

FAİZA TABASSUM AZAMI

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL-2021

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**ALLIUM LAZİKKIYENSE TÜRÜNÜN ÇEŞİTLİ
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN VE LC-MS/MS ANALİZİ
İLE FENOLİK İÇERİĞİNİN BELİRLENMESİ**

FAİZA TABASSUM AZAMİ

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. TUĞBA YILMAZ ÖZDEN**

**BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
BİYOKİMYA YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

İSTANBUL-2021

İTHAF

Her koşulda benimle olan aileme ve danışman hocama ithaf ediyorum.



TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimimin ve tez çalışmamın başarılı bir şekilde yürütülmesinde, baştan sonuna kadar desteğini esirgemeyen, tezimin tüm aşamalarında büyük bir sabırla ve her koşulda bana yol gösteren değerli danışman hocam Doç. Dr. Tuğba YILMAZ ÖZDEN'e,

Lisansüstü eğitimim boyunca bana destek olan Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Nuriye AKEV'e, Prof. Dr. Nurten ÖZSOY'a, Prof. Dr. Pınar AKSOY SAĞIRL'ya ve bu destektelerinin yanı sıra tezimin düzenlemesinde de yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Ayşe CAN'a ve Doç. Dr. Özlem KURT ŞİRİN'e,

Tez çalışmalarım sırasında deneylerin yapılmasında ve değerlendirilmesinde bana büyük bir katkı sağlayan Araş. Gör. Dr. Gözde HASBAL ÇELİKOK'a,

Hücre kültürü ve sitotoksik analizlerin yapılmasında ve değerlendirilmesinde büyük katkı sağlayan İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde görevli Araş. Gör. Yasin ÇELİKOK ve Araş. Gör. Servet DURANAY'a,

Bitki örneklerinin toplanması ve teşhisi için İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Mine KOÇYİĞİT AVCI'ya,

Tez yazımı sırasında yabancı dilden çevirilerde destek olan sevgili arkadaşım Evin ASMANA'a

Her zamanda yanımda olan aileme ve tez çalışmam sırasında bana destek olan herkese teşekkürü bir borç bilirim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 36957

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
BEYAN.....	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
İTHAF.....	İİ
TEŞEKKÜR.....	İİİ
İÇİNDEKİLER	İV
TABLolar LİSTESİ.....	Vİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	Vİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Vİİİ
ÖZET	X
ABSTRACT.....	Xİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Serbest Radikaller	4
2.1.1. Reaktif Oksijen Türleri	4
2.1.2. Reaktif Nitrojen Türleri (RNS) ve Nitrik Oksit (NO).....	6
2.2. Oksidatif Stres.....	7
2.3. Antioksidanlar.....	8
2.3.1. Antioksidanların Sınıflandırılması.....	8
2.3.1.1. Enzimatik Antioksidan Sistemi.....	9
2.3.1.2. Enzimatik Olmayan Antioksidan Sistemi	10
2.4. Diabetes Mellitus	11
2.4.1. Tip 1 Diyabet - İnsüline Bağımlı Diabetes Mellitus (IDDM).....	11
2.4.2. Tip 2 Diyabet - İnsüline Bağımlı Olmayan Diabetes Mellitus (NIDDM)).....	12
2.5. Alzheimer Hastalığı	13
2.6. Kanser	15
2.6.1. Meme Kanseri	17
2.7. <i>Allium</i> Cinsi ve Genel Özellikleri	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	21
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	22

3.3. Bitki Örneği	22
3.4. Kullanılan Yöntemler.....	23
3.4.1. <i>A. lazikkiyense</i> Ekstrelerin Hazırlanması	23
3.4.2. Total Fenolik Bileşiklerin Tayini.....	23
3.4.3. Total Flavonoid Bileşiklerin Tayini	24
3.4.4. LC-MS/MS Analizi.....	25
3.4.5. Antioksidan Aktivite Tayini.....	26
3.4.5.1. DPPH Radikali Giderici Aktivite Tayini	26
3.4.5.2. Demir(III) İyonu Redükleyici Antioksidan Potansiyeli (FRAP) Tayini.....	26
3.4.6. Antidiyabetik Aktivite Tayini	28
3.4.6.1. α -Glukozidaz İnhibe Edici Aktivite Tayini.....	28
3.4.6.2. α -Amilaz İnhibe Edici Aktivite Tayini	29
3.4.7. Anti-Alzheimer Aktivite Tayini.....	30
3.4.7.1. Asetilkolinesteraz (AChE) İnhibe Edici Aktivite Tayini	30
3.4.7.2. Butirilkolinesteraz (BChE) İnhibe Edici Aktivite Tayini	31
3.4.8. Antikanser Aktivite Tayini.....	32
3.4.8.1. Sitotoksosite Tayini.....	33
4. BULGULAR.....	36
4.1. <i>A. lazikkiyense</i> Ekstrelerinin Total Fenolik ve Flavonoid Miktarları	36
4.2. LC-MS/MS ile <i>A. lazikkiyense</i> Ekstrelerinin Fenolik İçerik Analizi.....	37
4.3. <i>A. lazikkiyense</i> Ekstrelerinin DPPH Radikali Giderici Aktivitesi	41
4.4. <i>A. lazikkiyense</i> Ekstrelerinin Demir(III) İyonu Redükleyici Antioksidan Potansiyeli (FRAP)	42
4.5. <i>A. lazikkiyense</i> Ekstrelerinin α -Glukozidaz İnhibe Edici Aktivitesi.....	43
4.6. <i>A. lazikkiyense</i> Ekstrelerinin α -Amilaz İnhibe Edici Aktivitesi	44
4.7. <i>A. lazikkiyense</i> Ekstrelerinin Asetilkolinesteraz (AChE) İnhibe Edici Aktivitesi	45
4.8. <i>A. lazikkiyense</i> Ekstrelerinin Butirilkolinesteraz (BChE) İnhibe Edici Aktivitesi..	46
4.9. <i>A. lazikkiyense</i> Ekstrelerinin Antikanser Aktivitesi.....	47
5. TARTIŞMA	48
KAYNAKLAR	55
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	66
ÖZGEÇMİŞ	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Reaktif oksijen türleri.....	5
Tablo 2-2: Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan sistemi	9
Tablo 4-1: <i>A. lazikkiyense</i> ekstrelerinin total fenolik ve flavonoid miktarları.....	36
Tablo 4-2: <i>A. lazikkiyense</i> ekstrelerindeki fenolik bileşiklerin miktarları (mg/kg)	38
Tablo 4-3: <i>A. lazikkiyense</i> ekstreleri ve kersetinin DPPH radikali giderici aktiviteleri (%)	41
Tablo 4-4: <i>A. lazikkiyense</i> ekstrelerin ve kersetinin demir indirgeyici güçleri.....	43
Tablo 4-5: <i>A. lazikkiyense</i> ekstreleri ve akarbozun α -glukozidaz inhibe edici aktiviteleri (%)	43
Tablo 4-6: <i>A. lazikkiyense</i> ekstreleri ve akarbozun α -amilaz inhibe edici aktiviteleri (%)	44
Tablo 4-7: <i>A. lazikkiyense</i> ekstreleri ve galantaminin AChE inhibe edici aktiviteleri (%)	45
Tablo 4-8: <i>A. lazikkiyense</i> ekstreleri ve galantaminin BChE inhibe edici aktiviteleri (%)	46
Tablo 4-9: <i>A. lazikkiyense</i> ekstrelerinin MCF-7 hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri	47

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Guanin ve 8-hidroksiguanin molekül yapısı	7
Şekil 2-2: <i>Allium lazikkiyense</i> M. Koçyiğit, N. Özhatay & E. Kaya	20
Şekil 4-1: <i>A. lazikkiyense</i> ekstrelerinin total fenolik ve flavonoid miktarları.....	37
Şekil 4-2: <i>A. lazikkiyense</i> ekstrelerinin LC-MS/MS kromatogramları	40
Şekil 4-3: <i>A. lazikkiyense</i> ekstrelerinin DPPH radikali giderici aktiviteleri (%)	42
Şekil 4-4: <i>A. lazikkiyense</i> ekstreleri ve akarbozun α -glukozidaz inhibe edici aktiviteleri	44
Şekil 4-5: <i>A. lazikkiyense</i> ekstrelerinin AChE inhibe edici aktiviteleri	46

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

AChE	Asetilkolinesteraz
BChE	Butirilkolinesteraz
APP	Amiloid öncü proteini
DCM	Diklorometan
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNS	3,5-dinitrosalisilik asit
DPBS	Dulbecco's phosphate-buffered saline
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
DTNB	5,5'-ditiyo-bis-(2-nitrobenzoik asit)
EC ₅₀	Yarı maksimum etkili konsantrasyon
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
EtOH	Etanol
FBS	Fetal Bovine Serum
FRAP	Demir iyonu redükleyici antioksidan potansiyeli
GSH	Glutasyon
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
GSH-R	Glutasyon redüktaz
GST	Glutasyon-S-transferaz
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
IC ₅₀	Yarı maksimum inhibisyon konsantrasyonu
IDDM	İnsüline bağımlı diyabet mellitus
LC-MS/MS	Sıvı kromatografisi-sıralı kütle spektrometresi
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
MetOH	Metanol

MTT	3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür
NIDDM	İnsüline bağımlı olmayan diyabet mellitus
NO	Nitrik oksit
$\cdot\text{OH}$	Hidroksil radikali
ONOO^-	Peroksinitrit anyonu
$\text{O}_2^{\cdot-}$	Süperoksit anyonu
ROS	Reaktif oksijen türleri
RNS	Reaktif nitrojen türleri
SK	Soğan kabuğu
SOD	Süperoksit dismutaz
TPTZ	2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazin
TÜ	Toprak üstü

ÖZET

Azami, F.T. (2021). *Allium lazikkiyense* Türünün Çeşitli Biyolojik Aktivitelerinin ve LC-MS/MS Analizi ile Fenolik İçeriğinin Belirlenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Allium türleri gıda olarak tüketilmesinin yanında dünyanın birçok yerinde halk arasında hemoroid, kulak ağrısı, diyabet, zehirlenme ve hipertansiyon gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadır. Bu çalışmanın amacı; endemik *Allium lazikkiyense* (Amaryllidaceae) türünün toprak üstü ve soğan kabuğu kısımlarından hazırlanan etanol, metanol ve diklorometan ekstralarının LC-MS/MS analizi kullanılarak fitokimyasal içeriğinin ve *in vitro* olarak antioksidan, antidiyabetik, anti-Alzheimer ve antikanser aktivitelerinin belirlenmesidir. Ekstrelerin antioksidan potansiyelinin belirlenmesi için total fenolik ve flavonoid içerikleri, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal giderici aktiviteleri ve demir indirgeyici güçleri, antidiyabetik aktivitesinin belirlenmesi için α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerini inhibe edici etkileri ve anti-Alzheimer aktivitesinin belirlenmesi için asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirilkolinesteraz (BChE) enzimlerini inhibe edici etkileri ölçüldü. Ayrıca, ekstraların antikanser aktivitesinin saptanması için meme kanseri hücre hattı (MCF-7) üzerindeki sitotoksik etkileri tayin edildi. Sonuçlar incelendiğinde, *A. lazikkiyense* ekstralarındaki majör bileşiklerin toprak üstünde fumarik asit, p-kumarik asit, askorbik asit ve hiperosit, soğan kabuğunda ise sarsapogenin, kafeik asit ve fumarik asit olduğu saptandı. Etanol ekstralarının hem toprak üstü hem soğan kabuğu kısımlarında en yüksek total fenolik ve flavonoid içeriğe ve antioksidan aktiviteye sahip olduğu görüldü. Toprak üstü ekstralarının α -glukozidaz inhibe edici aktivitelerinin buna karşın soğan kabuğu ekstralarının sitotoksik etkilerinin daha yüksek olduğu bulundu. Tüm ekstralar α -amilaz, AChE ve BChE üzerine düşük düzeyde inhibisyon gösterdi. Çalışmamız, *A. lazikkiyense* bitkisinin toprak üstü ve soğan kabuğu kısımlarının antioksidan, antidiyabetik ve antikanser aktivitelere sahip bileşiklerin doğal bir kaynağı olabileceğini ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: *Allium lazikkiyense*, Fenolik içerik, Antioksidan, Antidiyabet, Anti-Alzheimer, Antikanser

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 36957

ABSTRACT

Azami, F.T. (2021). Determination of the Various Biological Activities of *Allium lazikkiyense* and Its Phenolic Profile by LC-MS/MS Analysis. Istanbul University, Institute of Health Science, Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry, Masters of Science Thesis, Istanbul.

Allium species are consumed as food and used in the traditional treatment of various diseases such as haemorrhoids, earache, diabetes, poisoning, wounds and hypertension in many countries. The aim of this study is to phytochemical analysis with LC-MS/MS and measure *in vitro* antioxidant, antidiabetic, anti-Alzheimer and anticancer activities of ethanol, methanol and dichloromethane extracts prepared from the aerial parts and onion peels of the endemic *Allium lazikkiyense* (Amaryllidaceae). Total phenolic and flavonoid contents, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity and iron reducing power were measured for determination of antioxidant potential of the extracts. α -Amylase and α -glucosidase inhibitory effects and acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE) inhibitory effects were measured for determination of antidiabetic and anti-Alzheimer activities of the extracts, respectively. In addition, the cytotoxic effects of the extracts on breast cancer cell line (MCF-7) were measured to evaluate the anticancer activity. The results indicated that the major compounds in *A. lazikkiyense* extracts were fumaric acid, p-coumaric acid, ascorbic acid and hyperoside in aerial parts and sarsapogenin, caffeic acid and fumaric acid in onion peels. It was observed that ethanol extracts had the highest total phenolic and flavonoid content and antioxidant activity in both aerial parts and onion peels. Also, the results showed that extracts of aerial part had strong α -glucosidase inhibitory activity whereas the extracts of onion peels had potent cytotoxic effect. All the extracts exhibited low inhibitory activity against α -amylase, AChE and BChE. Our study revealed that the aerial parts and onion peels of *A. lazikkiyense* could be a natural source of the compounds possess antioxidant, antidiabetic and anticancer activities.

Key Words: *Allium lazikkiyense*, Phenolic content, Antioxidant, Antidiabetes, Anti-Alzheimer, Anticancer

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 36957

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bitkilerin yapısında bulunan fitokimyasal maddelerin kanser, diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar gibi birçok hastalığa karşı koruyucu etkileri bulunmaktadır (Dziri ve ark. 2012).

Allium türleri, organosülfür ve organoselenyum, fenolikler, vitaminler ve amino asitler gibi doğal bileşikler bakımından oldukça zengindir. Ayrıca *Allium* türlerinin kimyasal içerikleri üzerine yapılan çalışmalarda, bitkilerin toprak üstü kısımlarının fenolik maddeler bakımından zengin olduğu bildirilmiştir (Mollica ve ark. 2018).

Süperoksit, hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve singlet oksijeni içeren reaktif oksijen türleri (ROS), biyolojik sistemlerde normal metabolizmanın yan ürünleri olarak üretilmekte ve normal aerobik metabolizmalarındaki hücreler ve organlar, bu oksidanlara sürekli maruz kalmaktadırlar (Sies 2018).

Oksidatif stres, ROS oluşumu ve detoksifikasyonu arasındaki dengesizlikten kaynaklanan redoks durumudur ve kanser, hiperlipidemi, diyabet, metabolik bozukluklar, ateroskleroz, kardiyovasküler hastalıklar (hipertansiyon, iskemik kalp hastalığı, kronik kalp yetmezliği) ve nörodejeneratif hastalıklar (Alzheimer hastalığı) gibi birçok hastalığın başlamasında ve ilerlemesinde önemli rol oynamaktadır (Capasso 2013). Buna karşılık vücut, bir savunma sistemi tarafından kontrol edilen enzimatik ve enzimatik olmayan moleküller üretmektedir. Oksidasyon işlemi sırasında sürekli üretilen serbest radikalleri engelleyerek oksidatif stresi önleyen bu savunma molekülleri, "antioksidanlar" olarak adlandırılmaktadır (Adda ve Sallam 2012). Antioksidanlar, vitaminler, karotenoidler ve fenolik bileşikler gibi meyve ve sebzelerle doğal olarak tüketilmektedirler. Son araştırmalarda, fenolik bileşiklerin kanser, inflamasyon, kardiyovasküler ve nörodejeneratif bozukluklar gibi birçok kronik hastalığa karşı etkili olduğu gösterilmektedir (Miguel 2017).

Bitkilerde bulunan flavonoidler, cildi UV ışığına maruz kalmaktan, DNA'yı hasardan koruma gibi önemli biyolojik aktivitelere sahiptir. Bu özelliklerinden dolayı, kozmetik ve eczacılık ürünlerinde bileşen olarak kullanılmaktadır (Ruiz 2017). Yapılan çalışmalarda, *A. cepa*, *A. sativum*, *A. ursinum* ve *A. fistulosum* türlerinin yüksek

antioksidan aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır (Chang ve ark. 2016; Tomşık ve ark. 2016; Viera ve ark. 2017; Cheng ve Huang 2018).

Diyabet, karbohidrat metabolizmasını etkileyen kronik endokrin bir hastalıktır. Karbohidrat sindiriminde görevli enzimlerin inhibitörleri, oral hipoglisemik ilaçlar olarak diyabetteki kan şeker düzeyini kontrol etmek için kullanılmaktadırlar (Nickavar ve Yousefian 2009). α -Amilaz enzimi, kompleks karbohidratları basit monosakkaritlere hidrolize eder; α -glukozidaz enzimi ise, glukozid bağlarını hidrolize ederek nişastayı en son sindirim ürünü olan glukoz moleküllerine ayırır.

Son yıllarda çeşitli *Allium* türlerinin antidiyabetik etkilerinin araştırıldığı birçok çalışma yapılmıştır (Nickavar ve Yousefian 2009). *Allium cepa* (soğan)'da bulunan fenolik fitokimyasalların kan şekerini düşürücü etkiye ve yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve insan sağlığına faydası olduğu düşünölen kersetin gibi flavonoidler açısından zengin olduğu bildirilmiştir (Kim ve ark. 2011). Soğan kabuğu özündeki kersetin içeriği, yüksek α -glukozidaz enzim inhibitör aktivitesine sahiptir (Kim ve ark. 2010). Bu enzimlerin inhibisyonu, karbohidrat diyetinden sonra karbohidrat hidrolizini ve emilimini geciktirerek kan şekerinin postprandiyal artışını azalttığından, hiperglisemi ve oksidatif strese neden olan diyabetik komplikasyonları azaltma potansiyeline sahiptir.

En popüler nörodejeneratif hastalık olan Alzheimer hastalığı, ileri yaşlarda ortaya çıkan demansın en yaygın nedenidir. Hastalığın tedavisi için onaylanmış ve kullanılan ilaç sınıflarından biri kolinesteraz inhibitörleridir (Atri ve ark. 2018). Asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirilkolinesteraz (BChE), asetilkolinin, kolinerjik nörotransmisyonunun rejenerasyonu için gerekli bir işlem olan kolin ve asetik asite hidrolizini kataliz eden enzimlerdir. Kolinesteraz inhibitörleri, bu hidrolizi bloke ederek nörotransmitterin sinaptik seviyesini arttırıcı etkileri nedeni ile Alzheimer hastalığının semptomatik tedavisinde kullanılmaktadırlar (Gölçin ve ark. 2016). Günümüzde, Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılmak üzere bitkilerin ve bitkilerden saflaştırılan aktif maddelerin kolinesteraz inhibisyon potansiyellerin araştırılması aktif bir araştırma alanıdır. *A. sativum* türünün etanol, n-hekzan, kloroform, etil asetat ve su ekstralarının kolinesteraz inhibisyon aktiviteleri belirlenmiş ve en yüksek aktiviteyi etanol ekstresinin gösterdiği bulunmuştur (Veerakumari ve Chitra 2014). *Allium*

türlerinin sahip oldukları farmakolojik etkileri, bu türlerin antidiyabetik, antioksidan ve anti-Alzheimer etkileri için kullanımlarını desteklemektedir.

Allium lazikkiyense M.Koçyiğit, N.Özhatay & E.Kaya (Denizli soğanı) 2014 yılında yeni tür olarak Türkiye florasına eklenmiştir (Koçyiğit ve ark. 2016). Yapılan literatür araştırmasında, bu türün kimyasal içerik ve farmakolojik etkileri üzerine yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada, *A. lazikkiyense* türünün kimyasal içeriklerinin saptanması ve biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda, bitkinin toprak üstü ve soğan kabuğu kısımlarından hazırlanan etanol, metanol ve diklorometan ekstrelerinin sıvı kromatografisi-sıralı kütle spektrometresi (LC-MS/MS) yöntemi kullanılarak fenolik madde içeriği aydınlatıldı ve antioksidan aktivitesi tayin edildi. Ekstrelerin, α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerini inhibe edici etkileri ölçülerek antidiyabetik aktivitesi ve kolinesteraz (asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz) enzimlerini inhibe edici etkileri ölçülerek anti-Alzheimer aktivitesi belirlendi. Ayrıca, bitkinin antikanser aktivitesinin saptanması için meme kanseri hücre hattı üzerine sitotoksik etkisi incelendi.

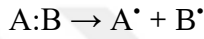
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Serbest Radikaller

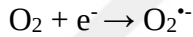
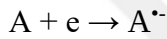
Serbest radikaller, dış orbitalinde tek bir eşleşmemiş elektrona sahip olan ve bu nedenle reaktif özellik taşıyan kimyasal moleküllerdir (Fang 2002). Serbest radikaller, insan vücudundaki normal metabolik süreçlerde veya x-ışını ve ozon gibi dış kaynaklar nedeni ile ortaya çıkabilmektedir.

Serbest radikal oluşturan temel mekanizmalar:

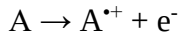
1. Bir molekül oluşturan kovalent bağın homolitik olarak parçalanması.



2. Radikal olmayan bir moleküle tek bir elektron transferi nedeniyle dış orbitalinde paylaşılmamış bir elektron oluşumu.



3. Radikal özelliği olmayan bir molekülden elektron kaybı sırasında, dış yörüngesinde paylaşılmamış bir elektron kalması.



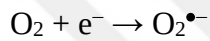
2.1.1. Reaktif Oksijen Türleri

Oksijenden oluşan radikallere reaktif oksijen türleri (ROS) denilmektedir. Paylaşılmamış bir elektron ve yörüngenin dış kabuğundaki bir oksijen atomu nedeniyle oluşan bu maddeler, oksijenin indirgenmesi ya da oksijene iyonizan radyasyonun etkimesi ile meydana gelmektedir (Fang 2007). Normal hücrel aktiviteler sırasında da oluşabilen ROS'lerden (Tablo 2-1) en yaygın olan bazıları, hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit anyonu ($O_2^{\bullet-}$) ve hidroksil radikali ($HO^{\bullet}$)'dir (Harold ve ark. 2007).

Tablo 2-1: Reaktif oksijen türleri

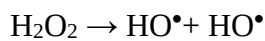
Reaktif oksijen türleri			
Serbest radikaller		Radikal olmayan reaktif türleri	
Süperoksit anyonu	$O_2^{\bullet-}$	Singlet oksijen	1O_2
Hidroksil radikali	$HO^{\bullet}$	Hidrojen peroksit	H_2O_2
Alkoksil radikali	$RO^{\bullet}$	Ozon	O_3
Peroksil radikali	$ROO^{\bullet}$		

Süperoksit anyonu ($O_2^{\bullet-}$); hemen hemen tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucunda oluşmakta ve çoğunlukla hücrelerin mitokondrisinde meydana gelmektedir (Cadenas ve Sies 1998).



Mitokondriyal elektron taşıma zinciri, memeli hücresindeki ATP'nin ana kaynağıdır ve bu nedenle yaşam için gereklidir. Enerji iletimi sırasında az sayıda elektron, oksijene erken “sızarak” süperoksit oluşturmaktadır (Kovacic ve ark. 2005).

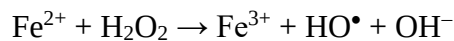
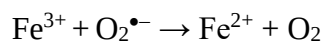
Hidroksil radikali ($HO^{\bullet}$); H_2O_2 yapısındaki kovalan bağların homolitik kırılması veya suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda iki hidroksil radikali oluşmaktadır.



Hidroksil radikalının oluştuğu reaksiyonlar aşağıdaki gibi gösterilmiştir:

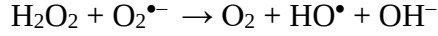
1. Fenton reaksiyonu:

Fenton, asidik şartlar altında Fe^{+2} iyonunun H_2O_2 ile reaksiyonuna dayanmaktadır. Önce Fe^{3+} , süperoksit anyonu tarafından Fe^{2+} 'ye indirgenir, sonra oluşan Fe^{2+} , H_2O_2 ile reaksiyona girerek hidroksil radikali oluşur (Engin ve Nusret 2008).

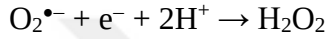


2. Haber – Weiss reaksiyonu:

Demir katalizörü varlığında, H_2O_2 süperoksit anyonu ile reaksiyona girerek hidroksil radikali oluşturur (Liochev ve Fridovich 2002).



Hidrojen peroksit (H_2O_2); serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri kapsamına girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Süperoksit anyonuna ($O_2^{\bullet-}$) bir elektron transferi veya oksijene iki elektron eklenmesi ile meydana gelir.

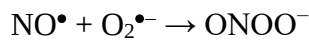


H_2O_2 'nin hücredeki önemli kaynaklarından biri peroksizomlardır. Peroksizomlardaki D-amino asit oksidaz, ürat oksidaz, L-hidroksil asit oksidaz ve yağ asidi açıl-KoA oksidaz gibi oksidazlar, süperoksit üretmeden, bol miktarda H_2O_2 üretimine neden olurlar (Schrader ve Fahimi 2004).

2.1.2. Reaktif Nitrojen Türleri (RNS) ve Nitrik Oksit (NO)

Biyolojik sistemlerdeki tüm reaktif nitrojen türlerinin birincil kaynağı nitrik oksit (NO)'tir. Nitrik oksit, bağışıklık sisteminin düzenlenmesi, düz kasların gevşemesi, nörotransmisyon gibi çeşitli fizyolojik rolü olan en yaygın sinyal iletim moleküllerinden biridir. Eşleşmemiş bir elektron taşıyan yüksüz bir moleküldür. Yüksüz olduğu için membranlardan kolayca geçer, eşleşmemiş bir elektrona sahip olması nedeni ile hızlı reaksiyona girer (Patel ve ark. 1999).

Bağışıklık sisteminin hücreleri, oksidatif patlama ve enflamatuvar süreçler sırasında süperoksit anyonu ve nitrik oksit üretmektedir. Bu koşullar altında, nitrik oksit ve süperoksit anyonunun reaksiyona girmesi ile DNA parçalanması ve **lipid** oksidasyonuna neden olabilen oksitleyici bir ajan olan peroksinitrit anyonu ($ONOO^-$) meydana gelmektedir (Carr ve ark. 2000).



Reaktif nitrojen türlerinin aşırı üretimi nitrozatif strese neden olabilmektedir. Nitrozatif stres, proteinlerin yapısını değiştirebilen ve böylece normal işlevlerini engelleyebilen nitrozilasyon reaksiyonlarına yol açmaktadır (Patel ve ark. 1999).

2.2. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, serbest radikal oluşumu ile antioksidan aktivite arasında bir dengesizlik olduğunda ortaya çıkmaktadır. Antioksidanların dengede tutabileceğinden daha fazla serbest radikal mevcut olduğunda, serbest radikaller vücudumuzdaki yağ dokusuna, DNA'ya ve proteinlere zarar vermeye başlar. Oksidatif stresin diyabet, Alzheimer hastalığı, kanser ve kalp hastalıkları gibi çok sayıda hastalıkta ve yaşlanmada rolü olduğu bilinmektedir (Lobo ve ark. 2010).

DNA'daki oksidatif hasarın yaşa bağlı hastalıkların ve kolon, meme, rektum ve prostat gibi kanserlerin ana nedeni olduğu düşünülmektedir (Halliwell ve ark. 1993). Reaktif oksijen türlerinden biri olan hidroksil radikali, DNA molekülündeki bazlar ile reaksiyona girerek hem pürin hem de pirimidin bazlarında modifikasyonlar meydana getirmektedir. Tüm pürin ve pirimidin bazları arasında guanin, yüksek oksidasyon potansiyeli nedeniyle oksidasyona en yatkın olanıdır. Hidroksil radikalının (HO[•]) guanin ile etkileşimi, 8-hidroksiguanin oluşumuna yol açar. 8-hidroksiguanin oksidatif lezyonların en önde gelenlerin olup bu modifiya bazın, mutagenез, karsinojenez ve yaşlanmaya katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Valko ve ark. 2007).



Şekil 2-1: Guanin ve 8-hidroksiguanin molekül yapısı

Kardiyovasküler hastalıkların çoğu aterosklerozun komplikasyonlarından kaynaklanmaktadır. Yapılan çalışmalarda, oksidatif stresin ateroskleroz risk faktörü ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir (Galle ve ark. 2006). Kan damarlarının vasküler

hücrelerinde oksidatif stres artışı ve süperoksit anyonu oluşumu, plaklar içinde biriken düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) oksidasyonuna neden olmaktadır (Steinberg ve Lewis 1997). Okside-LDL endotelial disfonksiyona, hücre büyümesine, apoptotik hücre ölümüne ve vazokonstriksiyona yol açmaktadır. Ayrıca, oksidasyon süreçleri proinflatuvar etkiye sahip oksitlenmiş lipidlerle sonuçlanabilir. Kan damarı duvarında bulunan LDL ve lipoproteinler dışındaki lipidler, iltihaplanma ve ateroskleroza yol açmaktadır (Steinberg ve Lewis 1997).

2.3. Antioksidanlar

Canlı hücrelerdeki serbest radikal oluşumu, vücutta üretilen veya diyet yoluyla alınan çeşitli faydalı bileşikler tarafından doğal olarak kontrol edilmektedir. Bu faydalı bileşikler “antioksidanlar” olarak bilinmektedir (Sies 1997). Antioksidanlar, serbest radikallere elektron vererek onları biyolojik moleküllere zarar vermekte etkisiz hale getirmektedir. Antioksidanların ana işlevi, lipid ve protein moleküllerine verilen hasarı onarmak, oksidatif stresi, DNA mutasyonlarını, bulaşıcı dönüşümleri ve diğer hücre hasarı parametrelerini azaltmaktır (Pisoschi ve Pop 2015).

2.3.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar, çeşitli araştırmacılar tarafından farklı şekillerde sınıflandırılmaktadır. Bu sınıflandırma çeşitlerinden bazıları aşağıda belirtilmektedir:

1. Etki mekanizmasına göre:

Birincil antioksidanlar (zincir kırıcı antioksidanlar); mevcut bir serbest radikali stabilize etmek için bir elektron vererek serbest radikal oluşumunun “zincirini kırar”lar (Baydır 2019). Hidroksil (-OH) grubuna sahip fenolik bileşikler etkili birincil antioksidanlardır. Çünkü H atomlarını serbest radikallere verebilirler ve rezonans stabilizasyonu nedeniyle reaktif olmayan fenoksil radikalleri oluşturabilirler. Örneğin, E vitamini (α - tokoferol), yapısındaki fenolik hidroksil, zincir kırıcı antioksidatif etkinliği ile membran fosfolipidlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal hasarından koruyan ilk savunma hattını oluşturur. Askorbik asit (C vitamini) ve karotenoidler zincir kırıcı antioksidanlara örnektir (Hamid ve ark. 2010).

İkincil antioksidanlar (koruyucu antioksidanlar), oksidasyon hızını yavaşlatırlar, fakat serbest radikalleri daha kararlı ürünlere dönüştürmezler. Bu antioksidanlar, genellikle birincil antioksidanların aktivitesini arttırırlar (Bisht ve Mishra 2011).

2. Lokalizasyonlarına göre:

İntraselüler ve ekstraselüler olarak iki grupta sınıflandırılır (Zaitsev ve ark. 2003).

3. Moleküler ağırlıklarına göre:

Makromoleküler (süperoksit dismutaz, seruloplazmin, katalaz, glutatyon bağımlı enzimler, albüminler, ferritin, laktoferrin) ve mikromoleküler (amino grup asitler, poliaminler, glutatyon, α - tokoferol, A, K ve P vitaminleri) olarak ikiye ayrılır (Chesnokova ve ark. 2006).

4. Katalitik aktivitelerine göre:

Bu tür antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayan olarak iki kısma ayrılmaktadır (Pradedova ve ark. 2011).

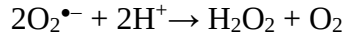
Vücut reaktif oksijen türlerine karşı birkaç endojen antioksidan sisteme sahiptir. Hücrelerin içindeki antioksidan enzimler, serbest radikallere karşı önemli bir savunma oluşturur. Enzimatik antioksidanlar, belirli bir reaktif oksijen türü formuna yönelik eylemlerinin yüksek spesifikliğı ile karakterize edilir. Bu, hücre ve organ lokalizasyonunun özgülüğüne ve metallerin (Cu, Zn, Mn, Fe ve Se) katalizör olarak kullanımına bağlıdır. Tablo 2-2’de enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan sistemi gösterilmektedir.

Tablo 2-2: Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan sistemi

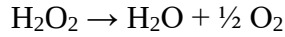
Enzimatik	Enzimatik olmayan
Süperoksit dismutaz	Glutatyon (suda çözünen)
Katalaz	C vitamini (suda çözünen)
Glutatyon peroksidaz	E vitamini (yağda çözünen)
Glutation redüktaz	Flavonoidler (yağda çözünen)
Glutation-S-transferaz	Fenoller (yağda çözünen)

2.3.1.1. Enzimatik Antioksidan Sistemi

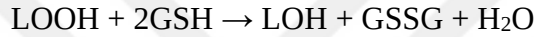
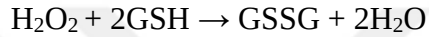
Süperoksit dismutaz (SOD): Hemen hemen her canlı organizmada bulunan ve süperoksit anyonunun ($O_2^{\bullet-}$) H_2O_2 ’ye dönüşümünü kataliz eden bir enzimdir. Daha fazla serbest radikal oluşumunu engellediğı için, bu reaksiyon genellikle vücudun birincil antioksidan savunması olarak kabul edilmektedir (Lobo ve ark. 2010).



Katalaz: SOD tarafından oluşturulan H_2O_2 'nin suya ve oksijene dönüşümünü kataliz ederek hidroksil radikali oluşumunu engeller. Karaciğer, böbrek ve kırmızı kan hücreleri, vücuttaki kimyasalları detoksifiye etmeye yardımcı olan yüksek seviyelerde katalaz içermektedir (Lobo ve ark. 2010).



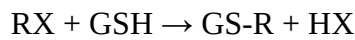
Glutasyon peroksidaz (GSH-Px): Eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır. H_2O_2 ve lipid peroksitlerin (LOOH) indirgenmesini katalize eden, 4 selenyum atomu içeren sitozolik tetramerik bir enzimdir (Gutteridge ve Mitchell 1999).



Glutasyon redüktaz (GSH-R): Glutasyon peroksidaz'ın hidroperoksitleri indirgemesi reaksiyonu ile oluşan yükseltgenmiş glutasyonun (GSSG) tekrar indirgenmiş glutatyon (GSH) dönüşümünü katalize eder (Blokina ve ark. 2003).



Glutasyon-S-transferaz (GST): Glutasyon transferazlar, sitozolde bulunan dimerik detoksifikasyon enzimleridir. Glutasyonun (GSH) sülfhidril (SH) gruplarının, bazı potansiyel toksik ksenobiyotiklerle konjugasyonunu sağlarlar (Lobo ve ark. 2010).



2.3.1.2. Enzimatik olmayan antioksidan sistemi

Glutasyon (GSH): Çoğu aerobik yaşam formunda bulunan sistein içeren bir tripeptittir. İndirgenmiş glutasyon (GSH), içerdiği tiyol grubu aracılığıyla hücre içinde yüksek redoks potansiyeline sahip bir ortam sağlayarak, oksidatif hasara karşı hücreyi korur ve bu nedenle antioksidan özelliklere sahiptir (Yin ve ark. 2004). Glutasyon, serbest radikallerin yıkıcı etkilerini önleyen veya azaltan transferazlar, peroksidazlar gibi birçok enzimin kofaktörü olarak görev yapmaktadır.

Glutasyon, canlı hücrelerdeki çeşitli detoksifikasyon süreçlerinde önemli bir rol almakta ve karaciğerde bol miktarda bulunmaktadır. Karaciğerde Faz II detoksifikasyon

işlemleri sırasında ksenobiyotiklerin vücuttan atılmasını sağlamaktadır (Pastore ve ark. 2003).

C vitamini: Askorbik asit olarak bilinen C vitamini, hücre içi işlevler için insan plazması ve memeli hücrelerindeki suda çözünebilen en önemli antioksidanlardandır. Doku onarımında ve belirli nörotransmitterlerin enzimatik üretiminde yer alan temel bir besindir. C vitamini, canlı hücrelerde yara iyileşmesine ve kollajen sentezi gibi biyolojik işlevler için gerekli olan enzimatik reaksiyonlarda da bir kofaktör görevi görmekte olup eksikliğinde kollajen sentezi bozulmaktadır (Iqbal ve ark. 2004).

C vitamini bir antioksidan olarak serbest radikalleri etkisiz hale getirerek hücrenin hem içini hem dışını serbest radikal hasarına karşı korumaktadır (Ortega 2006).

2.4. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus, insülin eksikliği veya insülin direnci ile karakterize hiperglisemi, dislipidemi, glukozüri ve bunlara eşlik eden birçok klinik ve biyokimyasal bulgu ile seyreden kompleks bir metabolik bozukluktur. Güncel verilere göre dünya genelinde yaklaşık 452 milyon kişinin diyabet hastası olduğu ve bu sayının 2045 yılında 693 milyona çıkacağı tahmin edilmektedir.

Diabetes mellitus iki kategoriye ayrılır (Agarwal ve Gupta 2016):

1. Tip 1 - İnsüline bağımlı diabetes mellitus (IDDM)
2. Tip 2 - İnsüline bağımlı olmayan diabetes mellitus (NIDDM)

Tip 2, yemek sonrası hipergliseminin yükselmesiyle ilişkili olan hastalığın en yaygın şeklidir.

2.4.1. Tip 1 Diyabet - İnsüline Bağımlı Diabetes Mellitus (IDDM)

Tip 1 diyabet, aynı zamanda insüline bağımlı diyabet veya juvenil (genç) diyabet olarak bilinir. Bu tür diyabet; vücutta çok az veya hiç insülin üretilmemesinden kaynaklanmaktadır. İnsülin, pankreastaki Langerhans adacıklarının beta hücreleri tarafından üretilen bir hormondur (Devendra ve ark. 2004); glukoz alımını teşvik eder ve kan şekerinin enerji üretmek için kullanılabileceği vücut hücrelerine girmesine yardımcı olur.

Beta hücrelerinin yok edilmesi vücutta giderek artan insülin kaybına neden olmaktadır. Çok az insülin ile glukoz kanda birikir ve hücrelere taşınamaz, bu da vücuttaki kan şekeri seviyesini yükselterek Tip 1 diyabete neden olur (Devendra ve ark. 2004).

Tip 1 diyabet, tüm diyabet vakalarının yalnızca yaklaşık % 5-10'unu oluşturur; ancak, görülme sıklığı dünya çapında artmaya devam etmektedir. Bu bozukluğun nedeni bilinmemekle birlikte, esas olarak insan lökosit antijeni genotip kompleksi yoluyla güçlü bir genetik bileşene sahiptir (Anjos ve Polychronakos 2004). Tip 1 diyabetin semptomları; halsizlik, ağız kuruluğu, poliüri (fazla idrara çıkma), polidipsi (susuzluk), polifajidir (açlık). Hastalar, sıklıkla zayıf ya da normal kilodadır (Katsarou ve ark. 2007). Klinik bulgular; idrarda şeker varlığı, negatif nitrojen dengesi, düşük tansiyon, ağızda keton kokusu ve ketonüriyi içerir (Katsarou ve ark. 2007). Diyabet vücuttaki şeker veya glukoz ile hemoglobin seviyesinin test edilmesiyle teşhis edilir.

Tip 1 diyabet daha çok immün kökenlidir ve genellikle insülin enjeksiyonu veya insülin pompası ile tedavi edilebilir. Hormon (insülin), derinin hemen altında ve kasın hemen üstünde yer alan deri altı yağ dokusuna enjekte edilir. Vücudumuzun her yerinde deri altı yağ dokusu bulursa da enjeksiyon yapılırken damar ve sinirlerin yoğun olduğu yerler tercih edilmez. Bu nedenle önerilen bölgeler karın, kolun üst kısmı ve bacakların üst kısmıdır (Toni ve ark. 2006).

2.4.2. Tip 2 Diyabet - İnsüline Bağımlı Olmayan Diabetes Mellitus (NIDDM))

Tip 2 diyabet, insüline bağımlı olmayan diabetes mellitus (NIDDM/tip II) olarak da bilinen, tüm diyabet vakalarının yaklaşık % 90'ını oluşturan en yaygın diyabet şeklidir (Lei ve ark. 2012). İnsülin direnci, hücrelerin vücuttaki normal insülin düzeylerine yeterince yanıt verememesi ile karakterizedir (DeFronzo 1999). Kandaki çoğu hücreye glukoz alımını düzenleyen ana hormon insülin olduğundan, eksikliği diyabetes mellitusta önemli bir rol oynamaktadır.

Yüksek postprandiyal hiperglisemi, α -glukozidaz enziminin etkisiyle artan diyabet risk faktörlerinden biridir (Gin ve Rigalleau 2002). Ağır bir yemekten sonra, nişasta, bağırsaktan salgılanan glukozidaz ve pankreas amilazı tarafından vücutta glukozu hidrolize edilir. Bağırsak tarafından bu glukoz alımı, kan şekerinde ani yükselmeye neden olarak Tip 2 diyabet hastalarında hiperglisemiye neden olur. En yaygın semptomlar; poliüri, polifaji ve polidipsi'dir. Çoğunlukla genetik kökenlidir.

Son araştırmalarda, α -glukozidaz ve amilaz enzim aktivitesinin inhibisyonunun, diyabet tedavisi için iyi bir yaklaşım olduğu göstermektedir (Ahamad ve ark. 2011). Bu enzimlerin inhibisyonu nişasta hidrolizini azaltmakta, postprandiyal hiperglisemiye ve glukoz son ürünlerini de azalttığını bilinmektedir.

Ayrıca diyabet hastalarının kan şekerini düzenlemek için karbohidrat içeriği azaltılmış ve proteini arttırılmış bir diyet izlemeleri önerilmektedir.

Tip 2 Diyabet Tedavisinde α -Glukozidaz İnhibitörleri

Tip 2 diyabet tedavisindeki terapötik yaklaşımlardan biri de yemek sonrası oluşan hipergliseminin kontrol altına alınmasıdır. Nişastanın, α -amilaz ve α -glukozidaz tarafından hidroliz hızı hiperglisemiye neden olan en önemli faktörlerden biridir (Ahamad ve ark. 2011). Alfa-glukozidaz inhibitörleri, α -glukozidaz aktivitesini kompetitif bir şekilde inhibe ederek karbohidratların sindirim ve emilim sürecini yavaşlatır. Doğal kaynaklardan elde edilen akarboz ve vogliboz gibi çeşitli α -glukozidaz inhibitörleri, yemek sonrası kan glukoz seviyelerini etkili bir şekilde kontrol ederek glukoz toleransını bozma ve diyabette kardiyovasküler hastalık riskini azaltma potansiyeline sahiplerdir (Yin ve ark. 2014).

2.5. Alzheimer Hastalığı

En yaygın görülen nörodejeneratif hastalık olan Alzheimer hastalığı, ileri yaşlarda görülen demansın önemli bir nedenidir (Kim ve ark. 2009). Hastalık, bilişsel ve bilişsel olmayan işlevlerde bir düşüş ile karakterizedir. Depresyon, kişilik değişiklikleri ve halüsinasyonlar gibi bilişsel olmayan işlevler, hastaların davranışları ve yaşam kalitesi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Dil becerileri, konsantrasyon ve dikkat sıklıkla etkilenirken, kısa ve uzun süreli hafıza bozular. Aynı zamanda mevcut becerilerin yanı sıra yeni beceriler öğrenme ve sürdürme becerisinin kaybına da neden olur (Kim ve ark. 2009). Alzheimer hastalığının ana nedeninin, beyindeki kolinerjik nöronların kaybı ve beta-amiloid proteini (senil plakları) ve tau yumakları (nörofibriler) birikimi olduğu gösterilmiştir (Butterfield ve ark. 2002).

Alzheimer Hastalığında Tau Yumakları (nörofibriler) Oluşumu

Tau proteini, mikrotübüllerin organizasyonu ve stabilizasyonunda rol alan ana yapısal proteinlerdir. Hücre iskeleti proteinlerinden olan mikrotübüller ise, hücre morfolojisinin sağlanması, akson ve dendritlerdeki transportu sağlamaktadır. Tau

proteini, hücre morfolojisinin korunması ve aksonal transportta rol almaktadırlar. Ayrıca bu proteinlerin, nöronlarda ve diğer hücre nükleuslarında DNA ve RNA ile etkileşime girdiği ve nükleolar yapının oluşmasında da işlev gördüğü öne sürülmektedir (Sjöberg 2007). Alzheimer hastalarında bu proteinin yapısı kimyasal olarak değiştirilir ve nöronal sitoplazma içinde birikerek agregatlar oluşturur; bu agregatlar hücrenin yapısal bütünlüğüne zarar vererek nöronların kendilerini desteklemelerini zorlaştırır (Munoz ve Feldman 2000) ve apoptozu indükler.

Tau proteinin oluşturduğu agregatlar, kısa süreli belleğin depolanmasında rol oynayan hipokampus bölgelerinde birikir. Hipokampusu zarar görmüş bir Alzheimer hastasının, kısa dönem ve geriye dönük hafızasında ciddi hasarlar meydana gelir. Bu kişilerin uzun dönem hafızaları zarar görmediğinden 20 yıl öncesini hatırlayabilirken, dün ne yediğini hatırlamayabilir. Hipokampus yeni bilgilerin işleme merkezi olduğundan hücreler öldüğünde bilgiler belleğe kaydedilmemektedir (Finch ve Cohen 1997).

Alzheimer Hastalığı Tedavisinde Kolinesteraz Enzimlerinin İnhibisyonu

Alzheimer hastalığı, ileri yaşlarda ortaya çıkan demansın nedenidir. Bu hastalığın patolojisi karmaşık ve tam olarak anlaşılmamaktadır. Enflamatuvar süreçlerin, oksidasyon (Amit ve ark. 2017) ve kolinerjik iletim kaybının (Das ve ark. 2017), amiloid plakların ve nörofibriler yumakların varlığının, Alzheimer hastalığı'nın patogenezinde rol oynadığı bilinmektedir. Ancak, kolinerjik hipotez (Ali ve ark. 2016) ve amiloid hipotez en yaygın olarak kabul görmektedir. Kolinerjik hipotezde Alzheimer hastalığının ana nedeninin, kolinerjik nöronların kaybı, öğrenme ve hafızada görev yapan serebral nörotransmitter asetilkolinin beyin seviyelerindeki yetersizliğinden kaynaklandığını belirtilmektedir (Amitai ve ark. 1998).

Normal koşullar altında, beyindeki kolinerjik nöronlar, enzim kolin asetil transferaz tarafından katalize edilen bir reaksiyonda, asetilkolini sentezler. Nörotransmisyon sırasında asetilkolin, sinir hücresinden sinaptik boşluğa salınır ve post-sinaptik membrandaki asetilkolin reseptörlerine bağlanır. Böylece bir sinyal oluşur. Kısa bir süre sonra, post-sinaptik membranda konumlu, asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirilkolinesteraz (BChE) enzimleri, asetilkolini asetat ve koline parçalayarak simülasyon sinyal iletimini sonlandırır. Serbest kalan kolin, önceki sinaptik sinir hücresi

tarafından tekrar alınır ve kolin asetiltransferaz enzimi tarafından asetil-CoA ile reaksiyonundan tekrar asetilkolin sentezlenir (Whittaker 1990).

Alzheimer hastalığı beyindeki bir asetilkolin eksikliğine bağlı olduğundan, son araştırmalarda kolinesteraz inhibitörlerinin, bu hastalığın semptomlarını hafifletmek için kullanılabileceğini göstermektedir (Atri ve ark. 2018). Kolinesteraz inhibitörleri, kolinesteraz enzimlerinin asetilkolini parçalamasını engeller; böylece nörotransmitter asetilkolinin konsantrasyonunu ve işlev süresini arttırır. Bu çalışmada, asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz enzimlerinin inhibe edici etkileri ölçülerek anti-Alzheimer aktivitesi belirlenecektir.

Alzheimer Hastalığında Oksidatif Stres ve Antioksidanların Rolü

Lipid peroksidasyonu gibi oksidatif hasara bağlı olarak membran fosfolipidlerinin tükenmesi Alzheimer hastalığının nedenlerinden biridir (Markersbery 1997). Oksidatif hasar, amiloid-beta peptidlerini oluşturan büyük protein moleküllerini parçalamaktadır ve bu proteinler anormal seviyelerde birikerek toksik etkiler oluşturmaktadır. Amiloid proteinleri beyinde kümelenir ve sinaps hasarına ve nöronal hücre ölümüne neden olan senil plakları oluşturmaktadırlar (Nunomura 2006).

Amiloid-beta proteinleri lipid peroksidasyonunu başlatır. Alzheimer hastalarında lipid peroksit oluşumu ve azalmış antioksidan enzim aktiviteleri, serebrovasküler amiloid birikimlerini arttırmaktadır (Butterfield ve ark. 2002).

Süperoksit dismutaz (SOD), peroksidaz ve katalaz enzimatik aktivitesinin modülasyonunun, beyin dokularında oksidatif hasarı azalttığı (Cardoz ve ark. 1998) ve bilişsel işlevleri geliştirdiği gösterilmiştir (Socci ve ark. 1995). Ancak yaş ve bazı patolojik durumlar ile bu enzimatik aktivitelerdeki kaybı telafi etmeyi amaçlayan terapiler, Alzheimer hastalığı tedavisinde umut verici bir yaklaşım olabilir (Aliev ve ark. 2018).

2.6. Kanser

Vücudumuzdaki hücre döngüsü, hücrelerin mitoz süreci boyunca bölündüğü ve çoğaldığı aşamalardan oluşmaktadır. Mitoz, kopyalanan DNA'nın bölündüğü bir süreçtir; vücudumuzun büyümesinden ve gelişmesinden sorumludur. Bu hücrelerin çoğaltılması sırasında, kalıcı bir değişiklik ile sonuçlanan bazı hatalar meydana gelebilir; bu değişikliklere mutasyon denir. Mutasyonlar, hücrelerin anormal şekilde büyümesine

neden olur. Hücrelerin anormal büyümesi kanser olarak bilinmektedir (Waks ve Winer 2019).

Normal sağlıklı hücrelerde, normal hücre büyümesine (proto-onkojenler) dahil olan gen; uyarıcı sinyallerin hem üretimini hem salınmasını kontrol eder. Bu şekilde hücre homeostazını, vücuttaki dokuların yapısını ve işlevini korumaktadır (Ventura ve Merajve 2008). Bununla birlikte, kanser hücrelerindeki mutasyonlar, bu proto-onkojenleri onkojenlere dönüştürerek anormal hücre büyümesinin artmasına neden olur.

Dünya Sağlık Örgütü raporuna göre 2018 yılında 18 milyon kanser vakası teşhis edildi. 9,5 milyonun kanserden öldüğü tahmin ediliyor (Bray ve ark. 2018). Tıp Enstitüsü'nde yapılan bir araştırmaya göre, yaşam beklentisindeki düşük kazanımlar nedeniyle birçok fakir ülkede kanser hızla artmaktadır. Kanser ölümlerindeki artış, sigara içimi, kimyasal ajanların kullanımı ve yüksek radyasyona maruz kalma ile ilişkilendirilmiştir (Blackadar 2016).

Halk sağlığı verileri, akciğer kanserinden sonra kadınlarda en sık görülen kanser türü olan meme kanserinin hızla arttığını göstermektedir. Dünya çapında her yıl bir milyondan fazla kadına meme kanseri teşhisi konulduğu tahmin edilmektedir. Kadın kanser ölümlerinin % 14'ünü temsil eden 410.000'den fazla ölüm meydana geleceği ifade edilmektedir (Desantis ve ark. 2016).

Yüzyıllardır araştırmacılar kanserin kesin tedavisini bulmaya çalışmaktadırlar. Kanser, vücuttaki herhangi bir organda kontrolden çıkan hücrelerle ilgili olduğundan, evrensel bir tedavi yöntemi bulmak zordur. Ancak son araştırmalarda, bazı kanser türlerini iyileştirebilecek farklı tedavi türlerinin olduğu bilinmektedir. Kullanılan tedavilerden en yaygın olanları aşağıdaki gibidir (Gogineni ve ark. 2015):

1. Sitotoksik kemoterapi
2. Radyoterapi
3. İmmünoterapi
4. İlaç hedefli tedavi
5. Kemik iliği nakli

Bu çalışmada, *Allium lazickiyense* bitkisinin antikanser aktivitesini tespit etmek için meme kanseri hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkisi incelenecektir.

2.6.1. Meme Kanseri

Meme kanseri, sağlıklı meme hücrelerinin kontrolsüz çoğalması ve tümör oluşumu sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu kanser türü, vücudun diğer bölgelerine de yayılabilir. Kadınlarda en çok teşhis edilen kanserdir; erkeklerde de görülür, ancak vakalar çok nadirdir. Meme kanseri aşağıdaki gibi kategorize edilir (Allen ve ark. 2013):

1. Non-invaziv meme kanseri

Bu kanser türünde, hücreler memenin kanallarında (meme ucuna süt taşıyan tüpler) ve lobüllerde (süt üreten bezler) büyür ancak sağlıklı meme dokularına yayılmaz.

2. İnvazif meme kanseri

Bu kanser türünde, kanser hücreleri kanalın veya lobüllerin dışına yayılmaktadır. Kanallarda gelişen ve sağlıklı dokulara yayılan meme kanseri, invaziv duktal karsinom olarak bilinir.

Meme kanseri belirtileri (Barlow ve ark. 2002)

1. Göğüste veya koltuk altında bir yumru
2. Göğüs büyüklüğünde veya şeklinde değişiklik
3. Meme ucu değişimi veya meme başı akıntısı

Meme kanseri risk faktörleri (Canaria ve ark. 2014).

- 1) Daha büyük yaş
- 2) Daha yoğun göğüsler
- 3) Ailede meme kanseri
- 4) Kalıtsal genetik mutasyon (BRCA1 & BRCA2)

2.7. *Allium* Cinsi ve Genel Özellikleri

Allium cinsi, Amaryllidaceae familyasında yer alan 900'den fazla türe sahip çiçekli bir bitkidir. Türkiye'de 230 *Allium* türü bulunmaktadır ve bunların yaklaşık 1/3'ü endemiktir (Emir ve Emir 2021). Türkiye, en fazla tür sayısı ile dünyada *Allium* cinsinin en geniş yayılış gösterdiği yerdir (Ekşi ve ark. 2021). *A. sativum* L. (sarımsak) ve *A. cepa* L. (soğan), *A. porrum* L. (pırasa), *A. ascalonicum* L. (arpacık soğanı) gibi

birçok *Allium* türü Türkiye’de olduğu gibi dünyanın çeşitli yerlerinde sebze ve aroma verici olarak yaygın bir şekilde tüketilmektedir (Lanzotti 2005). *Allium* türlerinin kök, yaprak ve soğan kısımları tedavi edici etkileri nedeniyle çok eski zamanlardan beri kullanılmaktadır.

Yapılan çalışmalarda, çeşitli *Allium* türlerinin antioksidan, antidiyabetik, antimikrobiyal, antikanser ve antiinflamatuvar gibi birçok aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Meriga ve ark. 2012). Ayrıca *Allium* türlerinin kimyasal içerikleri üzerinde yapılan çalışmalarda, bitkilerin toprak üstü kısımlarının fenolik maddeler bakımından zengin olduğu bildirilmiştir (Mollica ve ark. 2018).

Allium türleri lezzet, aroma ve tat vermesi için (dehidrasyon, dondurma, konserve turşu vb.) çeşitli gıda üretim süreçlerinde hammadde olarak kullanılmaktadır. Sarımsak (*Allium sativum*) ve soğan (*Allium cepa*)’ın tedavi edici özelliği birçok araştırmada belirtilmiştir. Serum kolesterolünü ve kan basıncını düşürerek kardiyovasküler hastalık riskinin azalttığı bildirilmiştir (Nencini ve ark. 2011). *A. cepa*’da, bulunan fitokimyasal saponinler (Carotenuto ve ark. 1999), bağırsakta kolesterol emilimini engeller. 60 sebze üzerinde yapılan bir çalışmada, soğanın bakteri popülasyonunu azaltma kapasitesine ve yüksek fruktan miktarına sahip olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, kersetin konsantrasyonu ve dağılımı soğan türlerine göre farklılık gösterebilir. Örneğin, kırmızı soğanların (Tsushida ve Suzuki 1996; Arabbi ve ark. 2004) beyaz (Lugast ve Hovari 2000) ve sarı (Makris ve Rossiter 2001) soğanlara kıyasla yüksek miktarda kersetin içerdiği bilinmektedir.

Yapılan bir çalışmada dört *Allium* türünün (*A. cepa*, *A. sativum*, *A. porrum* ve *A. kurrat*) metanolik ekstraktlarının antioksidan, fenolik ve flavonoid özelliklerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Araştırmaya göre *A. cepa* (Kırmızı soğan) ve *A. porrum*’un metanolik ekstraktlarının en yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu ve antioksidan aktivite ile fenolik içerikleri arasında pozitif bir korelasyon bulunduğu gösterilmiştir (Abdel-Gawad ve ark. 2014).

Allium bitkilerinin kolesterolü düşürdüğü bildirilmektedir. *A. sativum*’un kolesterol düşürücü etkinliğinin, tüm *Allium* ailesi bitkileri arasında en yüksek olduğu bilinmektedir (Lau 2001). Binlerce yıldan beri tıbbi sarımsağın kullanımı, ilk olarak Ayurveda tıbbı, Charak Samhita tarafından artrit ve kalp hastalığının tedavisinde tanımlanmış ve daha sonra kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır (Rivlin 2001).

Epidemiyolojik çalışmalar hiperkolesterolemide, apolipoprotein E4 allelinin ortaya çıkmasının, kolesterolün hücre alımını kolaylaştıran "kolesterol taşıyıcı" bir protein olması nedeniyle, Alzheimer hastalığında önemli bir risk faktörü olduğunu ortaya koymuştur (Jick ve ark. 2000). Kortikal kolesterolün, Alzheimer hastalarının beyinde yükseldiği bulunmuştur. Yüksek kolesterolün, zar akışkanlığını değiştirdiği ve amiloid öncü proteininin (APP) amiloidojenik işlenmesini desteklediği öngörülmüştür (Simon 1998).

Alzheimer hastalarında amiloidojenik işlemede kolesterolün rolü ve yüksek kolesterol seviyelerinin ortaya çıkması, Alzheimer hastalığının tedavisinde bir kolesterol düşürücü stratejinin sağlamaktadır. *A. sativum* (sarımsak) içerisindeki doğal olarak oluşan 3-hidroksi-3-metilglutaril-CoA redüktaz inhibitörünün anti-amiloidojenik etkilerinin (Rosen 2001), Alzheimer hastalığı geliştirme riskini azaltma ve klinik olarak teşhis konulan durum öncesinden var olan amiloid yükünü azaltmak için en basit tedavi olduğu ileri sürülebilir (Chauhan 2003).

Allium türlerinin sahip oldukları farmakolojik etkileri, bu türlerin antidiyabetik, antioksidan ve anti-Alzheimer etkileri için kullanımlarını desteklemektedir. Tez çalışmamızın konusunu oluşturan *Allium lazikkiyense* M.Koçyiğit, N.Özhatay & E.Kaya (Denizli soğanı) (Şekil 2-2) 2014 yılında yeni tür olarak Türkiye florasına eklenmiştir (Koçyiğit ve ark. 2016). Yapılan literatür araştırmasında, bu türün kimyasal içeriği ve farmakolojik etkileri üzerine yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada, *A. lazikkiyense* türünün kimyasal içeriklerinin saptanması ve biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmaktadır. Bu doğrultuda bitkinin toprak üstü ve soğan kabuğu kısımlarından hazırlanan ekstratların, sıvı kromatografisi-sıralı kütle spektrometresi (LC-MS/MS) yöntemi kullanılarak fenolik madde içeriği ve antioksidan, antidiyabetik, anti-Alzheimer ve antikanser aktiviteleri tayin edilmiştir.



Şekil 2-2: *Allium lazikkiyense* M. Koçyiğit, N. Özhatay & E. Kaya

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bitki ekstraktlarının hazırlanmasında etanol (Riedel 32221), metanol (Merck 106008), ve diklorometan (Sigma 270997) kullanıldı. Hazırlanan ekstraktların çözülmesinde dimetil sülfoksit (DMSO; Sigma D8418) kullanıldı.

Fenolik bileşiklerinin tayininde; sodyum karbonat (Na_2CO_3 ; Merck 106398), Folin Ciocalteu ayırıcı (Sigma F9252) ve standart olarak gallik asit (Sigma G7384) kullanıldı.

Flavonoid miktar tayininde; sodyum nitrit (NaNO_2 ; Merck 106544), alüminyum klorür ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; Merck 101083), sodyum hidroksit (NaOH ; Merck 106462) ve standart olarak kateşin (Fluka 22110) kullanıldı.

DPPH radikali giderici antioksidan aktivite tayininde 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH; Sigma D9132) ve standart antioksidan olarak kersetin (3,3',4'-5,6-pentahidroksiflavon; Fluka 83370) kullanıldı.

Demir(III) iyonu redükleyici antioksidan potansiyeli tayininde (FRAP); derişik hidroklorik asit (HCl ; Merck 100314), 2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazin (TPTZ; Merck 110238), demir(III) klorür ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; Merck 3946), hidroklorik asit (HCl ; Merck 100314) ve demir sülfat ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; Fluka 44970) kullanıldı.

α -Glukozidaz inhibe edici aktivite tayininde; α -glukozidaz (Sigma G5003), p-nitrofenil- α -D-glukopiranozid (pNPG; Fluka 73673) ve akarboz (Sigma A8980) kullanıldı.

α -Amilaz inhibe edici aktivite tayininde; α -amilaz (Sigma A3176), nişasta (Sigma S2004), 3,5-dinitrosalisilik asit (DNS; Sigma D0550); sodyum-potasyum tartarat (Riedel de Haën 25508) ve sodyum hidroksit (NaOH ; Merck 6482) kullanıldı.

Asetilkolinesteraz (AChE) inhibe edici aktivite tayininde; AChE (Sigma C3389), asetiltiyokolin iyodür (ATChI; Sigma A5751), 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB; Sigma D8130) ve galantamin (Sigma G1660) kullanıldı.

Butirilkolinesteraz (BChE) inhibe edici aktivite tayininde; BChE (Sigma C7512), butiriltiyokolin iyodür (BTChI; Sigma B3253) ve 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB; Sigma D8130) kullanıldı.

Antikanser aktivite tayini için yapılan sitotoksik analizlerde; Dulbecco's Modified Eagle Medium/Nutrient Mixture F12 (DMEM-F12; Biosera LM-D1224), fetal bovine serum (FBS; Biosera FB-1101), penisilin-streptomisin (Biosera LM-A4118), Dulbecco's phosphate-buffered saline (DPBS; Biosera LM-S2041), etilendiamin tetraasetik asit (EDTA; Calbiochem 324503), DMSO (Neofroxx 1084ML100), 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromür (MTT; Glentham Life Sciences GC4568) ve tripsin (Sigma T4799) kullanıldı.

Tamponların hazırlanmasında; glasiyel asetik asit (Merck 23332325), sodyum asetat (Merck 106264), sodyum fosfat dibazik dihidrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; Sigma 30412), sodyum dihidrojen fosfat dihidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; Merck 6345), sodyum klorür (NaCl ; Riedel de Haën 13423) ve sodyum hidrojen karbonat (NaHCO_3 ; Merck 6323) kullanıldı.

3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

Biyokimyasal analizlerde; mikropilaka okuyucu (Biotek, Eon), pH metre (Radiometer, PHM 92), rotaevaporatör (BUCHI, R210), hassas terazi (AND, HM 200), ultrasonik banyo (Elma, S 10), buzdolabı (Arçelik), derin dondurucu (-20°C) (Bosch), etüv (Heraeus), distile su cihazı (Labconco), otomatik pipetler (Eppendorf), vorteks (Velp scientifica) ve Soxhlet aparatı kullanıldı.

Sitotoksikite deneylerinde; 37°C 'lik su banyosu (WiseBath), buzdolabı (Samsung), CO_2 destekli inkübator (Nüve EC160), hassas terazi (Radwag), hemositometre lamı (Neubauer-improved) (Laborgerate GmbH), inverted mikroskop (Zeiss), laminar flow kabini (MN 090), mikropilaka okuyucu (Thermo Scientific), otoklav (ALP), santrifüj (Elektromag), şırınga (Set), şırınga filtresi (Sarstedt), sıvı azot tankı (Arpege 70) kullanıldı.

3.3. Bitki Örneği

Araştırmamızda kullanılan *Allium lazikkense* M.Koçyiğit, N.Özhatay & E.Kaya (Denizli soğanı) bitkisi, Haziran 2019 tarihinde Denizli, Çivril'den toplanmıştır. Bitki örneklerinin toplanması ve teşhisi, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Farmasötik Botanik Anabilim Dalı'nda görevli Doç. Dr. Mine KOÇYİĞİT AVCI tarafından gerçekleştirilmiştir. Toplanan bitkiler teşhis edildikten sonra, birer örnek kurutulup etiketlenerek İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu (ISTE)'na 102751 numarası verilerek herbaryumda referans materyali olarak saklanmıştır.

3.4. Kullanılan Yöntemler

3.4.1. *A. lazikkiyense* Ekstrelerin Hazırlanması

A. lazikkiyense bitkisinin toprak üstü ve soğan kısımları toplandıktan sonra gölgede kurutuldu. Kurutulan toprak üstü kısımları ve soğanlardan ayrılan kabuklar değirmende toz haline getirildi. Toz haline getirilen bitki örnekleri ile etanol, metanol ve diklorometan ekstreleri hazırlandı.

Toz haline getirilen toprak üstü (15 g) ve soğan kabuğu (10 g) tartılarak sırasıyla 150 mL ve 100 mL çözücü (etanol, metanol ve diklorometan) kullanılarak Soxhlet cihazında her bir çözücü ile ayrı ayrı ekstre edildi. Elde edilen ekstrelerin çözücülerini rotaevaporatör ile alçak baskıda kuruluğa kadar uçuruldu ve kullanılacağı zamana kadar cam petrilerde -20°C'de saklandı.

Hazırlanan *A. lazikkiyense* ekstreleri her deney günü DMSO ile çözülerek 20 mg/mL stok çözeltiler hazırlandı, daha sonra bu stok çözeltiler antioksidan potansiyel tayini deneyleri için DMSO ile, sitotoksikite deneyleri için besiyeri ile uygun konsantrasyonlarda seyreltildi (0,1-10 mg/mL). Antidiyabetik ve anti-Alzheimer aktivite tayini deneylerinde kullanılan *A. lazikkiyense* ekstreleri deney günü 20 mg/mL olacak şekilde etanol ile çözüldü ve bu stok çözeltiler etanol:su (1:1) karışımı ile deneyler için uygun konsantrasyonlarda seyreltildi (0,1-10 mg/mL).

3.4.2. Total Fenolik Bileşiklerin Tayini

A. lazikkiyense ekstrelerindeki total fenolik bileşiklerin tayini Folin-Ciocalteu ayırıcı kullanılarak yapıldı (Slinkard ve Singleton 1977).

Kullanılan çözeltiler:

Na₂CO₃ çözeltisi (% 2); 1 g Na₂CO₃ tartıldıktan sonra distile su ile çözülüp 50 mL'ye tamamlandı.

Gallik asit çözeltisi (5 mg/mL); 5 mg gallik asit 1 mL distile su ile çözülüp stok gallik asit çözeltisi hazırlandı. Daha sonra bu stok çözelti distile su ile seyreltilerek standart gallik asit çözeltileri (0,0625 - 0,5 mg/mL) hazırlandı.

Deneyin yapılışı: Hazırlanan ekstre veya standart gallik asit çözeltilerinin 5 µL'si 225 µL distile su ve 5 µL Folin-Ciocalteu ayırıcı ile karıştırılarak oda sıcaklığında 3 dakika inkübe edildi daha sonra 15 µL Na₂CO₃ çözeltisi eklenip oda sıcaklığında 2 saat karanlıkta bekletildikten sonra, absorbanslar 760 nm'de ayıraç körüne karşı okundu. Deneyler üç kez tekrarlandı ve ortalamaları alındı.

Hesaplama: Sonuçlar, hazırlanan gallik asit standart eğrisi ($y=0,7855x-0,007$ $R^2=0,999$) kullanılarak gallik asit ekivalanları/g ekstre olarak ifade edildi.

3.4.3. Total Flavonoid Bileşiklerin Tayini

A. *lazikkiyense* ekstrelerindeki total flavonoid birleşikler Sakanaka ve ark. (2005) kullandığı yöntemle göre tayin edildi.

Kullanılan çözeltiler:

NaNO₂ çözeltisi (% 5); 2,5 g NaNO₂ tartıldıktan sonra distile su ile çözülüp 50 mL'ye tamamlandı.

AlCl₃ çözeltisi (%10); 5 g AlCl₃ tartıldıktan sonra distile su ile çözülüp 50 mL'ye tamamlandı.

NaOH çözeltisi (1M); 2 g NaOH tartıldıktan sonra distile su ile çözülüp 50 mL'ye tamamlandı.

Kateşin çözeltisi (2,5 mg/mL); 2,5 mg kateşin 1 mL distile su ile çözülüp stok kateşin çözeltisi hazırlandı. Daha sonra bu stok çözelti distile su ile seyreltilerek standart kateşin çözeltileri (0,03 - 0,25 mg/mL) hazırlandı.

Deneyin yapılışı: 25 µL ekstre veya standart kateşin çözeltileri üzerine 125 µL distile su ve 7,5 µL NaNO₂ çözeltisi ilave edilip 6 dakika beklendikten sonra 15 µL AlCl₃ çözeltisi eklenerek 5 dakika daha beklendi. Karışımın üzerine 50 µL NaOH çözeltisi ve 27,5 µL distile su ilave edildikten sonra absorbanslar 510 nm'de ayıraç körüne karşı ölçüldü. Deneyler üç kez tekrarlandı ve ortalamaları alındı.

Hesaplama: Sonuçlar hazırlanan kateşin standart eğrisi ($y=1,9905x+0,0087$ $R^2=0,9998$) kullanılarak kateşin ekivalanları/g ekstre olarak ifade edildi.

3.4.4. LC-MS/MS Analizi

A. lazikkiyense ekstrelerinin içerisindeki fenolik bileşiklerin kantitatif tayini Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi İlaç Uygulama ve Araştırma Merkezi (İLMER)'nde LC-MS/MS yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Örneklerin Hazırlanması: *A. lazikkiyense* ekstreleri 5 mL'lik balon jojeye alınarak üzeri metanol ile tamamlanıp ultrasonik banyoda 10 dakika bekletildi. 100 mg/L'lik internal standart çözeltisinden final konsantrasyonu 3 ppm olacak şekilde örnek üzerine eklendi. Örnek 0,45 µm filtreden geçirilerek viale alındı.

Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Şartları:

Hareketli faz A: %1 Formik asit-su

Hareketli faz B: %1 Formik asit-metanol

Kolon: Troyasil C18HS – 150 x 3 mm, 5 µm

Gradient:

Zaman (dk)	Akış (mL/dk)	% B
0.00	0,35	50
1.00	0,35	50
3.00	0,35	100
6.00	0,35	100
7.00	0,35	50
15.00	0,35	50

Kütle Spektrometresi (MS) Şartları:

Cihaz: Thermo ORBITRAP Q-EXACTIVE

İyon kaynağı: Elektro Sprey İyonizasyon (ESI)

Kütle tarama aralığı: 100-900 m/z

Sheath gazı akış hızı: 45 mL/dk

Aux gazı akış hızı: 10 mL/dk

Sprey voltajı: 3.80 kV

Kapiler sıcaklığı: 320°C

Aux gazı ısıtıcı sıcaklığı: 320°C

Tanımlamalar: İLMER Kütüphanesi

Çevre Şartları:

Sıcaklık: 22±5°C

Bağıl nem: 50±15 % rh

3.4.5. Antioksidan Aktivite Tayini

3.4.5.1. DPPH Radikali Giderici Aktivite Tayini

A. lazikkiyense ekstrelerinin DPPH radikali giderme aktivitesi Brand-Williams ve ark. (1995) tarafından geliştirilen metotta bazı değişiklikler yapılarak tayin edildi.

Kullanılan Çözeltiler:

Stok DPPH Çözeltisi (1 mM); 3,9 mg DPPH tartıldıktan sonra metanol ile çözülüp 10 ml'ye tamamlandı. Deney yapılacağı zaman bu stok çözelti metanol ile 10 kez seyreltilerek DPPH çalışma çözeltisi (0,1 mM) hazırlandı.

Kersetin çözeltisi (2,5 mg/mL); Standart antioksidan olarak kullanılan kersetinden 2,5 mg tartıldıktan sonra 1 mL etanol ile çözülüp stok kersetin çözeltisi hazırlandı. Daha sonra bu stok çözeltinin etanol ile seyreltilmesi ile hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki çözeltiler (0,03 - 0,25 mg/mL) deneylerde kullanıldı.

Deneyin yapılışı: 10 µL ekstre veya kersetin çözeltileri üzerine 240 µL DPPH çalışma çözeltisi eklenip 30 dakika karanlıkta bekletildikten sonra absorbanslar 517 nm'de köre karşı ölçüldü. Kontrol, ekstre yerine aynı miktarda çözücü kullanılarak hazırlandı. Ayrıca, DPPH çözeltisi yerine aynı miktarda metanol konularak ekstre körleri hazırlandı. Deneyler üç kez tekrarlandı ve ortalamaları alındı.

Hesaplama: Örneklerin DPPH radikali giderici aktivitesi (%) aşağıdaki formüle göre hesaplandı. Sonuçlar, yarı maksimum etkili konsantrasyon (EC₅₀; DPPH radikalının % 50'sini giderebilen ekstre veya standart miktarı) olarak ifade edildi.

$$\text{DPPH radikali giderici aktivite (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Ekstrenin 517 nm'deki absorbansı}}{\text{Kontrolün 517 nm'deki absorbansı}} \right) \times 100$$

3.4.5.2. Demir(III) İyonu Redükleyici Antioksidan Potansiyeli (FRAP) Tayini

A. lazikkiyense ekstrelerinin demir iyonu indirgeyici güçleri Benzie ve Strain (1996)'ın kullandığı metoda göre tayin edildi.

Kullanılan çözeltiler:

HCl çözeltisi (40 mM); 82,8 mL derişik (% 36'lık ve $d=1,19$) HCl distile su ile 1 L'ye seyreltilerek 1 M HCl çözeltisi hazırlandı. Daha sonra 1 M HCl çözeltisinden 4 mL alınarak distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

TPTZ çözeltisi (10 mM); 15,6 mg TPTZ tartıldıktan sonra 5 mL HCl çözeltisi (40 mM) ile çözüldü.

FeCl₃ çözeltisi (20 mM); 27 mg FeCl₃.6H₂O tartıldıktan sonra 5 mL distile su ile çözüldü.

Sodyum-asetat tamponu (0,3 M; pH 3,6); 3,1 g sodyum asetat tartıldı ve 800 mL distile su ile çözüldü. Daha sonra bu karışıma 16 mL derişik asetik asit ilave edilerek pH'sı 3,6 olarak ayarlandı ve distile su ile 1 L'ye tamamlandı.

Demir sülfat çözeltisi (1,5 mM); 0,02 g FeSO₄.7H₂O tartıldıktan sonra distile su ile çözümlenerek 50 mL'ye tamamlandı. Daha sonra bu stok çözelti distile su ile seyreltilerek standart demir sülfat çözeltileri (0,25 - 1,5 mg/mL) hazırlandı.

FRAP ayıracı; 20 mL sodyum-asetat tamponu üzerine 2 mL TPTZ çözeltisi ve 2 mL FeCl₃ çözeltisi ilave edilerek deney sırasında taze olarak hazırlandı.

Kersetin çözeltisi (2,5 mg/mL); Standart antioksidan olarak kullanılan kersetinden 2,5 mg tartıldıktan sonra 1 mL etanol ile çözümlenip stok kersetin çözeltisi hazırlandı. Daha sonra bu stok çözeltinin etanol ile seyreltilmesi ile hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki çözeltiler (0,03 - 0,25 mg/mL) deneylerde kullanıldı.

Deneyin yapılışı: 10 µL ekstre veya kersetin çözeltileri 20 µL DMSO ile karıştırılarak 37°C'de 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra bu karışımın üzerine 37°C'de bekletilen 270 µL FRAP ayıracı ilave edilerek 4. dakikadaki absorbanları 593 nm'de köre karşı ölçüldü. Deneyler üç kez tekrarlandı ve ortalamaları alındı.

Hesaplama: Örneklerin absorban değerlerinin demir sülfat standart eğrisine ($y=0,631x - 0,0954$ $R^2=0,9801$) uygulanması ile FRAP değerleri (mM Fe²⁺) hesaplandı ve 1 mM Fe(III)'ün Fe(II)'e indirgenmesi olarak ifade edildi.

3.4.6. Antidiyabetik Aktivite Tayini

3.4.6.1. α -Glukozidaz İnhibe Edici Aktivite Tayini

A. lazikkiyense ekstrelerin α -glukozidaz inhibe edici aktiviteleri Bothon ve ark.'nın (2013) metodunda bazı değişiklikler yapılarak tayin edildi.

Kullanılan çözeltiler:

NaCl içeren sodyum-fosfat tamponu (20 mM; pH 6,8); 0,89 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve 0,79 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ distile su ile çözülerek 250 mL'ye tamamlandı. Tamponun pH'sı 6,8'e ayarlandıktan sonra içerisine 0,098 g NaCl ilave edilerek çözüldü.

pNPG çözeltisi (1 mM); 0,003 g pNPG tartıldıktan sonra 10 mL sodyum-fosfat tamponunda çözüldü.

α -Glukozidaz çözeltisi (1 U/mL); 100 Ünite (U)'lik α -glukozidaz (*Saccharomyces cerevisiae* kaynaklı) 1 mL sodyum-fosfat tamponu ile çözüldü. Elde edilen bu stok enzim çözeltisi (100 U/mL) sodyum-fosfat tamponu ile 1 U/mL olacak şekilde seyreltilerek deneylerde kullanıldı.

Akarboz çözeltisi (5 mg/mL); Standart antidiyabetik olarak kullanılan akarbozdan 5 mg tartıldıktan sonra 1 mL su ile çözülüp stok akarboz çözeltisi hazırlandı. Daha sonra bu stok çözeltinin etanol:su (1:1) karışımı ile seyreltilmesi ile hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki çözeltiler (0,3 - 2,5 mg/mL) deneylerde kullanıldı.

Deneyin yapılışı: 25 μL bitki ekstresi veya akarboz çözeltileri, 75 μL sodyum-fosfat tamponu ve 50 μL α -glukozidaz çözeltisi karıştırılarak 37°C'de 10 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra 50 μL pNPG çözeltisi eklenerek absorbans artışı 10 dakika boyunca 405 nm'de ölçüldü. Kontrol, bitki ekstresi yerine aynı miktarda etanol:su (1:1) karışımı konularak hazırlandı. Ayrıca, α -glukozidaz çözeltisi yerine aynı miktarda sodyum-fosfat tamponu konularak ekstre körleri hazırlandı. Deneyler üç kez tekrarlandı ve ortalamaları alındı.

Hesaplama: Örneklerin α -glukozidaz inhibe edici aktivitesi (%) aşağıdaki formüle göre hesaplandı. Sonuçlar, yarı maksimum inhibisyon konsantrasyonu (IC_{50} ; α -glukozidaz enzimini %50 inhibe eden ekstre veya standart miktarı) olarak ifade edildi.

$$\% \text{ inhibisyon} = \left(1 - \frac{\text{Örneğin 405 nm'deki absorbans değişimi}}{\text{Kontrolün 405 nm'deki absorbans değişimi}} \right) \times 100$$

3.4.6.2. α -Amilaz İnhibe Edici Aktivite Tayini

A. *lazikkiyense* ekstrelerin α -amilaz inhibe edici aktiviteleri Ali ve ark. (2006)'nın metodunda bazı değişiklikler yapılarak tayin edildi.

Kullanılan çözeltiler:

NaCl içeren sodyum-fosfat tamponu (20 mM; pH 6,8); 0,89 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve 0,79 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ distile su ile çözülerek 250 mL'ye tamamlandı. Tamponun pH'sı 6,8'e ayarlandıktan sonra içerisine 0,098 g NaCl ilave edilerek çözüldü.

Nişasta çözeltisi (% 0,75 g); 75 g nişasta az miktar distile su ile süspansiyon haline getirildikten sonra kaynamakta olan 80 mL distile suyun içine azar azar karıştırarak ilave edildi. 15 dk boyunca karıştırılarak ısıtmaya devam edildi. Soğutulduktan sonra distile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

α -Amilaz çözeltisi (3 U/mL); 1 MU'luk α -amilazdan (domuz pankreası kaynaklı) 5 mg tartılıp 5 mL sodyum-fosfat tamponu ile çözüldü. Elde edilen bu stok enzim çözeltisi (22 U/mL), sodyum-fosfat tamponu ile 3 U/mL olacak şekilde seyreltilerek deneylerde kullanıldı.

NaOH çözeltisi (2 M); 4 g NaOH tartıldıktan sonra distile su ile çözülerek 50 mL'ye tamamlandı.

Renk ayırıcı (DNS ayırıcı); 2 g DNS tartıldıktan sonra, önceden 70°C'de ısıtılmış 40 mL NaOH çözeltisi ile çözüldü. Bu karışıma önceden 70°C'de ısıtılmış 100 mL distile su ve 60 g sodyum potasyum tartarat ilave edildi ve 70°C'lik su banyosunda ısıtılarak çözüldü. Soğuduktan sonra hacmi 200 mL'ye tamamlandı.

Akarboz çözeltisi (5 mg/mL); Standart antidiyabetik olarak kullanılan akarbozdan 5 mg tartıldıktan sonra 1 mL su ile çözülüp stok akarboz çözeltisi hazırlandı. Daha sonra bu stok çözeltinin etanol:su (1:1) karışımı ile seyreltilmesi ile hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki çözeltiler (0,125 - 1 mg/mL) deneylerde kullanıldı.

Deneyin yapılışı: 10 μL ekstre veya akarboz çözeltileri, 40 μL sodyum-fosfat tamponu ve 50 μL α -amilaz çözeltisi ile karıştırılarak 25°C'de 10 dakika boyunca inkübe edildi. İnkübasyondan sonra karışımın üzerine 50 μL nişasta çözeltisi ilave edildi ve 25°C'de 5 dakika bekletildikten sonra 75 μL renk ayırıcı konularak reaksiyon durduruldu. Tüm karışım 15 dakika boyunca 85°C'de bekletilip ve soğutulduktan sonra distile su ile 4 kez seyreltilti. Karışımın absorbansı 540 nm'de köre karşı ölçüldü. Kontrol, bitki ekstresi

yerine aynı miktarda etanol:su (1:1) karışımı kullanılarak hazırlandı. Ayrıca, α -amilaz çözeltisi yerine aynı miktarda sodyum-fosfat tamponu konularak ekstre körleri hazırlandı. Deneyler üç kez tekrarlandı ve ortalamaları alındı.

Hesaplama: Örneklerin α -amilaz inhibe edici aktivitesi (%) aşağıdaki formüle göre hesaplandı. Sonuçlar, yarı maksimum inhibisyon konsantrasyonu (IC_{50} ; α -amilaz enzimini % 50 inhibe eden ekstre veya standart miktarı) olarak ifade edildi.

$$\% \text{ inhibisyon} = \left(1 - \frac{\text{Örneğin 540 nm'deki absorbans değişimi}}{\text{Kontrolün 540 nm'deki absorbans değişimi}} \right) \times 100$$

3.4.7. Anti-Alzheimer Aktivite Tayini

3.4.7.1. Asetilkolinesteraz (AChE) İnhibe Edici Aktivite Tayini

A. *lazikkiyense* ekstrelerinin AChE inhibe edici aktiviteleri Ellman ve ark.'nın (1961) geliştirdiği metotta bazı değişiklikler yapılarak tayin edildi.

Kullanılan çözeltiler:

Sodyum-fosfat tamponu (0,1 M; pH 7,5); 4,45 g $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ tartıldıktan sonra distile su ile çözülerek 250 mL'ye tamamlandı. 3,9 g $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ tartıldıktan sonra distile su ile çözülerek 250 mL'ye tamamlandı. Daha sonra bu iki çözelti uygun oranlarda karıştırılarak pH'sı 7,5'e ayarlandı.

$NaHCO_3$ içeren sodyum-fosfat tamponu; 0,0375 g $NaHCO_3$ tartıldıktan sonra 25 mL sodyum-fosfat tamponu ile çözüldü.

DTNB çözeltisi (10 mM); 3,95 mg DTNB tartıldıktan sonra 1 mL $NaHCO_3$ içeren sodyum-fosfat tamponu ile çözüldü.

ATChI çözeltisi (75 mM); 0,021 g ATChI tartıldıktan sonra 1 mL distile su ile çözüldü.

Ellman ayıracı; 15 mL sodyum-fosfat tamponu, 500 μ L DTNB çözeltisi ve 200 μ L ATChI çözeltisinin karıştırılması ile deney sırasında taze olarak hazırlandı.

AChE çözeltisi (0,5 U/mL); 500 U'luk AChE (*Electrophorus electricus* kaynaklı) 1 mL sodyum-fosfat tamponu ile çözüldü. Elde edilen bu stok enzim çözeltisi (500 U/mL) sodyum-fosfat tamponu ile 0,5 U/mL olacak şekilde seyreltilerek deneylerde kullanıldı.

Galantamin çözeltisi (2 mg/mL); Standart olarak kullanılan galantaminin 2 mg'ı 1 mL distile su ile çözülüp stok galantamin çözeltisi (2 mg/mL) hazırlandı. Daha sonra bu stok çözeltinin etanol:su (1:1) karışımı ile seyreltilmesi ile hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki çözeltiler (0,006 - 0,05 mg/mL) deneylerde kullanıldı.

Deneyin yapılışı; 20 µL ekstre veya galantamin çözeltileri ile 220 µL Ellman ayırıcı karıştırıldı. Daha sonra 10 µL AChE çözeltisi eklenerek absorbans artışı 412 nm' de 10 dakika boyunca köre karşı ölçüldü. Kontrol, bitki ekstresi yerine aynı miktarda etanol:su (1:1) karışımı kullanılarak hazırlandı. Ayrıca, AChE çözeltisi yerine aynı miktarda sodyum-fosfat tamponu konularak ekstre körleri hazırlandı. Deneyler üç kez tekrarlandı ve ortalamaları alındı.

Hesaplama: Örneklerin AChE inhibe edici aktivitesi (%) aşağıdaki formüle göre hesaplandı. Sonuçlar, yarı maksimum inhibisyon konsantrasyonu (IC₅₀; AChE enzimini % 50 inhibe eden ekstre veya standart miktarı) olarak ifade edildi.

$$\% \text{ inhibisyon} = \left(1 - \frac{\text{Örneğin 412 nm'deki absorbans değişimi}}{\text{Kontrolün 412 nm'deki absorbans değişimi}} \right) \times 100$$

3.4.7.2. Butirilkolinesteraz (BChE) İnhibe Edici Aktivite Tayini

A. lazikkiyense ekstrelerinin BChE inhibe edici aktiviteleri Ellman ve ark.'nın (1961) geliştirdiği metota bazı değişiklikler yapılarak tayin edildi.

Kullanılan çözeltiler:

Sodyum-fosfat tamponu (0,1 M; pH 7,5); 4,45 g Na₂HPO₄.2H₂O tartıldıktan sonra distile su ile çözülerek 250 mL'ye tamamlandı. 3,9 g NaH₂PO₄.2H₂O tartıldıktan sonra distile su ile çözülerek 250 mL'ye tamamlandı. Daha sonra bu iki çözelti uygun oranlarda karıştırılarak pH'sı 7,5'e ayarlandı.

NaHCO₃ içeren sodyum-fosfat tamponu; 0,0375 g NaHCO₃ tartıldıktan sonra 25 mL sodyum-fosfat tamponu ile çözüldü.

DTNB çözeltisi (10 mM); 3,95 mg DTNB tartıldıktan sonra 1 mL NaHCO₃ içeren sodyum-fosfat tamponu ile çözüldü.

BTChI çözeltisi (75 mM); 0,024 g BTChI tartıldıktan sonra 1 mL distile su ile çözüldü.

Ellman ayıracı; 15 mL sodyum-fosfat tamponu, 500 µL DTNB çözeltisi ve 200 µL BTChI çözeltisinin karıştırılması ile deney sırasında taze olarak hazırlandı.

BChE çözeltisi (0,55 U/mL); 10 mg 1,2 KU'luk BChE (at serumu kaynaklı) tartılarak 2 mL sodyum-fosfat tamponu ile çözüldü. Elde edilen bu stok enzim çözeltisi (55 U/mL) sodyum-fosfat tamponu ile 0,55 U/mL olacak şekilde seyreltilerek deneylerde kullanıldı.

Galantamin çözeltisi (2 mg/mL); Standart olarak kullanılan galantaminin 2 mg'ı 1 mL distile su ile çözülüp stok galantamin çözeltisi (2 mg/mL) hazırlandı. Daha sonra bu stok çözeltinin etanol:su (1:1) karışımı ile seyreltilmesi ile hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki çözeltiler (0,025 - 0,2 mg/mL) deneylerde kullanıldı.

Deneyin yapılışı: 20 µL ekstre veya galantamin çözeltileri ile 220 µL Ellman ayıracı karıştırıldı. Daha sonra 10 µL BChE çözeltisi eklenerek absorbans artışı 412 nm de 10 dakika boyunca köre karşı ölçüldü. Kontrol, bitki ekstresi yerine aynı miktarda etanol:su (1:1) karışımı kullanılarak hazırlandı. Ayrıca, BChE çözeltisi yerine aynı miktarda sodyum-fosfat tamponu konularak ekstre körleri hazırlandı. Deneyler üç kez tekrarlandı ve ortalamaları alındı.

Hesaplama: Örneklerin BChE inhibe edici aktivitesi (%) aşağıdaki formüle göre hesaplandı. Sonuçlar, yarı maksimum inhibisyon konsantrasyonu (IC₅₀; BChE enzimini % 50 inhibe eden ekstre veya standart miktarı) olarak ifade edildi.

$$\% \text{ inhibisyon} = \left(1 - \frac{\text{Örneğin 412 nm'deki absorbans değişimi}}{\text{Kontrolün 412 nm'deki absorbans değişimi}} \right) \times 100$$

3.4.8. Antikanser Aktivite Tayini

A. lazikkiyense ekstrelerinin antikanser aktivitesinin saptanması için, meme kanseri hücre hattı (MCF-7) üzerine sitotoksik etkisi tayin edildi. Kullanılan hücre hatları İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı'ndan temin edildi. Hücre kültürü ve sitotoksik analizler İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Hücre Kültürü Laboratuvarı'nda yapıldı.

Hücre Kültürü

Çalışmamızda kullanılan MCF-7 hücre hattı, % 10 FBS ve 100 U/mL penisilin/100 µg/mL streptomisin içeren DMEM/F-12 besiyerinde %5'lik CO₂ desteği ile 37°C'lik inkübatörde kültüre edildi.

Hücrelerin çoğaltılması:

- Stoklanmış olan hücreler sıvı azot tankından alınıp 37°C'lik su banyosunda çözülür.
- Hücre süspansiyonu 15 mL'lik tüplere aktarıldı ve besiyeri eklenerek 1500 rpm'de 5 dk santrifüje edildi.
- Elde edilen hücre pelletlerine taze besiyeri eklendi ve ardından 75cm² flasklara ekildi.
- Flasklar %5'lik CO₂ destekli 37°C'lik etüvde inkübe edildi.
- 2 gün aralıklar ile hücreler inverted mikroskop kullanılarak kontrol edildi ve ihtiyaca göre flasklardaki besiyerleri değiştirildi.

Hücrelerin pasajlanması:

- Flasklardaki hücre yoğunluğu % 80-% 90'a ulaştığı zaman, hücreler tripsinize edilerek pasajlandı.
- Flasklara % 0,25 tripsin/EDTA solüsyonu ilave edildi ve yaklaşık 5 dakika 37°C'de inkübe edildi.
- İnkübasyondan sonra tripsinin etkisini durdurmak için flasklara besiyeri eklendi.
- Flask yüzeyleri serolojik pipet kullanılarak yıkandı, süspanse hücreler 15 mL santrifüj tüplerine aktarıldı ve 1500 rpm'de 5 dk santrifüje edildi.
- Hücreler yeni steril flasklara bölünerek % 5'lik CO₂ destekli 37°C'lik etüvde inkübe edildi.

Hücrelerin dondurulması: Tripsinize edilen süspanse hücreler santrifüje edildikten sonra hücre pelleti, steril DMSO içeren besiyeri ile süspanse edildi. 1,5 mL'lik kriyoviyal tüplere konularak hücreler donduruldu ve daha sonra tüpler sıvı azotta stoklandı.

3.4.8.1. Sitotoksosite Tayini

Çalışmamızda *A. lazickiyense* ekstrelerinin MCF-7 hücre hattı üzerine sitotoksik aktivitesi MTT yöntemi kullanılarak ölçüldü. Bu yöntemin prensibi, canlı hücrelerin

mitokondrilerde bulunan dehidrojenaz enzimlerinin sarı renkli tetrazolium tuzunu mor renkli formazan kristallerine indirgenmesine dayanmaktadır (Ganot ve ark. 2013). Oluşan renk değişimi absorbans ölçümü yapılarak değerlendirilmektedir.

Kullanılan çözeltiler:

Tripsin/EDTA çözeltisi: 0,2 g tripsin ve 0,04 g EDTA tartıldıktan sonra DPBS ile çözülüp 100 mL'ye tamamlandı. 0,2 µm şırınga filtresinden geçirilerek sterilize edildi ve -20°C'de saklandı.

MTT çözeltisi (5 mg/mL): 5 mg MTT tartıldıktan sonra karanlık ortamda 1 mL DPBS ile çözüldü. 0,2 µm şırınga filtresinden geçirilerek sterilize edildi ve -20°C'de saklandı.

Deneyin yapılışı: *A. lazikkiyense* ekstreleri steril DMSO ile çözülerek stok çözeltiler hazırlandı. Stok çözeltiler besiyeri ile seyreltilerek hücrelere farklı konsantrasyonlarda uygulandı (3,125 - 400 µg/mL). Kuyuculardaki DMSO konsantrasyonu hücreler için toksik olmayacak seviyede (maksimum % 0,25) ayarlanarak her deneyde DMSO kontrolü yapıldı.

Hücreler 1 mm² alana ve 0,1 mm derinliğe sahip 4×16 küçük kareden oluşan Neubauer-improved hemositometre lamı ile invert mikroskop altında sayıldı. Hücre süspansiyonun mililitresindeki hücre sayısını hesaplamak için aşağıdaki formül kullanıldı.

$$\text{Hücre sayısı/mL} = \frac{\text{Hücre sayısı}}{\text{Sayılan küçük kare sayısı}} \times 16 \times 10^4$$

MCF-7 (1×10⁴/kuyucukhücre hattı besiyeri ile seyreltilerek (90 µL hücre süspansiyonu) 96 kuyucuklu mikropalakalara ekildi ve % 5'lik CO₂ destekli 37°C'lik etüvde 24 saat inkübe edildi. Daha sonra kuyucuklara 10 µL ekstre ilave edilerek aynı şartlarda 72 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun sonunda her kuyucuğa 20 µL MTT çözeltisi eklenerek % 5'lik CO₂ destekli 37°C'lik etüvde 3 saat inkübe edildi. Bu sürenin sonunda kuyucuklardaki sıvılar hücrelere zarar vermeden aspire edilip atıldı. Kuyucuklara 100 µL steril DMSO ilave edilerek mikropalakalar % 5'lik CO₂ destekli 37°C'lik etüvde 15 dakika inkübe edilip kuyucuklarda oluşan formazan kristallerinin çözünmesi sağlandı. Kuyucuklarda oluşan renk şiddeti 590 nm'de (670 nm referans dalga boyuna karşı) ölçüldü. Deneyler üç kez tekrarlandı ve ortalamaları alındı. Kontrol grubu, hücre hatları üzerine ekstre yerine besiyeri ilave edilerek hazırlandı.

Hesaplama: Örneklerin hücreler üzerindeki sitotoksik etkileri (% inhibisyon) aşağıdaki formüle göre hesaplandı. Sonuçlar, yarı maksimum inhibisyon konsantrasyonu (IC₅₀; hücrelerin yarısını öldürmek için gerekli olan ekstre miktarı) olarak ifade edildi.

$$\% \text{ İnhibisyon} = \left(1 - \frac{\text{Örneğin absorbansı}}{\text{Kontrolün absorbansı}} \right) \times 100$$



4. BULGULAR

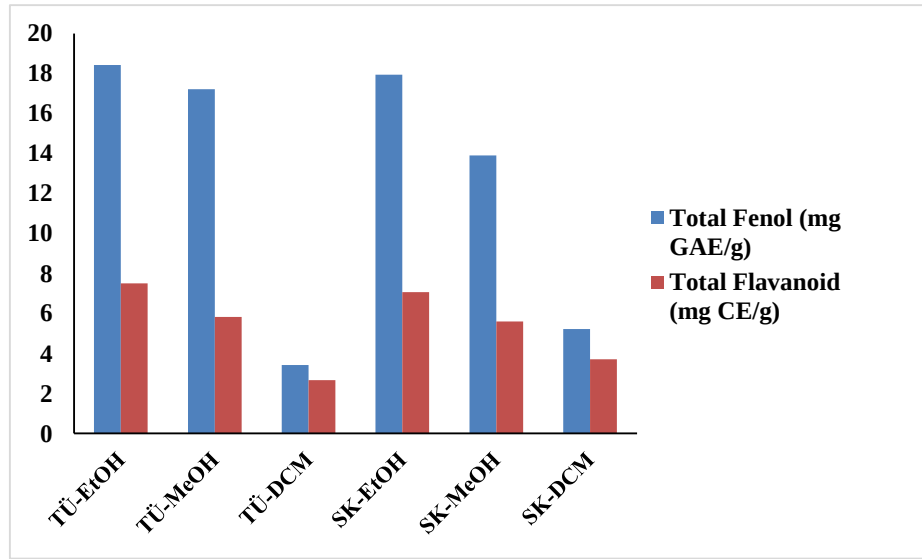
4.1. *A. lazikkiyense* Ekstrelerinin Total Fenolik ve Flavonoid Miktarları

A. lazikkiyense toprak üstü (TÜ) ve soğan kabuğu (SK) kısımlarından hazırlanan etanol (EtOH), metanol (MetOH) ve diklorometan (DCM) ekstrelerinin total fenolik (mg GAE/g ekstre) ve flavonoid (mg CE/g ekstre) miktarları Tablo 4-1 ve Şekil 4-1'de'de gösterilmektedir. Tüm ekstreler arasında, etanol ekstrelerinin hem toprak üstü hem de soğan kabuğu kısımlarında en yüksek total fenolik ve flavonoid miktarlarına sahip olduğu bunu sırasıyla metanol ve diklorometan ekstrelerinin takip ettiği gözlemlendi. Ayrıca etanol ve metanol ekstrelerinin toprak üstünde, diklorometan ekstrelerinin ise soğan kabuğu kısmında daha yüksek total fenolik içeriğe sahip olduğu görüldü. Total flavonoid miktarlarına bakıldığında, etanol ve metanol ekstresinin toprak üstünde, diklorometan ekstresinin ise soğan kabuğunda daha yüksek olduğu saptandı.

Tablo 4-1: *A. lazikkiyense* ekstrelerinin total fenolik ve flavonoid miktarları

	Toprak üstü			Soğan kabuğu		
	EtOH	MeOH	DCM	EtOH	MeOH	DCM
Total Fenol (mg GAE/g)	18,43±0,81	17,22±0,73	3,42±0,39	17,94±0,45	13,90±0,46	5,22±0,31
Total Flavonoid (mg CE/g)	7,50±0,34	5,82±0,51	2,66±0,18	7,06±0,33	5,59±0,44	3,71±0,24

Veriler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3).



Şekil 4-1: *A. lazikkiyense* ekstrelerinin total fenolik ve flavonoid miktarları

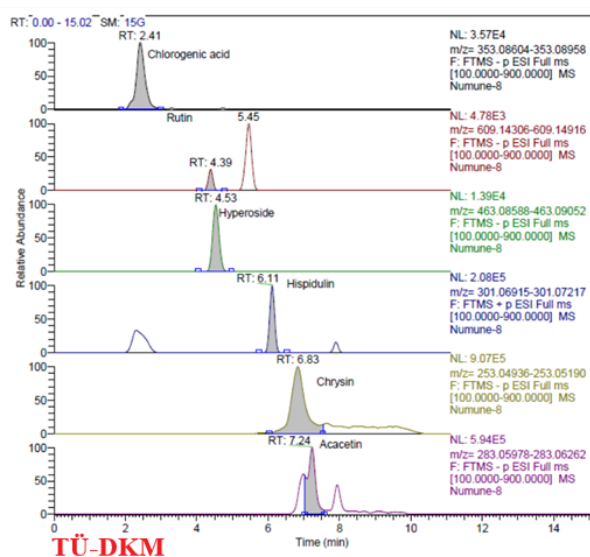
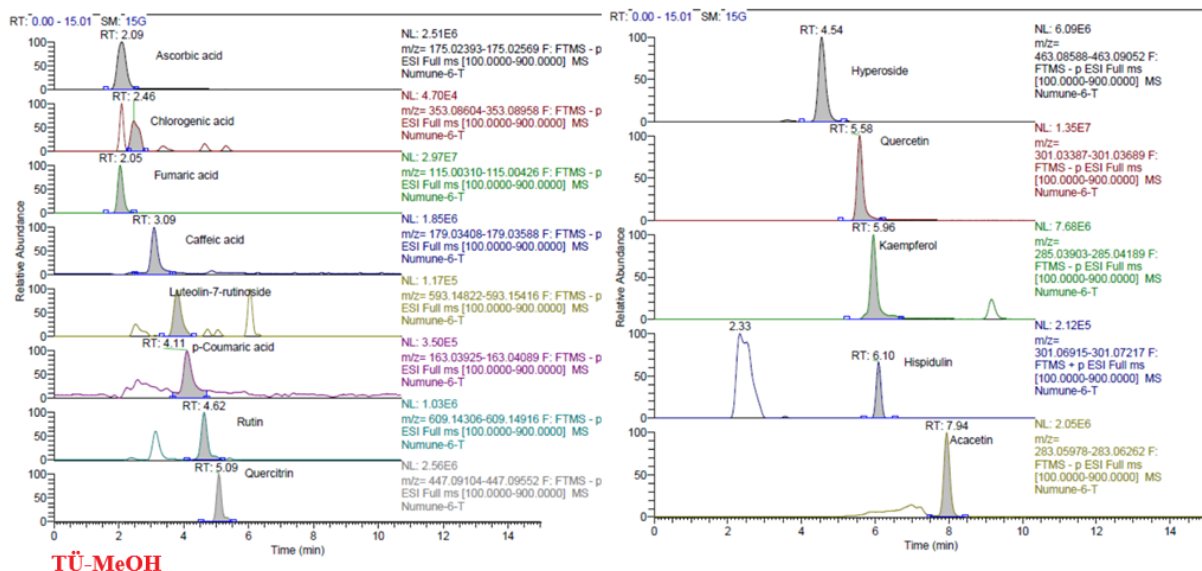
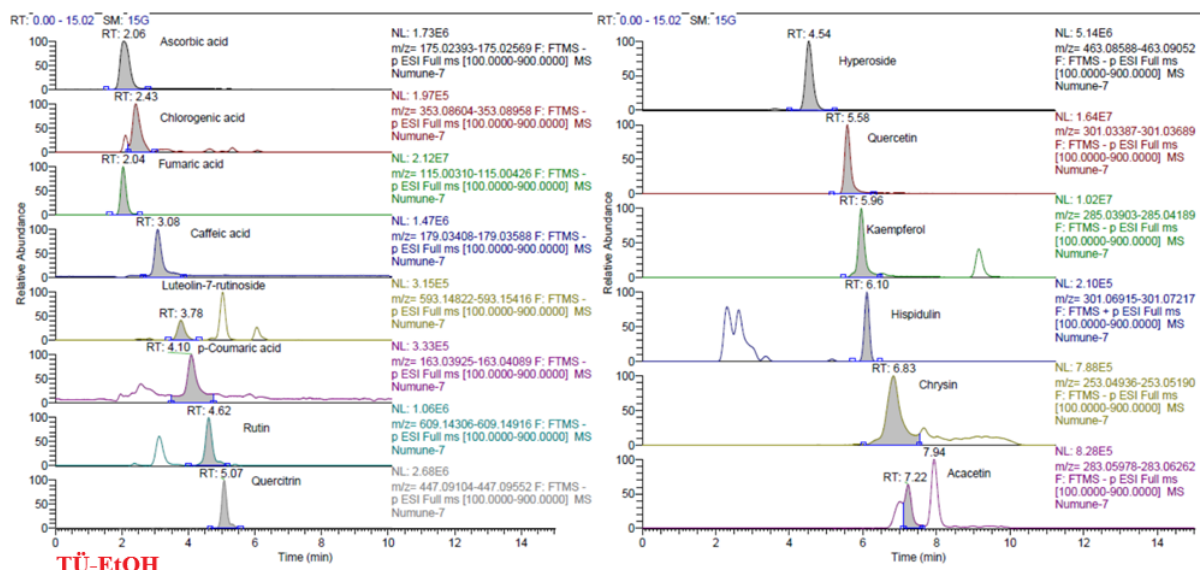
4.2. LC-MS/MS ile *A. lazikkiyense* Ekstrelerinin Fenolik İçerik Analizi

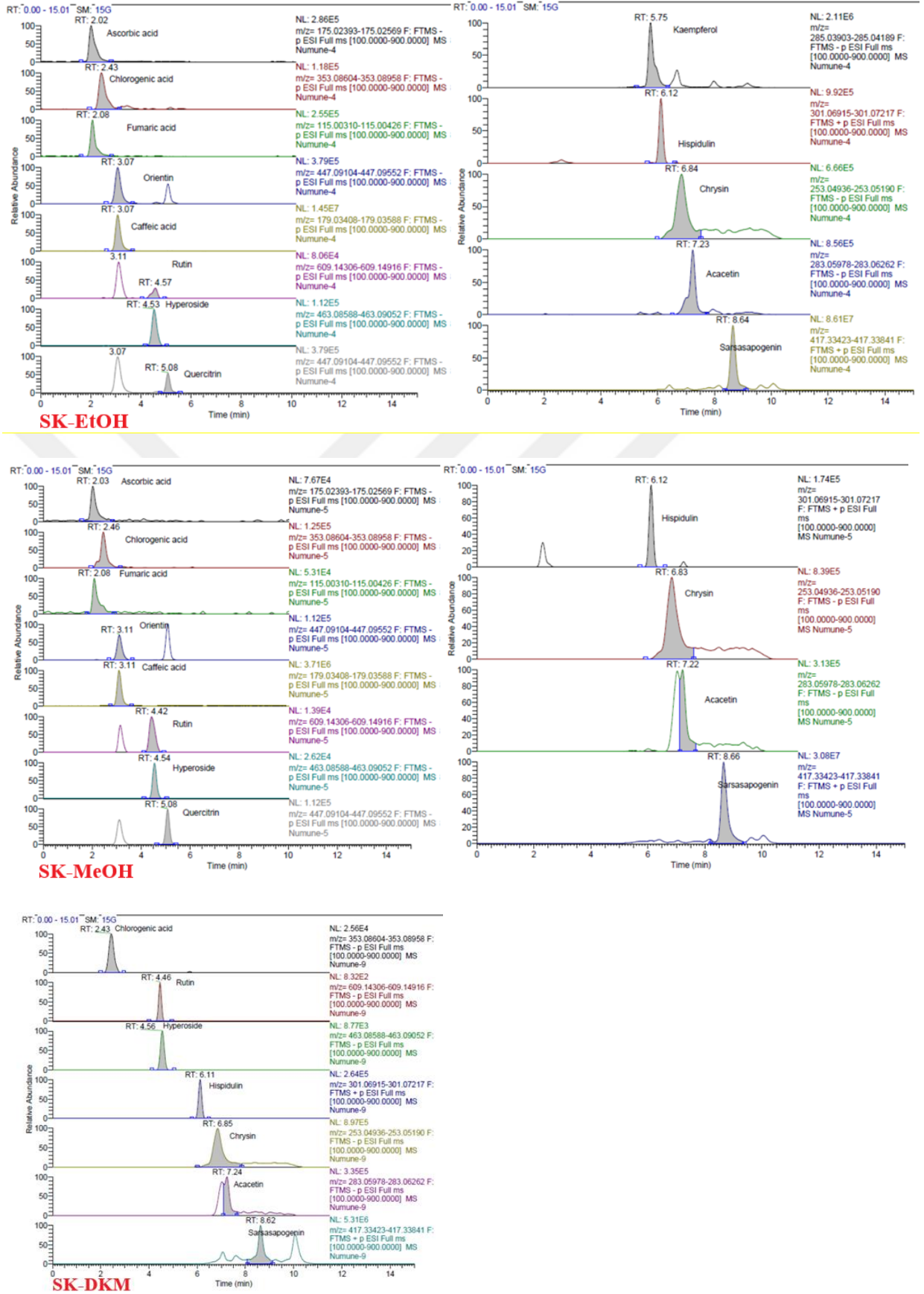
A. lazikkiyense toprak üstü (TÜ) ve soğan kabuğu (SK) kısımlarından hazırlanan etanol (EtOH), metanol (MetOH) ve diklorometan (DCM) ekstrelerinin içerisinde bulunan fenolik bileşikler ve bazı diğer bileşikler LC-MS/MS analizi ile belirlendi (Tablo 4-2.ve Şekil 4-2). Sonuçlar incelendiğinde toprak üstü ekstrelerinde en bol bulunan bileşiğin fumarik asit olduğu bunu sırasıyla p-kumarik asit, askorbik asit ve hiperositin takip ettiği görüldü. Buna karşılık soğan kabuğu ekstrelerinin en çok sarsapogenin, daha az olarak da kafeik asit ve fumarik asit içerdiği saptandı. Hem toprak üstü hem de soğan kabuğunda diklorometan ekstrelerinin diğer ekstreler ile karşılaştırıldığında fenolik içerik bakımından daha zayıf olduğu ancak hispidulin, krisin ve asasetin içeriklerinin diğerlerinden yüksek olduğu gözlemlendi. Klorojenik asit, rutin, hiperosit, hispidulin, krisin ve asasetinin tüm ekstrelerde miktarı ölçülebilen ortak maddeler olduğu bulundu. Bunun yanı sıra (-)epigallokateşin gallat, (+)-kateşin, (-)-epikateşin gallat, dihidrokamferol, salisilik asit, naringenin ve nepetinin ekstrelerdeki miktarlarının hesaplanmayacak düzeyde olduğu görüldü.

Tablo 4-2: *A. lazikkiyense* ekstrelerindeki fenolik bileşiklerin miktarları (mg/kg)

Madde Adı	Toprak üstü			Soğan kabuğu		
	EtOH	MeOH	DCM	EtOH	MeOH	DCM
Askorbik asit	234,12	406,98	<LOD	64,63	60,03	<LOD
(-)-Epigallokateşin gallat	<LOD	<LOD	<LOD	-	-	<LOD
(+)-Kateşin	<LOD	<LOD	<LOD	-	-	<LOD
Klorojenik asit	7,94	1,12	4,59	6,49	23,15	2,66
Fumarik asit	8757,71	16754,83	<LOD	172,95	141,14	<LOD
(-)-Epikateşin gallat	<LOD	<LOD	<LOD	-	-	<LOD
Orientin	<LOD	<LOD	<LOD	20,11	11,2	<LOD
Kafeik asit	11,57	22,31	<LOD	193,51	147,18	<LOD
Luteolin-7-rutinozit	1,36	2,81	<LOD	-	-	<LOD
Vanilik asit	<LOD	314,01	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
p-Kumarik asit	362,39	513,22	<LOD	-	-	<LOD
Rutin	99,55	121,82	4,36	4,16	8,04	9,57
Hiperosit	220,51	334,34	3,9	6,43	4,4	6,38
Dihidrokamferol	-	-	-	<LOD	<LOD	-
Kersitrin	35,98	45,25	<LOD	2,65	5,36	<LOD
Kersetin	76	81,61	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Salisilik asit	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Naringenin	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Nepetin	<LOD	<LOD	<LOD	-	-	<LOD
Kamferol	28,49	27,27	<LOD	2,96	<LOD	<LOD
Hispidulin	1,23	1,03	7,11	10,91	5,77	22,34
Krisin	3,81	0	23,85	4,48	17,99	55,85
Asasetin	4,99	14,21	31,65	7,44	16,14	49,47
Sarsasapogenin	<LOD	<LOD	<LOD	2695,15	3896,77	1515,43

LOD (Limit of detection); Ölçüm sınırlarının altındaki değerler için kullanılmıştır.





Şekil 4-2: A. lazickiyense ekstralarının LC-MS/MS kromatogramları

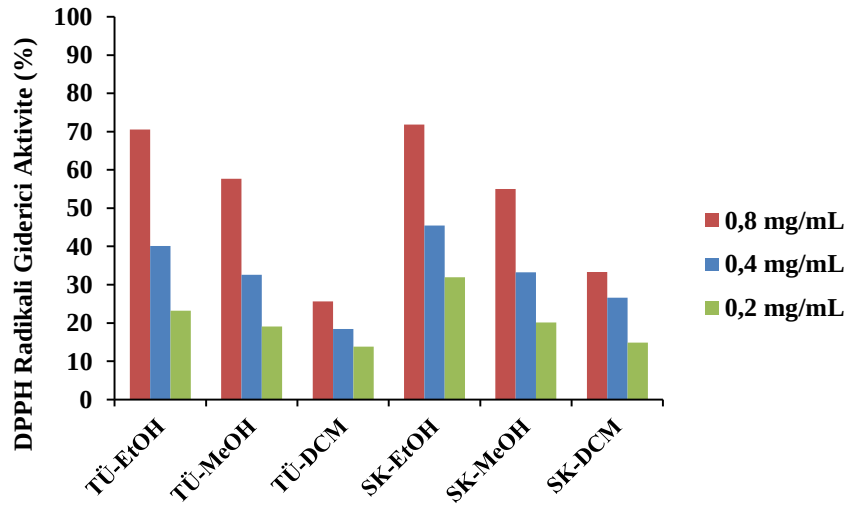
4.3. A. *lazikkiyense* Ekstrelerinin DPPH Radikali Giderici Aktivitesi

A. lazikkiyense toprak üstü (TÜ) ve soğan kabuğu (SK) kısımlarından hazırlanan etanol (EtOH), metanol (MetOH) ve diklorometan (DCM) ekstralarının doza bağlı DPPH radikali giderici aktiviteye sahip oldukları görüldü (Tablo 4-3 ve Şekil 4-3). Tüm ekstralar arasında etanol ekstralarının hem toprak üstü hem de soğan kabuğu kısımlarında en yüksek, diklorometan ekstralarının ise en düşük DPPH radikali giderici aktiviteye sahip oldukları görüldü. Toprak üstü ve soğan kabuğu ekstraları karşılaştırıldığında soğan kabuğu ekstralarının daha yüksek aktiviteye sahip olduğu görüldü. EC_{50} değerleri göz önüne alındığında etanol ve metanol ekstraları DPPH radikali giderici aktiviteleri bakımından SK-EtOH > TÜ-EtOH > TÜ-MeOH > SK-MeOH şeklinde sıralandı. Ancak diklorometan ekstralarının DPPH radikali giderici aktiviteleri % 30'ların üzerine çıkamadığı için, EC_{50} değerleri hesaplanamadı. Pozitif kontrol olarak kullanılan kersetinin DPPH radikali giderici aktivitesinin tüm ekstralardan daha yüksek olduğu gözlemlendi.

Tablo 4-3: *A. lazikkiyense* ekstraları ve kersetinin DPPH radikali giderici aktiviteleri (%)

Konsantrasyon	Toprak üstü			Soğan kabuğu			Kersetin
	EtOH	MeOH	DCM	EtOH	MeOH	DCM	
0,8 mg/mL	70,58±1,13	57,66±2,71	25,61±1,10	71,83±0,93	54,97±1,26	33,33±1,83	
0,4 mg/mL	40,09±1,79	32,62±1,28	18,41±0,74	45,48±0,72	33,24±2,02	26,64±0,51	
0,2 mg/mL	23,22±1,17	19,10±1,21	13,80±0,84	31,98±1,16	20,14±1,78	14,89±0,61	
0,01 mg/mL	-	-	-	-	-	-	83,65±1,14
EC_{50} (mg/mL)	0,54±0,017	0,68±0,034	-	0,47±0,009	0,71±0,017	-	0,0049±0,0001

Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3). Konsantrasyonlar reaksiyon ortamındaki final konsantrasyonları göstermektedir.



Şekil 4-3: *A. lazickiyense* ekstrelerinin DPPH radikali giderici aktiviteleri (%)

Konsantrasyonlar reaksiyon ortamındaki final konsantrasyonları göstermektedir.

4.4. A. *lazickiyense* Ekstrelerinin Demir(III) İyonu Redükleyici Antioksidan Potansiyeli (FRAP)

A. lazickiyense toprak üstü (TÜ) ve soğan kabuğu (SK) kısımlarından hazırlanan etanol (EtOH), metanol (MetOH) ve diklorometan (DCM) ekstrelerinin FRAP değeri (mM Fe²⁺) olarak ifade edilen demir indirgeyici güçleri Tablo 4-4'te gösterilmektedir. Tüm ekstreler arasında etanol ekstrelerinin en yüksek indirgeyici güce sahip olduğu bunu sırasıyla metanol ve diklorometan ekstrelerinin takip ettiği görüldü. FRAP değerleri göz önüne alındığında ekstreler indirgeyici güçleri bakımından SK-EtOH > TÜ-EtOH > TÜ-MeOH > SK-MeOH > SK-DCM > TÜ-DCM şeklinde sıralandı. Ekstrelerin FRAP değerleri pozitif kontrol olarak kullanılan kersetin ile karşılaştırıldığında ekstrelerin oldukça düşük indirgeyici güce sahip oldukları görüldü.

Tablo 4-4: A. lazikkiyense ekstrelerinin ve kersetinin demir indirgeyici güçleri

	Toprak üstü			Soğan kabuğu			Standart
	EtOH	MeOH	DCM	EtOH	MeOH	DCM	Kersetin
FRAP (mM Fe⁺²/mg)	13,69±0,25	11,86±0,43	7,18±0,38	14,59±0,21	11,34±0,40	9,73±0,41	1754,50±57,39

Veriler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3).

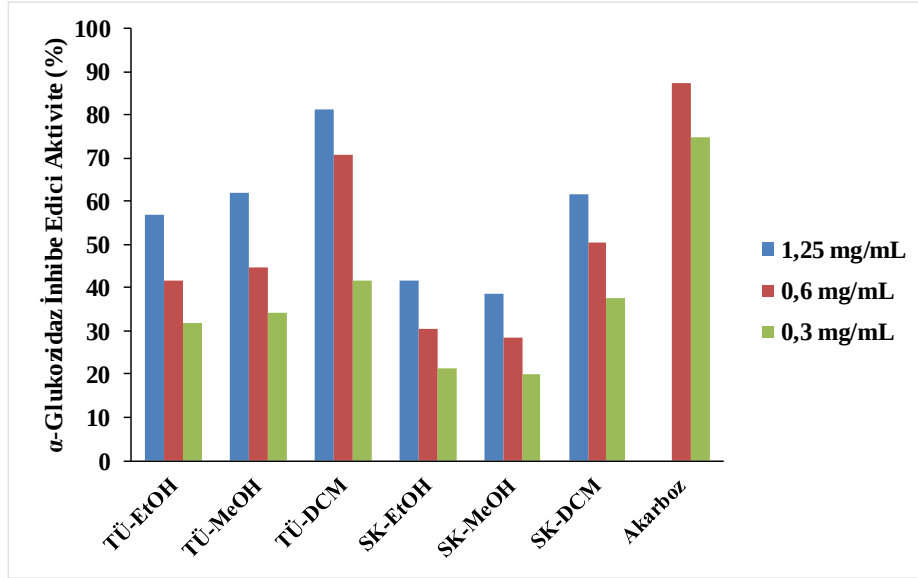
4.5. A. lazikkiyense Ekstrelerinin α -Glukozidaz İnhibe Edici Aktivitesi

A. lazikkiyense toprak üstü (TÜ) ve soğan kabuğu (SK) kısımlarından hazırlanan etanol (EtOH), metanol (MetOH) ve diklorometan (DCM) ekstrelerinin doza bağlı α -glukozidaz inhibe edici aktiviteye sahip oldukları görüldü (Tablo 4-5 ve Şekil 4-4) Tüm ekstreler arasında, diklorometan ekstreleri hem toprak üstü hem de soğan kabuğu kısımlarında diğer ekstrelerden daha yüksek α -glukozidaz inhibisyonu gösterdiler. Diğer yandan her bir çözücünün toprak üstü ekstrelerinin soğan kabuğuna göre daha etkili olduğu görüldü. IC₅₀ değerleri incelendiğinde ise, toprak üstü diklorometan ekstresinin (0,39±0,02) tüm ekstreler arasında en düşük IC₅₀ değerlerine sahip olduğu ancak bu değer pozitif kontrol olarak kullanılan akarbozdan (0,12±0,01) daha yüksek olduğu görüldü. Ekstreler IC₅₀ değerleri göz önüne alındığında α -glukozidaz inhibe edici aktiviteleri bakımından TÜ-DCM > SK-DCM > TÜ-MeOH > TÜ-EtOH > SK-EtOH > SK-MeOH olarak sıralandı.

Tablo 4-5: A. lazikkiyense ekstreleri ve akarbozun α -glukozidaz inhibe edici aktiviteleri (%)

Konsantrasyon	Toprak üstü			Soğan kabuğu			Standart
	EtOH	MeOH	DCM	EtOH	MeOH	DCM	Akarboz
1,25 mg/mL	56,78±1,24	62,14±2,52	81,40±1,74	41,54±1,03	38,67±2,31	61,69±1,47	-
0,6 mg/mL	41,62±3,08	44,63±2,60	70,65±3,99	30,51±0,97	28,31±0,72	50,38±1,77	87,47±1,21
0,3 mg/mL	31,99±1,67	34,21±3,13	41,58±1,15	21,32±2,29	19,94±0,75	37,73±1,43	74,82±1,61
IC₅₀ (mg/mL)	0,98±0,04	0,83±0,02	0,39±0,02	2,21±0,10	2,55±0,17	0,73±0,03	0,12±0,01

Veriler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3). Konsantrasyonlar reaksiyon ortamındaki final konsantrasyonları göstermektedir.



Şekil 4-4: *A. lazickiyense* ekstraları ve akarbozun α -glukozidaz inhibe edici aktiviteleri

Konsantrasyonlar reaksiyon ortamındaki final konsantrasyonları göstermektedir.

4.6. *A. lazickiyense* Ekstrelerinin α -Amilaz İnhibe Edici Aktivitesi

A. lazickiyense toprak üstü (TÜ) ve soğan kabuğu (SK) kısımlarından hazırlanan etanol (EtOH), metanol (MeOH) ve diklorometan (DCM) ekstralarının oldukça düşük α -amilaz inhibe edici aktiviteye sahip oldukları görüldü (% 11,90-% 15,63) (Tablo 4-6). Buna karşılık pozitif kontrol olarak kullanılan akarbozu 0,04 mg/mL konsantrasyonda % 82,32 α -amilaz inhibisyonu gösterdiği ve akarbozun, IC_{50} değerinin $0,005 \pm 0,001$ mg/mL olduğu saptandı.

Tablo 4-6: *A. lazickiyense* ekstraları ve akarbozun α -amilaz inhibe edici aktiviteleri (%)

Konsantrasyon	Toprak üstü			Soğan kabuğu			Standart
	EtOH	MeOH	DCM	EtOH	MeOH	DCM	Akarboz
0,4 mg/mL	12,16 $\pm$ 0,86	11,90 $\pm$ 1,41	12,46 $\pm$ 0,98	15,23 $\pm$ 1,60	15,63 $\pm$ 0,63	-	-
0,04 mg/mL	-	-	-	-	-	-	82,32 $\pm$ 0,76

Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3). Konsantrasyonlar reaksiyon ortamındaki final konsantrasyonları göstermektedir.

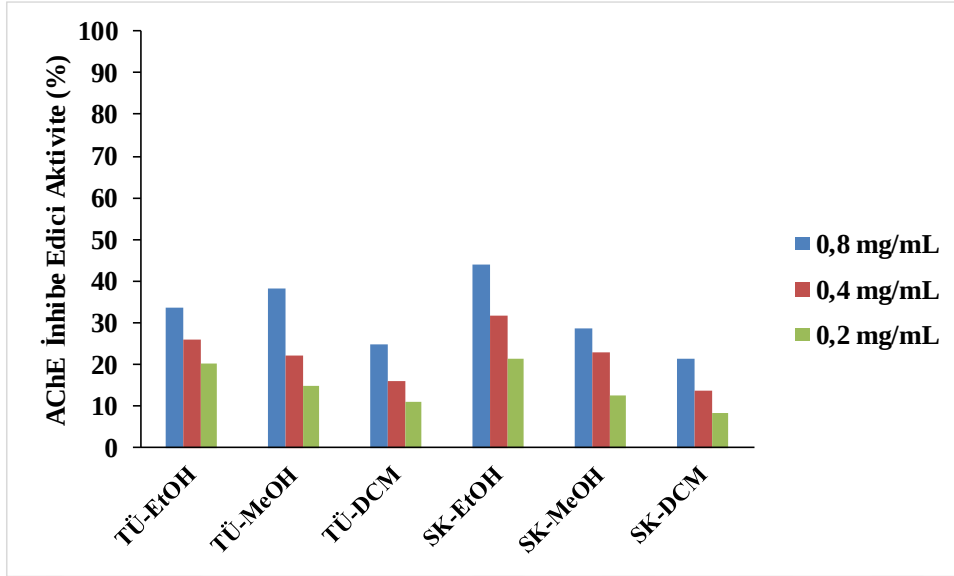
4.7. A. *lazikkiyense* Ekstrelerinin Asetilkolinesteraz (AChE) İnhibe Edici Aktivitesi

A. *lazikkiyense* toprak üstü (TÜ) ve soğan kabuğu (SK) kısımlarından hazırlanan etanol (EtOH), metanol (MetOH) ve diklorometan (DCM) ekstrelerinin AChE enzimini doza bağlı şekilde inhibe ettiği ancak bu etkilerinin oldukça düşük olduğu görüldü (Tablo 4-7 ve Şekil 4-5). Çalışılan en yüksek konsantrasyonda tüm ekstreler %50'nin altında (% 21,43-% 43,79) AChE inhibisyonu gösterdiği için IC₅₀ değerleri hesaplanamadı. 0,8 mg/mL konsantrasyondaki inhibisyon değerlerine bakıldığında, SK-EtOH ekstresinin en yüksek AChE inhibe edici etkiye sahip olduğu bunu sırasıyla TÜ-MeOH, Tü-EtOH ve SK-MeOH ekstrelerinin takip ettiği bulundu. Diklorometan ekstreleri hem toprak üstü hem de soğan kabuğu kısımlarında en düşük AChE inhibe edici aktivite gösterdi. Pozitif kontrol olarak kullanılan galantaminin 0,002 mg/mL konsantrasyonda %75,36 inhibisyona sahip olduğu (IC₅₀; 0,96±0,04 µg/mL) görüldü.

Tablo 4-7: A. *lazikkiyense* ekstreleri ve galantaminin AChE inhibe edici aktiviteleri (%)

Konsantrasyon	Toprak üstü			Soğan kabuğu			Standart
	EtOH	MeOH	DCM	EtOH	MeOH	DCM	Galantamin
0,8 mg/mL	33,73±3,15	38,28±2,30	24,90±1,77	43,79±1,44	28,72±1,25	21,43±2,05	
0,4 mg/mL	25,78±1,84	22,07±2,18	15,94±1,69	31,66±1,44	22,76±1,48	13,73±1,67	-
0,2 mg/mL	20,15±2,61	14,86±1,81	11,05±1,67	21,25±1,44	12,52±2,26	8,28±1,65	-
0,002 mg/mL	-	-	-	-	-	-	75,36±1,21

Veriler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3). Konsantrasyonlar reaksiyon ortamındaki final konsantrasyonları göstermektedir.



Şekil 4-5: A. lazikkiyense ekstrelerinin AChE inhibe edici aktiviteleri

Konsantrasyonlar reaksiyon ortamındaki final konsantrasyonları göstermektedir.

4.8. A.lazikkiyense Ekstrelerinin Butirilkolinesteraz (BChE) İnhibe Edici Aktivitesi

A. lazikkiyense toprak üstü (TÜ) ve soğan kabuğu (SK) kısımlarından hazırlanan etanol (EtOH), metanol (MeOH) ve diklorometan (DCM) ekstrelerinin BChE inhibe edici aktiviteleri incelendiğinde tüm ekstrelerin doza bağlı ancak düşük bir aktiviteye sahip oldukları görüldü (Tablo 4-8). 0,8 mg/mL konsantrasyonda, etanol ve metanol ekstrelerinin BChE inhibe edici etkilerinin toprak üstü ve soğan kabuğunda birbirine yakın aralıkta (% 34,40-% 39,76) olduğu ve diklorometan ekstrelerinin bunlardan daha düşük olduğu görüldü (% 20,36-% 28,96). Pozitif kontrol olarak kullanılan galantaminin ise 0,02 mg/mL konsantrasyonda % 68,87 inhibisyona sahip olduğu (IC_{50} ; $8,57 \pm 0,23 \mu g/mL$) görüldü.

Tablo 4-8: A. lazikkiyense ekstreleri ve galantaminin BChE inhibe edici aktiviteleri (%)

Konsantrasyon	Toprak üstü			Soğan kabuğu			Standart
	EtOH	MeOH	DCM	EtOH	MeOH	DCM	Galantamin
0,8 mg/mL	34,97 $\pm$ 1,96	39,76 $\pm$ 1,90	28,96 $\pm$ 1,72	34,40 $\pm$ 1,10	35,06 $\pm$ 0,11	20,36 $\pm$ 4,34	-
0,4 mg/mL	17,14 $\pm$ 1,63	29,57 $\pm$ 1,83	20,53 $\pm$ 1,39	21,38 $\pm$ 2,06	25,41 $\pm$ 1,90	9,80 $\pm$ 1,78	-
0,2 mg/mL	9,88 $\pm$ 1,63	20,30 $\pm$ 1,78	12,94 $\pm$ 0,83	13,63 $\pm$ 1,86	16,92 $\pm$ 1,23	-	-
0,02 mg/mL	-	-	-	-	-	-	68,87 $\pm$ 1,88

Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3). Konsantrasyonlar reaksiyon ortamındaki final konsantrasyonları göstermektedir.

4.9. *A.lazikkiyense* Ekstrelerinin Antikanser Aktivitesi

A. lazikkiyense toprak üstü (TÜ) ve soğan kabuğu (SK) kısımlarından hazırlanan etanol (EtOH), metanol (MetOH) ve diklorometan (DCM) ekstrelerinin MCF-7 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkileri, yüzde inhibisyon ve IC₅₀ değerleri olarak Tablo 4-9'da gösterilmektedir. Sonuçlar incelendiğinde, soğan kabuğu ekstrelerinin MCF-7 meme kanseri hücreleri üzerine sitotoksik aktivitesinin toprak üstüne göre daha yüksek olduğu görüldü. IC₅₀ değerleri göz önüne alındığında, ekstreler MCF-7 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkileri bakımından SK-EtOH > SK-MeOH > SK-DCM > TÜ-EtOH > TÜ-MeOH > TÜ-DCM olarak sıralandı.

Tablo 4-9: *A. lazikkiyense* ekstrelerinin MCF-7 hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri (%)

Konsantrasyon	Toprak üstü			Soğan kabuğu		
	EtOH	MeOH	DCM	EtOH	MeOH	DCM
200 µg/mL	84,45±0,62	76,55±0,74	35,41±0,74	99,15±0,08	98,40±0,25	91,78±0,95
100 µg/mL	57,56±0,90	58,11±1,41	24,27±0,75	98,39±0,41	81,16±1,98	67,70±1,22
50 µg/mL	53,44±0,54	49,26±0,67	6,99±0,19	69,91±1,18	59,04±0,84	52,52±0,46
IC ₅₀ (µg/mL)	46,36±2,66	54,65±0,40	361,61±6,25	6,89±0,16	20,26±1,06	36,83±1,96

Veriler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3). Konsantrasyonlar reaksiyon ortamındaki final konsantrasyonları göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Fenolik bileşikler, büyük ölçüde meyve ve sebzelerde bulunan bitki sekonder metabolitlerinin geniş bir grubunu oluşturmaktadır ve fenolik asitler, flavonoidler ve non-flavonoidler olarak üç temel gruba ayrılmaktadırlar. Fenolik bileşiklerin antioksidan, antibakteriyel, antifungal ve antiinflamatuvar gibi önemli biyolojik aktiviteleri sahip oldukları kanıtlanmıştır (Lima ve ark. 2019). *Allium* türlerinin kimyasal içerikleri üzerine yapılan çalışmalarda, fenolik bileşikler bakımından oldukça zengin olduğu bildirilmiştir (Simin ve ark. 2020).

Çalışmamızda, *A. lazikkiyense* türünün toprak üstü ve soğan kabuğu kısımlarına ait etanol, metanol ve diklorometan ekstraktlarının LC-MS/MS analizi ile fenolik içerikleri ilk kez ortaya konulmuştur. Tanımlanan bileşikler arasında p-kumarik asitin toprak üstü etanol (362,39 mg/kg) ve metanol (513,22 mg/kg) ekstraktlarında majör fenolik asit olduğu görülmüştür. Benzer şekilde Kahramanmaraş'tan toplanan *A. macrochaetum* (dağ sarımsağı) ile yapılan çalışmada p-kumarik asitin toprak üstü etanol (348,07 µg/g) ve su (139,66 µg/g) ekstraktlarındaki majör bileşiklerden biri olduğu saptanmıştır (Demirci Kayıran ve ark. 2019). Ayrıca yapılan birçok çalışmada çeşitli *Allium* türlerinin toprak üstü ve soğan kısımlarının quinic asit, p-kumarik asit, vanilik asit, kafeik asit gibi fenolik asitleri yüksek miktarda içerdiği ortaya konulmuştur (Ceylan ve Alıc 2015; Emir ve ark. 2020; İzol ve ark. 2021)

Tunceli dağ sarımsağı olarak da bilinen *A. tuncelianum* ile yapılan LC-MS/MS çalışmasında soğan metanol ekstresinin yüksek miktarda fumarik asit (318,24 µg/g) ve kafeik asit (237,52 µg/g) içerdiği belirtilmiştir (Takım ve ark. 2021). Bu çalışma ile uyumlu olarak çalışmamızda da *A. lazikkiyense*'nin soğan kabuğu metanol ekstraktlarında fumarik asit (141,14 mg/kg) ve kafeik asitin (147,18 mg/kg) majör bileşiklerden olduğu saptanmıştır. Yapılan diğer bir çalışmada ise fumarik asitin (5,92 mg/g) *A. kurtzianum* soğan metanol ekstresindeki majör bileşik olduğu ortaya konulmuştur (Yılmaz-Ozden ve ark. 2020).

Çalışmamızda rutin ve hiperosit gibi iki flavonoid glukozitin *A. lazikkiyense*'nin toprak üstü ve soğan kabuğu kısımlarına ait tüm ekstraktlarda ortak olarak bulunmakla birlikte toprak üstü ekstraktlarında daha yüksek miktarda olduğu saptandı. Benzer şekilde, *A. kurtzianum* toprak üstü ekstresinin rutin ve hiperosit içeriğinin soğan ekstresine göre

daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Yılmaz-Ozden ve ark. 2020). Ayrıca *A. melanatherum*, *A. flavum*, *A. fuscum* ve *A. paniculatum* türlerinin de yüksek miktarda rutin içerdiği bildirilmiştir (Simin ve ark. 2020).

Askorbik asit, bağışıklık sisteminin güçlenmesi, kollajen sentezi ve bazı hormon ve nörotransmitter metabolizmaları için gerekli olan vücut için önemli bir antioksidandır (Walingo 2005). Çalışmamızda toprak üstü etanol ve metanol ekstralarının önemli miktarda askorbik asit içerdiği görüldü. Yapılan çalışmalar soğan (*A. cepa*) ve pırasa (*A. ampeloprasum* var. *porrum*) gibi yaygın olarak tüketilen *Allium* türlerinin de önemli miktarlarda askorbik asit içerdiğini ortaya koymuştur (Bernaert ve ark. 2012; Upadhyay 2016). Ayrıca, steroidal bir saponin olan sarsasapogeninin *A. lazikkiyense* soğan kabuğu etanol (2695,15 mg/kg), metanol (3896,77 mg/kg) ve diklorometan (1515,43 mg/kg) ekstralarında oldukça yüksek miktarlarda bulunduğu gözlemlendi. Yapılan çalışmalarda çeşitli *Allium* türlerinin steroidal saponinler bakımından zengin olduğu ve bu bileşiklerin antifungal, sitotoksik ve hipokolestreolemik etkilere sahip oldukları gösterilmiştir (Sparg ve ark. 2004; Lanzotti 2005; Sobolewska ve ark. 2016).

Çalışmamızda *A. lazikkiyense* toprak üstü ve soğan kabuğu kısımlarına ait etanol, metanol ve diklorometan ekstralarının total fenolik miktarları incelendiğinde, ekstraksiyon sırasında kullanılan çözücüye göre bu miktarların değiştiği, hem toprak üstü hem soğan kabuğu kısımlarında etanol ekstralarının en yüksek buna karşın diklorometan ekstralarının en düşük total fenolik içeriğe sahip olduğu gözlemlendi. *A. lazikkiyense* fenolik bileşiklerini elde etmede yüksek polaritedeki çözücülerin daha etkili olduğu görülmüştür. Benzer sonuçlar *A. macrochaetum* ile yapılan çalışmada da elde edilmiş olup etanol ekstresinin hem toprak üstü hem de soğan kısımlarında su ekstresinden daha yüksek total fenolik içeriğe sahip olduğu bildirilmiştir (Demirci Kayıran ve ark. 2019). Singh ve ark. (2009) *A. cepa* ile yaptıkları çalışmada bizim sonuçlarımız ile uyumlu olarak diklorometan ekstresinin su, dietil eter, etil asetat ve butanol fraksiyonlarına göre en düşük total fenolik içeriğe sahip olduğunu göstermişlerdir.

Ayrıca çalışmamızda *A. lazikkiyense* etanol ve methanol ekstralarında toprak üstünün, diklorometan ekstralarında ise soğan kabuğunun daha yüksek total fenolik içeriğe sahip olduğu görüldü. *Allium* türleri ile yapılan diğer çalışmalarda ise *A.*

orientale etanol toprak üstü ekstresinin soğan ekstresinden daha yüksek total fenolik içeriğe sahip olduğu (Ceylan ve Alic 2015), buna karşın *A. nigrum* ve *A. subhirsutum* metanol ekstrelerinin soğan kısmında toprak üstü kısmından daha yüksek total fenolik içeriğe sahip olduğu bulunmuştur (Emir ve ark. 2020).

Flavonoidler, antioksidan özelliğe sahip bir grup polifenolik bileşiktir. Flavonoid bakımından zengin gıdaların tüketiminin kalp hastalıkları, felç, kanser ve diğer kronik hastalıkların insidansının azaltılmasında etkili olduğu gösterilmiştir. *Allium* türleri diyetle alınan flavonoidlerin önemli bir kaynağını oluşturmaktadır (Wu ve ark. 2009). Çalışmamızda *A. lazikkiyense* ekstrelerinin total flavanoid miktarlarının, total fenolik miktarları ile uyumlu bir şekilde hem toprak üstü hem soğan kabuğu kısımlarında etanol ekstrelerinde en yüksek buna karşın diklorometan ekstrelerinde en düşük düzeyde olduğu gözlemlendi. Benzer şekilde, *A. cepa* soğan kabuğu total flavonoid miktarının diklorometan ekstresinde en düşük olduğu gösterilmiştir (Singh ve ark. 2009). Yapılan diğer bir çalışmada *A. macrochaetum* toprak üstü ve soğan kısımlarında etanol ve su ekstrelerinin benzer flavonoid içeriğe sahip olduğu (Demirci Kayıran ve ark. 2019) bildirilmiştir. Çalışmamızda ayrıca *A. lazikkiyense* etanol ve metanol ekstrelerinde toprak üstünün buna karşın diklorometan ekstrelerinde ise soğan kabuğunun daha yüksek total flavonoid içeriğe sahip olduğu görüldü. Benzer şekilde LC-MS/MS analizi bulgularında da rutin, hiperosid, hispidulin gibi flavonoid yapıları bileşiklerin diklorometan ekstrelerinin soğan kabuğunda toprak üstüne göre daha yüksek miktarlarda bulunduğu gözlemlenmiştir.

Fenolik bileşikler redikal giderici, metal kelatlayıcı, indirgeyici ajan ve hidrojen vericisi olarak bilinmektedirler ve bu nedenle yüksek fenolik içeriğe sahip olan bitkiler de doğal antioksidanların önemli bir kaynağını oluşturmaktadırlar (Hajji ve ark. 2010). Birçok *Allium* türünün yüksek fenolik içerikleri nedeniyle güçlü antioksidan özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (Simin ve ark. 2020). İzol ve ark. (2021) yaptıkları çalışmada rutin, krisin, kersetin, hesperidin ve protokatekuik asit gibi fenolik bileşiklerce zengin içeriğin *Allium* türlerinin antioksidan aktivitesini arttırdığını bildirmişlerdir.

DPPH metodu, bir bileşiğin serbest radikal giderici potansiyelinin ölçülerek antioksidan özelliğinin değerlendirilmesinde kullanılan, uygulaması kolay standart bir yöntemdir (Mishra ve ark. 2012). Çalışmamızda *A. lazikkiyense* ekstrelerinin tümünün doz bağımlı DPPH radikali giderici aktiviteye sahip olduğu ve bu aktivitenin en yüksek

etanol ekstrelerinde, en düşük diklorometan ekstrelerinde olduğu bulundu. Etanol ekstrelerinin hem toprak üstü (EC_{50} ; $0,54 \pm 0,017$ mg/mL) hem de soğan kabuğu (EC_{50} ; $0,47 \pm 0,009$ mg/mL) kısımlarının DPPH radikali giderici aktivite bakımından zengin olduğu görüldü. *A. macrochaetum* ile yapılan çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar ile uyumlu olarak soğan etanol ekstresinin (EC_{50} ; $204,43 \pm 2,17$ µg/mL) en yüksek DPPH radikali giderici aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (Demirci Kayıran ve ark. 2019). Yapılan diğer çalışmalarda, *A. mongolicum* su (EC_{50} ; $0,86 \pm 0,01$ mg/mL) ve methanol (EC_{50} ; $0,98 \pm 0,03$ mg/mL) ekstrelerinin (Wang ve ark 2019) ve *A. ursinum* etanol, methanol ve su ekstrelerinin (EC_{50} ; $0,63-1,40$ mg/mL) (Pavlović ve ark. 2017), *A. lazickiyense* etanol ve metanol ekstrelerinden daha düşük DPPH radikali giderici aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca, Assefa ve ark. (2018) 20'den fazla ülkeden toplanan 112 adet farklı *Allium* türü veya varyetesi ile yaptıkları çalışmada *A. ramosum*'un en yüksek DPPH radikali giderici aktiviteye sahip olduğunu ve doğal antioksidanların potansiyel bir kaynağı olabileceğini bildirmişlerdir (Assefa ve ark. 2018).

FRAP metodu bileşiklerin antioksidan potansiyelinin belirlenmesinde kullanılan, DPPH metodu gibi hızlı ve kolay uygulanabilir diğer bir yöntemdir. Antioksidan özelliğe sahip olan bileşikler renksiz ve okside olan Fe^{3+} -TPTZ kompleksine elektron vererek mavi renkli Fe^{2+} -TPTZ kompleksine indirger (Benzie ve Strain 1996). Çalışmamızda *A. lazickiyense* ekstrelerinin en yüksek demir indirgeyici güce etanol ekstrelerinin sahip olduğu bunu metanol ve diklorometan ekstrelerinin izlediği görüldü. Singh ve ark. (2009) kırmızı soğan (*A. cepa*) kabuğu ile yaptıkları çalışmada diklorometan ekstresinin en düşük demir indirgeyici güce sahip olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca, *A. lazickiyense* toprak üstü ve soğan kabuğu kısımlarında herbir çözücü için FRAP değerleri arasında çok fark olmadığı görüldü. Buna karşın *A. neapolitanum*, *A. subhirsutum* ve *A. roseum* türlerinin FRAP değerlerinin ölçüldüğü çalışmada, her üç türün yaprak ve çiçek ekstrelerinin soğan ekstrelerine göre daha yüksek FRAP değerine sahip olduğu bildirilmiştir (Nencini ve ark. 2011). Bu farkın, soğanların kabuk kısımlarının yenilen iç kısmına göre daha yüksek fenolik içeriğe ve antioksidan aktiviteye sahip olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Lu ve ark. 2011).

A. lazickiyense toprak üstü ve soğan kabuğu kısımlarına ait etanol, metanol ve diklorometan ekstrelerinin antioksidan potansiyelini belirlemek için total fenolik ve

flavonoid miktarları, serbest radikal giderici ve demir indirgeyici etkileri ölçüldüğünde; bitkinin antioksidanlarını elde etmek için en iyi çözücünün etanol olduğu ifade edilebilir. Ayrıca, soğan kabuğu kısmı fenolik ve flavonoid bakımından toprak üstü kadar zengin olmasa da güçlü serbest radikal giderici ve demir indirgeyici aktiviteye sahip olduğu görüldü. *A. lazikkiyense* soğan kabuğu ekstrelerinde oldukça yüksek miktarda bulunan sarsapogeninin bu aktivitelerin ortaya çıkmasında etkili olduğu söylenebilir. Yapılan çalışmalar saponinlerin serbest radikal giderici ve demir indirgeyici etkilerini ortaya koymuştur (Hu ve ark. 2012).

Diabetes mellitus, insulinin salgısında, etkisinde veya her ikisinde birden bozukluk olması nedeni ile ortaya çıkan hiperglisemi ile karakterize olan en yaygın metabolik hastalıklardan biridir. *A. cepa* (soğan), *A. sativum* (sarımsak) ve *A. porrum* (pırasa) Türkiye’de ve dünyanın birçok bölgesinde halk arasında diyabet tedavisinde yaygın olarak kullanılan *Allium* türleridir ve yapılan çalışmalarla kan şekeri düşürücü etkileri ortaya konulmuştur (Tuzlacı ve Tolon 2000; Aslan ve ark. 2010; Kadir ve ark. 2012; Keter ve Mutiso 2012; Asase ve Yohonu 2016). Tip 2 diyabet tedavisindeki önemli yaklaşımlardan biri de karbohidrat sindirimindeki enzimlerin (α -glukozidaz ve α -amilaz) inhibisyonu yolu ile kan glukoz düzeyinin azaltılmasıdır.

Çalışmamızda *A. lazikkiyense*’nin toprak üstü ve soğan kabuğu kısımlarına ait etanol, metanol ve diklorometan ekstrelerinin α -glukozidaz ve α -amilaz enzimlerini inhibe edici etkileri ölçülerek antidiyabetik aktivitesi ilk kez incelenmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar tüm ekstreler arasında diklorometan ekstrelerinin en yüksek α -glukozidaz inhibe edici aktiviteye sahip olduğu bunu metanol ve etanol ekstrelerinin takip ettiği görüldü. Ancak ekstrelerin hiç birinin α -amilaz üzerine etkili bir inhibisyona sahip olmadığı görüldü. Türkiye’de yetişen diğer bazı *Allium* türleri ile yapılan çalışmalarda, Rocchetti ve ark. (2022), *A. scabriflorum*, *A. atrovioleaceum*, *A. paniculatum* subsp. *paniculatum*, *A. vineale*, *A. goekyigitii*, *A. isauricum*, *A. trachycoleum*, *A. hirtovaginatatum* ve *A. cappadocicum* türlerinin toprak üstü ve soğan ekstrelerinin (metanol ve su) düşük düzeyde α -glukozidaz ve α -amilaz inhibe edici aktiviteye sahip olduklarını, Yılmaz-Ozden ve ark. (2020) ise *A. kurtzianum* toprak üstü ve soğan metanol ekstrelerinin aynı enzimler üzerine inhibisyon göstermediği bildirmişlerdir. Bunların yanı sıra, *A. commutatum* türünün toprak üstü etanol ekstresinin (IC_{50} ; 0,325 mg/mL) α -glukozidaz inhibe edici aktivitesinin çalışmamızda

en yüksek aktiviteyi gösteren toprak üstü diklorometan ekstresi (IC₅₀; 0,390 mg/mL) ile benzer olduğu görüldü (Loizzo ve ark. 2020). Nickavar ve Yousefian (2009) İran’da yetişen 6 farklı *Allium* türünün (*A. cepa*, *A. sativum*, *A. akaka*, *A. ampeloprasum* subsp. *iranicum*, *A. hirtifolium* ve *A. porrum*) α -amilaz inhibe edici aktiviteye sahip olduğunu ancak bu türlerin hiçbirinin kontrol olarak kullanılan akarboz kadar etkili olmadığı göstermiştir.

En popüler nörodejeneratif hastalıklardan biri olan Alzheimer hastalığı, ileri yaşlardaki hafıza kaybının ana sebeplerden biridir. Hafıza kaybı, bilişsel bozulma, davranış değişiklikleri ve nihayetinde ölüm hastalığın karakteristik özellikleridir. Düşük asetilkolin düzeyi hastalığın gelişmesinde ve ilerlemesindeki ana nedenlerden biridir (Mohsin ve Ahmad 2020). Gıda ve İlaç Dairesi tarafından onaylı olan takrin, rivastigmin, galantamin ve donepezil gibi kolinesteraz inhibitörleri Alzheimer hastalığının erken ve orta aşamaların tedavisi için kullanılan ilaçlardır (Vafadarnejad ve ark. 2018).

Çalışmamızda, *A. lazikkiyense* toprak üstü ve soğan kabuğu kısımlarından elde edilen etanol, metanol ve diklorometan ekstrelerinin kolinesteraz (AChE ve BChE) enzimleri üzerine düşük düzeyde inhibisyon gösterdikleri görüldü. Sonuçlarımız ile uyumlu olarak, İzol ve ark. (2021) Türkiye’de yetişen 12 farklı *Allium* türünün (*A. sub akaka*, *A. atrovioleaceum*, *A. chrysanthemum*, *A. kharputense*, *A. rhetoreanum*, *A. scabriscapum*, *A. schoenoprasum*, *A. scorodoprasum* subsp. *rotundum*, *A. shatakiense*, *A. shirnakiense*, *A. tripedale* ve *A. vineale*) toprak üstü ve kök kısımlarının etanol ekstreleri ile yaptıkları çalışmada, ekstrelerin düşük (% 5-% 20) AChE ve BChE inhibe edici aktiviteye sahip olduklarını gösterilmiştir. *A. tuncealimum* soğan ekstreleri ile yapılan başka bir çalışmada metanol, heksan, kloroform, bütanol ve su ekstrelerinin AChE ve BChE üzerine düşük (% 2,56-%23,56) buna karşın etil asetat ekstresinin BChE üzerine ortalama (% 47,33) bir inhibisyon gösterdiği belirtilmiştir (Karakaya ve ark. 2019). Çalışmamızda her bir ekstrenin toprak üstü ve soğan kabuğu kısımlarının kolinesteraz inhibe edici aktiviteleri arasında belirgin bir fark görülmemiştir. Buna karşın Emir ve ark. (2020) yaptıkları çalışmada *A. nigrum*’da toprak üstü ekstresinin, *A. subhirsutum*’da ise soğan ekstresinin AChE ve BChE üzerine daha etkili inhibisyona sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, Rocchetti ve ark. (2022) *Allium* türlerinin içerdiği

terpenoid ve antosiyaninlerin AChE ve BChE inhibisyonundaki en etkili bileşikler olduğunu belirtmiştir.

Meme kanseri, kadınlar arasında en sık görülen kanser türüdür ve akciğer kanserinden sonra kadınlar arasında kanser ölümlerinin ikinci önde gelen nedenini oluşturmaktadır (DeSantis ve ark. 2019). Türkiye'de Sağlık Bakanlığı'nın 2015 verilerine göre, kadınlarda görülen ilk 10 kanser türü arasında meme kanseri birinci sırada yer almaktadır ve insidansı 52,5/100.000'tir (Karabulutlu ve ark. 2019). Yapılan birçok çalışmada *Allium* türleri, antikanser etkileri bakımından geniş çapta araştırılmıştır ve potansiyel antikanser ajanlar olarak umut vermektedir (Asemani ve ark. 2019). Çalışmamızda *A. lazikkiyense* toprak üstü ve soğan kabuğu kısımlarına ait etanol, metanol ve diklorometan ekstralarının MCF-7 meme kanseri hücre hattı üzerindeki antikanser etkileri ilk kez incelenmiştir. Sonuçlarımız *A. lazikkiyense* soğan kabuğu ekstralarının özellikle etanol ekstresinin MCF-7 üzerine güçlü sitotoksik aktivite sahip olduğunu ortaya koymuştur. Benzer şekilde *A. autumnale* (İsbilen ve ark. 2018) ve *A. willeanum* (İsbilen ve Volkan 2021) türlerine ait soğan etanol ekstralarının de meme kanseri hücre hatları (MCF-7 ve MDA-MB-231) üzerine güçlü antiprolatif ve sitotoksik etkilere sahip oldukları gösterilmiştir. Soğan kısımlarının yanı sıra, *A. paradoxum* (Gholipour ve ark. 2018) yaprak etanol ekstresi ile *A. atrovioleaceum* (Khazaei ve ark., 2017) çiçek metanol ekstresinin de MCF-7 meme kanseri hücre hattı üzerine etkili bir sitotoksik aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca *A. gramineum* çiçeklerinden elde edilen etanol ekstresinin MCF-7 hücre hattı üzerine güçlü (IC_{50} 4,8 μ g/mL) sitotoksik aktiviteye sahip olduğunu ve bu aktiviteden sorumlu bileşiklerin başlıca saponinler (IC_{50} 3 μ M) olduğu bildirilmiştir (Mskhiladze ve ark. 2015). Sonuçlarımız, LC-MS/MS analizi ile *A. lazikkiyense* soğan kabuğu ekstralarında oldukça yüksek miktarda bulunan sarsasapogeninin, soğan kabuğu ekstralarının sitotoksik aktivitesinden sorumlu bileşik olabileceğini göstermektedir. Steroidal bir saponin olan sarsasapogenin, steroidlerin endüstriyel sentezi için başlangıç materyali olarak kullanılmasının yanı sıra yapılan çalışmalarda önemli farmakolojik etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (Ma ve ark. 2001; Liu ve ark. 2018; Mandlik ve ark. 2021). Literatürde sarsasapogenin ve türevlerinin MCF-7 dahil olmak üzere çeşitli kanser hücre hatları üzerine güçlü sitotoksik etkilere sahip olduklarını gösteren birçok çalışma bulunmaktadır (Yin ve ark. 2015; Wang ve ark. 2017; Wang ve ark. 2018).

KAYNAKLAR

Adda, A.A., ve Sallam, R.M. (2012). Reactive oxygen species in health and disease. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, **2012**, 14.

Agarwal, P., ve Gupta, R. (2016). Alpha-amylase inhibition can treat diabetes mellitus. *Research and Reviews Journal of Medical and Health Sciences*, **5(4)**, 1-8.

Ahamad, J., Naquvi, K.J., Mir, S.R., Ali, M., Shuaib, M. (2011). Review on role of natural alpha-glucosidase inhibitors for management of diabetes mellitus. *International Journal of Biomedical Research*, **6**, 374-380.

Alam, M.N., Bristi, N.J. ve Rafiqizzaman, M. (2012). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, **21**, 143-152.

Ali, H., Houghton, P.J. ve Soumyanath, A. (2006). α -Amylase inhibitory activity of some Malaysian plants used to treat diabetes; with particular reference to *Phyllanthus amarus*. *Journal of Ethnopharmacology*, **107**, 449-455.

Ali, M.Y., Jannat S, Jung H.A., Choi R.J., Roy A. ve Choi J.S. (2016). Anti-Alzheimer's disease potential of coumarins from *Angelica decursiva* and *Artemisia capillaris* and structure-activity analysis. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, **9**, 101-108.

Aliev, G, Obrenovich, M.E., Reddy, V.P., Shenk, J.C., Moreira, P.I., Nunomura, A. ve ark. (2008). Antioxidant therapy in Alzheimer's Disease: Theory and practice. *Mini-reviews in Medicinal Chemistry*, **13(8)**, 1395-1406.

Allen, J., Burrell, C., Caplice, C., Collins, D., McGreal, P. ve Purcell, J. (2013). *Oncology. Breast Cancer*. United Kingdom: Physiopedia; 1-149.

Amit, T., Bar-Am, O., Mechlovich, D., Kupersmidt, L., Youdim, M.B.H. ve Weinreb, O. (2017). The novel multitarget iron chelating and propargylamine drug M30 affects APP regulation and processing activities in Alzheimer's disease models, *Neuropharmacology*, **123**, 359-367.

Amitai, G., Moorad, D. ve Doktor, B.P. (1998). Inhibition of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase by chlorpyrifos-oxon. *Biochemical Pharmacology*, **56(3)**, 293-299.

Anjos, S. ve Polychronakos C. (2004). Mechanisms of genetic susceptibility to type 1 diabetes: beyond HLA. *Molecular Genetics and Metabolism*, **81**, 187-95.

Arabbi, P.R., Genovese M.I. ve Lajolo F.M. (2004). Flavonoids in vegetable foods commonly consumed in Brazil and estimated ingestion by the Brazilian population. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **52(5)**, 1124-1131.

Asase, A., ve Yohonu, D.T. (2016). Ethnobotanical study of herbal medicines for management of diabetes mellitus in Dangme West District of Southern Ghana. *Journal of Herbal Medicine*, **6(4)**, 204-209.

Asemani, Y., Zamani, N., Bayat, M., ve Amirghofran, Z. (2019). Allium vegetables for possible future of cancer treatment. *Phytotherapy Research*, **33(12)**, 3019-3039.

Asgar, A. (2013). Anti-diabetic potential of phenolic compounds: A review. *International Journal of Food Properties*, **16**, 91-103.

Aslan, M., Orhan, N., Orhan, D.D. ve Ergun, F. (2010). Hypoglycemic activity and antioxidant potential of some medicinal plants traditionally used in Turkey for diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, **128(2)**, 384-389.

Assefa, A.D., Jeong, Y.J., Kim, D.J., Jeon, Y.A., Lee, J.R., Ko, H.C. ve ark. (2018). Assessing phenolic content and antioxidant potential diversity in Allium plants using multivariate data analysis. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, **59(5)**, 759-773.

Atri, A., Frölich, L., Ballard C., Tariot P.N., Molinueva J.L., Boneva, N. ve ark. (2018). Effect of idalopirdine as adjunct to cholinesterase inhibitors on change in cognition in patients with Alzheimer disease. *JAMA*, **319(2)**, 130-142.

Barlow, W.E., Lehman, C.D., Zheng, Y., Ballard-Barbash, R., Yankaskas, B.C., Cutter, G.R., Carney, P.A., Geller, B.M., Rosenberg, R., Kerlikowske, K., Weaver, D.L. ve Taplin, S.T. (2002). Performance of diagnostic mammography for women with signs and symptoms of breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, **94(15)**, 1151-1159.

Baydır, A.T. (2019). Yemeklik yağlarda toplam antioksidan miktarının ve oksidasyon karalılığının değerlendirilmesi. *DPÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **42**, 19-25.

Benkeliba, N. (2007). Phenolic compounds of Allium species. *Research and Review in Biosciences*, **1(3)**, 135-140.

Benzie, I.F.F. ve Strain J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, **239**, 70-76.

Bernaert, N., De Paepe, D., Bouten, C., De Clercq, H., Stewart, D., Van Bockstaele, E. ve ark. (2012). Antioxidant capacity, total phenolic and ascorbate content as a function of the genetic diversity of leek (*Allium ampeloprasum* var. *porrum*). *Food Chemistry*, **134(2)**, 669-677.

Bisht, S.S. ve Mishra, R. (2011). Antioxidants and their characterization. *Journal of Pharmacy Research*, **4(8)**, 2744-2746.

Blackadar, C.B. (2016). Historical review of the causes of cancer. *World Journal of Clinical Oncology*, **7(1)**, 54-86.

Blokhina, O., Virolainen, E. ve Fagerstedt, K.V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A review. *Annals of Botany*, **91**, 179-194.

Bothon, F.T., Debiton E., Avlessi F., Forestier C., Teulade J.C. ve Sohounhloue D.K. (2013). In vitro biological effects of two anti-diabetic medicinal plants used in Benin as folk medicine. *BMC Complementary Alternative Medicine*, **13**, 51.

Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R.L., Torre, L.A. ve Jemal, A. (2018). Global Cancer Statistics 2018: GLOBCAN Estimates of Incidence and

Mortality Worldwide for 36 cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **68**, 394-424.

Butterfield, D. A., Castegna A., Lauderback, C. M. ve Drake, J. (2002). Evidence that amyloid beta-peptide-induced lipid peroxidation and its sequelae in Alzheimer's disease brain contribute to neuronal death. *Neurobiology of Aging*, **23**, 655-664.

Canaria, J.A.D., Hutchinson, A.D., Prichard, I. ve Wilson, C. (2014). What causes breast cancer? A systematic review of causal attributions among breast survivors and how these compare to expert-endorsed risk factors. *Cancer Causes Control*, **25**, 771-785.

Capasso, A. (2013). Antioxidant action and therapeutic efficacy of *Allium sativum* L. *molecules*, **18**, 690-700.

Carotenuto, A., Fattorusso, E., Lanzotti, V. ve Magno, S. (1999). Spirostanol saponins of *Allium porrum* L. *Phytochemistry*, **51(8)**, 1077-1082.

Carr, A.C., McCall, M.R. ve Frei, B. (2000). Oxidation of LDL by myeloperoxidase and reactive nitrogen. species reaction pathways and antioxidant protection. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, **20**, 1716-1723.

Ceylan, O. ve Alic H. (2015). Antibiofilm, antioxidant, antimutagenic activities and phenolic compounds of *Allium orientale* Boiss. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, **58(6)**, 935-943.

Chang, T.C., Jang, H.D., Lin, W.D. ve Duan, P.F. (2016). Antioxidant and antimicrobial activities of commercial rice wine extracts of Taiwanese *Allium fistulosum*. *Food Chemistry*, **190**, 724-729.

Chauhan, N.B. (2003). Anti-Amyloidogenic Effect of *Allium sativum* in Alzheimer's transgenic model Tg2576. *Journal of herbal Pharmacotherapy*, **3(1)**, 95-107.

Cheng, H. ve Huang G. (2018). Extraction, characterisation and antioxidant activity of *Allium sativum* polysaccharide. *International Journal of Biological Macromolecules*, **114**, 415-419.

Das, S, Laskar, M.A., Sarker, S.D., Choudhury, M.D., Choudhury, P.R., Mitra, A. ve ark. (2017). Prediction of anti-Alzheimer's activity of flavonoids targeting acetylcholinesterase in silico. *Phytochemical Analysis*, **28(4)**, 324-331.

DeFronzo, R.A. (1999). Pharmacologic therapy for Type 2 diabetes mellitus. *Annals of Internal Medicine*. **131(4)**, 281-303.

Demirci Kayiran, S., Eroglu Ozkan, E., Mataraci Kara, E., Yilmaz, M.A., Zengin, G. ve Boga, M. (2019). Comprehensive analysis of an uninvestigated wild edible medicinal garlic species from Turkey: *Allium macrochaetum* Boiss. & Hausskn. *Journal of Food Biochemistry*, **43(7)**, e12928.

DeSantis, C.E., Fedewa, S.A., Sauer, A.G., Kramer, J.L., Smith, R.A. ve Jemal, A. (2016). Breast Cancer Statistics, 2015: Convergence of incidence rates between black and white women. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **66**, 31-42.

DeSantis, C.E., Ma, J., Gaudet, M.M., Newman, L.A., Miller, K.D., Goding Sauer, A. ve ark. (2019). “Breast cancer statistics, 2019”, CA: *A Cancer Journal for Clinicians*, **69(6)**, 438-451.

Devendra, D., Liu, E. ve Eisenbarth, G.S. (2004). Type 1 diabetes: Recent developments. *BMJ*, **328**, 750-54.

Dziri, S., Hassen, I., Fatnassi, S., Mrabet, Y., Casabianca, H., Hanchi, B. ve Hosni, K. (2012). Phenolic constituents, antioxidant and antimicrobial activities of rosy garlic (*Allium roseum* var. *Odoratissimum*). *Journal of Functional Foods*, **4(2)**, 423-432.

Ekşi, G., Yilmaz, G., Bona, M. ve Özkan, A.M.G. (2021). Cupanioscordum seksiyonuna ait üç *Allium* L. (Amaryllidaceae) türünün yaprak ve skapus anatomisi. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, **45(2)**, 309-320.

Ellman, G.L., Courtney K.D., Andres V. ve Featherstone R.M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, **7**, 88-95.

Emir, A., Emir, C. ve Yıldırım, H. (2020). Characterization of phenolic profile by LC-ESI-MS/MS and enzyme inhibitory activities of two wild edible garlic: *Allium nigrum* L. and *Allium subhirsutum* L. *Journal of Food Biochemistry*, **44**, e13165. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13165>

Emir, C., ve Emir, A. (2021). Phytochemical analyses with LC-MS/MS and in vitro enzyme inhibitory activities of an endemic species “*Allium stylosum* O. Schwarz” (Amaryllidaceae). *South African Journal of Botany*, **136**, 70-75.

Engin, G., ve Nusret, Ş. (2008). Bir ileri oksidasyon prosesi: Fenton processs. *Journal of Engineering Science*, **14**, 229-236.

Fang, Y.Z., Yang, S. ve Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition*, **18**, 873-879.

Finch, C.E., ve Cohen, D.M. (1997). Aging, metabolism, and Alzheimer Disease: Review and hypotheses. *Experimental Neurology*, **143**, 82-102.

Galle, J., Hansen-Hagge T., Wanner C. ve Seibold S. (2006). Impact of oxidized low density lipoprotein on vascular cells. *Atherosclerosis*, **185(2)**, 19-26.

Gin, H. ve Rigalleau, V. (2002). Oral anti diabetic polychemithrapy in Type 2 diabetes mellitus. *Diabetics Metabolism*, **28**, 350-353.

Gogineni, K., Shuman, K.L., Chinn, D., Galber, N.B. ve Emanuel, E.J. (2015). Patient demands and requests for cancer tests and treatments. *JAMA Oncology*, **1(1)**, 33-39.

Gülçin, I., Bursal, E., Şehitoğlu, M.H., Bilsel, M. ve Gören, AC. (2010). Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, **48(8-9)**, 2227-2238.

Gutteridge, J.M.C. ve Mitchell J. (1999). Redox imbalance in the critically ill. *British Medical Bulletin*, **55(1)**, 49-75.

Hajji, M., Jarraya, R., Lassoued, I., Masmoudi, O., Damak, M. ve Nasri, M. (2010). GC/MS and LC/MS analysis, and antioxidant and antimicrobial activities of

Various solvent extracts from *Mirabilis jalapa* tubers. *Process Biochemistry*, **45**, 1486-1493.

Halliwell, B. ve Gutteridge J.M.C. (1999). Free radicals in biology and medicine. (3rd ed). Oxford, United Kingdom: Oxford University Press.

Hamid, A., Aiyelaagbe, O., Usman, O., Ameen, M. ve Lawal, A. (2010). Antioxidants: Its medicinal and pharmacological applications. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, **8**, 142-151.

Harold, E., Darrell, E., Evan, I. ve John A. (2007). A review on interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen speices. *Journal of Nutritional Biochemistry*, **18**, 567-579.

Hu, J.L., Nie, S.P., Huang, D.F., Li, C., ve Xie, M.Y. (2012). Extraction of saponin from *Camellia oleifera* cake and evaluation of its antioxidant activity. *International Journal of Food Science & Technology*, **47(8)**, 1676-1687.

Iqbal, K., Khan, A. ve Khattak, M.A.K. (2004). Biological significance of ascorbic acid (vitamin C) in human health-A review. *Pakistan Journal of Nutrition*, **3(1)**, 5-13.

Isbilen, O., Rizer, N. ve Volkan E. (2018). Anti-proliferative and cytotoxic activities of *Allium autumnale* P. H. Davis (Amaryllidaceae) on human breast cancer cell lines MCF-7 and MDA-MB-231. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **18**, 30.

Isbilen, O. ve Volkan, E. (2021). *Allium willeianum* Holmboe exerts anticancer activities on metastatic breast cancer cells MCF-7 and MDA-MB-231. *Heliyon*, **7(8)**, e07730.

Izol, E., Temel, H., M, AY., Yener, I., Olmez, OT. ve Kaplaner, E. (2021). A detailed chemical and biological investigation of twelve *Allium* Species from Eastern Anatolia with chemometric studies. *Chemistry and Biodiversity*, **18**, e2000560. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202000560>

Jick H., Zornberg, G, L., Jick, S., Seshadri, S. ve Drachman, D.A. (2000). Statins and the risk of dementia. *The Lancet*. **356(9242)**, 1627-1631.

Kadir, M.F., Sayeed, M.S.B., Shams, T., ve Mia, M.M.K. (2012). Ethnobotanical survey of medicinal plants used by Bangladeshi traditional health practitioners in the management of diabetes mellitus. *Journal of Ethnopharmacology*, **144(3)**, 605-611.

Kang, G.G., Francis, N., Hill, R., Waters, D., Blanchard, C. ve Santhakumar, A.B. (2020). Dietary polyphenols and gene expression in molecular pathways associated with type 2 diabetes mellitus: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, **21(1)**, 140.

Karabulutlu, E.Y., Yeralı, S. ve Karaman, S. (2019). "Evaluation of distress and religious coping among cancer patients in Turkey", *Journal of Religion and Health*, **58(3)**, 881-890.

Karakaya S., Eksi G., Koca M., Demirci B., Kaymak H.C., Kaplan M.E. ve Aksakal O. (2019). Chemical and morphological characterization of *Allium tuncelianum*

(Amaryllidaceae) and its antioxidant and anticholinesterase potentials. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, **76** (2), e085. <https://doi.org/10.3989/ajbm.2523>

Katsarou, A., Gudbjornsdottir, S., Rawshani, A., Dabelea, D., Bonifacio, E., Anderson, B.J. ve ark. (2017). Type 1 diabetes mellitus. *Nature Reviews Disease Primers*, <http://dx.doi.org/10.1038/nrdp.2017.16>

Keter, L. K., ve Mutiso, P. C. (2012). Ethnobotanical studies of medicinal plants used by Traditional Health Practitioners in the management of diabetes in Lower Eastern Province, Kenya. *Journal of Ethnopharmacology*, **139**(1), 74-80.

Khazaei, S., Abdul Hamid, R., Ramachandran, V., Mohd Esa, N., Pandurangan, A.K., Danazadeh, F., ve Ismail, P. (2017). Cytotoxicity and proapoptotic effects of allium atroviolaceum flower extract by modulating cell cycle arrest and caspase-dependent and p53-independent pathway in breast cancer cell lines. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017.

Kim, J., Basak, J.M. ve Holtman, D.M. (2009). The Role of apolipoprotein E in Alzheimer's Disease. *Neuron*, **63**, 287-303.

Kim, S.H., Kwon, S.H., Jang, D.H., Leo, M.S. ve Kwon, Y. (2010). Antioxidant activity and α -glucosidase inhibitory potential of onion (*Allium cepa* L.) extracts. *Food Science and Biotechnology*, **19**(1), 159-164.

Kim, S.H, Kwon, S.H. ve Hwang, J.K. (2011). Effects of onion (*Allium cepa* L.) extract administration on intestinal α -glucosidases activities and spikes in postprandial blood glucose levels in SD rats model. *International Journal of Molecular Sciences*, **12**, 3757-3769.

Koçyigit, M., Yeşil, Y. ve Koyuncu, M. (2016). *Allium dumanii* (A. sect. Codonoprasum, Amaryllidaceae), a new species from E Turkey. **46**, 113-120.

Kovacic, P., Pozos, R.S., Somanathan, R., Shanghari, N. ve O'Biren, P.J. (2005). Mechanism of mitochondrial uncouplers, inhibitors, and toxins: Focus on electron transfer, free radicals, and structure- activity relationships. *Current Medicinal Chemistry*, **12**(22), 2601-2623.

Lanzotti, V. (2005). Bioactive saponins from *Allium* and aster plants. *Phytochemistry Reviews*, **4**, 95–110.

Lau, B.H.S (2001). Suppression of LDL oxidation by garlic. *Journal of Nutrition*, **131**(3), 985S-988S.

Lei, C., Dianna, J., Magliano ve Paul Z.Z. (2012). The worldwide epidemiology of type 2 diabetes mellitus- present and future perspectives. *Natural Review Endocrinology*, **8**, 228- 236.

Lima, M.C., de Sousa, C.P., Fernandez-Prada, C., Harel, J., Dubreuil, J.D. ve De Souza, E.L. (2019). A review of the current evidence of fruit phenolic compounds as potential antimicrobials against pathogenic bacteria. *Microbial Pathogenesis*, **130**, 259-270.

Liochev, S.I. ve Fridovich, I. (2002). The Haber–Weiss cycle- 70 years later: An alternative view. *Redox Report*. **7**, 55-57.

Liu, Y.W., Hao, Y.C., Chen, Y.J., Yin, S.Y., Zhang, M.Y., Kong, L., ve ark. (2018). Protective effects of sarsasapogenin against early stage of diabetic nephropathy in rats. *Phytotherapy Research*, **32(8)**, 1574-1582.

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. ve Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, **4(8)**, 118-126.

Loizzo, M. R., Tundis, R., Sut, S., Dall'Acqua, S., Ilardi, V., Leporini, M. ve ark. (2020). High-Performance Liquid Chromatography/Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry (HPLC-ESI-MS n) analysis and bioactivity useful for prevention of "diabesity" of *Allium commutatum* Guss. *Plant Foods for Human Nutrition*, **75(1)**, 124-130.

Lugast, A. ve Hovari, J. (2000). Flavonoid aglycones in foods of plant origin: I. Vegetables. *Acta Alimentaria*, **29(4)**, 345-352.

Lu, X., Wang, J., Al-Qadiri, H.M., Ross, C.F., Powers, J.R., Tang, J., ve ark. (2011). Determination of total phenolic content and antioxidant capacity of onion (*Allium cepa*) and shallot (*Allium oschaninii*) using infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, **129(2)**, 637-644.

Ma, D., Zhang, J., Sugahara, K., Sagara, Y. ve Kodama, H. (2001). Effect of sarsasapogenin and its derivatives on the stimulus coupled responses of human neutrophils. *Clinica Chimica Acta*, **314(1-2)**, 107-112.

Makris, D.P. ve Rossiter, J.T. (2001). Domestic processing of onion bulbs (*Allium cepa*) and asparagus spears (*Asparagus officinalis*): Effect on flavonol content and antioxidant status. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, **49(7)**, 3216-3222.

Mandlik, D. S., Mandlik, S. K., ve Patel, S. (2021). Protective effect of sarsasapogenin in TNBS induced ulcerative colitis in rats associated with downregulation of pro-inflammatory mediators and oxidative stress. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 1-13.

Markersbery, W.R. (1997). Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. *Free Radical Biology and Medicine*, **23**, 134-147.

Meriga, B., Mopuri, R. ve MuraliKrishna, T. (2012). Insecticidal, antimicrobial and antioxidant activities of bulb extracts of *Allium sativum*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, **5(5)**, 391-395.

Mishra, K., Ojha, H. ve Chaudhury, NK. (2012) Estimation of anti radical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food Chemistry*, **130**, 1036-1043.

Mollica, A., Zengin, G., Locatelli, M., Picot-Allain, C.M.N. ve Mahomoodally, M.F. (2018). Multidirectional investigations on different parts of *Allium scorodoprasum* L. subsp. *rotundum* (L.) Stearn: Phenolic components, in vitro biological, and in silico propensities. *Food Research International*, **108**, 641-649.

Mohsin N.A. ve Ahmad, M. (2020). Donepezil: A review of the recent structural modifications and their impact on anti-Alzheimer activity. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **56**, e18325.

Mskhiladze, L., Chinchradze, D., Tits, M., Wauters, J.N., Bellahcène, A., Castronovo, V. ve ark. (2015). Identification of cytotoxic and antioxidant compounds

from *Allium gramineum* flowers. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, **7**, 78-82.

Munoz, D.G. ve Feldman, H. (2000). Causes of Alzheimer's diseases. *CMAJ*, **162(1)**, 65-72.

Nencini, C., Menchiari, A., Franchi, G.G. ve Micheli, L. (2011). In vitro antioxidant activity of aged extracts of some Italian *Allium* species. *Plant Foods for Human Nutrition*, **66**, 11-16.

Nickavar, B. ve Yousefian, N. (2009). Inhibitory effects of six *Allium* species on α -amylase enzyme activity. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, **8**, 53-57.

Nunomura, A., Castellani, R.J, Zhu, X., Moreira, P.I., Perry, G. ve Smith, M.A. (2006). Involvement of Oxidative Stress in Alzheimer Disease. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, **65(7)**, 631-641.

Ortega, R.M. (2006). Importance of functional foods in the Mediterranean diet. *Public Health Nutrition*, **9(8A)**, 1136-1140.

Park, K.W., Kim, S.Y., Jeong I.Y., Byun M.W., Park, K.H., Yamada, L. ve ark. (2007). Cytotoxic and antitumor activities of thiosulfinates from *Allium tuberosum* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **55**, 7957-7961.

Pastore, A., Federici, G., Bertini, E. ve Piemonte, F. (2003) Analysis of glutathione: Implication in redox and detoxification. *Clinica Chimica Acta*, **333**, 19–39.

Patel, P.R., McAndrew, J., Sellak, H., White, C.R., Jo, H., Freeman, B.A. ve ark. (1999). Biological aspects of reactive nitrogen species. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1411**, 385-400.

Pavlović, D.R., Veljković, M., Stojanović, N.M., Gočmanac-Ignjatović, M., Mihailov-Krstev, T., Branković, S., Sokolovic, D. ve ark. (2017). Influence of different wild-garlic (*Allium ursinum*) extracts on the gastrointestinal system: spasmolytic, antimicrobial and antioxidant properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **69(9)**, 1208-1218.

Pisoschi, A.M. ve Pop A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **97**, 55-74.

Pradedova, E.V., Isheeva, O.D. ve Salyaev, R.K. (2011). Classification of the antioxidant defense system as the ground for reasonable organization of experimental studies of the oxidative stress in plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, **58**, 210-217.

Rivlin, R.S. (2001). Historical perspective on the use of garlic. *American Society for Nutritional Science*, **131**, 951S-954S. <https://doi.org/10.1093/jn/131.3.951S>

Rocchetti, G., Zhang, L., Bocchi, S., Giuberti, G., Ak, G., Elbasan, F. ve ark. (2022). The functional potential of nine *Allium* species related to their untargeted phytochemical characterization, antioxidant capacity and enzyme inhibitory ability. *Food Chemistry*, **368**, 130782.

Rosen, R.T., Hiserodt, R.D., Fukuda, E.K., Ruiz, R.J., Zhou, Z., Lech, J. ve ark. (2001). Determination of allicin, S-allylcystein and volatile metabolites of garlic in breath, plasma or simulated garlic fluids. *Journal of Nutrition*, **131**, 968S-971S.

Ruiz, C.S., Chaparo, H.S., Karen, L.H., Estrada, M.I., Graso, L.E., Orneals-Paz, J.J. ve ark. (2017). *Flavonoids: Important Biocompounds in Food*. Croatia: Rijeka; 354-362.

Sakanaka, S., Tachibana Y. ve Okada Y. (2005). Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (kakinoha-cha). *Food Chemistry*, **89**, 569-575.

Schrader, M. ve Fahimi, H.D. (2004). Mammalian peroxisomes and reactive oxygen species. *Histochemistry and Cell Biology*, **122**, 383–393.

Sies, H. (1997). Oxidative stress: oxidants and antioxidants. Physiological Society Symposium: Impaired endothelial and smooth muscle cell function in oxidative stress. *Experimental Physiology*, **82(2)**, 291-295.

Sies H. (2018). On the history of oxidative stress: concept and some aspects of current development. *Current Opinion in Toxicology*, **7**, 122-126.

Simin, N., Mitić-Ćulafić, D., Pavić, A., Orcic, D., Nemes, I., Cetojevic-Simin, D. ve ark. (2020). An overview of the biological activities of less known wild onions (genus *Allium* sect. *Codonoprasum*). *Biologia Serbica*, **41(2)**, 57-62.

Simons, M., Keller, P., De Strooper, B., Beyreuther K., Dotti, C.G. ve Simons, K. (1998). Cholesterol depletion inhibits the generation of beta-amyloid in hippocampal neurons. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, **95(11)**, 6460-6464.

Singh, B.N., Singh, B.R., Singh, R.L., Prakash, D., Singh, D.P., Sarma, B.K. ve ark. (2009). Polyphenolics from various extracts/fractions of red onion (*Allium cepa*) peel with potent antioxidant and antimutagenic activities. *Food and Chemical Toxicology*, **47(6)**, 1161-1167.

Slinkard, K. ve Singleton, V.L. (1977). Total phenol analyses: Automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, **28**, 49-55.

Sobolewska, D., Michalska K., Podolak I. ve Grabowska K. (2016). Steroidal Saponins from the genus *Allium*. *Phytochemistry Review*, **15**, 1-35.

Socci, D.J., Crandall, B.M. ve Arendash, G.W. (1995). Chronic antioxidant treatment improves the cognitive performance of aged rats. *Brain Research*, **693**, 88-94.

Sparg, S.G., Light, M.E., ve Van S.J. (2004) Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology*, **94**, 219-243.

Sjöberg, M.K., Shestakova, E., Mansuroğlu, Z., Maccioni, R.B. ve Bonnefoy, E. (2006). Tau protein binds to pericentromeric DNA: A putative role for nuclear tau in nucleolar organisation. *Journal of Cell Science*, **119**, 2025-34.

Steinberg, D. ve Lewis, A. (1997). Conner Memorial Lecture. Oxidative modification of LDL and atherogenesis. *American Heart Association*, **95(4)**, 1062-71.

Takım, K., Yigin A., Koyuncu, I., Kaya, R. ve Gülçin, İ. (2021). Anticancer, anticholinesterase and antidiabetic activities of tunceli garlic (*Allium tuncelianum*): determining its phytochemical content by LC–MS/MS analysis. *Journal of Food Measurement and Characterization*, **15**, 3323-3335.

Tomšik, A., Pavlič, B., Vladić, J., Ramić, M., Brindza, J. ve Vidović, S. (2016). Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from wild garlic (*Allium ursinum* L.). *Ultrasonics Sonochemistry*, **29**, 502-511.

Toni, S., Reali, M.F., Barni, F., Lenzi, L. ve Festini, F. (2006). Managing insulin therapy during exercise in Type 1 diabetes mellitus. *Acta Biomedica*, **77(1)**, 34-40.

Tsushida T. ve Suzuki M. (1996). Content of flavonol glucosides and some properties of enzymes metabolizing the glucosides in onion: (Flavonoids in fruits and vegetables, part II). *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology*, **43(5)**, 642-649.

Tuzlacı, E., ve Tolon, E. (2000). Turkish folk medicinal plants, part III: Şile (Istanbul). *Fitoterapia*, **71(6)**, 673-685.

Upadhyay, R.K. (2016). Nutraceutical, pharmaceutical and therapeutic uses of *Allium cepa*: A review. *International Journal of Green Pharmacy*, **10(1)**, S46-S64.

Vafadarnejad, F., Mahdavi, M., Karimpour-Razkenari, E., Edraki, N., Sameem, B., Khanavi, M. ve ark. (2018). Design and synthesis of novel coumarin-pyridinium hybrids: In vitro cholinesterase inhibitory activity. *Bioorganic Chemistry*, **77**, 311-319.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M. ve Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **39**, 44-84.

Veerakumari, L. ve Chitra, N. (2016). Effect of *Allium sativum* on the motility and acetylcholinesterase of *Haemonchus contortus*. *International Journal of Science and Research*, **5(1)**, 883-87.

Ventura, A.C. ve Merajver, S.D. (2008). Genetic determinants of aggressive breast cancer. *The Annual Review of Medicine*, **59**, 199-212.

Viera, V.B., Piovesan, N., Rodrigues, J.B., O Mello R., Prestes RC. ve dos Santos, RC. (2017). Extraction of phenolic compounds and evaluation of the antioxidant and antimicrobial capacity of red onion skin (*Allium cepa* L.). *International Food Research Journal*, **24(3)**, 990-999.

Waks, A.G. ve Winer, EP. (2019). Breast cancer treatment. A review. *JAMA*, **321(3)**, 288-300.

Walingo, K.M. (2005). Role of vitamin C (ascorbic acid) on human health-a review. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, **5(1)**, 1-11.

Wang, W., Li, J., Zhang, H., Wang, X., Fan, J., ve Zhang, X. (2019). Phenolic compounds and bioactivity evaluation of aqueous and methanol extracts of *Allium mongolicum* Regel. *Food Science & Nutrition*, **7(2)**, 779-787.

Wang, W., Wang, D., Wang, Z., Yao, G., Li, X., Gao, P. ve ark. (2017). Synthesis of new sarsasapogenin derivatives with cytotoxicity and apoptosis-inducing activities in human breast cancer MCF-7 cells. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **127**, 62-71.

Wang, W., Zhang, Y., Yao, G., Wang, W., Shang, X., Zhang, Y. ve ark. (2018). Synthesis of new sarsasapogenin derivatives with antiproliferative and apoptotic effects in MCF-7 cells. *Steroids*, **131**, 23-31.

Whittaker, V. (1990). The contribution of drugs and toxins to understanding of cholinergic function. *Trends in Physiological Sciences*, **11(1)**, 8-13.

Wu, H., Dushenkov, S., Ho, C.T. ve Sang, S. (2009). Novel acetylated flavonoid glycosides from the leaves of *Allium ursinum*. *Food Chemistry*, **115**, 592-595.

Yilmaz-Ozden, T., Hasbal-Celikok, G., Aksoy-Sagirli, P., Altiparmak-Ulbeği, G., Kocyigit, M., Can, A. ve Akev, N. (2020). Phenolic profile, antioxidant, antidiabetic, DNA protection, and cytotoxic activities of *Allium kurtzianum*. *International Food Research Journal*, **27(6)**, 1001-1009.

Yin, L., Gongyuan, W. ve Jian C. (2004). Glutathione: A review on biotechnological production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **66**, 233-242.

Yin, Y., Zhao, X.C., Wang, S.J., Gao, P.Y., Li, L.Z., Ikejima, T. ve ark. (2015). Synthesis and biological evaluation of novel sarsapogenin derivatives as potential anti-tumor agents. *Steroids*, **93**, 25-31.

Yin, Z., Zhang, W., Feng, F., Zhang, Y., ve Kang, W. (2014). α -Glucosidase inhibitors isolated from medicinal plants. *Food Science and Human Wellness*, **3(3-4)**, 136-174.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

ALLIUM LAZİKKIYENSE TÜRÜNÜN ÇEŞİTLİ BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN VE LC-MS/MS ANALİZİ İLE FENOLİK İÇERİĞİNİN BELİRLENMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

% 10	% 10	% 3	%
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	% 3
2	slideplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	<% 1
3	geriatri.dergisi.org İnternet Kaynağı	<% 1
4	fb8968c5-502d-436c-a825-c7c279e8e4aa.filesusr.com İnternet Kaynağı	<% 1
5	vs1.doczz.fr İnternet Kaynağı	<% 1
6	sinirbilim.org İnternet Kaynağı	<% 1
7	ivekkongre.com İnternet Kaynağı	<% 1
8	dspace.vutbr.cz İnternet Kaynağı	<% 1