



**T.C.**

**ORDU ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI TİCARİ VE HAM, ÇAM VE ÇİÇEK BALI  
ÖRNEKLERİNİN KOZMESÖTİK POTANSİYELLERİNİN  
İNCELENMESİ**

**HAVVA ÇELİK**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**KİMYA ANABİLİM DALI**

**ORDU 2021**

## **TEZ BİLDİRİMİ**

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan ve kullanılan intihal tespit programının sonuçlarına göre; bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdığı yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

**HAVVA ÇELİK**

**Bu çalışma Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğünün B-2012 numaralı projesi ile desteklenmiştir.**

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

## ÖZET

### BAZI TİCARİ VE HAM, ÇAM VE ÇİÇEK BALI ÖRNEKLERİNİN KOZMESÖTİK POTANSİYELLERİNİN İNCELENMESİ

HAVVA ÇELİK

ORDU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ, 125 SAYFA

(TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. MELEK ÇOL AYVAZ)

Bal, yaraların tedavisinde, enfeksiyonlarla mücadelede ve çeşitli iltihaplı hastalıkların tedavisinde modern tıbbi yöntemlerle birlikte kullanılmaktadır. Arıların bitkisel kaynaklardan topladıkları nektarları metabolize ederek oluşturdukları bal çeşitlerinin kozmetik potansiyellerinin değerlendirilmesi önemlidir. Bu tez çalışması kapsamında ticari olarak temin edilen çam ve çiçek ballarının yanı sıra doğrudan üreticiden temin edilen ham çam ve çiçek ballarının karşılaştırılmalı olarak kozmesötik potansiyelinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak toplam fenolik içerik değerleri (120.95-753.64 µg GAE/g bal) ve hem DPPH radikali (SC<sub>50</sub>; 0.008-0.162 g/mL) hem de pirogallol red kullanılarak spektroskopik yöntemin takip edilmesiyle oksijen radikali temizleme aktivitelerine (0.654-3.096 µmol/g bal) dayanan antioksidan aktivite değerleri hesaplanmıştır. Sığır serum albümininin denatürasyonunu önleyebilme dereceleri anti-inflamatuar etkinlik olarak değerlendirilmiştir ve test edilen numunelerin çoğu 0.83 mg/mL konsantrasyonluk kısımları ile orta derecede inhibisyon potansiyeli (ortalama olarak % 15.81) göstermiştir. Balın rengi ile orantılı olacak şekilde 0.02 g/mL'lik bal kısımlarının güneş koruma faktörleri ise ortalama olarak 2.52 olarak hesaplanmış olup çam balları için hesaplanan değerler daha fazladır. Bal numunelerinin 4 mg/mL'lik kısımlarının tirozinaz inhibisyon potansiyeli açısından değerlendirilmesiyle bulunan sonuç ortalama olarak %14 düzeyindedir. Elastaz inhibitörü olarak değerlendirilip değerlendirilemeyeceği amacıyla yapılan test sonucunda ise numunelerin 2 mg/mL'lik kısımlarının inhibisyon oranının ham ballar için daha yüksek olmakla birlikte % 0-41 aralığında değişiklik gösterdiği ortaya konulmuştur. Test edilen bal örneklerinin kollajenaz enzimi üzerindeki inhibisyon potansiyeli değerlendirildiğinde standart kollajenaz inhibitörü olarak test edilen epigallokateşin gallata göre 1000 kat daha düşük düzeyde potansiyele sahip olduğu belirlenmiştir. Sözü geçen tüm bu aktivitelerden sorumlu olabilecek fenolik bileşiklerin kantitatif olarak miktarının belirlenmesi amacıyla yapılan HPLC analizi sonrası *p*-OH benzoik asitin tüm test edilen ballarda değişen oranlarda (1.928-27.672 µg/g numune) varlığı tespit edilmiştir. Gallik asit, Vanilik asit, Kafeik Asit ve *p*-Kumarik asitler ise sadece birer bal numunesi hariç diğer bal numunelerinin tamamında tespit edilmiştir. Rosmarinik asit ise test edilen bal numunelerinin hiç birinde saptanmamıştır.

Elde edilen tüm bu veriler farklı oranlarda dahi olsa bu ekstraktların yara, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, iltihaplanma, kemik yıkımı ve fibroz gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde ve ayrıca cilt yaşlanmasını önlemek amacıyla kozmetik formülasyonlar için potansiyel bileşenlerde kullanılabileceğini düşündürmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Antiinflatuar, Antioksidan, Bal, Elastaz, Enzim inhibisyonu, Güneş koruma faktörü, Kollajenaz, Kozmetik, Tirozinaz

## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF COSMECEUTICAL POTENTIALS OF SOME COMMERCIAL AND RAW, PINE AND FLOWER HONEY SAMPLES

HAVVA ÇELİK

ORDU UNIVERSITY INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED  
SCIENCES

CHEMISTRY

MASTER THESIS, 125 PAGES

(SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. MELEK ÇOL AYVAZ)

Honey is used in the management of wounds, in combating infections treating and several inflammatory diseases by modern medicinal methods. It is important to evaluate the cosmetic potential of the honey varieties produced by bees by metabolizing the nectar they collect from plant sources. With in the scope of this thesis, it was aimed to examine the cosmeceutical potential of commercially supplied pine and flower honeys as well as raw pine and flower honeys obtained directly from the producer.

Total phenolic content values (120.95-753.64  $\mu\text{g}$  GAE/g honey) using Folin-Ciocalteu reagent and antioxidant activity values based on both DPPH radical ( $\text{SC}_{50}$ ; 0.008-0.162 g/mL) and oxygen radical scavenging activities (0.654-3.096  $\mu\text{mol/g}$  honey) by following the spectroscopic method using pyrogallol red were calculated. Their ability to prevent denaturation of bovine serum albumin was evaluated as anti-inflammatory activity, and most of the samples tested showed moderate inhibition potential (average 15.81%) with their 0.83 mg/mL concentration fractions. The sun protection factors of 0.02 g/mL honey parts, proportional to the color of honey, were calculated as 2.52 on average, and the values calculated for pine honeys were higher. Evaluation of 4 mg/mL portions of honey samples in terms of tyrosinase inhibition potential, results in an average of 14%. Similarly, as a result of the test carried out to determine whether it can be evaluated as an elastase inhibitor, it has been revealed that the inhibition rate of 2 mg/mL portions of the samples is higher for raw honey, but varies in the range of 0-41%. When the inhibition potential of the tested honey samples on the collagenase enzyme was evaluated, it was determined that it had a potential 1000 times lower than epigallocatechin gallate, which was tested as a standard collagenase inhibitor. After the HPLC analysis carried out to quantitatively determine the amount of phenolic compounds that may be responsible for all these activities, the presence of *p*-OH benzoic acid in varying proportions (1.928-27.672  $\mu\text{g/g}$  sample) was determined in all tested honeys. Gallic acid, vanillic acid, caffeic acid and *p*-coumaric acids were detected in all honey samples except one honey sample each. Rosmarinic acid was not detected in any of the honey samples tested.

All these data, albeit in different proportions, suggest that these extracts can be used in the treatment of various diseases such as wounds, cancer, cardiovascular diseases, inflammation, bone destruction and fibrosis, and also as potential ingredients for cosmetic formulations to prevent skin aging.

**Keywords:** Anti-inflammatory, Antioxidant, Collagenase, Cosmetic, Elastase, Enzyme inhibition, Honey, Sun protection factor, Tyrosinase

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında sabırlı ve hoşgörölü bir şekilde bana yol gösteren, çalışma boyunca bana her türlü yardımı sağlayan, “Bazı Ticari ve Ham, Çam ve Çiçek Ballarının Kozmesötik Potansiyellerinin İncelenmesi” konulu yüksek lisans tezimin hazırlanmasında büyük katkıları olan, Ordu Üniversitesi Fen Edebiyat Faköltesi Kimya Bölümü öğretim üyesi ve danışman hocam çok kıymetli Sayın Doç. Dr. Melek ÇOL AYVAZ’a teşekkür eder, şükranlarımı sunarım.

Ayrıca beni yetiştirip bugünlere gelememi sağlayan değerli aileme, tez çalışmam boyunca benden maddi ve manevi desteğini esirgemeyen sevgili eşim ve minik kızıma teşekkür ederim.

Bu çalışma Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından “B-2012” numaralı ve “Bazı Ticari ve Ham, Çam ve Çiçek Ballarının Kozmesötik Potansiyellerinin İncelenmesi” isimli Yüksek Lisans Tez Projesi kapsamında desteklenmiştir. İlgili kurum ve çalışanlarına desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>TEZ BİLDİRİMİ</b> .....	I
<b>ÖZET</b> .....	II
<b>ABSTRACT</b> .....	III
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	IV
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	V
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b> .....	VII
<b>ÇİZELGE LİSTESİ</b> .....	VIII
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ</b> .....	IX
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	3
2.1 Balın Bileşimi.....	4
2.2 Balın Sağlık Üzerine Etkileri.....	6
2.3 Türkiye’de Bal Üretimi.....	7
2.4 Reaktif Oksijen Türleri ve Antioksidanlar.....	7
2.5 Antiinflamatuvar Etki.....	9
2.6 Enzimler.....	10
2.6.1 Enzim İnhibisyonu.....	11
2.6.1.1 Geri Dönüşümlü Enzim İnhibisyonu.....	12
2.6.1.2 Geri dönüşümsüz Enzim İnhibisyonu.....	13
2.6.2 Tirozinaz.....	13
2.6.3 Elastazlar.....	16
2.6.4 Kollajenaz.....	17
2.7 Kozmetikler.....	19
2.7.1 Kozmetik Ürünlerde Kullanılan Bazı Doğal Bileşenler.....	20
2.7.2 Kozmetiklerde Kollajenaz ve Elastaz Enzim İnhibisyonunun Önemi.....	22
2.7.3 Kozmetiklerde Tirozinaz Enzim İnhibisyonunun Önemi.....	23
2.8 Kozmesötikler.....	24
2.8.1 Kozmesötiklerde Kullanılan Bazı Doğal Bileşenler.....	25
2.9 Bal ve Diğer Arı Ürünlerinin Kozmetiklerde Kullanımı.....	27
2.10 Cilt Yaşlanması.....	30
2.10.1 Kronolojik Yaşlanma.....	31
2.10.2 Fotoyaşlanma.....	33
2.11 Güneş Koruma Faktörü (GKF).....	35
<b>3 MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	36
3.1 Materyal.....	36
3.1.1 Bal Örnekleri.....	36
3.1.2 Cihazlar.....	36
3.1.3 Kimyasal Maddeler ve Malzemeler.....	36
3.1.4 Çözeltiler ve Hazırlanması.....	37
3.1.4.1 Bal Numunesi Ekstraktlarının Hazırlanması.....	37
3.1.4.2 Toplam Fenolik İçerik Tayininde Kullanılan Çözeltiler.....	37
3.1.4.3 DPPH Radikali Temizleme Aktivitesi Tayininde Kullanılan Çözeltiler.....	37
3.1.4.4 Oksijen Radikali (ORAC) Temizleme Aktivitesi Tayininde Kullanılan Çözeltiler.....	38
3.1.4.5 AntiinflamatuvarAktivite Tayininde Kullanılan Çözeltiler.....	38

3.1.4.6 Elastaz İnhibisyonu Tayininde Kullanılan Çözeltiler .....	38
3.1.4.7 Kollajenaz İnhibisyonuTayininde Kullanılan Çözeltiler .....	39
3.1.4.8 Tirosinaz İnhibisyonu Tayininde Kullanılan Çözeltiler.....	40
3.1.5 Toplam Fenolik İçeriğin Belirlenmesi .....	40
3.1.6 DPPH Radikali Temizleme Aktivitesi Tayini.....	41
3.1.7 Oksijen Radikali Temizleme Aktivitesi (ORAC) Tayini.....	42
3.1.8 Antiinflamatuvar Aktivitenin Belirlenmesi.....	42
3.1.9 Güneş Koruma Faktörünün Belirlenmesi.....	43
3.1.10 HPLC ile Fenolik Bileşen Tayini .....	44
3.1.11 Bal Numunelerinin Enzim İnhibisyon Potansiyellerinin Belirlenmesi.....	45
3.1.11.1 Elastaz Enzim İnhibisyon Potansiyelinin Belirlenmesi .....	45
3.1.11.2 Kollajenaz Enzim İnhibisyon Potansiyeli .....	45
3.1.11.3 Tirosinaz Enzim İnhibisyon Potansiyeli .....	46
<b>4 BULGULAR ve TARTIŞMA</b> .....	47
4.1 Numunelerin Toplam Fenolik Madde Miktrarı .....	47
4.2 Numunelerin Antioksidan Aktivite Bulguları .....	50
4.2.1 Numunelerin DPPH Serbest Radikal Süpürme Aktiviteleri .....	50
4.2.2 Numunelerin ORAC Radikalini Süpürme Aktiviteleri.....	52
4.3 Numunelerin HPLC ile Fenolik Bileşen Analizi Sonuçları .....	56
4.4 Numunelerin Antiinflamatuvar Aktivite Bulguları .....	61
4.5 Numunelerin Güneş Koruma Faktörü Değerleri.....	65
4.6 Numunelerin Tirosinaz Enzimi İnhibisyon Potansiyelleri.....	71
4.7 Numunelerin Elastaz Enzimi İnhibisyon Potansiyelleri .....	73
4.8 Numunelerin Kollajenaz Enzimi İnhibisyon Potansiyelleri.....	75
<b>5 SONUÇ ve ÖNERİLER</b> .....	80
<b>6 KAYNAKLAR</b> .....	85
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	114

## ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1 Serbest Radikal Oluşumuna Neden Olan Faktörler .....	8
Şekil 2.2 Enzim İnhibisyonu Türlerinin Şekilsel Gösterimi.....	12
Şekil 2.3 Agaricus Bisporus Mantar Tirozinazının Kristal Yapısının Aktif Bölgesi. ....	14
Şekil 2.4 Elastinin Yıkım Aşamaları .....	17
Şekil 2.5 Kollajen Liflerinin Oluşumu .....	18
Şekil 2.6 Kollajenin Üçlü Sarmal Yapısı.....	19
Şekil 2.7 Balın Sağlık Üzerine Etkileri.....	27
Şekil 2.8 Derinin Yapısı .....	31
Şekil 2.9 Cilt Yaşlanmasının Fiziksel Görünümü .....	32
Şekil 2.10 Derinin Anatomisi .....	33
Şekil 2.11 Fotoyaşlanmanın Gelişimi.....	34
Şekil 2.12 Fotoyaşlanmış Bir Cilt .....	34
Şekil 3.1 Bal Numunelerinin Sulu Ekstraktlarının Hazırlanması.....	37
Şekil 4.1 Toplam Fenolik Madde İçeriklerinin Belirlenmesi İçin GA Standart Çalışma Grafiği. ....	48
Şekil 4.2 17 Numaralı Bal Örneğinin DPPH Radikal Süpürme Aktivitesini Hesaplamak İçin Çizilen Grafik.....	51
Şekil 4.3 Pirogallol Red Molekülünün Kimyasal Yapısı.....	54
Şekil 4.4 Ekstraktların ORAC Değerlerinin Hesaplanması İçin Çizilen Troloks Standart Grafiği .....	55
Şekil 4.5 15 numaralı Bal İçin HPLC-UV (280 nm) Kromatogram .....	57
Şekil 4.6 2 Numaralı Bal Örneğinin 290-320 nm Dalga Boyu Aralığında Verdiği Absorbans Eğrisi .....	68
Şekil 4.7 Toplam Fenolik İçerik Değerleri ile GKF Değerleri Arasındaki Korelasyon Grafiği .....	70
Şekil 4.8 Ursolik Asit ile Elastaz Enziminin Farklı Moleküller Arası Etkileşimler Sergileyen Üç Boyutlu Moleküler Yerleştirme Pozları . ....	75
Şekil 4.9 2 Numaralı Bal Numunesinin Farklı Konsantrasyonlarının Kollajenaz İnhibisyon Yüzdelerine Karşı Çizilen Grafik.....	76
Şekil 4.10 EGKG'nın Farklı Konsantrasyonlarının Kollajenaz İnhibisyon Yüzdesi .....	76
Şekil 4.11 EGKG ile Kollajenaz Enziminin Farklı Moleküller Arası Etkileşimler Sergileyen Üç Boyutlu Moleküler Yerleştirme Pozları. ....	77



## ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1 Balın Bileşimi.....	4
Çizelge 2.2 Türkiye’de Yıllara Göre Bal Üretim Miktarının (ton) Değişimi.....	7
Çizelge 3.1 Çalışmada Kullanılan Bal Örnekleri .....	36
Çizelge 3.2 Cihazlar.....	36
Çizelge 3.3 Toplam Fenolik Madde Tayini İçin Yapılan Pipetlemeler.....	41
Çizelge 3.4 DPPH Radikali Temizleme Aktivitesi Tayini İçin Yapılan Pipetlemeler .....	42
Çizelge 3.5 ORAC Aktivitesi Tayini İçin Yapılan Pipetlemeler .....	42
Çizelge 3.6 Antiinflatuar Aktivitenin Belirlenmesi İçin Yapılan Pipetlemeler.....	43
Çizelge 3.7 EE x I Değerleri.....	44
Çizelge 3.8 Elastaz Enzim İnhibisyon Potansiyelini Belirlemek İçin Yapılan Pipetlemeler .....	45
Çizelge 3.9 Kollajenaz Enzim İnhibisyon Potansiyelini Belirlemek İçin Yapılan Pipetlemeler.....	46
Çizelge 4.1 Bal Numunelerinin Fenolik İçerikleri ve Antioksidan Aktiviteleri.....	52
Çizelge 4.2 1-9 Numaralı Bal Numunelerinin HPLC ile Belirlenen Fenolik Bileşen Analizi Sonuçları .....	59
Çizelge 4.3 10-18 Numaralı Bal Numunelerinin HPLC İle Belirlenen Fenolik Bileşen Analizi Sonuçları .....	60
Çizelge 4.4 Bal Numunelerinin Anti-inflatuar Aktivite ve Güneş Koruma Faktörü (GKF) Değerleri.....	62
Çizelge 4.5 0.02 g/mL Konsantrasyonda 1 Örneği İçin GKF Değerinin Hesaplanması Amacıyla Ölçülen ABS Değerleri.....	68
Çizelge 4.6 Bal Numunelerinin Tirosinaz, Elastaz ve Kollajenaz İnhibisyon Dereceleri .....	72

## SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

---

<b>DPPH</b>	:	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
<b>EC</b>	:	Uluslararası Enzim Komisyonu
<b>ECM</b>	:	Ekstrasellüler Matriks
<b>EGKG</b>	:	Epigallokateşingallat
<b>FALGPA</b>	:	N-[3-(2-Furyl)acryloyl]-Leu-Gly-Pro-Ala
<b>GA</b>	:	Gallik Asit
<b>GKF</b>	:	Güneş koruma Faktörü
<b>L-DOPA</b>	:	3,4-Dihidroksil-fenilalanin
<b>MMP</b>	:	Matriks Metalloproteinaz
<b>MT</b>	:	Metrik Ton
<b>OH</b>	:	Hidroksil
<b>ORAC</b>	:	Oksijen Radikali Temizleme Aktivitesi
<b>ROT</b>	:	Reaktif Oksijen Türleri
<b>TGK</b>	:	Türk Gıda Kodeksi
<b>UV</b>	:	Ultraviyole

---

## 1. GİRİŞ

İnsan derisi vücudun en büyük çok işlevli organıdır ve sıcaklığın düzenlenmesinde, çevresel uyaranların saptanmasında ve vücudun dış biyolojik, kimyasal ve fiziksel stres faktörlerine karşı korunmasında çok önemli bir rol oynar (Gallo, 2017). Fiziksel bir bariyer görevi gören cilt, sürekli olarak mikroplar, tahriş edici maddeler, alerjenler, kirleticiler ve ultraviyole (UV) radyasyonu gibi çok çeşitli çevresel ajanlara maruz kalır. Spesifik olarak, UV radyasyonu, eritem ve immüno-supresyon gibi cilt homeostazı üzerinde zararlı etkilere sahip olabilir ve ayrıca cilt yaşlanması ve karsinogenez ile ilişkilendirilmiştir (Matsumura ve Ananthaswamy, 2004). UV, çeşitli moleküler ve hücresel mekanizmalar yoluyla cilt yaşlanması ile güçlü bir şekilde bağlantılıdır (McCallion ve Po, 1993). Özellikle UVB radyasyonu, en belirgin olanları siklobutanpirimidinimler (CPD'ler) ve pirimidin 6-4 pirimidinler olmak üzere UV kaynaklı DNA fotoürünlerinin oluşumunu doğrudan indüklediği için epidermal bazal tabaka için en zararlı radyasyondur (Chen ve ark., 2014). Bu fotolezyonlar, DNA replikasyonunu ve transkripsiyonunu inhibe edebilir ve bu nedenle, daha sonra hücre ölümüne, foto yaşlanmaya ve fotokarsinogeneze yol açan kalıcı mutasyonlar oluşturabilir (Park ve Kang, 2016). Ayrıca, UVB ışınması, prokollajen biyosentezinin inhibisyonu ve matriks metalloproteinazların (MMP'ler) yukarı regülasyonu yoluyla kollajen bozulmasıyla bağlantılıdır (Xuan ve ark., 2017). Ek olarak, UVA ve UVB, reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretimi yoluyla cildin yaşlanma sürecine müdahale eder (Rinnerthaler ve ark., 2015). Artan ROT seviyeleri oksidatif strese yol açar ve proteinler, DNA ve lipidler gibi biyomoleküllere zarar verir (Sharma ve ark., 2012). Bu nedenle, UV ışınlarına maruz kalmanın zararlı etkilerinin önlenmesi için fotokoruyucu, antioksidan ve yaşlanma önleyici özelliklere sahip kozmetik ürünlerinin geliştirilmesi esastır.

Antik çağlardan beri balın tedavi edici potansiyeli dikkat çekmektedir (Siddiqui ve ark., 2017). Son yıllarda, ilgili güçlü biyoaktivitelere, antiseptik ve/veya sağlığı geliştirici özelliklere büyük bir ilgi vardır (Premratanachai ve Chanchao, 2014). Bal, çeşitli amino ve organik asitler, vitaminler, mineraller ve antioksidanlar içeren, başta glukoz ve fruktoz olmak üzere invert şekerlerin konsantre bir sulu

çözüldür. Ayrıca flavonoidler, fenolik asitler, kafeik asit, fenetil ester ve karotenoidler bakımından da zengindir (Premratanachai ve Chanchao, 2014).

Farklı bal türleri, toplama alanlarındaki hava koşulları ve botanik kaynakların yanı sıra, arı türlerinin çeşitliliği ve yiyecek arama stratejilerinin bir sonucu olarak bileşimlerinde büyük farklılıklar gösterir (Rahman ve ark., 2014). Balın antibakteriyel (Kasala ve ark., 2015; Rahman ve ark., 2014), antioksidan (Erejuwa ve ark., 2014; Saikaly ve Khachemoune, 2017), antifungal (Cooper, 2016), antimikrobiyal, antiinflamatuvar (Saikaly ve Khachemoune, 2017), antitumor (Kasala ve ark., 2015), immünomodülatör (Saikaly ve Khachemoune, 2017) ve antiproliferatif (Israili, 2014) potansiyelini ortaya koyan pek çok çalışma mevcuttur. Ancak, balın UV ile ilişkili foto yaşlanmaya karşı fotokoruyucu nitelikleri ve kronolojik yani içsel yaşlanmaya karşı koyabilme özellikleri hakkında az sayıda rapor mevcuttur.

Bu amaçla bu tez çalışması kapsamında ticari olarak ve doğrudan üreticiden temin edilen çam ve çiçek balı numunelerinin cilt yaşlanmasını önleyebilme potansiyellerini ve böylelikle kozmesötik olarak değerlendirebilmeleri ortaya koyabilmek için toplam fenolik içerik, antioksidan ve antiinflamatuvar aktivite, elastaz, tirozinaz ve kollajenaz enzim inhibisyonu dereceleri ve güneş koruma faktörü parametreleri araştırılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

Türk Gıda Kodeksi (TGK) balı; bitki nektarlarının, bitkilerin canlı kısımlarının veya canlı kısımlar üzerinde yaşayan böceklerin salgılarının bal arıları *Apis mellifera* tarafından toplandıktan sonra kendine özgü maddelerle birleştirilerek değişikliğe uğrattığı, su içeriğini düşürdüğü ve petekte depolayarak olgunlaştırdığı doğal bir ürün olarak tanımlanmaktadır (Codex Alimentarius, 2001).

Eski çağlardan beri insanlar tarafından kullanılan ilk arı ürünü olan bal, insanlık tarihinin gelişimine paralel bir şekilde gelişerek birçok toplumda tedavi edici bir ürün, dini bir simge ve gıda maddesi olarak yer bulmuştur (Anonim, 2012). Bal, şeker kamışı ekilinceye kadar kullanılan başlıca tatlandırıcı bileşendir (Khan ve ark., 2017). Bal, her geçen yıl daha fazla tüketilmektedir. Antioksidan aktivitesinin yanında, birçok gıda ve içecek ürünlerinde katkı maddesi olarak da kullanılmaktadır (Pasias ve ark., 2017).

Bal, bütün dünyada en fazla tüketilen gıda ürünlerinden biridir. Besleyici ve tedavi edici özelliklerinin yanı sıra, tatlandırıcı, hoş koku verici ve enerji verici özellikleri de balın popülaritesini artırmaktadır (Meo ve ark., 2017). Doğal bir ürün olması ve yüksek besin değerleri bal tüketimini büyük oranda etkilemektedir (Pasias ve ark., 2017). Bütün bu özelliklerinden dolayı bal, fonksiyonel gıda olarak kategorize edilmektedir (Badolato ve ark., 2017). Bal antiülser, antimikrobiyal, antioksidan ve terapötik aktiviteleri sayesinde birçok hastalık üzerinde tedavi edici olarak rol oynamaktadır (Bueno-Costa ve ark., 2016).

Bal elde edildiği bitki nektarlarına göre salgı balı, çiçek balı, monofloral ve multifloral bal olmak üzere dört farklı gruba ayrılabilir (Pita-Calvo ve Vázquez, 2018; Alvarez-Suarez ve ark., 2014). Salgı balı, çam, köknar, kestane, meşe gibi bitkilerin canlı kısımlarının salgıları veya farklı böceklerin salgı ürünü olan nektarlardan arıların ürettiği bir monofloral bal türüdür (Pita-Calvo ve Vázquez, 2018; de-Miguel ve ark., 2014). Meşe, çam ve köknar balları monofloral salgı ballarıdır.

Çiçek veya nektar balı, bitki nektarlarından üretilen bal türleridir ve multifloral ballardır (de-Miguel ve ark., 2014). Monofloral bal, arıların beslenmesinde en etkin olan bitkilerden üretilen ballardır (Makhloufi ve ark., 2015).

Multifloral bal ise, çeşitli botanik kaynaklardan üretilir. Monofloral bal için en etkin kaynaklar, süs eriği ve biberiye türleri, ayçiçeği, anason, okaliptustur (Zhao ve ark., 2016). Monofloral bal, multifloral baldan daha saf bir tada sahiptir (Ramalhosa ve ark., 2011). Monofloral balın hem satış değerleri yüksek, hem de daha çok tüketici bulunmaktadır. Bu nedenle birinci sınıf ürün olarak kabul edilmektedir (Crane, 1983). Salgı balları, keskin bir tada sahipken, nektar balı daha yumuşak bir tada sahiptir. Ayrıca salgı ballarının prebiyotik ve probiyotik olan oligosakkarit içeriği nektar balından daha yüksektir. Bu nedenle antioksidan ve antibakteriyel özelliğe sahiptirler. Salgı balının tedavi edici özellikleri nedeniyle ticari değeri nektar balından daha fazladır (Pita-Calvo ve Vázquez, 2018).

## 2.1 Balın Bileşimi

Balın bileşimi çiçek türü, iklim, çevre ve işleme koşullarına bağlıdır (Ramos ve ark., 2018). Yaklaşık olarak %80 karbonhidrat, %10-15 su, %0.1-0.4 protein, bunun dışında çeşitli mineral maddeleri de içermektedir (Kasprzyk ve ark., 2018) (Çizelge 2.1).

**Çizelge 2.1** Balın Bileşimi (Santos-Buelga ve González-Paramás, 2017)

Bileşen	Miktar (%)	En az-En çok
<b>Su</b>	17.09	13.1-26.5
<b>Fruktoz</b>	39.44	37.07-42.65
<b>Glukoz</b>	28.15	18.2-32.1
<b>Sükroz</b>	3.19	00.36-16.57
<b>Diğer şekerler</b>	8.5	0.1-16
<b>Mineraller</b>	0.36	0.11-0.72
<b>Toplam protein</b>	1.13	0.22-2.93

Balda en çok bulunan karbonhidratlar glukoz ve fruktozdur (Kasprzyk ve ark., 2018). Baldaki tüm şekerlerin %75'ini monosakkarit, %10-15'ini disakkaritler oluşturmaktadır. Ayrıca çok az miktarda farklı şekerler de bulunur. Monosakkaritlerin başlıcaları glukoz, fruktoz ve galaktoz iken, izomaltoz, kojibinoz, maltoz, sukroz ve turanoz ise balda bulunan başlıca disakkaritlerdir. Ayrıca bal trisakkarit şekerleri de içermektedir (da-Silva ve ark., 2016). Balın tadını balda büyük oranda bulunan glukoz/fruktoz oranı belirler. Fruktoz suda daha iyi çözünürlüğe sahip bir şekerdir ve tadı glukozu göre daha fazladır. Su miktarı raf ömrü, stabilite ve fermantasyona karşı stabilite için önem arz ettiğinden balın su miktarı önemli kalite parametrelerindedir (Ramalhosa ve ark., 2011). Organik

asitler balda az miktarda bulunmalarına karşın balın renk ve tat gibi organoleptik özelliklerini, pH, asitlik, elektrik iletkenliği gibi fiziksel ve kimyasal özelliğini etkilerler, ayrıca antioksidan ve antibakteriyel aktiviteye sahip olmakla birlikte, fermantasyon indikatörü olarak kullanılırlar. Balın coğrafi ve botanik kökenine göre ayırt edilmesi önemlidir (Mato ve ark., 2006). Asetik asit, sitrik asit, butirik asit, formik asit, fumarik asit, glioksilik asit, propiyonik asit, laktik asit, maleik asit, malik asit, oksalik asit, süksinik asit ve en baskın olarak da glukonik asit balda bulunan asitlerdir (Santos-Buelga ve González-Paramás, 2017). Balın ortalama pH değeri 3.9 olmakla birlikte, genel olarak pH değeri 3.4 ile 6.1 arasında değişebilmektedir (Ramalhosa ve ark., 2011).

Balın ortalama protein içeriği, salgı balı için %0.1-3.3 arasındayken, çiçek balında %0.2-1.6 arasındadır. Bu değerlerin küçük bir kısmı enzimleri de içermektedir (da Silva ve ark., 2016; Ramalhosa ve ark., 2011). Globulin, proteoz, albumin ve pepton baldaki bazı proteinlerdir. Bal proteinleri stabil karbon izotop oranı ile balın olgunlaşmasını belirlemede uluslararası standart olarak kullanılır (Chua ve ark., 2013). Baldaki aminoasit miktarı %1'dir (Hermosín ve ark., 2003). Balda arginin, sistein, prolin, triptofan, sistein baskın olmak üzere 26 çeşit aminoasit vardır (Ramalhosa ve ark., 2011; Hermosín ve ark., 2003).

İnvertaz, diastaz, glukoz oksidaz, katalaz, amilaz ve  $\alpha$ -glukosidaz balda bulunan enzimlerdendir (Ramalhosa ve ark., 2011). Amilaz enzimi nişastayı maltoza dönüştürürken, invertaz enzimi sukrozu glukoz ve fruktoza parçalar. İnvertaz ve amilaz enzimlerinin miktarı balın botanik kaynağına göre farklılık gösterir. Glukoz oksidaz ve katalaz enzimleri hidrojen peroksit üretimini düzenler (Khan ve ark., 2017). Hidrojen peroksit, antimikrobiyal aktiviteye sahiptir (Amir ve ark., 2010). Baldaki invertaz miktarı balın tazeliği hakkında bilgi verir (Sanchez ve ark., 2001).

Bakır, arsenik, çinko, kobalt, nikel, kadmiyum, iyot, potasyum, fosfor, magnezyum, selenyum, demir, baryum, krom ve sodyum balda bulunan mikro ve makro elementlerdir (da-Silva ve ark., 2016).

## 2.2 Balın Sağlık Üzerine Etkileri

Bal, eski çağlardan beri gıda maddesi olarak kullanılmasının yanında tıbbi amaçlarla da kullanılmıştır (Crane, 1983). Sümer kaynaklarında balın bir ilaç ve merhem olarak kullanıldığı vurgulanmaktadır (Crane, 1975). Birçok hekim balın öneminden bahsetmiştir. Örneğin, Romalı hekimler balın güçlü bir panzehir özelliğine sahip olduğunu, kimisi de balın hava ve su kadar elzem olduğunu savunmaktadır. Farklı kültürlerde farklı şekillerde kullanılan bal, bazı bitkilerle karıştırılarak göz, ruh ve sinir hastalıklarının tedavisi amacıyla da kullanılmıştır (Brown, 1993).

Genellikle yanık, ülser, diyabet, enfekte ve iyileşmeyen yaralar gibi hastalıklarda tedavi amacıyla kullanılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda balın, venöz ülser üzerinde iyileştirici etkisi olduğu bilinmektedir (Alvarez-Suarez ve ark., 2010a; Zumla ve Lulat, 1989). Bal pansumanı, basınç yaralarında hızlı bir iyileşme sağlamıştır. Yaralardan kaynaklı kokuları da azaltmak için tercih edilmektedir. Kronik oküler yüzey hastalıkları semptomlarını azalttığı raporlanmıştır (Lund-Nielsen ve ark., 2011; Simon ve ark., 2009).

Ham bal antioksidan özelliğinin yanı sıra; antiinflamuar, antibakteriyel özelliklere de sahiptir (Molan, 1999). Balın antibakteriyel özelliği, asitlik, hidrojen peroksit miktarı, ozmotik etkileri, besleyici ve antioksidan içeriği, bağışıklığı uyarması gibi özellikleri daha tanımlanamamış birçok bileşene bağlıdır (Al-Waili ve ark., 2011). Mikroorganizma ve mantar gelişimi engeller. Özellikle gram-pozitif bakterilere karşı güçlü bir antibakteriyeldir (Molan, 1997; Bogdanov, 1997). Türkiye de tıbbi kullanımın çok az olmasına rağmen yurt dışında apiterapi uygulamaları için çok önemlidir. Gerek cilt güzellik kremlerinde, gerekse de sindirim ve solunum sistemi hastalıklarında kullanılmaktadır (Takuma, 1955).

Bal sadece yetişkinler için değil bebekler için de önemli bir besin kaynağıdır. Bal ile beslenen bebeklerde hemoglobin artışı, güzel bir cilt ve sindirim problemlerinde iyileşme gözlenmiştir (Tropp, 1957; Frauenfelder ve ark., 1921). Beslenmede en etkin rolü kilo artışı ve hastalıklara karşı koruyuculuğudur (Frauenfelder ve ark., 1921). Fakat 1 yaşın altındaki bebeklerde bal tüketimi çok ciddi yan etkilere sebep olmaktadır. Dolayısıyla tüketimi önerilmez.



### 2.3 Türkiye’de Bal Üretimi

Ülkemiz Çin’den sonra dünyanın en büyük ikinci bal üreticisidir. 2013 yılında Çin’de bal üretimi 450 bin ton, Türkiye’de 95 bin ton ve Arjantin’de ise 80 bin tondur (Borowska, 2016). Türkiye İstatistik Kurumu’ndan alınan verilere göre Türkiye’de yıllara göre bal üretimi Çizelge 2.2 de verilmiştir. 2014 yılında 15.282 MT (metrik ton) ile Türkiye’nin en büyük bal üreticisi şehri Muğla’dır (Saroğlu, 2018). Bal üretiminde Muğla’dan sonra sırasıyla 15.016 MT ile Ordu, 9.715 MT ile Adana, 3.447 MT ile Aydın, 3.039 MT ile Sivas ve 2.884 MT ile Mersin gelmektedir. Türkiye başta Almanya, Amerika Birleşik Devletleri, Ürdün, Macaristan, Irak, Suudi Arabistan, Avusturya, Kuzey Kıbrıs, Belçika ve İspanya gibi birçok devlete toplamda 500 MT bal ihraç etmektedir. Türkiye’nin bal ihracat oranlarının coğrafi olarak belirlenmiş çam balı üretiminin artmasıyla artacağı düşünülmektedir. (Alvarez–Suarez ve ark., 2010b).

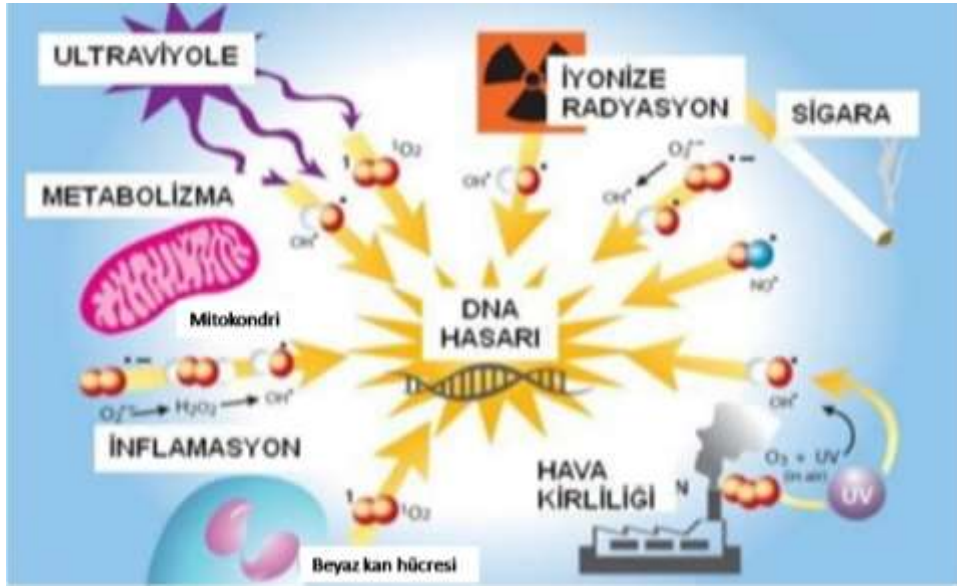
**Çizelge 2.2** Türkiye’de Yıllara Göre Bal Üretim Miktarının (ton) Değişimi

Yıl	Miktar	Yıl	Miktar
1992	60318	2006	83842
1993	59207	2007	73935
1994	54908	2008	81364
1995	68620	2009	82003
1996	62950	2010	81115
1997	63319	2011	94245
1998	67490	2012	89162
1999	67259	2013	94694
2000	61190	2014	103525
2001	60190	2015	108128
2002	74554	2016	105727
2003	69540	2017	114471
2004	60190	2018	107920
2005	82336	2019	110000

### 2.4 Reaktif Oksijen Türleri ve Antioksidanlar

Oksijen insan yaşamı için vazgeçilmez bir bileşendir. Metabolizmadaki biyokimyasal reaksiyonlar sonucunda oluşan çeşitli reaktif oksijen türleri (ROT) vücuda zarar vermektedir. Çoğunluğunu serbest radikallerin oluşturduğu bu söz konusu ROT lar, kimyasal olarak oksijenden daha reaktiftirler. Serbest radikaller, dış katmanlarında eşlememiş elektronları olan yüksek enerjili ve kararsız bileşiklerdir. Reaktif oksijen türleri, serbest radikaller ve radikal olmayanlar olarak iki gruba

ayrılırlar. Süperoksit anyonu ( $\bullet\text{O}_2^-$ ), hidroksil radikali ( $\text{OH}\bullet$ ), peroksil ( $\text{ROO}\bullet$ ), hidroperoksil ( $\text{HO}_2\bullet$ ), alkoksil ( $\text{RO}\bullet$ ), lipid peroksil ( $\text{LOO}\bullet$ ) gibi serbest radikaller diğer moleküllerle kolaylıkla reaksiyona girebilirler. Hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), hipokloröz asit ( $\text{HOCl}$ ), singlet oksijen ( $^1\text{O}_2$ ), hipobromöz asit ( $\text{HOBr}$ ) ve ozon ( $\text{O}_3$ ) gibi radikal olmayan türler ise oksidan olarak isimlendirilirler ve patolojik ve fizyolojik süreçte canlılar tarafından üretilirler. Canlı organizmada kolaylıkla serbest radikal reaksiyonuna yol açabilirler (Fang ve ark., 2002; Halliwell ve Gutteridge, 1999; Pham-Huy ve ark., 2008; Valko ve ark., 2007).



**Şekil 2.1** Serbest Radikal Oluşumuna Neden Olan Faktörler (Erdoğan, 2014)

Reaktif oksijen türleri (ROT), hücrel metabolizma faaliyetleri sonucunda ve dış etkenler sebebi ile oluşan yüksek derecede reaktif moleküllerdir. Normalde hücredeki ROT seviyesi antioksidanlar ile denge halindedir. Fakat bazı faktörler çok fazla miktarda ROT üretimine sebep olur. Bunun sonucunda oksidatif stres, cilt yaşlanması, DNA hasarı, lipid peroksidasyonu, proteinler ve hücre membranlarının hasarı, kanserler, astım gibi birçok hastalık oluşmasına sebep olabilirler (Birben ve ark., 2012).

Reaktif oksijen türleri hücrede mitokondride üretilir. Elektron taşınması ve ATP sentezi sırasında elektronların bir kısmı sistemden sızar ve süperoksit anyon oluşturur. Ayrıca nötrofillerdeki NADPH oksidaz ve ksantin oksidaz,  $\text{O}_2$  oluşumuna katkıda bulunabilir. Süperoksit dismutaz enzimi, hücrel bileşenlerle reaksiyona giremeyen  $\text{O}_2$  yi  $\text{H}_2\text{O}_2$  ye dönüştürür. Bununla birlikte,  $\text{H}_2\text{O}_2$  ve geçiş metal iyonları

arasındaki etkileşim sonucu hidroksil (OH) radikali oluşur. Hidroksil radikali (OH<sup>•</sup>), ROT'un en aktif radikalleridir ve lipidler, DNA ve proteinler gibi birçok hücrenel bileşenle etkileşime girebilirler. Nötrofillerdeki glutatyon peroksidaz, katalaz ve miyeloperoksidaz, HOCl üreterek H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yi parçalarlar (Birben ve ark., 2012). ROT oluşumuna sebep olan faktörler, bazı ilaçlar, UV ışınları, ağır metaller (demir, nikel, kadmiyum, krom, civa gibi), çevre kirliliği, sigara tüketimi, pestisitler, radyasyondur (Mercan, 2004).

Normal şartlar altında canlı bir metabolizmada reaktif oksijen türleri ve antioksidanlar denge halindeyken fazla miktarda üretilen ROT dengenin kendi lehine değişmesine sebep olur. Bunun sonucunda oksidatif stres kaynaklı hastalıklar ortaya çıkar. Serbest radikallerin dengeyi bozacak oranda artmasıyla, endojen antioksidanlar yetersiz hale gelmekte ve eksojen antioksidanlara ihtiyaç duyulmaktadır. Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu durdurmak yada sebep oldukları hasarları önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak üzere vücutta işlev gören savunma sistemleri antioksidanlar olarak bilinmektedir. Antioksidanlar radikallerle hızlıca reaksiyona girerek, otooksidasyon ve peroksidasyonun ilerlemesini engeller. Ayrıca serbest radikallerin fazlasını etkisizleştirip, toksik etkilerine karşı hücreleri korurlar ve hastalık oluşmasına engel olurlar (Karabulu ve Gülay, 2016). İnsan vücudu enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemine sahiptir. Enzimatik antioksidanlar, oldukça güçlü serbest radikalleri H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ye ve suya parçalayabilirler. Bu enzimler, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve tiyoredoksin enzimleridir. Enzimatik olmayan antioksidanlar ise, vitaminler, biyoflavonoidler, karotenoidler, fenolik asitler, fizyolojik antioksidanlar ve sentetik antioksidanlardır (Nimse ve Pal, 2015).

## **2.5 Antiinflamatuvar Etki**

İnflamasyon, mikroorganizmalar veya toksinlerin hücreye zarar vermesini engelleme yada zarar görmüş hücrelerden nökrotik dokuların uzaklaştırılması, organizmanın devamlılığının sağlanması için koruyucu bir biyolojik savunma sistemidir (Ferrero ve ark., 2007). İnflamasyonda, kan damarları ve lökositler etkindir. Ayrıca vasküler ve sellüler reaksiyonlar, farklı hücreler tarafından üretilen veya bazı plazma proteinlerinden kaynaklanan mediatörler tarafından başlatılmaktadır. Toksinler, nekrotik hücreler, mikroorganizmalar, mekanik ve

kimyasal ajanlar inflamatuvar mediatörlerin salınmasına ve bu şekilde inflamasyon oluşmasına sebep olmaktadır (Goldman ve Schafer, 2012). Prostaglandinler, inflamasyon ve ağrı mediatörüdür. Prostaglandinler vücutta antikor üretimini azaltırlar, yara iyileşmesini durdururlar ve kanser oluşumuna sebep olabilmektedirler. Bu nedenle prostaglandinlerin inhibisyonu bağışıklığı artırmada ve tümörle mücadele için önemlidir. 2005 yılında Al-Waili tarafında yapılan bir çalışmada doğal balın plazma prostaglandin konsantrasyonunu düşürdüğü belirlenmiştir (Al-Waili, 2005). Bu nedenle yaralarda doğal bal pansumanlarını kullanılması, prostaglandin sentezini inhibe etmede etkili olabilir (Al-Waili ve ark., 2011; Ricciotti, 2011). Balın prostaglandin konsantrasyonu düşürmesi sonucunda bağışıklık artar ve yara iyileşme süreci hızlanır. İnfekte yaraların iyileşmesinde balın antibakteriyel etkisinin yanı sıra, lengositik ve fagositik aktivitenin bal tarafından stümüle edilmesi etkilidir (Mohapatra ve ark., 2011).

## 2.6 Enzimler

Enzimler canlı organizmalardaki kimyasal reaksiyonların hiçbir yan ürün oluşmadan %100'lük bir verimle hızlı bir şekilde gerçekleşmesini sağlayan biyolojik katalizör olarak bilinen moleküllerdir. Genel olarak enzimler protein yapısındadır (katalitik RNA moleküllerinin küçük bir grubu hariç). Enzimler canlı hücrelerdeki bütün kimyasal olaylarda etkindirler. Protein yapılarından dolayı enzimler DNA tarafından şifrelenmektedirler. Yani enzimler hücreye özgü bilgilerin DNA'dan aktarılmasında en önemli ajanlardır (Çankaya ve ark., 2007). Enzimler, olağanüstü katalizörlerdir. Katalizörler, tepkime hızını aktivasyon enerjisinin düşürülmesiyle artırırılar. Enzimlerin neden olduğu hız artışları  $10^5$ - $10^{17}$  büyüklüğündedir (Lehninger ve ark., 2005).

Enzimler geleneksel ve sistematik olmak üzere 2 farklı şekilde adlandırılır. Geleneksel adlandırmada amigdalın, pityalin, zimaz gibi enzim ile ilgisi olmayan farklı bir adlandırma tercih edilmiştir. Daha sonra sistematik adlandırmada bu karmaşa ortadan kalkmıştır. Etkili oldukları substratın sonuna -az eki getirilerek (peptidaz, kollegenaz, üreaz) veya katalizledikleri tepkimeyi tanımlayan (laktat dehidrogenaz, adenilat siklaz) isimler ile enzim özelliklerini belirtecek şekilde isimlendirme yapılmıştır. Sistematik adlandırmada, Uluslararası Enzim Komisyonu (EC) kararı ile enzimin katalizlediği tepkimeye göre isimlendirme yapılmasına karar

verilmiştir (Onat ve ark., 2006). Buna göre enzimler katalizledikleri tepkimelere göre altı ana gruba ayrılmıştır.

**Oksidoredüktazlar**, oksidaz, katalaz, oksijenaz ve redüktazlar gibi yükseltgenme-indirgenme tepkimelerini katalizleyen enzimlerdir. Peroksitleri parçalama, moleküle elektron transferi sağlama, molekülden proton uzaklaştırma gibi işlevlere sahiptirler.

**Transferazlar**, fonksiyonel grupları (H hariç) bir molekülden diğerine transfer ederler. Açıl transferazlar, glukozil transferazlar, karbontransferazlar gibi enzimler bu gruba dahil edilmektedir. Fosfat, açıl, aldehit-keton, amino gibi grupların moleküllerin arasında transferini sağlarlar.

**Hidrolazlar**, hidroliz tepkimelerini katalizleyen enzim grubudur. Bu grupta bulunan enzimler; peptidazlar, glukozidazlar, esterazlar ve ribonükleazlardır. Fosfat esterlerini, peptit bağlarını, ester bağlarını ve glikozidik bağları su katılması ile parçalarlar.

**Liyazlar**, C-C, C-S ve bazı C-N bağlarını parçalayan tepkimeleri kataliz ederler. Bu sınıftaki enzimlerin işlevleri arasında molekülden karbondioksit ayırma, molekülü parçalama, molekülden su çıkararak çift bağ oluşturma gibi aktiviteler sayılabilir.

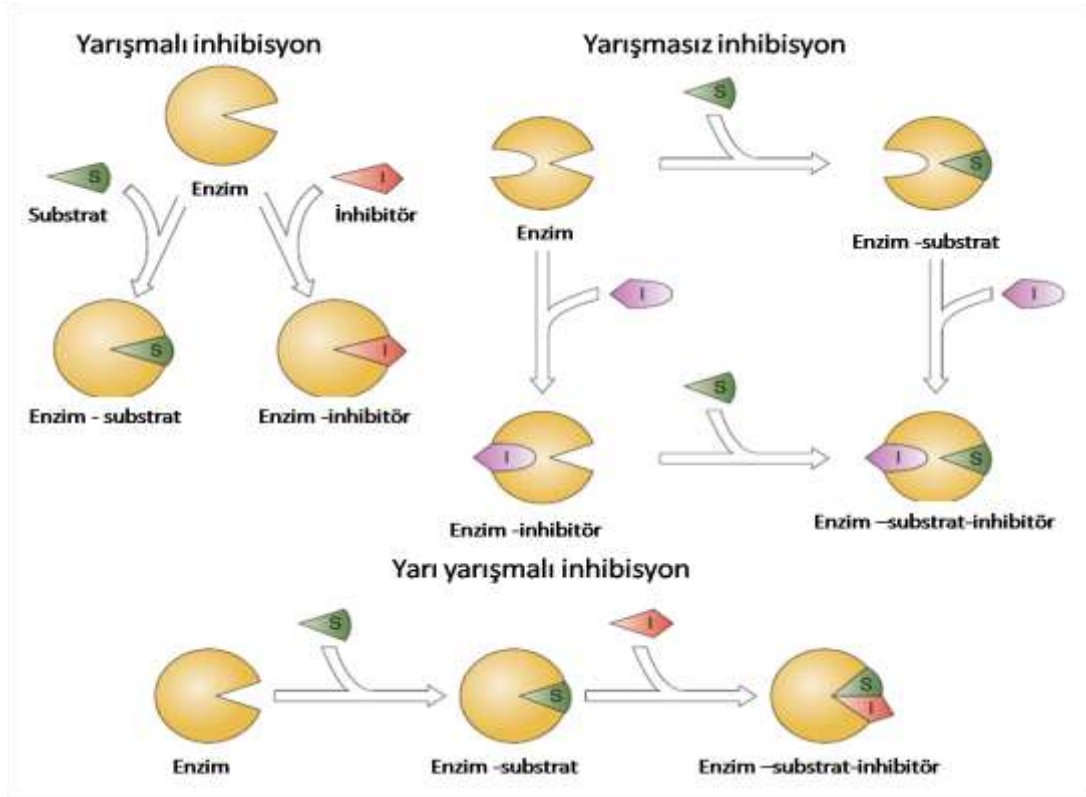
**İzomerazlar**, bir molekül içindeki geometrik, optik ve yapısal izomerizasyon dönüşümlerinde rol oynarlar. Rasemazlar-epimerazlar, cis-trans izomerazlar gibi farklı fonksiyona sahip olan türleri vardır. Bu türler sırasıyla; rasem ve epimer oluşumunu, cis-trans izomerlerinin oluşumunu katalizlerler.

**Ligazlar**, karbon, oksijen, azot ve kükürt atomları arasında yeni bağların oluşumunu kataliz ederler (Çankaya ve ark., 2007; Durmaz, 2015).

### 2.6.1 Enzim İnhibisyonu

Enzimin etkinliğini azaltan veya tamamen ortadan kaldıran maddelere inhibitör denir. İnhibitör maddeler genellikle küçük molekül ağırlıklı olmakla birlikte, reaksiyon hızını azaltıcı veya reaksiyonu tamamen durdurucu özelliklere sahiptirler (Altan, 2000). Enzim inhibisyonu dönüşümlü veya dönüşümsüz şekilde

gerçekleşebilir. Dönüşümsüz inhibitör enzime ya kovalent olarak bağlanır ya da ayrışması zor bir kompleks meydana getirir (Altınışık, 2009).



Şekil 2.2 Enzim İnhibisyonu Türlerinin Şekilsel Gösterimi (Anonim, 2020a)

### 2.6.1.1 Geri Dönüşümlü Enzim İnhibisyonu

Geri dönüşümlü enzim inhibisyonu; yarışmalı, yarışmasız ve yarı yarışmalı inhibisyon olmak üzere üç farklı şekilde gerçekleşir. Yarışmalı inhibisyonda inhibitör madde enzimin aktif bölgesine bağlanarak substrat ile enzimin birleşmesini engeller. Bunun sonucunda enzimin katalitik etkinliği azalır. Suksinat dehidrojenazın malonik asit ile inhibisyonunu örnek verebiliriz. Normalde suksinik asitin kolaylıkla fumarik aside dönüşmesi mümkünken, ortamda malonik asitin bulunması bu dönüşümü yavaşlatır. Eğer substrat konsantrasyonu artırılırsa inhibitör etkisi azaltılabilir. Ters şekilde inhibitör konsantrasyonu fazla olursa enzimin substrata ilgisi azalır.

Yarışmasız inhibisyonda hem substrat hem inhibitör madde enzimin herhangi bir bölgesine aynı anda bağlanır. İnhibitör madde enzimin aktif bölgesine bağlanmasa bile enzimin substratla reaksiyona girmesini yavaşlatır. Bu şekilde inhibitör madde enzimde bulunan fonksiyonel grupların yapısını bozmadan

dönüşümlü bir şekilde birleşir. Bazı enzimlerde (-SH grubu içeren) inhibitör madde olarak metal iyonları aktif bölgeye bağlanır ve katalitik etkinliğini azaltır.

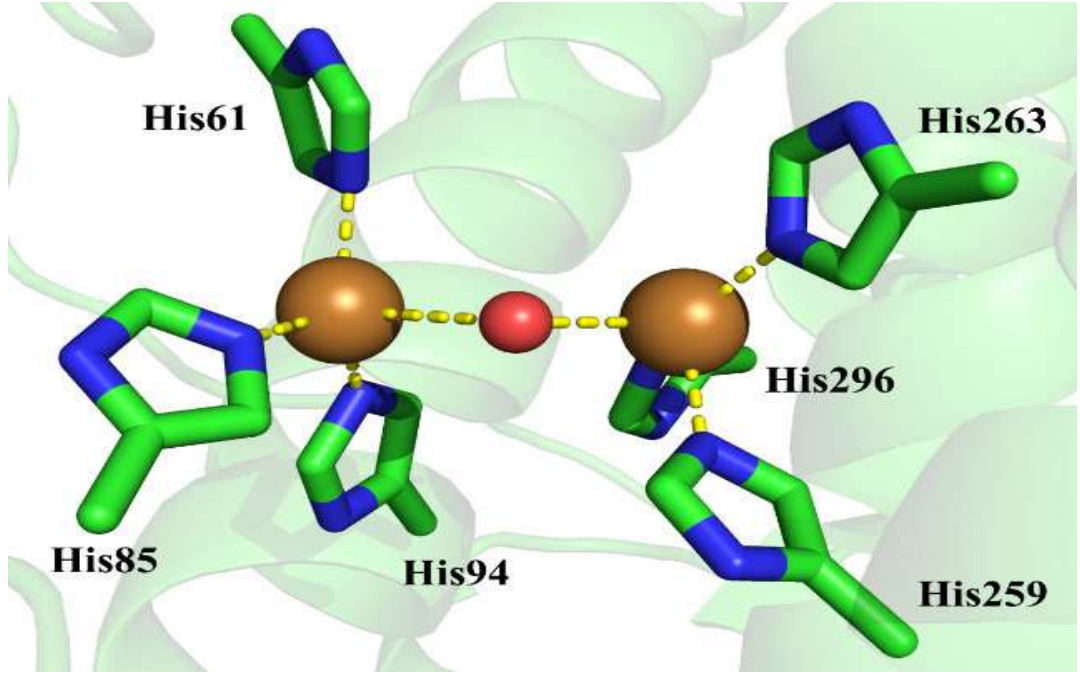
Yarı yarışmalı inhibisyon durumunda inhibitör madde substrat enzime bağlandıktan sonra aktif bölge dışında bir kısma dönüşümlü bağlanarak enzimi inaktive etmesi prensibiyle aslında yarışmasız inhibisyon ile benzerlik göstermektedir (Bingöl, 1977).

#### **2.6.1.2 Geri dönüşümsüz Enzim İnhibisyonu**

İnhibitör madde enzim üzerinde bulunan ve aktivasyonu sağlayan fonksiyonel grupla geri dönüşümsüz olarak birleşir. İnhibitor madde aktif bölge ile kovalent bağlı olarak birleştiğinden enzim yapısı bozulur ve bu nedenle geri dönüşüm mümkün olmaz. Sinir gazı diizopropil fosfluoridat, asetil kolin nörotransmittörünü parçalayan asetilkolin estera z enziminin dönüşümsüz inhibitörüdür (Altınışik, 2009).

#### **2.6.2 Tirosinaz**

Tirosinazlar (monofenol, *o*-difenol: oksijen oksidoredüktaz, EC 1.14.18.1, saç, cilt, göz ve diş etinde bulunan melanin pigmentinin biyosentezinden sorumlu bakır içeren enzimlerdir (Halaouli ve ark., 2006). Enzimin aktif bölgesindeki bakır molekülü iyi korunan altı veya yedi histidine bağlıdır. Tek bir sistein ucu boşta dır (Mayer, 2006). Temel olarak, bakteri (*B. megaterium* ve *S. castaneoglobisporus*), mantar (*Aspegilus oryzae* ve *A. bisporus*) ve bitki (*Juglans regia*) dahil olmak üzere farklı kaynaklardan elde edilen tirosinaz yapıları merkezi alan, N-terminal alan ve transmembran alanı olmak üzere üç bölümden oluşmaktadır. Merkezi alanda, oksijenlerle bağlanan iki bakır iyonu vardır ve her bir bakır iyonu, sistein ve histidin kalıntıları arasında oluşan bir disülfid bağı sayesinde aktif bölgenin kararlılığı için gerekli olan üç tane korunmuş histidin kalıntısına bağlanır (van Gelder ve ark., 1997).



**Şekil 2.3** *Agaricus bisporus* Mantar Tirozinazının Kristal Yapısının Aktif Bölgesi (Protein Veri Bankası, PDB ID 2Y9W). Histidin kalıntılarının yan zincirleri çubuk olarak, bakır iyonları ve köprü oksijeni küreler şeklinde gösterilmiştir. Bu çalışmadaki mod sistemi çubuk ve küre temsillerindeki atomlar tarafından tanımlanmıştır. Karbon, nitrojen, oksijen ve bakır atomları sırasıyla yeşil, mavi, kırmızı ve kahverengiyle renklendirilmiştir (Zou ve ark., 2017).

Bourquelot ve Bertrand'ın *Russla foetens* ve *Rhizopus nigricans* mantarlarının oksidasyon sırasında önceki gözlemlerin aksine mavi renge değil, kırmızıya ve ardından koyu kahverengiye veya siyaha dönüştüğünü gözlemlemesiyle tirozinaz keşfedilmiştir (Bourquelot ve Bertrand, 1895). Daha sonra tirozin maddesi *R.nigricanstan* izole edildi ve melanin öncüsü olduğu kanıtlandı. Tirozinin oksidasyonundan sorumlu olan olan bu enzime tirozinaz adı verildi (Bertrand, 1896). Farklı tirozinaz yapıları için birçok kaynak yayınlandı. İlk yapısı bakteriyal *Streptomyces castaneoglobisporus* 2006 yılında, daha sonra 2011 yılında *Bacillus* bakteriyal enziminin yapıları *Agaricus bisporus* kaynaklı megaterium ve fungal mantar enzimi ortaya çıktı (Matoba ve ark., 2006; Ismaya ve ark., 2011; Sendovski ve ark., 2011). Bununla birlikte N-bağlı karbonhidratların esnekliği ve heterojenliği, saf ve rekombinant kaynaklardaki tirozinazı izole etmedeki zorluk nedeniyle insan tirozinazının yüksek çözünürlüklü yapısı henüz bildirilmemiştir (Lai ve ark., 2016). Saf protein bulunmaması, enzim kinetiği ve katalitik mekanizma çalışmaları için temel kısıtlamadır (Lai ve ark., 2018). Bitkiler, bakteriler ve mantarlardan birçok



tirosinaz izole edilmiş fakat bunlardan bazıları iyi karakterize edilmiştir. İyi karakterize edilen tirosinazlar arasında *A.bisporustan* elde edilen PPO<sub>3</sub> ün kristal yapısı diğer tirosinazlarla önemli enzimatik çekirdek bölgesi benzerliğinden dolayı en popüler olanıdır (Ismaya ve ark., 2011; Seo ve ark., 2003). Ayrıca mantar tirosinazının doğal maddelerden elde edilmesi nispeten kolaydır. *Agaris bisporus* kaynaklı tirosinaz genellikle tetrametrik olarak bulunur. Molekül ağırlığı 120 kDa dır.

Anormal melanin eksikliği, insanlarda albinizm gibi ciddi sağlık problemlerine neden olurken, aşırı melanin birikmesi de hiperpigmentasyon, melenoma sebep olur (Cestari ve ark., 2014). Tirosinaz melanin üretimi için sınırlayıcı enzimdir. Çünkü sonraki adımlar fizyolojik pH da kendiliğinden meydana gelebilir (Pillaiyar ve ark., 2017). Sonuç olarak meyve ve sebzelerde istenmeyen kahverengileşme sebebiyle tarımsal amaçla ve insanlarda hiperpigmentasyon bozukluklarının tedavisi için tirosinaz inhibitörlerinin geliştirilmesi önemlidir. Son birkaç yılda güçlü doğal tirosinaz inhibitörleri (askorbik asit, sülfatlar, flavanoidler) ve sentetik inhibitörler keşfedilmiş ve biyoaktiviteleri değerlendirilmiştir. Tirosinaz oksidaz sınıfı enzim olduğundan inhibitörlerinin de antioksidan etkiye sahip oldukları kanıtlanmıştır. 2008 yılında Chan ve arkadaşları zencefil yaprakları ve saplarından elde edilen özütün hem anti-tirosinaz, hemde antioksidan aktivite gösterdiğini gözlemlemiştir (Chan ve ark., 2008). Aynı aktivite *Lentinus lepideus* bitkisinde de gözlenmiştir (Yoon ve ark., 2011). Tirosinaz inhibitörleri belirli tümörleri tedavi etmek amacıyla umut vaad etmektedir. Örneğin, *Blumea balsamiferadan* elde edilen flavanoidler, ağız boşluğu, göğüs ve küçük akciğer kanserine karşı antikanser aktivite göstermiştir. Ayrıca Oh ve arkadaşları, murin melanomun tirosinaz aktivitesinin inhibisyonu ile baskılanabileceğini bulmuşlardır (Oh ve ark., 2017). Son zamanlarda araştırmacılar, hidroksi sinamoilamidlerin tirosinaz aktivitesini inhibe ederek Parkinson hastalığı tedavisi için güçlü bir ajan olabileceğini bildirmişlerdir (Georgiev ve ark., 2013; Feng ve ark., 2019).

### 2.6.3 Elastazlar

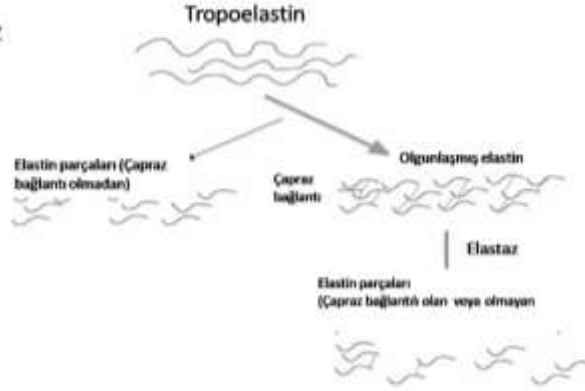
Elastazlar (E.C.3.4.21.36) omurgalı dokularında özellikle akciğer, arter, cilt ve ligamentlerinde bol bulunan ve önemli bir bağ doku proteini olan elastini ayıran bir grup serin proteazlardır. Bu proteazlar, pankreatik elaztaz, makrofaj elastaz, nötrofil elastaz (lökosit elastaz) ve fibroblast elastazdan oluşmaktadır. Cildin esneklik ve sağlamlığından sorumlu olan dermis tabakası cildin orta kısmında bulunur ve bağ doku elamanlarından oluşur. Bağ dokunun ana elamanları olan elastin ve kollajenin, elastaz ve kollajenaz enzimleri tarafından parçalanması sonucu cilt yaşlanması meydana gelir ve kırışıklar oluşur (Şenol ve ark., 2016). Elastaz aktivitesi yaşla birlikte artmaktadır ve bu durum cilt elastikiyetinin azalmasına ve sarkmalara neden olur. Bu enzimin inhibisyonu hem cilt yaşlanmasının önlenmesi açısından hem de bağ doku hastalıkları üzerinde olumlu etkileri nedeniyle oldukça önemlidir (Bode ve ark., 1989; Tsuji ve ark., 2001).

Yaklaşık molekül ağırlığı 68 kDa olan elastin yaklaşık 750 aminoasit kalıntısından oluşur. Yapısal bir protein olan elastin fibroplast hücreleri tarafından üretilen elastik bağ dokunun en önemli fibriler skleroproteinidir. Elastin proteini iki kısımdan oluşmaktadır:

1. Hidrofobik Kısım: Molekülün esneklik özelliğinden sorumludur.
2. Alfa-Heliksidal Kısım: Çapraz bağların oluşumunu sağlayan lizin ve alanin amino asitlerini ihtiva eden bölümdür (Anonim, 2013).

Elastin, elastaz enzimi ile yıkılır. Proelastaz pankreastan salgılanır ve tripsin ile aktive edilerek elastaza dönüştürülür. Elastaz özellikle elastin için proteolitik bir proteazdır. Valin ile alanin gibi alifatik aminoasitlerin karboksil ucundan molekülü parçalayarak, desmozin ve izodesmozin içeren çapraz bağlı peptitler oluşturur. Pepsin ile yavaş hidroliz olan elastin, tripsin ve kimotripsin ile parçalanmaz (Altınışık, 2011).

- Makrofaj elastaz
- Pankreatik elastaz
- Nötrofil elastaz



**Şekil 2.4** Elastinin Yıkım Aşamaları (Tektemur, 2020)

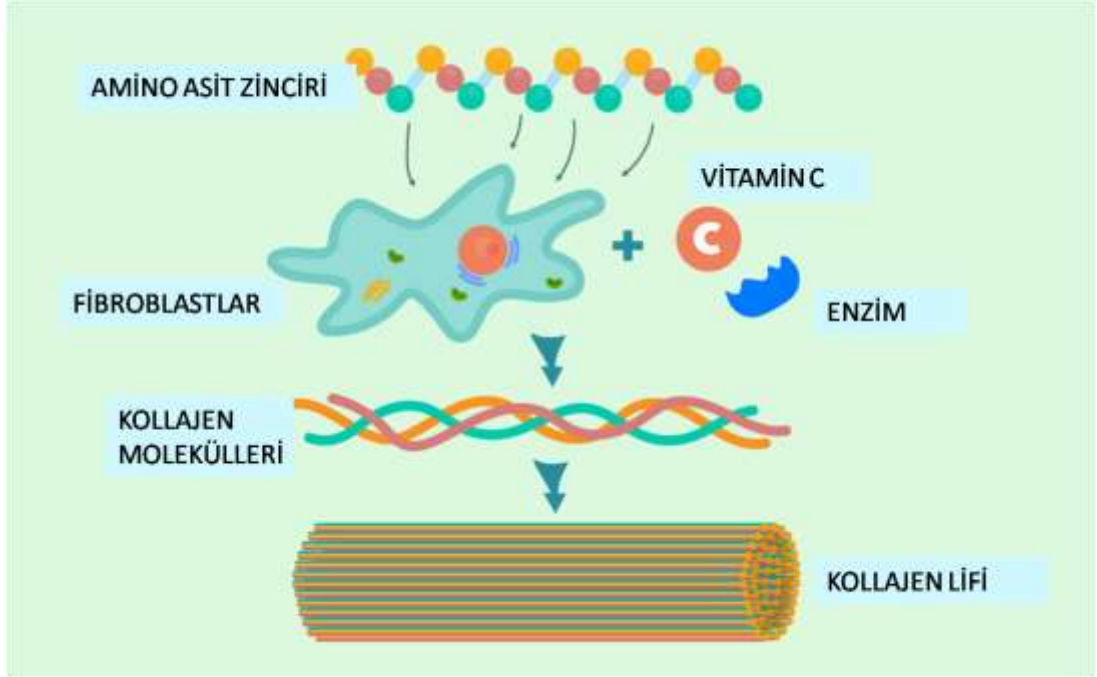
Elastinin bozulması ya da olmaması çeşitli hastalıklara sebep olur. Bu hastalıklardan birisi Williams Sendromudur (Kaya, 2019). Diğer bir hastalık Alfa antripsin eksikliğidir. Marfan sendromu ise kusurlu FBN1 geninin neden olduğu bir bağ dokusu genetik hastalığıdır (Anonim, 2014a).

#### 2.6.4 Kollajenaz

EC numarası 3.4.24.3 olan kollajenaz enzimi, sahip olduğu bu numaradan da anlaşılacağı gibi hidrolaz sınıfı ve bir alt sınıf olarak da proteaz sınıfına dâhil olan bir enzimdir. Proteazların da alt sınıfı olan matriks metalloproteaz sınıfı bir enzimdir (Pasternak ve Asperbeng, 2009).

Kollajenaz enzimi, hayvan bağ dokusunun temel lifli bileşeni olan doğal kollajeni parçalayan ve üçlü heliks yapıda olan endopeptidazlardır. Bakteriyel kollejenazlar, yüksek substrat seçimliliği ile omurgalılardan farklılık gösterirler. Bakteriyel kollajenazların bir diğer özelliği, tüm kollajen tiplerini parçalayabilirler. Ayrıca üçlü sarmal yapıdaki kollajeni de birkaç kez parçalayabilirler. Türlerine göre farklılık göstermekle birlikte yaklaşık molekül ağırlıkları 50-60 kDa arasında değişebilir (Mookhtiar ve Van Wart, 1992).

Hücre dışı matriksin ana bileşeni olan ve insan vücudunda en bol bulunan kollajen canlı hücrelerde birçok işleve sahiptir. Bugüne kadar 29 farklı kollajen tipi keşfedilmiş ve yapılarının üçlü sarmal olduğu belirlenmiştir. Kollajen çeşitleri (tip I, II, III, V ve XI) kollajen liflerine bağlı olarak oluşmuştur (Berth, 2010).



**Şekil 2.5** Kollajen Liflerinin Oluşumu (Anonim, 2020b)

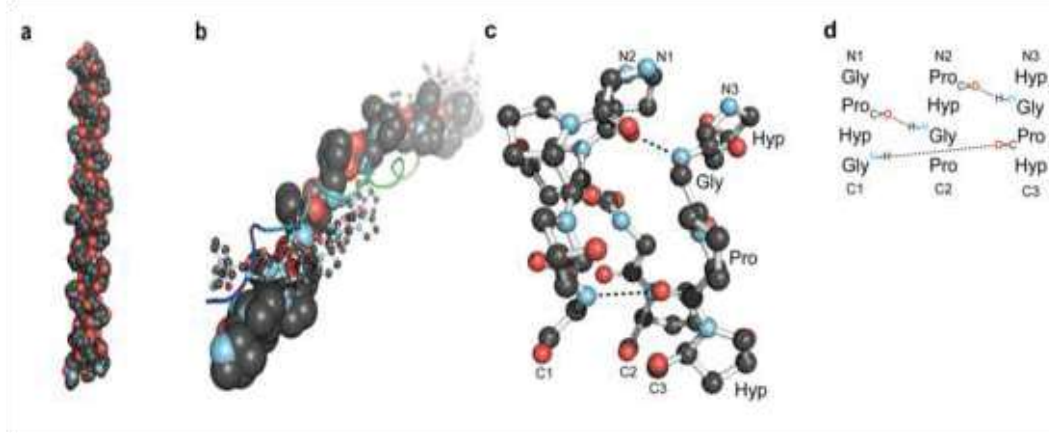
Kollajenaz I (interstiyel kollajenaz): Matriks metalloproteaz grubunun prototipik üyesidir. Tip I, Tip II, Tip III interstiyel kollajeni parçalayan enzimlerdir. Ayrıca tip V ve tip X kollajenlerinin yıkılmasında aktif rol alırlar.

Kollajenaz II (Nötrofil kollajenaz): Tip I, Tip II ve Tip III interstiyel kollajeni yıkar. İnterstiyel kollajenazda olmayan altı glikolizasyon sahası vardır ve bu nedenle artmış glikolizasyondan sorumludur.

Kollajenaz III: Tip I kollajeni yıkar (Pasternak ve Asperbeng, 2009).

Bağ doku tendonları, kıkırdak, deri ve kemiğin yapısında yer alan kollajen insan ve hayvanlarda en çok bulunan proteindir (Uleryi ve ark., 2011). Esas görevi dokuya esneklik sağlamak, doku sürekliliği ve yenilenmesini sağlamaktır (Uzunalan, 2011).

Kollajenin temel bileşenleri; %35.5 glisin, %12 prolin, %10 hidroksprolindir. Ayrıca yapısında az miktarda lizin ve hidroktilizin de yer almaktadır (Emin, 2006). Temel kollajen molekülü her biri birden fazla aminoasit içeren üç polipeptit zincirinden oluşmaktadır (Berth, 2010; Emin, 2006).



**Şekil 2.6** Kollajenin Üçlü Sarmal Yapısı (Bella, 1994; Berisio, 2002)

Üç polipeptit zincirinden oluşan üçlü sarmal yapıdaki kollajen, ECM'nin (ekstrasellüler matriks) ayrılmaz yapısal bir bileşenidir, yara iyileşme sürecinin tüm aşamalarında etkindir ve tüm bağ dokularının temel yapısal ögesidir (Gelse ve ark., 2003). İnsan sağlığı ve yaşlanmaya bağlı bozukluklarla ilgilidir (Baumann, 2007a; Tobin, 2017). İnsanlarda kollajen bozulması, matriks metaloproteinazlar (MMP) ailesinin bir üyesi olan kollajenaz adı verilen bir proteolitik enzim aktivasyonu ile başlar. Ayrıca oksidatif stres, kollajen sentezinde bir azalmaya veya kollajenazların aktivasyonu yoluyla kollajen bozulmasına sebep olabilir. Bu nedenle cilt yaşlanmasının engellenmesi ile ilgili birçok çalışma, kollajenaz sentezinin engellenmesi ve kollajen üretimindeki artışla birlikte antioksidan aktiviteler üzerine çalışılmaktadır (Ganceviciene ve ark., 2012).

## 2.7 Kozmetikler

Kelime olarak kökeni Yunancada ziynet, süs anlamına gelen kosmea ve süslenmekte usta anlamına gelen kozmetikos kelimelerine dayanmaktadır. Kozmetik ürünler insan vücudunda epiderma, saçlar, kıllar, dudaklar, dişler, tırnaklar, dış genital organlar ve ağız mukozası gibi çeşitli organlara uygulanmak üzere bakım, koruma, temizleme, güzel koku vermek, görüntüyü değiştirme gibi amaçlarla kullanılan preparatlardır (Çomoğlu, 2012; Güven, 2008). Avrupa'da 2017 yılında 4116 kişi ile yapılan bir anket sonucuna göre insanların %71'i kozmetik ürünleri yaşamın vazgeçilmez bir unsuru olarak ifade etmişlerdir. %74'lük kısım ise kozmetik ürünleri yaşam kalitesini artıran bir ürün olarak tanımlamıştır. %80'lik bir grup da kozmetiklerin özsaygının artmasında çok önemli olduğunu düşünmesi, kozmetik ve kişisel bakım ürünlerinin sosyal etkileşimleri geliştirmede önemli olduğunu

desteklemektedir. Bu algı gençlerden yaşlılara kadar olan geniş bir kesimi kapsamaktadır (Kuzgun, 2018).

Bütün dünyada bitkisel ürün kullanımına geri dönüş eğilimi gün geçtikçe artmaktadır. Kozmetik endüstrisinde de büyüyen talebi karşılamaya yönelik çalışmalar her geçen gün artmaktadır (Joshi ve Pawar, 2015). Doğal bitkiler ve onların ürünleri aromatik değerlerinden dolayı kozmetik preparatlarda kullanılınca bitkisel kozmetikler olarak adlandırılır. Bitkisel kozmetikler, cilt fonksiyonlarını etkileyen, sağlıklı bir cilt veya saç için besleyici özellik gösteren bitkisel kaynaklardan elde edilen fitokimyasallar içeren preparatlardır (Fathima ve ark., 2011).

### **2.7.1 Kozmetik Ürünlerde Kullanılan Bazı Doğal Bileşenler**

Tıbbi bitkiler içerdikleri bol miktarda biyoaktif bileşen ve daha az yan etki sebebiyle kozmetik sektöründe büyük önem kazanmıştır (Batubara ve Prastya, 2020). Son zamanlarda, bitkilerdeki bileşenlerin cilt ve ağız sağlığını koruyup iyileştirebildikleri gözlemlenmiştir. Sentetik kozmetik ürünler ile kıyaslandığında bitki bileşikler hafiftir, biyolojik olarak parçalanabilir, yan etkileri çok azdır ve çeşitli biyolojik ve terapötik aktivitelere sahiptir (Abdullah ve Nasreen, 2012). Yüzyıllardır şifalı bitkiler dünya çapında kullanılmaktadır. Ayurveda, Çin ve Kore tıbbında bazı kuruluşlar sağlık, kozmetik ve ağız sağlığının korunması gibi alanlarda şifalı bitkileri kullanarak sayısız başarı elde etmişlerdir (Karygianni ve ark., 2016). Kozmetik formülasyonlarda doğal bileşenlerden beklenen etkiler, antioksidan etki, kırışık önleme ve kollajen takviyesidir (Thomas ve Kim, 2013). Doğal bileşenlerin en önemli kriteri ise serbest radikallere karşı antioksidan etki, glikasyon üretimine karşı anti-glikasyon, kırışık önleme, UV radyasyona karşı foto-koruma, nemlendirme, anti-akne aktivitesi ve cilt beyazlatma gibi etkilerdir (Anunciato ve Filho, 2012).

Kozmetik endüstrisinde kullanılan doğal kaynaklardan birisi çaydır. Çay bitkisinin cildi UV radyasyonuna karşı koruma etkisi vardır. Ayrıca çay taneleri antioksidan, antiviral, antibakteriyel, antialerjenik ve antiseptik özelliklere sahiptir (Aburjai ve Natsheh, 2003).

Baobab ve aloe vera cilt için en önemli bileşenlerdendir. Bu ürünler yaşlanma karşıtı krem ve losyonlarda kullanılır. Cilde canlılık verir, ölü hücreleri

uzaklaştırır ve cildi yumuşak bir görünüme kavuştururlar (Athar ve Nasir, 2005; Torun, 2013; Kole, 2005).

Cadı findığı ve Hint yağı akne, güneş yanığı, derideki çatlaklar gibi cilt problemlerinde tedavi edici ürünlerin bileşiminde kullanılır. Cilde canlılık ve yumuşaklık sağlarlar. Cadı findığı antiinflamatuvar özellik gösterir. Hint yağı esansiyel omega 6 yağ asitlerini içerir ve yara temizlemede dezenfektan özellik gösterir (Heinrich ve ark., 2004; Aburjai ve Natsheh, 2003).

Üzüm ve safran bitkileri doğal tirozinaz enzim inhibitörleridir. Üzüm ayrıca doğal kollajen üretimini artırır, elastini bozulmadan korur. Safran ise melanojenez azaltır, ciltte yaşlanma karşıtı etki meydana getirir. Her iki bitki de güçlü antioksidan etkiye sahiptir. Cilt beyazlatıcı ajanlarda ve yaşlanma karşıtı ürünlerde kullanılırlar (Akhtar ve ark., 2014; Torun, 2013).

Zerdeçal ve kızıl yonca egzama tedavisinde kullanılan ürünlerdir. Güneş maruziyeti durumlarında cildi UV hasarına karşı korurlar. Bu etkilerinden dolayı güneş kremlerinde kullanılırlar. Ayrıca zerdeçal güneş yanıkları sonucu oluşan cilt yaşlanmasını tedavi amaçlı da kullanılmaktadır (Aburjai ve Natsheh, 2003; Zaman ve Akhtar, 2013).

Yer fıstığı ve güne bakan linoleik asit bakımından zengin bitkiler olup güneş kremlerinde sıklıkla tercih edilirler. Ayrıca esansiyel yağ eksikliği olan hastalarda ciltteki pullu lezyon görünümünü elimine etmeye yardımcı olurlar (Aburjai ve Natsheh, 2003; Athar ve Nasir, 2005).

Ginseng, yaşlanma karşıtı ürünlerde önemli bir bileşendir. Ciltte keratanizasyonu azaltır ve cilt rengini açmada kullanılır. Ginseng ve biberiyenin kan dolaşımını hızlandırıcı ve vücutta oluşan fazla ödemleri atıcı etkileri de vardır (Aburjai ve Natsheh, 2003; Tekatlı, 2014). Jojobanın en önemli etkisi iltihap giderici özelliğidir. Oksidasyona karşı cildi korur. Akne ve sedef hastalığı tedavilerinde olumlu sonuçlar verdiği bilinmektedir (Torun, 2013).

Argan ve sarımsak, saç için en faydalı bileşenlerdir. Saç bakım ürünlerinde kepek oluşumunu ve saçın sağlıklı bir şekilde büyümesini destekleyici ürünlerdir. Argan saçlarda protein kaybını azalttığı gibi, yaşlanma karşıtı ürünlerde de olumlu sonuçlar vermiştir (Guillaume ve Charrouf, 2011; Tekatlı, 2014).

Demirhindi ve tatlı badem cilt için doğal temizleyici ürünlerdir. Demirhindi tohumları antioksidan etki gösterir ve radikal temizleyicidirler. Tatlı badem cildi UV hasarına karşı korur, güneş kremleri ve cilt beyazlatıcı ürünlerde kullanılır (Fathima ve ark., 2011; Patel ve ark., 2013).

### **2.7.2 Kozmetiklerde Kollajenaz ve Elastaz Enzim İnhibisyonunun Önemi**

Kollajen, insan vücudundaki konjonktif ve bağ dokularının lifli bir proteindir. Kollajen cilt yapısını korumanın yanı sıra cilde elastikiyet kazandırır ve cilt nemini dengeler (Aguirre ve ark., 2020; Kim ve ark., 2020). Bu nedenle kollajen bozulmasını önlemek kozmetik endüstrisinde genç cildi korumanın etkili bir yoludur (Rohani ve Park., 2015). Kollajenaz, kollajenin bölünmesinde sorumlu enzimdir ve hücre dışı matriksin yeniden modellenmesi ve özellikle yaralı ciltte keratinositlerin göçünü kolaylaştırır. Ancak UV ışığı ile kollajenazın indikasyonu, ciltte fotoyaşlanmanın ana sebebidir (Pittayapruek ve ark., 2016).

Günümüzde kozmetik sektöründe yaşlanma karşıtı olarak tavsiye edilen ürünlerin pek çoğunun içeriğinde kollajen veya elastin yer almaktadır (Trelles, 2006). Yaşlı deride kırışıklıklar yüzeysel epidermiste olabildiği gibi, dermisteki kollajen veya elastin tahribatı sonucu da olabilmektedir (Vedamurthy, 2006). Nemlendiriciler, hücre yenileyici ve onarıcılar, antioksidanlar, dermiste onarım sağlayanlar, kollajen sentezini artırarak deri elastikiyetini artıranlar ve fotoyaşlanmayı önleyenler yaşlanma karşıtı ürün olarak bilinirler. Temel olarak yaşlanma karşıtı maddeler antioksidanlar ve hücre düzenleyici maddelerdir. Vitaminler, polifenoller ve flavanoidler gibi antioksidan etki gösteren maddeler, dokulardaki serbest radikalleri elimine ederek kollajen paraçalanmasını azaltmaktadırlar. Hücre düzenleyicisi olan retinoller, peptitler ve büyüme faktörleri ise, kollajen metabolizması üzerinde doğrudan etkin olup kollajen üretimini artırmaktadırlar. Vitamin C, B3 ve E düşük molekül ağırlıkları sayesinde hücreye kolaylıkla girebilen önemli antioksidan maddelerdir (Bissett ve ark., 2004). %5-15 konsantrasyonlarında Vitamin C yaşlanma karşıtı olarak kullanılmaktadır. Tip I ve Tip III kollajenin üretimi arttığında aynı zamanda kollajenaz enzim üretimi azalmaktadır. Vitamin C, E vitamini ile kombine kullanıldığında etkisi artmaktadır. Vitamin B3 %5 konsantrasyonda yaşlanma karşıtı etki göstermektedir (Draelos, 2007). %2-20 konsantrasyonda yaşlanma karşıtı olarak etki göstermekte olan vitamin



E, vitamin C kadar güçlü bir antioksidan değildir. Foto hasara karşı cildi korumak ve nem dengesi için kullanılmaktadır. Nikotinamid (B3) ile yapılan bir çalışmada transepidermal su kaybının azaldığı ve bu nedenle kronik yaşlanmaya karşı kullanılabilceği keşfedilmiştir (Chiu ve Kimbal, 2003). Retinol ve türevleri yaşlanma karşıtı olarak en çok tercih edilen ürünlerdir. Güçlü bir antioksidan olan ve kollajen sentezini arttırıp, kollejenaz enzimini inhibe ettiği bilinen retinolün hücre metabolizması üzerinde olumlu etkileri vardır (Kâfi ve ark., 2007; Varani ve ark., 2000). Retinol ile yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar sonucunda sert ve kuru ciltler üzerinde kollajen ve glikozaminoglikan sentezini arttırdığı, hücre rejenerasyonunu olumlu yönde değiştirdiği, epitelium dokuların korunmasında etkili olduğu kanıtlanmıştır (Darlenski ve ark., 2010; Chasteen ve ark., 2011).

### **2.7.3 Kozmetiklerde Tirosinaz Enzim İnhibisyonunun Önemi**

Melanin, deri foto kanserine karşı önemli bir koruyucu olsa da fazla miktarda melanin ciltte hiperpigmentasyona sebep olmaktadır. Tirosinaz inhibitörleri melanin pigmentasyonu ile ilgili deri bozukluklarını tedavi etmek amacıyla kullanılabilir, ayrıca cilt beyazlatma etkileri de kozmetik için önemlidir. Melanin biyosentezi UV maruziyetinin engellenmesi, tirosinazın inhibisyonu, melanosit metabolizmasının inhibisyonu ve proliferasyonu yollarıyla önlenabilir (Calay, 2010).

Melanin biyosentezi *in vivo* tirosinaz enzimi ile katalize edilen tirozin hidroksilasyonu ile başlatılan bir dizi biyokimyasal reaksiyonu oluşturur. Tirosinaz, melanin biyosentezinin bir dizi reaksiyonunda etkindir. Bu nedenle, tirozinaz aktivitesinin kontrolü ile aynı zamanda üretilen melanin miktarı da kontrol edilmiş olur (Menter ve ark., 2010). Fazla miktarda tirosinaz ciltte çil, melazma, lentigo, senilis, yaşlılık lekeleri ve bazı melonomlar gibi cilt bozukluklarına sebep olabilir (Bang ve ark., 2018). Tirozinaz enziminin inhibisyonu ile bu cilt bozuklukları tedavi edilebilir. Kozmetik endüstrisinde kojik asit, arbutin, kateşinler, hidrokinon (HQ), azelaik asit, tropolon ve 1-fenil-2-tiyöüre (PTU) gibi sentetik tirosinaz inhibitörleri kullanılmaktadır. Ancak ciltte eritem ve kontakt dermatit gibi yan etkilere sebep olabilmektedirler (Solano ve ark., 2005). Bu nedenle melanojeneze karşı doğal tirosinaz inhibitör kaynaklarının geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır.

## 2.8 Kozmesötikler

Kozmesötik terimi kozmetik ile farmasötik kelimelerinden türetilmiş olup, bu iki kategori arasında yer alan cilt bakım ürünlerini karşılamayı amaçlamaktadır. Kozmesötikler, insan vücudunun görünümünü koruyan veya iyileştiren, yaşlanma karşıtı, nemlendirici gibi özelliklere sahip, ilaç benzeri etkin maddeler içeren kozmetik ürünlerdir. Kozmesötik terimi ilk kez Kligman tarafından kullanılmıştır (Griffiths, 2010). Hasar görmüş veya yaşlanmış bir cildin görünümünün iyileştirilmesi, kozmesötiklerin kozmetik ve tıp alanlarını buluşturan en önemli fonksiyonlarından biridir (Rinaldi, 2008).

Kozmetik ürünler ile kozmesötik ürünlerin en belirgin farkı uygulanan bölgenin yapı ve fonksiyonlarını değiştirmemesi, yani etkisinin yüzeysel olmasıdır. Kozmesötik maddeler ise, deri ve deriye bağlı oluşumların yapısını belirli bir dereceye kadar fizyolojik etki ile olumlu yönde değiştiren kozmetik etki gösteren preparatlardır (Muñoz, 2017).

Kozmesötik, aktif kozmetik, dermakozmetik, dermafarmasötik gibi ifadelerle eşdeğerdir. Kozmesötik maddeler FDA (Food and Drug Administration) tarafından sınıflandırılmamıştır. Kore ve Japonya'da aktif kozmetik olarak ifade edilmektedir. Kozmesötik maddelerin ilaç veya kozmetik olarak sınıflandırılması karışıklıklara neden olmuştur (Lohani ve ark., 2014; Hekimoğlu, 2017 ; Muñoz, 2017).

Kozmesötikler, fitokimyasallar, enzimler, antioksidanlar, vitaminler ve esansiyel yağlar gibi etkin maddeleri içermektedir. Kozmesötiklerin cilt üzerindeki etkinliği, etkin maddenin bütünlüğünü koruyabilen ve biyolojik olarak aktif formunu hedef bölgeye ulaştıran krem, losyon ve benzeri bir taşıyıcı içerisinde miktarca uygun şekilde hazırlanmasına bağlıdır (Draelos, 2011; Kim ve ark., 2008). Kişisel bakım endüstrisinin en hızlı büyüyen kısmı kozmesötikler hiperpigmentasyon, yaşlanma ve kırışıklık karşıtı ürünler dahil olmak üzere, cilt, vücut ve saç için geniş çeşitlilikte ürünleri de kapsamaktadır (Lohani ve ark., 2014). En çok kullanılan kozmesötik ürünler, kırışıklık oluşumunu azaltanlar, yaşlanma karşıtı ürünler, cilt beyazlatıcılar, antioksidanlar ve hücre yenileyicilerdir (Wanjari, 2015).

### 2.8.1 Kozmesötiklerde Kullanılan Bazı Doğal Bileşenler

Bitkisel kaynaklardan elde edilen kozmetik ürünler ve doğal içerikli sağlıklı ürünler büyük talep görmektedir. Cilt fizyolojisi ve yaşlanmanın sebeplerinin belirlenmesi, kimyasal manipülasyonu yeniden kazanma ve cilt sağlığını koruma kozmetik endüstrisinde belirlenen biyokimyasal hedeflerdir. Bitkiler, orjinal sağlıklı cildi ve dış görünümü değiştirebilen veya geri getirebilen fitokimyasallar içerir. Güneşten korunma, yaşlanma karşıtı, kırışıklık önleyici, oksidan ve alerji gibi özel hedeflere sahip kozmetik formülasyonlar oluşturabilmek için kozmetik sektörü bir dizi bitkiler kullanmaktadır. Olumsuz iklim şartlarında yetişen bitkiler keşfedilmekte, bu amaçla değerlendirilmekte ve yeni ürünlere dönüştürülmektedir. Özüt formunda ve biyoaktif bileşiklerle saflaştırılmış bitki konsantreleri kozmesötik formülasyonların hazırlanması için araştırılmaktadır. Dünya genelinde bitki topluluğunda biyoaktif bitki metabolitleri bulmak için endüstriler sürekli keşif yapmaktadır. Kozmesötik bileşenlerin üretimi için kullanılan bu bitkilerin çoğu esas olarak *Asteraceae*, *Lamiaceae*, *Fabaceae*, *Poaceae*, *Malvaceae* ve *Rosaceae* familyalarına aittir. UV koruması, antioksidan etki, kırışıklık önleme, yaşlanma karşıtı, kirlilik önleyici, nemlendirici, pürüzsüz görünüm ve hiperpigmentasyon önleyici faaliyetler için kozmetik ürünlere kullanılmaktadır (Dorni ve ark., 2017).

**Zerdeçal;** antioksidan, antikarsinojenik özelliklere sahiptir. Yapılan çalışmalarda tümör oluşumunu inhibe ettiği gözlemlenmiştir. Radyasyona bağlı olarak gelişen yara ve dermatitlerde yara iyileşme sürecini hızlandırıcı etkisi vardır (Levin ve Momin, 2010; Thornfeldt , 2010).

**Çay;** antiseptik özelliğinden dolayı birçok kozmetik üründe (diş macunu, gargara, şampuan) kullanılmaktadır. Vücutta ödem oluşumunu azaltır. Akne tedavisinde kullanılan etkin maddelerdendir. Ayrıca yeşil çay ve beyaz çay UV kaynaklı eritemi inhibe ettiği ve topikal güneş koruyucularla birlikte kullanımının uygun olduğu bildirilmiştir (Chiu ve ark., 2005).

**Hurma;** Asya tıbbında yara tedavisinde kullanılan bu bitki %50 şeker, piperidin türevleri, antioksidan ve fito hormonlar içerir. Yapılan çalışmalarda hurma ekstraktı ile hazırlanan %5'lik kremlerin kaz ayaklarını önemli ölçüde yok ettiği gözlemlenmiştir (Bauza ve ark., 2002).

**Biberiye;** antioksidan etki gösteren fenolik bileşikler içerir. DNA hasarı ve buna bağlı olarak gelişen deri tümörlerini engellemektedir. Biberiye ekstaraktının suda eriyen formülü ile yapılan çalışmalarda fotoyaşlanma sırasında ortaya çıkan matriks metalloproteinazların aktivasyonunu inhibe ettiği gözlemlenmiştir. Ayrıca biberiye bitkisi ciltte anti-aging etki oluşturur (Cronin ve Draelos, 2010).

**Nar;** özellikle nar çekirdeği yağının deri kanserine karşı kompreventiftir ve ayrıca nar ekstraktında bulunan polifenol antifungal etki gösterir. Topikal güneş koruyucularının etkisini arttırdığı, içeriğindeki linoleik asit ve östrojenik maddeler keratonisit poliferasyonunu uyarır. Metalloproteinaz inhibisyonu yapar ve prokollajen üretimini artırır (Thornfeldt, 2010; Baumann, 2007b).

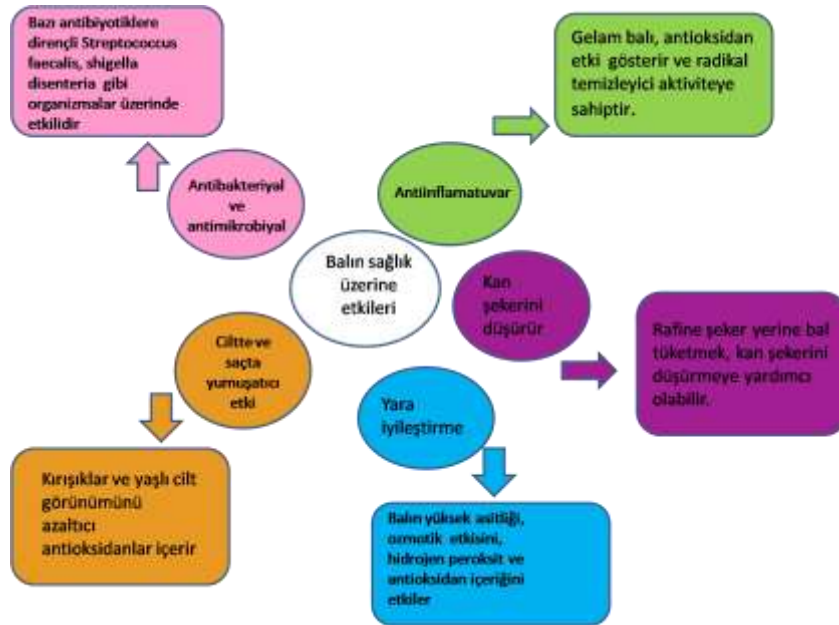
**Kahve;** Arabica ağacı meyvesi içinde bulunan kahve çekirdeği en çok tüketilen gıda maddelerindedir. Kahve çekirdeğinde kafein, teobromin, teofilin bulunur. Kafein yağ hücrelerini dehidrate ederek selülit görünümünü azaltır. Ayrıca kafein kırışıklık gidermede de etkilidir. Kahve çekirdeğinin antioksidan etkisi vardır. Yapılan topikal çalışmalarda kırışıklık gidermede %20, hiperpigmentasyonda ise %30'luk gerileme saptanmıştır (Thornfeldt, 2010; Bauman, 2007b; Südel ve ark., 2005).

**Üzüm çekirdeği;** resveratrol birçok sebze ve meyvede bulunan bir maddedir. En çok üzüm kabuğunda bulunur. Güçlü antioksidan etkiye sahiptir. Yapılan çalışmalarda üzüm çekirdeğinin lipid peroksidasyonunu ve DNA hasarını engellediği, vitamin E ve C'ye göre 50 kat daha etkin bir madde olduğu bildirilmiştir. Fotoyaşlanma üzerine yapılan çalışmalarda olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Cornacchione ve ark., 2007).

**Soya ve İzoflavonlar;** birçok kozmetikte etkin madde olarak kullanılan soyanın, cilde elastikiyet kazandırmanın yanı sıra, nemini koruduğu, yağlanmayı kontrol altına aldığı ve hiperpigmentasyonu azalttığı bildirilmiştir. Soyadan elde edilen izoflavonlar deri kalınlığını korur ve kollajen üretimini artırır. Ayrıca izoflavonlar güçlü antioksidan etkiye sahip olup, glutatyon redüktaz enzimini inhibe ederek DNA hasarını önler. UVB kaynaklı karsinogenezisi engelleyebilirler (Wallo ve ark, 2007).

## 2.9 Bal ve Diğer Arı Ürünlerinin Kozmetiklerde Kullanımı

Bal besin maddesi olarak tüketilmesinin aynı sıra birçok kozmetik ürün için vazgeçilmez bir bileşendir. Bal içeren kozmetiklerin cildi koruyucu ve yumuşatıcı etkileri vardır. Ayrıca macun maskeleri ve çamur paketlerinde %22'lik oranda kullanılır. (Bu ürünler cilt için durulama formülasyonları olarak kabul edilir). Ayurveda tıbbında bal, tahriş, öksürük, sağlıklı diş etleri için kullanılır (Hasam ve ark., 2020). Kozmetik ürünler, cilt temizliği üzerinde belirli etkiler elde etmek veya cilt görünümünü değiştirmek için kullanılır. Bu etkiler cildin mikroflorasını biraz değiştirebilir veya değiştirmeyebilir. Bu etkiler tasarlanmış bir aktivite veya uygulamanın ikincil bir sonucu olabilir (Holland ve ark., 2002). 2018 yılında konsey tarafından yapılan bir ankete göre, bal içeren kozmetik ürünler yüksek bir tüketici kitlesine sahiptir. En çok tercih edilen ürünler %7 oranında bal içeren vücut ve el kozmetikleridir (Belsito, 2020). Bal 13 farklı bebek ürününde %0.01 oranında kullanılmaktadır. Göz çevresine uygulanacak bal ile, sindirim sistemi olarak kullanılan tesadüfi ballar ve mukoz membran maruziyet ürünleri ile kullanılabilir. Bal ve bal ekstraktları kozmetik spreylerde, kolonyalarda, saç spreylerinde kullanılır ve solunması yan etkilere sebep olmaz (Johnsen, 2004).



**Şekil 2.7** Balın Sağlık Üzerine Etkileri (Vallianou ve ark., 2014; Yaghoobi ve Kazerouni, 2013; Batt ve Liu, 2012)

Arı ürünleri içeren kozmetik preparatların cilt hücrelerinin fizyolojik işlevlerini olumlu şekilde etkilediği, rejenera ettiği (yenileme) ve serbest radikallerin zararlı etkilerinden koruduğu saptanmıştır. Metabolizmayı düzenleyerek kollajen üretimini uyarmak, dejeneratif değişiklikleri yavaşlatmak ve vücudun savunma mekanizmasını arttırmak gibi özellikleri ile arı ürünlerinin kozmetik ürünlerde kullanımını giderek yaygınlaştırmaktadır. İçeriğinde arı ürünü içeren kozmetikler, cildin yaşlanmasını geciktiren cilt bakım ürünlerinde, sabunlar, kremler ve losyonlar gibi cilt bakım ürününde iyileştirici madde olarak kullanılmaktadır (Çelik ve Aşgün, 2017).

Apiterapi, arı ürünleri kullanılarak yapılan tedavidir. Dünyada birçok hastalığın tedavisinde kullanılan ve kökeni eskiye dayanan bir tıp uygulamasıdır (Sig ve ark., 2019). Apiterapinin geçmişi, Hipokrat ve Galen dönemine kadar dayanmaktadır. Son yıllarda Apiterapi tedavi merkezleri hızla yaygınlaşmaya başlamıştır (Altıntaş ve Bektaş, 2019). Tamamlayıcı tıp uygulamalarında bal, arı sütü, polen, propolis, balmumu ve arı zehri (apitoksin) gibi arı ürünleri kullanılmaktadır (Sig ve ark., 2019; Shimpi ve ark., 2016; Saleh, 2017).

**Bal**, enfeksiyonlara neden olan mikroorganizmalar üzerinde geniş spektrumlu etkisi nedeniyle özellikle yara ve yanık tedavisinde, etkilenen alanın enfeksiyonlardan korunmasını sağlar ve lokal stokin (hücrelerin birbirleri ile iletişimini sağlayan protein ve peptidlerin bir grubu) üretimini uyararak yara iyileşmesini hızlandırmaktadır. Bu nedenle antibiyotiklerin üretilmediği dönemlerde savaş yaralarının tedavisinde kullanılmıştır. Egzama ve sedef hastalığında tedaviyi destekleyici üründür. Bal, antioksidan ve antimikrobiyal özelliğinden dolayı kozmetik ürünlerde ve yüz maskelerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. İçerdiği biyoaktif bileşenler sayesinde cildi zararlı güneş ışınlarından (UV) korur, cildin sürekli nemli kalmasını sağlar (Çelik ve Aşgün, 2017).

**Arı poleni**, yaraların iyileşme sürecini hızlandırarak özellikle yanık ağrılarını azaltmak için kullanılabilir. Polen, yanıklardan sonra enzimlerin aktivitesini inhibe eden, enflamatuar reaksiyonları, şişmeyi azaltan kaempferol içerir ve damarlarda kan dolaşımını arttırmaya yardımcı olur. Ayrıca antimikrobiyal aktivitesi ile de enfeksiyonları önleyerek, yara ve yanıkların hızlı iyileşmesini sağlar. Arı poleni pek çok vitamin ve mineral bulundurur. Böylece cildin daha genç ve parlak görünmesini

sağlar. Tüm cilt hücrelerinde kan akışını uyararak vücudun detoksifikasyonuna yardımcı olur (Çelik ve Aşgün, 2017).

**Arı ekmeği (Perga)**, arı ekmeği, kolay sindirilebilir şekerler, yağ, mineral madde ve polenle karşılaştırıldığında daha yüksek oranda serbest amino asit içeriği nedeniyle biyolojik olarak aktif ve kolayca sindirilebilir bir üründür (Nagai ve ark. 2004; Trzybinski, 2005). Araştırmalar bu ürünün zihinsel olarak çalışan insanlar için faydalı bir gıda olabileceğine işaret etmektedir (Nagai ve ark., 2004).

**Arı Sütü**, birçok dermatolojik preparatlarda bulunmaktadır. Fakat çoğunlukla deri yenileme ve gençleştirme ürünlerinde kullanılır. Yanıklarda ve diğer yaralarda kullanılan kremlerin yapısında bulunur (Çelik ve Aşgün, 2017). Daha önce yapılan çalışmalarda arı sütü içeriğindeki 10-hidroksi-2-dekanoik asit'in insan deri fibroblastlarında kollajen sentezini, kollajen destekleyici faktör ve dönüştürücü büyüme faktörü üretimini desteklediği gözlemlenmiştir. Ayrıca arı sütünün cildi UV hasarına karşı koruduğu ve yaşlanmayı geciktirdiği yapılan çalışmalarla rapor edilmiştir (Park ve ark., 2011).

**Propolis**, insanlarda cerrahi hastalıklar, yaralanmalar ve yanıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Propolis merhemi anestezi, bakteri öldürücü ve yara iyileştirici özelliklerinin yanı sıra kan ve lenf sistemini geliştirici özelliklere de sahiptir. Propolisten üretilen cilt kremleri, yanık yaraların iyileşmesini hızlandırmaktadır. Ayrıca propolis, anti alerjik, anti inflamatuvar, anti androjen, anti lipaz, anti mikrobiyal özelliklere de sahiptir. Kollajen sentezini destekleyici etkisi de vardır. Günümüzde propolis ve ekstraktları kozmetik ve dermatolojik ürünlerde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Propolis kozmetik endüstrisinde önemli bir bileşendir. Güneş kremlerinde koruyucu ajan olarak kullanılabileceği yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. UV radyasyona karşı cildi koruyucu özelliği vardır. Ayrıca melanom adı verilen bir çeşit cilt kanserine karşı cildi koruyucudur (Çelik ve Aşgün, 2017)

**Arı Zehiri**, Apiterapi uygulamalarında çok disiplinli tıbbi çalışmaların bir parçasıdır. Çünkü dikkatli kullanılması gereken bir maddedir. Arı ürünleri içinde en riskli olanıdır. Dünya genelinde kullanılan bir üründür. Arı zehri başta romatizmal hastalıklar olmak üzere kanserin bazı tiplerinde, eklem ve sinirsel iltihaplarda

kullanılmaktadır. Arı zehrinin, anti inflamatuvar, anti artrit, anti nosiseptif, nöroprotektif, antitümoral, antimikrobiyal, antidiyabetik ve antiromatizmal etkileri vardır (Altıntaş ve Bektaş, 2019; Shimpi ve ark., 2016; Sig ve ark., 2019).

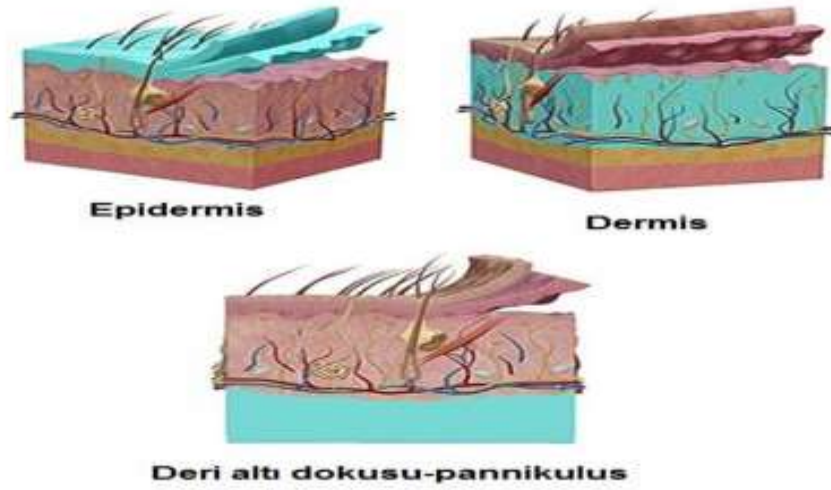
**Apilarnil**, esansiyel aminoasitleri içermesiyle tam gıda olarak da kabul edilmekte ve erkek bireylere özgü hormonlar bakımından zengin olduğu bilinmektedir (Topal ve ark., 2018). Erkeklerde vücut kas ağırlığını arttırdığı ifade edilmektedir. Bu etkisi nedeniyle erkeklere özgü bir anabolizma stimülatörü olduğu vurgulanmaktadır (Bärnuțiu ve ark., 2013; Silici, 2019). Ayrıca apilarnil, hücre yenileme, sinir sistemi rahatsızlıklarının tedavisi ve vücuda zindelik sağlama gibi birçok etkiyi barındırır (Topal ve ark., 2019). İçerdiği fenolik bileşikler sayesinde antioksidan özelliği oldukça etkindir (Silici, 2019).

**Balmumu**, mum, mobilya, ayakkabı, kozmetik, kremler ve temizleme kremleri gibi endüstrilerde geniş kullanım alanları bulmaktadır. Tarih boyunca bal ve propolis ile birlikte ölü bedenleri mumyalamakta balmumundan yararlanılmıştır (Karlıdağ ve Keskin, 2020).

## 2.10 Cilt Yaşlanması

Deri, epidermis, dermis ve deri altı dokusu olmak üzere üç katmandan oluşur. Ekstraselüler matriks, derinin en dış katmanıdır (Şekil 2.8). Derinin en dış katmanında kollajen ve elastin gibi fibroblast proteinler bulunmaktadır. Matrikste bulunan proteinlerin ayrışması sonucu cilt yaşlanması meydana gelir. Cilt yaşlanması doğrudan kollajenaz, elastaz ve hiyaluronidaz enzim aktiviteleri ile ilişkili bir olaydır. Cilt, vücuda kimyasal ya da bakteriyolojik olarak girecek ürünlere karşı bir engel konumundadır. Ayrıca, dokunma hissine aracılık etmek, hormon üretimi ve sosyal iletişimde rol oynamak cildin görevlerindedir. Yaşlanma ile bu işlevlerin her biri olumsuz şekilde etkilenmektedir.





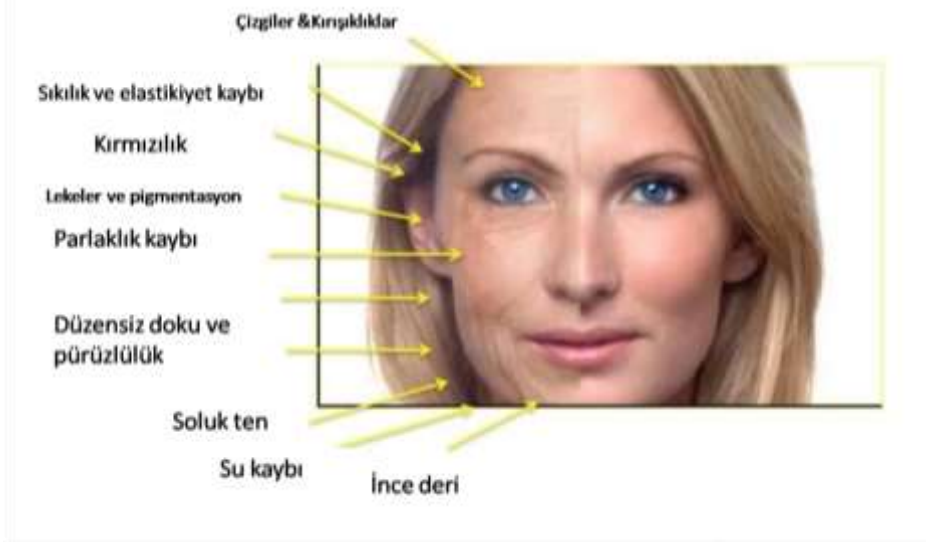
**Şekil 2.8** Derinin Yapısı (Anonim, 2020d)

Cildimiz, zaman geçtikçe gerek hormonal ve beslenme farklılıkları, gerekse de çevresel faktörlerden dolayı ciddi değişikliklere uğramaktadır (Rittlé ve Fisher 2015; Fisher ve ark., 2002). Bu etkiler nedeniyle cilt yaşlanması içsel (intrinsic) kronolojik yaşlanma ve başta güneş maruziyeti olmak üzere, sigara, aşırı alkol ve yetersiz beslenme gibi sebeplere bağlı olarak gelişen dışsal (extrinsic) yaşlanma olmak üzere 2 yolla gelişir (Fisher ve ark., 2002). Deride görülen değişikliklerin büyük bir kısmı kronik güneş hasarından kaynaklanmaktadır. Bu nedenle dışsal yaşlanma aynı zamanda foto yaşlanma olarak da adlandırılmaktadır (Gilcrest, 1989). Uzun süre güneş maruziyeti sonucunda cildin hem dermal hem de epidermal bölümleri değişime uğramaktadır. Fiziki ve hücresel açıdan bakıldığında kronik ve foto yaşlanma arasında belirgin farklar bulunmaktadır. Kronolojik yaşlanmada cilt ince, kuru ve buruşuk görünümde iken, foto yaşlanmış cilt gevşek, kaba kırışıklı ve kahverengi lekeli düzensiz pigmentasyonlar içerir (Brooke ve ark., 2001).

### **2.10.1 Kronolojik Yaşlanma**

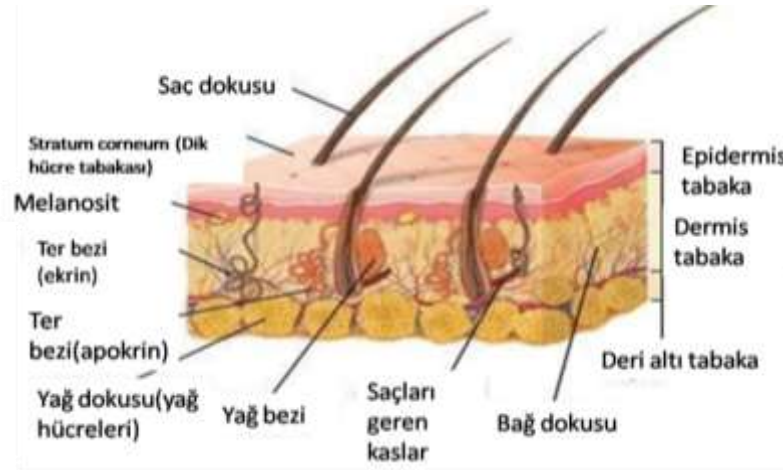
Ciltte zamana bağlı olarak gelişen yaşlanma türüdür. Çevresel etkenlerden bağımsız, genetik etkenlere bağlıdır (Fisher ve ark., 2002; Durai ve ark., 2012). Bu nedenle her bireyde farklı şekilde gelişir. Aslında yaşlanma, ciltte elastin ve kollajen moleküllerinin biyokimyasal değişimidir. Deri zamanla kurumaya, solmaya ve pürüzlenmeye başlar. Yaşlı ciltlerdeki kuruluğun genellikle su eksikliğinden kaynaklandığı varsayılmaktadır (Tagami, 2008). Zamana bağlı yaşlanma deri atrofisi, elastik doku kaybı ve metabolik hızın azalması sonucu gerçekleşen bir süreçtir. Ciltte

dermal ve epidermal değişiklikler ile birlikte, epidermis kalınlığı azalmaktadır (West, 1994; Ichihashi, 2004). Epidermis cildin en dış katmanıdır. Kan damarı bulunmaz, tabakalı bir şekilde düzenli keratinositlerden oluşur. Epidermisin en dış katmanı stratum korneum, lipid ve protein bakımından zengin korositlerden yapılmıştır (Elias ve ark., 1977).



**Şekil 2.9** Cilt Yaşlanması'nın Fiziksel Görünümü (Anonim, 2020c)

Kişi yaşlandıķça bazal keratinosit azalmakta ve epidermis incelmektedir (Bernstein ve ark., 1994; Bologna, 1995). Doğal olarak yaşlanmış cilt, hücre dışı matrikste elastin azalması ve elastik liflerin parçalanması şeklinde belirtiler gösterir (Scharffetter-Kochanek ve ark., 2000). Kollajen, ekstrasellüler matriksin en önemli bileşeni olup, dermise gerginlik kazandırırken, elastin derinin esnekliğini, glikozaminler ve proteoglikanlar ise derinin hidrasyonunu sağlar (Jenkins, 2002). Kronolojik yaşlanmada bu bileşenlerde bozulmalar gerçekleşmektedir.

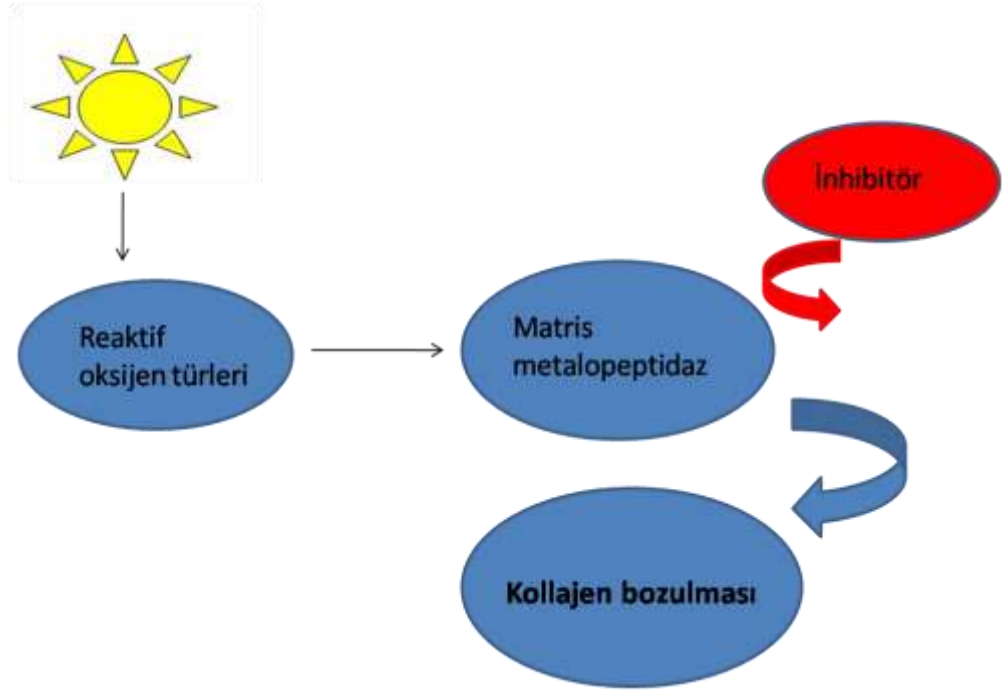


**Şekil 2.10** Derinin Anatomisi (Anonim, 2014b)

Melanin cilde ve saçta renk veren doğal bir pigment olup, epidermisin bazal tabakasında ve saç foliküllerinde tutulan melanositler tarafından üretilir. Genç epidermiste melanositler yoğun şekilde bulunurken, yaşlanma ile melanositler %10-20 oranında azalır (Kollias ve ark., 1991). İlerleyen yaşla birlikte mitokondriyal fonksiyonlarda azalma ve mitokondriyal elektron taşıma zincirinde kusurlar ortaya çıkmaktadır (Wallace ve ark., 1998). Ayrıca yaşlanma ile ortaya çıkan oksidatif stres telomer kısalmasına neden olmaktadır (Saretzki ve ark., 1998). Kronolojik yaşlanma yara iyileşmesini de olumsuz etkilemektedir. Yaşlı derilerde yara iyileşmesi genç deriye nazaran gecikme göstermektedir (Gosain ve DiPietro, 2004; Durai ve ark., 2012; Fisher ve ark., 2002).

### 2.10.2 Foto Yaşlanma

Foto yaşlanma, güneşin zararlı UV ışınlarına maruziyet sonucu derinin kalınlaşması, solması, sararması, kurumması, kırışması, lekelenmesi, elastikiyetini kaybetmesi gibi belirtilerle kendini gösteren yaşlanmadır (Ma ve ark., 2001; Quan ve ark., 2009; Scharffetter-Kochanek ve ark., 2000). Güneşe uzun süre maruziyet durumlarında, kollajen ve elastin gibi ekstrasellüler matriks proteinlerinin yapısı bozulur (Wen ve ark., 2012). UV ışınları iki şekilde dermal kollajen yapısını değiştirmektedir. Birincisi kollajen yıkımını uyararak parçalanmış, dağılmış kollajen oluşturması; ikincisi ise prokollajen biyosentezini inhibe etmesidir. UV ışınları doğrudan serbest oksijen radikallerini ve matriks metalloproteinaz aktivitesini arttırarak cilt yaşlanmasını indüklemektedirler.



**Şekil 2.11** Foto Yaşlanmanın Gelişimi (Baz, 2014)

UV radyasyona maruziyet sonucunda elastaz aktivitesinde anlamlı bir artış meydana gelir. Elastaz aktivitesinin artması ile elastik fibrillerin yapısı bozular ve oluşan yeni yapılar kollajenaz ve stromelisin sentezini artırarak ekstrasellüler matriks yapısının bozulmasına sebep olur (Jenkins, 2002). Kronolojik yaşlanma ile melanosit üretiminin artmasının yanı sıra, kronik olarak güneşe maruz kalınan bölgelerde pigmentasyon yaşla birlikte düzensiz hale gelir ve benekli pigmentasyon foto yaşlanmış cildin ayırt edici özelliğidir (Chung, 2003).



**Şekil 2.12** Foto Yaşlanmış Bir Cilt (Anonim, 2019)

## 2.11 Güneş Koruma Faktörü (GKF)

Güneş ışınlarına uzun süre maruz kalındığında cilt hücrelerinin içindeki melanin miktarı artar. Bunun sonucunda foto yaşlanma ve foto karsinogenez meydana gelir. Güneşten gelen zararlı ışınlar UVA ve UVB olmak üzere iki çeşittir (Seeley, 2006). UVA ışınları düşük dozda olsa bile uzun süre maruz kalındığında cilt elastikiyetinin azalmasına, kırışıklığın artmasına ve ciltte akut ve kronik değişikliklere sebep olan reaktif oksijen türlerinin üretimine katkıda bulunurlar. Daha sonrasında ise, kutanöz lupus eritematozlar artar ve deri kanseri oluşmasına zemin hazırlanır. UVB ışınları ise, pigmentasyon ve güneş yanığı gibi bazı değişikliklerin yanı sıra, bağışıklık bastırma ve foto karsinogenez gibi kronik değişikliklere yol açarlar. Hem UVA hem UVB ışınları ciltte güneş yanığı, foto yaşlanma, eritem ve iltihaplanmaya neden olabilir. Bu nedenle cildi güneşin zararlı etkilerinden korumak gerekir. Cildi güneşten korumanın en iyi yollarından birisi güneş koruyucu ürünlerdir. Bu ürünler içerdikleri GKF değerine göre güneş ışınlarından koruma sağlarlar (Latha ve ark., 2013).

### 3 MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

##### 3.1.1 Bal Örnekleri

Bu tez çalışması kapsamında ticari olarak satışa sunulan farklı markalara ait çam ve çiçek ballarının yanı sıra doğrudan üreticiden temin edilen ham çam ve çiçek balları ve karşılaştırma amacıyla seçilen ham meşe balı (salgı balı) ile anzer balı (çiçek balı) olmak üzere 20 çeşit bal örneği çalışma materyali olarak seçilmiştir (Çizelge 3.1).

**Çizelge 3.1** Çalışmada Kullanılan Bal Örnekleri

ÇALIŞILAN BALLAR	
1 (A marka çam balı)	11 (G marka çam balı)
2 (A marka çiçek balı)	12 (H marka çam balı)
3 (B marka çam balı)	13 (ham çam balı)
4 (B marka çiçek balı)	14 (ham çam balı)
5 (C marka çam balı)	15 (ham çam balı)
6 (C marka çiçek balı)	16 (ham çam balı)
7 (D marka çam balı)	17 (ham çiçek balı)
8 (D marka çiçek balı)	18 (ham çiçek balı)
9 (E marka çam balı)	19 (ham çiçek (Anzer) balı)
10 (F marka çiçek balı)	20 (ham meşe balı)

##### 3.1.2 Cihazlar

Çalışmamızda kullanılan cihazlar Çizelge 3.2’de verilmiştir.

**Çizelge 3.2** Cihazlar

Cihaz adı	Model	Firma
Manyetik karıştırıcı	MS-H-Pro	DragonLab
Spektrofotometre	UV-1800	Shimadzu-Corportion
Saf su cihazı	Arium 61316	Sartorius
pH metre	Starter 2000	Ohaus
Vorteks	SA8	Stuart
Su banyolu çalkalayıcı	WNB7-45	Memmert
Terazi	AS 220/C/2	Roadwag
Isıtıcı sallayıcı kurublok	MS-100	Allsheng
Buzdolabı	B9459NMN	Beko
Etüv	JSOF-050	Forced Covection Oven
Mikro pipet		

##### 3.1.3 Kimyasal Maddeler ve Malzemeler

Tez çalışmasının her aşamasında kullanılan tüm kimyasal madde ve çözücüler Sigma-Aldrich, Merck ve Supelco’dan ticari olarak temin edilmiştir.

### 3.1.4 Çözeltiler ve Hazırlanması

#### 3.1.4.1 Bal Numunesi Ekstraktlarının Hazırlanması

Bal numunelerinin su ekstraktları 5 gram bal numunesi üzerine 25 mL destile su ilave edilmesi ve 12 saat süreyle 25°C’de karıştırılmasını takiben Whatman filtre kağıdı kullanılarak süzülmesi suretiyle hazırlandı (Di Petrillo ve ark., 2018). Elde edilen süzöntü stok çalışma numunesi olarak +4° C’de saklandı.



Şekil 3.1 Bal Numunelerinin Sulu Ekstraktlarının Hazırlanması

#### 3.1.4.2 Toplam Fenolik İçerik Tayininde Kullanılan Çözeltiler

%2’lik Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> Çözeltisi (w/v): 2 g sodyum karbonatın bir miktar saf suda çözünmesi sağlandıktan sonra son hacim 100 mL’ye saf su ile tamamlandı. 1:10 (v/v)’luk Folin-Ciocalteu Reaktifi: 1 mL Folin-Ciocalteu’s fenol reaktifi üzerine son hacim 10 mL olacak şekilde saf su ilave edildi. Gallik Asit (GA) Çözeltisi (0.25 mg/mL): 1.25 mg gallik asidin son hacim 5 mL olacak şekilde saf suda çözülmesiyle hazırlandı.

#### 3.1.4.3 DPPH Radikali Temizleme Aktivitesi Tayininde Kullanılan Çözeltiler

2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>, DPPH) Çözeltisi: DPPH katısının belirli miktarı metanolde çözüldükten sonra 517 nm’de 1.200 değerinin altında absorbansa sahip olacak şekilde yeterli metanol ilavesiyle deneme öncesinde taze olarak hazırlandı ve koyu renkli cam şişede karanlıkta saklandı.

#### **3.1.4.4 Oksijen Radikali (ORAC) Temizleme Aktivitesi Tayininde Kullanılan Çözeltiler**

Pirogallol Red (PGR) Çözeltisi: 8 mM 10 mL PGR çözeltisi 32.03 mg pirogallol red (C<sub>19</sub>H<sub>12</sub>O<sub>8</sub>S) boyasının tartılarak son hacmi 10 mL olacak şekilde saf su içerisinde çözülmesiyle hazırlandı.

2, 2'-Azo-bis (2-amidinopropan) dihidroklorit (AAPH) Çözeltisi: 10 mM 10 mL AAPH çözeltisi 0.027 g AAPH'nın son hacmi 10 mL olacak şekilde su içerisinde çözülmesiyle hazırlandı.

Fosfat Tamponu (pH 7.4, 75 mM): 0.812 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.2 H<sub>2</sub>O ile 0.459 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.2 H<sub>2</sub>O tartılarak bir miktar saf su ile çözüldü. pH ayarlaması ise seyreltik sodyum hidroksit (NaOH) kullanılarak yapıldıktan sonra son hacim 100 mL'ye saf su ile tamamlandı

Troloks Standart Çözeltisi: 0.25 mM Troloks çözeltisi 0.625 mg troloksun (±)-6-Hidroksi-2.5.7.8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit) tartılarak son hacmi 10 mL olacak şekilde etanol içerisinde çözülmesiyle hazırlanır.

#### **3.1.4.5 Antiinflamatuvar Aktivite Tayininde Kullanılan Çözeltiler**

BSA Çözeltisi: %5'lik sığır serum albümin çözeltisi 5 gram BSA katısının bir miktar saf suda çözülmesinden sonra son hacmin saf su ile 100 mL'ye tamamlanmasıyla hazırlandı.

Fosfat Salin Tamponu (PBS): 8 g NaCl, 0.2 g KCl, 1.42 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O ve 0.24 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> karıştırılarak su içerisinde çözülmesi sağlandıktan sonra seyreltik HCl ile pH'sı 6.3 e ayarlanıp son hacim saf su ile 1 L ye tamamlanmıştır.

Ibuprofen (IBP) Standart Çözeltisi: 25 mg/mL ibuprofen çözeltisi 25 mg ibuprofenin etanolde çözülmesi ve son hacmin 1 mL'ye tamamlanmasıyla hazırlandı.

#### **3.1.4.6 Elastaz İnhibisyonu Tayininde Kullanılan Çözeltiler**

Tris-HCl Tamponu (0.2 M,pH 8.8): 2.42 g Tris (hidroksimetil) aminometan (Trisbase) tartılarak belirli miktarda suda çözüldükten sonra çözeltinin pH'sı seyreltik HCl ilavesiyle 8.8'e ayarlandıktan sonra son hacim saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.



Tris–HCl Tamponu (0.2 M, pH 8.0): 2.42 g Tris (hidroksimetil) aminometan (Trisbase) tartılarak belirli miktarda suda çözüldükten sonra çözeltinin pH'sı seyreltik HCl ilavesiyle 8.0' e ayarlandıktan hacmi saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

Elastaz Enzim Çözeltisi: Domuz pankreatik elastaz 1 mg/mL olacak şekilde Tris –HCl Tamponu (0.2 M pH 8.8) içerisinde çözülerek hazırlandı ve oluşan renksiz çözelti -20 °C'de saklandı.

N-Suksinil Ala-Ala-Pro-Phe-p-Nitroanilit Çözeltisi: Substrat olarak kullanılmak üzere 5 mg N-Suksinil Ala-Ala-Pro-Phe-p-Nitroanilit katısı tartılmış ve 1 mL Tris–HCl Tamponu (0.2 M pH 8.0) içerisinde çözülmüştür. Taze olarak kullanılmalıdır.

Ursolik Asit Çözeltisi: 2 mg/mL ursolik asit çözeltisi hazırlamak için 10 mg ursolik asit tartılarak son hacim etanol ile 5 mL'ye tamamlanmıştır.

Kuersetin Çözeltisi: 2.5 mg/mL kuersetin çözeltisi hazırlamak için 5 mg kuersetin tartılarak son hacim etanol ile 2 mL'ye tamamlanmıştır.

### **3.1.4.7 Kollajenaz İnhibisyonuTayininde Kullanılan Çözeltiler**

NaCl Çözeltisi: 1 M 50 mL NaCl çözeltisi hazırlamak için 2.925 g NaCl katısı tartılarak son hacim 50 mL olacak şekilde saf su içerisinde çözüldü.

CaCl<sub>2</sub> Çözeltisi: 0.1 M 10 mL CaCl<sub>2</sub> çözeltisi hazırlamak için kalsiyum dihidrat (CaCl<sub>2</sub>. 2H<sub>2</sub>O) katısından 0.147 g tartılarak son hacim 10 mL olacak şekilde saf su içerisinde çözüldü.

Trisin Tamponu (50 mM, pH7.5): 10 mL 0.1 M CaCl<sub>2</sub> çözeltisi, 40 mL 1 M NaCl çözeltisi ile karıştırılarak seyreltik NaOH çözeltisi ilavesiyle pH 7.5'e ayarlandıktan sonra saf su ile son hacim 100 mL'ye tamalanarak hazırlandı.

Kollejenaz enzim çözeltisi: *Clostridium histolyticum*'dan elde edilen kollajenaz enziminden 1.2 mg tartılarak üzerine 0.6 mL Trisin tamponu ilave edilerek hazırlanmıştır.

FALGPA Çözeltisi: Substrat olarak kullanılmak üzere 2 mg/mL'lik N-[3-(2-Furyl)acryloyl]-Leu-Gly-Pro-Ala (FALGPA) çözeltisi hazırlamak için 1 mg FALGPA katısı tartılmış 0.5 mL Trisin tamponu ilave edilerek çözülmesi sağlanmıştır.

Epigallokateşingallat (EGKG) çözeltisi: 5 mg/mL EGKG çözeltisi hazırlamak için 10 mg EGKG tartılarak 2 mL saf su içerisinde çözülmüştür.

#### **3.1.4.8 Tirosinaz İnhibisyonu Tayininde Kullanılan Çözeltiler**

Fosfat Tampon Çözeltisi: 50 mM pH 6.8 fosfat tampon çözeltisi için 2.527 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ve 5.585 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  tartılarak bir miktar saf su ile çözüldü. pH ayarlaması ise seyreltik sodyum hidroksit (NaOH) kullanılarak yapıldıktan sonra son hacim 1 L'ye saf su ile tamamlandı.

L-DOPA çözeltisi: 100 mM L-DOPA çözeltisi 19.719 mg L-DOPA (3,4-DihidroksiL-fenilalanin) tartılarak son hacim 1 mL olacak şekilde saf su ile çözülmesiyle hazırlandı. Taze olarak hazırlandı.

Tirosinaz Enzim Çözeltisi: 2 mg/mL tirosinaz enzim çözeltisi, satın alınan mantar tirosinazından 1 mg tartılarak 0.5 mL su ilavesiyle çözümlenerek hazırlandı.

Kojik Asit Çözeltisi: 30 mg/mL kojik asit çözeltisi, 15 mg kojik asit ( $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_4$ ) tartılarak 0.5 mL saf su ile çözülmesiyle hazırlandı.

#### **3.1.5 Toplam Fenolik İçeriğin Belirlenmesi**

Bal numunelerinin su ekstraktlarının fenolik içeriğinin tespiti için Folin-Ciocalteu metodu izlendi (Singleton ve Rossi, 1965). Bu yöntemde, test edilen ekstrakt içerisindeki fenolik maddelerin Folin-Ciocalteu reaktifinin içerdiği fosfomolibdik-fosfotungstik çözeltisini indirgemesiyle mavi renkli bir kompleks oluşturmaları ve bu mavi rengin spektrofotometrik olarak ölçülmesi sağlanmaktadır (Abdulkasım ve ark., 2007).

Numunelerin toplam fenolik madde içerikleri gallik asit (GA) kullanılarak hazırlanan standart kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak GA eşdeğeri olarak (mg GAE/g bal) belirlendi. Bu amaçla öncelikle 3.1.4.2'de anlatıldığı şekilde hazırlanan 0.25 mg/mL gallik asit standart çözeltisinden farklı hacimlerde alınarak, son konsantrasyonları değişecek şekilde gerçekleştirilen işlem sonucunda konsantrasyona

karşı absorbans grafiği çizildi. Kalibrasyon eğrisi oluşturulması amacıyla GA'nın değişen hacimlerinin son hacimler eşitleninceye kadar saf su ilave edilmesinin ardından test tüpleri içerisinde Çizelge 3.3'de belirtildiği şekilde 600 µL Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) (1:10) ile birleştirilmesi sağlandı. Karıştırıldıktan sonra 10 dakika oda sıcaklığında bekletilip 500 µL %2'lik sodyum karbonat çözeltisi ile ilave edildi ve tüm tüp içerikleri 1 saat süreyle oda sıcaklığında karanlıkta bekletildi ve süre sonunda her bir tüpün absorbansı 760 nm de suya karşı ölçüldü. Aynı işlem ekstraktlar içinde gerçekleştirildi ve kalibrasyon eğrisinin grafik denkleminde yararlanılarak ekstraktların fenolik içeriği mg GAE/g bal şeklinde hesaplandı.

**Çizelge 3.3** Toplam Fenolik Madde Tayini İçin Yapılan Pipetlemeler (tüm hacimler mikrolitre birimindedir.)

	Kör	Numune kuru	Standart	Numune
Bal ekstraktı	-	25	-	25
Su	200	1275	200-0	175
GA çözeltisi	-	-	0-200	-
FCR	600	-	600	600
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> çözeltisi	500	-	500	500

### 3.1.6 DPPH Radikali Temizleme Aktivitesi Tayini

Bal numunelerinin antioksidan aktivitesi ilk olarak DPPH serbest radikalini süpürme etkinlikleri araştırılarak değerlendirildi. Bu amaçla % 20'lik bal numunelerinin farklı hacimlerinin son hacimleri eşitlendikten (her bir tüpte farklı konsantrasyon oluşturulması sağlanmıştır) sonra her birinin üzerine 1.2 mL taze hazırlanmış mor renkli metanolik DPPH çözeltisinin ilavesinin (Çizelge 3.4) ardından karıştırılıp oda sıcaklığında karanlıkta 30 dakika bekletilmesinin ardından mor renkteki açılmayı ortaya koyabilmek amacıyla tüm tüp içeriklerinin metanole karşı 517 nm de absorbansları kaydedilmiştir. Kaydedilen absorbansları kullanılarak aşağıdaki eşitlik yardımıyla her bir konsantrasyon durumunda süpürme etkinliği % olarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Süpürme Aktivitesi} = (A_{\text{kör}} - A_{\text{numune}}) / A_{\text{kör}} \times 100$$

Her bir konsantrasyon için % süpürme aktivitesi değerlerinin hesaplanmasının ardından konsantrasyona karşı % süpürme aktiviteleri grafiğe geçirilmiş ve elde edilen grafiğin doğru denkleminde yararlanılarak %50 oranda süpürme aktivitesini sağlayan ekstrakt konsantrasyonu (SC<sub>50</sub>) hesaplanır.

**Çizelge 3.4** DPPH Radikali Temizleme Aktivitesi Tayini İçin Yapılan Pipetlemeler (Tüm hacimler mikrolitre birimindedir)

	<b>Kör</b>	<b>Numune</b>	<b>Numune kuru</b>
<b>Bal ekstraktı</b>	-	0-100	0-100
<b>Metanol</b>	100	100-0	1300-1200
<b>DPPH çözeltisi</b>	1200	1200	-

### 3.1.7 Oksijen Radikali Temizleme Aktivitesi (ORAC) Tayini

Oksijen radikali temizleme aktivitesinin belirlenebilmesi amacıyla pirogallol (PGR) kullanılarak gerçekleştirilen spektrofotometrik yöntem takip edildi (López-Alarcón ve ark., 2011). Bu yöntemde antioksidan aktivitesi araştırılacak olan bal numunesinin değişen hacimleri fosfat tamponu (pH 7.4, 75 mM) içerisinde 8 mM pirogallol çözeltisinin 2 mikrolitrelik kısmı ile birleştirildikten sonra karışıma peroksil radikali kaynağı olarak 10 mM konsantrasyonda 2,2'-Azo-bis(2-amidinopropan) dihidroklorit (AAPH) çözeltisinden 10 µL ilave edildi (Çizelge 3.5). Nihai karışımın 30 dakika 37 °C'de bekletilmesinin ardından test edilecek bal numunesi içermeyen kör tüp içeriğine karşı 540 nm de absorbanstaki düşüş takip edilerek PGR'nin tükenmesi takip edildi. Aynı işlemler troloks standardının bir seri değişen konsantrasyonu (0.25 mM troloks çözeltisinden farklı hacimlerde alınarak) durumunda da gerçekleştirilerek troloksun farklı konsantrasyonları durumunda ki ORAC potansiyeli grafiğe geçirilerek 1 gram bal örneğinin troloks eşdeğeri (µmol TX/g bal) olarak ORAC aktivitesi hesaplandı.

**Çizelge 3.5** ORAC Aktivitesi Tayini İçin Yapılan Pipetlemeler (Tüm hacimler mikrolitre birimindedir)

	<b>Kör</b>	<b>Numune kuru</b>	<b>Standart</b>	<b>Numune</b>
<b>Bal ekstraktı</b>	-	50/100	-	50/100
<b>Fosfat tampou</b>	1288	1250/1200	1288-1188	1238/1188
<b>Troloksçözeltisi</b>	-	-	0-100	-
<b>PGR</b>	2	-	2	2
<b>AAPH</b>	10	-	10	10

### 3.1.8 Antiinflamatuvar Aktivitenin Belirlenmesi

Bal numunelerinin antiinflamatuvar aktiviteleri sığır serum albumin (BSA) denatürasyonunu inhibe edebilme potansiyellerinin değerlendirildiği Williams ve ark. tarafından geliştirilen metottaki verilerle karşılaştırıldı. Bu amaçla ilk olarak kısım 3.1.4.5 te izah edildiği şekilde fosfatsalin tamponu (PBS) hazırlandı ve test

edilecek olan bal ekstraktları ve standart olarak kullanılacak olan ibuprofenin farklı miktarları, % 0.8 oranında BSA içeren tampon çözelti içerisine ilave edildi (Çizelge 3.6) ve önce 20 dakika 37°C’de ardından 15 dakika 71°C’de inkübasyona tabii tutulduktan sonra her bir test tüpünde meydana gelen bulanıklık spektrofotometride 660 nm de test edilecek örnek yerine sadece çözücü ihtiva eden kör tüpüne karşı ölçüldü. Protein denatürasyonunun inhibisyon yüzdesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

$$\text{İnhibisyon (\%)} = [(Abs_{k\ddot{o}r} - Abs_{\ddot{o}rnek}) / Abs_{k\ddot{o}r}] \times 100$$

**Çizelge 3.6** Antiinflamatuvar Aktivitenin Belirlenmesi İçin Yapılan Pipetlemeler (Tüm hacimler mikrolitre birimidir.)

	<b>Kör</b>	<b>Numune kuru</b>	<b>Numune</b>	<b>Standart</b>
<b>BSA(%5)</b>	200	-	200	200
<b>Bal ekstraktı</b>	-	0-25	0-25	-
<b>Tampon</b>	1000	1200-1175	1000-975	1000-975
<b>İbuprofen(25mg/mL)</b>	-	-	-	0-25

### 3.1.9 Güneş Koruma Faktörünün Belirlenmesi

Güneş Koruma Faktörü (GKF) değeri, *in-vivo* ve *in-vitro* yöntemlerle saptanabilir. Uygulamadaki kolaylık ve maliyetinin düşük olması nedeniyle bu tez çalışmasında *in-vitro* yöntem olan UV bölgede absorbansın değişik dalga boylarında okunması esasına dayanan spektrofotometrik Mansur yöntemi (Mansur ve ark., 1986) tercih edildi.

Bu yönteme göre hazırlanmış olan her bir bal ekstraktının ve 10 kat seyreltilmesi ile hazırlanan seyreltilmiş ekstrakt numunelerinin absorbansı 290 ve 320 nanometre dalga boyları arasında her 5 nanometrede bir okunur. Absorbanslar, Mansur Denklemi olarak bilinen aşağıdaki eşitlikte yerine konularak güneş koruma etkinlikleri hesaplanır.

$$GKF = CF \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda)$$

Bu eşitlikte CF: Düzeltme faktörü; EE: Eritemal etki spektrumu; EE x I değeri ise incelenen dalga boyuna özel sabit bir değerdir (Civil, 2016).

**Çizelge 3.7** EE x I Değerleri

<b>Dalga boyu(nm)</b>	<b>EExI</b>
290	0.0150
295	0.0817
300	0.2874
305	0.3278
310	0.1864
315	0.0837
320	0.0180

### **3.1.10 HPLC ile Fenolik Bileşen Tayini**

Bal numunelerinden uygun tartım alındıktan (~10-20 g) sonra yeterli metanol (~50 mL) ilavesi ile ekstraksiyona tabi tutuldu ve ekstraksiyon 40 °C’de ısı kontrollü magnetik karıştırıcı yardımıyla gerçekleştirildi. Ekstraksiyon işlemi sırasında çözücü buharıyla biyoaktivite kayıplarını engelleyebilmek için ekstraksiyon kabına geri soğutucu aparatı takılarak 12 saat süreyle kontrollü ekstraksiyon sağlandı. Süre sonunda metanolik ekstraktların katı partiküllerden ve olası safsızlıklardan kurtulması için öncelikle adi süzgeç kâğıdı ve akabinde mavi bant süzgeç kağıdı ile filtrasyon gerçekleştirildi. Son hacim en yakın değere metanolle tamamlandıktan sonra çözücülerin tamamı 40°C’deki döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı ve kalıntı 10 mL pH 2’ye HCl ile ayarlanmış saf suda çözüldü. Tamamıyla suda çözünmesi sağlanan kalıntılar, sıvı-sıvı ekstraksiyona tabi tutularak fenolik bileşenler açısından zenginleştirme işlemine tabi tutuldu.

Öncelikle üç tekrarlı olmak üzere 5 mL dietileter ile çalkalayıcıda 1 saatlik çalkalamanın ardından organik fazlar bir evaporatör balonuna toplandıktan sonra aynı işlem etil asetat ile de gerçekleştirildi ve buradan elde edilen organik fazlar da yine aynı balona alındı. Toplanan tüm organik fazlar 40°C’deki döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı ve tartımlar alındıktan sonra nihai kalıntı 3 mL LC saflıktaki metanolle çözüldükten sonra HPLC ile fenolik bileşen analizine tabii tutuldu (Can ve ark., 2015).

Numunelerin HPLC analizleri ise Thermo Scientific Dionex Ultimate™ 3000 sistem (Thermo Scientific, Almanya) ile yapıldı. Tüm standart ve numune analizleri için ters faz C18 kolonu (250 mm x 4.6 mm, 5 µm) tercih edilirken kolon fırın sıcaklığı 30°C’ye ayarlandı. 45 dakikada gerçekleşen analizlerde kromatografik ayrımı gerçekleştirmek adına ikili mobil fazın (A rezervuarı; %2 (v/v) asetik asit ve

B rezervuarı; toplam hacimde %0.5 (v/v)asetik asit içeren % 50 (v/v) asetonitril ve %50 (v/v) saf su) gradienti literatür bilgileri esas alınarak hazırlandı (Sahin ve ark., 2019; Şeker ve ark., 2021).

### 3.1.11 Bal Numunelerinin Enzim İnhibisyon Potansiyellerinin Belirlenmesi

#### 3.1.11.1 Elastaz Enzim İnhibisyon Potansiyelinin Belirlenmesi

Bal numunelerinin elastaz enzimi üzerindeki inhibisyon potansiyellerini incelemek amacıyla enzim kaynağı olarak domuz pankreatik elastazı (1 mg/mL) ve test edilmek üzere hazırlanmış olan bal numunesi su ekstraktının uygun miktarı 0.1 M Tris-HCl tamponu (pH 8.0) içinde 5 dakika süreyle inkübe edildi. Bu sürenin sonunda N-suksinil-Ala-Ala-Pro-Phe *p*-nitroanilit (5 mg/mL) substrat olarak reaksiyonu başlatmak için ilave edildi. 30 dakika sonra test edilen bal numunesini içermeyen karışıma göre 420 nm'deki absorbanstaki değişim ölçüldü (Liyanaarachchi ve ark., 2018)

Ayrıca aynı işlem pozitif kontrol olarak bilinen kuersetin (Chiocchio ve ark., 2018) ve ursolik asit (Aumeeruddy ve ark., 2019) varlığında da gerçekleştirilerek bal numunelerinin elastaz inhibisyon potansiyellerinin birer flavonoid ve triterpenik türevi olan maddelerle karşılaştırılması sağlanmıştır.

**Çizelge 3.8** Elastaz Enzim İnhibisyon Potansiyelini Belirlemek İçin Yapılan Pipetlemeler (Tüm hacimler mikrolitre birimindedir)

	Kör	Numune kuru	Numune	Standart
<b>Enzim</b>	0.5	-	0.5	0.5
<b>Substrat</b>	2.42	2.42	2.42	2.42
<b>Bal ekstraktı</b>	-	5	5	-
<b>Tampon</b>	497.08	492.58	492.08	491.98
<b>Ursolik asit</b>	-	-	-	5.1

#### 3.1.11.2 Kollajenaz Enzim İnhibisyon Potansiyeli

Bal numunelerinin kollajenaz enzimi üzerindeki inhibisyon potansiyellerini incelemek amacıyla enzim kaynağı olarak kullanılan *Clostridium histolyticum* kollajenazı (2 mg/mL) test edilecek olan bal örneğinin su ekstraktı ile 50 mM pH 7.5 olan Trisin tamponu (0.4 M NaCl ve 0.01 M CaCl<sub>2</sub> içerecek şekilde) içerisinde bir araya getirilir ve 25 °C'da 10 dakika süreyle muamele edilir. Bu süre sonunda 2 mg/mL konsantrasyonundaki N-[3-(2-Furil) akrilolil]-Leu-Gly-Pro-Ala (FALGPA) çözültüsünden ilave edildikten 10 dakika sonra 340 nm'deki absorbanstaki düşüş takip

edildi (Barrantes ve Guinea, 2003; Süntar ve ark., 2012). Cilt yaşlanmasını önlemek ve cilt dengesini korumak için dermokozmetikte yaygın olarak kullanılan bir bileşen olan epigallokateşingallat (EGKG) pozitif kontrol olarak kullanıldı ve aynı şartlarda test edildi (Kozarski ve ark., 2019).

**Çizelge 3.9** Kollejenaz Enzim İnhibisyon Potansiyelini Belirlemek İçin Yapılan Pipetlemeler (Tüm hacimler mikrolitre birimidir.)

	<b>Enzim</b>	<b>Substrat</b>	<b>Tampon</b>	<b>Bal</b>	<b>EKGK</b>
<b>Enzim</b>	1	2	597	-	-
<b>Enzimkörü</b>	-	2	598	-	-
<b>Bal</b>	1	2	582	15	-
<b>EGKG</b>	1	2	596	-	1
<b>EGKG k</b>	-	2	597	-	1

Kollajenaz ve elastaz enzimlerinin inhibisyon potansiyelleri aşağıdaki eşitlik yardımıyla hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(A-B)-(T-D)] / (A-B) \times 100$$

A: Test edilecek örneği içermeyen karışımın absorbansı (enzim körü)

B: Test edilecek örnek ve enzim içermeyen karışımın absorbansı (substrat körü)

T: Test edilecek örneği içeren karışımın absorbansı

D: Test edilecek örneği içeren ancak enzim çözeltisini içermeyen karışımın absorbansı (Numune körü).

### 3.1.11.3 Tirosinaz Enzim İnhibisyon Potansiyeli

Ticari olarak satın alınan mantar tirosinazı kullanılarak hazırlanan enzim çözeltisi 50 mM pH 6.8 fosfat tamponu içerisinde 10 dakika süreyle 25°C’da bal numunesi ekstraktları ve/veya pozitif kontrol olarak kullanılan kojik asit ile bir araya getirildikten sonra 83 µL L-DOPA çözeltisi ilave edildi ve 475 nm’de absorbanstaki değişim kaydedildi.



## 4 BULGULAR ve TARTIŞMA

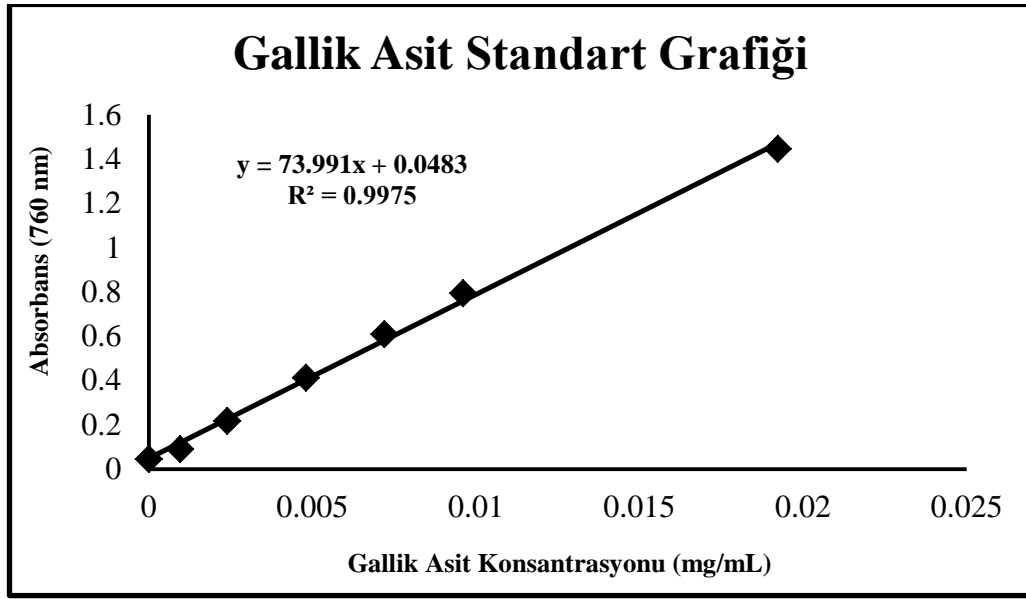
Bu tez çalışması kapsamında çalışma materyali olarak seçilen ticari olarak temin edilen çam ve çiçek ballarının yanı sıra doğrudan üreticiden temin edilen ham çam ve çiçek ballarının karşılaştırılmalı olarak kozmesötik potansiyelinin incelenmesi amaçlanmış olup bu bağlamda doğal bir kaynağın kozmesötik olarak değerlendirilip değerlendirilemeyeceğini ortaya koymak üzere ilk olarak ortaya konulmasının gerekli olduğunu düşündüğümüz bir takım aktivite testleri gerçekleştirilmiştir. Antioksidan ve antiinflatuar aktivitenin tespit edilmesi bu süreçte ilk adımdır. Ayrıca söz konusu aktivitelerin dayandırıldığı fenolik bileşen analizinin hem HPLC ile saptanması hem de spektroskopik olarak kantitatif bir şekilde toplam miktarın belirlenmesi yolu izlenmiştir. Yaşlanmaya bağlı olarak insan cildindeki olumsuz belirtilerin en önemli kaynağı olan bir takım enzim inhibisyonlarının sağlanmasının önemli olduğunu bilinmesi sebebi ile bal numunelerinin, melanin üretimini kontrol etmek için hız sınırlayıcı bir enzim olan tirosinaz, kollajen içindeki peptit bağlarını kıran enzim olan kollajenaz ve kollajen ile birlikte bağ dokusunun mekanik özelliklerini belirleyen elastik bir lif olan elastini parçalayan elastaz enzimleri üzerindeki inhibisyon özellikleri araştırılmıştır. Tüm bunların yanında cilt yaşlanmasının en önemli sebebi olarak bilinen güneş ışınlarının olumsuz zararlarına karşın kozmesötik olarak değerlendirilebilecek bir ürünün güneş koruma faktörünün belirlenmesi gerekliliği ile bal numunelerinin güneş koruma faktörleri hesaplanmıştır.

### 4.1 Numunelerin Toplam Fenolik Madde Miktarları

Balın biyolojik özelliklerinden flavonoidler ve fenolik asitler gibi birçok ikincil metabolitlerin sorumlu olduğu bilinmektedir (Meo ve ark., 2017). Bu sebeple tez kapsamında araştırılan bal numunelerinin biyolojik etkinliklerini ortaya koyabilmek amacıyla ilk olarak toplam fenolik bileşen miktarının belirlenmesi amaçlandı.

Bal numunelerinden hazırlanan su ekstraktlarının içerdiği fenolik bileşiklerin toplam miktarının belirlenmesi amacıyla Folin-Ciocalteu reaktifinin kullanıldığı geleneksel metot takip edildi. Yaygın olarak kullanılan bir fenolik olan gallik asit standart olarak kullanıldı. Belirlenen deney koşullarında değişen konsantrasyonlarda

hazırlanan (0.001-0.02 mg/mL'lik) gallik asit çözeltileri ile bölüm 3.1.5 de anlatılan metoda göre toplam fenolik madde miktarları tayin edildi. 760 nm'deki absorbans değerleri Y eksenine ve gallik asit konsantrasyon değerleri ise X eksenine yerleştirilerek standart çalışma grafiği çizildi (Şekil 4.1). Bu grafikte absorbans değerlerinin gallik asit konsantrasyonuyla doğru orantılı olduğu görülmektedir. Grafikteki doğru denkleminde yararlanarak bal numunelerinin toplam fenolik madde içerikleri µg GAE/g bal olarak hesaplandı.



**Şekil 4.1** Toplam Fenolik Madde İçeriklerinin Belirlenmesi İçin GA Standart Çalışma Grafiği.

Bal numunelerinin su ekstraktlarının fenolik içerikleri bu grafiğin doğru denklemi kullanılarak hesaplandığında toplam fenolik içerik değerlerinin 120.95-753.64 µg GAE/g bal değerleri aralığında olduğu saptandı. En yüksek fenolik içerik değerine sahip bal numunesi karşılaştırma amacıyla seçilen ham meşe balı (20) iken en düşük fenolik içerik değerine sahip bal numunesi ise 18 numaralı ham çiçek balıdır. Meşe balını hariç tutarsak en yüksek fenolik içerik çalışmada kullanılan ticari olarak satın alınan bir çiçek balı numunesi 8 durumunda elde edilmiştir.

Farklı orijinlerden 6 farklı balın fenolik içerikleri üzerinde çalışmış olan Smetanska ve ark. (2021) incelemiş oldukları Almanya'dan temin ettikleri çam balının fenolik içeriğini 100 g bal numunesi için 44.828 mg gallik asit eşdeğeri olarak hesaplamışlardır. Bu değer bizim test etmiş olduğumuz çam balı numuneleri için

hesapladığımız değerlerin ortalaması olan 448.28 µg GAE/g bal değeriyle birebir uyumludur.

İçerdiği fenolik asitler ve flavonoidler gibi ikincil metabolitler sebebiyle bal sadece tadı nedeniyle değil, aynı zamanda yüksek besin ve nutrasötik değeri ile de kıymet görmektedir (Meo ve ark., 2017). Bal, genel olarak içerdiği kaynaklara göre farklı fizikokimyasal özellikler sergileyen bal özü (salgı balı) ve çiçek balı olmak üzere iki kategori altında sınıflandırılmaktadır (Can ve ark., 2015). Çiçek balı nektardan üretilirken salgı balı böcek salgılarından ya da yaprakların terinden olmak üzere 2 farklı yolla üretilmektedir. İyi bilinen bir salgı balı olan çam balını üretebilmek için arılar çam ağaçlarının özünde yaşayan *Marchalina hellenica* böcek türünün bal özünü kullanırlar. Meşe balı iki yoldan biriyle üretilir. Bunlardan biri *Kernes guercus*, *Lachnus ilicophilus* ve *Thelexes dryophila* gibi bazı meşe yaprak bitlerinin salgılarını içerir (Sorkun, 2008). Alternatif bir yöntem, ani sıcaklık değişiklikleri veya gece ve gündüz sıcaklık değişiklikleri gibi stres koşulları altında meşe yapraklarıyla terlemeyi içerir. Yaprakların terlemesi, bal üretiminde arılar için önemli bir besin kaynağı olan çeşitli şekerlerin salgılanmasına neden olur. Bu nedenlerle bal özü ve nektar balları kimyasal bileşim, fiziksel özellikler ve melissopalnolojik analiz açısından birbirinden farklıdır (Simova ve ark., 2012). Bu bilgiler ışığında test ettiğimiz çam ve çiçek ballarının toplam fenolik içeriklerinin genel olarak farklı olmasını beklemekteydik. Ancak şaşırtıcı bir şekilde en yüksek fenolik içeriği bir çiçek balı numunesi için hesaplanırken en düşük fenolik miktarı da yine bir çiçek balı numunesi durumunda bulunmuştur.

Bilindiği üzere Türkiye, coğrafi konumu ve ideal iklim koşulları nedeniyle dünyanın en önemli bal üreten ülkelerinden biridir. En çok bilinen salgı ballarından biri olan çam balının dünyadaki en yaygın üreticisi Türkiye'dir. Öte yandan meşe balı hakkında çok az şey bilinmektedir. Türkiye meşe bakımından zengin bir ülkedir ve neredeyse tüm coğrafi bölgelerinde meşe ormanları bulunur. Ancak tüm meşe ormanları meşe balı üretimine uygun değildir. İklimsel koşulların da uygun olması gerekir. Gündüz ve gece sıcaklıkları arasında yüksek fark olan bölgelerde bitkilerin yapraklarında stres faktörleri ile bağlantılı olarak şekerler oluşur. Arılar, nemliyken yapraklardaki şekerleri depolarlar. Bala, şekerle birlikte yapraklardan çeşitli polifenolik maddeler girer. Bu nedenlerden dolayı meşe balı koyu renklidir,

polifenolik bileşenler bakımından zengindir ve kendine has aroması vardır. Bu literatür bilgileriyle uyumlu olarak karşılaştırma amaçlı olarak test etmiş olduğumuz meşe balının fenolik madde içeriğini en yüksek olarak bulmuş olmamız beklenen sonuçlardandır.

## **4.2 Numunelerin Antioksidan Aktivite Bulguları**

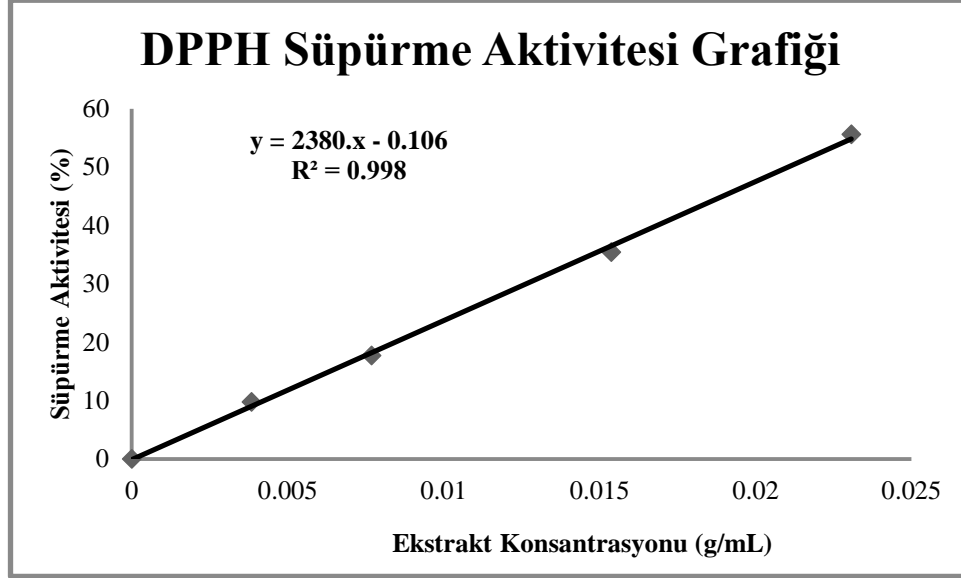
### **4.2.1 Numunelerin DPPH Serbest Radikal Süpürme Aktiviteleri**

Antioksidan aktivite, serbest radikallerin yakalanma yeteneğinin bir göstergesidir. Bal numunelerinin antioksidan aktivitelerini ortaya koyabilmek amacıyla ilk olarak DPPH radikalini süpürme yetenekleri araştırıldı. DPPH yönteminde, DPPH (2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikali antioksidan maddeden bir proton alır ve indirgenir. Mor renkli DPPH radikalinin bir antioksidan madde ile reaksiyona girmesi indirgenme sonucu mor rengin şiddetinin azalarak absorbansta azalmaya neden olur. Yakalanan elektron sayısına bağlı olarak absorpsiyon gücü azalır. Eğer çözelti üzerine ilave edildiğinde renk şiddetli bir şekilde açılıyorsa o maddenin antioksidan aktivitesinin yüksek olduğu anlamı çıkarılmaktadır. Kararlı DPPH radikalinin kullanılması enzim inhibisyonu ve metal şelatlaşması gibi yan reaksiyonlar tarafından etkilenmediği ve teknik olarak basit olduğu için avantajlıdır (Khatua ve ark., 2013). Bu sebeple bir bileşik ya da ekstraktın kabiliyetini test etmek için yaygın bir şekilde tercih ediliyor olsa bile birçok antioksidan bileşik DPPH ile yavaş tepkime vermektedir. Örneğin askorbik asit ile 1.15 dakika ve rutin ile 103 dakikada tepkime vermektedir. Bu nedenle antioksidan kapasite doğru bir şekilde ifade edilemeyebilir. Ayrıca, DPPH ile antioksidan bileşik arasındaki reaksiyon kinetiğinin DPPH derişimi ile her zaman doğrusallık göstermeyişi de testin olumsuz yönlerinden biridir (Huang ve Prior, 2005; Molyneux, 2004). Antioksidan aktivite başlangıçtaki DPPH derişiminin % 50'sinin azalması için harcanan antioksidan miktarını ifade eden SC<sub>50</sub> (etkin konsantrasyon) değeri ile verilir (Brand-Williams ve ark., 1995).

Ekstraktların DPPH serbest radikalini süpürme etkinlikleri Sánchez-Moreno ve ark., (1998) tarafından kullanılan metoda göre belirlenmeye çalışıldı. Bu amaçla ekstraktların farklı konsantrasyonlarının metanolde hazırlanmış DPPH çözeltisi ile birleştirilmesiyle oluşan karışım 30 dakika süreyle karanlıkta bekletildikten sonra 517 nm de metanole karşı absorbans kaydedildi ( $A_{numune}$ ). Aşağıdaki eşitlik

kullanılarak her bir ekstrakt konsantrasyonu için süpürme aktivitesi hesaplandı. Hesaplanan süpürme aktiviteleri konsantrasyona karşı grafiğe geçirildikten (Şekil 4.2) sonra SC<sub>50</sub> değeri (ortamdaki serbest radikallerin %50 sini süpüren ekstrakt konsantrasyonu) belirlendi. Kör olarak DPPH çözeltisi ile uygun miktardaki su karışımının absorpsiyonu kaydedildi (A<sub>kör</sub>).

$$\text{Süpürme Aktivitesi (\%)} = [A_{(kör)} - A_{(numune)}] / A_{(kör)} \times 100$$



**Şekil 4.2** 17 Numaralı Bal Örneğinin DPPH Radikal Süpürme Aktivitesini Hesaplamak İçin Çizilen Grafik

Tüm bal numunesi ekstraktları için farklı konsantrasyon değerlerindeki süpürme yüzdelerinin hesaplanması ve yukarıda verilen temsili grafiğin çizilmesi sonucunda her bir ekstrakt için SC<sub>50</sub> değeri hesaplandı. Elde edilen SC<sub>50</sub> değerleri incelendiğinde en düşük SC<sub>50</sub> değerinin (0.008 g/mL) yani en yüksek DPPH radikali süpürme aktivitesinin meşe balı (**20**) için elde edildiği görüldü. En yüksek SC<sub>50</sub> değeri (0.162 g/mL), başka deyişle en düşük DPPH radikali süpürme aktivitesi ise (**18**) numaralı ham çiçek balı numunesi durumunda tespit edildi. Bu iki numune için elde edilen değerler toplam fenolik içerikleri ile yüksek derecede uyumlu olup beklenildiği gibidir. İlginç olarak toplam fenolik içeriği oldukça düşük olarak belirlenen (**17**) numaralı bal için DPPH radikalini giderme aktivitesi oldukça yüksek bulunmuştur (SC<sub>50</sub>=0.021 g/mL). Belirgin derecede uyumlu olan ya da hiç beklenilmediği gibi olan numuneler dışında tüm örnekleri bir arada

değerlendirdiğimizde toplam fenolik içerik değerleri ile DPPH radikalini giderme aktiviteleri arasında orta derecede bir korelasyon söz konusudur ( $R^2=0.4474$ ).

**Çizelge 4.1** Bal numunelerinin fenolik içerikleri ve antioksidan aktiviteleri

Bal Numunesi	Toplam Fenolik İçerik ( $\mu\text{gGAE/g bal}$ )	DPPH Radikali Süpürme Aktivitesi ( $\text{SC}_{50}$ ; g/mL)	ORAC Aktivitesi ( $\mu\text{mol TE/g bal}$ )
1 (A marka çam balı)	480.36	0.027	1.575
2 (A marka çiçek balı)	455.76	0.062	1.226
3 (B marka çam balı)	497.93	0.033	1.842
4 (B marka çiçek balı)	410.08	0.086	0.840
5 (C marka çam balı)	455.76	0.032	1.352
6 (C marka çiçek balı)	396.02	0.076	0.824
7 (D marka çam balı)	582.26	0.025	1.518
8 (D marka çiçek balı)	617.40	0.029	1.175
9 (E marka çiçek balı)	420.62	0.061	2.379
10 (F marka çiçek balı)	308.17	0.124	1.797
11 (G marka çam balı)	344.66	0.042	3.096
12 (H marka çam balı)	578.87	0.024	0.713
13 (ham çam balı)	302.72	0.046	1.414
14 (ham çam balı)	407.58	0.040	1.581
15 (ham çam balı)	400.59	0.045	1.598
16 (ham çam balı)	432.05	0.028	1.353
17 (ham çiçek balı)	271.26	0.021	3.839
18 (ham çiçek balı)	120.95	0.162	0.654
19 (ham çiçek (Anzer) balı)	561.39	0.036	2.558
20 (ham meşe balı)	753.64	0.008	1.581

Fenolik bileşiklerin hidrojen iyonları veya elektronlar bağışlayarak, metal katyonları şelatlayarak veya radikalleri temizleyerek antioksidan görevi gördüğü bildirilmiştir. Ancak OH gruplarının sayısı, OH gruplarının düzenlenmesi, elektron veren ve çeken ikame edicilerin mevcudiyeti ve fenolik bileşiklerdeki aromatik halkalar, özütlerinin antioksidan kapasitesini önemli ölçüde etkiler (Ghimire ve ark., 2021). Şunu da belirtmek gerekir ki; bir ekstraktın toplam antioksidan aktivitesine antioksidan özelliklere sahip olan karotenoidler ve alkaloidler gibi fenolik olmayan bileşenlerin yanı sıra kumarinler, tanninler ve/veya fenolik bileşenler gibi flavonoidler dışında fenolik türlerinde katkıda bulunduğu bilinmektedir (Lizcano ve ark., 2010).

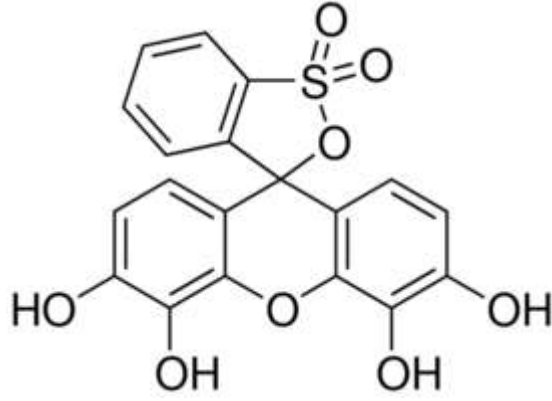
#### 4.2.2 Numunelerin ORAC Radikalini Süpürme Aktiviteleri

Elde edilen farklı amaçlar ve tepkiler nedeniyle, bal özü ballarında yapılan çalışmalarda antioksidan aktiviteyi ölçebilmek için ABTS (2,2-azino-bis-3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit radikali), DPPH (2,2-difenil-pikrilhidrazil radikali),

FRAP (demir indirgeyici antioksidan güç) ve ORAC (oksijen radikali emme kapasitesi) gibi farklı testler tercih edilir (Seraglio ve ark., 2019). Oksijen radikali antioksidan kapasite (ORAC) yöntemi de hidrojen atom transferine dayanan bir yöntem olup biyolojik örneklerin antioksidan kapasitesini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biridir (Ertekin Filiz, 2015). Antioksidan kapasitesinin doğru ölçümü, hem inhibisyon derecesi hem de inhibisyon süresinin hesaba katılmasını gerektirir. Oksijen radikali emme kapasitesi (ORAC) şimdiye kadar hem inhibisyon süresini hem de inhibisyon derecesini tek bir miktar halinde birleştiren tek yöntemdir ve zincir kıran antioksidan aktivitesi ile daha ilgilidir (Dudonné ve ark., 2009; Huang ve ark., 2002).

ORAC, test edilen örneklerle kaç serbest radikalın deaktive edilebileceğini değerlendiren bir testtir (Okińczyc ve ark., 2021). Ayrıca biyolojik bir radikal kaynağının kullanılıyor olması da ORAC testine artı bir değer kazandırmaktadır (Prior ve ark., 2003).

Cao ve arkadaşları tarafından ilk kez önerilmiş olan ORAC yönteminde (Cao ve ark., 1993) peroksil radikalleri ile oksitlenen bir hedef molekülün bir antioksidan tarafından ne kadar korunduğu, başka bir deyişle hedef molekülün bozunma derecesi floresans veya absorbans takibi ile izlenerek, bozunma kinetiği eğrisinin altında kalan alanda meydana gelen değişim oranı ile ortaya konulur. Orijinal yöntemde hedef molekül olarak fikoeritrin kullanılmış iken daha sonra bu molekülün yerini fluoressin almıştır (Ou ve ark., 2002; Alarcon ve ark., 2008). Bahsedilen bu iki kimyasal yani fikoeritrin ve fluoressin ile yapılan ORAC ölçümleri floresans spektrofotometre gerektirmektedir. Ayrıca test edilen bileşiğin antioksidan aktivitesinin yüksek olması durumunda kesin kinetik veri elde etmek zorlaşmaktadır. Bu nedenle bu reaktiflerin yerine renkli bir reaktif olan pirogallol red (PGR)'in (Şekil 4.3) kullanılması tercih edilmiştir (Lopez-Alarcon ve Lissi, 2006).



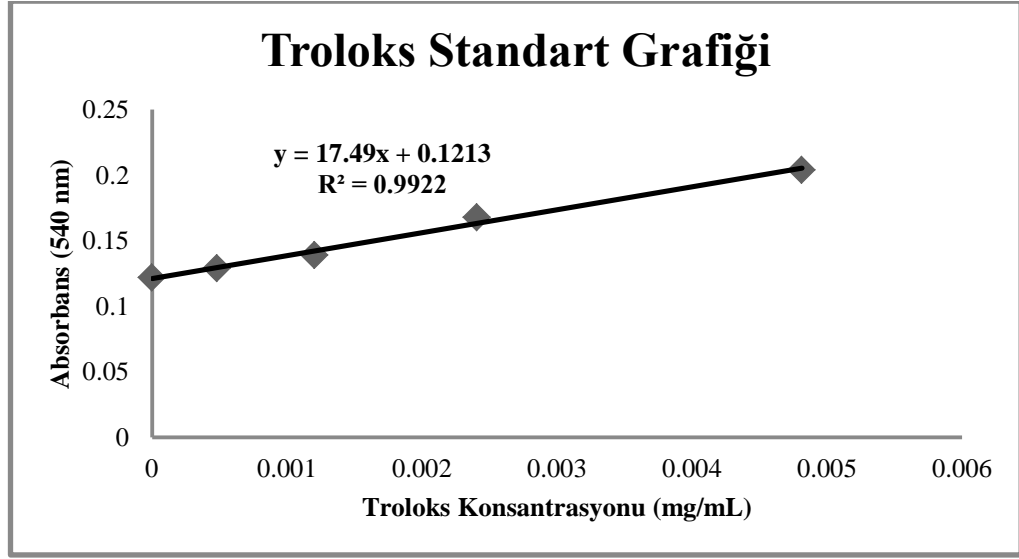
**Şekil 4.3** Pirogallol Red Molekülünün Kimyasal Yapısı

Pirogallol red reaktifinin kullanılmasıyla elde edilen ORAC potansiyellerinin antioksidanların peroksil radikallerine karşı reaktivitesini daha duyarlı gösterdiği bildirilmiştir (Lopez-Alarcon ve ark., 2011). PGR'nin kullanılmasıyla ORAC yöntemi saf antioksidan maddeler ve kompleks antioksidan karışımları için denenmiş ve sonuçların test edilen bileşiklerin reaktivitesi ile daha iyi korelasyon gösterdiği ve görünür spektroskopi uygulanmasının daha kolay olduğu sonucuna varılmıştır (Lopez-Alarcon ve Lissi, 2006).

Tez çalışması sırasında floresans yöntem yerine pirogallol red kullanılarak tercih edilen spektroskopik yöntemde test edilen örneklerdeki antioksidan maddenin, hedef molekülün (pirogallol red) bir serbest radikal varlığında (AAPH) tüketilmesini engelleme yeteneği ölçülür. Bunun için sabit serbest radikal derişiminde farklı antioksidan derişimleri ile elde edilen reaksiyon kinetikleri incelenir. Bu çalışmada da Troloks ve bal numunelerinin su ekstraktları kinetik olarak incelenmiştir. Hiç antioksidanın bulunmadığı deney kör olarak kabul edilmiş ( $A_0$ ) tir. Antioksidanın varlığında elde edilen absorbanslar ise A olarak okunmuştur.

Bu amaçla ilk olarak bir seri konsantrasyondaki (0-0.005 mg/mL) troloks için materyal-metotkısında anlatılan deneysel işlemin uygulanmasının ardından ölçülen absorbansların troloks konsantrasyonuna karşı grafiğe geçirilmesi ile elde edilen grafiğin (Şekil 4.4) doğru denklemden yararlanarak test edilen bal örneklerinin 1 gramının troloks eşdeğeri (TE) oksijen radikali abosrblama aktiviteleri hesaplandı ve Çizelge 4.1 'de sıralandı.





**Şekil 4.4** Ekstraktların ORAC Değerlerinin Hesaplanması İçin Çizilen Troloks Standart Grafiği

Çizelgenin detaylıca incelenmesiyle **17** olarak numaralanmış ham çiçek balının en yüksek ORAC değerine sahip olduğunu bu numuneyi ise **11** numaralı ticari olarak satın alınan bir çam balı numunesinin izlediği görölmektedir. Oksijen radikalini temizleme potansiyeli en düşük olan bal numunesi ise fenolik içeriği ve DPPH radikali süpürme aktivitesi en düşük olarak belirlenmiş olan **18** numaralı başka bir ham çiçek balı numunesidir. Bu numuneyi izleyen bal numunesi ise **12** numaralı ticari olarak temin edilmiş olan bir çam balı numunesidir. Bu sonuçlar neticesinde çam balları ile çiçek ballarının ORAC potansiyelleri hakkında kesin bir genel hüküm verilemeyeceğinin doğru olduğunu söyleyebiliriz.

Oysa ki farklı kökenlerden balların antioksidan aktivitesini değerlendiren araştırmacılar salgı balının fenolik bileşik miktarı bakımından daha zengin olduğunu ve dolayısıyla daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu bildirmiştir (Kowalski, 2013; Vela ve ark., 2007; Al ve ark., 2009).

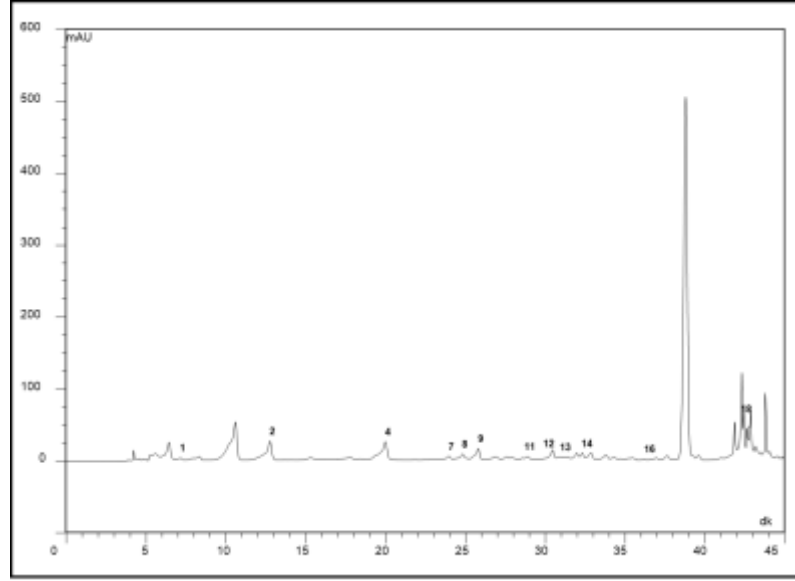
Çeşitli floral kaynaklardan elde edilen balların ORAC testi ile antioksidan aktivitesinin araştırıldığı çalışmada ORAC değerleri 3.1-16.3 µmol TE/g bal olarak hesaplanmış ve en koyu renkli karabuğday balının ORAC değerinin en yüksek olduğu saptanmıştır (Gheldof ve Engeseth., 2002).

### 4.3 Numunelerin HPLC ile Fenolik Bileşen Analizi Sonuçları

Balın bazı kronik hastalıkların iyileştirilmesinde cesaret verici etkiye sahip olan karotenoidler, flavonoidler, fenolik asitler, vitaminler ve enzimler gibi antioksidan aktiviteye sahip geniş bir bileşen yelpazesi içerdiği birçok çalışmada gösterilmiştir. Baldaki bu bileşenlerin varlığı ve miktarı, balın coğrafi konumu, çiçek kaynağı, iklimi, entomolojik kaynağı, mevsimi ve işlenmesi dahil olmak üzere birçok faktöre bağlıdır. Balların antioksidan potansiyellerini araştırmaya ve fenolik ve flavonoid bileşiklerini analiz etmeye ilgi artmıştır (Smetanska ve ark., 2021).

Balda bulunan flavonoidler grubu, flavonoller (miricetin, kamferol, 8-metoksi kampferol, kuersetin, izoramnetin, kuersetin-3-metil eter, kuersetin 3, 7-dimetil eter, pinobanksin, rutin ve galangin), flavonları (genkvanin, luteolin, apigenin, trisetin ve krisin) ve flavanonları (pinokembrin ve pinostrobin) içermektedir. Baldaki fenolik asitler, hidroksibenzoik asitler (metil siringat, gallik asit, ellagik asit, protokatekuik asit, siringik asit, benzoik asit, 4-hidroksibenzoik asit), hidroksisinnamik asitler (klorojenik, vanilik, kafeik, p-kumarik, ferulik asitler) ve hidroksifenilasetik asitler (homojentisik ve fenilasetik asitler) ile temsil edilir. Araştırmalar, hem flavonoidlerin hem de fenolik asitlerin bala antioksidan kapasite ve diğer tıbbi özellikler kazandırdığını ortaya koymaktadır (Gośliński ve ark., 2021).

Mevcut tez çalışmasında balların kozmesötik endüstrisinde kullanılabilirliğini dayandırabileceğimiz antioksidatif etkinliklerinin yada çeşitli enzimlerin inhibisyonuna yol açabilecek sekonder metabolitleri ihtiva ediyor oluşunu ortaya koyabilmek amacıyla bal numunelerimizin fenolik içerikleri HPLC tekniği ile aydınlatılmıştır. Bu amaçla bal numunelerinde gallik asit, protokatekuik asit, protokatekuik aldehit, *p*-OH benzoik asit, kateşin, klorojenik Asit, vanilik asit, kafeik asit, şiringik asit, epikateşin, vanilin, *p*-kumarik asit, şiringalhedid, ferulik asit, rutin, benzoik asit, rosmarinik asit, kuersetin fenolikleri tarandı. Şekil 4.5 de ham bir çam balı olan **15** numaralı bal için temsili olarak verilen ve her bir bal numunesi için elde edilen kromatogramların bu fenoliklerden sadece *p*-OH benzoik asitin tüm test edilen çam ve çiçek ballarının tamamında değişen oranlarda (1.928-27.672 µg/g numune) varlığı tespit edilmiştir. Gallik asit, vanilik asit, kafeik asit ve *p*-kumarik asit ise sadece birer bal numunesi hariç diğer bal numunelerinin tamamında tespit edilmiştir.



**Şekil 4.5** 15 Numaralı Bal İçin HPLC-UV (280 nm) Kromatogram (1-Gallik Asit, 2-Protokatekuik Asit, 3-Protokatekuik Aldehit, 4-p-OH Benzoik Asit, 5-Kateşin, 6-Klorojenik Asit, 7-Vanilik Asit, 8-Kaffeik Asit, 9-Şiringik Asit, 10-Epikateşin, 11-Vanilin, 12-p-Kumarik, Asit, 13-Şiringalhedit, 14-Ferulik Asit, 15-Rutin, 16-Benzoik Asit, 17-Rosmarinik Asit, 18-Kuersetin)

Bu 4 fenoliğin tespit edilemediği bal numunelerinin ortak yanı hepsinin çiçek balı olmasıdır. Rosmarinik asit ise test edilen 18 bal numunesinin hiçbirinde tespit edilemeyen fenolik asittir. Protokatekuik aldehit, klorojenik asit ve rutin ise bal numunelerinin çoğunda saptanamayan sadece bir bal numunesinde tespit edilen fenoliklerdir. Bal numunelerinde araştırılan 18 adet fenoliğin en fazla türünün saptandığı bal numuneleri **3** ve **15** ile numaralandırılmış çam balı örnekleridir. Bu balların her ikisinde de 12 farklı fenolik tespit edilmiştir ve tespit edilen fenoliklerin türleri hemen hemen ortaktır. En az çeşitli fenolik içeren örnek ise **18** numaralı toplam fenolik içeriği de en düşük olarak saptanmış bir ham çiçek balı örneğidir.

Bal örneklerinin içeriğinde tespit edilen fenoliklerin nicel miktarlarına baktığımızda ortalama olarak en yüksek değer **5** numaralı ticari olarak temin edilmiş bir çam balı örneğinde, en yüksek ikinci değer ise **14** numaralı ham bir çiçek balı örneğinde saptanmıştır. **9** ve **18** numaralı sırasıyla ticari ve ham çiçek balı örneklerinde ise ortalama olarak en düşük fenolik değerler hesaplanmıştır. Gallik asit, protokatekuik asit, *p*-OH benzoik asit, vanilik asit, kafeik asit, şiringik asit ve *p*-

kumarik asit test edilen tüm çam balı numunelerinde tespit edilen fenoliklerdir. Tam tersi kateşin, klorojenik asit, rutin ve rosmarinik asit hiçbir çam balı numunesinde tespit edilmemiştir. Oysa ki Smetanska ve ark. (2021) yapmış oldukları çalışmada Almanya'dan temin etmiş oldukları bir çam balı örneğinde klorojenik asit varlığını tespit etmişlerdir. Bunun yanı sıra aynı örnekte mevcut çalışmanın sonuçları ile uyumlu olacak şekilde *p*-kumarik asit ve kaffeik asit saptanmıştır. Bunların dışında krisin ve kamferol de aynı örnekte saptanan fenolikler arasındadır. Ayrıca biri dışında tüm çam balı örneklerinde tespit edilmiş olan ferulik asit Almanya'dan temin edilerek araştırılan çam balında tespit edilememiştir (Smetanska ve ark., 2021). Kedzierska-Matysek ve arkadaşları tarafından yürütülen çalışmada ise aralarında ıhlamur, akasya, karabuğday ve kolza tohumu balları gibi çiçek ballarının olduğu popüler Polanya balları üzerinde fenolikler ve flavonoidler açısından bir inceleme yapılmıştır. *p*-Hidroksi benzoik, kaffeik, vanilik, şiringik, *p*-kumarik, ferulik, benzoik ve sinnamik asit fenolikleri ve kuersetin, apigenin, kamferol ve krisin flavonoidleri değişen oranlarda saptanmıştır (Kedzierska-Matysek ve ark., 2021). Balın fenolik bileşimi öncelikle botanik kökenine bağlıdır ve fenolik bileşiklerin miktarı yılın mevsimi, iklim koşulları ve işleme faktörlerine bağlı olarak değişebilir. Balın polifenol bileşimi için elde edilen sonuçların karşılaştırılması, karmaşık matriksi, bu bileşiklerin düşük konsantrasyonları ve analiz ve sunumlarındaki farklılıklar nedeniyle zor olabilir (Kedzierska-Matysek ve ark., 2021). Türkiye Muğla civarından temin edilen 10 tane çam balı örneğinin fenolik bileşiminin incelendiği çalışmada ise numunelerin protokatekuik asit, krisin, kafeik asit fenil esteri, *p*-OH benzoik asit, luteolin ve gallik asit açısından zengin olduğu bulunmuştur. Buna karşılık aynı numunelerde rutin ve mirisetinin araştırıldığı halde tespit edilemediği bildirilmiştir (Kara, 2019).

**Çizelge 4.2** 1-9 Numaralı Bal Numunelerinin HPLC İle Belirlenen Fenolik Bileşen Analizi Sonuçları (µg/g)

<b>BİLEŞENLER</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>
<b>Gallik Asit</b>	1.075 ±0.054	0.894 ±0.016	1.356 ±0.054	0.676 ±0.031	1.441 ±0.091	5.399 ±0.029	4.965 ±0.109	3.008± 0.174	1.366± 0.027
<b>Protokatekuik Asit</b>	103.256±0.381	13.264 ±0.059	85.674 ±0.220	7.807 ±0.057	101.677 ±0.298	7.977 ±0.010	30.756 ±0.118	7.098± 0.107	5.824± 0.035
<b>Protokatekuik Aldehit</b>	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
<b>p-OH Benzoik Asit</b>	14.646±0.086	13.590 ±0.059	25.422 ±0.236	8.510 ±0.024	18.140 ±0.016	7.539 ±0.080	8.902 ±0.024	5.798±0.007	3.852± 0.056
<b>Kateşin</b>	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	1.216±0.105	TE
<b>Klorojenik Asit</b>	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
<b>Vanilik Asit</b>	4.436±0.064	3.360 ±0.054	5.886 ±0.308	1.868 ±0.097	5.146 ±0.102	2.394 ±0.066	1.316 ±0.029	0.979± 0.058	0.483± 0.033
<b>Kaffeik Asit</b>	4.768±0.090	2.337 ±0.035	6.386 ±0.107	3.710 ±0.004	4.289 ±0.057	2.471 ±0.061	1.722 ±0.063	1.409± 0.010	0.229± 0.016
<b>Şiringik Asit</b>	2.580±0.038	1.893 ±0.033	5.466 ±0.078	1.169 ±0.062	2.957 ±0.052	TE	4.432 ±0.096	TE	0.348± 0.013
<b>Epikateşin</b>	4.104±0.048	6.882 ±0.121	1.973 ±0.090	TE	TE	2.209 ±0.056	TE	5.261± 0.060	TE
<b>Vanilin</b>	1.137±0.009	1.299 ±0.056	2.213 ±0.025	TE	1.295 ±0.020	TE	5.395 ±0.096	5.260± 0.027	TE
<b>p-Kumarik Asit</b>	2.944±0.045	4.347 ±0.081	8.035 ±0.219	3.681 ±0.001	2.991 ±0.050	2.980 ±0.037	2.893 ±0.088	2.048± 0.087	0.550± 0.012
<b>Şiringalhedid</b>	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
<b>Ferulik Asit</b>	2.125±0.022	1.216 ±0.074	2.589 ±0.067	0.627 ±0.026	TE	0.221 ±0.030	0.813 ±0.011	0.467± 0.019	0.696± 0.024
<b>Rutin</b>	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
<b>Benzoik Asit</b>	5.343±0.023	TE	8.225 ±0.089	TE	10.951 ±0.007	3.429 ±0.028	33.898 ±0.390	37.426±0.187	0.847±0.000
<b>Rosmarinik Asit</b>	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
<b>Kuersetin</b>	TE	2.881 ±0.069	1.232 ±0.018	4.280 ±0.089	TE	2.533 ±0.054	TE	TE	TE

TE: Tespit edilemedi

Çizelge 4.3 10-18 Numaralı Bal Numunelerinin HPLC İle Belirlenen Fenolik Bileşen Analizi Sonuçları (µg/g)

<b>BİLEŞENLER</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>
<b>Gallik Asit</b>	8.584± 0.076	0.985±0.088	1.487± 0.094	0.784± 0.045	1.057± 0.053	1.342± 0.011	1.162± 0.027	TE	0.919± 0.006
<b>Protokatekuik Asit</b>	3.774± 0.013	62.513±0.513	41.548± 0.023	45.245± 0.170	80.445±0.654	62.836± 0.249	103.566±0.312	TE	TE
<b>Protokatekuik Aldehit</b>	TE	TE	TE	TE	TE	TE	3.361± 0.021	TE	TE
<b>p-OH Benzoik Asit</b>	13.717±0.034	17.075±0.216	6.612± 0.074	7.559± 0.096	27.672± 0.067	20.063± 0.093	23.921± 0.095	3.269± 0.007	1.928± 0.030
<b>Kateşin</b>	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	2.635± 0.027	TE
<b>Klorojenik Asit</b>	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	3.470± 0.032	TE
<b>Vanilik Asit</b>	1.507±0.032	2.960±0.053	2.093± 0.078	2.468± 0.057	3.768± 0.010	5.466± 0.067	3.822± 0.031	0.425± 0.033	TE
<b>Kaffeik Asit</b>	0.300±0.073	1.083±0.011	4.339± 0.022	0.253± 0.028	1.276± 0.029	5.694± 0.035	6.127± 0.077	0.289± 0.003	TE
<b>Şiringik Asit</b>	3.518±0.000	1.969±0.028	3.002± 0.014	0.858± 0.060	2.961± 0.054	5.693± 0.013	1.677± 0.062	0.128± 0.020	TE
<b>Epikateşin</b>	3.846±0.040	TE	6.122± 0.075	TE	TE	TE	TE	TE	TE
<b>Vanilin</b>	TE	1.347±0.064	6.715± 0.044	TE	TE	1.275± 0.017	1.809± 0.023	TE	2.382± 0.010
<b>p-Kumarik Asit</b>	TE	9.476±0.087	3.045± 0.066	1.577± 0.054	2.809± 0.015	5.000± 0.046	3.687± 0.013	0.358± 0.011	0.268± 0.004
<b>Şiringalhedit</b>	6.778±0.107	TE	TE	TE	0.817± 0.036	1.259± 0.047	TE	TE	2.278± 0.018
<b>Ferulik Asit</b>	0.764±0.024	1.145±0.058	1.574± 0.021	0.547± 0.032	2.356± 0.050	2.587± 0.046	3.364± 0.034	TE	TE
<b>Rutin</b>	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	4.044± 0.059	TE
<b>Benzoik Asit</b>	8.887±0.016	13.210±0.113	8.225 ±0.089	TE	32.153± 0.066	5.171± 0.002	8.809± 0.062	22.492± 0.030	2.855± 0.031
<b>Rosmarinik Asit</b>	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
<b>Kuersetin</b>	TE	0.580± 0.008	1.232 ±0.018	TE	TE	0.582± 0.033	TE	TE	TE

TE: Tespit edilemedi

#### 4.4 Numunelerin Antiinflamatuvar Aktivite Bulguları

Kozmesötik ürünlerin her yaş grubu için en fazla kullanıldığı rahatsızlık verici durumun akne oluşumu engellemek amaçlı olduğu bilinmektedir. Klinik olarak lezyonlar yüz, göğüs ve sırtta hafif komedonal formdan kistik akneye kadar değişkenlik gösterebilmektedir. Akne, pilosebace ünitenin çeşitli faktörler tarafından etkilenmesiyle ortaya çıkan derinin inflamatuvar bir hastalığıdır. Akne patogeneğinde dört ana başlık rol almakta olup bunlar; anormal foliküler keratinizasyon, aşırı sebum üretimi, inflamasyon ve *Propionibacterium acnes* kolonizasyonu olarak sınıflandırılabilir. Hücrel inflamatuvar olaylar, akne lezyonlarının başlangıcından itibaren tüm evrelerinde önemli rol oynar. İnflamatuvar süreç aynı zamanda sebum üretimini de arttırmaktadır (Elibüyük Aksaç ve ark., 2018). Dolayısıyla kozmesötik denilince ilk akla gelen inflamasyon oluşumu önleyici yada azaltıcı ajanlardır. Tez çalışması kapsamında kozmesötik potansiyelleri incelenen bal numunelerinin 0.83 mg/mL'lik kısımlarının antiinflamatuvar etkinliği *in vitro* olarak BSA denatürasyonu üzerindeki inhibisyon potansiyeli değerlendirilerek ortaya konulmuştur. Numunelerin anti-inflamatuvar aktiviteleri geniş bir aralıkta değişkenlik göstermektedir. Genellikle ticari ballar durumunda daha yüksek değerler elde edilmiş olup özellikle ham çam balları durumunda aktivite gözlenmemiştir. Çizelge 4.4'den görülebileceği gibi en yüksek aktivite 17 numaralı ham çiçek balı örneğinde hesaplanırken ölçülebilen en küçük inhibisyon potansiyeli ise 8 numaralı ticari bir çiçek balı numunesinde de hesaplanmıştır. Ticari balların daha iyi derecede sonuç vermeleri raf ömrünü artırmak için ilave edilen koruyucular etkisiyle olabileceği düşünülebilir. Denemede karşılaştırma amacıyla test edilen bir non steroid anti inflamatuvar ilaç etken maddesi olan ibuprofenin sadece 0.1 mg/mL'lik kısmının ise % 96.61 oranında anti-inflamatuvar etki gösterdiği bulundu. Anti-inflamatuvar olarak yaygın bir şekilde kullanılan tetrasiklinlerin ibuprofenle kombine kullanımının akne tedavisinde daha etkili olduğunu gösteren raporlar vardır (Wong ve ark., 1984).

**Çizelge 4.4** Bal Numunelerinin Anti-inflamatuar Aktivite ve Güneş Koruma Faktörü (GKF) Değerleri

BAL NUMUNESİ	Anti-İnflamatuar Aktivite (%)	GKF Değerleri
1 (A marka ticari çam balı)	34.52	2.24
2 (A marka ticari çiçek balı)	28.57	2.04
3 (B marka ticari çam balı)	60.71	2.80
4 (B marka ticari çiçek balı)	7.14	2.27
5 (C marka ticari çam balı)	TE	2.70
6 (C marka ticari çiçek balı)	14.52	2.27
7 (D marka ticari çam balı)	TE	4.37
8 (D marka ticari çiçek balı)	4.84	3.71
9 (E marka ticari çiçek balı)	TE	1.74
10 (F marka ticari çiçek balı)	39.04	1.48
11 (G marka ticari çam balı)	29.76	2.72
12 (H marka ticari çam balı)	TE	5.47
13 (ham çam balı)	TE	1.95
14 (ham çam balı)	TE	2.23
15 (ham çam balı)	TE	2.45
16 (ham çam balı)	8.33	2.33
17 (ham çiçek balı)	72.62	1.35
18 (ham çiçek balı)	TE	0.71
19 (ham çiçek (Anzer) balı)	TE	3.11
20 (ham meşe balı)	16.13	18.25

TE: Tespit edilemedi; Anti-inflamatuar aktivite testinde sonuçlar 0.83 mg/mL, GKF faktörünün hesaplanmasında ise 0.02 g/mL bal numunesi için verilmiştir.

Enflamasyon, memeli dokularının çeşitli düşman ajanlara spesifik olmayan bir tepkisidir. Bazı sitokinler ve nitrik oksit (NO) gibi birçok inflamasyon araçları vardır. Tümör nekroz faktörü- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), inflamatuvar sitokinlerin üretimi, hücre proliferasyonu, farklılaşması ve ölüm dahil olmak üzere geniş bir biyolojik etki yelpazesini indükleyen pleiotropik bir sitokindir (Evans ve Whicher, 1990). Nitrik oksidin, akut ve kronik inflamasyonun önemli bir aracısı olduğu bilinmektedir (Ahn ve ark., 2005). Günlük diyetimizde bulunan doğal ürünlerin, anormal proinflamatuvar uyarılara hücrel tepkileri ayarlama ve değiştirme yeteneklerinden dolayı potansiyel kimyasal önleyici bileşikler olduğu ortaya çıkmıştır (Kundu ve Surh, 2005). Aslında, birçok bitki ve balda bulunanlar gibi flavonoidler, çeşitli sitoprotektif etkiler göstermektedir (Middleton ve ark., 2000; Erlund, 2004). Faydalarına dair deneysel kanıtlar yoluyla, daha fazla kişinin, iltihap profilaksisi olarak, son derece besleyici ve iyileştirici bir gıda olan balı günlük diyetlerine dahil etmeye yöneleceği



umulmaktadır. Balın bilinen faydalı özellikleri arasında antioksidan aktivitenin yanı sıra antimikrobiyal, antiviral, antiparaziter, antiinflamatuvar, antitümör ve antitümör etkileri de bilinmektedir. Antibakteriyel ve antiinflamatuvar etkisinden dolayı birçok toplum tarafından yara ve yanık tedavisinde kullanılmaktadır. İnfekte yaraların iyileşmesinde, balın antibakteriyel özelliğinin yanı sıra, lenfositik ve fagositik aktivitenin bal tarafından stimüle edilmesi de etkili olmaktadır. Çeşitli balların, yara iyileşmesini indükleyen TNF- $\alpha$  adlı sitokinin makrofajlardan sekresyonunu stimüle ettiği, 70 g balın sindirilmesinden 3 saat sonra plazmada bulunan inflamatuvar maddelerden tromboksan B2 miktarının %35 düştüğü bildirmiştir. Balın yaralarda inflamasyon ve ödemi azaltırken aynı zamanda granülasyon ve epitelizasyonu da arttırdığı belirtilmektedir (Karadal ve Yıldırım, 2012; Alvarez-Suarez ve ark., 2010a; Al-Waili ve Boni, 2003; Bilsel ve ark., 2002; Tonks ve ark., 2003).

Bal, anti-inflamatuvar etkinliğinde etkili olduğu sanılan ikili rolüyle bağışıklık düzenleyici ajan olarak değerlendirilmektedir (Schieber ve Chandel, 2014):

(1) Inflamatuvar transkripsiyon faktörlerini (NF- $\kappa$ B ve MAPK) aşağı düzenleyerek ve /veya proinflamatuvar sitokinlerin üretimini baskılayarak antiinflamatuvar aktiviteler sergilemesi

(2) prostaglandin E2 (PGE2) ve siklooksijenaz-2 (COX-2) gibi inflamatuvar mediyatörlerin üretimini uyarması

Belirli çiçek kaynaklarından gelen bazı özel ballar vardır. Örneğin, Manuka balı antioksidan ve anti-inflamatuvar etkiler yoluyla ülser önleyici bir rol oynamaktadır veya Gelam balı ovalbumin kaynaklı alerjik astım fare modelinde hava yolu inflamasyonunu etkili bir şekilde inhibe etmeyi başarabilmektedir (Almasaudi ve ark., 2016; Almasaudi ve ark., 2017; Shamsuddin ve Zohdi, 2016). Balın bu şekilde ortaya konulan antiinflamatuvar aktiviteleri balın bol fenolik ve flavonoid içeriğine atfedilmektedir. Çalışmalar baldaki bu bileşiklerin nitrik oksit sentazın (iNOS) proinflamatuvar aktivitesini inhibe edebildiğini ve antiinflamatuvar etkileri olduğunu göstermektedir (Yuan ve ark., 2014; Erejuwa ve ark., 2012; Samarghandian ve ark., 2017). Fenolik asit ve flavonoidlerin çeşitliliği ve içeriğinin,

aspir balının antioksidan ve antiinflamatuvar aktivitelerinde olumlu bir rol oynadığı gösterilmiştir (Sun ve ark., 2020).

Vanilik asitin, anti-oksidasyon yoluyla ve NF- $\kappa$ B ile ilişkili proinflamatuvar sitokinlerin üretimini inhibe ederek antiinflamatuvar ve analjezik bir rol oynadığı bilinmektedir (Calixto-Campos ve ark., 2015). Protokatekuik asit ve *p*-hidroksi benzoik asit, kekik balında önemli antioksidan aktivite göstermiştir (Spilioti ve ark., 2014). Gallik asidin O<sub>3</sub>-H<sub>15</sub> bağının, serbest radikalleri temizlemek için kırılması kolaydır ve antioksidan etkiler sağladığı bilinir (Rajan ve Muraleedharan., 2017).

Gallik asit ayrıca Raw 264.7 hücrelerinin iltihaplanmasını inhibe etmek için TLR4 / NF-B'nin (Toll benzeri reseptör 4 / nükleer faktör- $\kappa$ B) LPS ile indüklenen aktivasyonunu bloke edebilir (Huang ve ark., 2016). Kaffeik asit, sitokin ağlarının regülasyonu yoluyla LPS'nin indüklediği nöroinflamasyonunu azaltır, NF- $\kappa$ B'ye bağlı proinflamatuvar genleri aşağı regüle eder ve oksidatif stresi azaltır (Basu ve ark., 2016). Ferulik asit, nitroso-oksidatif stresi ve proinflamatuvar sitokin üretimini inhibe ederek anti-enflamatuvar aktivite gösterebilir (Sadar ve ark., 2016).

Fenoliklerin en büyük ortak paydasının hepsinin farklı miktarlarda hidroksil grupları içermesi olup gözlenen antioksidan aktivitenin büyük kısmının bu hidroksil gruplarıyla ilgili olduğu sonucuna varılmıştır (Sun ve ark., 2020). Kuersetinin aktif oksijeni temizleyebileceği, oksidatif stresin neden olduğu hasarı önleyebileceği ve lipopolisakkarit (LPS) tarafından indüklenen Raw 264.7 hücrelerde TNF- $\alpha$ 'nın gelişmesini ve iNOS ve IL-1 $\beta$  salgılanmasını önleyebileceği bildirildi (Batiha ve ark., 2020). Mirisetin, NF- $\kappa$ B yolağında NF- $\kappa$ B-p65'i inhibe ederek anti-inflamatuvar etkiler göstermiştir (Hou ve ark., 2018). Rutin (Tian ve ark., 2016) ve naringenin (De Oliveira ve ark., 2018), Nrf-2 / HO-1 sinyal yolu ile ilgili mekanizmaları düzenleyerek oksidatif stresi azaltır ve anti-inflamatuvar etkiler uygular. Kuersetin-3-O-glukozit, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 ekspresyonunu ve NF- $\kappa$ B'nin aktivasyonunu inhibe edebilir ve aynı anda Nrf-2 ve HO-1 ekspresyonunu yukarı düzenleyebilir ve farelerde akut böbrek hasarının cisplatin indüksiyonuna direnmek için iltihaplanma ve oksidasyonu inhibe eder (Chao ve ark., 2016). Kamferol, IL-1 $\beta$  tarafından uyarılan sıçan artiküler kondrositlerinde iNOS ekspresyonunu artırabilir ve IL-1 $\beta$  tarafından uyarılan sıçan eklem kondrositlerinde I $\kappa$ B $\alpha$ 'nın degradasyonunu ve NF-

activB'nin aktivasyonunu inhibe edebilir (Zhuang ve ark., 2017). Hesperetin ve naringin dahil olmak üzere bazı flavonoidler HO-1'i indükler ve LPS ile indüklenen NO üretimini inhibe edebilir. Dahası, genistein, kamferol, kuersetin ve daidzein, iNOS için bir diğer önemli transkripsiyon faktörü olan sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon 1 aktivatörünün aktivasyonunu inhibe eder (Romier ve ark., 2008). Ek olarak, kuersetin, kaffeik asit, krizin, ellagik asit ve çeşitli polifenolik bileşikler, nükleer faktör –  $\kappa$ B'nin aşağı regülasyonu ile bilinir (Hämäläinen ve ark., 2007); bu da iNOS'un biyosentezini azaltır ve nihayetinde NO üretimini engeller.

Yukarıda bahsedilen fenolik bileşiklerin çoğu bu çalışmada tanımlanmıştır. Ayrıca test edilen bal numunelerinin *in vitro* olarak sergiledikleri antiinflamatuvar aktiviteye de dayanarak bu numunelerin NO üretiminin engellenmesi yoluyla antiinflamatuvar ajan olarak değerlendirilebileceği düşünülebilir.

#### **4.5 Numunelerin Güneş Koruma Faktörü Değerleri**

Görünümü iyileştirmek için vücuda uygulanan maddeler veya ürünler olarak bilinen kozmetik ürünlerin kullanımı hızla artmaktadır. Bu artış artan şehirleşme, yaşam tarzı iyileştirmeleri ve sosyal medyada resim yayınlama eğilimi gibi temel faktörlerle desteklenmektedir. Ayrıca çalışan kadın sayısının artması ve insanların sosyal medyada harcadıkları zamanın çoğalması da görünüşleri hakkındaki bilinçlerinin artmasına yol açmıştır. Kozmetik ürünlerde toksik kimyasalların varlığı, pazarın büyümesi için zorluklar yaratmaktadır. Günümüzde tüketicilerin kozmetik ürünleri seçme konusunda büyük bir endişesi var. Üreticiler, kullanımı güvenli ve çevre dostu kozmetik ürünleri yenilemek için birbirleriyle yarışma halindedir (Fadhullah ve ark., 2019).

Bitkisel veya doğal kozmetikler, çeşitli cilt rahatsızlıklarını iyileştirmek için bir veya daha fazla bitkisel bileşenin kullanıldığı tabanı oluşturmak için farklı kozmetik bileşenler kullanılarak formüle edilir ve kimya, fizik, biyoloji, tıp ve botanik alanlarından uzmanların becerilerini gerektirir. Bitkisel ürünlerin kullanılmasıyla hazırlanan ürünler anında iyileşme sağlamaz; ancak, bedeni doğaya uygun şekilde ayarlamak için bir yol sağlarlar. Bitkisel ilaçlara olan talep cilt dostu olmaları ve yan etkilerinin olmaması nedeniyle hızla artmaktadır. Bitkilerin doğal içeriğinin insan vücudu üzerinde herhangi bir yan etkisi yoktur böylelikle sert yapıya

sahip olan sentetik ürünlerin yerine geçerler ve vücuda besin ve diğer yararlı mineraller sağlarlar. Ayrıca bitkisel ürünler, petro kimyasallar, yapay kokular, tatlar ve renkler gibi sentetik ürünlerin ihtiva ettiği diğer zararlı bileşenleri içermez (Fisher, 2018; Biraghi, 2017; Child, 1841; Chopra, 2016). Örneğin dudak bakım malzemelerinde doğal ürün olarak balın kullanımının pek çok avantajı vardır. Bal, doğal nemlendirici ve yumuşatıcı olarak, B1 ve B6 vitaminleri (besleyici) kaynağı olarak işlev görür, yeni cilt hücresi oluşumunu uyarır (dudakları yumuşatır), çatlama dudaklarda anti-enflamatuar etki sağlar, dudakları serbest radikallerin zararlı etkisinden korur, bakteriyel enfeksiyonu önlemek için antibakteriyel ve antiseptik özellikler gösterir ve içeriğindeki C vitamini nedeniyle çatlama dudak semptomlarında rahatlama sağlar (Fadhullah ve ark., 2019).

Kozmetik sektöründe en çok kullanılan ürünlerin başında güneş koruyucular veya güneş koruyucu ihtiva eden diğer ürünler gelmektedir. Güneş kremleri nemlendiriciler, kremler, losyonlar ve diğer saç ve cilt preparatları gibi ürünlere dahil edilmektedir. Bu ürünlerin düzenli kullanımı, ultraviyole radyasyonun zararlı etkileri olasılığını azaltmaya yardımcı olabilir. Güneş koruyucusunun UV-B'yi bloke etme yeteneği, güneşe maruz kalmanın olumsuz etkilerinin önlenmesi için daha önemlidir. Ancak kozmetik formülasyonda çok etkili bir güneş koruyucu maddenin kullanılması gerekmektedir. Bir güneş koruyucunun etkinliği genellikle korunan cilt üzerinde minimum eritem dozu (MED) üretmek için gereken UV enerjisinin korunmasız cilt üzerinde bir MED üretmek için gereken UV enerjisine bölünmesi olarak tanımlanan güneş koruma faktörü (GKF) ile ifade edilir. MED, korunmasız ciltte minimal, algılanabilir bir eritem üretmek için yeterli olan en düşük zaman aralığı veya UV ışığı ışınlama dozajı olarak tanımlanmaktadır. GKF ne kadar yüksekse, güneş kremi güneş yanığına karşı o kadar fazla koruma sağlar. Güneş kremi kullanımının güneşten koruma açısından tamamen güvenli olmadığına dair artık artan sayıda kanıt vardır. Bu nedenle doğal ürünler, yeni aktif bileşiklerin araştırılması için önemli kaynaklardır. Bu, daha aktif ilaçlar geliştirmek ve istenmeyen yan etkilerden kaçınmak için yeni biyolojik mekanizmalar keşfetme, yeni aktif moleküller elde etme ve bunların yapı işlevi ilişkilerini inceleme imkanı sunar. Ayrıca doğal madde kaynakları yaygınsa düşük fiyata yüksek miktarda üretim yapmak da mümkün olabilecektir. Doğal maddeler, UV bölgesinde emilmeleri ve antioksidan aktiviteleri

nedeniyle son zamanlarda potansiyel güneş koruyucu kaynakları olarak kabul edilmektedir (Ebrahimzadeh ve ark., 2014).

DNA'ya zarar veren ultraviyole (UV) ışığın, bitki gövdesinin dermal dokusunda UV ışığını emen flavonoidlerin ve diğer fenoliklerin birikmesine neden olduğuna dair güçlü kanıtlar vardır. Fizyolojik işlevi gösteren bu öngörü ancak bitkilerde ve tabii ki insanda ışık korumasında henüz spekülatifdir (Strack, 1997). Tamamlayıcı foto koruyucu eylem aktivitesi sağlamak için güneş kremlerinde antioksidanların kullanımına artan bir ilgi vardır. Doğal kaynaklardan gelen antioksidanlar, UV aracılı hastalıkların tedavisi ve önlenmesi için yeni olanaklar sağlayabilir (Ebrahimzadeh ve ark., 2014).

Akla ilk gelen doğal ürünlerden biri olan balın uzun yılladır halk ilacı olarak kullanıldığı bilinmektedir. Bal ürünlerinin, antibakteriyel, antioksidan, antifungal, antiviral, antiinflamatuvar ve yara iyileştirici etkiler gibi çeşitli biyolojik etkiler sergilediği ve bu nedenle çeşitli hastalıkları önlemek ve tedavi etmek için kullanıldığı rapor edilmiştir. Hatta cerrahi yaraların ve yanıkların balla hızlı bir şekilde iyileştirilebildiği de bilinenler arasındadır (Obossou ve ark., 2021).

Bu bilgiler ışığında bu tez kapsamında hem ham olarak doğrudan üreticiden temin edilmiş hem de ticari olarak satın alınmış çam ve çiçek ballarının cilt üzerindeki olası etkilerini ortaya koyabileceğimiz ve kozmesötik olarak değerlendirilip değerlendirilemeyeceğini inceleyebileceğimiz bir seri test gerçekleştirdik. Bu taramaların başında bal numunelerinin cilt problemlerinin temelini oluşturan güneşin zararlı etkilerinden korunmak için önemli bir değer olarak verilen güneş koruma faktörlerinin araştırılmasıdır. Pek çok bitkisel ürünün güneş koruma faktörleri araştırılmıştır ancak bal üzerinde bu açıdan bir araştırmanın henüz yapılmamış olduğu da çalışmamıza özgünlük katmaktadır.

Bu amaçla uygulamadaki kolaylık ve maliyetinin düşük olması nedeniyle *in-vitro* yöntem olan UV bölgede absorbansın değişik dalga boylarında okunması esasına dayanan spektrofotometrik Mansur yöntemi (Mansur ve ark., 1986) tercih edildi ve bal numunelerinin her birinden hazırlanmış olan taze ekstraktların 10 kat seyreltilmesi sonucu elde edilen örneklerin (0.02 g/mL) her birinin 290-295-300-305-310-315 ve 320 nm dalga boylarında absorbans değerleri ölçüldü

(Çizelge 4.5; Şekil 4.6) ve aşağıdaki formülün kullanılmasıyla her bir örnek için GKF değerleri hesaplandı (Çizelge 4.5).

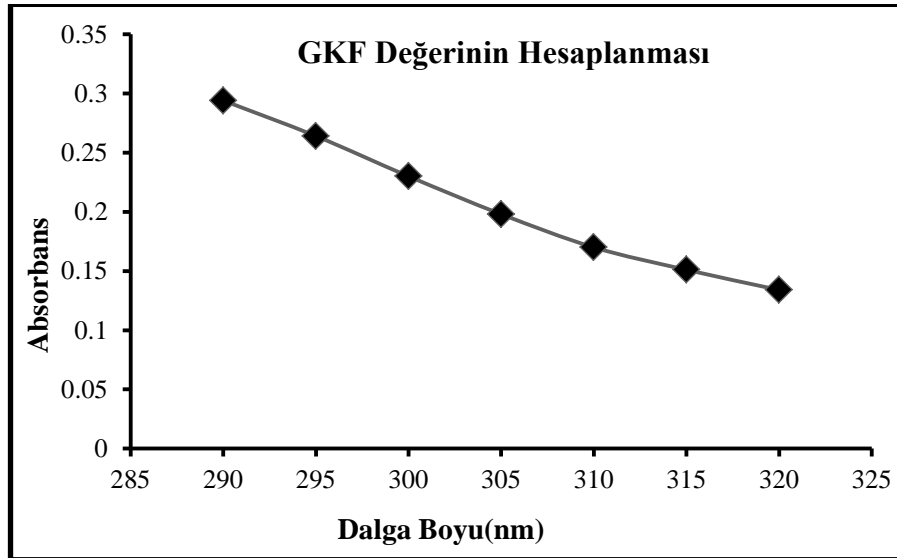
$$GKF = CF \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda)$$

Bu eşitlikte CF: Düzeltme faktörü; EE: Eritemal etki spektrumu; EE x I değeri ise incelenen dalga boyuna özel sabit bir değerdir (Civil, 2016).

**Çizelge 4.5** 0.02 g/mL Konsantrasyonda 1 Örneği İçin GKF Değerinin Hesaplanması Amacıyla Ölçülen ABS Değerleri

BalNumunesi	Dalga Boyu (nm)	ABS	EExI	CF	GKF
1	290	0.308	0.015	10	2.24
	295	0.279	0.0817	10	
	300	0.249	0.2874	10	
	305	0.22	0.3278	10	
	310	0.193	0.1864	10	
	315	0.17	0.0837	10	
	320	0.151	0.018	10	

CF: Düzeltme Faktörü, EE (λ): Eritemal etki spektrumu I (λ): Güneş yoğunluğu spektrumu, Abs (λ): Absorbans, GKF: Güneş Koruma Faktörü; nm: nanometer.



**Şekil 4.6** 2 Numaralı Bal Örneğinin 290-320 nm Dalga Boyu Aralığında Verdiği Absorbans Eğrisi

Tüm GKF değerleri incelendiğinde en yüksek fenolik içeriğe sahip olduğunu belirlemiş olduğumuz karşılaştırma amacıyla seçmiş olduğumuz meşe balı için en büyük, en düşük fenolik içeriğe sahip **18** olarak kodladığımız ham çiçek balı

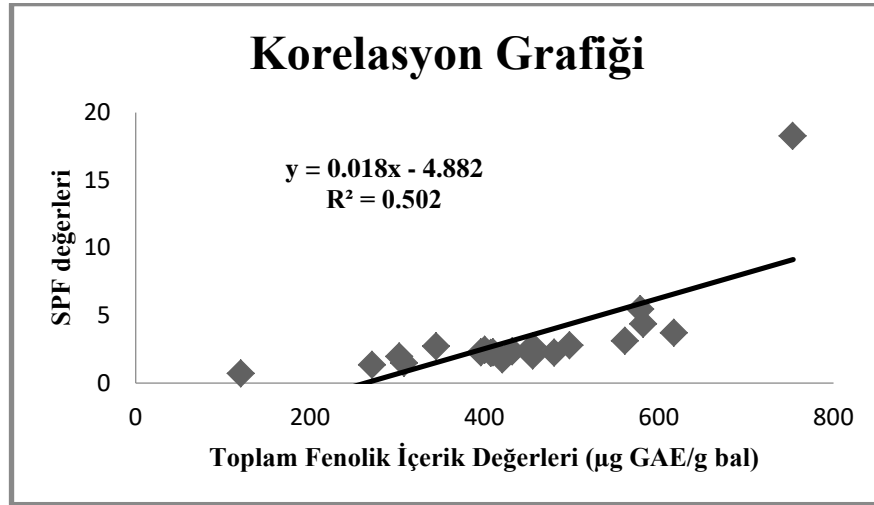
örneklerimizden biri durumunda en küçük olarak hesaplanmıştır. Karşılaştırma amacıyla test ettiğimiz meşe balı ve anzer balını dışarıda tuttuğumuzda genel olarak çam balları için hesaplanan ortalama değerin (2.93) çiçek balları için hesaplanan ortalama değerden (1.95) daha yüksek olduğu görülebilmektedir.

GKF, güneş koruyucu bir formülasyonun etkinliğinin nicel ölçümüdür. Güneş yanığı ve diğer cilt hasarlarını önlemede etkili olması için, bir güneş koruyucu ürünün, 290 ile 400 nm arasında geniş bir emicilik aralığına sahip olması gerekmektedir. Bir güneş koruyucunun etkinliğinin değerlendirilmesi gönüllüler üzerinde gerçekleştirilen *in-vivo* test ile uzun sürede gerçekleştirilmektedir. *In-vitro* GKF, *in-vivo* GKF ölçümünün bir tamamlayıcısı olarak ürün geliştirme sırasında tarama testi için faydalıdır. Geçirgenlik ölçümleri için çoğu spektrofotometrik teknik, tek tip ve bilinen bir kalınlığa sahip numunelerin hazırlanmasına dayanır, böylece numuneden geçen optik yol uzunluğu standartlaştırılır. Birçok numune özel çözücüler içinde çözülür ve 10 mm yol uzunluğundaki küvetlere yerleştirilir. UV spektrofotometri küvetleri genellikle UV dalga boylarına şeffaf olan kuvarstan yapılır. Bitki özleri, çok çeşitli doğal bileşikler içerdiğinden, genellikle tüm UV dalga boylarını kapsar.

Son yıllarda, doğal olarak oluşan bileşikler koruyucu ajanlar olarak büyük ilgi görmüştür. Polifenoller gibi doğal olarak oluşan bazı bitkilerin ışık koruyucu etkileri hakkında bulgular vardır. Fenoliklerin, DNA hasarını inhibe etmek için redoksa duyarlı sinyalleme kademelerinde hareket edebildiklerine inanılmaktadır. Fenolikler, UV kaynaklı oksijen serbest radikal oluşumunu ve lipid peroksidasyonunu, yani foto yaşlanma ve cilt kanseri gibi patolojik durumlarda yer alan olayları önlemede faydalı olabilir. UV korumasında antioksidan aktivite önemlidir (Kittiwannachot ve ark., 2008). UV radyasyonunun bazı faydaları olsa da insan sağlığına olumsuz etkisi çok daha fazladır. Cilt kanseri ciddi sonuçlardan biridir. UV, güçlü bir fiziksel mutajendir. Deri hücrelerine nüfuz etmenin gen mutasyonuna neden olması muhtemeldir ve bunun cilt kanseri gelişiminin ilk aşaması olduğuna inanılmaktadır.

Ebrahimzadeh ve arkadaşları (2014) 20 farklı tıbbi bitkinin fenolik içeriklerini, antioksidan aktivitesini ve güneş koruma faktörlerini incelemiş ve güneş koruma faktörü değerleri ile fenolik içerik değerleri arasında iyi derecede bir

korelasyon ( $R^2= 0.55$ ) olduğunu vurgulamıştır. Mevcut çalışmada benzer bir yol takip edilerek elde edilen GKF değerlerinin fenolik içerik değerleri ile ilişkisinin izlenmesi sonucunda  $R^2$  değeri 0.5021 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.7) ve benzer şekilde iyi derecede korelasyon olarak yorumlanabilir. Ayrıca DPPH radikalini temizleme aktivitesinin ortaya konulması için hesaplanmış olduğumuz  $SC_{50}$  değerlerinin tersi ( $1/SC_{50}$ ) ile GKF değerleri arasında da oldukça yüksek bir korelasyon vardır ( $R^2=0.8676$ ). Bu sonuçlar bulgularımızın literatürle uyumlu olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.7 Toplam Fenolik İçerik Değerleri ile GKF Değerleri Arasındaki Korelasyon Grafiği

Balın farklı doğal bileşenlerine atfedilen antioksidan aktiviteye sahip olduğu zaten gösterilmiş olmasına rağmen, tüm bal içeriğinin ve fenolik özütlerin özellikleri hakkında çok az veri bildirilmiştir. Örneğin, chrysin, apoptoz, aşırı ROS üretimi, COX-2 indüksiyonu ve AQP-3'ün aşağı regülasyonu dahil olmak üzere UVA ve UVB'nin neden olduğu çeşitli cilt hasarlarını iyileştirebilir (Isabel ve ark., 2009; Wu ve ark., 2011). Fenolik bileşikler, sentetik UV filtrelerine benzer yapıları olan, özellikle 200 ile 400 nm arasındaki dalga boylarında UV ışınlarının emilmesinde önemli bir role sahiptir (Opriş ve ark., 2021). Daha genel bir bakış açısıyla, UV emici ikincil metabolitlerin ortak özelliği, fenolik veya flavonoid maddeler içeren bitkilerde bulunan aromatik veya konjuge bağ yapılarının varlığıdır. Bu moleküller, en etkili UV radyasyonu emicilerinden biridir (Sansomchai ve ark., 2021). Piyasada bulunan güneş koruyucu formülasyonlar, yara iyileştirme, iltihap önleyici ve yaşlanma önleyici gibi özelliklere sahip değildir. Serbest radikallerin aracılık ettiği



cilt hasarlarına karşı, foto koruyucu ürünlerde serbest radikal temizleyiciler bulunmadıkça ve olmadıkça iyileştirilemez (Sansomchai ve ark., 2021). Bu sebeple antioksidanca zengin bitkisel içerikli doğal formülasyonların güneş koruyucu olarak kullanılması daha fazla tercih edilmektedir. Parzonko ve Kiss'in (2019) önceki çalışmasında, bitkisel özler içeren kozmetik formülasyonun, insan fibroblastını *in vitro* UV-A radyasyonuna karşı koruduğu gösterildi. Ayrıca, antioksidan bileşiklerle antioksidan aktivite gösteren bitki özleri, UV-B aralığına karşı koruma sağlayabilir (Kanlayavattanakul ve ark., 2012).

#### **4.6 Numunelerin Tirosinaz Enzimi İnhibisyon Potansiyelleri**

Tez kapsamında incelenen bal örneklerinin 4 mg/mL'lik kısımlarının reaksiyon ortamındaki tirosinaz enzimini inhibe edebilme potansiyelleri % olarak hesaplanmış ve çizelge 4.6 da sıralanmıştır. Çizelgeden görülebileceği gibi **9**, **13** ve **20** ile numaralandırılan sırasıyla ticari olarak temin edilen çiçek balı, ham çam balı ve ham meşe balı örneklerinde en yüksek değerde olacak şekilde %25 oranında inhibisyon potansiyeli hesaplanırken, ticari olarak temin edilen iki farklı çiçek balı örneğinde (**6** ve **10**), yine ticari olarak temin edilmiş olan çam balı (7) ve ham bir çiçek balı örneğinde (**18**) ise %10'un altında en düşük değerde hesaplamalar kaydedilmiştir. Ortalamanın üzerinde ve altında inhibisyon potansiyeline sahip bal örneklerinin dışında kalan diğer çam balları durumunda inhibisyon derecesi %13.69 iken çiçek balları durumunda bu değer hiç aktivite gözlenmeyen bal numunesini ortalamaya hiç dahil etmediğimiz durumda ortalama olarak %13.33 düzeyindedir. En yüksek ve en düşük değerlere sahip bal numuneleri arasında da hem çam hem de çiçek balları olması sebebiyle tirosinaz enzimi üzerinde test edilen bal numunelerinin inhibisyon dereceleri ile ilgili olarak hem bal türüne hem de balın ticari yada ham oluşuna dair genel bir yorum yapılamayacaktır.

**Çizelge 4.6** Bal Numunelerinin Tirosinaz, Elastaz ve Kollajenaz İnhibisyon Dereceleri

Bal Numunesi	Anti-Tirosinaz Aktivitesi (%)	Anti-Elastaz Aktivitesi (%)	Anti-KollajenazAktivitesi (IC <sub>50</sub> ;mg/mL)
1 (A marka ticari çam balı)	16.84	TE	6.46
2 (A marka ticari çiçek balı)	12.82	17.24	7.31
3 (B marka ticari çam balı)	17.06	17.24	5.98
4 (B marka ticari çiçek balı)	15.79	14.29	9.49
5 (C marka ticari çam balı)	10.21	9.43	5.70
6 (C marka ticari çiçek balı)	9.05	18.64	9.06
7 (D marka ticari çam balı)	8.59	27.27	4.73
8 (D marka ticari çiçek balı)	11.30	25.00	6.61
9 (E marka ticari çiçek balı)	25.00	9.43	8.68
10 (F marka ticari çiçek balı)	8.59	26.15	9.98
11 (G marka ticari çam balı)	11.53	22.73	6.43
12 (H marka ticari çam balı)	12.18	10.53	5.10
13 (ham çam balı)	25.31	29.17	7.05
14 (ham çam balı)	13.70	20.93	7.24
15 (ham çam balı)	13.00	29.17	8.20
16 (ham çam balı)	15.03	35.85	7.24
17 (ham çiçek balı)	TE	34.62	13.30
18 (ham çiçek balı)	9.74	41.38	13.30
19 (ham çiçek (Anzer) balı)	13.41	37.04	6.31
20 (ham meşe balı)	24.95	39.29	3.66

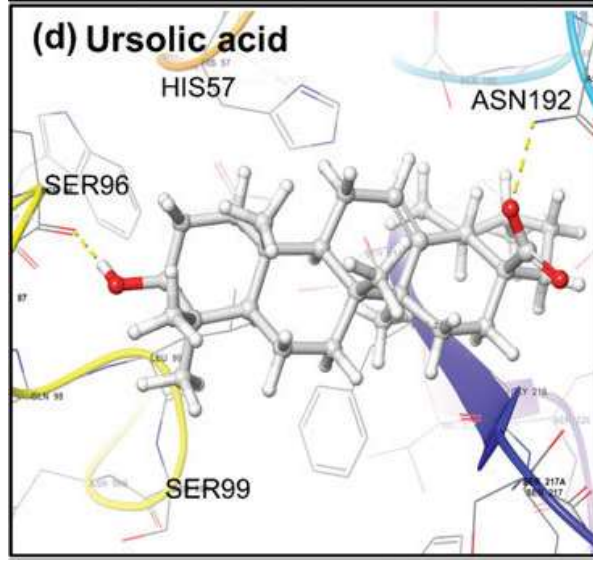
Anti-tirosinaz aktivitesi 4 mg/mL, anti-elastaz aktivitesi ise 2 mg/mL' lik konsantrasyondaki bal numuneri için % olarak ifade edilmiştir. Ancak test edilen 20 bal numunesi içinde sadece biri dışında tüm bal numunelerinin 4 mg/mL'lik konsantrasyonda ortalama olarak yaklaşık %14 oranında tirosinaz inhibisyonuna sebep verdiğini bu değer 0.05 mg/mL konsantrasyonda %87 oranında inhibisyon etkisi gösteren karşılaştırma amacıyla test edilen kojik asite göre hiç de azımsanmayacak bir değer olduğunu söyleyebiliriz. Bilindiği gibi tirozinaz inhibitör aktivitesi, melanin hiperpigmentasyonu ile ilişkilidir ve eski zamanlardan beri bal esas olarak yara iyileşmesini tedavi etmek için kullanılır. Balın cilt üzerinde başka faydaları olduğu da bilinmektedir (Sıcak ve ark., 2021). Bu sebeple test edilen bal örneklerinin tirosinaz inhibisyon potansiyeline sahip olduğunun ortaya konulması bal numunelerinin kozmesötik olarak değerlendirilebileceğinin bir göstergesidir. Sıcak

ve arkadaşları, Muğla yakınlarından temin ettikleri çam ve kekik ballarının etil asetat ve butanol ekstraktlarının anti-tirosinaz aktivitelerini incelemişlerdir. Söz konusu çalışmada çam balının etil asetat ve butanol ekstraktları için IC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 61.66 ve 49.50 mg/mL olarak hesaplanmış olup bu değerler standart olarak test edilen kojik asit için hesaplanan değerden (0.67 mg/mL) oldukça yüksek olup bal numunelerinin kojik asite göre tirozinaz inhibisyon potansiyellerinin daha düşük olduğu görülmektedir. Ortaya konulan bu IC<sub>50</sub> değerlerinin mevcut çalışmada hesaplanan inhibisyon yüzdeleri ile kıyaslandığında test ettiğimiz balların daha yüksek derecede anti-tirosinaz aktivitesine sahip olduğunu söyleyebiliriz. Sıcak ve ark. (2021) gözlemledikleri tirozinaz inhibisyon potansiyellerini şiringik asit, sinamik asit, naringin ve protokateşik asidin varlığına bağlamışlardır. Bu bilgi ile uyumlu olarak adı geçen fenoliklerden şiringik asitin tez çalışması kapsamında test edilen tüm çam ballarında ve çiçek ballarının da çoğunda değişen oranlarda saptandığını vurgulamak gerekir. Ham ekstraktlar üzerinde gerçekleştirmiş olduğumuz bu testlerin ortaya koyduğu sonuçları destekleyen bir bulgu Ateş ve ark. tarafından 2001 yılında rapor edilmiştir. Ateş ve ark., baldan elde ettikleri bir peptidin katekolün polifenol oksidaz enzimi ile oksidasyonunu yarışmasız olarak inhibe ettiğini ortaya koymuşlardır. (Ateş ve ark., 2011). Fas'a özgü *Euphorbia resinifera* ve *Euphorbia officinarum* bitkilerinden elde edilen bal örneklerinin de tirozinaz enzimini ekstraksiyon koşullarına göre değişen oranlarda inhibe ettiği rapor edilmiştir (Boutoub ve ark., 2021). Bunların dışında literatürde tirozinaz inhibisyon özelliğine sahip olduğu bilinen başka tip monofloral ballar olduğu bilinmektedir (Di Petrillo ve ark., 2018; Jantakee ve Tragoolpua, 2015).

#### **4.7 Numunelerin Elastaz Enzimi İnhibisyon Potansiyelleri**

Balın terapötik bir ajan olarak kullanılabilirliğinden dolayı, hidroksimetilfurfural, D-glukono- $\delta$ -lakton, metilglioksal, metilsiringat, *o*-metoksiasetofenon, 3-fenillaktik asit, 4-hidroksibenzoik asit, dehidrovomikfoliol, kojik asit, lumikrom , galagin ve pinosembrin olmak üzere baldan seçilen 12 bileşenin *in silico* olarak insan nötrofil elastazını üzerindeki inhibisyon etkisi incelenmiş ve tamamının enzime bağlanma potansiyeli gösterdiği bulunmuştur (Narayanaswamy ve ark., 2014). Elastaz inhibitörleri pulmoner amfizem, kistik fibroz, ateroskleroz ve sedef hastalığı gibi hastalıkların tedavisi için temel ajanlardır. Ayrıca, elastaz inhibitörlerinin de anti-

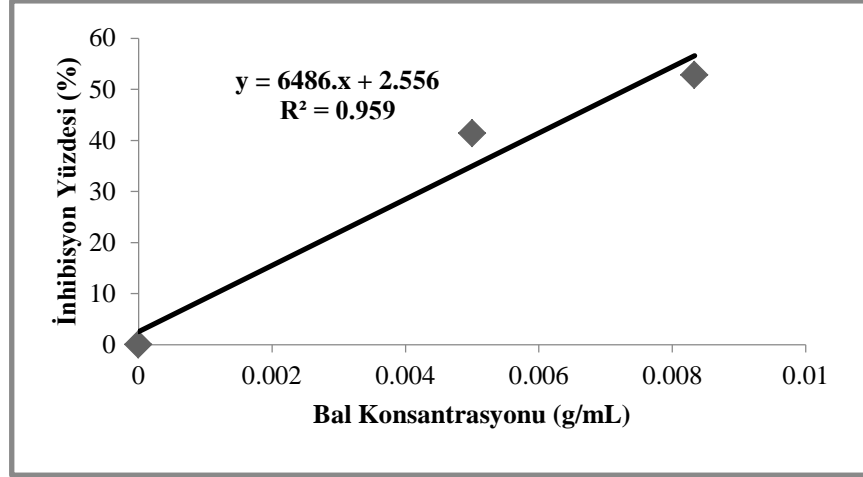
inflatuar etkiyi desteklediği bulunmuştur (Crocetti ve ark., 2013; Sivamani ve ark., 2012). 2019 yılında yapmış oldukları çalışma sonunda da tıpkı mevcut çalışmada olduğu gibi Mauritius'ten temin edilen unifloral ham okaliptüs balı ve ticari olarak yerel bir marketten satın alınan ve doğal bal olarak etiketlenmiş fakat floral kaynağı bilinmeyen bal örneklerinin domuz pankreatik elastaz üzerindeki inhibisyon potansiyellerini inceleyen Aumeeruddy ve arkadaşları 250 µg/mL kadar yüksek konsantrasyona çıkıldığında dahi inhibisyon göstermediğini ancak standart olarak test edilen ursolik asit (şekil 4.8) durumunda IC<sub>50</sub> değerinin 4.27 µg/mL olarak hesaplandığını belirtmişlerdir (Aumeeruddy ve ark., 2019). Ayrıca balın domuz pankreatik elastaz enzimi üzerindeki inhibitör aktivitesi üzerine daha önce yapılmış bir çalışma bulamadıklarını ancak Narayanaswamy ve ark. (2015) tarafından gerçekleştirilen *in silico* alışmanın sonuçlarına dayanılarak gelecekteki çalışmaların, bu çalışmada test edilenden daha yüksek bir konsantrasyonda farklı iek kaynaklarından daha fazla bal örneğinin antielastaz aktivitesini keşfetmesi önermişlerdir. Bu sebeple mevcut çalışmada 2 mg/mL konsantrasyondaki bal numunelerinin domuz pankreatik elastazı üzerindeki inhibisyon potansiyelleri incelenmiştir. **1** ile kodlanan ticari am balı durumunda aktivite gözlenmezken **18** ile kodlanan ham iek balı durumunda oldukça iyi derecede yüksek aktivite gözlenmiştir. Özetle test edilen bal numunelerinin 2 mg/mL'lik konsantrasyonlarının elastaz inhibisyon potansiyellerinin % 0-41 aralığında olduğunu söyleyebiliriz. Oysa ki standart olarak test edilen ursolik asit 0.02 mg/mL'lik konsantrasyonda %56 oranında inhibisyon göstermiştir. Genel olarak bakacak olursak iek ballarının inhibisyon potansiyelleri daha yüksektir. Ayrıca test edilen ham balların inhibisyon potansiyeli ortalamalarının ticari bal numuneleri için hesaplanan inhibisyon derecesinden oldukça yüksek olduğu da açıkça farkedilmektedir.



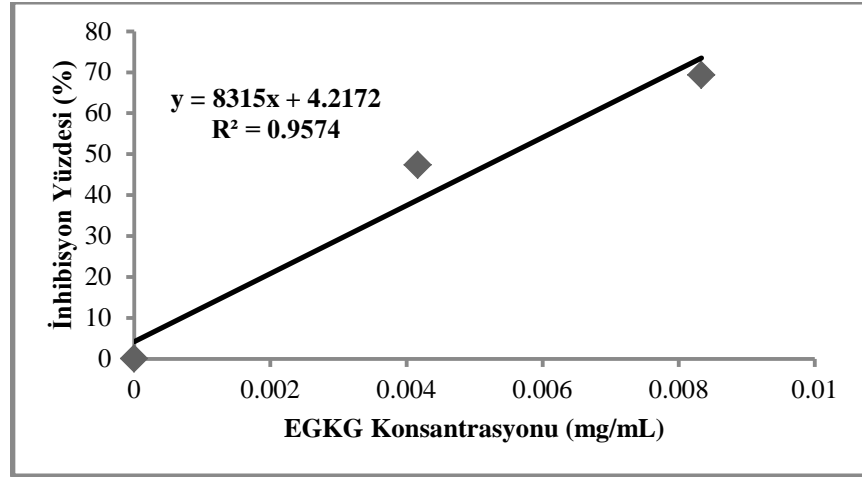
**Şekil 4.8** Ursolik Asit ile Elastaz Enziminin Farklı Moleküller Arası Etkileşimler Sergileyen Üç Boyutlu Moleküler Yerleştirme Pozları (Lee ve ark., 2019).

#### 4.8 Numunelerin Kollajenaz Enzimi İnhibisyon Potansiyelleri

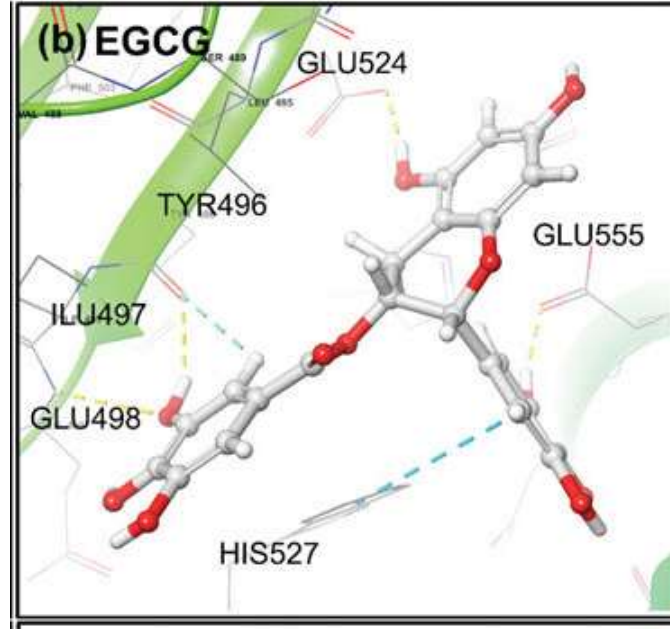
Tez kapsamında enzim inhibisyon potansiyelleri açısından değerlendirilen bal numunelerinin su ekstraktlarının *Clostridium histolyticum* kollajenazını konsantrasyona bağlı olarak artan derecede (Şekil 4.9) inhibe ettiği ortaya konulmuş ve inhibisyon dereceleri ortamdaki enzimin %50'sini inhibe eden bal miktarını gösterecek şekilde IC<sub>50</sub> değeri ile ifade edilmiş ve elde edilen değerler epigallokateşin gallat için elde edilen değerle karşılaştırılmıştır (Şekil 4.10). Epigallokateşin-3-gallat olarak da bilinen epigallokateşin gallat (EGKG), epigallokateşin ve gallik asidin esteridir ve bir tür kateşindir. Birçok diyet takviyesinde kullanılmakta olan EGKG, çaydaki en bol kateşin olup, insan sağlığı ve hastalığını etkileme potansiyeline sahip bir polifenoldür. EGKG'nin kollajeni stabilize ettiği ve zincirleri, glutaraldehit veya karbodiimidler gibi kimyasal çapraz bağlama ajanlarından daha etkili bir şekilde kollajenaz bozulmasından koruduğu gösterilmiştir (Şekil 4.11). Dermal dolgu uygulamalarında kullanılan kollajenin EGKG tarafından stabilize edilebileceği ve böylece kollajenazın bölünme bölgelerine erişiminin kısıtlanabileceği varsayılmaktadır.



**Şekil 4.9** 2 Numaralı Bal Numunesinin Farklı Konsantrasyonlarının Kollajenaz İnhibisyon Yüzdelere Karşı Çizilen Grafik



**Şekil 4.10** EGKG'nın Farklı Konsantrasyonlarının Kollajenaz İnhibisyon Yüzdesi



**Şekil 4.11** EGKG ile Kollajenaz Enziminin Farklı Moleküller Arası Etkileşimler Sergileyen Üç Boyutlu Moleküler Yerleştirme Pozları (Lee ve ark., 2019).

Kozmesötik amaçla implantın ömrünü uzatmak için implante edilen kollajeni enzim kaynaklı bozulmadan koruyabilmek amacıyla bu gibi ajanların kullanımı uygun olabilir (Demule ve ark., 2000; Jackson ve ark., 2010). Materyal-metot bölümünde izah edilen yöntemin izlenmesi sonunda EGKG için  $IC_{50}$  değeri 0.0055 mg/mL olarak hesaplanırken, bal numuneleri için ise hesaplanan  $IC_{50}$  değerlerinin ortalaması ise ancak 0.0076 g/mL olarak bulunmuştur. Yani kabaca bal numuneleri EGKG'ye göre 1000 kat daha düşük oranda kollajenaz inhibisyon potansiyeline sahiptir ama bal numunelerini kendi aralarında değerlendirecek olursak en yüksek kollajenaz aktivitesinin hem fenolik içeriği hem de antioksidan aktivitesi en yüksek olarak saptanmış olan **20** ile kodlanan meşe balı numunesi için en yüksek olduğu bulunmuştur. Buna karşın sadece çam ve çiçek balları için bir değerlendirme yapacak olursak çam balları için bulunan ortalama  $IC_{50}$  değeri (0.0058 g/mL) çiçe balları için hesaplanan ortalama değerden (0.0093 g/mL) daha düşük olup test edilen çam ballarının çiçek ballarına nazaran kollajenaz üzerindeki inhibe edici güçlerinin daha fazla olduğu söylenilebilir. Ayrıca ticari olarak satın alınan ve ham olarak temin edilen ballar arasında bir karşılaştırma yaptığımızda ise ticari olarak satın alınan ballar için hesaplanan ortalama değer daha düşük böylece kollajenaz inhibisyon potansiyellerinin daha yüksek olduğu görülmektedir.

Yara iyileşme süreci esas olarak fibroblastlar, keratinositler ve makrofajlar tarafından düzenlenir. Çeşitli çalışmalar, hem fibroblastların hem de keratinositlerin diyabetik durumda bozulmuş proliferasyon, migrasyon ve kollajen üretme yetenekleri gösterdiğini ortaya koymuştur (Xu ve ark., 2013). Dolayısıyla özellikle diyabetik yaraların önlenmesinde kollajenaz inhibisyonu önemlidir. Literatürde balın yara iyileşmesine antiinflamatuvar, antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri nedeni ile katkı sağladığı ile ilgili pek çok çalışma olmasına rağmen kollajenaz inhibisyonu ile yara iyileşmesine sağladığı katkının gösterildiği çalışma mevcut değildir. Dolayısıyla düşük de olsa test edilen örneklerin kollajenaz inhibisyon potansiyeline sahip olduklarının ortaya konulması önemli bir bulgudur. Ancak bu konu ile ilgili olarak bal ile yapılan farklı tür çalışma sonuçları vardır. Basınca bağlı olarak gelişen ülserlerin tedavisi için hastanede ayakta tedavi ortamında klostridial kollajenaz merhem ile enzimatik debridasyon ile tıbbi bal ile otolitik debridasyonun etkinliği karşılaştırılmış ve klostridial kollajenaz merhem ile tedavi edilen hastalarda tıbbi bal ile tedavi edilenlere kıyasla daha hızlı granülasyon ve ardından epitelizasyon oranları elde edilmiştir. *Clostridium histolyticum*'dan türetilen bir proteolitik enzim olan kollajenaz, nekrotik dokudaki kollajeni parçalayarak, sağlıklı dokuya zarar vermeden detritusları seçici olarak uzaklaştırır, granülasyon dokusu oluşumunu ve epitelizasyonunu kolaylaştırır. Klostridial kollajenaz merhem ile enzimatik debridasyonun diğer klinik avantajları arasında uygulama kolaylığı, minimum kan kaybı ve gelişmiş doku proliferasyonu sayılabilir. Topikal olarak uygulanan tıbbi balın desteğiyle otolitik debridasyonun, yaradaki kalıntıları ve nekrotik dokuyu temizlemek için vücudun doğal iyileşme süreciyle birlikte çalıştığı düşünülmektedir. Aktivitesi, asiditesinin hemoglobinden oksijen salınımını arttırması, yıkıcı proteazların aktivitesini azaltması ve bir lenf çıkışı yaratmak için yara yatağından ozmotik olarak sıvı çekmesine bağlanabilir. Balın yara bakımında kullanımını destekleyen bazı kanıtlar olsa da, karşılaştırmalı etkinlik verilerinin eksikliği vardır (Gilligan ve ark., 2016). Ayrıca Mearns ve arkadaşları (2017) tarafından bir yıl sonra ABD'de basınca bağlı olarak gelişen ülserlerin tedavisi için tıbbi bal ile karşılaştırıldığında klostridial kollajenaz merheminin kullanımının daha uygun bütçeli olduğu rapor edilmiştir.



Oksidatif strese karşı geliştirilmiş direnç, adipoz kök hücrelerini (ASC'ler) yara onarımını ve yenilenmesini teşvik edebilir hale getirir. Bu tür hücreler, hücre kültürü ortamına bir antioksidan ilave edilerek elde edilebilir. Balın yanık yara iyileşmesinde adipoz kök hücrelerin canlılığının korunmasında koruyucu malzeme olarak uygulanmasının araştırıldığı çalışmada ASC'lerin ve balın kombinasyon halinde kullanılmasının, ASC'ler için bir besin ortamı sağlayabileceği ve ASC tabanlı tedavilerin rejenerasyon yeteneğini artırabileceği ortaya konulmuştur. Bal, ASC'lerin canlılığının korunmasında ve oksidatif strese karşı hücrel direncin geliştirilmesinde koruyucu bir malzeme olarak düşünülebilir (Oryan ve ark., 2019). Ek olarak, zayıf da olsa, kollajenaz aktivitesinin inhibisyonu, inflamatuvar ortamın karakteristik bir özelliği olan aşırı matriks metalloproteinaz salınımının kalıcı etkilerini azaltabilir (Pringle ve ark., 2021).

## 5 SONUÇ ve ÖNERİLER

İnsan cildi, çevre ile temas sağlayan ve insan vücudunu olumsuz dış etkenlerden koruyan bir kaplamadır. Günümüzde, milyonlarca insan yıllık olarak dünyada kaydedilen tüm hastalık vakalarının yaklaşık %34'ünü oluşturacak şekilde dermatolojik rahatsızlıklardan etkilenmektedir (Tripathi ve Srivastava, 2010; Abbasi ve ark., 2010). Cilt yaşlanması ise genellikle cilt yapısındaki ve esnekliğindeki sert değişikliklerden sorumlu olan iç ve dış etkilere bağlıdır. İçsel yani kronolojik cilt yaşlanması, zaman geçişi ile engellenemez bir şekilde cildin zamanla elastikiyetindeki fizyolojik değişiklikler ile ilişkili olup kalıtsal genler tarafından da etkilenmektedir. Aksine, cildin dış kısmındaki yaşlanma, güneş ışığına (foto yaşlanma) veya kirleticilere kronik maruz kalma gibi çevresel faktörlerden kaynaklanır ve çeşitli yaşam tarzı bileşenlerinden (yani sigara ve diyet) de etkilenir (Farage ve ark., 2008). Özellikle foto yaşlanma, lipid peroksidasyonuna, DNA hasarına ve protein değişikliklerine neden olan reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretimini artıran ultraviyole (UV) ışınlarına aşırı maruz kalmaktan kaynaklanır (Rittié ve Fisher, 2002). Ayrıca ROT, hücre dışı matriks (ekstrasellüler matriks; ECM) bileşenlerinin bölünmesinden sorumlu olan enzimlerin doğrudan aktive edilmesiyle cildin yaşlanmasına da katkıda bulunabilir (Mukherjee ve ark., 2011; Rittié ve Fisher, 2002). Kronolojik yaşlanma tedavi edilemese de foto yaşlanma, antioksidan özelliklere sahip bileşikler veya ürünler ile tedavi edilebilir. ECM kollajen, elastin ve fibronektin gibi matriks metalloproteinleri ile birlikte proteoglikanlardan oluşmaktadır. Kollajen hücrenin destekleyici iskeletini oluşturan başlıca yapısal proteindir. Elastin cildin esnekliğini ve dirençliliğini sağlar (Sahasrabudhe ve Deodhar, 2010). Yaşlanmayla birlikte elastaz enziminden dolayı cildin elastikiyeti azalır ve bu cildin sarkmasına yol açar. Bağlayıcı dokularda fibroblastlar kollajen ve diğer önemli matriks metalloproteinlerini sentezleyen hücrelerdir. Bu dermal fibroblastların çoğalması ve yer değiştirmesi daha fazla matriks metalloprotein üretilmesini sağlayarak yaşlanmayı baskılamaktadır. Genç ve sağlıklı ciltlerde bu proteinlerin sentezi ve parçalanması arasında bir denge söz konusudur. Fakat yaşlandıkça bu denge bozulmaktadır. Cildi genç tutmak için metalloproteinlerin üretimi yeterli olmadığı zaman onları korumanın en iyi yolu matriks metalloproteinazların inhibisyonunu sağlamaktır (Aslam ve ark., 2005).

Foto yaşlanma ve kronik yaşlanma nedeniyle aşırı aktivasyon jelatin, kollajen ve elastin bileşiminde değişikliklere neden olur, kırışıklıklar, gevşeklik, sarkma ve insan cildinin pürüzlü görünümü ile sonuçlanır. Bu nedenle, kollajenaz aktivitesini inhibe eden ajanlar, dermal matriks değişikliğini önleyerek sağlıklı cildin korunmasında yararlı etkilere sahip olabilir (Kim ve ark., 2004; Kim ve ark., 2019). Cildin UV radyasyonuna maruz kalması foto yaşlanmanın gelişmesinden sorumlu bir dizi zincir reaksiyonunun başlamasına yol açmaktadır. Güneş ışınlarına tekrar tekrar maruz kalmak, kollajen oluşumu üzerinde kümülatif bir etki ile hatalı bir şekilde onarılan dermal matriks oluşumu ile sonuçlanır. Onarılmış dermal matriksteki bu kusurlar son olarak kırışıklıklar ve cildin sarkması şeklinde kendini ortaya çıkarır. Son zamanlarda, kimyasal güneş koruyucularının doğal UV emici bileşiklerle değiştirilmesi için artan bir talep var.

Doğal güzellik bir nimettir ve sağlıklı bir yaşamın işaretidir. Bununla birlikte, ebedi bir gençlik durumu oluşturma konusunda insanlar arasında sürekli bir dürtü ve rağbet vardır. Kozmetiklerin uygulanması dünya çapında 6000 yıllık insanlık tarihine dayanmaktadır. Kozmetik terimi, özellikle insan vücudu ile ilgili, güzelliği, estetiği ya da görünüşünü tanımlayan bir sıfattır. Eski kültürlerde belgelenmiş kullanımlar arasında hint yağı (eski Mısır'da koruyucu bir balsam), balmumu (birkaç antik kültürde cilt kremi olarak), zeytinyağı ve gül suyu (eski Roma'da) sayılabilir. Amerika Birleşik Devletleri'nde 19. Yüzyılda Orta Amerika'ya özgü kırmızı böceğinden ekstrakte edilen kırmızı boya kullanılarak rujlar hazırlanmıştır (Dorni ve ark., 2017). “Kozmetik ürünler” Avrupa Direktifi tarafından (93/35/EEC) insan vücudunun çeşitli dış kısımları ile (epidermis, saç sistemi, tırnaklar, dudaklar ve dış genital organlar) dişler veya ağız boşluğunun mukus membranları ile temas halinde olacak şekilde hazırlanan sadece veya çoğunlukla onları temizlemek, onların hoş kokması sağlamak, görünümelerini değiştirmek ve/veya vücut kokularını düzeltmek, onları korumak veya mevcut durumu iyi koşullarda tutmaya devam etmek gibi amaçla hazırlanan herhangi bir madde ya da preparasyon olarak tanımlanmaktadır (European Commission, 1993). Doğal güzelliğe sahip olmanın yanı sıra geçmiş zamanlarda bazı toplumlarda sınıf ayrımına bile sebep olabilen cilt renginin olumsuz değişimi önemli bir deri problemidir. Tirosinaz veya polifenol oksidaz, bitki ve hayvan krallığında yaygın olan çok işlevli, bakır içeren melanositlerde melanojen

sürecini büyük ölçüde etkileyen önemli bir düzenleyici enzimdir. Farklı biyopolimerlerin karışımı olan melanin, cildin ve saçın rengini belirler ve ayrıca zararlı UV radyasyonundan koruma sağlar. Tirozinaz katalizli standart kinon öncüsü, melanin pigmentinin sentezi için ayrıca kullanılır. Deride melanin pigmentinin aşırı üretimi ve birikmesi, güneş lekeleri, melazma, post inflamatuvar hiperpigmentasyon gibi klinik durumlarda kendini belli eden dermatolojik "hiperpigmentasyon" gelişimine neden olur. Arbutin ve kojik asit, cilt beyazlatmada kozmetik ürünlerde yaygın olarak kullanılan bilinen tirozinaz inhibitörleridir. Klinik olarak, bu depigmentleme ajanları, hiperpigmentasyon tedavisi için uygulanır. Bununla birlikte, kojik asit terapötik bir konsantrasyonda dermal duyarlılığa neden olurken, arbutin potansiyel sitotoksositeye sahiptir (Sarkar ve ark., 2013; Burnett ve ark, 2010; Zhu ve Gao, 2008). Tirozinaz inhibitörleri aynı zamanda kozmetik alanda açıklık arttırıcılar olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Dünya nüfusunun yaklaşık %15'i cilt beyazlatma ajanlarını kullanır. Bitki özlerinin ve bunların türetilmiş fitobileşenlerinin kullanılması, hiperpigmentasyonun kontrol edilmesi için muhtemel bir geleceğe sahiptir. Şifalı otların kullanımını desteklemesinin alternatif bir yolu olarak birçok kanıt araştırılmıştır (Mukherjee ve Wahile, 2006; Sarkar ve ark., 2013; Zhu ve Gao, 2008). Tirozinaz inhibitörleri, melanin sentezinin inhibitörleri olarak ortaya çıkmış ve böylece melanojenezi inhibe etmiştir. UV maruziyeti ve/veya çevresel uyarılmalar da melanojenezde kilit bir rol oynar (Sardana ve Ghunawat, 2015; Solano, 2014). Şifalı bitkilerden birkaç tirozinaz inhibitörü geliştirilmiştir, ancak hala ilerleme yolundadır.

İlaçlar hastalığın önlenmesi veya tedavi edilmesinde kullanılan bileşikler olarak tanımlanır veya vücudun yapısı veya fizyolojik fonksiyonunu etkilemek niyetiyle kullanılırsa ve kozmetikler terapötik yararları olmaksızın cildi temizleyen ya da görünümünü iyileştiren maddeler olarak etiketlenirse bu iki alan arasında kozmesötikler olarak tanımlanan bir ortak alan bulunmaktadır. Doğal kaynaklardan gelen yeni kozmesötik içerikler, doğal içerikli sağlıklı ürünler hakkında artan tüketici farkındalığı nedeniyle kişisel bakım ürünleri imalat endüstrisi tarafından büyük talep görmektedir.

Endüstri tarafından güneşten korunma, yaşlanma karşıtı, kırışıklık karşıtı, antioksidan, anti-alerji gibi spesifik hedeflere sahip kozmesötik formülasyonlar

oluşturmak için doğal kaynaklar kullanılmıştır (Dorni ve ark., 2017; Gebelein, 1997). Yeni kozmesötik formülasyonların hazırlanması için, biyoaktif doğal bileşikler içeren bitkiler ekstrakt halinde olduğu kadar saflaştırılmış konsantre formunda kullanılmaktadır.

Bu bilgiler dâhilinde melanoma gibi cilt hastalıklarının yanısıra, deri yaşlanmasını geciktirmek, doğal güzelliği devam ettirmek amacıyla cildin beyazlamasına yardımcı olabilecek ve cildi güneş ışığının zararlı etkilerinden koruyacak olan içeriklere ihtiyaç vardır. Dolayısıyla bu tez çalışmasının amacı bal örneklerinin birer kozmesötik olarak değerlendirilip değerlendirilmeyeceğini ortaya koyabilmek için hazırlanan su ekstraktların matriks metalloproteinazları olan elastaz ve kollajenaz enzimleri üzerindeki inhibisyon potansiyellerinin ve anti-tirosinaz aktivitesinin belirlenmesidir. Ayrıca güneş koruyucu etkiye sahip olup olmadıklarını anlayabilmek amacıyla güneş koruma etkinlikleri de incelenmiştir.

Diğer doğal kaynakların bu parametreler açısından daha fazla incelendiğini ancak hem Türkiye hem de Dünya genelinden temin edilen bal numunelerinin ise antioksidan ve fenolik içerik açısından oldukça yaygın bir şekilde, daha az olmakla birlikte anti-inflamatuvar aktivite açısından incelendiğini ancak kozmetik preparatlarda kullanım yaygınlığını artıracak düzeyde matriks metalloproteinazları üzerindeki etkilerinin ve güneşin zararlı ışınlarından koruma etkinliklerinin araştırıldığı çalışmaların sayıca yok denilebilecek düzeyde olduğu farkedilmektedir. Bu anlamda bulgularımızın literatüre sunulmuş oldukça kıymetli katkılar olduğunu düşünmekteyiz. Bilinen bir gerçeği değiştirmeyecek şekilde test edilen bal numuneleri arasında daha koyu renkli olarak bilinen meşe balının toplam fenolik içeriği diğer test edilen çam ve çiçek ballarının tamamından yüksek bulunmuştur. Toplam fenolik içerikle doğrusallık göstererek bahsedilen aynı bal numunesinin DPPH radikalini giderme aktivitesine dayanan antioksidan aktivitesi de en yüksek düzeydedir. Ancak elektron transferine dayanan bir metod olan DPPH testi sonrası elde edilen sonuçlar hidrojen atomu transferine dayanan bir metod olan ORAC testi sonrası elde edilen sonuçlarla uyumlu değildir. ORAC değerlerinin en yüksek bulunduğu iki balın biri ham çiçek balı iken diğeri ise ticari bir çam balı örneğidir. Bu nedenle antioksidan aktivitenin balın üretim şekline veya türüne göre değiştiğini söyleyebileceğimiz kesin bir yargıya varamayız. Ancak bu farklılığın balların

içeriğinde bulunan fenoliklerin OH grubu sayıları ve pozisyonundan etkilebileceğini tespit edilenler dışında eser miktarda dahi olsa toplam aktiviteye önemli katkıda bulunacağını söyleyebiliriz. Ölçüm yöntemi olarak balın rengine bağlı oranda artan güneş koruma faktörü değeri ise fenolik içerik ve DPPH aktivitesi testi ile birebir uyumlu sonuçlar vermiştir. Keza en yüksek GKF değeri meşe balı için hesaplanırken en düşük GKF değeri ise toplam fenolik içeriği ve DPPH radikalini temizleme aktivitesi en düşük olarak tespit edilen ham çiçek balı durumunda hesaplanmıştır. ORAC yöntemine dayanılarak antioksidan aktivitesi en yüksek olarak belirlenen ham bir çiçek balı örneğinin 0.83 mg/mL'lik kısmının anti-inflamatuar aktivitesi %72.62 olarak hesaplanmış ve tüm ballar arasında tespit edilen en yüksek değer olarak belirlenmiştir. Antiinflatuar aktivitesi belirlenemeyen balların çoğu ya ham bal ya da çam balıdır. Tirosinaz ve elastaz enzim inhibisyonu değerlerine bakıldığında genellikle ham balların daha etkin olduğunu söyleyebiliriz. Toplam fenolik içeriğinin en yüksek olarak tespit edildiği meşe balının test edilen her 3 enzim durumunda da inhibisyon potansiyelinin neredeyse en yüksek düzeyde olduğu ortaya konulmuştur. Gerek antioksidan aktivitenin gerekse enzim inhisibiyon potansiyellerinin dayandırıldığı balın ihtiva ettiği fenolik bileşenlerin araştırılması sonucunda ise taranan fenolik listesi içerisinde sadece *p*-OH benzoik asit test edilen çam ve çiçek ballarının hepsinde tespit edildi. Gallik asit, vanilik asit, kafeik asit ve *p*-kumarik asit fenolikleri de ballarının çoğunda tespit edildi. Tüm bu bulgular neticesinde balın işlem görmüş ticari bir bal olması veya üreticiden doğrudan temin edilmiş olmasının benzer şekilde çam ve çiçek balı şeklindeki tür ayrımında test ettiğimiz parametreler açısından belirgin bir farklılık ortaya çıkarmadığını söyleyebiliriz. Daha kesin hüküm verebilmek için daha ileri düzeyde bir takım *in vitro* ve *in vivo* testlerinin yapılmasının yararlı olabileceğini söyleyebiliriz. Örneğin *in vitro* olarak yapılabilecek olan lipooksijeneaz inhibisyon potansiyeli, antimikrobiyal ve analjezik aktivite testleri gibi bazı testlerin dışında topikal ekstrakt jel formülasyonlarının hazırlanması yoluyla ileri düzeyde çalışmalar sürdürülebilir. Böylelikle hem ilaç hem de kozmetik endüstrisine yeni kaynaklar kazandırılması sağlanabilir.

Böylelikle en önemli endüstrilerden biri olan ilaç ve kozmetik endüstrisi için yeni kaynaklar ortaya koyabilmek hedeflenmektedir. Aslında temel hedef ekonomiye katkı sağlayabilmek ve daha kapsamlı çalışmalara temel oluşturabilmektir.

## 6 KAYNAKLAR

- Abbasi, AM., Khan, MA., Ahmad, M., Zafar, M., Jahan, S. & Sultana, S. (2010). Ethnopharmacological application of medicinal plants to cure skin diseases and in folk cosmetics among the tribal communities of North West Frontier Province, Pakistan. *Journal of Ethnopharmacology*, 128(2), 322-335.
- Abdullah, BJ. & Nasreen, R. (2012). Cosmeceuticals: A revolution in cosmetic market. *International Journal of Pharmacy & Technology*, 4(1), 3925-3942.
- Abdulkasim, P., Songchitsomboon, S., Techagumpuch, M., Balee, N., Swatsitang, P. & Sungpuag, P. (2007). Antioxidant capacity, total phenolics and sugar content of selected Thai health beverages. *International journal of food sciences and nutrition*, 58, 77-85.
- Aburjai, T. & Natsheh, FM. (2003). Plants used in cosmetics. *Phytotherapy Research*, 17(9), 987-1000.
- Aguirre-Cruz, G., León-López, A., Cruz-Gómez, V., Jiménez-Alvarado, R. & Aguirre-Álvarez, G. (2020). Collagen hydrolysates for skin protection: oral administration and topical formulation. *Antioxidants*, 9 (2), 181.
- Ahn, KS., Noh, EJ., Zhao, HL., Jung, SH., Kang, SS. & Kim, YS. (2005). Inhibition of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase II by Platycodon grandiflorum saponins via suppression of nuclear factor- $\kappa$ B activation in RAW 264.7 cells. *Life Science*, 76(20), 2315-2328.
- Akhtar, N., Khan, HMS., Ashraf, S., Mohammad, IS. & Ali A. (2014). Skin Depigmentation Activity of Crocus sativus Extract Cream. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13 (11), 1803-1808.
- Al, ML., Daniel, D., Moise, A., Bobis, O., Laslo, L. & Bogdanov, S. (2009). Physicochemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food Chemistry*, 112(4), 863–867.
- Alarcon, E., Campos, AM., Edwards, AM., Lissi, E. & Lopez-Alarcon, C. (2008). Antioxidant capacity of herbal infusions and tea extracts: a comparison of ORAC-fluorescein and ORAC-pyrogallol red methodologies. *Food Chemistry*, 107(3), 1114-1119.
- Almasaudi, SB., El-Shitany, NA., Abbas, AT., Abdel-dayem, UA., Ali, SS., Al Jaouni, SS. & Steve, H. (2016). Antioxidant, anti-inflammatory, and antiulcer potential of Manuka Honey against Gastric Ulcer in Rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1–10.
- Almasaudi, SB., Abbas, AT., Al-Handi, RR., El-Shitany, NA., Abdel-dayem, UA., Ali, SS., Saleh, RM., Al Jaouni, SK., Kamal, MA. & Harakeh, SM. (2017). Manuka Honey Exerts Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities That Promote Healing of Acetic Acid-Induced Gastric Ulcer in Rats. *Evidence-Based Complementary Alternative Medicine*, 1–12.
- Altan, N. (2000). Biyokimya. Palme Yayıncılık, Ankara, 82.

- Altınışık, M. (2011). Dokular. <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/89-1-23.pdf>. (Erişim tarihi: 13.06.2013).
- Altınışık, M. (2009). Enzimler. Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakóltesi, <http://www.mustafaaltinisik.org.uk>. (Erişim tarihi: 09.07.2009).
- Altıntaş, L., Bektaş, N. (2019). Apiterapi: arı zehri, *Uludag Bee Journal*, 19(1), 82-95.
- Alvarez-Suarez, JM., Tulipani, S., Diaz, D., Estevez, Y., Romandini, S., Giampieri, F., Damiani, E., Astolfi, P., Bompadre, S. & Battino, M. (2010a). Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 2490–2499.
- Alvarez-Suarez, JM., Tulipani, S., Romandini, S., Bertoli, E. & Battino, M. (2010b). Contribution of honey in nutrition and human health: a review. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 3 (1), 15-23.
- Alvarez-Suarez, JM., Gasparri, M., Forbes-Hernández, TY., Mazzoni, L. & Giampieri, F. (2014). The composition and biological activity of honey: a focus on Manuka honey. *Foods*, 3(3), 420-432.
- Al-Waili, NS. & Boni, NS. (2003). Natural honey lowers plasma prostaglandin concentrations in normal individuals. *Journal of Medicinal Food*, 6 (2), 129–133.
- Al-Waili, N. (2005). Effect of honey on urinary excretion of prostaglandin and nitric oxide urinary nitrite. *International Urology and Nephrology*, 37 (1), 107–111.
- Al-Waili, NS., Salom, K., Butler, G. & Al Ghamdi, AA. (2011). Honey and microbial infections: a review supporting the use of honey for microbial control. *Journal of Medicinal Food*, 14, 1079-1096.
- Amir, Y., Yesli, A., Bengana, M., Sadoudi, R. & Amrouche, T. (2010). Physico-chemical and microbiological assessment of honey from Algeria. *Electronic Journal of Environmental Agricultural and Food Chemistry*, 9(9), 1485–1494.
- Anunciato, TP. & Filho, PAR. (2012). Carotenoids and polyphenols in nutricosmetics, nutraceuticals, and cosmeceuticals. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 11(1), 51–54.
- Anonim, (2017). Cosmetics Europe, *Consumer Insights*, 1-28. (Erişim tarihi: 12.04.2020)
- Anonim, (2012). Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği. Ankara, 58. (Erişim tarihi: 12.04.2020)



- Anonim, (2013). Elastin, <http://tr.wikipedia.org/wiki/Elastin> (Erişim tarihi: 28.04.2020).
- Anonim, (2014a). Rare variants in FBN1 and FBN2 are associated with severe adolescent idiopathic scoliosis. *Human Molecular Genetics*, 5271-5282. (Erişim tarihi: 09.05.2020).
- Anonim, (2014b). <https://dlmaesthetics.com/wp-content/uploads/2014/06/skin-anatomy.jpg>. (Erişim tarihi: 20.05.2020)
- Anonim, (2019). <https://www.milatgazetesi.com/haber/gunes-isinlari-zararli-midir-gunes-208539/>. (07.06.2020).
- Anonim,(2020a).[https://www.google.com/search?q=collagen+synthesis+vitamin+C&tbm=isch&ved=2ahUKEwi42\\_Pf4a3xAhUCIBoKHeOOCWEQ2cCegQIABAA&oq=collagen+synthesis+vitamin+C&gs\\_lcp=CgNpbWcQAzIECAAQEzIICAAQBRAeEBMyCAgAEAgQHhATMggIABAIEB4QEzIICAAQCBAeEBMyCAgAEAgQHhATULMPWJQIYLQpaABwAHgAgAHAAYgBiwmSAQMwLjmYAQCgAQGqAQtd3Mtd2l6LWltZ8ABAQ&sclient=img&ei=zynTYPi3KIKoauOdpogG&bih=657&biw=1366#imgrc=NIQs6-px340skM](https://www.google.com/search?q=collagen+synthesis+vitamin+C&tbm=isch&ved=2ahUKEwi42_Pf4a3xAhUCIBoKHeOOCWEQ2cCegQIABAA&oq=collagen+synthesis+vitamin+C&gs_lcp=CgNpbWcQAzIECAAQEzIICAAQBRAeEBMyCAgAEAgQHhATMggIABAIEB4QEzIICAAQCBAeEBMyCAgAEAgQHhATULMPWJQIYLQpaABwAHgAgAHAAYgBiwmSAQMwLjmYAQCgAQGqAQtd3Mtd2l6LWltZ8ABAQ&sclient=img&ei=zynTYPi3KIKoauOdpogG&bih=657&biw=1366#imgrc=NIQs6-px340skM). (Erişim tarihi: 12. 06. 2021).
- Anonim, (2020b). <https://www.clutchprep.com/cell-biology/practice-problems/141222/a-competitive-inhibitor-does-not-inhibit-enzyme-activity-but-does-lower-substrate> (Erişim tarihi: 10.11.2020).
- Anonim, (2020c). <https://tr.pinterest.com/pin/220254238011096067/> (Erişim tarihi: 10.10.2020).
- Anonim, (2020d). <https://www.hakanbuzoglu.com/deri-ve-derinin-yapisi>. (Erişim tarihi: 21.06.2020).
- Antonopoulou, I., Varriale, S., Topakas, E., Rova, U., Christakopoulos, P. & Faraco, V. (2016). Enzymatic synthesis of bioactive compounds with high potential for cosmeceutical application. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100 (15), 6519-6543.
- Artés, F., Castañer, M. & Gil, MI. (1998). Review: enzymatic browning in minimally processed fruit and vegetables. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 4, 377-389.
- Aslam, MN., Lansky, EP. & Varani, J. (2005). Pomegranate as a cosmeceutical source: pomegranate fractions promote proliferation and procollagen synthesis and inhibit matrix metalloproteinase-1 production in human skin cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 103, 311-318.
- Athar, M. & Nasir, SM. (2005). Taxonomic perspective of plant species yielding vegetable oils used in cosmetics and skin care products. *African Journal of Biotechnology*, 4(1), 36-44.

- Ateş, S., Pekyardımcı, S. & Çokmuş, C. (2001). Partial characterization of a peptide from honey that inhibits mushroom polyphenol oxidase. *Journal of Food Biochemistry*, 25(2), 127-137.
- Aumeeruddy, MZ., Aumeeruddy-Elalfi, Z., Neetoo, H., Zengin, G., van Staden, AB., Fibrich, B., Lambrechts, IA., Rademan, S., Szuman, KM., Lall, N. & Mahomoodally, F. (2019). Pharmacological activities, chemical profile, and physicochemical properties of raw and commercial honey. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 18, 101005.
- Badolato, M. Carullo, G., Cione, E., Aiello, F. & Caroleo, MC. (2017). From the hive: Honey, a novel weapon against cancer. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 15(142), 290-299.
- Bang, EJ., Noh, SG., Ha, S., Jung, HJ., Kim, DH., Kyoung Lee, AH., Min Kyung, K., Dongwan, L., Sanggwon, P., Cha Eun, M., Hyung Ryong, C. & Hae Young, C. (2018). Evaluation of the novel synthetic tyrosinase inhibitor (Z)-3-(3-bromo-4-hydroxybenzylidene) thiochroman-4-one (MHY1498) in vitro and in Silico. *Molecules*, 23(12), 3307.
- Basu Mallik, S., Mudgal, J., Nampoothiri, M., Hall, S., Dukie, SA., Grant, G., Rao, CM. & Arora, D. (2016). Caffeic acid attenuates lipopolysaccharide-induced sickness behaviour and neuroinflammation in mice. *Neuroscience Letters*, 632, 218–223.
- Batubara, I. & Prastya, ME. (2020). Potential Use of Indonesian Medicinal Plants for Cosmetic and Oral Health: A Review. *Journal Kimia Valensi*, 6(1), 120-134.
- Batiha, GES., Besbishy, AM., Ikram, M., Mulla, ZS. & El-Hack, MEA. (2020). The Pharmacological Activity, Biochemical Properties, and Pharmacokinetics of the Major Natural Polyphenolic Flavonoid: Quercetin, *Foods*, 9, 374.
- Batt, PJ. & Liu, A. (2012). Consumer behaviour towards honey products in Western Australia. *British Food Journal*, 114(2), 285-297.
- Baumann, L. (2007a). Skin ageing and its treatment. *The Journal of Pathology*, 211(2), 241–251.
- Baumann, LS. (2007b). Less-known botanical cosmeceuticals. *Dermatologic Therapy*, 20 (5), 330-342.
- Bauza, E., Dal Farra, C., Berghi, A., Oberto, G., Peyronel, D. & Domloge, N. (2002). Date palm kernel extract exhibits antiaging properties and significantly reduces skin wrinkles. *International Journal of Tissue Reactions*, 24(4), 131-136.
- Baz, K. (2014). Yaşlanma ve fotoyaşlanmanın klinik tanımı ve etkileyen faktörler. Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi anabilim dalı, <https://slideplayer.biz.tr/slide/2791745/> (Erişim tarihi: 17. 12. 2020).
- Bărnăuțiu, LI., Mărghitaș, LA., Dezmirean, D., Bobiș, O., Mihai, C. & Pavel, C. (2013). Physico-chemical composition of apilarnil (bee drone larvae). *Lucrări Științifice-Seria Zootehnie*, 59, 199- 202.

- Bella, J., Eaton, M., Brodsky, B. & Berman, HM. (1994). Crystal and molecular structure of a collagen-like peptide at 1.9Å resolution. *Science*, 266, 75–81.
- Belsito, MD. (2020). Safety Assessment of Honey ingredients as Used in Cosmetics, 16-17 Mart, Wanhington, 39.
- Berisio, R., Vitagliano, L., Mazzarella, L. & Zagari, A. (2002). Crystal structure of the collagen triple helix model [(Pro-Pro-Gly) (10)] (3). *Protein science: a publication of the Protein Society*, 11(2), 262–270.
- Bernstein, EF., Chen, YQ., Tamai, K., Shepley, KJ., Resnik, KS. & Zhang, H. (1994). Enhanced elastin and fibrillin gene expression in chronically photodamaged skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 103(2), 182-186.
- Berth F. (2010). Collagen-Based Biomaterials for Tissue Engineering Applications. *Materials*, 3(3), 1863-1887.
- Bertrand, G. (1896). Sur une nouvelle oxydase, ou ferment soluble oxydant, d'origine vegetale. *Comptes Rendus l'Académie des Sciences*, 122, 1215 -1217.
- Bilsel, Y. Bugra, D. Yamaner, S. Bulut, T. Cevikbas, U. & Turkoglu, U. (2002). Could honey have a place in colitis therapy? Effects of honey, prednisolone, and disulfiram on inflammation, nitric oxide, and free radical formation. *Digestive Surgery*, 19, 306–311.
- Bingöl, G. (1977). Vitaminler ve Enzimler, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları Ders Kitap Serisi, Ankara, 46.
- Biraghi, E. & Abba, P. (2017) Lip balm, system thinking, *Technique Nouve*, 16-18.
- Birben, E., Sahiner, UM., Sackesen, C. Erzurum, S. & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, 5 (1), 9-19.
- Bissett, DL., Miyamoto, K., Sun, P., Li, J. & Berge, CA. (2004). Topical niacinamide reduces yellowing, wrinkling, red blotchiness, and hyperpigmented spots in aging facial skin. *International Journal of Cosmetic Science*, 26(5), 231-238.
- Bode, W., Meyer, E. & Powers, JC. (1989). Human Leukocyte and Porcine Pancreatic Elastase: X-ray Crystal Structures, Mechanism, Substrate Specificity and Mechanism-Based Inhibitors. *Biochemistry*, 28(5), 1951-1963.
- Bologna, JL. (1995). Aging skin. *The American Journal of Medicine*, 98(1A), 99-103
- Bogdanov, S. (1997). Nature and origin of the antibacterial substances in honey. *Food Science and Technology*, 30, 748-753.
- Borowska, A. (2016). Production, Consumption and Foreign Trade of Honey in Poland in the Years 2004 to 2015. *Roczniki Naukowe Ekonomii Rolnictwa i Rozwoju Obszarów Wiejskich*, 103(4), 97-111.

- Bourquelot, E. & Bertrand, A. (1895). A re-examination of the Raper's scheme: cyclodopa as a biological precursor of eumelanin, *Comptes Rendus Societe Biologies*, 47, 582-584.
- Boutoub, O., El-Guendouz, S., Estevinho, LM., Paula, VB., Aazza, S., El Ghadraoui, L., Rodrigues, B., Raposo, S., Carlier, J., Costa, MC. & Miguel MG. (2021). Antioxidant activity and enzyme inhibitory potential of *Euphorbia resinifera* and *E. officinarum* honeys from Morocco and plant aqueous extracts. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(1), 503–517.
- Brand-Williams, W., Cavalier, ME. & Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Brooke, RC., Newbold, SA., Telfer, NR. & Griffiths, CE. (2001). Discordance between facial wrinkling and the presence of basal cell carcinoma. *Archives of Dermatology*, 137(6), 751-754.
- Brown, R. (1993). Bee hive product bible. Avery, ABD, 223.
- Bueno-Costa, FM., Zambiasi, RC., Bohmer, BW., Chaves, FC., da Silva, WP., Zanusso, JT. & Dutra, I. (2016). Antibacterial and antioxidant activity of honeys from the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *LWT-Food Science and Technology*, 65, 333-340.
- Burnett, CL., Bergfeld, WF., Belsito, DV., Hill, RA., Klaassen, CD., Liebler, DC., Marks, JGJ., Shank, RC., Slaga, TJ., Snyder, PW., Andersen, FA. (2010). Final report of the safety assessment of kojic acid as used in cosmetics. *International Journal of Toxicology*, 29, 244–273.
- Calay, Ö. (2010). Tirosinaz enziminin bazı tıbbi bitkiler tarafından inhibisyonu. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, İstanbul.
- Calixto-Campos, C. Carvalho, TT., Hohmann, MSN., Pinho-Ribeiro, FA., Fattori, V., Manchope, MF., Zarpelon, AC., Baracat, MM., Georgetti, SR., Casagrande, R. & Verri, WA. (2015). Vanillic Acid Inhibits Inflammatory Pain by Inhibiting Neutrophil Recruitment, Oxidative Stress, Cytokine Production, and NFκB Activation in Mice. *Journal of Natural Products*, 78, 1799–1808.
- Can, Z. Yildiz, O. Sahin, H. Turumtay, E.A. Silici, S. & Kolayli, S. (2015). An investigation of Turkish honeys: their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. *Food Chemistry*, 180, 133–141.
- Cao, G., Alessio HM. & Cutler, RG. (1993). Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 14, 303-311.
- Cestari, TF., Dantas, LP. & Boza, JC. (2014). Acquired hyperpigmentations. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 89(1), 11-25.

- Chan, EWC., Lim, YY., Wong, LF., Lianto, FS., Wong, SK., Lim, KK., Joe, CE. & Lim, TY. (2008). Antioxidant and tyrosinase inhibition properties of leaves and rhizomes of ginger species. *Food Chemistry*, 109(3), 477-483.
- Chao, CS., Tsai, CS., Chang, YP., Chen, JM., Chin, HK. & Yang, SC. (2016). Hyperin inhibits nuclear factor Kappa B-activated-related factor-2 signaling pathway cisplatin-induced acute kidney injury in mice. *International Immunopharmacol*, 40, 517-523.
- Chasteen, AL., Bashir, NY., Gallucci, C. & Visekruna, A. (2011). Age and antiaging technique influence reactions to age concealment. *Journal of Gerontology Series B: Psychological Sciences and Social Sciences*, 66(6), 719-724.
- Chen, H., Weng, QY. & Fisher, DE. (2014). UV signaling pathway switch in the skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 134, 2080-2085.
- Chen, CY., Lin, LC., Yang, WF., Bordon, J. & Wang, HMD. (2015). An Updated Organic Classification of Tyrosinase Inhibitors on Melanin Biosynthesis. *Current Organic Chemistry*, 19(1), 4-18.
- Chiocchio, I., Mandrone, M., Sanna, C., Maxia, A., Tacchini, M. & Poli, F. (2018). Screening of a hundred plant extracts as tyrosinase and elastase inhibitors, two enzymatic targets of cosmetic interest. *Industrial Crops & Products*, 122, 498-505.
- Child, MFL. (1844). *The American Frugal Housewife: Dedicated to Those who are Not Ashamed of Economy*. Editörler: Samuel S. & William Wood, 27 th penyunt, New York, 130.
- Chiu, A. & Kimball, AB. (2003). Topical vitamins, minerals and botanical ingredients as modulators of environmental and chronological skin damage. *British Journal of Dermatology*, 149(4), 681-689.
- Chiu, AE., Chan, JL., Kern, DG., Kohler, S., Rehmus, WE. & Kimball, AB. (2005). Double-blinded, placebo-controlled trial of green tea extracts in the clinical and histologic appearance of photoaged skin. *Dermatologic Surgery*, 31(7), 855-860.
- Chopra, S. & Meindl, P. (2014). *Supply Chain Management: Strategy, Planning and Operations*, 6th Edition, Pearson Education.
- Chua, LS., Lee, JY. & Chan, GF. (2013). Honey protein extraction and determination by mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405(10), 3063-3074.
- Chung, JH. (2003). Photoaging in Asians. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 19(3), 109-121.
- Civil, N. (2016). *Güneş Yağları ve Bebek Yağlarının in vitro Değerlendirilmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Crane, E. (1975). *Flowers honey comes from honey: a comprehensive survey*. Heinemann, London, 608.
- Crane, E. (1983). *The archaeology of beekeeping*, Duck worth, 1 th education, London, 359.

- Crocetti, L., Schepetkin, IA., Cilibrizzi, A., Graziano, A., Vergelli, C., Giomi, D., Khlebnik, AI., Quinn, MT. & Giovannoni, MP. (2013). Optimization of n-benzoylindazole derivatives as inhibitors of human neutrophil elastase. *Journal of Medicinal Chemistry*, 56, 6259–6272.
- Cronin, H., & Draeos, ZD. (2010). Top 10 botanical ingredients in 2010 antiaging creams. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 9(3), 218-225.
- Codex Alimentarius. (2001). Revised Codex Standard for Honey. Codex Stan 12-1981. Codex Alimentarius Commission. Rev. 1(1987). Rev. 2(2001).
- Cooksey, CJ., Garratt, PJ., Land, EJ., Pavel, S., Ramsden, CA., Riley, PA. & Smit NPM. (1997). Evidence of the indirect formation of the catecholic intermediate substrate responsible for the autoactivation kinetics of tyrosinase. *Journal of Biological Chemistry*, 272, 26226-26235.
- Cooper, R. (2016). Honey for wound care in the 21st century. *Journal of Wound Care*, 25(9), 544–552.
- Cornacchione, S., Sadick, NS., Neveu, M., Talbourdet, S., Lazou, K. & Viron, C. (2007). In vivo skin antioxidant effect of a new combination based on a specific vitis vinifera shoot extract and a biotechnological extract. *Journal of Drugs Dermatology*, 6(6), 8-13.
- Cox, N. & Hinkle, R. (2002). Infant botulism. *American family physician*, 65(7), 1388-1408.
- Çankaya, M., Hernandez, AM., Ciftci, M., Beydemir, Ş., Özdemir, H., Budak, H., Gülçin, İ., Çomaklı, V., Emircupani, T., Ekinci, D., Kuzu, M., Jiang, Q., Eichele, G. & Küfrevioğlu, Öİ. (2007). An analysis of expression patterns of genes encoding proteins with catalytic activities. *BMC Genomics*, 8, 232.
- Çelik, K. & Aşgun, HF. (2017). Arılarla gelen sağlık “apiterapi”, <http://apitherapy-project.eu/pdf/20160920/apitherapy-handbook-tr.pdf>. (Erişim tarihi: 24.07.2020).
- Çomoğlu, T. (2012). Kozmetikler. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 16, 1-8.
- Darlenski, R., Surber, C. & Fluhr, JW. (2010). Topical retinoids in the management of photo damaged skin: from theory to evidence-based practical approach. *British Journal of Dermatology*, 163(6), 1157–1165.
- da Silva, PM., Gauche, C., Gonzaga, LV., Costa, ACO. & Fett, R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196, 309-323.
- Davinelli, S., Bertoglio, JC., Polimeni, A. & Scapagnini, G. (2018). Cytoprotective polyphenols against chronological skin aging and cutaneous photodamage. *Current Pharmaceutical Design*, 24(2), 99-105.

- de-Miguel, S., Pukkala, T. & Yeşil, A. (2014). Integrating pine honeydew honey production into forest management optimization. *European Journal of Forest Research*, 133(3), 423-432.
- Demule, M. Brossard, M. Page', M. Gingras, D. & Be'liceau, R. (2000). Matrix metalloproteinase inhibition by green tea catechins. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1478, 51–60.
- De Oliveira, MR., Andrade, CMB. & Fürstenau, CR. (2018). Naringenin Exerts Anti-inflammatory Effects in Paraquat-Treated SH-SY5Y Cells Through a Mechanism Associated with the Nrf2/HO-1 Axis. *Neurochemical Research*, 43, 894–903.
- Di Petrillo, A., Santos-Buelga, C., Era, B., Gonzalez-Paramás, A., Tuberoso, C., Medda, R., Pintus, F. & Fais, A. (2018). Sardinian honeys as sources of xanthine oxidase and tyrosinase inhibitors. *Food Science and Biotechnology*, 27,139–146.
- Diplock, AT. (1998). Healty lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. *ILSI Europe Concise Monograph Series*, 59.
- Dorni, AIC., Amalraj, A., Gopi, S.,Varma, K. & Anjana SN. (2017). Novel cosmeceuticals from plants-An industry guidad rewiev. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 7, 1-26.
- Durai, PC., Thappa, DM., Kumari, R. & Malathi, M. (2012). Aging in elderly: chronological versus photoaging. *Indian Journal of Dermatology*, 57(5), 343-352.
- Draelos, ZD. (2007). The latest cosmeceutical approaches for anti-aging. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 6, 2-6.
- Draelos ZD. (2011).The art and science of new advances in cosmeceuticals. *Clinics in Plastic Surgery*, 38(3), 397-407.
- Draelos, ZD. (2010). *Cosmetic Dermatology: Products and Procedures*. 1th education, Black well Publishing, Singapure, 269-280.
- Dudonné, S., Xavier, V., Coutière, P., Woillez, M. & Merillon, JM. ( 2009). Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), 1768-1774.
- Durmaz, L. (2015). Bazı kumarin türevleri: Antioksidan kapasiteleri ve insan karbonik anhidraz izomerleri (Hca I ve II) ile asetilkolinesteraz enzimi üzerine etkileri, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilimdalı, Erzurum.

- Ebrahimzadeh, MA., Enayatifard, R., Khalili, M., Ghaffarlo, M., Saeedi, M. & Charati, JY. (2014). Correlation between Sun Protection Factor and Antioxidant Activity, Phenol and Flavanoid Contents of Some medicinal Plants. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 13(3), 1041-1047.
- Elias, PM., Goerke, J. & Friend, DS. (1977). Mammalian epidermal barrier layer lipids: composition and influence on structure. *Journal of Investigative Dermatology*, 69(6), 535-546.
- Elibüyük Aksaç, S., Bilgili, SG., Yavuz, İH. & Özyayın Yavuz, G. (2018). Akne Vulgariste etyopatogenez. *Van Tıp Dergisi*, 25(2), 260-267.
- Emin, N. (2006). İzole Edilmiş Sıçan Kondrositleri ve Polimerik Biyomalzemelerin Kullanımıyla Kıkırdak Doku Mühendisliği. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara.
- Erejuwa, OO., Sulaiman, SA. & Ab Wahab, MS. (2012). Honey: A novel antioxidant. *Molecules*, 17, 4400–4423.
- Erejuwa, OO., Sulaiman, SA. & Wahab, MS. (2014). Effects of honey and its mechanisms of action on the development and progression of cancer. *Molecules*, 19, 2497–2522.
- Erdoğan, S. (2014). Serbest radikaller, antioksidanlar ve ilişkili hastalıklar. <https://www.slideshare.net/apparajuvijay/reactive-oxygen-species>.
- Erlund, I. (2004). Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Journal Nutrition Research*, 24, 851-74.
- Ertekin-Filiz, B. (2015). Elma cipsinin bazı kalite ve antioksidan özelliklerine kurutma, ambalajlama ve depolamanın etkisi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, ISPARTA
- European Commission. (1993). Directive 93/35 EEC. *Official Journal of the European Commission—L*, Series 151.
- Evans, SW. & Whicher, JT. (1990). Cytokines in disease. *Clinical Chemistry*, 36, 1269-1281.
- Fadhullah, H., Megantika, A., Alifia, KCH., Nugroho, P. & Gofara, TZ. (2019). Durable Moisturizing Herbal Lip Balm with Honey, Hyaluronic Acid, and SPF. *UI Proceedings on Science and Technology*, 2, 67-72.
- Fang, YZ., Yang, S. & Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18 (10), 872-879.



- Farage, MA., Iler, KW., Elsner, P. & Maibach, HI. (2008). Intrinsic and extrinsic factors in skin ageing: a review. *International Journal of Cosmetic Science*, 30, 87–95.
- Fathima, A., Varma, S., Jagannath, P. & Akash, M. (2011). General review on herbal cosmetics. *International Journal of Drug Formulation and Research*, 2(5), 140-165.
- Feng, JH., Hu, XL., Lv, XY., Wang, BL., Lin, J., Zhang, XQ., Ye, WC., Xiong, F. & Wang, H. (2019). Synthesis and biological evaluation of clovamide analogues with catechol functionality as potent Parkinson's disease agents in vitro and in vivo. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 29 (2), 302-312.
- Ferrero, ML., Nielsen, OH., Andersen, PS. & Girardin, SE. (2007). Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1beta generation. *Clinical Experimental Immunology*, 147(2), 227-235.
- Fisher, G. (2018). Is olive good for my lips. How stuff works. Retrieved March, 8, <https://health.howstuffworks.com/skin-care/lip-care/tips/oliveoil-good-for-lips.htm>
- Fisher, GJ., Kang, S., Varani, J., Bata-Csorgo, Z., Wan, Y. & Datta, S. (2002). Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. *Archives of Dermatology*, 138(11), 1462-1470.
- Frauenfelder, RA., Krauthammer, M., Göldi, R. & Frey, J. (1921). Der honig als genuss-, *Nähr-und Kräftigungsmittel*: A. Umiker
- Gallo, RL. (2017). Human Skin Is the Largest Epithelial Surface for Interaction with Microbes. *Journal of Investigative Dermatology*, 137(6), 1213–1214.
- Ganceviciene, R., Liakou, AI., Theodoridis, A., Makrantonaki, E. & Zouboulis, CC. (2012). Skin anti-aging strategies. *Dermato-Endocrinology*, 4(3), 308–319.
- Gebelein, CG. (1997). *Chemistry and Our Life*. (Editor: Wheatley, CH.), Graphic World Publishing Services, United States of America, 435-456.
- Gelse, K., Pöschl, E. & Aigner, T. (2003). Collagens – structure, function, and biosynthesis. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 55(12), 1531–1546.
- Georgiev L., Chochkova, M., Totseva, I., Seizova, K., Marinova, E., Ivanova, G., Ninova, M., Najdenski, H. & Milkova, T. (2013). Anti-tyrosinase, antioxidant and antimicrobial activities of hydroxycinnamoylamides. *Medicinal Chemistry Research*, 2, 4173-4182.
- Gilchrest, BA. (1989). Skin aging and photoaging: an overview. *Journal of American Academy Dermatology*, 21, 610-613.
- Gilligan, AM., Waycaster, CR., Bizier, R., Chu, BC., Carter, JM. & Fife, CE. (2017). Comparative Effectiveness of Clostridial Collagenase Ointment to

- Medicinal Honey for Treatment of Pressure Ulcers. *Advances in Wound Care (New Rochelle)*, 6(4), 125-134.
- Gheldof, N. & Engeseth, NJ. (2002). Antioxidant Capacity of Honeys from Various Floral Sources Based on the Determination of Oxygen Radical Absorbance Capacity and Inhibition of in Vitro Lipoprotein Oxidation in Human Serum Samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(10), 3050–3055.
- Ghimire, BK., Sacks, EJ., Kim, SH., Yu, CY. & Chung, IM. (2021). Profiling of Phenolic Compounds Composition, Morphological Traits, and Antioxidant Activity of *Miscanthus sacchariflorus* L. Accessions. *Agronomy*, 11, 243.
- Goldman, L. & Schafer, AI. (2012). Cecil Medicine, Edition 24th, Saunders (Elsevier), 1604-1607.
- Gosain, A. & Di Pietro, LA. (2004). Aging and wound healing. *World Journal of Surgery*, 28(3), 321-326.
- Gośliński, M. Nowak, D. Szwengiel, A. (2021). Multidimensional Comparative Analysis of Bioactive Phenolic Compounds of Honeys of Various Origin. *Antioxidants*, 10, 530.
- Guillaume, D., & Charrouf, Z. (2011) Argan oil. *Alternative Medicine Review*, 16 (3), 275-279.
- Gupta, A., Malviya, R., Singh, TP. & Sharma, PK. (2010). Indian medicinal plants used in hair care cosmetics: A short review. *Pharmacognosy Journal*, 2(10), 361-364.
- Güven, KC. (2008). Kozmetik Formüller, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 11-14.
- Griffiths TW. (2010). Cosmeceuticals: coming of age. *British Journal of Dermatology*, 162(3), 469-470.
- Handa, Y., Hirai, Y., Matsubara, T. & Sakurai, H. (1997). Radioactivity due to several radionuclides detected in honey of different geographical origins. *American Bee Journal*, 137, 307-309.
- Halliwell, B. & Gutteridge, JMC. (1999). Free Radicals in Biology and Medicine. 3th edition. Oxford University Press. New York, 10-121.
- Hasam, S., Qarizada, D. & Azizi M. (2020). A Review: Honey and Its Nutritional Composition. *Asian Journal of Research in Biochemistry*, 7(3), 34-33.
- Hekimoğlu, S. (2017). Yaşlanma Karşıtı Kozmetik Ürünlerdeki Yenilikler. *Journal of Cosmetic Dermatology-Special Topics*, 10(1), 1-7.

- Hermosín, I., Chicon, RM. & Cabezudo, MD. (2003). Free amino acid composition and botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 83(2), 263-268.
- Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S. & Williamson, EM. (2012). *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy*. 2. Baskı, Churchill Livingstone an imprint of Elsevier Science Limited, İspanya, 340.
- Halaouli, S., Asther, M., Sigoillot, JC., Hamdi, M. & Lomascolo, A. (2006). Fungal tyrosinases: new prospects in molecular characteristic, bioengineering and biotechnological applications. *Journal of Applied Microbiology*, 100 (2), 219-232.
- Holland, KT. & Bojar, AR. (2002). Cosmetics. *American Journal of Clinical Dermatology*, 3(7), 445-449.
- Hou, W., Hu, S., Su, Z., Wang, Q., Meng, G., Guo, T., Zhang, J. & Gao, P. (2018). Myricetin attenuates LPS-induced inflammation in RAW 264.7 macrophages and mouse models. *Future Medicinal Chemistry*, 10, 2253–2264.
- Huang, DB. & Prior, RL. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.
- Huang, D., Ou, B., Hampsch-woodill M., Flanagan, JA. & Prior, RL. (2002). High-Throughput Assay of Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) Using a Multichannel Liquid Handling System Coupled with a Microplate Fluorescence Reader in 96-Well Format. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 50, 4437–4444
- Huang, L. Hou, L. Xue, H. & Wang, C. (2016). Gallic acid inhibits inflammatory response of RAW264.7 macrophages by blocking the activation of TLR4/NF- $\kappa$ B induced by LPS. *Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology*, 32, 1610–1614.
- Hämäläinen, M. Nieminen, R. Vuorela, P. Heinonen, M. Moilanen, E. (2007). Anti-inflammatory effects of flavonoids: genistein, kaempferol, quercetin, and daidzein inhibit STAT-1 and NF-kappaB activations, whereas flavone, isorhamnetin, naringenin, and pelargonidin inhibit only NF-kappaB activation along with their inhibitory effect on iNOS expression and NO production in activated macrophages. *Mediators Inflamm*, 2007, 45673.
- Ichihashi M. (2004). Mechanisms of aging and photoaging of skin. How wrinkles are formed. *Flavour and Fragrance Journal*, 32, 24-30.
- Ikehata, K. & Nicell, JA. (2000). Characterization of tyrosinase for the treatment of aqueous phenols. *Bioresource Technology*, 74, 191-199.

- Isabel, CFRF., Edmur, A., João, B. & Letic, ME. (2009). Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food Chemistry*, 114(4), 1438-1443.
- Ismaya, WT., Rozeboom, HJ., Weijn, A., Mes, JJ., Fusetti, F., Wichers, HJ. & Dijkstra, BW. (2011). Crystal structure of *Agaricus bisporus* mushroom tyrosinase: identity of the tetramer subunits and interaction with tropolone. *Biochemistry*, 50(24), 5477-5486.
- Israili, ZH. (2014). Antimicrobial properties of honey. *American Journal of Therapeutics*, 21, 304–323.
- Jackson, JK., Zhao, J., Wong, W. & Burt, HM. (2010). The inhibition of collagenase induced degradation of collagen by the galloyl-containing polyphenols tannic acid, epigallocatechin gallate and epicatechin gallate. *Journal of Material Science: Materials in Medicine*, 21, 1435–1443.
- Jantakee, K. & Tragoolpua, Y. (2015). Activities of different types of Thai honey on pathogenic bacteria causing skin diseases, tyrosinase enzyme and generating free radicals. *Biological Research*, 48, 1–11
- Jenkins, G. (2002). Molecular mechanisms of skin ageing. *Mechanism of Ageing and Development*. 123(7), 801-810.
- Johnsen, MA. (2004). The influence of particle size. *Spray Technology and Marketing*, 14(11), 24-27
- Joshi, JS. & Pawar, H. (2015). Herbal cosmetics and cosmeceuticals: An overview. *Natural Products Chemistry & Research*, 3(2), 8. DOI: 10.4172/2329-6836, 1000170.
- Kanda, K., Sato, T., Ishii, S., Enei, H. & Ejiri, S. (1996). Purification and properties of tyrosinase isozymes from gill of *Lentinus edodes* fruiting bodies. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 60, 1273–1278.
- Kanlayavattanakul, M., Ospondant, D., Ruktanonchai, U. & Lourith, N. (2012). Biological activity assessment and phenolic compounds characterization from the fruit pericarp of *Litchi chinensis* for cosmetic applications. *Pharmaceutical Biology*, 50, 1384-1390.
- Kara, Y. (2019). Phenolic composition of Pine (*Pinus* spp) honey from Turkey. *Journal of Apitherapy and Nature*, 2(2), 52-58.
- Karabulu, H. & Gülay, MŞ. (2016). Antioksidanlar. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1, 65-76.
- Karadal, F. & Yıldırım, Y. (2012). Balın Kalite Nitelikleri, Beslenme ve Sağlık Açısından Önemi. *Erciyes Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 9(3), 197-209.

- Kasala, ER., Bodduluru, LN., Madana, RM., Athira, KV., Gogoi, R. & Barua, CC. (2015). Chemo preventive and the rapeutic potential of chrysin in cancer: Mechanistic perspectives. *Toxicology Letters*, 233, 214–225.
- Kâfi, R., Kwak, HS., Schumacher, WE., Cho, S., Hanft, VN. & Hamilton, TA.(2007). Improvement of naturally aged skin with vitamin A (retinol). *Archives Dermatology*, 143, 606-612.
- Karlıdağ S. & Keskin, M. (2020). Arı ürünlerine genel bakış. *Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 3(1), 58-63.
- Kasprzyk, I., Depciuch, J., Grabek-Lejko, D. & Parlinska-Wojtan, M. (2018). FTIR-ATR spectroscopy of pollen and honey as a tool for unifloral honey authentication. The case study of rape honey. *Food Control*, 84, 33-40.
- Karygianni, L., Al-Ahmad, A., Argyropoulou, A., Hellwig, E., Anderson, AC. & Skaltsounis, AL. (2016). Natural antimicrobials and oral microorganisms: a systematic review on herbal interventions for the eradication of multispecies oral biofilms. *Frontiers in Microbiology*, 6 (1529), 1-17.
- Kaya, F. (2019). Mutluluk hastalığı: Williams sendromu. *Bezelye dergi*.
- Kaya, N. (1993). Biyokimya, Atatürk Üniversitesi Basımevi, Ankara, 42-58,
- Kedzierska-Matysek, M. Stryjecka, M. Teter, A. Skálecki, P. Domaradzki, P. & Florek, M. (2021). Relationships between the Content of Phenolic Compounds and the Antioxidant Activity of Polish Honey Varieties as a Tool for Botanical Discrimination. *Molecules*, 26, 1810.
- Khan, SU., Anjum, SI., Rahman, K., Ansari, MJ., Khan, WU., Kamal, S. & Khan, HU. (2017). Honey: Single food stuff comprises many drugs. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25 (2), 320-325.
- Khatua, S. Paul, A. Chatterjee, D. Ray, A. Roy, A. Acharya, K. (2013). Evaluation of antioxidative activity of ethanolic extract from *Russula delica*: An in vitro study. *International Journal Pharmacy Sciences Reviews*, 5(9), 100-107.
- Khotimchenko, YS. (2016). Tyrosinase inhibitors from marine algae. *British Journal of Dermatology*, 175(3), 457-458.
- Kim, YJ., Uyama, H. & Kobayashi, S. (2004). Inhibition effects of (+)-catechin-aldehyde polycondensates on proteinases causing proteolytic degradation of extracellular matrix. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 320, 256-261.
- Kim, SK., Ravichandran, YD., Khan, SB. & Kim, YT. (2008). Prospective of the Cosmeceuticals Derived from Marine Organisms. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 13(5), 511-23.

- Kim, KBVR., Kim, MI., Ahn, DN. (2019). Free Radical Scavenging and Anticollagenase Properties of Sargachromanol I from *Myagropsis myagroides*. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 81, 561-565.
- Kim, HB., Kim, JY., An S.K., Lee, YJ., Cho, DH. & Kim, HS. (2020). Bae Sh. Potential anti-wrinkle activity of *Chlorella* sp. HS1-derived oil components on human dermal fibroblasts. *Asian Journal of Beauty and Cosmetology*, 18(1), 41-51.
- Kittiwannachot, P., Borisut, P., Wanasawas, P., Ponpanich, L., Rattanasuk, O. & Chulasiri, M. (2008). Antimutagenic potentials of hydroalcoholicherbal extracts towards UV-induced mutation. *Thai Journal of Toxicology*, 23, 27-34.
- Kole, PL., Jadhav, HR., Thakurdesai, P. & Nagappa, AN. (2005). Cosmetics potential of herbal extracts. *Natural Product Radiance*, 4(4), 315-321.
- Kollias, N., Sayre, RM., Zeise, L. & Chedekel, MR. (1991). Photoprotection by melanin. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 9(2), 135-160.
- Kozarski, M., Klaus, A., Jakovljević, D., Todorović, N., Wan-Mohtar, WAAQI. & Nikšić, M. (2019). *Ganoderma lucidum* as a cosmeceutical: antiradical potential and inhibitory effect on hyperpigmentation and skin extracellular matrix degradation enzymes. *Archives of Biological Sciences*, 71, 253-264.
- Kowalski, S. (2013). Changes of antioxidant activity and formation of 5-hydroxy methyl furfural in honey during thermal and microwave processing. *Food Chemistry*, 141(2), 1378-1382.
- Kundu, JK. & Surh, YJ. (2005). Breaking the relay in deregulated cellular signaltransduction as a rationale for chemoprevention with anti-inflammatory phytochemicals. *Mutation Research*, 591,123-146.
- Kuzgun, G. (2018). Kozmetik ürün ve yöntemlerin patent uygulamaları açısından incelenmesi.Uzmanlık Tezi, Türk Patent ve Marka Kurumu Patent Dairesi Başkanlığı, Ankara.
- Lai, X., Soler-Lopez, M., Wichers, HJ., Dijkstra, BW. (2016). Large-scale recombinant expression and purification of human tyrosinase suitable for structural studies. *PLoS One*, 11(8), e0161697. doi: 10.1371/journal.pone.0161697. PMID: 27551823; PMCID: PMC4994950.
- Lai, X., Wichers, HJ., Soler-Lopez, MS. & Dijkstra, BW. (2018). Structure and function of human tyrosinase and tyrosinase-related proteins. *Chemistry-A European Journal*, 24(1), 47-55.

- Latha, MS., Martis, J., Shobha, V., Shinde, RS. & Bangera, S. (2013). Sunscreening Agents: A Review. *Journal Clinical Aesthetic Dermatology*, 6(1), 17-26
- Lee, EK., Bharadwaj, S., Yadava, U. & Gu Kang, S. (2019). Evaluation of caffeine as inhibitor against collagenase, elastase and tyrosinase using in silico and in vitro approach, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 34(1), 927-936.
- Lehninger, AL., Nelson, DL. & Cox, MM. (2005). Principles of Biochemistry, (Çeviri editörü: Kılıç, N.) 3. Baskıdan çeviri, Palme Yayıncılık, Ankara.
- Levin, J. & Momin, SB. (2010). How much do we really know about our favorite cosmetic ingredients? *Journal of Clinical Aesthetic Dermatology*, 3(2), 22-41.
- Liyanaarachchi, GD., Samarasekera, JK., Mahanama, KR. & Hemalal, KD. (2018). Tyrosinase, elastase, hyaluronidase, inhibitory and antioxidant activity of Sri Lankan medicinal plants for novel cosmeceuticals. *Industrial Crops and Products*, 111, 597–605.
- Lizcano, LJ., Bakkali, F., Ruiz-Larrea, MB. & Ruiz-Sanz, JI. (2010). Antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from Colombian Amazonian plants with medicinal use. *Food Chemistry*, 119, 1566–1570.
- Lohani, A., Verma, A., Joshi, H. Yadav, N., Karki, N. (2014). Nanotechnology-based cosmeceuticals. *ISRN Dermatology*, 2014, 14.
- Lopez-Alarcon, C. & Lissi, E. (2006). A novel and simple ORAC methodology based on the interaction of pyrogallol red with peroxy radicals. *Free Radical Research*, 40 (9), 979-985.
- Lopez-Alarcon, C., Ortiz, R., Benavides, J., Mura, E. & Lissi, E. (2011). Use of the ORAC-Pyrogallol Red/ ORAC-Fluorescein Ratio to Assess the Quality of Antioxidants in Chilean Wines. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 56(3), 764-767.
- Lund-Nielsen, B., Adamsen, L., Kolmos, HJ., Rørth, M., Tolver, A. & Gottrup, F. (2011). The effect of honey-coated bandages compared with silver-coated bandages on treatment of malignant wounds-a randomized study. *Wound Repair and Regeneration*, 19(6), 664-670.
- Ma, W., Wlaschek, M., Tancheva-Poór, I., Schneider, LA., Naderi, L. & Razi-Wolf, Z. (2001). Chronological ageing and photoageing of the fibroblasts and the dermal connective tissue. *Clinical and Experimental Dermatology*, 26(7), 592-599.
- Makhloufi, C., Kerkvliet, J. & Schweitzer, P. (2015). Characterisation of some monofloral Algerian honeys by pollen analysis. *Grana*, 54(2), 156-166.
- Mansur, JS., Breder MNR., Mansur, MCA. & Azulay, R D. (1986). Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 61, 121-124.

- Mato, I., Huidobro, JF., Simal-Lozano, J. & Sancho, MT. (2006). Analytical methods for the determination of organic acids in honey. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 36 (1), 3-11.
- Matoba, Y., Kumagai, T., Yamamoto, A., Yoshitsu, H. & Sugiyama, M. (2006). Crystallographic evidence that the dinuclear copper center of tyrosinase is flexible during catalysis, *Journal Biology Chemistry*, 281 (13), 8981-8990.
- Matsumura, Y. & Ananthaswamy, HN. (2004). Toxic effects of ultraviolet radiation on the skin. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 195, 298–308.
- Mayer, AM. (2006). Polyphenol oxidases in plants and fungi: going places? A review, *Phytochemistry*, 67(21), 2318-2331
- McCallion, R. & Po, ALW. (1993). Dry and photo aged skin: and manifestations management. *Journal of Clinical and Pharmacy Therapeutics*, 18, 15–32.
- Mearns, ES., Liang, M., Limone, BL., Gilligan, AM., Miller, JD., Schaum, KD. & Waycaster, CR. (2017). Economic analysis and budget impact of clostridial collagenase ointment compared with medicinal honey for treatment of pressure ulcers in the US, *Clinico Economics and Outcomes Research*, 9, 485-494.
- Menter, JM., Townsel, ME., Moore, CL., Williamson, GD., Soteres, BJ., Fisher, MS. & Willis, I. (2010). Melanin accelerates the tyrosinase-catalyzed oxygenation of p-hydroxyanisole (MMEH). *Pigment Cell Research*, 3, 90–97.
- Meo, SA., Al-Asiri, SA., Mahesar, AL., & Ansari, MJ. (2017). Role of honey in modern medicine. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(5), 975-978.
- Mercan, U. (2004). Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15, 91-96.
- Meydanî, M., Hernandez-Rodriguez, J., Youdim, MB. & Gutierrez-Robledo, LM. (2001). Antioxidants and Cognitive Function. *Nutrition Reviews*, 59(8), 75.
- Middleton, JE., Kandaswami, C. & Theoharides, TC. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52, 673-751.
- Mohapatra, DP., Thakur, V. & Brar, SK. (2011). Antibacterial efficacy of raw and processed honey. *Biotechnology Research International*, 6.
- Molan, PC. (1999). The role of honey in the management of wounds. *Journal of Wound Care*, 8, 415-418.
- Molan PC. (1997). Honey as an Antimicrobial Agent. Editor: Mizrahi A., Lensky Y., Bee Products. Springer, Boston, MA.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science and Technology*, 26(2), 211-219.



- Mookhtiar, KA. & Van Wart, HE. (1992). Clostridium histolyticum collagenases: a new look at some old enzymes. *Matrix Suppl*, 1, 116-126.
- Mora, PC. & Baraldi, PG. (2000). Dermocosmetic applications of polymeric biomaterials. Editör: Dumitru, S., 2 th ed. New York and Basel, Marcel Dekker, 459–490.
- Mukherjee, PK. & Wahile, A. (2006). Integrated Approaches towards Drug Development from Ayurveda and Other Indian System of Medicines. *Journal of Ethnopharmacology*, 103, 25-35.
- Mukherjee, PK., Maity, N., Nema, NK. & Sarkar, BK. (2011). Bioactive compounds from natural resources against skin aging. *Phytomedicine*, 19, 64–73.
- Muñoz, R. & Gonzalez, FC. (2017). Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts: From Feedstock Cultivation to End-Products: Woodhead Publishing, 560.
- Müller-Bunke, H., Höck, A., Schöntube, M., Noack, R. (2000). Bebek botulizmi. *Säuglingsbotulismus Monatsschrift Kinderheilkunde*, 148, 242-245.
- Nagai, T., Nagashima, T., Suzuki, N. & Inoue, R. (2005). Antioxidant activity and angiotensin I-converting enzyme inhibition by enzymatic hydrolysates from bee bread. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 60(1-2), 133-138.
- Naidja, A., Huang, PM. & Bollag, JM. (1998). Comparison of reaction products from the transformation of catechol catalyzed by birnessite or tyrosinase. *Soil Science Society America Journal*, 62, 188-195.
- Narayanaswamy, R. Wai, LK. & Ismail IS. (2014). In silico analysis of selected honey constituents as human neutrophil elastase (HNE) and matrix metalloproteinases (MMP2 and 9) inhibitors. *International Journal of Food Properties*, 18(10), 2155-2164.
- Nimse, SB. & Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants and their reaction mechanisms. *The Royal Society of Chemistry*, 5 (35), 27986-28006.
- Obossou, EK., Shikamoto, Y., Hoshino, Y., Kohno, H., Ishibasi, Y., Kozasa, T., Taguchi, M., Sakakibara, I., Tonooka, K., Shinozuka, T. & Mori, K. (2021). Effect of manuka honey on human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase activity. *Natural Product Research*, 8, 1-6.
- Oh, TI., Yun, JM., Park, EJ., Kim, YS., Lee, YM. & Lim, JH. (2017). Plumbagin Suppresses  $\alpha$ -MSH-Induced Melanogenesis in B16F10 Mouse Melanoma Cells by Inhibiting Tyrosinase Activity. *International journal of molecular sciences*, 18(2), 320.
- Onat, T., Emerk, K., Sözmen, EY. (2006). İnsan Biyokimyası, 2. Baskıdan çeviri Çeviri editörleri: Onat T., Emerk K., Sözmen EY., Palme Yayıncılık, Ankara.

- Opriş, O., Soran, ML., Lung, I., Stegarescu, A., Guţoiu, S., Podea, R. & Paula Podea, P. (2021). Optimization of extraction conditions of polyphenols, antioxidant capacity and sun protection factor from *Prunus spinosa* fruits. Application in sunscreen formulation. *Journal of Iranian Chemical Society*.
- Okińczyc, P., Widelski, J., Szperlik, J., Żuk, M., Mroczek, T., Skalicka-Woźniak, K., Sakipova, Z., Widelska, G. & Kuś, PM. (2021). Impact of Plant Origin on Eurasian Propolis on Phenolic Profile and Classical Antioxidant Activity. *Biomolecules*, 11, 68.
- Oryan, A., Alemzadeh, E. & Mohammadi, AA. (2019). Application of honey as a protective material in maintaining the viability of adipose stem cells in burn wound healing: A histological, molecular and biochemical study. *Tissue and Cell*, 61, 89–97.
- Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J., Deemer, EK., Prior, RL. & Huang, D. (2002). Novel fluorometric assay for hydroxyl radical prevention capacity using fluorescein as the probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2772-2777.
- Özer, Ö., Mutlu, B. & Kivçak, B. (2007). Antityrosinase Activity of some plant extracts and formulations containing Ellagic acid. *Pharmaceutical. Biology*, 45(6), 519-524,
- Park, HM., Hwang, E., Lee, KG., Han, SM., Cho, Y. & Kim, SY. (2011). Royal jelly protects against ultraviolet B-induced photoaging in human skin fibroblasts via enhancing collagen production. *Journal of Medicinal Food*, 14, 899-906.
- Park, JM. & Kang, TH. (2016). Transcriptional and posttranslational regulation of nucleotide excision repair: The guardian of the genome against ultraviolet radiation. *International Journal of Molecular Sciences*, 17, 1840.
- Parzonko, A. & Kiss, AK. (2019). Caffeic acid derivatives isolated from *Galinsoga parviflora* herb protected human dermal fibroblasts from UVA-radiation. *Phytomedicine*, 57, 215-222.
- Pasias, IN., Kiriakou, IK. & Proestos, C. (2017). HMF and diastase activity in honeys: A fully validated approach and a chemometric analysis for identification of honey freshness and adulteration. *Food Chemistry*, 229, 425-431.
- Pasternak, B. & Aspenberg, P. (2009). Metalloproteinases and their inhibitors- diagnostic and therapeutic opportunities in orthopedics. *Acta Orthopaedica*, 80(6), 693-703.
- Patel, CJ., Tyagi, S., Kumar, U., Patel, P., Chaudhari, B., Patel, S., & Mangukia, D. (2013). Importance of different herbal plants in field of cosmetics: A recent review. *Journal of Drug Discovery and Therapeutics*, 1(1), 19-27.

- Pillaiyar, T., Manickam, M. & Namasivayam, V. (2017). Skin whitening agents: medicinal chemistry perspective of tyrosinase inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 32(1), 403-425.
- Paul, IM., Beiler, J., McMonagle, A., Shaffer, ML., Duda, L. & Berlin, CM. (2007). Effect of honey, dextromethorphan, and no treatment on nocturnal cough and sleep quality for coughing children and their parents. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*, 161, 1140-1146.
- Pita-Calvo, C. & Vázquez, M. (2018). Honeydew Honeys: A Review on the Characterization and Authentication of Botanical and Geographical Origins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(4), 1329-1347.
- Pittayapruerk, P., Meephanan, J., Prapapan, O., Komine, M. & Ohtsuki, M. (2016). Role of matrix metallo proteinases in photo aging and photo carcinogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(6), 868.
- Pham-Huy, LA., He, H. & Pham-Huy, C. (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International of Journal Biomedical Science*. 4(2), 89-96.
- Premratanachai, P. & Chanchao, C. (2014). Review of the anticancer activities of bee products. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4, 337-344.
- Pringle, NA., van de Venter, M., Boukes, GJ. & Koekemoer, TC. (2021). Therapeutic potential of selected South African macrofungi in diabetic wound healing: An in vitro evaluation. *South African journal of botany*, 138, 337-347.
- Prota, G. (1996). Melanins and melanogenesis. *Cosmetics Toiletries*, 111(55), 43-51.
- Prior, RL., Hoang, H., Gu, L., Wu, X., Bacchiocca, M., Howard, L., Hampsch-Woodill, M., Huang, D., Ou, B. & Jacob, R. (2003). Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL)) of plasma and other biological and food samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 3273-3279.
- Rahman, MM., Gan, SH. & Khalil, MI. (2014). Neurological effects of honey: Current and future prospects. *Evid Based Complement Alternative Medicine*, 958721.
- Rajan, VK. & Muraleedharan, K. (2017). A computational investigation on the structure, global parameters and antioxidant capacity of a polyphenol, Gallic acid. *Food Chemistry*, 220, 93-99.
- Ramalhosa, E., Gomes, T., Pereira, AP., Dias, T. & Estevinho, LM. (2011). Mead production: Tradition versus modernity. *Advances in Food and Nutrition Research*, 63, 101-118.
- Ramos, OY., Salomón, V., Libonatti, C., Cepeda, R., Maldonado, L. & Basualdo, M. (2018). Effect of botanical and physicochemical composition of Argentinean

honeys on the inhibitory action against food pathogens. *LWT Food Science and Technology*, 87, 457-463.

- Ricciotti, E. & FitzGerald, GA. (2011). Prostaglandins and inflammation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 31(5), 986-1000.
- Rinaldi, A. (2008). Healing beauty? More biotechnology cosmetic products that claim drug like properties reach the market, *EMBO Reports*, 9(11), 1073-1077.
- Rinnerthaler, M., Bischof, J., Streubel, MK., Trost, A. & Richter, K. (2015). Oxidative stress in aging human skin. *Biomolecules*, 5, 545-589.
- Rittié, L. & Fisher, GJ. (2015). Natural and sun-induced aging of human skin. *Cold Spring Harbor Perspect Medicine*, 5(1), a015370.
- Rohani, M. & Parks, WC. (2015). Matrix remodeling by MMPs during wound repair. *Matrix Biology*, 44, 113-121.
- Romier, B., Van De Walle, J., During, A., Larondelle, Y. & Schneider, YJ. (2008). Modulation of signaling nuclear factor- $\kappa$ b activation pathway by polyphenols in human intestinal CACO-2 cells. *British Journal of Nutrition*, 100, 542-551.
- Sadar, SS., Vyawahare, NS. & Bodhankar, SL. (2016). Ferulic acid ameliorates TNBS-induced ulcerative colitis through modulation of cytokines, oxidative stress, iNOs, COX-2, and apoptosis in laboratory rats. *EXCLI Journal*, 15, 482-499.
- Sahasrabudhe, A., Deodhar, M. (2010). Anti-hyaluronidase, anti-elastase activity of *Garcinia indica*. *International Journal of Botany*, 6, 299-303.
- Sahin, H., Kaltalioglu, K., Erisgin, Z., Coskun-Cevher, S. & Kolayli S. (2019). Protective effects of aqueous extracts of some honeys against HCl/ethanol-induced gastric ulceration in rats. *Journal of Food Biochemistry*, 43(12), e13054.
- Saikaly, SK. & Khachemoune, A. (2017). Honey and Wound Healing: An Update. *American Journal of Clinical Dermatology*, 18, 237-251.
- Saleh R. (2017). Bee venom therapy for cancer: a literature review. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 8(11), 590-597.
- Samarghandian, S. Farkhondeh, T. & Samini, F. (2017). Honey and Health: A Review of Recent Clinical Research. *Pharmacognosy Research*, 9, 121-127.
- Sanchez, MP., Huidobro, JF., Mato, I., Muniategui, S. & Sancho, MT. (2001). Evolution of invertase activity in honey over two years. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(1), 416-422.

- Sanchez-Ferrer, A., Rodriguez-Lopez, JN. & Garcia-Canovas, F. (1995). Tyrosinase: A comprehensive review of its mechanism. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1247(1), 1-11.
- Sánchez-Moreno, C., Larrauri, JA. & Saura-Calixto, F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76, 270-276.
- Sansomchai, P. Jumpatong, K. Lapinee, C. & Utchariyajit, K. (2021). Melientha suavis Pierre. Extract: antioxidant and sunscreen properties for future cosmetic development. *Chiang Mai University Journal of Natural Science*, 20(1).
- Santos-Buelga, C. & González-Paramás, AM. (2017). Chemical Composition of Honey. Editor: Alvarez-Suarez, JM., *Bee Products—Chemical and Biological Properties*. Springer International Publishing; Cham, Switzerland. 43–82.
- Sardana, K. & Ghunawat, S. (2015). Rationale of using hypopigmenting drugs and their clinical application in melasma. *Expert Review of Clinical Pharmacology*, 8, 123–134.
- Sarkar, R., Arora, P. & Garg, KV. (2013). Cosmeceuticals for hyperpigmentation: what is available? *Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery*, 6(1), 4–11.
- Saroğlu, Ö. (2018). Detection of some quality properties and antioxidant activity of bee products like: Honey, pollen and propolis obtained from Bayburt and different regions of Turkey. Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul.
- Scharffetter-Kochanek, K., Brenneisen, P., Wenk, J., Herrmann, G., Ma, W., Kuhr, L., Meewes, C. & Wlaschek, M. (2000). Photoaging of the skin from phenotype to mechanisms. *Experimental Gerontology*, 35(3), 307-316.
- Schieber, M. & Chandel, NS. (2014). ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Current Biology*, 24, 453-462.
- Seeley, RR., Stephens, TD. & Tate, P. (2006). *Anatomy and Physiology*. 7. baskı, McGraw-Hill, New York.
- Sendovski, M., Kanteev, M., Ben-Yosef, VS. & Adir, A. (2011). First structures of an active bacterial tyrosinase reveal copper plasticity, *Journal of Molecular Biology*, 405 (1), 227-237.
- Seraglio, SKT., Silva, B., Bergamo, G., Brugnerotto, P., Gonzaga, LV., Fett, R. & Costa, ACO. (2019). An overview of physicochemical characteristics and health-promoting properties of honeydew honey. *Food Research International*, 119, 44-66.
- Seo, SY., Vinay, K. & Sharma, N. (2003). Sharma, Mushroom tyrosinase: recent prospects, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(10), 2837-2853.

- Saretzki, G., Sitte, N., Merkel, U., Wurm, RE. & von- Zglinicki, T. (1999). Telomere shortening triggers p53-dependent cell cycle arrest via accumulation of G-rich single stranded DNA fragments. *Oncogene*, 18(37), 5148-5158.
- Shamshuddin, NSS. & Zohdi, RM. (2016). Gelam honey attenuates ovalbumin-induced airway inflammation in a mice model of allergic asthma. *Journal of Traditional Complementary Medicinal*, 8, 39–45.
- Sharma, P., Jha, AB., Dubey, RS., Pessaraki, M.(2012). Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plant under Stressful Conditions. *Journal of Botany*, 217037, 1–26.
- Shimpi, R., Chaudhari, P., Deshmukh, R., Devare, S., Bagad, Y. & Bhurat, MA. (2016). A review: pharmacotherapeutics of bee venom. *World Journal Pharm Pharmaceutical Science*. 5, 656-667.
- Smetanska, I., Alharthi, SS. & Selim, KA. (2021). Physicochemical, antioxidant capacity and color analysis of six honeys from different origin, *Journal of King Saud University-Science*, 33(1) 101447.
- Sıcak, Y., Şahin Yağlıoğlu, A. & Öztürk, M. (2021). Bioactivities and phenolic constituents relationship of Muğla thyme and pine honey of Turkey with the chemometric approach. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(4), 3694-3707.
- Siddiqui, AJ., Musharraf, SG., Choudhary, MI., & Rahman, AU. (2017). Application of analytical methods in authentication and adulteration of honey. *Food Chemistry*. 217, 687–698.
- Sig, AK., Güney, M., Sig, ÖÖ. & San, H. (2019). Bee venom: a medical perspective, *Turkish Journal of Clinical Laboratory*, 10, 414-421.
- Silici S. (2019). Honey bee products and apitherapy. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 7(9), 1249-1262.
- Simon, A., Traynor, K., Santos, K., Blaser, G., Bode, U. & Molan, P. (2009). Medical honey for wound care—still the ‘latest resort’? *Journal of Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 6, 165-173.
- Simova, S. Atanassov, A. Shishinova, M. & Bankova, A. (2012). A rapid differentiation between oak honeydew honey and nectar and other honeydew honeys by NMR spectroscopy. *Food Chemistry*, 134, 1706–1710.
- Singleton, VL. & Rossi, JA. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- Sivamani, P., Singaravelu, G., Thiagarajan, V., Jayalakshmi, T. & Kumar, GR. (2012). Comparative molecular docking analysis of essential oil constituents as elastase inhibitors. *Bioinformation*, 8(10), 457–460.
- Solano, F., Gómez, D., Mayordomo, L. & Benaiges, A. (2005). Hypopigmented properties of epicatechin-cysteamine, hypoxosides and gypenosides. *Pigment Cell. Research*. 18 (1), 19.

- Solano, F. (2014). Melanins: skin pigments and much more-types, structural models, biological functions, and formation routes. *New Journal of Science*, 2014, 28, Article ID 498276.
- Soler-Rivas, C., Jolivet, S., Arpin, N., Olivier, JM. & Wihers, HJ. (1999). Biochemical and physiological aspects of Brown blotchdisease of *Agaricus bisporus*, *FEMS Microbiology Reviews*, 23, 591-614.
- Song, TY., Chen, CH., Yang, NC., Fu, CS., Chang, YT. & Chen, CL. (2009). The Correlation of in Vitro Mushroom Tyrosinase Activity with Cellular Tyrosinase Activity and Melanin Formation in Melanoma Cells A2058. *Journal of Food Drug Analysis*, 17(3), 156-162.
- Sorkun, K. (2008). Turkey's nectarine plants, pollen and honeys. Palm Publication, 1. Press/341. Ankara.
- Spilioti, E., Jaakkola, M., Tolonen, T., Lipponen, M., Virtanen, V., Chinou, I., Kassi, E., Karabournioti, S. & Moutsatsou, P. (2014). Phenolic acid composition, antiatherogenic and anticancer potential of honeys derived from various regions in Greece. *PLoS ONE*, 9(4), e94860.
- Strack, D. (1997). Phenolic Metabolism. In: Dey PM and Harborne JB. (eds). *Plant Biochemistry*. Academic Press, London, 388-392.
- Sun, L.P. Shi, F.F. Zhang, W.W. Zhang, ZH. & Wang, K. (2020). Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Safflower (*Carthamus tinctorius*L.) Honey Extract, *Foods*, 9, 1039; doi: 10.3390/foods9081039
- Südel, KM., Venzke, K., Mielke, H., Breitenbach, U., Mundt, C. & Jaspers, S. (2005). Novel aspects of intrinsic and extrinsic aging of human skin: beneficial effects of soy extract. *Photochemistry and Photobiology*, 81(3), 581-587.
- Şenol, F.S., Orhan, İ.E., Göknel, Ö. & Barut, A. (2016). Çeşitli Citrus (Narenciye) türlerine ait ekstraktlardan hareketle anti-aging kozmetik formülasyonu geliştirilmesi-Vitabell. IV. Uluslararası Gıda Ar-Ge Proje Pazarı, İzmir.
- Şeker, M.E., Ay, E., Aktaş Karaçelik, A., Hüseyinoğlu, R. & Efe, D. (2021). First determination of some phenolic compounds and antimicrobial activities of *Geranium ibericum* subsp. *jubatum*: A plant endemic to Turkey. *Turkish Journal of Chemistry*, 45, 60-70.
- Tagami, H. (2008). Functional characteristics of the stratum corneum in photoaged skin in comparison with those found in intrinsic aging. *Archives of Dermatological Research*, 300(1), 1-6.
- Takuma, D. (1955). Honig bei der aufzucht von säuglingen. *Monatsschrift für Kinderheilkunde*, 103, 160-161.

- Tekatlı, K. (2014). Türkiye'de yetişen fitokozmetik olarak yararlanılabilecek bitkilerimizin farmakognozi açısından incelenmesi. Bitirme Projesi, İstanbul Üniversitesi , Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilimdalı, İstanbul.
- Tektemur, A. (2020). Hücre adezyonu ve ekstraselüler matriks. <https://akademiksunum.com/index.jsp?modul=document&folder=206b04ac8df9c9f36d1c6e459ee9644a23901c81>. (Erişim: 12.10.2020).
- Thomas, NV. & Kim, SK. (2013). Beneficial effects of marine algal compounds in cosmeceuticals. *Marine Drugs*, 11(1), 146-164.
- Thornfeldt C. (2010). Cosmeceuticals. Editör: Draelos, ZD., *Cosmetic Dermatology: Products and Procedures*, 1.baskı, Singapore: Blackwell Publishing, 269-280.
- Tian, R. Yang, W. Xue, Q. Gao, L. Huo, J. Ren, D. & Chen, X. (2016). Rutin ameliorates diabetic neuropathy by lowering plasma glucose and decreasing oxidative stres via Nrf2 signaling path way in rats. *European Journal of Pharmacology*, 771, 84–92.
- Tobin, DJ. (2017). Introduction to skin aging. *Journal of Tissue Viability*, 26(1), 37–46.
- Tonks, AJ., Cooper, RA., Jones, KP., Blair, S., Patron, J. & Tonks, A. (2003). Honey stimulates inflammatory cytokine production from monocytes. *Cytokine*, 21, 242–247.
- Topal, E., Strant, M., Yücel, B., Kösoğlu, M., Mărgăoan, R. & Dayıoğlu, M. (2018). Ana ve erkek arı larvalarının biyokimyasal özellikleri ve apiterapötik kullanımı, *Journal of Animal Production*, 59(2), 77-82.
- Torun, S. (2013). Kozmetik amacıyla kullanılan bazı bitkisel yağların yağ asidi bileşimlerinin analizi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Trelles, MA. (2006). Phototherapy in anti-aging and its photobiologic basics: a new approach to skin rejuvenation. *Journal of Cosmetical Dermatology*, 5(1), 87-91.
- Tripathi, SC. & Srivastava, M. (2010). Ethnomedicinal flora of Euphorbiaceae used in dermatological problems. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 9, 318-320.
- Tropp, C. (1957). Der Honig und seine Bedeutung in der Säuglings-und Kinderernährung. *Der Landarzt*, 33, 250-252.
- Trzybinski, S. (2005). Pylek i jego sklad. *Pszczelarz Polski*, 12, 18-19.
- Tsuji, N., Moriwaki, S., Suzuki, Y., Takema, Y. & Imokawa, G. (2001). The Role of Elastases Secreted by Fibroblast in Wrinkle Formation: Implication Through Selective Inhibition of Elastase Activity. *Photochemistry and Photobiology*, 74(2), 283-290.



- Uleryi, BD., Nair, LS. & Laurencin CT. (2011). Biomedical Applications of Biodegradable Polymers, *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 49(12), 832–864.
- Uzunalan, G. (2011). Yara-Yanık İyileşmesine Yönelik Gümüş Nano Patikül Yüklü Gözenekli Kollajen Doku İskeleleri Hazırlanması. Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Valavanidis, A., Vlachogianni, T. & Fiotakis, A. (2009). 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): A Critical Biomarker of Oxidative Stress and Carcinogenesis, *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 27, 120–139.
- Vallianou, NG., Gounari, P., Skourtis, A., Panagos, J. & Kazazis, C. (2014). Honey and its anti-inflammatory, anti-bacterial and anti-oxidant properties. *Gen Med (Los Angel)*, 2(132), 1-5.
- Valko, M., Leibfritz, D. & Moncola, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry Cell Biology*. 39, 44-84.
- van Gelder, CWG., Flurkey, WH. & Wichers, HJ. (1997). Sequence and structural features of plant and fungal tyrosinases. *Phytochemistry*, 45(7), 1309–1323,
- Varani, J., Warner, RL., Gharaee-Kermani, M., Phan, SH., Kang, S. & Chung, JH. (2000). Vitamin A antagonizes decreased cell growth and elevated collagen-degrading matrix metalloproteinases and stimulates collagen accumulation in naturally aged human skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 114(3), 480-486.
- Vedamurthy, M. (2006). Antiaging therapies. *Indian Journal of Dermatology Venereology Leprology*, 72(3), 183-186.
- Vela, L. de Lorenzo, C. & Pérez, RA. (2007). Antioxidant capacity of Spanish honeys and its correlation with polyphenol content and other physicochemical properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(2), 1069–1075.
- Yaghoobi, R. & Kazerouni, A. (2013). Evidence for clinical use of honey in wound healing as an anti-bacterial, antiinflammatory anti-oxidant and anti-viral agent: A review. *Jundishapur journal of natural pharmaceutical products*, 8(3), 100-104.
- Yoon, KN., Alam, N., Lee, KR., Shin, PG., Cheong, JC., Yoo, YB. & Lee, TS. (2011). Antioxidant and antityrosinase activities of various extracts from the fruiting bodies of *Lentinus lepideus*, *Molecules*, 16(3), 2334-2347.
- Yuan, W. Ge, J. Meng, W. Ni, C. Wei, C. & Jing, Z. (2014). A review of antioxidant activity in honey. *Food and Fermentation Industries*, 40, 111–114.

- Zaman, SU. & Akhtar, N. (2013). Effect of Turmeric (*Curcuma longa* Zingiberaceae) extract cream on human skin sebum secretion. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12 (5), 665-669.
- Zhao, J., Du, X., Cheng, N., Chen, L., Xue, X., Wu, L. & Cao, W. (2016). Identification of monofloral honeys using HPLC–ECD and chemometrics. *Food Chemistry*, 194, 167-174.
- Zhu, W. & Gao, J. (2008). The use of botanical extracts as topical skin-lightening agents for the improvement of skin pigmentation disorders. *The Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*, 13(1), 20–24.
- Zhuang, Z., Ye, G. & Huang, B. (2017). Kaempferol Alleviates the Interleukin-1 $\beta$ -Induced Inflammation in RatOsteoarthritis Chondrocytes via Suppression of NF- $\kappa$ B. *Medical Science Monitor*, 23, 3925–3931.
- Zou, C., Huang, W., Zhao, G., Wan, X., Hu, X., Jin, Y., Li, J. & Liu, J. (2017) Determination of the Bridging Ligand in the Active Site of Tyrosinase. *Molecules*, 22 (11), 1836.
- Zumla, A. & Lulat, A. (1989). Honey-a remedy rediscovered. *Journal of The Royal Society of Medicine*, 82 (7), 384-385.
- Wallace, DC., Brown, MD., Melov, S., Graham, B. & Lott, M. (1998). Mitochondrial biology, degenerative diseases and aging. *Biofactors*, 7(3), 187-190.
- Wallo, W., Nebus, J. & Leyden, JJ. (2007). Efficacy of a soy mo is tu ri zer in photo aging: a doub le-blind ve hicle-controlled, 12-week study. *Journal of Drugs in Dermatology*, 6(9), 917-922.
- Wanjari, N. (2015). A Review on Latest Trend of Cosmetics-Cosmeceuticals. *International Journal of Pharma Research & Review*, 4(5), 45-51.
- Wen, KC., Fan, PC., Tsai, SY., Shih, IC. & Chiang, HM. (2012). *Ixora parviflora* protects against UV-B-induced photoaging by inhibiting the expression of MMPs, MAP kinases, and COX-2 and by promoting Type I procollagen synthesis. *Evidence- Based Complementary Alternative Medicine*, 2012: 417346.
- West, MD. (1994). The cellular and molecular-biology of skin aging. *Archives of Dermatology*, 130 (1), 87-95.
- Wong, RC., Kang, S., Heezen, JL., Voorhees, JJ. & Ellis, CN. (1984). Oral ibuprofen and tetracycline for the treatment of acne vulgaris. *Journal of the American Academy Dermatology*, 11(6), 1076-1081.
- Wu, NL., Fang, JY., Chen, M., Wu, CJ., Huang, CC. & Hung, CF. (2011). Chrysin protects epidermal keratinocytes from UVA and UVB induced damage. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 59(15), 8391-8400.

- Xuan, SH., Park, YM., Ha, JH. Jeong, YJ. & Park, SN. (2017). The effect of dehydroglyasperin C on UVB-mediated MMP sexpression in human HaCaT cells. *Pharmacology Reports*, 69, 1224–1231.
- Xu, F., Zhang, C. & Graves, DT. (2013). Abnormal cell responses and role of TNF-alpha in impaired diabetic wound healing. *Biomed Research International*, 2013, 9.
- Quan, T., Qin, Z., Xia, W., Shao, Y., Voorhees, JJ. & Fisher, GJ. (2009). Matrix-degrading metalloproteinases in photoaging. *Journal of Investigate Dermatology Symposium Proceeding*, 14(1), 20-24.

## ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	HAVVA ÇELİK
Doğum Yeri	GÜMÜŞHANE
Doğum Tarihi	
Uyruğu	<input type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:
Telefon	
E-Posta Adresi	
Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Kafkas Üniversitesi
Fakülte	Fen Edebiyat Fakültesi
Bölümü	Kimya
Mezuniyet Yılı	17.06.2014