

NERMİN ÇAKMAK

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL-2022



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

CARDOPATIUM CORYMBOSUM BİTKİSİNİN
ÇEŞİTLİ ENZİMLERİ İNHİBE EDİCİ VE
ANTIOKSİDAN ETKİLERİNİN ÖLÇÜLMESİ

NERMİN ÇAKMAK

DANIŞMAN
DOÇ. DR. TUĞBA YILMAZ ÖZDEN

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
BİYOKİMYA YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

İSTANBUL-2022

İTHAF

Eşim, oğlum, annem, babam ve danışman hocama ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

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

Lisansüstü eğitimim boyunca bana destek olan eski Biyokimya Anabilim Dalı Başkanlarından Prof. Dr. Ayşe CAN ve Prof. Dr. Nuriye AKEV'e, şimdiki Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Pınar AKSOY SAĞIRLI'ya ve Biyokimya Anabilim Dalı'nın tüm öğretim üyeleri ve yardımcılara,

Çalışmalarım sırasında laboratuvarında deneylerin yapılmasında ve değerlendirilmesinde bana büyük bir katkı sağlayan Araş. Gör. Dr. Gözde HASBAL ÇELİKOK'a ve Araş. Gör. Servet DURANAY'a,

Bitki örneklerinin toplanması ve teşhisi için İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Bahar GÜRDAL ABAMOR'a, ve Altınbaş Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı'nda görevli Dr. Öğr. Üyesi Ebru ÖZDEMİR NATH'a,

Her zamanda yanımda olan aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 36093

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	X
ÖZET	Xİİ
ABSTRACT.....	Xİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Antioksidanlar.....	4
2.1.1.1. Doğal Antioksidanlar	5
2.2. Diyabet.....	7
2.2.4. Diyabet Tedavisinde Enzim İnhibitörleri.....	10
2.3. Alzheimer Hastalığı	11
2.4. Kanser	15
2.4.1. Kanser Tedavisinde Tioredoksin Redüktaz İnhibisyonu	16
2.5. Cilt Yaşlanması.....	18
2.5.1. Cilt Yaşlanmasını Önlemede Enzim İnhibitörleri.....	18
2.6. <i>Cardopatum corymbosum</i>	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	20
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	20
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	21
3.3. Bitki Materyali	21
3.4. Kullanılan Yöntemler.....	21
3.4.1. Ekstrelerin Hazırlanması.....	21
3.4.2. Total Fenolik Bileşiklerin Tayini	22
3.4.3. Total Flavonoid Bileşiklerin Tayini:	22

3.4.4. LC-MS/MS Analizi.....	23
3.4.5. Antioksidan Aktivite Tayini.....	24
3.4.5.1. DPPH Radikali Giderici Aktivite Tayini	24
3.4.5.2. Demir(III) İyonu Redükleyici Antioksidan Potansiyeli (FRAP) Tayini.....	25
3.4.6. Antidiyabetik Aktivite Tayini	26
3.4.6.1. α -Glukozidaz İnhibe Edici Aktivite Tayini.....	26
3.4.6.2. α -Amilaz İnhibe Edici Aktivite Tayini	27
3.4.7. Anti-Alzheimer Aktivite Tayini.....	28
3.4.7.1. AChE İnhibe Edici Aktivite Tayini.....	28
3.4.7.2. BChE İnhibe Edici Aktivite Tayini.....	29
3.4.8. TrxR İnhibe Edici Aktivite Tayini	31
3.4.9. Elastaz İnhibe Edici Aktivite Tayini	31
4. BULGULAR.....	33
4.1. <i>C. corymbosum</i> Ekstrelerinin LC-MS/MS Analizi.....	33
4.2. <i>C. corymbosum</i> Ekstrelerinin Total Fenolik ve Flavanoid Miktarları	36
4.3. <i>C. corymbosum</i> Ekstrelerinin DPPH Radikali Giderme Aktivitesi	37
4.4. <i>C. corymbosum</i> Ekstrelerinin Ferri İyonu Redükleme Antioksidan Gücü (FRAP)	38
4.5. <i>C. corymbosum</i> Ekstrelerinin Antidiyabetik Aktiviteleri	39
4.6. <i>C. corymbosum</i> Ekstrelerinin Anti-Alzheimer Aktiviteleri	40
4.7. <i>C. corymbosum</i> Ekstrelerinin TrxR İnhibe Edici Aktiviteleri	41
4.8. <i>C. corymbosum</i> Ekstrelerinin Elastaz İnhibe Edici Aktiviteleri	42
5. TARTIŞMA	43
KAYNAKLAR	48
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	58
ÖZGEÇMİŞ	59

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 4-1: LC-MS/MS analizi ile <i>C. corymbosum</i> ekstralarında tayin edilen bileşikler ve miktarları (mg/kg)	34
Tablo 4-2: <i>C. corymbosum</i> ekstralarının total fenol ve flavonoid miktarları	36
Tablo 4-3: <i>C. corymbosum</i> ekstraları ve kersetinin DPPH radikali giderici aktiviteleri	37
Tablo 4-4: <i>C. corymbosum</i> ekstraları ve kersetinin demir indirgeyici güçleri	38
Tablo 4-5: <i>C. corymbosum</i> ekstraları ve akarbozun α -glukozidaz inhibe edici aktiviteleri	39
Tablo 4-6: <i>C. corymbosum</i> ekstraları ve galantaminin AChE ve BChE inhibe edici aktiviteleri	40
Tablo 4-7: <i>C. corymbosum</i> ekstraları ve kurkuminin TrxR inhibe edici aktiviteleri.....	41
Tablo 4-8: <i>C. corymbosum</i> ekstraları ve ursolik asitin elastaz inhibe edici aktiviteleri .	42

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Antioksidanların sınıflandırılması.....	5
Şekil 2-2: Alzheimer beyninin anatomisi (DeTure ve ark. 2019).....	12
Şekil 2-3: Çeşitli asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz inhibitörlerinin kimyasal formülleri.	14
Şekil 2-4: Asetilkolinin AChE tarafından hidrolizi	14
Şekil 2-5: Tiyoredoksin sistem	17
Şekil 2-6: <i>Cardopatum corymbosum</i> Yamanlar Dağı, İzmir (Temmuz 2019).....	19
Şekil 4-1: <i>C. corymbosum</i> ekstrelerinin LC-MS/MS kromatogramları (Her satır sırası ile etanol, methanol ve su ekstresini göstermektedir).	35
Şekil 4-2: <i>C. corymbosum</i> ekstrelerinin total fenolik ve total flavonoid miktarları	36
Şekil 4-3: <i>C. corymbosum</i> ekstreleri ve kersetinin DPPH radikali giderici aktiviteleri .	37
Şekil 4-4: <i>C. corymbosum</i> ekstreleri ve kersetinin demir indirgeyici güçleri	38
Şekil 4-5: <i>C. corymbosum</i> ekstreleri ve akarbozun α -glukozidaz inhibe edici aktiviteleri	39
Şekil 4-6: <i>C. corymbosum</i> ekstrelerinin 0,8 mg/mL konsantrasyondaki AChE ve BChE inhibe edici aktiviteleri	40
Şekil 4-7: <i>C. corymbosum</i> ekstreleri ve kurkuminin TrxR inhibe edici aktiviteleri.....	41
Şekil 4-8: <i>C. corymbosum</i> ekstrelerinin elastaz inhibe edici aktiviteleri.....	42

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

AChE	Asetilkolinesteraz
BChE	Butirilkolinesteraz
DCM	Diklorometan
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNS	3,5-dinitrosalisilik asit
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
DTNB	5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoic asit)
EC ₅₀	Yarı maksimum etkili konsantrasyon
EtOH	Etanol
FBS	Fetal bovine serum (Fetal sığır serumu)
FRAP	Demir iyonu redükleyici antioksidan potansiyeli
GSH	Glutasyon
GPx	Glutasyon peroksidaz
GR	Glutasyon redüktaz
GST	Glutasyon-S-transferaz
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
IC ₅₀	Yarı maksimum inhibisyon konsantrasyonu
LC-MS/MS	Sıvı kromatografisi-sıralı kütle spektrometresi
MeOH	Metanol
MTT	3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür
NO	Nitrik oksit
•OH	Hidroksil radikali
ONOO ⁻	Peroksinitrit anyonu
O ₂ • ⁻	Süperoksit anyonu

RNS	Reaktif nitrojen türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
TPTZ	2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazin
TrxR	Tiyoredoksin redüktaz
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
OGTT	Oral glukoz tolerans testi



ÖZET

Çakmak, N. (2022). *Cardopatum corymbosum* Bitkisinin Çeşitli Enzimleri İnhibe Edici ve Antioksidan Etkilerinin Ölçülmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.

Compositae familyası, Akdeniz, Doğu Avrupa ve Küçük Asya'da yaygın bir dağılıma sahip olan, yaklaşık 1000 cins ve 25.000 türü kapsayan çiçekli bitkilerdir. Bu türlerin bazıları antienflamatuvar, analjezik ve antipiretik potansiyellerine ek olarak, ekstreleri (kökler, gövdeler, ağaç kabuğu, yapraklar, çiçekler, meyveler ve tohumlar) ile yapılan araştırmalarda yüksek antioksidan güçleri olduğu kanıtlanmıştır. *Cardopatum corymbosum* (L.) Pers. bitkisi Compositae familyasına ait bir türdür. Bu çalışmanın amacı; *C. corymbosum* türünün etanol, metanol ve su ekstrelerinin LC-MS/MS analizi kullanılarak fitokimyasal içeriğinin, antioksidan aktivitesinin ve çeşitli enzimleri inhibe edici etkisinin ölçülerek tedavi edici potansiyelinin belirlenmesidir. Ekstrelerin antioksidan potansiyelinin belirlenmesi için total fenolik ve flavonoid içerikleri, 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal giderici aktiviteleri ve demir indirgeyici güçleri ölçüldü. Ayrıca ekstrelerin α -glukozidaz/ α -amilaz, asetilkolinesteraz (AChE)/bütirilkinesteraz (BChE), elastaz ve tiyoredoksin redüktaz (TrxR) enzimlerini inhibe edici aktiviteleri ölçülerek sırasıyla antidiyabetik, anti-Alzheimer, anti-aging ve antikanser potansiyelleri belirlendi. Sonuçlar değerlendirildiğinde, *C. corymbosum* ekstrelerindeki majör bileşiklerinin klorojenik asit, fumarik asit ve rutin olduğu tespit edildi. Metanol ekstresinin en yüksek total fenolik ve flavonoid içeriğe ve antioksidan aktiviteye sahip olduğu görüldü. Tüm ekstrelerin AChE, BChE ve elastaz üzerine düşük düzeyde, α -glukozidaz üzerine ortalama bir inhibisyon gösterdiği tespit edildi. Bununla birlikte *C. corymbosum* ekstrelerinin güçlü TrxR inhibe edici aktiviteye sahip olduğu bulundu. Çalışmamız, *C. corymbosum* bitkisinin antioksidan, antidiyabetik ve antikanser aktivitelere sahip olduğunu ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: *Cardopatum corymbosum*, Fenolik içerik, Antioksidan, Antidiyabet, Antikanser

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 36093

ABSTRACT

Çakmak, N. (2022). Enzyme Inhibitory and Antioxidant Effects of *Cardopatium corymbosum*. Istanbul University, Institute of Health Science, Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry, Masters of Science Thesis, Istanbul.

The Compositae family which is a flowering plant that has distribution in the Mediterranean, Eastern Europe and Small Asia, have about 1000 genera and 25000 species. In addition to their antiinflammatory, analgesic and antipyretic potential, some of these species have been proven to have high antioxidant power in studies with their extracts (roots, stems, bark, leaves, flowers, fruits and seeds). *Cardopatium corymbosum* (L.) Pers. is a species belonging to the Compositae family. The aim of this study is to determine the phytochemical contents, antioxidant activities and enzymes inhibitory effects of ethanol, methanol and water extracts of *C. corymbosum*. To determine the antioxidant potential of the extracts, total phenolic and flavonoid contents, 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activities and iron reducing powers were measured. In addition α -glucosidase/ α -amylase, acetylcholinesterase (AChE)/butyrylcholinesterase (BChE), elastase and thioredoxin reductase (TrxR) inhibitory activities of the extracts were evaluated to determine the antidiabetic, anti-Alzheimer, anti-aging and anticancer potentials respectively. The results showed that the major compounds in *C. corymbosum* extracts were chlorogenic acid, fumaric acid and rutin. It was observed that methanol extract had the highest total phenolic and flavonoid content and antioxidant activity. It was determined that all extracts have low inhibitory activity on AChE, BChE and elastase, and moderate inhibitory activity on α -glucosidase. However, *C. corymbosum* extracts exhibited potent TrxR inhibitory activity. In our study, it was concluded that *C. corymbosum* have antioxidant, antidiabetic and anticancer activities.

Key words: *Cardopatium corymbosum*, Phenolic content, Antioxidant, Antidiabetic, Anticancer

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No: 36093

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin (serbest radikallerin) üretimi ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengede doku hasarına yol açabilecek bir bozukluk olarak tanımlanmıştır (Betteridge 2000). Serbest radikaller, insan vücudunda doğal olarak üretilen reaktif bileşiklerdir. Olumlu etkiler (örneğin bağışıklık sistemi üzerinde) veya olumsuz etkiler (örneğin lipitler, proteinler veya DNA oksidasyonu) gösterebilirler (Finaud ve ark. 2006). Serbest radikaller, dış yörüngede eşleşmemiş bir elektrona sahip moleküllerdir, genellikle kararsızdırlar ve çok reaktiftirler. Serbest oksijen radikallerinin örnekleri, süperoksit, hidroksil, peroksil (RO_2^*), alkoksil (RO^*) ve hidroperoksil (HO_2^*) radikalleridir. Nitrik oksit ve nitrojen dioksit (*NO_2) ise nitrojen serbest radikalıdır (Fang ve ark. 2002). Antioksidanlar, serbest radikallerin oksidatif süreçlerini ve zararlı etkilerini azaltmak için hem gıdalarda hem de insan vücudunda hayati bir rol oynamaktadır. Bir antioksidan, diğer moleküllerin oksidasyonunu engelleyebilen bir moleküldür (Gülçin, 2020). Antioksidan aktiviteye sahip ana bileşik sınıfları; vitaminler (C vitamini ve E vitamini), karotenoidler (karotenler ve ksantofiller) ve polifenollerdir (flavonoidler, fenolik asitler, lignanlar ve stilbenler). Flavonoidler, fenolik asitler, tanenler, C vitamini, E vitamini gibi antioksidanlar, anti-inflamatuvar, anti-kanserojen ve anti-aterosklerotik etkiler gibi çeşitli biyolojik özelliklere sahiptir, koroner hastalıkların insidansını azaltır ve bağırsakların korunmasına katkıda bulunurlar (Oroion ve ark. 2015).

Diyabet, anormal derecede yüksek plazma glukoz seviyeleri ile karakterize, diyabetik nöropati, retinopati ve kardiyovasküler hastalıklar gibi majör komplikasyonlara yol açan yaygın bir metabolik hastalıktır. Özellikle insüline bağımlı olmayan diyabetes mellitusun tokluk hiperglisemisini azaltmak için etkili yollardan biri, sindirim organında α -glukozidaz ve α -amilaz gibi karbohidrat hidrolize edici enzimlerin inhibisyonu yoluyla glukoz emilimini geciktirmektir (Kumar ve ark. 2011).

Alzheimer hastalığı, bu yüzyılın en sık karşılaşılan nörodejeneratif hastalığıdır ve yaşlı insanlardaki bunamanın en yaygın nedenidir. Alzheimer hastalığının tanısında sosyal veya mesleki işlevlerde bozulma ile birlikte en az bir diğer bilişsel alanda bozulma ve hafıza kaybının klinik kanıtını gerekmektedir (Castellani ve ark. 2010). Alzheimer hastalığı oksidatif stres, iltihaplanma ve beynin belirli bölümlerinde

asetilkolin seviyelerinde eksiklik ile ilişkilidir. Asetilkolin oluşumunu hidrolize edebilen, asetilkolin seviyesinde azalmaya ve sinir sinyal iletiminin bozulmasına yol açan bir serin proteaz olan asetilkolinesteraz (AChE), Alzheimer hastalığının oluşumuna katkıda bulunur. Bu nedenle AChE, Alzheimer hastalığının tedavisinin bir hedefi olarak tanımlanır. AChE inhibitörü bileşikler, AChE'nin aktivitesini önleyebilir ve asetilkolinin bozulmasını azaltabilir. Butirilkolinesteraz (BChE), AChE'ye bağlı başka bir serin hidrolazdır. BChE'nin işlevi henüz tam olarak açıklanmamıştır. BChE inhibitörleri, asetilkolin konsantrasyonlarını arttırmak ve Alzheimer hastalığı kaynaklı anormal amiloid üretimini azaltmak için tanımlanmıştır.

Elastin, bağ dokularına esneklik sağlayan hücre dışı bir matris proteindir. Cilt dermisinde elastik lif oluşturur. Elastin liflerinin hasar görmesi cilt elastikiyetinin azalmasına neden olur. Elastaz, elastini parçalayabilen proteinaz enzimidir. Bu nedenle, elastaz aktivitesinin inhibisyonu, cilt yaşlanmasına karşı koruma sağlamak için bir yöntem olarak kullanılabilir (Kim ve ark. 2009).

Tiyoredoksin redüktaz (TrxR), tiyoredoksin (Trx) ve NADPH'dan oluşan tiyoredoksin sistemin bir üyesi olan TrxR, organizmada redoks reaksiyonlarının düzenlenmesine katılmaktadır. TrxR, hücre çoğalması, farklılaşması, ölümünü ve diğer önemli fizyolojik süreçleri kontrol eden redoks dengesinin korunması ve sinyal iletiminin düzenlemesi için substratı olan Trx ile birlikte çalışır. Son yıllarda, yapılan bir çok çalışma TrxR'ın artan aktivasyonunun tümör gelişimi ile ilgili olduğunu göstermiştir. TrxR inhibisyonu yolu geliştirilen antitümör ilaçlar, kansere karşı yeni tedavilerin geliştirilmesi için büyük umutlar sağlamaktadır (Bian ve ark. 2019).

Bitki türleri hala birçok aktif bileşik açısından zengin kaynaklar olarak hizmet etmektedirler. İnsanlar çeşitli bulaşıcı hastalıkları tedavi etmek için ve bazı hastalıkların tedavisi için bitkileri kullanmaktadır. Birincil tedavi için tüm kültürler şifalı bitkilere güvenmektedir (Asif 2014). Compositae familyasının dünya çapında, Akdeniz, Doğu Avrupa ve Asya'da yaklaşık 1000 cins ve 25.000 tür olarak kabul edilen bir dağılımı vardır. Yapılan çalışmalarda, bu türlerin antioksidan, antikolinesteraz, antidiyabetik, antienflamatuvar, analjezik, antibakteriyel, antitümör ve antipiretik potansiyelleri olduğu gösterilmiştir (Boussada ve ark. 2008; Bessada ve ark. 2015; Zengin ve ark. 2016; Eruygur ve ark. 2019).

Cardopatum corymbosum (L.) Pers Compositae familyasına ait bir türdür. Ülkemizde “çayırdiken”, “kurtluot”, “kurtlu diken”, “diken” ve “kuşkonmaz kökü” olarak bilinmektedir ve halk arasında cilt hastalıklarının ve bağırsak kurtlarının tedavisinde kullanılmaktadır (Tuzlacı ve Aymaz 2001; Bulut ve ark. 2017; Güneş 2018). Literatürde *C. corymbosum* bitkisine ait sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada, *C. corymbosum* bitkisinin kimyasal içeriğinin, antioksidan aktivitesinin ve çeşitli enzimleri inhibe edici etkileri ölçülerek tedavi edici potansiyelinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda, bitkinin etanol, metanol ve su ekstraktlarının sıvı kromatografisi-sıralı kütle spektrometresi (LC-MS/MS) yöntemi kullanılarak fenolik madde içeriği çalışılmış ve antioksidan aktivitesi belirlenmiştir. Ekstrelerin, α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerini inhibe edici etkileri ölçülerek antidiyabetik aktivitesi, kolinesteraz (asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz) enzimlerini inhibe edici etkileri ölçülerek anti-Alzheimer aktivitesi, elastaz inhibe edici etkileri ölçülerek anti-aging aktivitesi ve TrxR inhibe edici etkileri ölçülerek antikanser aktivitesi belirlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

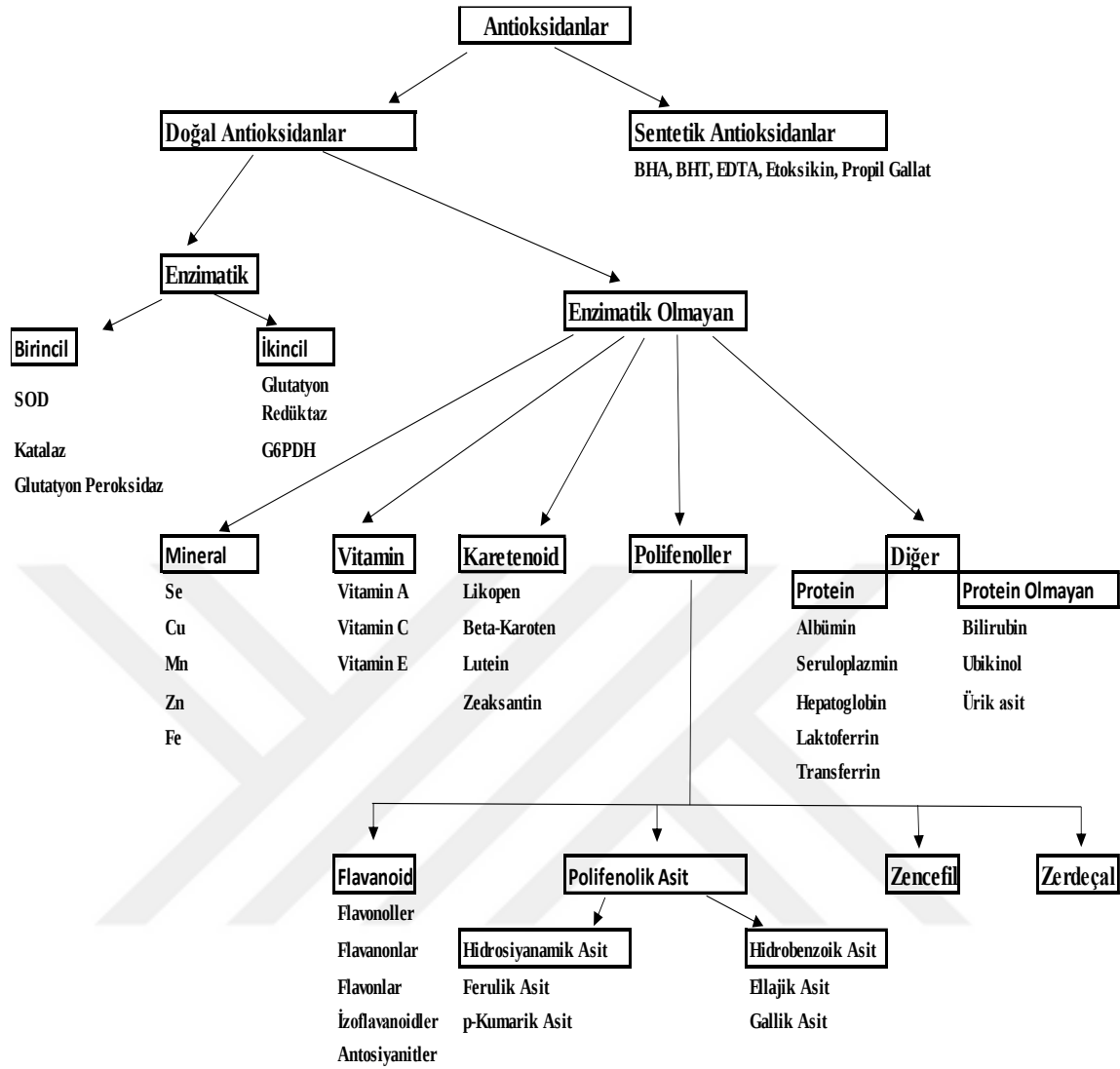
2.1. Antioksidanlar

Antioksidanların insan sağlığının korunması üzerindeki yararlı etkisi dünya çapında birçok bilim insanının ilgilendiği önemli bir konudur. Antioksidanlar, Alzheimer hastalığı, kanser, kalp hastalığı gibi hastalıklara neden olan oksidatif hücre hasarına karşı koruma sağlamaktadır ve düşük konsantrasyonda oksidatif süreci büyük ölçüde inhibe eden veya yavaşlatan, ancak sıkça oksitlenen maddeler olarak tanımlanmaktadır (Rajendran ve ark. 2014).

Oksidatif stresin hastalıklar üzerinde önemli etkileri bulunmaktadır. Oksidatif strese neden olan reaktif oksijen türleri; hidroksil radikali ($\text{HO}^\bullet$), süperoksit radikali ($\text{O}_2^{\bullet-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), singlet oksijen ($^1\text{O}_2$), hidroperoksil radikalleri ve nitrik oksittir. Reaktif oksijen türleri enzimler, proteinler, lipidler, nükleik asitler ve birçok molekülle reaksiyona girerek hücrenin farklılaşmasına ve ölümüne yol açmaktadır. Reaktif oksijen türleri diyabet, kanser, artrit ve immün sistem ve endokrin bozuklukları gibi bir çok hastalığa yol açmaktadır (Patlevic ve ark. 2016). Antioksidanlar ise reaktif oksijen türlerinin birikmesini engelleyen ve vücuttan atılmasını sağlayan maddelerdir (Rajendran ve ark. 2014).

2.1.1 Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar kaynaklarına göre doğal ve sentetik olarak iki sınıfa ayrılırlar (Şekil 2-1) (Brar ve ark. 2014).



Şekil 2-1: Antioksidanların sınıflandırılması

2.1.1.1. Doğal Antioksidanlar

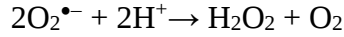
Doğal antioksidanlar insan vücudunda metabolik süreçler sonucu sentezlenir ya da diğer doğal kaynaklardan desteklenerek sentezlenir. Aktiviteleri büyük ölçüde fiziksel ve kimyasal özelliklerine ve etki mekanizmalarına bağlıdır. Doğal antioksidanlar, enzimatik antioksidanlar ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak iki kategoriye ayrılabilir (Brar ve ark. 2014).

2.1.1.1.1 Enzimatik Antioksidanlar

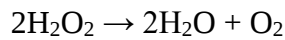
Birincil Antioksidanlar

Süperoksit Dismutaz; Süperoksit dismutaz (SOD), süperoksit radikalini ($O_2^{\bullet-}$) ortadan kaldırır ve serbest radikalden zarar görmüş vücut hücrelerini onarır. SOD, süperoksit anyonlarının hidrojen peroksit'e indirgenmesini kataliz eder. SOD'nin ayrıca

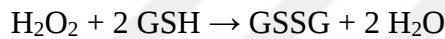
peroksinitrit oluşturmak için nitrik oksiti inaktive eden süperoksit anyonu için nitrik oksit ile rekabet ettiği bilinmektedir. Bu nedenle, süperoksit anyonlarını temizleyerek nitrik oksitin aktivitesini artırır (Brar ve ark. 2014)



Katalaz; Katalaz (CAT) kanda ve canlı hücrelerin çoğunda bulunur ve H_2O_2 'yi su ve oksijene ayırıştırır. Katalaz, oksijeni uzaklaştırarak, meyve sularının, yumurta sarısından oluşan kremanın ve salatanın ticari olarak korunmasında kullanılmaktadır (Brar ve ark. 2014).

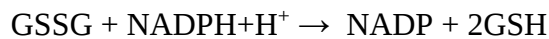


Glutasyon Peroksidaz; Glutasyon peroksidaz (GPx) selenyum bağımlı bir enzim grubudur ve sitosolik, plazma, fosfolipid hidroperoksit ve gastrointestinal glutasyon peroksidazdan oluşur. GPx, indirgenmiş glutasyon (GSH) ile H_2O_2 'nin reaksiyonunu katalize eder ve okside GSSG oluşur (Brar ve ark. 2014).



İkincil Antioksidanlar

Glutasyon redüktaz (GR) ve glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PDH) ikincil antioksidanlardır. G6PDH, NADPH üretir ve ikincil enzim olan GR, NADPH kullanarak indirgenmiş glutasyonu (GSH) geri dönüştürür (Brar ve ark. 2014).



2.1.1.1.2 Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

Mineraller; Bunların çoğu antioksidan enzimlerin ko-faktörü olan selenyum, bakır, demir, çinko ve manganez gibi minerallerdir (Hamid ve ark. 2010).

Vitamin A; Beta-karoten, aktif A vitaminine dönüşebilen, provitamin olarak kabul edilen karotenoidlerin yağda çözünen bir üyesidir. En iyi singlet oksijen giderici olarak bilinen güçlü bir antioksidandır (Pham-Huy ve ark. 2008).

Vitamin C; İnsanlarda C vitamininin alınması hayati önem taşımaktadır. C vitamini bir elektron donörüdür ve insanlarda suda çözünebilen güçlü bir antioksidandır. C vitamini esas olarak meyve ve sebzelerde bulunur. Epidemiyolojik çalışmalar, meyve ve sebze ağırlıklı diyetlerin daha düşük kardiyovasküler hastalık, felç ve kanser riski ve daha uzun ömür ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Padayatty ve ark. 2003).

Vitamin E; E vitamini, α - tokoferolün en yüksek biyolojik aktiviteye sahip olduğu tokoferol ve tokotrienol grubudur. E vitamini yağda çözünen, zincir reaksiyonları antioksidanları kıran bir vitamindir. Tokoferollerin güçlü antioksidan özelliklerinden dolayı, α -tokoferolün oksidatif stres ile ilişkili olduğu düşünölen kronik hastalıkların önlenmesindeki etkisi araştırılmış ve faydalı etkileri gösterilmiştir (Brigelius ve ark. 1999).

Polifenoller: Bitkilerde bol miktarda bulunan organik bileşikler olan polifenoller, son yıllarda beslenmede daha fazla ilgi görmeye başlamıştır. Araştırmalar, polifenol tüketiminin metabolizma, kilo, kronik hastalık ve hücre çoğalmasının düzenlenmesiyle sağlıkta hayati bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Şimdiye kadar 8.000'den fazla polifenol tanımlanmıştır, ancak bunların insan sağlığı üzerine kısa ve uzun vadeli etkileri tam olarak karakterize edilmemiştir. Hayvan, insan ve epidemiyolojik çalışmalar, çeşitli polifenollerin kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif bozukluklar, kanser ve obezite için önleyici ve/veya tedavi edici etkileri olabilecek antioksidan ve antienflamatuvar özelliklere sahip olduğunu göstermektedir. Polifenolik bileşiklerin stabilize kimyasal kompleksler oluşturarak serbest radikalleri etkisiz hale getirdiğini ve böylece daha fazla reaksiyonu engellediğini öne süren teori "biyokimyasal süpürme teorisi" dir (Cory ve ark. 2018).

Diğer Antioksidanlar

Geçiş Metali Bağlayıcı Proteinler: Albümin, seruloplazmin, hepatoglobin ve transferrin, insan plazmasında bulunan geçiş metali bağlayıcı proteinlerdir, geçiş metalleriyle bağlanır ve metal katalizli serbest radikallerin üretimini kontrol eder. Albümin ve seruloplazmin bakır iyonu tutucularıdır, hepatoglobin hemoglobin ayırıcıdır ve transferrin serbest demir ayırıcı görevi görür (Brar ve ark. 2014).

Protein Olmayan Antioksidanlar: Bilirubin, ürik asitler ve ubiquinol, serbest radikalleri temizleyerek oksidasyon süreçlerini inhibe eden, protein olmayan antioksidanlardır (Brar ve ark. 2014).

2.2. Diyabet

2.2.1 Diyabetin Tarihçesi

Diabetes mellitus, antik çağlardan beri bilinmektedir. Mısır papirüslerinde, eski Hint ve Çin tıp literatüründe ve ayrıca eski Yunan ve Arap doktorların çalışmalarında

diyabetle ilgili bazı bilgiler bulunmuştur. MS 2. yüzyılda Kapadokya’da yaşamış olan Yunan bilgini Aretaeus şeker hastalığının ilk doğru tanımını yapmıştır. 17. yüzyılda Thomas Willis, idrarın aşırı tatlı tadı için mellitus terimini hastalığa eklemiştir. 19. yüzyılda Fransız fizyolog Claude Bernard’ın karaciğerin glikojenik etkisi üzerine yaptığı önemli çalışma, hastalık çalışmasında daha fazla ilerlemeyi sağlamıştır. 1889 yılında Oskar Minkowski ve Joseph von Mering, bir köpekten pankreası çıkararak şiddetli ve ölümcül diyabete sebep olan ünlü deneylerini gerçekleştirmişlerdir. 1921’de, Frederick Banting ve Charles Best, Minkowski’nin ve Mering’in deneyini genişletmişlerdir. İnsülini pankreas adacıklarından izole ederek tip 1 diyabet hastalarına uygulamışlar ve böylece milyonların hayatını kurtararak diyabet tedavisinde yeni bir çağ başlatmışlardır (Karamanou ve ark. 2016; Can 2018).

2.2.2 Diyabetin Tanımı ve Tanısı

Diyabet, insülin salgılanmasındaki eksiklikten kaynaklanan metabolik bir hastalıktır. Hastalık, genel popülasyonda obezitede ve yaşlılıktaki artışla birlikte gelişmektedir. 2014 yılında, 18 yaş üzeri yetişkin nüfusun %8,5’inde diyabet hastalığı görüldüğü tespit edilmiştir (Dünya Sağlık Örgütü, WHO, 2021). İnsülin salgılanmasının eksikliğinde, kandaki glukoz seviyesi yükselir ve bu nedenle vücutta ciddi hasarlar meydana gelir (Wang ve ark. 2010).

Günümüzde diyabet, çok fazla görülmesi ve sebep olduğu zararlar nedeniyle önemli bir sağlık problemi haline gelmiştir. 2019 yılı itibari ile dünyadaki diyabetli hasta sayısı 463 milyondur. Bu sayının 2045 yılında 700 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir. Nüfus artışı, yaşlanma ve hareketsiz yaşam tarzının getirdiği değişim nedeniyle obezitenin artması bu yükselişin nedenlerindendir. (IDF Diabetes Atlas. IDF Diabetes Atlas Ninth Edition 2019, Erişim 3 Eylül 2021, https://diabetesatlas.org/upload/resources/material/20200302_133351_IDFATLAS9e-final-web.pdf#page=38&zoom=auto).

Artan susama, idrar hacmi, tekrarlayan enfeksiyonlar, açıklanamayan kilo kaybı ve ciddi vakalarda uyuşukluk ve koma gibi semptomlar diyabetin klinik teşhisinde önemlidir. 2003 yılında Amerikan Diyabet Cemiyeti (ADA) diyabet teşhisinde açlık plazma glukozu ve 75 g OGTT (Oral Glukoz Tolerans Testi) testinin kullanılmasını tavsiye etmiştir, Avrupa Diyabet Çalışma Cemiyeti ve WHO bu tavsiyeyi onaylamıştır (Uygur ve ark. 2017).

ADA Bildirisindeki Diyabet Tanımları:

Normal:

Açlık Plazma Glukozu < 100 mg/dL

2. saat oral glukoz tolerans testi (OGTT) < 140 mg/dL

Diyabet riski artmış grup:

Bozulmuş Açlık Glukozu : Açlık Plazma Glukozu 100-125 mg/dL

Bozulmuş Glukoz Toleransı: 75 gr OGTT 2. saat glukoz değeri 140-199 mg/dL

HbA1c: %5.7-6.4

Diyabet:

Açlık Plazma Glukozu $\geq$ 126 mg/dL

2. saat OGTT $\geq$ 200 mg/dl

HbA1c $\geq$ %6.5

2.2.3 Diyabetin Sınıflandırması

Tip 1 ve Tip 2 olmak üzere iki ana diyabet türü vardır.

Tip 1 Diyabet

Tip 1 diyabette pankreas Langerhans adacıklarının β hücrelerinin yıkılması ile mutlak insülin eksikliği görülmektedir (Kerner ve ark. 2014). Bu diyabet formu tüm diyabetiklerin %5 ila %10'unu oluşturmaktadır. WHO ve Amerikan Diyabetik Derneği, Tip 1 diyabetin otoimmün/immün aracılı diyabet (Tip 1A) ve hücre obstrüksiyonlu idiyopatik diyabet (Tip 1B) olarak ikiye ayrıldığını belirtmektedir. Bu tip diyabette, diyabetik ketoasidozu önlemek için dışarıdan insülin alınması gerekmektedir (Tripathi ve ark. 2006).

Tip 2 Diyabet

Tip 2 diyabet, yetersiz insülin salgılanması ve insülin direnci kusurlarının bir kombinasyonundan kaynaklanmaktadır ve Tip 1 diyabete göre daha yaygındır. Tip 2 diyabet hastaları dışarıdan alınan insüline bağımlı değildir, ancak tek başına diyetle veya oral hipoglisemik araçlarla kan şekeri seviyelerinin kontrolü sağlanamazsa, insuline ihtiyaç duyabilir (Tripathi ve ark. 2006).

Diğer Spesifik Diyabet Hastalıkları

Ekzokrin pankreas hastalıkları (pankreatit, kistik fibroz, hemokromatoz)

Endokrinopatiler (Cushing sendromu, akromegali, feokromositoma)

İlaça bağlı (glukokortikoidler, nöroleptikler, alfa-interferonlar, pentamidin)

Genetik fonksiyon bozuklukları

İnsülin etkisinin genetik kusurları

Diyabetle ilişkili olabilecek diğer genetik sendromlar

Enfeksiyonlar

Otomatik immün aracılı diyabetin nadir biçimleri (Kernel ve ark. 2014).

Gestasyonel diyabet

Gebelik sırasında ilk ortaya çıkan veya ilk tanı konulan glukoz tolerans bozukluklarıdır (Kernel ve ark. 2014).

2.2.4. Diyabet Tedavisinde Enzim İnhibitörleri

Enzim inhibitörleri, enzimlere bağlanarak enzimlerin aktivitelerini düşüren moleküllerdir. Pek çok ilaç enzim inhibitörüdür. Enzim aktivitesini bloke ederek metabolik dengesizliğin düzeltilmesini sağlamaktadırlar. Bu nedenle, enzim inhibitörlerinin keşfi biyokimya ve farmakolojide önemli bir araştırma alanıdır. Ayrıca enzim aktivatörleri de enzimlere bağlanarak enzim aktivitesini yükseltmektedir (Balbaa ve El Ashry 2012).

α -Amilaz ve α -Glukozidaz inhibitörleri, diyabette hiperglisemi üzerinde daha fazla kontrol sağlamak için kullanılmaktadır. α -glukozidaz ve α -amilaz, karbohidratların sindiriminde rol oynayan önemli enzimlerdir. α -Amilaz, uzun zincirli karbohidratların parçalanmasında rol oynar, nişastanın α -1,4 glikozidik bağlarının hidrolizini içeren reaksiyonda kataliz görevi görür. α -Glukozidaz ise nişasta ve disakkaritleri glukozla dönüştürür. Karbohidratların sindirim sürecinin son aşamasını α -1,4 bağlarına etki ederek ve nihai ürün olarak glukoz üreterek katalize eder (Nair ve ark. 2013).

Esas olarak karbohidrat sindirimini ve emilimini inhibe ederek etki gösteren en yaygın üç antidiyabetik ilaç şunlardır:

- Akarboz: Bu inhibitör mikrobiyal kökenlidir ve α -amilaz, sükröz ve maltaz aktivitelerini inhibe eden, diyabet tedavisi için ticari olarak temin edilebilen ilk α -glukozidaz inhibitörüdür. Akarboz, kompleks karbohidratların metabolizmasından sorumlu enzimler olan bağırsak α -glukozidazlarını tersine çevrilebilir şekilde inhibe eder (Agarwal ve ark. 2016).

Akarboz, *Actinoplanes* sp. SE50'den türetilen suşların kullanılmasıyla büyük ölçekli fermentasyonla üretilir (Wehmeier ve ark. 2004).

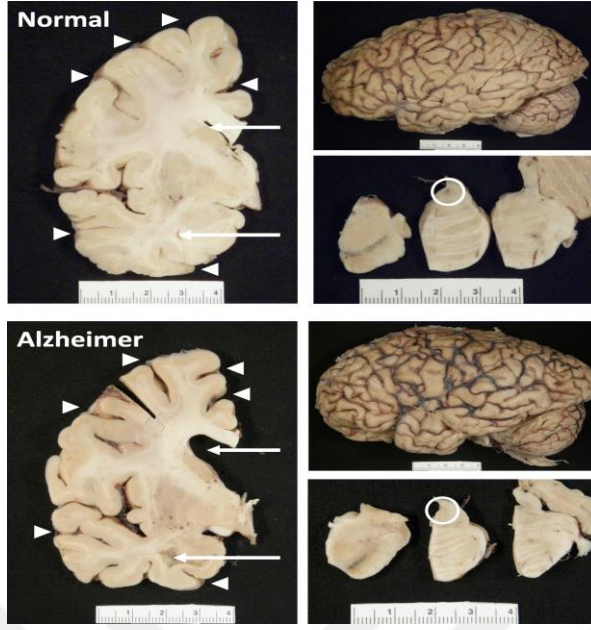
- Miglitol: Bir 1-deoksinojirimisin türevi olarak sükröz, glukozamilaz ve izomaltaz aktivitelerini güçlü bir şekilde inhibe eder (Agarwal ve ark. 2016).
- Vogliboz: α -glukozidaz, sukroz, izomaltaz ve maltaz aktivitelerini inhibe eden bakteri kökenli bir bileşiktir (Agarwal ve ark. 2016).

İlaçların istenmeyen yan etkileri araştırmacıları bitkisel kökenli kaynaklara yöneltmektedir. Bu nedenle bitkisel kökenli fenolik asitlere diyabet tedavisinde talep artmaktadır (Vinayagam ve ark. 2016). Başka bir bitkisel kaynaklı polifenolik bileşik olan kurkuminin de α -amilaz inhibisyonu yolu ile kan şekeri düzeyini düşürdüğü gösterilmiştir (Najafian 2015).

2.3. Alzheimer Hastalığı

Hafıza, bir kişinin bilgileri saklama, kaydetme, geri çağırma ve bunları çevresel koşulları bağdaştırmak için kullanma yeteneğidir. Alzheimer hastalığı, bu yüzyılın en sık karşılaşılan nörodejeneratif hastalığıdır ve yaşlı insanlardaki bunamanın en yaygın nedenidir. Alzheimer hastalarında en önemli biyokimyasal değişikliklerden biri, beyin korteks ve hipokampusundaki asetilkolin seviyelerinin azalmasıdır (Türkan ve ark. 2019).

Alzheimer hastalığını patolojik olarak incelenmesi hastalığın teşhisinde önemli rol oynar. Alzheimer hastalarının beyinde en çok multimodal bağlantı kortekslerinde ve limbik lob yapılarında belirgin olan kortikal atrofi vardır. Bu atrofının bir sonucu olarak, Şekil 2-2'de gösterildiği gibi lateral ventriküllerin frontal ve temporal boynuzlarında sıklıkla genişleme olur ve etkilenen bireylerin çoğunda beyin ağırlığında azalma gözlenir. Frontal ve temporal kortekslerde sıklıkla girus atrofisi ile birlikte genişlemiş sulkal boşluklar bulunmaktadır (DeTure ve ark. 2019).



Şekil 2-2: Alzheimer beyninin anatomisi (DeTure ve ark. 2019).

Alzheimer hastalığının ana nedeni henüz tam olarak bilinmiyor olsa da, şu ana kadar hastalıkta önemli olan iki faktör vardır: amiloid beta plakları ve nörofibriler yumaklardır. Amiloid öncü proteini, alfa ve gama-sekretaz enzimleri tarafından sindirilmektedir. Bu sindirim reaksiyonu, hücrede daha sonra parçalanabilen ve geri dönüştürülebilir bazı çözünür polipeptitler üretir. Ancak, beta-sekretaz ile gama-sekretaz birleştiğinde sorunlara yol açmaktadır. Bu birleşme, amiloid-beta olarak bilinen çözünmeyen bir peptit üretir. Amiloid-beta peptitleri bir araya toplanır ve hücre için bozulan beta amiloid plaklarını oluşturur. Bu oluşum hücre içi sinyal sürecini bozabilir, beyin ciddi şekilde hasar görebilir ve beyin hafıza gibi bazı işlevlerini kaybedebilir (Ashrafian ve ark. 2021).

Tau proteini, büyük ölçüde aksonlarda bulunan ve mikrotübülleri stabilize etmeye yarayan bir mikrotübül bağlayıcı proteindir. Alzheimer hastalığının seyri sırasında tau hiperfosforile olur, mikrotübüllerden ayrılır ve somatodendritik kompartımanda eşleştirilmiş sarmal filamentler ve düz filamentler halinde birikir. Nörofibriler yumaklar ve nöropil iplikleri, kümelenmiş tau proteininden oluşur ve bu durum bilişsel düşüş ve nöronal kayıp ile ilişkilidir (Spires-Jones ve ark. 2014).

2006 yılında dünyada 26,6 milyon Alzheimer hastalığı vakası varken 2050'ye kadar dünya çapındaki yaygınlığının dört kat artarak, 106,8 milyon kişinin Alzheimer hastalığı ile yaşayacağı öngörülmektedir (Wang ve ark. 2013).

Alzheimer Hastalığında Risk Faktörleri

Alzheimer hastalığına sebep olan risk faktörleri aşağıdaki şekilde sıralanmıştır (Özkay ve ark. 2011).

Yaşlılık

Genetik faktörler

Kafa travmaları

Miyokard infarktüsü

Atriyal fibrilasyon

İleri anne yaşı

Alkol kullanımı

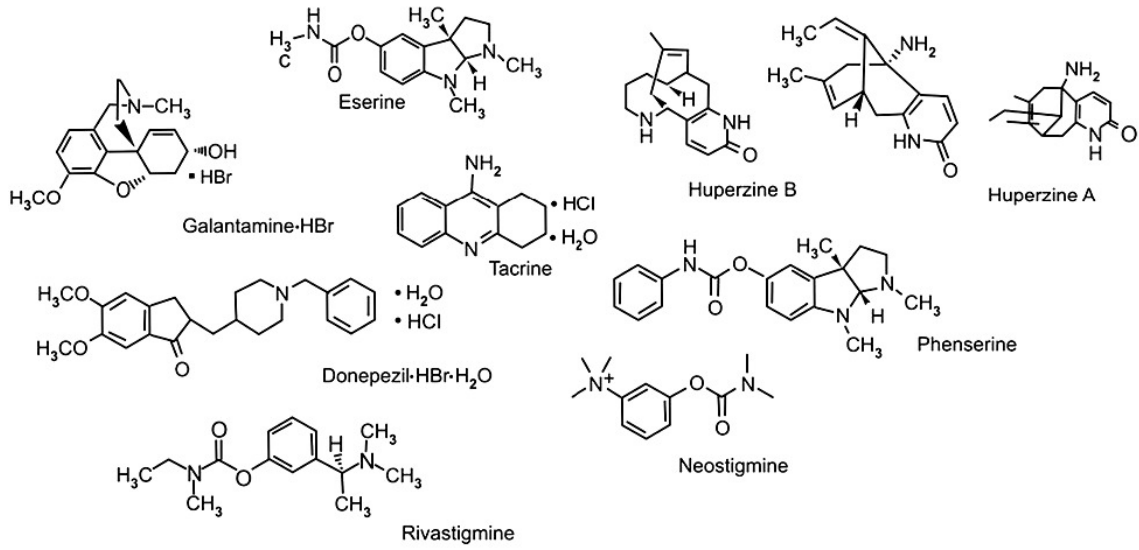
Depresyon

Eğitim düzeyinin düşüklüğü

Down sendromu

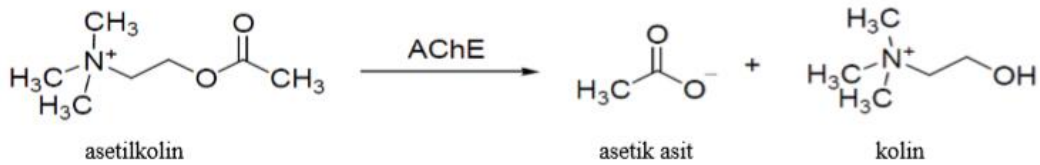
2.3.2 Alzheimer Hastalığının Tedavisinde Enzim İnhibitörleri

Alzheimer hastalığı için mevcut tedavi seçenekleri, hastalığın ilerlemesini yavaşlatmayı amaçlamaktadır. Alzheimer hastalığı tedavisi için onaylanmış ilaç grupları asetilkolin düzeylerini artırmayı amaçlayan asetilkolinesteraz (AChE) inhibitörleri ve bir N-metil-aspartat reseptör antagonisti olan memantindir (Markus ve ark. 2014). Aşağıdaki şekilde (Şekil 2-3) çeşitli AChE ve butirilkolinesteraz (BChE) inhibitörlerinin kimyasal formülleri gösterilmektedir (Szwajgier ve ark. 2012).



Şekil 2-3: Çeşitli asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz inhibitörlerinin kimyasal formülleri.

Kolinesterazlar, asetilkolinin kolinerjik nörotransmisyonun yenilenmesi için gerekli bir süreç olan kolin ve asetik asite hidrolizini kataliz eden bir enzim ailesidir (Şekil 2-4). İki kolinesteraz türü vardır: AChE (EC 3.1.1.7) ve BChE (EC 3.1.1.8). AChE'nin kas, beyin ve eritrosit zarında bol olduğu bilinirken, BChE'nin karaciğer, bağırsak, kalp, böbrek ve akciğerde daha yüksek bir aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir. İnsan kromozomları üzerinde farklı genlerin ürünleri olmalarına rağmen benzer moleküler formlara ve aktif bölgelere sahiptirler. Kolinesteraz inhibitörleri kullanılarak asetilkolin ve butirilkolinin hidrolizlerinin inhibisyonunun, sinapslarda asetilkolin ve butirilkolin seviyesini artırdığı düşünülmektedir (Özgün ve ark. 2016). Beyindeki asetilkolin aktivitesi kolinesterazların hidrolitik etkisi ile sona erer. Bu enzimlerin inhibitörleri, kolinerjik nöronların aktivitesini artırır ve dolayısıyla iltihabı baskılayabilir (Rao ve ark. 2007).



Şekil 2-4: Asetilkolinin AChE tarafından hidrolizi

Alkaloidler, karbon, hidrojen, nitrojen ve genellikle oksijen içeren doğal olarak oluşan bileşiklerdir ve esas olarak bitkilerde, özellikle bazı çiçekli bitkilerde bulunurlar. Papaveraceae (haşhaş familyası), Ranunculaceae (dügün çiçekleri) ve Amaryllidaceae (nergis zambağı) familyaları çeşitli alkaloid türleri bakımından zengindir. Alkaloidler, muskarinik ve adenozin reseptör agonistleri, antioksidan, anti-amiloid ve monoamin oksidaz inhibitörü, asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz inhibitörü olarak işlev görerek Alzheimer hastalığı dahil olmak üzere nörodejeneratif hastalıkların patofizyolojisinin iyileştirilmesinde olumlu roller üstlenirler (Hussain ve ark. 2018).

Galantamin gibi doğal alkaloidlerin veya alkaloid ile ilgili sentetik bileşiklerin (rivastigmin gibi), hafif ila orta derecede Alzheimer hastalığı tedavisinde faydalı olduğu kabul edilmektedir. Galantamin, *Galanthus woronowii* (yeşil kardelen) ve *Galanthus nivalis* (kardelen) türlerinden ve Amaryllidaceae familyasına ait bazı *Narcissus* ve *Leucojum* türlerinden izole edilmektedir. Galantamin, AChE üzerindeki aktif bölgeye rekabetçi ve tersine çevrilebilir şekilde bağlanarak asetilkolinin parçalanmasını inhibe etmektedir (Stefano Dall'Acqua 2013).

Geleneksel Çin tıbbında kullanılan *Huperzia serrata* bitkisinden izole edilen bir Likopodyum alkaloidi olan Huperzine A, Alzheimer hastalığı tedavisi için yeni bir potansiyel ilaç olarak kabul edilmektedir. Bu bileşik farelerde kortekste, hipokampusta, korpus striatusta, medial septumda, medulla oblongatada, beyincik ve hipotalamusta önemli ölçüde AChE inhibisyonu sağlar (Stefano Dall'Acqua 2013).

2.4. Kanser

Kanser, kötü huylu hücrelerin düzensiz büyümesinin bir sonucu olarak vücudun diğer kısımlarını istila etme veya yayılma potansiyeline sahip olan dizi hastalığı içerir. Her yıl 10 milyondan fazla yeni vaka ile, WHO tarafından 2030 yılına kadar yaklaşık 13,1 milyon kansere bağlı ölüm tahmini edilmektedir (Senapati ve ark. 2018). Modern çağda kanser prevalansının artmasının ana nedenleri arasında çevre kirliliği ve yaşam tarzı değişiklikleriyle birlikte uzun süreli yaşlanmanın etkileri bulunmaktadır (Nicolini ve ark. 2018).

Kanser, vücudun belirli bir bölgesindeki normal hücreler kontrolden çıkmaya başladığında gelişir. Farklı kanser türleri vardır; tüm kanser hücreleri ölmek yerine büyümeye ve yeniden bölünmeye devam eder ve yeni anormal hücreler oluşturur. Bazı kanser hücresi türleri genellikle kan dolaşımı veya lenf damarları (metastaz) yoluyla

vücudun diğer bölgelerine gider ve burada büyümeye başlarlar. Kanseri hücreleri genellikle, normal hücrelerin DNA'sının zarar görmesi nedeniyle gelişir. İnsanlar ayrıca, kalıtsal olarak ebeveynlerden hasarlı DNA'yı miras alabilirler (Sudhakar 2009).

Geniş anlamda kanser, 277'den fazla farklı kanser hastalığını ifade eder. Erkeklerde yaygın olarak görülen kanser türleri sırasıyla prostat, akciğer ve bronş, kolon, rektum ve mesanedir. Kadınlarda ise sırasıyla meme, akciğer ve bronş, kolon, rektum, uterus korpusu ve tiroid kanserleri görülmektedir (Hassanpour ve Dehghani 2017).

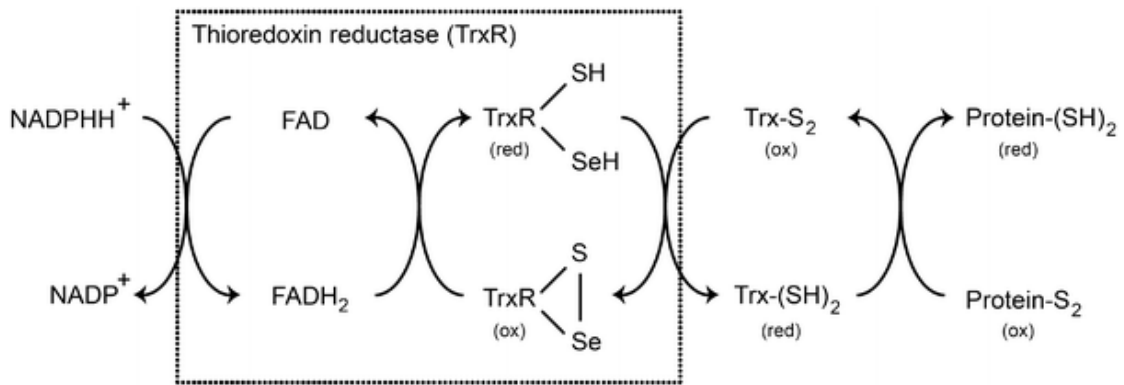
Bu kadar yaygın bir hastalık için birçok tedavi yöntemi bulunmaktadır ve yeni tedavi yaklaşımları araştırılmaya devam etmektedir. Günümüzde kullanılan tedavi yöntemleri aşağıda belirtilmektedir.

- 1- Cerrahi yöntem
- 2- Kemoterapi
- 3- Hormonal terapi
- 4- Radyasyon terapi
- 5- Adjuvan terapi
- 6- İmmünoterapi
- 7- Hedefe yönelik kanser tedavileri

2.4.1. Kanseri Tedavisinde Tiyoredoksin Redüktaz İnhibisyonu

Tiyoredoksin (Trx) ilk olarak 1964'te Laurent ve arkadaşları tarafından *Escherichia coli*'den küçük bir redoks proteini olarak tanımlanmıştır. Daha sonraları Trx ailesi üyelerinin çok sayıda ökaryotik ve prokaryotik hücrede mevcut oldukları görülmüştür (Powis ve ark. 2001). Tiyoredoksin redüktaz (TrxR), NADPH'ye bağımlı selenosistein içeren bir flavoenzimdir ve oksitlenmiş Trx'in indirgenmesini katalize eder (Şekil 2-5). Antioksidan savunma, redoks ve hücre büyümesinin düzenlenmesi gibi birçok hücresel süreç ayrıca selenyum metabolizması TrxR ile ilişkilidir. Üç farklı TrxR izoenzimi bulunmaktadır; sitosolik olarak TrxR1, mitokondriyal olarak TrxR2 ve testise özgü tiyol düzenleyici olarak TrxR3. Bu üç enzim, proteinin esnek bir C-terminal kolu üzerinde bulunan, reaktif ve çözücüyle erişilebilen bir selenosistein kalıntısı içerir. Bu selenosistein, TrxR'nin katalitik döngüsünde yer alır ve bu nedenle inhibitörler için

cazip bir bağlanma bölgesini temsil eder. Çoğu tümör hücresinin TrxR seviyeleri yükselmiştir ve TrxR'nin ilaç direncinde önemli bir rol oynadığı görülmüştür. Trx sistem, bir apoptoz inhibitörü olarak kanser hücresi büyümesini uyarmadaki rolü nedeniyle, kanseri tedavi etmek ve önlemeye yönelik ilaçların geliştirilmesi için bir hedef durumundadır. Oksidatif stresin indüksiyonundan hücre döngüsü durdurulmasına ve apoptoza kadar değişen antitümör potansiyeline sahip çok sayıda etkili doğal ve sentetik TrxR inhibitörü bulunmaktadır (Urig ve Becker 2006).



Şekil 2-5: Tioredoksin sistem

TrxR inhibitörleri doğal ve sentetik moleküller olarak iki sınıfa ayrılmaktadırlar. Bu moleküller kurkumin, şikonin, gambojik asit, sekürinin, adenantin, arsenik trioksit, alantolakton, partenolid, mirisetin, and mitomisin C'dir. Antikanser aktivitesi olan çok sayıda sentetik molekül de vardır. Örneğin Ebselen başlangıçta bir glutatyon peroksidaz mimesiği olarak geliştirilmiştir ve TrxR'nin güçlü bir inhibitörü olduğu bulunmuştur. Ebselen'in yapısına göre hazırlanan Ethaselenin de TrxR'yi güçlü bir şekilde inhibe ettiği ve birden fazla kanser hücresi türünün çoğalmasını engellediği görülmüştür (Zhang ve ark. 2017).

Curcuma longa bitkisinden izole edilen sarı renkli bir baharat ve pigment olan kurkuminin antioksidan, antienflamatuvar ve anti-HIV proteaz gibi çeşitli biyoaktivitelerde sahip olduğu bulunmuştur. Ayrıca, kurkuminin tümör başlangıcı ve proliferasyonunda kemopreventif bir ajanı olduğu da gösterilmiştir. Kurkuminin sahip olduğu kanser önleyici aktivitesinin, TrxR inhibe edici etkisinden kaynaklandığı öne sürülmüştür (Qiu ve ark. 2008).

2.5. Cilt Yaşlanması

Cilt yaşlanması, genetik, çevresel maruziyet, hormonal değişiklikler ve metabolik süreçler gibi çeşitli faktörlerden etkilenen karmaşık bir biyolojik olaydır. Reaktif oksijen türlerinin oluşmasının yanı sıra özellikle UV radyasyonu da cilt sağlığını olumsuz etkiler. Reaktif oksijen türleri, cildin üç boyutlu bütünlüğünü sağlayan kollajen ve elastin gibi dermisteki hücre dışı matriks proteinlerini bozan enzimlerin aktivasyonu dahil olmak üzere karmaşık moleküler yolları başlatabilir. Bu nedenle, serbest radikal temizleyici bileşikler, kozmetik bir bileşen olarak da cilt yaşlanmasını hafifletmede kullanılabilir (Wittenauer ve ark. 2015).

2.5.1. Cilt Yaşlanmasını Önlemede Enzim İnhibitörleri

Elastin, bağ dokularına esneklik sağlayan hücre dışı bir matriks proteindir. Cilt dermisinde elastik lif oluşturur ve cilt elastikiyetine etkisi bulunmaktadır. Elastin liflerinde hasar oluşması cilt elastikiyetinin azalmasına yol açar (Kim ve ark. 2009). Elastaz, bağ dokusu esnekliğini oluşturan elastinin yanı sıra kollajen, fibronektin ve diğer ekstraselüler matriks proteinlerinin yıkımından sorumlu bir proteazdır. Dermal elastin lif ağının aşırı hidrolizi, cilt elastikiyetinin kaybolmasına ve bunun sonucunda cilt sarkmasına neden olmaktadır. Bu nedenle elastaz inhibitörleri, cilt elastikiyetinin korunmasını destekleyen kırışıklık önleyici aktiviteye sahiptir ve cilt yaşlanmasına karşı kullanılacak kozmetik ürünler için potansiyel bir kaynak oluşturmaktadır (Azmi ve ark. 2014).

Ursolik asit, özellikle elma kabuğunda bol miktarda bulunan, antiinflamatuvar ve antihiperlipidemik özellikler gösteren lipofilik bir pentasiklik triterpenoiddir. Yapılan çalışmalarda ursolik asidin yaşa bağlı hastalıklara karşı etkili bir beslenme desteği ve vücut kompozisyonundaki değişiklikler ve metabolik bozukluklar için etkili olabileceği düşünülmüştür (Calvani ve ark. 2015).

2.6. *Cardopatium corymbosum*

Cardopatium Juss cinsi (Compositae), *C. amethystinum* Spach ve *C. corymbosum* (L.) Pers olmak üzere iki tür ile temsil edilmektedir (The plant list, 2013). Türkiye florasında sadece *C. corymbosum* türü bulunmaktadır (Güner ve ark. 2012). *C. corymbosum*, dünya üzerinde İtalya, Sicilya, Makedonya, Yunanistan, Girit, Doğu Ege Adaları, Rodos, Türkiye, Lübnan, Suriye ve Kıbrıs'ta dağılım göstermektedir.

Türkiye’deki dağılımı ise Tekirdağ, Çanakkale, Kocaeli, Manisa, Konya, Denizli, Antalya, Mersin, Adana ve Hatay illerindedir (Oz Arık 2018).

C. corymbosum türü ülkemizde “çayırdiken”, “kurtluot”, “kurtlu diken”, “diken” ve “kuşkonmaz kökü” olarak bilinmektedir (Tuzlacı ve Aymaz 2001; Bulut ve ark. 2017; Güneş 2018). *C. corymbosum*’un üzerine yapılan etnobotanik çalışmalarda; bitkinin Kıbrıs’ta sindirim sistemi hastalıklarında (Gonz’alez-Tejero ve ark. 2008), Edirne bölgesinde siğiller ve cilt hastalıklarında (Güneş 2018) ve Denizli bölgesinde bağırsak kurtlarına karşı (Bulut ve ark. 2017) kullanımının olduğu bildirilmiştir. Literatürde *C. corymbosum* türünün kimyasal içeriği ve biyolojik aktiviteleri üzerine sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada İzmir’den toplanan *C. corymbosum* türünün (Şekil 2-6) kimyasal içeriğinin, antioksidan aktivitesinin ve çeşitli enzimleri inhibe edici etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.



Şekil 2-6: *Cardopatum corymbosum* Yamanlar Dağı, İzmir (Temmuz 2019)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bitki ekstralarının hazırlanmasında etanol (Riedel 32221) ve metanol (Merck 106008), hazırlanan ekstraların çözülmesinde dimetil sülfoksit (DMSO; Sigma D8418),

Total fenolik bileşiklerinin tayininde; sodyum karbonat (Na_2CO_3 ; Merck 106398), Folin Ciocalteu ayırıcı (Sigma F9252) ve gallik asit (Sigma G7384),

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

2,2'-difenil-1-pikril-hidrazil (DPPH) radikali giderici antioksidan aktivite tayininde; DPPH (Sigma D9132) ve kersetin (Fluka 83370),

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

α -Glukozidaz inhıbe edici aktivite tayinine; α -glukozidaz (Sigma G5003), p-nitrofenil- α -D-glukopiranozid (pNPG; Fluka 73673) ve akarboz (Sigma A8980),

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

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

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

Tiyoredoksin redüktaz (TrxR) inhıbe edici aktivite tayininde; TrxR deney kiti (Sigma CS0170) ve kurkumin (Sigma C1386) kullanıldı.

Elastaz inhibe edici aktivite tayininde; elastaz (Sigma E0258), N-süksinil-Ala-Ala-Ala-p-nitroanilit (STANA; Sigma S4760) ve ursolik asit (Sigma U6753) kullanıldı.

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

3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

Bitki ekstralarının hazırlanmasında; değirmen (IKA), rotaevaporatör (BUCHI, R210) ve Soxhlet aparatı, biyokimyasal analizlerde; mikrolaka okuyucu (Biotek, Eon), pH metre (Radiometer, PHM 92), hassas terazi (AND, HM 200), ultrasonik banyo (Elma, S10), otomatik pipetler (Eppendorf), vorteks (Velp scientifica) ve distile su cihazı (Labconco) kullanıldı.

3.3. Bitki Materyali

Araştırmamızda kullanılan *Cardopatum corymbosum* (L.) Pers bitkisi, Temmuz 2019 tarihinde İzmir Yamanlar Dağı'ndan toplanmıştır. Bitki örneklerinin toplanması ve teşhisi, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı'nda görevli Doç.Dr. Bahar GÜRDAL ABAMOR ve Altınbaş Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı'nda görevli Dr. Öğr. Üyesi Ebru ÖZDEMİR NATH tarafından gerçekleştirilmiştir. Toplanan bitkiler teşhis edildikten sonra, birer örnek kurutulup etiketlenerek İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu (ISTE) numarası verilerek herbaryumda referans materyali olarak saklanmıştır (ISTE No: 116888).

3.4. Kullanılan Yöntemler

3.4.1. Ekstrelerin Hazırlanması

C. corymbosum bitkisinin toprak üstü kısımları toplandıktan sonra gölgede kurutuldu ve toz haline getirildi. Toz haline getirilen bitki örnekleri ile su, etanol ve metanol ekstraları hazırlandı.

Sulu ekstrenin hazırlanması; 15 g kurutulmuş bitki örneği 150 mL distile su içinde kaynayanaya kadar ısıtıldı. Soğutulduktan sonra tülbentten süzüldü ve -80°C 'de

dondurulduktan sonra liyofilize edildi. Elde edilen su ekstresi daha sonra kullanılmak üzere ufak cam kaplara konularak -20°C’de saklandı.

Etanol ve metanol ekstralarının hazırlanması; 15 g kurutulmuş bitki örneği Soxhlet cihazında 150 mL etanol ve metanol ile ayrı ayrı reflüks edildi ve sonrasında çözücüler rotaevaporatör ile alçak baskıda kuruyana kadar uçuruldu. Elde edilen etanol ve metanol ekstraları daha sonra kullanılmak üzere ufak cam kaplara konularak -20°C’de saklandı.

3.4.2. Total Fenolik Bileşiklerin Tayini

C. corymbosum ekstralarında bulunan total feneolik bileşiklerin tayini Folin-Ciocalteu ayırıcı kullanılarak yapıldı (Slinkard ve Singleton, 1977).

Kullanılan çözeltiler

%2’lik Na₂CO₃ çözeltisi: 2 g Na₂CO₃, distile su ile çözülüp 100 mL’ye tamamlandı.

Stok gallik asit çözeltisi: 5 mg gallik asit, 1 mL distile su ile çözülerek stok gallik asit çözeltisi hazırlandı (5 mg/mL). Bu stok çözeltinin distile su ile yarı yarıya seyreltilmesiyle standart gallik asit çözeltileri hazırlandı.

Deneyin yapılışı: Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan *C. corymbosum* ekstraları (0,625 - 2,5 mg/mL) ve standart gallik asit çözeltilerinin (0,0625 - 0,5 mg/mL) 5 µL’si 225 µL distile su ve 5 µL Folin-Ciocalteu ayırıcı ile karıştırılarak oda sıcaklığında 3 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra 15 µL Na₂CO₃ çözeltisi ilave edilip 2 saat boyunca karanlıkta oda sıcaklığında bekletildi ve örneklerin absorbansı 760 nm’de ayıraç körüne karşı ölçüldü. Deneyler üç kez tekrarlandı ve ortalamaları alındı.

Hesaplama: Sonuçlar, hazırlanan gallik asit standart eğrisi ($y=0,7768x+0,0093$ $R^2=0,9991$) kullanılarak mg gallik asit ekivalanları (GAE)/g ekstre olarak ifade edildi.

3.4.3. Total Flavonoid Bileşiklerin Tayini:

C. corymbosum ekstralarında bulunan total flavanoid bileşikler Sakanaka ve ark. (2005) yöntemine göre tayin edildi.

Kullanılan çözeltiler

%5’lik NaNO₂ çözeltisi: 5 g NaNO₂, distile su ile çözülerek 100 mL’ye tamamlandı.

%10’luk AlCl₃ çözeltisi: 10 g AlCl₃, distile su ile çözülerek 100 mL’ye tamamlandı.

1 M NaOH çözeltisi: 4 g NaOH, distile su ile çözülerek 100 mL’ye tamamlandı.

Stok kateşin çözeltisi: 2,5 mg kateşin, 1 mL distile su ile çözülerek stok kateşin çözeltisi hazırlandı (2,5 mg/mL). Bu stok çözeltinin distile su ile yarı yarıya seyreltilmesiyle standart gallik asit çözeltileri hazırlandı.

Deneyin yapılışı: Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan *C. corymbosum* ekstreleri (0,3 - 2,5 mg/mL) ve standart kateşin çözeltilerinin (0,03 - 0,25 mg/mL) 25 µL'si üzerine 125 µL distile su ve 7,5 µL NaNO₂ çözeltisi ilave edilip 6 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Daha sonra 15 µL AlCl₃ çözeltisi eklenerek 5 dakika daha bekletildi ve karışıma 50 µL NaOH çözeltisi ve 27,5 µL distile su ilave edilerek absorbansı 510 nm'de ayıraç körüne karşı ölçüldü. Deneyler üç kez tekrarlandı ve ortalamaları alındı.

Hesaplama: Sonuçlar hazırlanan kateşin standart eğrisi ($y=1,8501x+0,0141$ $R^2=0,9995$) kullanılarak mg kateşin ekivalanları (CE)/g ekstre olarak ifade edildi.

3.4.4. LC-MS/MS Analizi

C. corymbosum ekstrelerinin sahip oldukları bileşiklerin tayini Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi İlaç Uygulama ve Araştırma Merkezi (İLMER)'nde LC-MS/MS (Sıvı Kromatografisi-Sıralı Kütle Spektrometresi) analizi yapılarak belirlendi.

Örneklerin hazırlanması: *C. corymbosum* ekstreleri balon jojeye alındı ve üzeri 5 mL metanol ile tamamlanarak ultrasonik banyoda 10 dakika bekletildi. 100 mg/L'lik internal standart çözeltisi final konsantrasyonu 3 ppm olacak şekilde örnek üzerine eklendi. Örnek 0,45 µm filtreden geçirilerek viala alındı.

Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Şartları:

Hareketli faz A: %1 Formik asit-su

Hareketli faz B: %1 Formik asit-metanol

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

Gradient:

Zaman (dk)	Akış (mL/dk)	% B
0,00	0,35	50
1,00	0,35	50
3,00	0,35	100
6,00	0,35	100
7,00	0,35	50
15,00	0,35	50

Kütle Spektrometresi (MS) Şartları:

Cihaz: Thermo ORBITRAP Q-EXACTIVE

İyon kaynağı: Elektro Sprey İyonizasyon (ESI)

Kütle tarama aralığı: 100-900 m/z

Sheath gazı akış hızı: 45 mL/dk

Aux gazı akış hızı: 10 mL/dk

Sprey voltajı: 3,80 kV

Kapiler sıcaklığı: 320°C

Aux gazı ısıtıcı sıcaklığı: 320°C

Tanımlamalar: İLMER Kütüphanesi

Çevre Şartları:

Sıcaklık: 22±5°C

Bağıl nem: 50±15 %RH

3.4.5. Antioksidan Aktivite Tayini

3.4.5.1. DPPH Radikali Giderici Aktivite Tayini

C. corymbosum ekstrelerinin DPPH radikali giderici aktivitesi Brand-Williams ve ark. (1995) tarafından geliştirilen metoda göre tayin edildi.

Kullanılan çözeltiler

Stok DPPH çözeltisi: 3,9 mg DPPH, 10 mL metanol ile çözülerek stok DPPH çözeltisi (1 mM) hazırlandı. Deney günü bu stok çözeltinin 10 kez seyreltilmesi ile DPPH çalışma çözeltisi (0,1 mM) hazırlandı.

Stok kersetin çözeltisi: 2,5 mg kersetin, 1 mL etanol ile çözülerek stok kersetin çözeltisi hazırlandı. Bu stok çözeltinin (2,5 mg/mL) etanol ile yarı yarıya seyreltilmesiyle standart kersetin çözeltileri hazırlandı.

Deneyin yapılışı: Farklı konsantrasyonlardaki *C. corymbosum* ekstreleri (0,625 - 10 mg/mL) ve referans antioksidan olarak kullanılan kersetinden hazırlanan standart çözeltilerin (0,03 - 0,25 mg/mL) 10 µL'si üzerine 240 µL DPPH çalışma çözeltisi eklenerek 30 dakika boyunca karanlıkta oda sıcaklığında bekletildi. Kontrol, ekstre veya referans yerine 10 µL çözücü konularak hazırlandı ve tüm absorbanslar 517 nm'de köre karşı ölçüldü. Deneyler üç kez tekrarlandı ve ortalamaları alındı.

Hesaplama: Örneklerin (ekstre/standart) DPPH radikali giderici aktiviteleri (%) aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar, EC₅₀ değeri (mg/mL; DPPH radikalının %50'sini gidermek için gerekli örnek konsantrasyonu) olarak ifade edildi. EC₅₀ değerleri, doz-yanıt eğrilerinden doğrusal regresyon analizi ile hesaplandı.

DPPH radikali giderici aktivite (%)

$$= \left(1 - \frac{\text{Örneğin 517'nmdeki absorbansı}}{\text{Kontrolün 517'nmdeki absorbansı}} \right) \times 100$$

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

C. corymbosum ekstrelerinin demir indirgeyici potansiyelini belirlemek için Benzie ve Strain (1996) metodu kullanıldı.

Kullanılan çözeltiler

40 mM HCl çözeltisi: Derişik HCl (%36'lık ve d=1,19)'den 82,8 mL alınıp distile su ile 1 L'ye seyreltilerek 1 M HCl çözeltisi hazırlandı. Daha sonra bu çözeltiden 4 mL alınıp distile su ile 100 mL'ye seyreltilerek 40 mM HCl çözeltisi hazırlandı.

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

20 mM FeCl₃ çözeltisi: 27 mg FeCl₃.6H₂O, 5 mL distile su çözüldü.

0,3 M Asetat tamponu (pH 3,6): 3,1 g sodyum asetat, 800 mL distile su ile çözüldü ve derişik asetik asit eklenerek pH'sı 3,6'ya ayarlandı. Daha sonra bu çözeltinin hacmi distile su ile 1 L'ye tamamlandı.

1,5 mM Demir sülfat çözeltisi: 0,02 g FeSO₄.7H₂O, distile su ile çözülerek 50 mL'ye tamamlandı. Bu stok çözeltinin distile su ile yarı yarıya seyreltilmesiyle standart demir sülfat çözeltileri hazırlandı.

FRAP ayıracı: 20 mL asetat tamponu, 2 mL TPTZ çözeltisi ve 2 mL FeCl₃ çözeltisinin karıştırılması ile deney öncesinde taze olarak hazırlandı ve 37°C'lik su banyosunda tutuldu.

Stok kersetin çözeltisi: 2,5 mg kersetin, 1 mL etanol ile çözülerek stok kersetin çözeltisi hazırlandı. Bu stok çözeltinin (2,5 mg/mL) distile su ile yarı yarıya seyreltilmesiyle standart kersetin çözeltileri hazırlandı.

Deneyin yapılışı: Farklı konsantrasyonlardaki *C. corymbosum* ekstrelerinin (0,625 - 10 mg/mL), referans antioksidan kersetinden hazırlanan standart çözeltilerin (0,03 - 0,25 mg/mL) ve demir sülfat standart çözeltilerinin (0,2 - 1,5 mM) 10 µL'si ve 20 µL DMSO 10 dakika boyunca 37°C'de inkübe edildi. Sonrasında 270 µL FRAP ayırıcı bu karışıma ilave edilerek 4. dakikadaki absorbens değeri 593 nm'de köre karşı ölçüldü. Deneyler üç kez tekrarlandı ve ortalamaları alındı.

Hesaplama: Sonuçlar hazırlanan demir sülfat standart eğrisi ($y=0,6908x-0,0321$ $R^2=0,9998$) kullanılarak FRAP değerleri (mM Fe^{2+} ; 1 mM $Fe(III)$ 'ün $Fe(II)$ 'e indirgenmesi olarak ifade edildi.

3.4.6. Antidiyabetik Aktivite Tayini

3.4.6.1. α -Glukozidaz İnhibe Edici Aktivite Tayini

C. corymbosum ekstrelerinin α -glukozidaz inhibe edici aktiviteleri Bothon ve ark.'nın (2013) metodunda bazı değişiklikler yapılarak tayin edildi.

Kullanılan çözeltiler

20 mM Sodyum-fosfat tamponu (pH 6,8): 0,79 g $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ ve 0,89 g $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ distile su ile çözülerek hacmi 250 mL'ye tamamlandı. Çözeltinin pH'sı 6,8'e ayarlandıktan sonra içerisine 0,098 g NaCl eklenerek çözünmesi sağlandı.

1 mM pNPG çözeltisi: 0,006 g pNPG, 20 mL Na-fosfat tamponu eklenerek çözüldü.

1 U/mL α -Glukozidaz çözeltisi: *Saccharomyces cerevisiae* kaynaklı 100 U'luk α -glukozidazın distile suda çözülmesi ile hazırlanan stok enzim çözeltisi (100 U/mL) deneyde kullanılacağı zaman sodyum-fosfat tamponu ile 1 U/mL'ye seyreltilti.

Stok akarboz çözeltisi: 5 mg akarboz, 1 mL distile su ile çözülerek stok akarboz çözeltisi hazırlandı. Bu stok çözeltinin (5 mg/mL) etanol:su (1:1) karışımı ile yarı yarıya seyreltilmesiyle standart akarboz çözeltileri hazırlandı.

Deneyin yapılışı: Farklı konsantrasyonlardaki *C. corymbosum* ekstrelerinin (0,625 - 10 mg/mL), referans antidiyabetik olarak kullanılan akarbozdan hazırlanan standart çözeltilerin (0,3 - 5 mg/mL) 25 µL'si üzerine 75 µL Na-fosfat tamponu ve 50 µL α -glukozidaz çözeltisi eklenerek 37°C'de 10 dakika boyunca inkübe edildi. Daha sonra bu karışıma 50 µL pNPG çözeltisi eklendi ve 405 nm'deki absorbens artışları 37°C'de 5

dakika süresince köre karşı ölçüldü. Kontrol, ekstre veya referans yerine 25 µL çözücü konularak hazırlandı. Deneyler üç kez tekrarlandı ve ortalamaları alındı.

Hesaplama: Örneklerin (ekstre/standart) α -glukozidaz inhibe edici aktiviteleri (%) aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar, IC_{50} değeri (mg/mL; α -glukozidazı %50 oranında inhibe etmek için gerekli örnek konsantrasyonu) olarak ifade edildi. IC_{50} değerleri, doz-yanıt eğrilerinden doğrusal regresyon analizi ile hesaplandı.

α – glukozidaz inhibe edici aktivite (%)

$$= \left(1 - \frac{\text{Örneğin 405'nmdeki absorbens değişimi}}{\text{Kontrolün 405'nmdeki absorbens değişimi}} \right) \times 100$$

3.4.6.2. α -Amilaz İnhibe Edici Aktivite Tayini

C. corymbosum ekstrelerinin α -amilaz inhibe edici aktiviteleri Ali ve ark. (2006)'nın metodunda bazı değişiklikler yapılarak tayin edildi.

Kullanılan çözeltiler

20 mM Sodyum-fosfat tamponu (pH 6,8): 0,79 g $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ ve 0,89 g $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ distile su ile çözülerek hacmi 250 mL'ye tamamlandı. Çözeltinin pH'sı 6,8'e ayarlandıktan sonra içerisine 0,098 g NaCl eklenerek çözünmesi sağlandı.

%0,75'lik Nişasta çözeltisi: 75 g nişastaya bir miktar distile ilave edilerek süspansiyon haline getirildi. Daha sonra kaynamakta olan 80 mL distile suyun içine bir yandan karıştırılarak yavaş yavaş eklendi. 15 dk boyunca karıştırılarak ısıtmaya devam edildi ve soğuması beklendikten sonra distile su ile hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

2 M NaOH çözeltisi: 4 g NaOH, distile su ile çözülerek 50 mL'ye tamamlandı.

Renk ayıracı (DNS ayıracı): 2 g DNS, 70°C'lik su banyosunda ısıtılan NaOH çözeltisinin 40 mL'si ile çözüldü. Daha sonra bu karışıma 60 g sodyum potasyum tartarat ve yine 70°C'lik su banyosunda ısıtılan 100 mL distile su ilave edildi. Karışımın su banyosunda ısıtılarak çözünmesi sağlandı ve soğuması beklendikten sonra distile su ile hacmi 200 mL'ye tamamlandı.

3 U/mL α -Amilaz çözeltisi: Domuz pankreası kaynaklı 1 MU'luk α -amilazın distile suda çözülmesi ile hazırlanan stok enzim çözeltisi (22 U/mL) deneyde kullanılacağı zaman sodyum-fosfat tamponu ile 3 U/mL'ye seyreltilti.

Stok akarboz çözeltisi: 5 mg akarboz, 1 mL distile su ile çözülerek stok akarboz çözeltisi hazırlandı. Bu stok çözeltinin (5 mg/mL) etanol:su (1:1) karışımı ile yarı yarıya seyreltilmesiyle standart akarboz çözeltileri hazırlandı.

Deneyin yapılışı: Farklı konsantrasyonlardaki *C. corymbosum* ekstrelerinin (0,625 - 10 mg/mL), referans antidiyabetik olarak kullanılan akarbozdan hazırlanan standart çözeltilerin (0,125 - 1 mg/mL) 10 µL'si ile 40 µL sodyum-fosfat tamponu ve 50 µL α-amilaz çözeltisi karıştırılarak 10 dakika boyunca 25°C'de inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda karışıma 50 µL nişasta çözeltisi ilave edilip 5 dakika daha 25°C'de bekletildi. Daha sonra 75 µL renk ayırıcı konularak reaksiyon durduruldu. Tüm karışım 15 dakika boyunca 85°C'de ısıtıldı ve süre bitiminde soğutulup distile su ile 4 kez seyreltilti. Karışımın absorbansı 540 nm'de köre karşı ölçüldü. Kontrol, ekstre veya referans yerine 10 µL çözücü konularak hazırlandı. Deneyler üç kez tekrarlandı ve ortalamaları alındı.

Hesaplama: Örneklerin (ekstre/standart) α-amilaz inhibe edici aktiviteleri (%) aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar, IC₅₀ değeri (mg/mL; α-amilazı %50 oranında inhibe etmek için gerekli örnek konsantrasyonu) olarak ifade edildi. IC₅₀ değerleri, doz-yanıt eğrilerinden doğrusal regresyon analizi ile hesaplandı.

α – amilaz inhibe edici aktivite (%)

$$= \left(1 - \frac{\text{Örneğin 540'nmdeki absorbansı}}{\text{Kontrolün 540'nmdeki absorbansı}} \right) \times 100$$

3.4.7. Anti-Alzheimer Aktivite Tayini

3.4.7.1. AChE İnhibe Edici Aktivite Tayini

C. corymbosum ekstrelerinin AChE inhibe edici aktiviteleri Ellman ve ark.'nın (1961) geliştirdiği metot üzerinde kısmi değişiklikler yapılarak tayin edildi.

Kullanılan çözeltiler

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

NaHCO₃ içeren sodyum-fosfat tamponu: Sodyum-fosfat tamponunun 25 mL'sine 0,0375 g NaHCO₃ eklenerek çözünmesi sağlandı.

10 mM DTNB çözeltisi: 3,96 mg DTNB, 1 mL NaHCO₃ içeren sodyum-fosfat tamponu ile çözüldü.

75 mM ATChI çözeltisi: 0,021 g ATChI, 1 mL distile su ile çözüldü.

Ellman ayıracı: 15 mL sodyum-fosfat tamponuna 200 µL ATChI çözeltisi ve 500 µL DTNB çözeltisinin eklenmesi ile deneyden önce taze olarak hazırlandı.

0,5 U/mL AChE çözeltisi: *Electrophorus electricus* kaynaklı 500 U'luk AChE'nin 1 mL distile suda çözülmesi ile hazırlanan stok enzim çözeltisi (500 U/mL) deneyde kullanılacağı zaman sodyum-fosfat tamponu ile 0,5 U/mL'ye seyreltildi.

Stok galantamin çözeltisi: 2 mg galantamin, 1 mL distile su ile çözülerek stok galantamin çözeltisi hazırlandı. Bu stok çözeltinin (2 mg/mL) etanol:su (1:1) karışımı ile yarı yarıya seyreltilmesiyle standart galantamin çözeltileri hazırlandı.

Deneyin yapılışı: Farklı konsantrasyonlardaki *C. corymbosum* ekstrelerinin (0,625 - 20 mg/mL) ve referans AChE inhibitörü olarak kullanılan galantaminden hazırlanan standart çözeltilerin (0,006 - 0,05 mg/mL) 20 µL'si ve 220 µL Ellman ayıracı karıştırıldı. Bu karışıma 10 µL AChE çözeltisi eklendikten sonra ve 412 nm'deki absorbans artışı 25°C'de 10 dakika boyunca köre karşı ölçüldü. Kontrol, ekstre veya referans yerine 20 µL çözücü konularak hazırlandı. Deneyler üç kez tekrarlandı ve ortalamaları alındı.

Hesaplama: Örneklerin (ekstre/standart) AChE inhibe edici aktiviteleri (%) aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar, IC₅₀ değeri (mg/mL; AChE enzimini %50 oranında inhibe etmek için gerekli örnek konsantrasyonu) olarak ifade edildi. IC₅₀ değerleri, doz-yanıt eğrilerinden doğrusal regresyon analizi ile hesaplandı.

AChE inhibe edici aktivite (%)

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

3.4.7.2. BChE İnhibe Edici Aktivite Tayini

C. corymbosum ekstrelerinin BChE inhibe edici aktiviteleri Ellman ve ark.'nın (1961) geliştirdiği metot üzerinde kısmi değişiklikler yapılarak tayin edildi.

Kullanılan çözeltiler

0,1 M Sodyum-fosfat tamponu (pH 7,5): 4,45 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, distile su ile çözülerek 250 mL'ye tamamlandı. 3,9 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ distile su ile çözülerek 250 mL hacme tamamlandı. Daha sonra bu iki çözelti uygun oranda karıştırılarak karışımın pH'sı 7,5'e ayarlandı.

NaHCO_3 içeren sodyum-fosfat tamponu: Sodyum-fosfat tamponunun 25 mL'sine 0,0375 g NaHCO_3 eklenerek çözünmesi sağlandı.

10 mM DTNB çözeltisi: 3,96 mg DTNB, 1 mL NaHCO_3 içeren sodyum-fosfat tamponu ile çözüldü.

75 mM BTChI çözeltisi: 0,024 g BTChI, 1 mL distile su ile çözüldü.

Ellman ayıracı: 15 mL sodyum-fosfat tamponuna 200 μL BTChI çözeltisi ve 500 μL DTNB çözeltisinin eklenmesi ile deneyden önce taze olarak hazırlandı.

0,55 U/mL BChE çözeltisi: At serumu kaynaklı 1.2 KU'luk BChE'nin distile suda çözülmesi ile hazırlanan stok enzim çözeltisi (55 U/mL) deneyde kullanılacağı zaman sodyum-fosfat tamponu ile 0,55 U/mL'ye seyreltilti.

Stok galantamin çözeltisi: 2 mg galantamin, 1 mL distile su ile çözülerek stok galantamin çözeltisi hazırlandı. Bu stok çözeltinin (2 mg/mL) etanol:su (1:1) karışımı ile yarı yarıya seyreltilmesiyle standart galantamin çözeltileri hazırlandı.

Deneyin yapılışı: Farklı konsantrasyonlardaki *C. corymbosum* ekstrelerinin (0,625 - 20 mg/mL) ve referans BChE inhibitörü olarak kullanılan galantaminden hazırlanan standart çözeltilerin (0,025 - 0,2 mg/mL) 20 μL 'si ve 220 μL Ellman ayıracı karıştırıldı. Bu karışıma 10 μL BChE çözeltisi eklendikten sonra ve 412 nm'deki absorbans artışı 25°C'de 10 dakika boyunca köre karşı ölçüldü. Kontrol, ekstre veya referans yerine 20 μL çözücü konularak hazırlandı. Deneyler üç kez tekrarlandı ve ortalamaları alındı.

Hesaplama: Örneklerin (ekstre/standart) BChE inhibe edici aktiviteleri (%) aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar, IC_{50} değeri (mg/mL; BChE enzimini %50 oranında inhibe etmek için gerekli örnek konsantrasyonu) olarak ifade edildi. IC_{50} değerleri, doz-yanıt eğrilerinden doğrusal regresyon analizi ile hesaplandı.

BChE inhibe edici aktivite (%)

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

3.4.8. TrxR İnhibe Edici Aktivite Tayini

C. corymbosum ekstrelerinin TrxR inhibe edici aktiviteleri kitde belirtilen yönerge doğrultusunda yapıldı (Sigma CS0170).

Kullanılan çözeltiler

NADPH çözeltisi: 25 mg NADPH, 0,625 mL ultra saf su ile çözüldü.

DTNB çözeltisi: 39,6 mg DTNB, 1 mL DMSO ile çözüldü.

TrxR çözeltisi: 5 µL TrxR enzim solüsyonu 95 µL tampon ile seyreltildi.

Stok kurkumin çözeltisi: 5 mg kurkumin, 1 mL DMSO ile çözülerek stok kurkumin çözeltisi hazırlandı. Bu stok çözeltinin (5 mg/mL) DMSO ile yarı yarıya seyreltilmesiyle standart kurkumin çözeltileri hazırlandı.

Deneyin yapılışı: 5 µL TrxR çözeltisi, 5 µL tampon ve farklı konsantrasyonlardaki *C. corymbosum* ekstrelerinin (0,3 - 10 mg/mL) ve referans TrxR inhibitörü olarak kullanılan kurkuminden hazırlanan standart çözeltilerin (0,125 - 1 mg/mL) 4 µL'si karıştırılarak oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi. Daha sonra 180 µL NADPH çözeltisi ve 6 µL DTNB çözeltisi bu karışıma ilave edilerek 412 nm'deki absorbands artışı 10 dakika boyunca köre karşı ölçüldü. Kontrol, ekstre veya referans yerine 4 µL çözücü konularak hazırlandı. Deneyler üç kez tekrarlandı ve ortalamaları alındı.

Hesaplama: Örneklerin (ekstre/standart) TrxR inhibe edici aktiviteleri (%) aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar, IC₅₀ değeri (mg/mL; TrxR enzimini %50 oranında inhibe etmek için gerekli örnek konsantrasyonu) olarak ifade edildi. IC₅₀ değerleri, doz-yanıt eğrilerinden doğrusal regresyon analizi ile hesaplandı.

TrxR inhibe edici aktivite (%)

$$= \left(1 - \frac{\text{Örneğin 412'nmdeki absorbands değişimi}}{\text{Kontrolün 412'nmdeki absorbands değişimi}} \right) \times 100$$

3.4.9. Elastaz İnhibe Edici Aktivite Tayini

C. corymbosum ekstrelerinin elastaz inhibe edici aktiviteleri Moon ve ark.'nın (2010) metoduna göre tayin edildi.

Kullanılan çözeltiler

0,1 M Tris-HCl tamponu (pH 7,8): 3,02 g Tris yaklaşık 200 mL distile su ile çözülerek pH'sı 1 N HCl ile 7,8'e ayarlandı. Daha sonra hacmi distile su ile 250 mL'ye ayarlandı.

0,16 U/mL Elastaz çözeltisi: Domuz pankreası kaynaklı 45 U'luk elastazın distile suda çözülmesi ile hazırlanan stok enzim çözeltisi (45 U/mL) deneyde kullanılacağı zaman Tris-HCl tamponu ile 0,06 U/mL'ye seyreltildi.

1 mM STANA çözeltisi: 2,2 mg STANA, 5 mL Tris-HCl tamponu ile çözüldü.

Stok ursolik asit çözeltisi: 10 mg ursolik asit, 1 mL DMSO ile çözülerek stok ursolik asit çözeltisi hazırlandı. Bu stok çözeltinin (10 mg/mL) DMSO ile yarı yarıya seyreltilmesiyle standart ursolik asit çözeltileri hazırlandı.

Deneyin yapılışı: Farklı konsantrasyonlardaki *C. corymbosum* ekstrelerinin (1,25 - 20 mg/mL) ve referans elastaz inhibitörü olarak kullanılan ursolik asitten hazırlanan standart çözeltilerin (0,125 - 2 mg/mL) 10 µL'si ile 100 µL elastaz çözeltisi ve 15 µL Tris-HCl tamponu 10 dakika boyunca 37°C'de inkübe edildi. Daha sonra 75 µL STANA çözeltisi eklenerek açığa çıkan p-nitroanilin absorbansı 410 nm'de ölçüldü. Kontrol, ekstre veya referans yerine 10 µL çözücü konularak hazırlandı. Deneyler üç kez tekrarlandı ve ortalamaları alındı.

Hesaplama: Örneklerin (ekstre/standart) elastaz inhibe edici aktiviteleri (%) aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar, IC₅₀ değeri (mg/mL; elastaz enzimini %50 oranında inhibe etmek için gerekli örnek konsantrasyonu) olarak ifade edildi. IC₅₀ değerleri, doz-yanıt eğrilerinden doğrusal regresyon analizi ile hesaplandı.

Elastaz inhibe edici aktivite (%)

$$= \left(1 - \frac{\text{Ekstrenin 410'nmdeki absorbans değişimi}}{\text{Kontrolün 410'nmdeki absorbans değişimi}} \right) \times 100$$

4. BULGULAR

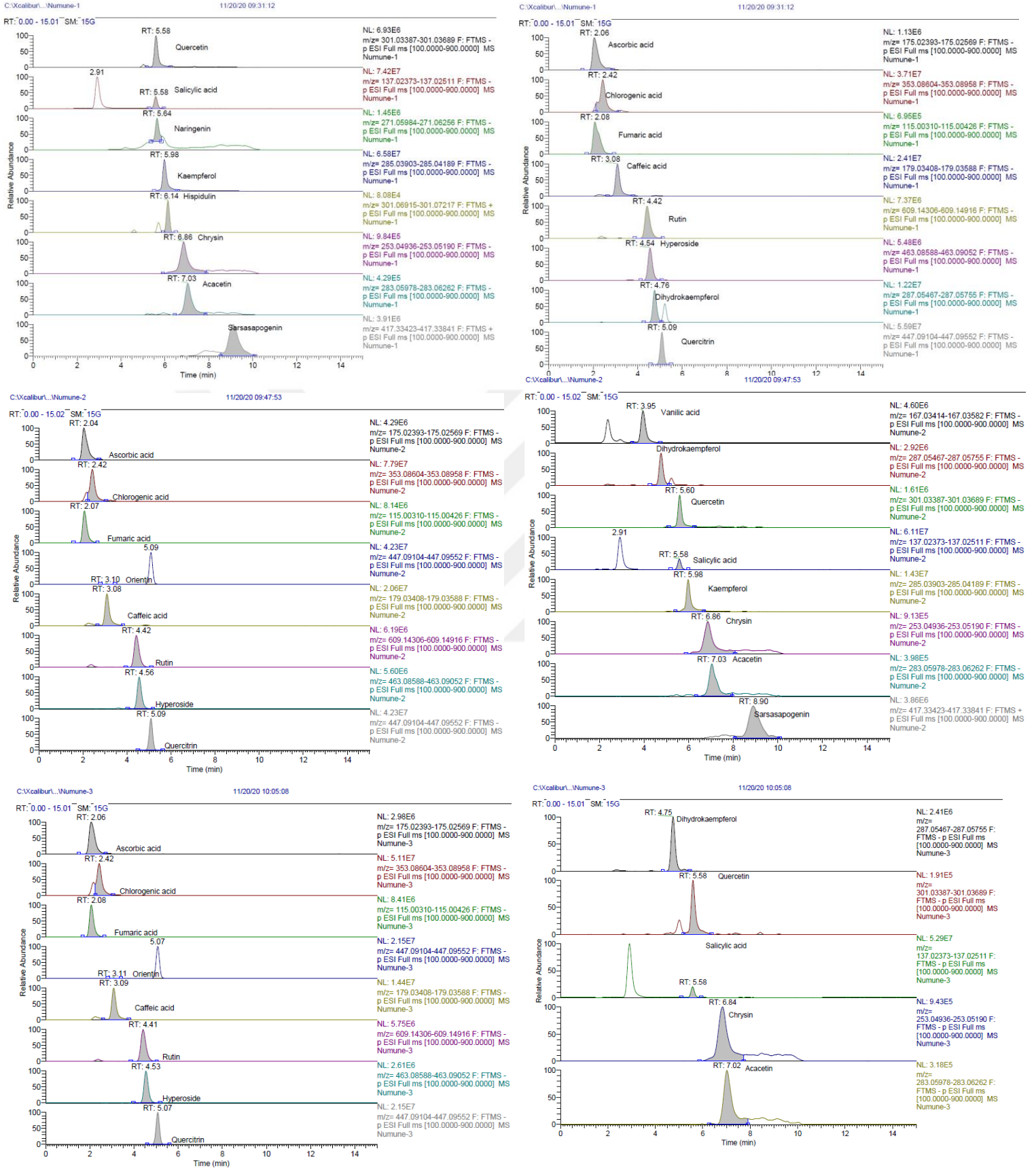
4.1. *C. corymbosum* Ekstrelerinin LC-MS/MS Analizi

C. corymbosum bitkisinden elde edilen etanol, metanol ve su ekstrelerindeki çoğu fenolik bileşik olmak üzere bazı diğer bileşiklerin kantitatif tayinleri LC-MS/MS analizi kullanılarak yapıldı (Tablo 4-1 ve Şekil 4-1). Sonuçlar incelendiğinde, etanol ekstresindeki majör bileşiğin klorojenik asit olduğu, bunu sırasıyla rutin, kuersitrin ve fumarik asitin takip ettiği görüldü. Metanol ve su ekstrelerindeki majör bileşiklerin ise sırasıyla fumarik asit ve klorojenik asit olduğu ayrıca su ekstrelerinde olduğu gibi bu ekstrelerin de rutin ve kuersitrin içeriği bakımından zengin olduğu bulundu. Bu bileşiklerin yanı sıra her üç ekstrede de önemli miktarda askorbik asit, kafeik asit ve hiperosid varlığı tespit edildi. Ayrıca, etanol ve su ekstrelerinde miktarı ölçülemeyen vanilik asitin metanol ekstresindeki majör bileşiklerden biri olduğu görüldü. Bunların dışında her üç ekstrenin de orientin, naringenin, hispidulin, krisin ve asasetin içeriklerinin çok düşük veya ölçülemeyecek düzeyde olduğu bulundu.

Tablo 4-1: LC-MS/MS analizi ile *C. corymbosum* ekstralarında tayin edilen bileşikler ve miktarları (mg/kg)

Madde Adı	Etanol	Metanol	Su
Askorbik asit	134,02	422,42	314,49
Klorojenik asit	1496,12	2882,64	1894,49
Fumarik asit	448,90	3611,15	3592,44
Orientin	<LOD	6,04	1,97
Kafeik asit	223,38	189,83	128,97
Vanilik asit	<LOD	1007,55	<LOD
Rutin	722,15	595,03	536,58
Hiperozit	211,64	209,50	95,90
Dihidrokamferol	32,05	2,58	0,73
Kersitrin	674,89	499,20	250,30
Kersetin	27,08	3,15	1,71
Salisilik Asit	152,74	108,04	55,56
Naringenin	11,55	<LOD	<LOD
Kamferol	184,20	36,68	<LOD
Hispidulin	0,09	<LOD	<LOD
Krisin	3,88	3,64	3,89
Asasetin	3,38	3,15	2,44
Sarsasapogenin	172,47	203,29	<LOD

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



Şekil 4-1: *C. corymbosum* ekstralarının LC-MS/MS kromatogramları (Her satır sırası ile etanol, metanol ve su ekstrisini göstermektedir).

4.2. *C. corymbosum* Ekstrelerinin Total Fenolik ve Flavanoid Miktarları

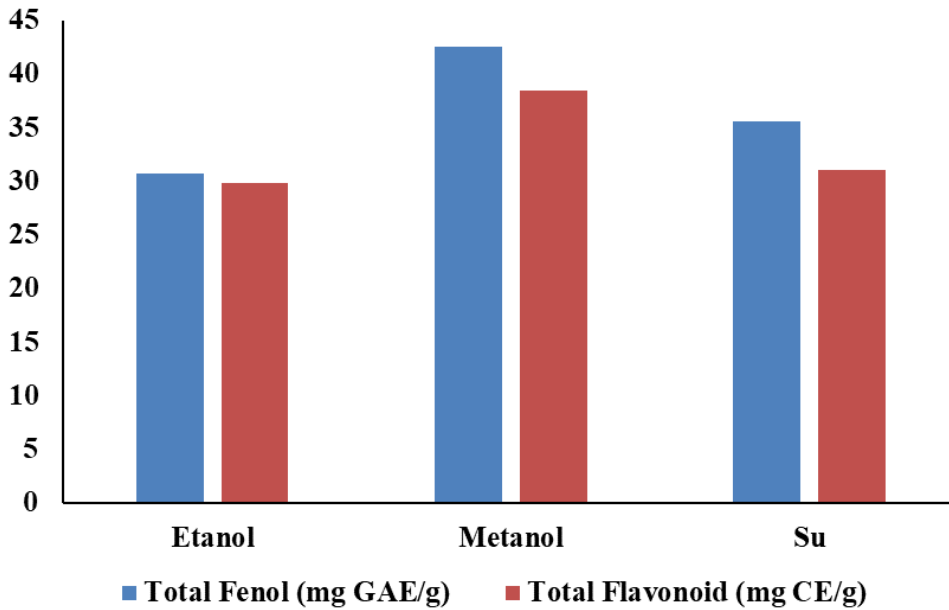
C. corymbosum ekstrelerinin total fenolik bileşik miktarları, “mg GAE/g ekstre” ve total flavonoid miktarları “mg CE/g ekstre” olarak Tablo 4-2 ve Şekil 4-2’de gösterilmiştir. Metanol ekstrelerinin tüm ekstreler içinde en yüksek total fenolik ve flavonoid içeriğe sahip olduğu bunu su ekstresinin takip ettiği bulundu. Etanol ekstresinin total fenolik ve flavonoid miktarının diğer iki ekstreten daha düşük olduğu görüldü.

Tablo 4-2:*C. corymbosum* ekstrelerinin total fenol ve flavonoid miktarları

	Total Fenol (mg GAE/g)	Total Flavonoid (mg CE/g)
Etanol	30,72±1,04	29,82±0,76
Metanol	42,58±0,60	38,46±0,77
Su	35,59±0,87	31,04±0,41

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

GAE:gallik asit ekivalanları, CE:kateşin ekivalanları



Şekil 4-2: *C. corymbosum* ekstrelerinin total fenolik ve total flavonoid miktarları

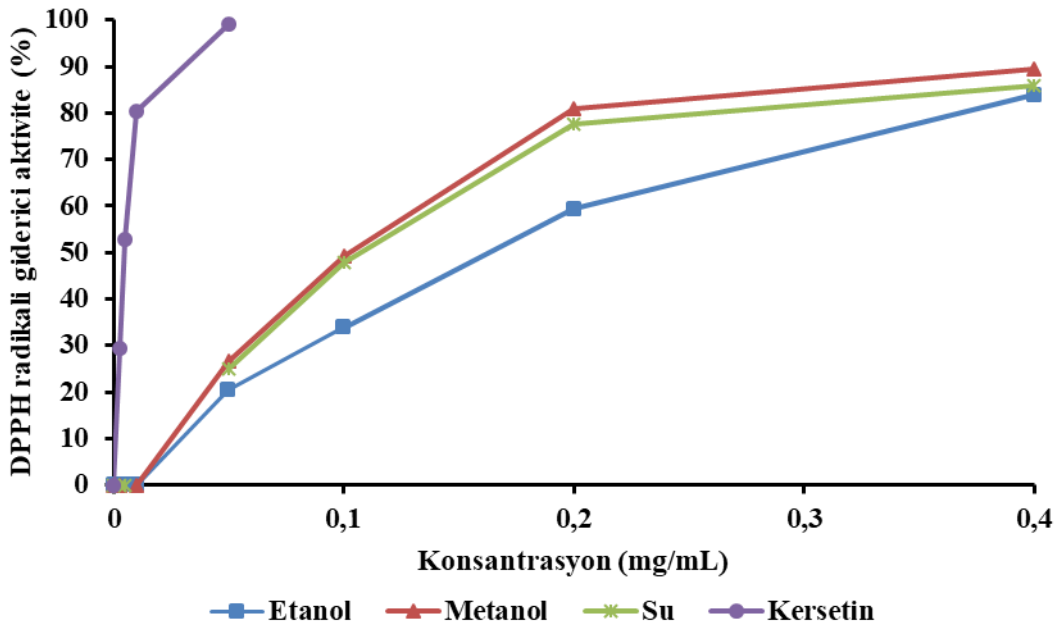
4.3. *C. corymbosum* Ekstrelerinin DPPH Radikalini Giderme Aktivitesi

C. corymbosum ekstrelerinin DPPH radikalini giderici aktivitelerinin konsantrasyona bağlı olarak arttığı görüldü (Tablo 4-3 ve Şekil 4-3). Metanol ekstresinin tüm konsantrasyonlarda en yüksek DPPH radikalini giderici aktiviteye (%) sahip olduğu bunu sırasıyla su ve etanol ekstresinin takip ettiği bulundu. Referans antioksidan olarak kullanılan kersetin tüm ekstrelerden daha yüksek DPPH radikalini giderici aktivite gösterdi. Ekstreler EC₅₀ değerleri bakımından bakımdan metanol > su > etanol olarak sıralandı. Düşük EC₅₀ değeri yüksek aktivitenin göstergesidir.

Tablo 4-3: *C. corymbosum* ekstreleri ve kersetinin DPPH radikalini giderici aktiviteleri

	% İnhibisyon					DPPH (EC ₅₀) (mg/mL)
	0,4 mg/mL	0,2 mg/mL	0,1 mg/mL	0,05 mg/mL	0,01 mg/mL	
Etanol	83,85±0,96	59,36±1,05	33,80±0,69	20,32±0,68	-	0,177±0,004
Metanol	89,37±0,74	80,96±1,75	49,35±1,90	26,56±1,31	-	0,110±0,004
Su	85,76±0,63	77,50±0,53	47,82±1,36	24,95±0,47	-	0,116±0,002
Kersetin	-	-	-	-	80,28±0,55	0,005±0,00001

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



Şekil 4-3: *C. corymbosum* ekstreleri ve kersetinin DPPH radikalini giderici aktiviteleri

Konsantrasyonlar reaksiyon ortamındaki final konsantrasyonları göstermektedir.

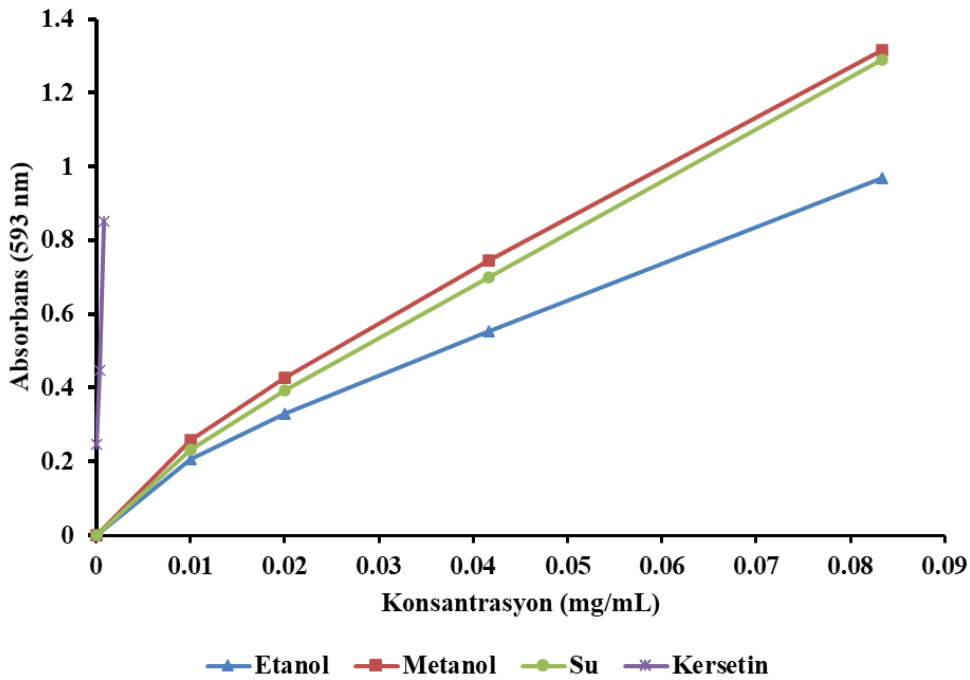
4.4. *C. corymbosum* Ekstrelerinin Ferri İyonu Redükleme Antioksidan Gücü (FRAP)

C. corymbosum ekstrelerinin ve kersetinin ferri iyonu redükleme antioksidan güçleri FRAP ($\text{mM Fe}^{+2}/\text{mg}$ ekstre) değeri olarak Tablo 4-4'te gösterilmiştir. Metanol ekstresinin en yüksek, etanol ekstresinin en düşük indirgeyici güce sahip olduğu ve referans antioksidan olarak kullanılan kersetinin indirgeyici gücünün tüm ekstrlerden daha yüksek olduğu bulundu. Ekstrelerin indirgeyici gücünün göstergesi olan 593 nm'deki absorbans artışı göz önüne alındığında ferri iyonu redükleme antioksidan gücünün konsantrasyona bağlı olarak arttığı gözlemlendi (Şekil 4-4).

Tablo 4-4: *C. corymbosum* ekstreleri ve kersetinin demir indirgeyici güçleri

	FRAP ($\text{mM Fe}^{+2}/\text{mg}$ ekstre)
Etanol	44,37 $\pm$ 0,53
Metanol	59,69 $\pm$ 0,30
Su	56,02 $\pm$ 0,95
Kersetin	1700,73 $\pm$ 15,20

Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3).



Şekil 4-4: *C. corymbosum* ekstreleri ve kersetinin demir indirgeyici güçleri

Konsantrasyonlar reaksiyon ortamındaki final konsantrasyonları göstermektedir.

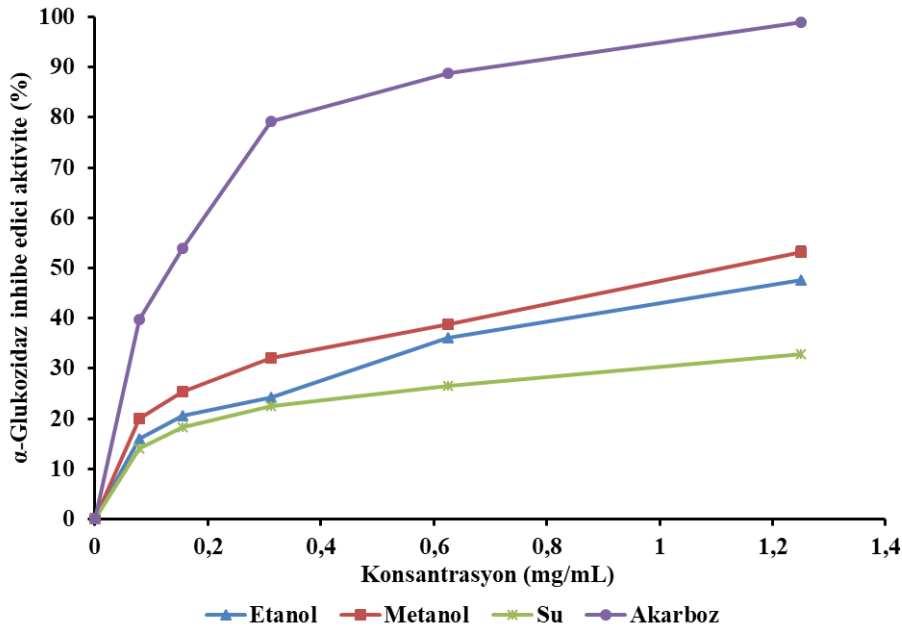
4.5. *C. corymbosum* Ekstrelerinin Antidiyabetik Aktiviteleri

C. corymbosum ekstrelerinin antidiyabetik aktivitelerini belirlemek için α -glukozidaz ve α -amilaz enzimlerini inhibe edici etkileri ölçüldüğünde, ekstrelerin α -glukozidaz üzerine ortalama bir inhibitör aktivite gösterdikleri ancak α -amilaz üzerine inhibe edici aktiviteye sahip olmadıkları bulundu. Ekstrelerin α -glukozidaz inhibe edici aktivitelerinin konsantrasyona bağlı olarak arttığı ve en yüksek aktiviteye metanol ekstresinin sahip olduğu bunu sırasıyla etanol ve su ekstresinin takip ettiği görüldü (Tablo 4-5 ve Şekil 4-5). Referans antidiyabetik olarak kullanılan akarboz, tüm ekstrelerden daha yüksek α -glukozidaz inhibe edici aktivite göstermiştir.

Tablo 4-5: *C. corymbosum* ekstreleri ve akarbozun α -glukozidaz inhibe edici aktiviteleri

	% İnhibisyon				IC ₅₀ (mg/mL)
	1,2 mg/mL	0,6 mg/mL	0,3 mg/mL	0,15 mg/mL	
Etanol	47,60±0,85	36,18±1,22	24,33±0,98	20,50±1,07	-
Metanol	53,25±1,07	38,75±0,68	32,06±0,96	25,34±1,00	1,111±0,036
Su	32,91±1,45	26,54±1,56	22,55±1,13	18,39±0,67	-
Akarboz	-	88,79±0,33	79,29±0,65	53,91±0,43	0,137±0,005

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



Şekil 4-5: *C. corymbosum* ekstreleri ve akarbozun α -glukozidaz inhibe edici aktiviteleri

Konsantrasyonlar reaksiyon ortamındaki final konsantrasyonları göstermektedir.

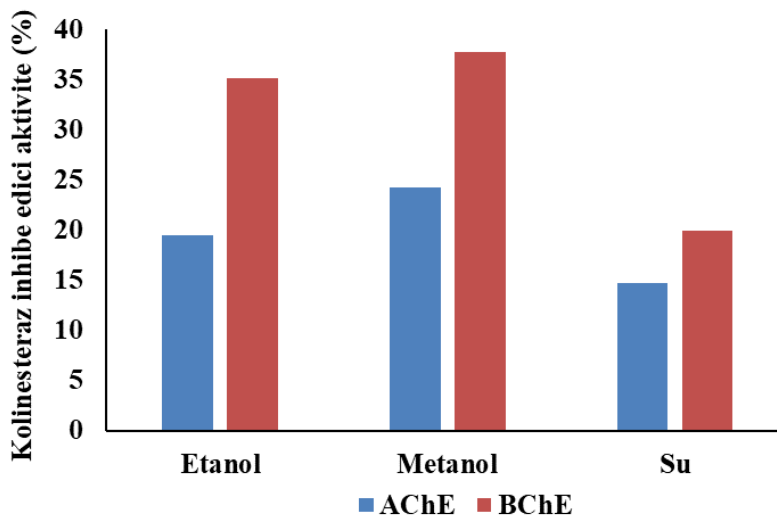
4.6. *C. corymbosum* Ekstrelerinin Anti-Alzheimer Aktiviteleri

C. corymbosum ekstrelerinin anti-Alzheimer aktivitelerini belirlemek için AChE ve BChE enzimlerini inhibe edici etkileri ölçüldüğünde, ekstrelerin her iki enzim üzerine de düşük inhibitör aktivite göstermekle birlikte BChE inhibe edici aktivitelerinin daha yüksek olduğu görüldü (Tablo 4-6 ve Şekil 4-6). Ekstrelerin 0,8 mg/mL konsantrasyondaki aktiviteleri göz önüne alındığında en yüksek AChE ve BChE inhibe edici aktiviteye metanol ekstresinin sahip olduğu, bunu sırasıyla etanol ve su ekstresinin takip ettiği görüldü. Referans AChE ve BChE inhibitörü olarak kullanılan galantaminin ekstrelerle kıyasla çok yüksek inhibitör etki gösterdiği ve bu etkisinin BChE ile kıyaslandığında AChE üzerine daha yüksek olduğu tespit edildi.

Tablo 4-6: *C. corymbosum* ekstreleri ve galantaminin AChE ve BChE inhibe edici aktiviteleri

	% İnhibisyon					
	AChE			BChE		
	0,8 mg/mL	0,4 mg/mL	0,004 mg/mL	0,8 mg/mL	0,4 mg/mL	0,04 mg/mL
Etanol	19,47±0,92	13,75±0,76	-	35,15±1,34	30,34±0,77	-
Metanol	24,22±1,36	17,98±0,62	-	37,78±2,56	31,37±1,69	-
Su	14,69±0,87	9,59±0,51	-	19,95±1,40	12,56±1,05	-
Galantamin	-	-	85,30±0,84	-	-	84,26±0,73

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



Şekil 4-6: *C. corymbosum* ekstrelerinin 0,8 mg/mL konsantrasyondaki AChE ve BChE inhibe edici aktiviteleri

Konsantrasyonlar reaksiyon ortamındaki final konsantrasyonları göstermektedir.

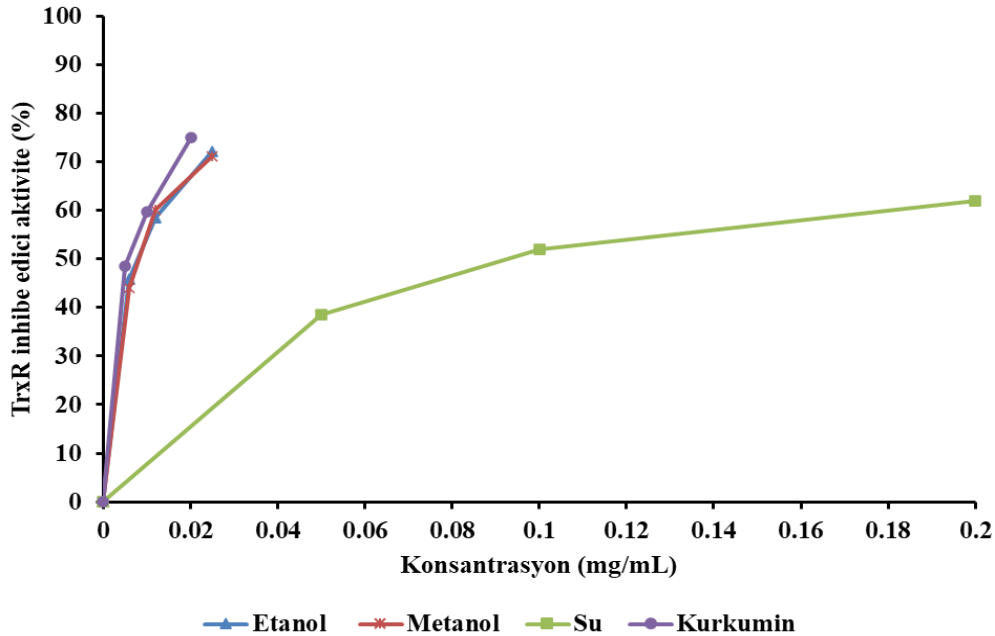
4.7. *C. corymbosum* Ekstrelerinin TrxR İnhibe Edici Aktiviteleri

C. corymbosum ekstrelerinin antikanser aktivitelerini belirlemek için TrxR inhibe edici etkileri ölçüldüğünde, tüm ekstrelerin TrxR inhibitör aktiviteye sahip olduğu ve bu aktivitelerinin konsantrasyona bağlı olarak arttığı tespit edildi (Tablo 4-7 ve Şekil 4-7). Metanol ve etanol ekstresinin benzer, su ekstresinin ise daha düşük TrxR inhibe edici aktivite gösterdiği bulundu. Referans TrxR inhibitörü olarak kullanılan kurkuminin tüm ekstrelerden daha yüksek TrxR inhibe edici aktiviteye sahip olduğu görüldü.

Tablo 4-7: *C. corymbosum* ekstreleri ve kurkuminin TrxR inhibe edici aktiviteleri

	% İnhibisyon			IC ₅₀ (mg/mL)
	0,025 mg/mL	0,0125 mg/mL	0,006 mg/mL	
Etanol	72,22±1,95	58,53±1,52	45,90±1,99	0,008±0,0005
Metanol	71,24±0,98	60,22±1,29	44,11±1,57	0,008±0,0009
Su	0,2 mg/mL	0,1 mg/mL	0,05 mg/mL	0,111±0,0059
	61,97±1,10	52,09±0,74	38,60±1,15	
Kurkumin	0,02 mg/mL	0,01 mg/mL	0,005 mg/mL	0,005±0,0004
	75,04± 1,49	59,78±2,23	48,56±1,13	

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



Şekil 4-7: *C. corymbosum* ekstreleri ve kurkuminin TrxR inhibe edici aktiviteleri

Konsantrasyonlar reaksiyon ortamındaki final konsantrasyonları göstermektedir.

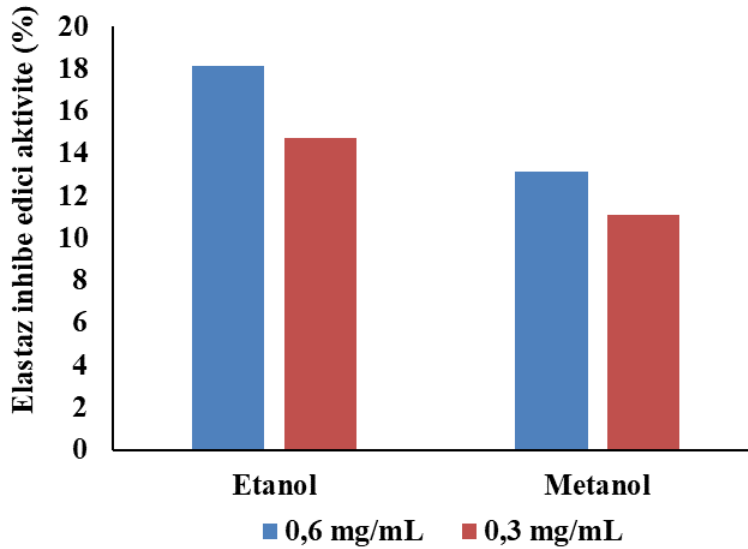
4.8. *C. corymbosum* Ekstrelerinin Elastaz İnhibe Edici Aktiviteleri

C. corymbosum ekstrelerinin anti-aging aktivitelerini belirlemek için elastaz inhibe edici etkileri ölçüldüğünde, etanol ve metanol ekstrelerinin elastaz üzerine düşük bir inhibisyon gösterdiği, su ekstresinin ise hiç bir inhibisyon göstermediği bulundu (Tablo 4-8 ve Şekil 4-8). Referans elastaz inhibitörü olarak kullanılan ursolik asitin ekstreler ile kıyaslandığında güçlü inhibitör etkiye sahip olduğu görüldü.

Tablo 4-8: *C. corymbosum* ekstreleri ve ursolik asitin elastaz inhibe edici aktiviteleri

	% İnhibisyon		
	0,6 mg/mL	0,3 mg/mL	0,03 mg/mL
Etanol	18,15±1,45	14,74±1,16	-
Metanol	13,17±1,40	11,11±1,15	-
Su	-	-	-
Ursolik asit	-	-	70,29±85

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



Şekil 4-8: *C. corymbosum* ekstrelerinin elastaz inhibe edici aktiviteleri

Konsantrasyonlar reaksiyon ortamındaki final konsantrasyonları göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Bitkilerin halk arasında yaygın rahatsızlıkların tedavisindeki kullanımları artık güçlü bilimsel kanıtlarla desteklendiği için, bitkilerle tedavi son yıllarda giderek artan bir öneme sahiptir. Şifalı bitkiler de yeni ilaçların geliştirilmesine olanak sağlayacak terapötik fitokimyasallar bakımından oldukça zengin kaynakları oluşturmaktadır. Bitkilerde bulunan fenolik bileşikler, lignanlar, tanenler, fenolik asitler, stilbenler ve flavonoidlerdir ve bu bileşikler başlıca meyveler, baklagiller, sebzeler, çay ve şarapta bulunmaktadır (Alara ve ark. 2021). Fenolik bileşikler gibi bitkilerden elde edilen fitokimyasalların çoğunun insan sağlığı üzerindeki olumlu etkileri yapılan çalışmalarla bildirilmiştir (Azwanida, 2015).

C. corymbosum türünün yer aldığı *Cardopatum* Juss. cinsi Türkiye Florasında subtribus Carlininae'de yer almaktadır ve buradaki diğer cinsler; *Carlina* L., *Atractylis* L., *Xeranthemum* L., *Sieberta* J. Gay ve *Chardinia* Desf.'dir. Literatürde *C. corymbosum* türünün fitokimyasal içeriği ve biyolojik aktivitesi üzerine çok sınırlı sayıda çalışma yer aldığı için bulgularımızı subtribus Carlininae'ye dahil olan diğer cinsler ve Compositae familyasında yer alan bazı yakın türler üzerinden değerlendirmeye çalıştık. Subtribus Carlininae'ye ait farklı türlerle yapılan sınırlı sayıda çalışmada, *Carlina* türlerinin triterpen içeriği (Strzemski ve ark. 2016), *Xeranthemum annuum* türünün siyanojenik bileşikleri (Orhan ve ark. 2016), *Atractylis gummifera* türünün fenolik ve tanen içeriği (Bouabid ve ark. 2020) gösterilmiştir. Bununla birlikte *C. corymbosum* türünün fitokimyasal içeriği üzerine literatürde sadece iki çalışmaya rastlanmıştır. Bu çalışmalardan birinde yaprak uçucu yağ bileşimi belirlenmiş (Jeribi ve ark. 2016) ve diğerinde ise bitkinin kök kısmından iki siklobütan bileşeni (kardopatin ve izokardopatin) izole edilmiştir (Selva ve ark. 1978).

Çalışmamızda, *C. corymbosum* türünün topraküstü kısımlarından hazırlanan ekstrelerin LC-MS/MS analizi ile kimyasal içerikleri ilk kez ortaya konulmuştur. Sonuçlarımız, klorojenik asit, fumarik asit ve rutin etanol, metanol ve su ekstrelerinin her üçündeki majör bileşikler olduğunu ortaya koymuştur. Benzer şekilde, Compositae (Asteraceae) familyasına ait olan *Achillea* türleri ile yapılan bir çalışmada *A. coarctata* ve *A. monocephala* türlerinin toprak üstü ve kök ekstrelerinin de önemli miktarda klorojenik asit, fumarik asit ve rutin içerdiği gösterilmiştir (Yılmaz ve ark. 2018).

Asteraceae familyasına ait *Centaurea* türleri ile yapılan çalışmalarda da klorojenik asitin *C. triumfetti* (Acet, 2021), *C. aksoyi* (Albayrak ve ark. 2017), *C. balsamita* ve *C. lycopifoliave* (Boğa ve ark. 2016) türlerinin major bileşiklerinden olduğu gösterilmiştir.

Çalışmamızda *C. corymbosum* türünün total fenolik ve flavanoid içerikleri ölçüldüğünde ekstraksiyonda kullanılan çözücüye göre bu miktarların değiştiği ve *C. corymbosum*'un sahip olduğu fenolik bileşenleri elde etmek için en iyi çözücünün metanol olduğu gözlemlendi. Diğer Carlininae türleri ile yapılan çalışmalarda; bizim çalışmamıza benzer şekilde *Atractylis gummifera*'da en yüksek total fenolik ve flavanoid içeriğe metanol ekstresinin sahip olduğu (Bouabid ve ark. 2020), buna karşın *Xeranthemum annuum* türünde ise su ekstresinin fenolik içeriğinin organik çözücülere göre daha yüksek olduğu (Orhan ve ark. 2016) gösterilmiştir. Bu sonuçlar çözücü polaritesinin fenolik bileşenleri elde etmedeki etkisinin türlere göre değişiklik gösterebildiğini ortaya koymaktadır.

Günümüzde bitkisel kaynaklı besinleri tüketmenin insan sağlığı üzerindeki olumlu etkilerinin bu besinlerin içerdiği fenolik bileşiklerden kaynaklandığı bilinmektedir. Fenolik bileşikler, serbest radikalleri ortadan kaldırmada etkili hidroksil gruplarının ve aromatik halkalarının varlığı sayesinde, antioksidan olarak önemli rol oynamaktadırlar (Villaño ve ark. 2007). Bitkilerin radikal giderme yetenekleri, yapay radikaller kullanılan çeşitli in vitro yöntemlerle ölçülmektedir. Çalışmamızda, *C. corymbosum* ekstrelerinin DPPH radikali kullanılarak serbest radikal giderici etkisi ölçüldüğünde, en güçlü radikal giderici aktiviteye metanol ekstresinin (%89,37±074) sahip olduğu bunu sırasıyla su ve etanol ekstresinin takip ettiği bulundu. Literatürde *C. corymbosum* bitkisinin serbest radikal giderici etkisi üzerine yapılmış sadece iki çalışmaya rastlanmıştır. Bu çalışmalardan ilkinde Alaşehir'den toplanan *C. corymbosum* bitkisinin DPPH radikali giderici etkisi ölçüldüğünde bizim çalışmamızla uyumlu olarak en yüksek aktiviteye metanol ekstresinin sahip olduğu (300 mg/mL'de %82,1) bunu sırasıyla su ve etanol ekstresinin takip ettiği gösterilmiştir (Arık ve Okmen 2018). Diğer çalışmada ise Okmen ve ark. (2019) Muğla'dan toplanan *C. corymbosum* bitkisinin düşük düzeyde ABTS radikali giderici aktiviteye sahip olduğunu göstermişlerdir (300 mg/mL'de metanol ekstresi %13,5). Çalışmamızda *C. corymbosum* ekstrelerinin sahip oldukları DPPH radikali giderici etkileri, total fenolik içerikleri ile uyumludur. En yüksek total fenolik içeriğe ve aynı zamanda diğer ekstrelerden daha yüksek fenolik asit

(klorojenik asit, vanilik asit) içeriğine sahip metanol ekstresi aynı zamanda en iyi DPPH radikali giderici aktivite de göstermiştir. Bitki ekstreleri ile yapılan çalışmalarda fenolik madde içeriğinin artması ile serbest radikal giderici aktivitenin de arttığı bildirilmiştir (Benvenuti ve ark. 2004; Barreto ve ark. 2009).

Bitkilerin antioksidan kapasitesini ölçmek için yaygın olarak kullanılan diğer bir yöntem de FRAP metodudur. Çalışmamızda *C. corymbosum* ekstrelerinin FRAP metodu kullanılarak indirgeyici güçleri ölçüldüğünde metanol ekstresinin en yüksek indirgeyici güce sahip olduğu gözlemlendi ($59,69 \pm 0,30$ mM Fe^{+2}/mg). Sonuçlarımızla uyumlu olarak, yapılan araştırmalar metanol gibi yüksek polariteye sahip çözeltilerle hazırlanan ekstrelerin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduklarını bildirmiştir. (Sinan ve ark. 2021). Literatürde *C. corymbosum* bitkisinin indirgeyici gücü üzerine daha önce yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Diğer Carlininae türlerinin indirgeyici güçleri üzerine yapılan çalışmalarda; *Atractylis gummifera* bitkisinin sulu maserasyon ekstresinin organik çözücülerle hazırlanan ekstrele göre daha yüksek FRAP değerine sahip olduğu gösterilmiştir ($102,5 \pm 1,66$ mg ET/gE) (Bouabid ve ark. 2020). İki *Carlina* türünün (*C. acaulis* ve *C. acanthifolia*) topraküstü ve kök hidrometanolik ekstrelerinin FRAP değerlerinin ölçüldüğü başka bir çalışmada *C. acaulis* topraküstü ekstresinin en yüksek FRAP değerine ($0,592 \pm 0,001$ μ mol Fe^{2+}/mg kuru ağırlık) sahip olduğu gösterilmiştir (Đorđević ve ark. 2012).

Diyabet yüksek kan şekeri düzeyi ile birlikte yağ, karbohidrat ve protein metabolizmasındaki dengesizlik ile karakterize yaşamı tehdit edici metabolik bir bozukluktur. Besinsel karbohidratların α -amilaz ve α -glukozidaz tarafından hızlı bir şekilde glukoza sindirilmesi, tip 2 diyabetin bir göstergesi olan, yemek sonrası kan glukoz seviyesinin yükselmesine yol açar. Metformin, akarboz, vogliboz ve miglitol gibi tip 2 diyabeti tedavi etmek için ticari olarak mevcut ilaçlar hem α -amilazı hem de α -glukozidazı inhibe ederek etki göstermektedirler, ancak bu sentetik hipoglisemik ilaçların yan etkileri nedeniyle çeşitli kısıtlamaları vardır (Senthil ve ark. 2019). Bu nedenle doğal bileşiklerin enzim inhibitörü etkilerinin ölçülerek diyabet tedavisinde kullanımlarına yönelik çalışmalara ilgi her geçen gün artmaktadır. Çalışmamızda, *C. corymbosum* bitkisinin α -Glukozidaz ve α -Amilaz enzimlerini inhibe edici etkisi ölçülerek antidiyabetik aktivitesi ilk kez gösterilmiştir. En yüksek α -glukozidaz inhibe edici aktiviteye metanol ekstresinin sahip olduğu ($53,25 \pm 1,07$) buna karşın ekstrelerin

hiç birinin α -amilaz inhibitörü aktiviteye sahip olmadığı görülmüştür. *C. corymbosum* ekstrelerinin özellikle metanol ekstresinin sahip olduğu α -glukozidaz inhibitörü aktivite, içerdiği klorojenik asit ve kafeik asit gibi fenolik asitlerden kaynaklı olabilir. Yapılan çalışmalarda bu bileşiklerin α -glukozidaz ve α -amilaz enzimlerini inhibe edici etkileri ortaya konulmuştur (Obok ve ark. 2015; Wang ve ark. 2022). Diğer bir Carlininae cinsine ait *Carlina curetum* bitkisi ile yapılan çalışmada hekzan, aseton, metanol ve su fraksiyonları arasında en yüksek α -glukozidaz inhibe edici aktiviteye metanol fraksiyonunun (IC_{50} ; $27,54 \pm 4,28 \mu g/mL$) sahip olduğu ve bu aktivitenin standart olarak kullanılan akarbozdan (IC_{50} ; $37,15 \pm 0,33 \mu g/mL$) daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada bitkinin sahip olduğu antidiyabetik aktivitenin fenolik, flavonoid ve tanen içeriğinden kaynaklanabileceği öne sürülmüştür (Jaradat ve ark. 2019).

Kolinerjik hipoteze göre, Alzheimer hastalığının nedeni asetilkolin sentezindeki azalmadır. Bu nedenle Alzheimer hastalığı tedavisi için potansiyel yaklaşımlardan biri AChE ve BChE gibi asetilkolini hidrolize eden enzimlerin inhibisyonu yolu ile beyindeki kolinerjik seviyeleri arttırmaktır. Donepezil, rivastigmin, galantamin ve takrin gibi doğal ve sentetik bir çok kolinesteraz inhibitörü Alzheimer hastalığı tedavisinde kullanılmaktadır (Sharma 2019). Literatürde, *C. corymbosum* bitkisinin AChE ve BChE inhibe edici aktiviteleri üzerine yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda, *C. corymbosum* ekstrelerinin hem AChE (%14,69-24,22) hem de BChE (%19,95-37,78) üzerine düşük düzeyde inhibisyon gösterdiği görüldü. Carlininae cinsine ait diğer bir tür olan *Atractylis cancellata* ile yapılan çalışmada, bitkinin petrol eteri, etilasetat ve n-butanol ekstrelerinin düşük düzeyde buna karşılık bitkiden saflaştırılan yeni bir alkaloid olan pyrroloquinolone A'nın güçlü kolinesteraz inhibitörü aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Badaoui ve ark. 2021). Başka bir çalışmada *Xeranthemum annuum* türüne ait farklı ekstrelerin AChE inhibisyonu göstermediği buna karşılık BChE üzerine güçlü inhibitör etkiye sahip oldukları bulunmuştur ($\%87.62 \pm 3.01$ - $\%97.85 \pm 0.94$) (Orhan ve ark. 2016).

Oksidatif hasar ve iltihaplanma, kanser hastalığının temel nedeni olarak preklinik çalışmalarda belirtilmiştir. Epidemiyolojik ve klinik çalışmalar, kanserin antioksidan tedavi ve antiinflamatuvar ilaçlar ile önlenebileceğini veya önemli ölçüde azaltılabileceğini göstermiştir (Basnet ve ark. 2011). Sentetik ilaçların kanser tedavisinde yol açtığı yan etkiler ve etkileşimler nedeniyle çeşitli güçlükleri olduğu

bilinmektedir buna karşılık doğal bileşenlerin geniş uygulamaları, terapötik etkinlik ve düşük toksisiteyi sayesinde kanser ve diğer çeşitli hastalıkların tedavisinde güçlü potansiyel olarak görülmektedir (Tugay ve ark. 2021). Hücresel araştırmalar TrxR'nin, DNA sentezinde bir kofaktör olarak görev yaptığını, apoptozu inhibe ettiğini, hücre proliferasyonu ve anjiyogenezi uyardığını ve transkripsiyon faktörü aktivitesini arttırdığını göstermektedir. Bu nedenle söz konusu enzimin inhibitörleri kanser tedavisinde potansiyel ilaç olarak değerlendirilmektedir (Biaglow ve ark. 2004). Literatürde Asteraceae ailesinden bir bitki üzerinde TrxR inhibe edici aktivite çalışmasına rastlanmamıştır. Çalışmamızda, *C. corymbosum* ekstrelerinin TrxR inhibe edici etkileri ölçülerek antikanser aktiviteleri ilk kez belirlenmiştir. Sonuçlarımız *C. corymbosum* ekstrelerinin güçlü TrxR inhibe edici aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Polifenoller güçlü antikanser aktiviteye sahip olup TrxR ile etkileşime girebilen bir ürün sınıfıdır ve yaptığımız LC-MS/MS analizine göre *C. corymbosum* ekstrelerinin yüksek polifenol içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir (Cai ve ark. 2012).

Kollajen ve elastin gibi hücre dışı matris proteinlerinin bolzulması nedeniyle ince çizgilerin ve kırışıklıklar artmaktadır ve bu durum cilt yaşlanmasının belirgin bir işaretidir. *C. corymbosum* bitkisinin elastaz inhibe edici aktiviteleri üzerine literatürde herhangi bir çalışma bulunamamıştır. Çalışmamızda *C. corymbosum* ekstrelerinin elastaz üzerine çok düşük bir inhibitör aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Fakat Astraceae ailesinden olan *Cosmos caudatus* bitkisinin yaprak su ekstrelerinin kollajenaz, elastaz ve tirozinaz enzimlerine karşı önemli bir inhibitör etkisi olduğu gösterilmiştir. (Azwanida ve ark. 2020). Yapılan bir çalışmada kaempferol, kersetin, galangin ve mirisetinin, flavonoid B halkasında katekol grubunun varlığı nedeniyle elastazı inhibe ettiği gösterilmiştir (Kanashiro ve ark. 2006).

Çalışmamızda, *C. corymbosum* bitkisine ait etanol, metanol ve su ekstrelerinin fitokimyasal içeriği ile antidiyabetik, anti-Alzheimer, antikanser ve antiaging aktiviteleri ilk kez tarafımızdan incelenmiştir. Çalışmamız, *C. corymbosum* bitkisinin antioksidan, antidiyabetik ve antikanser aktivitelere sahip bileşiklerin doğal bir kaynağı olabileceğini ortaya koymuştur.

KAYNAKLAR

Acet, T. (2021). Determining the phenolic components by using HPLC and biological activity of *Centaurea triumphetti*. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, **155(1)**, 159-164.

ADA (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION). (2021). 8. Obesity Management for the Treatment of Type 2 Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2021. *Diabetes Care*, **44**, 100-110.

Agarwal, P., Gupta, R. (2016). Alpha-amylase inhibition can treat diabetes mellitus. *Research and Reviews Journal of Medical and Health Sciences*, **5(4)**, 2319-2322.

Aghraz, A., Gonçalves, S., Rodríguez-Solana, R., Ait Dra, L., Di Stefano, V., Dugo, G., Cicero, N., Larhsini, M., Markouk, M. ve Romano, A. (2018). Antioxidant activity and enzymes inhibitory properties of several extracts from two Moroccan Asteraceae species. *South African Journal of Botany*, **118**, 58-64.

Alara, O.R., Abdurahman, N.H., ve Ukaegbu, C.I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, **4**, 200-214.

Albayrak, S., Atasagun, B., Aksoy, A. (2017). Comparison of phenolic components and biological activities of two *Centaurea* sp. obtained by three extraction techniques. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, **10(6)**, 599-606.

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

Arik, O.U. ve Okmen, G. (2018). The Antibacterial Activities of *Cardopatum corymbosum* (L.) PERS. Against Mastitis Pathogens and its Antioxidant Activities. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, **7(9)**, 56-5.

Ashrafian, H., Zadehi H.E., Khan, R.H. (2021) Review on Alzheimer's disease Inhibition of amyloid beta and tau. *International Journal of Biological Macromolecules*, **167**, 382-394.

Asif, M. (2015). Chemistry and antioxidant activity of plants containing some phenolic compounds. *Chemistry International* **1(1)**, 35-52.

Azmi, N., Hashim, P., Hashim, D.M., Halimoon, N., ve Majid, N.M.N. (2014). Anti-elastase, anti-tyrosinase and matrix metalloproteinase-1 inhibitory activity of earthworm extracts as potential new anti-aging agent. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, **4**, 348-352.

Azwanida, N. N. (2015). A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Med Aromat Plants*, **4(196)**, 2167-0412.

Azwanida Z.N.N., Jonathan, O.E., Melanie-Jaynes, H. (2020) Antioxidant, Anti-Collagenase, Anti-Elastase and Anti-Tyrosinase Activities of an Aqueous Cosmos caudatus Kunth (Asteraceae) Leaf Extract. *Tropical Journal of Natural Product Research*, **4(12)**, 1124-1130.

Badaoui, M.I., Alabdul Magid, A., Benkhaled, M., Bensouici, C., Harakat, D., Voutquenne-Nazabadioko, L. ve Haba, H. (2021). Pyrroloquinolone A, a new alkaloid and other phytochemicals from *Atractylis cancellata* L. with antioxidant and anticholinesterase activities. *Natural Product Research*, **35(18)**, 2997-3003.

Balbaa, M. ve El Ashry, E. (2012). Enzyme Inhibitors as Therapeutic Tools. *Biochemistry & Physiology*, **1**, 2.

Barreto, G.P., Benassi, M.T., ve Mercadante, A.Z. (2009). Bioactive compounds from several tropical fruits and correlation by multivariate analysis to free radical scavenger activity. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **20(10)**, 1856-1861.

Basnet. P., Skalko-Basnet. N. (2011). Curcumin: An Anti-Inflammatory Molecule from a Curry Spice on the Path to Cancer Treatment. *Molecules*, **16(6)**, 4567-4598.

Benvenuti, S., Pellati, F., Melegari, M.A., ve Bertelli, D. (2004). Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of *Rubus*, *Ribes*, and *Aronia*. *Journal of Food Science*, **69(3)**, 164-169.

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

Bessada, S.M.F., Barreira, J.C.M. ve Oliveira, M.B.P.P. (2015). Asteraceae species with most prominent bioactivity and their potential applications: A review. *Industrial Crops and Products*, **76**, 604-615.

- Betteridge, D.J. (2000). What is oxidative stress? *Metabolism*, **49(2)**, 3-8.
- Biaglow, J.E., Miller, R.A. (2004). The thioredoxin reductase/thioredoxin system: Novel redox targets for cancer therapy. *Cancer Biology & Therapy*. **4:1**, 13-20.
- Bian, M., Fan, R., Zhao, S., & Liu, W. (2019). Targeting the thioredoxin system as a strategy for cancer therapy: Miniperspective. *Journal of medicinal chemistry*, **62(16)**, 7309-7321.
- Boğa, M., Alkan, H., Ertas, A., Varhan-Oral, E., Yılmaz, M.A., Yeşil, Y., Gören, A.C., Temel, H., Kolak, U. (2016). Phytochemical profile and some biological activities of three *Centaurea* species from Turkey. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, **15 (9)**, 1865-1875.
- Bothon, F.T., Debiton E., Avlessi F., Forestier C., Teulade J.C., Sohounhloue D.K. (2013). In vitro biological effects of two anti-diabetic medicinal plants used in Benin as folk medicine. *BioMed Central Complementary Alternative Medicine*, **13**, 51.
- Bouabid, K., Lamchouri, F., Toufik, H., & Faouzi, M. E. A. (2020). Phytochemical investigation, in vitro and in vivo antioxidant properties of aqueous and organic extracts of toxic plant: *Atractylis gummifera* L. *Journal of Ethnopharmacology*, **253**, 112640.
- Boussada, O., Chriaa, J., Nabli, R., Ammar, S., Saidana, D., Mahjoub, M.A., Chraeif, I. ve Helal, A.N. (2007). Antimicrobial and antioxidant activities of methanol extracts of *Evax pygmaea* (Asteraceae) growing wild in Tunisia. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **24**, 1289–1296.
- Brand-Williams, W., Cuvelier M.E. ve Berset C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, **28**: 25-30.
- Brar, S.K., Dhillon, G.S. ve Soccol, C.R., (2014). *Biotransformation of Waste Biomass into High Value Biochemicals*. New York, Springer Science + Business.
- Brigelius Flohe, R. ve Traber, M.G. (1999). Vitamin E: function and metabolism. *The FASEB Journal*, **13(10)**, 1145-1155.
- Bulut, G., Haznedaroğlu, M. Z., Doğan, A., Koyu, H., & Tuzlacı, E. (2017). An ethnobotanical study of medicinal plants in Acipayam (Denizli-Turkey). *Journal of Herbal Medicine*, **10**, 64-81.

Cai, W., Zhang, L., Song, Y., Wang, B., Zhang, B., Cui, X., Hu, G., Liu, Y., Wu, J., Fang, J. (2012). Small molecule inhibitors of mammalian thioredoxin reductase. *Free Radical Biology & Medicine*, **52**, 257-265.

Calvani, R., Landi, F., Collamati, A., Serafini, E., Bernabei, B. Ve Marzetti, A. (2015). Nutritional strategies against sarcopenia of aging current evidence and future directions. *Nutritional Strategies Against Sarcopenia of Aging: Current Evidence and Future Directions*, **22**, 231-238.

Can, A. (2018). Karbohidrat Metabolizması Bozuklukları, Klinik Biokimya Ders Notu <https://avesis.istanbul.edu.tr/aysecan/dokumanlar>

Castellani, R.J., Rolston, R.K. ve Smith, M.A. (2010). Alzheimer Disease. *Disease-a- Month*, **56(9)**, 484-546.

Cory, H., Passarelli, S., Szeto, J., Tamez, M. ve Mattei, J. (2018). The Role of Polyphenols in Human Health and Food Systems: A Mini-Review. *Frontiers in Nutrition*, **5:87**, doi: 10.3389/fnut.2018.00087.

DeTure, M. ve Dickson, D. (2019). The neuropathological diagnosis of Alzheimer's disease. *Molecular Neurodegeneration*, **14**, 32.

Đorđević, S., Tadić, V., Petrović, S., Kukić-Marković, J., Dobrić, S., Milenković, M., ve Hadžifejzović, N. (2012). Bioactivity assays on *Carlina acaulis* and *C. acanthifolia* root and herb extracts. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, **7(3)**, 213-222.

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

Erugur, N., Koçyiğit, U.M., Taslimi, P., Ataş, M., Tekin, M. ve Gülçin, İ. (2019). Screening the in vitro antioxidant, antimicrobial, anticholinesterase, antidiabetic activities of endemic *Achillea cucullata* (Asteraceae). *South African Journal of Botany*, **120**, 141-145.

Fang, Y-Z., Yang, S. ve Wu, G. (2002). Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition. *Nutrition*, **18**, 872-879.

Finaud, J., Lac, G. ve Filaire E. (2006). Oxidative Stress Relationship with Exercise and Training. *Sports Medicine*, **36 (4)**, 327-358.

González-Tejero, M.R., Casares-Porcel, M., Sánchez-Rojas, C.P., Ramiro-Gutiérrez, J.M., Molero-Mesa, J., Pieroni, A., Giusti, M.E., Censorii, E., de Pasquale, C., Della, A., Paraskeva-Hadjichambi, D., Hadjichambis, A., Houmanie, Z., El-Demerdash, M., El-Zayat, M., Hmamouchig, M. ve ElJohrig, S. (2008). Medicinal plants in the Mediterranean area: Synthesis of the results of the project Rubia. *Journal of Ethnopharmacology*, **116**, 341-357.

Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of Toxicology*, **94**, 651-71.

Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M.T. (2012). Türkiye bitkileri listesi (Damarlı bitkiler). İstanbul, Turkey: *Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırma Derneği Yayını (in Turkish)*.

Güneş, F. (2018). An ethnobotany study in Enez Town from Edirne. *Current Perspectives on Medicinal and Aromatic Plants (CUPMAP)*, **1(1)**, 28-35.

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

Hassanpour, S.H. ve Dehghani, M. (2017). Review of cancer from perspective of molecular. *Journal of Cancer Research and Practice*, **4**, 127-129.

Hussain, G., Rasul, A., Anwar, H., Aziz, N., Razzaq, A., Wei, W., Ali, M., Li, J. ve Li, X. (2018). Role of plant derived alkaloids and their mechanism in neurodegenerative disorders. *International Journal of Biological Sciences*, **14(3)**, 341-357.

IDF Diabetes Atlas. IDF Diabetes Atlas Ninth Edition 2019, Erişim 3 Eylül 2021, https://diabetesatlas.org/upload/resources/material/20200302_133351_IDFATLAS9e-final-web.pdf#page=38&zoom=auto).

Jaradat, N.A., Al-lahham, S., Zaid, A.N., Hussein, F., Issa, L., Abualhasan, M.N., Hawash, M., Yahya, A., Shehadi, O., Omair, R., Mousa, A. (2019). *Carlina curetum* plant phytoconstituents, enzymes inhibitory and cytotoxic activity on cervical epithelial carcinoma and colon cancer cell lines. *European Journal of Integrative Medicine*, **30**, 100933.

Jeribi, C., Karoui, I.J., Benhassine, D. ve Abderrabba, M. (2016). Chemical composition of *Cardopatum corymbosum* leaves essential oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, **19:6**, 1471-1477.

Kanashiro, A., Souza, J.G., Kabeya L.M., Azzolini, A.E.C. ve Lucisano-Valim, Y.M. (2007). Elastase release by stimulated neutrophils inhibited by flavonoids : importance of the catechol group. *Zeitschrift für Naturforsch C.*, **62(5- 6)**, 357-361.

Karamanou, M., Protogerou, A., Tsoucalas, G. ve Rebelakou, E. (2016). Milestones in the history of diabetes mellitus: The main contributors. *World Journal Diabetes*, **7(1)**, 1-7.

Kernel, W. ve Brückel, J. (2014). Definition, classification and diagnosis of diabetes mellitus. *German Diabetes Associaton: Clinical Practice Guidelines*, **122**, 384-386.

Kim, H.K., Byun, J.C., Bandi, A.K.R., Hyun, C.G. ve Lee, N.H. (2009). Compounds with elastase inhibition and free radical scavenging activities from *Callistemon lanceolatus*. *Journal of Medicinal Plants Research*, **3(11)**, 914-920.

Kumar, S., Narwal, S., Kumar, V. ve Prakash, O. (2011). α -glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes. *Pharmacognosy Reviews*, **5(9)**, 19-29.

Moon, J-Y., Yim, E-Y., Song, G. ve Lee, N.H. (2010). Screening of elastase and tyrosinase inhibitory activity from Jeju Island plants. *EurAsian Journal of BioSciences EurAsia*, **4**, 41-53.

Nair, S., Kavrekar, V. ve Mishra, A. (2013). In vitro studies on alpha amylase and alpha glucosidase inhibitory activities of selected plant extracts. *European Journal of Experimental Biology*, **3(1)**, 128-132.

Najafian, M. (2015). The effects of curcumin on alpha amylase in diabetics rats. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, **17 (12)**, e5198.

Nicolini, A., Ferrari, P., Rossi, G. ve Carpi, A. (2018). Tumour growth and immune evasion as targets for a new strategy in advanced cancer. *Endocrine-Related Cancer*, **25 (11)**, 577-604.

Oboh, G., Agunloye, O. M., Adefegha, S. A., Akinyemi, A. J., ve Ademiluyi, A. O. (2015). Caffeic and chlorogenic acids inhibit key enzymes linked to type 2 diabetes (in vitro): a comparative study. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, **26(2)**, 165-170.

Okmen, G., Tekin, R., Çamur, İ., Arslan, K. ve Eroğlu, B. (2019). Determination of biological activities of *Cardopatum corymbosum* L. against food pathogens. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, **7(sp1)**, 167-172.

Orhan, I. E., Gulyurdu, F., Kupeli Akkol, E., Senol, F. S., Arabaci Anul, S., & Tatli, I. I. (2016). Anticholinesterase, antioxidant, analgesic and anti-inflammatory activity assessment of *Xeranthemum annuum* L. and isolation of two cyanogenic compounds. *Pharmaceutical Biology*, **54(11)**, 2643-2651.

Oroian, M. ve Escriche, I. (2015). Antioxidants: Characterization, Natural Sources, extraction and analysis. *Food Research International*, **74**, 10-36.

Oz Arık, U. (2018). Morphology and anatomy of *Cardopatum corymbosum* (L.) Pers. (Asteraceae). *Mugla Journal of Science and Technology*, **5(1)**, 61-68.

Özgün, D., Yamalı, C., Gül, H., Taslimi, P., G İlhami., Yanık, T. ve Supuran, C. (2016). Inhibitory Effects of Isatin Mannich Bases on Carbonic Anhydrases, Acetylcholinesterase, and Butyrylcholinesterase. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, **31(6)**, 1498-1501.

Özkay, Ü., Öztürk, Y. ve Can Ö.D. (2011). Yaşlanan dünyanın hastalığı: Alzheimer Hastalığı. *S.D.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi*, **18(1)**, 35-42.

Padayatty, S., Katz, A., Wang, Y., Eck, P., Kwon, O., Lee, J.H., Chen, S., Corpe, C., Dutta, A., Dutta, S. ve Levine, M. (2003). Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *Journal of the American College of Nutrition*, **22:1**, 18-35.

Patlevic, P., Vaskova, J., Svorc Jr, P., Vasco, L. ve Svorc, P. (2016). Reactive Oxygen Species and Antipxidant Defense in Human Gastrointestinal Diseases. *Integrative Medicine Search*, **5**, 250-258.

Pham-Huy, L.A., He, H. ve Pham-Huy, C. (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science*, **4(2)**, 89-96.

Powis, G. ve Monfort, W.R. (2001). Properties and Biological Activities of Thioredoxins. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, **41**, 261-295.

Qiu, X., Liu, Z., Shao, W.Y., Liu, X., Jing, D.P., Yu, Y.J., An, L.K., Huang, S.L., Bu, X.Z., Huang, Z.S. ve Gu, L.Q. (2008). Synthesis and evaluation of curcumin analogues as potential thioredoxin reductase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **16(17)**, 8035-8041.

Rajendran, P., Nandakumar, N., Rengarajan, T., Palaniswami, R., Gnanadhas, E.N., Lakshminarasiah, U., Gopas, J. ve Nishigaki, I. (2014). Antioxidant and human diseases. *Clinica Chimica Acta*, **436**, 332-347.

Rao, A., Sridhar, G. ve Das, U. (2007). Elevated butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase may predict the development of type 2 diabetes mellitus and Alzheimer's disease. *Medical Hypotheses*, **69**, 1272-1276.

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

Selva, A., Arnone, A., Mondelli, R., Sprio, V., Ceraulo, L., Petruso, S., Plesciab, S. ve Lamartina, L. (1978). Cardopatine and isocardopatine, two novel cyclobutane substances from Cardopatium corymbosum. *Phytochemistry*, **17(12)**, 2097-2100.

Senapati, S., Mahanta, A.K., Kumar, S. ve Maiti, P. (2018). Controlled drug delivery vehicles for cancer treatment and their performance. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, **3**, 7.

Senthil L.S., Raghu, C., Arjun, H. A. ve Anantharaman, P. (2019). In vitro and in silico inhibition properties of fucoidan against α -amylase and α -D-glucosidase with relevance to type 2 diabetes mellitus. *Carbohydrate Polymers*, **209**, 350-355.

Sharma, K. (2019). Cholinesterase inhibitors as Alzheimer's therapeutics. *Molecular Medicine Reports*, **20(2)**, 1479-1487.

Sinan, K. I., Mahomoodally, M. F., Eyupoglu, O. E., Etienne, O. K., Sadeer, N. B., Ak, G., Behl, T. ve Zengin, G. (2021). HPLC-FRAP methodology and biological activities of different stem bark extracts of *Cajanus cajan* (L.) Millsp. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **192**, 113678.

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

Spires-Jones, T.L., Hyman, B.T. (2014). The Intersection of Amyloid Beta and Tau at Synapses in Alzheimer's Disease. *Neuron*, **82(4)**, 756-771.

Stefano Dall'Acqua. (2013). Plant-derived acetylcholinesterase inhibitory alkaloids for the treatment of Alzheimer's disease. *Botanics: Targets and Therapy*, **3**, 19-28.

Strzemiński, M., Wójciak-Kosior, M., Sowa, I., Rutkowska, E., Szwer, W., Kocjan, R. ve Latański, M. (2016). Carlina species as a new source of bioactive pentacyclic triterpenes. *Industrial Crops and Products*, **94**, 498-504.

Sudhakar, A. (2009). History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods. *Journal of Cancer science and Therapy*, **1(2)**, 1-4.

Szwajgier, D. ve Borowiec, K. (2012). Phenolic acids from malt are efficient acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors. *Journal of the Institute of Brewing*, **118**, 40–48.

Tripathi, B.K. ve Srivastava, A.K. (2006). Diabetes mellitus: Complications and therapeutics. *Medical Science Monitor*, **12(7)**, 130-147.

Tuzlacı, E. ve Aymaz, P. (2001). Turkish folk medicinal plants, Part IV: Gönen (Balıkesir). *Fitoterapia*, **72**, 323-343.

Türkan, F., Huyut, Z., Taslimi, P. ve Gülçin, İ. (2019). the effects of some antibiotics from cephalosporin groups on the acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase enzymes activities in different tissues of rats. *Archives of Physiology and Biochemistry*, **125(1)**, 12-18.

Urig, S. ve Becker, K. (2006). On the Potential of Thioredoxin Reductase Inhibitors for Cancer Therapy. *Seminars in Cancer Biology*, **16**, 452-465.

Uygur, M. ve Yavuz, D. (2017). Diyabet Tanısı ve Sınıflandırması. *Türkiye Klinikleri*, **3(3)**, 120-9.

Villaño, D., Fernández-Pachón, M.S., Moyá, M.L., Troncoso, A.M., García-Parrilla, M.C. (2007). Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, **71(1)**, 230-235.

Vinayagam, R., Jayachandran M. ve Xu, B. (2016). Antidiabetic Effects of Simple Phenolic Acids: A Comprehensive Review. *Phytotherapy Research*, **30**, 184-199.

Wang, H., Du, Y. ve Song, H. (2010). α -Glucosidase and α -Amylase Inhibitory Activities of Guava Leaves. *Food Chemistry*, **123**, 6-13.

Wang, X., Wang, W., Li, L., Perry, G., Lee, H. ve Zhu, X. (2013). Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1842**, 1240–1247.

Wang, S., Li, Y., Huang, D., Chen, S., Xia, Y. ve Zhu, S. (2022). The inhibitory mechanism of chlorogenic acid and its acylated derivatives on α -amylase and α -glucosidase. *Food Chemistry*, **372**, 131334.

Wehmeier, U.F. ve Piepersberg, W. (2004). Biotechnology and molecular biology of the α -glucosidase inhibitor acarbose. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **63**, 613-625.

Wittenauer, J., Mäcke, S., Sußmann, D., Schweiggert-Weisz, U., Carle, R. (2015). Inhibitory effects of polyphenols from grape pomace extract on collagenase and elastase activity. *Fitoterapia*, **101**, 179-187.

Wootton, C.P., ve Ryan, L., (2011). Improving public health?: The role of antioxidant-rich fruit and vegetable beverages. *Food Research*, **44**, 3135-3148.

Yilmaz, M.A., Ertas, A., Yener, İsmail., Akdeniz, M., Cakir, O., Altunf, M., Demirtas, I., Boga, M. ve Teme, H. (2018). A comprehensive LC–MS/MS method validation for the quantitative investigation of 37 fingerprint phytochemicals in *Achillea* species: A detailed examination of *A. coarctata* and *A. monocephala*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **154**, 413-424.

Zhang, J., Li, X., Han, X., Liu, R. ve Fang, J. (2017). Targeting the thioredoxin system for cancer therapy. *Trends in Pharmacological Sciences*, **38**, 9.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

CARDOPATIUM CORYMBOSUM BİTKİSİNİN ÇEŞİTLİ ENZİMLERİ
İNHİBE EDİCİ VE ANTİOKSİDAN ETKİLERİNİN ÖLÇÜLMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

%16

BENZERLİK ENDEKSİ

%14

İNTERNET KAYNAKLARI

%2

YAYINLAR

%8

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

acikbilim.yok.gov.tr

İnternet Kaynağı

%4

2

nek.istanbul.edu.tr:4444

İnternet Kaynağı

%2

3

Submitted to Çankırı Karatekin University

Öğrenci Ödevi

%1

4

acikerisim.erbakan.edu.tr

İnternet Kaynağı

%1

5

Submitted to Istanbul University

Öğrenci Ödevi

<%1

6

acikerisim.dicle.edu.tr

İnternet Kaynağı

<%1

7

Submitted to Yeditepe University

Öğrenci Ödevi

<%1

8

cdn.istanbul.edu.tr

İnternet Kaynağı

<%1

9

Submitted to The Scientific & Technological
Research Council of Turkey (TUBITAK)

<%1

