



T.C.

BARTIN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KOLESTEROL VE GLİKOZ SEVİYESİNİ DÜŞÜRMEK İÇİN BAZI
DOĞAL ANTİOKSİDAN MADDELERİN HMG-COA REDÜKTAZ VE
 α -GLİKOZİDAZ ENZİMLER ÜZERİNE İNHİBİSYON ÇALIŞMALARI**

ARSLAN RECEP ŞAHİN

DANIŞMAN

DR. ÖĞR. ÜYESİ NASTARAN SADEGHİAN

BARTIN-2025



T.C.

BARTIN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

KOLESTEROL VE GLİKOZ SEVİYESİNİ DÜŞÜRMEK İÇİN BAZI DOĞAL
ANTİOKSİDAN MADDELERİN HMG-COA REDÜKTAZ VE α -GLİKOZİDAZ
ENZİMLER ÜZERİNE İNHİBİSYON ÇALIŞMALARI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Arslan Recep ŞAHİN

JÜRİ ÜYELERİ

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Nastaran SADEGHİAN
Üye : Doç. Dr. Burak TÜZÜN
Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ahmet KARAKUŞ

BARTIN-2025

KABUL VE ONAY

Arslan Recep ŞAHİN tarafından hazırlanan “KOLESTEROL VE GLİKOZ SEVİYESİNİ DÜŞÜRMEK İÇİN BAZI DOĞAL ANTİOKSİDAN MADDELERİN HMG-COA REDÜKTAZ VE α -GLİKOZİDAZ ENZİMLER ÜZERİNE İNHİBİSYON ÇALIŞMALARI” başlıklı bu çalışma, 29.12.2025 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak jürimiz tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Dr. Öğr. Üyesi Nastaran SADEGHİAN

Üye : Doç. Dr. Burak TÜZÜN

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ahmet KARAKUŞ

Bu tezin kabulü Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun/...../20... tarih ve 20...../.....-..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Zafer CEYLAN

Enstitü Müdürü

BEYANNAME

Bartın Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre Dr. Öğr. Üyesi Nastaran SADEGHIAN danışmanlığında hazırlamış olduğum “KOLESTEROL VE GLİKOZ SEVİYESİNİ DÜŞÜRMEK İÇİN BAZI DOĞAL ANTİOKSİDAN MADDELERİN HMG-COA REDÜKTAZ VE α -GLİKOSİDAZ ENZİMLER ÜZERİNE İNHİBİSYON ÇALIŞMALARI” başlıklı yüksek lisans tezimin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

29.12.2025

Arslan Recep ŞAHİN

YAPAY ZEKÂ KULLANIMINA İLİŞKİN BEYAN

☐ Tez yazım sürecinde yapay zekâ tabanlı araçlardan **faydalanmadım**.

☒ Tez yazım sürecinde yapay zekâ tabanlı araçlardan **faydalandım**. Bu kapsamda, yapay zekâ destekli araçların kullanımına ilişkin aşağıdaki hususları beyan ederim:

1. Bu çalışmada, yalnızca bilimsel üretim sürecini desteklemek amacıyla yapay zekâ tabanlı araçlardan yararlanılmış olup; kullanılan araçların işlevi, katkı düzeyi ve sınırları açık biçimde eklerde belirtilmiştir. Bu kapsamda kullanılan yapay zekânın kapsamı hipotez geliştirme, teorik tartışma ve yorumlama gibi üst düzey beceri, deneyim ve uzmanlık gerektiren aşamaları içermemektedir.
2. Yapay zekâ kullanımı, çalışmanın özgünlüğüne, bilimsel etik kurallarına ve ilgili mevzuata aykırı olmayacak biçimde gerçekleştirilmiştir.
3. Usulsüz yapay zekâ kullanımı (örneğin: kaynak göstermeksizin metin üretimi, otomatik içerik üretiminin özgün eser gibi sunulması, yanıltıcı kaynak gösterimi vb.) tarafımdan kesinlikle yapılmamıştır.
4. Çalışmanın hazırlanmasında kullanılan yapay zekâ araçları ve işlevleri ekte sunulan tabloda ayrıntılı olarak belirtilmiş olup bu kullanım danışman öğretim üyesinin bilgisi dahilinde gerçekleştirilmiştir.
5. Yukarıda yer alan beyanımın gerçeğe aykırı olduğunun tespiti hâlinde, yükseköğretim mevzuatı, ilgili etik kurallar ve Bartın Üniversitesi disiplin mevzuatı çerçevesinde hakkımda yaptırım uygulanabileceğini bildiğimi ve bu sonuçları kabul ettiğimi taahhüt ederim.

29.12.2025

Arslan Recep ŞAHİN

ÖN SÖZ

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmanın deneysel kısmı Bartın Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoteknoloji Bölümü, Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Öncelikle çalışmalarında hiçbir sorunda usanmadan bana yardımını esirgemeyen, her zaman her türlü desteği sağlayan, bilgi ve tecrübelerini hiç çekinmeden bana içtenlikle sunan değerli hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Nastaran SADEGHİAN ve Doç. Dr. Parham TASLİMİ'ye, ardından bölümümün bütün değerli akademisyenlerine, çalışmalarımın bütün safhalarında fakültemizin ve bölümümüzün hiçbir imkânını esirgemeyen dekanımız Sayın Prof. Dr. Ömer KİŞİ'ye ve Biyoteknoloji Bölüm Başkanımız Sayın Doç. Dr. Hasan Ufuk ÇELEBİOĞLU'na teşekkürlerimi iletmek benim için borçtur.

Ayrıca burada biricik kardeşimi, annemi ve babamı, ailemi, onların da ardından çok sevdiğim yıllardır benimle olan değerli dostlarımı da sevgiyle anmak isterim.

Arslan Recep ŞAHİN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KOLESTEROL VE GLİKOZ SEVİYESİNİ DÜŞÜRMEK İÇİN BAZI DOĞAL ANTIÖKSİDAN MADDELERİN HMG-COA REDÜKTAZ VE α -GLİKOZİDAZ ENZİMLER ÜZERİNE İNHİBİSYON ÇALIŞMALARI

Arslan Recep ŞAHİN

Bartın Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Nastaran SADEGHİAN

Bartın-2025, sayfa: 77

Antioksidanlar, vücutta serbest radikallerin zararlı etkilerini azaltarak önemli bir rol oynarlar. Doğal kaynaklardan elde edilen bu bileşikler, sağlık ve gıda endüstrisinde giderek artan bir ilgi görmektedir. Özellikle tıbbi ve aromatik bitkiler, antioksidanlar açısından zengin bir kaynak teşkil etmektedir. Bu bileşikler, serbest radikallerle reaksiyona girerek onları etkisiz hale getirir veya dengeler. Bu çalışmada Antioksidan Kapasite Tayininde 4 farklı yöntem olarak; ABTS, DPPH, KUPRAK ve FRAP yöntemleri kullanıldı. Doğal antioksidanlar olarak Angolensin ve Nimbidiol bileşikler tez çalışmasında kullanıldı. HMG-CoA redüktaz adı verilen bir enzim de tezde çalışıldı. Bu enzim mevalonatin kolesterol üretimi için gerekli olan başlıca ara maddelerden biri olan HMG-CoA'ya (hidroksimetilglutaril-CoA) dönüşümünü katalize eder. HMG-CoA redüktaz inhibitörleri ise kolesterol seviyelerini düşürmek için kullanılan ilaçların bir sınıfını oluşturur. Bu ilaçlar, kolesterol ve diyabet seviyelerini kontrol etmeye ve kalp hastalığı riskini azaltmaya yardımcı olabilir. HMG-CoA redüktaz ve α -Glikozidazlar inhibitörleri içinde genel olarak statinler bilinmektedirler. Statinler kolesterol seviyelerini düşürmek için kullanılan ilaçlar sınıfıdır. Statinler, bu

enzimi inhibe ederek karaciğerde kolesterol üretimini azaltır.

Elde edilen sonuçlar, özellikle α -glikozidaz enzimi üzerinde Angolensin'in IC_{50} : 0,3837 nM, Nimbidiol'ün ise IC_{50} : 0,5651 nM değerlerine sahip olduğunu göstermiştir. Bu bulgu, Angolensin'in karbonhidrat hidrolizi ve glikoz regülasyonunda rol oynayan bu enzimi daha güçlü bir şekilde inhibe ettiğini ortaya koymaktadır. Benzer şekilde, kolesterol biyosentez yolunun hız sınırlayıcı basamağını katalize eden HMG-CoA redüktaz enzimi üzerinde de güçlü inhibisyon elde edilmiştir. Angolensin'in IC_{50} : 2,2873 nM, Nimbidiol'ün ise IC_{50} : 3,5831 nM değerleri, bu bileşiklerin statin benzeri bir etki mekanizmasına sahip olabileceğini göstermektedir. Moleküler düzeyde etkileşimlerin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen moleküler docking analizlerinde ise, Angolensin ve Nimbidiol'ün hem α -glikozidaz hem de HMG-CoA redüktaz enzimlerinin aktif bölgelerine yüksek afinite ile bağlandığını ortaya koymuştur. Sonuç olarak bu çalışma, Angolensin ve Nimbidiol'ün metabolik hastalıklara yönelik yeni nesil doğal kaynaklı inhibitörler ve antioksidanlar olarak değerlendirilebileceğini güçlü verilerle göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Angolensin, α -Glikozidaz, doğal antioksidanlar, HMG-CoA Reduktaz, kolesterol, nimbidiol, serbest radikaller,.

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

INHIBITION STUDIES OF SOME NATURAL ANTIOXIDANT SUBSTANCES ON HMG-COA REDUCTASE AND α -GLUCOSIDASE ENZYMES TO REDUCE CHOLESTEROL AND GLUCOSE LEVELS

Arslan Recep SAHIN

Bartın University

Graduate School

Department of Biotechnology

Thesis Advisor: Assist. Prof. Dr. Nastaran SADEGHIAN

Bartın-2025, pp: 77

Antioxidants play an important role in reducing the harmful effects of free radicals in the body. These compounds, which are obtained from natural sources, have received increasing attention in the health and food industries. Medicinal and aromatic plants, in particular, represent a rich source of antioxidants. These molecules neutralize or stabilize free radicals by reacting with them. In this study, four different antioxidant capacity assays—ABTS, DPPH, CUPRAC, and FRAP—were employed. Angolensin and Nimbidol were used as natural antioxidant compounds in the thesis work. Additionally, the enzyme HMG-CoA reductase was investigated. This enzyme catalyzes the conversion of HMG-CoA (hydroxymethylglutaryl-CoA), one of the major intermediates required for cholesterol synthesis, into mevalonate. HMG-CoA reductase inhibitors constitute a class of drugs used to reduce cholesterol levels. These agents help control cholesterol and glucose levels and reduce the risk of cardiovascular disease. Among the inhibitors of HMG-CoA reductase and α -glucosidases, statins are known as the main representatives. Statins are a class of drugs used to lower cholesterol levels, acting by inhibiting this enzyme and thereby reducing cholesterol production in the liver.

The obtained results demonstrated that, particularly on the α -glucosidase enzyme, Angolensin exhibited an IC_{50} value of 0.3837 nM, while Nimbidol showed an IC_{50} value of 0.5651 nM. This finding indicates that Angolensin inhibits this enzyme, which plays a role in carbohydrate hydrolysis and glucose regulation, more effectively. Similarly, strong inhibition was also observed on the HMG-CoA reductase enzyme, which catalyzes the rate-limiting step of cholesterol biosynthesis. Angolensin demonstrated an IC_{50} value of 2.2873 nM, whereas Nimbidol exhibited an IC_{50} value of 3.5831 nM, suggesting that these compounds may possess a statin-like mechanism of action. Furthermore, molecular docking analyses performed to determine interactions at the molecular level revealed that both Angolensin and Nimbidol bind to the active sites of α -glucosidase and HMG-CoA reductase with high affinity. In conclusion, this study strongly demonstrates that Angolensin and Nimbidol can be evaluated as new-generation, natural-source inhibitors and antioxidants with potential applications in the management of metabolic diseases.

Keywords: Angolensin, α -Glucosidase, cholesterol, free radicals, HMG-CoA Reductase, natural antioxidants, nimbidol.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	ii
BEYANNAME	iii
YAPAY ZEKÂ KULLANIMINA İLİŞKİN BEYAN	iv
ÖN SÖZ	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
TABLolar DİZİNİ.....	xv
EKLER DİZİNİ.....	xvi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Doğal Antioksidanlar.....	1
1.1.1. Antioksidanların Temel Rollerini.....	2
1.1.2. Antioksidanların Sınıflandırılması	2
1.1.3. Antioksidan Kaynakları.....	3
1.2. Enzimler.....	4
1.2.1. Lipid metabolizması ve hastalıkları.....	5
1.2.2. HMG CoA redüktaz enzimi.....	5
1.3. Oksidatif Stres ve Reaktif Oksijen Türleri (ROT)	6
1.3.1. Serbest Radikaller	7
1.4. Kolesterol.....	8
1.4.1. Göz Çevresinde Sarı Yağ Bezeleri	9
1.4.2. Göğüs Ağrısı.....	9
1.4.3. Bacaklarda Uyuşma Ve Ağrı.....	10
1.4.4. Kan Basıncında Yükselme	10
1.5. Kolesterol Sentezi.....	10
1.6. Mevalonat Yolu	12
1.7. Angolensin	14
1.8. Nimbidiol	15
1.9. α -Glikozidazlar	16

1.10.	α -Glikozidaz ve İnhibisyonu	16
1.11.	<i>İn Silico</i> Çalışmalar	17
1.12.	Amaç ve Hedefler.....	18
2.	LİTERATÜR ÖZETİ.....	19
3.	MATERYAL VE METOT	34
3.1.	Kullanılan Kimyasal Maddeler	34
3.2.	Yararlanılan Alet Ve Cihazlar	34
3.3.	Kullanılan çözeltiler ve hazırlanması.....	34
3.3.1.	Kuprak Metoduna Göre İndirgeme Kapasitesi Tayini İle İlgili Çözeltiler	35
3.3.2.	DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi İle İlgili Çözeltiler.....	35
3.3.3.	ABTS ⁺ Giderme Aktivitesi Tayini İle İlgili Çözeltiler	35
3.3.4.	FRAP Metodu Tayini İle İlgili Çözeltiler	35
3.3.5.	α -Glikozidaz Enziminin Aktivite Ölçümlerinde Kullanılan Çözeltiler	36
3.3.6.	HMG-CoA Redüktaz Enziminin Aktivite Ölçümlerinde Kullanılan Çözeltiler	36
3.4.	Angolensin Ve Nimbidiol'ün HMG-CoA Redüktaz, α -Glikozidaz Enzimlerin Üzerine İnhibisyon Etkisi	37
3.5.	α -Glikozidaz Enziminin Aktivite Tayini.....	37
3.7.	Antioksidan Çalışmaları	38
3.7.1.	Cu^{2+} - Cu^{+} İndirgeme Kapasitesi (Kuprak Metodu)	38
3.7.2.	Ferrik İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP) Testi.....	38
3.7.3.	1,1-Difenil 2-Pikril Hidrazil (DPPH) Serbest Radikalleri Giderme Aktivitesi.....	38
3.7.4.	2,2-Azino-Bis (3-Etilbenzo-Tiyazolin-6-Sülfonik Asit) (ABTS) Radikali Giderme Aktivitesi	39
3.8.	Angolensin ve Nimbidiol'ün HMG CoA Redüktaz Enzimi Üzerine inhibisyon Etkisinin Belirlenmesi.....	39
3.9.	Moleküler Docking	40
4.	BULGULAR VE TARTIŞMA	42
4.1.	α -Glikozidaz Enzim Aktivitesi Üzerinde İnhibisyon Etkisi Gösteren Angolensin ve Nimbidiol İle İlgili Sonuçlar	42
4.2.	HMG CoA Redüktaz Enzim Aktivitesi Üzerinde İnhibisyon Etkisi Gösteren	

Angolensin ve Nimbidol'ün İle İlgili Sonuçlar	44
4.3. Antioksidan Çalışmalar ile İlgili Araştırma Bulguları.....	47
4.3.1. Cu^{2+} - Cu^{+} indirgeme kuvveti (Kuprak metodu) bulgular	47
4.3.2. Ferrik İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP) Testi.....	49
4.3.3. DPPH serbest radikal giderme aktivitesi bulguları.....	51
4.3.4. ABTS^{+} radikal giderme aktivitesi bulguları.....	54
4.4. Moleküler Docking Sonuçları.....	57
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	62
KAYNAKLAR.....	69
EKLER	76
ÖZGEÇMİŞ	77

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
No	No
1. 1: Antioksidanların sınıflandırılması.....	3
1. 2: Oksidatif stres.....	6
1. 3: Serbest radikaller.....	7
1. 4: Kolesterol sentezi	11
1. 5: Mevalonat bileşiği	12
1. 6: HMG CoA bileşiği	13
1. 7: Mevalonat yolu.....	14
1. 8: Angolensin bileşiği.....	15
1. 9: Nimbidiol bileşiği.....	15
1. 10: α -glikozidaz inhibitörlerinin (AGI'ler) temel etki modları. (A) İnce bağırsakta α -glikozidazın (AG) hidrolitik glikozidaz aktivitesi ile karbonhidratlardan üretilen glikozun emilmesi. (B – D) AG aktivitesinin sırasıyla AGI'ler tarafından rekabetçi, rekabetçi olmayan /allosteric) ve rekabetçi olmayan inhibisyonu.....	17
1. 11: Moleküler docking	17
4. 1: α -Glikozidaz enzim aktivitesinde çalışılan farklı Angolensin konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[Angolensin] grafiği.....	43
4. 2: α -Glikozidaz enzim aktivitesinde çalışılan farklı Nimbidiol konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[Nimbidiol] grafiği.....	44
4. 3: HMG CoA Redüktaz enzim aktivitesinde çalışılan farklı Angolensin konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[Angolensin] grafiği.....	46
4. 4: HMG CoA Redüktaz enzim aktivitesinde çalışılan farklı Nimbidiol konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[Nimbidiol] grafiği.....	46
4. 5: Angolensin ve Nimbidiol'ün farklı konsantrasyonlardaki (10-30 μ g/mL) kuprak iyonlarını (Cu^{2+}) indirgeme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α -tokoferol ve troloks ile karşılaştırması	49
4. 6: Angolensin ve Nimbidiol'ün farklı konsantrasyonlardaki (10-30 μ g/mL) Ferröz formun (Fe^{2+} -TPTZ) indirgeme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α -tokoferol ve troloks ile karşılaştırması	51
4. 7: DPPH radikal giderme aktivitesi tayini için hazırlanan standart DPPH grafiği	52

4. 8:	Angolensin ve Nimbidol'ün farklı konsantrasyonlardaki (10-30 µg/mL) DPPH radikal giderme aktivitesinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması.....	54
4. 9:	ABTS ^{•+} giderme aktivitesi tayininde kullanılan ABTS ^{•+} için hazırlanan standart grafik	55
4. 10:	Farklı konsantrasyonlardaki Angolensin ve Nimbidol (10-30 µg/mL) ABTS ^{•+} giderme aktivitesinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması	57
4. 11:	Nimbidol molekülünün 1HWK proteini ile etkileşimleri	59
4. 12:	Angolensin molekülünün 1HWK proteini ile etkileşimleri	60
4. 13:	Nimbidol molekülünün IR47 proteini ile etkileşimleri.....	60
4. 14:	Angolensin molekülünün IR47 proteini ile etkileşimleri.....	61

TABLolar DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
1. 1: Reaktif oksijen ve nitrojen çeşitleri.....	8
4. 1: Angolensin (MW: 272.30 Da), 1000× seyreltilmiş çözelti α-Glikozidaz, enzim: 10 µL; kontrol: 100.	42
4. 2: Nimbidiol (MW: 274.35 Da), 1000× seyreltilmiş çözelti α-Glikozidaz, enzim:10 µL; kontrol: 100	43
4. 3: α-Glikozidaz enziminin aktivitesi üzerinde inhibisyon etkisi gösteren Angolensin ve Nimbidiol IC ₅₀ değerleri ve inhibisyon türü.....	44
4. 4: Angolensin (MW: 272.30 Da), 100× seyreltilmiş çözelti, HMG-CoA redüktaz, enzim: 20 µL; kontrol:100.	45
4. 5: Nimbidiol (MW: 274.35 Da), 100× seyreltilmiş çözelti HMG-CoA redüktaz, enzim: 20 µL; kontrol: 100.	45
4. 6: HMG-CoA Redüktaz enziminin aktivitesi üzerinde inhibisyon etkisi gösteren Angolensin ve Nimbidiol IC ₅₀ değerleri ve inhibisyon türü	47
4. 7: Cu ²⁺ -Cu ⁺ indirgeme değerleri 10 µL	47
4. 8: Cu ²⁺ -Cu ⁺ indirgeme değerleri 20 µL	48
4. 9: Cu ²⁺ -Cu ⁺ indirgeme değerleri 30 µL	48
4. 10: (devam ediyor) Ferröz formun (Fe ²⁺ -TPTZ) indirgeme değerleri 10 µL.....	49
4. 11: Ferröz formun (Fe ³⁺ -TPTZ) indirgeme değerleri 20 µL	50
4. 12: Ferröz formun (Fe ³⁺ -TPTZ) indirgeme değerleri 30 µL	50
4. 13: DPPH radikali giderme değerleri (10 µL).....	52
4. 14: DPPH radikali giderme değerleri (20 µL).....	53
4. 15: DPPH radikali giderme değerleri (30 µL).....	53
4. 16: ABTS ⁺ radikal giderme değerleri (5 µL).....	55
4. 17: ABTS ⁺ radikal giderme değerleri (10 µL).....	56
4. 18: ABTS ⁺ radikal giderme değerleri (20 µL).....	56
4. 19: Moleküllerin proteinlere karşı bağlanma parametrelerinin değerleri.....	58
5. 1: Angolensin ve Nimbidiol'ün enzimlere karşı IC ₅₀ değerleri.....	62
5. 2: Angolensin ve Nimbidiol'ün antioksidan aktivite sonuçları.....	63
5. 3: Angolensin ve Nimbidiol'ün enzim inhibisyonu ve antioksidan aktivite sonuçlarının genel özeti.....	64

EKLER DİZİNİ

Ek	Sayfa
No	No
Ek 1. Yapay zekâ kullanım tablosu.....	76



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS	: Azino-bis etilbenzotiazolin sülfonik asit
A β	: Amiloid- β
AG	: α -glikozidaz
AGI	: α -glikozidaz inhibitörleri
AH	: Alzheimer hastalığı
APP	: Amiloid öncü protein
BHA	: Butillenmiş hidroksianisol
BHT	: Butillenmiş hidroksitoluen
CDDL	: Çok düşük dansiteli lipoprotein
CUPRAC	: Cupric Reducing Antioxidant Capacity (Bakır indirgeyici antioksidan kapasite)
Da	: Dalton
DDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
DPPH	: Difenil pikrilhidrazil
EC	: Enzyme Commission (Enzim sınıflandırma numarası)
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FRAP	: Ferric Reducing Antioxidant Power (Ferrik indirgeme antioksidan gücü)
HMG-CoA	: Hidroksi metilglutaril koenzim A
HMG-CoAR / HMGR	: HMG-CoA redüktaz
IC ₅₀	: %50 inhibitör konsantrasyonu
LDL	: Low-density lipoprotein (Düşük yoğunluklu lipoprotein)
MW	: Molecular Weight (Molekül ağırlığı)
μ L	: Mikrolitre
μ g/mL	: Mikrogram / mililitre
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (indirgenmiş form)
nm	: Nanometre
nM	: Nanomolar
ODL	: Orta dansiteli lipoprotein
P	: İstatiksel Anlamlılık Değeri

PDB	: Protein Data Bank
PNPG	: p-Nitrofenil- α -D-glikopiranozid
r	: Korelasyon katsayısı
rpm	: Dakikadaki devir sayısı (revolutions per minute)
RNT	: Reaktif nitrojen türleri
ROT	: Reaktif oksijen türleri
YDL	: Yüksek dansiteli lipoprotein



1. GİRİŞ

Antioksidanlar, vücutta serbest radikallerin neden olduğu oksidatif stresi azaltarak hücresel hasarın önlenmesinde önemli rol oynayan doğal veya sentetik bileşiklerdir. Sentetik antioksidanların güvenilirliğine yönelik artan endişeler, sağlık ve gıda alanlarında tıbbi ve aromatik bitkiler gibi doğal kaynaklardan elde edilen antioksidanlara olan ilgiyi artırmıştır. Oksidatif stresin nörodejeneratif hastalıklar, diyabet, kanser ve romatoid artrit gibi birçok kronik hastalığın patogeneğinde etkili olduğu göz önüne alındığında, doğal antioksidanların önemi giderek artmaktadır.

1.1. Doğal Antioksidanlar

Antioksidanlar, vücuttaki serbest radikallerin olumsuz etkilerini azaltan önemli sistemlerdir. Günümüzde, sentetik antioksidanların güvenilirliği konusundaki artan endişeler, sağlık ve gıda endüstrisinde doğal kaynaklardan elde edilen antioksidanlara yönelik bir artışa neden olmuştur. Tıbbi ve aromatik bitkiler, bu doğal antioksidanların zengin kaynakları arasında yer alarak, araştırmacıların ve endüstrinin dikkatini çekmektedir (Çelik ve Ayran, 2020).

Antioksidanlar, serbest radikallerle reaksiyona girerek onları etkisiz hale getirir veya dengeler, böylece hücre hasarının önüne geçerek bazı hücre hasarlarını önleyebilen veya geciktirebilen insan yapımı veya doğal maddelerdir. Doğal antioksidanlar, gıdalarımızı mantar, bakteri vb. patojenlerin saldırısı sonucu oluşan oksidatif bozulma ve kontaminasyonlardan koruyan bileşiklerdir. Antioksidanlar besin takviyelerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Besin takviyeleri, antioksidanların daha yüksek konsantrasyonlarda alınmasını sağlamak amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır ve bazı hastalıkların önlenmesi için araştırılmaktadır (Yadav vd., 2016; Prakash vd., 2016).

Doğal antioksidanlar, vücuttaki hücreleri serbest radikallerin neden olduğu oksidatif stresin olumsuz etkilerinden koruyan önemli bileşenlerdir. Serbest radikaller, hücrelerdeki DNA, proteinler ve lipitler gibi önemli yapıları

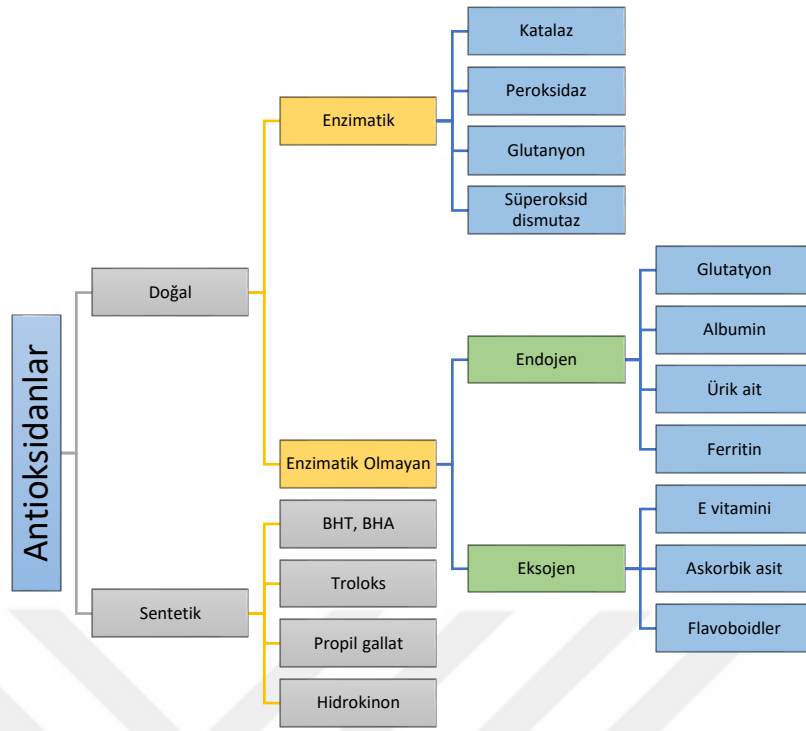
etkileyerek hasara yol açabilen reaktif moleküllerdir. Oksidatif stres, bu serbest radikallerin vücutta aşırı üretimi sonucu ortaya çıkar ve bu durum, bir dizi kronik hastalığın gelişimine katkıda bulunabilir. Özellikle nörodejeneratif bozukluklar, Alzheimer hastalığı ve Parkinson hastalığı gibi sinir sistemini etkileyen hastalıklar, oksidatif stresin etkilerine maruz kalabilir. Aynı zamanda, diyabet, kanserler ve romatoid artrit gibi çeşitli hastalıkların patogeneğinde de oksidatif stresin rolü önemli bir faktördür (Mitra, 2020).

1.1.1. Antioksidanların Temel Roller

Antioksidanların temel rolleri serbest radikallerle reaksiyona girerek onları etkisiz hale getirmek veya dengelemek suretiyle oksidatif stresin olumsuz etkilerini önlemektir. Serbest radikaller, hücrelerdeki DNA, proteinler ve lipitler gibi önemli yapıları etkileyebilen reaktif moleküllerdir. Serbest radikaller, çiftlenmemiş elektron içeren ve bu nedenle son derece reaktif olan molekül veya molekül parçacıklarıdır. Kararlı hale geçmek için diğer moleküllerden elektron çararlar, bu da elektron kaybeden moleküllerin yeni serbest radikallere dönüşmesine yol açar. Oksidatif stres, bu serbest radikallerin aşırı üretimi sonucu ortaya çıkar ve çeşitli kronik hastalıkların gelişimine sebep olabilirler. Bu süreç, DNA hasarları, protein modifikasyonları, lipid peroksidasyonu ve hücre ölümüne neden olur. Ayrıca serbest radikaller, yaşlanma, kardiyovasküler hastalıklar, katarakt, sepsis, kanser, diyabetik retinopati, kronik iltihaplar ve iskeminin de dahil olduğu birçok sağlık sorununa sebep olabilir. Dolayısıyla, antioksidanların temel amacı, bu oksidatif stresin etkilerini azaltmak ve hücreleri serbest radikallerin sebep olduğu zarardan korumaktır (Li vd., 2015).

1.1.2. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar genellikle enzimatik ve enzimatik olmayan ve kimyasal yapılarına ve etki mekanizmalarına göre bakılarak sınıflandırılır (Şekil 1.1). Bunların arasında, farklı etki modları, yerleri ve farklı nihai etkileri olan çeşitli bileşikler vardır (Flieger vd., 2021).



Şekil 1. 1: Antioksidanların sınıflandırılması

1.1.3. Antioksidan Kaynakları

Bitkisel ve hayvansal dokularda bulunan doğal antioksidanlar, gıdalarla birlikte vücuda alınarak savunma sistemini güçlendirmektedir. Bu konuda yapılan çalışmalar, tıbbi ve aromatik bitkilerin, yüksek düzeyde antioksidan aktiviteye sahip çok sayıda fitokimyasal bileşikleri içerdiğini göstermiştir. Doğal antioksidanların kaynakları esas olarak vitaminler, fenolik bileşikler, karotenoidler ve mikro elementler açısından zengin olan yenilebilir sebzeler, meyveler, baharatlar ve şifalı bitkiler gibi bitkilerdir. Doğal antioksidanlar gıdalarda ve şifalı bitkilerde yaygın olarak bulunmaktadır (Çelik ve Ayrar, 2020). Bunlara örnek olarak elma, turunçgiller, nar, patates, domates, havuç, biber, soğan, sarımsak, brokoli, karnabahar, lahana, kereviz, soya fasulyesi, siyah üzüm, zeytin, bitkisel çaylar, baharat ve otlar, baklagiller, sert kabuklu yemişler, tahıllar gibi tarımsal ürünlerin işlenmesinden elde edilen yan ürünler, potansiyel antioksidan kaynağı olarak düşünülmektedir (Flieger vd., 2021; Lourenço vd., 2019).

1.2. Enzimler

Enzimler, büyük bir bölümü protein yapısında olan ve canlı bünyesindeki biyokimyasal reaksiyonları katalizleyen makro moleküllerdir ve diğer proteinler gibi, çok farklı molekül kütlelerine sahiptir. Bazı enzimler amino asit kalıntıları dışında aktivite için kimyasal gruplara ihtiyaç duymazlar. Diğerleri kofaktör olarak adlandırılan Fe^{+2} , Mg^{+2} , Mn^{+2} veya Se gibi bir veya daha fazla inorganik iyon veya koenzim olarak adlandırılan kompleks organik ve metalorganik moleküllere gereksinim duyarlar. Bazı enzimlerin ise aktivite için hem koenzime hem de bir veya daha fazla metal iyonuna ihtiyacı vardır. Enzim proteinine çok sıkı olarak hatta kovalent olarak bağlanan bir koenzim veya metal iyonu prostetik grup olarak adlandırılır. Metal iyonları ile veya koenzimiyle birlikte katalitik olarak aktif olan bir enzim holoenzim olarak adlandırılır. Bu gibi enzimlerin protein kısmı apoenzim veya apoprotein olarak adlandırılır. Koenzimler özgül işlevsel grupların geçici taşıyıcısı olarak görev yapar. Koenzimler çoğunlukla diyet ile düşük miktarlarda alınan organik besinler olan vitaminlerden temin edilir (Nelson ve Cox, 2005).

Biyoteknoloji çalışmalarında enzimlerin yüksek sıcaklıklarda inaktif oldukları büyük bir sorun oluşturmaktadır. En iyi enzimler biyoteknolojik uygulamalarda kullanılabilmesi için çalışma koşullar altında çok zaman stabil olmaları gerekmektedir. Enzimler immobilizasyon teknikleri, protein mühendisliği, stabilize edici katkı maddeleri ile uygulama koşullar altında daha dayanıklı bir yapıya getirilebilmektedir (Altıkatoğlu vd., 2009).

İki tip inhibisyon mevcuttur, birincisi dönüşümlü inhibisyon, ikincisi dönüşümsüz inhibisyonudur. dönüşümsüz inhibisyonda, inhibitör aktif merkeze kovalent olarak bağlanarak enzimi inaktif hale getirir. Dönüşümlü inhibisyonda ise inhibitör enzimle veya enzim substrat kompleksi ile kovalent bağı olmayan halde bağlanır. Üç çeşit dönüşümlü inhibisyon tipi vardır (Lehninger vd., 2005).

Bunlar;

- ✓ Yarışmasız inhibisyon (nonkompetitif)
- ✓ Yarışmalı inhibisyon (kompetitif)
- ✓ Yarı yarışmalı inhibisyon (unkompetitif)

1.2.1. Lipid metabolizması ve hastalıkları

Plazmada bulunan temel lipidler; kolesterol, trigliserid ve fosfolipidlerdir. Plazmada kolesterol proteinlere bağı olarak lipoproteinler şeklinde taşınmaktadır. Ultrasantrifüjde ayrılmalarına göre lipoproteinler; şilomikronlar, çok düşük dansiteli lipoproteinler (CDDL), orta dansiteli lipoproteinler (ODL), düşük dansiteli lipoproteinler (DDL) ve yüksek dansiteli lipoproteinler (YDL) şeklinde 5'e ayrılır. Lipid metabolizması bozuklukları bu beş tip lipoproteinin yapısında, yıkımında ve sentezlenmesindeki sorunlara bağı olarak ortaya çıkmaktadır (Chandel, 2021).

1.2.2. HMG CoA redüktaz enzimi

Enzimler, çeşitli fizyolojik süreçlerdeki kritik katalitik işlevleri nedeniyle insan hastalıklarına farmakolojik müdahale için önemli hedefler olmaya devam etmektedir (Ramsay ve Tipton, 2017). Kolesterol biyosentetik yolundaki birincil ve düzenleyici enzim olan 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A (HMG-CoA) redüktazın inhibisyonu, metabolik bozuklukların yönetimi için önemli olan düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterolünde bir düşüşe neden olur (Liu vd., 2021). Genel olarak, metabolik bozuklukların tedavisi, hem merkezi sinir sistemi hem de periferik etkileri olan lipit düşürücü, ilaçların kullanımını içerir ve bu da polifarmasi konusunda endişelere yol açar (Lillich vd., 2020). HMG-CoA redüktaz enzimi, HMG-CoA'nın kolesterol biyosentezinin temel bir öncüsü olan mevalonata dönüşümünü katalize eder. HMG-CoA redüktazını inhibe ederek plazma kolesterol seviyesini düşüren statinler, kliniklerde kullanılan hipolipidemik ilaçların ana sınıfını temsil eder HMG-CoA redüktaz, mevalonat yolunun anahtar bir adımını katalizleyen bir transmembran enzimidir. Mevalonat yolu sterol, isoprenoid ve diğer lipitlerin sentezinin başında yer alır. HMG-CoA redüktazın katalizlediği reaksiyon mevalonat yolunda hız belirleyici olduğu için son yıllarda geliştirilmiş kolesterol düşürücü ilaçların hepsi bu enzimi hedeflerler (Haines vd., 2013)

Statinlerin kolesterol düzeylerini düşürmeden bağımsız olan olumlu etkileri, HMG-CoA Redüktazın kolesterol dışında başka moleküllerin sentezinde de rol almasıyla açıklanabilir. Statinlerin yangıönler (antienflamatuvar) özellikleri muhtemelen yangı tepkisinde gerekli olan isoprenoidlerin üretimini sınırlayabilme özelliklerinden kaynaklanmaktadır (Oliveira vd., 2016)

HMG-CoA redüktaz ayrıca gelişimde de önemli bir enzimdir. Etkinliğinin ketlenmesi inhibe olması ve buna bağlı olarak isoprenoidlerin yokluğu sonucunda morfolojik bozukluklar oluşur. HMG-CoA Redüktaz, transkripsiyon, translasyon, yıkım ve fosforlanma düzeylerinde düzenlenir (Chang vd., 2015)

1.3. Oksidatif Stres ve Reaktif Oksijen Türleri (ROT)

Oksidatif stres (Şekil 1.2), oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki hassas dengenin oksidanlar lehine bozulduğu, hücresel hasara yol açabilen bir süreçtir. Hücredeki normal metabolik aktiviteler sırasında, enzimatik reaksiyonlarda enzimlerin aktif bölgelerinde ara ürün olarak serbest radikaller sürekli olarak üretilir. Ancak, bu serbest radikallerin bazen enzimlerin aktif bölgelerinden sızarak moleküler oksijenle istem dışı etkileşime girmesi, reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumuna neden olur. Oksidatif stres, bu tür serbest radikallerin birikimi sonucu hücre yapılarının zarar görmesine ve biyolojik işlevlerin bozulmasına sebep olabilir (Serafini ve Del Rio, 2004).



Şekil 1. 2: Oksidatif stres

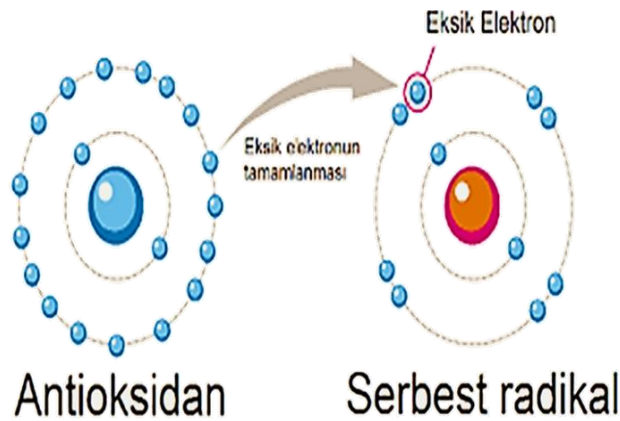
Reaktif oksijen türleri (ROT) oldukça yüksek reaktiviteye sahip moleküller olup başta mitokondriyum olmak üzere hücre organellerinde gerçekleşen normal metabolizmanın sonucu olarak veya iskemi-reperfüzyon, yaşlanma, radyasyon, yüksek oksijen basıncı, inflamasyon ve kimyasal ajanlara maruz kalma gibi sebepler bağlı olarak üretilirler. Oksidatif denge, oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dinamik bir uyumu ifade eder. Oksidanlar, hücresel metabolizma sırasında oluşan ve potansiyel olarak zarar verebilen reaktif moleküllerdir. Antioksidanlar ise bu reaktif oksijen türlerini (ROT) nötralize ederek hücresel

yapıları koruyan savunma mekanizmalarıdır. Bu denge bozulduğunda, oksidanların baskın hale gelmesi oksidatif stresin ortaya çıkmasına neden olur ve hücrel hasar riski artar (Özcan vd., 2015; Halliwell, 1995).

1.3.1. Serbest Radikaller

Aerobik organizmalar, yaşam süreçleri boyunca sürekli olarak reaktif oksijen türleri (ROT) adı verilen reaktif moleküller üretirler. Serbest radikaller (Şekil 1.3), çiftlenmemiş elektron taşıyan ve bu nedenle son derece reaktif olan molekül ya da molekül parçacıklarıdır. Kararlı hale geçebilmek için diğer moleküllerden elektron çalarlar; bu süreç, elektron kaybeden moleküllerin yeni serbest radikallere dönüşmesine yol açar ve zincir reaksiyonlarını başlatır. Bu serbest radikaller, dış orbitalinde tek sayıda eşleşmemiş elektron taşıyan, elektrik yüklü ya da yüksüz olabilen atomlar veya moleküllerdir. Kısa ömürlü olmalarının yanı sıra radikal olmayan maddelerle reaksiyona girerek yeni serbest radikaller oluşturma özellikleriyle de dikkat çekerler.

Hücrelerdeki DNA, proteinler ve lipitler gibi hayati öneme sahip yapılar, serbest radikallerin etkisiyle zarar görebilir. Oksidatif stres, serbest radikallerin aşırı üretimi veya antioksidan savunmasının yetersiz kalması sonucu ortaya çıkar ve çeşitli kronik hastalıkların gelişiminde önemli bir rol oynar. Serbest radikallerin DNA, protein ve lipitlere zarar vermesini önlemek, bu hastalıkların gelişimini engellemeye katkıda bulunabilir (Öğüt ve Atay, 2012; Prakash vd., 2016).



Şekil 1. 3: Serbest radikaller

Serbest radikaller oksijen ve nitrojen kaynaklı olabilirler. Oksijen kaynaklı olanlar reaktif oksijen türleri (ROT) ve nitrojen kaynaklı olanlar reaktif nitrojen türleri (RNT) olarak isimlendirilir (Tablo 1.1). Reaktif oksijen türleri arasında süperoksit (O_2^-), hidroksil (OH), peroksil (ROO), lipidperoksil (LOO) ve alkoksil (RO) radikalleri sayılabilir. Reaktif nitrojen türlerini ise nitrikoksit (NO) ve nitrojen dioksit (NO_2) oluşturur (Karabulut ve Günay, 2016).

Tablo 1. 1: Reaktif oksijen ve nitrojen çeşitleri

Reaktif Oksijen Çeşitleri	
Radikaller	Radikal olmayanlar
Süperoksit, O_2^-	Hidrojen peroksit H_2O_2
Hidroksil, HO-	Hipokloroz asit, HOCl
Peroksil, RO_2^-	Ozon, O_3
Alkoksil, RO	Singlet oksijen, 1Ag
Hidroperoksil, HOO	Peroksinitrit, ONOO
Reaktif Nitrojen Çeşitleri	
Radikaller	Radikal olmayanlar
Nitrik oksit, NO	Nitrosil, NO'
Nitrogen dioksit, NO_2^-	Nitrikoksit, NO"
	Nitroz asit, HNO_2
	Dinitrojen trioksit, N_2O_3
	Dinitrojen tetraoksit, N_2O_4
	Nitronyum iyonu, NO_2^+
	Peroksinitrit, ONOO"
	Alkil peroksinitrit, ROONO

1.4. Kolesterol

Kolesterol, steroid grubundan bir tür yağdır ve biyolojik zarların yapı taşlarından biridir. İnsan vücudu, kolesterolü hücre zarlarının stabilitesini sağlamak, hormon üretimi (örneğin, östrojen ve testosteron gibi) için ham madde sağlamak ve diğer metabolik süreçleri desteklemek için kullanır. Kolesterol sentezi, vücudun kendi ihtiyaçları için kolesterol üretme sürecidir (Haines vd., 2013). Kandaki kolesterol seviyesinin yükselmesi birtakım belirtilere neden olur. Bunlar arasında sayılabilecek olan yüksek kolesterolün belirtileri, göğüs ağrısı, bacaklarda ağrı ve

karıncalanma, göz çevresinde yağ birikimine bağlı sarı bezeler, mide bulantısı, yorgunluk, yaraların geç iyileşmesi, baş dönmesi, nefes darlığı ve cilt solgunluğudur. Kolesterol aşırı yüksekse, hipertansiyon ve felç de kolesterolün bir sonucu olarak ortaya çıkabilir (Crowley vd., 2013)

Kolesterol düzeyinin yüksek olduğunu gösteren belirtiler şunlardır:

- Göz kapakları ve çevresinde sarı yağ birikimi
- Göğüs ağrısı (anjina)
- Konuşma bozukluğu
- Bacaklarda karıncalanma ve ağrı
- Yüksek tansiyon
- Yaraların normalden geç iyileşmesi
- Baş dönmesi
- Mide bulantısı
- Yorgunluk ve halsizlik
- Nefes darlığı
- Ciltte solgunluk

1.4.1. Göz Çevresinde Sarı Yağ Bezeleri

Kolesterolün tipik belirtilerinden biri göz çevresinde ortaya çıkan sarı yağ birikintileridir. Ksantelazma olarak bilinen bu durum, kolesterol içeren yumuşak, yarı katı, sarı papüller veya plakların gelişimiyle karakterizedir. Özellikle gözlerin iç tarafında, en yaygın olarak üst ve alt göz kapaklarının köşeleri boyunca yer alırlar (Özçeklik vd., 2018)

1.4.2. Göğüs Ağrısı

Göğüs ağrısı kolesterolün bir diğer tipik belirtisidir. Kolesterol birikimi atardamarların daralmasına ve kan akışının engellenmesine neden olur. Atardamarlardan geçen kan akışının azalması, kalbe kan sağlayan damarların etkilenmesi göğüs ağrısına neden olur (Cordero vd., 2012)

1.4.3. Bacaklarda Uyuşma Ve Ağrı

Yüksek kolesterolün en yaygın belirtilerinden biri bacaklarda ve ayaklarda uyuşmadır. Yüksek kolesterol sonucu bacaklardaki atardamarlarda tıkanıklık oluşması bacaklarda ve ayaklarda ağrıya, uyuşmaya ve karıncalanmaya neden olabilir (Weiss, 2020)

1.4.4. Kan Basıncında Yükselme

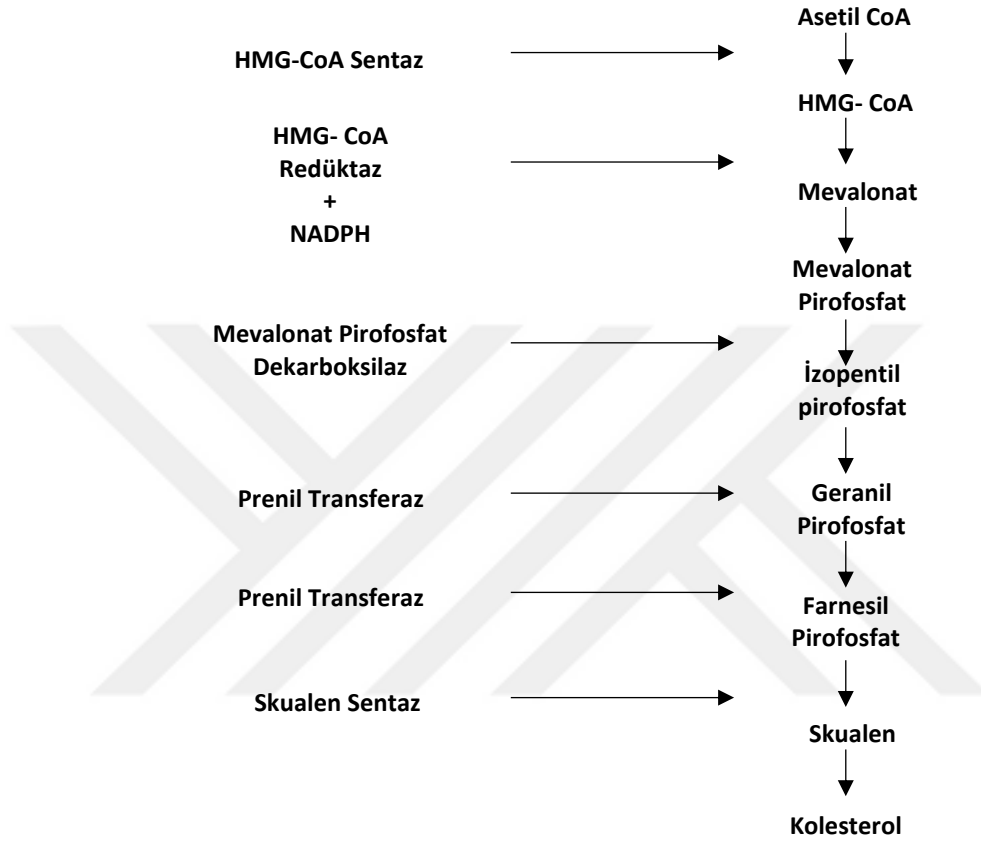
Kolesterol plakları atardamarlarda damar sertleşmesine ve daralmaya neden olur. Bu daralmaya ve sertleşmeye bağlı olarak kalp kanı pompalamak için daha fazla efor sarf etmek zorunda kalır ve bu durum kan basıncının yükselmesine, yani yüksek tansiyona neden olur (Jackson vd., 2005)

1.5. Kolesterol Sentezi

Kolesterol sentezi (Şekil 1.4), vücudun enerji ve yapı taşları ihtiyacını karşılamak için gerçekleşen hayati bir biyokimyasal süreçtir. Bu süreç, hücrelerin sitoplazması ve endoplazmik retikulumunda gerçekleşir ve özellikle karaciğer, kolesterol üretiminin ana merkezi olarak görev yapar. İnsan vücudunda bulunan kolesterolün yaklaşık %60'ı, yani günlük 700 mg kadarı, hücreler tarafından sentezlenir. Kolesterol, hücre zarı stabilitesinin korunması, transmembran madde taşınması, steroid hormonlarının sentezi, iyon dengesinin düzenlenmesi ve nöron fizyolojisinin desteklenmesi gibi hayati işlevlerde görev alır (Kangalgil ve Canbolat, 2016).

Kolesterol vücutta başta karaciğer olmak üzere çeşitli dokularda sentez edilmektedir. 2 mol asetil CoA birleşerek önce aseto asetil CoA'yı ve ardından da 3- hidroksi-3-metilglutaril CoA'yı meydana getirir. Oluşan 3-hidroksi-3-metilglutaril CoA'dan da hidroksi metilglutaril CoA (HMG CoA) redüktaz enzimi aracılığıyla kolesterolün öncül maddesi olan mevalonat meydana gelir. Burada 3-hidroksi-3- metilglutaril CoA'dan mevalonat oluşumu hız kısıtlayıcı basamak ve bu reaksiyonu katalizleyen enzim olan HMG CoA redüktaz da hız kısıtlayıcı enzim olarak görev yapar (Taslimi ve Gülçin, 2017; Santos vd., 2018). Kolesterol organizmada çok çeşitli işlevlere sahiptir. Kolesterol hücre zarının yapısına

girerek membran bütünlüğünü sağlar, steroid hormonların ve safra asitlerinin de öncül maddesidir. Kolesterol organizmada serbest (esterleşmemiş) veya esterleşmiş olarak bulunmaktadır. Esterleşmiş kolesterol genellikle plazmada veya aterom plaklarının yapısında bulunur (Oliveira vd., 2016).



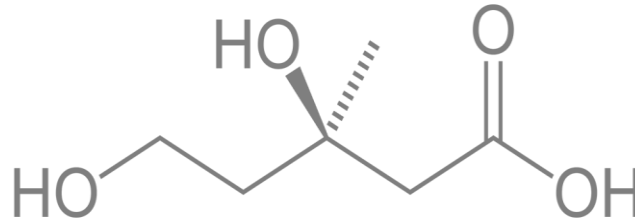
Şekil 1. 4: Kolesterol sentezi

Kolesterol ve trigliseridler suda çözünmez ve bu nedenle bu lipidler proteinlerle birlikte taşınmalıdır. Lipoproteinler, kolesterol esterleri ve trigliseridler içeren merkezi bir çekirdeğe ve onu çevreleyen serbest kolesterol, fosfolipidler ve apolipoproteinlere sahip karmaşık parçacıklardır. Bu serbest kolesterol, fosfolipidler ve apolipoproteinler lipoprotein oluşumunu ve işlevini kolaylaştırır. Lipoproteinler, merkezi bir hidrofobik çekirdekten oluşan, polar olmayan lipidlerden (çoğunlukla kolesterol esterleri ve trigliseritler) oluşan karmaşık parçacıklardır. Bu hidrofobik çekirdek, fosfolipitler, serbest kolesterol ve apolipoproteinlerden oluşan hidrofilik bir zarla çevrilidir. Plazma lipoproteinleri, boyut, lipid bileşimi ve apolipoproteinlere göre yedi sınıfa ayrılır (Sniderman vd., 2011).

Kolesterol sentezi, temel olarak asetil-CoA moleküllerinin bir araya gelmesiyle başlar. İki asetil-CoA birleşerek asetoasetil-CoA'yı oluşturur ve bu madde daha sonra HMG-CoA adındaki bir bileşiğe dönüşür. Bu aşamada, HMG-CoA redüktaz enzimi devreye girer ve kolesterol sentezinin hızını kontrol eden önemli bir rol oynar. Bu enzim aracılığıyla HMG-CoA, kolesterolün öncüsü olan mevalonat molekülüne dönüşür. Mevalonat, izoprenoidlerin senteziyle devam eden bir dizi karmaşık reaksiyona girer ve yaklaşık 30 aşama sonucunda kolesterol molekülü oluşur. Bu süreç, vücudun ihtiyaçlarına göre dinamik bir şekilde düzenlenir. Diyetle alınan kolesterol miktarı, sentez hızını etkileyerek vücudun dengesini korumasını sağlar. Hücreler, kolesterol homeostazını sürdürmek için biyosentez ve salınım faaliyetlerini eşgüdümlü bir şekilde yürütür. Sağlıklı bir kolesterol dengesi, hücresel işlevlerin düzgün çalışması ve kardiyovasküler hastalıkların önlenmesi açısından kritik öneme sahiptir (Haines vd., 2013; Oliveira vd., 2016).

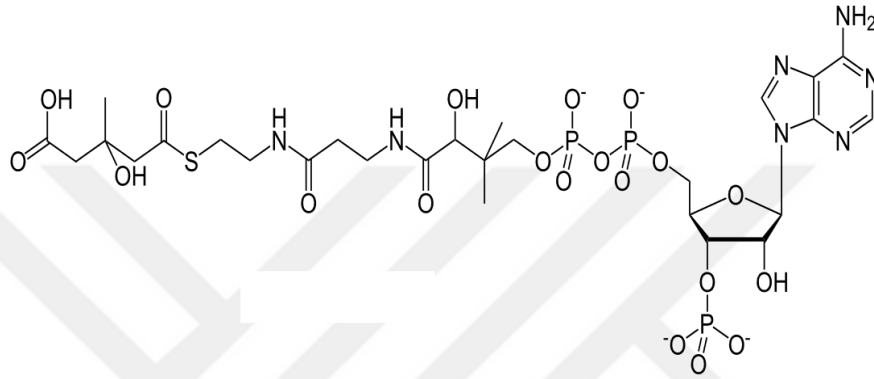
1.6. Mevalonat Yolu

Mevalonat yolu, hücrelere çok sayıda hücresel süreçte hayati önem taşıyan temel biyoaktif moleküller sağlayan önemli bir metabolik yoldur. Bu yol, mevalonatu safra asitlerinin, lipoproteinlerin ve steroid hormonlarının vazgeçilmez öncüsü olan kolesterol gibi sterol izoprenoidlere ve bir dizi hidrofobik molekül olan nonsterol izoprenoidlere dönüştürür. Mevalonat (Şekil 1.5), HMG-CoA (Şekil 1.6) ile HMG-CoA redüktaz tarafından sentezlenmiştir. (Buhaescu ve Izzedine, 2007; Zahra Bathaie 2017).



Şekil 1. 5: Mevalonat bileşiği

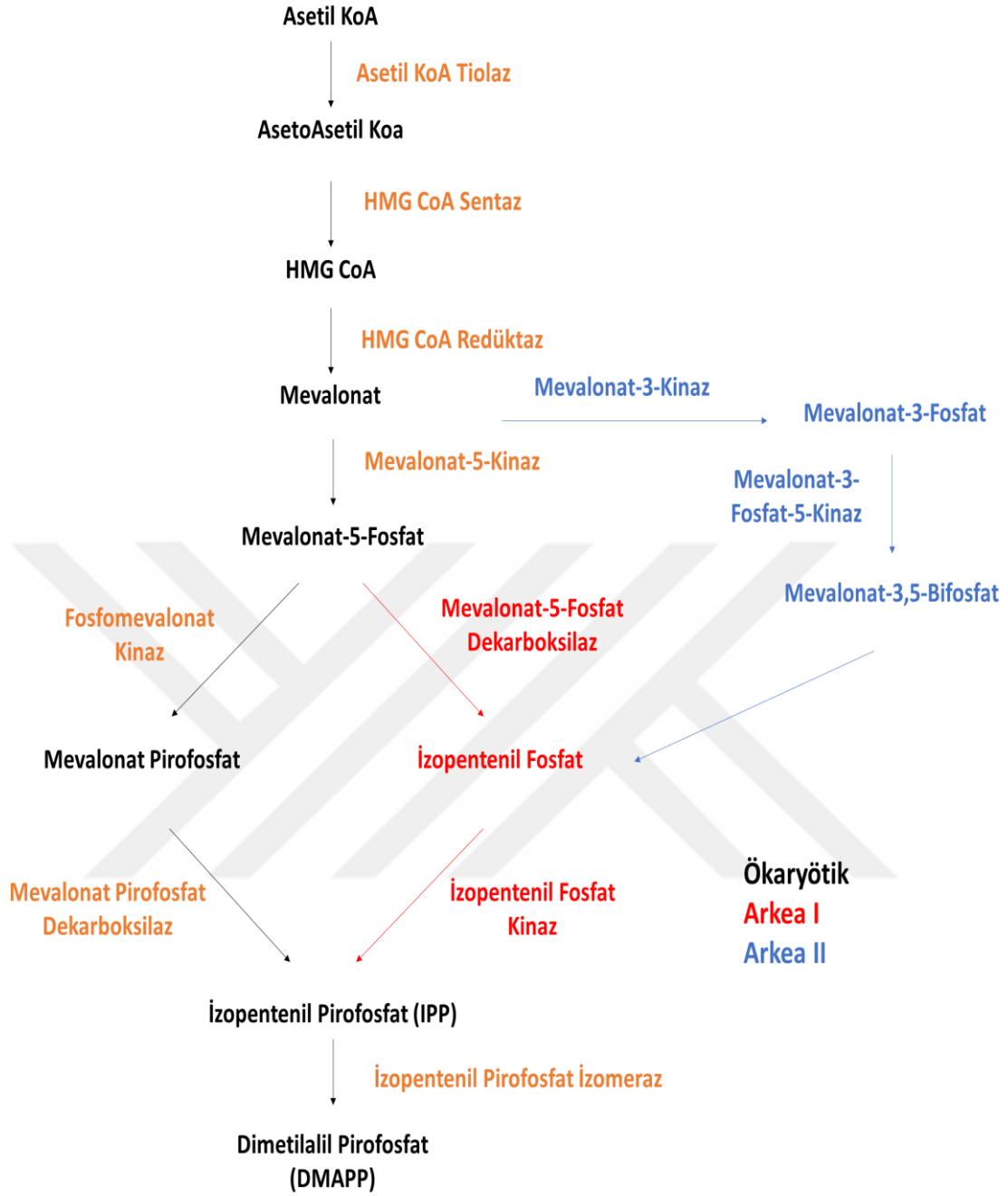
Yol, çoğu ökaryotta, arkea ve bazı bakterilerde işlev görür. Bu metabolizmanın işlevsel ve yapısal temelini çoğu ancak yakın zamanda rapor edilmiştir. Biyosentetik asetoasetil-CoA tiyolaz ve HMG-CoA sentaz reaksiyonları, farklı olan ancak başlangıç yoğunlaşma enzimleri ailesi boyunca benzer olan aktif bölgelerde bulunan anahtar amino asitlere dayanır. Hem bakteriyel hem de hayvansal HMG-CoA redüktazları kapsamlı bir şekilde incelenmiş ve bu proteinler arasındaki karşıtlıklar ve statin inhibitörleriyle etkileşimleri tanımlanmıştır (Miziorko, 2011).



Şekil 1. 6: HMG CoA bileşiği

Mevalonat-izoprenoid yolu, öncelikle asetil-CoA'dan asetoasetilCoA aracılığıyla HMG-CoA sentezini içerir. Doğadaki en yüksek düzeyde düzenlenen enzimlerden biri olan (HMG-CoAR), HMG-CoA'nın mevalonik aside dönüşümünü katalize eder. HMGR, mevalonat yolunun hız sınırlayıcı enzimidir. Hücrede sterol izoprenoidlerinin yokluğunda, HMG-CoAR gen transkripsiyonu, sterol düzenleyici element bağlayıcı proteinler SREBP'ler (sterol regulatory element binding proteins) olarak adlandırılan bir transkripsiyon faktörü ailesi tarafından doğrudan aktive edilir. SREBP'lerin yalnızca HMG-CoAR gen transkripsiyonunu değil, aynı zamanda mevalonat yolunda etki eden tüm enzimlerin gen ifadesini artırarak kolesterol sentetik yolunun her adımını aktive ettiğine dair kanıtlar vardır (Buhaescu ve Izzedine, 2007).

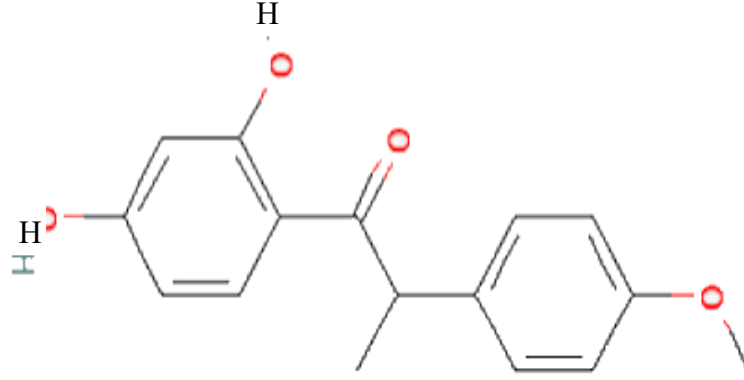
Mevalonat yolu aşağıda şekil 1.7'de gösterilmiştir.



Şekil 1. 7: Mevalonat yolu

1.7.Angolensin

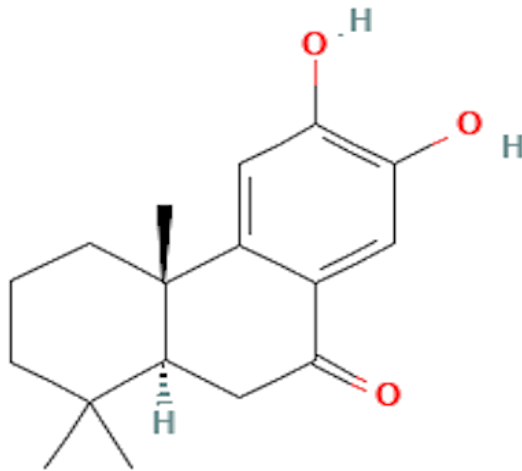
Angolensin (Şekil 1.8) (1-(2,4-dihydroxyphenyl)-2-(4-methoxyphenyl)propan-1-one) bileşiği, bir doğal bileşik olup, genellikle bitkilerden izole edilir. Özellikle, Angolensin'in tıbbi ve farmakolojik özellikleri üzerine çalışmalar yapılmıştır. Bu bileşik, antioksidan, antikanser ve antimikrobiyal etkiler gibi çeşitli biyolojik aktiviteler sergileyebilir (Okumuş vd., 2015).



Şekil 1. 8: Angolensin bileşiği

1.8. Nimbidiol

Nimbidiol (Şekil 1.9) ((4aS,10aS) -6,7-dihydroxy-1, 1, 4a-trimethyl-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahydrophenanthren-9-one), Neem ağacından (*Azadirachta indica*) elde edilen bir bileşiktir. Neem ağacı, geleneksel Hint tıbbında geniş bir yelpazede kullanılan birçok biyolojik olarak aktif bileşik içerir ve nimbidiol bu bileşiklerden biridir. Neem ağacındaki aktif bileşiklerin oksidatif stres ve inflamasyonu düzenleyerek farklı hastalıkların tedavisinde rol oynadığı gösterilmiştir (Lourenço vd., 2019). Nimbidiol, glikozidaz inhibitör özellikleri nedeniyle potansiyel bir anti-diyabetik bileşik olarak kabul edilen, neem türevi bir diterpenoiddir (Ciccone vd., 2021).



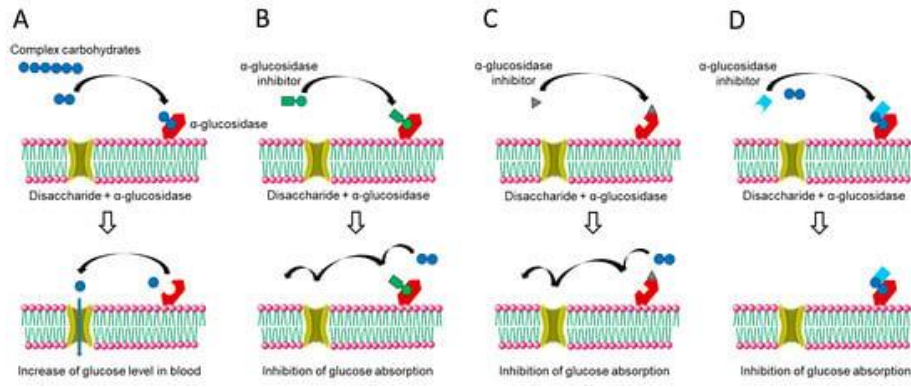
Şekil 1. 9: Nimbidiol bileşiği

1.9. α -Glikozidazlar

α -Glikozidazlar (E.C.3.2.1.20, α -D-glikozit glikohidrolaz, ekzo- α -1,4-glikozidaz) hayvanlar, bitkiler ve mikroorganizmalarda karbohidrat metabolizma sırasında anahtar rol oynarlar. Mikroorganizma hücrelerinde oldukça yaygın olup çeşitli maya, bakteri ve küflerden hücre içi, hücre dışı veya hücreye bağlı şekilleri saflaştırılarak karakterize edilmiştir. Mikroorganizmalar tarafından nişasta molekülün parçalanmasının son aşaması α -glikozidaz enzimler ile gerçekleştirilir (Juin vd., 2023). Bu enzim, glikozun alfa (1 $\rightarrow$ 4) glikozidik bağlarını parçalayarak nişastayı daha küçük, sindirilebilir karbohidratlara dönüştürür. Özellikle bağırsaklarda bulunur ve sindirim sisteminde kompleks karbohidratların sindirimine yardımcı olur. Ayrıca glikozun emilimini düzenleyen bir rol oynar. Bağırsaklarda sindirilen karbohidratlar, genellikle basit şekerler olan glikoz, fruktoz ve galaktoza parçalanır. α -glikozidaz, özellikle ince bağırsağın iç yüzeyinde yer alan hücre zarında bulunur ve glikozun emilimini sağlar. Bu enzim, nişastanın ve diğer karmaşık karbohidratların sindirilmesi sırasında önemli bir rol oynar (Assefa vd., 2019; Leroux-Stewart vd., 2015).

1.10. α -Glikozidaz ve İnhibisyonu

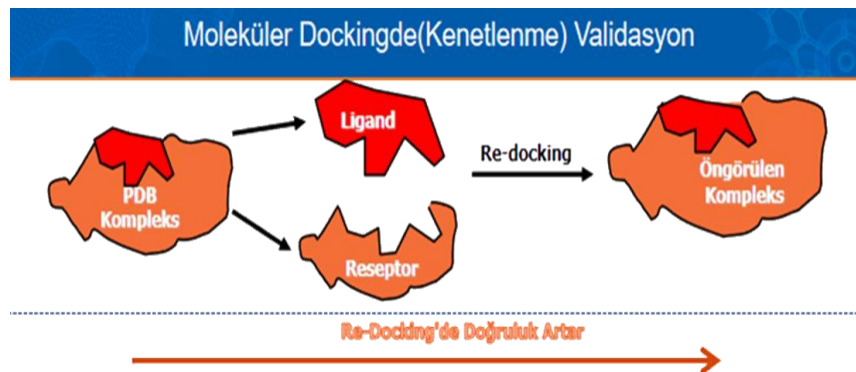
Şeker hastalığının tedavisinde kullanılan bir terapötik yöntem, polisakkarit moleküllerini hidrolize edebilen ve onları monosakkarit veya basit şeker birimlerine dönüştürebilen enzimlerin inhibisyonunu içerir (Şekil 1.10). Bu tür enzimler arasında " α -glikozidaz" gibi enzimler, disakkarit moleküllerini glikoza hidroliz ederek etki gösterir. α -glikozit bağlarını hidrolize eden enzimlerin belli başlı çeşitleri maltaz, sükras, oligo-1,6-glikozidaz, amilo-1,6-glikozidazdır. Maltaz bağırsak suyunda bulunur ve bu enzim maltozu hidrolize ederek glikozu meydana getirir. Sükras enzimi bağırsak suyunda bulunur ve sakkarozu hidroliz ile parçalayarak sakkarozdan glikoz ve fruktoz meydana getirir. Oligo-1,6-glikozidaz bağırsak mukozasında bulunan bu enzim dekstrinlerin alfa-1,6 glikozit bağlarını hidroliz ile parçalarlar. Amilo-1,6-glikozidaz 15 karaciğer ve kaslarda bulunan bu enzim glikojen üzerine tesir eder ve glikojenin alfa-1,6 glikozit bağlarını hidroliz eder (Santos vd., 2018).



Şekil 1. 10: α -glikozidaz inhibitörlerinin (AGI'ler) temel etki modları. (A) İnce bağırsakta α -glikozidazın (AG) hidrolitik glikozidaz aktivitesi ile karbonhidratlardan üretilen glikozun emilmesi. (B – D) AG aktivitesinin sırasıyla AGI'ler tarafından rekabetçi, rekabetçi olmayan /allosteric) ve rekabetçi olmayan inhibisyonu.

1.11. *In Silico* Çalışmalar

In silico çalışmalar, in vivo ve in vitro çalışmaların aksine canlı veya kısmen canlı organizmaların dışında, bilgisayar ve bilgisayar simülasyonunda gerçekleştirilen bir yöntemdir. Moleküler docking (Şekil 1.11), bir ligandın (molekül) bir hedef molekülle (genellikle bir protein veya DNA) nasıl etkileşim kurabileceğini anlamak ve modellemek amacıyla kullanılan bir hesaplama yöntemidir. Bu yöntem, ilaç tasarımı ve biyolojik etkileşimlerin anlaşılması için önemlidir. Moleküler docking, belirli bir ligandın hedef molekülle nasıl bağlanabileceğini ve bu bağlanmanın ne kadar energetik olarak stabil olduğunu tahmin ederek, ligandın hedef molekülle etkileşimini modellendirir. Bu, ilaç tasarımı sürecindeki bir adımdır ve ilaçların hedef proteine nasıl bağlandığı, etkileşimlerin doğası ve potansiyel etkileri hakkında bilgi sağlar. Moleküler docking, yeni ilaçların tasarımı, mevcut ilaçların optimize edilmesi ve ilaç-etki mekanizmalarının anlaşılması gibi birçok uygulamada önemli bir araçtır (Sakulkeo vd., 2022).



Şekil 1. 11: Moleküler docking

1.12. Amaç ve Hedefler

Yüksek kolesterol ve LDL kolesterol seviyelerinin yüksekliği, serbest radikallerin aşırı üretimine ve dolayısıyla oksidatif stresin oluşmasına neden olabilir. Oksidatif stres, kronik hastalıklar da dahil olmak üzere sağlık açısından ciddi riskler oluşturur. Bu nedenle, doğal antioksidanlar kullanılarak oksidatif stresin azaltılması ve serbest radikallerin neden olduğu hastalıkların önlenmesi amaçlanmaktadır.

Tezin asıl konusu olan HMG-CoA redüktaz enzimi, kolesterol sentezinin başlangıcında yer alan mevalonat bileşiğinin oluşumunda kritik bir rol oynar. HMG-CoA redüktaz enziminin inhibe edilmesi, mevalonat bileşiğinin üretimini engelleyerek kolesterol sentezini doğrudan durdurabilir. Genellikle statin sınıfındaki ilaçlar, HMG-CoA redüktaz enzimini inhibe etmek ve kolesterol seviyelerini düşürmek için kullanılır. Bu tez çalışmasında ise doğal antioksidanlar olarak Angolensin ve Nimbidiol bileşikler kullanılmıştır.

Bu bileşiklerin antioksidan miktarı, uygun dozlarda kullanım açısından önemlidir. Antioksidan miktar tayininde ABTS, DPPH, CUPRAC ve metal şelatlama yöntemleri kullanılmıştır. Bu miktar tayininden sonra, doğal maddelerin HMG-CoA redüktaz ve α -Glikozidaz enzimleri üzerindeki inhibisyon etkisi incelendi. Enzim aktivitesi tayini, spektrofotometre cihazında absorbans ölçümleri yapılarak belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçlar analiz edilerek, doğal maddelerin enzimleri inhibe etme potansiyelleri değerlendirildi. Bu çalışma, doğal bileşiklerin terapötik potansiyellerini anlamak ve yeni tedavi yöntemleri geliştirmek için önemli bilgiler sağlayabilir. Doğal antioksidanların kullanımıyla oksidatif stresin azaltılması, kronik hastalıkların önlenmesi ve kolesterol seviyelerinin düşürülmesi gibi sağlık yararları hedeflenmektedir. Bu bağlamda, Angolensin ve Nimbidiol bileşiklerinin etkileri ve enzim inhibisyon potansiyelleri ayrıntılı olarak incelenmiş olmaktadır. Doğal bileşiklerin bu şekilde incelenmesi, farmakolojik ve klinik uygulamalar için yeni fırsatlar sunabilir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Xie vd. (2021), yaptıkları çalışmada çay örneklerinin HMG-CoA redüktaz ve α -glikozidaz üzerindeki inhibitör etkileri değerlendirmiştir. HMG-CoA redüktaz aktivitesi ELISA yöntemiyle ölçülmüş, çay özleri 37 °C’de 15 dk inkübe edilmiştir. Tüm çay örnekleri enzimi belirli oranlarda inhibe etmiş; inhibisyon oranı kontrol örneğine göre %24’ten başlayarak değişmiştir. En yüksek inhibisyon yeşil çayda, en düşük ise koyu (post-fermente) çayda gözlenmiştir. Benzer şekilde, α -glikozidaz aktivitesi de tüm çaylar tarafından baskılanmış, inhibisyon oranı %76.82–%86.35 aralığında değişmiştir. Bu enzim üzerinde beyaz çay en güçlü, *oolong* çayı ise en zayıf inhibitör etkiyi göstermiştir. Korelasyon analizinde, HMG-CoA redüktaz inhibisyonu ile test edilen biyoaktif bileşenler arasında anlamlı bir ilişki saptanmazken, α -glikozidaz inhibisyon oranı toplam kateşin içeriğiyle negatif ($r = -0.8823$, $p < 0.05$) ve pozitif yönlü ($r = 0.883$, $p < 0.05$) ilişkiler göstermiştir. Sonuç olarak, çayların hem kolesterol sentezinde rol alan HMG-CoA redüktazı hem de karbonhidrat sindiriminde görevli α -glikozidazı farklı düzeylerde inhibe ettiği belirlenmiştir.

Moein vd. (2022), *Berberis integerrima Bunge* ile α -Glikozidaz inhibitör aktivitesini, McCue ve Kim ve ark. yöntemleri temel alınarak in vitro olarak değerlendirmiştir. Enzim çözeltisi 37 °C’de 15 dk inkübe edilmiş, reaksiyon p-nitrofenil- α -D-glikopiranozid (PNPG) substratı ile başlatılmış ve absorbans 405 nm’de ölçülmüştür. Araştırmada, *Berberis integerrima Bunge* (BIBF) meyvesinden izole edilen purifiye antosiyanin, α -glikozidaz üzerinde en güçlü inhibitör etkiyi göstermiştir; IC_{50} değeri 0.71 ± 0.085 mg/ml olarak belirlenmiştir. BIBF ekstraktının IC_{50} değeri 1 ± 0.048 mg/ml, standart ilaç acarbose ise 8.8 ± 0.14 mg/mL olarak bulunmuştur ($P < 0.001$). IC_{50} değerleri arasındaki farklar hem purifiye antosiyanin ile BIBF ekstraktı ($P < 0.05$) hem de purifiye antosiyanin ile acarbose ($P < 0.001$) arasında istatistiksel olarak anlamlıdır. Bulgular, antosiyaninlerin α -glikozidaz aktivitesini etkili şekilde inhibe ederek potansiyel antidiabetik özellik taşıdığını göstermektedir.

Santos-Sánchez vd. (2024), Soya proteininin (*Glycine max*) temel bileşenleri olan β -konjelin (7S) ve glisinin (11S), toplam proteinin %80–90'ını oluşturmakta olup, bu proteinlerden elde edilen peptitlerin HMG-CoA redüktaz (HMG-CoAR) üzerinde anlamlı inhibitör etkilere sahip olduğunu bildirmiştir. Glisinin pepsinle hidrolizi sonucu oluşan peptitler enzimi yaklaşık %40 oranında inhibe etmiş; izole edilen IAVPGEVA peptidi $IC_{50} \approx 200 \mu\text{mol/L}$, IAVP ve IAVPTGVA peptitleri ise sırasıyla $IC_{50} = 59.30 \mu\text{mol/L}$ ve $93.30 \mu\text{mol/L}$ değerleri göstermiştir. Kinetik analizler, bu peptitlerin L-domain üzerinde kompetitif inhibitör olarak etki ettiğini, ayrıca IAVP'nin S-domain ile de yarıştığını ortaya koymuştur. Buna karşın, tripsinle elde edilen LPYP peptidi $IC_{50} > 300 \mu\text{mol/L}$ ile daha düşük etkinlik göstermiştir. β -konjelinden türetilen YVVNPDNDEN ve YVVNPDNNEN peptitleri HMG-CoAR aktivitesini sırasıyla $150 \mu\text{mol/L}$ ve $200 \mu\text{mol/L}$ IC_{50} değerleriyle inhibe etmiş; bu etkinliğin hidrofobik N-uç ve negatif yüklü C-uç yapılarından kaynaklandığı belirtilmiştir. Ayrıca glisininden türetilen LPYPR peptidi, in vitro olarak $200 \mu\text{mol/L}$ 'de %34 inhibisyon sağlamış ve oral uygulanmasıyla sıçanlarda total kolesterolü %25, LDL-kolesterolü %30 azaltmıştır.

Mohankumari vd. (2021), yaptıkları çalışmada Kırmızı Pirinç Mayası (*M. Purpureus*) , $4-8^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmış ve her 30 günde bir subkültüre edilmiştir. Tohum kültürü için 100 ml bazal ortama (1 L'de 100 g dekstrozu, 10 g pepton, 2 g KNO_3 , 2 g $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, 0.5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.1 g CaCl_2 ; pH 6.0) bir öze dolusu inoküle edilerek 30°C 'de 48 saat, 110 rpm'de inkübe edilmiş ve oluşan kültürün %5'i (v/w) katı fermentasyonda kullanılmıştır. Geleneksel kırmızı pirinç (RMR), 500 g steril pirincin %5 (v/w) *M. purpureus* ile inokülasyonu sonrası 30°C 'de 14 gün fermentasyonu ile hazırlanmış, ardından $45-50^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat kurutulup toz haline getirilmiştir. HMG-CoA redüktaz aktivitesi, 0.5–1.0 mg mikrozomal protein, 150 nmol HMG-CoA ve 2 μmol NADPH içeren 1 mL'lik reaksiyon karışımında 37°C 'de 30 dk inkübasyonla ölçülmüştür. Sonuçlara göre yüksek kolesterol diyeti, enzim aktivitesini %56.45 azaltmıştır; RMR takviyesi ise HCD grubuna kıyasla doza bağlı şekilde %22–54 arasında ek inhibisyon sağlamıştır.

Cecarini vd. (2023), *Panax ginseng* kökü ve başlıca bileşenleri olan ginsenosid Rb1 ve Rb2 kullanmışlardır. Rb1 ve Rb2'nin HMG-CoA redüktaz (HMGCR) ile

düşük mikromolar aralıkta reversibl bağlanarak NADPH varlığında kompetitif inhibitör etkisi gösterdiği belirlenmiştir. *P. ginseng* ekstraktı, toplam ginsenosid içeriği 25.39 ± 0.32 mg/g, Rb1 7.64 ± 0.03 mg/g, Rb2 3.28 ± 0.01 mg/g olarak saptanmıştır. HepG2 hücrelerinde Rb1, Rb2 ve ekstrakt, 8 saat sonrası hem total hem serbest kolesterol seviyelerini anlamlı şekilde azaltmıştır. Ayrıca, SREBP-2 transkripsiyon faktörünün ekspresyonu ve hedef genleri HMGCR ve LDLr'de azalma gözlenmiş; zaman-kurs çalışmaları, SREBP-2 (p) ve olgun form seviyelerinin 4 saatten itibaren düştüğünü ve kolesterol düşüşünden önce gerçekleştiğini göstermiştir. Bunun yanı sıra, LXR α/β ve IDOL proteinlerinin artışıyla LDLr lizozomal yıkımı desteklenmiş ve bu mekanizma ile LDL kolesterol alımı azaltılmıştır. Literatür ve klinik çalışmalar, ginseng ekstraktının özellikle yüksek doz ve uzun süreli kullanımında total ve LDL kolesterolü düşürebileceğini göstermekte olup, ilave çalışmaların doz ve tedavi süresi optimizasyonu ile etkilerin netleştirilmesi gerektiği vurgulanmaktadır.

Yine *Panax ginseng* ile çalışma yapan Deng vd. (2017), PnHMGR (GenBank: KJ578757) ve PnSS (GenBank: KC953033.1) genleri, *P. notoginseng* hücrelerine pCAMBIA2300s-PnHMGR ve pCAMBIA1300s-PnSS rekombinant vektörleri aracılığıyla aktarılmış ve CaMV 35S promotörü ile aşırı eksprese etmişlerdir. Transgenik hücrelerde PnHMGR ekspresyonu 6–11 kat, PnSS ekspresyonu ise 5–11 kat artış göstermiştir. Mikrozomal hazırlıklar ve HMG-CoA redüktaz aktiviteleri belirlenmiş; PnHMGR ve PnSS'in aşırı ekspresyonu, ilgili enzim aktivitelerini yükseltmiş ve triterpen saponin (PNS) üretimini artırmıştır. Özellikle, PnHMGR ve PnSS birlikte eksprese edilen hücreler, yalnızca PnHMGR eksprese eden hücrelerden daha yüksek PNS seviyeleri üretmiş ve böylece iki genin biyosentez üzerinde sinerjistik etkisi olduğu ortaya konmuştur. Bu sonuçlar, PnHMGR'in PNS biyosentezinde anahtar enzim olduğunu ve PnSS ile birlikte ekspresyonunun triterpen saponin üretimini optimize edebileceğini göstermektedir.

Ahmad vd. (2022), araştırmalarında Sarımsak, *Allium sativum* L., *Amaryllidaceae* ve türevi olan doğal *organosülfür* bileşiklerini HMG-CoA redüktaz (HMG-R) inhibisyonu için, in vitro HMG-R kitleri kullanılarak değerlendirmişlerdir. HMG-R katalitik domaini içeren reaksiyonlarda N-acetylcysteine (NAC), S-ethyl-L-

cysteine ve alliin en güçlü inhibisyonu gösterdi; IC₅₀ değerleri sırasıyla 139.26 ± 1.8 µM, 264.66 ± 5.8 µM ve 292.86 ± 6.8 µM olarak ölçüldü, S-allyl-L-cysteine ise anlamlı bir etkisi olmadı. Enzim kinetiği çalışmaları, NAC ve pravastatinin HMG-R aktivitesini rekabetçi olarak inhibe ettiğini gösterdi; NAC, HMG-CoA ile aktif bölge için yarışarak mevalonat oluşumunu kısıtladı. Ayrıca, NAC hem DPPH hem de ABTS radikal süpürme deneylerinde yüksek antioksidan kapasite gösterdi; IC₅₀ değerleri sırasıyla 7.03 ± 0.51 µM (DPPH) ve 5.77 ± 0.22 µM (ABTS) olup, standart askorbik asitten çok daha etkilidir. Bu bulgular, organosülfür bileşiklerin özellikle NAC'in HMG-R inhibisyonu ve antioksidan etkisiyle diyetel olarak kardiyovasküler risk yönetiminde potansiyel fayda sağlayabileceğini ortaya koymaktadır.

Baskaran vd. (2015), Malabar ıspanağı (*Basella alba*) ile yaptıkları Spektrofotometrik HMG-CoA redüktaz testi (NADPH: 400 µM; HMG-CoA: 400 µM; enzim: 0.5–0.75 mg/mL) kullanılarak ölçülen sonuçlara göre *Basella alba*'nın inhibisyon oranı enzimi %74.1 oranında baskılamıştır; bu değer literatürde güçlü inhibitörler arasında yer alan *Rosa damascena* (%70) ve *Myrtus communis* (%62) sonuçlarından da yüksektir. Pozitif kontrol simvastatin ise %85.1 inhibisyon göstermiştir. HMG-CoA redüktaz kolesterol sentezinin hız sınırlayıcı basamağını katalizlediğinden, *B. alba*'nın yüksek inhibisyon yüzdesi, LDL reseptör ekspresyonunun artışı üzerinden kolesterol düşürücü potansiyelini desteklemektedir. GC-MS/MS analizleri, *B. alba* ekstraktında fenol 2,6-bis(1,1-dimetiletil), 1-heptatriacotanol, oleik asit, eikosil ester, naringin, apigenin, luteolin, askorbik asit ve α-tokoferol gibi hipokolesterolemik etkiyle ilişkilendirilmiş bileşenler tespit etmiştir. Bu bulgular, *B. alba*'nın da HMG-CoA redüktaz inhibisyonu yoluyla kolesterol düzenlenmesinde etkili olabileceğini göstermiştir.

Kwon vd. (2010), çalışmalarında *Rosa damascena* (Isparta gülü) bitkisini kullanmışlardır. *Rosa damascena* tomurcukları (1700 g) sıcak su ekstraksiyonu (100 °C, 2 saat) ile elde edilmiş ve toplam 720 g ham ekstrakt sağlanmıştır; ardından fraksiyonlama sonucunda n-hekzan (0.5 g), kloroform (2.8 g), EtOAc (124.7 g), n-bütanol (274.4 g) ve su (317.6 g) fraksiyonları elde edilmiştir. HMG-CoA redüktaz inhibisyonu EtOAc fraksiyonundan saflaştırılan beş bileşik

üzerinde değerlendirilmiş, enzim kaynağı olarak Sprague–Dawley sıçan karaciğer mikrozomları kullanılmış ve reaksiyon NADPH tüketimi üzerinden 340 nm’de 5 dakika izlenmiştir. Sonuçlar, dört bileşiğin 0.12 mg/mL konsantrasyonda enzimi tamamen inhibe ettiğini, yalnızca siyanidin-3-O- β -glikozidin inhibitör etki göstermediğini ortaya koymuştur. Pozitif kontrol lovastatin ise 0.01 mg/mL düzeyinde tam inhibisyon sağlamıştır. Konsantrasyon–yanıt analizlerinde, aktif dört bileşiğe ait IC₅₀ değerleri sırasıyla 80.6 μ M, 80.1 μ M, 47.1 μ M ve 50.6 μ M olarak hesaplanmış; bu sonuçlar *R. damascena*’dan elde edilen fenolik glikozitlerin HMG-CoA redüktaz üzerinde statine benzer bir inhibitör potansiyele sahip olduğunu göstermiştir. En güçlü inhibitör ise yeni tanımlanan bileşik Roxyloside A olarak belirlenmiştir. Bu bulgular, *R. damascena* bileşiklerinin kolesterol biyosentezinin hız sınırlayıcı basamağını hedefleyerek hipokolesterolemik ajanlar için doğal bir kaynak olabileceğini de desteklemektedir.

Gholamhoseinian vd. (2010), yaptıkları çalışmada, *Myrtus communis* (Türkiye’de adi mersin veya gerçek mersin olarak da bilinir) ekstraktı, HMG-CoA redüktaz üzerine belirgin inhibitör etki göstermiş ve enzim aktivitesini %62 oranında azaltarak güçlü bitkisel inhibitörler arasında yer almıştır. Lineweaver–Burk kinetik analizleri, ekstraktın non-kompetitif inhibitör özellik gösterdiğini ve enzimin V_{max} değerini 0.011 mM·dk⁻¹’den 0.0028 mM·dk⁻¹’e düşürdüğünü, buna karşılık K_m değerinin sabit kaldığını ortaya koymuştur. Bu, *Myrtus communis*’in enzimin aktif bölgesine değil, farklı bir bölgesine bağlanarak aktiviteyi baskıladığını göstermektedir. Literatürde bu türün antiseptik, anti-inflamatuar ve antidiabetik amaçlarla da kullanıldığı bildirilmiştir; özellikle diyabette kullanılan bu bitkinin, karbonhidrat metabolizmasındaki enzimlere etkisine ek olarak kolesterol biyosentezinin hız belirleyici basamağında yer alan HMG-CoA redüktazı inhibe etmesi, onu metabolik hastalıkların yönetiminde çok yönlü potansiyel bir fitoterapötik ajan hâline getirmektedir.

Ramachandran vd. (2013), *Guggul* (Hint reçinesi, *Commiphora mukul*) çalışmasında GU-MCT810, süperkritik CO₂–etanol (95/5) ekstraksiyonu ile elde edilmiş ve %2 Z+E guggulsteron içeriğine standardize etmişlerdir. İn vitro HMG-CoA redüktaz inhibisyon testlerinde GU-MCT810, 0.01–0.1 μ g doz aralığında

değerlendirilmiş ve enzimi doza bağlı şekilde baskılamıştır. En yüksek test edilen konsantrasyon olan 0.1 µg, enzimin aktivitesini %77.6–80 oranında inhibe etmiştir (P < .001). Pozitif kontrollerden Pravastatin 0.04 µg ile %83.7, Mevastatin 0.04 µg ile %63.7 inhibisyon elde edilmiştir; bu sonuçlar GU-MCT810'un düşük dozlarda dahi statinlere yakın bir inhibisyon kapasitesi sergilediğini göstermektedir. Statinler nanomolar Ki değerleriyle HMG-CoA'nın katalitik bölgedeki bağlanmasını kompetitif olarak engellerken, GU-MCT810'un inhibitör mekanizması bilinmemektedir; ancak test edilen konsantrasyonda sağladığı yaklaşık %80 inhibisyon, doğal bir ürün olarak potansiyel hipokolesterolemik etkisini desteklemektedir. Bu güçlü aktiviteye rağmen GU-MCT810'un statinlerde görülen ciddi yan etkilere sahip olmadığı düşünülmekte olup, bu durumun ileri klinik çalışmalarla doğrulanması gerekmektedir.

Nwozo vd. (2009), *Curcuma longa* (zerdeçal) ekstraktı ile yapılan bu çalışmada direkt olarak HMG-CoA redüktaz enzimi üzerinde test edilmemesine rağmen, alloksanla diyabet oluşturulmuş tavşanlarda belirgin hipoglisemik ve lipolipidemik etkiler göstermiştir. Diyabetik kontrol grubu yüksek plazma glikozu, kolesterolü ve trigliseridi ile tipik metabolik bozulmayı sergilerken, 250 mg/kg *C. longa* verilen grupta 12 gün içinde glikoz düzeyinde anlamlı düşüş, total kolesterolde özellikle 9. ve 12. günlerde belirgin azalma ve trigliserid seviyelerinde sürekli bir gerileme gözlenmiştir. Literatürde diyabete bağlı yükselen kolesterolün HMG-CoA redüktaz ve ACAT aktivitesindeki artışla ilişkili olduğu bilindiğinden, gözlenen bu lipid düşüşünün *C. longa*'nın bu enzimlerin aktivitesini dolaylı olarak baskıladığı ihtimalini desteklediği belirtilmiştir. Ayrıca *C. longa* tedavisi, diyabette yükselen kreatinin seviyelerini düşürmüş, polifaji, polidipsi ve inaktivite gibi klinik semptomları hafifletmiştir. Tüm bulgular, *C. longa*'nın hipoglisemik etkisine ek olarak muhtemel bir hipokolesterolemik mekanizma üzerinden HMG-CoA redüktaz aktivitesini dolaylı biçimde azaltabileceğini düşündürmektedir.

Arslan vd. (2023), çalışmalarında greyfurt (*Citrus paradisi*) ekstraktı, HMG-CoA redüktaz üzerinde son derece zayıf bir inhibitör etki göstermiştir (IC₅₀ = 13 742 ± 3 486 µg/mL). Bu değer, tüm test edilen bitkiler içinde en düşük inhibisyon gücünü temsil eder ve greyfurtun enzimi baskılayabilmesi için çok yüksek

konsantrasyonlara ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir. Aynı çalışmada güçlü inhibitörler olarak belirlenen persimmon (0.71 µg/mL), radish (1.81 µg/mL) ve atorvastatin (1.76 µg/mL) ile kıyaslandığında greyfurtun inhibisyon potansiyeli yaklaşık 10.000–20.000 kat daha düşüktür. Bu sonuç, greyfurtun polifenolik profiline rağmen HMG-CoA redüktaz hedefinde farmakolojik düzeyde anlamlı bir inhibisyon oluşturmadığını göstermektedir.

Buddhakala vd. (2023), yaptıkları çalışmada *Syzygium aromaticum* (karanfil) çiçeklerini etanol ile ekstrakte ederek elde edilen FESA'nın (Flower Ethanollic Extract of *S. aromaticum*) α-glikozidaz enzimine karşı güçlü inhibitör aktivite gösterdiği bulunmuştur. İn vitro testlerde FESA, 0.63–2.50 mg/mL aralığında doz-bağımlı şekilde enzimi inhibe etmiş; aynı konsantrasyonlarda sırasıyla %47.63, %55.44 ve %59.27 inhibisyon sağlamıştır. Bu değerler, karşılaştırma standardı olan Acarbose'un aynı dozlarda gösterdiği inhibisyondan belirgin şekilde daha yüksektir (Acarbose: %14.25–40.64). Ekstraktın baskın bileşeninin %56.17 oranıyla eugenol olduğu belirlenmiş olup, bu güçlü aktivitenin fenolik bileşiklerden kaynaklandığı düşünülmektedir. α-glikozidazın inhibisyonu sayesinde karbonhidrat sindirimi gecikmekte, postprandiyal glikoz yükselmesi azaltılmakta ve buna bağlı insülin salgısı, trigliserit birikimi ve lipogenez azalabilmektedir. Bu sonuçlar, karanfil ekstraktının tip 2 diyabette kullanılan α-glikozidaz inhibitörlerine doğal ve etkili bir alternatif olabileceğini, ayrıca antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklerinin bu etkiyi desteklediğini göstermektedir.

Wariyapperuma vd. (2020), *Cinnamomum zeylanicum* (tarçın) üzerine çalışmışlardır. *Cinnamomum zeylanicum*'un farklı aksesyonları ve ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak hazırlanan sulu özlerin α-glikozidaz inhibitör aktiviteleri incelendiğinde, en güçlü etkiyi Sri Wijaya (SW) aksesyonunun basınçlı su ekstraktı (PWE) gösterdi ve 42 ± 8 µg/mL'lik IC₅₀ değeriyle pozitif kontrol olan Acarbose'dan (173 ± 7 µg/mL) çok daha yüksek inhibitör potansiyel ortaya koydu. SW aksesyonunun kaynatma yöntemiyle hazırlanan dekoksasyon ekstraktı (DWE) de 116 ± 17 µg/mL'lik IC₅₀ değeriyle anlamlı düzeyde α-glikozidaz inhibisyonu sağladı. Ekstraksiyon verimleri incelendiğinde, SW-PWE yöntemi 2.19 ± 0.25 ile en yüksek verimi sağlarken, mikrodalga sindirimi tüm

örneklerde en düşük verimi verdi (SW: 0.42 ± 0.03). Literatürde *C. zeylanicum* metanol ekstraktlarının α -glikozidaz için 140.01 ± 10.08 $\mu\text{g/mL}$ düzeyinde inhibisyon gösterdiği raporlanmışken, bu çalışmada SW-PWE ve SW-DWE'nin bu değerlerden daha güçlü etki ortaya koyduğu görüldü. Elde edilen sonuçlar, özellikle SW-PWE'nin fenolik içeriklerin katkısıyla Acarbose'dan daha yüksek α -glikozidaz inhibisyonu sağlayarak potansiyel hipoglisemik ajan niteliği taşıdığını göstermektedir.

Li vd. (2024), Nar çiçeği ile yaptıkları çalışmada *Pomegranate* (nar çiçeği) etanol ekstraktı güçlü α -glikozidaz baskılayıcı etkisi gösterdiği için biyoyönlendirilmiş fraksiyonlamaya tabi tutulmuş ve 800 g ham materyalden elde edilen 148 g ham ekstrakt üç çözücü (EtOAc: 70.2 g; n-BuOH: 38.6 g; su: 15.3 g) ile fraksiyonlanmıştır. α -glikozidaz inhibisyonunun 200 ve 400 $\mu\text{g/mL}$ 'de sırasıyla 59.04 ± 0.45 ve 90.00 ± 0.86 olduğu belirlenen ham ekstraktan en yüksek aktivite EtOAc fraksiyonunda gözlenmiş ve bu fraksiyon MPLC ile yedi alt fraksiyona ayrılmıştır. Bu fraksiyonlar içinde Fr.7, 50 ve 100 $\mu\text{g/mL}$ 'de sırasıyla 72.63 ± 0.37 ve 92.71 ± 0.84 inhibisyon göstererek en aktif kısım olarak izole edilmiştir. Fr.7'nin saflaştırılmasıyla elde edilen beş ellagitanninden özellikle bileşik 1–4, α -glikozidaz üzerinde yüksek düzeyde inhibisyon sergilemiş; bileşiklerin IC_{50} değerleri 1–4 için belirlenmiştir ve tümü pozitif kontrol akarbose'tan (66% inhibisyon @ 1.6 mM) daha güçlü bir profil göstermiştir. Yapı-aktivite ilişkisi analizinde, tetrahidroksidibenzofuranoil (THBF) grubunun varlığı ve konumunun α -glikozidaz inhibisyonunu artırdığı, ellagitanninlerdeki galloyl sayısından daha belirleyici olduğu saptanmıştır. Enzim kinetiği sonuçlarına göre bileşikler 1–4 α -glikozidaz için karışık veya kompetitif inhibitör tipleri göstermiştir. Ayrıca moleküler docking analizleri, bu aktif bileşiklerin enzimin aktif bölgesine güçlü şekilde yerleştiğini ve özellikle galloyl ve dibenzofuranoil hidroksil gruplarının çok sayıda hidrojen bağı ve hidrofobik etkileşim oluşturarak kompleks stabilitesine önemli katkı sağladığını ortaya koymuştur. Bu sonuçlar genel olarak nar çiçeği özütünün antidiabetik amaçlı nutrasötik ürün geliştirilmesinde ve izole edilen ellagitanninlerin ise potansiyel farmasötik adaylar olarak değerlendirilmesinde güçlü bir temel sunmaktadır.

Simsek (2021), Fındıklı yemek protein izolatından elde edilen peptit fraksiyonlarının α -glikozidaz inhibitör potansiyeli incelediğinde, özellikle <5 kDa fraksiyonlarının en yüksek etkiyi gösterdiği ve Alcalase ile Tripsin + Kimotripsin hidrolizatları için sırasıyla IC_{50} değerlerinin 3.62 ± 0.72 mg/mL ve 3.89 ± 0.12 mg/mL olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık, >5 kDa fraksiyonları belirgin şekilde daha zayıf inhibisyon göstermiş; Alcalase hidrolizatında IC_{50} 4.76 ± 0.12 mg/mL olarak bulunurken, Tripsin + Kimotripsin hidrolizatında çalışılan konsantrasyonlar içinde %50 inhibisyona ulaşamamıştır. Elde edilen inhibitör potansiyelin, kinoa (<5 kDa, $IC_{50} = 1.64$ mg/mL), badem yağı üretimi artığı (<5 kDa, $IC_{50} = 2.08$ mg/mL) ve çimlendirilmiş soya hidrolizatları ($IC_{50} = 3.73$ mg/mL) gibi literatürde rapor edilen bazı kaynaklarla benzer veya daha zayıf; ancak kenevir ($IC_{50} = 5$ mg/mL) ve bazı alkali proteazla hidrolize edilmiş soya proteinlerinden ($IC_{50} = 4.94$ mg/mL) daha güçlü olduğu görülmüştür. Genel olarak fındıklı yemek kaynaklı düşük molekül ağırlıklı peptitlerin α -glikozidaz inhibisyonunda daha etkili olduğu ve fraksiyon saflaştırması ile çok daha güçlü inhibitörlerin elde edilebileceği vurgulanmıştır.

Hadrich vd. (2015), çalışmalarında *Hidroksitirozol* (zeytinyağında bulunur) ve *Oleuropein*'in (zeytin yaprağı) α -glikozidaz üzerindeki inhibitör etkileri incelediğinde, her iki bileşiğin de doza bağlı şekilde aktiviteyi baskıladığı ancak *hidroxytyrosol*'ün belirgin biçimde daha güçlü bir inhibitör olduğunu görmüşlerdir. *Hidroxytyrosol* 600 mM'de yaklaşık %75 inhibisyon gösterirken, aynı konsantrasyonda acarbose %65, *oleuropein* ise %55 inhibisyona ulaşmıştır. IC_{50} değerleri bu farkı daha net ortaya koymuş; *hydroxytyrosol* için 150 mM, acarbose için 200 mM ve *oleuropein* için 400 mM olarak hesaplanmıştır, bu da *hydroxytyrosol*'ün α -glikozidaza karşı en güçlü inhibitör olduğunu göstermektedir. Moleküler docking analizleri de bu bulguları desteklemekte, *hydroxytyrosol*'ün aktif bölgeye daha yüksek bağlanma afinitesiyle oturduğunu ve katalitik ceple stabil hidrojen bağları kurarak enzim aktivitesini etkili şekilde bloke ettiğini ortaya koymaktadır. Bu sonuçlar, *hydroxytyrosol*'ün güçlü α -glikozidaz inhibisyonu ve hafif α -amilaz baskılamasıyla postprandial hiperglisemi yönetiminde yan etkisi düşük doğal bir aday olduğunu göstermektedir.

Poovitha ve Parani (2016), İki çeşit Kudret narı (*Momordica charantia* (MCC ve MCM)) ile yaptıkları çalışmalarında meyve püresinden protein ekstraktları, taze pürelerin buzlu asit-etanol ile öğütülmesi, süzülmesi, santrifüjlenmesi, pH ayarlaması, asetona ile çöktürülmesi, yıkanması ve Tris-HCl tamponunda çözülmesi adımlarıyla hazırlanmıştır. Protein ekstraktlarının α -glukozidaz inhibisyon aktivitesi, maya α -glukozidazı ve p-nitrofenil- α -D-glukopiranozid (pNPG) substratı kullanılarak in vitro olarak değerlendirilmiştir. Hem MCC hem de MCM protein ekstraktları, doz-bağımlı bir şekilde α -glukozidaz aktivitesini inhibe etmiş ve 2,5 mg/mL konsantrasyonunda sırasıyla MCC, MCM ve Acarbose için maksimum %68,8, %69,2 ve %70 inhibisyon oranına ulaşmıştır. IC_{50} değerleri MCC için $0,298 \pm 0,034$ mg/mL, MCM için $0,292 \pm 0,022$ mg/mL ve Acarbose için $0,28 \pm 0,019$ mg/mL olarak belirlenmiştir. Isıyla denatüre edilmiş protein ekstraktları yalnızca %10 civarında düşük bir inhibisyon göstermiştir, bu da inhibisyonun esas olarak protein kaynaklı olduğunu doğrulamaktadır. Lineweaver-Burk grafikleri ile yapılan kinetik çalışmalar, hem MCC hem de MCM ekstraktları için K_m artarken V_{max} sabit kaldığından, α -glukozidaz üzerinde rekabetçi inhibisyon mekanizmasını göstermiştir. Bu bulgular, *M. charantia* protein ekstraktlarının Acarbose ile karşılaştırılabilir bir etkinlikte doğal α -glukozidaz inhibitörleri olduğunu ortaya koymakta ve bu ekstraktların fonksiyonel gıda bileşeni olarak veya ağızdan alınacak anti-diyabetik protein bazlı ilaçların geliştirilmesi için potansiyel bir kaynak olduğunu göstermektedir.

Yang vd. (2021), çalışmalarında *Silybum marianum* (devedikeni)'un α -glukozidaz üzerine etkisini in vitro olarak değerlendirmişler ve bileşiğin enzimi güçlü şekilde inhibe ettiğini görmüşlerdir. Konsantrasyon artışına bağlı olarak inhibisyon gücü yükselmiş ve *silibinin* için α -glukozidaza karşı IC_{50} değeri 11.54 ± 0.81 μ M bulunmuştur; bu değer acarbose'un 194.20 ± 0.30 μ M olan IC_{50} 'sinden çok daha düşüktür, dolayısıyla *silibinin* α -glukozidaz üzerinde acarbose'dan belirgin şekilde daha güçlüdür. Kinetik analizler, artan *silibinin* konsantrasyonlarında K_m 'nin sabit kalmasına rağmen V_{max} 'ın 1.69 ± 0.07 μ M'den 0.76 ± 0.07 μ M'ye düşmesiyle, inhibisyonun non-kompetitif olduğunu göstermiştir. Moleküler docking çalışmaları ise α -glukozidaz homolog yapısı üzerinden gerçekleştirilmiş, *silibinin* AutoDock 4.2 ile 500 kör tarama çalışması sonucunda en düşük

bağlanma enerjisine sahip pozda stabilize olmuştur; bu bağlanma modunun yüksek frekanslı kümelenme ile doğrulanması, enzimin aktif bölgesi dışındaki düzenleyici bir cebe güçlü non-kompetitif bağlanmayı desteklemektedir. Ayrıca *silibinin*'in çeşitli süt proteinleriyle etkileşim sonrası inhibisyon kapasitesi test edilmiş, fakat α -glikozidaz üzerine temel inhibitör etkisinin korunduğu gözlenmiştir. Bu bulgular, *silibinin*'in α -glikozidaz için güçlü, non-kompetitif ve yapısal olarak stabil bir inhibitör olduğunu göstermektedir.

Ademiluyi ve Oboh (2013), çalışmalarında Sulu *Hibiscus sabdariffa* (kırmızı (red) ve beyaz (white) roselle varyantları) ekstraktlarının α -glikozidaz üzerine etkisi, 10–80 $\mu\text{g/mL}$ aralığında konsantrasyona bağlı bir inhibisyon olduğunu göstermiş ve IC_{50} değerleri red roselle için 25.2 $\mu\text{g/mL}$, white roselle için 47.4 $\mu\text{g/mL}$ olarak belirlenmiştir; bu değerler fenolik içerikleriyle uyumlu olup red roselle'in daha güçlü bir inhibitör olduğunu göstermektedir. Ayrıca her iki ekstraktın IC_{50} değerleri, pozitif kontrol acarbose'un 3.5 $\mu\text{g/mL}$ 'lik IC_{50} 'sine kıyasla daha yüksek olsa da, α -glikozidaz üzerinde α -amilaza göre belirgin şekilde daha güçlü etkili oldukları belirtilmiştir. Ek olarak red roselle'in total fenolik içeriği ve vitamin C düzeyleri white roselle'e göre anlamlı derecede yüksek ($P < .05$) olup, bu bileşenlerin hem güçlü antioksidan etkiyle pankreas dokusunda Fe^{2+} kaynaklı lipid peroksidasyonunu azaltmada hem de enzim inhibisyonunda rol oynadığı ifade edilmiştir. Roselle polifenollerinin bilinen biyoyararlanımı (1.5 saat civarında maksimum plazma seviyesi) göz önüne alındığında, bu bileşiklerin α -glikozidaz inhibisyonuna katkıda bulunduğu ve postprandiyal hiperglisemi yönetiminde potansiyel doğal inhibitörler olabileceği vurgulanmıştır.

Yine Roselle bitkisi (*Hibiscus sabdariffa*) ile çalışma yapan Rasheed vd. (2018), roselle bitkisinin geleneksel olarak hipoglisemik amaçla kullanılmasına paralel olarak yaptıkları çalışmada, farklı çay hazırlama yöntemlerinin α -glikozidaz inhibisyonuna etkisi incelemiştir. Tüm sulu roselle ekstraktları, pozitif kontrol olan akarbose'a ($\text{IC}_{50} = 1415 \mu\text{g/mL}$) kıyasla oldukça düşük IC_{50} değerleriyle güçlü α -glikozidaz inhibitörleri olarak bulunmuştur. Soğuk maserasyon en yüksek inhibisyonu gösterirken, sıcak infüzyon daha düşük etki sergilemiştir. Aswan kökenli bitkilerden hazırlanan soğuk maserat ve infüzyon ekstraktları sırasıyla

627 ve 723 $\mu\text{g/mL}$ IC_{50} değerleriyle Sudan-1 kökenli örneklerden (663 ve 902 $\mu\text{g/mL}$) daha güçlü etki göstermiştir. Korelasyon analizleri, soğuk maseratlerde α -glikozidaz inhibisyonunun delphinidin toplam fenolik içeriğiyle ($R^2 = 0.996$ ve 0.985 ; $p \leq 0.05$), infüzyonlarda ise *hibiscus* asit seviyeleriyle ($R^2 = 0.998$ ve 0.996 ; $p \leq 0.05$) anlamlı şekilde ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Dekoksiyonlarda α -glikozidaz inhibisyonu ile hidroksisitat ve sinamat seviyeleri arasında güçlü ilişki görülmüş olsa da bu bağlantı daha düşük anlamlılık seviyesinde raporlanmıştır. Bu sonuçlar, roselle çayının antidiyabetik etkilerinin özellikle soğuk ekstraksiyon ile en iyi şekilde korunduğunu göstermektedir.

Bellesia ve Tagliazucchi (2014), Demlenmiş kakao ve fraksiyonları ile yaptıkları çalışmada kakonun α -glikozidaz üzerinde belirgin bir inhibisyon göstermiş olup, temel içeceğin IC_{50} değerini 7.87 mg/mL olarak hesaplamışlardır. Bu etki acarbose'un 45 $\mu\text{g/mL}$ 'lik IC_{50} değerinden zayıf olsa da anlamlıdır. Ultrafiltrasyon sonrası toplam materyalin %73'ünü oluşturan düşük molekül ağırlıklı (LMW) fraksiyon en yüksek inhibisyonu sağlamış ve aktivitenin yarısından fazlasının bu fraksiyondan kaynaklandığı bildirilmiştir; bu fraksiyonun etkisinin özellikle monomerik ve dimerik kateşinlerden geldiği belirtilmektedir. Yüksek ve orta molekül ağırlıklı fraksiyonlarda ise melanoidinlerin yoğun olduğu görülmüş fakat inhibisyon gücü LMW kadar belirgin olmamıştır. Spektroskopik analizlerde 272 nm'deki maksimum absorpsiyonun proteinler, teobromin ve kateşinlere işaret ettiği, ayrıca melanoidin içeriğini gösteren 405 nm absorbansının HMW ve IMW fraksiyonlarında daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. Sonuç olarak, kakao içeceğinin α -glikozidaz inhibisyonu tek bir bileşenden değil, özellikle düşük molekül ağırlıklı fenoliklerin baskın olduğu kompleks bir bileşik karışımından kaynaklanmaktadır.

Zheng vd. (2023), çalışmalarında Siyah soya fasulyesi özütlerinde yapılan α -glikozidaz taramasında, 15 mg/mL'lik etanol ekstraktının enzimle 37 °C'de 60 dakika inkübasyonu sonucu yüksek afiniteli bileşikler 10 kDa ultrafiltrasyonla ayrılmış ve LC-DAD/LC-MS analizleri toplam yedi izoflavon belirlemişlerdir. Bu yedi bileşik arasında genistein %52.3, daidzein %48.8 inhibisyonla en güçlü etkiyi göstermiş; diğer izoflavonlar ise daha düşük inhibisyon oranlarına sahip olmuştur (*genistin* %20, *glycitein* %19.1, *daidzin* %15, *malonyldaidzin* %9, *malonylgenistin* %5.6). *Genistein*'in IC_{50} değeri 3.2 ± 1.2 $\mu\text{mol/L}$, *daidzein*'in

IC₅₀'si 15.7 ± 0.3 µmol/L olarak hesaplanmış ve her iki değer de acarbose'un IC₅₀'sinden (632.5 ± 70.0 µmol/L) çok daha güçlü bir inhibisyon göstermiştir. Yapı-aktivite ilişkisi analizinde glikozilasyon derecesi arttıkça inhibisyonun azaldığı, en güçlü inhibitörlerin aglikon formlar olduğu ve özellikle C-7 hidroksil grubunun aktivite için kritik olduğu belirlenmiştir; ayrıca C-5'teki hidroksil grubu *genistein*'in *daidzein*'e göre daha güçlü olmasını açıklamaktadır. Moleküler docking sonuçlarına göre *genistein* ve *daidzein* enzimin aktif cebine sırasıyla -52.05 ve -48.65 kcal/mol bağlanma enerjileriyle yerleşmiş, *genistein* daha stabil bağlanma göstermiştir; her iki bileşiğin inhibisyon mekanizmasının hidrofobik etkileşimler ve hidrojen bağlarıyla güçlendiği görülmüştür. Kinetik analizler, *genistein* ve *daidzein*'in uncompetitive inhibitör olduğunu doğrulamış ve Ki değerlerinin *genistein* için daha düşük olduğu teyit edilmiştir. Genel olarak çalışma, siyah soya izoflavonlarının özellikle *genistein* ve *daidzein*'in güçlü α-glikozidaz inhibitörleri olarak postprandiyal glikoz kontrolünde yüksek potansiyel taşıdığını göstermektedir.

Hosseini vd. (2024), Sarımsak türlerinde yaptıkları çalışmada metanol ekstraktları, değerlendirilen üç *Allium* türünde belirgin α-glikozidaz inhibisyonu sağlamış olup en yüksek aktiviteyi *A. hooshidaryae*'de gözlemişler (IC₅₀ = 2.59 mg/mL), bunu *A. tripedale* (IC₅₀ = 4.33 mg/mL) ve *A. stipitatum* (IC₅₀ = 6.41 mg/mL) izlemiştir; bu sayede türler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (P < 0.05). Elde edilen inhibisyonun, ekstraktlarda tespit edilen saponin, tanen ve flavonoid gruplarıyla ilişkili olduğu belirtilirken, *A. hooshidaryae*'nin yüksek antioksidan kapasitesi (DPPH IC₅₀ = 724.4 ± 0.31 µg/mL; FRAP = 36.87 mg AA/g) ile α-glikozidaz baskılayıcı etkisi arasında pozitif bir ilişki olduğu görülmektedir. Moleküler docking çalışmalarının benzer *Allium* türlerinde flavonoidlerin α-glikozidaz aktif bölgesine hidrojen bağları ve hidrofobik etkileşimler aracılığıyla güçlü afiniteler gösterdiğini ortaya koyması, bu türlerde gözlenen inhibisyonun özellikle fenolik bileşiklerden kaynaklandığına işaret etmektedir; bu da *A. hooshidaryae*'nin daha yüksek fenolik içeriğiyle uyumlu bir mekanizmaya işaret eder. Elde edilen veriler, üç *Allium* türünün α-glikozidaz üzerine anlamlı düzeyde inhibitör etki gösterdiğini ve özellikle *A. hooshidaryae*'nin antidiabetik potansiyel bakımından öne çıktığını ortaya koymaktadır.

Vinholes ve Vizzotto (2017), *Eugenia uniflora* (Surinam kirazı) ve *Camellia sinensis* (yeşil çay) ile yaptıkları çalışmada bitkilerin yapraklarının etanolik ekstraktları güçlü α -glikozidaz inhibitörleri olarak değerlendirmişler ve her iki ekstrakt da doz-bağımlı bir inhibisyon göstermiştir; *E. uniflora* ekstraktı 0.26 $\mu\text{g/mL}$ gibi son derece düşük bir IC_{50} değerine sahip olup *C. sinensis*'ten ($\text{IC}_{50} = 10.68 \mu\text{g/mL}$) yaklaşık 40 kat daha etkilidir. Ayrıca iki ekstraktın 1:1 kombinasyonu, teorik değerden %5 daha düşük bir IC_{50} ile belirgin sinerji sergilemiş ve acarbose'dan yaklaşık 400 kat daha güçlü bulunmuştur. Literatürdeki farklı ekstraksiyon tiplerinden kaynaklanan varyasyonlara rağmen her iki ekstraktın da α -glikozidazı inhibe etme kapasitesi, diyabet tedavisinde yaygın kullanılan bazı bitkilerden (örn. *Bauhinia spp.*) daha yüksek rapor edilmiştir. Bu üstün inhibitör etkinlik, ekstraktlarda bulunan fenolik bileşikler, klorofiller ve karotenoidlerin tekil veya kombinasyon halinde katkısıyla ilişkilendirilmiş olup, *E. uniflora*'nın özellikle düşük dozlarda neredeyse tam inhibisyona ulaşması dikkat çekicidir.

Kong vd. (2018), çalışmalarında Üzüm çekirdeklerini 60 °C'de vakumlu fırında kurutulup 50 mesh toz hâline getirilmesiyle hazırlanmış, ardından çekirdek tozu sıcak suda ultrasonik ekstraksiyon (40 kHz, 60 °C, 60 dk) ile işlenmiş, filtre edilip döner buharlaştırıcıyla yoğunlaştırılmış ve makroporoz reçine kolonunda 8 saat adsorpsiyon sonrası önce suyla, ardından %60 etanol ile elüe edilerek dondurarak kurutulmuş bir ekstrakttır. α -glikozidaz inhibisyonu, 96 kuyucuklu plaklarda pNPG substratıyla spektrofotometrik olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar üçlü tekrarlarla hesaplanmıştır. GSAE'nin α -glikozidaza karşı IC_{50} değeri $25.25 \pm 0.53 \mu\text{g/mL}$ olarak bulunmuş ve aynı koşullarda ölçülen acarbose'un IC_{50} değerinden ($1256.24 \pm 1.3 \mu\text{g/mL}$) çok daha güçlü bir inhibitör etki gösterdiği belirlenmiştir. Enzim kinetiği analizinde çizilen çift ters grafik, inhibitör konsantrasyonu arttıkça reaksiyon hızının düşmesi ve K_m 'nin artması ile GSAE'nin kompetitif inhibitör olarak davrandığını açıkça göstermiştir. Bu sonuçlar, üzüm çekirdeği ekstraktının yüksek polifenol içeriğiyle α -glikozidaz aktivitesini güçlü şekilde baskıladığını ve postprandiyal hiperglisemiye azaltma potansiyeliyle antidiabetik etki gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

Petnual vd. (2010), çalışmalarında *Curcuma longa* (zerdeçal) rizomlarından elde edilen ekstrakt, rhizomların TBS içinde homojenize edilmesi, gece boyunca düşük sıcaklıkta karıştırılması, ardından süzme ve yüksek hızda santrifügasyon ile berraklaştırılması sonrasında amonyum sülfat çöktürmesiyle yoğunlaştırılmış ve dondurarak kurutularak hazırlanmıştır. Elde edilen bu saflaştırılmış fraksiyon, SDS-PAGE analizlerinde yaklaşık 17.3 kDa büyüklüğünde belirgin bir bant göstererek yüksek saflıkta bir lektin varlığını doğrulamıştır. LC/MS/MS ile yapılan iç aminoasit dizileme analizleri, bu lektinin Phaseolus cinsine ait bilinen fitohemagglutininlerle benzerlik taşıyan bir protein ailesine ait olabileceğini göstermiştir. Çalışmanın en önemli bulgularından biri, bu saflaştırılmış *C. longa* lektininin α -glukozidaz enzimi üzerindeki belirgin inhibisyon etkisidir; zira IC_{50} değeri yaklaşık 8 mg/mL olarak belirlenmiş ve bitkisel kaynaklı α -glukozidaz inhibitörleri arasında dikkate değer bir biyolojik aktivite sergilemiştir. Karbonhidrat sindirimini geciktirme yoluyla postprandiyal glukoz yükselişini azaltma potansiyeli, onu diyabetin beslenme temelli yönetiminde kullanılan mevcut inhibitörlerle benzer şekilde gelecek vaat eden bir aday hâline getirmektedir. Ayrıca bitkisel lektinlerin glikohidrolazlarla etkileşim mekanizmaları göz önüne alındığında, *C. longa* kökenli bu proteinin, yapısal özellikleri ve enzim bağlanma davranışları bakımından yeni terapötik molekül geliştirme çalışmalarına da bilimsel temel oluşturabileceği düşünülmektedir.

3. MATERYAL VE METOT

Çalışmada, Angolensin ve Nimbidiol bileşiklerinden elde edilen ekstraktların antioksidan kapasiteleri DPPH, ABTS, FRAP ve CUPRAC yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir. Ayrıca, ekstraktların biyolojik aktivitesini değerlendirmek amacıyla α -glukozidaz ve HMG-CoA redüktaz enzimi üzerindeki inhibitör etkileri incelenmiş ve IC_{50} değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen deneysel bulgular, moleküler düzeyde etkileşimleri açıklamak amacıyla gerçekleştirilen moleküler docking analizleri ile desteklenmiştir.

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bu çalışma için kullanılan α -glukozidaz enzimi, Hmg-CoA redüktaz enzimi, Sodyum Fosfat Tamponu, 4-Nitrophenyl β -D-glucopyranoside, HMG CoA, NADPH, NaN_3 , ABTS çözeltisi, DPPH çözeltisi, $FeCl_2$ çözeltisi, $CuCl_2$ çözeltisi, Neokuprin çözeltisi, Ferrozin çözeltisi, Etanolik neokuprin çözeltisi, CH_3COONH_4 tampon çözeltisi, Fosfat tampon çözeltisi, Potasyum persülfat çözeltisi, Sigma-Aldrich GmbH, Sternheim, Germany'den satın alındı.

3.2. Yararlanılan Alet Ve Cihazlar

UV-VIS Spektrofotometre	Shimadzu, UV-1208
pH metre	Thermo
Otomatik pipetler	Eppendorf ve Socorex
Vorteks	Fisons, Whirlimixer
Saf su cihazı	Firstreem Calypso MK 1 Glass Still
Hassas terazi	Denver Instrument
Derin dondurucular (-30 ve -86°C)	Sanyo, Japan
UV-Spektrofotometre küveti	1 cm ³ 'lük Kuartz Küvet
Magnetik karıştırıcı	Jeio Tech

3.3. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanması

Çalışma sırasında kullanılan çözeltiler aşağıdaki verildiği üzere olduğu gibi hazırlanmıştır.

3.3.1. Kuprak Metoduna Göre İndirgeme Kapasitesi Tayini İle İlgili Çözeltiler

- **0,01 M'lık CuCl_2 çözeltisi:** 47 mg CuCl_2 alındı ve 50 mL destile suda çözüldü.
- **$7,5 \times 10^{-3}$ M'lık etanolik neokuprin çözeltisi:** 156 mg Neokuprin alındı ve 100 mL etanolda çözüldü.
- **1 M'lık $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ tampon çözelti (pH: 6,5):** 15,4 g $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ alındı ve 180 mL saf suda çözüldü, pH metre ile pH:6,5'e ayarlandıktan sonra hacim destile suyla 200 mL'ye tamamlandı.

3.3.2. DPPH $\cdot$ Serbest Radikal Giderme Aktivitesi İle İlgili Çözeltiler

- **10-3 M'lık DPPH $\cdot$ çözeltisi:** 40 mg DPPH $\cdot$ 100 mL etanolda tamamen çözününceye kadar bir gece etanolde manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı.

3.3.3. ABTS $^{+}$ Giderme Aktivitesi Tayini İle İlgili Çözeltiler

- **0,1 M'lık fosfat tampon çözelti (pH: 7,4):** 5,68 g Na_2HPO_4 350 mL destile suda çözüldü. pH metre kullanılarak pH'sı 6,6'ya ayarlanarak hacim saf suyla 400 mL'ye tamamlandı.
- **2 mM'lık ABTS çözeltisi:** 11 mg ABTS 0,1 M'lık ve pH'sı 7,4 olan fosfat tamponunda tamamen çözününceye kadar bir gece boyunca karıştırıldı. Toplam hacim destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.
- **2,5 mM'lık potasyum persülfat çözeltisi:** 66,25 mg $\text{K}_2\text{O}_8\text{S}_2$ 0,1 M'lık ve pH'sı 7,4 olan fosfat tamponunda tamamen çözününceye kadar manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Toplam hacim destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

3.3.4. FRAP Metodu Tayini İle İlgili Çözeltiler

- **10 mM'lık TPTZ çözeltisi:** Belirlenen miktarda TPTZ tartıldı ve 2.25 mL 40 mM HCl içinde çözdürüldü.

- **0.3 M asetat tamponu:** Gerekli miktarda sodyum asetat ve asetik asit alındı ve 25 mL'ye tamamlanarak pH 3.6'ya ayarlandı.
- **20 mM FeCl₃ çözeltisi:** Belirlenen miktarda FeCl₃ tartıldı ardından 2.25 mL saf su içinde çözdürüldü
- **FRAP Reaktifinin Oluşturulması:** Hazırlanan 2.25 mL TPTZ çözeltisi, 25 mL asetat tamponu ve 2.25 mL FeCl₃ çözeltisi birleştirilerek FRAP reaktifi hazırlandı.

3.3.5. α -Glikozidaz Enziminin Aktivite Ölçümlerinde Kullanılan Çözeltiler

- **0,1 mM Sodyum Fosfat Tamponu (Enzim seyretmek için):** 6 mg sodyum fosfat tartılıp 450 mL saf suya ilave edilip pH'sı 6,9'e ayarlayıp saf su ile hacmin 500 mL'ye tamamlandı.
- **0,1 M Sodyum Fosfat Tamponu (Aktivite ölçmesi için):** 5,99 g sodyum fosfat tamponu tartılır ve 450 mL saf su içerisinde çözünür ve pH'sı 6,9'a ayarlandıktan sonra son hacim 500 mL'ye tamamlandı.
- **5 mM'lık 4-Nitrophenyl β -D-glucopyranoside substrat çözeltisinin hazırlanması:** 0,0376 g ilgili substrattan tartılıp 0,1 M'lık fosfat tampon içerisinde 25 mL'de çözündü.

3.3.6. HMG-CoA Redüktaz Enziminin Aktivite Ölçümlerinde Kullanılan Çözeltiler

HMG-CoA Redüktaz aktivitesi Takahashi S. ve arkadaşlarının tarif ettiği metoda göre;

(DL-HMG-CoA + 2NADPH + 2H⁺ → (R)-mevalonate + 2NADP⁺ + CoASH)
reaksiyonu gereği 340 nm de NADPH'ın absorbans değişiminden yararlanılarak spektrofotometrik olarak ölçülecek.

Reaktifler:

- **HMG CoA:** 0.30 mM
- **NADPH:** 3mM
- **NaN₃:** 2M

3.4. Angolensin Ve Nimbidol'ün HMG-CoA Redüktaz, α -Glikozidaz Enzimlerin Üzerine İnhibisyon Etkisi

Angolensin ve Nimbidol'ün HMG-CoA redüktaz, α -glikozidaz enzimler üzerindeki etkisi araştırıldı. Daha sonra satın alınmış α -glikozidaz ve HMG-CoA redüktaz üzerine etkisi incelendi. Ölçümler aktivite tayin yöntemiyle yapıldı. Daha sonra IC₅₀ değerleri grafikler çizildikten sonra belirlendi.

3.5. α -Glikozidaz Enziminin Aktivite Tayini

α -Glikozidaz enzim aktivitesi, Tao ve arkadaşlarının prosedürüne göre substrat olarak p-NPG kullanılarak belirlendi; Numuneler 20 mg'ı 2 mL'de eriterek hazırlandı (EtOH:H₂O). Tüm enzim inhibisyonu elde edilmesi durumunda fosfat tamponunda çoklu çözeltiler hazırlandı. İlk olarak 75 μ L fosfat tamponu, fosfat tamponu (0.15 U / mL, pH 7.4) ve 5 μ L numune içindeki 20 μ L enzim çözeltisi ile karıştırıldı. Ardından tepkime başlangıcına p-NPG ilave edilmeden önce 35°C'de 10 dakika ön inkübe edilmiştir. Ayrıca, ön inkübasyondan sonra fosfat tamponunda (5 mM, pH= 7,4) 20 μ L p-NPG ilave edildi ve inkübasyon tekrar 35°C'de gerçekleştirildi. Verilerin eğri uydurulması ile IC₅₀ değerleri hesaplandı. Akarboz bileşiği pozitif kontrol olarak kullanıldı. Absorbanslar 405 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. α -Glikozidazın bir birimi dakikada 1.0 mol substrat hidrolizini katalize eden enzim miktarıdır (pH: 7,4).

3.6. HMG-CoA Redüktaz Enziminin Aktivite Tayini

HMG-CoA Redüktaz enzim aktivitesi, Takahashi S. ve arkadaşlarının tarif ettiği metoda göre; Spektrofotometre 340 nm'de distile suya karşı sıfır ayarı yapıldıktan sonra, deney tüplerine her bir numune için kör ve numune olmak üzere ayrı ayrı fosfat tamponu, NaN₃, NADPH ve numune eklenip iyice karıştırıldı ve absorbans değişimi 1 dakika takip edildi. Daha sonra küvete HMG-CoA eklendi ve absorbans değişimi 3 dakika boyunca takip edildi. HMG-CoA Redüktaz aktivitesi NADPH'nin ϵ katsayısından yararlanılarak hesaplandı. Sonuçlar NADPH'nin ϵ değerinden (ϵ : 6.22x10³ L/mol.cm.) yararlanılarak IU/L olarak verilmiştir.

3.7. Antioksidan Çalışmaları

Antioksidan aktivitelerin belirlenmesinde serbest radikal süpürücü ve indirgeme kapasitesine dayalı DPPH, ABTS, FRAP ve CUPRAC yöntemleri kullanılmıştır. Tüm analizler uygun standartlar eşliğinde gerçekleştirilmiş ve sonuçlar IC_{50} değerleri veya eşdeğer antioksidan kapasite cinsinden ifade edilmiştir.

3.7.1. Cu^{2+} - Cu^+ İndirgeme Kapasitesi (Kuprak Metodu)

Angolensin ve Nimbidiol'ün Cu^{2+} indirgeme aktiviteleri bakır iyonları indirgeme metodunun (Apak vd., 2006) hafif bir modifikasyonu ile yapıldı (Ak ve Gülçin 2008). Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan Angolensin ve Nimbidiol'ün tüplerine 0,25 mL $CuCl_2$ çözeltisi (0,01 M), 0,25 mL etanolik neokuprin çözeltisi ($7,5 \times 10^{-3}$ M) ve 0,25 mL CH_3COONH_4 tampon çözeltisi (1 M) sırasıyla eklendi. Yarım saat sonra 450 nm'de köre karşı absorban değerleri ölçüldü ve kör olarak saf su kullanıldı.

3.7.2. Ferrik İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP) Testi

Ferrik indirgeyici antioksidan güç (FRAP) testi, (Taslimi ve Gülçin, 2018) asidik ortam ve koşullar altında Fe^{3+} -TPTZ kompleksinin indirgenmesine dayanır. Mavi renkli ferröz formun (Fe^{2+} -TPTZ kompleksi) artan absorbanı, 593 nm'de spektrofotometrik olarak kaydedilir. TPTZ çözeltisi (40 mM HCl içinde 2,25 mL, 10 mM TPTZ) taze olarak hazırlandıktan sonra 25 mL asetat tamponuna (0,3 M, pH 3,6) ve su içinde $FeCl_3$ çözeltisine (2,25 mL, 20 mM) aktarılır. Daha sonra, farklı konsantrasyonlarda olivetol (10-30 1g/mL) 5 mL uygun tampon çözücüsünde çözülür, karıştırılır ve 37°C'de 30 dakika inkübe edilir. Son olarak, karışımın absorbanı 593 nm'de ölçülür.

3.7.3. 1,1-Difenil 2-Pikril Hidrazil (DPPH) Serbest Radikalleri Giderme Aktivitesi

Angolensin ve Nimbidiol'ün DPPH serbest radikal giderme aktivitesi Blois metoduna göre yapıldı (Blois, 1958). Serbest radikal olarak DPPH'nin 10^{-3} M'lık çözeltisi kullanıldı. Numune olarak daha önce hazırlanan 1 mg/mL konsantrasyonundaki Angolensin ve Nimbidiol'ün stok çözelti kullanıldı. Deney

tüplerine sırasıyla 10, 20 ve 30 µg/µL konsantrasyonlarında çözeltiler aktarıldı ve toplam hacimleri 3 mL olacak şekilde etanol ile tamamlandıktan sonra her bir numune tüpüne stok DPPH[•] çözeltisinden 1 mL ilave edildi. Yarım saat oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edildikten sonra etanolden oluşan köre karşı 517 nm’de absorbansları ölçüldü. Kontrol olarak, 3 mL etanol ve 1 mL DPPH[•] çözeltisi kullanıldı. Azalan absorbans geriye kalan DPPH[•] çözeltisi miktarını yani serbest radikal giderme aktivitesini verdi.

3.7.4. 2,2-Azino-Bis (3-Etilbenzo-Tiyazolin-6-Sülfonik Asit) (ABTS) Radikalı Giderme Aktivitesi

Angolensin ve Nimbidiol’ün ABTS radikalı giderme aktivitesi Re ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre belirlendi. Öncelikle 7 mM’lık ABTS çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiye 2,45 mM’lık persülfat çözeltisi eklenerek ABTS radikalleri üretilirdi. ABTS radikal çözeltisi kullanılmadan önce kontrol çözeltisinin 734 nm’de absorbansı 0,1 M ve pH’sı 7,4 olan fosfat tamponu ile 0,700±0,025 nm’ye ayarlandı. ABTS radikal giderme aktivitesine bakılacak olan Angolensin ve Nimbidiol’ün farklı konsantrasyonlarına (10-30 µg/mL) birer mL ABTS radikal çözeltisi ilave edildi ve yarım saat inkübe edildi. Etanolden oluşan köre karşı 734 nm’de absorbanslar kaydedildi.

3.8. Angolensin ve Nimbidiol’ün HMG CoA Redüktaz Enzimi Üzerine inhibisyon Etkisinin Belirlenmesi

Angolensin ve Nimbidiol’ün HMG CoA Redüktaz üzerindeki etkisi araştırıldı. Daha sonra IC₅₀ değerleri grafikler çizilerek belirlendi. Bu metodun esası ise şu şekilde açıklanabilir; yukarıda bahsedildiği üzere HMG CoA Redüktaz Mevalonat adı verilen bir bileşik, kolesterol sentezinin ilk adımını oluşturur. HMG-CoA redüktaz adı verilen bir enzim, mevalonatın kolesterol üretimi için gerekli olan başlıca ara maddelerden biri olan HMG-CoA’ya (Hidroksimetilglutaril-CoA) dönüşümünü katalize eder. Bu sentez aşamasından sonra, mevalonat kolesterolün öncü molekülleri olan izoprenoidlerin sentezine dönüşür. HMG-CoA redüktaz (3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A redüktaz), kolesterol biyosentezinde kilit bir enzimdir ve mevalonat yolunun ilk ve hız sınırlayıcı basamağını katalizler. Bu

enzim, reaksiyonu gereği 340 nm de NADPH'ın absorbans değişiminden yararlanılarak spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

3.9. Moleküler Docking

Moleküler kenetlenme (docking) hesaplamaları, Schrödinger tarafından geliştirilmiş olan Maestro Moleküler Modelleme Platformu'nun 12.8 sürümü kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Jha vd., 2023). Bu süreç, hem protein hem de ligand yapılarının doğru biçimde hazırlanmasını ve ardından etkileşimlerin yüksek hassasiyetle analiz edilmesini sağlayan birden fazla aşamadan oluşmaktadır. İlk olarak, hedef protein yapısı Protein Preparation Wizard modülü kullanılarak detaylı bir hazırlama işleminden geçirilmiştir (Taslimi vd., 2022). Bu aşamada protein yapısındaki eksik atomlar tamamlanmış, uygun hidrojen atomları eklenmiş, bağ türleri ve yönelimleri yeniden düzenlenmiş ve fizyolojik koşullara uygun protonasyon durumları belirlenmiştir. Ayrıca, protein yapısında olası sterik çakışmalar veya gerilimlerin giderilmesi için enerji minimizasyonu yapılmış ve böylece docking çalışmaları için en stabil konformasyon elde edilmiştir.

Protein hazırlama aşamasını takiben, çalışmada kullanılacak ligandların üç boyutlu yapılarının oluşturulması ve optimize edilmesi amacıyla LigPrep modülü kullanılmıştır (Tüzün, 2020). Bu modül, ligandların farklı stereoizomerlerini, tautomerik formlarını ve fizyolojik pH aralığındaki olası iyonizasyon durumlarını otomatik olarak oluşturmuş ve her bir yapı için düşük enerjili, kararlı konformasyonlar hesaplamıştır. Böylece docking işlemlerine uygun, kimyasal olarak doğru ve optimize edilmiş ligand kütüphanesi elde edilmiştir.

Hazırlanan protein ve ligand setleri, daha sonra Glide Ligand Docking modülüne aktarılmıştır. Glide, hedef protein üzerindeki bağlanma ceplerini yüksek çözünürlükle tarayarak, ligandların bu bölgelere nasıl yerleştiğini ve hangi tür etkileşimler gösterdiğini ayrıntılı olarak analiz etmektedir. Hesaplamalarda OPLS4 kuvvet alanı kullanılmış olup, bu yöntem hem ligandların hem de proteinlerin atomik düzeyde doğru bir şekilde modellenmesine olanak sağlamaktadır. Kenetlenme sırasında hidrojen bağları, π - π etkileşimleri, hidrofobik bölgelerle uyum, elektrostatik çekimler ve sterik uygunluk gibi çeşitli

parametreler değerlendirilmiştir. Glide'ın emodel ve glide score gibi enerji fonksiyonları, ligandların bağlanma afinitelerini karşılaştırmak için kullanılmış ve böylece en stabil ligand–protein kompleksleri belirlenmiştir.

Docking işlemleri standart hassasiyetli (SP) modlarda gerçekleştirilmiş; böylece hem geniş bir aday taraması yapılmış hem de en iyi sonuç veren yapılar için detaylı etkileşim analizi uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar, ligandların bağlanma modlarını, aktif bölge içindeki konumlarını, fonksiyonel grupların protein aminoasitleriyle kurduğu spesifik etkileşimleri ve bağlanma enerjilerini kapsamlı bir şekilde ortaya koymuştur.

Bu çok aşamalı hesaplamalı yaklaşım sayesinde, incelenen bileşiklerin hedef protein üzerindeki bağlanma davranışları yüksek doğrulukla değerlendirilmiş ve biyolojik aktivite potansiyelleri hakkında güçlü teorik öngörüler elde edilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu bölümde, çalışmada elde edilen antioksidan aktivite, enzim inhibitörlüğüne ilişkin bulgular ve moleküler docking sonuçları sunulmuş ve literatürdeki benzer çalışmalarla karşılaştırılarak tartışılmıştır. Elde edilen sonuçlar, test edilen örneklerin biyolojik potansiyelini ortaya koyarken, gözlenen farklılıkların olası nedenleri değerlendirilmiştir.

4.1. α -Glikozidaz Enzim Aktivitesi Üzerinde İnhibisyon Etkisi Gösteren Angolensin ve Nimbidiol İle İlgili Sonuçlar

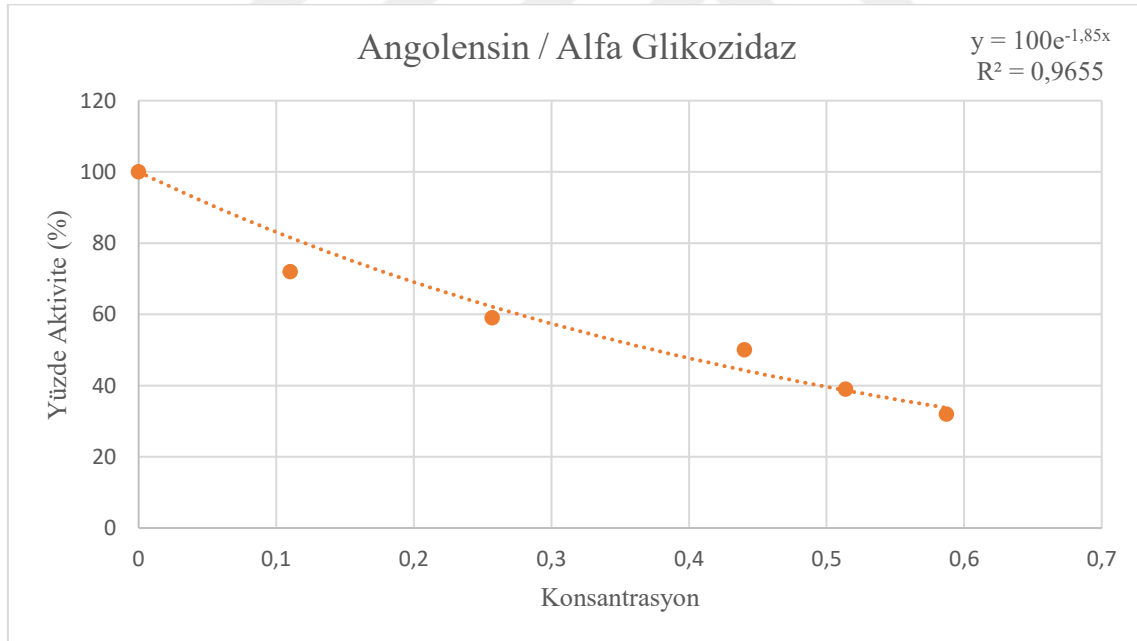
Doygun substrat derişiminde α -Glikozidaz enziminin üzerine antioksidan iki madde olan Angolensin ve Nimbidiol'ün inhibisyon etkisine bakıldı (Tablo 4.1-4.2) ve her bir madde için Aktivite(%)-[Angolensin ve Nimbidiol] grafikleri çizildi (Şekil 4.1-4.2). Çizilen grafiklerden her bir madde bileşik için IC₅₀ değerleri hesaplandı (Tablo 4.3).

Tablo 4. 1: Angolensin (MW: 272.30 Da), 1000× seyreltilmiş çözelti α -Glikozidaz, enzim: 10 μ L; kontrol: 100.

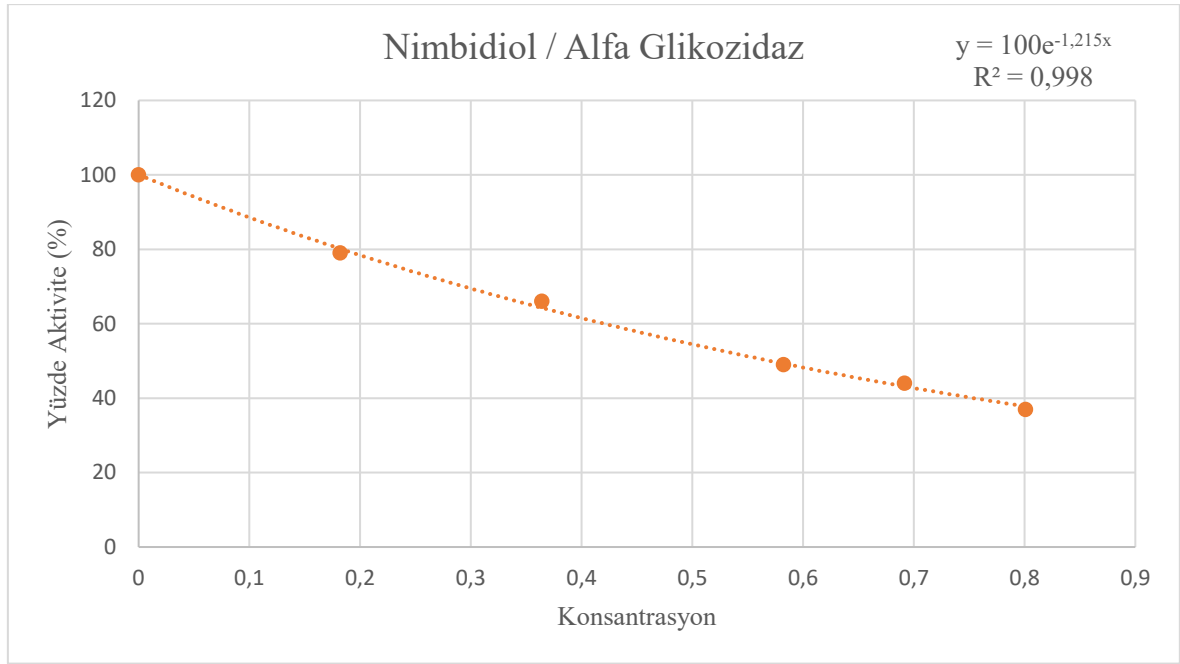
1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu	Aktivite
30 μ L	75
70 μ L	61
120 μ L	48
140 μ L	40
160 μ L	30
2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu	Aktivite
30 μ L	72
70 μ L	59
120 μ L	50
140 μ L	39
160 μ L	32
3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu	Aktivite
30 μ L	80
70 μ L	70
120 μ L	49
140 μ L	42
160 μ L	35

Tablo 4. 2: Nimbidiol (MW: 274.35 Da), 1000× seyreltilmiş çözelti α-Glikozidaz, enzim:10 µL; kontrol: 100

1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu	Aktivite
50 µL	78
100 µL	65
160 µL	51
190 µL	43
220 µL	37
2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu	Aktivite
50 µL	79
100 µL	66
160 µL	49
190 µL	44
220 µL	37
3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu	Aktivite
50 µL	76
100 µL	65
160 µL	50
190 µL	42
220 µL	36



Şekil 4. 1: α-Glikozidaz enzim aktivitesinde çalışılan farklı Angolensin konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[Angolensin] grafiği



Şekil 4. 2: α -Glikozidaz enzim aktivitesinde çalışılan farklı Nimbidiol konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[Nimbidiol] grafiği

Tablo 4. 3: α -Glikozidaz enziminin aktivitesi üzerinde inhibisyon etkisi gösteren Angolensin ve Nimbidiol IC_{50} değerleri ve inhibisyon türü

İnhibitör	IC_{50} (nM)	R^2	STSP
Angolensin	0,3837	0,9776	0,022
Nimbidiol	0,5651	0,9963	0,089

4.2. HMG CoA Redüktaz Enzim Aktivitesi Üzerinde İnhibisyon Etkisi Gösteren Angolensin ve Nimbidiol'ün İle İlgili Sonuçlar

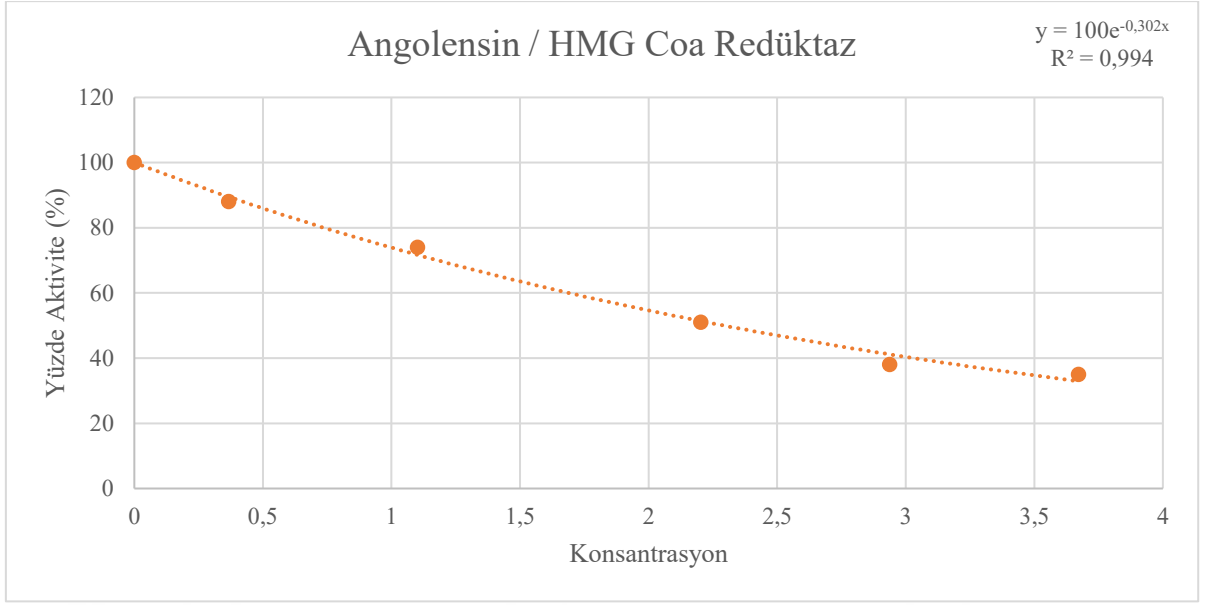
Doygun substrat derişiminde HMG CoA Redüktaz enziminin üzerine antioksidan iki madde olan Angolensin ve Nimbidiol'ün inhibisyon etkisine bakıldı (Tablo 4.4-4.5) ve her bir madde için Aktivite(%)-[Angolensin ve Nimbidiol] grafikleri çizildi (Şekil 4.3-4.4). Çizilen grafiklerden her bir madde bileşik için IC_{50} değerleri hesaplandı (Tablo 4.6).

Tablo 4. 4: Angolensin (MW: 272.30 Da), 100× seyreltilmiş çözelti, HMG-CoA redüktaz, enzim: 20 µL; kontrol:100.

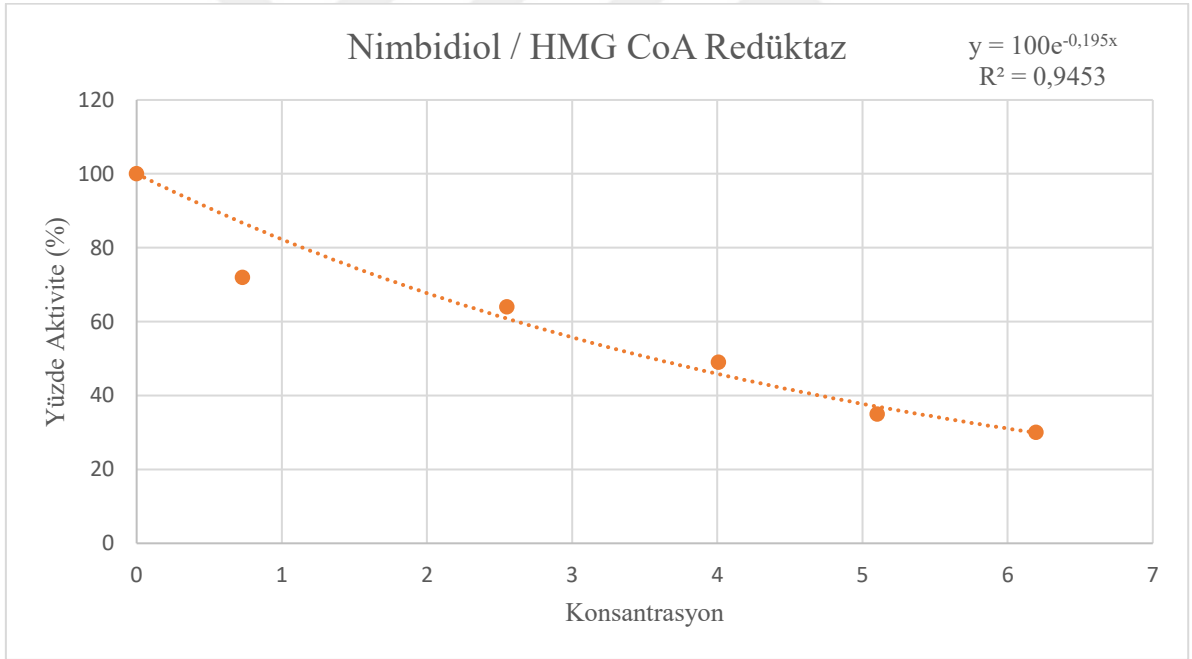
1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu	Aktivite
10 µL	87
30 µL	70
60 µL	53
80 µL	40
100 µL	34
2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu	Aktivite
10 µL	88
30 µL	74
60 µL	51
80 µL	38
100 µL	35
3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu	Aktivite
10 µL	87
30 µL	72
60 µL	50
80 µL	40
100 µL	33

Tablo 4. 5: Nimbidiol (MW: 274.35 Da), 100× seyreltilmiş çözelti HMG-CoA redüktaz, enzim: 20 µL; kontrol: 100.

1. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu	Aktivite
20 µL	71
70 µL	62
110 µL	49
140 µL	38
170 µL	31
2. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu	Aktivite
20 µL	72
70 µL	64
110 µL	49
140 µL	35
170 µL	30
3. Tekrar / İnhibitör Konsantrasyonu	Aktivite
20 µL	76
70 µL	62
110 µL	50
140 µL	34
170 µL	30



Şekil 4. 3: HMG CoA Redüktaz enzim aktivitesinde çalışılan farklı Angolensin konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[Angolensin] grafiği



Şekil 4. 4: HMG CoA Redüktaz enzim aktivitesinde çalışılan farklı Nimbidiol konsantrasyonunda çizilen Aktivite (%)-[Nimbidiol] grafiği

Tablo 4. 6: HMG-CoA Redüktaz enziminin aktivitesi üzerinde inhibisyon etkisi gösteren Angolensin ve Nimbidiol IC₅₀ değerleri ve inhibisyon türü

İnhibitör	IC ₅₀ (nM)	R ²	STSP
Angolensin	2,2873	0,9965	0,027
Nimbidiol	3,5831	0,9521	0,067

4.3. Antioksidan Çalışmalar ile İlgili Araştırma Bulguları

Bu bölümde, çalışmada uygulanan antioksidan testleri sonucunda elde edilen bulgular değerlendirilmiş ve örneklerin antioksidan kapasiteleri ortaya konmuştur.

4.3.1. Cu²⁺-Cu⁺ indirgeme kuvveti (Kuprak metodu) bulgular

Angolensin ve Nimbidiol kuprik iyonlarını (Cu²⁺) indirgeme kapasitesi, konsantrasyon ile doğru orantılı olarak arttığı bulundu. Angolensin ve Nimbidiol kuprik iyonlarını (Cu²⁺) indirgeme kapasitesi farklı konsantrasyondaki (10-30 µg/mL) çözeltilerinin 450 nm'deki absorbansları ölçülerek belirlendi (şekil 4.5). Angolensin ve Nimbidiol çözeltilisinin ve standart antioksidanların kuprik iyonlarını (Cu²⁺) indirgeme grafiği çizildikten sonra (şekil 4.5) her bir standart antioksidan, Angolensin ve Nimbidiol için 30 µg/mL'ye karşılık gelen absorbans değerleri Tablo 4.9'da verilerek birbirleriyle mukayese edildi.

Tablo 4. 7: Cu²⁺-Cu⁺ indirgeme değerleri 10 µL

10 mikrolitre						
	1	2	3	ORT	STSP	TOPLAM
BHA	0,913	0,916	0,915	0,959	0,002	0,959±0,001
BHT	1,034	1,035	1,031	1,033	0,002	1,033±0,002
α-Tokoferol	0,299	0,298	0,294	0,297	0,003	0,297±0,002
Troloks	0,338	0,346	0,347	0,344	0,005	0,343±0,004
Angolensin	0,432	0,441	0,44	0,438	0,005	0,437±0,004
Nimbidiol	0,592	0,595	0,597	0,595	0,003	0,594±0,002

Bu konsantrasyonda Angolensin ve standart antioksidanların kuprik iyonlarını (Cu²⁺) kupröz iyonlarına (Cu⁺) indirgeme aktiviteleri birbirleriyle karşılaştırıldıklarında **BHT**

(1,033±0,002) > BHA (0,959±0,001) > Nimbidiol (0,594±0,002) > Angolensin (0,437±0,004) > Trolox (0,343±0,004) > α-Tokoferol (0,297±0,002) şeklinde sıralanmanın meydana geldiği belirlendi (Tablo 4.7).

Tablo 4. 8: Cu²⁺-Cu⁺ indirgeme değerleri 20 µL

20 mikrolitre						
	1	2	3	ORT	STSP	TOPLAM
BHA	1,404	1,443	1,431	1,426	0,020	1,426±0,019
BHT	1,772	1,758	1,766	1,765333	0,007	1,765±0,007
α-Tokoferol	0,524	0,514	0,514	0,517333	0,006	0,517±0,005
Troluks	0,601	0,604	0,605	0,603333	0,002	0,603±0,002
Angolensin	0,713	0,717	0,712	0,714	0,003	0,714±0,002
Nimbidiol	0,886	0,874	0,88	0,88	0,006	0,88±0,006

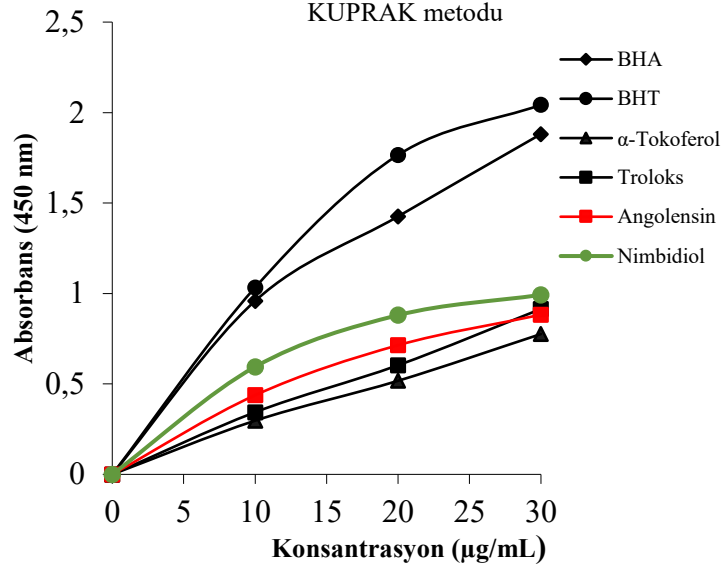
Bu konsantrasyonda Angolensin ve standart antioksidanların kuprik iyonlarını (Cu²⁺) kupröz iyonlarına (Cu⁺) indirgeme aktiviteleri birbirleriyle karşılaştırıldıklarında **BHT (1,765±0,007) > BHA (1,426±0,019) > Nimbidiol (0,88±0,006) > Angolensin (0,714±0,002) > Trolox (0,603±0,002) > α-Tokoferol (0,517±0,005)** şeklinde sıralanmanın meydana geldiği belirlendi (Tablo 4.8).

Tablo 4. 9: Cu²⁺-Cu⁺ indirgeme değerleri 30 µL

30 mikrolitre						
	1	2	3	ORT	STSP	TOPLAM
BHA	1,858	1,896	1,889	1,881	0,020224	1,881±0,020
BHT	2,038	2,054	2,036	2,042667	0,009866	2,042±0,009
α-Tokoferol	0,776	0,771	0,78	0,775667	0,004509	0,775±0,004
Troluks	0,918	0,912	0,913	0,914333	0,003215	0,914±0,003
Angolensin	0,874	0,882	0,891	0,882333	0,008505	0,882±0,008
Nimbidiol	0,993	0,997	0,987	0,992333	0,005033	0,992±0,005

Bu konsantrasyonda Angolensin ve standart antioksidanların kuprik iyonlarını (Cu²⁺) kupröz iyonlarına (Cu⁺) indirgeme aktiviteleri birbirleriyle karşılaştırıldıklarında **BHT (2,042±0,009, r²: 0,9423) > BHA (1,881±0,020, r²: 0,9614) > Nimbidiol (0,992±0,005, r²: 0,9001) > Trolox (0,914±0,003, r²:**

0,9974) > Angolensin (0,882±0,008, r^2 : 0,959) > α -Tokoferol (0,775±0,004, r^2 : 0,9968) şeklinde sıralanmanın meydana geldiği belirlendi (Tablo 4.9).



Şekil 4. 5: Angolensin ve Nimbidiol'ün farklı konsantrasyonlardaki (10-30 µg/mL) kuprak iyonlarını (Cu^{2+}) indirgeme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α -tokoferol ve troloks ile karşılaştırması

4.3.2. Ferrik İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP) Testi

Angolensin ve Nimbidiol ferröz formun (Fe^{2+} -TPTZ) ferrik kompleksine (Fe^{3+} -TPTZ) indirgeme kapasitesi, konsantrasyon ile doğru orantılı olarak arttığı bulundu. Angolensin ve Nimbidiol ferröz formun (Fe^{2+} -TPTZ) indirgeme kapasitesi farklı konsantrasyondaki (10-30 µg/mL) çözeltilerinin 593 nm'deki absorbansları ölçülerek belirlendi (Şekil 4.6). Angolensin ve Nimbidiol çözeltilisinin ve standart antioksidanların ferröz formun (Fe^{2+} -TPTZ) indirgeme grafiği çizildikten sonra (Şekil 4.6) her bir standart antioksidan, Angolensin ve Nimbidiol için 30 µg/mL'ye karşılık gelen absorbans değerleri Tablo 4.12'de verilerek birbirleriyle mukayese edildi.

Tablo 4. 10: (devam ediyor) Ferröz formun (Fe^{2+} -TPTZ) indirgeme değerleri 10 µL

	10 mikrolitre					
	1	2	3	ORT	STSP	TOPLAM
Kontrol	0,104	0,104	0,104	0,104	0	0,104±0
BHA	1,005	1,004	1,005	1,005	0,000577	1,004±0,000
BHT	1,248	1,254	1,252	1,251	0,003055	1,251±0,003

α-Tokoferol	0,803	0,803	0,801	0,802	0,001155	0,802 $\pm$ 0,001
Troloks	1,077	1,076	1,074	1,076	0,001528	1,075 $\pm$ 0,001
Angolensin	0,865	0,865	0,868	0,866	0,001732	0,866 $\pm$ 0,001
Nimbidiol	0,985	0,981	0,988	0,985	0,003512	0,984 $\pm$ 0,003

Bu konsantrasyonda Angolensin ve standart antioksidanların ferröz formun (Fe^{2+} -TPTZ) ferrik kompleksine (Fe^{3+} -TPTZ) indirgeme aktiviteleri birbirleriyle karşılaştırıldıklarında **BHT (1,251 $\pm$ 0,003) > Trolox (1,075 $\pm$ 0,001) > BHA (1,004 $\pm$ 0,000) > Nimbidiol (0,984 $\pm$ 0,003) > Angolensin (0,866 $\pm$ 0,001) > α -Tokoferol (0,802 $\pm$ 0,001) şeklinde sıralanmanın meydana geldiği belirlendi (Tablo 4.10).**

Tablo 4. 11: Ferröz formun (Fe^{3+} -TPTZ) indirgeme değerleri 20 μL

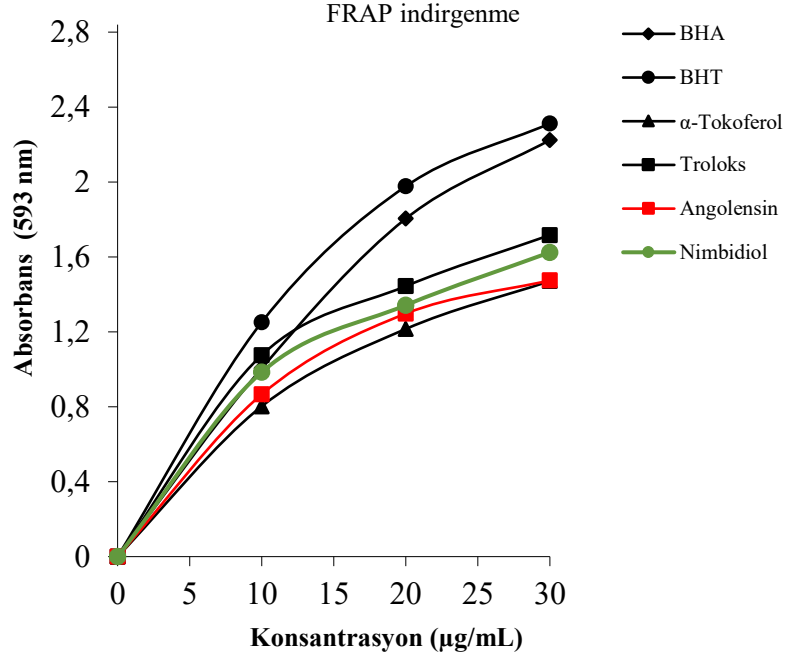
20 mikrolitre						
	1	2	3	ORT	STSP	TOPLAM
Kontrol	0,105	0,104	0,104	0,104333	0,00057735	0,104 $\pm$ 0,000
BHA	1,801	1,803	1,809	1,804333	0,004163332	1,804 $\pm$ 0,004
BHT	1,979	1,974	1,978	1,977	0,002645751	1,977 $\pm$ 0,002
α-Tokoferol	1,217	1,218	1,211	1,215333	0,003785939	1,215 $\pm$ 0,003
Troloks	1,482	1,432	1,418	1,444	0,033645208	1,444 $\pm$ 0,033
Angolensin	1,299	1,295	1,298	1,297333	0,002081666	1,297 $\pm$ 0,002
Nimbidiol	1,347	1,346	1,334	1,342333	0,007234178	1,342 $\pm$ 0,007

Bu konsantrasyonda Angolensin ve standart antioksidanların ferröz formun (Fe^{2+} -TPTZ) ferrik kompleksine (Fe^{3+} -TPTZ) indirgeme aktiviteleri birbirleriyle karşılaştırıldıklarında **BHT (1,251 $\pm$ 0,003) > BHA (1,804 $\pm$ 0,004) > Trolox (1,444 $\pm$ 0,033) > Nimbidiol (1,342 $\pm$ 0,007) > Angolensin (1,297 $\pm$ 0,002) > α -Tokoferol (1,215 $\pm$ 0,003) şeklinde sıralanmanın meydana geldiği belirlendi (Tablo 4.11).**

Tablo 4. 12: Ferröz formun (Fe^{3+} -TPTZ) indirgeme değerleri 30 μL

30 mikrolitre						
	1	2	3	ORT	STSP	TOPLAM
Kontrol	0,104	0,106	0,104	0,104667	0,001155	0,104 $\pm$ 0,001
BHA	2,217	2,222	2,233	2,224	0,008185	2,224 $\pm$ 0,008
BHT	2,307	2,304	2,326	2,312333	0,01193	2,312 $\pm$ 0,011
α-Tokoferol	1,476	1,476	1,461	1,471	0,00866	1,471 $\pm$ 0,008
Troloks	1,716	1,714	1,719	1,716333	0,002517	1,716 $\pm$ 0,002
Angolensin	1,499	1,448	1,477	1,474667	0,02558	1,474 $\pm$ 0,025
Nimbidiol	1,621	1,624	1,628	1,624333	0,003512	1,624 $\pm$ 0,003

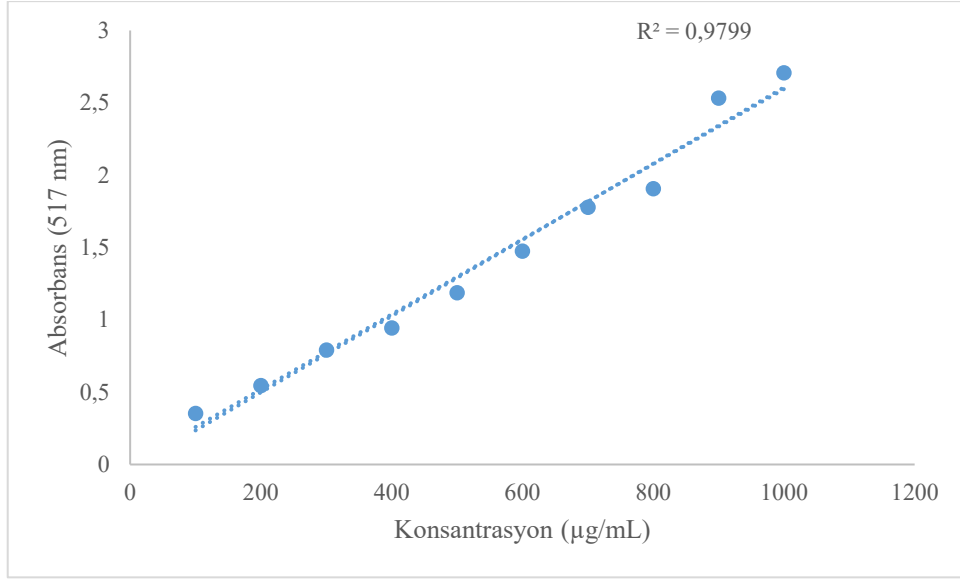
Bu konsantrasyonda Angolensin ve standart antioksidanların ferröz formun (Fe^{2+} -TPTZ) ferrik kompleksine (Fe^{3+} -TPTZ) indirgeme aktiviteleri birbirleriyle karşılaştırıldıklarında **BHT** ($2,312 \pm 0,011$, r^2 : 0,933) > **BHA** ($2,224 \pm 0,008$, r^2 : 0,9697) > **Trolox** ($1,716 \pm 0,002$, r^2 : 0,989) > **Nimbidiol** ($1,624 \pm 0,003$, r^2 : 0,908) > **Angolensin** ($1,474 \pm 0,025$, r^2 : 0,9075) > **α -Tokoferol** ($1,471 \pm 0,008$, r^2 : 0,9377) şeklinde sıralanmanın meydana geldiği belirlendi (Tablo 4.12).



Şekil 4. 6: Angolensin ve Nimbidiol'ün farklı konsantrasyonlardaki (10-30 µg/mL) Ferröz formun (Fe^{2+} -TPTZ) indirgeme aktivitelerinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α -tokoferol ve troloks ile karşılaştırması

4.3.3. DPPH serbest radikal giderme aktivitesi bulguları

Nimbidiol ve Angolensin ve çalışmada kullanılan BHA, BHT, α -tokoferol ve troloks gibi standart antioksidan bileşiklerin DPPH radikali giderme aktivite tayini için öncelikle standart grafik oluşturuldu (r^2 : 0,9799) (Şekil 4.7).



Şekil 4. 7: DPPH radikal giderme aktivitesi tayini için hazırlanan standart DPPH grafiği

DPPH radikali giderme aktivitesi tayininden sonra geriye kalan DPPH radikal miktarı standart grafikten elde edilen ve aşağıda verilen denklemden hesaplandı.

$$(\text{Absorbans } \lambda 517) = 0,0026 \times [\text{DPPH}]$$

Burada $\lambda 517$ -N DPPH radikal çözeltisine numune ilavesinden sonra bulunan absorbans değeri, $\lambda 517$ -K ise sadece DPPH radikal çözeltisi içeren kontrol değerinin absorbans değerini ifade eder. Pozitif kontrol olarak BHA, BHT, α -Tokoferol ve Troloks kullanıldı.

Angolensin ve Nimbidiol çözeltisinin DPPH radikali giderme aktivitesi şekil 4.7’de görüldüğü gibi konsantrasyon ile doğru orantılı olarak artmaktadır.

Tablo 4. 13: DPPH radikali giderme değerleri (10 µL)

10 mikrolitre						
	1	2	3	ORT	STSP	TOPLAM
KONTROL	1,005	1,005	1,005	1,005	0	1,005±0
BHA	0,414	0,415	0,416	0,415	0,001	0,415±0,001
BHT	0,298	0,299	0,298	0,298333	0,000577	0,298±0,000
α-Tokoferol	0,702	0,707	0,711	0,706667	0,004509	0,706±0,004
Troloks	0,808	0,802	0,805	0,805	0,003	0,805±0,003
Angolensin	0,701	0,706	0,701	0,702667	0,002887	0,702±0,002
Nimbidiol	0,623	0,624	0,629	0,625333	0,003215	0,625±0,003

Bu konsantrasyonda Angolensin ve standart antioksidanların DPPH radikali giderme aktiviteleri birbirleriyle karşılaştırıldıklarında **BHT (0,298±0,000) < BHA (0,415±0,001) < Nimbidol (0,625±0,003) < Angolensin (0,702±0,002) < α-Tokoferol (0,706±0,004) < Troloks (0,805±0,003)** şeklinde sıralanmanın meydana geldiği belirlendi (Tablo 4.13).

Tablo 4. 14: DPPH radikali giderme değerleri (20 µL)

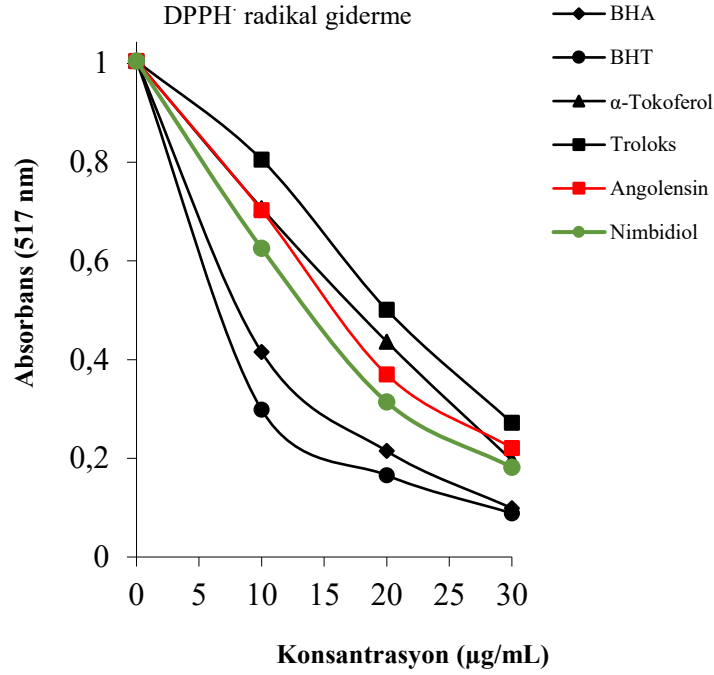
20 mikrolitre						
	1	2	3	ORT	STSP	TOPLAM
KONTROL	1,005	1,005	1,005	1,005	0	1,005±0
BHA	0,215	0,214	0,215	0,214667	0,00057735	0,214±0,000
BHT	0,165	0,168	0,164	0,165667	0,002081666	0,165±0,002
α-Tokoferol	0,437	0,439	0,433	0,436333	0,00305505	0,436±0,003
Troloks	0,5	0,501	0,502	0,501	0,001	0,501±0,001
Angolensin	0,373	0,365	0,371	0,369667	0,004163332	0,369±0,004
Nimbidol	0,318	0,313	0,311	0,314	0,003605551	0,314±0,003

Bu konsantrasyonda Angolensin ve standart antioksidanların DPPH radikali giderme aktiviteleri birbirleriyle karşılaştırıldıklarında **BHT (0,165±0,002) < BHA (0,214±0,000) < Nimbidol (0,314±0,003) < Angolensin (0,369±0,004) < α-Tokoferol (0,436±0,003) < Troloks (0,501±0,001)** şeklinde sıralanmanın meydana geldiği belirlendi (Tablo 4.14).

Tablo 4. 15: DPPH radikali giderme değerleri (30 µL)

30 mikrolitre						
	1	2	3	ORT	STSP	TOPLAM
Kontrol	1,005	1,005	1,005	1,005	0	1,005±0
BHA	0,101	0,095	0,1	0,098667	0,003215	0,098±0,003
BHT	0,081	0,091	0,094	0,088667	0,006807	0,088±0,006
α-Tokoferol	0,196	0,193	0,199	0,196	0,003	0,196±0,003
Troloks	0,277	0,268	0,271	0,272	0,004583	0,272±0,004
Angolensin	0,22	0,222	0,221	0,221	0,001	0,221±0,001
Nimbidol	0,182	0,181	0,182	0,181667	0,000577	0,181±0,000

Bu konsantrasyonda Angolensin ve standart antioksidanların DPPH radikali giderme aktiviteleri birbirleriyle karşılaştırıldıklarında **BHT (0,088±0,006, r²: 0,977, IC₅₀: 8,058) < BHA (0,098±0,003, r²: 0,9966, IC₅₀: 8,884) < Nimbidol (0,181±0,000, r²: 0,9936, IC₅₀: 12,157) < α-Tokoferol (0,196±0,003, r²: 0,9731, IC₅₀: 14,142) < Angolensin (0,221±0,001, r²: 0,9828, IC₅₀: 14,142) < Troloks (0,272±0,004, r²: 0,9544, IC₅₀: 17,325)** şeklinde sıralanmanın meydana geldiği belirlendi (Tablo 4.15).



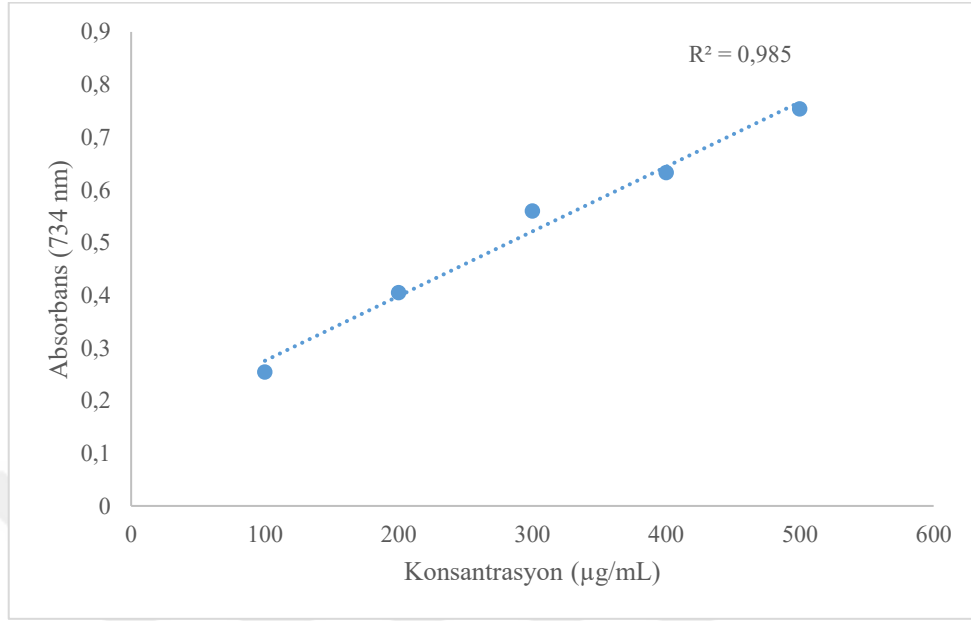
Şekil 4. 8: Angolensin ve Nimbidiol'ün farklı konsantrasyonlardaki (10-30 µg/mL) DPPH radikal giderme aktivitesinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks ile karşılaştırması

Angolensin ve Nimbidiol çözeltisinin DPPH radikali giderme aktivitesi grafiği çizildikten sonra (Şekil 4.8) her bir standart, Nimbidiol için ayrı ayrı IC₅₀ değerleri hesaplandı (Tablo 4.15).

4.3.4. ABTS⁺ radikal giderme aktivitesi bulguları

DPPH serbest radikal giderme aktivitesi gibi ABTS⁺ giderme aktivitesi de sulu karışımların, içeceklerin, ekstrelerin veya saf maddelerin radikal giderme aktivitelerinde sıklıkla kullanılmaktadır (Gülçin vd., 2007b). Bunun için öncelikle ABTS'den ABTS⁺'nin oluşturulması gerekmektedir. Bu amaçla bir erlen içerisinde 0,1 M, pH: 7,4 olan fosfat tamponu içerisinde 2 mM'lık ABTS çözeltisi hazırlandı. Daha sonra bu çözeltiye 2,45 mM'lık potasyum persülfat ilave edildi (Gülçin 2007). Erlenin dış yüzeyi alüminyum folyo ile kaplandı, manyetik karıştırıcı ile oda sıcaklığında 12 saat boyunca karıştırıldı. Çözelti hazırlandıktan sonra 734 nm'deki absorbans değeri 1.411±0.025 olacak şekilde tampon çözelti ile seyreltilti. Bu aşamadan sonra Angolensin ve Nimbidiol çözeltisinde çalışmada kullanılan BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks gibi standart

antioksidan bileşiklerin ABTS⁺ giderme aktiviteleri tayini için öncelikle standart grafik oluşturuldu ($r^2:0,985$) (Şekil 4.9).



Şekil 4. 9: ABTS⁺ giderme aktivitesi tayininde kullanılan ABTS⁺ için hazırlanan standart grafik

Tablo 4. 16: ABTS⁺ radikal giderme değerleri (5 µL)

5 mikrolitre						
	1	2	3	ORT	STSP	TOPLAM
Kontrol	1,122	1,122	1,122	1,122	0	1,122±0
BHA	0,719	0,711	0,718	0,716	0,004	0,716±0,004
BHT	0,815	0,816	0,811	0,814	0,003	0,814±0,002
α-Tokoferol	1,03	1,04	1,01	1,027	0,015	1,026±0,015
Troloks	0,902	0,909	0,903	0,905	0,004	0,904±0,003
Angolensin	0,878	0,862	0,876	0,872	0,009	0,872±0,008
Nimbidiol	0,803	0,804	0,809	0,805	0,003	0,805±0,003

Bu konsantrasyonda Angolensin ve standart antioksidanların ABTS⁺ radikali giderme aktiviteleri birbirleriyle karşılaştırıldıklarında **BHA (0,716±0,004) < Nimbidiol (0,805±0,003) < BHT (0,814±0,002) < Angolensin (0,872±0,008) < Troloks (0,904±0,003) < α-Tokoferol (1,026±0,015)** şeklinde sıralanmanın meydana geldiği belirlendi (Tablo 4.16).

Tablo 4. 17: ABTS⁺⁺ radikal giderme değerleri (10 µL)

10 mikrolitre						
	1	2	3	ORT	STSP	TOPLAM
Kontrol	1,122	1,122	1,122	1,122	0	1,122±0
BHA	0,219	0,214	0,217	0,216667	0,003	0,216±0,002
BHT	0,194	0,181	0,189	0,188	0,007	0,188±0,006
α-Tokoferol	0,615	0,61	0,614	0,613	0,003	0,613±0,002
Troloks	0,506	0,501	0,508	0,505	0,004	0,505±0,003
Angolensin	0,468	0,476	0,457	0,467	0,010	0,467±0,009
Nimbidiol	0,341	0,355	0,342	0,346	0,008	0,346±0,007

Bu konsantrasyonda Angolensin ve standart antioksidanların ABTS⁺⁺ radikali giderme aktiviteleri birbirleriyle karşılaştırıldıklarında **BHT (0,188±0,006) < BHA (0,216±0,002) Nimbidiol (0,346±0,007) < Angolensin (0,467±0,009) < Troloks (0,505±0,003) < α-Tokoferol (0,613±0,002)** şeklinde sıralanmanın meydana geldiği belirlendi (Tablo 4.17).

Tablo 4. 18: ABTS⁺⁺ radikal giderme değerleri (20 µL)

20 mikrolitre						
	1	2	3	ORT	STSP	TOPLAM
Kontrol	1,122	1,122	1,122	1,122	0	1,122±0
BHA	0,053	0,051	0,06	0,054667	0,004726	0,054±0,004
BHT	0,083	0,089	0,085	0,085667	0,003055	0,085±0,003
α-Tokoferol	0,273	0,279	0,275	0,275667	0,003055	0,275±0,003
Troloks	0,195	0,199	0,108	0,167333	0,051423	0,167±0,051
Angolensin	0,212	0,211	0,211	0,211333	0,000577	0,211±0,000
Nimbidiol	0,202	0,2	0,195	0,199	0,003606	0,199±0,003

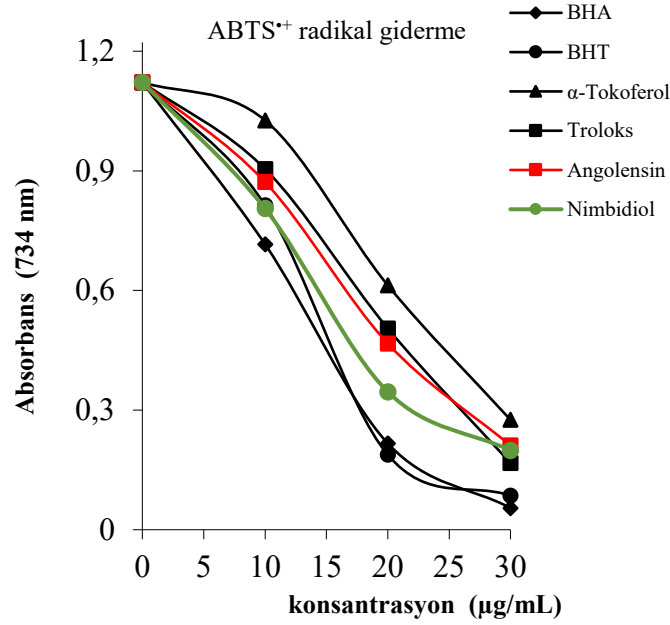
Bu konsantrasyonda Angolensin ve standart antioksidanların ABTS⁺⁺ radikali giderme aktiviteleri birbirleriyle karşılaştırıldıklarında **BHA (0,054±0,004, r²: 0,9264, IC₅₀: 7,615) < BHT (0,085±0,003, r²: 0,8864, IC₅₀: 8,350) < Troloks (0,167±0,051, r²: 0,8977, IC₅₀: 12,833) < Nimbidiol (0,199±0,003, r²: 0,9581, IC₅₀: 12,375) < Angolensin (0,211±0,000, r²: 0,9396, IC₅₀: 13,86) < α-Tokoferol (0,275±0,003, r²: 0,8624, IC₅₀: 17,77)** şeklinde sıralanmanın meydana geldiği belirlendi (Tablo 4.18).

ABTS⁺⁺ giderme aktivitesi tayininden sonra geriye kalan ABTS⁺⁺ miktarı standart grafikten elde edilen ve aşağıda da verilen denklemden hesaplandı.

$$\text{Absorbans } \lambda_{734} = 0,001 \times [\text{ABTS}^{++}]$$

ABTS⁺⁺ giderme ile ilgili hesaplamalar aşağıdaki eşitliğe göre yapıldı.

Burada λ_{734-N} ABTS⁺⁺ çözeltisine numune ilavesinden sonra bulunan absorbans değeri, λ_{734-K} ise sadece ABTS⁺⁺ çözeltisi içeren kontrol değerinin absorbansını ifade eder. Pozitif kontrol olarak BHA, BHT, α -tokoferol ve troloks kullanıldı (Şekil 4.10).



Şekil 4. 10: Farklı konsantrasyonlardaki Angolensin ve Nimbidiol (10-30 µg/mL) ABTS⁺⁺ giderme aktivitesinin birer standart antioksidan olan BHA, BHT, α -tokoferol ve troloks ile karşılaştırması

Angolensin ve Nimbidiol çözeltisinin ABTS⁺⁺ radikali giderme aktivitesi grafiği çizildikten sonra (Şekil 4.10) her bir standart, Nimbidiol için ayrı ayrı IC₅₀ değerleri hesaplandı (Tablo 4.18).

4.4. Moleküler Docking Sonuçları

Tablo 4.19'daki veriler, Nimbidiol ve Angolensin bileşiklerinin 1R47 ve 1HWK proteinlerine karşı moleküler docking davranışlarını çeşitli Glide parametreleri üzerinden karşılaştırmalı olarak ortaya koymaktadır.

Docking skorları incelendiğinde Nimbidiol'un her iki protein için de Angolensin'e kıyasla daha yüksek bağlanma afinitesi gösterdiği görülmektedir; 1R47 için Nimbidiol -4.68 kcal/mol iken Angolensin -4.26 kcal/mol, 1HWK için

ise Nimbidiol -5.10 kcal/mol ile en güçlü bağlanmayı sergilemiştir. Glide-ligand efficiency değerleri benzer aralıkta olup her iki molekülün de hedefe karşı tutarlı bir bağlanma verimliliğine sahip olduğunu göstermektedir.

Hidrojen bağı katkısını temsil eden Glide-hbond parametresi, Nimbidiol'ün her iki proteinde de 0.00 kcal/mol ile Angolensin'e kıyasla daha zayıf hidrojen bağı katkısı sunduğunu, buna karşın bağlanma stabilitesinin hidrojen bağından ziyade van der Waals ve elektrostatik katkılardan beslendiğini göstermektedir. Nitekim Glide-evdw değerleri Nimbidiol için 1R47'de -21.23 kcal/mol ve 1HWK'de -27.52 kcal/mol olup, Angolensin'e göre daha güçlü hidrofobik etkileşimlere işaret eder. Glide-ecoul değerleri de Angolensin'in elektrostatik açıdan biraz daha belirgin katkı yaptığını göstermektedir.

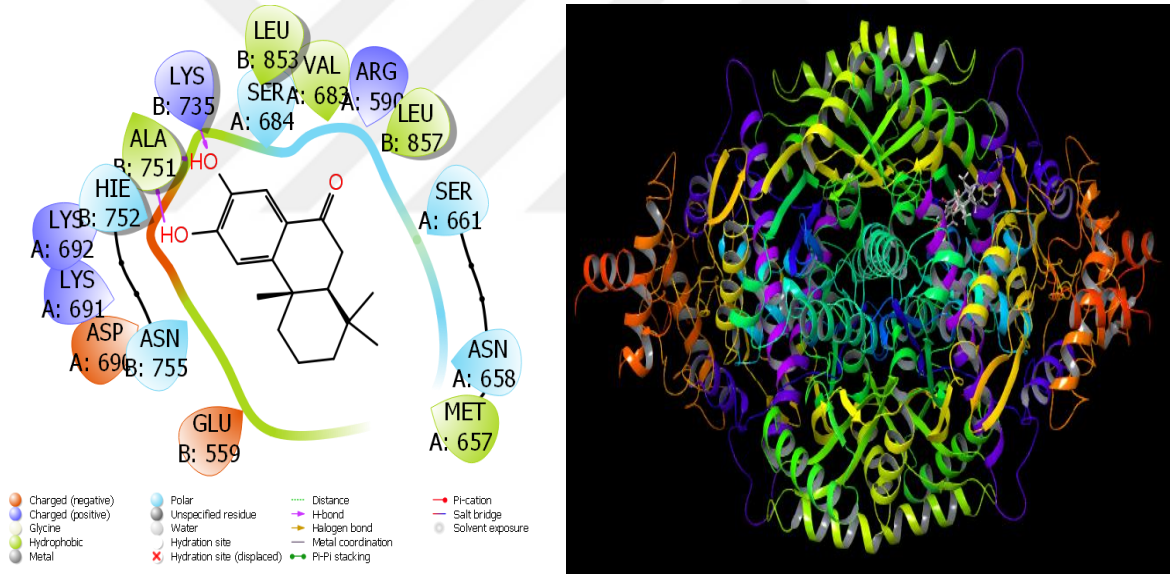
Tablo 4. 19: Moleküllerin proteinlere karşı bağlanma parametrelerinin değerleri

1R47	Docking Puanı	Glide ligand Verimliliği	Glide hbond	Glide evdw	Glide ecoul	Glide emodel	Glide energy	Glide einternal	Glide posenum
Nimbidiol	-4.68	-0.23	0.00	21.23	-9.79	-38.23	-31.01	2.79	122
Angolensin	-4.26	-0.21	-0.16	24.85	-8.89	-41.83	-33.74	5.68	387
1HWK	Docking Puanı	Glide ligand Verimliliği	Glide hbond	Glide evdw	Glide ecoul	Glide emodel	Glide energy	Glide einternal	Glide posenum
Nimbidiol	-5.10	-0.26	0.00	27.52	-8.78	-48.46	-36.30	1.33	138
Angolensin	-4.42	-0.22	-0.32	19.96	13.27	-42.67	-33.24	1.95	5

Docking modelinin genel değerlendirmesini sağlayan Glide-emodel skorları açısından proteinlere göre değişmekle birlikte Angolensin'in 1R47 için (-41.83 kcal/mol) Nimbidiol'e göre daha yüksek model kararlılığı sunduğu, ancak 1HWK'de Nimbidiol'ün (-48.46 kcal/mol) daha avantajlı olduğu görülmektedir. Glide-energy parametresi de benzer biçimde Nimbidiol'ün 1HWK proteinine bağlanırken daha güçlü bir toplam etkileşim enerjisi (-36.30 kcal/mol) sergilediğini göstermektedir. Glide-einternal değerleri molekülün kendi iç gerilimlerini temsil etmekte olup düşük değerler daha uygun konformasyonları işaret eder; bu açıdan Angolensin'in 1R47 proteininde Nimbidiol'den daha düşük

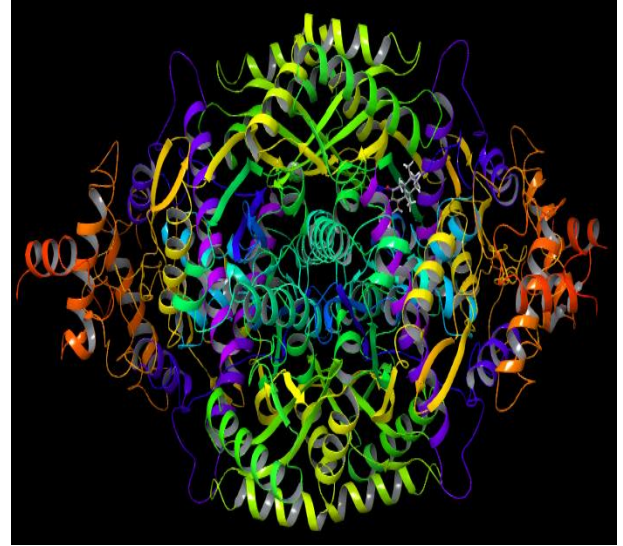
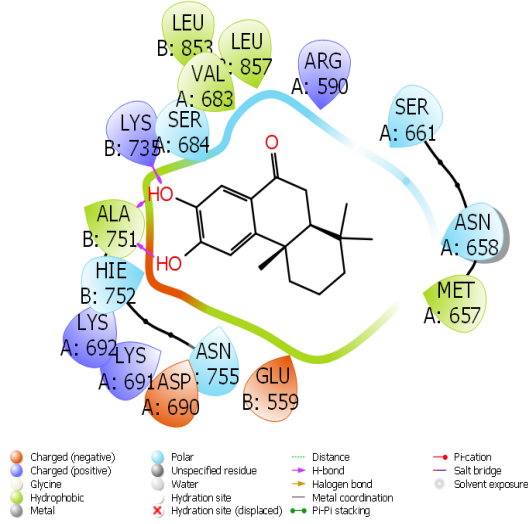
iç enerjiye sahip olduğu görülmektedir. Glide-posenum, ligandın protein cebi içindeki poz sayısını ifade eder. Daha yüksek poz sayısı, ligandın hedef bölgeye çoklu şekilde yerleşebildiğini gösterir. 1R47 için Angolensin'in 3870 farklı poz üretmesi, protein cebiyle daha esnek bir uyum gösterdiğini, buna karşın 1HWK için poz sayısının oldukça düşük olması bağlanmanın daha spesifik ve sınırlı bir geometriyle gerçekleştiğini düşündürmektedir.

Genel olarak Nimbidiol'ün özellikle 1HWK proteinine karşı daha yüksek bağlanma afinitesi ve güçlü van der Waals katkıları sergilediği, Angolensin'in ise bazı parametrelerde (örneğin 1R47 için emodel ve yüksek poz sayısı) daha avantajlı olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar, her iki bileşiğin de farklı bağlanma modlarıyla potansiyel inhibitör özellik gösterebileceğini, ancak hedef proteine bağlı olarak etkinliklerinin değiştiğini ortaya koymaktadır.



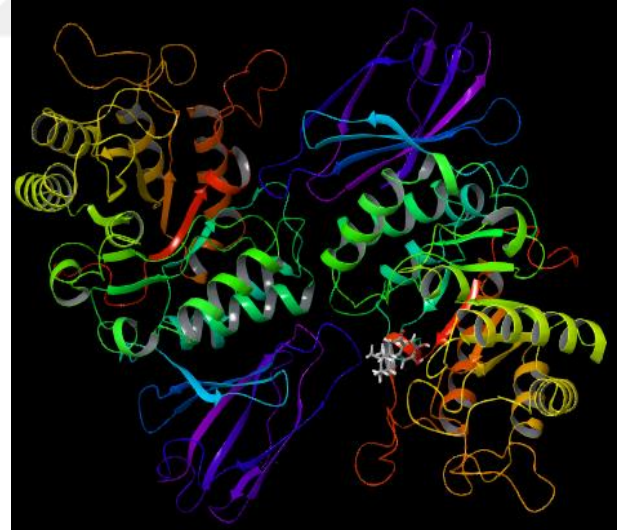
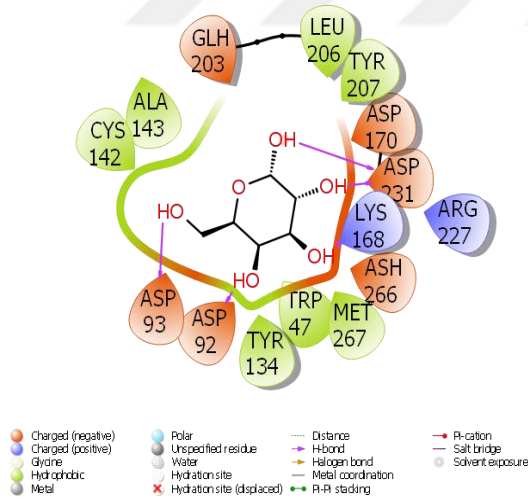
Şekil 4. 11: Nimbidiol molekülünün 1HWK proteini ile etkileşimleri

Nimbidiol molekülünün 1HWK proteini ile etkileşimleri (Şekil 4.11) incelendiğinde, aktif bölgede yer alan Ser, Lys, Arg ve Asn kalıntıları ile hidrojen bağları ve hidrofobik etkileşimler oluşturduğu görülmektedir. Bu etkileşimler, ligandın bağlanma cebinde kararlı bir konformasyon sergilemesine katkı sağlamaktadır.



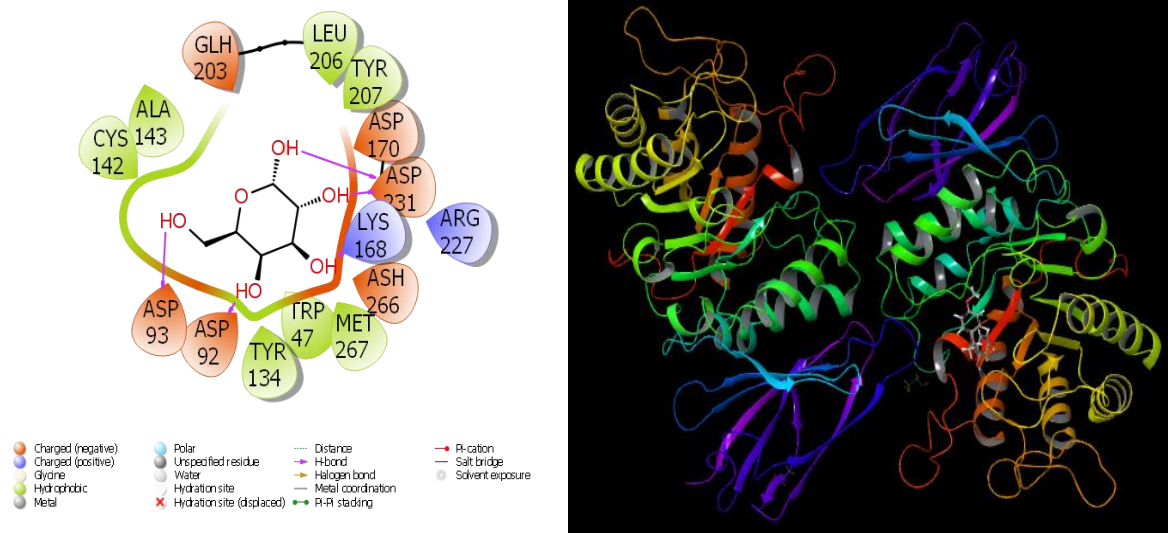
Şekil 4. 12: Angolensin molekülünün 1HWK proteini ile etkileşimleri

Angolensin molekülü 1HWK proteininin (Şekil 4.12) aktif bölgesinde benzer amino asit kalıntılarıyla etkileşime girerken, hidrofobik temasların daha baskın olduğu gözlenmiştir. Bu durum, Angolensin'in proteine bağlanma stabilitesinin hidrofobik etkileşimler üzerinden desteklendiğini düşündürmektedir.



Şekil 4. 13: Nimbidiol molekülünün IR47 proteini ile etkileşimleri

Nimbidiol molekülünün IR47 proteini ile etkileşimleri (Şekil 4.13) incelendiğinde, Asp, Lys, Arg ve Tyr kalıntıları ile hidrojen bağları ve elektrostatik etkileşimler oluşturduğu görülmektedir. Bu etkileşimler, ligandın aktif bölgeye güçlü ve kararlı bir şekilde bağlanmasına katkı sağlamaktadır.



Şekil 4. 14: Angolensin molekülünün IR47 proteini ile etkileşimleri

Angolensin molekülünün IR47 proteini ile etkileşimleri değerlendirildiğinde, hidrofobik amino asit kalıntılarıyla olan temasların yanı sıra sınırlı sayıda hidrojen bağının bulunduğu gözlenmiştir. Bu durum, Angolensin'in IR47 proteini ile bağlanma stabilitesinin büyük ölçüde hidrofobik etkileşimler tarafından desteklendiğini göstermektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada Angolensin ve Nimbidiol isimli iki doğal biyoaktif bileşiğin α -glikozidaz ve HMG-CoA redüktaz enzimleri üzerindeki inhibitör etkileri ile antioksidan kapasiteleri çok yönlü olarak değerlendirilmiş, böylece bu bileşiklerin metabolik hastalıklardaki potansiyel terapötik önemleri ortaya konulmuştur. Elde edilen sonuçlar, özellikle α -glikozidaz enzimi üzerinde Angolensin'in IC_{50} : 0,3837 nM, Nimbidiol'ün ise IC_{50} : 0,5651 nM değerlerine (Tablo 5.1) sahip olduğunu göstermiştir. Bu bulgu, Angolensin'in karbonhidrat hidrolizi ve glikoz regülasyonunda rol oynayan bu enzimi daha güçlü bir şekilde inhibe ettiğini ortaya koymaktadır. Literatürde α -glikozidaz inhibisyonu diyabet tedavisinde kullanılan akarboz ve benzeri ajanların temel etki mekanizmasıdır; dolayısıyla Angolensin'in sahip olduğu düşük IC_{50} değeri, bileşiğin antidiabetik aday molekül olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir.

Benzer şekilde, kolesterol biyosentez yolunun hız sınırlayıcı basamağını katalize eden HMG-CoA redüktaz enzimi üzerinde de güçlü inhibisyon elde edilmiştir. Angolensin'in IC_{50} : 2,2873 nM, Nimbidiol'ün ise IC_{50} : 3,5831 nM değerleri (Tablo 5.1), bu bileşiklerin statin benzeri bir etki mekanizmasına sahip olabileceğini göstermektedir. HMG-CoA redüktaz inhibisyonu, kardiyovasküler hastalıkların yönetiminde temel farmakolojik yaklaşımlardan biridir. Bu nedenle çalışma sonuçları, söz konusu iki bileşiğin hem kolesterol metabolizmasının düzenlenmesinde hem de lipit profilinin iyileştirilmesinde araştırmaya değer moleküller olduğunu göstermektedir. Angolensin'in hem α -glikozidaz hem de HMG-CoA redüktaz üzerinde daha düşük IC_{50} değerleri göstermesi, onun çift yönlü metabolik etkiler bakımından daha avantajlı bir profil sunduğunu ortaya koymuştur.

Tablo 5. 1: Angolensin ve Nimbidiol'ün enzimlere karşı IC_{50} değerleri

Enzim	Angolensin IC_{50} (nM)	Nimbidiol IC_{50} (nM)
α -Glikozidaz	0.3837	0.5651
HMG-CoA Redüktaz	2.2873	3.5831

Çalışmanın antioksidan kısmı kapsamında gerçekleştirilen CUPRAC, FRAP, DPPH ve ABTS testleri, Angolensin ve Nimbidol'ün çeşitli mekanizmalar üzerinden anlamlı antioksidan aktivite sergilediğini göstermiştir (Tablo 5.2). CUPRAC ve FRAP analizlerinde her iki bileşiğin indirgeme kapasitelerinin konsantrasyonla doğru orantılı şekilde arttığı ve Nimbidol'ün Angolensin'e kıyasla çoğu durumda daha yüksek indirgeme gücü gösterdiği belirlenmiştir. Antioksidan bileşiklerin redoks özellikleri, oksidatif stres kaynaklı biyomolekül hasarının önlenmesinde kritik rol oynamaktadır; bu bağlamda elde edilen bulgular Nimbidol'ü öne çıkarmaktadır. Buna karşın, DPPH ve ABTS radikal giderme testlerinde her iki molekül de kabul edilebilir düzeyde serbest radikal nötralizasyonu sağlamış olup, bu durum bileşiklerin hem hidrojen atomu transferi (HAT) hem de elektron transferi (ET) temelli mekanizmalara katılabilme kapasitesini göstermektedir. Özellikle Nimbidol'ün düşük konsantrasyonlarda dahi radikal giderme etkinliği, molekülün güçlü bir antioksidan fenolik profil taşıdığını desteklemektedir.

Tablo 5. 2: Angolensin ve Nimbidol'ün antioksidan aktivite sonuçları

Yöntem	Angolensin	Nimbidol	Standartlarla Kıyas
CUPRAC	0.882 ± 0.008	0.992 ± 0.005	BHA > BHT > Nimbidol > Angolensin
FRAP	1.474 ± 0.025	1.624 ± 0.003	BHT > BHA > Nimbidol > Angolensin
ABTS IC₅₀ (µg/mL)	13.86	12.375	Nimbidol daha etkili
DPPH IC₅₀ (µg/mL)	14,142	12,157	Standartlara göre orta seviye

Hem enzim inhibisyonu hem de antioksidan kapasite birlikte değerlendirildiğinde, çalışmanın bulguları Angolensin ve Nimbidol'ün metabolik hastalıkların çok boyutlu patofizyolojisinde yapılabilecek ileri çalışmalar ile anlamlı etki gösterebilecek nitelikte potansiyel aday bileşikler olduğunu göstermektedir. Bilindiği üzere diyabet, hiperkolesterolemi ve oksidatif stres çoğu zaman birlikte görülen, birbirini tetikleyen patolojik süreçlerdir. Bu bağlamda, hem α-glikozidaz hem de HMG-CoA redüktaz

enzimlerini inhibe eden ve aynı zamanda güçlü radikal giderme veya metal indirgeme kapasitesine sahip doğal moleküller, kombine tedavi stratejilerinde önemli avantaj sağlayabilmektedir. Dolayısıyla Angolensin ve Nimbidiol, çoklu hedefli farmakolojik ajan (multi-target drug candidate) olarak araştırmaya açık ve umut vadeden iki bileşiktir.

Çalışmada Angolensin ve Nimbidiol'ün α -glikozidaz ve HMG-CoA redüktaz enzimleri üzerindeki inhibitör etkileri ile antioksidan aktiviteleri birlikte değerlendirilmiş olup elde edilen bulgular Tablo 5.3'de özetlenmiştir. Sonuçlar, her iki bileşiğin de α -glikozidaz enzimi üzerinde oldukça güçlü inhibisyon sergilediğini, ancak Angolensin'in daha düşük IC_{50} değeri (0,3837 nM) ile daha etkili olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde HMG-CoA redüktaz enzimi üzerinde de Angolensin'in Nimbidiol'e kıyasla daha güçlü bir inhibitör etki ortaya koyduğu belirlenmiştir. Antioksidan analizlerde ise CUPRAC, FRAP ve ABTS yöntemleriyle elde edilen sonuçlar Nimbidiol'ün daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğunu ortaya koyarken, DPPH testinde her iki bileşiğin de benzer düzeyde aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Genel olarak Angolensin'in enzim inhibisyonu açısından, Nimbidiol'ün ise antioksidan kapasite bakımından daha avantajlı bir profil sergilediği söylenebilir.

Tablo 5. 3: Angolensin ve Nimbidiol'ün enzim inhibisyonu ve antioksidan aktivite sonuçlarının genel özeti

Parametre	Angolensin	Nimbidiol	Açıklama
α -Glikozidaz IC_{50} (nM)	0.3837 nM	0.5651 nM	Angolensin daha güçlü inhibitör
HMG-CoA Redüktaz IC_{50} (nM)	2.2873 nM	3.5831 nM	Her ikisi de güçlü, Angolensin daha etkili
CUPRAC Aktivitesi (30 μ L absorbans)	0.882 $\pm$ 0.008	0.992 $\pm$ 0.005	Nimbidiol daha yüksek indirgeme kapasitesi
FRAP Aktivitesi (30 μ L absorbans)	1.474 $\pm$ 0.025	1.624 $\pm$ 0.003	Nimbidiol > Angolensin
DPPH IC_{50} (μ g/mL)	14,142	12,157	Nimbidiol daha güçlü
ABTS IC_{50} (μ g/mL)	13.86	12.375	Nimbidiol daha güçlü radikal giderici

Moleküler düzeyde etkileşimlerin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen moleküler docking analizleri, Angolensin ve Nimbidiol'ün hem α -glukozidaz hem de HMG-CoA redüktaz enzimlerinin aktif bölgelerine yüksek afinite ile bağlandığını ortaya koymuştur. Docking çalışmasından elde edilen bağlanma enerjileri, in vitro enzim inhibisyon verileriyle uyumluluk göstermiş ve bileşiklerin deneysel olarak gözlenen etkinliklerinin yapısal temeli desteklenmiştir. Analizler, Angolensin'in her iki enzimin katalitik bölgesinde yer alan kritik amino asit kalıntılarıyla daha güçlü hidrojen bağları kurduğunu, bunun yanı sıra aktif bölgedeki hidrofobik ceplere daha kararlı bir şekilde yerleştiğini göstermektedir. Bu etkileşimler, Angolensin'in düşük IC₅₀ değerlerinin ardındaki moleküler mekanizmayı açıklamakta olup, bileşiğin enzimin fonksiyonel yapısını en verimli şekilde hedefleyebildiğini göstermektedir.

Nimbidiol ise bağlanma pozisyonu açısından daha esnek bir profil sergilemiş; aromatik halkalarının enzim içi hidrofobik bölgelerle güçlü van der Waals etkileşimleri oluşturması sayesinde alternatif bağlanma konformasyonları geliştirebilmiştir. Bu durum, Nimbidiol'ün daha geniş bir etkileşim yelpazesine sahip olduğunu, enzimin yapısal dinamiklerine uyum sağlayarak inhibisyon gücünü koruyabildiğini göstermektedir. Ayrıca her iki bileşiğin de aktif bölgede su molekülleriyle dolaylı hidrojen köprüleri oluşturması, bağlanma stabilitesini artıran ek bir parametre olarak değerlendirilebilir. Docking sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde, Angolensin ve Nimbidiol'ün enzimin katalitik fonksiyonunu doğrudan etkileyen bölgeleri hedefleyerek aktiviteyi baskıladığı; bu yönleriyle farmakolojik açıdan avantajlı bir moleküler mimariye sahip oldukları görülmektedir. Bu yapısal bulgular, bileşiklerin inhibitör potansiyellerini yalnızca biyokimyasal değil, aynı zamanda moleküler modelleme düzeyinde de doğrulamakta ve onların terapötik açıdan değerlendirilebilir nitelikte olduğunu güçlü bir şekilde desteklemektedir.

Enzim inhibisyon sonuçları ile moleküler docking bulgularının birbirleri ile kıyaslaması yapıldığında genel olarak kısmen örtüşmektedir. Deneysel enzim aktivite çalışmalarında Angolensin'in hem α -glukozidaz hem de HMG-CoA redüktaz üzerinde Nimbidiol'e kıyasla daha düşük IC₅₀ değerlerine sahip olması, Angolensin'in daha güçlü bir inhibitör olduğunu göstermektedir. Buna karşılık

docking analizlerinde özellikle Nimbidiol'ün her iki hedef protein için daha düşük (daha negatif) docking skorları sergilemesi, teorik bağlanma afinitesinin Nimbidiol lehine olduğunu ortaya koymaktadır.

Bu farklılık, docking sonuçlarının bağlanma enerjisi ve etkileşim türlerine odaklanan teorik bir yaklaşım, enzim aktivite testlerinin ise kinetik ve ortam koşullarını da içeren biyokimyasal bir ölçüm olmasından kaynaklanabilir. Nimbidiol'ün docking çalışmalarında güçlü van der Waals ve hidrofobik etkileşimler sergilemesine rağmen, Angolensin'in deneysel sistemlerde daha etkili inhibisyon göstermesi, bağlanma modunun yanı sıra konformasyonel uyum, çözünebilirlik ve enzim–ligand dinamiklerinin biyolojik aktivitede belirleyici olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmada Angolensin ve Nimbidiol'ün hem α -glukozidaz hem de HMG-CoA redüktaz enzimleri üzerindeki inhibitör etkilerinin, literatürde rapor edilen birçok doğal ve sentetik inhibitöre kıyasla daha düşük IC_{50} değerleri sergileyebileceği belirlenmiştir. Bu durum, söz konusu bileşiklerin moleküler yapılarında bulunan fonksiyonel grupların her iki enzimin aktif bölgesiyle güçlü ve çoklu etkileşimler kurabilme kapasitesiyle ilişkilendirilmektedir. Özellikle hidrojen bağları, π – π etkileşimleri ve hidrofobik temasların varlığı, enzim–ligand komplekslerinin stabilitesini artırarak inhibitör etkinliği güçlendirmiştir. Moleküler docking analizleri de Angolensin ve Nimbidiol'ün her iki enzimin aktif bölgesine uygun konformasyonlarda bağlandığını ve düşük bağlanma enerjileri sergilediğini ortaya koymuştur. Bununla birlikte, literatürde bildirilen IC_{50} değerlerinin farklı deneysel koşullar altında elde edilmiş olması doğrudan nicel bir karşılaştırmayı sınırlandırmaktadır; ancak elde edilen bulgular, bu bileşiklerin hem α -glukozidaz hem de HMG-CoA redüktaz inhibisyonu açısından güçlü ve umut vadeden adaylar olduğunu açıkça göstermektedir.

Elde edilen bulgular, bu bileşikleri metabolik hastalıkların klinik yönetimi açısından potansiyel aday moleküller haline getirdiğini göstermektedir. Özellikle diyabet, hiperlipidemi ve oksidatif stresin sıklıkla birlikte seyrettiği klinik tablolar göz önünde bulundurulduğunda, çoklu hedefli etki mekanizmasına sahip doğal bileşikler tek hedefli ajanlara kıyasla önemli avantajlar sunabilmektedir. Bununla

birlikte, bu çalışmada elde edilen sonuçlar in vitro düzeyde olup, klinik uygulanabilirlik açısından bileşiklerin biyoyararlanım, metabolik stabilite, toksisite ve farmakokinetik özelliklerinin ileri aşamalarda değerlendirilmesi gerekmektedir. Moleküler docking ve enzim inhibisyon verilerinin birbiriyle uyumlu olması, bu bileşiklerin rasyonel ilaç tasarımı süreçlerinde öncü yapı (lead compound) olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Bu bağlamda Angolensin ve Nimbidiol, hem yeni ilaç geliştirme çalışmalarında yapısal optimizasyon için temel oluşturabilecek aday moleküller hem de fonksiyonel gıda veya destekleyici terapötik ajan geliştirilmesine yönelik araştırmalarda değerlendirilebilecek doğal bileşikler olarak öne çıkmaktadır.

Ayrıca çalışmanın genel değerlendirmesine bakıldığında, Angolensin ve Nimbidiol'ün hem enzimatik hem de antioksidan süreçlerde etkili olmaları, bu moleküllerin biyolojik sistemlerde çoklu mekanizmalar üzerinden rol oynayabileceğini göstermektedir. α -Glikozidaz ve HMG-CoA redüktaz gibi metabolik açıdan kritik enzimleri inhibe edebilme kapasiteleri, söz konusu bileşiklerin diyabet, hiperlipidemi ve oksidatif stres temelli hastalıklarda tamamlayıcı veya alternatif bir terapötik yaklaşım olarak değerlendirilebileceğini ortaya koymaktadır. Antioksidan aktivitelerinin çeşitli mekanizmaları kapsamı, moleküllerin biyokimyasal sistemlerde yalnızca spesifik etkileşim değil, aynı zamanda geniş spektrumlu bir hücre koruyucu etkide bulunabileceğini göstermektedir. Bu çok yönlü biyolojik aktivite profili, doğal bileşiklerin farmasötik alanda giderek önem kazanan çoklu hedefli etki mekanizması yaklaşımıyla da uyumludur ve bu bağlamda çalışma, doğal ürün kimyası ile metabolik biyokimya arasındaki ilişkiyi güçlendiren bütüncül bir değerlendirme sunmaktadır.

Bilimsel katkı açısından değerlendirildiğinde, bu çalışma Angolensin ve Nimbidiol'ün hem α -glikozidaz hem de HMG-CoA redüktaz üzerine etkilerini aynı anda inceleyen nadir çalışmalardan biri olması bakımından literatüre önemli bir yenilik sağlamaktadır. Bu iki enzimin birlikte hedeflenmesi, metabolik hastalıkların patofizyolojisinde oldukça kritik olup, çift yönlü biyokimyasal baskılama doğal bileşiklerde her zaman gözlenen bir özellik değildir. Ayrıca çalışmada antioksidan güçleri dört farklı yöntemle kapsamlı olarak karşılaştırılmış

ve standart antioksidanlarla nicel düzeyde mukayese edilmiştir. Böylece hem enzim inhibitör profilleri hem de antioksidan yetenekleri bütüncül bir yaklaşımla değerlendirilmiş, bu bileşiklerin farmakolojik potansiyellerine ilişkin çok boyutlu ve güvenilir bir veri zemini oluşturulmuştur. Çalışmanın bu yönü, ileride yapılacak farmakolojik ve yapısal biyoloji odaklı araştırmalara sağlam bir temel oluşturarak doğal molekül temelli yeni terapötik stratejilere kapı aralamaktadır.

Sonuç olarak bu çalışma, Angolensin ve Nimbidiol'ün metabolik hastalıklara yönelik yeni nesil doğal kaynaklı inhibitörler ve antioksidanlar olarak değerlendirilebileceğini güçlü verilerle göstermiştir. Enzim inhibisyon profilleri, antioksidan aktiviteleri ve konsantrasyon-bağımlı etkileri birlikte ele alındığında, bu iki molekülün gelecekte ilaç tasarımı, fonksiyonel gıda bileşeni geliştirme ve doğal terapötik ajan araştırmalarında değerlendirilebilir nitelikte olduğu sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Ademiluyi, A. O., ve Oboh, G. (2013). Aqueous extracts of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) varieties inhibit α -amylase and α -glucosidase activities in vitro. *Journal of medicinal food*, 16(1), 88-93.
- Ahmad, P., Alvi, S. S., Iqbal, J., ve Khan, M. S. (2022). Target-based virtual and biochemical screening against HMG-CoA reductase reveals *Allium sativum*-derived organosulfur compound N-acetyl cysteine as a cardioprotective agent. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 32(6), 962-973.
- Ak, T., ve Gülçin, I. (2008). Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. *Chemico-biological interactions*, 174(1), 27-37.
- ALTIKATOĞLU, M., BAŞARAN, Y., ARIÖZ, C., ve KUZU, H. (2009). Thermal stabilization of horseradish peroxidase by covalent conjugation with dextran. *Sigma*, 27, 216-225.
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B., ... ve Özyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12(7), 1496-1547.
- Arslan, E. I. Ç., ve Saçan, Ö. (2023). Antioxidant and 3-hydroxy-3-methylglutaryl Coenzyme A reductase inhibitory activities of some plant samples. *Food and Health*, 9(4), 293-303.
- Assefa, S. T., Yang, E. Y., Chae, S. Y., Song, M., Lee, J., Cho, M. C., ve Jang, S. (2019). Alpha glucosidase inhibitory activities of plants with focus on common vegetables. *Plants*, 9(1), 2.
- Baskaran, G., Salvamani, S., Ahmad, S. A., Shaharuddin, N. A., Pattiram, P. D., ve Shukor, M. Y. (2015). HMG-CoA reductase inhibitory activity and phytochemical investigation of *Basella alba* leaf extract as a treatment for hypercholesterolemia. *Drug design, development and therapy*, 509-517.
- Bellesia, A., ve Tagliazucchi, D. (2014). Cocoa brew inhibits in vitro α -glucosidase activity: The role of polyphenols and high molecular weight compounds. *Food Research International*, 63, 439-445.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- Buddhakala, N., Yongkhamcha, B., Rattanaloeadnusorn, S., ve Talubmook, C. (2023). Phytochemicals and antidiabetic, antioxidant and anti-inflammatory activities of ethanol flower extract of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry (Myrtaceae). *Trends in Sciences*, 20(1), 3583-3583.

- Buhaescu, I., ve Izzedine, H. (2007). Mevalonate pathway: a review of clinical and therapeutical implications. *Clinical biochemistry*, 40(9-10), 575-584.
- Cecarini, V., Cuccioloni, M., Gong, C., Liu, Z., Bonfili, L., Angeletti, M., ... ve Eleuteri, A. M. (2023). Role of Panax ginseng and ginsenosides in regulating cholesterol homeostasis. *Food Bioscience*, 56, 103256.
- Chang, J., Ning, Y., Xu, F., Cheng, S., ve Li, X. (2015). Research advance of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme a synthase in plant isoprenoid biosynthesis. *J. Anim. Plant Sci*, 25, 1441-1450.
- Chandel, N. S. (2021). Lipid metabolism. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 13(9), a040576.
- Ciccone, L., Cerri, C., Nencetti, S., v Orlandini, E. (2021). Carbonic anhydrase inhibitors and epilepsy: State of the art and future perspectives. *Molecules*, 26(21), 6380.
- Cordero, A., Moreno-Arribas, J., Bertomeu-González, V., Agudo, P., Miralles, B., Masía, M. D., ... ve Bertomeu-Martínez, V. (2012). Low levels of high-density lipoproteins cholesterol are independently associated with acute coronary heart disease in patients hospitalized for chest pain. *Revista Española de Cardiología (English Edition)*, 65(4), 319-325.
- Crowley, M. J., Powers, B. J., Olsen, M. K., Grubber, J. M., Koropchak, C., Rose, C. M., ... ve Bosworth, H. B. (2013). The Cholesterol, Hypertension, And Glucose Education (CHANGE) study: results from a randomized controlled trial in African Americans with diabetes. *American heart journal*, 166(1), 179-186.
- Çelik, S. A., ve Ayran, İ. (2020). ANTİOKSİDAN KAYNAĞI OLARAK BAZI TIBBİ VE AROMATİK BİTKİLER. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 13(2), 115-125.
- Deng, B., Zhang, P., Ge, F., Liu, D. Q., ve Chen, C. Y. (2017). Enhancement of triterpenoid saponins biosynthesis in Panax notoginseng cells by co-overexpressions of 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase and squalene synthase genes. *Biochemical Engineering Journal*, 122, 38-46.
- Flieger, J., Flieger, W., Baj, J., ve Maciejewski, R. (2021). Antioxidants: Classification, natural sources, activity/capacity measurements, and usefulness for the synthesis of nanoparticles. *Materials*, 14(15), 4135.
- Gholamhoseinian, A., Shahouzehi, B., ve Sharifi-Far, F. (2010). Inhibitory activity of some plant methanol extracts on 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl coenzyme a reductase. *International Journal of Pharmacology*, 6(5), 705-711.
- Hadrich, F., Bouallagui, Z., Junkyu, H., Isoda, H., ve Sayadi, S. (2015). The α -glucosidase and α -amylase enzyme inhibitory of hydroxytyrosol and oleuropein. *Journal of oleo science*, 64(8), 835-843.
- Halliwell, B. (1995). Antioxidant characterization: methodology and mechanism. *Biochemical pharmacology*, 49(10), 1341-1348.

- Haines, B. E., Wiest, O., ve Stauffacher, C. V. (2013). The increasingly complex mechanism of HMG-CoA reductase. *Accounts of chemical research*, 46(11), 2416-2426.
- Hosseini, S., Zorab, M. M., ve Zarei, M. A. (2024). Antioxidant, antibacterial, and α -glucosidase inhibition potential of three *Allium* species (Amaryllidaceae) from Iran. *Journal of Herbmmed Pharmacology*, 13(4), 674-684.
- Jackson, R., Lawes, C. M., Bennett, D. A., Milne, R. J., ve Rodgers, A. (2005). Treatment with drugs to lower blood pressure and blood cholesterol based on an individual's absolute cardiovascular risk. *The Lancet*, 365(9457), 434-441.
- Jha, S. K., Islam, M., Kumar, R., Rana, L., Saifi, M. A., Ali, S., ve Alam, N. (2023). Evaluation of *Vernonia amygdalina* del. containing phyto constituents a medicinal plant compound as new potential inhibitors of Monkey pox virus using molecular docking analysis. *World J Adv Res Rev*, 17(1), 1112-1122.
- Juin, S. K., Pushpakumar, S., ve Sen, U. (2023). Alpha-glucosidase inhibitor mitigates bone loss in type-1 diabetes. *Physiology*, 38(S1), 5734415.
- Karabulut, H., & Gülay, M. Ş. (2016). Serbest radikaller. *Mehmet Akif Ersoy University Journal of Health Sciences Institute*, 4(1).
- Kangalgil, M., ve Canbolat, E. (2016). Kolesterolün Bazı Nörolojik Hastalıkların Patogenezindeki Rolü. *Eur J Health Sci*, 2(2), 56-63.
- Kong, F., Qin, Y., Su, Z., Ning, Z., ve Yu, S. (2018). Optimization of extraction of hypoglycemic ingredients from grape seeds and evaluation of α -glucosidase and α -amylase inhibitory effects in vitro. *Journal of food science*, 83(5), 1422-1429.
- Kwon, E. K., Lee, D. Y., Lee, H., Kim, D. O., Baek, N. I., Kim, Y. E., ve Kim, H. Y. (2010). Flavonoids from the buds of *Rosa damascena* inhibit the activity of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme a reductase and angiotensin I-converting enzyme. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(2), 882-886.
- Lehninger, A. L., Nelson, D. L., ve Cox, M. M. (2005). *Lehninger principles of biochemistry*. Macmillan.
- Leroux-Stewart, J., Rabasa-Lhoret, R., ve Chiasson, J. L. (2015). α -Glucosidase inhibitors. *International textbook of diabetes mellitus*, 673-685.
- Li, S., Tan, H. Y., Wang, N., Zhang, Z. J., Lao, L., Wong, C. W., ve Feng, Y. (2015). The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases. *International journal of molecular sciences*, 16(11), 26087-26124.
- Li, Z., Wang, H., Sun, S., Shao, Z., Lv, C., Dong, X., ... ve Wang, W. (2024). Ellagitannins from pomegranate (*Punica granatum* L.) flower with xanthine oxidase and α -glucosidase inhibitory activities. *Journal of Functional Foods*, 116, 106153.

- Lillich, F. F., Imig, J. D., ve Proschak, E. (2021). Multi-target approaches in metabolic syndrome. *Frontiers in pharmacology*, 11, 554961.
- Liu, G., Shi, M., Mosley, J. D., Weng, C., Zhang, Y., Lee, M. T. M., ... ve Feng, Q. (2021). A mendelian randomization approach using 3-HMG-coenzyme-A reductase gene variation to evaluate the association of statin-induced low-density lipoprotein cholesterol lowering with noncardiovascular disease phenotypes. *JAMA network open*, 4(6), e2112820-e2112820.
- Lourenço, S. C., Moldão-Martins, M., ve Alves, V. D. (2019). Antioxidants of natural plant origins: From sources to food industry applications. *Molecules*, 24(22), 4132.
- Mitra, A. K. (2020). Antioxidants: a masterpiece of mother nature to prevent illness. *Journal of Chemical Reviews*, 2(4), 243-256.
- Miziorko, H. M. (2011). Enzymes of the mevalonate pathway of isoprenoid biosynthesis. *Archives of biochemistry and biophysics*, 505(2), 131-143.
- Moein, S., Moein, M., ve Javid, H. (2022). Inhibition of α -Amylase and α -Glucosidase of Anthocyanin Isolated from *Berberis integerrima* Bunge Fruits: A Model of Antidiabetic Compounds. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022(1), 6529590.
- Mohankumari, H. P., Naidu, K. A., Narasimhamurthy, K., ve Vijayalakshmi, G. (2021). Bioactive pigments of *Monascus purpureus* attributed to antioxidant, HMG-CoA reductase inhibition and anti-atherogenic functions. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 590427.
- Nelson, D. L., ve Cox, M. M. (2005). Lehninger. Principles of biochemistry, 4.
- Nwozo, S., Adaramoye, O., ve Ajaiyeoba, E. (2009). Oral administration of extract from *Curcuma longa* lowers blood glucose and attenuates alloxan-induced hyperlipidemia in diabetic rabbits. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8(5), 625-628.
- OKUMUŞ, G., YILDIZ, E., ve BAYİZİD, A. A. (2015). Doğal antioksidan bileşikler: Narıyan ürünlerinin antioksidan olarak değerlendirilmesi. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 29(2).
- Oliveira, E. F., Santos-Martins, D., Ribeiro, A. M., Bras, N. F., Cerqueira, N. S., Sousa, S. F., ... ve Fernandes, P. A. (2016). HMG-CoA Reductase inhibitors: an updated review of patents of novel compounds and formulations (2011-2015). *Expert opinion on therapeutic patents*, 26(11), 1257-1272.
- Öğüt, S., ve Atay, E. (2012). Yaşlılık ve oksidatif stres. *Medical Journal of Süleyman Demirel University*, 19(2), 68-74.
- Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G., ve Yönden, Z. (2015). Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6(3), 331-336.

- Örsçelik, Ö., Şahin, E. E., ve Çelik, A. (2018). Ksantelazma ile Başvuran Homozigot Familial Hiperkolesterolemi Olgusu. *Causapedia*, 7(2), 73-75.
- Prakash, O., Chandra, M., Punetha, H., Pant, A. K., ve Rawat, D. S. (2016). Spiked Ginger Lily (*Hedychium spp.*) Oils. In *Essential oils in food preservation, flavor and safety* (pp. 737-750). Academic Press.
- Petnual, P., Sangvanich, P., ve Karnchanatat, A. (2010). A lectin from the rhizomes of turmeric (*Curcuma longa* L.) and its antifungal, antibacterial, and α -glucosidase inhibitory activities. *Food Science and Biotechnology*, 19(4), 907-916.
- Poovitha, S., ve Parani, M. (2016). In vitro and in vivo α -amylase and α -glucosidase inhibiting activities of the protein extracts from two varieties of bitter gourd (*Momordica charantia* L.). *BMC complementary and alternative medicine*, 16(Suppl 1), 185.
- Ramachandran, C., Nair, S. M., Quirrin, K. W., ve Melnick, S. J. (2013). Hypolipidemic effects of a proprietary Commiphora Mukul gum resin extract and medium-chain triglyceride preparation (GU-MCT810). *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 18(4), 248-256.
- Ramsay, R. R., ve Tipton, K. F. (2017). Assessment of enzyme inhibition: a review with examples from the development of monoamine oxidase and cholinesterase inhibitory drugs. *Molecules*, 22(7), 1192.
- Rasheed, D. M., Porzel, A., Frolov, A., El Seedi, H. R., Wessjohann, L. A., ve Farag, M. A. (2018). Comparative analysis of Hibiscus sabdariffa (roselle) hot and cold extracts in respect to their potential for α -glucosidase inhibition. *Food chemistry*, 250, 236-244.
- 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.
- Sakulkeo, O., Wattanapiromsakul, C., Pitakbut, T., ve Dej-Adisai, S. (2022). Alpha-Glucosidase Inhibition and Molecular Docking of Isolated Compounds from Traditional Thai Medicinal Plant, *Neuropeltis racemosa* Wall. *Molecules*, 27(3), 639.
- Santos, C. M., Freitas, M., ve Fernandes, E. (2018). A comprehensive review on xanthone derivatives as α -glucosidase inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 157, 1460-1479.
- Santos-Sánchez, G., Álvarez-López, A. I., Ponce-España, E., Lardone, P. J., Carrillo-Vico, A., ve Cruz-Chamorro, I. (2024). Food-derived peptides with inhibitory capacity for HMG-CoA reductase activity: a potential nutraceutical for hypercholesterolemia. *Food Science and Human Wellness*, 13(6), 3083-3094.

- Serafini, M., ve Del Rio, D. (2004). Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool?. *Redox report*, 9(3), 145-152.
- Simsek, S. (2021). Angiotensin I-converting enzyme, dipeptidyl peptidase-IV, and α -glucosidase inhibitory potential of hazelnut meal protein hydrolysates. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(5), 4490-4496.
- Sniderman, A. D., Williams, K., Contois, J. H., Monroe, H. M., McQueen, M. J., de Graaf, J., ve Furberg, C. D. (2011). A meta-analysis of low-density lipoprotein cholesterol, non-high-density lipoprotein cholesterol, and apolipoprotein B as markers of cardiovascular risk. *Circulation: Cardiovascular Quality and Outcomes*, 4(3), 337-345.
- Takahashi, T., Ishii, N., Itai, K., Goto, R., Higashi, K., ve Kobori, S. (2005). HMG-CoA reductase inhibitors suppress the development and progression of carotid artery intimal-medial thickening in hypercholesterolemic type 2 diabetic patients. *Journal of atherosclerosis and thrombosis*, 12(3), 149-153.
- Tao, Y., Zhang, Y., Cheng, Y., ve Wang, Y. (2013). Rapid screening and identification of α -glucosidase inhibitors from mulberry leaves using enzyme-immobilized magnetic beads coupled with HPLC/MS and NMR. *Biomedical chromatography*, 27(2), 148-155.
- Taslimi, P., Kocyigit, U. M., Tüzün, B., ve Kirici, M. (2022). Biological effects and molecular docking studies of Catechin 5-O-gallate: Antioxidant, anticholinergics, antiepileptic and antidiabetic potentials. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 40(6), 2489-2497.
- Taslimi, P., ve Gulçin, İ. (2017). Antidiabetic potential: In vitro inhibition effects of some natural phenolic compounds on α -glycosidase and α -amylase enzymes. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 31(10), e21956.
- Taslimi, P., ve Gulçin, İ. (2018). Antioxidant and anticholinergic properties of olivetol. *Journal of food biochemistry*, 42(3), e12516.
- Tüzün, B. (2020). Examination of anti-oxidant properties and molecular docking parameters of some compounds in human body. *Turkish Computational and Theoretical Chemistry*, 4(2), 76-87.
- Wariyapperuma, W. N. M., Kannangara, S., Wijayasinghe, Y. S., Subramaniam, S., ve Jayawardena, B. (2020). In vitro anti-diabetic effects and phytochemical profiling of novel varieties of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) extracts. *PeerJ*, 8, e10070.
- Weiss, L. D. (2020). Tingling and Numbness. *Clinical Diagnosis in Physical Medicine & Rehabilitation E-Book: Case by Case*, 123.
- Yadav, A., Kumari, R., Yadav, A., Mishra, J. P., Srivastava, S., ve Prabha, S. (2016). Antioxidants and its functions in human body-A Review. *Res. Environ. Life Sci*, 9(11), 1328-1331.

- Xie, G., Yan, J., Lu, A., Kun, J., Wang, B., Song, C., ... ve Meng, Q. (2021). Characterizing relationship between chemicals and in vitro bioactivities of teas made by six typical processing methods using a single *Camellia sinensis* cultivar, Meizhan. *Bioengineered*, 12(1), 1251-1263.
- Vinholes, J., ve Vizzotto, M. (2017). Synergisms in alpha-glucosidase inhibition and antioxidant activity of *camellia sinensis* l. kuntze and *eugenia uniflora* l. ethanolic extracts. *Pharmacognosy research*, 9(1), 101.
- Yang, J., Li, H., Wang, X., Zhang, C., Feng, G., ve Peng, X. (2021). Inhibition mechanism of α -amylase/ α -glucosidase by silibinin, its synergism with acarbose, and the effect of milk proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(36), 10515-10526.
- Zahra Bathaie, S., Ashrafi, M., Azizian, M., ve Tamanoi, F. (2017). Mevalonate pathway and human cancers. *Current molecular pharmacology*, 10(2), 77-85.
- Zheng, Y., Zhang, R., Huang, F., Cheng, L. H., Xu, L., ve Jia, X. (2023). α -Glucosidase inhibitors derived from black soybean and their inhibitory mechanisms. *LWT*, 189, 115502.

EKLER

Ek 1. Yapay zekâ kullanım tablosu

No	Yapay Zekâ Aracı	Kullanım Amacı	Kullanıldığı Bölüm	Kullanım Şekli
1	ChatGPT (OpenAI)	İmla hatalarını düzeltmek, paragrafların akışa uygunluğunu kontrol etmek, İngilizce çeviri ve düzeltme	Özet, Giriş, Literatür taraması, Bulgular ve tartışma, Sonuç ve öneriler	Paragrafların akademik biçimde olmalarını sağlamak amacıyla verilen bilgilerin dışına çıkmayacak şekilde düzenlemeler ve öneriler alınmıştır. İngilizce bölümlerindeki hatalar ve gerekli düzeltmeler yapılmıştır.
2	Google Gemini	Tablo ve çizelgelerin yorumlanmalarında öneri alma ve tasarım düzeltmeleri	Bulgular ve tartışma, Sonuç ve öneriler	Deney sonuçlarından elde edilen bilgilerin tasarımsal olarak düzenlenmesi ve sıralama gibi bulguların yazımında ulaşılan sonuçlara tabi olacak şekilde öneri almak amacıyla kullanılmıştır.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Arslan Recep ŞAHİN

Eğitim Durumu

Lisans Öğrenimi : Bartın Üniversitesi Biyoteknoloji Bölümü

Yüksek Lisans Öğrenimi : Bartın Üniversitesi Biyoteknoloji Bölümü

Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

Bilimsel Faaliyet/Yayınlar : Bakü-Azerbaycan Avrasya Kongresi, 15. Uluslararası İstanbul Bilimsel Araştırma Kongresi, IMASCON Kongresi, 2 ayrı TÜBİTAK 2209-a Projesi (biri dergipark.org.tr de (Yılmaz ve Şahin, 2023) yayımlandı), researchgate.net de yayımlanmış bir makale (Askarova vd., 2024) ve researchgate.net de yayımlanmış kitap bölümü (Şahin vd., 2024)

İş Deneyimi

Stajlar : Okul stajı Temmuz 2020 - Eylül 2020 (Bartın Üniversitesi Araştırma Laboratuvarı)

