



**T.C.
AKSARAY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOTEKNOLOJİ VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***CIRSIUM MACROBOTRYS*'İN BAZI BİYOKİMYASAL
PARAMETRELERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KEVSER YILDIRIM

DANIŞMAN

DOÇ. DR. YAVUZ SELİM ÇAKMAK

AKSARAY, 2020

Aksaray Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 172330411 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi, Kevser YILDIRIM tarafından hazırlanan “*CIRSİUM MACROBOTRYS*’İN BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİNİN BELİRLENMESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Yavuz Selim ÇAKMAK

Aksaray Üniversitesi

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



Üye: Prof. Dr. Murat KAYA

Aksaray Üniversitesi

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



Üye: Doç. Dr. Gökhan ZENGİN

Selçuk Üniversitesi

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



Tez Savunma Tarihi: 03/01/2020

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

.....
Doç. Dr. Mehmet Ali HINIS
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

DOĞRULUK BEYANI

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

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

Kevser YILDIRIM



TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yürütülmesi sırasında desteğini esirgemeyen danışmanım Doç. Dr. Yavuz Selim Çakmak'a, Selçuk Üniversitesi Fizyoloji-Biyokimya Araştırma Laboratuvarı'nda laboratuvar çalışmaları ve sonuçların değerlendirilmesi için her türlü yardımı sağlayan Doç. Dr. Gökhan Zengin'e içtenlikle teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca maddi manevi en büyük desteğim olan ve bana hep inanıp arkamda olan başta canım BABAM olmak üzere kıymetlim AİLEME ve başta can dostum Seren Aydaşoğlu olmak üzere bütün dostlarıma çok teşekkür ederim.

Kevser YILDIRIM
AKSARAY, 2020

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	4
2.1 <i>Cirsium</i> Cinsi ve <i>Cirsium macrobotrys</i>	4
2.1.1 <i>Cirsium</i> cinsinin geleneksel tıpta kullanımı ve önemi	5
2.2 Oksidatif Stres	6
2.2.1 Oksidatif stresin organizmalar üzerindeki hasar örnekleri	8
2.2.1.1 Lipit peroksidasyonu	9
2.2.1.2 Protein oksidasyonu	10
2.2.1.3 DNA hasarı.....	11
2.2.1.4 Oksidatif stres ve kanser	13
2.2.1.5 Oksidatif stres ve diyabet	16
2.3 Antioksidan Aktivite	17
2.4 Enzim İnhibisyon Aktivite.....	18
3. MALZEME VE YÖNTEM	20
3.1 Örnek Toplanması	20
3.2 Özütlelerin Hazırlanması.....	20
3.3 Antioksidan Aktivite Metodları.....	21
3.3.1 Toplam fenolik içerik.....	21
3.3.2 Toplam flavonoid içerik.....	21
3.3.3 DPPH serbest radikal giderme aktivitesi	21
3.3.4 ABTS serbest radikali giderme aktivitesi	22
3.3.5 Toplam antioksidan kapasite (Fosfomolibdat testi).....	22
3.3.6 Demir indirgeme antioksidan gücü (FRAP)	23
3.3.7 Bakır iyonları indirgeme aktivitesi (CUPRAC).....	23
3.4 Enzim İnhibisyon Testleri	23
3.4.1 Tirozinaz inhibisyonu	23
3.4.2 Kolinesteraz inhibisyonu	24
3.4.3 α -amilaz inhibisyonu	24
3.4.4 α -glukozidaz inhibisyonu	24
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	25
4.1 Antioksidan Aktivite.....	25
4.1.1 Toplam fenolik, flavonoid ve fenolik asit içerikleri	25
4.1.2 Serbest radikal giderme aktivitesi (DPPH ve ABTS).....	27
4.1.3 CUPRAC	28
4.1.4 FRAP	29
4.1.5 Metal şelatlama	29
4.1.6 Fosfomolibdat	29
4.2 Enzim İnhibitör Etkileri.....	30
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	33
KAYNAKLAR.....	34
ÖZGEÇMİŞ	39

YÜKSEK LİSANS TEZİ

CIRSİUM MACROBOTRYS'İN BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİNİN BELİRLENMESİ

Kevser YILDIRIM

**Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı**

Danışman: Doç. Dr. Yavuz Selim ÇAKMAK

ÖZET

Cirsium türleri yetiştiği her bölgede geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada, *Cirsium macrobotrys*'in farklı özütlerinin (metanol ve su) antioksidan kapasitesi; serbest radikal giderme aktivitesi DPPH (67.10-72.83 mg TE/g özüt) ve ABTS (107.84-128.48 mg TE/g özüt), FRAP (82.72-102.06 mg TE/g özüt), CUPRAC (142.27-194.88 mg TE/g özüt), metal şelatlama (19.16-35.71 mg EDTAE/g özüt) aktivitesi ve fosfomolibdat testi (1.31-1.73 mmol TE/g özüt) kullanılarak değerlendirildi. Özütlerin toplam fenolik içeriğinin 39.01-45.15 mg GAE/g özüt, toplam flavonoid içeriğinin 6.03-28.15 mg RE/g özüt ve toplam fenolik asit içeriğinin 5.97-12.83 mg CE/g özüt oranları arasında değiştiği belirlenmiştir. Enzim inhibisyon aktivitelerinde ise asetilkolinesteraz inhibisyonu 8.86-10.53 mg GALAE/g özüt, bütirilkolinesteraz inhibisyonu 1.30-1.61 mg GALAE/g özüt, tirozinaz inhibisyonu 123.60-204.80 mg KAE/g özüt, amilaz inhibisyonu 0.08-0.56 mmol ACAE/g özüt ve glukozidaz inhibisyonu 10.33-16.58 mmol ACAE/g özüt oranları arasında belirlenmiştir. Toplam fenolik içerik, toplam flavonoid içerik, DPPH, CUPRAC, FRAP ve glukozidaz inhibisyonu testleri en yüksek sonuçlarını ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon yönteminde elde etmiştir. ABTS, metal şelatlama, fosfomolibdat ve bütirilkolinesteraz inhibisyonu testlerinde en yüksek sonuçlarını homojenizatör destekli ekstraksiyon yönteminde elde etmiştir. Asetilkolinesteraz inhibisyonu ve tirozinaz inhibisyonu testleri en yüksek sonuçlarını infüzyon ekstraksiyon yönteminden elde etmiştir. Amilaz inhibisyonu testi en yüksek sonucu sokslet ekstraksiyon yönteminden elde ederken toplam fenolik asit içeriği testi en yüksek sonucu maserasyon ekstraksiyon yönteminden elde etmiştir. Antioksidan ve enzim inhibisyon aktivitesinin belirlendiği oranlar *C. macrobotrys*'in gıda ve farmakoloji alanlarında kullanılabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Cirsium*, Antioksidan aktivite, FRAP, Enzim inhibisyonu aktivitesi.

Ocak, 2020; 39 sayfa

M.Sc. THESIS

DETERMINATION OF SOME BIOCHEMICAL PARAMATERS OF *CIRSIMUM MACROBOTRYS*

Kevser YILDIRIM

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

Supervisor: Associate Prof. Dr. Yavuz Selim ÇAKMAK

ABSTRACT

Cirsium species are widely used in traditional medicine in every region it grows. In this study, the antioxidant capacity of different extracts of *Cirsium macrobotrys* was evaluated using free radical removal activity DPPH (67.10-72.83 mg TE/g extract) and ABTS (107.84-128.48 mg TE/g extract), FRAP (82.72-102.06 mg TE/g extract), CUPRAC (142.27-194.88 mg TE/g extract), metal chelating activity (19.16-35.71 mg EDTAE/g extract) and phosphomolybdate methods (1.31-1.73 mmol TE/g extract). The total phenolic content of extracts varies between 39.01-45.15 mg GAE/g extract ratios, the total flavonoid content of extracts varies between 6.03-28.15 mg RE/g extract ratios and total phenolic acid content of extracts varies between 5.97-12.83 mg CE/g extract ratios. In enzyme inhibition activities, acetylcholinesterase inhibition was determined between 8.86-10.53 mg GALAE/g extract ratios, butyrylcholinesterase inhibition between 1.30-1.61 mg GALAE/g extract ratios, tyrosinase inhibition between 123.60-204.80 mg KAE/g extract ratios, amylase inhibition between 0.08-0.56 mmol ACAE/g extract ratios and glucosidase inhibition between 10.33-16.58 mmol ACAE/g extract ratios was determined. Tests of total phenolic content, total flavonoids content, DPPH, CUPRAC, FRAP and glucosidase inhibition achieved the highest result in ultrasonication-assisted extraction method. Tests of ABTS, metal chelation, phosphomolibdat and butylcholinesterase inhibition achieved the highest result in homogenizer-assisted extraction method. Acetylcholinesterase inhibition and tyrosine inhibition tests have obtained the highest results from infusion extraction method. While the amylase inhibition test achieved the highest result from the soxlet extraction method, the total phenolic acid content test achieved the highest result from the maseration extraction method. Rate of antioxidant and enzyme inhibition activity have shown that *C. macrobotrys* can be used in fields of food and pharmacology.

Keywords: *Cirsium*, Antioxidant activity, FRAP, Enzyme inhibition activity.

January, 2020; 39 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Oksijenin sıralı tek değerlikli indirgenmesiyle farklı ROS üretimi.....	8
Şekil 2.2. ROS ve insan kanserinin gelişimindeki rolü.	14
Şekil 2.3. RS kanser gelişimine katkıda bulunan yollarından bazıları	15
Şekil 3.1. <i>Cirsium macrobotrys</i>	20



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. <i>C. macrobotrys</i> 'in sistematik sınıflandırılması	5
Çizelge 4.1. Toplam fenolik , flavonoid ve fenolik asit içeriği	27
Çizelge 4.2. DPPH aktivitesi, ABTS aktivitesi.....	28
Çizelge 4.3. CUPRAC, FRAP, metal şelatlama, fosfomolibdat aktivitesi	30
Çizelge 4.4. Enzim inhibisyonu.....	32



SİMGELER VE KISALTMALAR

AAE	Askorbik asit eşdeğeri
ABTS	Troloks eşiti antioksidan kapasite yöntemi
ACAE	Akarboz eşdeğeri
ACE	Anjiyotensin dönüştürücü enzim
AChE	Asetilkolinesteraz
AGE	İleri glikasyon son ürünleri
BER	Basic excision repair-Temel eksizyon onarım
BChE	Bütirilkolinesteraz
CAT	Katalaz
CE	Kafeik asit eşdeğeri
Cm	Santimetre
-CH₂⁻	Metilen grup
ChE	Kolinesteraz
CO	Karbonil grupları
Cu²⁺	Bakır iyonları
CUPRAC	Bakır iyonları indirgeme aktivitesi
Dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
e⁻	Elektron
e⁻_{aq}	Sulu çözeltilerdeki elektron
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
EDTAE	EDTA eşdeğeri
EGCG	Epigallokateşin-3-O-gallat
Fe	Demir
FRAP	Demir indirgeme antioksidan gücü
G	Gram
GAE	Gallik asit eşdeğeri
GALAE	Galatamin eşdeğeri
H	Hidrojen
HO[•]	Hidroksi
HO₂[•]	Hidroperoksil
H₂O	Dihidrojen monoksit
H₂O₂	Hidrojen peroksit
HOCl	Karbonil hipokloröz asit
IC₅₀	Radikalin %50'sini inhibe eden konsantrasyon
IKI	İyodin/potasyum iyodid
KAE	Kojik asit eşdeğeri
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
LH	Poliansatüre yağ asidi
LOO[•]	Lipit peroksil radikali
LOOH	Lipit hidroperoksitler
LPO	Lipit peroksidasyonu
L-DOPA	(3,4-dihidroksi-L-fenilalanin)
m	Metre
M	Molarite
MDA	Malondialdehit
Meⁿ⁺	Metal iyonları

Mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
Mm	Milimolar
mmol	Milimol
nm	Nanometre
NO	Nitrik asit
NRP	Radikal olmayan gruplar
$\cdot\text{O}_2$	Singlet oksijen
O₃	Ozon
OH	Hidroksil radikali
O₂⁻	Süperoksit anyonu
ONOO⁻	Peroksinitrit
O₂⁻	Süperoksit anyon
P•	Karbon merkezli protein
PO•	Alkoksi
POO•	Protein peroksi radikali
POOH	Hidroperoksit
R	Radikal
RAGE	İleri glikasyon son ürün reseptörleri
RE	Rutin eşdeğeri
RNS	Reactive Nitrogen Species-Reaktif Azot Türleri
RO•	Alkoksil
RO₂[•]	Peroksil
ROS	Reactive Oxygen Species-Reaktif Oksijen Türleri
RS	Reaktif Türler
SOD	Süperoksit dismutaz
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
TE	Troloks eşdeğeri
UV	Ultraviyole
QE	Quercetin eşdeğeri
Mg	Mikrogram
μl	Mikrolitre
μmol	Mikromol
°C	Santigrat Derece
%	Yüzde

1. GİRİŞ

Bitkilerin insan yaşamında kullanımı ve önemi insanlık tarihi kadar eskiye dayanır. Bitkiler; kolay elde edilebilirliği, düşük maliyetleri, sağlığa faydalı olmaları gibi özellikleri sayesinde gıda, medikal, tekstil, kozmetik gibi pek çok alanda geçmişten günümüze yaygın bir kullanıma sahiptir. Bitkiler, pek çok yararlı bileşeni ihtiva etmelerinden dolayı geleneksel ve modern tıpta birçok hastalığın tedavisinde, hastalığın önlenmesinde ve sağlığın korunmasında ilaç olarak kullanılır. Türkiye bitkisel tür çeşitliliği açısından oldukça zengin bir ülkedir. Bu alandaki çalışmalar Türkiye’de yayılış gösteren yaklaşık 12.000 civarındaki bitki türünden sadece 500 kadarının tıbbi amaçlarla kullanıldığını göstermektedir (Baytop, 1999; Polat vd., 2012).

Türkiye’de halk arasında deve dikenini olarak bilinen çeşitli bitki türleri bulunmaktadır. Bu türler yaygın olarak *Carduus*, *Carlina* ve *Cirsium* cinslerinin türleridir. Aynı zamanda *Silybum marianum* olarak bilinen deve dikenini eski zamanlardan beri hekimler ve şifacılar tarafından hepatit, siroz, sarılık gibi bir dizi karaciğer ve safra rahatsızlıklarını tedavi etmek için ve yılan ısırıkları, böcek sokmaları, mantar zehirlenmeleri ve alkol de dahil olmak üzere çevresel ve kimyasal toksinlerden zehirlenmeye karşı korumak için kullanılmaktadır. Bitkinin aktif kompleksi, bitkinin tohumlarından elde edilen lipofilik bir özdür ve topluca silimarin olarak bilinen üç izomer flavonolignandan (silibin, silidianin ve silistrin) oluşur (Abenavoli vd., 2010). Silimarin; *Amanita phalloides*, etanol ve psikotropik ilaçlar da dahil olmak üzere birçok toksin tarafından üretilen hepatotoksitede kullanım için iyi tolere edilen ve etkili bir antidottur. Çok sayıda deneysel çalışma, bu bileşiğin eşsiz bir hepatoprotektif ajan olduğunu ve karaciğere özgü diğer özelliklerle birlikte serbest radikal giderici olarak hareket ettiğini göstermektedir (Fraschini vd., 2002).

Bu cinslerden biri olan *Cirsium Mill.* Afrika Kıtası, Avrupa Kıtası ve Kuzey Amerika’da yetişen Asteraceae familyasından bir bitki türüdür. Türkiye’de farklı bölgelerde halk arasında farklı isimlerle anılmaktadır. Yaygın olarak köygöçüren, öküz kangalı ve su dikenini olarak bilinen *Cirsium* cinsinin Türkiye’de 81 taksonu (67 tür) bulunmaktadır (Dirmenci vd., 2019). Bunların 31’i endemiktir. *Cirsium* türlerinin özellikle çiçekleri flavonoidler (linarin, pektolinarin, apigenin, hispidulin) ve fenolik bileşikler içermektedir. Bu sekonder bileşiklerden dolayı Anadolu’nun kırsal kesimlerinde yaşayan halk tarafından kuvvet verici ve iştah açıcı olarak şifa amaçlı kullanılmaktadır (Baytop, 1999). Ayrıca başka ülkelerde kökleri

kuvvet verici, antioksidan, antidiyabetik ve karaciğer koruyucu, yaprakları iltihap azaltıcı ve antiseptik, tüm bitkinin ise çayı yapılarak idrar söktürücü olarak kullanıldığı rapor edilmiştir (Bonet vd., 1999; Cairns vd., 2005; Yin vd., 2008).

Çalışmada kullanacağımız *Cirsium macrobotrys*, dünya genelinde Azerbaycan, Kafkasya, Kuzey İran'da; Türkiye'de ise Kars, Hakkari, Bingöl, Erzincan, Erzurum, Muş, Van ve Bayburt'ta dağılım gösteren, endemik olmayan bir bitki türüdür. İki yıllık, otsu, kökleri güçlü, 30-200 cm'ye kadar yükselebilen, dik, yukarı dallanmamış ve başaklı bir bitkidir. Yaprakları yeşil ve dilimlere ayrılmıştır. Ekili tarla, otlak ve boş alanlarda yetişebilir.

Serbest radikaller, eşleştirilmemiş elektronlar içeren herhangi bir kimyasal tür olarak tanımlanabilir. Eşleştirilmemiş elektronlar, bir atomun veya molekülün kimyasal reaktivitesini arttırır. Yaygın serbest radikal örnekleri arasında hidroksil radikali (OH), süperoksit anyon (O_2^-), demir ve bakır geçiş metalleri, nitrik oksit (NO) ve peroksinitrit (ONOO-) bulunur.

Serbest radikaller eşlenmemiş elektronların varlığı nedeniyle doğal olarak kararsız moleküllerdir. Sonuç olarak bunlar oldukça reaktif olabilirler ancak bu radikallikten radikalliğe değişir. Diğer moleküllere göre daha stabil bir duruma ulaşmak için lokal reaksiyonlarla elektron alırlar veya elektron verirler. Radikal olan ile bütün biyolojik makromoleküller, lipitler, proteinler, nükleik asitler ve olası hedef karbohidratların reaksiyonu, yeni radikal yapılar ile serbest radikal zincir reaksiyonu meydana getirir. Önemli örnekleri; lipit peroksidasyonu ve protein hasarı, karbonil grupların eklenmesi veya çapraz bağlanma veya fragmantasyondur. Serbest radikaller, birçok biyokimyasal işlemin kaçınılmaz bir yan ürünü olarak ve bazı durumlarda aktive edilmiş nötrofillerde olduğu gibi kasıtlı olarak büyük miktarlarda oluşur. Ek olarak, çevreden elektromanyetik radyasyona cevaben vücutta serbest radikaller üretilir ve doğrudan ozon ve azotdioksit gibi oksitleyici kirleticiler olarak elde edilebilir Antioksidan savunmaları eksikse çeşitli dokularda hasar oluşabilir (Rodriguez ve Redman, 2005).

Serbest radikal saldırılarının şiddetli hasar verme potansiyellerinden dolayı vücut dokularını korumak için kompleks antioksidan savunma mekanizmaları gelişmiştir. Özetle; oksidatif stres doku yaralanmalarına neden olabilecek serbest radikallerin üretimi ve antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengenin serbest radikaller lehine bozulması olarak tanımlanabilir (Betteridge, 2000).

Enzimler biyoteknoloji endüstrisinde önemli araçlar haline gelen metabolizmanın bilinen katalitik ajanlarıdır. Enzim inhibisyonu, çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçların keşfedilmesine öncülük ettiği için ilaç araştırma alanında oldukça büyük bir öneme sahiptir. Enzim inhibitörleri, enzimlerle etkileşime girerek onların doğal substratlarına karşı etkinliklerini bloke ederler (Amtul vd., 2002).

Cirsium cinsi ülkemizde yaygın bulunur ancak hakkında kısıtlı sayıda çalışma vardır. Bitkiler değerli kimyasalların kaynağı olarak büyük bir potansiyele sahiptir ve bu çalışmada amacımız bu cinse ait bir tür olan *C. macrobotrys*'in potansiyelini açığa çıkarmak için bitkiden farklı yöntemlerle elde edilen özütlerin antioksidan, enzim inhibisyon aktivite testleri ile fenolik madde içeriğini belirlemektir. Bu sayede geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılan bitkinin modern tıpta hastalıkların tedavisinde ilaç olarak kullanım potansiyelinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 *Cirsium* Cinsi ve *Cirsium macrobotrys*

Asteraceae familyasına ait en büyük cinslerden biri olan *Cirsium* Avrupa, Kuzey Afrika, Doğu Asya, Orta Asya, Güneydoğu Asya ve Kuzey Orta Amerika'ya yayılmış yaklaşık 250 tür içerir. Türkiye'de yetişen *Cirsium* türlerin yayılışı üzerine Davis ve Parris tarafından yapılan ve *Türkiye Florası* içerisinde verilen cins, üç bölüme ait ve tanımlanmış 57 tür (71 takson) ile tanımlaması tartışmalı olan 7 türle temsil edilmektedir. Doğal *Cirsium* türleri deniz seviyesinden alpine kadar çeşitlilik gösterir ve bataklıklar, çayırlar, ormanlar, bozkırlar, çöller gibi birçok habitatta bulunur. Türler iki yıllık veya çok yıllıktır, nadiren tek yıllıktır (Yıldız vd., 2016). Bitki; 20-100 cm'ye kadar yükselebilen, kökleri 50-120 cm kadar uzayabilen, gövdesi dikenli-kanatlı ya da dikensiz, yaprak kenarları dikenli üst yüzü dikencikli veya değil ve yapraklar tamdan derin parçalıya kadar olabilen şekillerde görülmektedir. Bitki dik, kapitülün ağırlığına bağlı olarak üst kısmı kavisli ve dalsızdır (nadiren bitkinin çiçek açan kısmında dallar bulunur) (Yıldız vd., 2009). Çiçek durumu başları tek ya da yoğun olarak bir araya toplanmıştır (Selvi vd., 2013). Ağustos ve Eylül ayları çiçeklenme ve meyve verme zamanlarıdır (Yıldız vd., 2009).

C. macrobotrys dünya genelinde Azerbaycan, Kafkasya, Kuzey İran'da; Türkiye'de ise Kars, Hakkari, Bingöl, Erzincan, Erzurum, Muş, Van ve Bayburt'ta dağılım gösteren endemik olmayan bir bitki türüdür. İki yıllık, otsu, tek, kökleri güçlü, 30-200 cm'ye kadar yükselebilen, dik, yukarı dallanmamış, başaklı, taç yaprağı ağarmış beyaz renkte 23-28 mm, akenleri 5.5 mm, pappus 22-24 mm, kapitulası sivri uçlu ve genellikle sap tepesi kalabalık 20-30 mm, medyan sap yaprakları; yarı-sapı kaplayan, anahattında dikdörtgen, tüysü derin parçalı dilimlere ayrılmış, 3-14 mm apikal omurgalı lobları olan bir bitkidir (Yıldız vd., 2009). *C. macrobotrys*'in sistematik sınıflandırılması çizelgede gösterilmiştir (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. *C. macrobotrys*'in sistematik sınıflandırılması.

Kingdom	Plantae
Subkingdom	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Class	Magnoliopsida
Subclass	Asteridae
Order	Asterales
Familiy	Asteraceae
Genus	Cirsium
Species	<i>Cirsium macrobotrys</i> (C. KOCH) BOISS

2.1.1 *Cirsium* cinsinin geleneksel tıpta kullanımı ve önemi

Cirsium adı, “şişmiş damar” anlamına gelen Yunanca “khirsos” kelimesinden gelir ve damar hastalıklarına atıfta bulunur. Ek olarak bu bitkinin varikoz hastalığında ağrı hafiflemesi için kullanıldığı bilinmektedir (Yıldız vd., 2016).

Halk arasında yaygın olarak köygöçüren, öküz kangalı, su diken, kangal diken, çarık kesen ve eşek diken olarak bilinen *Cirsium* ülkemizde ve dünyada farklı bölgelerde geleneksel olarak birçok sağlık sorununa karşı uzun yıllardan beri kullanılmaktadır. *Cirsium* türleri; öksürük gidermek, bronşit tedavisi, karaciğer rahatsızlıklarının tedavisi, böbrek iltihaplanmalarının giderilmesi, ülser hastalarının tedavisi, hipertansiyon rahatsızlıkları, hemoroid ağrılarının giderimi, ödem rahatsızlıkları, kanamaların durdurulması, kan kusma durumları, idrarda kan görülmesi, kuvvet verici ve idrar sökücü olarak halk arasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Boğa, 2012). Bu etkileri dışında farklı yönleriyle de araştırılmış ve faydaları bulunmuştur. *C. setidens* kalsiyum ve A vitamini açısından zengindir, bu nedenle bazı ülkelerde yaygın olarak tüketildiği bildirilmiştir (Yoo vd., 2008). Polonya’da yapılan bir çalışmada ise antimitotik özelliği bilinen bir tür olan *C. rivulare*’nin anksiyeteye karşı faydalı etkilere sahip olduğu ve bu nedenle hastalığın tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir (Nazaruk ve Jakoniuk, 2005). Japonya’da *C. maritimum* kan tükürme, bel soğukluğu ve yanık tedavisinde kullanılırken bunun yanında salamura sebze olarakta tüketilmektedir (Nakasugi

vd., 2002). *C. japonicum* geleneksel Çin tıbbında romatoid artrit, idrarda kan gelmesi, kan kusma gibi rahatsızlıklarda kullanılmaktadır (Takaishi vd., 1990). Aynı zamanda bu bitkinin akciğer kanseri, rahim kanseri, kan kanseri tedavisinde de kullanıldığı bildirilmiştir (Liu vd., 2007). Ağız kokusunun tedavisi için hazırlanan diş macununun içerisinde bulunan bitkilerden biri yine *C. japonicum*'dur (Boğa, 2012). Çin tıbbında detoksifikasyon için, ateş düşürücü olarak ve kan dolaşımını arttırmada *C. chanroenicum* bitkisinin toprak üstü kısımları kullanılmaktadır (Lim vd., 2008). Yine Çin geleneksel tıbbında kemik kırıkları ve idrarda kan gelmesi rahatsızlıklarında *C. chlorolepis* bitkisinin kökleri kullanılmaktadır (Shen ve Mu, 1990). Bir başka çalışmada *C. setosum* bitkisinin prostat tedavisi için ağızdan alınan tedavi edici bir solüsyonda bulunduğu bildirilmiştir (Boğa, 2012). İtalya geleneksel tıbbında ise *Cirsium* cinsinin farklı türleri kolagog olarak kullanılmaktadır (Takano ve Kawaminami, 1987).

Yapılan çalışmalarda görüldüğü gibi *Cirsium* cinsi bitki türleri, başta Asya Kıtası olmak üzere dünyanın çeşitli bölgelerinde yerel halk tarafından geçmişten günümüze geleneksel tıpta birçok hastalığın tedavisinde kullanılmış ve hala kullanılmaktadır. Bu veriler bitkinin sahip olduğu potansiyelin daha iyi anlaşılmasında etkili olmuştur.

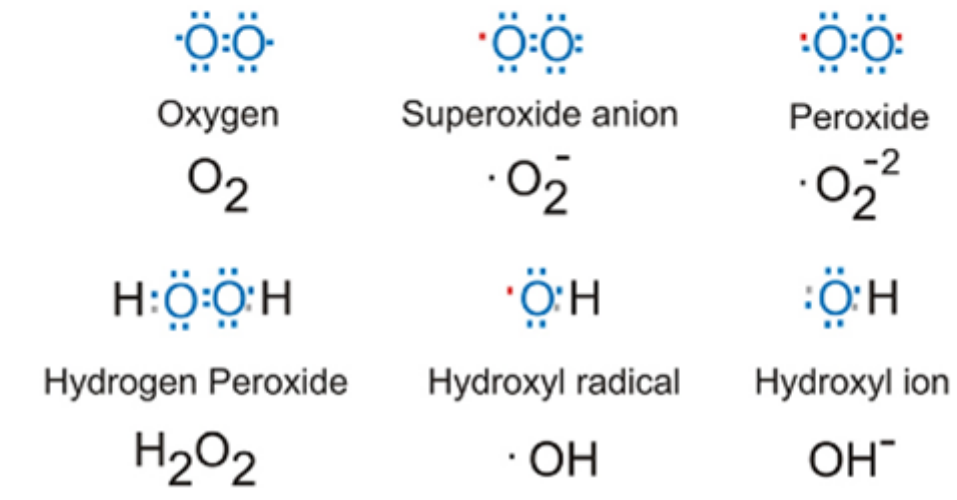
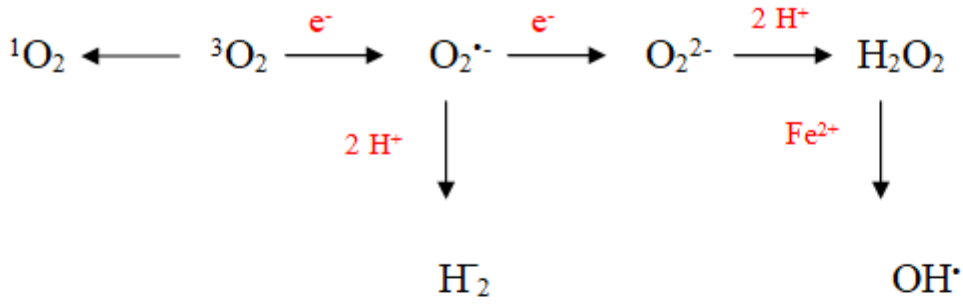
2.2 Oksidatif Stres

Yaşamın sürdürülebilmesi için zorunlu olan en önemli elementlerden biri oksijendir. Soluduğumuz havada nispeten reaktif olmayan oksijen, yüksek enerjiye veya elektron transfer eden kimyasal reaksiyonlara maruz kaldığında yüksek oranda reaktif kimyasallara dönüştürülebilir. Oksijenin dönüştüğü bu formlar topluca “reaktif oksijen türleri” olarak adlandırılır. Reaktif oksijen türleri (ROS) biyolojik organizmalar için toksiktir. ROS seviyeleri hücresel oksidasyonun zincir reaksiyonuna ve sonuçta hastalık ve ölümcüllüğe neden olur (Rodriguez ve Redman, 2005).

Serbest radikaller, eşleştirilmemiş elektronlar içeren herhangi bir kimyasal tür olarak tanımlanabilir. Eşleştirilmemiş elektronlar, bir atom veya molekülün kimyasal reaktivitesini artırır. Serbest radikaller, birçok biyokimyasal işlemin kaçınılmaz bir yan ürünü olarak ve bazı durumlarda aktive edilmiş nötrofillerde olduğu gibi kasten de olsa büyük miktarlarda oluşur. Ek olarak, çevreden elektromanyetik radyasyona yanıt olarak vücutta serbest

radikaller üretilir ve doğrudan ozon ve azot dioksit gibi oksitleyici kirleticiler olarak elde edilebilir. Antioksidan savunmaları eksikse çeşitli dokularda hasar oluşabilir.

Oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengesizliğin potansiyel olarak hasara neden olmasına oksidatif stres denir (Sies, 1997). Oksidatif stres aerobik metabolizmanın kaçınılmaz bir yan ürünüdür, çünkü O_2 ve H_2O_2 , moleküler oksijen kimyasal olarak elektron taşıyıcıları oksitlendiğinde oluşur (Storz ve A lmay, 1999). ROS'lar normal hücresel metabolizma ve hava kirleticileri veya sigara dumanı gibi çevresel faktörlerin bir sonucu olarak canlı organizmalar tarafından üretilir. ROS iki gruba ayrılır; serbest radikaller ve radikal olmayanlar. Bir veya daha fazla eşleştirilmemiş elektron içeren ve böylece moleküle reaktivite veren moleküller serbest radikal olarak adlandırılır. İki serbest radikal eşleşmemiş elektronlarını paylaştığında, radikal olmayan formlar oluşur. Fizyolojik öneme sahip üç ana ROS süperoksit anyon (O_2^-), hidroksil radikali ($\bullet OH$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2)'tir (Şekil 2.1.). Düşük veya orta derece de konsantrasyonlarda, fizyolojik hücre işlemlerinde işlev görürler, ancak yüksek konsantrasyonlarda, lipidler, proteinler ve DNA gibi hücre bileşenlerinde ters modifikasyonlar oluştururlar. Aerobik organizmalar, ROS'un zararlı etkilerini bloke etmede genellikle etkili olan enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanları içeren entegre antioksidan sistemlerine sahiptir. Bununla birlikte, patolojik koşullarda antioksidan sistemler bastırılabilir. Oksidatif stres; kanser, nörolojik bozukluklar, ateroskleroz, hipertansiyon, iskemi/perfüzyon, diyabet, akut solunum sıkıntısı sendromu, idiyopatik pulmoner fibroz, kronik obstrüktif akciğer hastalığı ve astım dahil olmak üzere birçok patolojik duruma ve hastalığa katkıda bulunur (Birben vd., 2012).



Şekil 2.1. Oksijenin sıralı tek değerlikli indirgenmesiyle farklı ROS üretimi.

2.2.1 Oksidatif stresin organizmalar üzerindeki hasar örnekleri

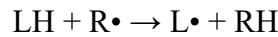
Oksidatif stresin oluşması canlılar için toksik bir etkiye neden olmaktadır. Yaşlanma, inflamasyon, yüksek O_2 basıncı, kimyasal ajanlar, radyasyon, iskemi-perfüzyon bu dengenin bozulmasına neden olan etken örnekleridir. Bu toksik etki neticesinde lipidler, proteinler, DNA ve karbohidratlar okside olur ve normal hücresel membran ve üreme fonksiyonlarının parçalanmasına neden olur. Bu durumun en önemli örnekleri olarak; lipid peroksidasyonu, protein ve DNA hasarı verilebilir. Oksidatif stresin kanser ve diyabet gibi günümüzün yaygın ve tehlikeli hastalıkları ile olan ilişkisi ise birçok bilimsel çalışma ile araştırılmış ve araştırılmaya devam etmektedir (Betteridge, 2000).

2.2.1.1 Lipit peroksidasyonu

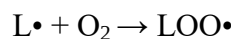
Lipid peroksidasyon reaksiyonları genellikle bir radikalın poliansature yağ asitlerinde oksidasyona neden olduğu, serbest radikal etkili zincir reaksiyonlarıdır (Abuja ve Albertini, 2001). Serbest radikallerin hücre zarındaki çoklu doymamış yağ asitlerinden bir hidrojen atomu koparması ile süreç başlar. Bu hidrojen atomu metilen gruptan ($-\text{CH}_2-$) koparılır. Hidrojen atomunun bir elektron içermesinden dolayı metilen gruptan bir e^- kopmuş olur ve buda karbon üzerinde eşleşmemiş bir e^- kalmasına neden olur (Özcan vd., 2015). Oksidatif stresi değerlendirmek için kullanılan en yaygın endeks grubu, serbest radikallerin saldırısına yatkın olan lipidlerin, genellikle çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyon ürünleridir. İlk lipit peroksidasyon ürünleri konjuge dienik hidroperoksitlerdir. Bu aktif maddeler, çeşitli aldehitlere ayrışırken orijinal yağ asidi olan arakidonik asit izoprostanlara ayrışır. Bütün bu bozunma ve ayrışma ürünleri, yaygın biçimde konjuge olarak ifade edilen hidroperoksitler (LOOH) dahil olmak üzere oksidatif stresin değerlendirilmesinde kullanılır (Dotan vd., 2003).

Genellikle gerekli reaktiviteye sahip bir radikal (R) ile tepkime başlar (Abuja ve Albertini, 2001):

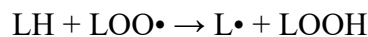
(LH: Poliansature Yağ Asidi)



Moleküler oksijen, hızla bu proste oluşan karbon merkezli radikali ($\text{L}\cdot$) ekleyerek lipit peroksil radikalini ($\text{LOO}\cdot$) verir:



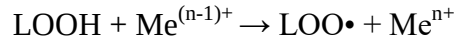
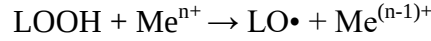
Bu sırayla denklemde, benzer şekilde başka bir çoklu doymamış yağ asitinden bir hidrojen çıkarılabilir:



Bu reaksiyon çoğalma olarak adlandırılır, birçok çoklu doymamış yağ asitinin lipit hidroperoksitlere dönüşmesine neden olabileceği anlamına gelir. Lipit hidroperoksit (LOOH), lipit peroksidasyon reaksiyonunun ilk ve nispeten stabil olan ürünüdür. LPO'nun sürekli olarak başlatıldığı koşullar altında, sonlandırma tepkimesi LPO'nun derecesini sınırlar, radikal olmayan gruplar (NRP) elde eder ve aynı anda iki radikali yok eder:



Geçiş metal iyonları varlığında, LOOH, bu metal iyonlarının redoks dönüşümü ile LPO'yu yeniden başlatabilen radikallerin oluşmasına yol açabilir:

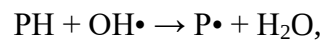


Peroksil radikalleri ortamda antioksidan bulunmadığı zaman çapraz kovalent bağ yaparak hücre membranını oluşacak hasarlara karşı duyarlı hale getirir ve membranın yapısını bozar. Meydana gelen bu hasardan dolayı membranın akışkan özelliğinin bozulması sonucu zarın, potansiyelinde azalma, H^+ ve diğer iyonların geçirgenliğinde artışa neden olarak membranın patlamasına yol açar. Patlayan membranda organeller sitoplazmaya salınır (Özcan vd., 2015). Sonuç olarak lipit peroksidasyonu hücreyi ölüme kadar götürebilir.

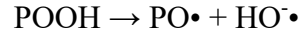
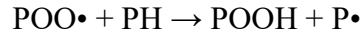
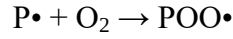
2.2.1.2 Protein oksidasyonu

ROS'ların protein molekülünden bir hidrojen atomu çıkarmasıyla protein oksidasyonu başlar. Protein oksidasyonuna yol açan ROS'lar; $\text{O}_2^{\bullet-}$, $\text{OH}\bullet$, $\text{RO}_2^{\bullet}$, $\text{RO}\bullet$, hidroperoksil ($\text{HO}_2^{\bullet}$), H_2O_2 gibi radikal olmayan türler, hipokloröz asit (HOCl), ozon (O_3), singlet oksijen ($^1\text{O}_2$) ve ONOO^- 'tir. Karbonil (CO) grupları (aldehitler ve ketonlar), oksitlendiklerinde protein yan zincirlerinde (özellikle Pro, Arg, Lys ve Thr) üretilirler. Bu kısımlar kimyasal olarak kararlıdır, bu da bunların tespiti ve depolanması için faydalıdır. Protein karbonil türevleri ayrıca, proteinlerin oksidatif yarıma yoluyla, α -amidasyon yolu ile veya glutamil yan zincirinin oksidasyonu yoluyla üretilebilir, bu da N-terminal amino asidin bir α -ketoasil türevi tarafından bloke edildiği bir peptidin oluşmasına yol açar (Dalle-Donne vd., 2002).

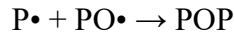
Başlangıç aşamasında protein molekülünden bir hidrojen atomu çıkarılması sonucu karbon merkezli bir protein oluşur (Ergezer vd., 2016). Bu reaksiyon için ihtiyaç duyulan $\bullet\text{OH}$, suyun radyolizi veya H_2O_2 'nin metal katalizörlü ayrılması ile elde edilebilir (Berlett ve Stadtman, 1997);



Protein peroksi radikali ($\text{POO}\bullet$), hidroperoksit (POOH), alkoksi ($\text{PO}\bullet$) ve hidroksi ($\text{HO}\bullet$) radikallerinin olduğu aşamalar ise oksidasyonun yayılma aşamalarıdır;



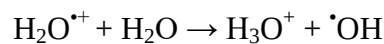
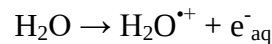
Protein karbonilleri gibi radikal özellik göstermeyen bileşiklerin oluştuğu son basamak ise bitiş aşamasıdır;

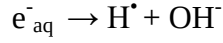


Yaşlanma sırasında ortaya çıkan çeşitli makromoleküller oksidatif hasar tipleri arasında, hücre içi proteinlerin oksidatif modifikasyonlarının, okside proteinlerinin genellikle katalitik fonksiyonunu yitirmesi ve seçici bozunmaya uğraması nedeniyle, fizyolojik fonksiyonlarda yaşlanmayla ilişkili kayıplara neden olarak anahtar rol oynadığı öne sürülmüştür. Belirli bir proteine, özellikle aktif bölgedeki oksidatif hasar, belirli bir biyokimyasal fonksiyonun ilerici bir kaybına neden olabilir (Sohal, 2002). Proteinlere oksidatif hasarın, yaşlanmada çok önemli bir rol oynadığı, çünkü okside olmuş proteinlerin katalitik işlevini yitirdiği ve tercihen hidrolize edildikleri öne sürülmektedir. Spesifik proteinlere oksidatif hasarın, fizyolojik fonksiyonlarda oksidatif stres/hasarı ve yaşa bağlı kayıpları bağlayan mekanizmalardan birini oluşturduğu varsayılmaktadır.

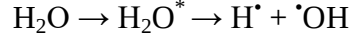
2.2.1.3 DNA hasarı

ROS'lar uygun şekilde kontrol edilmezlerse hücrel makromoleküllere, özellikle de DNA'ya ciddi hasar verebilirler. DNA'daki oksidatif hasar, üç eksizyon tamir yolunun en basiti olan temel eksizyon onarım (BER) ile onarılır. DNA onarımının sağlanması için hücreler, hücre döngüsü kontrol noktalarını aktive ederek hücre döngüsünün durdurulmasını sağlar ve hasarlı DNA'nın çoğalmasını önler (Barzilai ve Yamamoto, 2004). İyonlaştırıcı radyasyonun DNA ile etkileşimi hücre ölümü, mutajenez ve karsinogenez ortaya çıkarmaktadır. İyonlaştırıcı radyasyon, doğrudan DNA tarafından absorbe edilebilir, bazların iyonlaşmasına (doğrudan etki) neden olabilir veya önce etrafta bulunan su molekülleri ile dolaylı olarak reaksiyona girebilir (dolaylı etki). Dolaylı etki ile hidroksil radikalinin oluşması;

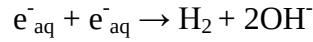
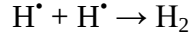




İkinci işlem su molekülünün uyarılması ile $H^\bullet$ 'ye homolizini ve OH radikalini içerir;



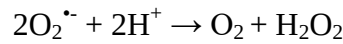
Sonlandırma reaksiyonları, hidrojen ve H_2O_2 üretimine yol açar;



Bağlanmayan veya EDTA gibi bileşiklere şelatlanmış metallerin reaksiyonlarından türetilen oksil radikalleri DNA hasarına neden olur. Fentonun, H_2O_2 'nin demir iyonu tarafından ayrıştırıldığında daha güçlü bir oksitleyici olarak davrandığı bilinmektedir. Haber ve Weiss, fenton reaksiyonunda Fe^{+3} ve OH radikalini elde etmek için Fe^{+2} 'den H_2O_2 'nin zayıf O-O bağına elektron transferinin gerçekleştiğini önermiştir;



OH radikallerinin bu tür reaksiyonlarda oluşup oluşmadığı ve bu şekilde oluşturulan tek ROS olmadıkları yakın zamanda tartışılmıştır, ancak ne tür ROS oluşursa oluşsun DNA'ya zarar verebilir ve parçalayabilir. Fe^{3+} 'ü tekrar Fe^{2+} 'ye geri döndürmek için bir indirgeyici madde mevcutsa, uzun süreli ve daha düşük Fe^{2+} konsantrasyonları kullanılabilir. Bu tür indirgeme ajanları askorbat ve O_2 içerir;



Demir tuzlarının DNA bölünmesi üzerindeki etkileriyle ilgili birçok araştırma yapılmıştır. Böylece, ksantin ve hipoksantin; ferik iyon ve EDTA varlığında DNA ile inkübe edildiği gözlenmiştir. Bu sistem, O_2 ve H_2O_2 üretir (Breen ve Murphy, 1994).

OH radikalleri, DNA yapısındaki bazların çift bağlarına H atomu ekler ya da 2-deoksiribozun C-H bağlarından ve timin yapısındaki metil gruplarından H atomu çıkaracak şekilde DNA ile biyokimyasal bir reaksiyona sebep olur (Breen ve Murphy, 1995). Bu reaksiyon sonucu oluşan timin peroksil radikali indirgenir ve farklı oksidasyon ürünlerine dönüşür. DNA'da en

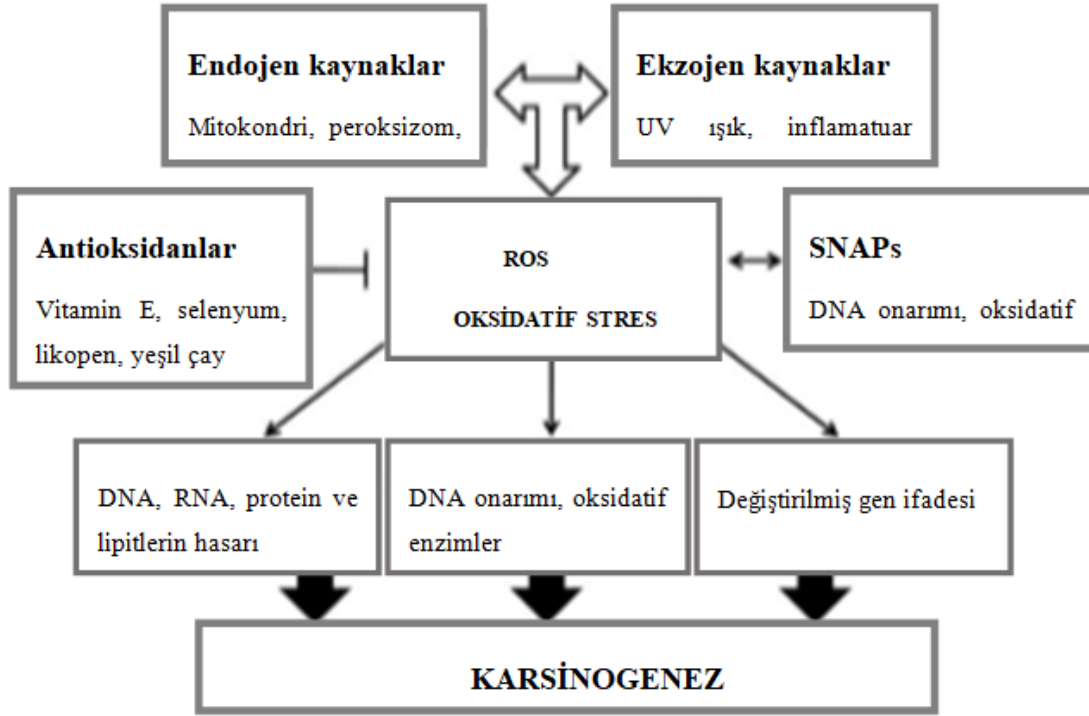
fazla bilinen baz mutasyonu 8-OHdG (8-hidroksi-2'-deoksiguanozin)'dir. Guanin molekülünün 8. pozisyonunda OH radikalının etkileşime neden olmasıyla oksidasyon oluşur. 8-OHdG bu oksidatif hasar sonucu oluşur. Ayrıca guanin bazına yüksek afinite ile bağlanan Cu^{2+} iyonları H_2O_2 ile etkileşime girer ve sonucunda oksidatif hasara katkıda bulunur (Helbock vd., 1999).

Oksidatif stresin DNA hasarına bir örnekte oluşan “DNA-protein” çağraz bağlarıdır. Bu bağlar bazı radikallerin proteinlerin aromatik amino asitleri ile kombine olması sonucu oluşur (Cooke vd., 2003). DNA şeker modifikasyonları ve zincir kırılmaları ise OH radikallerinin DNA şeker kalıntılarından H atomu koparması ile oluşur. Sonuçta oksidatif stres replikasyon, transkripsiyon ve tamir mekanizmalarını olumsuz etkiler ve DNA hasarı oluşmasına neden olur (Hu vd., 1995).

DNA hasarı başta kanser olmak üzere pek çok hastalığa neden olmaktadır.

2.2.1.4 Oksidatif stres ve kanser

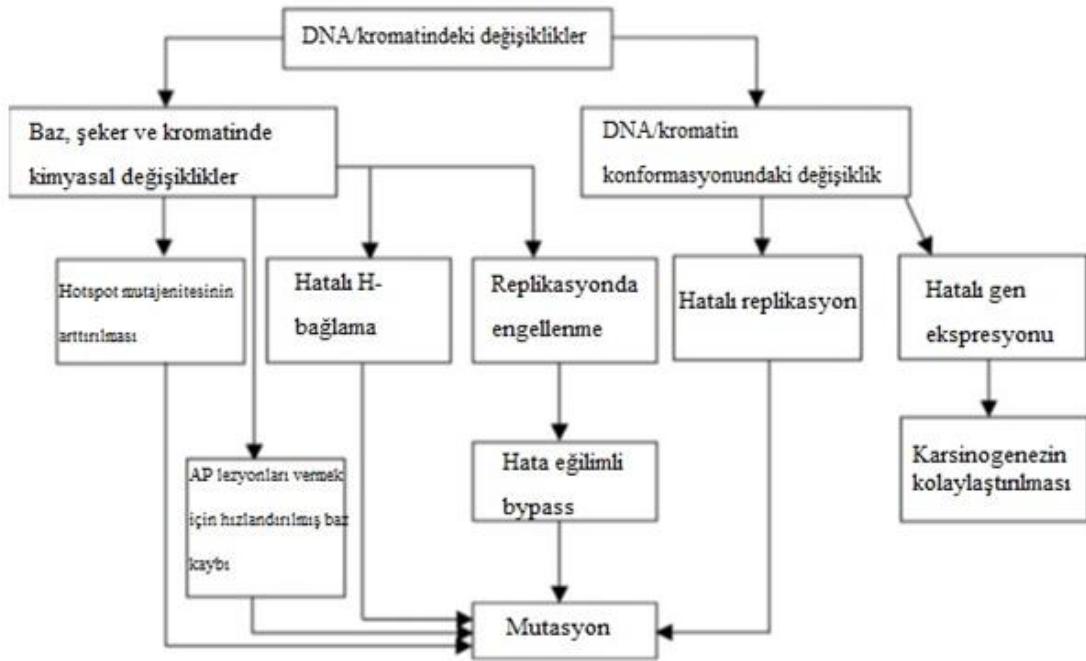
Çeşitli tiplerdeki reaktif türler (RS) in vivo olarak oluşturulur ve birçoğu DNA ve diğer biyomoleküllere zarar verebilen güçlü oksitleyici ajanlardır. Artan RS oluşumu, malignite gelişimini destekleyebilir ve RS kuşağının normal olmayan oranları, kanser riskinde artışa neden olabilir (Şekil 2.2.). Bununla birlikte, 8-OHdG gibi artan DNA baz oksidasyon ürünleri seviyeleri, malign tümörlerde sıklıkla artmış DNA baz oksidasyon seviyeleri göstermesine rağmen, maligniteye yol açmaz. Bu nedenle RS'nin ilave eylemlerinin p53, hücre çoğalması, istila ve metastaz üzerindeki etkileri önemlidir. ROS'lara sadece doğru seviyede maruz kalmak gereklidir. Çok fazla sayıda RS hücreleri yaralayabilir veya öldürebilir. ROS'lar hücrelerde çok çeşitli potansiyel eylemlere (hücre döngüsü durması, yaşlanma, apoptoz, nekroz veya diğer mekanizmaların teşvik edilmesi) sahiptir ve bu şekilde kanser önleyici olarak düşünülebilir. Aynı durum RNS (reaktif azot türleri) gibi diğer reaktif türler içinde geçerlidir (Halliwell, 2007).



Şekil 2.2. ROS ve insan kanserinin gelişimindeki rolü (Klaunig vd., 2010).

Kanserojen, mutasyon ve mutasyona uğramış hücrenin seçici klonal çoğalmasını içeren çok aşamalı bir işlemdir (Şekil 2.3.). Reaktif oksijen türlerini indükleyenler dahil olmak üzere kimyasal ve fiziksel maddeler bu çok aşamalı prosesi indükleyebilir ve/veya modüle edebilir. ROS üretimi de dahil olmak üzere kanserojenlerin çeşitli etki biçimleri ile kansere neden olduğu tanımlanmıştır. Hücrel makromoleküllerde oksidatif hasar; ROS'un aşırı üretimi ve hatalı antioksidan ve/veya DNA tamir mekanizmalarıyla ortaya çıkabilir. Ek olarak, ROS sinyal iletim yollarını uyarabilir ve Nrf2 ve NF-κB gibi anahtar transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna yol açabilir. Elde edilen ROS tarafından uyarılan değiştirilmiş gen ekspresyon paternleri, karsinogenez işlemine katkıda bulunur. Son kanıtlar, oksidatif DNA tamir genlerindeki birkaç tek nükleotid polimorfizmi (SNP) ile insan kanserine duyarlı antioksidan genler arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir. DNA, lipid ve protein hasarını indüklemeye ek olarak, protein kodlayan veya kodlanan RNA'daki oksidatif hasar, potansiyel olarak protein sentezinde veya gen ekspresyonunun düzensizleştirilmesinde hatalara neden olabilir. Bu, bazı insan hastalıklarının özellikle nöronlarda kronik dejenerasyonun altında yatan bir mekanizma olarak öne sürülmüştür. Benzer şekilde, protein oksidasyonu bir dizi yaşlanma prosesi ve hastalıkları, en önemlisi Alzheimer hastalığında dahil edilmiştir. Protein peroksidasyonu ve karsinogenez arasında açık bir bağlantı kurulmamıştır. Lipit

peroksidasyonu, protein ve DNA ile yüksek reaktivite gösteren, malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksi-2-nonenal (4-HNE) dahil olmak üzere reaktif aldehytlerin oluşumu ile sonuçlanır. MDA ve MDA-MDA dimerleri bakteri tahlillerinde mutajeniktir, insanlarda mutasyon olaylarına katkıları için kanıtlar eksiktir. Buna karşılık, DNA'ya oksidatif hasar UV kaynaklı fare ve insan derisi kanserlerinde oflatoksin B ile indüklenen p53 ve hepatokarsinogenezde ras gen mutasyonlarına bağlanmıştır. Ek olarak p15INK4B ve p16INK4A tümör baskılayıcı genleri, sıçanlarda ROS kaynaklı renal hücreli karsinomun hedefleri gibi görünmektedir (Klaunig vd., 2010).



Şekil 2.3. RS kanser gelişimine katkıda bulunma yollarından bazıları (Halliwell, 2007).

2.2.1.5 Oksidatif stres ve diyabet

Aşırı derecede yüksek serbest radikal seviyeleri hücrel proteinlere, membran lipitlerine ve nükleik asitlere zarar verir ve sonunda hücre ölümüne neden olur. Glikoz oksidasyonunun serbest radikallerin ana kaynağı olduğuna inanılmaktadır. Enediol formunda; glikoz, reaktif ketoaldehitlere ve süperoksit anyon radikallerine dönüştürülen bir enediol radikal anyonuna geçiş metali bağımlı bir reaksiyonda oksitlenir. O_2 anyon radikalleri, katalaz veya glutatyon peroksidaz ile bozunmazlarsa, geçiş metallerinin mevcudiyetinde dismutasyon ile aşırı reaktif hidroksil radikallerinin üretilmesine yol açabilecek olan H_2O_2 'e dönüşürler. O_2^- radikalleri, reaktif ONOO- radikalleri oluşturmak için nitrile oksitle de reaksiyona girebilir. Hipergliseminin ayrıca düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) lipit peroksidasyonunu, serbest radikallerin oluşmasına neden olan süperoksit bağımlı bir yolla teşvik ettiği de bulunmuştur. Diyabette ki serbest radikallerin bir diğer önemli kaynağı, glikozun bir Amadori ürününün oluşumuna yol açan proteinlerle etkileşimi ve daha sonra ileri glikasyon son ürünleri (AGE'ler). Bu AGE'ler, reseptörleri (RAGE'ler) vasıtasıyla enzimleri etkisiz hale getirir ve yapılarını ve fonksiyonlarını değiştirir, serbest radikal oluşumunu teşvik eder ve nitrikoksitin baskılayıcı ve blokant proliferatif etkilerini giderir. Hücre içi oksidatif stresi arttırarak, AGE'ler NF-Btranskripsiyon faktörünü aktive eder, böylece çeşitli NF-B kontrollü hedef genlerin yukarı regülasyonunu teşvik eder. NF-B, adacık beta hücresi hasarının bir aracısı olduğuna inanılan nitrik oksit üretimini arttırır.

Deneyisel ve klinik çalışmalar oksidatif stres ile her iki diabetes mellitus tipinin patogenezi arasında önemli bir bağ olduğunu göstermektedir. Serbest radikaller; diyabette glikoz oksidasyonu, proteinlerin non-enzimatik glikasyonu ve gliklenmiş proteinlerin oksidatif bozunması ile orantısız şekilde oluşturulur. Anormal derecede yüksek serbest radikal seviyeleri ve aynı anda antioksidan savunma mekanizmalarının azalması hücrel organellerin ve enzimlerin zarar görmesine, artan lipit peroksidasyonuna ve insülin direncinin gelişmesine neden olabilir. Oksidatif stresin bu sonuçları, diabetes mellitusun komplikasyonlarının gelişimini destekleyebilir. Artan oksidatif stres diyabetin ve komplikasyonlarının gelişimi ve ilerleyişi üzerinde yaygın olarak kabul edilen bir katılımcıdır. Diyabete genellikle serbest radikal üretimi veya bozulmuş antioksidan savunma sistemi eşlik eder. Artan oksidatif stresin diyabetik komplikasyonlara katıldığı mekanizmalar; transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu, gelişmiş gliklenmiş son ürünler (AGE'ler) ve protein kinaz C'de dahil olmak üzere kısmen bilinmektedir (Maritim, 2003).

Diyabette oksidatif stresin artmasına katkıda bulunan mekanizmalar, sadece artmış non-enzimatik glikosilasyon (glikasyon) ve otoksidatif glikosilasyonu değil, aynı zamanda enerji metabolizmasındaki değişikliklerden metabolik stres sonucunu, sorbitol yolu aktivitesindeki değişiklikleri, enflamatuar mediatörlerin seviyesindeki değişiklikleri ve antioksidan savunma sistemlerinin durumunu, hipoksi ve iskemik perfüzyon hasarından kaynaklanan lokalize doku hasarını içerir (Baynes, 1991).

Önemli kanıtlar ayrıca, diyabetik komplikasyonların, patogeneğinde, örneğin lens katarakt oluşumunda veya periferik nöropatide, sorbitol yolunun glikoz tarafından aktivasyonunda içerir. Katarakt oluşumunu anlama çabaları çeşitli hipotezleri tetikledi. Aldoz redüktaz ozmotik hipotezinde, poliollerin birikimi merceksi ozmotik değişiklikleri başlatır. Buna ek olarak, oksidatif stres azalmış glutatyon seviyeleri ve NADPH düzeylerinin tükenmesi ile bağlantılıdır. Alternatif olarak, artan sorbitol dehidrogenaz aktivitesi değiştirilmiş NAD⁺ seviyeleri ile ilişkilidir. Bu da lens proteinlerinin non-enzimatik glikozilasyonu ile protein modifikasyonuna neden olur. Diyabetik nöropati ve indüklenmiş sorbitol yolundaki değişiklikleri bağlayan mekanizmalar iyi tanımlanmamıştır. Bir olası mekanizma, nöral dokulardaki metabolik dengesizlikler, bozulmuş nörotrofizm, nörotransmisyon değişiklikleri, Schwann hücre hasarı ve aksonopati ile ilişkilendirilmiştir (Maritim, 2003).

2.3 Antioksidan Aktivite

Antioksidanlar, reaktif oksijenlerin etkilerini hafifletirerek biyomoleküllerin oksidatif hasarını azaltırlar. Bu nedenle, yüksek seviyede antioksidan içeren meyve ve sebzelerin tüketiminde artış önerilmiştir (Adom ve Liu, 2002). Huang, Ou ve Prior diyet antioksidanlarını “radikal zincir reaksiyonlarını durdurabilen, temizleyen veya reaktif oksidanların ilk etapta oluşmasını engelleyebilen maddeler” olarak tanımlamışlardır (Huang vd., 2005). Bazı antioksidanlar bu işlevi kendilerini okside ederek gerçekleştirir, böylece ortaya çıkan antioksidan radikali daha az reaktif olduğu için radikal zincir reaksiyonlarının başlatılmasında, yayılmasında ve sonlandırılmasında hız sınırlayıcı bir rol oynarlar. Antioksidanlar farklı substratlara karşı etkinliklerinde farklılıklar gösterir. Bazıları güçlü serbest radikal temizleyicileri iken bazıları ise daha güçlü metal şelasyon etkilerine sahiptir, örneğin; karotenoidler singlet oksijenin neden olduğu oksidasyonun inhibe edilmesinde özellikle etkilidir (Wootton, 2011). İnsan antioksidan savunması süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz gibi enzimatik sistemler; ürat, askorbat, glutatyon ve flavonoidler gibi hidrofilik bileşikler ve tokoferoller, karotenoidler ve ubikinol gibi lipofilik

bileşiklerden oluşmaktadır. Bu savunma sistemine ilaveten glutatyon redüktaz ve dehidroaskorbat redüktaz gibi enzimleride içermektedir. Bu serbest radikal gidericilerin yanı sıra indirgenen çevreyi koruyan hücrel makineleler vardır; NADPH'ın glikoz-6-fosfat dehidrojenaz ile yenilenmesi buna örnek verilebilir. Bu ajanların bir kısmı hücrenin bizzat kendisi tarafından sentezlenir, ancak askorbik asit, lipoik asit, polifenol ve karotenoid içerenlerin büyük çoğunluğu diyet kaynaklarından türetilir. Hastalık koşullarında, ROS'a karşı savunma zayıflar veya hasar görür ve oksidan yükü artar. Bu gibi durumlarda; oksidatif stresin zararlı sonuçlarını telafi etmek için harici antioksidan tedariki esastır. İyi bilinen antioksidan vitaminleler olan askorbik asit ve α -tokoferol dışında epigallokateşin-3-O-gallat (EGCG), likopen, kesretin, genistein, ellagik asit, ubikinon ve indol-3-karbonil de önemli yaygın antioksidanlardır. Bu ajanlar ana tedavi ile birlikte bazı hastalıkların profilaksisi veya tedavisi için besin takviyesi olarak kullanılır (Ratnam vd., 2006). Antioksidanların sadece insan vücudunda üretildikleri miktarlar baz alındığında etkilerinin sınırlı olduğu görülür ve ROS oluşumunun antioksidan seviyesini aşması oksidatif strese neden olur. Bu yüzden gıdalarla alınan antioksidanlar oldukça önemlidir. Antioksidanlar endojen (enzimleler vb.) ve eksojen (polifenoller ve vitaminleler vb.) olmak üzere iki gruba ayrılır.

Enzimatik Antioksidanlar (Endojen Antioksidanlar): Bu antioksidanların bazıları; enzimleleri, düşük molekül ağırlıklı molekülleleri ve enzim kofaktörlelerini içereerek endojen olarak üretilir (Ratnam vd., 2006).

Enzimatik Olmayan Antioksidanlar (Eksojen Antioksidanlar): Enzimatik olmayan antioksidanların birçoğu diyet kaynaklarından elde edilir. Diyet antioksidanları polifenollerin en büyük sınıfı oluşturduğu çeşitli sınıflara ayrılabilir. Polifenoller fenolik asitlelerden ve flavonoidlelerden oluşur. Diğer diyet antioksidanları arasında vitaminleler, karotenoidleler, organosülfural bileşikleler ve mineraller bulunur (Ratnam vd., 2006).

2.4 Enzim İnhibisyon Aktivite

Enzim inhibisyonu, yapılan araştırmalar sonucunda çeşitli fizyolojik koşullarda faydalı ilaçların keşfedilmesine yol açması ile farmasötik araştırmalarda hızla önem kazanmaya devam eden bir alan olmuştur. Enzim inhibitörleleri, enzimlelerle etkileşime girebilir ve doğal substratlara karşı etkinliklelerini bloke edebilir (Amtul vd., 2002). Enzim inhibitör reaksiyonu genellikle karmaşıktır. İnhibisyon ya geri dönüşümlü olabilir ya da enzimin geri dönüşümsüz inaktivasyonu ile sonuçlanabilir.

Tersinir İnhibisyon: Substratla yapısal olarak ilişkili inhibitörler enzim aktif merkezine bağlanabilir ve substrat ile rekabet edebilir (yarışmalı inhibisyon). Eğer inhibitör sadece enzim değil, aynı zamanda enzim-substrat kompleksine de bağlıysa aktif merkez genellikle deforme olur ve bu nedenle fonksiyonu bozulur. Bu durumda substrat ve inhibitör birbiriyle rekabet etmemektedir (yarışmasız inhibisyon). Örneğin; immobilize asetilkolinesterazın metal iyonları ile inhibe edilmesi tersinir ve yarışmasız bir karaktere sahiptir. Karışık inhibisyon durumunda ise inhibitör enzimi ve enzim substrat kompleksini farklı bir afinite ile bağlar. Yarışmasız inhibisyon için inhibitör sadece enzim-substrat kompleksi oluştuğunda bağlanır (Amine vd., 2006).

Tersinir Olmayan (Geri Dönüşümsüz) İnhibisyon: Geri dönüşümsüz (tersinir olmayan) inhibitörler için enzim inhibitör etkileşimi, enzim aktif merkezi ile inhibitör arasında kovalent bir bağ oluşumu ile sonuçlanır (Amine vd., 2006).

Enzim inhibisyonu, önemli bir ilaç araştırma alanıdır, çünkü bu alandaki çalışmalar zaten birçok hastalıkta yararlı olan çok çeşitli ilaçların keşfedilmesine neden olmuştur. Spesifik inhibitörler enzimlerle etkileşime girer ve karşılıklı gelen doğal substratlara doğru etkinliklerini bloke eder. Enzim inhibitörlerinin farmasötik açıdan önemi çok büyüktür, çünkü bu moleküller çok sayıda fizyolojik durumu tedavi etmek için kullanılmıştır (Amtul vd., 2002). Anjiyotensin-dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörleri sol ventrikül sistolik disfonksiyonu veya kalp yetmezliği olan hastalarda, miyokard enfarktüsü, kalp yetmezliği ve kardiyovasküler nedenlerden ölüm riskini azaltmada etkilidir. ACE inhibitörlerinin kalp yetmezliği olmayan vasküler hastalığı olan hastalarda aterosklerotik komplikasyonları azalttığı gösterilmiştir.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1 Örnek Toplanması

Cirsium macrobotrys: Tunceli; Pülümür, Ardıçlı köyü civarı, step, 10.08.2018, Paksoy 3053.



Şekil 3.1. *Cirsium macrobotrys* (URL-1)

3.2 Özütlerin Hazırlanması

Cirsium macrobotrys örneklerinin toprak üstü kısımları gölgede kurutulduktan sonra ticari blender ile öğütülerek toz haline getirilmiştir. Öğütülen örnekler metanol ve su ekstraksiyonuna tabi tutulmuştur. Maserasyon için 10 g örnek ve 200 ml metanol 24 saat karıştırılmıştır. Soxhlet için 5 g örnek 100 ml metanol ile 6-8 saat süreyle, ultrasonikasyon için 5 g örnek 100 ml metanol ile 1 saat ekstraksiyona tabi tutulmuştur. İnfüzyon işleminde 5 g örnek 100 ml kaynar suda 20 dk bekletilmiştir. 5 g örneğe ise 100 ml metanolde homojenizatörde 5 dk muamele edilmiştir. Su özütü süzdürülüp liyofilize edilmiştir. Metanol özütlerinin bir kısmı whatman mavi band filtre kağıdıyla bir kısmı ise vakumlu erlen ile süzildükten sonra 40 °C 'de evapore edilmiştir ve çözücü uzaklaştırılmıştır. Örnekler -20

°C’de analizler yapılınca kadar depolanmış ve analiz öncesi örneklerden 2mg/mL konsantrasyonda stok çözeltileri hazırlanmıştır.

3.3 Antioksidan Aktivite Metotları

3.3.1 Toplam fenolik içerik

Toplam fenolik içeriğinin belirlenmesi için küçük değişiklikler yapılarak Folin-Ciocalteu metodu kullanılmıştır (Jaranović Cindrić vd., 2011; Agbor vd., 2014). Stok çözeltilerden alınan 2 ml örneğin üzerine 1.5 ml distile su ve 0.5 ml %7’lik Na₂CO₃ eklenerek karıştırılmış ve 3 dk bekletilmiştir. Oluşan karışımın üzerine 1 ml Folin-Ciocalteu eklenmiştir. Standart oluşturmak için gallik asitin farklı konsantrasyonlarından (100, 50, 25, 12.5 µg/ml) alındı ve aynı işlemler tekrarlanmıştır. Kör oluşturmak için örnek yerine 0.2 ml metanol kullanılmıştır. Örnekler 2 saat karanlık bir odada inkübe edilmiştir ve ardından 760 nm’de spektrofotometrede absorbansları okunmuştur. Örnekler üzerinde içerdikleri fenolik bileşik yoğunluğuna göre yeşilden maviye doğru renk değişimi gözlenmiştir. Örneklerin ölçümü 3’er tekrarlı olarak yapılmıştır. Standardın absorbans konsantrasyon grafiğinde elde edilen denklem kullanılarak örneklerin fenolik içerikleri Gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak belirlenmiştir.

3.3.2 Toplam flavonoid içerik

Total flavonoid içerik Arvouet ve arkadaşlarına (1994) göre spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Örnekten 1 ml alındı ve 1 ml %2’lik AlCl₃ ile karıştırılmıştır. Kör örneğine 1 ml özüt ve 1 ml metanol eklenmiştir. Standard için ise rutin farklı konsantrasyonlarla hazırlanan çözeltileri kullanılmıştır. Hazırlanan örnekler 10 dk oda sıcaklığında bekletilmiştir ardından 415 nm’de köre karşı absorbansları okunmuştur. Standardın absorbans konsantrasyon grafiğinde elde edilen denklem kullanılarak örneklerin flavonoid içerikleri rutin eşdeğeri (RE) olarak belirlenmiştir.

3.3.3 DPPH serbest radikal giderme aktivitesi

DPPH’nin 6x10⁻⁵ M’lık çözeltisi hazırlanmıştır. Kontrol tüpüne 1 ml metanol ve 1 ml DPPH çözeltisi, kör tüpüne ise metanol konulmuştur. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan 1 ml özüt üzerine 1 ml DPPH eklenerek hazırlanmıştır. Hazırlanan örnekler oda sıcaklığında karanlık bir ortamda 30 dk inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda örnekler, kontrol ve

standartların 517 nm’de absorbens değeri ölçülmüştür. Absorbans değeri kullanılarak özütlerin DPPH radikali inhibe oranları (%I) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

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

(A₀: Kontrolün absorbens, A₁: Özütün absorbens)

Her bir özüt için radikalin %50’sinin inhibe edildiği konsantrasyon olan IC₅₀ değeri hesaplanmıştır.

3.3.4 ABTS radikali giderme aktivitesi

36 mg ABTS 10 ml saf suda çözülmüştür. 6.62 mg potasyumpersülfat 10 ml suda çözülmüştür. Bu iki çözelti karıştırılarak ve oda sıcaklığında 12-16 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda radikal aktif hale gelmiştir. Aktif hale gelen radikal 1.5 absorbansa sahip olacak şekilde seyreltilmiştir. Bu aynı zamanda kontrolün absorbens olmuştur. Daha sonra 1mg/ml konsantrasyondaki bitki örnekleri üzerine radikal çözeltisinden 1 ml eklenmiştir. Oda sıcaklığında yarım saat tutulduktan sonra kontrol ve örneklerin absorbensları 734 nm’de ölçülmüştür. Daha sonra aşağıdaki denklem ile ABTS radikali giderme aktiviteleri hesaplanmıştır;

$$\text{Inhibition (I\%)} = 100 \times (A_0 - A_1) / A_0$$

(A₀: Kontrolün absorbens, A₁: Özütün absorbens)

Aynı işlemler farklı konsantrasyondaki (25-100 µg/ml) troloks için tekrar edilerek konsantrasyon-absorbans grafiği elde edilmiştir. Daha sonra bu grafik kullanılarak örneklerimizin TE’leri hesaplanmıştır.

3.3.5 Toplam antioksidan kapasite (Fosfomolibdat testi)

Bu test fosfomolibdenum metodu kullanılarak Çakmak ve arkadaşlarına (2012) göre uygulanmıştır. 4 mM amonyum molibdat, 6 M sülfürik asit ve 28 mM sodyum fosfat çözeltileri karıştırılarak bir karışım elde edilmiştir. Daha sonra bu karışımdan 3 ml alınarak üzerine 0.1 ml özüt ve farklı konsantrasyonlardaki (0.0625-1 mg/ml) askorbik asit çözeltileri eklenmiştir. Kör hazırlamak için ise 0.3 ml metanol eklenmiştir. Tüpler 95 °C’de 90 dk inkübe edilmiş 659 nm’de absorbensları okunmuştur. Sonuçlar TE olarak verilmiştir.

3.3.6 Demir indirgeme antioksidan gücü (FRAP)

Metot asidik ortamda antioksidan fenolik bileşiklerin Fe-TPTZ kompleksi içindeki Fe_3 'ün Fe_2 'ye indirgenmesine dayanmaktadır. 50 μ l hidroklorik asit ve 10 ml distile suda 31.2 mg TPTz çözdürülmüştür. Ardından 32 mg $FeCl_3$ 10 ml distile suda çözdürülmüştür. Son olarakta 4.1 ml asetik aside (%80) 250 ml distile su ilave edilmiştir ve 0.66 g sodyum asetat bu çözelti içinde tamamen çözülünceye kadar karıştırılmıştır. $FeCl_3$, TPTz ve tampon 10/1/1 oranlarında karıştırılarak bu karışımın 2ml'si ile 0.1 ml özüt karıştırılarak 30 °C'de 30 dk inkübe edilmiştir. Standart olarak özüt yerine troloks çözeltisinin farklı konsantrasyonları (25, 50, 75, 100, 150 ve 200 μ g/ml) kullanılmıştır. İnkübasyon sonunda örneklerin absorbansı 593 nm'de okunmuştur. Sonuçlar TE olarak verilmiştir.

3.3.7 Bakır iyonları indirgeme aktivitesi (CUPRAC)

Metodun esası Cu_2 'nin Cu_1 'e indirgenmesine dayanmaktadır. Öncelikle neocuproine, amonyum asetat ve $CuCl_2$ çözeltilerinin her birinden 1'er ml alınmıştır. Üzerine farklı konsantrasyonlardaki bitki özütleri ve standartlardan (BHA ve BHT) 0.5 ml eklenmiştir. Ardından her tüpe 1 ml distile su eklenmiş ve karanlık bir ortamda, oda sıcaklığında 30 dk bekletildikten sonra 450 nm'de köre karşı okunmuştur. Sonuçlar TE olarak verilmiştir.

3.4 Enzim İnhibisyon Testleri

3.4.1 Tirozinaz inhibisyonu

Tirozinaz inhibitör aktivitesi substrat olarak L-DOPA kullanılarak dopachrome metodu ile geliştirilmiştir (Orhan vd.,2012). 25 μ l örnek çözeltisi, 40 μ l tirozinaz çözeltisi ve 100 μ l ve pH 6.8 olan fosfat tamponu 96 kuyucuklu mikropate içerisinde karıştırılmıştır ve 15 dk 25 °C'de inkübe edilmiştir. 40 μ l L-DOPA eklenmesiyle reaksiyon başlatılmıştır. Benzer şekilde enzim içermeyen kör çözeltisi hazırlanmıştır. Kör ve örneğin absorbansları 25 °C'de 10 dk inkübe edildikten sonra 492 nm'de okunmuştur. Tirozinaz inhibitör aktivitesi sonuçları kojik asit eşdeğeri (KAE) olarak verilmiştir.

3.4.2 Kolinesteraz inhibisyonu

Kolinesteraz (ChE) inhibitör aktivitesi daha önce belirtildiği gibi Ellman metodu kullanılarak ölçülmüştür (Aktümsek vd., 2013). 50 µl örnek çözeltisi, 125 µl DTNB ve 25 µl asetilkolinesteraz veya bütirilkolinesteraz çözeltisi pH 8.0 Tris-HCl tamponu içerisinde karıştırılmıştır. Ardından 96 kuyucuklu mikropate içerisinde 25 °C’de 15 dk inkübe edilmiştir. Reaksiyon asetilkolin iyodinin veya bütirilkolin klorid eklenmesiyle başlatılmıştır. Aynı şekilde her özüt için kör , enzim içermeyen bir tüp olarak hazırlanmıştır. Kör ve örneğin absorpsansı 405 nm’de 25 °C’de 10 dk inkübasyondan sonra okunmuştur. Kolinesteraz inhibitör aktivitesi galantamine eşdeğer (GALAE) olarak verilmiştir.

3.4.3 α-amilaz inhibisyonu

α-amilaz inhibitör aktivitesi Caraway-Somogyi iyodin/potasyum iyodin (IKI) metodu kullanılarak uygulanmıştır (Yang vd., 2012). 96 kuyucuklu mikropate içinde 25 µl örnek çözeltileri, α-amilaz çözeltisi ile 50 µl pH 6.9,6 mM sodyumklorid fosfat tamponu karıştırılmıştır. Karışım 37 °C’de 10 dk inkübe edilmiştir. Ön inkübasyonun ardından reaksiyon %0.05’lik 50 µl nişasta çözeltisi eklendiğinde başlatılmıştır. Aynı şekilde enzim içermeyen kör çözeltisi hazırlanmıştır. Reaksiyon karışımı 37 °C’de 10 dk inkübe edilmiştir ve reaksiyon 25 µl 1 M HCl eklenmesiyle durdurulmuştur. Ardından 100 µl iyodin-potasyum iyodid çözeltisi eklenmiştir. Kör ve örneğin absorpsansları 630 nm’de okunmuştur. α-amilaz inhibitör aktivitesi sonuçları akarboz eşdeğeri (ACAE) olarak verilmiştir.

3.4.4 α-glikozidaz inhibisyonu

α-glikozidaz inhibitör aktivitesi Palanisamy ve arkadaşlarının (2011) metoduna göre uygulanmıştır. 50 µl örnek çözeltisi, 50 µl glutatyon, 50 µl α-glikozidaz çözeltisi, pH 6.8 fosfat tamponu ve 50 µl PNPG çözeltisi 96 kuyucuklu mikropate içinde karıştırılmış ve 15 dk 37 °C’de inkübe edilmiştir. Aynı şekilde enzim içermeyen bir kör hazırlanmıştır. Reaksiyon 50 µl 0,2 M sodyum karbonat eklendiğinde durdurulmuştur. Kör ve örneğin absorpsansları 400 nm’de okunmuştur. α-glikozidaz inhibitör aktivitesi ACAE olarak verilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada *Cirsium macrobotrys*'in farklı özütlerinin antioksidan aktiviteleri ve enzim inhibisyon aktiviteleri belirlenmiştir. Araştırılan aktiviteler için metanol ve su özütlerine *in vitro* testler uygulanmıştır. Aynı zamanda özütlerin ekstraksiyon verimleri de hesaplanmıştır.

4.1 Antioksidan Aktivite

C. macrobotrys bitkisinden farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak elde edilen özütlerin antioksidan aktiviteleri DPPH ve ABTS radikali giderme aktiviteleri, CUPRAC, FRAP, metal şelatlama ve fosfomolibdat testleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Bunların yanında özütlerin toplam fenolik, toplam flavonoid ve toplam fenolik asit içerikleri de belirlenmiştir. Bu şekilde çalışılan bitkinin ilgili içerikleri ve antioksidan aktivitelerinin ekstraksiyon yönteminden nasıl etkilendiği de belirlenmiştir.

4.1.1 Toplam fenolik, Flavonoid ve fenolik asit içerikleri

C. macrobotrys bitkisinden farklı özütlerin toplam fenolik içerikleri Folin yöntemine göre belirlenmiştir (Çizelge 4.1.). Toplam fenolik içerik 39.01-45.15 mg GAE/g özüt oranları arasında bulunmuştur. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen özütlerin toplam fenolik içerikleri benzer oranlarda olmasına rağmen az da olsa farklılık gözlenmiştir. En düşük fenolik içerik 39.01 mg GAE/g özüt oranıyla infüzyon yönteminde gözlenirken bunu 42.51 mg GAE/g özüt oranıyla homojenizatör destekli yöntem, 42.88 mg GAE/g özüt oranıyla maserasyon, 43.31 mg GAE/g özüt oranıyla sokslet yöntemi takip etmiştir. Ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon ile elde edilen özüt 45.15 mg GAE/g özüt toplam fenolik madde içeriğiyle en yüksek fenolik madde içeren özüt olmuştur. Ülkemizde yaygın olan 11 Cardueae taksonunun fenoliklerinin değerlendirildiği bir çalışmada araştırılan örneklerin 100 g kuru maddesinde mg gallik asit eşdeğeri toplam fenolik içerikleri 428.17-752.14 oranları arasında değişmektedir (Kurt vd., 2019). Aynı çalışmada incelenen taksonlardan olan 6 *Cirsium* türünün ise 588.61-752.14 düzeylerinde fenolik madde içerdiği görülmektedir. *C. creticum* bitkisi üzerine yapılan bir çalışmada bitkinin metanol ekstraktının toplam fenolik içeriği kateşin eşdeğerine göre 47.90 µg CAE/mg olarak gözlenmiştir (Sabudak vd., 2017). *C. setidens* bitkisinin çözücü olarak suyun kullanıldığı 6 farklı kurutma yöntemi ile hazırlanan ekstraktları tannik asit eşdeğeri toplam fenolik madde içeriği 28.76-32.16 oranları arasında değişmektedir (Guo ve Wang, 2018).

Toplam flavonoid içeriğe bakıldığında toplam fenolik içeriğe benzer şekilde en düşük flavonoid içerik infüzyon yönteminde (6.03 mg RE/g özüt), en yüksek içerik ise 28.15 mg RE/g özüt ile ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen özütte bulunmuştur (Çizelge 4.1.). Diğer yöntemler olan sokslet, maserasyon ve homojenizatör destekli ekstraksiyon yöntemlerinde sırasıyla 21.36 mg RE/g özüt, 23.24 mg RE/g özüt ve 27.15 mg RE/g özüt oranlarında toplam flavonoid tespit edilmiştir. Ülkemizde yayılış gösteren *Cirsium creticum* ile yapılan bir çalışmada dietileter ve metanol özütlerinin sırasıyla 2.55 ve 35.59 mg RE/g özüt düzeyinde flavonoid içerdiği belirlenmiştir (Sabudak vd., 2019). Yine bir diğer çalışmada *Cirsium italicum*'un farklı özütlerinin 28.13-70.85 mg RE/g özüt arasında değiştiği ve metanol özütünün 28.13 mg RE/g özüt değeriyle en düşük flavonoid içeriğe sahip örnek olduğu bulunmuştur (Sabudak vd., 2019). Yine ülkemizde yaygın olan 11 Cardueae taksonunun flavonoidlerinin değerlendirildiği bir çalışmada araştırılan örneklerin 100 g kuru maddesinde mg kuersetin eşdeğeri toplam flavonoid içerikleri 132.19-336.41 oranları arasında değişmektedir (Kurt vd., 2019). *C. setidens* bitkisinin çözücü olarak suyun kullanıldığı 6 farklı kurutma yöntemi ile hazırlanan ekstraktları kuersetin eşdeğeri toplam flavonoid madde içeriği 7.81-15.36 oranları arasında değişmektedir (Guo ve Wang, 2018).

Toplam fenolik asit içerik incelendiğinde toplam fenolik ve flavonoid içeriklere benzer şekilde en düşük oran infüzyon yönteminde (5.97 mg CE/g özüt) görülmüştür (Çizelge 4.1.). Diğer yöntemler olan sokslet yönteminde 7.85 mg CE/g özüt, homojenizatör destekli yöntemde 9.38 mg CE/g özüt, ultrasonikasyon destekli yöntemde 10.42 mg CE/g özüt ve maserasyon yönteminde 12.83 mg CE/g özüt olacak şekilde toplam fenolik asit belirlenmiştir. Aynı familyada yer alan *Erigeron* cinsine ait taksonların kuru maddesinde toplam fenolik asit düzeyleri gram cinsinden kafeik asit eşdeğerine göre 0.52-1.34 oranlarında bulunmuştur (Nalewajko-Sieliwoniuk vd., 2019). *Erigeron acris*'in farklı taksonlarının farklı kısımları ile yapılan fenolik asit çalışmasında toplam fenolik asit içeriği %0.91-1.09 oralarında gözlenmiştir (Nalewajko-Sieliwoniuk vd., 2019).

Çizelge 4.1. *Cirsium macrobotrys* 'in toplam fenolik içerik, toplam flavonoid içerik ve toplam fenolik asit içeriği sonuçları.

Metotlar	Toplam Fenolik İçerik (mg GAE/g)	Toplam Flavonoid İçerik (mg RE/g)	Toplam Fenolik Asit İçeriği (mg CE/g)
Homojenizatör destekli (HAE)	42.51±0.91	27.15±0.20	9.38±0.90
İnfüzyon	39.01±0.30	6.03±0.05	5.97±0.56
Maserasyon	42.88±0.97	23.24±0.34	12.83±0.95
Sokslet	43.31±0.35	21.36±0.22	7.85±0.67
Ultrasonikasyon destekli (UAE)	45.15±0.43	28.15±0.16	10.42±0.41

GAE: Gallik asit eşdeğeri; RE: Rutin eşdeğeri; CE: Kafeik asit eşdeğeri

4.1.2 Serbest radikal giderme aktivitesi (DPPH ve ABTS yöntemleri)

C. macrobotrys bitkisinin özütlerinin serbest radikal giderme aktiviteleri DPPH ve ABTS radikalleri kullanılarak belirlenmiştir (Çizelge 4.2.). DPPH radikal giderme aktivitesi sonuçlarına göre ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen özüt en yüksek aktiviteyi (79.40 mg TE/g özüt) göstermiştir. Homojenizatör destekli ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen özüt 74.51 mg TE/g özüt, sokslet yöntemi 72.83 mg TE/g özüt, infüzyon yöntemi 69.58 mg TE/g özüt ve maserasyon yöntemi 67.10 mg TE/g özüt oranında aktiviteye sahiptir. *C. vulgare* bitkisinin metanol özütünün DPPH serbest radikal giderme oranı kafeik asit eşdeğeri alınarak 91.5 oranında aktiviteye sahip olduğu görülmüştür (Nazaruk vd, 2017). Ülkemizde yayılış gösteren bazı Cardueae taksonlarının DPPH serbest radikal giderme oranının değerlendirildiği bir çalışmada araştırılan örneklerin 100 g kuru maddesinde mg troloks eşdeğeri DPPH serbest radikal giderme oranı 147.90-65.94 µmol TE/g özüt oranları arasında değişmektedir (Kurt vd., 2019). Bir başka çalışmada ise *C. creticum* bitkisi ile yapılan çalışmada DPPH aktivitesinde metanol özütünün %91.65 ile en yüksek inhibisyon yüzdesine sahip olduğu görülmüştür, hekzan, etilasetat ve dietil eter özütleri ise sırasıyla %5.53, %6.93, %9.11 aktivite göstermiştir (Sabudak vd., 2017).

ABTS radikali giderme aktivitesi incelendiğinde bu kez homojenizatör destekli yöntemin en yüksek aktiviteye (128.48 mg TE/g özüt) sahip olduğu görülmüştür (Çizelge 4.2.). Bunu azalan oranlarda aktiviteleriyle sokslet (125.92 mg TE/g özüt), maserasyon (122.03 mg TE/g özüt), ultrasonikasyon destekli yöntem (121.32 mg TE/g özüt) ve infüzyon (107.84 mg TE/g özüt) takip etmiştir. *C. bulgaricum* bitkisinin yaprakları kullanılarak hazırlanan çalışmada metanol özütünün ABTS aktivitesi 0.14 mmol TE/g özüt olarak ölçülmüştür; kateşin, epikateşin, rutin, kuersetin, narengin eşdeğerlerine göre ise sırasıyla 0.03, 0.05, 0.07, 0.03 ve 5.02 değerleri gözlenmiştir (Karasakal vd., 2015).

Çizelge 4.2. *Cirsium macrobotrys* 'in serbest radikal giderme aktivitesi DPPH ve ABTS sonuçları.

Metotlar	DPPH (mg TE/g)	ABTS (mg TE/g)
Homojenizatör destekli (HAE)	74.51±1.02	128.48±5.85
İnfüzyon	69.58±1.30	107.84±9.04
Maserasyon	67.10±0.70	122.03±3.49
Sokslet	72.83±1.99	125.92±4.98
Ultrasonikasyon destekli (UAE)	79.40±0.43	121.32±4.08

TE: Troloks eşdeğeri

4.1.3 CUPRAC

C. macrobotrys bitkisinin özütlerinin bakır iyonları indirgeme aktiviteleri araştırılmış ve farklı yöntemlerle elde edilen özütlerin aktiviteleri karşılaştırılmış ve sonuçlar troloks eşdeğeri olarak verilmiştir (Çizelge 4.3.). Metotta ultrasonikasyon destekli yöntemin özütü 194 mg TE/g özüt aktivite oranıyla en yüksek aktivite gösteren özüt olmuştur. İnfüzyon yöntem özütü 142.27 mg TE/g özüt değeriyle en düşük aktivite göstermiştir. Sokslet, maserasyon ve homojenizatör destekli ekstraksiyon yöntemlerinin özütlerinde ise sırasıyla 157.14 mg TE/g özüt, 175.28 mg TE/g özüt ve 192.11 mg TE/g özüt aktivite gözlenmiştir (Çizelge 4.3.). Bu çalışmada araştırılan *C. macrobotrys*'in de dahil olduğu Cardueae grubundan bazı bitkilerin araştırıldığı çalışmada bakır iyonları indirgeme aktiviteleri CUPRAC testi kullanılarak değerlendirilmiş ve örneklerin 100 g kuru maddesinde CUPRAC aktivite oranı 41.04-92.21 $\mu\text{mol TE/g}^{-1}$ oranları arasında değişmektedir (Kurt vd., 2019). *C. creticum* subsp. *creticum*

bitkisinin özütleri ile yapılan çalışmada CUPRAC aktivite oranları 0.35-3.74 mM TE/g özüt olarak ölçülürken en yüksek değeri 3.74 mM TE/g özüt ile metanol özütü vermiştir (Sabudak vd., 2019). *C. bulgaricum* bitkisinin yaprakları kullanılarak hazırlanan metanol özütünde CUPRAC aktivite oranının 0.18 mmol TE/g özüt olduğu görülmüştür (Karasakal vd., 2015)

4.1.4 FRAP

C. macrobotrys bitkisinin özütlerinin demir indirgeme gücü farklı yöntemlerle araştırılmış ve sonuçlar troloks eşdeğeri olarak verilmiştir (Çizelge 4.3.). Ultrasonikasyon destekli yöntemde özüt 102.06 mg TE/g özüt aktivite oranıyla en yüksek aktivite gösteren özüt olmuştur. Homojenizatör destekli ekstraksiyon yöntem özütü 99.55 mg TE/g özüt aktivite göstermiştir. İnfüzyon yöntemde özüt 96.56 mg TE/g özüt aktivite gösterirken sokslet yönteminde özüt 94.68 mg TE/g özüt aktivite göstermiştir. En düşük aktivite değeri ise 82.72 mg TE/g özüt ile maserasyon yönteminde gözlenmiştir. Cardueae taksonlarının araştırıldığı çalışmada FRAP aktivite oranları 86.42-32.32 $\mu\text{mol TE/g}^{-1}$ arasında ölçülmüştür (Kurt vd., 2019). *C. creticum* subsp. *creticum* bitkisinin özütleri ile yapılan çalışmada FRAP aktivite oranları ise 4.15-0.05 mmol Fe²⁺/g özüt oranları arasında değişmektedir (Sabudak vd., 2019).

4.1.5 Metal şelatlama

C. macrobotrys bitkisinin özütlerinin metal şelatlama mekanizmasında özüt maserasyon yönteminde 19.16 mg EDTAE/g özüt ile en düşük aktivite değerini ve homojenizatör destekli yöntemde 35.71 mg EDTAE/g özüt ile en yüksek aktivite değerini göstermiştir (Çizelge 4.3.). Metotta ultrasonikasyon destekli yöntem, infüzyon ve sokslet yöntemleri ise sırasıyla 31.31 mg EDTAE/g özüt, 25.54 mg EDTAE/g özüt ve 24.99 mg EDTAE/g özüt aktivite değeri göstermiştir.

4.1.6 Fosfomolibdat

C. macrobotrys bitkisinin özütlerinin farklı yöntemlere tabi tutulmasıyla total antioksidan kapasitesi ölçülmüştür. Homojenizatör destekli yöntem, maserasyon yöntemi, sokslet yöntemi, ultrasonikasyon destekli yöntem ve infüzyon yöntemlerinin sonuçları sırasıyla 1.73 mmol TE/g özüt, 1.69 mmol TE/g özüt, 1.63 mmol TE/g özüt, 1.60 mmol TE/g özüt ve 1.31 mmol TE/g özüt olarak gözlenmiştir (Çizelge 4.3.). *C. bulgaricum* bitkisinin yaprakları ile yapılan çalışma sonucu fosfomolibdat yöntemi sonucu askorbik asit eşdeğerine göre metanol özütünün 807.6 $\mu\text{g AA/ml}$ özüt olduğu görülmüştür (Karasakal vd., 2015).

Çizelge 4.3. *C. macrobotrys*'in bakır iyonu indirgeme, demir indirgeme, metal şelatlama ve toplam antioksidan kapasite sonuçları.

Metotlar	CUPRAC (mg TE/g)	FRAP (mg TE/g)	Metal Şelatlama (mg EDTAE/g)	Fosfomolibdat (mmol TE/g)
Homojenizatör destekli (HAE)	192.11±1.60	99.55±1.35	35.71±1.01	1.73±0.10
İnfüzyon	142.27±0.80	96.56±1.43	25.54±1.58	1.31±0.03
Maserasyon	175.28±2.06	82.72±7.37	19.16±0.52	1.69±0.12
Sokslet	157.14±3.11	94.68±4.26	24.99±0.68	1.63±0.08
Ultrasonikasyon destekli (UAE)	194.88±0.17	102.06±3.20	31.31±0.38	1.60±0.03

TE: Troloks eşdeğeri; EDTAE: EDTA eşdeğeri

4.2 Enzim inhibitör etkileri

Enzim inhibitör aktiviteleri önemli bir ilaç araştırma alanıdır. Bu nedenle, enzim inhibitör testleri bilimsel araştırmalarda ilgi çekmektedir. *C. macrobotrys* özütlerinin asetilkolinesteraz, bütirilkolinesteraz, tirozinaz, amilaz ve glukozidaza karşı enzim inhibitör etkileri araştırılmıştır.

C. macrobotrys bitkisinin özütleri asetilkolinesteraz inhibisyon etkisinde, infüzyon yönteminde 10.53 mg GALAE/g özüt ile en yüksek asetilkolinesteraz aktiviteyi gösterirken ultrasonikasyon yönteminde 8.86 mg GALAE/g özüt ile en düşük inhibisyon etkisi göstermiştir (Çizelge 4.4.). Homojenizatör destekli yöntem, maserasyon yöntemi ve sokslet yönteminde ise sırasıyla 9.29 mg GALAE/g özüt, 8.99 mg GALAE/g özüt ve 8.90 mg GALAE/g özüt inhibisyon etkisi gözlenmiştir.

C. macrobotrys bitkisinin özütleri bütirilkolinesteraz inhibisyon etkisi açısından infüzyon yönteminde bir inhibitör aktivite göstermemiştir. Diğer yöntemlerde ise sırasıyla; homojenizatör destekli yöntemde 1.61 mg GALAE/g özüt, ultrasonikasyon destekli yöntemde

1.48 mg GALAE/g özüt, maserasyon ve sokslet yöntemlerinde ise aynı değeri vererek 1.30 mg GALAE/g özüt inhibisyon aktivite göstermiştir (Çizelge 4.4.).

C. macrobotrys bitkisinin özütü tirozinaz inhibisyonunda; homojenizatör destekli yöntemde 123.60 mg KAE/g özüt ile en düşük, infüzyon yöntemde 204.80 mg KAE/g özüt ile en yüksek inhibitör etkiyi göstermiştir (Çizelge 4.4.). Ultrasonikasyon destekli yöntemde 134.77 mg KAE/g özüt, sokslet yöntemde 133.41 mg KAE/g özüt ve maserasyon yönteminde 131.90 mg KAE/g özüt inhibisyon etki gözlenmiştir.

C. macrobotrys bitkisinin özütü amilaz inhibisyonunda; en düşük inhibisyon aktiviteyi 0.08 mmol ACAE/g özüt ile maserasyon yönteminde gözlenmiştir (Çizelge 4.4.). En yüksek inhibisyon etki ise 0.56 mmol ACAE/g özüt ile sokslet yönteminde gözlenmiştir (Çizelge 4.4.). İnfüzyon yöntemi, homojenizatör destekli yöntem ve ultrasonikasyon destekli yöntemde ise sırasıyla 0.11 mmol ACAE/g özüt, 0.53 mmol ACAE/g özüt ve 0.54 mmol ACAE/g özüt inhibisyon etki göstermiştir.

C. macrobotrys bitkisinin özütü glukozidaz inhibisyonunda infüzyon yönteminde bir inhibisyon aktivite göstermemiştir. En yüksek inhibisyon etkiyi ultrasonikasyon destekli yöntemde 16.58 mmol ACAE/g özüt ile göstermiştir. Homojenizatör destekli yöntemde 13.98 mmol ACAE/g özüt, sokslet yöntemde 11.90 mmol ACAE/g özüt ve maserasyon yöntemde ise 10.33 mmol ACAE/g özüt inhibisyon etki gözlenmiştir (Çizelge 4.4.). *Cirsium japonicum* var. *maackii* (Maxim.) Matsum. bitkisinin farklı kısımlarından alınan örneklerle hazırlanan özütlerin glukozidaz inhibisyon oranları 70.21-3.1 µg/mL özüt arasında değişmektedir (Wagle vd., 2019).

Genel itibariyle *C. macrobotrys*'in farklı yöntemlerle elde edilen özütlerinin enzim inhibisyon aktiviteleri incelendiğinde tirozinaz enzimi inhibisyonunun diğer enzimlere kıyasla oldukça yüksek düzeylerde olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.4. *Cirsium macrobotrys*'in enzim inhibisyon aktivite sonuçları.

Metotlar	AChE inhibisyonu (mgGALAE/g)	BChE inhibisyonu (mgGALAE/g)	Tirozinaz inhibisyonu (mg KAE/g)	Amilaz inhibisyonu (mmol ACAE/g)	Glukozidaz inhibisyonu (mmol ACAE/g)
Homojenizatör destekli (HAE)	9.29±0.10	1.61±0.04	123.60±2.42	0.53±0.03	13.98±2.25
İnfüzyon	10.53±0.12	-	204.80±0.53	0.11±0.01	-
Maserasyon	8.99±0.18	1.30±0.04	131.90±0.74	0.08±0.01	10.33±2.10
Sokslet	8.90±0.13	1.30±0.16	133.41±2.40	0.56±0.02	11.90±1.86
Ultrasonikasyon destekli (UAE)	8.86±0.69	1.48±0.04	134.77±2.06	0.54±0.02	16.58±0.50

GALAE: Galatamin eşdeğeri; KAE: Kojik asit eşdeğeri; ACAE: Akarboz eşdeğeri; - aktivite gözlenmedi

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında *C. macrobotrys*'in antioksidan ve enzim inhibisyon özellikleri araştırılmıştır. Fenolik ve flavonoid içeriklerinin belirlenmesi ile bitkinin oksidatif strese karşı koruyucu potansiyeli hakkında bilgi sahibi olunması sağlanmıştır. Günümüzde yapılan çalışmalar fenolik ve flavonoid içeriğin pek çok alanda önemli olduğunu göstermiştir. *Cirsium* türleri yetiştiği bölgelerde geçmişten günümüze geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılmaktadır. Halk arasında sıklıkla hipertansiyon rahatsızlıklarında, ödem rahatsızlıklarında, çeşitli kanser hastalıklarının tedavisinde kullanılır. Ayrıca idrar söktürücü, böbrek iltihaplanmasının giderilmesi kuvvet verici olarakta yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışma ile *C. macrobotrys*'in fenolik ve flavonoid içeriğinin belirlenmesi ile geleneksel tıpta birçok hastalığın tedavisinde kullanılmasının nedeni aydınlatılmıştır. Enzim inhibisyonu çalışmalarında ise günümüzde pek çok yaygın hastalığın oluşumuna katkısı olan enzimlerin inhibisyonu çalışılmıştır. Özellikle tirozinaz enzim inhibisyonunda yüksek sonuçlar elde edilmiştir. Birçok hastalığın tedavisinde kullanılan kimyasal ilaçların yerine doğal ve ekonomik olanın kullanılması sağlık ve maddiyat açısından daha kazançlı olacaktır.

Çalışma *C. macrobotrys*'in biyokimyasal içeriği ile ilgili detaylı bilgiler vermektedir. Bu çalışma ile bitkinin halk tıbbında birçok farklı hastalığın tedavisinde ve önlenmesinde yaygın ve etkili kullanımının nedenleri anlaşılmıştır. Günümüzde bitkisel kaynakların kullanılmasında büyük bir artış meydana gelmiştir. Ancak bitkisel kaynakların uygun şartlarda ve gerekli dozlarda kullanılması gerekmektedir. Çalışmaların daha ileri boyutlarda ilerletilmesi ile gıda ve farmakolojik açıdan önemli bir kullanım alanı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abenavoli, L., Capasso, R., Milic, N. ve Capasso, F., 2010. Milk thistle in liver diseases: past, present, future, *Phytotherapy Research*, 24,10,1423.
- Abuja, P.M. ve Albertini, R., 2001. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins, *Clinica Chimica Acta*, 306, 1-17.
- Adom, K.K. ve Liu, R. H., 2002. Antioxidant activity of grains, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6182-6187.
- Agbor, G.A., Vinson, J.A. ve Donnelly, P.E., 2014. Folin-ciocalteu reagent for polyphenolic assay, *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics*, 3, 8, 147-156.
- Aktümsek, A., Zengin, G., Güler, G. O., Çakmak, Y.S. ve Duran, A., 2013. Assesment of the antioxidant potential and fatty acid composition of four *centaurea* l. taxa from turkey, *Food Chemistry*, 141, 1, 91-97.
- Amine, A., Mohammadi, H., Bourasis, I. ve Palleschi, G., 2006. enzyme inhibition-based biosensors for food safety and environmental monitoring, *Biosensors and Bioelectronics*, 21, 1405-1423.
- Amtul, Z., Rahman, A., Siddiqui, R.A. ve Choudhary, M.I., 2002. Chemistry and mechanism of urease inhibition, *Current Medicinal Chemistry*, 9, 1322-1348.
- Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourrat, A. ve Legret, P., 1994. Standardization of a propolis extract and identification of the main constituents, *Journal de Pharmacie de Belgique*, 49, 6, 462-468.
- Barzilai, A. ve Yamamoto, K.I., 2004. DNA damage responses to oxidative stress, *DNA Repair*, 3, 1109-1115.
- Baynes, J.W., 1991. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes, *Diabetes*, 40, 405-411.
- Baytop, T., 1999. Türkiye’de bitkilerle tedavi, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, s. 372.
- Berlett, B.S. ve S tadtman, E.R., 1997. Protein oxidationin aging, disease and oxidative stress, *The Journal of Biological Chemistry*, 272, 33, 20313-20316.
- Betteridge, J., 2000. What is oxidative stress?, *Metabolism*, 49, 2, 3-8.
- Birben, E., Şahiner, U.M., Saçkesen, C., Erzurum, S. ve Kalaycı, O., 2012. Oxidative stress and antioxidant defense, *World Allergy Organization Journal.*, 51, 9.
- Boğa, M., 2012. *Cirsium leucopsis* ve *Cirsium sipyleum* bitkilerinden sekonder metabolitlerin saflaştırılması, antioksidan ve antikolinesteraz aktivitelerinin belirlenmesi, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Bonet, M A., Prada, M., Selga, A. ve Valles, J., 1999. Studies on pharmaceutical ethnobotany

- in the regions of l'ah emporda and les guilleries (catalonia, iberian peninsula), Journal of Ethnopharmacology, 68, 145-168.
- Breen, A.P. ve Murphy, J.A., 1995. Reactions of oxyl radicals with DNA, Free Radical Biology and Medicine, 18, 6, 1033-1077.
- Cairns, C.E., Villanueva-Gutierrez, R., Koptur, S. ve Bray, D.B., 2005. Bee populations, forest disturbance and africanization in mexico, Biotropica, 37, 4, 686-692.
- Cooke, M.S., Evans, M.D., Dizdaroğlu, M., Lunec, J., 2003. Oxidative dna damage; mechanisms, mutation and disease, Faseb Journal, 17,1, 195-214.
- Çakmak, Y.S., Aktümsek, A. ve Duran, A., 2012. Studies on antioxidant activity, volatile compound and fatty acid composition of different parts *Glycyrrhiza echinata* l, EXCLI Journal, 11, 178-187.
- Dalle-Donne, I., Rossi, R., Giustarini, D., Milzani, A. ve Colombo, R., 2002. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress, Clinica Chimica Acta, 329, 23-38.
- Dotan, Y., Lichtenberg, D. ve Pinchuk, I., 2004. Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress, Progress in Lipid Research, 43, 200-227.
- Dirmenci, T., Özcan, T., Arabacı, T., Çelenk, S., İsmayilova, G. ve Yıldız, B., 2019. Hybridization among three *Cirsium* (asteraceae) species and important evidence for three new hybrids from Turkey, Turkish Journal of Botany, 43, 3, 366-385.
- Ergezer, H., Gökçe, R., Hozer, Ş. ve Akcan, T., 2016. Et ve ürünlerindeki protein oksidasyonu: etki mekanizması, tespit yöntemleri ve etkileri, Akademik Gıda, 14, 1, 54-60.
- Fraschini, F., Demartini, G. ve Esposti, D., 2002. Pharmacology of silymarin, Clin Drug Invest, 22, 1, 51-65.
- Guo, H.F. ve Wang, M.H., 2018. Impact of drying method on antioxidant, anti-diabetic and anti-proliferation activities of *Cirsium setidens* in vitro, Acta Alimentaria, 4, 1, 44-51.
- Halliwell, B., 2007. Oxidative stress and cancer: have we moved forward?, Biochem, 401, 1-11.
- Helbock, H.J., Beckman, K.B. ve Ames, B.N., 1999. 8-hydroxydeoxyguanosine and 8-hydroguanine as biomarkers of oxidative DNA damage, Methods in Enzymology, 300, 156-166.
- Helmut, S., 1997. Oxidative stress: oxidants and antioxidants, Experimental Physiology, 82, 291-295.
- Hu, J.J., Dubin, N., Kurland, D., Ma, B.L. ve Roush, G.C., 1995. The effects of hydrogen peroxide on DNA repair activities. Mutat Res., 336, 193-201.
- Huang, D., Ou, B. ve Prior, L.D., 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays, Journal Agricultural Food Chemistry, 53, 6, 1841-1856.

- Juranović Cindrić, I., Kunštic, M., Zeiner, M., Stingeder, G. ve Rustak, G., 2011. Sample preparation methods for the determination of the antioxidative capacity of apple juices, *Croatica Chemica Acta*, 84, 3, 435-438. 82.
- Karasakal, A., Demirci, A.Ş., Tokatlı Demirok, N. ve Cabi, E., 2015. Antioxidant, antimicrobial activities and total flavonoid contents of *Cirsium bulgaricum* dc. leaf extracts, *Marmara Pharmaceutical Journal*, 19, 43-51.
- Klaunig, J.E., Kamendulis, L.M. ve Hocevar, B.A., 2010. Oxidative stress and oxidative damage in carcinogenesis, *Toxicologic Pathology*, 38, 96-109.
- Kurt, A., Özcan, M., Çolak, N., Özoğul, Y., Glew, R., Özoğul, F. ve Ayaz, F.A., 2019. Fatty acids of oil and antioxidant capacity of phenolics from fruits of 11 Cardueae (Carduoideae, Asteraceae) taxa from northeast Anatolia (Turkey), *Botanica Serbica*, 43, 1, 31-45.
- Liu, S., Zhang, J., Li, D., Liu, W., Luo, X. ve Zhang, R., 2007. Anticancer activity and quantitative analysis of flavon of *Cirsium japonicum* DC., *Natural Product Research*, 21, 915-922.
- Lim, H., Son, K.H., Chang, H.W., Bae, K.H., Kang, S.S. ve Kim, H.P., 2008. Anti-inflammatory activity of pectolinarigenin and pectolinarin isolated from *Cirsium chanroenicum*, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 31, 2063-2067.
- Maritim, A.C., Sanders, R.A. ve Watkins III, J.B., 2003. Diabetes, oxidative stress and antioxidants: a review, *Biochem Molecular Toxicology*, 17, 1, 24-38.
- Nakasugi, T., Nakashima, M. ve Komai, K., 2002. Antimutagenes in *Cirsium maritimum*, *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*, 10, 1, 19-28.
- Nalewajko-Sieliwoniuk, E., Pliszko, A., Nazaruk, J., Barszczewska, E. ve Pukszta, W., 2019. Comparative analysis of phenolic compounds in four taxa of *Erigeron acris* s. l. (Asteraceae), *Biologia*, 74, 1569-1577.
- Nazaruk, J., Chłędzik, S., Strawa, J., Bazydło, K. ve Wajs-Bonikowska, A., 2017. Chemical composition and antioxidant activity of *Cirsium vulgare* inflorescences, *Natural Product Communications*, 12, 4, 519-522.
- Nazaruk, J. ve Jakoniuk, P., 2005. Flavonoid composition and antimicrobial activity of *Cirsium rivulare* (Jacq.) All. flowers, *Journal of Ethnopharmacology*, 102, 208-212.
- Orhan, I.E., Şenol, F.S., Gülpınar, A.R., Şekeroğlu, N., Kartal, M. ve Şener, B., 2012. Neuroprotective potential of some terebith coffee brands and the unprocessed fruits of *Pistacia terebithus* L. and their fatty and essential oil analyses, *Food Chemistry*, 130, 4, 882-888.
- Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G. ve Yörden, Z., 2015. Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri, *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6, 3, 331-336.
- Palinisamy, U.D., Ling, L.T., Manaharan, T. ve Appleton, D., 2011. Rapid isolation of

- geraniin from *Nephelium lappaceum* rind waste and its anti-hyperglycemic activity, Food Chemistry, 127, 1, 21-27.
- Polat, R., Çakılcıoğlu, U., Ertuğ, F. ve Satıl, F., 2012. An evaluation of ethnobotanical studies in Eastern Anatolia, Biological Diversity and Conservation, 5, 23-40.
- Ratnam, D.V., Ankola, D.D., Bhardwaj, V., Sahana, D.K. ve Ravi Kumar, M.N.V., 2006. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective, Journal of Controlled Release, 113, 189-207.
- Rodriguez, R. ve Redman, R., 2005. Balancing the generation and elimination of reactive oxygen species, Proceedings of the National Academy of the United States of America, 102, 9, 3175-3176.
- Sabudak, T., Gülen, D., Orak, H.H., Özer, M., Çalışkan, H. ve Cabi, E., 2017. Free radikal scavenging capacity and antibacterial activity of wild *Cirsium creticum* from Turkey, Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research, 51, 3, S359-362.
- Sabudak, T., Özer, M., Orak, H.H. ve Çalışkan, H., 2019. Antioxidant activity of five new phenolic compounds from *Cirsium creticum* subsp. *Creticum*, Phytochemistry Letters, 31, 181-186.
- Selvi, S., Sevindik, E. Ve Acar, M., 2013. Polinatörlerin bitkisi: *cirsium* türleri, Uludağ Arıcılık Bülteni, 1, 25-27.
- Shen, Y. Ve Mu, Q., 1990. New furans from *Cirsium chlorolepsis*, Planta Med., 56, 472-474.
- Sohal, R.S., 2002. Serial review: oxidatively modified proteins in aging and disease, Free Radical Biology and Medicine, 33, 1, 37-44.
- Storz, G. ve A lmlayt, J., 1999. Oxidative stress, Current Opinion in Microbiology, 2, 2, 188-194.
- Takaishi, Y., Okuyama, T., Masuda, A., Nakano, K., Murakami, K. ve Tomimatsu, T., 1990. Acetylenes from *Cirsium japonicum*, Phytochemistry, 29, 12, 3849-3852.
- Takano, S. ve Kawaminami, S., 1987. Eight aliphatic aldehyds from *Cirsium dipsacolepsis* and their stereoselective synthesis, Phytochemistry, 26, 2, 435-438.
- Yang, X-W., Huang, M-Z., Jin, Y-S., Sun, L-N., Song, Y. ve Chen, H-S., 2012. Phenolics from *Bidens bipinnata* and their amylase inhibitory properties, Fitoterapia, 83, 7, 1169-1175.
- Yıldız, B., Arabacı, T., Dirmenci, T. ve Köstekçi, S., 2016. A taxonomic revision of the genus *Cirsium* Mill. sect. *Cirsium* (Asteraceae: Cardueae) in Turkey, Turkish Journal of Botany, 40, 514-530.
- Yıldız, B., Dirmenci, T. ve Arabacı, T., 2009. *Cirsium handaniae* (Asteraceae), a new species from Turkey, Ann. Bot. Fennici, 46, 239-243.

Yin, Y., Heo, S-I. ve Wang, M.H., 2008. Antioxidant and anticancer activities of methanol and water extracts from leaves *Cirsium japonicum*, Journal of Applied Biological Chemistry, 51, 160-164.

Yoo, Y., Nom, J., Kim, M., Choi, J. ve Park, H., 2008. Pectolinarin and pectolinarigenin of *Cirsium setidens* prevent the hepatic injury in rats caused by d-galactosamine via an antioxidant mechanism, Biol. Pharm. Bull., 31, 4, 760-764.

Wagle, A., Seong, S.H., Shrestha, S., Jung, H.A. ve Choi, J.S., 2019. Korean thistle (*Cirsium japonicum* var. *mackii* (Maxim.) Matsum.): a potential dietary supplement against diabetes and alzheimer's disease, Molecules, 24, 649.

Wotton-Beard, P.C. ve Ryan, L., 2011. Improving public health?: the role of antioxidant-rich fruit and vegetable beverages, Food Research International, 44, 3135-3148.

URL-1<<https://www.turkiyebitkileri.com/tr/foto%C4%9Fraf-galerisi/view-photo/1097/4000.html> >

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı: Kevser Yıldırım

E-posta adresi: kevser.yldrm16@gmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans : Aksaray Üniversitesi/Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Bölümü, 2013-2017

Yüksek Lisans: Aksaray Üniversitesi/Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji A.B.D., 2017-2020

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLERİ

1. Vytautas Magnus University / Yaz Stajı

YAYINLAR

1. Çakmak, Y. S., Zengin, G., Eskin, B., Yıldırım, K., Topal, M., Aydın, G. H., Ünlü, E., Baydemir, M. ve Erten, K., 2017. *Medicago rigidula* (L) ALL.'nın Antioksidan ve Enzim İnhibisyon Aktiviteleri ve Fenolik Bileşiminin İncelenmesi. Marmara PharmaceuticalJournal, 21, 3, 522-529.
2. Sargın, İ., Akyüz, L., Kaya, M., Tan, G., Çeter, T., Yıldırım, K., Ertosun, Ş., Aydın, G. H. ve Topal, M., 2017. Controlled release and anti-proliferative effect of imatinib mesylate loaded sporopollenin microcapsules extracted from pollens of *Betula pendula*. International Journal of Biological Macromolecules, 105, 1, 749-756.