

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

FARKLI ÇÖZÜCÜLERLE EKSTRAKTE EDİLEN *Elaeagnus umbellata*
MEYVESİNİN LC-HRMS, FTIR SPEKTRAL ANALİZİ, ANTİOKSİDAN,
ANTİDİYABETİK VE ANTİTİROSİNAZ AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Fatma Nur KAZAN

MART 2025
TRABZON



KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

FARKLI ÇÖZÜCÜLERLE EKSTRAKTE EDİLEN *Elaeagnus umbellata*
MEYVESİNİN LC-HRMS, FTIR SPEKTRAL ANALİZİ, ANTİOKSİDAN,
ANTİDİYABETİK VE ANTİTİROSİNAZ AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

Fatma Nur KAZAN

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde

"YÜKSEK LİSANS (KİMYA)"

Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 28 / 02 / 2025

Tezin Savunma Tarihi : 26 / 03 / 2025

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Yakup KOLCUOĞLU

Trabzon 2025

ÖNSÖZ

“Farklı Çözücülerle Ekstrakte Edilen *Elaeagnus umbellata* Meyvesinin LC-HRMS, FTIR Spektral Analizi, Antioksidan, Antidiyabetik ve Antitirozinaz Aktivitelerinin İncelenmesi” isimli bu tez Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Programı’nda hazırlanmıştır.

Tez çalışmam boyunca hiçbir desteğini esirgemeyen kıymetli bilgileriyle ve tecrübesiyle yolumu aydınlatan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Yakup KOLCUOĞLU’na teşekkürü borç bilirim. Tez çalışmamda yardımlarını esirgemeyen saygıdeğer hocalarım Öğr. Gör. Dr. Fulya ÖZTUNCAY ve Dr. Ümmühan ÇAKMAK’a teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışması sürecinde maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen ve bugünlere gelmemde en büyük paya sahip olan canım annem Halise KAZAN ve canım babam Kamil KAZAN, canım kardeşlerim Hasan Mert KAZAN ve Muhammed Yusuf KAZAN’a teşekkür eder, minnettarlığımı sunarım.

Tez çalışmam sürecinde bana her daim destek veren saygıdeğer abim Kadem ÇAKIROĞLU’na ve saygıdeğer eşi olan ablam Elif ÇAKIROĞLU’na teşekkür eder, minnettarlığımı sunarım.

Tez çalışmam sürecinde bana desteklerini esirgemeyen saygıdeğer abim Recep KOT’a teşekkürlerimi sunarım. Yine bu süreçte desteklerini esirgemeyen saygıdeğer abim Mustafa Kemal BEKTAŞ’a teşekkürlerimi borç bilirim.

Tez çalışmam boyunca desteğini benden esirgemeyen saygıdeğer ablam Şükriye BAL’a teşekkürlerimi borç bilirim.

Tez çalışmamda her daim desteklerini bana hissettiren saygıdeğer abim Abdurrahim GÜNEŞ’e ve saygıdeğer eşi olan ablam İlkay GÜNEŞ’e teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışma sürecinde beni yalnız bırakmayan canım kardeşim, ikizim Fatma Nur ALTUN DEMİRCİOĞLU’na teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışmasının bundan sonraki çalışmalara katkı sağlamasını temenni ederim.

Fatma Nur KAZAN

Trabzon 2025

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Farklı Çözücülerle Ekstrakte Edilen *Elaeagnus umbellata* Meyvesinin LC-HRMS, FTIR Spektral Analizi, Antioksidan, Antidiyabetik ve Antitirozinaz Aktivitelerinin İncelenmesi” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Yakup KOLCUOĞLU’nun sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı/yaptırdığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 26/03/2025

Fatma Nur KAZAN

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	III
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET	VII
SUMMARY	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
TABLolar DİZİNİ.....	X
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XI
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Serbest Radikaller.....	2
1.2. Antioksidanlar	6
1.2.1. Endojen Antioksidanlar.....	7
1.2.2. Eksojen Antioksidanlar	12
1.3. Enzimler	13
1.3.1. Tirosinaz (EC 1.14.18.1.).....	14
1.3.2. α - Amilaz (EC 3.2.1.1) ve α -Glukozidaz (EC 3.2.1.20)	15
1.4. <i>Elaeagnus umbellata</i>	17
1.4.1. <i>E. umbellata</i> 'nın Morfolojik Özellikleri	17
1.4.2. <i>E. umbellata</i> 'nın Fitokimyasal Özellikleri.....	17
1.4.3. <i>E. umbellata</i> 'nın Farmakolojik Özellikleri	18
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	19
2.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasal Malzemeler	19
2.2. Meyve Ekstrelerinin Hazırlanması.....	19
2.2.1. Toplam Fenolik İçeriğin Belirlenmesi	19
2.2.2. Toplam Flavonoid İçeriğin Belirlenmesi	20
2.3. Antioksidan Aktivite Testleri	20
2.3.1. Total Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi	20
2.3.2. ABTS Radikali Giderici Aktivite.....	20
2.4. İndirgeme Potansiyelinin Belirlenmesi	21
2.4.1. Demir İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (FRAP)	21

2.4.2. Bakır İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC).....	21
2.5. Metal Şelatlama Aktivitesinin Belirlenmesi.....	21
2.6. Yüzey Morfolojik Analizlerin FT-IR Spektroskopisi ile Belirlenmesi.....	21
2.7. Fenolik İçeriğin LC-HRMS ile İncelenmesi	22
2.8. Enzim İnhibisyon Çalışmaları	22
2.8.1. α -Amilaz İnhibisyonu	22
2.8.2. α -Glukozidaz İnhibisyonu.....	22
2.8.3. Tirosinaz İnhibisyonu	22
3. BULGULAR.....	24
3.1. Toplam Fenolik İçeriğin Belirlenmesi	24
3.2. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi	25
3.3. Antioksidan Aktivite Testleri	25
3.3.1. Total Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi	25
3.3.2. ABTS Radikali Giderici Aktivite	26
3.4. İndirgeme Potansiyelinin Belirlenmesi	26
3.4.1. Demir İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (FRAP)	26
3.4.2. Bakır İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC).....	26
3.5. Metal Şelatlama Aktivitesinin Belirlenmesi.....	26
3.6. Yüzey Morfolojik Analizlerin FT-IR Spektroskopisi ile Belirlenmesi.....	27
3.7. Fenolik İçeriğin LC-HRMS ile Karakterize Edilmesi.....	27
3.8. Enzim İnhibisyon Çalışmaları	28
3.8.1. α -amilaz İnhibisyonu	28
3.8.2. α -glukozidaz İnhibisyonu.....	29
3.8.3. Tirosinaz İnhibisyonu	29
4. TARTIŞMA	30
5. SONUÇLAR.....	35
6. ÖNERİLER.....	36
7. KAYNAKLAR	37
ÖZGEÇMİŞ	

Yüksek Lisans Tezi

ÖZET

FARKLI ÇÖZÜCÜLERLE EKSTRAKTE EDİLEN *Elaeagnus umbellata* MEYVESİNİN LC-HRMS, FTIR SPEKTRAL ANALİZİ, ANTİOKSİDAN, ANTİDİYABETİK VE ANTİTİROSİNAZ AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

Fatma Nur KAZAN

Karadeniz Teknik Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Yakup KOLCUOĞLU

2025, 45 Sayfa

Elaeagnaceae familyasına ait olan *Elaeagnus umbellata*, güz üzümü olarak bilinen yenilebilir bir meyve cinsidir. Bu bitkinin meyvesinden hazırlanan metanol, etanol, etil asetat ve hekzan ekstraktlarının, enzim inhibitör ve antioksidan kapasiteleri araştırıldı. Antioksidan aktiviteyi incelemek için ABTS, CUPRAC, FRAP, toplam antioksidan kapasitesi ve metal şelatlama aktivitesi yöntemleri kullanıldı. Hazırlanan özütler içerisinde etil asetat ekstraktı en yüksek fenolik ($8,86 \pm 0,27$ mg GAE/g) ve metanol ekstraktı en yüksek flavonoid içeriğinde ($1,63 \pm 0,05$ mg QE/g) aktivite gösterdi. Ayrıca etanol ekstraktı tirozinaz için (IC_{50} , $0,07 \pm 0,00$ mg/mL), etil asetat ekstraktı α -amilaz (IC_{50} , $0,0003 \pm 0,0000$ mg/mL) ve α -glukozidaz (IC_{50} , $0,22 \pm 0,01$ mg/mL) için önemli inhibisyon sergiledi. Ekstraktların fenolik içerikleri, LC-HRMS ile karakterize edildi. Çalışma sonucu elde edilen verilerde, *Elaeagnus umbellata* meyvesinin ilaç ve gıda endüstrisi için doğal bir ajan olarak yarar sağlayabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *Elaeagnus umbellata*; Antioksidan aktivite, Enzim inhibisyonu; LC-HRMS; FT-IR

Master Thesis

SUMMARY

LC-HRMS, FTIR SPECTRAL ANALYSIS, INVESTIGATION Of ANTIOXIDANT, ANTIDIABETIC AND ANTITYROSINASE ACTIVITIES OF *Elaeagnus umbellata* FRUIT EXTRACTED WITH DIFFERENT SOLVENTS

Adı SOYADI

Karadeniz Technical University
Institute of Science
Chemistry Department
Supervisor: Prof. Dr. Yakup KOLCUOĞLU
2025, 45 Pages

Elaeagnus umbellata, belonging to the *Elaeagnaceae* family, is a genus of edible fruit known as autumn grape. Enzyme inhibitory and antioxidant capacities of methanol, ethanol, ethyl acetate and hexane extracts prepared from the fruit of this plant were investigated. To investigate the antioxidant activity, ABTS, CUPRAC, FRAP, total antioxidant capacity and metal chelating activity methods were used. Among the prepared extracts, ethyl acetate extract showed the highest phenolic (8.86 ± 0.27 mg GAE/g) and methanol extract showed the highest flavonoid content (1.63 ± 0.05 mg QE/g) activity. Additionally, the ethanol extract exhibited significant inhibition for tyrosinase (IC₅₀, 0.07 ± 0.00 mg/mL), while the ethyl acetate extract exhibited significant inhibition for α -amylase (IC₅₀, 0.0003 ± 0.0000 mg/mL) and α -glucosidase (IC₅₀, 0.22 ± 0.01 mg/mL). Phenolic contents of the extracts were characterized by LC-HRMS. The data obtained from the study show that *Elaeagnus umbellata* fruit may provide benefits as a natural agent for the pharmaceutical and food industries.

Key Words: *Elaeagnus umbellata*; Antioxidant activity, Enzyme inhibition; LC-HMRS; FT-IR

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Toplam fenolik bileşik miktarı analizi için Gallik asit kullanılarak hazırlanan standart grafiği	24
Şekil 2. Toplam flavonoid bileşik miktarı analizi için Kersetin kullanılarak hazırlanan standart grafiği	25
Şekil 3. <i>E. umbellata</i> meyve ekstraktlarının FT-IR spektrumları.....	27



TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Antioksidanların sınıflandırılması	13
Tablo 2. <i>E. umbellata</i> meyve ekstraktlarının toplam fenolik içerikleri	24
Tablo 3. <i>E. umbellata</i> ekstraktlarının toplam flavonoid içerikleri.....	25
Tablo 4. <i>E. umbellata</i> meyve ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri	26
Tablo 5. <i>E. umbellata</i> meyve ekstraktlarının FT-IR analiz sonuçları	27
Tablo 6. <i>E. umbellata</i> meyve ekstraktlarının LC-HRMS cihazında tayin edilen bileşik miktarları (mg/L).....	28
Tablo 7. <i>E. umbellata</i> meyve ekstraktlarının ve standartların enzim inhibisyon aktiviteleri	29
Tablo 8. <i>E. umbellata</i> meyvesinden elde edilen bileşiklerin fenolik/flavonoid etkileri	32

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS	: 2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)
AlCl ₃	: Alüminyum Klorür
ATP	: Adenozin trifosfat
CAT	: Katalaz
CUPRAC	Bakır iyonu indirgeyici antioksidan kapasite
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit
FRAP	: Demir iyonu indirgeyici antioksidan kapasite
FT-IR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
GAE	: Gallik asit
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
GSSG	: Glutasyon disülfid
GST	: Glutasyon transferaz
GR	: Glutasyon redüktaz
HCl	: Hidrojen klorür
IC ₅₀	: Yarı-maksimum inhibitör konsantrasyonu
IKI	: İyodür/Potasyum iyodür
IR	: Kızılötesi ışıma
LC-HRMS	: Sıvı Kromatografisi-Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrofotometresi
LOO·	: Lipid peroksil radikali
L-DOPA	: Levodopa (3,4-dihidroksi-L-fenilalanin)
NaCl	: Sodyum Klorür
NADPH	: İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NO·	: Nitrik Oksit radikali
HO·	: Hidroksil radikali
O ₂ · ⁻	: Süperoksit radikali
pNPG	: 4-Nitrofenil α -D-glukopiranozid
RNA	: Ribonükleik asit
RNS	: Reaktif nitrojen türleri
ROS	: Reaktif oksijen türleri

SOD : Süperoksit dismutaz
QE : Kersetin



1. GENEL BİLGİLER

Farklı medeniyetlere uzanan bir geçmişe sahip olan bitkiler, antik çağlardan beri tıp alanında kullanılırlar. Yalnız bitkilerin besin değerlerinin elde edilmesinde değil, aynı zamanda hastalıkların tedavisinde terapötik ajan ve profilaktik olarak kullanılmaları üzerine insan diyetine dahil edilmişlerdir (Samant vd., 2007). Bitkinin yaprak, çiçek, meyve, kök ve kabuk gibi bölümlerinin kurutulularak veya toz halinde elde edilmesi sonucunda meydana gelen etken maddeleri ile insan veya hayvanlarda görülen hastalıkların tedavisinde kullanılan tıbbi bitkilerin ilk yazılı kaynakları Sümerler ve Çinlilere aittir (URL-2, 2024).

Dünya genelinde 750.000 ile 1.000.000 civarında bitki çeşitinin var olduğu düşünülmektedir ve bu bitkilerin yaklaşık 500.000'i kayıtlara geçmiştir. Yılda neredeyse 2.000'e yakın yeni çekirdekli bitki türü adlandırılmaktadır (Kırıcı, 2015). Türkiye'nin dünya üzerinde ılıman kuşakta bulunması farklı iklimler yaşamasına sebep olur. Bu nedenle Türkiye, içerisinde biyolojik çeşitlilik bulunduran ülkeler arasında büyük bir öneme sahiptir. Ülkemizde toplam 11.707 bitki taksonu bulunur ve bunların 3.035 tanesi endemik bitki türleridir. Doğal olarak yetişen bitkilerin ise yaklaşık 1.000'i tıbbi amaçla kullanılır (Güner vd., 2012).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) raporunda, dünya nüfusunun neredeyse %80'inin hastalıklarının tedavisinde kullanılmak üzere hala 'geleneksel tıp' uygulandığı belirtilmiştir (Sen ve Chakraborty, 2017). Yakın zamanlarda, güçlü ilaç alternatiflerinin geliştirilmesine yönelik iyileşmiş yöntemler kullanılarak tanımlanmasının ardından izolasyonlarıyla ilişkili olarak, diyet öğeleri (sebze, meyve, ot vb.) tarafından üretilen biyoaktif bileşiklerin incelenmesinde büyük bir değişim tespit edilmiştir. Benzersiz tedavi edici özelliklere sahip bitkiler, sağlık sektöründe önemli bir kaynak olarak görülmektedir. Bu şekilde göz önünde bulundurulduğunda, geleneksel tedavi yöntemlerinin izlenmesindeki canlanma, hastalıkların tedavisinde ya da farklı ilaçların geliştirilmesinde kullanılmak üzere yapısal aktif moleküller edinmek konusunda güçlü bağlılığa sahip geniş yayılımındaki biyoaktif bileşikler bakımından bitkiler üzerinde yapılan çalışmalarda artış göstermiştir (Bhat vd., 2023).

Modern tıpta uygulanan ilaçların çoğu yan etkilere sahiptir ve bu durum son zamanlarda hastalıkların artış göstermesine sebep olduğu için üretilen sentetik ilaçların iyileştirici özelliklerinin eksik kalması durumunda yeni çözümlerin arayışı içerisinde olunması kaçınılmaz bir hal almıştır. Bitkilerden doğal aşamalar sonucunda elde edilen

ilaçlar modern tıptaki ilaçlarla karşılaştırıldığında, daha az yan etkilerinin olması ve birçok hastalığın tedavisinde pozitif sonuçlara varılması günümüzde bitkilerden elde edilen alternatif tıp ilaçlarının kullanımına zemin hazırlamaktadır (Suliman vd., 2021).

Gerçekleştirilen bu çalışmada, farklı çözücüler kullanılarak hazırlanmış olan *Elaeagnus umbellata* meyve ekstraktlarının, klinik öneme sahip olan 3 farklı enzim (α -amilaz, α -glukozidaz ve tirozinaz) aktivitesi üzerine inhibisyon etkileri belirlendi ve meyve ekstraktları antioksidan kapasiteleri, toplam fenolik ve flavonoid içerikleri açısından aydınlatıldı.

1.1. Serbest Radikaller

Serbest radikal bir ya da birden çok eşleşmemiş elektronla donatılan bağımsız varlığa sahip bir türdür (Halliwell ve Gutteridge, 1999). Radikallerin çoğu kararsız halde bulunduklarından dolayı oldukça reaktiftir. Diğer moleküllerden elektron kabul edebilir veya diğer moleküllere elektron verebilirler, bu sebeple oksidan veya indirgeyici gibi davranırlar (Lobo vd., 2010). Reaktivliklerinin fazla olması, radikallerin ömrünün kısa olmasına sebep olur ayrıca elektriksel anlamda pozitif (katyonik) yüklü, negatif (anyonik) yüklü ya da yüksüz (nötr) halde bulunabilirler (Heves, 2008). Serbest radikallerin oluşumu ile antioksidanların savunma hali arasındaki istikrarın sürdürülebilmesi, organizmanın fonksiyonlarını olağan bir şekilde devam ettirebilmesi bakımından oldukça önemlidir. Bu istikrar serbest radikallerin oluşumu lehine meydana geldiğinde, organizmanın oksidatif strese maruz kaldığını dile getirebiliriz. Böylece, gereğinden çok oluşan serbest radikaller hücrel lipitlerde, proteinlerde ve DNA'da hasar oluşturarak, olağan haldeki işleyişi negatif bir hale getirebilir ve değişik hastalıklara sebep olabilir (Yenigün, 2015).

- Serbest Radikal Kaynakları

Serbest radikal türleri içerisinde hidroksil radikali ($\text{HO}^\bullet$), nitrik oksit radikali ($\text{NO}^\bullet$), süperoksit radikali ($\text{O}_2^{\bullet-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve lipid peroksil radikali ($\text{LOO}^\bullet$) bulunmaktadır. Serbest radikallerin oluşması, enzimatik olan ve enzimatik olmayan reaksiyonların sonucunda hücrelerde devamlı bir halde oluşur. Serbest radikallerin kaynağı olarak görev yapan enzimatik reaksiyonlar içerisinde solunum zincirinde, fagositozda, prostaglandin sentezinde ve sitokrom P450 mekanizmasında yerini alır. Ayrıca, bu radikaller oksijenin organik bileşikler ile birlikte enzimatik olmayan reaksiyonlarında ve iyonlaştırıcı radyasyonlarla başlatılan reaksiyonlarında meydana gelir.

Dahili olarak üretilen bazı serbest radikallerin kaynakları:

- Mitokondri
- Peroksizomlar
- Enflamasyon
- Fagositoz
- Ksantin oksidaz
- Araşidonat yolları

Dışardan üretilen bazı serbest radikallerin kaynakları:

- Sigara dumanı
- Çevre kirleticileri
- Radyasyon
- Endüstriyel çözücüler
- Ozon
- Ultraviyole ışık (Bagchi ve Puri, 1998).

Biyolojik sistemlerde meydana gelen serbest radikallerdeki endojen kaynakları oksijen, nitrik oksit, mitokondriyal elektron transport sistemi, endoplazmik retikulum, uyarılmış nötrofil ve plazma membranı olarak kabul edilebilir. Teneffüs edilen oksijenin %95'inden çoğu mitokondri içinde ATP halinde güç üretiminde harcanırken, neredeyse %5'i de son yörüngelerinde eşleşmemiş elektron bulunduran, sahip olduğu özelliklerinden dolayı da zehirli serbest radikallere çevrilmektedir (Şener ve Yeğen, 2009).

- Oksidatif Stres

Oksidatif stres, üretilen serbest radikallerle antioksidan savunma mekanizması arasında bulunan kararlılığın dağılması sonucunda oluşan bir durumdur. Oksijen kaynaklı olan serbest radikaller reaktif oksijen türleri (ROS) olarak adlandırılır. Bu türlere ait zararlı etkilerin ortadan kaldırılmasında vücut antioksidan savunma mekanizmaları genel olarak yeterli değildir. Mitokondride meydana gelen metabolizma, radyasyon, yüksek oksijen basıncı, kimyasal, inflamasyon ve yaşlanma sonucu yüksek reaktiviteye sahip ROS'lar oluşturulmaktadır. Bu sebeple DNA, lipidler, ve proteinler zarar görür ve bu süreç kanser, nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıkların meydana gelmesine katkı sağlar. Bundan dolayı diyet kaynaklı antioksidanlar, meydana gelebilecek hastalıklardan korunmada önemli bir rol oynayabilir (Üner ve Yılmaz, 2021).

- Reaktif Oksijen Türleri

Atmosferik oksijen, oksijen veya dioksijen olarak isimlendirilir. Az miktarda oksijen başta mitokondrinin dahil olmasıyla hücresel bölmelerdeki metabolizma esnasında redükte edilerek ROS'a dönüşür. Sırasıyla ROS'lar süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali ($HO^{\cdot}$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2)'dir. Bu türlerden ilk ikisi serbest radikaldir ve hidrojen peroksit diğerlerinden farklı olarak bir prooksidandır (Navarro ve Boveris, 2004).

Süperoksit radikalleri ($O_2^{\cdot-}$): Oksijenli solunum yapan hücrelerde moleküler oksijenin bir tane elektron almasıyla redükte edilmesi neticesinde meydana gelirler. Ayrıca süperoksit radikali elektronca zengin iç mitokondriyal membranda ksantin oksidaz gibi flavoenzimler ve indirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu yoluyla endojen olarak da oluşturabilir (Valko vd., 2005).

Hidrojen peroksit (H_2O_2): Serbest radikal olmadığı halde ROS kapsamına dahildir ve serbest radikal üretiminde mühim bir rolü vardır. Hücresel bölmelerde yer alan (ürat oksidaz, glikoz oksidaz ve D-aminoasit oksidaz gibi) birden fazla enzim, iki elektronun oksijene transferi ile direkt olarak hidrojen peroksit meydana getirilir. Hidrojen peroksit, süperoksit radikalinden farklı olarak yağda çözündüğü için meydana geldiği yere yakın olmayan ve Fe^{2+} 'nin dahil olduğu hücresel membranlara da zarar verebilir (Özcan vd., 2015).

Hidroksil radikalleri ($HO^{\cdot}$): Hidroksil radikalının ömrü çok kısa olmasına rağmen DNA molekülüne saldırarak pürinler ile pirimidinlerde ve deoksiriboz DNA yapısında hasar oluşturduğu için bütün ROS'lar içerisinde en fazla toksikliğe sahip bir radikal olarak kabul edilmiştir. Hidroksil radikali, hidroksit iyonun nötral halidir ve geçiş metallerinden H_2O_2 'ye elektron transferiyle meydana gelir. Hidroksil radikalının oluşumunun ardından biyomoleküllerle etkileşirler. Bu neticede oksidatif stresin genetik materyalde sebep olduğu kalıcı tahribatlar mutajenez, karsinogenez ve yaşlanmanın ilk adımını simgeleyebilir (Ferreira vd., 2009).

- Reaktif Nitrojen Türleri

Reaktif nitrojen türlerinin (RNS), stres durumunda ve normal yetiştirme koşullarında bitkinin gelişiminde ve büyümesinde birçok biyolojik olayların ayarlanmasında yer alması, büyük bir önem kazanmasını sağlamaktadır. ROS gibi RNS de stres durumunda serbest radikal ve radikal olmayan moleküller oluşturmaktadırlar. RNS, birçok stres tolerans sistemlerinde önemli bir sinyal bileşeni olarak işlevini sürdüren nitrik oksitten ($NO^{\cdot}$) elde edilmekte ve bir parçası da azot döngüsünde yerini almaktadır. Bununla birlikte soğuk, sıcaklık, kuraklık, tuzluluk ve ağır metaller gibi birçok abiyotik stres durumlarında RNS bir

sinyal molekölü olarak faaliyet göstermektedir. Böylece RNS'nin fizyolojik olayların ayarlanması ve nitrosatif stres de dahil olmak üzere bitki hücrelerinde iki farklı görevi olduğu bildirilmektedir (Yavaş vd., 2020).

- Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler bitkilerde bol miktarda bulunan sekonder metabolitlerdir. Hayvan veya böceklerin zararlı olanlarına karşı bitkiyi koruma görevini üstlenirler. Günümüzde yapılan araştırmalar sonucunda 5000'den fazla fenolik bileşiğin yapısının aydınlatıldığı belirtilmiştir (Nizamlıoğlu ve Nas, 2010). Bitkiler yoğun stres altında korunma amaçlı olarak fenolik bileşikler üretmektedir. Ayrıca fenolik bileşikler, sebze ve meyvelerin dokusunda bulunarak tat ve renk verme özelliklerine de sahiptir (Atak vd., 2017). Fenolik bileşik sınıfına ait olan polifenoller, lipid ve ROS bağlarını kıran radikalleri, aynı metal iyonlarının oluşturduğu şelatlar gibi bağlarla birleşerek temizleyebilen antioksidanlardır. Polifenoller antioksidan olarak belirleyebilmek için iki özelliğe sahip olması gerekir. İlki, düşük derişimlerde dahi olsa oksidasyonu geciktirebilmeli, ikincisi ise kendisi serbest radikallere dönüştüğü zaman yapısının stabil bir halde durabilmesidir. Bitki içerikli çoğu besin, en güçlü antioksidan olma özelliğine sahip fenolik fitokimyasalları kapsadığı gibi oksidatif hasara karşı da vücut savunmasına katkı sağlamaktadır. Bu bileşikler, besinlerin bozunmalarına karşı koruma sağlaması gibi tüketilmeleri sonucunda da vücudumuzda antioksidan madde oluşumunu gerçekleştirmektedirler (Güleşci ve Aygöl, 2016). Bu bileşikler insan sağlığında antiinflamatuvar, antidiyabetik, antialerjenik, anti-viral ve antitrombotik gibi etkiler gösterir (Manach vd., 2004). Fenolik bileşikler sahip oldukları halka yapısına ve yapısal durumlarına göre isim alırlar ve bu bileşikler flavonoidler, fenolik asitler, tanenler, stilbenler ve lignanlar olmak üzere beş ana grupta sınıflandırılırlar (Kolaç vd., 2017).

Flavonoidler: Polifenollerin en büyük grubunu oluşturan flavonoidler, oksijen içeren bir piren halkası ve iki benzen halkasının birleşmesiyle meydana gelerek bitkilerde genel olarak glikozit formları halinde bulunurlar. Flavonoidler bitkilerin sekonder metabolitleridir ve aminoasitler, karbonhidratlar gibi birincil metabolitlerden meydana gelirler. Molekül ağırlıkları düşük olan bu polifenoller bitkilerde kırmızı, turuncu ve yeşil pigmentlerden sorumlu yapılardır. Flavonoidlerin etkinlik gösterdiği özellikler arasında kardiyovasküler hastalıklarda koruyucu olarak görev yapması yer alır. İnsanlar tarafından düzenli bir şekilde tüketildiğinde kanser ve kalp hastalıkları gibi meydana gelen bu hastalıkların çoğalma hızında bir azalma olduğu görülmüştür (Atak ve Uslu, 2018).

Fenolik Asitler: Fenolik asitler, canlı bitkisel organizmalarda serbest bir halde yer almazlar aksine bitkilerin işlenmesi sırasında hidrolize bir şekilde meydana çıkmaktadır. Fenolik asitlerde bulunan fenol halkalarına bağlı hidroksil grupları fazlasıyla etkinlik göstererek, şekerler ile tepkimeye girer ve glikozidlerin oluşmasını sağlarlar (Yıldız ve Yıldız, 2022).

Tanenler: Tanenler yüksek yapılı bitkilerin çoğunda bulunan suda çözünebilen bileşiklerdir. 500-2000 Dalton arasında değişen molekül ağırlığına sahip olan bu bileşikler gallotanenler, kompleks tanenler, kondense tanenler ve ellagitanenler olmak üzere dört ana grupta sınıflandırılırlar. Tanenler fazla miktarda hidroksil ve fonksiyonel grup içerirler. Protein ve mineral gibi moleküllerle kompleks oluşturdıklarında gıdaların besin değerinin azalmasına neden olurlar. Tanen miktarının fazla olmasıyla doğru orantılı olarak tanen içeren besinlerin kullanılması kanser türlerinin oluşmasına zemin hazırladığı görülmüştür (Atak ve Uslu, 2018).

Stilbenler: Stilbenler, fitopatojenlere ve ozon stresine karşı antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteler gösteren birçok bitki türünde oluşan doğal fenolik savunma bileşikleridir. Stilbenler, yer fıstığı, üzüm şarabı, birçok ağaç ve bitki türlerinde bulunur (Reinisalo vd., 2015). Stilbenlerin en çok bilineni resveratrol, siyah üzümün soğuk hava şartları, mantar enfeksiyonları gibi faktörlere bağlı olarak kendisini korumak için ürettiği bir maddedir. Yaşlanmayı yavaşlatıcı ve yaşam süresini uzatıcı etkisi olduğu düşünülen ve üzüm kabuğunda bulunan resveratrol güçlü antioksidan özelliğine sahiptir (Kolaç vd., 2017).

Lignanlar: Doğada genellikle serbest halde bulunan lignanların az miktarda glikozit türevleri bulunur. Bitkilerde bulunan ana lignanlar; matairesinol, sekoizolarisiresinol, larisiresinol ve izolarisiresinoldür. Bu lignan türleri insanlarda östrojenik aktivite sergileyen enterolakton ve enterodiol ana bileşikleriyle eş biçimlere sahiptirler (Kolaç vd., 2017).

1.2. Antioksidanlar

Antioksidanlar, ROS'ların üretimini engelleyerek, bu maddelerden kaynaklı oluşan hasarların önlenmesini ve detoksifikasyonu sağlamak için vücutta görev yapan savunma sistemleridir (Şener ve Yeğen, 2009). Antioksidanların biyolojik anlamda daha ilgili bir tanımı da şu şekildedir: havadaki oksijenin etkisiyle dekompozisyonları baskılamak veya geciktirilmesini sağlamak amacıyla ürünlere ilave edilen sentetik ya da doğal maddelerdir. Tıpta ve biyokimyada antioksidanlar, E vitamini ve β -karoten gibi oksidasyonun canlı

dokulardaki hasar oluşturan etkilerine karşı gelme becerisi olan enzimler veya diğer organik maddelerdir (Huang vd., 2005). Oksitlenmiş substratlara oranla antioksidanlar daha düşük derişimlerde, substratın prooksidanlarla başlatılan yükseltgenmesini önemli aşamada durdurur veya geciktirirler. Prooksidanlar (ROS, RNS ve serbest radikaller); lipidler, proteinler ve nükleik asitlerde oksidatif zarara oluşturan ve bu neticede birçok patolojik süreçlere ve hastalıkların oluşmasına sebep olan toksik maddelerdir. Antioksidanlar, hücrelerde hasar meydana getiren bu prooksidanları düşük toksisiteli veya toksik olmayan ürünlere çevirirler. Tehlikeli olan bu bileşiklerin varlığı, sağlıklı bir yaşam sürdürmek için antioksidanlara olan ihtiyacı önemli hale getirmektedir (Cao ve Prior, 1999).

Polifenoller ve bunların türevleri en önemli antioksidan bileşikleridir. Bu bileşikler oksidatif tasarıda değişik hallerde davranış gösterebilirler. Örneklendirecek olursak; singlet oksijeni itfaya uğratarak oksijen derişimini azaltabilirler. Hidroksil radikalleri gibi birincil radikalleri yakalama yeteneğini kullanarak zincir reaksiyonlarının başlamasına engel olurlar ve metal iyon katalizörlerini bağlama işlevi görürler. Antioksidanlar yükseltgenebilen bileşikler olduğu için zincir reaksiyonlarını (lipidlerin oksidatif parçalanmasına sebep olan radikalik zincir reaksiyonunu) parçalamaları esnasında yükseltgenirler ve böylece bozunmuş olurlar. Bu yüzden antioksidanlar yükseltgenebilen maddeyi (biyolojik makromolekülleri) sadece kısıtlı bir zamanda koruyabilir ve bir süre sonra ortamda hiç antioksidan yokmuşçasına yükseltgenmeye devam eder (Yenigün, 2015).

Antioksidanlar, aniden radikallerle reaksiyona girerek, otooksidasyon ve peroksidasyon süreçlerinin devam etmesine engel olan cisimlerdir. Antioksidanların görevleri içerisinde serbest radikallerin çoğunu etkisiz hale getirmek, serbest radikallerin zehirli faktörlerine karşı hücreleri korumak ve oluşan hastalıkların önlenmesine yardımcı olmak gibi faktörleri sayabiliriz (Karabulut ve Gülay, 2016).

Endojen ve eksojen olarak iki grupta toplanan antioksidanlar, oksidan-antioksidan dengesini ayarlamak amacıyla serbest radikalleri etkisizleştirerek, vücudu serbest radikallerden korumak için kullanılırlar (Sen ve Chakraborty, 2011).

1.2.1. Endojen Antioksidanlar

Endojen antioksidanlar kendi içerisinde enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar şeklinde sınıflandırılırlar. Enzimatik antioksidanlar;

Süperoksit Dismutaz (SOD): Süperoksit dismutazlar vücutta meydana gelen oksidatif strese karşı savunma hattı oluşturan önemli bir antioksidandır. Bu enzim, reaktif oksijen türlerinden kaynaklı hastalıklara karşı terapötik görev yapan iyi bir ajandır (Younus, 2018).

Süperoksit dismutaz (SOD), süperoksit radikalının H_2O_2 'e dönüşümünün katalize edilmesini sağlar. Oluşan H_2O_2 , GSH-Px veya katalaz tarafından suya indirgenir (Durmuş ve Ünsaldı, 2005). Normal metabolizma durumunda hücreler tarafından yüksek oranda O_2 üretilmesine rağmen hücre içi düzeyi SOD tarafından alçak tutulur. Fakat, H_2O_2 geçiş metalleri varlığında Fenton ve Haber Weiss reaksiyonu ile yüksek düzey aktif OH radikaline dönüştüğünden dolayı, CAT ve GSH-Px enzimlerinin aktivitesi artış göstererek H_2O_2 seviyelerini denetim altında tutmaktır (Rodriguez vd., 2004).



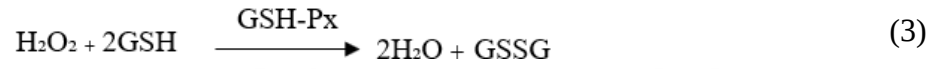
Katalaz (CAT): Katalaz genelde peroksisomlarda, daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunmaktadır. Katalaz, H_2O_2 'yi oksijen ve suya parçalayarak H_2O_2 'nin $\text{OH}^{\cdot}$ oluşumunu engeller ve yok olmasını sağlar (Rodriguez vd., 2004)



Katalaz, memeli hücrelerinin mitokondrilerinde bulunmaz, istisna olarak sıçan kalbindeki mitokondrilerde bulunur. Mitokondride oksijenin suya indirgenmesi esnasında tüketilen oksijenin %1-2'si, potansiyel olarak hidrojen peroksit ve süperoksit gibi sitotoksik türlerin meydana gelmesine sebep olur. Çoğalan süperoksit radikalleri mitokondriye zarar verir ve ROS'un oluşturabileceği zarara karşı antioksidan savunma sistemleri önlem alır. Mitokondride oluşan bu radikaller öncelikle Mn-SOD ve GSH-Px enzimleri tarafından temizlenir ve önemli miktarda H_2O_2 mitokondriden uzaklaşarak sitoplazmaya geçer. Sitozole geçen H_2O_2 detoksifikasyonunu peroksisomlar tarafından sentezlenen CAT enzimi gerçekleştirir (Aslankoç vd., 2019).

Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px): Hücreleri H_2O_2 'nin neden olduğu oksidatif hasara karşı koruyan glutatyon peroksidaz hücre sitoplazmasında bulunur. Bu sayede H_2O_2 'den $\text{OH}^{\cdot}$ oluşumunu durdurmuş olur (Sen ve Chakraborty, 2011). Glutatyon peroksidaz, H_2O_2 'yi ve lipit hidroperoksitler, DNA hidroperoksitleri gibi organik hidroperoksitleri metabolize etmek için elektron kaynağı olarak glutatyon (GSH) kullanır (Karabulut ve Gülay, 2016).

GSH-Px'lerden selenyum bağımlı GSH-Px'ler, H_2O_2 ve organik hidroperoksitleri indirgeyebilir, selenyum bağımsız GSH-Px'ler ise organik hidroperoksitlerin metabolize edilmesinde daha fazla etki gösterirler (Cnubben vd., 2001). Bu metabolize edici reaksiyonlar esnasında GSH, hidrojen donörü olarak davrandığı için H_2O_2 ve hidroperoksitlere indirgenirken, GSH oksitlenir. Oksitlenmiş glutatyon, glutatyon disülfür (GSSG). Glutatyon redüktaz (GR) varlığında ise oksitlenmiş, indirgenmiş glutatyon geri indirgenir. Gerçekleşen indirgenme reaksiyonu sırasında GR elektron donörü olarak NADPH'yi kullanır (Reiter vd., 1995).



Glutatyon Redüktaz (GR): İndirgenmiş piridin nükleotidleri ile düşük veya yüksek molekül ağırlıklı disülfür substratları arasında gerçekleşen elektron transferi glutatyon redüktaz tarafından katalize edilir. GR enzimi tarafından gerçekleştirilen bu sürecin bilinen en önemli işlevlerinden biri hücre ortamında redükte glutatyon/okside glutatyon (GSH/GSSG) oranının korunmasıdır (Temel vd., 2017).



GSH'un redükte hali oksidatif hasara karşı savunmada oldukça önemli bir role sahiptir. Oksidan kaynaklı doku hasarı sonucunda GSSG düzeylerinin artması sonucu GSH/GSSG oranı değişimle sonuçlanabilir. GSH/GSSG oranının azalmasıyla oksidatif stres derecesi o doğrultuda artmış olur (Kanat ve Coşansu Akdemir, 2014).

Glutatyon Transferaz (GST): Glutatyon transferazlar, glutatyon ile büyük bir grup elektrofilik kimyasal bileşiğin konjugasyonunu katalizleyerek detoksifiye eder. Hücrede sitozol veya mikrozomal parçalarda olabilir (Orhan ve Şahin, 1995). Glutatyon transferaz, lipid peroksitlere karşı GSH-Px aktivitesi göstererek antioksidan savunma mekanizması oluştururlar (Aydemir ve Karadağ Sarı, 2009).

Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz: Mitokondriyal sitokrom oksidaz, solunum zincirinin son enzimi olup, süperoksidi ($O_2^{\cdot-}$) detoksifiye eder (Aydemir ve Karadağ Sarı, 2009). Mitokondrilerde sitokrom oksidaz adı verilen büyük bir transmembran proteini bulunur. Dört sitokrom c molekülünün her birinden birer elektron alıp bunu bir oksijen molekülüne aktararak moleküler oksijeni iki su molekülüne dönüştürür. Elektron taşıma

zincirinin son elektron alıcısıdır. Sitokrom oksidaz enzimi, elektron vererek redoks boyalarından elektron geçişini katalize eder (URL-1, 2024).

Enzimatik Olmayan Antioksidanlar;

Glutatyon (GSH): Glutatyon, glutamik asit, sistein ve glisin aminoasitlerinden oluşan bir tripeptittir. GSH, ökaryotik hücrelerin çoğunluğunda bulunur. Prokaryotik hücrelerden bilhassa *Escherichia coli* gibi Gram-negatif bakterilerde bulunurken, Gram-pozitif bakterilerin de bir kısmında bulunmuştur. Ayrıca, Gram-pozitif bakterilerde GSH'a benzer şekilde fonksiyonu olan başka tiyoller tespit edilmiştir (Smirnova ve Oktyabrsky, 2005). GSH'ın hücredeki en önemli vazifesi ilkin oksidatif stres olmak üzere çevreden kaynaklı meydana gelen streslere karşı hücreyi muhafaza etmektir (Masip vd., 2006).

Glutatyon oksidatif hasara karşı gerçekleştirilen savunma mekanizmasında hücre tarafından rahatlıkla kullanılabilen doğal indirgeyici bir güç kaynağıdır. Kimyasal içeriğindeki sülfidril grubu oksidatif hasar durumunda molekülden koparak antioksidan aktivitesini oluşturur. GSH'ın, ROS'a karşı koruyucu aktivite göstermesi GSH-Px ve GR gibi enzimlerle etkileşimleri sonucu belirlenir. Hücrede en uygun GSH/GSSG oranının sağlanması hücre canlılığının muhafaza edilmesinde oldukça önemlidir (Matés, 2000).

Melatonin: Melatonin birbirinden farklı birçok organizmada sentezlenir ve memelilerde asıl olarak pineal bez tarafından üretilir. Bazen parapineal organ olarak adlandırılan ikinci bir parçadan oluşan pineal kompleksi fotoreseptiftir ve melatonin üretme fonksiyonuna sahiptir (Foster, 2021). Melatonin serbest radikalleri tamponlayarak, proinflamatuvar sitokinlerin aşağı regülasyonu, düşük dereceli inflamasyonun engellenmesi ve insülin direncinin baskılanmasını sağlayarak inflamasyonu tersine çevirir ve bu şekilde önemli bir sitoprotektif etki oluşturur. Melatonin, insanlarda sağlıklı bir yaşlanma sürecinin devam etmesi için hem sitoprotektif hem de kronobiyotik bir ajan olarak etki gösterir. Dolaşımda bulunan melatonin düzeyleri metabolik sendromda, iskemik ve iskemik olmayan kardiyovasküler hastalıklarda ve Alzheimer, Parkinson hastalıkları gibi nörodejeneratif bozukluklarda daima azalma eğilimindedir (Cardinali, 2021).

Ürik Asit: Ürik asit, vücudumuzdaki pürin nükleotidleri olan guanilik asit, adenilik asit, inozinik asit ve adenosin trifosfat yıkımının nihai ürünüdür. Pürin nükleotid metabolizması sonucu meydana gelen bir molekül olan ürik asit, diğer dokularda daha az olmak üzere birincil olarak karaciğerde sentezlenir. Ürik asit antioksidan ve proinflamatuvar bir etki mekanizmasına sahiptir. Uygun seviyelerde toksik reaktanları temizler ve ilgili dokuyu oksidatif strese karşı koruduğu bildirilmekle beraber oksidatif stres olduğunda da

serum ürik asit seviyelerinin artış göstermesi vücudumuzdaki ürik asit dengesinin pozisyonunu belirlemektedir. Serum seviyesi 7.0 mg/dL'yi geçtiğinde hızlı bir şekilde kristalize olur ve bilhassa damar duvarı, yumuşak doku, eklemler ve böbreklerde çökelti oluşturur (Ayyıldız, 2016).

Bilirubin: Bilirubin, ilk etapta sadece potansiyel olarak riskli bir atık ürün gibi düşünülse de, bu molekül insan vücudunda birçok biyolojik işleve sahiptir. Hücre sinyalizasyonundan, metabolik olayların düzenlenmesinden, bağışıklık sisteminin düzenlenmesine, bariz klinik ve terapötik neticelerle biyolojik aktivitelere olan etkisine kadar birçok fonksiyonu vardır. Bilirubin uzun süre karaciğer hastalıklarının talihsiz bir işareti ayrıca potansiyel olarak nörotoksik bir ürün olarak kabul edilmiştir. Yapılan son çalışmalar şu anda kabul edilen fizyolojik serum bilirubin aralığının üst dördlüklerindeki düzeylerin, artan oksidatif stres, oldukça yüksek bağışıklık tepkisi ve metabolik fonksiyon bozukluğu ile ilgili hastalıklara karşı savunma yapabileceğini belirtmiştir (Vítek ve Tiribelli, 2021).

Albümin: Albümin, sağlıklı insanların plazmasında oldukça fazla bulunan bir proteindir ve karaciğer hepatositleri tarafından günde 10-15 g üretilerek kan dolaşımına salgılanır. Uygun serum düzeyi 3,5-5 g/dL'dir. Albüminin yıkımı öncelikle böbreklerde, karaciğerde, kaslarda ve sonrasında bazı organlarda gerçekleşir. Albümin, vücudun kısımları arasındaki sıvı dağılımını sağlayan bir düzenleyicidir. Albüminin diğer fizyolojik fonksiyonları içerisinde ekzojen ve endojen partiküllerin dağıtımına, taşınmasına ve metabolizmasında destek olmak, antioksidan, antiinflamatuvar ve antikoagülan etkiler ve mikrovasküler bütünlüğün sağlanması bulunur (Abedi vd., 2024).

Sistein: Sistein, içeriğinde kükürt atomu bulunduran insan vücudu için gerekli olan önemli bir aminoasittir. Doğada L-sistein formunda bulunur. Polar yapıdadır ve tiyol grubuna sahiptir. İlaç, kozmetik ve gıda gibi birçok endüstride kullanımı oldukça yaygındır. Tahıl, meyve, et, kuruyemiş ve sebzelerin yapısında bulunur ve sistein eksikliği bu gıdaların tüketilmesi ile giderilebilir. Ayrıca, vücut metabolizmasında da önemli roller edinirler. Protein ve hormon sentezi, biyokataliz, metal bağlama, biyolojik tiyol homeostasisin korunması ve ksenobiyotik detoksifikasyon gibi birden fazla fizyolojik süreçlerde önemli bir role sahiptir. Sistein düzeyinin anormal seviyelere çıkması birden çok hastalığın meydana gelmesine sebep olabilir. Bu yüzden sistein düzeyinin biyolojik ortamda saptanması büyük önem taşır (Malkondu ve Erdemir, 2022).

Vücudun savunma protein mekanizmaları arasında bulunan sistein, içeriğinde bulundurduğu fonksiyonel tiyol grubu ile oksidatif zararı engellemede mühim bir role sahiptir. Bu savunma, genel olarak tiyoredoksin ve perodoksin gibi proteinlerin aktif kısımlarında bulunan sistein depoları ve düşük moleküler ağırlığa sahip tiyol glutatyon aracılığıyla oluşturulmalarına göre yorumlandırılırlar (Chianeh ve Prabhu, 2014).

1.2.2. Eksojen Antioksidanlar

Eksojen antioksidanlar içerisinde yer alan bazı vitamin antioksidanlar;

Vitamin E (α -tokoferol): E vitamini, glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz gibi enzimatik antioksidanlar ile birlikte, stres sonucu meydana gelen oksidan değişikliklerini azaltmada ikincil bir rol sergileyen enzimatik olmayan bir antioksidandır. E vitamini, fındık ve bitkisel yağların doğal yapısında yaygın olarak bulunur. Yapılan bazı çalışmalarda, antioksidan takviyeli tedavilerin biyolojik sistemlerde antioksidan savunmasının artışı sağladığı için anksiyete ve depresyona sahip hastalarda etkili olduğunu belirtmiştir (Lee vd., 2022).

β -karoten: β -karoten, A vitamininin öncül maddesi olup sarı veya turuncu renkte bir pigmenttir. B-karoten bağırsak epitel hücrelerinde A vitaminine çevrilmekte ve karaciğerde palmitat esteri halinde stoklanmaktadır. B-karotenin fotosentez esnasında zarar verici ışığa karşı koruma, kansere karşı koruma, immün cevabı artırma, antioksidan ve tümör oluşumunu engellemek gibi özellikleri bulundurduğu bildirilmektedir. B-karoten, bazı peynir ürünleri ve margarinlerin yapısında bulunmaktadır ve buna ek olarak, kanatlı hayvan yemlerinde, bazen de et ve yumurta renginin iyileştirilmesinde yerini almaktadır (Kahyaoğlu ve Kıvanç, 2007).

Vitamin C (Askorbik asit): Serbest radikalleri indirgeme ve radikalleri süpürme gibi antioksidan özelliklere sahip olan askorbik asit, hücrelerde önemli fonksiyon gösteren bir vitamindir. Vitamin C olarak bilinen L-askorbik asit, doğal yolla meydana gelen bir organik bileşiktir ayrıca besinlerin içeriğinde bulunan mühim bir gıda koruyucusudur. Birçok işleve sahip olan bu vitamin yaşlanmayı geciktirmede, gen regülasyonunun düzenlenmesinde ve kolesterol metabolizmasında etkili bir biyolojik role sahiptir. Ancak, askorbik asit insan vücudunda sentezlenmez ve vücutta depolanmaz bu yüzden gerekli miktarlarda düzenli bir şekilde tüketilmelidir (Budak ve Dinckaya, 2022).

Koenzim Q (Ubikinon): Koenzim Q lipidlerde çözünebilen ve doğal halde mevcut olan önemli bir antioksidandır. Hücre membranlarındaki Koenzim Q yapısının çoğunluğu redükte formu olan ubikinol yapısındadır ve membranlarda doymamış lipid zincirleriyle bitişik haldedir. Bu şekilde olmasının nedeni serbest radikal süpürme işlemini sağlamaktır. Mitokondriyal elektron transport zincirinin temel yapı taşlarından birisi Koenzim Q'dur. Birincil olarak protonların ve elektronların iç mitokondriyal membranda aktarımında görevlidir. Ayrıca mitokondriyal iyonize kalsiyum düzenleyicisi olarak redoks dengenin oluşturulmasında yer alır (Sayiner ve Kısmalı, 2016).

Tablo 1. Antioksidanların sınıflandırılması (Aydemir ve Karadağ Sarı, 2009)

ENDOJEN ANTİOKSİDANLAR	
ENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR	NONENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutasyon
Katalaz (CAT)	Melatonin
Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)	Ürik asit
Glutasyon redüktaz (GR)	Bilirubin
Glutasyon transferaz (GST)	Albümin
Mitokondriyal sitokrom oksidaz	Sistein
EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR	
VİTAMİN ANTİOKSİDANLAR	İLAÇ OLARAK KULLANILAN ANTİOKSİDANLAR
Vitamin E (α - tokoferol)	Trolox-C (E vitamini analogu)
β -karoten	Allopurinol, oksipurinol, tungsten (Ksantin oksidaz reaksiyonunda süperoksit üretimini inhibe eder.)
Vitamin C (askorbik asit)	Ebselen, asetilsistein (GSH-Px artırır).
Koenzim Q (ubikinon)	Demir şelatörleri (Hücre içine girerek serbest demiri bağlar, böylece fenton reaksiyonunu ve hidroksil radikalının oluşumunu engeller.

1.3. Enzimler

Kimyasal reaksiyonların çoğu zor şartlar altında ve oldukça uzun bir zamanda oluşur. Meydana gelen bu biyokimyasal reaksiyonların süresini kısaltmak için enzimatik kataliz kullanmak en faydalı yoldur. Biyokatalitik reaksiyon sistemine dahil edilen enzim, aktivasyon enerjisini düşürerek sürecin hızlanmasını sağlar (Rogacka ve Labus, 2024). Canlı hücrelerde sentezlenen enzimler standart amino asitlerin doğrusal sıralanmasıyla meydana gelen üç boyutlu yapıya sahip, benzeri olmayan biyomakromoleküllere çevrilirler ve canlı sistemlerde yüksek verimlilik ve seçicilikle biyokimyasal reaksiyonların katalizinde büyük

bir öneme sahiptirler. Büyük bir kısmı protein yapısındaki katalitik RNA molekülleri (ribozimler hariç) biyokatalizörlerdir (Akbulut, 2023). Alman fizyolog Wilhelm Kühne 1878’de, mayanın şekerlerden alkol üretme kabiliyetini açıklarken enzim kelimesini ilk kez burada kullanmıştır. Yunanca en (içerde) ve zume (maya) sözcüklerinden meydana gelmiştir. Katalizör işlevi gören enzimlere çok düşük konsantrasyonlarda ihtiyaç duyulur ve reaksiyon esnasında enzimler tüketilmeden reaksiyonları hızlandırırlar. Son derece güçlü katalizörler olmalarının yanında enzimler, bir tür substrat molekülünün ürün moleküllere çevrilmesini katalize etmeleri yönünden de önemli bir spesifiteye sahiptirler (Robinson, 2015).

Enzimler verimli biyomoleküllerdir ve böylelikle reaksiyon hızlarını herhangi bir normal kimyasal reaksiyondan 100 milyon ila 10 milyar kat daha hızlı olmasını sağlayabilir. Rekombinant teknoloji ve protein mühendisliğindeki gelişmelere baktığımızda, enzimler farklı endüstriyel ve terapötik hedeflerle geniş bir alanda kullanılan önemli bir molekül olarak yerini almıştır. Enzim teknolojisinin hızlı bir gelişim göstermesi, mikrobiyal enzimlerin büyük bir ilgi odağı olmasını sağlamıştır. Mikrobiyal enzimler, yüksek verimlilikleri, tutarlılıkları, ekonomik fizibiliteleri, optimizasyonunun kolaylığı ve daha fazla katalitik aktivite göstermesi sebebiyle daha fazla talep görmektedir. Mikrobiyal enzimler, çeşitli hastalıkların teşhisi, tedavisi, biyokimyasal incelemesinde önemli bir role sahiptir. Amilaz ve lipaz, farklı endüstrilerde ve terapötik endüstride geniş bir alanda incelenen önemli iki enzimdir. Amilaz, nişastanın şekere dönüşmesini katalize eden bir enzimdir. İnsan tükürüğünde fazla miktarda bulunur ve ağızda mekanik sindirim sürecine başlar. İnsanlarda ve diğer memeli canlılarda bulunan ana amilaz formu α -amilaz halidir. Normalden daha fazla bir amilaz konsantrasyonu, pankreasın akut iltihabı, delikli peptik ülser, boğulma ileusu, yumurtalık kistinin torsiyonu, makroamilami ve kabakulak dahil olmak üzere birçok tıbbi olaylardan birini tahmin edebilir. Diğer vücut sıvılarında da idrar ve periton sıvısı dahil olmak üzere amilaz ölçülebilir. Farklı insan vücudu sıvılarında α -amilaz aktivitesi diyabet, pankreatit ve kanser çalışmalarında klinik açıdan oldukça önemlidir (Gurung vd., 2013).

1.3.1. Tirosinaz (EC 1.14.18.1)

Tirosinaz, polifenol oksidaz, monofenol, oksidaz, katekolaz ve fenolaz olarak da bilinen oksidoredüktaz sınıfına ait bir enzimdir. Tirozin (monohidroksifenilalanin) ve

dihidroksifenilalanine karşı özgülüğü sebebiyle enzim bu şekilde isimlendirilmiştir. Tirozin; dopamin, epinefrin, melanin, norepinefrin ve tiroksinin başlangıç maddesi olup fenilalaninden sentezlenir ve proteinlerle birlikte vücuda girişi sağlanır. Tirosinaz bitkisel dokularda ilk önce inaktif olarak sentezlenir ve zamanla farklı etkilerle, proteazlar ya da solunum metabolitleriyle aktifleştirilirler. Bu sebeplerden dolayı bitkisel dokularda çoğunlukla bu enzimin bir tarafı inaktif olarak, diğer bir tarafı ise aktif olarak bulunmaktadır (Suyundikov, 2020).

Tirosinaz, melanin biyosentezinde önemli bir role sahip olan içinde bakır elementini bulunduran, derinin ve saçın rengini belirleyen bir enzimdir. Pigmentasyon, melanin hücrelerinin az ya da gereğinden çok sentezlenmesinden dolayı cilt hastalıklarına sebep olmaktadır (Stefanucci vd., 2020).

Melanin hiperpigmentasyonu ile ilgili deri hastalıklarının tedavisinde tirosinaz inhibisyonunun klinik olarak kullanımı oldukça önemlidir. Özellikle kozmetikte cilt rengini açma özelliğiyle de ön plana çıkmaktadır. Tirosinaz aktivitesini engellemek için kojik asit gibi birçok sentetik inhibitör geliştirilmiş olsa da bunların uzun süreçlerde zehirli etkiler oluşturması, alternatif olarak doğal inhibitörlerin saptanmasına yönelik çalışmalara hız kazandırmıştır (Tocco vd, 2009).

1.3.2. α - Amilaz (EC 3.2.1.1) ve α -Glukozidaz (EC 3.2.1.20)

Endoamilazlar, amiloz veya amilopektin zincirinin iç tarafında bulunan α ,1-4 glikozidik bağları bölebilir. Endoamilazların iyi bilinen türü α -amilazdır. α -amilaz etkisi ile oluşan son ürünler, α -konfigürasyonuna sahip değişken uzunluklarla donatılan oligosakkaritler ve dallı oligosakkaritleri oluşturan α -limit dekstrinlerdir. α -amilazlar genel olarak substratın hidroliz derecesine göre iki sınıfa ayrılır (El-Fallal vd., 2012). Sakkarifiye edici α -amilazlar, nişastanın glikosidik bağlarının %50 ila %60'ını hidrolize eder ve sıvılaştırıcı amilazlar, yaklaşık %30 ila %40'ını böler. α -amilazlar kalsiyuma bağımlı metalloenzimlerdir ve kalsiyum yokluğunda bir fonksiyon sergilemezler. α -amilaz, nişasta zinciri boyunca rastgele hareket ederek uzun zincirli karbonhidratları parçalar ve sonuç olarak, amilozdan maltotrioz ve maltoz veya amilopektinden maltoz, glikoz ve "limit dekstrin" oluşumunu sağlamaktadır. α -amilaz, substrat üzerinde rastgele hareket edebilmekte ve bu bakımdan β -amilazdan daha hızlı hareket etme eğilimi göstermektedir (Tiwari vd., 2015).

Çağımızda hızla değişen yaşam şartları ve çevre koşullarının gittikçe kötüleşmesi, insanların çalıştıkları alanların hareket etmelerini engelleyici yönde olması, kişilerin beslenme alışkanlıklarının düzensiz bir hal alması aşırı kilo almalarına yol açmaktadır. Amerikan Diyabet Derneği ve Avrupa Diyabet Araştırmaları Birliği potansiyel bir birinci basamak ajan olarak veya diğer anti-hiperglisemik ilaçlarla toplu bir halde α -amilaz ve α -glukozidaz inhibitörlerinin uygulanmasını önermektedir (Zhang vd., 2018). Diyabet, artan kan glukoz derişimi ile ayırt edilebilen bir metabolik bozulma ve bugünün ve geleceğin önemli bir sağlık sorunudur. Bu hastalığı taşıyan kişilerin ölüm riski hastalığa sahip olmayanlara kıyasla daha fazladır. Küresel ölçekte diyabet yetişkinlerde son on yılda giderek artış göstermektedir. Büyük ölçüde karbohidratlı diyetler diyabete yüksek ölçüde katkı sağlamaktadır. İnsan nüfusunda yaşlanma ve aşırı kilolu olma haline artan meyilden dolayı Tip-II diyabet insidansı fazlasıyla artış göstermektedir. Bu yüzden, karbohidrat metabolizmasını yavaşlatabilen ya da durdurabilen yeni α -glukozidaz inhibitörlerinin araştırılması, Tip-II diyabetin farmakoterapötik kontrolünde önem arz eden bir hedeftir. Nişasta parçalanmasının α -amilaz inhibitörleri ile mani olunması, karbohidrat asimilasyonu için zorunlu bir yöntem olan polisakkaritlerin enzimatik dekompozisyonunu denetlemeye yönelik ilk adımdır (Hanhineva vd., 2010).

α -Glukozidaz enzimleri ince bağırsağın tüylü kısımlarında bulunurlar ve kompleks karbonhidratların parçalanmasını sağlarlar. Bu enzimler oligo ve disakkaritleri monosakkaritlere parçalarlar. Monosakkaritlerde bağırsak duvarından kolay bir şekilde emilip kana karışırlar. α -Glukozidaz enzim inhibitörleri bu enzimleri yarışmalı olarak inhibe ederler. α -Glukozidaz enzimlerinden glukoamilaz, sukraz, maltaz, izomaltaz ve laktaz bilinen önemli enzimlerdendir. α -Glukozidaz enzim inhibitörlerinin enzimler üzerindeki belirtileri farklılık gösterir. Enzim inhibisyonunun kesin sonucu karbonhidratların emiliminde ertelenme olmasıdır ve bu ertelenme malabsorbsiyona sebep olmaz. α -Glukozidaz enzim inhibitörleri karbonhidrat emilimini geciktirmelerinin yanı sıra, gastrointestinal hormonal değişiklikler de yapabilirler (Mai vd., 2007; Chinsebu, 2019).

Günümüzde diyabet tedavisinde kullanılmakta olan akarboz, miglitol ve vogliboz, α -amilaz ve α -glukozidaz enzim inhibitörü sınıfında bulunan ilaçlardır. Türkiye’de sadece akarboz bulunmaktadır. Bu ilaçlar gastrointestinal sistemde önemli yan etkiler meydana getirir. İnce bağırsakta sindirilememiş karbonhidratlar bakteriler tarafından kolonda metabolize edilirler. Sindirilemeyen karbonhidratların fermentasyonu neticesinde karın ağrısı, şişkinlik ve gaz oluşumuna neden olmaktadır (Suyundikov, 2020).

1.4. *Elaeagnus umbellata*

Elaeagnaceae familyasına ait olan sonbahar zeytini veya diğer ismiyle Japon iğdesi *Elaeagnus umbellata* (*E. umbellata*) Güney Avrupa ve Doğu Asya'da doğal olarak bulunmaktadır. Boyları 6 metreye kadar uzayabilen ve 9 metre genişliğe kadar büyüyeabilen çalı ya da küçük ağaç formunda bir türdür. Dallarının yoğun olması sebebiyle yuvarlak bir forma sahiptir. Bitki köklerinde azotu depolayabilme kabiliyetleri bu türlerin en verimsiz toprakta bile yaşamasını sağlar (Bayraktar vd., 2018). Sonbahar zeytin meyveleri Eylül ve Kasım aylarında yenilebilir koyu kırmızı bir renge dönüşerek olgunlaşır. Bu meyvelerin çok sayıda kateşin, lutein, gallik asit, kafeik asit, fitoen, β -kroten içerdiği bilinmektedir. Sonbahar zeytin meyvelerindeki fitokimyasalların özellikle kateşinlerin, glikoz seviyelerini düzenleyerek antidiyabetik etkiler gösterdiği bildirilmiştir (Kim vd., 2024).

1.4.1. *E. umbellata*'nın Morfolojik Özellikleri

Yaprakları 4-8 cm uzunluğunda ve 1-2,5 cm genişliğinde müstevi kenarlara ve kısa uçlara sahiptir. Yaprakların her iki yüzeyinde trikomal bulunur ve abaksiyal kısmı daha tüylüdür. Tüyenme oluşumu yansımayı artırır ve yaprak emilimini azaltır, bu sayede ışığın sebep olduğu stresi azaltmış olur. Gövde ve yapraklarda bulunan trikomal, en yüksek sıcaklıklarda optimum fotosentezin gerçekleşmesi için uygun sıcaklığı koruma görevini üstlenirler (Bhat vd., 2023). Çiçekleri hoş kokuludur ve bazı böcekler tarafından tozlaştırılır. Olgunlaşmamış halde çekirdekleri gümüş rengindedir ve kahverengi pullara sahiptir. Eylül-Ekim aylarında benekli kırmızı hale dönüşerek olgunlaşırlar (Sather ve Eckardt, 1987). Meyvelerin kırmızı renge dönüşmesini sağlayan pigment likopendir (Fordham vd., 2001).

1.4.2. *E. umbellata*'nın Fitokimyasal Özellikleri

Fitokimyasal bileşikler, bitkilerin metabolizmalarını düzenleyecek şekilde onları aktive ederek bağışıklık sistemlerinin dayanıklılıklarını artırabilir ve bitkide savunma tepkilerini tetikleyerek bitkilerin hastalıklara karşı direnç kazanmasını sağlayabilir (Çandar ve Şavkan, 2024). *E. umbellata* tarafından üretilen fitokimyasallar içinde flavonoidler, karotenoidler, fenolikler, tanenler, saponinler ve alkaloidler bulunur. Besin açısından zengin olan bir diyetin düzenli olarak tüketilmesi, serbest radikallerin oluşumunun önlenmesini ve oksidatif stresin azaltılmasını ya da gecikmesini sağlar (Liu, 2004).

E. umbellata'nın meyveleri kansere, karaciğer ve hepatit bozukluklarına, kırıklara, yaralanmalara karşı etkili olma kabiliyetlerinden dolayı Batı Çin, Japon ve Koreliler diyetinde yararlı bir bileşen olarak tanıtılır (Gamba vd., 2020; Pinto vd., 2013).

1.4.3. *E. umbellata*'nın Farmakolojik Özellikleri

E. umbellata'nın tıbbi araştırmalar sonucunda elde edilen verilerine göre, alkaloidler, terpenoidler, saponinler, steroidler ve fenolik kimyasal bileşenler gibi fitokimyasal bileşimlerinde bulunmaktadır (Uddin ve Rauf, 2012). Farmakolojik alanda yapılan çalışmalar, elde edilen bu bileşenlerin karaciğer fonksiyonlarındaki bozukluğun tedavi edilmesinde ve güçlü antibakteriyel, antiproliferatif, antioksidan ve fitotoksik etkiler yaratma özelliğinde olduklarını göstermiştir (Bhat vd., 2023).

- Çalışmanın Amacı

Bu çalışmada, farklı çözücüler kullanılarak hazırlanan *E. umbellata* meyve ekstraktlarının, klinik öneme sahip olan 3 farklı enzim (α -amilaz, α -glukozidaz ve tirozinaz) aktivitesi üzerine inhibisyon etkilerinin belirlenmesi ve bitki ekstraktları antioksidan kapasiteleri, toplam fenolik ve flavonoid içerikleri açısından aydınlatılarak literatüre bu meyve hakkında yeni bilgilerin kazandırılması hedeflenmiştir.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasal Malzemeler

Yapılan çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve malzemeler Merck ve Sigma firmalarından temin edilmiştir. Cihazlar, liyafilizatör (VirTis Benchtop), Rotary Evaporatör (Heihold), Hava Banyolu Çalkalayıcı (IKA KS 400i), Santrifüj (Thermo Scientific), Mikrosantrifüj (Sigma 1-14), Magnetik Karıştırıcı Isıtıcı (IKA Rct), Termal Çalkalayıcı (VWR), FTIR (Perkin Elmer Frontier), UV-Vis Spektrofotometre (PerkinElmer Lambda 25), Saf Su Cihazı (Sartorius Arium 611UV), pH Metre (InoLab WTW pH 720), Vorteks (Thermolyne Type 37600 Mixer), Terazî (Ohaus Pioneer), Termal çalkalayıcı (VWR), Buzdolabı/Profilo (BD4303ANFE), Derin dondurucu (Sanyo)'dur.

2.2. Meyve Ekstrelerinin Hazırlanması

Karadeniz Teknik Üniversitesi Orman Fakültesi'nden toplanan *Elaeagnus umbellata* (*E. umbellata*) meyvesi liyafilizatörde tamamen kuruyuncaya kadar bekletildi. Kuruduktan sonra öğütücüden geçirilerek toz haline getirildi. Yaklaşık 10'ar g örnek ayrı ayrı 1:10 oranında metanol, etanol, su, etil asetat ve hekzan ile 25 °C'de, 140 rpm'de 24 saat boyunca hava banyolu çalkalayıcıda çalkalandı. Elde edilen ekstratlar 3500g'de 25 dk santrifüj edildikten sonra, çözücülerini düşük basınç altında evaporatörde, 40 °C'de uzaklaştırıldı ve kalıntılar 1:1 (v/v) oranında metanol-su karışımında çözüldü ve daha sonra kullanılmak üzere -30 °C'de saklandı (Mogole vd., 2020).

2.2.1. Toplam Fenolik İçeriğinin Belirlenmesi

Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılması sonucunda ekstratların toplam fenolik içerikleri elde edildi (Thummajitsaku vd., 2020). Böylece her bir örnek (150 µL), 750 mL Folin-Ciocalteu reaktifi ile oda sıcaklığında 5 dk boyunca muamele edildi, sonrasında 600 µL %7,5'lik Na₂CO₃ çözeltisi eklenerek 30 dk oda sıcaklığında, karanlıkta bekletildi. Süre bittikten sonra örneklerin 765 nm'de absorban değerleri okutuldu. Numunelerin absorban

değerlerine denk gelen gallik asit miktarları standart grafik denklemi kullanılarak belirlendi ve sonuçlar gallik asit eşdeğeri olarak hesaplandı.

2.2.2. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi

$AlCl_3$ kolorimetrik yöntemi kullanılarak toplam flavonoid içeriği tayin edildi (Woisky ve Salatino, 1998). Böylece, 125 μ L örneğin üzerine sırasıyla 375 μ L etanol (%75), 25 μ L %10'luk $AlCl_3$, 25 μ L 1 M sodyum asetat çözeltisi ve 700 μ L distile su ilave edildi ve 30 dk boyunca oda sıcaklığında bekletildi. Örneklerin 415 nm'de absorbans değerleri okutuldu. Standartın absorbans/konsantrasyon grafiği ile numunelerin toplam flavonoid içeriği kersetin eşdeğeri (mg QE/g) olarak ifade edildi.

2.3. Antioksidan Aktivite Testleri

2.3.1. Total Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi

Total antioksidan kapasite (TAK) fosfomolibdat yöntemi kullanılarak Uysal ve ark., (2022)'na göre yapıldı. Reaksiyon çözeltisi 4 mM amonyum molibdat, 0,6 M sülfürik asit ve 28 mM sodyum fosfat çözeltileri karıştırılarak hazırlandı. Sonrasında bu karışımdan 1,5 mL alınarak üzerine 150 μ L ekstre ve farklı konsantrasyonlardaki troloks çözeltileri ilave edildi. Devamında tüpler (95 °C'de 90 dk) bekletildikten sonra 695 nm'de absorbans değerleri okutuldu. Elde edilen veriler Troloks eşdeğeri (mg TE/g) olarak ifade edildi.

2.3.2. ABTS Radikalı Giderici Aktivite

Ekstrelerin serbest radikal giderim aktivitesinin tespiti için Van Quan ve ark. (2019) tarafından belirlenen ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6- sulphonic acid)) yöntemi kullanıldı (Van Quan vd., 2019). Buna göre; $ABTS^+$ radikal katyonu, 7 mM ABTS çözeltisi ile 2,45 mM potasyum persülfat reaksiyonu ile oluşturuldu ve oda sıcaklığında 12-16 saat karanlıkta bekletildi. İlk olarak ABTS çözeltisi, absorbansı 734 nm olacak şekilde $0,70 \pm 0,02$ ölçüsüne varana kadar metanol ile seyreltilti. Sonrasında ABTS çözeltisi (180 μ L) ile numuneler (20 μ L) karıştırılarak oda sıcaklığında 30 dk bekletildi. Devamında 734 nm'de absorbans değerleri okutuldu. Elde edilen veriler troloks eşdeğeri olarak hesaplandı.

2.4. İndirgeme Potansiyelinin Belirlenmesi

2.4.1. Demir İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (FRAP)

Ekstrelerin indirgeyici antioksidan kapasite tayini Xue ve ark. (2022) tarafından belirtilen yönteme göre yapıldı (Xue ve ark., 2022). Buna göre FRAP reaktifi; 10:1:1 (v/v/v) oranında asetat tamponu (0,3 M; pH 3,6): 2,4,6-tris (2-piridil) -S-triazine (TPTZ) (10 Mm; 40 mM HCl içinde): demir (III) klorür (20 mM) içerecek şekilde hazırlandı. Önceden hazırlanmış FRAP reaktifinin 180  L'si ile 20  L örnek karıştırdı ve (37 C 30 dk) karanlıkta inkübe edildi. Absorbans değerleri 593 nm'de okutuldu. FRAP aktivitesi, standart troloks grafiğinden elde edilen denkleme göre troloks e de erleri olarak hesaplandı.

2.4.2. Bakır İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC)

Bakır iyonu indirgeyici antioksidan kapasite (CUPRAC) tayini Apak ve ark. (2007) tarafından belirtilen yönteme göre yapılmıştır. Böylece, 25  L numune öncesinde karıştırılmış olan CuCl₂ (50  L, 10 mM), neocuproin (50  L, 7,5 mM) ve amonyum asetat tamponu (50  L, 1 M, pH 7.0) içeren reaksiyon karışımına dahil edildi. Sonrasında numuneler oda sıcaklığında 30 dk bekletildi, devamında absorbans değerleri 450 nm' de okutuldu. CUPRAC aktivitesi troloks e de eri olarak hesaplandı.

2.5. Metal  elatlama Aktivitesinin Belirlenmesi

Ekstrelerin metal şelatlama aktivitesi  ahin ve ark. (2022)'nın belirlediği yönteme göre gerçekleştirildi. Böylece, içinde 50  L numune olan deney tüplerine 120  L su ve 15  L 2 mM FeCl₂ c z ltisi dahil edildikten sonra 5 dk oda sıcaklığında tutuldu. 15  L 5 mM ferrozin ilavesiyle reaksiyon başlatıldı. Yeterli halde karıştırılan tüpler oda sıcaklığında 10 dk bekletildi ve 562 nm'de absorbans değerleri okutuldu. Tayin sonuçları EDTA e  değeri olarak hesaplandı.

2.6. Yüzey Morfolojik Analizlerin FT-IR Spektroskopisi ile Belirlenmesi

E. umbellata meyve ekstraktlarının aktif bileşenlerinin fonksiyonel grupları Perkin Elmer Frontier marka FT-IR spektroskopisi kullanılarak belirlendi. Bu amaçla ekstraktlar 4000 ila 400 cm⁻¹ dalga boyları arasında tarandı (Thummajitsakul ve ark., 2020).

2.7. Fenolik İçeriğin LC-HRMS ile İncelenmesi

E. umbellata meyve ekstraktlarındaki bileşiklerin tanımlanması, Bezmialem Vakıf Üniversitesi İlaç Uygulama ve Araştırma Merkezi tarafından LC-HRMS cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Buna göre, ekstraktlar üzerine 100 mg/L'lik internal standart çözeltisinden nihai derişimi 3 ppm olacak şekilde eklendi ve numuneler 0,45 µ filtreden geçirilerek cihaza enjekte edildi. Mobil faz olarak A'da %1'lik formik asit-su, B'de %1'lik formik asit-metanol ve Troyasil C 18 HS-150 × 3 mm 5 µ özelliğine sahip kolon kullanıldı.

2.8. Enzim İnhibisyon Çalışmaları

2.8.1. α-Amilaz İnhibisyonu

Amilaz inhibitör aktivitesi Bashary ve Khatik'in (2019) iyodür/potasyum iyodür (IKI) yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. Numuneler (100 µL), α-amilaz çözeltisi (100 µL) ve fosfat tamponuyla (20 mM, pH 6.9, 6 mM NaCl içeren) (420 µL) karıştırıldı. Karışım (10 dk 37 °C) inkübe edildi. Bu işleminden sonra nişasta çözeltisi (500 µL, %1) ilave edilerek reaksiyon başlatıldı. Reaksiyon karışımı (10 dk 37 °C) inkübe edildikten sonra HCl (100 µL, 1 M) eklenerek durduruldu. Devamında iyodür-potasyum iyodür çözeltisi (200 µL) eklenerek, örnek ve kör absorbansları 580 nm'de okunacaktır. Standart α-amilaz inhibitörü olarak Akarboz kullanıldı.

2.8.2. α-Glukozidaz İnhibisyonu

Ekstrelerin α-glukozidaz inhibitör aktivitesi Van Quan ve ark. (2019) belirlediği yöntemle göre uygulandı. Örnekler (40 µL), α-glukozidaz çözeltisi (40 µL, 0,25 U/mL) ile (37 °C 10 dk) inkübe edildikten sonra pNPG (4-Nitrofenil α-D-glukopiranozid) (20 µL; 2,5 mM) çözeltisiyle karıştırıldı ve (15 dk 37°C) inkübe edildi. Devamında sodyum karbonat (100 µL; 0,1 M) ilave edilerek reaksiyon durduruldu ve absorbans değerleri 405 nm'de okutuldu. α-glukozidaz inhibitörü standartı olarak Akarboz kullanıldı.

2.8.3. Tirosinaz İnhibisyonu

Bu çalışmada substrat olarak *L*-DOPA kullanıldı ve dopachrome yöntemiyle uygulandı (Orhan ve ark., 2010). Numuneler (10 µL), tirosinaz çözeltisi (40 µL; 0,105

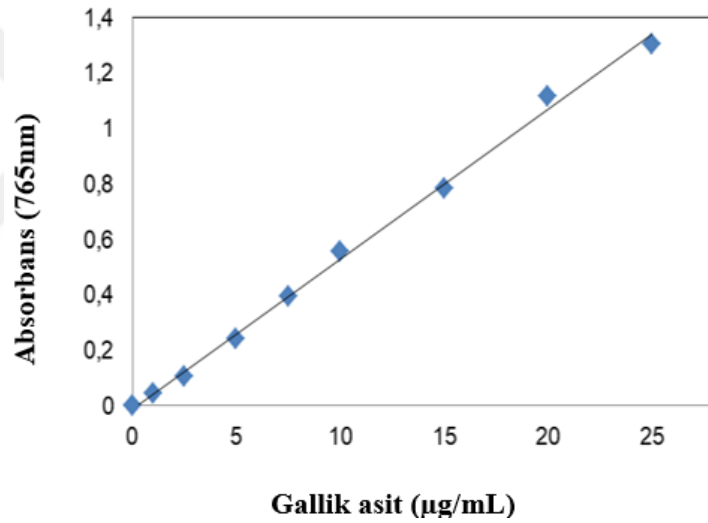
mg/mL) ve fosfat tamponu (1110 μ L, 100 mM, pH 6.8) ile karıştırıldı ve (10 dk 25°C) bekletildi. *L*-DOPA (40 μ L, 14 mM) ilavesiyle reaksiyon başlatıldı. Numuneler ve kör absorbansları 10 dk bekletildikten sonra 492 nm’de okutuldu. Standart olarak Kojik asit kullanıldı.



3. BULGULAR

3.1. Toplam Fenolik İçeriğın Belirlenmesi

Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılması sonucunda ekstrelerin toplam fenolik içerikleri elde edildi. Örneklerin absorbans değerlerine denk gelen gallik asit miktarları standart grafik denklemi (Şekil 1) kullanılarak belirlendi ve sonuçlar gallik asit eşdeğeri olarak bulundu. Tablo 2’de görüldüğü gibi *Elaeagnus umbellata* meyvesinden elde edilen ekstraktların fenolik içerikleri 2,24-8,86 mg GAE/g olarak belirlendi. Fenolik içerik değeri en fazla etil asetat ekstraktında tespit edildi.



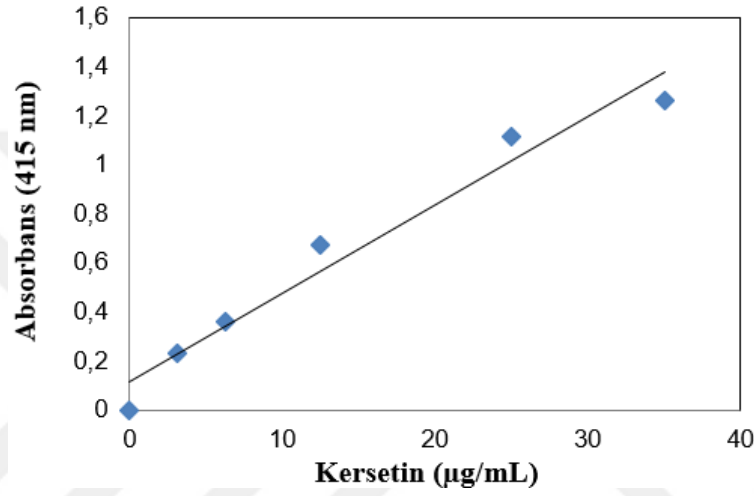
Şekil 1. Toplam fenolik bileşik miktarı analizi için Gallik asit kullanılarak hazırlanan standart grafiğı

Tablo 2. *E. umbellata* meyve ekstraktlarının toplam fenolik içerikleri

Numune	Toplam fenolik içerik (mg GAE/g)
Metanol	4.52 ± 0.14
Etanol	3.66 ± 0.11
Etil asetat	8.86 ± 0.27
Hekzan	2.24 ± 0.07

3.2. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi

$AlCl_3$ kolorimetrik yöntemi kullanılarak toplam flavonoid içeriği tayini yapıldı. Standartın absorbans-konsantrasyon grafiği (Şekil 2) kullanılarak örneklerin toplam flavonoid içeriği kersetin eşdeğeri olarak hesaplandı (Tablo 3). *E. umbellata*'nın farklı meyve ekstraktlarında yapılan toplam flavonoid içeriği tayininde en yüksek değer metanol ekstraktında (1,63 mg QE/g) tespit edildi.



Şekil 2. Toplam flavonoid bileşik miktarı analizi için Kersetin kullanılarak hazırlanan standart grafiği

Tablo 3. *E. umbellata* ekstraktlarının toplam flavonoid içerikleri

Numune	Toplam flavonoid içerik (mg QE/g)
Metanol	1.63 ± 0.05
Etanol	0.72 ± 0.02
Etil asetat	1.16 ± 0.03
Hekzan	—

3.3. Antioksidan Aktivite Testleri

3.3.1. Total Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi

Total antioksidan kapasite (TAK) fosfomolibdat yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. Elde edilen sonuçlar troloks eşdeğeri (mmol TE/g) olarak ifade edildi ve total antioksidan kapasite değerlerinin 0,28-2,08 mmol TE/g aralığında değişim gösterdiği belirlendi (Tablo 4).

3.3.2. ABTS Radikalı Giderici Aktivite

Serbest radikal giderim aktivitesini belirlemek için ekstrelere ABTS yöntemi uygulandı. Elde edilen sonuçlar troloks eşdeğeri olarak hesaplandı (Tablo 4). En yüksek ABTS değeri etil asetat ekstraktında 38,39 mg TE/g olarak bulundu.

3.4. İndirgeme Potansiyelinin Belirlenmesi

3.4.1. Demir İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (FRAP)

FRAP reaktifi kullanılarak ekstrelerin indirgeyici antioksidan kapasite analizi yapıldı. Standart troloks grafiğinden elde edilen denkleme göre, FRAP aktivitesi troloks eşdeğerleri olarak hesaplandı (Tablo 4). Ekstraktların FRAP değerleri 2,69-8,33 mg TE/g olarak belirlendi.

3.4.2. Bakır İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC)

CUPRAC yöntemiyle indirgeyici antioksidan kapasite tayini yapıldı. CUPRAC değerlerinin 8,22-24,11 mg TE/g aralığında olduğu tespit edildi (Tablo 4).

3.5. Metal Şelatlama Aktivitesinin Belirlenmesi

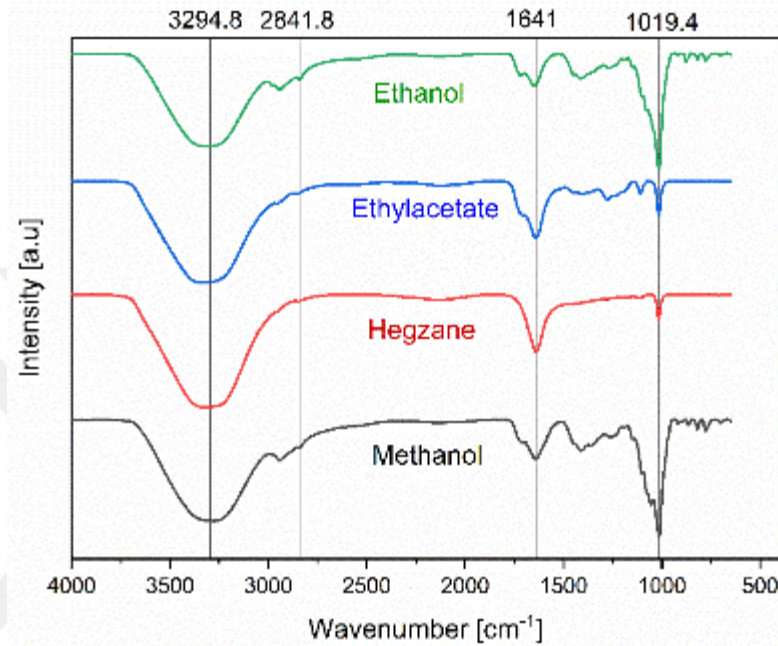
Ferrozin kullanılarak ekstrelerin metal şelatlama aktivitesi tespit edildi. Tayin sonuçları EDTA eş değeri olarak hesaplandı (Tablo 4). En yüksek değer etil asetat ekstraktında bulundu.

Tablo 4. *E. umbellata* meyve ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri

Numune	TAK (mmol TE/g)	ABTS (mg TE/g)	FRAP (mg TE/g)	CUPRAC (mg TE/g)	Metal şelatlama (mg EDTA/g)
Metanol	2.01±0.06	14.64±0.44	7.88±0.24	19.79±0.59	7.65±0.23
Etanol	1.75±0.05	10.46±0.31	5.38±0.16	15.50±0.47	7.23±0.22
Etil asetat	2.08±0.06	38.39±1.15	8.33±0.25	24.11±0.72	17.46±0.52
Hekzan	0.28±0.01	19.76±0.59	2.69±0.08	8.22±0.25	10.93±0.33

3.6. Yüzey Morfolojik Analizlerin FT-IR Spektroskopisi ile Belirlenmesi

E. umbellata meyve ekstraktlarının FT-IR analizinin sonuçları alkol, fenol, alkanlar, aldehit, aromatik bileşik, ikincil alkol, aromatik aminler ve halojen bileşiğinin varlığını doğruladı (Şekil 3, Tablo 5).



Şekil 3. *E. umbellata* meyve ekstraktlarının FT-IR spektrumları

Tablo 5. *E. umbellata* meyve ekstraktlarının FT-IR analiz sonuçları

Dalgaboyu aralığı (cm ⁻¹)	Bağ tipi	Fonksiyonel gruplar
3500-3000	Ar*-OH ve Ali*-OH gerilme	Flavonoid (fenol, alkol)
2900-2839	Ali*-CH ₂ gerilme	Flavonoid (CH ₂ , CH)
1650-1630	C=O gerilme	Flavonoid (keton)
1450-1390	C=C gerilme	Flavonoid
1015-1000	Fe*-C-O gerilme	Flavonoid

*Ar: Aromatik, Ali: Alifatik, Fe: fenil

3.7. Fenolik İçeriğin LC-HRMS ile Karakterize Edilmesi

E. umbellata ekstraktlarındaki bileşiklerin tanımlanması LC-HRMS cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. *E. umbellata* meyvesinin fenolik bileşimi üzerine daha önce yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Yapılan bu çalışmada 100 farklı bileşenin varlığı ve miktarları araştırıldı ve elde edilen bulgular Tablo 6'da verildi. Bu verilere göre

araştırılan ekstraktlarda bu bileşenlerden askorbik asit, epigallokateşin, klorojenik asit, fumarik asit, epikateşin, 3,4-dehidroksibenzaldehit, rutin, hiperozit, ellagik asit, kuersitrin, kersetin, salisilik asit, kaempferol ve gypsogenik asit bulundu. Bunlardan fumarik asit metanol, etanol ve etil asetat ekstraktlarında en yüksek oranda bulunan bileşen olurken, 3,4-dehidroksibenzaldehit tüm ekstraktlarda en düşük oranda bulunan bileşen olmuştur.

Tablo 6. *E. umbellata* meyve ekstraktlarının LC-HRMS cihazında tayin edilen bileşik miktarları (mg/L)

Bileşikler	RT	Metanol	Etanol	Etil asetat	Hekzan
Askorbik asit	1.99	2.26	2.00	0.97	0.55
(-)-epigallokateşin	2.15	<LOD	<LOD	0.28	<LOD
Klorojenik asit	2.43	0.67	0.36	<LOD	<LOD
Fumarik asit	2.45	1716.89	1103.46	2133.27	213.40
(-)-Epikateşin	2.55	0.19	0.10	0.29	<LOD
3,4-Dehidroksibenzaldehit	3.25	<LOD	<LOD	0.02	0.01
Rutin	4.48	0.59	0.55	3.21	0.08
Hiperozit	4.58	0.04	0.04	0.34	<LOD
Ellagik asit	5.12	0.51	0.33	2.78	0.14
Kuersitrin	5.13	0.41	0.15	1.15	0.01
Kersetin	5.68	0.03	0.03	0.03	0.03
Salisilik asit	5.72	1.17	1.06	7.16	3.53
Kaempferol	6.09	<LOD	<LOD	0.23	<LOD
Gypsogenik asit	8.21	<LOD	<LOD	<LOD	0.10

RT: Saklama süresi; LOD: Tayin Limiti

3.8. Enzim İnhibisyon Çalışmaları

3.8.1. α -amilaz İnhibisyonu

Amilaz inhibitör aktivitesi iyodür/potasyum iyodür (IKI) yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. Standart α -amilaz inhibitörü olarak Akarboz kullanıldı. Akarbozun IC₅₀, 0.03 mg/mL olarak bulundu. Ekstraktların IC₅₀ değerleri 0.0003-0.86 mg/mL aralığında bulundu (Tablo 7).

3.8.2. α -glukozidaz İnhibisyonu

α -glukozidaz inhibisyonunda standart olarak kullanılan akarbozun IC_{50} değeri 1.11 mg/mL olarak bulundu. Ekstraktların IC_{50} değerleri 0,22-3,26 mg/mL aralığında bulundu (Tablo 7).

3.8.3. Tirosinaz İnhibisyonu

Tirosinaz inhibitör aktivitesi substrat olarak *L*-DOPA kullanılarak belirlendi. Kojik asitin IC_{50} değeri 0.07 mg/mL olarak hesaplandı. *E. umbellata* meyvesinden hazırlanan ekstraktların IC_{50} 0,07-0,27 mg/mL değerlerini aralığında değiştiği gözlemlendi. (Tablo 7). Hekzan ekstraktının tirosinaz enzimi üzerinde inhibisyon etkisine sahip olmadığı belirlendi.

Tablo 7. *E. umbellata* meyve ekstraktlarının ve standartların enzim inhibisyon aktiviteleri

Deneyler	Metanol	Etanol	Etil asetat	Hekzan
α-Amilaz inhibisyonu (IC_{50} , mg/mL)	0.86 $\pm$ 0.03	0.32 $\pm$ 0.01	0.0003 $\pm$ 0,0000	0.34 $\pm$ 0.01
α-Glukozidaz inhibisyonu (IC_{50} , mg/mL)	3.26 $\pm$ 0.09	1.38 $\pm$ 0.04	0.22 $\pm$ 0.01	—
Tirosinaz inhibisyonu (IC_{50} , mg/mL)	0,27 $\pm$ 0,01	0,07 $\pm$ 0,00	0.22 $\pm$ 0.01	—

Akarboz (α -Amilaz inhibisyonu) IC_{50} =0,03 $\pm$ 0,00 mg/mL

Akarboz (α -Glukozidaz inhibisyonu) IC_{50} =1,11 $\pm$ 0,03 mg/mL

Kojik asit (Tirosinaz inhibisyonu) IC_{50} =0,07 $\pm$ 0,00 mg/mL

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada, *Elaeagnus umbellata* meyvesinden hazırlanan metanol, etanol, etil asetat ve hekzan ekstraktlarının antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi, toplam fenolik ve flavonoid madde miktarlarının tayini, enzim inhibisyonları (α -amilaz, α -glukozidaz, tirozinaz), fenolik içeriklerinin LC-HRMS kromatografisi ve yüzey morfolojik analizlerin FT-IR spektroskopisi ile belirlenmesi üzerine araştırmalar yapıldı. Araştırma yapılan ekstraktların antioksidan aktivitelerini belirlemek için FRAP indirgeme kapasitesi, ABTS radikal giderme aktivitesi, fosfomolibdat yöntemi ile antioksidan kapasitesi, CUPRAC metodu (Cu^{2+} - Cu^{+} indirgeme kapasitesi) yöntemleri kullanıldı.

Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak ekstraktların toplam fenolik içerikleri 2.24-8.86 mg GAE/g olarak belirlendi. Toplam flavonoid miktarları ise 0.72-1.63 mg QE/g aralığındadır. En yüksek fenolik içerik değeri etil asetat ekstraktında, en yüksek flavonoid içerik değeri ise metanol ekstraktında bulunmuştur. *Berberis vulgaris* L. meyve ekstraktlarının hekzan ve metanol ekstraktında fenolik madde miktarı sırasıyla 33.64 ± 1.86 mg GAE/g ve 85.98 ± 1.59 mg GAE/g, flavonoid madde miktarı ise 94.74 ± 2.59 mg QE/g ve 64.74 ± 1.86 mg QE/g olarak belirlendi (Ergün, 2021). *Emblica officinalis* meyve ekstraktlarında en yüksek değeri metanol ekstraktında fenolik madde miktarı 10.24 ± 0.11 mg GAE/g ve flavonoid madde miktarı ise 73.18 ± 0.02 μg QE /mg bulunmuştur (Nambiar ve Shetty, 2022).

Elde edilen antioksidan aktivite çalışmalarının verileri neticesinde ekstraktlar içinde en yüksek değer etil asetatta bulunmuştur. Etil asetat ekstraktı için TAK 2.08 ± 0.06 mmol TE/g, ABTS 38.39 ± 1.15 mg TE/g, FRAP 8.33 ± 0.25 mg TE/g, CUPRAC 24.11 ± 0.72 mg TE /g ve metal şelatlama 17.46 ± 0.52 mg EDTA/g olarak hesaplanmıştır.

Yapılan bir çalışmada *Şevketibostan* bitkisinin etil asetat ekstraktı için TAK 1.78 ± 0.11 mmol TE/g, ABTS 7.36 ± 1.63 mg TE/g, FRAP 23.88 ± 0.16 mg TE/g, CUPRAC 55.64 ± 0.83 mg TE/g ve metal şelatlama 17.05 ± 0.75 mg EDTA/g olarak hesaplanmıştır (Haydaroğlu, 2020).

Özen vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada, farklı çözücülerle 50 mg/mL'de hazırlanmış olan ekstraktlarda toplam fenolik miktarları, 1.31 ± 0.2 ile 717.89 ± 5.4 mg gallik asit/eşdeğer kg arasında değişiklik gösteren değerlerde belirlenmiştir. Bu çalışmada, en yüksek toplam fenolik miktarı metanol ekstraktında olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada,

farklı çözücülerle hazırlanmış olan ekstraktlarda toplam flavonoid miktarları 0.98 ± 0.1 ile 397.76 ± 11.4 mg kersetin/eşdeğer kg arasında değişim gösterdiği bildirilmiştir. Toplam flavonoid tayininde en iyi sonuç metanol ekstraktında gözlenmiştir. Total antioksidan kapasite ise 290.27 ± 6.6 olarak bulunmuştur. *E. umbellata* meyvesi üzerinde yapılan farklı bir çalışmada, toplam flavonoid miktarı 655.86 ± 64.30 kersetin eşdeğeri $\mu\text{g/g}$ olarak hesaplanmıştır (Park vd., 2024).

Gamba vd. tarafından yapılan çalışmada (Gamba vd., 2020), meyvenin toplam fenolik miktarı 325.366 ± 13.019 mg GAE/100 taze ağırlık (g FW) ve total antioksidan kapasitesi 20.031 ± 1.214 mmol Fe^{2+} olarak belirtilmiştir. ABTS, toplam antioksidan kapasite, metal şelasyonu ve indirgeyici güç değerleri sırasıyla 11.81-41.83, 0.065-0.241, 0.113-0.806 ve 15.87-86.71 aralığında bulunmuştur (Özen vd., 2017).

Enzim inhibisyon çalışmalarında *E. umbellata* meyvesinden hazırlanan etanol ekstraktı tirozinaz için (IC_{50} , 0.07 ± 0.00 mg/mL), etil asetat ekstraktı α -amilaz (IC_{50} , 0.0003 ± 0.0000 mg/mL) ve α -glukozidaz (IC_{50} , 0.22 ± 0.01 mg/mL) enzimleri üzerinde kullanılan standart inhibitörlere karşı daha etkili olduğu görülmüştür. *Canarium tramdenum* etil asetat ekstraktında α -amilaz inhibisyonu (IC_{50} , 491.23 ± 2.49) $\mu\text{g/mL}$, α -glukozidaz (IC_{50} , 141.37 ± 0.86) $\mu\text{g/mL}$ tespit edilmiştir (Quan vd., 2019).

Literatür araştırmaları ile yapılan değerlendirmeler sonucunda *E. umbellata* meyvesi için tirozinaz IC_{50} değerinin tespit edildiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Fakat antidiyabetik özellikleri analiz etmek amacıyla yapılan çalışmada glukozidaz IC_{50} değeri 120 $\mu\text{g/mL}$, amilaz IC_{50} değeri ise 110 $\mu\text{g/mL}$ olarak bulunmuştur (Nazir vd., 2021).

Bu çalışmada kullanılan metanol, etanol, etil asetat ve hekzan ekstraktlarının LC-HRMS kromatografisi ile yapılan işlemlerde en fazla elde edilen bileşenin fumarik asit olduğu görülmüştür. Fumarik asit, gıda endüstrisi de dahil olmak üzere birden fazla sektörde farklı uygulama alanlarına sahip doğal bir organik bileşiktir. Kimyasal yollarla ve fermentasyonla fumarik asitin üretimi yapılmaktadır. Diğer yandan gıdaların uzun süre korunmasının sağlanması neticesinde kullanılan kimyasallar içinde, fumarik asit eşsiz avantajlara sahiptir. Fumarik asit düşük pKa değerleri (pKa_1 , 3,03; pKa_2 , 4,54) sebebiyle oldukça güçlü bakterisit aktiviteye sahip gıda sınıfı güvenli bir kimyasal olarak kabul görmüştür (Jeon ve Ha, 2020).

Literatürdeki veriler incelendiğinde bu meyvenin fitokimyasal parametrelerini ayrıntılı bir şekilde inceleyen sınırlı sayıda çalışmanın mevcut olduğu görülmektedir. Yapılan literatür araştırmalarına göre fitokimyasal içeriğin değişken bir profile sahip olduğu

anlaşılmaktadır. Türkiye Samsun Doğupark'tan toplanan *E. umbellata* meyveleri üzerinde yapılan çalışmalarda ise fitokimyasal içerik ve yararlanım oranlarının çalışmamızda elde edilen verilerden tamamen farklı olduğu görülmektedir (Özen vd., 2017). Benzer şekilde İtalya Torino'da toplanan meyvelerin fitokimyasal karakterizasyonu sonucunda elde edilen profilin de diğer çalışmalardan farklılık gösterdiği anlaşılmaktadır (Gamba vd., 2020). Veriler karşılaştırıldığında, çalışmamızdan elde edilen sonuçlara göre, fitokimyasal içeriğin Askorbik asit, epigallokateşin, klorojenik asit, epikateşin, dihidroksibenzaldehit, salisilik asit, kaempferol ve jipsojenik asit açısından diğer çalışmalardan farklı olduğu ortaya çıkmaktadır. Tespit edilen fenolik/flavonoid moleküllerinin etkileri Tablo 8'te özetlenmiştir.

Tablo 8. *E. umbellata* meyvesinden elde edilen bileşiklerin fenolik/flavonoid etkileri

Bileşikler	Özellikler	Kaynaklar
Askorbik asit	Bitki kaynaklı demirin emilimini kolaylaştırarak açık yaraların iyileşmesine katkı sağlar. Cilt onarımında, tendonların ve kan damarlarının onarılmasını sağlar ve bağışıklık sistemini destekler.	(Gamba et al., 2020), (Blaszczak et al., 2019)
(-)-epigallokateşin	Kemopreventif polifenol türü en etkili kanserdir ve büyüme aracılı yollar, Mitojenle aktive olan protein kinaz bağımlı yol ve ubiquitin/proteazom bozunma yolu aracılığıyla antioksidan, antiinflamatuvar ve antiaterojenik özelliklere sahip olduğu belirtilmiştir.	(Messinis et al., 2021)
Klorojenik asit	Antioksidan, karaciğer ve böbrek koruyucu, antibakteriyel, antitümör, şeker metabolizması ve lipid metabolizmasını düzenleyici ve iltihap giderici özelliklere sahiptir.	(Wang et al., 2022)
Fumarik asit	Fumarik asit, üre ve sitrik asit döngüsünde yer alan bir metabolittir ve içeceklerin asitlendirilmesinde, pH ayarlamasında maliyetleri düşürdüğünden dolayı tercih edilir. Çeşitli endüstriyel ürünlerde, deterjanlarda, hayvan yemlerinde ve ilaçlarda kullanılan önemli bir bileşiktir.	(Yadav et al., 2022)
(-)-Epikateşin	İnsülün direncini ve kan basıncını azaltma etkisi gösterir. Kalp damar hastalıkları ve tip 2 diyabetin oluşumuna engel olabilir. Ayrıca vücutta glikoz homeostazını sağlamada önemli bir role sahiptir.	(Del Rio et al., 2013; Galleano et al., 2013)
3,4-Dihidroksibenzaldehit	Eritrositlerin antioksidan gücünün artmasında etkilidir ve değerli antioksidan, metabolik ve membran ilişkili enzimlerin aktivitelerinin geri kazanımını sağlar.	(Husain & Mahmood, 2018)
Rutin	Antiinflamatuvar, hipoglisemik, antioksidan, nöroprotektif, renal koruyucu ve hepatoprotektif gibi farklı biyolojik aktivitelere sahiptir.	(Xue et al., 2023)

Tablo 8'in devamı

Bileşikler	Özellikler	Kaynaklar
Hiperozit	En fazla iltihap giderici olarak kullanılır ve antioksidan, antimikrobiyal özelliklere sahiptir.	(Gamba et al., 2020; Mahomoodally et al., 2018)
Ellagik asit	Kanser hücrelerinin yayılmasına engel olur ve kanser ilaçlarının etkinliğinin artmasını sağlar.	(Gamba et al., 2020; La Vignera et al., 2022)
Kuersitrin	İnflamatuvar sitokinler olan NO ve ROS üretimini inhibe ederek oksidatif stres ve inflamasyonun azaltılmasını sağlar. Ayrıca immünomodülasyon, analjezi ve yara iyileşmesi üzerindeki faktörleri de dahil olmak üzere yaygın bir alanda biyoaktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.	(Chen et al., 2022)
Kersetin	Kanser ve kalp hastalıklarına karşı etkin koruma gösterir.	(Gamba et al., 2020; Zglińska et al., 2021)
Salisilik asit	Siğil, et beni, nasır, sedef, kepek, akne, saçkıran ve balık pulu hastalığı tedavisinde kullanılır.	(Furman, 2018)
Kaempferol	Kaempferol farmakolojide çok önemli bir flavonoldür ve antioksidan, antiinflamatuvar, antikanser, kardiyoprotektif, nöroprotektif, antialerjik ve antidiyabetik gibi farklı farmakolojik aktivitelere sahiptir.	(Romano et al., 2013)
Gypsogenik asit	Antihepatotoksik etkinliğe sahiptir. Antibakteriyel ve tripanosidal aktiviteye sahiptir. Gram pozitif bakterilerin karyojenik bir suşunun büyümesine engel olduğu ve <i>Trypanosoma cruzi</i> 'nin kan tripomastigot formlarına karşı etkili olduğu gösterilmiştir.	(Krasteva et al., 2014)

FT-IR spektrumu IR bölgesindeki tepe değerine dayalı olarak aktif bileşenlerinin fonksiyonel grubunu belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Bütün ekstraktların FT-IR spektrumları $4000-400\text{ cm}^{-1}$ değerleri arasında taranmıştır. Numunelerin etanol, metanol, etil asetat ve hekzan ekstraktlarının spektrumları genel olarak benzer eğilime sahip olup bu eğilimlerde küçük farklılıklar gözlenmiştir. Ekstraktların spektrumları incelendiğinde $3500-3000$, $2900-2839$, $1650-1630$, $1450-1390$, $1015-1000\text{ cm}^{-1}$ dalgaboyu aralığında pikler olduğu gözlenmiştir. $3500-3000\text{ cm}^{-1}$ dalga numarası aralığında diğerlerine nazaran ayrıntılı bir şekilde incelenen pik $-\text{OH}$ gruplarının varlığını göstermektedir (Kumar ve Cumbal, 2016; Silva ve ark., 2014). 2870 cm^{-1} , dalga numarasındaki pik ise lipid ve protein hücre sel yapılarında var olan $-\text{C}-\text{H}(\text{CH}_2)$ simetrik gerilmesine karşılık olarak tanımlanmıştır. 1620 cm^{-1} dalga numarasında gözlenen pik $\text{C}=\text{C}(\text{cis})$ gerilmesine ve $(-\text{C}=\text{O})$

karbonile karşılık gelmektedir (Güler ve ark., 2019; Kumar ve Cumbal, 2016; Zhang ve ark., 2012). Yapılan alışmalar doğrultusunda ulaşılan bu sonuçlarla LC-HRMS kullanılarak analiz edilen fenolik bileşiklerin bulundurdıkları fonksiyonel grupların desteğiyle var oldukları kanıtlanmıştır.



5. SONUÇLAR

Sonuç olarak çalışma materyali olarak kullanılan *E. umbellata* meyve ekstraktlarının farklı antioksidan metotları kullanılarak antioksidan aktiviteye sahip oldukları gözlenmiştir. Antioksidan açıdan ABTS, CUPRAC, FRAP, TAK ve metal şelatlama aktivitesi yöntemlerinde en yüksek veriler etil asetat ekstraktında bulunarak olumlu sonuçlar elde edildi. Ayrıca yapılan toplam fenolik tayininde etil asetat ekstraktı en yüksek fenolik ve toplam flavonoid içeriğinde metanol ekstraktı en yüksek flavonoid aktivite göstererek, bu çözücüler ile yapılan çalışmalarda zengin içeriğe sahip oldukları anlaşılmıştır.

LC-HRMS kromatografik tekniği ile askorbik asit, klorojenik asit, fumarik asit, epikateşin, vanilik asit, gipsogenik asit gibi fenolik ve flavanoid bileşikler içerdiği bulunmuştur. Bu veriler aynı zamanda FT-IR ile desteklenmiştir.

Ayrıca çalışma konusu olan meyve ekstrelerinin α -amilaz, α -glukozidaz ve tirozinaz gibi bazı global hastalıklar ile ilişkili enzimlerin inhibisyonları incelenmiştir. Enzim inhibisyon çalışmalarında, metanol özütü ile yapılan çalışma etanol ve etil asetat ile yapılan çalışmalara nazaran daha etkin bulunmuştur. Hekzan özütü ile yapılan çalışma ise sadece α -amilaz inhibisyonunda aktivite göstermiştir.

6. ÖNERİLER

Bu sonuçlar doğrultusunda, bugüne kadar ülkemizde ve dünyanın farklı bölgelerinde yetişen *E. umbellata* meyvesinin potansiyel kullanım alanlarına sahip olabileceği ve ekonomiye katkı sağlayabileceği düşünülmektedir. Özellikle sahip olduğu fumarik asit ve diğer fenolik ve flavanoid bileşiklerle gıda endüstrisinde, çalışmada araştırılan enzimler üzerinde sergilediği inhibisyon etkisi ile ilaç ve kozmetik sektöründe rahatlıkla değerlendirilebileceği görülmektedir. Bu amaçla, çalışılan bitki meyvesi üzerinde kullanım alanlarına yönelik olarak daha ileri düzeyde araştırmalar yapılarak spesifik ürün elde edilebilmesi için yeni çalışmalar yapılması mümkündür.

E. umbellata meyvesinde farklı çözücüler kullanılarak elde edilen ekstrelerde yapılan çalışmalardan açığa çıkan olumlu sonuçlar dikkate alındığında,

Meyvelerin farklı enzimler ve özellikle kanser yolakları üzerindeki etkilerinin araştırılması oldukça önemli olabilir. Farklı yöntemlerle bu meyve ekstreleri nanopartikül formuna dönüştürülerek ilgili alanlarda ki uygulamaları araştırılabilir. Ayrıca, gerek nanoyapı ve gerekse ekstre edilmiş hali ile farklı hücre kültürleri ile etkileşimleri incelenmesi mümkün görülmektedir. Tüm bunların yanında yabani olarak yetişen bu bitkinin zirai uygulamaları yapılarak tüketiminin yaygınlaştırılması sağlanabilir.

7. KAYNAKLAR

- Abedi, F., Zarei, B., & Elyasi, S. (2024). Albumin: a comprehensive review and practical guideline for clinical use. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 80, 1151-1169.
- Aissi, O., Boussaid, M., & Messaoud, C. (2016). Essential oil composition in natural populations of *Pistacia lentiscus* L. from Tunisia: Effect of ecological factors and incidence on antioxidant and antiacetylcholinesterase activities, *Industrial Crops and Products*, 91, 56-65.
- Akbulut, M. (2023). Manyetik özellikli ikili enzim–inorganik hibrit nano çiçeklerin sentezi, karakterizasyonu ve enzim aktivitesinin incelenmesi. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri.
- Apak, R. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the Kuprak assay, *Molecules*, 12, 1496-1547.
- Aslankoç, R., Demirci, D., İnan, Ü., Yıldız, M., Öztürk, A., Çetin, M., Savran, E. Ş., & Yılmaz, B. (2019). Oksidatif Stres Durumunda Antioksidan Enzimlerin Rolü- Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) ve Glutasyon Peroksidaz (GPx). *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 26(3), 362-369.
- Atak, E., & Uslu, M. E. (2018). Fenolik Bileşikler, Ekstraksiyon Metotları ve Analiz Yöntemleri. Manisa Celal Bayar Üniversitesi, *Soma Meslek Yüksekokulu Teknik Bilimler Dergisi*, 3(27).
- Atak, E., Yıldız, E., & Uslu, M. E. (2017). Fenolik Bileşiklerin Enkapsülasyonu. Manisa Celal Bayar Üniversitesi, *Soma Meslek Yüksekokulu Teknik Bilimler Dergisi*, 2(24), 82-92.
- Aydemir, B., & Karadağ Sarı, E. (2009). Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 2(2), 56-60.
- Ayyıldız, S. N. (2016). Ürik Asit Yüksekliğinin Analizi. Ordu Üniversitesi, Tıbbi Biyokimya Anabilimdalı Dergisi, Ordu-Türkiye.
- Bagchi, K. & Puri, S. (1998). Free radicals and antioxidants in health and disease. *La Revue de Santé de la Méditerranée orientale*, Vol. 4, No. 2.
- Bashary, R., & Khatik, G.L. (2019). Design, and facile synthesis of 1,3 diaryl-3-(arylamino) propan-1-one derivatives as the potential alpha-amylase inhibitors and antioxidants, *Bioorganic Chemistry*, 82, 156-162.
- Bayraktar, A., Atar, F., Çimen, N., & Turna, İ. (2018). Effects of some auxins on propagation by hardwood cutting of Autumn Olive (*Elaeagnus umbellata* Thunb.). *Ormancılık Araştırma Dergisi*, 5(2), 112-116.

- Bhat, M. A., Mishra, A. K., Kamal, M. A., Rahman, S., & Jan, A. T. (2023). *Elaeagnus umbellata*: A miraculous shrub with potent health-promoting benefits from North west Himalaya. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 30(6).
- Blaszczak, W., Barczak, W., Masternak, J., Kopczyński, P., Zhitkovich, A., & Rubiś, B. (2019). Vitamin C as a Modulator of the Response to Cancer Therapy. *Molecules*, 24(3), 453.
- Budak, B., & Dinckaya, E. (2022). L-Askorbik asit (C vitamini) Tayinine Yönelik Kalem Grafit Elektrot – Askorbat Oksidaz Temelli Yeni Bir Biyosensör Geliştirilmesi. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 5(3), 611-626.
- Cao, G., & Prior, R. L. (1999). In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radical Biology and Medicine*, 27, 1173-1181.
- Cardinali, D. P. (2021). Chapter Four – Melatonin and healthy aging. *Science Direct*, 115, 67-88.
- Chen, J., Li, G., Sun, C., Peng, F., Yu, L., Chen, Y., Tan, Y., Cao, X., Tang, Y., Xie, X., & Peng, C. (2022). Chemistry, pharmacokinetics, pharmacological activities, and toxicity of Quercitrin. *Phytotherapy Research*, 36(4), 1545-1575.
- Chianeh, Y. R., & Prabhu, K. (2014). Protein Thiols as an Indicator of Oxidative Stress. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 23(3), 443-456.
- Chinsembu, K. C. (2019). Diabetes mellitus and nature's pharmacy of putative antidiabetic plants. *Journal of Herbal Medicine*, 15, 100230.
- Cnubben, N. H. P., Rietjens, I. M. C. M., Wortelboer, H., Van-Zanden, J., & Van-Bladeren, P. J. (2001). The interplay of glutathion-related processes in antioxidant defense. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 10(4), 141-152.
- Çandar, A., & Şavkan, A. N. (2024). Fitokimyasal Bileşikler ve Bitki Hastalıklarındaki Etkileri. *International Scientific Complation Research Congress*, Ankara-Türkiye.
- Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J. P., Tognolini, M., Borges, G., & Crozier, A. (2013). Dietary (poly)phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxid Redox Signal*, 18(14), 1818-1892.
- Durmuş, A. S., & Ünsaldı, E. (2005). Serbest Oksijen Radikalleri, Antioksidanlar ve Kırık İyileşmesi. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları*, Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı Dergisi, Elazığ-Türkiye.
- El-Fallal, A., Dobara, M. A., El-Sayed, A., & Omar, N. (2012). Starch and Microbial α -Amylases: From Concepts to Biotechnological Applications. *Carbohydrates-Comprehensive Studies on Glycobiology and Glycotechnology*, 459-488.
- Ergün, F. (2021). Erzurum Olur Yöresinden Toplanan *Berberis Vulgaris* L. Meyvelerinin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi* 8(4), 1028-1034.

- Ermanoğlu, M. (2024). *Hypericum Cardiophyllum* Bitkisinin Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi, Fitokimyasal Bileşiklerinin Analizi ve Nanopartikül Formülasyonlarının Hazırlanması. Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- Ferreira, I. C. F. R., Barros, L., & Abreu, R. M. V. (2009). Antioxidants in wild mushrooms. *Current Medicinal Chemistry*, 16(12), 1543-1560.
- Fordham, I. M., Clevidence, B. A., Wiley, E. R., & Zimmerman, R. H. (2001). Fruit of autumn olive; A rich source of lycopene, *Hort Science* 36(6): 1136-1137.
- Foster, R. G. (2021). Melatonin. *Current Biology*, 31, 1449-1466.
- Furman, B. L. (2018). Salicylic Acid☆. *Reference Module in Biomedical Sciences*. Elsevier, <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.97758-4>.
- Galleano, M., Bernatova, I., Puzserova, A., Balis, P., Sestakova, N., Pechanova, O., & Fraga, C. G. (2013). (–)-Epicatechin reduces blood pressure and improves vasorelaxation in spontaneously hypertensive rats by NO-mediated mechanism. *IUBMB Life*, 65(8), 710-715.
- Gamba, G., Donno, D., Mellano, M. G., Riondato, I., De Biaggi, M., Randriamampionona, D., & Beccaro, G. L. (2020). Phytochemical Characterization and Bioactivity Evaluation of Autumn Olive (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) *Pseudodrupes* as Potential Sources of Health-Promoting Compounds. *Applied Sciences*, 10(12), 4354.
- Gurung, N., Ray, S., Bose, S., & Rai, V. (2013). A Broader View: Microbial Enzymes and Their Relevance in Industries, Medicine, and Beyond. *BioMed Research International*, 18.
- Güleşçi, N., & Aygöl, İ. (2016). Beslenmede Yer Alan Antioksidan ve Fenolik Madde İçerikli Çerezler. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5(1).
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (1999). *Free Radicals in Biology and Medicine*. New York: Oxford University Press, 3rd Edition, 10-121.
- Hanhineva, K., Torronen, R., Bondia-Pons, I., Pekkinen, J., Kolehmainen, M., Mykkanen, H., & Poutanen, K. (2010). Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*, 11 (4), 1365-1402.
- Haydaroğlu, N. (2020). Ege Bölgesi'nde Yetişen Şevketibostanın Etil asetat Özüütünün Antioksidan Kapasitesinin Araştırılması. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Konya.
- Heves, M. D. (2008). Akyıldız (*Ornithogalum Sigmoidum* Freyn Et Sint.)' ın Antioksidan Aktivitesi. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.

- Husain, N., & Mahmood, R. (2018). 3,4-Dihydroxybenzaldehyde quenches ROS and RNS and protects human blood cells from Cr(VI)-induced cytotoxicity and genotoxicity. *Toxicol In Vitro*, 50, 293-304.
- Jeon, M. J., & Ha, J. W. (2020). Inactivating foodborne pathogens in apple juice by combined treatment with fumaric acid and ultraviolet-A light, and mechanisms of their synergistic bactericidal action, *Food Microbiology*, 87, 103387.
- Kahyaoglu, M., & Kıvanç, M. (2007). Endüstriyel Atık Maddelerden Mikrobiyal Yolla Beta Karoten Üretimi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 17(2), 61-66.
- Kanat, N., & Coşansu Karabulut, S. (2014). Bakterilerde glutatyon ve önemi. *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 18(2), 111-117.
- Karabulut, H., & Gülay, M. Ş. (2016). Antioksidanlar. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji AD, 15030, Burdur.
- Ketani, M. A., & Akbalık, M. E. (2015). Enzim Histokimya ve Önemi. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2(4), 50-71.
- Kırııcı, S. (2015). Türkiye’de tıbbi ve aromatik bitkilerin Genel Durumu. *Türktob, Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi*, 15, 4-11.
- Kim, Y., Nam, S., Lim, J., & Jang, M. (2024). Autumn Olive (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) Berries Improve Lipid Metabolism and Delay Aging in Middle-Aged *Caenorhabditis elegans*. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(6).
- Kolaç, T., Gürbüz, P., & Yetiş, G. (2017). Doğal Ürünlerin Fenolik İçeriği ve Antioksidan Özellikleri. *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Dergisi*, 5(2).
- Krasteva, I., Yotova, M., Yosifov, D., Benbassat, N., Jenett-Siems, K., & Konstantinov, S. (2014). Cytotoxicity of gypsogenic acid isolated from *Gypsophila trichotoma*. *Pharmacognosy Magazine*, 10(2), 430-433.
- Kurt, K. (2024). *Pleurotus ostreatus* Mantarından Afinite Kromatografisi ile Tirozinaz Enziminin Saflaştırılması, Karakterizasyonu ve Organofosfat Pestisitlerinin Tirozinaz Enzimi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir.
- La Vignera, S., Basile, L., Aversa, A., Calogero, A. E., Grillo, A., Cannarella, R., Mongioì, L. M., & Condorelli, R. A. (2022). The Use of Ellagic Acid and *Annona muricata* Improves Semen Quality in Men with High-Risk Papillomavirus Infection. *Journal of Clinical Medicine*, 11(16), 4691.
- Lee, A. R. Y. B., Tariq, A., Lau, G., Tok, N. W. K., Tam, W. W. S., & Ho, C. S. H. (2022). Vitamin E, Alpha-Tocopherol, and Its Effects on Depression and Anxiety: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*, 14, 656.
- Liu, R. H. (2004). Potential Synergy of Phytochemicals in Cancer Prevention: Mechanism of Action. *The Journal of Nutrition*, 134, 3479-3485

- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Review*, 4(8), 118-126.
- Mahomoodally, M. F., Vlaisavljevic, S., Berezni, S., Abdallah, H. H., Zengin, G., Atanasov, A. G., Mollica, A., Lobine, D., & Aktumsek, A. (2018). Lotus aegaeus (Gris.) Boiss and Iberis sempervirens L.: Chemical fingerprints, antioxidant potential, and inhibition activities and docking on key enzymes linked to global health problems. *Industrial Crops and Products*, 120, 271-278.
- Mai, T. T., Thu N. N., Tien P. G., & Chuyen N. V. (2007). Alpha-glucosidase inhibitory and antioxidant activities of Vietnamase edible plants and their relationships with polyphenol contents. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 53, 267-276.
- Malkondu, S., & Erdemir, S. (2022). Sistein Tayini İçin Yeni Bir Algılayıcı Molekülün Sentezi ve Karakterizasyonu. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 48(2), 79-87.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: foos sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 727-747.
- Masip, L., Veeravalli, K., & Georgiou, G. (2006). The many faces of glutathione in bacteria. *Antioxidants & Redox Signaling*, 8(5-6), 753,762.
- Matés, J. M. (2000). Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, 153(1-3), 83-104.
- Messinis, D. E., Latino, D. A. R. S., Pospisil, P., Poussin, C., Peitsch, M. C., & Hoeng, J. (2021). Chapter 24 - Systems pharmacology investigation of mechanism of action of nutraceuticals. *Nutraceuticals (Second Edition)*, Academic Press, 345-361.
- Mogole, L., Omwoyo, W., & Mtunzi, F. (2020). Phytochemical screening, anti-oxidant activity and α -amylase inhibition study using different extracts of loquat (Eriobotrya japonica) leaves. *National Library of Medicine, Heliyon*, 6(8).
- Nambiar, S. S., & Shetty, N. P. (2022). Screening of traditional food plants for the selection of the plant with best antioxidant and anti-atherosclerotic capacity, *International Journal of Research and Analytical Reviews (IJRAR)*, 9(3).
- Navarro, A., & Boveris, A. (2004). Rat brain and liver mitochondria develop oxidative stress and lose enzymatic activities on aging. *American Journal Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 287, 1244-1249.
- Nazir, N., Zahoor, M., Uddin, F., & Nisar, M. (2021). Chemical composition, in vitro antioxidant, anticholinesterase, and antidiabetic potential of essential oil of Elaeagnus umbellata Thunb. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 21(1), 73.
- Nizamlioğlu, N. M., & Nas, S. (2010). Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik Bileşikler; Yapıları ve Önemleri, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5 (1) 20-35.

- Orhan, H., & Şahin, G. (1995). Glutatyon S-Transferazların Klinik ve Toksikolojik Önemi. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 15(5), 303-315.
- Orhan, I. E., Baki, E., Senol, S., & Yilmaz, G. (2010). Sage-called plant species sold in Turkey and their antioxidant activities, *Journal of the Serbian Chemical Society*, 75, 1491-1501.
- Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G., & Yönden, Z. (2015). Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6(3), 331-336.
- Özen, T., Yenigün, S., Altun, M., & Demirtas, I. (2017). Phytochemical Constituents, ChEs and Urease Inhibition, Antiproliferative and Antioxidant Properties of *Elaeagnus umbellata* Thunb. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 20(6), 559-578.
- Park, S.-M., Jung, C.-J., Lee, D.-G., Yu, Y.-E., Ku, T.-H., Hong, M.-S., Lim, T.-K., Paeng, K.-II., Cho, H.-K., Cho, II.-J., & Ku, S.-K. (2024). *Elaeagnus umbellata* Fruit Extract Protects Skin from Ultraviolet-Mediated Photoaging in Hairless Mice. *Antioxidants*, 13(2), 195.
- Pinto, C., Rodríguez-Galdón, B., Cestero, J. J., & Macías, P. (2013). Hepatoprotective effects of lycopene against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats. *Journal of Functional Foods*, 5(4), 1601-1610.
- Reinisalo, M., Karlund, A., Koskela, A., Kaarniranta, K., & Karjalainen, R. O. (2015). Polyphenol Stilbenes: Molecular Mechanisms of Defence against Oxidative Stress and Aging-Related Diseases. *National Library of Medicine*, 340520.
- Reiter, R. J., Melchiorri, D., Sewerynek, E., Poeggeler, B., Barlow-Walden, L., Chuang, J., Ortiz, G. G., & Acuna-Castroviejo, D. (1995). A review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant. *Journal of Pineal Research*, 18(1), 1-11.
- Robinson, P. K. (2015). *Enzymes: principles and biotechnological applications*. *National Library of Medicine*, 59, 1-41.
- Rodriguez, C., Mayo, J. C., Sainz, R. M., Antolin, I., Herrera, F., Martin, V., & Reiter, R. J. (2004). Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *Journal of Pineal Research*, 36, 1-9.
- Rogacka, J., & Labus, K. (2024). Metal – organic frameworks as highly effective platforms for enzyme immobilization – current developments and future perspectives. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, <https://doi.org/10.1007/s43153-024-00513-4>.
- Romano, B., Pagano, E., Montanaro, V., Fortunato, A. L., Milic, N., & Borrelli, F. (2013). Novel insights into the pharmacology of flavonoids [Review]. *Phytotherapy Research*, 27(11), 1588-1596.

- Samant, P., Singh, M., Lal, M., Singh, A., Sharma, A., & Bhandari, S. (2007). Medicinal plants in Himachal Pradesh, North western Himalaya, India. *International Journal of Biodiversity Science and Management* 3, 234-251.
- Sather, N., & Eckardt, N. (1987). The Nature Conservancy Element Stewardship Abstract For *Elaeagnus umbellata*, 1815 North Lynn Street, Arlington, Virginia 22209.
- Sayiner, S., & Kısmalı, G. (2016). Koenzim Q ve Hastalıklar ile ilişkisi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 11(2), 247-253.
- Sen, S., & Chakraborty, R. (2011). The Role of Antioxidants in Human Health. American Chemical Society, Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy, Chapter1: 1-37.
- Sen, S., & Chakraborty, R. (2017). Revival, modernization and integration of Indian traditional herbal medicine in clinical practice: Importance, challenges and future. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 7(2), 234-244.
- Smirnova, G. V., & Oktyabrsky, O. N. (2005). Glutathione in Bacteria, *Biochemistry (Moscow)*, 70(10), 1199-1211.
- Stefanucci, A., Zengin, G., Llorent-Martinez, E.J., Dimmito, M.P., Valle, A.D., Pieretti, S., Ak, G., Sinan, K.I., & Mollica, A. (2020). Chemical characterization, antioxidant properties and enzyme inhibition of Rutabaga root's pulp and peel (*Brassica napus* L.), *Arabian Journal of Chemistry*, 13 (9) 7078-7086.
- Suliman, S., Yagi, S., Elbashir, A. A., Mohammed, I., Hussein, A. E., Ak, G., Fata, A., Orlando G., & Ferrante, C. (2021). Phenolic profile, enzyme inhibition and antioxidant activities and bioinformatics analysis of leaf and stem bark of *Ficus sycomorus* L. *Process Biochemistry*, 101, 169-178
- Suyundikov, M. (2020). Eber Sarısı Bitkisinin α -Amilaz, α -Glukozidaz, Tirozinaz, Asetilkolin Esteraz Enzimlerini İnhibe Edici Özellikleri İle Esansiyel Yağ Asidi İçeriğinin Belirlenmesi. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Afyonkarahisar.
- Şahin, K. (2023). Üvez (*Sorbus domestica* L.) Bitkisi Meyve Özütünün Antioksidan, Antikolinerjik, Antikanser ve Genotoksik Etkilerinin Araştırılması. Bartın Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Bartın.
- Şahin, N., Çelebi, M. S., Ayvaz, M.Ç., & Üstün, E. (2022). Antioxidant activity, enzyme inhibition, electrochemical and theoretical evaluation of novel PEPPSI type n-heterocyclic carbene complexes, *Inorganic Chemistry Communications*, 110028.
- Şener, G., & Yeğen, B.Ç. (2009). İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Klinik Gelişim Dergisi*, 22, 5-13.
- Temel, Y., Bozkuş, T., Karagözoğlu, Y., & Çiftçi, M. (2017). Glutasyon Redüktaz (GR) Enziminin Japon Bildircın (*Coturnix coturnix japonica*) Eritrositlerinden Saflaştırılması ve Karakterizasyonu. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7(3), 143-150.

- Thummajitsakul, S., Samaikam, S., Tacha, S., & Silprasit, K. (2020). Study on FTIR spectroscopy, total phenolic content, antioxidant activity and anti-amylase activity of extracts and different tea forms of *Garcinia schomburgkiana* leaves. *LWT - Food Science and Technology*, 134, 110005.
- Tiwari, S. P., Srivastava, R., Singh, C. S., Shukla, K., Singh, R. K., Singh, P., Singh, R., Singh N.L., & Sharma, R. (2015). Amylases: an overview with special reference to alpha amylase. *Journal of Global Biosciences*, 4 (1) 1886-1901.
- Tocco, G., Fais, A., Meli, G., Begala, M., Podda, G., Fadda, M. B., & Berretta, S. (2009). PEG-immobilization of cardol and soluble polymer-supported synthesis of some cardol-coumarin derivatives: Preliminary evaluation of their inhibitory activity on mushroom tyrosinase, *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 19 (1) 36-39.
- Uddin, G., & Rauf, A. (2012). Phytochemical screening and biological activity of the aerial parts of *Elaeagnus umbellata*. *Scientific Research and Essays*, 7(43), 3690-3694.
- URL-1. (2024, Ekim 23). Sitokrom c oksidaz: https://tr.wikipedia.org/wiki/Sitokrom_c_oksidaz adresinden alındı.
- URL-2. (2024, Kasım 11). <https://www.foodelphi.com/genel-tibbi-bitkiler-prof-dr-necmi-isler> adresinden alındı.
- Uysal, S., Sinan, K. I., Jeko, J., Cziaky, Z., & Zengin, G. 2022. Chemical characterization, comprehensive antioxidant capacity, and enzyme inhibitory potential of leaves from *Pistacia terebinthus* L. (Anacardiaceae), *Food Bioscience*, 48, 101820.
- Üner, M. H., & Yılmaz, İ. (2021). Oksidatif Stres ve Antioksidanların İş Sağlığına Etkileri. *Karaelmas İş Sağlığı ve Güvenliği Dergisi*, 5(1), 79-87.
- Valko, M., Morris, H., & Cronin, M. T. (2005). Metals, toxicity and oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry*, 12, 1161-1208.
- Van Quan, N., Dang Xuan, T., Tran, H.-D., Thi Dieu Thuy, N., Trang, L., Huong, C., Andriana, Y., & Tuyen, P. (2019). Antioxidant, α -Amylase and α -Glucosidase Inhibitory Activities and Potential Constituents of *Canarium tramdenum* Bark. National Library of Medicine, *Molecules*, 24(3), 605.
- Vítek, L., & Tiribelli, C. (2021). Bilirubin: The yellow hormone?. *Journal of Hepatology*, 75(6), 1485-1490.
- Yadav, P., Chauhan, A. K., Singh, R. B., Khan, S., & Halabi, G. (2022). Chapter 22 - Organic acids: microbial sources, production, and applications. *Functional Foods and Nutraceuticals in Metabolic and Non-Communicable Diseases*, 325-337.
- Yavaş, İ., Çınar, V. M., & Ünay, A. (2020). Reaktif Azot Türlerinin (RNS) Üretimi, Fonksiyonu ve Stres Koşullarındaki Durumu. *European Journal of Science and Technology*, 18,435-444.

- Yenigün, S. (2015). Güz Yemişi (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) Meyve ve Yaprak Ekstraktlarının Antioksidant ve Üreaz İnhibisyon Aktivitelerinin Araştırılması. On Dokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Samsun.
- Yıldız, G., & Yıldız, G. (2022). Antioksidanlar ve Fenolik Maddeler. Ankara: İksad Yayın Evi.
- Younus, H. (2018). Therapeutic potentials of superoxide dismutase. *International Journal of Health Sciences*, 12(3), 88-93.
- Wang, L., Pan, X., Jiang, L., Chu, Y., Gao, S., Jiang, X., Zhang, Y., Chen, Y., Luo, S., & Peng, C. (2022). The Biological Activity Mechanism of Chlorogenic Acid and Its Applications in Food Industry: A Review. *National Library of Medicine*, 29(9).
- Woisky, R., & Salatino, A. (1998). Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control, *Journal of Apicultural Research*, 37, 99-105.
- Xue, J.-C., Yuan, S., Meng, H., Hou, X.-T., Li, J., Zhang, H.-M., Chen, L.-L., Zhang, C.-H., & Zhang, Q.-G. (2023). The role and mechanism of flavonoid herbal natural products in ulcerative colitis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 158, 114086.
- Xue, T.-T., Yang, Y.-G., Tang, Z.-S., Duan, J.-A., Song, Z.-X., Hu, X.-H., Yang, H.-D., & Xu, H.-B. (2022). Evaluation of antioxidant, enzyme inhibition, nitric oxide production inhibitory activities and chemical profiles of the active extracts from the medicinal and edible plant: *Althaea officinalis*. *Food Research International*, 156, 111166.
- Zglińska, K., Rygała-Galewska, A., Bryś, J., Koczoń, P., Borek, K., Roguski, M., & Niemiec, T. (2021). *Elaeagnus umbellata* fruit - chemical composition, bioactive compounds, and kinetic of DPPH inhibition compared to standard antioxidants. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 33.
- Zhang, C., Liu, H.G., Chen, S.W., & Luo, Y.K. (2018). Evaluating the effects of IADHFL on inhibiting DPP-IV activity and expression in Caco-2 cells and contributing to the amount of insulin released from INS-1 cells in vitro, *Food & Function*, 9 (4) 2240-2250.

ÖZGEÇMİŞ

Fatma Nur KAZAN İlk okul, orta okul ve lise eğitimini Keçiören’de tamamladı. 2012 yılında Trabzon Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümünü kazandı. Bir yıl hazırlık eğitimi aldı. 2020 yılında Trabzon Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü’nden mezun oldu. 2022 yılında Trabzon Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Biyokimya Anabilim Dalı’nda yüksek lisansa başladı.

