



T.C.

BARTIN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ALLİUM YESİLYURTENSE* (YEŞİLYURT SOĞANI) ve *ALLİUM
***ADİYAMANENSE* (ADİYAMAN SOĞANI) BİTKİLERİNDEN**
FENOLİK ASİT TAYİNİ VE FLAVONOİDLERİN HPLC
YÖNTEMİYLE TAYİNİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN
BELİRLENMESİ

BURAK ÖZÇELİK

DANIŞMAN
DOÇ. DR. PARHAM TASLIMI

BARTIN-2025



T.C.

BARTIN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

***ALLİUM YESİLYURTENSE* (YEŞİLYURT SOĞANI) ve *ALLİUM*
ADİYAMANENSE (ADİYAMAN SOĞANI) BİTKİLERİNDEN FENOLİK ASİT
TAYİNİ VE FLAVONOİDLERİN HPLC YÖNTEMİYLE TAYİNİ VE BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Burak ÖZÇELİK

JÜRİ ÜYELERİ

Danışman : Doç. Dr. Parham TASLİMİ
Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ahmet KARAKUŞ
Üye : Prof. Dr. Ömer KILIÇ

BARTIN-2025

KABUL VE ONAY

Burak ÖZÇELİK tarafından hazırlanan “*ALLIUM YESİLYURTENSE* (YEŞİLYURT SOĞANI) VE *ALLIUM ADIYAMANENSE* (ADIYAMAN SOĞANI) BİTKİLERİNDEN FENOLİK ASİT TAYİNİ VE FLAVONOİDLERİN HPLC YÖNTEMİYLE TAYİNİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ ” başlıklı bu çalışma, 30.05.2025 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak jürimiz tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Doç. Dr. Parham TASLİMİ

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ahmet KARAKUŞ

Üye : Prof. Dr. Ömer KILIÇ

Bu tezin kabulü Lisansüstü Eğitimi Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun/...../20... tarih ve 20...../.....-..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Zafer CEYLAN

Enstitü Müdürü

BEYANNAME

Bartın Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre Doç. Dr. Parham TASLİMİ danışmanlığında hazırlamış olduğum “*ALLIUM YESİLYURTENSE* (YEŞİLYURT SOĞANI) VE *ALLIUM ADIYAMANENSE* (ADIYAMAN SOĞANI) BİTKİLERİNDEN FENOLİK ASİT TAYİNİ VE FLAVONOİDLERİN HPLC YÖNTEMİYLE TAYİNİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ” başlıklı yüksek lisans tezimin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

20.06.2025

Burak ÖZÇELİK

ÖN SÖZ

Yüksek Lisans tezimin deneysel süreci Bartın Üniversitesi Moleküler Genetik Laboratuvarları, Biyoteknoloji Bölümü, Biyokimya Araştırma ve Sentez Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

Çalışmalarında bana her zaman ve her konuda yardım ve desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerini bana aktaran değerli hocam Sayın Doç. Dr. Parham TASLİMİ'e

Bu çalışmada bitkilerin toplanmasından HPLC analizine kadar yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Ömer KILIÇ'a

Çalışmalarımın bütün süreçlerinde fakültemizin ve bölümümüzün bütün imkânlarını esirgemeyen dekanımız Sayın Prof. Dr. Bülent KARAKAŞ'a ve Biyoteknoloji Bölüm Başkanımız Sayın Doç. Dr. Hasan Ufuk ÇELEBİOĞLU'na, Biyoteknoloji Bölümü Dr. Öğretim Üyesi Nastaran SADEGHIAN'a

Çalışmalarım esnasında yardımlarını gördüğüm Bartın Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyokimya Araştırma Laboratuvarında hem çalışma hem de manevi destek sağlayan arkadaşlarıma,

Ve bu süreçte bana maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen başta annem ve babam olmak üzere tüm aileme çok teşekkür ederim.

Burak ÖZÇELİK

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

***ALLIUM YESİLYURTENSE* (YEŞİLYURT SOĞANI) ve *ALLIUM ADIYAMANENSE* (ADIYAMAN SOĞANI) BİTKİLERİNDEN FENOLİK ASİT TAYİNİ VE FLAVONOİDLERİN HPLC YÖNTEMİYLE TAYİNİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

Burak ÖZÇELİK

Bartın Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Parham TASLİMİ

Bartın-2025, sayfa: 111

Bu çalışma, Yeşilyurt soğanı (*Allium Yeşilyurtense*) ve Adıyaman soğanı (*Allium adiyamanense*) bitkilerinden fenolik asitlerin tayini ve flavonoidlerin yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemiyle belirlenmesi üzerine odaklanmıştır. Bitki örneklerinden elde edilen ekstraktlar, HPLC kullanılarak fenolik asitler ve flavonoidler açısından detaylı bir analize tabi tutulmuştur. Fenolik asitler ve flavonoidler bitkilerde yaygın olarak bulunan ve biyolojik aktiviteleriyle önemli olan bileşiklerdir. Bu çalışmada, *Allium yeşilyurtense* ve *Allium adiyamanense* bitkilerindeki fenolik asit ve flavonoid içeriği belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, her iki bitki türünde de çeşitli fenolik asitlerin (örneğin, ferulik asit, kafeik asit, vb.) ve flavonoidlerin (örneğin, kuersetin, kaempferol, vb.) varlığını göstermiştir. Ayrıca, bu çalışma bitki özütlerinin biyolojik aktivitelerini değerlendirmeyi de amaçlamıştır. Antioksidan aktivite, antimikrobiyal aktivite ve diğer biyolojik aktivitelerin belirlenmesi, enzim inhibisyon (Ic50) değeri için çeşitli in vitro testler uygulanmıştır. Yapılan deneyler sonucunda, *Allium Yeşilyurtense* ve *Allium Adyamanense* bitkilerinin antioksidan, IC₅₀ diğer biyolojik aktiviteler açısından önemli potansiyele sahip olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma, *Allium* türlerinin farmasötik ve tıbbi kullanımları için potansiyel

kaynakları hakkında önemli bilgiler sunmaktadır. Fenolik asitlerin ve flavonoidlerin bitki özütlerindeki konsantrasyonlarının belirlenmesi, bitki bileşenlerinin analiz ve standartlaştırma süreçlerinde önemli bir adımdır. Bu çalışmanın bulguları, bitkilerin biyolojik aktivitelerini anlamak ve bitki bazlı ilaç geliştirme çalışmaları için değerli bir temel oluşturabilir.

Anahtar Kelimeler: *Allium adiyamanense*, *Allium yeşilyurtense*, α -amilaz, α -glukozidaz, asetilkolinesteraz, biyolojik aktivite, bütirilkolinesteraz, fenolik asit, flavonoid, HPLC



ABSTRACT

DETERMINATION OF PHENOLIC ACID AND FLAVONOID CONTENT FROM *ALLIUM YESILYURTENSE* (YEŞİLYURT ONION) AND *ALLIUM* *ADYAMANENSE* (ADYAMAN ONION) PLANTS USING HPLC METHOD AND EVALUATION OF THEIR BIOLOGICAL ACTIVITIES

Burak ÖZÇELİK

Bartın University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biotechnology

Thesis Advisor: Doç. Dr. Parham TASLİMİ

Bartın-2025, page: 111

This study focused on the determination of phenolic acids and the identification of flavonoids in Yeşilyurt onion (*Allium yeşilyurtense*) and Adıyaman onion (*Allium adıyamanense*) plants using high-performance liquid chromatography (HPLC). Extracts obtained from the plant samples were subjected to detailed analysis for both phenolic acids and flavonoids via HPLC. Phenolic acids and flavonoids are compounds commonly found in plants and are notable for their various biological activities. In this work, the phenolic acid and flavonoid contents of *A. yeşilyurtense* and *A. adıyamanense* were quantified. The results demonstrated the presence of multiple phenolic acids (e.g., ferulic acid, caffeic acid, etc.) and flavonoids (e.g., quercetin, kaempferol, etc.) in both species. Moreover, the study aimed to evaluate the biological activities of these plant extracts. Various in vitro assays were conducted to assess antioxidant activity, antimicrobial activity, and other biological effects, including enzyme-inhibition assays to determine IC₅₀ values. The experiments revealed that both *Allium yeşilyurtense* and *Allium adıyamanense* exhibit significant potential in terms of antioxidant capacity, enzyme-inhibition (IC₅₀), and other measured biological activities. This research provides valuable insights into the potential of *Allium* species as sources for pharmaceutical and medicinal applications. Determining the concentrations of phenolic acids and flavonoids in plant extracts is a crucial step in the analytical and standardization processes of plant constituents. The findings of this study offer a solid foundation for

understanding the biological activities of these plants and for guiding future plant-based drug development efforts.

Keywords: *Allium adiyamanense*, *Allium yesilyurtense*, α -amylase, α -glucosidase, acetylcholinesterase, biological activity, butyrylcholinesterase, flavonoid, HPLC, phenolic acid



İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	ii
BEYANNAME.....	iii
ÖN SÖZ	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
TABLolar DİZİNİ.....	xvi
SİMGELER.....	xviii
KISALTMALAR.....	xix
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Bitkiler	1
1.1.1. <i>Allium</i> Türleri	2
1.1.2. <i>Allium Adıyamanense</i> ve <i>Allium Yeşilyurtense</i>	2
1.2. Fenolik Asitler	3
1.3. Flavonoidler.....	4
1.4. Biyolojik Aktivite	5
1.5. Antioksidanlar.....	5
1.5.1. Doğal Antioksidanlar	6
1.5.2. Sentetik Antioksidanlar	7
1.6. Enzimler.....	8
1.6.1. Enzimlerin Sınıflandırılması.....	10
1.6.2. Enzim Kinetiği.....	12
1.6.3. Asetilkolinesteraz Enzimi (AChE, E.C.3.1.1.7)	13
1.6.4. Bütirilkolinesteraz Enzimi (BChE E.C.3.1.1.8).....	14

1.6.5. α -Glukozidazlar	15
1.7. Kaynak Özetleri	16
2. MATERYAL VE METHOD	22
2.1. Bitkilerin Toplanması ve Hazırlanması	22
2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	22
2.3. Flavonoidlerin Tayini ve HPLC Yöntemi.....	23
2.3.1. HPLC Yöntemi	24
2.4. Antioksidan Yöntemlerinde Çözeltilerin Hazırlanması	27
2.4.1. Kuprak (Cuprac) Yöntemi	28
2.4.1.1. Kuprak Yönteminde Çözeltilerin Hazırlanması.....	28
2.4.1.2. Kuprak Yöntemine Göre Antioksidan Çalışılması	28
2.4.2. DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi	29
2.4.2.1. DPPH Yönteminde Çözeltilerin Hazırlanması	29
2.4.2.2. DPPH Yöntemine Göre Antioksidan Çalışılması	30
2.4.3 ABTS ⁺ Giderme Aktivitesi.....	30
2.4.3.1. ABTS ⁺ Yönteminde Çözeltilerin Hazırlanması	31
2.4.3.2. ABTS ⁺ Yöntemine Göre Antioksidan Çalışılması	31
2.5. Enzimlerin Aktivite Ölçümünde Kullanılan Çözeltiler	32
2.6. Asetilkolinesteraz Enzimi Aktivite Tayini	32
2.6.1. Asetilkolinesteraz Enzimi Aktivite Tayininde Çözeltilerin Hazırlanması..	33
2.7. Bütilinkolinesteraz Enzimi Aktivite Tayini	34
2.7.1. Bütilinkolinesteraz Enzimi Aktivite Tayininde Çözeltilerin Hazırlanması	34
2.8. α -Glikozidaz Enzimi Aktivite Tayini	35
2.8.1. α -Glikozidaz Enzimi Aktivite Tayininde Çözeltilerin Hazırlanması	35
3. BULGULAR	37
3.1. HPLC Analizi ve Fenolik Bileşikler	37
3.2. Validasyon Verisi.....	43

3.3. Antioksidan Test Sonuçları.....	60
3.3.1. ABTS Serbest Radikal Giderme Yöntemi Antioksidan Aktivite Sonuçları	61
3.3.2. DPPH Yöntemi Antioksidan Aktivite Sonuçları	65
3.3.3. Kuprak Yöntemi Antioksidan Aktivite Sonuçları	70
4. SONUÇ VE TARTIŞMA	95
KAYNAKLAR.....	100
ÖZGEÇMİŞ	109



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
1.1: Enzim ve substrat arasında anahtar-kilit modeli (Knowles vd., 2014)	9
1.2: AChE enziminin asetilkolin ile reaksiyonu.....	13
1.3: BChE enziminin bütirilkolin ile reaksiyonu	14
1.4: Diyabet türlerinde insülin çalışma prensibi	16
2.1: Asetilkolinesteraz enziminin Ellman yöntemiyle tayini (Ellman 1961).....	33
3.1: <i>Allium adyamanense</i> kromotogramı - 1	50
3.2: <i>Allium adyamanense</i> kromotogramı – 2	51
3.3: <i>Allium adyamanense</i> kromotogramı – 3	52
3.4: <i>Allium adyamanense</i> kromotogramı – 4	53
3.5: <i>Allium yeşilyurtense</i> kromotogramı – 1	54
3.6: <i>Allium yeşilyurtense</i> kromotogramı – 2	55
3.7: <i>Allium yeşilyurtense</i> kromotogramı – 3	56
3.8: <i>Allium yeşilyurtense</i> kromotogramı – 4	57
3.9: <i>Allium yeşilyurtense</i> kromotogramı – 5	58
3.10: ABTS radikal giderme için standart grafik	61
3.11: <i>A. adyamanense</i> ve <i>a. yeşilyurtense</i> 'nin farklı konsantrasyonlardaki (20-60 µg/ml) ABTS radikal giderme aktivitesinin standart antioksidanlar (Bha, bht ve troloks) ile karşılaştırılması.....	64
3.12: DPPH antioksidan aktivite tayini için standart grafik.....	65
3.13: <i>A. adyamanense</i> ve <i>a. yeşilyurtense</i> 'nin farklı konsantrasyonlardaki (20-60 µg/ml) DPPH aktivitesinin standart antioksidanlar (Bha, bht ve troloks) ile karşılaştırılması.	68
3.14: Kuprak bakır indirgeme için standart grafik	70
3.15: <i>A. adyamanense</i> ve <i>a. yeşilyurtense</i> 'nin farklı konsantrasyonlardaki (20-60 µg/ml) kuprak bakır indirgeme aktivitesinin standart antioksidanlar (Bha, bht ve troloks) ile karşılaştırılması.....	72
3.16: AChE enzim aktivitesinin <i>allium adyamanense</i> 'nin etanol konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R ² değeri 0,9792 olarak hesaplanmıştır.	74

3.17: BChE enzim aktivitesinin <i>allium adyamanense</i> 'nin etanol konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R ² değeri 0,9517 olarak hesaplanmıştır.	75
3.18: α-glikozidaz enzim aktivitesinin <i>allium adyamanense</i> 'nin etanol konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R ² değeri 0,9738 olarak hesaplanmıştır.	76
3.19: AChE enzim aktivitesinin <i>allium adyamanense</i> 'nin metanol konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R ² değeri 0,981 olarak hesaplanmıştır.	77
3.20: BChE enzim aktivitesinin <i>allium adyamanense</i> 'nin metanol konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R ² değeri 0,9741 olarak hesaplanmıştır.	78
3.21: α-glikozidaz enzim aktivitesinin <i>allium adyamanense</i> 'nin metanol konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R ² değeri 0,9898 olarak hesaplanmıştır.	79
3.22: AChE enzim aktivitesinin <i>allium adyamanense</i> 'nin su konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R ² değeri 0,9708 olarak hesaplanmıştır.	80
3.23: BChE enzim aktivitesinin <i>allium adyamanense</i> 'nin su konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R ² değeri 0,8976 olarak hesaplanmıştır.	81
3.24: α-glikozidaz enzim aktivitesinin <i>allium adyamanense</i> 'nin su konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R ² değeri 0,9919 olarak hesaplanmıştır.	82
3.25: AChE enzim aktivitesinin <i>allium adyamanense</i> 'nin su konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R ² değeri 0,9509 olarak hesaplanmıştır.	83
3.26: AChE enzim aktivitesinin <i>allium adyamanense</i> 'nin su konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R ² değeri 0,9708 olarak hesaplanmıştır.	84
3.27: α-glikozidaz enzim aktivitesinin akarbozın metanol konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R ² değeri 0,9708 olarak hesaplanmıştır.	85

3.28: AChE enzim aktivitesinin <i>allium yeşilyurtense</i> 'nin etanol konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R^2 değeri 0,9661 olarak hesaplanmıştır.	86
3.29: BChE enzim aktivitesinin <i>allium yeşilyurtense</i> 'nin etanol konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R^2 değeri 0,9895 olarak hesaplanmıştır.	87
3.30: α -glikozidaz enzim aktivitesinin <i>Allium Yeşilyurtense</i> 'nin etanol konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R^2 değeri 0,986 olarak hesaplanmıştır.	88
3.31: AChE enzim aktivitesinin <i>allium yeşilyurtense</i> 'nin metanol konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R^2 değeri 0,973 olarak hesaplanmıştır.	89
3.32: BChE enzim aktivitesinin <i>allium yeşilyurtense</i> 'nin metanol konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R^2 değeri 0,99 olarak hesaplanmıştır.	90
3.33: α -glikozidaz enzim aktivitesinin <i>allium yeşilyurtense</i> 'nin metanol konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R^2 değeri 0,9707 olarak hesaplanmıştır.	91
3.34: AChE enzim aktivitesinin <i>allium yeşilyurtense</i> 'nin su konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R^2 değeri 0,9559 olarak hesaplanmıştır.	92
3.35: BChE enzim aktivitesinin <i>allium yeşilyurtense</i> 'nin su konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R^2 değeri 0,9841 olarak hesaplanmıştır.	93
3.36: α -glikozidaz enzim aktivitesinin <i>allium yeşilyurtense</i> 'nin su konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R^2 değeri 0,9475 olarak hesaplanmıştır.	94

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
1.1: Doğal ve Sentetik Antioksidanlar (Antioksidanlar, doğal ve sentetik olarak üretilerek iki gruba ayrılmaktadır) (Kasapçopur vd., 2014).	6
1.2: Enzim aktivasyonunu etkileyen faktörler	10
1.3: Enzimlerin IUBMB standartlarında sınıflandırılması.....	11
2.1: Kullanılan alet ve cihazlar.....	23
2.2: LC/MS MS parametreleri.....	25
2.3: Kuprak yönteminde tüp içeriği (1 mL)	29
2.4: DPPH yönteminde tüp içeriği (2,5 mL).....	30
2.5: ABTS yönteminde tüp içeriği (2 mL).....	31
2.6: Asetilkolinesteraz aktivite tayininde tüp içeriği.....	33
2.7: Bütirikolinesteraz aktivite tayini tüp içeriği.....	34
2.8: α -Glikozidaz aktivite tayini tüp içeriği	36
3.1: <i>Allium adyamanense</i> (AA) ve <i>allium yeşilyurtense</i> 'nin (AY) HPLC analizi aenolik bileşik sonuçları.....	37
3.2: Fenolik bileşiklerin önem ve etki alanları.....	38
3.3: Validasyon Datası	43
3.4: ABTS ⁺ yöntemine göre 3 tekrarlı çalışılan 10 mikrolitre konsantrasyonundaki ekstraktların antioksidan aktivite sonuçları (Ortalama absorbans ve standart sapma değerleri ile).....	61
3.5: ABTS ⁺ yöntemine göre 3 tekrarlı çalışılan 20 mikrolitre konsantrasyonundaki ekstraktların antioksidan aktivite sonuçları (Ortalama absorbans ve standart sapma değerleri ile).....	62
3.6: ABTS ⁺ yöntemine göre 3 tekrarlı çalışılan 30 mikrolitre konsantrasyonundaki ekstraktların antioksidan aktivite sonuçları (Ortalama absorbans ve standart sapma değerleri ile).....	62
3.7: ABTS ortalama sonuçları 10-20-30 mikrolitre	63
3.8: DPPH yöntemine göre 3 tekrarlı çalışılan 10 mikrolitre konsantrasyonundaki ekstraktların antioksidan aktivite sonuçları (Ortalama absorbans ve standart sapma değerleri ile).....	65

3.9: DPPH yöntemine göre 3 tekrarlı çalışılan 20 mikrolitre konsantrasyonundaki ekstraktların antioksidan aktivite sonuçları (Ortalama absorbands ve standart sapma değerleri ile).....	66
3.10: DPPH yöntemine göre 3 tekrarlı çalışılan 30 mikrolitre konsantrasyonundaki ekstraktların antioksidan aktivite sonuçları (Ortalama absorbands ve standart sapma değerleri ile).....	66
3.11: DPPH ortalama sonuçları 10-20-30 mikrolitre	67
3.12: Radikal giderme yöntemleri için IC ₅₀ değerler (DPPH ve ABTS)	69
3.13: Kuprak yöntemine göre 3 tekrarlı çalışılan 10 mikrolitre konsantrasyonundaki ekstraktların antioksidan aktivite sonuçları (Ortalama absorbands ve standart sapma değerleri ile).....	70
3.14: Kuprak yöntemine göre 3 tekrarlı çalışılan 20 mikrolitre konsantrasyonundaki ekstraktların antioksidan aktivite sonuçları (Ortalama absorbands ve standart sapma değerleri ile).....	71
3.15: Kuprak yöntemine göre 3 tekrarlı çalışılan 30 mikrolitre konsantrasyonundaki ekstraktların antioksidan aktivite sonuçları (Ortalama absorbands ve standart sapma değerleri ile).....	71
3.16: Kuprak ortalama Sonuçları 10-20-30 mikrolitre.....	72
3.17: Kuprak yöntemi ve indirgenme sonuçları	73
3.18: <i>Allium Adıyamanense</i> ve <i>Allium Yeşilyurtense</i> Bitkilerinin AChe, BcHe ve α -glikozidaz Enzimleri İnhibisyon Sonuçları ve IC ₅₀ Değerleri	74
3.19: <i>Allium adıyamanense</i> 'nin α -glikozidaz, AChE ve BChE enzimlerine karşı enzim inhibisyon sonuçları (IC ₅₀ değerleri).....	85
3.20: <i>Allium yeşilyurtense</i> 'nin α -glikozidaz, AChE ve BChE enzimlerine karşı enzim inhibisyon sonuçları (IC ₅₀ değerleri).....	94

SİMGELER

ABTS ⁺	: 2,2'-Azinobis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) radikali
DPPH [·]	: 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil radikali
Cu ²⁺	: Bakır(II) iyonu
Cu ⁺	: Bakır(I) iyonu
Fe ²⁺	: Demir(II) iyonu
Fe ³⁺	: Demir(III) iyonu
OH [·]	: Hidroksil radikali
OH ⁻	: Hidroksit iyonu
IC ₅₀	: Yarı maksimal inhibisyon konsantrasyonu
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
K ₂ O ₈ S ₂	: Potasyum persülfat
NaCH ₃ COO	: Sodyum asetat
DTNB	: 5,5'-Ditiyobis(2-nitrobenzoik asit)
pNPG	: 4-Nitrophenyl β-D-glucopyranoside
AChE	: Asetilkolinesteraz
BChE	: Bütilkolinesteraz
α-Glukozidaz	: Alfa-glukozidaz enzimi
ROS	: Reaktif oksijen türleri
LOD	: Tespit sınırı (Limit of Detection)
R ²	: Doğrusal regresyon katsayısı

KISALTMALAR

A.A.	: <i>Allium adyamanense</i>
A.Y.	: <i>Allium yeşilyurtense</i>
ABTS	: 2,2'-Azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)
AChE	: Asetilkolinesteraz
BChE	: Bütirilkolinesteraz
BHA	: Butilhidroksianizol
BHT	: Butilhidroksitoluen
DTNB	: 5,5'-Ditiyobis(2-nitrobenzoik asit)
E.C.	: Enzim Komisyonu Numarası (Enzyme Commission)
EDTA	: Etilendiamintetraasetik Asit
GAE	: Gallik Asit Eşdeğeri
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IUBMB	: Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliği
IC ₅₀	: Yarı Maksimum İnhibisyon Konsantrasyonu
LC-MS/MS	: Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometri Sistemi
LOD	: Tespit Sınırı (Limit of Detection)
PCA	: Ana Bileşen Analizi (Principal Component Analysis)
PBS	: Fosfat Tamponlu Salin
PGx	: Glutasyon Peroksidaz
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: Süper Oksit Dismutaz
TE	: Troloks Eşdeğeri
Tris-HCl	: Trizma Hidroklorür
UV-VIS	: Ultraviyole-Görünür Bölge Spektroskopisi

1. GİRİŞ

Doğada bulunan bitkiler, içeriklerinde barındırdıkları biyolojik olarak aktif bileşikler sayesinde insan sağlığı üzerinde çeşitli faydalı etkilere sahip olabilmektedir. Bu tez çalışmasında, *Allium* cinsine ait iki endemik tür olan *Allium yeşilyurtense* ve *Allium adıyamanense* bitkilerinin fenolik asit ve flavonoid içerikleri ile biyolojik aktiviteleri araştırılmıştır. Bu kapsamda, çalışmanın amacı, söz konusu türlerin potansiyel antioksidan kapasitelerinin ve enzim inhibisyon aktivitelerinin bilimsel yöntemlerle ortaya konulmasıdır.

1.1. Bitkiler

Bitkiler, dünya üzerindeki yaşamın en temel unsurlarından biridir. İnsanlar için gıda, oksijen, ilaç ve birçok diğer ihtiyaçların kaynağı olan bitkiler, biyolojik çeşitliliğin büyük bir parçasını oluştururlar. Hem doğal ekosistemlerde hem de insan yaşamında hayati bir rol oynarlar. Yüzyıllardır, bitkilerin biyolojik bileşenleri, insan sağlığı üzerinde çeşitli etkilere sahip olduğu bilinmektedir. Bu bileşenler arasında fenolik asitler ve flavonoidler, özellikle antioksidan ve diğer biyolojik aktiviteleriyle dikkat çekmektedir.

Allium yeşilyurtense (Yeşilyurt soğanı) ve *Allium adıyamanense* (Adıyaman soğanı) gibi bitkilerin fenolik asitler ve flavonoidler açısından zengin olduğu bilgisinden yola çıkmaktadır (Kılıç ve Yıldırım 2022).

Bu bitkilerin biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi, bitki tabanlı tedavi ve ilaç geliştirme araştırmalarında önemli bir adımdır. Fenolik asitler ve flavonoidler, bitkilerin antioksidan kapasitesini artırarak serbest radikal hasarını azaltabilir ve dolayısıyla çeşitli sağlık sorunlarının önlenmesine katkıda bulunabilir. Ayrıca, bu bileşiklerin antimikrobiyal, antienflamatuar ve diğer biyolojik aktiviteleri üzerinde de araştırmalar yapılmaktadır (Bestil ve Uysal 2023).

Bu bağlamda, bu çalışmanın bulguları bitki temelli sağlık ürünlerinin geliştirilmesi ve doğal kaynaklardan elde edilen ilaçların tasarlanması için önemli bir temel oluşturabilir (Kır ve Yünlü 2016).

1.1.1. *Allium* Türleri

Allium cinsi, Amaryllidaceae familyasında yer alan ve dünya genelinde 600'den fazla türe sahip soğanlı bitkileri içermektedir.

Türkiye'de ise 72'si endemik olmak üzere toplam 180 *Allium* türü bulunmaktadır (Kaya 2014). *Allium* türleri, organosülfür bileşikleri ve polifenoller gibi biyoaktif bileşikler açısından zengindir ve bu nedenle antioksidan, antifungal, antimikrobiyal, antiviral, antimutajenik, antidiyabetik ve prebiyotik özellikler göstermektedirler (Rosello-Soto vd., 2018). Ayrıca, kardiyovasküler hastalık riskini azaltmaya yardımcı olabilecek antitrombotik, antihipertansif, hipolipidemik ve hipokolesterolemik etkileri de vardır (Saljoughian vd., 2017).

Türkiye'de *Allium* türleri, bölgelere göre farklı amaçlarla doğadan toplanmakta ve yerel isimlerle anılmaktadır. Yaprak, sürgün ve soğanları tüketilen bu bitkiler, Anadolu'da kurad, sirmo, sirim, sirik, körmən, soryaz, handuk, luş, çorin gibi isimlerle bilinmektedir. Gıda olarak tüketimlerinin yanı sıra, süs bitkisi, yara iyileştirici, ağrı kesici, kan şekerini düzenleyici ve kolesterol düşürücü olarak da kullanılmaktadırlar (Ekşi vd., 2020; Tunçtürk ve Tunçtürk 2020).

Allium türleri üzerinde yapılan çalışmalar genellikle *Allium cepa* (soğan), *Allium porrum* (pırasa), *Allium sativum* (sarımsak), *Allium schoenoprasum* (frenk soğanı) ve *Allium ascalonicum* (arpacık soğanı) üzerinde yoğunlaşmıştır (Poojary vd., 2017).

1.1.2. *Allium Adıyamanense* ve *Allium Yeşilyurtense*

Allium adıyamanense (Adıyaman soğanı) ve *Allium yeşilyurtense* (Yeşilyurt soğanı) Amaryllidaceae familyasına ait endemik bitki türleridir. Bu bitkiler ilk olarak Kılıç ve Yıldırımli isimli bitki taksonomistleri tarafından tanımlanmıştır.

Bu yeni bitkilere, yetiştirme bölgelerinin isimleri verilmiştir (Yıldırımli ve Kılıç 2019; Yıldırımli ve Kılıç 2021).

Allium adıyamanense, özellikle Koçali köyü ile Çelikhane İlçesi (Adıyaman) bölgesinde daha çok step ve taşlık habitatlarda bulunur. Bu bitkinin toprak üstü ve toprak altı kısmı belirtilen

habitatından, 2022 yılı mayıs ayının sonlarında Ö.Kılıç (Toplayıcı No: 3874) tarafından toplanmıştır. Toplanma alanları, genellikle 1100-1200 metre arasındaki yüksekliklerdir (Yıldırım ve Kılıç 2019).

A. yeşilyurtense, Türkiye'nin Doğu Anadolu Bölgesi'nde, özellikle Malatya ili Yeşilyurt ilçesinin Çelikhan'a (Adıyaman) doğru olan kayalık taşlık alanlarda bulunan, yeni endemik bir soğan türüdür (Yıldırım ve Kılıç 2021). Bu bitkinin toprak üstü ve toprak altı kısmı belirtilen habitatından, 2022 yılı nisan ayının ortalarında Ö.Kılıç (Toplayıcı No: 3798) tarafından toplanmıştır. Toplanma alanları, genellikle 1400-1600 metre arasındaki yüksekliklerdir.

Bu tezde *A. adıyamanense* ve *A. yeşilyurtense* bitkileri ile ilk defa çalışılmış olup, bu bitkilerin de diğer *Allium* taksonları gibi antioksidan, antimikrobiyal ve antitrombotik özellikler gösterebilen biyoaktif bileşikler açısından aynı cins üyeleri olduğu için zengin olduğu düşünülmektedir. (Kılıç ve Yıldırım 2022).

1.2. Fenolik Asitler

Fenolik asitler, fenolik bileşiklerin bir alt grubunu oluşturur. Fenolik bileşikler, bitkilerde bulunan ve geniş bir kimyasal yapı ve biyolojik aktivite yelpazesi gösteren bir grup organik bileşiktir. Fenolik bileşikler, bir veya daha fazla hidroksil grubu (-OH) içeren aromatik halkalar bulundurulur.

Fenolik asitler, bitkilerde sekonder metabolit olarak üretilen organik bileşiklerdir ve bir veya daha fazla hidroksil grubunun bağlandığı aromatik halkalar içerirler. Kimyasal yapıları, serbest radikallerle etkileşime girerek güçlü antioksidan özellikler gösterir. Hidroksibenzoik asitler ve hidroksisinnamik asitler olarak iki gruba ayrılırlar ve meyveler, sebzeler, tahıllar, kahve ve çay gibi gıdalarda yüksek konsantrasyonlarda bulunurlar. Antioksidan, anti-inflamatuar ve antimikrobiyal etkileriyle hücreleri oksidatif strese karşı koruyarak kanser, kalp hastalıkları ve diyabet gibi kronik hastalıkların önlenmesine yardımcı olurlar. Fenolik asitler, koku ve tat oluşumuna, renk değişimine ve enzim inhibisyonuna katkıda bulunur (Taslimi 2017). Fenolik asitlerin biyoyararlanımı, tüketilen gıdanın türüne ve bileşiklerin matriks içindeki durumuna bağlıdır. İnsan vücudunda sindirim sistemi boyunca emilir ve metabolize edilirler, bu da biyolojik aktivitelerini etkileyebilir. (Kolaç vd., 2017).

1.3. Flavonoidler

Flavonoidler, bitkilerde yaygın olarak bulunan polifenolik bileşiklerdir ve bitkilerin renk, tat ve koku gibi özelliklerini belirleyen önemli bileşenlerdir.

Ayrıca, insan sağlığı üzerinde birçok olumlu etkileri vardır (Karakaya vd., 1997).

Flavonoidler, kimyasal yapıları ve biyolojik aktiviteleri nedeniyle büyük ilgi görmektedir. Genel olarak antioksidan, anti-enflamatuar, antikarsinojenik ve antimikrobiyal özellikler sergilerler (Kahraman vd., 2002). Flavonoidler, temel olarak bir benzen halkasına bağlı bir üç karbon zinciri ve bir başka benzen halkasından oluşur. Bu yapısal özellikleri ile flavonoller, flavonlar, flavanonlar, antosiyaninler, flavanoller ve izoflavonlar gibi alt gruplara ayrılırlar. Her bir alt grup, farklı bitki türlerinde ve gıda ürünlerinde farklı konsantrasyonlarda bulunabilir. Flavonoidler, çay, kakao, üzüm, elma, soğan, kırmızı şarap, narenciye meyveleri ve çeşitli yeşil yapraklı sebzeler gibi bitkisel gıdalarda yaygın olarak bulunur (Taşdelen, 2013).

Özellikle soğan ve sarımsak gibi *Allium* türleri, flavonoid açısından zengin bitkilerdir. Flavonoidlerin antioksidan özellikleri, serbest radikallerin neden olduğu hücre hasarını önleyerek kronik hastalıkların riskini azaltmada önemli bir rol oynarlar (Şelem vd., 2020).

Flavonoidler ayrıca bağışıklık sistemini güçlendirir, alerjik reaksiyonları azaltır ve antibakteriyel, antiviral ve antifungal özellikler gösterir. Bu nedenle, flavonoidlerin düzenli tüketimi, kalp hastalıkları, kanser, diyabet ve nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok hastalığın önlenmesine yardımcı olabilir (Tanwar ve Modgil 2012).

Flavonoidlerin biyoyararlanımı, bileşiklerin moleküler yapısına ve gıdaların işlenme şekline bağlıdır. Sindirim sistemi boyunca emildikten sonra, flavonoidler karaciğerde metabolize edilir ve biyolojik olarak aktif metabolitlere dönüştürülür. Bu metabolitler, vücutta çeşitli biyokimyasal yollarda aktif rol oynayabilir ve sağlık üzerinde olumlu etkiler sağlayabilir (Atınç ve Kalkan 2018). Bu bilgiler ışığında, flavonoidlerin bitkisel kökenli gıdalarda bulunmasının yanı sıra, sağlık üzerindeki olumlu etkileri ve biyokimyasal aktiviteleri nedeniyle büyük önem taşıdığı söylenebilir. Flavonoidler, antioksidan ve antimikrobiyal

özellikleri ile genel sağlık ve hastalıkların önlenmesi açısından kritik bir rol oynar (Kahraman vd., 2002).

1.4. Biyolojik Aktivite

Biyolojik aktivite, bir maddenin canlı organizmalar üzerindeki etkilerini ve bu etkilerin mekanizmalarını ifade eder. Bu terim, bir maddenin (ilaç, bitkisel bileşik, kimyasal madde) biyolojik sistemlerle etkileşime girerek belirli biyokimyasal veya fizyolojik değişiklikler oluşturma kapasitesini tanımlar. Biyolojik aktivite hem faydalı hem de zararlı etkileri kapsayabilir (Demir vd., 2020).

1.5. Antioksidanlar

Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu önleyen veya mevcut radikalleri temizleyerek hücre hasarını engelleyen ve genellikle fenolik fonksiyon içeren moleküllerdir (Taslimi, 2017). Antioksidanlar, yükseltgenebilir substratlara göre daha düşük konsantrasyonlarda, substratın prooksidanlarla başlatılan oksidasyonunu önemli ölçüde engeller veya geciktirir (Taslimi, 2017).



Antioksidanların etkinliği, aşağıdaki faktörlere bağlıdır:

1. Hidrojen veya elektron donör aracı olarak gösterdiği reaktivite (genellikle indirgeme potansiyeline bağlıdır).
2. Antioksidandan türeyen radikalın kaderi.
3. Diğer antioksidanlarla etkileşim kapasitesi.
4. Geçiş metali şelatlama potansiyeli (Taslimi, 2017).

Tablo 1.1: Doğal ve Sentetik Antioksidanlar (Antioksidanlar, doğal ve sentetik olarak üretilerek iki gruba ayrılmaktadır) (Kasapçopur vd., 2014).

Antioksidanlar			
Doğal Antioksidanlar			Sentetik Antioksidanlar
Enzimatik Olanlar	Enzimatik Olmayanlar		Butilhidroksitoluen (BHT)
Süper oksit dismutaz (SOD)	Endojen	Eksojen	Butilhidroksianizol (BHA)
Katalaz	Glutasyon	C vitamini (Askorbik asit)	Propil gallat (PG)
Glutasyon peroksidaz (GPx)	Serüloplazmin	Fenolik asitler	Tert-butilhidrokinon (TBHQ)
Glutasyon redüktaz (GR)	Bilirubin	Flavonoidler	Troloks
Glutasyon-S-transferaz (GST)	Ferritin	β -Karoten	Sentetik maddeler
	Laktoferrin	E vitamini (Tokoferoller)	
	Albümin		

1.5.1. Doğal Antioksidanlar

Doğal antioksidanlar, mikroorganizmalar, mantarlar ve hayvan dokularında yaygın olarak bulunur. Fenolik bileşikler, bitkilerin ikincil metabolitleri olup, neredeyse tüm bitkilerde ve bitkisel kökenli gıda ürünlerinde doğal olarak mevcuttur.

Bu bileşikler hem hayvanlar hem de insanlar için önemli ve ayrılmaz bir parça olarak kabul edilir (Karabulut vd., 2016).

Fenolik bileşikler, bitkilerde yaygın olarak bulunan ve biyolojik aktiviteleriyle bilinen önemli bileşiklerdir. Bu bileşikler arasında en önemli gruplar tokoferoller, flavonoidler ve fenolik asitlerdir. Tokoferoller, yağda çözünen ve hücre zarlarını oksidatif hasardan koruyan bileşiklerdir. E vitamini olarak bilinirler ve çeşitli bitkisel yağlarda bulunurlar. Flavonoidler, polifenolik bileşikler olup, bitkilerde yaygın olarak bulunur. Renk, tat ve koku gibi bitkisel özelliklerin yanı sıra sağlık üzerinde antioksidan, antiinflamatuvar, antikanserojenik ve antimikrobiyal etkiler gösterirler. Fenolik asitler ise, bitkilerde yaygın olarak bulunan fenolik bileşiklerdir ve antioksidan özellikleri ile bilinirler (Taslimi, 2017).

Doğal antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek veya mevcut radikalleri temizleyerek hücrelerin zarar görmesini engeller. Bu bileşikler, oksidasyon süreçlerini önemli ölçüde engelleyerek veya geciktirerek vücudu oksidatif strese karşı korur. Fenolik bileşikler, reaktif oksijen türlerini (ROS) temizleme kapasitesine sahip olup, oksidatif hasarın önlenmesinde kritik rol oynar (Öğüt, 2014).

Antioksidanların etkinliği, kimyasal yapıları, çözünürlükleri ve geçiş metalleri ile etkileşim kapasiteleri gibi faktörlere bağlıdır. Fenolik bileşikler, hidrojen veya elektron donör olarak reaktivlik gösterir ve bu özellikleri nedeniyle güçlü antioksidanlar olarak kabul edilir.

Doğal antioksidanlar, özellikle fenolik bileşikler, tokoferoller ve flavonoidler hem bitkilerde hem de hayvan dokularında yaygın olarak bulunur. Bu bileşikler, hücreleri oksidatif strese karşı koruyarak sağlığı destekler ve çeşitli hastalıkların önlenmesinde önemli rol oynar. Fenolik bileşiklerin antioksidan kapasitesi, onların biyolojik aktivitelerini ve sağlık üzerindeki olumlu etkilerini belirler.

1.5.2. Sentetik Antioksidanlar

Sentetik antioksidanlar, doğal antioksidanların yetersiz kaldığı durumlarda oksidasyonu önlemek ve hücresel hasarı engellemek amacıyla laboratuvar ortamında üretilen bileşiklerdir. Bu bileşikler, genellikle uzun raf ömrü, düşük maliyet ve yüksek stabilite gibi avantajlara sahiptir. Sentetik antioksidanlar, gıda, kozmetik ve ilaç endüstrilerinde yaygın olarak kullanılır.

Başlıca sentetik antioksidanlar arasında butilhidroksitoluen (BHT), butilhidroksianizol (BHA), propil gallat (PG) ve tert-butilhidrokinon (TBHQ) yer alır. BHT, yağların oksidasyonunu önlemede yaygın olarak kullanılır ve güçlü antioksidan özelliklere sahiptir. BHA, genellikle yağların ve yağ içeren gıdaların korunmasında kullanılır. Propil gallat, oksidatif bozulmayı önlemek için kullanılır ve genellikle yağlarda ve yağlı gıdalarda bulunur. TBHQ ise gıda endüstrisinde kullanılan güçlü bir antioksidandır (Taslimi 2017).

Sentetik antioksidanların kullanımı yaygın olmakla birlikte, bazı sentetik antioksidanların potansiyel toksik etkileri ve uzun süreli kullanımlarının sağlık üzerindeki etkileri konusunda endişeler bulunmaktadır. Bu nedenle, sentetik antioksidanların kullanımında güvenlik değerlendirmeleri önemlidir (Yavaş ve Karagözler 2011).

Günümüzde, antioksidan aktivitesi yüksek ve organizmaya zararı olmayan sentetik bileşiklerin geliştirilmesi amacıyla birçok araştırma yapılmaktadır. Doğal antioksidanların laboratuvarında sentezlenmesi ve yeni sentetik antioksidanların keşfedilmesi, bu alandaki önemli araştırma konuları arasındadır.

1.6. Enzimler

Enzimler, canlı organizmalarda biyokimyasal reaksiyonları hızlandıran (katalizleyen) protein molekülleridir. Her enzim, belirli bir reaksiyonu veya reaksiyon serisini katalizlemek üzere özelleşmiş bir yapıya sahiptir. Enzimler olmadan, hücre içi kimyasal reaksiyonlar çok yavaş ilerler ve bu da yaşamın sürdürülmesini imkânsız hale getirir.

Biyolojik kataliz olgusu, ilk kez 1700'lerin sonunda mide salgılarının etin sindirimindeki rolü üzerine yapılan çalışmalarda keşfedilmiştir. 1800'lerde bu araştırmalar, tükürük ve çeşitli bitki özütleri kullanılarak nişastanın şekere dönüşümü üzerine yapılan çalışmalarla devam etmiştir (Taslimi, 2017).

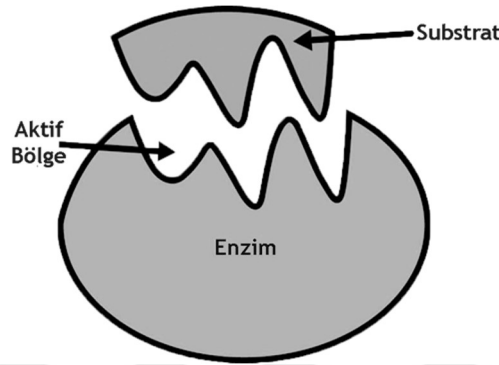
1850'lerde Louis Pasteur, şekerin mayayla alkole fermentlenmesinin fermentler tarafından katalizlendiğini ortaya koymuştur. 1897'de Eduard Buchner, maya özütlerinin şekeri alkole fermente ettiğini ve bu işlemin hücreden ayrıldıktan sonra bile devam eden moleküller tarafından gerçekleştirildiğini keşfetmiştir (Lehninger, 1993; Adem vd., 2013; Taslimi, 2017). Bu önemli keşifler, enzimlerin işlevlerinin hücre dışı ortamda da devam edebileceğini göstermiştir.

Frederic W. Kühne, bu katalitik molekülleri "enzimler" olarak adlandırmış ve enzimlerin izolasyonu ile özelliklerinin araştırılması, biyokimya biliminin yeni bir dalı olan enzimolojinin doğuşunu sağlamıştır. Enzimoloji, enzimlerin yapı ve fonksiyonlarını, kataliz mekanizmalarını ve enzimlerin katalizlediği her türlü metabolik ve biyokimyasal reaksiyonları inceleyen bir bilim dalıdır (Gözükara, 1989; Taslimi, 2017).

Enzimolojinin gelişimiyle birlikte, 1930'larda J.B.S. Haldane, "Enzimler" başlığı altında önemli bir bilimsel eser kaleme almıştır. Haldane, enzimlerin moleküler yapıları tam olarak anlaşılmamış olmasına rağmen, enzim ve substrat arasındaki zayıf etkileşimlerin substratın

dönüşümüne neden olduğunu ve bu mekanizmanın bir tepkimenin katalizlenmesiyle gerçekleştiğini öne sürerek enzimatik katalizin temel prensiplerini oluşturmuştur (Keha ve Küfrevioğlu, 2004; Taslimi, 2017).

Bu tarihsel perspektif, enzimlerin biyokimyasal süreçlerdeki merkezi rolünü ve onların katalitik yeteneklerinin canlı organizmaların hayatta kalması için ne denli kritik olduğunu gözler önüne sermektedir. Enzim araştırmaları, sadece biyokimyayı anlamamızı sağlamakla kalmamış, aynı zamanda biyoteknoloji, ilaç geliştirme ve tarım gibi birçok alanda yenilikçi uygulamaların temelini oluşturmuştur.



Şekil 1.1: Enzim ve substrat arasında anahtar-kilit modeli (Knowles vd., 2014)

Protein Doğası: Enzimlerin büyük çoğunluğu proteindir. Ancak, bazı RNA molekülleri de katalitik aktiviteye sahip olup ribozim olarak adlandırılır (Knowles vd., 2014).

Aktif Bölge: Enzimin substrat ile etkileşime girdiği ve reaksiyonun gerçekleştiği özel bir bölgedir. Aktif bölgenin yapısı, sadece belirli substratların bağlanmasına izin verir (Himo, 2006).

Spesifiklik: Enzimler, yüksek spesifiklik gösterirler; yani, belirli bir substratı tanır ve sadece o substratı katalizlerler. Bu, anahtar-kilit modeli ile açıklanır.

Enzimler, aktivasyon enerjisini düşürerek reaksiyonların hızını artırır. Substratlar, enzimin aktif bölgesine bağlandığında, enzim-substrat kompleksi oluşur. Bu kompleks, substratların reaksiyona girme olasılığını artırarak ürünlere dönüşümünü sağlar. Reaksiyonun tamamlanmasının ardından enzim, orijinal haliyle serbest kalır ve tekrar kullanılabilir. Enzim aktivite düzenlenmesinde birkaç faktör rol oynar (Eed, 2012).

Tablo 1.2: Enzim aktivasyonunu etkileyen faktörler

Kategori	Tanım
İnhibitörler	Enzim aktivitesini azaltan veya durduran moleküllerdir.
Rekabetçi (Yarışmalı)	Aktif bölgeye bağlanarak substratın bağlanmasını engeller.
Rekabetçi Olmayan (Yarışmasız)	Enzimin başka bir bölgesine bağlanarak aktif bölgenin şeklini değiştirir.
Aktivatörler	Enzim aktivitesini artıran moleküllerdir.
Çevresel Faktörler	
Sıcaklık	Enzim aktivitesi, optimum sıcaklıkta en yüksek seviyededir; aşırı sıcaklık enzimleri denatüre edebilir.
pH	Enzimler belirli bir pH aralığında maksimum aktivite gösterir.
Substrat Konsantrasyonu	Enzim aktivitesi, substrat konsantrasyonu ile artar; ancak belirli bir noktadan sonra sabitlenir.

1.6.1. Enzimlerin Sınıflandırılması

Enzimler, Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliği (IUBMB) tarafından katalizledikleri reaksiyon tipleri temel alınarak altı ana sınıfa ayrılmışlardır.

Her sınıf, katalizlenen reaksiyon tipine dayanan alt sınıflara sahiptir. Bu sınıflandırma, enzimlerin sistematik bir şekilde tanımlanmasını ve incelenmesini kolaylaştırır (McDonald ve Keith 2023).

Enzimler, substratlarının adı veya aktivitelerini tanımlayan bir kelime veya sözcük grubuna "-az" son eki eklenerek isimlendirilir. Örneğin, ürenin hidrolizini katalize eden enzim "üreaz" olarak adlandırılır. Bunun yanı sıra, substratlarını veya aktivitelerini doğrudan

tanımlamayan ve genel bir kurala uymayan enzim isimleri de vardır; pepsin ve tripsin bu tür enzimlere örnek olarak verilebilir (Nelson and cox 2004; Taslimi 2017; De Souza vd., 2020).

Tablo 1.3: Enzimlerin IUBMB standartlarında sınıflandırılması

Sınıf	Katalizlediği Reaksiyon Türü	Örnek Enzimler	Fonksiyon
Oksidoredüktazlar	Oksidasyon ve indirgeme reaksiyonları	Dehidrogenazlar, Oksidazlar	Elektron transferi ile ilgili reaksiyonları yönetir
Transferazlar	Fonksiyonel grup transferi	Kinazlar, Aminotransferazlar	Fonksiyonel grupların (örneğin fosfat grubu) taşınmasını sağlar
Hidrolazlar	Hidrolitik reaksiyonlar (su ekleyerek bağların kopması)	Lipazlar, Proteazlar	Büyük moleküllerin su yardımıyla daha küçük bileşenlere ayrılmasını sağlar
Liyazlar	Grupların ayrılması veya çift bağların oluşumu	Dekarboksilazlar, Aldolazlar	Çift bağ oluşumu veya kırılmasını yönetir, karbondioksit veya su gibi küçük moleküllerin ayrılmasını sağlar
İzomerazlar	Moleküllerin yapısal izomerlerine dönüşümü	Fosfoglukomutaz, Trizofosfat izomeraz	Moleküller içindeki atomların yeniden düzenlenmesini sağlar
Ligazlar (Sentezazlar)	Yeni bağların oluşumu, genellikle ATP hidrolizi ile	DNA ligaz, Karboksilazlar	Enerji gerektiren bağ oluşum

			reaksiyonlarını yönetir
--	--	--	----------------------------

1.6.2. Enzim Kinetiği

Enzim kinetiği, enzimlerin katalizlediği kimyasal reaksiyonların hızını ve bu hızın substrat konsantrasyonu, enzim konsantrasyonu, sıcaklık, pH ve diğer faktörlere bağlı olarak nasıl değiştiğini inceleyen bir bilim dalıdır. Enzim kinetiği, enzimlerin mekanizmasını ve işlevini anlamak için kritik bir öneme sahiptir.

Enzimler genellikle Michaelis-Menten kinetiği ile tanımlanır. Michaelis ve Menten, enzim katalizli reaksiyonların genel özelliklerini kapsayan bir model önermiştir. Bu modelde, enzim (E) substratına (S) geri dönüşümlü olarak bağlanarak bir enzim-substrat kompleksi (ES) oluşturur. Daha sonra bu kompleks, ürüne (P) dönüşür ve enzim serbest kalır. (Taslimi, 2017; Warshel ve Ariei 2014).



Bu model, enzimin substratla etkileşimini ve kataliz sonucunda ürün oluşumunu açıklamaktadır.

Michaelis-Menten denklemi, reaksiyon hızının substrat konsantrasyonuna bağlı olarak nasıl değiştiğini matematiksel olarak ifade eder:

$$V_0 = \frac{V_{max}(S)}{K_m + (S)}$$

Michaelis-Menten kinetiğinde, V_0 (ilk hız) reaksiyonun başlangıç hızını temsil ederken, V_{max} (maksimum hız) enzimin tüm aktif bölgeleri substratla doymuş hale geldiğinde ulaşılan maksimum reaksiyon hızını ifade eder. $[S]$ ise reaksiyon ortamındaki substrat moleküllerinin konsantrasyonudur. K_m (Michaelis sabiti), enzimin substrata olan ilgisini gösterir ve reaksiyon hızının yarısına karşılık gelen substrat konsantrasyonunu temsil eder. K_m , enzim konsantrasyonuna bağlı değildir. Düşük K_m değeri, enzimin substrata yüksek ilgisini, yüksek K_m değeri ise düşük ilgisini gösterir (Segel, 1968; Taslimi, 2017; Tzafirri, 2003).

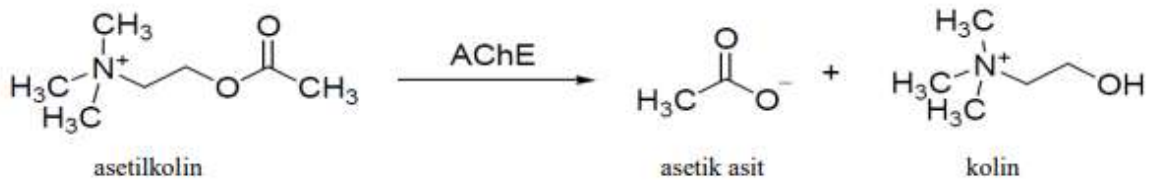
K_m ve V_{max} değerlerini daha kolay hesaplayabilmek için Michaelis-Menten bağıntısı yeniden düzenlenebilir. Eğer $1/V_0$, $1/[S]$ 'ye karşı grafiğe geçirilirse bir doğru elde edilir. Bu grafiğe Lineweaver-Burk grafiği (çift ters eğri) denir (Lineweaver ve Burk 1934; Taslimi, 2017). Lineweaver-Burk grafiği, enzim kinetiği çalışmalarında K_m ve V_{max} değerlerini

belirlemek için kullanılan yaygın bir yöntemdir. Bu grafik, enzimlerin kinetik parametrelerini daha net bir şekilde analiz etmeye olanak tanır ve enzimin katalitik etkinliğini anlamada önemli bir araçtır.

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K}{V_{max}} \frac{1}{S} = \frac{1}{V_{max}}$$

1.6.3. Asetilkolinesteraz Enzimi (AChE, E.C.3.1.1.7)

Asetilkolinesteraz (E.C. 3.1.1.7), merkezi ve periferik sinir sistemlerinde, kolinerjik ve adrenerjik sinirlerde, kas dokusunda, eritrositlerde ve plasental dokuda bulunan bir enzimdir. Bu enzim, sinaptik boşluklardaki asetilkolini asetat ve koline hidrolize ederek inaktive eder, böylece sinir uyarılarının doğru şekilde iletilmesini ve sonlandırılmasını sağlar (Taslimi, 2017; Gilson vd., 1994). Asetilkolinesterazın bu kritik görevi, sinir sistemi işlevlerinin düzenlenmesinde hayati bir rol oynar (Aktaş vd., 2017).



Şekil 1.2: AChE enziminin asetilkolin ile reaksiyonu

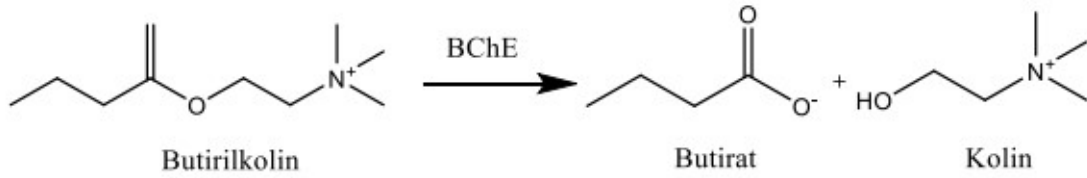
Asetilkolinesterazın işlevindeki bozukluklar nöromüsküler iletişimde sorunlara yol açabilir. Özellikle Alzheimer hastalığı gibi nörolojik rahatsızlıklarda asetilkolin düzeylerinin düşük olması, bilişsel fonksiyonların bozulmasına neden olabilir. Bu hastalıkların tedavisinde asetilkolin esteraz inhibitörleri, asetilkolin düzeylerini artırarak bilişsel fonksiyonları iyileştirmeyi amaçlar (Koçancı vd., 2016).

Ayrıca, organofosfatlar ve bazı pestisitler gibi asetilkolin esteraz inhibitörleri, enzimin işlevini durdurarak sinir iletimini kesintiye uğratabilir ve zehirlenmelere yol açabilir. Bu tür zehirlenmeler sinir sistemi üzerinde ciddi etkiler yapar ve tedavi gerektirir. Asetilkolinesteraz inhibitörleri, Alzheimer hastalığı ve diğer demans türlerinin tedavisinde kullanılan önemli bileşiklerdir. Enzimin aktivitesini engelleyerek sinaptik boşluklarda daha fazla asetilkolin kalmasını sağlar ve böylece nörotransmisyonu iyileştirir. Asetilkolinesteraz

enzimi, sinir sistemi işlevlerinin düzenlenmesinde kritik bir rol oynar ve merkezi, periferel sinir sistemlerinde, eritrositlerde ve plasental dokuda yaygın olarak bulunur. Bu enzim, nörolojik hastalıkların tedavisinde ve bazı zehirlenmelerin mekanizmasının anlaşılmasında önemli bir bileşendir (Demir vd., 2020; Alp vd., 2012).

1.6.4. Bütirilkolinesteraz Enzimi (BChE E.C.3.1.1.8)

Bütirilkolinesteraz (BChE, E.C. 3.1.1.8), vücudun merkezi ve periferel sinir sistemlerinde, plazmada, karaciğerde, beyinde ve çeşitli diğer dokularda bulunan bir enzimdir (Chatonnet and Lockridge 1989; Taslimi 2017). Bu enzim, sinaptik boşluklardaki bütirilkolini bütirat ve koline hidrolize ederek inaktive eder. Bütirilkolinesterazın bu önemli görevi, sinir uyarılarının doğru şekilde iletilmesini ve sonlandırılmasını sağlar ve böylece sinir sistemi işlevlerinin düzenlenmesinde hayati bir rol oynar.



Şekil 1.3: BChE enziminin bütirilkolin ile reaksiyonu

Bütirilkolinesterazın işlevi, bütirilkolin molekülünü bütirat ve kolin moleküllerine parçalamaktır. Bu işlem sinaptik boşluklarda gerçekleşir ve sinir iletimini sonlandırır. Bütirilkolinin parçalanması, sinaptik iletimin durmasını ve sinir sisteminin bir sonraki uyarıya hazır hale gelmesini sağlar (Taslimi vd., 2017).

Bütirilkolinesterazın işlevindeki bozukluklar nöromusküler iletişimde sorunlara yol açabilir. Özellikle karaciğer hastalıkları gibi durumlarda bütirilkolin düzeylerinin düşük olması çeşitli fonksiyonların bozulmasına neden olabilir. Bütirilkolinesteraz inhibitörleri, bazı tıbbi durumların tedavisinde kullanılabilir. Organofosfatlar ve bazı pestisitler gibi inhibitörler, enzimin işlevini durdurarak sinir iletimini kesintiye uğratabilir ve zehirlenmelere yol açabilir. Bu tür zehirlenmeler sinir sistemi üzerinde ciddi etkiler yapar ve tedavi gerektirir (Minic vd., 2003).

Bütirilkolinesteraz inhibitörleri, belirli nörolojik ve toksikolojik durumların tedavisinde önemli bileşiklerdir. Bu inhibitörler, enzimin aktivitesini engelleyerek sinaptik boşluklarda daha fazla bütirilkolin kalmasını sağlar ve böylece nörotransmisyonu iyileştirir (Lockridge, 2015).

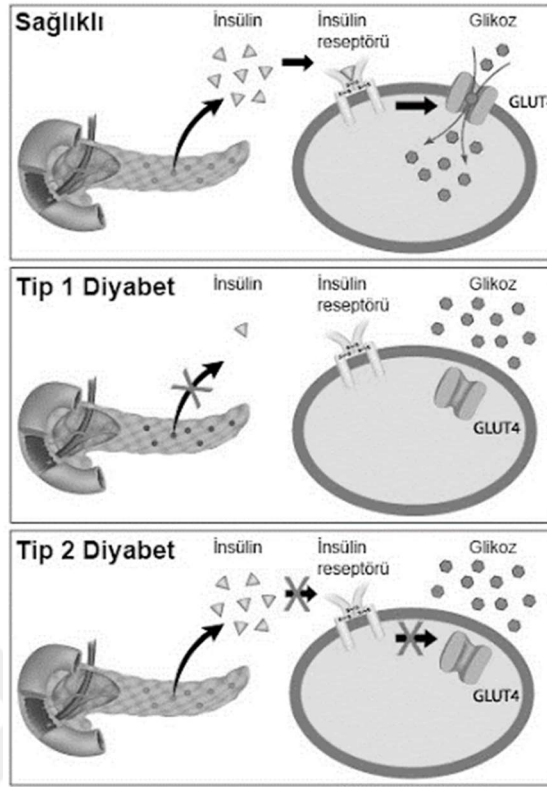
1.6.5. α -Glukozidazlar

α -Glukozidaz enzimi, insan sindirim sisteminde bulunan ve diyetle alınan karbonhidratların sindirilmesinde kritik bir rol oynayan bir enzimdir. Bu enzim, ince bağırsakların mukozal hücrelerinin fırçamsı kenarlarında bulunur ve kompleks karbonhidratları, nişastaları ve disakkaritleri glukoz ve diğer monomer şekerlere hidrolize eder. Bu süreç, glukozun kana emilimini sağlar ve enerji üretimi için kullanılabilir hale getirir. α -Glukozidaz, α -1,4-glikosidik bağları hidrolize ederek, oligosakkaritler ve disakkaritler gibi daha küçük karbonhidrat moleküllerini glukozla dönüştürür. Bu enzim, aktif bölgelerinde spesifik substratları tanıyarak ve bağlayarak, substratın hidrolizini katalize eder. α -Glukozidaz enziminin inhibitörleri, bu hidroliz sürecini engelleyerek karbonhidratların parçalanmasını ve glukozun emilimini azaltabilir (Ayvaz vd., 2010; Taslimi 2017; Taslimi ve Gülçin 2017).

Diyabet tedavisinde, α -Glukozidaz inhibitörleri kullanılarak karbonhidrat sindirimi yavaşlatılır ve postprandiyal (yemek sonrası) kan glukoz seviyeleri kontrol altına alınabilir. Diyabet, iki ana kategoriye ayrılır: Tip 1 ve Tip 2. Tip 1 diyabet, otoimmün ya da idiyopatik kaynaklı beta hücre hasarı sonucu gelişen ve ketoasidoza eğilimli vakaları içerir (Ayvaz vd., 2010).

Tip 2 diyabet ise, insülin sekresyonundaki defekt ve insülin direncinin bir arada görüldüğü daha yaygın bir diyabet türüdür. Tip 1 diyabet durumunda, pankreas yeterli insülin üretmez veya hiç üretmez. İnsülin yokluğu nedeniyle, insülin reseptörleri aktif hale gelemez. Bu durum, GLUT4 taşıyıcılarının hücre yüzeyine hareket edememesine ve glikozun hücrelere girememesine neden olur (Ayvaz vd., 2010; Taslimi 2017; Taslimi ve Gülçin 2017).

Tip 2 diyabet durumunda ise pankreas insülin üretir, ancak hücrelerdeki insülin reseptörleri insüline duyarsız hale gelir. Bu insülin direnci, insülinin reseptörlere bağlanamamasına veya bağlandığında yeterince etkili olamamasına neden olur. GLUT4 taşıyıcıları hücre yüzeyine hareket edemez ve glikoz hücrelere giremez (Taslimi ve Gülçin 2017).



Şekil 1.4: Diyabet türlerinde insülin çalışma prensibi

α -Glukozidaz inhibitörleri, diyabet tedavisinde yaygın olarak kullanılan farmakolojik ajanlardır. Akarboz, miglitol ve vogliboz gibi inhibitörler, α -Glukozidaz enziminin aktivitesini inhibe ederek karbonhidrat sindirimini ve glukoz emilimini yavaşlatır. Bu inhibitörler, Tip 2 diyabet hastalarında postprandiyal hiperglisemiye kontrol etmeye yardımcı olur ve insülin duyarlılığını artırabilir (Taslimi ve Gülçin 2017).

α -Glukozidaz enzimi ve inhibitörleri üzerindeki araştırmalar, diyabet tedavisinde yeni stratejilerin geliştirilmesi açısından büyük önem taşır. Doğal kaynaklardan elde edilen yeni α -Glukozidaz inhibitörleri, daha etkili ve yan etkileri minimize edilmiş tedavi seçenekleri sunabilir. Ayrıca, α -Glukozidazın diğer metabolik hastalıklarla ilişkisi ve bu enzimin regülasyonu hakkında daha fazla bilgi edinmek, gelecekteki tedavi yaklaşımlarını şekillendirebilir (Bischoff, 1995).

1.7. Kaynak Özetleri

Allium cinsine ait bitkiler, özellikle soğan (*Allium cepa*), sarımsak (*Allium sativum*) ve pırasa (*Allium porrum*), hem gıda hem de sağlık açısından büyük öneme sahiptir. Fenolik bileşikler,

flavonoidler ve organosülfür bileşikleri gibi biyolojik olarak aktif maddeler içerirler. Bu bitkiler, antimikrobiyal, antioksidan, kardiyovasküler, hipoglisemik ve antitümör etkileriyle birçok hastalığın önlenmesi ve tedavisinde destekleyici bir rol oynar. (Atik vd., 2019).

Allium cinsi bitkiler, genellikle soğan ve sarımsak gibi kokulu, çok yıllık bitkilerdir. Dünya genelinde yaklaşık 800 türü bulunan *Allium*, özellikle Anadolu ve Orta Asya'da yetişir ve bu bölgeden diğer ülkelere yayılmıştır. Türkiye, dünya üretiminde önemli bir yere sahiptir. *Allium* türleri, halk arasında tedavi edici özellikleri ile bilinmektedir. Soğan ve sarımsak, kalp damar hastalıkları, kanser, solunum yolu hastalıkları gibi çeşitli rahatsızlıklara karşı faydalı olduğu bilimsel olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, bu bitkilerin antioksidan özellikleri ile vücuttaki serbest radikalleri azaltarak hastalıkların oluşumunu engellemeye yardımcı olmaktadır. (Özhatay ve Kandemir 2014; İzol, 2016).

Doğal bir fenolik bileşik olan olivetolun antioksidan özellikleri ve çeşitli metabolik enzimler üzerindeki inhibitör etkileri kapsamlı olarak incelenmiştir. Çalışmada olivetolün asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirikolinesteraz (BChE) gibi kolinesteraz enzimleri, α -amilaz ve α -glikozidaz gibi karbonhidrat parçalayıcı enzimler, glutatyon S-transferaz (GST) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi antioksidan savunma enzimleri ile insan karbonik anhidraz I ve II (hCA I, II) üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Öncelikle bu enzimler saflaştırılmış ve olivetolün bu enzimleri oldukça düşük konsantrasyonlarda bile inhibe ettiği gösterilmiştir. Örneğin, olivetol AChE ve BChE enzimlerini yarı yarıya inhibe etmek için gereken konsantrasyon (IC_{50}) düzeyinde nanomolar mertebede güçlü bir inhibitör etki göstermiştir (IC_{50} değerleri ~5–6 nM düzeyinde). hCA I ve II izoenzimleri ile α -glikozidaz üzerinde de nanomolar düzeyde güçlü inhibisyon gözlenirken, GST ve GR enzimleri üzerindeki inhibitör etkisi mikromolar düzeylerde gerçekleşmiştir (Taslimi, 2017).

Olivetol ayrıca kapsamlı antioksidan aktivite testlerine tabi tutulmuştur. Ferrik ve kuprik iyon indirgeme (FRAP ve CUPRAC), DPPH ve ABTS+ serbest radikal süpürme ve diğer antioksidan kapasite deneylerinde, olivetol güçlü serbest radikal giderici ve indirgeme kapasitesine sahip bulunmuştur. Bu tez çalışması, olivetolün yüksek antioksidan kapasitesi ile çok yönlü enzim inhibitörlüğü sergilediğini, dolayısıyla farmakolojik açıdan nörodejeneratif hastalıklar veya metabolik bozukluklar bağlamında potansiyel bir biyoaktif molekül olabileceğini ortaya koymaktadır (Taslimi, 2017).

Halk arasında Tunceli sarımsağı olarak bilinen *Allium tuncelianum* türünün etanol ile hazırlanan ekstraktının antioksidan etkinliği ve biyolojik etkileri araştırılmıştır. Çalışmada Tunceli sarımsağının hem doğal yetiştiği Tunceli-Ovacık bölgesinden hem de kültür ortamından elde edilen örnekleri kullanılmıştır. İlk olarak ekstraktın toplam fenolik ve toplam flavonoid içerikleri belirlenmiştir. 0,5 mg/mL konsantrasyondaki ekstraktın toplam fenolik içeriği $16,70 \pm 1,21$ µg gallik asit eşdeğeri (GAE) ve toplam flavonoid içeriği $6,73 \pm 0,11$ µg kuersetin eşdeğeri olarak ölçülmüştür. Bu değerler, ekstraktın fenolik bileşikler açısından zengin olduğunu göstermektedir. Ekstraktın antioksidan aktivitesi farklı yöntemlerle değerlendirilmiştir: FeCl₂-H₂O₂ sistemiyle indüklenen lipid peroksidasyonunu önleme testinde ekstraktın en yüksek inhibitör etkinliği $69,6 \pm 0,2$ olarak tespit edilmiştir. Yine, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikalini yakalama testinde 2000 µg/mL gibi yüksek bir konsantrasyonda yaklaşık %89,7 oranında radikal giderme aktivitesi gözlemlenmiştir. Ekstrakt, ayrıca oksidatif DNA hasarı ve protein oksidasyonu üzerinde koruyucu etki gösterip göstermediği açısından incelenmiştir. Bovine serum albümin (BSA) proteinine karşı oluşturulan oksidatif hasarı %61,9–76,2 aralığında engellediği, dolayısıyla protein oksidasyonunu önemli ölçüde azalttığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, belirli yüksek konsantrasyonlarda ekstraktın pro-oksidan etki gösterebildiği de rapor edilmiştir. Genel olarak bu tez, *Allium tuncelianum* etanol ekstraktının zengin fenolik içeriği sayesinde güçlü bir antioksidan olduğunu, lipid peroksidasyonunu ve biyomolekül hasarını önleyebildiğini göstermektedir. Bu bulgular, Tunceli sarımsağının gıda takviyesi veya doğal antioksidan kaynağı olarak potansiyeline işaret etmektedir (Ağbaş vd., 2013).

Kastamonu bölgesine özgü endemik bir tür olan *Allium kastambulense* bitkisinin fenolik profili ortaya çıkarılmış ve çeşitli biyolojik aktiviteleri değerlendirilmiştir. Bu çalışmada bitkinin farklı çözücülerle hazırlanmış özütlerinde fenolik bileşenlerin tanımlanması ve miktar tayini yapılmış, ardından özütlerin enzim inhibisyon potansiyelleri ve antimikrobiyal etkileri incelenmiştir. Yüksek basınçlı sıvı kromatografi (HPLC) ve kütle spektrometrisi yöntemleri ile *Allium kastambulense* özütlerinde başlıca gentisik asit, (+)katein ve rozmarinik asit bileşikleri tespit edilmiştir. Toplam fenolik içerik değeri oldukça yüksek olup 22,63 mg GAE/g ekstrakt olarak ölçülmüştür; toplam flavonoid miktarı ise 6,41 mg kuersetin eşdeğeri/g olarak belirlenmiştir. Biyolojik aktivite testlerinde, bu bitki özütünün bir dizi önemli enzimi güçlü biçimde inhibe ettiği görülmüştür. Özellikle 3-hidroksi-3-metilglutaril KoA redüktaz (HMG-CoA R) enzimi ve tirozinaz enzimi, *Allium kastambulense* özütü tarafından en güçlü inhibe edilen enzimler olmuştur (IC₅₀ değerleri

sırasıyla ~0,55 µg/mL ve 59,17 µg/mL) Ayrıca pankreatik lipaz, üreaz, α-amilaz, α-glikozidaz ve kolinesterazlar gibi metabolik ve sindirimle ilişkili enzimler üzerinde de özütün belirgin inhibitör etkileri tespit edilmiştir. Çalışmada moleküler modelleme (doklama) yöntemleri kullanılarak, özütteki aktif bileşenlerin enzimlerle etkileşimleri incelenmiştir; örneğin ana bileşenlerden rozmarinik asidin HMG-CoA redüktaz ile güçlü etkileşimler (-10,90 kcal/mol bağlanma enerjisi) oluşturabildiği gösterilmiştir Bunun yanında, *Allium kastambulense*'in ekstraktı çeşitli Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı antimikrobiyal etki de göstermiştir. Sonuç olarak bu çalışma, A. kastambulense bitkisinin fenolik açıdan zengin olduğunu ve anti-diyabetik, anti-obezite, anti-alzheimer ve dermatolojik (melanin inhibitör) etkiler dâhil çok yönlü biyolojik aktivitelere sahip olabileceğini ortaya koymaktadır (Kısa vd., 2022).

Konya yöresinden bir endemik soğan türü olan *Allium lycaonicum*'un toprak üstü aksamı ve soğan kısımlarından çeşitli yöntemlerle elde edilen ekstraktlar incelenmiştir Araştırmada maserasyon ve Soxhlet gibi farklı ekstraksiyon teknikleri ve hekzan, metanol, su gibi farklı çözücüler kullanılarak bitkinin fenolik bileşikleri, antioksidan etkisi ve çok yönlü enzim inhibisyon potansiyeli değerlendirilmiştir Sonuçlar, bitkinin yaprak ve gövde gibi yeşil aksamından elde edilen ekstraktların, soğan (yumru) kısmından elde edilenlere kıyasla daha yüksek toplam fenolik içerik (29,0 mg gallik asit eşdeğeri/g'a kadar) ve daha yüksek antioksidan aktivite sergilediğini göstermiştir En yüksek toplam flavonoid içeriği, metanol ile maserasyon yöntemiyle elde edilen yeşil aksam ekstraktında ölçülmüştür (42 mg rutin eşdeğeri/g düzeyinde) HPLC-MS/MS analizleri, özellikle yeşil aksam ekstraktlarında belirgin miktarda kaempferol-3-glikozit, hiperozid, izoküersitrin, delfinidin-3,5-diglikozit ve rutin gibi flavonoidlerin bulunduğunu ortaya koymuştur Antioksidan kapasite testlerinde su ile maserasyonla elde edilen yeşil aksam ekstraktı, ABTS•+ radikal süpürme aktivitesinde 64,09 mg Trolox eşdeğeri/g ve güçlü metal indirgeme kapasiteleri (Cu²⁺ indirgeme için 83,03 mg, Fe³⁺ indirgeme için 63,03 mg Trolox eşdeğeri/g) ile öne çıkmıştır Benzer şekilde, infüzyon yöntemiyle hazırlanan yeşil aksam ekstraktı, DPPH• radikal giderme aktivitesinde (31,70 mg TE/g) ve metal şelatlama aktivitesinde en yüksek değeri göstermiştir Toplam antioksidan kapasite ise en çok, su ile maserasyon tekniğiyle hazırlanan soğan ekstraktında ölçülmüştür (1,46 mmol Trolox eşdeğeri/g) Çalışmanın en dikkat çekici bulgularından biri, enzim inhibitörlüğü sonuçlarının ekstraksiyon yöntemi ve çözücüye göre belirgin biçimde değişmesidir. Genel olarak organik çözücü (hekzan, metanol) ile hazırlanan özütler, test edilen enzimlere karşı daha yüksek inhibitör aktivite göstermiştir Bu kapsamlı çalışma, A.

lycaonicum türünün farklı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen özütlerinin, zengin bir fenolik profile sahip olduğunu ve güçlü antioksidan ile çok yönlü enzim inhibe edici özellikler taşıdığını ortaya koymaktadır. Elde edilen bulgular, bitkiden izole edilecek bileşiklerin potansiyel terapötik etkileri olabileceğini ve ekstraksiyon koşullarının biyolojik aktivite üzerinde önemli etkileri bulunduğunu vurgulamaktadır (Yagi vd., 2023).

Türkiye’de farklı lokalitelerden toplanan *Allium pallens* türünün kimyasal bileşimi ve biyolojik aktiviteleri araştırılmıştır. Çalışmada bitkinin soğan (bulb), gövde (sap) ve çiçek kısımları ayrı ayrı incelenmiş; iki farklı bölgeden toplanan örnekler karşılaştırılmıştır. İlk aşamada, her bir bitki kısmından hazırlanan metanol ekstraktlarında bulunan fenolik bileşikler LC-ESI-MS/MS tekniğiyle tanımlanmıştır. Toplam 28 farklı fenolik bileşik tespit edilmiş olup, galik asit, 4-hidroksibenzoik asit ve benzoik asit her iki lokaliteden örneklerde en baskın bulunan fenolik bileşikler olarak rapor edilmiştir. Ekstraktların toplam fenolik madde ve toplam flavonoid içerikleri spektrofotometrik yöntemlerle ölçülmüş; özellikle sap kısımlarından elde edilen ekstraktların fenolik bakımından en zengin kısım olduğu belirlenmiştir. Antioksidan kapasiteyi değerlendirmek üzere DPPH ve ABTS serbest radikal süpürme ile FRAP ve CUPRAC indirgeme testleri uygulanmıştır. Sonuçlar, ekstraktların fenolik içeriği ile antioksidan aktiviteleri arasında doğrusal bir ilişki olduğunu göstermiştir; fenolik maddece en zengin olan sap ekstraktları, en güçlü antioksidan etkinliği sergilemiştir. Özellikle sap ekstraktlarının DPPH ve ABTS radikallerini giderme kapasitesinin yüksek olduğu ve metal indirgeme gücünün de belirgin derecede güçlü olduğu bulunmuştur. Çalışmada, ekstraktların enjeksiyon enzimlerine karşı inhibisyon potansiyeli de irdelenmiştir. Asetilkolinesteraz (AChE), bütirilkolinesteraz (BChE) ve tirozinaz enzimlerine karşı özütlerin inhibisyon etkileri 96 kuyucuklu mikrotiter plakalarında ölçülmüştür. Elde edilen veriler, tüm ekstraktların bu enzimlere karşı belirli düzeyde etki gösterdiğini, özellikle BChE enzimine karşı inhibitör etkinin diğerlerine kıyasla daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca çok değişkenli istatistiksel analiz tekniklerinden ana bileşen analizi (PCA) kullanılarak farklı örneklerin kimyasal ve biyolojik özellikleri arasındaki ilişkiler incelenmiştir. Bu çalışma genel olarak *Allium pallens* türünün farklı organlarında fenolik bileşik dağılımını ve buna bağlı biyolojik aktiviteleri ortaya koymakta; özellikle yüksek fenolik içeriğe sahip sap kısımlarının güçlü antioksidan ve kolinesteraz inhibitörü özellikler taşıdığını göstermektedir. Bu da *A. pallens* ve benzeri yabani *Allium* türlerinin, nörodejeneratif hastalıklarda (örn. Alzheimer) veya antioksidan takviye

gerektiren durumlarda değerdendirilebilecek potansiyel doğal kaynaklar olduğunu düşündürmektedir (Emir ve Emir 2020).

Allium türleri fenolik bileşik açısından zengin olup, antioksidan kapasiteleri yüksektir. *Allium fistulosum* ve *Allium ursinum* gibi türlerde yapılan HPLC-MS analizleri yüksek fenolik bileşen içeriğini göstermiştir (Beşlioğlu, 2023).

Allium tuncelianum türünün fenolik bileşikleri LC-MS/MS ve HPLC yöntemleriyle belirlenmiş, kalp dokusundaki oksidatif hasarı önleyici etkileri doğrulanmıştır (Ağbaşı vd., 2013).

Olivetolün antioksidan ve antikolinergik özellikleri belirgin olup, serbest radikalleri inhibe ederek nöroprotektif etkiler göstermektedir. (Taslimi, 2017).

Allium sebzelerindeki organosülfür bileşikleri, antimikrobiyal, kardiyoprotektif ve antioksidan özellikler taşıır (Ozen vd., 2022). Yeşil sarımsak yapraklarından fenolik ve antioksidan bileşiklerin ekstraksiyonunda %69,70 etanol optimum sonuçları sağlamıştır (Erdogan ve Karatas 2023). Siyah sarımsağın fenolik bileşikleri antibakteriyel etkiler göstermekte ve virölans faktörlerini azaltmaktadır. Doğal antioksidanların in vitro antioksidan testleri, fenolik bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılır (Uysal vd., 2023). *Allium* türlerindeki polifenolik bileşiklerin HPLC-UV-MS ile analizi türlerin biyolojik aktivitelerinin belirlenmesinde önemlidir (Lanzotti, 2012). *Allium cepa* ve *Allium sativum* fenolik bileşikleri HPLC analizleri, bu bitkilerin sağlık açısından faydalı bileşenler içerdiğini ortaya koymaktadır *Allium nevsehirense* ve diğer *Allium* türlerinin metanol ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri karşılaştırmalı olarak değerdendirilmiş, yüksek antioksidan kapasite belirlenmiştir (Semerci, 2018).

2. MATERYAL VE METHOD

2.1. Bitkilerin Toplanması ve Hazırlanması

Allium yeşilyurtense ve *Allium adıyamanense* bitkileri, çalışma alanındaki bitki popülasyonlarından özenle toplanmıştır. Toplama işlemi, bitkilerin en yüksek aktif bileşik konsantrasyonuna sahip olduğu dönemde gerçekleştirilmiştir. Toplanan bitkiler, toprak ve diğer yabancı maddelerden arındırılmak üzere bol su ile yıkanmış ve laboratuvara taşınmıştır. Yıkama sonrası bitkiler, oda sıcaklığında kurutma kağıtları üzerinde kurutulmuştur. Bu aşama, bitkilerin nemli kalmamasını ve mikrobiyal kontaminasyon riskinin azaltılmasını sağlamıştır. Kurutulan bitkiler, homojen bir karışım elde edilmesi için küçük parçalara kesilmiş ve daha sonra bir öğütücü kullanılarak ince toz haline getirilmiştir. Öğütülen bitki materyali, aktif bileşiklerin ekstrakte edilmesi için uygun bir çözücü ile muamele edilmiştir. Ekstraksiyon işlemi, belirli bir süre boyunca sürekli karıştırma altında gerçekleştirilmiştir. Çözücü olarak genellikle metanol, etanol ve su kullanılmıştır.

Ekstraksiyon sonrası elde edilen çözelti, katı partiküllerden ayrılmak üzere Whatman No. 1 filtre kâğıdı kullanılarak filtre edilmiştir. Filtre edilen çözelti, çözeltinin daha fazla temizlenmesi ve istenmeyen katı partiküllerin tamamen uzaklaştırılması amacıyla 15 dakika boyunca 4000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonrası, üstte kalan berrak süpernatant dikkatlice toplanmıştır. Santrifüj sonrası elde edilen süpernatant, vakum altında rotary evaporatör kullanılarak çözücünün buharlaştırılması suretiyle konsantre edilmiştir. Bu işlem, aktif bileşiklerin yoğunluğunu artırarak analiz için uygun hale getirilmesini sağlamıştır. Konsantre edilen ekstraktlar, analiz yapılana kadar -20°C'de karanlık ve hava geçirmez kaplarda saklanmıştır. Bu koşullar, bileşiklerin bozulmadan korunmasını sağlamıştır.

2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bu çalışma'da kullanılan 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6- sulfonik asit) (ABTS), neokuprin (2,9-dimetil- 1,10-fenantrolin), 1,1-difenil-2- pikril-hidrazil (DPPH) radikali, 5,5'Ditiyobis(2-nitrobenzoik asit) (DTNB), Butilhidroksitoluen (BHT), Butilhidroksianizol (BHA), Trolox, Etanol (%99.9), Potasyum Persülfat ($K_2O_8S_2$), Bakır Klorür ($CuCl_2$), Sodyum Asetat ($NaCH_3COO$), hidroklorik asit, sülfirik asit, asetilkolinesteraz enzimi,

asetilkolin tiyoyodür, bütirilkolinesteraz, bütirilkolin iyodat ve 5,5'Ditiyobis(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) Doç Dr. Parham Taslimi tarafından kullanımına sunulmuştur.

Tablo 2.1: Kullanılan alet ve cihazlar

UV-VIS Spektrofotometre
Ayarlanabilir Hacimli Pipetler
Hassas Terazı
pH Metre
Vorteks
Falcon Tüpü
Saf Su Cihazı
Beher
Erlen
Mezür
Deney Tüpü

2.3. Flavonoidlerin Tayini ve HPLC Yöntemi

Bu bölümde, bitki örneklerinden elde edilen flavonoid bileşiklerinin analizinde kullanılan yüksek performanslı sıvı kromatografı (HPLC) yöntemi detaylandırılmıştır. Flavonoidlerin kantitatif ve kalitatif analizleri için izlenen adımlar aşağıda açıklanmıştır.

Bitkilerden elde edilen ekstraktların flavonoid içeriğinin belirlenmesi, çeşitli kimyasal analiz yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Flavonoid tayini için en yaygın kullanılan yöntemlerden biri, spektrofotometrik yöntemdir. Bu yöntem, flavonoidlerin alüminyum klorür ($AlCl_3$) ile kompleks oluşturması prensibine dayanır.

Örnek Hazırlama: Bitki ekstraktlarından belirli bir miktar alınarak uygun çözücü (genellikle metanol) ile seyreltilir.

Reaktif Hazırlama: Alüminyum klorür çözeltisi (%10 w/v) hazırlanır.

Reaksiyon Karışımı: 1 mL bitki ekstraktı, 1 mL $AlCl_3$ çözeltisi ile karıştırılır ve karışımın hacmi 10 mL'ye metanol ile tamamlanır.

İnkübasyon: Karışım, oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilir.

Absorbans Ölçümü: İnkübasyon sonrası karışımın absorbansı, 415 nm dalga boyunda spektrofotometre kullanılarak ölçülür.

Flavonoid içeriği, rutin veya kersetin gibi standart flavonoid bileşiklerinin kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplanır ve mg/g ekstrakt cinsinden ifade edilir.

2.3.1. HPLC Yöntemi

Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC), bitki ekstraktlarındaki flavonoid bileşiklerinin kalitatif ve kantitatif analizinde kullanılan hassas ve güvenilir bir yöntemdir. Yaklaşık 100 mg bitki ekstraktı tüpe tartıldı, 5 mL MeOH içinde çözöldü, 1 dakika boyunca vorteks yapıldı, 0.22 µm filtreden geçirilerek 5 mL saklama şişesine aktarıldı. Son örnek hacminde 1,5 ppm iç standart konsantrasyonu elde etmek için 30 µL IS çözeltisi (MeOH içinde 50 ppm teofilin) eklendi.

HPLC Şartlarında;

Mobil Faz A: 1% Formik Asit - H₂O

Mobil Faz B: 10% MeOH – 10% H₂O – 80% ACN

Kolon: 3.5 µm Troyasil C18 – 150 x 2.1 mm kolon, olarak kullanılmıştır.

Örnek Hazırlama: Bitki ekstraktları, HPLC analizine uygun çözöcö (genellikle asetonytril, metanol veya su) ile seyreltilir ve membran filtreden (0.45 µm) geçirilir.

Cihaz ve Kolon: HPLC analizleri, C18 ters faz kolon kullanılarak gerçekleştirilir. Kolon sıcaklığı genellikle 25-30°C arasında tutulur.

Mobil Faz: Mobil faz olarak genellikle iki çözöcö sistemi (örneğin, %0.1 formik asit - su ve %0.1 formik asit – asetonytril - %0,1 metanol) kullanılır. İzokratik veya gradyan elüsyon programı tercih edilebilir.

Enjeksiyon: Hazırlanan örnekler, HPLC cihazına enjekte edilir. Enjeksiyon hacmi genellikle 20 µL'dir.

Tespit ve Kalibrasyon: Flavonoid bileşikleri, belirli dalga boylarında (genellikle 254 nm veya 280 nm) UV dedektörü ile tespit edilir. Flavonoidlerin kantitatif analizi, bilinen konsantrasyonlarda standart flavonoid çözeltileri kullanılarak oluşturulan kalibrasyon eğrileri ile yapılır.

Veri Analizi: Elde edilen kromatogramlar, pik alanları kullanılarak analiz edilir ve flavonoid bileşiklerinin konsantrasyonları belirlenir.

Tablo 2.2: LC/MS MS parametreleri

Bileşik Adı	RT (minimu m)	İyonizasyo n Modu	Öncü (<i>m/z</i>)	Ürün 1 (<i>m/z</i>)	Çarpışm a Enerjisi 1 (V)	Ürün 2 (Onaylı) (<i>m/z</i>)	Çarpışm a Enerjisi 2 (V)
(+)-Katein	5,90	Olumsuz	289,1 3	245,0 5	14,10	203,0 5	18,85
(+)-epikateşin	6,20	Olumsuz	289,1 3	245,0 5	14,10	203,0 5	18,85
(+)-trans- taksifolin	7,12	Olumsuz	303,0 3	285,0 5	11,67	124,8 8	20,47
4- hidroksibenzoik asit	6,10	Olumsuz	136,9 3	92,88	14,25	64,88	29,41
Akasetin	9,80	Olumsuz	285,1 2	241,9 7	35,23	-	-
Apigenin-7- glukozid	6,97	Olumsuz	431,2 5	268,0 5	34,12	238,9 7	50,04
Kafeik asit	6,29	Olumsuz	179,0 3	134,9 7	15,26	106,9 7	21,83
Karnosik asit	13,23	Olumsuz	331,3 5	287,2 2	23,45	271,1 3	45,59
Şikorik asit	7,09	Olumsuz	473,1 0	311,0 5	11,07	148,9 7	21,73
Siyanidin klorür	7,98	Olumsuz	287,1 2	212,9 7	32,90	136,8 8	34,22
Dihidrokaempfer ol	7,58	Olumsuz	287,0 5	259,0 5	12,94	124,9 7	21,02
Elagik asit	6,88	Olumsuz	301,0 3	300,0 5	31,69	283,9 7	30,17
Emodin	11,25	Olumsuz	269,0 7	224,9 7	25,12	240,9 7	26,58

Eupatilin	9,55	Olumsuz	343,1 2	328,0 5	17,89	313,0 5	24,61
Hiperozid	6,70	Olumsuz	463,3 0	300,0 5	27,14	270,9 7	43,97
İzokuranetin	9,78	Olumlu ...	283,1 8	267,9 7	22,64	210,9 7	38,97
L-theanin	1,62	Olumsuz	175,1 2	157,9 7	9,14	83,88	18,75
Luteolin	7,97	Olumsuz	285,0 3	132,8 8	34,67	150,8 8	26,18
Luteolin 7- rutinosid	6,47	Olumsuz	593,3 2	285,0 5	37,65	150,8 8	62,57
Mirisetin	7,48	Olumsuz	317,0 7	150,8 8	24,87	178,8 8	20,01
Naringenin	8,46	Olumsuz	271,0 5	150,9 7	17,23	118,9 7	27,39
Naringin	6,83	Olumsuz	579,3 6	271,0 5	31,54	150,8 8	41,70
Nepetin	8,01	Olumsuz	315,0 5	299,9 7	20,47	136,8 8	31,08
Nepetin-7- glukozid	6,73	Olumsuz	478,2 3	300,0 5	34,97	316,0 5	23,96
Orientin	6,35	Olumsuz	447,2 0	327,0 5	21,48	357,0 5	19,61
p-kumarik asit	6,89	Olumsuz	162,8 5	118,9 7	13,09	92,88	31,59
Penduletin	9,38	Olumsuz	343,2 3	328,1 3	16,27	241,9 7	39,93
Polidatin	6,70	Olumsuz	389,2 5	227,0 5	16,17	184,9 7	35,94
Kuersetin	8,06	Olumsuz	301,0 5	150,8 8	21,23	178,9 7	17,49

Ramnositrin	9,90	Olumsuz	301,2 0	258,0 5	33,36	106,8 8	43,62
Rosmarinik asit	7,25	Olumsuz	359,1 3	160,9 7	16,78	196,9 7	16,07
Rutin	6,46	Olumlu ...	609,3 2	300,0 5	37,65	270,9 7	58,68
Salisilik asit	8,17	Olumsuz	137,0 2	92,97	16,37	64,97	29,06
Sarsasapogenin	10,57	Olumsuz	417,4 5	273,2 2	19,41	255,2 2	26,84
Scutellarein	7,90	Olumsuz	285,1 2	116,9 7	38,97	136,8 8	31,34
Sinestein	9,20	Olumsuz	373,2 0	343,0 5	29,36	312,0 5	27,04
Teofilin	5,45	Olumsuz	181,1 2	123,9 7	18,95	95,97	23,50
Verbaskozid	6,53	Olumsuz	623,4 2	160,9 7	37,30	132,9 7	63,18

HPLC yöntemi, bitki ekstraktlarındaki flavonoid bileşiklerinin ayrılması, tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesinde yüksek doğruluk ve hassasiyet sağlar. Bu yöntem, çeşitli bitkisel materyallerin farmakolojik ve kimyasal profillerinin incelenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

2.4. Antioksidan Yöntemlerinde Çözeltilerin Hazırlanması

Antioksidan testleri sırasında kullanılan referans antioksidan bileşikler (BHA, BHT ve Trolox), standart olarak 1:1 oranında hazırlanmıştır. (3 mg antioksidan bileşiği + 3 mL etanol)

Allium adyamanense ve *Allium yeşilyurtense* de aynı standartlarda etanol ve su ile çözülmüştür.

2.4.1. Kuprak (Cuprac) Yöntemi

Kuprak yöntemi antioksidan bileşiklerin bakır (II) iyonlarını (Cu^{2+}) reaksiyon sonrasında bakır (I) iyonlarına (Cu^+) indirger, bu indirgeme reaksiyonu sırasında, Cu^{2+} ve neokuproin, Cu^+ -neokuproin kompleksi oluşturur. Spektrofotometrik ölçüm sırasında kompleks (Cu^+ -neokuproin) 450 nm dalga boyunda maksimum absorpsiyon gösterir, ölçüm bu dalga boyunda yapılır.

Allium adyamanense ve *Allium yeşilyurtense*'nin Cu^{2+} indirgeme aktiviteleri, (Apak vd., 2005) tarafından geliştirilen bakır iyonları indirgeme yönteminin (Taslimi, 2017) hafif bir modifikasyonu ile değerlendirildi. Bu yöntem, bitkilerin indirgeme kapasitesini belirlemek amacıyla kullanıldı. İlk olarak, her iki bitkinin farklı konsantrasyonlarda ekstraktları hazırlandı. Ardından, her bir tüpe sırasıyla 0,125 mL CuCl_2 çözeltisi (0,01 M), 0,125 mL etanolik neokuprin çözeltisi ($7,5 \times 10^{-3}$ M) ve 0,125 mL NaCH_3COO tampon çözeltisi (1 M) eklendi. Karışım, oda sıcaklığında, karanlık ortamda yarım saat boyunca inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda, absorbans değerleri 450 nm'de maksimum absorbans gösterecek şekilde ölçüme tabii tutuldu. Bu yöntem, *Allium adyamanense* ve *Allium yeşilyurtense*'nin bakır iyonlarını indirgeyici etkisini belirlemek için kullanılmış olup, elde edilen sonuçlar bitkilerin antioksidan kapasitesi hakkında bilgi sağlamaktadır.

2.4.1.1. Kuprak Yönteminde Çözeltilerin Hazırlanması

0,01 M'lık CuCl_2 için; 67 mg CuCl_2 alındı ve 50 mL destile suda karıştırılarak çözülür. Neokuprin için; 78 mg Neokuprin alındı ve 50 mL etanolda çözülür. 1 M'lık NaCH_3COO (Sodyum asetat) tampon çözelti için (pH: 6,5): 4,1 g $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ alınır ve 50 mL saf suda çözülür, pH metre ile pH:6,5'e ayarlandıktan sonra hacim destile suyla 200 mL'ye tamamlanır. Kör; saf su kontrol değerleri için; 0,625 mL saf su + 0,125 mL CuCl_2 + 0,125 mL Neokuprin + 0,125 mL NaCH_3COO tamponu karışımı kullanılmıştır.

2.4.1.2. Kuprak Yöntemine Göre Antioksidan Çalışılması

Bu yöntemde, antioksidan kapasitenin belirlenmesi amacıyla Kuprak (Cupric Reducing Antioxidant Capacity) yöntemi kullanılmıştır. Farklı konsantrasyonlardaki örnek ekstraktları (10, 20 ve 30 μL), sabit miktarda CuCl_2 , neokuprin ve asetat tampon çözeltisi ile reaksiyona

sokulmuştur. Reaksiyon sonucunda meydana gelen renk değişimi, örneğin indirgeme kapasitesine bağlı olarak spektrofotometrik olarak ölçülmüş ve antioksidan aktivite değerlendirilmiştir.

Tablo 2.3: Kuprak yönteminde tüp içeriği (1 mL)

Numune	Tüp 1	Tüp 2	Tüp 3
Ekstrat (Bileşik)	10 µL	20 µL	30 µL
Saf Su	615 µL	605 µL	595 µL
CuCl ₂	125 µL	125 µL	125 µL
Neokuprin	125 µL	125 µL	125 µL
Tampon (NaCH ₃ COO)	125 µL	125 µL	125 µL

2.4.2. DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi

DPPH serbest radikal giderme aktivitesi, Blois yöntemine göre (Blois, 1958) gerçekleştirildi. DPPH, stabil bir serbest radikal olup, karakteristik bir mor renge sahiptir. Serbest radikal, elektron veya hidrojen atomu olarak stabilize edilebilir, bu da onun renginin solmasına neden olur.

DPPH radikali, antioksidanlarla etkileşime girdiğinde, mor renkten sarı renge dönüşür. Bu renk değişimi, DPPH radikalının nötralize edildiğini ve serbest radikal giderme aktivitesinin gerçekleştiğini gösterir. Bu değişim, spektrofotometrik olarak 517 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değişikliği ile takip edilir. Antioksidanlar, DPPH radikaline elektron veya hidrojen atomu vererek, onu nötralize eder. Bu süreç, antioksidanların serbest radikal giderme kapasitesini gösterir. Yüksek antioksidan aktiviteye sahip maddeler, daha fazla DPPH radikalini nötralize eder ve absorbansın daha fazla azalmasına neden olur.

2.4.2.1. DPPH Yönteminde Çözeltilerin Hazırlanması

DPPH çözeltisi için; 12,5 mg DPPH tartıldı ve 50 mL etanolde tamamen çözününceye kadar bir gece boyunca etanolde manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı.

Kör: Etanol

Kontrol: 0,5 mL DPPH + 2 mL Etanol

2.4.2.2. DPPH Yöntemine Göre Antioksidan Çalışılması

Bu yöntemde, örneklerin serbest radikal giderme kapasiteleri DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikali kullanılarak belirlenmiştir. Farklı konsantrasyonlardaki ekstraktlar, sabit miktarda DPPH çözeltisi ile karıştırılmış ve etanol ile hacim tamamlanmıştır. Karışım, belirli bir süre karanlık ortamda inkübe edildikten sonra absorbanstaki azalma spektrofotometrik olarak ölçülmüş ve örneklerin antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiştir.

Tablo 2.4: DPPH yönteminde tüp içeriği (2,5 mL)

Numune	Tüp 1	Tüp 2	Tüp 3
Ekstrat (Bileşik)	25 µL	50 µL	75 µL
Etanol	1975 µL	1950 µL	1925 µL
DPPH	500 µL	500 µL	500 µL

2.4.3 ABTS⁺ Giderme Aktivitesi

ABTS radikal giderme aktivitesi, antioksidanların serbest radikalleri nötralize etme kapasitesini ölçen bir yöntemdir (Re vd., 1999). ABTS (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)) radikali, mavi-yeşil renkli ve stabil bir radikaldır. Bu radikal, antioksidanlar tarafından nötralize edildiğinde rengini kaybeder.

Deneyde, öncelikle ABTS radikalleri oluşturulur. ABTS çözeltisine persülfat eklenir ve bu karışım belirli bir süre inkübe edilerek ABTS radikalleri oluşur. Elde edilen ABTS radikal çözeltisi, antioksidan içeren örneklerle karıştırılır. Antioksidanlar, ABTS radikallerini nötralize eder ve çözeltinin renginde azalma gözlemlenir. Bu renk değişikliği, spektrofotometrik olarak 734 nm dalga boyunda ölçülür.

2.4.3.1. ABTS^{•+} Yönteminde Çözeltilerin Hazırlanması

0,1 M Fosfat Tampon Çözeltisi (pH: 7,4): 5,68 g Na₂HPO₄, 350 mL distile suda çözündü. pH metre kullanılarak pH'sı 7'ye ayarlandı. Hacim, saf suyla 400 mL'ye tamamlandı.

2 mM ABTS Çözeltisi: 0,15 g ABTS, 0,1 M ve pH'sı 7,4 olan fosfat tamponunda tamamen çözününceye kadar bir gece boyunca karıştırıldı. Toplam hacim distile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

2,5 mM Potasyum Persülfat Çözeltisi (K₂O₈S₂): 4 mg K₂O₈S₂, 0,1 M ve pH'sı 7,4 olan fosfat tamponunda tamamen çözününceye kadar manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Toplam hacim distile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

ABTS radikalleri, ABTS çözeltisi hazırlandıktan sonra potasyumpersülfat 4 mL/g oranında ABTS çözeltisine eklenmiş ve bu sayede ABTS radikali elde edilmiştir.

2.4.3.2. ABTS^{•+} Yöntemine Göre Antioksidan Çalışılması

ABTS^{•+} (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)) yöntemi, örneklerin serbest radikal süpürücü aktivitelerini belirlemek için kullanılmıştır. Farklı konsantrasyonlardaki ekstraktlar, sabit miktarda ABTS^{•+} çözeltisi ile karıştırılmış ve etanol ile hacim tamamlanmıştır. Karışımlar, belirli bir süre reaksiyona bırakıldıktan sonra absorbanstaki azalma spektrofotometrik olarak ölçülerek antioksidan kapasiteleri değerlendirilmiştir.

Tablo 2.5: ABTS yönteminde tüp içeriği (2 mL)

Numune	Tüp 1	Tüp 2	Tüp 3
Ekstrat (Bileşik)	20 µL	40 µL	60 µL
Etanol	1480 µL	1460 µL	1440 µL
ABTS	500 µL	500 µL	500 µL

2.5. Enzimlerin Aktivite Ölçümünde Kullanılan Çözeltiler

Enzim aktivitesi tayininde kullanılan çözeltiler, enzim-substrat reaksiyonlarını optimize etmek ve sonuçları doğru bir şekilde ölçmek için önemli bir adımdır.

Tampon Çözeltileri: Enzimin en yüksek aktiviteyi gösterdiği optimum pH seviyesini sağlamak için kullanılır. Örneğin, Tris-HCl veya fosfat tamponları, enzim aktivitesini stabilize etmek için sıkça kullanılır.

Substrat Çözeltileri: Enzimin etki ettiği spesifik substrat çözeltileridir. Asetilkolinesteraz tayininde asetiltiyokolin kullanılırken, diğer enzimler için farklı substratlar tercih edilir.

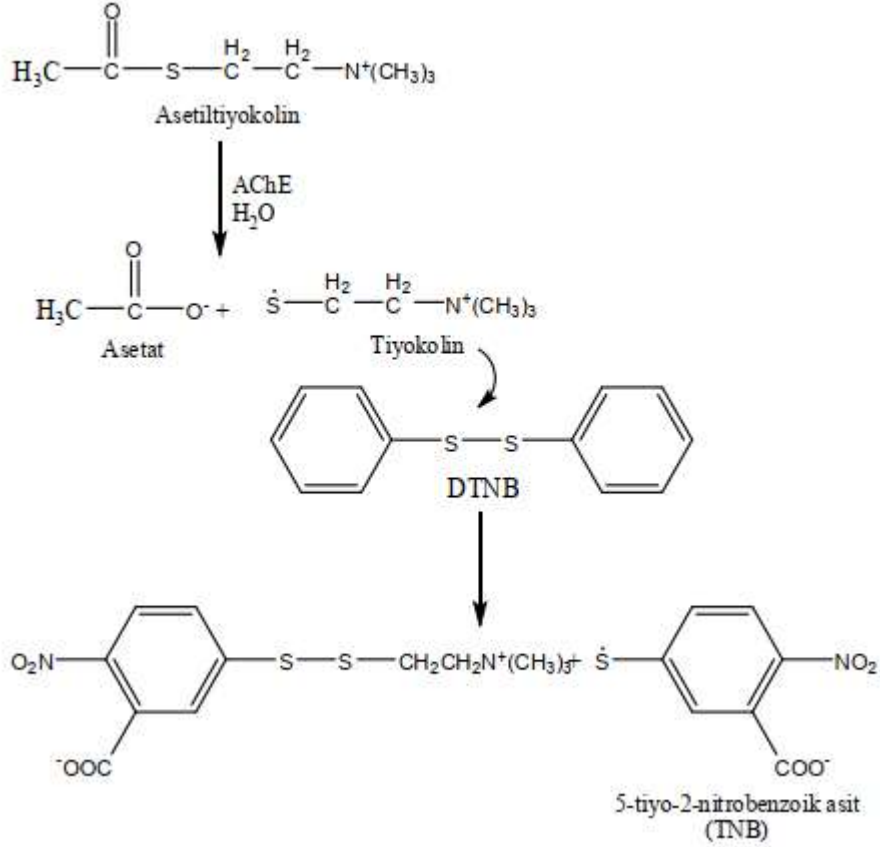
Reaksiyon Renk Geliştirici Çözeltiler: Enzim reaksiyonu sonucunda oluşan ürünlerin ölçülebilir hale gelmesi için kullanılan çözeltilerdir. Örneğin, Ellman yönteminde tiyokolin ile reaksiyona girerek sarı renk oluşturan DTNB çözeltisi kullanılır.

Kontrol ve Kör Çözeltiler: Deney sonuçlarının güvenilirliğini sağlamak için kullanılan çözeltilerdir. Kör deneylerde enzim aktivitesinin olmadığını kontrol etmek amacıyla sadece tampon veya substrat çözeltileri kullanılır.

2.6. Asetilkolinesteraz Enzimi Aktivite Tayini

Asetilkolinesteraz (AChE) enzimi aktivite tayini, AChE'nin asetilkolin (ACh) gibi substratları hidrolize etme kapasitesini ölçmek için kullanılan bir yöntemdir. Bu tayin, genellikle Ellman yöntemi gibi spektrofotometrik bir yöntem kullanılarak gerçekleştirilir. AChE aktivitesi, sinir sistemindeki sinaptik boşluklarda asetilkolini parçalayarak nörotransmisyonun durmasını sağlar, bu nedenle bu enzim aktivitesinin ölçümü birçok biyokimyasal ve farmakolojik çalışmada önemlidir.

Ellman yöntemi, AChE'nin asetilkolin veya asetiltiyokolin substratını tiyocholine ve asetat gibi ürünlere parçalama reaksiyonuna dayanır. Hidroliz sonucunda açığa çıkan tiyokolin, 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) ile reaksiyona girerek sarı renkte bir ürün olan 5-tio-2-nitrobenzoat oluşturur. Bu sarı renk, enzim aktivitesine bağlı olarak yoğunlaşır ve spektrofotometre ile 412 nm dalga boyunda ölçülerek enzim aktivitesinin miktarı belirlenir (Ellman, 1961).



Şekil 2.1: Asetilkolinesteraz enziminin Ellman yöntemiyle tayini (Ellman 1961)

2.6.1. Asetilkolinesteraz Enzimi Aktivite Tayininde Çözeltilerin Hazırlanması

1 M'lık Tris-HCl Tampon çözeltisi: 30,27 g Tris alındı ve 5 mM'lık 0,370 g EDTA 200 mL destile su ile çözüldü pH metre kullanılarak pH'sı 8'e ayarlandı ve toplam hacim 250 mL'ye destile su ile tamamlandı. 10 mM'lık Asetilkolin iyodad çözeltisi: 0.290 g Asetil kolin iyodad alındı ve 100 mL destile suda çözüldü. 10 mM'lık DTNB (5,5'-Ditiyo-bis (2-Nitrobenzoik Asit)) Çözeltisi: 0.02 g DTNB ve 1 g sodyum sitrat alındı 100 mL destile suda çözüldü.

Tablo 2.6: Asetilkolinesteraz aktivite tayininde tüp içeriği

Kullanılan Maddeler	Kontrol Tüpü (µL)	Numune Tüpü (µL)
Tris-HCl (Tampon)	100	100
Saf su	790	770

Örnek (Bitki Örneği)	-	20
DTNB	50	50
Enzim Çözeltisi	10	10
Asetilkolinyodad	50	50

2.7. Bütirilkolinesteraz Enzimi Aktivite Tayini

Bütirilkolinesteraz (BChE) enzimi aktivite tayini, BChE'nin bütirilkolin gibi substratları hidrolize etme kapasitesini ölçmek için kullanılan bir yöntemdir. AChE gibi, BChE de kolinerjik sinapslarda nörotransmitterlerin hidrolizi ile sinir iletimini düzenleyen önemli bir enzimdir. BChE, karaciğer, plazma ve diğer periferik dokularda daha yaygın bulunur ve asetilkolinesterazın aktivitesini destekleyici veya yedekleyici bir rol oynar.

Bütirilkolinesteraz aktivitesinin tayini de genellikle Ellman yöntemi ile yapılır. Bu yöntemde, bütirilkolin substratı, BChE tarafından tiyocholine ve bütirat gibi ürünlere hidrolize edilir. Hidroliz sonucu oluşan tiyokolin, 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) ile reaksiyona girerek sarı renkte bir ürün olan 5-tio-2-nitrobenzoat oluşturur. Bu sarı renk, enzim aktivitesine bağlı olarak artar ve spektrofotometre ile 412 nm dalga boyunda ölçülerek enzim aktivitesi belirlenir (Ellman, 1961).

2.7.1. Bütirilkolinesteraz Enzimi Aktivite Tayininde Çözeltilerin Hazırlanması

1 M'lık Tris-HCl Tampon çözelti: 30,27 g Tris alındı ve 5 mM'lık 0,370 g EDTA 200 mL destile suda çözüldü pH metre kullanılarak pH'ı 8'e ayarlandı ve toplam hacim 250 mL'ye destile su ile tamamlandı. 5 mM'lık Bütirilkolin iyodad çözeltisinin hazırlanması: 0,14 g Bütiril kolin iyodat alındı ve 100 mL destile suda çözüldü. 10 mM'lık DTNB (5,5'-Ditiyo-bis (2-Nitrobenzoik asit)) Çözeltisi: 3,4 mg DTNB alındı ve 25 mL destile suda çözüldü.

Tablo 2.7: Bütirilkolinesteraz aktivite tayini tüp içeriği

Kullanılan Maddeler	Kontrol Tüpü (µL)	Numune Tüpü (µL)
Tris-HCl (Tampon)	100	100

Saf su	790	770
Örnek (Bitki Örneği)	-	20
DTNB	50	50
Enzim çözeltisi	10	10
Bütirilkolinyodad	50	50

2.8. α -Glikozidaz Enzimi Aktivite Tayini

α -Glikozidaz enzimi, karbonhidratların sindirilmesinde önemli bir rol oynayan ve α -1,4-glikosidik bağlarını hidrolize ederek disakkaritleri glikoz ve diğer monomer şekerlere dönüştüren bir enzimdir. Bu enzim, ince bağırsak fırçamsı kenarında bulunur ve besinlerle alınan nişasta ve diğer karbonhidratların sindiriminde kritik rol oynar.

α -Glikozidaz enzimi aktivite tayini, genellikle sentetik substratlar kullanılarak spektrofotometrik yöntemlerle yapılır. Yaygın olarak kullanılan bir substrat, 4-Nitrophenyl β -D-glucopyranoside (pNPG)'dir. Bu substrat, α -glikozidaz enzimi tarafından 4-nitrofenol ve glikoza hidrolize edilir. Hidroliz sonucu serbest kalan 4-nitrofenol, bazik bir ortamda sarı renkte bir ürün oluşturur ve bu ürün, 405 nm dalga boyunda spektrofotometre ile ölçülür.

2.8.1. α -Glikozidaz Enzimi Aktivite Tayininde Çözeltilerin Hazırlanması

0,1 mM Sodyum Fosfat Tamponu (Enzim seyretmek için): 6 mg sodyum fosfat tartılıp 450 mL saf suya ilave edilip pH'sı 6,9'e ayarlayıp saf su ile hacmin 500 mL'ye tamamlandı.

0,1 M Sodyum Fosfat Tamponu (Aktivite ölçmesi için): 5,99 g sodyum fosfat tamponu tartılır ve 450 mL saf su içerisinde çözünür ve pH'sı 6,9'a ayarlandıktan sonra son hacim 500 mL'ye tamamlandı.

5 mM'lık 4-Nitrophenyl β -D-glucopyranoside substrat çözeltisinin hazırlanması: 0,0376 g ilgili substrattan tartılıp 0,1 M'lık fosfat tampon içerisinde 25 mL'de çözüldü.

Tablo 2.8: α -Glikozidaz aktivite tayini t p içeriği

Kullanılan Maddeler	Kontrol Tüpü (μ L)	Numune Tüpü (μ L)
Sodyum Fosfat (Tampon)	100	100
pNPG	50	50
Enzim ��zeltisi	20	20
�rnek (Bitki �rneęi)	-	20
Safsu	830	810

3. BULGULAR

3.1. HPLC Analizi ve Fenolik Bileşikler

Allium adyamanense ve *Allium yeşilyurtense* bitkilerinin HPLC analizleri sonucunda elde edilen fenolik bileşiklerin miktarları, bitkilerin antioksidan kapasiteleri ve biyolojik aktiviteleri hakkında bilgi sağlamaktadır. Bu analizlerde çeşitli fenolik asitler ve flavonoidler belirlenmiştir.

Tablo 3.1: *Allium adyamanense* (AA) ve *allium yeşilyurtense*'nin (AY) HPLC analizi aenolik bileşik sonuçları

Bileşik Adı	Örnek Adı	
	AA	AY
(+)-kateşin	0.35*	0,38
4-hidroksibenzoik asit	<LOD	<LOD
Akasetin	0,41	0.03*
Apigenin-7-glukozit	22,17	1,62
Kafeik asit	47.07*	2.36*
Şikorik asit	0.13*	0,4
Syanidin klorür	13,12	1,21
Dihidrokaempferol	1,13	1,44
Elagik asit	<LOD	0.27*
Emodin	0,19	0.15*
Eupatilin	0,8	0,16
Hiperozit	1985,05	169,25
İzosakuranetin	1,24	<LOD
L-theanine	5,61	0,81
Luteolin	0,63	3,15
Luteolin 7-rutinosid	7,55	0,12
Mirisetin	0,6	0,25
Naringenin	0,52	1
Naringin	18,67	0,02

Nepetin	0,83	0,26
Nepetin-7-glukozit	185,54	5,44
Orientin	163,66	1,87
p-kumarik asit	30,82	31,51
Penduletin	0,63	0,11
Polidatin	100,5	<LOD
Kuersetin	435,99	3,84
Ramnositrin	53,24	0,76
Rosmarinik asit	8,15	33,53
Rutin	46,8	4,13
Salisilik asit	<LOD	<LOD
Scutellarein	<LOD	<LOD
Taksifolin	0,35	0,55
Verbaskozid	1,48	16,64

Tablo 3.2: Fenolik bileşiklerin önem ve etki alanları

Bileşik Adı	Önemi ve Etkisi
(+)-kateşin	Güçlü antioksidan özelliğiyle serbest radikalleri nötralize eder. Kardiyovasküler sağlığı destekler, LDL kolesterolü düşürebilir ve anti-kanser potansiyeli vardır (Pandey, 2009).
4-hidroksibenzoik asit	Antioksidan ve antimikrobiyal etkiler sunar. Gıda koruyucusu olarak kullanılır ve cilt sağlığını destekler (Stagos vd., 2018).
Akasetin	Antienflamatuar ve antikanser özellikleri bulunur. Enflamasyonu azaltır, kardiyovasküler sağlığı destekler ve bazı kanser türlerine karşı koruyucu olabilir (Abotalep vd., 2018).

Apigenin-7-glukozit	Antioksidan, antienflamatuar ve antikanser özelliklere sahiptir. Oksidatif stresi azaltır ve kanser hücrelerinin büyümesini engelleyebilir (Shukla ve Gupta 2010).
Kafeik asit	Güçlü bir antioksidandır, cilt sağlığını destekler, hücrel hasarı azaltır ve anti-kanser etkileri vardır (Gülçin, 2006).
Şikorik asit	Bağışıklık sistemini güçlendirmede etkilidir. Viral enfeksiyonlara karşı koruyucu olup, cilt sağlığını da destekler (Lee ve Scagel 2009).
Syanidin klorür	Hücre zarlarını korur, kardiyovasküler sağlığı destekler, anti-inflamatuar ve kanser önleyici etkiler sunar (Wallace, 2011).
Dihidrokaempferol	Serbest radikallere karşı koruma sağlar, anti-enflamatuar etkilidir (Deng vd., 2018).
Elagik asit	Kanser önleyici özellikleri vardır. Kanser hücrelerinin büyümesini inhibe eder, cilt yaşlanmasını yavaşlatabilir (Seeram vd., 2007).
Emodin	Antimikrobiyal, anti-inflamatuar ve antikanser etkiler gösterir. Bağırsak sağlığını destekler (Lee vd., 2021).
Eupatilin	Antioksidan ve antienflamatuar özellikler gösterir. Mide sağlığını destekleyebilir ve gastrointestinal hastalıkların tedavisinde faydalıdır (Mahmoud vd., 2022).
Hiperozit	Güçlü antioksidandır, serbest radikalleri temizler ve anti-enflamatuar özelliklere sahiptir (Li vd., 2023).
İzosakuranetin	Antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri vardır, cilt sağlığı ve yaşlanma karşıtı

	etkilerde potansiyel gösterir (Cao vd., 2022).
L-theanine	Sinir sistemi üzerinde sakinleştirici etkiler yapar, stres ve anksiyeteyi azaltır ve odaklanmayı artırır (Nobre vd., 2008).
Luteolin	Anti-enflamatuar ve antikanser etkiler sunar. Alerjik reaksiyonları azaltabilir ve sinir sistemi sağlığını destekler (López, 2009).
Luteolin 7-rutinosid	Güçlü antioksidandır ve anti-inflamatuar etkiler gösterir. Kardiyovasküler sağlığı destekleyebilir (López, 2009).
Mirisetin	Antioksidan özelliklere sahiptir, anti-enflamatuar ve antikanser etkiler sunar. Kardiyovasküler ve nörolojik sağlığı destekler (Ong ve Khoo 1997).
Naringenin	Antioksidan, anti-enflamatuar ve antikanser özelliklere sahiptir. Karaciğer sağlığını destekleyebilir (Paşa, 2017).
Naringin	Antioksidan ve anti-enflamatuar özelliklere sahip olup, kan lipid seviyelerini dengeleyebilir ve metabolik sağlığı iyileştirebilir (Göç, 2024).
Nepetin	Antioksidan ve anti-enflamatuar etkiler sunar. Kardiyovasküler sağlığı destekleyici özellikleri vardır (Osman vd., 2014).
Nepetin-7-glukozit	Serbest radikalleri nötralize eder, antioksidan ve anti-enflamatuar özellikler sunar (Osman vd., 2014).
Orientin	Antioksidan ve anti-enflamatuar etkiler gösterir, cilt sağlığını destekler ve yaşlanma karşıtı etkiler sunabilir (Gao vd.,2024).

p-kumarik asit	Güçlü antioksidandır ve anti-inflamatuar özellikler gösterir. Kansere hücrelerinin büyümesini engelleyebilir (Pei vd., 2016).
Penduletin	Anti-enflamatuar ve antioksidan özelliklere sahiptir, bağışıklık sistemi sağlığını destekler (Halfon vd., 2013).
Polidatin	Antioksidan ve anti-inflamatuar etkiler sunar, karaciğer sağlığını destekleyebilir ve hücrel koruma sağlar (Tang vd., 2022).
Kuersetin	Güçlü antioksidan, anti-inflamatuar ve antikanser özelliklere sahip bir flavonoiddir. Bağışıklık sistemini destekler ve alerjik reaksiyonları azaltabilir (Boots vd., 2008).
Ramnositrin	Antioksidan özellikler gösterir ve kardiyovasküler sağlığı destekleyebilir (Baek vd., 2019).
Rosmarinik asit	Antioksidan ve anti-enflamatuar özelliklere sahiptir. Cilt sağlığını destekler, özellikle de yaşlanma karşıtı etkilerde faydalıdır (Petersen ve Simmonds 2003).
Rutin	Antioksidan, anti-enflamatuar ve damar sağlığını destekleyici özelliklere sahiptir. Kapiller damarların güçlenmesine katkı sağlar (Ganeshpurkar ve Saluja 2017).
Salisilik asit	Anti-inflamatuar özelliklere sahiptir (Rainsford, 2004).
Scutellarein	Antioksidan ve anti-inflamatuar özellikler gösterir, sinir sistemi sağlığına fayda sağlayabilir (Sadasivam ve Kumaresan 2011).
Taksifolin	Güçlü antioksidandır ve kardiyovasküler sağlığı destekleyici etkileri vardır. Anti-

	enflamatuar özelliklere sahiptir (Jain ve Vaidya 2023).
Verbaskozid	Antioksidan ve anti-enflamatuar özelliklere sahip olup, cilt sağlığını destekleyici etkiler sunar (Zhao vd., 2023).

Tablo 3.2’de gösterildiği gibi, fenolik bileşiklerin etki alanları oldukça çeşitlidir. Bu bileşiklerin antioksidan, antiinflamatuar ve antimikrobiyal aktiviteler gibi biyolojik etkileri, bitkisel kaynaklı ürünlerin potansiyel terapötik kullanımları açısından büyük önem taşımaktadır.

Allium adyamanense ve *Allium yeşilyurtense* bitkilerinin HPLC analizi sonucunda elde edilen bulgular, her iki bitkinin fenolik bileşik profillerini ve potansiyel biyolojik aktivitelerini ortaya koymaktadır. *Allium adyamanense*, yüksek miktarda hyperoside (1985,05 mg/kg) ve quercetin (435,99 mg/kg) içermektedir. Bu bileşikler güçlü antioksidan özelliklere sahip olup, hücre sağlığını koruyucu etkiler gösterebilir. Aynı zamanda, nepetin-7-glukozit ve polidatin gibi antioksidan bileşiklerin yüksek oranları, bu bitkinin serbest radikallere karşı koruyucu bir antioksidan kaynağı olarak değerlendirilmesine olanak tanır. Apigenin-7-glukozit ve naringin gibi bileşiklerin de bu bitkide önemli miktarda bulunması, *Allium adyamanense*’nin iltihap önleyici etkiler gösterebileceğini düşündürmektedir (Tablo 3.2).

Allium yeşilyurtense ise daha yüksek rosmarinik asit (33,53 mg/kg) ve verbaskozid (16,64 mg/kg) içeriği ile öne çıkmaktadır (Tablo 3.2). Bu bileşikler, anti-enflamatuar ve antimikrobiyal özellikleriyle bilinir. Bu durum, *Allium yeşilyurtense*’nin bağışıklık sistemini destekleyici ve koruyucu özellikler taşıyabileceğini göstermektedir. Luteolin ve kafeik asit gibi bileşiklerin varlığı, bu bitkinin antioksidan ve anti-enflamatuar aktivitesini desteklemektedir (Tablo 3.3).

Allium adyamanense’nin güçlü antioksidan profili, özellikle hücre sağlığını korumak amacıyla kullanılabileceğini, *Allium yeşilyurtense*’nin ise anti-enflamatuar özellikleri ile bağışıklık sistemi üzerinde olumlu etkiler yaratabileceğini göstermektedir (Tablo 12 ve 13).

Her iki bitki de sahip oldukları bileşik profilleri nedeniyle farmakolojik potansiyel taşımaktadır.

3.2. Validasyon Verisi

Validasyon verisi, analiz edilen fenolik bileşiklerin HPLC yönteminde yüksek doğruluk ve kesinlikle ölçülebildiğini ve kullanılan yöntemin fenolik bileşiklerin kantitatif analizi için son derece güvenilir olduğunu göstermektedir. Yüksek R^2 değerleri, geniş doğrusal aralıklar ve %98 üzerinde geri kazanım oranları, bu yöntemin fenolik analizlerde doğrulukla kullanılabileceğini ve farmasötik veya biyokimyasal araştırmalar için uygun olduğunu kanıtlar.

Tablo 3.3: Validasyon Datası

Bileşik Adı	İyonizasyon modu	Temel m/z	R^2	Doğrusal regresyon denklemi	Doğrusal regresyon denklemi	Geri Kazanım %
(+)-kateşin	Negatif	289,13	0,9995	$y = 229958.881x + 6254.831$	$0.05 - 9.00$	100,0
4-hidroksibenzoik asit	Negatif	136,93	0,9981	$y = 18035.361x + 3378.521$	$1.00 - 9.00$	99,9
Akasetin	Pozitif	285,12	0,9994	$y = 19226410.821x + 301668.661$	$0.25 - 5.00$	98,9

Apigenin-7-glukozit	Negatif	431,25	0,9998	$y = 1385237.43 - 1 * x + 86217.781$	0.25 – 9.00	99,9
Kafeik asit	Negatif	179,03	0,9941	$y = 1623968.56 - 1 * x + 33541.511$	0.25- 5.00	101,3
Şikorik asit	Negatif	473,10	0,9991	$y = 507500.001 * x + 2399.001$	0.05- 1.00	99,2
Syanidin klorür	Pozitif	287,12	0,9995	$y = 115600.001 * x + 60610.001$	1.00 – 9.00	100,0
Dihidrokaempferol	Negatif	287,05	0,9970	$y = 2991000.00 - 1 * x - 36860.001$	0.10 – 9.00	99,4
Elagik asit	Negatif	301,03	0,9998	$y = 93050.001 * x + 8605.001$	0.25 – 9.00	99,9
Emodin	Negatif	269,07	0,9983	$y = 4806862.42 - 1 * x + 51913.101$	0.05- 1.00	98,8

Eupatilin	Negatif	343,1 2	0,998 5	$y = 1049000.00 + 1 * x + 251100.001$	0.05 – 2.00	98,7
Hiperozit	Negatif	463,3 0	0,999 6	$y = 660294.541 * x - 66996.671$	0.25 – 9.00	100,0
İzosakuranetin	Negatif	283,1 8	0,999 7	$y = 6438000.00 + 1 * x + 381200.001$	0.05 – 5.00	98,6
L-theanine	Pozitif	175,1 2	0,999 1	$y = 796100.001 * x - 7141$	0.05- 0.50	101,2
Luteolin	Negatif	285,0 3	0,999 7	$y = 591582.271 * x - 1765.961$	0.01 – 2.00	100,6
Luteolin 7- rutinosid	Negatif	593,3 2	0,989 5	$y = 1189000.00 + 1 * x + 635700.001$	0.50- 5.00	98,0
Mirisetin	Negatif	317,0 7	0,999 9	$y = 548947.791 * x - 8044.381$	0.05 – 2.50	100,3

Naringenin	Negatif	271,0 5	0,999 8	$y = 2269000.00 + 3015000.00x$	0.05 – 9.00	100,1
Naringin	Negatif	579,3 6	0,999 8	$y = 402132.941 + 2581.671x$	0.01 – 2.00	100,2
Nepetin	Negatif	315,0 5	0,981 8	$y = 6480000.00 + 2889000.00x$	0.25- 5.00	95,4
Nepetin-7-glukozit	Negatif	478,2 3	0,998 1	$y = 72343.771 + 2304.251x$	0.10 – 2.00	98,9
Orientin	Negatif	447,2 0	0,999 9	$y = 777301.181 + 1070.711x$	0.01 – 2.50	99,6
p-kumarik asit	Negatif	162,8 5	0,996 7	$y = 148900.001 + 1821.001x$	0.25- 9.00	98,7
Penduletin	Negatif	343,2 3	0,999 9	$y = 1118000.00 + 7085.001x$	0.01 – 1.00	99,8
Polidatin	Negatif	389,2 5	0,999 6	$y = 794844.301$	0.05 – 2.50	98,9

				* x - 6799.051		
Kuersetin	Negatif	301,0 5	0,985 7	y = 2150000.00 1 * x + 613700.001	0.01- 0.50	100,0
Ramnositrin	Pozitif	301,2 0	0,999 9	y = 1195000.00 1 * x + 50590.001	0.10- 9.00	99,9
Rosmarinik asit	Negatif	359,1 3	0,998 5	y = 177500.001 * x - 19960.001	0.25- 5.00	100,5
Rutin	Negatif	609,3 2	0,999 3	y = 1245260.37 1 * x - 12505.631	0.05 - 2.00	101,0
Salisilik asit	Negatif	137,0 2	0,996 0	y = 7645387.57 1 * x + 530484.261	0.05 - 0.50	104,6
Scutellarein	Negatif	285,1 2	0,999 6	y = 360200.001 * x + 6213.001	0.05 - 1.00	99,5

Taksifolin	Pozitif	373,2 0	0,999 5	y = 16340000.0 01 * x + 5481.001	0.01 – 0.50	Sinestein
Verbaskozid	Negatif	623,4 2	0,999 8	y = 178700.001 * x - 12840.001	0.25 – 9.00	Verbascosi de

Validasyon verisi, *Allium* türlerinde analiz edilen fenolik bileşiklerin HPLC yöntemiyle doğrulanmasına yönelik önemli parametreleri sunmaktadır. Her bileşiğin iyonizasyon modu, m/z değeri, doğrusal regresyon denklemi, doğruluk katsayısı (R^2) ve geri kazanım yüzdeleri gibi veriler, analiz yönteminin güvenilirliğini ve doğruluğunu değerlendirmektedir. Doğrusallık katsayısı (R^2) çoğu bileşik için 0.98 veya üzerindedir, bu da yöntemin yüksek doğrulukla çalıştığını ve ölçümlerin güvenilir olduğunu göstermektedir. Örneğin, mirisetin ve rhamnositrin gibi bileşiklerde R^2 değeri 0.9999 olup, mükemmel bir doğrusal ilişkiyi ifade ederken, Nepetin ($R^2 = 0.9818$) ve kuersetin ($R^2 = 0.9857$) bileşiklerinde doğruluk kabul edilebilir sınırdadır (Tablo 3.3).

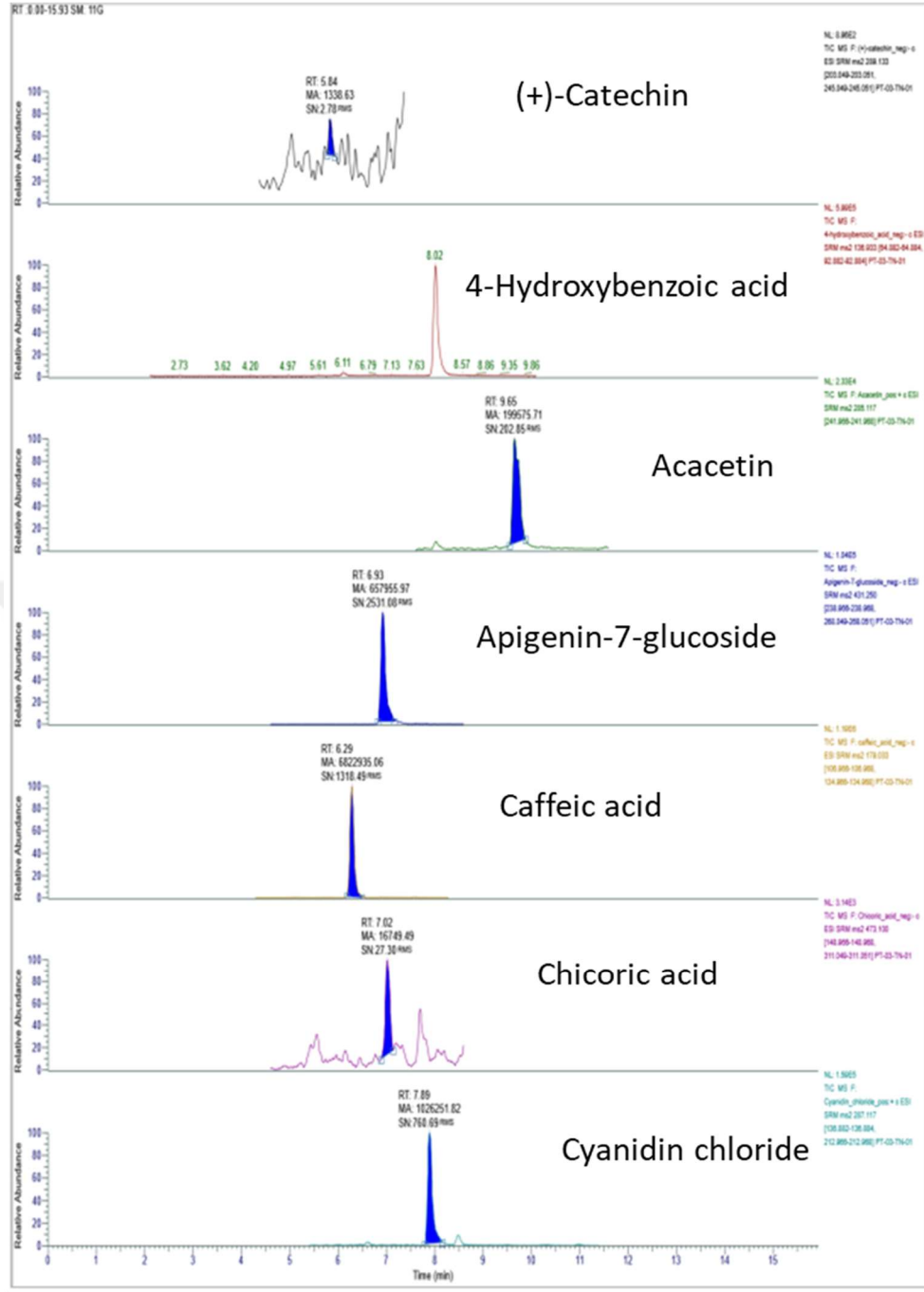
Doğrusal regresyon denklemleri, analiz edilen her bir bileşiğin konsantrasyonunun ölçülen sinyalle nasıl ilişkilendirileceğini sağlar. Eğim ve kesişim noktalarına dayanan bu denklemler, doğru miktar tayini yapılmasına olanak tanır.

Geri kazanım yüzdeleri, analitin numuneden ne kadar etkin şekilde çıkarıldığını gösterir. Çoğu bileşik %98-104 aralığında geri kazanım oranlarına sahiptir ve bu da analizlerin hassas ölçümler sağladığını göstermektedir. Örneğin, salisilik asit %104,6 geri kazanım ile yüksek doğruluk gösterirken, Akasetin %98,9 ile kabul edilebilir sınırlardadır.

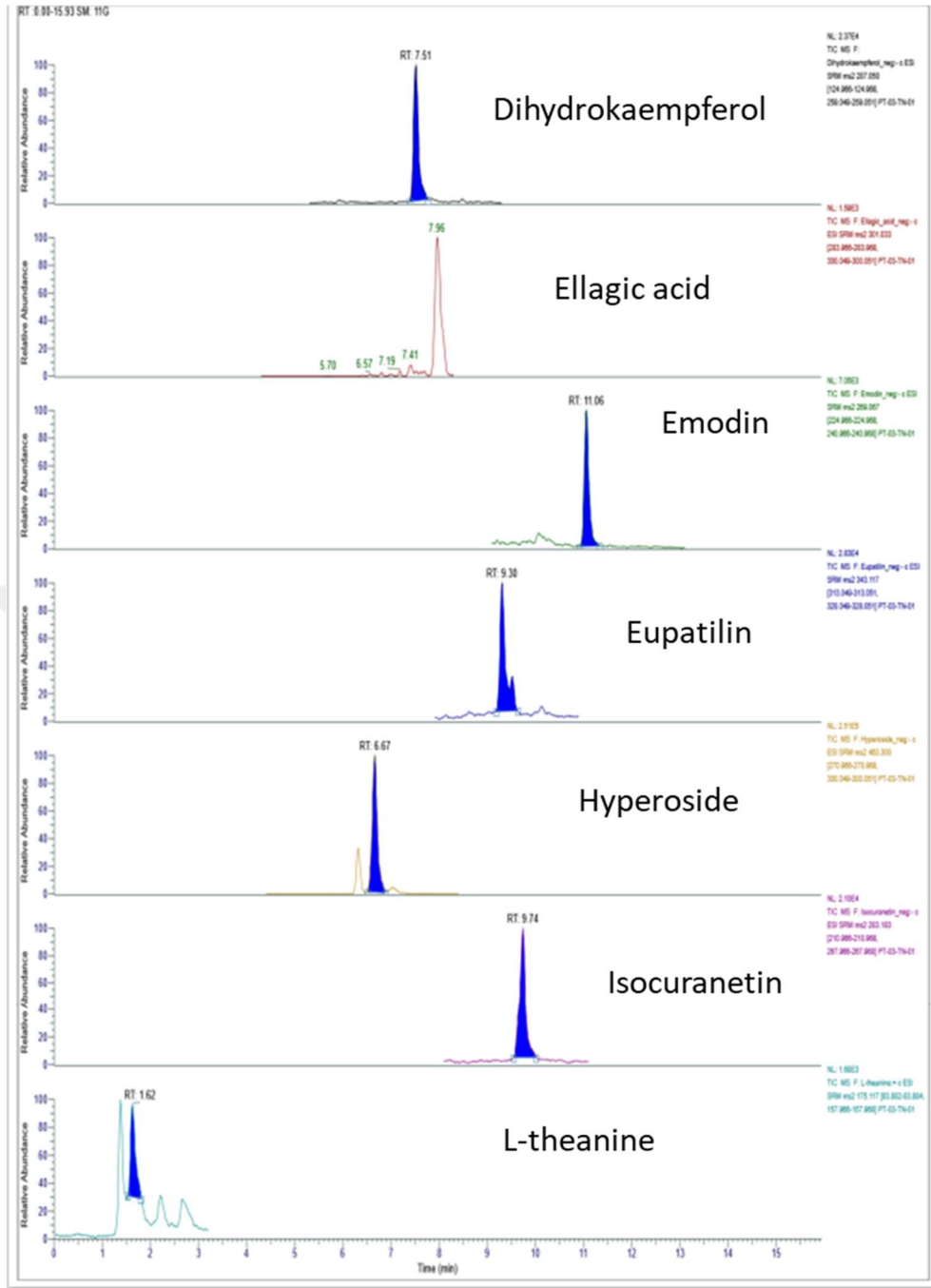
Doğrusal aralıklar, bileşiklerin analiz edilen konsantrasyonlarını kapsamaktadır ve çoğu bileşik için 0.01-9.00 µg/mL aralığında doğrusal olarak ölçüm yapılmıştır. Kuersetin ve Sinestein gibi bazı bileşikler daha düşük aralıklarda doğrusal ölçülebilenken, p-kumarik asit gibi bileşikler daha geniş bir aralıkta ölçüm sağlar (0.25-9.00 µg/mL).

İyonizasyon modu ve temel m/z değerleri, bileşiğin hangi iyonizasyon modunda daha iyi tespit edildiğini ve kütle/yük oranını belirtmektedir. Bu parametreler, bileşiklerin analitik olarak doğru bir şekilde tanımlanmasına katkıda bulunur.

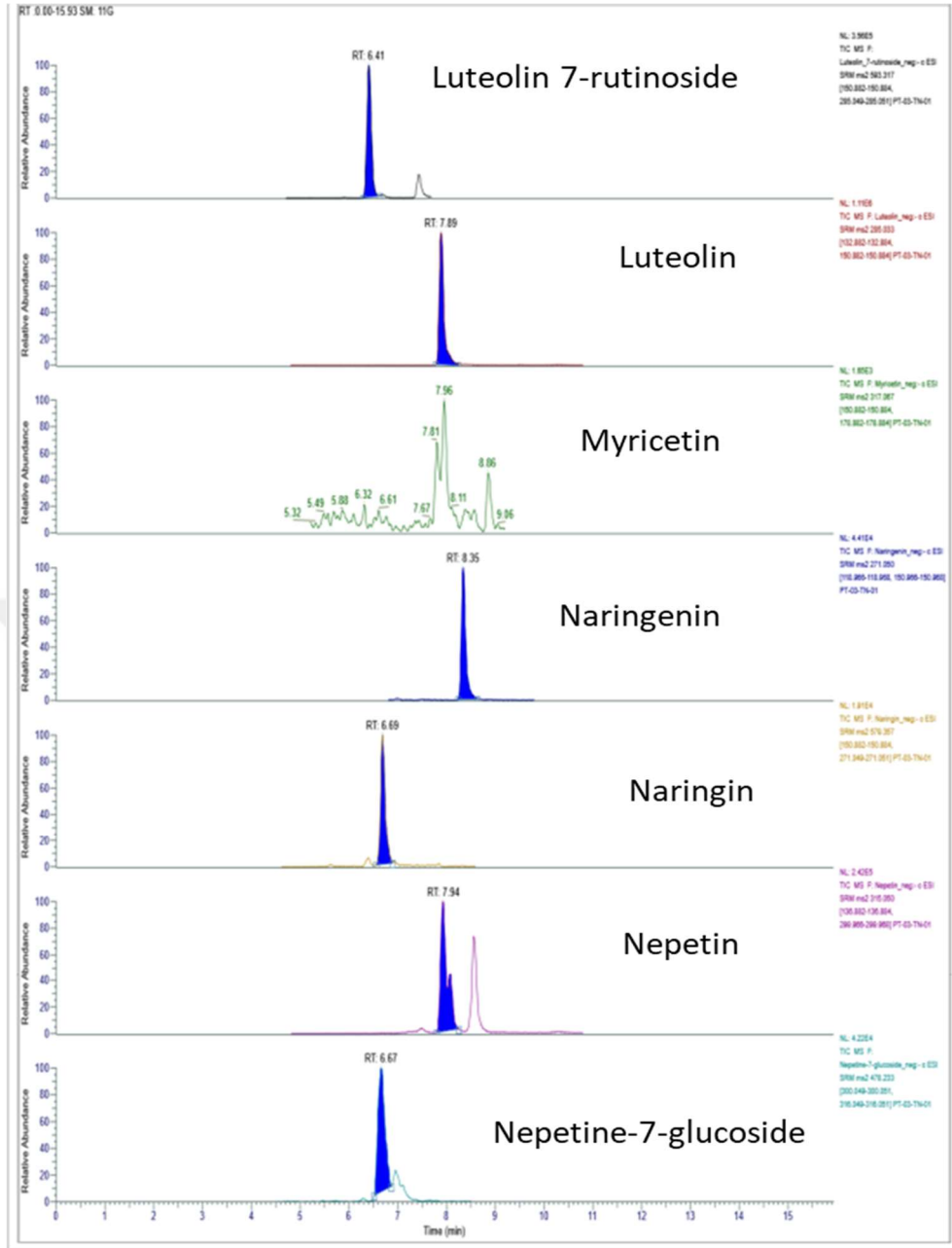




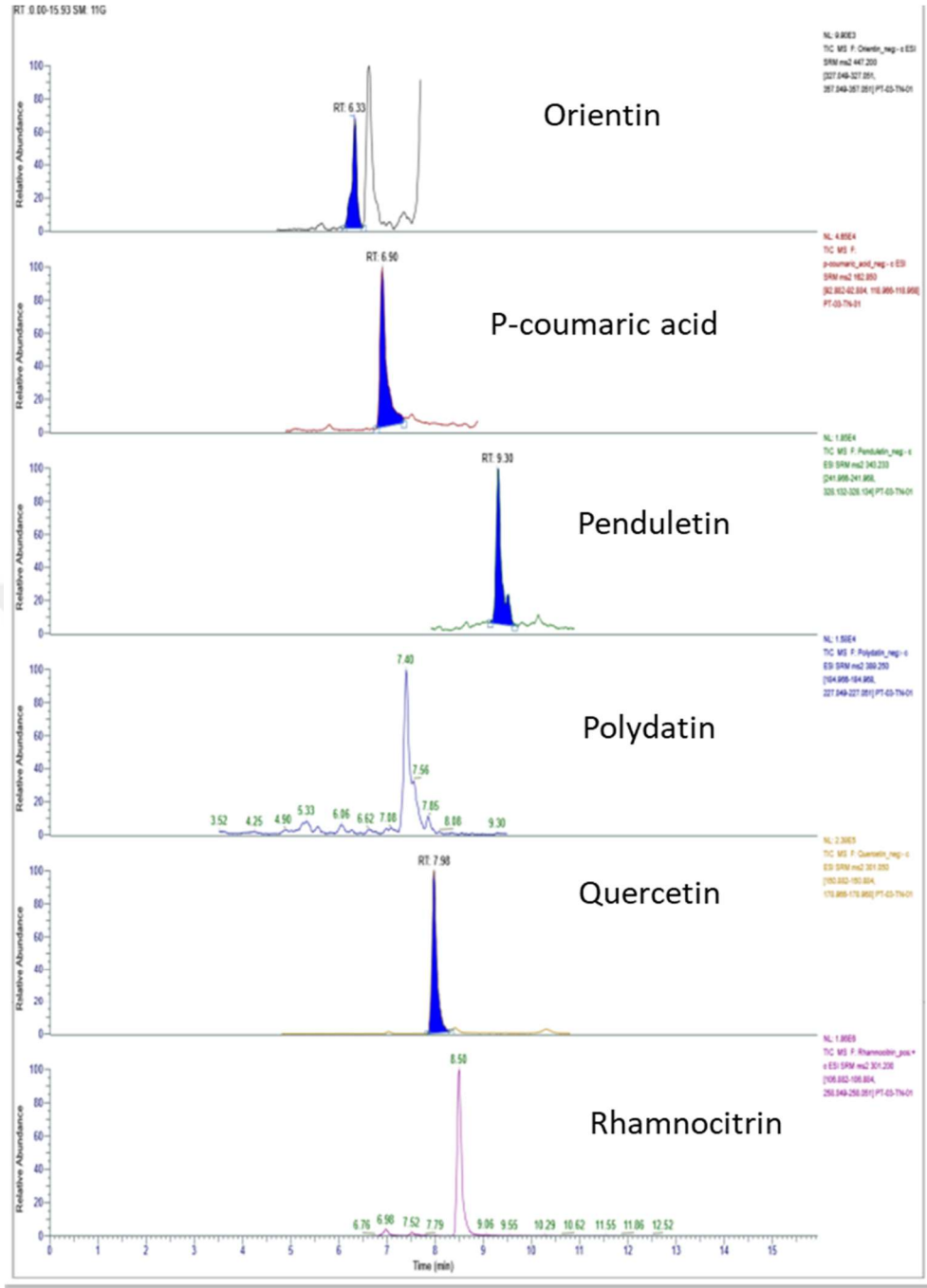
Şekil 3.1: *Allium adyamanense* kromotogramı - 1



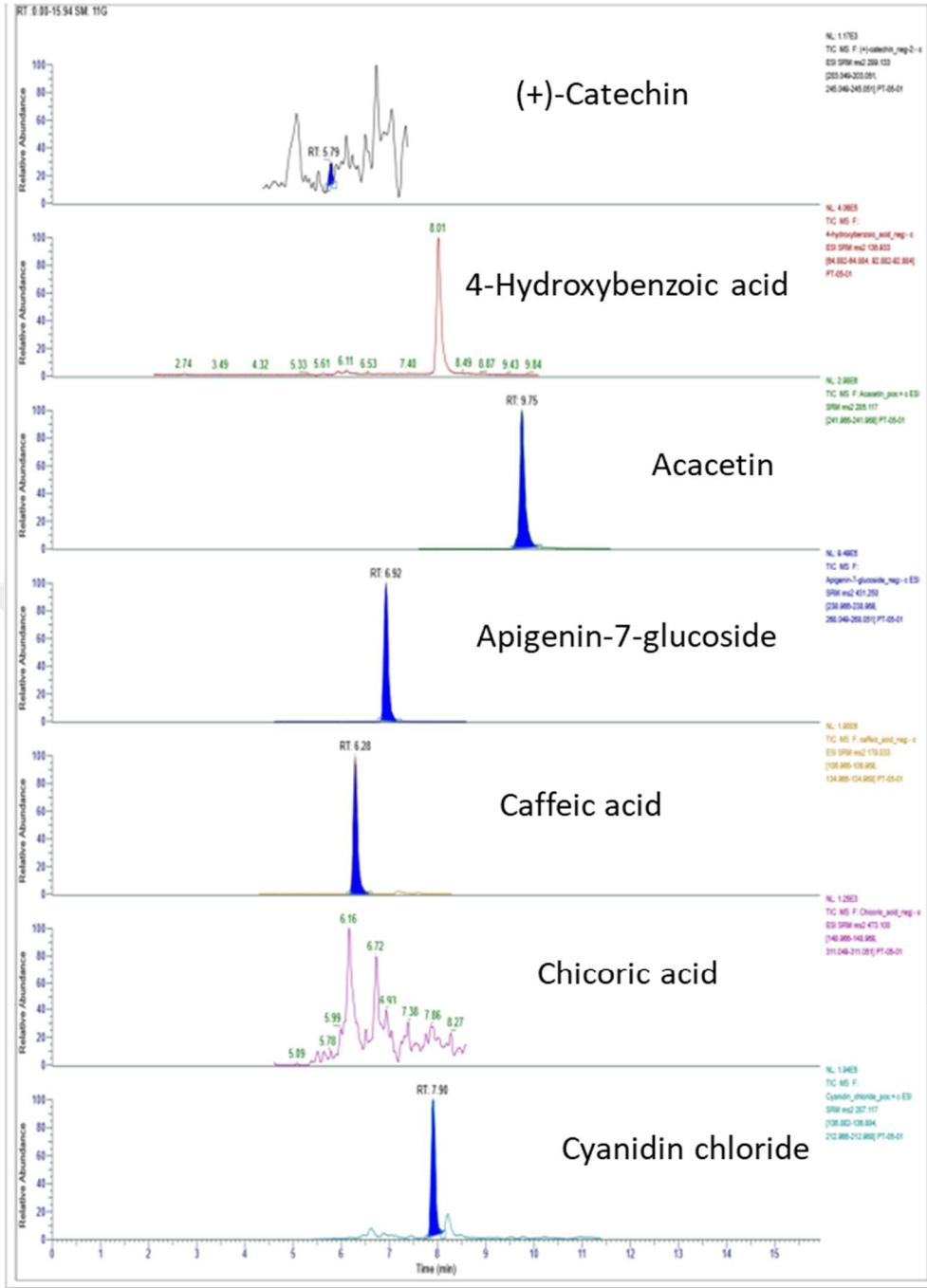
Şekil 3.2: *Allium adyamanense* kromotogramı – 2



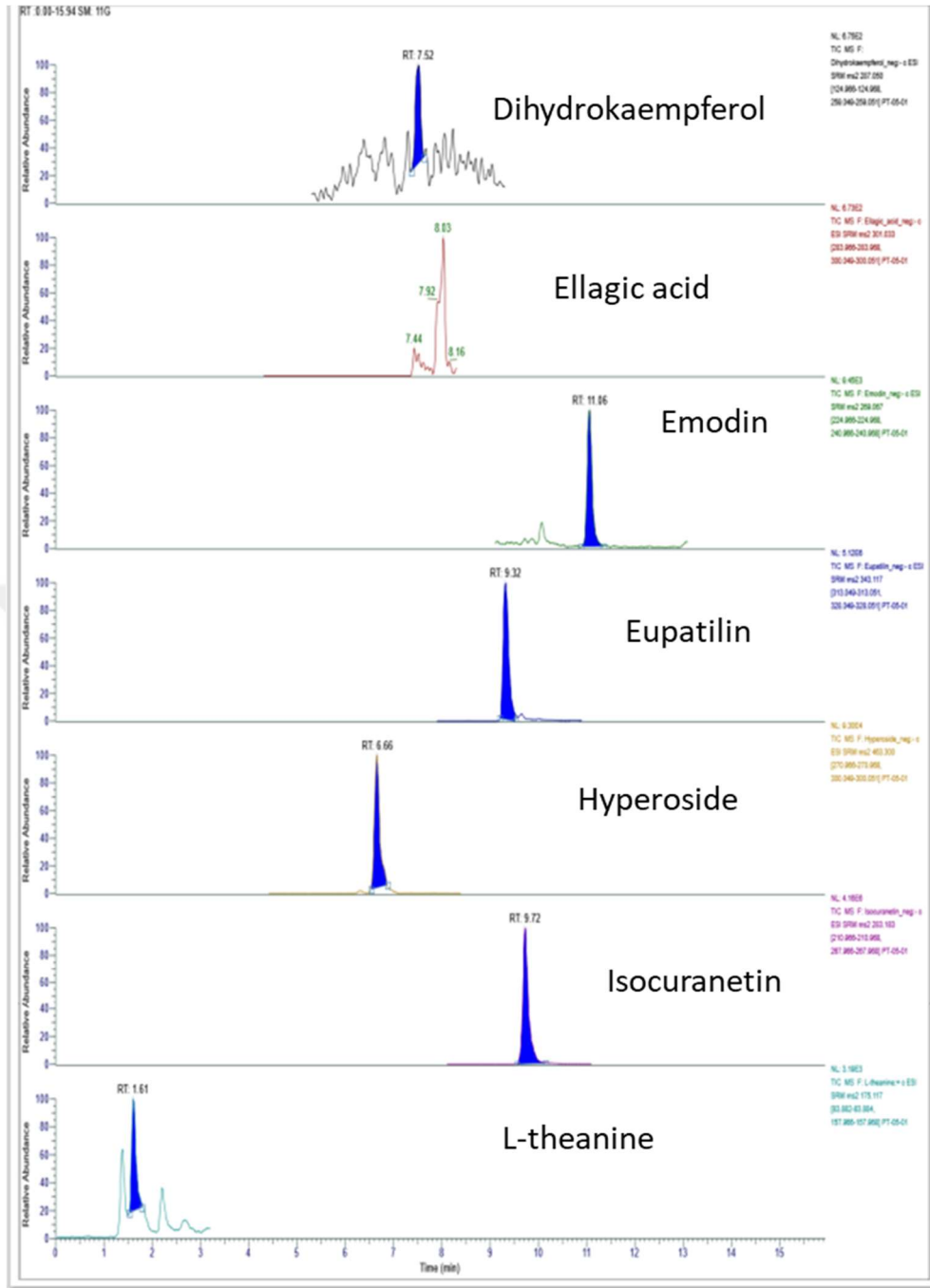
Şekil 3.3: *Allium adyamanense* kromotogramı – 3



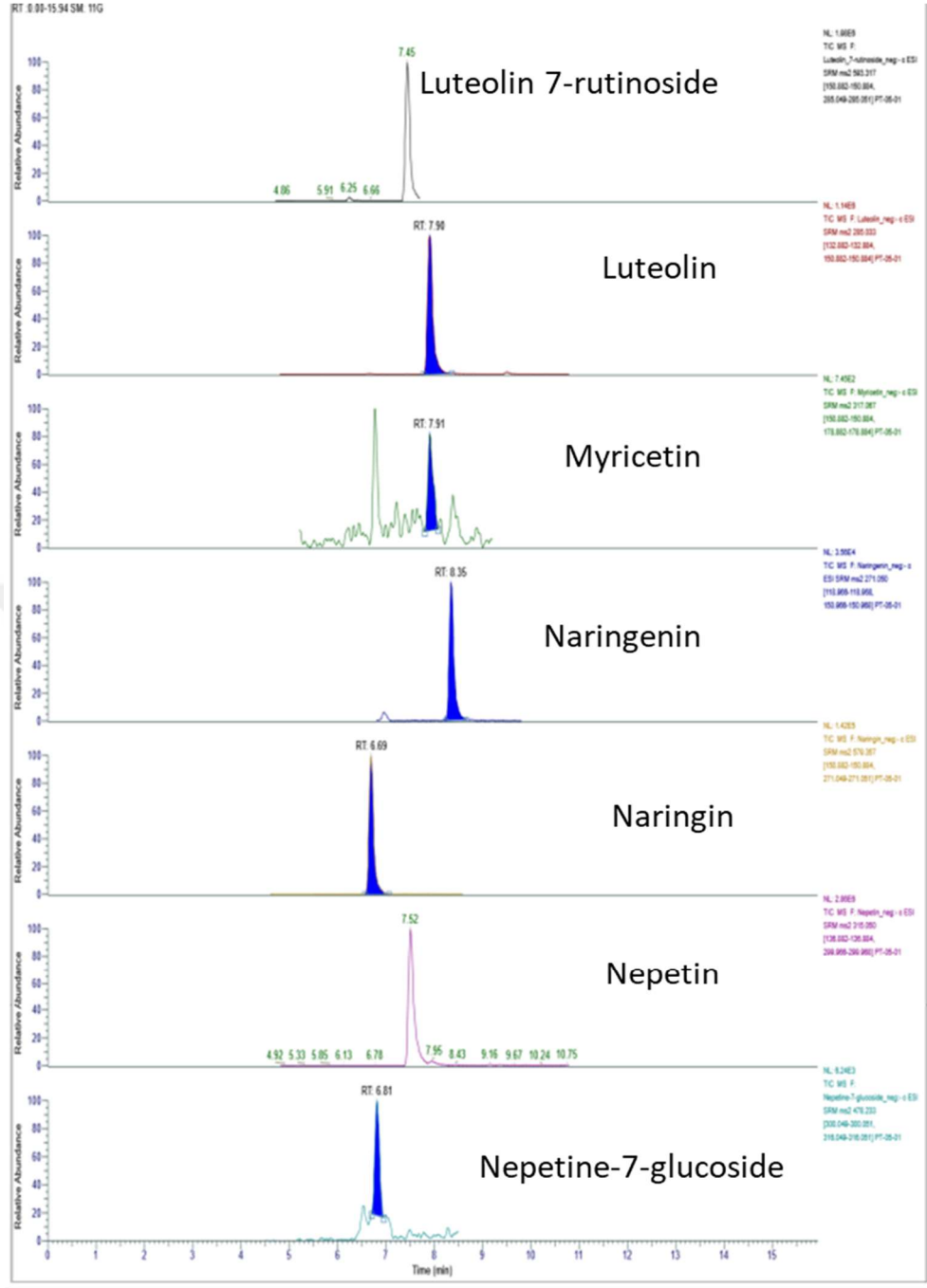
Şekil 2.4: *Allium adyamanense* kromotogramı – 4



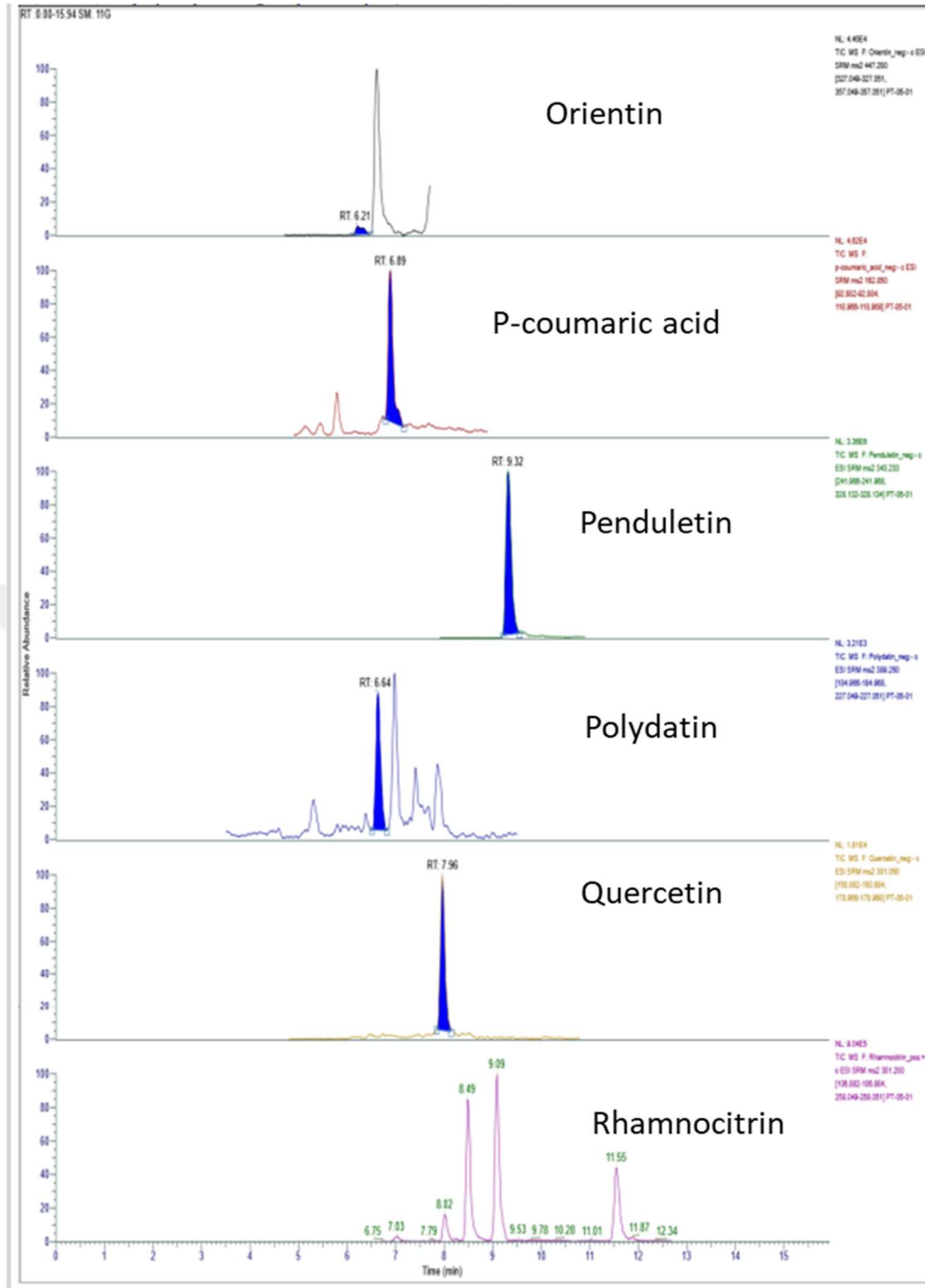
Şekil 3.5: *Allium yeşilyurtense* kromotogramı – 1



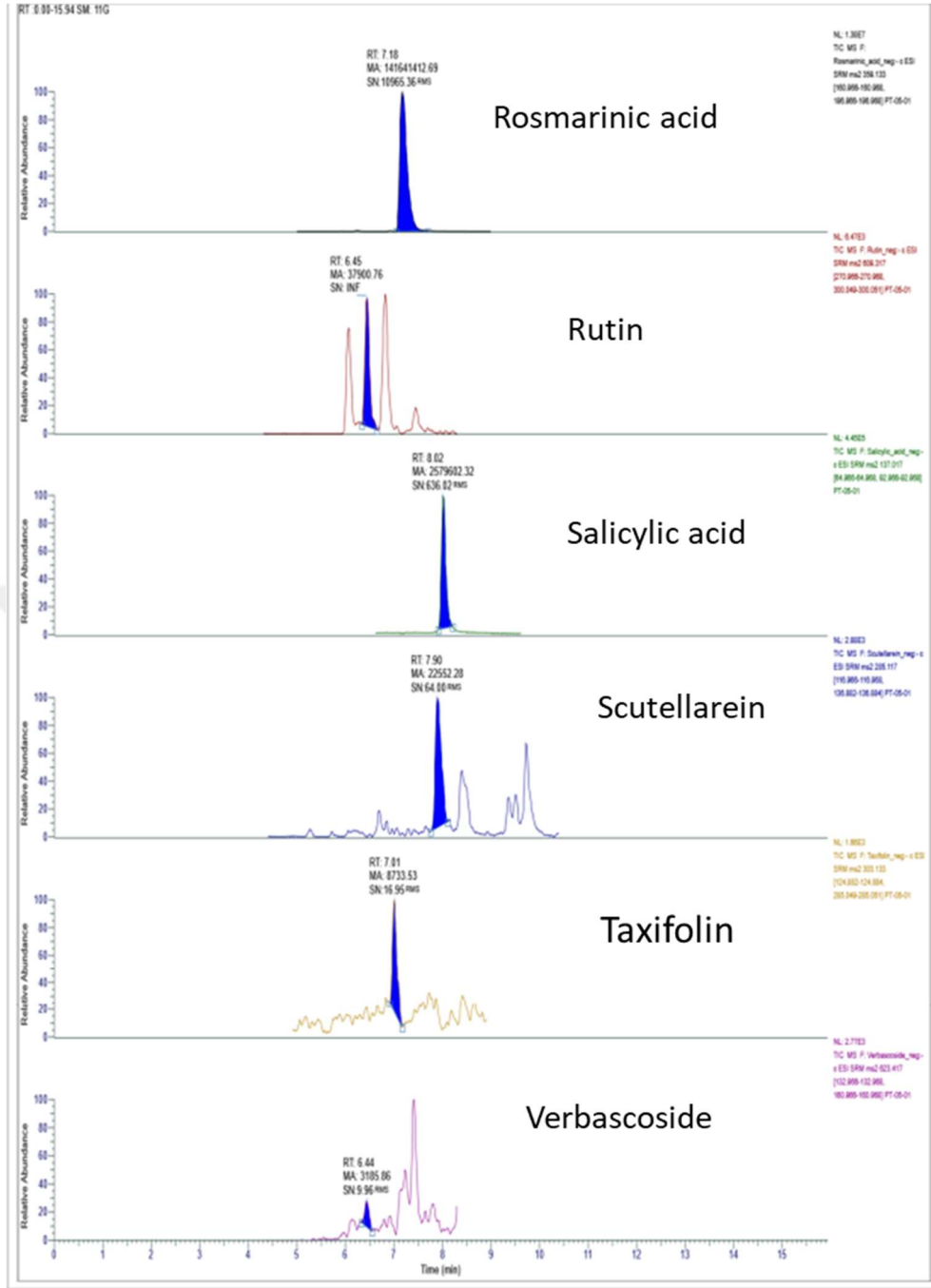
Şekil 3.6: *Allium yeşilyurtense* kromotogramı – 2



Şekil 3.7: *Allium yeşilyurtense* kromotogramı – 3



Şekil 3.8: *Allium yeşilyurtense* kromotogramı – 4



Şekil 3.9: *Allium yeşilyurtense* kromotogramı – 5

HPLC kromatogramları, *Allium adyamanense* ve *Allium yeşilyurtense* bitkilerinin fenolik bileşik profillerini detaylı bir şekilde inceleyen ve fenolik bileşiklerin her iki bitkideki varlığını ve yoğunluğunu kantitatif olarak ortaya koyan bir analiz sunmaktadır. Bu çalışma, bitkisel ekstraktlarda doğal olarak bulunan fenolik bileşiklerin potansiyel biyolojik aktivitelerini ve bu bileşiklerin konsantrasyonlarını değerlendirmek açısından büyük önem taşır.

Analiz edilen kromatogramlar her bir fenolik bileşik için spesifik retansiyon zamanları (RT) ve sinyal yoğunlukları sunmaktadır. Retansiyon zamanı, her bir bileşiğin kolon içinde geçirdiği süreyi ifade eder ve bileşiğin kimyasal özelliklerine, özellikle de polaritesine ve moleküler yapısına göre değişir. Örneğin, kateşin bileşiği 5.97 dakika gibi kısa bir sürede elüe olurken, Emodin bileşiği kolon içinde daha uzun süre kalarak 11.06 dakika sonra dedekte edilmiştir. Bu farklı retansiyon zamanları, her bileşiğin polaritesine ve kolon dolgu maddesi ile olan etkileşimine göre değişen elüsyon hızlarına işaret etmektedir (Şekil 3.1 ve Şekil 3.5).

Kromatogramlarda görülen pik yüksekliği ve sinyal yoğunluğu, analiz edilen örneklerde her bir bileşiğin konsantrasyonuna dair bilgi sunar. Daha yüksek pik değerleri, analiz edilen örnekte daha yüksek miktarda bileşik bulunduğunu gösterirken, düşük pikler nispeten düşük miktarlara işaret eder. Örneğin, Apigenin-7-glucoside bileşiği yüksek bir sinyal yoğunluğuna sahip olup örnekte baskın bir fenolik bileşik olduğunu gösterirken, kikorik asit daha düşük yoğunlukta bulunarak nispeten daha az miktarda olduğunu ortaya koymaktadır. Bu veriler, bitkilerdeki fenolik bileşiklerin kantitatif dağılımını anlamak açısından önemlidir (Şekil 3.1 ve Şekil 3.5).

Kromatogramlar, farklı bileşiklerin mevcut olup olmadığını ve bunların her bir örnekteki yoğunluğunu tespit etmeye yarar. Örneğin, *Allium adyamanense* ve *Allium yeşilyurtense* bitkilerinde bulunan fenolik bileşiklerden bazıları şunlardır: (+)-Kateşin: Güçlü antioksidan özellikleri ile bilinen bu bileşik, her iki bitki türünde de belirlenmiştir. Retansiyon zamanı 5.97 dakika olan kateşinin orta düzeyde bir pikle gösterilmesi, bu bileşiğin her iki bitkide de yaygın olarak bulunduğunu gösterir (Şekil 3.1 ve Şekil 3.5).

Kafeik asit: Retansiyon zamanı 6.28 dakika olan Kafeik asit, güçlü antioksidan özellikleri ve çeşitli biyolojik etkileri ile bilinir. Bu bileşiğin yüksek sinyal yoğunluğu, özellikle *Allium adyamanense* bitkisinde belirgin miktarda bulunduğunu işaret eder (Şekil 3.1 ve Şekil 3.5). Apigenin-7-glukozit: Anti-inflamatuar ve antioksidan özellikleri olan bu flavonoid, 6.57 dakikada elüye edilmiş olup, her iki bitkide yüksek yoğunlukta bulunmuştur. Apigenin-7-glucoside'in yüksek pik değeri, bu bileşiğin örneklerde baskın bir bileşik olduğunu göstermektedir (Şekil 3.1 ve Şekil 3.5).

Rutin: Antioksidan özellikleriyle bilinen rutin, 6.31 dakikada elüe edilmiştir. *Allium yeşilyurtense* bitkisinde düşük miktarda bulunmasına karşın, her iki bitkide de rutin izlenebilir seviyelerde tespit edilmiştir.

Kuersetin: 7.96 dakikada elüye edilen bu flavonoid, her iki bitkide de bulunmuş olup anti-inflamatuar ve antioksidan aktiviteleri nedeniyle önemli bir bileşiktir.

Kromatogram analizine göre, her bir fenolik bileşik için spesifik retansiyon zamanlarının yanı sıra, pik yoğunlukları da detaylandırılmıştır. Bu yoğunluklar, bitkisel ekstraktlardaki fenolik bileşiklerin nispi konsantrasyonlarını anlamaya yardımcı olur. Örneğin, Apigenin-7-glukozit ve Hiperozit, her iki bitkide de yüksek sinyal yoğunluğuna sahip bileşikler olarak öne çıkmakta olup, bu bitkilerin antioksidan kapasitelerine katkı sağlayabilecek önemli bileşenlerdir.

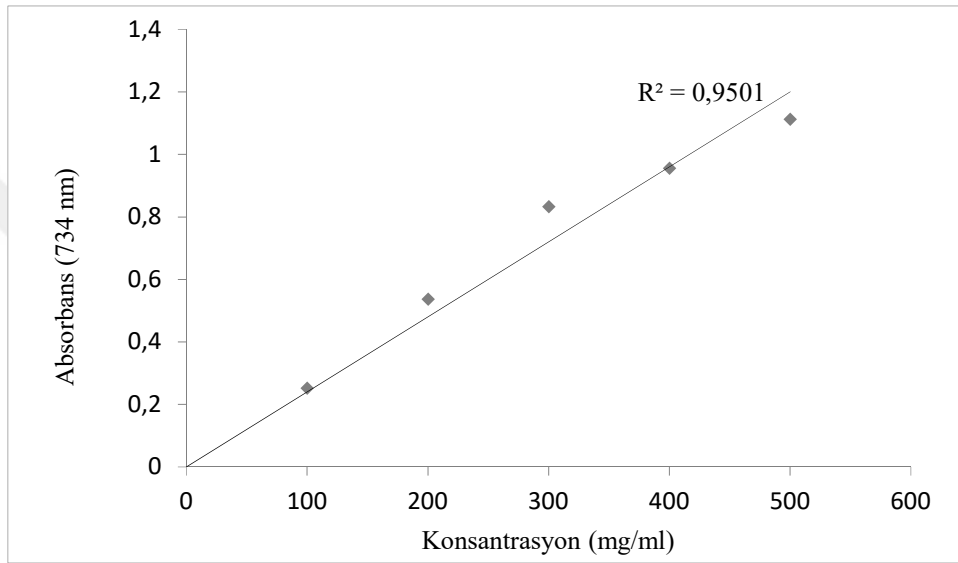
HPLC kromatogramında, her bileşiğin belirgin bir ayrışmaya sahip olduğu görülmektedir. Bu, yöntemin seçiciliğini ve analizin doğruluğunu ortaya koyar. Piklerin net bir şekilde ayrışması, fenolik bileşiklerin güvenilir bir şekilde ayrıştırıldığını ve tanımlandığını göstermektedir. Bu net ayrışma, HPLC yönteminin her iki bitki türündeki fenolik bileşiklerini tanımlamak için uygun bir teknik olduğunu desteklemektedir.

3.3. Antioksidan Test Sonuçları

Bu bölümde, *Allium* türlerinden elde edilen özütlerin antioksidan kapasiteleri değerlendirilmiş ve elde edilen veriler ışığında antioksidan potansiyelleri karşılaştırılmıştır.

3.3.1. ABTS Serbest Radikal Giderme Yöntemi Antioksidan Aktivite Sonuçları

ABTS radikali, hidrojen veya elektron transferi yoluyla nötralize edilerek renksiz hale gelir. Bu nötralizasyon işlemi sırasında antioksidan, ABTS radikalini süpürerek absorpsiyonun azalmasına neden olur ve bu değişim spektrofotometre ile genellikle 734 nm dalga boyunda ölçülür. Ölçülen absorpsans azalması, antioksidanın radikal süpürme kapasitesi ile doğru orantılıdır ve bu özellik, antioksidan aktivitenin kantitatif olarak belirlenmesine olanak tanır.



Şekil 3.10: ABTS radikal giderme için standart grafik

Tablo 3.4: ABTS⁺ yöntemine göre 3 tekrarlı çalışılan 10 mikrolitre konsantrasyonundaki ekstraktların antioksidan aktivite sonuçları (Ortalama absorbans ve standart sapma değerleri ile)

10 mikrolitre						
	1	2	3	ORT	STSP	Toplam
Kontrol	1,025	1,025	1,025	1,025	0,000	1,025±0,000
BHA	0,484	0,485	0,476	0,481	0,004	0,481±0,004
BHT	0,288	0,279	0,280	0,282	0,004	0,282±0,004
α-Tokoferol	0,802	0,806	0,807	0,805	0,002	0,805±0,002
Troloks	0,908	0,902	0,905	0,905	0,003	0,905±0,003
<i>A. adyamanense</i> (Su)	0,607	0,606	0,601	0,604	0,003	0,604±0,003
<i>A. yeşilyurtense</i> (Su)	0,653	0,654	0,659	0,655	0,003	0,655±0,003
<i>A. adyamanense</i> (Metanol)	0,583	0,577	0,582	0,581	0,003	0,580±0,003

<i>A. yeşilyurtense</i> (Metanol)	0,601	0,598	0,594	0,598	0,004	0,597±0,003
<i>A. adıyamanense</i> (Etanol)	0,588	0,593	0,595	0,592	0,004	0,592±0,003
<i>A. yeşilyurtense</i> (Etanol)	0,647	0,644	0,645	0,645	0,002	0,645±0,001

Tablo 3.5: ABTS⁺ yöntemine göre 3 tekrarlı çalışılan 20 mikrolitre konsantrasyonundaki ekstraktların antioksidan aktivite sonuçları (Ortalama absorbans ve standart sapma değerleri ile)

20 mikrolitre						
	1	2	3	ORT	STSP	Toplam
Kontrol	1,025	1,025	1,025	1,025	0,001	1,025±0,001
BHA	0,255	0,264	0,255	0,258	0,005	0,258±0,005
BHT	0,135	0,136	0,144	0,138	0,004	0,138±0,004
α-Tokoferol	0,417	0,419	0,428	0,421	0,005	0,421±0,005
Troloks	0,518	0,527	0,519	0,521	0,004	0,521±0,004
<i>A. adıyamanense</i> (Su)	0,373	0,375	0,371	0,373	0,002	0,373±0,002
<i>A. yeşilyurtense</i> (Su)	0,408	0,403	0,409	0,406	0,003	0,406±0,003
<i>A. adıyamanense</i> (Metanol)	0,311	0,317	0,312	0,313	0,003	0,313±0,003
<i>A. yeşilyurtense</i> (Metanol)	0,354	0,351	0,355	0,353	0,002	0,353±0,002
<i>A. adıyamanense</i> (Etanol)	0,344	0,348	0,345	0,345	0,002	0,345±0,002
<i>A. yeşilyurtense</i> (Etanol)	0,411	0,415	0,413	0,413	0,002	0,413±0,002

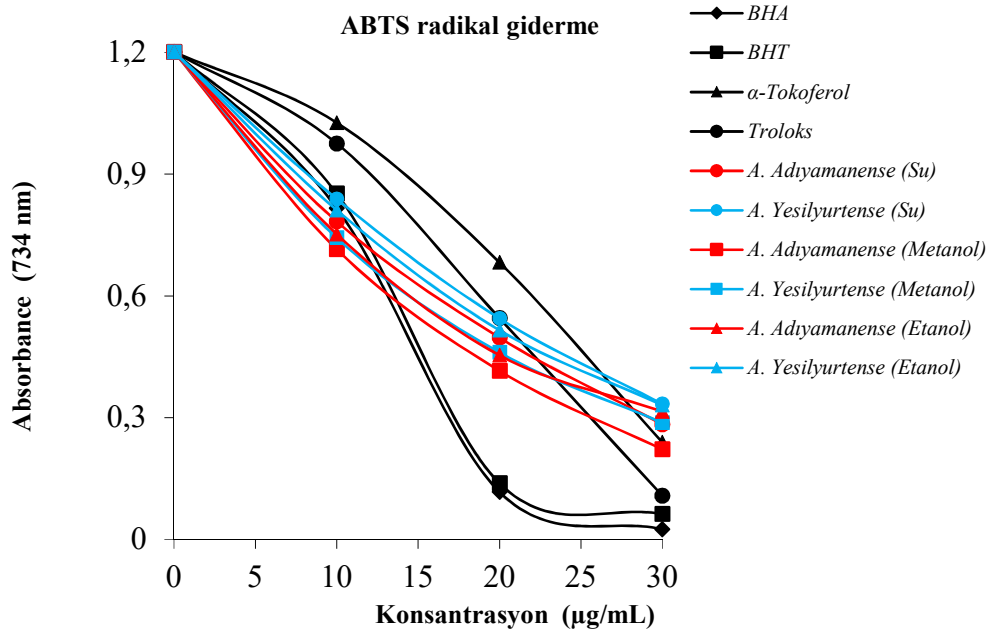
Tablo 3.6: ABTS⁺ yöntemine göre 3 tekrarlı çalışılan 30 mikrolitre konsantrasyonundaki ekstraktların antioksidan aktivite sonuçları (Ortalama absorbans ve standart sapma değerleri ile)

30 mikrolitre						
	1	2	3	ORT	STSP	Toplam
Kontrol	1,025	1,025	1,025	1,025	0,001	1,025±0,001
BHA	0,101	0,095	0,103	0,099	0,004	0,099±0,004
BHT	0,089	0,099	0,098	0,095	0,005	0,095±0,005
α-Tokoferol	0,116	0,113	0,114	0,114	0,001	0,114±0,001
Troloks	0,207	0,208	0,211	0,208	0,002	0,208±0,002
<i>A. adıyamanense</i> (Su)	0,302	0,302	0,301	0,301	0,000	0,301±0,000
<i>A. yeşilyurtense</i> (Su)	0,342	0,341	0,342	0,341	0,000	0,341±0,000

<i>A. adyamanense</i> (Metanol)	0,257	0,251	0,250	0,252	0,003	0,252±0,003
<i>A. yeşilyurtense</i> (Metanol)	0,293	0,291	0,294	0,292	0,001	0,292±0,001
<i>A. adyamanense</i> (Etanol)	0,285	0,284	0,288	0,285	0,002	0,285±0,002
<i>A. yeşilyurtense</i> (Etanol)	0,318	0,322	0,326	0,322	0,004	0,322±0,004

Tablo 3.7: ABTS ortalama sonuçları 10-20-30 mikrolitre

ABTS				
	Kontrol	10 µL	20 µL	30 µL
BHA	1,201	0,816	0,117	0,025
BHT	1,201	0,852	0,138	0,062
α-Tokoferol	1,201	1,027	0,682	0,239
Troloks	1,201	0,976	0,545	0,107
<i>A. adyamanense</i> (Su)	1,201	0,783	0,497	0,284
<i>A. yeşilyurtense</i> (Su)	1,201	0,839	0,544	0,334
<i>A. adyamanense</i> (Metanol)	1,201	0,715	0,415	0,222
<i>A. yeşilyurtense</i> (Metanol)	1,201	0,743	0,461	0,288
<i>A. adyamanense</i> (Etanol)	1,201	0,752	0,454	0,315
<i>A. yeşilyurtense</i> (Etanol)	1,201	0,811	0,515	0,331



Şekil 3.11: *A. adıyamanense* ve *a. yeşilyurtense*'nin farklı konsantrasyonlardaki (20-60 µg/ml) ABTS radikal giderme aktivitesinin standart antioksidanlar (Bha, bht ve troloks) ile karşılaştırılması.

Allium adıyamanense ve *Allium yeşilyurtense*'nin antioksidan aktivitelerinin standart bileşiklerle karşılaştırıldığında bazı benzerlikler ve farklılıklar gösterdiği görülmektedir.

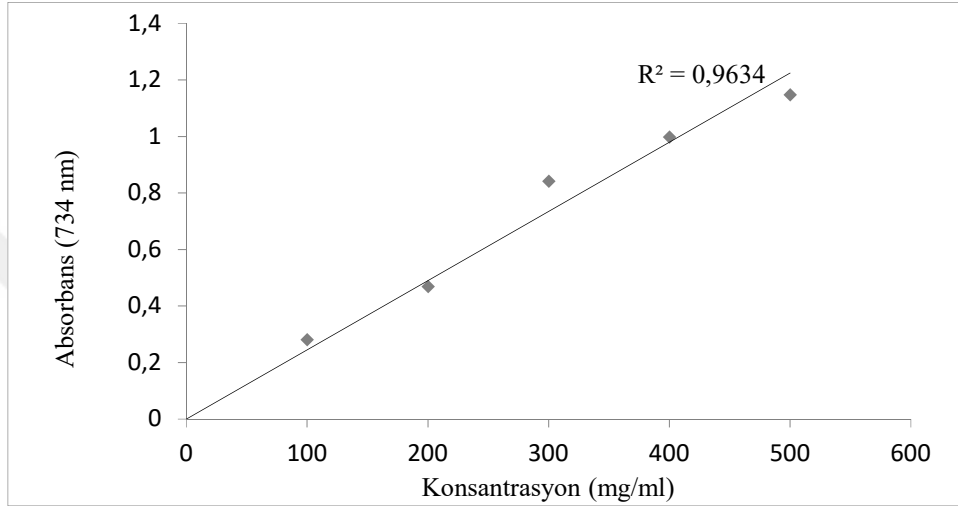
Allium adıyamanense, özellikle orta konsantrasyonlarda (20-40 µg/mL) daha yüksek bir radikal giderme kapasitesi sergilerken, daha yüksek konsantrasyonlarda bu kapasite düşüş göstermiştir. Bu durum, *Allium adıyamanense*'nin belirli bir konsantrasyon aralığında maksimum etkinliğe ulaştığını, daha yüksek konsantrasyonlarda ise etkinliğin azaldığını işaret edebilir.

Allium yeşilyurtense, daha geniş bir konsantrasyon aralığında stabil bir radikal giderme kapasitesine sahiptir, ancak etkinliği Trolox ve diğer standart bileşiklerin gerisinde kalmaktadır.

Standart antioksidanlar (BHA, BHT, Trolox) ile karşılaştırıldığında, her iki bitki de orta düzeyde bir antioksidan aktivite sergilemekte olup, en güçlü etki Trolox'ta gözlemlenmektedir. Bu sonuçlar, *Allium* türlerinin antioksidan özellikler taşıdığını ve belirli koşullarda etkin olduklarını, ancak referans antioksidanlarla kıyaslandığında nispeten sınırlı bir etki gösterdiklerini göstermektedir.

3.3.2. DPPH Yöntemi Antioksidan Aktivite Sonuçları

DPPH radikalinin yapısının stabil bir serbest radikal olması nedeniyle, çeşitli bileşiklerin antioksidan kapasitesini değerlendirmede yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Antioksidan bileşiklerin, DPPH radikalini indirgemesi sonucu mor renkteki DPPH çözeltisi, giderek solgun bir renge dönüşür ve bu değişim spektrofotometrik olarak 517 nm dalga boyunda ölçülür.



Şekil 3.12: DPPH antioksidan aktivite tayini için standart grafik

Tablo 3.8: DPPH yöntemine göre 3 tekrarlı çalışılan 10 mikrolitre konsantrasyonundaki ekstraktların antioksidan aktivite sonuçları (Ortalama absorbans ve standart sapma değerleri ile)

10 mikrolitre						
	1	2	3	ORT	STSP	Toplam
Kontrol	1,025	1,025	1,025	1,025	0,001	1,025±0,001
BHA	0,484	0,485	0,476	0,481	0,004	0,481±0,004
BHT	0,288	0,279	0,280	0,282	0,004	0,282±0,004
α-Tokoferol	0,802	0,806	0,807	0,805	0,002	0,805±0,002
Troloks	0,908	0,902	0,905	0,905	0,003	0,905±0,003
<i>A. adıyamanense</i> (Su)	0,607	0,606	0,601	0,604	0,003	0,604±0,003
<i>A. yeşilyurtense</i> (Su)	0,653	0,654	0,659	0,655	0,003	0,655±0,003
<i>A. adıyamanense</i> (Metanol)	0,583	0,577	0,582	0,581	0,003	0,580±0,003
<i>A. yeşilyurtense</i> (Metanol)	0,601	0,598	0,594	0,598	0,004	0,597±0,003
<i>A. adıyamanense</i> (Etanol)	0,588	0,593	0,595	0,592	0,004	0,592±0,003

<i>A. yeşilyurtense</i> (Etanol)	0,647	0,644	0,645	0,645	0,002	0,645±0,001
----------------------------------	-------	-------	-------	-------	-------	-------------

Tablo 3.9: DPPH yöntemine göre 3 tekrarlı çalışılan 20 mikrolitre konsantrasyonundaki ekstraktların antioksidan aktivite sonuçları (Ortalama absorbans ve standart sapma değerleri ile)

20 mikrolitre						
	1	2	3	ORT	STSP	Toplam
Kontrol	1,025	1,025	1,025	1,025	0,001	1,025±0,001
BHA	0,255	0,264	0,255	0,258	0,005	0,258±0,005
BHT	0,135	0,136	0,144	0,138	0,004	0,138±0,004
α-Tokoferol	0,417	0,419	0,428	0,421	0,005	0,421±0,005
Troloks	0,518	0,527	0,519	0,521	0,004	0,521±0,004
<i>A. adyamanense</i> (Su)	0,373	0,375	0,371	0,373	0,002	0,373±0,002
<i>A. yeşilyurtense</i> (Su)	0,408	0,403	0,409	0,406	0,003	0,406±0,003
<i>A. adyamanense</i> (Metanol)	0,311	0,317	0,312	0,313	0,003	0,313±0,003
<i>A. yeşilyurtense</i> (Metanol)	0,354	0,351	0,355	0,353	0,002	0,353±0,002
<i>A. adyamanense</i> (Etanol)	0,344	0,348	0,345	0,345	0,002	0,345±0,002
<i>A. yeşilyurtense</i> (Etanol)	0,411	0,415	0,413	0,413	0,002	0,413±0,002

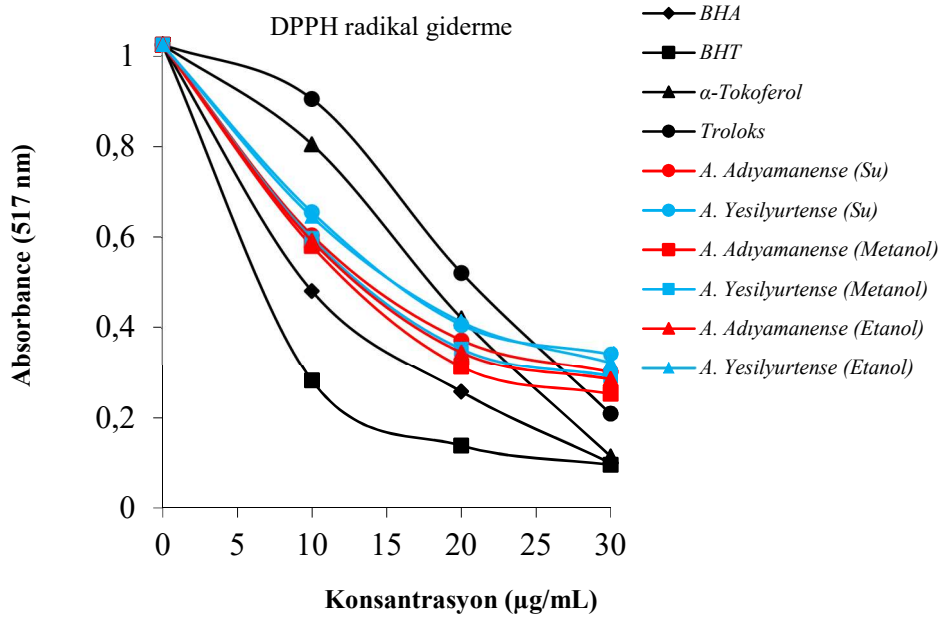
Tablo 3.10: DPPH yöntemine göre 3 tekrarlı çalışılan 30 mikrolitre konsantrasyonundaki ekstraktların antioksidan aktivite sonuçları (Ortalama absorbans ve standart sapma değerleri ile)

30 mikrolitre						
	1	2	3	ORT	STSP	Toplam
Kontrol	1,025	1,025	1,025	1,025	0,000	1,025±0,001
BHA	0,101	0,095	0,103	0,099	0,004	0,099±0,004
BHT	0,089	0,099	0,098	0,095	0,005	0,095±0,005
α-Tokoferol	0,116	0,113	0,114	0,114	0,001	0,114±0,001
Troloks	0,207	0,208	0,211	0,208	0,002	0,208±0,002
<i>A. adyamanense</i> (Su)	0,302	0,302	0,301	0,301	0,000	0,301±0,000
<i>A. yeşilyurtense</i> (Su)	0,342	0,341	0,342	0,341	0,000	0,341±0,000
<i>A. adyamanense</i> (Metanol)	0,257	0,251	0,25	0,252	0,003	0,252±0,003
<i>A. yeşilyurtense</i> (Metanol)	0,293	0,291	0,294	0,292	0,001	0,292±0,001

<i>A. adyamanense</i> (Etanol)	0,285	0,284	0,288	0,285	0,002	0,285±0,002
<i>A. yeşilyurtense</i> (Etanol)	0,318	0,322	0,326	0,322	0,004	0,322±0,004

Tablo 3.11: DPPH ortalama sonuçları 10-20-30 mikrolitre

DPPH				
	Kontrol	10 µL	20 µL	30 µL
BHA	1,025	0,482	0,258	0,100
BHT	1,025	0,282	0,138	0,095
α-Tokoferol	1,025	0,805	0,421	0,114
Troloks	1,025	0,905	0,521	0,209
<i>A. adyamanense</i> (Su)	1,025	0,605	0,373	0,302
<i>A. yeşilyurtense</i> (Su)	1,025	0,655	0,407	0,342
<i>A. adyamanense</i> (Metanol)	1,025	0,581	0,313	0,253
<i>A. yeşilyurtense</i> (Metanol)	1,025	0,598	0,353	0,293
<i>A. adyamanense</i> (Etanol)	1,025	0,592	0,346	0,286
<i>A. yeşilyurtense</i> (Etanol)	1,025	0,645	0,413	0,322



Şekil 3.13: *A. adıyamanense* ve *a. yeşilyurtense*'nin farklı konsantrasyonlardaki (20-60 µg/ml) DPPH aktivitesinin standart antioksidanlar (Bha, bht ve troloks) ile karşılaştırılması.

DPPH radikal giderme aktivitesi grafiğinde, *Allium adıyamanense* ve *Allium yeşilyurtense*'nin antioksidan potansiyelleri, BHA, BHT ve Trolox gibi referans antioksidanlarla karşılaştırılmıştır.

Grafikte, konsantrasyon arttıkça BHA, BHT ve Trolox'un DPPH radikalini etkin bir şekilde giderdiği gözlemlenmektedir. Bu bileşikler, düşük konsantrasyonlardan itibaren hızlı ve güçlü bir antioksidan etki sergilemiş, özellikle 20-40 µg/mL konsantrasyon aralığında DPPH radikalini önemli ölçüde azaltmıştır. Trolox, güçlü bir antioksidan olarak referans alınmakta olup, BHA ve BHT ile yüksek radikal giderme kapasitesi göstermektedir.

Allium adıyamanense ve *Allium yeşilyurtense*'nin performansına bakıldığında, bu iki bitki özütünün DPPH radikal giderme etkinliği sınırlı kalmaktadır. *Allium adıyamanense* ve *Allium yeşilyurtense*'nin eğrileri neredeyse yatay bir seyir izlemekte olup, artan konsantrasyonlarda bile DPPH radikallerini etkin bir şekilde gidermedikleri gözlemlenmektedir. Bu durum, her iki bitkinin DPPH radikal giderme kapasitesinin, referans antioksidanlarla kıyaslandığında oldukça düşük seviyelerde olduğunu göstermektedir. Özellikle *Allium yeşilyurtense*'nin *Allium adıyamanense*'ye kıyasla biraz daha yüksek bir giderme kapasitesine sahip olduğu görülse de bu fark çok belirgin değildir.

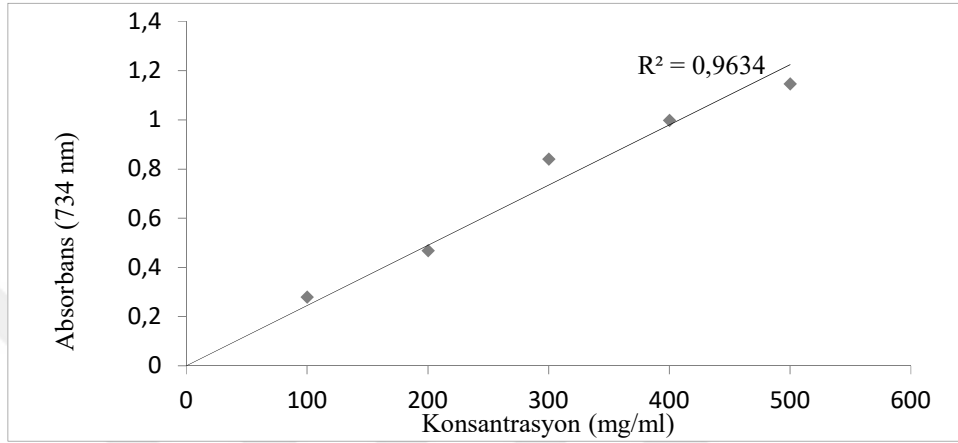
DPPH radikal giderme testi ile değerlendirilen *Allium adyamanense* ve *Allium yeşilyurtense* bitkileri, güçlü bir antioksidan özellik sergilememekte ve radikal giderme kapasiteleri BHA, BHT ve Trolox gibi referans antioksidanlarla kıyaslandığında oldukça düşük kalmaktadır. Bu sonuçlar, bu bitkilerin antioksidan kapasitesinin daha çok diğer antioksidan testlerle veya farklı mekanizmalarla değerlendirilmesi gerektiğini ve DPPH radikal giderme kapasitesine göre sınırlı bir etkiye sahip olduklarını ortaya koymaktadır.

Tablo 3.12: Radikal giderme yöntemleri için IC₅₀ değerler (DPPH ve ABTS)

Antioksidan	DPPH [•] radikal giderme	R ²	ABTS ^{•+} radikal giderme	R ²
BHA	8,64	0,99 06	5,78	0,97 23
BHT	7,27	0,97 16	7,19	0,97 52
α-Tokoferol	10,66	0,98 39	17,77	0,95 22
Troloks	14,54	0,96 22	11,23	0,97 12
<i>A. adyamanense</i> (Su)	16,41	0,97 88	19,39	0,95 21
<i>A. yeşilyurtense</i> (Su)	27,82	0,95 24	33,68	0,97 13
<i>A. adyamanense</i> (Metanol)	14,22	0,99 53	16,03	0,97 46
<i>A. yeşilyurtense</i> (Metanol)	23,70	0,98 07	24,61	0,90 99
<i>A. adyamanense</i> (Etanol)	16,01	0,93 51	18,27	0,93 65
<i>A. yeşilyurtense</i> (Etanol)	26,65	0,90 78	29,08	0,91 44

3.3.3. Kuprak Yöntemi Antioksidan Aktivite Sonuçları

Kuprak antioksidan yöntemiyle, Cu^{2+} iyonlarının Cu^+ seviyesine indirgenmesi esas alınarak *Allium adyamanense* ve *Allium yeşilyurtense* bitkilerinin antioksidan kapasiteleri değerlendirilmiştir.



Şekil 3.14: Kuprak bakır indirgeme için standart grafik

Tablo 3.13: Kuprak yöntemine göre 3 tekrarlı çalışılan 10 mikrolitre konsantrasyonundaki ekstraktların antioksidan aktivite sonuçları (Ortalama absorbans ve standart sapma değerleri ile)

10 mikrolitre						
	1	2	3	ORT	STSP	Toplam
BHA	0,713	0,713	0,717	0,715	0,002	0,715±0,002
BHT	0,834	0,816	0,813	0,821	0,011	0,821±0,011
α-Tokoferol	0,235	0,248	0,244	0,242	0,007	0,242±0,006
Troloks	0,298	0,296	0,297	0,297	0,001	0,297±0,001
<i>A. adyamanense</i> (Su)	0,232	0,241	0,240	0,238	0,005	0,237±0,004
<i>A. yeşilyurtense</i> (Su)	0,192	0,199	0,197	0,196	0,004	0,196±0,003
<i>A. adyamanense</i> (Metanol)	0,374	0,377	0,369	0,373	0,004	0,373±0,004
<i>A. yeşilyurtense</i> (Metanol)	0,304	0,311	0,309	0,308	0,004	0,308±0,003
<i>A. adyamanense</i> (Etanol)	0,253	0,255	0,251	0,253	0,002	0,253±0,002
<i>A. yeşilyurtense</i> (Etanol)	0,224	0,228	0,224	0,225	0,002	0,225±0,002

Tablo 3.14: Kuprak yöntemine göre 3 tekrarlı çalışılan 20 mikrolitre konsantrasyonundaki ekstraktların antioksidan aktivite sonuçları (Ortalama absorbans ve standart sapma değerleri ile)

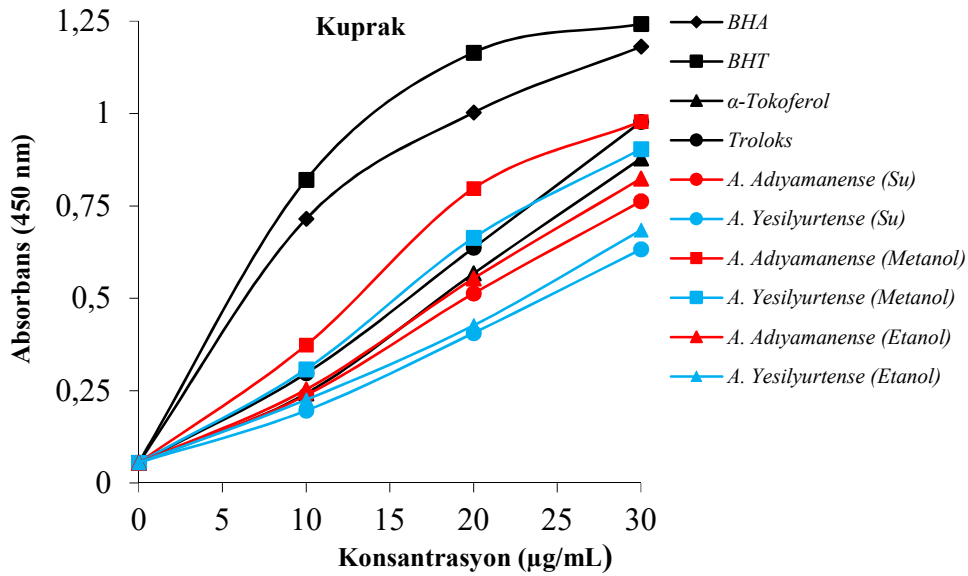
20 mikrolitre						
	1	2	3	ORT	STSP	Toplam
BHA	1,004	1,003	1,001	1,002	0,002	1,002±0,001
BHT	1,172	1,158	1,166	1,165	0,007	1,165±0,007
α-Tokoferol	0,594	0,554	0,554	0,567	0,023	0,567±0,023
Troloks	0,631	0,644	0,635	0,636	0,007	0,636±0,006
<i>A. adıyamanense</i> (Su)	0,513	0,513	0,513	0,513	0,000	0,513±0,000
<i>A. yeşilyurtense</i> (Su)	0,406	0,404	0,408	0,406	0,002	0,406±0,001
<i>A. adıyamanense</i> (Metanol)	0,791	0,801	0,800	0,797	0,006	0,797±0,005
<i>A. yeşilyurtense</i> (Metanol)	0,665	0,663	0,663	0,663	0,001	0,663±0,001
<i>A. adıyamanense</i> (Etanol)	0,552	0,554	0,555	0,553	0,002	0,553±0,001
<i>A. yeşilyurtense</i> (Etanol)	0,424	0,430	0,426	0,426	0,003	0,426±0,003

Tablo 3.15: Kuprak yöntemine göre 3 tekrarlı çalışılan 30 mikrolitre konsantrasyonundaki ekstraktların antioksidan aktivite sonuçları (Ortalama absorbans ve standart sapma değerleri ile)

30 mikrolitre						
	1	2	3	ORT	STSP	Toplam
BHA	1,158	1,196	1,189	1,181	0,020	1,181±0,020
BHT	1,238	1,254	1,236	1,242	0,009	1,242±0,009
α-Tokoferol	0,876	0,871	0,889	0,878	0,009	0,878±0,009
Troloks	0,968	0,982	0,983	0,977	0,008	0,977±0,008
<i>A. adıyamanense</i> (Su)	0,764	0,762	0,761	0,762	0,001	0,762±0,001
<i>A. yeşilyurtense</i> (Su)	0,623	0,637	0,637	0,632	0,008	0,632±0,008
<i>A. adıyamanense</i> (Metanol)	0,973	0,988	0,974	0,978	0,008	0,978±0,008
<i>A. yeşilyurtense</i> (Metanol)	0,902	0,909	0,901	0,904	0,004	0,904±0,004
<i>A. adıyamanense</i> (Etanol)	0,821	0,827	0,824	0,824	0,003	0,824±0,003
<i>A. yeşilyurtense</i> (Etanol)	0,684	0,688	0,681	0,684	0,003	0,684±0,003

Tablo 3.16: Kuprak ortalama Sonuçları 10-20-30 mikrolitre

Kuprak				
	Kontrol	10 μ L	20 μ L	30 μ L
BHA	0,055	0,715	1,003	1,181
BHT	0,055	0,821	1,165	1,243
α-Tokoferol	0,055	0,242	0,567	0,879
Troloks	0,055	0,297	0,637	0,978
<i>A. adıyamanense</i> (Su)	0,055	0,238	0,513	0,762
<i>A. yeşilyurtense</i> (Su)	0,055	0,196	0,406	0,632
<i>A. adıyamanense</i> (Metanol)	0,055	0,373	0,797	0,978
<i>A. yeşilyurtense</i> (Metanol)	0,055	0,308	0,664	0,904
<i>A. adıyamanense</i> (Etanol)	0,055	0,253	0,554	0,824
<i>A. yeşilyurtense</i> (Etanol)	0,055	0,225	0,427	0,684



Şekil 3.15: *A. adıyamanense* ve *A. yeşilyurtense*'nin farklı konsantrasyonlardaki (20-60 μ g/ml) kuprak bakır indirgeme aktivitesinin standart antioksidanlar (Bha, bht ve troloks) ile karşılaştırılması.

Allium adıyamanense ve *Allium yeşilyurtense* bitkilerinin indirgeme kapasiteleri BHA, BHT ve Trolox gibi standart antioksidanlarla karşılaştırılmaktadır. Farklı konsantrasyonlarda (10-60 μ g/mL) yapılan ölçümlerde, her bileşiğin indirgeme gücünü gösteren absorbans değerleri incelenmiştir.

Grafikte, düşük konsantrasyon seviyelerinde (10 µg/mL civarında) *Allium yeşilyurtense*'nin diğer bileşiklerden daha yüksek bir indirgeme kapasitesine sahip olduğu görülmektedir. Ancak konsantrasyon arttıkça, *Allium adıyamanense*'nin indirgeme kapasitesi daha düşük seviyelerde stabil kalırken, *Allium yeşilyurtense* az da olsa etkinliğini korumaktadır. Bu durum, özellikle *Allium yeşilyurtense*'nin düşük konsantrasyonlarda daha etkili bir antioksidan potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.

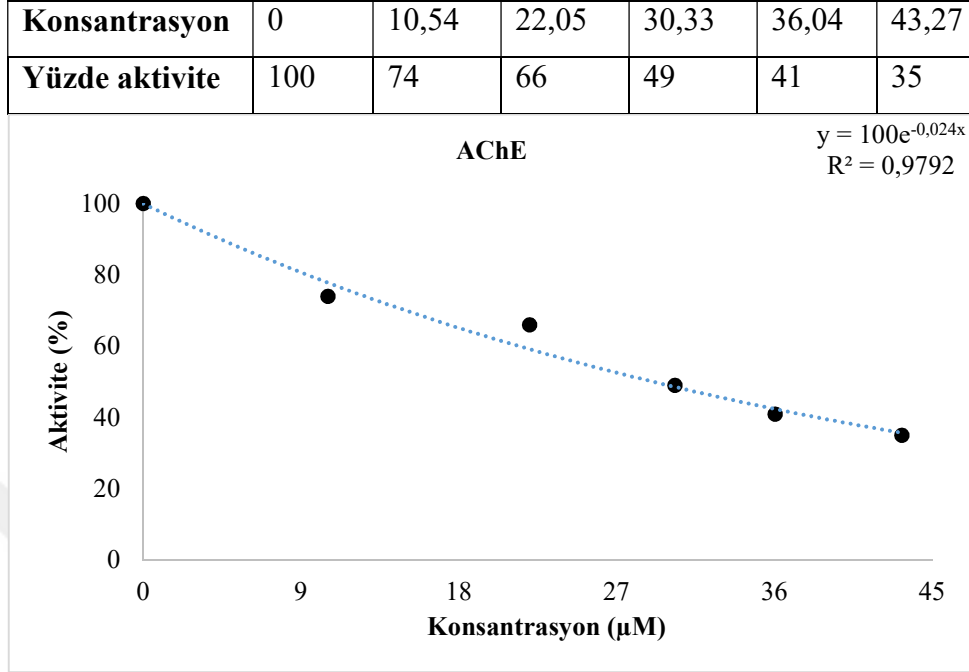
Trolox, BHT ve BHA ile karşılaştırıldığında, her iki *Allium* bitkisinin de Cu²⁺ indirgeme kapasitesinin bu sentetik antioksidanların altında kaldığı gözlemlenmektedir. BHA ve BHT gibi sentetik antioksidanlar, özellikle yüksek konsantrasyonlarda daha güçlü indirgeme kapasitesine sahiptir. Bu durum, gıda ve kozmetik sektörlerinde yaygın olarak kullanılan bu sentetik antioksidanların etkinliğini yansıtmaktadır.

Allium yeşilyurtense ve *Allium adıyamanense*'nin doğal antioksidan potansiyeli bu grafikte belirgin hale gelmektedir. *Allium yeşilyurtense*, özellikle düşük konsantrasyonlarda Cu²⁺ indirgeme kapasitesi bakımından diğer bileşiklerle rekabet edebilir seviyededir, ancak genel olarak sentetik antioksidanlara göre daha sınırlı bir etkiye sahiptir. Bu nedenle, her iki bitki de doğal antioksidan kaynağı olarak değerlendirilebilir.

Tablo 3.17: Kuprak yöntemi ve indirgenme sonuçları

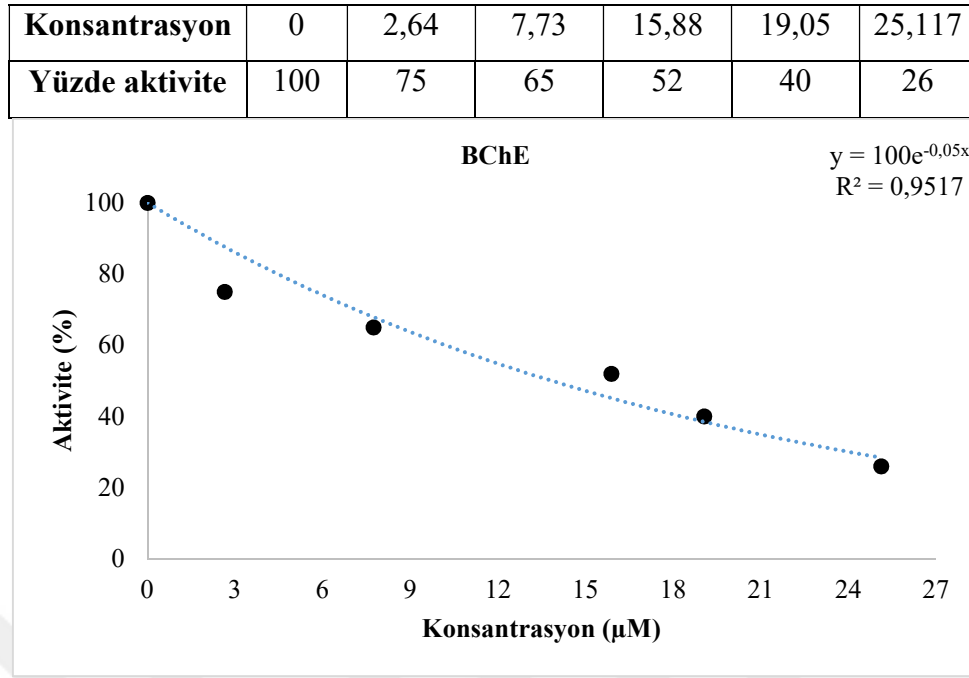
Antioksidan	Kuprak	
	λ_{450}	R ²
BHA	1,181	0,9985
BHT	1,243	0,9568
α -Tokoferol	0,879	0,9875
Troloks	0,978	0,9313
<i>A. adıyamanense</i> (Su)	0,762	0,9513
<i>A. yeşilyurtense</i> (Su)	0,632	0,9384
<i>A. adıyamanense</i> (Metanol)	0,978	0,9893
<i>A. yeşilyurtense</i> (Metanol)	0,904	0,9513
<i>A. adıyamanense</i> (Etanol)	0,824	0,9889
<i>A. yeşilyurtense</i> (Etanol)	0,684	0,9366

Tablo 3.18: *Allium Adıyamanense* ve *Allium Yeşilyurtense* Bitkilerinin AChE, BcHe ve α -glikozidaz Enzimleri İnhibisyon Sonuçları ve IC₅₀ Değerleri



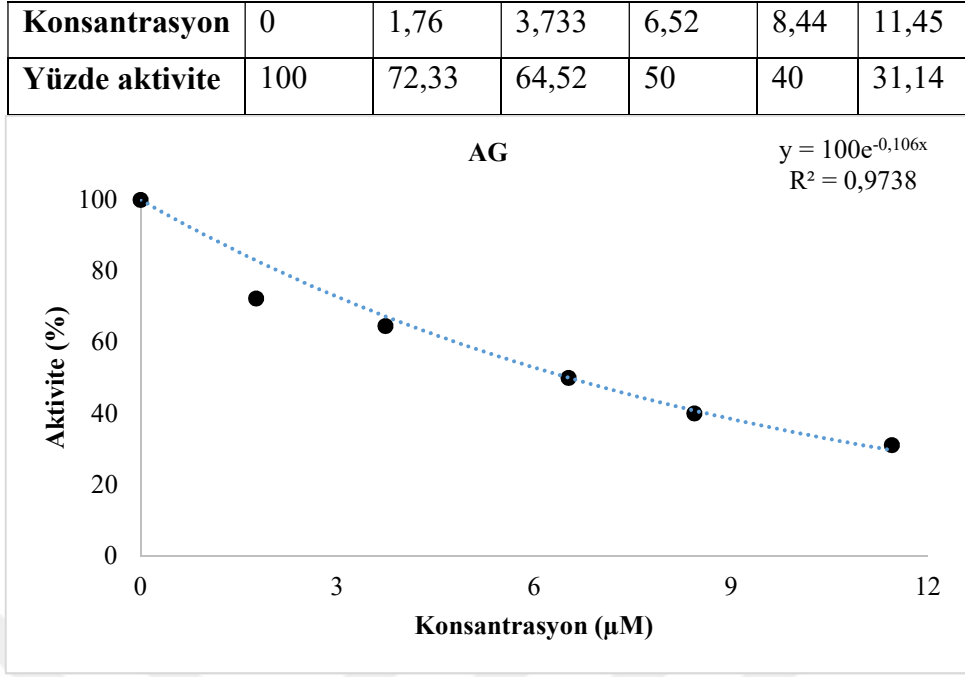
Şekil 3.16: AChE enzim aktivitesinin *allium adıyamanense*'nin etanol konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R² değeri 0,9792 olarak hesaplanmıştır.

Etanol ekstraktı ile yapılan uygulamalarda AChE enzim aktivitesinin doza bağlı olarak azaldığı gözlemlenmiştir. 100 µg/mL'den 35 µg/mL'ye kadar düşen aktivite, inhibitör etkinin belirgin olduğunu ortaya koymaktadır. R² değerinin 0,9792 olması, verilerin doğrusal dağılıma oldukça iyi uyduğunu göstermektedir. Bu durum, AChE inhibisyonunda etanol ekstraktının potansiyel taşıdığını düşündürmektedir.



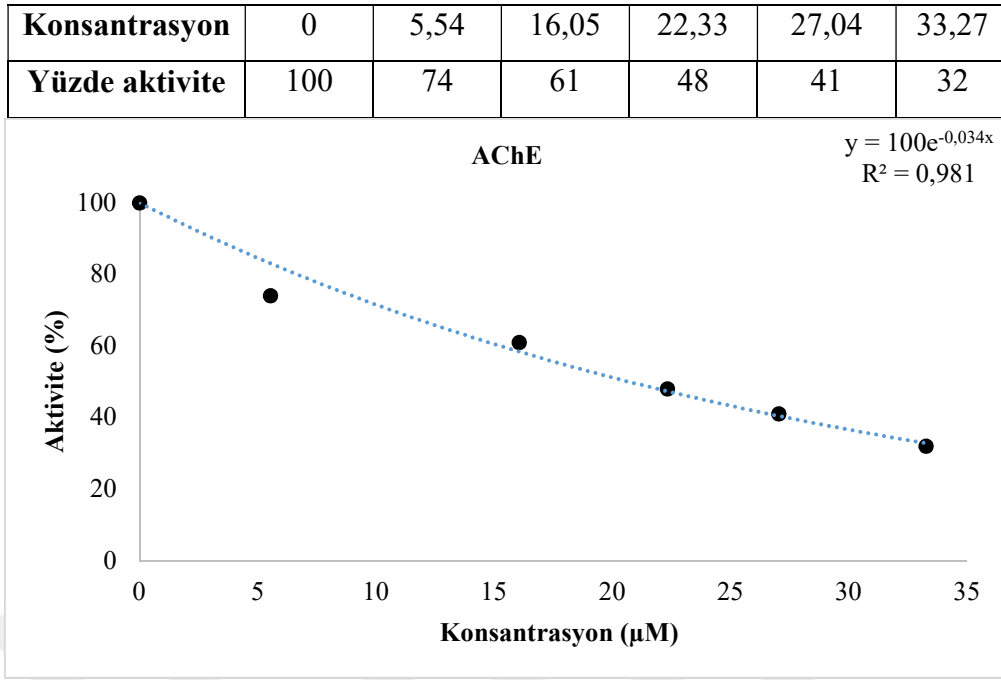
Şekil 3.17: BChE enzim aktivitesinin *allium adyamanense*'nin etanol konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R^2 değeri 0,9517 olarak hesaplanmıştır.

Etanol ekstraktının BChE enzimi üzerine etkisi incelendiğinde, inhibitör etkinin konsantrasyon artışıyla birlikte düzenli bir azalma gösterdiği belirlenmiştir. Yüzde aktivitenin 100'den 26'ya kadar düşmesi, güçlü inhibitör potansiyelini desteklemektedir. R^2 değeri 0,9517 ile kabul edilebilir düzeyde yüksek bir korelasyon göstermektedir.



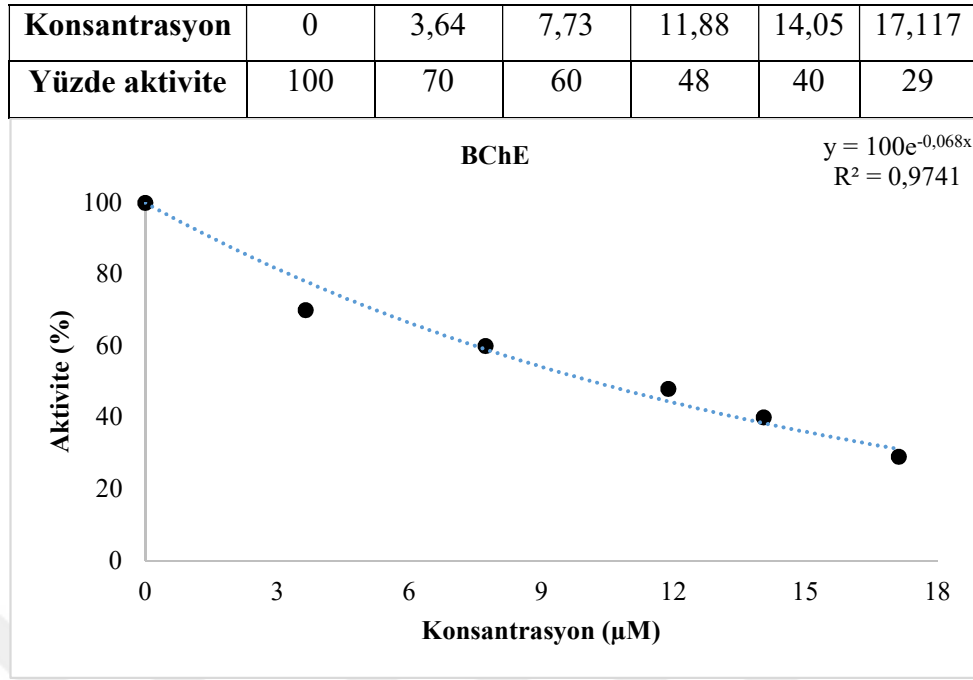
Şekil 3.18: α -glukozidaz enzim aktivitesinin *allium adyamanense*'nin etanol konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R^2 değeri 0,9738 olarak hesaplanmıştır.

Allium adyamanense'nin etanol ekstraktı α -glukozidaz enzimine karşı oldukça etkili bir inhibitör profil çizmiştir. Aktivitedeki düşüş 100'den 31,14'e kadar devam etmiş ve IC_{50} değeri düşük bulunmuştur. R^2 değerinin 0,9738 oluşu, grafikteki doğrusal eğilimi güvenilir kılmaktadır.



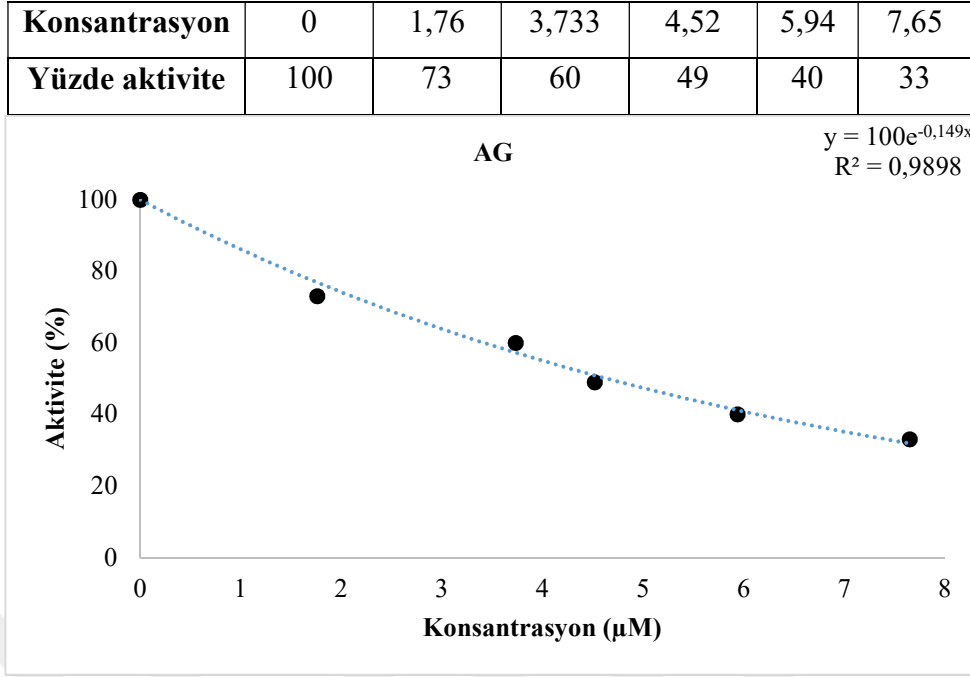
Şekil 3.19: AChE enzim aktivitesinin *allium adyamanense*'nin metanol konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R² değeri 0,981 olarak hesaplanmıştır.

Metanol özütü ile AChE inhibisyonu daha belirgin hale gelmiştir. Aktivite %35'e kadar düşmüş ve R² değeri 0,981 ile güçlü uyum sergilemiştir.



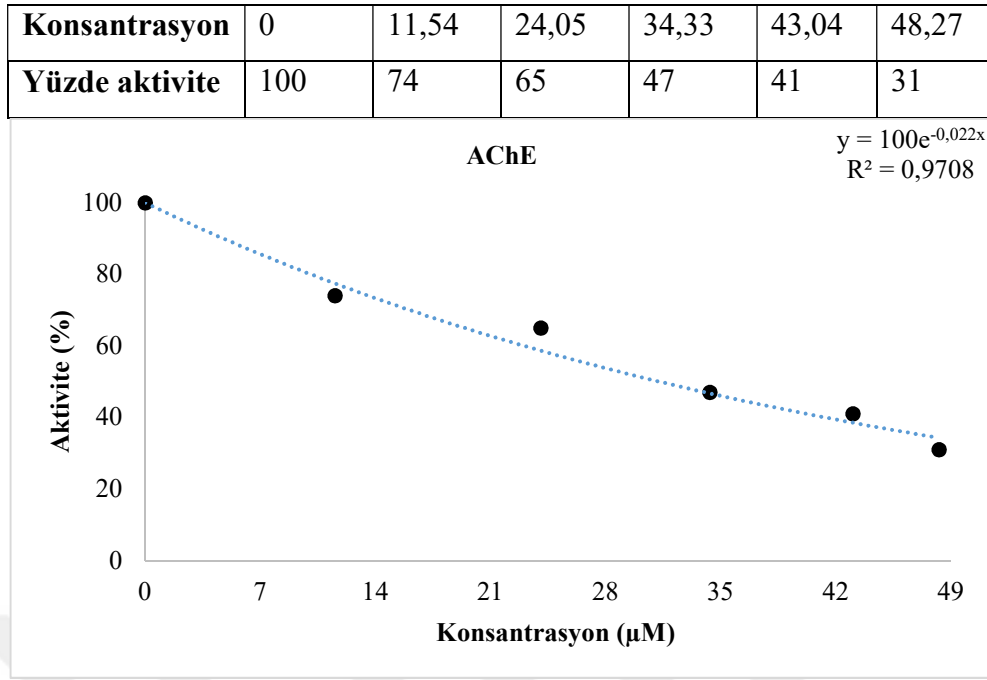
Şekil 3.20: BChE enzim aktivitesinin *allium adyamanense*'nin metanol konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R^2 değeri 0,9741 olarak hesaplanmıştır.

BChE enzimi üzerinde metanol özütünün etkisi oldukça başarılıdır; %100'den %29'a kadar düşüş gözlemlenmiştir. R^2 değeri 0,9741 bu inhibisyon eğilimini doğrulamaktadır.



Şekil 3.21: α -glukozidaz enzim aktivitesinin *allium adyamanense*'nin metanol konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R^2 değeri 0,9898 olarak hesaplanmıştır.

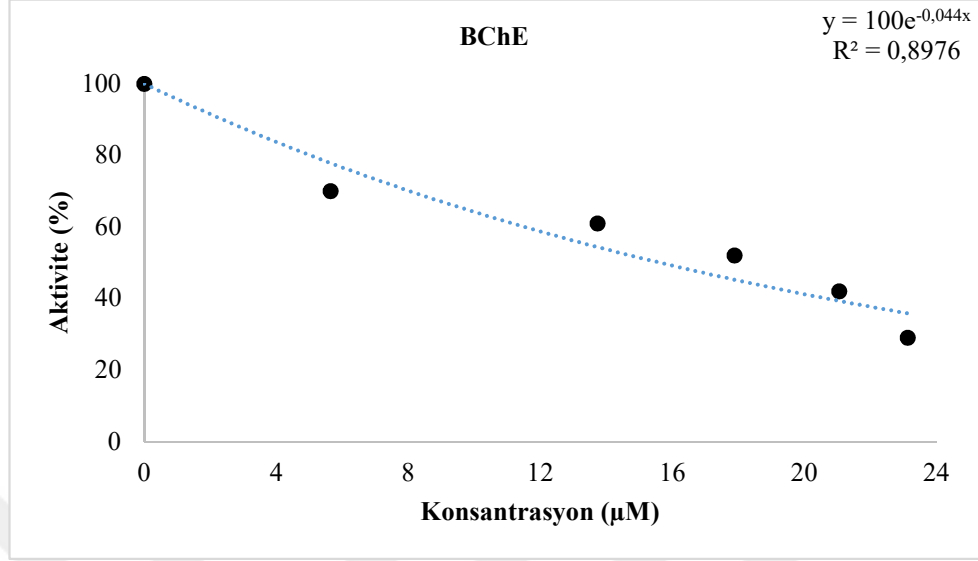
α -Glukozidaz enzimi için metanol özütü ile sağlanan inhibitör etki oldukça yüksektir. R^2 değeri 0,9898 ile en yüksek doğruluk oranına sahiptir.



Şekil 3.22: AChE enzim aktivitesinin *allium adyamanense*'nin su konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R^2 değeri 0,9708 olarak hesaplanmıştır.

Su ekstraktı ile AChE enzim aktivitesi arasında negatif bir ilişki tespit edilmiştir. Etki daha düşük konsantrasyonlarda sınırlı olsa da genel eğilim belirgindir.

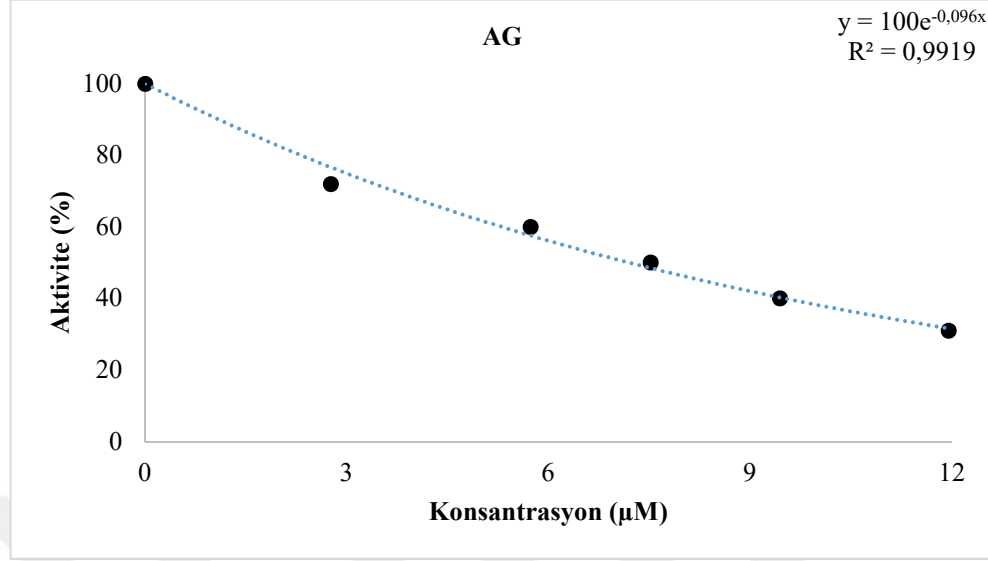
Konsantrasyon	0	5,64	13,73	17,88	21,05	23,117
Yüzde aktivite	100	70	61	52	42	29



Şekil 3.23: BChE enzim aktivitesinin *allium adyamanense*'nin su konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R^2 değeri 0,8976 olarak hesaplanmıştır.

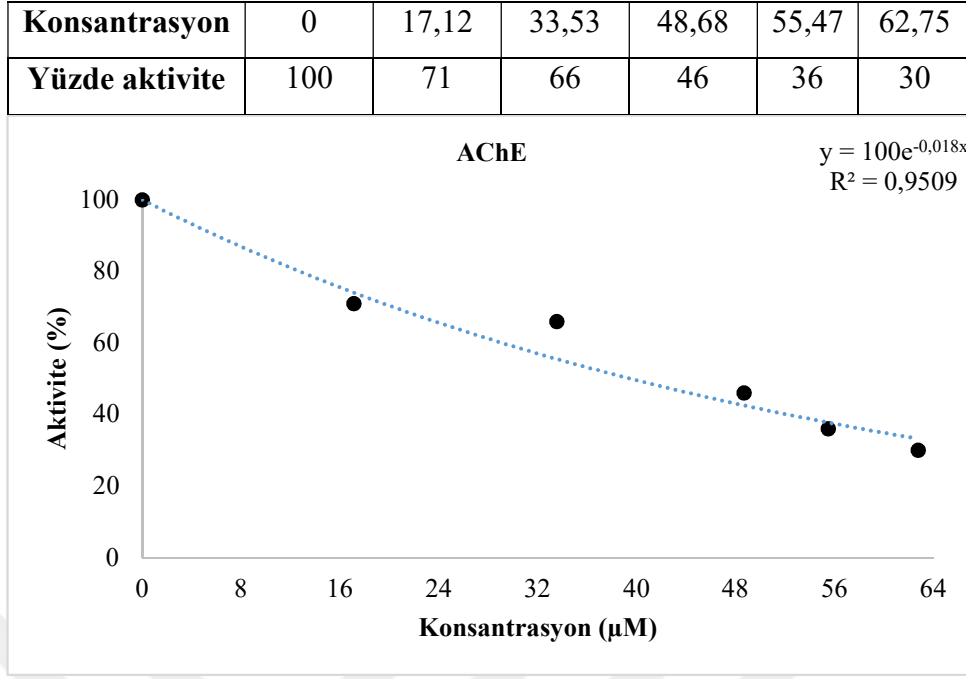
BChE için su özütü kullanıldığında inhibitör etki metanol ve etanol özütlerine göre daha zayıf olmuştur. Ancak R^2 değeri 0,8976 yine de kabul edilebilir seviyededir.

Konsantrasyon	0	2,76	5,733	7,52	9,44	11,95
Yüzde aktivite	100	72	60	50	40	31



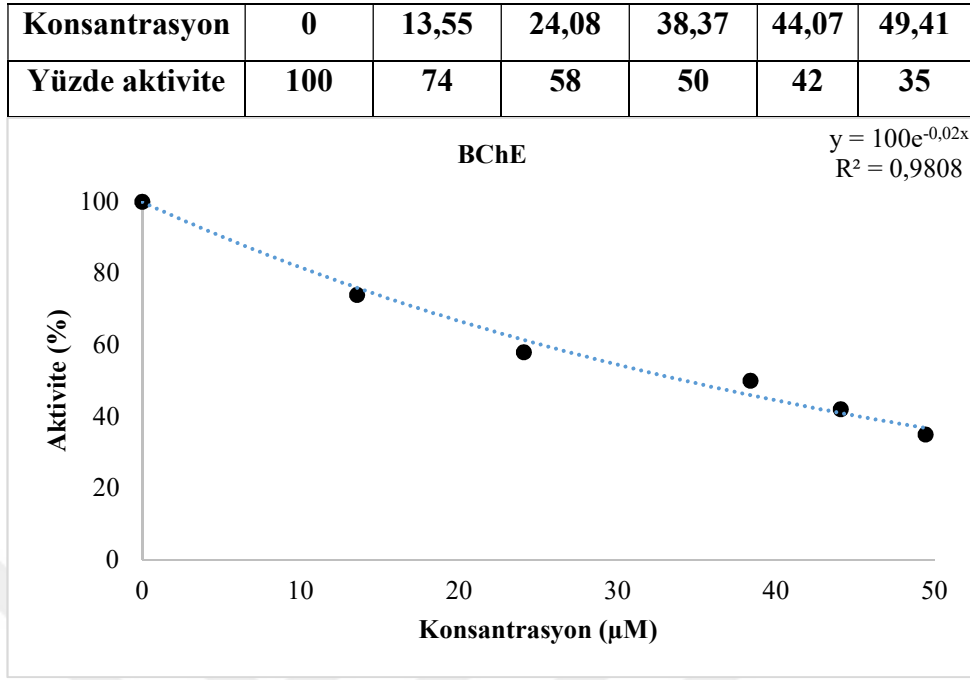
Şekil 3.24: α -glikozidaz enzim aktivitesinin *allium adyamanense*'nin su konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R^2 değeri 0,9919 olarak hesaplanmıştır.

Su özütü, α -glukozidaz aktivitesini etkili bir biçimde baskılamıştır. R^2 değeri 0,9919 ile oldukça yüksek olup doğrusal modeli desteklemektedir.



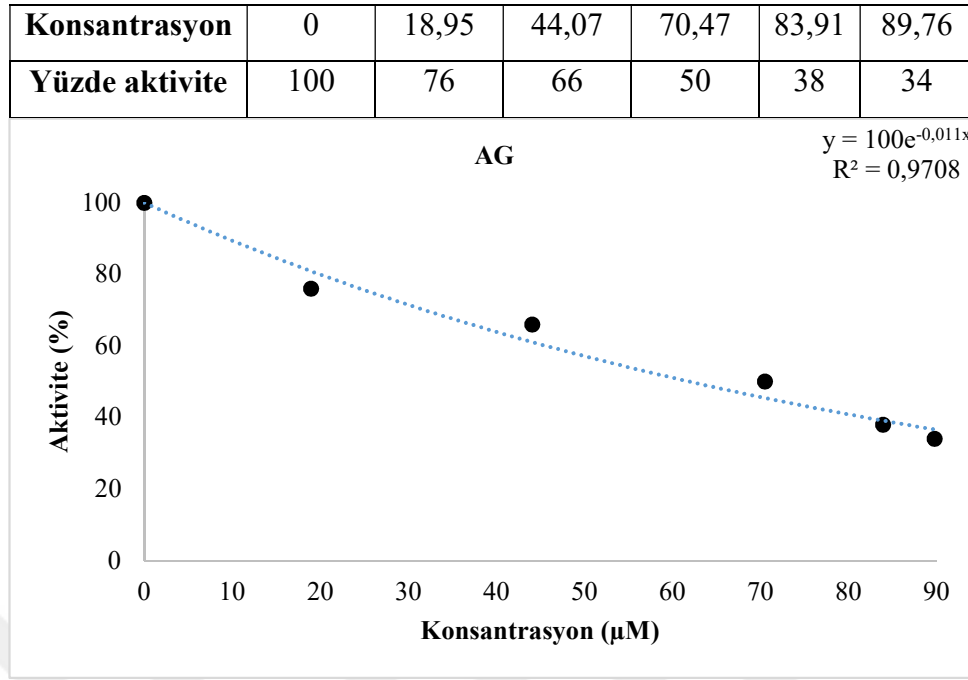
Şekil 3.25: AChE enzim aktivitesinin *allium adyamanense*'nin su konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R² değeri 0,9509 olarak hesaplanmıştır.

AChE aktivitesi, su özütü ile tedrici olarak azalmıştır. Özellikle yüksek konsantrasyonlarda inhibisyon daha net hissedilmiştir.



Şekil 3.26: AChE enzim aktivitesinin *allium adyamanense*'nin su konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R² değeri 0,9708 olarak hesaplanmıştır.

Su ekstraktının AChE üzerindeki etkisi Şekil 31 ile benzerlik göstermektedir. R² değeri yüksek olup etkili bir inhibisyon grafiği sunmaktadır.



Şekil 3.27: α -glikozidaz enzim aktivitesinin akarbozun metanol konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R^2 değeri 0,9708 olarak hesaplanmıştır.

Pozitif kontrol olarak kullanılan akarbozun α -glukozidaz enzimi üzerindeki etkisi gözle görülür şekilde yüksektir. %100'den %34'e kadar düşüş ile standart maddenin etkinliği teyit edilmiştir.

Tablo 3.19: *Allium adyamanense*'nin α -glikozidaz, AChE ve BChE enzimlerine karşı enzim inhibisyon sonuçları (IC_{50} değerleri)

Enzimler	<i>A. adyamanense</i> (Etanol) ($\mu\text{g/mL}$)		<i>A. adyamanense</i> (Metanol) ($\mu\text{g/mL}$)		<i>A. adyamanense</i> (Su) ($\mu\text{g/mL}$)		Standardlar (μM)	
	IC_{50}	r^2	IC_{50}	r^2	IC_{50}	r^2	IC_{50}	r^2
AChE**	28,87	0,9792	20,38	0,9810	31,50	0,9708	38,50	0.9509
BChE**	13,86	0,9517	10,18	0,9741	15,75	0,8976	34.65	0.9808
α-Glikozidaz *	6,53	0,9738	4,65	0,9898	7,21	0,9919	63.01	0.9708

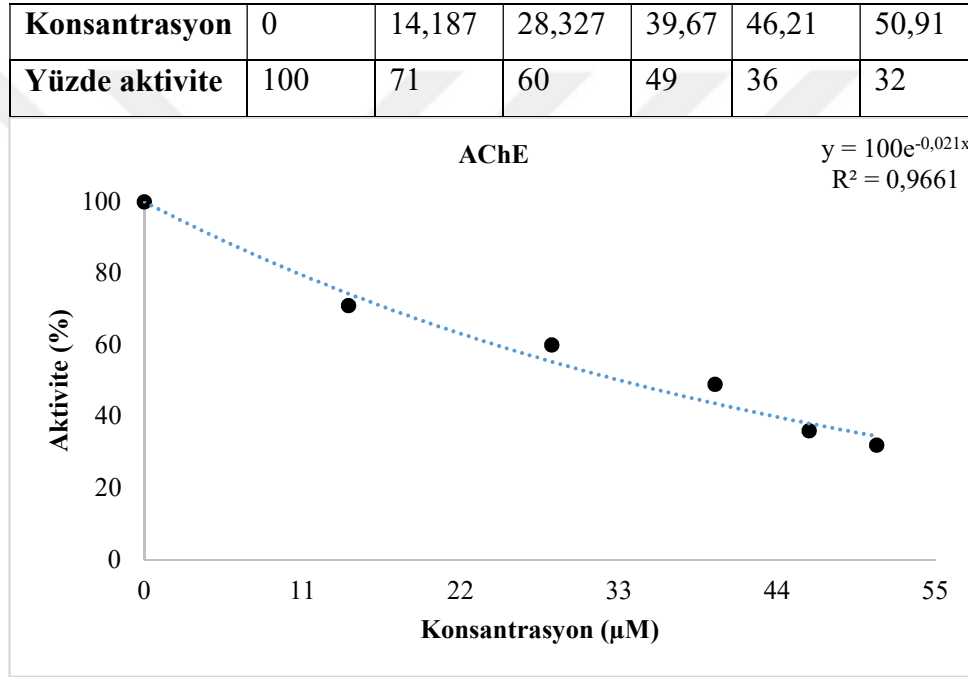
* α -Glikozidaz enzimi için pozitif kontrol olarak akarboz kullanıldı.

** Takrin, AChE ve BChE enzimleri için pozitif kontrol olarak kullanıldı.

Allium adyamanense ve *Allium yeşilyurtense* türlerinin etanol, metanol ve su özütlerinin AChE, BChE ve α -glikozidaz enzimleri üzerindeki inhibitör etkileri değerlendirilmiştir. IC_{50} değerleri ve korelasyon (R^2) katsayıları grafik ve tablolarla birlikte sunulmuştur. Her iki türde de α -glikozidaz enzimine karşı en etkili özüt metanol olarak belirlenmiştir.

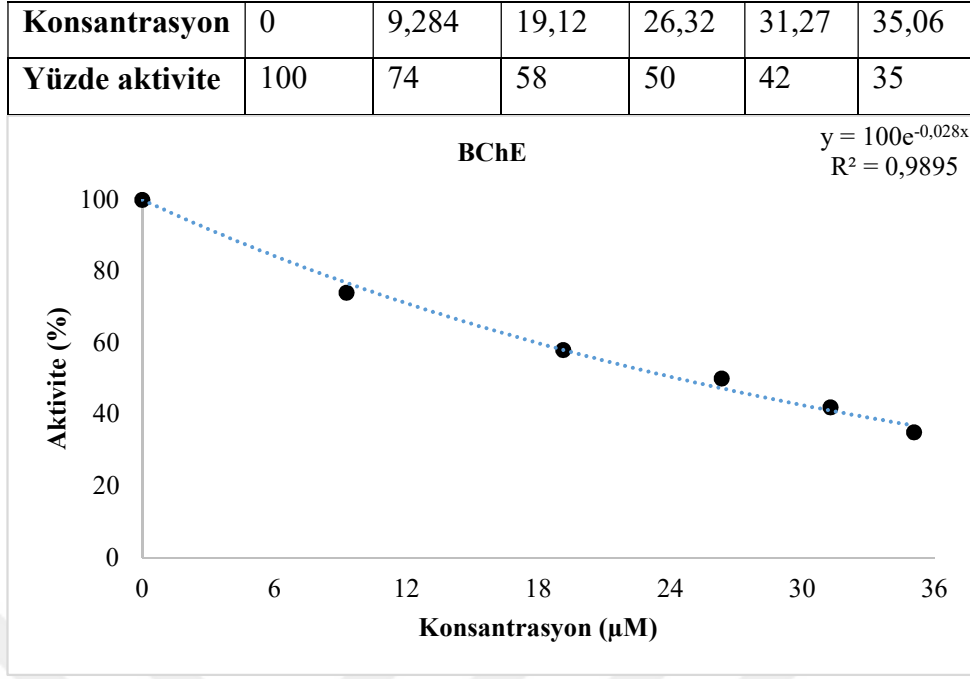
Özellikle *Allium adyamanense* metanol ekstraktının α -glukozidaz enzimine karşı IC_{50} değeri 4,65 $\mu\text{g/mL}$ olup, bu oldukça yüksek bir inhibitör aktiviteye işaret etmektedir.

Şekil 3.18 ve 3.29 arasında, bitki özütlerinin enzim aktivitesi üzerindeki etkileri konsantrasyona bağlı olarak grafiksel biçimde gösterilmiştir. R^2 değerlerinin genel olarak 0,95'in üzerinde olması, regresyon analizlerinin yüksek güvenilirlikte olduğunu göstermektedir. Ayrıca, pozitif kontrol olarak AChE ve BChE için takrin, α -glukozidaz için ise akarboz kullanılmıştır.



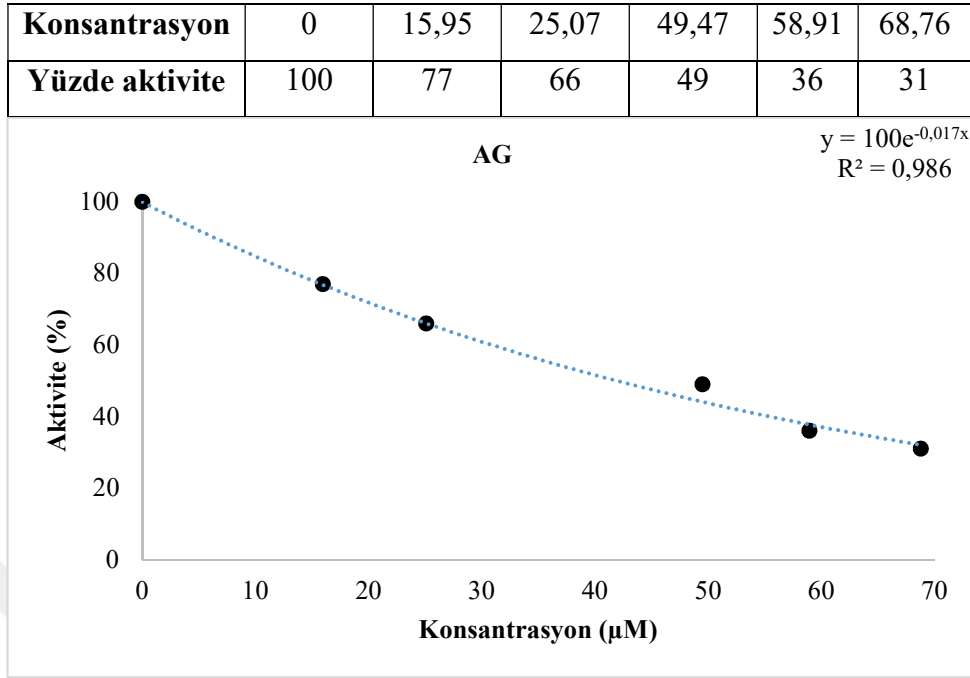
Şekil 3.28: AChE enzim aktivitesinin *allium yeşilyurtense*'nin etanol konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R^2 değeri 0,9661 olarak hesaplanmıştır.

Allium yeşilyurtense'nin etanol özütü, AChE enzimine karşı orta düzeyde bir inhibisyon göstermiştir. R^2 değeri 0,9661 ile güvenilirlik sunmaktadır.



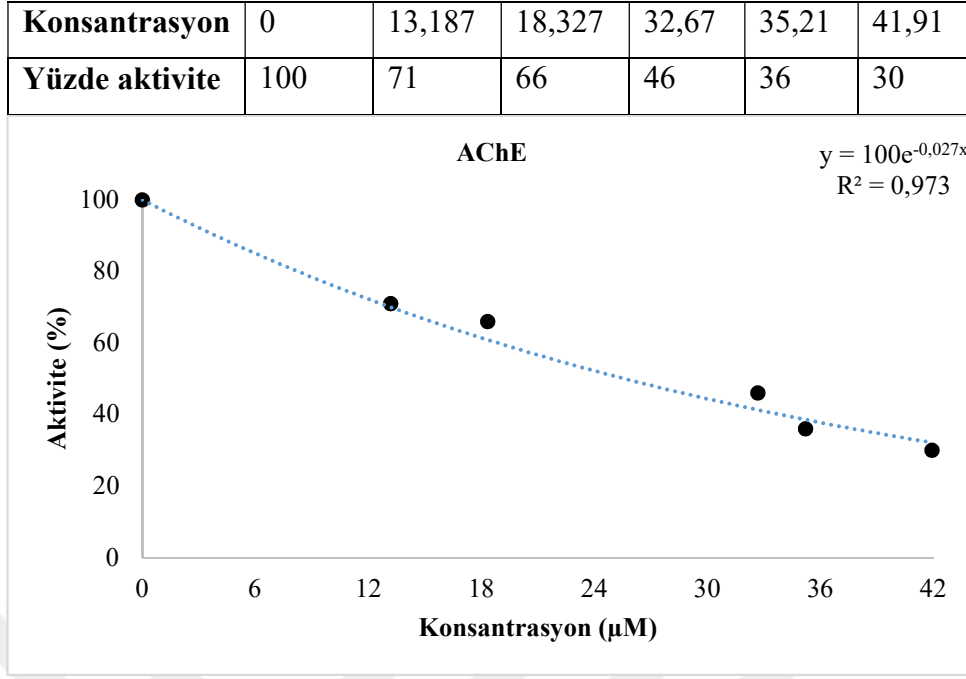
Şekil 3.29: BChE enzim aktivitesinin *allium yeşilyurtense*'nin etanol konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R^2 değeri 0,9895 olarak hesaplanmıştır.

Etanol özütü ile BChE inhibisyonu güçlüdür. Yüzde aktivite 100'den 35'e inmiş, bu da biyolojik etkinin güçlü olduğunu göstermektedir.



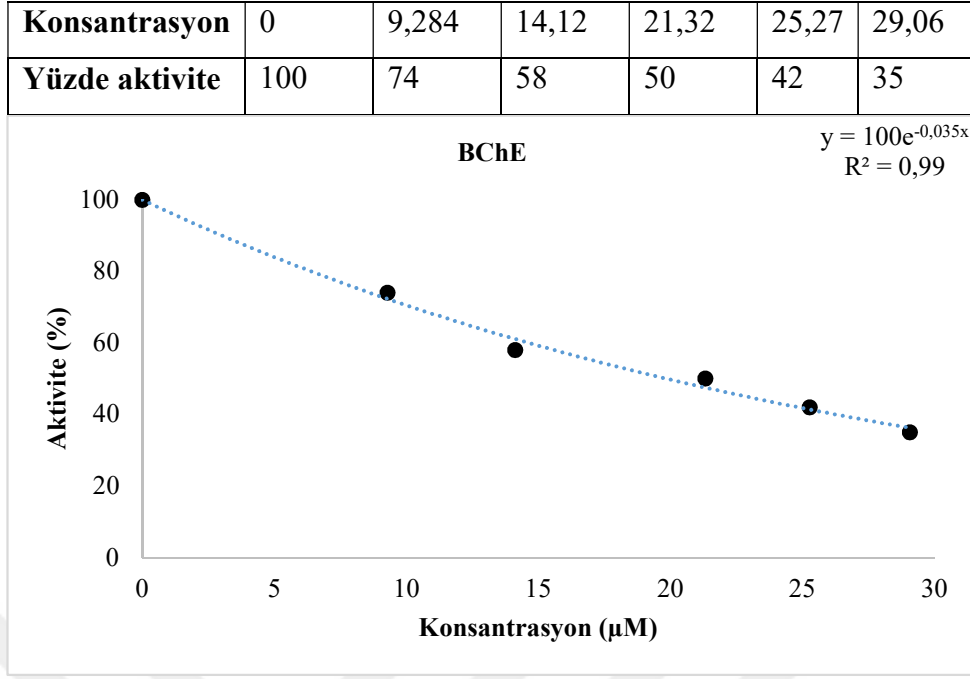
Şekil 3.30: α -glukozidaz enzim aktivitesinin *Allium Yeşilyurtense*'nin etanol konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R^2 değeri 0,986 olarak hesaplanmıştır.

Etanol ekstraktı, α -glukozidaz enzimi üzerinde düzenli bir inhibisyon eğrisi oluşturmuştur. Aktivite azalması dikkat çekicidir.



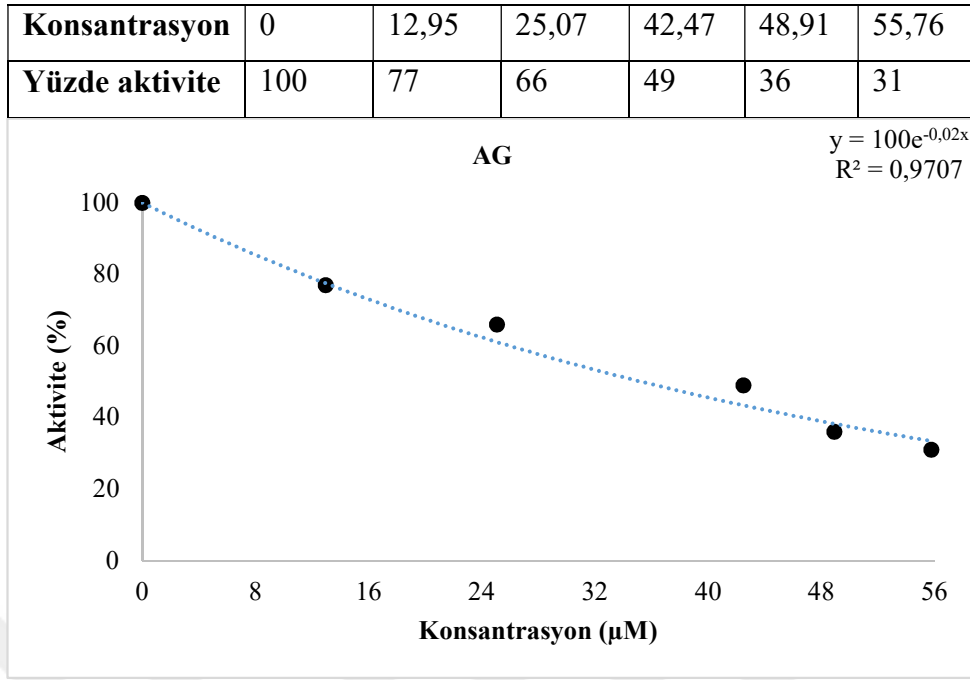
Şekil 3.31: AChE enzim aktivitesinin *allium yeşilyurtense*'nin metanol konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R^2 değeri 0,973 olarak hesaplanmıştır.

Metanol özütü, AChE enzimi üzerinde etkili bir inhibitör rol oynamıştır. R^2 değeri 0,973 yüksek güvenilirlik sağlamaktadır.



Şekil 3.32: BChE enzim aktivitesinin *allium yeşilyurtense*'nin metanol konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R^2 değeri 0,99 olarak hesaplanmıştır.

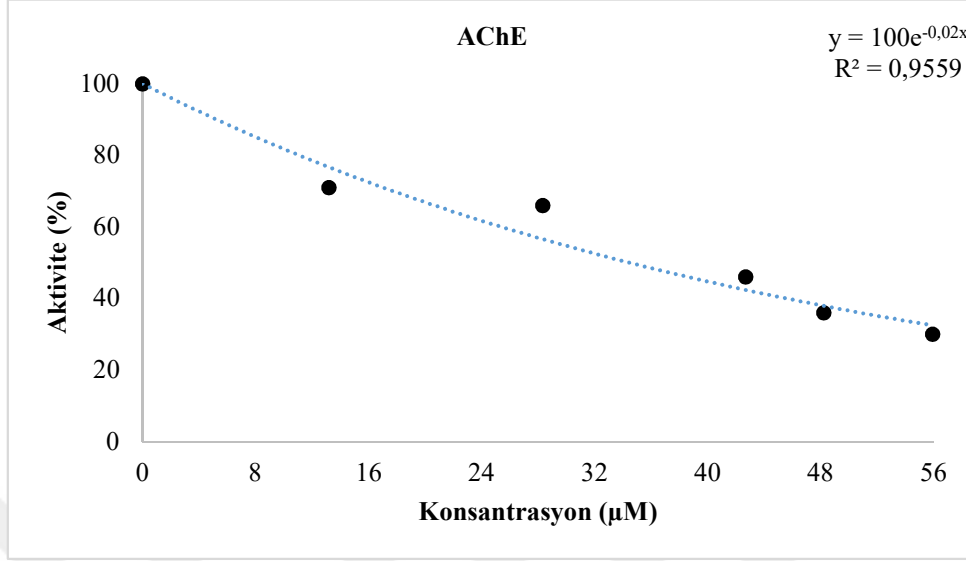
BChE enzimi için metanol özütü, inhibitör etkiyi güçlü biçimde göstermiştir. %100'den %35'e azalma net olarak izlenmiştir.



Şekil 3.33: α -glukozidaz enzim aktivitesinin *allium yeşilyurtense*'nin metanol konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R^2 değeri 0,9707 olarak hesaplanmıştır.

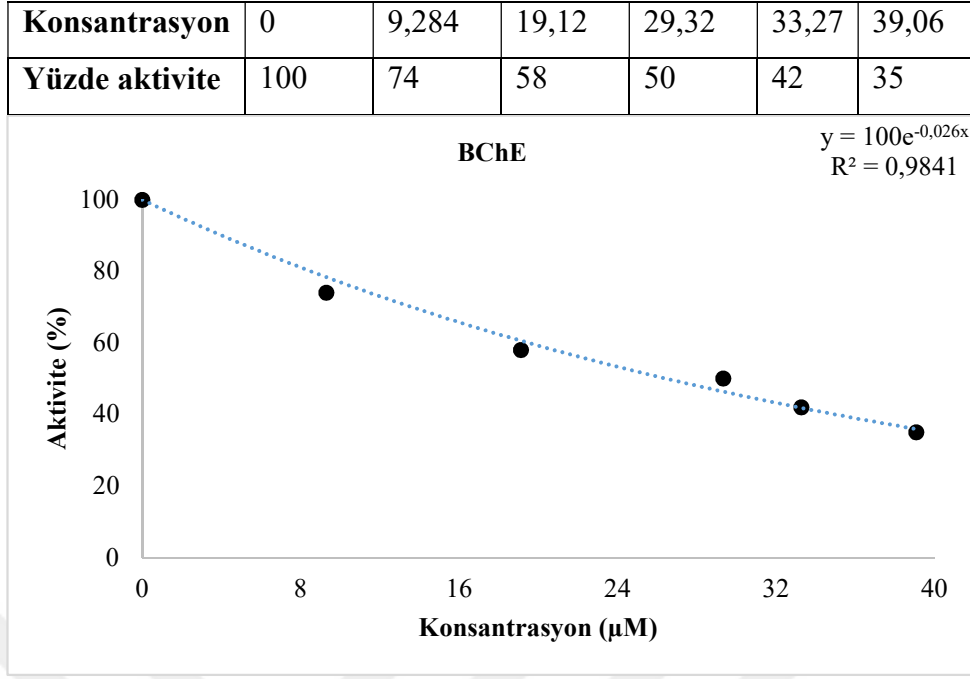
α -Glukozidaz enzimi ile metanol özütü arasındaki ilişki doğrusal seyretmiş ve aktivite %31'e kadar düşmüştür.

Konsantrasyon	0	13,187	28,327	42,67	48,21	55,91
Yüzde aktivite	100	71	66	46	36	30



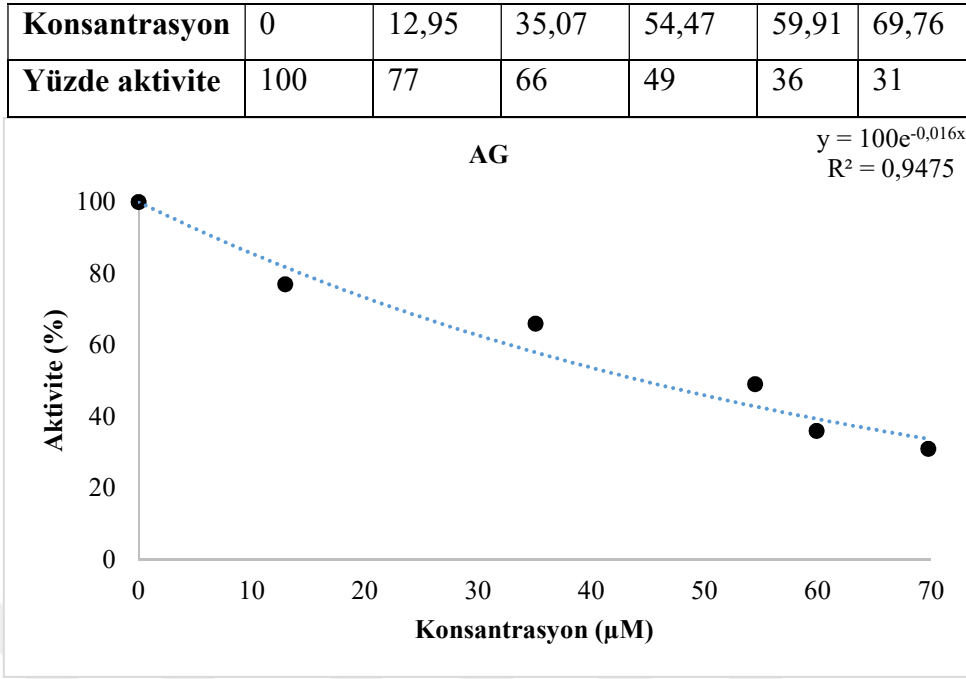
Şekil 3.34: AChE enzim aktivitesinin allium yeşilyurtense'nin su konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R^2 değeri 0,9559 olarak hesaplanmıştır.

Su özütü, AChE aktivitesini azalttıysa da etanol ve metanol kadar etkili değildir. Ancak %30'a kadar düşüş önemlidir.



Şekil 3.35: BChE enzim aktivitesinin *allium yeşilyurtense*'nin su konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R^2 değeri 0,9841 olarak hesaplanmıştır.

BChE enziminde su özütünün etkisi, metanol kadar belirgin olmasa da inhibisyon eğilimi korunmuştur. R^2 değeri 0,9841 olarak yüksektir.



Şekil 3.36: α -glukozidaz enzim aktivitesinin *allium yeşilyurtense*'nin su konsantrasyonlarına bağlı olarak inhibisyon aktivite yüzdesi temsil edilmiştir. R^2 değeri 0,9475 olarak hesaplanmıştır.

Su özütü, α -glukozidaz enzimi üzerinde etkili olmuş ve aktivite düşüşü konsantrasyon ile paralellik göstermiştir. R^2 değeri 0,9475'tir.

Tablo 3.20: *Allium yeşilyurtense*'nin α -glukozidaz, AChE ve BChE enzimlerine karşı enzim inhibisyon sonuçları (IC_{50} değerleri)

Enzimler	<i>A. yeşilyurtense</i> (Etanol) ($\mu\text{g/mL}$)		<i>A. yeşilyurtense</i> (metanol) ($\mu\text{g/mL}$)		<i>A. yeşilyurtense</i> (Su) ($\mu\text{g/mL}$)		Standardlar (μM)	
	IC_{50}	r^2	IC_{50}	r^2	IC_{50}	r^2	IC_{50}	r^2
AChE**	33.01	0.9661	25.66	0.9730	34,58	0,9559	38.50	0.9509
BChE**	24.75	0.9895	19.80	0.9900	26,65	0,9841	34.65	0.9808
α-Glikozidaz *	40.76	0.9860	34.65	0.9707	43,31	0,9475	63.01	0.9708

* α -Glikozidaz enzimi için pozitif kontrol olarak akarboz kullanıldı.

** Takrin, AChE ve BChE enzimleri için pozitif kontrol olarak kullanıldı.

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu tezde, *Allium adıyamanense* ve *Allium yeşilyurtense* bitkilerin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi, asetilkolinesteraz, bütirilkolinesteraz, α -glukozilaz enzimlerini inhibe etmesi ve fenolik içeriğinin HPLC kromatografisi kullanılarak belirlenmesi üzerine araştırmalar yapılmıştır. Çalışılan bitkilerin antioksidan aktivitesini belirlemek için üç yöntem kullanıldı. Tez kapsamında antioksidan aktivitenin belirlenmesi amacıyla incelenen yöntemler şunlardır:

1. KUPRAK
2. ABTS
3. DPPH

Tez çalışmasında kullanılan bu yöntemler sayesinde *Allium adıyamanense* ve *Allium yeşilyurtense* bitkilerinin antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir ve 3 farklı ekstrakt çalışıldı (Etanol, metanol ve su). Çalışmalardan elde edilen sonuçlar, gıda ve ilaç endüstrisinde yaygın olarak kullanılan BHA, BHT, α -tokoferol ve Troloks gibi sentetik antioksidanlarla karşılaştırıldı. Bu karşılaştırma sonucunda antioksidan aktivitesi incelenen örneklerin antioksidan aktivitelerinin sentetik antioksidanlara benzer veya daha düşük aktivite gösterdiği görüldü.

Bu çalışma, endemik *Allium* türlerinden *Allium Adıyamanense* ve *Allium Yeşilyurtense* bitkilerinin antioksidan ve enzim inhibisyon potansiyelini hem kimyasal hem de biyolojik analizlerle detaylı olarak ortaya koyan ilk yüksek lisans tezlerinden biridir. Bulgular, bitkisel ilaç geliştirme çalışmaları için değerli bir ön bilgi sağlamaktadır. Ayrıca, özellikle Alzheimer ve Tip 2 diyabet gibi kronik hastalıkların tedavisine yönelik doğal inhibitör kaynakları arasında bu bitkilerin değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

Bu tez kapsamında antioksidan maddelerin indirgeyici kapasitesinin belirlenmesi amacıyla bir yöntem araştırılmıştır: Bakır iyonlarının (Cu^{2+}) bakır iyonlarına (Cu^+) indirgeyici kapasitesine dayanan bakır yöntemi. Elde ettiğimiz sonuçlara göre bu yöntemde numune konsantrasyonu arttıkça indirgeme kapasitesinin arttığı bulunmuştur.

Kuprak kapasite yöntemini kullanarak yaptığımız çalışmanın sonuçlarına baktığımızda, numunelerin (*A. Adıyamanense* (Su) *A. Yeşilyurtense* (Su) *A. Adıyamanense* (Metanol) *A. Yeşilyurtense* (Metanol) *A. Adıyamanense* (Etanol) *A. Yeşilyurtense* (Etanol)) indirgeyici

kapasitesinin sentetik antioksidanların indirgeyici kapasitesinden düşük olduğunu ama iyi antioksidan özelliğini görmekteyiz. Kuprak kapasitesi şu şekilde sıralandı: BHT (absorbans: 1,243, r^2 : 0,9568) > BHA (absorbans: 1,181, r^2 : 0,9985) > *A. Adıyamanense* (Metanol) (absorbans: 0,979, r^2 : 0,9893) > Troloks (absorbans: 0,978, r^2 : 0,9313) > *A. Yeşilyurtense* (Metanol) (absorbans: 0,904, r^2 : 0,9513) > α -Tokoferol (absorbans: 0,879, r^2 : 0,9875) > *A. Adıyamanense* (Etanol) (absorbans: 0,824, r^2 : 0,9889) > *A. Adıyamanense* (Su) (absorbans: 0,762, r^2 : 0,9513) > *A. Yeşilyurtense* (Etanol) (absorbans: 0,684, r^2 : 0,9366) > *A. Yeşilyurtense* (Su) (absorbans: 0,632, r^2 : 0,9384). İndirgeyici gücün artan konsantrasyonla arttığı gözlemlendi.

Kuprac yönteminde organik bileşik olan neocuprine ve CuCl_2 kullanılmaktadır. Bu yöntemde antioksidanların etkisiyle bakır iyonları (Cu^{2+}) bakır iyonlarına (Cu^+) dönüştürülür ve kompleks bileşiğin maksimum Emilimi 450 nm dalga boyunda ölçülür. Bu tez kapsamında incelenen bitki ekstraktlarının bakır indirgeme kapasitesinin sentetik antioksidanlara göre düşük olduğu bulunmuştur.

ABTS radikal giderme yöntemi Miller ve grubu tarafından geliştirilmiştir. Öncelikle ABTS radikalinin üretilmesi gerekir. ABTS'nin $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ile reaksiyonu sonucu ABTS radikal katyonu oluşumu bu yöntemin temelini oluşturur. Tez çalışmasında kullanılan numunelerin ve standartların IC_{50} sonuçları şu şekilde elde edildi: BHA (IC_{50} : 5,78 $\mu\text{g/mL}$, r^2 : 0,9723) < BHT (IC_{50} : 7,19 $\mu\text{g/mL}$, r^2 : 0,9752) < Troloks (IC_{50} : 11,23 $\mu\text{g/mL}$, r^2 : 0,9712) < *A. Adıyamanense* (Metanol) (IC_{50} : 16,03 $\mu\text{g/mL}$, r^2 : 0,9746) < α -Tokoferol (IC_{50} : 17,77 $\mu\text{g/mL}$, r^2 : 0,9522) < *A. Adıyamanense* (Etanol) (IC_{50} : 18,27 $\mu\text{g/mL}$, r^2 : 0,9385) < *A. Adıyamanense* (Su) (IC_{50} : 19,39 $\mu\text{g/mL}$, r^2 : 0,9521) < *A. Yeşilyurtense* (Metanol) (IC_{50} : 24,61 $\mu\text{g/mL}$, r^2 : 0,9099) < *A. Yeşilyurtense* (Etanol) (IC_{50} : 29,08 $\mu\text{g/mL}$, r^2 : 0,9144) < *A. Yeşilyurtense* (Su) (IC_{50} : 33,68 $\mu\text{g/mL}$, r^2 : 0,9713).

Tez çalışmasında kullanılan tüm ekstraktlarının DPPH radikal giderme aktivite sonuçları incelendiğinde; BHT (IC_{50} : 7,27 $\mu\text{g/mL}$, r^2 : 0,9716) < BHA (IC_{50} : 8,64 $\mu\text{g/mL}$, r^2 : 0,9906) < α -Tokoferol (IC_{50} : 10,66 $\mu\text{g/mL}$, r^2 : 0,9839) < *A. Adıyamanense* (Metanol) (IC_{50} : 14,22 $\mu\text{g/mL}$, r^2 : 0,9953) < Troloks (IC_{50} : 14,54 $\mu\text{g/mL}$, r^2 : 0,9622) < *A. Adıyamanense* (Etanol) (IC_{50} : 16,01 $\mu\text{g/mL}$, r^2 : 0,9351) < *A. Adıyamanense* (Su) (IC_{50} : 16,41 $\mu\text{g/mL}$, r^2 : 0,9788) < *A. Yeşilyurtense* (Metanol) (IC_{50} : 23,70 $\mu\text{g/mL}$, r^2 : 0,9807) < *A. Yeşilyurtense* (Etanol) (IC_{50} :

26,65 µg/mL, r^2 : 0,9078) < *A. Yeşilyurtense* (Su) (IC₅₀: 27,82 µg/mL, r^2 : 0,9524) olarak bulunmuştur.

Bu çalışmada, her iki bitkilerinin etanol, metanol ve su ekstraktlarının asetilkolinesteraz, alfa-glukozidaz ve bütirilkolinesteraz enzimlerinin inhibisyonu araştırılmış olup, sonuçlar Tablo 29 ve Tablo 30’da sunulmuştur.

Sonuç olarak, bu tez çalışmasında, (*A. Adıyamanense* (Su) *A. Yeşilyurtense* (Su) *A. Adıyamanense* (Metanol) *A. Yeşilyurtense* (Metanol) *A. Adıyamanense* (Etanol) *A. Yeşilyurtense* (Etanol) bitkilerinden elde edilen metanol ekstraktların antioksidan ve enzim aktiviteleri diğer iki ekstraktlara göre daha iyi sonuçlar tespit edildi. Elde edilen antioksidan sonuçlar sentetik antioksidanlar olan BHA, BHT, α -tokoferol ve Trolox ile karşılaştırıldı. Yapılan çalışmalarda bitki özlerinin etkili antioksidan aktivite gösterdiği görülmüştür. Örneklerimizin antioksidan aktivitesi genel olarak sentetik antioksidanlara yakın veya biraz düşük bulunmuştur.

A. Adıyamanense (Su) *A. Yeşilyurtense* (Su) *A. Adıyamanense* (Metanol) *A. Yeşilyurtense* (Metanol) *A. Adıyamanense* (Etanol) *A. Yeşilyurtense* (Etanol) ekstraktların asetilkolinesteraz, alfa-glukozidaz ve bütirilkolinesteraz enzimlerini iyi derecede inhibe ettiği bulunmuştur. Tez çalışmasından elde edilen sonuçlara dayanarak, *A. Adıyamanense* (Su) *A. Yeşilyurtense* (Su) *A. Adıyamanense* (Metanol) *A. Yeşilyurtense* (Metanol) *A. Adıyamanense* (Etanol) *A. Yeşilyurtense* (Etanol) gelecekte farmasötik uygulamalarda, ilaç üretiminde ve tasarımıyla kullanılabileceği ve doğal antioksidan kaynağı olarak hastaların diyet listesine eklenebileceği belirlenmiştir.

Elde edilen IC₅₀ değerleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, *A. adıyamanense* metanol ekstraktı ile *A. yeşilyurtense* su ekstraktı arasında anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Bu fark, her iki bitkinin farklı solventlerde çözünürlüğe sahip fenolik profillerine bağlanabilir.

Standard antioksidanlar olan BHA, BHT ve Trolox ile yapılan karşılaştırmalarda, her iki *Allium* türü ekstraktı da özellikle metanol çözücüsü ile anlamlı derecede yüksek antioksidan kapasite sergilemiştir. Örneğin, *A. adıyamanense* metanol ekstraktının ABTS yöntemi ile belirlenen radikal giderme kapasitesi, Trolox’un %87’si düzeyindedir.

Bu çalışmada elde edilen bulgular, Rosello-Soto ve ark. (2018) tarafından bildirilen *Allium* türlerinin yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu yönündeki sonuçlarla uyumludur. Ayrıca, Nuutila ve ark. (2003) da *Allium* cinsine ait metanol ekstraktlarının hem DPPH hem de ABTS yönteminde yüksek aktivite sergilediğini bildirmiştir.

Allium türlerinde bulunan flavonoidlerin enzim inhibitör etkileri, moleküler seviyede enzimin aktif bölgesine hidrojen bağları, van der Waals etkileşimleri ve π - π stacking yoluyla bağlanmalarından kaynaklanmaktadır. Bu mekanizmalar, AChE ve BChE enzimlerinin substrat bağlanmasını bloke ederek inhibitör etki yaratır.

Şekil 3.17’de görülen eğim profili, ekstraktların konsantrasyona bağlı olarak antioksidan etkilerinde lineer bir artış olduğunu göstermektedir. Bu durum, fenolik içerik miktarının doğrudan aktivite ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir.

Fenolik asitler hemen hemen tüm bitkilerde ve bitkisel kaynaklı besinlerde bulunur ve insan beslenmesinin önemli bir bölümünü oluştururlar. İnsan beslenmesinde fenolik asitlerin ortalama alımının, beslenme tercihlerine ve alışkanlıklarına bağlı olarak günde yaklaşık 200 mg olduğu bildirilmektedir. Fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesi aromatik halkaya bağlı hidroksil gruplarının pozisyonuna ve sayısına bağlıdır. Fenolik bileşiklerin ana yapısında farklı sübstituentlerin bulunması, onların antioksidan özelliklerini, özellikle hidrojenleme kapasitelerini değiştirmektedir. Genel olarak, fenol ikame edilmeden hidrojen verici olarak etkisizdir ve monofenol, polifenolden daha az etkili bir antioksidandır.

Ayrıca orto veya para pozisyonuna hidroksil grubu gibi elektron verici bir grubun eklenmesi fenol veya fenolik asidin antioksidan aktivitesini artırır. Son yıllarda fenolik asitler, meyve ve sebze tüketimiyle koroner kalp hastalığı, felç ve kanser gibi oksidatif hasara bağlı hastalıklara karşı koruyucu rol oynayabilme potansiyelleri nedeniyle bilim insanlarının dikkatini çekmektedir. Fenolik bileşikler ve polifenoller, özellikle son yıllarda tüketicilerin ilgisini çeken bir biyoaktif bileşik ailesidir. Bunlar, bitkiler aleminde bol miktarda bulunan, 8.000’den fazla farklı yapıya sahip maddeden oluşan aromatik sekonder metabolitlerdir.

Gıda örneklerinde düşük ve yüksek molekül ağırlıklı polifenollerin yapısal karakterizasyonu ve tayini için kütle spektrometrisi (LC-MS) veya tandem kütle spektrometrisi (LC-MS/MS) ile kullanılan sıvı kromatografisi en etkili tekniktir. Bu tür bileşiklerin basit matrislerinin LC

ile tayini yüksek çözünürlük ve uzun analiz süreleri gerektirmektedir. Ayrıca, hedef yüksek verimli analiz olduğunda bu durum bazen önemli bir sınırlama olabilir. Günümüzde kütle spektrometrisi (MS) ile LC-MS, gıda analizlerinde en yaygın kullanılan tekniklerden biri olup, polifenollerin tayinine yönelik çalışmaların sayısı artmaktadır.

Bu bağlamda, (*A. Adıyamanense* (Su) *A. Yeşilyurtense* (Su) *A. Adıyamanense* (Metanol) *A. Yeşilyurtense* (Metanol) *A. Adıyamanense* (Etanol) *A. Yeşilyurtense* (Etanol) ekstraktlarında fenolik bileşiklerin varlığı ve kantitatif miktarları HPLC kromatografi tekniği kullanılarak araştırılmıştır.

A. Adıyamanense ekstraktından HPLC kromatografisi ile belirlenen kromatografik yöntem sonucunda en çok bulunan üç fenolik bileşik Hyperoside (1985,05 mg/kg ekstrakt), kuersetin (435,99 mg/kg ekstrakt), ve Nepetin-7-glukozit (185,54 mg/kg ekstrakt) olarak belirlenirken, *A. Yeşilyurtense* bitkide en çok bulunan üç fenolik bileşik ise sırasıyla Hiperozit (169,25 mg/kg ekstrakt), Rosmarinik asit (33,53 mg/kg ekstrakt) ve p-kumarik asit (31,51 mg/kg ekstrakt) olarak bulunmuştur.

Sonuç olarak, bu tez kapsamında incelenen iki bitkilerin çeşitli antioksidan yöntemler kullanılarak orta düzeyde antioksidan aktivite gösterdiği gözlemlendi. Ayrıca HPLC kromatografi tekniği kullanılarak içeriğinde Hiperosid, Kuersetin, Nepetin-7-glikozit, Rozmarinik asit ve p-kumarik asit gibi fenolik ve antioksidan bileşiklerin bulunduğu belirlendi. Ayrıca kullanılan bitki ekstraktlarının asetilkolinesteraz, bütirilkinesteraz ve alfa-glukozidaz gibi bazı küresel hastalıklarla ilişkili enzimleri mikromolar düzeyde inhibe ettiği tespit edildi.

KAYNAKLAR

- Abotaleb, M., Samuel, S. M., Varghese, E., Varghese, S., Kubatka, P., Liskova, A., & Büsselberg, D. (2018). Flavonoids in cancer and apoptosis. *Cancers*, 11(1), 28.
- Adem, K. A. R. A. (2023). *Temel Moleküler Biyoloji*. Akademisyen Kitabevi.
- Ağbaş, B., Karakuş, D., Adıgüzel, R., Keser, S., & Demir, E. (2013). Tunceli sarımsağının (*Allium tuncelianum*) toplam antioksidan özelliklerinin ve kuru madde içeriğinin normal sarımsak (*Allium sativum*) ile karşılaştırılması. *Bilim ve Gençlik Dergisi*, 1(2), 50-62.
- Aktaş, A., Taslimi, P., Gülçin, İ., & Gök, Y. (2017). Novel NHC precursors: Synthesis, characterization, and carbonic anhydrase and acetylcholinesterase inhibitory properties. *Archiv der pharmazie*, 350(6), e201700045.
- Alp, H., Karakuş, A., Çelik, M., & Başarslan, S. (2012). Organofosfat Zehirlenmesinde Yeni Bir Tedavi Yaklaşımı: Fitoterapi. *The Medical Journal of Mustafa Kemal University*, 3(09), 8-16.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E. N., ve Altun, M. (2005). Total antioxidant capacity assay of human serum using copper (II)-neocuproine as chromogenic oxidant: The CUPRAC method. *Free Radical Research*, 39(9), 949-961.
- Atınç, M., ve Kalkan, İ. (2018). Flavonoidler ve sağlık üzerine etkileri. *Aydın Gastronomy*, 2(1), 31-38.
- Atik, İ., ve Dıraman, H. (2019). Yaygın Olarak Tüketilen *Allium* Türlerinin Öne Çıkan Özellikleri ve İnsan Sağlığına Etkileri. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, (21), 1-8.
- Ayvaz, G., Kan, E., ve Ayvaz, G. (2010). Tip 2 diabetes mellitus tedavisinde oral antidiyabetik ilaçlar. *Diyabet ve Obezite*, 8.
- Baek, S. C., Park, M. H., Ryu, H. W., Lee, J. P., Kang, M. G., Park, D., ... ve Kim, H. (2019). Rhamnocitrin isolated from *Prunus padus* var. *seoulensis*: A potent and selective reversible inhibitor of human monoamine oxidase A. *Bioorganic Chemistry*, 83, 317-325.
- Bestil, D. N., ve Uysal, H. (2023). Flavonoidler ve biyolojik aktiviteleri. *Antakya Veteriner Bilimleri Dergisi*, 2(1), 49-55.

- Bischoff, H. (1995). The mechanism of alpha-glucosidase inhibition in the management of diabetes. Clinical and investigative medicine. *Medecine clinique et experimentale*, 18(4), 303-311.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199–1200.
- Boots, A. W., Haenen, G. R., ve Bast, A. (2008). Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. *European journal of pharmacology*, 585(2-3), 325-337.
- Cao, X., Guo, X., Fang, X., Ru, S., ve Li, E. (2022). Effects of poncirin, a citrus flavonoid and its aglycone, isosakuranetin, on the gut microbial diversity and metabolomics in mice. *Molecules*, 27(11), 3641.
- Chatonnet, A., ve Lockridge, O. (1989). Comparison of butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase. *Biochemical Journal*, 260(3), 625.
- De Souza Vandenberghe, L. P., vd., (2020). Classification of enzymes and catalytic properties. In Biomass, Biofuels, *Biochemicals* (pp. 11–30). Elsevier.
- Demir, T., ve Akpınar, Ö. (2020). Bitkilerde bulunan fitokimyasalların biyolojik aktiviteleri. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 8(8), 1734-1746.
- Demir, Z., ve Türkan, F. (2022). Asetilkolinesteraz ve Bütirilkolinesteraz enzimlerinin Alzheimer hastalığı ile ilişkisi. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 12(4), 2386–2395.
- Deng, Y., Li, C., Li, H., ve Lu, S. (2018). Identification and characterization of flavonoid biosynthetic enzyme genes in *Salvia miltiorrhiza* (Lamiaceae). *Molecules*, 23(6), 1467.
- Eed, J. (2012). Factors affecting enzyme activity. *Essai*, 10(1), 19.
- Ekşi, G., Özkan, A. M. G., ve Koyuncu, M. (2020). Garlic and onions: An eastern tale. *Journal of Ethnopharmacology*, 112675.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., ve Feather-Stone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2), 88–95.
- Emir, A., ve Emir, C. (2020). Chemical profiles and biological properties of methanol extracts of *Allium pallens* L. from different localities in Turkey. *Archives of Biological Sciences*, 72(2), 193-201.

- Erdogan, A., ve Karatas, H. (2023). Yeşil sarımsakta fenolik madde ekstraksiyonu. *Gıda ve Kimya Dergisi*.
- Ganeshpurkar, A., ve Saluja, A. K. (2017). The pharmacological potential of rutin. *Saudi pharmaceutical journal*, 25(2), 149-164.
- Gao, F., Zhao, Y., Zhang, B., Xiao, C., Sun, Z., Gao, Y., ve Dou, X. (2024). Orientin alleviates ox-LDL-induced oxidative stress, inflammation and apoptosis in human vascular endothelial cells by regulating Sestrin 1 (SESN1)-mediated autophagy. *Journal of Molecular Histology*, 55(1), 109-120.
- Gilson, M. K., vd., (1994). Open “back door” in a molecular dynamics simulation of acetylcholinesterase. *Science*, 263(5151), 1276–1278.
- Göç, Ö. (2024). Naringin ve Naringenin’in Kardiyovasküler Hastalıklar Üzerindeki Antioksidan Özelliği Moleküler Docking. *Mehes Journal*, 2(2), 58-65.
- Gözükara, E. M. (1989). Biyokimya. *Ofset Repromat Ltd. Şti*.
- Gülçin, İ. (2006). Antioxidant activity of caffeic acid (3, 4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*, 217(2-3), 213-220.
- Halfon, B., Ciftci, E., ve Topcu, G. Ü. L. A. Ç. T. I. (2013). Flavonoid constituents of *Sideritis caesarea*. *Turkish Journal of Chemistry*, 37(3), 464-472.
- Himo, F. (2006). Quantum chemical modeling of enzyme active sites and reaction mechanisms. *Theoretical Chemistry Accounts*, 116(1), 232-240.
- İzol, E. (2016). *Bazı Allium (Yabani Sarımsak) Türlerinin Aflatoksin, Ağır Metal ve Sekonder Metabolit İçeriklerinin ICP-MS ve LC-MS/MS İle Belirlenmesi ve Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi. DÜ Fen Bil. Ens., Kimya ABD* (Doctoral dissertation, Yüksek Lisans Tezi).
- Jain, S., ve Vaidya, A. (2023). Comprehensive review on pharmacological effects and mechanism of actions of taxifolin: A bioactive flavonoid. *Pharmacological Research-Modern Chinese Medicine*, 7, 100240.
- Kahraman, A., Serteser, M., ve Koken, T. (2002). Flavonoidler. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 3(1).
- Karabulut, H., ve Gülay, M. Ş. (2016). Antioksidanlar. *Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University*, 1(1), 65-76.

- Karakaya, S., ve El, S. N. (1997). Flavonoidler ve sağlık. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 26(2), 54-60.
- Kasapçopur Özel, G. S., & Birdane, Y. O. (2014). Antioksidanlar.
- Keha, E. E., ve Küfrevioğlu, Ö. İ. (2004). Biyokimya. *Aktif Yayınevi*.
- Kaya, E. (2014). Türkiye geofitleri Cilt 1. *Atatürk Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü* Yayın No. 96, Yalova.
- Kır, E., ve Yünlü, S. (2016). Soğan (*Allium cepa*) ve sarımsaktaki (*Allium sativum*) bazı fenolik bileşiklerin HPLC yöntemiyle tayin edilmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 20(3), 566–574.
- Kısa, D., Kaya, Z., İmamoğlu, R., Genc, N., Taslimi, P., ve Taskin-Tok, T. (2022). Assessment of antimicrobial and enzymes inhibition effects of *Allium kastambulense* with in silico studies: Analysis of its phenolic compounds and flavonoid contents. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(6), 103810.
- Knowles, T. P., Vendruscolo, M., ve Dobson, C. M. (2014). The amyloid state and its association with protein misfolding diseases. *Nature reviews Molecular cell biology*, 15(6), 384-396.
- Koçancı, F. G., ve Aslım, B. (2016). Structure and functions of acetylcholinesterase and acetylcholinesterase inhibitory activity of plants. *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences*, 6(1), 19–35.
- Kolaç, T., Gürbüz, P., ve Yetiş, G. (2017). Doğal ürünlerin fenolik içeriği ve antioksidan özellikleri. *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Dergisi*, 5(1), 26–42.
- Lanzotti, V. (2012). Bioactive polar natural compounds from garlic and onions. *Phytochemistry Reviews*, 11, 179-196.
- Lee, J., ve Scagel, C. F. (2009). Chicoric acid found in basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. *Food Chemistry*, 115(2), 650-656.
- Lee, H. S., Lee, I. H., Kang, K., Park, S. I., Jung, M., Yang, S. G., ... ve Lee, D. Y. (2021). A comprehensive understanding of the anticancer mechanisms of FDY2004 against cervical cancer based on network pharmacology. *Natural Product Communications*, 16(3), 1934578X211004304.
- Lehninger, A. L. (1993). *Principles of Biochemistry* (2. baskı). Worth Publishers Inc.

- Li, D., Xu, J., Chang, J., Wang, Y., Du, X., Wu, H., ... ve Chen, Y. (2023). Hyperoside protects against oxidative stress-mediated photoreceptor degeneration: therapeutic potentials for photoreceptor degenerative diseases. *Journal of Translational Medicine*, 21(1), 569.
- Lineweaver, H., ve Burk, D. (1934). The determination of enzyme dissociation constants. *Journal of the American Chemical Society*, 56(3), 658–666.
- Lockridge, O. (2015). Review of human butyrylcholinesterase structure, function, genetic variants, history of use in the clinic, and potential therapeutic uses. *Pharmacology ve therapeutics*, 148, 34-46.
- López-Lázaro, M. (2009). Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 9(1), 31-59.
- Mahmoud, A. M., Sayed, A. M., Ahmed, O. S., Abdel-Daim, M. M., ve Hassanein, E. H. (2022). The role of flavonoids in inhibiting IL-6 and inflammatory arthritis. *Current topics in medicinal chemistry*, 22(9), 746-768.
- Maral Beşlioğlu, M. (2023). *Yunus Çiklit (Cyrtocara Moorii Boulenger, 1902) Balıklarını Erkek Bal Arısı Larvası (Apilarnil) ile Beslemenin Yumurta Verimi ve Larval Gelişime Etkisinin Araştırılması* (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- McDonald, A. G., ve Tipton, K. F. (2023). Enzyme nomenclature and classification: the state of the art. *The FEBS journal*, 290(9), 2214-2231.
- Minic, J., Chatonnet, A., Krejci, E., ve Molgó, J. (2003). Butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase activity and quantal transmitter release at normal and acetylcholinesterase knockout mouse neuromuscular junctions. *British journal of pharmacology*, 138(1), 177-187.
- Nelson, D. L., ve Cox, M. M. (2004). *Lehninger Principles of Biochemistry* (4. baskı). W. H. Freeman.
- Nobre, A. C., Rao, A., ve Owen, G. N. (2008). L-theanine, a natural constituent in tea, and its effect on mental state. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, 17.
- Nuutila, A. M., Puupponen-Pimiä, R., Aarni, M., ve Oksman-Caldentey, K. M. (2003). Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity. *Food chemistry*, 81(4), 485-493.
- Ong, K. C., ve Khoo, H. E. (1997). Biological effects of myricetin. *General pharmacology: The vascular system*, 29(2), 121-126.

- Osman, W. J., Mothana, R. A., Basudan, O., Mohammed, M. S., ve Mohamed, M. S. (2014). Antibacterial effect and radical scavenging activity of hispidulin and nepetin; a two flvaones from *Tarconanthus camphoratus* L. *World Journal of pharmaceutical research*, 4(1), 424-433.
- Öğüt, S. (2014). Doğal antioksidanların önemi. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 11(1), 25–30.
- Özhatay, N., ve Kandemir, A. (2014). *Allium erzincanicum* sect. *Allium*: Doğu Anadolu Bölgesi 'nden yeni bir Soğan *Allium* L. türü. *Bağbahçe Bilim Dergisi*, 1(2), 50-58.
- Öztaskın, N., Taslimi, P., Maraş, A., Gülcin, İ., & Göksu, S. (2017). Novel antioxidant bromophenols with acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase and carbonic anhydrase inhibitory actions. *Bioorganic chemistry*, 74, 104-114.
- Pandey, K. B., ve Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2(5), 270-278.
- Parham Taslimi. (2017). *Olivetol'un antioksidan kapasitesinin belirlenmesi ve bazı metabolik enzimler üzerinde inhibisyon etkilerinin incelenmesi* [Doktora tezi, Atatürk Üniversitesi].
- Paşa, S. (2017). DNA Interactions of Polymerized Schiff Base Ligand and Its Complexes Obtained from Naringenin. *Karaelmas Science ve Engineering Journal/Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, 7(2).
- Pei, K., Ou, J., Huang, J., ve Ou, S. (2016). p-Coumaric acid and its conjugates: dietary sources, pharmacokinetic properties and biological activities. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(9), 2952-2962.
- Petersen, M., ve Simmonds, M. S. (2003). Rosmarinic acid. *Phytochemistry*, 62(2), 121-125.
- Poojary, M. M., Putnik, P., Kovačević, D. B., Barba, F. J., Lorenzo, J. M., Dias, D. A., ve Shpigelman, A. (2017). Stability and extraction of bioactive sulfur compounds from *Allium* genus processed by traditional and innovative technologies. *Journal of Food Composition and Analysis*, 61, 28–39.
- Rainsford, K. D. (2004). Aspirin and related drugs. *CRC Press*.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., ve Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237.

- Rosello-Soto, E., Barba, F. J., Putnik, P., Bursac Kovacevic, D., Lorenzo, J. M., ve Cantavella-Ferrero, Y. (2018). Enhancing bioactive antioxidants' extraction from "Horchata de Chufa" by-products. *Foods*, 7(10).
- Sadasivam, K., ve Kumaresan, R. (2011). A comparative DFT study on the antioxidant activity of apigenin and scutellarein flavonoid compounds. *Molecular Physics*, 109(6), 839-852.
- Saljoughian, S., Roohinejad, S., Bekhit, A. E.-D. A., Greiner, R., Omidizadeh, A., Nikmaram, N., ve Mousavi Khaneghah, A. (2017). The effects of food essential oils on cardiovascular diseases: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-18.
- Seeram, N. P., Aronson, W. J., Zhang, Y., Henning, S. M., Moro, A., Lee, R. P., ... & Heber, D. (2007). Pomegranate ellagitannin-derived metabolites inhibit prostate cancer growth and localize to the mouse prostate gland. *J. of Agricultural and food chemistry*, 55(19), 7732-7737.
- Segel, I. H. (1968). *Biochemical Calculations: Enzyme Kinetics*. John Wiley and Sons.
- Semerci, A. B. (2018). *Allium scodoprasum subsp. rotundum, Allium staticiforme ve Allium subhirsutum türlerinin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin araştırılması* (Master's thesis, Sakarya Üniversitesi (Turkey)).
- Shukla, S., ve Gupta, S. (2010). Apigenin: a promising molecule for cancer prevention. *Pharmaceutical research*, 27, 962-978.
- Stagos, D., Soulitsiotis, N., Tsadila, C., Papaeconomou, S., Arvanitis, C., Ntontos, A., ... ve Mossialos, D. (2018). Antibacterial and antioxidant activity of different types of honey derived from Mount Olympus in Greece. *International journal of molecular medicine*, 42(2), 726-734.
- Şelem, E., Nohutçu, L., Tunçtürk, R., ve Tunçtürk, M. (2020). Geleneksel otlı peynirde kullanılan allium türleri. *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*, 9(2), 312-326.
- Tang, D., Zhang, Q., Duan, H., Ye, X., Liu, J., Peng, W., ve Wu, C. (2022). Polydatin: a critical promising natural agent for liver protection via antioxidative stress. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022(1), 9218738.
- Tanwar, B., ve Modgil, R. (2012). Flavonoids: Dietary occurrence and health benefits. *Spatula Dd*, 2(1), 59-68.
- Taşdelen, G. (2013). *Onopordum anatolicum (Boiss.) Boiss. ve Heldr. ex Eig endemik türünün antioksidan aktivitesi, antibakteriyal ve sitotoksik etkilerinin*

araştırılması [Yüksek lisans tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü].

- Taslimi, P., Caglayan, C., ve Gülçin, İ. (2017). The impact of some natural phenolic compounds on carbonic anhydrase, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, and α -glycosidase enzymes: An antidiabetic, anticholinergic, and antiepileptic study. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 31(12), e21995.
- Taslimi, P., ve Gülçin, İ. (2017). Antidiabetic potential: In vitro inhibition effects of some natural phenolic compounds on α -glycosidase and α -amylase enzymes. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 31(10), e21956.
- Tunçtürk, M., ve Tunçtürk, R. (2020). Van otlı peyniri ve yapımında kullanılan bitkiler ile ilgili genel bir değerlendirme. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 238–244.
- Tzafiriri, A. R. (2003). Michaelis-Menten kinetics at high enzyme concentrations. *Bulletin of mathematical biology*, 65(6), 1111-1129.
- Uysal, H. R., ve Tekyigit, A. (2023). Kimi sebzelerle üretilen set yoğurtların bazı özellikleri üzerine bir araştırma. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 60(2), 277-289.
- Wallace, T. C. (2011). Anthocyanins in cardiovascular disease. *Advances in nutrition*, 2(1), 1-7.
- Warshel, A. (2014). Multiscale modeling of biological functions: From enzymes to molecular machines (Nobel Lecture). *Angewandte Chemie International Edition*, 53(38), 10020–10031.
- Yagi, S., Nilofar, Zengin, G., Yildiztugay, E., Caprioli, G., Piatti, D., ... ve Maggi, F. (2023). Exploring for HPLC-MS/MS Profiles and Biological Activities of Different Extracts from *Allium lycaonicum* Siehe ex Hayek from Turkey Flora. *Foods*, 12(24), 4507.
- Yavaşer, R. (2011). Doğal ve sentetik antioksidan bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması. *Adnan Mendere Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Kimya, Yüksek Lisans*.
- Yıldırım, Ş., Kılıç Ö., A New Species, *Allium adiyamanense* From Turkey, *Ot Sistematik Botanik Dergisi*, 26, 1, 33-39, 2019.
- Yıldırım, Ş., Kılıç Ö., 2021. Some new combinations, synonyms and a new name. *The Herb J. of Botany*. 28, 1-2, 141-148.
- Yıldırım, Ş., ve Kılıç, Ö. (2022). Contributions to the flora of Çelikhan district (Adıyaman). *Adıyaman University Journal of Science*, 12(2), 203–229.

Zhao, Y., Wang, S., Pan, J., ve Ma, K. (2023). Verbascoside: A neuroprotective phenylethanoid glycosides with anti-depressive properties. *Phytomedicine*, 120, 155027.

URL-1 (2023) Kew Science. *Allium adiyamanense* Kılıç ve Yıldırım. <https://powo.science.kew.org/taxon/77195099-1>

URL-2 (2023) Kew Science. *Allium yeşilyurtense* Kılıç ve Yıldırım. <https://powo.science.kew.org/taxon/77297406-1>



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı :

Doğum Yeri ve Tarihi :

Eğitim Durumu

Lisans Öğrenimi :

Yüksek Lisans Öğrenimi :

Bildiği Yabancı Dilleri :

Bilimsel Faaliyet/Yayınlar :

Aldığı Ödüller :

İş Deneyimi

Stajlar :

Çalıştığı Kurumlar :



Projeler :

Kurs :

Seminer :

