Data Analizi
Kütle Spektrometresi (Agilent 5977E)
Taşıyıcı Gaz (Helyum)
Detektör

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad :Tuğba AYDIN
Doğum Tarihi ve Yeri :
E-posta :

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2017, Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi

MESLEKİ DENEYİM:

- 2020-Halen Araştırma Görevlisi, İstinye Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi

DOKTORA TEZİNDEN TÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler :

- **Aydın, T.,** Gök, B., Kılınç, Y., & Kartal, M. (2025). Obtaining carvacrol from *Origanum onites* L. essential oil and developing carvacrol-loaded nanoformulation for use in cosmetics. . INDUSTRIAL CROPS AND PRODUCTS. **226**: p. 1-12.

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında (p*roceedings*) basılan bildiriler:

- **Aydın, T.**, Kartal, M., Gök, B., & Budama Kılınç, Y. (2023). Obtaining carvacrol from *O. onites* essential oil and developing carvacrol-loaded nanoformulation for use in cosmetics. *III BIO.NATURAL – Bioactive Natural Products Research Meeting*, Universidade Lusófona, Lisbon, Portugal.
- **Aydin T.** (2024). Effect of nanotechnology-based drug delivery systems on the biological activity of carvacrol. *ISOPS 14th International Symposium on Pharmaceutical Sciences,* Ankara, Türkiye.

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

- **Aydın, T.,** Gök, B., & Budama Kılınç, Y., Kartal, M. (2024). Karvakrol Polikaprolakton Nanopartiküllerinin Antikollajenaz Aktivitesinin incelenmesi. *XXV. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı,* Lefkoşa, KKTC.

DİĞER YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

A. Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler :

- Ercin E, Kecel-Gunduz S, Gok B, **Aydin T**, Budama-Kilinc Y, Kartal M. *Laurus nobilis* L. Essential Oil-Loaded PLGA as a Nanoformulation Candidate for Cancer Treatment. Molecules. 2022 Mar 15;27(6):1899. doi: 10.3390/molecules27061899. PMID: 35335262; PMCID: PMC8951774.