

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

*LAURUS NOBİLİS* L. BİTKİSİNDEN STANDARDİZE KOZMETİK  
HAMMADDE ÜRETİM PROSESLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ VE  
KOZMETİK FORMÜLASYONLARIN HAZIRLANMASI

DOKTORA TEZİ

Esin ERCİN

Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Anabilim Dalı  
Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Doktora Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Murat KARTAL

OCAK 2024

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***LAURUS NOBİLİS* L. BİTKİSİNDEN STANDARDİZE KOZMETİK  
HAMMADDE ÜRETİM PROSESLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ VE  
KOZMETİK FORMÜLASYONLARIN HAZIRLANMASI**

**DOKTORA TEZİ**

**Esin ERCİN**

**175312001**

**Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Anabilim Dalı  
Farmakognozi ve Doğal Ürünler Kimyası Doktora Programı**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Murat KARTAL**

**OCAK 2024**

Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün **175312001** Numaralı Doktora Öğrencisi Esin ERCİN, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "**LAURUS NOBİLİS L. BİTKİSİNDEN STANDARDİZE KOZMETİK HAMMADDE ÜRETİM PROSESLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ VE KOZMETİK FORMÜLASYONLARIN HAZIRLANMASI**" 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

**Doç. Dr. Yasemin BUDAMA KILINÇ** .....  
Yıldız Teknik Üniversitesi

**Doç. Dr. Ece SEVGİ** .....  
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

**Dr. Öğr. Üyesi Tuba KUŞMAN SAYGI** .....  
Sağlık Bilimleri Üniversitesi

**Teslim Tarihi** : **15 Mart 2024**  
**Savunma Tarihi** : **15 Ocak 2024**



*Canım Aileme;*

## ÖNSÖZ

Doktora eğitimim süresince hem eczacılık mesleğine bakış açısı hem de pozitif hayat anlayışıyla bizlere örnek olan, bilgisini ve değerli tecrübelerini her zaman her platformda sakınmadan öğrencileriyle ve sektörün tüm paydaşlarıyla paylaşan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Murat Kartal'a göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Doğal ürünler kimyası alanındaki tutkulu öğrenme ve öğretme aşkı ile sadece bana değil pek çok bilim insanına örnek teşkil eden sevgili hocam Prof. Dr. Gülaçtı Topçu varlığını ve desteğiniz için çok teşekkür ederim.

Eğitimim boyunca laboratuvar çalışmalarında bana yardımcı olan, zamanını ve ilgisini benden esirgemeyen, dostluklarını yoğun bir şekilde yanımda hissettiğim başta Doç. Dr. Timur Hakan Barak olmak üzere Dr. Öğr. Gör. İlker Demirbolat, Dr. Öğr. Gör. Tuba Kuşman Saygı, Dr. Öğr. Gör. Bahar Gök, Arş. Gör. Şeyma Ulusoy ve Arş. Gör. Ebrar İnal'a tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında öğretici ve yardımcı fikirleri ile bana destek olan Prof. Dr. Evrim Tekkeli, Doç. Dr. Yasemin Budamacı Kılınç, Doç. Dr. Ece Sevgi, Doç. Dr. Ünal Karık, Doç. Dr. Çağla Kızıllarslan Hançer'e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında her konuda bana destek ve moral kaynağı olan Bezmialem Fitoterapi Eğitim, Uygulama ve Araştırma Merkezi (BİTEM)'in tüm çalışanlarına çok teşekkür ederim.

Dostluklarıyla her zaman beni destekleyip yanımda olan sevgili eczane çalışanlarım Fatih Tuncer, Cahit Gülnar, Deniz Zambakçı ve Tolga Tekinay'a teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca beni yalnız bırakmayan güçlerini hep arkamda hissettiğim ailem, canım annem Hatice Ercin ve sevgili babam Nuri Ercin, onların zamanından alıp çalışmalarına verdiğim halde beni anlayıp bana destek olan güzel oğullarım Ali Karahan ve Alphan Yaman'a teşekkür ediyorum.

Bu tez, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 20210819 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Ocak 2024

Ecz. Esin ERCİN

## 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.



Esin ERCİN

İmza

## KISALTMALAR

|                                 |   |
|---------------------------------|---|
| <b><math>\alpha</math>-MGBL</b> | : $\alpha$ -methylene- $\gamma$ -butyrolactone    |
| <b><math>\mu</math>g</b>        | : Mikrogram                                       |
| <b><math>\mu</math>L</b>        | : Mikrolitre                                      |
| <b><math>\mu</math>M</b>        | : Mikromolar                                      |
| <b>AAAPVN</b>                   | : N-succinyl-Ala-Ala-Ala-p-nitroanilide           |
| <b>BAA</b>                      | : Yüzde Bağlı Antioksidan Aktivite                |
| <b>BHT</b>                      | : Butil Hidroksi Toluen                           |
| <b>CLSI</b>                     | : The Clinical and Laboratory Standards Institute |
| <b>dak</b>                      | : Dakika  |
| <b>DDDÇ</b>                     | : Doğadan Dişi Defne Çiçeği                       |
| <b>DDDY</b>                     | : Doğadan Dişi Defne Yaprağı                      |
| <b>DEDÇ</b>                     | : Doğadan Erkek Defne Çiçeği                      |
| <b>DEDY</b>                     | : Doğadan Erkek Defne Yaprağı                     |
| <b>DMSO</b>                     | : Dimetilsülfoksit                                |
| <b>DNA</b>                      | : Deoksiribo nükleik asit                         |
| <b>DPPH</b>                     | : 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil                    |
| <b>EDTA</b>                     | : Etilen diamintetraasetik asit                   |
| <b>EGCG</b>                     | : Epigallokateşin gallat                          |
| <b>FID</b>                      | : Alev İyonlaşma Dedektörü                        |
| <b>g</b>                        | : Gram  |
| <b>GC</b>                       | : Gaz Kromatografisi                              |
| <b>H<sub>2</sub>O</b>           | : Su  |
| <b>He</b>                       | : Helyum  |
| <b>HDL</b>                      | : Yüksek yoğunluklu lipoprotein                   |
| <b>HS</b>                       | : Head-Space                                      |
| <b>IC<sub>50</sub></b>          | : %50 inhibisyon değeri                           |
| <b>IZD</b>                      | : İnhibisyon Zon Çapları                          |
| <b>KDDÇ</b>                     | : Kültüre Dişi Defne Çiçeği                       |
| <b>KDDY</b>                     | : Kültüre Dişi Defne Yaprağı                      |
| <b>KEDÇ</b>                     | : Kültüre Erkek Defne Çiçeği                      |
| <b>KEDY</b>                     | : Kültüre Erkek Defne Yaprağı                     |
| <b>L</b>                        | : Litre   |
| <b>LDL</b>                      | : Düşük yoğunluklu lipoprotein                    |
| <b>LNEO</b>                     | : <i>Laurus nobilis</i> uçucu yağı                |
| <b>LNEO-NP</b>                  | : Nanopartiküle <i>Laurus nobilis</i> uçucu yağı  |
| <b>mg</b>                       | : Miligram  |
| <b>MHB</b>                      | : Mueller-Hinton Besiyeri                         |
| <b>MIC</b>                      | : Minimum İnhibitör Konsantrasyonlar              |

|                      |  |
|----------------------|--|
| <b>mL</b>            | : Mililitre  |
| <b>MS</b>            | : Kütle Spektrometresi                                       |
| <b>MTT</b>           | : (3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-Difeniltetrazolyum Bromür) |
| <b>nm</b>            | : Nanometre  |
| <b>NSAID</b>         | : Nonsteroidal antienflamatuvar ilaç                         |
| <b>O<sub>2</sub></b> | : Oksijen  |
| <b>OD</b>            | : Optik yoğunluk   |
| <b>PBS</b>           | : Fosfat tamponlu salin                                      |
| <b>PdI</b>           | : Polidispersite indeksi                                     |
| <b>PLGA</b>          | : Poli laktik-ko-glikolik asit                               |
| <b>PVA</b>           | : Polivinil alkol  |
| <b>RRI</b>           | : Relatif Alıkonma İndisi                                    |
| <b>sa</b>            | : Saat   |
| <b>SDB</b>           | : Sabouraud Dekstroz Besiyeri                                |
| <b>SEM</b>           | : Taramalı elektron mikroskobu                               |
| <b>U</b>             | : Ünite  |



## SEMBOLLER

|                    |                    |
|--------------------|--------------------|
| $^{\circ}\text{C}$ | : Santigrat derece |
| $\delta$           | : Kimyasal kayma   |
| $\alpha$           | : Alfa             |
| $\beta$            | : Beta             |

## TABLO LİSTESİ

### Sayfa

|  |    |
|--|----|
| <b>Tablo 3.1 :</b> 100 gram <i>Laurus nobilis</i> yaprağı besin içeriği [20].....  | 11 |
| <b>Tablo 3.2 :</b> <i>Laurus nobilis</i> uçucu yağı bileşenleri ve oranları [7]. .....   | 18 |
| <b>Tablo 3.3 :</b> <i>Laurus nobilis</i> meyve yağı bileşenleri ve minimum, maksimum bulunma oranları [13].....                        | 23 |
| <b>Tablo 4.1 :</b> <i>Laurus nobilis</i> türünün kozmetik alanında kullanılan kısımları, kullanım amaçları ve CAS numaraları [31]..... | 27 |
| <b>Tablo 6.1 :</b> Analiz edilen örneklerin uçucu yağ verimleri.....   | 49 |
| <b>Tablo 6.2 :</b> <i>Laurus nobilis</i> yaprak uçucu yağlarının kimyasal bileşimleri .....  | 50 |
| <b>Tablo 6.3 :</b> <i>Laurus nobilis</i> çiçek uçucu yağlarının kimyasal bileşimleri .....   | 51 |
| <b>Tablo 6.4 :</b> LNEO ve LNEONP uçucu yağlarının kimyasal bileşimleri.....   | 53 |
| <b>Tablo 6.5 :</b> Uçucu yağların antioksidan aktiviteleri .....   | 55 |
| <b>Tablo 6.6 :</b> Uçucu yağların antimikrobiyal aktivitesi.....   | 56 |
| <b>Tablo 6.7 :</b> Örneklerin ve referans maddelerin kollajenaz enzimi inhibisyonu aktiviteleri.....                                   | 57 |
| <b>Tablo 6.8 :</b> Örneklerin ve referans maddelerin elastaz enzimi inhibisyonu aktiviteleri .....                                     | 58 |
| <b>Tablo 6.9 :</b> Örneklerin ve referans maddelerin hyaluronidaz enzimi inhibisyonu aktiviteleri.....                                 | 59 |
| <b>Tablo 6.10 :</b> LNEO-PLGA NP'lerin serbest LNEO ile kıyaslı hücre canlılığı.....   | 64 |

## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

|  |    |
|--|----|
| Şekil 2.1 : <i>Laurus nobilis</i> bitkisinin genel görünümü[11].   | 7  |
| Şekil 2.2 : <i>Laurus nobilis</i> Türkiye'deki yayılış alanları [1].   | 8  |
| Şekil 2.3 : <i>Laurus nobilis</i> yaprağı [16].  | 10 |
| Şekil 2.4 : <i>Laurus nobilis</i> soldaki dişi çiçek, sağdaki erkek çiçek [17].  | 10 |
| Şekil 2.5 : <i>Laurus nobilis</i> meyvesi [18].  | 10 |
| Şekil 3.1 : Apigenin.  | 13 |
| Şekil 3.2 : Luteolin   | 13 |
| Şekil 3.3 : Myricetin.   | 13 |
| Şekil 3.4 : Kaempferol.  | 13 |
| Şekil 3.5 : Kaempferol-3- <i>O</i> - $\alpha$ -L-(3"-Z,4"-E-di-p-coumaroyl)-rhamnopyranoside...                          | 14 |
| Şekil 3.6 : Kaempferol-3- <i>O</i> - $\alpha$ -L-(3",4"-di-Z-p-coumaroyl)-rhamnopyranoside.....                          | 14 |
| Şekil 3.7 : Kaempferol-3- <i>O</i> - $\alpha$ -L-(3",4"-di-E-p-coumaroyl)-rhamnopyranoside.....                          | 15 |
| Şekil 3.8 : Kaempferol-3- <i>O</i> - $\alpha$ -L-(2"-E,4"-Z-di-p-coumaroyl)-rhamnopyranoside. ...                        | 15 |
| Şekil 3.9 : Kaempferol-3- <i>O</i> - $\alpha$ -L-(2",4"-di-E-p-coumaroyl)-rhamnopyranoside.....                          | 15 |
| Şekil 3.10 : Kaempferol-3- <i>O</i> - $\alpha$ -L-(2"-Z,4"E-di-p-coumaroyl)-rhamnopyranoside. .                          | 16 |
| Şekil 3.11 : Isoquercetin.   | 16 |
| Şekil 3.12 : Cyanidin 3- <i>O</i> -glucoside.  | 17 |
| Şekil 3.13 : Cyanidin 3- <i>O</i> -rutinoside.   | 17 |
| Şekil 3.14 : <i>Laurus nobilis</i> türünün uçucu yağında bulunan bileşenler.....   | 19 |
| Şekil 3.15 : <i>Laurus nobilis</i> meyvesindeki seskiterpen bileşikler.....  | 20 |
| Şekil 3.16 : Cyanidin 3- <i>O</i> -glucoside.  | 21 |
| Şekil 3.17 : Cyanidin 3- <i>O</i> -rutinoside.   | 21 |
| Şekil 3.18 : Peonidin 3- <i>O</i> -glucoside.  | 22 |
| Şekil 3.19 : Peonidin 3- <i>O</i> -rutinoside.   | 22 |
| Şekil 3.20 : Laurik asit.  | 23 |
| Şekil 3.21 : Oleik asit.   | 23 |
| Şekil 3.22 : Palmitik asit.  | 24 |
| Şekil 3.23 : Linoleik asit.  | 24 |
| Şekil 6.1 : LNEO GC-HS-MS kromatogramı   | 53 |
| Şekil 6.2 : LNEO-NP GC-HS-MS kromatogramı  | 54 |
| Şekil 6.3 : Boş NP'lerin DLS analizi: (a) ortalama parçacık boyutu ve (b) zeta potansiyel grafikleri.....                | 60 |
| Şekil 6.4 : LNEO-NP'lerin DLS analizi: (a) ortalama parçacık boyutu ve (b) zeta potansiyel grafikleri.....               | 60 |
| Şekil 6.5 : LNEO-NP'lerin SEM görüntüsü.....   | 61 |
| Şekil 6.6 : LNEO'nun standart eğrisi.  | 61 |
| Şekil 6.7 : LNEO'nun in vitro salım profili (%)  | 62 |
| Şekil 6.8 : Artan miktarlarda CT-DNA varlığında ve CT-DNA yokluğunda (siyah tepe) LNEO'nun absorpsiyon spektrumları..... | 63 |
| Şekil 6.9 : LNEO-PLGA NP'lerin serbest LNEO ile kıyaslı hücre canlılığı grafiği.   | 64 |

# **LAURUS NOBİLİS L. BİTKİSİNDEN STANDARDİZE KOZMETİK HAMMADDE ÜRETİM PROSESLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ VE KOZMETİK FORMÜLASYONLARIN HAZIRLANMASI**

## **ÖZET**

Defne (*Laurus nobilis* L.) Lauraceae familyasının *Laurus* cinsine ait aromatik ve çok önemli bir bitkidir. Kendine has bir kokusu bulunan defne, Akdeniz ikliminde doğal yetişme ortamı bulmakta ve Türkiye'nin de doğal bitki türleri arasında bulunmaktadır. Türkiye, dünya defne yaprağı ihtiyacının %90'ını sağlamaktadır ve önemli tedarikçiler arasındadır. Bu çalışmada defne bitkisinin yaprak, meyve, çiçekleri üzerinde çalışılarak kozmetik ve ilaç sanayi kullanım potansiyeli saptanmak istenmiştir.

*Laurus nobilis*, dişi ve erkek bitkileri ayrı olan dioik bir türdür. Türkiye'nin Ege Bölgesi defnenin endüstriyel amaçlı yaygın bir şekilde yetiştirildiği bir bölgedir. Her iki cinsiyette de kültür edilmiş ya da doğal defne yaprakları hemen hemen aynı bileşime ve aynı verimde uçucu yağ sunmaktadır. Sonuçlara göre çiçek uçucu yağlarının verim ve bileşimlerindeki farklılıkların sadece cinsiyete bağlı olduğu ortaya çıkarılmıştır. Tüm uçucu yağlar antioksidan aktivitelere ve önemli antimikrobiyal etkilere sahiptir ancak yaprak uçucu yağları her açıdan çok daha üstündür.

*Laurus nobilis* bitkisinin yapraklarından elde edilen uçucu yağ (LNEO) bir yaklaşım olarak LNEO yüklü poli laktik-ko-glikolik asit (PLGA) nanopartikülleri hazırlanmış ve LNEONP'ler tek emülsiyon yöntemiyle sentezlenmiştir. LNEO, CT-DNA'ya interkalatif olarak bağlanmış ve ek olarak, LNEO'nun ikili bir PI3K/mTOR inhibitörü üzerindeki etki mekanizması tahmin edilerek antiproliferatif aktivitesi ve mekanizması, moleküler yerleştirme analizi kullanılarak belirlenmiştir. LNEO yüklü PLGA NP'lerin kozmetik formülasyon olarak nanopartikül dozaj formunda ticarileştirilmesi hedeflenmektedir.

*Laurus nobilis* bitkisi yaprak, meyve, yaprak uçucu yağı ve meyve sabit yağından elde edilen 14 ayrı örnek, cilt yaşlanması üzerinde etkili olduğu bilinen 3 enzim üzerinde inhibisyon aktivitesi bakımından incelenmiştir. Sonuçlar yapraktan elde edilen örneklerin, meyveden elde edilen örneklerle kıyasla belirgin şekilde daha güçlü aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu sebeple yaprak uçucu yağı içeren nanopartiküller geliştirilmiştir. Nanopartiküllerin uçucu yağ ile benzer aktivite gösterdiği yapılan testler sonucunda ortaya konmuştur. Uçucu yağ ve uçucu yağ içeren nanopartiküller GC-MS analizine tabi tutulduğunda, uçucu yağdaki majör bileşenlerin nanopartiküllere yüklendiği gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar yaprak 1:5 etanol ekstresi, yaprak uçucu yağının ve yaprak uçucu yağı içeren nanopartiküllerin kozmetik formülasyonlarda kullanılma ve ekonomik bir değer ihtiva etme potansiyelini ortaya koymuştur.

**Anahtar Kelimeler:** *Laurus nobilis*, kozmetik, nanoformülasyon, uçucu yağ

# DEVELOPMENT OF STANDARDIZED COSMETIC RAW MATERIAL PRODUCTION PROCESSES AND PREPARATION OF COSMETIC FORMULATIONS FROM *LAURUS NOBILIS* L.

## SUMMARY

Laurel (*Laurus nobilis* L.) is an aromatic and very important plant belonging to the *Laurus* genus of the Lauraceae family. Laurel, which has a unique scent, finds its natural habitat in the Mediterranean climate and is among the natural plant species of Turkey. Turkey provides 90% of the world's bay leaf needs and is among the important suppliers. In this study, it was aimed to determine the use and potential of the bay laurel plant in the cosmetic and pharmaceutical industries by studying its leaves, fruits and flowers.

*Laurus nobilis* is a dioecious species with separate male and female plants. Turkey's Aegean Region is a region where bay laurel is widely grown for industrial purposes. Cultivated or natural bay leaves of both sexes offer almost the same composition and the same yield of essential oil. According to the results, it was revealed that the differences in the yield and composition of flower essential oils depend only on gender. All essential oils have antioxidant activities and significant antimicrobial effects, but leaf essential oils are far superior in every respect.

As an approach, LNEO-loaded poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) nanoparticles were prepared using the essential oil (LNEO) obtained from the leaves of the plant *Laurus nobilis*, and LNEONPs were synthesized by the single emulsion method. LNEO was intercalally linked to CT-DNA, and in addition, its antiproliferative activity and mechanism were determined using molecular docking analysis by predicting the mechanism of action of LNEO on a dual PI3K/mTOR inhibitor. It is aimed to commercialize LNEO-loaded PLGA NPs in nanoparticle dosage form as cosmetic formulation.

14 separate samples obtained from *Laurus nobilis* plant leaves, fruit, leaf essential oil and fruit fixed oil were examined for inhibition activity on 3 enzymes known to be effective on skin aging. The results revealed that samples obtained from leaves showed significantly stronger activity than samples obtained from fruit. For this reason, nanoparticles containing leaf essential oil have been developed. As a result of the tests, it was revealed that nanoparticles showed similar activities as essential oil. When essential oil and nanoparticles containing essential oil were subjected to GC-MS analysis, it was observed that the major components in the essential oil were loaded into the nanoparticles. These results revealed the potential of leaf 1:5 ethanol extract, leaf essential oil, and nanoparticles containing leaf essential oil to be used in cosmetic formulations and have economic value.

**Keywords:** *Laurus nobilis*, cosmetics, nanoformulation, essential oil

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

|   |           |
|---|-----------|
| ÖNSÖZ .....   | iv        |
| BEYAN .....   | v         |
| KISALTMALAR .....   | vi        |
| SEMBOLLER .....   | viii      |
| TABLO LİSTESİ .....   | ix        |
| ŞEKİL LİSTESİ .....   | x         |
| ÖZET .....  | xi        |
| SUMMARY .....   | xii       |
| <b>1. GİRİŞ ve AMAÇ .....</b>   | <b>1</b>  |
| 1.1 Tezin Amacı .....   | 4         |
| <b>2. <i>Laurus nobilis</i> TÜRÜNE AİT BOTANİK BİLGİLER .....</b>                         | <b>5</b>  |
| 2.1 <i>Laurus nobilis</i> Türünün Sistematikteki Yeri .....                               | 5         |
| 2.2 Lauraceae Familyasının Özellikleri .....  | 5         |
| 2.3 <i>Laurus</i> Cinsi .....   | 7         |
| 2.4 <i>Laurus nobilis</i> Türünün Özellikleri ve Yayılışı .....                           | 7         |
| <b>3. GENEL BİLGİLER .....</b>  | <b>11</b> |
| 3.1 <i>Laurus nobilis</i> Yaprağı Üzerine Yapılan Fitokimyasal Araştırmalar .....         | 11        |
| 3.1.1 Vitaminler .....  | 12        |
| 3.1.2 Folik Asit .....  | 12        |
| 3.1.3 Mineraller .....  | 12        |
| 3.1.4 Flavonoidler ve Heterozitleri .....   | 12        |
| 3.1.5 Antosiyanin Bileşikleri .....   | 17        |
| 3.1.6 Uçucu Yağ ve Bileşenleri .....  | 18        |
| 3.2 <i>Laurus nobilis</i> Meyvesi Üzerine Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar .....           | 20        |
| 3.2.1 Seskiterpen Bileşikleri .....   | 20        |
| 3.2.2 Antosiyanin Bileşikleri .....   | 21        |
| 3.2.3 Sabit Yağ ve Bileşenleri .....  | 22        |
| <b>4. <i>Laurus nobilis</i> TÜRÜNÜN KULLANIM ALANLARI VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ .....</b> | <b>25</b> |
| 4.1 <i>Laurus nobilis</i> Türünün Kullanım Alanları .....                                 | 25        |
| 4.2 Antioksidan Aktivite .....  | 27        |
| 4.3 Antiülser Aktivite .....  | 29        |
| 4.4 Antikonvülsan Aktivite .....  | 30        |
| 4.5 Ağrı Kesici ve Enflamasyon Giderici Aktivite .....                                    | 30        |
| 4.6 Antimutajenik Aktivite .....  | 30        |
| 4.7 Antibakteriyel Aktivite .....   | 31        |
| 4.8 Antifungal Aktivite .....   | 31        |
| 4.9 Böcek ve Parazit Öldürücü Aktivite .....  | 32        |
| 4.10 Antidiyabetik Aktivite .....   | 33        |
| 4.11 Sitotoksik Aktivite .....  | 35        |

|  |           |
|--|-----------|
| 4.12 Yara İyileştirici Aktivite.....   | 36        |
| 4.13 Gastrointestinal Sistem Üzerindeki Aktivite.....  | 36        |
| <b>5. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>   | <b>37</b> |
| 5.1 Bitkisel materyal .....  | 37        |
| 5.2 Uçucu Yağın Eldesi ve Verimleri .....  | 37        |
| 5.3 GC-FID/MS ile Uçucu Yağ Analizi.....   | 37        |
| 5.3.1 GC-FID Şartları (Gaz Kromatografisi Alev İyonlaşma Detektörü).....                                       | 38        |
| 5.3.2 GC-MS Şartları (Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi).....  | 38        |
| 5.3.3 GC-HS-MS (Gaz Kromatografisi Head Space Kütle Spektrometresi).....                                       | 39        |
| 5.4 Antioksidan Aktivite Analizi .....   | 39        |
| 5.4.1 DPPH serbest radikali giderim aktivitesi tayini .....  | 39        |
| 5.4.2 Beta-Karoten Renk Açılım Testi.....  | 41        |
| 5.5 Antimikrobiyal Aktivite Tayini.....  | 42        |
| 5.6 Antikollajenaz Antielastaz ve Antihyalüronidaz Aktivite Tayini Örnekleri....                               | 43        |
| 5.7 Antikollajenaz Aktivite .....  | 43        |
| 5.8 Antielastaz Aktivite.....  | 44        |
| 5.9 Antihyalüronidaz Aktivite.....   | 44        |
| 5.10 LNEO-NP'lerin hazırlanması .....  | 45        |
| 5.11 LNEO'nun Spektrofotometrik Analizi .....  | 45        |
| 5.12 LNEO-NP'lerin Ortalama Parçacık Boyutu, Polidispersite İndeksi (PdI) ve Zeta Potansiyeli Analizleri ..... | 45        |
| 5.13 Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) .....  | 46        |
| 5.14 Kapsülleme Verimliliği ve Yükleme Kapasitesinin Belirlenmesi .....  | 46        |
| 5.15 LNEO-NP'lerin İn Vitro Salım Profili .....  | 46        |
| 5.16 DNA Bağlanma Çalışması .....  | 47        |
| 5.17 HaCaT Hücre Kültürünün Hazırlanması.....  | 47        |
| 5.18 LNEO ve LNEO-PLGA NP'lerin Sitotoksitenin Değerlendirilmesi .....   | 48        |
| <b>6. BULGULAR VE TARTIŞMA.....</b>  | <b>49</b> |
| 6.1 Tez Materyal Örnekleri Üzerinde Uçucu Yağın Eldesi ve Verimleri.....                                       | 49        |
| 6.2 GC-FID/MS Bulguları.....   | 50        |
| 6.3 GC-HS-MS Bulguları.....  | 52        |
| 6.4 Antioksidan Aktiviteye Ait Bulgular .....  | 54        |
| 6.5 Antimikrobiyal Aktiviteye Ait Bulgular .....   | 56        |
| 6.6 Antikollajenaz Aktiviteye Ait Bulgular .....   | 57        |
| 6.7 Antielastaz Aktiviteye Ait Bulgular .....  | 57        |
| 6.8 Antihyalüronidaz Aktiviteye Ait Bulgular .....   | 58        |
| 6.9 Ortalama Parçacık Boyutu, PdI ve Zeta Potansiyeli Analiz Sonuçları .....                                   | 59        |
| 6.10 LNEO-NP'lerin SEM Mikrografı .....  | 60        |
| 6.11 Kapsülleme Verimliliği ve Yükleme Kapasitesinin Belirlenmesi .....  | 61        |
| 6.12 LNEO'nun İn Vitro Salım Profili .....   | 62        |
| 6.13 DNA Bağlanma Sonuçları.....   | 62        |
| 6.14 LNEO ve LNEO-PLGA NP'lerin Sitotoksitenin Değerlendirilme Sonucu  | 63        |
| <b>7. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>   | <b>66</b> |

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Tıbbi bitkilerin kullanımına bakıldığında, insanlık tarihinin başlangıcından beri kullanımda oldukları görülür. Eski Mısırlılara ait olduğu varsayılan bir papirüste, yaklaşık 450 hastalıktan ve tedavilerinde kullanılan doğal ilaçlardan bahsedilmektedir. Kültepe’de ortaya çıkan kil tabletlerde (M.Ö.1974-1719) kimyon, kişniş ve bir tür kekiğin adına yer verilmektedir. Hititlere ait 60 tane çivi yazılı Boğazköy metinlerinde(M.Ö.1700-1200) defne, mersin ağacı, köknar, safran, ardıç, kekik, rezene, nane, dereotu, kişniş, kenevir, sinirotu, sütleğen, adamotu gibi ilaç olarak kullanılan bitkilerin adı geçmektedir. Hippokrates (M.Ö.460-377) eserinde 236 farklı tıbbi bitkiden ayrıntılı olarak bahsetmektedir. Galenos, bitkilerden ilaç hazırlanmasının tarifini yapmış ve bunlara ”Galenik preparatlar” adı verilmiştir. Dioskorides’in ilk farmakope sayılabilecek De Materia Medica isimli 24 ciltlik eserinde 600 tıbbi bitkinin ve bu bitkilerden hazırlanan ilaçların kullanımı ile ilgili ayrıntılı bilgi verilmiştir. İbn Sina’nın el-Kanun Fi’t-Tıb adlı eserinde 800 kadar, İbn Baytar’ın Kitab al-Cami adlı eserinde 1400 kadar, Davud al-Antaki’nin Tezkere-i Davud adlı eserinde de 1700 kadar doğal ilaçtan bahsedilmiştir [1, 2].

İnsanlar bitkileri binlerce yıldır tedavi aracı olarak kullandılar ve kullanmaya devam etmektedirler. Bazı eski uygarlıklar için tıbbi bitkilerin sağladığı şifanın büyüğü ve doğüstü bir unsuru vardı. Şifalı bitkiler, bazı insanlar için sihirli-dini bir anlama sahipti. Fitoterapi uygulamalarının tarihçesine bakıldığında Mezopotamya’da başladığı ve buradan dünyaya yayıldığı görülür. Mezopotamya’da bulunan tabletlerde bitkisel tedavilere ilişkin bilgiler yer almaktaydı. Fitoterapiye dair eski Mısır, Çin, Yunan, Hindistan medeniyetlerinde geniş bir tarihsel literatür bulunmaktadır. İslam medeniyetinde ise, İbn Sina’nın Avrupa üniversitelerinde yüzyıllarca okutulmuş olan kitabı el-Kanun Fi’t-Tıb günümüze halen ışık tutmaktadır [3].



Antik tarih dönemi incelenecek olursa, bitkisel ilaçlar hakkında yazdıklarıyla en önde gelen ismin Nero Ordu'sunun askeri hekimi ve eczacısı olan Adana-Kozan'da doğmuş Dioscorides olduğu görülür. M.S. 77 dolaylarında yazmış olduğu "De Materia Medica" adlı eser, birçok farklı dile çevrilmiş olup Orta Çağ'ın sonlarına hatta Rönesans'a kadar uygulanmıştır. Kitapta tanımlanan 944 ilacın 657'si bitkisel kökenlidir. Bu bitkilerin dış görünüşlerinden, yetiştirildikleri yerlerden, tedavi edici etkilerinden ve müstahzar olarak hazırlanmalarından bahseden Dioscorides "Farmakognozinin Babası" olarak anılmaktadır. Günümüzde, papatya, nane ve daha pek çok bitkinin Dioscorides'in bahsetmiş olduğu amaçlarla sıklıkla kullanıldığı görülmektedir [4].

Eczacı, botanikçi ve bilim adamı Prof. Turhan Baytop 1949-1999 yılları arasında Anadolu'nun birçok bölgesinde araştırma gezisi düzenlemiş, 29 tanesi yeni olan 10.000 farklı bitki örneği toplamıştır. Anadolu bitki türleri hakkında yazılmış olan bir diğer kaynak ise P.H. Davis (1918–1992) tarafından 11 cilt olarak hazır hale getirilen *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* (1965–1988) adlı eserdir [1].

30 cilt olarak planlanan resimli Türkiye Florası'nın ilk 3 cildi tamamlanmıştır. Resimli Türkiye Florası Türkiye'nin bitki çeşitliliğinin kısaca tanıtılması ve bu çeşitliliğe katkıda bulunan coğrafya, yer şekilleri, jeoloji, paleocoğrafya, toprak, iklime ait özet bilgilerin yer aldığı birinci cilt 2014 yılı içinde yayınlanmıştır. Birinci ciltte Anadolu florası üzerine yapılan çalışmaların tarihi, Davis'in *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* (1965-2000) adlı eserin yazarları, esere katkıda bulunanlar ve yazılış hikayesine ilişkin özet bilgiler de verilmiştir. Ayrıca ciltte Türkiye'de yetiştirilen bitkiler, etnobotanik, Davis'in eserinde yer alan eski yer isimlerinden tespit edilenlerinin bugünkü karşılıkları, Resimli Türkiye Florası'nda yer alacak bitki taksonlarının betimlerinde kullanılacak Türkçe terimler, açıklamaları ve 2013 yılı sonuna kadar Türkiye florası ile ilgili yayınlar sıralanmıştır. 2. Cilt (2018) ile Türkiye florasında Kibritotu Bölümü (Lycopodiophyta), Eğreli Bölümü (Pteridophyta), Tohumlu Bitkiler Bölümü (Magnoliophyta), Açık Tohumlular Altbölümü (Pinophytina) Kapalı Tohumlular Altbölümü olarak flora yazımının başlandığı cilt olarak ifade edilebilir. Resimli Türkiye Florası 3a Ciltte (2022) yer alan bitki familyalarında ise Kapalıtohumlular Altbölümü (Magnoliophytina) Devam edilerek, Salepgiller (Orchidaceae), Köpekotugiller (Ixioliriaceae), Süsengiller (Iridaceae) ait kısım yer almaktadır [5].

Yüzyıllardan beri bitkilerin insan yaşamının ve sağlığının vazgeçilmez bir parçası olması sonucunda günümüzde tüm dünyanın önemini anladığı ve üzerinde ciddi çalışmaların yapıldığı etnobotanik bilim dalı doğmuştur. “Tıbbi bitkilerle tedavi“ anlamına gelen “Fitoterapi” terimi ise ilk kez Fransız hekim Henri Leclerc (1870-1955) tarafından kullanılmıştır [6].

Türkiye'nin en fazla uçucu yağ ihraç ürünleri gül, defne ve kekik yağıdır. Dünyanın defne ihtiyacının %95'ini Türkiye karşılamaktadır ve Türkiye kalite, fiyat ve miktar olarak defne pazarında en yüksek paya sahiptir. Defne yaprağının yanı sıra, distilasyon yolu ile elde edilen defne uçucu yağı ve meyvelerinden elde edilen pres yağının da pazarda talebi oldukça fazladır. Defne yaprağı Almanya, Polonya, Japonya, İngiltere, Hollanda, Kanada, Amerika Birleşik Devleti, Slovakya, Çek cumhuriyeti, Fransa, Bulgaristan, Belçika, İsviçre, İsveç ve Lüksemburg başta olmak üzere birçok ülkeye ihraç edilmektedir. Türkiye 2012 yılında 9345 ton defne ihracatından 26.143.000 ABD doları, 2013 yılında ise 10.690 ton defne karşılığı 32.268.000 ABD doları gelir elde etmiştir. 1995 yılından beri defne yaprağına talep artmıştır ve önümüzdeki dönemlerde de aynı artışın olacağı düşünülmektedir, Türkiye'nin defne pazarındaki önemi her geçen gün artmaktadır [1].

Hoş kokusu ile bilinen ve her daim yeşil olan defne, eski zamanlarda olimpiyat oyunlarında başarılı olan yarışmacılara yapraklarından yapılmış taç şeklinde ödül olarak verilirdi. Romalılar M.Ö. 342 de altın paraların yüzeyinde defneden çelenk resmi kullanmışlardır. Romalılar ve Yunanlılar savaş ve spor galibiyetlerinde defne yapraklarından yapılan çelenkleri taç olarak kullanırlardı. Ayrıca defne yaprağının insanları yıldırım çarpmasına karşı koruyucu olduğuna inanan Romalılar fırtınalı havalarda yanlarında birer defne dalı taşırlardı [7].

Güneşli ortamlarda yetiştiği ve zafer, ün ve başarının simgesi olduğu için, defne tacı tüm sanatların, müziğin ve güneşin tanrısı olan Apollon'a ithaf edilirdi. Ortaçağda şairlere, sanatçılara ve bilginler tarafından da kullanılan defne tacı Thesselia Irmağı Peneius'un güzeller güzeli kızı Daphne'den (Defne) gelmektedir. Bir gün lir çalgıcısı, güzel ve bakire Defne isimli kız Asi kenarında dolanırken, Apollon ile karşılaşır. Defne ondan korkar ve kaçar. Uzun süren bir kovalamaca sonunda Defne şehrine ulaşırlar. Defne Apollon'a yakalanacağı zaman yer tanrısına "Ey toprak ana beni ört, beni sakla." diye yalvarır. Defne' nin duası kabul olur ve o anda gövdesi iri bir defne ağacına dönüşür. Saç ve kolları birer defne yaprağı, ayakları ise kök olur. Apollon çok

üzülür, ağlar ve ağaca sarılır, ''Kokulu saçlarından olan bu ağacın yaprakları yaz ve kış yeşil kalacak ve ben onları başıma taç yapacağım'' der. Bu sözler defne ağacına dönüşen Daphne'i çok etkiler ve Apollon'a saygıyla eğilir [7].

## 1.1 Tezin Amacı

Dünya *Laurus nobilis* üretiminde birinci sırada olan ülkemizin, bu değerli ihracat potansiyeli yüksek bitkiden katma değerli ürünler geliştirilerek üretime, ekonomiye kazandırılması ve hammaddenin sürdürülebilir hale dönüştürülmesi hedeflenmektedir. Defne yaprak uçucu yağının analizlerinin yapılarak ve literatürdeki analizleri değerlendirilerek "Defne Yaprığı Uçucu Yağ" Farmakope Monografına öneriler getirilmesi, *Laurus nobilis* (Defne) bitkisinin hem kültüre edilmiş hem de doğal dişi ve erkek bitkisi örnekleri üzerinde, hem çiçek hem yaprakları üzerinde uçucu yağ analizleri yapılarak cinsiyet farklılığının uçucu yağ bileşenine etkisi araştırılacak, bu yağlar üzerinde antioksidan, antimikrobiyal aktivite tayinleri yapılacaktır. *Laurus nobilis* yaprak uçucu yağı üzerinde nanoformülasyon çalışmaları yapılarak kontrollü salınım yoluyla defne yaprak uçucu yağının kozmetik formülasyonlarda kullanım potansiyeli hem in vitro hem de in silico yöntemler kullanılarak araştırılacaktır. Defne yaprak ve meyvesinden elde edilen farklı ekstratlar, yaprak uçucu yağı ve meyve yağı üzerinde biyolojik aktivite çalışmaları yapılarak kollajenaz, elastaz ve hyaluronidaz enzim inhibisyonu üzerindeki aktiviteleri incelenerek, kozmetik formülasyonlarda kullanım olanakları değerlendirilecektir.

## **2. *Laurus nobilis* TÜRÜNE AİT BOTANİK BİLGİLER**

### **2.1 *Laurus nobilis* Türünün Sistematikteki Yeri**

*Laurus nobilis*, Lauraceae familyasının *Laurus* cinsine ait bir türdür. *Laurus* cinsine ait diğer türler de *Laurus azorica* (Seub.) Franco ve yakın bir zamana kadar *Laurus azorica* türüne dahil edilen *Laurus novocanariensis* Rivas Mart., Lousã, Fern.Prieto, E.Días, J.C.Costa & C.Aguiar'dır. *Laurus nobilis* pürüzsüz ince sürgünleri ve Akdeniz bölgesinde bulunması ile karakterize edilir. *Laurus azorica* ise sık biçimdeki tüylü sürgünlere sahiptir ve Azor, Madeira ve Kanarya adalarında yayılım gösterir. *Laurus novocanariensis* ise Madeira ve Kanarya adalarına özgü bir endemik tür olup önceden *Laurus azorica* türü içinde sınıflandırılmıştır [8, 9].

### **2.2 Lauraceae Familyasının Özellikleri**

Ağaç ve çalılardan oluşan, genellikle aromatik yapıdaki bitkilerin bulunduğu Lauraceae familyası içerisinde 54 cins ve yaklaşık 2000-2500 tür bulunmaktadır. Çoğu tropikal bölgede, bir kısmı da subtropikal ve ılıman bölgede yayılış gösterirler. Yaprakları her daim yeşildir, almaşık (genellikle), karşılıklı (nadiren) veya helezonik (nadiren) şeklinde dizilmiş bulunurlar. Yapraklar basit, derimsi ve saplıdır, örtülü değildir. Yaprak tabakası bütün (genellikle) ya da parçalara ayrılmış halde (nadiren) bulunur.

Yaprak tabakası dorsiventral şekilde ya da iki yüzlüdür, stomalar tek yüzde yer alır ve parasitiktir. Tek hücreli tüyler bulunur. Çok sık olmamakla birlikte bazen sapa yönelik hipodermis bulunur ya da hiç bulunmaz. Salgı boşlukları yoktur. Mezofilde küre şeklinde eterik yağ hücreleri bulunur ama müsilaj hücreleri yoktur. Kristaller genellikle prizmatiktir.

Yüzeysel (genellikle) ya da derin tabakalı (nadiren) mantar kambiyumu bulunur. Primer damar hücreleri silindir içinde ayrı demetler olmadan kollateral halde bulunur. İçte floem, kabuksal ve meduller demetler bulunmaz. Konvansiyonel kambiyal halkadan sekonder kalınlaşma görülür.

Bu ailedeki bitkiler hermafrodittir, bir evcikli ya da iki evcikli olabilirler. Çiçekler tek ya da çiçek salkımı şeklinde kümelenmiş halde bulunurlar. Çiçek salkımı birimleri rasemoz ya da talkım halindedir. Çiçek salkımı aksillar, genellikle umbelliform halindedir. Çiçekler küçük, genellikle kokulu, yeşil, sarı, beyaz ve krem renklerinde 3 parçalı yapıda bulunur. İyi gelişmiş, bağımsız bir hipantiyum bulunur. Kaliksler 6 sepallidir ve iki daire şeklinde bulunur.

Meyveler genellikle etlidir, üzümü veya eriksi meyvelerdir. Bitkinin genel görünümü Şekil 2.1’de görülmektedir [11].

Lauraceae familyası ekonomik olarak önemli olan bitkileri içermektedir, bu bitkilere örnek olarak avokado meyvesi elde edilen *Persea americana* Mill., tarçın ve kafur elde edilen *Cinnamomum* spp. türleri ve ülkemizin önemli bitkilerinde olan, defne yaprağı elde edilen *Laurus nobilis* örnek verilebilir [10].



Şekil 2.1 : *Laurus nobilis* bitkisinin genel görünümü [11].

### 2.3 *Laurus* Cinsi

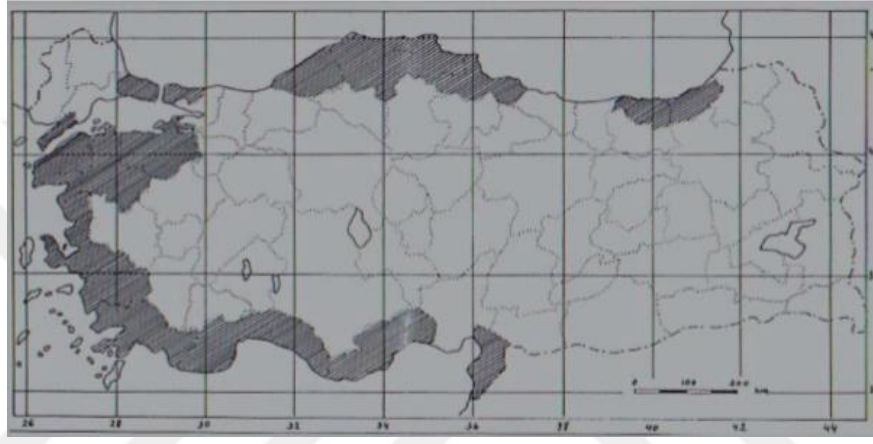
*Laurus* (Lauraceae) familyasına ait yaprak dökmeyen ağaç veya çalı şeklinde bir cinsidir. Yavaş büyüyen, yaprak dökmeyen aromatik çalılar veya ağaçlardır. Karşılıklı oval yaprakları bulunan ve ayrı bitkilerde (dioik) sarı erkek ve dişi çiçekleri olan ağaçlardır. Donmaya karşı dayanıklıdırlar ancak ılıman bölgelerde uzun süreli donmaya maruz kalmayan, çok güneş alan bölgelerde ise korunaklı bir noktaya ihtiyaç duyarlar. Lauraceae familyası 55'ten fazla cins ve 2500-3500'den fazla tür içerir. *Laurus* cinsi üç ana tür içerir: *Laurus canariensis* olarak da adlandırılan *Laurus azorica*, Azor adalarının ormanlarında yetişir; Akdeniz bölgesinde *Laurus nobilis* ve Madeira adası, Kanarya Adaları ve Fas'ta *Laurus novocanariensis* bulunmaktadır [12].

### 2.4 *Laurus nobilis* Türünün Özellikleri ve Yayılışı

Ülkemizin kıyı kesimlerinde doğal olarak yetişen Akdeniz defnesinin asıl doğal yetişme ortamı Akdeniz havzasıdır. En çok yaygın olduğu iller Balıkesir, Bursa, İstanbul, Zonguldak, Kastamonu, Sinop, Trabzon, Rize, İzmir, Muğla, Antalya,

Mersin, Hatay ve Maraş illeridir ve 0-1200 m rakımları arasında yayılış gösterir. Yağışın yeterli olduğu nemli ve güneşli iklimleri çok sever ve çok iyi yetişir. Yazların sıcak ve nemli olduğu, kış aylarının ise ılıman ve yağışlı olduğu iklimlere uyumu çok iyidir. Yükseklik arttıkça yaprak alanı küçülür ve uçucu yağ oranı azalır. Verimli, süzek ve hafif kireçli topraklarda yetişmesi çok iyidir [13].

Davis (1982)'e göre defnenin Türkiye'deki yayılış alanları aşağıdaki Şekil 2.2'de gösterilmektedir [1].



Şekil 2.2 : *Laurus nobilis* Türkiye'deki yayılış alanları [1].

Türkiye başta olmak üzere Cezayir, Belçika, İtalya, Fransa, Yunanistan, Meksika, Fas, Portekiz, İspanya, Arnavutluk, Romanya vb. ülkelerde ve Ege Denizindeki Yunan adalarında yayılış göstermektedir. Bunun dışında yayılış alanları Libya'nın doğu sahilleri, Suriye'nin batısı, Kırım ve kısacası hemen tüm batı Akdeniz havzasıdır. Akdeniz havzasının iklim özelliklerinin görüldüğü Rusya'nın Karadeniz kıyıları, Gürcistan ve İsrail'de kültürü yapılmaktadır [1].

Türkiyede defne bitkisi kullanıldığı yörelere göre farklı adlar almaktadır. Kastamonu İnebolu'da "tefrin" ya da "defnün", meyve veren defnelere "açtı", vermeyenlere "aşlı" ismi verilmekte, Cide'de "talimi", Bartın'da "tehni", Sakarya'da halk arasında "defne, taflan" denilmekte, Antalya-Gazipaşa, Akseki, Sinanhoca Köyü'nde, Manavgat, Sırt Köyde ve Finike'de "ehnel", Güzelbağ'da defne tohumuna "gılık" adı ile anılmaktadır. Mersin, Adana ve Osmaniye'de "har, teynel, defne", Kahramanmaraş'ta "harve, defne", Hatay'da "defne, har, teynel ve gar" denilmektedir. Bazı yerlerde ise "tehnel, tefrün, teynel" isimleri kullanılmaktadır [4].

Dünyada; İngilizcede, Bay Laurel, Sweet Bay, Laurel, Almandada; Lorbeer, Lorbeerbaum, Fransızcada; Laurier, Laurier Sauce, İspanyolcada; laurel, İtalyancada; Alloro, Lauro, Rusçada; Laur Brogorodry, Çince; Ye Gui, Lehçede; Wacurnzyn Szlachetny, Japoncada; gekke iju, Arapçada; Rend Gar, Habbül Gar, Fince; Laarkeripuu, Laakerinlehti, İsveçcede; lager olarak isimlendirilir ve bilinir [1].

Defne genellikle sık dallı ağaççık ya da çalı, bazen de boyu 8-10 metreye kadar uzayabilen ağaç biçimindedir. Gövdesi koyu renklidir, kabuğu düzgün ve çatlaksızdır. Defnenin gençken ince, açık yeşil renkte ve damarlı olan sürgünleri, zaman ilerledikçe kırmızımsı-esmer renge dönüşür. Yetiştirme ortamının toprak tipi, yüksekliği, yağış oranı, bakışı gibi ekolojik özelliklerine göre değişmekle birlikte yaprakları genellikle sıralı olarak dizilmiş olup, 7-10 cm uzunluğunda, derimsi ve serttir. Yapraklar kısa ve kalın saplıdır, tüysüzdürler ve uçlara doğru sivrilirler. Yaprakların üst yüzü parlak koyu yeşil, alt yüzü donuk yeşil rengindedir. Yağış ve nemin bol olduğu yetiştirme ortamlarında yapraklar dar, uzun ve ince olurken, kurak mevsimin uzun olduğu ortamlarda daha sert ve oval şeklindedir, Şekil 2.3'te bitkinin yaprak fotoğrafı görülmektedir. Çiçeklenme mevsimi Mart-Nisan ayındadır, ve çiçekler yeşilimsi sarımsı beyaz renkte olup, yaprakların koltuğunda yan durumlu ufak demetler halindedirler. Erkek çiçeklerin rengi dişi çiçeklere göre daha koyudur ve küme halinde bulunurlar. Dişi çiçekler ise açık yeşile dönük sarı renkli ve daha seyrek görünümlüdürler. Erkek ve dişi çiçekler ayrı ağaçlar üzerinde bulunurlar, dioiktirler. Çiçekler dalda yan durumludur ve demetler halinde bulunurlar. Erkek çiçeklerde 10-12 etamin bulunurken, dişi çiçeklerde körelmiş halde dört tane etamin görülür. Şekil 2.4'te dişi ve erkek çiçek fotoğrafları yer almaktadır. Ovaryum kısa saplı, tek gözlü ve bir tohum tomurcukludur. Şekil 2.5'te gördüğümüz başlarda yeşil, olgunlaştıkça siyahımsı-mor renge dönen, zeytin şekline benzeyen meyveler 10-12 mm çapında, 2 cm uzunluğundadır [14, 15].





Şekil 2.3 : *Laurus nobilis* yaprağı [16].



Şekil 2.4 : *Laurus nobilis* soldaki dişi çiçek, sağdaki erkek çiçek [17].



Şekil 2.5 : *Laurus nobilis* meyvesi [18].

### 3. GENEL BİLGİLER

#### 3.1 *Laurus nobilis* Yaprağı Üzerine Yapılan Fitokimyasal Araştırmalar

*Laurus nobilis* bitkisi yapraklarında % 0,5-2 oranında hoş kokulu uçucu yağ (Oleum Lauri) bulundurur. Ayrıca doymuş yağ asitleri, tanen ve müsilaj da içerir [19].

100 gram defne yaprağının besin içeriği aşağıdaki Tablo 3.1’de verilmektedir [20].

**Tablo 3.1 :** 100 gram *Laurus nobilis* yaprağı besin içeriği [20].

| Besin içeriği | Miktar   |
|---------------|----------|
| Enerji        | 313 kcal |
| Su            | 5,4 g    |
| Protein       | 7,6 g    |
| Yağ           | 8,4 g    |
| Karbonhidrat  | 75 g     |
| Kül           | 3,6 g    |
| Lif           | 26,3 g   |
| Kalsiyum      | 834 mg   |
| Demir         | 43 mg    |
| Magnezyum     | 120 mg   |
| Fosfor        | 113 mg   |
| Potasyum      | 529 mg   |
| Sodyum        | 23 mg    |
| Çinko         | 4 mg     |
| Niasin        | 2 mg     |
| A vitamini    | 6185 IU  |
| Selenyum      | 2,8 mcg  |
| B6 Vitamini   | 1,74 mg  |
| C Vitamini    | 46,5 mg  |
| Folat         | 180 mcg  |
| Manganez      | 8,167    |

### 3.1.1 Vitaminler

Vitamin C: Defne yaprağı Vitamin C açısından zengin bir içeriğe sahiptir. 100 g defne yaprağı 46.5 mg C vitamini içerir, bu miktar da günlük alınması önerilen C vitamini miktarının %77.5 kadarına eşittir. Vitamin C güçlü antioksidan özelliği sayesinde immün sisteme destek olur ve vücutta oluşan serbest radikalleri temizler [21].

Vitamin A: 100 gr defne yaprağı 6185 IU vitamin A içerir, bu miktar da günlük alınması önerilen vitamin A miktarın %206'sına eşittir. Vitamin A antioksidan özelliğine ek olarak göz sağlığı için hayati değere sahiptir, ayrıca mukus membran oluşumunu ve cilt sağlığının korunmasını da sağlar [21].

Diğer Vitaminler: Defne türü B vitamini çeşitleri açısından zengin bir içeriğe sahiptir. İçerisinde bulunan B6, niasin ve B2 vitaminleri enzim sentezi, sinir sistemi fonksiyonları ve metabolizmanın düzenlenmesi üzerinde önemli rol oynar [21].

### 3.1.2 Folik Asit

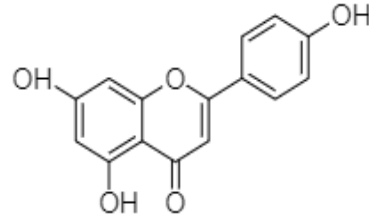
100 gr defne yaprağı 180 mg folik asit içermektedir bu miktar da günlük alınması önerilen folik asit miktarının %45'ine eşittir. Folatlar DNA sentezinde ve doğum öncesi fetüste sinir yolu hasarı gelişiminin önlenmesinde önemli rol oynar [21].

### 3.1.3 Mineraller

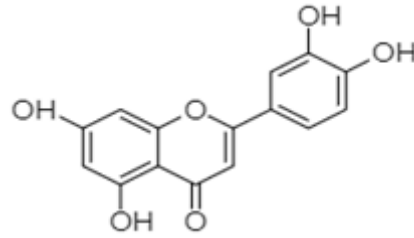
Potasyum, vücut sıvıları ve hücre içinde bulunmasının yanında, kan basıncını ve kalp atım sayısını kontrol eder. Manganez ve bakır vücut tarafından antioksidan enzimlerinin kofaktörü olarak kullanılır. Demir, kırmızı kan hücrelerinin üretilmesi için önemlidir ve sitokrom oksidaz enzimlerinin kofaktörü olarak kullanılır [21].

### 3.1.4 Flavonoidler ve Heterozitleri

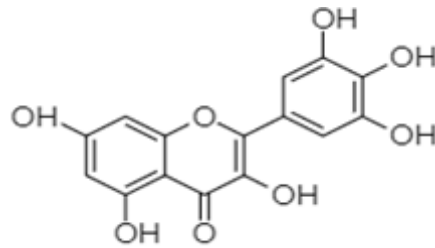
*Laurus nobilis* yaprakları flavon olarak apigenin (Şekil 3.1) ve luteolin (Şekil 3.2), flavonol olarak da myricetin (Şekil 3.3) ve kaemferol (Şekil 3.4) içermektedir [22].



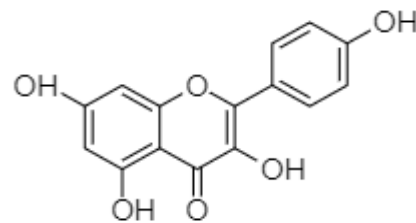
**Şekil 3.1 : Apigenin.**



**Şekil 3.2 : Luteolin**

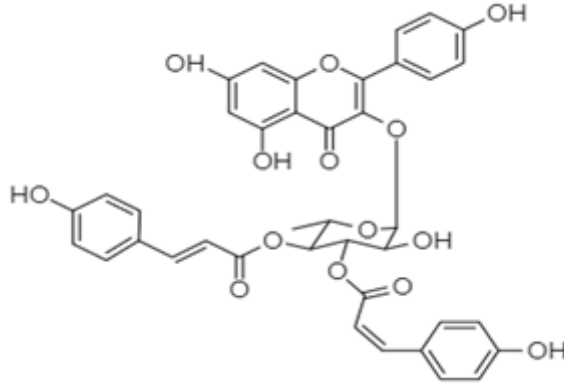


**Şekil 3.3 : Myricetin.**

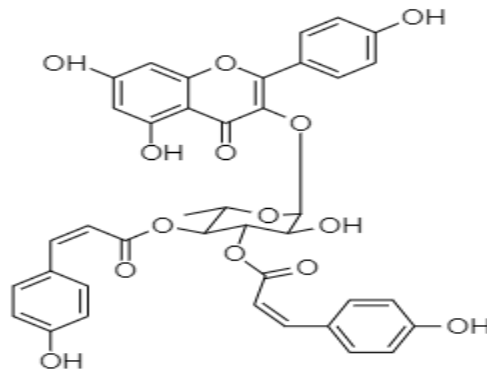


**Şekil 3.4 : Kaempferol.**

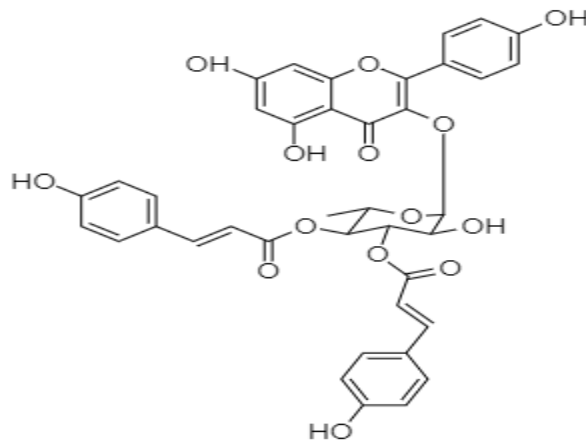
Yapılan bir çalışmada flavonol glikozitleri defne yaprağından izole edilmiştir [23, 24].



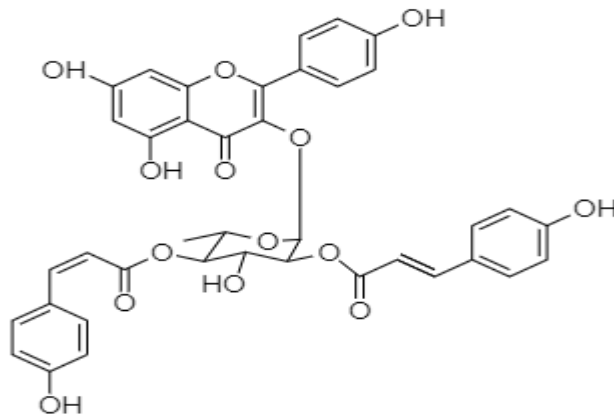
Şekil 3.5 : Kaempferol-3-O- $\alpha$ -L-(3''-Z,4''-E-di-p-coumaroyl)-rhamnopyranoside.



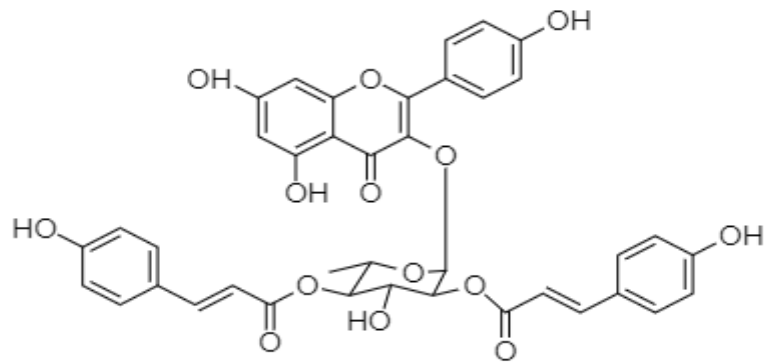
Şekil 3.6 : Kaempferol-3-O- $\alpha$ -L-(3'',4''-di-Z-p-coumaroyl)-rhamnopyranoside.



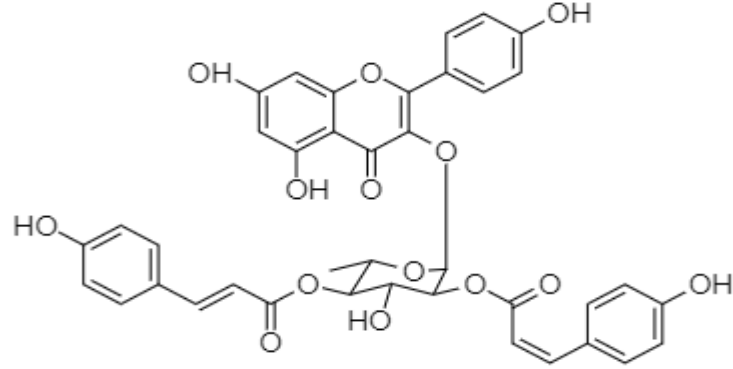
Şekil 3.7 : Kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-(3'',4''-di-*E*-*p*-coumaroyl)-rhamnopyranoside.



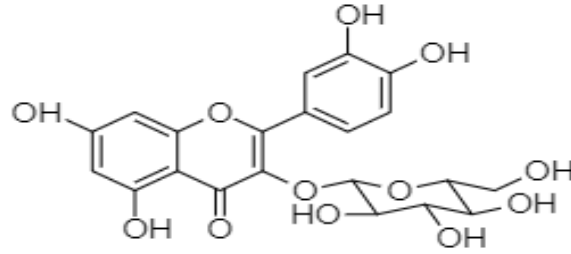
Şekil 3.8 : Kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-(2''-*E*,4''-*Z*-di-*p*-coumaroyl)-rhamnopyranoside.



Şekil 3.9 : Kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-(2'',4''-di-*E*-*p*-coumaroyl)-rhamnopyranoside.



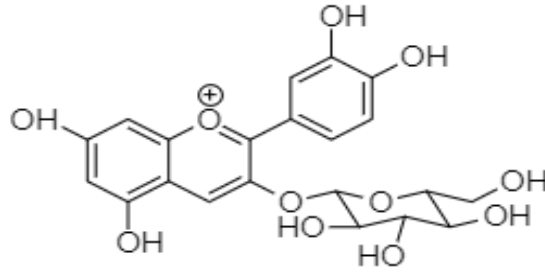
Şekil 3.10 : Kaempferol-3-O- $\alpha$ -L-(2''-Z,4''E-di-p-coumaroyl)-rhamnopyranoside.



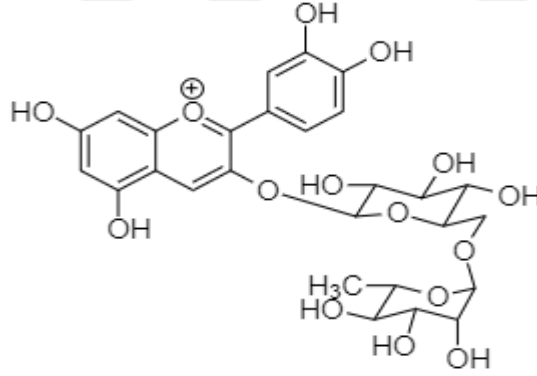
Şekil 3.11 : Isoquercetin.

### 3.1.5 Antosiyanin Bileşikleri

Cyanidin 3-*O*-glucoside (Şekil 3.12) ve cyanidin 3-*O*-rutinoside (Şekil 3.13) başlıca bulunan antosiyaninlerdir [25].



Şekil 3.14 : Cyanidin 3-*O*-glucoside.



Şekil 3.15 : Cyanidin 3-*O*-rutinoside.



### 3.1.6 Uçucu Yağ ve Bileşenleri

Yapılan araştırmalarda defne bitkisi yaprağından elde edilen uçucu yağ oranının % 0,5 – 2 arasında değişim gösterdiği görülmektedir. Aynı bölgeden toplanan örneklerde bile uçucu yağ oranı değişim göstermektedir, bu değişimin oluşmasında toplanan bölgenin yüksekliği, toplama zamanı, bitkinin yaşı, bakı gibi etkenler rol almaktadır.

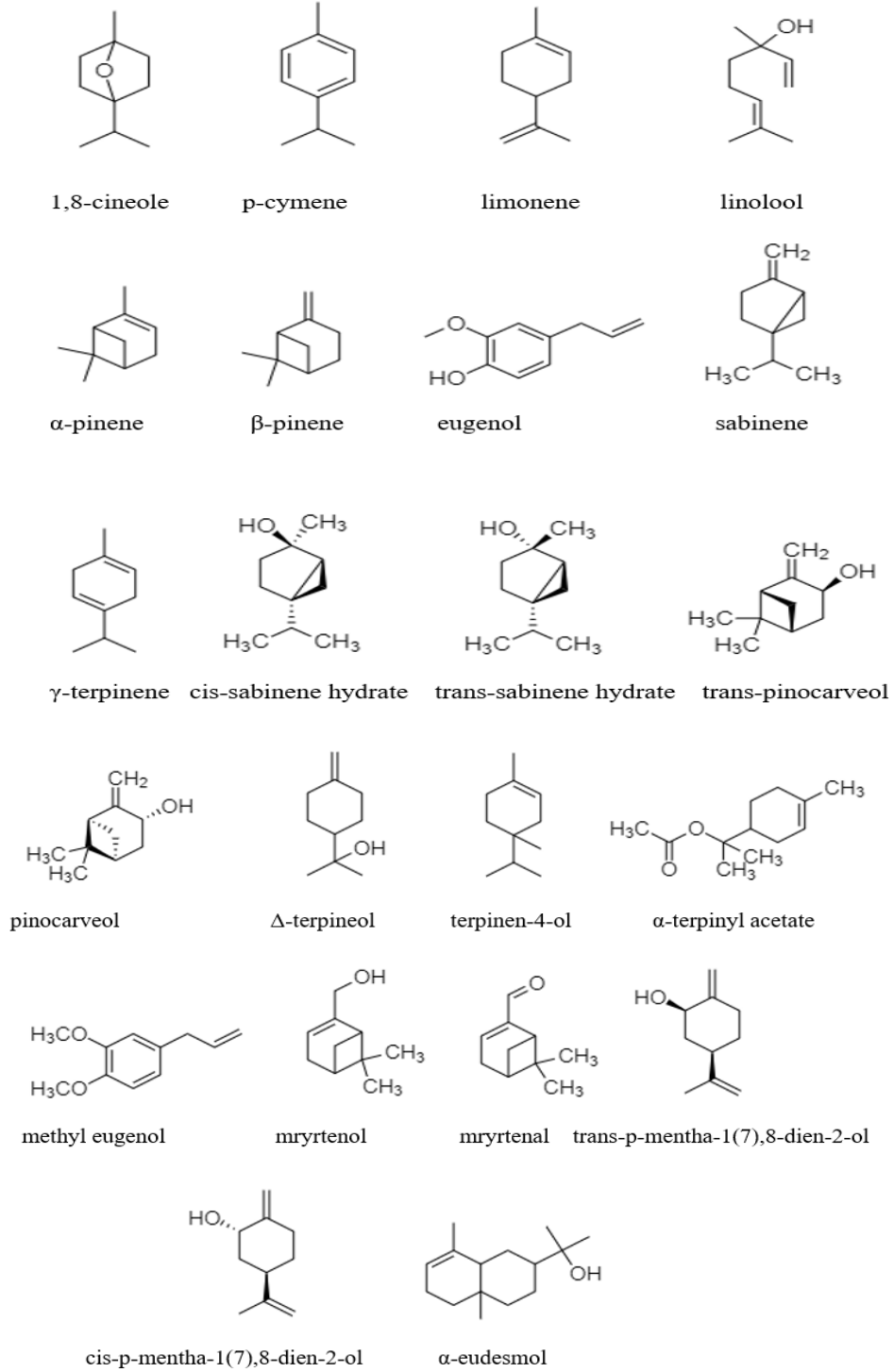
Tablo 3.2’de bileşenlerin bulunma oranları dikkate alındığında, sırası ile 1,8-cineole (% 31,87 - 67,56),  $\alpha$ -terpinyl acetate (% 4,09 - 22,22),  $\alpha$ -terpineol (% 0,94 - 16,08), linalool (% 0,40 - 13,04), terpinen-4-ol (% 2,31-9,22) ve sabinene (% 0,569,08) bileşenlerin defne uçucu yağı ana bileşenleri olduğu görülmektedir [7].

**Tablo 3.2 :** *Laurus nobilis* uçucu yağı bileşenleri ve oranları [7].

| Uçucu Yağ bileşeni              | Oran (%)    |
|---------------------------------|-------------|
| $\alpha$ -pinene                | 0,24-5,48   |
| Sabinene                        | 0,56-9,08   |
| $\beta$ -pinene                 | 0,54-4,81   |
| p-cymene                        | 0,32-2,18   |
| Limonene                        | 0,44-2,92   |
| 1,8-cineole                     | 31,87-67,56 |
| $\gamma$ -terpinene             | 0,38-0,89   |
| cis-sabinene hydrate            | 0,33-1,9    |
| Linalool                        | 0,4-13,04   |
| trans-sabinene hydrate          | 0,39-1,9    |
| trans-pinocarveol               | 0,32-2,05   |
| Pinocarvone                     | 0,32-1,09   |
| $\Delta$ -terpineol             | 0,37-2,8    |
| terpinen-4-ol                   | 2,31-9,22   |
| trans-p-mentha-1(7),8-dien-2-ol | 0,35-0,83   |
| $\alpha$ -terpineol             | 0,94-16,08  |
| Mryrtenol                       | 0,41-1,05   |
| Mryrtenal                       | 0,49-1,04   |
| cis-p-mentha-1(7),8-dien-2-ol   | 0,38-0,65   |
| $\alpha$ -terpinyl acetate      | 4,09-22,22  |
| Methyl eugenol                  | 0,36-5,68   |
| $\alpha$ -eudesmol              | 0,40-3,17   |
| Eugenol                         | 0,54-6,82   |

Defne yaprak uçucu yağı bileşenler açısından zengin bir içeriğe sahiptir, içerisinde  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene, limonene, linalool,  $\alpha$ -terpineol, p-cymene, euganol ve sabinene

uçucu bileşenleri bulunur. Bu bileşikler Şekil 3.14’de gösterilmektedir. Bu maddeler antiseptik ve antioksidan etkiler gösterirler [21].

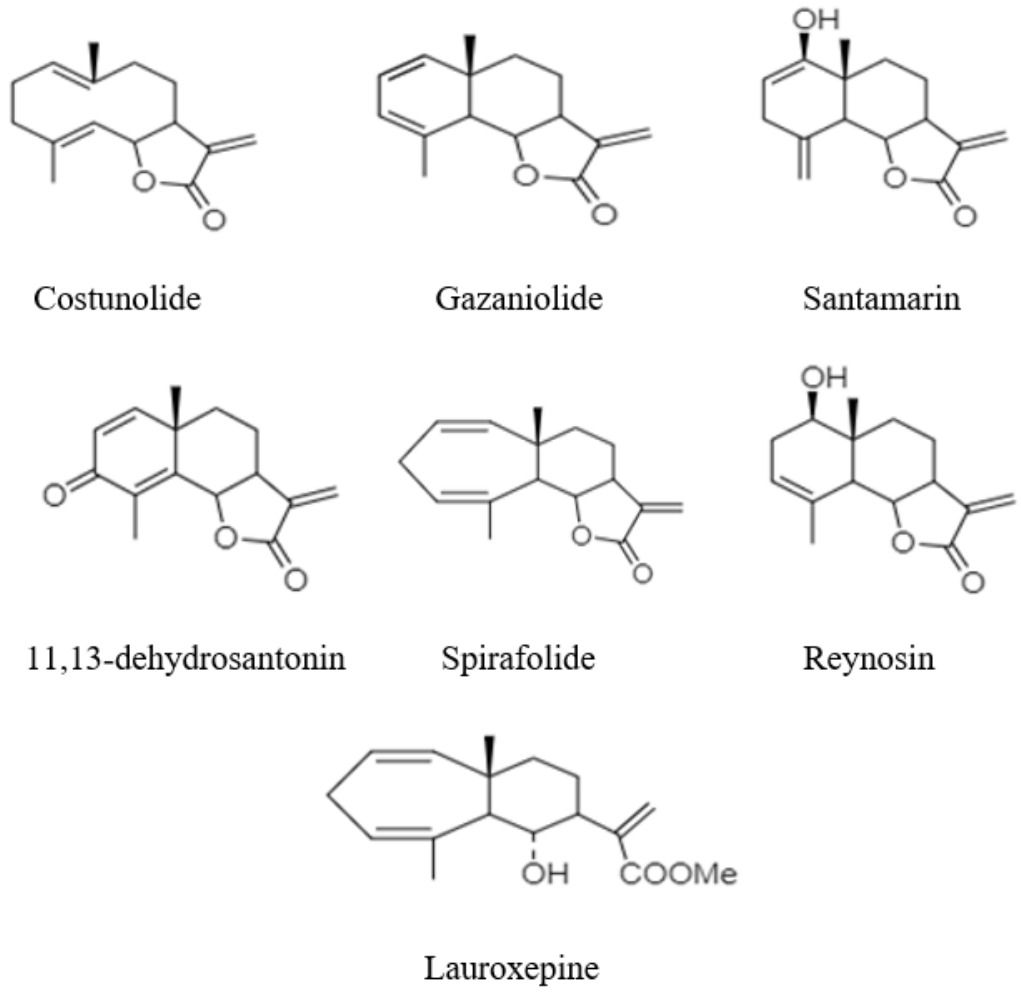


Şekil 3.16 : *Laurus nobilis* türünün uçucu yağında bulunan bileşenler.

## 3.2 *Laurus nobilis* Meyvesi Üzerine Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

### 3.2.1 Seskiterpen Bileşikleri

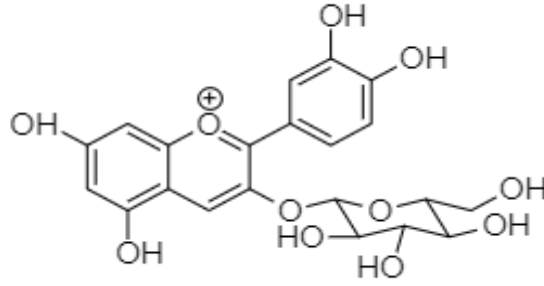
Yapılan bir çalışmada defne bitkisinin meyve ekstraktından Şekil 3.15’de gösterilen costunolide, gazaniolide, santamarin, 11,13-dehydrosantonin, spirafolide reynosin ve lauroxepine seskiterpenleri elde edilmiştir [26].



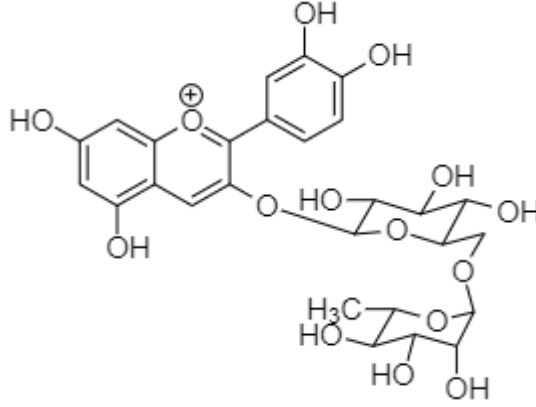
Şekil 3.17 : *Laurus nobilis* meyvesindeki seskiterpen bileşikler.

### 3.2.2 Antosiyanin Bileşikleri

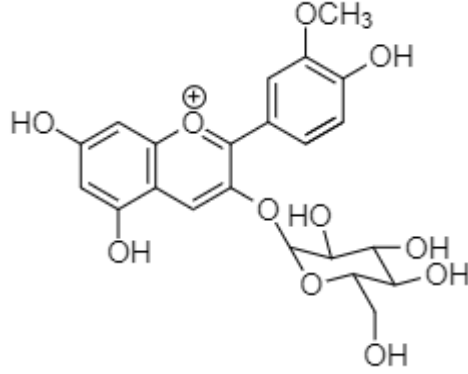
Yapılan bir çalışmada defne meyvelerinden Cyanidin 3-*O*-glucoside (Şekil 3.16), cyanidin 3-*O*-rutinoside (Şekil 3.17), peonidin 3-*O*-glucoside (Şekil 3.18) ve peonidin 3-*O*-rutinoside (Şekil 3.19) bileşikleri elde edilmiştir [2].



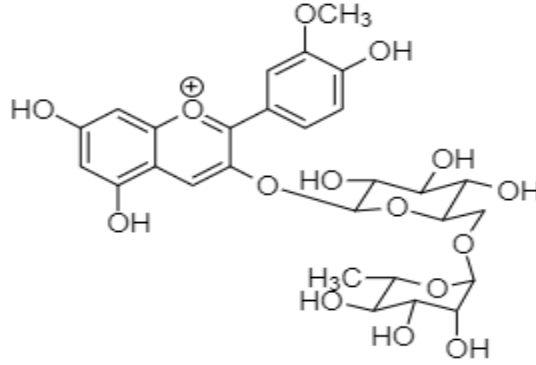
Şekil 3.18: Cyanidin 3-*O*-glucoside.



Şekil 3.19 : Cyanidin 3-*O*-rutinoside.



Şekil 3.20 : Peonidin 3-*O*-glucoside.



Şekil 3.21 : Peonidin 3-*O*-rutinoside.

### 3.2.3 Sabit Yağ ve Bileşenleri

*Laurus nobilis* bitkisinde, meyvedeki yağ oranı %19,37 ile %35,87 arasında değişim göstermektedir. Aynı bölgeden alınan meyve örnekleri incelendiğinde yağ oranlarının değişim gösterdiği görülmüştür. Meyve örneklerin toplandığı alanın yüksekliği, toprak yapısı, toplama zamanı, ağacın yaşı gibi etkenler bu faktörün oluşmasına neden olmuştur.

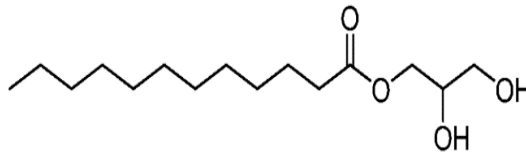
Tablo 3.3 incelendiğinde *Laurus nobilis* bitkisinin meyvelerinden elde edilen yağ içerisinde 17 farklı yağ asidi bulunduğu görülmektedir. Defne meyvelerinden elde edilen yağın ana bileşenini laurik asit, oleik asit, linoleik asit ve palmitik asit

oluşturmaktadır ve bu dört bileşenin toplamı defne meyvesinin yağ oranının %95'ini oluşturmaktadır [7].

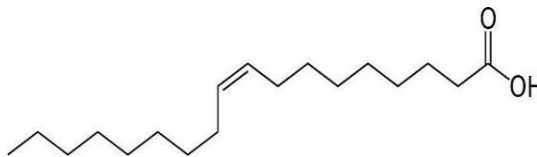
**Tablo 3.3 :** *Laurus nobilis* meyve yağı bileşenleri ve minimum, maksimum bulunma oranları [13].

|                                   | Minimum(%) | Maksimum(%) | Ortalama(%) |
|-----------------------------------|------------|-------------|-------------|
| Kapric acid                       | 0          | 1,22        | 0,62        |
| Lauric acid                       | 0,9        | 47,41       | 24,16       |
| Myristic acid                     | 0,14       | 1,98        | 1,06        |
| Palmitic acid                     | 5,28       | 27,76       | 16,52       |
| 7-Hexadecenoic Acid               | 0,05       | 1,5         | 0,78        |
| Palmitoleic Acid                  | 0,05       | 1,7         | 0,88        |
| Margaric Acid                     | 0,02       | 1,95        | 0,99        |
| 2-hexyl-Cyclopropaneoctanoic Acid | 0,03       | 1,48        | 0,76        |
| Stearic Acid                      | 0,69       | 3,05        | 1,87        |
| Oleic Acid                        | 22,04      | 61,82       | 41,93       |
| 10-Octadecenoic Acid              | 0,04       | 0,09        | 0,07        |
| Linoleic Acid                     | 13,39      | 28,09       | 20,74       |
| Linolenic Acid                    | 0,09       | 1,96        | 1,03        |
| Arachidic Acid                    | 0,08       | 0,83        | 0,46        |
| 11-Eicosenoic Acid                | 0,07       | 1,25        | 0,66        |
| Eicosadienoic Acid                | 0,04       | 0,08        | 0,06        |
| Behenic Acid                      | 0,04       | 0,98        | 0,51        |

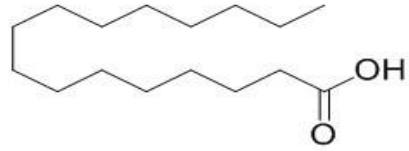
Defne meyvesi sabit yağ ana bileşenleri laurik asit (Şekil 3.20), oleik asit (Şekil 3.21), palmitik asit (Şekil 3.22) ve linoleik asit (Şekil 3.23) dir.



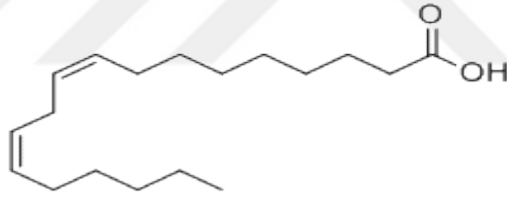
**Şekil 3.22 :** Laurik asit.



**Şekil 3.23 :** Oleik asit.



**Şekil 3.24** : Palmitik asit.



**Şekil 3.25** : Linoleik asit.

## **4. *Laurus nobilis* TÜRÜNÜN KULLANIM ALANLARI VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ**

### **4.1 *Laurus nobilis* Türünün Kullanım Alanları**

Defnenin gıda, ilaç, kozmetik, parfümeri, kimya ve sabun sanayisinde geniş bir kullanım alanı bulunmaktadır. İçerisinde bulunan uçucu yağ ve yüksek orandaki laurik asit nedeniyle sabun sanayisinde kullanılmaktadır. Gıda koruyucusu olarak; fasülye, mercimek gibi kuru gıdaların arasına konularak kurtlanmaları engellenmektedir. Koruyucu etki 1,8 - cineole ve eugenol maddelerinden dolayı görülmektedir. Defne yaprakları, kuru meyvelerin ambalajlanmasında, balık ve konservede, kuru halde et yemeklerinde ve toz halde baharat olarak kullanım alanı bulmaktadır. Yapraklardan elde edilen uçucu yağ ve oleoresini parfüm sanayisinde kullanılmaktadır [19].

Defne sabit ve uçucu yağı, defne bitkisinden elde edilen en önemli ürünlerdir. Defne uçucu yağı yaprak ve çiçeklerden, sabit yağı ise meyvelerden elde edilir. Defne bitkisinin yaprakları güzel kokulu uçucu yağ içermektedir, bu yağ içerisinde de %50 oranında 1,8-cineole bulunur. Defne bitkisinin meyveleri de sabit ve uçucu yağ içerir, doymuş yağ oranının yüksek olmasından dolayı köpürme özelliği çok iyidir ve bu özellik defnenin kozmetik alanında aranan ve değerli bir bitki olmasını sağlamıştır. Defne yağı kozmetik alanında cilt temizleyici olarak, sabun, şampuan ve bakım kremlerinde kullanılmaktadır. Eczacılık alanında ve sabun yapımında da bu yağ kullanılır. Antalya ve çevresinde defne meyveleri kaynatılarak Tehnel yağı elde edilir ve bu yağ harici halde ağrı kesici olarak kullanılmaktadır. Defne yağından elde edilen sabun, cilt hastalıklarına ve saç dökülmesi sorunlarına iyi gelmektedir [19].



Defne yağı, harici olarak merhem halinde romatizmal ağrıları dindirici ve vücut parazitlerini öldürücü olarak kullanılır. Ayrıca meyve yağı şeker hastalığında tedavi amaçlı da kullanılmaktadır. Defne yağı sabunu saç temizliğinde, defne yağı ise özellikle veteriner hekimlikte antiparaziter olarak kullanılmaktadır. Meyveleri iştah açıcı, terletici ve idrar sökücü olarak kullanır. Son zamanlarda sentetik boyar maddeler yerine doğal boyar maddelere talep artmıştır, defne meyvesindeki antosiyanin gıda, ilaç ve kozmetik sanayinde doğal boyar madde olarak kullanılmaktadır. Defnenin odunu da yakacak odun olarak ve el aletleri yapımında kullanılmaktadır [1, 19, 27].

Defne bitkisinin yaprakları iştah açıcı, karminatif, diüretik, diaforetik, emetik, aromatik stimulan, emenogog ve antiromatizmal etkilere sahiptir. Defne yapraklarının infüzyonu bir iki bardak kadar küvet suyuna katılarak banyo yapılırsa, bedeni uyarıp zindeleştirme etkisi vardır [28, 29].

Defne eski çağlardan beri hazımsızlık ve mide gazı gibi sindirim sistemi ile ilgili rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmıştır. Uçucu yağı ise aromaterapide aranan yağlardandır ve önemlidir. Uçucu yağın uygun bir taşıyıcı yağ ile karıştırılarak seyreltilmesine dikkat edilmelidir [30].

Tüm bu kullanımların yanında, Çin ve Japonya gibi ülkelerde defne yaprağının ölüleri yıkama işleminde kullanıldığı, bazı ülkelerde defne yaprağının barut yapımında kullanıldığı, uzak doğu ülkelerinde ise defne yaprağından, dini törenlerde tütsü yapıldığı bilinmektedir [1].

Aşağıdaki Tablo 4.1'de defne bitkisinin kozmetik alanında kullanılan kısımları, kullanım amaçları ve CAS numaraları verilmektedir [31].

**Tablo 4.1 :** *Laurus nobilis* türünün kozmetik alanında kullanılan kısımları, kullanım amaçları ve CAS numaraları [31].

| Kullanılan Kısım   | CAS numarası                             | Kullanım Amacı                  |
|--|--|---------------------------------|
| Defne yaprak/çiçek/sap suyu  | 84603-73-6                               | Maskeleme, koku verici          |
| Defne meyve ekstresi   | -  | Deri iyileştirici               |
| Defne meyve yağı   | 8007-48-5                                | Deri iyileştirici               |
| Defne yaprağı  | -  | Maskeleme                       |
| Defne yaprak ekstresi  | 84603-73-6                               | Maskeleme, koku verici, tonik   |
| Defne yaprağı yağı   | 8002-41-3 /<br>8007-48-5                 | Maskeleme, koku verici          |
| Defne yaprağı suyu   | 94603-73-6                               | Nemlendirici, deri iyileştirici |
| Defne sap/yaprak ekstresi  | 84603-73-6                               | Deri iyileştirici               |
| Defne sap/yaprak suyu  | 84603-73-6                               | Deri iyileştirici               |
| Defne yağı   | 8002-41-3 /<br>8007-48-5 /<br>84603-73-6 | Maskeleme, koku verici, tonik   |
| Defne tohumlarında elde edilen yağ                                     | 84603-73-6                               | -                               |
| Defne tohum yağında bulunan yağ asitlerinden elde edilen potasyum tuzu | -  | Temizleyici, sürfaktan          |

#### 4.2 Antioksidan Aktivite

Yapılan bir çalışmada, *Laurus nobilis* bitkisinin yapraklarının sulu ve etanollü ekstraktlarının antioksidan etkileri üzerinde çalışılmıştır. Serbest radikal, süper oksit anyonları ve hidrojen peroksit yakalama ve metal şelatlama özellikleri total antioksidan özellikleri için değerlendirilmiştir. İki ekstrakt da linoleik asit emülsiyonu

üzerinde güçlü antioksidan etki göstermiştir. Linoleik asit emülsiyonu içinde, 20, 40 ve 60 µg ml<sup>-1</sup> konsantrasyonları %84,9; 95,7; 96,8; 94,2; 97,7; ve 98,6 oranında yağ peroksidasyonunu inhibe etmiştir. Diğer yandan 60 µg ml<sup>-1</sup> standart antioksidan bütül hidroksianisol (BHA), bütül hidroksitoluen (BHT) ve α-tocopherol %96,6; 99,1 ve 76,9 oranında yağ peroksidasyonunu inhibe etmiştir [32].

Yapılan bir diğer çalışmada *Laurus nobilis* yapraklarının infüzyonundan 10 flavonoid O-glycosides, bir flavonoid C-glycoside, catechin ve cinnamtannin B-1 maddeleri izole edilmiştir. 250 g kurutulmuş yaprak kullanılmış ve aşağıdaki maddeler elde edilmiştir [33].

kaempferol-3-O-glucopyranoside, 23,0 mg

kaempferol-3-O-rhamnopyranoside, 28,0 mg

kaempferol-3-O-(2",4"-di-E-p-coumaroyl)rhamnoside, 22,9 mg

kaempferol-3-O-arabinopyranoside, 16,0 mg

kaempferol-3O-[6-O-(rhamnopyranosyl)glucopyranoside], 2,8 mg

quercetin-3-O-glucopyranoside, 38,0 mg

quercetin-3-O-rhamnopyranoside, 21,0 mg

quercetin-3-O-[6-O-(rhamnopyranosyl) glucopyranoside], 15,5 mg

3'-methoxyquercetin-3-O-[6-O-(rhamnopyranosyl)glucopyranoside], 12,2 mg

3'-methoxyquercetin-3-O-glucopyranoside, 20,0 mg

catechin, 22,9 mg

2"-rhamnosyl isovitexin, 13,4 mg

cinnamtannin B-1, 2,3 mg

Antioksidan özelliklerin değerlendirilmesi için BR (Briggs Rauscher) ve TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) analizleri kullanılmıştır. BR metodu reaktif oksijen türlerini yakalayan maddelerin BR reaksiyon salınımları üzerindeki inhibitör etkilerine dayanmakta ve mide asit değerine yakın olan pH 2 de çalışmaktadır. TEAC metodunda ABTS<sup>•+</sup> radikal katyonları izole edilen her bir madde ile karıştırılmış ve 734 nm'de absorbansları ölçülmüştür. TEAC yöntemi de kan pH değerine yakın olan 7,4'te çalışmaktadır. Referans madde olarak quercetin ve kaempferol kullanılmıştır.

Asidik ortamda antioksidan özelliklerine bakıldığında, izole edilmiş quercetin ve catechin türevlerinin kaempferol ve türevlerine göre daha etkili olduğu bulunmuştur. Önceki çalışmalarda da söz edildiği gibi, flavonoid türevlerindeki catechol kısmının antioksidan özelliğini artırdığı görülmektedir. TEAC yöntemi ile bulunan sonuca göre 3'-methoxyquercetin-3-O-[6-O-(rhamnopyranosyl)glucopyranoside], catechin ve cinnamtannin B-1 maddeleri en iyi antioksidan özellik göstermektedir [33].

Yapılan bir diğer çalışmada doğada yetişen ve kültürü yapılan *Laurus nobilis* yaprakları ve *Foeniculum vulgare* subsp. *piperitum* tohumları üzerinde antioksidan özellikleri ile ilgili araştırmalar yapılmıştır. Her iki bitkinin de metanollü ekstreleri hazırlanmış ve içerdikleri maddelerin bulunması için GC-MS analizi, antioksidan özelliklerinin araştırılması için DPPH ile Bovine Brain Peroxidation analizi ve  $\beta$ -Carotene Bleaching testi yapılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde, doğada yetişen ve kültürü yapılan *Laurus nobilis* bitkilerinin içeriklerinin farklı olduğu, kültürü yapılan defnenin terpen miktarının daha fazla olduğu, daha fazla linool,  $\alpha$ -terpineol,  $\alpha$ -terpinyl acetate, thymol, caryophyllene, aromandrene, selinene, farnesene, and cadinene içerdiği bulunmuştur. Doğada yetişen *L. nobilis*'in ise daha fazla eugenol, methyl eugenol, vitamin E ve sterol içerdiği görülmüştür. Test sonuçlarına bakıldığında, Doğada yetişen *L. nobilis*'nin  $IC_{50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) değerleri; DPPH testi için  $22\pm 0,531$  Lipit peroksidasyon testi için  $11\pm 50,831$   $\beta$ -carotene bleaching testi için  $4\pm 0,382$  bulunmuş, kültürü yapılan *L. nobilis* için bu değerler sırası ile  $29\pm 0,634$ ;  $37\pm 80,752$  ve  $8\pm 0,681$  hesaplanmıştır. Sonuçlara bakıldığında doğada yetişen defnenin kültürü yapılanaya göre daha iyi antioksidan özellik gösterdiği görülmüştür, bunun da nedeni eugenol ve methyl eugenol gibi monoterpenler bakımından ve antioksidan özelliği kanıtlanmış vitamin E açısından daha zengin bir içeriğe sahip olmasıdır [34].

### 4.3 Antiülser Aktivite

*Laurus nobilis* bitkisinin tohumlarının antiülser etkisi, sıçanlarda etanol ile oluşturulmuş gastrik ülser üzerinde deneysel olarak ölçülmüştür. Sonuç olarak, tohumların sulu çözeltisinin %20 ve 40'luk konsantrasyonlarının antiülser aktiviteleri olduğu saptanmıştır. Toksikite çalışmalarında sulu çözeltinin  $LD_{50}$  konsantrasyonunun 0,33 ml/kg olduğu bulunmuştur [35].

#### 4.4 Antikonvülsan Aktivite

*Laurus nobilis* bitkisinin yapraklarından elde edilen uçucu yağın antikonvülsan etkisine deneysel kasılmalar üzerinde bakılmıştır. Uçucu yağ, fareleri maksimal elektroşoklar ile oluşturulan tonik kasılmalardan korumuştur. Bu etkiden sorumlu olan bileşenlerin methyleugenol, eugenol ya da pinene maddelerinin olabileceği düşünülmektedir. Antikonvülsan dozlarda, uçucu yağ ayrıca yatıştırma ve motor aktivitede bozulma da göstermektedir. Bu etkilerin oluşmasında cineole, eugenol ve methyleugenol maddelerinin etkisinin olduğu düşünülmektedir [36].

#### 4.5 Ağrı Kesici ve Enflamasyon Giderici Aktivite

Yapılan bir araştırmada, fare ve tavşanlarda *Laurus nobilis* yaprak uçucu yağının ağrı kesici ve enflamasyon giderici etkileri değerlendirilmiştir. Aldehitle oluşturulan ödemde uçucu yağ talk-flick ve formaldehit yöntemi ile test edilmiş, önemli ölçüde analjezik ve antienflamatuar etkisinin olduğu gözlenmiştir. Uçucu yağın, antienflamatuar etki gösterdiği dozda sedatif etki gösterdiği de gözlenmiştir.

Uçucu yağın analjezik ve antienflamatuar etkileri, referans ağrı kesiciler ve NSAID ilaçlarla örneğin morfin ve piroxicam kıyaslanabilir ölçüdedir. *Laurus nobilis* bitkisinin yapraklarından ve tohumundan elde edilen etanollü ve sulu ekstraktların fareler üzerinde antienflamatuar etkilerinin olduğu ve gastrik zarara neden olmadığı bulunmuştur [37].

#### 4.6 Antimutajenik Aktivite

Antimutajenik madde defne yaprağından elde edilen etil asetat ekstresinden kromatografi yöntemi ile elde edilmiş ve enstrümental analizle tanımlanarak 3-kaempferyl p-coumarate olduğu bulunmuştur.

100 gram defneden 20 mg 3-kaempferyl p-coumarate maddesi elde edilmiştir. 20 gram Trp-P-2'nin %50 oranda mutajenitesini inhibe etmek için gereken IC<sub>50</sub> değeri ; 1.9 mikrogramdır. Bu değer flavonler ve flavanoidler gibi güçlü antimutajenlerin değerine yakındır. Trp-P-2 'nin kanserojen formuna dönüşmesini engelleyerek antimutajen etki gösterir [38].

#### 4.7 Antibakteriyel Aktivite

In vitro çalışmalarda defne yapraklarından elde edilen uçucu yağı, tohum yağı ve tohumundan elde edilen metanollü ekstraktının antibakteriyel etkileri olduğu kabul edilmiştir. Tohumundan elde edilen metanollü ekstraktının antibakteriyel etkileri diğerlerine göre daha fazladır [39].

*Laurus nobilis*'in yapraklarından elde edilen uçucu yağının antibakteriyel etkileri, insanda hastalık yapıcı 3 gram pozitif tür olan *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ile *Streptococcus faecalis* ve 6 gram negatif tür olan *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Serratia marcescens* ve *Escherichia coli* üzerinde test edilmiştir. Test sonuçlarına göre *Laurus nobilis* uçucu yağının antibakteriyel etkisinin tetrasiklin antibiyotiklere göre daha fazla olduğu bulunmuştur [40].

Yapılan bir diğer çalışmada *Laurus nobilis*, *Rosmarinus officinalis* L. ve *Ocimum basilicum* L. bitkilerinin yapraklarından elde edilen uçucu yağların, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *S. aureus* ATCC 25923, MRSA ATCC 31 (Méthicilino), *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Enterococcus avium*, *E. coli* ATCC 25922, *Salmonella* OMA 04, *E. coli*, *Klebsiella oxytoca*, *K. pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter sp.*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *S. marcescens*, *Salmonella sp.*, *Shigella sp.* ve *Providencia alcalifaciens* olmak üzere 20 farklı bakteri türü üzerindeki etkilerine bakılmıştır. Çalışma sonucunda her bir uçucu yağın da gram negatif ve gram pozitif bakteriler üzerinde iyi antibakteriyel etki gösterdiği saptanmış, defne uçucu yağının da en iyi antibakteriyel etkiyi gösterdiği bulunmuştur. Bakteri türleri arasında *Shigella sp.* türünün bu uçucu yağlara en duyarlı olduğu kanıtlanmıştır. Üç uçucu yağ arasında defne uçucu yağı 0.25% ile *E. faecalis* ATCC 29212, *Enterobacter sp.*, *Shigella sp.*, *S. aureus* ve *S. epermidis* türlerine karşı en düşük inhibitör konsantrasyonu göstermiştir [41].

#### 4.8 Antifungal Aktivite

*Laurus nobilis* yapraklarından elde edilen uçucu yağın ve ekstrenin antifungal etkileri in vitro ortamda, 50, 125 ve 250 µg/ml olmak üzere üç farklı konsantrasyonda, petri kabında yetiştirilmiş 7 farklı bitki zararlısı mantar üzerinde test edilmiştir. Sonuçlara

bakıldığında, en büyük antifungal etkinin 250 µg/ml konsantrasyonunda ve *Botrytis cinerea* Pers. türü mantar üzerinde olduğu görülmüştür [42].

*Laurus nobilis* uçucu yağı, depo edilen pirinçlerde en sık rastlanan *Fusarium culmorum* ve *F. verticillioides* türü mantarlar üzerinde test edilmiş ve uçucu yağın iki tür patojen üzerinde de inhibe edici etkisi olduğu saptanmıştır [43].

Yapılan diğer bir çalışmada, 20 farklı uçucu yağın ekmek ürünlerinde bozulmaya neden olan *Eurotium* spp., *Aspergillus* spp. ve *Penicillium* spp. küf türleri üzerinde antifungal etkileri incelenmiştir. Antifungal etki çeşitli pH değerlerinde ölçülmüş, küf üremesi ise inkübasyon süresince koloni çapının ölçülmesi ile takip edilmiştir. Test sonuçlarına göre, *Laurus nobilis* uçucu yağı pH 5’de en aktif iken, pH’ın artması sonucu etkisi azalmıştır [44].

#### 4.9 Böcek ve Parazit Öldürücü Aktivite

Yapılan bir çalışmada, *Laurus nobilis* yapraklarından elde edilen uçucu yağın böcek ve parazit öldürücü etkisi, *Psoroptes cuniculi* türü üzerinde ölçülmüş, %10 konsantrasyonda %73 ölüm oranı saptanmış, %5 konsantrasyonda bu oran %51 oranına düşmüş, %2,5; %1,25 ve % 0,625 oranındaki seyreltmenin etkisiz olduğu görülmüştür [45].

*Laurus nobilis* yapraklarından elde edilen uçucu yağının böceksavar etkisi, en çok karşılaşılan dişi *Culex pipiens* türü sivrisineklerine karşı ölçülmüş ve olumlu sonuçlar alınmıştır [46].

Yapılan bir diğer çalışmada 12 farklı bitkiden elde edilen uçucu yağın, *Musca domestica* L. türü karasinek üzerindeki etkileri incelenmiştir. *Citrus sinensis*, *Citrus aurantium* ve *Eucalyptus cinerea* türlerinden elde edilen uçucu yağların sırası ile 3,9 mg/dm<sup>3</sup> 4,8 mg/dm<sup>3</sup> ve 5,5 mg/dm<sup>3</sup> LC<sub>50</sub> değerlerine sahip olduğu bulunmuş, *Laurus nobilis* yaprağından elde edilen uçucu yağ bunlardan sonra gelerek 6,2 mg/dm<sup>3</sup> LC<sub>50</sub> değeri göstermiştir. Bu bitkilerin içerdikleri monoterpenlerin LC<sub>50</sub> değerleri de incelenmiş, defne uçucu yağının ana bileşeni olan 1,8-cineole maddesinin 3,3 mg/dm<sup>3</sup> LC<sub>50</sub> değeri ile *Musca domestica* L. türüne karşı en etkili monoterpen olduğu bulunmuştur. Diğer defne uçucu yağ bileşenlerinden α-terpinene ve γ-terpinene sırası ile 6,2 mg/dm<sup>3</sup> ve 4 mg/dm<sup>3</sup> LC<sub>50</sub> değeri göstermiştir [47].

#### 4.10 Antidiyabetik Aktivite

Yapılan bir çalışmada *Laurus nobilis* yaprak uçucu yağı ve bu yağda bulunan asıl etken maddelerin  $\alpha$ -glucosidase enzimi üzerindeki ve serbest radikal süpürücü etkilerine bakılmış, hidroksil ve hidrojen peroksit radikal süpürücü etki, süperoksit radikal ve lipid peroksidasyonu inhibisyonu ölçülmüş, DPPH analizi yapılmıştır.

Şeker hastalığı çağımızın en büyük sorunlarından biri haline gelmiştir ve modern tedavisi insülin ve oral antidiyabetik ilaçlar ile yapılmasına rağmen bu ilaçların gelişen ülkelerde bulunamaması ve yan etkilerinin fazla olması bilim insanlarını yeni ve doğal antidiyabetik ilaçların üretilmesine teşvik etmektedir. Şeker hastalığında oksidatif stresin artması sonucu, vücutta serbest radikal miktarı artmakta, antioksidan maddelerin üretimi de azalmaktadır.

Bu çalışma için toplanan *Laurus nobilis* bitkisinden elde edilen uçucu yağ bileşenleri test edildiğinde 1,8-cineole (68,82%), 1-(S)-  $\alpha$ -pinene (6,94%) ve R-(+)-limonene (3,04%)\*in uçucu yağ ana bileşenleri olduğu saptanmıştır [48].

Curcumin, askorbik asit ve BHT deney boyunca pozitif kontrol grubu olarak kullanılmıştır.

Deney sonucu olarak *Laurus nobilis* uçucu yağının hidroksil süpürücü etkisi olduğu belirlenmiş ve deneysel IC<sub>50</sub> değerlerine göre *Laurus nobilis* uçucu yağının en yüksek inhibitör etki gösterdiği saptanmıştır. Curcumin'in BHT'e göre, 1, 8-cineole'ün de R-(+)-limonene'e göre daha etkili olduğu bulunmuştur [48].

Süperoksit radikalleri normal hücre fonksiyonları sonucu oluşmakta ve diğer radikal gruplarının oluşmasında katalizör görevi üstlenmektedirler, bu nedenle çeşitli hastalıkların önlenmesi için süperoksitlerin inhibisyonları önemlidir. Bütün örneklerin değerlendirilmesi sonucu *Laurus nobilis* uçucu yağının süperoksitlere karşı en güçlü antioksidan özellik gösterdiği bulunmuştur. Kontrol grupları arasında curcumin 8,655  $\pm$  0,222  $\mu$ L/mL IC<sub>50</sub> değeri ile en güçlü antioksidan özelliği göstermektedir.

Hidrojen peroksit tek başına reaktif değildir ama uygun şartlarda en reaktif oksijen radikal grupları olan hidroksil radikal gruplarına dönüşebilmektedir. Hidrojen peroksit süpürücü etkileri ölçülmüş ve deney sonucunda *Laurus nobilis* uçucu yağının en etkili olduğu bulunmuş, kontrol gruplarında da askorbik asit en güçlü etkiyi gösterirken en düşük etkiyi curcumin göstermiştir.



Yapılan çalışmalarda diyabetik hastalarda plazma lipoproteinlerinin, eritrosit membran lipidlerinin ve çeşitli doku lipid peroksidasyon düzeylerinin yükseldiği rapor edilmiştir. Bu çalışmada sunulan sonuçlarda *Laurus nobilis* uçucu yağının lipid peroksidasyonunu inhibe etme etkisinin kontrol grubuna göre daha fazla olduğu bulunmuştur. Kontrol grubu içinde curcumin en güçlü etkiyi göstermiştir.

DPPH antioksidan aktivitesinde test ortamında antioksidan varlığı ile DPPH menekşe mor renginden renksiz dönmekte ve karakteristik bir renk değişimi gerçekleşmektedir. Yapılan çalışmada bu renk ölçüm analizine göre, uçucu yağın DPPH radikal süpürücü etkisi kontrol grubuna göre daha fazladır.

Diyabet, birçok hastalık komplikasyonuna yol açan dünya çapında bir hastalıktır. Bu tür komplikasyonların önlenmesinde postprandiyal kan glukoz düzeylerinin kontrolü ilk sırada yer alır ve bu nedenle günümüzde  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukosidaz inhibitörlerinin geliştirilmesine odaklanılmaktadır.  $\alpha$ -glukosidaz inhibitörleri glukoz emilim oranlarını düşürdüğü ve yemek sonrası kan glukoz düzeylerini baskıladığı için bu tür bileşikler Tip II diyabetin kontrolünde oldukça önemli hale gelmiştir. *Laurus nobilis* uçucu yağının  $\alpha$ -amilazı inhibe ettiği ve  $\alpha$ -glukosidazı da %90'ın üzerinde inhibe ettiği bulunmuştur [48].

Yapılan bir diğer çalışmada, Tip 2 diyabet hastalığı olan 18 erkek, 22 kadın toplam 40 birey, random olarak dört farklı gruba ayrılmış, her bir gruba 1 g, 2 g, 3 g defne yaprağı ve plasebo (mısır unu) içeren kapsüller verilmiştir. Bireylerin yemek, ilaç, beslenme gibi günlük aktivitelerinde değişiklik yapılmamıştır. Kapsüller günde iki defa, sabah kahvaltıdan sonra ve akşam yemeğinden sonra olmak üzere alınmıştır. Deney 40 gün sürmüştür, 30 gün defne/plasebo alımı, 10 gün de arındırma dönemi olarak belirlenmiştir. 0., 10., 20., 30. ve 40. günde açlık kan şekeri ölçülmüştür. Glikoz, trigliserit, HDL, LDL değerleri de deney sonucu için ölçülmüştür. Deney sonuçlarına göre; serum glikoz değerlerine bakıldığında, 1 g, 2 g, 3 g defne içeren kapsül tüketen bireylerde 20 gün sonrasında %21-24 oranında azalma olduğu görülmektedir. LDL oranları her üç deney grubunda da 20 gün sonrasında %35-40 oranında azalma olmuştur. HDL oranı 1 ve 2 g defne içeren kapsül tüketen gruplarda %19-29 oranlarında yükselirken, 3 g defne içeren kapsül tüketen grupta HDL oranındaki yükselme çok azdır. Defne aynı zamanda serum trigliserit oranında da düşmeye neden olmuştur, 1 g ve 2 g defne içeren kapsülü kullanan deney grubunda 30 gün sonunda %25-33 oranında düşme gözlenirken, 3 g kullanan grupta trigliserit oranları farklılık göstermiş, 10 gün

sonundaki oranlar düşükken, 20 ve 30. gün sonrası trigliserit oranında düşüş gözlenmemiştir.

Sonuç olarak defne bitkisinin yaprağının Tip 2 şeker hastalığına sahip olan hastalarda, serum glikoz, trigliserit, kolesterol ve LDL oranında düşüşe neden olduğu, HDL oranında ise yükselmeye neden olduğu kanıtlanmıştır. Bu sonuçların kanıtlanması için daha fazla çalışmanın yapılması ve defne bitkisinde bulunan, bu etkilerin oluşmasına neden olan aktif maddelerin belirlenmesi gerekmektedir [49].

#### 4.11 Sitotoksik Aktivite

Yapılan çalışmada *Laurus nobilis* bitkisinin meyve, yaprak ve çiçeklerinin metanollü ekstraktları hazırlanmış ve A2780 insan ovaryum kanser hücreleri üzerinde sitotoksik etkilerine mikrotiter plaka yöntemi kullanılarak bakılmıştır. Hücreler plakalara yerleştirilmiş ve maddeler de spesifik konsantrasyonda bu plakalara eklenmiştir. Plakalar 37 °C'de, 5% CO<sub>2</sub> ile 48 saat inkübe edilmiştir. Bu sırada Alamar Blur renk maddesi yaşayan hücreler tarafından alınmış ve indirgenmiştir. Alamar Blur maddesinin indirgenmiş hali stabil ve florasan özellik göstermektedir. Florasan miktarı hücrelerdeki gelişmenin inhibe edilmesi ile direkt orantılıdır. Meyve ekstraktı %98 oranı ile en yüksek inhibisyon değerini gösterdiğinden, meyve ekstraktının kimyasal içeriği incelenmiştir. Costunolide, gazaniolide, santamarin, 11,13-dehydrosantonin, spirafolide ve reynosin seskiterpenleri ile lauroxepine adı verilen yeni seskiterpen *Laurus nobilis* bitkisinin meyvelerinin metanollü ekstresinden elde edilmiştir. İzole edilen seskiterpenler 4 ve 13,5 µg/mL arasında IC<sub>50</sub> değer gösterirken, yeni bulunan lauroxepine'in IC<sub>50</sub> değeri 34,6 µg/mL'dir. IC<sub>50</sub> değerindeki bu artış, maddenin sitotoksik etkisinde düşüş, lakton kısmının olmamasının neden olduğunu göstermektedir. Yapılan bu çalışma ile izole edilen seskiterpenler arasında spirafolide'in en fazla sitotoksik etki gösterdiği kanıtlanmıştır, bu etki de oxepine halkasından dolayı görülmektedir [26].

Yapılan bir diğer çalışmada taze ve beklemiş defne yaprağı uçucu yağının 5 farklı kanser hücresi üzerinde sitotoksik etkisi ölçülmüştür. Araştırma sonuçlarına göre taze uçucu yağın tüm kanser hücreleri üzerinde beklemiş olana göre daha etkili olduğu bulunmuştur. Kanser hücreleri arasında, göğüs ve akciğer kanser hücreleri üzerindeki

inhibitör konsantrasyonu 0,8 µg/ml, beyin kanser hücreleri üzerindeki inhibitör konsantrasyon 0,9 µg/ml olarak bulunmuştur. Taze uçucu yağ 1,8 µg/ml inhibitör konsantrasyon ile en az etkiyi serviks kanser hücreleri üzerinde göstermiştir [50].

#### 4.12 Yara İyileştirici Aktivite

*Laurus nobilis* sulu ekstraktının yara iyileştirici etkisi sıçanlar üzerinde değerlendirilmiş, etkileri *Allamanda* bitkisinin sulu ekstraktı ile karşılaştırılmıştır. Yapılan çalışmada yara iyileşme süreci yaranın kapanma hızı, granülasyon hücreleri ve hidrokspirolin miktarı, epitelizasyon süreci ve granülasyon hücrelerinin histopatolojisine bakılarak ölçülmüştür. Çalışmanın sonuçlarına göre *Allamanda* bitkisinin sulu ekstraktı *Laurus nobilis* bitkisinin sulu ekstraktına göre daha etkili yara iyileştirme özelliğine sahipken, *Laurus nobilis* sulu ekstraktı da kontrol grubuna göre daha iyi sonuçlar vermiştir [51].

#### 4.13 Gastrointestinal Sistem Üzerindeki Aktivite

*Laurus nobilis* yaprak infüzyonundan elde edilen costunolide ve aktiviteden sorumlu parçası  $\alpha$ -methylene- $\gamma$ -butyrolactone ( $\alpha$ -MGBL)'in erkek Wistar türü sıçanlarda kandaki etanol düzeyi üzerindeki etkileri incelenmiştir. İki madde de 20-22 saat aç kalmış sıçanlara etanolün (5 ml/kg) oral verilmesi sonucu kandaki etanol düzeyinin düşmesine neden olmuştur, ama etanol karın boşluğuna enjekte edildiğinde etki göstermemişlerdir, bunun nedeninin costunolide ve aktiviteden sorumlu parçası  $\alpha$ -methylene- $\gamma$ -butyrolactone ( $\alpha$ -MGBL)'in etanolün gastrointestinal sistemdeki absorpsiyonunu etkilediğinden dolayı olduğu düşünülmüştür. Oral yoldan sıçanlara costinolide ve  $\alpha$ -MGBL verildiğinde alkol metabolizmasından sorumlu karaciğer enzimi alkol dehidrojenaz düzeyinde de değişim görülmemiş, bu da costunolide ve  $\alpha$ -MGBL'in etanolün gastrointestinal sistemdeki absorpsiyonunu etkilediği tezini daha da güçlendirmiştir. İki madde de etanolün duodenum içine enjekte edilmesi sonucu etki göstermemiş, bunun nedeninin de bu maddelerin etkilerini etanolün mideden duodenuma geçişini erteleyerek gösterdi için olduğu bulunmuştur. Normal sıçanlara costunolide ve  $\alpha$ -MGBL verildiğinde mide salgılarında artma görüldüğü gözlenmiş, bu artmanın etanol konsantrasyonunu azaltarak absorpsiyonunun azalmasına neden olduğu bulunmuştur [52].

## 5. GEREÇ VE YÖNTEM

### 5.1 Bitkisel materyal

Tezimde kullanılan *Laurus nobilis* bitkisine ait materyaller Nisan 2020'de İzmir'de kıyı bölgelerinden doğal yetiştiği alanlardan ve Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde kültürü yapılan defne bitkisinden toplanmıştır. Bitki materyali Prof. Dr. Murat Kartal tarafından Türkiye Florası 7. Cilt kullanılarak tayin edilmiştir. Herbaryum örnekleri DF35986-DF35989 numaralarıyla Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Herbaryumunda bulunmaktadır.

### 5.2 Uçucu Yağın Eldesi ve Verimleri

Tezimde materyal olarak kullanılan; Kültüre Dişi Defne Yaprağı (KDDY) Kültüre Erkek Defne Yaprağı (KEDY) Doğadan Dişi Defne Yaprağı (DDDY) Doğadan Erkek Defne Yaprağı (DEDY) Kültüre Dişi Defne Çiçeği (KDDÇ) Kültüre Erkek Defne Çiçeği (KEDÇ) Doğadan Dişi Defne Çiçeği (DDDC) Doğadan Erkek Defne Çiçeği (DEDÇ) toplanarak gölgede kurutuldu ve daha sonrasında mekanik olarak toz haline getirildi. Her bitki materyalinden 500 gram üç örnek halinde 3 saat boyunca Avrupa Farmakopesinde tarif edilen Clevenger cihazı kullanılarak hidrodistilasyona tabi tutuldu. Elde edilen uçucu yağlar susuz sodyum sülfat ile suyundan kurtarılarak analizler için 4°C'de kahverengi şişelerde tutuldu.

### 5.3 GC-FID/MS ile Uçucu Yağ Analizi

Uçucu yağların bileşenlerinin tanımlanması Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi, bağıl yüzdelerin belirlenmesi için Gaz Kromatografisi Alev İyonlaşma Dedektörü kullanılmıştır.

### **5.3.1 GC-FID Şartları (Gaz Kromatografisi Alev İyonlaşma Detektörü)**

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°C

Dedektör Sıcaklığı: 220°C

Sıcaklık Programı: 70°C (15 dak), 2°C/dak → 180°C (5 dak), 5°C/dak → 230°C (15 dak), Toplam Analiz Süresi: 100 dakika

Taşıyıcı Gaz: 1,5 mL/dak He

Enjeksiyon Hacmi: 1 µL

Split Oranı: 50:1

FID Hidrojen akış hızı: 30 mL/dak

FID Hava akış hızı: 400 mL/dak

### **5.3.2 GC-MS Şartları (Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi)**

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: 35-450 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)'den 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 hesaplandı.

### **5.3.3 GC-HS-MS (Gaz Kromatografisi Head Space Kütle Spektrometresi)**

Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi'nde bulunan GC-HS-MS sistemi kullanılarak analiz gerçekleştirilmiştir.

Sistem: Agilent 7890A Gaz Kromatografi Sistemi

Kolon: HP-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm)

Dedektör: Kütle Spektrometresi

Taşıyıcı Gaz: 0,9 mL/dak He

Enjeksiyon Hacmi: 1 µL

Split Oranı: 50:1

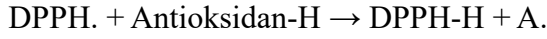
Agilent 7694 E headspace örnekleyici 70 °C'de kullanıldı. Ekstraksiyon sıcaklığı, 1 mL numune hacmi, 110 °C transfer hattı sıcaklığı ve numune enjeksiyonu için 16 psi şişe basıncı kullanıldı.

## **5.4 Antioksidan Aktivite Analizi**

### **5.4.1 DPPH serbest radikali giderim aktivitesi tayini**

DPPH Antiradikal aktivite ölçümü (DPPH Testi) Kararlı organik radikal 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil radikali (DPPH), bitki uçucu yağları ve yiyecek maddelerinin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kararlı

serbest radikal DPPH'ın, elektron veya hidrojen atomları veren antioksidan kimyasalların varlığında, bu kimyasallar tarafından süpürülmesi (temizlenmesi) ile karakteristik mor renginin açılmasının spektrofotometrik olarak belirlenmesi temeline dayanır. Yani, materyal ne kadar güçlü antioksidan özelliğe sahipse metanolde hazırlanmış DPPH çözeltisinin renginin o kadar açık olması beklenir. Tepkime mekanizması aşağıdaki şekilde gösterilebilir:



DPPH Serbest Radikali Giderim Aktivitesi Yönteminde Kullanılan Çözelti 0.1 mM DPPH çözeltisinin hazırlanması: 4 mg DPPH tartılarak 100 mL etil alkolde çözüldü. 30 dakika inkübasyon süresinden sonra kalan DPPH derişimi spektrofotometrik olarak ölçülür. DPPH radikalının rengindeki açılma antioksidan maddenin radikal temizleme aktivitesi olarak gösterilir. Polariteden bağımsız, çok hızlı, kolay ve tekrar edilebilir bir metottur [53, 54]. Ayrıca çok özel cihaz ve reaktifler gerektirmediğinden dolayı da tercih edilmektedir. Uçucu yağların antiradikal (elektron veya hidrojen transferi) özelliği DPPH radikal çözeltisi kullanılarak 517 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Bu yöntem ile test edilen uçucu yağların metanol içerisinde çözülerek hazırlanan çeşitli konsantrasyonlardaki örneklerinden 50 µl alınarak tüplere kondu. Her bir tüpe %0,004'lük (w/v) metanol de hazırlanmış olan DPPH (Sigma) çözeltisinden 5 ml eklendi. 30 dakikalık karanlıkta inkübasyon sonrasında, örneklerin absorbansı 517 nm'de ölçüldü. Farklı konsantrasyondaki uçucu yağ örneğinin absorbans değeri boş kontrole (50 µl metanol) karşı değerlendirildi. Örnek ve kontrol için beş tekrarlı seriler hazırlandı ve ölçümler üç tekrarlı olacak şekilde yapıldı. Farklı konsantrasyonlardaki yağ örneğinin ve boş kontrol testlerinin absorbans değerleri kullanılarak uçucu yağ % inhibisyon değerleri aşağıda verildiği şekliyle hesaplandı [55].

AKontrol = Kontrolün absorbansı, AÖrnek = Örneğin absorbansıdır.

$$\text{DPPH Giderim Aktivitesi \% İnhibisyon} = \frac{(A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}})}{A_{\text{Kontrol}}} \times 100$$

Elde edilen % inhibisyon değerleri uçucu yağ derişimlerine karşı grafiğe geçirilerek %50 renk açılımını sağlayan derişim %50 inhibisyon (IC<sub>50</sub>) değeri olarak hesaplandı. Karşılaştırmak amacıyla pozitif kontrol olarak kullanılan BHT ve askorbik asit, içinde aynı işlemler uygulanmıştır.

Konsantrasyon artışıyla absorbanın düşmesi beklenir. Çünkü azalan absorban geriye kalan DPPH çözeltisi miktarını yani serbest radikal giderim aktivitesini verir.

#### 5.4.2 Beta-Karoten Renk Açılım Testi

Antioksidan aktivite ölçümü ( $\beta$ -karoten/linoleik asit renk açılım testi)  $\beta$ -karoten renk açılımı yöntemi, linoleik asit ve oksijenle doymuş sulu ortamda linoleik asitin oksidasyonu sonucu oluşan konjuge dienler ve diğer uçucu bozunma ürünlerinin  $\beta$ -karotenin rengini açması temeline dayanır. Antioksidan maddenin varlığında bu tepkimenin oluşumu engellendiğinden  $\beta$ -karotenin alkol içindeki çözeltisinin sarı rengi değişmeden kalacaktır.

Linoleik asit + (O<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>O) → Konjuge dienler ve diğer bozunma ürünleri

↓

$\beta$ -karoten → renk açılımı

Linoleik asit + (O<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>O) +  $\beta$ -karoten + antioksidan → rengin korunumu

Antioksidan aktivite ölçümünün ( $\beta$ -karoten/linoleik asit renk açılım testi) etki mekanizması uçucu yağ örneği ve pozitif kontrol butil hidroksi toluen (BHT) (Merck) çözeltileri 2 mg/ml olacak şekilde etanol de çözülerek test örnekleri hazırlandı. Spektrofotometride kullanılacak olan  $\beta$ -karoten-linoleik asit karışımı şu şekilde hazırlandı: 0,5 mg  $\beta$ -karoten 1 ml kloroformda çözüldü. 25  $\mu$ l linoleik asit 200 mg Tween 80 (Sigma) ile emülsiyon haline getirilerek  $\beta$ -karoten çözeltisine eklendi. Karışım iyice çalkalandıktan sonra evaporatör de 50°C'de kuvvetli vakum uygulanarak kloroformu uçuruldu. Karışım üzerine, linoleik asitin oksidasyonunu sağlayacak olan önceden 30 dakika boyunca oksijenle doyurulmuş (akış hızı 100 ml dak-1) distile sudan 100 ml eklendi ve 1 dakika boyunca hızlı bir şekilde karıştırıldı. Bu işlem sonunda berrak, sarı renkli  $\beta$ -karoten-linoleik asit test karışımı elde edildi. Bu karışımdan 2500  $\mu$ l'lik kısımlar tüplere alındı. 500  $\mu$ l'lik uçucu yağ test çözeltileri, ilgili serilere ilave edildi. Aynı miktar etanol kontrol serisine uygulandı. Örnek ve kontrol için üç tekrarlı seriler hazırlandı ve ölçümler üç tekrarlı olacak şekilde yapıldı. Daha sonra tüplerin ağızları kapatılarak oda sıcaklığında, karanlıkta 24 saat bekletildikten sonra 490 nm'de absorbanları ölçüldü.



Defne uçucu yağlarının antioksidan aktivitesi, pozitif kontrol olarak kullanılan BHT'nin antioksidan aktivitesine oranlanarak, yüzde bağıl antioksidan aktivite (BAA) hesaplandı [53, 56]. Ölçümler 490 nm'de spektrofotometrik olarak yapıldı.

$$\%BAA = \frac{\text{Uçucu Yağın absorbanı}}{\text{BHT'nin Absorbanı}} \times 100\%$$

## 5.5 Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Bu çalışmada uçucu yağların antimikrobiyal aktivitesini test etmek için The Clinical and Laboratory Standards Institute's (CLSI) agar disc diffusion metodu kullanılmıştır.

Uçucu yağ örneklerinin antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon metodu buzdolabı'nda (+4°C) Mueller-Hinton agar besiyerlerinde muhafaza edilen Gram-pozitif bakteriler: *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Clostridium perfringens* ATCC 13124, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6303; Gram-negatif bakteriler: *Acinetobacter iwoffii* ATCC 17925, *Escherichia coli* ATCC 10536, *Klebsiella pneumoniae* ATCC BAA-1706 ve mayalar: *Candida krusei* ATCC 6258 ve *Candida albicans* ATCC 18804 kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Bakteriler 37°C'de Mueller Hinton agarda, mayalar ise 30°C'de Sabouraud dekstroz agarda 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. *C. perfringens* anaerobik koşullar altında ve *S. pneumoniae* ise 50 ml sızratlı kan/litre içeren Mueller Hinton agarda inkübe edilmiştir.

Minimum inhibitör konsantrasyonu belirlemek için The Clinical and Laboratory Standards Institute's (CLSI) sıvı besiyeri mikrodilüsyon besiyeri duyarlılık deneyi yapılmıştır. Bakteri kültürleri için % 0,5 Tween 80 (V/V) içeren Mueller-Hinton besiyeri (MHB), maya kültürleri için % 0,5 Tween 80 (V/V) içeren Sabouraud dekstroz besiyeri (SDB) kullanıldı. Büyüme kontrolleri için MHB/SDB + Tween 80, sterilite kontrolleri için MHB/SDB + uçucu yağ + Tween 80 kullanıldı.

Çalışılan organizmaların antimikrobiyal aktiviteleri inhibisyon zon çapları (IZD), disk çapları da dahil olmak üzere milimetre cinsinden dijital kumpas ile ölçülmüş ve araştırma üç paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Minimum inhibitör konsantrasyonlar (MIC), mililitre başına mikrolitre cinsinden verilmiş değerler ortalama  $\pm$  SD olarak sunulmuştur [53].

## 5.6 Antikollajenaz Anti-elastaz ve Anti-hyaluronidaz Aktivite Tayini Örnekleri

100'er g defne meyvesi ve yaprağı kullanılarak belirtilen çözücülerle 1:5 oranında meyve ve yaprak ekstraları elde edilmiştir.

---

### Ekstreler

---

Yaprak (1:5) Etanol

Yaprak (1:5) Gliserol-Su

Yaprak (1:5) %50 EtOH

Yaprak (1:5) Zeytinyağı

Yaprak (1:5) Su

Yaprak (1:5) Propilen Glikol

Meyve (1:5) Etanol

Meyve (1:5) Gliserol-Su

Meyve (1:5) %50 EtOH

Meyve (1:5) Zeytinyağı

Meyve (1:5) Su

Meyve (1:5) Propilen glikol

Defne Meyve Yağı-Gar Yağı

Defne Yaprak Uçucu Yağı

DMSO (Kontrol)

---

Yaprak ve meyveden elde edilen farklı ekstralar ile, yaprak uçucu yağının, nanoformüle edilmiş yaprak uçucu yağı ve meyve yağı üzerinde biyolojik aktivite çalışmaları yapılarak cilt yaşlanmasında önemli birer faktör oldukları bilinen kollajenaz, elastaz ve hyaluronidaz enzim inhibisyonu üzerindeki aktiviteleri incelenmiştir.

## 5.7 Antikollajenaz Aktivite

10 mg/ml konsantrasyonda hazırlanan ekstralarının antikollajenaz aktivitesinin ölçümü için pH: 7,5'te Trisin tampon çözeltisi hazırlanmıştır. Kollajenaz enzimi

kaynağı olarak *Clostridium histolyticum* kullanılmıştır. *Clostridium histolyticum* tampon çözeltide çözündürülerek 0,8 ünite/ml olarak belirlenen başlangıç konsantrasyonu sağlanmıştır. Substrat olarak kullanılacak olan FALGPA trisin tamponunda çözündürülmüştür (2 mM). Ekstreler reaksiyonu başlatacak olan substrat eklenmeden önce 15 dakikalığına tampon çözeltide kollajenaz enzimiyle inkübe edilmiştir. Toplam hacmi 150 µl olan son reaksiyon karışımı; trisin tamponu, 0,8 mM FALGPA, 0,1 ünite ChC VE 25 µg test ekstresi içermiştir. Negatif kontroller su ile yapılmıştır. Substratın eklenmesinden hemen sonra absorbans ölçülmüştür. EGCG üç farklı konsantrasyonda pozitif kontroller için kullanılmıştır. DMSO'nun olası enzim inhibisyonu katkısının belirlenmesi amacıyla deney DMSO ile de gerçekleştirilmiştir [57].

### **5.8 Antielastaz Aktivite**

Ekstrelerin antielastaz aktivite açısından değerlendirilmesi için 0,2 mM tris-HCl tampon çözeltisi kullanılmıştır. Domuz pankreasından elde edilmiş olan elastaz enziminin 3,33 mg/mL konsantrasyonda steril suyla stok çözeltisi hazırlanmıştır. Substrat olarak kullanılacak olan (AAPVN) tampon çözeltide çözündürülmüştür. Bitki ekstreleri substrat ilavesinden önce 15 dakikalığına enzimle inkübe edilmiştir. Elde edilecek son karışım (tampon çözelti, AAPVN, PE ve EC karışımı) pozitif kontroller için kullanılacaktır. Negatif kontroller su ile yapılacaktır. Substratın ilave edilmesinden hemen sonra gerçekleşecek absorbans değişimi ölçülmüş ve sonuçlar hem referans maddeler, hem örnekler hem de DMSO için yüzde inhibisyonu şeklinde verilmiştir [58].

### **5.9 Antihyalüronidaz Aktivite**

Hyalüronidazın setilpiridinyum klorür ile çöktürülmesine dayanan oldukça hassas bir spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır. Enzim (800 U/MI) ve hyaluronik asit substratı (0,40 mg/MI) 37°C de 1 saat boyunca inkübe edilmiştir. Enzim aktivitesi; hyaluronik asidin setilpiridinyum klorür çöktürülmesindeki parçalanmamış miktarının 415 nm'de gösterdiği absorbansın ölçülmesi ile belirlenmiştir [58].

#### **Hesaplama:**

Parçalanmamış olan hyaluronik asidin 415 nm'deki absorbansı yüzde cinsinden belirlenmiştir

Bu absorbans ile bitki ekstresinin 415 nm'deki absorbansının karşılaştırılması yapılmıştır.

Aktivite tayininde hesaplamalar aşağıdaki formüle göre yapılmıştır:

$$\text{Enzim inhibisyon aktivitesi (\%)} = \left[ \frac{(\text{OD}_{\text{kontrol}} - \text{OD}_{\text{numune}})}{\text{OD}_{\text{kontrol}}} \right] \times 100$$

Yapılan tüm analizlerin spektroskopik analizi Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Laboratuvarında yer alan thermoscientific MULTISKAN Sky cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

### **5.10 LNEO-NP'lerin hazırlanması**

LNEO-NP'ler tek emülsiyon yöntemi kullanılarak sentezlendi [59-62]. Kısaca 50 mg PLGA, 2 mL diklorometan (DCM) içerisinde çözüldü. 10 mg LNEO, PLGA çözeltisine ilave edildi ve manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Daha sonra LNEO-PLGA solüsyonu %3'lük PVA solüsyonuna enjektör ile damla damla ilave edildi. Elde edilen çözelti buz banyosunda 70 W enerjide 3 dakika sonikasyon (Bandelin, Sonopuls, Berlin, Almanya) ile homojenleştirildi. Çözücünün emülsiyondan uzaklaştırılması için bir manyetik karıştırıcıda 16 saat karıştırıldı. LNEO-NP'ler daha sonra üç döngülü bir santrifüjleme adımı (8000 rpm'de 40 dakika) uygulanarak saflaştırıldı. Son olarak LNEO-NP'ler 0,45 µm'lik bir selüloz membrandan filtrelendi.

### **5.11 LNEO'nun Spektrofotometrik Analizi**

LNEO analizi bir UV-Vis Spektrofotometresi kullanılarak yapıldı. Etanoldeki yedi farklı LNEO konsantrasyonu için (100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125 ve 1,5625 µg/mL) 224 nm'deki maksimum absorbans değerleri elde edildi ve LNEO'nun kalibrasyon eğrisi çizildi [63]. Kalibrasyon eğrisi, LNEO'nun kapsülleme verimliliğini, yükleme kapasitesini ve in vitro salımını belirlemek için kullanıldı.

### **5.12 LNEO-NP'lerin Ortalama Parçacık Boyutu, Polidispersite İndeksi (PDI) ve Zeta Potansiyeli Analizleri**

LNEO-NP'lerin ortalama parçacık boyutu, PDI ve zeta potansiyelini içeren DLS analizleri, 25 °C'de çalışan ve 4,0 mV He-Ne lazer (633 nm) ile donatılmış bir Zeta Sizer Nano ZS (Malvern Instruments, UK) cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. LNEO-

NP'lerin parçacık boyutunu belirlemek için 60 nm ve 200 nm polistiren lateks parçacıkları referans olarak kullanıldı. Her numune taze olarak hazırlandı. LNEO-NP'lerin süspansiyonu damıtılmış suyla seyreltildi ve ardından üç numune halinde ölçüldü [64].

### 5.13 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

LNEO-NP'lerin morfolojisi SEM kullanılarak belirlendi. LNEO-NP'ler, ultrasonik bir banyoda 15 dakika karıştırılarak ultra suda çözüldü. Daha sonra 10 µL numune cam üzerine damlatıldı ve oda sıcaklığında 4 saat kurutuldu [64]. SEM görüntüleri 20,00 KX büyütmede, 10,00 kV elektron yüksek geriliminde ve lens içi dedektörle 15,0 mm çalışma mesafesinde elde edildi.

Yıldız Teknik Üniversitesi laboratuvarında bulunan SEM (EVO LS 10, ZEISS, USA) cihazı kullanılarak morfolojiler tespit edilmiştir.

### 5.14 Kapsülleme Verimliliği ve Yükleme Kapasitesinin Belirlenmesi

Kapsülleme verimi solvent ekstraksiyon yöntemiyle elde edildi [64]. Kısaca LNEO-NP'ler DMSO içerisinde çözüldü, vortekslenildi ve 15 dakika (8000°C) santrifüj edildi. Süpernatantlar 224 nm'de UV-Vis spektrofotometrisi ile analiz edildi. Referans olarak boş NP'ler kullanıldı. Toplam LNEO içeriği, UV-Vis spektrometresinden elde edilen absorbans değeri kullanılarak LNEO'nun standart eğrisinden elde edilen eğri denklemi kullanılarak hesaplandı. Kapsülleme verimliliği (KV) Denklem (1) kullanılarak hesaplandı ve yükleme kapasitesi (YK) Denklem (2) kullanılarak hesaplandı.

$$KV\% = \frac{\text{Yüklenen toplam LNEO miktarı}}{\text{LNEO'nun başlangıç miktarı}} \times 100\% \quad \text{Denklem (1)}$$

$$YK \% = \frac{\text{Yüklenen toplam LNEO miktarı}}{\text{Kurutma sonrası NP'ler-LNEO'nun ağırlığı}} \times 100\% \quad \text{Denklem (2)}$$

### 5.15 LNEO-NP'lerin İn Vitro Salım Profili

LNEO'nun in vitro salım profilini belirlemek için 5 mg LNEO-NP, damıtılmış su içerisinde dağıtıldı ve bir diyaliz kapsülüne yerleştirildi. Salım ortamı için toplamda 75 mL fosfat tamponlu salin (%60; pH 7,4) + %40 etanol kullanıldı. Numuneler, ortam

sıcaklığında yatay çalkalamalı su banyosunda 120 rpm'de inkübe edildi [63]. Numuneler belirli zaman aralıklarında alındı ve eşdeğer hacimde taze ortam ile değiştirildi. Salım ortamından alınan numuneler bir UV-Vis spektrofotometre kullanılarak analiz edildi. LNEO'nun polimerik nanopartiküllerden salınma miktarı (%) Denklem (3) kullanılarak hesaplandı.

$$\text{Salım \%} = \frac{\text{Salınan LNEO}}{\text{Toplam LNEO}} \times 100\% \quad \text{Denklem (3)}$$

Yıldız Teknik Üniversitesi laboratuvarında bulunan Shimadzu UV-1280 UV-Vis spektrofotometre cihazı kullanılmıştır.

### **5.16 DNA Bağlanma Çalışması**

LNEO'nun DNA ile etkileşiminin belirlenmesi için Buzağı Timus DNA'sı (CT-DNA) kullanıldı [65]. Tris-HCl/NaCl (pH 7,2) tamponundaki CT-DNA çözeltisi, 260 ve 280 nm dalga boylarında A260/A280'de 1,9 UV absorbans oranı verdi. Bu oran CT-DNA'nın protein içermediğini göstermektedir [66, 67]. LNEO stok çözeltisi etanol ile hazırlandı ve deney için gerekli konsantrasyona Tris-HCl/NaCl tamponla seyreltilerek hazırlandı. Deney, LNEO konsantrasyonunun (40 µg) Tris-HCl/NaCl tamponunda (pH 7,2) sabit tutulması ve artan konsantrasyonlarda (0-120 µM) CT-DNA eklenmesiyle gerçekleştirildi. LNEO içeren Tris-HCl/NaCl tamponuna her DNA ilavesinden sonra 5 dakika inkübe edildi ve absorbans değerleri kaydedildi.

### **5.17 HaCaT Hücre Kültürünün Hazırlanması**

Ölümsüzleştirilmiş insan keratinosit (HaCaT) hücre hattı, DMEM (%10 FBS ve 100 U/mL penisilin-100 g/mL streptomisin) ortamında, 37°C'de %5 CO<sub>2</sub> inkübatöründe %80-90 konfluent hale gelinceye kadar inkübe edilmiştir. Konfluent hale gelen hücreler PBS ile durulanmıştır. Ardında hücrelerin kültür kabı yüzeyinden kaldırılması için 1 mL trypsin/EDTA eklenerek 1 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda hücrelerde trypsinin etkisini nötralize etmek için hücrelere 5 mL kültür ortamı eklenmiştir. Ardından hücreler 1000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjlemeden sonra süpernatant çıkarılıp, pellete 1 mL besiyeri eklenmiş ve sitotoksosite analizine hazırlanmak için thoma lamında sayılmıştır [68].

### 5.18 LNEO ve LNEO-PLGA NP'lerin Sitotoksitesinin Değerlendirilmesi

LNEO ve LNEO-PLGA NP'lerin sitotoksitesi MTT testi ile HaCaT hücreleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Deneyde HaCaT hücreleri 96 kuyucuklu hücre kültürü plakalarına (1x10<sup>4</sup>/kuyucuk) ekilmiştir. Ardından yüzey kaplaması için %5 CO<sub>2</sub> ve %95 hava içeren nemlendirilmiş bir inkübatörde 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. 24 saat sonra kültür ortamı kuyucuklardan çıkarılmıştır ve ortama hazırlanan altı farklı konsantrasyondaki LNEO ve LNEO-PLGA NP'ler (0,0625; 0,125; 0,25; 0,5; 1 ve 1,5 mg/mL) eklenmiştir. 24 saat inkübatörde inkübe edilmiştir. Ardından HaCaT hücreleri 4 saat boyunca 5 mg/mL MTT çözeltisi ile inkübe edilmiştir. MTT, 4 saat sonra hücrelerden uzaklaştırılmıştır ve canlı hücrelerin ürettiği formazan tuzlarını çözmek için her bir kuyucuğa 0,1 mL DMSO ilave edilmiştir. Plakalardaki hücre canlılığını belirlemek için hücrelerin optik yoğunluğunu (OD) 570 nm dalga boyunda ölçülmüştür. LNEO ve LNEO-PLGA NP'ler kıyaslı bir şekilde tedavi edilmeyen kontrol hücresi canlılığının %100 olduğu varsayılarak değerlendirilmiştir. Deney sonunda HaCaT hücrelerinin canlılık oranları yüzde olarak ifade edilmiştir. Hücre canlılığının yüzdesi aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır. [69].

$$\text{Hücre canlılığı} = (\text{Örneğin optik yoğunluğu} / \text{kontrolün optik yoğunluğu}) \times 100$$

## 6. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 6.1 Tez Materyal Örnekleri Üzerinde Uçucu Yağın Eldesi ve Verimleri

Tezimizde materyal olarak kullanılan; Kültüre Dişi Defne Yaprığı (KDDY) Kültüre Erkek Defne Yaprığı (KEDY) Doğadan Dişi Defne Yaprığı (DDDY) Doğadan Erkek Defne Yaprığı (DEDY) Kültüre Dişi Defne Çiçeğı (KDDÇ) Kültüre Erkek Defne Çiçeğı (KEDÇ) Doğadan Dişi Defne Çiçeğı (DDDÇ) Doğadan Erkek Defne Çiçeğı (DEDÇ) toplanarak gölgede kurutuldu ve daha sonrasında mekanik olarak toz haline getirildi. Her bitki materyalinden 500 gram üç kopya halinde 3 saat boyunca Avrupa Farmakopesinde tarif edilen Clevenger cihazı kullanılarak hidrodistilasyona tabi tutuldu. Elde edilen uçucu yağlar susuz sodyum sülfat ile suyundan kurtarılarak verimleri ölçülmüş (Tablo 6.1) ve GC-FID/MS ile Uçucu Yağ Analizleri (Tablo 6.2 ve Tablo 6.3) yapılmıştır.

**Tablo 6.1 :** Analiz edilen örneklerin uçucu yağ verimleri

| Örnekler                                 | Uçucu Yağ Verimi<br>(ml/100 gram) |
|--|-----------------------------------|
| Kültüre Dişi Bitki Defne Yaprığı (KDDY)  | 1,38 ± 0,06                       |
| Kültüre Erkek Bitki Defne Yaprığı (KEDY) | 1,34 ± 0,08                       |
| Doğal Dişi Bitki Defne Yaprığı (DDDY)    | 1,35 ± 0,05                       |
| Doğal Erkek Bitki Defne Yaprığı (DEDY)   | 1,34 ± 0,07                       |
| Kültüre Defne Dişi Çiçek (KDDÇ)          | 0,70 ± 0,05                       |
| Kültüre Defne Erkek Çiçek (KDEÇ)         | 0,52 ± 0,06                       |
| Doğal Defne Dişi Çiçek (DDDÇ)            | 0,73 ± 0,04                       |
| Doğal Defne Erkek Çiçek (DDEÇ)           | 0,48 ± 0,08                       |



## 6.2 GC-FID/MS Bulguları

Her iki cinsiyette de kültür edilmiş ya da doğal defne yaprakları hemen hemen aynı bileşime ve aynı verimde uçucu yağ sunmaktadır. Sonuçlara göre yaprak uçucu yağ içeriğine bakıldığında 1,8-cineole ve  $\alpha$ -terpinyl acetate majör komponentler olarak belirlenmiştir (Tablo 6.2). Çiçek uçucu yağlarının verim ve bileşimlerindeki farklılıkların sadece cinsiyete bağlı olduğu; her ikisindeki majör bileşiğin 1,8-cineole olduğu, erkek çiçekten elde edilen uçucu yağda *trans*-ocimen miktarının dişi çiçek uçucu yağına oranla yüksek olduğu belirlenmiştir. (Tablo 6.3).

**Tablo 6.2 :** *Laurus nobilis* yaprak uçucu yağlarının kimyasal bileşimleri

| No. | Bileşikler                  | R.I <sup>L</sup> | R.I <sup>C</sup> | R.T    | KDDY   | KDEY   | DDDY   | DDEY   |
|-----|-----------------------------|------------------|------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 1   | $\alpha$ -Thujene           | 927              | 931              | 9,167  | 0,491  | 0,621  | 0,508  | 0,557  |
| 2   | $\alpha$ -Pinene #          | 936              | 939              | 9,477  | 5,189  | 6,095  | 5,642  | 5,237  |
| 3   | Camphene                    | 950              | 953              | 10,090 | 0,890  | 0,958  | 0,924  | 0,876  |
| 4   | Sabinene                    | 973              | 978              | 11,221 | 6,801  | 6,253  | 6,527  | 6,711  |
| 5   | $\beta$ -Pinene             | 978              | 981              | 11,355 | 4,427  | 4,948  | 4,586  | 4,322  |
| 6   | Myrcene                     | 989              | 995              | 11,974 | 0,724  | 0,689  | 0,707  | 0,658  |
| 7   | $\alpha$ -Phellandrene      | 1004             | 1006             | 12,570 | 0,152  | 0,325  | 0,239  | 0,386  |
| 8   | $\alpha$ -Terpinene         | 1017             | 1018             | 13,171 | 0,604  | 0,526  | 0,565  | 0,521  |
| 9   | p-Cymene                    | 1024             | 1027             | 13,589 | 0,986  | 1,052  | 0,915  | 0,811  |
| 10  | Limonene                    | 1029             | 1030             | 13,785 | 1,843  | 1,742  | 1,793  | 1,356  |
| 11  | 1,8-Cineole #               | 1031             | 1037             | 14,114 | 37,262 | 36,134 | 35,892 | 37,612 |
| 12  | $\gamma$ -Terpinene         | 1059             | 1065             | 15,194 | 1,208  | 1,542  | 2,275  | 1,324  |
| 13  | <i>cis</i> -Sabinenehydrate | 1066             | 1072             | 15,760 | 0,420  | 0,226  | 0,323  | 0,198  |
| 14  | $\alpha$ -Terpinolene       | 1086             | 1091             | 16,603 | 0,286  | 0,128  | 0,207  | 0,326  |
| 15  | Linalool                    | 1099             | 1096             | 17,399 | 3,915  | 3,344  | 3,286  | 2,953  |
| 16  | Terpinene-1-ol              | 1136             | 1141             | 19,379 | 0,269  | 0,357  | 0,255  | 0,315  |
| 17  | Pinocarveol                 | 1143             | 1145             | 19,261 | 0,367  | 0,382  | 0,348  | 0,294  |
| 18  | $\delta$ -Terpineol         | 1164             | 1169             | 20,626 | 0,795  | 0,702  | 0,708  | 0,662  |
| 19  | Terpinene-4-ol              | 1177             | 1176             | 21,111 | 5,101  | 4,897  | 5,044  | 4,945  |
| 20  | $\alpha$ -Terpineol         | 1190             | 1192             | 21,838 | 6,640  | 6,921  | 6,781  | 6,541  |
| 21  | Myrtenol                    | 1194             | 1197             | 22,046 | 0,123  | 0,225  | 0,174  | 0,201  |
| 22  | Nerol                       | 1230             | 1236             | 23,498 | 0,184  | 0,314  | 0,249  | 0,352  |
| 23  | 4-Thujenyl-2-yl-acetate     | 1274             | 1279             | 25,535 | 0,112  | 0,158  | 0,105  | 0,098  |
| 24  | Bornyl Acetate              | 1289             | 1290             | 26,024 | 1,512  | 1,327  | 1,420  | 1,615  |
| 25  | 2-Undecanone                | 1293             | 1295             | 26,363 | 0,155  | 0,298  | 0,227  | 0,331  |
| 26  | $\delta$ -Terpinyl acetate  | 1317             | 1321             | 27,416 | 0,826  | 0,925  | 0,789  | 0,953  |
| 27  | $\alpha$ -Terpinyl acetate  | 1347             | 1353             | 28,942 | 11,605 | 12,027 | 11,974 | 12,620 |

|    |   |      |      |        |        |        |        |        |
|----|---|------|------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 28 | Eugenol #   | 1358 | 1360 | 29,354 | 1,303  | 1,526  | 1,415  | 1,560  |
| 29 | Neryl acetate                                       | 1363 | 1365 | 29,472 | 0,281  | 0,324  | 0,303  | 0,402  |
| 30 | $\beta$ -Elemene                                    | 1390 | 1394 | 30,652 | 0,106  | 0,127  | 0,109  | 0,076  |
| 31 | Methyleugenol                                       | 1402 | 1407 | 31,313 | 2,791  | 2,588  | 2,676  | 2,513  |
| 32 | $\beta$ -Caryophyllene #                            | 1420 | 1418 | 31,820 | 0,096  | 0,045  | 0,086  | 0,142  |
| 33 | Ledol   | 1566 | 1570 | 38,336 | 0,439  | 0,325  | 0,382  | 0,285  |
| 34 | Spathulenol   | 1577 | 1579 | 38,508 | 0,511  | 0,597  | 0,563  | 0,648  |
| 35 | $\beta$ -Caryophyllene oxide #                      | 1583 | 1586 | 40,568 | 0,127  | 0,179  | 0,158  | 0,218  |
| 36 | $\beta$ -Eudesmol ( $\beta$ -Selinol)               | 1651 | 1657 | 41,083 | 0,443  | 0,376  | 0,505  | 0,341  |
|    | Total identified (%)                                |      |      |        | 98,984 | 99,203 | 99,660 | 98,960 |
|    | Monoterpene hydrocarbons (1-10, 12, 14)             |      |      |        | 23,601 | 24,879 | 24,888 | 23,085 |
|    | Oxygenated monoterpenes (11, 13, 15-24, 26, 27, 29) |      |      |        | 69,412 | 68,263 | 67,651 | 69,761 |
|    | Sesquiterpene hydrocarbons (30, 32)                 |      |      |        | 0,202  | 0,172  | 0,195  | 0,218  |
|    | Oxygenated sesquiterpenes (33-36)                   |      |      |        | 1,520  | 1,477  | 1,608  | 1,492  |
|    | Phenylpropanoids (28, 31)                           |      |      |        | 4,094  | 4,114  | 4,091  | 4,073  |
|    | Oxygenated hydrocarbons (25)                        |      |      |        | 0,155  | 0,298  | 0,227  | 0,331  |

**Tablo 6.3 :** *Laurus nobilis* çiçek uçucu yağlarının kimyasal bileşimleri

| No. | Bileşikler                 | R.I.L | R.I.C | R.T    | KDDÇ   | KDEÇ   | DDDC   | DDEC   |
|-----|----------------------------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 1   | Heptanal                   | 901   | 897   | 8,170  | 0,540  | 0,122  | 0,242  | 0,375  |
| 2   | $\alpha$ -Thujene          | 927   | 931   | 9,168  | 0,293  | 0,205  | 0,211  | 0,257  |
| 3   | $\alpha$ -Pinene #         | 936   | 936   | 9,490  | 7,891  | 7,678  | 6,982  | 7,243  |
| 4   | Camphene                   | 950   | 953   | 10,100 | 3,122  | 3,267  | 3,542  | 3,086  |
| 5   | Sabinene                   | 973   | 978   | 11,203 | 4,152  | 3,241  | 4,051  | 4,162  |
| 6   | $\beta$ -Pinene            | 977   | 981   | 11,352 | 5,520  | 5,606  | 5,964  | 5,671  |
| 7   | Myrcene                    | 989   | 995   | 11,968 | 0,615  | 0,640  | 0,598  | 0,702  |
| 8   | $\alpha$ -Terpinene        | 1017  | 1018  | 13,161 | 0,450  | 0,336  | 0,431  | 0,510  |
| 9   | p-Cymene                   | 1024  | 1027  | 13,587 | 1,327  | 0,849  | 1,211  | 1,083  |
| 10  | Limonene                   | 1029  | 1030  | 13,784 | 0,338  | 0,414  | 0,387  | 0,335  |
| 11  | 1,8-Cineole #              | 1031  | 1037  | 14,030 | 25,416 | 26,576 | 26,620 | 25,841 |
| 12  | <i>cis</i> -Ocimene        | 1038  | 1042  | 14,200 | 1,744  | 1,954  | 1,957  | 1,561  |
| 13  | <i>trans</i> -Ocimene      | 1046  | 1051  | 14,724 | 4,683  | 11,097 | 5,012  | 12,143 |
| 14  | $\gamma$ -Terpinene        | 1059  | 1065  | 15,187 | 0,766  | 0,568  | 0,653  | 0,612  |
| 15  | Linalool                   | 1099  | 1096  | 17,341 | 0,333  | 1,609  | 0,286  | 1,476  |
| 16  | Terpinene-4-ol             | 1177  | 1176  | 21,064 | 2,318  | 2,074  | 2,215  | 2,185  |
| 17  | $\alpha$ -Terpineol        | 1190  | 1192  | 21,743 | 0,799  | 0,859  | 0,827  | 0,742  |
| 18  | Bornyl acetate             | 1289  | 1290  | 26,041 | 4,593  | 3,872  | 4,146  | 4,210  |
| 19  | 2-Undecanone               | 1293  | 1295  | 26,359 | 0,269  | 0,189  | 0,155  | 0,236  |
| 20  | $\delta$ -Terpinyl Acetate | 1317  | 1321  | 27,407 | 0,558  | 0,402  | 0,482  | 0,501  |
| 21  | $\alpha$ -Terpinyl Acetate | 1347  | 1353  | 28,912 | 9,331  | 4,985  | 8,796  | 4,126  |
| 22  | Eugenol #                  | 1358  | 1360  | 29,342 | 0,953  | 0,927  | 0,827  | 0,343  |
| 23  | $\beta$ -Elemene           | 1390  | 1394  | 30,675 | 2,551  | 2,580  | 2,342  | 1,941  |
| 24  | Methyleugenol              | 1402  | 1407  | 31,282 | 0,680  | 0,734  | 0,721  | 0,696  |
| 25  | $\beta$ -Caryophyllene #   | 1420  | 1418  | 31,877 | 6,155  | 6,244  | 7,403  | 6,943  |
| 26  | $\alpha$ -Humulene         | 1451  | 1458  | 33,254 | 0,731  | 0,875  | 0,780  | 0,806  |

|    |   |      |      |        |        |        |        |        |
|----|---|------|------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 27 | Germacrene                                      | 1476 | 1482 | 34,404 | 2,610  | 2,360  | 2,460  | 2,029  |
| 28 | $\beta$ -Farnesene                              | 1495 | 1501 | 34,873 | 1,129  | 1,677  | 1,417  | 1,682  |
| 29 | $\gamma$ -Cadinene                              | 1513 | 1516 | 35,708 | 0,543  | 0,195  | 0,347  | 0,265  |
| 30 | $\delta$ -Cadinene                              | 1524 | 1527 | 36,055 | 0,932  | 0,469  | 0,510  | 0,758  |
| 31 | cis- $\alpha$ -Bisabolene                       | 1541 | 1453 | 36,774 | 1,287  | 1,199  | 1,112  | 1,307  |
| 32 | Spathulenol                                     | 1577 | 1579 | 38,374 | 0,630  | 0,711  | 0,658  | 0,603  |
| 33 | $\beta$ -Caryophyllene<br>oxide #               | 1581 | 1590 | 38,545 | 3,329  | 2,618  | 2,905  | 2,544  |
| 34 | $\beta$ -Eudesmol ( $\beta$ -<br>Selinol)       | 1651 | 1657 | 41,095 | 0,894  | 0,484  | 0,622  | 0,713  |
|    | Total identified (%)                            |      |      |        | 97,482 | 97,616 | 96,872 | 97,687 |
|    | Monoterpene hydrocarbons (2-10,<br>12-14)       |      |      |        | 30,901 | 35,855 | 30,999 | 37,365 |
|    | Oxygenated monoterpenes (11, 15-<br>18, 20, 21) |      |      |        | 43,348 | 40,377 | 43,372 | 39,081 |
|    | Sesquiterpene hydrocarbons (23,<br>25-31)       |      |      |        | 15,938 | 15,599 | 16,371 | 15,731 |
|    | Oxygenated sesquiterpenes (32-34)               |      |      |        | 4,853  | 3,813  | 4,185  | 3,860  |
|    | Phenylpropanoids (22, 24)                       |      |      |        | 1,633  | 1,661  | 1,548  | 1,039  |
|    | Oxygenated hydrocarbons (1, 19)                 |      |      |        | 0,809  | 0,311  | 0,397  | 0,611  |

#; referans maddelerinin enjekte edilmiş orijinal numuneleri  
R.T; Retensiyon zamanı  
R.I<sup>L</sup>; Literatürden bulunan Retensiyon indisleri  
NIST database R.I<sup>C</sup>; Hesaplanmış Retensiyon  
İndisleri

### 6.3 GC-HS-MS Bulguları

Kromatogramları Şekil 6.1 ve 6.2’de verilen LNEO ve LNEO-NP GC analizi incelendiğinde defne yaprak uçucu yağında majör bileşikler 1,8-cineole, sabinene ve  $\alpha$ -pinene %45,955; %17,713 ve %15,032 olarak bulunmuştur. Nanoformülasyon bünyesinde 1,8-cineole oranı %77,284; %12,626 sabinene ve %5,432  $\beta$ -pinene tespit edilmiştir. Nanoformüle defne uçucu yağının %77’nin üzerinde 1,8-cineole içerdiği gözlemlenmiştir. Uçucu yağ ve uçucu yağ içeren nanopartiküller GC-HS-MS analizine tabi tutulduğunda, uçucu yağdaki majör bileşenlerin nanopartiküllere yüklendiği gözlemlenmiştir (Tablo 6.4).

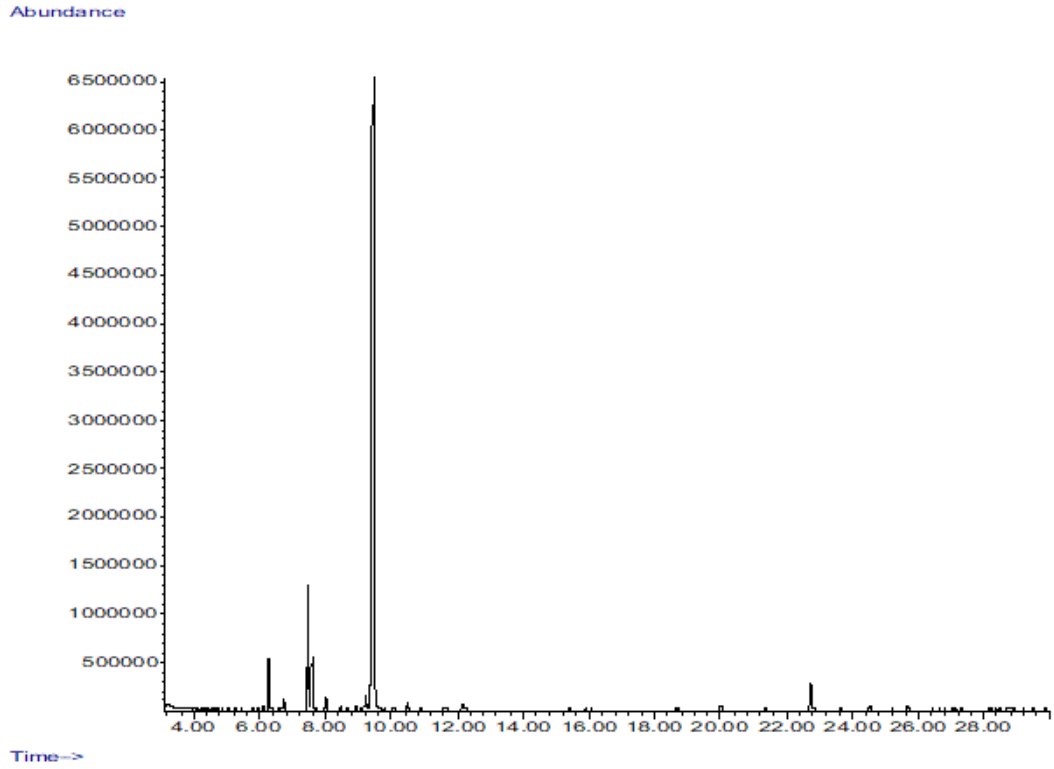
**Tablo 6.4** : LNEO ve LNEONP uçucu yağlarının kimyasal bileşimleri

| No                      | R.T    | R.I <sup>C</sup> | R.I <sup>L</sup> | Bileşikler             | LNEO HS        | LNEO-NP HS  |
|-------------------------|--------|------------------|------------------|------------------------|----------------|-------------|
| 1                       | 6,353  | 934              | 936              | $\alpha$ -Pinene       | 15,032         | 4,658       |
| 2                       | 6,741  | 947              | 949              | Camphene               | 3,412          |             |
| 3                       | 7,626  | 978              | 976              | Sabinene               | 17,713         | 12,626      |
| 4                       | 7,717  | 981              | 980              | $\beta$ -Pinene        | 8,548          | 5,432       |
| 5                       | 8,054  | 992              | 992              | Myrcene                | 2,261          |             |
| 6                       | 8,524  | 1006             | 1006             | $\alpha$ -Phellandrene | 0,532          |             |
| 7                       | 9,876  | 1041             | 1038             | Eucalyptol             | 45,955         | 77,284      |
| 8                       | 10,583 | 1061             | 1059             | $\gamma$ -Terpinene    | 0,596          |             |
| 9                       | 10,946 | 1070             | 1066             | Sabinene hydrate       | 0,255          |             |
| 10                      | 12,371 | 1107             | 1103             | Linalool               | 1,582          |             |
| <b>Total identified</b> |        |                  |                  |                        | <b>95,886%</b> | <b>100%</b> |

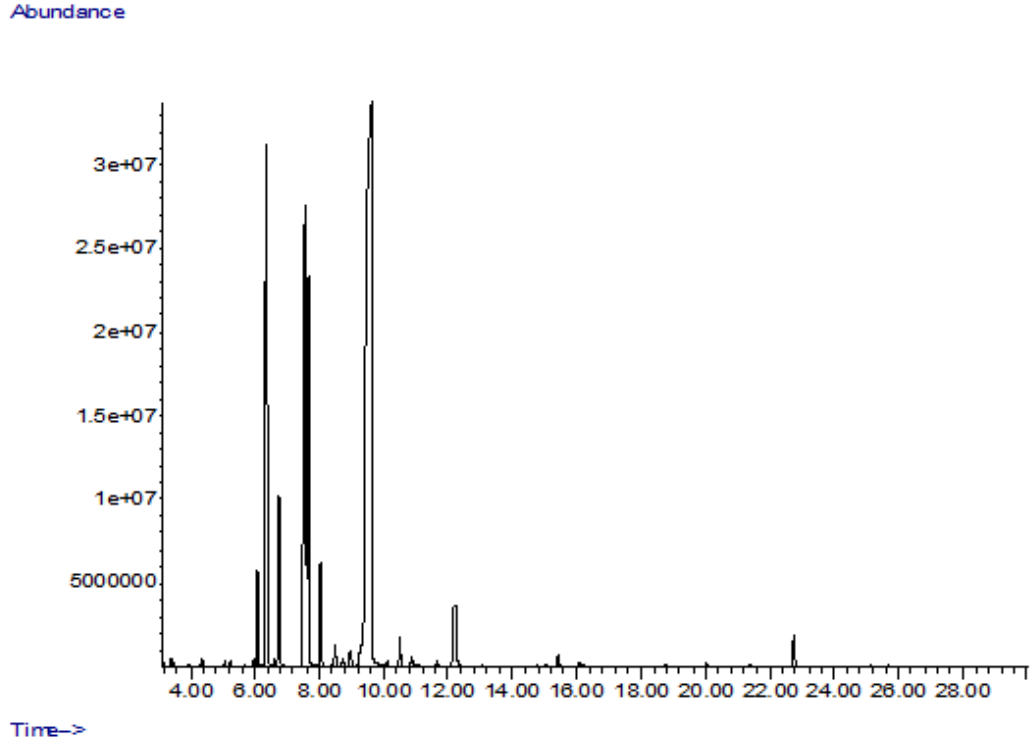
R.T; Retensiyon zamanı

R.I<sup>L</sup>; Literatürden bulunan Retensiyon indisleri

NIST database R.I<sup>C</sup>; Hesaplanmış Retensiyon İndisleri



**Şekil 6.1** : LNEO GC-HS-MS kromatogramı



Şekil 6.2 : LNEO-NP GC-MS kromatogramı

#### 6.4 Antioksidan Aktiviteye Ait Bulgular

Toplam antioksidan aktivite, linoleik asit oksidasyonundan ileri gelen konjuge dien hidroperoksitlerinin inhibisyonunun ölçülmesine dayanan  $\beta$ -karoten-linoleik asit yöntemiyle belirlendi. Bu yöntem, inhibisyon sonucu  $\beta$ -karotenin renginin açılması esasına dayanır. Yükselen absorbanans değeri % antioksidan aktivite ile doğru orantılıdır. Tablo 6.5’de uçucu yağlarımıza ait antioksidan aktivite sonuçları verilmiştir. Yaprak uçucu yağları, çiçek uçucu yağlarına göre biraz daha fazla antioksidan aktivite göstermiştir. Bunun nedeni, yaprak uçucu yağlarında çiçeklerden çok daha yüksek olduğu tespit edilen terpinen-4-ol,  $\alpha$ -terpineol, linalool ve öjenol gibi monoterpen alkoller daha yüksek orandadır. Antioksidan aktivite sonuçları değerlendirildiğinde defne yaprak uçucu yağlarının antioksidan aktivitesi çiçek uçucu yağlarına göre daha yüksektir. Doğal veya kültüre edilmiş dişi ve erkek yaprak uçucu yağları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

**Tablo 6.5 :** Uçucu yağların antioksidan aktiviteleri

| <b>Uçucu yağlar ve kontrol grubu</b> | <b>DPPH<br/>(<math>\mu\text{g/ml}</math>)</b> | <b>IC<sub>50</sub></b> | <b>BCB<br/>(I%)</b> |
|--------------------------------------|---|------------------------|---------------------|
| Kültüre Dişi Defne Yaprağı (KDDY)    | 48,2 $\pm$ 0,43                               |                        | 68,5 $\pm$ 1,28     |
| Kültüre Erkek Defne Yaprağı (KDEY)   | 47,9 $\pm$ 0,57                               |                        | 68,2 $\pm$ 1,32     |
| Doğadan Dişi Defne Yaprağı (DDDY)    | 48,1 $\pm$ 0,61                               |                        | 67,9 $\pm$ 1,26     |
| Doğadan Erkek Defne Yaprağı (DDEY)   | 48,2 $\pm$ 0,38                               |                        | 68,1 $\pm$ 1,30     |
| Kültüre Dişi Defne Çiçeği (KDDÇ)     | 65,1 $\pm$ 0,57                               |                        | 61,4 $\pm$ 1,28     |
| Kültüre Erkek Defne Çiçeği (KEDÇ)    | 64,8 $\pm$ 0,51                               |                        | 63,1 $\pm$ 1,43     |
| Doğadan Dişi Defne Çiçeği (DDDC)     | 65,7 $\pm$ 0,48                               |                        | 61,8 $\pm$ 1,31     |
| Doğadan Erkek Defne Çiçeği (DDEC)    | 64,4 $\pm$ 0,43                               |                        | 62,3 $\pm$ 1,47     |
| Askorbik Asit                        | 2,79 $\pm$ 0,21                               |                        | 92 $\pm$ 1,36       |
| BHT                                  | 15,7 $\pm$ 0,58                               |                        | 97 $\pm$ 1,22       |

## 6.5 Antimikrobiyal Aktiviteye Ait Bulgular

Bu çalışmada uçucu yağların antimikrobiyal aktivitesini test etmek için The Clinical and Laboratory Standards Institute's (CLSI) agar disc diffusion metodu kullanılmıştır.

Çalışılan organizmaların antimikrobiyal aktiviteleri inhibisyon zon çapları (IZD), disk çapları da dahil olmak üzere milimetre cinsinden dijital kumpas ile ölçülmüş ve araştırma üç paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Minimum inhibitör konsantrasyonlar (MIC), mililitre başına mikrolitre cinsinden verilmiş değerler ortalama  $\pm$  SD olarak sunulmuştur.

**Tablo 6.6 :** Uçucu yağların antimikrobiyal aktivitesi

| Mikroorganizmalar     | KDDY         |     | KEDY         |     | DDDY         |     | DEDY         |     |
|-----------------------|--------------|-----|--------------|-----|--------------|-----|--------------|-----|
|                       | IZD          | MIC | IZD          | MIC | IZD          | MIC | IZD          | MIC |
| <i>A. lwoffii</i>     | 18 $\pm$ 1,4 | 0,1 | 17 $\pm$ 1,2 | 0,1 | 18 $\pm$ 1,8 | 0,1 | 20 $\pm$ 1,2 | 0,1 |
| <i>B. cereus</i>      | 9 $\pm$ 1,3  | 0,3 | 10 $\pm$ 1,1 | 0,3 | 9 $\pm$ 1,9  | 0,3 | 9 $\pm$ 1,5  | 0,3 |
| <i>C. perfringens</i> | 19 $\pm$ 1,1 | 0,1 | 20 $\pm$ 1,7 | 0,2 | 19 $\pm$ 1,5 | 0,2 | 18 $\pm$ 1,7 | 0,2 |
| <i>E. coli</i>        | 8 $\pm$ 1,2  | 0,7 | 9 $\pm$ 1,4  | 0,7 | 8 $\pm$ 1,4  | 0,5 | 7 $\pm$ 1,5  | 0,6 |
| <i>K. pneumoniae</i>  | 5 $\pm$ 1,2  | 0,7 | 6 $\pm$ 1,3  | 0,6 | 5 $\pm$ 1,5  | 0,6 | 5 $\pm$ 1,7  | 0,7 |
| <i>S. pneumoniae</i>  | 17 $\pm$ 1,4 | 0,1 | 15 $\pm$ 1,1 | 0,1 | 16 $\pm$ 1,8 | 0,1 | 16 $\pm$ 1,6 | 0,1 |
| <i>C. krusei</i>      | 13 $\pm$ 1,3 | 0,2 | 16 $\pm$ 1,4 | 0,1 | 14 $\pm$ 1,5 | 0,2 | 15 $\pm$ 1,5 | 0,2 |
| <i>C. albicans</i>    | 14 $\pm$ 1,2 | 0,2 | 16 $\pm$ 1,3 | 0,1 | 15 $\pm$ 1,7 | 0,2 | 15 $\pm$ 1,8 | 0,2 |
| Mikroorganizmalar     | KDDÇ         |     | KEDÇ         |     | DDDÇ         |     | DEDÇ         |     |
|                       | IZD          | MIC | IZD          | MIC | IZD          | MIC | IZD          | MIC |
| <i>A. lwoffii</i>     | 14 $\pm$ 2,1 | 0,3 | 15 $\pm$ 1,8 | 0,4 | 15 $\pm$ 1,4 | 0,4 | 16 $\pm$ 1,2 | 0,3 |
| <i>B. cereus</i>      | 6 $\pm$ 1,1  | 0,5 | 7 $\pm$ 1,5  | 0,5 | 6 $\pm$ 1,3  | 0,6 | 6 $\pm$ 1,2  | 0,5 |
| <i>C. perfringens</i> | 17 $\pm$ 1,9 | 0,4 | 16 $\pm$ 1,7 | 0,4 | 16 $\pm$ 1,5 | 0,3 | 18 $\pm$ 1,6 | 0,4 |
| <i>E. coli</i>        | 6 $\pm$ 1,3  | 0,8 | 5 $\pm$ 1,2  | 0,9 | 5 $\pm$ 1,1  | 0,8 | 4 $\pm$ 1,2  | 1,0 |
| <i>K. pneumoniae</i>  | 5 $\pm$ 1,2  | 0,8 | 5 $\pm$ 1,1  | 0,8 | 4 $\pm$ 1,2  | 1,0 | 4 $\pm$ 1,1  | 1,0 |
| <i>S. pneumoniae</i>  | 14 $\pm$ 1,6 | 0,2 | 16 $\pm$ 1,5 | 0,2 | 15 $\pm$ 1,7 | 0,3 | 14 $\pm$ 1,6 | 0,2 |
| <i>C. krusei</i>      | 11 $\pm$ 1,4 | 0,3 | 14 $\pm$ 1,5 | 0,4 | 11 $\pm$ 1,3 | 0,5 | 13 $\pm$ 1,7 | 0,3 |
| <i>C. albicans</i>    | 10 $\pm$ 1,3 | 0,3 | 11 $\pm$ 1,7 | 0,3 | 12 $\pm$ 1,4 | 0,4 | 12 $\pm$ 1,2 | 0,3 |

Tablo 6.6'deki antimikrobiyal aktivite sonuçları taşıdığı bileşikler açısından değerlendirildiğinde yapraklardan elde edilen uçucu yağlar, yapraklardaki yüksek oranda bulunan 1,8-cineole ve diğer oksijenli monoterenler açısından çiçeklerden elde edilen uçucu yağlardan daha üstündür (Tablo 6.2 ve Tablo 6.3). Sonuçlar, aktivitelerin 1,8-cineole ve  $\alpha$ -terpinyl acetate miktarlarıyla doğru orantılı olduğunu göstermektedir. Çiçek uçucu yağ bileşeni, daha önce antibakteriyel etkilerinin çok

düşük olduğu veya hiç olmadığı belirtilen monoterpen hidrokarbonlar açısından zengindir. Bileşikler arasında bir sinerji olmasına rağmen; yaprak uçucu yağları test edilen mikroorganizmalar üzerinde çok daha güçlü antimikrobiyal aktivite göstermektedir.

## 6.6 Antikollajenaz Aktiviteye Ait Bulgular

Tüm numunelerin ve referans madde olan EGCG'nin kollajenaz enzim inhibisyonu biyoaktiviteleri hesaplanmış ve sonuçlar Tablo 6.6'de verilmiştir. Standart madde EGCG'nin inhibisyon biyoaktivitesi doza bağlı olarak azalmıştır. Defneden elde edilen numunelerde en yüksek aktivite uçucu yağ ve LNEO-PLGA'da görülmüştür. Ardından en yüksek aktiviteyi gar yağı göstermiştir. Yaprığın etanol ekstresi de belirgin bir aktivite göstermiştir.

**Tablo 6.7 :** Örneklerin ve referans maddelerin kollajenaz enzimi inhibisyonu aktiviteleri

| Referanslar               | % inhibisyon |
|---------------------------|--------------|
| EGCG 1                    | 97,99 ± 2,79 |
| EGCG 0,5                  | 64,32 ± 1,05 |
| EGCG 0,25                 | 51,81 ± 1,58 |
| <b>Örnekler*</b>          |              |
| Yaprak 1:5 Etanol         | 53,41 ± 0,90 |
| Yaprak 1:5 Gliserol-Su    | 38,96 ± 1,09 |
| Yaprak 1:5 %50 EtOH       | 42,86 ± 0,15 |
| Yaprak Zeytinyağı         | 36,79 ± 1,64 |
| Yaprak Su                 | 31,56 ± 0,70 |
| Yaprak Propilen Glikol    | 44,73 ± 0,52 |
| Meyve 1:5 Etanol          | 32,82 ± 0,31 |
| Meyve 1:5 Gliserol-Su     | 36,49 ± 2,51 |
| Meyve 1:5 %50 EtOH        | 33,91 ± 0,38 |
| Meyve Zeytinyağı          | 39,86 ± 1,74 |
| Meyve Su                  | 34,99 ± 0,76 |
| Meyve Propilen glikol     | 30,44 ± 1,52 |
| Defne Meyve Yağı-Gar Yağı | 59,44 ± 1,28 |
| Defne Yaprak Uçucu Yağı   | 63,30 ± 0,06 |
| LNEO-PLGA                 | 62,16 ± 3,12 |
| DMSO                      | ND           |

\*Aynı satırdaki farklı harfler istatistiki anlamlı farklılığı göstermektedir (p<0,05).

## 6.7 Anti-elastaz Aktiviteye Ait Bulgular

Standart madde EGCG 0,25 mg/ml konsantrasyonda yüksek elastaz enzimi inhibisyonu aktivitesi göstermiştir. Numuneler 10 mg/ml konsantrasyonda hazırlanmış



olmasına rağmen pek azı bu konsantrasyonda elastaz enzimini inhibe etmiştir. En yüksek aktivite sırasıyla %9,14 ve %8,18 ile uçucu yağ ve LNEO-PLGA'da görünürken, yaprak etanol ve hidroalkolik ekstreleri de sırasıyla %6,02 ve %4,45 inhibisyon göstermiştir. Meyve ekstralarında ve gar yağında ise aktivite gözlemlenmemiştir. Tablo 6.8'de elastaz enzim inhibisyon sonuçları verilmiştir.

**Tablo 6.8 :** Örneklerin ve referans maddelerin elastaz enzimi inhibisyonu aktiviteleri

| Referans                  | % inhibisyon |
|---------------------------|--------------|
| EGCG 0,25                 | 95,46 ± 0,86 |
| <b>Örnekler*</b>          |              |
| Yaprak 1:5 Etanol         | 6,02 ± 0,15  |
| Yaprak 1:5 Gliserol-Su    | ND           |
| Yaprak 1:5 %50 EtOH       | 4,45 ± 0,12  |
| Yaprak Zeytinyağı         | ND           |
| Yaprak Su                 | ND           |
| Yaprak Propilen Glikol    | ND           |
| Meyve 1:5 Etanol          | ND           |
| Meyve 1:5 Gliserol-Su     | ND           |
| Meyve 1:5 %50 EtOH        | ND           |
| Meyve Zeytinyağı          | ND           |
| Meyve Su                  | ND           |
| Meyve Propilen glikol     | ND           |
| Defne Meyve Yağı-Gar Yağı | ND           |
| Defne Yaprak Uçucu Yağı   | 9,14 ± 0,91  |
| LNEO-PLGA                 | 8,18 ± 0,41  |
| DMSO                      | ND           |

\*Aynı satırdaki farklı harfler istatistiki anlamlı farklılığı göstermektedir (p<0,05).

## 6.8 Antihiyalüronidaz Aktiviteye Ait Bulgular

Referans madde olan tannik asit'in hyalüronidaz inhibisyonu aktivitesi doza bağlı azalma göstermiştir. Defneden elde edilen numunelerde en yüksek aktivite yaprağın etanol ekstresinde gözlemlenmiştir. Hidroalkolik ekstre ve su ekstresinde de daha az olmasına rağmen belirgin bir aktivite gözlemlenmiştir. Buna karşın lipofilik ekstrelerde aktivite gözlemlenmemiştir. Saf uçucu yağ ve LNEO-PLGA da belirgin bir aktivite göstermiş ancak meyve ekstralarında sadece etanol ekstresinde zayıf bir aktivite belirlenmiştir (Tablo 6.9).

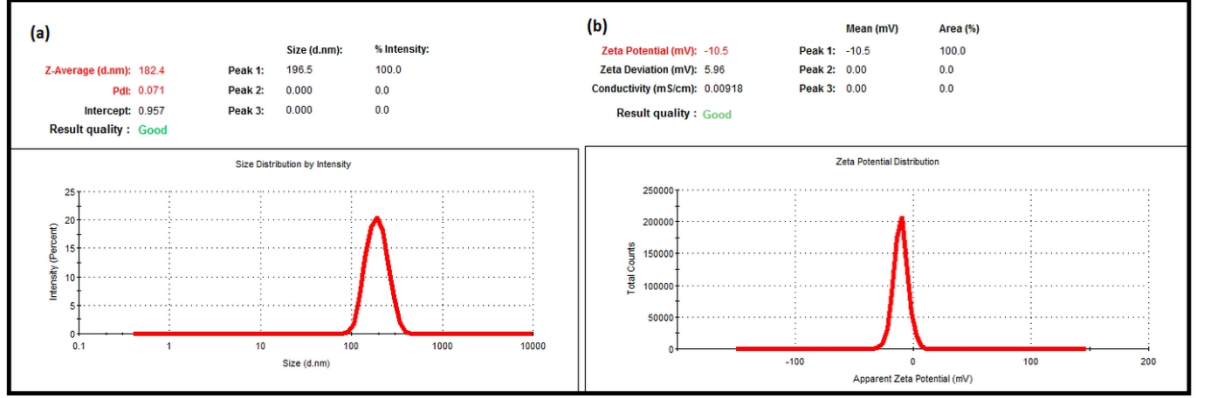
**Tablo 6.9 :** Örneklerin ve referans maddelerin hyaluronidaz enzimi inhibisyonu aktiviteleri

| Referanslar               | % inhibisyon |
|---------------------------|--------------|
| Tannik Asit 1,1 mg/ml     | 88,83 ± 1,5  |
| Tannik Asit 0,55 mg/ml    | 47,77 ± 1,12 |
| <b>Örnekler*</b>          |              |
| Yaprak 1:5 Etanol         | 25,37 ± 0,58 |
| Yaprak 1:5 Gliserol-Su    | ND           |
| Yaprak 1:5 %50 EtOH       | 10,84 ± 0,29 |
| Yaprak Zeytinyağı         | ND           |
| Yaprak Su                 | 6,32 ± 0,65  |
| Yaprak Propilen Glikol    | ND           |
| Meyve 1:5 Etanol          | 5,90 ± 0,16  |
| Meyve 1:5 Gliserol-Su     | ND           |
| Meyve 1:5 %50 EtOH        | ND           |
| Meyve Zeytinyağı          | ND           |
| Meyve Su                  | ND           |
| Meyve Propilen glikol     | ND           |
| Defne Meyve Yağı-Gar Yağı | ND           |
| Defne Yaprak Uçucu Yağı   | 11,36 ± 0,72 |
| LNEO-PLGA                 | 10,81 ± 0,65 |
| DMSO                      | ND           |

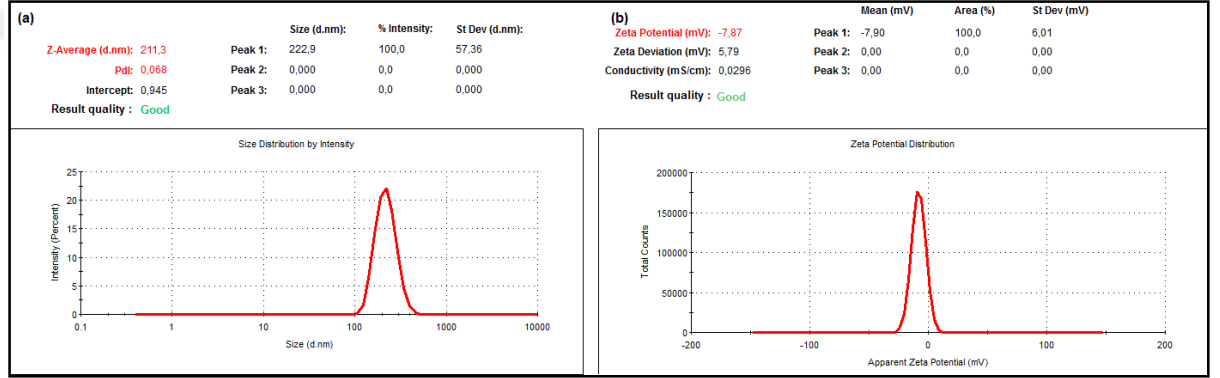
\*Aynı satırdaki farklı harfler istatistiki anlamlı farklılığı göstermektedir (p<0,05).

### 6.9 Ortalama Parçacık Boyutu, PdI ve Zeta Potansiyeli Analiz Sonuçları

Nanopartiküllerin ortalama partikül boyutu, PdI ve zeta potansiyeli, terapötik bir etki yaratmak için ilaç dağıtım sistemlerinde biyoaktif maddelerin hedef doku ile etkileşiminde önemli bir rol oynar [64, 70, 71]. DLS, sentezlenen nanopartiküllerin ortalama partikül boyutunu, PdI'sını ve zeta potansiyelini belirlemek için yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biridir [64, 72, 73]. Bu çalışmada nanopartiküllerin ortalama partikül boyutu, PdI ve zeta potansiyeli DLS kullanılarak belirlendi. DLS verileri, boş NP'lerin ortalama parçacık boyutunun  $182,4 \pm 0,499$  nm olduğunu ve PdI değerinin  $0,071 \pm 0,006$  olduğunu gösterdi (Şekil 6.3a). Boş NP'lerin zeta potansiyeli  $-10,5 \pm 0,4$  mV idi (Şekil 6.3b). LNEO-NP'lerin ortalama parçacık boyutu  $211,4 \pm 4,031$  nm ve PdI'ları  $0,068 \pm 0,016$  idi (Şekil 6.4a). LNEO-NP'lerin zeta potansiyeli  $-7,87 \pm 1,15$  mV idi (Şekil 6.4b).



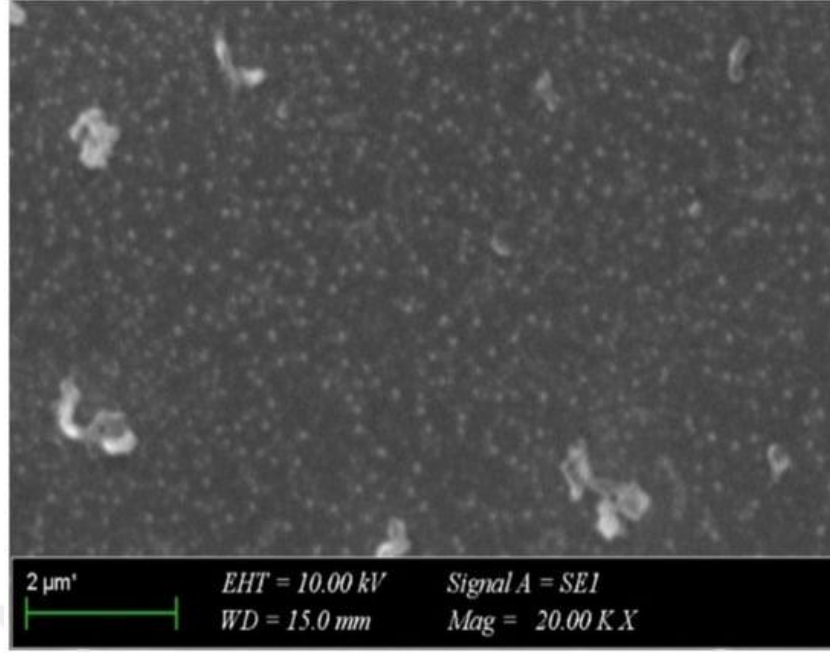
**Şekil 6.3 :** Boş NP'lerin DLS analizi: **(a)** ortalama parçacık boyutu ve **(b)** zeta potansiyel grafikleri.



**Şekil 6.4 :** LNEO-NP'lerin DLS analizi: **(a)** ortalama parçacık boyutu ve **(b)** zeta potansiyel grafikleri.

## 6.10 LNEO-NP'lerin SEM Mikrografı

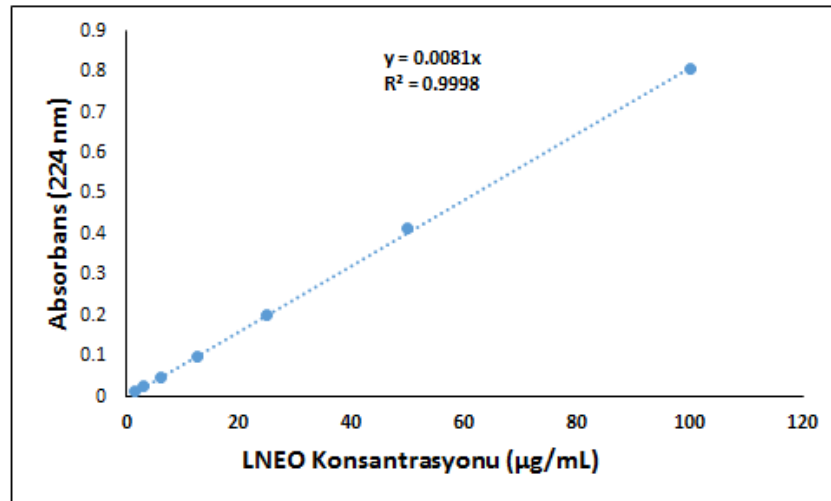
LNEO-NP'lerin morfolojisi SEM kullanılarak belirlendi. SEM görüntüsü (Şekil 6.5), küresel LNEO-NP'lerin [74] sentezini doğruladı ve LNEO-NP'lerin homojen bir boyut dağılımında olduğunu gösterdi.



Şekil 6.5 : LNEO-NP'lerin SEM görüntüsü

### 6.11 Kapsülleme Verimliliği ve Yükleme Kapasitesinin Belirlenmesi

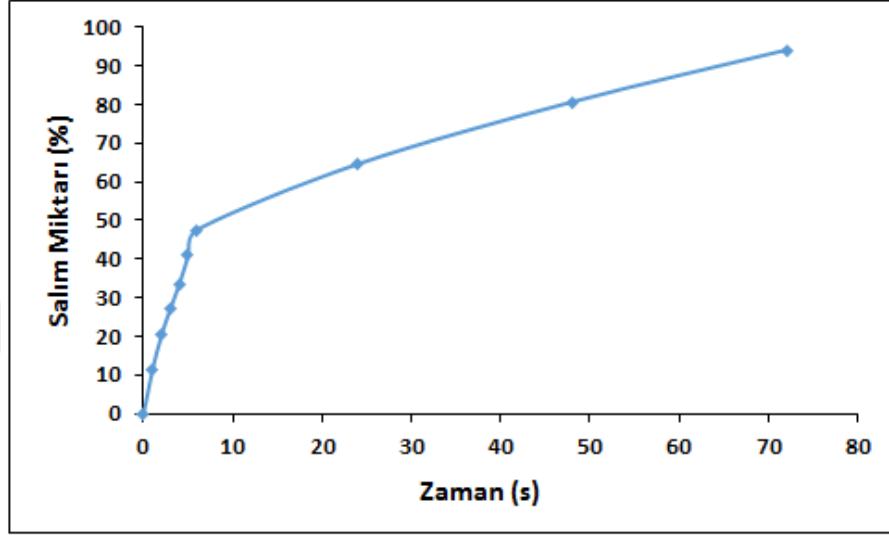
LNEO-NP'lerin kapsülleme verimliliğini ve yükleme kapasitesini belirlemek amacıyla LNEO'nun standart eğrisi hazırlandı (Şekil 6.6). LNEO yüklü PLGA nanopartiküllerinin kapsülleme verimliliği ve yükleme kapasitesi sırasıyla %59,25 ve %25,65 olarak hesaplandı.



Şekil 6.6 : LNEO'nun standart eğrisi.

### 6.12 LNEO'nun İn Vitro Salım Profili

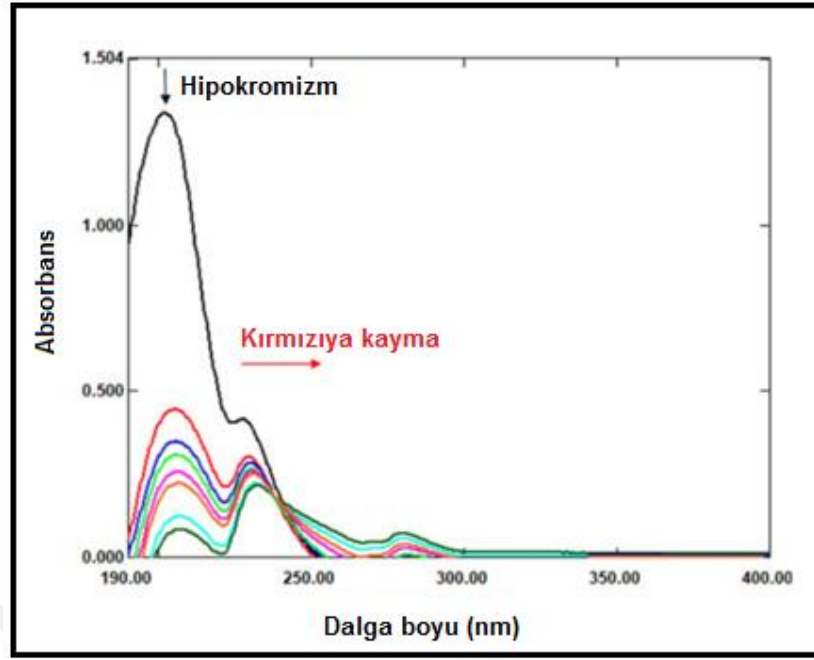
LNEO-NP'nin salım profili zamanın bir fonksiyonu olarak değerlendirildi. Şekil 6.7 LNEO'nun 72 saatlik yayın sonuçlarını göstermektedir. Sonuçlar, LNEO'nun  $47,76 \pm 2,47$ 'sinin ilk altı saatte saldığını ve 72 saatin sonunda LNEO'nun  $93,89 \pm 4,93$ 'ünün PLGA nanopartiküllerinden ortama saldığını gösterdi.



Şekil 6.7 : LNEO'nun in vitro salım profili (%)

### 6.13 DNA Bağlanma Sonuçları

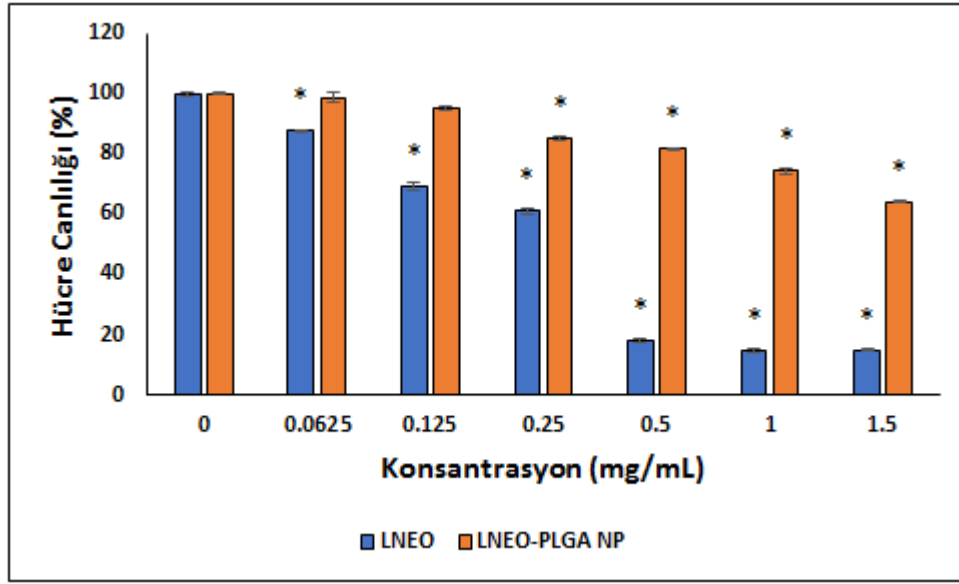
UV-Vis absorpsiyon spektrofotometrisi, moleküller ile DNA arasındaki etkileşimi araştırmak için yararlı bir tekniktir [65, 75, 76]. Bu nedenle, UV-Vis absorpsiyon spektrofotometrisini kullanarak LNEO'nun molekül olarak DNA ile etkileşim potansiyelini araştırdık. Çalışmada LNEO'nun DNA ile etkileşiminde CT-DNA kullanıldı. LNEO'nun CT-DNA varlığında ve yokluğunda absorpsiyon spektrumları Şekil 6.8'de verildi. LNEO'nun 201 nm dalga boyunda ve 6 nm batokromik (kırmızı) kaymada  $93,80$  hipokromik etki sergilediği bulundu.



**Şekil 6.8 :** Artan miktarlarda CT-DNA varlığında ve CT-DNA yokluğunda (siyah tepe) LNEO'nun absorpsiyon spektrumları.

#### **6.14 LNEO ve LNEO-PLGA NP'lerin Sitotoksitenin Değerlendirilme Sonucu**

LNEO ve LNEO-PLGA NP'lerin hücre canlılığına etkisi kıyaslı bir şekilde MTT testi kullanılarak belirlenmiştir. Analiz için LNEO ve LNEO-PLGA NP'lerin 0,0625 ila 1,5 mg/mL arasında değişen altı farklı konsantrasyonu kullanılmıştır. Örneklerin 24 saat boyunca HaCaT hücreleri üzerindeki hücre canlılığına etkileri değerlendirilmiştir (Şekil 6.9). 24 saatlik uygulama sonrasında LNEO-PLGA NP'lerin serbest uçucu yağın LNEO'nun tüm konsantrasyonlarında uçucu yağa kıyasla çok daha iyi bir hücre canlılığı sergilediği belirlenmiştir. Bununla birlikte serbest LNEO'nun artan konsantrasyonlarında önemli ölçüde hücre canlılığını azalttığı tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ).



**Şekil 6.9 :** LNEO-PLGA NP'lerin serbest LNEO ile kıyaslı hücre canlılığı grafiği.

\* işareti kontrol ile uygulama grupları arasındaki farkın  $p < 0.05$  düzeyinde anlamlı olduğunu gösterir.

**Tablo 6.10 :** LNEO-PLGA NP'lerin serbest LNEO ile kıyaslı hücre canlılığı.

| Uygulama     | Konsantrasyonlar (mg/mL) | % Hücre Canlılığı $\pm$ SE |
|--------------|--------------------------|----------------------------|
| LNEO         | 0                        | 100 $\pm$ 0,81             |
|              | 0,0625                   | 87,72 $\pm$ 0,41*          |
|              | 0,125                    | 69,08 $\pm$ 1,21*          |
|              | 0,25                     | 60,95 $\pm$ 1,15*          |
|              | 0,5                      | 17,81 $\pm$ 0,74*          |
|              | 1                        | 14,59 $\pm$ 0,40*          |
|              | 1,5                      | 14,83 $\pm$ 0,30*          |
| LNEO-PLGA NP | 0                        | 100 $\pm$ 0,27             |
|              | 0,0625                   | 98,78 $\pm$ 1,42           |
|              | 0,125                    | 95,10 $\pm$ 0,50           |
|              | 0,25                     | 85,19 $\pm$ 0,91*          |
|              | 0,5                      | 81,87 $\pm$ 0,24*          |
|              | 1                        | 74,22 $\pm$ 1,17*          |
|              | 1,5                      | 64,17 $\pm$ 0,43*          |

\*Kontrol grupları ile uygulama grupları arasındaki hücre canlılığı yüzdesi farkı  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlıdır (Tukey testi).

Uçucu yağın PLGA ile enkapsüle edilmesi, lipofilik ilacın dağılımını ve stabilitesini iyileştirerek kademeli olarak kontrol edilen bir salıma ve buna bağlı olarak düşük bir sitotoksositeye neden olabileceği literatürde rapor edilmiştir [77]. Benzer şekilde timol içeren PLGA nanopartikülleri geliştirmiş ve HaCaT hücre hattında MTT testiyle sitotoksitesini değerlendirilmiştir [68]. Sonuçlar enkapsüle edilen timolün sitotoksitesini azalttığını göstermiştir [78]. *Thymus capitatus*-karvakrol kemotipi

ve *Origanum vulgare*-timol ve karvakrol kemotipinin uçucu yağlarını biyoyumlu poli ( $\epsilon$ -kaprolakton) ile enkapsüle edilmiş ve elde edilen iki nanokapsül formülasyonunun HaCaT hücreleri üzerindeki canlılığa olan etkisi 0 – 2,08 mg/mL konsantrasyon aralığında uçucu yağlar ile kıyaslı bir şekilde MTT analiziyle değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, *Thymus capitatus* ve *Origanum vulgare* yüklü nanokapsüllerin uçucu yağlara kıyasla HaCaT hücre hattı üzerinde sitotoksik etkisinin olmadığı rapor edilmiştir [79]. *Zataria multiflora* uçucu yağı yüklü kitosan nanopartiküllerinin hücre canlılığına olan etkisi MTT analizi ile değerlendirilmiştir. Uçucu yağın kitosan ile enkapsüle edilmesinin sitotoksisiteyi azalttığı rapor edilmiştir [79].

Literatürde uçucu yağların kullanıldığı nanopartikül dozaj formundaki formülasyonların kontrollü salım özellikleri nedeniyle sitotoksisiteyi azaltarak biyoyumluluklarının arttığını rapor eden pek çok çalışma mevcuttur. Elde edilen sonuçlardan, bu tez çalışmasında topikal olarak uygulanması planlanan nanopartikül dozaj formundaki formülasyonun Tablo 6.10'da görüldüğü üzere 0,5 mg/mL'lik dozunun  $81,87 \pm 0,24$ 'lük canlılık değeri ile toksik olmayan en yüksek doz şeklinde kullanılması mümkündür. Aynı konsantrasyondaki serbest LNEO'nun ise kontrol grubu ile kıyaslandığında hücre canlılığını neredeyse tamamen azalttığı gözlenmektedir.



## 7. SONUÇ VE ÖNERİLER

Lauraceae familyasının *Laurus* cinsine ait bir tür olan defne her daim yeşil, hoş kokusu ile bilinen, ılıman iklimlerde yetişen bir türdür. Yaprakları derimsi ve sert, çiçekleri yeşilimsi sarı renkte ufak demetler halinde, meyveleri siyahımsı mor renkte ve zeytine benzeyen şekildedir.

Yapraklarında hoş kokulu uçucu yağı, vitamin C, vitamin A, folik asit, mineraller, antosiyanin bileşikleri, apigenin ve luteolin gibi flavonoidler ve heterozitleri bulunur. Meyvesinde ise seskiterpen bileşikleri ile antosiyanin bileşikleri ve sabit yağ bulunmaktadır.

Defnenin birçok alanda kullanımı bulunmaktadır. Özellikle meyveleri yüksek yağ oranı nedeni ile sabun sanayisinde kullanılmaktadır. Bu sabun cilt hastalıklarında ve saç dökülmesi sorunlarına karşı kullanılmakta, meyvelerinde elde edilen yağ ise haricen romatizma ağrılarını dindirmek için kullanılır. Defnenin en önemli ürünlerinden biri uçucu yağdır, bu uçucu yağ aromaterapide önemli bir yere sahiptir. Uçucu yağın ana bileşeni olan 1,8-cineole'ün koruyucu etkisi sayesinde defne gıda koruyucusu olarak da kullanılmaktadır. Yaprakları ise iştah açıcı, karminatif, diüretik, diaforetik, emetik, aromatik stimulan, emenagog ve antiromatizmal etkilere sahiptir, bunun yanında halk arasında arı ve yılan sokmalarında görülen zehirlenme vakalarında da kullanılır.

Defne üzerinde yapılan çalışmalar, defnenin antioksidan, antiülser, antikonvülsan, ağrı kesici ve enflamasyon giderici, antimutajenik, antibakteriyel, antifungal, böcek ve parazit öldürücü, antidiyabetik, sitotoksik ve yara iyileştirici etkilerinin olduğunu kanıtlamıştır. Bu çalışmalar da göstermiştir ki defnenin ilaç olma potansiyeli oldukça yüksektir.

Defneden elde edilen preparatlar ise genel olarak haricen kullanılan preparatlardır. Defnenin antiseptik, saç dökülmesini engelleme ve kepek giderme gibi etkileri saç kozmetik preparatları arasında sıkça kullanılmasına neden olmuştur. Özellikler şampuanlar, saç bakım yağları ve saç maskelerinin içeriğinde defne bulunmaktadır. Defnenin meyvelerinden elde edilen yağ ve yapraklarından elde edilen uçucu yağ da birçok firma tarafından halkın kullanımına sunulmuştur. Yine veteriner hekimlikte kullanılan merhemler içerisinde defnenin bulunduğu da görülmektedir.

Bu çalışmada *Laurus nobilis* bitkisinin yapraklarından ve meyvelerinden elde edilen 12 farklı ekstrenin yanı sıra yaprak uçucu yağı, nanoformüle edilmiş yaprak uçucu yağı ve meyve yağının cilt yaşlanmasında etkili olduğu bilinen enzimlere karşı inhibisyon biyoaktivitesi incelenmiştir. Kollajenaz enzimi inhibisyon deneyinde referans madde olarak kullanılan EGCG 1 mg/ml konsantrasyonda kollajenaz enzimi aktivitesini  $97,99 \pm 2,79$  oranında inhibe ettiği görülmüştür. Çalışılan 14 örneğin tamamının 10 mg/ml konsantrasyonda belli bir oranda kollajenaz enzimi inhibisyonu göstermiştir. En güçlü inhibitör aktiviteler ise sırasıyla  $63,3 \pm 0,06$  ile yaprak uçucu yağında,  $62,16 \pm 3,12$  ile nanokapsüle yaprak uçucu yağında,  $59,44 \pm 1,28$  ile gar yağında ve  $53,41 \pm 0,9$  ile yaprak 1:5 etanol ekstresinde görülmüştür. Kollajenaz inhibisyonu biyoaktivitesinin aksine, çalışılan örnekler elastaz enzim inhibisyonu bakımından zayıf etkinlik göstermişlerdir. 0,25 mg/ml konsantrasyonda referans madde olan EGCG  $95,45 \pm 0,85$  inhibisyon gösterirken, 10 mg/ml konsantrasyonda çalışılan örneklerden sadece 4 tanesi belirgin bir inhibisyon göstermiştir. En yüksek inhibisyon  $9,14 \pm 0,91$  ile yapraktan elde edilen uçucu yağda gözlenirken,  $8,18 \pm 0,41$  nanopartiküle yaprak uçucu yağı, 1:5 yaprak etanol ekstresi  $6,02 \pm 0,15$  ve yaprak 1:5 %50 EtOH ekstresi  $4,45 \pm 0,12$  inhibisyon göstermiştir. Hyaluronidaz enzim inhibisyonu deneyinde de benzer şekilde bazı örneklerde biyoaktivite gözlenmemiştir. Referans madde olarak kullanılan tannik asit 1,1 mg/ml konsantrasyonda  $88,83 \pm 1,5$  inhibisyon gösterirken, örnekler arasında en güçlü inhibisyon aktivitesi  $25,37 \pm 0,58$  ile yaprak 1:5 Etanol ekstresinde gözlemlenmiştir. Yapraktan elde edilen uçucu yağ  $11,36 \pm 0,72$  inhibisyon gösterirken, nanopartiküle yaprak uçucu yağı  $10,81 \pm 0,65$ , yaprak 1:5 %50 EtOH ekstresi  $10,84 \pm 0,29$  inhibisyon göstermiştir. Meyveden elde edilen ekstralar arasında sadece meyve 1:5 etanol ekstresi  $5,9 \pm 0,16$  inhibisyon gösterirken diğer meyve ekstraları ve gar yağı ölçülebilir bir inhibisyon aktivitesi göstermemiştir.

*Laurus nobilis* bitkisinden elde edilen 14 ayrı örnek, cilt yaşlanması üzerinde etkili olduğu bilinen 3 enzim üzerinde inhibisyon aktivitesi bakımından incelenmiştir. Sonuçlar yapraktan elde edilen örneklerin, meyveden elde edilen örneklerle kıyasla belirgin şekilde daha güçlü aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur. Tüm sonuçlar incelendiğinde, yapraktan elde edilen 1:5 etanol ekstresinin ve yine yapraktan elde edilen uçucu yağın, diğer örneklerle kıyasla daha güçlü inhibisyon aktivitesi gösterdiğini ortaya koymuştur. İncelenen tüm örnekler arasında defne yaprak uçucu yağı en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Bu sebeple defne yaprak uçucu yağı içeren nanopartiküller geliştirilmiştir. Nanopartiküllerin uçucu yağ ile benzer aktiviteler gösterdiği yapılan testler sonucunda ortaya konmuştur. Uçucu yağ ve uçucu yağ içeren nanopartiküller GC-HS-MS analizine tabi tutulduğunda, uçucu yağdaki majör bileşenlerin nanopartiküllere yüklendiği gözlemlenmiştir. Bu da benzer biyoaktivite göstermelerini açıklamaktadır.

Bu sonuçlar yaprak 1:5 etanol ekstresi, yaprak uçucu yağı ve nanoformüle edilmiş yaprak uçucu yağının kozmetik formülasyonlarda kullanılma ve ekonomik bir değer ihtiva etme potansiyelini ortaya koymuştur.

Kemoterapi ve radyoterapi gibi geleneksel kanser tedavi yöntemlerinin kardiyotoksisite, miyelosüpresyon, hepatotoksisite ve nörotoksisite gibi çok çeşitli yan etkileri vardır [80-82]. Modern tıbbın çabaları, bu tedavilerin etkinliğini artırmak ve sistemik yan etkilerini en aza indirmek için ilaç dağıtım sistemlerinin (DDS'ler) geliştirilmesine yöneliktir. DDS'ler için dönüm noktası, ticari olarak temin edilebilen ilk DDS olan Doxil®'in kullanılmasıdır. Doksorubisin (DOX) sağlıklı hücrelere toksik özelliğinden dolayı maskelenmelidir. Ek olarak DOX'un terapötik etkisi kapsülleme yoluyla artırılabilir. DOX içeren bir lipozomal kabuk olan Doxil®, yan etkileri en aza indirir ve tedavinin etkinliğini artırır [83]. Doxil®'e ek olarak Abraxane® [84] ve Onivyde® [85] ticari olarak kullanılan antikanser ilaçlarıdır. Çeşitli yapılara sahip nanopartiküller, özellikle polimerik olanlar, bu tür DDS'lerin oluşturulması için en umut verici platformdur [86, 87]. PLGA polimeri, nanopartiküllerin geliştirilmesinde en yaygın kullanılan polimerlerden biridir [25, 39, 88-90] Defne uçucu yağı antimikrobiyal, antioksidan [91, 92] diüretik [93] olarak ve romatizmal ağrıların giderilmesinde [94] kullanılmıştır. Ayrıca defne yaprağı uçucu yağı parfüm ve sabun endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır [95, 96]. Ancak literatürde antikanser aktivitelerine ilişkin çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada kozmetik formülasyonlara yönelik defne yaprak uçucu yağı yüklü PLGA nanopartikülleri geliştirilmiş olup, DLS analiz sonuçları geliştirilen nanopartiküllerin ortalama damlacık boyutunun  $211,4 \pm 4,031$  nm, PdI değerinin  $0,068 \pm 0,016$  (Şekil 6.8.2a) ve zeta potansiyelinin  $-7,87 \pm 1,15$  mV (Şekil 6.8.2b) olduğunu göstermiştir. Maksimenko ve arkadaşları PLGA nanopartiküllerin parçacık boyutlarının 102 ile 253 nm arasında değiştiğini ve zeta potansiyelinin -10,1 mV ile -11,1 mV arasında değiştiğini bildirmiştir [97]. Pereira ve ark. PLGA nanoparçacıklarını sentezlediler ve ortalama parçacık boyutunun  $202,5 \pm 50,8$  nm ve PdI'nın  $0,37 \pm 0,04$  olduğunu buldular [98]. *Cymbopogon citratus* uçucu yağı yüklü PLGA çalışmasında ortalama parçacık boyutu, PdI ve zeta potansiyeli sırasıyla 277 nm, 0,18 ve -16mV olarak bulunmuştur [64]. Karanfil tomurcuğu uçucu yağı yüklü nanopartikül çalışmasında ortalama parçacık boyutunun  $204 \pm 41.3$  ile  $356 \pm 54.9$  nm arasında değiştiği ve PdI değerinin  $0.25 \pm 0.02$  ile  $0.32 \pm 0.04$  arasında değiştiği rapor edilmiştir [99]. PLGA ile ilgili yapılan başka bir çalışmada ise ortalama parçacık boyutunun 226,9 nm, PdI değerinin 0,004, zeta değerinin ise -7,41 mV olduğu rapor edilmiştir [100]. Çalışmamızda elde edilen ortalama parçacık boyutu, PdI ve zeta potansiyeli değerleri daha önce yapılan çalışmalarla uyumludur.

Daha sonra geliştirilen nanopartiküllerin kapsülleme verimliliği ve yükleme kapasitesi hesaplandı. Sentezlenen nanopartiküllerin kapsülleme verimliliği ve yükleme kapasitesi, etkili nanoformülasyonun geliştirilmesi için stratejik parametrelerdir [101]. Kapsülleme verimliliği Denklem (1) kullanılarak %59,25 olarak hesaplandı. Anethole ve karvon yüklü PLGA nanopartikülleri ile yapılan bir çalışmada kapsülleme verimliliğinin  $\%2,12 \pm 0,098$  ile  $\%87,31 \pm \%5,84$  arasında değiştiği bulunmuştur [102]. PLGA ile ilgili başka bir çalışmada kapsülleme verimliliği %50 olarak hesaplanmıştır [103]. Bergamot uçucu yağı ile yapılan bir çalışmada kapsülleme veriminin %28 ile %84 arasında olduğu bulunmuştur [104]. Çalışmamızda elde ettiğimiz yüzde değeri literatürde elde edilen değerlerle tutarlıdır [105]. LNEO yüklü PLGA nanopartiküllerinin yükleme verimliliği Denklem (2) kullanılarak %25,65 olarak hesaplandı. Karvakrol yüklü PLGA nanopartikülleri ile yapılan bir çalışmada kapsülleme verimliliği ve yükleme kapasitesi sırasıyla %26 ve %21 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar bizim sonuçlarımızdan daha düşüktür [106]. Fonte ve arkadaşlarının çalışmasıyla karşılaştırıldığında kapsülleme verimliliğinin daha düşük, yükleme kapasitesinin ise daha yüksek olduğu tespit edildi [107].

PLGA nanopartiküllerinden LNEO'nun in vitro salım profili, iki fazlı bir salım modeli gösterdi. Başlangıçtaki hızlı salınım, aktif bileşiğin nanopartiküllerin yüzeyine yakın bir yerde hızlı salınması ile açıklanabilir [108, 109]. Bununla birlikte, 72 saatlik sürekli salınım, PLGA nanopartiküllerinin çekirdeğinde hapsolmuş LNEO'nun doğasıyla ilişkili olabilir [110]. Genel olarak PLGA bozunması yavaştır. Bu nedenle aktif bileşik salınımı aynı zamanda difüzyon sabiti, PLGA şişmesi ve yüzey PLGA erozyonu ile de ilişkilidir [109].

Spektral etkilerde, molekül çiftlerinin boş  $\pi^*$  yörüngesi, DNA baz çiftlerinin  $\pi^*$  yörüngesi ile eşleşerek enerji azalmasına ve  $\pi-\pi^*$  geçiş enerjisinde azalmaya neden olur. Bu, moleküler DNA etkileşimindeki emilimin kırmızıya kaymasıyla tespit edilir. Aynı zamanda geçiş olasılığını azaltmak için boş  $\pi^*$  yörüngesi kısmen elektronlarla doldurulur ve bu da hipokromizme neden olur [111-114]. Hipokromik etki ve kırmızıya kayma, molekülün interkalasyon modunda DNA'ya bağlanmasının tipik bir örneğidir [115]. DNA, moleküllerin birincil farmakolojik hedefidir. Bu nedenle geliştirilen nanopartikülün DNA arasındaki etkileşimlerinin belirlenmesi oldukça önemlidir. Bu nedenle bu çalışmada LNEO'nun DNA ile etkileşimini değerlendirerek kozmetikte topikal olarak uygulanacak NP-LNEO'nun optimum konsantrasyonu belirlenmiştir. UV-Vis spektrum sonuçları, LNEO'nun CT-DNA ile etkileşiminin 6 nm'lik bir batokromik (kırmızı) kayma ve %93,80'lik bir hipokromizm ile sonuçlandığını gösterdi. Literatürde uçucu yağların kullanıldığı nanopartikül dozaj formundaki formülasyonların kontrollü salım özellikleri nedeniyle sitotoksikiteyi azaltarak biyoyumluluklarının arttığını rapor eden pek çok çalışma mevcuttur. Bu tez çalışmasında kozmetik formülasyonlara yönelik defne yaprak uçucu yağı yüklü PLGA nanopartikülleri geliştirilmiş olup, topikal olarak uygulanması planlanan nanopartikül dozaj formundaki formülasyonun (LNEO-PLGA NP) 0,5 mg/mL'lik dozunun %81,87±0,24'lük canlılık değeri ile toksik olmayan en yüksek doz şeklinde kullanılması mümkün olduğu tespit edilmiştir. Aynı konsantrasyondaki serbest LNEO'nun ise kontrol grubu ile kıyaslandığında hücre canlılığını neredeyse tamamen azalttığı gözlenmektedir.

Türkiye kendi ilaç molekülünü ve kozmetik etkin hammaddeleri üretme gibi çeşitli amaçlarla sağlık sektöründeki payını arttırma ve yerleşme hedefi ile ekonomisini düzeltme hayali kurmaktadır. Tabi ki bunlar güzel hedefler olmakla birlikte ülke elimizde kullanabileceğimiz daha değerli olanaklar bulunmaktadır. Tezimin de konusu olan defne ülkemizde genişçe yetişme ortamı bulmuş ve bu nedenledir ki dünyadaki

defne ihtiyacının %95'i ülkemiz tarafından sağlanmaktadır. Çok acıdır ki yapılan preparatlara bakıldığında ülkemiz defne ihracatındaki başarısını gösterememiştir. Alınan patentlere bakıldığında ise ülkemizin bir tane bile patenti olmadığı görülmektedir, bu da göstermektedir ki elimizde bulunan değeri kullanamamış, adeta varlık içinde yokluk çekmişiz. Yine preparatlara bakıldığında, yabancı ülkeler defneyi birçok alanda kullanırken biz sadece sabit yağ ve uçucu yağı elde etmiş, kısacası diğer ülkeler bizim kendi bitkimizi bizden iyi kullanırken ve bunların patentini alıp bizim elimizi kolumuzu bağlarken biz milletçe uyumuşuz. Geçmişini değiştiremeyiz ama geleceğe katkıda bulunabiliriz. Bu çalışmam umuyorum ki başta ben olmak üzere, bu alanla ilgilenen tüm kişilere yardımcı olur.



## KAYNAKLAR

- [1] **Baytöre, F.** (2014). Yalova ilinde farklı yüksekliklerde doğal olarak yetişen defne (*Laurus nobilis* L.) populasyonlarında bazı morfolojik ve kalite özellikleri ile ontogenetik varyabilitenin belirlenmesi.
- [2] **Longo, L. & Vasapollo, G.** (2005). Anthocyanins from bay (*Laurus nobilis* L.) berries. *Journal of agricultural and food chemistry*. 53(20), 8063-7.
- [3] **Sewell, R. & Rafieian-Kopaei, M.** (2014). The history and ups and downs of herbal medicine usage. *J HerbMed Pharmacol*. 3(1), 1-3.
- [4] **Gaedcke, F. & Steinhoff, B.** Herbal medicinal products: scientific and regulatory basis for development, quality assurance and marketing authorisation: CRC Press; 2003.
- [5] Url-1 <<https://www.turkiyeflorasi.org.tr/>>. Erişim Tarihi: 10.12.2023
- [6] **Faydaoğlu, E. & Sürücüoğlu, M.S.** (2011). Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi. *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty*. 11(1), 52-67.
- [7] **KARIK, Ü., ÇİÇEK, F., TUTAR, M. & Fırat, A.** (2015). Türkiye defne (*Laurus nobilis* L.) populasyonlarının uçucu yağ bileşenleri. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*. 25(1), 1-16.
- [8] **Arroyo-García, R., Martínez-Zapater, J.M., Fernández Prieto, J. & Álvarez-Arbesú, R.** (2001). AFLP evaluation of genetic similarity among laurel populations (*Laurus nobilis* L.). *Euphytica*. 122(155-64).
- [9] **Ferrari, B., Castilho, P., Tomi, F., Rodrigues, A.I., do Ceu Costa, M. & Casanova, J.** (2005). Direct identification and quantitative determination of costunolide and dehydrocostuslactone in the fixed oil of *Laurus novocanariensis* by <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*. 16(2), 104-7.
- [10] **Watson, L. & Dallwitz, M.J.** The families of flowering plants : descriptions, illustrations, identification, and information retrieval. [Australia]: [publisher not identified] [Australia], 1992.
- [11] Url-2 <<https://tr.wikipedia.org>>. Erişim Tarihi: 18.10.2017
- [12] **Khodja, Y.K., Bachir-Bey, M., Belmouhoub, M., Ladjouzi, R., Dahmoune, F. & Khettal, B.** (2023). The botanical study, phytochemical composition, and biological activities of *Laurus nobilis* L. leaves: A review. *International Journal of Secondary Metabolite*. 10(2), 269-97.
- [13] **KARIK, Ü., ÇİÇEK, F., Erdinç, O., TUTAR, M. & Fırat, A.** (2016). Türkiye’de yayılış gösteren defne (*Laurus nobilis* L.) populasyonlarının meyve özellikleri. *ANADOLU Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*. 26(1), 1-16.
- [14] **GÜNAL, N.** (2014). Türkiye'deki defne (*Laurus nobilis* L.) yaprağı üretimi. *Türk Coğrafya Dergisi*. 35), 85-103.
- [15] **Paparella, A., Nawade, B., Shaltiel-Harpaz, L. & Ibdah, M.** (2022). A review of the botany, volatile composition, biochemical and molecular aspects, and traditional uses of *Laurus nobilis*. *Plants*. 11(9), 1209.
- [16] Url-3 <<https://plantright.org>>. Erişim Tarihi: 19.10.2017
- [17] Url-4 <<http://www.flickriver.com>>. Erişim Tarihi: 20.10.2017
- [18] Url- 5 <<https://plants.ces.ncsu.edu>>. Erişim Tarihi: 21.10.2017

- [19] Boza, A. Karaburun, Çeşme ve Dilek Yarımadası'nda bulunan doğal defne (*Laurus nobilis* L.) populasyonları üzerinde araştırmalar / Studies on natural bay laurel (*Laurus nobilis* L.) populations in Karaburun, Çeşme and Dilek Peninsula: Ege University. 2011.
- [20] Url-6 <<https://ndb.nal.usda.gov>>. Erişim Tarihi: 22.12.2017
- [21] Url-7 <<http://www.stylecraze.com>>. Erişim Tarihi: 01.02.2018
- [22] **Kaurinovic, B., Popovic, M. & Vlaisavljevic, S.** (2010). In vitro and in vivo effects of *Laurus nobilis* L. leaf extracts. *Molecules*. 15(5), 3378-90.
- [23] **Lee, S., Chung, S.-C., Lee, S.-H., Park, W., Oh, I., Mar, W., Shin, J. & Oh, K.-B.** (2012). Acylated kaempferol glycosides from *Laurus nobilis* leaves and their inhibitory effects on Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-adenosine triphosphatase. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 35(3), 428-32.
- [24] **Kang, H.W., Yu, K.W., Jun, W.J., Chang, I.S., Han, S.B., Kim, H.Y. & Cho, H.Y.** (2002). Isolation and characterization of alkyl peroxy radical scavenging compound from leaves of *Laurus nobilis*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 25(1), 102-8.
- [25] **Patrakar, R., Mansuriya, M. & Patil, P.** (2012). Phytochemical and pharmacological review on *Laurus nobilis*. *International journal of pharmaceutical and chemical sciences*. 1(2), 595-602.
- [26] **Barla, A., Topçu, G., Öksüz, S., Tümen, G. & Kingston, D.G.** (2007). Identification of cytotoxic sesquiterpenes from *Laurus nobilis* L. *Food chemistry*. 104(4), 1478-84.
- [27] **Ugulu, I.** (2011). Traditional ethnobotanical knowledge about medicinal plants used for external therapies in Alasehir, Turkey.
- [28] **Kivçak, B. & Mert, T.** (2002). Preliminary evaluation of cytotoxic properties of *Laurus nobilis* leaf extracts. *Fitoterapia*. 73(3), 242-3.
- [29] **Karaoğul, E., Ertaş, M., Altuntaş, E. & Alma, M.** (2011). Karadeniz ve Akdeniz Bölgesinde yetişen defne (*Laurus nobilis*)'nin kimyasal içeriği. *I Ulusal Akdeniz Orman ve Çevre Sempozyumu*. 74-7.
- [30] **Wyk, B.-E.V. & Wink, M.** Medicinal Plants of the World 2004.
- [31] Url-8 <<https://worldwide.espacenet.com>>. Erişim Tarihi: 12.12.2017
- [32] **Elmastaş, M., Gülçin, I., Işildak, Ö., Küfrevioğlu, Ö., İbaoğlu, K. & Aboul-Enein, H.** (2006). Radical scavenging activity and antioxidant capacity of bay leaf extracts. *Journal of the Iranian Chemical Society*. 3(258-66).
- [33] **Dall'Acqua, S., Cervellati, R., Speroni, E., Costa, S., Guerra, M.C., Stella, L., Greco, E. & Innocenti, G.** (2009). Phytochemical composition and antioxidant activity of *Laurus nobilis* L. leaf infusion. *Journal of medicinal food*. 12(4), 869-76.
- [34] **Conforti, F., Statti, G., Uzunov, D. & Menichini, F.** (2006). Comparative chemical composition and antioxidant activities of wild and cultivated *Laurus nobilis* L. leaves and *Foeniculum vulgare* subsp. *piperitum* (Ucria) coutinho seeds. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 29(10), 2056-64.
- [35] **Affi, F., Khalil, E., Tamimi, S. & Disi, A.** (1997). Evaluation of the gastroprotective effect of *Laurus nobilis* seeds on ethanol induced gastric ulcer in rats. *Journal of ethnopharmacology*. 58(1), 9-14.
- [36] **Sayyah, M., Valizadeh, J. & Kamalinejad, M.** (2002). Anticonvulsant activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* against pentylene-tetrazole-and maximal electroshock-induced seizures. *Phytomedicine*. 9(3), 212-6.



- [37] Sayyah, M., Saroukhani, G., Peirovi, A. & Kamalinejad, M. (2003). Analgesic and anti-inflammatory activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* Linn. *Phytotherapy research*. 17(7), 733-6.
- [38] Samejima, K., Kanazawa, K., Ashida, H. & Danno, G.-i. (1998). Bay laurel contains antimutagenic kaempferyl coumarate acting against the dietary carcinogen 3-amino-1-methyl-5 H-pyrido [4, 3-b] indole (Trp-P-2). *Journal of agricultural and food chemistry*. 46(12), 4864-8.
- [39] Ozcan, B., Esen, M., Sangun, M.K., Coleri, A. & Caliskan, M. (2010). Effective antibacterial and antioxidant properties of methanolic extract of *Laurus nobilis* seed oil. *Journal of Environmental Biology*. 31(5), 637-41.
- [40] Moghtader, M. & Farahmand, A. (2013). Evaluation of the antibacterial effects of essential oil from the leaves of *Laurus nobilis* L. in Kerman Province. *J Microbiol Antimicrobials*. 5(2), 13-7.
- [41] Ouibrahim, A., Tlili-Ait-kaki, Y., Bennadja, S., Amrouni, S., Djahoudi, A. & Djebbar, M. (2013). Evaluation of antibacterial activity of *Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Ocimum basilicum* L. from Northeast of Algeria. *African journal of microbiology research*. 7(42), 4968-73.
- [42] Corato, D., Trupo, M., Leone, G., Sanzo, D., Zingarelli, G. & Adami, M. (2007). Antifungal activity of the leaf extracts of laurel (*Laurus nobilis* L.), orange (*Citrus sinensis* Osbeck) and olive (*Olea europaea* L.) obtained by means of supercritical carbon dioxide technique. *J Plant Pathol*. 89(3), 83-91.
- [43] Roselló, J., Sempere, F., Sanz-Berzosa, I., Chiralt, A. & Santamarina, M.P. (2015). Antifungal activity and potential use of essential oils against *Fusarium culmorum* and *Fusarium verticillioides*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 18(2), 359-67.
- [44] Guynot, M., Marin, S., Setu, L., Sanchis, V. & Ramos, A. (2005). Screening for antifungal activity of some essential oils against common spoilage fungi of bakery products. *Food Science and Technology International*. 11(1), 25-32.
- [45] Macchioni, F., Perrucci, S., Cioni, P., Morelli, I., Castilho, P. & Cecchi, F. (2006). Composition and acaricidal activity of *Laurus novocanariensis* and *Laurus nobilis* essential oils against *Psoroptes cuniculi*. *Journal of Essential Oil Research*. 18(1), 111-4.
- [46] Erler, F., Ulug, I. & Yalcinkaya, B. (2006). Repellent activity of five essential oils against *Culex pipiens*. *Fitoterapia*. 77(7-8), 491-4.
- [47] Palacios, S.M., Bertoni, A., Rossi, Y., Santander, R. & Urzúa, A. (2009). Efficacy of essential oils from edible plants as insecticides against the house fly, *Musca domestica* L. *Molecules*. 14(5), 1938-47.
- [48] Basak, S.S. & Candan, F. (2013). Effect of *Laurus nobilis* L. essential oil and its main components on  $\alpha$ -glucosidase and reactive oxygen species scavenging activity. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*. 12(2), 367.
- [49] Khan, A., Zaman, G. & Anderson, R.A. (2009). Bay leaves improve glucose and lipid profile of people with type 2 diabetes. *Journal of clinical biochemistry and nutrition*. 44(1), 52-6.
- [50] El-Sawi, S., Ibrahim, M. & Ali, A. (2009). In vitro cytotoxic, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of leaves of *Laurus nobilis* L. grown in Egypt and its chemical composition. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*. 200(16-23).
- [51] Nayak, S., Nalabothu, P., Sandiford, S., Bhogadi, V. & Adogwa, A. (2006). Evaluation of wound healing activity of *Allamanda cathartica*. L. and *Laurus*

- nobilis. L. extracts on rats. *BMC complementary and alternative medicine*. 6(1-6).
- [52] **Matsuda, H., Shimoda, H., Ninomiya, K. & Yoshikawa, M.** (2002). Inhibitory mechanism of costunolide, a sesquiterpene lactone isolated from *Laurus nobilis*, on blood-ethanol elevation in rats: involvement of inhibition of gastric emptying and increase in gastric juice secretion. *Alcohol and Alcoholism*. 37(2), 121-7.
- [53] **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*. 27(6), 1899.
- [54] **Koleva, I.I., Van Beek, T.A., Linssen, J.P., Groot, A.d. & Evstatieva, L.N.** (2002). Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*. 13(1), 8-17.
- [55] **Burits, M. & Bucar, F.** (2000). Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy research*. 14(5), 323-8.
- [56] **Dapkevicius, A., Venskutonis, R., van Beek, T.A. & Linssen, J.P.** (1998). Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 77(1), 140-6.
- [57] **Barak, T.H., Celep, İ.K., Şentürk, T.B., Bardakci, H. & Celep, E.** (2022). In vitro anti-aging potential evaluation of *Maclura pomifera* (Rafin.) Schneider 80% methanol extract with quantitative HPTLC analysis. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*. 19(4), 400.
- [58] **Barak, T.H., Kurt-Celep, I., Dilek-Tepe, H., Bardakci, H., Akaydin, G., Yesilada, E. & Celep, E.** (2023). In vitro assessment of dermatological activity potential of *Achillea clypeolata* Sm. in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-treated human dermal fibroblasts. *South African Journal of Botany*. 160(1-8).
- [59] **Kattan, S.W., Nafie, M.S., Elmgeed, G.A., Alelwani, W., Badar, M. & Tantawy, M.A.** (2020). Molecular docking, anti-proliferative activity and induction of apoptosis in human liver cancer cells treated with androstane derivatives: Implication of PI3K/AKT/mTOR pathway. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 198(105604).
- [60] **Jain, R.A.** (2000). The manufacturing techniques of various drug loaded biodegradable poly (lactide-co-glycolide)(PLGA) devices. *Biomaterials*. 21(23), 2475-90.
- [61] **Naghizadeh, M., Firoozi, S., Nodoushan, F.S., Adabi, M., Khoradmehr, A., Fesahat, F., Esnaashari, S.S., Khosravani, M., Tavakol, S. & Pazoki-Toroudi, H.** (2018). Application of electrospun gelatin nanofibers in tissue engineering. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 8(1), 3048-52.
- [62] **Javadzadeh, Y., Ahadi, F., Davaran, S., Mohammadi, G., Sabzevari, A. & Adibkia, K.** (2010). Preparation and physicochemical characterization of naproxen-PLGA nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 81(2), 498-502.
- [63] **Fornaguera, C., Feiner-Gracia, N., Calderó, G., García-Celma, M. & Solans, C.** (2015). Galantamine-loaded PLGA nanoparticles, from nano-emulsion templating, as novel advanced drug delivery systems to treat neurodegenerative diseases. *Nanoscale*. 7(28), 12076-84.
- [64] **Badri, W., El Asbahani, A., Miladi, K., Baraket, A., Agusti, G., Nazari, Q.A., Errachid, A., Fessi, H. & Elaissari, A.** (2018). Poly ( $\epsilon$ -caprolactone)

nanoparticles loaded with indomethacin and *Nigella sativa* L. essential oil for the topical treatment of inflammation. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 46(234-42).

- [65] **Ghosh, M.K., Sahu, S., Gupta, I. & Ghorai, T.K.** (2020). Green synthesis of copper nanoparticles from an extract of *Jatropha curcas* leaves: Characterization, optical properties, CT-DNA binding and photocatalytic activity. *RSC advances*. 10(37), 22027-35.
- [66] **Hosseini, S.F., Zandi, M., Rezaei, M. & Farahmandghavi, F.** (2013). Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and in vitro release study. *Carbohydrate polymers*. 95(1), 50-6.
- [67] **Marmur, J.** (1961). A procedure for the isolation of deoxyribonucleic acid from micro-organisms. *Journal of molecular biology*. 3(2), 208-IN1.
- [68] **Folle, C., Marqués, A.M., Díaz-Garrido, N., Espina, M., Sánchez-López, E., Badia, J., Baldoma, L., Calpena, A.C. & García, M.L.** (2021). Thymol-loaded PLGA nanoparticles: An efficient approach for acne treatment. *Journal of nanobiotechnology*. 19(1-21).
- [69] **Kecel-Gündüz, S., Budama-Kilinc, Y., Cakir Koc, R., Kökcü, Y., Bicak, B., Aslan, B. & Özel, A.E.** (2018). Computational design of Phe-Tyr dipeptide and preparation, characterization, cytotoxicity studies of Phe-Tyr dipeptide loaded PLGA nanoparticles for the treatment of hypertension. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 36(11), 2893-907.
- [70] **Holmkvist, A.D., Friberg, A., Nilsson, U.J. & Schouenborg, J.** (2016). Hydrophobic ion pairing of a minocycline/Ca<sup>2+</sup>/AOT complex for preparation of drug-loaded PLGA nanoparticles with improved sustained release. *International journal of pharmaceutics*. 499(1-2), 351-7.
- [71] **Almeida, K.B., Ramos, A.S., Nunes, J.B., Silva, B.O., Ferraz, E.R., Fernandes, A.S., Felzenszwalb, I., Amaral, A.C.F., Roullin, V.G. & Falcão, D.Q.** (2019). PLGA nanoparticles optimized by Box-Behnken for efficient encapsulation of therapeutic *Cymbopogon citratus* essential oil. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 181(935-42).
- [72] **Meva, F.E.a., Ntumba, A.A., Kedi, P.B.E., Tchoumbi, E., Schmitz, A., Schmolke, L., Klopotoski, M., Moll, B., Kökcam-Demir, Ü. & Mpondo, E.A.M.** (2019). Silver and palladium nanoparticles produced using a plant extract as reducing agent, stabilized with an ionic liquid: sizing by X-ray powder diffraction and dynamic light scattering. *Journal of Materials Research and Technology*. 8(2), 1991-2000.
- [73] **Egil, A.C., Ozdemir, B., Gok, B., Kecel-Gunduz, S. & Budama-Kilinc, Y.** (2020). Synthesis, characterization, biological activities and molecular docking of *Epilobium parviflorum* aqueous extract loaded chitosan nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*. 161(947-57).
- [74] **Kokcu, Y., Kecel-Gunduz, S., Budama-Kilinc, Y., Cakir-Koc, R., Bicak, B., Zorlu, T., Ozel, A.E. & Akyuz, S.** (2020). Structural analysis, molecular dynamics and docking calculations of skin protective tripeptide and design, characterization, cytotoxicity studies of its PLGA nanoparticles. *Journal of Molecular Structure*. 1200(127046).
- [75] **Budama-Kilinc, Y.** (2019). Piperine nanoparticles for topical application: Preparation, characterization, in vitro and in silico evaluation. *ChemistrySelect*. 4(40), 11693-700.

- [76] **Ponkarpagam, S., Mahalakshmi, G., Vennila, K. & Elango, K.P.** (2020). Multi-spectroscopic, voltammetric and molecular docking studies on binding of anti-diabetic drug rosigiltazone with DNA. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 234(118268).
- [77] **Ghitman, J., Stan, R., Cecoltan, S., Chifiriuc, M.C. & Iovu, H.** (2018). Hybrid nanocarriers based on PLGA-vegetable oil: A novel approach for high lipophilic drug delivery. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 46(162-72).
- [78] **Kapustová, M., Puškárová, A., Bučková, M., Granata, G., Napoli, E., Anušová, A., Mesárošová, M., Kozics, K., Pangallo, D. & Geraci, C.** (2021). Biofilm inhibition by biocompatible poly ( $\epsilon$ -caprolactone) nanocapsules loaded with essential oils and their cyto/genotoxicity to human keratinocyte cell line. *International Journal of Pharmaceutics*. 606(120846).
- [79] **Salehi, F., Behboudi, H., Kavooosi, G. & Ardestani, S.K.** (2020). Incorporation of *Zataria multiflora* essential oil into chitosan biopolymer nanoparticles: A nanoemulsion based delivery system to improve the in-vitro efficacy, stability and anticancer activity of ZEO against breast cancer cells. *International journal of biological macromolecules*. 143(382-92).
- [80] **Argyriou, A.A., Bruna, J., Marmioli, P. & Cavaletti, G.** (2012). Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity (CIPN): an update. *Critical reviews in oncology/hematology*. 82(1), 51-77.
- [81] **Monsuez, J.-J., Charniot, J.-C., Vignat, N. & Artigou, J.-Y.** (2010). Cardiac side-effects of cancer chemotherapy. *International journal of cardiology*. 144(1), 3-15.
- [82] **Shipunova, V.O., Sogomonyan, A.S., Zelepukin, I.V., Nikitin, M.P. & Deyev, S.M.** (2021). PLGA Nanoparticles decorated with anti-HER2 affibody for targeted delivery and photoinduced cell death. *Molecules*. 26(13), 3955.
- [83] **Sani, N.S., Onori, H., Akrami, S. & Rahmati, M.** (2022). A comparison of the anti-cancer effects of free and PLGA-PAA encapsulated hydroxytyrosol on the HT-29 colorectal cancer cell line. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*. 22(2), 390-4.
- [84] **Elbatanony, R.S., Parvathaneni, V., Kulkarni, N.S., Shukla, S.K., Chauhan, G., Kunda, N.K. & Gupta, V.** (2021). Afatinib-loaded inhalable PLGA nanoparticles for localized therapy of non-small cell lung cancer (NSCLC)—development and in-vitro efficacy. *Drug delivery and translational research*. 11(927-43).
- [85] **Sharaf, N.S., Shetta, A., Elhalawani, J.E. & Mamdouh, W.** (2021). Applying Box–Behnken design for formulation and optimization of PLGA-coffee nanoparticles and detecting enhanced antioxidant and anticancer activities. *Polymers*. 14(1), 144.
- [86] **Shabestarian, H., Tabrizi, M.H., Es-Haghi, A. & Khadem, F.** (2022). The *Brassica napus* extract (BNE)-loaded PLGA nanoparticles as an early necroptosis and late apoptosis inducer in human MCF-7 breast cancer cells. *Nutrition and cancer*. 74(7), 2540-9.
- [87] **Shabestarian, H., Homayouni Tabrizi, M., Movahedi, M., Neamati, A. & Sharifnia, F.** (2021). Putative mechanism for cancer suppression by PLGA nanoparticles loaded with *Peganum harmala* smoke extract. *Journal of Microencapsulation*. 38(5), 324-37.

- [88] **Bao, S., Yao, Q., Zhang, H. & Kou, L.** (2021). Dual targeting EGFR and STAT3 with Erlotinib and Alantolactone co-loaded PLGA nanoparticles for pancreatic cancer treatment. *Frontiers in pharmacology*. 12(625084).
- [89] **Moghaddam, F.A., Ebrahimian, M., Oroojalian, F., Yazdian-Robati, R., Kalalinia, F., Tayebi, L. & Hashemi, M.** (2021). Effect of thymoquinone-loaded lipid-polymer nanoparticles as an oral delivery system on anticancer efficiency of doxorubicin. *Journal of nanostructure in chemistry*. 1-12.
- [90] **Santoyo, S., Lloria, R., Jaime, L., Ibanez, E., Senorans, F. & Reglero, G.** (2006). Supercritical fluid extraction of antioxidant and antimicrobial compounds from *Laurus nobilis* L. Chemical and functional characterization. *European Food Research and Technology*. 222(565-71).
- [91] **Zargari, A.** Medicinal plants: Tehran University of Medical Sciences; 1997.
- [92] **Kosar, M., Tunalier, Z., Özek, T., Kürkcüoğlu, M. & Can Baser, K.H.** (2005). A simple method to obtain essential oils from *Salvia triloba* L. and *Laurus nobilis* L. by using microwave-assisted hydrodistillation. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 60(5-6), 501-4.
- [93] **Sellami, I.H., Wannes, W.A., Bettaieb, I., Berrima, S., Chahed, T., Marzouk, B. & Limam, F.** (2011). Qualitative and quantitative changes in the essential oil of *Laurus nobilis* L. leaves as affected by different drying methods. *Food chemistry*. 126(2), 691-7.
- [94] **Maksimenko, O., Malinovskaya, J., Shipulo, E., Osipova, N., Razzhivina, V., Arantseva, D., Yarovaya, O., Mostovaya, U., Khalansky, A. & Fedoseeva, V.** (2019). Doxorubicin-loaded PLGA nanoparticles for the chemotherapy of glioblastoma: Towards the pharmaceutical development. *International journal of pharmaceutics*. 572(118733).
- [95] **Sebaaly, C., Jraj, A., Fessi, H., Charcosset, C. & Greige-Gerges, H.** (2015). Preparation and characterization of clove essential oil-loaded liposomes. *Food chemistry*. 178(52-62).
- [96] **Budama-Kilinc, Y., Cakir-Koc, R., Kecel-Gunduz, S., Kokcu, Y., Bicak, B., Mutlu, H. & Ozel, A.E.** (2018). Novel NAC-loaded poly (lactide-co-glycolide acid) nanoparticles for cataract treatment: preparation, characterization, evaluation of structure, cytotoxicity, and molecular docking studies. *PeerJ*. 6(e4270).
- [97] **Shen, S., Wu, Y., Liu, Y. & Wu, D.** (2017). High drug-loading nanomedicines: progress, current status, and prospects. *International journal of nanomedicine*. 4085-109.
- [98] **Wang, Y., Qu, W. & Choi, S.** (2016). FDA's regulatory science program for generic PLA/PLGA-based drug products. *American Pharmaceutical Review*.
- [99] **Bicak, B., Budama-Kilinc, Y., Kecel-Gunduz, S., Zorlud, T. & Akman, G.** (2021). Peptide based nano-drug candidate for cancer treatment: Preparation, characterization, in vitro and in silico evaluation. *Journal of Molecular Structure*. 1240(130573).
- [100] **Esfandyari-Manesh, M., Ghaedi, Z., Asemi, M., Khanavi, M., Manayi, A., Jamalifar, H., Atyabi, F. & Dinarvand, R.** (2013). Study of antimicrobial activity of anethole and carvone loaded PLGA nanoparticles. *journal of pharmacy research*. 7(4), 290-5.
- [101] **Schnoor, B., Elhendawy, A., Joseph, S., Putman, M., Chacón-Cerdas, R., Flores-Mora, D., Bravo-Moraga, F., Gonzalez-Nilo, F. & Salvador-Morales, C.** (2018). Engineering atrazine loaded poly (lactic-co-glycolic acid)

- nanoparticles to ameliorate environmental challenges. *Journal of agricultural and food chemistry*. 66(30), 7889-98.
- [102] **Froio, F., Ginot, L., Paolino, D., Lebaz, N., Bentaher, A., Fessi, H. & Elaissari, A.** (2019). Essential oils-loaded polymer particles: Preparation, characterization and antimicrobial property. *Polymers*. 11(6), 1017.
- [103] **Fraj, A., Jaâfar, F., Marti, M., Coderch, L. & Ladhari, N.** (2019). A comparative study of oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil-based polycaprolactone nanocapsules/microspheres: Preparation, physicochemical characterization, and storage stability. *Industrial crops and products*. 140(111669).
- [104] **Iannitelli, A., Grande, R., Di Stefano, A., Di Giulio, M., Sozio, P., Bessa, L.J., Laserra, S., Paolini, C., Protasi, F. & Cellini, L.** (2011). Potential antibacterial activity of carvacrol-loaded poly (DL-lactide-co-glycolide)(PLGA) nanoparticles against microbial biofilm. *International Journal of Molecular Sciences*. 12(8), 5039-51.
- [105] **Fonte, P., Lino, P.R., Seabra, V., Almeida, A.J., Reis, S. & Sarmiento, B.** (2016). Annealing as a tool for the optimization of lyophilization and ensuring of the stability of protein-loaded PLGA nanoparticles. *International journal of pharmaceutics*. 503(1-2), 163-73.
- [106] **Zigoneanu, I.G., Astete, C.E. & Sabliov, C.M.** (2008). Nanoparticles with entrapped  $\alpha$ -tocopherol: synthesis, characterization, and controlled release. *Nanotechnology*. 19(10), 105606.
- [107] **Silva, L.M., Hill, L.E., Figueiredo, E. & Gomes, C.L.** (2014). Delivery of phytochemicals of tropical fruit by-products using poly (DL-lactide-co-glycolide)(PLGA) nanoparticles: Synthesis, characterization, and antimicrobial activity. *Food Chemistry*. 165(362-70).
- [108] **Chourasiya, V., Bohrey, S. & Pandey, A.** (2016). Formulation, optimization, characterization and in-vitro drug release kinetics of atenolol loaded PLGA nanoparticles using 33 factorial design for oral delivery. *Materials Discovery*. 5(1-13).
- [109] **Bicak, B., Kecel Gunduz, S., Budama Kilinc, Y., Imhof, P., Gok, B., Akman, G. & Ozel, A.E.** (2022). Structural, spectroscopic, in silico, in vitro and DNA binding evaluations of tyrosyl-lysyl-threonine. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 40(22), 12148-64.
- [110] **Rancan, F., Wiehe, A., Nöbel, M., Senge, M.O., Al Omari, S., Böhm, F., John, M. & Röder, B.** (2005). Influence of substitutions on asymmetric dihydroxychlorins with regard to intracellular uptake, subcellular localization and photosensitization of Jurkat cells. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 78(1), 17-28.
- [111] **He, D., Wang, L., Wang, L., Li, X. & Xu, Y.** (2017). Spectroscopic studies on the interactions between novel bisnaphthalimide derivatives and calf thymus DNA. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 166(333-40).
- [112] **Zhang, G., Guo, J., Pan, J., Chen, X. & Wang, J.** (2009). Spectroscopic studies on the interaction of morin–Eu (III) complex with calf thymus DNA. *Journal of Molecular Structure*. 923(1-3), 114-9.
- [113] **Long, E.C. & Barton, J.K.** (1990). On demonstrating DNA intercalation. *Accounts of Chemical Research*. 23(9), 271-3.
- [114] **Frederick, C.A., Williams, L.D., Ughetto, G., Van der Marel, G.A., Van Boom, J.H., Rich, A. & Wang, A.H.** (1990). Structural comparison of

anticancer drug-DNA complexes: adriamycin and daunomycin. *Biochemistry*. 29(10), 2538-49.

- [115] **Le, P.T., Cheng, H., Ninkovic, S., Plewe, M., Huang, X., Wang, H., Bagrodia, S., Sun, S., Knighton, D.R. & Rogers, C.M.L.** (2012). Design and synthesis of a novel pyrrolidinyl pyrido pyrimidinone derivative as a potent inhibitor of PI3K $\alpha$  and mTOR. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 22(15), 5098-103.



## ÖZGEÇMİŞ

**Ad-Soyad** : Uzm. Ecz. Esin ERCİN  
**Doğum Tarihi ve Yeri** :  
**E-posta** :

### ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 1996, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
- **Yüksek Lisans** : 2016, Bezmîâlem Vakıf Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Eczacılık Meslek Bilimleri Bölümü “*Ferulago blanchiana* Bitkisindeki Sekonder Metabolitlerin İzolasyonu, Antioksidan ve Antikolinesteraz Aktivitelerinin İncelenmesi”

### DOKTORA TEZİNDEN TÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

**Demirbolat, İ., Karik Ü., Ercin, E., & Kartal, M. (2020).** Gender Dependent Differences in Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Wild and Cultivated *Laurus nobilis* L. Leaf and Flower Essential Oils from Aegean Region of Turkey, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 23(5), 1084-1094.

**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*, 27(6), 1899.

### DİĞER YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

**Esin Ercin Aslan, Demet Dinçel, Gülaçtı Topçu.** Isolation of Furocoumarins From *Ferulago blanchiana* Post and Investigation of Their Anticholinesterase Activity. 19th International Congress 22-24 July, 2015 Bonn, Germany

**Begüm Çakar Haberdar, Esin Ercin Aslan, Demet Dinçel, Gülaçtı Topçu.** Biological Activities and Chemical Composition of *Ferulago* idea. 11th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS-11) in Ankara, June 9-12, 2015

“I. Ulusal Sosyal ve Yönetmelik Eczacılık Kongresi Geleceğin Eczaneleri: Serbest Eczacılıktan Toplum Eczacılığına” Çevrimiçi Kongre, Ekim 7-8, 2022

**Esin Ercin Aslan,** “Kozmetik Hammaddeleri ve Teknoloji” oturumu, ‘Masaj Yağları’ sunumu- 6. Kozmetik Kimyası, Üretimi ve Standardizasyonu Kongresi Antalya, Şubat 26-28, 2016



**Kartal M, Ercin E.** Fitoterapide Türkiye'nin Potansiyeli ve Gelecek Vizyonu. Başaran AA, editör. Fitoterapi. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2020. p.7-12.

**Ercin E, Dincel D.** Sindirim Sistemi Hastalıklarında Aromaterapi. Altıntaş A, Kartal M, editörler. Aromaterapi. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2021. p.95-104. Türkiye Klinikleri Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp - Özel Konular

**Ercin E.** Stres Yönetiminde Kullanılan Uçucu Yağlar. Altıntaş A, Kartal M, editörler. Aromaterapi. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2021. p.86-94. Türkiye Klinikleri Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp - Özel Konular

## **PROJELER**

*Ferulago blanchiana* Bitkisindeki Sekonder Metabolitlerin İzolasyonu, Antioksidan ve Antikolinesteraz Aktivitelerinin İncelenmesi, BAP No:9.2014/17

*Laurus nobilis* L. Bitkisinden Standardize Kozmetik Hammadde Üretim Proseslerinin Geliştirilmesi ve Kozmetik Formülasyonların Hazırlanması Proje No: 20210819

## **DENEYİMLER**

Esin Erçin Eczanesi – Mesul Müdür ve Sahibi

İstanbul Eczacı Odası Onur Kurulu Sözcüsü

İstanbul Eczacı Odası Dermokozmetik ve Besin Takviyeleri Komisyonu Başkanı

İstanbul Eczacı Odası Mesleki Strateji Komisyonu Üyesi

İstanbul Eczacı Odası MİSEP Komisyonu Üyesi

İstanbul Eczacı Odası ODİE Çalışma Grubu Üyesi

Türk Eczacıları Birliği Rehber Eczanem Projesi Eğitimi

Bezmialem Vakıf Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Staj Komisyonu Üyesi

## **BİLİMSEL KURULUŞLARA ÜYELİKLER**

Klinik Eczacılık Derneği

Aromaterapi Derneği

## **VERDİĞİ LİSANS VE YÜKSEK LİSANS DERSLERİ**

ART5206-Gıda, Kozmetik ve İlaç Sanayinde Uçucu ve Sabit Yağların Kullanımı

ECH125-Eczacılık Mevzuatı ve Etik

ECH226-Eczane Kayıtları ve Stok Yönetimi

ART5201-Klinik Aromaterapi

ART5206-Gıda, Kozmetik ve İlaç Sanayinde Uçucu ve Sabit Yağların Kullanımı

ECH205-Eczacılık İşletmeciliği

EF412- Eczacılık İşletmeciliği ve Mevzuatı

ECH125-Eczacılık Mevzuatı ve Etik

ECZ422- Eczacılık İşletmeciliği

