



T.C
AKSARAY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***ASYNEUMA LINIFOLIUM* SUBSP. *EXIMIUM* BİTKİSİNİN**
FİTOKİMYASAL BİLEŞİMİ VE BAZI BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Furkan ZAMBAK

Danışman

Prof. Dr. Yavuz Selim ÇAKMAK

AKSARAY, 2023

Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 202330405 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi Furkan ZAMBAK tarafından hazırlanan “**ASYNEUMA LINIFOLIUM SUBSP. EXIMIUM**” BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL BİLEŞİMİ VE BAZI BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile BİYOTEKNOLOJİ VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Yavuz Selim ÇAKMAK

Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.....

Üye: Prof. Dr. Prof. Dr. Abdurrahman AKTÜMSEK

Selçuk Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.....

Üye: Doç. Dr. Neslihan TEKİN KARACAER

Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.....

Tez Savunma Tarihi: 22/09/2023

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Prof. Dr. Mehmet Ali HINIS

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

DOĞRULUK BEYANI

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, akademik kurallara ve bilimsel etik, ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın yazdığımı, yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu, çalışmamda kullandığım verilerin orijinalliğini ve her türlü intihalden uzak olduğunu beyan ederim.

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

Furkan ZAMBAK

TEŞEKKÜR

Tez çalışmasının gerçekleştirilmesinde ve deneysel çalışmaların sonuçlandırılmasında önemli rolü olan, verdiği destek ve gösterdiği yol ile tezin sonuca ulaşmasında büyük katkısı olan saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Yavuz Selim ÇAKMAK ve ailesine çok büyük minnetlerimi ve teşekkürlerimi iletirim. Laboratuvar çalışmaları ve sonuçların değerlendirilmesi sürecinde desteğini ve tecrübesini esirgemeyen Selçuk Üniversitesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Gökhan ZENGİN'e minnetlerimi sunarım. Tez çalışma bitkisi olan bitki türünün tanımlanmasında destek olan Aksaray Üniversitesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Mehtap TEKŞEN'e teşekkür ederim. Her zaman ve her konuda maddi ve manevi olarak beni destekleyip yanımda oldukları için AİLEM'e sonsuz teşekkür ederim. Tezimin sonuca ulaşmasında bana yardımcı olan ve destekleyen bütün ekip arkadaşlarıma ve herkese en içtenlikle teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma 1002-A Hızlı Destek Programı kapsamında 222Z158 kodu ile TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

Furkan ZAMBAK

AKSARAY, 2023

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	iii
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
2.1 <i>Asyneuma linifolium</i> subsp. <i>eximium</i>	3
2.2 Serbest Radikaller	4
2.2.1 Hidroksil radikali (·OH)	5
2.2.2 Nitrik oksit (NO·)	6
2.2.3 Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂).....	6
2.3 Oksidatif Sitres.....	6
2.4 Antioksidanlar	8
2.4.1 Antioksidanların sınıflandırılması.....	9
2.4.2 Enzimatik antioksidanlar.....	11
2.4.2.1 Birincil antioksidanlar	11
2.4.2.2 İkincil antioksidanlar.....	12
2.4.3 Enzimatik olmayan antioksidanlar	13
2.4.3.1 Mineraller	13
2.4.3.2 Vitaminler	13
2.4.3.3 Karotenoidler	14
2.4.3.4 Polifenoller.....	14
2.4.4 Reaktivitelerine göre dört savunma hattı	15
2.4.4.1 İlk savunma hattı	15
2.4.4.2 İkincil savunma hattı	15
2.4.4.3 Üçüncü savunma hattı	16
2.4.4.4 Dördüncü savunma hattı	16
2.5 Fitokimyasallar.....	16
2.5.1 Sekonder metabolitler	18
2.5.1.1 Fenolikler	18
2.5.1.2 Terpenler	19
2.5.1.3 Alkaloidler	20
2.5.2 Fitokimyasal bileşiklerin canlıdaki etkileri.....	21
2.5.2.1 Antioksidan etki	21
2.5.2.2 Antiinflamatuvar etki	21
2.5.2.3 Antidiyabetik etki.....	22
2.5.2.4 Antikarsinojenik etki.....	23
2.5.2.5 Antiviral etki	23
2.6 Enzim inhibisyonu	23
2.7 Alzheimer Hastalığı	26
2.8 Diabetes Mellitus	27
2.9 Hiperpigmentasyon	28
2.9.1 Epidermal melanoz	30
2.9.2 Dermal melanoz	30

2.9.3 Karışık tip.....	30
3. MATERYAL VE METOD.....	31
3.1 Bitki Materyali	31
3.2 Bitki Özütlerinin Elde Edilmesi	31
3.3 Antioksidan Aktive Metotları	31
3.3.1 Toplam fenolik içerik.....	31
3.3.2 Toplam flavonoid içerik.....	32
3.3.3 DPPH serbest radikal giderme aktivitesi	32
3.3.4 ABTS radikal süpürme aktivitesi	33
3.3.5 Demir indirgeme antioksidan gücü (FRAP)	33
3.3.6 Bakır iyonları indirgeme aktivitesi (CUPRAC).....	33
3.3.7 Toplam antioksidan kapasite (PBD)	34
3.3.8 Metal şelatlama aktivitesi.....	34
3.4 Enzim İnhibisyon Testleri	34
3.4.1 Kolinesteraz inhibisyonu.....	34
3.4.2 Alfa-amilaz inhibisyonu.....	35
3.4.3 Alfa-glukozidaz inhibisyonu.....	35
3.4.4 Tirozinaz inhibisyonu	35
3.5 Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi-Diyot Dizisi Tespiti (HPLC-DAD)	36
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	37
4.1 Antioksidan Kapasite Bulguları	37
4.1.1 <i>Asyneuma linifolium</i> subsp. <i>eximium</i> toplam fenolik içeriği	38
4.1.1.1 Fenolik bileşiklerin sağlık üzerine etkileri	39
4.1.1.2 Sonuçların değerlendirilmesi ve yapılan çalışmalar (TPC)	39
4.1.2 <i>Asyneuma linifolium</i> subsp. <i>eximium</i> toplam flavonoid içeriği	41
4.1.2.1 Sonuçların değerlendirilmesi ve yapılan çalışmalar (TFC)	41
4.1.3 <i>Asyneuma linifolium</i> subsp. <i>eximium</i> DPPH aktivitesi	43
4.1.3.1 Sonuçların değerlendirilmesi ve yapılan çalışmalar (DPPH).....	44
4.1.4 <i>Asyneuma linifolium</i> subsp. <i>eximium</i> ABTS aktivitesi	46
4.1.4.1 ABTS yönteminin avantajları	46
4.1.4.2 ABTS yönteminin dezavantajları	46
4.1.4.3 Sonuçların değerlendirilmesi ve yapılan çalışmalar (ABTS).....	47
4.1.5 <i>Asyneuma linifolium</i> subsp. <i>eximium</i> FRAP indirgeme gücü	48
4.1.5.1 FRAP yöntemi avantaj ve dezavantajları	49
4.1.5.2 Sonuçların değerlendirilmesi ve yapılan çalışmalar (FRAP).....	49
4.1.6 <i>Asyneuma linifolium</i> subsp. <i>eximium</i> CUPRAC indirgeme gücü	50
4.1.6.1 Sonuçların değerlendirilmesi ve yapılan çalışmalar CUPRAC	51
4.1.7 <i>Asyneuma linifolium</i> subsp. <i>eximium</i> PBD aktivitesi.....	52
4.1.7.1 Sonuçların değerlendirilmesi ve yapılan çalışmalar (PBD)	53
4.1.8 <i>Asyneuma linifolium</i> subsp. <i>eximium</i> MCA aktivitesi	54
4.1.8.1 Sonuçların değerlendirilmesi ve yapılan çalışmalar (MCA).....	55
4.2 Enzim İnhibisyon Test Bulguları	57
4.2.1 Kolinesteraz inhibisyonu.....	57
4.2.1.1 <i>Asyneuma linifolium</i> subsp. <i>eximium</i> bitkisinin AChE inhibisyonu	58
4.2.1.2 Sonuçların değerlendirilmesi ve yapılan çalışmalar (AChE).....	59
4.2.1.3 <i>Asyneuma linifolium</i> subsp. <i>eximium</i> bitkisinin BChE inhibisyonu	61
4.2.1.4 Sonuçların değerlendirilmesi ve yapılan çalışmalar (BChE)	61
4.2.2 <i>Asyneuma linifolium</i> subsp. <i>eximium</i> α -amilaz -glukozidaz inhibisyonu...63	
4.2.2.1 Sonuçların değerlendirilmesi ve yapılan çalışmalar (α -amilaz).....	63

4.2.2.2 Sonuçların değerlendirilmesi ve yapılan çalışmalar (α -glukozidaz)....	65
4.2.3 <i>Asyneuma linifolium subsp. eximium</i> bitkisinin tirozinaz inhibisyonu	67
4.2.3.1 Sonuçların değerlendirilmesi ve yapılan çalışmalar (Tirozinaz)	67
4.3 Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi-Diyot Dizisi Tespiti (HPLC-DAD)	69
4.3.1 Epikateşin.....	69
4.3.2 Gallik asit	71
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	72
KAYNAKLAR	72
ÖZGEÇMİŞ.....	89



YÜKSEK LİSANS TEZİ

ASYNEUMA LINIFOLIUM SUBSP. EXIMIUM BİTKİSİNİ FİTOKİMYASAL BİLEŞİMİ VE BAZI BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Furkan ZAMBAK

**Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü**

Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof.Dr. Yavuz Selim ÇAKMAK

ÖZET

Bitkilerin tedavi amacıyla kullanımı oldukça eski zamanlara kadar dayanmaktadır. Geleneksel tıp alanında birçok hastalığın tedavisinde bitkinin kendisinin ve ürünlerin kullanımı geçmişten günümüze neredeyse bütün toplumlarda oldukça yaygındır. Bunun nedenlerin baktığımızda sentetik ilaçların geliştirilmesinin uzun yıllar sürmesi, yüksek maliyetleri ve tedavi etkileri yanında zararlı etkilere sahip olmaları sayılabilir. Bununla birlikte gelişmiş toplumlarda dahil olmak üzere hastalıkların tedavisinde bitkisel ürünler popülaritesini korumaktadır. Ülkemizde tıbbi amaçlarla kullanılan bitki türleri ve bunlarla ilgili çalışmalar olmasına rağmen hala çalışılmamış, keşfedilmemiş ve etkileri belirlenmemiş bitkiler bulunmaktadır. Bu çalışmada yayılış gösterdiği alanda geleneksel tıpta kullanılan, Akdeniz ve Karasal iklimin etkilerinin birlikte görüldüğü özel bir alan olan Adana ilinin kırsal kesimlerinden toplanan *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium* türünün fitokimyasal bileşimi ve biyolojik aktiviteleri belirlenerek bitkinin ilaç sektöründeki potansiyeli hakkında bilgi edinilmek amaçlanmıştır. Fitokimyasal bileşimi belirlemek için özütlerinin toplam fenolik ve flavonoid içerikleri araştırılmış ve fenolik içerikleri metanol ve etil asetat özütlerinde sırasıyla 16.34 ve 18.44 mg GAE/g özüt olarak ve toplam flavonoid içerik metanol ve etil asetat özütlerinde sırasıyla 18.94 ve 14.00 mg RE/g özüt olarak bulunmuştur. Bunun yanında DPPH ve ABTS radikal giderme aktiviteleri, bakır (CUPRAC) ve demir (FRAP) indirgeme güçleri, metal şelatlama ve toplam antioksidan kapasite testleri uygulanmış ve CUPRAC, fosfomolibdat ve metal şelatlama testlerinde etil asetat özütleri yüksek aktivite gösterirken diğer metotlarda metanol özütü daha aktif bulunmuştur. Ayrıca asetilkolin esterase, bütirilkolin esterase, glukozidaz amilaz ve tirozinaz enzimleri için inhibisyon aktiviteleri incelenerek glukozidaz hariç diğer enzimlerde en yüksek inhibisyon etil asetat özütünde belirlenmiştir. Eldeki bulgular ışığında araştırılan bitkinin özütlerinin önemli antioksidan ve enzim inhibisyon kaynakları olduğu belirlenmiş ve bitkinin farmakoloji endüstrisi açısından etkili kaynak olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Enzim İnhibisyonu, Farmakoloji, Geleneksel Tedavi

Eylül, 2023; 89 sayfa

M.Sc. THESIS

THESIS *ASYNEUMA LINIFOLIUM* SUBSP. *EXIMIUM* DETERMINATION OF PHOTOCHEMICAL COMPOSITION AND SOME BIOLOGICAL ACTIVITIES OF *EXIMIUM* PLANT

Furkan ZAMBAK

Aksaray University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biotechnology and Molecular Biology

Supervisor: Prof. Dr. Yavuz Selim ÇAKMAK

ABSTRACT

The use of plants for therapeutic purposes dates back to ancient times. The use of the plant itself and its products in the treatment of many diseases in the field of traditional medicine is quite common in almost all societies from past to present. When we look at the reasons for this, it can be considered that the development of synthetic drugs takes many years, their high cost and harmful effects as well as treatment effects. However, herbal products maintain their popularity in the treatment of diseases, including in developed societies. Although there are plant species used for medicinal purposes in our country and there are studies related to them, there are still plants that have not been studied, discovered and their effects have not been determined. In this study, *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium*. It is aimed to obtain information about the potential of the plant in the pharmaceutical industry by determining the phytochemical composition and biological activities of the *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium*. The total phenolic and flavonoid contents of the extracts were investigated to determine the phytochemical composition, and the phenolic contents were found as 16.34 and 18.44 mg GAE/g extracts in the methanol and ethyl acetate extracts, respectively, and the total flavonoid content as 18.94 and 14.00 mg RE/g extracts in the methanol and ethyl acetate extracts, respectively. In addition, DPPH and ABTS radical scavenging activities, copper (CUPRAC) and iron (FRAP) reducing powers, metal chelation and total antioxidant capacity tests were applied, and ethyl acetate extracts showed high activity in CUPRAC, phosphomolybdate and metal chelating tests, while methanol extract was found to be more active in other methods. In addition, inhibition activities for acetylcholine esterase, butyrylcholine esterase, glucosidase amylase and tyrosinase enzymes were examined and the highest inhibition was determined in ethyl acetate extract for other enzymes except glucosidase. In the light of the available findings, it has been determined that the extracts of the investigated plant are important sources of antioxidant and enzyme inhibition, and it is thought that the plant may be an effective source for the pharmacology industry.

Keywords: Enzyme Inhibition, Pharmacology, Traditional Therapy

September, 2023; 89 page

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>Asyneuma linifolium</i> subsp. <i>eximium</i>	4
Şekil 2.2. Antioksidanların sınıflandırılması.	10
Şekil 2.3. Gıdalarda birincil ve ikincil antioksidanların temsili reaksiyonu.....	11
Şekil 2.4. Melanin sınıflandırması	29
Şekil 4.1. Antioksidan aktivite (IC ₅₀) konsantrasyonları ve grafiği	38
Şekil 4.2. Toplam fenolik içeriği grafiği.....	40
Şekil 4.3. Toplam flavanoid içeriği grafiği.....	43
Şekil 4.4. DPPH ve indirgenmiş DPPH.....	44
Şekil 4.5. DPPH serbest radikal giderme aktivitesi grafiği	45
Şekil 4.6. ABTS testi sonuç grafiği	48
Şekil 4.7. FRAP testi sonuç grafiği.....	50
Şekil 4.8. CUPRAC testi sonuçları grafiği.	52
Şekil 4.9. Toplam antioksidan kapasite sonuç grafiği	53
Şekil 4.10. Metal şelatlama testi sonuç grafiği	56
Şekil 4.11. Enzim inhibisyonu IC ₅₀ konsantrasyonları grafiği	58
Şekil 4.12. AChE inhibisyon sonuç grafiği.	60
Şekil 4.13. BChE inhibisyon sonuç grafiği.....	62
Şekil 4.14. Alfa-amilaz inhibisyonu sonuç grafiği	64
Şekil 4.15. Alfa-glukozidaz inhibisyonu sonuç grafiği	66
Şekil 4.16. Tirozinaz inhibisyonu sonuç grafiği	68
Şekil 4.17. Epikateşin'in kimyasal yapısı	70
Şekil 4.18. Gallik asit'in kimyasal yapısı	71

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1.	<i>Asyneuma linifolium</i> subsp. <i>eximium</i> 'un sistematik sınıflandırması.	4
Çizelge 2.2.	Reaktif türleri.....	8
Çizelge 2.3.	Serbest radikaller ve oksidatif stresin sağlık üzerine etkileri	8
Çizelge 4.1.	Antioksidan aktivite(IC ₅₀ mg/ml) konsantrasyon sonuçları.....	37
Çizelge 4.2.	Toplam fenolik içerik analiz sonuçları	39
Çizelge 4.3.	Toplam flavanoid içerik sonuçları	42
Çizelge 4.4.	DPPH testi sonuçları.....	44
Çizelge 4.5.	ABTS testi sonuçları.....	47
Çizelge 4.6.	FRAP testi sonuçları.....	49
Çizelge 4.7.	CUPRAC testi sonuçları.....	52
Çizelge 4.8.	Toplam antioksidan kapasite sonuçları.....	53
Çizelge 4.9.	Metal şelatlama testi sonuçları	55
Çizelge 4.10.	Enzim inhibisyonu IC ₅₀ testi sonuçları	57
Çizelge 4.11.	AChE inhibisyonu testi sonuçları	59
Çizelge 4.12.	BChE inhibisyonu testi sonuçları	62
Çizelge 4.13.	Alfa-amilaz inhibisyonu testi sonuçları	64
Çizelge 4.14.	Alfa-glukozidaz inhibisyonu sonuçları.....	65
Çizelge 4.15.	Tirozinaz inhibisyon testi sonuçları	68
Çizelge 4.16.	HPLC sonuçları	70

SİMGELER VE KISALTMALAR

AAE	Askorbik asit eşdeğeri
ABA	Absisik asit
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ABTS	2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolin-6-sulfonat)
ACAE	Akarboz eşdeğeri
ACh	Asetilkolin
AChE	Asetilkolinesteraz
AD	Alzheimer's disease -Alzheimer hastalığı
AlCl₃	Alüminyum klorür
A.s.y.m	<i>Asyneuma linifolium</i> subsp. <i>eximium</i> metanol özütü
A.s.y.e.a	<i>Asyneuma linifolium</i> subsp. <i>eximium</i> etil asetat özütü
As.y.s	<i>Asyneuma linifolium</i> subsp. <i>eximium</i> su özütü
BChE	Bütirilkolinesteraz
BHA	Bütillenmiş hidroksilanizol
BHT	Bütillenmiş hidroksitoluen
BuOH	Bütanol
CA	Citric acid- Sitrik asit
CAT	Katalaz
ChE	Kolinesteraz
Cm	Santimetre
CNS	Central nervous system- Merkezi sinirde sistemi
Cu	Bakır
CUPRAC	Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasite
DAD	Diode array detection- Diyot dizisi tespiti
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
DTNB	5,5'-Dithiobis (2-nitrobenzoic acid)
E	Enzim
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
EI	Enzim-inhibitör kompleksi
ES	Enzim substratı
FCR	Folin-Ciocalteu Reaktifi
FDA	Food and Drug Administration- Gıda ve İlaç İdaresi
Fe	Demir
FeCl₂	Demir (II) Klorür
FRAP	Demir iyonu indirgeyici antioksidan güç
GA	Gallik asit
GAE	Gallik asit eşdeğeri
GALAE	Galantamine eşdeğeri
GPx	Glutasyon peroksidaz
GRd	Glutasyon redüktaz
GSH	Glutasyon
H	Hidrojen
H₂O₂	Hidrojen peroksit
HAT	Hidrojen atomu transferi
HCl	Hidroklorik asit

HNO	Peroksi nitröz asit
HO₂	Hidroperoksil
HOCL	Hipokloröz asit
HPLC	High Performance Liquid Chromatography- Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
HSV-1	Herpes simpleks virüsü-1
HSV-2	Herpes simpleks virüsü-2
IC₅₀	Inhibition Concentration- İnhibisyon Konsantrasyonu
IDF	International Diabetes Federation -Uluslararası Diyabet Federasyonu
IKI	İyodin/potasyum iyodid
İ	İnhibitö
KAE	Kojik asit eşdeğeri
KOAH	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
L-DOPA	3,4-Dihydroxy-L-phenylalanine
LO₂[•]	Lipid peroksil radikalleri
M	Molarite
m	Metre
MCA	Metal Şelatlama Aktivitesi
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimol
mm	Milimetre
N.D	Not Detectet- Tespit Edilemedi
N.A	Not Active- Aktif Değil
N₂	Nitrojen dioksit
N₂O	Nitröz Oksit
Na₂CO₃	Sodyum karbonat
nm	Nanometre
NO-	Nitrik Oksit Radikali
NO[•]	Nitrik Oksit
NO₂[•]	Nitrojen dioksit
NO₃⁻	Peroksinitrit
O₂	Oksijen
O₂⁻	Oksijen Radikali
O₂^{•-}	Süperoksit anyon radikali
O₃	Ozon
OH-	Hidroksil iyonu
OH[•]	Hidroksil
ppm	Parts per million- Milyonda parça
PBD	Fosfomolibdat
PG	Propil galat
pH	Power of hydrogen hidrojenin gücü
PIP	Fosfatidil inozitol
PNPG	4-Nitrophenyl β-D-galactopyranoside
QE	Quercetin eşdeğer
RCS	Reactive Carbon Species- Reaktif Karbon Türleri
RNO₃	Alkil peroksinitrit
RNS	Reactive Nitrogen Species-Reaktif Azot Türleri
RO[•]	Alkoksil

ROO[•]	Peroksil
ROS	Reactive Oxygen Species-Reaktif Oksijen Türleri
Rpm	Revolutions per minute- Dakikadaki devir sayısı
SET	Single electron transfer-Tek bir elektron transferi
SOD	Süperoksit dismutaz
TBHQ	Tertbüttilhidrokinon
TFC	Toplam Flavonoid İçerik
TPC	Toplam Fenolik İçerik
TPTz	2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride
URL	Uniform Resource Locator- Tekdüzen Kaynak Bulucu
UVB-B	Ultraviyole-B
v/v	Volume/ volüme- Hacim/ Hacim
vb.	Ve benzeri
vd.	Ve diğerleri
yy.	Yüzyıl
%	Yüzde
°C	Centigrade- Santigrat
±	Bir niceliğin toleransı veya istatistiksel hata payını gösteren işaret
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
•OH	Hidroksil radikali
¹O₂	Singlet oksijen
β	Beta
>5	Kayda değerin altında bir değer

1.GİRİŞ

İnsanlık hayatın işleyişi sürecinde barınma, beslenme, giyim, kozmetik, gübre ve ulaşım gibi hayati öneme sahip ihtiyaçlarını karşılamak için doğaya ihtiyaç duymuş ve başvurmuştur. Bununla birlikte gerek bireyin ve toplumun gerekse bakımlarını üstlendikleri hayvanların hastalık ve tedavilerinde bitkilerden faydalanmıştır. Bu bitkisel kaynaklar rahatsızlıkların giderilmesi ya da kişinin kendisini daha iyi hissetmek amacıyla toz formunda, çay olarak ve tentürler şeklinde deneme yanılma yoluyla ham formlarında kullanılmış olup bu sayede yararlı ve zararlı bitkileri ve bunların etkileri birbirinden ayırt edilebilmiştir (Iram vd., 2014; Raskin vd., 2002).

Bitkisel kaynakların sağlık amacıyla kullanıldığına dair tespit edilmiş olan en eski kaynaklar ise Nagpur'da günümüzden 5000 yıl önce yazılan bir Sümer kil levhasında bulunmuştur. Mezopotamya, Mısır, Yunan ve İslam medeniyetleri de diğer kaynaklar olarak karışımıza çıkmaktadır (Süntar, 2020).

Tarihsel süreçte geleneksel bitkiler yerel bilgi sistemine dayanmakta olup bununla birlikte yerel toplulukların yaşam tarzı hakkında da kaynak sağlamaktadır. Örneğin bir toplumda biberiyenin (*Rosmarinus officinalis*) kullanımı, o toplumun sindirim sorunları yaşayıp bu bitkiyi kullandığını ve bu bilgi ışığında da beslenme düzenleri hakkında bilgi verebilmekte ve tarihsel kanıtlar olarak değerlendirilebilmektedir. Tüm uygarlıklar coğrafyalarının kendilerine sunduğu bitkisel kaynaklara dayalı olarak kendi ilaç biçimlerini geliştirmiş ve kullanmıştır, hatta bazı kesimlerce bu bilgilerin tıp ve eczacılığın kökeni olduğu dahi iddia edilmiştir. Bu bitkilerin kullanımı nesiller boyunca kademeli olarak geliştirilmiş ve bu bağlamda geleneksel tıp terimini bilinir hale getirmiştir. Geleneksel tıbbın tanımına baktığımızda ise: sağlığın sürdürülmesinde olduğu kadar sağlık bakımında da kullanılan, açıklanabilir olsun ya da olmasın, farklı kültürlerle özgü teori inanç ve deneyimlere dayalı bilgi, beceri ve uygulamaların toplamı olarak veya fiziksel ve ruhsal hastalıkların önlenmesi, teşhisi, iyileştirilmesi veya tedavisi olarak da tanımlanabilmektedir (Astutik ve Ndzifon, 2019; Salmerón vd., 2020).

18. yüzyıla kadar yaşanan gelişmeler ve deneyimler sonucunda birçok bitkinin tedavi yeteneklerinin insan ve hayvanlar üzerindeki etkileri bilinmekteydi fakat bu tedaviye bitkinin nasıl veya hangi etken maddesi ile etki ettiği bilinmemekteydi. Modern

bilimin Rönesans döneminde atılım yapması ile özellikle mikroskop, kimyasal analiz ve enstrümantasyon yöntemlerinin geliştirilmesi bunun sonucunda ise daha komplike çalışmalar yapılmasına imkân sağlamıştır (Salmerón vd., 2020).

19. yüzyılla birlikte tıbbi bitkiler adına gerçekleştirilen araştırmalarda, bitkilerin etken bileşiklerinin izole edilmesi güncel başlıklardan biriydi. Alman Eczacı Friedrich Wilhelm Adam Serturmer'in 1803'te morfin maddesini afyon bitkisinden izole etmesi bu yüzyılın ve gelecek dönemlerin kilit sayılabilecek önemli gelişimlerinden biri olarak nitelendirilebilmektedir (Siddiqui vd., 2014).

Serturmer'in başlattığı bu çalışmalar ile gelecek yıllarda da birçok bitkiden aktif bileşikler elde edilmiş daha sonra da endüstriyel ilaç üretimi için bu bileşenler laboratuvar ortamında sentetik olarak elde edilmiştir. Bitkilerden elde edilen bu bileşikler bitkilerin çok çeşitli ikincil metabolitlerinin biyosentezinde rol almaktadır. Medikal alanlarda kullanılan bitkisel kaynaklı ilaçların birçok ticari farmasötik ilacın temelini oluşturmada bu metabolitlerdir (Li vd., 2020).

Geçmişten gelen deneyimler ile teknolojinin gelişmesi ve sunduğu imkanlar neticesinde tıbbi bitkiler adına birçok bilimsel çalışma yapılmış olup geçmişin deneyimi ile günümüz imkanları birleştirilmiştir. Endüstriyel devrimin getirileri ve artan Dünya nüfusu, yetersiz ilaç tedariği, tedavilerin aşırı maliyetli olması, sentetik ilaçların bazı yan etkileri ve bulaşıcı hastalıklara karşı ilaç direncinin gelişmesi ise tıbbi bitkilerin dünyanın birçok kesiminde insanların temel sağlık hizmetlerinde faydalandığı önemli bir çözüm yolu olmuştur. Son zamanlarda, DSÖ Dünya çapındaki insanların %80'inin temel sağlık ihtiyaçlarını karşılanabilmek için bitkisel kaynaklı ilaçlara güvendiğini tahmin etmektedir. DSÖ'ye göre, yaklaşık 21.000 bitki türü potansiyel olarak tıbbi bitki olarak kullanılabilir nitelikler taşımaktadır (Tefera ve Kim, 2019). DSÖ göre gelişmekte olan dünya nüfusunun %70'inin birinci basamak sağlık hizmetleri için doğrudan geleneksel tıba güvendiğini ortaya koymuştur. Bununla birlikte sanayileşmiş uluslar dolaylı olarak farmasötik ürünleri için şifalı bitkilere güvenmektedir. Modern farmakolojinin tahminen %25'i ve en çok reçete edilen 150 ilacın %18'i bitki bazlıdır. Çin ve Hindistan, bu bağlamda Asya'dan gelen iki büyük uluslararası oyuncudur. Asya kıtası, şifalı bitkilerin ihracat miktarının yaklaşık %50'sini ve geleneksel ilaçlardan elde edilen küresel kazancın %45'ini tek başlarına oluşturmaktadır (Astutik ve Ndzifon, 2019).

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium*

Campanulaceae familyası (Çangiller) bitki taksonları arasındaki en büyük 26. bitki ailesidir. 85 cins ve bilinen 2300 türü bünyesinde barındırmaktadır. Campanulaceae familyası yayılış bakımından oldukça kozmopolittir. Taksonları genellikle gösterişli mavi ve çan şekline benzer yapıda olup, küçük tohum barındıran kapsüllü meyveleri olan çok yıllık odunsu olmayan otsu bitkiler olarak tanımlanmaktadır. Ekolojik açıdan bu familya Antarktika bölgesi hariç büyük çöllerle birlikte tropikal bölgelerde, dağlık ve ormanlık alanlarda çoğunlukla ise serin ve ılıman ortamlarında aralarında olduğu çok çeşitli habitatlarda yetiştiği görülmüştür (Shulkina vd., 2003).

Campanulaceae familyası oldukça kozmopolit bir yapıda olmasına rağmen biyolojik açıdan yeterince çalışılmamıştır. Küçük tohum yapısı genellikle 10-200 µg aralığında olup ailenin dikkat çeken karakteristik bir özelliğidir (Koutsovoulou vd., 2013). Güncel kaynaklar da Türkiye sınırları içerisinde tanımlanmış toplamda 28 tane *Asyneuma* taksonu (21 tür) bulunmaktadır. Bu türlerin yayılış alanlarını ise genellikle bozkır topraklara sahip dağlık alanlar, bunun yanında su kaynaklarının kısıtlı ve yağış yönünden daha zayıf habitatlar oluşturmaktadır (Hamzaoglu, 2021).

Tez araştırma bitkisi olan *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium* türü ise Adana ili Feke ilçesi Akoluk mahallesi ve yaylaları civarında doğal yayılış gösteren endemik bir türdür. Bitki yaklaşık 2000 metre rakımda dikey uçurumluk ormanlık alanlarda yetişmektedir. Oldukça yüksek rakımda doğal olarak yetişen bitkinin yetiştiği bu koşullar familya özellikleri ile değerlendirildiğinde ise ekstrem olarak kabul edilebilmektedir. Bitkinin morfolojik yapısı tamamen tüysüz yapıda olup kısaca rizomatöz, dik yükselen, çok yıllık ve 20-30 cm boyundadır. Gövde boyunca yapraklı bir yapıya sahiptir. Yapraklar sapsız, mızrak şeklinde, hepsi boyut ve şekil olarak benzer olup, 20-70x3-7 mm, yeşil, düzenli ve çok az dişli bölgesel 5-10 çiçekli çiçek salkımına sahip ve çiçekler diktir. Brakteler doğrusal, 1-2x0.3-0.5 mm, pediküller ise ince, 2-6 mm. Kaliks lobları lineer, 2.5 mm olup corolla lobları mızrak şeklinde, 8-9x2 mm. Yumurtalık küresi, 1 mm, stil 5 mm olup kapsül olgunlaşmamıştır. Temmuz ayı içerisinde ise bitki çiçeklenmekte olup Çizelge 2.1’de sistematik sınıflandırması ve Şekil 2.1’de bitkinin görselleri verilmiştir (Tan ve Yıldız, 1988).

Çizelge 2.1. *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium* sistematik sınıflandırılma (URL-1).

Alem	Plantea
Altalem	Tracheobionta
Bölüm	Tracheobionta
Sınıf	Magnoliopsida
Altsınıf	Asteridae
Takım	Campanulales
Aile	Campanulaceae
Cins	<i>Asyneuma</i>
Tür	<i>Asyneuma eximium</i>
Alttür	<i>Asyneuma linifolium</i> subsp. <i>eximium</i>



Şekil 2.1. *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium*.

2.2 Serbest Radikaller

Aerobik organizmalarda metabolizmanın devamlılığı için oksijen mutlak olan bir gerekliliktir. Oksijen aerobik canlıların yaşamında zaruri olan renksiz, kokusuz ve tatsız gaz formunda olan bir elementtir (Küçükakgün ve Enç, 2021).

Oksijen aerobik canlılarca kullanılıp karbondioksit'e dönüştürülür. Bitkilerde ise bu olay tam tersi olup karbondioksit kullanılıp oksijen atmosfere verilir. Oksijen birçok element ile reaksiyona girme eğiliminde olup bunun yanında diğer elementlerin birbirleriyle kombinasyonlarında reaksiyonlarla etkileşime girerek bileşik oluşturur. Aerobik canlılarda oksijen ile yaşamın sürdürülmesi doğrudan ilişkilidir bu tip canlılarda metabolizma, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimiyle her zaman ilişkili olmuştur (Chainy ve Sahoo, 2020).

Reaktif oksijen türleri bir veya birden fazla bağlanmamış elektron barındıran aynı zamanda kısa ömürlü olan reaktif kimyasal ara ürünlerdir (Kohli ve Kumar, 2023). Çoğu zaman serbest radikaller veya oksidanlar olarak adlandırılan reaktif oksijen türleri (ROS) reaktif nitrojen türevlerini (RNS) ve reaktif karbon türevlerini (RCS) içermektedir. Örnek verecek olursak peroksinitrit (NO_3^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit anyon radikali ($\text{O}_2^{\cdot-}$), singlet oksijen ($^1\text{O}_2$), hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$) ve nitrik oksit ($\text{NO}\cdot$) gibi reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türevleri canlı metabolizmasında zararlı olarak tanımlanıp hücrede gerçekleşen metabolik süreçler sonucunda üretilmektedir (Chen vd., 2021).

2.2.1 Hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$)

Hidroksit iyonlarının (OH^-) nötr halidir. Bu radikal grupları oldukça reaktif bir yapıdadır. Hızlı bir şekilde hidroksil grupları halini alabilirlerken kısa ömürlü bir yapıya sahiptirler. Bu radikal türü bazı zamanlarda immün sistemin bir ürünü şeklinde antikor hücreleri tarafından vücut savunması sırasında patojen hücreleri ile karşılaşıldığında da üretilmektedir. Bir insan hücresi ise gün boyunca hedef alınarak hidroksil radikali ve diğer radikaller tarafından ortalama 105 kez oksidatif strese maruz kalmaktadır (Gulcin, 2020). Reaktif oksijen türleri ve serbest radikaller genellikle aynı ifade için kullanılmaktadır oysaki bu iki terim her zaman aynı ifadeyi karşılamamaktadır. Buradaki ayrım ROS serbest ve serbest olmayan radikallerden oluşurken, serbest radikaller ise özellikle eşleştirilmemiş elektronlar barındıran molekülleri tanımlamakta ve bu molekülleri oldukça reaktif hale getirmektedir. Serbest radikaller genel tanıya göre canlı için zararlı olarak bilinse de metabolizmada ideal denge için ROS hücrede önemli görevler üstlenmekte olup canlı için faydalı etkileri de vardır. Bunlara birkaç örnek verecek olursak O_2 ve H_2O_2 damar sisteminde ve kardiyovasküler hastalıklarda etkin görevi olan sinyal molekülünü harekete geçiren

ikinci bir sinyalizasyon görevinde bulunurken erkek bireylerde infertilde, gen ekspresyonunda, hücre adezyonunda, antikor üretiminde nötrofiller, makrofajlar ve bağışıklık sisteminin diğer hücreleri gibi bağışıklık sistemi için gereklidir ve bunların reseptörlerinde oldukça etkili görevlerde bulunmaktadır (Kohli ve Kumar, 2023).

2.2.2 Nitrik oksit (NO·)

Arginin'den meydana gelen insanlarda dahil olmak üzere memelilerin metabolizmasında faydalı veya zararlı birçok patolojik ve fizyolojik süreçte görev alan önemli bir haberci hücresel moleküldür. İlk vücut savunmasında aktif makrofajlar tarafından üretilmektedir. Hasar durumunda kan pulcuklarının kümeleşmesinde etkilidir. Metabolizmada kan damarı çeperlerindeki düz kasların gevşemesini sağlayarak kan basıncını düşürürken karaciğeri iskemik hasardan korumak gibi faydalı etkileri bulunmaktadır. Metabolizmada fazla miktarda NO· bulunması ise biyomoleküller ile reaksiyona girip sitotoksik etki göstermesine, doku hasarına, dolaşım sisteminin iflas etmesine ve O₂⁻ ile bileşik oluşturup peroksinhitrit (NO₃⁻) meydana getirip DNA ve proteinlerde hasarlara varıncaya kadar zararlı etkileri olan bir moleküldür (Hou vd., 1999).

2.2.3 Hidrojen peroksit (H₂O₂)

Oksijen-oksijen tek bağı olan en basit peroksittir. Kararsız yapıda olup ışık altında ayrışma gösteren yoğunluğu sudan daha fazla olup zayıf asidik yapıda olup aynı zamanda oksijenin iki elektrona indirgenmesi sonucu meydana gelen güçlü oksitleyici bir moleküldür. H₂O₂ insan metabolizması da dahil olmak üzere birçok biyolojik sistemde bulunmaktadır. Bununla birlikte dezenfeksiyon ürünlerinin üretiminde de kullanılmaktadır. Hidrojen peroksitler ayrıca peroksidazlarca parçalanıp su ve oksijen eldesinde kullanılan moleküllerdir (Sen ve Packer, 1996).

2.3 Oksidatif Sitres

Aerobik canlılarda mitokondri önemli bir ROS kaynağıdır. ROS solunum reaksiyonu yolu ile normal metabolizmanın yan ürünü şeklinde meydana gelmektedir. Süperoksit (O₂⁻) proksimal bir mitokondriyal ROS'dur ve mitokondriyal matris, zarlar arası boşluk ve dış zar içinde O₂⁻ üretimi, süperoksit dismutaz (SOD) katalizli dismutasyondan H₂O₂ oluşumuna neden olur. Bazı O₂⁻ ve NO· ile doğrudan reaksiyona

girerek NO₃ oluşturabilir (Chen vd., 2021). ROS ve RNS aynı zamanda endojen ve eksojen iki farklı kaynak aracılığı ile de gerçekleşmektedir. Endojen serbest radikaller, iltihaplanma, zihinsel stres, bağışıklık hücresi aktivasyonu, zorlayıcı spor, kanser, iskemi enfeksiyon ve yaşlanma süreçlerinde üretilir. Eksojen ROS/RNS ise sigara kullanımı, hava ve su kirliliği, alkol tüketimi, ağır metallerle maruz kalma (As Cd, Fe, Pb, Hg,), bazı ilaçlar (bleomisin, gentamisin, siklosporin, takrolimus,), endüstriyel solventler, kullanılmış ve yapısı bozulmuş yağlar ve canlının radyasyona maruz kalması bunlar vücuda çeşitli yollar ile bulaştıktan sonra, eksojen bileşikler parçalanır veya serbest radikallere metabolize edilir (Pham-Huy vd., 2008).

Metabolizma faaliyetleri sonucunda ortaya çıkan antioksidanlar ile karşılaştırıldığında reaktif oksijen türlerinin (ROS) antioksidan kapasitenin üzerine çıkması sonucu Hayes vd. (2020) bunun neticesinde ise oksidanlar lehine bir dengesizliğin olması ve redoks sinyallemede ve kontrol edilmesinde veya moleküler hasarlara neden olan terim oksidatif stres olarak tanımlanır (Sies, 2020).

Oksidanlar etrafında bulunan biyolojik molekülleri oksitleyerek oksidatif strese neden olan hücresel fonksiyonları etkilemektedir. ROS üretim hızı ve miktarı metabolizma içerisinde gerçekleşen metabolik faaliyetler sonucunda belirlenmekte olup ortaya çıkan radikallerin ayrıntılı tablosu Çizelge 2.2’de verilmiştir. Bununla birlikte ROS oluşumuna neden olan radyasyon, tüketilen gıda maddeleri, stres ve çevre etkileri ROS üretiminde etkilidir. Hormonlar ise metabolik düzenleme faaliyetlerinde oldukça etkili görevlere sahiptirler ve bu faaliyetlerde O₂’ye ihtiyaç duyarlar ve O₂’nin eksik indirgenmesi ise ROS kaynağı oluşumunda etkili olması sebebiyle hormonlar ve canlılar üzerinde oldukça etkilidir (Chainy ve Sahoo, 2020).

Oksidatif stresin canlı üzerinde oluşturduğu etkilerden neredeyse metabolizmanın tamamı ciddi oranda etkilenmektedir. Gerçekleşen bu etkilere kısaca baktığımızda ise kanser hücresi meydana gelmesi, damar sertleşmesi, iskemi/perfüzyon, nörolojik bozukluklar, diyabet, kronik yorgunluk hissi hipertansiyon, akut solunum sıkıntısı, erken cilt yaşlanması, dolaşım bozuklukları, kronik obstrüktif akciğer hastalığı idiyopatik pulmoner fibroz, çift sarmallı DNA kırılmalarını ve astım dahil olmak üzere birçok patolojik sonuçlara ve hastalıklara neden olmaktadır, ayrıca oksidatif stresin etkili olduğu sistemler ve bunun sonucunda oluşan hastalıklar Çizelge 2.3’de verilmiştir (Birben vd., 2012).

Çizelge 2.2. Reaktif türleri (Karabulut ve Gülay, 2016).

Reaktif Oksijen Türleri (ROS)		Reaktif Nitrojen Türleri (RNS)	
Serbest Radikaller	Radikal Olmayanlar	Serbest Radikaller	Radikal Olmayanlar
Alkoksil ($RO\cdot$)	Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	Nitrik oksit ($NO\cdot$)	Nitröz Oksit (NO_2)
Peroksil ($ROO\cdot$)	Ozon (O_3)	Nitrojen dioksit (N_2)	Peroksinitrit ($NO_3\cdot$)
Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$)	Hipokloröz asit ($HOCL$)		Peroksi nitröz asit (HNO_3)
Hidroksil ($OH\cdot$)	Singlet Oksijen ($^1O_2$)		Alkil peroksinitrit (RNO_3)
Hidroperoksil ($HO_2\cdot$)			

Çizelge 2.3. Oksidatif stresin sağlık üzerine etkileri (Barnes, 2020).

Solunum	Kardiyovasküler	Eklem/Deri	Nörolojik	Çoklu sistem.
Astım	Hipertansiyon	Gut	Alzheimer	Kanser
KOAH	Aterosklerozis	Dermatit	Parkinson	Diyabet
Bronşit	Kardiyomiyopati	Romatoid Artrit	Hafıza kaybı	Fibromiyalji
	Angina Pektoris			Otoimmünite

2.4 Antioksidanlar

Antioksidanlar, serbest radikallerin ve oksidanların etkilerini inhibe etme yoluyla azaltan, geciktiren veya tamamen ortadan kaldıran ve vücudu oksidatif stresin zararlarından koruyan moleküllerdir. Antioksidan savunma türleri ve konsantrasyonları değişiklik gösterse de hem bitki hem de hayvan hücre ve dokularında bulunan evrensel bir mekanizmadır (Ali vd., 2020).

Halliwell ve Gutteridge (1995) antioksidanları “oksidlenebilir substratlarınkine kıyasla düşük konsantrasyonlarda bulunduğunda, bu substratın oksidasyonunu önemli ölçüde geciktiren veya engelleyen herhangi bir madde” olarak tanımlamıştır. Fakat bu tanım daha sonra “hedef molekülün oksidatif hasarını geciktiren, önleyen veya ortadan kaldıran herhangi bir madde” olarak değiştirilerek sistemdeki oksidatif hasarı onaran molekülleri de içerecek şekilde değiştirilmiştir. Antioksidanların ve kaynaklarının

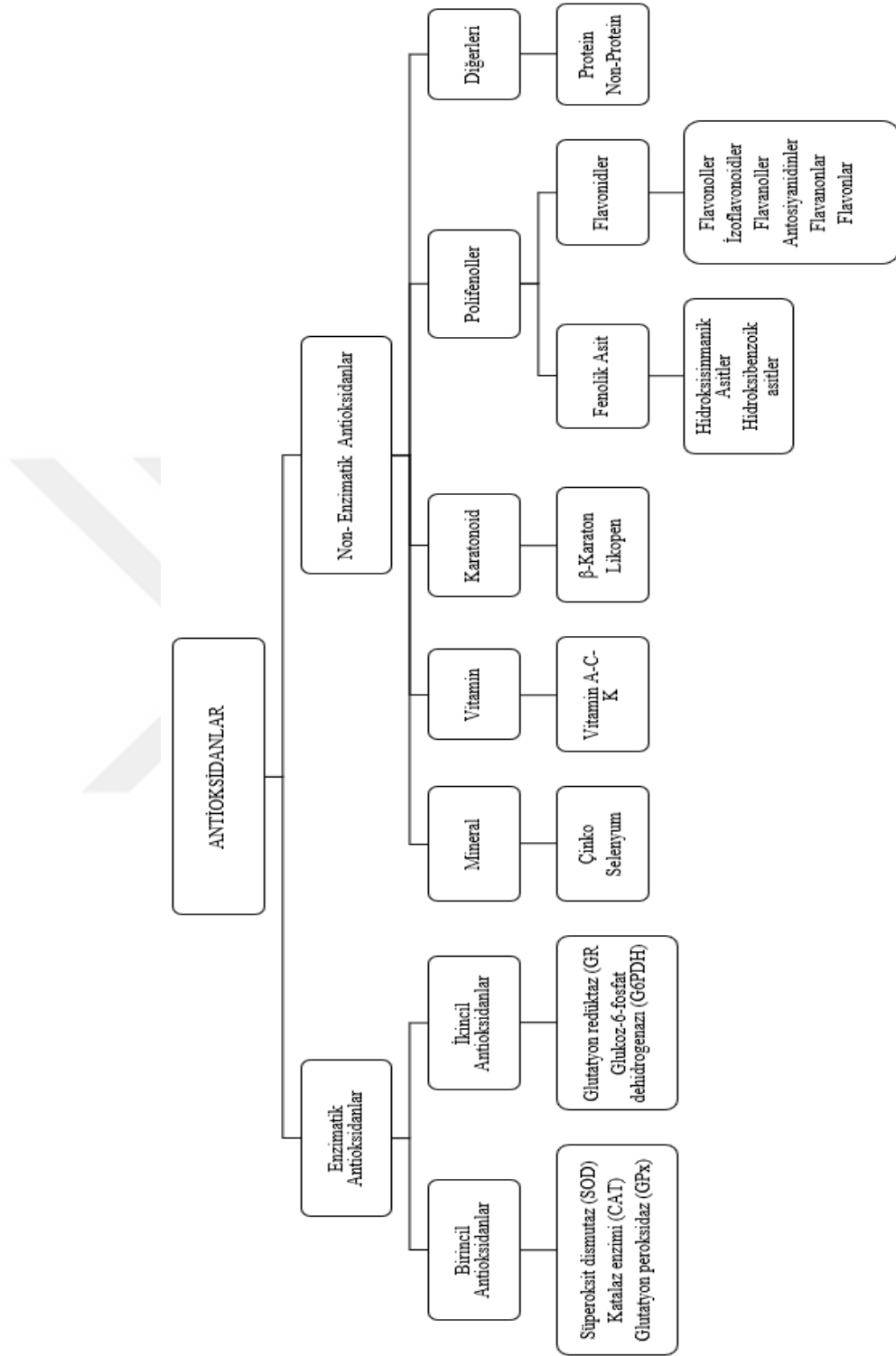
canlı metabolizmasındaki tedavi yeteneği özellikle 20. yüzyıl sonlarına doğru ilgi odağı haline gelmiş ve gerçekleştirilen çalışmalarda dikkate değer bir artış gözlemlenmiştir. Çalışmalar neticesinde terapötik, medikal ve tıp alanı bunlarla ilişkili olarak da beslenme ve diyet üzerine yaşanan gelişmeler bu alanda başarılar ile başarısızlıkları da beraberinde getirmiştir. Araştırmalarda diyetinde meyve ve sebzece fazla besin bulunduran bireylerde kansere yakalanma oranı daha düşük seyrederken, kanda fazlaca β -karoten seviyesinin yüksek olması sigara içen bireylerde kanseri engelleyiciliğinin yanında bazı durumlarda kanseri tetikleyici ve destekleyici etkisinin olabileceğini de göstermektedir (Rowe, 1996).

Aynı zamanda diyetle alınan bu gıdaların insan vücudundaki DNA'ya verilen serbest radikal hasarını azalttığı da belirlenmiştir (Deng vd., 1998). Ayrıca E vitamini takviyesi kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu etki gösterirken, ihtiyaç duyulandan az C vitamini alımının da canlı metabolizmasında artan serbest radikaller ile DNA hasarında rol aldığı belirlenmiştir (Rehman vd., 1998; Stephens vd., 1996).

Antioksidanlar birçok farklı gruba ve göreve ayrılırken bunların canlıda uygulanması metabolizma faaliyetlerinde oldukça önemli koruyucu etkiler göstermektedir. Bunun yanında kesin bir çizgi ile antioksidanların tamamı faydalıdır şeklinde bir tanımlamada bulunmakta yanlış olmaktadır. Verilen örnek çalışmalar da görüldüğü gibi kesin bilinen yargıların aksine antioksidanlar canlı metabolizmasında meydana gelen hasarlarla da doğrudan ilişkilendirilebilmektedir. Oldukça geniş bir aileye sahip olan antioksidanların ayrıntılı sınıflandırılması Şekil 2.2'de verilmiştir (Halliwell, 2000).

2.4.1 Antioksidanların sınıflandırılması

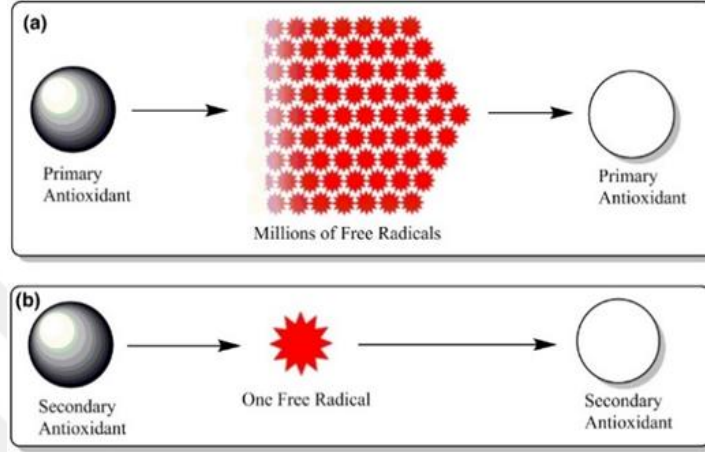
Canlı organizmalar için antioksidanların rolünün anlaşılmasına yol açan dönüm noktası, A C ve E vitaminlerinin tanımlanması ve E vitamini tarafından lipid peroksidasyonunu önleme mekanizmasının anlaşılmasıdır. Antioksidanlar genellikle enzimatik ve enzimatik olmayanlar olarak iki şekilde sınıflandırılır. Bunların arasında farklı etki şekilleri ve yerleri ve farklı nihai etkileri olan çeşitli bileşikler vardır. Bu çeşitlilik, her birinin vücuttaki bireysel rolünü belirlemektedir. Süperoksit dismutaz enzimleri (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GRd) ve katalaz (CAT) gibi etkileşim halindeki antioksidan enzimler ağının en yüksek antioksidan savunma etkinliğini göstermektedir (Flieger vd., 2021).



Şekil 2.2. Antioksidanların sınıflandırılması.

2.4.2 Enzimatik antioksidanlar

Enzimatik antioksidanlar birincil ve ikincil antioksidanlar şeklinde ayrılmakta olup Şekil 2.3’de görüldüğü üzere birincil antioksidanlar etkilerini çok sayıda serbest radikalle reaksiyona girerek gösterirken ikincil antioksidanlar bir serbest radikalle göstermektedir.



Şekil 2.3. Enzimatik antioksidanların temsili reaksiyonu (Banguero ve Navas, 2021).

2.4.2.1 Birincil antioksidanlar

Antioksidanlar organik ya da inorganik bileşiklerdir. Birincil ve ikincil antioksidanlar olarak sınıflandırılırlar. Bu sınıflandırmanın yapılması antioksidanların etki mekanizmasına dayanmaktadır. Birincil antioksidanlar serbest radikalleri ya bir H atomu paylaşarak (hidrojen atomu transferi, HAT olarak kısaltılır) ya da tek bir elektron transferi (SET) mekanizması ile nötralize etmektedir. Bu antioksidanlar çok verimlidir ve çok sayıda serbest radikali nötralize etmek için çok az miktarlar dahi yeterlidir. Doğadaki çeşitliliklerinin fazla olmasının avantajlarından bir tanesi ise bu antioksidanların yüksek ve çeşitli katalitik özellikler göstermesidir. Fenolik antioksidanlar bu kategoriye girmektedir (Zeb, 2020).

Süperoksit dismutaz

Süperoksit dismutaz, vücutta yaygın olarak bulunan ve süperoksitin dismutasyonunu katalize eden bir enzimdir. Bu reaksiyonun bir yan ürünü olarak, serbest radikallerin neden olduğu hasarın iletilmesine yardımcı olan hidrojen peroksit üretilmesinde aktiftirler. İnsan bedeni, süperoksit, hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksit gibi

inanılmaz miktarlarda reaktif oksidan üretir. Hidroksil radikali, hücrelerin yok olmasına neden olan doku için en yıkıcı olan türdür. SOD enziminin üç çeşidi vardır. Baskın bakır-çinko içeren enzimler sitoplazmada bulunurken, mangan SOD mitokondride bulunur, üçüncü bir tip ise hücre dışı olarak mevcuttur (Jeeva vd., 2015).

Katalaz

H₂O₂'nin suya indirgeyici olarak dönüştürülmesinde yer alan antioksidan enzimi temsil etmektedir. Hücrelerde, organlarda ve dokuların birçoğunda yüksek miktarlarda exprese edilir. Karaciğer ve eritrositler başta olmak üzere hücre içinde peroksiredoksin, tioredoksin redüktaz ve glutatyon peroksidaz ile diğer enzimatik antioksidanlardan ve H₂O₂'den ve bunun yanında su ve oksijen veren organik peroksitlerin inaktivasyonundan sorumludur (Pisoschi ve Pop, 2015).

Glutatyon peroksidaz

Glutatyon peroksidaz (GPx), selenyum içeren vücudun antioksidan savunma sistemindeki önemli bir antioksidan enzimdir. İndirgenmiş glutatyon, hücre içinde üretilen H₂O₂'nin H₂O ve O₂'ye dönüştürülmesine ve aynı zamanda zararlı organik maddeleri uzaklaştırmasında yardımcı olur. Bu enzimler artan oksidatif stres seviyelerini engellemede başrol oyuncularındır. Glutatyonun tekrarlanan oksidasyonu ve indirgenmesi, onu bir serbest radikal temizleyici haline getirir (Liu vd., 2021).

2.4.2.2 İkincil antioksidanlar

Bu grup prooksidan katalizörlerin nötralizasyon mekanizması ile karakterize edilmiştir. Örnek olarak, etilendiamintetraasetik asit (EDTA) ve sitrik asit (CA) gibi pro-oksidan metal iyonlarının (Örn: Fe ve Cu) şelatörlerini içerir. β-karoten gibi ikincil antioksidanlar, tekli oksijen gibi reaktif türleri nötralize edebilirler. Bu antioksidanlar birincil antioksidanların yanında çalışan ve onları tamamlayan bileşiklerdir. Bu antioksidanlar, hücre içindeki antioksidan enzimlerin aktivitesini artırarak oksidatif stresle mücadeleye yardımcı olurlar. Bununla birlikte, gıdalardaki rolleri hakkında çok az şey bilinmektedir. Birincil antioksidanlar ve ikincil antioksidanlar ya sentetiktir ya da doğal kaynaklardan oluşmaktadır. Sentetik birincil antioksidanlar, bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), bütillenmiş hidroksilanizol (BHA), propil galat (PG) ve tertbütillhidrokinon (TBHQ) içerir. Gıdalardaki serbest radikalleri inaktif ederek lipid

oksidasyonunu ve gelişimini kontrol etmek içinde kullanılırlar. Bununla birlikte sentetik antioksidanların hayvan denemelerinde canlıda yüksek konsantrasyonlarda biriktiğinin belirlenmesi bunun sonucunda da zararlı ve kanserojen etkiler meydana getirmesi insanları sentetik yerine bitkilerden ve gıdalardan gelen doğal antioksidanlara yönelmesine sebep olmuştur (Zeb, 2020).

2.4.3 Enzimatik olmayan antioksidanlar

İnsan metabolizmasında doğal olarak var olmayan ancak doğru metabolizma faaliyetlerinin gerçekleşmesi adına takviye edilmesi gerekli bir antioksidan sınıfıdır.

2.4.3.1 Mineraller

Mineraller inorganik yani doğal olarak var olan enzimlerin düzgün çalışması için vücut metabolizmasının zaruri olan ihtiyacıdır. Krom, magnezyum, çinko ve kalsiyum gibi minerallerin yokluğunda makromolekül metabolizmasının etkilendiği bilinmekte olup insan vücudunda en fazla bulunan mineral ise kalsiyumdur. Vücut ağırlığının yaklaşık %1,5 ila %2'si kalsiyumdan meydana gelmektedir. Canlıda dolaşım sistemi, kemik ve kas sisteminin korunması, sinirler arası iletim, hormon ve enzim gibi moleküllerin yapısına katılarak görev yapması, vücudun O₂ seviyesinin dengelenmesi ve bağışıklık sisteminin güçlenmesinde oldukça önemlidir. Alüminyum en sık görülen toksik mineral olup iyot, demir, potasyum gibi minerallerin fazlası ise kişide karaciğer, kalp pankreas gibi organların işlevlerinde sorunlar meydana gelmesine, sonucunda ise depresyon, böbrek taşı ve iskelet bozuklukları gibi etkilerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Campbell, 2001; Hermann, 2021; Mamta vd., 2014).

2.4.3.2 Vitaminler

Vitaminler vücudun antioksidan enzim sisteminin düzgün çalışması ve metabolizmamızın sağlıklı bir şekilde işleyişini çeşitli yollarla destekleyen gerekli mikro besinler sınıfını oluşturmaktadır. Vitaminler suda eriyen ve yağda çözünenler şeklinde iki sınıfa ayrılır suda eriyenler B grubu vitaminler ve C vitamini olurken yağda çözünenler A-D-E ve K vitaminleridir. Sentezleri vücutta gerçekleşmemektedir ve bu sebeple düzgün metabolizma faaliyetleri için diyetle takviye edilmeleri gereklidir. Canlı vücudunda vitaminlerin her biri farklı bir rol oynamaktadır ve her vitaminden metabolizmada gerektiği kadar olması gerekmektedir. A vitamini

antioksidan özelliğinden dolayı bağışıklık sistemine de yardımcı olur C vitamini suda çözünür ve askorbik asit olarak da adlandırılır, yaşlanma sürecine ve hastalıkların ilerlemesine katkı sunabilecek serbest radikallerin sebep olduğu bazı DNA hasarlarının önüne geçilmesine yardımcı olur. E vitamini yağda çözünen bir vitamindir lipid radikaliyle reaksiyona giren ve metabolizmayı koruyan en önemli lipid antioksidanıdır (Mamta vd., 2014; Saman ve Tomaş, 2022).

2.4.3.3 Karotenoidler

Karotenoidler bilinen 600 civarında çeşidi olup çoklu doymamış hidrokarbonların karotenlerin ve bunların oksitlenmiş türevlerinin bir sınıfı olan ksantofiller olarak iki ana başlığa ayrılmaktadır. Likopen, lutein, β -karoten, likopen zeaksantin en bilinen örneklerindendir. Sebze ve meyvelerde, bazı bakteri, mantar ve yosunlarda bulunan yağda çözünen renkli biyolojik bileşiklerdir. β -Karoten genellikle havuç, kayısı, kavun, tatlı patates ve balkabağı gibi turuncu-yeşil renkli gıdalarda bulunurken, lutein ise lahana, ıspanak, maydanoz, fesleğen ve marul gibi bazı yeşil sebzelerde yüksek

Karotenoidlerin bilinen birçok fizyolojik etkileri vardır. Sinir sistemi hastalıkları ve kardiovasküler hastalıkların etkilerinin engellenmesi katarakt ve bazı kanser türlerine yakalanma riskini azalttığı bununla birlikte cilt kalitesinin korunmasında etkili olduğu yapılan çalışmalar neticesinde belirlenmiştir. Yapıları gereği serbest radikalleri etkili bir şekilde bertaraf edip bağışıklık sistemini güçlendirmektedirler. Ayrıca bu bileşikler barındıran gıdaların tüketilmesi metabolizma için iyi bir antioksidan kaynağı sağlamaktadır (Akdoğan vd., 2008; Mamta vd., 2014; Ötleş ve Atlı, 2011).

2.4.3.4 Polifenoller

Polifenoller, özgün antioksidan aktivitelere sahip olup fotosentez neticesinde bitki dokularında sentezlenen fitokimyasalların bir alt sınıfıdır. Antioksidan aktivite yetenekleri moleküler yapılarına bağlı olarak metabolizmada rol alan fiziksel ve kimyasal özelliklerine bağlıdır. Polifenoller, kimyasal yapılarında bulunan fenol halkalarının özelliklerine ve birbirlerine bağlanma şekillerine göre kateşinler, fenolik asitler, stilbenler, tanenler ve flavonoidler gibi farklı gruplara ayrılmaktadırlar. Flavonoidler önemli bir polifenolik bileşik sınıfıdır ve çoğunlukla meyvelerde sebzelerde ve tahıllarda bulunurlar örneğin lipid peroksil radikalleri (LO_2), OH

radikalleri ve nitrojen dioksit ($\text{NO}_2\cdot$) ve curcumin ($\text{O}_2^{\cdot-}$) radikalleri, bunlar oksidatif strese neden olan radikaller grubunun üyeleridir. Curcumin'in lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği ve ayrıca epitel hücrelerinde GSH seviyelerini arttırdığı ve bununda daha düşük ROS üretimine yol açtığı çalışmalar neticesinde aydınlatılmıştır (Mamta vd., 2014; Manach vd., 2004)

2.4.4 Reaktivitelerine göre dört savunma hattı

2.4.4.1 İlk savunma hattı

Birincil savunmada stres kaynaklı antioksidan kaynaklarının tükenmesi canlıdaki tüm metabolizmanın kaderinin belirleyen unsurlardan bir tanesidir. Reaktif türler hücrenin ölümünü temsil etmekte bununla birlikte metabolizmada stres oluşumunu tetiklemektedir. Bu savunma hattı ise metabolizmada oluşacak stres unsurlarına karşı radikal türlerin oluşumunu baskılayarak oksidatif süreçleri önleyen antioksidanların meydana gelmesinde aktif rol oynamaktadır.

Bu antioksidanlar çok hızlı hareket etme yeteneğinde olup aynı zamanda diğer radikallerin üretimini indükleyebilen herhangi bir serbest radikali veya bir serbest radikale dönüşme potansiyeline sahip herhangi bir kimyasal türü nötralize edebilir. Bu sınıf süperoksit anyon radikalini dismute eder ve hidrojen peroksiti ve hidroperoksitleri ayrıştırarak zararsız dönüştürürler. Aynı zamanda sırasıyla demir ve bakırı tutan ve sonuç olarak bunların serbest radikal oluşturma kapasitelerini engelleyen laktoferrin, ferritin ve seruloplazmin gibi metal iyonu bağlayıcı proteinleri de içermektedir (Brunetti vd., 2015; Pisoschi vd., 2021).

2.4.4.2 İkincil savunma hattı

Çoğunlukla askorbik asit, glutatyon, ürik asit gibi hidrofilik antioksidanları bunun yanında alfa tokoferol ve ubikanol gibi lipofilik grupları içeren genellikle süpürücü olarak isimlendirilen grubun dahil olduğu savunma ürünleridir. Bu savunma hattı zincir başlangıcını baskılayan veya zincir yayılma reaksiyonlarını (radikal süpürücü antioksidanlar) kıran antioksidanlar tarafından oluşturulmaktadır. Bu süpürme yeteneği elektron verilerek aktif radikalleri temizleyip etkisiz hale getirilmesi ile uygulanır. Ortaya çıkan yeni radikaller kolayca nötralize edilerek zarar vermeyen türler haline getirilir (Ighodaro ve Akinloye, 2018; Pisoschi vd., 2021).

2.4.4.3 Üçüncü savunma hattı

Serbest radikal hasarı oluştuktan sonra aktiviteye başlayan onarım antioksidanlarını kapsamaktadır. Bu grup, lipitleri, proteinleri ve hasarlı DNA'yı onaran enzimlerden oluşmaktadır. Bu antioksidan grubu, hücrel birikimlerin önüne geçerek hasarlı veya oksitlenmiş proteinleri, lipitleri ve DNA'yı tanıyarak ayrıştırabilme yeteneğine sahiptir. Memeli hücrelerinin hem sitozollerinde hem de mitokondrilerinde bulunan DNA onarım enzimleri (polimerazlar, glukozlalar) proteolitik enzimler (peptidazlar, proteazlar) bu grubun en çok bilinen örneklerindendir (Pisoschi vd., 2021).

2.4.4.4 Dördüncü savunma hattı

Adaptasyon mekanizmalarından yararlanarak aktivitede bulunan antioksidan gruplarını içermektedir. Serbest radikallerin içeren reaksiyonlar ve serbest radikallerin üretimi için gerekli olan sinyallerden yararlanıp radikal gruplarını içeren reaksiyonları veya serbest radikallerin meydana gelmesini engellerler. Bunların yanında adaptasyon mekanizmasında, serbest radikal türü tarafından oluşturulan sinyal aracılığıyla, yeterli antioksidanın sentezini ve uygun bölgeye taşınmasını indüklerler (Pisoschi vd., 2021).

2.5 Fitokimyasallar

Dünya nüfusunun her geçen yıl artmaya devam ediyor olması hali hazırdaki sağlık ve tedavi kaynaklarının verimli bir şekilde kullanılması gerekliliğini ortaya çıkarmaktadır. Bunların yanında, üretimde kullanılan kaynakların, nitelik olarak üstün özellikler göstermesi, sürdürülebilirliğinin olması dengeli bir sağlık sektörü sunması açısından oldukça önemlidir (Mertoğlu ve Evrenosoğlu, 2019). 20. yüzyıl ortalarından itibaren sağlık endüstrisi çok hızlı bir ilerleme kazanmıştır. Antioksidanlar ve fitokimyasallar gibi kavramlar da hayatımıza girmeye başlamıştır bu kavramlardan fitokimyasallar öncelikle geleneksel tedavi yöntemlerinde kullanılmakla birlikte sonrasında alternatif tıp alanlarında kabul görmeye başlamıştır (Dündar, 2001).

Günümüz koşullarında, çevresel etkileşimlerin artması, beslenme ve yaşamımızdaki değişiklikler kronik hastalıkların yaygınlaşmasını bunun neticesinde de ölümlerin gerçekleşmesi ve bu hastalıklardan sakınma ve tanı tedavi yöntemlerinde tam başarı yakalanamaması sebebiyle, hasta ve sağlık çalışanlarını çeşitli arayışlara yöneltmiştir. Bu sebeplerden dolayı, alternatif tıp tedavisi olan “fitoterapi” başka bir değişle

bitkilerle tedavinin gerçekleştirilmesi bilimsel olarak zamanımızda oldukça önemli bir yer kazanmıştır. Günümüzde kişilerin hastalıklarının engellenmesi ve tedavilerini gerçekleştirilmesi amacıyla doğal kaynakların ve tıbbi bitkilerin kullanımı giderek artmaktadır. Bu bitkisel ürünlerin ucuz olması ve kolay erişilebilirliği bunun yanı sıra doğadan gelenin zarar vermeyeceği düşüncesiyle kullanım miktarları fazlasıyla halk arasında artmaktadır. Doğal olduğu kanısı ve zararlı etkilerinin olmadığı gerekçesiyle birçok hayvansal ve bitkisel ürünler, vitamin, mineral ve benzeri maddelerin tüketimi, son yıllarda ülkemizde de oldukça artmıştır (Vardar vd., 2018). Araştırmalar üstün özelliklere sahip bitkilerin, her geçen gün fonksiyonel sağlık alanlarında kullanılabilirliğini ortaya koymaktadır (Mertoğlu ve Evrenosoğlu, 2019). Bitkiler, büyüme ve gelişmede doğrudan aktif rol alan ve almayan çok farklı organik bileşikler oluşturmaktadır. Fitokimyasallardan primer metabolitler (amino asitler, nükleotitler ve organik asitler) bitkinin yaşamsal etkinliklerinde doğrudan etkiliyken, sekonder metabolitler ise bitkinin yaşamsal fonksiyonları yönünden doğrudan aktif rol almayan bileşiklerdir. Sekonder bileşiklerin araştırıldığı ilk zamanlarda bu maddelerin işlevsiz ve atık maddeler olduğu düşünülmüştür. İlerleyen zamanlarda bu bileşenlerin bitkilerin savunma sistemi bakımından oldukça önemli olduğu birçok bilim insanı tarafından kabul görmüştür (Tiring vd., 2020).

Modern biyoloji ve kimyanın son iki yüz senesi birincil metabolitlerin, hücre bölünmesi ve büyümesi, depolama, solunum ve üreme gibi temel yaşamsal fonksiyonlardaki rolünü açıklamaktadır ayrıca biyolojide sekonder metabolit tanımı ilk defa Kossel (1891) tarafından kullanılmıştır (Topçu ve Çölgeçen, 2015). Bitkilerin kendilerine has renk, koku ve tatlarının olmasında ve birçok bitkinin halk tıbbında önceden beri kullanılıyor olmasında biyolojik aktif maddeler olan fitokimyasallar aktif bir role sahiptir. Yıllardır gerçekleştirilmekte olan araştırmalar neticesinde bitkilerdeki bu maddelerden bazıları saf hale getirilmiş, bu sayede fitokimyasalların saf elde edilerek kullanılabilmesi konuşulmaya başlanmıştır (Dündar, 2001). Besin ve ilaç endüstrisi, insana fayda sağladığı kanıtlanmış bitkilerden çeşitli bilimsel ve teknolojik yaklaşımlarla diyetle kullanılan ürünler hazırlamakta ve bunlardan ekonomik kazanç elde etmektedir. Bitki ve bitkisel ürünlere besin olarak ve bunun yanında sağlığın korunması ya da hastalık riskinin azaltılması bakımından da yaklaşılmış; besin, ilaç ve diyet ürünlerinin ayrı ayrı tanımlanması gerekliliğine neden olmuştur. ABD Besin ve İlaç Yönetimi'nin (FDA) tanımları ise aşağıdaki gibidir.

İlaç: Canlı organizmalar tarafından alındığında vücut işlevlerinde değişiklik yapan ve herhangi bir hastalığın tedavisi ve korunma amacıyla kullanılan ögedir.

Besin: Canlının yaşamı süresince hayati gereksinimlerini karşılamak için inorganik ve organik olan, tat ve aroma sağlayan her türlü üründür.

Diyet ekleri: Diyetin besin değerini artırmaya ya da belirli hastalıkların risklerini azaltmaya yönelik toz, tablet, kapsül şeklinde hazırlanmış vitamin, mineral, balık yağı, bitki özleri gibi ürünlerdir (Baysal, 2005).

2.5.1 Sekonder metabolitler

2.5.1.1 Fenolikler

Bütün bitkilerde var olan, genellikle pigmentlerle temsil edilen önemli bir gruptur. Bu grupta lignin gibi hücre duvarlarını güçlendiren, yapısal işlevi olan bileşikler de vardır. Bazı fenolikler bitki savunmasında (örnek: stilbenler, kumarinler yoğunlaşmış taninler), tozlaşmada, tohum büyümesinde görev yapmaktadır. Fenolikler kimyasal olarak bir ya da daha fazla asidik hidroksil grubu ihtiva eden aromatik bileşiklerdir. Fenolikler; flavonoidler ve stilbenler olarak iki ana gruba ayrılır.

Flavonoidler

Çoğunlukla bitki vakuollerinde mevcuttur. Birçok meyve ve çiçeğin renklerinin oluşmasında, polinatör çekiminde bitkiyi UV-B ışınlarından korumada aktiftir. Kuraklık, yaralanma ve açlık stresinde oluşurlar. Hakkında en çok bilgiye sahip flavonoidler olan fitoöstrojenler memelilerdeki 17 β -estradiol (E2)'e yapısal benzerlik gösterir (örnek: daidzein kaempferol). Baklagiller (fabaceae) familyası fitoöstrojenler bakımından oldukça zengin bir bitki ailesidir (Topçu ve Çölgeçen, 2015).

Flavonoidler serbest radikallere, alerjilere mikroorganizma ve iltihaplanmalara karşı metabolizmanın korunmasında aktif rol oynarlar. Hepatotoksinlere, ülsere, trombositlerin gruplaşmasına ve virüslere karşı biyolojik etki gösterirler. Bununla birlikte flavonoidler spesifik enzimleri de engelleyici etkiye sahiptirler. Örneğin verecek olursak flavonoidler kan basıncını yükselten angiotensin-dönüşüm enzimi inaktive etmektedirler. Prostaglandinleri parçalayan siklooksijenaz enzimini yok

ederek trombositlerin kümeleşmelerini engellerler. Flavonoidler kan dolaşım sistemini koruyarak esansiyel besinleri ve oksijeni tüm hücrelere ulaştırılmasını sağlayan kılcal damarların yapılarını güçlendirir, östrojen üreten enzimleri, östrojen senteziz enzimini engelleyerek östrojenin sebep olabileceği kanser riskini de azaltmış olurlar (Özcan vd., 2006). Flavonoidler fosfatidil inozitol (PIP) aracılığı ile akut ve kronik inflamasyon tepkimelerini katalizleyen enzimlerin aktivitelerini; hormonların fizyolojik etkilerinin yanında zararlı etkileşimler gerçekleştirmelerini inhibe ederler (Dündar, 2001).

Stilbenler

Genellikle bitki korunmasında faaliyet gösteren flavonoid ailesinin bir üyesidir. Resveratrol en fazla tanınan stilben üyesidir. Asma (*Vitis*) resveratrolce zengin içeriğe sahip bitki ailesidir. Cis ve trans izomerleri bulunan resveratrol strese neden olan patojen saldırısı ve yara oluşumu gibi nedenler ile meydana getirilirler. Trans-resveratrol insanlarda antioksidan aktivitesi aracılığıyla kalp rahatsızlıklarının tedavisinde ve böbrek kanserinde etkin rol oynamaktadır. Günümüzde kaynak olarak Trans-resveratrol kullanıldığı *Polygonum cuspidatum*’ dan elde edilen özütler sağlık sektöründe aktif olarak kullanılırken, *Vitis* bitki ailesinden elde edilenler daha ziyade kozmetik sektöründe kendine yer bulmaktadır (Topçu ve Çölgeçen, 2015).

2.5.1.2 Terpenler

Soya ürünlerinde, sebze ve tahıl gruplarında özellikle iğne yapraklı bitkiler tarafından üretilen terpenler fitokimyasallar içinde yer alan en geniş sekonder metabolit grubunu ihtiva etmektedirler (Özcan vd., 2006). Terpenler bitkilerde fotosentetik pigmentler (fitol, karotenoitler) hormonlar (gibberellinler, apsisik asit), ve membranların yapısal elemanları (fitosterol) olarak aktivite göstermektedirler. Sadece hidrokarbon içeren terpenler bulanmasının yanında oksijen içeren terpenler de mevcuttur. Oksijen içeren terpenler “terpenoitler” olarak da adlandırılmakta olup terpenler bitki organlarında genellikle serbest olarak organik asit esterler ya da glukozitleri şeklinde bazen ise proteinlerle birleşmiş olarak bulunmaktadır (Tiring vd., 2020). Bu gruba dahil olan bileşikler koku potansiyelleri bakımından oldukça önemli bir konumdadırlar (Özkaya, vd., 2018). Terpenler izopren birimlerinin sayısına göre gruplandırılmakta olup bunlar Monoterpenler, Seskiterpenler, Diterpenler, Triterpenler, Politerpenler olarak şeklinde beşe ayrılırlar (Tiring vd., 2020).

Terpenler krizantem bitki türlerinde ortaya çıkan pretroid isimli terpen eşek arısı, arı, güve vb. gibi böcek çeşitlerine karşı endüstriyel böcek kovucularda popüler olarak kullanılmaktadır. β -pineanın, α -pinalin, merin ve limonin açık tohumlu bitkilerde bulunmaktadır. Beş üyeli bir lakton halkası ile karakterize olan ve çoğu otçul memeli ve böceklerle karşı güçlü besleme iticiliğine sergileten antiherbivor ajanlarına benzer yapıda oluşum gösteren bitki korunmasında aktif olan birçok seskiterpen tanımlanmıştır. Absisik asitte bir seskiterpendir, asıl olarak tomurcuk ve tohum dinlenmesinin başlatılması ve devam ettirilmesinde görev almaktadır ve membran özelliklerini farklılaştırarak transkripsiyonel bir aktivatör şeklinde hareket ederek bitkilerin su stresine tepki oluşturmada görev sergilemektedir. (Berli vd., 2010).

Abietik asit, baklagillerde ve çamgillerde var olan bir diterpendir. Bu diterpen ağaç gövdesinde reçine yollarında, reçinelerin yanında veya içinde bulunmaktadır. İpek otu (*Asclepias*), sığır ve otçul böceklerle karşı onları savunan daha iyi tada sahip birkaç glukoziti (sterol) meydana getirmektedir. Limon, adaçayı fesleğen, nane gibi bitki türlerinin içerdiği yağlar en iyi örnekleridir (Bakır, 2020). En dikkate değer terpen kaynakları ise turuncgiller olup bunların yanında, vişne ve kiraz çeşitleri de önemlidir. Terpenler de flavonlara benzer biçimde hücrede mikrozomal lipid peroksidasyonunu ve dokulara yoğunlaşmış oksidatif stresi engellemektedir (Haraguchi vd., 1997).

2.5.1.3 Alkaloitler

Bitkisel dokulardan sağlanan, çoğunlukla farmakodinamik ve kuvvetli fizyolojik etkisi olan, halka içinde bir veya birden fazla azot taşıyan, bazik karakterli bileşiklerdir. Alkaloitler de ikincil metabolitler gibi patojenlere ve herbivorlara karşı bitki savunmasında aktif rol olan maddelerdir (Alaca ve Arslan, 2012). En değerli terapötik ajanların geneli alkaloitlerdir. Biyosentez bölgeleri hücresel veya alt hücresel düzeyde kısımlara ayrılmıştır. Genelde özelleşmiş doku ve hücrelerde üretilip, sentezlendikleri yerde depo edilir veya depo dokularına transferleri gerçekleştirilir (Bakır, 2020). Bitki türlerinin ortalama %20'si alkaloid üretmekte ve birçok bitki birden fazla alkaloidi meydana getirmektedir. Damarlı bitkilerin doku ve süspansiyon kültürlerinden elde edilen doğal kaynaklı ürünlerdir (Topçu ve Çölgeçen, 2015).

Bitkilerde çoğunlukla belli bir dokuda (tohum, yaprak meyve, kabuk, kök) rol alırlar. Alkaloitlerin genellikle, bir türe ya da yakın türlere hastır, bir bölümü ise bir familyaya

özeldir. Genel ifadeyle, alkaloidler organik çözücülerde fazla suda ise daha az çözünürler. Alkaloidler daha öncelerde, N depo bileşikler, N’lu atıklar ya da büyüme regülatörleri olarak projelendirilmekteydi. Birçok alkaloid, çoğu canlıda fazlaca toksik etki gösterir. Örneğin; atropin, konin ve sitrisinin oldukça zararlı alkaloidlerdir. Zararlı etkilerine karşın düşük dozlarında ise farmakoloji alanında yararlanılmaktadır. Morfin, atropin, kodein ve efetrin sağlık alanında faydalanılan bitki alkaloidleridir. Diğer alkaloidler nikotin, kafein ve kokain bireyde sakinleştirici ve uyarıcı şeklinde tıbbi etki gösterici roller oynamaktadırlar.

Hücresel düzeyde alkaloidler canlıda birçok rol alırlar. Protein sentezini ve misel enzim aktivasyonunu etkilerler bir diğer taraftan sinir iletkenliğini oluşturup bu bölgelerdeki reseptörleri sararlar. Alkaloidler sadece savunmada görev yapan metabolitler olmayıp betalain gibi kırmızı ve sarı renkli alkaloidler meyve ve çiçek pigmentlerinde de bulunurlar (Alaca ve Arslan, 2012).

2.5.2 Fitokimyasal bileşiklerin canlıdaki etkileri

2.5.2.1 Antioksidan etki

Antioksidanlar, besin kaynaklarını ve bu besinleri kullanan metabolizmaları reaktif etki gösteren serbest radikallerin oluşturabileceği etkilere karşın koruyucu özellikteki maddelerdir (Sevindik, 2019).

Oksijenli solunum yapan canlılar (Örn: memeliler, bitkiler, mantarlar) serbest radikallerin yol açtığı metabolizmanın stresinden kaynaklı, kalp, sinir, kemik hastalıkları ve göz damar, cilt ve akciğer gibi organ ve sistemlerde meydana gelebilecek hasarın önüne geçmek amacıyla antioksidan savunma sistemleri geliştirmiştir. Bu sistemler daha önce de bahsedildiği üzere kendi içinde birçok gruba ayrılıp bunlar canlılarda serbest radikalleri nötralize ederek, metabolizmayı bu radikallerin etkilerinden korunmasını sağlar, bireyin daha sağlıklı ve yaşlılıktan kaynaklı etkilerin en az olduğu bir yaşam standardı sunar (Demir ve Akpınar, 2020).

2.5.2.2 Antiinflamatuvar etki

İltihaplanma olarak da bilinen inflamasyon canlının maruz kaldığı mikroorganizmalar kimyasal ve fiziksel etkiler, zedelenmiş hasarlı hücreler gibi canlıya zararlı etkileri

olan uyarıcılara karşı verdiği metabolizmayı koruyucu bir sonuçtur. Savunma sistemi ve bu sistemin hücrelerinin bazı biyokimyasal süreçleri inflamasyon etkiyi aktifleştirir ve canlıda bu uyarılara karşın vücutta koruyucu etki gösterilir (Sentürk, 2013). İnflamasyon akut ve kronik olmak üzere ikiye ayrılırken kronik inflamasyon, immün sistem hastalıkları, kanser, diyabet, sinir hasarı kaynaklı hastalıklar ve obezite gibi çeşitli patolojik bozuklukların oluşumunda giderek daha fazla etkili olduğu çalışmalar neticesinde belirlenmiştir. Kronik inflamasyonun neden olduğu hastalıklar henüz tam anlamıyla çözüme kavuşturulamamıştır. Kullanılan tedavi yöntemlerinin yan etkileri ile yeni ve güvenli anti inflamasyon kaynaklarının keşfedilmesi ve kullanılması oldukça önem arz etmektedir (García-Lafuente vd., 2009).

Doğadan geliyor olması ve toplumda daha fazla kabul gördüğü düşünülen bitkisel sekonder metabolitlerin anti inflamasyon yeteneği araştırılmıştır. Anti inflamasyon etkinliği keşfedilen sekonder metabolitlerin, antioksidan ve serbest radikal temizleyici etkisi ile iltihaplara karşın metabolizmayı düzenleyerek siklooksijenaz ve fosfolipaz A2 gibi enzim aktivitelerini ve proinflamatuvar gen ekspresyonunu tekrardan düzenleyerek, proinflamatuvar sitokinlerin salınımını azaltarak anti inflamasyon yeteneğe sahip olduğu keşfedilmiştir (Ülger ve Ayhan, 2020).

2.5.2.3 Antidiyabetik etki

Diabetes Mellitus, ciddi klinik sonuçları olan normalden daha yüksek seviyede kan şekeri seviyesi ile ilgili kronik bir glukoz metabolizması bozukluğudur. Tıbbi tedavi yöntemleri, doğru beslenme ve fiziksel aktivite ile kişideki etkilerinin önüne geçilebilir ya da gecikmesi sağlanabilmektedir (Forouhi ve Wareham, 2010).

Diyabet tedavisinde kullanılan kan glukoz seviyesini kontrol altında tutmaya yarayan ağızdan alınan antidiyabetik ilaçların birçoğunun etki metabolizması; insüline duyarlılığı arttırma, insülin sekresyonunu arttırma veya karbohidrat absorpsiyonunu azaltılması şeklinde gerçekleşmektedir. Kullanılan bu yöntemlerin yanında alternatif yöntemlerde araştırılmakta olup güncel yöntemlere yeni bir bakış açısı getiren sağlıklı kişilerde yüksek sekonder metabolit içerik barındıran besinlerin tüketiminin diyabete yakalanma riskini azaltabileceği gibi hali hazırda diyabetli bireylerde de görülen oksidatif stres kaynaklı hastalıkların etkisini azaltarak bireyin yaşam standartlarını yükselttiği belirlenmiştir (Ülger ve Ayhan, 2020; Vinayagam ve Xu, 2015).

2.5.2.4 Antikarsinojenik etki

Dünya genelinde insanlığın en çok sorun yaşadığı sağlık problemlerinin ilk sırasında birçok ülkede yaşattığı ölüm sebebi ile kanser kendisine oldukça kolay yer bulmaktadır. İnsanlık kanserin etkilerini ve sonuçlarını azaltmak adına daha etkili, daha ucuz ve yan etkisi daha az olan tedavi yöntemleri araştırmaktadır. Uzun yıllar boyunca proapoptotik, antitümör ve antianjiyojenik etkileri açısından fenolik bileşikler yoğun bir şekilde araştırılmakta olup kateşin, kumarin, kuersetin, ve warfarin gibi sekonder bileşiklerin DNA'ya karsinojen bağlanmasının önüne geçerek, oksidatif DNA hasarına karşı savunma gerçekleştirdiği, malign dönüşümün inhibisyonuna neden olan farklılaştırılmış hücre sinyallemesini normalize ettiği, bunun neticesinde ise kanser hücresinin gelişmesini engelleyerek kansere karşı koruyucu etki gösterebileceği sonucuna varılmış ve son yıllarda bu bileşiklerin kullanımı da oldukça yaygınlaşmıştır (Carocho ve Ferreira, 2013; Ülger ve Ayhan, 2020).

2.5.2.5 Antiviral etki

Virüs kaynaklı hastalıklar her yıl yüzbinlerce bireyi etkilendiği ve etkinin kişide ağır sonuçları beraberinde getirdiği bununla birlikte ölümle sonuçlanan etkilerinin olduğu kaçınılmaz bir gerçektir. Aktif olarak kullanılan antiviral ilaç ve tedavi yaklaşımlarının tedavi etkileri yetersiz ya da ciddi yan etkileri ortaya çıkmaktadır. Bu sebeple bilim dünyası etkili yeni antiviral kaynak ve yöntemlere ihtiyaç duymaktadır. Bitkilerden izole edilip saflaştırılan alkaloidler, terpenler, flavonoidler, çeşitli heterozitler ve proteinler terapötik etkilerin yeni kaynağıdır. Örnek olarak, bir flavonoid heteroziti olan ve farklı bitki türlerinde yaygın şekilde bulunan HSV-1 HSV-2, kuş gribi ve para influenza-3'ün virüslere karşı etkili olduğu belirlenmiştir (Ege ve Elmastaş, 2020).

2.6 Enzim İnhibisyonu

Canlılar hücrelerindeki tepkimenin yeterince hızlı olabilmesi için enzimlere ihtiyaç duyar. Enzimler, katalizle tepkimeleri daha düşük enerji kullanılarak kimyasal reaktiviteyi artıran, kararlı yapıya katkıda bulunan ve genellikle protein yapıda olan biyomoleküllerdir (Pinney vd., 2021). Enzimler biyolojik mekanizmalar için olmazsa olmazdır kendilerine özel yetenekleri sayesinde metabolizmadaki hemen hemen her türlü kimyasal reaksiyonda da aktif rol alan süper katalizörleridir (Sellergren, 2010).

Enzimler bu derece önemli iken bunların yanında metabolizmada için önemli olan tepkimenin hızını azaltmakta veya enzimin kataliz olarak görev yapmasının önüne geçmekte olan maddelerde inhibitör olarak tanımlanmaktadır (Smith ve Simons, 2004). Enzim inhibitörleri, düşük moleküler ağırlıklı kimyasal yapılardır. Enzimin katalitik aktivitesini geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz olarak (kalıcı olarak) azaltabilir veya tamamen inhibe edebilme yeteneklerine sahiptirler (Sharma, 2012).

Enzimlere bağlanmalarına rağmen substrat şeklinde davranmayan ve bileşik meydana getirmeyen bu maddeler enzimin görevini yapmasını engellemektedir bu olaya ise inhibisyon denir (Smith ve Simons, 2004). Enzim inhibisyonu adına gerçekleştirilen çalışmalar, farmasötik araştırmaların önemli bir konusu olmayı devam etmektedir. Bu alanın popülerliğini koruyor olması yapılan çalışmalar neticesinde insanlığın faydasına olabilecek farklı metabolik koşullarda etkili ilaç ve türevlerinin keşfedilmesine kaynak oluşturuyor olmasıdır. Ayrıca enzim inhibitörleri enzimlerle etkileşimde bulunarak doğal substratlara yönelik aktivitelerini engelleme aktivitelerine sahiptirler (Amtul vd., 2002). Enzim inhibitörleri etki mekanizmalarına göre geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz olarak iki gruba ayrılmaktadır. Tersinir inhibitörler ise kinetik davranışlarına göre rekabetçi, rekabetçi olmayan, rekabetçi olmayan ve karışık inhibitörler olarak alt gruplara ayrılmaktadır (Cleland, 1963).

Enzim inhibitörlerinin etki mekanizması, enzim aktivitesi olmayan (veya düşük) bir enzim inhibitör kompleksi oluşumu (EI kompleksi) sürecini içermektedir. Geri dönüşümsüz bir inhibitör (Irreversible inhibitors), enzime sıkı bir şekilde bağlı olduğu için bu kompleksten çok yavaş ayrışır. Temel olarak bu inhibisyon modu, enzim ve inhibitör arasındaki kovalent bağ veya hidrofobik etkileşimin oluşumu ile ilgilidir. Geri dönüşümsüz inhibitörler, enzimle reaksiyona girer ve onu kimyasal olarak değiştirir. Bu inhibitörler genellikle, enzimin aktivitesi için gerekli olan amino asit kalıntılarını modifiye eden reaktif fonksiyonel gruplar içerir. Ayrıca enzim konformasyonunu etkileyen inhibisyon sağlayabilirler. Tersinir olmayan inhibitörün bir örneğin, peptidaz (insülini parçalar) gibi enzim moleküllerinin sistein kalıntılarının SH-grubu ile kovalent olarak etkileşime giren N-etilmaleimiddir (Malito vd., 2008).

Geri dönüşümsüz inhibisyon (Irreversible inhibition), geri dönüşümsüz enzim inaktivasyonundan farklı etki gösterir. Geri dönüşümsüz inhibitörler genel olarak bir enzim sınıfına özgüdür ve tüm proteinleri inaktive etme yeteneğine sahip değildirler.

Üre gibi denatüre ajanların aksine, deterjanlar protein yapısını bozmaz, ancak özellikle hedef enzimin aktif bölgesini değiştirir. Geri dönüşümsüz inhibitörler, zamana bağlı enzim aktivite kaybı gösterir. Geri dönüşümsüz inhibitörün enzimle etkileşimi bimoleküler bir reaksiyondur.



E enzim, I inhibitör, EI enzim-inhibitör kompleksi ve k_1 reaksiyonun hızının sabiti.

Genellikle tersinir inhibitör, hidrojen veya iyonik bağlar gibi kovalent olmayan etkileşimler kullanarak enzimlere bağlanır. Bu inhibitörlerin enzime, enzim-substrat kompleksine veya her ikisine birden bağlanmasına bağlı olarak farklı tersinir inhibisyon türleri üretilir. Tersinir inhibisyonun bir diğer türü, rekabetçi inhibisyon olarak adlandırılır.

Bu inhibisyonda iki tür kompleks vardır: Enzim inhibitörü (EI) ve enzim substratı (ES); kompleks EI'nın enzim aktivitesi yoktur. Substrat ve inhibitör, enzime aynı anda bağlanamaz. Bu inhibisyon, substrat konsantrasyonunun artmasıyla tersine çevrilebilir.

Diğer bir tersinir inhibisyon türü, rekabetçi olmayan inhibisyonudur. Bu durumda, inhibitör yalnızca substrat-enzim kompleksine bağlanır; substratın aktif bölge ile bağlanmasına müdahale etmez, ancak kompleks enzim substratının ayrışmasını önler.

Üçüncü engelleme türü ise karışık ve rekabetçi olmayan inhibisyon: Bu tip inhibisyon, kompleks enzim (E) inhibitörü (I) substratının (EIS) ayrışarak bir reaksiyon ürünü vermemesine neden olur. Bu durumda, inhibitör E veya ES kompleksine bağlanır. İnhibitörün enzime bağlanması aktivitesini azaltır fakat substratın bağlanmasını etkilemez. Bazı durumlarda, inhibitör enzime enzim-substrat kompleksi ile aynı anda bağlanabildiğinde karışık inhibisyon görebiliriz. Bunun yanında, inhibitörün bağlanması, substratın bağlanması üzerinde etkilidir ve bu durumun tersi olduğu durumda geçerlidir. Bu çeşit inhibisyon azaltılabilir, fakat substrat miktarlarının artmasıyla inhibisyonun üstesinden gelinemez. Karışık tip inhibitörlerin aktif bölgeye bağlanması mümkün olsa da bu inhibisyon genellikle inhibitörün allosterik etkisinden kaynaklanır. Enzimatik reaksiyonların hızını modüle eden enzim inhibitörleri ve aktivatörleri, metabolizmanın düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. (Lopina, 2017).

2.7 Alzheimer Hastalığı

İlk defa 1907 senesinde Alman psikiyatr ve Nöropatolog Dr. Alois Alzheimer tarafından tariflendirilen Alzheimer hastalığı (AD); zamanla artan hafıza kaybı ve bilinç bozuklukları ile nitelendirilen nörodejeneratif bir rahatsızlıktır (Öztürk, 2009).

Alzheimer hastalığı, demanstan muzdarip olan 65 yaş üzerindeki bireylerde %50-60 oranında rastlanılan ilk olarak yaşlı nüfus üzerinde etki gösteren ve birey ve toplum sağlığının devamlılığı bakımından oldukça önemli bir hastalıktır (Howes vd., 2003).

Dünya genelinde bir çoğu 60 yaş üzeri tahminen 40 milyonun üzerinde Alzheimer hastası olduğu tahmin edilmekte ve bu sayının her 20 senede bir en az 2050'ye kadar iki katına çıkması beklenmektedir Bu tahminler çerçevesinde belli bir yaşta hastalığa yakalanma sayısı hemde hasta bireylerin hayatta kalma süreleri izlendiğinde gelişmekte olan ve genç nüfusa sahip ülkelerdeki bireylerin Batı Avrupa ve ABD gibi çok daha fazla yaşlı bireye sahip ülkelere göre hastalık oranının ileride çok daha yüksek olacağını göstermektedir (Scheltens vd., 2016).

Gerçekleştirilen çalışmalara neticesinde elde edilen son raporlar, 2050 senesine kadar demans prevalansının Avrupa kıtasında iki katına çıkacağına ve dünya genelinde üç kat artacağına ve Alzheimer hastalığının biyolojik tanımı kaynak gösterildiğinde ise bu tahminin 3 kat daha yüksek olacağı düşünülmektedir (Scheltens vd., 2021).

Alzheimer hastalığı (AD) halk arasındaki adı ile bunama olarak da tabir edilen demansın bir çeşididir. Süreç içerisinde içinde aşama aşama ilerleyerek daha kötü bir boyut kazanmakta ve kişide: Hafıza kaybı, öğrenme ve dil becerileri gibi belirtileri ile ortaya çıkar. Alzheimer'ın beyindeki kolinerjik nöronların seçici kaybı ve azalan asetilkolin (ACh) seviyesi ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir (Lambert vd., 2009).

Hastalığın net bir sebebi hala tespit edilememiş olup en yaygın düşünce, kolinerjik hipotezdir. Kolinerjik hipotez, Alzheimer patogenezi açıklayan en popüler hipotezlerdir. Kolinerjik hipoteze göre Alzheimer nöronların dejenere olması ve hafıza hücrelerinin fonksiyonlarını kaybetmesi ile ilişkili bir toplum hastalığıdır. 1976 yılında Peter Davies tarafından hastalığın belirtileri ile AD'li bireylerin beyinlerindeki spesifik kolinerjik eksikliği ile arasındaki ilişkinin keşfedilmesi nörokimya alanının kapılarının aralanması adına bir başlangıç olmuştur. Bahsedilen hipotezde beyinde

önemli bir nörotransmitter olarak görev yapan asetilkolinin eksikliği, nörotransmitter üretiminin azalması veya artmış asetilkolinesteraz aktivitesi ile bağdaştırılmıştır. Nörotransmitterin azalmış olan miktarı kolinerjik nörotransmisyonun bozulmasına ve kazanılmış becerilerin yitirilmesine neden olmaktadır. Kolinerjik hipotezi incelediğimizde Alzheimer için, kolinesteraz enzimlerinin inhibisyonu yoluyla asetilkolin (ACh) miktarının artırılması olarak tanımlayabiliriz (Singh vd., 2003).

2.8 Diabetes Mellitus

IDF: International Diabetes Federation (Uluslararası Diyabet Federasyonu) 2021 yılı Diyabet Atlasının 10. Baskısında dünya genelinde 537 milyon yani her 10 yetişkinden 1'inin diyabetle yaşamına devam ettiği bu sayının 2030 yılına varıldığında 643 milyona ve 2045 yılına ulaşıldığında ise 783 milyona çıkacağı tahmin edilmektedir. Dünya genelinde bu kadar yaygın bir toplum hastalığı olmasına rağmen yaklaşık diyabetli kişilerin %44 henüz hastalıklarının farkında dahi olmamaktadır. Bu durumda olan yaklaşık 240 milyon kişinin ise geneli tip 2 diyabet hastasıdır. Bu bilgilere ekleme yapacak olursak 19 yaş altında 1,2 milyondan fazla çocuk ve ergen de tip 1 diyabet hastası ile yaşamına devam etmektedir. 2021 yılında diyabetli bireylerin sağlık harcamaları için ise en az 966 milyar Amerikan doları kullanılmış harcanan bu miktar ise sağlık hizmetleri adına küresel harcanan miktarın toplamının %9'una tekabül etmektedir. Bununla birlikte 2021'de gerçekleşen 6,7 milyon ölümden diyabet hastalığının etkili olduğu tahmin edilmektedir (Aşilar vd., 2023; Çelenk, 2023).

Diyabet tanımına baktığımızdaysa bireyde uzun süreli etkileri ile metabolik ve hücre değişikliklerine neden olan aynı zamanda bireyin yaşam standartlarını önemli ölçüde etkileyen bir toplum hastalığıdır. Diyabet, körlük, kalp krizi, alt ekstremitte engeli ve böbrek yetmezliği gibi bir dizi komplikasyonunda başlıca sebebidir. Tip-2 diyabet ise diyabetin baskın olan şekli olarak tanımlanmaktadır (Keskin ve Özkök, 2020).

Kan glukoz seviyesinin beslenme sonrasındaki süreçte yüksek devam etmesi ile bağdaştırılan Tip-2 diyabetin tedavi edilmesi sırasında, ince bağırsaklarda bulunan kompleks karbohidratları kullanılabilir hale getiren enzimlerin inhibisyonu kayda değer bir tedavi metodudur. Akarboz Tip-2 diyabetin tedavi edilmesinde faydalanan aktif bir bileşik olmasının yanında, birçok diyabet ilaçlarında da etken kaynak şeklinde kullanılmaktadır. Akarboz, karbohidratların ayrılmasında aktif enzim görevinde

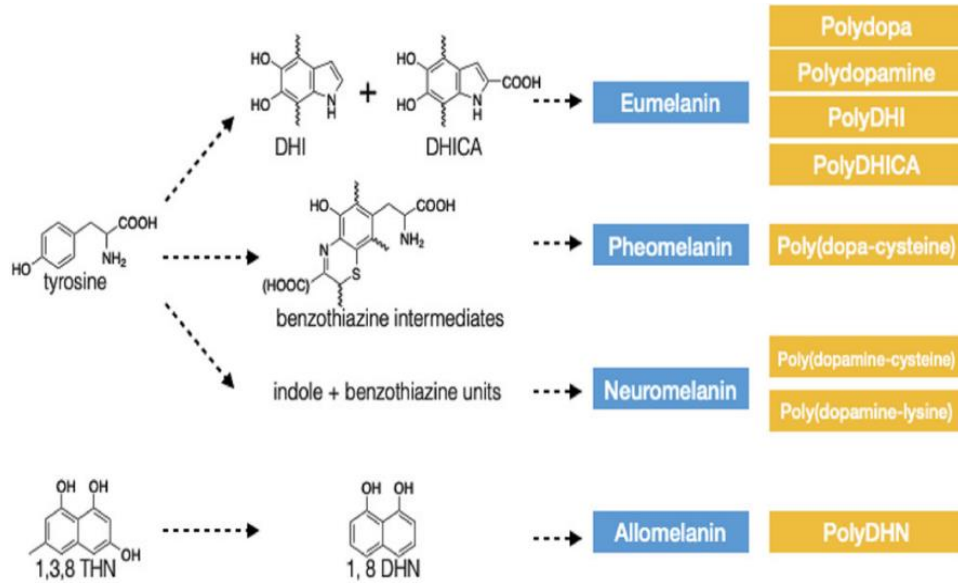
bulunan α -glukozidaz ve α -amilaz enzimlerini inaktive ederek monosakkaritlerin oluşmasını ve emilmesini daha düşük seviyeye getirmekte ama bununla birlikte akarboz kullanımı sonucunda yan etkilerde görülmektedir. Gözlemler neticesinde doğal antidiyabetik yeteneği olan diyet biçiminin benimsenmesinin önemi geçen sürede dahada değerlendirilmektedir (Doğan ve Doğan, 2021).

Son zamanlarda yapılan çalışmaları mercek altına aldığımızda birçokunun α -amilaz ve α -glukozidaz inhibitörleri açısından zengin hipoglisemik gıdalar üzerine gerçekleştirilmiştir. Biyoaktif bileşikler karbohidratlar tarafından sindirim enzimlerinin aktivitesini inhibe ederek gıdaları daha az sindirilebilir hale getirir bunun sonucunda metabolizma için daha az enerji sağlanmaktadır. Bitkilerde bulunan bu biyoaktif fitokimyasal bileşikler doğal enzim inhibitörleri olarak canlıda gastrointestinal sistemde nişasta ve glisemik indeksin sindirilebilirliğinde aktif rol oynamaktadır. Özellikle polifenolik bileşiklerin nişasta sindiriminde yer alan α -glukozidaz enzimleri ve α -amilazı inhibe ederek besin emilimini modüle ettiği yapılan araştırmalar sonucunda belirlenmiştir (Aksoy vd., 2021). Gerçekleştirilen araştırmalar glukozidaz ve amilaz enzimlerinin inhibe olması sonucunda kan glukoz seviyelerinin gözle görülür seviyede düştüğü tespit edilmiştir (Tundis vd., 2010).

2.9 Hiperpigmentasyon

Sağlık açısından sorun oluşturmayıp kozmetik açıdan rahatsızlık teşkil eden ve cildin fazla güneş ışınlarına maruz kalması sonucunda kontakt dermatit, yaralanma, egzama ve akne gibi etkenlerle ciltte renk oluşumundan sorumlu olan melanin pigmentinin fazla üretilmesi ve bunun sonucunda deri altında melanin bileşiğinin birikmesiyle oluşan tüm cilt tiplerinde görülebilen ve ciltte renk farklılaşmalarına sebep olan deri hastalığı olarak tanımlayabiliriz (Woolery-Lloyd ve Kammer, 2011).

Hiperpigmentasyon da deride melanin miktarı ve dağılımı önemli bir biyolojik özelliktir ve bu etken rahatsızlığının çeşidi ve tedavi yönteminin belirlenmesinde oldukça önemlidir. Melanin tek başına bir bileşikten ziyade epidermisin bazal tabakasında bulunan lizozom benzeri bir organel olan ve melanin granüllerinin ana substratı olarak tirozin amino asidi kullanılarak sentezlendiği melanositin metabolik birimi olan melanozom içinde gerçekleşmektedir bu sentez sonucunda ise Şekil 2.4’de belirtildiği üzere farklı melanin türleri meydana gelmektedir (Vashi ve Kundu, 2013).



Şekil 2.4. Melanin sınıflandırması.

Şekildeki görselde sol üst taraf, dört tür doğal melanin için biyosentetik yolların şemasını göstermektedir. Sağdaki turuncu kutular, farklı melanin türleri için bildirilen bazı sentetik versiyonları göstermektedir (Xiao vd., 2020).

Melaninin temel olarak iki formu bulunmaktadır bunlardan ömelanin kahverengi-siyah pigment oluşumunda baskın rol oynarken feomelanin sarı-kırmızı pigment oluşumunda etkili olup dünyadaki etnik kökenlerdeki deri rengi farklılıklarının temel nedeni olarak kabul edilmektedir (Yapar., 2017). Ömelanin ve feomelanin pigmentleri ile dopamin ve diğer katekolamin öncüllerinin oksidasyonu ile nöronlar içerisinde oluşturulan koyu pigmentlerde mevcuttur bu pigmentler nöromelanin şeklinde isimlendirilir. Nöromelanin doğrudan tirozinden sentezlenen periferik melaninden farklı olsa da periferik melanin ile aynı öncülü paylaşır. Nöromelanin konsantrasyonu ilerleyen yaş ile artmaktadır bu durumda nöroproteksiyonda etkili olduğu düşünülmektedir (Jucevičiūtė vd., 2019; Tribl vd., 2009).

Oluşum şekli göz önünde bulundurulduğunda, nöromelanin varlığının, dopaminerjik nöronlardaki oksidasyon seviyesi hakkında bilgi vereceği söylenebilir (Youdim ve Riederer, 1997).

Hiperpigmentasyon bozuklukları toplum arasında farklı şekil ve oluşumlarda meydana gelen oldukça yaygın bir rahatsızlıktır ve birçok çeşidi bulunmaktadır. Genel olarak ise üç ana gruba ayrılırlar (Cayce vd., 2004).

2.9.1 Epidermal melanoz

Bu hiperpigmente cilt tipinde, normal sayıda melanosit hücresi olmasına rağmen aşırı miktarda melanin üretimi gerçekleşmektedir. Klinik örnekler arasında café-au-lait (açık-koyu kahverengi pigmentli doğum lekeleridir) ve ürtikerya pigmentoza yer alır (hücrelerin deri içerisinde anormal şekilde birikmesi). Bu hiperpigmentasyon tipi en çok lokal tedaviye yanıt verir.

2.9.2 Dermal melanoz

Dermal melanozlar, doğuştan veya nevoidir ve diğerleri ise sonradan olmaktadır. Bu tip hiperpigmentasyonun cilt için normal kabul edilir nedeni ise dermis içerisindeki, kollajen demetleri arasındaki veya melanofajlar içindeki melaninden kaynaklı olmasıdır. Lekelerin rengi kahverenginin tonlarında olup gri tonlarda da görülebilir.

2.9.3 Karışık tip

Bu hiperpigmentasyon, epidermiste artan melanin ve dermiste melanofajlar ile karakterizedir. En yaygın örneği, soyuntu veya enflamatuvar dermatozlar (akne) sonrası hiperpigmentasyondur (Nieuweboer-Krobotova, 2013). Bireyde saç cilt ve göz pigmentasyonundan sorumlu olan melaninler, melanositler tarafından melanogenez yoluyla sentezlenmektedir. Melanogenesis ve cilt pigmentasyonu, güneşten gelen ve zararlı ultraviyole radyasyona ve cilt fotokarsinogenezine yanıt olarak cildin en önemli fotokoruyucusudur (Zolghadri vd., 2019).

Hiperpigmentasyonun tedavisinde kullanılan ajanlar arasında retinoidler, hidrokinon, azelaik asit ve glikolik asit bulunmaktadır. Ancak bu bileşiğe sahip ilaçların kullanımı çoğu kez bireyde cilt tahrişini de beraberinde getirmekte ve birçok hasta da bu bileşiklere karşı bir tolerans gösterememektedir. Bu gibi nedenlerden dolayı bireyler bu tür depigmente edici maddelerden ziyade daha hafif ama etkili, kozmetik açıdan çekici, kolay erişilebilir tercihen doğal bileşiklere sahip ürünleri talep etmekte ve bu özelliklere sahip bileşiklerin yaygınlığı her geçen gün artmaktadır (Leyden vd., 2011).

3. MATERİYAL VE METOD

3.1 Bitki Materyali

Tez araştırma materyali *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium* bitkisinin toprak altı ve toprak üstü bölümleri Adana ili Feke ilçesi Akoluk Mahallesi ve yaylaları arasındaki N 37°45'34,2"- E 36°02'39" koordinatlarından toplanmıştır (Tan ve Yıldız, 1988).

3.2 Bitki Özütlerinin Elde Edilmesi

Uygun mevsimsel döneminde araziden toprak altı ve toprak üstü kısımlarından yeterli miktarda toplanmış olan bitki örnekleri doğrudan güneş görmeyen gölge bir ortamda tamamen kurutulmuştur. Kurumuş örnekler blender yardımı ile toz haline getirilmiştir. Granüle hale getirilen bitki örneğinden hassas terazi aracılığıyla 3x15 gram tartım yapıp örnekler üç ayrı balon jojeye aktarılmış ve üzerlerine çözücü olarak kullanılan metanol, etil asetat ve su'dan 250'şer ml sırası ile eklenmiştir. Çözücü ve bitki örnekleri eklenen balon jojeler Ultrasonic Cleaner cihazında 4x15'dk işleme tabi tutularak çözücü ve bitki örneklerinin tamamen karışması sağlanmıştır. Sonrasında örnekler filtre kağıdından ikişer defa süzülerek partiküllerinden ayrıştırılmıştır. Metanol ve etil asetat özütleri Rotary Evaporatör cihazında 55-60 °C 150 rpm'de metanol ve etil asetat uçurularak saf bitki özütleri elde edilmiştir. Sulu özütler ise liyofilize edilmiştir. Elde edilen özütlerin kuru madde miktarı ve toplam verimleri belirlenerek -20 °C'de saklanmıştır. Sonrasında ise fenolik bileşim analizi, antioksidan aktivite analizi ve enzim inhibisyon aktivesi analizi için 2mg/ml konsantrasyonda stok çözeltiler hazırlanmıştır.

3.3 Antioksidan Aktive Metotları

3.3.1 Toplam fenolik içerik

Ekstrelerin toplam fenolik içerikleri yapılan bazı değişimlerle Folin-Ciocalteu yöntemine göre saptanmıştır (Juranović Cindrić vd., 2011; Agbor vd., 2014). Kısaca yöntem depo örnek çözeltilerinden 0.2. ml alındı, 1.5 ml saf su ve 0.5 %'lik Na₂CO₃ ilave edilerek karıştırıldı ve 3 dakika süre beklenildi. Sonrasında 1 ml Folin- Ciocaltu ilave edildi. Standart şekilde Gallik asidin birbirinden ayrı derişimlerinden (100,50,25,12,5 µg/ml) alınıp aynı işlemler yapıldı. Konsantrasyonu sıfır olan örneğin

yerine (kör) 0.2 ml metanol ilave edildi. Sonrasında oda sıcaklığında 2 saat güneşten uzak bir ortamda inkübe yapılan örneklerin 760 nm’de spektrofotometrede absorbansları tespit edildi. Numunelerde fenolik bileşiklerine göre çeşitli oranlarda yeşil renkten mavi renge doğru renk farklılaşması izlendi. Numuneler 3’er tekrar yapılarak değerler tespit edildi. Standardın absorbans derişim grafiğinde elde edilmiş olan denklemden faydalanarak numunelerin fenolik içerikleri Gallik asit eşdeğeri (mg GAEs/g özüt) olarak saptanmıştır.

3.3.2 Toplam flavonoid içerik

Toplam flavonoid içerik Arvouet-Grand vd. (1994)’e göre spektrofotometrik olarak saptanmıştır. Yöntemde, 1 ml ekstre %2’lik AlCl₃ ile karıştırıldı. Bütün numuneler için hazırlanmış olan konsantrasyonu sıfır olan örneğinde 1 ml ekstre ve 1 ml metanol ilave edilmiştir. Standard olarak Quercetin’in değişik konsantrasyonlarda düzenlenen çözeltilerinden faydalanılmıştır. Numuneler 10 dakika süresince oda sıcaklığında bekletildikten sonra 415 nm’de konsantrasyonu sıfır olan örneğe karşı absorbansları belirlenmiştir. Standardın absorbans derişim grafiğinde elde edilmiş denklemden faydalanılarak numunelerin flavonoid içerikleri Rutin eşdeğeri (mg RES/g özüt) olarak tespit edilmiştir.

3.3.3 DPPH serbest radikal giderme aktivitesi

Numunelerin DPPH radikalini giderme aktivitesi Sarikurkcü vd. (2008)’in metodu ufak değişimlerle uygulanmıştır. Yöntem için ilk başta DPPH’IN mM’lık derişimi hazırlanmıştır. Kontrol tüpüne 1 ml of metanol ve 1 ml of DPPH derişimi, konsantrasyonu sıfır olan örnek tüpüne ise metanol ilave edilmiştir. Numunelerin için değişik konsantrasyonlarda yapılan 1 ml özüt üzerine 1 ml DPPH ilave edilmiş ve 30 dakika süresince oda sıcaklığında güneşten uzak bir alanda inkübasyona bırakılmıştır. Geçen zaman sonunda 517 nm’de numuneler, kontrol ve standartların absorbans değerleri belirlenmiştir. Absorbans verilerinden yararlanarak numunelerin özütlerin DPPH radikali inhibe değerleri Denklem 3.1’de (%I) şu formüle göre belirlenmiştir.

$$\%I = 100 \times (A_0 - A_1) / A_0 \quad (3.1)$$

A₀: Kontrolün absorbansı, A₁: Özütün absorbansı. Ayrıca her özüt için radikalın %50’sinin inhibe edildiği konsantrasyon olan IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

3.3.4 ABTS radikal süpürme aktivitesi

ABTS katyon radikaline karşı arındırma aktivitesi, Re ve ark. (1999)'nın metoduna göre ufak farklılıklar kullanılarak tespit edildi. Özetle ABTS radikal katyonu, 7mM ABTS çözeltisini 2.45 mM potasyum persülfat ile etkileşime girdirilmesi ve çözeltinin oda sıcaklığında ve güneş görmeyen karanlık bir ortamda 12-16 dk süresince beklemesiyle oluşturtuldu. Çalışmaya başlamadan evvel, ABTS solüsyonuna (2 ml) örnek solüsyonu (1 ml) eklendi ve karıştırma işlemi gerçekleştirildi. Numune absorbansı, oda sıcaklığında 30 dakika süren bir inkübasyon sonrasında 734 nm'de değerler tespit edilmiştir. ABTS radikal katyon arındırma aktivitesi, troloks eşdeğerleri (mgTEs/g) olarak belirlendi.

3.3.5 Demir indirgeme antioksidan gücü (FRAP)

Metot ekstrelerin demir iyonlarını indirgeme gücünün tespit edilmesi metoduna uyularak yapılmıştır (Aktumsek vd., 2013). İlk olarak 31.2 mg TPTz, 50 µl hidroklorik asit ve 10 ml distile su karışımı içerisinde tamamen çözündürülmüştür. Sonrasında 32 mg FeCl₃ 10 ml distile suda çözündürülmüştür. Son olarak ise 4.1 ml asetik aside (%80) 250 ml saf su eklendi ve 0.66 g sodyum asetat bu çözelti içerisinde tamamen çözündürülene kadar karıştırılmıştır. Tampon, TPTz ve FeCl₃ 10/1/1 oranlarında karıştırılarak bu çözeltinin 2 ml'si ile 0.1 ml özüt karıştırılarak 30 dakika 30 °C'de inkübe işlemi gerçekleştirildi. Standart şekilde ekstre yerine troloks çözeltisinin değişik derişimleri (25, 50, 75, 100, 150, ve 200 µg/ml) kullanılmıştır. İnkübasyon sonrasında numunelerin absorbansı 593 nm'de tespit edilmiştir. Sonuçlar troloks eşdeğeri (mg TEs/g) olarak gösterilmiştir.

3.3.6 Bakır iyonları indirgeme aktivitesi (CUPRAC)

Bu yöntem Apak vd. (2006)'den ufak değişiklikler yapılarak gerçekleştirilmiştir. Yöntem için amonyum asetat, CuCl₂ ve neocuproine çözeltilerinden her birinden ayrı ayrı 1'er ml alınmıştır. Üzerine çeşitli derişimlerde hazırlanmış olan bitki özütleri ve standartlardan (BHA ve BHT) 0.5 ml ilave edilmiştir. Bir sonraki aşamada her bir tüpe 1 ml saf su ilave edilmiştir. Oda sıcaklığında ve güneş görmeyen karanlık bir alanda 30 dakika bekletilmesinden sonra 450 nm'de kontrol tüpüne (mg TEs/g) karşı değerler tespit edilmiştir.

3.3.7 Toplam antioksidan kapasite (PBD)

Total antioksidan kapasite fosfomolibdenum yöntemi aracılığı ile Cakmak vd. (2012)'ne göre yapılmıştır. Test için 3 çeşit ekstre hazırlanmış olup bunlar karıştırılarak reagent çözeltisi elde edilmiştir. Elde edilen ekstre 4 mM amonyum molibdat 6 M sülfürik asit ve 28 mM sodyum fosfat ekstreleri birbirlerine dahil edilerek oluşturulmuştur. Sonraki aşamada karışımdan 3ml alınıp içerisine 0.1 ml ekstre ve farklı derişimlerdeki (0.0625-1mg/ml) askorbik asit çözeltileri ilave edildi. Konsantrasyonu sıfır olan örnek için 0.3 ml metanol ilave edilmiştir. Sonraki aşamada tüpler 90 dakika 95 °C'de inkübe yapıldıktan sonra 695 nm'de absorbands verileri elde edilmiştir. Sonuçlar Troloks eşdeğeri (mg TEs/g özüt) olarak verilmiştir.

3.3.8 Metal şelatlama aktivitesi

Çalışma kapsamında Campanulaceae familyasına ait olan *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium* bitkisinin özütlerinin metal şelatlama etkisi ferrozin yöntemi ile tespit edildi. Bitki kaynaklı özütler ile FeCl₂ reaksiyona girdirilerek ortamdaki demir (II) varlığı ferrozin aracılığı saptandı. Deney sonucunda absorbandslar 562 nm'de ölçüldü. Aynı işlemler EDTA içinde tekrarlandı ve sonuçlar EDTA eş değeri (mg EDTA/g) olarak tespit edildi (Uysal vd., 2017).

3.4 Enzim İnhibisyon Testleri

3.4.1 Kolinesteraz inhibisyonu

Kolinesteraz (ChE) inhibitör aktivitesi öncesinde söylenilen şekilde Ellman yönteminden faydalanılarak belirlenmiştir (Aktumsek vd., 2013). Numune ekstresi (50 µL) DTNB (125 µL) ve bütirilkolinesteraz (veya asetilkolinesteraz) çözeltisi (25 µL) Tris-HCl tamponu (pH 8.0) içerisinde karıştırıldı. Sonraki aşamada 96 bölmeli mikropate içerisinde 25°C'de 15 dakika inkübe yapıldı. Reaksiyon asetilkolin iyodinin veya bütirilkolin klorid ilave edilmesiyle başlatılmıştır. Benzer biçimde ayrı ayrı diğer özütler içinde konsantrasyonu sıfır olan örnek içermeyen bir tüp olarak hazırlanmıştır. Numune ve konsantrasyonu sıfır olan örneğin absorbandsları 405nm'de 25 °C'de 10 dakika inkübasyonun sonrasında tespit edilmiştir. Kolinesteraz inhibitör aktivitesi galantamine eşdeğeri (mg GALEs/g) olarak ifade edilmiştir.

3.4.2 Alfa-amilaz inhibisyonu

Alfa-amilaz inhibitör aktivite yeteneği Caraway-Somogyi iyodin/potasyum iyodid (IKI) yönteminden faydalanılarak yapılmıştır (Yang vd., 2012). Numune çözeltileri (25 µL) α-amilaz çözeltisi ile (50 µL) fosfat tamponunda (pH 6.9, 6 mM sodyum klorid) 96 bölmeli mikropate içerisinde karıştırılmıştır. Karışıma 10 dakika süresince 37 °C’de inkübe işlemi gerçekleştirildi. İlk inkübasyonun sonrasında reaksiyona nişasta çözeltisi (50 µL, %0.05) ilave edilir. Aynı biçimde enzim olmayan konsantrasyonu sıfır olan örnek çözeltisi hazırlandı. Reaksiyon karışımına 37 °C’de 10 dakika süresince inkübe işlemi gerçekleştirildi ve reaksiyon HCl (25 µL, 1 M) ilave edildiğinde bitirildi. Sonrasında iyodin-potasyum iyodid çözeltisi (100 µL) ilave edildi. Numune ve konsantrasyonu sıfır olan örneğin absorbansları 630 nm’de belirlendi. Alfa-amilaz inhibitör aktivite sonuçları mg ACEs/g olarak ifade edilmiştir.

3.4.3 Alfa-glukozidaz inhibisyonu

Yöntemin uygulaması Palanisamy vd. (2011)’nin yönteminden faydalanılarak yapılmıştır. Numune çözeltisi (50 µL), glutatyon (50 µL), α-glukozidaz çözeltisi (50 µL) fosfat tamponu (pH 6.8) ve PNPG (50 µL) çözeltisi 96 bölmeli mikropate içerisinde karıştırılmış ve 37 °C’de 15 dakika süresince inkübe işlemi yapılmıştır. Aynı biçimde enzim olmayan konsantrasyonu sıfır olan örnek (kör) hazırlanmıştır. Reaksiyon sodyum karbonat (50 µL, 0.2 M) ilave edildiğinde sonlandırılmıştır. Numune ve kör absorbansları 400 nm’de tespit edilmiştir. Alfa-glukozidaz inhibitör aktivite sonuçları akarboz eşdeğeri (mg ACEs/g) şeklinde ifade edilmiştir.

3.4.4 Tirozinaz inhibisyonu

Yöntem substrat olarak L-DOPA faydalanılarak dopachrome yöntemi ile yapılmıştır (Orhan vd., 2012). Numune çözeltisi (25 µL), tirozinaz çözeltisi (40 µL) ve fosfat tamponu (100 µL, pH 6.8) ile 96 bölmeli mikropate içerisinde karıştırılmış ve 25 °C’de 15 dakika süresince inkübe edilmiştir. Reaksiyon L-DOPA (40 µL) ilave edilmesiyle başlatılmıştır. Aynı biçimde enzim içermeyen konsantrasyonu sıfır olan örnek (kör) çözeltisi de hazırlanmıştır. Numune ve kör absorbansları 25 °C’de 10 dakika inkübe edildikten sonra 492 nm’de tespit edilmiştir. Tirozinaz inhibitör aktivitesinin sonuçları kojik asit eşdeğeri (mg KAEs/g) şeklinde ifade edilmiştir.

3.5 Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi-Diyot Dizisi Tespiti (HPLC-DAD)

Farklı özütlerin fenolik bileşim analizi, Caponio vd. (1999) tarafından açıklanmış olan yöntem izlenerek elde belirlenmiştir. Yöntem üzerinde küçük değişikliklerle ve bir C18 sütunu ve diyot dizisi dedektörü DAD ile donatılmış bir HP-Agilent 1200 Infinity Series HPLC kullanılarak gerçekleştirildi. Hareketli faz, (A) su ve (B) metanol içinde %3 asetik asit (v/v) kullanıldı. Enjeksiyon hacimleri 10 µL ve ekstrakt konsantrasyonları 2 mg/ml'dir Eluatlar 278 nm'de saptandı. Test edilen örnekler metanolde hazırlandı .

Elüsyon gradyanı şu şekilde kullanıldı: 0,8 ml/dk takip oranı: %93 A-%7 B (0,1 dk), %72 A-%28 B (20 dk), %75 A-%25 B (8 dk) , %70 A-%30 B (7dk); ve 15 dakika boyunca aynı gradyan %67 A-%33 B (10 dakika), %58 A-%42 B (2 dakika), %50 A-%50 B (8 dakika), %30 A-%70 B idi (3 dk), %20 A-%80 B (2 dk) ve %100 B çalışmanın son 5 dakikası süresince kullanıldı (Kaya vd., 2018).

Ayrıca kullanılan standartlar 3-Hidroksi Benzoik Asit, 4- Hidroksi Benzoik Asit, Benzoik Asit, Kateşin Hidrat, Klorojenik Asit, Kafeik Asit, Epikateşin, Gallik Asit, Hesperidin, P-Kumarik Asit, Kuersetin, Rosmarinik Asit, Sinapik Asittir, Siringik Asit, t-Sinamik Asit ve t-Ferulik Gerçekleştirilen tez çalışmasında (ppm=mg/kg-mg/L) şeklinde *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium* bitkisinin her bir ekstraksiyonu için araştırılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 Antioksidan Kapasite Bulguları

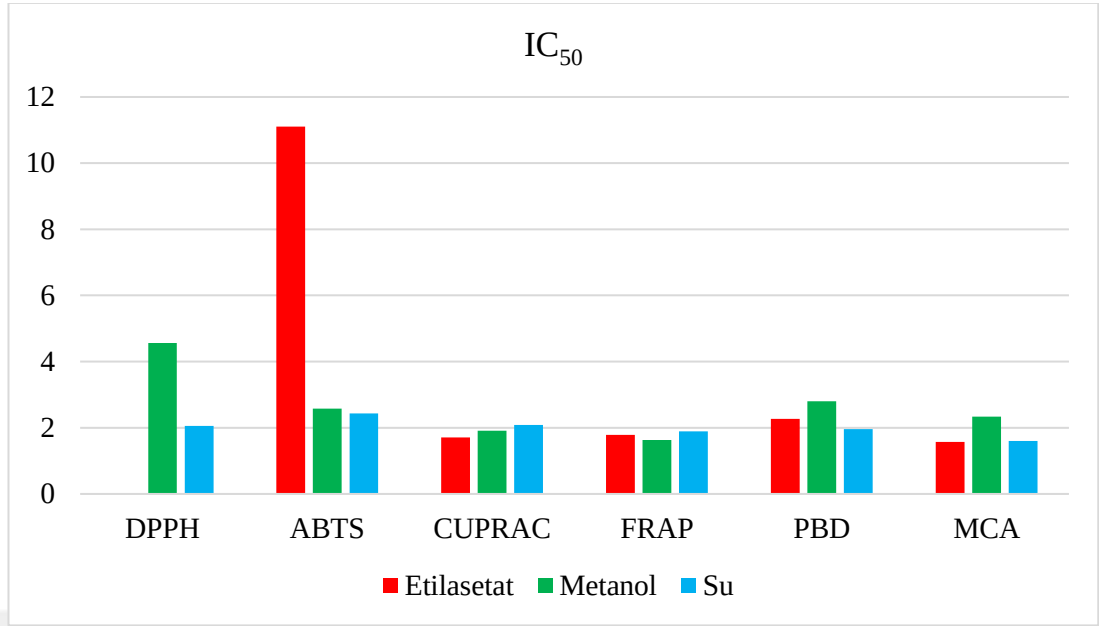
Campanulaceae familyasına ait *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium* bitkisinin yapısında bulunan bileşiklerin tespit edilmesi ve analizlerinin gerçekleştirebilmesi için çalışmalarda sıklıkla tercih edilen birbirlerine göre farklı avantaj ve dezavantajları bulunan ve farklı polarite yeteneklerine sahip MeOH, EtOAc ve su çözücülerini uygulanmıştır. Organik maddeler genellikle organik olan çözücülerde suya göre çok daha fazla çözünür. MeOH en polar organik çözücülerden bir tanesidir bu özelliği nedeniyle sekonder metabolitlerin elde edilmesinde sıklıkla kullanılan bir çözücüdür EtOAc polar özelliği fazla olmamasına rağmen ekstraksiyon metotlarında sıklıkla tercih edilir bu sayede bitki bileşiğindeki yapıların farklı davranışlar ve miktarlar göstermesi beklenen özütler elde edilmiştir (Abubakar ve Haque, 2020) ; Kaya, 2020).

Her bir özütün antioksidan aktivitelerini tespit etmek için; Toplam Fenolik İçerik (TPC), Toplam Flavonoid İçerik (TFC), DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi (DPPH), Toplam Antioksidan Kapasite (PBD) Demir İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP), Bakır İyonları İndirgeme Aktivitesi (CUPRAC), ABTS Radikal Süpürme Aktivitesi (ABTS), Metal Şelatlama Aktivitesi (MCA) testleri gerçekleştirilmiştir. Antioksidan testlerinin yanı sıra MeOH, EtOAc ve su özütlerinin her birisi için de herhangi bir molekülün spesifik bağlanmasını %50 oranında inhibe eden kompetitif maddenin konsantrasyonu olarak tanımlanan IC₅₀ konsantrasyonlarını belirlemek için kolinesteraz enzimleri inhibisyonu, α -amilaz inhibisyonu, α -glukozidaz inhibisyonu ve tirozinaz inhibisyonu testleri uygulanmıştır. Gerçekleştirilen testlerin IC₅₀ konsantrasyonları sonuçları Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Antioksidan aktivite (IC₅₀ mg/ml) konsantrasyonları sonuçları.

Özüt	DPPH	ABTS	CUPRAC	FRAP	PBD	MCA
EtOAc	N.D*	11.10±0.46*	1.71±0.01*	1.79±0.04*	2.269±0.20*	1.57±0.03*
MeOH	4.56±0.06	2.58±0.00	1.91±0.02	1.63±0.02	2.798±0.08	2.34±0.03
Su	2.06±0.03	2.43±0.15	2.09±0.04	1.89±0.02	1.96±0.01	1.60±0.01

*Üç tekrarlı yapılan analizin ortalaması±standart sapma.



Şekil 4.1. Antioksidan aktivite (IC₅₀) konsantrasyonları ve grafiği.

4.1.1 *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium* toplam fenolik içeriği

Asyneuma linifolium subsp. *eximium* bitkisinin farklı özütlerinin toplam fenolik içeriğinin belirlenmesi için Folin-Ciocalteu metodundan yararlanılmıştır. Fenolik bileşikler, bir aromatik halkaya bağlanmış fonksiyonel türevleri de dahil olmak üzere bir veya birden daha fazla hidroksil grubu içeren unsurlardır. Fenolikler en etkili doğal antioksidanlardan olmakla birlikte, antioksidan aktivitelerini metallerle şelatlar meydana getirme, serbest radikalleri bağlama ve lipoksijenaz enzimini inhibe etmeleri ile oluşturmaktadırlar (Güleşçi ve Aygöl, 2016).

Bu metodun asıl kullanım amacı protein analizi için planlanmıştır. Sonrasında Singleton ve arkadaşları şaraptaki toplam fenollerini belirlemek için bu metodu şekillendirmiştir. Folin-Ciocalteu'da (FCR) yöntemi toplam fenolik (ya da fenol) yöntemi olarak da bilinmektedir. Ancak asıl olarak numunenin indirgeyici kapasitesini tespit etmekte kullanılır. Fenolik bileşikler yalnızca bazik (pH=10) koşullarda FCR ile reaksiyona girer. FCR metodu, gıdaların antioksidan kapasitesinin tespit edilmesinde basit, tekrar uygulanabilir ve güvenilir bir yöntemdir. Bunların yanında metodun fazla zaman alması, standart analizler adına yapılmasını zora sokmaktadır. Bununla birlikte sulu fazda yapıldığı için, lipofilik bileşikler için gerçekleştirilememektedir (Büyüktuncel, 2013). Antioksidan araştırmalarında yaygın biçimde bu yöntemden faydalanılmaktadır (Albayrak vd., 2010).

4.1.1.1 Fenolik bileşiklerin sağlık üzerine etkileri

Organik kimya’da, fenolikler, hidroksil grubunun (- O H) doğrudan bir aromatik hidrokarbon grubuna bağlı olduğu bir grup kimyasal bileşikler ifade etmektedir 21. yüzyılın başlarına kadar yaklaşık 8000 fenolik bileşik tanımlanmış bunların bir kısmının bilimsel olarak canlıda olumlu etkileri kanıtlanmış olup diğer birçoğunun da sağlık üzerinde koruyucu etkisi olduğu düşünülmektedir. Fenolik bileşiklerin sağlık üzerindeki kanıtlanmış etkilerine baktığımızda ise in vitro araştırmalar enzimatik aktiviteyi düzenleyici, hücre proliferasyonunu inhibe edici, serbest radikal inhibe edici, antialerjik etki, antiülseratif etki, antibiyotik etki, antiinflamatuvar etki ve antitrombotik etki gösterdikleri bununla birlikte osteoporoz, kanser ve diyabet hastalıklarından koruyucu etkilerinin olduğu gözlemlenmektedir. Fenolik içerik miktarı arttıkça ekstrenin reaktif serbest radikalleri giderebilmesi o kadar artar ve sağlık açısından daha önemli hale gelir (Kolaç vd., 2017; Uyar vd., 2013).

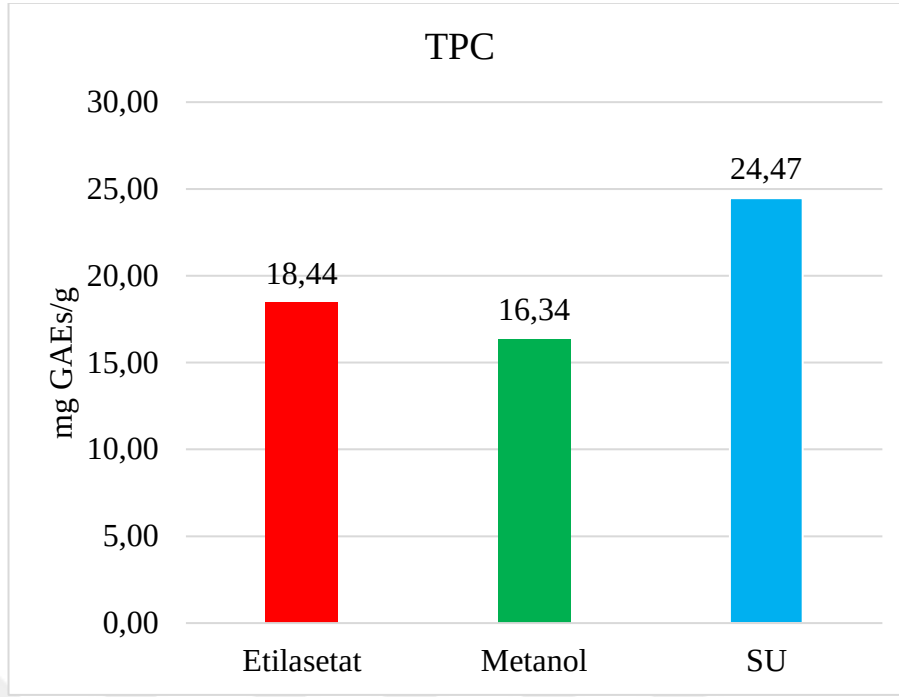
4.1.1.2 Sonuçların değerlendirilmesi ve yapılan çalışmalar (TPC)

Asyneuma linifolium subsp. *eximium* bitkisinden elde edilen metanol, etil asetat ve su özütleri Folin-Ciocalteu ayırıcı ve gallik asit eşdeğeri cinsinden analiz edilmiştir. Analiz sonrası değerlendirmelerde toplam fenolik içerik su çözücüsünde hazırlanmış olan bitki özütünde tespit edilen değer 24.47 ± 0.32 mg GAEs/g özüt ile en yüksek seviyede toplam fenolik içeriğe sahip özüt olmuşken, suyu takiben EtOAc çözücü ile hazırlanmış özüt 18.44 ± 1.07 mg GAEs/g ile ikinci yüksek seviye toplam fenolik içeriğe sahip özüt olarak belirlenmiştir. MeOH özütünde ise toplam fenolik içerik miktarı 16.34 ± 0.86 mg GAEs/g olup sonuçlar Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Toplam fenolik içerik analiz sonuçları.

TPC (mg GAEs/g özüt)	
EtOAc	$18.44 \pm 1.07^*$
MeOH	16.34 ± 0.86
Su	24.47 ± 0.32

*Üç tekrarlı yapılan analizin ortalaması±standart sapma.



Şekil 4.2. Toplam fenolik içeriği grafiği. GAE: Gallik asit eşdeğeri.

Campanulaceae familyasına ait diğer bazı bitki türleri üzerinde yapılan çalışmalara baktığımızda ise Kolap vd. (2021) yaptıkları çalışmada *Lobelia nicotianifoli* türünün farklı bitki özütlerinde testler uygulamışlar sonuçlar TFC (mg QE/ extract) olarak vermişlerdir. CHL özütünde hazırlanan örneklerde yaprak kısmında 8.00 ± 0.08 gövde kısmında 9.57 ± 0.41 kök kısmında 1.36 ± 0.16 ve MeOH yaprak kısmında 11.47 ± 0.14 gövde kısmında 13.46 ± 0.48 , kök kısmında ise 10.45 ± 0.47 şeklinde sonuçlar elde etmişlerdir. Ayaz (2021) ise *Campanula lyrata* Lam. subsp. *lyrata* bitkisinin MeOH Ekstrelerin toplam fenolik bileşimini, Folin-Ciocaltu yöntemi kullanarak belirlemiş olup, analiz neticesinde toplam fenolik içerik miktarını 48.97 ± 3.77 mg GAE g^{-1} şeklinde bulmuştur. Politeo vd. (2013) yapmış oldukları çalışmalarda ise *C. portenschlagiana* bitkisinin su ile hazırlanan özütün toplam fenolik içerik miktarını Folin-Ciocalteu metodundan yararlanarak test etmiş ve sonuçları 40.60 ± 5.10 mg GAE/g ekstrakt şeklinde bulmuştur. Sarikurkcü vd. (2017) yapmış oldukları çalışmalar neticesinde *C. glomerata* bitkisinin toprak üzerindeki bölümlerini Folin-Ciocalteu metodundan yararlanarak toplam fenolik içerik miktarını tayin etmiş test neticesinde toplam fenolik içerik sonucunu 21.48 ± 0.90 mg GAE/g ekstrakt olarak hesaplamıştır. Güvenç vd. (2012) Campanulaceae familyasına ait Türkiye'deki bazı *Michauxia* türlerinin su, metanol, etil asetat ve bütanol çözücülerini ile hazırlanmış ekstraktlarının TPC aktivitelerini değerlendirmiştir. *Michauxia campanuloides* bitkisinin toplam

fenolik içeriğine baktığımızda su özütü 107.3 ± 1 mg/g, MeOH özütü 129.55 ± 9.77 mg/g, EtOAc özütü 439.05 ± 18.70 mg/g BuOH 210.8 ± 9.42 mg/g belirlenmiş olup yine bir başka tür olan *Michauxia nuda* su özütünde 65.52 ± 7.32 mg/g, MeOH özütünü 70.3 ± 2.65 mg/g, EtOAc özütünde 194.8 ± 15.49 mg/g BuOH özütünde 222.05 ± 12.17 mg/g şeklinde sonuçlar elde etmiştir.

4.1.2 *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium* toplam flavonoid içeriği

Bitkilerin sekonder metabolitlerinden olan, biyolojik rolleri ve hastalıklar ile mücadeledeki potansiyelleriyle en stratejik bileşik gruplardan birisi de flavonoidlerdir (Özyurt, 2005). Flavon adı Latince flavus (sarı) kelimesinden doğmaktadır. Bitkilerden izolesi edilen ve çoğunlukla sarı renk ihtiva eden bu yapılar “flavonoid” olarak adlandırılmaktadır. Geçen zamanda gerçekleştirilen çalışmalarda birçok bitki türünden 4000’den fazlaca flavonoidin izolesi gerçekleştirilmiş ve yapıları açıklığa kavuşturulmuştur (Bakır, 2010). Flavonoidlerin karbon iskeletini, iki fenil halkasının (A ve B) propan zinciri ile birleşmesinden oluşan ve 15 C atomu içeren, difenilpropan ($C_6 - C_3 - C_6$) yapısı teşkil etmektedir. Fenil halkalarının propan zincirine farklı pozisyonlarda bağlanması sebebi, flavonoidler alt gruplara ayrılmaktadır (Lee vd., 2003). Flavonoid yapısındaki bu bileşikler: antosiyaninler, flavonoller, flavonlar, kateşinler, flavanonlar ve izoflavonoidler olarak gruplandırılmaktadır. Flavonoidlerin en önemli özelliği ise biyolojik özellikleri sayesinde canlı metabolizmasında antioksidan olarak görev yapıyor olmalarıdır (Karakaya, 1997).

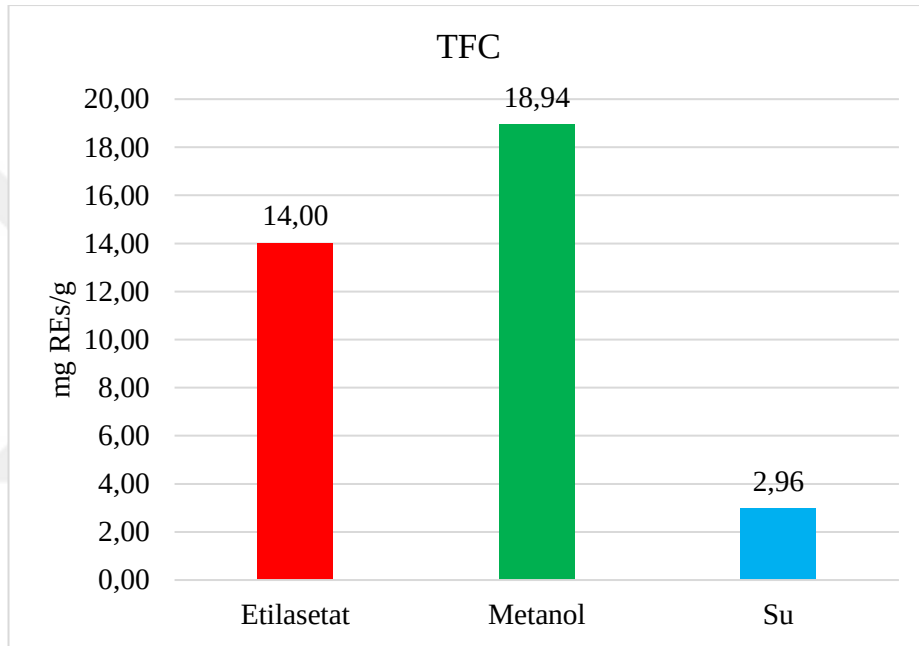
4.1.2.1 Sonuçların değerlendirilmesi ve yapılan çalışmalar (TFC)

Asyneuma linifolium subsp. *eximium* bitkisinden ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak elde edilmiş olan MeOH, EtOAc ve su özütleri toplam flavonoid içeriği miligram başına rutin eşdeğeri/ gram (mg REs/g) olarak belirlenmiştir. Yapılan analiz sonucunda elde edilen değerler incelendiğinde flavonoid içerik miktarı MeOH çözücüsünde hazırlanan özütte 18.94 ± 0.19 mg REs/g ile toplam flavonoid içeriğe sahip olan en yüksek özüt olarak belirlenirken EtOAc çözücüsünde hazırlanan özütte okunan değer 14.00 ± 0.57 mg REs/g ile ikinci yüksek toplam flavonoid içeriğe sahip olan en yüksek özüt olarak tespiti yapılmış olup su özütünde elde edilen değerler 2.96 ± 0.10 mg REs/g olarak en düşük sonuca sahip çözücü olarak tespit edilmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Toplam flavonoid içerik sonuçları.

TFC	
(mg REs/g özüt)	
EtOAc	14.00±0.57*
MeOH	18.94±0.19
Su	2.96±0.10

*Üç tekrarlı yapılan analizin ortalaması±standart sapma.



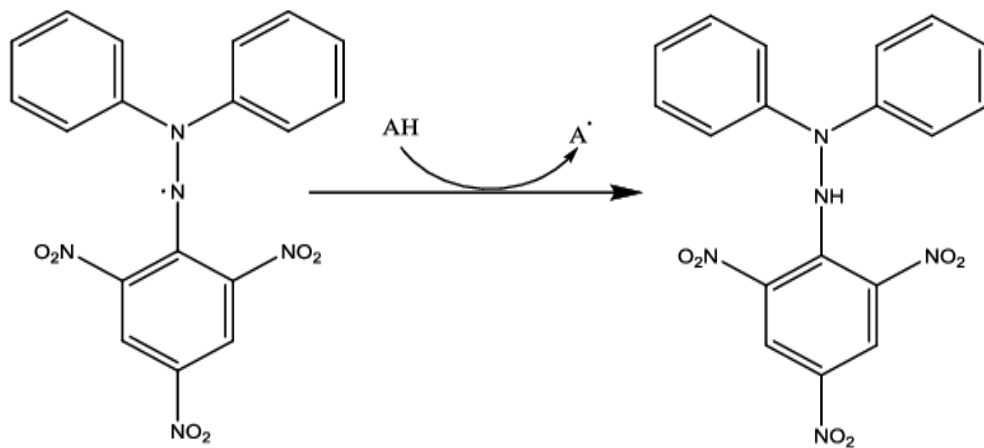
Şekil 4.3. Toplam flavonoid içeriği grafiği. RE: Rutin eşdeğeri.

Campanulaceae familyasına ait diğer bazı bitki türleri üzerinde yapılan çalışmalara baktığımızda ise Kolap vd. (2021) toplam flavonoid içeriği konsantrasyonlarını belirlemek için *Lobelia nicotianifolia*'nın farklı bitki parçası özütlerinde testler uygulamışlar sonuçları TFC (mg QE/g extract) olarak vermişlerdir. Yapılan testlerde CHL yaprak kısmı 6.91 ± 0.09 , gövde kısmı 8.05 ± 0.19 , kök kısmı 6.54 ± 0.16 ve MeOH yaprak kısmı 10.21 ± 0.11 , gövde kısmı 11.66 ± 0.39 , kök kısmını 7.88 ± 0.10 olarak belirlemişlerdir. Nikolova vd. (2019) tarafından gerçekleştirilen çalışmalar neticesinde ise *C. lanata* bitkisinin alüminyum klorür metodu ile metanol ekstraktının toplam flavonoid içeriği araştırılmış, çalışma sonucunda toplam flavonoid içerik miktarı 0.24 ± 0.02 mg RE/g ekstrakt şeklinde sonuca ulaşılmıştır Ayaz (2021) *Campanula lyrata* Lam. subsp. *lyrata* bitkisinin MeOH özütü toplam flavonoid içeriğini

Alüminyum klorür kolorimetrik yöntemi ile belirlemiştir. Metanol özütü toplam flavonoid miktarını 67.02 ± 4.71 mg QE g⁻¹ olarak tespit etmiştir. Bhardwaj vd. (2019) *Codonopsis clematidea* bitkisinin gövde ve kök kısımlarının toplam flavonoid içeriği miktarının analizini MeOH yardımı ile gerçekleştirmiş ve gövde 157.44 ± 8.882 µM RE/g kök 14.606 ± 0.267 µM RE/g sonuçlarını elde etmiştir. Kim vd. (2009) *Adenophora triphylla* bitkisini kısımları olan kök ve yaprak kısımlarının toplam flavonoid içeriklerini su ve etanol çözücüsünde hazırladı ve 725 nm’de tanik eşdeğeri olarak ölçümünü tamamladı sonuçlar ise kök su özütü 10.9 ± 0.1 kök etanol özütü 17.8 ± 0.1 , yaprak su özütü 117.3 ± 2.6 , yaprak etanol özütü 99.4 ± 1.3 bulunmuştur.

4.1.3 *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium* DPPH aktivitesi

Metod ilk olarak Blois (1958) tarafından DPPH radikallerinin antioksidan moleküllerin tespit edilmesi amacıyla kullanılmıştır. Brand-Williams vd. (1995) yöntemi geliştirerek birçok çalışmaya kaynak olmuşlardır (Turkoglu vd., 2007). Yapay veya doğal bileşiklerin DPPH radikalini temizleyici etkileri 2,2-difenil-1 pikrilhidrazil stabil radikalini menekşe/mor rengini giderme becerileri ile tayin edilmektedir. Bu maddelerin DPPH ile oluşturdukları rengin 517 nm’de tespit edilmesine ve kör örnek ile karşılaştırılmasına dayanmaktadır. DPPH çözeltisi, bir H atomu verebilecek herhangi bir madde ile karıştırıldığında, mor-menekşe rengin yok olması ile indirgenmiş forma dönüşmektedir (Turkoglu vd., 2007). DPPH radikalini yapısı ve antioksidan ile vermiş olduğu reaksiyon sonunda oluşan indirgenmiş formu Brand-Williams vd. (2005) Şekil 4.4’de gösterilmiştir



Şekil 4.4. DPPH ve indirgenmiş DPPH.

4.1.3.1 Sonuçların değerlendirilmesi ve yapılan çalışmalar (DPPH)

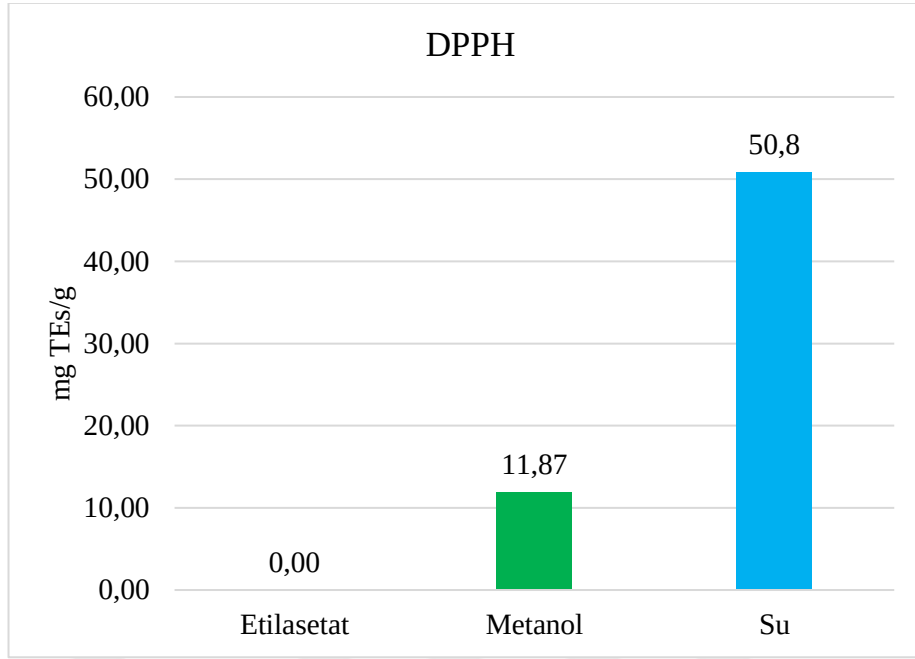
Tez çalışma materyali olan *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium* bitkisinden ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak elde edilmiş olan metanol, etil asetat ve su özütleri DPPH serbest radikal giderme aktivitesi her bir özüt için troloks eş değeri (TEs/g) olarak hesaplanmıştır. Yapılan analizler sonucunda DPPH serbest radikal giderme aktivitesi için su çözücüsü ile hazırlanmış olan özütte elde edilen veriler 50.80 ± 0.59 TEs/g olarak belirlenmiş olup DPPH serbest radikal giderme aktivitesi en yüksek özüt olarak kaydedilmiştir. MeOH çözücüsünde hazırlanan özütte elde edilen değer 11.87 ± 0.18 TEs/g olarak su özütünü takip etmektedir. EtOAc çözücüsünde hazırlanmış olan özütte ise diğer iki özütün tersi şeklinde herhangi bir DPPH radikal giderme aktivitesi yeteneği gözlemlenmemiştir. Sonuçlar Çizelge 4.4 ve Şekil. 4.4'de verilmiştir.

Asyneuma linifolium subsp. *eximium* bitkisinin DPPH radikal giderme aktivesinin yanında hazırlanan her bir özüt için radikalın %50'sinin inhibe edildiği konsantrasyon miktarı olan IC_{50} değerleri de hesaplanmıştır. IC_{50} değerleri bakımından sonuçlar değerlendirildiğinde EtOAc çözücüsü ile hazırlanan özütte DPPH serbest radikal giderme aktivitesine paralel olarak herhangi bir sonuç gözlenmemiş olup MeOH çözücüsü ile hazırlanan bitki özütünde 4.56 ± 0.06 mg/ml olacak şekilde inhibisyon yeteneği ile ilişkili tespit edilmiştir. Su çözücüsü ile hazırlanmış olan özütte ise sonuçlar 2.43 ± 0.15 mg/ml olarak hesaplanmış olup diğer çözücülere göre daha iyi bir sonuç ortaya koymuştur. Elde edilen veriler ise Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.4. DPPH testi sonuçları.

DPPH	
(mg TEs/g özüt)	
EtOAc	N.A.
MeOH	$11.87 \pm 0.15^*$
Su	50.80 ± 0.59

*Üç tekrarlı yapılan analizin ortalaması±standart sapma.



Şekil 4.5. DPPH Serbest radikal giderme aktivitesi grafiği. TE: Troloks eşdeğeri.

Campanulaceae familyasına ait diğer bazı bitki türleri üzerinde yapılan çalışmalara baktığımızda ise Ebrahimabadi vd. (2016) *Mindium laevigatum* türü için MeOH ve H₂O₂ ekstraktlarından yararlanılarak DPPH (IC₅₀ µg/ml) radikal süpürme testi uygulamıştır ve sonuçlar ise şu şekildedir. MeOH kök kısmı için 1366.1±7.1 meyve kısmı için 344.3±2.3 ve H₂O₂ kök kısmı için 417.2±4.3 ve meyve kısmı için 100.5±2.1 olarak bulunmuştur.

Jaradat ve Abualhasan (2015) troloks standardı ve bitki solüsyonlarında ilk önce tüm bitki ekstraktları ve standart troloks numuneleri için metanol içinde 1mg/1 ml konsantrasyonda stok solüsyonu hazırlamış ve bazı campanulaceae türlerinde DPPH aktivite yeteneklerini MeOH (troloks IC₅₀ µg/ml) çözücüsünde incelemiştir. Sonuçlar ise sırasıyla *Campanula erinus* 6.96±2.44, *Campanula peregrine* 15.99±1.35 *Campanula sidoniensis* 2.15±0.77 şeklinde olmuştur. Güvenç vd. (2012) campanulaceae familyasına ait Türkiye’de yetişmekte olan bazı *Michauxia* türlerini incelemiş ve DPPH (IC₅₀ mg/ml) aktivitelerini değerlendirmiştir. *Michauxia campanuloides* bitkisinin özütlerinin toplam DPPH aktivite yeteneği sırası ile su 45.39±0.56 *Michauxia campanuloides* ve BuOH 39.21±0.54, bulunmuş olup *Michauxia nuda* için ise su 68.82±1.14, MeOH 57.68±3.51, EtOAc 36.28±.27, BuOH 39.01±1.54. *Michauxia thyrsoidea* bitkisinde ise su özütü 92.25±0.26 MeOH özütü 50.29±1.04, EtOAc özütü 36.91±2.21, ve BuOH 159.67±0.79 bulunmuştur.

4.1.4 *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium* ABTS aktivitesi

ABTS radikal olmayan formunda, renksiz olan fazlaca kararlı bir serbest radikaldır. ABTS radikal süpürme aktivitesi antioksidan aktiviteyi belirlemek ve aynı zamanda gıdaların antioksidan kapasitelerinin tespit edilmesinde kullanılan fazlaca tercih edilen yöntemlerden. Bu metotta ABTS'nin (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sulfonat) persülfatla oksidasyonu, ABTS•+ radikali oluşturulur bu radikalin antioksidanlar tarafından inhibisyonu ve bu inhibisyon sebebi ile absorpsiyonda gözlenen azalma temel alınmaktadır. Bileşiklerin kararlı yapıdaki serbest radikali giderme aktivitesi, E vitaminin suda çözünbilme yeteneği olan Troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit) ile karşılaştırılarak yapılmaktadır. ABTS radikali fenolikler, tiyoller ve C Vitamini de dahil olmak üzere birçok antioksidana karşı reaktif etki yeteneğine sahipti ABTS giderme aktivitesinin spektrofotometrik analizleri Re vd. (1999) metoduna göre tespit edilmiştir. Özetle ABTS metodu, antioksidanların bir radikal katyonu olan ABTS radikalin giderme aktivitesinin tespit edilmesi amacıyla dayanmaktadır (Wettasinghe vd., 2002; Büyüktuncel, 2013).

4.1.4.1 ABTS yönteminin avantajları

ABTS radikalinin inorganik ve sulu ortamlarda çözünbilme yeteneği vardır ve iyonik kuvvetlerden etkilenmezler bu nedenle hidrofilik ve lipofilik bileşiklerin antioksidan aktivite yetenekleri bu metotla tespit edilebilir. ABTS uygulaması oldukça basit bir yöntemdir. Metodun bir başka avantajı ise çok geniş bir pH aralığında analiz imkânı sağlamasıdır (Ozgen vd.,2006).

Radikal düşük redoks aktivite yeteneğine (0.68 V) sahiptir ve kısmen daha düşük seviyedeki redoks potansiyelleri sayesinde fenolik bileşiklerin antioksidan yeteneklerinin araştırılması için uygun bir yöntemdir. Birçok fenolik yapı bu termodinamik özelliğinin bir getirisi olarak, ABTS radikaliyle reaksiyona girebilme aktivitesi göstermektedir (Büyüktuncel, 2013).

4.1.4.2 ABTS yönteminin dezavantajları

Metodun en dikkat çeken sınırlamalarından birisi, prensip nedeniyle numunenin oksidatif işlemi inhibe etmesini değil radikalle tepkimeye girmesiyle analiz ediliyor olmasıdır. Bu nedenle TEAC gibi eşdeğerlerin reaksiyonunun bitiş noktasına varması

uzun süreç alabilmektedir. Bu sayede, kısa süreli bir bitiş noktasının (4-6 dk) kullanılması, reaksiyon gerçekleşmeden hemen önce okuma yapılabilmesine ve daha düşük TEAC değerlerinin elde edilmesiyle de birçok fenolik bileşiğin tepkimeye girmesinin analiz sürecinde fazlaca zaman almasıyla sonuçlanabilmektedir. Metodun diğer bir dezavantajına değinecek olursak biyolojik yapılarda söylenen radikalın olmaması ve bu nedenle biyolojik mekanizmalardaki tepkimeleri tam olarak simüle edememesidir (Huang vd., 2005).

4.1.4.3 Sonuçların değerlendirilmesi ve yapılan çalışmalar (ABTS)

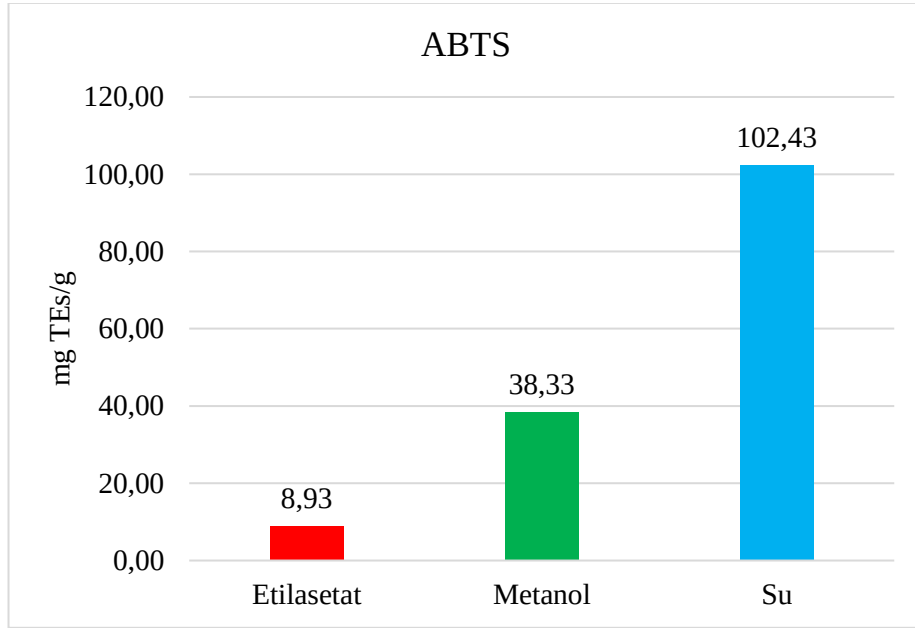
Asyneuma linifolium subsp. *eximium* bitkisinden ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak elde edilen özütlerin ABTS radikal süpürme aktivitesi incelendiğinde su çözücüsünde hazırlanan özütte tespit edilen değer 102.43 ± 0.97 mg TE/g ile en yüksek radikal süpürme aktivite yeteneğine sahip özüt olarak tespit edilirken MeOH'da belirlenen sonuçlar 38.33 ± 0.03 mg TE/g ile radikal süpürme aktivitesi ikinci yüksek özüt olarak gözlemlenmiştir. EtOAc özütünde ise 8.93 ± 0.37 mg TE/g veriler elde edilmiş olup ABTS radikali giderme yeteneği bakımından en düşük özüt olmuştur. Sonuçlar Çizelge 4.5 ve Şekil 4.6'da ayrıntılı şekilde verilmiştir.

ABTS radikal giderme aktivesinin yanında her bir özütünde radikalın %50'sinin inhibe edildiği konsantrasyon olan IC_{50} değerleri hesaplanmıştır. IC_{50} değerleri bakımından sonuçlar değerlendirildiğinde EtOAc özütün 11.10 ± 0.46 mg/ml MeOH özütünde 2.58 ± 0.0 mg/ml ve su özütünde ise 2.43 ± 0.16 mg/ml olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar ise Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.5. ABTS testi sonuçları.

ABTS	
(mg TEs/g özüt)	
EtOAc	$8.93 \pm 0.37^*$
MeOH	38.33 ± 0.03
Su	102.43 ± 0.97

*Üç tekrarlı yapılan analizin ortalaması $\pm$ standart sapma.



Şekil 4.6. ABTS testi sonuç grafiği. TE: Troloks eşdeğeri.

Campanulaceae familyasındaki bitki türleri üzerinde yapılan çalışmalara baktığımızda ise Sarikurkcu vd. (2017) gerçekleştirdiği *C. glomerata* bitkisi üzerindeki analizlerde etanol ile elde edilen özütte ABTS radikal giderme aktivitesini 52.44 ± 1.93 mg TE/g ekstrakt şeklinde tespit etmişlerdir. Bhardwaj vd. (2019) *Codonopsis clematidea* bitkisinin MeOH içerisinde IC_{50} (mg/ml) gövde ve kök kısımlarının ABTS radikal süpürme kapasitesinin sonuçlarının $62.50 \mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda $\%85.272 \pm 5.446$ ve $\%7.488 \pm 0.988$ olarak gözlemiştir. *C. lyrata* bitkisi üzerinde Taskin ve Bitis (2016) gerçekleştirdikleri laboratuvar analizlerinde bitkinin yaprak ve çiçek kısımlarının etanol ile elde edilen özütlerinin radikal giderme aktivitesini çiçek ekstraktı için 1.61 ± 0.08 mM troloks/mg ekstrakt, yaprak ekstraktı için 1.83 ± 0.01 mM troloks/mg ekstrakt ve olarak kayıt altına almışlardır. Sarikurkcu vd. (2021) bu çalışmada öncelikle *Campanula macrostachya*'dan elde edilen EtOAc ekstraktının ABTS radikal gideri aktivitesi inhibisyon konsantrasyonu (IC_{50} mg/ml) 10.48 ± 0.17 olarak bulmuş MeOH özütünde 2.05 ± 0.07 su özütünde ise 2.17 ± 0.11 bulunmuştur.

4.1.5 *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium* FRAP indirgeme gücü

Demir indirgeyici antioksidan güç testi, ucuz olmakla birlikte, yinelenabilir ve basit bir antioksidan aktiviteyi tespit etmek için kullanılan bir metottur (Ertürk vd., 2020). Fe (III)'ün, tripiridiltriazin (TPTZ) ile reaksiyonu sonucunda oluşan [Fe (III)-TPTZ] kompleksi antioksidanların etkisiyle Fe (II)-tripiridiltriazin [Fe (II)-TPTZ]

kompleksine indirgenmektedir Çelik vd. (2019) ve sonuçlar bu bileşiğin maksimum absorbansı 593 nm’de mavi rengi göstermesi metoduna dayanır (Ceylan vd., 2017).

4.1.5.1 FRAP yöntemi avantaj ve dezavantajları

Bu yöntem lipofilik ve hidrofilik antioksidanların analizi için uygundur. Metodun avantajları ise özel cihazlara ihtiyaç duymaması hızlı, ucuz, basit ve güvenilir olmasıdır. Glutatyon gibi tiyol antioksidanlar FRAP yöntemiyle tayin edilemezler. Reaksiyon spesifik değildir ve 0.70 V’dan daha düşük redoks potansiyeline sahip, in vivo olarak antioksidan özellik göstermeyen bir bileşik dahi demiri indirgeyebilmektedir şeklinde dezavantajlarını sayabiliriz (Büyüktuncel, 2013).

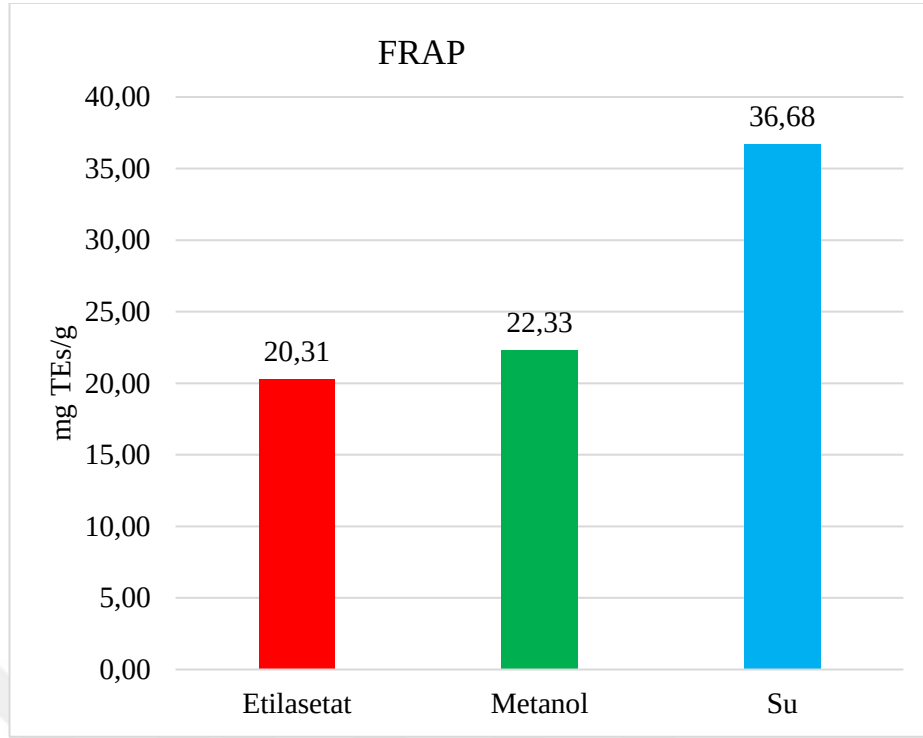
4.1.5.2 Sonuçların değerlendirilmesi ve yapılan çalışmalar (FRAP)

Asyneuma linifolium subsp. *eximium* bitki özütleri FRAP gücü farklı metotlar ile incelenmiş ve sonuçlar troloks eşdeğeri olarak verilmiştir. Analiz sonucunda değerler su çözücüsünde elde edilen veriler 36.68 ± 0.43 mg TEs/g ile en yüksek seviyede demir indirgeme gücüne sahip örnek olurken MeOH çözücüsünde hazırlanan özütte tespit edilen veriler 22.33 ± 0.33 mg TEs/g olarak su çözeltisini takip etmiştir. EtOAc özütünde ise 22.31 ± 0.43 mg TEs/g şeklinde bulunmuştur. Sonuçlar Çizelge 4.6 ve Şekil 4.7’de verilmiştir. Hazırlanan özütler adına FRAP IC₅₀ değerleri de incelenmiş olup MeOH özütü için 1.63 ± 0.02 µg/ml EtOAc özütü için 1.79 ± 0.04 µg/ml ve su özütü için 1.89 ± 0.02 µg/ml olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.6’da verilmiştir.

Çizelge 4.6. FRAP testi sonuçları.

FRAP	
(mg TEs/g özüt)	
EtOAc	$20.31 \pm 0.43^*$
MeOH	22.33 ± 0.33
Su	36.68 ± 0.43

*Üç tekrarlı yapılan analizin ortalaması±standart sapma.



Şekil 4.7. FRAP testi sonuç grafiği. TE: Troloks eşdeğeri.

Campanulaceae familyasına ait diğer bazı yapılan çalışmalara baktığımızda ise Bhardwaj vd. (2019) *Codonopsis clematidea* bitkisinin MeOH içerisinde IC_{50} (mg/ml) gövde ve kök kısımlarının FRAP yeteneklerini test etmiş gövde ve kök kısımlarının sırasıyla 0.485 ± 0.076 ve 0.040 ± 0.007 mM TE/g DPE etki gösterdiği belirlemiştir. Sarikurkcu vd. 2021 bu çalışmada öncelikle *Campanula macrostachya*'dan elde edilen EtOAc ekstraktının FRAP azaltma yeteneği (EC_{50} : mg/ml) 1.99 ± 0.02 , MeOH 0.8 ± 0.08 ve su özütünün 1.38 ± 0.05 olarak tespit edilmiştir. Ayaz (2021) gerçekleştirmiş olduğu analizler neticesinde *Campanula lyrata* Lam. subsp. *lyrata* bitkisinin FRAP indirgeme gücünü, ferrozin Fe^{2+} kompleksinin etkileşimi ve oluşumu ile belirlemiştir. Bulgulara bakıldığında, *C. lyrata* subsp. *lyrata*'nın en yüksek konsantrasyonda su 10.91 ± 5.09 ve metanol 10.27 ± 4.93 özütlerinin FRAP azaltma yeteneği birbirine yakın değerler gösterirken, EDTA ise 92.03 ± 0.57 referans alınan örneğe göre daha düşük seviyede aktivasyon göstermiştir.

4.1.6 *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium* CUPRAC indirgeme gücü

CUPric Reducing Antioxidant Capacity: CUPRAC isimlendirilmesi ile 2004 yılında bilim dünyasına kazandırılmıştır. Metod antioksidanlar yardımıyla Cu (II)'nin Cu (I)'e indirgeme esaslı basit ve çok yönlü bir antioksidan analizidir. Çeşitli polifenoller,

fenolik asitler, flavonoidler, karotenoidler, tiyoller, sentetik antioksidanlar, C ve E vitaminleri gibi birçok bileşimin tayininde bu yöntemden yararlanılmakta olup aynı zamanda bu reaktif, ucuz ve kolay ulaşılabilir olması ile kararlı ve hidrofilik-lipofilik antioksidan kaynaklarına cevap yeteneğine sahip bir reaktif olarak tanımlanmaktadır (Apak vd., 2004; Özyürek vd., 2011).

Bu yöntemi uygulamak oldukça kolay ve hızlıdır. CUPRAC reaktifi diğer kromojenik reaktiflerden daha kararlı ve elde edilmesi daha mümkündür ve CUPRAC reaktifinin reaksiyon hızı yeterince hızlı gerçekleşmektedir (Apak vd., 2008) Bu yöntem temelde, neokuproinin bakır (II) ile oluşturduğu bakır (II) neokuproin kompleksinin 450 nm dalga boyunda maksimum absorbands veren bakır (I) neokuproin şelatına indirgenmesine Dikmetaş vd. (2019) bunun sonucunda da turuncu sarı renk verme prensibine dayanan bir yöntemdir (Özyürek vd., 2011). Yöntem ürik asit, kersetin, gallik asit ve askorbik asit için birkaç dakika içerisinde gerçekleştirilen analizi sonlandırma imkânı sağlarken daha karmaşık yapılarda bu süre 30-60'dk gibi çok daha uzun sürmektedir (Büyüktuncel, 2013).

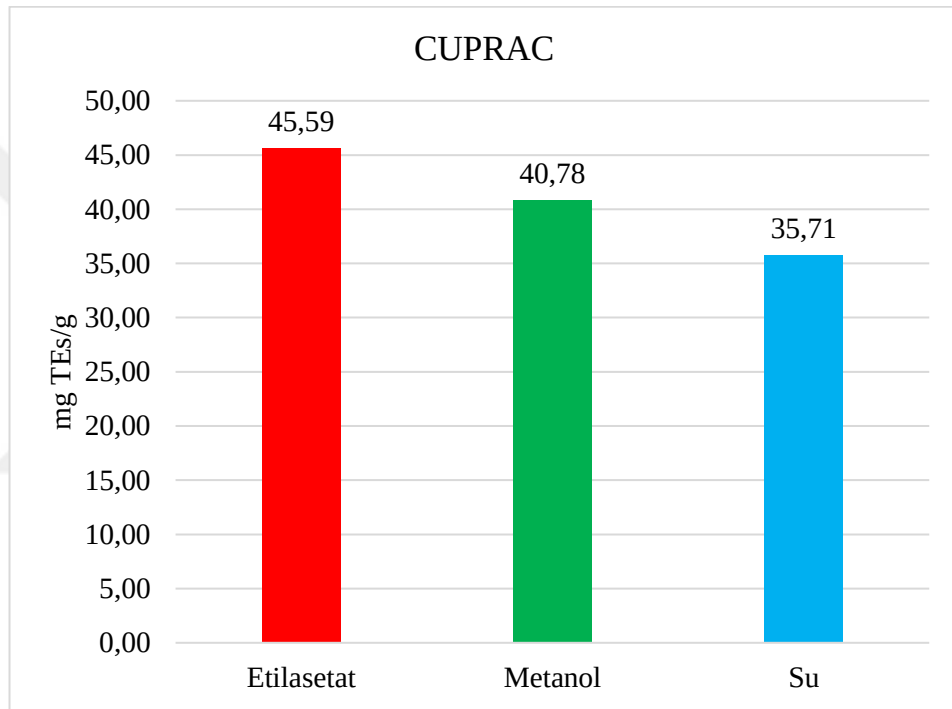
4.1.6.1 Sonuçların değerlendirilmesi ve yapılan çalışmalar (CUPRAC)

Ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium* bitkisinden elde edilmiş olan MeOH EtOAc ve su özütlerinin mg TE/g cinsinden analizleri gerçekleştirilmiştir. Analiz sonrası değerlendirmelerde EtOAc çözücüsünde hazırlanmış olan özütte tespit edilen değer 45.59 ± 0.20 mg TEs/g ile en yüksek bakır indirgenme aktivitesine sahip bileşik olurken EtOAc takiben MeOH özütü 40.78 ± 0.48 mg TEs/g ile ikinci yüksek bakır indirgeme yeteneğine sahip bileşik olarak kayıt altına alınmıştır su özütünde ise sonuçlar 35.71 ± 0.42 mg TEs/g şeklinde bulunmuştur. Sonuçlar Çizelge 4.7 ve Şekil 4.8'de verilmiştir. Özütlerin CUPRAC IC_{50} konsantrasyonlarında belirlenmiş sonuçlar sırasıyla EtOAc özütü için 1.71 ± 0.01 µg/ml, MeOH özütü için 1.91 ± 0.02 µg/ml ve su özütü için 2.09 ± 0.04 µg/ml olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1'de verilmiştir. Campanulaceae familyasına ait diğer bazı bitki türleri üzerinde yapılan çalışmalara baktığımızda ise Sarikurkcu vd. 2021 Bitki bu çalışmada öncelikle *Campanula macrostachya* EtOAc ekstraktının CUPRAC azaltama yeteneği (IC_{50} mg/ml) 3.37 ± 0.07 , MeOH 1.80 ± 0.02 ve su özütünün 2.95 ± 0.28 olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.7. CUPRAC testi sonuçları.

CUPRAC	
(mg TEs/g özüt)	
EtOAc	45.59±0.20*
MeOH	40.78±0.48
Su	35.71±0.42

*Üç tekrarlı yapılan analizin ortalaması±standart sapma.



Şekil 4.8. CUPRAC testi sonuç grafiği. TE: Troloks eşdeğeri.

4.1.7 *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium* PBD aktivitesi

Antioksidan tayininde sıklıkla kullanılan fosfomolibdan yönteminin ana prensibi, indirgeyici varlığında bitki ekstraktları tarafından Mo (VI)'nın Mo (V)'e indirgenerek asidik ortamda yeşil fosfat Mo (V) bileşiğinin meydana gelmesi ve Özden vd., (2017) çalışma örneklerin spektrofotometrede 695 nm dalga boyunda belirlenerek değerler gram başına mg olarak askorbik asit eşdeğeri (AAE) olarak verilmesidir. Yöntem bir elektron transfer sistemi içermektedir flavonoidler ve fenoller gibi birçok doğal bileşik bu yöntemle test edilebilmektedir bunun yanı sıra yöntem, molibden esaslı reaktiflerin kullanılmasını zorunlu kıldığından maliyetlidir (Silici ve Ülgen, 2019).

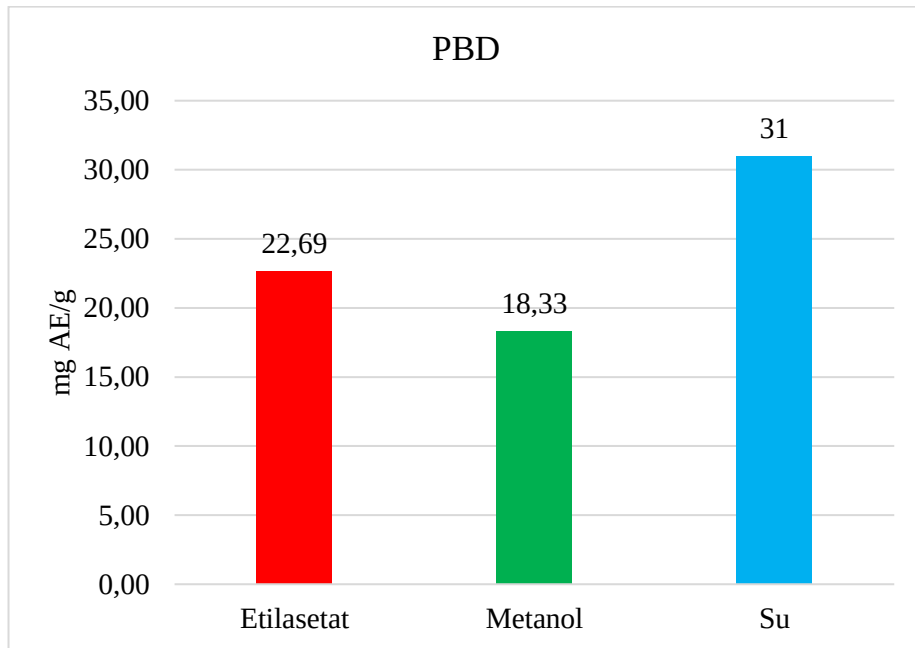
4.1.7.1 Sonuçların değerlendirilmesi ve yapılan çalışmalar (PBD)

Asyneuma linifolium subsp. *eximium* bitkisinin MeOH, EtOAc ve su özütleri toplam antioksidan içeriği askorbik troluks eş değeri (mg TEs/g) olarak verilmiştir. Su çözeltilisinde tespit edilen değer 31.00 ± 1.30 mg TEs/g ile en yüksek toplam antioksidan kapasite yeteneğine sahip çözelti olurken ikinci yüksek toplam antioksidan kapasite yeteneğine sahip çözelti 22.69 ± 1.99 mg TEs/g EtOAc çözeltisi ile hazırlanan özüt olmuştur. MeOH özütü ise analiz neticesinde 18.33 ± 0.54 mg TEs/g elde edilmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.8 ve Şekil 4.9’da verilmiştir. IC₅₀ konsantrasyonlarında ise PBD testi su özütü için 1.96 ± 0.01 µg/ml, EtOAc özütü için 2.269 ± 0.20 µg/ml ve MeOH özütü için 2.798 ± 0.08 µg/ml olarak hesaplanmış sonuçlar Şekil 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Toplam antioksidan kapasite sonuçları.

PBD	
(mg TEs/g özüt)	
EtOAc	$22.69 \pm 1.99^*$
MeOH	18.33 ± 0.54
Su	31.00 ± 1.30

*Üç paralel analizin ortalaması±standart sapma.



Şekil 4.9. Toplam antioksidan kapasite sonuç grafiği. AE: Askorbik asit eşdeğeri.

Campanulaceae familyasına ait olan diğer bazı bitki türleri üzerinde yapılan çalışmalara baktığımızda Chen vd. (2004) *Platycodon grandiflorum* bitkisinin toplam antioksidan kapasitesi için %6 metafosforik asiti çift deiyonize su içinde 1 uM EDTA ile ekstraksiyon tamponu hazırlamış ve test uygulanmıştır *Platycodon grandiflorum* için sonuçlar $289 \pm 1.1 \pm 1.17$ ($\mu\text{g/g}$) şeklinde bulunmuştur. Bretagnolle vd. (2016) Campanulaceae familyasına ait *Legousia hybrida* bitkisinin tohum ekstraktlarının toplam antioksidan kapasitesini, serbest radikal kaynaklı (hemolize dayalı Kit Radical Libres (KRL) biyolojik yöntemi kullanılarak ölçmüştür *Legousia hybrida* antioksidan kapasitesi 5.0 Troloks (mg g^{-1}) eş değeri olarak tespit edilmiştir. Chen vd. (2004) gerçekleştirmiş oldukları *Platycodon grandiflorum* bitkisinin total antioxidant activity ($\mu\text{g/g dry weight}$) 289 ± 1.1 olarak bulmuştur. *C. glomerata* bitkisi için Sarikurkcu vd. (2017) gerçekleştirmiş oldukları analizlerde bitkinin toprak üzerindeki bölümleri için etanol yardımı ile özütler hazırlanmış ve bitkinin toplam antioksidan aktivitesini fosfomolibdenum yöntemi ile belirlenmiştir. Sonuç ise ve etanol ekstraktının MCA yeteneği 2.10 ± 0.06 m mol troloks eş değer/g ekstrakt olarak bulunmuştur.

4.1.8 *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium* MCA aktivitesi

Yaşamımız adına başlıca elementlerden olan demir, bunun yanında protein, lipid ve diğer bileşenlerle reaksiyonlar oluşturarak oksidatif strese sebep olabilmektedir. Yöntemde kullanılan ferrozin, ferröz iyonları gibi $+2$ değerlikli metal iyonları ile kompleks gerçekleştirmektedir (Ural ve Yuksekdağ, 2020). Meydana gelen renkli ferrozin-metal kompleksi ise 562 nm’de en fazla absorbansı gösterdiği tespit edilmiştir (Lokak ve Akocak, 2020).

Metal şelatlama yeteneğine sahip ajanların (antioksidan madde) mevcudiyetinde, kompleks gerçekleşmez ve oluşan mor renkte berraklaşma gerçekleşir. Bunun sonucunda 562 nm absorbansta oluşan azalma yani renkte gerçekleşen berraklaşma metal şelatlama işleminin belirteci olarak kabul edilir. Bu yöntemde Fe^{+2} iyonu şelatlama aktivitesi, FeCl_2 ’nin ferrozin ile koyu mor renkli bir bileşik gerçekleştirmesine istinaden spektrofotometrik olarak meydana gelmektedir. Antioksidan yapılar aracılığıyla şelatlanan demir iyonları ferrozin tarafından bağlanamayacağı sebebi ile meydana gelecek olan mor rengin belirginliğinde bir azalış meydana gelecek ve absorbans daha düşük seviyede olacaktır (Rival vd., 2001).

Numunelerin şelatlama aktivitesi, yöntemi, ferrozin reaktifinin kantitatif olarak kompleksler meydana getirmesine bağlıdır. Fe^{2+} ile şelatlayıcı ajanların varlığında kompleksin rengi azalır. Metal şelatlama aktivitesi demir-ferrozin ETDA eş değeri olarak hesaplanmasına dayanır (Türkmen vd., 2020).

Karışımın Fe^{+2} ferrozin kompleksi absorbanısı için hazırlanan çözeltiler 562 nm’de ölçülmüştür. Denklem 4.1’deki formül kullanılarak her numune için ayrı ayrı metal şelatlama aktivitesi yeteneği hesaplanmıştır (Kaya, 2020). Çözelti karışımının absorbanısındaki meydana gelen düşüş ise numunenin metal şelatlama aktivitesi ile doğru orantılı gerçekleşmektedir (Gürbüz vd., 2020).

$$\text{Metal şelatlayıcı aktivite (\%)} = [(A \text{ kontrol} - A \text{ örnek}) / A \text{ kontrol}] \times 100 \quad (4.1)$$

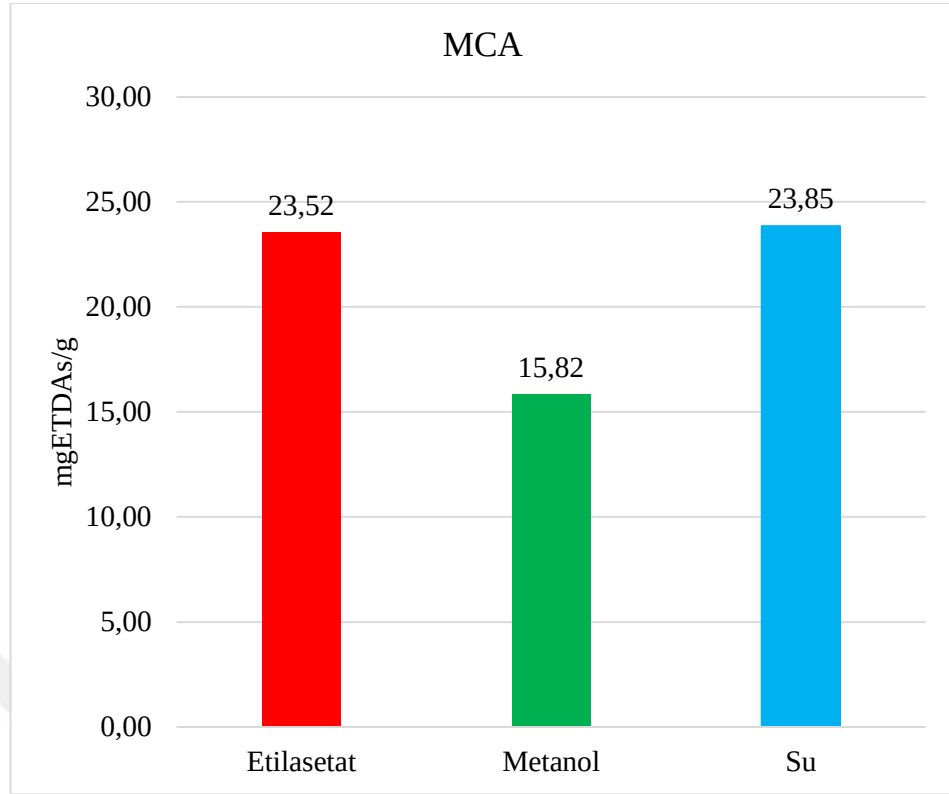
4.1.8.1 Sonuçların değerlendirilmesi ve yapılan çalışmalar (MCA)

Tez çalışma bitkisi olan *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium* bitkisinin metal şelatlama yeteneği için yapılan analiz neticesinde su çözücüsünde hazırlanmış özütte gözlemlenen değer 23.85 ± 0.09 mg ETDA/g ile en yüksek aktivite değeri olarak belirlenirken EtOAc ile hazırlanan bitki özütündeki değerler 23.52 ± 0.52 mg ETDA/g ile metal şelatlama yeteneği olan ikinci örnek olarak tespit edilmiş MeOH çözücüsü ile hazırlanmış olan bitki özütü ise 15.82 ± 0.19 mg ETDA/g olarak en düşük aktiviteyi gösteren özüt olarak belirlenmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.9 ve Şekil 4.10’da verilmiştir. Ayrıca test için hazırlanmış olan özütlerin IC_{50} konsantrasyonları da incelenmiş ve sonuçlar sırasıyla etil asetat çözücüsü ile hazırlanmış olan özüt için 1.57 ± 0.03 µg/ml, metanol özütü için 2.34 ± 0.03 µg/ml olarak hesaplanmıştır su özütü için 00 ± 00 µg/ml olarak tespit edilmiş ve sonuçlar Şekil 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.9. Metal şelatlama testi sonuçları.

MCA	
(mg EDTA/g özüt)	
EtOAc	$23.52 \pm 0.52^*$
MeOH	15.82 ± 0.19
Su	23.85 ± 0.09

*Üç tekrarlı yapılan analizin ortalaması±standart sapma.



Şekil 4.10. Metal şelatlama testi sonuç grafiği. ETDA: Eş değeri.

Campanulaceae familyasına ait diğer bazı bitki türleri üzerinde yapılan metal şelatlama yeteneği üzerine yapılan çalışmaları incelediğimizde Sarikurkcı vd. (2021) yaptığı çalışmada öncelikle *Campanula macrostachya*'dan elde edilen EtOAc ekstraktını demirli iyon şelatlama yeteneği için (IC_{50} mg/ml) inhibisyon konsantrasyonu 3.21 ± 0.07 , MeOH 24.89 ± 3.35 su özütünün 1.03 ± 0.02 sonuçlarını elde etmişlerdir. *Campanula lyrata* bitkisi için Taskin ve Bitis (2016) gerçekleştirmiş oldukları analizlerde araştırma bitkisinin çiçek ve yaprak organlarından etanol ile hazırlanmış olan özütlerle metal şelatlama aktivitesi testi uygulamıştır. Test neticesinde bitki çiçek organından elde edilmiş özütteki sonucu 1.08 ± 0.07 mM EDTA/mg ekstrakt olarak tespit etmiş olup diğer bir bitki organı olan yaprak özütünde gerçekleştirilen test neticesinde sonucu 2.86 ± 0.16 mM EDTA/mg olarak belirlemişlerdir. *Campanula glomerata* bitkisi üzerinde Sarikurkcı vd. (2017) gerçekleştirmiş oldukları çalışma neticesinde etanol ile hazırlanmış oldukları bitki özütünde metal şelatlama yeteneğini 33.13 ± 1.34 mg EDTA eş değeri/g ekstrakt olarak tespit etmiş olup tez bitkisi olan *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium* metal şelatlama yeteneği diğer aynı familyaya ait türler ile kıyaslandığında bazı türler üzerinde üstünlük kurduğu gözlemlenirken familyanın bazı bitkilerinin de tez bitkisi üzerinde üstünlük kurduğu tespit edilmiştir.

4.2 Enzim İnhibisyon Test Bulguları

4.2.1 Kolinesteraz inhibisyonu

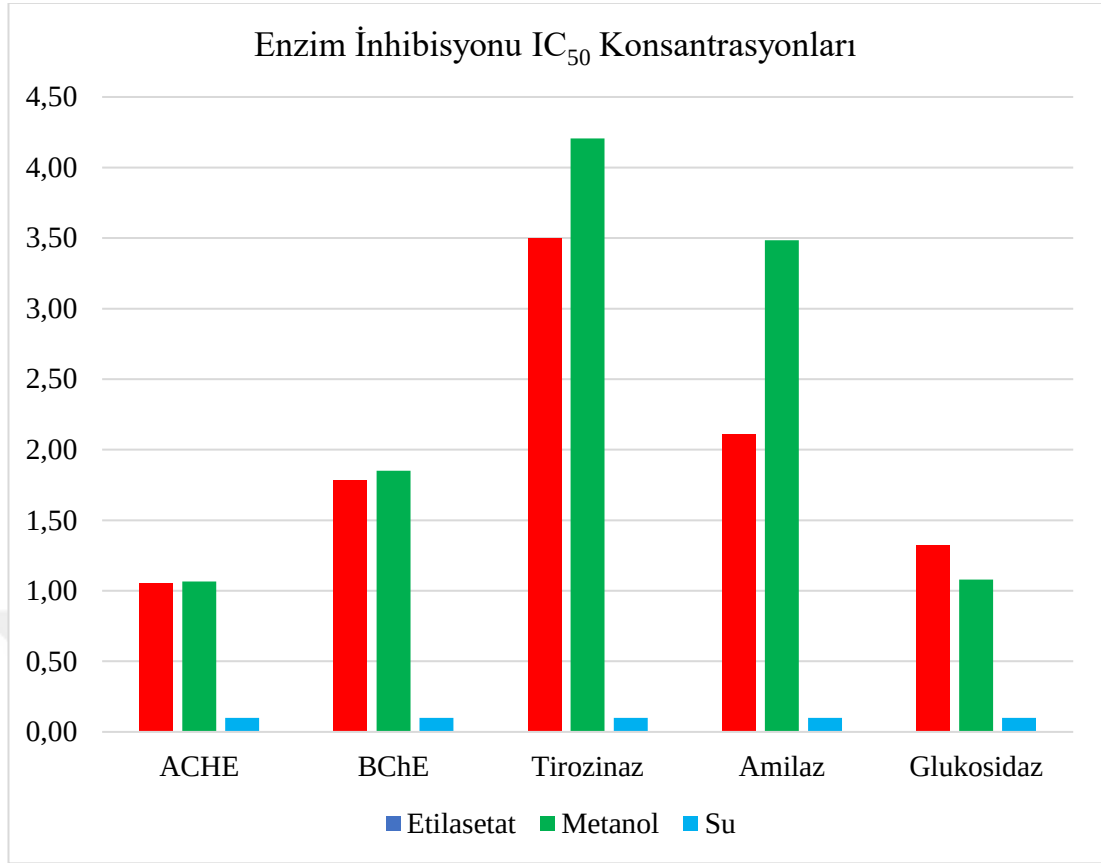
Kolinerjik hipotez, Alzheimer hastalığı patogenezi açıklayan en eski ve en bilinen hipotezden bir tanesidir. Kolinerjik hipoteze bakıldığında, Alzheimer hastalığı adına geçerli olan farmakoterapi yöntemi, kolinesteraz enzimlerinin (ChEs) inhibisyonunun gerçekleştirilmesi ile asetilkolin (ACh) miktarının korunması ve yükseltilmesidir şeklinde tanımlanmak mümkündür. Asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirikolinesteraz (BChE), merkezi sinirde sisteminde (CNS) lokalize olmuş enzimlerdir, nörotransmitter olan ACh'i hidroliz edebilme yeteneğine sahiptirler (Singh ve ark., 2013). Alzheimer'lı bireylerde beyinde asetilkolin (ACh) ve bütirikolin (BCh) düzeylerinde eksiklik görülmüş ve araştırmalar Alzheimer'in AChE'nin hızlı kaybıyla ortaya çıktığını göstermiştir. Rahatsızlığın ilk aşamalarındaki aktivite ile rahatsızlık ilerledikçe AChE seviyesi yükselmekte olduğu keşfedilmiştir. BChE'nin görevi neticesinde asetilkolinin hidrolizi, her iki kolinesterazın inhibitörü, beyinde ACh seviyelerinde artışa sebep olarak, Alzheimer hastalığının önlenmesinde daha aktif bir tıbbi etkinlik sağlamaktadır (Şentürk ve Şentürk, 2018).

Çalışmada kullanılan Ellman kolorimetrik yöntemi yaygın bir araştırma metodudur. Sadece etki edilen doku tiyollerinin tespit edilmesi için değil aynı zamanda substrat olarak tiyokolin esterleri kullanarak kolinesteraz (ChE) aktivitelerinin belirlenmesi için de kullanılmaktadır. Kolinesteraz aktivitesini doğru ve hassas şekilde ölçmek için enzim tarafından substrat hidroliz hızı daha yavaş olmalıdır. Ellman yönteminde sonuçlar Kolinesteraz inhibitör aktivitesi galantamine eş değer (mg GALEs/g) olarak verilmiştir (Şinko vd., 2007).

Çizelge 4.10. Enzim inhibisyonu (IC₅₀) konsantrasyonları sonucu.

	AChE IC ₅₀ (mg/ml)	BChE IC ₅₀ (mg/ml)	Tirozinaz IC ₅₀ (mg/ml)	α -amilaz IC ₅₀ (mg/ml)	α -glukozidaz IC ₅₀ (mg/ml)
EtOAc	1.06±0.01*	1.78±0.1*	3.49±0.04*	2.11±0.01*	1.32±0.00*
MeOH	1.07±0.01	1.85±0.05	4.21±0.08	3.48±0.01	1.08±0.00
Su	>5	N.A	>5	>5	N.A

*Üç tekrarlı yapılan analizin ortalaması±standart sapma.



Şekil 4.11. Enzim inhibisyonu IC₅₀ konsantrasyonları sonuç grafiği.

4.2.1.1 *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium* bitkisinin AChE inhibisyonu

Bir alkaloid olan asetilkolin tanımlanan ilk nörotransmitterdir. Asetilkolin ilk olarak İngiliz bilim insanı Henry Hallet Dale tarafından 1914 yılında tanımı yapılmış, 1921 yılına gelindiğinde ise Avustralyalı bilim insanı Otto Loewi tarafından, kurbağa kalpleri üzerinde gerçekleştirdiği çalışmalar neticesinde bir nörotransmitter olduğu tespit edilmiştir (Fishman, 1972).

Asetilkolinesteraz (AChE) merkezi ve periferik sinir sistemlerindeki başlıca biyolojik rolü asetilkolinin (ACh) hızlıca hidrolizi ile sinapslarda sinir uyarılarını sonlandırmasıdır. AChE, difüzyon kontrollü bir reaksiyonun hızına yaklaşan bir hızda işlev görerek oldukça yüksek bir spesifik aktivite yeteneğine sahiptir. AChE'nin inhibisyonu, başta Alzheimer olmak üzere Parkinson gibi nörolojik bozuklukların tedavisinde önemli görevler üstlenir (Dvir vd., 2010; Mukherje vd., 2007).

Alzheimer hastalığında bazal ön beyin bölgesinde kolinerjik nöronların ve bunları kortikal projeksiyonlarının kaybı ve farklı metabolik proseslerde sinir hücrelerinde

normal olmayan protein birikmesi ile, ACh üretiminde ve kullanımındaki etkin olan hücreleri olumsuz etkileyerek zarara uğramasına ya da tamamen imha edilmesine neden olmakta ve diğer dokulara sinyal iletiminde problemler meydana gelir Nörolojik bozukluğun derecesi kolinerjik aktivitede ortaya çıkan azalma ile bağlantılıdır. Tedavide kullanılan ve AChE aktivitesini inhibe eden kolinesteraz inhibitörü barındıran ilaç kaynakları, hücre hasarının etkilerini azaltarak ACh seviyesini uygun seviyede tutar. Sonuç olarak ön beyinde sinir iletiminin devamlılığını sağlayarak diğer hücrelerin zarar görmesinin önüne geçer (Colovic vd., 2013; Lane vd., 2004).

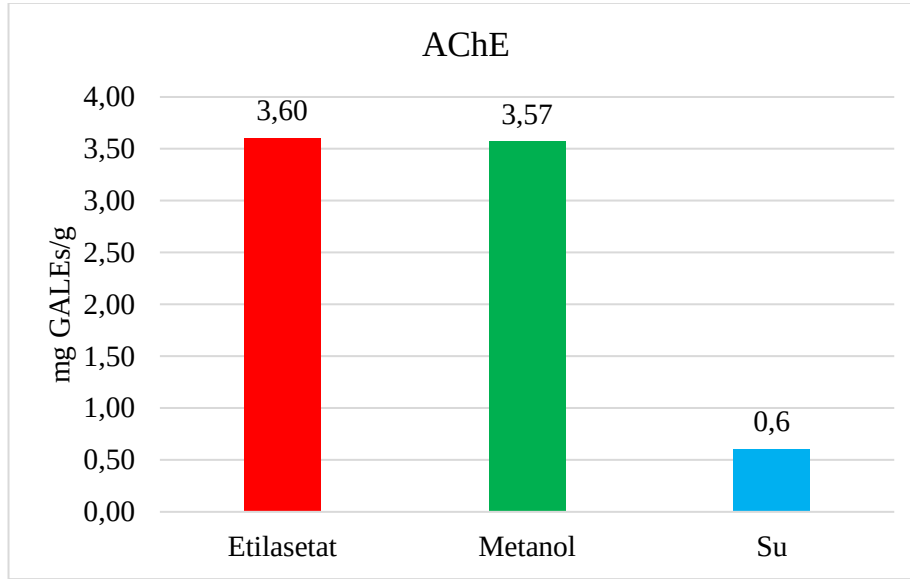
4.2.1.2 Sonuçların değerlendirilmesi ve yapılan çalışmalar (AChE)

Alzheimer hastalığının tedavisinde ana yaklaşım AChE'nin aktivitesini engellemektedir, bu sebeple çalışma bitkisi olan *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium* bitkisinden elde edilen özütlerin bu yeteneklerinin olup olmadığı var ise hangi oranlarda olduğu belirlenmek istenmiştir. AChE inhibisyon yeteneğinde EtOAc çözücüsü kullanılan bitki özütü 3.60 ± 0.03 mg GALEs/g ile en yüksek aktiviteyi gösterdiği tespit edilirken MeOH ile hazırlanan bitki özütü 3.57 ± 0.01 mg GALEs/g ile hemen EtOAc takip etmektedir ve bu iki özütte birbirine yakın değerler tespit edilmiştir. Su çözücüsü ile hazırlanmış özütünde ise 0.60 ± 0.04 mg GALEs/g verileri elde edilmiş olup en düşük aktiviteyi gösteren ekstrakt olmuştur. Sonuçlar Çizelge 4.11 ve Şekil 4.10'da verilmiştir. Çalışma bitkisinin AChE'nin aktivitesinin yanında IC_{50} konsantrasyonları değerlendirildiğinde ise sonuçlar sırasıyla EtOAc özütü için 1.06 ± 0.01 mg/ml, MeOH özütü için 1.07 ± 0.01 mg/ml ve su özütü için >5 mg/mol olarak kayda değer in altında bir değere sahip olduğu hesaplanmış olup sonuçlar Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.11. AChE inhibisyonu testi sonuçları.

AChE	
(mg GALEs/g özüt)	
EtOAc	$3.60 \pm 0.03^*$
Metanol	3.57 ± 0.01
Su	0.60 ± 0.04

*Üç tekrarlı yapılan analizin ortalaması $\pm$ standart sapma.



Şekil 4.12. AChE inhibisyonu sonuç grafiği. GALAE: Galantamin eşdeğer.

Campanulaceae familyasındaki diğer çalışmalarda ise *Campanula glomerata* bitkisi üzerinde Sarikurkcu vd. (2017) gerçekleştirmiş oldukları analizlerde etanol çözücüsü ile hazırlanmış olan bitki özütünde asetilkolinesteraz enziminin inhibisyon yeteneği araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlarda ise bitkinin AChE aktivitesini 4.93 ± 0.05 mg GALAE/g ekstrakt şeklinde kayıt altına almışlardır. *Campanula latifolia* bitkisi üzerinde Korkmaz vd. (2020) yapmış oldukları testlerde metanol, su, asetonitril ve n-hekzan ile hazırlanmış özütlerde bitkiden elde edilen uçucu yağların galantamin bileşiğine karşı asetilkolinesteraz inhibisyon yetenekleri test edilmiş ve (IC_{50}) metanol ekstrakt için 242.55 ± 2.43 $\mu\text{g/ml}$, su ile elde edilen özüt için 532.03 ± 0.64 $\mu\text{g/ml}$, asetonitril çözücüsü ile hazırlanan özüt için 100.94 ± 3.59 $\mu\text{g/ml}$, n-hekzan bileşiği ile hazırlanmış olan özüt için 295.42 ± 0.33 $\mu\text{g/ml}$ olarak belirlemişlerdir. Ayaz (2021) *Campanula lyrata* Lam. subsp *lyrata* bitkisi AChE inhibisyon analizi için Ellman metodu aracılığıyla AChE enzimine karşı Alzheimer tedavisinde kullanılan ilaç galantamine karşı test edilmiştir. Asetilkolinesteraz enzimine karşın su ve metanol ile hazırlanmış olan özütleri referans madde olarak belirlene galantamine kıyasla daha az seviyede aktivite gösterdiği tespit edilirken en yüksek konsantrasyonda metanol çözücüsü ile hazırlanmış olan bitki özütü $\%39.59 \pm 8.80$ ile su ile hazırlanmış olan ekstreden $\%19.37 \pm 1.48$ daha fazla etki gösterdiği tespit edilmiştir. *Edraianthus pumilio* bitkisi üzerinde Politeo vd. (2019) tarafından yapılan analizlerde su özütü ve uçucu yağları için asetilkolinesteraz enziminin inhibisyon yetenekleri incelenmiş ve sonuç olarak su ile hazırlanmış özütün $\%46.9 \pm 4.7$ inhibisyon yeteneğine sahip olduğu

belirlenirken uçucu yağ için yapılan testin sonucu ise 26.6 ± 2.1 olarak tespit edilmiştir *C. takesimana Nakai* bitkisi için Park vd. (2018) tarafından gerçekleştirmiş analizlerde bitkinin toprak üstü organlarının etanol ile hazırlanmış özütlerinin asetilkolinesteraz enzim inhibisyon yeteneği ve 3.1 ± 1.9 şeklinde belirlenmiştir.

4.2.1.3 *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium* bitkisinin BChE inhibisyonu

Alzheimerde etkili iki farklı enzim vardır. Bu enzimler nörolojik bozukluklarda etkili olan asetilkolini hidrolize ederler. Asetilkolinesteraz, sinir-kas kavşağında sinaptik sonrası zarda asetilkolinin etkisini sonlandırmaktadır (Chatonnet ve Lockridge, 1989). Bir diğer enzim ise bütirilkolinesteraz, psödokolinesteraz, spesifik olmayan kolinesteraz ve kolinesteraz olarak tanımlanıp kolinesteraz enzimleri içinde AChE asetilkolini en hızlı parçalayan enzimdir. BChE'nin ise en hızlı etki ettiği kolin esteri bütirilkolindir. Bu sebeple ile bu enzim bütirilkolinesteraz olarak adlandırılmış olup karaciğerde sentezlenen bir a-glikoproteindir. Kısa ve uzun süreli karaciğer hasarında, yaralanma, yetersiz beslenme ve enfeksiyon gibi faktörler sonucunda metabolizmadaki a-glikoprotein miktarında düşüş gözlemlenebilir (Chatonnet ve Lockridge, 1989; Davis vd., 1997; Demir ve Türkan, 2022). BChE insan beyin sinir hücrelerinde özellikle de serebral korteksin derin bölümlerinde hipokampal formasyonda, amigdalada ve birçok talamik çekirdekte ifade edilir. Alzheimer'da ise BChE'nin kortikal seviyeleri artar ve enzimatik özellikleri ve moleküler formları değişir. BChE, Alzheimer'ın nedeni olan plaklar ve düğümler içinde birikir ve bu lezyonların oluşumunda rolü vardır. Sonuç olarak BChE'nin inhibisyonu, Alzheimer tedavisinde oldukça önemlidir (Darvesh vd., 2003). Analizde kullanılan Ellman metodunun avantaj ve dezavantajları vardır. Reaksiyon yüksek oranda pH'a bağımlıdır ve katı pH kontrolünü gerektirmektedir. Protein numunesindeki yalnızca sistein kalıntısının oksidasyonunu tespit etmekte ve bu nedenle oksidatif hasarın tüm boyutunu her zaman ortaya çıkaramamaktadır. Protein karbonil grubu analizinde gerçekleştiği gibi, tiyol grubu analizi de genelde çözünür protein fraksiyonları üzerinde gerçekleşmektedir (Lund ve Baron, 2010).

4.2.1.4 Sonuçların değerlendirilmesi ve yapılan çalışmalar (BChE)

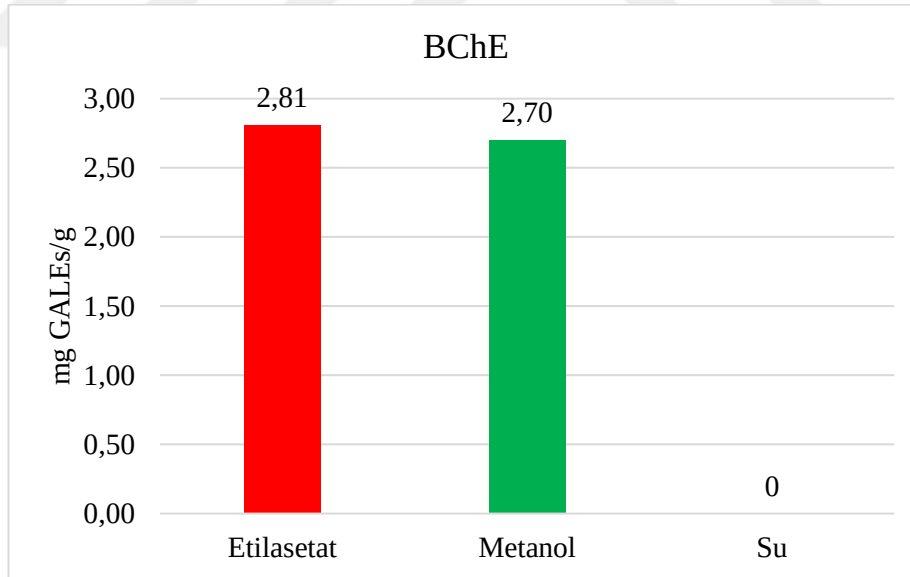
Asyneuma linifolium subsp. *eximium* bitkisinin metanol, etil asetat ve su özütlerinin bütirilkolinesteraz inhibisyon yeteneği EtOAc çözücüsünde hazırlanan özütte okunan

değer 2.81 ± 0.1 mg GALEs/g ile bütirilkolinesteraz inhibisyon yeteneğinde en yüksek değeri gösterirken MeOH çözücüsünde hazırlanan özütte okunan değer 2.70 ± 0.1 mg GALEs/g ile takip etmektedir. Su özütü ile hazırlanmış olan ekstraktta ise sonuçlarda ise herhangi aktivite gözlemlenmemiştir. Sonuçlar Çizelge 4.12 ve Şekil 4.13’de verilmiştir. IC₅₀ konsantrasyonları ise sırasıyla etil asetat özütü için 1.78 ± 0.1 mg/ml, metanol özütü için 1.85 ± 0.05 mg/ml ve su özütü için herhangi bir aktivite gözlemlenmemiştir. Sonuçlar Çizelge 4.10’da verilmiştir.

Çizelge 4.12. BChE inhibisyonu testi sonuçları.

BChE	
(mg GALEs/g özüt)	
EtOAc	$2.81 \pm 0.1^*$
MeOH	2.70 ± 0.1
Su	N.A

*Üç tekrarlı yapılan analizin ortalaması±standart sapma.



Şekil 4.13. BChE inhibisyonu sonuç grafiği. GALAE: Galantamin eşdeğeri.

Campanulaceae familyasına ait çalışmalara incelediğimizde Ayaz (2021) *Campanula lyrata* Lam. subsp. *lyrata* bitkisi ekstreleri BChE enzimini inhibe yeteneği test edilmiş BChE inhibe yeteneğinde metanol çözücüsü ile hazırlanmış özütte sonuç $\%39.74 \pm 2.08$ tespit edilmiş olup su ile hazırlanan özütte tespit edilen değer $\%29.27 \pm 0.2$ şeklinde

birbirlerine yakın şekilde bulunmuştur. *Campanula glomerata* bitkisi için Sarikurkcu vd. (2017) gerçekleştirmiş oldukları analizler neticesinde etanol ile hazırlanmış olan ekstraktın BChE inhibisyon yeteneği incelenmiş ve bitkinin etanol ekstraktının inhibisyon aktivitesi 12.10 ± 1.83 mg GALAE/g bulunmuştur. Li vd. (2017) *Platycodon grandiflorus* bitkisi için Ellman yönteminden faydalanarak BChE aktivitesinin değerlendirilmesi testi uygulanmış. Metanol içerisinde hazırlanan özütler de sonuçlar sırası ile 100 µg/ ml $\%8.02 \pm 0.17$, 200 µg/ml $\%7.23 \pm 2.20$ IC₅₀ (µg/ml) N.A şeklinde sonuçlar elde edilmiştir.

4.2.2 *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium* α-amilaz ve α-glukozidaz inhibisyonu

Diyabet tedavi yaklaşımlarında temel basamaklardan bir tanesi olan karbohidrat metabolizmasında birincil etkide bulunan amilaz ve glukozidaz enzimlerinin inhibisyonu baş rol oynamaktadır (Tundis vd., 2010). Tip 2 hastalığından muzdarip bireylerin diyabet tedavisinin gerçekleştirilebilmesi için önemli bir hedef adım olan sindirim sisteminde α-glukozidaz ve α-amilaz enzimlerinin inhibisyonu ile glukoz molekülünün sindirim sisteminden emilimini geciktirerek gıda alımı sonrası hiperglisemiye yani post-prandiyal hiperglisemiye azaltmaktır. Karbohidratların sindirilmesinde görevli olan anahtar enzimler α-glukozidaz ve α-amilaz enzimleridir. Maltoz, α-dekstrin, nişasta gibi oligosakkaritlerin amilaz enzimi aracılığıyla hidrolizleri gerçekleştirilir. İnce bağırsak da ise oligosakkaritleri ve disakkaritleri α-glukozidaz enzimi glukoz birimlerine hidrolize etmektedir Dolayısıyla α-glukozidaz ve α-amilaz enzimlerinin inhibisyonu yüksek seyreden kan glukoz seviyesinin azaltılmasında etkili bir yoldur (Lebe, 2002).

4.2.2.1 Sonuçların değerlendirilmesi ve yapılan çalışmalar (α-amilaz)

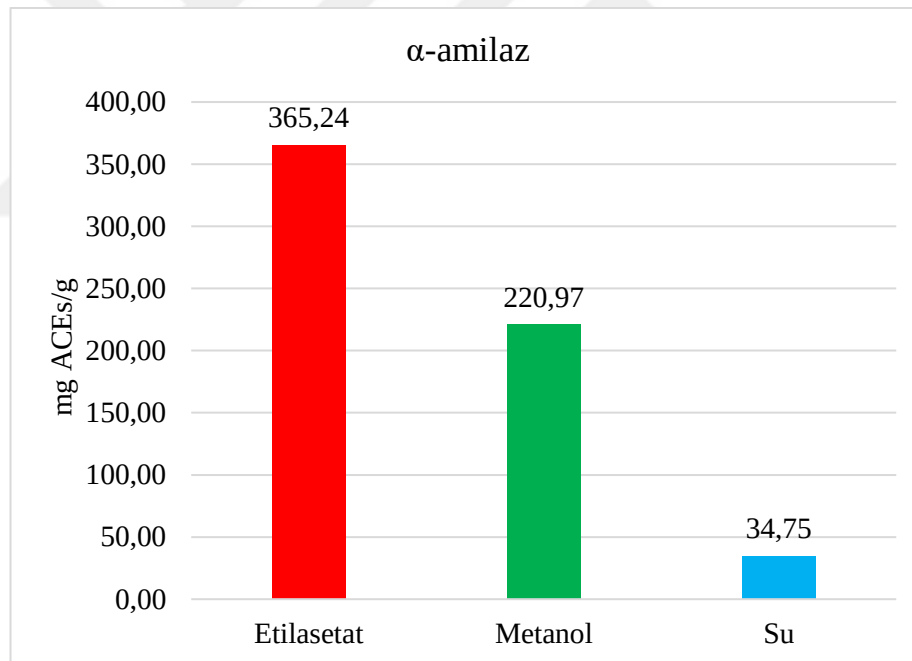
Diyabet tedavisinde kan şekerinin normal seviyelerde kalmasında aktif görev alan glukozidaz ve amilaz enzim inhibisyonları tez kapsamında araştırılmıştır. *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium* bitkisinin EtOAc, MeOH ve ekstraktlarının glukozidaz ve amilaz inhibisyon sonuçları akarboz eşdeğer (mg ACEs/g) olarak belirlenmiştir Palanisamy vd. (2011) elde edilen sonuçlara bakıldığında, EtOAc özütünün α-amilaz inhibisyonu 365.24 ± 1.1 mg ACEs/g, MeOH özütünün α-amilaz inhibisyonu 220.97 ± 0.2 mg ACEs/g ve su özütünün α-amilaz inhibisyonu 34.75 ± 3.33 ACEs/g olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.13 ve Şekil 4.14’de verilmiştir. *Asyneuma*

linifolium sups. *eximium* bitkisinin IC₅₀ konsantrasyonları değerlendirildiğinde ise sonuçlar sırasıyla EtOAc özütü için 2.11±0.0 mg/ml, MeOH özütü için 3.48±0.01 mg/ml ve su özütü için >5 mg/ml olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.13. α-amilaz inhibisyonu testi sonuçları.

α-amilaz inhibisyonu	
(mg ACEs/g özüt)	
EtOAc	365.24±1.1*
MeOH	220.97± 0.2
Su	34.75±3.33

*Üç tekrarlı yapılan analizin ortalaması±standart sapma.



Şekil 4.14. α-amilaz inhibisyonu sonuç grafiği. ACE: Akarboz eşdeğeri.

Campanulaceae familyasına ait diğer çalışmaları incelediğimizde Ayaz (2021) *Campanula lyrata* Lam. subsp. *lyrata* bitkisinin ekstrelerinin α-amilaz inhibitör aktiviteleri Caraway-Somogyi iodine/potasyum iyodür metodu uygulanarak değerlendirilmiştir. Kullanılan iki enziminde inhibe edici yeteneğinde akarboz referans olarak kullanılan madde olarak tercih edilmiş ve bitki özütleri karşılaştırılmıştır. Metanol çözücüsü ile hazırlanmış olan bitki özütü konsantrasyon

miktarındaki artışa paralel olarak akarboz maddesinin verdiği sonuca yakın α -amilaz enzim inhibisyon yeteneği gösterirken; su ile hazırlanmış ekstredeki sonuç en yüksek seviyedeki konsantrasyonda dahi %30 seviyelerinde inhibisyon aktivitesi göstermiştir. α -glukozidaz inhibisyon aktivite testinin sonuçlarına baktığımızda ise, su ve metanol özütlerinin akarboz bileşiğine karşın çok daha düşük seviyede enzim inhibe edici yeteneğe sahip olduğu tespit edilmiştir. Campanulaceae ailesine ait *Codonopsis pilosula* bitkisi üzerinde Buchholz vd. (2016) yapmış oldukları metanol ve su özütleri α -amilaz inhibisyon aktivitesi araştırılmıştır. *C. pilosulasu* su ekstraktı akarboza göre %20 ve metanol ekstraktı %49.9 inhibisyon etkiye sahip bulunmuştur. Sarikurkcü vd. (2021) bu çalışmada öncelikle *Campanula macrostachya*'dan elde edilen EtOAc ekstraktını α -Amilaz (IC_{50} mg/ml) inhibisyon konsantrasyonu 2.54 ± 0.05 , MeOH 10.7 ± 0.40 su özütünün 25.48 ± 0.74 , akarboz 1.03 ± 0.04 olarak tespit edilmiştir.

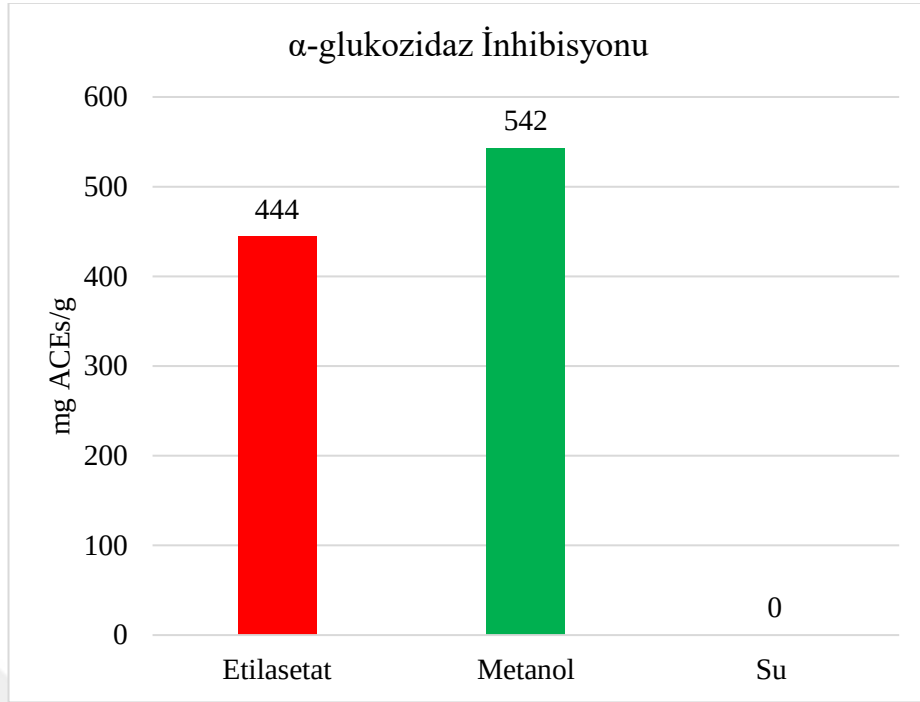
4.2.2.2 Sonuçların değerlendirilmesi ve yapılan çalışmalar (α -glukozidaz)

Mevcut çalışmada tez çalışma bitkisi olan *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium* özütlerine α -glukozidaz inhibisyonu testi uygulandı ve sonuçlar akarboz eşdeğeri alınarak hesaplandı. Sonuçlar EtOAc özütünün α -glukozidaz inhibisyonu 444 ± 2.1 mg ACEs/g ile önemli bir aktivite vermiştir. MeOH özütünün α -glukozidaz inhibisyonu 542 ± 2.1 mg ACEs/g ile kayda değer bir sonuç ortaya koymuştur. Su özütünde α -glukozidaz inhibisyonu ise diğer iki özütüm tam tersine tespit edilememiştir. Sonuçlar Çizelge 4.14 ve Şekil 4.15'de verilmiştir. IC_{50} konsantrasyonları ise sonuçlar sırasıyla EtOAc özütü için 1.32 ± 0.00 mg/ml, MeOH özütü için 1.08 ± 0.00 mg/ml ve su özütü için ise inhibisyon yeteneğinde olduğu gibi IC_{50} konsantrasyonunda da herhangi bir aktivite tespit edilmemiştir. Sonuçlar Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.14. α -glukozidaz inhibisyonu testi sonuçları.

α-glukozidaz İnhibisyonu	
(mg ACEs/g özüt)	
EtOAc	$444 \pm 2.1^*$
MeOH	542 ± 2.1
Su	N.A

*Üç tekrarlı yapılan analizin ortalaması $\pm$ standart sapma.



Şekil 4.15. α -glukozidaz inhibisyonu sonuç grafiği. ACE: Akarboz eşdeğeri.

Campanulaceae familyasına ait diğer bazı bitki türleri üzerinde yapılan çalışmalara incelediğimizde *A. Radix Adenophora spp.* bitkisi üzerinde Ikeda vd. (1999) gerçekleştirmiş oldukları analiz neticesinde bitkiden izolesi gerçekleştirilen homojirimi türevleri olan adenophorine, 1-deoksiadenophorin, 5-deoksiadenophorin ve 5-deoksiadenophorinin 1-O- β -d glukozidler maddelerinin α -glukozidaz etkilerine göre inhibisyon yetenekleri incelenmiş ve sonuçların IC_{50} konsantrasyon değerlerini 0.25, 34, 21 ve 610 μ M şeklinde tespit etmişlerdir. Boo vd. (2015) *Codonopsis lanceolata* bitki özütleri üzerinde gerçekleştirmiş oldukları analizde araştırma bitkisinin α -glukozidaz inhibisyonu için kök bölümü etil asetat fraksiyonu analizini gerçekleştirmiş ve sonuç olarak bitkinin %8 aktivite yeteneğine sahip olduğunu belirlemişlerdir. Korkmaz vd. (2020) gerçekleştirdiği analizde *C. latifolia* bitkisinin asetonitril, su ve metanol çözücülerini ile elde edilen özütlerinin akarboz karşı α -glukozidaz inhibisyon yeteneğine etkilerini araştırmış ve sonuç değerlerini (IC_{50}) asetonitril ekstraktı 214.06 ± 2.04 μ g/ml, su ekstraktı 193.33 ± 4.64 μ g/ml, metanol ekstraktı 30.42 ± 1.04 μ g/ml ve akarboz için 35.03 ± 0.22 μ g/ml şeklinde kayıt altına almışlardır. Shibano vd. (2001) Campanulaceae familyasına ait olan *L. Chinensis* bitkisinden pirolidin alkaloidi (A ve B radikaminleri) bileşenlerini α -glukozidaz inhibitörleri şeklinde izole etmiştir. İzolesi gerçekleştirilen bileşenlerin IC_{50} değerleri (2S,3S,4S,5S)-2-hidroksimetil-3,4-dihidroksi-5-(3-hidroksi-4-metoksifenil)-pirolidin

için 6.7 μM ve (2S,3S,4S,5S)-2-hidroksimetil-3,4-dihidroksi-5-(4-hidroksifenil)-pirolidin için 9.3 μM olarak α -glukozidaz inhibisyon yeteneğine sahip olduğunu belirlemişlerdir.

4.2.3 *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium* bitkisinin tirozinaz inhibisyonu

Tirozinaz yüksek bitkilerde funguslarda ve hayvanlarda bulunan saç, deri ve göz rengini belirlemekte etken olan tip-3 bakır proteinleri sınıfına ait olan melanin pigmentlerinin sentezindeki ilk iki adımı katalize etmekten sorumlu hız sınırlayıcı bir enzimdir (Decker vd., 2006).

Tirozinaz'ın inhibisyonu, melanin üretimini düzenlemek için ana stratejilerden birisidir ve inhibitörler, hiperpigmentasyonu ve melanogeneze kaynaklanan diğer istenmeyen etkileri tedavi etmek için kullanılmaktadır (Chen vd., 2015). Melanogeneze yolu, siyah-kahverengi eumelanin ve/veya sarı-kırmızı pheomelanin üretimine yol açan bir melanozom içinde gerçekleşir. L-Tirozin, melanozom üretimini ve L-Dopachrome, tirozinaz aktivitesini artırır. Böylece L-Tirozin ve L-DOPA seviyelerinin düzenlenmesi, melanojenik sistemlerin homeostazında önemli bir rol oynar (Yamaguchi ve Hearing, 2009).

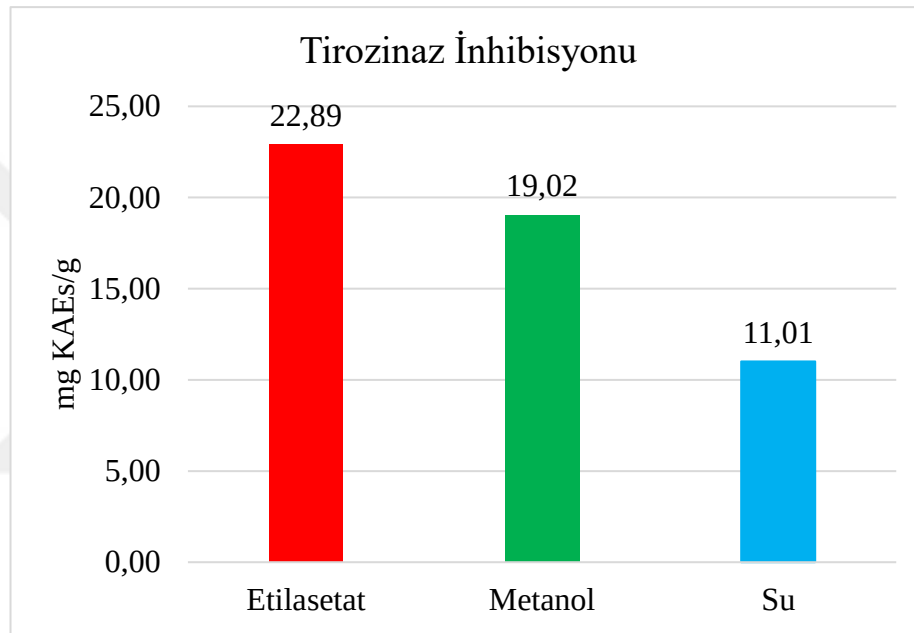
4.2.3.1 Sonuçların değerlendirilmesi ve yapılan çalışmalar (Tirozinaz)

Asyneuma linifolium subsp. *eximium* bitkisinin tirozinaz inhibisyonu yeteneği tez kapsamında araştırılmış ve elde edilen veriler her bir özüt için kojik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır. Gerçekleştirilen analizler sonucunda EtOAc çözücüsü ile hazırlanmış olan bitki özütün tirozinaz inhibisyonu 22.89 ± 0.2 mg KAEs/g olarak en yüksek değer olarak belirlenmiş olup MeOH çözücüsünde hazırlanan özütün tirozinaz inhibisyonu ise 19.02 ± 0.3 mg KAEs/g ile EtOAc özütünü takip etmiştir ayrıca su çözücüsünde hazırlanan özütün tirozinaz inhibisyonu 11.01 ± 0.93 mg KAEs/g olarak en düşük inhibisyon şeklinde hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.15 ve Şekil 4.16'da verilmiştir. Ayrıca her bir özütün tirozinaz inhibisyonu yeteneğinin yanında IC_{50} konsantrasyonları değerlendirilmiş olup sonuçlar sırasıyla EtOAc çözücüsü ile hazırlanmış olan özüt için 3.49 ± 0.04 mg/ml, MeOH özütü için 4.21 ± 0.08 mg/ml ve su özütü >5 mg/ml yani kayda değer sonucunda altında bir değer olarak tespit edilmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.15. Tirozinaz inhibisyonu testi sonuçları.

Tirozinaz	
(mg KAEs/g özüt)	
EtoOc	22.89±0.2*
Metanol	19.02±0.3
Su	11.01±0.93

*Üç tekrarlı yapılan analizin ortalaması±standart sapma.



Şekil 4.16. Tirozinaz inhibisyonu sonuç grafiği. KAE: Kojik asit eşdeğeri.

Campanulaceae familyasına ait yapılan çalışmaları incelediğimizde Kim vd. (2009) *Adenophora triphylla*'nın tirozinaz inhibisyon aktivite deneyi için bitkinin yapraklarından ve köklerinden elde edilen ekstraktların tirozinaz inhibisyon aktivitesini tespit etmek için Askorbik asit referans antioksidan olarak kullanılmıştır. *A. triphylla*'nın Tirozinaz inhibisyon aktivitesi için kök ve yapraklarının su ve etanol özütleri için REE (kök etanol özütü) haricinde, tüm numune ekstraktlarının tirozinaz önleme aktiviteleri askorbik asidinkinden daha yüksekti ve LWE (yaprak su özütü), tüm konsantrasyonlarda test edilen numuneler arasında en güçlü aktiviteyi gösterdi 1.000 µg/ml konsantrasyonda RWE (kök su özütü), REE (kök etanol özütü), LWE(yaprak su özütü), yaprak etanol özütü (LEE) ve askorbik asit için inhibisyon yüzdeleri sırasıyla %53,7, %41,8, %91,1, %78,3 ve %52,9 olarak belirlendi.

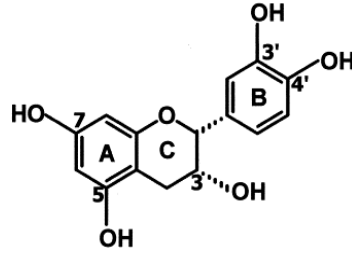
Campanula involucrate Auch. ex DC bitkisi üzerinde Hashemi ve Zarei (2014) yapmış oldukları bitkinin toprak üstü organlarının hekzan ile hazırlanmış olan bitki ekstraktı tirozinaz inhibisyon yeteneği incelenmiş ve IC₅₀ değeri 0.575 µg/ml şeklinde kayıt altına alınmıştır. Kim vd. (2012) gerçekleştirmiş oldukları analizde *C. takesimana nakai* bitkisinin etanol ile hazırlanmış olan bitki ekstraktların n-bütanol ve etil asetat fraksiyonları tirozinaz inhibisyon yeteneği incelenmiş ve değerleri n-bütanol fraksiyonu için %34.77 ve etil asetat fraksiyonu için %30.85 şeklinde tespit etmişlerdir. Sarikurkcü vd. (2021) *Campanula macrostachya*'dan elde edilen EtOAc ekstraktının tirozinaz inhibisyonu (IC₅₀ mg/ml) konsantrasyonu 4.45±0.16, MeOH 1.51±0.03± 0.40 su özütünün 4.96±1.00, kojik asit 0.27±0.01 olarak tespit edilmiştir.

4.3 Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi-Diyot Dizisi Tespiti (HPLC-DAD)

HPLC bir dedektör aracılığıyla, fiziksel veya kimyasal bileşiği konsantrasyona veya kimliğe karşılık gelen ölçülebilir bir sinyale dönüştürmekten sorumlu bileşendir (Swartz, 2010). *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium* bitkisinin, MeOH, EtOAc ve su kullanılarak elde edilmiş farklı özütlerin fenolik bileşim analizi, Caponio vd. (1999) tarafından açıklanmış olan yöntem izlenerek elde belirlenmiş olup ve kalibrasyon eğrilerinde hesaplandı ve µg/g ekstrakt olarak ifade edildi. Sonuçlar Çizelge 4.16'da özetlenmiştir. Bu çalışmada, (ppm=mg/kg-mg/L) olarak ifade edilen her bir bileşiğin her bir özütü (MeOH, EtOAc, Su) için incelenmiştir.

4.3.1 Epikateşin

Son 20 yıllık süreçte yapılan birçok çalışma, flavonoid içeren gıdaların (kırmızı pancar, havuç) tüketiminin kardiyovasküler hastalıkların ve gelişmiş zihinsel aktivite ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Flavonoidler, bitkilerin sekonder metabolizmasının ürünleri olarak ürettikleri geniş bir polifenolik bileşik gurubudur. Yaklaşık olarak 20000 flavonoidin yapısı aydınlatılmıştır ve bu da flavonoidleri bilinen en zengin doğal polifenolik maddeler olarak tanımlamaktadır. Bitkilerdeki görevleri arasında çeşitli stres etkenleri, bitki koruması, sinyal iletimi, çiçek ve meyvelerin renk ve aroması, bitkinin çevre ile etkileşimi gibi birçok önemli görevde bulunmaktadır (Bernatova, 2018). Epikateşin flavonoidlerin bir alt sınıfı olan flavanol monomerlerine ait özellikle yeşil çay, kakao, üzüm gibi bitkisel kaynaklarda bulunan organik bir bileşiktir molekül yapısı Şekil 4.17'de verilmiştir (Abdulkhaleq, vd., 2017).



Şekil 4.17. Epikateşin'in kimyasal yapısı. (Abd El Mohsen, 2002).

Epidemiyolojik çalışmalar, epikateşin'in insan sağlığını koruduğunu, antioksidan ve antiinflamatuar aktiviteler sergilediğini, kas performansını artırdığını, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıkların semptomlarını iyileştirdiğini, diyabeti önlediğini ve sinir sistemini antioksidan özelliği ile kanser hücrelerinin genetik materyalinin değişmesinde rolü olan koruduğunu göstermiştir (Qu vd., 2021).

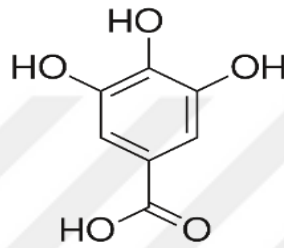
Çizelge 4.16. HPLC sonuçları.

No	Fenolik Bileşikler*	Korelasyon (r2)	λ (nm)	RT** (min.)	1-A.s.y.m (ppm***)	2-A.s.y.e.a. (ppm)	3-As.y.s. (ppm)
1	3-Hidroksi Benzoik Asit	0,99928	287	22.545	3,615	N.D.	3,94
2	4- Hidroksi Benzoik Asit	0,99994	278	17.647	2,984	N.D.	N.D.
3	Benzoik Asit	0,99986	278	47.629	N.D.	0,286	N.D.
4	Kateşin Hidrat	0,99906	278	11.499	N.D.	N.D.	N.D.
5	Klorojenik Asit	0,99970	330	16.239	8,228	1,018	2,784
6	Kafeik Asit	0,99892	330	21.476	1,487	0,961	2,146
7	Epikateşin	0,99879	278	20.169	12,446	14,664	3,687
8	Gallik Asit	0,99966	278	5.912	N.D.	N.D.	9,306
9	Hesperidin	0,99705	287	65.989	N.D.	3,493	3,969
10	P-Kumarik Asit	0,99982	330	33.597	4,782	0,904	0,774
11	Kuersetin	0,99962	254	76.313	N.D.	4,705	4,863
12	Rosmarinik Asit	0,99907	330	70.655	3,423	1,972	1,772
13	Sinnapik Asit	0,99925	330	37.264	2,296	0,552	0,216
14	Siringik Asit	0,99839	278	22.628	2,135	0,939	1,145
15	t-Sinnamik Asit	0,99998	278	75.207	0,531	0,507	0,516
16	t-Ferulik Asit	0,99993	330	37.202	1,553	0,247	N.D.

*1, 5, 10, 20, 50, 70, 100 ppm konsantrasyonlarında saf standart çözeltileri okutularak kalibrasyon eğrisi hazırlanmıştır. **RT=Retention Time (Alıkonma zamanı), N.D.=Not Detected (Algılanmadı). ***ppm=mg/kg-mg/L

4.3.2 Gallik asit

Araştırmalar bitki polifenollerinin, antimutajenite, antikanserojenite ve antioksidatif aktivite gibi biyolojik aktivite gösterdikleri kanıtlanmıştır (Yen vd., 2002). Doğal bir bileşik olan ve iyi bilinen bir polifenol olan gallik asit (3,4,5-trihidroksibenzoik asit) Zahrani vd. (2020) erime noktası 250  C ve suda              20  C’de %1.1 olan sarımsı beyaz bir kristaldir ve (moleküler kütle 170,12 g/mol.)  eşitli farmakolojik ve biyokimyasal yolakları etkilediği bilinmektedir molekül yapısı ise şekil 4.18’de verilmiştir (Verma vd., 2013).



şekil 4.18. Gallik Asit’in kimyasal yapısı (Cemek vd., 2022).

Gallik asit, çeşitli bitkilerde, sebzelerde, sert kabuklu yemişlerde ve meyvelerde bulunan doğal olarak oluşan ikincil bir metabolittir. Pek çok polifenol arasında gallik asit m kemm l anti-enflamatuvar ve anti-oksidatif aktivitelere sahip düşük moleküler ağırlıklı bir tri-fenolik bileşiktir. Bunlarla birlikte gallik asit anti-tümör, anti-bakteriyel, anti-diyabet, anti-obezite, anti-mikrobiyal ve anti-miyokardiyal iskemi dahil olmak üzere birçok belirgin farmakolojik etkiye sahiptir (Bai vd., 2021). Gallik asidin ayrıca metal iyonlarının varlığında konsantrasyona bağlı bir şekilde pro-oksidan özelliğine sahip olduğu da bilinmektedir. Gallik asidin pro-oksidan özelliği kanser hücre hatlarında apoptoz indükleyici olarak kabul edilmiştir (Varma vd., 2013). Gallik asit esterleri, gıda, kozmetik ve ilaç endüstrisinde antioksidanlar olarak çok çeşitli endüstriyel kullanımlara sahiptir. Ayrıca gallik asit, mürekkepler, boyalar ve renk geliştiriciler için kaynak malzeme olarak kullanılır (Ow ve Stupans, 2003). Gallik asit fenolik hidroksil grupları ROS’u temizleyebilir ve yeni radikallerin oluşum döngüsünü bozabilir. Antioksidan görevi g r rl r ve lipidlerin, DNA’nın, proteinlerin ve radikal oluşumunda yer alan enzimlerin oksidasyonunu inhibe edebilir. Gallik asit’in yukarıdaki özellikleri değerlendirildiğinde yapılan tez çalışması ve sonraki yapılacak çalışmalar ile desteklenerek , yeni ilaç geliştirme için umut verici bir   nc  bileşik olarak kabul edilebilir nitelikler taşımaktadır (Zahrani vd., 2020).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Eski tarihi dönemlerde insanoğlu bireylerde oluşan hastalıkların verdiği zararları ortadan kaldırmak ve insanları iyileştirmek adına deneme yanılma yoluyla bitkisel tedavi yöntemleri bulmaya yönelmiştir. Uzun deneme yanılma süreçlerinden sonra bazı bitkilerin kişileri tedavi ettiği tespit edilmiş ve bu bitkiler uzun zaman boyunca hatta günümüzde dahi pek çok kişi tarafından hastalıkların tedavi ve önlenmesinde de kullanıldığı bilinmektedir. Günümüzde ise popüler kültürün bir getirisi olarak beslenme alışkanlıklarındaki değişim, fiziksel aktivitelerin kısıtlı olması ve maruz kaldığımız sentetik ürünler birçok hastalığı da beraberinde getirmiştir. Kişilerin sağlığını etkileyen metabolik hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar, kalp hastalıkları ve kanser gibi bireylerde fazlaca görünen hastalıkların tedavi edilmesinde birçok kişinin ilk tercihi olan sentetik ilaçlar kullanılmaktadır. Bireyi tedavi ettiği bir gerçek olarak birçok kişi ve kurum tarafından kabul gören sentetik ilaçlar bunların yanında yan etkileriyle de fazlaca adından söz ettirmektedir. Bu sentetik ilaçların yerine tedavi başarısı daha yüksek, toksik etkisi daha az olup geçmişten gelen ve halk tarafından bitkisel kaynaklı bileşiklerin daha güvenilir algısı ile toplumu etkileyen hastalıkların tedavisinde bitkisel kaynaklı bileşikler ilk sırada kendine yer bulmakta ve bitkilerin yapısında olan fitokimyasalların etkili ve faydalı biyolojik aktivitelerinden ötürü toplum hastalıklarının tedavisinde ve önlenmesinde kullanılan ilaçların etken maddesi olarak kullanım potansiyeline sahip olduğu ise kaçınılmaz bir gerçektir.

Bu tez çalışması kapsamında sentetik ilaçların yan etkilerini en aza indirebilmek adına alternatif bir kaynak arayışına girilmiş bu kapsamda *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium* bitkisi araştırılmış farklı antioksidan ve enzim testleri bu bitki üzerinde uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar neticesinde bitkinin potansiyel yeni bir tedavi kaynağı olabileceği düşünülmektedir. İleriki dönemdeki yapılan çalışmalara ek yeni araştırmalar gerçekleştirerek bitkinin potansiyeli daha iyi ortaya konulabilecek ayrıca bitki türü için yapılacak yeni çalışmalara da ön kaynak oluşturabilecektir.

KAYNAKLAR

- Abd El Mohsen, M. M., Kuhnle, G., Rechner, A. R., Schroeter, H., Rose, S., Jenner, P. ve Rice-Evans, C. A., 2002. Uptake and metabolism of epicatechin and its access to the brain after oral ingestion, *Free Radical Biology and Medicine*, 33, 12, 1693-1702.
- Abdulkhaleq, L. A., Assi, M. A., Noor, M. H. M., Abdullah, R., Saad, M. Z. ve Taufiq Yap, Y. H., 2017. Therapeutic uses of epicatechin in diabetes and Cancer, *Veterinary World*, 10, 8, 869.
- Abubakar, A. R. ve Haque, M., 2020. Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes, *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 12, 1, 1.
- Agbor, G. A., Vinson, J. A. ve Donnelly, P. E., 2014. Folin-Ciocalteu reagent for polyphenolic assay, *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics*, 3, 8, 147-156.
- Akdoğan, A., Dinçer, C., Torun, M., Şahin, H., Topuz, A. ve Özdemir, F., 2008. Karotenoid Bileşiklerin Sağlık Üzerine Etkileri, *Türkiye*, 10, 21-23.
- Aksoy, L., Suyundikov, M. ve Düz, Mürüvvet., 2021. α -amylase, α -glucosidase, tyrosinase, acetylcholine esterase enzyme inhibition properties and essential oil composition of *Thermopsis turcica* Kit Tan, Vural ve Küçüköyük, *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 36, 3, 357-364.
- Aktumsek, A., Zengin, G., Guler, G. O., Cakmak, Y. S. ve Duran, A., 2013. Assessment of the antioxidant potential and fatty acid composition of four *Centaurea L.* taxa from Turkey, *Food Chemistry*, 141, 1, 91-97.
- Aktumsek, A., Zengin, G., Guler, G.O., Cakmak, Y.S. ve Duran, A., 2013. Antioxidant potentials and anticholinesterase activities of metanolic and aqueous extracts of three endemic *Centaurea L.* species. *Food and Chemical Toxicology*, 55, 290-296.
- Alaca, F.ve Arslan, N., 2012. Sekonder metabolitlerin bitkiler açısından önemi, *Ziraat Mühendisliği Dergisi*, 358, 48-55.
- Albayrak, S., Sağdıç, O. ve Aksoy, A., 2010. Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 26,4, 401-409.
- Ali, S. S., Ahsan, H., Zia, M. K., Siddiqui, T. ve Khan, F. H., 2020. Understanding oxidants and antioxidants: Classical team with new players, *Journal of Food Biochemistry*, 4, 3, e13145.

- Aluigi, A., Varesano, A., Montarsolo, A., Vineis, C., Ferrero, F., Mazzuchetti, G. ve Tonin, C., 2007. Electrospinning of keratin/poly (ethylene oxide) blend nanofibers, *Journal of Applied Polymer Science*, 104, 2, 863-870.
- Amtul, Z., Siddiqui, R. A. ve Choudhary, M. I., 2002. Chemistry and mechanism of urease inhibition, *Current Medicinal Chemistry*, 9, 14, 1323-1348.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. ve Celik, S. E., 2008. Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay, *Microchimica Acta*, 160, 4, 413-419.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. ve Karademir, S. E., 2004. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 26, 7970-7981.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Esin Karademir, S. ve Erçağ, E., 2006. The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 57, 5-6, 292-304.
- Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourrat, A. ve Legret, P., 1994. Standardization of propolis extract and identification of principal constituents, *Journal de Pharmacie de Belgique*, 49, 6, 462-468.
- Astutik, S., Pretzsch, J. ve Ndzifon Kimengsi, J., 2019. Asian medicinal plants' production and utilization potentials: A review, *Sustainability*, 11, 19, 5483.
- Aşilar, R. H., Hacıhasanoğlu, S. A., Yıldırım, A. ve Şahin, H., 2023. Tip 2 Diabetes Mellitus hastalarının bitkisel tamamlayıcı sağlık yaklaşımı kullanımlarının belirlenmesi: Kesitsel Bir Çalışma. *Turkish Journal of Family Medicine and Primary Care*, 17, 1, 10-21.
- Ayaz, F., 2021. Türkiye’de yetişen *Campanula lyrata* Lam. subsp. *lyrata*’nın enzim inhibe edici etkilerinin ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi, *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 8, 1, 100-108.
- Bai, J., Zhang, Y., Tang, C., Hou, Y., Ai, X., Chen, X. ve Meng, X., 2021. Gallic acid: Pharmacological activities and molecular mechanisms involved in inflammation-related diseases, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 133, 110985.
- Bakır, C., 2010. Anason (*Pimpinella anisum*) ve rezene (*Foeniculum vulgare*)’de toplam fenol/flavonoid miktarları ve antioksidan aktivitelerinin metal içeriği ile değişiminin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- Bakır, Ö., 2020. Sekonder metabolitler ve rolleri. *Uluslararası Anadolu Ziraat Mühendisliği Bilimleri Dergisi*, 2, 4, 39-45.

- Banguero, L. M. C. ve Navas, J. S. R., 2021. Capacidad antioxidante en helados y derivados lácteos, Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales, 8, 1, 23-41.
- Barnes, P. J., 2020. Oxidative stress-based therapeutics in COPD, Redox Biology, 33, 101544.
- Baysal, A., 2005. Bitkisel kimyasallar ve antioksidanlar-Sağlık yönünden önemi, Beslenme ve Diyet Dergisi, 33, 1, 5-11.
- Berli, F. J., Moreno, D., Piccoli, P., Hespanhol- Viana, L., Silva, M. F., Bressan-Smith, R. ve Bottini, R., 2010. Absciscic acid is involved in the response of grape (*Vitis vinifera L.*) cv. Malbec leaf tissues to ultraviolet-B radiation by enhancing ultraviolet-absorbing compounds, antioxidant enzymes and membrane sterols, Plant, Cell & Environment, 33, 1, 1-10.
- Bernatova, I., 2018. Biological activities of (-)-epicatechin and (-)-epicatechin-containing foods: Focus on cardiovascular and neuropsychological health, Biotechnology Advances, 36, 3, 666-681.
- Bhardwaj, P., Thakur, M. S., Kapoor, S., Bhardwaj, A. K., Sharma, A., Saxena, S. ve Chaurasia, O. P., 2019. Phytochemical screening and antioxidant activity study of metanol extract of stems and roots of *Codonopsis clematidea* from trans-Himalayan region, Pharmacognosy Journal, 11,3.
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S. ve Kalayci, O., 2012. Oxidative stress and antioxidant defense, World Allergy Organization Journal, 5, 9-19.
- Boo, H. O., Park, J. H., Kim, S. M., Woo, S. H. ve Park, H. Y., 2015. Evaluation of cytotoxicity, carbohydrate, and lipid inhibitory scivity of *Codonopsis lanceolata* using different solvent fractions, The Korean Journal of Crop Science, 60, 4, 498-503.
- Brand Williams, W., Cuvelier, M. E. ve Berset, C. L. W. T., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, LWT-Food Science and Technology, 28, 1, 25-30.
- Bretagnolle, F., Matejicek, A., Grégoire, S., Reboud, X. ve Gaba, S., 2016. Determination of fatty acids content, global antioxidant activity and energy value of weed seeds from agricultural fields in France, Weed Research, 56,1, 78-95.
- Brunetti, C., Guidi, L., Sebastiani, F. ve Tattini, M., 2015. Isoprenoids and phenylpropanoids are key components of the antioxidant defense system of plants facing severe excess light stress, Environmental and Experimental Botany, 119, 54-62.
- Buchholz, T., Chen, C., Zhang, X. Y. ve Melzig, M. F., 2016. Pancreatic lipase and α -amylase inhibitory activities of plants used in Traditional Chinese Medicine

(TCM), Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences, 71, 7, 420-424.

Büyüktuncel, E., 2013. Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca spektrofotometrik yöntemler, Marmara Pharmaceutical Journal, 17, 2, 93-103.

Campbell, J. D., 2001. Lifestyle, minerals and health, Medical Hypotheses, 57, 5, 521-531.

Caponio, F., Alloggio, V. ve Gomes, T., 1999. Phenolic compounds of virgin olive oil: influence of paste preparation techniques, Food Chemistry, 64, 2, 203-209.

Carocho, M. ve CFR Ferreira, I., 2013. The role of phenolic compounds in the fight against cancer—a review, Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry, 13, 8, 1236-1258.

Cayce, K. A., Feldman, S. R. ve McMichael, A. J., 2004. Hyperpigmentation: a review of common treatment options, Journal of Drugs in Dermatology: JDD, 3, 6, 668-673.

Cemek, K., Anar, B. C., Zenger, O. ve Peşint, G. B., 2022. Gallik asit saflaştırılması için PHEMA temelli polimerik partiküllerin sentezlenmesi, Artıbilim: Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 5,1, 20-32.

Ceylan, Ş., Saral, Ö., Özcan, M. ve Harşıt, B., 2017. Yaban mersininin (*Vaccinium myrtillus* L.) farklı çözücü ekstraktlarındaki antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi, Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 18, 1, 21-27.

Chainy, G. B. ve Sahoo, D. K., 2020. Hormones and oxidative stress: an overview, Free Radical Research, 54, 1, 1-26.

Chatonnet, A. ve Lockridge, O., 1989. Comparison of butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase, Biochemical Journal, 260, 3, 625.

Chen, C. Y., Lin, L. C., Yang, W. F., Bordon, J. ve D Wang, H. M., 2015. An updated organic classification of tyrosinase inhibitors on melanin biosynthesis, Current Organic Chemistry, 19, 1, 4-18.

Chen, I. C., Chang, H. H., Yang, H. W. ve Chen, G. L., 2004. Evaluation of total antioxidant activity of several popular vegetables and Chinese herbs: a fast approach with ABTS/H₂O₂/HRP system in microplates, Journal of Food and Drug Analysis, 12, 1, 12.

Chen, J., Liu, Y., Zhao, Z., ve Qiu, J. 2021. Oxidative stress in the skin: Impact and related protection, International Journal of Cosmetic Science, 43, 5, 495-509.

- Cleland, W. W., 1963. The kinetics of enzyme-catalyzed reactions with two or more substrates or products: II. Inhibition: Nomenclature and theory, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Specialized Section on Enzymological Subjects*, 67, 173-187.
- Colovic, M. B., Krstic, D. Z., Lazarevic-Pasti, T. D., Bondzic, A. M. ve Vasic, V. M. 2013. Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology, *Current Neuropharmacology*, 11, 3, 315-335.
- Çakmak, Y. S., Aktumsek, A. ve Duran, A., 2012. Studies on antioxidant activity, volatile compound and fatty acid composition of different parts of *Glycyrrhiza echinata L*, *Excli Journal*, 11, 178-187.
- Çakmak, Y. S., Zengin, G., Eskin, B., Yildirim, K., Topal, M., AYDIN, G. H. ve Erten, K., 2017. Investigation of antioxidant and enzyme inhibition activities and phenolic compound of *Medicago rigidula (L.) All*, *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21, 3, 522-529.
- Çelenk, T., 2023. Gestasyonel diyabet tedavisinde beslenmenin etkisi, *Doğu Karadeniz Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2, 2, 88-96.
- Çelik, H., Aksoy, M., İsa, A. N. ve Koyuncu, İ., 2019. The investigation of oxidative stress parameters in patients with lipoid proteinosis, *Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 16 ,1, 1-7.
- Darvesh, S., Hopkins, D. A. ve Geula, C., 2003. Neurobiology of butyrylcholinesterase, *Nature Reviews Neuroscience*, 4, 2, 131-138.
- Davis, L., Britten, J. J. ve Morgan, M., 1997. Cholinesterase Its significance in anaesthetic practice, *Anaesthesia*, 52, 3, 244-260.
- Decker, H., Schweikardt, T. ve Tuczec, F., 2006. The first crystal structure of tyrosinase: all questions answered?, *Angewandte Chemie International Edition*, 45, 28, 4546-4550.
- Demir, T. ve Akpınar, Ö., 2020. Biological activities of phytochemicals in plants, *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, X. S., Tuo, J., Poulsen, H. E., ve Loft, S., 1998. Prevention of oxidative DNA damage in rats by Brussels sprouts, *Free Radical Research*, 28, 3, 323-333.
- Dikmetaş, D. N., Konuşur, G., Mutlu İngök, A., Gülsünoğlu, Z. ve Karbancıoğlu Gülger, F., 2019. Portakal (*Citrus sinensis*) kabuğundan elde edilen hidrosol/esansiyel yağların antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri, *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 7, 1, 274-283.

- Doğan, N. ve Doğan, C., 2021. İstiridye Mantarının (*Pleurotus ostreatus*) Farklı flaş zamanlarına göre antioksidan aktivitesinin ve hiperglisemide anahtar enzim rolü olan α -amilaz ve α -glukozidaz inhibisyon potansiyelinin belirlenmesi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi, 24, 6, 1177-1186.
- Dündar, Y., 2001. Fitokimyasallar ve sağlıklı yaşam, Kocatepe Tıp Dergisi, 2, 131-138.
- Dvir, H., Silman, I., Harel, M., Rosenberry, T. L. ve Sussman, J. L., 2010. Acetylcholinesterase: from 3D structure to function, Chemico-Biological Interactions, 187, 1-3, 10-22.
- Ebrahimabadi, A. H., Movahedpour, M. M., Batooli, H., Ebrahimabadi, E. H., Mazoochi, A. ve Qamsari, M. M., 2016. Volatile compounds analysis and antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of *Mindium laevigatum*, Iranian Journal of Basic Medical Sciences, 19, 12, 1337.
- Ege, M. ve Elmastaş, M., 2020. Antiviral etkili fitoterapötikler: Tıbbi bitkiler ve fitokimyasallar, Bütünleyici ve Anadolu Tıbbı Dergisi, 1, 2, 2-20.
- Ertürk, Ö., Aydın, G. ve Ayvaz, M. Ç., 2020. *Laurus Nobilis L.*, *Silybum Marianum L.*, *Nigella Sativa L.* ve *Prunus Cerasus L.*'den soğuk pres yöntemi ile izole edilen esansiyel yağ bileşenlerinin antimikrobial ve antioksidan aktiviteleri, Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 7, 2, 487-499.
- Fishman, M. C., 1972. Sir Henry Hallett Dale and acetylcholine story, The Yale Journal of Biology and Medicine, 45, 2, 104.
- Flieger, J., Flieger, W., Baj, J. ve Maciejewski, R., 2021. Antioxidants: Classification, natural sources, activity/capacity measurements, and usefulness for the synthesis of nanoparticle, Materials, 14, 15, 4135.
- Forouhi, N.G. ve Wareham, N. J., 2010. Epidemiology of diabetes. Medicine, 38,11, 602-606.
- García-Lafuente, A., Guillamón, E., Villares, A., Rostagno, M. A. ve Martínez, J. A., 2009. Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease, Inflammation Research, 58, 9, 537-552.
- Gulcin, İ., 2020. Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview, Archives of toxicology, 94, 3, 651-715.
- Güleşçi, N. ve Aygül, İ., 2016. Beslenmede yer alan antioksidan ve fenolik madde içerikli çerezler, Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 5, 1, 109-129.
- Gürbüz, A., Alkan, M., Manap, S., Kol, Ö. G., Özdemir, G. ve Yüksek, H., 2020. Yeni 2-Metoksi-6-[(3-alkil/aril-4, 5-dihidro-1H-1, 2, 4-triazol-5-on-4-il)-azometin]

fenil Furan-2-karboksilat Türevlerinin Sentezi ve in vitro Antioksidan Aktiviteleri, Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi, 18, 1004-1011.

Güvenç, A., Akkol, E. K., Hürkul, M. M., Süntar, İ. ve Keleş, H., 2012. Wound healing and anti-inflammatory activities of the *Michauxia L'Hérit* (Campanulaceae) species native to Turkey, Journal of Ethnopharmacology, 139, 2, 401-408.

Halliwell, B. ve Gutteridge, J. M., 1995. The definition and measurement of antioxidants in biological systems, Free Radical Biology & Medicine, 18, 1, 125-126.

Halliwell, B., 2000. The antioxidant paradox, The Lancet, 355, 9210, 1179-1180.

Hamid, A. A., Aiyelaagbe, O. O., Usman, L. A., Ameen, O. M. ve Lawal, A., 2010. Antioxidants: Its medicinal and pharmacological applications, African Journal of Pure and Applied Chemistry, 4,8, 142-151.

Hamzaoglu, E., 2021. Türkiye'den yeni bir tür, *Asyneuma hasandaghense* (Campanulaceae), Türler ve Habitatlar, 2, 1, 68-76.

Haraguchi, H., Ishikawa, H., Sanchez, Y., Ogura, T., Kubo, Y. ve Kubo, I., 1997. Antioxidative constituents in *Heterotheca inuloides*, Bioorganic & Medicinal Chemistry, 5, 5, 865-871.

Hashemi, F. ve Zarei, M. A., 2014. Tyrosinase inhibitory activity within hexane extract of ten screened plants from Kurdistan province of Iran, International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research, 2, 11, 2795-2799.

Hayes, J. D., Dinkova-Kostova, A. T. ve Tew, K. D., 2020. Oxidative stress in cancer, Cancer Cell, 38, 2, 167-197.

Hermann, J. R., 2021. Minerals and the Body, Oklahoma Cooperative Extension Service.

Hou, Y. C., Janczuk, A. ve Wang, P. G., 1999. Current trends in the development of nitric oxide donors, Current Pharmaceutical Design, 5, 6, 417-442.

Howes, M. J. R., Perry, N. S. ve Houghton, P. J., 2003. Plants with traditional uses and activities, relevant to the management of Alzheimer's disease and other cognitive disorders, Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, 17,1, 1-18.

Huang, D., Ou, B. ve Prior, R. L., 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assay, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 6, 1841-1856.

Ighodaro, O. M. ve Akinloye, O. A., 2018. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid, Alexandria Journal of Medicine, 54, 4, 287-293.

- Ikeda, K., Takahashi, M., Nishida, M., Miyauchi, M., Kizu, H., Kameda, Y. ve Asano, N., 1999. Homonojirimycin analogues and their glucosides from *Lobelia sessilifolia* and *Adenophora* spp. (Campanulaceae), Carbohydrate Research, 323, 1-4, 73-80.
- Jaradat, N. A. ve Abualhasan, M., 2015. Comparison in vitro of antioxidant activity between fifteen Campanula Species (Bellflower) from palestinian flora, Pharmacognosy Journal, 7, 5.
- Jeeva, J. S., Sunitha, J., Ananthalakshmi, R., Rajkumari, S., Ramesh, M. ve Krishnan, R., 2015. Enzymatic antioxidants and its role in oral diseases, Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences, 7(Suppl 2), S331-333.
- Jucevičiūtė, N., Banaitytė, I., Vaitkus, A. ve Balnytė, R., 2019. Preclinical signs of Parkinson's disease: A possible association of Parkinson's disease with skin and hair features, Medical Hypotheses, 127, 100-104.
- Juranović Cindrić, I., Kunštić, M., Zeiner, M., Stingeder, G. ve Rusak, G., 2011. Sample preparation methods for the determination of the antioxidative capacity of apple juices, Croatica Chemica Acta, 84, 3, 435-438.
- Karabulut, H. ve Gülay, M. Ş., 2016. Serbest radikaller, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 4, 1, 50-59.
- Karakaya, S. ve El, S. N., 1997. Flavonoidler ve sağlık, Beslenme ve Diyet Dergisi, 26, 2, 54-60.
- Kaya, B., 2020. Alchemilla persica'nın farklı polaritedeki çözücülerde antioksidan, antimikrobial ve antiisotoksik etkilerinin belirlenmesi, Türk Doğa ve Fen Dergisi, 9, 2, 157-169.
- Kaya, M., Khadem, S., Cakmak, Y. S., Mujtaba, M., İlk, S., Akyuz, L. ve Deligöz, E., 2018. Antioxidative and antimicrobial edible chitosan films blended with stem, leaf and seed extracts of *Pistacia terebinthus* for active food packaging, RSC Advances, 8, 8, 3941-3950.
- Keskin, M. ve Özkök, A., 2020. α -Amylase Inhibition Properties of Bee Pollen and Bee Bread (Perga), Hacettepe Journal of Biology and Chemistry, 48, 4, 389-393.
- Kim, J. H., Hong, J. Y., Shin, S. R. ve Yoon, K. Y., 2009. Comparison of antioxidant activity in wild plant (*Adenophora triphylla*) leaves and roots as a potential source of functional foods, International Journal of Food Sciences and Nutrition, 60 (sup2), 150-161.
- Kim, M.S., Kim, K.H. ve Yook, H.S., 2012. Antioxidative effects of *Campanula takesimana* nakai extract, Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition, 41, 10, 1331-1337

- Kohli, A. ve Kumar, R., 2023. Role of Antioxidants of Natural Herbs in Management of Male Infertility, Journal for Research in Applied Sciences and Biotechnology, 2, 1, 55-80.
- 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.
- Kolap, R. M., Datkhile, K. D. ve Zimare, S. B., 2021. Bioprospecting of *Lobelia nicotianifolia* Roth. plant parts for antioxidant and cytotoxic activity and its phytoconstituents, Pharmacognosy Magazine, 17, 6, 162-162.
- Korkmaz, B., Fandakli, S., Barut, B., Yildirim, S., Sener, S. O., Ozturk, E. ve Yayli, N., 2020. Volatile and phenolic components and antioxidant, acetylcholinesterase, tyrosinase, α -glucosidase inhibitory effects of extracts obtained from *Campanula latifolia* L. subsp. *latifolia*, Journal of Essential Oil Bearing Plants, 23, 5, 1118-1131.
- Koutsovoulou, K., Daws, M. I. ve Thanos, C. A., 2014. Campanulaceae: a family with small seeds that require light for germination, Annals of Botany, 113, 1, 135-143.
- Küçükakgün, H. ve Enç, N., 2021. Oksijen tedavisi ve hemşirelik bakımı/güvenli oksijen uygulaması, Yoğun Bakım Hemşireliği Dergisi, 25, 1, 10-22.
- L. A., Assi, M. A., Noor, M. H. M., Abdullah, R., Saad, M. Z. ve Taufiq Yap, Y. H., 2017. Therapeutic uses of epicatechin in diabetes and Cancer, Veterinary World, 10, 8, 869.
- Lambert, J. C., Heath, S., Even, G., Champion, D., Sleegers, K., Hiltunen, M. ve Amouyel, P., 2009. Genome-wide association study identifies variants at CLU and CR1 associated with Alzheimer's disease, Nature Genetics, 41, 10, 1094-1099.
- Lane, R. M., Kivipelto, M. ve Greig, N. H. 2004., Acetylcholinesterase and its inhibition in Alzheimer disease, Clinical Neuropharmacology, 27, 3, 141-149.
- Laube, H., 2002. Acarbose, Clinical Drug Investigation, 22, 3, 141-156.
- Lee, K. W., Kim, Y. J., Lee, H. J. ve Lee, C. Y., 2003. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51, 25, 7292-7295.
- Leyden, J. J., Shergill, B., Micali, G., Downie, J. ve Wallo, W., 2011. Natural options for the management of hyperpigmentation, Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 25, 10, 1140-1145.
- Li, Q., Tu, Y., Zhu, C., Luo, W., Huang, W., Liu, W. ve Li, Y., 2017. Cholinesterase, β -amyloid aggregation inhibitory and antioxidant capacities of Chinese medicinal plants, Industrial Crops and Products, 108, 512-519.

- Li, Y., Kong, D., Fu, Y., Sussman, M. R. ve Wu, H., 2020. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants, *Plant Physiology and Biochemistry*, 148, 80-89.
- Liu, C., Yan, Q., Gao, C., Lin, L. ve Wei, J., 2021. Study on antioxidant effect of recombinant glutathione peroxidase, 1. *International Journal of Biological Macromolecules*, 170, 503-513.
- Lokak, N. ve Akocak, S., 2020. Biological evaluation of aromatic bis-sulfonamide Schiff bases as antioxidant, acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors, *Cumhuriyet Science Journal*, 41, 2, 413-418.
- Lopina, O. D., 2017. Enzyme inhibitors and activators, Senturk. M. (Editor), *Enzyme inhibitors and activators*, InTech, Rijeka, Croatia.
- Lund, M. N. ve Baron, C. P., 2010. Protein oxidation in foods and food quality. In *Chemical deterioration and physical instability of food and beverages*, Woodhead Publishing, 33-69.
- Malito, E., Ralat, L. A., Manolopoulou, M., Tsay, J. L., Wadlington, N. L. ve Tang, W. J., 2008. Molecular bases for the recognition of short peptide substrates and cysteine-directed modifications of human insulin-degrading enzyme, *Biochemistry*, 47, 48, 12822-12834.
- Mamta P. Kshipra Misra, Gurpreet Singh Dhillon, Satinder Kaur Brar. ve Mausam Verma., 2014. Antioxidants, Satinder K. B., Gurpreet S.D., Carlos R.S.(Editors), *Biotransformation of Waste Biomass into High Value Biochemicals*, Springer, New York, USA.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C. ve Jiménez, L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 5, 727-747.
- Mertoğlu, K. ve Evrenosoğlu, Y., 2019. Bazı elma ve armut çeşitlerinde fitokimyasal özelliklerin belirlenmesi, *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 14, 1, 11-20.
- Mukherjee, P. K., Kumar, V., Mal, M. ve Houghton, P. J., 2007. Acetylcholinesterase inhibitors from plants, *Phytomedicine*, 14, 4, 289-300.
- Nieuweboer Krobotova, L., 2013. Hyperpigmentation: types, diagnostics and targeted treatment options, *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 27, 2-4.
- Nikolova, M., Aneva, I., Zhelev, P. ve Berkov, S., 2019. GC/MS based metabolite profiling and antioxidant activity of balkan and bulgarian endemic plants, *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 84, 1, 59-65.
- Orhan, I. E., Senol, F. S., Gulpinar, A. R., Sekeroglu, N., Kartal, M. ve Sener, B., 2012. Neuroprotective potential of some terebinth coffee brands and the unprocessed

- fruits of *Pistacia terebinthus* L. and their fatty and essential oil analyses, Food Chemistry, 130, 4, 882-888.
- Ow, Y. Y. ve Stupans, I., 2003. Gallic acid and gallic acid derivatives: effects on drug metabolizing enzymes, Current drug metabolism, 4, 3, 241-248.
- Ozgen, M., Reese, R. N., Tulio, A. Z., Scheerens, J. C. ve Miller, A. R., 2006. Modified 2, 2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2, 2 '-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54, 4, 1151-1157.
- Ötleş, S. ve Atlı, Y., 2011. Karotenoidlerin insan sağlığı açısından önemi, Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 3, 1 , 249-254.
- Özcan, M., Arslan, D. ve Ünver, A., 2006. Fonksiyonel gıdalar ve fitokimyasallar, Akademik Gıda Dergisi, 1, 5, 40-45.
- Özden, A. N., Ak, B. E. ve Özden, M., 2017. Farklı nar (*Punica granatum* L.) çeşitlerinin pomolojik, fitokimyasal özellikleri ve antioksidan kapasiteleri, Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 21, 2, 164-176.
- Özkaya, O., Şen, K., Aubert, C., Dündar, ve Gunata, Z., 2018. Characterization of the free and glycosidically bound aroma potential of two important tomato cultivars grown in Turkey, Journal of Food Science and Technology, 55, 4440-4449.
- Öztürk, H., 2009. *Jurinea consanguinea*'nın antioksidan ve antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne
- Özyurt, D., 2005. Toplam flavonoid miktarının geliştirilen spektrofotometrik yöntem ile tayini, Doktora Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Özyürek, M., Güçlü, K., Tütem, E., Başkan, K. S., Erçağ, E., Çelik, S. E. ve Apak, R., 2011. A comprehensive review of CUPRAC methodology, The Royal Society of Chemistry, 3,11, 2439-2453.
- Palanisamy, U. D., Ling, L. T., Manaharan, T. ve Appleton, D., 2011. Rapid isolation of geraniin from *Nephelium lappaceum* rind waste and its anti-hyperglycemic activity, Food Chemistry, 127, 1, 21-27.
- Park, S. B., Lee, J. H., Kim, H. D., Soe, K. H., Jeong, H. S., Kim, D. H. ve Lee, S. E., 2018. Screening of plant extracts with cholinesterase inhibition activity, Korean Journal of Plant Resources, 31, 5, 433-452.
- Pham-Huy, L. A., He, H. ve Pham-Huy, C. 2008. Free radicals, antioxidants in disease and health, International Journal of Biomedical Science: IJBS, 4, 2, 89.

- Pinney, M. M., Mokhtari, D. A., Akiva, E., Yabukarski, F., Sanchez, D. M., Liang, R. ve Herschlag, D., 2021. Parallel molecular mechanisms for enzyme temperature adaptation., *Science*, 371, 6533, eaay2784.
- Pisoschi, A. M. ve Pop, A., 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55-74.
- Politeo, O., Skocibusic, M., Burcul, F., Maravic, A., Carev, I., Ruscic, M. ve Milos, M., 2013. *Campanula portenschlagiana* Roem. et Schult.: Chemical and antimicrobial activities, *Chemistry & Biodiversity*, 10, 6, 1072-1080.
- Qu, Z., Liu, A., Li, P., Liu, C., Xiao, W., Huang, J. ve Zhang, S., 2021. Advances in physiological functions and mechanisms of (-)-epicatechin, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61, 2, 211-233.
- Raskin, I., Ribnicky, D. M., Komarnytsky, S., Ilic, N., Poulev, A., Borisjuk, N. ve Fridlender, B., 2002. Plants and human health in the twenty-first century, *TRENDS in Biotechnology*, 20, 12, 522-531.
- 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.
- Rehman, A., Collis, C. S., Yang, M., Kelly, M., Diplock, A. T., Halliwell, B. ve Rice-Evans, C., 1998. The effects of iron and vitamin C co-supplementation on oxidative damage to DNA in healthy volunteers, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 246, 1, 293-298.
- Rival, S. G., Boeriu, C. G. ve Wichers, H. J., 2001. Caseins and casein hydrolysates. 2. Antioxidative properties and relevance to lipoxygenase inhibition, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 1, 295-302.
- Rowe, P., 1996. Beta-carotene takes a collective beating, *The Lancet*, 347, 8996, 249-249.
- Salmerón-Manzano, E., Garrido-Cardenas, J. A., ve Manzano-Agugliaro, F., 2020. Worldwide research trends on medicinal plants, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17,10, 3376.
- Saman, F. ve Tomaş, M., 2022. Vitaminlerin Nanoenkapsülasyonu ve Nanoenkapsüle Vitaminlerin Sağlık Üzerine Etkileri, *Akademik Gıda*, 20, 3, 283-295.
- Sarikurkcü, C., Sarikurkcü, R. T. ve Tepe, B., 2021. *Campanula macrostachya*: biological activity and identification of phenolics using a liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry system, *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 21812-21822.
- Sarikurkcü, C., Targan, S., Ozer, M. S. ve Tepe, B., 2017. Fatty acid composition, enzyme inhibitory, and antioxidant activities of the ethanol extracts of selected

- wild edible plants consumed as vegetables in the Aegean region of Turkey, *International Journal of Food Properties*, 20, 3, 560-572.
- Sarikurkcu, C., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M. ve Harmandar, M., 2008. Studies on the antioxidant activity of the essential oil and metanol extract of *Marrubium globosum subsp. globosum (lamiaceae)* by three different chemical assays, *Bioresource Technology*, 99, 10, 4239-4246.
- Scheltens, P., Blennow, K., Breteler, M. M., De Strooper, B., Frisoni, G. B., Salloway, S., ve Van der Flier, W. M., 2016. Alzheimer's disease, *The Lancet*, 388, 10043, 505-517.
- Scheltens, P., De Strooper, B., Kivipelto, M., Holstege, H., Ch  telat, G., Teunissen, C. E. ve Van der Flier, W. M., 2021. Alzheimer's disease, *The Lancet*, 397, 10284, 1577-1590.
- Sellergren, B., 2010. Shaping enzyme inhibitors, *Nature Chemistry*, 2, 1, 7-8.
- Sen, C. K. ve Packer, L., 1996. Antioxidant and redox regulation of gene transcription, *The FASEB Journal*, 10, 7, 709-720.
- Sentürk, N., 2013. Kütanöz inflamasyon/Cutaneous inflammation. *Türkderm: Türk deri hastalıkları ve Frengi arşivi*, *Turkderm: Turkish Archives of Dermatology and Venereology*, 47, 1, 28.
- Sevindik, M., 2019. Wild edible mushroom *Cantharellus cibarius* as a natural antioxidant food, *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 7, 9, 1377-1381.
- Sharma, R., 2012. Enzyme inhibition: mechanisms and scope, *Enzyme inhibition and Bioapplications*, 3-36.
- Shibano, M., Tsukamoto, D., Masuda, A., Tanaka, Y. ve Kusano, G., 2001. Two new pyrrolidine alkaloids, radicamines A and B, as inhibitors of α -glucosidase from *Lobelia chinensis* LOUR, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 49, 101362-1365.
- Shulkina, T. V., Gaskin, J. F. ve Eddie, W. M. M., 2003. Morphological studies toward an improved classification of Campanulaceae s. str. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 90, 4, 576-591.
- Siddiqui, A. A., Iram, F., Siddiqui, S. ve Sahu, K., 2014. Role of natural products in drug discovery process, *International Journal Drug Development Research*, 6, 2, 172-204.
- Sies, H., 2020. Oxidative stress: Concept and some practical aspects. *Antioxidants*, 9, 9, 852.
- Silici, S. ve   lgen, N., 2019. Bioactive Properties of Blossom and Honeydew Honeys, *Mellifera*, 19, 2, 43-54.

- Singh, M., Kaur, M., Kukreja, H., Chugh, R., Silakari, O. ve Singh, D., 2013. Acetylcholinesterase inhibitors as Alzheimer therapy: from nerve toxins to neuroprotection, *European Journal of Medicinal Chemistry* 70, 165-188.
- Šinko, G., Čalić, M., Bosak, A. ve Kovarik, Z., 2007. Limitation of the Ellman method: Cholinesterase activity measurement in the presence of oximes, *Analytical Biochemistry*, 370, 2, 223-227.
- Smith, J. H., ve Simons, C., 2004. Development of enzyme inhibitors as drugs, *Enzymes and their inhibitors drug development*, 190, 328.
- Stephens, N. G., Parsons, A., Brown, M. J., Schofield, P. M., Kelly, F., Cheeseman, K. ve Mitchinson, M. J., 1996. Randomised controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS), *The Lancet*, 347, 9004, 781-786.
- Süntar, I., 2020. Importance of ethnopharmacological studies in drug discovery: role of medicinal plants, *Phytochemistry Reviews*, 19, 5, 1199-1209.
- Swartz, M., 2010. HPLC detectors: a brief review, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 33, 9-12 , 1130-1150.
- Şentürk, E. ve Şentürk, M., 2018. Gül ekstresinin kolinesteraz inhibisyon potansiyelinin belirlenmesi, *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 33, 3, 237-240.
- Tan, K. ve Yıldız, B., 1988. Türkiye’den Yeni *Asyneuma* (Campanulaceae) taksonları, *Willdenowia*, 18, 67-80.
- Taskin, T. ve Bitis, L., 2016. In vitro antioxidant activity of eight wild edible plants in Bursa province of Turkey, *Medicine*, 6, 25.
- Tefera, B. N. ve Kim, Y. D., 2019. Ethnobotanical study of medicinal plants in the Hawassa Zuria District, Sidama zone, Southern Ethiopia, *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 15, 1-21.
- Tiring, G., Satar, S. ve Özkaya, O., 2020. Sekonder metabolitler, *Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 35, 1, 203-215.
- Topçu, Ş. ve Çölgeçen, H., 2015. Bitki sekonder metabolitlerinin biyoreaktörlerde üretilmesi, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 2, 9-29.
- Tribl, F., Asan, E., Arzberger, T., Tatschner, T., Langenfeld, E., Meyer, H. E. ve Marcus, K., 2009. Identification of L-ferritin in neuromelanin granules of the human substantia nigra: a targeted proteomics approach, *Molecular & Cellular Proteomics*, 8, 8, 1832-1838.
- Tundis, R., Loizzo, M. R. ve Menichini, F., 2010. Natural products as α -amylase and α -glucosidase inhibitors and their hypoglycaemic potential in the treatment of diabetes: an updated, *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 10, 4, 315-331.

- Turkoglu, A., Duru, M. E., Mercan, N., Kivrak, I. ve Gezer, K., 2007. Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill, Food Chemistry, 101,1, 267-273.
- Türkmen, F. U., Takcı, H. A. M. ve Önalın, F. E. S., 2020. Evaluation of antioxidant activity of sour cherry stalk extracts by in vitro methods, Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi, 10, 2, 290-301.
- Ural, S. ve Yüksekdağ, Z., 2020. Lactobacillus cinsi bakterilerinin farklı yöntemler ile antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi, Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi, 1, 1-2, 13-21.
- Uyar, B. B., Gezmen Karadağ, M., Şanlıer, N. ve Günyel, S., 2013. Toplumumuzda sıklıkla kullanılan bazı bitkilerin toplam fenolik madde miktarlarının saptanması, Gıda Dergisi, 38, 1, 23-29.
- Uysal, S., Zengin, G., Locatelli, M., Bahadori, M. B., Mocan, A., Bellagamba, G., De Luca, E., Mollica, A. ve Aktumsek, A., 2017. Cytotoxic and enzyme inhibitory potential of two *Potentilla* species (*P. speciosa* L. and *P. reptans* Willd.) and their chemical composition, Frontiers in Pharmacology, 8, 290.
- Ülger, T. G. ve Ayhan, N. Y., 2020. Bitki sekonder metabolitlerinin sağlık üzerine fonksiyonel etkileri, Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 3, 384-390.
- Vardar, D. Ö., Mollahaliloğlu, S. ve Öztaş, D., 2018. Fitoterapide kullanılan bazı fitokimyasalların toplum sağlığına etkilerinin değerlendirilmesi, Journal of Health Sciences and Medicine, 1, 4, 95-105.
- Vashi, N. A. ve Kundu, R. V., 2013. Facial hyperpigmentation: causes and treatment, British Journal of Dermatology, 169, s3, 41-56.
- Verma, S., Singh, A. ve Mishra, A., 2013. Gallic acid: molecular rival of cancer, Environmental Toxicology and Pharmacology, 35, 3, 473-485.
- Vinayagam, R. ve Xu, B., 2015. Antidiabetic properties of dietary flavonoids: a cellular mechanism review, Nutrition & Metabolism, 12, 1-20.
- Wettasinghe, M., Bolling, B., Plhak, L., Xiao, H. ve Parkin, K., 2002. Phase II enzyme-inducing and antioxidant activities of beetroot (*Beta vulgaris* L.) extracts from phenotypes of different pigmentation, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, 23, 6704-6709.
- Woolery-Lloyd, H. ve Kammer, J. N. 2011. Treatment of hyperpigmentation, In Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery, 30, 3, 171-175.
- Xiao, M., Shawkey, M. D. ve Dhinojwala, A., 2020. Bioinspired melanin-based optically active materials, Advanced Optical Materials, 8, 19, 2000932.

- Yamaguchi, Y. ve Hearing, V. J., 2009. Physiological factors that regulate skin pigmentation, *Biofactors*, 35, 2, 193-199.
- Yang, X-W., Huang, M-Z., Jin, Y-S., Sun, L-N., Song, Y. ve Chen, H-S., 2012. Phenolics from *Bidens bipinnata* and their amylase inhibitory properties, *Fitoterapia*, 83, 7, 1169-1175.
- Yapar, E. A., 2017. Cilt beyazlatıcılara genel bakış, *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21, 1, 48-53.
- Yen, G. C., Duh, P. D. ve Tsai, H. L., 2002. Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid, *Food Chemistry*, 79, 3, 307-313.
- Youdim, M. B. ve Riederer, P., 1997. Understanding Parkinson's disease, *Scientific American*, 276, 1, 52-59.
- Zahrani, N. A. A., El-Shishtawy, R. M. ve Asiri, A. M., 2020. Recent developments of gallic acid derivatives and their hybrids in medicinal chemistry: A review, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 204, 112609.
- Zeb, A., 2020. Concept, mechanism, and applications of phenolic antioxidants in foods, *Journal of Food Biochemistry*, 44, 9, e13394.
- Zolghadri, S., Bahrami, A., Hassan Khan, M. T., Munoz-Munoz, J., Garcia-Molina, F., Garcia-Canovas, F. ve Saboury, A. A., 2019. A comprehensive review on tyrosinase inhibitors, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 34, 1, 279-309.
- URL-1<http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=6150>
Erişim tarihi: 20.05. 2023

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı: Furkan ZAMBAK

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans: Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik 2015-2016

Aksaray Üniversitesi, Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji 2016-2020

Yüksek Lisans: Aksaray Üniversitesi, Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı 2020-2023

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

Kongrelerde Sunulan Makaleler.

Zambak, F. ve Çakmak, Y. S., (2022). *Asyneuma linifolium* subsp. *eximium* Bitkisinin Fitokimyasal Bileşimi ve Bazı Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi, 9. Uluslararası Akademik Araştırmalar Kongresi (ICAR), 27-29 Eylül 20218(**Sözlü Sunum**) Türkiye.