



T.C

**AKSARAY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOTEKNOLOJİ VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***KALIDIUM WAGENITZII*'NİN FARKLI ÖZÜTLERİNİN
FİTOKİMYASAL KOMPOZİSYONU VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İsmail ŞEN

Danışman

Prof. Dr. Yavuz Selim ÇAKMAK

AKSARAY, 2023

Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 202330404 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi İsmail ŞEN tarafından hazırlanan “**KALIDIUM WAGENITZII'NİN FARKLI ÖZÜTLERİNİN FİTOKİMYASAL KOMPOZİSYONU VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ/OY ÇOKLUĞU ile Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Yavuz Selim ÇAKMAK

Aksaray Üniversitesi

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

Üye: Prof. Dr. Gökhan ZENGİN

Selçuk Üniversitesi

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

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Neslihan TEKİN KARACAER

Aksaray Üniversitesi

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

Tez Savunma Tarihi: 15/06/2023

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

.....

Doç. Dr. Mehmet Ali HİNİS

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

DOĞRULUK BEYANI

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

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

İsmail ŞEN

TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans eğitimim süresince engin bilgileri, donanımı, tecrübeleri ile bana yol gösteren, pozitif kişiliği ile her zaman her anlamda destek olan ve bu çalışmanın yürütülmesinde maddi ve manevi anlamda yardımını esirgemeyen çok değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Yavuz Selim ÇAKMAK ve ailesine, Selçuk Üniversitesi Fizyoloji-Biyokimya Araştırma Laboratuvarı'nda gerekli çalışmaların yapılması ve sonuçların değerlendirilmesinde yardımını esirgemeyen Prof. Dr. Gökhan ZENGİN'e, bu çalışmada kullanılan bitki materyalinin teşhis edilmesinde bilgilerini esirgemeyen Prof. Dr. Seher KARAMAN'a ve tez savunmama katılarak tavsiyelerde bulunan Prof. Dr. Abdurrahman AKTÜMSEK, Prof. Dr. Gökalp Özmen GÜLER, Dr. Öğretim Üyesi Emel ÇAKMAK ve Dr. Öğretim Üyesi Neslihan TEKİN KARACAER'e sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Arazi çalışmalarımda yardımını esirgemeyen değerli arkadaşım Mehmet Emin YAVUZ'a, çalışmalarımda yardımını esirgemeyen değerli arkadaşım Ako Hamasaeed ABDULQADİR ABDULQADİR'e ve laboratuvar ekip arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hayatım boyunca şüphesiz üzerimde emeği en büyük olan, maddi ve manevi olarak her zaman arkamda duran, eğitim hayatımda beni her zaman motive eden aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Bu çalışma 1002-A Hızlı Destek Programı kapsamında 222Z158 kodu ile TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

İsmail ŞEN

AKSARAY, 2023

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
KISALTMALAR VE SİMGELER	viii
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	4
2.1 <i>Kalidium wagenitzii</i> İle İlgili Yapılmış Çalışmalar	4
2.2.1 <i>Kalidium wagenitzii</i> 'nin Sistematik Şeması	6
2.2 Serbest Radikaller	7
2.3 Oksidatif Stres	9
2.4 Antioksidanlar	11
2.4.1 Doğal Antioksidanlar	11
2.4.2 Sentetik Antioksidanlar	14
2.5 Fitokimyasallar	15
2.6 Enzim İnhibisyonu	18
2.6.1 Alzheimer Hastalığı (AD) ve Kolinesteraz İnhibitörleri	19
2.6.2 Diabetes Mellitus (DM)	21
2.6.3 Hiperpigmentasyon	22
3. MATERYAL VE METOT	24
3.1 Bitki Materyali	24
3.2 Bitki Özütlerinin Hazırlanması	24
3.3 Antioksidan Aktivite Metotları	24
3.3.1 Toplam Fenolik İçerik	24
3.3.2 Toplam Flavonoid İçerik	25
3.3.3 DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi	25
3.3.4 ABTS Serbest Radikal Giderme Aktivitesi	26
3.3.5 Demir İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP)	26
3.3.6 Bakır İyonları İndirgeme Aktivitesi (CUPRAC)	26
3.3.7 Fosfomolibdat Testi	27
3.3.8 Metal Şelatlama Aktivitesi	27
3.4 Enzim İnhibisyon Testleri	27
3.4.1 Kolinesteraz İnhibisyonu	27
3.4.2 α -amilaz İnhibisyonu	28
3.4.3 α -glukozidaz İnhibisyonu	28
3.4.4 Tirozinaz İnhibisyonu	28
3.5 Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Analizleri (HPLC/DAD)	29
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	30
4.1 Antioksidan Aktivite Bulguları	30
4.1.1 <i>Kalidium wagenitzii</i> Özütlerinin Toplam Fenolik İçeriği	31
4.1.2 <i>Kalidium wagenitzii</i> Özütlerinin Toplam Flavonoid İçeriği	33
4.1.3 <i>Kalidium wagenitzii</i> Özütlerinin DPPH Radikal Süpürme Aktivitesi	35
4.1.4 <i>Kalidium wagenitzii</i> Özütlerinin ABTS Radikal Süpürme Aktivitesi	37
4.1.5 <i>Kalidium wagenitzii</i> Özütlerinin CUPRAC İndirgeme Gücü	39
4.1.6 <i>Kalidium wagenitzii</i> Özütlerinin FRAP İndirgeme Gücü	40
4.1.7 <i>Kalidium wagenitzii</i> Özütlerinin Toplam Antioksidan Kapasitesi	42

4.1.8 <i>Kalidium wagenitzii</i> Özütlerinin Metal Şelatlama Aktivitesi	43
4.2 Enzim İnhibisyonu Bulguları	45
4.2.1 <i>Kalidium wagenitzii</i> Özütlerinin AChE İnhibisyonu	46
4.2.2 <i>Kalidium wagenitzii</i> Özütlerinin BChE İnhibisyonu	48
4.2.3 <i>Kalidium wagenitzii</i> Özütlerinin α -amilaz İnhibisyonu	50
4.2.4 <i>Kalidium wagenitzii</i> Özütlerinin α -glukozidaz İnhibisyonu	51
4.2.5 <i>Kalidium wagenitzii</i> Özütlerinin Tirozinaz İnhibisyonu.....	53
4.3 Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi Analizleri (HPLC/DAD)	55
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	58
KAYNAKÇA	59
ÖZGEÇMİŞ.....	73



YÜKSEK LİSANS TEZİ

KALIDIUM WAGENITZII'NİN FARKLI ÖZÜTLERİNİN FİTOKİMYASAL KOMPOZİSYONU VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ

İsmail ŞEN

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

Danışman: Prof. Dr. Yavuz Selim ÇAKMAK

ÖZET

Son dönemlerde tüm dünyada yaygınlığı giderek artan pek çok hastalık için yeni tedaviler ve koruyucu yöntem arayışları sürmektedir. Kimyasal ilaçların bu hastalıkların tedavisinde kullanımı beraberinde bazı yan etkileri de içerdiğinden kimyasal ilaçlara alternatif olabilecek bileşenlerin biyolojik aktiviteleri ile ilgili çalışmalar önem kazanmıştır. Bitkisel biyoaktif kimyasallar sentetik ilaçlara önemli bir alternatiftir. Özellikle ekstrem çevre koşullarında yetişen bitkiler sahip oldukları farklı fitokimyasal profiller sayesinde pek çok bitkisel ürüne kıyasla daha fazla ön plana çıkabilmektedirler. Mevcut çalışmada *Kalidium wagenitzii* bitkisi Tuz Gölü çevresinde yayılış gösteren nadir bitkilerden birisi olarak kendine özgü fitokimyasal profile sahip olabileceği düşünülerek bitkinin farklı özütlerinin (etil asetat, metanol ve su) biyolojik aktivitelerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla bitkinin toplam fenolik ve flavonoid içerikleri ve bazı yaygın metotlar kullanılarak (DPPH, ABTS, CUPRAC, FRAP, PBD ve MCA) antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Ayrıca asetilkolin esterase (AChE), bütirilkolin esterase (BChE), tirozinaz, α -amilaz ve α -glukozidaz enzimleri için inhibisyon aktiviteleri de araştırılmıştır. Metal şelatlama aktivitesi hariç tüm antioksidan analizlerinde etil asetat özütü yüksek aktivite göstermiştir. Enzim inhibisyon aktivitelerinde ise her bir enzim için farklı özüt daha aktif bulunmuştur. Sonuç olarak yürütülen çalışma ile *Kalidium wagenitzii* bitkisinin önemli bir biyoaktivite kaynağı olduğu, antioksidan aktivitesi ve enzim inhibisyon aktiviteleri ile kanser, diyabet, alzheimer ve deri hastalıkları gibi pek çok hastalığın önlenmesi ve tedavisinde kullanımı konusunda önemli bir potansiyele sahip olduğu düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Biyolojik aktivite, Fitokimyasallar, *Kalidium wagenitzii*, Enzim İnhibisyonu

Haziran, 2023; 73 sayfa.

M.Sc. THESIS

PHITOCHEMICAL COMPOSITION AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF DIFFERENT EXTRACTS OF *KALIDIUM WAGENITZII*

İsmail ŞEN

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

Supervisor: Prof. Dr. Yavuz Selim ÇAKMAK

ABSTRACT

In recent years, the search for new treatments and preventive methods continues for many diseases whose prevalence is increasing all over the world. Since the use of chemical drugs in the treatment of these diseases includes some side effects, studies on the biological activities of components that can be an alternative to chemical drugs have gained importance. Herbal bioactive chemicals are an important alternative to synthetic drugs. Especially plants grown in extreme environmental conditions can stand out more than many herbal products thanks to their different phytochemical profiles. In the present study, it was aimed to investigate the biological activities of different extracts (ethylacetate, methanol and water) of the plant, considering that *Kalidium wagenitzii* plant may have a unique phytochemical profile as one of the rare plants distributed around Salt Lake. For this purpose, the total phenolic and flavonoid contents of the plant and antioxidant activities were determined using some common methods (DPPH, ABTS, CUPRAC, FRAP, PBD and MCA). Inhibition activities for acetylcholine esterase (AChE), butyrylcholine esterase (BChE), tyrosinase, α -amylase and α -glucosidase enzymes were also investigated. Ethyl acetate extract showed high activity in all antioxidant analyzes except metal chelating activity. In enzyme inhibition activities, different extracts were found to be more active for each enzyme. Consequently, it is thought that the plant *Kalidium wagenitzii* is an important source of bioactivity and has an important potential in the prevention and treatment of many diseases such as cancer, diabetes, Alzheimer's and skin diseases with its antioxidant activity and enzyme inhibition activities.

Keywords: Biological activite, Phytochemicals, *Kalidium wagenitzii*, Enzym Inhibitions

June, 2023; 73 page.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>Kalidium wagenitzii</i>	6
Şekil 2.2. Oksidatif stresin sağlık üzerine etkileri	10
Şekil 2.3. Antioksidanların sınıflandırması	13
Şekil 2.4. Birincil metabolitler ve ikincil metabolitlerin sentezi için ana yollar arasındaki ilişkiyi özetleyen metabolik yol haritası.	17
Şekil 2.5. Fitokimyasalların sınıflandırması.	17
Şekil 4.1. Antioksidan aktivite IC ₅₀ konsantrasyonları grafiği	31
Şekil 4.2. Toplam fenolik içerik grafiği.....	32
Şekil 4.3. Toplam flavonoid içerik grafiği.....	34
Şekil 4.4. DPPH testi sonuçları grafiği	35
Şekil 4.5. ABTS testi sonuçları grafiği	38
Şekil 4.6. CUPRAC testi sonuçları grafiği.	40
Şekil 4.7. FRAP testi sonuçları grafiği	41
Şekil 4.8. Toplam antioksidan kapasite sonuçları grafiği (Fosfomolibdat)	43
Şekil 4.9. Metal şelatlama testi sonuçları grafiği.....	44
Şekil 4.10. Enzim inhibisyonu IC ₅₀ konsantrasyonları grafiği.	46
Şekil 4.11. AChE inhibisyonu sonuçları grafiği	47
Şekil 4.12. BChE inhibisyonu sonuçları grafiği	49
Şekil 4.13. Alfa-amilaz inhibisyonu sonuçları grafiği	51
Şekil 4.14. Alfa-glukozidaz inhibisyonu sonuçları grafiği	52
Şekil 4.15. Tirozinaz inhibisyonu sonuçları grafiği	54

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Reaktif oksijen türleri ve Reaktif nitrojen türleri.	8
Çizelge 4.1. Antioksidan aktivite (IC ₅₀) konsantrasyonları sonuçları.	31
Çizelge 4.2. Toplam fenolik içerik sonuçları.....	32
Çizelge 4.3. Toplam flavonoid içerik sonuçları.....	33
Çizelge 4.4. DPPH testi sonuçları.....	35
Çizelge 4.5. ABTS testi sonuçları	38
Çizelge 4.6. CUPRAC testi sonuçları	39
Çizelge 4.7. FRAP testi sonuçları.....	41
Çizelge 4.8. Toplam antioksidan kapasite sonuçları.....	42
Çizelge 4.9. Metal şelatlama testi sonuçları.....	44
Çizelge 4.10. Enzim inhibisyonu (IC ₅₀) konsantrasyonları sonuçları	46
Çizelge 4.11. AChE inhibisyonu testi sonuçları	47
Çizelge 4.12. BChE inhibisyonu testi sonuçları	49
Çizelge 4.13. Alfa-amilaz inhibisyonu testi sonuçları	50
Çizelge 4.14. Alfa-glukozidaz inhibisyonu testi sonuçları	52
Çizelge 4.15. Tirozinaz inhibisyonu testi sonuçları.....	54
Çizelge 4.16. HPLC analizi sonuçları.....	56

KISALTMALAR VE SİMGELER

AAE	Askorbik Asit Eşdeğeri
ABTS	2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolin-6-sulfonat)
ACAE	Akarboz Eşdeğeri
ACh	Asetilkolin
AChE	Asetilkolinesteraz
AChEI	Asetilkolinesteraz İnhibitörü
AD	Alzheimer Hastalığı
AlCl₃	Alüminyum Klorür
ATP	Adenozin Trifosfat
Aβ	Bakır II Klorür
BChE	Bütirilkolinesteraz
BHA	Butillenmiş Hidroksiyanozil
BHT	Butillenmiş Hidroksitoluen
CAT	Katalaz
ChAT	Kolin Asetiltransferaz
ChE	Kolinesteraz
CuCl₂	Bakır II Klorür
CUPRAC	Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasite
DM	Diabetes Mellitus
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DOPA	3,4-dihidroksifenilalanin
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
DTNB	5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid)
FeCl₂	Demir (II) Klorür
FeCl₃	Demir (III) Klorür
FRAP	Demir iyonu indirgeyici antioksidan güç
g	Gram
GAE	Gallik Asit Eşdeğeri
GALAE	Galantamin Eşdeğeri
GDM	Gestasyonel Diabetes Mellitus
GR	Glutasyon Redüktaz
GSH	Glutasyon
H₂O₂	Hidrojen Peroksit
HNO₃	Peroksinitröz Asit
HO₂	Hidroperoksil
HOCl	Hipokloröz Asit
IKI	İyot-Potasyum İyodür
IUCN	Uluslararası Doğayı Koruma Birliği
KAE	Kojik Asit Eşdeğeri
KOAH	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
KWEA	<i>Kalidium wagenitzii</i> etil asetat
KWM	<i>Kalidium wagenitzii</i> metanol
KWS	<i>Kalidium wagenitzii</i> su
M	Molar
MCA	Metal şelatlama
MEP	Metileritritol-4-fosfat
mg	Miligram
ml	Mililitre

mM	Milimolar
mmol	Milimol
MVA	Mevalonat
Na₂CO₃	Sodyum Karbonat
NFT	Nörofibriler Yumaklar
nm	Nanometre
NO⁻	Nitrik Oksit
NO₂	Nitrojen Dioksit
NO³⁻	Peroksinitrit
O₃	Ozon
OH⁻	Hidroksil
PBD	Fosfomolibdat
PG	Profil Gallat
RE	Rutin Eşdeğeri
RNS	Reaktif Nitrojen Türleri
RO⁻	Alkoksil
ROO⁻	Peroksil
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksitdismutaz
TBHQ	Üçüncül Bütildihidrokinon
TE	Troloks eşdeğeri
TFC	Toplam Flavonoid İçerik
TPC	Toplam Fenolik İçerik
TPTz	2,4,6-tripiryidyl-s-triazine
TRIS-HCl	Tris (Hidroksimetil) Aminometan
µg	Mikrogram
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µmol	Mikromol
%	Yüzde
°C	Santigrat

1. GİRİŞ

İnsanlığın varoluşundan günümüze kadar geçen süreçte insanlar çeşitli hastalıklarla mücadele etmişler ve halen mücadele etmeye devam etmektedirler. Bu yaşamsal mücadele dönemsel farklılıklar göstermiştir. İlk çağlarda insanlar zamanın şartlarına bağlı olarak hastalıkları tedavi etmek için deneme yanılma yoluyla bitkisel çözümler bulmaya yönelmişlerdir. Yıllar ve asırlar geçtikçe insanlığın bilgi birikimi artmış hem tıp hem de teknoloji gelişme göstermiş dolayısıyla hastalıkların tedavilerinde alternatif yöntemler keşfedilmiş, spesifik ilaçlar üretilmiştir. İnsanlığın geldiği son noktada hastalıklar için her ne kadar ilaç çeşidi fazla olsa da bazıları yarı sentetik veya sentetik olmaları ve içerdikleri toksik etki gösterebilecek kimyasallardan dolayı tercih edilme sebepleri azalma eğilimindedir. Bu sebeple insanlar geçmişte olduğu gibi şifalı bitki olarak addedilen bitkileri kullanarak alternatif tıp yöntemlerine yönelim göstermektedir.

Alternatif tıpta kullanılan aromatik ve tıbbi bitkiler, yüzlerce yıldır gıdalarda koruyucu, lezzet, aroma, tat ve renklendirici olarak kullanılmalarının yanında, boyar madde olarak kozmetik sanayisinde ve geleneksel tedaviye hizmet etmeleri amacıyla da tercih edilmektedirler. Bu fonksiyonel gıdalar, temel besleyicilik özelliklerinin yanı sıra insan sağlığı için olumlu etki sağlayan, belli başlı hastalıklar ile ilgili riskleri azaltma kabiliyeti olan bileşenleri uygun ölçülerde içeren gıdalar olarak tanımlanmaktadır. Bu bileşenler, gıdaların kompozisyonunda saf olarak bulunabileceği gibi, daha sonra da ilave edilerek gıda bu bileşenlerce zenginleştirilebilir. Bu bağlamda doğal olarak antioksidan özelliğe sahip bileşikler, serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek bağışıklık sistemini güçlendirici etkilerine ek olarak gıdanın işlenmesi ve depolanması esnasında meydana gelebilecek oksidatif bozulma reaksiyonlarına karşı koruyucu gıda katkı maddesi olarak kullanılır (Karadağ, 2019; Sindhi vd, 2013).

Oksijen yaşam için vazgeçilmez bir elementtir. Hücreler enerji üretebilmek için oksijen kullandığında, mitokondri tarafından ATP (adenozin trifosfat) üretiminin bir sonucu olarak serbest radikaller meydana gelir. Bu yan ürünler genellikle reaktif oksijen türleri (ROS) ve ayrıca hücresel redoks işleminden kaynaklanan reaktif nitrojen türleridir (RNS). Bu türler hem toksik hem de faydalı bileşikler olarak ikili bir rol oynamaktadır. İki zıt etki arasındaki hassas denge, açıkça yaşamın önemli bir

yönünü göstermektedir. Düşük veya orta seviyelerde, ROS ve RNS, hücrel tepkiler ve bağışıklık fonksiyonu üzerinde faydalı etkiler göstermektedirler. Yüksek konsantrasyonlarda ise, tüm hücre yapılarını tahrip edebilecek zararlı bir süreç olan oksidatif stres oluşumunu tetiklerler (Pham-Huy vd., 2008).

Oksidatif stresin, ateroskleroz, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), Alzheimer hastalığı ve oksidanların hücrel hasara katkıda bulunduğu çoklu mekanizmaları ortaya çıkaran kanser dahil olmak üzere çok çeşitli hastalıklara sebep olduğu kanıtlanmıştır (Forman ve Zhang, 2021).

Birçok hastalık durumundaki en önemli oksijen içeren serbest radikaller hidroksil radikali, süperoksit anyon radikali, hidrojen peroksit, singlet oksijen, hipoklorit, nitrik oksit radikali ve peroksinitrit radikalidir. Bunlar; DNA, proteinler, karbohidratlar ve lipidler gibi biyolojik olarak ilgili moleküllere zarar verme yeteneğine sahip, çekirdekte ve hücre zarlarında oldukça reaktif türlerdir (Lobo vd., 2010).

Antioksidanlar ise, serbest radikal reaksiyonlarını engelleyen veya durduran ve hücrel hasarı geciktiren veya engelleyen moleküllerdir. Antioksidan savunmalar türden türe farklılık gösterebilir de antioksidan savunmanın varlığı evrenseldir. Antioksidanlar, hücre dışı ve hücre içi ortamda hem enzimatik hem de non-enzimatik formlarda bulunur (Nimse ve Pal, 2015).

Enzimler, tüm canlı organizmaların büyümesi, gelişmesi ve metabolizmasının merkezinde yer alan sayısız kimyasal reaksiyonu katalize ederek yaşamın çarkını döndürür. Enzimler olmadan, temel süreçler oldukça yavaş ilerleyecektir ve hatta durma noktasına gelecektir. Yaşayan tüm canlılar için böylesine önemli olan enzimlerin in vitro ve in vivo aktivitelerinin çeşitli bileşikler tarafından azaltılması veya tamamen durdurulması enzim inhibisyonu olarak tanımlanmaktadır. Buna sebep olan bileşikler ise inhibitör olarak adlandırılmaktadır (Önez, 2006; Robin vd., 2018). Enzimlerin aktivitelerini azaltan veya durduran bu inhibitörler metabolik dengesizliğin düzeltilmesi ve bazen de enzim aktivitesinin bloke edilmesini sağlayarak tam bir farmakolojik ilaç işlevi görür. Bu nedenle, enzim inhibitörlerinin keşfi, biyokimya ve farmakolojide aktif bir araştırma alanı olarak karşımıza çıkmaktadır (Balbaa ve El Ashry, 2012).

Çalışma materyali olarak kullanılan *Kalidium wagenitzii* bitkisinin beslenme ve tıbbi amaçlarla kullanıldığına dair herhangi bir bilgiye ulaşılamamıştır. Bitki Türkiye'nin endemik bitkileri arasında yer almaktadır ve tuz gölü çevresinde 213 km²'lik bir alanda yayılış göstermekte olduğu tespit edilmiştir (Keser, 2020). Literatür taraması sonucunda *Kalidium wagenitzii* ile ilgili olarak daha önce herhangi bir biyolojik aktivite çalışması yapılmadığı sonucuna varılmıştır.

Bu bağlamda tez çalışmasında *Kalidium wagenitzii* bitkisinin Tuz Gölü çevresinde yayılış gösteren ender bitkilerden birisi olarak, yaşam koşulları itibariyle kendine özgü geliştirmiş olduğu fitokimyasal profil düşünülerek bitkinin toprak üstü kısımlarının farklı özütlerinin (etil asetat, metanol ve su) biyolojik aktivitelerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda bitkinin toplam fenolik ve flavonoid içeriklerinin yanı sıra DPPH ve ABTS testleri ile serbest radikal giderme aktivitesi, CUPRAC ve FRAP testleri ile iyon indirgeme potansiyelinin belirlenmesi PBD testi ile toplam antioksidan kapasitenin tespiti ve MCA testi ile de metal şelatlama aktivitesiyle birlikte bitkinin genel antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Ek olarak asetilkolin esterase (AChE), bütirilkolin esterase (BChE), tirozinaz, α -amilaz ve α -glukozidaz enzimleri için inhibisyon aktiviteleri de araştırılmıştır. Bu çalışma *Kalidium wagenitzii* bitkisi üzerinde yapılan ilk biyolojik aktivite ve fitokimyasal profil çalışmasıdır. Bu bakımdan özellikle ekstrem yaşam koşulları göz önüne alındığında ve bunun yanında literatürdeki boşluk değerlendirildiğinde yapılacak yeni çalışmalara zemin hazırlaması ve öncülük etmesi amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. *Kalidium wagenitzii* ile İlgili Yapılmış Çalışmalar

Sekmen ve ark. (2004) yaptıkları bir çalışmada nesli tükenmekte olan, endemik halofit *Kalidium wagenitzii*'nin (Chenopodiaceae) tohum çimlenmesi üzerine ışık, tuzluluk ve sıcaklığın etkilerini incelemişlerdir. Çimlendirme testlerini, çeşitli değişken sıcaklık rejimleri ve fotoperiyotlar altında dört ayrı tuzluluk seviyesinde (0-400 mM) gerçekleştirmişlerdir. 5-30 °C'de çimlenme yüzdesini %99 bulmuşlardır, ancak en yüksek sıcaklık rejimi olan 25-35 °C'de çimlenme yüzdesinin önemli ölçüde kısıtlandığı sonucunu elde etmişlerdir. 400 mM NaCl'de sadece birkaç tohumun çimlendiğini gözlemlemişlerdir. *K. wagenitzii* tohumlarının 200 mM NaCl'den daha düşük tuzluluklarda, 24 saat karanlık ortamda çimlenmesi ile 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ortamda çimlenme yüzdeleri karşılaştırılmış karanlık ortamda çimlenme yüzdesinin daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir. 200 mM NaCl'den daha yüksek tuzluluklarda ise ışıklı ve karanlık ortamda çimlendirilen tohumlarda çimlenme yüzdeleri arasında fark tespit edememişlerdir. NaCl tuzluluğundan *K. wagenitzii* tohumlarının çimlenmesinin geri kazanılması, çeşitli sıcaklık rejimleri ve fotoperiyotlar altında incelenmiştir. Damıtılmış suya aktarıldıklarında geri kazanılan çimlenmemiş tohumların yüzdesi, sıcaklık rejimlerindeki değişiklik ile önemli ölçüde değişmiştir ancak fotoperiyottaki değişiklik, *K. wagenitzii* tohumlarının geri kazanım çimlenme oranını önemli ölçüde etkilemediğini tespit etmişlerdir. En yüksek sıcaklık rejimi olan 25-35 °C, *K. wagenitzii* tohumlarının çimlenmesini kısıtlamış olsa da, bu sıcaklık rejiminde tüm tuzluluk seviyelerinde de bir miktar geri kazanım kaydedilmiştir. Tuzluluk seviyelerindeki artışla çimlenme geri kazanım oranı ve çimlenme geri kazanım yüzdesinin artmış olduğunu gözlemlemişlerdir. Yüksek tuz uygulamalarında nihai geri kazanım çimlenme yüzdeleri, diğer tuz seviyelerinden büyük ölçüde daha yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir. *K. wagenitzii* tohumlarının yüksek NaCl konsantrasyonlarına maruz bırakıldıklarında çimlenmesini devamlı olarak engellemediğini tespit etmişlerdir.

Gömürgen ve Altınözü (2005) yaptıkları çalışmada Kalidiopsis cinsinin Türkiye'deki tek türü olan *Kalidium wagenitzii* Aellen bitkisinin karyotip analizi ve kromozom sayısı üzerine çalışmışlar ve diploid kromozom sayısını $2n=18$ olarak belirlemişlerdir. *K. wagenitzii*'nin kök uçlarından alınan mitotik kromozomlar sitolojik olarak analiz

edilmiştir. Dokuz çift kromozom, azalan uzunluk sıralarına göre 1'den 9'a kadar numaralandırılmıştır. Metafaz kromozomlarının ortalama uzunluğu 3.202 µm olup, 2.653 µm ile 3.866 µm arasında değişmekte olduğunu tespit etmişlerdir. Toplam kromozom uzunluğunun 31.786 µm olduğunu belirlemişlerdir. Satellit kromozomlarının olmadığını belirlemişlerdir. Kol uzunluğunun 0.609 ila 0.825µm arasında değiştiğini ayrıca dokuz kromozom çiftinin sekizinde medyan kromozom bulunurken, yalnızca birinde (üçüncü) submedyan kromozom varlığını tespit etmişlerdir.

Çiçek ve Çakırlar (2005) yaptıkları çalışmada Türkiye Tuz Gölü'nde endemik olarak yetişmekte olan *Kalidiopsis wagenitzii*'nin tohumlarının çimlenmesine tuzluluk ve sıcaklığın etkisi araştırmışlardır. Tohumlar, yetiştirme kabinlerinde farklı NaCl konsantrasyonlarında (kontrol, 50, 100, 200, 400 ve 600 mM) ve sıcaklıklarda (5, 10, 15, 20, 25 ve 30 °C) bir hafta boyunca çimlendirilmişlerdir. Sonuç olarak en elverişli sıcaklığı 25 °C bulmuşlardır. Ayrıca kontrol grubu, 50 ve 100 mM NaCl'de çimlenme yüzdelerini sırasıyla %60, %59 ve %53, bulmuşlardır. Bu çalışma ile bitkinin tohumunun tuzluluk ve sıcaklık stresinden korunursa erken ilkbaharda çimlenebileceği gösterilmiştir.

Kadereit ve ark. (2006) yapmış oldukları çalışmada *Salicornioideae* alt familyasına ait 67 türü içermekte olan toplamda 14 cinsin soyağaçlarını belirlemek amacıyla ITS ve atpB-rbcL belirteçlerini kullanmışlardır. Çalışma sonundaki verilere bağlı olarak *Kalidiopsis wagenitzii* türünü, *Kalidium wagenitzii* türüne sinonim yapmışlardır. Cluster analizleri yapıldıktan sonra oluşan üç klad içinde *Kalidium wagenitzii*, *K. foliatum* ve *K. gracile* türleri aynı klad içinde yer almışlardır. Bu analizler sonucunda *Kalidium wagenitzii* türüne yakınlık gösteren kardeş türün Kazakistan sınırları içerisinde yayılış göstermekte olan *Kalidium foliatum* türü olduğunu belirtmişlerdir.

Keser ve ark. (2020) yapmış oldukları çalışma ile Türkiye'nin İç Anadolu bölgesinde bulunan, endemik olan *K. wagenitzii* (Aellen) Freitag & G. Kadereit, *M. adilii* M. B. Güner & H. Duman ve *V. gypsicola* Vural & Aydoğdu türlerinin yayılış alanlarının ve popülasyon yapılarının belirlenmesine bağlı olarak IUCN tehlike kategorilerinin tekrardan değerlendirilmesi amaçlamışlardır. Bu türleri seçmelerindeki asıl neden olarak sahip oldukları dar yayılış bölgeleri ile insan faktörü sonucunda yüksek oranda soylarının tükenme riski taşımaları olduğunu belirtmişlerdir. Çok yıllık halofitik bir

bitki türü olan *K. wagenitzii*'nin Tuz Gölü çevresinde toplamda 5 lokalitede yayılış gösterdiğini belirlemişler ve toplam olgun birey sayısını 6458 olarak belirtmişlerdir. Yaşam alanlarının 36 km² olmasına rağmen yayılış alanlarının 213 km² olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda *K. wagenitzii* türünün tehdit kategorisini IUCN Kırmızı Liste kriterlerine göre EN olarak değerlendirmişlerdir.

2.1.1. *Kalidium wagenitzii*'nin sistematik şeması

Kalidium wagenitzii (Aellen) Freitag ve G.Kadereit'in sistematik sınıflandırması aşağıdaki gibidir (Kadereit vd., 2006). *Kalidium wagenitzii* Şekil 2.1.'de görsel olarak verilmiştir.

Alem	: Plantae
Şube	: Tracheophyta
Sınıf	: Magnoliopsida
Takım	: Caryophyllales
Aile	: Amaranthaceae
Cins	: <i>Kalidium</i> Moq.
Tür	: <i>Kalidium wagenitzii</i> (Aellen) Freitag & G. Kadereit



Şekil 2.1. *Kalidium wagenitzii*



Şekil 2.1 (devam). *Kalidium wagenitzii*

2.2. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron içermekte olan kimyasal türlerdir ve genellikle önemli bir reaktiviteye sahiptirler. 20. yüzyılın başlarında keşfedilen bu kimyasal türler 20. yüzyılın ortalarına gelindiğinde biyolojik sistemler üzerindeki etkileri bakımından araştırılmaya başlanmıştır. Temel olarak, serbest oksijen radikallerinin, oksidatif modifikasyonlarını ve fonksiyon kaybını indükleyen tüm biyolojik makromoleküllerle kolayca reaksiyona girdiğinin bulunmasıyla birlikte serbest radikallerin yalnızca zararlı etkilerinin olduğu düşünölmeye başlanmıştır. Ancak araştırmalar devam ettikçe canlı sistemlerin hem serbest radikallerle birlikte yaşama uyum sağladığı hem de bu toksik maddeleri kritik fizyolojik süreçlerde kullanarak avantaja çevirecek yöntemler geliştirdiği anlaşılmıştır (Di Meo ve Venditti, 2020).

Serbest radikaller aerobik organizmaların mitokondrilerinde ATP üretimi sürecinde oksidatif fosforilasyon basamağında oluşmaktadır. Genel itibariyle serbest radikaller Reaktif Oksijen Türleri (ROS) ve Reaktif Nitrojen Türleri (RNS) olarak bilinirler. ROS, normal hücresel metabolizmanın ara ürünleri olarak üretilen oksijen

metabolizmasının her yerde bulunan ve kısa ömürlü türevleri olan yüksek derecede reaktif maddelerin geniş bir kategorisini kapsar. ROS, serbest radikaller ve radikal olmayan gruplar (güçlü oksidanlar) olarak Şekil 2.2.'de ki gibi iki grupta sınıflandırılabilir. Serbest radikaller, yüksek enerji durumu nedeniyle kısa ömürleri olan, süperoksit (O_2^-) ve hidroksil radikallerini (OH^-) içeren eşleşmemiş elektronlardan ve hidroperoksil (HO_2), peroksil (RO_2), alkoksil (RO) radikallerinden oluşur. Buna karşılık, radikal olmayan ROS, singlet oksijen ($^1O_2$), hipokloröz asit ($HOCl$), ozon (O_3), ve hidrojen peroksitten (H_2O_2) oluşan nispeten kararlı güçlü oksidanlardır (Al-Mamary ve Moussa, 2021). Benzer şekilde, nitrogen atomları içeren reaktif nitrogen türleri (RNS), nitrik oksit (NO^-), Nitrojen dioksit (NO_2) ve radikal olmayan bileşikler, yani peroksinitröz asit (HNO_3), peroksinitrit (NO_3^-) ve nitröz oksit (N_2O) gibi bileşiklerden oluşur (Shield vd., 2021).

Çizelge 2.1. Reaktif Oksijen ve Reaktif Nitrojen Türleri.

Serbest Radikaller	Radikal Olmayanlar
Reaktif Oksijen Türleri (ROS)	
Süperoksit (O_2^-)	Hidrojen Peroksit (H_2O_2)
Hidroksil (OH^-)	Ozon (O_3)
Hidroperoksil (HO_2)	Singlet Oksijen ($^1O_2$)
Peroksil (RO_2)	Hipokloröz asit ($HOCl$)
Alkoksil (RO)	
Reaktif Nitrojen Türleri (RNS)	
Nitrik oksit (NO^-)	Nitröz Oksit (N_2O)
Nitrojen dioksit (NO_2)	Peroksinitrit (NO_3^-)
	Peroksinitröz asit (HNO_3)
	Alkil peroksinitrit (RNO_3)

Organizmalardaki serbest radikallerin üretimi, çeşitli endojen ve eksojen faktörler tarafından aktive edilebilir. Üretimi aktive eden endojen kaynaklar mitokondriyal elektron taşıma zinciri, NADPH oksidazlar, lipoksijenazlar, sitokrom P450, ksantin oksidaz ve peroksizom aktivitesi olarak bilinmektedir (Snezhkina vd., 2019; Patel vd., 2018). Eksojen kaynaklar ise sigara dumanı, hava kirleticiler, iyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcı olmayan radyasyon, ksenobiyotikler, kinonlar, organik çözücüler, ağır

metaller, pestisitler gibi kimyasal ajanların yanısıra alkol tüketimi ve nonsteroid antiinflatuar ilaçların kullanılması olmak üzere oksidatif stresi hızlandıran çoklu uyaranları içerir (Ullah vd., 2019).

Serbest radikallerin organizmalardaki faydaları; enfeksiyonla savaşmak ve beyni uyanık tutmak için atardamarlardaki kan akışını kontrol ederler, vücut savunmasında yer alan fagositik hücrelerin, bakterileri ve aldıkları diğer yabancı madde hücrelerini yok etmeleri için oksijenin serbest radikalleri üretmesi ve harekete geçirmesini sağlarlar, düşük konsantrasyonda sinyal molekülleri olarak hareket ederler, nitrik oksit ve süperoksit gibi serbest radikaller bağışıklık hücreleri tarafından virüsleri ve bakterileri zehirlmek için çok yüksek miktarlarda üretilirler ve bazı serbest radikaller kanser hücreleri üzerinde etki gösterebilirler şeklinde sayılabilir. Ayrıca tirozin amino asidinin fosfatlanma ve nonreseptör tirozin kinazın aktivasyonu, nükleer transkripsiyon etmenlerinin etkinleştirilmesi ve intrasellüler depolardan kalsiyumun salınımı üzerine çok önemli etkileri olduğu söylenebilir. (Karabulut ve Gülay, 2016; Khot vd., 2018).

2.3. Oksidatif Stres

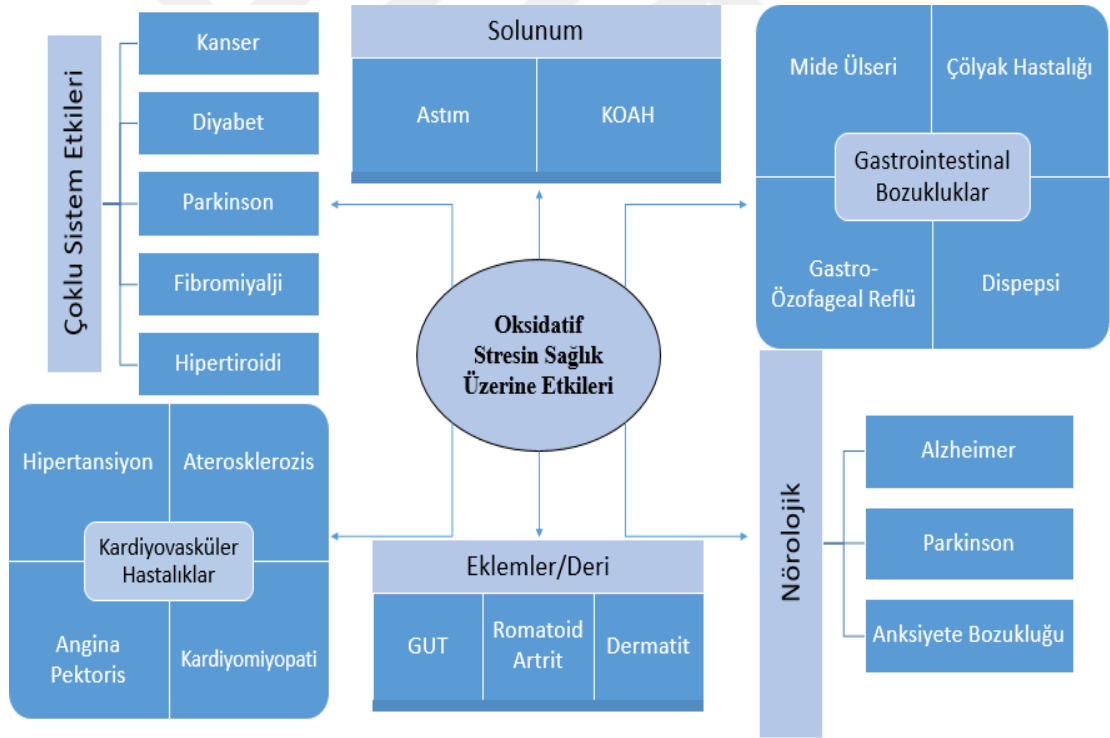
Oksijen, biyolojik sistemler için hem olumlu yanları hem de potansiyel olarak zararlı yan etkilere sahip olan bir gaz olarak bilinmektedir. Reaktivite, oksijenin yüksek enerjili elektron devrine katılmasına izin verir ve böylece oksidatif fosforilasyon yoluyla önemli ölçülerde adenosin-5-trifosfat (ATP) oluşumunu destekler. Bu, kompleks, çok hücreli organizmaların evrimine izin vermek için gereklidir ancak aynı zamanda bir lipit, DNA veya protein olsun, herhangi bir biyolojik moleküle saldırmaya eğilimli hale getirir. Bu durumda, vücudumuz reaktif oksijen türlerinin (ROS) sürekli oksidatif saldırısı altındadır. Bu saldırıyı genellikle dengede tutan karmaşık bir antioksidan savunma sistemi gelişmiştir. Ancak bazı durumlarda bu sistem bozulabilir ve oksidatif stres olarak adlandırılan duruma yol açabilir (Burton ve Jauniaux, 2011). Oksidatif stres terimi hücreler ve dokularda yüksek oranda üretilen ROS'ların birikimi ile biyolojik sistemin bu reaktif ürünleri detoksifiye etme yeteneği arasında bir dengesizliğin meydana gelmesi sonucu oluşan durum olarak tanımlanmaktadır (Forman ve Zhang, 2021; Pizzino vd., 2017).

Kuraklık, tuzluluk, metal toksisitesi ve UV-B radyasyonu gibi çevresel stresler ve bunlara ilaveten patojen saldırıları, hücresel homeostazın bozulmasına dolayısıyla

bitkilerde yoğun miktarda ROS üretilmesine yol açar. Bu durumda oksidatif stres bitkilerde abiyotik ve biyotik stres unsurlarının etkisiyle meydana gelen ikincil bir stres olarak nitelendirilebilir (Doğru, 2020). Çevresel stres altında artan ROS üretimi, proteinlerin oksidasyonuna, enzim inhibisyonuna, lipidlerin peroksidasyonuna, nükleik asitlerde hasara, programlanmış hücre ölümü yolunun aktivasyonuna ve nihayetinde hücrelerin ölümüne neden olarak hücreler için bir tehdit oluşturabilir (Sharifi-Rad vd., 2020).

Oksidatif stres, yaşa bağlı bozukluklara, kansere, kardiyovasküler hastalıklara, parkinson, Alzheimer hastalıkları gibi nörodejeneratif hastalıklarda dahil olmak üzere Şekil 2.3.'de ki gibi birçok patolojiyle bağlantılıdır (Rekatsina vd., 2020; Tarozzi, 2020).

Oksidatif stresin neden olduğu hastalıkları aşağıdaki görselde olduğu gibi şematize edebiliriz;



Şekil 2.2. Oksidatif stresin sağlık üzerine etkileri.

2.4. Antioksidanlar

Hücrelerde bulunan ve serbest radikal olarak adlandırılan hasar verici moleküllerin temizlenmesinin yanında düşük konsantrasyonda proteinlerin, karbohidratların, lipidlerin ve DNA'nın oksidasyonunu geciktirmeye yardımcı olan moleküller veya savunma sistemleri olarak bilinmektedirler. Antioksidanlar Şekil 2.4.'de gösterildiği gibi doğal ve sentetik olmak üzere iki ana başlık altında incelenirken doğal antioksidanlar genel itibariyle enzimatik ve enzimatik olmayan endojen/eksojen kaynaklar olarak iki alt başlıkta incelenmektedirler.

2.4.1. Doğal antioksidanlar

Doğal bitki ürünlerini kullanma uygulaması aktif antioksidan moleküllerinin bilgisi olmadan binlerce yıldır atalardan kalma bir şekilde devam etmektedir. Dikkatli klinik çalışmaların öncesi ve sonrasında, bitki ürünlerinin çoğunun çeşitli insan patolojilerini önlemede potansiyel terapötik ajanlar olarak çalıştığı tespit edilmiştir. Ayrıca, teknik gelişmelerdeki artış, doğal kaynaklardan hayati aktif içerikleri tanımlamayı ve potansiyel terapötik ajanlar olarak geliştirmeyi mümkün kılmıştır. Günümüzde sağlıklı bir yaşam tarzı konusundaki farkındalığın artması, vücudumuzun çeşitli stres, enfeksiyon ve ilgili patolojilere karşı savaşma kabiliyetini geri kazandırabilecek sentetik ve işlenmiş gıdalar yerine besinsel olarak zengin antioksidan organik doğal gıda ürünlerinin günlük olarak tüketilmesiyle sonuçlanmıştır (Ramana vd., 2018). Bu doğal antioksidanlar dört farklı mekanizma ile savunma sistemlerinde etkilerini gösterebilirler. Bunlar;

- Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon redüktaz (GR) ve Se, Cu, Zn gibi minerallerin bulunduğu serbest radikalleri yakalayan ve etkisini azaltırken yeni serbest radikallerin oluşumunu da en aza indiren birinci basamak savunma antioksidanlarıdır.
- Glutatyon (GSH), C vitamini, albümin, E vitamini, karotenoidler, flavonoidler vb. gibi serbest radikallerin aktivitelerini durduran ikinci basamak savunma antioksidanlarıdır.
- DNA onarım enzimleri, lipaz, proteaz, metiyonin sülfoksit redüktaz vb. gibi DNA deformasyonu, protein deformasyonu, oksitlenmiş peroksitler ve lipidlerin onarılması bunlara ek olarak ikincil metabolit üreten zincir

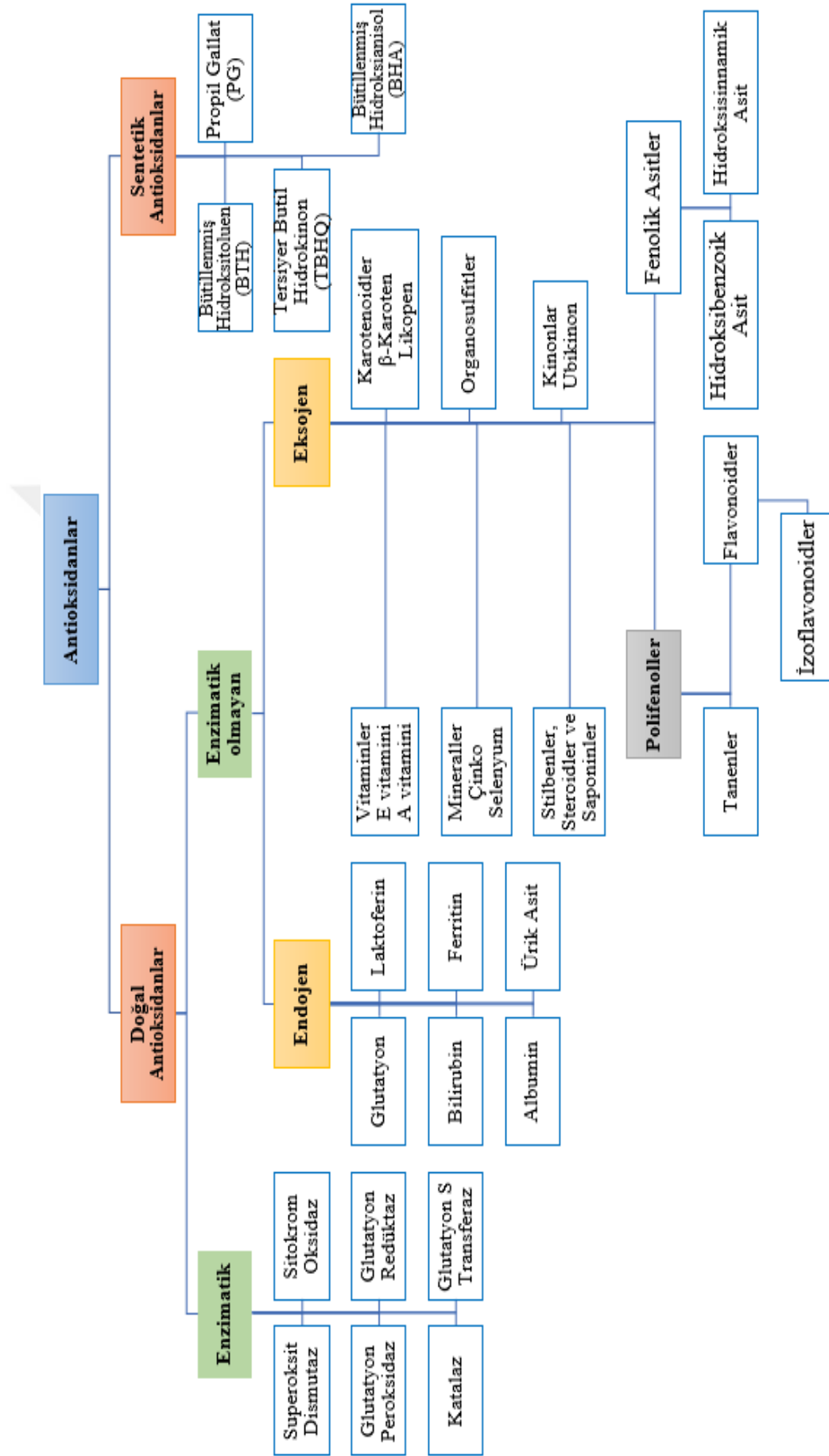
reaksiyonlarının durdurulmasına öncülük eden üçüncü basamak savunma antioksidanlarıdır.

- Dördüncü basamak savunma antioksidanları ise serbest radikallerin oluşturdukları sinyallere yanıt niteliğinde antioksidan oluşumunu ve uygun bölgelere taşınımını sağlayan adaptasyon sürecini kapsamaktadır (Sáez ve Están-Capell, 2014; Sindhi vd., 2013; Ighodaro ve Akinloye, 2018).

Doğal antioksidanların bir sınıfı olan ve beslenme yoluyla aldığımız non-enzimatik antioksidanlar savunma sistemini desteklerler. E ve C vitaminleri, doğal antioksidanlar olarak vitaminler arasında en önemlileridir. Askorbik asit, süperoksit ve hidroksil radikallerini uzaklaştırabilir. E Vitamini, lipidleri yüksek antioksidan potansiyeli ile peroksidatif hasara karşı koruyan, yağda çözünen bir vitamindir (Podsędek, 2007; Sinbad vd., 2019).

Karotenoidler, birçok sebze ve meyvede bulunan kırmızı, sarı ve turuncu pigmentlerdir ve enzimatik olmayan doğal antioksidanlardır. Karotenoidlerin antioksidan etkileri, peroksil radikallerini yakalama ve tekli oksijen söndürme özelliklerine dayanmaktadır (Edge ve Truscott, 2018). Uzun doymamış hidrokarbon alkil zinciri, karotenoidleri yüksek oranda yağda çözünür hale getirir. Bu nedenle, lipoproteinlerin ve hücrel membranların lipid peroksidasyonundan korunmasında önemli bir rol oynarlar (Fiedor ve Burda, 2014; Moussa vd., 2019).

Fenolik bileşikler, büyük bir ikincil metabolit grubudur. Yapılarına göre sınıflara ayrılan fenolik bileşikler hidroksil grubunun sayısı, konumu ve diğer sübstitüentlerin varlığına göre alt kategorilere ayrılırlar. Polifenollerin en yaygın ve çeşitli grubu flavonoidlerdir (Podsędek, 2007). Flavonoidler, İnsan sağlığı için yararlı çeşitli özellikler sergilemek için vücuttaki kritik hücre sinyal yollarındaki bir dizi hücrel hedefle etkileşime girerler. Flavonoidler, özellikle yüksek redoks potansiyelleri sebebiyle önemli antioksidanlardır; bu onların hidrojen donörleri, indirgeyici ajanlar ve singlet oksijen söndürücüler olarak hareket etmelerini sağlar. Flavonoidler genellikle bitkinin UV ışığına, otoburlara, mantar parazitlerine, patojenlere ve oksidatif hücre hasarına karşı korunmasına yardımcı olduğu en yaygın fitokimyasallardır. İnsanlar tarafından düzenli olarak tüketildiğinde flavonoidler ile kalp ve kanser hastalığı gibi hastalıkların görülme sıklığında düşüş ile ilişkilendirilmiştir (Zehiroğlu ve Öztürk Sarıkaya, 2019).



Şekil 2.3. Antioksidanların sınıflandırması.

2.4.2. Sentetik antioksidanlar

Sentetik antioksidanlar gelişmiş teknoloji, uygun maliyet, yan etkilerinin az olması ve tedarik kolaylığına bağlı olarak tercih sebebi olmuşlardır. Sentetik antioksidanlar gıdaların ürettiği peroksitlerle etkileşime girerek gıda bozulma yolunu durdurur. Böylece gıda raf süresi uzar. Buna ek olarak çeşitli ürünlerde lipid oksidasyonunu engellerken renk ve tatlarındaki değişimleri yavaşlatmaktadır. Bu moleküller arasında en sık tercih edilenleri fenolik antioksidanlardan olan bütillenmiş hidroksianisol, bütillenmiş hidroksitoluen, üçüncül bütihidrokinon ve propil gallattır (Xu vd., 2021).

En sık kullanılan sentetik fenolik antioksidan olan BHT, gıda, ilaç ve kozmetik ürünlerine ilave olarak ayrıca kauçuk, plastik, mineral yağ ve baskı mürekkeplerinde katkı maddesi olarak kullanılmaktadırlar. BHT toksisitesi ve yan etkileri hakkındaki çalışmaların raporları çelişki yaratmıştır. Bazı çalışmalar, BHT'nin sıçanlarda hücre içi glutatyon ve ilgili enzim düzeylerini artırma, antioksidan aktivitesi nedeniyle kansere karşı koruma ve tümör azaltıcı etkilere sahip olma gibi olumlu etkilerini ortaya koymuşlardır. Bazı çalışmalar ise, BHT'nin sıçanlarda böbrek ve karaciğer hasarına neden olduğu, karaciğer ağırlığını artırdığı, çeşitli karaciğer enzimlerinin aktivitelerini azalttığı ve akciğer dokusunda toksik etkiler gösterdiğini belirtmişlerdir (Ousji ve Sleno, 2020).

BHT'nin yakın bir analogu olan BHA, 1950'lerin sonlarından beri gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Ayrıca hayvan yemi, kozmetik, ilaç, kauçuk, biyodizel ve petrol ürünlerinde de kullanılmaktadır. BHA ile ilgili bazı çalışmalar, anti-tümör ve nefroprotektif potansiyel ile faydalı etkiler ortaya koymuştur. Bununla birlikte, BHA'nın sıçanlarda endokrin bozucu ve kanserojen olduğu gösterilmiştir. Ayrıca adipogenezi bozabildiği ve obezite insidansını artırabildiği belirtilmiştir (Felter vd., 2021; Ousji ve Sleno, 2020).

Üçüncül-butilhidrokinon (TBHQ), güçlü anti-lipid peroksidasyon aktivitesi nedeniyle sıvı ve katı yağların oksidatif bozulma ve acılaşmasını önlemek için sentetik bir gıda antioksidanı olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Kapsamlı çalışmalar, TBHQ'nun anti-kanserojen etki gösterdiğini kanıtlamışlardır. Bununla birlikte, diğer in vitro çalışmalar DNA hasarına neden olabileceğini göstermiştir.

TBHQ, bir demetilasyon reaksiyonundan kaynaklanan BHA'nın önemli bir metabolitidir ve BHA'nın karsinojenisitesine katkıda bulunduğu öne sürülmüştür (Gharavi vd., 2007; Kamemura vd., 2017).

Profil Gallat (PG), kozmetik endüstrisinde uçucu yağları, parfümleri ve ayrıca katı ve sıvı yağları stabilize etmede etkili bir antioksidan olarak kullanılmaktadır. Ayrıca gıdalarda PG, katı ve sıvı yağları ve yağ içeren gıdaları peroksit kaynaklı acılaşmadan korumak için 1950'lerden beri katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. %0,1'e kadar bir konsantrasyonda PG, FDA tarafından onaylanan çeşitli tıbbi preparatlarda güçlü bir koruyucu ve stabilizatör olarak kullanılır. Antioksidan aktivitesine ek olarak PG, anti-inflamatuar, anti-anjiyojenik ve anti-tümör özellikleri sergilediği bazı çalışmalarla gösterilmiştir (Nguyen vd., 2021).

2.5. Fitokimyasallar

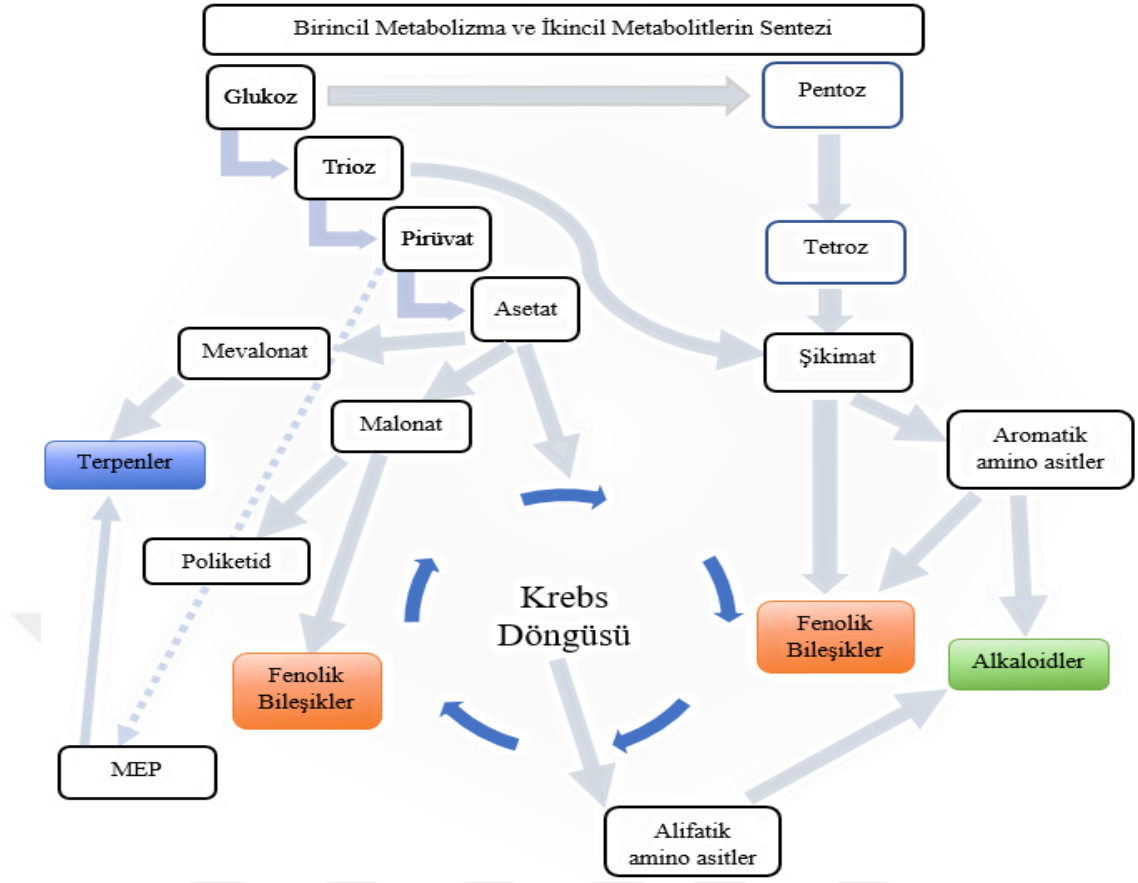
Bitkiler sadece yaşam için gerekli olan ve birincil (merkezi) metabolitler olarak bilinen temel besinleri sağlamakla kalmaz, aynı zamanda sağlığın geliştirilmesine ve hastalıkların önlenmesine katkıda bulunan diğer biyoaktif bileşikler yani ikincil (özel) metabolitleri de sağlar. Genellikle ikincil metabolitler olarak adlandırılan fitokimyasallar, bitkiler tarafından çeşitli kimyasal yollarla üretilen ve öncül maddeleri, çoğunlukla birincil metabolizmanın ürünlerinden oluşan besleyici olmayan kimyasal bileşiklerdir (Yoo vd., 2018). Bitkiler tarafından üretilen ikincil metabolitler üç ana gruba ayrılmaktadır. Bunlar; Şekil 2.6.'da gösterildiği gibi terpenoid/izoprenoit, fenolik bileşikler ve nitrojen/kükürt (alkaloidler ve glukosinolatlar gibi) içeren bileşiklerdir. İkincil metabolitlerin üretim yolları Şekil 2.5.'te verilmiştir.

Terpenoidler tanımlanan en büyük ikincil metabolit ailesi (50.000'den fazla farklı yapıya sahip) olarak bilinmektedir. Pek çok terpenoid, pestisit, antimikrobiyal ajan ve diyet antikarsinojenik olarak uygulandıkları için ticari bir ilgiye sahiptir. Ayrıca vitaminler gibi kimyasallar üretmek için öncül olarak da kullanılırlar. Çeşitli kompleks fitohormonların, sterollerin ve pigmentlerin temel yapı taşlarıdır. Bazı terpenlerin hoş bir aroması olmasına ve tozlayıcı cezbedici olarak etki göstermesine rağmen çoğu, savunma toksinleri ve otobur caydırıcılar olarak etki gösterirler. Tüm terpenoidler, sitozolde aktif olan ve asetil CoA'dan başlayan mevalonat (MVA) yolundan veya

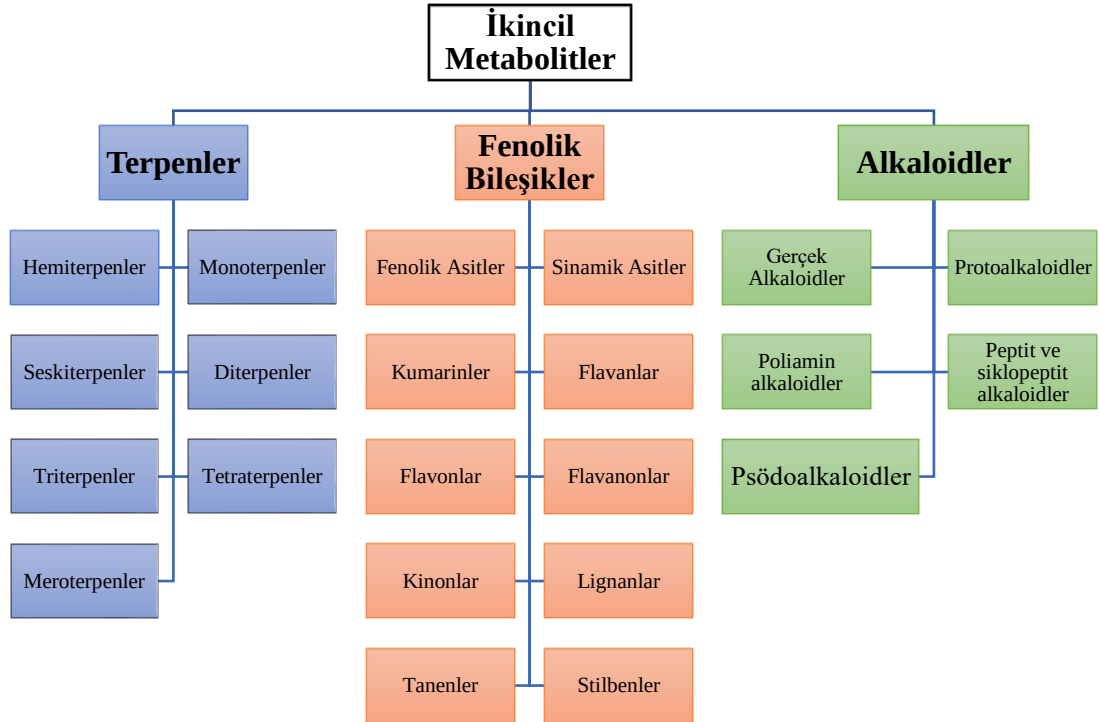
plastidlerde aktif olan, piruvat ve gliseraldehit-3-fosfattan başlayan metileritritol-4-fosfat yolundan (MEP) türetilir (Pott vd., 2019; Jan vd., 2021).

Fenolik bileşikler veya polifenoller ise içerdikleri halka sayısı ve yapısal unsurlara göre isim alan maddelerdir. Genellikle fenolik asitlerde olduğu gibi bir fenol halkasına sahiptirler. Bu fenolik bileşikler, bitkileri güneş ışığı radyasyonuna karşı koruma ve mekanik hasara karşı dayanıklılığı artırma gibi abiyotik ve biyotik streslere karşı tepkilerine bunlara ek olarak otçullara ve patojenlere karşı savunmaya aracılık etmelerine önemli katkılarda bulunurlar. Antioksidan ve antiproliferatif etkilerinden dolayı insan beslenmesinde oldukça değerli olmalarının yanında antimikrobiyal ve farklı enzimlerin inhibisyonlarına sebep olabilme gibi etkili özellikleri de vardır. Fenolik bileşikler, şikimattan türetilen fenilpropanoid ve/veya poliketid yollarından üretilen bileşiklerdir (Quideau vd., 2011; Pott vd., 2019; Demir ve Akpınar, 2020).

Nitrojen/Kükürt içeren ikincil metabolitler, nispeten küçük bir bitki ikincil metabolit grubudur. Grup, iyi bilinen alkaloidleri, glukosinolatları ve bunların tiyosiyanatlar, izotiyosiyanatlar, epitiyonitriller ve oksazolidintiyonlar gibi parçalanmış ürünlerini kapsar. Kükürt içeren ikincil metabolitler protein sentezi için gereklidir. Kükürt eksikliği ile protein sentezi azalır. Alkaloidler, şikimat yolağında oluşan aromatik amino asitlerin ve krebs döngüsünde oluşan alifatik amino asitlerin dekarboksilasyonundan türetilen bir nitrojen atomu/atomları içeren ve bitki türlerinin %20'sinde meydana geldiği bilinen ana bitki savunma molekülleri grubudur. Alkaloidler, karakteristik acı tatları nedeniyle böcek otçul caydırıcılar olarak savunma rolleri ile bilinirler. Bitkilerdeki koruyucu veya toksik alkaloidler ya bitkilerin kendileri tarafından ya da onların simbiyotik ortakları tarafından üretilir. Bitkilerde alkaloid biyosentezi genetik olarak kontrol edilir ancak ışık (UV), sıcaklık, nem ve topraktaki besin maddeleri gibi çevresel faktörlerde alkaloid üretiminin tipini ve oranını etkiler (Aharoni ve Galili, 2011; Yeshe vd., 2022).



Şekil 2.4. Birincil metabolizma ile ikincil metabolitlerin sentezi için ana yollar arasındaki ilişkileri özetleyen metabolik yol haritası.



Şekil 2.5. Fitokimyasalların Sınıflandırılması.

2.6. Enzim İnhibisyonu

Enzimler, canlıların vücudunda meydana gelen biyokimyasal reaksiyonları katalize eden ve hücrelerdeki temel maddelerin konsantrasyonunu düzenlemekten sorumlu olan biyomoleküllerdir. Bu enzimler, basitçe bir dizi veya aktif bir bölgeden daha fazlası olarak düşünülmelidir. Birçok farklı zincire ve yapısal alana sahip tam bir protein olarak nitelendirilebilirler. Enzimler kimyasal reaksiyonların aktivasyon enerjisini azaltarak, yaşamı sürdüren kimyasal süreçleri hızlandırırlar ancak yüksek sıcaklıklar, substrat miktarı ve pH gibi faktörler bu enzimlerin çalışma performanslarını etkileyebilir. Enzimler, hücrede her saniye meydana gelen çok çeşitli biyolojik olaylara aracılık ederler. Enzimler genelde hangi tepkimeleri katalizledikleri ve bu tepkimelerdeki substratlar hususunda çok spesifikler. Enzim ve substratlarının birbirini tamamlayıcı yük ve şekil özellikleri bu spesifikliği meydana getirmektedir. Enzimler yapılarında bulunan aktif bölgeye uygun substratın bağlanmasıyla çalışır hale gelirler (Pérez de la Lastra vd., 2021; Robinson, 2015). Enzim inhibitörleri, düşük moleküler ağırlığa sahip ve enzimlerle anahtar kilit yapısını oluşturan substratların yapılarına benzeyen moleküllerdir. Bu moleküller katalitik döngüdeki herhangi bir basamağa müdahale ederek enzimlerin katalitik fonksiyonlarını engelleyebilirler. Enzim inhibitörleri tersinir ve tersinmez olarak iki farklı inhibisyon mekanizmasına sahiptirler. Tersinir inhibisyon için, inhibitörler, hızlı tam inhibisyona yol açan enzime kovalent olarak bağlanmazlar. Bu nedenle, tersine çevrilebilir inhibitörler, inhibitör konsantrasyonunu veya enzim-inhibitör karışımının diyalizini düşürmek için seyreltme ile basitçe uzaklaştırılabilir. Geri dönüşümlü enzim inhibisyonunun üç türü vardır:

1. Rekabetçi inhibisyon,
2. Rekabetçi olmayan inhibisyon
3. Karışık ve rekabetçi olmayan inhibisyon

Rekabetçi inhibisyon: Bir enzimin aktif bölgesi için substrat ile inhibitör arasındaki bir rekabet olarak tanımlanır. Substrata benzer rekabetçi inhibitör, bir enzimin aktif bölgesini işgal eder ve sonuç olarak substratın bağlanmasını önler.

Rekabetçi olmayan inhibisyon: Enzim-substrat kompleksinin oluşumunu gerektirir. İnhibitör oluşan komplekse bağlanarak enzimin substratla reaksiyonunu ve ürün oluşumunu engeller.

Karışık ve rekabetçi olmayan inhibisyon: Karışık inhibisyon, rekabetçi ve rekabetçi olmayan inhibisyonların birleşimidir. Karışık inhibitör hem enzimi hem de enzim substrat kompleksini bağlayabilir.

Tersinir olmayan inhibitörler, kovalent olarak birleşir veya enzimin aktivitesi için gerekli olan bir enzim üzerindeki faydalı bir grubu etkiler veya özellikle kararlı, kovalent olmayan bir ilişki oluşturur.

Enzimler çok çeşitli insan hastalıklarında yer alır ve aktiviteleriyle mücadele etmek için birçok spesifik enzim inhibitörü geliştirilmiştir böylece terapötik ajanlar olarak farmasötik uygulamalarda kullanılırlar (Buker vd. 2019, Ouertani vd. 2019, Sharma, 2012).

2.6.1. Alzheimer hastalığı (AD) ve kolinesteraz inhibitörleri

1907'de tanımlanan Alzheimer hastalığı (AD), hafıza kaybı, bilişsel bozukluk, davranış değişiklikleri ve fonksiyonel yeteneklerin kaybı ile karakterize olmuş ve günümüzde yaşlı insanlarda görülen en yıkıcı nörodejeneratif hastalıklardan biri haline gelmiştir. 2019 yılında dünya çapında 50 milyon insanın Alzheimer hastası olduğu tahmin edilmekte olup, bu sayının 2050 yılına kadar üç katına çıkması beklenmektedir. AD'nin artan yaygınlığının başlıca nedenlerinden biri; tam tedavisi için etkili ilaçların olmamasıdır. Bu nedenle, güçlü AD ilaçlarının geliştirilmesi, bu yıkıcı bozukluğu kontrol etmek için büyük bir zorluktur. Günümüzde AD'yi önleme ve tedavi etmede en umut verici yaklaşım, kolinesteraz inhibitörleri kullanarak beyinde hastalık seyrinde giderek eksik olan asetilkolin düzeyini artırmaktır. Asetilkolinin parçalanmasını inhibe eden enzimler olan kolinesteraz inhibitörleri, katalizi azaltarak endojen asetilkolin seviyesini artırır ve beyindeki kolinerjik iletimi güçlendirerek AD hastalarında hafıza ve tüm zihinsel işlevlerin iyileşmesine etki eder (Lopa vd., 2021).

AD ilerlemesinin patogenezi ve mekanizması belirsizliğini korusa da, nöropatolojik özelliğe sahip amiloid β 'nın ($A\beta$) plak şeklinde hücre dışı birikmesi ve hücre içi nörofibriler yumaklar (NFT) oluşması ile karakterize edilebilir. Ayrıca çok sayıda veri, oksidatif stresin de patogeneze rol oynadığını desteklemektedir; bu durum, AD'nin oksidatif kaynaklı ilerlemesini iyileştirmek için antioksidanların terapötik kullanımını öne sürmektedir. AD mekanizmasının tam olarak açıklanabilmesi için

Kolinerjik Hipotez ve Amiloid Hipotez başta olmak üzere çeşitli hipotezler öne sürülmüştür ancak bunlardan herhangi biri kabul edilmemiştir (Vaz ve Silvestre, 2020).

Kolinerjik nöronlar insan beyinde geniş bir dağılıma sahiptir. Hafıza ve öğrenme ile ilgili kolinerjik sinyal iletimi asetilkolin'e (ACh) bağlıdır. Asetilkolinin oluşumu kolin tarafından sağlanır. Kolin asetiltransferazın (ChAT) aktivitesi ile kolin ve asetik CoA'dan ACh oluşur (Bekdash, 2021). ACh sadece etkili bir modülatör değil, aynı zamanda duyu kaynaklı nörovasküler eşleşme tepkilerinin tam ifadesi için gerekli bir koşuldur. ACh sinyali, biliş ve inflamasyonun baskılanması için kritik öneme sahiptir. İnsan beyinde ACh, bilinen organik katyon taşıyıcılarından farklı farmakolojik özelliklere sahip özel bir taşıma sistemi tarafından emilir. Kolinerjik sistem, merkezi sinir sisteminde nörogenezi, nöronal farklılaşmayı, sinaptik plastisiteyi ve nöroproteksiyonu düzenlemede çok önemli bir role sahiptir. Bazal ön beyin, merkezi sinir sisteminde kolinerjik enerjinin birincil çıkış bölgesidir. Merkezi kolinerjik devre, normal bilişsel işlevin sürdürülmesinde ve serebral korteks boyunca sinyal iletiminin düzenlenmesinde rol oynar. Bununla birlikte, nöronal glial kolinerjik sinyalleşmenin anti-inflamatuar ve antioksidan etkileri göz önüne alındığında, merkezi kolinerjik nöronların dejenerasyonu meydana gelebilir ve bu da öğrenme, hafıza, uyku düzenlemesi ve dikkatte bozulmaya yol açar (Chen vd., 2022).

AD'li kişilerde ciddi ACh eksikliği gelişebilir. Şu anda, dünya çapında en yaygın terapötik hedef olan AChE'yi hedef alan birçok ilaç tedavisi bulunmaktadır. AChE ve BChE, yaşlılık plaklarının meydana gelmesinin ilk evreleri sırasında oluşan A β kümeleşmesinde önemli bir rol almaktadır. Bu sebepten dolayı AChE ve BChE inhibisyonu, beyinde A β birikimini minimuma indirmek ve aynı zamanda asetilkolin kullanımını artırma yoluyla AD'yi tedavi etmek için potansiyel olarak kullanılabilir (Poyraz vd., 2021). BChE olarak yeşil çay polifenoller ve asetilkolinesteraz inhibitörleri (AChEI) AD'nin tedavisi için kullanılabilir. AChE ve BChE'nin inhibisyonu, kolinerjik sinyalleşmeyi artıran kolinerjik nörotransmisyon süresini uzatabilir. Ancak AChE molekülleri hala sinaptik yarıktadır. Bu bulgular ışığında, AD tedavisi için terapötik ajanlar olarak kolinesteraz inhibitörleri önerilmektedir. AChEI'ler şu anda AD'li hastaların tedavisi için onaylanmış tek klinik ilaçlardır. AChEI'ler, ACh'nin hidrolizini engelleyerek AD hastalarında bilişsel işlev

bozukluğunu giderebilir. AChEI'lerinden birinci nesil olarak bilinen ve en çok tercih edileni, kullanımı büyük ölçüde sınırlandırılan takrindi. Takrinin sınırlandırılmasının ardından ise en yaygın olarak kullanılan AChEI'ler donepezil, rivastigmin ve galantamin dahil olmak üzere ikinci nesil ilaçlardır (Chen vd., 2022).

2.6.2. Diabetes mellitus (DM)

Diabetes mellitus, insülin sekresyonu, insülin etkisi veya her ikisindeki kusurlardan kaynaklanan kronik hiperglisemi ile karakterize bir grup metabolik hastalıktır (Kharroubi ve Darwish, 2015). Sağlıksız yaşam tarzı faaliyetleri nedeniyle diyabetin küresel prevalansı artış göstermektedir (Saeedi vd., 2019). Pankreas β -hücreleri tarafından üretilen bir peptit hormonu olan insülin, kan şekeri düzeylerinin ve enerji metabolizmasının düzenlenmesinde anahtar rol oynar. İnsülin glukoz alımı ve taşınması, glikojen sentezi, yağ asidi sentezi ve protein sentezi dahil olmak üzere sayısız hücre fonksiyon için gereklidir (Dirir vd., 2021).

Diabetes mellitus, ekstremité amputasyonu, körlük, böbrek yetmezliği ve kardiyovasküler hastalık gibi bir dizi komplikasyona neden olabilir (Li vd., 2022). DM esas olarak birçok tipte sınıflandırılır ancak en yaygın tipleri tip 1 ve tip 2 DM olarak bilinir. Tip 1 DM (T1DM) patogenezi, tipik olarak pankreas β -hücrelerinin T hücre aracılı otoimmünite tarafından tahrip edilmesinden kaynaklanan insülin üretimindeki yetersizlik ile ilişkilidir. Genellikle çocuk ve gençlerde gözlemlenir. Öte yandan tip 2 DM (T2DM), insülin direnci ve insülin üretiminin azalması ile karakterizedir. Tip 2 diyabetin başlangıcı ve alevlenmesi ile ilişkili başlıca risk faktörleri obezite, fiziksel hareketsizlik ve D vitamini eksikliğini içerir. (Tan vd., 2019). Şu ana kadar diyabetin bilinen tam bir tedavisi yoktur, ancak sentetik ilaçlarla geçiçi olarak tedavi edilebilir veya kontrol edilebilir. Kan şekerini mümkün olduğunca normale yakın tutmak ve diyabete bağlı sağlık sorunlarının gelişmesini geciktirmek veya kısmen önlemek için farmakolojik tedavi veya insülin gerekebilir. Bununla birlikte, hastalık yönetimine sağlıklı beslenme ve fiziksel egzersiz de yardımcı olabilir (Artasensi vd., 2020). Mevcut antidiyabetik ilaçların uzun süreli tedavisi, yan etkileri ve yüksek fiyatları göz önüne alındığında, DM için etkili, toksik olmayan ve uygun fiyatlı ilaçlara büyük bir talep vardır. Sentetik ilaçlarla karşılaştırıldığında, doğal ürünler DM tedavisinde önemli bir rol oynamıştır. Bu bağlamda yeni teknolojilerin hızla gelişmesi ile birlikte artan çalışmalar antidiyabetik doğal ürünlere odaklanmıştır.

α -amilaz ve α -glukozidazın inhibisyonunun DM tedavisi ile ilişkilendirilmesinden dolayı araştırmalar bu doğrultuda ilerleme göstermiştir. Diyet karbohidratları, oligosakkarit ve daha sonra pankreatik α -amilaz ve bağırsak α -glukozidaz gibi ana hidrolize edici enzimler tarafından üretilen glukoz dahil monosakkarite hidrolize edilebilir. Bu nedenle α -amilaz ve α -glukosidaz aktivitelerini inhibe ederek kan glukoz düzeyini yönetmenin etkili bir yaklaşım olduğu düşünülmektedir (Li vd., 2017).

2.6.3. Hiperpigmentasyon

Tirozinaz mikroorganizmalarda, bitkilerde ve hayvanlarda yaygın olarak bulunan tip 3 bakır içeren ve melanin sentezindeki rolüyle öne çıkan bir enzimdir. İnsan deri, saç ve göz pigmentasyonunda başlıca sorumlu tutulan ana pigment olan melaninler, melanogenez yoluyla melanositler tarafından üretilir (Zolghadri vd., 2019). Melanogenez, enzimatik ve kimyasal katalizli reaksiyonların bir birleşimini içeren karmaşık bir yoldur. Melanogenez, ara ürün olan 3,4-dihidroksifenilalanin (DOPA) aracılığıyla tirozin amino asitinin dopakinona tirozinaz katalizli oksidasyonu ile başlatılır. Bu oksidasyon adımı, melanin sentezindeki hız sınırlayıcı basamaktır, çünkü reaksiyon dizisinin geri kalanı, fizyolojik bir pH değerinde kendiliğinden ilerleyebilir. Dopakinon kahverengi-siyah veya koyu bir polimer olan eumelanin ve sisteinin müdahalesiyle oluşan kırmızı-sarı bir polimer olan feomelanine dönüşür ve melanin üretimi gerçekleşir. (Panzella ve Napolitano, 2019; Masum vd., 2019).

Melanin, geniş bantlı bir UV emici olarak işlev görmekle birlikte antioksidan ve radikal süpürücü özelliklere sahip olduğundan, geleneksel olarak cilt pigmentasyonunun en önemli fotokoruyucu faktörü olduğuna inanılır (Brenner ve Hearing, 2008). Tirozinazın anormal ekspresyonu veya aktivasyonu albinizm, melanom, parkinson hastalığı ve vitiligo gibi farklı hastalıklarla bağlantılıdır. Aşırı melanin birikmesi çil, yaşlılık lekeleri ve melazma gibi hastalıklara neden olabilir. Aşırı melanin birikmesi aynı zamanda meyve ve sebzelerin esmerleşmesinin yanında böcek deri değiştirilmesiyle de yakından ilişkilidir. Bu hastalıkların tanı ve tedavisinde tirozinaz aktivitesinin saptanması ve engellenmesi oldukça önemlidir (Qu vd., 2020). Bu durumda tirozinaz enziminin inhibitörleri gıda endüstrisinde gıda koruyucu olarak ve tıp-kozmetik alanlarında cilt beyazlatıcı ajanlar olarak kullanılabilir (Wu vd., 2016).

Son yıllarda, literatürde hidrokinon, askorbik asit, arbutin, kojik asit, aromatik aldehitler, aromatik asitler, aromatik alkoller, tropolon ve polifenoller gibi çok sayıda doğal ve sentetik tirozinaz inhibitörü rapor edilmiştir (Peng vd., 2022). Bu inhibitörlerden zayıf aktiviteli ve belirli güvenlik riskleri taşıyan, hidrokinon , kojik asit ve α -arbutin gibi doğal veya sentetik kaynaklardan elde edilen tirozinaz inhibitörleri birçok zorlukla karşı karşıyadır. Çalışmalar, hidrokinon ve kojik asidin belirli kanserojenliğe sahip olduğunu doğrulamıştır. Bu bulgulara dayanarak, yeni tirozinaz inhibitörlerinin geliştirilmesi ve araştırılmaya devam edilmesi gıda, tarım, kozmetik ve ilaç endüstrilerinden büyük ilgi görmektedir (Li vd., 2021).



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Bitki Materyali

Çalışma materyali olan *Kalidium wagenitzii* bitkisinin kök ve toprak üstü kısımları bitkinin vejetasyon döneminde Aksaray ili Eskişehir ilçesi Eskişehir-Yenikent arasındaki N 38°22'50" E 33°32'44" lokasyonundan (Keser, 2020) toplanmıştır.

3.2. Bitki Özütlerinin Hazırlanması

Olgunlaşma döneminde toplanan bitkiler gölgede kurutulmuştur. Tamamen kurutulan örnekler blender yardımı ile öğütülerek toz hale getirilmiştir. Öğütülmüş olan örneklerden 15'er gram tartılarak balon jöjelere aktarılmış ve üzerine 250'er ml çözücü (su, metanol, etil asetat) eklenerek Ultrasonic Cleaner cihazına koyulmuştur (4x15). Bu işlemde sonra örnekler iki defa tekrarlanmak kaydıyla filtre kağıdından geçirilerek süzölmüştür. Sulu örnek liyofilize edilmiştir. Diğer örnekler ise 50-60 °C sıcaklıkta 150 rpm dönme hızında çalışan Rotary Evaporatör cihazı yardımıyla çözücüleri uçurulmuştur ve saf özütler elde edilmiştir. Bu özütler tamamen kurutulmuş ve toplam verimleri hesaplanmıştır. Kurutulan özütler analize kadar -20 °C'de depo edilmiştir. Analiz öncesinde ise bu özütlerden 2 mg/ml konsantrasyonda stok solüsyonlar hazırlanmıştır.

3.3. Antioksidan Aktivite Metotları

3.3.1. Toplam fenolik içerik

Bitki özütlerinin total fenolik içerikleri ufak değişiklikler ile Folin-Ciocalteu yöntemine göre saptanmıştır (Juranović Cindrić vd., 2011; Agbor vd., 2014). Özetleyecek olursak, 1.5 ml distile su üzerine 0.5 ml %7'lik Na₂CO₃ eklenerek karıştırıldı ve stok örnek çözeltilerinden 0.2 ml alındı, ardından 3 dakika beklendi. Sonrasında Folin-Ciocalteu reaktifinden 1 ml eklendi. Standart olarak galik asitin farklı konsantrasyonlarından (100, 50, 25, 12.5 µg/ml) alınmak kaydıyla aynı işlemler uygulandı. Kör olarak örneğin yerine 0.2 ml metanol koyuldu. Ardından 25 °C 2 saat süreyle karanlık bir ortamda inkübe edilen örneklerin 760 nm'de spektrofotometrede absorbansları okundu. Örneklerde içerdikleri farklı fenolik oranlarına göre yeşilden maviye doğru renk değişiminin olduğu gözlemlendi. Örnekler üçer tekrar olacak şekilde ölçölmüştür. Standartın absorbans konsantrasyon grafiğinde sağlanmış olan

denklemden yararlanılarak örneklerin fenolik içerikleri Gallik asit eşdeğeri (GAE) olacak şekilde saptanmıştır.

3.3.2. Toplam flavonoid içerik

Arvouet-Grand vd. (1994)'ne göre spektrofotometrik olarak total flavonoid içerik belirlenmiştir. Bu yöntemde, 1 ml %2'lik $AlCl_3$ 1 ml özüt ile karıştırıldı. Her bir örnek için hazırlanmış olan kör örneğinde 1 ml metanol ve 1 ml özüt eklenmiştir. Rutin'in farklı konsantrasyonlarda standart olarak hazırlanan çözeltileri kullanılmıştır. Örnekler oda sıcaklığında 10 dakika bekletildikten sonra 415 nm'de köre karşı absorbans değerleri okunmuştur. Örneklerin flavonoid içerikleri rutin eşdeğeri (RE) olarak, standardın absorbans konsantrasyon grafiğinde elde edilen denklem kullanılarak belirlenmiştir.

3.3.3. DPPH serbest radikal giderme aktivitesi

Bitki özütlerinin DPPH radikalini giderme aktivitesi Sarikurkcu vd., (2008)'nin metodunda küçük modifikasyonlarla uygulanmıştır. Metot için ilk önce DPPH'nin mM'lık çözeltisi hazırlanmıştır. Kontrol tüpüne 1 ml DPPH çözeltisi ve 1 ml metanol, kör tüpüne ise yalnızca metanol konulmuştur. Örnekler için ise farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış olan 1 ml özüt üzerine 1 ml DPPH eklenmiş oda sıcaklığında, karanlık bir ortamda 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda 517 nm'de örneklerin, kontrol ve standartların absorbansları ölçülmüştür. Absorbans değerleri göz önüne alınarak örneklerin DPPH radikali inhibe oranları (%I) 3.1'de ki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\%I = 100 \times (A_0 - A_1) / A_0 \quad (3.1)$$

(A_0 : Kontrolün absorbansı, A_1 : Özütün absorbansı)

Ayrıca radikalın %50'sinin inhibe edildiği konsantrasyon olan IC_{50} değerleri de ayrı ayrı her bir özüt için hesaplanmıştır.

3.3.4. ABTS radikal süpürme aktivitesi

ABTS katyon radikaline karşı temizleme aktivitesi, Re ve ark.(1999)'nın yöntemine göre küçük bir değişiklikle ölçüldü. Kısaca ABTS radikal katyonu, 7 mM ABTS çözeltisinin 2.45 mM potasyum persülfat ile reaksiyona sokulması ve karışımın oda sıcaklığında karanlıkta 12-16 saat beklemesiyle hazırlandı. Deneye başlamadan önce, ABTS çözeltisi metanol ile 734 nm'de 0.700 ± 0.02 absorbansa seyreltilti. ABTS solüsyonuna (2 ml) numune solüsyonu (1 ml) ilave edildi ve karıştırıldı. Örnek absorbansı, oda sıcaklığında 30 dakikalık bir inkübasyondan sonra 734 nm'de okunmuştur. ABTS radikal katyon süpürme aktivitesi, troloks eşdeğerleri (mgTEs/g) olarak ifade edildi.

3.3.5. Demir indirgeme antioksidan gücü (FRAP)

Bu yöntem bitki özütlerinin demir iyonlarını indirgeme gücünün tespit edilmesi prensibine bağlı olarak gerçekleştirilmiştir (Aktumsek vd., 2013). Öncelikle 31.2 mg TPTz, 10 ml distile su ve 50 µl hidroklorik asit karışımında çözülmüştür. Ardından 10 ml distile suda 32 mg FeCl₃ çözülmüştür. Son olarak 4.1 ml asetik aside (%80) 250 ml distile su eklenmiş olup sonrasında 0.66 gr sodyum asetat bu çözelti içerisinde tamamen çözülmeye kadar karıştırılmıştır. Tampon, FeCl₃ ve TPTz 10/1/1 oranlarında karıştırılmıştır ve bu karışımın 2 ml'si ile 0.1 ml bitki özütü karıştırılıp sonrasında 30 °C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Standart olarak troloks çözeltisinin farklı konsantrasyonları (25, 50, 75, 100, 150, ve 200 µg/ml) özüt yerine kullanılmıştır. İnkübasyon sonunda örneklerin absorbans değerleri 593 nm'de okunmuştur. Sonuçlar troloks eşdeğeri (TE) cinsinden verilmiştir.

3.3.6. Bakır iyonları indirgeme aktivitesi (CUPRAC)

Bu yöntem Apak vd. (2006)'den ufak modifikasyonlarla gerçekleştirilmiştir. Yöntem için amonyum asetat, neocuproine ve CuCl₂ çözeltilerinin her birinden 1'er ml alınmıştır. Üzerine ise farklı konsantrasyonlardaki bitki özütleri ve standart BHA ve BHT'den 0.5 ml eklenmiştir. Sonrasında her bir tüpe 1'er ml distile su eklenmiştir. Son olarak karanlık bir ortamda, oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra 450 nm'de köre karşı absorbans değerleri okunmuştur. Sonuçlar troloks eşdeğeri (TE) cinsinden verilmiştir.

3.3.7. Toplam antioksidan kapasite

Total antioksidan kapasitenin belirlenmesi için fosfomolibdenum metodu Cakmak vd., (2012)'ne göre uygulanmıştır. Test için birbirinden farklı 3 çözelti hazırlanıp ardından karıştırılarak reagent çözeltisi hazırlanmıştır. Bu karışım çözeltisi 4 mM amonyum molibdat, 28 mM sodyum fosfat ve 6 M sülfürik asit çözeltileri karıştırılarak elde edilmiştir. Sonrasında bu karışımdan 3 ml alınarak üzerine farklı konsantrasyonlardaki (0.0625-1 mg/ml) askorbik asit çözeltileri ve 0.1 ml özüt eklenmiştir. Kör için ise 0.3 ml metanol eklenmiştir. Daha sonra tüpler 90 dakika ve 95 °C'de inkübe edildikten sonra 695 nm'de absorbans değerleri okunmuştur. Sonuçlar troloks eşdeğeri (TE) cinsinden verilmiştir.

3.3.8. Metal şelatlama aktivitesi

Tez kapsamında değerlendirilen *Kalidium wagenitzii* özütlerinin metal şelatlama yetenekleri ferrozin metodu ile belirlendi. Bitkisel özütler ile FeCl₂ reaksiyona tabii tutularak ortamdaki demir (II) varlığı ferrozin kullanılarak belirlendi. Deney sonucunda absorbanslar 562 nm'de ölçüldü. Aynı işlemler EDTA içinde yapıldı ve sonuçlar EDTA eş değeri (mg EDTA/g) olarak verildi (Uysal vd., 2017).

3.4. Enzim İnhibisyon Testleri

3.4.1. Kolinesteraz inhibisyonu

Ellman metodu kullanılarak kolinesteraz (ChE) inhibitör aktivitesi ölçülmüştür (Aktumsek vd., 2013). Örnek çözeltisi (50 µL), asetilkolinesteraz (veya bütirilkolinesteraz) çözeltisi (25 µL) ve DTNB (125 µL) Tris-HCl tamponu (pH 8.0) içerisinde karıştırılmıştır. Daha sonra 96 kuyucuklu mikropate içerisinde 25 °C'de 15 dakika inkübe edilmiştir. Reaksiyon bütirilkolin klorid veya asetilkolin iyodinin eklenmesiyle başlatılmıştır. Benzer biçimde her bir özüt için kör, enzim bulundurmayan bir tüp olarak hazırlanmıştır. Örnek ve kör absorbans değerleri 405 nm'de 10 dakika ve 25 °C'de inkübasyondan sonra okunmuştur. Kolinesteraz inhibitör aktivitesi galantamine eşdeğeri (GALAE) olarak verilmiştir.

3.4.2. Alfa-amilaz inhibisyonu

α -amilaz inhibitör etkinliği Caraway-Somogyi iyodin/potasyum iyodid (IKI) yöntemi kullanılarak yapılmıştır (Yang vd., 2012). Örnek çözeltileri (50 μ L), fosfat tamponu (pH 6.9, 6 mM sodyum klorid) ve (25 μ L) α -amilaz çözeltisi 96 kuyucuklu mikropate içerisinde karıştırılmıştır. Karışım 37 °C’de 10 dakika inkübe edildi. Ön inkübasyonun ardından reaksiyon nişasta çözeltisi (50 μ L, %0.05) eklendiğinde başlatılmıştır. Benzer şekilde enzim bulundurmeyen kör çözeltisi hazırlanmıştır. Reaksiyon karışımı 37 °C’de 10 dakika inkübe edilmiştir ve reaksiyon HCl (25 μ L, 1 M) eklendiğinde durdurulmuştur. Bunun ardından iyodin-potasyum iyodid çözeltisi (100 μ L) eklenmiştir. Örnek ve kör absorbans değerleri 630 nm’de okundu. α -amilaz inhibitör etkinliği sonuçları akarboz eşdeğeri (ACAE) olarak verilmiştir.

3.4.3. Alfa-glukozidaz inhibisyonu

α -glukozidaz inhibitör aktivitesi Palanisamy vd. (2011)’nin yöntemine göre uygulanmıştır. Örnek çözeltisi (50 μ L), α -glukozidaz çözeltisi (50 μ L), glutatyon (50 μ L), PNPG (50 μ L) ve fosfat tamponu (pH 6.8) çözeltisi 96 kuyucuklu mikropate içerisinde karıştırılmış ve 37 °C’de 15 dakika inkübe edilmiştir. Aynı şekilde enzim içermeyen bir kör hazırlanmıştır. Reaksiyon sodyum karbonat (50 μ L, 0.2 M) eklendiğinde durdurulmuştur. Örnek ve kör absorbans değerleri 400 nm’de okunmuştur. α -glukozidaz inhibitör aktivitesi akarboz eşdeğeri (ACAE) olarak verilmiştir.

3.4.4. Tirozinaz inhibisyonu

Tirozinaz inhibitör aktivitesi dopachrome yöntemi ile substrat olarak L-DOPA kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Orhan vd., 2012). Örnek çözeltisi (25 μ L), fosfat tamponu (100 μ L, pH 6.8) ve tirozinaz çözeltisi (40 μ L) ile 96 kuyucuklu mikropate içerisinde karıştırılmış ardından 25 °C’de 15 dakika boyunca inkübe edilmiştir. Reaksiyon başlatılması ortamına L-DOPA (40 μ L) eklenmesiyle gerçekleştirilmiştir. Aynı şekilde içerisinde enzim bulundurmeyen kör çözeltisi hazırlanmıştır. Örnek ve kör absorbans değerleri 25 °C’de 10 dakika boyunca inkübe edilmiş ardından 492 nm’de okunmuştur. Tirozinaz inhibitör aktivitesinin sonuçları kojik asit eşdeğeri (KAE) şeklinde verilmiştir.

3.5. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografi Analizleri (HPLC/DAD)

Farklı ekstraktların fenolik bileşim analizi, Caponio vd. (1999) tarafından açıklanan yöntem de yapılan küçük modifikasyonlarla elde edildi. Analiz C18 kolonu ve diyot dizisi dedektörü DAD ile donatılmış bir HP Agilent marka 1200 Infinity Series modeli HPLC cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Hareketli faz, (A) su ve (B) metanol içinde %3 asetik asit (v/v) kullanıldı. Enjeksiyon hacimleri 10 µL idi ve ekstrakt konsantrasyonları 2 mg/ml idi. Eluatlar 278 nm'de saptandı. Test edilen örnekler metanol içinde hazırlandı. Elüsyon gradyanı kullanıldı ve takip oranı şu şekildedir: %93 A-%7 B (0,1 dk), %72 A-%28 B (20 dk), %75 A-%25 B (8 dk), %70 A- %30 B (7dk); ve 15 dakika boyunca aynı gradyan %67 A-%33 B (10 dakika), %58 A-%42 B (2 dakika), %50 A-%50 B (8 dakika), %30 A-%70 B idi (3 dk), %20 A-%80 B (2 dk) ve %100 B çalışmanın son 5 dakikası boyunca kullanıldı (Abdulqadir et al. 2018). Ayrıca kullanılan standartlar 3-Hidroksi Benzoik Asit, 4- Hidroksi Benzoik Asit, Benzoik Asit, Kateşin Hidrat, Klorojenik Asit, Kafeik Asit, Epikateşin, Gallik Asit, Hesperidin, P-Kumarik Asit, Kuersetin, Rosmarinik Asit, Sinapik Asit, Siringik Asit, t-Sinamik Asit ve t-Ferulik Asit. Bu çalışmada, (ppm=mg/kg-mg/L) olarak ifade edilen her bir bileşik her bir özüt için incelenmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Bu çalışmada *Kalidium wagenitzii*'nin farklı çözücüler içerisinde hazırlanmış özütlerinin antioksidan aktiviteleri ve enzim inhibisyon aktiviteleri belirlenmiştir. Araştırılan aktiviteler için metanol, etil asetat ve su çözücülerini tercih edilmiş olup hazırlanan bitki özütlerine in vitro testler uygulanmıştır.

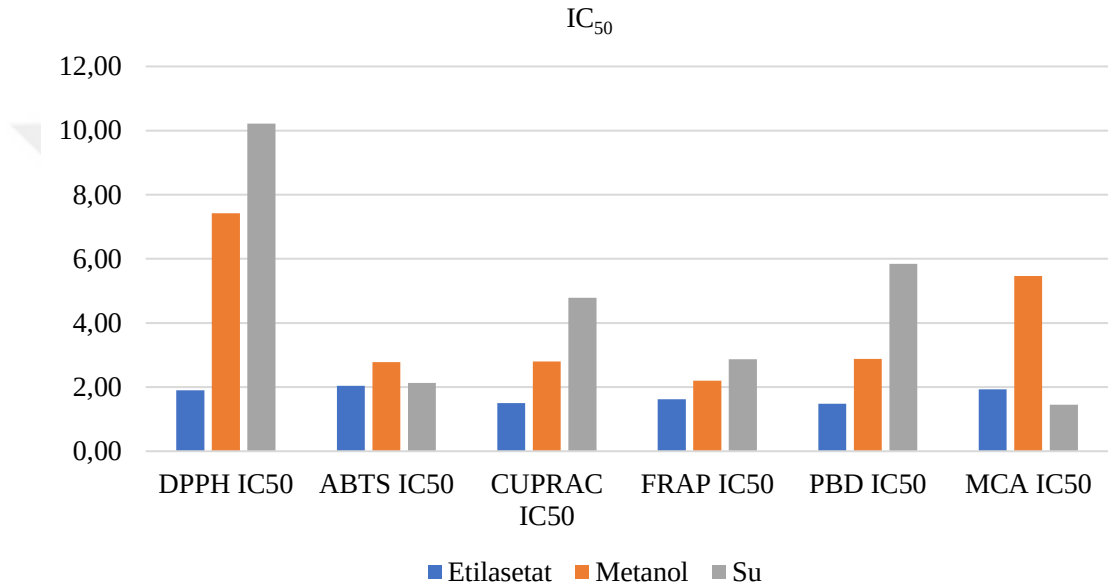
4.1. Antioksidan Aktivite Bulguları

Kalidium wagenitzii'nin farklı çözücüler (etil asetat, metanol ve su) kullanılarak hazırlanmış özütlerinin antioksidan aktivitelerini belirlemek için örneklere toplam antioksidan kapasite testi, DPPH, ABTS, CUPRAC, FRAP, PBD, ve MCA testleri uygulanmıştır. Ayrıca özütlerin toplam fenolik ve flavonoid içerikleri de belirlenmiştir. Bitki materyallerinin ekstrakt verimleri ve sonuçta ortaya çıkan antioksidan aktiviteleri, belirli bir solventte çözünebilen veya çözünmeyen çeşitli kimyasal özelliklere ve polaritelere sahip farklı antioksidan bileşiklerin varlığından dolayı ekstraksiyon solventinin doğasına güçlü bir şekilde bağlıdır. Polar çözücüler, bir bitki matrisinden polifenollerin geri kazanılması için sıklıkla kullanılır. Bu çözücüler arasında en polar olanı sudur ve çok çeşitli polar bileşiklerin ekstraksiyonunda kullanılır (Sultana vd., 2009). Metanol en polar ikinci organik çözücüdür ve sekonder metabolitlerin ekstraksiyonunda polaritesinden dolayı sıklıkla tercih edilir. Etil asetat ise polaritesi oldukça düşük ancak sekonder metabolitlerin ekstraksiyonunda tercih edilen bir başka çözücüdür (Abubakar ve Haque, 2020). Antioksidan moleküllerin polar bölgeleri ile çözücünün polar yapısı arasındaki etkileşimlerden dolayı polaritesi yüksek çözücüler bitki ekstraksiyonlarında öncelikli olarak tercih edilir (Boeing vd., 2014). Çalışmamızda antioksidan aktivite bakımından tercih edilen bu üç çözücü karşılaştırıldığında MCA testi dışındaki tüm testlerde bitki yapısında bulunan kimyasal bileşenlerden dolayı düşük polariteye sahip olan etil asetat çözücüsü ile çok iyi sonuçlar vermiştir. Bu durum bitkinin kendine özgü fitokimyasal bir profile sahip olabileceği gerçeğini kanıtlar niteliktedir. Bunların yanında özütlerin, bir maddenin spesifik bir biyolojik veya biyokimyasal fonksiyonu inhibe etme gücünün bir ölçüsü olan IC₅₀ konsantrasyonları da test edilmiş olup sonuçlar troloks eşdeğeri cinsinden hesaplanmıştır. Düşük seviyelerdeki IC₅₀ konsantrasyonları daha yüksek antioksidan kapasiteyle ilişkilendirilmektedir. IC₅₀ konsantrasyonları bakımından test edilen metotların sonuçları Çizelge 4.1. ve Şekil 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Antioksidan aktivite (IC₅₀) konsantrasyonları sonuçları.

Özütler	DPPH IC ₅₀ (mg/ml)	ABTS IC ₅₀ (mg/ml)	CUPRAC IC ₅₀ (mg/ml)	FRAP IC ₅₀ (mg/ml)	PBD IC ₅₀ (mg/ml)	MCA IC ₅₀ (mg/ml)
Etil asetat	1.90±0.01*	2.04±0.02*	1.50±0.01*	1.62±0.01*	1.48±0.05*	1.93±0.01*
Metanol	7.42±0.26	2.78±0.02	2.80±0.03	2.20±0.04	2.88±0.15	5.47±0.14
Su	10.22±0.03	2.13±0.01	4.79±0.04	2.87±0.02	5.84±0.18	1.45±0.03

*Üç paralel analizin ortalaması±standart sapma.



Şekil 4.1. Antioksidan aktivite (IC₅₀) konsantrasyonları grafiği.

4.1.1. *Kalidium wagenitzii* özütlerinin toplam fenolik içeriği

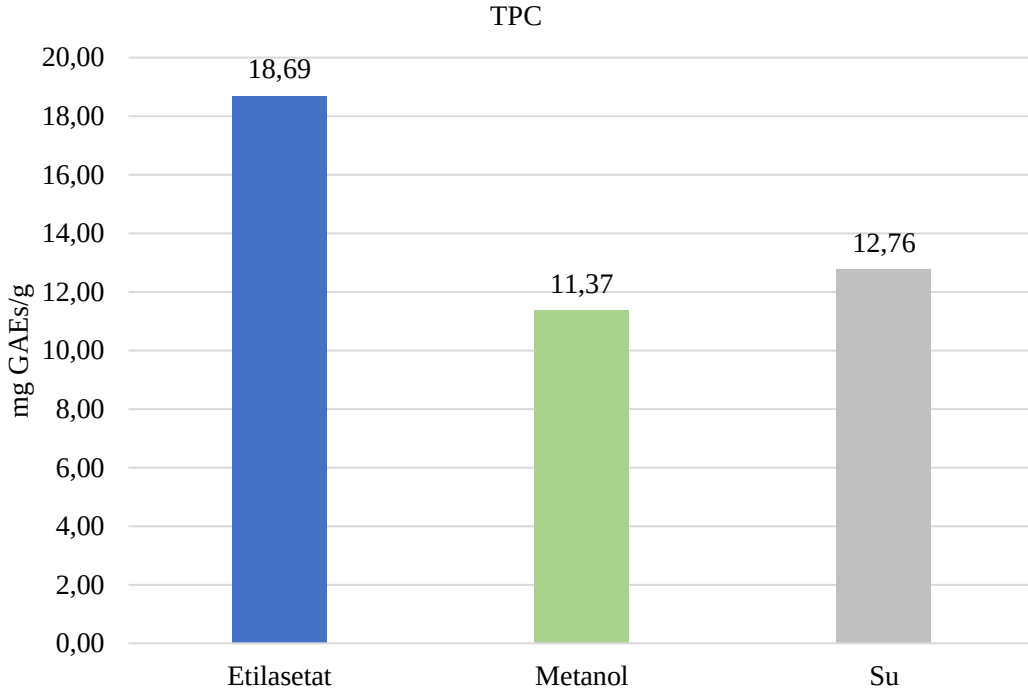
Toplam fenolik içerik antioksidan aktivite için önemlidir. Çünkü fenolik içerik arttıkça ekstreinin, reaktif serbest radikalleri veya primer oksidanları giderebilmesi o kadar güçlü olur ve insan sağlığı için önemli hale gelir. Bitkinin fenolik içeriği Folin-Ciocalteu reaktifi ile gallik asit eşdeğeri cinsinden hesaplanmıştır. Ekstraksiyon çözücüsünün polaritesi ve ekstraksiyon çözücüsündeki kimyasal bileşenlerin çözünürlüğü, ekstraktların toplam fenolik içeriğini etkileyebilir. Bundan dolayı *K. wagenitzii*'nin toprak üstü kısımlarının toplam fenolik içeriği üç farklı çözücü (etil asetat, metanol, su) içerisinde hazırlanan ekstraktlar kullanılarak ölçülmüştür. Etil asetat çözücüsü içerisinde hazırlanan ekstrakt 18.69±1.32 mg GAE/g olarak hesaplanmış ve en iyi sonuç bu çözücü içerisinde elde edilmiştir. Toplam fenolik içerik

bakımından 12.76 ± 0.12 mg GAE/g olarak en iyi ikinci sonuç su çözücüsü içerisinde hazırlanan ekstraktan elde edilmiştir. Metanol çözücüsü içerisinde hazırlanan ekstrakta ise 11.37 ± 0.99 mg GAE/g olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.2. ve Şekil 4.2.'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Toplam fenolik içerik sonuçları.

Özüt	TPC (mg GAEs/g özüt)
Etil asetat	$18.69 \pm 1.32^*$
Metanol	11.37 ± 0.99
Su	12.76 ± 0.12

*Üç paralel analizin ortalaması±standart sapma



Şekil 4.2. Toplam fenolik içerik grafiği. GAE: Gallik asit eşdeğeri.

Rjeibi vd. (2019) yapmış oldukları çalışmada Tunus bölgesinden toplamış oldukları *Amaranthus spinosus* türünün yaprak kısımlarının total fenolik içeriğini analiz etmişlerdir. Çalışmanın sonucunda total fenolik içerik açısından en yüksek verimi 462.2 mg GAE/g ile etil asetat özütü ardından 301.8 mg GAE/g ile bütanol özütü ve 214.6 mg GAE/g ile kloroform özütü takip etmiştir. Bir başka çalışmada Roberto vd. (2021) *Salicornia fragilis* türünün ve farklı bir bitki türünün dahil olduğu, biyolojik aktivitelerinin incelendiği çalışmada total fenolik içerik bakımından

değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda etil asetat fraksiyonunun ham özüt ve sulu özüte karşı 262.02 ± 1.49 mg GAE/g ile en iyi sonucu verdiğini bildirmişlerdir. Durhan vd. (2022) ise *Amaranthus lividus* L. türünün yaprak kısımlarının metanol, etanol ve su özütlerinin toplam fenolik içeriklerini incelemişlerdir. Çalışmanın sonucunda özütler arasında en yüksek fenolik içeriği 3.9 mgGAE/100 mg ile metanol özütünden elde etmişlerdir. Yapmış olduğumuz çalışma ve bahsi geçen diğer çalışmaların verileri ele alındığında Amaranthaceae familyasına ait bu türlerin total fenolik içerik bakımından farklı çözücülerle verimli sonuçlar verdiğini, ilaveten bahsedilen ilk iki çalışmada toplam fenolik içerik bakımından elde edilen veriler mevcut çalışmamıza nispeten daha verimli sonuçlara sahip oldukları gözlemlenmiştir.

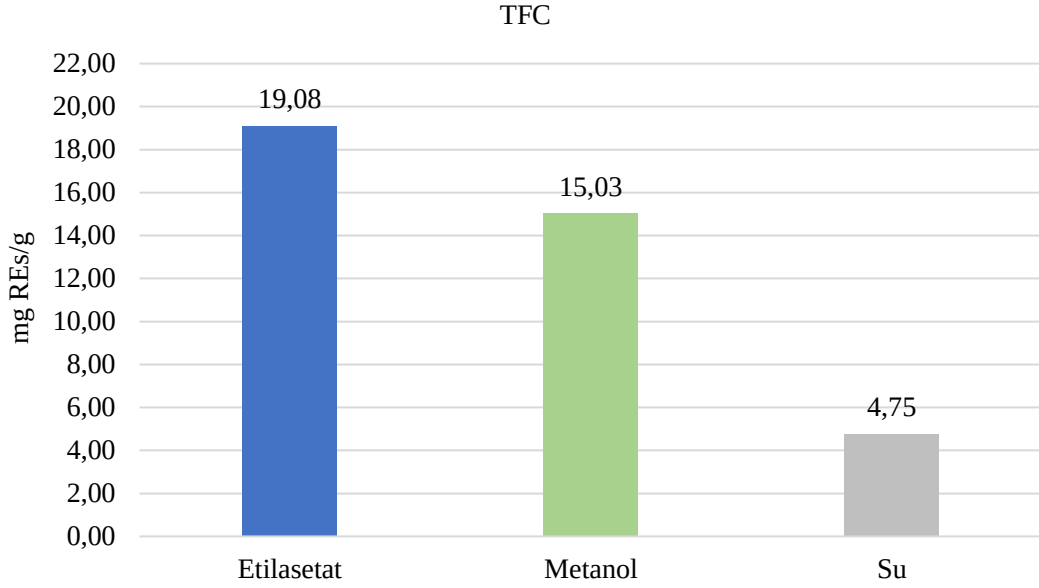
4.1.2. *Kalidium wagenitzii* özütlerinin toplam flavonoid içeriği

Flavonoidlerin hastalıklarla mücadelede önemli oldukları ve yapılarına bağlı olarak da antioksidan olarak kullanılabilecekleri, fenolik bileşiklerle birleştiklerinde ise yüksek antioksidan aktivite gösterebilecekleri bilinmektedir. Bu sebeple yüksek flavonoid içerik farmasötik açıdan önemlidir. *K. wagenitzii*'nin toprak üstü kısımlarının toplam flavonoid içeriği miligram başına Rutin eşdeğeri/gram olarak ölçülmüştür. Ölçümler sonucunda bitkinin toplam flavonoid içeriği 19.08 ± 0.07 mg REs/g olarak etil asetat çözücüsü içerisinde hazırlanan ekstraktan elde edilmiştir. Ardından 15.03 ± 0.04 mg REs/g ile metanol çözücüsü içerisinde hazırlanan ekstraktan gelmekte. Bu bitkinin toplam flavonoid içeriği en az 4.75 ± 0.16 mg REs/g ile su içerisinde hazırlanan ekstraktan ölçülmüştür. Sonuçlara göre en iyi ölçüm etil asetat çözücüsü içerisinde hazırlanan ekstraktan elde edilmiştir. Sonuçların genel bir tablosu Çizelge 4.3. ve Şekil 4.3.'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Toplam flavonoid içerik sonuçları.

Özüt	TFC (mg REs/g özüt)
Etil asetat	$19.08 \pm 0.07^*$
Metanol	15.03 ± 0.04
Su	4.75 ± 0.16

*Üç paralel analizin ortalaması±standart sapma



Şekil 4.3. Toplam flavonoid içerik grafiği. RE: Rutin eşdeğeri.

Zengin vd. (2018) *Salicornia europaea* türünün toprak üstü kısımlarının toplam flavonoid içeriğini araştırmışlar ve sonuçta etil asetat özütünü 18.26 ± 0.11 mgREs/g, metanol özütünü 5.10 ± 0.09 mg REs/g ve su özütünü 1.07 ± 0.08 mgREs/g olarak bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada Sinan vd. (2020) çalışmalarında *Achyranthes aspera* türünün toprak üstü kısımlarının toplam flavonoid içeriğini test etmişler ve sonuçta flavonoid içerik bakımından en yüksek sonucu veren özütlerin 38.48 ± 1.48 mg RE/g ile diklorometan ve 29.90 ± 0.71 mg RE/g ile etil asetat olduğunu bildirmişlerdir. Mahmutović-Dizdarević vd. (2022) çalışmalarında Amaranthaceae ailesinin üyelerinden olan *Spinacia oleracea*, *Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris* ve *Atriplex hortensis* L. türlerinden hazırlamış oldukları metanol ve etanol özütlerinin toplam flavonoid içeriklerini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda en yüksek flavonoid içeriğin *Spinacia oleracea* türünün metanol özütünde 1.90 mg RTE/g olduğunu ve en düşük flavonoid içeriğin ise *Atriplex hortensis* L. türünden 0.42 mg RTE/g olduğunu tespit etmişlerdir. Yapmış olduğumuz çalışma ve diğer çalışmalar göz önüne alındığında bahsi geçen bitki türlerinin flavonoid içerik bakımından etil asetat özütlerinde daha verimli sonuçlar elde edildiği gözlemlenmektedir. Ayrıca elde ettiğimiz sonuçlar *Kalidium wagenitzii* türünün aynı ailede bulunan diğer türlerle ortalama değerde bir flavonoid içeriğe sahip olduğunu göstermektedir.

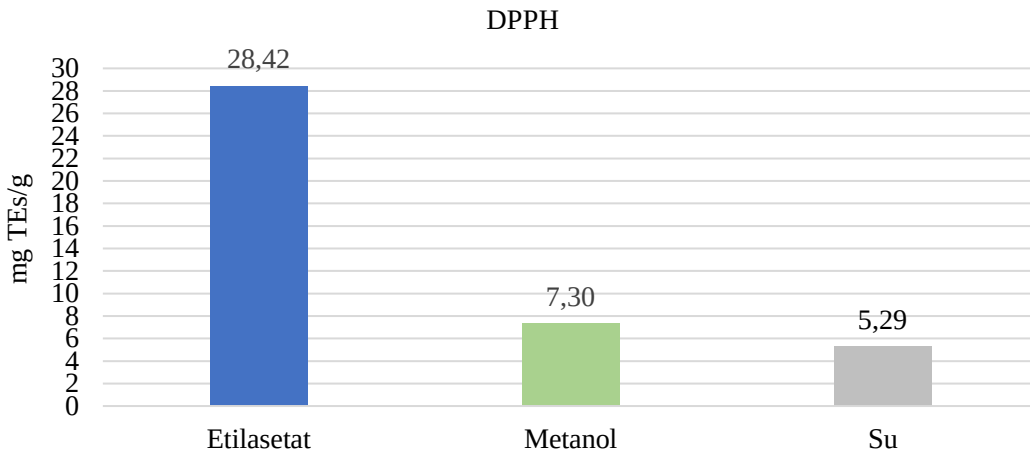
4.1.3. *Kalidium wagenitzii* özütlerinin DPPH radikal süpürme aktivitesi

DPPH (2,2-difenil-1-pikril-hidrazil-hidrat) serbest radikal süpürme aktivitesi, çözücü içerisinde mor bir çözelti üreten elektron transferine dayalı bir antioksidan testidir. Oda sıcaklığında stabil olan bu serbest radikal, bir antioksidan molekülün varlığında indirgenir ve renksiz çözücü görünmesine yol açar (Garcia vd., 2012). DPPH radikal giderme aktivitesi ayrıca fenolik içerikle alakalı olduğundan ölçülmesi önemlidir. DPPH radikal giderme aktivitesi troloks eş değeri olarak hesaplanmıştır. *K. wagenitzii*'nin toprak üstü kısımlarının özütlerinin DPPH radikal süpürme aktivitesi sırasıyla etil asetat özütünde 28.42 ± 0.13 mg TEs/g, metanol özütünde 7.30 ± 0.25 mg TEs/g ve su özütünde 5.29 ± 0.02 mg TEs/g olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.4. ve Şekil 4.4.'de verilmiştir. Bunlara ek olarak hazırlanan her bir özüt için radikalın %50'sinin inhibe edildiği konsantrasyon olan IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. IC₅₀ değerleri bakımından sonuçlar sırasıyla etil asetat özütünde hazırlanan özütte 1.90 ± 0.01 mg/ml, metanol özütünde 7.42 ± 0.26 mg/ml ve su özütünde 10.22 ± 0.03 mg/ml olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.1. ve Şekil 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.4. DPPH testi sonuçları.

Özüt	DPPH (mg TEs/g özüt)
Etil asetat	$28.42 \pm 0.13^*$
Metanol	7.30 ± 0.25
Su	5.29 ± 0.02

*Üç paralel analizin ortalaması±standart sapma



Şekil 4.4. DPPH testi grafiği. TE: Troloks eşdeğeri.

Barku vd. (2013) yaptıkları çalışmada *Amaranthaceae* familyasına ait olan *Amaranthus spinosus* türünün kök kısmının DPPH radikal süpürme aktivitesini test etmişler ve petrol eteri ile metanol ekstraktları için sırasıyla 45.15 ± 17.6 ve 46.57 ± 1.9 'a karşı etil asetat ekstraktının 61.47 ± 4.8 DPPH radikalini temizlediğini tespit etmişlerdir. Ishtiaq vd. (2014) yaptıkları çalışmada *Amaranthus graecizans* türünün DPPH radikal süpürme aktivitesini ve DPPH IC₅₀ değerlerini test etmişlerdir. Çalışmada, 250 µg/ml'de 85.10 ± 0.21 ile en yüksek DPPH radikal süpürme aktivitesini etil asetat fraksiyonu vermiş ve 16.02 ± 1.80 µg/ml ile en iyi DPPH IC₅₀ değerini sergileyen etil asetat fraksiyonu olarak tespit edilmiştir. Metanol özütünün ise DPPH radikal süpürme aktivitesi 250 µg/ml'de 59.10 ± 0.11 ve DPPH IC₅₀ değeri 178.58 ± 0.76 µg/ml olarak hesaplanmıştır. Ayrıca standart antioksidan olan BHT'nin DPPH radikal giderme aktivitesi 60 µg/ml'de 91.28 ± 0.02 ve DPPH IC₅₀ değeri 15.36 ± 0.87 µg/ml olarak hesaplanmıştır. Daffodil vd. (2013) ise yaptıkları çalışmada *Amaranthaceae* familyası *Salicornioideae* alt familyasına ait olan *Salicornia brachiata* türünün yapraklarının petrol eteri, benzen, etil asetat, metanol ve etanol özlerinin, konsantrasyona bağlı bir DPPH radikal süpürme aktivitesini incelemişlerdir. 800 µg/ml'de, *S. brachiata* yapraklarının konsantrasyonu etil asetat, metanol ve etanol özütleri için sırasıyla 91.93 , 118.05 ve 113.56 DPPH süpürme aktivitesi olarak hesaplamışlardır. Bu konsantrasyonda, tüm ekstraktların standart askorbik asitten daha yüksek temizleme aktivitesi sergilediğini tespit etmişlerdir. Sonuçta tüm özütlerin süpürme kabiliyetini karşılaştırdıklarında metanol > etanol > etil asetat > petrol eteri > benzen şeklinde bir veri elde etmişlerdir. Rahmani vd. (2022) Tunus'un Medenine bölgesinden toplamış oldukları *Salicornia europaea* türünün yaprak ve kök kısımlarının ayrı ayrı DPPH radikal süpürme aktivitelerini ve DPPH IC₅₀ değerlerini test etmişlerdir. Çalışmanın sonucunda toplanan *S. europaea* türünün yapraklarının etkili DPPH radikal süpürme aktivitesi etanol özütünde 92.6 ± 9.5 , etil asetat özütünde ise 52.3 ± 5.1 olarak hesaplanmıştır. Kökler için en etkili DPPH radikal süpürme aktivitesi ise etanol özütünde 83.2 ± 3.0 , etil asetat özütünde ise 78.7 ± 7.0 olarak hesaplanmıştır. Toplanan *S. europaea* türünün yapraklarının etkili DPPH IC₅₀ konsantrasyonu ise etil asetat özütünde 37.3 ± 2.7 , etanol özütünde 10.2 ± 0.8 olarak hesaplanmıştır. Kökler için en etkili DPPH IC₅₀ konsantrasyonu ise etanol özütünde 7.5 ± 0.08 , etil asetat özütünde ise 7.3 ± 0.05 olarak hesaplanmıştır. El-Amier vd. (2021) yaptıkları çalışmada *Salicornioideae* cinsine ait olan *Arthrochemum macrostachyum* ve *Halocnemum strobilaceum* türlerinden hazırlamış oldukları

metanol özütünün farklı konsantrasyonlardaki DPPH radikal süpürme aktivitelerini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda *A. macrostachyum* türü için 50 mg/ml konsantrasyonda DPPH radikal süpürme aktivitesini 71.63 ± 2.65 ile en iyi sonuç olarak tespit etmişlerdir. *H. strobilaceum* türü için ise yine 50 mg/ml konsantrasyonda DPPH radikal süpürme aktivitesini 58.67 ± 2.17 olarak tespit etmişlerdir. Ahmed vd. (2022) çalışmalarında Amaranthaceae familyasının üyelerinden olan *Arthrocnemum macrostachyum*, *Suaeda pruinosa* ve *Bassia indica* türlerinden hazırlamış oldukları dietil eter, kloroform, etil asetat, etanol ve su özütlerinin % DPPH süpürme aktivitesini incelemişlerdir. Çalışmanın sonucunda *A. macrostachyum* türü için en iyi DPPH süpürme aktivitesini 90.07 ile kloroform özütünde tespit etmişlerdir. *S. pruinosa* türü için en iyi DPPH süpürme aktivitesini 95.25 ile dietil eter özütünün gösterdiğini ve *B. indica* türü için ise en iyi DPPH süpürme aktivitesinin 85.98 ile etil asetat özütünün gösterdiğini bildirmişlerdir. Mevcut çalışma ve bahsi geçen diğer çalışmalar değerlendirildiğinde Amaranthaceae familyasına ait türlerin kimyasal profillerinin genel itibarıyla DPPH radikal süpürme testlerinde ve DPPH IC₅₀ konsantrasyon testlerinde etil asetat özütleri bakımından daha verimli olduğu gözlemlenmektedir. Çalışma materyalimizi oluşturan *Kalidium wagenitzii* türü bahsedilen diğer türlere göre DPPH radikal süpürme aktivitesi bakımından zayıf kalmasına karşın DPPH IC₅₀ konsantrasyonu açısından en verimli sonuçlara sahiptir.

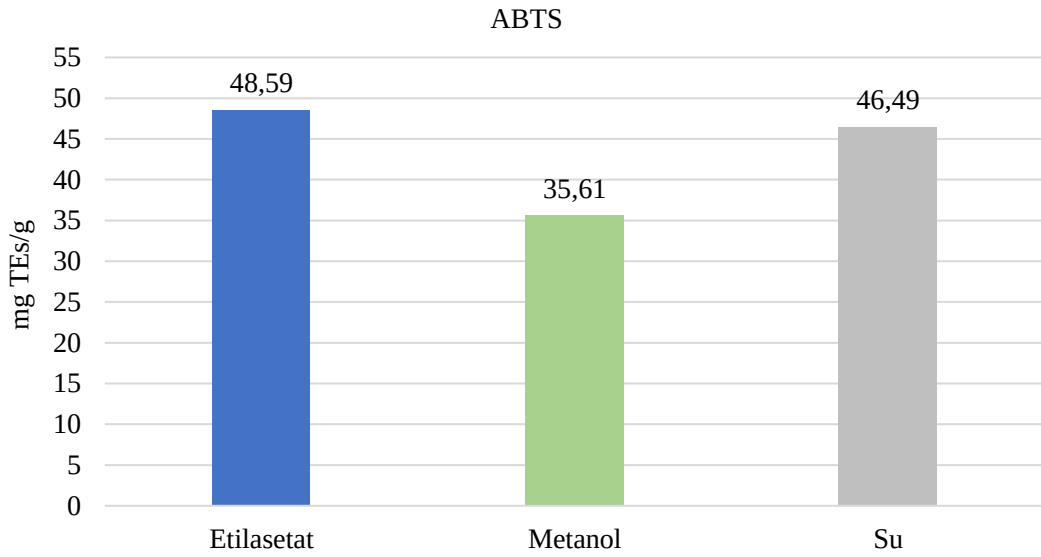
4.1.4. *Kalidium wagenitzii* özütlerinin ABTS radikali süpürme aktivitesi

ABTS testlerinde antioksidan kapasite, analiz edilen numunenin ABTS radikali ile reaksiyona girdikten sonra renk yoğunluğunu azaltma yeteneği olarak değerlendirilir. Bu test, hidrofilik bileşiklerin yanı sıra lipofilik bileşikler için de kullanılabilir (Danet, 2021). ABTS aktivitesi troloks eş değeri olarak hesaplanmıştır. *K. wagenitzii*'nin toprak üstü kısımlarının özütlerinin ABTS radikal süpürme aktivitesi etil asetat özütü için 48.59 ± 0.55 mg TE/g, su özütü için 46.49 ± 0.20 mg TE/g ve metanol özütü için 35.61 ± 0.28 mg TE/g olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.5. ve Şekil 4.5.'de verilmiştir. Hazırlanmış olan özütlerin radikalın %50'sinin inhibe edildiği konsantrasyon olan IC₅₀ değerleride hesaplanmış olup sonuçlar sırasıyla etil asetat özütü için 2.04 ± 0.02 mg/ml, su özütü için 2.13 ± 0.01 mg/ml ve metanol özütü için 2.78 ± 0.02 mg/ml olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.1. ve Şekil 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.5. ABTS testi sonuçları.

Özüt	ABTS (mg TEs/g özüt)
Etil asetat	48.59±0.55*
Metanol	35.61±0.28
Su	46.49±0.20

*Üç paralel analizin ortalaması±standart sapma



Şekil 4.5. ABTS testi sonuçları grafiği. TE: Troloks eşdeğeri.

Padalia vd. (2018) Amaranthaceae familyasının bir üyesi olan *Suaeda nigra* türünün metanol, etil asetat, aseton ve su özütlerinin ABTS radikal süpürme aktivitesi üzerine incelemelerde bulunmuşlardır. Elde ettikleri verilere göre ise en etkili IC₅₀ verisini 175 µg/ml ile etil asetat özütünden ve ardından 180 µg/ml ile aseton özütünden elde etmişlerdir. Yapılan bir diğer çalışmada ise Ramesh B. S. (2020) *Amaranthus tricolor* türünün metanol, etil asetat, kloroform ve dietil eter özütleri ile ABTS radikal süpürme aktivitesini test etmiştir. *A. tricolor*'un dört özü arasında en yüksek antioksidan potansiyeli, en anlamlı IC₅₀ değeri 77.67 µg/ml konsantrasyonda dietil eter özütünden elde ettiğini bildirmiştir. Amornrit ve Santiyanont (2016) ise Amaranthaceae familyasından *Amaranthus lividus* ve *Amaranthus tricolor* türlerinin üç farklı özütünün ABTS radikal süpürme aktivitesini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda *Amaranthus lividus* için en iyi sonuçları 20.90±0.70 ve 20.89±0.69 ile diklorometan ve metanol özütlerinden elde etmişlerdir. *Amaranthus tricolor* için ise en iyi sonucu 25.03±1.58 ile metanol özütünden elde etmişlerdir. Mevcut çalışma ve diğer

bahsedilen çalışmalar değerlendirildiğinde çalışma materyalimizi oluşturan *Kalidium wagenitzii* türünün diğer türlere göre ABTS radikal süpürme aktivitesi bakımından ve ABTS IC₅₀ konsantrasyonları açısından daha verimli sonuçlar verdiği gözlemlenmektedir.

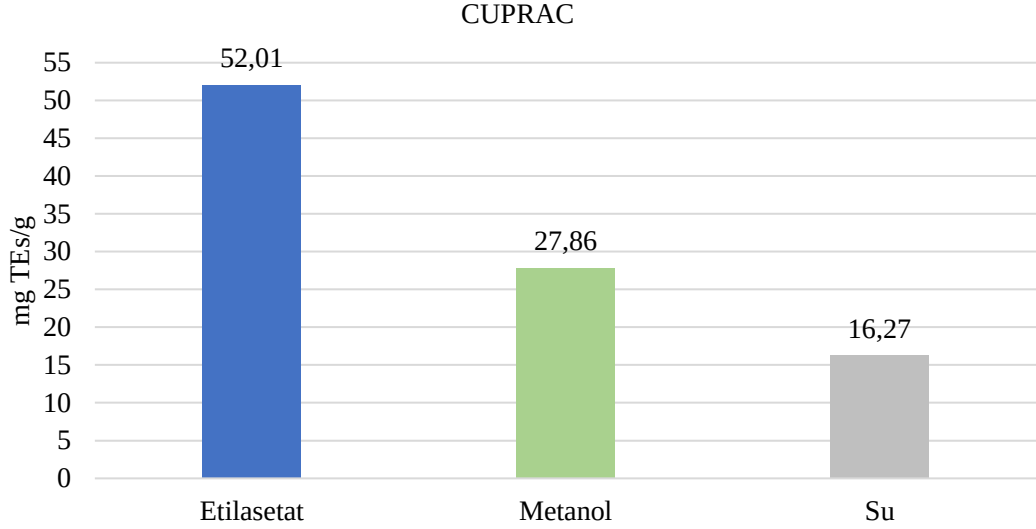
4.1.5. *Kalidium wagenitzii* özütlerinin CUPRAC indirgeme gücü

Bu yöntem temel olarak elektron transferine bağlıdır. Nötr bir pH'da neokuproin (Nc)'in Cu (II) ile birlikte oluşturduğu renkli bakır (II) neokuproin kompleksinin, 450 nm'de maksimum absorbans veren bakır (I) neokuproin şelatına indirgenme yeteneğinden faydalanılmak suretiyle antioksidan kapasite hesaplanmaktadır (Apak vd., 2014). CUPRAC metodu fizyolojik pH'da aktif olması nedeniyle diğer elektron transferi yöntemlerinden üstündür. Buna ek olarak düşük maliyetli olması ve hidrofilik-lipofilik antioksidanlara uygulanabilmesi gibi avantajları bu testi diğerlerinden daha çok ön plana çıkartmaktadır (Özyürek vd., 2011). Bu çalışmada *K. wagenitzii*'nin toprak üstü kısımlarının özütlerinin CUPRAC indirgeme gücü sırasıyla etil asetat özütü için 52.01±0.22 mg TEs/g, metanol özütü için 27.86±0.29 mg TEs/g ve su özütü için 16.27±0.13 mg TEs/g olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar Şekil 4.6. ve Çizelge 4.6.'da verilmiştir. Özütlerin CUPRAC IC₅₀ konsantrasyonları da test edilmiş olup sonuçlar sırasıyla etil asetat özütü için 1.50±0.01 µg/ml, metanol özütü için 2.80±0.03 µg/ml ve su özütü için 4.79±0.04 µg/ml olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar Şekil 4.1. ve Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.6. CUPRAC testi sonuçları.

Özüt	CUPRAC (mg TEs/g özüt)
Etil asetat	52.01±0.22*
Metanol	27.86±0.29
Su	16.27±0.13

*Üç paralel analizin ortalaması±standart sapma



Şekil 4.6. CUPRAC testi sonuçları grafiği. TE: Troloks eşdeğeri.

Yadav vd. (2013) Amaranthaceae familyasına ait olan *Beta vulgaris* var. *Bengalensis*, *Chenopodium album* ve *Amaranthus tricolor* türlerinin farklı varyetelerinin metanol özütünün CUPRAC indirgeme gücünü test etmişlerdir ve $4.43 \pm 0.35 \mu \text{mol TE/g}$ ile $32.73 \pm 0.3 \mu \text{mol TE/g}$ arasında değişen sonuçlar elde ettiklerini bildirmişlerdir. Salemm vd. (2021) ise yaptıkları çalışmada *Aerva javanica* (Bum.f) Shult. türünden hazırlamış oldukları metanol özütünün CUPRAC indirgeme gücünü incelemişlerdir ve sonucu $190.22 \pm 5.70 \text{ mgTE/g}$ olarak rapor etmişlerdir. Külcü vd. (2019) çalışmalarında *Chenopodium* cinsinin bir türü olan *Chenopodium album* L. türünden hazırlamış oldukları etanol, hekzan ve kloroform özütlerinin farklı konsantrasyonlardaki CUPRAC aktivitesini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda en iyi sonuçları $1000 \mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda sırasıyla kloroform özütü için 0.659 ± 0.016 , etanol özütü için 0.587 ± 0.005 ve hekzan özütü için 0.421 ± 0.014 olarak elde etmişlerdir.

4.1.6. *Kalidium wagenitzii* özütlerinin FRAP indirgeme gücü

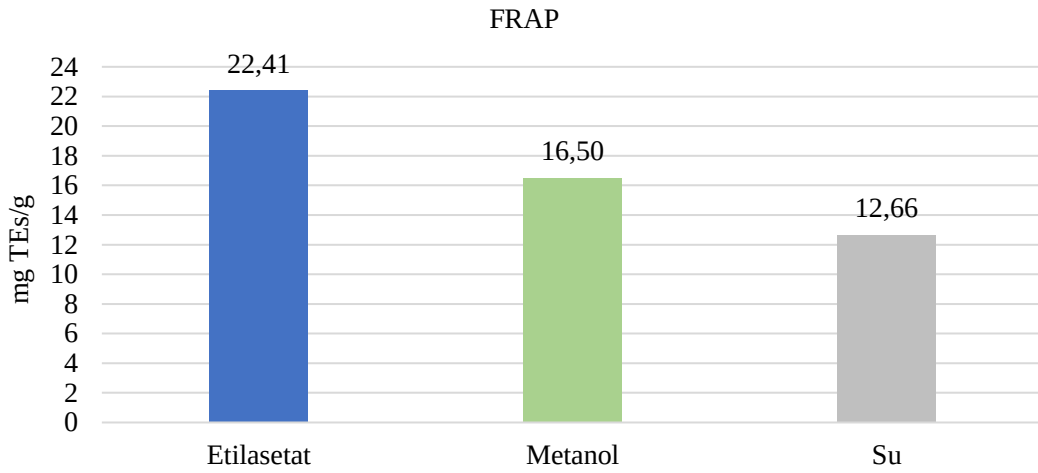
Asidik ortamda, antioksidanların varlığında ferrietripyridyltriazine kompleksi Fe^{+3} ’den Fe^{+2} ’ye indirgenir ve oluşan renkli çözelti 595 nm ’de absorbandsa artışa neden olur. Sonuçlar troloks eşiti olarak ifade edilir (Albayrak vd., 2010). Bu testte *Kalidium wagenitzii* türünün özütleri sırasıyla etil asetat özütü için $22.41 \pm 0.05 \text{ mg TEs/g}$, metanol özütü için $16.50 \pm 0.26 \text{ mg TEs/g}$ ve su özütü için $12.66 \pm 0.10 \text{ mg TEs/g}$ olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.7. ve Şekil 4.7.’de verilmiştir. Hazırlanan üç özüt için de FRAP IC_{50} değerleri etil asetat özütü için $1.62 \pm 0.01 \mu\text{g/ml}$, metanol

özütü için $2.20 \pm 0.04 \mu\text{g/ml}$ ve su özütü için $2.87 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$ olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.1. ve Şekil 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. FRAP testi sonuçları.

Özüt	FRAP (mg TEs/g özüt)
Etil asetat	$22.41 \pm 0.05^*$
Metanol	16.50 ± 0.26
Su	12.66 ± 0.10

*Üç paralel analizin ortalaması $\pm$ standart sapma



Şekil 4.7. FRAP testi sonuçları grafiği. TE: Troloks eşdeğeri.

Nana vd. (2012) yaptıkları çalışmada *Amaranthaceae* familyasının iki üyesi olan *Amaranthus cruentus* ve *Amaranthus hybridus* türlerinden hazırladıkları su özütü, metanol özütü ve hidroasetonik özütün FRAP indirgeme potansiyelini test etmişlerdir. Çalışmanın sonucunda *Amaranthus cruentus* L. türünden hazırlanan özütlerden en iyi sonucu sırasıyla $2.51 \pm 0.09 \text{ mmol AAE/g}$ ve $2.51 \pm 0.10 \text{ mmol AAE/g}$ hidroasetonik özüt ve sulu özüt vermiştir. *Amaranthus hybridus* L. türünden hazırlanan özütlerden ise FRAP indirgeme gücü en yüksek olan $2.57 \pm 0.07 \text{ mmol AAE/g}$ ile hidroasetonik özüt olmuştur. Bir başka çalışmada Santiago-Saenz vd. (2018) *Amaranthus hybridus* L. türünden hazırladıkları etanol özütünün FRAP indirgeme gücünü analiz etmişlerdir ve sonuçta $61.17 \mu\text{M TE/g}$ olarak bir veri elde etmişlerdir. Showkat vd. (2020) yaptıkları çalışmada *Amaranthus caudatus* türünden hazırladıkları su özütünün FRAP indirgeme potansiyelini değerlendirmişlerdir. Çalışmanın sonucunda bu bitki türünün

FRAP indirgeme potansiyelini 73 ± 0.04 mM $\text{Fe}^{2+}/100\text{g}$ olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar ve bahsedilen diğer çalışmaların verileri göz önüne alındığında *Kalidium wagenitzii* türünün demir indirgeme potansiyelinin çok verimli olmamasıyla birlikte IC_{50} konsantrasyonunun oldukça tatmin edici bir sonuç verdiği gözlemlenmektedir.

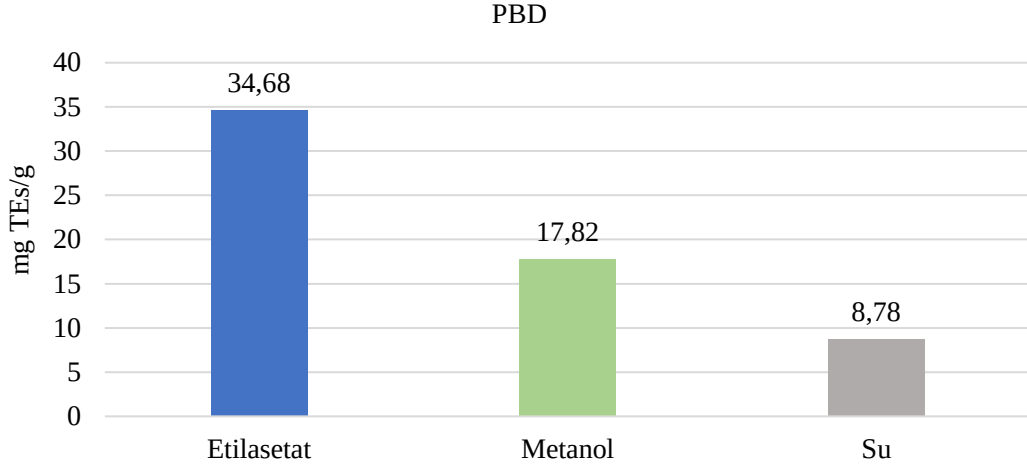
4.1.7. *Kalidium wagenitzii* özütlerinin toplam antioksidan kapasitesi

Toplam antioksidan kapasite fosfomolibdat testi ile ölçülmüştür. Fosfomolibdat testi bir indirgeyici ajan (antioksidan) varlığında molibden (VI)'nın molibden (V)'e indirgenmesi ve 695 nm'de spektrofotometrik olarak değerlendirilebilen yeşil bir fosfomolibdat (V) kompleksi oluşturmaya esasına dayanmaktadır. Test, bir elektron transfer mekanizması içermektedir. Fenoller ve flavonoidler dahil bir çok doğal ürün bu testle tespit edilebilir (Ahmed vd., 2015). Çalışmada fosfomolibdat testinden elde edilen sonuçlar trolox eş değeri cinsinden hesaplanmıştır. *Kalidium wagenitzii* türünün özütleri bu testte sırasıyla etil asetat özütü için 34.68 ± 1.18 mg TEs/g, metanol özütü için 17.82 ± 0.91 mg TEs/g ve su özütü için 8.78 ± 0.27 mg TEs/g sonuçlarını vermiştir. Sonuçlar Çizelge 4.8. ve Şekil 4.8.'de verilmiştir. IC_{50} konsantrasyonu bakımından fosfomolibdat testi etil asetat özütü için 1.48 ± 0.05 µg/ml, metanol özütü için 2.88 ± 0.15 µg/ml ve su özütü için 5.84 ± 0.18 µg/ml olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.1. ve Şekil 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Toplam antioksidan kapasite sonuçları.

Özüt	PBD
	(mg Tes/g özüt)
Etil asetat	$34.68 \pm 1.18^*$
Metanol	17.82 ± 0.91
Su	8.78 ± 0.27

*Üç paralel analizin ortalaması±standart sapma



Şekil 4.8. Toplam antioksidan kapasite sonuçları grafiği. TE: Troloks eşdeğeri.

Ndukwe vd. (2020) yapmış oldukları bir çalışmada *Amaranthus hybridus* L. Türünün yaprak kısımlarından farklı çözücüler kullanarak hazırladıkları özütlerinin toplam antioksidan kapasitesini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda elde edilen veriler sırasıyla metanol özütü için 0.44 ± 0.04 , etil asetat özütü için 0.40 ± 0.04 ve n-hekzan için 0.36 ± 0.04 olarak bildirilmiştir. Farhat vd. (2022) yapmış oldukları çalışmada ise *Salicornia fruticosa* türünü ham materyal olarak ayrıca buharlı pişirerek, basınçlı pişirerek, haşlayarak ve mikrodalgada pişirdikten sonra metanol özütlerini hazırlayıp toplam antioksidan kapasitelerini araştırmışlardır. Sonuçta ham bitkiden hazırlanmış metanol özütünün toplam antioksidan kapasitesini 28.67 ± 2.3 mg GAE/g olarak hesaplamışlardır ve diğer örneklerden daha iyi sonuç verdiğini bildirmişlerdir.

4.1.8. *Kalidium wagenitzii* özütlerinin metal şelatlama aktivitesi

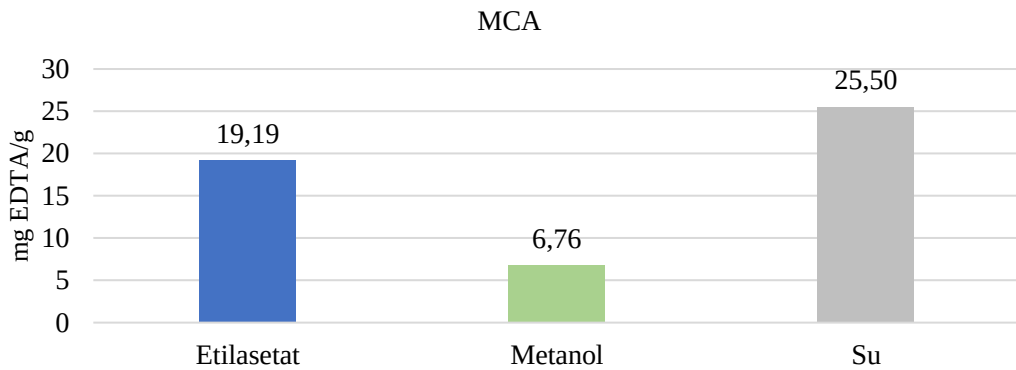
Canlı sistemlerde esansiyel bir mikro mineral olarak bilinen demir; oksijenin kırmızı kan hücreleri vasıtasıyla taşınımı, kullanımı ve depolanması ile redoks potansiyelleri gibi çeşitli biyolojik işlevde rol almaktadır (İnce ve Çağındı, 2020). Aşırı demir yüklenmesi, lipid peroksidasyonunun, protein oksidasyonunun ve karaciğer fibrozunun başlamasını içeren reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu artırır (Sarkar vd., 2012). Geçiş metal iyonlarının Alzheimer ve Parkinson hastalıkları gibi nörodejeneratif hastalıklarda oksidatif hasara katkıda bulunduğu öne sürülmüştür. Bunların yanında şelasyon tedavisi özellikle Talasemi ve diğer anemilerin tedavisinde vücuttaki aşırı demir yükünü nötralize etmek için yaygın bir uygulamadır (Sudan vd., 2014). Metal şelatlama genel olarak en çok tercih edilen ve yaygın bir antioksidan

yöntem olarak kabul edilmektedir. Antioksidanların metal bağlama yapan fonksiyonel grupları nedeniyle etkili bir Fe bağlama yeteneğine sahip oldukları tespit edilmiştir (Gulcin ve Alwasel, 2022). Tüm bu bilgiler ışığında bitki özlerinin şelatlama aktivitesi büyük önem taşımaktadır. Ferrozin, Fe^{2+} ile kantitatif olarak kompleksler oluşturabilir. Ancak şelatlayıcı ajanların varlığında kompleksin kırmızı renginin azalması sonucu kompleks oluşumu bozulur. Bu nedenle, renk azalmasının ölçümü, birlikte var olan şelatörün şelatlama aktivitesinin tahmin edilmesini sağlar (Ebrahimzadeh vd., 2008). Çalışmamızda ki *Kalidium wagenitzii* özütlerinin metal şelatlama aktivitesi demir-ferrozin absorbansının 562 nm’de ölçülerek EDTA eş değeri olarak hesaplanmasına dayanmaktadır. Bu test sonucunda *Kalidium wagenitzii*’nin farklı çözücüler içerisinde hazırlanmış özütlerinin metal şelatlama aktivitesi sırasıyla su çözücüsü içerisinde 25.50 ± 0.44 mg EDTA/g etil asetat çözücüsü içerisinde 19.19 ± 0.03 mg EDTA/g ve metanol çözücüsü içerisinde 6.76 ± 0.17 mg EDTA/g olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.9. ve Şekil 4.9.’da verilmiştir. Hazırlanmış olan özütlerin IC_{50} konsantrasyonları ise sırasıyla etil asetat özütü için 1.93 ± 0.01 µg/ml, su özütü için 1.45 ± 0.03 µg/ml ve metanol özütü için 5.47 ± 0.14 µg/ml olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.1. ve Şekil 4.1.’de verilmiştir.

Çizelge 4.9. Metal şelatlama testi sonuçları.

Özüt	MCA (mg EDTA/g özüt)
Etil asetat	$19.19 \pm 0.03^*$
Metanol	6.76 ± 0.17
Su	25.50 ± 0.44

*Üç paralel analizin ortalaması±standart sapma



Şekil 4.9. Metal şelatlama testi sonuçları grafiği.

Kumari vd. (2018) yaptıkları bir çalışmada *Amaranthaceae* familyasının bir üyesi olan *Amaranthus viridis* türünden farklı çözücülerle hazırlanmış oldukları özütlerin farklı konsantrasyonlardaki metal şelatlama aktivitesini ve IC_{50} konsantrasyonlarını araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda 64 µg/ml konsantrasyonda özütlerin sırasıyla gösterdikleri metal şelatlama aktivite sulu özüt için 69.87 ± 1.09 , metanol özütü için 58.03 ± 0.92 , hekzan özütü için 52.06 ± 2.19 ve kloroform özütü için 44.06 ± 2.09 olarak hesaplanmışlardır. IC_{50} konsantrasyonlarını ise sırasıyla metanol özütü için 32.21 ± 3.3 µg/ml, sulu özüt için 33.06 ± 1.11 µg/ml, kloroform özütü için 53.06 ± 1.11 µg/ml ve hekzan özütü için 58.16 ± 2.13 µg/ml olarak hesaplamışlardır. Bir diğer çalışmada ise Popoola (2022) *Amaranthus viridis* türünün ham ve işlenmiş tohum kısımlarının metanol özütlerinin metal şelatlama aktivitesini incelemiştir. Çalışmanın sonucunda ham materyalden, otoklavlanmış materyalden ve çimlenmiş materyalden hazırlanmış olduğu özütlerin metal şelatlama kabiliyetini sırasıyla ham materyal için 2.5 ± 0.04 mg EDTA/g olarak, otoklavlanmış materyal için 4.3 ± 0.07 mg EDTA/g ve çimlenmiş materyal için 7.1 ± 0.02 mg EDTA/g olarak hesaplamıştır.

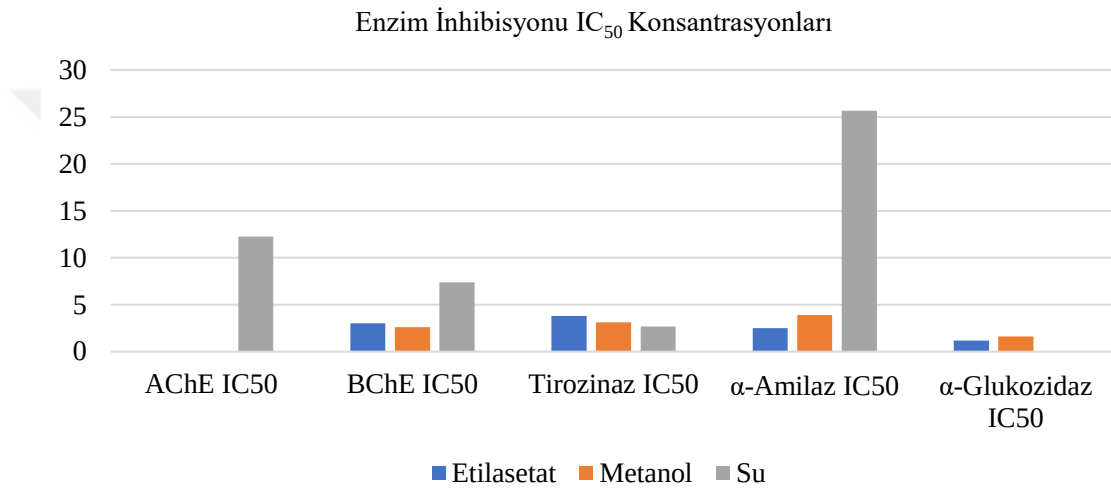
4.2. Enzim İnhibisyonu Bulguları

Enzim inhibitör teorisi Alzheimer hastalığı, Diabetes mellitus ve Hiperpigmentasyon hastalığını içeren evrensel sağlık sorunlarının tedavisi için en çok kabul edilen stratejilerden bir tanesidir. Bu sebeple, enzim inhibitörü olarak yeni kaynakların keşfi için yapılan araştırmalar bilimsel alanda son dönemlerde oldukça fazla ilgi çekmektedir. Mevcut çalışmada *Kalidium wagenitzii* özütlerinin kolinesteraz (asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesateraz), tirozinaz, amilaz ve glukozidaza karşı enzim inhibitör etkileri araştırılmıştır. Amilaz ve glukozidaz enzimleri açısından en iyi sonucu etil asetat çözücüsü içerisinde hazırlanmış çözücüler vermiştir. Asetilkolinesteraz ve tirozinaz enzimleri bakımından ise en iyi sonucu su çözücüsü içerisinde hazırlanmış özüt vermiştir. Metanol çözücüsü içerisinde hazırlanan özüt ise bütirilkolinesteraz enzimi için yapılan testte yüksek aktivite göstermiştir. Dolayısıyla bitkinin toprak üstü kısımlarından hazırlanmış örnekler farklı çözücülerle etkileşime girdiğinde çeşitli enzimlere karşı gösterdiği aktivitelerin değişiklik gösterdiği gözlemlenmektedir. Ayrıca özütlerin enzimlerin fonksiyonunu engelleme gücü olarak nitelendirilen IC_{50} konsantrasyonlarında test edilmiştir ve sonuçlar Çizelge 4.10. ile Şekil 4.10.'de verilmiştir.

Çizelge 4.10. Enzim inhibisyonu (IC₅₀) konsantrasyonları sonucu.

Özütler	AChE IC ₅₀ (mg/ml)	BChE IC ₅₀ (mg/ml)	Tirozinaz IC ₅₀ (mg/ml)	α -Amilaz IC ₅₀ (mg/ml)	α -Glukozidaz IC ₅₀ (mg/ml)
Etil asetat	Na*	3.02±0.22*	3.80±0.61*	2.50±0.01*	1.18±0.01*
Metanol	Na	2.60±0.21	3.11±0.08	3.90±0.03	1.63±0.01
Su	12.27±0.71	7.38±0.72	2.68±0.08	25.67±1.63	Na

*Üç paralel analizin ortalaması±standart sapma



Şekil 4.10. Enzim inhibisyonu IC₅₀ konsantrasyonları sonuçları grafiği.

4.2.1. *Kalidium wagenitzii* özütlerinin AChE inhibisyonu

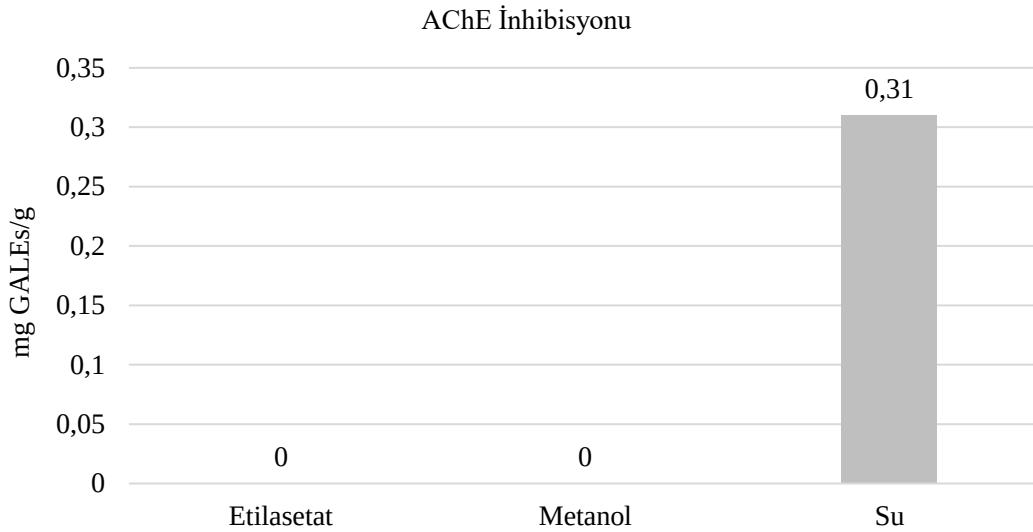
Asetilkolinesteraz (AChE), merkezi ve periferik sinir sistemlerinde çok sayıda kolinerjik yolda nörotransmitter asetilkolinin (ACh) hızlı hidrolizi ile uyarı iletiminin sonlandırılmasında rol oynar. Alzheimer ise farklı fizyolojik süreçlerde, ACh üreten ve kullanan hücrelere zarar verir veya onları yok eder, böylece diğer hücrelere mesaj iletmek için mevcut miktarı azaltır. AChE aktivitesini inhibe eden kolinesteraz inhibitörü ilaçlar, yıkım hızını azaltarak ACh seviyesini korur. Böylelikle, ön beyin bölgelerinde kolinerjik sinir iletimini artırırlar ve işleyen beyin hücrelerinin kaybını telafi ederler. Alzheimer hastalığının tedavi stratejisinde ana hedef beyin AChE'sinin inhibisyonudur (Čolović vd., 2013). Dolayısıyla AChE inhibisyonunun incelenmesi oldukça önemlidir. AChE inhibisyonu ile ilgili testler yapılmış, sonuçlar Galantamin eşdeğeri alınarak hesaplanmıştır. AChE inhibisyonu bakımından

Kalidium wagenitzii'nin üç farklı çözücü içerisinde hazırlanmış özütlerinin sonuçları değerlendirildiğinde etil asetat ve metanol özütlerinin aktivite göstermediği su özütünün ise AChE inhibisyon aktivitesi 0.31 ± 0.02 mg GALEs/g olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.11. ve Şekil 4.11.'de verilmiştir. IC_{50} konsantrasyonları bakımından ise yine etil asetat ve metanol özütlerinde aktivite görülmezken su özütünde 12.27 ± 0.71 mg/ml aktivite gözlemlenmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.10. ve Şekil 4.10.'da verilmiştir.

Çizelge 4.11. AChE inhibisyonu testi sonuçları.

Özüt	AChE İnhibisyonu (mg GALEs/g özüt)
Etil asetat	Na*
Metanol	Na
Su	0.31 ± 0.02

*Üç paralel analizin ortalaması $\pm$ standart sapma



Şekil 4.11. AChE inhibisyonu sonuçları grafiği. GALAE: Galantamin eşdeğer.

Nuria vd. (2020) yapmış oldukları bir çalışmada *Amaranthus cruentus* türünden hazırlanmış oldukları etanol özütünün AChE inhibisyonunu araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda AChE inhibisyonunu $1.000 \mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda $\%22.6 \pm \%0.7$ olarak bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada Hupparage vd. (2020) *Amaranthus tricolor* L. türünün yaprak kısımlarından hazırlanmış oldukları etanol özütünün AChE IC_{50}

konsantrasyonunu incelemişlerdir. Çalışmanın sonucunda *A. tricolor*'un IC₅₀ değerini 193.9 µg/ml olarak tespit etmişlerdir. Pinto vd. (2021) ise yapmış oldukları çalışmada *Salicornia ramosissima* türünün biyoatıklarının farklı sıcaklık ve zaman aralıklarına maruz kalmış su özütlerini hazırlamışlardır. Çalışmanın sonucunda ise *S. ramosissima* yan ürünlerinin optimal ekstraktlarının AChE aktivitesi, konsantrasyona bağlı bir şekilde %23.84 (250 µg/ml'de) ve %32.34 (1000 µg/ml'de) arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

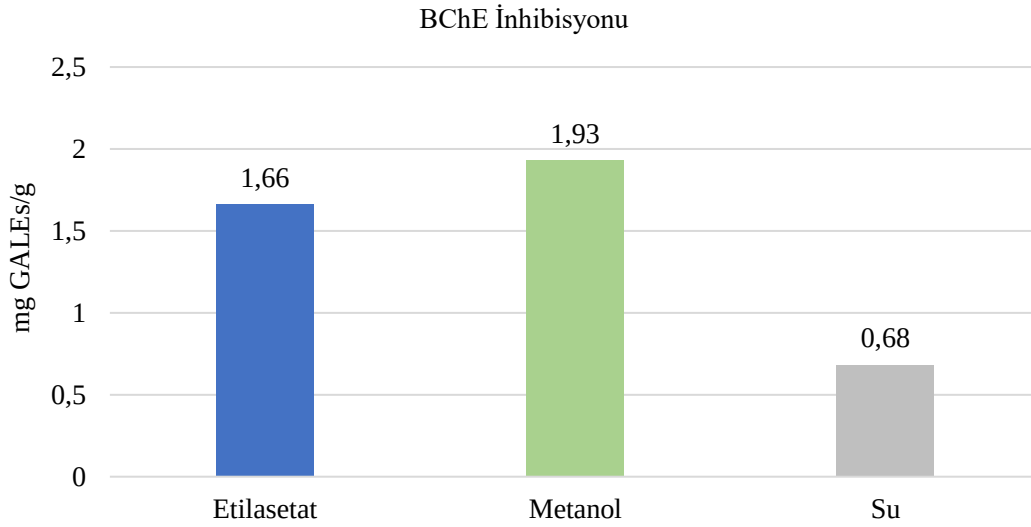
4.2.2. *Kalidium wagenitzii* özütlerinin BChE inhibisyonu

Butirilkolinesteraz (BChE), vücuttaki esterlerin hidrolizini katalize eden bir serin hidrolazdır. Kardeş enzimi asetilkolinesterazın aksine, butirilkolinesterazın geniş bir substrat kapsamı ve daha düşük asetilkolin katalitik etkinliği vardır. Doku dağılımı ve inhibitör duyarlılığındaki farklılık, aynı zamanda kolinerjik nörotransmisyonun dışında tutulduğuna da işaret eder. Butirilkolinesteraz üzerine yapılan ilk çalışmalar, enzimin inhibisyonunun beyin asetilkolin düzeylerinin artmasına yol açtığını göstermiştir. BChE, devam eden AD'de dengeleyici bir enzim olarak çok önemli bir rol oynar (Ha vd., 2020). BChE'nin anormal β-amiloid (Aβ) birikimi ile yüksek oranda korele olduğu gösterilmiştir. Çeşitli çalışmalar, BChE inhibisyonunun ilerlemiş AD'nin tedavisi için potansiyel bir strateji olduğunu öne sürmüştür (Zhou ve Huang, 2022). Bu nedenle bu enzim artık sadece önemli bir farmakolojik hedef olarak görülmekle kalmamış, aynı zamanda çeşitli hastalıklarda biyolojik yolları incelemek için de önemli bir araç haline gelmiştir. Çalışmamızda ki *Kalidium wagenitzii* bitkisinin özütlerinin BChE inhibisyonu testleri yapılmış, sonuçlar Galantamin eşdeğeri olarak hesaplanmıştır. BChE inhibisyonu bakımından *Kalidium wagenitzii*'nin üç farklı çözücü içerisinde hazırlanmış ekstraktların sonuçları değerlendirildiğinde etil asetat özütü için 1.66±0.12 mg GALEs/g, metanol özütü için 1.93±0.16 mg GALEs/g ve su özütü için 0.68±0.07 mg GALEs/g sonuçları elde edilmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.12. ve Şekil 4.12.'de verilmiştir. IC₅₀ konsantrasyonları değerlendirildiğinde ise sonuçlar sırasıyla metanol özütü için 2.60±0.21 mg/ml, etil asetat özütü için 3.02±0.22 mg/ml ve su özütü için 7.38±0.72 mg/ml olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.10. ve Şekil 4.10.'da verilmiştir.

Çizelge 4.12. BChE inhibisyonu testi sonuçları.

Özüt	BChE İnhibisyonu (mg GALEs/g özüt)
Etil asetat	1.66±0.12*
Metanol	1.93±0.16
Su	0.68±0.07

*Üç paralel analizin ortalaması±standart sapma



Şekil 4.12. BChE inhibisyonu sonuçları grafiği. GALAE: Galantamin eşdeğeri.

Saqib vd. (2015) BChE inhibisyonu ile ilgili yapmış oldukları bir çalışmada *Amaranthaceae* familyasının bir üyesi olan *Celosia argentea* var. *Cristata* türünün metanol özütünü hazırlamışlardır. Çalışmanın sonucunda özütün 0.5 mM konsantrasyondaki BChE inhibisyonunu 68.2 ± 0.7 olarak hesaplamışlardır. Ayrıca yine aynı bitki türünün metanol özütünün BChE IC_{50} konsantrasyonu araştırmışlar ve çalışmanın sonucunu 132.8 ± 0.9 $\mu\text{g/ml}$ olarak bildirmişlerdir. Bir diğer çalışmada Kamal vd. (2015) *Amaranthaceae* familyasına ait bir tür olan *Atriplex laciniata* L. türünden farklı konsantrasyonlar ve farklı çözücüler içerisinde hazırladıkları özütlerin BChE % inhibisyonlarını ve BChE IC_{50} konsantrasyonlarını araştırmışlardır. Bu çalışmanın sonucunda en yüksek konsantrasyonda (1000 $\mu\text{g/ml}$) tüm özütlerin BChE % inhibisyonun 64.36 ± 0.61 ile 85.46 ± 0.62 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Ayrıca BChE IC_{50} konsantrasyonunu yine tüm özütlerde en yüksek konsantrasyonda değerlendirmişler ve sonuçların 100 $\mu\text{g/ml}$ ile 220 $\mu\text{g/ml}$ arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Yılmaz vd. (2019) *Amaranthaceae* familyasının bir üyesi olan

Chenopodium album subsp. *album* var. *microphyllum* türünden hazırlamış oldukları metanol, hekzan ve aseton özütlerinin BChE aktivitelerini sırasıyla hekzan özütü için 44.31 ± 2.13 , metanol özütü için 52.64 ± 2.78 ve aseton özütü için 65.29 ± 1.56 olarak hesaplamışlardır.

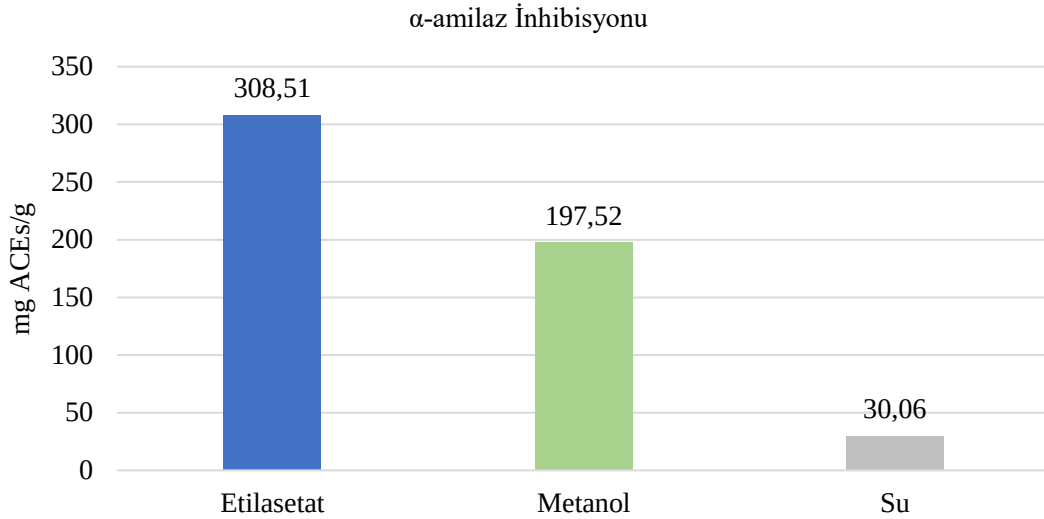
4.2.3. *Kalidium wagenitzii* özütlerinin α -amilaz inhibisyonu

Nişasta büyük bir moleküldür bu nedenle kan-beyin bariyerini geçemez. Öte yandan, beyin fonksiyonları için glukoz gereklidir. Bu nedenle, α -amilaz enzimi, nişasta molekülünün, kan-beyin bariyerini geçmesini kolaylaştırmak için küçük şeker parçalarına dönüştürür. Nişastanın fazlası basit şeker parçalarına dönüşmeye başladığında, kan şekerini yükseltir. Postprandial glukoz seviyeleri de α -amilaz tarafından arttırılır. α -amilaz inhibitörleri, diyabet ve obezite gibi bozuklukların tedavisi için de oldukça iyi hedefler olarak tanımlanmaktadırlar. Bu inhibitörler vücutta uygun bir ortam oluşturarak karbohidratın parçalanmasını geciktirir ve tokluk kan şekerini düşürür (Kaur vd., 2021). Dolayısıyla α -amilaz inhibitörlerinin araştırılması ve keşfi diyabet hastalığı açısından önemli olduğu için bu testin yapılması uygun görülmüştür. Çalışmada kullanılan *Kalidium wagenitzii* bitkisinin farklı çözücüler içerisinde hazırlanmış özütlerinin α -amilaz inhibisyonu seviyesi test edilmiş ve elde edilen veriler akarboz eşdeğeri cinsinden hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlara bakıldığında, etil asetat özütünün α -amilaz inhibisyonu 308.51 ± 0.58 mg ACEs/g, metanol özütünün α -amilaz inhibisyonu 197.52 ± 1.34 mg ACEs/g ve su özütünün α -amilaz inhibisyonu 30.06 ± 1.91 mg ACEs/g olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.13. ve Şekil 4.13.'te verilmiştir. Özütlerin IC_{50} konsantrasyonları da araştırılmış olup sonuçlar sırasıyla etil asetat özütü için 2.50 ± 0.01 mg/ml, metanol özütü için 3.90 ± 0.03 mg/ml ve su özütü için 25.67 ± 1.63 mg/ml olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.10. ve Şekil 4.10.'da verilmiştir.

Çizelge 4.13. α -amilaz inhibisyonu testi sonuçları.

Özüt	α -amilaz İnhibisyonu (mg ACEs/g özüt)
Etil asetat	$308.51 \pm 0.58^*$
Metanol	197.52 ± 1.34
Su	30.06 ± 1.91

*Üç paralel analizin ortalaması $\pm$ standart sapma



Şekil 4.13. α -amilaz inhibisyonu sonuçları grafiği. ACE: Akarboz eşdeğeri.

Amin vd. (2022) yapmış oldukları çalışmada Amaranthaceae familyasına ait 6 farklı cinsten 9 bitki türünün toprak üstü kısımlarının %80'lik metanol özütünü hazırlayarak α -amilaz IC_{50} konsantrasyonlarını araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda 9 bitki türü arasında en yüksek aktivite gösterenin $90.9 \pm 1.15 \mu\text{g/ml}$ ile *Agathophora alopecuroides* olduğunu bildirmişlerdir. Hasbal-Celikok vd. (2022) yapmış oldukları bir başka çalışmada ise Amaranthaceae familyasından *Amaranthus lividus* L. türünden hazırlamış oldukları su özütünün α -amilaz IC_{50} konsantrasyonunu araştırmışlardır ve çalışmanın sonucunda bu bitki türünün α -amilaz IC_{50} konsantrasyonunu $0.0103 \pm 0.00057 \text{ mg/ml}$ olarak bildirmişlerdir. Priyamvada vd. (2021) Amaranthaceae familyasının bir üyesi olan *Achyranthes aspera* türünün yaprak kısımlarının metanol ve petrol eteri özütlerinin farklı konsantrasyonlardaki ($10\text{-}160 \mu\text{g/ml}$) α -amilaz inhibisyonunu araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda metanol özütünün α -amilaz inhibisyonu açısından farklı konsantrasyonlara göre 14.9 ± 0.35 ile 55.0 ± 0.50 arasında değişen % inhibisyon değerlerini bulmuşlardır. Petrol eteri özütü için ise α -amilaz inhibisyonunu farklı konsantrasyonlara göre 6.77 ± 0.56 ile 51.87 ± 0.0 arasında tespit etmişlerdir.

4.2.4. *Kalidium wagenitzii* özütlerinin α -glukozidaz inhibisyonu

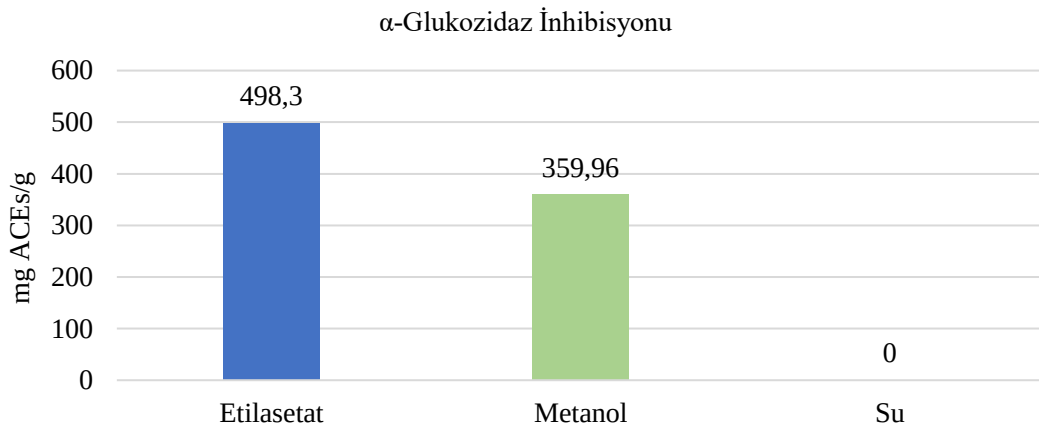
Sindirim enzimlerinden olan α -Glukozidaz, karbohidratların glukozu hidrolizinde anahtar bir enzimdir. Bu enzimin inhibisyonu, karbohidrat sentezini yavaşlatır, glukoz salınımını geciktirir ve böylelikle hiperglisemi baskılanmış olur. Dolayısıyla α -

glukozidaz inhibitörleri, karbohidratla ilişkili bir bozukluk olarak diyabet tedavisi için çekici ilaçlar olarak kabul edilmektedirler. α -glukozidaz inhibitörlerinin diyabet tedavisindeki önemi nedeniyle güvenli ve etkili inhibitörlerin keşfi için bu testin yapılması önem arz etmektedir. (Fallah vd., 2022). Mevcut çalışmada *Kalidium wagenitzii* bitkisinin farklı çözücüler içerisinde hazırlanmış özütlerinin α -Glukozidaz inhibisyonu test edilmiş ve sonuçlar akarboz eşdeğeri alınarak hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde etil asetat özütünün α -glukozidaz inhibisyonu 498.30 ± 3.07 mg ACEs/g ile önemli bir sonuç vermiştir. Ardından metanol özütünün α -glukozidaz inhibisyonu 359.96 ± 1.22 mg ACEs/g ve su özütünün α -glukozidaz inhibisyonu açısından bir aktivite göstermediği tespit edilmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.14. ve Şekil 4.14.'de verilmiştir. Hazırlanan özütlerin α -glukozidaz özelinde IC_{50} konsantrasyonları test edilmiş olup sonuçlar sırasıyla etil asetat özütü için 1.18 ± 0.01 mg/ml, metanol özütü için 1.63 ± 0.01 mg/ml olarak hesaplanmıştır. Su özütü için herhangi bir aktivite tespit edilememiştir. Sonuçlar Çizelge 4.10. ve Şekil 4.10.'da verilmiştir.

Çizelge 4.14. α -glukozidaz inhibisyonu testi sonuçları.

Özüt	α -Glukozidaz İnhibisyonu (mg ACEs/g özüt)
Etil asetat	$498.30 \pm 3.07^*$
Metanol	359.96 ± 1.22
Su	Na

*Üç paralel analizin ortalaması $\pm$ standart sapma



Şekil 4.14. α -glukozidaz inhibisyonu sonuçları grafiği. ACE: Akarboz eşdeğeri.

Mun'im vd. (2013) yaptıkları bir çalışmada *Amaranthaceae* familyasına ait olan *Aerva sanguinolenta* türünde dahil olduğu 55 bitki türünün çeşitli kısımlarının %80'lik etanol özütlerini hazırlamışlardır ve α -glukozidaz IC_{50} konsantrasyonlarını test etmişlerdir. Çalışmanın sonucunda *Aerva sanguinolenta* türünden hazırlanan özütün α -glukozidaz enzimine karşı inhibitör aktivitesini 516.68 mg/ml olarak hesaplamışlardır. Dong vd. (2021) yaptıkları çalışmada *Chenopodium quinoa* Willd. türünden hazırlamış oldukları %75'lik etanol özütünün α -glukozidaz enzimi üzerindeki inhibitör etkisini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda ise *Chenopodium quinoa* Willd. türünün α -glukozidaz IC_{50} değerini 0.617 ± 0.057 g/L olarak hesaplamışlardır.

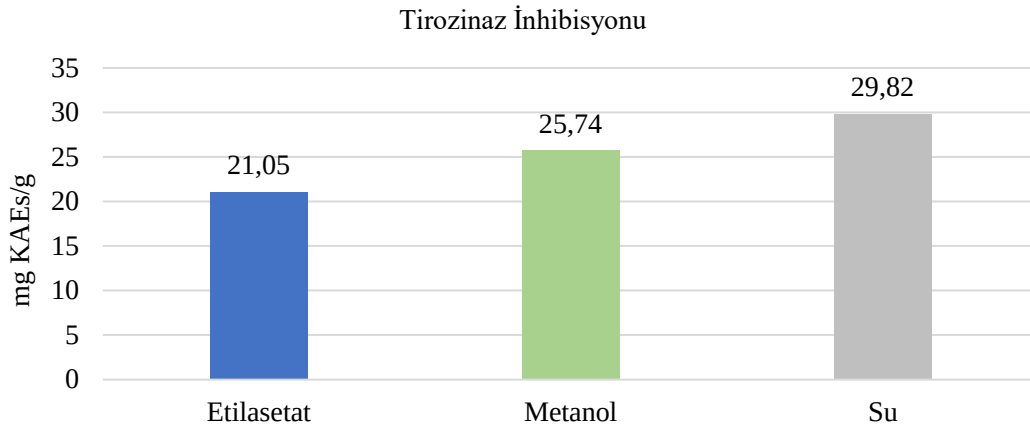
4.2.5 *Kalidium wagenitzii* özütlerinin tirozinaz inhibisyonu

Melanin pigmenti cildin zararlı faktörlere karşı önemli bir savunma sistemini temsil etmektedir. Ancak anormal melanin pigmentasyonu ve melanomda da rol oynar. Bu sebeple, cilt bozukluklarının araştırılmasına yönelik farklı yaklaşımlar geliştirilmiştir. Bu yaklaşımların en öne çıkanlarından biri melanin biyosentezinin ilk iki adımında kilit rol oynayan bir enzim olan tirozinaz ve melanogeneze sınırlayıcı basamak enzimi olarak görev alan ayrıca hiperpigmentasyon bozukluklarında depigmente edici ajan olarak giderek önemli hale gelen tirozinaz inhibitörlerinin araştırılmasıdır. Bu bağlamda güvenilir ve yeni inhibitörlerin tespiti açısından testin yapılması önem taşımaktadır (Di Petrillo vd., 2016). Yapmış olduğumuz çalışmada *Kalidium wagenitzii* bitkisinin farklı çözücüler içerisinde hazırlanmış özütlerinin tirozinaz inhibisyonu araştırılmış ve veriler kojik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır. Bulgular değerlendirildiğinde sırasıyla su çözücüsü içerisinde hazırlanan özütün tirozinaz inhibisyonu 29.82 ± 0.92 mg KAEs/g olarak, metanol çözücüsü içerisinde hazırlanan özütün tirozinaz inhibisyonu 25.74 ± 0.66 mg KAEs/g olarak ve etil asetat çözücüsü içerisinde hazırlanan özütün tirozinaz inhibisyonu 21.05 ± 0.87 mg KAEs/g olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.15. ve Şekil 4.15.'de verilmiştir. Hazırlanan özütlerin IC_{50} konsantrasyonları ise sırasıyla su özütü için 2.68 ± 0.08 mg/ml, metanol özütü için 3.11 ± 0.08 mg/ml ve etil asetat özütü için 3.80 ± 0.61 mg/ml olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.10. ve Şekil 4.10.'da verilmiştir.

Çizelge 4.15. Tirozinaz inhibisyonu testi sonuçları.

Özüt	Tirozinaz İnhibisyonu (mg KAEs/g özüt)
Etil asetat	21.05±0.87*
Metanol	25.74±0.66
Su	29.82±0.92

*Üç paralel analizin ortalaması±standart sapma



Şekil 4.15. Tirozinaz inhibisyonu sonuçları grafiği. KAE: Kojik asit eşdeğeri.

Quispe vd. (2017) çalışmalarında aralarında Amaranthaceae familyasına ait olan *Chenopodium pallidicaule* türünün de dahil olduğu 50 farklı bitki türünün farklı kısımlarından hazırladıkları %70'lik metanol özütlerinin tirozinaz enzim inhibisyonlarını incelemişlerdir. Çalışmanın sonucunda *Chenopodium pallidicaule* türünün tohumlarından hazırlanan özütün 500 µg/ml konsantrasyonda tirozinaz inhibisyonunu %2.83±3.4 olarak bildirmişlerdir. Jiratchayamaethasakul vd. (2020) çalışmalarında Amaranthaceae familyasına ait olan 7 tür dahil olmak üzere 22 halofit bitki türünden hazırlamış oldukları etanol özütlerinin tirozinaz enzim inhibisyonlarını araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda 1 mg/ml konsantrasyonda tirozinaz enzimini inhibe edebilme yeteneklerine göre 7 bitki türü sırasıyla *Salsola komarovii* için %16.70±1.84, *Chenopodium glaucum* için %20.90±2.72, *Suaeda japonica* için %21.03±13.17, *Salicornia europaea* için %21.04±2.04, *Atriplex gmelinii* için %50.77±0.00, *Suaeda maritima* için %52.03±3.45 ve *Suaeda glauca* için %52.85±0.00 olarak hesaplanmıştır. Bir diğer çalışmada ise Saleem vd. (2021) *Suaeda fruticosa* L. türünü kullanarak hazırladıkları diklorometan ve metanol özütlerinin tirozinaz enzimini inhibe edebilme yeteneklerini test etmişlerdir. Çalışmanın

sonucunda metanol özütünün tirozinaz enzimini inhibe edebilme yeteneğini 125.38 mg KAE/g olarak ve diklorometan özütünün tirozinaz enzimini inhibe edebilme yeteneğini 123.12 mg KAE/g olarak hesaplamışlardır.

4.3. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografi Analizleri (HPLC/DAD)

Kalidium wagenitzii'nin etil asetat, metanol ve su ekstraktlarında bulunan fenolik bileşiklerin konsantrasyonları, kalibrasyon eğrilerinden hesaplandı ve µg/g ekstrakt olarak ifade edildi; sonuçlar Çizelge 4.16.'da özetlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre *Kalidium wagenitzii*'nin etil asetat ekstraktında epikateşin 26,290 ppm ile en iyi sonucu vermiştir. Bu sonucu 8,539 ppm ile kuersetin, 6,381 ppm ile rosmarinik asit ve 6,057 ppm ile 3-Hidroksi benzoik asit izledi. Metanol özütünde en yüksek sonuçlar sırasıyla; 23,668 ppm ile kuersetin, 11,145 ppm ile epikateşin ve 3,332 ppm ile rosmarinik asit olarak tespit edilmiştir. Su özütünden elde edilen sonuçlar ise sırasıyla; epikateşin 43,71 ppm, kuersetin 25,869 ppm ve 3-Hidroksi benzoik asit 6,559 ppm olarak tespit edilmiştir. Etil asetat ve su özütlerinde en çarpıcı sonuç olarak karşımıza çıkan epikateşin, insan diyetinde fazla bulunan bitki polifenollerinden biridir ve ayrıca bitkilerde ikincil bir metabolit olarak yaygın olarak bulunmaktadır (Qu vd., 2021). Epikateşin'in antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antitümör ve kardiyoprotektif aktiviteler gibi biyolojik yetenekleri, in vitro ve in vivo testlerle belirlenmiştir. Epikateşin'in bildirilen ilk biyolojik yeteneği, yirminci yüzyılın başlarında anti-diyabetik aktivite olmuştur (Prakash vd., 2019). Epikateşin'in diyabet üzerindeki etkisi birçok çalışmada kanıtlanmıştır (Abdulkhaleq vd., 2017). Su ve metanol özütlerinde dikkat çekici bir sonuçla karşımıza çıkan kuersetin ise, bitkiler tarafından doğal olarak oluşan ve flavonoid grubuna dahil olan önemli bir antioksidan flavonoldür (David vd., 2016). Kuersetin'in terapötik potansiyeli ve önemi çalışmalarla gösterilmiştir. Özellikle α -amilaz ve α -glukozidaz inhibisyonu üzerindeki etkileri (Salehi vd., 2020) bu çalışmanın sonuçlarıyla doğrudan ilişkilidir.

Çizelge 4.16. HPLC analizi sonuçları.

No	Fenolik Bileşikler*	Korelasyon (r ²)	λ (nm)	RT** (min.)	1-K.w.m. (ppm***)	2-K.w.e.a. (ppm)	3-K.w.s. (ppm)
1	3-Hidroksi Benzoik Asit	0,99928	287	22.545	3,264	6,057	6,559
2	4- Hidroksi Benzoik Asit	0,99994	278	17.647	N.D.	N.D.	0,782
3	Benzoik Asit	0,99986	278	47.629	0,752	N.D.	N.D.
4	Kateşin Hidrat	0,99906	278	11.499	2,093	N.D.	3,593
5	Klorojenik Asit	0,99970	330	16.239	0,932	N.D.	N.D.
6	Kafeik Asit	0,99892	330	21.476	1,002	3,063	0,929
7	Epikateşin	0,99879	278	20.169	11,145	26,290	43,71
8	Gallik Asit	0,99966	278	5.912	N.D.	1,695	N.D.
9	Hesperidin	0,99705	287	65.989	N.D.	N.D.	6,232
10	P-Kumarik Asit	0,99982	330	33.597	0,523	5,743	1,178
11	Kuersetin	0,99962	254	76.313	23,668	8,539	25,869
12	Rosmarinik Asit	0,99907	330	70.655	3,332	6,381	1,678
13	Sinnapik Asit	0,99925	330	37.264	0,467	3,167	2,423
14	Siringik Asit	0,99839	278	22.628	N.D.	2,672	2,191
15	t-Sinnamik Asit	0,99998	278	75.207	0,528	0,312	0,487
16	t-Ferulik Asit	0,99993	330	37.202	0,184	2,206	1,649

*1, 5, 10, 20, 50, 70, 100 ppm konsantrasyonlarında saf standart çözeltileri okutularak kalibrasyon eğrisi hazırlanmıştır. **RT=Retention Time (Alıkonma zamanı), N.D.=Not Detected (Algılanmadı). ***ppm=mg/kg-mg/L

Ji vd. (2022) yılında *Amaranthus* cinsinden *Amaranthus hypochondriacus*, *Amaranthus cruentus* ve *Amaranthus caudatus* türlerinin yapraklarından elde ettikleri etanol özütlerinin 13 standart fenolik bileşiği kullanarak HPLC analizini yapmışlar ve sonucunda *Amaranthus hypochondriacus* için en tutarlı sonucu $116 \pm 1,53 \mu\text{g/g}$ ile 3-4-Dihidroksibenzoik asit, *Amaranthus cruentus* için en tutarlı sonucu $47.7 \pm 0.00 \mu\text{g/g}$ ile Siringik asit ve *Amaranthus caudatus* için $5.88 \pm 0.57 \mu\text{g/g}$ ile Rutin olarak tespit etmişlerdir. Bir diğer çalışmada Jesus vd. (2018) yılında *Amaranthaceae* familyasının bir üyesi olan *Chenopodium ambrosioides* L., türünün yapraklarından hazırladıkları ham özüt, kloroform fraksiyonu, etil asetat fraksiyonu ve n-bütanol fraksiyonunu HPLC-DAD ile analiz etmişlerdir. Çalışmanın sonucunda ham özüt için $12.5 \pm 0.20 \mu\text{g/g}$ ile Rutin, kloroform fraksiyonu için $1.95 \pm 0.04 \mu\text{g/g}$ ile Kuersetin, etil asetat

fraksiyonu için $16.5 \pm 0.37 \mu\text{g/g}$ ile Rutin ve n-bütanol fraksiyonu için $8.85 \pm 0.11 \mu\text{g/g}$ ile Rutin en iyi sonuçları vermiştir. Coutinho vd. (2017) yılında yapmış oldukları bir çalışmada Amaranthaceae familyasının bir üyesi olan *Alternanthera brasiliana* türünün yapraklarının etanolik ekstraktını HPLC-DAD ile analiz etmişlerdir. Çalışmanın sonucunda sırasıyla $19.37 \pm 0.02 \text{ mg/ml}$ ile Luteolin, $9.98 \pm 0.03 \text{ mg/ml}$ ile Apigenin ve $9.81 \pm 0.01 \text{ mg/ml}$ ile Orientin en verimli sonuçlar olarak gözlemlenmiştir. Rjeibi vd. (2019) yapmış oldukları bir çalışmada Amaranthaceae familyasının bir üyesi olan *Amaranthus spinosus* türünün yaprak kısımlarından elde ettikleri etil asetat özütünün HPLC-DAD analizini yapmışlardır. Çalışmanın sonucunda sırasıyla %65.23 ile kafeik asit, %13.73 ile sinnamik asit ve %5.89 ile kateşinin en iyi sonuçları verdiğini tespit etmişlerdir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Tez çalışması kapsamında tuz gölü civarında yayılış gösteren ve lokal endemik bir tür olan *Kalidium wagenitzii* türünün antioksidan ve enzim inhibisyon kapasiteleri araştırılmıştır. Bitkinin toprak üstü kısımlarının aktivitelerini incelemek için yeşil ekstraksiyon tekniklerinden olan ultrasonikasyon tekniği kullanılarak özütler hazırlanmıştır. Hazırlanan özütlerin radikal süpürme aktivitesini belirlemek için DPPH ve ABTS testleri, indirgeme gücünü belirlemek için CUPRAC ve FRAP testleri, toplam antioksidan kapasitenin belirlenmesi için fosfomolibdat testi ve bunlara ek olarak metal şelatlama, toplam fenolik içerik ve toplam flavonoid içeriğin belirlenmesi için standart testler uygulanmıştır. Enzim inhibisyonu açısından ise hazırlanan bitki özütlerinin son dönemlerde görülme sıklığı artan hastalıklarda etkin rol oynadığı düşünülen (Alzheimer için kolinesteraz, diyabet için α -amilaz ve α -glukozidaz, hiperpigmentasyon içinse tirozinaz) enzimleri inhibe edebilme potansiyelleri test edilmiştir. Yapılan testlerin sonuçlarına göre çalışmadaki bitkinin antioksidan aktivite bakımından metal şelatlama testi hariç diğer tüm testlerde etil asetat çözücüsü ile daha güçlü bir etkileşim gösterdiği dikkat çekmektedir. Bu noktada bitkinin, hastalıkların gelişiminde etkin bir rol oynayan oksidatif stresin engellenmesinde görev alan antioksidanlar bakımından etkinliği kanıtlanmıştır. Enzim inhibisyon testlerinde ise özellikle α -amilaz ve α -glukozidaz için yapılan testlerde yine etil asetat özütü her iki enzimde kuvvetli inhibe edebilme etkinliği ile öne çıkmaktadır. Ayrıca HPLC analizi ile çalışma desteklenmiş ve elde edilen sonuçların paralelliği bitkinin diyabet hastalığının tedavisinde kullanılabılme olasılığını kanıtlar niteliktedir. Bu çalışmada elde edilen bütün veriler farmakognozi alanında bu bitki türü ile yapılacak olan çalışmalar için uygun bir zemin hazırlamış ve temel oluşturmuştur. İlâveten daha kapsamlı ve ileri çalışmalarla bitkinin yapısında bulunan önemli moleküllerin keşfedilmesi, toksik etkisinin değerlendirilmesi ve canlılar üzerinde denenmesi ile potansiyelinin ortaya konulmasına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Abubakar, A. R. ve Haque, M., 2020. Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes, *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 12, 1, 1.
- Abdulkhaleq, L. A., Assi, M. A., Noor, M. H. M., Abdullah, R., Saad, M. Z. ve Taufiq-Yap, Y. H., 2017. Therapeutic uses of epicatechin in diabetes and cancer. *Veterinary world*, 10, 8, 869.
- Agbor, G. A., Vinson, J. A. ve Donnelly, P. E., 2014. Folin-Ciocalteu Reagent for Polyphenolic Assay, *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics*, 3, 8, 147-156.
- Aharoni, A. ve Galili, G., 2011. Metabolic engineering of the plant primary–secondary metabolism interface, *Current opinion in biotechnology*, 22, 2, 239-244.
- Ahmed, D., Khan, M. M. ve Saeed, R., 2015. Comparative analysis of phenolics, flavonoids, and antioxidant and antibacterial potential of methanolic, hexanic and aqueous extracts from *Adiantum caudatum* leaves, *Antioxidants*, 4, 2, 394-409.
- Ahmed, F. A., Baraka, D. M., Donia, A. E. R. M., Mostafa, R. M. ve Morsy, Z. M., 2022. Phytochemical Investigation, HPLC Analysis and Antimicrobial Activity of Some Plants from *Chenopodiaceae* Family, *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, H. Botany*, 13, 1, 13-24.
- Aktumsek, A., Zengin, G., Guler, G. O., Cakmak, Y. S. ve Duran, A., 2013. Assessment of the antioxidant potential and fatty acid composition of four *Centaurea L.* taxa from Turkey, *Food Chemistry*, 141, 1, 91-97.
- Aktumsek, A., Zengin, G., Guler, G.O., Cakmak, Y.S. ve Duran, A., 2013. Antioxidant potentials and anticholinesterase activities of methanolic and aqueous extracts of three endemic *Centaurea L.* species, *Food and Chemical Toxicology*, 55, 290-296.
- Albayrak, S., Sağdıç, O. ve Aksoy, A., 2010. Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 26, 4, 401-409.
- Al-Mamary, M. A. ve Moussa, Z., 2021. Antioxidant Activity: The Presence and Impact of Hydroxyl Groups in Small Molecules of Natural and Synthetic Origin, *Antioxidants—Benefits, Sources, Mechanisms of Action*, 318-377.
- Amornrit, W., ve Santiyanont, R., 2016. Neuroprotective effect of *Amaranthus lividus* and *Amaranthus tricolor* and their effects on gene expression of RAGE during oxidative stress in SH-SY5Y cells, *Genet. Mol. Res*, 15, 15027562.
- Amin, E., Abdel-Bakky, M. S., Darwish, M. A., Mohammed, H. A., Chigurupati, S., Qureshi, K. A. ve Hassan, M. H., 2022. The Glycemic Control Potential of Some

- Amaranthaceae Plants, with Particular Reference to In Vivo Antidiabetic Potential of *Agathophora alopecuroides*, *Molecules*, 27, 3, 973.
- Apak, R., Guclu, K., Ozyurek, M., Karademir, S. E. ve Ercag, E., 2006. The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 57, 5/6, 292–304.
- Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K., Bekdeşer, B. ve Bener, M., 2014. The CUPRAC methods of antioxidant measurement for beverages, In *Processing and impact on antioxidants in beverages* (pp. 235-244) Academic Press.
- Artasensi, A., Pedretti, A., Vistoli, G. ve Fumagalli, L., 2020. Type 2 diabetes mellitus: a review of multi-target drugs, *Molecules*, 25, 8, 1987.
- Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourrat, A. ve Legret, P., 1994. Standardization of a propolis extract and identification of the main constituents, *Journal de pharmacie de Belgique*, 49, 6, 462-468.
- Balbaa, M. ve El Ashry, E. S. H., 2012. Enzyme inhibitors as therapeutic tools, *Biochem Physiol*, 1, 2, 1000103.
- Barku, V. Y. A., Opoku-Boahen, Y., Owusu-Ansah, E. ve Mensah, E. F. 2013. Antioxidant activity and the estimation of total phenolic and flavonoid contents of the root extract of *Amaranthus spinosus*, *Pelagia Research Library* 3, 1, 69-74.
- Bekdash, R. A., 2021. The cholinergic system, the adrenergic system and the neuropathology of alzheimer's disease, *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 3, 1273.
- Boeing, J. S., Barizão, É. O., Montanher, P. F., de Cinque Almeida, V. ve Visentainer, J. V., 2014. Evaluation of solvent effect on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacities from the berries: application of principal component analysis, *Chemistry central journal*, 8, 1, 1-9.
- Brenner, M. ve Hearing, V. J., 2008. The protective role of melanin against UV damage in human skin, *Photochemistry and photobiology*, 84, 3, 539-549.
- Buker, S. M., Boriack-Sjodin, P. A. ve Copeland, R. A., 2019. Enzyme–inhibitor interactions and a simple, rapid method for determining inhibition modality, *Slas Discovery: Advancing Life Sciences R&D*, 24, 5, 515-522.
- Burton, G. J. ve Jauniaux, E., 2011. Oxidative stress, *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*, 25, 3, 287-299.
- Chen, Z. R., Huang, J. B., Yang, S. L. ve Hong, F. F., 2022. Role of Cholinergic Signaling in Alzheimer's Disease, *Molecules*, 27, 6, 1816.

- Colovic, M. B., Krstic, D. Z., Lazarevic-Pasti, T. D., Bondzic, A. M. ve Vasic, V. M., 2013. Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology, *Current neuropharmacology*, 11, 3, 315-335.
- Coutinho, H. D. M., de Moraes Oliveira-Tintino, C. D., Tintino, S. R., Pereira, R. L. S., de Freitas, T. S., da Silva, M. A. P. ve Dos Santos, J. F. S., 2018. Toxicity against *Drosophila melanogaster* and antiedematogenic and antimicrobial activities of *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze (Amaranthaceae), *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 10353-10361.
- Çakmak, Y. S., Aktumsek, A. ve Duran, A., 2012. Studies on antioxidant activity, volatile compound and fatty acid composition of different parts *Glycyrrhiza echinata* L, *EXCLI Journal*, 11, 178-187.
- Çiçek, N. ve Çakırlar, H., 2005. Effects of salinity and temperature on germination of *Kalidiopsis wagenitzii* aellen (Chenopodiaceae), *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 34, 107-113.
- Daffodil, E. D., Rajalakshmi, K. ve Mohan, V. R. 2013. Antioxidant activity, total phenolics and flavonoids of *Salicornia brachiata* Roxb. Leaf extracts Chenopodiaceae, *World J. of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2, 1, 352-366.
- Danet, A. F., 2021. Antioxidants-Benefits, Sources, Mechanisms of Action, Waisundara, V. Y., Recent advances in antioxidant capacity assays, IntechOpen, London, UK.
- David, A. V. A., Arulmoli, R. ve Parasuraman, S., 2016. Overviews of biological importance of quercetin: A bioactive flavonoid. *Pharmacognosy reviews*, 10, 20, 84.
- de la Lastra, J. M. P., Baca-González, V., González-Acosta, S., Asensio-Calavia, P., Otazo-Pérez, A. ve Morales-delaNuez, A., 2021. Antibodies targeting enzyme inhibition as potential tools for research and drug development, *Biomolecular Concepts*, 12, 1, 215-232.
- Demir, T. ve Akpınar, Ö., 2020. Bitkilerde Bulunan Fitokimyasalların Biyolojik Aktiviteleri, *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji dergisi*, 8, 8, 1734-1746.
- Di Meo, S. ve Venditti, P., 2020. Evolution of the knowledge of free radicals and other oxidants, *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2020.
- Di Petrillo, A., González-Paramás, A. M., Era, B., Medda, R., Pintus, F., Santos-Buelga, C. ve Fais, A., 2016. Tyrosinase inhibition and antioxidant properties of *Asphodelus microcarpus* extracts, *BMC complementary and alternative medicine*, 16, 1, 1-9.
- Dirir, A. M., Daou, M., Yousef, A. F. ve Yousef, L. F., 2021. A review of alpha-glucosidase inhibitors from plants as potential candidates for the treatment of type-2 diabetes, *Phytochemistry Reviews*, 1-31.

- Doğru, A., 2020. Bitkilerde Aktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres, International Journal of Life Sciences and Biotechnology, 3, 2, 205-226.
- Dong, Q., Hu, N., Yue, H., Wang, H. ve Ku, J., 2021. Identification of α -glucosidase inhibitors from the bran of *Chenopodium quinoa* Willd. by surface plasmon resonance coupled with ultra-performance liquid chromatography and quadrupole-time-of-flight-mass spectrometry, Journal of Chromatography B, 1181, 122919.
- Durhan, B., Yalçın, E., Çavuşoğlu, K. ve Acar, A., 2022. Molecular docking assisted biological functions and phytochemical screening of *Amaranthus lividus* L. extract, Scientific reports, 12, 1, 1-16.
- Ebrahimzadeh, M. A., Pourmorad, F. ve Bekhradnia, A. R., 2008. Iron chelating activity, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran, African Journal of Biotechnology, 7, 18.
- Edge, R. ve Truscott, T. G., 2018. Singlet oxygen and free radical reactions of retinoids and carotenoids a review, Antioxidants, 7, 1, 5.
- El-Amier, Y. A., Soufan, W., Almutairi, K. F., Zaghloul, N. S. ve Abd-ElGawad, A. M., 2021. Proximate composition, bioactive compounds, and antioxidant potential of wild halophytes grown in coastal salt marsh habitats. Molecules, 27, 1, 28.
- Fallah, Z., Tajbakhsh, M., Alikhani, M., Larijani, B., Faramarzi, M. A., Hamedifar, H. ve Mahdavi, M., 2022. A review on synthesis, mechanism of action, and structure-activity relationships of 1, 2, 3-triazole-based α -glucosidase inhibitors as promising anti-diabetic agents, Journal of Molecular Structure, 132469.
- Farhat, M. B., Beji-Serairi, R., Selmi, S., Saidani-Tounsi, M. ve Abdelly, C., 2022. *Salicornia fruticosa* L. and *Portulaca oleracea* L. antioxidants as affected by domestic cooking processes. International Journal of Gastronomy and Food Science, 27, 100462.
- Felter, S. P., Zhang, X. ve Thompson, C., 2021. Butylated hydroxyanisole: Carcinogenic food additive to be avoided or harmless antioxidant important to protect food supply?, Regulatory Toxicology and Pharmacology, 121, 104887.
- Fiedor, J. ve Burda, K., 2014. Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease, Nutrients, 6, 2, 466-488.
- Forman, H. J. ve Zhang, H., 2021. Targeting oxidative stress in disease: Promise and limitations of antioxidant therapy, Nature Reviews Drug Discovery, 20, 9, 689-709.
- Garcia, E. J., Oldoni, T. L. C., Alencar, S. M. D., Reis, A., Loguercio, A. D. ve Grande, R. H. M., 2012. Antioxidant activity by DPPH assay of potential solutions to be applied on bleached teeth, Brazilian dental journal, 23, 22-27.

- Gharavi, N., Haggarty, S. ve S El-Kadi, A. O., 2007. Chemoprotective and carcinogenic effects of tert-butylhydroquinone and its metabolites, *Current drug metabolism*, 8, 1, 1-7.
- Gomurgen, A. N. ve Altinozlu, H., 2005. Chromosome number and karyotype analysis of *Kalidiopsis wagenitzii* Aellen, *Pakistan Journal of Botany*, 37, 2, 307.
- Guillen Quispe, Y. N., Hwang, S. H., Wang, Z. ve Lim, S. S., 2017. Screening of Peruvian Medicinal Plants for Tyrosinase Inhibitory Properties: Identification of Tyrosinase Inhibitors in *Hypericum laricifolium* Juss. *Molecules*, 22, 3, 402.
- Gulcin, İ. ve Alwasel, S. H., 2022. Metal ions, metal chelators and metal chelating assay as antioxidant method, *Processes*, 10, 1, 132.
- Ha, Z. Y., Mathew, S. ve Yeong, K. Y., 2020. Butyrylcholinesterase: a multifaceted pharmacological target and tool, *Current Protein and Peptide Science*, 21, 1, 99-109.
- Hasbal-Celikok, G., Yilmaz-Ozden, T., Sacan, O., Can, A. ve Yanardag, R., 2022. In vitro inhibitory potential of *Amaranthus lividus* L. against therapeutic target enzymes, *İstanbul Journal of Pharmacy*, 52, 1.
- Hupparage, V. B., Rasal, V. P., Patil, V. S., Patil, P. P., Mulange, S. G., Malgi, A. P. ve Karade, A. R., 2020. Ameliorative effect of *Amaranthus tricolor* L. leaves on scopolamine-induced cognitive dysfunction and oxidative stress in rats. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 10, 10, 111-120.
- 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, 4, 287-293.
- Ince, C. ve Çağındı, Ö., 2020. Effect of white mulberry (*Morus alba*) leaves and pulp on the antioxidant and antidiabetic activity of white and whole wheat bread, *GIDA-Journal of Food*, 45, 5, 977-988.
- Ishtiaq, S., Ahmad, M., Hanif, U., Akbar, S. ve Kamran, S. H., 2014. Phytochemical and in vitro antioxidant evaluation of different fractions of *Amaranthus graecizans* subsp. *silvestris* (Vill.) Brenan. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 7, S342-S347.
- Jan, R., Asaf, S., Numan, M. ve Kim, K. M., 2021. Plant secondary metabolite biosynthesis and transcriptional regulation in response to biotic and abiotic stress conditions, *Agronomy*, 11, 5, 968.
- Jesus, R. S., Piana, M., Freitas, R. B., Brum, T. F., Alves, C. F., Belke, B. V. ve Bauermann, L. D. F., 2018. In vitro antimicrobial and antimycobacterial activity and HPLC-DAD screening of phenolics from *Chenopodium ambrosioides* L. *brazilian journal of microbiology*, 49, 296-302.

- Ji, H. S., Kim, G., Ahn, M. A., Chung, J. W. ve Hyun, T. K., 2022. Comparison of the antioxidant and anti-inflammatory activities of leaf extracts from grain amaranths (*Amaranthus* spp.). *Journal of Plant Biotechnology*, 49, 1, 99-105.
- Jiratchayamaethasakul, C., Ding, Y., Hwang, O., Im, S. T., Jang, Y., Myung, S. W. ve Lee, S. H., 2020. In vitro screening of elastase, collagenase, hyaluronidase, and tyrosinase inhibitory and antioxidant activities of 22 halophyte plant extracts for novel cosmeceuticals. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 23, 1, 1-9.
- Juranović Cindrić, I., Kunštić, M., Zeiner, M., Stingeder, G. ve Rusak, G., 2011. Sample preparation methods for the determination of the antioxidative capacity of apple juices, *Croatica chemica acta*, 84, 3, 435-438.82.
- Kadereit, G., Mucina, L. ve Freitag, H., 2006. Phylogeny of Salicornioideae (Chenopodiaceae): diversification, biogeography, and evolutionary trends in leaf and flower morphology, *Taxon*, 55, 3, 617-642.
- Kamal, Z., Ullah, F., Ayaz, M., Sadiq, A., Ahmad, S., Zeb, A. ve Imran, M., 2015. Anticholinesterse and antioxidant investigations of crude extracts, subsequent fractions, saponins and flavonoids of *atriplex laciniata* L.: potential effectiveness in Alzheimer's and other neurological disorders. *Biological research*, 48, 1, 1-11.
- Kamemura, N., Oyama, K., Kanemaru, K., Yokoigawa, K. ve Oyama, Y., 2017. Diverse cellular actions of tert-butylhydroquinone, a food additive, on rat thymocytes, *Toxicology Research*, 6, 6, 922-929.
- Karabulut, H. ve Gülay, M. Ş., 2016. Serbest radikaller, Mehmet Akif Ersoy University Journal of Health Sciences Institute, 4, 1.
- Karadağ, A., 2019. Türkiye'deki bazı tıbbi ve aromatik bitkilerin antioksidan potansiyalleri ve fenolik kompozisyonları, *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 16, 631-637.
- Kaur, N., Kumar, V., Nayak, S. K., Wadhwa, P., Kaur, P. ve Sahu, S. K., 2021. Alpha-amylase as molecular target for treatment of diabetes mellitus: A comprehensive review, *Chemical Biology & Drug Design*, 98, 4, 539-560.
- Keser A. M., 2020. Nadir ve dar yayılışlı *Muscari adillii* M.B. Güner & H. Duman, *Verbascum gypsicola* Vural & Aydoğdu ve *Kalidium wagenitzii* (Aellen) Freitag & G. Kadereit endemik bitki türlerinin ISSR tekniği ile genetik çeşitliliğinin koruma amaçlı belirlenmesi, Ankara Üniversitesi, Biyoloji Ana Bilim Dalı.
- Kharroubi, A. T. ve Darwish, H. M., 2015. Diabetes mellitus: The epidemic of the century, *World journal of diabetes*, 6, 6, 850.
- Khot, V. S., Upadhye, S. S., Kothali, B. K., Apte, A. K., Kulkarni, A. A., Patil, A. A. ve Danole, A. B., 2018. Free Radicals, Oxidative Stress and Diseases An Overview.

- Kumari, S., Elancheran, R. ve Devi, R., 2018. Phytochemical screening, antioxidant, antityrosinase, and antigenotoxic potential of *Amaranthus viridis* extract. *Indian journal of pharmacology*, 50, 3, 130.
- Külcü, D. B., Gökışık, C. D. Ve Aydın, S., 2019. An investigation of antibacterial and antioxidant activity of nettle (*Urtica dioica* L.), mint (*Mentha piperita*), thyme (*Thyme serpyllum*) and *Chenopodium album* L. plants from Yaylacık Plateau, Giresun, Turkey. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 7, 1, 73-80.
- Li, J., Feng, L., Liu, L., Wang, F., Ouyang, L., Zhang, L. ve Wang, G., 2021. Recent advances in the design and discovery of synthetic tyrosinase inhibitors, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 224, 113744.
- Li, W., Yuan, G., Pan, Y., Wang, C. ve Chen, H., 2017. Network pharmacology studies on the bioactive compounds and action mechanisms of natural products for the treatment of diabetes mellitus: a review, *Frontiers in Pharmacology*, 8, 74.
- Li, Y., Zhang, W., Zhao, R. ve Zhang, X., 2022. Advances in oral peptide drug nanoparticles for diabetes mellitus treatment, *Bioactive Materials*, 15, 392-408.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. ve Chandra, N., 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health, *Pharmacognosy reviews*, 4, 8, 118.
- Lopa, S. S., Al-Amin, M., Hasan, M., Ahammed, M., Islam, K. M., Alam, A. H. M. ve Sadik, M., 2021. Phytochemical analysis and cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of *Enhydra fluctuans* relevant in the management of Alzheimer's disease, *International Journal of Food Science*, vol. 2021, Article ID 8862025, 8 pages.
- Mahmutovic-Dizdarevic, I., Salihovic, M., Pazalja, M., Spirtovic-Halilovic, S., Kadric, L., Jerkovic-Mujkic, A. ve Avdic, M., 2022. Impact Of Different *Amaranthaceae* Extracts On The Biofilm-Forming Capacity Of Several Bacterial Pathogens. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*, 12, 2, e5804-e5804.
- Masum, M. N., Yamauchi, K. ve Mitsunaga, T., 2019. Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources as skin-lightening agents, *Reviews in Agricultural Science*, 7, 41-58.
- Moussa, Z., Judeh, Z. M. ve Ahmed, S. A., 2019. Nonenzymatic exogenous and endogenous antioxidants, Das, K., Das, S., Biradar, M.S., Bobbarala, V. Ve Tata, S. S., *Free Radical Medicine and Biology*, IntechOpen, London, UK.
- Mun'im, A., Andriani, A., Mahmudah, K. F. ve Mashita, M., 2013. Screening of α -glucosidase inhibitory activity of some Indonesian medicinal plants. *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 3, 2, 144-150.
- Nana, F. W., Hilou, A., Millogo, J. F. ve Nacoulma, O. G., 2012. Phytochemical composition, antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activities of

Amaranthus cruentus L. and *Amaranthus hybridus* L. extracts. *Pharmaceuticals*, 5, 6, 613-628.

Ndukwe, G. I., Clark, P. D. ve Jack, I. R., 2020. In vitro antioxidant and antimicrobial potentials of three extracts of *Amaranthus hybridus* L. leaf and their phytochemicals. *European Chemical Bulletin*, 9, 7, 164-173.

Nguyen, V. H., Le, M. N., Nguyen, H. B., Ha, K. O., Pham, T. H. V., Nguyen, T. H. ve Trinh, N. T., 2021. Propyl gallate, *Molbank*, 2021, 2, M1201.

Nimse, S. B. ve Pal, D., 2015. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms, *RSC advances*, 5, 35, 27986-28006.

Nuria, M. C., Suganda, A. G., Sukandar, E. Y. ve Insanu, M., 2020. Acetylcholinesterase: Inhibitory activity of some Indonesian vegetables and fraction of selected plants. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 10, 1, 101-107.

Orhan, I. E., Senol, F.S., Gulpinar, A.R., Sekeroglu, N., Kartal, M. ve Sener, B., 2012. Neuroprotective potential of some terebinth coffee brands and the unprocessed fruits of *Pistacia terebinthus* L. and their fatty and essential oil analyses, *Food Chemistry*. 130, 4, 882-888.

Ouertani, A., Neifar, M., Ouertani, R., Masmoudi, A. S., Mosbah, A. ve Cherif, A., 2019. Effectiveness of enzyme inhibitors in biomedicine and pharmacotherapy, *Adv. Tissue Eng. Regen. Med. Open Access*, 5, 85-90.

Ousji, O. ve Sleno, L., 2020. Identification of in vitro metabolites of synthetic phenolic antioxidants BHT, BHA, and TBHQ by LC-HRMS/MS, *International journal of molecular sciences*, 21, 24, 9525.

Önez Z., 2006. Üzümden (*vitis vinifera* L.) izole edilen polifenol oksidaz enziminin özelliklerinin belirlenmesi, *Ankara Üniversitesi, Kimya Ana Bilim Dalı*.

Özyürek, M., Güçlü, K. ve Apak, R., 2011. The main and modified CUPRAC methods of antioxidant measurement, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 30, 4, 652-664.

Padalia, H., Poptani, R. ve Chanda, S., 2018. Evaluation of in vitro antioxidant properties of solvent extracts of selected medicinal plants and their synergistic efficacy. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 24, 1, 15-27.

Palanisamy, U.D., Ling, L.T., Manaharan, T. ve Appleton, D., 2011. Rapid isolation of geraniin from *Nephelium lappaceum* rind waste and its anti-hyperglycemic activity, *Food Chemistry*. 127, 1, 21–27.

Panzella, L. ve Napolitano, A., 2019. Natural and bioinspired phenolic compounds as tyrosinase inhibitors for the treatment of skin hyperpigmentation: Recent advances, *Cosmetics*, 6, 4, 57.

- Patel, R., Rinker, L., Peng, J. ve Chilian, W. M., 2018. Reactive oxygen species: The good and the bad, *Reactive Oxygen Species (ROS) in Living Cells*, 7, 8.
- Peng, Z., Wang, G., Zeng, Q. H., Li, Y., Liu, H., Wang, J. J. ve Zhao, Y., 2022. A systematic review of synthetic tyrosinase inhibitors and their structure-activity relationship, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62, 15, 4053-4094.
- Pérez de la Lastra, J. M., Baca-González, V., González-Acosta, S., Asensio-Calavia, P., Otazo-Pérez, A. ve Morales-delaNuez, A., 2021. Antibodies targeting enzyme inhibition as potential tools for research and drug development. *Biomolecular Concepts*, 12, 1, 215-232.
- Pham-Huy, L. A., He, H. ve Pham-Huy, C., 2008. Free radicals, antioxidants in disease and health, *International journal of biomedical science: IJBS*, 4, 2, 89.
- Pinto, D., Reis, J., Silva, A. M., Salazar, M., Dall'Acqua, S., Delerue-Matos, C. ve Rodrigues, F., 2021. Valorisation of *Salicornia ramosissima* biowaste by a green approach—An optimizing study using response surface methodology. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 24, 100548.
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V. ve Bitto, A., 2017. Oxidative stress: harms and benefits for human health, *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017.
- Podsędek, A., 2007. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review, *LWT-Food Science and Technology*, 40, 1, 1-11.
- Popoola, O. O., 2022. Phenolic compounds composition and in vitro antioxidant activity of Nigerian *Amaranthus viridis* seed as affected by autoclaving and germination. *Measurement: Food*, 6, 100028.
- Pott, D. M., Osorio, S. ve Vallarino, J. G., 2019. From central to specialized metabolism: An overview of some secondary compounds derived from the primary metabolism for their role in conferring nutritional and organoleptic characteristics to fruit, *Frontiers in plant science*, 10, 835.
- Poyraz, İ. E., Kıyan, H. T., Zeybekoğlu, E., Özzambak, M. E. ve Öztürk, N., 2021. Farklı nergis kültür çeşitleri soğanlarının in vitro antioksidan, asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz aktiviteleri, *Eskişehir Teknik Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi-C Yaşam Bilimleri Ve Biyoteknoloji*, 10, 2, 90-101.
- Prakash, M., Basavaraj, B. V. ve Murthy, K. C., 2019. Biological functions of epicatechin: Plant cell to human cell health. *Journal of Functional Foods*, 52, 14-24.
- Priyamvada, P. M., Sha, A., ve Mohapatra, A. K. 2021. Evaluation of antidiabetic and antioxidant activities of *Achyranthes aspera* leaf extracts: An in vitro study. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 10, 4, 103-110.

- Qu, Y., Zhan, Q., Du, S., Ding, Y., Fang, B., Du, W. ve Huang, W., 2020. Catalysis-based specific detection and inhibition of tyrosinase and their application, *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 10, 5, 414-425.
- Qu, Z., Liu, A., Li, P., Liu, C., Xiao, W., Huang, J. ve Zhang, S., 2021. Advances in physiological functions and mechanisms of (–)-epicatechin. *Critical reviews in food science and nutrition*, 61, 2, 211-233.
- Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C. ve Pouységu, L., 2011. Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis, *Angewandte Chemie International Edition*, 50, 3, 586-621.
- Rahmani, R., Arbi, K. E., Aydi, S. S., Hzami, A., Tlahig, S., Najar, R. ve Debouba, M., 2022. Biochemical composition and biological activities of *Salicornia europaea* L. from southern Tunisia. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1-14.
- Ramana, K. V., Reddy, A., Majeti, N. V. ve Singhal, S. S., 2018. Therapeutic potential of natural antioxidants, *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018.
- Ramesh, B. S., 2020. Comparative evaluation of antioxidant and hemolytic potential of ornamental plants *Ficus benjamina*, *Antigonon leptopus*, and *Amaranthus tricolor*. *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*, 14, 1.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. ve Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free radical biology and medicine*, 26, 9-10, 1231-1237.
- Rekatsina, M., Paladini, A., Piroli, A., Zis, P., Pergolizzi, J. V. ve Varrassi, G., 2020. Pathophysiology and therapeutic perspectives of oxidative stress and neurodegenerative diseases: a narrative review, *Advances in therapy*, 37, 1, 113-139.
- Rjeibi, I., Ben Saad, A., Sdayria, J., Feriani, A., Ncib, S., Allagui, M. S. ve Souid, S., 2019. HPLC–DAD identification of polyphenols from ethyl acetate extract of *Amaranthus spinosus* leaves and determination of their antioxidant and antinociceptive effects. *Inflammopharmacology*, 27, 5, 975-984.
- Roberto, V. P., Surget, G., Le Lann, K., Mira, S., Tarasco, M., Guérard, F. ve Cancela, M. L., 2021. Antioxidant, mineralogenic and osteogenic activities of *Spartina alterniflora* and *Salicornia fragilis* extracts rich in polyphenols. *Front Nutr*, 8, 8, p. 719438
- Robin, T., Reuveni, S. ve Urbakh, M., 2018. Single-molecule theory of enzymatic inhibition, *Nature communications*, 9, 1, 1-9.
- Robinson, P. K., 2015. Enzymes: principles and biotechnological applications, *Essays in biochemistry*, 59, 1.

- Sáez, G. T. ve Están-Capell, N., 2014. Antioxidant enzymes. Encyclopaedia of Cancer; Schwab, M., Ed.; Springer: Berlin, Germany.
- Saeedi, P., Petersohn, I., Salpea, P., Malanda, B., Karuranga, S., Unwin, N. ve IDF Diabetes Atlas Committee., 2019. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, Diabetes research and clinical practice, 157, 107843.
- Saleem, H., Khurshid, U., Sarfraz, M., Tousif, M. I., Alamri, A., Anwar, S. ve Ahemad, N., 2021. A comprehensive phytochemical, biological, toxicological and molecular docking evaluation of Suaeda fruticosa (L.) Forssk.: An edible halophyte medicinal plant. Food and Chemical Toxicology, 154, 112348.
- Saleem, H., Zengin, G., Khan, K. U. R., Ahmad, I., Waqas, M., Mahomoodally, F. M. ve Ahemad, N., 2021. New insights into the phytochemical composition, enzyme inhibition and antioxidant properties of desert cotton (Aerva javanica (Burm. f) Shult.-Amaranthaceae). Natural product research, 35, 4, 664-668.
- Salehi, B., Machin, L., Monzote, L., Sharifi-Rad, J., Ezzat, S. M., Salem, M. A. ve Cho, W. C., 2020. Therapeutic potential of quercetin: New insights and perspectives for human health. Acs Omega, 5, 20, 11849-11872.
- Santiago-Saenz, Y. O., Hernández-Fuentes, A. D., Monroy-Torres, R., Cariño-Cortés, R. ve Jiménez-Alvarado, R., 2018. Physicochemical, nutritional and antioxidant characterization of three vegetables (Amaranthus hybridus L., Chenopodium berlandieri L., Portulaca oleracea L.) as potential sources of phytochemicals and bioactive compounds. Journal of Food Measurement and Characterization, 12, 4, 2855-2864.
- Saqib, F., Janbaz, K. H. ve Sherwani, M. K., 2015. In vitro inhibitory potential of methanolic extract of Celosia argentea var. cristata on tyrosinase, acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase enzymes. Bangladesh Journal of Pharmacology, 10, 2, 449-54.
- Sarikurkcü, C., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M. ve Harmandar, M., 2008. Studies on the antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of Marrubium globosum subsp. globosum (Lamiaceae) by three different chemical assays, Bioresource Technology, 99, 10, 4239-4246.
- Sarkar, R., Hazra, B. ve Mandal, N., 2012. Reducing power and iron chelating property of Terminalia chebula (Retz.) alleviates iron induced liver toxicity in mice, BMC Complementary and Alternative Medicine, 12, 1, 1-10.
- Sekmen, A. H., Ozdemir, F. ve Türkan, I., 2004. Effects of salinity, light, and temperature on seed germination in a Turkish endangered halophyte, Kalidiopsis wagenitzii (Chenopodiaceae), Israel Journal of Plant Sciences, 52, 1, 21-30.
- Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E. ve Sharifi-Rad, J., 2020. Lifestyle, oxidative stress, and antioxidants: back and

- forth in the pathophysiology of chronic diseases, *Frontiers in physiology*, 11, 694.
- Sharma, R., 2012. Enzyme inhibition: mechanisms and scope, *Enzyme inhibition and bioapplications*, 3-36.
- Shields, H. J., Traa, A. ve Van Raamsdonk, J. M., 2021. Beneficial and detrimental effects of reactive oxygen species on lifespan: A comprehensive review of comparative and experimental studies, *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 181.
- Showkat, S., Laila, O. ve Murtaza, I., 2020. Antioxidant and Anti-diabetic Potential of Nutraceutical Rich *Amaranthus caudatus*. *Ind. J. Pure App. Biosci*, 8, 3, 140-148.
- Sinan, K. I., Zengin, G., Zheleva-Dimitrova, D., Etienne, O. K., Fawzi Mahomoodally, M., Bouyahya, A. ve Orlando, G., 2020. Qualitative phytochemical fingerprint and network pharmacology investigation of *Achyranthes aspera* Linn. extracts. *Molecules*, 25, 8, 1973.
- Sinbad, O. O., Folorunsho, A. A., Olabisi, O. L., Ayoola, O. A. ve Temitope, E. J., 2019. Vitamins as antioxidants, *Journal of Food Science and Nutrition Research*, 2, 3, 214-235.
- Sindhi, V., Gupta, V., Sharma, K., Bhatnagar, S., Kumari, R. ve Dhaka, N., 2013. Potential applications of antioxidants—A review, *Journal of pharmacy research*, 7, 9, 828-835.
- Snezhkina, A. V., Kudryavtseva, A. V., Kardymon, O. L., Savvateeva, M. V., Melnikova, N. V., Krasnov, G. S. ve Dmitriev, A. A., 2019. ROS generation and antioxidant defense systems in normal and malignant cells, *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019, 6175804.
- Sudan, R., Bhagat, M., Gupta, S., Singh, J. ve Koul, A., 2014. Iron (FeII) chelation, ferric reducing antioxidant power, and immune modulating potential of *Arisaema jacquemontii* (Himalayan Cobra Lily), *BioMed Research International*, 2014, 179865.
- Sultana, B., Anwar, F. ve Ashraf, M., 2009. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts, *Molecules*, 14, 6, 2167-2180.
- Tan, S. Y., Wong, J. L. M., Sim, Y. J., Wong, S. S., Elhassan, S. A. M., Tan, S. H. ve Candasamy, M., 2019. Type 1 and 2 diabetes mellitus: A review on current treatment approach and gene therapy as potential intervention, *Diabetes & metabolic syndrome: clinical research & reviews*, 13, 1, 364-372.
- Tarozzi, A., 2020. Oxidative stress in neurodegenerative diseases: From preclinical studies to clinical applications, *Journal of Clinical Medicine*, 9, 4, 1223.

- Ullah, R., Khan, M., Shah, S. A., Saeed, K. ve Kim, M. O., 2019. Natural antioxidant anthocyanins A hidden therapeutic candidate in metabolic disorders with major focus in neurodegeneration, *Nutrients*, 11, 6, 1195.
- Uysal, S., Zengin, G., Locatelli, M., Bahadori, M. B., Mocan, A., Bellagamba, G., De Luca, E., Mollica, A. ve Aktumsek, A., 2017. Cytotoxic and enzyme inhibitory potential of two *Potentilla* species (*P. speciosa* L. and *P. reptans* Willd.) and their chemical composition, *Frontiers in Pharmacology*, 8, 290.
- Vaz, M. ve Silvestre, S., 2020. Alzheimer's disease: recent treatment strategies, *European Journal of Pharmacology*, 887, 173554.
- Wu, Y., Choi, M. H., Li, J., Yang, H. ve Shin, H. J., 2016. Mushroom cosmetics: the present and future. *Cosmetics*, 3, 3, 22.
- Xu, X., Liu, A., Hu, S., Ares, I., Martínez-Larrañaga, M. R., Wang, X. ve Martínez, M. A., 2021. Synthetic phenolic antioxidants: Metabolism, hazards and mechanism of action, *Food Chemistry*, 353, 129488.
- Yadav, R. K., Kalia, P., Kumar, R. ve Jain, V., 2013. Antioxidant and nutritional activity studies of green leafy vegetables. *Int J Agric Food Sci Tech*, 4, 707-12.
- Yang, X-W., Huang, M-Z., Jin, Y-S., Sun, L-N., Song, Y. ve Chen, H-S., 2012. Phenolics from *Bidens bipinnata* and their amylase inhibitory properties, *Fitoterapia* 83, 7, 1169-1175.
- Yeshi, K., Crayn, D., Ritmejerytė, E. ve Wangchuk, P., 2022. Plant Secondary Metabolites Produced in Response to Abiotic Stresses Has Potential Application in Pharmaceutical Product Development, *Molecules*, 27, 1, 313.
- Yılmaz, P. K., Ertaş, A., Akdeniz, M., Avcı, M. K. ve Kolak, U., 2019. Chemical compositions by LC-MS/MS and GC-MS and biological activities of *Chenopodium album* subsp. *album* var. *microphyllum*. *Industrial Crops and Products*, 141, 111755.
- Yoo, S., Kim, K., Nam, H. ve Lee, D., 2018. Discovering health benefits of phytochemicals with integrated analysis of the molecular network, chemical properties and ethnopharmacological evidence, *Nutrients*, 10, 8, 1042.
- Zehiroglu, C. ve Ozturk Sarikaya, S. B., 2019. The importance of antioxidants and place in today's scientific and technological studies, *Journal of food science and technology*, 56, 11, 4757-4774.
- Zengin, G., Aumeeruddy-Elalfi, Z., Mollica, A., Yilmaz, M. A. ve Mahomoodally, M. F. 2018. In vitro and in silico perspectives on biological and phytochemical profile of three halophyte species—A source of innovative phytopharmaceuticals from nature. *Phytomedicine*, 38, 35-44.
- Zhou, S. ve Huang, G., 2022. The biological activities of butyrylcholinesterase inhibitors, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 146, 112556.

Zolghadri, S., Bahrami, A., Hassan Khan, M. T., Munoz-Munoz, J., Garcia-Molina, F., Garcia-Canovas, F. ve Saboury, A. A., 2019. A comprehensive review on tyrosinase inhibitors, *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 34, 1, 279-309.



ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : İsmail Şen

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans : Aksaray Üniversitesi, Biyoteknoloji ve Moleküler
Biyoloji Bölümü, 2015-2020

Yüksek Lisans : Aksaray Üniversitesi, Biyoteknoloji ve Moleküler
Biyoloji Anabilim Dalı, 2020-2023

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

Kongrelerde Sunulan Makaleler

1. Şen, İ., 2022. Kalidium wagenitzii'nin Farklı Özütlerinin Biyolojik Aktiviteleri, 8th International Congress of Academic Research.