

T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANA BİLİM DALI

**HORDENİNİN ANTİOKSİDAN KAPASİTESİ, ASETİLKOLİNESTERAZ
VE BÜTİRİLKOLİNESTERAZ ENZİMLERİ ÜZERİNE İNHİBİSYON
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS

Seda TAŞGIN

OCAK-2026
GÜMÜŞHANE



**T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

KİMYA ANA BİLİM DALI

**HORDENİNİN ANTİOKSİDAN KAPASİTESİ, ASETİLKOLİNESTERAZ
VE BÜTİRİLKOLİNESTERAZ ENZİMLERİ ÜZERİNE İNHİBİSYON
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

**INVESTIGATION OF THE ANTIOXIDANT CAPACITY OF HORDENINE,
INHIBITION EFFECT ON ACETYLCHOLINESTERASE AND
BUTYRYLCHOLINESTERASE ENZYMES**

YÜKSEK LİSANS

Seda TAŞGIN

**OCAK-2026
GÜMÜŞHANE**



**T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

KİMYA ANA BİLİM DALI

**HORDENİNİN ANTİOKSİDAN KAPASİTESİ, ASETİLKOLİNESTERAZ
VE BÜTİRİLKOLİNESTERAZ ENZİMLERİ ÜZERİNE İNHİBİSYON
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

**INVESTIGATION OF THE ANTIOXIDANT CAPACITY OF HORDENINE,
INHIBITION EFFECT ON ACETYLCHOLINESTERASE AND
BUTYRYLCHOLENESTERASE ENZYMES**

YÜKSEK LİSANS

Seda TAŞGIN

Danışman: Doç. Dr. Meryem TOPAL

**OCAK-2026
GÜMÜŞHANE**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlamış olduğum “**Hordeninin Antioksidan Kapasitesi, Asetilkolinesteraz ve Bütirilkolinesteraz Enzimleri Üzerine İnhibisyon Etkisinin İncelenmesi**” isimli bu tezimin, tamamen kendi çalışmam olduğunu, her alıntıya kaynak gösterdiğimi, alıntı yaptığım tüm çalışmaları kaynakçada belirttiğimi ve Gümüşhane Üniversitesi’nin lisanslı kullanıcısı olduğum intihal yazılım programı ile Lisansüstü Eğitim Enstitüsü’nün belirlediği kıstaslara uygun olarak raporladığımı taahhüt ederim. Tezimin kâğıt ve elektronik kopyalarının Gümüşhane Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü arşivinde saklanmasına izin verdiğimi onaylarım.

Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği’nin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim.

15/01/2026

.....
Seda TAŞGIN

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Gümüşhane Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır.

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmanın deneysel kısmı Gümüşhane Üniversitesi, Gümüşhane Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Tıbbi Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Öncelikle çalışmalarımnda her zaman yanımda olan, deneyim ve bilgileri ile beni aydınlatan, çalışmamın deneysel kısımlarında yol gösterici olan danışman hocam, Kimya Ana Bilim Dalı Başkanı Sayın Doç. Dr. Meryem TOPAL'a,

Gümüşhane Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü Sayın Prof. Dr. Duygu ÖZDEŞ'e, deneyimleri ile yol gösterici olup her konuda yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Fevzi TOPAL'a, değerli jüri üyelerim Prof. Dr. Sevim Beyza ÖZTÜRK SARIKAYA ve Doç. Dr. Elif Duygu KAYA'ya katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Yaşamımdaki en büyük destekçilerim babam İsmail TAŞGIN ve annem Yaşar Sultan TAŞGIN'a madden ve manen her zaman yanımda oldukları için sonsuz teşekkürler.

Seda TAŞGIN
GÜMÜŞHANE-2025

ÖZET

Hordenin bileşiği, başta buğday olmak üzere pek çok bitkide bulunan bir feniletilamin alkaloid bileşiğidir. Bu çalışmada hordenin ABTS^{•+}, DMPD^{•+} ve DPPH[•] radikal giderme aktiviteleri, CUPRAC metodu ve Fe³⁺-Fe²⁺ transformasyonu metodu ile indirgeme kapasitesi olmak üzere biyoanalitik metotlar değerlendirilmiştir. DPPH[•] radikal giderme aktivitesinde hordeninin IC₅₀ değeri 231 µg/mL ile α-tokoferole göre daha düşük bir radikal giderme aktivitesi göstermiştir. ABTS^{•+} giderme aktivitesinde hordenin (11.91 µg/mL) diğer standartlarla benzer düzeyde bulunurken, DMPD^{•+} radikal giderme testinde hordenin 19.80 µg/mL değeriyle BHA'ya (14.40 µg/mL) göre daha zayıf bir etki sergilemiştir. İndirgeme gücü analizlerinde hordeninin Fe³⁺-Fe²⁺ indirgeme kapasitesi 0.062±0.011 iken, Cu²⁺-Cu⁺ indirgeme kapasitesi 0.794±0.156 olarak ölçülmüş ve diğer standart antioksidanlara göre daha düşük indirgeyici etki göstermiştir. Enzim inhibisyon çalışmalarında ise hordeninin AChE ve BChE üzerinde anlamlı düzeyde inhibitör etki gösterdiği belirlenmiştir. AChE için IC₅₀ değeri 364.81 nM ve K_i değeri 254.92±95.48 nM olarak hesaplanmıştır. Hordenin, özellikle BChE üzerinde daha güçlü bir etki göstermiş olup, BChE için IC₅₀ değeri 100.46 nM ve K_i değeri 43.96±10.16 nM bulunmuştur. Bu değerler, hordeninin BChE üzerinde takrine yakın ve güçlü bir inhibitör olduğunu göstermektedir. Antioksidan özellikleri ile kolinesteraz enzimleri üzerindeki etkileri birlikte değerlendirildiğinde, hordeninin nörodejeneratif hastalıkların tedavi araştırmalarında, gıda teknolojisinde ve farmasötik uygulamalarda kullanılabilir nitelikte biyolojik olarak değerli bir bileşik olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, Asetilkolinesteraz, Bütirilkolinesteraz, Enzim, Hordenin

SUMMARY

Hordenine is a phenylethylamine alkaloid found in many plants, especially in wheat. In this study, hordenine was evaluated by bioanalytical methods, including ABTS^{•+}, DMPD^{•+} and DPPH[•] radical scavenging activities, CUPRAC method and reduction capacity by Fe³⁺-Fe²⁺ transformation method. In terms of DPPH[•] radical scavenging activity, hordenine showed a lower IC₅₀ value of 231 µg/mL compared to α-tocopherol. While hordenine (11.91 µg/mL) was found to be similar to other standards in ABTS^{•+} scavenging activity, hordenine exhibited a weaker activity than BHA (14.40 µg/mL) with 19.80 µg/mL in DMPD^{•+} radical scavenging test. In reducing power analyses, the Fe³⁺-Fe²⁺ reducing capacity of hordenine was measured as 0.062±0.011, while the Cu²⁺-Cu⁺ reducing capacity was measured as 0.794±0.156, and it showed a lower reducing effect than other standard antioxidants. In enzyme inhibition studies, it was determined that hordenine had a significant inhibitory effect on AChE and BChE. The IC₅₀ value for AChE was calculated as 364.81 nM and the K_i value was 254.92±95.48 nM. Hordenine showed a particularly strong effect on BChE, with an IC₅₀ value of 100.46 nM and a K_i value of 43.96±10.16 nM for BChE. These values indicate that hordenine is a potent inhibitor of BChE, similar to tacrine. These values indicate that hordenine is a more potent inhibitor of BChE than tacrine. Considering its antioxidant properties and its effects on cholinesterase enzymes, hordenine is a biologically valuable compound that can be used in research on the treatment of neurodegenerative diseases, food technology, and pharmaceutical applications.

Keywords: Antioxidant, Acetylcholinesterase, Butyrylcholinesterase, Enzyme, Hordenine

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	III
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI.....	IV
TEŞEKKÜR.....	VI
ÖZET	VII
SUMMARY	VIII
İÇİNDEKİLER	IX
TABLolar DİZİNİ	XI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	XIII
1. GİRİŞ	1
1.1. Enzimler	1
1.2. Asetilkolin	5
1.3. Asetilkolinesteraz Enzimi	6
1.4. Butirilkolinesteraz enzimi	8
1.5. Alzheimer Hastalığı	9
1.6. Serbest Radikaller	10
1.7. Antioksidanlar	12
1.8. Fenolik Bileşikler	17
1.9. Hordenine (Anhaline) (Hord, 4-(2-Dimetilaminoetil) Fenol).....	20
1.10. Çalışmanın Amacı	22
2. MATERYAL VE METOT	24
2.1. Kullanılan Kimyasallar ve Ekipmanlar	24
2.2. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması	24
2.2.1. ABTS ^{•+} Radikal Giderme Aktivite Yöntemi	24
2.2.2. DPPH [•] Serbest Radikal Giderme Aktivite Yöntemi	24
2.2.3. Fe ³⁺ -Fe ²⁺ İndirgeme Kapasitesi Yöntemi.....	25
2.2.4. Cu ²⁺ -Cu ⁺ İndirgeme Kapasitesi Yöntemi (CUPRAC Metodu).....	25
2.2.5. DMPD ^{•+} Radikal Giderme Aktivite Yöntemi	25
2.2.6. Asetilkolinesteraz Enzim Aktivite Yöntemi	26
2.2.7. Butirilkolinesteraz Enzim Aktivite Yöntemi	26
3. ARAŞTIRMA BULGULARI	28
3.1. ABTS ^{•+} Radikal Giderme Aktivite Yöntemi	28

3.2. DPPH' Serbest Radikal Giderme Aktivite Yöntemi	28
3.3. Fe ³⁺ -Fe ²⁺ İndirgeme Kapasitesi Sonuçları	29
3.4. Cu ⁺² -Cu ⁺ İndirgeme Kapasitesi Sonuçları	30
3.5. DMPD ⁺⁺ Radikal Giderme Aktivite Yöntemi	30
3.6. Asetilkolinesteraz Enzim Bulguları	31
3.7. Bütirikolinesteraz Enzim Bulguları	33
4. TARTIŞMA	36
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	40
KAYNAKÇA.....	43
ÖZGEÇMİŞ	52



TABLÖLER DİZİNİ

Tablo 1. Endojen ve ekzojen serbest radikal kaynaklar (Aksoy, 2002).....	11
Tablo 2. Endojen ve ekzojen antioksidanlar (Gülçin vd., 2003b).....	12
Tablo 3. Ana antioksidanların sınıflandırılması (Çaylak, 2011).....	17
Tablo 4. Fenolik bileşiklerin gruplandırılması (Gülçin, 2012)	18
Tablo 5. Flavonoid alt sınıfları (Gülçin, 2012)	18
Tablo 6. DPPH [·] , DMPD ⁺⁺ ve ABTS ⁺⁺ radikali giderme aktivitelerinin IC ₅₀ değerleri ...	29
Tablo 7. AChE Enzimi için takrin ve hordeninin inhibisyon sonuçları.....	33
Tablo 8. BChE enzimi için takrin ve hordenin bileşiklerinin inhibisyon sonuçları.....	35
Tablo 9. İndirgeme kapasitelerinin karşılaştırılması.....	37
Tablo 10. Hordeninin ve standartlara ait giderme aktivitelerinin % inhibisyonları.....	38
Tablo 11. AChE ve BChE enzimleri için hordenin ve takrinin karşılaştırılması.....	38

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1 Sistematik adlandırmaya örnek.....	2
Şekil 2. Oksidoredüktaz örneği.....	2
Şekil 3. Transferaz örneği.....	2
Şekil 4. Hidrolaz örneği.....	3
Şekil 5. Liyaz enzim örneği.....	3
Şekil 6. İzomeraz enzim örneği.....	3
Şekil 7. Ligaz enzim örneği.....	4
Şekil 8. Asetilkolin metabolizması (Purves vd., 2004).....	6
Şekil 9. AChE katalizlediği reaksiyon.....	7
Şekil 10. Reaktif oksijen türleri (Aslan ve Karahalil, 2019).....	10
Şekil 11. Reaktif oksijen türlerinin üretimi (Aslan ve Karahalil, 2019).....	11
Şekil 12. Hordenin.....	20
Şekil 13. Tiramin metilasyonu.....	20
Şekil 14. ABTS ^{•+} radikal giderme aktivite grafiği.....	28
Şekil 15. DPPH [•] serbest radikali giderme aktivite grafiği.....	29
Şekil 16. Fe ³⁺ -Fe ²⁺ indirgeme kapasitesi.....	30
Şekil 17. Cu ²⁺ -Cu ⁺ indirgeme kapasitesi.....	30
Şekil 18. DMPD ^{•+} giderme aktivite grafiği.....	31
Şekil 19. AChE enzimi için çizilen aktivite (%)-[Hordenin] grafiği.....	31
Şekil 20. AChE enzimi için çizilen Lineweaver-Burk grafiği.....	32
Şekil 21. AChE enzimi için çizilen aktivite (%)-[Takrin] grafiği.....	32
Şekil 22. AChE enzimi için çizilen Lineweaver-Burk grafiği.....	33
Şekil 23. BChE enzimi için çizilen aktivite (%)-[Hordenin] grafiği.....	33
Şekil 24. BChE enzimi için çizilen Lineweaver-Burk grafiği.....	34
Şekil 25. BChE enzim için çizilen aktivite (%)-[Takrin] grafiği.....	34
Şekil 26. BChE enzimi için çizilen Lineweaver-Burk grafiği.....	35

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ACh	: Asetilkolin
ABTS	: 2,2-azinobis(3-etilbenzothiazolin-6-sulfonikasit)
BChE	: Butirilkolinesteraz
DPPH	: 2-2-difenil-1-pikrilhidrazil
DMPD	: N,N-dimetil-p-fenilendiamin dihidroklorür
ES	: Enzim substrat kompleksi
EÜ	: Enzim ünitesi
FAD	: Flavin adenin dinükleotit
FMN	: Flavin mononükleotid
HOR	: Hordenin
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
LDL	: Lipoprotein
NAD	: Nikotin adenin dinükleotid
O ₂ ⁻	: Süperoksit radikali
OH [·]	: Hidroksil radikali
RO	: Alkolsil
ROO	: Peroksil
ROS	: Reaktif oksijen türleri
RS	: Tiyal radikaller
TBHQ	: Tert-bütil hidrokinon
TCA	: Trikloroasetik asit

1. GİRİŞ

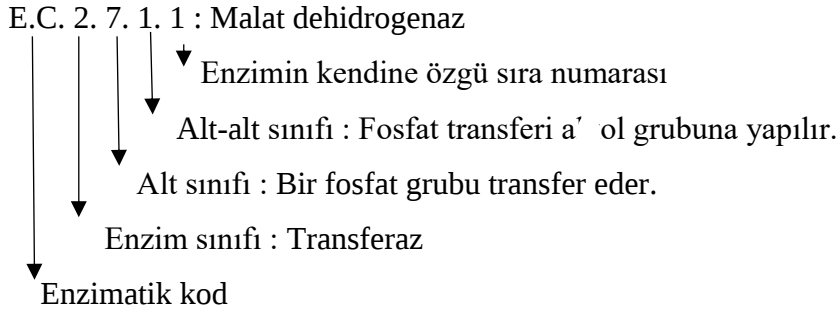
1.1. Enzimler

Enzimler nitelikçe protein yapıda olan ve organizmadaki biyolojik reaksiyonları özgül şekilde kataliz eden biyolojik katalizörlerdir. Bu katalizörlerin kataliz yeteneği oldukça yüksek ve maddelere spesifiktir (Keha ve Küfrevioğlu, 2012; Nelson ve Cox, 2016). Katalizörler, bir kimyasal reaksiyonu hızlandıran fakat bu olay sırasında kullanılarak kaybolmayan maddelerdir. Enzimler, Kimyasal reaksiyonları hızlandırıp bu esnada fiziksel değişikliğe uğramış olsalar dahi ilk haline dönebilen katalizör moleküllerdir (Topal, 2014).

Enzimlerin sadece basit protein yapıda olanları (pepsin, tripsin) olduğu gibi, katalizör özelliği gösterebilmek için bu basit protein yapıya bağlanan ve protein yapıda olmayan yardımcı gruplardan oluşan bileşik protein yapıları da vardır. Enzimlerin sadece proteinden oluşan kısmına apoenzim denir. Apoenzimler ısıya karşı dayanıksızdırlar. Apoenzimlere yardımcı grup bağlanmış haldeki enzimlere ise haloenzim denir. Haloenzimdeki yardımcı grup vitamin ise koenzim, mineral ise kofaktör ismini alır. Bu koenzim ya da metal iyonları protein yapısına çok güçlü, hatta kovalent olarak bağlı ise prostetik grup adı verilir. Koenzimler genellikle B grubu vitaminlerken, kofaktörlere Çinko (Zn), Kalsiyum (Ca), Demir (Fe), Magnezyum (Mg), Potasyum (K) gibi mineraller örnek olarak verilebilir (Keha ve Küfrevioğlu, 2012; Berg vd., 2014; Nelson ve Cox, 2016).

Enzimlerin etki mekanizmasını en basit açıklayan ve genel kabul gören teori Michaelis-Menten Teorisi'dir. Bu teoriye göre enzim, önce spesifik olarak etki ettiği maddeye yani substrata bağlanır. Enzimin substrat ile birleşmesi ile kimyasal reaksiyon gerçekleşir. Bu şekilde oluşan enzim-substrat kompleksine aktive edilmiş kompleks de denir. Aktive edilmiş kompleks, enzim ve ürüne dönüştükten sonra enzim ve ürün birbirinden ayrılır. Reaksiyon oluşurken enzimlerin üç boyutlu yapısı değişebilirken reaksiyon sonunda başlangıç formuna geri dönerler (Nelson ve Cox, 2016).

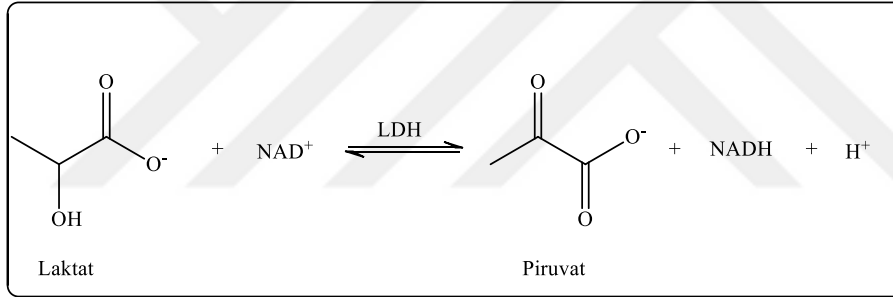
Enzimler adlandırılırken, katalize ettikleri reaksiyonda etki yaptığı substrat adının sonuna “az” eki alarak adlandırılabilir. Örneğin, şükrozu parçalayan enzime “Sükraz”, laktozu parçalayan enzime “Laktaz” denmesi gibi. Ayrıca, enzim adlandırmasında 4 rakamdan oluşan enzim komisyonu numarası (E.C.) kullanılmaktadır (Keha ve Küfrevioğlu, 2012).



Şekil 1 Sistematik adlandırmaya örnek

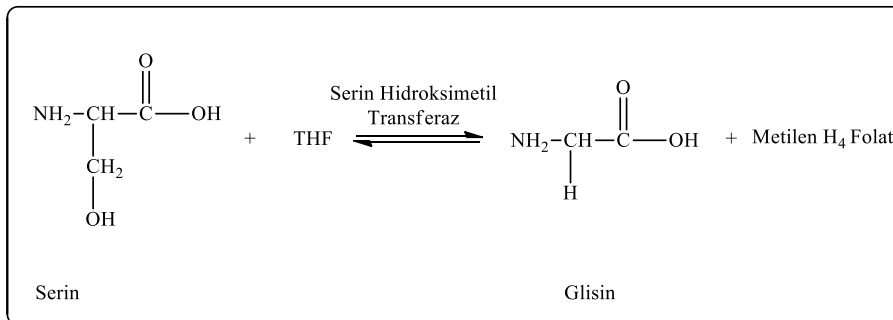
Enzimler kendi aralarında altı büyük sınıfta gruplandırılır (Keha ve Küfrelioğlu, 2012)

1. Oksidoredüktazlar: Bu enzimler, yükseltgenme (oksidasyon) ve indirgenme (redüksiyon), yani redoks reaksiyonlarını katalizleyen enzimlerdir. Burada hidrojen atomları bir substrattan ötekine taşınır. Dehidrogenazlar, oksidazlar, redüktazlar, katalaz, monooksijenazlar ve peroksidazlar bu gruba örnek verilebilir.



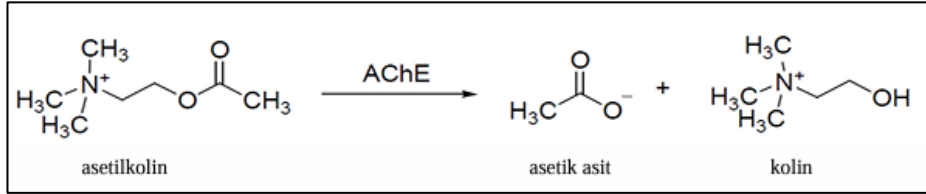
Şekil 2. Oksidoredüktaz örneği

2. Transferazlar: Substratlarındaki bir kimyasal grubu (C, N ve P) diğer bir substrata aktaran enzimlerdir. Sadece oksidoredüktazların taşıdığı gibi hidrojen atomu taşıyamazlar. Glukokinaz, alanin transferaz ve heksokinaz bu gruptandır.



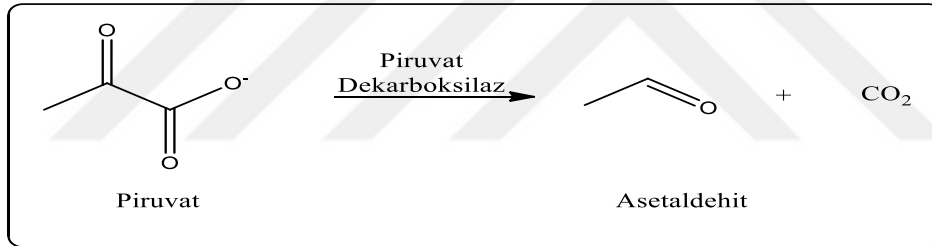
Şekil 3. Transferaz örneği

3. Hidrolazlar: Bağların yıkımının su katılarak hidroliz reaksiyonlarını katalizlerler. Tez kapsamında çalıştığımız asetilkolinesteraz ve butilkolinesteraz bu grubun üyelerindendir. Esterazlar, nükleazlar, lipazlar, fosfatazlar ve proteolitik enzimlerin tümü bu gruptandır.



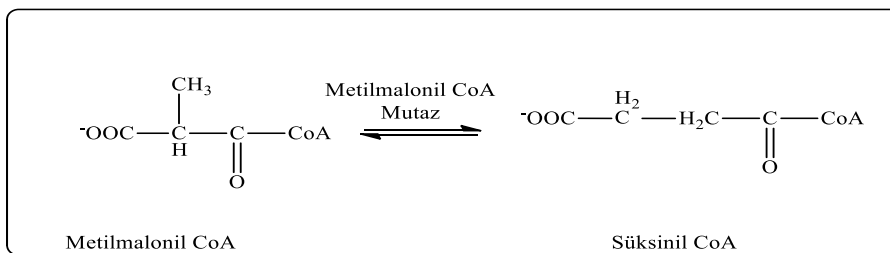
Şekil 4. Hidrolaz örneği

4. Liyazlar: Oksidasyon içermeyen bir metabolizma kullanılarak C-N, C-O ve C-C arasında bir çift bağ kazandıran reaksiyonları katalizler ve ATP kullanılmaz. Karbonik anhidraz enzim ailesi, dehidratasyon ve hidratasyon reaksiyonlarını katalizleyen enzimler, bu gruptandır.



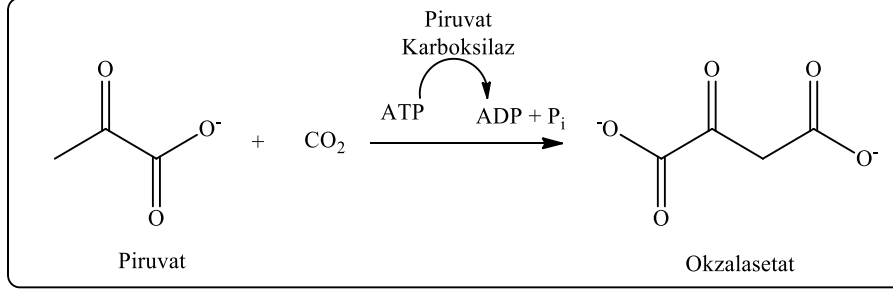
Şekil 5. Liyaz enzim örneği

5. İzomerazlar: bu enzim grubu molekül içi geometrik, optik ve yapısal izomer değişikliklerini (birbirlerine kendi aralarında dönüşümlerini) belirli bir elektron kaybı ya da kazancı olmadan katalizleyen enzimlerdir. Molekül içi düzenleme yaparlar. Özellikle karbohidrat metabolizmasında önemli rol oynarlar. Epimerazlar, rasemazlar, mutazlar bu sınıfın üyeleridir.



Şekil 6. İzomeraz enzim örneği

6. Ligazlar, ATP ya da enerjisi yüksek bir bağı kopması (benzeri trifosfatların yıkıldığı sırada) ile enerjinin açığa çıkması yardımı ile moleküllerin bağlanması reaksiyonlarını katalizlerler. Piruvat karboksilaz gibi karboksilazlar ve sentetazlar, bu gruptandır. Ligaz tipi karboksilazların ve dekarboksilazların koenzimi biotindir. (Keha ve Küfrevioğlu, 2012; Berg vd., 2014; Nelson ve Cox, 2016).



Şekil 7. Ligaz enzim örneği

Turnover sayısı, bir mol enzimin belirli bir süre içinde ürüne dönüştürdüğü substrat miktarını tanımlayan bir kinetik parametredir ve enzimlerin katalitik kapasitesini göstermede temel ölçüt olarak kullanılır. Katalaz, saniyede yaklaşık 40.000.000 reaksiyon gerçekleştirebilme hızıyla bilinen en yüksek turnover oranına sahip enzimdir (Keha ve Küfrevioğlu, 2012; Nelson ve Cox, 2016). Enzimlerin dokularda ve hücre içindeki miktarlarını doğrudan belirlemek güçtür; çünkü biyolojik yapılarda genellikle çok düşük düzeylerde bulunurlar. Bu nedenle, enzimlerin miktarı çoğunlukla aktiviteleri üzerinden değerlendirilir ve sonuçlar enzim ünitesi (EÜ) adı verilen birimle ifade edilir. Bir EÜ, 25°C’de bir dakika içinde 1 mikromol (10⁻⁶ mol) substratın ürüne dönüşmesini sağlayan enzim miktarına karşılık gelir. Enzim aktivitelerini tanımlamada kullanılan bir diğer kavram ise spesifik aktivitedir. Spesifik aktivite, bir miligram proteinin sahip olduğu enzim ünitesi miktarı olarak açıklanır ve bir enzim hazırlığının saflık seviyesini göstermede önemli bir göstergedir (Nelson ve Cox, 2016).

Michaelis-Menten kinetiğinde K_m, reaksiyondaki hızın maksimum hızın yarısına geldiği andaki substrat derişimi anlamına gelir. Molar birimlerle belirtilen bu değer, enzimin substrata bağlanma eğiliminin bir göstergesi olarak kabul edilir. K_m ile enzim-substrat etkileşiminin kuvveti arasında ters bir ilişki vardır; yani K_m küçüldükçe enzimin substrata olan bağlanma yeteneği artar. V_{max}, maksimum reaksiyon hızıdır. Yeterli substrat varlığında enzim konsantrasyonuna göre etkilenirken, K_m iki konsantrasyondan bağımsızdır (Nelson ve Cox, 2016).

Enzim aktivitesini artıran maddeler aktivatör olarak tanımlanır. Aktivatörler, enzim yapısına uygun, küçük iyon ve molekül olabilirler. Görevlerini ya doğrudan serbest enzimle birleşerek ya da substratla bileşerek iki şekilde gerçekleştirirler (Nelson ve Cox, 2016).

Enzimin katalitik etkisini yerine getirememesine sebep olan, aktivitesini azaltan veya yok eden maddelere inhibitör, gerçekleşen olaya da enzim inhibisyonu denir. Enzim inhibisyonu, biyolojik sistemlerde kontrol mekanizmasıdır. İlaç ve zehirli bileşiklerin pek çoğu fonksiyonlarını bu yolla gerçekleştirirler. Enzim inhibisyonu; geri dönüşümlü inhibisyon ve geri dönüşümsüz inhibisyon olarak ikiye ayrı grupta incelenir. Geri dönüşümsüz inhibitör, enzime kovalent bağlarla sınırlı bağlandığı için enzimden ayrılması hayli zordur. Geri dönüşümlü inhibitörde ise bunun tam tersi, enzim-inhibitör kompleksi birbirinden kolayca ayrılır. Üç tip geri dönüşümlü inhibitör vardır: yarışmasız inhibisyon (nonkompetitif), yarışmalı inhibisyon (kompetitif) ve yarı yarışmalı inhibisyon (unkompetitif) (Keha ve Küfrevioğlu, 2012; Alparslan, 2012; Berg vd., 2014).

Yarışmalı (kompetitif) inhibisyon, enzimin etki ettiği substrata çok benzeyen başka bir madde, enzimin aktif bölgesine (enzimde substratın bağlandığı bölge) bağlanarak substrat ile ilgisini keser. Daha basit şekilde, inhibitör ve substrat enzime bağlanmak için yarışır. Bu şekilde enzimin katalitik etkisi yavaşlamış olur. Tersinirdir; yeterince substrat varlığında inhibisyon geri döndürülebilir. K_m değeri artarken, V_{max} değeri değişmez. (Keha ve Küfrevioğlu, 2012; Berg vd., 2014).

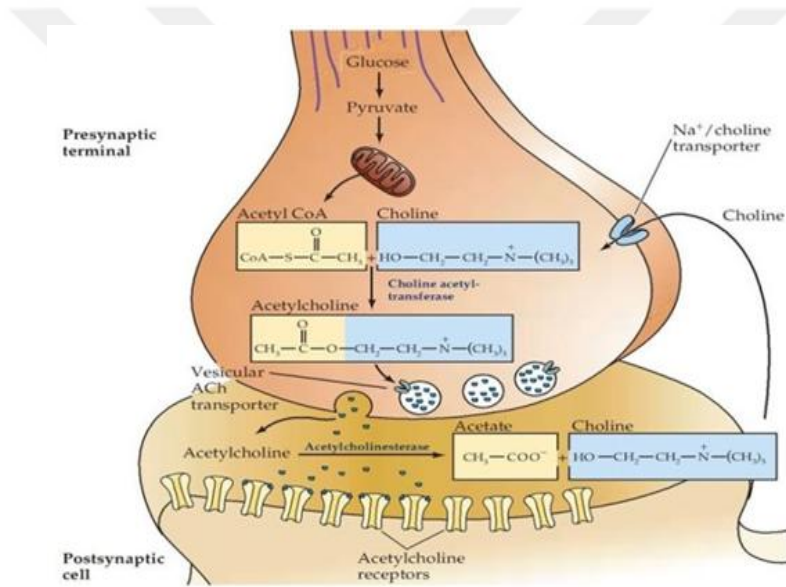
Yarı yarışmalı inhibisyon türünde inhibitör, enzim ve substrat arasında üçlü bir ilişki olur ve tersinir (geri dönüşümlü) değildir. İnhibitör, doğrudan ortamdaki enzim-substrat kompleksine bağlanır. Bu durum en çok iki substratlı enzim reaksiyonlarında görülmektedir. K_m ve V_{max} azalır (Keha ve Küfrevioğlu, 2012; Berg vd., 2014).

Yarışmasız inhibisyon türünde, yarışmasız inhibitörün bağlanması enzim-substrat kompleksi oluşuktan sonra olur. İnhibitör ve substrat enzimin farklı bölgelerine bağlanır. Bu sebeple inhibisyonda substrat derişiminin değiştirilmesi inhibisyonu değiştirmez. Bu inhibisyonda K_m sabit kalırken V_{max} değeri azalır (Keha ve Küfrevioğlu, 2012; Berg vd., 2014).

1.2. Asetilkolin

Bir kolin bileşiği olan asetilkolin, beynin hafıza ile ilgili kısmının önemli bir nörotransmitterdir. Parasempatik sistem ile sinir sisteminde kimyasal bir araçtır. Asetilkolin (ACh) kolinerjik nöronlarda oluşur. Mitokondrilerdeki hücresel solunumdan

gelen asetilkoenzim A (CoA) ile lipid metabolizmasının önemli maddelerinden olan kolin, kolin asetiltransferaz (ChAT) enzimi yardımıyla birleşerek ACh oluştururlar. ACh, presinaptik nöronlardaki veziküllerde depolanır. İmpuls, motor sinirin ucundaki sinaptik veziküllerden ACh oluşmasını sağlar. Ca^{2+} bağımlı şekilde ekzositozla sinaptik boşluğa salınan ACh, postsinaptik membran üzerindeki ACh reseptörlerine tutunur ve sinir sinyalinin diğer nörona iletilmesine aracılık ettikten sonra o reseptörlerden ayrılır. Reseptöre hiç bağlanamamış veya sinyal iletimi sonrası reseptörden ayrılan ACh, asetilkolinesteraz (AChE) yardımıyla hidroliz edilerek CoA ve koline dönüşür. Açığa çıkan kolin, yüksek aktiviteye sahip taşıma sistemi aracılığıyla presinaptik membrandan geri girer. Asetat molekülü ve ATP yardımıyla yeniden ACh sentezinde kullanılmaya hazır hale gelir (Koçancı ve Aslım, 2016).



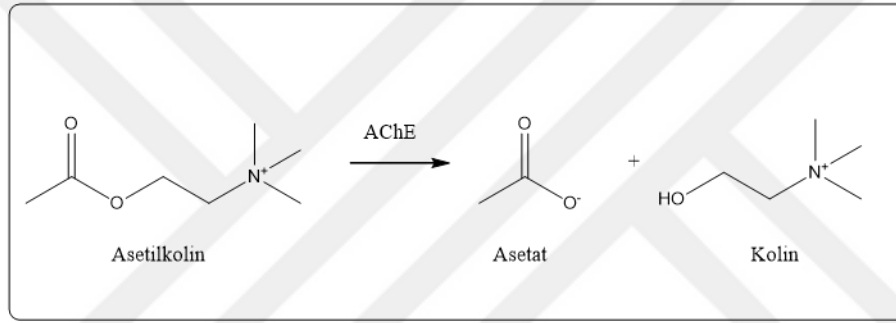
Şekil 8. Asetilkolin metabolizması (Purves vd., 2004).

Kolin ve asetil CoA'dan asetilkolin sentezi, asetiltransferaz enzimini gerektirir. Asetil CoA, glikolizde oluşan piruvatın türevidir; kolin ise Na⁺'ya bağlı bir taşıyıcı yoluyla terminale taşınır. Asetilkolin, sitoplazmada sentezlendikten sonra veziküler asetilkolin taşıyıcısı vasıtasıyla taşınır ve sinaptik yarığa salınır. Serbest kalan asetilkolin, asetilkolinesteraz tarafından hızla metabolize edilir ve kolin sisteme geri taşınır (Purves vd., 2004).

1.3. Asetilkolinesteraz Enzimi

AChE, ACh hidrolizini katalizleyen enzimlerden biridir. Sinirsel doku, kas ve eritrositlerde bulunur. Sinir sistemi olmayan eritrositlerde sentez edilebilmesi, AChE'nin ACh hidrolizi dışında başka görevlerinin olduğunu düşündürmektedir

(Koçancı ve Aslım, 2016). AChE'nin katalizlediği tepkime enzimatik olarak iki basamaklıdır. AChE'nin serin, histidin ve glutamat kalıntılarından oluşan katalitik üçlüsünde, histidin aminoasidi glutamatın karboksil grubunu nükleofilik etkileşim için konumlandırarak serinin hidroksil grubunun etkinleşmesini sağlar; böylece ACh'nin ester bağının hidrolizi gerçekleşir. Yani, enzim önce güçlü bir nükleofil gibi davranır. Sonrasında ise özgün bir serin kalıntısının nükleofilik hidroksil grubu yardımıyla güçlü bir parçalayıcı gruba dönüşür (Koçancı ve Aslım, 2016). AChE'nin en önemli biyolojik görevi, sinaptik boşlukta serbest halde bulunan ACh'yi hidrolizle CoA ve koline dönüştürüp ortadan kaldırarak sinirsel iletimi sonlandırmasıdır. Yapılan pek çok çalışma, AChE'nin hidroliz görevi haricinde metabolizmada başka görevlerinin de olduğunu göstermiştir.



Şekil 9. AChE katalizlediği reaksiyon

Bu görevlerinin bazıları şunlardır:

Apoptozda görevli AChE; Apoptoz, belirli morfolojik özelliklere sahip, enerji (ATP) kullanılarak yapılan programlanmış bir hücre ölümüdür. *In vivo* ve *in vitro* çalışmalar, AChE düzeylerinin apoptotik hücrelerde arttığını göstermiştir (Koçancı ve Aslım, 2016).

Tümör baskılayıcı AChE; Hepatoselüler karsinoma (HCC) hastalarıyla yapılan çalışmalarda, ameliyat sonrası tümör yayılma ve tekrar nüks etme durumları için HCC hücrelerinin duyarlılığını düzenleyerek tümör gelişimini baskılayan bir işlevi olduğu gözlenmiştir (Koçancı ve Aslım, 2016).

Hücre adezyonunda AChE; Hücrelerin birbiriyle ve hücre dışı matris ile temas ve etkileşimini sağlayan moleküllere adezyon molekülü denir. Yaraların iyileşmesi, doku yapısının korunması, embriyonik gelişmeler gibi olaylar, hücrelerin bu etkileşimi sayesinde oluşur. AChE'nin adezyon molekülü olarak işlevinin olup olmadığı bir mikro titre plaka yapışma tahlili kullanılarak kanıtlanmıştır (Koçancı ve Aslım, 2016).

Sinir ağı oluşumunda AChE; Sinir uyarısını iki sinir hücresi arasında ileten ip şeklindeki uzantılara sinir ipliği, akson denir. AChE'nin akson oluşumunu desteklediği çeşitli hücre kültürü çalışmalarında gözlenmiştir (Koçancı ve Aslım, 2016). Hastalığın seyrinde hafıza kaybı gözlenen hastalarla yapılan çalışmalarda, iki sinir hücresi arası sinirsel iletimi sağlayan ACh'nin sinaptik boşlukta çok kısa sürede hidrolizlendiği ve miktarının hızlıca azaldığı fark edilmiştir. Bu sebeple, sinir iletiminin sağlıklı gerçekleşebilmesi için ACh hidrolizini sağlayan AChE enziminin inhibe edilmesi gerektiği kanısına varılmıştır. Bu duruma örnek olarak Alzheimer hastalığı verilebilir. Alzheimer hastalarıyla yapılan çalışmalarda ACh miktarının bu hastalarda azaldığı saptanmıştır. Hastalığın tedavisi için AChE'nin inhibe edilerek ACh miktarının artırılmasını esas alan pek çok çalışma yapılmıştır (Göçer vd., 2013). AChE inhibitörleri, enzimin ACh'nin bağlarını kopararak hidrolizlemesini engeller. Böylece sinirsel iletim aktifliği ve süresi artar. Kolinesteraz inhibitörlerine takrin (tetrahydroaminokridin, THA), piperidinler, galantamin, kafein (nonkompetitif), örnek gösterilebilir (Temel, 2008).

1.4. Butirilkolinesteraz enzimi

Omurgalılarıdaki kolin esterleri iki tip kolinesteraz enzimi tarafından hidroliz edilir. Bu enzimler, butirilkolinesteraz (BChE; açilkolin açilhidrolaz) ve asetilkolinesteraz (AChE; asetilkolin hidrolaz)'dır (Cummings, 2000). Asetilkolin hidrolizi bu iki enzim tarafındanda katalize edilir. Enzimlerden AChE enzimi, asetilkolini BChE enziminden daha hızlı hidrolizler. AChE'nin inhibe olduğu durumlarda ise BChE enzimi daha önem arz eder. Çünkü düşük düzeyde BChE enzimi asetilkolin hidrolizine etki edemez (Greg vd., 2005). AChE ile BChE'nin yapıları benzer olsada, inhibitörlere duyarlılıkları, substrat özgünlüğü ve dokulardaki dağılımı bakımından farklılık gösterirler. Kolin esterleri arasında butirilkolini (BCh) en hızlı parçalayan BChE enzimi iken asetilkolini AChE enzimi daha hızlı parçalar (Miller vd., 2006).

BChE merkezi sinir sisteminin sinapslarında bulunmaz bu bölgedeki asetilkolin yıkımına katkısı olmaz. BChE, ACh metabolizmasında tamalayıcı görevi almaktadır (Imramoysky vd., 2013). BChE yalnızca kolin esterlerini değil, kolin içermeyen esterleri ve bazı kas gevşeticiler ile anestezi ajanların da parçalanmasını sağlayabilmektedir. Ayrıca enzimin özgül substratı olan BCh beyin dokularında doğal olarak bulunmaz (Barta vd., 2001; Mesulam vd., 2002). Bu enzim birçok ester türünü, ACh'yi ve diğer kolin bileşiklerini hidrolize etmesine rağmen, şimdiye dek BChE için

fizyolojik bir doğal substrat tanımlanamamıştır (Nicolet vd., 2003). Hidrolizlediği esterlerin en önemlileri dubukaindir ve süksinilkolindir (Pohanka vd., 2011). Alzheimer hastalığının ilerleyen aşamalarında BChE, ACh hidrolizinde görev olmaya başlar ve her iki enzim içinde etkili olan inhibitörler daha uzun süre etkin olur (Rodriguez-Franco vd., 2005). Alzheimer hastalığının tedavisinde başlarda BChE enzim aktivitesi artarken, tedavi devam ederken enzimin aktivitesi azalır. Bu sebeple hastalığın biyo belirteci BChE enziminin konsantrasyon miktarı olur (Das vd., 2012). Alzheimer hastalığının son evrelerinde beyinde belirli bölgelerde BChE aktivitesi artarken AChE enzim aktivitesi ciddi oranda düşer (Greig vd., 2001). Kontrolsüzce reaktif türlerin oluşması ve antioksidanların yetersizliği sonucu oluşan oksidatif stres de Alzheimer hastalığının erken evrelerinde ciddi hasarlara sebep olur (Omar vd., 2017). Bu nedenle antioksidan yeteneği yüksek kolinesteraz enzim inhibitörleri tercih sebebi olurlar

Çalışmamızda incelediğimiz hordenin maddesinin de AChE ve BChE enzimlerini inhibe edici özellikleri araştırılacaktır ve elde edilen sonuçlar rapor edilecektir.

1.5. Alzheimer Hastalığı

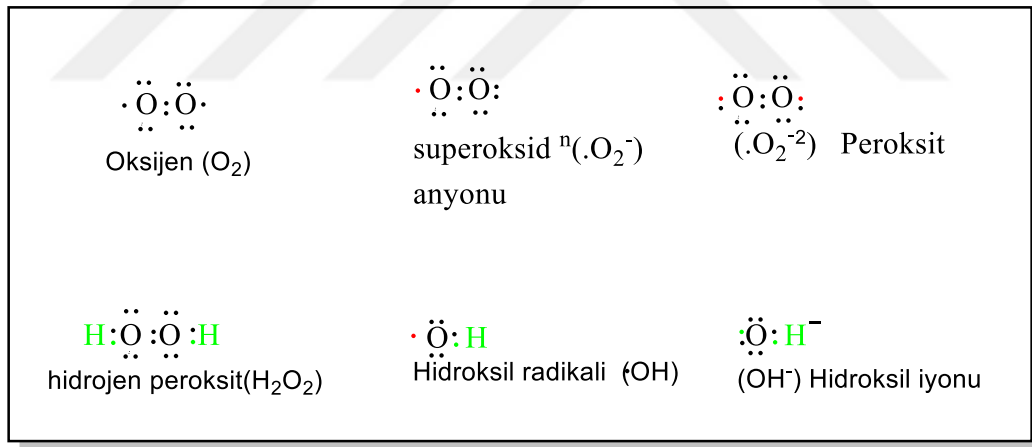
Bunama olarak halk içinde adlandırılan demans hastalığının en yaygın görülen hali Alzheimer, çeşitli nedenlerle beyin hücrelerinin ölmesinden dolayı kişinin bilişsel fonksiyonlarının gerilemesine sebep olan geri dönüşümsüz nörolojik bir hastalıktır. Alzheimer ile azalan beyin hücreleri ile büzüşerek küçülen beyin sonucunda hafıza problemleri, rutin aktivitelerini gerçekleştirme güçlüğü ve kişisel özelliklerinde değişimler oluşmaktadır (Temel, 2008; Gençay, 2013).

Alzheimer hastalığında görülen nöron ve akson kaybı ACh'nin düşük konsantrasyonlarda salınımına sebep olur. ACh salınımının daha düşük olması, sinir iletiminde yani bilgilerin aktarımında sorun oluşturmaya başlar. Bu sorunu çözmek için ACh içeren maddeler verip ACh düzeyini arttırmak veya ACh hidrolizleyip miktarının azalmasına sebep olan AChE'nin inhibe edilmesi uygulanan yöntemlerdendir. ACh'nin sinaptik boşlukta mümkün olduğunca uzun tutulması, hastalığın tedavisinin temeli olarak görülür. Bu amaçla hastalığın tedavisinde takrin, donepezil ve rivastigmin gibi AChE inhibitörleri sıkça kullanılır. Yapılan çalışmalarla kullanılan bu kimyasalların vücutta karaciğer hasarı ve sindirim sistemi bozuklukları gibi sorunlara yol açtığı gözlemlendiğinden, onların yerine daha etkili ve güvenilir doğal AChE inhibitörleri araştırılmaktadır (Temel, 2008; Gençay, 2013; Göçer vd., 2013). Alzheimer hastalığında kullanılan ilaçlarda azot içeren heterosiklik yapılarda kimyasallar bulunur (Temel, 2008; Gençay, 2013; Göçer vd., 2013). Bu yapılar AChE enzimini inhibe eden bir özelliğe

sahiptir. Bu çalışmamızda incelediğimiz hordenin maddesinin böyle bir madde olduğu düşünülmektedir.

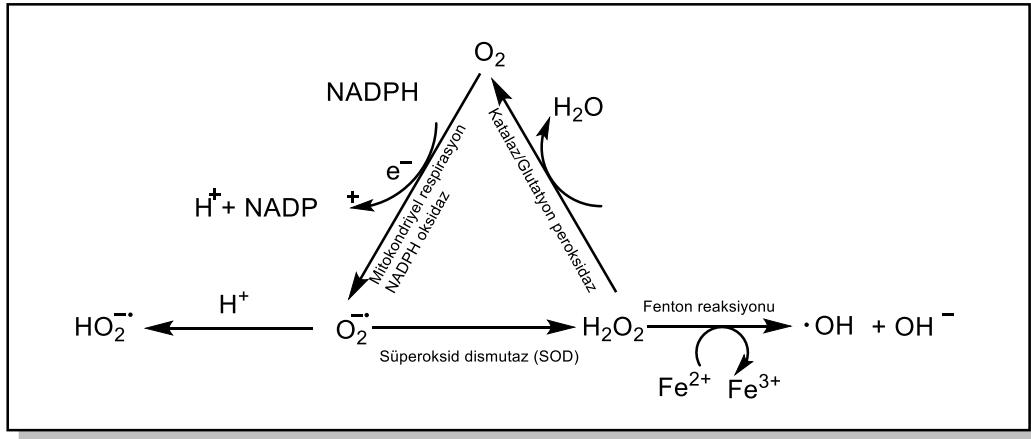
1.6. Serbest Radikaller

Oksijen, canlı hayatı için önemli ve gerekli bir elektron alıcısıdır. Bitkilerin fotosentez sonucu açığa çıkardığı serbest oksijen atmosferde %21 oranında bulunur. Oksijenli solunumla beraber canlının bünyesine aldığı oksijenin %90'lık kısmı elektron transport zincirinde (ETS), geri kalan küçük miktarı ise oksijen gerektiren diğer reaksiyonlarda kullanılır (Nar, 2011). Oksijen, elektron transport zincirinde mitokondriler tarafından enerji (ATP) üretiminde kullanılır. ATP üretimindeki esas, flavin adenin dinükleotid (FAD) nikotin adenin dinükleotid (NAD), flavin mononükleotid (FMN), gibi elektron taşıyıcıları aracılığıyla enerjice zengin (yağ asidi, glukoz ve amino asitlerin karbon iskeleti) maddelerin oksidasyonudur. Mitokondrilerde oksijen kullanılarak ATP üretildiği bu doğal süreçte H_2O_2 , O_2^- ve OH^- gibi reaktif oksijenlere reaktif oksijen türleri (ROS) olarak tanımlanır. Bu ROS'nin serbest radikaller oluşturacağı pek çok çalışmayla kanıtlanmıştır (Gülçin, 2020).



Şekil 10. Reaktif oksijen türleri (Aslan ve Karahalil, 2019)

Serbest radikal türlerinin çoğu, oksijenin mitokondrilerde suya indirgenmesi ile oluşur. Haliyle, oksijen organizmadaki radikallerin de kaynaklarından biridir. Oksijenin farklı orbitallerde ortaklaşmamış tek elektronları vardır (Temel, 2008).



Şekil 11. Reaktif oksijen türlerinin üretimi (Aslan ve Karahalil, 2019)

Serbest radikaller, yapılarında tek sayıda elektron bulunan (ortaklaşmamış elektronlu) ve bu atomik veya moleküler yapısından dolayı kararsız, kısa ömürlü, molekül ağırlığı küçük ve oldukça aktif moleküllerdir (Abdollahi vd., 2003). Hücredeki başka moleküllerle etkileşime giren serbest radikallerin ortaklaşmamış elektronları, hücreye hasar verirler. Hücre ve dokuları bu zarardan korumak için oksidan ve antioksidan sistemlerin dengede olması gereklidir. Bu dengenin bozulması olayı oksidatif stres olarak adlandırılır (Gülçin, 2020). Canlı organizmada normalden fazla serbest radikal üretimi ya da antioksidan savunma sistemi yetersizliği sonucu oluşacak oksidatif stres, hücre hasarı hatta hücre ölümüne sebep olur (Akyol, 2004).

Serbest radikaller organizmada, eksojen ve endojen kaynaklarca üretilir. Bu üretim hücrede sürekli (Aksoy, 2002).

Tablo 1. Endojen ve ekzojen serbest radikal kaynaklar (Aksoy, 2002).

Endojen kaynaklar	Ekzojen kaynaklar
Oksidan enzimler	Pestisitler
Oksidasyon tepkimeleri	İlaç oksidasyonları
Redox tepkimeleri	Sigara, alkol
Mitokondriyal elektron transport zinciri	Güneş ışığı
Fagositik hücreler	Isı şoku
Endotelial hücreler	

Kararsız yapıya sahip serbest radikal, ortaklaşmamış elektronunu eşleyip kararlı hale geçmek için etrafındaki birleşiklerden elektron almak ister. Serbest radikalın elektron aldığı birleşik, yeni bir serbest radikale dönüşür. Böylece oluşan zincirleme reaksiyonlar metabolizmaya zarar verir ve canlı için bir tehdit unsuru haline gelir. Bu reaksiyonlar, antioksidanlarca sonlanana kadar devam eder. Serbest radikallerin gerçekleştirdiği bu tepkimeler temelde dört şekilde gerçekleşir. Serbest hidrojen atomu olan bir molekülle

etkileşip kendisi hidrojen atomunu bağlayarak kararlı hale geçerken, diğer molekülü serbest radikale dönüştürebilir. Stabil bir molekülle reaksiyona girip sonuçta yine bir radikal oluşturabilir. İki serbest radikal tepkimeye girerek kararlı bir bileşik oluşturabilir ve benzer iki radikal tepkimeye girerek her ikisi de kararlı halde moleküllere dönüşebilir (Yamada vd., 2005; Temel, 2008).

Serbest radikaller immun sistemini düşürdüğünden birçok hastalığa ve erken yaşlanmaya neden olurlar. Bu sebeple antioksidanlar, hücre koruma ve dokuların bozulmasıyla ortaya çıkan hastalıklara karşı korunmada büyük bir öneme sahiptir. Yapılan pek çok çalışma, antioksidanların serbest radikallerin zararlı etkilerinden koruduğunu ortaya koymuştur (Gökpınar vd., 2006).

1.7. Antioksidanlar

ROS oluşturmamak, bu maddelerden kaynaklanan hasarların önüne geçmek ve detoksifikasyonu sağlamak için organizmada çalışan savunma sistemine “antioksidan savunma sistemi” ya da “antioksidan” olarak tanımlanır (Gökpınar vd., 2006). Antioksidanlar, serbest radikallerin zararlarını engelleyip onları organizmadan temizleyen maddelerdir. Serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif strese karşı en önemli kurtarıcılardandır (Huang vd., 2005).

Antioksidanlar, ilk olarak İkinci Dünya Savaşı’ndan önce gıdaları korumak için kullanılmıştır. Bu ilk antioksidanlar doğal maddelerdi. Zamanla, bu doğal antioksidanların yerini daha ucuz, daha tutarlı ve yüksek saflıkta antioksidan özelliklere sahip sentetik maddeler aldı (Gülçin vd., 2002).

Antioksidanlar, insan vücudu tarafından doğal olarak üretilbilir veya dışarıdan diyetle birlikte alınabilirler. Vücutta üretilen endojen antioksidanlar, enzim görevi yapan ve enzim olmayan antioksidanlar, dışarıdan aldığımız eksojen antioksidanlar sentetik ve doğal antioksidanlardır. Endojen ve eksojen antioksidanların her ikisi de serbest radikalleri etkisiz hale getirip temizleyici olarak çalışır. Böylece savunma sisteminin hastalıklara karşı koruyucu etkisini artırır (Gülçin, 2012).

Tablo 2. Endojen ve eksojen antioksidanlar (Gülçin vd., 2003b).

Antioksidanlar			
Endojen antioksidanlar		Eksojen antioksidanlar	
Küçük moleküller	Enzimler	Doğal	Sentetik
Adrenalin	Glutasyon reduktaz	Katekinler	BHT
Askorbik Asit	Peroksidaz	Flavonlar	TBHQ
Serotonin	Katalaz	Karotenler	Propilgallat

Tablo 2. (Devamı)

Antioksidanlar			
Melatonin	Glutasyon peroksidaz	Fenoller	BHA
Glutasyon	Süperoksit dismutaz	Tokoferoller	EDTA

Endojen antioksidanlar: Metabolizmada doğal olarak meydana gelen antioksidanlardır. Enzimler ve enzim olmayan diye 2 farklı kategoriye ayrılırlar. Enzim grubunda yer alan antioksidanlara; katalaz (CAT), glutasyon peroksidaz (GSHPx), süperoksit dismutaz (SOD), örneklendirilebilir. Antioksidan enzim olmayanlar içinde miyoglobin, melatonin, hemoglobin, serotonin, bilirubin gibi pek çok molekül sayılabilir (Gülçin vd., 2003).

SOD enzimi, organizmayı oluşturan tüm hücreler için esansiyeldir. Beş farklı formu vardır. Vücutta bol miktarda bulunan, Mangan-SOD (Mn-SOD) mitokondrilerde, bakır-çinko (CuZn-SOD) sitoplazmada tespit edilmiştir (Kireççi, 2018).



SOD enzimi, süperoksit anyonunun hidrojen peroksit molekülüne dönüşüm reaksiyonunu katalizlemektedir. Bu enzim, süperoksit radikalinin ($O_2^{\cdot -}$) zararlarına karşı oksijeni metabolize ederek hücreyi korur (Aslankoç vd., 2019). SOD'un antioksidan etkilerinden biri de süperoksit ile Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgenme reaksiyonunda etkin rol alarak ile Hidroksil radikalı ($OH^{\cdot}$) oluşumunu engeller (Kireççi, 2018).

GSHPx, özellikle mitokondride ve kısmen sitozolde yer alarak hidrojen peroksidi suya dönüştüren temel bir antioksidan enzimdir. Diğer antioksidan mekanizmalarla birlikte çalışarak hücreyi oksidatif tehditlerden korur ve E vitamini yetersiz olduğunda hücre zarının peroksidatif hasar görmesini önler (Fattman vd., 2003). GPx'in etkinliği selenyum düzeylerinden etkilenmekte olup, bu durum enzimi selenyuma bağımlı ve bağımlı olmayan formlara ayırmayı mümkün kılar. SOD, süperoksit radikalini elektron transferiyle H_2O_2 'ye dönüştürürken, selenyum ve katalaza bağımlı GPx oluşan H_2O_2 molekülünü suya parçalar (Cnubben vd., 2001). Araştırmalar, GPx düzeylerindeki azalmanın antioksidan savunma ağının zayıflamasına yol açtığını ortaya koymaktadır. Bu savunma kaybı, hücre zarındaki yağ asitleri ile fonksiyonel proteinlerde oksidatif hasarın birikmesine, bunun sonucunda nörotoksisite, nörodejeneratif süreçler ve kalıcı doku hasarının gelişmesine neden olur (Chabory vd., 2009).

Katalaz (CAT); Bu enzim peroksizomlarda bulunan, yapısında dört hem grubu olan bir enzimdir. H_2O_2 'yi su ve oksijene dönüştürür. Hidroksil radikali ($OH\cdot$) oluşumunu önlemek için çalışır (Aslankoç vd., 2019). Sıçan kalbinde bulunan mitokondri harici memeli hücrelerinin mitokondrilerinde yoktur (Ighodaro ve Akinloye, 2018).

Mitokondri içinde bulunan moleküler oksijen suya dönüştürülürken, toplam oksijen tüketiminin yaklaşık %1-2'si hidrojen peroksit ve süperoksit gibi sitotoksik reaktif türlerin oluşumuna yol açar. Bu radikaller mitokondri yapısına zarar verebilir. Hücre, bu tür oksidatif hasarı önlemek için antioksidan savunma mekanizmaları ile tepki gösterir. Mitokondride meydana gelen süperoksit radikalleri öncelikle Mn-SOD ve glutatyon peroksidaz enzimleri aracılığıyla etkisiz hale getirilir. Buna karşın, H_2O_2 'nin bir kısmı mitokondriyi terk ederek sitoplazmaya geçer (Radi vd., 1991). Sitoplazmada biriken H_2O_2 'nin zararsız hale getirilmesi ise katalaz (CAT) enzimi tarafından sağlanır. (Radi vd., 1991).

Peroksizomlardan sentezlenen CAT, glutatyon peroksidaza göre daha yüksek konsantrasyonlardaki H_2O_2 'yi temizler (Radi vd., 1991). Glutatyon peroksidazın H_2O_2 'ye karşı K_m değeri katalaza göre daha düşüktür. Yani, glutatyon peroksidaz daha küçük konsantrasyonlarda H_2O_2 'yi parçalar.

Melatonin (N-asetil-5-metoksi triptamin), pineal bez tarafından salgılanan ve karanlıkta üretildiği bilinen güçlü bir antioksidan hormondur. Bu hormon; hücre yenilenmesini destekleme, bağışıklık sistemini güçlendirme, uyku döngüsünü düzenleme ve vücut ısısının kontrolüne katkı sağlama gibi birçok önemli biyolojik işlev üstlenir (Claustrat vd., 2005). Hem suda hem de lipit fazında çözünebilmesi sayesinde, hücre zarından organellere ve çekirdeğe kadar tüm hücre içi yapılara kolayca ulaşarak serbest radikallerin oluşturduğu hasara karşı koruma sağlar (Pandi-Perumal vd., 2008). Melatonin, hidroksil radikali ($\cdot OH$) gibi en reaktif serbest radikalleri bile etkisiz hâle getirebilen oldukça güçlü bir antioksidan olarak tanımlanmaktadır (Gülçin vd., 2002).

Melatonin, sahip olduğu çeşitli biyokimyasal özellikler nedeniyle β -karoten, E vitamini ve C vitamini gibi klasik antioksidanlardan ayrılır. Diğer antioksidanların aksine redoks döngüsüne katılmaz ve radikal oluşumuna yol açan reaksiyonlara girmekten kaçınır. Ayrıca yüksek dozlarda bazı antioksidanların prooksidan etki gösterebildiği bilinmesine karşın, melatoninin belirli prooksidan enzimleri baskılayarak serbest radikal üretimini azalttığı ve bu yönüyle antioksidan savunma sistemini desteklediği bildirilmektedir (Pandi-Perumal vd., 2008).

Ekzojen antioksidanlar: Endojen antioksidanların koruyucu etkisini artırmak amacıyla antioksidan özelliğe sahip ancak organizma içinde üretilmeyen, dışarıdan alınan pek çok ajan bulunmaktadır. Dışarıdan alınan bu ajanlara ekzojen antioksidanlar denir. Ekzojen antioksidanlar doğal ve sentetik olarak iki grupta sınıflandırılabilir (Gülçin vd., 2002).

Doğal antioksidanların serbest radikalleri etkisiz hale getiren pek çok bileşeni vardır. En çok bilinen doğal antioksidanlara örnek olarak tokoferoller, vitamin C, fenolik bileşikler sınıfından olan karotenoidler ve flavonoidler verilebilir (Gülçin, 2012). Bitki tohum, gövde ve yapraklarında da oldukça fazla antioksidan bulunur. Bu nedenle insan diyetinde meyve ve sebze miktarının fazla olması, vücudun pek çok hastalıktan korunmasını sağlar (Ak ve Gülçin, 2008; Gülçin, 2012).

β -Karoten (Vitamin A), yağda çözünebilen bir karotenoittir. A vitaminine dönüşebilen bir provitamindir. Retinada retinole dönüşür ve karanlıkta görüşü destekler. Güçlü bir antioksidan ve iyi bir oksijen temizleyicisidir (Pham-Huy vd., 2008).

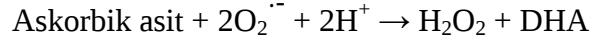
β -karoten, lipoproteinlerin (LDL) yapısında yer aldığından, düşük yoğunluklu LDL oksidasyonunu korur. Böylece hücre membranlarının ve dokuların yıkımına sebep olan zararlı radikalleri inaktive edebilmektedir (Ünlü, 2001).

Tokoferoller (E vitamini), yağda çözünebilen en önemli antioksidan moleküldür. Tokoferoller ve tokotrienollerin sekiz farklı tipi vardır. Bunlar; α , β , γ , δ alt grup olarak sıralanmaktadır. Biyolojik olarak en aktif formu α -tokoferoldür (Goti vd., 2001). Sentezleri sadece bitkisel organizmalar tarafından olur. α -tokoferol formu, kloroplast membranlarında yer alırken bitkiyi oksidatif strese karşı korur (Hofius ve Sonnewald, 2003).

Poliansatüre yağ asitleri, hidrokarbon zincirindeki en az iki veya daha fazla çift bağ içeren doymamış yağ asitleridir. E vitamini, hücre zarı fosfolipitlerinin içerdiği bu poliansatüre yağ asitleri için koruyucu bir savunma hattı oluşturur. Süperoksitleri, hidroksil radikalleri, lipid peroksitleri gibi pek çok radikali indirger. Lipid peroksidasyonunu zincir kırıcı etkisi ile sonlandırır (Gökpinar vd., 2006). Hücre membranlarındaki lipid peroksidasyonu sonucu oluşan radikallere karşı koruyucu etki sağlar. Ayrıca membranların akıcılığını ve geçirgenliğini düzenler. Membranları zararlı etkilere korumak için membranlardaki yağ asitleri ve lizofosfolitlerle kompleks oluşturur (Hofius ve Sonnewald, 2003).

Askorbik asit (C vitamini), suda çözünen ve çoğu meyve ile bitkide bulunabilen bir antioksidandır. Kolay elektron verebilen ve kendiliğinden okside olabilen bir yapısı vardır (Gülçin, 2012).

Askorbik asit, redükte edici (elektron verici) bir ajan olduğu için moleküler oksijen, nitrat, sitokrom a ve c'yi indirgeyebilir. Bir elektronun verilmesi sonucu askorbat, semidehidroaskorbat (DHA) radikaline dönüşür. DHA oluşturmak için süperoksit ve hidroksil radikalleri ile askorbat reaksiyona girer. DHA, vitamin C kaynağı olarak işlev görür (Kireççi, 2018).



Karotenoidler, ·OH, alkoksil ve peroksil grubu radikalleri direkt etkileyen antioksidanlardır. Lipit peroksidasyon zincir reaksiyonunu önleyebilirler. β-karoten, singlet oksijeni bastırabilir. Likopen, singlet oksijen uzaklaştırıcı en güçlü karotenoiddir (Aslankoç vd., 2019).

Karotenoidler temel olarak iki grupta incelenir: Yapılarında yalnızca karbon ve hidrojen bulunan karotenler ve en az bir oksijen atomu içeren oksokarotenoidler (ksantofiller). β-karoten, α-karoten ve likopen, karoten grubunun önde gelen üyeleri, zeaksantin, lutein, α- ve β-kriptoksantinler, astaksantin ve kantaksantin önemli ksantofillerdir (Stahl ve Sies, 2005).

Karotenoidler, A vitamini sentezinde önemli rol oynar. Antioksidan özellikleri konjuge yapıda reaktif çift bağ içermelerinden kaynaklanır. Karotenoidlerin başta akciğer kanseri olmak üzere kanser önleyici etkisi olduğuna ilişkin güçlü kanıtlar halen gözlenmektedir (Tee, 1992).

Ürik asit, pürin metabolizmasının son ürünüdür. Endojen antioksidanlardan kabul edilir. Singlet O₂, peroksil radikalleri, ozon ve HOCl için iyi bir temizleyicidir. Lipit peroksidasyonunu engelleyerek koruyucu olarak görev yapabilir. Geçiş metallerini şelatlar (Kumar vd., 2015). Güçlü bir serbest radikal süpürücü olmasının yanı sıra demir ve bakır gibi metal iyonlarının şelatörleri olarak da hareket eder (Waring, 2002).

Taurin, sistein ve metiyoninden sentez edilir. Hücre membran stabilizasyonu, hücre içi kalsiyum seviyesi düzenlenmesi, safra asidi konjugasyonu ve kolesterol atılımı gibi görevleri vardır. HOCl'yi N-klorotaurine dönüştürerek hücre içerisinde oluşabilecek oksidan hasarı engeller (Aslankoç vd., 2019). Kalsiyum konsantrasyonunun artması merkezi sinir sisteminde enerji üretimini engeller. Taurin, hücreleri hipoksiden korumak için kalsiyum konsantrasyonunun aşırı artmasına engel olur. Taurin, antioksidan yapısı ile membran fosfolipitlerini etkileyip lipit peroksidasyonunun önüne geçer. Lipit peroksidasyonunun son ürünü malondialdehit

(MDA) düzeyini düşürür. Ayrıca antioksidan yapısıyla sülfonik asit grubuyla serbest metal iyonları ve oksidan metallerle bağlanabilir (Huxtable, 1992).

Albümin, plazmadaki önemi ve etkisi yüksek antioksidanlardandır. Yapısındaki sistein 34'ün indirgenmesi sayesinde albümin hidroksil temizleyebilir. Hipokloröz asit, güçlü bir oksidan bileşiği oluşturur. Nötrofil ve monosit gibi aktif fagositler, myeloperoksidaz enzimini salıverir. Bu enzim, hipokloröz asidin (HOCl) oluşmasını katalize eder. Albümin, oluşan HOCl oksidanlarını temizleyebilir; böylece HOCl'nin öncelikli biyolojik hedefindeki α -antiproteazın değiştirilmesinin önüne geçer (Roche vd., 2008).

Tablo 3. Ana antioksidanların sınıflandırılması (Çaylak, 2011).

Antioksidan Enzimler	Rolü	Özellikleri
Superoksit dizmutaz (SOD)	$O_2^{\cdot -}$ i H_2O_2 'ye dönüştürür.	Manganez içerir. Bakır ve çinko içerir. Manganez ve demir içerir. Nikel içerir. Bakır içerir.
Katalaz (CAT)	H_2O_2 'yi H_2O 'ya çevirir.	Peroksizomlerde yer alan tetramerik bir proteindir.
Glutasyon peroksidaz (GPx)	H_2O_2 ve lipid peroksitlerini etkisizleştirir.	Selenoprotein (Se^{+2} içerir), daha çok sitozolde, az olarak mitokondride bulunur ve GSH kullanır.
Antioksidan Vitaminler	Rolü	Özellikleri
α -tokoferol	Lipit peoksidasyonunu kırar. Lipit peroksitlerini $O_2^{\cdot -}$ ve $OH^{\cdot}$ 'yi temizler.	Yağda çözünür.
β -karoten	Peroksi radikalleri ile $O_2^{\cdot -}$ ve $OH^{\cdot}$ 'yi temizler. Vitamin A'nın oksidasyonunu önler. Geçiş metallerini bağlar.	Yağda çözünür.
Askorbik asit	Direk olarak $O_2^{\cdot -}$, $OH^{\cdot}$ ve H_2O_2 'yu temizler. Nötrofiller tarafından uyarılan antioksidanları nötralize eder. Vitamin E'nin rejenerasyonunu sağlar.	Suda çözünür.

1.8. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler, en etkili ve önemli doğal antioksidan gruplarındandır. Bitkinin bütün bölümlerinde yer alabilmektedirler. Aromatik halka sahibi, birden fazla hidroksil ($OH^{\cdot}$) grubu içeren organik bileşiklerdir. Bitki kökenlidirler ve bitkilerde bolca bulunurlar. Bilinen en etkili bitkisel fenolik antioksidanlar sinnamik asit türevleri,

flavonoidler, tokoferoller, kumarinler ve fenolik asitlerdir. Antioksidan özelliği yüksek moleküllerin dışarıdan alınması şarttır (Gülçin, 2012; 2020).

Tablo 4. Fenolik bileşiklerin gruplandırılması (Gülçin, 2012)

Fenolik Bileşikler	
Fenolik Asitler	Flavonoidler
Hidroksisünamik Asitler	Antosiyanidinler
Hidroksibenzoik Asitler	Flavonlar/Flavonoller
	Kateşinler (flavanoller)
	İzoflavonoidler
	Proantosiyanidinler
	Flavanonlar

Fenolik bileşikler, aromatik halkalarındaki oksijeni kolayca vererek protein, nükleik asit, karbonhidrat gibi biyolojik moleküllerin ve lipidlerin oksidasyonunu önler (Burda ve Oleszek, 2001). Bu bileşik sınıftan sayılan flavonoid ve fenolik asitlerin antioksidan kapasiteleri çok yüksektir. Bu bileşiklerin antioksidan kapasiteleri, aromatik halkaya bağlı olan hidroksil grubu sayısı ve konumuna göre farklılık gösterir (Gülçin, 2012).

Tablo 5. Flavonoid alt sınıfları (Gülçin, 2012)

Flavonoid Alt Sınıfı	Diyet Flavonoidleri (aglikonlar)	Bazı Yaygın Gıda Kaynakları
Antosiyanidinler	Siyanidin, Delphinidin, Malvidin, Pelargonidin, Peonidin, Petunidin	Kırmızı, mavi ve mor meyveler; kırmızı ve mor üzümler; kırmızı şarap
Flavan-3-ols	Monomerler (Kateşinler): (+)-Kateşin, (-)-Epikateşin, (-)-Epigallokateşin, (+)-Gallokateşin; ve bunların gallat türevleri	Çaylar (özellikle beyaz, yeşil ve oolong), kakao bazlı ürünler, üzümler, meyveler, elmalar
	Dimerler ve Polimerler: Proantosiyanidinler	Elmalar, meyveler, kakao bazlı ürünler, kırmızı üzümler, kırmızı şarap
	Theaflavinler, Thearubiginler	Siyah çay
Flavonoller	Isorhamnetin, Kaempferol, Myricetin, Quercetin	Soğan, yeşil soğan, kara lahana, brokoli, elma, meyveler, çaylar
Flavonlar	Apigenin, Luteolin, Baicalein, Chrysin	Maydanoz, kekik, kereviz, acı biber
Flavanonlar	Eriodictyol, Hesperetin, Naringenin	Turuncgiller ve meyve suları, örneğin portakal, greyfurt, limon
İzoflavonlar	Daidzein, Genistein, Glisitin, Biochanin A, Formononetin	Soya fasulyesi, soya gıdaları, baklagiller

Fenolik bileşikler, geçiş metalleriyle şelat oluşturabilmeleri, zincir kırma işlevleri, elektron veya hidrojen verme özelliklerinden dolayı iyi birer antioksidandır. Serbest

radikallerin hücreye girmesini engellemek için membranların geçirgenliğini azaltır ve lipidlerin yerleşim sırasını değiştirirler. Peroksidasyon reaksiyonlarını sonlandırırlar. Bitki hücrelerinde meydana gelen H_2O_2 'nin süpürülmesi reaksiyonlarında da etkilidirler (Paganga vd., 1999; Harborne ve Williams, 2000).

Bitkilerin yaprak, tohum ve köklerinden izole edilen ve fenolik bileşikler olan flavonoidler, aromatik aminoasit olan tirozin ve fenil alaninden oluşmaktadır. Radikal süpürücü ve metal şelatlayıcı etkileri çok yüksek olduğu bilinmektedir (Gülçin, 2012).

Karotenoidlerde, fenolik karaktere sahip yağda çözünen antioksidanlardandır. Domates, havuç, portakal gibi meyve ve sebzelerin sarı, turuncu, kırmızı ve yeşil renklerini oluştururlar (Frel, 1994). Kanserli hücrelere müdahaleleri ve tümörlerin büyümelerini engelleme özellikleri vardır (Kahyaoğlu ve Kıvanç, 2007). β -Karatence zengin diyetleri olan metabolizmalarda kalp rahatsızlığı, hepatosit ve dermatolojik kanserlerin görülme ihtimali düşük olduğu gözlenmiştir (Harvey ve Champe, 2007).

Sentetik antioksidanlar, önceleri gıda maddelerinin uzun ömürlü olmaları için endüstride kullanılmıştır. Bu antioksidanların en bilinenleri bütillenmiş hidroksi tolüen (BHT), bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), propilgallat (PG) ve tersiyer bütıl hidrokinon (TBHQ) dur (Gülçin, 2012). Sentetik antioksidanların ucuz olmaları, katı ve sıvı yağların çözünürlüklerinin artırılması gibi yararlı işlevleri yanında, kanserojen ve toksik etkilerinin olmasından dolayı kullanımları yasal olarak kısıtlanmıştır (Wichi, 1988, Sherwin, 1990, Hudson, 1990). Bu yüzden doğal antioksidanlara olan ilgi son yıllarda artmıştır. Ayrıca, tüketicilerin tercihlerinin doğal antioksidanlara doğru dönüşmesi de sentetik antioksidanların yerini doğalları ile değiştirme çalışmalarını artırmıştır (Gülçin, 2006b; 2012).

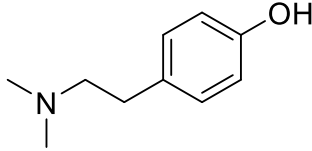
Canlı organizmadaki serbest radikal/antioksidan dengesi, sağlıklı yaşamın devamı için çok önemlidir. ROS oluşumunun önüne geçek için, bu maddelerden dolayı oluşan hücre hasarından korumak ve organizmanın kendisine zararlı olan toksik maddelerden arınmasını sağlamak için vücutta çalışan savunma sistemlerine “antioksidan savunma sistemleri” ya da “antioksidanlar” adı verilir. Antioksidan savunma sistemi dört yolla etki gösterir (Gökpınar vd., 2006).

Süpürücü etki: Serbest radikalleri etkileyerek tutup yok eder. Antioksidan enzimler ve küçük moleküller bu şekilde etki ederler. İnaktif şekle dönüştürücü etki: Hidrojen aktarımı yaparak serbest radikallerin aktifliklerini azaltırlar. Flavonoidlerin ve vitaminlerin etki şekli böyledir.

Zincir kırıcı etki: Serbest radikallerin zincirlerini kırıp çalışmasını engellerler. Bunlara örnek olarak mineraller, seruloplazmin ve hemoglobin gösterilebilir.

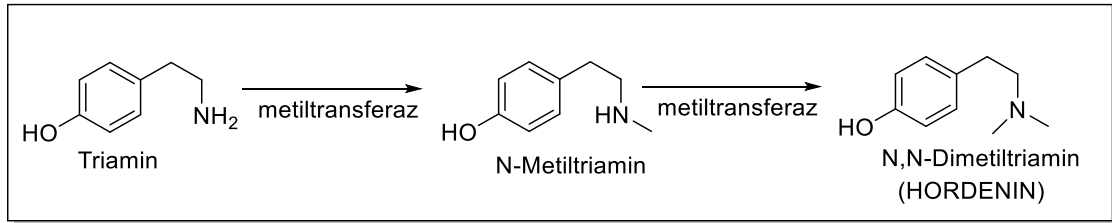
Onarıcı etki: Diğerleri serbest radikalleri inaktif hale getirmek için çalışırken, onarıcı etkide serbest radikallerin yol açtığı hasarların onarılması esas alınır (Gökpınar vd., 2006).

1.9. Hordenine (Anhaline) (Hord, 4-(2-Dimetilaminoetil) Fenol)



Şekil 12. Hordenin

Kara bitkilerinden ilk defa 1894 yılında *Anhanolium fissuratus*'tan izole edilerek elde edilen (Heffter, 1894) hordenin (HOR), 1969'da bir deniz yosunundan izole edilen ilk alkaloit olarak da bilinir (Güven vd., 1970). Birçok bitkide doğal olarak bulunabilen (Su vd., 2018) HOR bileşiğinin yapısı 1906'da açıklığa kavuşturulmuş bir feniletilamin alkaloididir. Halka dışında azot taşıyan proto-alkaloitler grubuna dahildir ve *p*-hidroksifenil metil dimetilamin formülüne sahiptir (Tanker, 1990). Tiraminin metil transferaz enzimi ile iki kez metillenmesi ile oluşur (Hapke ve Strathmann, 1995).



Şekil 13. Tiramin metilasyonu

HOR (glutelinler) ve hordein (prolaminler) arpanın (*Hordeum vulgare*) başlıca depolama proteinleridir. HOR, sadece arpanın çimlenmesi sırasında ve 3-9 gün içerisinde maksimum konsantrasyonuna ulaşır; fide yaşı arttıkça bu konsantrasyon azalır (Rietschel, 1937; Mann vd., 1963). Arpa içeren hayvan yemlerinin yutulmasından sonra atların kanında ve idrarında HOR saptanabilir. Yarış atları için bu durum yasaklı madde kullanımı olarak sayılabilir (Hapke ve Strathmann, 1995).

HOR, anti-inflamatuar ve antioksidasyon aktiviteleri dahil olmak üzere çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptir (Zhang vd., 2021). HOR, bilişsel yeteneği artıran nootropik (farmasötik olmayan bilişsel güçlendiriciler) bir bileşiktir (Hoffman vd.,

2009). Norepinefrin seviyesini artıran bir monoaminoksidaz B (MAO-B) inhibitörüdür ve bu nedenle norepinefrin ve noradrenalin alım inhibitörü olarak kabul edilir (Frank vd., 1990).

HOR'un diyabetik nefropatide anti-inflamatuar etkilere sahip olduğu (Su vd., 2018) ve *Pseudomonas aeruginosa* ile *Serratia marcescens*'e karşı bir çekirdek algılama inhibitörü olduğu (Zhou vd., 2018; Zhou vd., 2019) çeşitli çalışmalarda gözlenmiştir. Bu çalışmalar, inflammatuar hastalıkların tedavisi için HOR'un bir ilaç adayı olarak potansiyeli olduğunu göstermektedir (Zhou vd., 2019).

Akut solunum sıkıntısı sendromu ve akut akciğer hasarı, güçlü bir inflammatuar yanıtın eşlik ettiği akciğer dokusunun hasar gördüğü solunum yolu hastalıklarıdır (Butt vd., 2016; Komiya vd., 2017). Zhang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, HOR'un inflammatuar sitokin artışlarını *in vivo* ve *in vitro* olarak inhibe ederek lipopolisakkarit kaynaklı ALI'yi hafiflettiği gözlemlenmiştir. Bu gözlenen inflammatuar hastalığı önleme potansiyeli ise HOR'un inflammatuar hastalıkların tedavisi için ilaç adayı olduğunu göstermiştir (Zhou vd., 2019; Zhang vd., 2021).

İnsan akciğer kanseri (A549 ve H1299) hücrelerinin hücre canlılığı üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, seçilen kanser hücrelerinin hücre canlılığına erişmek için hücreler artan konsantrasyonlarda HOR ile tedavi edilmiştir. Hücre canlılığı çalışması sonuçları, HOR'un doza bağımlı bir şekilde A549 ve H1299 hücrelerinin büyümesini inhibe ettiği ve akciğer kanseri hücrelerinin büyümesini engellediği bulunmuştur. Akciğer kanseri hücre hatları üzerindeki önemli sitotoksik etkisi ve PDK3 kinaz aktivitesini inhibe etmek için yeni bir yapı iskelesi olabilmesi, HOR'un akciğer kanseri ve diğer PDK3 ile ilişkili hastalıkların terapötik yönetiminde çok etkili olduğunu ortaya koymuştur (Anwar vd., 2020).

Piruvat dehidrojenaz kinaz 3 (PDK3), farklı hücrelerin büyümesi ve hücre döngüsü regülasyonu ile ilişkili önemli bir enzimdir (Lu vd., 2011; Xu vd., 2019). PDK3'ün aşırı ekspresyonu, farklı kanser hücrelerinin büyümesine yardımcı olur (Koukourakis vd. 2005). Çeşitli çalışmalarda sentetik ve doğal maddeler ile PDK3'ün inhibisyonunun kanser hücresi büyümesinde bir azalmaya yol açtığı ortaya çıkmıştır (Yang ve Guo 2018; Sur vd., 2019; Feng vd., 2019). Anwar ve arkadaşları, HOR'un PDK3'e güçlü bir şekilde bağlanıp kinaz aktivitesini azalttığını gözlemlemiştir. HOR'un umut verici bir anti-kanser kullanımı ile potansiyel bir PDK3 inhibitörü olduğunu ileri sürmüşlerdir. Dolayısıyla, HOR kendisinden veya türevlerinden, kanserin ve diğer PDK3 ile ilişkili hastalıkların klinik yönetimi için güçlü ve seçici PDK3 inhibitörlerinin geliştirilmesinde kullanılabileceği görülmüştür (Anwar vd., 2020).

Ayrıca, beslenme davranışını engeller. Böcekler ve insanlar üzerinde idrar söktürücü etkisi vardır. Merkezi sinir sistemini etkiler (Schweitzer ve Wright, 1938). HOR, bağırsak peristaltizmini azalttığından antidiyareik olarak kullanılır (Tanker, 1990). Kalp üzerinde olumlu bir inotropik etkiye sahiptir; sistolik ve diyastolik kan basıncı, periferik kan hacmi ve bağırsak hareketini engeller (Hapke ve Strathmann, 1995).

Dünya çapında diyabet ve ilişkili metabolik hastalıkların prevalansı çarpıcı biçimde artmıştır. Diyabetin farmakolojik tedavisi halen sınırlıdır. Streptozotosin (STZ) ile indüklenen diyabetik farelerde HOR'un olası anti-diyabetik etkisini araştırmak için tasarlanmış bir çalışmada (Su vd., 2018), HOR ve insülin kombinasyonunun, diyabetik farelerde kan şekeri seviyesini düşürdüğü gözlemlenmiştir. HOR ve insülin, diyabetik farelerde böbrek hasarını iyileştirmek için sinerjistik olarak işlev görmüştür. Böbrekte antioksidan savunmayı artırmak, inflamasyonu ve fibrozu inhibe etmek için sinerjik roller oynamıştır. Diyabetik nefropatiyi önlediği görülmüştür (Su vd., 2018). HOR ve insülinin kombine tedavisi, diyabetik farelerde açlık ve tokluk kan şekeri seviyesini önemli ölçüde azaltmıştır. HOR ve insülin, pankreasın yapısal ve fonksiyonel yaralanmalarına karşı belirgin bir koruyucu etki göstermemiştir. Renal histolojik ve fonksiyonel yaralanmalar, HOR veya insülin tedavisi ile önemli ölçüde iyileştirilmiştir. Ayrıca, HOR ve insülinin kombine tedavisi, diyabetik farelerde renal histolojik ve fonksiyonel yaralanmalarda daha önemli bir iyileşme ile sonuçlanmıştır (Su vd., 2018).

HOR ihtiva eden çimlenmiş arpanın melanogenez üzerindeki etkilerini araştırmak için yapılan bir çalışmada, çimlenmiş arpa özütü, konsantrasyona bağlı bir şekilde insan melanositlerindeki melanin içeriğini önemli ölçüde inhibe ettiği gözlemlenmiştir (Kim vd., 2013).

1.10. Çalışmanın Amacı

Bu tez kapsamında kullanılan hordenin bileşiğinin antioksidan, anti-inflamatuvar ve anti-kanser bir madde olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada da hordenin bileşiğinin *in vitro* şartlarda antioksidan etkisini araştırmayı hedefledik. Canlılarda antioksidan savunma sistemi bozulmaya başlar ve oksidatif stres artarsa hücreler zarar görür. Bu durumun oluşmaması için canlıda antioksidan üretiminin artması veya doğal yollarla dışarıdan antioksidan alınması büyük önem taşır. Bu sebeple doğal antioksidanların önemi artmış ve bu yöndeki çalışmalar hız kazanmıştır (Gülçin vd., 2010).

ROS'ların yol açtığı hastalıklardan biri olan Alzheimer hastalığının günümüzde kesin bir tedavisi bulunmamaktadır. İlaç tedavisi hastalığın ilerleyişini geciktirmek için

uygulanmaktadır. Uygulanan tedavide kullanılan takrin maddesinin canlı vücutunda karaciğer hasarına sebep olduğu ortaya çıkarılmıştır. Bu sebeple de kullanımına sınırlamalar getirilmiştir.

Araştırmamızda fenolik madde olan hordeninin antioksidan kapasitesini araştırıp sonrasında AChE ve BChE enzimleri etkisinde inhibisyon bulgularına göre takrin ile sonuçlarını kıyaslamayı hedefledik. Çalışmamızda kullanılan hordenin bileşiğinin beş farklı yöntem kullanılarak antioksidan aktivitelerini belirlemeyi hedefledik. Bu amaç için demir indirgeme kapasitesi yöntemi, CUPRAC yöntemi, ABTS^{•+}, DPPH[•] ve DMPD^{•+} radikali giderme aktivitesi yöntemleri kullanıldı. Hordenin bileşiğinin antioksidan kapasitesinin belirlenmesini amaçladık. Enzim olarak AChE ve BChE kullanarak elde ettiğimiz verilere göre IC₅₀ ve K_i grafiklerinin oluşturulmasını ve grafiklerden elde edilen sonuçlara göre inhibisyon türlerinin belirlenmesini hedefledik. Yapılan çalışmalar sonucunda ise elde ettiğimiz verilerden yola çıkarak hordeninin antioksidan bir madde olduğunu, özellikle hücre hasarı ile başlayan Alzheimer hastalığının tedavisi için kullanılabilecek ilaç için ön *in vitro* çalışma literatüre sunulması hedeflenmiştir.

2. MATERYAL VE METOT

2.1.Kullanılan Kimyasallar ve Ekipmanlar

ABTS^{•+}, DPPH[•], DMPD^{•+}, linoleik asit, ABTS^{•+}, α -tokoferol, ferrozin, BHA, BHT, troloks, bakır (II) klorür (CuCl₂), K₂O₈S, hidroklorikasit (HCl), kurşun (II) tiyosiyanat (SCN), demir (III) klorür (FeCl₃), tris, asetilkolin iyodat, butirilkolin iyodat, trikloroasetik asit (TCA), tris, takrin, hordenine kimyasalları Sigma-Aldrich'ten temin edilmiştir.

Etüv	(Nükleon)
Hassas terazi	(OHAUS)
Manyetik Karıştırıcı	(Velp)
Otomatik pipetler	(Eppendorf)
pH metre	(Edge pH)
Spektrofotometre	(Thermo)
Vortex	(WiseStir)

2.2.Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması

2.2.1. ABTS^{•+} Radikal Giderme Aktivite Yöntemi

2.50 mL'lik ABTS^{•+} içerisine 0.02 g K₂O₈S çok yavaş bir şekilde eklenerek homojen bir karışım elde edene kadar 30 dakika manyetik karıştırıcıyla karıştırılarak çözüldü. Sonrasında ABTS^{•+} çözeltisinin hazırlanması için 50 mL saf su içerisine 0.075 g ABTS^{•+} eklenip çözüldü. Standartlar ve hordenin çözeltisinden deney tüplerine değişen konsantrasyonlarda ilave edilip içerisine ABTS^{•+} serbest radikal çözeltisinden 500 μ L eklenerek toplam hacim 2 L'ye etil alkol ile tamamlandı. Her bir deney tüpü vorteks ile karıştırılarak 30 dakika karanlık ortamda inkübasyon gerçekleşti. Etanoldan oluşan köre karşı absorbans 734 nm'de ölçüldü.

2.2.2. DPPH[•] Serbest Radikal Giderme Aktivite Yöntemi

50 mL etil alkol içerisine 0.050 g DPPH[•] eklenip çözülerek 0.001 M'lık DPPH[•] çözeltisi hazırlandı ve radikal oluşması beklendi (Blois, 1958; Gülçin, 2012). Bu şekilde serbest radikalın oluşturulması hedeflendi. Stok çözeltinin doğruluğunu teyit etmek için kontrol çözeltisi hazırlandı. Bunun için 2000 L etil alkol ve 500 μ L stok DPPH[•] çözeltisi

bir deney tüpüne eklenerek absorbens değeri kaydedildi. Deney tüpleri içerisine sırasıyla hazırlanan hordenin ve standartlar değişen konsantrasyonlarda aktarılıp tüplerin hacmi etil alkol ile 2 mL'ye tamamlandı. En son deney tüpleri içerisine hazırlanan DPPH[•] çözeltisinden 500 µL eklenerek 30 dakika karanlık ortamda bekletildi ve sonrasında kör olarak kullanılan etanole karşı 517 nm'de absorbensleri ölçüldü.

2.2.3. Fe³⁺-Fe²⁺ İndirgeme Kapasitesi Yöntemi

Bu metot için hazırlanan çözeltiler; %10'luk TCA, %1'lik K₃Fe(CN)₆ ve %0.1'lik FeCl₃ çözeltileri sırasıyla saf su ile çözülerek hazırlandı. 300 mL, 0.2 M'lık pH: 6.6 olan fosfat tamponu hazırlandı. Hordenin çözeltisi ve standart antioksidan çözeltileri 1 mg/mL konsantrasyonunda hazırlandı. Oluşan tepkime karışımına 1 mL %10'luk TCA ilave edildi. En son 0.25 mL %0.1'lik FeCl₃ ilavesi yapılarak 700 nm'lik dalga boyunda saf suya karşı absorbens değerlerine bakıldı.

2.2.4. Cu²⁺-Cu⁺ İndirgeme Kapasitesi Yöntemi (CUPRAC Metodu)

0.01 M CuCl₂ çözeltisinin hazırlanması için 0.033 g CuCl₂, 50 mL saf suda çözdürüldü. 5x10⁻³ M'lık etil alkollü neokuprin çözeltisinin hazırlanması için 0.035 g neokuprin, 50 mL etil alkolde manyetik karıştırıcı üzerinde çözüldü. 1 M'lık CH₃COONa pH: 6.5 tamponunun hazırlanması için 4 g CH₃COON, 40 mL destile suda çözülerek, pH'sı 6.5 olacak şekilde ayarlanıp, sonra çözeltinin hacmi 50 mL'ye saf su ile tamamlandı. Tez kapsamında hazırlanan bu çözeltilerden sırasıyla CH₃COONH₄ tampon çözeltisinden 0.125 mL, CuCl₂ çözeltisinden 0.01 M, 0.125 mL, neokuprin çözeltisinden de 7.5x10⁻³ M, 0.125 mL alınıp numunelere eklenip son hacim saf su ile 1 mL'ye tamamlandı. 30 dakika bekledikten sonra absorbens değerleri 450 nm'de saf suya karşı ölçüldü.

2.2.5. DMPD^{•+} Radikal Giderme Aktivite Yöntemi

0.1 M'lık DMPD^{•+} stok çözeltisi hazırlanıp 1 mL alındı. pH: 5.3, 0.1 M asetat tamponu içerisine eklendi. Kontrollü olarak 0.05 M'lık FeCl₃ çözeltisi tampon ve DMPD^{•+} çözeltisi içerisine eklendi. Hazırlanan bu çözelti ile optik dansite kontrolü yapıldı. Bu değerin 0.900±0.100 nm olana kadar çözelti miktarı ayarlandı. Hordenin ve kullanılan antioksidanların 10 ve 20 µg/mL'lik çözeltileri deney tüplerine konulup toplam hacim 0.5 mL olana kadar saf su ile tamamlandı. Deney tüplerinin içine 1 mL DMPD^{•+} çözeltisi ilave edildi. Ortalama 45-50 dakikalık inkübasyon sonrası 505 nm'de absorbensler ölçüldü.

2.2.6. Asetilkolinesteraz Enzim Aktivite Yöntemi

Asetilkolinesteraz inhibisyon aktivite testi Ellman'ın spektrofotometrik metoduna göre belirlenmiştir (Ellman vd, 1961).

30,27 g Tris, 5 mM'lık 0,370 g EDTA 200 mL destile suda çözülerek pH metre ile pH'sı 8 olacak şekilde toplam hacim 250 mL'ye destile su ile tamamlanarak 1 M'lık Tris/HCl çözeltisi hazırlandı. Sonrasında 0,145 g asetilkolin iyodat alındı ve 50 ml destile suda çözülerek 10 mm'lık asetilkolin iyodat çözeltisi hazırlandı. En son 0,01 g DTNB ve 0,5 g sodyum sitrat alındı 50 mL destile suda çözüldü ve 10 mM'lık DTNB (5,5'-Ditiyo-bis (2-Nitrobenzoik Asit) çözeltisi hazırlandı.

AChE için substrat olarak asetilkolin iyodür, aktivitenin ölçümü için sarı renkli 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) kullanılmıştır. Asetilkolin iyodür enzimatik hidrolizi ile açığa çıkan tiyokolinin DTNB ile reaksiyona girmesi sonucu meydana gelecek olan sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoik asit anyonu 412 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak izlenmiştir. Elde edilen absorbans verileri kullanılarak, inhibitör olarak değerlendirilen hordeninin AChE enzimi üzerindeki etkisi belirlenmiş ve bu bağlamda IC₅₀ (yarı maksimal inhibitör konsantrasyonu) ile K_i (inhibitör sabiti) değerleri hesaplanmıştır.

2.2.7. Butirilkolinesteraz Enzim Aktivite Yöntemi

Çalışmada, bütirilkolinesteraz (BChE) enzimi üzerine inhibitör etkilerin belirlenmesinde Ellman yöntemi (Ellman vd., 1961) esas alınmış; protokolde bazı modifikasyonlar yapılarak deneysel uygulama gerçekleştirilmiştir. Bu analizler, in vitro koşullarda gerçekleştirilmiştir.

Deneysel uygulamada ilk olarak, reaksiyon karışımının hazırlanması amacıyla 100 µL fosfat tamponu (NaH₂PO₄/NaOH, pH 7.7) ile 0.5 mM DTNB (5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoik asit)) çözeltisi reaksiyon küvetine ilave edilmiştir. Ardından, sırasıyla saf su, analiz edilecek kan örneği ve 10 µL BChE enzimi (2.255×10^{-3} EU) çözeltisi eklenerek toplam hacim 300 µL'ye tamamlanmıştır.

Hazırlanan karışım, 37°C sıcaklıkta 10 dakika süreyle ön inkübasyona bırakılmıştır. Ön inkübasyon süresinin sonunda, enzimatik reaksiyonun başlatılması amacıyla 50 µL 5 mM bütilyokolin iyodür çözeltisi substrat olarak ilave edilmiştir. BChE enzimi tarafından gerçekleştirilen substrat hidrolizi sonucunda oluşan tiyoalkanol ürünleri, DTNB ile reaksiyona girerek sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoat (TNB) anyonunu oluşturmuştur. Bu ürün, spektrofotometrik olarak 412 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değerleriyle değerlendirilmiştir.

Reaksiyon süresinin 5. dakikasında hem kontrol grubuna hem de inhibitör içeren örnek gruplarına ait absorbans değerleri spektrofotometre ile kaydedilmiştir. Elde edilen absorbans verileri kullanılarak, inhibitör olarak değerlendirilen hordeninin BChE enzimi üzerindeki etkisi belirlenmiş ve bu bağlamda IC_{50} (yarı maksimal inhibitör konsantrasyonu) ile K_i (inhibitör sabiti) değerleri hesaplanmıştır.

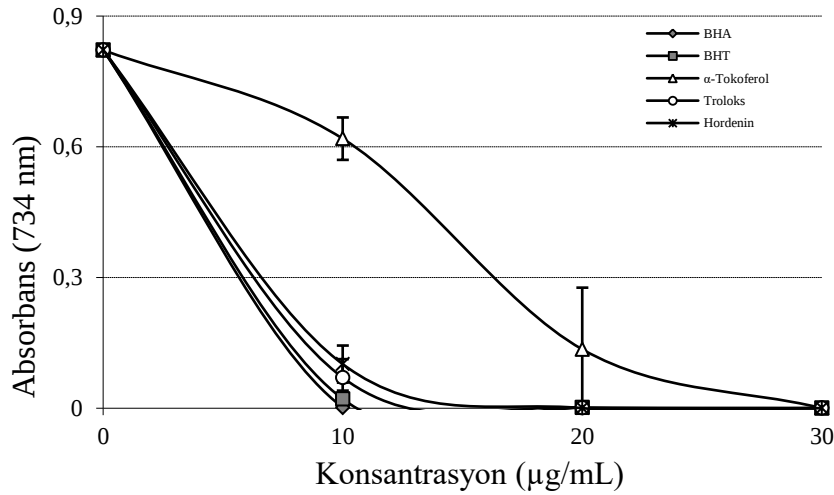


3. ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1.ABTS⁺ Radikal Giderme Aktivite Yöntemi

Hordenin ve çalışmada kullandığımız troloks, α -tokoferol, BHT ve BHA gibi antioksidanların ABTS⁺ giderme aktiviteleri tayini için konsantrasyon değerlerine denk olan absorbans grafiği oluşturuldu. Hordenin çözeltisi için ABTS⁺ radikali giderme aktivitesi grafiği çizimi yapıldıktan sonra her bir standart ve Hordenin çözeltisi için tek tek IC₅₀ değer hesaplamaları yapıldı. Hordenin IC₅₀ değeri 11.91 μ g/mL olarak belirlendi.

Hordenin ve çalışmada kullanılan standart antioksidanların ABTS⁺ giderme aktivitelerinin sırasıyla α -Tokoferol < Hordenin < Troloks < BHT < BHA olarak belirlendi.



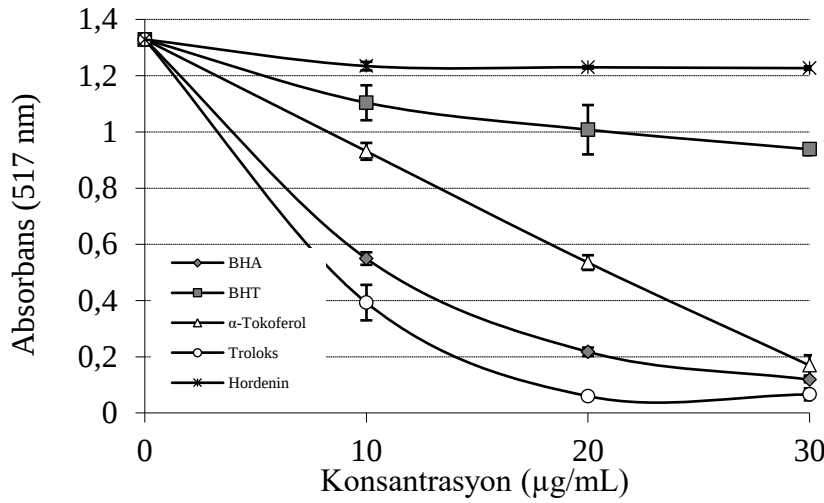
Şekil 14. ABTS⁺ radikal giderme aktivite grafiği

3.2. DPPH[•] Serbest Radikal Giderme Aktivite Yöntemi

Hordenin ve çalışmamızda kullandığımız BHT, BHA, troloks ve α -tokoferol gibi antioksidanların DPPH[•] serbest radikali giderme aktivitesi tespiti için konsantrasyon değerlerine denk olan absorbans grafiği oluşturuldu. Hordenin çözeltisinin DPPH[•] serbest radikali giderme aktivitesinin konsantrasyon ile paralel olarak arttığı görüldü.

Hordeninin ve kullanılan standart antioksidanların DPPH[•] radikali giderme aktivitesi bulgularının sıralaması: Troloks > BHA > α -Tokoferol > BHT > Hordenin olarak görüldü. Daha sonra ise DPPH[•] serbest radikali giderme aktivitesinin kullanılan

her bir standart ve hordenin için IC₅₀ hesaplamaları yapıldı. Hordenin bileşiği için IC₅₀ değeri 231 µg/mL olarak bulundu.



Şekil 15. DPPH· serbest radikali giderme aktivite grafiği

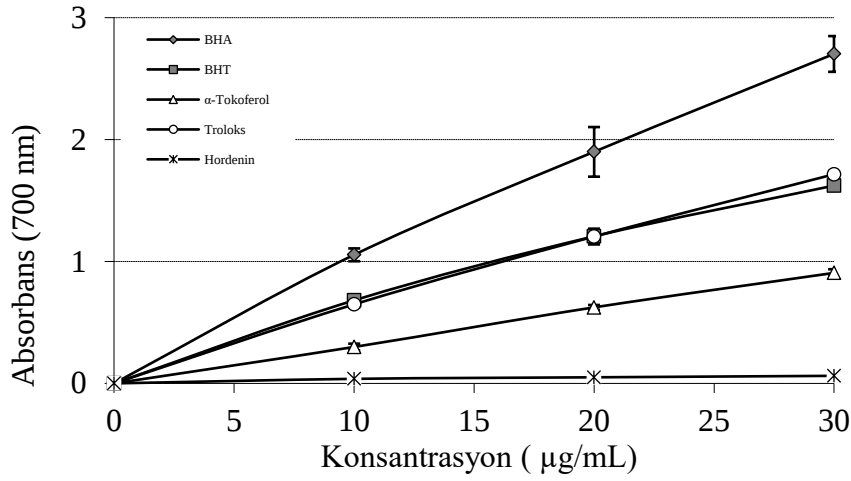
Tablo 6. DPPH·, DMPD²⁺ ve ABTS²⁺ radikali giderme aktivitelerinin IC₅₀ değerleri

Antioksidanlar	DPPH· (µg/mL)	ABTS ²⁺ (µg/mL)	DMPD ²⁺ (µg/mL)
BHA	8.25	11.68	14.40
BHT	53.31	11.71	*
α-Tokoferol	11.55	14.22	*
Troloks	5.92	11.84	0.80
Hordenin	231	11.91	19.80

* DMPD²⁺ giderme metodunda aktivite göstermemektedir (Gülçin, 2020).

3.3. Fe³⁺-Fe²⁺ İndirgeme Kapasitesi Sonuçları

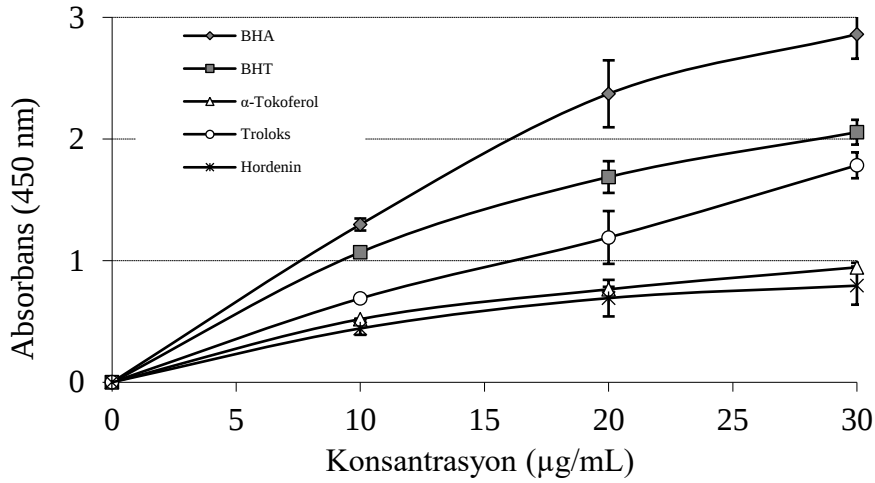
Demir indirgeme metoduyla bulduğumuz sonuçlar, standart antioksidanların güçlü indirgeme kapasitelerine sahip olduğunu göstermiştir. Aynı şekilde, tez kapsamında kullanılan hordenin bileşiğinin de standartlara paralel sonuçlar verdiği gözlenmiş olup, yüksek Fe³⁺-Fe²⁺ indirgeme kapasitesine sahip olduğu görülmüştür. Bu sonuçlara göre, konsantrasyon absorbans grafiği çizildikten sonra hordenin maddesinin bu indirgeme yönteminde absorbans değerini 0.062±0.011 olarak hesaplandı.



Şekil 16. Fe³⁺-Fe²⁺ indirgeme kapasitesi

3.4. Cu²⁺-Cu⁺ İndirgeme Kapasitesi Sonuçları

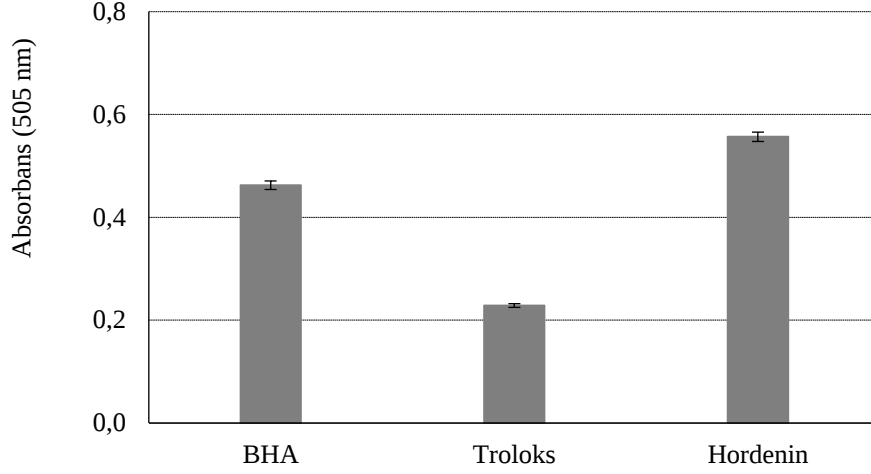
Hordeninin konsantrasyonu arttıkça, kuprik iyonlarını indirgeme kapasitesinin de arttığını gözlemledik. Konsantrasyon-absorbans grafiği çizildikten sonra hordenin için 20 µg/mL'ye denk gelen absorbans değeri 0.691±0.149 olarak bulundu.



Şekil 17. Cu²⁺-Cu⁺ indirgeme kapasitesi

3.5. DMPD^{•+} Radikal Giderme Aktivite Yöntemi

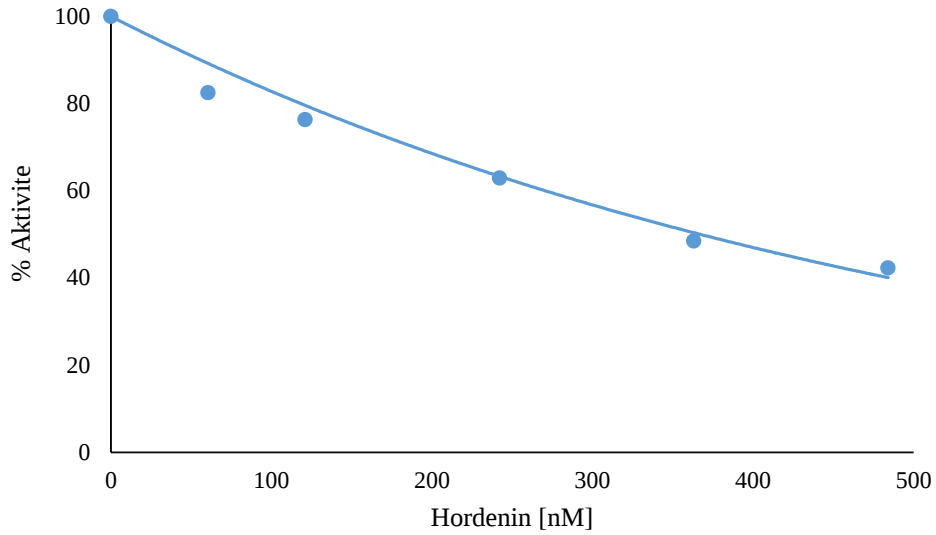
Hordenin, troloks ve BHA bileşiklerinin DMPD^{•+} giderme aktivite bulguları için absorbans grafiği çizildi. Kullanılan standart antioksidan molekülleri ile puerarin çözeltisinin DMPD^{•+} giderme aktivitesi sırasıyla Troloks > BHA > Hordenin şeklinde bulundu.



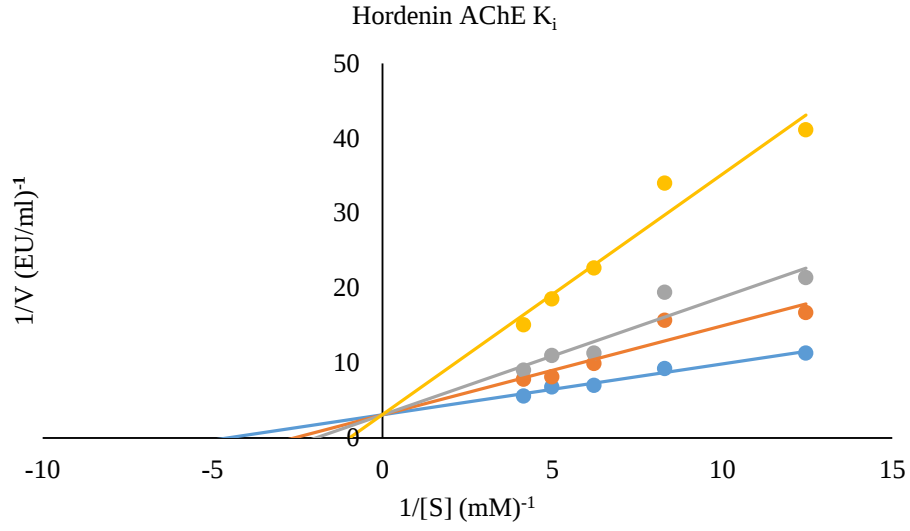
Şekil 18. DMPD⁺⁺ giderme aktivite grafiği

3.6. Asetilkolinesteraz Enzim Bulguları

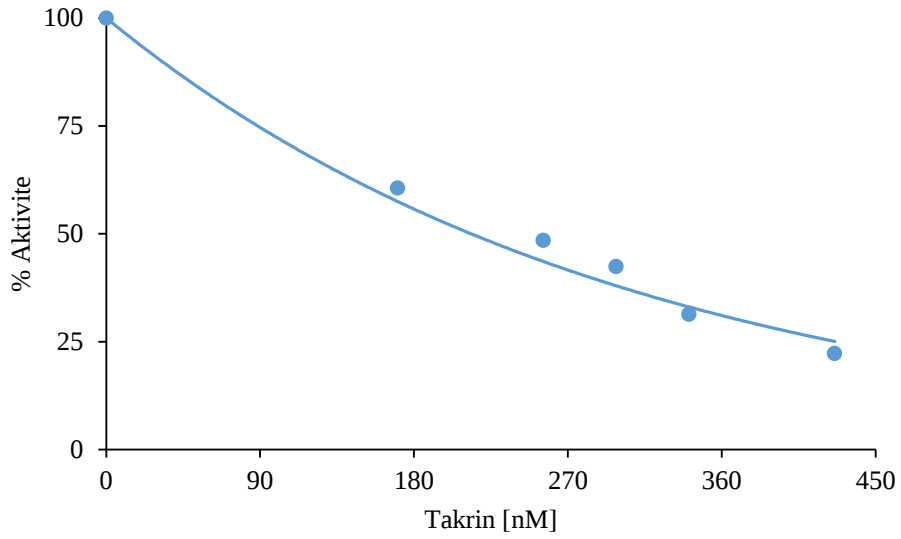
Hordenin ve takrin bileşiklerinin asetilkolinesteraz enzimi etkisindeki inhibisyon etkisi araştırıldı. Bulgularımızı asetilkolinesteraz yöntemini kullanarak belirledik. İnhibisyon etkisi gösteren hordenin ve takrin için ayrı ayrı aktivite-IC₅₀ ve K_i grafikleri çizildi.



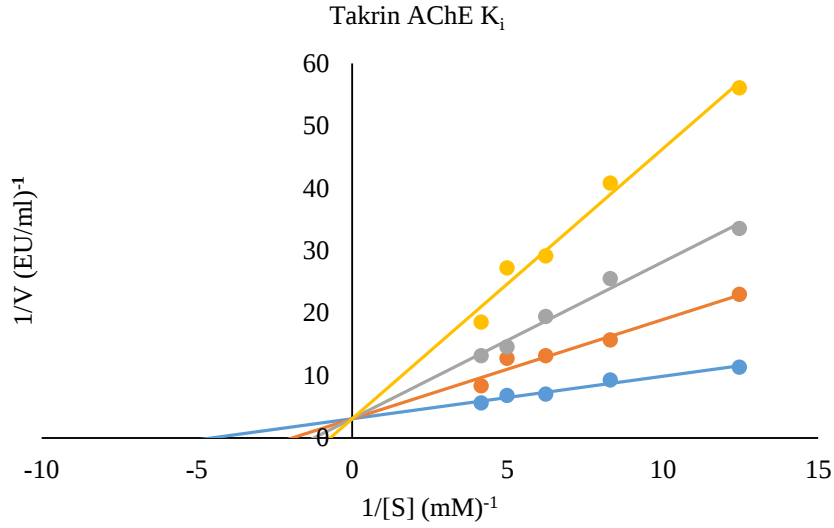
Şekil 19. AChE enzimi için çizilen aktivite (%)-[Hordenin] grafiği



Şekil 20. AChE enzimi için çizilen Lineweaver-Burk grafiği



Şekil 21. AChE enzimi için çizilen aktivite (%)-[Takrin] grafiği



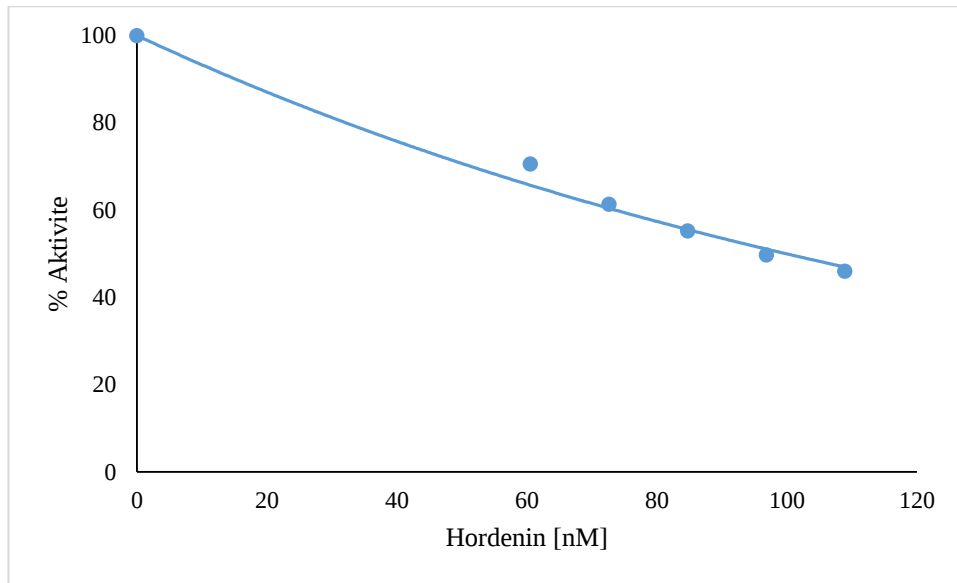
Şekil 22. AChE enzimi için çizilen Lineweaver-Burk grafiği

Tablo 7. AChE Enzimi için takrin ve hordeninin inhibisyon sonuçları

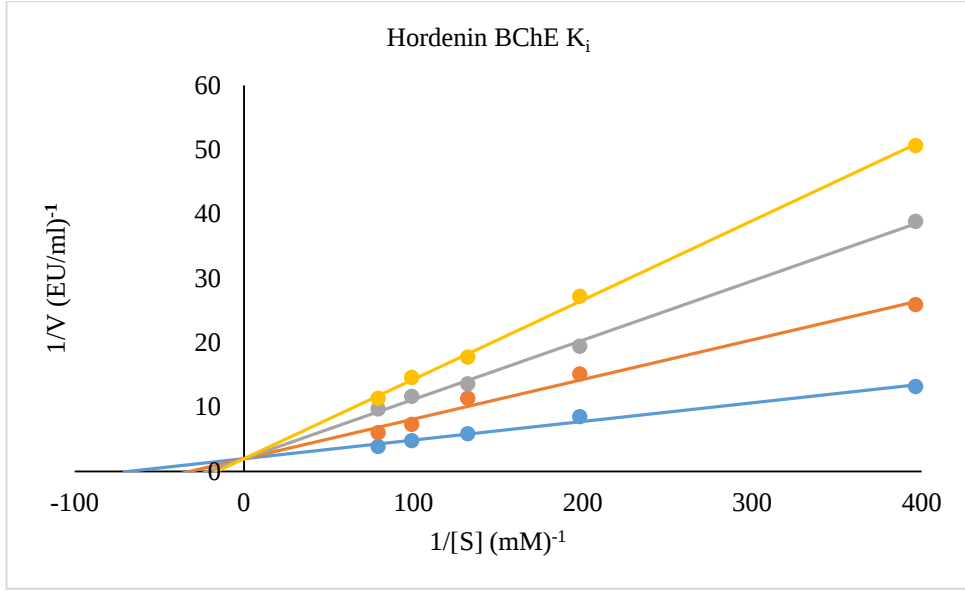
Molekül	AChE (nM)			
	IC ₅₀	R ²	K _i	İnhibisyon tipi
Hordenin	364.81	0.9772	254.92±95.48	Yarışmalı
Takrin	216.56	0.9679	115.88 ±45.10	Yarışmalı

3.7. Bütirilkolinesteraz Enzim Bulguları

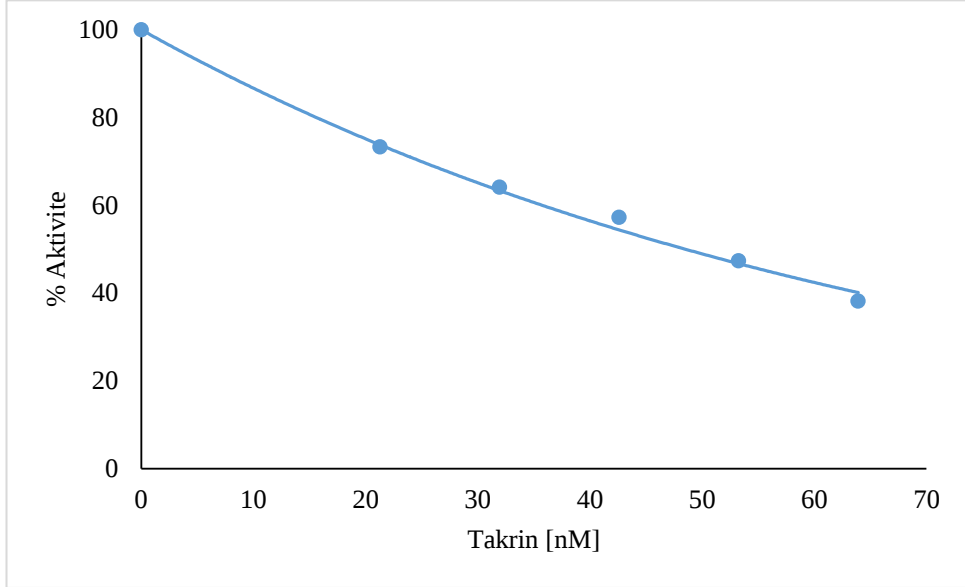
Hordenin ve Takrin için bileşiklerinin butirilkolinesteraz enzimi üzerine inhibisyon etkilerine bakıldı. Sonrasında her madde için IC₅₀ ve K_i grafikleri çizildi.



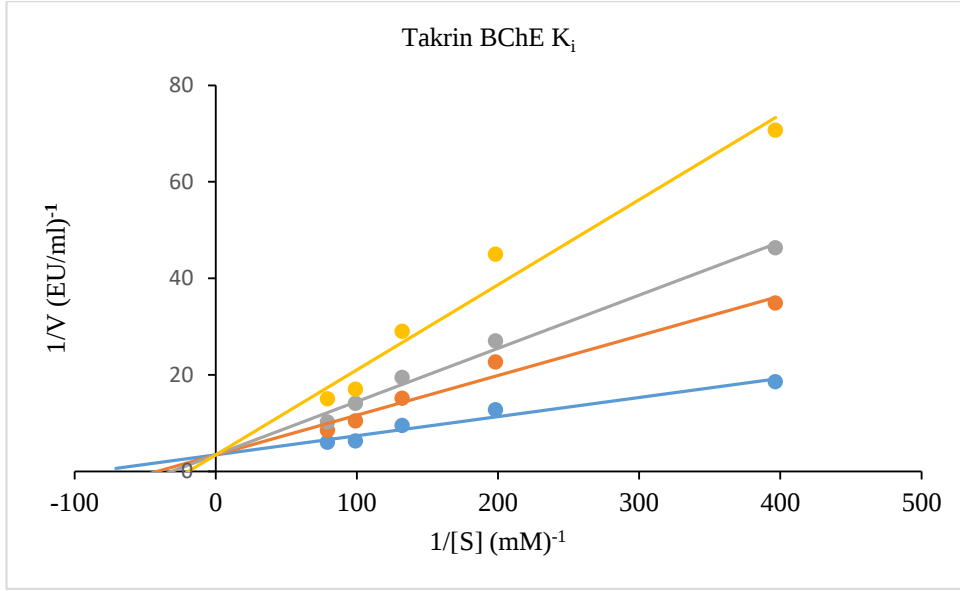
Şekil 23. BChE enzimi için çizilen aktivite (%)-[Hordenin] grafiği



Şekil 24. BChE enzimi için çizilen Lineweaver-Burk grafiği



Şekil 25. BChE enzim için çizilen aktivite (%)-[Takrin] grafiği



Şekil 26. BChE enzimi için çizilen Lineweaver-Burk grafiği

Aşağıdaki verilen Tablo 8’de BChE enzimi için takrin ve hordenin bileşiklerinin karşılaştırılması yapılarak inhibisyon türleri belirlendi.

Tablo 8. BChE enzimi için takrin ve hordenin bileşiklerinin inhibisyon sonuçları

Molekül	BChE (nM)			
	IC ₅₀	R ²	K _i	İnhibisyon tipi
Hordenin	100.46	0.9836	43.96±10.16	Yarışmalı
Takrin	48.47	0.9904	28.42 ±4.32	Yarışmalı

4. TARTIŞMA

Doğada her şeyin bir dengesi vardır. Sağlıklı insan metabolizmasında antioksidanları ile serbest radikalleri arasında denge vardır. Fakat bu denge serbest radikallerin artışı yönünde bozulmaya başladığında DNA, lipit ve proteinlerde oluşabilecek zararları ortaya çıkaran oksidatif stres oluşur. Oksidatif stres, beyin fonksiyonlarında bozulmalar, kalp hastalıkları, immün sistem zayıflaması ve kanser gibi hastalıkların oluşmasına yol açmaktadır. Oksidatif stres kaynaklı bu zararlardan korunabilmenin en önemli yolu antioksidanlardır. Bunun için metabolizma endojen antioksidanlar üretir. Ancak oksidatif stresin yoğun ve endojen antioksidanların yetersiz kaldığı durumda eksojen antioksidanların alınması daha fazla önem taşır (Shinde vd., 2012).

Artan nüfusun beslenmesine yetebilmek amacıyla teknolojik olarak geliştirilen Genetiği değiştirilmiş organizma (GDO) ürünlerinin kullanımının getirisi olarak oluşan hastalıklar sonucu insanlar doğal ürünleri tercih etmeye yönelmiştir. Haliyle hem gıda hem de tıp alanında sentetikten çok doğal katkılara eğilim artmıştır. Bu sebeple doğal antioksidan araştırmaları daha çok önem kazanmıştır (Topal vd., 2021).

Demir birçok canlı için önemli bir elementtir ve yaşamsal önem arz eder. Elektron alıp verebilmesinden dolayı DNA, RNA ve protein sentezinde, oksijen taşınması ve enerji yapımında yer alır.

Demir, taşınıp depolanırken vücutta hep iki oksidasyon durumu olan ferrik (Fe III) veya ferröz (Fe II) şeklindedir. Demirin redoks aktivitesi, faydalı olduğu kadar fazlalığı halinde serbest demir, prooksidan gibi davranabilir. Bu sebeple organizmada sıkı denetim halinde taşınıp depolanır ve konsantrasyonu sabit tutulmaya çalışılır (Uysal, 2007).

Kolinesteraz enzimlerinin inhibisyonlarının tayini, pek çok araştırma ve klinik uygulama için önem arz eder. AChE ve BChE enzimlerinin inhibisyon ölçümleri Alzheimer ve Parkinson gibi nörolojik hastalıkların tedavisi için yol göstericidir. Sinirsel iletimin sonlandırılması için önemli görevi olan kolinesteraz enzimleri, merkezi sinir sistemi fonksiyonlarının ve düzenli çalışmasının devamlılığı için gereklidir. Bu enzimlerin kandaki düzeylerinin gözlenmesi ile bazı genetik hastalıklara tanı konulmasında kullanılır. Cerrahi uygulamalarda da inhibisyonlarının araştırılması önemlidir. Doğal olarak AChE ve BChE enzimlerinin inhibisyon tayinleri, çok geniş alanda biyokimyasal ve klinik uygulamalar için gereklidir (Karaca, 2022).

AChE ve BChE'yi inhibisyonuyla alakalı çalışmalara baktığımızda, hünnap yaprakları kullanılan bir araştırmada hünnapın ekstraktının IC₅₀ değeri, AChE ve BChE için sırasıyla 62.30±2.54 ve 147.00±2.31 µg/mL olduğu gözlenmiştir. Bu değerlere göre iki enzim de iyi birer inhibitör olduğu gözlenmiştir (Zemouri-Alioui vd., 2019). Başka bir çalışmada ise kenevir (*Cannabis sativa L.*) yaprak etanol ekstresinin IC₅₀ değeri belirlendi. Sonuca göre kenevir (*Cannabis sativa L.*) yaprak etanol ekstresinin IC₅₀ değeri 10.19±2.28 µM olarak hesaplandı. Kenevir (*Cannabis sativa L.*) yaprak ve lif etanol ekstrelerinin ve takrinin AChE enziminin %50'sini inhibe eden konsantrasyonları, yani IC₅₀ değerleri belirlendi. Sonuçlara göre kenevir (*Cannabis sativa L.*) yaprak etanol ekstresinin IC₅₀ değeri 10.19±2.28 µM, kenevir (*Cannabis sativa L.*) lif etanol ekstresinin IC₅₀ değeri 23.47±3.21 µM ve standart takrin IC₅₀ değeri 23.33±9.88 µM olarak hesaplandı. Elde edilen sonuçlara göre kenevir (*Cannabis sativa L.*) yaprak etanol ekstresinin standart takrinden daha düşük IC₅₀ değeri olduğu için takrine göre daha iyi inhibitör olduğu bulundu (Vefaoğlu, 2024) Yaptığımız deneyler sonucunda hordenin maddesine ait IC₅₀ ve K_i değerleri AChE ve BChE için sırasıyla 364.81 nM, 254.92±95.48 ve 100.46 nM, 43.96±10.16 şeklinde gözlenmiştir. Bu değerler bize çalışmamızda kullandığımız hordenin maddesinin tıbbi ve farmakolojik açıdan değerlendirilebilecek bir madde olduğunu göstermiştir.

Tez çalışması kapsamında hordenin molekülünün çözeltisi hazırlanarak; Fe³⁺-Fe²⁺ indirgeme kapasitesi, CUPRAC metoduna göre Cu²⁺-Cu⁺ indirgeme kapasitesi, DPPH[•], ABTS^{•+} ve DMPD^{•+} radikali giderme aktivitesi olmak üzere farklı yöntemler tercih edildi. BHT, BHA, troloks ve α-tokoferol antioksidanları, standart olarak tüm yöntemler için kullanıldı. Elde edilen sonuçlara göre grafikler çizilerek karşılaştırmalar yapıldı.

Tablo 9. İndirgeme kapasitelerinin karşılaştırılması

Antioksidanlar	Fe ³⁺ -Fe ²⁺ İndirgeme	Cu ²⁺ -Cu ⁺ İndirgeme
BHA	2.703 ± 0.146	2.861 ± 0.201
BHT	1.623 ± 0.043	2.055 ± 0.102
α-Tokoferol	0.906 ± 0.029	0.944 ± 0.036
Troloks	1.716 ± 0.025	1.783 ± 0.106
Hordenin	0.062 ± 0.011	0.794 ± 0.156

Antioksidanların vücut tarafından sentezlenenleri olduğu gibi dışarıdan beslenme yolu ile de vücuda alınması mümkündür. Antioksidanlar, canlı yaşamının kalitesini artırırken antioksidan moleküller DPPH[•] radikalleri ile reaksiyon oluşturur ve proton verirler. Renk değişimi ise bu yöntemde 517 nm'de okunup kaydedildi. Çalışmamızda

Hordenin DPPH[·] radikali giderme aktivitesi ile ilgili antioksidan moleküller ve hordeninin IC₅₀ değerleri Tablo 6’de verildi. Buna göre; hordenin > BHT > α-tokoferol > BHA > troloks olarak belirlendi. Bu ölçüm sonuçlarına göre DPPH[·] molekülünün kimyasal yapısı büyük olduğu için sterik engele takıldığı, bu sebeple hordenin bileşiğinin IC₅₀ değerinin bu engelden dolayı yüksek olduğu düşünülmektedir. Hordenin ve standartların 10 mg/mL konsantrasyondaki giderme aktivitelerine ait % inhibisyonları karşılaştırılarak verildi.

Tablo 10. Hordeninin ve standartlara ait giderme aktivitelerinin % inhibisyonları

Antioksidanlar	ABTS ^{·+} Giderme	DMPD ^{·+} Giderme	DPPH [·] Giderme
BHA	99.76	51.33	58.69
BHT	97.45	*	16.93
α-Tokoferol	24.70	*	29.95
Troloks	91.48	82.71	70.43
Hordenin	87.71	57.77	7.15

* DMPD^{·+} giderme metodunda aktivite göstermemektedir (Gülçin, 2020).

Bu tez kapsamında hordenin ve standart antioksidanların ABTS^{·+} radikali giderme aktivitesinin IC₅₀ değerleri ise, α-tokoferol > hordenin > troloks > BHT > BHA olarak belirlendi.

Tablo 11. AChE ve BChE enzimleri için hordenin ve takrinin karşılaştırılması

Enzimler	Hordenin (nM)		Takrin (nM)	
	IC ₅₀	K _i	IC ₅₀	K _i
AChE	364.81	254.92±95.48	239.02	133.91±18.98
BChE	100.46	43.96±10.16	407.73	369.58±25.48

AChE ve BChE enzim antioksidanlarında Alzheimer hastalığı için kullanılan etken bir madde olan takrin ile de çalışma yapılmıştır. Elde edilen sonuçlarda hordeninin AChE enzim aktivitesinde IC₅₀ değeri 364.81 µg/mL iken, takrinde bu değer 239.02 µg/mL olarak bulunmuştur. BChE enzim aktivitesinde ise çıkan sonuçların IC₅₀ değerleri hordenin için 100.46 µg/mL iken, takrinin ise 407.73 µg/mL olduğu gözlenmiştir. Elde edilen ölçüm sonuçlarını kıyasladığımızda puerarinin takrine göre daha etkili sonuç verebileceği ortaya konmuştur. Dolayısıyla bu çalışmamızın

nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde farklı bir yöntem olarak kullanılabileceğini göstermiş olduk.



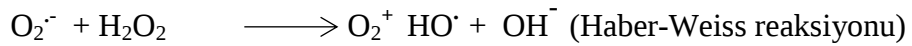
5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bakır, tüm canlılarda oksidatif metabolizma için gerekli bir elementtir. İnsan karaciğerinde demir ve çinkodan sonra en bol bulunan geçiş metalidir. Beyinde ise bakır, beyinin çalışma ve gelişimine destek olmak için pek çok redox reaksiyonunda enzimlerin kofaktör veya yapısal bileşeni olarak görev alır. Bakır bağımlı enzimler pek çok biyolojik süreçte yer alır. Antioksidan savunma sistemi, enerji ve demir metabolizması, nörotransmitter ve nöropeptid sentezi bunlara örnek gösterilebilir (Scheiber vd., 2014).

Redoks aktivitesi ve Cu^+ ve Cu^{2+} oksidasyon durumları nedeniyle bu metal, enzim fonksiyonları için temeldir. Demirle karşılaştırıldığında bakır, d-orbitallerindeki Janteller etkisi nedeniyle benzersiz elektron transfer özelliklerine sahiptir. (Bagheri vd., 2018). Bağırsaklarda demirin emiliminin gerçekleşmesi için bakır gereklidir ve bakır konsantrasyonundaki azalmalar demir emilimini de azaltmaktadır. Demir emiliminin azlığı dokulara yeterli oksijen taşınamamasına ve demir eksikliği anemisine sebep olur (Bagheri vd., 2018).

Alzheimer hastalığında, meta-analizler, serbest bakır olarak bilinen (nCu-Cu) bileşenindeki artışa bağlı olarak bakırın beyinde azaldığını, ancak serumda arttığını göstermektedir. Yani serum Cu düzeyindeki artışın bilişsel bozulmayla ilişkili olduğu görülmektedir (Squitti vd., 2018).

Bakır, proteince koordine edilmeyorsa veya enzimlere bağlı değilse, Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonları yoluyla serbest radikaller üretir (Siotto ve Squitti, 2018).



Alzheimer hastalığı, nörodejenerasyon, beyindeki yüksek ağır metal konsantrasyonları ve amiloid-beta plak birikimi ile karakterizedir. Bakırın, amiloid-beta plaklarının reaktif oksijen türleri oluşumunu teşvik etmek için kullanılabilen iki bakır bağlama bölgesi nedeniyle Alzheimer hastalığının gelişimi üzerinde daha önemli bir etkiye sahip olduğuna inanılmaktadır (Bagheri vd., 2018). Plaklara bağlandığında, bakır +I ve +II oksidasyon durumları arasında döngüler oluşturarak ROS oluşumunu artırır; ROS lipitlere, RNA'ya, DNA'ya veya proteinlere zarar verebilir, yaşlanmayı ve

muhtemelen Alzheimer hastalığını etkili bir şekilde ilerletir (Cheignon vd., 2017). Bununla beraber bakır konsantrasyonundaki artış radikal seviyesini de artıracığından, çalıştığımız molekülün hem antioksidan hem de bakır düzeyini indirgeyici etkiye sahip olması metabolik açıdan oldukça önemlidir.

Mitokondri, oksidatif hasara uğrayan organellerin başındadır. Çünkü asıl oksidasyon reaksiyonları burada gerçekleşir. Mitokondrinin hücredeki öncelikli görevi oksidatif fosforilasyon yoluyla ATP üretimidir. Bu görevinin yanında ROS üretimi ve detoksifikasyonu, bazı apoptozis formlarında rol oynama, sitoplazmik ve mitokondriyal matriks kalsiyumunun düzenlenmesi, metabolitlerin sentezi ve katabolizması gibi görevleri de vardır. Bu görevlerde olabilecek herhangi bir normal dışı hareket mitokondriyal disfonksiyon olarak adlandırılır (Brand ve Nicholls, 2011).

ROS oluşumuna yol açan en temel reaksiyon dizisi elektron transport zinciridir. Karaciğer mitokondrisinde ROS oluşumu, serbest yağ asitleri tarafından artırılır ve ATP sentezini olumsuz şekilde etkiler (Gyamfi vd., 2012). Mitokondriyal disfonksiyondan dolayı yağ asidi oksidasyonu tamamlanamaz ve bu sebeple oluşan ara ürünlerin artması ROS oluşumunu da tetikler. Mitokondriyal disfonksiyonun sebep olduğu ROS seviyesindeki artış metabolizmada mevcut antioksidan sistemi etkisiz hale getirerek radikal seviyesinde artışa yol açar (Gürdöl, 2018).

Organizmada BChE glial hücrelerde salınırken, AChE serebral korteks ve sinaptik yarıkların içinde yer alır. Alzheimer hastalığının ilerleyen evrelerinde azalan AChE aktivitesi yerini artan BChE aktivitesine bırakır. Alzheimer hastalığının belirtilerini azaltmak için AChE ve BuChE inhibitörleri sıkça kullanılan tedavi yöntemlerindendir (Zhou ve Huang, 2022).

Alzheimer hastalığının tedavisi için Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) nin onayladığı ilaçların içerisinde takrin, rivastigmin, donepezil ve galantamin gibi antikolinesterazlar vardır. Ancak bu ilaçların mide bulantısı, ishal, baş dönmesi, diskinezi, konvülsiyon, kas krampları, uykusuzluk, gastrointestinal bozukluklar ve hepatotoksisite gibi pek çok yan etkileri olmaktadır (Ruangritchankul vd., 2021). Tek bir mekanizmayı hedefleyen ilaçlar için bu hastalığın karmaşık patogenezi zorlayıcıdır. Hastalığın hafifletilmesi ve durdurulmasında etkileri yetersiz kalmaktadır. Sonuç olarak, Alzheimer hastalığının tedavisinde hem güvenli hem de etkili ilaç arayışı önem arz etmeye devam etmektedir (Xia vd., 2024). Bu nedenle yapılan tez çalışmamızda AChE ve BChE enzimleri üzerine hordenin etkisi de incelendi. Alzheimer hastalarının tedavisindeki en etkin molekül olan takrin toksik etkilerinden dolayı kullanımında sınırlı kullanıma sahiptir. Biz de doğal bir

kimyasal ürün olarak hordeninin hem antioksidan hem de etkili bir enzim inhibitörü olacağını elde ettiğimiz sonuçlarla bilim dünyasına sunmaktayız.

Tablo 11’de verilen sonuçlara göre Hordenin molekülü için AChE enzimine ait IC_{50} değeri 364.81 nM olarak hesaplanmıştır. Her iki molekülde hem AChE enzimi için hem de BChE enzimi için yarışmalı inhibisyon sergilemiştir. Yine hordenin bileşiği BChE enzimine ait IC_{50} değeri 100.46 nM olarak hesaplanmıştır. Ayrıca hordenin için yapmış olduğumuz Tablo 9’da elde edilen sonuçlara göre bakır indirgemede etkili indirgeyici ajan olarak rol oynamıştır.

Bu değerler bize hordenin molekülünün iyi bir antioksidan ve bunun yanında henüz tedavisi tam olarak bulunamamış Alzheimer hastalığını engellemede alternatif bir ürün olduğunu göstermiştir. Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçların Alzheimer, Parkinson başta olmak üzere pek çok hücre hasarı ve kansere hatta toplumda tedavisi zor olarak bilinen hastalıklara çözüm olabilecek tıbbi ve farmakolojik rehber rolü üstleneceği düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

- Abdollahi, M., Bahreini-Moghadam, A., Emami, B., Fooladian, F. ve Zafari, K. (2003). Increasing intracellular cAMP and cGMP inhibits cadmium-induced oxidative stress in rat submandibular saliva. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 135(3), 331-336. [https://doi.org/10.1016/S1532-0456\(03\)00120-0](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(03)00120-0)
- Ak, T. ve Gülçin, İ. (2008). Antioxidant ve radical scavenging properties of curcumin. *Chemico-Biological Interaction*, 174, 27-37. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2008.05.003>
- Aksoy, Y. (2002). Antioksidan mekanizmada glutasyonun rolü. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 22(4), 442-448. <https://www.turkiyeklinikleri.com/article/tr-antioksidan-mekanizmada-glutasyonun-rolu-2461.html>
- Alparslan, M. M. (2012). *Bazı kumarin türevlerinin glutasyon s-transferaz enzimi üzerindeki inhibe edici etkilerinin araştırılması* [Yayımlanmış yüksek lisans tezi, Marmara Üniversitesi]. YÖK Tez Merkezi. <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezDetay.jsp?id=330744>
- Anwar, S., Mohammad, T., Shamsi, A., Queen, A., Parveen, S., Luqman, S., Hasan, G. M., Alamry, K. A., Azum, N., Asiri, A. M. ve Hassan, M. I. (2020). Discovery of hordenine as a potential inhibitor of pyruvate dehydrogenase kinase 3: Implication in lung cancer therapy. *Biomedicines*, 8(5), 119. <https://doi.org/10.3390/biomedicines8050119>
- Aslankoç, R., Demirci, D., İnan, Ü., Yıldız, M., Öztürk, A., Çetin, M.ve Yılmaz, B. (2019). Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü-Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutasyon peroksidaz (GPX). *Medical Journal of Süleyman Demirel University*, 26(3), 362-369. <https://doi.org/10.17343/sdutfd.566969>
- Aslan, S. ve Karahalil, B. (2019). Oxidative stress and Parkinson disease Oksidatif Stres ve Parkinson hastalığı. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 43(1). <https://doi.org/10.33483/jfpau.519964>
- Barta, C., Sasvari-Szekely, M., Devai, A., Kovacs, E., Staub, M. ve Enyedi, P. (2001). Analysis of mutations in the plasma cholinesterase gene of patients with a history of prolonged neuromuscular block during anesthesia. *Molecular Genetics and Metabolism*, 74(4), 484-488. <https://doi.org/10.1006/mgme.2001.3251>

- Berg, J.M., Tymoczko, J.L. ve Stryer, L.(2014). Biyokimya. *Palme Yayıncılık*, 241, 247p, Ankara. doi: 10.3389/fmicb.2014.00015
- Chabory, E., Damon, C., Lenoir, A., Kauselmann, G., Kern, H., Zevnik, B. Vd. (2009). Epididymis seleno-independent glutathione peroxidase 5 maintains sperm DNA integrity in mice. *Journal of Clinical Investigation*, 119(7), 2074-2085. <https://doi.org/10.1172/JCI38940>
- Claustrat, B., Brun, J. ve Chazot, G. (2005). The basic physiology and pathophysiology of melatonin. *Sleep Medicine Reviews*, 9(1), 11-24. <https://doi.org/10.1016/j.smr.2004.08.001>
- Cnubben, N. H. P., Rietjens, I. M. C. M., Wortelboer, H., Van Zanden, J. ve Van Bladeren, P. J. (2001). The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 10, 141-152. [https://doi.org/10.1016/S1382-6689\(01\)00077-1](https://doi.org/10.1016/S1382-6689(01)00077-1)
- Cummings, J. L. (2000). Cholinesterase inhibitors: A new class of psychotropic compounds. *American Journal of Psychiatry*, 157(1): 4-15. <https://doi.org/10.1176/ajp.157.1.4>
- Çaylak, E. (2011). Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 9(1), 73-83. https://www.academia.edu/1599669/Hayvan_ve_bitkilerde_oksidatif_stres_ile_antioksidanlar
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V. ve Featherstone, R.M. (1961). A new and rapid colorimetric determination acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7, 88-95. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)
- Fattman, C. L., Schaefer, L. M. ve Oury, T. D. (2003). Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine. *Free Radical Biology and Medicine*, 35(3), 236-256. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(03\)00275-2](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(03)00275-2)
- Feng, L., Cheng, K., Zang, R., Wang, Q. ve Wang, J. (2019). MiR-497-5p inhibits gastric cancer cell proliferation and growth through targeting PDK3. *Bioscience reports*, 39(9). <https://doi.org/10.1042/BSR20190654>
- Frank, M., Weckman, T. J., Wood, T., Woods, W. E., Tai, C. L., Chang, S. L., Ewing, A., Blake, J. W. ve Tobin, T. (1990). Hordenine: Pharmacology, pharmacokinetics and behavioural effects in the horse. *Equine Veterinary Journal*, 22(6), 437-441. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1990.tb04312.x>
- Gençay, Ö. (2013). *Hypecoum procumbens L. Bitkisinden alkaloidlerin izolasyonu, yapılarının aydınlatılması ve asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz inhibisyon*

aktivitelerinin (anti-alzheimer) incelenmesi. [Yayımlanmış yüksek lisans tezi, Trakya Üniversitesi]. YÖK Tez Merkezi.

<https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezDetay.jsp?id=346481>

- Goti, D., Hrzenjak, A., Levak-Frank, S., Frank, S., Van Der Westhuyzen, D. R., Malle, E., ve Sattler, W. (2001). Scavenger receptor class B, type I is expressed in porcine brain capillary endothelial cells and contributes to selective uptake of HDL-associated vitamin E. *Journal of Neurochemistry*, 76(2), 498-508. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2001.00100.x>
- Göçer, H., Akıncıoğlu, A., Öztaşkın, N., Göksu, S., ve Gülçin, İ. (2013). Synthesis, Antioxidant, and Antiacetylcholinesterase Activities of Sulfonamide Derivatives of Dopamine-Related Compounds. *Archiv der Pharmazie*, 346(11), 783-792. <https://doi.org/10.1002/ardp.201300228>
- Greg, N.H., Utsuki, T., Ingram, D.K., Wang, Y., Pepeu, G., Scali, C., Yu, Q., Mamczarz, J., Holloway, H.W., Giordano, T., Chen, D., Furukawa, K., Sambamurti, K., Arnold Brossi, A. ve Lahiri, D.K. (2005). Selective butyrylcholinesterase inhibition elevates brain acetylcholine, augments learning and lowers Alzheimer β -amyloid peptide in rodent. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(47), 17213-17218. <https://doi.org/10.1073/pnas.0508575102>
- Greig, N.H., Utsuki, T., Yu, Q., Zhu, X., Holloway, H.W., Perry, T., Lee, B., Ingram, D.K., Lahiri, D.K. (2001). A new therapeutic target in Alzheimer's disease treatment: attention to butyrylcholinesterase. *Current Medical Research and Opinion*, 17(3), 159-165. <https://doi.org/10.1185/0300799039117057>
- Gülçin, İ., Oktay, M., Küfrevioğlu, Ö. İ. ve Aslan, A. (2002). Determination of antioxidant activity of lichen *Cetraria islandica* (L) Ach. *Journal of Ethnopharmacology*, 79(3), 325-329. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(01\)00396-8](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(01)00396-8)
- Gülçin, İ., Büyükokuroğlu, M.E. ve Küfrevioğlu, Ö.İ. (2003b). Metal chelating and hydrogen peroxide scavenging effects of melatonin. *Journal of Pineal Research*, 34(4), 278-281. <https://doi.org/10.1034/j.1600-079X.2003.00042.x>
- Gülçin, İ. (2006b). Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. *Life Sciences*, 78(8), 803-811. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.05.103>
- Gülçin, İ., Huyut, Z., Elmastaş, M. ve Aboul-Enein, H. Y. (2010). Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian Journal of Chemistry*, 3(1), 43-53. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2009.12.008>

- Gülçin, İ. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, 86, 345-391. <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0774-2>
- Gülçin, İ. (2020). Antioxidants ve antioxidant methods: an updated overview. *Archives of Toxicology*, 94, 651-715. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>
- Güven, K., Bora, A. ve Sunam, G. (1970). Hordenine from the alga phyllophora nervosa. *Phytochemistry*, 9(8), 1893. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)85613-7](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)85613-7)
- Hapke, H. J. ve Strathmann, W. (1995). Pharmacological effects of hordenine. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 102(6), 228-232. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8582256/>
- Harborne, J. B. ve Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55(6), 481-504. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00235-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00235-1)
- Heffter, A. (1894). Ueber Pellote. Ein Beitrag zur pharmakologischen Kenntnis der Cacteen. Naunyn-Schmiedeberg's Archiv für experimentelle. *Pathologie und Pharmakologie*, 34, 65-86. <https://doi.org/10.1007/BF01864855>
- Hızlı, Z. B. (2006). *Bursa ilinde 18-45 yaş arası sağlıklı bireylerde vitaminlerin ve antioksidan parametrelerin referans aralıklarının belirlenmesi* [Yayımlanmış Tıpta Uzmanlık tezi, Bursa Uludağ Üniversitesi]. YÖK Tez Merkezi. <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezDetay.jsp?id=194047>
- Hoffman, J. R., Kang, J., Ratamess, N. A., Hoffman, M. W., Tranchina, C. P. Ve Faigenbaum, A. D. (2009). Examination of a pre-exercise, high energy supplement on exercise performance. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 6(1), 2. <https://doi.org/10.1186/1550-2783-6-2>.
- Hofius, D. ve Sonnewald, U. (2003). Vitamin E biosynthesis: biochemistry meets cell biology. *Trends in Plant Science*, 8(1), 6-8. [https://doi.org/10.1016/s1360-1385\(02\)00002-x](https://doi.org/10.1016/s1360-1385(02)00002-x)
- Huxtable, R.J. (1992). Physiological actions of taurine, *Physiological Review*; 72 (1), 101-163. <https://doi.org/10.1152/physrev.1992.72.1.101>
- Ighodaro, O. M. ve Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-Superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54, 287-293. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>
- Karaca, Ş. (2022). *Yeni benzotiyazol türevlerinin sentezi ve alzheimer hastalığına karşı enzim inhibitör etkilerinin araştırılması*, [Yayımlanmış yüksek lisans tezi,

- Keha, E. ve Küfrevioğlu, Ö. İ. (2012). Biyokimya, *Aktif Yayın Evi*, , Erzurum, 217s. ISBN 975-6755-20-02
- Kim, S. C., Lee, J. H., Kim, M. H., Lee, J. A., Kim, Y. B., Jung, E., Kim, Y.-S., Lee, J., ve Park, D. (2013). Hordenine, a single compound produced during barley germination, inhibits melanogenesis in human melanocytes. *Food Chemistry*, 141(1), 174-181. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.017>
- Kireççi, O. A. (2018). Bitkilerde enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 7(2), 473-483. <https://doi.org/10.17798/bitlisfen.463251>
- Kumar, A. N., Aruna, P., Naidu, J. N., Kumar, R., ve Srivastava, A. K. (2015). Review of concepts and controversies of uric acid as antioxidant and pro-oxidant. *Archives Medical Review Journal*, 24(1), 19-40. <https://doi.org/10.17827/aktd.53469>
- Koçancı, F. G. ve Aslım, B. (2016). Structure and functions of acetylcholinesterase and acetylcholinesterase inhibitory activity of plants. *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences*, 6(1), 19-35 <https://dergipark.org.tr/en/pub/mjavl/issue/40470/484832>
- Lu, C. W., Lin, S. C., Chien, C. W., Lin, S. C., Lee, C. T., Lin, B. W. Ve Tsai, S. J. (2011). Overexpression of pyruvate dehydrogenase kinase 3 increases drug resistance and early recurrence in colon cancer. *The American Journal of Pathology*, 179(3), 1405-1414. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2011.05.050>
- Mann, J. D., Steinhart, C. E. ve Mudd, S. H. (1963). Alkaloids and plant metabolism: V. The distribution and formation of tyramine methyltransferase during germination of barley. *Journal of Biological Chemistry*, 238(2), 676-681. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)81318-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)81318-7)
- Mesulam, M. M., Guillozet, A., Shaw, P., Levey, A., Duysen, E. G. ve Lockridge, O. (2002). Acetylcholinesterase knockouts establish central cholinergic pathways and can use butyrylcholinesterase to hydrolyze acetylcholine. *Neuroscience*, 110(4), 627-639. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(01\)00613-3](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(01)00613-3)
- Miller, L. M., Wang, Q., Telivala, T. P., Smith, R. J., Lanzirotti, A. ve Miklossy, J. (2006). Synchrotron-based infrared and X-ray imaging shows focalized accumulation of Cu and Zn co-localized with β -amyloid deposits in Alzheimer's

- disease. *Journal of structural biology*, 155(1), 30-37.
<https://doi.org/10.1016/j.jsb.2005.09.004>
- Nar, M. (2011). *Rozmarinik asitin antioksidan kapasitesinin belirlenmesi ve insan karbonik anhidraz izoenzimleri (hCA-I ve hCA II) Üzerine İnhibisyon 130 Etkisinin İncelenmesi*. [Yayımlanmış yüksek lisans tezi, Atatürk Üniversitesi].
YÖK Tez Merkezi.
<https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezDetay.jsp?id=284225>
- Nelson, D. L. ve Cox, M. M. (2016). Lehninger Biyokimyanın İlkeleri Çeviri Editörü: Y. Murat Elçin, Palme Yayıncılık, Ankara. 189-235s. ISBN: 9786053551393
- Nicolet, Y., Lockridge, O., Masson, P., Fontecilla-Camps, J. C. Ve Nachon, F. (2003). Crystal structure of human butyrylcholinesterase and of its complexes with substrate and products. *Journal of Biological Chemistry*, 278(42), 41141-41147.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M210241200>
- Omar, S. H., Scott, C. J., Hamlin, A. S. ve Obied, H. K. (2017). The protective role of plant biophenols in mechanisms of Alzheimer's disease. *The Journal of nutritional biochemistry*, 47, 1-20. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.02.016>
- Paganga, G., Miller, N. ve Rice-Evans, C. A. (1999). The polyphenolic content of fruit and vegetables and their antioxidant activities. What does a serving constitute? *Free Radical Research*, 30(2), 153-162.
<https://doi.org/10.1080/10715769900300161>
- Pandi-Perumal SR., Trakht I., Srinivasan V., Spence DW., Maestroni GJ., Zisapel N., vd (2008). Physiological effects of melatonin: role of melatonin receptors and signal transduction pathways. *Prog Neurobiol*, 85(3): 335-53.
<https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2008.04.001>
- Pham-Huy LA, He H. ve Pham-Huy C. (2008) Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci*. 4(2): 89-96.
<https://doi.org/10.59566/IJBS.2008.4089>
- Pohanka, M. (2011). Cholinesterases, a target of pharmacology and toxicology. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.*, 155, 219-230
<https://doi.org/10.5507/bp.2011.036>
- Purves, D., Williams, S. M., Nundy, S. ve Lotto, R. B. (2004). Perceiving the Intensity of Light. *Psychological Review*, 111(1), 142-158. <https://doi.org/10.1037/0033-295X.111.1.142>
- Radi, R., Turrens, J. F., Chang, L. Y., Bush, K. M., Crapo, J. D. ve Freeman, B. A. (1991). Detection of catalase in rat heart mitochondria. *Journal of Biological*

- Chemistry*, 266(32), 22028-22034. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)54740-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)54740-2)
- Rietschel, H. (1937). Zur Pharmakologie des Hordenins. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 186, 387-408. <https://doi.org/10.1007/BF01929674>
- Rodriguez-Franco, M.I., Fernandez-Bachiller, M.I., Perez, C., Castro, A. ve Martinez, A. (2005). Design and synthesis of N-benzylpiperidine-purine derivatives as new dual inhibitors of acetyl- and butyrylcholinesterase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 13, 6795-6802. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2005.07.019>
- Roche, M. Rondeau, P. Singh, NR. Tarnus, E. ve Bourdon, E. (2008) The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS Lett.* 582(13): 1783-1787. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2008.04.057>
- Schweitzer, A. ve Wright, S. (1938). Action of hordenine compounds on the central nervous system. *Journal of Physiology*, 92, 422-438. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1938.sp003613>
- Shinde, A. Ganu, J. ve Naik, P. (2012) Effect of free radicals & Antioxidants on oxidative stress: A Review. *J Dent Allied Sci.* 1(2): 63-66. <https://doi.org/10.4103/2277-4696.159144>
- Stahl, W. ve Sies, H. (2005). Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochim. Biophys. Acta.* 1740(2): 101-110. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2004.12.006>
- Sur, S., Nakanishi, H., Flaveny, C., Ippolito, J. E., McHowat, J., Ford, D. A. ve Ray, R. B. (2019). Inhibition of the key metabolic pathways, glycolysis and lipogenesis, of oral cancer by bitter melon extract. *Cell Communication and Signaling*, 17, 131. <https://doi.org/10.1186/s12964-019-0438-4>
- Tee, E. S. ve Lee, C. Y. (1992). Carotenoids and retinoids in human nutrition. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 31(1-2), 103-163. <https://doi.org/10.1080/10408399209527563>
- Temel, H.E. (2008). *Demanslı hastalarda asetilkolinesteraz aktivitesi ve oksidatif stresin asetilkolinesteraz enzim inhibitörleri ile değişimi*. [Yayımlanmış doktora tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi]. YÖK Tez Merkezi. <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezDetay.jsp?id=225218>
- Topal, M. (2014). *Bazı Kinizarin Türevleri: Antioksidan Kapasiteleri ve Karbonik Anhidraz I ve II İzoenzimleri Üzerine İnhibisyon Etkileri*. [Yayımlanmış doktora tezi, Atatürk Üniversitesi]. YÖK Tez Merkezi. <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezDetay.jsp?id=352130>

- Topal, F. (2019). Anticholinergic and antidiabetic effects of isoeugenol from clove (*Eugenia caryophyllata*) oil. *International Journal of Food Properties*, 22(1), 583-592. <https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1597882>
- Topal, M., Ozturk Sarıkaya, S. B. ve Topal, F. (2021). Determination of *Angelica archangelica*'s Antioxidant Capacity and Mineral Content. *Chemistryselect*, 6(31), 7976-7980. <https://doi.org/10.1002/slct.202102282>
- Uysal, Z. (2007). Hepsidin ve demir metabolizması. VI. Hematoloji İlk Basamak Kursu, Ankara, s, 9. https://thd.org.tr/thdData/userfiles/file/6_IBK_01.pdf
- Ünlü, M.C. (2001) *Çeşitli İçeceklerdeki Antioksidan Kapasitenin Araştırılması* [Yayımlanmış yüksek lisans tezi, Selçuk Üniversitesi]. YÖK Tez Merkezi. <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezDetay.jsp?id=107739>
- Vefaoğlu, V. (2024). *Kenevir (Cannabis sativa L.) bitkisinin kimyasal bileşik içeriğinin, antioksidan aktivitesinin ve asetilkolin esteraz enzimi inhibisyonunun belirlenmesi* [Yayımlanmış yüksek lisans tezi, Muş Alparslan Üniversitesi]. YÖK Tez Merkezi. <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezDetay.jsp?id=879064>
- Waring, W. S. (2002). Uric acid: an important antioxidant in acute ischaemic stroke. *Qjm*, 95(10), 691-693. <https://doi.org/10.1093/qjmed/95.10.691>
- Xu, J., Shi, Q., Xu, W., Zhou, Q., Shi, R., Ma, Y., Chen, D., Zhu, L., Feng, L., Cheng, A. S., Morrison, H., Wang, X. ve Jin, H. (2019). Metabolic enzyme PDK3 forms a positive feedback loop with transcription factor HSF1 to drive chemoresistance. *Theranostics*, 9(10), 2999-3013. [doi:10.7150/thno.31301](https://doi.org/10.7150/thno.31301). <https://www.thno.org/v09p2999.htm>
- Yang, R. ve Guo, C. (2018). Discovery of potent pyruvate dehydrogenase kinase inhibitors and evaluation of their anti-lung cancer activity under hypoxia. *MedChemComm*, 9, 1843-1849. <https://doi.org/10.1039/C8MD00344C>
- Zemouri-Alioui, S., Bachir Bey, M., Kurt, B. Z., Sonmez, F. ve Louaileche, H. (2019). Optimization of ultrasound-assisted extraction of total phenolic contents and antioxidant activity using response surface methodology from jujube leaves (*Ziziphus jujuba*) and evaluation of anticholinesterase inhibitory activity. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13, 321-329. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9947-5>
- Zhang, X., Du, L., Zhang, J., Li, C., Zhang, J. ve Lv, X. (2021). Hordenine protects against lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibiting inflammation. *Frontiers in Pharmacology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.712232>

- Zhou, J. W., Luo, H. Z., Jiang, H., Jian, T. K., Chen, Z. Q. ve Jia, A. Q. (2018). Hordenine: A novel quorum sensing inhibitor and antibiofilm agent against *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(7), 1620-1628. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b05035>
- Zhou, J. W., Ruan, L. Y., Chen, H. J., Luo, H. Z., Jiang, H. ve Wang, J. S. (2019). Inhibition of quorum sensing and virulence in *Serratia marcescens* by hordenine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(3), 784-795. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b05922>



ÖZGEÇMİŞ

İlk, orta ve lise eğitimini Trabzon/Merkezde tamamladıktan sonra üniversite eğitimini Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi'nde gerçekleştirip 2009 yılında mezun olmuştur. Eğitimine Anadolu Üniversitesi Sosyoloji Bölümüyle devam edip 2019 yılında mezun olmuştur. Şu anda Gümüşhane Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimi almaktadır.

