



**BAZI BİTKİ EKSTRELERİNİN KOLİNESTERAZ İNHİBİSYON
POTANSİYELLERİNİN BELİRLENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Orkun Sanır BATMAZ

Biyokimya Ana Bilim Dalı

Prof. Dr. Murat ŞENTÜRK

Ağrı-2023

Her hakkı saklıdır

T.C.
AĞRI İBRAHİM ÇEÇEN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

Orkun Sanır BATMAZ

BAZI BİTKİ EKSTRELERİNİN KOLİNESTERAZ İNHİBİSYON
POTANSİYELLERİNİN BELİRLENMESİ

DOKTORA TEZİ

TEZ YÖNETİCİSİ

Prof. Dr. Murat ŞENTÜRK

AĞRI -2023

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum “Bazı Bitki Ekstrelerinin Kolinesteraz İnhibisyon Potansiyellerinin Belirlenmesi” adlı tezin tamamen kendi çalışmam olduğunu ve her alıntıya kaynak gösterdiğimi taahhüt eder, tezimin kağıt ve elektronik kopyalarının Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü arşivlerinde aşağıda belirttiğim koşullarda saklanmasına izin verdiğimi onaylarım.

Lisansüstü Eğitim-Öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim.

☒ Tezimin 3 yıl süreyle erişime açılmasını istemiyorum. Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin tamamı her yerden erişime açılabilir.

04.10.2023

Orkun Sanır BATMAZ

TEZ KABUL VE ONAY TUTANAĞI
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Prof. Dr. Murat ŞENTÜRK danışmanlığında, Orkun Sanır BATMAZ tarafından hazırlanan bu çalışma, 04/10/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Bilim Dalı'nda Doktora tezi olarak **oybirliği / oyçokluğu** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Murat ŞENTÜRK

İmza :

Üye : Prof. Dr. Deniz EKİNCİ

İmza :

Üye : Doç. Dr. Tayfun ARSLAN

İmza :

Üye : Doç. Dr. Aykut ÖZTEKİN

İmza :

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Bayram ALPARSLAN

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu .../.../2023 tarih ve / nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. İbrahim HAN
Enstitü Müdürü

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

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ŞEKİLLER VE ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii

BİRİNCİ BÖLÜM

1. GİRİŞ	1
1.1. Enzimler	1
1.2. Asetilkolinesteraz	8
1.2.1. Asetilkolinesteraz enziminin yapı ve mekanizması	8
1.2.1. AChE enziminin biyolojik aktiviteleri	9
1.2.3. AChE inhibitörleri	10
1.2.4. AChE inhibitörleri ve kullanım alanları.....	10
1.2.5. Kolinesterazlar enzimlerinin yapısal ve moleküler farkları	11
1.2.6. Kolinesteraz İnhibitörleri	12
1.3. Çalışmada Kullanılan Bitkiler.....	12
1.3.1. Gülhatmi (<i>Alcea rosea</i>).....	13
1.3.2. Boğa diken (Eryngium campestre)	21
1.3.3. Kaz ayağı (<i>Falcaria vulgaris</i>)	27
1.3.4. Meyan (Glycyrrhiza glabra L.).....	29
1.3.5. Meyan Bitkisinin İçeriği, Yapısı Ve Farmakolojik Özellikleri	31
1.3.6. Meyan Bitkisinin İçeriği ve Yapısı	31
1.3.7. Meyan Bitkisinin Farmakolojik Özellikleri.....	34

İKİNCİ BÖLÜM

2. KURAMSAL TEMELLER	36
-----------------------------------	-----------

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

3. YÖNTEM	39
3.1. Başlık Yok	39
3.1.1. Tez Çalışmalarında Yararlanılan Kimyasallar.....	39
3.1.2. Yararlanılan alet ve cihazlar	39
3.1.3. Tez çözeltilerinin elde edilmesi	39
3.2. Yöntem	40
3.2.1. Bitki numunelerinin hazırlanması ve ekstratların eldesi	40
3.2.2. Ekstrelerin AChE / BChE inhibitör etkilerinin ölçülmesi.....	40
3.2.3. Ekstraktlar için IC ₅₀ değerlerinin tespit edilmesi	41

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	42
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	48
KAYNAKÇA	51



ÖZET

DOKTORA TEZİ

BAZI BİTKİ EKSTRELERİNİN KOLİNESTERAZ İNHİBİSYON POTANSİYELLERİNİN BELİRLENMESİ

Orkun Sanır BATMAZ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Murat ŞENTÜRK

Asetilkolin (ACh), vücutta periferik ve merkezi sinir sisteminde işlev gören temel bir nörotransmitterdir. Asetilkolinesteraz (AChE, EC 3.1.1.7), asetilkolini parçalayan bir hidrolaz enzimi olarak görev yapar. Öte yandan, Butirilkolinesteraz (BChE, EC 3.1.1.8), spesifik olmayan bir kolinesteraz enzimidir. Kolinesteraz inhibitörleri, asetilkolinin yıkılmasını engelleyen enzimleri baskılar. Bu inhibitörlerin başlıca kullanımı Alzheimer hastalarının demansını tedavi etmektir. Alzheimer hastalığında beyindeki ACh seviyeleri düşer ve kolinesteraz inhibitörleri, bu seviyeleri dengeleyerek hastalığın iyileştirilmesine katkıda bulunur.

Bu tez çalışmasında bazı bitkilerin (*Alcea setosa*, *Eryngium campestre*, *Falcaria vulgaris* ve *Glycyrrhiza glabra* L.) ekstrelerinin AChE ve BChE enzimleri üzerindeki inhibisyon potansiyelleri belirlenmeye çalışıldı. Bu amaçla enzim aktiviteleri üzerine inhibisyon etkisi gösteren bu ekstreler için IC₅₀ değerleri hesaplandı.

61

Anahtar Kelimeler: *Alcea setosa*, *Eryngium campestre*, *Falcaria vulgaris*, Asetilkolinesteraz, Butirilkolinesteraz, İnhibisyon.

ABSTRACT

Ph. D. DISSERTATION

DETERMINATION OF THE CHOLINESTERASE INHIBITION POTENTIAL OF SOME PLANT EXTRACTS

Orkun Sanır BATMAZ

Advisor: Prof. Dr. Murat ŞENTÜRK

Acetylcholine (ACh) is an essential neurotransmitter in the body that functions in the peripheral and central nervous systems. Acetylcholinesterase (AChE, EC 3.1.1.7) acts as a hydrolase enzyme that breaks down acetylcholine. On the other hand, Butyrylcholinesterase (BChE, EC 3.1.1.8) is a non-specific cholinesterase enzyme. Cholinesterase inhibitors suppress enzymes that prevent the breakdown of acetylcholine. The primary use of these inhibitors is to treat dementia in Alzheimer's patients. In Alzheimer's disease, ACh levels in the brain decrease and cholinesterase inhibitors contribute to the improvement of the disease by balancing these levels. In this thesis study, we tried to determine the inhibition potential of extracts of some plants (*Alcea setosa*, *Eryngium campestre*, *Falcaria vulgaris*, and *Glycyrrhiza glabra* L.) on AChE and BChE enzymes. For this purpose, IC₅₀ values were calculated for these extracts that showed inhibition effects on enzyme activities.

61

Keywords: *Alcea setosa*, *Eryngium campestre*, *Falcaria vulgaris*, Acetylcholinesterase, Butyrylcholinesterase, Inhibition.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca, benden bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen, çalışmalarımın tamamlanabilmesi için her türlü şartı sağlayan ve bana her zaman her türlü desteği sunan çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Murat ŞENTÜRK'e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım esnasında değerli yardımları ile bana yardımcı olan hocalarım Sayın Prof. Dr. Deniz EKİNCİ, Sayın Doç. Dr. Aykut ÖZTEKİN, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Bayram ALPARSLAN, sevgili arkadaşlarım Prof. Dr. Namudar İzzet KURBANOĞLU ve Prof. Dr. Esabı Başaran KURBANOĞLU'na teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Çalışmalarım esnasında sabrı ve değerli yardımları ile bana yardımcı olan eşim Hafize, çocuklarım Fatih Burak ve Elif Nisa'ya teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Eğitimim tüm süreçlerinde her türlü destekleriyle beni hiç yalnız bırakmayan anne ve babama teşekkür ederim.

04/10/2023

Orkun Sanır BATMAZ

ŞEKİLLER VE ÇİZELGELER DİZİNİ

Şekil 1. 1. Bir kimyasal reaksiyon için enzimli ve enzimsiz reaksiyon akışı (Copeland, 2000).....	4
Şekil 1. 2. <i>Alcea rosea</i> (Gülhatmi).....	14
Şekil 1. 3. <i>Althaea rosea</i> tohumu (Fahamiya et al., 2016).....	14
Şekil 1. 4. <i>Alcea rosea</i> (Gülhatmi) çiçek, yaprak ve gövde (Fahamiya et al., 2016).....	15
Şekil 1. 5. <i>Alcea rosea</i> 'dan izole edilen bazı bileşenleri (Fahamiya et al., 2016).....	19
Şekil 1. 6. Boğa dikenini (<i>E. campestre</i>).....	22
Şekil 1. 7. Boğa dikenini çiçeği.....	23
Şekil 1. 8. Boğa dikenini bitkisi (üst gövde)	24
Şekil 1. 9. Boğa dikenini çiçek ve kök yapısı.....	25
Şekil 1. 10. <i>F. vulgaris</i> yağının ana kimyasal bileşenleri (%).	27
Şekil 1. 11. Meyan Bitkisi. (<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.)	31
Şekil 4. 1. <i>Alcea setosa</i> etanol ekstresi ile AChE inhibisyon grafiği.	42
Şekil 4. 2. <i>Alcea setosa</i> etanol ekstresi ile BChE inhibisyon grafiği.	43
Şekil 4. 3. <i>Eryngium campestre</i> etanol ekstresi ile AChE aktivasyon grafiği.	43
Şekil 4. 4. <i>Eryngium campestre</i> etanol ekstresi ile BChE aktivasyon grafiği.	44
Şekil 4. 5. <i>Falcaria vulgaris</i> etanol ekstresi ile AChE inhibisyon grafiği.....	44
Şekil 4. 6. <i>Falcaria vulgaris</i> etanol ekstresi ile BChE inhibisyon grafiği.....	45
Şekil 4. 7. <i>Glycyrrhiza glabra</i> L. etanol ekstresi ile AChE inhibisyon grafiği.	45
Şekil 4. 8. <i>Glycyrrhiza glabra</i> L. etanol ekstresi ile BChE inhibisyon grafiği.	46
Çizelge 4. 1. Çalışmamızda kullanılan ekstreler ile AChE ve BChE enzimlerinin IC50 değerleri.	47

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AChE	:Aserilkolinesteraz
BChE	:Butirilkolinesteraz
EC	:Enzim komisyonu
ACh	:Asetilkolin
AH	:Alzheimer hastalığı
FVE	: <i>Falcaria vulgaris</i> ekstresi
IC ₅₀	:Enzimin aktif bölgesinin yarısının substrat ile dolduğu andaki inhibitör konsantrasyonu
DTNB	:5,5'-ditiyo-bis-2-nitrobenzoik asit
MS	:Multiple Skleroz
PD	:Parkinson hastalığı
A. rosea	: <i>Alcea rosea</i>
E. campestre	: <i>Eryngium campestre</i>
mL	:mililitre
M	:Molar
mg	:miligram
AChI	:Asetiltiyokolin iyodat
BChI	:Butiriltiyokolin iyodat

BİRİNCİ BÖLÜM

1. GİRİŞ

1.1. Enzimler

Hayat, iyi organize edilmiş çok sayıda kimyasal tepkimelerin uyumlu bir biçimde çalışmasına bağlıdır. Bu sebeple bu tepkimelerin büyük bir kısmı, canlılığı devam ettirmek için kendiliklerinden çok düşük hızlarda çalışırlar. Bu yüzden doğa, belirli kimyasal reaksiyonların hızlarını artırmak için enzim olarak isimlendirdiğimiz kataliz biyomoleküller kullanmaktadır. Enzimler için katalitik güç, mikroorganizmalardan insanlara kadar bütün yaşayan organizmaların yaşamsal süreçlerinde önemli rol oynar. Birçok enzim yaşayan organizmalardan elde edilince biyolojik aktivitelerini devam ettirdikleri gözlenmiştir. Bu durum insanların enzimlerin biyoaktivitelerini ticari amaçla kullanmasını sağlar (Lehninger 2016).

Enzimlere ilişkin bilinen en eski referanslar, peynir, ekmek ve alkollü içeceklerin üretimi ile ilgili eski metinlerden gelmektedir. Bugün enzimler, birçok yiyecek ve içecek üretim sürecinde kilit rol oynamaya devam ediyor ve çok sayıda tüketici ürününün bileşeninde bulunmaktadır. Pek çok hastalık süreci bir veya birkaç enzimin anormal aktiviteleriyle bağlantılı olabileceğinden, enzimler sağlık bilimlerinde de temel bir ilgi konusudur. Bu nedenle, modern farmasötik araştırmaların çoğu, bu enzimlerin güçlü ve spesifik inhibitörlerinin araştırılmasına dayanmaktadır (Copeland, 2000).

Enzimler ve katalitik fenomenler biyolojide merkezi bir konuma sahiptir. Yaşamın devamı enzim katalizörleri olmadan mümkün değildir. Biyolojik sistemlerle ilgili reaksiyonların büyük bir çoğunluğu, protein katalizörleri tarafından katalize edilir. Canlıları çevreleriyle madde ve enerji alışverişinde bulunan açık sistemler olarak açıklamak mümkün olsa da, tek başına termodinamik fizibilite, yaşamak için yeterli değildir. Kinetik engellerin aşılması gerekir. Hidrojen peroksitin uzaklaştırılması veya karbon dioksitin hidrasyonu gibi nispeten hızlı katalize edilmemiş reaksiyonların da hızlandırılması gerekir. Bu nedenle enzimler, yaşamın var olması ve ilerlemesi için temel bir gerekliliktir (Punekar, 2018).

“Enzim” kelimesinin evrimi, belirli biyolojik işlevler için optimal olacak şekilde milyonlarca yıl içinde evrimleşmiş ve kabulü zaman almıştır. Hem

“diyastaz” (çoğunlukla Fransız bilimsel literatüründe) hem de “mayalanma” tanımları, yirminci yüzyılın başlarında zaman zaman kullanılmış olsa da, alkolik fermentasyonun doğası konusundaki tartışmalardan “enzim” kelimesi doğmuştur (Borgaonkar and Patil, 2020).

Eskiler enzimatik aktiviteyi çok pratik olarak kullanırken, bu ilk uygulamalar kullanılan süreçlerin kimyasal temeli için herhangi bir sistematik çalışma veya takdir yerine, tamamen ampirik gözlemlere ve folklora dayanıyordu. On sekizinci ve on dokuzuncu yüzyıllarda bilim adamları, enzimlerin eylemlerini daha sistematik bir şekilde incelemeye başladılar. Spallanzani, kendi mide sularını kullanarak in vitro (laboratuvarda) et parçaları üzerinde sindirim deneyleri yapabilmıştır. Bu deneyler, mide sularının aktif bileşeninin bazı kritik özelliklerini ortaya koymuştur. Eşit hacimde su ile muamele edilen etin sindirime uğramadığı bir kontrol deneyi ile mide sularındaki spesifik bir aktif bileşenin varlığını gösterdi. Ayrıca sindirim sürecinin sıcaklığa bağlı olduğunu ve sindirim için gereken sürenin ete uygulanan mide suyunun miktarı ile ilgili olduğunu gösterdi (Nelson ve Cox, 2016).

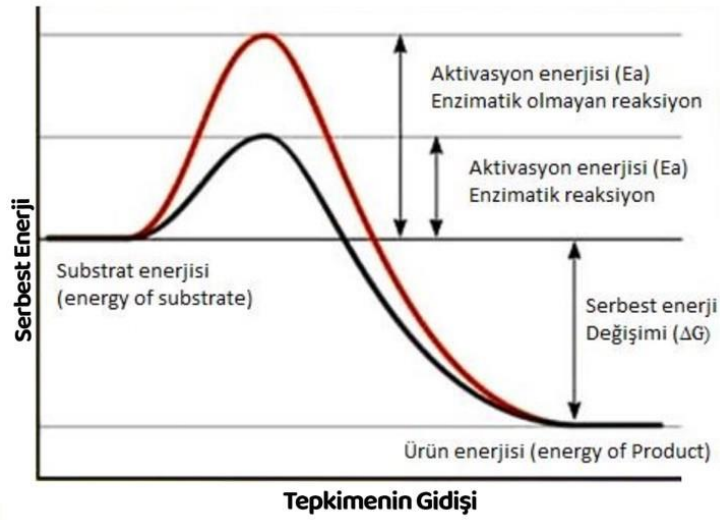
Son olarak, mide sularındaki aktif bileşenin vücut dışında kararsız olduğu sonucuna ulaşmıştır. Bugün, yukarıda bahsedilen tüm özellikleri enzimatik reaksiyonların ortak özellikleri olarak kabul ediyoruz. Ancak eski zamanlar için bulunan sonuçlar yeni ve heyecan verici bulgulardır. Aynı zaman periyodu, çok sayıda başka biyolojik sistemde enzim aktivitelerinin keşfini getirdi (Copeland, 2000).

Genel olarak enzimler, çok ılıman çevre koşullarında yüksek aktivite, yüksek seçicilik ve yüksek özgüllük içeren endüstriyel süreçlerde katalizör olarak olağanüstü beklentilere sahip biyokatalizörlerdir. Hücredeki hemen hemen bütün metabolik süreçlerin, hayatın devamı sağlamak açısından yeterince hızlı gerçekleşmesi için enzim katalizine ihtiyacı vardır. Enzimlerin 5.000’den fazla biyokimyasal reaksiyon çeşidini katalize ettiği yapılan çalışmalar ile ıspatlanmıştır. Az miktardaki katalitik ribozimler dışında bütün enzimler protein yapısına sahiptir. Ayrıca yapısal proteinler de olduğu gibi molekül ağırlıkları 12.000 ile 1.000.000 Da aralığındadır (Nelson ve Cox, 2016).

Tüm enzim molekülleri proteinden oluştukları için tuzlar, organik çözücüler ve bazı kimyasallar ile denatüre olurlar, çökelme ve kolloidleşme eğilimindedirler.

Enzimler iki gruba ayrılır, ilki basit proteinlerden oluşur, ikinci grup ise konjuge yapılı proteinlerden oluşurlar. Tamamen protein yapısında olan enzimler için örnek olarak tripsin, üreaz, pepsin ve çoğu hidrolaz enzimleri verilebilir. Konjuge yapıdaki proteinler ile etkileşen kuvvetli bağlanmış ve protein yapısında olmayan gruplara denir. Sadece aminoasit yapısından oluşan ve enzim yapısında görev alan kısma ise apoenzim adı verilir. İkinci grup enzimler için örnek olarak çinko içeren karbonik anhidraz, bakır içeren tirozinaz, lakkaz, askorbik asit oksidaz, demir içeren katalaz, peroksidaz, sitokrom oksidaz enzimleri gösterilebilir. Bu enzimlerin yapısında bulunan metaller (bakır, çinko v.b.) apoenzim kısmına kuvvetlice bağlıdır. Konjuge proteinler sınıfında olan enzimlere içerdikleri bileşik veya grup, apoenzim kısmına kuvvetlice bağlanmamışsa, bu grup koenzim olarak isimlendirilir. Enzimler ısıya karşı dayanıksız ve diyaliz edilemeyen bir apoenzim ve ısıya dayanıklı, bunun yanı sıra diyaliz edilebilen bir koenzim kısımlarından oluşurlar. Benzer koenzimler ortamlarda serbest halde bulunabilirler ancak reaksiyon gerçekleşirken enzimin protein kısmı ile temas ederler. Kısaca koenzimler proteine bağlı bir şekilde görevlerini yerine getirirler. Böylece koenzim ile birleşmiş apoenzim kompleksine holoenzim adı verilir. Bu sınıf enzimlere örnek olarak oksidoredüktaz'lar verilebilir. Koenzimler karmaşık yapılı organik maddelerdir, çoğunlukla memeliler tarafından sentezlenemeyen vitamin veya esansiyel besin öğelerini içerirler (Nelson ve Cox, 2016; Şentürk, 2017)

Enzim reaksiyonlarında reaksiyonun başlangıç kısmında bulunan moleküllere substrat denir. Enzimler, substratları ürün adı verilen farklı moleküllere dönüştürür. Enzimler substratları için seçicidir ve bundan dolayı birden fazla olasılık arasından sadece birkaç reaksiyonu katalize eder. Bütün katalizörler gibi, enzimler de Şekil 1.1'de gösterildiği gibi bir reaksiyon için aktivasyon enerjisini düşürerek çalışır (Keha ve Küfrevioğlu, 2021).



Şekil 1. 1. Bir kimyasal reaksiyon için enzimli ve enzimsiz reaksiyon akışı (Copeland, 2000).

Katalizörler, enzimler gibi, reaktanlar (A, B) ile geçiş durumu arasındaki enerji farkını azaltarak hareket ederler. Bu reaksiyonun aktivasyon bariyerini düşürür ve daha hızlı ilerlemesini sağlar. Kinetik bariyerin düşürülmesi de ters reaksiyonu hızlandırdığından, reaksiyonun dengesi değişmeden kalır. Tüm katalizörlerde olduğu gibi, enzimler de katalize ettikleri tepkimeler tarafından tüketilmezler ve bu tepkimelerin dengesini değiştirmezler.

Bununla birlikte, enzimler çok daha spesifik olmakla diğer katalizörlerden farklıdır. Hemen hemen tüm enzimler protein olmasına rağmen, tüm biyokimyasal katalizörler enzim değildir, çünkü ribozim adı verilen bazı RNA molekülleri de reaksiyonları katalize eder (Keha ve Küfrevioğlu, 2021).

Protein yapısı dışında enzimler aktiviteleri için birtakım kimyasal gruba gereksinim göstermezler. Ancak birtakım enzimlerin, kofaktör olarak isimlendirilen Ca^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} veya Zn^{2+} gibi metal veya metal iyonlarına ihtiyaç duyarlar. Enzimlerin bir kısmı ise, koenzim olarak isimlendirilen karmaşık yapıli organik ya da metaloorganik moleküllere gereksinim duyarlar. Diğer taraftan çok sayıda metal iyonuna hemde koenzime aktiviteleri için gereksinim duyan enzimlerde bulunmaktadır. Bununla birlikte birtakım enzimlerin aktivasyonları için bir veya daha fazla metal iyonu buna ilaveten koenzim gerektirir. Koenzim veya metal iyonlarıyla enzimatik aktivite gösteren enzimatik yapıya “holoenzim” adı verilir. Holoenzim, protein ve kofaktör olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. Sadece

amino asitlerden oluşan protein kısmına ise apoprotein veya apoenzim adı verilir. Proteine kovalent olarak çok güçlü bir şekilde bağlanan koenzim ya da metal iyonları “prostetik grup” olarak isimlendirilir. Koenzimler, çoğunlukla gıda yolu ile alınan vitaminlerden oluşmaktadır (Nelson ve Cox, 2016; Şentürk, 2017).

Hücre türlerin de yüzlerce farklı protein bulunabilir. Diğer taraftan çeşitli organizmalar kendilerine has olan proteinleri içerirler. Proteinler ancak belirli sıcaklık ve pH değerlerinde biyolojik aktivitelerini gösterirler. Dolayısıyla tek başına bir proteini saf olarak hücre veya dokudan izole etmek çok zor bir süreçtir. Bu zorluğa rağmen mevcut durumda birçok protein saf halde elde edilebilmiştir (Keha ve Küfrevioğlu, 2021).

Günümüzde birçok enzim saflaştırılmıştır. Ayrıca saf kristal halde elde edilen enzim sayısı ise, 200’ü geçmiştir. Çeşitli canlılardan enzim aktivitesi olmayan çok sayıda protein çok yüksek saflık derecesine yakın elde edilmiştir. Sıcaklık, pH, Yüzey gerilimi ve üç boyutlu yapılar gibi çok sayıda faktör kısa sürede proteinlerin enzim aktivitelerinde değişiklik göstermesine sebep olmaktadır. Bu sebepten dolayı enzim izolasyonu deneylerine oldukça özen gösterilmesi gerekmektedir. Genelde bir tek proteinin arzu edinilen saflıkta elde edilebilmesi için birden çok saflaştırma aşamalarına ihtiyaç vardır. Özellikle proteinin karışımdan ayrıştırılabilmesi için proteinin fiziksel ve kimyasal kendisine has özelliklerinin bilinmesi ve bu özellikler uygun bir saflaştırma yönteminin seçilmesi gereklidir. Bunlarında dışında genel olarak enzimlerin saflaştırılmasında dört farklı esas dikkate alınır. Bunlar;

1. Çözünürlük farkları
2. Moleküler ağırlıkları
3. Adsorbsiyon farklılıkları
4. Elektriksel yük farklılıklarıdır.

Ayrıca enzimi daha basit bir şekilde geri kazanmanın en belirgin çözümü, onun immobilizasyonudur. Immobilizasyonun çoğu durumda enzimi endüstriyel bir biyokatalizör olarak kullanmak için bir gereklilik olduğu göz önüne alındığında, birçok araştırmacı immobilizasyonu diğer enzim özelliklerinin iyileştirilmesi ile birleştirmeye çalışmıştır (Keha ve Küfrevioğlu, 2021).

Az sayıda bir grubu temsil eden ve katalitik aktivite gösteren RNA molekülleri istisna olmak üzere enzimler çoğunlukla protein yapıdadır. Proteinlerin doğal yapılarının korunması, enzimlerin katalitik aktivitesi için gerekli şartlardandır. Eğer bu dola yapı korunmaz veya alt birimlere ayrıştırılır ise, çoğu zaman aktivitesi görünürlüğüne kaybeder. Bununla birlikte enzimler için katalitik aktiviteye sahip olabilmeleri için birincil, ikincil, üçüncül ve son olarak da dördüncül yapılarını kazanmaları gerekmektedir. Aksi halde katalitik aktivitesi, enzimlerin yapıtaşları olan amino asitlere kadar ayrıştırılırsa ortadan kaybolur (Şentürk, 2017).

Enzimlerin etkileşime girdiği maddeler Substrat olarak adlandırılır. Substratlar, enzimlerle etkileşime girdikten sonra ürüne dönüşürler. Bunu takiben ürün ve enzim birbirlerinden ayrılırlar. Reaksiyon sırasında enzimlerin üçboyutlu yapılarında değişiklikler olabilir. Lakin reaksiyonun bitiminde başlangıç formatına geri dönerler. Enzimler reaksiyonların süratlarını yükseltmelerinin yanında birtakım hayati öneme sahip hücrelerde metabolik olaylar bakımından önemli olan çok sayıda reaksiyon için hızı ayarlarlar. Birtakım enzim için isimlendirilmede kullandığı substratın adının sonuna “-az” eki getirilerek adlandırılırken, birtakım enzimler için ise ilk olarak tespit eden bilim adamının verdiği adlarla tanınırlar. Misal olarak; üreaz, fosfataz, pepsin, tripsin vb. gibi. Fakat burada ifade ettiğimiz örnek enzimlerin çoğunluğu kataliz edilen reaksiyonlarla ilgili çok az bilgi içerdiğinden Uluslararası Biyokimya Birliği (IUB) sınıflandırmayı kategorisel bir şekilde yapılmaktadır. Ayriyeten enzimlerin her biri için enzim konseyi (EC) tarafından 4 rakamdan oluşan bir kod verilmektedir (Nelson ve Cox, 2016; Keha ve Küfrevioğlu, 2021).

Günümüzde 1800’den fazla değişik enzim bulunmuştur. Çeşitli karmaşıklıkların giderilmesi ve bir standartın yakalanması için enzimlerin sınıflandırılmasında yeni bir yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemde hem enzimlerin kataliz ettikleri reaksiyonlar hem de substrat özgünlükleri ön planda tutulmuştur. Yapılan bu sınıflandırmaya göre bütün enzimler enzim kataloğuna, dört basamaklı bir sayı olan EC (enzim konseyi) numarası ile girerler. İlk basamak altı ana sınıftan birine üyeliği ifade ederken sonraki iki basamak ise alt sınıfları ve alt-alt sınıfları ifade eder. En son basamak ise enzimin alt sınıfta kaçınıcı sırada olduğunu belirtir

(Nelson and Cox, 2016; Şentürk, 2017).

Altı ana enzim sınıfının her birisi, aynı tepkime özgüllüğü gösteren enzim gruplarını kapsar. I. Sınıf enzim olan *oksidoredüktazlar*; İndirgenme yükseltgenme reaksiyonu içeren enzimatik tepkimeleri kataliz ederler. II. Sınıf enzim olan *transferazlar*; Hidrojen atomu dışındaki fonksiyonel grupları bir substrattan ötekine transfer edilmesini kataliz ederler. Birçok oksidoredüktaz ve transferaz grubunda bulunan enzim aktivite göstermeleri için koenzim kullanımına ihtiyaç duyarlar. III. Sınıf enzim olan *hidrolazlarda*; farklı fonksiyonel grupların transfer edilmesinde görev alırlar, fakat alıcı molekül her zaman su molekülü olmalıdır. IV. Sınıf enzim olan *liyazlar*; substratın yapısında bulunan çift bağı oluşturulması yada uzaklaştırılması ile alakalı tepkimeleri kataliz ederler. V. Sınıf enzim olan *izomerazlar*; Optik, geometrik yada yapısal izomer yapıların birbirlerine çevrilmesini katalizleyen enzimlerdir. VI. Sınıf enzim olan *ligazlar*; Bu enzimlerin katalizlediği tepkimeler yüksek enerji ihtiyacı olan türlerdir. Bu yüzden de bu tür tepkimeler için her daim nükleosit trifosfat hidrolizlenmesi sonucu gerçekleşirler (Koolman *et al.*, 2003; Şentürk, 2017; Keha ve Küfrevioğlu, 2021).

Günümüze bakarsak çoğu enzim çeşitli yöntemlerle saflaştırılmıştır. İki yüzden fazla enzim kristalleştirilmiş ve karakterize edilmiştir. Devam eden genetik çalışmaları ve metabolizmadaki kimyasal tepkimelerin çeşitliliği çok sayıda enzimin daha keşfedileceğini ifade etmektedir. Tüm organizmaların canlı hücreleri içinde vuku bulan reaksiyonlar enzimlerle ilintilidir. Bu enzimler canlı hücrelerde sentezlenir ve hücre yaşamını kaybettikten sonra bile uzun bir müddet aktif olarak kalırlar. Katalitik etki mekanizmaları hücreyle ilintili değildir. Enzimler, protein bileşenine sahip oldukları için protein özelliklerini taşırlar. Enzimlerin katalitik aktiviteleri, "turnover sayısı" olarak bilinen bir değerle ifade edilir ve bu, birim zamanda bir mol enzimin ne kadar substratı ürüne dönüştürdüğünü gösterir. Enzim aktivitesini etkileyen faktörleri şu şekilde sıralayabiliriz:

Substrat konsantrasyonu;

- Enzim konsantrasyonu
- Sıcaklık
- İyonik şiddet
- İnhibitör/aktivatör varlığı
- pH

Enzim endüstrisinde önem sırasına göre proteazlar ve lipazlar gelir. Papain ve sindirim enzimlerinin (tripsin ve kimotripsin gibi) tarihsel öneminin yanı sıra, bu enzim sınıfı gıdalarda, deterjanlarda ve derinin tabaklanmasında geniş kapsamlı uygulamalar bulmuştur. Bakteriler ve mantarlar, büyük ölçekli proteaz üretimi için ideal kaynaklardır (Nelson ve Cox, 2016; Şentürk, 2017; Keha ve Küfrevioğlu, 2021). En önemli alkali proteaz üreticileri, *Aspergillus* cinsine ait *Bacillus* suşları ve mantarlardır. Subtilisin, modern deterjanların en iyi bilinen bakteriyel proteaz katkı maddesidir. Optimum pH ve sıcaklık kararlılığı gibi özellikler için kapsamlı bir şekilde seçilmiş/değiştirilmiştir. Kimozin (rennin olarak da bilinir), peynir yapımında nesiller boyu kullanılan buzağı midesinde sütü pıhtılaştıran bir enzimdir. Mikrobiyal bir kaynaktan eşdeğer bir enzim arandı ve rennin ikamelerini üretmek için birkaç *Mucor* suşu seçildi. Lipazlar ve pektinazlar dahil olmak üzere birçok başka enzim de endüstriyel ölçekte mevcuttur (Punekar, 2018).

1.2. Asetilkolinesteraz

Asetilkolinesteraz (AChE, EC 3.1.1.7), esas olarak postsinaptik nöromüsküler bağlantılarda, özellikle kaslarda ve sinirlerde bulunan kolinerjik bir enzimdir. Doğal olarak oluşan bir nörotransmitter olan asetilkolini (ACh) hemen asetik asit ve koline dönüştürür veya hidrolize eder. AChE'nin birincil rolü, ACh'nin dağılmasını ve yakındaki reseptörlerin aktivasyonunu önlemek için sinapslar arasındaki nöronal iletimi ve sinyalleme sonlandırmaktır. AChE, organofosfatlar tarafından inhibe edilir ve pestisitlerin ve sinir ajanlarının önemli bir bileşenidir (McHardy *et al.*, 2017; Halis, 2021).

1.2.1. Asetilkolinesteraz enziminin yapı ve mekanizması

AChE enzimi çok yüksek seviyede bir aktivasyona sahiptir yaklaşık olarak saniyede 25.000 ACh'ı parçalayabilir. AChE enzimin aktif bölgesi iki alt birimden oluşmaktadır bunlar; Ayonik alt birim ve katyonik alt birim olarak adlandırılır. AChE'nin yapısı ve reaksiyon mekanizması açıklanırken enzimin kristal yapısından yola çıkılmıştır. AChE mekanizmasının anlaşılması için çok önemli bir nörotransmitter madde ve enzimin substratı olan asetilkolinin kimyasal yapısı aşağıdaki şekilde verilmiştir. Aşağıda AChE'nin kataliz reaksiyonu gösterilmektedir. Ürün olarak asetat ve kolin oluşur (Susman *et al.*, 1991).

AChE enziminin yapında bulunan anyonik alt birim bölgesi ACh'nin pozitif kuaterner amini ile bağlanır. Ayrıca bu bölgeye diğer katyonik substratlar ve inhibitörlerinde bağlandığı bilinmektedir. Katyonik substratlar, enzimin aktif bölgesine giden aralıkta yer alan 14 aromatik yapıli amino asitlerle etkileşimden başka anyonik bölgede yer alan negatif yüklü amino asitler ile bağ yapmazlar (Ariel *et al.*, 1995). Aromatik aralıktaki bu 14 amino asit oldukça yüksek bir korumaya sahiptir (Ordentlich *et al.* 1993). Aromatik yapıli amino asitler içerisinde triptofan 84 (Trp 84) kritik bir önemi vardır. Trp 84'ün alanin ile yer değiştirmesi AChE enziminin reaktivitesini yaklaşık 300 kat kadar azaltır (Tougu 2001). Enzimin aktif bölgesine giden bu aralık yaklaşık 20 angstrom uzunluktadır. Aktif bölge enzimin alt kısmından 4 angstrom yukarıda bir konuma sahiptir (Harel *et al.*, 1993).

ACh'nin kolin ve asetata hidrolizlenmesi, esteratik alt birimin katalitik üçlüsü tarafından gerçekleştirilir; bu üçlü, serin 200, glutamat 327 ve histidin 440 amino asitlerinin bir araya gelmesiyle oluşur. Bu üçlü amino asit grubu, serin proteazlarla oldukça benzer bir sıralamaya sahiptir, tek fark, aspartat yerine glutamatın bulunmasıdır (Tripathi, 2008). Karboksil esterin hidroliz reaksiyonu, açıl-enzim ve serbest kolinin oluşumuna yol açar. Daha sonra açıl-enzim, su (H₂O) molekülü tarafından nükleofilik bir saldırıya uğrar ve histidin 440 amino asidinin yardımıyla asetik asiti serbest bırakır ve yeniden serbest enzim oluşur (Pohanka, 2011).

1.2.1. AChE enziminin biyolojik aktiviteleri

AChE, çeşitli formlarda bulunan bir glikoproteindir. Kimyasal yapıdaki çeşitliliğin bir sonucu olarak, bazı AChE formları hidrofobik iken diğerleri hidrofiliktir. Hidrofilik türler genellikle hücre içinde aşırı hücre içi ACh konsantrasyonlarını parçalamak için çalışır. Bununla birlikte, lipid bağlı (hidrofobik) çeşitler, ACh'yi bileşen parçalarına (asetat ve kolin) ayırmak için sinaptik yarıktaki veya nöromüsküler kavşakta çalışan ACh inaktivasyonunun birincil ajanlarıdır. Lipid bağlantılı AChE türleri, post-sinaptik membran içine gömülür ve ACh'nin hızlı inaktivasyonunu sağlamak için post-sinaptik reseptör moleküllerine stratejik olarak yakın yerleştirilir (Tougu, 2001).

Bireysel kimyasal nitelikler ve anatomik düzenlemeler, çeşitli AChE formları arasında büyük ölçüde farklılık gösterse de, tüm türler için kataliz mekanizması çarpıcı biçimde benzer kalmaktadır. Her durumda, AChE'nin aktif

sitesi, her ikisi de ACh'nin bozulması için kritik öneme sahip iki alt siteden oluşur. Anyonik bölge, bir ACh molekülünü enzime bağlama görevi görür. İlk keşfedildiğinde, bu sitenin, ACh molekülünün pozitif yüklü dörtlü nitrojeniyle elektrostatik olarak etkileşime giren bir veya daha fazla negatif yüklü gruptan oluştuğu düşünülüyordu. Ancak daha yakın zamanlarda, hidrofobik etkileşimlerin, substratın bu bölgesinin enzime bağlanmasında daha önemli olmasa da eşit derecede önemli olduğu düşünülmektedir (Darvesh *et al.*, 2003; Massoulie *et al.*, 2008).

1.2.3. AChE inhibitörleri

AChE inhibitörleri AChE enziminin aktivitesini azaltarak yada tamamen durdurarak ACh'ın yıkılmasını engeller. Böylelikle nörotransmitter görevi olan ACh'ın ortamdaki yoğunluğunu ve bulunma zamanını arttırır. AChE inhibitörleri genellikle geri dönüşümsüz, yarı geri dönüşümlü ve geri dönüşümlü olacak şekilde etki gösterirler (Pohanka, 2012; Zilbeyaz *et al.*, 2018).

İlaç olarak kullanılan AChE inhibitörleri genelde yarışmalı veya yarışmasız geri dönüşümlü molküllerden seçilir. Bu inhibitörlere fizostigmin, karbamatlar, neostigmin, ambenonium, pyridostigmine, demekaryum, fenantren türevleri, demekaryum, galantamin, kafein (yarışmasız), donepezil, piperidinler, takrin (tetrahidroaminokridin, THA), edrofonyum, Huperzin A, ungeremine, ladostigil, lactucopicrin örnek olarak verilebilir (Pohanka, 2012; Zilbeyaz *et al.*, 2018; Cavdar *et al.*, 2019; Ozil *et al.* 2019; Arslan *et al.*, 2022; Basaran *et al.*, 2022).

Geri dönüşümsüz ve yarı geridönüşümlü AChE inhibitörlerinden ekseriyetle kimyasal silahlar ve pestisitlerin imalatında istifade edilir. Ekotiofat, sarin, dimethoat, tabun, chlorpropham, methomyl, huperzine A, formetanate, diazinon, oxamyl, soman, bendiocarb, diklorvos, propham, methiocarb, pinmicarb, kumarinler, aldicarb, bufencarb, klorprifos, cadusafos, siklosarin ve onchidal gibi maddeler bu tür inhibitörlere örnek olarak gösterilebilirler (Pohanka, 2011).

1.2.4. AChE inhibitörleri ve kullanım alanları

AChE enzimi inhibitörleri günümüzde bir çok sektörde kullanılmaktadır. Bu alanları genel olarak şu şekilde sıralamamız mümkündür.

- Natural olarak hayvansal ve bitkisel zehirler AChE enzimini inhibe

edebilirler.

- Çeşitli yollarla üretilen sinir gazları kimyasal silah olarak kullanılabilir.
- Böcek ilaçlarının içeriğinde bulunurlar (Colovic *et al.* 2013).
- Tıbbi tedavi bağlamında, glaukom ve myastenia gravis hastalığının tedavisinde, antikolinergik zehirlenmeye karşı bir panzehir olarak, non-depolarizan kas gevşeticilerin etkisini tersine çevirmek için, özellikle tepkisizlik gibi Alzheimer hastalığı (AH) gibi hastalıkların nöropsikiyatrik semptomlarının tedavisinde, ayrıca Lewy cisimcik hastalığı, demans ve Parkinson hastalığı (PH) gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Taylor *et al.* 2012). Son yıllarda, butirilkolinesteraz (BChE, E.C. 3.1.1.8) enzimi inhibitörleri, AH tedavisinde AChE inhibitörleri gibi önemli bir uygulama alanına sahip olmuştur (Taylor *et al.* 2012).

1.2..5. Kolinesterazlar enzimlerinin yapısal ve moleküler farkları

AChE ve BChE enzimleri, moleküler yapılarındaki farklılığa, çözünürlük özelliklerine ve alt birim sayısına göre sınıflandırılırlar (Massoulie *et al.* 1993; Massoulie *et al.* 2002). AChE enzimi Tip I G2 yapısına sahiptir ve glikofosfatidilinositol çıkmasını içerir (Massoulie *et al.* 1993). Tip II G1 ve G2 yapısındaki AChE ve BChE enzimleri ise hidrofobik bir çıpa ile zaraya bağlanırlar (Massoulie *et al.* 1993; Massoulie *et al.* 2008). Bu yapı, üç katalitik alt birimi içeren A12 asimetrik yapısı ve kollajen yapıda üçlü heliks kuyruğun birbirine bağlanmasıyla oluşur (Massoulie *et al.* 1993).

Büyük memelilerin, örneğin insan ve sığırın beynindeki kaudat çekirdek AChE'si G4 tetramerlerinden oluşur ve ayrıca asimetrik kollajen kuyruğa sahip AChE, memeli kas dokusunda bulunur (Şekil 2.4) (Lockridge 1988; Chatonnet and Lockridge 1989). İnsan serumundaki BChE enzimi, iki disülfid bağı ile birbirine bağlanmış dimerlerden oluşan G4 tetrameri şeklinde bulunur (Chatonnet and Lockridge 1989; Blong *et al.* 1997).

Kolinesterazlar, glikoprotein yapısına sahip olan monomerler veya oligomerlerdir (Chatonnet and Lockridge 1989). İnsan serumundaki BChE'nin büyük bir kısmı çözünür G4 formunda bulunur, ne bir glikolipid çıkması ne de kollajen kuyruğu bulunur ve yapısı dört eş alt birim tarafından oluşturulan bir tetramerdir (Masson and Lockridge 2010). BChE'nin bir monomerinin moleküler ağırlığı yaklaşık olarak 90

kDa'dır ve bir dimeri yaklaşık olarak 180 kDa'dır (Lockridge 1990).

1.2.6. Kolinesteraz İnhibitörleri

Kolinesteraz inhibitörleri (AChE inhibitörleri olarak da adlandırılır), ACh'in normal parçalanmasını bloke eden bir grup ilaçtır. ACh vücutta bulunan ana nörotransmitterdir ve hem periferik sinir sisteminde hem de merkezi sinir sisteminde işlev görür. Örneğin, ACh, kasları harekete geçirmek için motor nöronlar tarafından salınır; ACh ayrıca uyarılma, dikkat, öğrenme, hafıza ve motivasyonda önemli bir role sahiptir.

Kolinesteraz inhibitörleri, ACh'in parçalanmasından sorumlu olan kolinesteraz enziminin etkisini bloke eder. Bu, sinaptik yarıktaki (iki sinir ucu arasındaki boşluk) ACh seviyelerini artırır. Kolinesteraz inhibitörlerinin ana kullanımı Alzheimer hastalarında demans tedavisi içindir. AH olan kişilerin beyindeki ACh seviyeleri azalmıştır. Kolinesteraz inhibitörlerinin kognisyon gibi bunama semptomları üzerinde orta düzeyde bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Kolinesteraz inhibitörleri vazodilatasyon, göz bebeklerinde daralma, artan ter salgısı, tükürük ve gözyaşı, yavaş kalp hızı, solunum yolunda mukus sekresyonu ve hava yollarının daralması gibi yan etkilere neden olma eğilimindedir (Anonim 1).

1.3. Çalışmada Kullanılan Bitkiler

Çiçekler hayatımızın ayrılmaz bir parçasıdır ve kutlamalar veya yas gibi insan deneyimlerinin en dokunaklı anlarıyla ilişkilendirilir. Sadece estetik duyuları için değil aynı zamanda besleyici ve tıbbi özellikleri için de kullanılırlar. Dünyada bildirilen toplam 422.000 çiçekli bitkiden 50.000'den fazla bitki tıbbi amaçlar için kullanılmaktadır. Hindistan'da toplam çiçekli bitkilerin %43'ünden fazlasının tıbbi öneme sahip olduğu bildirilmektedir. Çok sayıda şifalı bitki içeren bu zengin ve çeşitli zenginlik kaynağı, yalnızca Ayurveda, Unani, Homeopati ve Siddha gibi geleneksel tıp sisteminde kullanılmaktadır. Yaklaşık 2500 tür, çeşitli etnik kabileler ve kırsal halk tarafından günlük rahatsızlıklarını tedavi etmek için şifalı otlar olarak kullanılmaktadır (Parveen *et al.*, 2020).

Unani Tıp Sisteminde çiçeklerin önemli bir yeri ve önemi vardır. Sağlığı korumak, hastalıkları tedavi etmek, uzun zamandan beri güzelliği arttırmak, günlük yaşamın vazgeçilmezi olarak kabul edilen çok çeşitli kozmetik ürünleri üretmek ve

aynı zamanda kişinin zihnini rahatlatmaya yardımcı olan taze, zarif ve sıcak bir atmosfer yaratmak için kullanılırlar. Meyve Suyu, Toz, Şurup, Arka (Distile özüt), Kokular, Çorbalar da farklı çiçek formülasyonları kullanılır. Etkinliği en üst kademeye ulaştırmak ve yan tesirlerini en alt kademeye indirmek için bu formülasyonlarda bulunan bileşenlerin kalitesini ve saflığını sağlamak son derece önemlidir. Mikroskopi, bitkilerin benzersiz özelliklerini, histolojik yapılarını, hücrelerini ve hücre içeriklerini inceleyerek bitkilerin tanımlanmasına ve karışımın tek tek bileşenlerinin saptanmasına izin verir. Hücre düzeyinde morfolojinin gözlemlenmesi, ilaçların doğrulanması için önemli bir yardımcıdır. Bu karakterler, bozuk veya toz halindeki ilaçların tanımlanması için özellikle önemlidir, çünkü bu durumlarda morfolojik tanı özelliklerinin çoğu kaybolur. (Parveen *et al.*, 2020).

Bu bölümde çalışmada kullanılan *Malvaceae* familyasına ait “*Alcea setosa*(Boiss.) Alef.” Türkiye’de yaygın olarak “Gülhatmi”, “*Eryngium campestre* L.” “Boğa diken” ve “*Falcaria vulgaris* Bernh.” olarak bilinen “kaz ayağı” ve Meyan (*Glycyrrhiza glabra* L.) bitkileri açıklanmıştır.

1.3.1. Gülhatmi (*Alcea rosea*)

Hintçe’de “Gulkhairo”, “Khair”, “Khitmigajhar” Tamilce’de “Simaitut”; Türkçe’de “Hatmi”, Çince’de “Shu kuf htia” ve İngilizce’de “Hollyhock” olarak bilinir. Aslen Çin’in yerlisi olmasına rağmen, uzun zamandan beri Hint, Güney Avrupa ve Asya’da bahçelerde ve parklarda yaygın olarak süs bitkisi olarak yetiştirilmektedir (Mehrotra *et al.*, 1999). *Alcea setosa*(Boiss.) Alef., yıllardır yetiştirildiği Pakistan, Hindistan ve Çin’e özgüdür. Jenerik isim, tıbbi öneminin bir göstergesi olarak iyileşmek anlamına gelen bir Yunanca altho kelimesinden gelir (Mehrotra *et al.*, 1999).

Pakistan, Hindistan, Çin ve Japonya’da sanat eserlerinde ve tarihi binaların duvarlarında sergilenmektedir. *Alcea rosea* (*A. rosea*) Asya’dan Orta Doğu’ya tüccarlar tarafından getirildi ve 11. yüzyılda Orta Doğu’nun farklı bölgelerinde ortaya çıktı. Avrupalı ziyaretçiler Amerika’ya çiçeklerini ve tohumlarını getirirdi (Shehzad *et al.*, 2020). En popüler yıllık süs bitkilerinden biri olan *A. rosea*, tüylü bir gövde ile palmately loblu yaprakları olan uzun, genellikle mevsimlik , iki yıllık yada çok yıllık bir bitkidir. Estetik değerlerinin yanı sıra tıbbi ve besleyici özellikleri bakımından da zengindir (Ashwathappappa, 2020).



Şekil 1. 2. *Alcea rosea* (Gülhatmi)

Gülhatmi (*A. rosea*), ebegümecigiller (*Malvaceae*) ailesinden olan otsu, boyu 2-2,5 metre uzayabilen ve çiçekleri olan bir bitkidir. Çiçekleri lekeli veya çizgili olarak beyazı pembe, mor, sarı, kırmızı renklerde olmaktadır. Genellikle çiçekleri yuvarlak ve geniş yaprakları kalp şekline benzemektedir. Yapraklar iri, 7,5 – 12,5 cm çapında, uzun saplı, kordat-oval ve akut olarak 5 -7 lopludur. Çiçekler büyük, genellikle 10 cm'yi aşan, mor, gül veya beyaz, kısa saplı ve uzun terminal salkımları oluşturur. Involukres monofil, büyük, fincan şeklinde, segmentler 6-9, geniş ve genellikle iki uçludur. Kaliks büyük, 5 yarıkli, tüylü ve akut segmentlidir. Petaller çok geniş, mumsu ve obkordattır. Ercik tüpü kısadır ve anterler soluk sarı renklidir. Yumurtalık çok hücrelidir ve her hücrede bir yumurta bulunur. Olgunlaştığında tek çekirdekli fındıkletlere ayrılan disk şeklindeki meyveleri bulunur. Kahverengimsi siyah renkli, böbrek şeklindeki tohumlar, kenarlarında buruşuk ve tüylü yaklaşık 6 mm'dir. Tohumlar suya batırıldığında yapışkan hale gelir (Fahamiya *et al.*, 2016).



Şekil 1. 3. *Althaea rosea* tohumu (Fahamiya *et al.*, 2016).

Güneşli, rüzgâr almayan yerlerde gelişimi muazzamdır. Bu otsu bitki killi ve besin maddelerince zengin, gübresi bol alanları sevmektedir. İklimi ılıman coğrafyalarda yaz dönemi olarak tabir ettiğimiz haziran-ağustos dönemi boyunca çiçekli kalır.



Şekil 1. 4.Alcea rosea (Gülhatmi) çiçek, yaprak ve gövde (Fahamiya et al., 2016)

Süs bitkisi olarak yaygın bulunan *A. rosea* türünün bitkisel kısımları alternatif tedavide kullanılmaktadır. Bu türün analjezik, antienflamatuar, antiülser, antiurolitik ve immünomodülatör gibi bazı biyolojik etkilere sahip olduğu yakın zamanlarda yapılan çalışmalar ile belirtilmiştir (Abdel-salam *et al.*, 2018). *Malvaceae* familyasının bir üyesi olan Hatminin sulu ekstresinin, iltihaplanma, lipemi, mide ülseri ve trombosit agregasyonunun, tespit edilen advers veya toksik etkiler olmadan tedavisinde faydalı olduğu ısıpatlanmıştır (Hage- Sleiman, 2011).

Gülhatmi çiçeğinin antioksidan ve farmakolojik aktivasyonun, içeriğinde bulunan flavonoidler, polisakkaritler gibi farklı bileşiklerden kaynaklandığı sanılmaktadır (Talebi, 2014; Fallahpour, 2014). Flavonoid grubu bileşikler ise, aurenler, kalkonlar, flavoneller, antosiyaninlerden, antosiyanidinler oluşmaktadır (Vermerris and Nicholson, 2006). Flavonoidler, antiviral, antioksidan, antibakteriyel, anti-enflamatuar, anti-alerjik, plazmada düşük yoğunluklu lipoproteinleri azaltma, kan pulcuklarının toplanmasını önleme, serbest radikalleri yok etme ve hücre çoğalmasını bloke etme gibi oldukça çeşitli biyolojik tesirler sergilemekteler (Spiridon, *et al.*, 2011).

Özellikle *Althaea rosea*'nın tohumları, müsilajlı, yatıştırıcı, yumuşatıcı,

analjezik, anti- inflamatuvar, idrar söktürücü ve ateşlidir. Göğüs şikayetleri, astım, çıban ve apseler, ishal, ciltte kesikler ve yanıklar, hemoptizi, kabızlık, bağırsak koliği, peptik ülser, böbrek taşı, yanma idrarı, öksürük, disfaji, dizüri, susuzluk, artrit, cilt iltihabı ve ülserler için faydalıdır. Enterit, sistit, gastrit, proktit, mastitis, metritis ve bronşit tedavisinin yanında *Althaea rosea*'nın kökü, yatıştırıcı ve büzücü özelliklere sahiptir. İshal, dizanteri, kabızlık, iştahsızlık, ülser, şiddetli öksürük, ateş, bronşit ve iltihap tedavisinde kullanılır *Althaea rosea*'nın çiçekleri idrar söktürücü, serinletici, yatıştırıcı, yumuşatıcı, iltihap giderici, ateş düşürücü, büzücü vb. özelliklere sahiptir. Kabızlık, göğüs şikayetleri, dismenore, kanama, romatizma ve kan dolaşımını iyileştirmek için çiçekler ve kökler, böbrek ve rahim iltihabının yanı sıra vajinal ve seminal akıntı için faydalıdır. Bütün bitki astım, sarılık, öksürük ve mide tahrişi, boğaz ağrısı ve şişmesi, böbrek ağrısı, idrar tahrişi ve kepek için faydalıdır (Fahamiya *et al.*, 2016).

Çiçekleri yatıştırıcı, idrar söktürücü, yumuşatıcıdır ve göğüs şikayetlerinin tedavisinde kullanılır ve kaynatma kan dolaşımını iyileştirmek, kabızlık, dismenore, kanama vb. için kullanılır (Kwiatkowska *et al.*, 2011).

Son zamanlarda yapılan bilimsel çalışmalara göre gülhatmi bitkisinden elde edilen yaprak kısmının genellikle soğuk algınlığı sırasında oluşan öksürükte antitüssif etki meydana getirdiği Alman E Komisyonu Monograflarında ifade edilmiştir. Kök drogu ise yaprak drogu gibi ağız ve boğazın mukoza tahrişlerinde, soğuk algınlığına eşlik eden kuru öksürükte kullanıldığı bilinmektedir. Bunlara ilaveten kök drogu mide mukozasının hafif inflamasyon durumlarında da tedavi edici olarak kullanılabileceği kanıtlanmıştır. Gastrik mukozada koruyucu etkisi nedeniyle peptik ülserlerde kullanılmaktadır. Kök drogunun ayrıca deri tahribatlarında ve yanıklarda iyileştirici etkisi olduğuna ilişkin çalışmalar bulunmaktadır. Bu amaca yönelik lapa şeklinde stafilokokların neden olduğu karbonkül fronkül vakalarında kullanılabilir (Zeybek ve Özgüç, 2019).

Tıbbi bitkilerle ilgili uygun bir dokümantasyona sahip olmak ve faydalı ilaçların keşfi için çok etkili bir strateji sağlamak ve bitkisel şifalı bitkilere ilişkin geleneksel bilginin bilimsel bir temelde desteklenmesi için potansiyellerini bilmek çok önemlidir. Bu derleme, *Althaea rosea* bitkisinin geleneksel olarak çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde kullanıldığını ve antimikrobiyal, antienflamatuvar,

sitotoksik, analjezik, antibiyotik, antioksidan, antiürolititik, immünomodulator ve diğer biyolojik özellikler gibi bir dizi tıbbi özelliğe atfedildiğini ortaya koymaktadır. Özellikle müsilaj ve antosiyanin, kersetin, kaempferol, izokersitrin, phellandrene, β -sitosterol, stgmasterol, linoleik, limonen, palmitik, miristik, stearik, oleik, sitral, a-terpenil-OAc ve laurik, p- gibi diğer bileşikler içerir. Ayrıca tolualdehit vb. ve farmakolojik aktivitesinden sorumlu çeşitli polifenolik bileşikler barındırır. Yukarıdaki incelemeden, *Althaea rosea*'nın çeşitli tıbbi özellikleri nedeniyle çok yönlü bir bitki olduğu açıktır. Bu nedenle astım, ishal, hemoptizi, bağırsak kolik, peptik ülser, yanma miksiyon, dizüri, artrit, sistit, gastrit, proktit, mastitis, metritis gibi durumlarda etkilerini kanıtlamak için ilgili çalışmaların yapılması önerilmektedir (Fahamiya *et al.*, 2016).

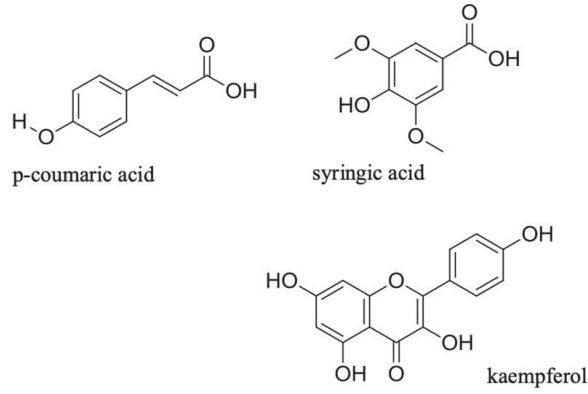
Gülhatmi mineraller, en yüksek miktarda tanen, karbonhidrat, siyanür ve *Althaea* müsilajı içerir. *A. rosea*'nın kökleri pektin, flavonoidler, müsilaj, nişasta, pektin, sakaroz, fenolik asitler, asparajinler ve tanenler içerir. Müsilaj, birkaç polisakkaritten oluşur. Kaempferolün varlığı tüm çiçek çeşitlerinden bildirilmektedir. Kaempferolün yanı sıra pembe ve turuncu renkli çiçekler herbasetin içerir; leylak rengi ve kırmızı olanlar quercetin içerir; beyaz ve sarı, herbasetin ve tanımlanamayan bir pigment içerir. Sarı çeşit, antoksantrinler açısından zengindir ve ana pigment olarak herbasetin içerir (Fahamiya *et al.*, 2016).

A. rosea, taç yapraklarından elde edilen farklı boyalar nedeniyle önemlidir. Mor-kırmızı pigment, yapraklarından makro gözenekli reçine yardımıyla doğrudan elde edilir. Bu bitkinin Unani tıbbında kullanılan bir emmenagog balgam söktürücü olduğu bildirilmektedir. Gülhatmiden ekstrakte edilen flavonoidler, farmasötik preparatlarda hammadde olarak kullanılmıştır. Gülhatmi sapından izole edilen pektinik maddeler ramnoz, arabinoz, ksiloz, glukoz ve üronik asit vermiştir. Kökler aynı pektinik maddeleri farklı yüzdelerde vermiştir. Antosiyanin bu bitkiden elde edilen bir ilaçtır ve bu ilaç antimikrobiyal etkiye, gastrointestinal sistem üzerine etkiye ve antiinflamatuvar aktiviteye sahiptir (Munir *et al.*, 2012). *A. rosea* kalsiyum, magnezyum, krom, potasyum, nikel, sodyum, bakır ve kurşun gibi mineraller içerir. Kökün kuru ekstraktından elde edilen amino asitlerin bileşimi treonin, serin, glutamin, prolin, glisin, sistein, asparaginler ve alanindir (Azizov, *et al.*, 2007).

Gülhatmi çiçekleri, yüksek moleküler ağırlığa sahip müsilajlı asidik

polisakkaritler içerir ve kırmızı ve siyah çiçeklerden sırasıyla 30.000 ve 40.000 moleküler ağırlığa sahip müsilajlı maddelerden üstündür. Gülhatmi bitkisi ayrıca pektin, gıda boyası ve müsilaj polisakkarit içeren çift yapraklı çiçekler içerir. Polisakkaritler sırasıyla 1:2:1:2:7:7 oranında glukoz, galaktoz, arabinoz, mannoz, ramnoz ve ksilozdan oluşur. Ramnoz ve arabinoz ana polisakkaritlerdir. Aynı zamanda %0,7 nitrojen ve %3,5 protein içerir; %0,1 valin, %0,3 lizin, %0,2 histidin, %0,1 skrin, %0,45 glisin, %0,5 aspartik asit, %0,6 glutamik asit ve %0,1 treonin içerir. Çiçeğinden elde edilen pigment peonidin, malvidin ve delphinidin'den oluşur (Azizov, *et al.*, 2007).

Rembert Dodoens (Flaman bir doktor ve botanikçiydi, aynı zamanda Latince adı Rembertus Dodonaeus ile bilinir), gülhatmi mideyi yumuşatıp gevşettiğini ve organın gıdayı hazırlamaya veya sindirmeye yetecek kadar uzun süre tutma kabiliyetinde azalmaya yol açtığını dair kanıtlar sunmuştur (Stefanaki *et al.*, 2022). *A. rosea* aromatik kokuya sahiptir. Tohumların lipid özü, hidrokarbonlar, asitler, esterler, gliseritler ve alkoller içerir. Tohum yağının ana bileşeni linoleik asittir. Bitki ayrıca alkaloidler, glikozitler, saponinler, tanik asitler, antrak2inonlar, flavonoidler, steroidler ve triterpenoidler içerir (Fahamiya *et al.*, 2016). *A. rosea*'nın hava kısımlarından elde edilen beş flavonoid bileşiği, quercetin 3-O-b-D-glucuronopyranoside-8-C- b-D-glucopyranoside, kaempferol-3-O-b-D-rutinosid, kaempferol-40-O-b-d-glucoside, kaempferol-3-O-b-d-glucoside olarak tanınır (Fahamiya *et al.*, 2016). *A. Rosea*'nın çiçeklerinden p-kumarik asit, kafeik asit, ferulik asit, p-hidroksibenzoik asit, siringik asit, p- hidroksifenilasetik ve vanilik asit içeren fenolik asitler tanımlanmıştır. Analiz edilen fenolik asitler arasında, baskın asitler arasında p-hidroksibenzoik asit, p-kumarik asit ve siringik asit bulunur (Azizov, *et al.*, 2007). İzobütil alkol, limonen, phellandrene, p-tolualdehit, sitral, terpineol ve p-sitosterol de mevcuttur (Fahamiya *et al.*, 2016).



Şekil 1. 5.Alcea rosea'dan izole edilen bazı bileşenleri (Fahamiya et al., 2016).

A. rosea, boya yapımında önemlidir. Siyah dışındaki tüm renklerin yapımını içeren pigmentlere sahiptirler, şap ve krem tartar ile mordan lifler üzerinde sarı bir boya yapacaktır. Bordo çiçekler, banyo suyunun pH'ına bağlı olarak lavanta ile mor boya üretir. Yeşil boya, taze yapraklardan ve kahverengi boya ise kurutulmuş yapraklardan elde edilir. Bu boyalar ipek, pamuk ve deri için kullanılır. Sapında bulunan lifler nedeniyle kağıt yapımında da kullanılır. Yaprak, kök, gövde ve çiçekleri yenilebilir özelliklere sahiptir. Şekerleme ürünleri, meyve reçeli, jöle, asma, sosis, alkolsüz içecek ve diğer bazı gıda ürünlerinin renklendirilmesinde gülhatmi bitkisinin taç yapraklarından elde edilen kırmızı pigment kullanılmaktadır. Sosis üretiminde sodyum nitrat yerine pigmentler kullanılmaktadır. Termal olarak kararlıdır ve gıdanın organoleptik özelliğini değiştirmez. Salatalarda çiçek yaprakları ve tomurcukları kullanılır. Çiçeklerin taç yapraklarından yapılan bitki çayı ferahlatıcıdır. Gülhatmi yaprakları, bir saksı otu olarak yemek pişirmek için tüketilebilir. Gülhatmi köklerinden nişasta elde edilir (Azizov, et al., 2007). Yaygın olarak ambalajlama ve kağıt poşet yapımında kullanılan kağıtların yapımında kullanılmaktadır (Munir et al., 2012).

Gülhatmi köklerinden elde edilen hidroalkolik ekstre ile sıçanların böbreklerindeki kalsiyum oksalat birikiminin konsantrasyonunun azaltılabileceğini göstermiştir. Bu etki, büyük olasılıkla, bitkide anti-inflamatuar ve idrar söktürücü etkiler veya polisakkaritlerin (müsilajlı) varlığı ile tanınmıştır. Gülhatminin sıçan böbreğinde biriken kalsiyum oksalatın eliminasyonunda önemli bir rol oynadığını göstermiştir (Ahmadi et al., 2012). İmmünomodülatör aktivite immünomodülasyon, azalan veya artabilen immün yanıtın değişmesi anlamına gelir. İmmünosupresyon,

immün yanıtta zenginleşmedir. Gülhatmiden elde edilen polisakkaritler, immünomodülatör ve ülser önleyici özelliklere sahiptir (Mukherjee *et al.*, 2014).

2007 yılında yapılan araştırmalar, Gülhatmiden elde edilen sulu polisakkarit ekstraktının immünomodülatör aktivite sergilediğini göstermiştir. Ak yumurtanın antikor yanıtı polisakkarit ekstresi ile arttırılmıştır ve lenfosit poliklonal aktivatör olarak görev yapmıştır ancak interferon ve intericukin gen transkripsiyonu üzerinde etkisi yoktur (Azizov, *et al.*, 2007). Antimikrobiyal Aktivite Antimikrobiyal ajanlar mikroorganizmaların büyümesini azaltır veya mikroorganizmaları öldürür. Belirli bir mikroorganizma için belirli bir antimikrobiyal ilaç kullanılır. Örneğin mantarlara karşı antifungal ilaçlar, bakterilere karşı antibiyotikler kullanılır. Gülhatmi yaprak ve çiçek ekstraktlarında *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Salmonella typhi*, *Bacillus cereus* ve *Bacillus anthracis*'e karşı antimikrobiyal aktivite gözlemlenmiştir (Mert *et al.*, 2010).

Birçok bitki ve baharat, antioksidanlar ve bazı mineral bileşiklerle dolu oldukları için az tüketilmelerine rağmen sağlığa önemli ölçüde katkıda bulunur. Gülhatmi çiçeğinden yapılan sıcak, rahatlatıcı bir çay sistiti hafifletir ve sık idrara çıkmaya neden olur. Gülhatmi, losyon olarak kullanıldığında cilt iltihabını, kızarıklıkları, çibanları ve hatta apseleri yatıştırır. Genç dallar ve yaprak tozu, buğday unu ile karıştırıldığında sığırlarda solucan ve gaz giderici ajan olarak kullanılmaktadır (Sher *et al.*, 2010).

Kepeği gidermek için su ile kök ekstresi saça uygulanır. *A. rosea* yemek pişirmek için de kullanılır. Pişirmede genç yapraklar tercih edilir. Ayrıca bir saksı otu olarak kullanılır. Salatalarda çiçek tomurcukları, çiçek yaprakları ve gülhatmi yaprakları da kullanılır. Çay yapmak için çiçek yaprakları kullanılır. Gülhatmi geleneksel tıpta antiinflamatuvar, yatıştırıcı, büzücü, idrar söktürücü, ateş düşürücü ve yumuşatıcı olarak kullanılmıştır. Gülhatmi gargara olarak kullanılmıştır ve ayrıca yatak ıslatma ve iltihabı kontrol eder. Hollyhock'un çiçekleri idrar söktürücü, yumuşatıcı ve yatıştırıcı olarak kabul edilmiştir. Çiçekler ayrıca göğüs ağrısı tedavisi, kan dolaşımının iyileştirilmesi, kanama ve kabızlık için de kullanılmaktadır. Ayrıca doğumu kolaylaştırmak için hamile bayanlara verilen sütle kaynatmada kullanılır. Tüylü yapraklar, gövde ve polen tahriş edicidir (Fahamiya *et al.*, 2016).

Bitki, kökler ve tohumlar İran geleneksel tıbbında öksürük ve akciğer hastalıklarını tedavi etmek için kullanılır. Ayrıca öksürük ve solunum problemlerinin tedavisinde de kullanılır. Diğer kullanımlar, cilt iltihaplarında ve ülserlerde harici uygulamayı içerir (Ammar *et al.*, 2013). Gülhatmi iyi bir kalsiyum kaynağıdır. Çiçekler ve kökler, nötr bir güce ve buruk, tatlı bir tada sahip oldukları bilinen Tibet tıbbında da kullanılır. İştahsızlık, rahim iltihabı, böbrekler ve seminal akıntı da gülhatmi ile tedavi edilir (Yashaswini *et al.*, 2011).

1.3.2. Boğa dikenini (*Eryngium campestre*)

Apiaceae familyasının *Saniculoideae* alt familyasına ait *Eryngium L.* cinsi dünya çapında 317 taksonla temsil edilmekte ve flavonoidler, kumarinler ve triterpen saponinler içerdiği bilinmektedir. *Eryngium campestre* (*E. campestre*), esas olarak orta ve güney Avrupa'da, kuzey Afrika'da ve Asya'nın büyük bir kısmında yetişmektedir. Türk halk hekimliğinde "Boğa dikenini" olarak bilinir ve Türkiye'nin birçok şehrinde kendiliğinden yetişir (Güneş, 2014).

E. campestre Avrupa'ya, İngiltere ve Sibirya'dan kuzeye İskandinavya'ya, batıya Asya'ya (Balkanlar, Küçük Asya, Türkiye, İran ve Doğu Türkistan) ve güneye doğru kuzey Afrika'ya özgü bir bitkidir (Grime, 2001).

Meralar, tarlalar, aşırı otlanan araziler ve orman açıkları gibi bozuk alanlarda ve yollarda, hendekler, çitler ve atık yerler boyunca yayılım gösteren önemli bir yabancı ottur (Grime, 2001). *Cirsium* Miller cinsi *Asteraceae*'de (*Compositae*) bulunur ve çok yıllık bitki türünü içerir. *Cirsium*, dikenler tarafından delinme etkisine atıfta bulunan şişmiş bir damar olan Yunan kirsosundan türetilmiştir. Tür adını Latince vulgare'den alır ve yaygın anlamına gelir. Uzun sivri dikenli kanatlı gövde ve dikenli yaprak yüzeyidir. Gerçekten de, dikenli kanatlı bir gövdeye sahip olan tek *Cirsium*'dur. *E. campestre* ilk mevsiminde 65 cm çapa kadar bir rozet oluşturur. Toprağa derinlemesine nüfuz eden sağlam, etli, dallı bir taproot geliştirir (Forcella ve Randall, 1994).

E. campestre 'nin yaprakları, yaprak bıçağının üst yüzeyinde kaba tüylerle kaplıdır ve altları yünlüdür. Uzun dikenler orta damarda ve her lobda yaprak bıçağından uzanır. Yaprak tabanları gövde üzerinde aşağı doğrudur ve uzun kanatlardan oluşturur. *E. campestre*, tohumla üreyen iki yıllık bir türdür. Kök sistemi, her biri birkaç küçük yan köke sahip birkaç birincil kökten oluşur. *E. campestre* 2 m

yüksekliğe kadar uzanan dik ve gür bir görünüme sahiptir ve birçok yayılan dalı vardır. Gövdeler dik, kalın, genellikle dallı ve tüylüdür. Yaprakların üst kısımları yeşil, alt kısımları yünlü gri tüylerle ve uzun, sivri, sarı dikenlerle sonlanır. Kompakt büyük mor   ek k ba ları 2,5 ila 5,0 cm çapında, her biri 250'ye kadar açık saman renkli tohum üreten bir gövdenin ucunda tek başına taşınır. Olgun bitkiler 4.000'e kadar tohum üretebilir. *E. campestre*, orta derecede nemli, azot bakımından zengin, nötr topraklarda en iyi şekilde yetişir (Klinkhamer ve De Jong, 1993).



Şekil 1. 6.Boğa diken (*E. campestre*)

Yapraklar kaba dişli ve yaklaşık 30 cm uzunluğundadır. Birinci yıl rozeti, hafif girintili, mızrak şeklinde ve altta yönlü ve grimsi yeşil yapraklar üretir. İkinci yıl boyunca, bitki kaba loblu, kısa ve geniş yapraklar ve sert, dik, 1 ila 2 m uzunluğunda dikenli kanatlı gövdeler üretir. Derin loblu gövde yaprakları alternatif, mızrak şeklinde, genellikle 30 cm'nin altında ve pinnatiftir. Üst yüzey yeşildir, sıklıkla küçük dikenler vardır ve alt yüzey ince tüylüdür. Örümcek a ı görünümü oluşturur. Loblar, aralarında keskin kenar dikenleri olan sert, sağlam, keskin, sarı dikenlerle son bulur. Yaprığın oldukça dar u  kısmı keskin, sağlam bir omurga ile biter. Dikenli yaprak kenarları gövde bağlantısının ötesine uzanır ve çok dikenli bir sap oluşturur. Tek bir çiçeğe benzeyen kompakt  i ek ba ı, olgunlukta 2,5 ila 5 cm çapındadır ve dal terminallerinde soliter veya iki veya   l  gruplar halindedir. Her bir ba , çok sayıda, sıkıca paketlenmiş, çok küçük, kokulu, mor veya kırmızımsı-mor boru şeklindeki çiçeklerin bir bileşimidir. Bir aken olan meyve, 4 mm'ye kadar uzar, parlak, neredeyse pürüzsüz, grimsi-siyah çizgili sarı veya sarımsı kahverengidir. Plumose pappus,

tabanda birleşmiş kıllara sahip yumuşak beyaz dallı tüylerden oluşur. Aken olgunlaştıkça birlikte çözülürler. Plumose pappus kılları, Cirsium cinsini Carduus'tan ayırır. Boğadiken, büyük çiçekleri ve ağır taprootu ile Kanada deve dikenini ile ayırt edilir (Holm *et al.*, 1997).



Şekil 1. 7.Boğa dikenini çiçeğı

E. campestre, 20 ÷lkede bir menzile otudur ve otlatılanlarda otlatılmamış meralardan daha sık gör÷lür. 50'den fazla ÷lkede bulunur ve 20 ÷ründe zahmetli bir ottur. Meralarda hayvan otlatmaya müdahale eder ve hayvanlar için önemli bir besleyici değeri yoktur ve yoncanın kurumasından sonra ekilebilir alanlarda bir sorun haline gelebilir (Holm *et al.*, 1997). Çok çeşitli böcekler tarafından boğadiken tozlaşır. Uygun koşullarda 350'ye kadar çıkabilmesine rağmen, ortalama olarak yaklaşık 100 adet fidan baş üretir. Tohumlar genellikle zahmetsizce ve tohum olgunlaştıkça erken ayrılan bir pappus ile donatılmış olsa da rüzgar birincil tohum dağıtma mekanizması değildir. Ancak hava akımları, pappus sıkıca bağlıyken ara sıra tohumları birkaç kilometrelik bir mesafeye taşıyabilir. Dağılmadan sonra ve çimlenmeden önce, tohumlar kısa bir süre toprak yüzeyinde veya hemen altında kalır, 1 yıl veya daha uzun süre yaşayabilir ve toprakta 5 yıl boyunca az miktarda tohum kalabilir (Mitich, 1998)



Şekil 1. 8.Boğa dikenli bitkisi (üst gövde)

E. campestre gölgede ve kuraklıkta iyi büyümmez. Fenolik asitler, allelopatik etkiler yoluyla rekabet eden bitkileri engeller veya otçullara karşı dikenlerle birleştiğinde bir savunma görevi görür (Klinkhamer ve de Jong, 1993).

E. campestre güneşli geniş alanlarda yetişir. Yabani ot, topraktaki ışığı ve kaynakları alarak işgal ettiği habitattaki diğer yerli bitkileri ortadan kaldırır. Kontakt dermatite neden olabilir ve sıklıkla görünurlüğü veya istila edilmiş bölgelere erişimi engeller. Yabani ot hayvanlar için hoş değildir ve otlayan hayvanlara besin sağlayacak doğal bitki örtüsünü dışarıda bırakabilir. *E. campestre*, ot tohumlanmadan önce kesilerek çıkarılabilir, ancak rüzgar yoluyla da yayılabilir. Dezavantajlarına rağmen, *E. campestre* Avustralya’da ticari bir mahsuldür. *E. campestre*, zorlu ortamlara dayanabilen ve uyum sağlayabilen istilacı bir ottur. *E. campestre*, yüksek oranda üremeye sahip bir türdür. Hızla büyür ve sık sık meraları, tarım arazilerini ve diğer yerleri işgal ederek yerel mahsullerin büyümesini ciddi şekilde etkiler. Fideleri pişirildikten sonra yenilebilir ancak uzun süre yenildiğinde toksik olabilen oksalik asit içerir. Çiçekleri muhteşem ve meyveleri dikkat çekicidir. Fakat vücudunun her tarafı keskin dikenlerle kaplıdır. Bu sivri uçlar cildi kolayca delebilir ve onu çıkarmak veya yanlışlıkla dokunmak isteyen kişilere zarar verebilir. Cildi yanlışlıkla bu sivri uçlarla delerseniz, insan vücudunda tahrişe neden olabilir (Klinkhamer and de Jong, 1993).



Şekil 1. 9.Boğa dikeneni çiçek ve kök yapısı

Bu türün hava ve kök kısımlarının infüzyonu halk hekimliğinde öksürük, idrar yolu enfeksiyonları, böbrek fonksiyonlarının bozulması, idrar salgısının artması ve prostat fonksiyonunun düzenlenmesi için kullanılır (Sezik *et al.*, 1997). Ayrıca *E. campestre*'nin kökü idrar söktürücü, iştah açıcı, uyarıcı ve afrodizyak olarak bilinir (Duke *et al.*, 2002). Fitokimyasal çalışmalar, *E. campestre*'nin toprak üstü kısımlarının ve köklerinin flavonoidler, monoterpen glikozitler, kumarin türevleri ve saponinler içerdiğini göstermektedir (Kartal *et al.*, 2006). İnsan tümörünün çoklu kemoterapötik ilaçlara direnci, kanser tedavisinin başarısızlığının ana nedeni olarak kabul edilmiştir. Çoklu ilaç direnci, ilaç taşınmasındaki değişimler, gelişmiş DNA onarımı, hedef proteinlerdeki değişimler ve ilaç metabolizmasındaki değişimler gibi birçok mekanizmayı içerebilir (Güneş, 2014).

Geleneksel ilaçların binlerce yıldır sağlık hizmetlerinin sağlanmasında önemli bir rol oynadığı ve birçok gelişmekte olan ülkede insanlığa yeni çareler sunmaya devam ettiği açıktır. Gelişmiş ülkelerde de kullanımları önemlidir. Dünya genelinde, yakıt, gıda, kozmetik ve ilaç temini için bitkileri ham madde olarak kullanmanın uzunca bir geçmişi vardır. Afrika nüfusunun %90'ının dan fazlasının halen geleneksel tıbbı bağımlı olduğu bilinmektedir (Nabavi *et al.*, 2015). Ancak, 20. yüzyılın ortalarında, araştırmacılar hastalıkları tedavi etmek için sentetik kimyasalların kullanımını tercih ettikleri için tıbbi bitkilerin kullanımı azaldı. Bununla birlikte, artık eğilim değişmekte ve insanlar, sentetik kimyasallara kıyasla etkili, kimyasal olarak dengeli ve daha az yan etkiye sahip doğal ürünler içerdiklerinden tıbbi bitkileri tercih etmektedirler. *Eryngium* (*Apiaceae*) cinsi geleneksel tıpta farklı terapötik amaçlar için

kullanılmaktadır. *Eryngium maritimum* L. *Eyyngium foetidum* L., *Eryngium maritimum* L. ve *Eryngium campestre* L. gibi türler, dünya çapında geleneksel tıpta çeşitli inflamatuvar bozuklukların tedavisin de alternatif ilaç olarak kullanılmıştır. *E. campestre* ve *E. maritimum* geçmişte halk hekimliğinde antiskorbutik, ter attırıcı, balgam idrar söktürücü, iltihap önleyici ve afrodizyak özellikleri nedeniyle kullanılan etkin şifalı bitkilerdir (Palá-Paúl *et al.*, 2005).

Bugün itibarı ile Avrupa bitkisel tıbbı, böbrek rahatsızlıklarının (sistit, üretrit, kronik prostatit, ağrılı idrara çıkma) tedavisi ve böbrek taşı oluşumunun önlenmesi için idrar söktürücü olarak önermektedir. Türk halk hekimliğinde bitkinin çeşitli türleri çok çeşitli rahatsızlıklar için kullanılmaktadır; özellikle kökler çeşitli iltihabi rahatsızlıklara, ödem, sinüzit, idrar yolu enfeksiyonları veya iltihapları vb., yılan veya akrep ısırıklarına veya guatra karşı kullanılır; infertilite için kökler ve yapraklar ve yara iyileşmesi için otlar ve tazeyken yiyecekler. Bu türün hava ve kök kısımlarının infüzyonları, öksürük kesici, idrar söktürücü, iştah açıcı, uyarıcı ve afrodizyak ve akrep zehrine karşı ilaçlarda kullanılır (Al-Snafi, 2017).

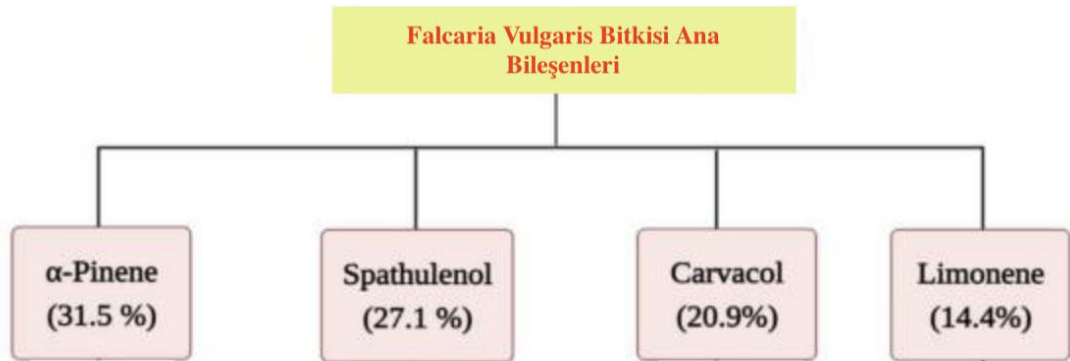
Kuzey Amerika'da, cins, bir antitoksin ve antienflamatuvar ajan olarak etnomedikal bir kullanıma sahiptir; ayrıca *Eryngium* 'un akrep zehirlenmesine karşı topikal bir panzehir olduğu bildirilmiştir. Bu bitki için kaydedilen geleneksel kullanımlar sayısızdır ve çoğunlukla tıbbidir. Dünya çapında *E. Campestre* 'nin farklı kullanımlarını özetlemektedir; Kikowska vd., *E. campestre* birçok hastalığın tedavisinde *E. maritimum* yerine kullanılmaktadır. Tıbbi kısımları kurutulmuş kökler, yapraklar ve çiçeklerdir (Kikowska, *et al.*, 2016).

Kökü, mesane ve böbrek taşları, renal kolik, böbrek ve idrar yolu iltihabı ve ödem tedavisi için çay karışımları, özler, kaynatmalar, sıvılar ve tentürler halinde uygulanır. Ayrıca öksürük, bronşit, cilt ve solunum rahatsızlıkları için de kullanılır (Kwiatkowska, *et al.*, 2011). *E. campestre* bitkisi, idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde bir özüt ve homeopatik seyreltmelerde ve iltihaplanmayı tedavi etmek için bir adjuvan olarak uygulanır. Kurutulmuş yapraklar, çiçekler ve kökler, dizüriyi yatıştıran bitkisel bir tentür yapmak için kullanılır. Tıbbi kullanımının yanı sıra tarla *E. campestre* gıda olarak tüketilir; *E. campestre* L. yeni yapraklar salamura saklanır ve sebze olarak yenir. Tatlı kokulu ve aromatiktir. Kaynatılabilir, idrarı ve adet akışını dışarı atar. İçecek olarak alındığında tutuşmayı ve gazlılığı giderir. Şarabın

yanında karaciğer şikayetlerine, zehirli canlıların ısırıldığı kişilere ve öldürücü içki içenlere panzehir olarak iyi gelir. Çoğunlukla bir çay kaşığı pastinaca tohumu içeren bir içecek olarak alınır. Kişisel süs olarak kullanıldığında veya birisine sürüldüğünde tüberküleri (büyümleri) çözdüğü söylenir. Ballı su ile içecek olarak alınan kökün tetanoz ve epilepsiyi iyileştirdiği söylenmektedir (Kikowska *et al.*, 2020).

1.3.3.Kaz ayağı (*Falcaria vulgaris*)

Türkçede Kaz ayağı olarak da bilinen “*Falcaria vulgaris*”, Apiaceae (*Umbelliferae*) familyasından ortalama 30 cm boy ile hızlı büyüyen bir bitkidir (Behrooznia, 2019). *Falcaria vulgaris* (*F. vulgaris*), tarım arazilerinde yabani ot olarak yetişmekte ve bazı bölgelerinde bahar sebzesi olarak beslenme düzeninde kullanılmaktadır. Geleneksel tıpta bitki için mide ve deri ülserlerini iyileştirme, mide-bağırsak ve karaciğer hastalıklarını, böbrek ve mesane taşlarını iyileştirme gibi çeşitli hastalıklarda kullanılmaktadır (Goorani *et al.*, 2019). Genellikle 20-30 cm boyunda tüysüz, dallı bir gövdeye sahip ve iki yılda bir tohumlanan otsu bir bitkidir. Koyu yeşil yapraklar kaz ayağına benzer ve uçlardaki yan kısımlar doğrusal mızrak parçalarına bölünmüştür. Çiçekleri beyaz ve pembe, yenilebilir organı ise yapraklarıdır (Amiri and Joharchi, 2016). Bitki içeriğinde uçucu yağlar ve çeşitli proteinler, nişastalar ve reçineler içerir. Esansiyel yağlar, asparajinler gibi maddeler ve az miktarda alkaloitler ve büyük miktarda şeker içerir. Reçinesi fitosteroller, fitosterolinler, palmitik, stearik ve oleik ve linoleik asitler dahil olmak üzere yağ asitlerinin bir karışımını ve C vitamini bulunur (Shafaghat, 2010).



Şekil 1. 10.*F. vulgaris* yağının ana kimyasal bileşenleri (%).

F. vulgaris bitkisinin gövdesinden ve çiçeğinden elde edilen yağların antioksidan gücünün araştırılması, bu bileşiklerin serbest radikalleri ortadan

kaldırdığını ve yüksek monoterpen içeriği nedeniyle diğer yağlara göre daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Shafaghat, 2010). *F. vulgaris* ekstresi (FVE), yüksek antioksidan kapasiteye ve serbest radikal yakalama gücüne sahip önemli bir aktif fenolik bileşik kaynağıdır. Ayrıca fenolik bileşikler lipoprotein oksidasyonunu önler (Monfared *et al.*, 2012). Çalışmalar, FVE'nin güçlü anti-inflamatuar ve antioksidan bileşenler olarak spathulenol, karvakrol, alfa-pinen ve limonen açısından zengin olduğunu göstermiştir. Karvakrol ve alfa-pinen gibi suda çözünmeyen fenolik monoterpenler içerir ve örneğin antioksidan, antibakteriyel, antiviral, antiinflamatuar, antidepresan ve bağışıklığı güçlendirici özellikler gibi çok çeşitli tıbbi özelliklere sahiptir. Bu bileşikler ayrıca gıda ve ilaç üretiminde de kullanılmaktadır (Jaberian *et al.*, 2013). Mide ülserlerine karşı koruyucu ve iyileştirici etkisini araştırıldığı bir çalışmada, ilk olarak, FVE'nin (50, 100 ve 150 mg/kg) etanol (%50) kaynaklı mide ülseri üzerindeki koruyucu etkisi kanıtlanmıştır (Khazaei and Salehi, 2006). FVE'nin aspirine bağlı mide ülseri üzerindeki iyileştirici etkisi araştırılmış ve ekstraktın aspirin ve omeprazol gruplarına göre yara indeksini önemli ölçüde azalttığı, mide dokusunun yapısal değişikliklerini iyileştirdiği ve kollajen lif oluşumunu arttırdığı görülmüştür (Yadegari *et al.*, 2015). *F. vulgaris*'in cilt yaralarının tedavisinde kullanımı birkaç on yıl öncesine dayanmaktadır. Yakın tarihli araştırmalar, FVE'nin yan etkisi olmayan önemli antiseptik aktivitesini ve leishmaniasis'in neden olduğu cilt lezyonlarının tedavisinde etkinliğini bildirmiştir (Eskandarian *et al.*, 2017). Araştırmalar, *F. vulgaris*, spathulenol ve carvacrol'un ana bileşenlerinin sırasıyla seskiterpen ve monoterpenlerin bir parçası olduğunu ve antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Choobkar *et al.*, 2017).

F. vulgaris esansiyel yağı, antibakteriyel özelliklere sahiptir ve bazı bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek için ucuz bir kaynak olarak kullanılabilir. Sentetik antibiyotiklere uygun bir alternatif olarak da değerlendirilebilir. Ancak *F. vulgaris* ve bileşiklerinin antibakteriyel etkisini daha yakından incelemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (Shafaghat, 2010).

F. vulgaris sıçanlarda süt üretimi, prolaktin reseptörü geninin ekspresyonu, serum prolaktin ve meme dokusu üzerinde süt üretimini artırmaya yönelik olumlu etkilere sahiptir. Ancak bu özütün süt üretim parametreleri üzerindeki etkisinin mekanizması net değildir (Salahshoor *et al.*, 2018).

FVE, sıçanlarda karaciğer enzimleri ALT, ALP ve AST'nin aktivitesini azalttı, bu da diyabetin neden olduğu karaciğer hasarının inhibisyonunu gösterir. Karaciğer dokusunun histopatolojik inceleme sonuçları da FVE alan diyabetik grupta karaciğerin lobüler ve hücresel yapısının normal olduğunu göstermiştir (Salahshoor *et al.*, 2019).

1.3.4. Meyan (*Glycyrrhiza glabra* L.)

Meyan bitkisi, dünya genelinde farklı kültürler ve dillerde çeşitli isimlerle anılmaktadır. Anadolu'da bu bitki Süs, Buyan, Biyam, Boyam, Piyam, Tatlı kök gibi isimlerle anılmaktadır (Şahin 2007, Kıran ve Akçiçek 2014). Avrupa'da ise Licorice ve Reglisse isimleriyle bilinir (Feneon 1839, Uygun 2015). Hindistan'da, bu bitkiye yashimadhu denirken, Çin'de Ganco ve Japonya'da Kanzo olarak adlandırılır (Bone ve Mills 2013). Bu çeşitli adlandırmalar, meyan bitkisinin kültürel çeşitliliği ve uluslararası önemini yansıtmaktadır. Meyan bitkisi, özellikle Akdeniz iklimine sahip ülkelerde, Türkiye, Suriye, Beyrut, Cebel, Bağdat gibi bölgelerde, aynı zamanda Afganistan, Çin, Ukrayna, Rusya ve Türk Cumhuriyetleri gibi sulak ve nemli bölgelerde yetişmektedir. Ayrıca dere veya nehir kenarlarındaki kumlu alanlarda ve tarla boylarında da rastlanır. Bu bitkinin tarımı da yapılmaktadır (Başer 2006). Türkiye sınırları içerisinde özellikle Büyük ve Küçük Menderes nehirleri çevresi, Adana, Gaziantep, Konya illeri ve Dicle ile Fırat nehirleri bölgesinde yetişen meyan kökü, köklerinin iki veya üç metre derinliğe kadar uzandığı bilinmektedir. Bu köklerden siyah renkte tatlı bir özsu elde edilir (Uygun 2015).

Meyan bitkisi ilk yıllarında kökleri zayıf olsa da, ikinci yıla geldiğinde kökler sarımtırak bir renk alır ve biraz daha kalınlaşır. Ancak bitki, ikinci yılının sonlarında çevresel koşullara karşı henüz tam anlamıyla dirençli hale gelmez. Gerçek olgunluğa, bitkinin üçüncü yılına girdiğinde ulaşır (Uygun 2015).

Meyan bitkisi, 50 ila 200 cm arasında değişen boya sahip, baklagiller familyasından (*Leguminosae*=*Fabacea*) çok yıllık bir bitkidir. Yaprakları kanat şeklinde ve yaprakçıkları eliptiktir. Üst kısımları genellikle koyu renkte olup alt kısımları grimsi-yeşil renkte ve tüylüdür. Bu bitki bol miktarda çiçek verir ve çiçekleri 15 cm uzunluğa kadar ulaşabilir. Çiçekler, simetrik bir dağılım sergiler ve kelebek veya başak görünümündedir. Çiçeklerin renkleri pembe, leylak, sarı veya mor tonlarında olabilir. Meyan bitkisinin meyveleri siyahımsı-kırmızı renkte olup fasulye benzeri bir görünüme sahiptir ve içinde birkaç tohum bulunur. Kökleri ise kazık kök

formunda olup genellikle gri, siyah veya kırmızımsı-kahverengi renktedir (Çınar 2012, Kılıç 2014).

Bu bitkinin ismi, antik çağlarda Anadolu'da yaşamış olan hekim Anazarvalı Dioscorides'e (M.Ö. 30 - M.S. 90) dayanır. Dioscorides, "Materia Medica" adlı eserinde bu bitkiden bahseder ve ona "glukos" (tatlı) ve "rhiza" (kök) kelimelerinden esinlenerek Glycyrrhiza adını verir (Başer 2006).

Dünya genelinde Glycyrrhiza (Leguminosae=Fabaceae) cinsine ait 12 tür bulunmaktadır, örneğin Glycyrrhiza inflata Bat. ve Glycyrrhiza uralensis Fisch gibi (Başer 2006). Türkiye'de doğal olarak yetişen meyan bitkisinin ise endemik olmak üzere 6 türü bulunmaktadır, bu türler Türkiye'ye özgüdür (Çınar 2012).

1-Glycyrrhiza asymmetrica Hub.-Mor. (Endemik).

2-Glycyrrhiza iconica Hub.-Mor. (Endemik).

3-Glycyrrhiza flavescens Boiss. subsp. Antalyensis Sümbül et al (Endemik).

Glycyrrhiza flavescens Boiss. subsp. Flavescens (Endemik).

4-Glycyrrhiza aspera Pall.

5-Glycyrrhiza echinata L.

6-Glycyrrhiza glabra

Glycyrrhiza glabra L.'ye ait 2 adet varyete vardır.

Glycyrrhiza glabra L. var. glabra (çıplak meyveli)(Çalışmamızda kullanılan türdür).

Glycyrrhiza glabra L. var. glandulifera (Waldst. & Kit.) Boiss. (salgı tüylü).



Şekil 1. 11.Meyan Bitkisi. (*Glycyrrhiza glabra* L.)

Meyan kökleri, Ağustos ayının sonlarından Şubat ayının sonuna kadar koparılır ve toplanır. Özellikle yağışlı aylarda toprağın yumuşak ve ıslak olması nedeniyle sonbahar ayları, meyan köklerinin koparılması ve toplanmasında tercih edilen dönemlerdir (Uygun 2015). Kendi çalışmanızda kullandığımız meyan köklerini Eylül ayında Ağrı ili merkez Yoncalı köyünden topladık.

Meyan bitkisinin genel tıp ve sanayide en yaygın olarak kullanılan türleri, *Glycyrrhiza glabra* ve *Glycyrrhiza echinata*'dır (Baytop 1984). *Glycyrrhiza glabra* türünün en dikkat çekici özelliği, köklerinin (rizomunun) tatlı olmasıdır (Akan ve Balos 2008).

1.3.5 MeyanBitkisinin İçeriği, YapısıVeFarmakolojik Özellikleri

1.3.6 Meyan Bitkisinin İçeriği ve Yapısı

Ülkemizde yaygın olarak bulunan *Glycyrrhiza* cinsinin farklı bölümleriyle (örneğin toprak üstü kısımlar ve kökler) üzerinde yapılan pek çok çalışma, bitkinin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir, bu da içerdiği flavonoidler ve uçucu yağ bileşenlerinin etkisiyle olabilir (Gordon ve An 1995).

Ayrıca, yapılan bir çalışmada, meyan bitkisinin köklerinden izole edilen bazı flavonoidlerin oldukça güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğu gözlemlenmiştir, bu da bitkinin potansiyel sağlık faydalarını vurgulamaktadır (Gordon ve An 1995).

Genel yağ asidi içeriği analizleri de meyan bitkisinin, tekli ve çoklu zincirli doymamış yağ asitlerini içerdiğini ve doymuş yağ asitlerine oranla daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bu, bitkinin kaliteli bir esansiyel yağ asidi kaynağı olabileceği anlamına gelmektedir (Çakmak 2011).

Aynı çalışmada, meyan bitkisinin uçucu yağ bileşimleri ve yağ asit içerikleri de tespit edilmiştir. Bu bileşenler arasında hexanal, dimethylamine, nerolidol, m-cresol, furan-2-pentyl, 1-pentylcyclobutene, acetophenone, β -pinene, α -caryophyllen, 1-phenyl-1-H-pyrazol-3-amine, naphthalene, benzaldehyde, 4-terpineol, hexahydro farnesyl acetone, E-neryl linalool, 1-tetracosanol, phytol, 4-pyridinecarbonitrile, p-hexylacetophenone ve n-hexadecanoic acid bulunmaktadır (Çakmak 2011).

Genel yağ asidi bileşenleri arasında ise oleik asit, linoleik asit ve palmitik asit tespit edilmiş olup, bu yağ asitleri meyan bitkisinin pek çok türünde bulunmaktadır (Çakmak 2011).

Meyan bitkisinin içeriğinde ayrıca glikoz, sakkaroz, nişasta, reçine, flavon glikozitleri, zamk, acı madde ve triterpenik saponin olan glisirizin de bulunduğu gözlemlenmiştir (Karakoçan 1987).

Meyan kökü, içerisinde birçok bileşen barındıran bir bitkidir. Bu bileşenler şunlardır:

Flavonoidler ve İzoflavonoidler: Meyan kökünde bulunan flavonoidler ve izoflavonoidler likoflavonol, kumatakenin, likorikon, glabrol, glabron, glizarin, likoizoflavon A ve B, likoizoflavonon, glisirol, formononetin, likiritigenin, likiritin, neolikiritin, ramnolikiritin, glizaglabrin, 7-hidroksi 2-metil izoflavon, 4'-7 dihidroksiflavon ve glabranin gibi bileşenleri içerir.

Kalkonlar: 4-hidroksikalkon, likokalkon A ve B gibi kalkon bileşenleri de meyan kökünde bulunur.

Kumarinler: Umbelliferon, herniarin, likkumarin ve glisirin, meyan kökünde bulunan kumarin bileşenleridir.

Triterpenoitler: Likiritik asit, gisirretol, glabrolit, izoglabrolit, likorik asit, β -amirin ve 18- β glisirretinik asit gibi triterpenoitler meyan kökünde bulunur.

Steroller: Stigmasterol, β -sitosterol ve 22,23-dihidrosigmasterol, meyan kökünde bulunan sterollerdir.

Aminoasitler: Meyan kökü içerisinde prolin, serin ve aspartik asit gibi aminoasitleri barındırır.

Aminler: Asparagin, betain ve kolin meyan kökünde bulunan aminlerdir.

Şekerler: Glukoz ve sakkaroz meyan kökünde bulunan şekerlerdir.

Diğer bileşenler: Meyan kökünde ayrıca nişasta, lignin, mum, zamk ve uçucu yağlar gibi bileşenler de bulunur.

Meyan kökünün sarımsı esmer rengini flavonoidler ve izoflavonoidler sağlar, temel flavonoid ise likuiritindir.

Meyan kökü, bir dizi ek bileşen içerir. Bunlar arasında isolikuiritin, likuiritigenin, rhamnolikuiritin, neo-likuiritin, likoflavonol, likisoflavonler A ve B, likoisoflavon, formononetin, glabrol, glabron, glisarin, glabridin, glabrene, 3-hydroxyglabrol, 4'-O-methylglabridin A, hispaglabridin A, hispaglabridin B, 4'-O-methylglabridin, 3'-hidroksi-4'-O-metilglabridin, isofrenilkalkone, saponinler, steroller, kumarinler, kolinler, zamk, ligninler, biotin, folik asit, inositol, lesitin, pantotenik asit, paraamino benzoik asit, pentasiklik terpenler, şeker, protein, B1, B2, B3, B6 ve E vitaminleri yer alır (Doğan 2004). Meyan bitkisinin farmakolojik etkileri arasında anti-bakteriyel, anti-ülser, anti-tümör, ekspektoran, anti-astım, anti-romatizmal, anti-aterosklerotik, anti-inflamatuar, anti-akne, anti-alerjik, gastroprotektif, immünomodülatör, anti-viral ve antioksidan etkileri yer alır (Nand ve ark. 2012, Shibata 2000, Kitagawa 2002, Vaya ve ark. 2004, Şerbetçi 2007, Çınar 2012).

Meyan bitkisinin aktif bileşiklerinden glisirizin ve gliseritik asit, klinikte hiperlipidemi, arteroskleroz ve alerjik inflamasyon tedavisinde kullanılır (Lin ve ark. 2005). Glisirizin, şekerden daha tatlı olmasına rağmen düşük kalori içerir ve hafif bir acı tat bırakır (Şerbetçi 2007). Ancak, glisirizinin hipertansiyon ve hipokalemi gibi yan etkilere neden olabileceği ve düşük pH değerlerinde çökebileceği için yapay tatlandırıcı olarak fazla kullanılmamalıdır. Bu nedenle glisirizin amonyum tuzu tercih edilerek belirli miktarlarda ilaçlarda tat düzenleyici olarak kullanılabilir (Fenercioğlu ve Baran 1991).

1.3.7. Meyan Bitkisinin Farmakolojik Özellikleri

Son araştırmalar, meyan bitkisinin köklerinden elde edilen glisirizin maddesinin, ribavirin adlı bir anti-viral ilaçtan daha etkili olduğunu göstermektedir. Bu bulgu, HIV-1 ve Hepatit C virüsleri gibi önemli viral enfeksiyonlara karşı yeni bir tedavi seçeneği sunabilir (  ınar 2012).

Ayrıca, *Glycyrrhiza glabra* L. bitkisinin k  klerinde bulunan glisirutenik asit, deglisirin ve karbenoksolen sodyum gibi bileşenler, mide rahatsızlıkları ve ülser tedavisinde etkili olabilir. K  klerin içerdiği flavonoidler nedeniyle anti-ülser etkileri de gözlemlenmiştir (Takagi ve Ishi 1967, Marle ve ark. 1981). Bu nedenle Aspalon (Japan Pharmaceutical Information Center, 1997) gibi ticari ilaçlar üretilmiş ve Japonya'da ülser tedavisinde kullanılmıştır.

Ayrıca, *Glycyrrhiza glabra* L. köklerinden elde edilen ekstraktlar, ciltte oluşan aknelerin tedavisinde ve atopik dermatit gibi cilt problemlerinin tedavisinde etkili olabileceği belirtilmiştir (Nand ve ark. 2012, Saeedi ve ark. 2013). Bu sonuçlar, meyan bitkisinin potansiyel tıbbi kullanım alanlarını genişletmektedir. Meyan k  k  n  n içerdiği saponinlerin, yüzey gerilimini azaltma mekanizması sayesinde mukusun viskozitesini azalttığı ve böylece sekretolitik (balgamı inceltici) ve ekspektoran (balgam söktürücü) etkileri artırdığı bilinmektedir. Bu   zellik, meyan k  k  n  n solunum yollarındaki balgamın daha kolay çıkarılmasına yardımcı olmasını sağlar. Ayrıca, meyan k  k  n  n mukosiliyer hareketleri etkilemediği, bu nedenle solunum yollarındaki mukosiliyer temizlik mekanizmalarına olumsuz bir etkisi olmadığı gözlemlenmiştir. Bu nedenle meyan kökü, sekretolitik ve sekretomotor aktivite göstererek etkili bir ekspektoran olarak işlev görür (Hekiman 2010).

Meyan k  k  ndeki likuiritin apioziti (likuiritigenin 4'-apioziti), etkili bir anti-tusif (  ks  r  k kesici) olarak belirlenmiştir. Araştırmalar, bu etkinin mekanizmasında likuiritin apioziti ve aglikon olan likuiritigeninin farklı aşamalarda önemli roller oynadığını göstermektedir (Kılıç 2014, Hekiman 2010). Bu bileşenler, meyan k  k  n  n öksürüğü kesme yeteneğine katkıda bulunur.

Ülkemizde yetişen *Glycyrrhiza glabra* L. varyetelerinin *Staphylococcus aureus* ve *Mycobacterium smegmatis* türlerine karşı anti-bakteriyel etkilerini inceleyen bir *in-vitro*   alışma, tüm varyetelerin etkili olduğunu ortaya koymuştur. Bu etkinin meyan k  k  n  n içeriğinde bulunan izoflavonlardan kaynaklandığı düşünülmüştür (Kılıç

2014, Hekiman 2010).

Ayrıca, meyan kökünün alkollü sıvı ekstresinin sıçanlarda indometazin ile indüklenmiş ülserler üzerinde koruyucu etki gösterdiği gösterilmiştir. Bu etki doza bağımlıdır ve histopatolojik bulgularla desteklenmiştir. Aynı ekstre ile öntedavi yapıldığında, mide özsuyunun asiditesinde belirgin azalma, müköz salgılarının artışı ve prostaglandin-E2 miktarında artış gözlemlenmiştir (Kılıç 2014, Hekiman 2010). Bu sonuçlar meyan kökünün gastroprotektif etkilere sahip olduğunu ve ülser tedavisinde kullanılabileceğini göstermektedir.



İKİNCİ BÖLÜM

2. KURAMSAL TEMELLER

Geleneksel tıp, toplum tarafında kullanılan en eski tedavi yöntemlerinden biridir. Modern tıptan çok önce birçok ulus tarafından kullanılmıştır. Yerli kültürlerin teorilerine, inançlarına ve deneyimlerine dayanan bir dizi beceri ve uygulamayı içerir. Geleneksel tıp, sağlığın korunmasında, çeşitli hastalıkların önlenmesinde ve/veya tedavisinde kullanılmaktadır (Kumari ve Kotecha, 2016).

Kimyasal ilaçların birçok hastalığın tedavisinde kullanılmasına rağmen, yan etkileri, hastalıkları tam olarak önleme ve kontrol etmedeki yetersizlikleri ve zamanla etkinliklerinin azalması, araştırmacıları yeni yöntemler keşfetmeye ve hastalıkları kontrol altına almanın uygun yollarını keşfetmeye yöneltmiştir. Amerika Birleşik Devletleri'nde 2-3,6 milyon kişi hastalığı tedavi etmek için tamamlayıcı ve alternatif tıp yöntemlerini kullanmakta (Zhang *et al.*, 2018) ve bu farklı yöntemler arasında en çok bitkisel ve diyet tedavilerine dikkat edilmektedir.

Kolinesteraz enzimleri, organizmanın çeşitli dokularında, vücut sıvılarında ve plazmasında mevcut olan önemli enzimlerdir. AChE ve BChE olmak üzere, inhibisyon hassasiyeti seviyeleri ve substrat özgüllükleri açısından iki farklı kategoriye ayrılırlar (Radic *et al.*, 1993). AChE enzimi, kaslarda, beyinde ve eritrosit zarlarında bulunan temel bir kolinesteraz enzimidir (Grisaru *et al.*, 1999). Kolinerjik sinapslardan salınan asetilkolin, kolinesterazlar tarafından parçalandığında, sinir iletimi sona erer (Massoulie *et al.*, 1993).

Öte yandan, BChE enzimi, serumda bulunan önemli bir detoksifikasyon enzimi olarak işlev görerek kolin esterlerini, drofenin, aspirin, bunların tiyol analoglarını, amitriptilin, nitroasetanilidleri, ksenobiyotikleri ve benaktizinler grubundan olan ilaçları, süksinildikolin, herbisitler, pestisitler, fungusitler gibi karbamat iskeletindeki maddeleri ve organofosfat temelli bileşikler parçalayabilme yeteneğine sahiptirler (Massoulie *et al.*, 1993; Masson *et al.*, 2010).

AH'nın tedavi edilmesinde tercih edilen ilaçlardan biri olan takrin, AChE ve serumda bulunan BChE enzimleri üzerinde son derece kuvvetli bir şekilde inhibisyon etkisi göstererek AH'nın iyileştirilmesinde ilaç olarak tercih edilmektedir (Saxane *et al.*, 1997). Takrin molekülü, AChE ve BChE enzimleri için esteraz ve aril açıl amidaz

enzimatik aktivitelerini olumsuz yönde değiştirerek inhibisyonunu gösterir (Rajesh *et al.*, 2009).

Mikroskopik altında yapılan incelemelerde, AH'da AChE ve BChE enzimlerinin aktivitelerinin de yüksek oranlarda arttığı görülmüştür. Bunun sonucu olarak AH'nın tedavisi için AChE ve BChE enzimlerinin inhibisyonu tedavide avantaj sağlayabileceği ön görülmüştür (Geula and Mesulam 1999; Halis, 2021).

Organofosfatlı pestisidler bileşikleride AChE inhibitörleri arasında bulunmaktadır. Bu pestisidler, enziminlerin aktif bölgesinde bulunan serin amino asidinin hidroksil grubunu fosforlayarak onu etkisiz hale getirirler. Bu sonuç olarak kolinerjik sinir kavşaklarında ACh miktarının artmasına yol açar, bu da düz kaslarda kasılma ve salgı bezlerinde salgı üretimine neden olur (Nath and Kumar 1999). Ayrıca, sucul kirlilik durumlarında AChE aktivitesinin biyobelirteç olarak kullanılabileceği gözlemlenmiştir (Dembele *et al.*, 2000).

Halk hekimliğinde hafıza bozukluklarının tedavisinde kullanılan *Corydalis* (Papaveraceae) cinsine ait bitkiler üzerinde yapılan araştırmalarda, anti-AChE aktivitesine sahip benzilzokinolin alkaloitlerinin varlığı rapor edilmiştir (Houghton *et al.*, 2006). Daha önce AChE inhibisyonu sağladığı bulunan *C. turtschaninovii* yumrusundan elde edilen etanolik ekstrakt, izokinolin alkaloitleri stilopin, epiberberin, psödodehidrokoridalin, psödokopsitin ve psödoberberin izolasyonuna yol açan kimyasal bir çalışmayı yürütmek için seçildi. AChE enzimi kaynağı olarak fare beyin korteksinin kullanıldığı analizde, bu alkaloitlerin her biri için elde edilen IC₅₀ değerleri sırasıyla 15.8, 6.5, 8.4, 4.3 ve 4.5 µM olmuştur (Hung, *et al.*, 2008). Ek olarak, en aktif iki bileşik olan alkaloitler 25 ve 26'nın anti-amnezik aktivite ortaya çıkardığı bulunmuştur (Hung *et al.*, 2008). Aromatik metilendioksi gruplarına ve kuaterner nitrojen atomuna sahip *Corydalis* türlerinden benzilzokinolin iskeletine sahip alkaloitlerin en güçlü AChE inhibisyonunu gösterdiği gözlemlenmiştir (Houghton *et al.*, 2006; Hung *et al.*, 2008). Daha yeni bir çalışmada, geleneksel olarak Çin tıbbında çeşitli hastalıkların tedavisi için kullanılan *Coptis chinensis* rizomlarında altı protoberberin alkaloidi tanımlanmıştır. *Coptidis* rizomları ve bunların alkaloitlerinin bilişsel güçlendirici ve nöroprotektif etkilere sahip olduğu bildirilmiş ve bu alkaloitlerin anti-AChE aktivitesinin analizi, berberin, palmatin, jateorhizin, coptizinin

ve groenlandicine IC_{50} değerlerinin ortaya çıktığını göstermiştir 0,44 ile 0,80 μM arasında değişirken epiberberinin değeri biraz daha yüksekti ($IC_{50} = 1,07 \mu M$) (Jung *et al.*, 2009). Bu alkaloidlerden berberine, coptisine ve groenlandicine numaralı bileşiklerin aromatik metilendioksi grubuna sahip olduğu gözlemlendi. Bu çalışmada BChE inhibitörleri olarak en aktif olanların groenlandicine ve berberin olduğu bulunmuş ve epiberberinin beta-sekretazı (BACE1) önemli ölçüde inhibe ettiği gözlenmiştir (Jung *et al.*, 2009).

Her ikisi de *Corydalis cava*'dan izole edilen ve sırasıyla $IC_{50} = 20,1$ ve $12,4 \mu M$ olan alkaloidler (+)-kanadalin ve (+)-kanadin, AChE ile insan kanında test edildiğinde orta düzeyde bir inhibitör aktivite ortaya çıkardığı gözlemlendi (Chlebek *et al.*, 2011).

Öte yandan Tayland tıbbi bitkisi *Stephania venosa*'nın (*Menispermaceae*) yüksek AChE inhibitör aktivite gösterdiği tespit edildi. *S. Venosa*'nın etanolik ekstraktı, AChE inhibisyonunun tanımlamak için biyoanaliz rehberliğinde fraksiyonlamaya tabi tutuldu (Ingkaninan *et al.*, 2006). Aşağıdaki orta derecede aktif dördüncül protoberberin alkaloidleri izole edilebilir: stepharanin, siklanolin ve N-metil stepholidin sırasıyla 14.10, 9.23 ve 31.30 μM IC_{50} değerlerine sahip. *Chelidonium majus*'ta (Papaveraceae) AChE inhibisyonundan sorumlu bileşikler tanımlamak için benzer bir fraksiyonlama yaklaşımı izlendi. 8-hidroksidihidroşeleritrin, 8-hidroksidihydrosanguinarin ve berberin olmak üzere üç aktif bileşen tanımlandı.

Daha önce AChE inhibitörü olarak kaydı olmayan bileşik 8-hydroxydihydrochelerythrine ve 8-hydroxydihydrosanguinarine moleküllerinin, sırasıyla $IC_{50} = 0,61$ ve $1,37 \mu M$ ile anlamlı anti-AChE aktivitesi ortaya çıkardığı bulundu. Taspine, *Magnolia x soulangiana*'dan (*Magnoliaceae*) (Rollinger *et al.*, 2006) elde edilen alkaloid bakımından zenginleştirilmiş ekstraktan izole edilmiştir. Bu alkaloidin yalnızca AChE üzerinde doza bağımlı ve uzun süreli bir inhibitör etki gösterdiği değil ($IC_{50} = 0,33 \mu M$) aynı zamanda inhibitör aktivitesi takrin ile karşılaştırılabilir olmasına rağmen galantaminden ($IC_{50} = 3,2 \mu M$) daha güçlü olduğu da bulunmuştur ($IC_{50} = 0,22 \mu M$). *In vitro* analiz insan AChE ($IC_{50} = 0,54 \mu M$) ile gerçekleştirildiğinde de benzer gözlemler elde edildi. Taspine'in BChE'ye karşı aktif olmadığı ve seçici bir AChEi görevi gördüğü ortaya çıktı.

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

3. YÖNTEM

3.1. Başlık Yok

3.1.1. Tez Çalışmalarında Yararlanılan Kimyasallar

Tez çalışmamızda yararlandığımız kimyasal maddeler: Çözeltilerin hazırlanmasında yararlanılan kimyasal maddeler NaOH ve HCl (pH değerini ayarlamak için kullanıldı), Tris(hidroksimethyl)aminometan (TRIS) ve potasyum fosfat (tampon çözeltileri hazırlamak için kullanıldı). Asetiltiyokolin iyodat (AChI), butiriltiyokolin iyodat (BChI) ve 5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) enzimlerin aktivite ölçümlerinde substrat olarak kullanıldı. Tüm kimyasal maddeler ve AChE ve BChE enzimleri Merck şirketinden satın alındı.

3.1.2. Yararlanılan alet ve cihazlar

Doktora tez çalışmamız için kullanılan cihaz ve aletlerin listesi aşağıda verilmiştir.

Mikro plaka okuyucu: Thermo Scientific Multiskan GO (İnhibisyon çalışmalarının yapılması ve aktivite değerlerinin belirlenmesi için kullanıldı).

pH metre: Isolab masa üstü pH ölçüm cihazı (Tampon çözeltilerin hazırlanması için kullanıldı).

Hassas terazi: Ohaus (Kullanılan maddelerin hassas tartımı için kullanıldı).

Otomatik pipet seti: Eppendorf ve Isolab pipet setleri (Deneyler esnasında kullanılan çözeltilerin farklı ortamlara aktarılması için kullanıldı).

Magnetik karıştırıcı: IKA ısıtıcılı manyetik karıştırıcı (Deneyler esnasında kullanılan çözeltilerin hazırlanması için kullanıldı).

Saf su cihazı: Millipore ultra safsu cihazı kullanıldı (Deneyler esnasında kullanılan çözeltilerin hazırlanması, kapların ve aletlerin temizlenmesi için kullanıldı).

Buzdolapları: Beko (Deneyler esnasında kullanılan çözeltilerin ve enzimlerin muhafaza edilmesi için kullanıldı).

3.1.3. Tez çözeltilerinin elde edilmesi

Tez çalışmasında çözeltiler ve malzemelerin temizliği için su saf kullanıldı. Ekstrelerin seyreltilmesi için ultra saf su kullanıldık.

1. pH değeri 8,0 ve konsantrasyonu 100 mM olan TRIS-HCl çözeltisinin hazırlanması: 1,211 g TRIS 90 mL saf su içerisinde çözüldü, konsantrasyonu 0,1 N olan hidroklorik asit çözeltisi kullanılarak pH değeri 8,0'a ayarlandı ardından hacmi toplamda 100 mL olacak şekilde saf su

ile tamamlandı (AChE enziminin aktivitesini belirlemek için kullanılan tampon çözelti).

2. pH değeri 7,8 ve konsantrasyonu 100 mM olan fosfat tampon çözeltisinin hazırlanması: 1,36 g KH_2PO_4 150 mL saf içerisinde çözüldü, konsantrasyonu 0,1 N olan hidroklorik asit çözeltisi ile pH değeri 7,8'e ayarlandı ardından toplam hacmi 200 mL olacak şekilde saf su ile tamamlandı (BChE enziminin aktivitesini belirlemek için kullanılan tampon çözelti).

3. 2 mM AChI substrat çözeltisinin hazırlanışı: 2,98 mg AChI tartılarak 5 mL ultra saf su içerisinde dikkatlice çözülerek hazırlandı.

4. 2 mM BChI çözeltisinin hazırlanması: 3,17 mg BChI tartılarak 5 mL ultra saf su içerisinde dikkatlice çözülerek hazırlandı.

5. 2 mM DTNB çözeltisinin hazırlanması: 3,86 mg DTNB tartılarak 5 mL 100 mM'lık KH_2PO_4 (pH=7,8) tampon çözeltisi içerisinde çözülerek hazırlanır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitki numunelerinin hazırlanması ve ekstrelerin eldesi

Toplanan bitki numuneleri (*Alcea setosa*, *Eryngium campestre*, *Falcaria vulgaris* ve *Glycyrrhiza glabra* L) mekanik temizleme sonrası gölgede kurutuldu. Kurutulan numuneler öğütücüden geçirilerek toz haline getirildi. Toz halindeki numuneler 200 mL'lik bir beher içerisine alınarak üzerine 150 mL %98'lik etanol ilave edildi, behere bir bar atıldı ağzı hava sızdırmayacak şekilde streç film ile sarıldı bir gece boyunca manyetik karıştırıcı üzerinde oda sıcaklığında karıştırıldı. Karıştırma işlemi tamamlandıktan sonra adi süzgeç kağıdı kullanılarak dikkatlice süzüldü. Elde edilen ekstrelerin etanollerini evaporatör yardımı ile uçuruldu. Elde edilen ham ekstrelerden bir miktar alınarak stok çözelti oluşturmak için hassas terazide 1mg tartıldı. Stoklar dimetilsülfoksit'de çözülerek 1mg/mL olacak şekilde hazırlandı. Stok çözeltiler tez deneylerinde kullanılmak üzere yeterli miktarda ultra saf su kullanılarak seyreltilti. Seyreltilen numuneler inhibisyon çalışmalarında kullanıldı.

3.2.2. Ekstrelerin AChE / BChE inhibitör etkilerinin ölçülmesi

Elde edilen ekstreler için AChE ve BChE enzim inhibisyonlarının tespiti için Ellman yöntemi kullanıldı (Ellman et al. 1961). Ellman yöntemine göre enzim aktiviteleri multiplaka okuyucu kullanılarak spektrofotometrik olarak yapıldı. Bu yöntemde göre DTNB (5,5'-ditiyo-bis-2-nitrobenzoik asit) ve asetiltiyokolin iyodat/S-butiriltiyokolin iyodat substrat olarak kullanılarak enzim reaksiyonları

ölçüldü. Reaksiyon sonrasında sarı renkli kompleksin şiddeti 412 nm de ölçülerek aktiviteler belirlendi.

AChE / BChE enzimlerinin enzim ünitesi değeri hesaplanırken kullanılan formül;

$$EU / ml = \frac{\Delta OD}{t} \times \frac{V_T}{V_E} \times \frac{1}{13,6}$$

Enzim ünitesi hesaplama formülündeki simgeler aşağıdaki gibidir;

EU / ml : 1 ml çözeltide bulunan enzim ünitesi değeri

ΔOD : Zamana göre absorbans farkı değişimi

T : Zaman (Dk)

13,6 : DTNB için ekstinksiyon katsayısı

V_T : Toplam hacim (ml)

V_E : Küvete katılan enzim miktarı (ml)

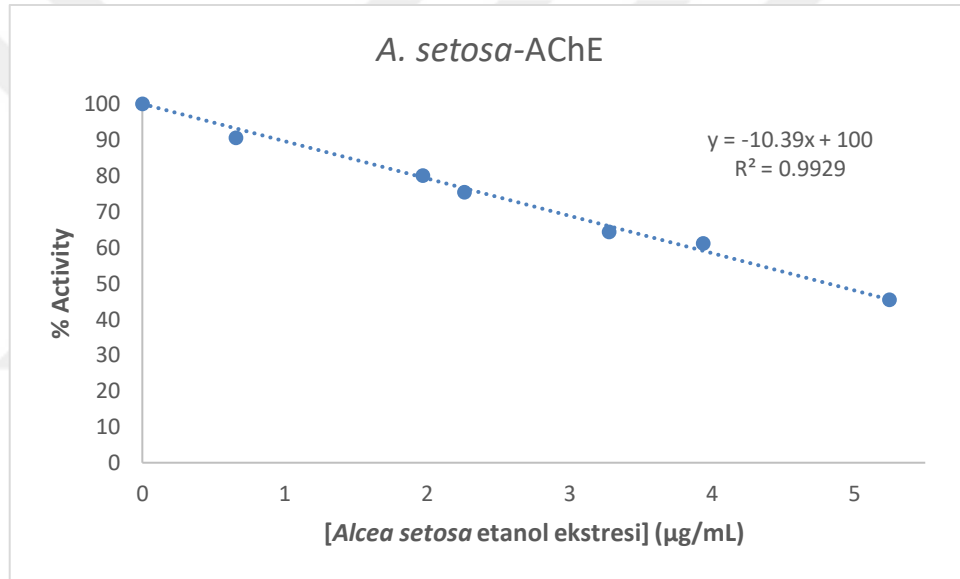
3.2.3. Ekstraktlar için IC₅₀ değerlerinin tespit edilmesi

Alcea setosa, *Eryngium campestre*, *Falcaria vulgaris* ve *Glycyrrhiza glabra L* ekstreleri için yedi farklı inhibitör konsantrasyonunda aktivite değerleri ölçüldü. Elde edilen değerler kontrol değeri ile kıyaslanarak % aktiviteye çevrildi. Sonrasında ekstrelerin kullanılan miktarları mg/mL olarak belirlendi ve küvet konsantrasyonları [I] belirlendi. Excel programı yardımı ile Lineweaver-Burk grafikleri çizildi. Elde edilen grafik eğrisinin denklemi kullanılarak IC₅₀ değerleri belirlendi (Lineweaver and Burk 1934).

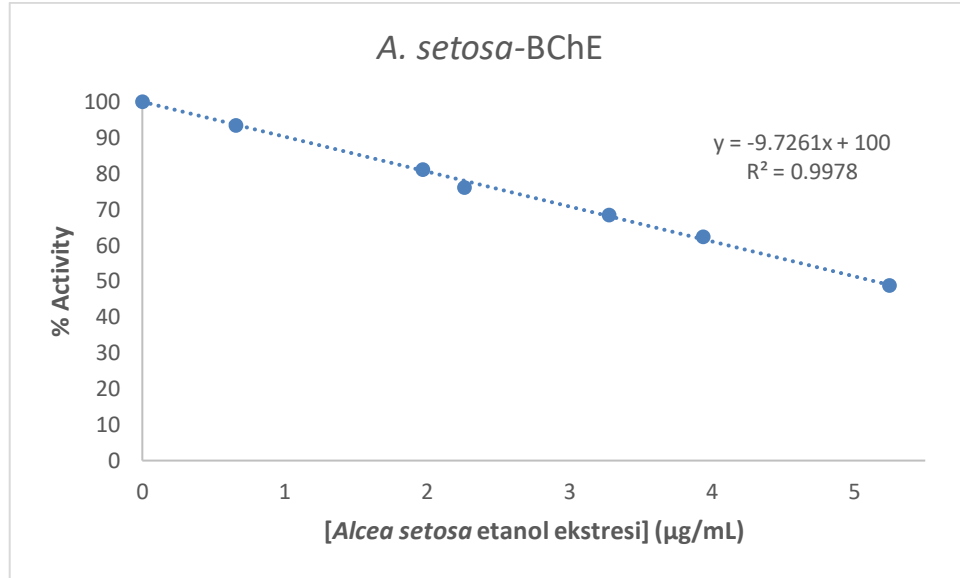
DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

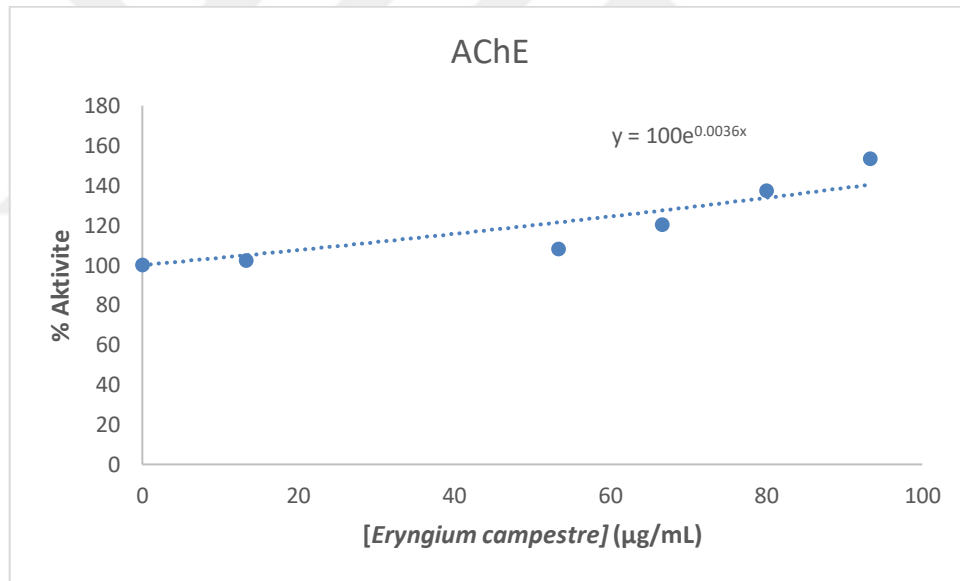
Çalışmada kullanılan AChE ve BChE enzimlerinin üzerinde *Alcea setosa*, *Eryngium campestre*, *Falcaria vulgaris* ve *Glycyrrhiza glabra L.* ekstrelerinin inhibisyon değerlerini belirleye bilmek için bu ekstrelerin 1 mg/mL’lik stok çözeltileri elde edildi. Elde edilen stok çözeltiler farklı miktarlarda alınarak AChE ve BChE enzimleri üzerinde test edildiler. Denenen miktara (mg/mL) karşı % aktivite (%aktivite-[I]) olacak şekilde çizilen grafikler Şekil 4.1-4.6’da gösterildi. Elde edilen grafiklerin denklemlerinden yararlanılarak IC₅₀ değerleri belirlendi.



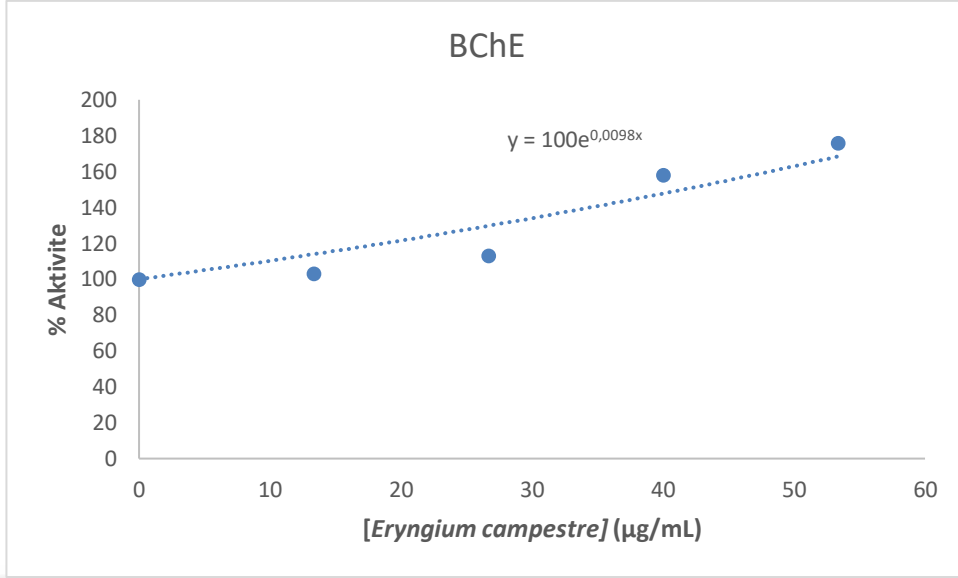
Şekil 4. 1. Alcea setosa etanol ekstresi ile AChE inhibisyon grafiği.



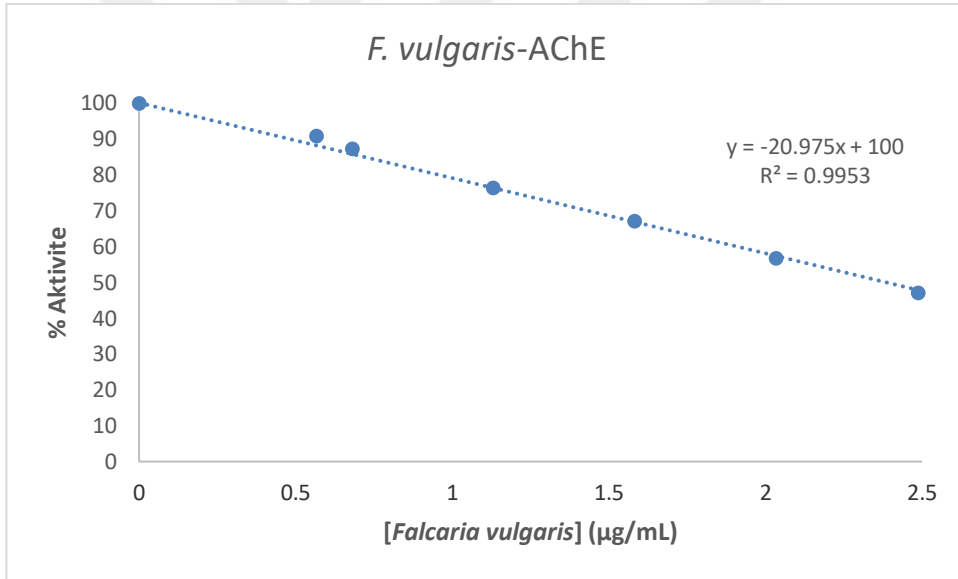
Şekil 4. 2.*Alcea setosa* etanol ekstresi ile BChE inhibisyon grafiği.



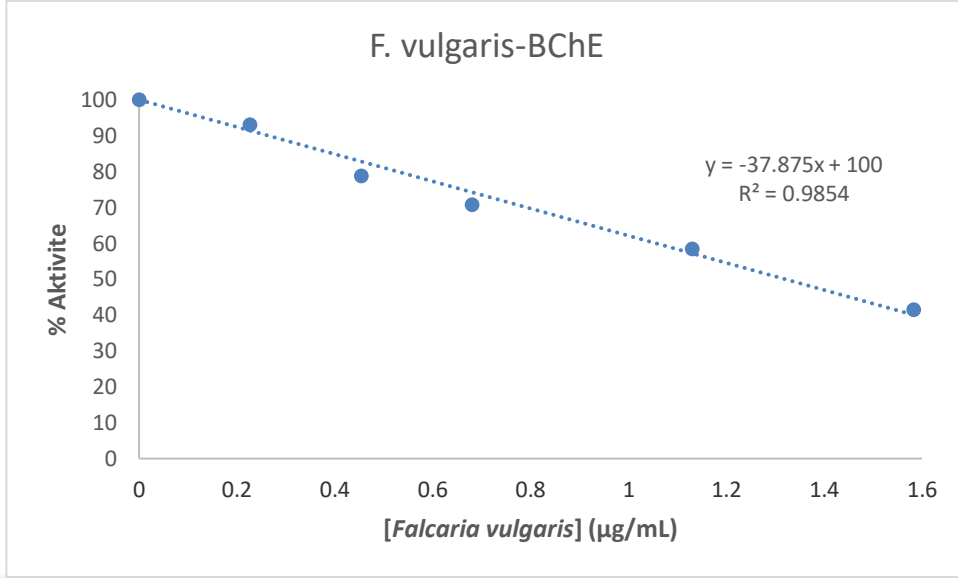
Şekil 4. 3.*Eryngium campestre* etanol ekstresi ile AChE aktivasyon grafiği.



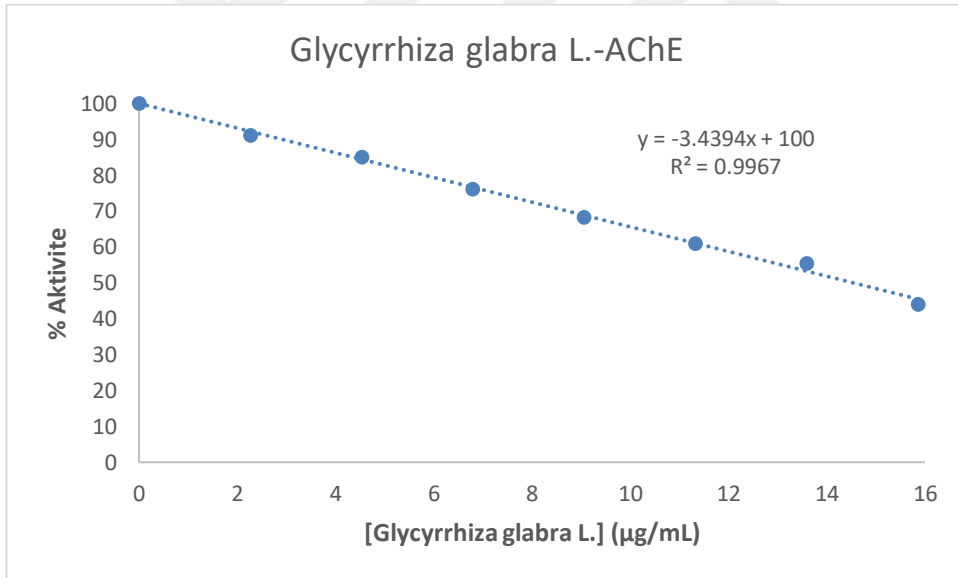
Şekil 4. 4. *Eryngium campestre* etanol ekstresi ile BChE aktivasyon grafiği.



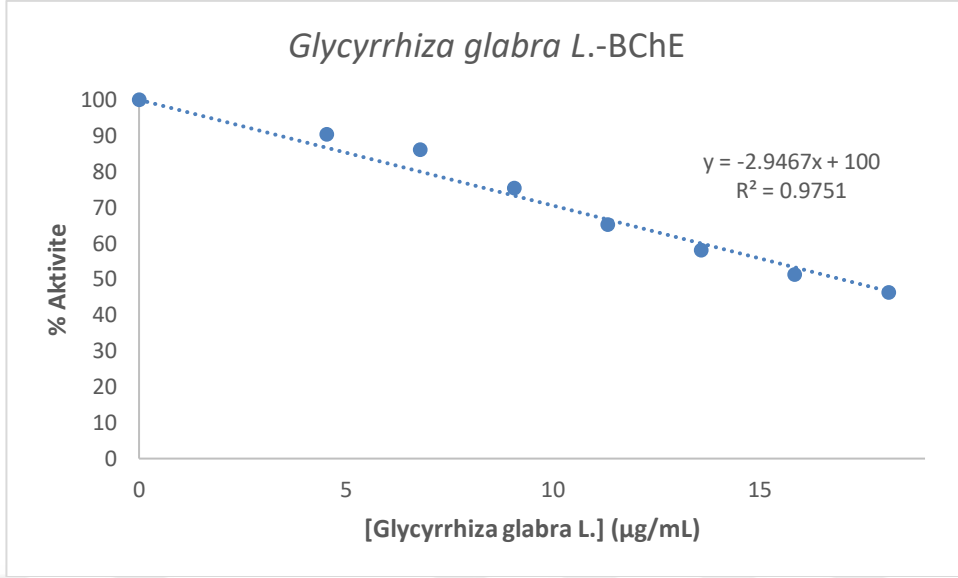
Şekil 4. 5. *Falcaria vulgaris* etanol ekstresi ile AChE inhibisyon grafiği.



Şekil 4. 6.Falcaria vulgaris etanol ekstresi ile BChE inhibisyon grafiği.



Şekil 4. 7.Glycyrrhiza glabra L. etanol ekstresi ile AChE inhibisyon grafiği.



Şekil 4. 8. *Glycyrrhiza glabra* L. etanol ekstresi ile BChE inhibisyon grafiği.

Çizelge 4. 1.Çalışmamızda kullanılan ekstreler ile AChE ve BChE enzimlerinin IC₅₀ değerleri.

	IC ₅₀ (µg/mL)	
İnhibitör	AChE	BChE
<i>Alcea setosa</i>	4,81	5,14
<i>Eryngium campestre</i>	Aktivatör	Aktivatör
<i>Falcaria vulgaris</i>	2,38	1,32
<i>Glycyrrhiza glabra L.</i>	14,54	16,97

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Enzimler, biyokimyasal reaksiyonları hızlandıran ve istenmeyen yan ürünler oluşmadan tam ürün oluşumunu sağlayan biyokatalizörlerdir (Keha ve Küfrevioğlu 2021). Enzimatik reaksiyonlar sırasında, substratlar farklı moleküllere, yani ürünlere dönüşürler. Canlı organizmaların metabolizmasında gerçekleşen neredeyse tüm tepkimeler, enzimlerin katılımını gerektirir. Enzimler, substratlarına son derece seçici bir şekilde etki ederler. Bu nedenle, bir hücrede bulunan farklı enzim grupları, hangi metabolik yolların etkin olduğunu belirler, çünkü birçok potansiyel tepkimeden sadece birkaçını hızlandırırlar. Genellikle, enzimler ileri ve geri tepkimeleri dengesiz hale getirmez, bunun yerine tepkimelerin hızını kontrol ederler (Senturk 2017; Keha ve Küfrevioğlu 2021).

Ek olarak, neurotransmitter maddelerin, örneğin ACh gibi, miktarındaki artış veya azalma, farklı hastalıkların ortaya çıkmasına yol açabilir, genel olarak bunu ifade edersek. Örneğin, ACh'nin aşırı hidrolizi Alzheimer hastalığına yol açabilir ve bu hastalığın tedavisi için AChE enziminin seçici inhibitörleri araştırılmakta ve farklı bilim insanları tarafından yeni moleküller denemektedir (Arslan *et al.*, 2020).

Enzim, α -heliks ve β -tabakalardan oluşur ve aktif bölgenin çevresinde sarı renkle vurgulanan 14 aromatik rezidüncü yer almaktadır. Aktif bölgedeki histidin, glutamat ve serin amino asitleri enzimin aktif bölgesindeki katalitik üçlüyü oluşturur. Süregelen çalışmalar, AChE inhibisyonunun, parasempatik ve sempatik sinir sistemlerinin normal iletimini etkileyebilen kimyasalların nörotoksik etkilerini belirlemek için kullanıldığını göstermektedir. Organofosfat temelli maddeler, karbamat yapısında olan pestisitlerin, enantiyomerik yapıya sahip inhibitörlerin, metaller ve farklı kimyasalların AChE ve BChE enzimlerinin aktivitelerini inhibe ettikleri tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra AChE enzimini özellikle alifatik ve aromatik yapılu bileşiklerin inhibisyon etkisi gösterdikleri farklı gruplar tarafından belirlenmiştir (Bocquene *et al.* 1995; Lin *et al.* 1998; Duysen *et al.* 2012; Zilbeyaz *et al.* 2018; Cavdar *et al.* 2019).

AChE enzimi inhibe edildiğinde, ACh sinir hücreleri arasındaki sinaptik boşlukta toplanmaya başlar, bunun akabinde merkezi sinir sistemin üzerinde yüksek seviyelerde ACh birikmesi oluşur, davranışsal ve duyuşal bozukluklara, motor fonksiyonlarında baskılanmaya, koordinasyon problemlerin ve solunum azalmasına

sebeep olabilir (Chang and Strichartz, 2005).

AChE üzerinde inhibisyon etkisi gösteren maddeler, geniş bir biyolojik etkinlik yelpazesi sunarlar (Colovic *et al.*, 2013). AChE enzimim dönüştürsüz olarak kuvvetli bir şekilde inhibe eden maddeler kimyasal silah olarak kullanılabilirler. İnsektisit olarak kullanılırlar ve ayrıca Myastenia gravis gibi nöromüsküler bir hastalığın tedavisinde, glokom tedavisinde, postural taşikardi sendromu tedavisinde, antikolinergik zehirlenmelere karşı panzehir olarak, non-depolarizan kas gevşeticilerin etkisini tersine çevirme amacıyla, apati gibi hastalıkların nöropsikiyatrik semptomlarını tedavi etme amacıyla kullanılabilirler. Ayrıca, Alzheimer ve Parkinson hastalıklarının tedavisinde, demans gibi nörodejeneratif bozuklukların semptomatik tedavi edilmesinde, psikotik belirtiler gibi görsel halüsinasyonlarda, şizofreni hastalarının yaşadığı bilişsel hastalıkları iyileştirilmesinde, otizm tedavisinde ve uyku düzenini hızlı bir şekilde teşvik etme ve uyuma süresini artırma amacıyla yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Singh *et al.*, 2008; Ribeiz *et al.*, 2010; Buckley *et al.* 2011; Handen *et al.*, 2011; Taylor *et al.*, 2012; Choi *et al.*, 2013).

- Son on yılda yapılan çalışmaların büyük bir kısmı doğal maddeler yada geleneksel tıpta kullanılan bitkiler ve onların ekstreleri üzerine odaklanmaktadır. Bunun asıl sebebi doğadaki maddeler yada onların asıl kaynağı olan ekstrelerin insanlarda sentetik maddelere kıyasla daha az toksik olmaları ve daha iyi etki göstermeleridir.
- Bu tez çalışmamızda ülkemizde geleneksel tıpta kullanılan bazı bitkilerin ekstrelerinin AChE ve BChE enzimleri üzerindeki etkilerini incelemektir.
- Bu tez çalışmaları sonucunda AChE üzerinde *Alcea setosa*, *Falcaria vulgaris* ve *Glycyrrhiza glabra* L. bitkilerinin etanol ekstireleri çeşitli dozlarda yaptığımız çalışmalarda sırası ile 4,81, 2,38 ve 14,54 µg/mL dozunda etkili inhibisyon gösterdikleri belirlenmiştir. Elde edilen IC₅₀ verilerine bakıldığında *Falcaria vulgaris*'in ekstresinin *Alcea setosa*'dan iki kat *Glycyrrhiza glabra* L.'den ise yaklaşık 7 kat daha etkili olduğu görülmektedir. Aynı şekilde BChE enzimi için de yaklaşık olarak dört kat daha etkili çıktığı görülmektedir.
- *Eryngium campestre* etanol ekstresinin ise iki enzim için de aktivatör etkisi gösterdiği belirlendi. Bu durum *Eryngium campestre* ekstresinin AChE ve

BChE inhibisyonunun çok tehlikeli olduğu pestisit zehirlenmeleri gibi durumlarda antidot olarak kullanılma potansiyelinin olduğunu göstermektedir.

- Kolinesteraz inhibitörlerinin Alzheimer hastalığı başta olmak üzere birçok nörodejeneratif hastalığın tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. *Alcea setosa*, *Falcaria vulgaris* ve *Glycyrrhiza glabra* L. ekstreleri için elde ettiğimiz sonuçlara göre bu ekstreler etkili birer kolin esteraz inhibitörü gibi davranmaktadır. Bu durum bu bitkilerin farmasötik kullanım potansiyellerinin olduğunu kanıtlama açısından önemli bir veridir.



KAYNAKÇA

- Ahmadi, M., Rad, A.K., Rajaei, Z., Hadjzadeh, M.A.R., Mohammadian, N., Tabasi, N.S. (2012). *Alcea rosea* root extract as a preventive and curative agent in ethylene glycol-induced urolithiasis in rats. *Indian J Pharmacol.* 44: 304-307.
- Akan, H., Balos, M.M. 2008. GAP Bölgesi'nden Toplanan Meyan Kökü (*Glycyrrhiza glabra* L.) Taksonunun ihracat Durumu, Etnobotanik Özellikleri ve Tıbbi Önemi. *Fırat Üniv. Fen ve Müh. Bil. Dergisi*, 20(2): 233-241.
- Al-Snafi, A.E. (2017). The pharmacology of *Equisetum arvense*- A review. *IOSR Journal Of Pharmacy.* 7 (2), 31-42.
- Alyemeni, M.N., Sher, H., Wijaya, L. (2010). Some observations on Saudi medicinal plants of veterinary importance. *Journal of Medicinal Plants Research.* 4(21), 2298-2304.
- Amiri, M. S., Joharchi, M.R. (2016). Ethnobotanical knowledge of apiaceae family in Iran: a review. *Avicenna J Phytomed.* 6, 621-635.
- Ammar, N.M., El-Kashoury, S.A., Abou El-Kassem, L.T., Abd El-Hakeem, R.E., (2013). "Evaluation of the Phenolic Content and Antioxidant Potential of *Althaea rosea* Cultivated in Egypt", *Journal of the Arab Society for Medical Research*, 8:48-52.
- Ariel, N., Ordentlich A., Barak D., Bino T., Velan B., Shafferman A. (1995). The Aromatic Patch of Three Proximal Residues in the Human Acetylcholinesterase Active Centre Allows for Versatile Interaction Modes with Inhibitors. *Biochemical Journal*, 335(7), 95-102.
- Arslan, T., Senturk, M., Karagoz, L., Karagoz, Y., Ekinci, D., Efe, A., Turkoglu, E.A., Uras, F. (2022). Synthesis, in vitro and in silico Biological Studies of Sulfonamide Chalcones as Esterase Inhibitors. *ChemistrySelect.* 7, 44.
- Ashwathappappa, K.V., Venkataravanappa, V., Lakshminarayana Reddy, C.N., Krishna Reddy, M. (2020). Molecular characterization of Tomato leaf curl virus infecting hollyhock (*Alcea rosea* L.) in India. *Indian Phytopathology*, 73, 339-347.
- Azizov, U.M., Mirakilova, D.B., Umarova, N.T., Salikhov, S.A., Rakhimov, D.A., Mezhlumyan, L.G. (2007). Chemical composition of dry extracts from *Alcea rosea*. *Chem Nat Compd* 43, 508-511.
- Basaran, E., Cakmak, R., Senturk, M., Taskin-Tok, T. (2022). Biological activity and molecular docking studies of some N-phenylsulfonamides against cholinesterases and carbonic anhydrase isoenzymes. *Journal of molecular recognition.* doi: 10.1002/jmr.2982.
- Başer K.H.C Meyan (*Glycyrrhiza glabra* L.). *Bağbahçe Derg*, Ağustos 2006, s.20-21
- Baytop, T., 1984, Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi, İstanbul Üniversitesi Yayınları, No 3255.

İstanbul

- Behrooznia, F. (2019). Herbal plant for heart disease. *Plant Biotechnol Persa*. 1,39-41.
- Blong, R., Bedows, E., Lockridge, O. (1997) Tetramerization domain of human butyrylcholinesterase is at the C-terminus. *Biochem. J*, 327, 747-757.
- Bocquene G., Bellanger C., Cadiou Y., Galgani F., 1995. Joint action of combinations of pollutants on the acetylcholinesterase activity of several marine species. *Ecotoxicology*, 4, 266-279.
- Bone, K., Mills S., 2013, *Principles and practice of phytotherapy : modern herbal medicine* 2nd Ed, s. 719.
- Borgaonkar, K., Patil, R. (2020). RNA as enzymes and comparison of its properties with proteins as enzymes. *Medpulse*. Volume 13 Issue 1.
- Bozan, B. 1988. Meyan kökünün özütlenmesi ve saflaştırılması işlemleri. Yüksek lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, s. 103.
- Cavdar, H., Senturk, M., Guney, M., Durdagi, S., Kayik, G., Supuran, C.T., Ekinici, D. 2019. Kinetic and In Silico Studies of Some Uracil Derivatives on Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Enzymes. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 34 (1) 429-437.
- . Chamberlain, D.F., 1970, Glycyrrhiza. In: Davis, P.H., (Ed.), *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, vol. 3, Edinburgh University Press, Edinburgh, pp. 260-263.
- Chang, M.S., Strichartz, G.R., 2005. Cholinergic pharmacology (Golan, D.E and Tashjian, A.H. editörler). *Principles of Pharmacology*, Wolters Kluwer Company, New York, 89-93.
- Chatonnet, A., Lockridge, O. (1989). Comparison of butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase. *Biochem J*, 260 (3), 625-634.
- Chlebek, J.; Macáková, K.; Cahlíkovi, L.; Kurfürst, M.; Kunes, J.; Opletal, L. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory compounds from *Corydalis cava* (Fumariaceae). *Nat. Prod. Commun.*, 2011, 6, 607-610
- Cho, K.M.; Yoo, I.D.; Kim, W.G. 8-Hydroxydihydrochelerythrine and 8-Hydroxydihydrosanguinarine with a potent acetylcholinesterase inhibitory activity from *Chelidonium majus* L. *Biol. Pharm. Bull.*, 2006, 29, 2317-2320
- Choi, KH; Wykes, T; Kurtz, M.M., 2013. Adjunctive pharmacotherapy for cognitive deficits in schizophrenia: meta-analytical investigation of efficacy. *The British Journal of Psychiatry* 203,172-178.
- Choobkar, N., Kakoolaki, S., Mohammadi, F. (2017). The biological effects of herbal medicine, *Falcaria vulgaris*: An article review. *J Aquat Anim Health*. 3, 74-81.

- Colovic, MB., Krstic D.Z., Lazarevic P., Tamara D., Bondzic A.M., Vasic V.M. (2013). Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology. *Current Neuropharmacology*, 11 (3), 315–335.
- Copeland, R. 2000. *Enzymes: An introduction to structure, mechanism, and data analysis*. Canada: Wiley-VCH.
- Çakmak, Y.S. 2011. Türkiye’deki Glycyrrhiza L. Türlerinin Kromotografik Yöntemlerle Kimyasal Bileşenlerinin ve Antioksidant Kapasitelerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 113.
- Çınar, 2012. Sıcaklık ve Sürenin Meyan Kökü (Glycyrrhiza glabra L.) Ekstraksiyonuna Etkisi ve Ekstraksiyon Kinetiinin Modellenmesi. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 7(2): 21-30.
- Darvesh, S., Hopkins, D.A., Geula, C. (2003). Neurobiology of butyrylcholinesterase. *Nat Rev Neurosci*. 4(2):131-138.
- Dembélé, K., Haubruge, E., Gaspar, C., 2000. Concentration effects of selected insecticides on brain acetylcholinesterase in the common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 49-54.
- Doğan, Y. 2004. Ratlarda Meyan Kökünün Oksidatif-Antioksidatif Sistem Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa
- Duke, J.A., Bogenschutz-Godwin, M.J., duCellier, J., Duke, P.A.K. (2002). *Handbook of medicinal herbs*, 2nd Ed, pp. 277-278, London, CRC Press.
- Duysen, E.G., Cashman, J.R., Schopfer, L.M., Nachon, F., Masson, P., Lockridge, O. (2012) Differential sensitivity of plasma carboxylesterase-null mice to parathion, chlorpyrifos and chlorpyrifos oxon, but not to diazinon, dichlorvos, diisopropylfluorophosphate, cresyl saligenin phosphate, cyclosarin thiocholine, tabun thiocholine, and carbofuran. *Chem Biol Interact*, 195 (3), 189-198.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., et al. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol*. 7,88-95.
- Eskandarian, A.A., Jafari, H., Asghari, G., Mohaghegh, M.A., Ghanadian, M., Yousefi, H.A., Faridnia, R., Kalani, H. (2017). In vitro antileishmanial activity of *Falcaria vulgaris* fractions on *Leishmania major*. *Jundishapur J Nat Pharm Prod*. 12, 63754-63760.
- Fahamiya, N., Shiffa, M., Aslam, M., Farzana, M. (2016). Unani perspective of Khatmi (*Althaea officinalis*). *J Pharmacogn Phytochem*. 5:357-60.
- Feneon, A., *Culture Industrielle de La Reglisse Ses Usages en Medecine Humaine et Veterinaire, Dans la Preparation des Tabacs*, ets, Seguin Freres, Imprimeurs-Editeurs, Avignon 1886, s. 6-8; “Reglisse”, *Encyclopédie du Commerçant*

- Dictionnaire du Commerce et des Marchandises, Tome II, Guillaumin et Cie.,Editeurs, Paris 1839, s. 1918; “La Science Pour Tous”, Science Français, N. 236,XLV Année, 4 Auot 1899, s. 219.
- Fenercioğlu, H., Baran, A. 1991. Meyankökünden Elde Edilen Ekstraktın Özelliklerinin Belirlenmesi ve Dayandırılması Üzerine Bir Araştırma. Ç.Ü. Ziraat Fak. Gıda Bilimi ve Tek. Bölümü, 16(6): 391- 396.
- Forcella, F., Randall, J.M. (1994). Biology of Bull Thistle, *Cirsium vulgare* (Savi) Tenore. Reviews of Weed Science. 6, 29-50.
- Geula, C., Mesulam, M.M., 1999. Cholinergic systems in Alzheimer's disease, Alzheimer Disease. RD Terry, R Katzman ve ark. (Ed), 2nd Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia, PA, 269-292.
- Goorani, S., Zhaleh, M., Koohi, M.K., Seydi, N., Rashidi, K., Zangeneh, M.M., Zangeneh, A. (2019). The therapeutic potential of aqueous extract of *Falcaria vulgaris* in the treatment of fatty liver disease: a histopathological and biochemical approach. Comp Clin Path. 28, 955-961.
- Gordon, M.H., An, J., 1995, Antioxidant activity of flavonoids isolated from licorice,Journal of Agricultural Food Chemistry, 43, 1784-1788.
- Grime, J.P. (2001). Plant strategies, vegetation processes, and ecosystem properties. 2nd ed., Chichester, Wiley, UK.
- Grisaru, D., Sternfeld, M., Eldor, A., Glick, D., Soreq, H. (1999). Structural roles of acetylcholinesterase variants in biology and pathology. Eur J Biochem. 264(3), 672-686.
- Güneş, M., İşgör, B., İşgör, Y., Shomalı Moghaddam, N., Geven, F., Yıldırım, Ö. (2014). The Effects of *Eryngium campestre* Extracts on Glutathione-S-Transferase, Glutathione Peroxidase and Catalase Enzyme Activities. Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences, 11(3), 339 - 346.
- Halis, E. (2021). Bazı ilaçların kolinesteraz inhibitörü olma potansiyellerinin belirlenmesi. Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Yüksel Lisans Tezi.
- Handen, B.L.; Johnson, C.R.; McAuliffe-Bellin, S.; Murray, P.J.; Hardan, A.Y. 2011. safety and efficacy of donepezil in children and adolescents with autism: neuropsychological measures. Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology 21, 43-50.
- Harel, M., Schalk I., Ehret, L., Bouet F., Goeldner M., Hirth C., Axelsen PH., Silman I.(1993). Quaternary ligand binding to aromatic residues in the active-site gorge of acetylcholinesterase. Proceedings of theNational Academy of Sciencesof the

- United States of America, 90 (19),9031-5.
- Hekiman, S.B. 2010. Glycrrhiza glabra L. Türünden Hareketle Sekretolitik ve EkspektoranEtkili Bir Preparat Hazırlanması ve Takdimi. Yüksek lisans Tezi, Salık Bilimleri Enstitüsü, stanbul, 93.
- Holm, L., Doll, J., Holm, E., Pancho, J.V., HerbergerJ.P. (1997). World Weeds: Natural Histories and Distribution. John Wiley and Sons, New York.
- Houghton, P.J.; Ren, Y.; Howes, M.J. Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi. Nat. Prod. Rep., 2006, 23, 181- 199
- Hung, T.M.; Na, M.; Dat, N.T.; Ngoc, T.M.; Youn, U.; Kim, H.J.; Min, B.S.; Lee, J.; Bae, K. Cholinesterase inhibitory and antiamnesic activity of alkaloids from Corydalis turtschaninovii. J. Ethnopharmacol., 2008, 119, 74-80
- Hung, T.M.; Ngoc, T.M.; Youn, U.J.; Min, B.S.; Na, M.; Thuong, P.T.; Bae, K. Anti-amnesic activity of pseudocoptisine from Corydalis tuber. Biol. Pharm. Bull., 2008, 31, 159-162
- Ingkaninan, K.; Changwijit, K.; Suwanborirux, K. Vobasinyl-iboga bisindole alkaloids, potent acetylcholinesterase inhibitors from Tabernaemontana divaricata root. J. Pharm. Pharmacol., 2006, 58, 847-852
- Ingkaninan, K.; Phengpa, P.; Yuenyongsawad, S.; Khorana, N. Acetylcholinesterase inhibitors from Stephania venosa tuber. J. Pharm. Pharmacol., 2006, 58, 695-700.
- Jaberian, H., Piri, K., Nazari, J. (2013). Phytochemical composition and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of some medicinal plants. Food chem. 136, 237-244.
- Jung, H.A.; Min, B.S.; Yokozawa, T.; Lee, J.H.; Kim, Y.S.; Choi, J.S. Anti-Alzheimer and antioxidant activities of Coptidis Rhizoma alkaloids. Biol. Pharm. Bull., 2009, 32, 1433-1438
- Karakoçan, N. 1987. Süzme Mekanizmalarının ncelenmesi ve Meyan Kökü Ekstraktının Süzülmesine Uygulanması. Yüksek lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü,Eskiehir, 141.
- Kartal, M., Mitaine-Offer, A.C., Paululat, T., Abu-Asaker, M., Wagner, H., Mirjolet, J.F., Guilbaud, N., Lacaille-Dubois, M.A. (2006). Triterpenesaponins from Eryngium campestre, J Nat Prod. 69(7),1105-1108.
- Katakawa, K.; Nozoe, A., Kogure, N., Kitajima, M.; Hosokawa, M.; Takayama, H. Fawcettimine-related alkaloids from Lycopodium serratum. J. Nat. Prod., 2007, 70, 1024-1028
- Keha E.E., Küfrevioğlu, Ö. İ. 2021. Biyokimya. Aktif yayın evi. 13. Baskı. Ankara.
- Khazaei, M., Salehi, H. (2006). Protective effect of Falcaria vulgaris extract on ethanol

- induced gastric ulcer in rat. Iran J Pharmacol Ther. 5, 43-50.
- Kılıç, İH. Meyan (*Glycyrrhiza glabra* L.) bitkisinin antioksidant enzim ve pigment içeriğinin belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır, 2014
- Kıran B, Akçiçek E, Meyan kökü ve İzmir. XI. National Conference on the History of Turkish Pharmacy. Kayseri, Türkiye, 25-28 Mayıs 2014
- Kikowska, M., Thiem, B., Sliwinska, E., Rewers, M., Kowalczyk, M., Stochmal, A., Długaszewska, J. (2016). Micropropagation of *Eryngium campestre* L. via shoot culture provides valuable uniform plant material with enhanced content of phenolic acids and antimicrobial activity. Acta Biol. Cracoviensia Bot. 58, 43-56.
- Kikowska, M., Sliwinska, E., Thiem, B. (2020). Micropropagation and Production of Somatic Seeds for Short-Term Storage of the Endangered Species *Eryngium alpinum* L. Plants (Basel). 9(4), 498.
- Kitagawa, I., 2002, Licorice root. A natural sweetener and an important ingredient in Chinese medicine, Pure and Applied Chemistry, 74, 1189-1198.
- Klinkhamer, P.G.L., de Jong, T.J. (1993). Attractiveness to Pollinators: A Plant's Dilemma. Oikos, 66(1),180-84.
- Koolman, J., Klaus-Henrich, R.and Jürgen, W., 2003. Renkli Biyokimya Atlası, Çeviri Editörleri: Doç. Dr. Akın Yeşilkaya, Doç. Dr. Aslı Baykal, Dr Özgül Alper., Nobel.
- Kumari R and Kotecha M. (2016). A review on the standardization of herbal medicines. Int J Pharm Sci Res. 2016; 7:97–106.
- Kwiatkowska, M., Stępinski, D., Poplonska, K., Wojtczak, A., Polit, J.T. (2011). 'Elaioplasts' identified as lipotubuloids in *Althaea rosea*, *Funkia sieboldiana* and *Vanilla planifolia* contain lipid bodies connected with microtubules. Acta Soc. Bot. Pol. 80, 211-219.
- Lin G., Tsai Y. C., Liu H. C., Liao W. C., Chang C. H. (1998). Enantiomeric inhibitors of cholesterol esterase and acetylcholinesterase. Biochim. Biophys. Acta. 1388, 161-174.
- Lineweaver, H., Burk, D. (1934). The determination of enzyme dissociation constants. J. Am. Chem. Soc. 57, 685.
- Lockridge, O. (1988) Structure of human serum cholinesterase. Bioessays, 9 (4), 125-128.
- Lockridge, O. (1990) Genetic variants of human serum cholinesterase influence metabolism of the muscle relaxant succinylcholine. Pharmacol Ther, 47 (1), 35-60.
- Masson, P., Lockridge, O. (2010) Butyrylcholinesterase for protection from organophosphorus poisons: catalytic complexities and hysteretic behavior. Arch Biochem Biophys,

494 (2), 107-120.

- Massoulie, J., Pezzementi, L., Bon, S., Krejci, E., Vallette, F.M. (1993). Molecular and cellular biology of cholinesterases. *Prog Neurobiol*, 41 (1), 31-91.
- Massoulie, J., Perrier, N., Noureddine, H., Liang, D., Bon, S. (2008). Old and new questions about cholinesterases. *Chem Biol Interact*, 175 (1-3), 30-44.
- McHardy, S.F., Wang, H.L., McCowen, S.V., Valdez, M.C. (2017). Recent developments in Acetylcholinesterase Inhibitors and Reactivators: an update in the patent literature (2012-2015). *Expert Opin Ther Pat*. 27 (4): 455-476.
- Mehrotra, S., Rawat, A.K.S., Shome, U. (1999). Pharmacognostic evaluation of the flower of *Alcea rosea* L. *Natural Product Sciences*. 5(1): 39-47.
- Mert, T., Fafal, T., Kivçak, B., Öztürk, H. T. (2010). Antimicrobial and Cytotoxic Activities of the Extracts Obtained from the Flowers of *Alcea Rosea* L. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, (1), 17-24.
- Mitich, L. (1998). Poison-Hemlock (*Conium maculatum* L.). *Weed Technology*, 12(1), 194-197.
- Monfared, K.E., Rafiee, Z., Jafari, S. (2012). Phenolic content and antioxidant activity of *Falcaria vulgaris* extracts. *Anal Chem Lett*. 2, 159-170.
- Mukherjee, A.K., Mackessy, S.P., Dutta, S. (2014). Characterization of a Kunitz-type protease inhibitor peptide (Rusvikunin) purified from *Daboia russelii russelii* venom. *Int J Biol Macromol*. 67, 154-162.
- Munir, M., Hussain, A., Ul-Haq, I., Qureshi, R., Munazir, M., Rshad, M., Khan, M. (2012). Callogenesis potential of cotyledonary explants of *Althaea rosea*. from Pakistan. *Pakistan J Bot*. 44: 271-75.
- Nabavi, S.M., Marchese, A., Izadi, M., Curti, V., Daglia, M., Nabavi, S.F. (2015). Plants belonging to the genus *Thymus* as antibacterial agents: From farm to pharmacy. *Food Chem*. 173, 339-347.
- Nand, P., Drabu, S., Gupta, R.K., In vitro antibacterial and antioxidant potential of medicinal plants used in the treatment of acne. 2012. *International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. Vol 4, Issue 1. s. 185-190
- Nath, B.S., Kumar, P.S., 1999. Toxic impact of organophosphorus insecticides on acetylcholinesterase activity in the silkworm, *Bombyx mori* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 157-162.
- Nelson, D.L. and Cox, M.M., 2016. *Lehninger Biyokimyanın İlkeleri*, Çeviri Editörü: Prof. Dr. Y. Murat ELÇİN, Beşinci Baskıdan Çeviri, Palme Yayıncılık.
- Oguz, G., 1972, *Türkiye Glycyrrhiza* L. türleri ile ilgili morfolojik ve taksonomik bir

- araştırma, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi İlmi Raporlar Serisi, No:114, İzmir
- Ordentlich, A., Barak D., Kronman C., Flashner Y., Leitner M., Segall Y., Ariel N., Cohen S., Velan B., Shafferman A. (1993). Dissection of the human acetylcholinesterase active center determinants of substrate specificity. Identification of residues constituting the anionic site, the hydrophobic site, and the acyl pocket. *The Journal of Biological Chemistry*. 15;268(23):17083-95.
- Ozil, M., Balaydin, H.T., Senturk, M. 2019. Synthesis of 5-methyl-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-one's aryl Schiff base derivatives and investigation of carbonic anhydrase and cholinesterase (AChE, BuChE) inhibitory properties. *Bioorganic Chemistry*. 86, 705-713.
- Palá-Paúl, J., Perez-Alonso, M.J., Velasco-Negueruela, A., Vadaré, J., Villa, A.M., Sanz, J., Brophy, J.J. (2005). Essential oil composition of the different parts of *Eryngium bourgatii* Gouan from Spain. *J Chromatogr A*. 1074(1), 235-239.
- Parveen, A., Parveen, R., Akhtar, A., Parveen, B., Siddiqui, K.M., Iqbal, M. (2020). Concepts and Quality Considerations in Unani System of Medicine. *J AOAC Int*. 1;103(3):609-633.
- Pohanka, M. 2011. Cholinesterases, a target of pharmacology and toxicology. *Biomedical Papers Olomouc*, 155 (3), 219-229.
- Punekar, N. S. 2018. *ENZYMES: Catalysis, Kinetics and Mechanisms*. Springer Nature, Singapore. ISBN 978-981-13-0784-3.
- Radić, Z., Pickering, N.A., Vellom, D.C., Camp, S., Taylor, P. (1993). Three distinct domains in the cholinesterase molecule confer selectivity for acetyl- and butyrylcholinesterase inhibitors. *Biochemistry*. 32(45), 12074-12084.
- Rajesh, R.V., Chitra, L., Layer, P.G., Boopathy, R. (2009). The aryl acylamidase activity is much more sensitive to Alzheimer drugs than the esterase activity of acetylcholinesterase in chicken embryonic brain. *Biochimie*, 91 (9), 1087-1094.
- Rechinger, K.H., 1957, *Zur Flora von Syrien, Libanon und den angrenzender Türkischen Gebiet*, n. *Arkiv for Botanik*, Band 5 nr 1, pp. 1-11.
- Ribeiz, S.R., Bassitt, D.P., Arrais, J.A., Avila, R., Steffens, D.C., Bottino, C.M. (2010). Cholinesterase inhibitors as adjunctive therapy in patients with schizophrenia and schizoaffective disorder a review and meta-analysis of the literature. *CNS Drugs*, 24, 303-317.
- Rollinger, J.M.; Schuster, D.; Baier, E.; Ellmerer, E.P.; Langer, T.; Stuppner, H. Taspine: bioactivity-guided isolation and molecular ligand-target insight of a potent acetylcholinesterase inhibitor from *Magnolia x soulangiana*. *J. Nat. Prod.*, 2006,

69, 1341-1346.

- Saeedi, M., Morteza-Semnani, K., Ghoreishi, MR., The treatment of atopic dermatitis with licorice gel. *Journal of dermatological treatment*. 2013. vol. 14. Issue 3. s. 153-157.
- Saxena, A., Redman, A.M., Jiang, X., Lockridge, O., Doctor, B.P. (1997). Differences in active site gorge dimensions of cholinesterases revealed by binding of inhibitors to human butyrylcholinesterase. *Biochemistry*, 36(48), 14642-14651.
- Salahshoor, M.R., Mohammadi, M.M., Roshankhah, S., Jalili, C. (2018). Effect of *Falcaria vulgaris* on milk production parameters in female rats' mammary glands. *J Family Reprod Health*. 12,177.
- Salahshoor, M.R., Mohammadi, M.M., Roshankhah, S., Najari, N., Jalili, C. (2019). Effect of *Falcaria vulgaris* on oxidative damage of liver in diabetic rats. *J Diabetes Metab Disord*. 18, 15-23.
- Senturk, M., *Enzyme Inhibitors and Activators*, 2017. Edited by Murat Senturk. Publisher: INTECH. ISBN 978-953-51-3058-1.
- Sezik, E., Yesilada, E., Tabata, M., Honda, G., Takaishi, Y., Fujita, T., Tanaka, T., Takeda, Y. (1997). Traditional medicine in Turkey VIII. Folk medicine in East Anatolia; Erzurum, Erzincan, Agri, Kars, Igdir provinces. *Eco Bot*. 51, 195-211.
- Shafaghat, A. (2010). Free radical scavenging and antibacterial activities, and GC/MS analysis of essential oils from different parts of *Falcaria vulgaris* from two regions. *Nat Prod Commun*. 5, 981-984.
- Shehzad, M.R., Hanif, M.A., Rehman, R., Bhatti, I.A., Hanif, A. (2020). Hollyhock. In *Medicinal Plants of South Asia*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, pp. 381-391.
- Sher, H., Al-Yemeni, M.N., Yahya, S.M., Shah, A.H. (2010). Ethnomedicinal and Ecological Evaluation of *Salvadora persica* L: A threatened medicinal plant in Arabian Peninsula. *J. Med. Plants Res.*, 4 (12): 1209-1215.
- . Shibata, S., 2000, A drug over the millennia: pharmacognosy, chemistry, and pharmacology of licorice, *Yakugaku Zasshi*, 120, 849-862.
- Singh, G., Kapoor, I.P.S., Singh, P., Heluani, C.S., Lampasona, M., Catalan, C., 2008. Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale*. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 3295-3302.
- Spiridon, I., Bodirlau, R., Teaca, C.A., (2011). Total phenolic content and antioxidant activity of plants used in traditional Romanian herbal medicine. *Cent. Eur. J. Biol.*, 6(3), 388-396.
- Stefanaki, A., Walter, T., van Andel, T. (2022). Tracing the introduction history of the

- tulip that went wild (*Tulipa sylvestris*) in sixteenth-century Europe. *Sci Rep* 12, 9786.
- Sussman, J.L., Harel M., Frolov F., Oefner C., Goldman A., Toker L., Silman, I. (1991). Atomic Structure of Acetylcholinesterase from *Torpedo Californica*: A Prototypic Acetylcholine-Binding Protein. *Science*, 253(5022), 872-879.
- . Sümbül, H., Tufan, Ö., Düşen, O., Göktürk, R.S., 2003, A new taxon *Glycyrrhiza* L.(Fabaceae) from southwest Anatolia, *Israel Journal of Plant Sciences*, 51, 71-74.
- Şahin, H., câmi'ü'l-fürs örneğinde XVI. Yüzyıl bitki isimleri. *Türkoloji araştırmaları* volume 2/2. Spring 2007. s.577
- Şerbetçi, H. 2007. Meyan (*Glycyrrhiza glabra* L.) Bitkisinin Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 108.
- Takagi, K., Ishii, Y., 1967, Peptic ulcer inhibiting properties of a new fraction from licorice root (Fm 100). I. Experimental peptic ulcer and general pharmacology, *Arzneimittel Forschung*, 17, 1544-1547.
- Talebi, A., Karimi, A., Ouguerram, K., Vahidi-Ataabadi, N., Eshraghi-Jazi, F., Mansouri, A., Nematbakhsh, M., (2014). Lack of nephroprotective efficacy of *althaea officinalis* flower extract against gentamicin renal toxicity in male rats. *Int. J. Prev. Med*, 5, 1360-1363.
- Taylor, D., Paton C., Shitij K. (2012). *Maudsley Prescribing Guidelines in Psychiatry*, 11. Bs., Wiley-Blackwell, West Sussex.
- Tougu, V. (2001). Acetylcholinesterase: Mechanism of Catalysis and Inhibition. *Current Medicinal Chemistry Central Nervous System Agents*, 1 (2), 155-170.
- Tripathi. A. (2008). Acetylcholinesterase: A Versatile Enzyme of Nervous System. *Annals of Neuroscience* 15 (4).
- . Uygun S. Batılıların Gözdesi Meyan Kökü ve Üzerine Yaşanan Emperyalist Rekabet. *Otam Derg*, Bahar 2015, s.37: 337-373
- Vermerris, W., Nicholson, R., (2006). *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer. s. 1-32.
- Wang, Y.H.; Zhang, Z.K.; Yang, F.M.; Sun, Q.Y.; He, H.P.; Di, Y.T.; Mu, S.Z.; Lu, Y.; Chang, Y.; Zheng, Q.T.; Ding, M.; Dong, J.H.; Hao, X.J. Benzylphenethylamine Alkaloids from *Hosta plantaginea* with Inhibitory Activity against Tobacco Mosaic Virus and Acetylcholinesterase. *J. Nat. Prod.*, 2007, 70, 1458-1461
- Yadegari, M., Khazaei, M., Mirhoseini, M. (2015). Microscopical evaluation of healing effect of *Falcaria Vulgaris* extract on aspirin-induced gastric ulcer in rats. *Toxicol Int.* 22, 29-35.

- Yashaswini, S., Hegde, R.V., Venugopal, C.K. (2011). Health And Nutrition From Ornamentals. International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy, 2(2), 375-382.
- Zeybek AU, Özgüç S (2019). Mide Hastalıklarında Fitoterapi. Modern ve Rasyonel Fitoterapi. 1.baskı Dünya tıp kitapevi. Ankara.p.99-101.
- Zilbeyaz, K., Stellenboom, N., Guney, M., Oztekin, A., Senturk, M. 2018. Effects of aryl methanesulfonate derivatives on acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. J. Biochem. Mol. Toxicol. 32:e22210.
- Zhang D, Gan R Y, Ge Y Y, Yang Q, Ge J, Li H B, Corke H. (2018). Research progress on the antibacterial mechanisms of carvacrol: a mini review. BCHD. 2018;1: 71–81.

