



T.C.

AKSARAY ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ BÖLÜMÜ
ANABİLİM DALI

ADIANTUM CAPILLUS-VENERIS L.' İN FARKLI
ÖZÜTLERİNİN ALZHEİMER, DİABET VE DERİ
HASTALIKLARIYLA İLİŞKİLİ ENZİMLERİ İNHİBE ETME
AKTİVİTELERİ İLE ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AKO HAMASAEED ABDULQADIR

DANIŞMAN

DOÇ. DR. YAVUZ SELİM ÇAKMAK

AKSARAY, 2016



T.C.

AKSARAY ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİYOTEKNOLOJİ VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ BÖLÜMÜ
ANABİLİM DALI**

***ADIANTUM CAPILLUS-VENERIS L.* İN FARKLI
ÖZÜTLERİNİN ALZHEİMER, DİABET VE DERİ
HASTALIKLARIYLA İLİŞKİLİ ENZİMLERİ İNHİBE ETME
AKTİVİTELERİ İLE ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AKO HAMASAEED ABDULQADIR

DANIŞMAN

DOÇ. DR. YAVUZ SELİM ÇAKMAK

AKSARAY, 2016

AKSARAY ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ONAY BELGESİ

Aksaray Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 142330804 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi, "AkoHAMASAEED ABDULQADİR", ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "*ADIANTUM CAPILLUS-VENERISL.*'İN FARKLI ÖZÜTLERİNİN ALZHEİMER, DİABET VE DERİ HASTALIKLARIYLA İLİŞKİLİ ENZİMLERİ İNHİBE ETME AKTİVİTELERİ İLE ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİ" başlıklı tezini, aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

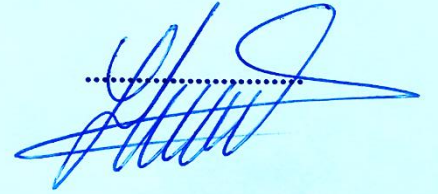
Tez Danışmanı : Doç. Dr. Yavuz Selim ÇAKMAK
Aksaray Üniversitesi



Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Abdurrahman AKTÜMSEK
Selçuk Üniversitesi



Jüri Üyeleri : Doç. Dr. Murat KAYA
Aksaray Üniversitesi



Teslim Tarihi: 01 Mart 2016

Savunma Tarihi: 18 Mart 2016

DOĞRULUK BEYANI

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, bilimsel etik, ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın yazdığımı, yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu ve bu eserleri her kullanışımında alıntı yaparak yararlandığımı belirtir; bunu şerefimle doğrularım.

Enstitü tarafından belli bir zamana bağlı olmaksızın, tezimle ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildiririm.

AKO HAMASAEED ABDULQADIR

İmza

ÖNSÖZ

A. capillus-veneris L. Orta Doğu'da su kaynakların kenarları gibi nemli alanlarda yetişen bir eğrelti türüdür. Bitki yayılım gösterdiği bu coğrafyada halk tarafından tıbbi amaçlarla yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle böbrek hastalıkları, soğuk algınlığı, bronşial hastalıklar ve deri hastalıkları gibi pek çok hastalığın tedavisinde geleneksel tıpta bitkiden faydalanılmaktadır. Bu tür eski çağlardan günümüze gelen çeşitli hastalıkların tedavisi için bitkilerin ilaç olarak kullanımı bilgisi günümüzde yapılan bilimsel çalışmaların sonuçlarıyla da çoğunlukla desteklenmektedir. Son zamanlarda kimyasal ilaçlar ve katkı ürünlerinin zararlı yan etkileri belirlendikçe doğal ürünler daha çok ilgi çekmeye başlamıştır. Kanseri, diabet ve koroner hastalıklar gibi sık görülen hastalıkların geçmişte daha az görülmesinin nedenleri arasında bugün yaşadığımız alanlarda çevresel kirlenmeler, radyasyona ve tüketilen sentetik kimyasal maddelere geçmişte daha az maruz kalınması olduğu bir gerçektir. Çünkü bu faktörlere maruz kalmak özellikle serbest radikallerin yüksek oranda üretilmesine ve bunun sonucunda oksidatif stresin oluşmasına neden olmaktadır. Oksidatif stresin pek çok hastalığın oluşumuna ve gelişimine katkıda bulunduğu bilinmektedir. Bitkisel ürünlerin serbest radikallerin etkilerini ortadan kaldıran doğal kimyasal bileşenleri yüksek oranda içerdiğine dair birçok araştırma mevcuttur. Bunun yanında bazı metabolik hastalıkların oluşumunu tetikleyen enzimlerin inhibe edilerek hastalığın önlenmesi veya tedavisi için bitkilerin kullanımı oldukça yenidir. Bütün bu faydalı etkiler yönüyle bitkiler hakkında birçok çalışma yürütülmüştür. Ancak eğreltilerin bu tür biyolojik özellikleriyle ilgili çalışmalar çok yeni ve sınırlıdır. Bu tez çalışmasında bir eğrelti olan ve halk tıbbında da yaygın olarak kullanılan *A. capillus-veneris* L. in vitro antioksidan özellikleri ile diabet, Alzheimer ve deri hastalıklarıyla ilişkili enzimleri inhibisyon özellikleri araştırılmıştır.

Bu yüksek lisans tezinin deneysel çalışmaları Aksaray Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma ve Uygulama Merkezi Biyoteknoloji Laboratuvarı ve Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fizyoloji-Biyokimya Araştırma Laboratuvarında yürütülmüştür.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı yapabilmem için bana güç veren Allah’a şükürlerimi sunuyorum.

Çalışma konusunu veren, sabrı, hoşgörüsü ve fikirleriyle yönlendiren, yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Yavuz Selim ÇAKMAK’a içtenlikle teşekkür ederim.

Özellikle Selçuk Üniversitesi Fizyoloji-Biyokimya Araştırma Laboratuvarı’nda gerçekleştirilen enzim inhibisyon aktivitelerinin laboratuvar çalışmaları ve sonuçların değerlendirilmesi için Araş. Gör. Dr. Gökhan ZENGİN’e teşekkür ederim.

Her zaman ve her konuda maddi ve manevi olarak beni destekledikleri ve sahip oldukları her şeyi benimle paylaştıkları için AİLEM’e teşekkürü borç bilirim.

Tezimin bitirilmesinde bana yardımcı olan ve destekleyen bütün arkadaşlarıma ve herkese yürekten teşekkürlerimi sunarım.

AKO HAMASAEED ABDULQADIR

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	3
2.1. <i>Adiantum capillus-veneris</i> Linn.....	3
2.1.1. <i>Adiantum capillus-veneris</i> 'in sağlık açısından önemi.....	3
2.1.2. <i>Adiantum capillus-veneris</i> 'in Sistematik Şeması.....	4
2.2. Oksidatif Stres.....	4
2.3. Oksidasyon Reaksiyonu ve Serbest Radikaller.....	5
2.3.1. Serbest Radikaller.....	5
2.3.2. Serbest Radikallerin Zincir Reaksiyonları.....	6
2.4. Antioksidanlar.....	8
2.4.1. Antioksidatif Sistemler.....	9
2.4.2. Flavonoidler.....	10
2.4.3. Fenolikler.....	10
2.4.4. Tanenler.....	11
2.4.5. Besleyici Antioksidanlar (Vitaminler ve mineraller)	11
2.5. Enzim İnhibisyonu.....	12
2.5.1. Alzheimer Hastalığı.....	12
2.5.2. Deri Hastalıkları.....	15
2.5.3. <i>Diabetes mellitus</i>	16
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	17
3.1. Örnek Toplanması.....	17
3.2. Özütlerin Hazırlanması.....	18
3.3. Antioksidan Aktivite Metotları.....	18
3.3.1. Toplam Fenolik İçerik.....	18
3.3.2. Toplam Flavonoid İçerik.....	18
3.3.3. (DPPH) Serbest Radikal Giderme Aktivitesi.....	19
3.3.4. Toplam Antioksidan Kapasite.....	19

3.3.5. Demir İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP).....	19
3.3.6. Bakır İndirgeme Antioksidan Kapasitesi (CUPRAC).....	20
3.4. Enzim İnhibisyon Testleri.....	20
3.4.1. Kolin Esteraz İnhibisyonu.....	20
3.4.2. α -amilaz İnhibisyonu.....	20
3.4.3. α -glukozidaz İnhibisyonu.....	21
3.4.4. Tirozinaz İnhibisyonu.....	21
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	22
4.1. Antioksidan Kapasite.....	22
4.1.1. Toplam Fenolik İçerik.....	22
4.1.2. Toplam Flavonoid İçerik.....	24
4.1.3. DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi.....	26
4.1.4. Toplam Antioksidan Kapasite.....	26
4.1.5. Demir İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP).....	28
4.1.6. Bakır İndirgeme Antioksidan Kapasitesi (CUPRAC).....	29
4.2. Enzim İnhibisyon Etkisi.....	30
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	31
KAYNAKLAR.....	32
ÖZGEÇMİŞ.....	45

ÖZET

ADIANTUM CAPILLUS-VENERIS L.' İN FARKLI ÖZÜTLERİNİN ALZHEİMER, DİABET VE DERİ HASTALIKLARIYLA İLİŞKİLİ ENZİMLERİ İNHİBE ETME AKTİVİTELERİ İLE ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİ

Adiantum capillus-veneris L. böbrek veya idrar sistemi taşlarının giderilmesinde geleneksel olarak kullanıldığı bilinen eğreltilerden biridir. Bu çalışmada *A. capillus-veneris*'in farklı özütlerinin (metanol, etil asetat ve su) antioksidan kapasite fosfomolibdat testi (109-387 mg AAE/g), serbest radikal giderme aktivitesi (DPPH), demir indirgeme antioksidan potansiyeli (FRAP) ve bakır iyonu indirgeme gücü (CUPRAC) testleri kullanılarak değerlendirildi. Aynı zamanda farklı özütlerin toplam fenolik ve flavonoid içeriklerinin sırasıyla 354-441 mg GAE/g ve 23-123 mg QE/g arasında değiştiği belirlenmiştir. Enzim inhibisyon aktiviteleri asetilkolinesteraz (0.09 ± 0.02 - 0.82 mg GALAEs/g), tirozinaz (22.95 ± 2.55 - 24.99 ± 2.16 mg KAE/g), α -amilaz (0.17 ± 0.01 - 1.76 ± 0.06 mmol ACAE/g), α -glukozidaz (1.01 ± 0.09 - 3.69 ± 0.23 mmol ACAE/g) kullanılarak belirlenmiştir. *A. capillus-veneris* özütleri bütiril-kolinesteraz üzerine aktif değildir. Sonuçlar *A. capillus-veneris*'in farklı özütlerinin antioksidanlar ve enzim inhibitörlerinin doğal bir kaynağı olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Bu yüzden *A. capillus-veneris*'in gıda ve farmakoloji alanları için değerli olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: *Adiantum capillus-veneris*, biyolojik aktivite, enzim inhibisyon aktivitesi, diabetes, Alzheimer, deri hastalıkları.

ABSTRACT

ANTIOXIDANT PROPERTIES AND INHIBITION OF LINKED ENZYMES TO ALZHEIMER, DIABETES MELLITUS AND SKIN DISORDERS ACTIVITY OF *ADIANTUM CAPILLUS-VENERIS* L.

Adiantum capillus-veneris L. is one of the best fern that is used like traditional source such as used it to broken stone kidney or Urolithiasis. This study evaluated antioxidant capacity of *A. capillus-veneris* different extracts (methanol, ethyl acetate and water) using phosphomolybdenum assay (109-387 mg AAE/g), free radical scavenging activity (DPPH), ferric reducing antioxidant potential (FRAP) (107-218 mg TE/g), and cupric ion reducing power activity test (CUPRAC). And also total phenolic and flavonoid contents of different extracts were determined changing between 354-441 mg GAE/g and 23-123 mg QE/g, respectively. The enzyme inhibition activities were determined by using acetylcholinesterase (0.09 ± 0.02 - 0.82 mg GALAEs/g), tyrosinase (22.95 ± 2.55 - 24.99 ± 2.16 mg KAE/g), α -amylase (0.17 ± 0.01 - 1.76 ± 0.06 mmol ACAE/g), α -glucosidase (1.01 ± 0.09 - 3.69 ± 0.23 mmol ACAE/g). Butrylcholinesterase inhibition is not active for each extract of *A. capillus-veneris*. The results indicated that generally, the different extracts of *A. Capillus-veneris* L. can be used as a natural source of antioxidants and enzyme inhibitors. Thus it can be valuable for food and pharmaceutical areas.

Keywords: *Adiantum capillus-veneris*, biological activities, enzyme inhibition activity, diabetes, Alzheimer, skin disorders.

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1: Serbest radikaller ve oksidatif stresin zararları.....	5
Şekil 2.2: Antioksidanların sınıflandırması.....	9
Şekil 2.3: Flavonoidin kimyasal yapısı.....	10
Şekil 2.4: Fenolün kimyasal yapısı.....	11
Şekil 2.5: Tanenlerin sınıflandırması.....	11
Şekil 2.6: Asetilkolinin çalışması.....	13
Şekil 2.7: Asetilkolinesterazın çalışması.....	14
Şekil 2.8: Melanogenesis sürecinin melanine dönüşümü.....	15
Şekil 3.1: <i>Adiantum capillus-veneris</i> L.....	17
Şekil 4.1: <i>A. capillus-veneris</i> L.'in farklı özütlelerinin toplam fenolik içerik grafiği.....	23
Şekil 4.2: Gallik asitin kalibrasyon eğrisi.....	23
Şekil 4.3: <i>A. capillus-veneris</i> L.'in farklı özütlelerinin toplam flavonoid içerikleri grafiği.....	24
Şekil 4.4: Quercetin kalibrasyon eğrisi.....	25
Şekil 4.5: <i>A. capillus-veneris</i> L.'in farklı özütlelerinin toplam antioksidan kapasiteleri grafiği.....	27
Şekil 4.6: Askorbik asidin kalibrasyon eğrisi.....	27
Şekil 4.7: Trolox kalibrasyon eğrisi.....	28

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 4.1: <i>A. capillus-veneris</i> L.'in farklı özütlerinin ekstraksiyon verimleri.....	22
Çizelge 4.2: <i>A. capillus-veneris</i> L.'in farklı özütlerinin toplam fenolik içerikleri.....	23
Çizelge 4.3: <i>A. capillus-veneris</i> L.'in farklı özütlerinin toplam flavonoid içerikleri.....	24
Çizelge 4.4: <i>A. capillus-veneris</i> L.'nin farklı özütlelerinin IC ₅₀ değerleri.....	26
Çizelge 4.5: <i>A. capillus-veneris</i> L.'in farklı özütlerinin toplam antioksidan kapasiteleri.....	27
Çizelge 4.6: <i>A. capillus-veneris</i> L.'in farklı özütlerinin indirgeme yeteneği..	28
Çizelge 4.7: <i>A. capillus-veneris</i> L.'in farklı özütlerinin 450 nm'deki absorbansları.....	29
Çizelge 4.8: <i>A. capillus-veneris</i> L.'in farklı özütlerinin enzime inhibitör potansiyeli (mean±SD).....	30

KISALTMALAR DİZİNİ

g	Gram
mg	Milligram
ml	Milliliter
nm	Nanometer
μ l	Mikro litre
μ g	Mikro Gram
μ mol	Mikromol
mmol	Milimol
mg	Miligram
mM	Milimolar
M	Molar
TPTz	2,4,6-tri(2pridal)-1,3,5-tirozin
FeCl ₃	Demir-3-klorur
CuCl ₂	Bakir klorür
BHA	Bütillenmiş Hidroksi Anizol
BHT	Bütillenmiş Hidroksi Toluen
DTNB	5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoik asit)
%	Yüzde
°C	Santigrad Derece
HCL	Hidroklorik Asit
ACh	Acetylcholine
AChE	Asetilkolinesteraz
AChEIs	Asetilkolinesteraz İnhibitörleri
BChE	Bütirilkolinesteraz
ChE	Kolinesteraz
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
O ₂ ·	Süperoksit Anyonu
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit

HO·	Hidroksil Radikali
UV	Ultraviöle ışık
ATP	Adenozine Trifosfate
ROO-	Peroksil
NO-	Nitrik Oksit
RO-	Alkoksil
RH	Hidrojen Radikali
R·	Lipid Serbest Radikali
H·	Hidrojen Radikali
O ₂	Singlet Oksijen
ROO•	Lipid Peroksil Radikali
ROOH	Lipid Hidro Peroksit
RH	Lipid
Na ₂ CO ₃	Sodyum Karbonat
AlCl ₃	Alüminyum Klorür
FRAP	Demir İndirgeme Antioksidan Gücü
CUPRAC	Bakır iyonu İndirgeme Antioksidan Gücü
<i>A. capillus-veneris</i> L.	<i>Adiantum capillus-veneris</i> Linn
DPPH	(2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), Serbest Radikal Giderme Aktivitesi
IKI	İyodin/Potasyum İyodid
PNPG	p-Nitrofenil-beta-D-glukopiranozid
L-DOPA	L-3,4-dihidroksifenilalanin
GAE	Gallik asit Eşdeğeri
QE	Quercetin Eşdeğeri
IC ₅₀	Radikalin %50'sini İnhibe Eden Konsntrasyon
AAE	Askorbik Asit Eşdeğeri
TE	Troloks Eşdeğeri
GALAEs	Galanthamine Eşdeğeri
KAE	Koik Asit Eşdeğeri
ACAE	Akarboz Eşdeğeri

1. GİRİŞ

Bitkiler insan sağlığı üzerine pek çok faydalı etkiye sahiptir. Bu etkilerin çoğu antik çağlardan beri bilinmektedir. Eğretilerde; Çinliler, Hindistanlılar ve Amerikan yerlileri gibi birçok toplumda ilaç olarak kullanılmıştır (Lee ve Shin, 2011). Şifalı bitkiler kolayca elde edilebildiklerinden toz, özüt ve kaynatılarak kullanılmıştır (Nilforoushzadeh vd., 2014). Bitkiler genellikle birçok tedavi edici ve farmakolojik etkilere sahiptir. Bu etkiler alkaloidler, flavonoidler, fenoller, tanenler ve uçucu yağlar gibi sekonder metabolitlerden kaynaklanmaktadır (Ahmad vd., 2008).

Eğretiler damarlı bitkilere ait bir gruptur. Genellikle tropik ve subtropiklerde yaşarlar ve küçük sporlarla ürerler (Bhattarai vd., 2004). Eğretiler 2000 yıldan daha fazla zamandır halk tıbbında kullanılmaktadırlar (Janbaz vd., 2015). Toplumların yaklaşık %80'i temel bazı tedaviler için geleneksel tıpta eğretilerden faydalanmaktadır (Güler vd., 2015).

Adiantum capillus-veneris L. (Adiantaceae) tıbbi ve beslenme amacıyla kullanılan eğretilerden birisidir (Santosh Kumar vd., 2014). *A. capillus-veneris* L. Avrupa, Asya, Kuzey Amerika ve Avustralya'da oldukça yaygındır (Lindsay vd., 2010). Bitki soğuk algınlığı, ateş, bronşial hastalıklar ve deri hastalıklarının tedavisinde tonik, diüretik, uyarıcı, ağrı kesici, bağırsak boşaltıcı, saç güçlendirici olarak kullanılmaktadır (Ibraheim vd., 2011). Ayrıca böbrek fonksiyonlarını destekleyici, saç kepeğini önleyici (Ahmad vd., 2008), yara iyileştirici ve fibroblastlarda serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı koruyucu etkileri de bulunmaktadır (Nilforoushzadeh vd., 2014). Kurutulmuş yaprakları çay yapımında ve şeker kalıntısı bulunan bulaşıkların temizlenmesinde de kullanılmaktadır (Rajurkar ve Gaikwad, 2012). Bitkiler fenol, flavonoid ve triterpenler gibi antioksidan özelliğı olan kimyasal bileşenleri içerdiği için iyi bir antioksidan kaynağı olabileceğı düşünülmektedir (Al-hallaq vd., 2015).

Serbest radikaller aerobik solunum sonucunda oksijenden üretilmektedir ve aşırı miktarda oluşum ile sonunda oksidatif strese neden olmaktadır (Kumar, 2009). Serbest radikaller hipertansiyon, iskemi/reperfüzyon (dokunun yeniden kanlandırılması) hasarı, nörodejeneratif hastalıklar (Alzheimer ve Parkinson) ve

romatoid artrit gibi pek çok hastalığa neden olabilmektedir (Valko vd., 2006). Antioksidanlar ise oksidatif stresin zararlarını önleyen yada azaltılmasına yardım eden molükül veya ürünlerdir (Finaud vd., 2006). Oksidatif stres özellikle proteinler, DNA ve lipidler gibi biyomoleküllere zarar vermektedir (Halliwell, 2001). Oksidatif strese neden olan reaktif oksijen türleri (ROS), süperoksit anyonu ($O_2\cdot^-$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($HO\cdot$) organizma tarafından biyokimyasal süreçlerde üretilir (Finaud vd., 2006). Reaktif oksijen türleri kanser, arteriyosklerozis ve romatizmayı içeren bazı kronik hastalıkların gelişiminde rol oynarken, hücreler bunlara karşı antioksidan özellikli bileşenler sayesinde reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerini giderici veya önlemeye yardım eden pek çok savunma mekanizmasına sahiptir (Rajurkar ve Gaikwad, 2012).

Anahtar enzim inhibisyon teorisi Alzheimer ve diyabet gibi küresel sağlık problemleri için tedavi stratejileri içerisinde çok popülerdir. Enzim inhibitörleri küçük moleküler kimyasal bileşenlerdir ve enzimin katalitik aktivitesini inhibe ederek düşürebilirler (Chauhan vd., 2012). Günümüzde enzim inhibisyonu önemli bir farmakolojik araştırma alanıdır. Doğal ürünler aracılığıyla enzimlerle bu ürünler reaksiyona sokularak enzimlerin aktivitesi kontrol edilebilmektedir. Enzim inhibitörlerinin en önemli rollerinden birisi bir çok fizyolojik şartlarda ilaç olarak kullanılmalarıdır (Amtul vd., 2002).

Enzim inhibisyon aktivitesinde beş enzimin inhibisyon aktivitesi araştırılmıştır; Alzheimer için kolinesteraz (Asetilkolinesteraz veya Bütilkolinesteraz), diyabet için α -amilaz ve α -glukozidaz inhibisyonu ve hiperpigmentasyon için tirozinaz inhibisyonu.

Bu çalışmada *Adiantum capillus-veneris*'in (i) antioksidan kapasitesinin araştırılması, (ii) kolinesteraz, tirozinaz, amilaz ve glukozidaz enzimlerine karşı inhibitör etkisinin değerlendirilmesi. Elde edilen sonuçlar gıda ve farmakoloji açısından değerli olacaktır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. *Adiantum capillus-veneris* Linn

Eğreltilerin halk tıbbında kullanımı 2000 yıldan daha öncesine kadar uzanmaktadır (Janbaz vd., 2015). Genellikle pek çok eğreltinin farklı kısımları (yapraklar, gövde ve kökler vb.) flavonoidler içermektedir (Xia vd., 2014). *A. capillus-veneris* L., Adiantaceae familyasına ait tıbbi bir eğreltidir. Genellikle gölgelik, nemli kaya veya alkali topraklarda, bataklık ve şelale kenarlarında yetişir ve sporları Mayıs ve Eylül ayları arasında olgunlaşır (Santhosh Kumar vd., 2013; Janbaz vd., 2015). Farklı bölgelerde “Güney Venüs Saçı”, “Siyah Venüs Saçı” ve “Yaygın Venüs Saçı” isimleriyle bilinmektedir (Al-Hallaq vd., 2015). Genellikle nazik, küçük, rizomlu, dik ve uzun ömürlü çoğunlukla 0.3 m’den daha küçük tala sahiptir (Ranjan vd., 2014).

2.1.1. *Adiantum capillus-veneris* Linn’in Sağlık Açısından Önemi

A. capillus-veneris L. antioksidan, antifungal, antioksidant, antifungal, antialopesia (saç dökülmesini önleyici), antiürolitiasik (böbrek taşı oluşumunu önleyici), antienflamatuar ve ağrı kesici (Janbaz vd., 2015), nefrotoksisite, hiperglisemi, dalak ve karaciğer tümörlerinin engellenmesi (Gaikwad vd., 2013), antibakteriyal ve antiviral özellikleriyle bir çok biyolojik aktiviteye sahiptir (Ishaq vd., 2014). Tıbbi bir bitki olan *A. capillus-veneris* L. deri hastalıkları ve bazı iç organların tümörlerin tedavisinde (Jiang vd., 2011), ekspektoran (balgam sökücü), ateş düşürücü, göğüs hastalıkları ve antikanser olarak kullanılmaktadır (Santhosh Kumar vd., 2013). Peru amazonlarında üriner hastalıklar, safra taşları, romatizma, reflü, mide üşütmesi ve ekşimesinin tedavisinde şurup ya da çay gibi tüketilmektedir. Ayrıca kepeğe karşı saç güçlendirici olarak ve bazı menstrual sıkıntılarda da kullanılmaktadır (Qader vd., 2011). Bütün bunların yanında ağrı kesici ve idrar yollarında taş oluşumunu önleyici özellikleri bulunmaktadır. Bu faydalı etkilerin *A. capillus-veneris* L.’in içeriğinde

yüksek oranda bulunan flavonoid, fenolik ve triterpenler gibi bileşenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir (Al-Hallaq vd., 2015). Kimyasal bileşiminde bu kimyasal bileşenlere ilaveten fenilpropanoidler ve karotenoidler de bulunmaktadır (Haider vd., 2011).

2.1.2. *Adiantum capillus-veneris* L.'in Sistematik Şeması

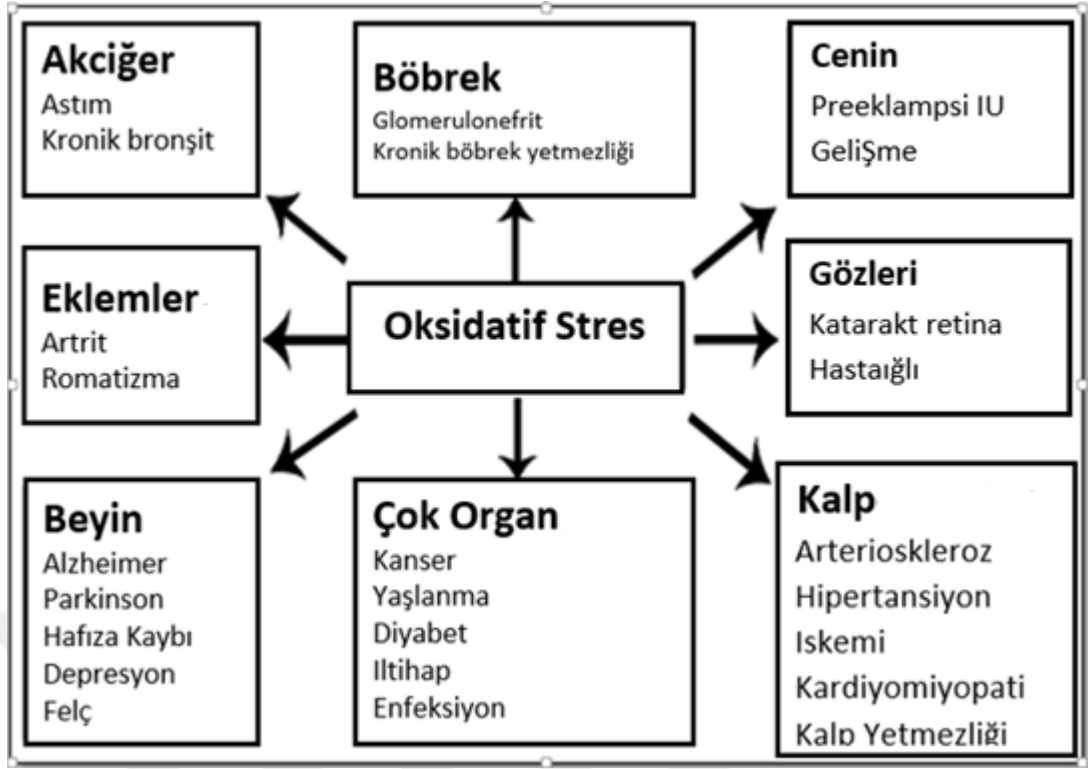
A. capillus-veneris L. (Linnaeus. 1753. Species Plantarum 2. 1096.)'in sistematik sınıflandırması aşağıdaki gibidir: (Hornbeck vd., 2003).

Alem:	Plantae
Bölüm:	Polypodiophyta
Şube:	Pteridophyta
Sınıf:	Polypodiopsida
Alt sınıf:	Polypoidae
Takım:	Pteridales
Familya:	Adiantaceae (Pteridaceae)
Cins:	<i>Adiantum</i>
Tür:	<i>A. capillus-veneris</i>
Tür Oteritesi:	Linnaeus

2.2. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, serbest radikaller tarafından oluşturulur ve bu radikaller proteinler, lipidler ve DNA gibi moleküllere saldırarak hasara neden olmaktadır (Yoshikawa ve Naito, 2002). Serbest radikaller ultraviyole ışık, hipoksi, radyasyon, besin kıtlığı ve ağır metaller hücrel tepki olarak üretilmektedir (Kim vd., 2015). Bunlardan radyasyon, sigara, ilaçlar ve kirlilik dış kaynaklar olarak, hücre metabolizması esnasında oluşanlar ise iç kaynaklar olarak kabul edilmektedir (Pham-Huy vd., 2008).

Oksidatif stres aterosklerozis, diabet, iskemik hastalıklar, hipertansiyon ve kötü huylu tümörler gibi bir çok hastalığın oluşumuna katkıda bulunabilmektedir (Yoshikawa ve Naito, 2002). Serbest radikaller ve oksidatif stresin zararları Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1: Serbest radikaller ve oksidatif stresin zararları (Pham-Huy vd., 2008).

2.3. Oksidasyon Reaksiyonu ve Serbest Radikaller

Oksidasyon elektronların bir atomdan diğer atoma taşınması olayıdır ve mitokondride enerji üretiminde oksijen kullanıldığı metabolik olaylar veya elektron kaybı ile oluşmaktadır. Serbest radikallerde bu reaksiyonların sonunda üretilir (Gülçin, 2012).

2.3.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller genellikle reaktif oksijen türleri olarak bilinir ve hidroksil (HO⁻), süperoksit (O₂⁻), peroksil (ROO⁻), nitrik oksit (NO⁻) ve alkoksil (RO⁻) formunda bulunmaktadır. Diğer taraftan serbest radikaller, hücredeki veya hücrelerin yakınındaki moleküllere hızlıca saldırılmaktadır (Gülçin, 2012). Oksijen metabolizması sonucu oluşan ve serbest radikal olan reaktif oksijen türleri; kardiyovasküler hastalıklar, yaşlanma, nörodejeneratif hastalıklar, mutasyon ve kanser gibi bazı hastalıklara neden olarak vücuda zarar verirler (Lee vd., 2003). Reaktif oksijen türlerinin aşırı birikimi membran lipidlerinin peroksidasyonu, hücrelerin inaktivasyonu ve enzimlerin kaybı ve proteinlerin denatürasyonunu içeren pek çok patolojik probleme neden olabilmektedir (Cengiz vd., 2015).

Serbest radikaller bir veya daha fazla paylaşılmamış elektron içeren moleküler fragmentler veya moleküllerdir. Bu paylaşılmamış elektronlar dolayısıyla yüksek oksidasyon kapasitesine sahip kararsız moleküllerdir (Sen vd., 2010).

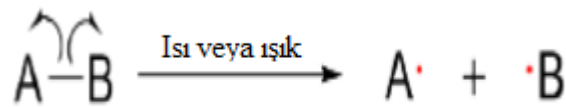
Bu radikaller genellikle hücresel metabolizma veya dış kaynaklı kimyasallar tarafından oluşturulmaktadır ve nükleik asitler, lipidler, proteinler, çoklu doymamış yağ asitleri ve karbohidratlar gibi hücrenin yapısal biyomoleküllerine zarar vererek hücre bütünlüğünü bozma kapasitesine sahiptirler (Zengin vd., 2011). Biyomoleküllerin zarar görmesi sonucu ise kanser, yaşlanma, koroner hastalıklar ve diğer bir çok ciddi hastalıklar ortaya çıkabilmektedir (Xiufen vd., 2004).

Serbest radikaller bazı organizmaların yaşamında pozitif etkilere de sahiptir (Finaud vd., 2006). Yani toksik etkiler oluşturabildikleri gibi aynı zamanda yaşamın dengeli bir şekilde devam edebilmesi için faydalı etkilere de gösterebilmektedirler. Düşük konsantrasyonları hücresel tepkiler ve immün fonksiyonlar üzerine faydalıdır, fakat yüksek konsantrasyonları toksiktir. Çünkü yüksek düzeyler oksidatif stres oluşturmakta ve hücresel yapılara zarar verebilmektedir (Pham-Huy vd., 2008). Serbest radikaller bitkisel ve hayvansal dokularda antioksidanlar tarafından deaktive edilmektedir (Mandal vd., 2009).

2.3.2. Serbest Radikal Zincir Reaksiyonları

Birinci Adım:

Serbest radikal oluşumun ilk adımı, serbest radikallerin UV radyasyonu, sıcaklık veya bir metal katalist tarafından oluşumudur.



Lipidlerin serbest radikallere dönüşümü, örneğin doymamış yağ asitleri.



RH: lipid, **R·:** Lipid serbest radikali, **H·:** Hidrojen radikali.

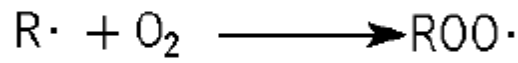
Çoğalma adımı:

Yeni serbest radikal oluşumu iki alt adımda gerçekleşir;

I- Serbest radikal oluşumundan sonra, bunun diğer moleküllerle reaksiyonu.

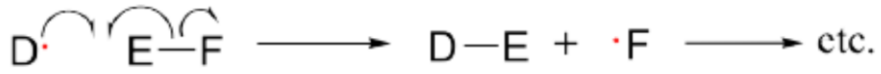


Örneğin; Lipid oksidasyonunda peroksil radikalının oluşumu (ROO•).



R•: Lipid serbest radikali, **O₂**: singlet oksijen, **ROO•**: Lipid peroksil radikali.

II- Serbest radikallerin oluşumuna bu adımda devam edilir.



Örneğin; Lipid oksidasyonunda Hidro preoksit (ROOH) ve diğer radikal (R•).



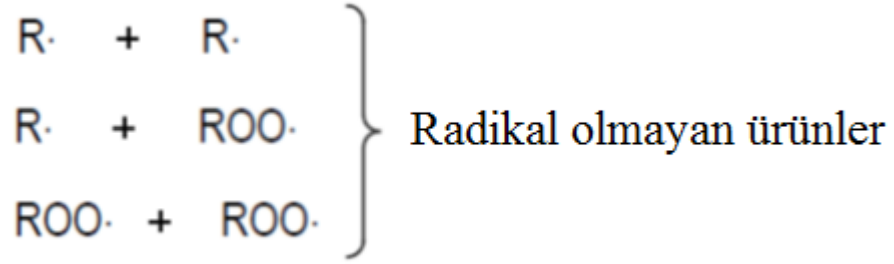
ROO•: Lipid peroksil radikali, **RH**: lipid, **ROOH**: Lipid hidro peroksit, **R•**: Lipid serbest radikali.

Son adım:

Bu adımda iki serbest radikal birlikte reaksiyona girer. Serbest radikallerin düşük konsantrasyonlarından dolayı çok ender oluşur.



Bu adımlarda iki radikal arasındaki reaksiyon radikal oluşumunu durdurur. (Sen vd., 2010; Maestri, vd., 2006; URL-1).



R·: Lipid serbest radikali, **ROO·**: Lipid peroksil radikali.

2.4. Antioksidanlar

Antioksidanlar serbest radikallerin giderilmesinde önemli bir rol oynayan maddelerdir (Zengin vd., 2011). Bu maddeler serbest radikalleri gidererek organizmanın detoksifikasyonunu sağlayabilir, oksidatif hasarı geciktirebilir veya engelleyebilirler (Maestri vd., 2006). Meyveler, tıbbi bitkiler ve sebzeler en zengin antioksidan bileşen kaynaklarıdır. Çünkü vitaminler (A, C, E), beta karoten ve bazı mineraller (selenyum ve çinko) gibi pek çok antioksidan özelliğe sahip bileşen içermektedirler (Sen vd., 2010). Vitamin A, C, E, karotenoidler ve flavonoidler diet kaynaklı antioksidanlardır ve diyetle aldığımız gıdalardan gelmektedir (Wong vd., 2005). Antioksidanlar bu etkilerinden dolayı düşük konsantrasyonlarda oldukça faydalıdır (Arcan, 2005).

Antioksidan özelliğe sahip olan polifenol bileşenler (fitokimyasal) bitkilerin bütün kısımlarında (ağaç kabuğu, yaprak, kök, meyve, çiçek ve tohum) bulunmaktadır (Stoilova vd., 2007). Günümüzde bitkiler, diabet, aterosklerozis, felç, Alzheimer ve kanser gibi pek çok kompleks hastalığın tedavisinde önemli rol oynayan antioksidanların doğal kaynakları olarak kullanılabilmektedir (Karakoca vd., 2013).

Antioksidanlar düşük konsantrasyonlardadır ancak, vücutta bu düzeyde bile önemli fizyolojik rol oynamaktadırlar (Mandal vd., 2009). Antioksidan özellikler kimyasal reaksiyon ve biyolojik aktivite veya enzim inhibisyonu ile ortaya çıkmaktadır (Trouillas vd., 2003). Bitkilerin sekonder metabolizmaları sonucu ürettikleri flavonoidler, terpenler, fenoller gibi kimyasal bileşenler antioksidan kapasiteyi belirleyen maddelerdir (Cengiz vd., 2015).

2.4.1. Antioksidatif Sistemler

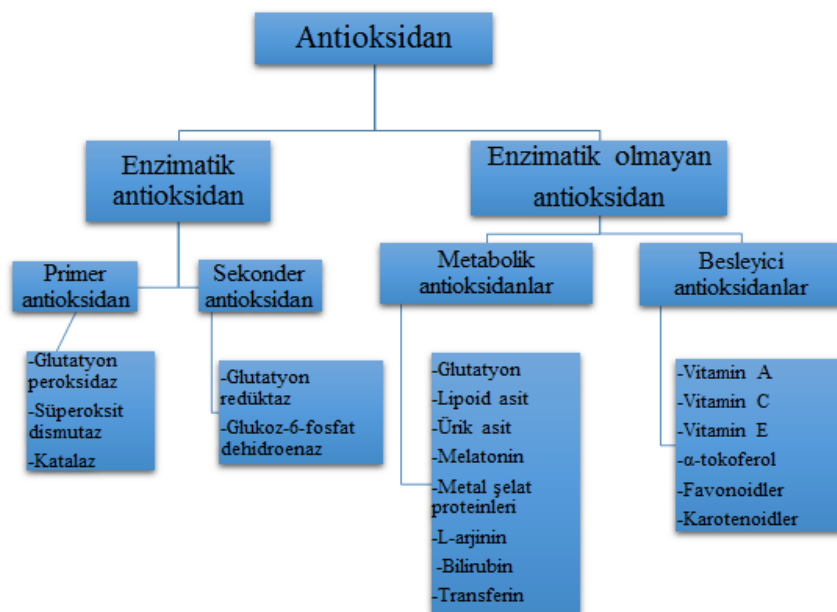
Antioksidatif sistem enzimatik ve non-enzimatik sistem olmak üzere iki sistemden oluşmaktadır.

A. Enzimatik Sistem (endojen antioksidanlar)

Birçok enzim endojen kaynaklı antioksidanlardır. Endojen antioksidanlar vücutta üretilmektedirler. Ekzojen antioksidanlarla kıyaslandıklarında daha güçlüdür. Enzimatik antioksidanlar primer ve sekonder enzimatik sistemlerden oluşmaktadırlar. Primer enzimatik antioksidanlar genelde üç önemli enzimden oluşmaktadır; glutatyon peroksidaz, katalaz ve süperoksit dismutaz. Sekonder enzimatik antioksidanlar ise glutatyon redüktaz ve glukoz-6-fosfat dehidrojenaz gibi enzimlerden oluşmaktadır.

B. Enzimatik Olmayan Sistem (endojen ve ekzojen antioksidanlar)

Enzimatik olmayan sistem iki tipe ayrılır; metabolik ve besleyici antioksidanlar. Metabolik antioksidanlar; glutatyon, lipoid asit, ürik asit, melatonin, metal şelat proteinleri, L-arjinin, bilirubin ve transferin gibi endojen antioksidanlardır. Besleyici antioksidanlar ise vitamin A, vitamin C, vitamin E, α - tokoferol, karotenoidler, proantosiyaniidinler (tanenler), polifenoller (flavonoidler, flavonlar, flavonollar) gibi maddelerdir. İz metaller (selenyum, çinko ve manganez), omega-3 ve omega-6 yağ asitleri ise diğer enzimatik olmayan antioksidanlar sınıfındandır (Mandal vd., 2009; Finaud vd., 2006; Carocho vd., 2013).

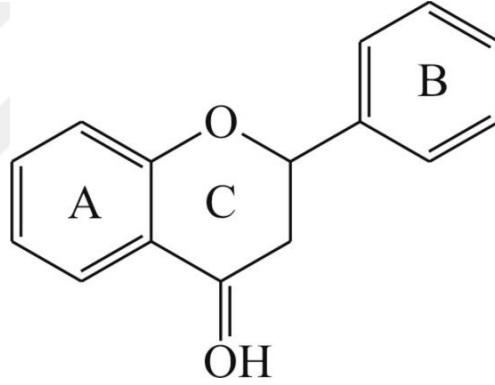


Şekil 2.2: Antioksidanların sınıflandırması

2.4.2. Flavonoidler

Flavonoidler polifenoller olarak adlandırılırlar ve glikozidler gibi bitkilerde bulunurlar (Wong vd., 2005). Düşük molekül ağırlıklı bileşenler olan flavonoidler 15 karbon atomundan oluşmaktadır (Balasundram vd., 2005). Flavonoidler difenilpropanlardır ve 4000'den fazla flavonoid bulunmuştur. İsoflavonlar ve flavonlar flavonoidlerdendir (Cao vd., 1996). Yapıları A ve B olmak üzere iki aromatik halkadan oluşmaktadır. Bu halkalar C₆-C₃-C₆ konfigürasyonunda düzenlenmiş 3 karbon köprüsü ile bağlanırlar (Balasundram vd., 2005).

Flavonoidler antioksidatif, antiproliferatif, antiinflamatuvar, lipopreksidan, antiplatelet, anti-iskemik, antialerjik, antitümör, kanser ve bazı hastalıkların önlenmesinde önemli role sahiptir (Aksoy-Sagirli vd., 2015). Bazı flavonoidler enzimlerin aktif bölgesi ile reaksiyona girerek enzimleri inhibe edebilir (Cao vd., 1996).

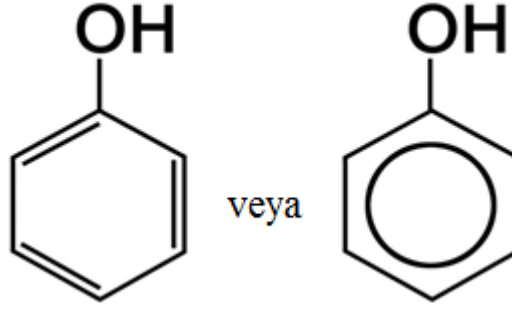


Şekil 2.3: Flavonoidin kimyasal yapısı.

2.4.3. Fenolikler

Fenolik bileşenler bitkilerde pentoz fosfat, şikimat ve fenolpropanoid yollarının türevi olan antioksidan aktiviteye sahip sekonder metabolitlerdir. Fenolik yapı bir veya daha fazla grubu içeren aromatik halka içerir (Oztaskin vd., 2015).

Bu bileşenler bitkilerin fizyolojik ve morfolojik özellikleri üzerine etkilidir. Fenolikler antialerjik, antiaterojenik, antiinflamatuvar, antitrombotik ve kalbi koruyucu gibi biyolojik aktiviteleri (Balasundram vd., 2005) yanında antikarsinojenik, antimutajenik, antimikrobiyal, antiviral ve antidiabetik potansiyele de sahiptir (Ye vd., 2015).

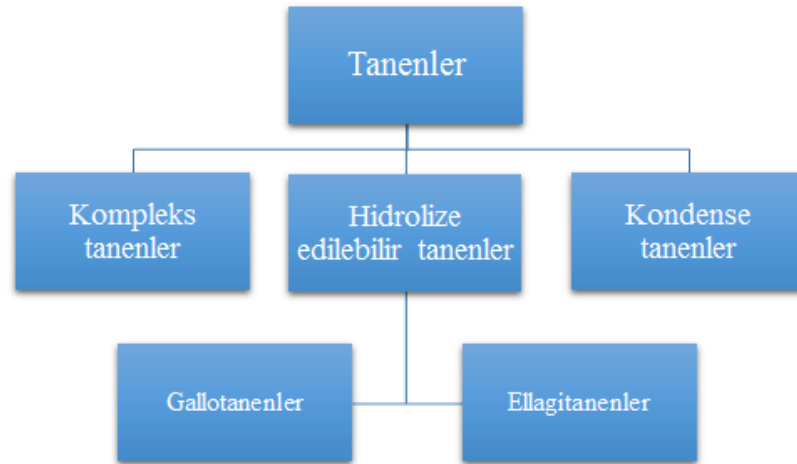


Şekil 2.4: Fenolün kimyasal yapısı

2.4.4. Tanenler

Tanenler, fenoliklerin üçüncü önemli grubudur (Balasundram vd., 2005). Genellikle yüksek moleküler ağırlıklı fenolik bileşenler olarak bilinirler. Pek çok fenolik gruba sahiptir ve genellikle tahıllar, baklagiller, otlar ve meyvelerde bulunur. Üç gruba ayrılırlar; kondense tanenler (proantosiyanidinler), hidrolize edilebilir tanenler ve kompleks tanenler (florotanenler). Florotanenler sadece denizel kahverengi alglerde bulunur (Hagerman vd., 1998). Hidrolize edilebilir tanenler gallotanenler ve ellagitanenler olmak üzere iki tipe ayrılırlar.

Gallotanenler gallik asitle polimer oluşturan hidrolize edilebilir tanenlerdir. Ellagitanenler ise galloil gruplarının oksidatif bağlantısı ile oluşturulan polifenollerdir. (URL-2).



Şekil 2.5: Tanenlerin sınıflandırması.

2.4.5. Besleyici Antioksidanlar (Vitaminler ve mineraller)

Besleyici antioksidanlar ekzojen kaynaklıdır ve vücutta üretilmemektedirler. Bu nedenle diyetle gıda ve diğer katkılarla dışarıdan alınmalıdır. Vitaminler ve

mineraller olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Antioksidan özellikli vitaminler A, C ve E vitaminleridir. Diğer besleyici antioksidanlar ise karotenoidler, flavonoidler, omega-6 ve omega-3 yağ asitleridir. Mineraller selenyum, manganez ve çinko gibi mikro besleyici elementlerdir (Pham-Huy vd., 2008; Sen vd., 2010).

2.5. Enzim İnhibisyonu

Enzim inhibisyonu günümüzde farmasötik araştırmaların önemli bir alanı olarak kabul edilmektedir. Enzimlerin aktiviteleri doğal ürünler vasıtasıyla kontrol edilebilmektedir. Enzim inhibitörlerinin en önemli rollerinden birisi pek çok fizyolojik şartlar için ilaç gibi kullanılmalarıdır (Amtul vd., 2002). Asetilkolinesteraz, bütirilkolinesteraz, tirozinaz, α -amilaz ve α -glukozidaz inhibitörleri Alzheimer, hiperpigmentasyon, nörodejeneratif hastalıklar ve diyabetin tedavisi için kullanılmaktadır (Zengin vd., 2015).

2.5.1. Alzheimer Hastalığı

Alzheimer hastalığı genellikle yavaş bir şekilde başlar, fakat kronik bir nörodejeneratif hastalıktır ve ölümle sonuçlanır. Hastalık beyinde düşük seviyesiyle karakterizedir ve kolinerjik sistem bozuklukları ve oksidatif stres gibi pek çok faktöre bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Hastalıkta beyinde amiloid plaklar ve nörofibril yumaklar görülmektedir. Asetilkolinesteraz veya bütirilkolinesteraz enzimlerinin inhibitörleri beyinde asetilkolin artışına neden oldukları için Alzheimer hastalığını engelleyebilmektedir (Murray vd., 2013; Oztaskin vd., 2015).

Bu inhibitör mekanizması ile çalışan ve hastalığın tedavisinde kullanılan pek çok ilaç geliştirilmiştir. Bu ilaçlardan bazıları aşağıda listelenmiştir;

1-Tacrine.

2-Donezepil.

3-Rivastigmine.

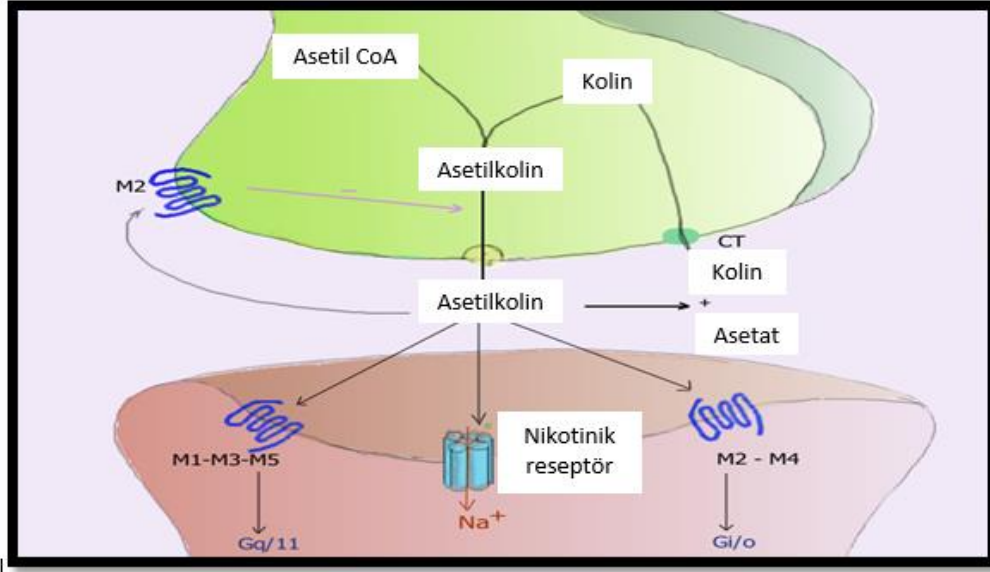
4-Galanthamine.

5-Huperzine A.

Bunlardan Tacrine, Donezepil, Rivastigmine ve Galanthamine sınırlı etkiye ve çeşitli yan etkilere sahiptir. Tacrine ve Donezepil sentetik orijinli olup diğerleri doğal alkaloidlerdir (Murray vd., 2013).

Kolinesteraz nörotransmitter olan asetilkolini kolin ve asetik aside hidrolize eden bir enzimdir (Colovic vd., 2013). Genellikle iki tipten oluşur: asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz. Kolinesterazın çalışması Şekil 2.6'de gösterilmiştir. Asetilkolin

enzimi ise merkezi ve çevresel sinir sisteminde nörotransmitter olarak fonksiyon göstermektedir. İnsan plazması 4 tip esteraz içermektedir: bütirilkolinesteraz, asetilkolinesteraz, paraoksonaz ve albümin (Li vd., 2005).



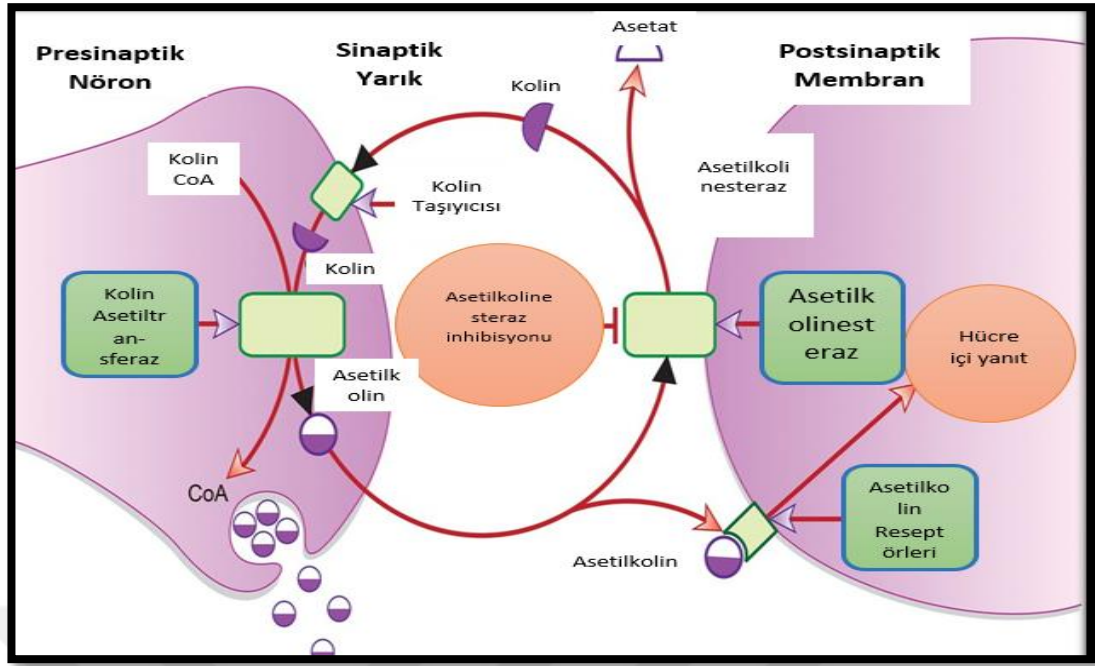
Şekil 2.6: Asetilkolinin çalışması (URL-3).

A. Asetilkolinesteraz (AChE, E.C. 3.1.1.7)

Asetilkolinesteraz en hızlı çalışan enzimlerden birisidir. Bu durum sinaptik aktivitenin hızlı düzenlenmesi için önemlidir. Enzim kolin ve asetil-CoA gruplarından oluşmaktadır (Shen vd., 2002).

Asetilkolinesteraz alkaloid gruplarından biridir, kolinerjik nöronlarda kolin ve asetik asit oluşum reaksiyonunu katalizlemektedir (Şekil 2.7). Ayrıca uyku ve uyanma, öğrenme ve hafızanın düzenlenmesinden sorumludur. Sinir ve kas, çevresel ve merkezi sinir sistemi, kolinerjik ve nonkolinerjik fibriller, kırmızı kan hücre membranları gibi pek çok dokuda bulunur (Çokuğraş, 2003; Colovic vd., 2013).

Klinik olarak asetilkolinesteraz inhibitörleri hafızaya yardımcı olarak Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılabilir. Bitkiler asetilkolinesteraz inhibitörlerinin potansiyel kaynağı olarak kullanılabileceği daha önce yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Bunyapaiboonsri vd., 2001; Ndhlala vd., 2012; McGarry vd., 2013).



Şekil 2.7: Asetilkolinesterazın çalışması (Jeger, 2013).

B. Bütirilkolinesteraz (BChE, EC 3.1.1.8)

Üç farklı kısaltmaya sahiptir; gen için BCHE, bütirilkolinesteraz proteinin için BChE ve son kullanımı BuChE ise Fransızcadır (Lockridge, 2014). Aynı zamanda psödokolinesteraz, plazma kolinesterazı veya asetilkolin asilhidrolaz olarak da bilinir. Enzim karaciğerde bulunur ve enzim komisyon numarası EC 3.1.1.8.'dir (Colovic vd., 2013). İnsan plazmasında veya bağırsak ve beyinde (glia) de ciddi oranda bulunur (Li vd., 2005). Asetilkolin, bütirilkolin, benzilkolin, aspirin, indoksil asetat, α -naftil asetat, p-nitrofenil asetat, procaine ve mivacurium gibi moleküllerin hidrolizini katalize edebilir (Peng vd., 2015). Bütirilkolin esteraz da asetilkolin esteraz gibi Alzheimer hastalığının tedavisinde ilaç olarak kullanılabilir (Rahim vd., 2015).

Fonksiyonları;

1-Asetilkolinin hidrolizi

2-Sinir gazının detoksifikasyonu

3-Yağ ve ester bileşenlerin metabolizması için yağ katabolizmasını düşüren önemli bir enzimdir

4-Poliprolince zengin peptitlerin Scavenger of polyproline-rich peptides, (Lockridge, 2014).

2.5.2. Deri Hastalıkları

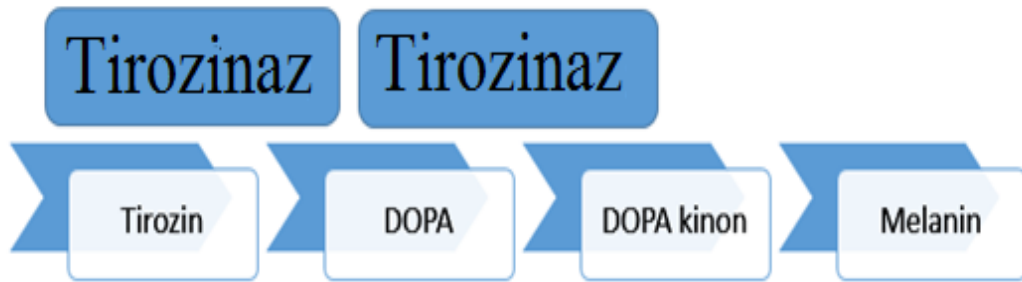
Deri dış ortamla temas ettiğinden dolayı vücudumuzun önemli bir koruyucusudur. Melanin UV ve reaktif oksijen türlerinin zararından deriyi koruduğu için önemli bir pigmenttir. Derinin epidermal tabakasında melanositler tarafından melanin salgılanması anlamına gelen ve tirozinazla başlatılan melanogenesis derinin koyulaşmasına neden olur. Tirozinaz melanositlerde bulunmaktadır (Balakrishnan, 2011).

Tirozinaz bakır içeren bir enzimdir ve melanositlerde melanin sentezini katalize eder. Melanin tirozinazın başlattığı olaylarla insan hücrelerinde deri, göz ve saç rengini oluşturan bir pigmenttir. Tirozinaz inhibitörleri doğal ve sentetik olmak üzere iki tiptir. Tirozinazın inhibitörü melanogenezin inhibitörü anlamına gelmektedir. Bu sürecin sonunda tirozinaz etkisiyle melanin yapılmaktadır.

Klinik olarak, tirozinaz inhibitörleri melanin hiperpigmentasyonu ve melisma ile bağlantılı bazı deri hastalıklarının tedavisinde oldukça kullanışlıdır. Ayrıca geleneksel olarak deri renginin açılmasında ve beyazlatılması amacıyla kozmetikte kullanılır (Rodriquez ve Flurkey, 1992; Chang, 2009; Vaibhav ve Lakshaman, 2012).

Melanogenesis süreci tirozinazla melaninin yapılmasıdır:

1. Oksijen varlığında tirozinin hidroksilasyonu ve su ile DOPA üretimi (monofenoller orto difenollere dönüşür)
2. Orto difeniller diğer dikuinonlara değişir (DOPAKinon)
3. DOPAKinon polimerik pigmentasyona değişir (Rodriquez ve Flurkey, 1992).



Şekil 2.8: Melanogenesis süreci.

2.5.3. *Diabetes mellitus*

Diabetes mellitus hiperglisemi ile karakterize metabolik bir hastalıktır. Plazma glukoz konsantrasyonunun artışı yüksek kan basıncına (hipertansiyon) neden olur. Hastalık insulin sekresyonu ve fonksiyon bozukluklarından veya her ikisinin birlikte etkisinden oluşmaktadır. İnsülin, beyin hariç pek çok dokuya glukoz verilmesinde önemli bir role sahiptir. Eksikliğinde artan tansiyon ve diğer etkilerin sonucu kalp krizi, felç ve diğer kalp sorunlarına neden olabilmektedir. Karbohidrat absorpsiyonunun önlenmesi hipergliseminin düşmesine neden olabilir. α -glukozidaz ve α -amilaz inhibitörleri doğal ürünlerde yaygındır ve geleneksel olarak *Diabetes mellitus* için ilaç olarak kullanılmaktadır (Xiao-Ping vd., 2010; Ademiluyi ve Obboh, 2013; Ozougwu vd., 2013). Nişastayı glukozla dönüştürmek için pankreatik ve tükürükten olmak üzere iki tip α -amilaz ve intestinal α -glukozidazın dört tipine ihtiyaç duymaktayız (Lin vd., 2015).

α -glukozidaz ve α -amilaz, karbohidratların glukoz veya nişasta gibi polisakkaritlerin daha küçük oligosakkaritlere hidrolizini sağlayan iki enzimdir. Bu enzimler diabetin inhibisyonu veya antidiabetik gibi kullanılmak suretiyle iki yolla tip II diabetin tedavisinde kullanılır; birincisi bağırsaktan glukoz emilimini azaltabilir veya gıciktirebilir, ikinci mekanizma, nişasta ve oligosakkaritleri parçalayabilir. Bitkilerden elde edilen doğal bileşikler bu her iki yolu inhibe ederek etki gösterebilmektedir (Dong vd., 2012; Zhao vd., 2015).

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. Örnek Toplanması

Adiantum capillus-veneris L. vejetasyon dönemi olan Temmuz 2015’de Irak’ın Kuzeyi’nde yer alan Halepçe yakınlarındaki Hewraman Dağı’nda bulunan Ahmad Awa Şelaleleri’nin gölge kısımlardan doğal habitatlarından 750-900 m yükseklikten toplanmıştır. Bitki örneklerinin teşhisi botanikçi Prof. Dr. Murad Aydın Şanda tarafından yapılmıştır.



Şekil 3.1: *Adiantum capillus-veneris* L.

3.2. Özütlerin Hazırlanması

Adiantum capillus-veneris L.'in topraküstü kısımları oda sıcaklığında ve karanlık bir ortamda kurutuldu ve ticari blender yardımıyla öğütüldü. Öğütülen örneklerden 15 g tartılarak metanol, etil asetat ve su özütleri hazırlanmıştır. Methanol ve etil asetat özütleri Soxhlet aparatı kullanılarak 6-8 süreyle ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Su özütü ise demleme yöntemiyle kaynayan suda 30 dakika süreyle tutularak gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyondan sonra özütler süzgeç kağıdı kullanılarak süzölmüş Rotary Evaporatör ile vakum altında 60-70 °C'de çözücü tamamen uçurulmuştur. Tamamen kurutulan özütlerin toplam verimleri hesaplanmış ve örnekler analiz yapılncaya kadar -20°C'de depolanmıştır. Analiz öncesi bu özütlerden 2 mg/ml konsantrasyonda stok çözeltileri hazırlanmıştır.

3.3. Antioksidan Aktivite Metotları

3.3.1. Toplam Fenolik İçerik

Özütlerin toplam fenolik içerikleri küçük modifikasyonlarla Folin-Ciocalteu metoduna göre belirlenmiştir (Juranović Cindrić vd., 2011; Agbor vd., 2014). Özetle, stok örnek çözeltilerinden 0.2 ml alındı, 1.5 ml distile su ve 0.5 ml %7'lik Na₂CO₃ eklenerek karıştırıldı ve 3 dakika beklendi. Daha sonra 1 ml Folin-Ciocalteu eklendi. Standard olarak Gallik asitin farklı konsantrasyonlarından (100, 50, 25, 12.5 µg/ml) alınarak aynı işlemler uygulandı. Kör olarak örnek yerine 0.2 ml methanol konuldu. Daha sonra oda sıcaklığında 2 saat karanlık bir ortamda inkübe edilen örnekler 760 nm'de spektrofotometrede absorbansları okundu. Örneklerde fenolik içeriklerine göre farklı oranlarda yeşilden maviye doğru renk değişimi gözlemlendi. Örnekler 3'er tekrarlı olarak ölçülmüştür. Standardın absorbans konsantrasyon grafiğinde elde edilen denklem kullanılarak örneklerin fenolik içerikleri Gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak belirlenmiştir.

3.3.2. Toplam Flavonoid İçerik

Total flavonoid içerik Arvouet-Grand vd. (1994)'e göre spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Metotta, 1 ml özüt 1 ml %2'lik AlCl₃ ile karıştırıldı. Her örnek için hazırlanan kör örneğinde 1 ml özüt ve 1 ml methanol eklenmiştir. Standard olarak Quercetin'in farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltileri kullanılmıştır. Örnekler 10 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 415 nm'de köre karşı absorbansları okunmuştur. Standardın absorbans konsantrasyon grafiğinde elde edilen denklem

kullanılarak örneklerin flavonoid içerikleri Quercetin eşdeğeri (QE) olarak belirlenmiştir.

3.3.3.DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi

Özütlerin DPPH radikalini giderme aktivitesi Sarikurkcü vd., (2008)'in yöntemi küçük modifikasyonlarla uygulanmıştır. Metot için öncelikle DPPH'ın mM'lık çözeltisi hazırlanmıştır. Kontrol tüpüne 1 ml of metanol ve 1 ml of DPPH çözeltisi, kör tüpüne ise metanol konulmuştur. Örnekler için ise farklı konsantrasyonlarda hazırlanan 1 ml özüt üzerine 1 ml DPPH eklenmiş ve 30 dakika oda sıcaklığında karanlık bir ortamda inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda 517 nm'de örnekler, kontrol ve standartların absorbans değerleri ölçülmüştür. Absorbans değerleri kullanılarak örneklerin özütlerin DPPH radikali inhibe oranları (%I) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\%I = 100 \times (A_0 - A_1) / A_0$$

(A₀: Kontrolün absorbansı, A₁: Özütün absorbansı)

Ayrıca her bir özüt için radikalın %50'sinin inhibe edildiği konsantrasyon olan IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

3.3.4. Toplam Antioksidan Kapasite

Toplam antioksidan kapasite fosfomolibdenum metodu kullanılarak Cakmak vd., (2012)'ne göre uygulanmıştır. Test için 3 farklı çözelti hazırlanıp karıştırılarak reagent çözeltisi hazırlanmıştır. Bu karışım çözeltisi 4 mM amonyum molibdat, 6 M sülfürik asit ve 28 mM sodyum fosfat çözeltileri karıştırılarak elde edilmiştir. Daha sonra bu karışımdan 3 ml alınarak üzerine 0.1 ml özüt ve farklı konsantrasyonlardaki (0.0625-1 mg/ml) askorbik asit çözeltileri eklendi. Kör için 0.3 ml metanol eklenmiştir. Daha sonra tüpler 95 °C'de 90 dakika inkübe edildikten sonra 695 nm'de absorbansları okundu. Sonuçlar askorbik asit eşdeğeri (AAE) olarak verilmiştir.

3.3.5. Demir İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP)

Metot özütlerin demir iyonlarını indirgeme gücünün belirlenmesi prensibine bağlı olarak gerçekleştirilmiştir (Aktumsek vd., 2013). Öncelikle 31.2 mg TPTz, 50 µl hidroklorik asit ve 10 ml distile su karışımında çözülmüştür. Daha sonra 32 mg FeCl₃ 10 ml distile suda çözülmüştür. Son olarak 4.1 ml asetik aside (%80) 250 ml distile su ilave edildi ve 0.66 g sodyum asetat bu çözelti içinde tamamen çözülünceye kadar karıştırılmıştır. Tampon, TPTz ve FeCl₃ 10/1/1 oranlarında karıştırılarak bu

karişımın 2 ml'si ile 0.1 ml özüť kariştırılarak 30 °C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Standart olarak özüť yerine troloks çözeltilisinin farklı konsantrasyonları(25, 50, 75, 100, 150, ve 200 µg/ml) kullanılmıştır. İnkübasyon sonunda örneklerin absorbandsı 593 nm'de okunmuştur. Sonuçlar troloks eşdeğeri (TE) olarak verilmiştir.

3.3.6. Bakır İyonları İndirgeme Aktivitesi (CUPRAC)

Bu metot Apak vd. (2006)'den küçük modifikasyonlarla gerçekleştirilmiştir. Metot için amonyum asetat, CuCl₂ ve neocuproine çözeltilerinin her birinden 1'er ml alınmıştır. Üzerine farklı konsantrasyonlardaki bitki özüťleri ve standartlardan (BHA ve BHT) 0.5 ml eklenmiştir. Daha sonra her bir tüpe 1 ml distile su eklenmiştir. Oda sıcaklığında, karanalık bir ortamda 30 dakika bekletildikten sonra 450 nm'de köre karşı okunmuştur.

3.4. Enzim İnhibisyon Testleri

3.4.1. Kolinesteraz İnhibisyonu

Kolinesteraz (ChE) inhibitör aktivitesi daha önce belirtildiği gibi Ellman metodu kullanılarak ölçölmüştür (Aktumsek vd., 2013). Örnek çözeltilisi (50 µL) DTNB (125 µL) ve asetilkolinesteraz (veya bütirilkolinesteraz) çözeltilisi (25 µL) Tris-HCl tamponu (pH 8.0) içerisinde kariştırıldı. Daha sonra 96 kuyucuklu mikropate içerisinde 15 dakika 25 °C'de inkübe edildi. Reaksiyon asetilkolin iyodinin veya bütirilkolin klorid eklenmesiyle başlatılmıştır. Benzer şekilde her bir özüť için, kör enzim içermeyen bir tüp olarak hazırlanmıştır. Örnek ve kör absorbandsları 405 nm'de 25 °C'de 10 dakika inkübasyondan sonra okunmuştur. Kolinesteraz inhibitör aktivitesi galantamine eşdeğer (GALAE) olarak verilmiştir.

3.4.2. α-amilaz İnhibisyonu

α-amilaz inhibitör aktivitesi Caraway-Somogyi iyodin/potasyum iyodid (IKI) metodu kullanılarak uygulanmıştır (Yang vd., 2012). Örnek çözeltileri (25 µL) α-amilaz çözeltilisi ile (50 µL) fosfat tamponunda (pH 6.9, 6 mM sodyum klorid) 96 kuyucuklu mikropate içinde kariştırılmıştır. Karişım 10 dakika 37 °C'de inkübe edildi. Ön inkübasyondan sonra reaksiyon nişasta çözeltilisi (50 µL, %0.05) eklendiğinde başlatıldı. Benzer şekilde enzim içermeyen kör çözeltilisi hazırlandı. Reaksiyon karişımı 10 dakika 37 °C'de inkübe edildi ve reaksiyon HCl (25 µL, 1 M) eklendiğinde durduruldu. Bunu takiben iyodin-potasyum iyodid çözeltilisi (100 µL)

eklendi. Örnek ve kör absorbansları 630 nm’de okundu. α -amilaz inhibitör aktivitesi sonuçları akarboz eşdeğeri (ACAE) olarak verilmiştir.

3.4.3. α -glukozidaz İnhibisyonu

α -glukozidaz inhibitör aktivitesi Palanisamy vd., (2011)’nin metoduna göre uygulanmıştır. Örnek çözeltisi (50 μ L), glutatyon (50 μ L), α -glukozidaz çözeltisi (50 μ L) fosfat tamponu (pH 6.8) ve PNPG (50 μ L) çözeltisi 96 kuyucuklu mikropate içinde karıştırılmış ve 15 dakika 37 °C’de inkübe edilmiştir. Benzer şekilde enzim içermeyen bir kör hazırlanmıştır. Reaksiyon sodyum karbonat (50 μ L, 0.2 M) eklendiğinde durdurulmuştur. Örnek ve kör absorbansları 400 nm’de okunmuştur. α -glukozidaz inhibitör aktivitesi akarboz eşdeğeri (ACAE) olarak verilmiştir.

3.4.4. Tirozinaz İnhibisyonu

Tirozinaz inhibitör aktivitesi substrat olarak L-DOPA kullanılarak dopachrome metodu ile gerçekleştirilmiştir (Orhan vd., 2012). Örnek çözeltisi (25 μ L), tirozinaz çözeltisi (40 μ L) ve fosfat tamponu (100 μ L, pH 6.8) ile 96 kuyucuklu mikropate içerisinde karıştırılmış ve 15 dakika 25 °C’de inkübe edilmiştir. reaksiyon L-DOPA (40 μ L) eklenmesiyle başlatılmıştır. Benzer şekilde enzim içermeyen kör çözeltisi hazırlanmıştır. Örnek ve kör absorbansları 10 dakika 25 °C’de inkübe edildikten sonra 492 nm’de okunmuştur. Tirozinaz inhibitör aktivitesi sonuçları kojik asit eşdeğeri (KAE) olarak verilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada *Adiantum capillus-veneris* L.'in farklı özütlerinin antioksidan aktivitelerini ve enzim inhibisyon aktiviteleri belirlenmiştir. Araştırılan aktiviteler için metanol, etil asetat ve su özütlerine in vitro testler uygulanmıştır. Aynı zamanda özütlerin ekstraksiyon verimleri de hesaplanmıştır. Buna göre su özütünün verimi (%21), metanol özütü (%18) ve etil asetat özütünün veriminden (%5.86) daha yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1: *A. capillus-veneris* L.'in farklı özütlerinin ekstraksiyon verimleri.

Özütler	Verim (%)
Metanol	18
Etil asetat	5.86
Su	21

4.1. Antioksidan Kapasite

Adiantum capillus-veneris L.'in farklı özütlerinin antioksidan aktivitelerini belirlemek için örneklere toplam antioksidan kapasite testi, DPPH, CUPRAC ve FRAP testleri uygulanmıştır. Aynı zamanda özütlerin toplam fenolik ve flavonoid içerikleri de belirlenmiştir.

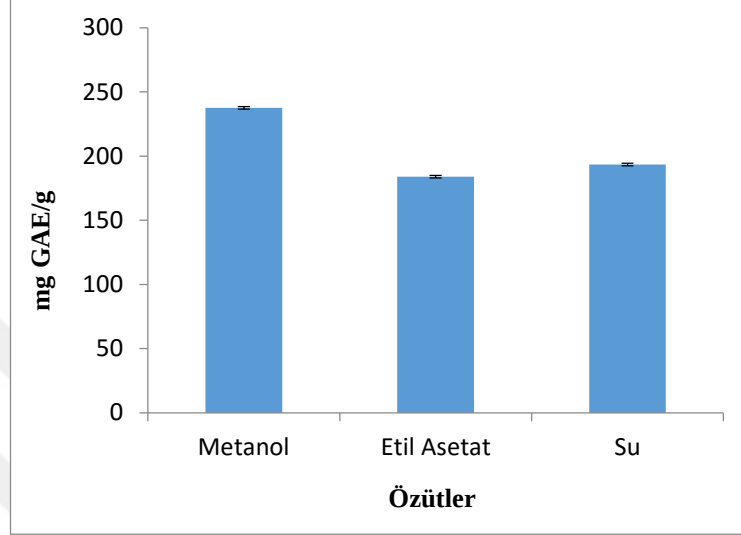
4.1.1. Toplam Fenolik İçerik

Toplam fenolik içerik Folin-Ciocalteu metodu kullanılarak belirlenmiştir (Juranović Cindrić vd., 2011; Cakmak vd., 2012; Agbor vd., 2014). *A. capillus-veneris* L.'in toplam fenolik içeriği 354-441 mg GAE/g arasında değişmektedir. Methanol özütü 237.57 ± 4.82 mg GAE/g değeriyle en yüksek fenolik içeriğe sahip örnek olmuştur. Bunu 193.36 ± 4.98 mg GAE/g ile su özütü takip ederken etil asetat özütü 183.93 ± 8.35 oranıyla en düşük fenolik içeriğe sahip örnektir (Çizelge 4.2, Şekil 4.1).

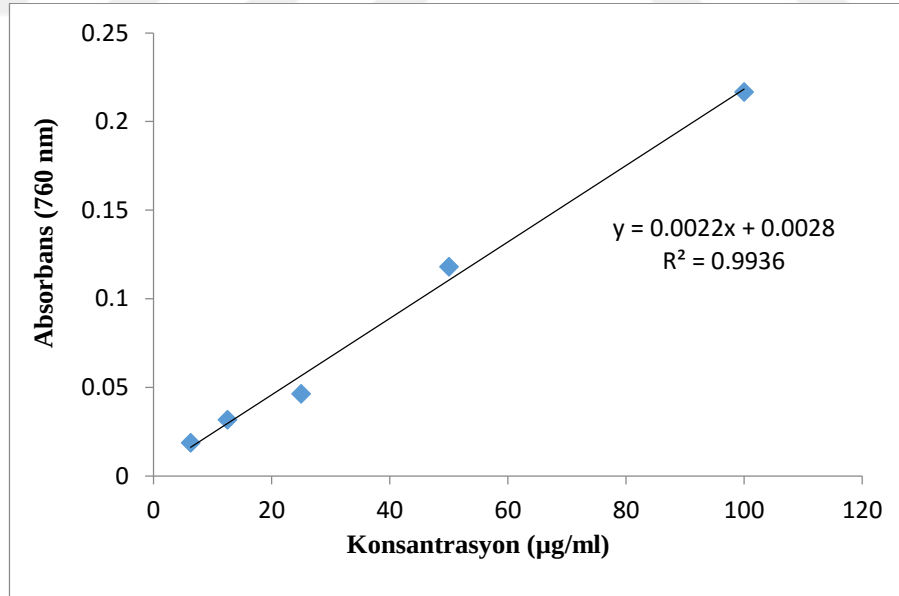
Çizelge 4.2: *A. capillus-veneris* L.'in farklı özütlerinin toplam fenolik içerikleri.

Özütler	Toplam Fenolik İçerik (mg GAE/g)
Metanol	441.91±36.85*
Etil Asetat	348.73±16.70
Su	354.18±35.73

* Üç paralel analizin ortalaması ± Standart sapma



Şekil 4.1: *A. capillus-veneris* L.'in farklı özütlerinin toplam fenolik içerik grafiği



Şekil 4.2: Gallik asitin kalibrasyon eğrisi

Chai vd., (2015) yenilebilir ve tıbbi bir eğrelti olan *Stenochlaena palustris*'in farklı özütlerinin (hekzan, kloroform, etil asetat, methanol ve distile su) fenolik içeriğini araştırmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre en yüksek fenolik içerik methanol

özütünde çıkarken, en düşük fenolik içerik hekzan özütünde görülmüştür. Diğer bir çalışmada üç eğrelti türü toplam fenolik içerik yönünden karşılaştırılmıştır (Qi vd., 2015). Araştırmacılar incelenen türlerden *Athyrium multidentatum*'un 476.52 mg GAE/g, *Pteridium aquilinum*'un 246.51 mg GAE/ g ve *Osmunda cinnamomea*'nın ise 208.63 mg GAE/g toplam fenolik içeriğe sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

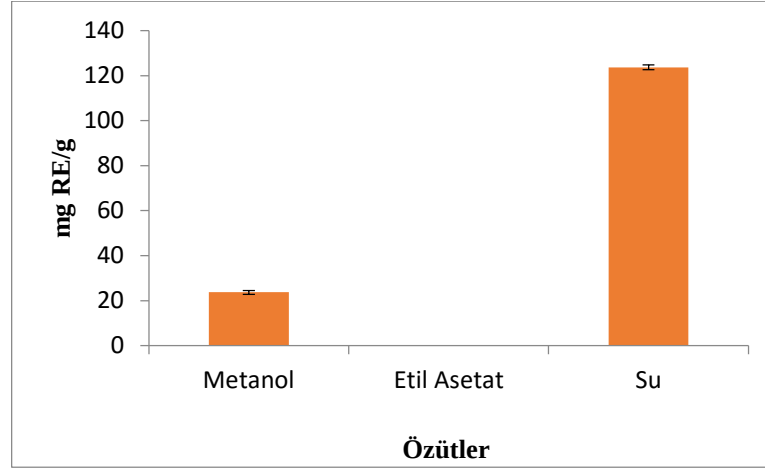
4.1.2. Toplam Flavonoid İçerik

Toplam fenolik içerik alüminyum klorid kullanılarak belirlenmiştir (Arvouet-Grand vd., 1994; Cakmak vd., 2014). *A. capillus-veneris* L.'den elde edilen farklı özütlerin toplam flavonoid içerikleri 23-123 mg QE/g arasında değişmektedir. Su özütü 123.64 ± 1.17 mg QE/g oranıyla en yüksek flavonoid içeriğe sahip örnek olurken metanol özütü 23.76 ± 0.70 mg QE/g oranıyla bunu takip etmektedir. Etil asetat özütünde ise flavonoid içerik bulunamamıştır (Çizelge 4.3, Şekil 4.3).

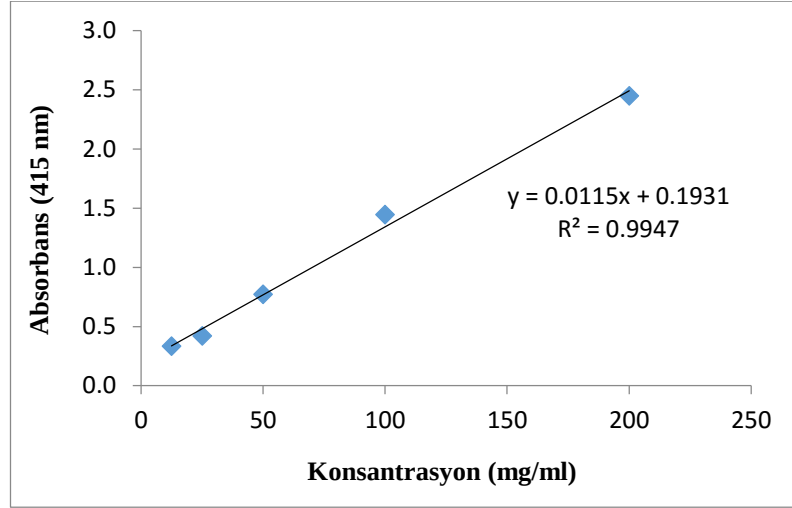
Çizelge 4.3: *A. capillus-veneris* L.'in farklı özütlerinin toplam flavonoid içerikleri

Özütler	Toplam Flavonoid İçerik (mg QE/g)
Metanol	$23.76 \pm 0.70^*$
Etil Asetat	-
Su	123.64 ± 1.17

* Üç paralel analizin ortalaması $\pm$ Standart sapma



Şekil 4.3: *A. capillus-veneris* L.'in farklı özütlerinin toplam flavonoid içerikleri grafiği.



Şekil 4.4: Quercetin'in kalibrasyon eğrisi

Genellikle bütün eğreltiler yüksek flavonoid içeriği ile karakterizedir. Eğreltilerin flavonoid içerikleri hakkında pek çok çalışma bulunmaktadır. Yıl içerisinde ve farklı kısımlar arasındaki flavonoid içerik farkları toplanma zamanına bağlıdır. Yapılan bir çalışmada farklı aylarda toplanan ve farklı habitatlarda yetişen (gölge ve yarı gölge) *Dryopteris erythrosora* türünün kök, gövde, yaprak gibi farklı kısımlarının flavonoid içeriklerinin de döneme, habitata ve bitki kısmına göre değiştiği göstermiştir. (Xie vd., 2015). Hindistan'da yetişen *A. capillus-veneris*'in metanol ve petrol eteri özütlerinin flavonoid içeriklerinin incelendiği diğer bir çalışmada, metanol özütü 7.90 mg/g flavonoid içeriği ile petrol eteri özütünden (5.44 mg/g) daha yüksek düzeyde bulunmuştur (Santosh Kumar vd., 2013). Qi vd., (2015)'nin *Pteridium aquilinum*, *Osmunda cinnamomea* ve *Athyrium multidentatum* türlerinin biyoaktivitesini araştırdıkları çalışmada ise sırasıyla 547.46, 436.24 ve 924.81 mg rutin/g flavonoid içerdikleri bulunmuştur. Flavonoidler, diüretik aktiviteye sahiptir ve böbrekte sıvı akış volümünün artışıyla ilişkilidir. Bu durum böbrek taşının tedavisinde önemli bir faktördür (Yuliana vd., 2009). Özellikle Orta Doğu'da *A. capillus-veneris* L.'in böbrek taşları üzerine faydalı etkilere sahip olduğu ileri sürülmektedir. Bu durum artan üriner akım hızının sodyum ve potasyum atılım oranını da artırmasına neden olmasıyla ilişkilidir. Bu nedenle *A. capillus-veneris* L. Irak'ın Kuzeyi başta olmak üzere tüm Orta Doğu'da yaygın olarak böbrek ve üriner hastalıkların tedavisinde geleneksel tıpta yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Qader vd., 2011).

4.1.3. DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi

Bu metot bitki özütlerinin serbest radikal giderme aktivitesinin belirlenmesi üzerinedir. Antioksidan madde DPPH ile reaksiyona girdiğinde DPPH'ın rengi mordan sarıya dönüşmektedir.

Bu çalışmada DPPH giderme aktivitesi her bir özüt için radikalın %50'sinin inhibe edildiği konsantrasyon olan IC₅₀ değeri hesaplanmıştır. Düşük IC₅₀ değeri daha yüksek antoksidan kapasiteye işaret etmektedir. Metanol özütü su ve etil asetat özütlerinden daha yüksek DPPH giderme aktivitesine sahiptir (Çizelge 4.6).

Yang vd., (2015) Doğu ve Güney Asya'da yetişen herdem yeşil bir eğrelti olan *Lepisorus thunbergianus*'dan dört farklı bileşen izole etmişlerdir. Araştırmacılar 4. Bileşenin 6.86 µmol/ml IC₅₀ değeri ile en yüksek DPPH radikali giderme aktivitesine sahip olduğunu göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda, en yüksek aktivite metanol özütünde 0.25 mg/ml IC₅₀ değeri ile bulunmuştur. Diğer bir çalışmada 15 eğrelti özütü çalışılmış ve 0.1-11.3 mg/L değerleri arasında IC₅₀ değerleri bulunmuştur (Cao vd., 2015). Chai vd., (2013) dört eğreltinin yaprak ve rizomlarının su özütlerinden elde edilen 3 bileşeni çalışmışlardır. Araştırmacılar yaprak ve rizom özütlerinde sırasıyla 73-144 µg/ml ve 97-383 µg/ml arasında değişen aktiviteler gözlemlemişlerdir.

Çizelge 4.4: *A. capillus-veneris* L.'nin farklı özütlelerinin IC₅₀ değerleri.

Özütler	IC ₅₀ (mg/ml)
Metanol	0.25±0.01*
Etil asetat	1.76±0.01
Su	0.46±0.01

* Üç paralel analizin ortalaması ± Standart sapma

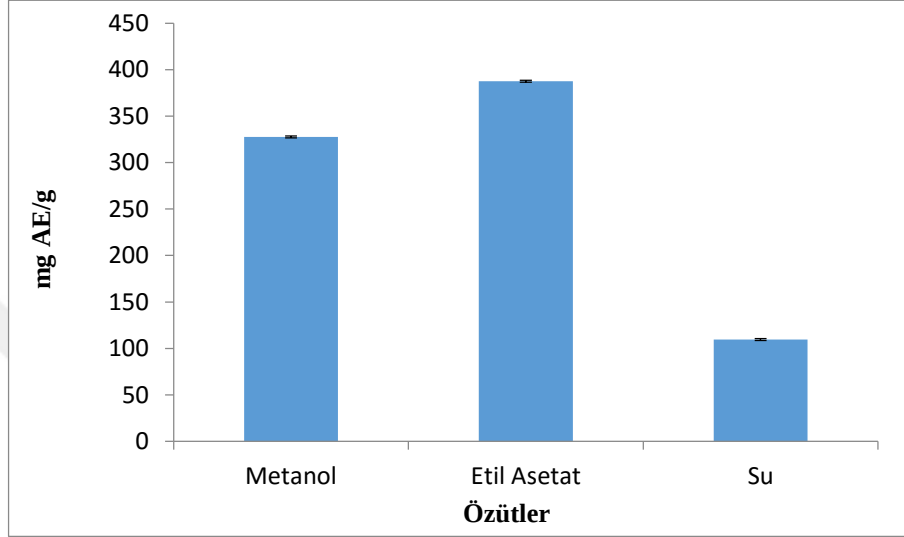
4.1.4. Toplam Antioksidan Kapasite

Toplam antioksidan kapasite fosfomolibdenum testi uygulanarak belirlenmiştir. Bu testte elde edilen sonuçlara göre *A. capillus-veneris* L.'in toplam antioksidan kapasitesi 109-387 mg AAE/g arasında değişmiştir. Etil asetat 387.73±8.25 oranıyla en yüksek aktivite gösteren özüt olurken, methanol ve su özütleri sırasıyla 327.73±7.44 ve 109.55±9.58 değerleriyle bunu takip etmiştir (Çizelge 4.5, Şekil 4.5).

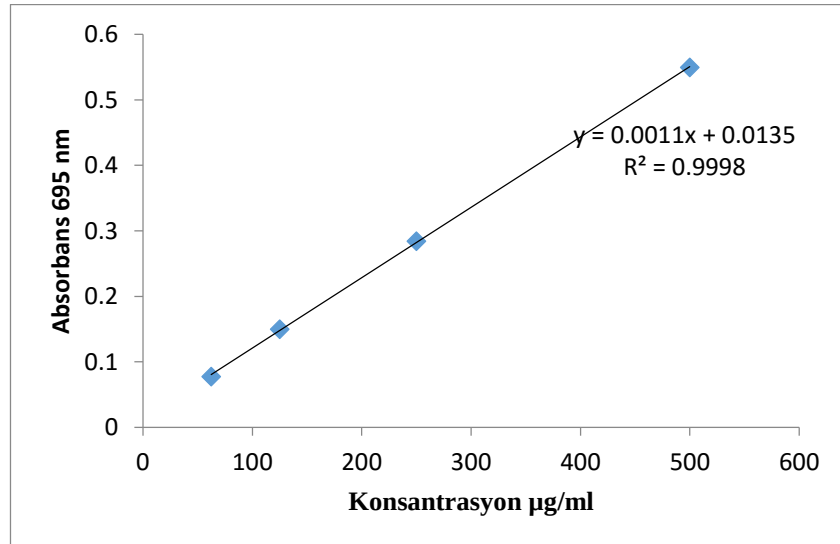
Çizelge 4.5: *A. capillus-veneris* L.'in farklı özütlerinin toplam antioksidan kapasiteleri.

Özütler	Toplam Antioksidan Kapasite (mg AAE/g)
Metanol	327.73±7.44*
Etil Asetat	387.73±8.25
Su	109.55±9.58

* Üç paralel analizin ortalaması ± Standart sapma



Şekil 4.5: *A. capillus-veneris* L.'in farklı özütlerinin toplam antioksidan kapasiteleri grafiği.



Şekil 4.6: Askorbik asidin kalibrasyon eğrisi.

Eğreltilerin fosfomolibdenum testi ile alakalı çok az bilgi bulunmaktadır. Sivaraman vd., (2013) Güney Hindistan'dan toplanan dört *Selaginella* türünü çalışmışlardır. Yazarlar toplam antioksidan kapasitenin 20.20-26.10 g AAE/100 g arasında bulmuşlardır. Diğer araştırmacılar tarafından *Asplenium aethiopicum* antioksidan ve biyolojik aktiviteleri bakımından çalışılmıştır (Marimuthu alias Antonysamy vd., 2014). Araştırmacılar metanol, kloroform, petrol eteri ve asetonu içeren farklı çözücü ekstraksiyonu uygulamışlardır. Çalışmada en yüksek aktivite 188.9 g AA/100 g ile metanol özütünde bulunmuştur. Bizim çalışmamızda, onların bulgularından daha yüksek aktivite elde edilmiştir.

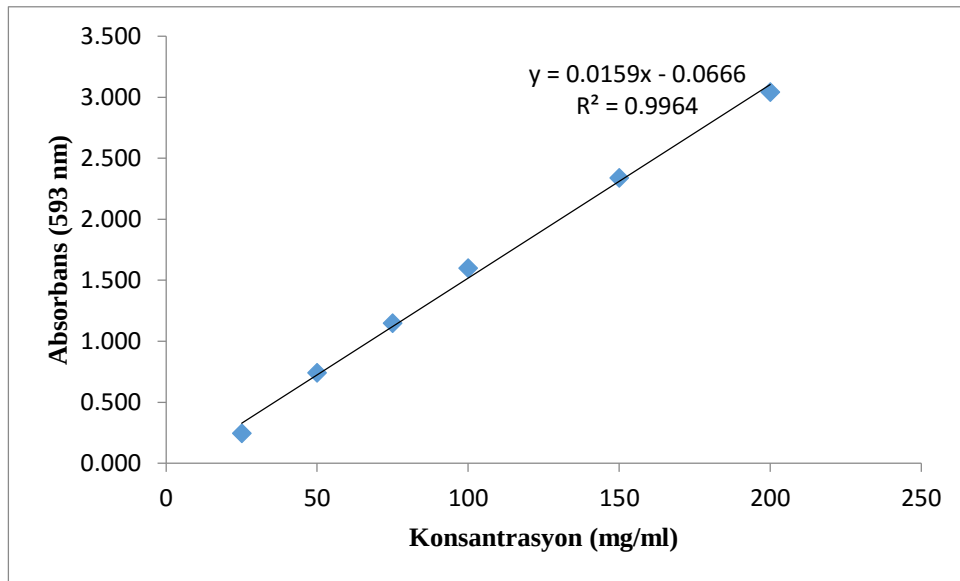
4.1.5. Demir İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP)

Demir indirgeme antioksidan gücü (FRAP) testi bitkilerin antioksidan kapasitesini belirlemek için kullanılan yaygın metotlardan biridir. *A. capillus-veneris* L. özütlerinin indirgeme yeteneği 107-218 mg TE/g düzeylerindedir (Çizelge 4.6). En yüksek indirgeme gücü 218.373 ± 2.88 mg TE/g ile metanol özütünde görülmüştür. Su ve etil asetat özütleri ise sırasıyla 136.196 ± 3.94 ve 107.662 ± 9.69 mg TE/g'dur.

Çizelge 4.6: *A. capillus-veneris* L.'in farklı özütlerinin indirgeme yeteneği.

Özütler	Demir İndirgeme Antioksidan Gücü (mg TE/g)
Metanol	$218.373 \pm 2.88^*$
Etil Asetat	107.662 ± 9.96
Su	136.196 ± 3.94

* Üç paralel analizin ortalaması $\pm$ Standart sapma



Şekil 4.7: Trolox kalibrasyon eğrisi.

Chai vd., (2012) yabancı bir eğrelti olan *Stenochalena palustris*'in demir indirgeme antioksidan gücünü 27 Çin tıbbi bitkisi ile karşılaştırmışlar ve *Stenochalena palustris*'in bu bitkilerden daha yüksek aktiviteye sahip olduğunu göstermişlerdir. Araştırmacılar *S. palustris*'in olgun ve genç üretken yaprak ile olgun ve genç steril yapraklarını çalışmışlardır. Değerler olgun steril yaprağın indirgeme yeteneğinin en yüksek olduğunu (72.36 ± 0.52 mmol Fe²⁺/100 g kuru madde) göstermiştir. Bundan sonra genç üretken yaprak (45.07 ± 0.74 mmol Fe²⁺/100 g kuru madde), genç steril yaprak (41.92 ± 0.90 mmol Fe²⁺/100 g kuru madde) ve olgun üretken yaprak (20.99 ± 0.45 mmol Fe²⁺/100 g kuru madde) gelmektedir.

Pteridium aquilinum'un su özütünün demir iyonu indirgeme aktivitesi (827.6 µmol/L) Xu vd., (2009) tarafından belirlenmiştir. Diğer araştırmacılar Tayvan'dan altı halk tıbbında kullanılan eğreltinin (*Drynaria fortune*, *Pseudodrynaria Coronans*, *Davallia divaricate*, *Davallia mariesii*, *Davallia solida*, *Humata griffithiana*) su ve etanol özütlerinin demir indirgeme antioksidan gücünü belirlemek için testetmişlerdir (Chang vd., 2007). Sonuçlara göre demir indirgeme antioksidan gücü etanol özütünde 400 µg/ml konsantrasyonda 185.10 µg/ml ve su özütünde ise 26.58-193.55 µg/ml arasında bulunmuştur.

4.1.6. Bakır İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi (CUPRAC)

Bakır iyonu indirgeme aktivitesi testi Cu⁺² değerlikli bakırın antioksidanlar ile Cu⁺'a indirgenmesi temeline dayanmaktadır. Canlı organizmalarda Cu⁺² serbest radikalleri üretebilir. Fenolikler gibi bazı biyoaktif bitkisel bileşenler bakır iyonlarını indirgeme gücü aktivitesine sahiptir. Bu çalışmada *A. capillus-veneris* L. özütlerinin indirgeme güçleri araştırılmıştır. Sonuçlarımız etil asetatın en yüksek indirgeme gücüne sahip olduğunu, metanol ve su özütlerinin ise bunu takip ettiğini göstermiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7: *A. capillus-veneris* L.'in farklı özütlerinin 450 nm'deki absorbanları

Konsantrasyon (µg/ml)	Metanol	Etil Asetat	Su
400	0.718	0.744	0.336
200	0.333	0.366	0.163
100	0.191	0.173	0.084
50	0.105	0.101	0.099

4.2. Enzim İnhibitör Etkileri

Enzim inhibitör teorisi Alzheimer hastalığı ve *Diabetes mellitus*'u içeren küresel sağlık problemlerinin tedavisi için en çok kabul edilen stratejilerden biridir. Bu nedenle, enzim inhibitörlerinin yeni kaynakları için yeni araştırmalar bilimsel alanda çok ilgi çekmektedir. *A. capillus-veneris* L. özütlerinin kolinesteraz (asetil ve bütirilkolinesateraz), tirozinaz, amilaz ve glukozidaza karşı enzim inhibitör etkileri araştırılmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.8'de verilmiştir. Etil asetat özütü 0.82 mgGALAEs/g ile en yüksek asetilkolinesteraz aktiviteye sahipken, metanol ve su özütleri bunu takip etmiştir. Ancak çalışılan özütler bütirilkolinesteraz üzerine inhibitör etkiye sahip değildir. Gözlenen farklılıklar kolinesteraz enzimlerinin farklı aktif bölgeleri ile açıklanabilir. Benzer yaklaşım Fang vd. (2011) tarafından da bildirilmiştir. Tirozinaz inhibisyonunda su özütü 24.99 mgKAE/g ile en güçlü inhibitör etkiyi göstermiştir. Benzer şekilde, farklı bitkilerin su özütleri de daha güçlü tirozinaz inhibitörü olarak rapor edilmiştir (Zengin vd., 2014; Zengin vd., 2015). İlginç bir şekilde etil asetat özütü tirozinaz üzerine inhibitör etkiye sahip değildir. Metanol özütü diğer iki özüte kıyasla dikkat çekici bir α -amilaz ve α -glukozidaz inhibitör etkisine sahiptir. Metanol özütü için bu güçlü etki fenoliklerin daha yüksek seviyesi ile açıklanabilir. Bulgular amilaz ve glukozidaz inhibitör etkileri arasında lineer bir korelasyon bildiren değişik araştırmacılar tarafından da desteklenmiştir (Hemalatha vd., 2016; Yang ve Kong, 2016). Bizim bilgilerimize göre bu çalışma, *Adiantum capillus-veneris* L'in enzim inhibitör etkisi üzerine ilk çalışmadır.

Çizelge 4.8: *A. capillus-veneris* L'in farklı özütlerinin enzime inhibitör potansiyeli

Özütler	AChE İnhibisyonu (mgGALAE/g özüt)	BChE İnhibisyonu (mgGALAE/g özüt)	Tirosinaz İnhibisyonu (mgKAE/g özüt)	α -amilaz (mmolACAE/g özüt)	α -glukozidaz (mmolACAE/g özüt)
Etil Asetat	0.82±0.06	na	na	1.31±0.04	1.01±0.09*
Metanol	0.69±0.07	na	22.95±2.55	1.76±0.06	3.69±0.23
Su	0.09±0.02	na	24.99±2.16	0.17±0.01	3.40±0.03

GALAE: Galathamine eşdeğeri; KAE: Kojik asit eşdeğeri; ACAE: Acarbose eşdeğeri; na: aktivite yok. *Üç paralel analizin ortalaması $\pm$ Standart sapma.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması sonucunda Orta Doğu'da yaygın bir yayılışa sahip olan *A. capillus-veneris* L.'in antioksidan ve enzim inhibisyon özellikleri araştırılmıştır. Fenolik ve flavonoid içeriklerinin belirlenmesi ile bitkinin oksidatif strese karşı koruyucu potansiyeli hakkında bilgi sahibi olunması sağlandı. Özellikle flavonoid içeriğinin birçok bitkiye kıyasla oldukça yüksek olduğu gözlenmiştir. Günümüzde artık flavonoid ve fenolik bileşiklerin faydalı etkileri hakkında oldukça geniş bilgiye sahibiz. Çalışılan tür yaygın olarak bulunduğu bu coğrafyada oldukça yaygın tıbbi amaçlarla kullanıma sahiptir. Özellikle böbrek rahatsızlıkları ve böbrek taşının tedavisi gibi halk tıbbında kullanımı sık görülmektedir. Yapılan çalışmalar flavonoidlerin böbrek ve idrar yollarında idrarın akış hızının artırılması ve sodyum, potasyum atımının artırılması gibi etkilere bağlı olarak böbrek taşı oluşumunu engellediği var olan taşların vücuttan atılmasına yardımcı olduğu bilinmektedir. Bizim çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz bulgulara göre yüksek flavonoid içeriği bu bilgiyi doğrulamaktadır. Enzim inhibisyonu çalışmalarında özellikle Alzheimer, şeker hastalığı ve deri hastalıkları gibi günümüzde hemen her toplumda yaygın görülen hastalıkların oluşumuna katkısı olan enzimlerin inhibisyonu çalışılmıştır. Ülkemizde de artık yüksek sıklıklarda görülen bu hastalıkların önlenmesi hem ekonomik açıdan hemde halk sağlığı bakımından büyük önem taşımaktadır. Bu şekilde bu hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için kimyasal ilaçlar yerine tamamen doğal ürünlerin kullanılarak onların yan etkilerinden de kaçınılmış olacaktır.

Çalışma *Adiantum capillus-veneris* L.'in biyolojik aktiviteleri ile ilgili en kapsamlı çalışma olmuştur. Çalışma ile bitkinin halk tıbbında kullanım amaçlarını doğrular nitelikte bilgiler elde edilmiştir. Ayrıca daha ileri çalışmalarla bitkinin diğer özelliklerinin aydınlatılması durumunda farmakoloji endüstrisi açısından önemli potansiyele sahip olacağı düşünülmektedir. Bu nedenle elde edilen bulgular ekonomik ve sağlık açısından da değerlendirilmelidir. İn vitro koşullarda oldukça yüksek aktivite gösteren bitki in vivo deneyler ve sitotoksik çalışmalarla canlılar üzerinde de denenmelidir.

KAYNAKLAR

- Ademiluyi, A. O., ve Oboh, G., 2013. Soybean phenolic-rich extracts inhibit key-enzymes linked to type 2 diabetes (α -amylase and α -glucosidase) and hypertension (angiotensin I converting enzyme) in vitro. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 65, 3, 305-309.
- Agbor, G. A., Vinson, J. A., ve Donnelly, P. E., 2014. Folin-Ciocalteu Reagent for Polyphenolic Assay. *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics*, 3, 8, 147-156.
- Ahmad, I., Hussain, M., Ahmad, M. S. A., Ashraf, M. Y., Ahmad, R., ve Ali, A., 2008. Spatio-temporal variation in physiochemical attributes of *Adiantum capillus veneris* from Sun Valley of salt range (Pakistan). *Pakistan Journal of Botany*, 40, 4, 1387-1398.
- Aksoy-Sagirli, P., Ozsoy, N., Ecevit-Genc, G., ve Melikoglu, G. 2015. In vitro antioxidant activity, cyclooxygenase-2, thioredoxin reductase inhibition and DNA protection properties of *Teucrium sandrasicum* L. *Industrial Crops and Products*, 74, 545-550.
- Aktumsek, A., Zengin, G., Guler, G. O., Cakmak, Y. S., ve Duran, A., 2013. Assessment of the antioxidant potential and fatty acid composition of *four Centaurea L.* taxa from Turkey. *Food Chemistry*, 141, 1, 91-97.
- Aktumsek, A., Zengin, G., Guler, G.O., Cakmak, Y.S., ve Duran, A., 2013. Antioxidant potentials and anticholinesterase activities of methanolic and aqueous extracts of three endemic *Centaurea L.* species. *Food and Chemical Toxicology*, 55, 290-296.
- Al-hallaq, E. K., Litescu, S. C., Kasabri, V., Abdul razzak , K. K., Abaza, I. M. ve Afifi , F. U., 2015. Hypocholestrolemic effects of *Adiantum capillus veneris*

- L. aqueous extract in high cholesterol diet-fed rats and HPLC-MS determination on its polyphenolics. *Academia Romana*, 60 ,4, 357-365.
- Amtul, Z., Siddiqui, R. A., ve Choudhury, M. I., 2002. Chemistry and mechanism of urease inhibition. *Current medicinal chemistry*, 9, 14, 1323-1348.
- Apak, R., Guclu, K., Ozyurek, M., Karademir, S. E., ve Ercag, E. 2006. The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 57, 5/6, 292–304.
- Arcan, İ., 2005. Characterization and Modification of antioxidant proteins from plant materials, *Yuksek Lisans Tezi, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.*
- Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourrat, A., ve Legret, P. 1994. Standardization of a propolis extract and identification of the main constituents. *Journal de pharmacie de Belgique*, 49, 6, 462-468.
- Balakrishnan, K. P., Narayanaswamy, N., ve Duraisamy, A., 2011. Tyrosinase inhibition and anti-oxidant properties of *Muntingla Calabura* extracts: in vitro studies. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2, 1, 294-303.
- Balasundram, N., Sundram, K., ve Samman, S., 2005. Analytical, Nutritional and Clinical Methods Phenolic compounds in plants and agri-industrial by products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99, 1, 191-203.
- Bhattarai, K. R., Vetaas O. R., ve Grytnes, J. A., 2004. Fern species richness along a central Himalayan elevational gradient, Nepal. *Journal of Biogeography*, 31, 3,389-400.
- Bunyapaiboonsri, T., Ramström, O., Lohmann, S., Lehn, J. M., Peng, L., ve Goeldner, M., 2001. Dynamic Deconvolution of a Pre Equilibrated Dynamic Combinatorial Library of Acetylcholinesterase Inhibitors. *ChemBioChem*, 2, 6, 438-444.

- Çakmak, Y. S., Aktumsek, A., ve Duran, A., 2012. Studies on antioxidant activity, volatile compound and fatty acid composition of different parts *Glycyrrhiza echinata* L. EXCLI Journal, 11,178-187.
- Cakmak, Y. S., Kaya, M., Asan-Ozusaglam, M., 2014. Biochemical composition and bioactivity screening of various extracts from *dunaliella salina*, a green microalga. EXCLI journal, 13, 679.
- Cao, G., Sofic, E., ve Prior, R. L., 1996. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. Free Radical Biology and Medicine, 22, 5, 749-760.
- Cao, J., Zheng, Y., Xia, X., Wang, Q., ve Xiao, J., 2015. Total flavonoid contents, antioxidant potential and acetylcholinesterase inhibition activity of the extracts from 15 ferns in China. Industrial Crops and Products, 75, 135-140.
- Carocho, M., ve Ferreira, I. C., 2013. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. Food and Chemical Toxicology, 51, 15-25.
- Cengiz, S., Mammadov, R., Aykurt, C., ve Tasdelen, G., 2015. Variations in antioxidant enzyme levels of rats exposed to ethanol extracts of *Convolvulus* species. Industrial Crops and Products, 74, 304-308.
- Chai, T. T., Elamparuthi, S., Yong, A. L., Quah, Y., Ong, H. C., ve Wong, F. C., 2013. Antibacterial, anti-glucosidase, and antioxidant activities of selected highland ferns of Malaysia. Botanical Studies, 54(55), 1-7.
- Chai, T. T., Kwek, M. T., Ong, H. C., ve Wong, F. C., 2015. Water fraction of edible medicinal fern *Stenochlaena palustris* is a potent α -glucosidase inhibitor with concurrent antioxidant activity. Food chemistry, 186, 1, 26-31.
- Chai, T. T., Panirchellvum, E., Ong, H. C., ve Wong, F. C., 2012. Phenolic contents and antioxidant properties of *Stenochlaena palustris*, an edible medicinal fern. Botanical Studies, 53, 4, 439-446.

- Chang, H. C., Huang, G. J., Agrawal, D. C., Kuo, C. L., Wu, C. R., ve Tsay, H. S., 2007. Antioxidant activities and polyphenol contents of six folk medicinal ferns used as “Gusuibu”. *Botanical Studies*, 48, 4, 397-406.
- Chang, T. S., 2009. An Updated Review of Tyrosinase Inhibitors. *International Journal of Molecular Sciences*, 10, 6, 2440-2475.
- Chauhan, P. S., Puri, N., Sharma, P., ve Gupta, N., 2012. Mannanases: microbial sources, production, properties and potential biotechnological applications. *Applied microbiology and biotechnology*, 93, 5, 1817-1830.
- Çokuğraş, A. N., 2003. Butyrylcholinesterase: Structure and Physiological Importance. *Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry]*, 28, 2, 54-61.
- Colovic, M. B., Krstic, D. Z., Lazarevic-Pacti1, T. D., Bondzic, A. M., ve Vasic, V. M., 2013. Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology. *Current Neuropharmacology*, 11, 3, 315-335.
- Dong, H. Q., Li, M., Zhu, F., Liu, F. L., F. L., ve Huang, F. L., 2012. Inhibitory potential of trilobatin from *Lithocarpus polystachyus* Rehd against α -glucosidase and α -amylase linked to type 2 diabetes. *Food Chemistry*, 130, 2, 261–266.
- Fang, L., Pan, Y., Muzyka, J. L., ve Zhan, C. G., 2011. Active site gating and substrate specificity of butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase: insights from molecular dynamics simulations. *The Journal of Physical Chemistry B*, 115, 27, 8797-8805.
- Finaud, J., Lac, G., ve Filaire, E., 2006. Oxidative Stress Relationship with Exercise and Training. *review article*, 36, 4, 327-358.
- Gaikwad, K., Dhande S., Joshi Y. M., ve Kadam V., 2013. Protective Effect of *Adiantum Capillus* against Chemically Induced Oxidative Stress by Cisplatin. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3, 2, 065-068.

- Gülçin, İ., 2012. Antioxidant activity of food constituents: an overview. Archives of Toxicology, 86, 3, 345-391.
- Güler, B., Manav, E., ve Uğurlu, E., 2015. Medicinal plants used by traditional healers in Bozüyük (Bilecik–Turkey). Journal of Ethnopharmacology, 173, 39-47.
- Hagerman, A. E., Riedl, K. M., Jones, G. A., Sovik, K. N., Ritchard, N. T., Hartzfeld, P. W., ve Riechel, T. L., 1998. High Molecular Weight Plant Polyphenolics (Tannins) as Biological Antioxidants. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46, 5, 1887-1892.
- Haider, S., Nazreen, S., Alam, M. M., Gupta, A., Hamid, H., ve Alam, M. S., 2011. Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of ethanolic extract and its various fractions from *Adiantum capillus veneris* Linn. Journal of Ethnopharmacology, 138, 3, 741-747.
- Halliwell, B., 2001. Free Radicals and other reactive species in Disease. Encyclopedia of Life Sciences. Nature Publishing Group.
- Hemalatha, P., Bomzan, D. P., Rao, B. S., ve Sreerama, Y. N., 2016. Distribution of phenolic antioxidants in whole and milled fractions of quinoa and their inhibitory effects on α -amylase and α -glucosidase activities. Food Chemistry, 199, 330-338.
- Hornbeck, J. H., Reyher, D., Sieg, C. H., ve Crook, R. W., 2003. Conservation Assessment for Southern Maidenhair Fern and Stream Orchid in the Black Hills National Forest South Dakota and Wyoming. United States Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Region, Black Hills National Forest. Custer, SD. Available on-line at: <http://www.fs.fed.us/r2/projects/scp/assessments/>.
- Ibraheim, Z. Z., Ahmed, A. S. Yaser, ve Gouda, G., 2011. Phytochemical and biological studies of *Adiantum capillus-veneris* L. Saudi Pharmaceutical Journal, 19, 2, 65-74.

- Ishaq, M. S., Hussain, M. M., Afridi, M. S., Ali, G., Khattak, M., Ahmad, S., ve Shakirullah, 2014. *In Vitro* Phytochemical, Antibacterial, and Antifungal Activities of Leaf, Stem, and Root Extracts of *Adiantum capillus veneris*. The Scientific World Journal, Volume 2014, Article ID 269793, 7 pages. doi:10.1155/2014/269793.
- Janbaz, K. H., Hassan, V., Mehmood M. H. ve Gilani A. H., 2015. Antidiarrheal and antispasmodic activities of *Adiantum capillus veneris* are predominantly mediated through ATP-dependent K⁺ channel activation. Bangladesh Journal of Pharmacology, 10, 1, 222-229.
- Jeger, R. V. 2013. Mens sana in corpore sano revisited. European Heart Journal, 34, 33, 2580-2581.
- Jiang, M.Z., Yan, H., Wen, Y., ve Li, X. M., 2011. *In vitro* and *in vivo* studies of antioxidant activities of flavonoids from *Adiantum capillus-veneris* L. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 5, 18, 2079-2085.
- Ju, E. M., Lee, S. E., Hwang, H. J., ve Kim, J. H., 2004. Antioxidant and anticancer activity of extract from *Betula platyphylla* var. *japonica*. Life sciences, 74, 8, 1013-1026.
- Juranović Cindrić, I., Kunštić, M., Zeiner, M., Stinger, G., ve Rusak, G., 2011. Sample preparation methods for the determination of the antioxidative capacity of apple juices. Croatica chemica acta, 84, 3, 435-438.82.
- Karakoca, K., Asan-Ozusaglam, M., Cakmak, Y. S., ve Teksen, M., 2015. Phenolic Compounds, Biological and Antioxidant Activities of *Onobrychis armena* Boiss. & Huet Flower and Root Extracts. Chiang Mai Journal of Science, 42, 2, 376-392.
- Karakoca, K., Ozusaglam, M. A., Cakmak, Y. S., ve Erkul, S. K., 2013. Antioxidative, antimicrobial and cytotoxic properties of *isatis floribunda* bioss. Ex bornm. Extracts. Excli journal, 12, 150-167.

- Khan, N., Al-Daghri, N. M., Al-Ajlan, A. S., ve Alokail, M. S., 2014. The use of natural and derived sources of flavonoids and antioxidants in Saudi Arabia. Research article, 1, 2, 100-106.
- Kim, D. B., Shin, G. H., Kim, J. M., Kim, Y. H., Lee, J. H., Lee, J. S., Song, H. J., Choe, S. Y., Park, I. J., Cho, J. H., ve Lee, O.H., 2015. Antioxidant and anti-ageing activities of citrus-based juice mixture. Food Chemistry, 194, 920-927.
- Kumar, A., 2009. Antioxidant effect of *Adiantum capillus veneris* Linn on human lymphocyte: an in vitro study. Journal of Cell and Tissue Research, 9, 2, 1899-1902.
- Lee, C. H., ve Shin, S. L., 2010. Functional activities of ferns for human health. In Working with ferns. Springer New York, 347-359.
- Li, B., Sedlacek, M., Manoharan, I., Boopathy, R., Duysen, E. G., Masson, P., ve Lockridge, O., 2005. Butyrylcholinesterase, paraoxonase, and albumin esterase, but not carboxylesterase, are present in human plasma. Biochemical Pharmacology, 70, 11, 1673-1684.
- Li, M., Xu, Y., Yang, W., Li, J., Xu, X., Zhang, X., Chen, F., ve Dapeng L., 2011. In vitro synergistic anti-oxidant activities of solvent-extracted fractions from *Astragalus membranaceus* and *Glycyrrhiza uralensis*. LWT - Food Science and Technology, 44, 8, 1745-1751.
- Lin, A. H. M., Lee, B. H., ve Chang, W. J., 2015. Small intestine mucosal α -glucosidase: A missing feature of in vitro starch digestibility. Food Hydrocolloids, 53, 163-171.
- Lindsay, S., Suksathan P., ve Middleton, D. J., 2010. A new species of *Adiantum* (Pteridaceae) from northern Thailand. Thai Forest Bulletin (Botany), 38, 67-69.
- Lockridge, O., 2014. Review of human butyrylcholinesterase structure, function, genetic variants, history of use in the clinic, and potential therapeutic uses. Pharmacology and Therapeutics, 148, 34-46.

- Maestri D.M., Nepote V., Lamarque A. L., ve Zygadlo J.A., 2006. Natural products as antioxidants, *Phytochemistry. Advances in Research*, 105-135.
- Mandal, S., Yadav, S., Yadav, S., ve Nema, R. K., 2009. Antioxidants: A Review. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 1, 1, 102-104.
- Marimuthu alias Antonysamy, J., Janarthanan, G., Arumugam, S., Narayanan, J., ve Mani, N., 2014. Antioxidant, Larvicidal, and Cytotoxic Studies on *Asplenium aethiopicum* (Burm. f.) Becherer. *International Scholarly Research Notices*, 2014, Article ID 876170, 6 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/876170>.
- McGarry, K. G., Bartlett, R. A., Machesky, N. J., Snider, T. H., Moyer, R. A., Yeung, D. T., ve Brittain, M. K., 2013. Evaluation of HemogloBind™ treatment for preparation of samples for cholinesterase analysis. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 4, 12, 1020-1023.
- Murray, A. P., Faraoni, M. B., Castro, M. J., Alza N. P., ve Cavallaro, V., 2013. Natural AChE Inhibitors from Plants and their Contribution to Alzheimer's disease Therapy. *Current Neuropharmacology*, 11, 4, 388-413.
- Ndhlala, A. R., Aremu, A. O., Moyo, M., Amoo, S. O., ve Van Staden, J., 2012. *Acetylcholinesterase inhibitors from plant sources: friends or foes. Cholinesterase: Production, Uses and Health Effects*, Nova Science Publishers, Inc., New York, USA.
- Nilforoushzadeh, M. A., Javanmard, S. H., Ghanadian, M., Asghari, G., Jaffary, F., Yakhani, A. F., Dana N., ve Fatemi, S. A., 2014. The Effects of *Adiantum capillus veneris* on Wound Healing: An Experimental in Vitro Evaluation. *International Journal of Preventive Medicine*, 5, 10, 1261-1268.
- Orhan, I. E., Senol, F.S., Gulpinar, A.R., Sekeroglu, N., Kartal, M., ve Sener, B., 2012. Neuroprotective potential of some terebinth coffee brands and the unprocessed fruits of *Pistacia terebinthus* L. and their fatty and essential oil analyses. *Food Chemistry*. 130, 4, 882-888.

- Ozougwu, J. C., Obimba, K. C., Belonwu, C. D., ve Unakalamba, C. B., 2013. The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Jornal of physiology and pathophiology*, 4, 4, 46-57.
- Oztaskin, N. O., Cetinkaya, V., Taslimi, P., Goksu, S., ve Gulcin, I., 2015. Antioxidant and acetylcholinesterase inhibition properties of novel bromophenol derivatives. *Bioorganic Chemistry*, 60, 49-57.
- Palanisamy, U.D., Ling, L.T., Manaharan, T., ve Appleton, D., 2011. Rapid isolation of geraniin from *Nephelium lappaceum* rind waste and its anti-hyperglycemic activity. *Food Chemistry*. 127, 1, 21–27.
- Peng, H., Brimijoin, S., Hrabovska, A., Krejci, E., Blake, T. A., Johnson, R. C., Masson, P., ve Lockridge, O., 2016. Monoclonal antibodies to human butyrylcholinesterase reactive with butyrylcholinesterase in animal plasma. *Chemico-Biological Interactions*, 243, 82-90.
- Pham-Huy, L. A., He, H., ve Pham-Huy, C., 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International journal of Bio medical science*, 4, 2, 89-96.
- Qader, G., Dizaye, K., ve Mahwi, T., 2011. Hypoglycemic, antihistaminic and diuretic effects of aqueous extract of *Adiantum capillus*. *Iraqi Journal of Pharmacy*, 11, 1.
- Qi, G., Yang, L., Xiao, C., Shi, J., Mi, Y., ve Liu, X. 2015. Nutrient values and bioactivities of the extracts from three fern species in China: a comparative assessment. *Food and function*, 6, 9, 2918-2929.
- Rahim, F., Javed, M. T., Ullah, H., Wadood, A., Taha, M., Ashraf, M., Qurat-ul-Ain, Khan, M. A., Khan, F., Mirza, S., ve Khan, K. M., 2015. Synthesis, molecular docking, acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory potential of thiazole analogs as new inhibitors for Alzheimer disease. *Bioorganic Chemistry*, 62, 106-116.
- Rajurkar, N. S., ve Gaikwad, K., 2012. Evaluation of phytochemicals, antioxidant activity and elemental content of *Adiantum capillus veneris* leaves. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 4, 1, 365-374.

- Ranjan, V., Vats, M., Gupta, N., ve Sardana, S., 2014. Antidiabetic Potential of Whole Plant of *Adiantum capillus veneris* Linn. In Streptozotocin Induced Diabetic Rats. International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 6, 4, 341-347.
- Rodriquez, M. O., ve flurkey, W. H., 1992. A Biochemistry Project to Study Mushroom Tyrosinase Enzyme Localization. Isoenzymes, and Detergent Activation, 69, 9, 767-769.
- Sanda, M. A., Zengin, G., Aktumsek, A., ve Cakmak, Y. S., 2015. Evaluation of antioxidant potential of two Daphne species (*D. gnidioides* and *D. pontifica*) from Turkey. Emirates Journal of food and Agriculture, 27, 6, 488-494.
- Santosh Kumar, S., Ramakrishnan R, S. P, ve Nagarajan N., 2014. Gas chromatography and mass spectrometry analysis of bioactive constituents of *Adiantum capillus veneris* L. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 6, 4, 60-63.
- Santosh Kumar, S., Samyudurai, P., Ramakrishnan R., ve Nagarajan, N., 2013. Polyphenols, Vitamin-E Estimation and *In Vitro* Antioxidant Activity of *Adiantum Capillus-Veneris*. International Journal of Innovative Pharmaceutical Research, 4, 1, 258-262.
- Sarikurkcü, C., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., ve Harmandar, M., 2008. Studies on the antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of *Marrubium globosum* subsp. *globosum* (lamiaceae) by three different chemical assays. Bioresource Technology, 99, 10, 4239-4246.
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. S. R., ve De, B., 2010. Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 3, 1, 91-100.
- Shen, T., Tai, K., Henchman, R. H., ve McCammon, J. A., 2002. Molecular dynamics of acetylcholinesterase. Accounts of chemical research, 35, 6, 332-340.

- Sivaraman, A., Johnson, M., Parimelazhagan, T., ve Irudayaraj, V., 2013. Evaluation of antioxidant potential of ethanolic extracts of selected species of Selaginella. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 4, 3, 238-244.
- Stoilova, I., Krastanov, A., Stoyanova, A., Denev, P., ve Gargova, S., 2007. Antioxidant activity of a ginger extract (*Zingiber officinale*). *Food chemistry*, 102, 3, 764-770.
- Trouillas, P., Calliste, C.A., Allais, D.P., Simon, A., Marfak, A., Delage, C., ve Duroux, J.L., 2003. Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative properties of sixteen water plant extracts used in the Limousin countryside as herbal teas. *Food Chemistry* 80, 3, 399-407.
- Vaibhav, S., ve Lakshaman, K., 2012. Tyrosinase enzyme inhibitory activity of selected Indian herbs. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 3, 3, 977-982.
- Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M. T.D., Mazur M., ve Telser J., 2006. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39, 1, 44-84.
- Wong, S. P., Leong, L. P., ve Koh, J. H. W., 2006. Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food chemistry*, 99, 4, 775-783.
- Xia, X., Cao, J., Zheng, Y., Wang, Q., ve Xiao, J., 2014. Flavonoid concentrations and bioactivity of flavonoid extracts from 19 species of ferns from China. *Industrial Crops and Products*, 58, 91-98.
- Xiao-Ping, Y., Chun-Qing, S., Ping, Y., ve Ren-Gang, M., 2010. α -Glucosidase and α -Amylase Inhibitory Activity of Common Constituents from Traditional Chinese Medicine Used for Diabetes Mellitus. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 8, 5, 0349-0352.
- Xie, Y., Zheng, Y., Dai, X., Wang, Q., Cao, J., ve Xiao, J., 2015. Seasonal dynamics of total flavonoid contents and antioxidant activity of *Dryopteris erythrosora*. *Food chemistry*, 186, 1, 113-118.

- Xiufen, W., Hiramatsu, N., ve Matsubara, M., 2004. The antioxidative activity of traditional Japanese herbs. *BioFactors*, 21, 1-4, 281-284.
- Xu, W., Zhang, F., Luo, Y., Ma, L., Kou, X., ve Huang, K. 2009. Antioxidant activity of a water-soluble polysaccharide purified from *Pteridium aquilinum*. *Carbohydrate research*, 344, 2, 217-222.
- Yang, J., Kwon, Y. S., ve Kim, M. J., 2015. Isolation and characterization of bioactive compounds from *Lepisorus thunbergianus* (Kaulf.). *Arabian Journal of Chemistry*, 8, 3, 407-413.
- Yang, X., ve Kong, F., 2016. Effects of tea polyphenols and different teas on pancreatic α -amylase activity in vitro. *LWT-Food Science and Technology*, 66, 232-238.
- Yang, X-W., Huang, M-Z., Jin, Y-S., Sun, L-N., Song, Y., ve Chen, H-S., 2012. Phenolics from *Bidens bipinnata* and their amylase inhibitory properties. *Fitoterapia* 83, 7, 1169-1175.
- Ye, F., Liang, Q., Lic, H., ve Zhao, G., 2015. Solvent effects on phenolic content, composition, and antioxidant activity of extracts from florets of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Industrial Crops and Products*, 76, 574-581.
- Yoshikawa, T., ve Naito, Y., 2002. What is oxidative stress?. *Japan Medical Association Journal*, 45, 7, 271-276.
- Yuliana, N. D., Khatib, A., Link-Struensee, A. M., Ijzerman, A. P., Rungkat-Zakaria, F., Choi, Y. H., ve Verpoorte, R., 2009. Adenosine A1 receptor binding activity of methoxy flavonoids from *Orthosiphon stamineus*. *Planta medica*, 75, 2, 132-136.
- Zengin, G., Arkan, T., Aktumsek, A., Guler, G. O., ve Cakmak, Y. S., 2011. A study on antioxidant capacities and fatty acid compositions of two *Daphne* species from turkey: new sources of antioxidants and essential fatty acids. *Journal of Food Biochemistry*, 37, 6, 646-653.

- Zengin, G., Ceylan, R., Uysal, S., ve Aktumsek, A., 2015. Biological Activities of Three Extracts from *Artemisia squamata*: A Study on Antioxidant and Enzyme Inhibitory Potential. *Current Bioactive Compounds*, 11, 3, 152-155.
- Zengin, G., Guler, G. O., Aktumsek, A., Ceylan, R., Picot, C. M. N., ve Mahomoodally, M. F., 2015. Enzyme inhibitory properties, antioxidant activities and phytochemical profile of three medicinal plants from Turkey. *Advances in Pharmacological Sciences* Volume 2015, Article ID 410675, 8 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/410675>.
- Zengin, G., Uysal, A., Gunes, E., ve Aktumsek, A., 2014. Survey of Phytochemical Composition and Biological Effects of Three Extracts from a Wild Plant (*Cotoneaster nummularia* Fisch. et Mey.): A Potential Source for Functional Food Ingredients and Drug Formulations. *PloS one*, 9, 11, e113527.
- Zhao, D.G., Zhou, A.Y. Du, Z., Zhang, Y., Zhang, K., ve Ma, Y. Y., 2015. Coumarins with α -glucosidase and α -amylase inhibitory activities from the flower of *Edgeworthia gardneri*. *Fitoterapia*, 107, 122-127.
- URL-1 <<http://chemwiki.ucdavis.edu> >, alındığı tarih: 10.02.2016.
- URL-2 <<http://www.wikipedia.com>>, alındığı tarih: 10.02.2016.
- URL-3 <<http://www.wikipedia.com> >, alındığı tarih: 06.01.2016.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı: Ako Hamasaeed Abdulqadir

Doğum Tarihi ve Yeri: 01.01.1984 - Süleymaniye-Irak

E-posta adresi: akodekony@gmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans: Sulaimani Üniversitesi, 2005-2009.

Yüksek Lisans: Aksaray Üniversitesi, 2014-2016.