

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANA BİLİM DALI



**NEPETA BAYTOPII HEDGE ET LAMOND BİTKİSİNİN
FİTOKİMYASAL VE AKTİVİTE YÖNLENDİRMELİ
İZOLASYON ÇALIŞMALARI**

Doktora Tezi

Semiha YENİGÜN

Danışman

Prof. Dr. Tefik ÖZEN

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 119Z442 proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN
2023

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Doktora tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi ?

Evet ☐ (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır ☒

14 / 06 / 2023
Semiha YENİGÜN

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı : *NEPETA BAYTOPII* HEDGE ET LAMOND BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL VE AKTİVİTE YÖNLENDİRMELİ İZOLASYON ÇALIŞMALARI

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 14/06/2023 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 11

Tek kaynak oranı : % 3 çıkmıştır.

14 / 06 / 2023
Prof. Dr. Tefik ÖZEN

ÖZET

NEPETA BAYTOPII HEDGE ET LAMOND BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL VE AKTİVİTE YÖNLENDİRMELİ İZOLASYON ÇALIŞMALARI

Semiha YENİGÜN
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Kimya Ana Bilim Dalı
Doktora, Ağustos/2023
Danışman: Prof. Dr. Tevfik ÖZEN

Nepeta türleri, iridoidler ve ikincil metabolitler bakımından zengin *Lamiaceae* familyasının en önemli üyesidir ve antioksidan, antimikrobiyal, idrar söktürücü, astım önleyici, antiseptik, analjezik, antikanser, antienflamatuar ve böcek öldürücü özellikleri bulunmaktadır. Bingöl’de toplanan endemik *Nepeta baytopii* Hedge & Lamond bitkisinin toprak üstü kısmının aktivite yönlendirmeli izolasyon çalışmaları gerçekleştirilerek antioksidan, enzim inhibitörü, antibakteriyel ve DNA koruma aktiviteleri gösteren moleküller saflaştırıldı.

N. baytopii (NB) bitkisinin metanol:kloroform (MK) çözücü karışımı ile ham ekstrakt elde edildi. Bu ekstrakta silika jel kolon kromatografisi uygulandı ve sırasıyla *n*-hekzan (H), kloroform (K), etil asetat (E) ve metanol (M) çözümleri kullanılarak birinci fraksiyonlar elde edildi. Ham ekstraktın ve birinci fraksiyonların fitokimyasal analizleri ve biyoaktiviteleri spektroskopik teknikler kullanılarak belirlendi. Birinci fraksiyonlara kolon kromatografisi uygulanarak ikinci fraksiyonlar elde edildi ve aktivite testleri uygulandı. Aktif fraksiyonlar biyoaktivite yönlendirmeli fraksiyonlandırma ile belirlendi. Daha sonra biyoaktif fraksiyonlara kolon kromatografisi veya *preparatif*-HPLC kullanılarak bileşikler saflaştırıldı ve molekül yapıları farklı NMR teknikleri ile aydınlatıldı. Ekstraktın, fraksiyonların ve saf moleküllerin aktivite sonuçları, temel bileşen ve SPSS analizleri ile değerlendirildi.

Ham ekstraktın toplam fenol ve flavonoid miktarları sırayla 20.24±0.15 mg GAE/g ekstrakt ve 12.86±0.05 mg KE/g ekstrakt olarak belirlendi. Ekstraktın ana bileşenlerinin rosmarinik asit, cis-11-eikosanoat ve palmitat olduğu kaydedildi. NBH fraksiyonunun ana bileşeni 9,12,15-oktadekatrienoik asit, metil esteri ve oktadekanoik asit, metil esteri iken NBK, NBE ve NBM’nin ana bileşeni kuersetin-3-glikozittir. NBH fraksiyonları; yüksek indirgeme gücü, H₂O₂ ve süperoksit anyonu giderme, BChE, α -amilaz ve tirozinaz inhibisyon aktiviteleri gösterdi. NBHFr4, NBHFr5 ve NBHFr9 aktif fraksiyonlardır. NBK fraksiyonları; etkili antioksidan, BChE ve lipaz inhibisyon aktiviteleri gösterdiği belirlendi ve NBKFr5 aktif fraksiyondur. NBE fraksiyonları; H₂O₂ giderme ve metal şelat aktivitelerinde aktif olduğu bulundu ve NBEFr10 aktif fraksiyondur. NBM fraksiyonları; aktif indirgeme gücü ve H₂O₂ giderme aktivitelerini gösterdi ve NBMFr3, NBMFr4 ve NBMFr7 aktif fraksiyonları olarak kaydedildi. Aktif fraksiyonlardan apigenin, iksorozit, daukosterol, ursolik asit, β -sitosterol ve Molekül L bileşikleri saflaştırıldı ve karakterize edildi. Moleküllerin biyoaktiviteleri, enzim inhibisyon kinetikleri ve moleküler doking yapıları belirlendi.

Sonuç olarak, biyoaktivite yönlendirmeli izolasyon çalışmalarıyla izole edilen moleküllerin, oksidatif hasarlara karşı antioksidan, metabolik enzimlerin aktivitelerini düzenleyici ve DNA hasarlarına koruyucu moleküller oldukları belirlendi.

Anahtar Sözcükler: *Nepeta baytopii*, Fitokimyasal analizler, Fraksiyonlandırma, Kolon kromatografisi, Biyoaktivite yönlendirmeli izolasyon, Moleküler doking

ABSTRACT

PHOTOCHEMICAL AND ACTIVITY GUIDED ISOLATION STUDIES OF *NEPETA BAYTOPII* HEDGE ET LAMOND PLANT

Semiha YENİGÜN

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Chemistry

Ph.D., August/2023

Supervisor: Prof. Dr. Tevfik ÖZEN

Nepeta species are the most important members of the Lamiaceae family, rich in iridoids and secondary metabolites and, have antioxidant, antimicrobial, diuretic, anti-asthmatic, antiseptic, analgesic, anticancer, anti-inflammatory, insecticidal properties. Molecules were purified showing antioxidant, enzyme inhibitor, antibacterial, and DNA protection activities by performing activity-directed isolation studies of the aerial part of the endemic *Nepeta baytopii* Hedge & Lamond collected in Bingöl.

The crude extract of the *N. baytopii* (NB) plant was obtained with a methanol:chloroform (MK) solvent mixture. The this extract applying silica gel column chromatography and first fractions were collected using *n*-hexane (H), chloroform (K), ethyl acetate (E), and methanol (M) solvents, respectively. Phytochemical analyzes and bioactivities of crude extract and first fractions were determined using spectroscopic techniques. Second fractions were obtained applying column chromatography the first fractions and were applied activity tests. Active fractions were determined by bioactivity guided fractions. Then, the compounds were purified using column chromatography or *preparative*-HPLC to bioactive fractions, and their molecular structures were elucidated by different NMR techniques. The activity results of the extract, fractions, and pure molecules were evaluated by principal component and SPSS analyses.

The crude extract's total phenol and flavonoid amounts were determined as 20.24±0.15 mg GAE/g extract and 12.86±0.05 mg CE/g extract, respectively. It was noted that the main components of the extract were rosmarinic acid, cis-11-eicosanoate, and palmitate. The main component of the NBH fraction is 9,12,15-octadecatrienoic acid, its methyl ester and octadecanoic acid, methyl ester, while the NBK, NBE, and NBM is quercetin-3-glycoside. NBH fractions; showed high reducing power, H₂O₂ and superoxide anion scavenging, BChE, α -amylase, and tyrosinase inhibition. NBHFr4, NBHFr5, and NBHFr9 are active fractions. NBK fractions; showed effective antioxidant, BChE, and lipase inhibition, and NBKFr5 is the active fraction. NBE fractions; showed active in H₂O₂ scavenging and metal chelating activities, and NBEFr10 is the active fraction. NBM fractions; showed active reducing power and H₂O₂ scavenging activities and were recorded as active fractions of NBMFr3, NBMFr4, and NBMFr7. From the active fractions, apigenin, ixoroside, daucosterol, ursolic acid, β -sitosterol, and Molecule L were purified. The molecules' bioactivities, enzyme kinetics, and molecular docking structures were determined.

As a result, it was determined that the molecules isolated by bioactivity-directed isolation studies were antioxidants against oxidative damages, regulating the activities of metabolic enzymes and protective molecules against DNA damages.

Keywords: *Nepeta baytopii*, Phytochemical analysis, Fractionation, Column chromatography, Bioactivity guided isolation, Molecular docking

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmalarına destek veren Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)'na teşekkürlerimi sunarım.

Doktora sürecimde bilgi ve deneyimlerini paylaşan, beni yönlendiren, tecrübelerinden faydalanırken gösterdiği hoşgörülü davranışı, yardımseverliği ve sabrından dolayı değerli danışman hocam Prof. Dr. Tefvik ÖZEN'e, TÜBİTAK 1001 kodlu projede bursiyer olarak çalışma imkânı sağlayan saygıdeğer hocam Prof. Dr. İbrahim DEMİRTAŞ'a ve bitkiyi temininde yardımcı olan Prof. Dr. Lütfi BEHÇET'e teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarımı gerçekleştirdiğim süreçte katkıda bulunan bölümdeki ve bölüm dışındaki hocalarıma, çalışanlara ve arkadaşlarıma; laboratuvar ve çalışma arkadaşlarım Sarmad MARAH, Hiba OMER, Onur Furkan BAYRAM, Arş. Gör. Serbay Şafak GÖKÇİMEN, Sinem YILMAZ, Banu BOZOĞLU, Arş. Gör. Hilal ATEŞ, Noor NAYEL'e; proje ekibinde yer alan çalışma arkadaşlarım Yunus BAŞAR, Yaşar İPEK ve Mesut GÖK'e; Dr. Öğr. Üyesi Fatih GÜL hocama desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Beni büyütüp bugünlere gelmemi sağlayan, hayatımın her döneminde sonsuz sevgi, sabır ve anlayışla yanımda olan, eğitim hayatımdaki en öncelikli öğretmenim, en büyük yol göstericim, maddi ve manevi destekçim, hayatımın her adımında beni yüreklendiren, her daim bana inanan ve güvenen canımın içi annem Sabire YENİGÜN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Semiha YENİGÜN

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xviii
1. GİRİŞ	1
1.1. Tezin Amacı ve Önemi	3
2. KURAMSAL TEMELLER.....	6
2.1. Fitokimyasallar	6
2.2. İkincil Metabolitler	6
2.3. Antioksidanlar.....	7
2.4. Enzimler.....	8
2.4.1. Enzim Aktivitesi	9
2.4.2. Enzim İnhibisyonu	9
2.4.2.1. Yarışmalı İnhibisyon.....	10
2.4.2.2. Yarışmasız İnhibisyon	10
2.4.2.3. Yarı yarışmalı İnhibisyon.....	11
2.5. Asetilkolinesteraz ve Bütirilkolinesteraz	12
2.6. Karbonik Anhidraz.....	13
2.7. Lipaz	14
2.8. α -Amilaz ve α -Glikozidaz.....	15
2.9. Tirozinaz	16
2.10. Üreaz.....	17
2.11. Antimikrobiyal.....	17
2.12. Biyoaktivite Yönlendirmeli İzolasyon	19
2.12.1. Biyoaktivite Yönlendirmeli Uygulamalarda Kullanılan Teknikler.....	19
2.12.1.1. İnce Tabaka Kromatografisi	19
2.12.1.2. Preparatif-HPLC	20
2.12.1.3. LC-MS/MS	20
2.12.1.4. GC-MS.....	20
2.12.1.5. NMR	21
2.13. Moleküler Doking	22
2.14. <i>Lamiaceae</i> Ailesi ve <i>Nepeta</i> Türleri Hakkında Genel Bilgiler	23
2.14.1. <i>Nepeta</i> Türlerinin Sınıflandırılması	23
2.14.2. <i>Nepeta</i> Türlerinin Dünya'daki Durumu	23
2.14.3. <i>Nepeta</i> Türlerinin Türkiye Florasındaki Durumu	24
2.14.4. <i>Nepeta</i> Türlerinin Temel Kimyasal Bileşikleri	24
2.14.5. <i>Nepeta</i> Türlerinin Kullanım Alanları	25
2.14.6. <i>Nepeta</i> Türlerinin Biyolojik Aktiviteleri.....	26
2.15. <i>Nepeta baytopii</i> Hedge Et Lamond (Beynanesi).....	28
2.16. İzole Edilen Bileşikler Hakkında Genel Bilgiler	29
2.16.1. Apigenin.....	29
2.16.2. β -Sitosterol.....	31
2.16.3. Daukosterol	31
2.16.4. İksorozit	31
2.16.5. Ursolik Asit.....	32
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	34

3.1. Kullanılan Kimyasallar	34
3.2. Kullanılan Cihazlar	34
3.3. Bitki Materyallerinin Toplanması ve Kurutulması	35
3.4. Ekstraksiyon.....	35
3.5. Fraksiyonlandırma, İzolasyon ve Saflaştırma	35
3.5.1. <i>Preparatif</i> -HPLC	36
3.5.2. İnce Tabaka Kromatografisi.....	37
3.5.3. NMR Spektroskopisi.....	37
3.5.4. LC-MS/MS	38
3.6. Fitokimyasal Yöntemler.....	38
3.6.1. Toplam Fenol Miktarı Tayini.....	38
3.6.2. Toplam Flavonoid Miktarı Tayini.....	39
3.6.3. HPLC-MS/MS	40
3.6.4. GC-MS/MS	42
3.6.5. GC-MS	43
3.6.6. GC-FID	43
3.7. <i>In vitro</i> Biyoaktivite Yöntemleri.....	44
3.7.1. Antioksidan Aktivite Tayinleri	45
3.7.1.1. Fosfomolibdenyum İndirgeme Aktivitesi	45
3.7.1.2. İndirgeme Gücü	46
3.7.1.3. H ₂ O ₂ Giderme Aktivitesi	46
3.7.1.4. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi.....	47
3.7.1.5. ABTS ^{•+} Giderme Aktivitesi	47
3.7.1.6. Süperoksit Anyonu Giderme Aktivitesi	48
3.7.1.7. Metal Şelat Aktivitesi	49
3.7.2. Enzim İnhibisyon Aktiviteleri ve İnhibisyon Kinetikleri.....	49
3.7.2.1. Üreaz İnhibisyon Aktivitesi ve İnhibisyon Kinetiği	50
3.7.2.2. Asetikolinesteraz İnhibisyon Aktivitesi ve İnhibisyon Kinetiği	50
3.7.2.3. Bütirilkolinesteraz İnhibisyon Aktivitesi ve İnhibisyon Kinetiği	51
3.7.2.4. Karbonik Anhidraz İnhibisyon Aktivitesi ve İnhibisyon Kinetiği	52
3.7.2.5. α-Amilaz İnhibisyon Aktivitesi ve İnhibisyon Kinetiği.....	52
3.7.2.6. α-Glikozidaz İnhibisyon Aktivitesi ve İnhibisyon Kinetiği.....	53
3.7.2.7. Lipaz İnhibisyon Aktivitesi ve İnhibisyon Kinetiği.....	53
3.7.2.8. Tirozinaz İnhibisyon Aktivitesi ve İnhibisyon Kinetiği.....	54
3.7.3. DNA Koruma ile İlgili Aktiviteler	54
3.7.3.1. Deoksiriboz Koruma Aktivitesi	54
3.7.3.2. Jel Elektroforezle DNA Koruma Aktivitesi	55
3.7.4. Antimikrobiyal Aktivitesi	56
3.7.4.1. Bakterilerin Çoğaltılması ve Saklanması	56
3.7.4.2. Disk Difüzyon Metodu	56
3.7.4.3. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon Metodu	57
3.7.5. İstatistiksel analiz.....	58
3.7.6. Moleküler Doking Çalışmaları.....	58
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	60
4.1. Fitokimyasal Yöntemler.....	60
4.1.1. Ekstraksiyon Verimi	61
4.1.2. Toplam Fenol Miktarları	62
4.1.3. Toplam Flavonoid Miktarları.....	64
4.1.4. HPLC-MS/MS Analiz Sonuçları	65
4.1.5. GC-MS/MS Analiz Sonuçları	68
4.1.6. GC-MS Analiz Sonuçları	69
4.1.7. GC-FID Analiz Sonuçları	73
4.2. <i>In vitro</i> Biyoaktivite Yöntemleri.....	74
4.2.1. Antioksidan Aktivite Sonuçları.....	75
4.2.1.1. Fosfomolibdenyum İndirgeme Aktiviteleri	76

4.2.1.2. İndirgeme Gücü Kapasiteleri	78
4.2.1.3. H ₂ O ₂ Giderme Aktiviteleri	81
4.2.1.4. Serbest Radikal Giderme Aktiviteleri	83
4.2.1.5. ABTS ^{•+} Giderme Aktiviteleri	89
4.2.1.6. Süperoksit Anyonu Giderme Aktivitesi	92
4.2.1.7. Metal Şelat Aktiviteleri	94
4.2.2. Enzim İnhibisyonlarının Sonuçları	96
4.2.2.1. Üreaz İnhibisyonları	97
4.2.2.2. Asetilkolinesteraz İnhibisyonları	99
4.2.2.3. Bütirilkoliesteraz İnhibisyonları	102
4.2.2.4. Karbonik Anhidraz İnhibisyonları	105
4.2.2.5. α-Amilaz İnhibisyonları	107
4.2.2.6. α-Glikozidaz İnhibisyonları	109
4.2.2.7. Lipaz İnhibisyonları	113
4.2.2.8. Tirozinaz İnhibisyonları	115
4.2.3. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları	117
4.2.3.1. Disk Difüzyon Metodu	118
4.2.3.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon Metodu	125
4.2.4. DNA Koruma İle İlgili Aktivite Sonuçları	131
4.2.4.1. Deoksiriboz Koruma Aktiviteleri	131
4.2.4.2. Jel Elektroforezle DNA Koruma Aktiviteleri	133
4.3. Temel Bileşen Analizi ile <i>N. baytopii</i> Ham Ekstraktın ve Fraksiyonların Aktivite Sonuçlarının Arasındaki İlişkinin Belirlenmesi	139
4.3.1. Antioksidan ve DNA Koruma Aktiviteleri Arasındaki İlişki	139
4.3.2. Enzim İnhibisyonları Arasındaki İlişki	141
4.3.3. Antimikrobiyal Aktiviteler Arasındaki İlişki	144
4.4. Saflaştırılan Bileşikler	147
4.4.1. Apigenin	147
4.4.1.1. Apigeninin Karakterizasyonu	148
4.4.1.2. Apigeninin Enzim İnhibisyon Kinetikleri	150
4.4.1.3. Apigeninin Moleküler Doking Çalışmaları	154
4.4.2. β-Sitosterol	163
4.4.2.1. β-Sitosterolün Karakterizasyonu	164
4.4.2.2. β-Sitosterolün Enzim İnhibisyon Kinetikleri	166
4.4.2.3. β-Sitosterolün Moleküler Doking Çalışmaları	171
4.4.3. Daukosterol	180
4.4.3.1. Daukosterolün Karakterizasyonu	180
4.4.3.2. Daukosterolün Enzim İnhibisyon Kinetikleri	182
4.4.3.3. Daukosterolün Moleküler Doking Çalışmaları	187
4.4.4. İksorozit	196
4.4.4.1. İksorozitin Karakterizasyonu	196
4.4.4.2. İksorozitin Enzim İnhibisyon Kinetikleri	199
4.4.4.3. İksorozitin Moleküler Doking Çalışmaları	203
4.4.5. Molekül L	212
4.4.5.1. Molekül L Bileşiğinin Karakterizasyonu	212
4.4.5.2. Molekül L'nin Enzim İnhibisyon Kinetikleri	216
4.4.5.3. Molekül L Bileşiğinin Moleküler Doking Çalışmaları	220
4.4.6. Ursolik Asit	229
4.4.6.1. Ursolik Asidin Karakterizasyonu	229
4.4.6.2. Ursolik Asidin Enzim İnhibisyon Kinetikleri	232
4.4.6.3. Ursolik Asidin Moleküler Doking Çalışmaları	237
5. SONUÇ	247
KAYNAKLAR	253
ÖZ GEÇMİŞ	282

SİMGELER VE KISALTMALAR

$(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4).6\text{H}_2\text{O}$: Amonyum Demir (II) Sülfat Hekzahidrat

$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}.4\text{H}_2\text{O}$: Amonyum Heptamolibdat Tetrahidrat

1D : 1 Boyutlu

2D : 2 Boyutlu

3D : 3 Boyutlu

$A_{0.5}$: Olası Maksimum Etkinin %50'sini Oluşturan Konsantrasyon

ABTS^{•+} : 2,2-azinobis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)

ACh : Asetilkolin

AChE : Asetilkolinesteraz

AlCl_3 : Alüminyum Klorür

BCh : Bütirilkolin

BChE : Bütirilkolinesteraz

BHA : Bütilenmiş Hidroksianisol

CaCl_2 : Kalsiyum Klorür

CFU : Koloni Oluşturan Birim

CH_3COOK : Potasyum Asetat

DMSO : Dimetil Sülfoksit

DPPH[•] : 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil

DTNB : 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit)

EDTA : Etilendiamintetraasetik Asit

EtBr : Etidyum Bromür

FeCl_2 : Demir (II) Klorür

$\text{FeCl}_2.4\text{H}_2\text{O}$: Demir (II) Klorür Tetrahidrat

FeCl_3 : Demir (III) Klorür

FeSO_4 : Demir (II) Sülfat

GAE : Gallik Asit Eşdeğeri

GC : Gaz Kromatografisi

HPLC : Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

IC_{50} : Olası Maksimum Etkinin %50'sini İnhibe Ettiği Konsantrasyon

İTK : İnce Tabaka Kromatografisi

$\text{K}_2\text{H}_2\text{PO}_4$: Dipotasyum Dihidrojen Fosfat

K_2HPO_4 : Dipotasyum Hidrojen Fosfat

K ₂ S ₂ O ₈	: Potasyum Persülfat
K ₃ Fe(CN) ₆	: Potasyum Ferrisiyanür
KE	: Kuersetin Eşdeğeri
KI	: Potasyum İyodür
L-DOPA	: 3,4-dihidroksi-L-fenilalanin
MgCl ₂	: Magnezyum Klorür
MHA	: Mueller Hinton Agar
MHB	: Mueller Hinton (II) Broth
MİK	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
MS	: Kütle Spektrometrisi
NAD	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NADH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Hidrojen
NBT	: Nitro Blue Tetrazolium
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
NB	: <i>Nepeta baytopii</i> Hedge & Lamond
NBMK	: <i>Nepeta baytopii</i> metanol:kloroform ekstraktı
NBH	: <i>Nepeta baytopii</i> n-hekzan ekstraktı
NBK	: <i>Nepeta baytopii</i> kloroform ekstraktı
NBE	: <i>Nepeta baytopii</i> etil asetat ekstraktı
NBM	: <i>Nepeta baytopii</i> metanol ekstraktı
PMS	: Fenazin metasülfat
PNPG	: 4-nitrofenil α-D-glikopiranosid
TBA	: Tiyoarbitürik Asit
TBHQ	: <i>ter</i> -Bütil Hidrokinon
TCA	: Trikloroasetik Asit
U	: Enzim Ünitesi
UV-Vis	: Ultraviyole-Görünür Bölge

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Antioksidanların sınıflandırılması	8
Şekil 2.2. İnhibitörün enzime yarışmalı inhibisyon ile etkileşimi, Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri	10
Şekil 2.3. İnhibitörün enzime yarışmasız inhibisyon ile etkileşimi, Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri	11
Şekil 2.4. İnhibitörün enzime yarı yarışmalı inhibisyon ile etkileşimi, Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri	11
Şekil 2.5. Gram-negatif ve gram-pozitif bakteriler arasındaki farklar	19
Şekil 2.6. a) Türkiye' de <i>N. baytopii</i> ' nin bulunduğu bölge haritası (B8) (Mikail vd, 2011), b) <i>N. baytopii</i> (Lütfi Behçet tarafından çekilmiştir.)	28
Şekil 2.7. Apigenin farmakolojik özellikleri.....	29
Şekil 3.1. <i>N. baytopii</i> toprak üstü kısmının metanol:kloroform (1:1) ile ekstraksiyonu.....	35
Şekil 3.2. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktına birinci ve ikinci fraksiyonlarının silika jel kolon kromatografisi ile ayrıştırması uygulamaları	36
Şekil 3.3. <i>p</i> -HPLC cihazının görüntüsü (Thermo, Iğdır Üniversitesi, ALUM)	37
Şekil 3.4. NMR cihazının görüntüsü (600 MHz Frekanslı, Çankırı Karatekin Üniversitesi, ÇANKAM)	38
Şekil 3.5. LC-MS/MS cihazının görüntüsü (Agilent 6460 Triple Quad, Iğdır Üniversitesi, ALUM)	38
Şekil 3.6. Gallik asit standart kalibrasyon grafiği	39
Şekil 3.7. Kuersetin standart kalibrasyon grafiği	40
Şekil 3.8. Standart yapıların HPLC-MS/MS kromatogramları	42
Şekil 3.9. GC-MS/MS cihazının görüntüsü (Agilent 7000 Triple Quad, Iğdır Üniversitesi, ALUM)	43
Şekil 3.10. GC-MS cihazının görüntüsü (Thermo, Iğdır Üniversitesi, ALUM)	43
Şekil 3.11. GC-FID cihazının görüntüsü (Agilent 7820 A, Iğdır Üniversitesi, ALUM)	44
Şekil 3.12. <i>N. baytopii</i> ham ekstraktı, fraksiyonları ve izolatların aktivite şeması	45
Şekil 3.13. Amonyum molibdenyumun indirgeme mekanizması	46
Şekil 3.14. İndirgeme gücü tayininde Fe'in indirgeme mekanizması	46
Şekil 3.15. H ₂ O ₂ giderme aktivitesindeki reaksiyon mekanizması	47
Şekil 3.16. DPPH [•] radikalinin antioksidan tarafından giderilmesi.....	47
Şekil 3.17. ABTS ^{•+} katyonik radikal oluşumu ve antioksidanlarla radikal giderme mekanizması	48
Şekil 3.18. PMS-NADH reaksiyonu ile üretilen süperoksit anyon radikalinin NBT'yi indirgemesi	48
Şekil 3.19. Fe (II)-ferrozin kompleksinin oluşum mekanizması.....	49
Şekil 3.20. İndofenol oluşum reaksiyonu.....	50
Şekil 3.21. Asetilkolinesteraz inhibisyonu mekanizması.....	51

Şekil 3.22. Bütirilkolinesteraz inhibisyonu mekanizması.....	51
Şekil 3.23. Karbonik anhidrazın esteraz mekanizması	52
Şekil 3.24. Nişastanın α -amilaz ile hidrolizi	52
Şekil 3.25. α -Glikozidazın inhibisyon mekanizması.....	53
Şekil 3.26. <i>p</i> -Nitrofenil oktanoattan <i>p</i> -nitrofenol ve oktanoat oluşum reaksiyonu	54
Şekil 3.27. L-DOPA'dan dopakinon oluşumu ve melanin sentezi	54
Şekil 3.28. 2-Deoksiribozdan MDA oluşum mekanizması.....	55
Şekil 3.29. OH ⁻ ile plazmid DNA oksidasyonunun mekanizması.....	56
Şekil 3.30. Disk difüzyon metodunun uygulaması	57
Şekil 3.31. MİK metodunun uygulaması	57
Şekil 4.1. <i>N. baytopii</i> bitkisinin kloroform, etil asetat, <i>n</i> -hekzan ve metanol birinci fraksiyonlardan ikinci fraksiyonların eldesi ve biyoaktivite testlerinin genel uygulama şeması	60
Şekil 4.2. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktı, kloroform, etil asetat ve metanol fraksiyonlarının HPLC-MS/MS kromatogramları.....	67
Şekil 4.3. <i>N. baytopii</i> <i>n</i> -hekzan ikinci fraksiyonlarının GC-MS kromatogramları	69
Şekil 4.4. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların aktivite şeması	75
Şekil 4.5. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktın, <i>n</i> -hekzan ve ikinci fraksiyonların ve izolatların DNA koruma aktivitesi, Agaroz jel görüntüsü (a), Plazmid DNA'nın form I (süper kıvrımlı çembersel DNA) ve form II (kesik DNA) etki yoğunluğunun yüzde karşılaştırması (b).....	134
Şekil 4.6. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktı, kloroform ve ikinci fraksiyonları ve izolatların DNA koruma aktivitesi, Agaroz jel görüntüsü (a), Plazmid DNA'nın form I (süper kıvrımlı çembersel DNA) ve form II (kesik DNA) etki yoğunluğunun yüzde karşılaştırması (b).....	135
Şekil 4.7. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktı, etil asetat ve ikinci fraksiyonları ve izolatların DNA koruma aktivitesi, Agaroz jel görüntüsü (a), Plazmid DNA'nın form I (süper kıvrımlı çembersel DNA) ve form II (kesik DNA) etki yoğunluğunun yüzde karşılaştırması (b).....	136
Şekil 4.8. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktı, metanol ve ikinci fraksiyonları ve izolatların DNA koruma aktivitesi, Agaroz jel görüntüsü (a), Plazmid DNA'nın form I (süper kıvrımlı çembersel DNA) ve form II (kesik DNA) etki yoğunluğunun yüzde karşılaştırması (b).....	137
Şekil 4.9. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktı, <i>n</i> -hekzan (a), kloroform (b), etil asetat (c) ve metanol (d) birinci ve ikinci fraksiyonların antioksidan ve DNA koruma aktivitelerinin temel bileşen analizi.....	140
Şekil 4.10. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktı, <i>n</i> -hekzan (a), kloroform (b), etil asetat (c) ve metanol (d) birinci ve ikinci fraksiyonlarının enzim inhibisyonlarının temel bileşen analizi	143
Şekil 4.11. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktı, <i>n</i> -hekzan (a), kloroform (b), etil asetat (c) ve metanol (d) birinci ve ikinci fraksiyonlarının antimikrobiyal aktivitelerinin temel bileşen analizi	145
Şekil 4.12. <i>N. baytopii</i> bitkisinin biyoaktivite yönlendirmeli izolasyon şeması	147

Şekil 4.13. Apigenin molekülünün yapısı.....	148
Şekil 4.14. Apigenin molekülünün MS kromatogramı	149
Şekil 4.15. Apigenin molekülünün ¹ H-NMR (DMSO) (a), ¹³ C-NMR (DMSO) (b), COSY (c), HSQC (d) ve HMBC (e) spektrumları	149
Şekil 4.16. Apigenin molekülünün varlığında üreaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri	150
Şekil 4.17. Apigenin molekülünün varlığında AChE inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri	151
Şekil 4.18. Apigenin molekülünün varlığında BChE inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk b) grafikleri	151
Şekil 4.19. Apigenin molekülünün varlığında KA inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri	152
Şekil 4.20. Apigenin molekülünün varlığında α-glikozidaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri.....	152
Şekil 4.21. Apigenin molekülünün varlığında lipaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri	153
Şekil 4.22. Apigenin molekülünün varlığında tirozinaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri	154
Şekil 4.23. Apigenin molekülünün üreaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	155
Şekil 4.24. Apigenin molekülünün AChE ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	155
Şekil 4.25. Apigenin molekülünün BChE ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	157
Şekil 4.26. Apigenin molekülünün KA ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	157
Şekil 4.27. Apigenin molekülünün α-amilaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	159
Şekil 4.28. Apigenin molekülünün α-glikozidaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	159
Şekil 4.29. Apigenin molekülünün lipaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	161
Şekil 4.30. Apigenin molekülünün tirozinaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	161
Şekil 4.31. β-Sitosterol molekülünün yapısı	164
Şekil 4.32. β-Sitosterol molekülünün MS kromatogramı	165
Şekil 4.33. β-Sitosterol molekülünün ¹ H-NMR (CDCl ₃) (a), ¹³ C-NMR (CDCl ₃) (b), COSY (c), HSQC (d) ve HMBC (e) spektrumları	166
Şekil 4.34. β-Sitosterol molekülünün varlığında üreaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri	166
Şekil 4.35. β-Sitosterol molekülünün varlığında AChE inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri	167
Şekil 4.36. β-Sitosterol molekülünün varlığında BChE inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri	168

Şekil 4.37. β -Sitosterol molekülünün varlığında KA inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri	168
Şekil 4.38. β -Sitosterol molekülünün varlığında α -glikozidaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri	169
Şekil 4.39. β -Sitosterol molekülünün varlığında lipaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri	170
Şekil 4.40. β -Sitosterol molekülünün varlığında tirozinaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri	170
Şekil 4.41. β -Sitosterol molekülünün üreaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	172
Şekil 4.42. β -Sitosterol molekülünün AChE ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	172
Şekil 4.43. β -Sitosterol molekülünün BChE ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	173
Şekil 4.44. β -Sitosterol molekülünün KA ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	173
Şekil 4.45. β -Sitosterol molekülünün α -amilaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	175
Şekil 4.46. β -Sitosterol molekülünün α -glikozidaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	175
Şekil 4.47. β -Sitosterol molekülünün lipaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	177
Şekil 4.48. β -Sitosterol molekülünün tirozinaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	177
Şekil 4.49. Daukosterol molekülünün yapısı	180
Şekil 4.50. Daukosterol molekülünün MS kromatogramı	181
Şekil 4.51. Daukosterol molekülünün ^1H -NMR (DMSO) (a), ^{13}C -NMR (DMSO) (b), COSY (c), HSQC (d) ve HMBC (e) spektrumları	182
Şekil 4.52. Daukosterol molekülünün varlığında üreaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri	183
Şekil 4.53. Daukosterol molekülünün varlığında AChE inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri	183
Şekil 4.54. Daukosterol molekülünün varlığında BChE inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri	184
Şekil 4.55. Daukosterol molekülünün varlığında KA inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri	185
Şekil 4.56. Daukosterol molekülünün varlığında α -glikozidaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri	185
Şekil 4.57. Daukosterol molekülünün varlığında lipaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri	186
Şekil 4.58. Daukosterol molekülünün varlığında tirozinaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri	187
Şekil 4.59. Daukosterol molekülünün üreaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	188

Şekil 4.60. Daukosterol molekülünün AChE ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	188
Şekil 4.61. Daukosterol molekülünün BChE ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	190
Şekil 4.62. Daukosterol molekülünün KA ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	190
Şekil 4.63. Daukosterol molekülünün α -amilaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	192
Şekil 4.64. Daukosterol molekülünün α -glikozidaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	192
Şekil 4.65. Daukosterol molekülünün lipaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	194
Şekil 4.66. Daukosterol molekülünün tirozinaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	194
Şekil 4.67. İksorozit molekülünün yapısı.....	197
Şekil 4.68. İksorozit molekülünün MS kromatogramı.....	198
Şekil 4.69. İksorozit molekülünün a) ^1H -NMR (DMSO), b) ^{13}C -NMR (DMSO), c) COSY, d) HSQC ve e) HMBC spektrumları	198
Şekil 4.70. İksorozit molekülünün varlığında üreaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten a) ve Lineweaver-Burk b) grafikleri.....	199
Şekil 4.71. İksorozit molekülünün varlığında AChE inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten a) ve Lineweaver-Burk b) grafikleri.....	200
Şekil 4.72. İksorozit molekülünün varlığında BChE inhibisyon türünün belirlenmesinde a) Michaelis-Menten ve b) Lineweaver-Burk grafikleri.....	200
Şekil 4.73. İksorozit molekülünün varlığında KA inhibisyon türünün belirlenmesinde a) Michaelis-Menten ve b) Lineweaver-Burk grafikleri.....	201
Şekil 4.74. İksorozit molekülünün varlığında α -glikozidaz inhibisyon türünün belirlenmesinde a) Michaelis-Menten ve b) Lineweaver-Burk grafikleri	202
Şekil 4.75. İksorozit molekülünün varlığında lipaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten a) ve Lineweaver-Burk b) grafikleri.....	202
Şekil 4.76. İksorozit molekülünün varlığında tirozinaz inhibisyon türünün belirlenmesinde a) Michaelis-Menten ve b) Lineweaver-Burk grafikleri.....	203
Şekil 4.77. İksorozit molekülünün üreaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	204
Şekil 4.78. İksorozit molekülünün AChE ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	204
Şekil 4.79. İksorozit molekülünün BChE ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	206
Şekil 4.80. İksorozit molekülünün KA ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	206
Şekil 4.81. İksorozit molekülünün α -amilaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	208
Şekil 4.82. İksorozit molekülünün α -glikozidaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	208

Şekil 4.83. İksorozit molekülünün lipaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	210
Şekil 4.84. İksorozit molekülünün tirozinaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	210
Şekil 4.85. Molekül L bileşiğinin yapısı.....	212
Şekil 4.86. Molekül L bileşiğinin MS kromatogramı	213
Şekil 4.87. Molekül L bileşiğinin <i>p</i> -HPLC kromatogramı	213
Şekil 4.88. Molekül L bileşiğinin ¹ H-NMR (DMSO) (a), ¹³ C-NMR (DMSO) (b), COSY (c), HSQC (d) ve HMBC (e) spektrumları	216
Şekil 4.89. Molekül L'nin varlığında üreaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri	216
Şekil 4.90. Molekül L'nin varlığında AChE inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri	217
Şekil 4.91. Molekül L'nin varlığında BChE inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri	218
Şekil 4.92. Molekül L'nin varlığında KA inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri	218
Şekil 4.93. Molekül L'nin varlığında α -glikozidaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri	219
Şekil 4.94. Molekül L'nin varlığında lipaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri	219
Şekil 4.95. Molekül L'nin varlığında tirozinaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri	220
Şekil 4.96. Molekül L molekülünün üreaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	221
Şekil 4.97. Molekül L molekülünün AChE ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	221
Şekil 4.98. Molekül L molekülünün BChE ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	223
Şekil 4.99. Molekül L molekülünün KA ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	223
Şekil 4.100. Molekül L molekülünün α -amilaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	225
Şekil 4.101. Molekül L molekülünün α -glikozidaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	225
Şekil 4.102. Molekül L molekülünün lipaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	227
Şekil 4.103. Molekül L molekülünün tirozinaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	227
Şekil 4.104. Ursolik asit molekülünün yapısı	230
Şekil 4.105. Ursolik asit molekülünün MS kromatogramı	230
Şekil 4.106. Ursolik asit molekülünün ¹ H-NMR (DMSO) (a), ¹³ C-NMR (DMSO) (b), COSY (c), HSQC (d) ve HMBC (e) spektrumları.....	232

Şekil 4.107. Ursolik asit molekülünün varlığında üreaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri	232
Şekil 4.108. Ursolik asit molekülünün varlığında AChE inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri.....	233
Şekil 4.109. Ursolik asit molekülünün varlığında BChE inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri.....	234
Şekil 4.110. Ursolik asit molekülünün varlığında KA inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri	234
Şekil 4.111. Ursolik asit molekülünün varlığında α -glikozidaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri.....	235
Şekil 4.112. Ursolik asit molekülünün varlığında lipaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri	236
Şekil 4.113. Ursolik asit molekülünün varlığında tirozinaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri.....	236
Şekil 4.114. Ursolik asit molekülünün üreaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	238
Şekil 4.115. Ursolik asit molekülünün AChE ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	238
Şekil 4.116. Ursolik asit molekülünün BChE ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	240
Şekil 4.117. Ursolik asit molekülünün KA ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	240
Şekil 4.118. Ursolik asit molekülünün α -amilaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	242
Şekil 4.119. Ursolik asit molekülünün α -glikozidaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	242
Şekil 4.120. Ursolik asit molekülünün lipaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	244
Şekil 4.121. Ursolik asit molekülünün tirozinaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri	244

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Türkiye' deki <i>Nepeta</i> türlerinin ana bileşenleri.....	25
Tablo 2.2. <i>Nepeta</i> türlerinin biyolojik aktiviteleri	27
Tablo 3.1. HPLC-MS/MS cihazından tanımlanan bileşiklerin log değerleri.....	41
Tablo 4.1. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktının ve birinci fraksiyonların ekstraksiyon verimleri	61
Tablo 4.2. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktının ve birinci fraksiyonların toplam fenol miktarları	62
Tablo 4.3. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktın ve birinci fraksiyonların toplam flavonoid miktarları	64
Tablo 4.4. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktı, kloroform, etil asetat ve metanol fraksiyonlarının HPLC-MS/MS analiz sonuçları	66
Tablo 4.5. <i>N. baytopii</i> n-hekzan ve kloroform fraksiyonlarının GC-MS/MS analiz sonuçları	68
Tablo 4.6. <i>N. baytopii</i> n-hekzan ikinci fraksiyonların GC-MS sonuçları	70
Tablo 4.7. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktının GC-FID analiz sonuçları	73
Tablo 4.8. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların fosfomolibdenyum indirgenme aktiviteleri	77
Tablo 4.9. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların indirgeme gücü kapasiteleri	80
Tablo 4.10. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların H ₂ O ₂ giderme aktiviteleri	82
Tablo 4.11. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların serbest radikal (DPPH [•]) giderme aktiviteleri	84
Tablo 4.12. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların ABTS ^{•+} giderme aktiviteleri	90
Tablo 4.13. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların süperoksit anyon giderme aktiviteleri.....	93
Tablo 4.14. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların metal şelat aktiviteleri.....	95
Tablo 4.15. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların üreaz inhibisyonları	98
Tablo 4.16. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların AChE inhibisyonları	100
Tablo 4.17. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların BChE inhibisyonları	104
Tablo 4.18. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların KA inhibisyonları	106
Tablo 4.19. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların α -amilaz inhibisyonları	108
Tablo 4.20. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların α -glukozidaz inhibisyonları	111

Tablo 4.21. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların lipaz inhibisyonları	114
Tablo 4.22. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların tirozinaz inhibisyonları	116
Tablo 4.23. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktın, <i>n</i> -hekzan ve ikinci fraksiyonların ve izolatların disk difüzyon metodu ile antimikrobiyal aktiviteleri.....	119
Tablo 4.24. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktın, kloroform ve ikinci fraksiyonların ve izolatların disk difüzyon metodu ile antimikrobiyal aktiviteleri.....	120
Tablo 4.25. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktın, etil asetat ve ikinci fraksiyonların ve izolatların disk difüzyon metodu ile antimikrobiyal aktiviteleri.....	121
Tablo 4.26. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktın, metanol ve ikinci fraksiyonların ve izolatların disk difüzyon metodu ile antimikrobiyal aktiviteleri.....	122
Tablo 4.27. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktın, <i>n</i> -hekzan ve ikinci fraksiyonların ve izolatların MİKmetodu ile antimikrobiyal aktiviteleri	126
Tablo 4.28. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktın, kloroform ve ikinci fraksiyonların ve izolatların MİKmetodu ile antimikrobiyal aktiviteleri	127
Tablo 4.29. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktın, etil asetat ve ikinci fraksiyonların ve izolatların MİKmetodu ile antimikrobiyal aktiviteleri	128
Tablo 4.30. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktın, metanol ve ikinci fraksiyonların ve izolatların MİKmetodu ile antimikrobiyal aktiviteleri.....	129
Tablo 4.31. <i>N. baytopii</i> metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların deoksiriboz koruma aktiviteleri	132
Tablo 4.32. Apigenin molekülünün ¹ H ve ¹³ C NMR veri ve literatür değerleri	148
Tablo 4.33. Apigenin molekülünün varlığında üreaz inhibisyon türü ve K _i değeri	150
Tablo 4.34. Apigenin molekülünün varlığında AChE inhibisyon türü ve K _i değeri.....	151
Tablo 4.35. Apigenin molekülünün varlığında BChE inhibisyon türü ve K _i değeri.....	151
Tablo 4.36. Apigenin molekülünün varlığında KA inhibisyon türü ve K _i değeri.....	152
Tablo 4.37. Apigenin molekülünün varlığında α-glikozidaz inhibisyon türü ve K _i değeri..	153
Tablo 4.38. Apigenin molekülünün varlığında lipaz inhibisyon türü ve K _i değeri.....	154
Tablo 4.39. Apigenin molekülünün varlığında tirozinaz inhibisyon türü ve K _i değeri.....	154
Tablo 4.40. Apigenin molekülünün üreaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	156
Tablo 4.41. Apigenin molekülünün AChE ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	156
Tablo 4.42. Apigenin molekülünün BChE ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	158
Tablo 4.43. Apigenin molekülünün KA ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi	158
Tablo 4.44. Apigenin molekülünün α-amilaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	160

Tablo 4.45. Apigenin molekülünün α -glikozidaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi	160
Tablo 4.46. Apigenin molekülünün lipaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi	162
Tablo 4.47. Apigenin molekülünün tirozinaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	162
Tablo 4.48. Apigeninin enzimlerle etkileşiminin bağlanma enerjileri ve K_i değerleri	163
Tablo 4.49. β -Sitosterol molekülünün ^1H ve ^{13}C NMR veri ve literatür değerleri.....	165
Tablo 4.50. β -Sitosterol molekülünün varlığında üreaz inhibisyon türü ve K_i değeri	167
Tablo 4.51. β -Sitosterol molekülünün varlığında AChE inhibisyon türü ve K_i değeri.....	167
Tablo 4.52. β -Sitosterol molekülünün varlığında BChE inhibisyon türü ve K_i değeri	168
Tablo 4.53. β -Sitosterol molekülünün varlığında KA inhibisyon türü ve K_i değeri	168
Tablo 4.54. β -Sitosterol molekülünün varlığında α -glikozidaz inhibisyon türü ve K_i değeri	169
Tablo 4.55. β -Sitosterol molekülünün varlığında lipaz inhibisyon türü ve K_i değeri	170
Tablo 4.56. β -Sitosterol molekülünün varlığında tirozinaz inhibisyon türü ve K_i değeri	170
Tablo 4.57. β -Sitosterol molekülünün üreaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	171
Tablo 4.58. β -Sitosterol molekülünün AChE ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	171
Tablo 4.59. β -Sitosterol molekülünün BChE ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	174
Tablo 4.60. β -Sitosterol molekülünün KA ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	174
Tablo 4.61. β -Sitosterol molekülünün α -amilaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	176
Tablo 4.62. β -Sitosterol molekülünün α -glikozidaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi	176
Tablo 4.63. β -Sitosterol molekülünün lipaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	176
Tablo 4.64. β -Sitosterol molekülünün tirozinaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	178
Tablo 4.65. β -Sitosterolün enzimlerle etkileşiminin bağlanma enerjileri ve K_i değerleri....	178
Tablo 4.66. Daukosterol molekülünün ^1H ve ^{13}C NMR veri ve literatür değerleri.....	181
Tablo 4.67. Daukosterol molekülünün varlığında üreaz inhibisyon türü ve K_i değeri	183
Tablo 4.68. Daukosterol molekülünün varlığında AChE inhibisyon türü ve K_i değeri	183
Tablo 4.69. Daukosterol molekülünün varlığında BChE inhibisyon türü ve K_i değeri	184
Tablo 4.70. Daukosterol molekülünün varlığında KA inhibisyon türü ve K_i değeri	185
Tablo 4.71. Daukosterol molekülünün varlığında α -glikozidaz inhibisyon türü ve K_i değeri	185
Tablo 4.72. Daukosterol molekülünün varlığında lipaz inhibisyon türü ve K_i değeri	186
Tablo 4.73. Daukosterol molekülünün varlığında tirozinaz inhibisyon türü ve K_i değeri ...	187

Tablo 4.74. Daukosterol molekülünün üreaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	187
Tablo 4.75. Daukosterol molekülünün AChE ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	188
Tablo 4.76. Daukosterol molekülünün BChE ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	189
Tablo 4.77. Daukosterol molekülünün KA ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	191
Tablo 4.78. Daukosterol molekülünün α -amilaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	191
Tablo 4.79. Daukosterol molekülünün α -glikozidaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi	192
Tablo 4.80. Daukosterol molekülünün lipaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	193
Tablo 4.81. Daukosterol molekülünün tirozinaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	193
Tablo 4.82. Daukosterolün enzimlerle etkileşiminin bağlanma enerjileri ve K_i değerleri...	195
Tablo 4.83. İksorozit molekülünün ^1H ve ^{13}C NMR veri ve literatür değerleri	197
Tablo 4.84. İksorozit molekülünün varlığında üreaz inhibisyon türü ve K_i değeri.....	199
Tablo 4.85. İksorozit molekülünün varlığında AChE inhibisyon türü ve K_i değeri	200
Tablo 4.86. İksorozit molekülünün varlığında BChE inhibisyon türü ve K_i değeri.....	200
Tablo 4.87. İksorozit molekülünün varlığında KA inhibisyon türü ve K_i değeri.....	201
Tablo 4.88. İksorozit molekülünün varlığında α -glikozidaz inhibisyon türü ve K_i değeri ..	202
Tablo 4.89. İksorozit molekülünün varlığında lipaz inhibisyon türü ve K_i değeri.....	202
Tablo 4.90. İksorozit molekülünün varlığında tirozinaz inhibisyon türü ve K_i değeri	203
Tablo 4.91. İksorozit molekülünün üreaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi	205
Tablo 4.92. İksorozit molekülünün AChE ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	205
Tablo 4.93. İksorozit molekülünün BChE ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	207
Tablo 4.94. İksorozit molekülünün KA ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi	207
Tablo 4.95. İksorozit molekülünün α -amilaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	209
Tablo 4.96. İksorozit molekülünün α -glikozidaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi	209
Tablo 4.97. İksorozit molekülünün lipaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi	211
Tablo 4.98. İksorozit molekülünün tirozinaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	211
Tablo 4.99. İksorozitin enzimlerle etkileşiminin bağlanma enerjileri ve K_i değerleri.....	212
Tablo 4.100. Molekül L bileşiğinin ^1H ve ^{13}C NMR veri ve literatür değerleri.....	213

Tablo 4.101. Molekül L'nin varlığında üreaz inhibisyon türü ve K_i değeri.....	217
Tablo 4.102. Molekül L'nin varlığında AChE inhibisyon türü ve K_i değeri	217
Tablo 4.103. Molekül L'nin varlığında BChE inhibisyon türü ve K_i değeri	218
Tablo 4.104. Molekül L'nin varlığında KA inhibisyon türü ve K_i değeri	218
Tablo 4.105. Molekül L'nin varlığında α -glikozidaz inhibisyon türü ve K_i değeri	219
Tablo 4.106. Molekül L'nin varlığında lipaz inhibisyon türü ve K_i değeri	220
Tablo 4.107. Molekül L'nin varlığında tirozinaz inhibisyon türü ve K_i değeri	220
Tablo 4.108. Molekül L molekülünün üreaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	222
Tablo 4.109. Molekül L molekülünün AChE ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	222
Tablo 4.110. Molekül L molekülünün BChE ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	224
Tablo 4.111. Molekül L molekülünün KA ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	224
Tablo 4.112. Molekül L molekülünün α -amilaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	226
Tablo 4.113. Molekül L molekülünün α -glikozidaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi	226
Tablo 4.114. Molekül L molekülünün lipaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	228
Tablo 4.115. Molekül L molekülünün tirozinaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	228
Tablo 4.116. Molekül L bileşiğinin enzimlerle etkileşiminin bağlanma enerjileri ve K_i değerleri.....	229
Tablo 4.117. Ursolik asit molekülünün ^1H ve ^{13}C NMR veri ve literatür değerleri.....	231
Tablo 4.118. Ursolik ait molekülünün varlığında üreaz inhibisyon türü ve K_i değeri.....	233
Tablo 4.119. Ursolik ait molekülünün varlığında AChE inhibisyon türü ve K_i değeri.....	233
Tablo 4.120. Ursolik ait molekülünün varlığında BChE inhibisyon türü ve K_i değeri.....	234
Tablo 4.121. Ursolik ait molekülünün varlığında KA inhibisyon türü ve K_i değeri.....	235
Tablo 4.122. Ursolik ait molekülünün varlığında α -glikozidaz inhibisyon türü ve K_i değeri	235
Tablo 4.123. Ursolik ait molekülünün varlığında lipaz inhibisyon türü ve K_i değeri.....	236
Tablo 4.124. Ursolik ait molekülünün varlığında tirozinaz inhibisyon türü ve K_i değeri....	236
Tablo 4.125. Ursolik asit molekülünün üreaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	237
Tablo 4.126. Ursolik asit molekülünün AChE ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	237
Tablo 4.127. Ursolik asit molekülünün BChE ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	239
Tablo 4.128. Ursolik asit molekülünün KA ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	239

Tablo 4.129. Ursolik asit molekülünün α -amilaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi	241
Tablo 4.130. Ursolik asit molekülünün α -glikozidaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi	241
Tablo 4.131. Ursolik asit molekülünün lipaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi.....	243
Tablo 4.132. Ursolik asit molekülünün tirozinaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi	243
Tablo 4.133. Ursolik asidin enzimlerle etkileşiminin bağlanma enerjileri ve K_i değerleri..	245



1. GİRİŞ

Şifalı bitkiler ve geleneksel ilaçlar çok uzun bir geçmişe sahiptir: farklı kültür ve zamanların teorilerine, inançlarına ve deneyimlerine dayanan ve genellikle sağlığın korunmasında kullanılan, hastalıkların teşhisi, önlenmesi, iyileştirilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Her ülkede, geleneksel ilaçlar temellerini dini inançlarda bulur. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), klinik araştırma metodolojisi ve geleneksel ilaçların etkinliğinin değerlendirilmesi için kesin kılavuzlar oluşturmaya çalışmaktadır. Bitkisel ilaç olarak sınıflandırmada tıbbi bitkiler hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için kullanılır. Her ülkenin geleneksel ve popüler ilaçlarından standardize edilmiş bitki özlerinin kullanımına kadar uzanır. Bitkisel tıpta gelenek, neredeyse tamamen çok düşük konsantrasyonlarda aktif maddeler içeren veya büyü-enerjik prensiplere dayanan ilaçlara dayanmaktadır (Firenzuoli ve Gori, 2007). Modern tıpta bitkiler bazı önemli ilaçlar için hammadde olarak önemli bir yer tutsa da sentetik ilaçlar ve biyoteknoloji farklı hastalıkların kontrolünde devrim yaratmıştır. Tüm dünyada, tıbbi ve aromatik bitkiler de dahil olmak üzere sentetik ürünlerden doğal bazlı ürünlere geçiş yönünde artan bir eğilim vardır. Şimdiye kadar bitkilerin %5'inden azı potansiyel ilaç olarak analiz edildi ve bu alanda geniş çapta araştırmalar devam etmektedir. Bu tıp sistemleri üzerinde bilimsel temel geliştirmek için yetiştiriciler, toplayıcılar, sağlık uzmanları ve ilaç endüstrileri arasında güçlü bağlantılar geliştirmeye ihtiyaç vardır (Suppakul vd, 2003; Vohra ve Kaur, 2011; Yildirim vd, 2013; Zargari, 1995).

Bitkiler, değerli, uygun maliyetli ve kolayca elde edilebilen doğal ürünlerin zengin bir kaynağı olmuştur. Doğal ürünler, yeni bitkisel ve faydalı ilaçları sentezlemek ve izole etmek için tükenmez bir gelişmeye tanık olduğu için eczacılık ve tarımda çok önemli bir rol oynamıştır. Ayrıca, bitkiler farklı ikincil metabolit sınıflarına aittir; flavonoidler, karotenoidler, alkaloidler, fenolikler, terpenoidler, tanenler, fenolik asitler vb. Bu güçlü biyolojik olarak aktif bileşikler, çok sayıda sentetik farmasötik ilaçlara, zirai kimyasallara vb. alternatif olarak işlev görür ve bitkilerden ekstrakt eldesi, yeni biyoaktif bileşikler bulmak için yetkin bir yaklaşım olmuştur (Celis vd, 2008).

Tıbbi bitkiler ilaç adayları olarak bilinmektedir (Bernhoft, 2010) ve bu nedende ilaç olarak kullanılan farklı bitkiler dünyanın çeşitli bölgelerinde %4-20 aralığında olup, 2500 türün ticareti yapılmaktadır (Schippmann vd, 2002). DSÖ, günümüzde dünyadaki insanların %80'inden fazlasının geleneksel bitkisel ilaçları kullandığını

bildirmiştir. Bitki kaynaklı flavonoidler ve bunların analogları antioksidan, farmakolojik, antiviral, anti-karsinojenik, terapötik ve sitotoksik özelliklere sahiptir (Brodowska, 2017). Flavonoidler Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı ve karaciğer hasarına karşı keşfedilen biyolojik olarak aktif bileşiklerdir (Hussain vd, 2018; Wan ve Jiang, 2018).

Tıbbi ve tedavi edici değerleri ile tanınan çeşitli bitki familyaları arasında *Labiatae* (*Lamiaceae*, Nane) önemini korumaktadır (Sharma ve Cannoo, 2013). Bu familyanın en büyük üyesi olan *Nepeta* cinsinden elde edilen ikincil metabolitler, tarih öncesi çağlardan beri çeşitli geleneksel ilaçlarda kullanılmıştır (Sharma ve Cannoo, 2013). Birçok endemik şifalı bitki, özellikle de *Nepeta* türleri, yüksek hasat, sınırlı dağıtım ve habitat tahribatı sonucunda yok olma tehlikesiyle karşı karşıyadır (Sagharyan vd, 2020). *Nepeta* türleri antispazmodik, balgam söktürücü, idrar söktürücü, antiseptik, öksürük önleyici, astım önleyici ve ateş düşürücü aktiviteleri nedeniyle halk hekimliğinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Baser vd, 2000). Pek çok bitkinin uçucu yağları ve özleri, ilaç, kozmetik ve gıda endüstrisindeki tıbbi prosedürlerde ve uygulamalarda potansiyele sahiptir. Çok sayıda araştırmacı, bitkilerden izole edilen biyolojik olarak aktif bileşenlere ve bunların patojenik mikroorganizmaların yok edilmesi üzerindeki etkilerine ilgi göstermiştir (Tepe vd, 2005).

Biyolojik aktiviteye sahip bitki ekstraktlarından biyoaktif bileşikleri tanımlamak için yapılan işlemler biyoaktivite yönlendirilmeli fraksiyonlama işlemleri olarak adlandırılmaktadır. Bu işlemde, biyoaktif ham ekstraktan elde edilen fraksiyonlara biyoaktivite testleri uygulanmakta ve her bir fraksiyonlama aşamasının ardından aktif fraksiyonlar belirlenmektedir, sonra bu fraksiyonlar daha fazla ayırım için tekrar kolon kromatografisine tabi tutulmaktadır. Ardından elde edilen fraksiyonlar veya kristaller daha farklı spektroskopik teknikler (ince tabaka kromatografisi, *preparatif*-HPLC, GC-MS, NMR gibi) kullanılarak saf biyoaktif bileşiklerin tanımlanması sağlanmaktadır. Bitki ekstraktları çok sayıda farklı bileşen içeren kompleks karışımları temsil ettiğinden bileşenler arasında sinerjistik veya antagonistik etkileşimler meydana gelmektedir. Genel olarak bitki özütlerinde bulunan sekonder metabolitlerin tanımlanmasında kimyasal ve fiziksel özelliklerin çeşitliliği ve geniş yelpazedeki analit konsantrasyonları nedeniyle oldukça zordur. Bu nedenle, oldukça hassas ve tekrar üretilebilir analitik yöntemler gereklidir (Atanasov vd, 2015; Brusotti vd, 2014).

İlaç geliştirme çalışmalarında zaman ve kaynakların ekonomik kullanımı için öncelikli olarak teorik yöntemlerden faydalanılmaktadır. Bu yöntemlerin başını moleküler doking adı verilen bilgisayar destekli modelleme metodu çekmektedir. Moleküler doking metodolojisi hedef proteinin bağlanma bölgesindeki küçük moleküllerin davranışını incelemekte ve bu davranışların oluşturduğu bağlanma afinitelerini ve ligand-protein etkileşiminin 2D ve 3D olarak bağlarını göstermektedir (Pagadala vd, 2017).

1.1. Tezin Amacı ve Önemi

Biyoaktif bileşikler, bitkilerin ikincil metabolizmasında yer alan ve insan sağlığı üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilen maddelerdir ve kimyasal yapılarına göre antioksidan vitaminler, fenolik bileşikler, terpen türevleri, kükürt bileşikleri, fitoöstrojenler, peptitler ve amino asitler, mineraller, çoklu doymamış yağ asitleri, diyet lifi, laktik asit bakterileri ve fitik asit olarak gruplandırılabilir.

Fenolik bileşikler, bitkilerin ana ikincil metabolitlerinden biridir. Hem serbest radikal temizleyicileri hem de metal şelatlayıcı olarak antioksidan kapasitesini artırdığından bu bileşiklere ilgi artmaktadır. Kanserin, kardiyovasküler hastalıkların ve hatta alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıkların önlenmesi gibi insan sağlığı üzerindeki etkileri, bu bileşiklerin antioksidan özelliklerindendir. Herhangi bir fitokimyasal veya bitki özütünün fosfomolibdenyum indirgeme aktivitesi ve fenolik içeriği doğrudan bir ilişkiye sahip olabilir. Toplam polifenol seviyesi daha yüksek olan meyveler daha güçlü antioksidan aktivite gösterir. Tüm fenolik bileşikler göz önüne alındığında, flavonoidler grubu doğada en yaygın olarak bulunan bileşiklerdir ve içlerinde flavonoller daha fazla antioksidan aktiviteye sahiptir.

Biyolojik aktivite sergileyen ham bitki ekstraktları, ilgili saf biyoaktif bileşikler tanımlanana kadar tekrarlı biyoaktivite yönlendirmeli fraksiyonlandırma döngülerine tabi tutulur. Üretilen fraksiyonların fraksiyonlama ve biyoaktivite değerlendirmesi çok zahmetli adımlar olduğundan, bağımsız tamamlayıcı biyoanalizlerde optimal olarak ham bitki ekstraktları ile güvenilir biyoaktivite verilerinin elde edilmesi kritik önem taşır. Tipik olarak, su içinde farklı polariteye sahip organik çözücüler (örneğin, etil asetat, *n*-bütanol ve kloroform) kullanılarak sıvı-sıvı ekstraksiyonu, birinci fraksiyonlandırma adımı olarak gerçekleştirilir. İzolasyon sürecini yönlendirmek için, biyoaktif ham ekstraktlardan elde edilen fraksiyonlar biyolojik incelemeye tabi tutulur.

Her fraksiyonlandırma adımının ardından, inaktive fraksiyonlar belirlenir ve aktif fraksiyonlar ayırt edilir. Aktif fraksiyonlar genellikle kolon kromatografisi ile daha fazla ayırmaya tabi tutulur.

Bitki ekstraktları, çok sayıda farklı bileşen (aktif, kısmen aktif ve birçok inaktive bileşik gibi) içeren karmaşık yapılar olduğundan, genellikle bileşenler arasında etkileşimler vardır. Bu nedenle, bir ham ekstraktın yüksek aktivitesi, birçok zayıf aktif bileşiğin destekleyici veya sinerjik etkisinden kaynaklanabilir ve fraksiyonlama aşamalarında bu sinerjik etkileşimleri bozarak aktivitede de bir azalmaya neden olabilir.

Nepeta türlerinin bazıları tıbbi özellikleri ve biyolojik aktiviteleri ile tanınmaktadır. Halk tıbbında idrar söktürücü, terletici, öksürük önleyici, spazm önleyici, astım önleyici, sinir sistemi hastalıkları ve mide rahatsızlıkları için kullanılmaktadır. İkincil metabolitleri de içeren uçucu yağların antimikrobiyal, antiviral, antioksidan gibi geniş biyolojik etkilerinin bulunmasından dolayı *Nepeta* türlerinin çoğunda mevcut olan terpenler ve nepetalakton türevleri farmakolojik ve biyolojik etkiler göstermektedir.

Nepeta türlerinin birçok farklı özelliklerinin bulunmasından, bazı türlerinin endemik oluşundan ve aktivitelerinin araştırılmamasından dolayı; tez çalışmasında endemik olan *Nepeta baytopii* bitkisinin kimyasal içeriklerini araştırarak en çok bulunan molekül/leri belirlemeyi ve biyolojik aktivitelerini araştırarak biyoaktivite yönlendirmeli izolasyon süreci ile aktif fraksiyonları belirleyip molekülleri izole etmeyi ve izole edilen moleküllerin yapılarını aydınlatıp enzimlerle olan ilişkilerini hem deneysel hem de teorik olarak belirlemeyi amaçladım. Bu sebepten dolayı, endemik bir tür olan *N. baytopii* bitkisinin toprak üstü kısmı metanol-kloroform (1:1) çözücü karışımı ile ekstrakte edildi. Ekstraktın fitokimyasal içerikleri; HPLC-MS/MS, GC-MS, GC-MS/MS, GC-FID, toplam fenol ve flavonoid miktarları ile, biyoaktivite özellikleri; antioksidan, enzim inhibisyon, antimikrobiyal ve DNA koruma aktiviteleri araştırıldı. Ayrıca, bitki ekstraktı silika jel kolon kromatografisi, *preperatif*-HPLC ve İTK gibi çeşitli kromatografik yöntemler kullanılarak fraksiyonlandırıldı ve elde edilen fraksiyonların biyoaktiviteleri incelendi. Ek olarak, ekstraktın ve fraksiyonların biyoaktivitelerinin temel bileşen analizleri belirlendi. Biyoaktivite yönlendirmeli izolasyona ve temel bileşen analiz sonuçlarına göre aktif fraksiyonlar belirlendi. Aktif fraksiyonlardan çeşitli kromatografik yöntemler kullanılarak izolatlar saflaştırıldı ve

izolatların yapıları çeşitli NMR spektroskopileri ve kütle spektroskopisi ile aydınlatıldı. Ayrıca, bu moleküllerin biyoaktivitelerinin yanı sıra enzim inhibisyon kinetikleri ile enzim-molekül etkileşimleri moleküler doking ile belirlendi. Yapılan aktivite çalışmaları sonucunda, ekstraktın ve izolatların ilaç öncülü veya tamamlayıcı ürün olma potansiyelleri araştırıldı.



2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Fitokimyasallar

Fitokimyasallar bitkilerde bulunan biyolojik aktiviteye sahip olan ve doğal olarak oluşan kimyasal bileşiklerdir (Hasler ve Blumberg, 1999). Fitokimyasallar bitkilerin kök, gövde, yaprak, çiçek, meyve veya tohum gibi farklı kısımlarında birikir (Costa vd, 1999). Fitokimyasallar bitkiyi hastalıktan ve hasardan korumasının yanı sıra bitkinin rengine, aromasına ve tadına katkıda bulunurlar. Genel olarak, bitki hücrelerini kirlilik, stres, kuraklık, UV ışına maruz kalma ve patojenik saldırı gibi çevresel tehlikelerden koruyan kimyasallardır (Gibson vd, 1998). Son zamanlarda, diyet alımları önemli olduğunda, insan sağlığının korunmasında önemli rollerinin olduğu bilinmektedir (Siddiqui vd, 2017). Diyet fitokimyasallarının en önemli grupları fenolikler, alkaloidler, azot içeren bileşikler, organosülfür bileşikleri, fitosteroller ve karotenoidlerdir. İnsan sağlığı ve refahı ile ilgili en çok çalışılan diyet fitokimyasal grupları fenolik ve karotenoidlerdir (Liu, 2004). Bu grup bileşikler bitkinin ikincil metabolitlerini temsil eder ve antioksidan aktivite, antimikrobiyal etki, detoksifikasyon ek olarak enzimlerinin inhibisyonu, modülasyonu ve bağışıklık sisteminin uyarılması gibi farklı biyolojik özelliklere sahiptir. Ek olarak bu bileşikler, hormon metabolizmasının ve antikanser özelliğinin modülasyonunun azaltılması özelliklerine sahiptir. Bitkilerin kendilerini korumak için ürettikleri ve son araştırmalar birçok fitokimyasalın insanı hastalıklara karşı koruyabildiğini göstermektedir (Rao, 2003).

2.2. İkincil Metabolitler

Bitkilerde bulunan kimyasal bileşikler, metabolik sentezlenme ve fonksiyonlarına göre birincil ve ikincil metabolitler olmak üzere iki ayrı sınıfta incelenmektedir. Birincil metabolitler yaşam için temel olan çoğalma, gelişme ve metabolizma gibi görevleri gerçekleştirir. İkincil metabolitler ise bitkinin yaşamı için temel oluşturan yapılarda etkili görevleri yoktur; ama eksildiğinde ya da yok olduğunda bitkinin zamanla yıpranmasına ve hatta yaşamsal faaliyetlerinin sonlanmasına neden olabilir. Ayrıca, ikincil metabolitler bitkinin üreme olayına katkısında, yaşadığı ortama uyumunda, çevreyle ilişkisinde ve bitki müdafaasında etkisi bulunan ve bitkinin bazı gelişim aşamalarında veya stres durumlarında üretilen organik bileşiklerdir (Topcu ve Çölgeçen, 2015).

2.3. Antioksidanlar

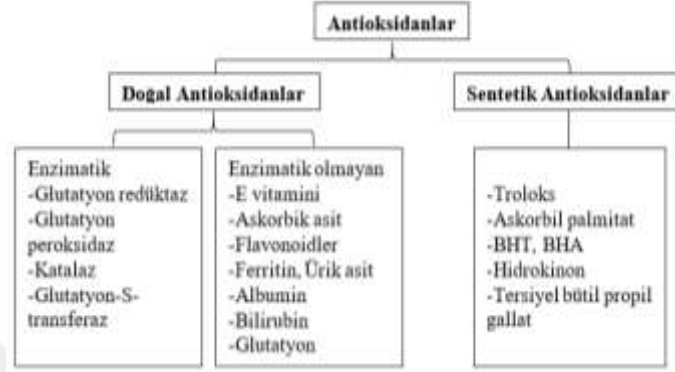
Canlı organizmalar serbest radikallerin organizmada oluşturdıkları zararlı etkilerinden korunmak için antioksidan korunma sistemine sahiptirler. Canlı hücrelerde bulunan karbohidrat, protein, lipit ve nükleik asitler gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyebilen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar denir. Bu olaya da antioksidan savunma sistemi adı verilir (Tunalı vd, 2002). Antioksidanlar, organizma tarafından sentezlenen ya da dışarıdan alınan maddeler olup, oksidan moleküllerin oluşmasını ve hücreye zarar vermesini engellerler. Antioksidanlar bu etkilerini serbest radikallere kolayca elektron hedefi oluşturarak gösterirler. Radikaller almak istedikleri elektronu antioksidanlardan elde ederlerse hücre içerisinde başka bir yapıya zarar vermezler (Çavdar vd, 1997).

Serbest radikaller; bir veya birden fazla eşleşmemiş elektron içeren atom veya atom grupları olarak tanımlanabilir. Bu radikaller, gen ekspresyonu, apoptoz ve hücre çoğalması gibi düzenleyici süreçte rol alırlar. Fazla üretildiğinde, karbohidratları, proteinleri, lipidleri, enzimleri ve DNA'yı oksitler ve hücredeki temel rol oynayan molekülleri bozarak antioksidanların savunma yeteneğini azaltabilir. Oksidatif stresle ise sitotoksik bileşikler meydana gelir ve normal hücrenin işleyişini temsil eden antioksidan ve oksidan dengesini etkiler (Gulcin, 2020; Gülçin, 2012; Pisoschi vd, 2016).

Antioksidan maddeler, serbest radikallerin oluşturduğu oksidasyonları engelleme, sağlamlaştırma ve tutma özelliği ile bilinmektedir (Çelik ve Ayran, 2020).

Oksijen, serbest radikaller ve hücredeki önemli moleküller ile tepkime vererek oksidatif hasar oluşturur. Reaktif oksijen türleri (ROT) sabit devam eden metabolizma sırasında az miktarda oluşur ve serbest radikal zincir tepkimelerini başlatabilir veya çeşitli serbest radikallerin oluşumuna katkı sağlayabilir. Oksidan türler ve antioksidan savunma sistemi arasında oluşan dengesizlik, oksidatif hasara neden olduğu bilinen, mutajen bileşiklerinin oluşumunu, onkogen genlerinin fazlaca üretilmesini, iltihaplanma, yaşlılık ve plak oluşumu gibi faktörleri tetikleyebilir. Böylelikle kardiyovasküler hastalıklar, kanser, diyabet, nörodejenerasyon ve böbrek hastalıkları dahil birden fazla hastalığın gelişmesine neden olur (Pisoschi ve Pop, 2015). Antioksidanlar hem insan vücudunda hem de gıda sistemlerinde önemli bir yere sahiptir (Gulcin, 2020; Gülçin vd, 2022).

Antioksidanlar mikroorganizmalarda, bitkilerde ve hayvanlarda doğal olarak bulunmasının yanı sıra kimyasal yollarla da sentezlenmektedir. Antioksidanlar; eksojen ve endojen, enzimatik ve enzimatik olmayan, birincil ve ikincil, engelleyici veya onarıcı, sentetik veya doğal, yağda ve suda çözünen olmak üzere birden farklı şekilde sınıflandırılır (Şekil 2.1.) (Yılmaz ve Boyacıoğlu, 2020).



Şekil 2.1. Antioksidanların sınıflandırılması

2.4. Enzimler

Biyokimya tarihinin büyük bir kısmında enzimlerle ilgili yapılan araştırmalar ve çalışmalar yer almaktadır (Keha ve Küfrevioğlu, 2015). Enzimler canlılığın devamı için gerekli olan birçok biyokimyasal reaksiyonu hızlandıran, %100 verimle ürün oluşturan ve hiçbir değişikliğe uğramadan reaksiyon sonunda geri kazanılan biyolojik katalizörlerdir (Kalaycıoğlu vd, 2010; Keha ve Küfrevioğlu, 2015). Enzimlerin temel yapısında birbirleriyle peptit zinciri oluşturan aminoasitler bulunmaktadır ve kendilerine has üç boyutlu yapıdan oluşmaktadır. Birden fazla alt birimden oluşan enzimler de bulunmaktadır.

Enzimler DNA tarafından şifrelenmektedir (Keha ve Küfrevioğlu, 2015). Enzimlerin üç boyutlu yapılarında katalitik etki gösteren ve molekülleri bağlayan substratlar bulunmaktadır. Substratlar tepkimenin gerçekleşeceği aktif bölgeye bağlanmaktadır ve bu etkileşimden sonra substratlardaki bağlar kırılır ve yeni bağlar yapılır. Bu nedenle enzim kilide, substrat anahtara ve aktif bölge kilit üzerindeki anahtar deliğine benzetilir.

Bazı enzimlerin aktif olabilmesi için protein yapısında bulunmayan kofaktör adı verilen gruplara ihtiyacı vardır (Keha ve Küfrevioğlu, 2015; Nelson, 2005). Kofaktörler metal iyonları olabilir. Ek olarak, organik kompleksler olan koenzimlerde bulunabilir. Kofaktörler ısıya oldukça dayanıklıdır. Bununla birlikte, enzimler

sıcaklıkla denatüre edilir. Bir holoenzim, katalitik olarak aktif bir enzim-kofaktör kompleksidir. Bu tür enzimlerin protein kısımlarına apoenzimler denir (Keha ve Küfrevioğlu, 2015).

2.4.1. Enzim Aktivitesi

Enzimlerin aktivitesini etkileyen faktörler; enzim derişimi, substrat derişimi, pH, sıcaklık, zaman ve inhibitör etkisidir. Enzimin aktiflik gösterebileceği substrat miktarı arttıkça reaksiyonun hızı da artar. Buna bağılı olarak enzim derişimi de artar. Enzimin yapısı bozuluncaya kadar substratı aktif hale getirmeye devam eder (Palmer ve Bonner, 2007).

Substrat miktarı reaksiyon hızıyla doğru orantılı olarak artar. Bu artış enzim substrata doyuncaya kadar devam eder. Doyduktan sonra enzimin reaksiyon hızı maksimuma (V_{maks}) ulaşır. Enzimin yarısı enzim-substrat kompleksi halindedir ve burada gözlenen reaksiyon hızı, maksimum reaksiyon hızının yarısıdır. Bu maksimum hızın yarısını veren substrat derişimine Michaelis-Menten sabiti (K_m) denir ve bu değer enzimin substrata olan ilgisini göstermektedir. K_m değeri ile ilgi ters orantılı olarak değişir (Palmer ve Bonner, 2007).

Enzimatik reaksiyonlarda hız, sıcaklık artışı ile belirli bir noktaya kadar ilerler. Bu nokta aşıldıktan sonra enzimler denatüre olurlar. Bitkilerden elde edilen enzimler 50-60°C'de optimum sıcaklığa ulaşırken hayvanlardan elde edilen enzimler ise 40-50°C'de optimum sıcaklığa ulaşır. Ayrıca, her enzimin aktif olduğu belirli bir pH aralığı vardır ve bu pH değeri enzimin optimum noktasıdır (Garret ve Grisham, 2010; Özata ve Kutlu, 2000; Palmer ve Bonner, 2007; Yaman, 2018).

Reaksiyon hızına olumsuz yönde etki eden maddeler inhibitör olarak bilinmektedir. Tersinmez ve tersinir olmak üzere ikiye ayrılırlar. Enzimin aktif noktasına doğrudan bağlanarak aktif bölgeyi bozan ya da enzimin konformasyonunu değiştiren maddeler tersinmez inhibitörlerdir. Enzimle ara bileşik oluşturarak maksimum reaksiyon hızını ya da Michaelis-Menten sabitini azaltan maddeler de tersinir inhibitörlerdir (Başçı, 1985).

2.4.2. Enzim İnhibisyonu

Enzimlerin bazı moleküller aracılığıyla *in vivo* veya *in vitro* aktivitelerinin azaltılması olayı inhibisyon, bunu gerçekleştiren moleküller ise inhibitör olarak isimlendirilmektedir. Enzim inhibitörleri düşük moleköl ağırlığına sahip bileşik veya

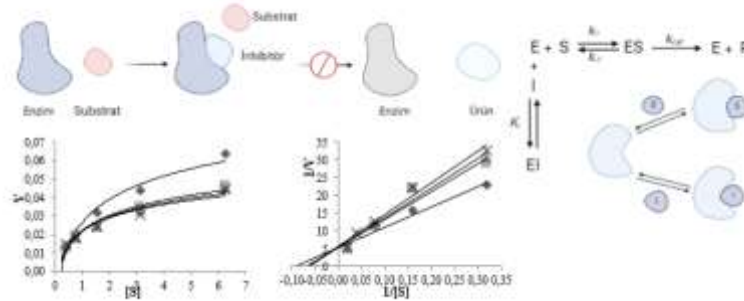
iyonlar olup oldukça önemli farmasötik maddelerdir. Enzim inhibisyonu biyolojik sistemlerde kontrol mekanizması oluşturması açısından çok önemlidir. Enzim inhibitörleri iki sınıfta incelenir; dönüşümsüz ve dönüşümlü inhibisyon (Nelson, 2005).

Dönüşümsüz inhibisyon; enzim aktivitesini inhibe ederek enzimin kataliz yeteneğini ortadan kaldıran inhibitörlerdir.

Dönüşümlü inhibisyon; bu inhibitörler kovalent olmayan bağlarla enzime bağlanmaktadır ve yarışmalı (kompetitif), yarışmasız (nonkompetitif) ve yarı yarışmalı (unkompetitif) olarak üçe ayrılmaktadır (Keha ve Küfrevioğlu, 2015).

2.4.2.1. Yarışmalı İnhibisyon

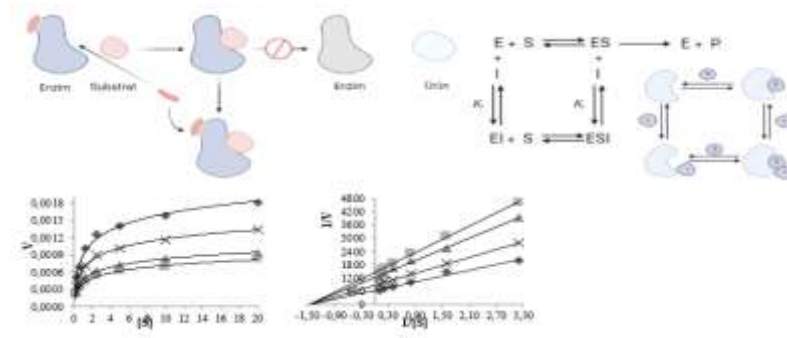
Yarışmalı inhibisyonda, inhibitörler yapısal olarak çoğunlukla substrata benzemekte ve aktif bölgeye bağlanabilen inhibitörlerdir (Nelson, 2005). Bu inhibisyonda inhibitör, enzimin substratına olan ilgisini azaltmakta ve K_m değerini arttırmaktadır. Enzim-inhibitör (EI) kompleksi oluşturmak üzere enzim ile tersinir olarak birleşmektedir (Şekil 2.2.) (Şahin, 2013).



Şekil 2.2. İnhibitörün enzime yarışmalı inhibisyon ile etkileşimi, Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri

2.4.2.2. Yarışmasız İnhibisyon

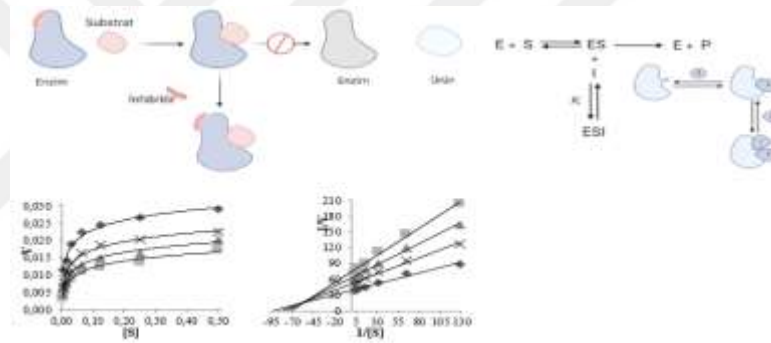
Bu inhibisyonda, substrat ve inhibitör aynı anda enzime bağlanabilir (Keha ve Küfrevioğlu, 2015). Substrat miktarı artsa da inhibisyon ortadan kalkmaz. Bu inhibitörler enzimin katalitik etkisini düşürerek etki göstermektedir. Bu tür inhibisyon ile, tepkimenin V_{maks} değeri azalırken K_m değeri sabit kalır (Şekil 2.3.) (Şahin, 2013).



Şekil 2.3. İnhibitörün enzime yarışmasız inhibisyon ile etkileşimi, Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri

2.4.2.3. Yarı yarışmalı İnhibisyon

Bu inhibisyonda, inhibitör enzime değil ES kompleksine bağlanır. İki substratlı reaksiyonlarda görülme olasılığı daha yaygındır. Fakat tek substratlı reaksiyonlarda da görülür. Bu inhibisyon sonucunda V_{maks} ve K_m değeri azalır (Şekil 2.4.) (Şahin, 2013).



Şekil 2.4. İnhibitörün enzime yarı yarışmalı inhibisyon ile etkileşimi, Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri

Enzimler, ilaç hedefleri olarak düşünülen biyolojik makromoleküller arasındadır ve çoğu hastalıkta önemli etki gösterdiklerinden ve küçük molekül ağırlıklı ilaç olabileceği düşünülen moleküllerin inhibisyona katkıda sağladıklarından büyük bir öneme sahiptirler. Son zamanlarda enzim inhibitörleri klinik amaçlı kullanılan ilaçların yarısına yakını temsil etmektedir. Günümüzde insan genomu ile yapılan araştırmalarda hastalıkla ilişkili, ilaçların kullanılacağı hedefleri kodlayan bölgesine enzimlerin hâkim olduğu bilinmektedir. Bu sebeple, spesifik enzim inhibisyonlarının gelecek için farmasötik araştırmaların odak noktası olmaya devam edeceği düşünülmektedir. Bu nedenle enzimler, son zamanlarda büyük ilaç ve biyoteknoloji şirketlerinde yeni ilaç keşiflerinin ve tasarım çabalarının hedefi haline gelmiştir (Copeland, 2005).

2.5. Asetilkolinesteraz ve Bütirilkolinesteraz

Demans, günlük yaşamı etkileyen zihinsel sorunlara neden olan birden çok semptomu tanımlamada kullanılan genel bir terimdir. Genel olarak alzheimer hastalığı (AH) ve demansın aynı hastalık olduğu düşünülmekte ve bunun başlıca sebebinin demans vakalarının %70-80'inin alzheimer hastası olmasından kaynaklanmaktadır (Sahyouni vd, 2017).

Günümüze kadar demansın neden oluştuğunu açıklamaya çalışan birden fazla teori bulunmasına rağmen hepsinin ortak noktası beyinde mevcut olan nöronlar ve glial hücrelerin uğradığı hasarlar sonucunda bunamanın olduğudur. Hücresel hasara neden olan birçok faktör vardır ve ortaya atılan bazı teoriler beyindeki işlevsiz nörotransmitter (özellikle asetilkolin) seviyesi, hasarlı proteinlerin beyinden işlevsiz temizlenmesi ve belirli proteinlerin yanlış katlanmasıdır. Hücresel hasar beyinde bulunan nöronların birbirleri ile işlevsiz iletişimine neden olur (Inao vd, 2001).

AH'nın tedavisinde en çok kullanılan yöntem, asetilkolinin hidrolizinden sorumlu asetilkolinesteraz (AChE) inhibisyonu ile asetilkolinin beyindeki düzeyini arttırmaktır (McGeer ve McGeer, 2003). AChE, periferik ve merkezi sinir sistemi ile birlikte plasental dokuda eritrositlerde ve kas ve sinir dokusunda mevcuttur. Bütirilkolinesteraz (BChE) ise plazma ve karaciğer dahil bir çok doku ile periferik ve merkezi sinir sisteminde bol miktarda bulunmaktadır (Quinn, 1987). Her iki enzim birbirinden katalitik aktivitelerinin farklı olması ile ayırt edilebilir. Günümüzde mevcut olan çalışmalar, AH'larının beyindeki BChE miktarının normal insan beyindeki miktarından daha fazla olduğunu ortaya çıkarmıştır (Massoulié vd, 1993).

AChE, çok yüksek aktiviteye sahip olduğundan yaklaşık olarak yirmi beş bin asetilkolin (ACh) bileşiğini bir saniyede hidrolizleyebilir. AChE'nin iki alt birimi bulunmaktadır ve bunlardan biri katyonik diğeri ise anyonik alt birimdir (Sussman vd, 1991). AChE inhibitörünün iki ana türü bulunmaktadır (Taylor, 1998; Taylor ve Radic, 1994). Bunlardan biri katalitik bir serin kalıntısının karbamilasyon veya fosforilasyonu ile enzimi inaktive eden bir bileşiktir ve bu tür bileşiklerin inhibitör etkisi geri dönüşümsüzdür. İkinci tip inhibitörler ise, substratın aktif bölgeye erişimini bloke ederek ve/veya enzimde kusurlu konformasyonel değişiklikleri indükleyerek enzimleri etkisiz hale getirir. Bu tip inhibisyon da genellikle geri dönüşümlüdür (Taylor, 1998). AChE inhibitörleri; yarışmalı, yarı yarışmalı ve yarışmasız olarak etki ederler (Pohanka, 2012). Yarışmalı ve yarışmasız AChE inhibitörleri çoğunlukla tedavi

amaçlı kullanılır. Bu inhibitörler genellikle şizofreni, AH ve glokom gibi hastalıkları tedavi etmek amacıyla kullanılmaktadır (Alaşehirli, 2005). Kullanılan inhibitörlerden galantamin ve rivastigmin bitkisel kaynaklı iken donepezil ve takrin sentetik ilaçtır (Koçancı ve Aslım, 2016; Manach vd, 2004).

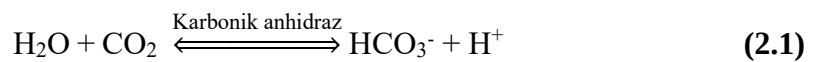
Bugüne kadar, birçok sentetik ve bitkisel ilaç AH'nın tedavisi için onaylanmıştır, ancak hepsinin yan etkileri bulunmaktadır. Bu da daha az yan etkiye sahip yeni ilaçların keşfini çok önemli hale getirmektedir (Mehta vd, 2012).

2.6. Karbonik Anhidraz

Glokom optik sinir başı hasarı ve buna bağlı gelişen görme alanı kayıplarıdır. Optik sinir hasarının gelişiminde göz içi basıncının artmasının yanı sıra diğer birçok faktörün rolü olmasına rağmen uygulanan tedavi yöntemlerinin büyük bir bölümü göz içi basıncını düşürmeye yöneliktir. Göz içi basıncının kontrolünde çok önemli rolü olan karbonik anhidrazın inhibisyonu yolu ile glokomlu hastaların göz içi basıncı düşürülmektedir (Feldman ve Bell, 2013).

Hastalıkların tedavisinde ve teşhisinde, karbonik anhidraz inhibitörlerinin önemi, glokom hastalığı tedavisi için karbonik anhidraz enzimi üzerinde yapılan inhibisyon çalışmaları sonucu elde edilmiştir. Bu çalışmalarda, karbonik anhidraz enziminin kataliz mekanizmalarının aydınlatılmasının yanı sıra, bu enzimin dokulara dağılımı ve bu dokulardaki hayati fonksiyonları anlaşılmış, bunun sonucunda karbonik anhidraz enziminin inhibitörleri ve aktivatörlerinin sentezlenmesi arttırılmıştır (Gulcin ve Beydemir, 2013; Supuran ve Scozzafava, 2000).

Karbonik anhidraz (KA), metaloenzim sınıfına ait ve canlı organizmaların hepsinde bulunan bir enzimdir ve karbondioksiti bikarbonat ve proton olarak parçalayarak geri dönüşümlü bir reaksiyon tarafından katalizlenmektedir (2.1). Enzimin yapısında bulunan çinko iyonu (Zn^{+2}) aktif metal olarak görev yapmaktadır (Roughton ve Booth, 1946).



Karbonun kararlı bir yapısı olan karbondioksit, yaşamın merkezinde yer alan bir bileşiktir. Karbondioksit suyla reaksiyona girerek kararsız H_2CO_3 'ı hemen proton ve bikarbonata dönüştürür. Çoğu organ ve dokunun 7.5 olan pH seviyesinde bu reaksiyon çok yavaş gerçekleşmektedir (Supuran ve De Simone, 2015). Bütün canlıların

metabolik reaksiyonları sonucu karbondioksit oluşmaktadır ve kontrol edilmesi için karbonik anhidrazilere ihtiyaç duyulmaktadır (Supuran, 2011).

Enzimin aktif bölgesi, merkeze kadar uzanan koni şeklinde büyük bir alana yayılmıştır ve çinko iyonu bu alanın alt kısmında ulunmaktadır (Gümüş, 2008). Karbonik anhidrazların en dikkat çekici özelliklerden birisi aktif bölgesinin bir tarafında hidrofobik diğer tarafında hidrofilik özellik gösteren kısımları barındırmasıdır (De Simone vd, 2013).

2.7. Lipaz

Obezite, anormal ya da aşırı miktarda vücut yağının birikmesi olarak ifade edilmesinin yanı sıra insan sağlığına zararlı etkileri bulunmaktadır (Kopelman, 2000). Aynı zamanda obezite, biyolojik, psikososyal ve sosyal faktörleri kapsayan karmaşık bir durumdur ve hareketsiz yaşam tarzı, yüksek kalorili beslenme obezitenin gelişmesinde en önemli faktörlerdendir (Gambero ve Ribeiro, 2015).

Obezitenin yaygınlaşması önemli bir halk sorunu haline gelmektedir. Çünkü, obezite ile ilişkili hastalıkların, kardiyovasküler hastalıklar ve tip 2 diyabet gibi, durumlarda arttığı gözlenmektedir (Haslam ve James, 2005). Son yapılan çalışmalarda, doğal ürünlerin obezite tedavisinde kullanılabileceği ortaya çıkmaktadır (Scalbert vd, 2005). Var olan ilaçların maliyetinin yüksek olması ve tehlikeli yan etkilerinin bulunması nedeniyle doğal ürünlerin alternatif obezite ilacı olarak kullanılması üzerine çalışmalar hız kazanmaktadır (Von Staszewski vd, 2011).

Lipazlar bitki, bakteri, hayvan ve funguslarda mevcut olan önemli enzimlerden biridir. Hayvanlarda ve insanlarda, yağ sindiriminde gastrik ve pankreatik lipazlar görev yapmaktadır (Delorme vd, 2011). Diyetle alınan yağı bağırsak direkt ememez, ancak pankreatik lipaz triaçilgliserolleri; yağ asitleri ve monoaçilgliserollere hidroliz ettikten sonra emer. Pankreatik lipazlar beslenme ile alınan yağların %50-70'ni hidrolizleyen bir enzimdir (Delorme vd, 2011). Lipaz inhibitörleri anti obezite ilaçları olarak kullanılmaktadır (Kokotos, 2003).

Lipazlar çok çeşitli reaksiyon ortamına dayanıklıdır. Bu nedenle hem endüstride hem de biyoteknolojide biyokatalizör olarak görev alırlar. Organik çözücüler, süperkritik akışkanlar ve iyonik sıvılara uygulanabilmesinin yanı sıra birçok reaksiyonu katalizleyebilir (Garcia-Galan vd, 2014). Bütün bunlara ek olarak lipazlar susuz ve sulu ara yüzeylerde tepkime gerçekleştirebilirler.

2.8. α -Amilaz ve α -Glikozidaz

Diyabet (diabetes mellitus), pankreas bezinde bulunan langerhans adacıklarında mevcut olan β -hücrelerinden insülin salınımının yokluğuna ya da yetersizliğine bağlı olarak açlık kan glikoz seviyesinin 126 mg/dL'ye eşit veya büyük olması durumunda ortaya çıkan bir hastalıktır (Agirman vd, 2022). Tip 1, gestasyonel, Tip 2 ve diğer sebeplerden kaynaklanan dört çeşit diyabet türü bulunmaktadır (Forouhi ve Wareham, 2010).

Tip 2 diyabetin risk faktörlerinden ikisi obezite ve fazla kilolu olmaktır. Diyabet veya şeker hastalığı, insülin eksikliği veya kronik hipergliseminin neden olduğu protein, karbonhidrat ve yağ metabolizmasında bozuklukların yanı sıra yüksek kan şekeri seviyesiyle ortaya çıkan metabolik hastalıklardan biridir (Finucane vd, 2011; Nyambe-Silavwe vd, 2015).

Birçok ticari bitkisel ilaç, diyabeti tedavi etmek ve/veya komplikasyonlarını önlemek için dünya çapında kullanılmaktadır. Kullanılan bitkilerin çoğu saponinler, alkaloidler, tanenler ve kuinoik asit gibi aktif bileşenler içerir (Sheweita vd, 2002; Wang ve Ng, 1999). Terpenler, Tip 2 diyabeti ve ilişkili riskleri modüle etmede etkilidir (Zhou ve Wink, 2019). Bitkiler ayrıca güçlü α -glikozidaz inhibitörleridir (Kwon vd, 2007). Bu enzimin inhibitörleri, hiperglisemiye kontrol etmek için terapötikler olarak kullanılabilir (Pandey vd, 2011; Shim vd, 2003).

Fitokimyasallar fenolik bileşikler, bitki saponinlerini, flavonoidleri, glikozitleri, alkaloidleri vb. içerir. Hipergliseminin kontrolünde önemli bir rol oynadıkları ve ayrıca α -glikozidaz aktivitesinin inhibisyonuna katkıda bulunabilecekleri bildirilmiştir (Ani ve Naidu, 2008; Mukherjee vd, 2006).

Amilaz, nişastayı şekerlere dönüştüren bir enzimdir (Cherry vd, 2004). α -Amilaz, birden fazla organizmadan elde edilirken amilaz inhibitörleri genellikle mikrobiyal kaynaklardan veya bitkilerden elde edilir. 1200'den fazla bitkinin yemekten sonraki glikoz seviyesini azalttığı bilinmesine rağmen, bu inhibitörler çoğunlukla mikrobiyal kaynaklardan saflaştırılmaktadır. Pankreatik ve tükürük α -amilazları, α -(1 $\rightarrow$ 4) glikozidik bağlarını hidroliz ederek maltoz ve diğer oligosakkaritlerin oluşmasını sağlar (Tatar, 2007). Amilazın aktivitesi, stabilitesi ve yapısal bütünlüğü için Ca^{+2} ihtiyacı olan bir metaloenzimdir (Sundarram ve Murthy, 2014).

α -Amilaz ve α -glikozidazın nişastayı hidrolizlemesi ile kanda glikoz seviyesinde artış gözlenmektedir. Bu enzimleri inhibe eden inhibitörler kullanarak Tip 2 diyabet tedavi edilebilir (Butterworth vd, 2011).

2.9. Tirozinaz

İnsan derisi vücudu örten büyük bir örtüdür ve üç katman halindedir; dış epidermis, dermis ve hipodermis. Deri, vücudu çeşitli tehlikelere karşı koruyan bir katmandır ve vücut ısısının düzenlenmesinde de önemli etkileri bulunmaktadır. Melanin biyosentezi olan melanogenez, epidermiste bulunan melanosit hücrelerindeki organellerde (melanozomlar) gerçekleşir. Melanin fazla biriktiğinde albinizm, melisma, derideki çiller, iltihap sonrası melonoderma ve yaşlanmayla ilgili noktalar gibi düzensiz hiperpigmentasyon sorunlarına sebep olduğu bilinmektedir (Kobayashi, 2006; Yoshimura vd, 2005). Tirozinazın dünyadaki en ölümcül kanserlerden biri olan cilt kanseri (melanom) ile de ilişkilidir (Buitrago vd, 2016; Riley, 1991). Normal melanositlerin aksine, melanom hücreleri melanini keratinositlere ulaştırmak yerine tutulmuş melanin; melanom hücrelerini radyoterapiye karşı bir kalkan görevi görür, bağışıklık hücrelerine karşı seçici olarak toksik olan melanojen ara maddeleri üretir ve kemoterapi etkilerine karşı koyan bir antioksidan olarak işlev görür (Buitrago vd, 2016; Slominski ve Carlson, 2014). Tüm bunlar göz önüne alındığında, tirozinazın terapötik etkisi inkar edilemez (Lai vd, 2018; Oliveira Pinho vd, 2019).

Tirozinaz, melanin biyosentezini sağladığı, memeliler, mantarlar, böcekler, bakteriler ve bitkilerde yaygın olarak bulunmaktadır ve bakır içeren bir metaloenzimdir (Mendes vd, 2014; Zolghadri vd, 2019). Tirozinaz, melanin biyosentezinde ilk adımı oluşturan basit fenollerin oksidasyonunu katalize eden bir enzimdir. Melanin cildi UV radyasyonundan korur ancak aşırı melanin üretimi cilt lekeleri ve melanom gibi istenmeyen durumlara yol açabilir. Ayrıca Parkinson hastalığının gelişiminde önemli bir enzim olan tirozinaz, dopaminin nöromelanine ve onun nörotoksik oksidasyon ürünlerine dönüştürülmesinde rol oynar. Bu nedenlerle, tirozinazın inhibisyonu, Parkinson hastalığının gelişimini önlemek için önemlidir. Buna ek olarak, tirozinaz, gıdayı kahverengiye çeviren reaksiyonu katalize ederek besin değerini de etkili bir şekilde azaltabilir. Yeni düşük yan etkili tirozinaz inhibitörlerinin geliştirilmesi, ilaç, kozmetik ve gıda endüstrilerindeki potansiyel kullanımlarından dolayı önemlidir (Fan vd, 2017; Zhang vd, 2017).

2.10. Üreaz

Mide lümeni asidik bir pH' ya sahiptir. *Helicobacter pylori* burada ancak birkaç dakika yaşayabilir ve en kısa sürede, yaşayabileceği pH'ya sahip olan mukus tabakasına ulaşması gerekir. Bakteri hızlı hareketi ve üreaz enzimi sayesinde bu tabakaya ulaşmaktadır. Mide epitel hücrelerinden bikarbonat ve üre salgınır. Üreaz enzimi ile bu üreyi parçalayarak amonyak oluşturur ve bu amonyak bulutu içerisinde kendi yaşayabileceği pH'yı oluşturur (Gülbüz ve Yılmaz, 2011). *H. pylori*'nin gastrit, intestinal metaplazi ve gastrik asit sekresyonundaki bozukluklarla ilişkili olduğu, ülseri artırdığı ve bu durumun da mide mukozasındaki oksidatif hasara yol açtığı tespit edilmiştir (Levi vd, 1989; Ruiz vd, 1996). Peptik ülser günümüzde çok yaygın olan hastalıklardan biridir.

İnsanlarda ve hayvanlarda üreaz içeren patojenlerin sebep olduğu hastalıkların tedavisinde kullanılacak ilaçların geliştirilebilmesi ve çevreye verilen bu olumsuz etkilerin onarılabilmesi için üreaz inhibitörü üzerinde yapılacak çalışmalar oldukça önemlidir. Üreaz'ın birçok kliniksel patogeneizde önemli bir faktöre sahip olduğu gösterilmiştir. Bu enzim çeşitli fonksiyonlara sahip olduğu için güçlü ve spesifik bileşikler tarafından enzimin inhibisyonuna, üreaz üreten bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisine yol açabilir (Amtul vd, 2004).

Üreyi amonyak ve karbondioksite hidrolize eden enzim üreazdır. *H. pylori* midenin mukus tabakasında bulunmakta ve üreazı salgılayarak ürettiği amonyak sayesinde kendini mide asidinin kötü etkisinden korur (Sökmen vd, 2016).

Üreazdan kaynaklanan hastalıkların etkisini azaltmak için doğal inhibitörler kullanılmakta ve bununla ilgili çok sayıda çalışma yapılmaktadır (Onoda vd, 1990). Üreaz, bazı hastalıkların teşhisi yapılırken üre miktarının belirlenmesinde, gıda sanayinde üreyi uzaklaştırmada ve atık sularda ürenin temizlenmesinde kullanılmaktadır (Bisht vd, 2005; Dindar vd, 2011).

2.11. Antimikrobiyal

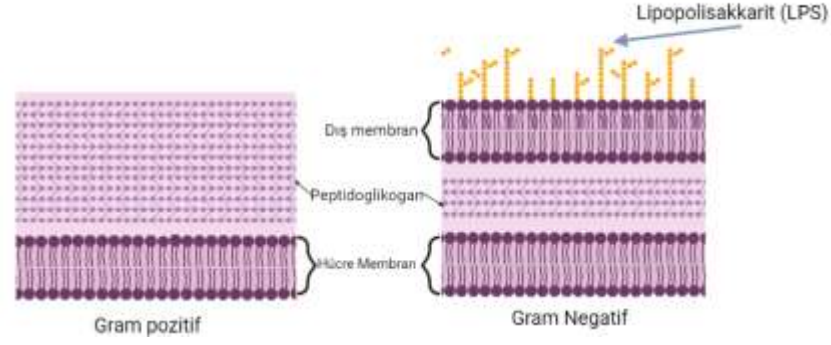
Antimikrobiyal maddeler, mikroorganizmaları öldüren veya üremesini önleyen, doğal veya sentetik kimyasallardır. Mikroorganizmaları öldüren maddeler sidal maddeler olarak adlandırılır ve aldığı ön ek öldürülen mikroorganizmanın tipini gösterir. Dolayısıyla bakterileri öldüren maddeler bakteriyosidal maddeler olarak adlandırmak mümkün olmuştur. Organizmayı öldürmeden sadece üremesini

engelleyen maddeler statik maddelerdir. Antimikrobiyal maddelere kaynak olan bitkiler, mikrobiyal enfeksiyonlarla mücadelede etkilidirler (Çopuroğlu, 2013). Geliştirilen antibiyotiklere karşı bakteriler her zaman kendilerini koruyacak mekanizmalar oluşturmayı başarmaktadır. Yapılan bilimsel araştırmalarda bazı suşlarda tüm antimikrobiyallere karşı direnç ortaya çıkmıştır (Moreno vd, 2000).

Direnç, bir mikroorganizma antimikrobiyal ajanın üreme durdurucu ya da öldürücü yeteneğine karşılık gösterme özelliği olarak tanımlanır (Öztürk ve Aktuğlu, 2002; Yüce, 2001). Antibiyotik direncinin artması ve yeni antibiyotiklerin yeterli miktarda olmaması uzun zamandır bilinmektedir. Sağlık hizmetlerinde en çok karşılaşılan zorluk mikrobiyal enfeksiyonları tedavi edici yeni, uygun fiyatlı ve etkili ilaçlara gün geçtikçe ihtiyacın artması ve bu nedenle bu ihtiyacın yeterli miktarda karşılanamamasıdır. Tıbbi bitkilerin birçoğu bakteriyel enfeksiyonları tedavi edici doğal kaynaklar olarak kabul edilmiştir (Elisha vd, 2017; Manandhar vd, 2019).

Bitkilerin çoğunda bulunan ikincil metabolizma ile sentezlenen fitokimyasallar antimikrobiyal ajan olarak kullanılmıştır. Birçok kaynakta, idrar yolu enfeksiyonları, solunum yolu hastalıkları, gıda zehirlenmeleri ve gastrointestinal bozuklukların tedavi edilmesinde çeşitli tıbbi bitkilerin kullanıldığından bahsedilmiştir (Manandhar vd, 2019).

İnsan vücudundaki bakterilerin büyük kısmı bağışıklık sisteminin koruyucu etkileri ile zararsız hale gelir ve birçoğu bağırsak florasında faydalıdır. Bununla birlikte, çeşitli bakteri türleri patojeniktir. En yaygın ölümcül bakteriyel hastalıklar solunum yolu enfeksiyonlarıdır (World Health Organization, 2015). Bakteriler, gram-pozitif (veya monoderm, "tek zarlı") ve gram-negatif bakteriler (diderm, "çift zarlı") olmak üzere iki farklı türdedir. Bakterilerin isimleri, hücrelerin bakteri türlerinin sınıflandırılması için uzun zamandır devam eden bir test olan gram boyası ile verdiği reaksiyondan tespit edilmektedir (Şekil 2.5.) (Gram, 1884).



Şekil 2.5. Gram-negatif ve gram-pozitif bakteriler arasındaki farklar

2.12. Biyoaktivite Yönlendirmeli İzolasyon

Numunenin kromatografi ve elektroforez gibi ayırma teknikleri kullanılarak ayrılması manuel olarak yapılan en basit fraksiyonlamadır. Biyolojik sistemdeki fraksiyonlar elde edildikten sonra aktivite testleri yapılır, aktif olanlar seçilir ve tekrar fraksiyonlandırılır, bu fraksiyonlara tekrar aktivite testleri yapılır ve bu şekilde gerçekleşen işlem biyoaktivite yönlendirmeli fraksiyonlandırma olarak tanımlar. Genellikle fraksiyonlar belirli zaman aralıklarında toplanır. Diğer bir yöntemde ise kromatogramdan sadece bazı önemli pikleri veren fraksiyonlar toplanmaktadır (Weller, 2012). Biyoaktivite yönlendirmeli fraksiyonlamada antagonistik, sinerjistik veya aditif etki görülebilir (Altenburger vd, 2000; Warne ve Hawker, 1995).

2.12.1. Biyoaktivite Yönlendirmeli Uygulamalarda Kullanılan Teknikler

2.12.1.1. İnce Tabaka Kromatografisi

İnce tabaka kromatografisi (İTK), iki faz arasında (mobil faz ve durağan faz) dinamik ve hızlı bir molekül dengesi içermektedir. Hareketli fazın bileşenleri ile buharı arasında yavaş yavaş bir denge kurulmaktadır. Sabit katmanın halihazırda hareketli faz ile ıslanan kısmı, dengenin oluşumuna katkıda bulunmaktadır (Cai, 2014).

Uygulama sırasında, moleküller serbest ve adsorbe edilmiş durumlar arasında sürekli olarak ileri geri hareket etmektedir. Moleküller arası kuvvetler, dengenin konumunu ve dolayısıyla çözücünün çözeltiyi plakada yukarı doğru hareket ettirme kabiliyetini belirler (Cai, 2014). Bu denge; İTK kaplama malzemesinin polaritesine, uygulama çözücüsünün polaritesine ve numune moleküllerinin polaritesine bağlıdır.

2.12.1.2. Preparatif-HPLC

Bir *preparatif*-HPLC (*p*-HPLC)'de deneyi belirleyen, sistemde pompalanan mobil faz miktarı değil ayrılmadır. Bir *p*-HPLC çalışmasının amacı, ürünün izolasyonu ve saflaştırılmasıdır. *p*-HPLC, damıtma, kristalizasyon veya özütleme gibi geleneksel saflaştırma yöntemleriyle karşılaştırıldığında oldukça pahalı bir teknik olduğundan, sadece nadir veya pahalı ürünler için kullanılmıştır. Aktivite, toksikoloji ve farmasötik taramalar için değişen miktarlarda yüksek oranda saf bileşiklerin üretimi için talebin artmasıyla, *p*-HPLC için çalışma alanı değişmektedir (Huber ve Majors, 2007).

Bir hazırlık çalışmasının sonucunu değerlendirmek için kullanılan üç önemli parametre, ürünün saflığı, verim ve ham madde miktarıdır. Parametreler birbirine bağlı olduğundan, üç parametrenin hepsine göre bir *p*-HPLC yöntemini optimize etmek mümkün değildir (Huber ve Majors, 2007).

2.12.1.3. LC-MS/MS

Sıvı kromatografi (LC), bir sıvı karışımın bileşenlerinin karışmayan iki faz arasında, yani sabit ve hareketli olarak dağıtıldığı bir fiziksel ayırma yöntemidir. Yaygın uygulamalarda, mobil faz bir su ve diğer polar çözücüler (örneğin, metanol, izopropanol ve asetonyitril) karışımıdır ve durağan matris uzun zincirli alkil grupları (örneğin, *n*-oktadesil veya C18) düzensiz veya küresel şekilli 5 mikron çapındaki silika parçacıklarının yüzeyine eklenerek hazırlanır (Dass, 2007).

Kütle spektrometresi (MS), yüklü parçacıkların (iyonların) kütle-yük oranını (m/z) ölçen analitik bir tekniktir. Birçok farklı tipte kütle spektrometresi olmasına rağmen, hepsi ilgilenilen bir analitten üretilen iyonların hareketini manipüle etmek ve m/z değerlerini belirlemek için elektrik veya manyetik alanlar kullanılır (Roberts, 2013). Bir kütle spektrometresinin temel bileşenleri, iyon kaynağı, kütle analizörü, dedektör ve veri ve vakum sistemleridir. Kütle analiz cihazı iyonları kütlelerine göre sıralamak için elektrik ve manyetik alanları uygularken, dedektör kütle-çözülmüş her iyonun bolluğunu hesaplamak için iyon akımını ölçer ve yükseltir (Dass, 2007).

2.12.1.4. GC-MS

Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS), bir test numunesi içindeki farklı maddeleri tanımlamak için gaz kromatografisi ve kütle spektrometresi özelliklerini birleştiren analitik bir yöntemdir. Gaz kromatografisinde kolonun boyutlarına (uzunluk, çap, film kalınlığı) ve ayrıca faz özelliklerine (örneğin, % 5 fenil

polisiloksan) bağı olan bir kılcal kolon kullanır. Farklı moleküller arasındaki kimyasal özelliklerin farkı bir karışımında ve kolonun durağan fazı için nispi afiniteleri, numune kolonun uzunluğunu ilerledikçe moleküllerin ayrılmasını destekleyecektir. Moleküller kolon tarafından tutulur ve daha sonra farklı zamanlarda (tutma süresi adı verilen) kolondan ayrılır ve bu, akış aşağı iyonik molekülleri ayrı ayrı yakalamak, iyonlaştırmak, hızlandırmak, saptırmak ve tespit etmek için aşağı akıştaki kütle spektrometresine izin verir. Kütle spektrometresi, her bir molekülü iyonlaşmış parçalara bölerek ve bu parçaların kütle-yük oranlarını kullanarak tespit ederek bunu yapar.

2.12.1.5. NMR

NMR, bir atomik çekirdeğin magnetik momentinin (μ) bir dış magnetik alanla (B_0) etkileşiminden meydana gelen magnetik rezonansın izlenmesinde radyo dalgalarının kullanıldığı bir spektroskopik tekniktir (Birel, 2017).

Kuantum mekaniği yönünden tek kütle veya tek atomik numaralı bir çekirdeğin “nükleer spin”i vardır. Çekirdeğin her spini farklıdır; bu durum, NMR deneylerinin, özel bir elementin sadece özel bir izotopu için hassas olması sonucunu gerektirir. ^1H veya ^{13}C gibi dönen bir yük bir magnetik alan oluşturur (Birel, 2017).

Bir dış magnetik alan bulunmadığı zaman nükleer spinlerin dağılımı rastgeledir. Bir dış alan, uygulanan alana paralel ve antiparalel nükleer magnetik momentler oluşmasını sağlar. Uygulanan manyetik alana paralel olan yerleşimlerin magnetik momentleri nispeten daha yüksektir (Birel, 2017).

Taneciğin spinine bağlı açısal momentin $h/2$ ile çarpımının bir bütün veya bütünün yarısı olduğu kabul edilir (h planck sabitidir). Bir çekirdek taneciğinin maksimum spin bileşeni "spin kuantum sayısı, I "dır; bu durumda bir çekirdeğin ($2I + 1$) hali vardır. Bu hallere ait açısal momentum bileşeni, seçilen herhangi bir yönde, I , $I - 1$, $I - 2$, ..., $-I$ değerlerinde olacaktır. Bir dış alan bulunmaması durumunda çeşitli hallerin enerjileri birbirine eşittir (Birel, 2017).

Bir protonun spin sayısı $1/2$ dir; böylece $I = +1/2$ ve $I = -1/2$ olmak üzere iki spin durumu bulunur. Ağır çekirdekler çeşitli elementer taneciklerin bir araya gelmesiyle oluştuğundan spin numaraları sıfırdan, en az $9/2$ ye kadar değişebilir. Bir çekirdeğin spin numarası, içerdiği protonların ve nötronların relatif sayısına bağlıdır (Birel, 2017).

Rezonans yerlerinin bulunması için standart bir sinyal alınır ve diğer rezonansların standart sinyaline olan mesafesi Hz olarak verilir, böylelikle sinyallerin yerleri tespit edilmiş olur. NMR deneylerinde standart olarak tetrametilsilan (TMS) kullanılır (Birel, 2017).

TMS'nin standart olarak deneylerde kullanılması, onun pek çok kimyasal farklılığından kaynaklanır. En önemli neden; bu organik bileşiğin %99'dan daha fazla bir kısmının, standart sinyalinin solunda rezonans olmasıdır. Silisyum atomu karbon atomuna nispeten daha elektropozitif olduğu için, silisyuma bağlı metil grupları daha fazla perdelenir. Böylece, TMS sinyali oldukça yukarı bir bölgede gözlenir (Birel, 2017).

2.13. Moleküler Doking

Deneyisel çalışmaları desteklemek için moleküler modelleme yöntemleri kullanılabilir veya araştırma yapmadan elde edilecek sonuçları tahmin edebilmek için kullanılan hesaplama yöntemidir. Moleküler davranışın moleküler modellenmesi gerçek sistemleri simüle etmek için teorik ve hesaplamalı kimyayı birleştirir. Bilgisayar teknolojisinin ve algoritmaların hızlı gelişimi, hesaplamalı kimya alanının çok hızlı gelişmesini sağlamış ve laboratuvar deneyleri olmadan kimyasal araştırmalar mümkün hale gelmiştir. Günümüzde ve özellikle bazı alanlarda, hesaplamalı kimya ve modelleme olmadan laboratuvar deneylerinin tek başına istenen sonuçlara ulaşamayacağı görülmektedir.

Moleküler modellemenin birçok olası yaklaşımı ve uygulaması vardır. Yapı oluşumu, yapı görselleştirme, konformasyon üretimi, biyoaktif konformasyonel türevlendirme, moleküler süperpozisyon süperpozisyon, farmakofor model türevlendirme, reseptör haritalama, biyoaktivite tahmini, moleküler etkileşim; yerleştirme için moleküler modelleme, moleküler özellik hesaplama, enerji hesaplama ve diğer alanlar. Moleküllerin farklı konformasyonları, farklı özellikler sergilemelerine neden olabilir. Genellikle düşük enerji konformasyonlarıdır. Büyük biyomoleküllerin düşük enerjili biçimlerini keşfetmek için biçimsel analiz gereklidir.

Doking yöntemi, iki molekülün birbirine kararlı olan konformasyonları ile bağlanmasını inceleyen bir metottur. Proteinlere bağlanan bileşikler anlatmak için anahtar-kilit modeli kullanılır. Burada protein kilit, bağlanması istenen ligand anahtar olarak tanımlanabilir. Doking buna benzer olarak enzimdeki uygun boşluklara

inhibitör ya da substratın bağlanma olasılıklarını incelemektedir.

Bu konumlar, proteinin bağlanma veya aktif bölgesidir ve ligand o bölgeden bağlanır. Bu bölge ise genellikle proteinin yüzeyinde bulunan bir boşluktur ve kristal yapısı bilinen proteinlerde inhibitörün bağlı olduğu yerden tanımlanabilir. Fakat protein-ligand doking bağlanma bölgesi tanımlanırken bir bağdan bahsedilmez, tercihen ligandın pozu (pozisyonu) veya bağlanma modu gibi tanımlamalar kullanmak daha doğrudur. Çünkü ligandın bağlanma bölgesi olarak bahsedilen ligandın; konformasyonunun ve konumun geometrik pozunu ifade eden bir tabirdir (Türkkan, 2013).

2.14. *Lamiaceae* Ailesi ve *Nepeta* Türleri Hakkında Genel Bilgiler

Lamiaceae ailesi ilk olarak 1789 yılında De Jussieu tarafından *Labiatae*, 1836 yılında Lindley tarafından *Lamiaceae* adıyla isimlendirilmiştir (Hedge, 1992). Dünyadaki en çok bilinen eski ve büyük ailelerindendir. Ailenin kökeni 70-90 milyon sene önce veya Oligosen zamanına dayandığı bilinmektedir (Hedge, 1986).

Lamiaceae türlerinin çoğunda çiçekler hermafrodittir. Fakat, *Ziziphora*, *Nepeta* ve *Mentha* cinsleri türlerinin yaklaşık yarısında erkek organları işlevini yitirmiş ve kısırlaşmıştır. Bundan dolayı çiçekler tamamen dişi işlevlidir (Heywood vd, 1978).

2.14.1. *Nepeta* Türlerinin Sınıflandırılması

Nepeta ismi ilk kez 1690 yılında Rivunus tarafından, Tournefort'un 1689 yılında *Mentha cataria* genel isimlendirilmesi altında topladığı bir grup bitkisi için kullanılmıştır. Linne "Species Plantarum" adlı eserinin ilk baskısında 12 adet *Nepeta* cinsini, kalkisli on beş damarlı, korollasının üst dudağı düz, alt dudağı konkav, filamentleri paralel olarak tanımlamıştır (Castrillón ve Jiménez, 1983). *Nepeta* cinsi 1763 yılında Adanson tarafından *Cataria* olarak adlandırılmış fakat daha sonra sinonim yapılmıştır.

Nepeta cinsi ile ilgili kapsamlı ilk çalışma 1834 yılında Bentham tarafından yapılmıştır. Araştırmacı cinsin 59 türünü altı seksiyon altında değerlendirmiştir (Castrillón ve Jiménez, 1983).

2.14.2. *Nepeta* Türlerinin Dünya'daki Durumu

Lamiaceae ailesinin en çok bulunan takson cinslerinden biri olan *Nepeta*, Dünya'da 250 takson kadar mevcuttur. *Nepeta* cinsi; başta orta ve güney Avrupa,

Yakın Doğu, orta ve güney Asya ve Afrika'nın bazı bölgeleri olmak üzere ılıman bölgelerde dağılmıştır. Kuzey Amerika, Hindistan'ın Himalaya bölgesi (Uttarakhand, Himachal Pradesh, Jammu ve Keşmir, Leh-Ladakh), Suudi Arabistan, Pakistan (Khyber Pakhtunkhwa ve Pakistani Keşmir), Çin, Nepal (Baglund bölgesi) bölgelerinde de yetişmektedir. Çoğu *Nepeta* türü, özellikle Güneybatı Asya'da (Türkiye ve İran) endemiktir (Aćimović vd, 2021; Dirmenci, 2003; Hedge, 1992).

Dünya' da tahmin edilen *Nepeta* türü sayısı 250 civarındadır. *Nepeta* türleri 0-4500 m, çoğunlukla da 1000-3000 m arasındaki yükseltilerde, hemen hemen her türlü yaşam alanında yetişmektedirler. Bu nedenle yukarıda belirtilen ülkelerin jeomorfolojik yapısı *Nepeta* türlerinin yetişmesi için uygundur (Hedge, 1986; Rechinger, 1982; Strid ve Kit Tan, 1991).

2.14.3. *Nepeta* Türlerinin Türkiye Florasındaki Durumu

Nepeta cinsi bu çalışmadan önceki kayıtlara göre, Türkiye'de 34 tür (40 takson) ile temsil edilmektedir (Budantsev, 1991; Güner vd, 2000). Taksonların 18'i endemiktir. Endemik taksonların 6'sı İran-Turan, 12'si Akdeniz bitki coğrafyası bölgesi içindedir. *Nepeta* cinsi türlerinin Türkiye'deki başlıca yayılış alanları Batı, Güney ve Doğu Anadolu Bölgesi' ndedir.

2.14.4. *Nepeta* Türlerinin Temel Kimyasal Bileşikleri

Nepeta türlerinin ana bileşenleri arasında başta nepetalakton olmak üzere, diterpen, triterpen, seskiterpen ve bazı iridoidler bulunmaktadır. Ayrıca, farklı nepetalakton bileşikleri de tespit edilmiştir. Bu bileşikler, nepetalakton 1, nepetalakton 2, nepetalakton 3, nepetalakton 4, nepetalakton 7, dihidronepetalakton 5, dihidronepetalakton 6, 3-hidroksi dihidronepetalakton'dur (De Pooter vd, 1987; Lawrence, 1992).

Türkiye' de yetişen bazı *Nepeta* türlerinin uçucu yağları incelenmiştir (Baser vd, 2000). Türler yüksek oranda nepetalakton (%60-95) ve düşük oranda nepetalakton (%10-46) içermelerine göre iki grup altında toplanmıştır (Tablo 2.1.).

Tablo 2.1. Türkiye' deki *Nepeta* türlerinin ana bileşenleri

Bileşik	Bitki türü	Kaynak
4aα-7α-7aα Nepetalakton	<i>N. caesarea</i> ¹ , <i>N. cataria</i> ^{1,3} , <i>N. cadmea</i> ¹ , <i>N. pilunux</i> ¹ , <i>N. meyeri</i> ²	¹ (Baser vd, 2000) ² (Mutlu vd, 2010) ³ (Ashrafi vd, 2019)
4aα-7α-7aβ Nepetalakton	<i>N. racemosa</i> ¹ , <i>N. meyeri</i> ² , <i>N. cataria</i> ³ , <i>N. distans</i> ⁴ , <i>N. parnassica</i> ⁵	¹ (Baser vd, 2000) ² (Mutlu vd, 2010) ³ (Ashrafi vd, 2019) ⁴ (Rehman vd, 2020) ⁵ (Gkinis vd, 2003)
Nepetalakton	<i>N. congesta</i> var. <i>congesta</i> ²	² (Kılıç ve Kökten, 2020)
Karyofilen oksit	<i>N. betonicifolia</i> , <i>N. nuda</i> subsp. <i>glandulifera</i> , <i>N. cilicica</i> , <i>N. fissa</i> , <i>N. isaurica</i> , <i>N. concolor</i> , <i>N. conferta</i> , <i>N. italica</i> ¹ , <i>N. congesta</i> var. <i>congesta</i> ² , <i>N. distans</i> ³ , <i>N. binaludensis</i> ⁴ , <i>N. pogonosperma</i> ⁴ , <i>N. racemosa</i> ⁴ , <i>N. parnassica</i> ⁵	¹ (Baser vd, 2000) ² (Kılıç ve Kökten, 2020) ³ (Rehman vd, 2020) ⁴ (Talebi vd, 2020) ⁵ (Gkinis vd, 2003)
1,8-sineol	<i>N. congesta</i> var. <i>cryptantha</i> , <i>N. sulfuriflora</i> , <i>N. nuda</i> subsp. <i>albiflora</i> , <i>N. flavida</i> , <i>N. nuda</i> subsp. <i>nuda</i> , <i>N. phylloclamys</i>	(Baser vd, 2000)
β-pinen	<i>N. viscida</i>	(Baser vd, 2000)
Terpinol	<i>N. sorgerae</i>	(Baser vd, 2000)
Germakren	<i>N. ucrainica</i> L. spp. <i>kopetdagensis</i> .	(Shakeri vd, 2014)
Germacrene D	<i>N. trachanotica</i>	(Baser vd, 2000)
Spathulenol	<i>N. cataria</i>	(Yang vd, 2020)
Timol	<i>N. cataria</i> ¹ , <i>N. deflersiana</i> ²	¹ (Yang vd, 2020) ² (Mothana, 2012)
Oksijenli monoterpenler	<i>N. deflersiana</i>	(Mothana, 2012)
Oksijenli seskiterpenler	<i>N. cataria</i>	(Yang vd, 2020)
Fenolik bileşikler		

2.14.5. *Nepeta* Türlerinin Kullanım Alanları

Bu türlerden bazıları tıbbi özellikleri ve biyolojik aktiviteleri ile tanınmaktadır. Halk tıbbında idrar söktürücü, terletici, öksürük önleyici, spazm önleyici, astım önleyici, febrifüj, emmenagog, yatıştırıcı ve mide ile ilgili özellikleri için kullanılırlar. Farmakolojik ve biyolojik etkiler özellikle *Nepeta* yağlarında bulunan genellikle nepetalaktonlara atfedilir. Uçucu yağ bileşimleri göz önüne alındığında, *Nepeta* türleri nepetalakton içeren ve nepetalakton içermeyen türler olmak üzere iki gruba ayrılabilir (Kilic vd, 2013; Skaltsa vd, 2000).

Türkiye' de halk arasında geniş kullanım alanına sahip değildir. Ancak yöre halkı arasında *N. racemosa*'nın Kars-Karaorgan'da çorbalara katıldığı, *N. meyeri*' nin Iğdır civarında kaynatılarak karın ağrısı için içildiği tespit edilmiştir (Cantino, 1992). Halbuki *N. cataria* eski çağlardan bu yana dünyanın birçok ülkesinde çeşitli amaçlar için kullanılmaktadır. İtalya'da Roma döneminde yemeklere baharat olarak kullanıldığına dair arkeolojik bulgular varır, Kuzey ve Batı Avrupa'da tıbbi amaçla kullanılmak üzere kültürü yapılmaktadır (Cantino, 1992).

N. cataria 'nın kedi afrodizyaki olabileceği Lindley tarafından belirtilmektedir. *N. deflersiana* Schweinf. yapraklarından hazırlanan lapa deri yanıklarını iyileştirmek için Suudi Arabistan' da kullanılmaktadır. İtalya'da *N. nepetella* L. kuru yapraklarından hazırlanan yara lapası kaşıntıları azaltmak için kullanılmıştır. *N. taydea* Webb. & Berth., Kanarya Adaları'nda diş ağrısı için kullanılırken, çayının da

kansızlık, ishal, baş ağrısı ve tüberküloza iyi geldiği belirtilmektedir (Dirmenci, 2003). *N. caesarea* mide rahatsızlığında ve uyarıcı olarak (Dirmenci, 2003), *N. glutinosa* Benth. zatürrede, *N. floccosa* Benth. ateşli hastalıklarda kullanılan bazı *Nepeta* türleridir (Atal ve Kapur, 1982).

Dünyanın birçok yerinde bazı türlerinin kültürü yapılmaktadır. Bazı türler halk arasında bitkisel çay olarak oldukça yaygın kullanılmaktadır. Bunların yanı sıra bazı türlerin uçucu yağlarından dolayı ekonomik değeri vardır. Örneğin; Rusya türü olan *N. padostachys*'in yağ oranı %0.04'ü geçmeyenleri, *N. cataria*'nın yağ oranı %3'e kadar olan kemotipleri parfüm sanayinde kullanılmaktadır (Dirmenci, 2003).

2.14.6. *Nepeta* Türlerinin Biyolojik Aktiviteleri

Nepeta türleri halk arasında egzama vb. deri hastalıklarına karşı, bakteriostatik ve diüretik etkileri olduğundan tercih edilmektedir. *Nepeta* türlerinin toprak üstü kısımları, infüzyon (maddenin çözücü içinde asılı kalması) halinde (%2-3) mideye iyi gelen ve uyarıcı olarak kullanılmaktadır (Baytop, 1999). Ayrıca bitkisel çay olarak içildiğinde terlemeyi sağlar. Orta yaştaki de ateşlenme, grip ve sinirliliklerinin önlenmesinde tercih edilir. Bunların dışında ishal, kolik ve bazı çocuk hastalıklarını ve ağrılı mesane iltihabı sendromlarını iyileştirdiği, sabah bulantıları ve prematüre doğumları önlediği söylenir. Bazen de lavman olarak tercih edilir (Yılmaz, 2011).

Nepeta türlerinin biyolojik aktiviteleri ise Tablo 2.2'de gösterilmiştir.

Tablo 2.2. *Nepeta* türlerinin biyolojik aktiviteleri

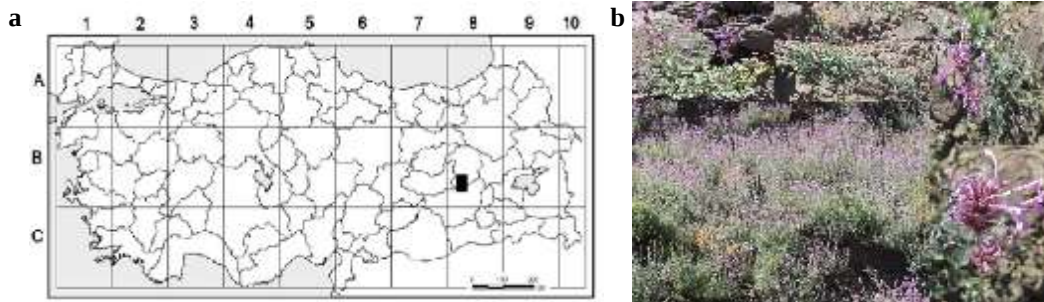
<i>Nepeta</i> türleri	Antioksidan	Enzim inhibisyon	Antimikrobiyal	Sitotoksik	Kaynaklar
<i>N. ruderalis</i>	DPPH ⁻				(Aleem vd, 2020)
<i>N. menthoides</i> Boiss. & Buhse	DPPH ^{1,2} , FRAP ^{1,2}	ACHe ¹		Caco-2 ¹ , HT-29 ¹ , T47D ¹ , NIH 3T3 ¹	¹ (Kahkeshani vd, 2014) ² (Memariani vd, 2019)
<i>N. pannonica</i>	DPPH ⁻				(Buhăianu ve Jităreanu, 2019)
<i>N. heliotropifolia</i> , <i>N. congesta</i> subsp. <i>cryptantha</i>	Fenolik, Flavonoid, CUPRAC, ABTS ⁺ , DPPH ⁻	ACHe, BChE, Üreaz, Tirozinaz		PDF, MCF-7, HT-29	(Akdeniz vd, 2020)
<i>N. spicata</i>	Toplam fenol, Toplam flavonoid, DPPH ⁻ , ABTS ⁺ , Fosfomolibdenyum indirgeme				(Patial vd, 2019)
<i>N. cataria</i> L.	DPPH ⁻		Disk Difüzyon, MİK, MBK		(Ashrafi vd, 2019)
<i>N. asterotricha</i> Rech. F.	DPPH ⁻		Disk Difüzyon, MİK, MBK		(Goldansaz vd, 2019)
<i>N. juncea</i> Benth.	Toplam Fenol, Toplam Flavonoid, Antosiyanin, Tanen, DPPH ⁻ , FRAP		MİK, MBK, MFK	MCF-7, Hep-G2	(Sharifi-Rad vd, 2020)
<i>N. deflersiana</i>			Disk Difüzyon, MİK, MBK, Sinerjik, antikanser (Annexin V)		(Ahmad vd, 2020)
<i>N. cataria</i> var. <i>citriodora</i> Balbis, <i>N. transcaucasica</i> Grosch., <i>N. melissifolia</i> L., <i>N. sibirica</i> L., <i>N. nuda</i> L. subsp. <i>glandulifera</i> , <i>N. cadmea</i>	Toplam Fenol, DPPH ⁻ , ABTS ⁺ , Oksijen radikal				(Baranauskienė vd, 2019)
	Fosfomolibdenyum indirgeme ¹ , Metal Şelat ¹ , CUPRAC ^{1,2} , FRAP ^{1,2} , DPPH ^{1,2} , ABTS ^{+1,2} , Toplam Fenol ² , Toplam Flavonoid ²	ACHe ^{1,2} , BChE ^{1,2} , α-amilaz ^{1,2} , α-glikozidaz ^{1,2} , Tirozinaz ^{1,2}			¹ (Sarıkurkcu vd, 2018) ² (Sarıkurkcu vd, 2019)
<i>N. viscida</i> Boiss.	Toplam Fenol, DPPH ⁻				(Karafakioğlu ve Aksoy, 2019)
<i>N. fissa</i>	Toplam Fenol, Toplam Flavonoid, DPPH ⁻ , FRAP				(Moshari Nasirkandi vd, 2019)
<i>N. binaludensis</i> Jamzad	Toplam Fenol ^{1,2} , Toplam Flavonoid ² , Toplam İridoid ² , DPPH ^{1,2} , FRAP ^{1,2} , ABTS ^{+1,2}	Angiotensin converting enzyme (ACE) ²			¹ (Mahalleh vd, 2019) ² (Tundis vd, 2013)
<i>N. rtanjensis</i> , <i>N. sibirica</i> , <i>N. nervosa</i>	Toplam Fenol, Toplam Flavonoid, ABTS ⁺ , DPPH ⁻ , FRAP				(Nestorović Živković vd, 2018)
<i>N. cataria</i>	Toplam Fenol, Toplam Flavonoid, ABTS ⁺ , DPPH ⁻ , FRAP, Metal Şelat	α-amilaz			(Malik vd, 2018)
<i>N. camphorata</i>	Fenolik Bileşik, DPPH ⁻ , FRAP				(Darras vd, 2020)
<i>N. binaludensis</i>	Toplam Fenol, DPPH ⁻ , FRAP				(Mahalleh vd, 2019)
<i>N. spicata</i>	Toplam Fenol, DPPH ⁻ , FRAP, Fosfomolibdenyum indirgeme				(Patial vd, 2019)
<i>N. satureioides</i>		Tirozinaz			(Emami vd, 2017)
<i>N. crassifolia</i> Boiss & Buhse	Toplam Fenol, Toplam Flavonoid, Toplam İridoid, DPPH ⁻ , ABTS ⁺ , FRAP	Angiotensin converting enzyme (ACE)			(Tundis vd, 2013)
<i>N. menthoides</i>			Disk Difüzyon, MİK		(Sonboli vd, 2009)
<i>N. ucrainica</i> L.			Disk Difüzyon, MİK		(Asgharian vd, 2019)
<i>N. crispa</i> Willd.			Disk Difüzyon		(Sonboli vd, 2004)
<i>N. nepetella</i>	Toplam Fenol, DPPH ⁻ , İndirgeme Gücü				(Seladji vd, 2014)
<i>N. nuda</i> subsp. <i>albiflora</i> (Boiss.)	DPPH ⁻		Disk Difüzyon		(Alim vd, 2009)
<i>N. meyeri</i> Benth.	Toplam Fenol, İndirgeme Gücü, DPPH ⁻ , Nitrik Oksit		Disk Difüzyon		(Cigremis vd, 2010)
<i>N. nuda</i> subsp. <i>lydiae</i>	FRAP, DPPH ⁻ , ABTS ⁺ , CUPRAC		Disk Difüzyon		(Aras, 2017)

2.15. *Nepeta baytopii* Hedge Et Lamond (Beynanesi)

Çok yıllık bir bitkidir. Gövde; tabandan çok sayıda, yay gibi kıvrık, 25-70 cm, kısa ve geriye kıvrık pilos ve seyrek uzun dağınık tüylü, sapsız glandlıdır. Yapraklar; ovatriangular, (1)1.5-3 x 0.8-2.4 cm, krenat, damarlar üzerinde kısa pilos ve uzun tüylü, alt yüzde çok sayıda sapsız glandlı, yukarıdaki yapraklar birbirinden daha uzak ve daha küçük, petiyol 0-3 cm'dir. Verisillatlar; alttaki 1-2'si ayrı, üsttekiler baş şeklinde birleşmiştir. Brakteoller; linear-lanseolat, 7-12 mm, uçta attenuat-aristat, kenarları zarsıdır. Kaliks; tüpsü, 11-13.5 mm, düz ya da kıvrık, ağızda meyilli, dişler oblongovat'tan dar triangular, akuminat-aristat' a kadar değişir, kenarı zarsı, alt dudak yarık, damarlar üzerinde yukarıya yönelik tüylü, salgılı papillalı ve sapsız glandlı, hafif leylak renklidir. Korolla; leylak, 21-25 mm, tüp düz ya da hafif kıvrık, kaliks dişlerini belirgin bir şekilde aşar, baştan başa pilos tüylü ve çok sayıda sapsız glandlı, tüyler üst ve alt dudak loblarını aşar. Tohum; oblong, oblong-trgonus, düz, c.2.5x1.2 mm. *N. baytopii* Doğu Anadolu bölgesinde yol kenarlarında, volkanik alanlarda 1200 m yükseklikte ve temmuz ayında çiçek vermektedir. (Dirmenci, 2003; Kilic vd, 2013).

Nepeta baytopii Hedge Et Lamond, Plantae aleminin *Tracheobionta* alt aleminden *Magnoliophyta* bölümünün *Magnoliopsida* sınıfının *Asteridae* alt sınıfının *Lamiales* takımının *Lamiaceae* ailesinin *Nepeta* cinsine ait bir türdür (www.tübives.com).

N. baytopii bitkisinin toprak üstü kısmının uçucu yağları GC ve GC-MS ile araştırıldı. *N. baytopii* uçucu yağının verimi 0.40 mL/100 g olarak bulundu. 1,8-sineol (%23.2) ve nepetalakton (%12.8) ana bileşenleridir (Kilic vd, 2013). Türkiye'de *N. baytopii*' nin bulunduğu bölge haritası (B8) Şekil 2.6.a'da gösterilmiştir (Mikail vd, 2011). Ayrıca *N. baytopii* bitkisinin Bingöl' de yetiştiği alandaki görüntüsü Şekil 2.6.b'de gösterilmiştir.



Şekil 2.6. a) Türkiye' de *N. baytopii*' nin bulunduğu bölge haritası (B8) (Mikail vd, 2011), b) *N. baytopii* (Lütfi Behçet tarafından çekilmiştir.)

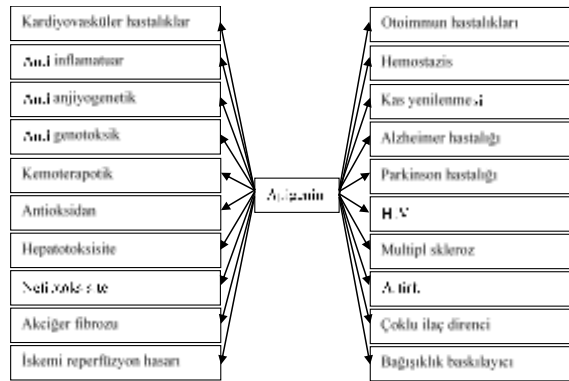
2.16. İzole Edilen Bileşikler Hakkında Genel Bilgiler

2.16.1. Apigenin

Apigenin, 4',5,7-trihidroksiflavon olarak bilinen $C_{15}H_{10}O_5$ molekül formülüne sahip moleküler ağırlığı 270.24 g/mol olan flavon sınıfına ait bileşiktir. Flavonların ve bunların bazı türevleri, anti-inflamatuar, antioksidan, antitümör, anti-alerjik, anti-genotoksik, kardiyο-koruyucu, antimikrobiyal ve nöro-koruyucu gibi çeşitli biyolojik aktiviteler göstermektedir (D Catarino vd, 2015). Ayrıca apigenin yün boyamasında kullanılan sarı renkli kristaldir.

Apigenin, birçok bitkide ikincil metabolit olarak sentezlenir. Maydanoz, papatya, kereviz, portakal, soğan, mısır, pirinç, çay, buğday filizi gibi çeşitli bitkiler apigenin ve türevlerini sentezlemektedir (Haytowitz vd, 2006; Patel vd, 2007; Wen vd, 2014; Yan vd, 2014). Tüm flavonoidler, esas olarak bitkilerdeki şikimik asit yolu denilen tek bir yoldan sentezlenmektedir. Naringenin, flavon/antosiyanın yolunun anahtar ara maddesidir (Lee vd, 2015; Wang vd, 2011; Wen vd, 2014; Yan vd, 2014).

Apigenin, yapısal olarak benzer olduğu diğer flavonoidlerle karşılaştırıldığında, düşük içsel toksisitesi ve normal hücrelere karşı kanser hücreleri üzerindeki çarpıcı etkilerinden dolayı son yıllarda yararlı ve sağlığı geliştirici bir ajan olarak önem kazanmıştır (Gupta vd, 2001). Apigeninin birçok hastalığa karşı güçlü terapötik potansiyeli vardır (Şekil 2.7.). Bu molekülün metal ile şelatlandığı, serbest radikalleri süpürdüğü ve tümör modellerinde hücre kültürü ve *in vivo* olarak faz II detoksifikasyon enzimlerini uyardığı da gösterilmiştir (Middleton vd, 2000). Apigenin, çeşitli hücre dizilerinde ve hayvan modellerinde apoptozu indükleyerek kanserin önlenmesinde önemli bir rol oynar (Kaur vd, 2008; Nicholas vd, 2007).



Şekil 2.7. Apigenin farmakolojik özellikleri

Apigeninin çeşitli memeli sistemlerinde *in vitro* ve *in vivo* olarak biyolojik etkisi, antioksidan ve antijenotoksik etkisi serbest radikalleri temizlemedeki rolü ile ilgilidir (Ali vd, 2014; Liu, 2004). Apigenin ve türevlerinin, vücuttaki birçok farmasötik ilacın metabolizmasından sorumlu bir enzim olan CYP2C9'un güçlü bir rekabetçi inhibitörüdür (Si vd, 2009).

Fibroblast benzeri sinoviyosit (FBS) hücreler tarafından üretilen inflamatuvar sitokinlerin eklem yıkımı ve iltihaplanmasında rol oynadığı bildirilmektedir. Apigenin'in ROS üretimini indüklediği ve FBS'lerde oksidatif stresle aktive olan ERK1/2 yoluyla apoptoza neden olduğu bilinmektedir (Shin vd, 2009). Buna ek olarak, farelerde uygulanan romatoid artrit modelinde apigenin alımı, TNF- α tarafından uyarılan bağışıklık düzenleyici etkiler de göstermiştir (Kumazawa vd, 2006).

Apigeninin birçok memeli sisteminde *in vitro* ve *in vivo* olarak gösterdiği biyolojik etkilerin bir bölümü antioksidan ve serbest radikalleri gidermesi ile ilgilidir. Ayrıca, anti-mutajenik, antienflamatuvar, antiviral ve purgatif etkiler de sergiler (Yang vd, 2001). Apigeninin oksidatif stresi azaltma, hücre döngüsünü inhibe etme, detoksifikasyon enzimlerinin etkinliğini artırma, bağışıklık sistemini uyarma ve apoptozu indüklemekteki etkileri oldukça sınırlıdır (O'prey vd, 2003; Thiery-Vuillemin vd, 2005; Yang vd, 2001). Flavonoidler tarafından indüklenen düşük yoğunluklu lipoproteinlerin (LDL) plazma seviyelerinin azalması, trombosit agregasyonunun inhibisyonu ve hücre proliferasyonunun azalması diğer biyolojik etkiler arasında yer alır (O'prey vd, 2003; Surh, 2003; Thiery-Vuillemin vd, 2005; Yang vd, 2001).

Apigenin, kan enzimi belirteçlerini, interleokinleri, çeşitli oksidatif stres belirteçlerini ve diğer bazı enzimlerin ekspresyonunu modüle ederek dokularda oluşan oksidatif stres kaynaklı inflamasyonu azalttığını göstermektedir (Ali vd, 2017).

Apigeninin ana bileşik olarak veya bitki ekstraktları olarak birçok genotoksik bileşiğe karşı *in vivo* ve *in vitro* koruyucu etkisini saptamak için farklı araştırma grupları tarafından değişken parametreler kullanılmaktadır (Ali vd, 2014; Siddique ve Afzal, 2009; Siddique vd, 2008). Ayrıca, tüketilen miktara bağlı olarak, kanser hücre dizilerinde klastojenik etki üretmek için bir prooksidan, genotoksik madde veya anahtar enzimlerin bir inhibitörü olarak hareket edebilir (Noel vd, 2006; Papachristou vd, 2013).

2.16.2. β -Sitosterol

β -Sitosterol, triterpen ailesinin bir üyesi olan fitosteroldür. Fitosteroller, bitki sterolleridir. Bitkilerin hücre zarlarının yüzeylerinde doğal olarak bulunan ve memeli kolesterolüne benzer bir kimyasal yapısı bulunan biyoaktif ikincil metabolit türü fitosteroldür (Babu ve Jayaraman, 2020). Bu bileşik yaygın olarak tohum, ağaç ve kök gibi çeşitli yüksek bitki kısımlarında bulunur (Weihrauch ve Gardner, 1978). β -sitosterolün antibakteriyel aktivite (Ododo vd, 2016), alkolden kaynaklanmayan karaciğer yağlanma hastalığı koruyucu (Feng vd, 2018), analjezik (Dighe vd, 2016), antikanser (Sharmila ve Sindhu, 2017), immünomodülatör (Mat vd, 2012), lipid düşürücü (Yuan vd, 2019), hepatoprotektif (Babu vd, 2020), antidiyabetik (Park vd, 2019), solunum açıcı (Gajula vd, 2020), yara iyileştirici (Park vd, 2019), *in vivo* antioksidan (Ponnulakshmi vd, 2019) ve antienflamatuvar (Paniagua-Pérez vd, 2017) etkiye sahip olduğu yaygın olarak bildirilmiştir. β -Sitosterol potansiyel bir mikro besindir ve kan kolesterol düzeylerini düşürdüğü, kalp hastalığı riskini azalttığı ve belirgin yan etkileri olmadığı doğrulanmıştır (Bresson vd, 2008).

2.16.3. Daukosterol

Daukosterol, triterpen ailesinin bir üyesi olan fitosteroldür. Fitosteroller, bitki sterolleridir. Daukosterol, sitosterol grubunun glikosidik bağlantı yoluyla 3. pozisyonda β -D-glikopiranozil kalıntısına eklendiği bir steroid saponin veya fitosterol benzeri bileşiktir (Wang vd, 2016). Daukosterol endojen olarak sentezlenmez, ancak diyet yoluyla elde edilebilir (Zhao vd, 2015). Çalışmalar, daukosterolün anti-inflamatuvar ve immünomodülatör aktiviteler sergilediğini ve nöral kök hücre proliferasyonunu desteklediğini göstermiştir (Bouic vd, 1996; Choi vd, 2012; Jiang vd, 2014; Lee vd, 2007). Anti-kanser etkisi iyi bilinmemektedir. Ancak kolon kanseri hücrelerinde oksidatif aracılı apoptotik hücre ölümü yoluyla antikanser özelliği sergilediği gösterilmiştir (Wang vd, 2016).

2.16.4. İksorozit

İksorozit, iridoit glikozit sınıfı bir bileşiktir. Sekonder metabolitlerin bir türevidir. İksorozit glikozitler, bitkileri herbivorlardan ve üzerinde barınan çeşitli bakterilerden, fungal patojenlerden ve diğer çevresel faktörlerden korumaktır (Dobler vd, 2011). İridoit glikozitlere sahip olan bitkiler daha fazla miktarda nitrojen depo edebilir (Rosenthal ve Berenbaum, 2012). İridoit glikozitlerin; kan glikoz seviyelerini

düşürdüğü (Jouad vd, 2002; Skim vd, 1999a; Skim vd, 1999b), serotonin ve histamin salgılanmasını azalttığı (Bello vd, 2002), hipoglisemik ajan, mushil, idrar arttırıcı, mide ile ilgili ve kuvvet verici, safra söktürücü, baş ağrısını engelleyen ve terletici ajan olarak kullanıldığı görülmüştür (Boutiti vd, 2008; Kırmızıbekmez, 1999). Aynı zamanda hipertrigliseridemiye azalttığı, yüksek fruktoz diyeti ile beslenen sıçanlarda kalp, böbrek ve kasın oksidatif durumunu iyileştirdiği görülmüştür (Taleb-Dida vd, 2011). Keskin tonik, yatıştırıcı, soğuk algınlığı, anti-inflamatuar, anti-romatizmal, anti-ülser, hipo ve hipertansiyon ilaçlarının formülünde kullanılırlar (Dinda vd, 2009). Karaciğerden safra salınımını uyaran, kan damarlarını daraltıcı, karaciğer koruyucu, antienflamatuar, antiviral, ve antimikrobiyal etkilerinin var olduğu bulunmuştur (Sesterhenn vd, 2007).

2.16.5. Ursolik Asit

Ursolik asit (UA, 3 β -hidroksi-urs-12-en-28-oik asit), bitkilerde doğal olarak bulunan, bitki büyümesinde ve böcek direncinde hormon veya düzenleyici faktör olarak önemli bir rol oynayan, C-3 hidroksi ve C-28 karboksilik asit grubuna sahip ursan tipi pentasiklik triterpenoiddir (Andre vd, 2012; Martínez vd, 2017). Bitkilerdeki öneminin yanı sıra, anti-inflamatuar (Baricevic vd, 2001), anti-oksidasyon (Saravanan vd, 2006), antibakteriyel (Kurek vd, 2014), diyabet tedavisi (Ullevig vd, 2011), anti-tümör metastazı (Xiang vd, 2015), antianjiyogenez (Jin vd, 2016), cilt bakımı (Pateraki vd, 2015) ve üstün karaciğer koruma işlevi (Li vd, 2015) dahil olmak üzere çok çeşitli klinik olaylarda olumlu etki göstermiştir.

Ayrıca UA, ALT/AST seviyesini, karaciğer yağlanması ve L02 hücrelerinde palmitik asit kaynaklı yağ birikimini azalttığı için %89.3 kür oranı ile hepatit A ve B tedavisinde umut verici sonuçlar göstermektedir (Kunkel vd, 2012; Li vd, 2015). Ek olarak, yağların β -oksidasyonunu artırarak ve endoplazmik retikulum (ER) basıncını engelleyerek karaciğer koruyucu etkiler de göstermektedir (Liu vd, 2021a).

UA, yüksek aktivitesi ve düşük toksisitesi nedeniyle kanser tedavisinde de önemli terapötik potansiyel sergilemektedir. Çok sayıda çalışma, UA'nın hem kemirgenlerde hem de insanlarda kanser hücresi metabolizması üzerindeki faydalı etkilerini araştırmıştır. UA'nın hücre dışı fosforile edilmiş sinyalle düzenlenen kinazın aktivitesini azalttığını ve mitokondriyal membranı depolarize ettiğini göstermiştir (Dong vd, 2015). Anti-kanser etkisinin altında yatan mekanizmaların, tümörjenezin

(Huang vd, 1994) ve kanser hücresi çoğalmasının (Prasad vd, 2012) inhibisyonu, apoptozun modülasyonu (Lewinska vd, 2017), hücre döngüsü durmasının önlenmesi (Li vd, 2017) ve otofajinin teşvik edilmesi (Cao vd, 2018; Luo vd, 2017) olduğu bildirilmektedir.

UA'nın temel etkileri, pankreatik α -amilaz aktivitesinin inhibisyonu ve *in vivo* olarak kan glikoz seviyesinin düşürülmesidir (Jung vd, 2007; Li vd, 2014).

UA oksidatif stresi (Zhang vd, 2014) ve eksitotoksisteyi (Shih vd, 2004) inhibe eder, bu da oksidatif stres ve eksitotoksistenin neden olduğu çeşitli beyin hastalıklarında koruyucu bir rol oynayabileceğini düşündürür. Ek olarak, UA apoptotik sinyali baskılar (Zhang vd, 2014) ve beyinde anti-inflamatuar etkiler uygular (Huang vd, 2009; Lu vd, 2010).

UA, iskelet kası sentezini uyarır (Kunkel vd, 2011) ve çeşitli sinyal yolları aracılığıyla iskelet kasının gücünü artırır (Kunkel vd, 2012), bu da sarkopeninin önlenmesinde yararlı olabileceğini düşündürür. UA'nın sarkopeni üzerindeki doğrudan etkileri özel olarak çalışılmamıştır; bununla birlikte, UA'nın yaşa bağlı iskelet kası disfonksiyonu üzerindeki etkileri üzerine birkaç benzer çalışma yapılmıştır (Bakhtiari vd, 2015; Ebert vd, 2015).

Son zamanlarda, UA'nın *in vitro* ve *in vivo* olarak çeşitli moleküler yollar aracılığıyla egzersiz kapasitesini geliştirdiği bildirilmiştir. UA takviyesi, egzersiz kapasitesini artırır ve istirahat kalp hızını azaltır (Sehrawat vd, 2017).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasallar

Sigma-Aldrich: Folin&Ciocalteu reaktifi, metanol, gallik asit, etanol, kloroform, sodyum karbonat (Na_2CO_3), *n*-hekzan, sülfirik asit (H_2SO_4), etil asetat, bütillenmiş hidroksianisol (BHA), kuersetin, potasyum asetat (CH_3COOK), ter-bütıl hidrokinon (TBHQ), E vitamini, potasyum persülfat ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), amonyum heptamolibdat tetrahidrat $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$, 2,2-azinobis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS), dipotasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4), dipotasyum dihidrojen fosfat ($\text{K}_2\text{H}_2\text{PO}_4$), AChE, asetilkolin iyodür, BChE, bütirilkolin klorür, tirozinaz, üreaz, 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit (DTNB), amoksisilin, tetrasiklin, galantamin, hidrojen peroksit (H_2O_2), 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH $\cdot$), 3,4-dihidroksi-L-fenilalanin (L-DOPA), seryum (IV) sülfat, alüminyum klorür (AlCl_3), etidyum bromür (EtBr). Merck: İTK silika jel 60 F254 20x20, silika jel 60, trisodyum fosfat (Na_3PO_4), borik asit, gliserol, magnezyum klorür (MgCl_2), tiyoüre, sodyum klorür (NaCl), üre, kalsiyum klorür (CaCl_2), sodyum hidroksit (NaOH), fenol, sodyum hipoklorit (NaOCl). Himedia: Mueller Hinton Agar (MHA), Mueller Hinton Broth (MHB). Thermo Scientific: Plazmid DNA (pBr322). Fisher Scientific: Dimetil sülfoksit (DMSO). Glenthams: Kojik asit. Riedel-de-Haen: Sodyum nitroprussid.

3.2. Kullanılan Cihazlar

Ppreparatif-HPLC (Agilent, C18 ters faz kolonu, UltiMate™ 3000 Semi-Preparative System), GC-MS/MS (7697A model HeadSpace Sampler ve Agilent 7890A model GC sistemine sahip 7000 Triple Quad Mass Spektrometer model kütle spektrometresi), GC-MS (Thermo), NMR spektrofotometre (Agilent, 600 MHz), HPLC-MS/MS (Agilent), GC-FID (Agilent), mikro plaka okuyucusu (BIOTEK-Epoch2), İnkübatör (Memmert), Mc-Farland cihazı (Biosan), Elektroforez (Bio-Rad JY-SPBT), UV translüminatörü (Bio-Rad), Isıtıcı (Electromantle), Ultrasonik banyo (Kudos), Vorteks (Velp Scientifica), Santrifüj (MSE Mistral 2000), pH metre (Eutech Instruments), Evaporator (Rotary evaporator RE100), Liyofilizatör (CHRIST Alpha 1-2 LD Plus), Biyogüvenlik seviyesi II kabin (Chemocell LRCx-UV, Teknomar), Otoklav (Astell Scientific), Laboratuvar parçalayıcı (Waring Commercial), UV-Vis spektrofotometre (Thermo Fisher Scientific Evolution Array), Analitik terazi (Radwag), Manyetik karıştırıcı (EMS 300 HS), Derin dondurucular (Nuaire, -80 °C ve

Sanyo, -35 °C).

Otomatik pipetler: Brand (10-100 µL, 100-1000 µL), Nichipet EX (20-200 µL, 100-1000 µL, 1000-5000 µL), Socorex (100-1000 µL) ve Brand (5-12 mL elektronik tekrarlamalı)

3.3. Bitki Materyallerinin Toplanması ve Kurutulması

N. baytopii bitkisi Bingöl ilinin Ortaköy ilçesinin güneyinde yer alan Metan dağı stepinin 1950-2100 metre yükseklikten Bingöl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Öğretim Üyesi Prof. Dr. Lütfi Behçet tarafından toplanarak ve uygun koşullarda (karanlık, hava alan yerde) kurutulmuştur. Ayrıca, Bingöl Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Herbaryuma BIN5933 koduyla endemik bir bitki olarak kaydedilmiştir.

3.4. Ekstraksiyon

N. baytopii (NB) bitkisinin 1000 g toprak üstü kısmı 9-15 L metanol:kloroform: MK (1:1, v/v) çözücü sisteminde üç defa bir hafta arayla karanlık ortamda ekstrakte edildi. Bu süre sonunda bitki ekstresi Whatman No:1 filtre kâğıdında süzülerek ve çözücü karışımı +40°C’de dönerli buharlaştırıcı kullanılarak ayrıştırıldı (Şekil 3.1.). Daha sonra ham ekstrakt liyofilizatörde toz halinde kurutuldu ve -20°C’de çalışmalarda kullanılmak üzere saklandı.



Şekil 3.1. *N. baytopii* toprak üstü kısmının metanol:kloroform (1:1) ile ekstraksiyonu

3.5. Fraksiyonlandırma, İzolasyon ve Saflaştırma

N. baytopii metanol:kloroform ekstraktı (ham ekstrakt) silika jel kolonda artan çözücü polaritesine göre (*n*-hekzan: H, kloroform: K, etil asetat: EA ve metanol: M) fraksiyonlandırıldı (Şekil 3.2.). Elde edilen birinci fraksiyonlar tekrar silika jel kolon ile fraksiyonlandırılarak ikinci fraksiyonlar elde edildi. Ham ekstrakt ve birinci fraksiyonlara fitokimyasal ve biyoaktivite testleri yapıldı. Buna ek olarak ikinci fraksiyonlara biyoaktivite testleri uygulandı. İkinci fraksiyonlardan standart

bileşiklere oranla %70 aktivite gösteren fraksiyonlar biyoaktivite yönlendirmeli izolasyon prensibine göre tekrar fraksiyonlandırılarak alt fraksiyonlar elde edildi ve aktif fraksiyon/lar saflaştırma işlemlerine tabi tutuldu. Saflaştırma işlemlerinde açık kolon (silika jel 60) ve *preparatif*-HPLC (*p*-HPLC) kullanıldı. Alt fraksiyonlar ve aktif bileşiklere de biyoaktivite testleri uygulandı. Saflaştırma işlemi ile elde edilen bileşiklerin yapılarının aydınlatılması için, 1D ve 2D NMR teknikleri ve LC-MS/MS ile molekül ağırlıkları tespit edilip yapıları aydınlatıldı. Aktif bileşik ya da bileşiklere *in siliko* gerçekleştirilerek moleküler doking yapıldı.



Şekil 3.2. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktına birinci ve ikinci fraksiyonlarının silika jel kolon kromatografisi ile ayrıştırması uygulamaları

N. baytopii *n*-hekzan fraksiyonundan (NBH) Fr1-Fr9 arasında, kloroform fraksiyonundan (NBK) Fr1-Fr7 arasında, etil asetat fraksiyonundan (NBE) Fr1-Fr10 arasında ve metanol fraksiyonundan (NBM) Fr1-Fr8 arasında fraksiyonlar elde edildi. Fraksiyonların çözücüleri evaporatörde uzaklaştırıldı ve son kalan çözücü kalıntısı liyofilizatörde kurutuldu. Fraksiyonlar -20°C’de kimyasal analiz ve biyoaktivite testlerinde kullanılmak üzere saklandı.

Ekstraksiyon, fraksiyonlandırma, izolasyon ve saflaştırma uygulamaları Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasotik Kimya Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. İbrahim DEMİRTAŞ ve araştırma grubu tarafından gerçekleştirilmiştir.

3.5.1. *Preparatif*-HPLC

Polar karakterli sekonder metabolitleri daha etkin fraksiyonlandırma için Thermo model *p*-HPLC kullanıldı (Şekil 3.3.). Saflaştırma işleminde klasik kolon işlemi sonrasında, polar fraksiyonlar *p*-HPLC kolonuna (C18 ters faz kolonu) verilerek ayırma işlemleri yapıldı.



Şekil 3.3. *p*-HPLC cihazının görüntüsü (Thermo, Iğdır Üniversitesi, ALUM)

3.5.2. İnce Tabaka Kromatografisi

Kolon kromatografisinden toplanan fraksiyonların her biri silika jel kaplı hazır alüminyum plakalara (İTK silikajel 60 GF254) uygulandı ve uygun çözücü sistemlerinde yürütüldü. Maddelere ait lekeler UV (254 ve 366 nm) ışık altında incelendi. Leke renklerini daha iyi görebilmek için silika jel plakalarına serik sülfat belirteci püskürtülüp ısıtıcıda 100°C’de oluşan leke renkleri incelendi ve benzer olan fraksiyonlar birleştirildi. Birleştirme sonrasında tekrar silika jel kaplı hazır alüminyum plakalara uygulanarak uygun çözücü sistemleri ile yürütüldü ve oluşan lekeler incelendi.

3.5.3. NMR Spektroskopisi

Saflaştırılan izolatların yapıları Agilent- Premium Compact 14.1 Tesla 600 MHz Frekanslı NMR cihazı kullanılarak 600 MHz ¹H-NMR, 150 MHz ¹³C-NMR ve iki boyutlu COSY, HMBC ve HSQC NMR spektrumları ile belirlendi (Şekil 3.4.). ¹H-NMR spektrumundan, molekülde ne kadar farklı proton bulunduğu, farklı protonların sayısı ve bir protonun komşusundaki protonlarla etkileşimi belirlendi. ¹³C-NMR spektrumundan, moleküldeki farklı karbonların sayısı belirlendi. İki boyutlu NMR tekniklerinde COSY spektrumundan, molekülde bulunan protonlar arasındaki spin-spin etkileşimleri, HMBC spektrumundan, proton ve karbonların iki, üç veya dört bağ etkileşimleri ve HSQC spektrumundan, birbirine direkt olarak bağlı olan karbon ve protonların etkileşimleri belirlendi (Yenigun vd, 2023).



Şekil 3.4. NMR cihazının görüntüsü (600 MHz Frekanslı, Çankırı Karatekin Üniversitesi, ÇANKAM)

3.5.4. LC-MS/MS

Bileşiğin kütle spektrometresi ile birleştirilmiş Agilent 6460 Triple Quad marka sıvı kromatografisi kullanıldı (Şekil 3.5.). Bileşik için optimum ayırma elde etmek ve baskılama etkilerinin üstesinden gelmek için kromatografik koşullar optimize edildi. Kromatografik ayırma, ters fazlı Agilent Poroshell 120 EC-C18 modeli (100 mm x 3.0 mm, 2.7 µm) analitik kolon ile ayırma işlemi gerçekleştirildi. Kolon sıcaklığı 40°C'ye ayarlandı. Elüsyon gradyanı, elüent: A (su + 5 mM amonyum format + %0.1 formik asit) ve eluent B (metanol + 5 mM amonyum format + %0.1 formik asit), çözücü akış hızı ve enjeksiyon hacmi 0.400 mL/dak ve 4 µL numune enjekte edildi.



Şekil 3.5. LC-MS/MS cihazının görüntüsü (Agilent 6460 Triple Quad, Iğdır Üniversitesi, ALUM)

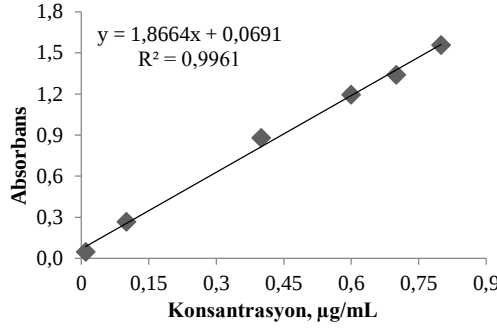
3.6. Fitokimyasal Yöntemler

N. baytopii metanol:kloroform (1:1) ham ekstraktının ve birinci fraksiyonlarının (*n*-hekzan, kloroform, etil asetat ve metanol) toplam fenol ve flavonoid içeriği ve kimyasal bileşen analizleri (HPLC-MS/MS, GC-MS, GC-MS/MS ve GCFID) yapıldı.

3.6.1. Toplam Fenol Miktarı Tayini

N. baytopii metanol:kloroform (1:1; v/v) ekstraktının ve birinci fraksiyonlarının toplam fenol miktarları Folin-Ciocalteu fenol reaktifi metodu kullanılarak tayin edildi ve gallik asit standart olarak kullanıldı (Golmakani vd, 2014). 100 µL ekstrakt veya standart gallik asit çözeltileri (50-5000 µg/mL) ile 500 µL Folin-Ciocalteu reaktifi karıştırıldı. 1 dakika sonra 1.5 mL %20 Na₂CO₃ eklendi ve karışım oda sıcaklığında 2

saat bekletildi. Karışım çözeltilerinin absorbens değerleri 760 nm’de spektroskopik olarak ölçüldü. Standart gallik asit için kalibrasyon grafiği çizildi (Şekil 3.6.). Ekstraktın ve birinci fraksiyonların toplam fenol miktarı Denklem 3.1’de gösterildiği gibi hesaplandı ve sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g ekstrakt olarak ifade edildi.



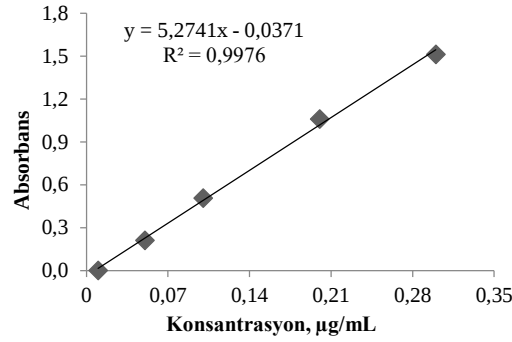
Şekil 3.6. Gallik asit standart kalibrasyon grafiği

$$\text{Toplam fenol miktarı (mg GAE/g ekstrakt)} = (c \times V) / m \quad (3.1)$$

Burada c, kalibrasyon eğrisindeki konsantrasyon değerini (mg/mL), V, stok hacmini (mL) ve m ise stoktaki ekstrakt miktarını (g) göstermektedir.

3.6.2. Toplam Flavonoid Miktarı Tayini

N. baytopii metanol:kloroform (1:1; v/v) ekstraktının ve birinci fraksiyonlarının toplam flavonoid miktarı alüminyum klorür metodu kullanılarak tayin edildi ve standart olarak kuersetin kullanıldı (Golmakani vd, 2014). 500 µL ekstrakt veya standart kuersetin (12.5-100 µg/mL) çözeltileri üzerine 1.5 mL metanol, 100 µL %10 alüminyum klorür, 100 µL 1 M potasyum asetat ve 2.8 mL deiyonize su eklendi. Karışım oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dk bekletildi ve 415 nm’de absorbens değerleri ölçüldü. Standart kuersetinin kalibrasyon grafiği çizildi (Şekil 3.7.). Ekstraktın ve birinci fraksiyonların toplam flavonoid miktarı Denklem 3.2’de gösterildiği gibi hesaplandı ve sonuçlar mg kuersetin eşdeğeri (KE)/g ekstrakt olarak ifade edildi.



Şekil 3.7. Kuersetin standart kalibrasyon grafiği

$$\text{Toplam flavonoid miktarı (mg KE/g ekstrakt)} = (c \times V) / m \quad (3.2)$$

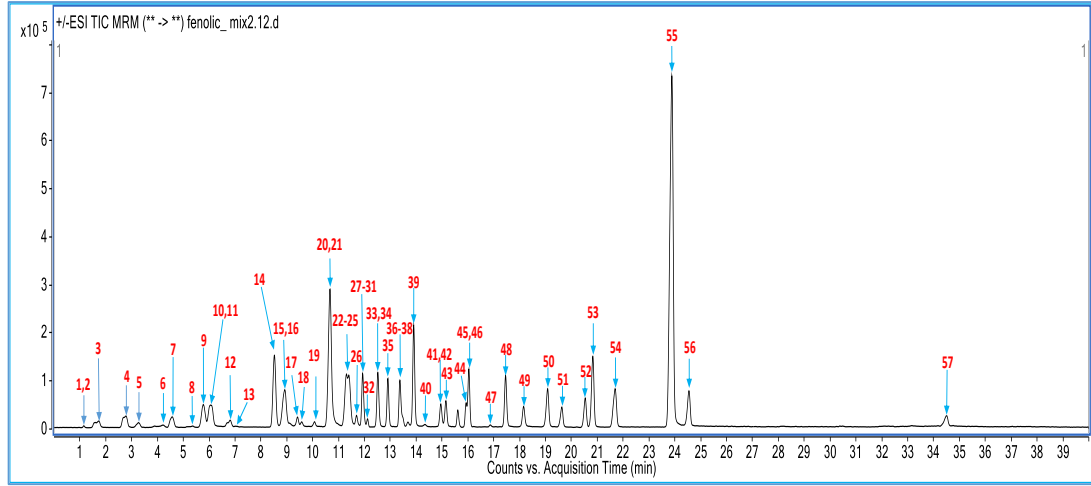
Burada c, kalibrasyon eğrisindeki konsantrasyon değerini (mg/mL), V, stok hacmini (mL) ve m ise stoktaki ekstrakt miktarını (g) göstermektedir.

3.6.3. HPLC-MS/MS

Bileşiğin kalitatif değerlendirmesini gerçekleştirmek için kütle spektrometresi ile birleştirilmiş Agilent 1260 Infinity II LC Sistem modeli ile yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanıldı. Ters fazlı HPLC, bir kolon fırını (1260 TCC), ikili pompalar (1260 Bin Pompa) ve bir gaz giderici (1260 Gaz giderici) ile donatıldı. Bileşik için optimum ayırma elde etmek ve baskılama etkilerinin üstesinden gelmek için kromatografik koşullar optimize edildi. Kromatografik ayırma, ters fazlı Agilent Poroshell 120 EC-C18 modeli (100 mm x 3.0 mm, 2.7 µm) analitik kolon ile ayırma işlemi gerçekleştirildi. Kolon sıcaklığı 40°C'ye ayarlandı. Elüsyon gradyanı, elüent: A (su + 5 mM amonyum format + %0.1 formik asit) ve eluent B (metanol + 5 mM amonyum format + %0.1 formik asit), çözücü akış hızı ve enjeksiyon hacmi 0.400 mL/dak ve 4 µL numune enjekte edildi. Standart yapıların HPLC-MS/MS kromatogramları Şekil 3.8'de ve standart bileşiklerin HPLC-MS/MS log değerleri Tablo 3.1'de gösterildi.

Tablo 3.1. HPLC-MS/MS cihazından tanımlanan bileşiklerin log değerleri

No	Fenolik bileşikler	A.Z. dak.	Öncül İyonlar (m/z) -> Ürün İyonlar (m/z)	İyon Polaritesi	Kalibrasyon Denklemi	LOD (µg/L)	LOQ (µg/L)	Doğrusallık Aralığı (µg/L)	R ²	Recovery
1	Şikimik asit	1.18	173.0 -> 93.1	Negatif	y=0.56*x-27.48	156.23	385.63	500-8000	0.991	0.924
2	Gallik asit	1.74	169.0 -> 125.0	Negatif	y=33.30*x+31.24	4.8	15.25	31.25-1000	0.999	0.982
3	Protokateşuik asit	2.77	152.9 -> 108.9	Negatif	y=45.98*x-16.61	4.62	14.77	31.25-1000	0.997	0.958
4	Gentisik asit	3.15	153.0 -> 109.0	Negatif	y=8.77*x+31.29	9.45	32.5	125-2000	0.996	0.996
5	Kateşin	3.51	288.9 -> 245.1	Negatif	y=5.54* x +38.12	28.74	69.24	250-8000	0.999	0.962
6	4-Hidroksibenzoik asit	4.54	137.0 -> 93.1	Negatif	y=29.31* x +60.57	19.25	54.12	250-8000	0.999	0.981
7	Klorojenik asit	5.30	353.0 -> 191.0	Negatif	y=4.51* x -3.51	23.4	74.1	125-4000	0.998	0.976
8	4-Hidroksibenzoaldehid	5.77	121.0 -> 92.0	Negatif	y=78.09* x -96.90	8.78	26.7	62.5-2000	0.998	1.054
9	Vanililik asit	5.86	167.0 -> 151.8	Negatif	y=2.27* x +67.76	19.28	68.47	250-4000	0.999	0.993
10	Kafeik asit	6.05	178.9 -> 135.1	Negatif	y=96.45* x +1674.88	2.63	10.8	31.25-1000	0.999	0.99
11	Epikateşin	6.83	290.9 -> 138.8	Pozitif	y=10.49* x +41.32	8.45	19.69	62.5-4000	0.998	1.02
12	Sirinjik asit	6.34	197.1 -> 181.8	Negatif	y=1.35* x +88.29	26.98	83.2	250-8000	0.994	0.943
13	p-Kumarik asit	8.50	163.0 -> 119.0	Negatif	y=156.09* x -210.32	2.25	7.8	15.625-1000	0.999	1.009
14	Salisilik asit	8.89	137.0 -> 93.1	Negatif	y=115.65* x -601.44	15.94	47.84	125-4000	0.999	0.988
15	Taksifolin	9.11	304.8 -> 258.9	Pozitif	y=3.55* x +298.14	39.3	139.2	500-8000	0.999	1.028
16	Polidatin	9.74	390.9 -> 228.9	Pozitif	y=11.77* x +32.39	0.97	3.48	31.25-1000	0.996	0.997
17	t-Ferulik asit	9.58	193.1 -> 133.9	Negatif	y=5.89* x +28.90	12.45	35.32	62.5-4000	0.997	0.956
18	Sinapik asit	9.90	223.1 -> 208.0	Negatif	y=5.01* x +71.28	25.6	90.09	250-4000	0.999	1.018
19	Kuersimeritrin	10.38	464.8 -> 302.9	Pozitif	y=38.01* x +23.62	3.13	10.21	31.25-2000	0.998	0.984
20	Kumarin	15.04	147.1 -> 91.3	Pozitif	y=268.86* x -3683.88	15.63	23.04	62.5-2000	0.999	1.016
21	Skutellarin	11.20	462.8 -> 286.8	Pozitif	y=36.61* x -21.91	2.9	6.85	12.5-800	0.997	0.992
22	o-Kumarik asit	11.30	163.0 -> 119.1	Negatif	y=48.55* x +174.93	6.06	13.36	62.5-1000	0.998	1.001
23	Sinarin	11.37	516.8 -> 162.9	Pozitif	y=8.90* x -12.63	9.39	28.3	62.5-2000	0.994	0.977
24	Protokateşuik etil ester	11.34	181.0 -> 107.9	Negatif	y=286.33* x +2080.18	0.56	4.01	15.625-250	0.996	0.958
25	Hiperosid	11.89	464.8 -> 302.8	Pozitif	y=133.99* x -64.79	1.24	4.68	25-800	0.998	0.946
26	Kuersetin-3-glikozit	11.91	464.8 -> 302.9	Pozitif	y=400.29* x -84.02	1.04	3.12	12.5-800	0.999	1.008
27	Izokuersitrin	11.91	464.9 -> 302.8	Pozitif	y=243.76* x +291.50	0.95	3.23	12.5-800	0.999	1.007
28	Rutin	11.98	608.9 -> 299.4	Negatif	y=1.21* x +37.94	21.3	62.5	250-8000	0.999	0.994
29	Resveratrol	11.98	227.0 -> 142.9	Negatif	y=3.30*x -3.65	18.25	38.44	125-2000	0.998	1.017
30	Naringin	12.03	580.7 -> 272.8	Pozitif	y=1.25* x +38.65	14.68	47.85	62.5-8000	0.998	0.989
31	Rozmarinik asit	12.17	358.9 -> 160.7	Pozitif	y=1.63* x +247.63	22.72	69.78	125-4000	0.998	1.013
32	Kuersetin-3-D-ksilozid	12.51	432.7 -> 299.5	Negatif	y=400.29* x -84.02	45.85	125.8	500-8000	0.999	0.938
33	Hesperidin	12.53	611.0 -> 302.9	Pozitif	y=44.63* x +2527.79	10.6	38.3	62.5-2000	0.999	0.995
34	Baikalın	12.53	446.8 -> 270.9	Pozitif	y=1259.57*x-1152.66	1.19	2.21	6.25-800	0.999	0.979
35	Neohesperidin	12.86	610.7 -> 302.9	Pozitif	y=3.00*x+14.97	27.32	69.5	250-4000	0.998	0.962
36	Kaemferol-3-glikozit	13.35	448.8 -> 286.9	Pozitif	y=609.8 x +1238.20	0.61	2.31	6.25-200	0.999	0.985
37	Fisetin	13.53	286.8 -> 137.1	Pozitif	y=8.98 *x +186.91	20.8	68.5	125-4000	0.996	0.942
38	Oleuropein	13.84	539.1 -> 275.1	Negatif	y=6.61* x +47.44	9.68	36.2	125-4000	0.996	1.036
39	t-Sinamik asit	14.35	147.1 -> 103.1	Negatif	y=3.81* x +141.01	60.35	190.1	500-8000	0.997	1.015
40	Kuersetin	15.03	300.7 -> 150.9	Negatif	y=51.09* x +511.77	4.54	12.6	15.625-1000	0.999	1.006
41	Naringenin	15.53	270.9 -> 119.1	Negatif	y=38.28* x -17.75	2.8	7.81	31.25-4000	0.999	1.02
42	Silibinin	15.93	482.8 -> 163.1	Pozitif	y=28.46* x-50.78	4.26	12.18	62.5-2000	0.999	0.996
43	Hesperetin	16.25	300.9 -> 164.0	Negatif	y=6.55* x +23.84	15.7	39.85	62.5-4000	0.995	0.938
44	Morin	15.97	302.8 -> 153.0	Pozitif	y=54.95* x +72.67	3.19	12.6	62.5-2000	0.998	0.985
45	Kaemferol	16.62	284.9 -> 116.9	Negatif	y=1.75 * x -39.82	52.35	128.1	500-8000	0.998	0.998
46	Tamariksetin	16.20	315.0 -> 299.9	Negatif	y=81.92* x -938.35	12.95	18.65	31.25-8000	0.999	1.001
47	Baikalein	18.14	271.0 -> 123.0	Pozitif	y=359.75* x -7512.00	23.36	31.58	50-800	0.999	1.012
48	7-Hidroksiflavan	18.97	238.9 -> 137.1	Pozitif	y=339.58* x +0.59	2.19	5.87	6.25-200	0.994	0.985
49	6-Hidroksiflavan	19.60	239.0 -> 103.1	Pozitif	y=184.04* x +459.63	1.97	6.15	12.5-200	0.996	0.952
50	Biokanin A	20.59	284.9 -> 151.9	Pozitif	y=47.90* x -65.50	3.25	7.81	62.5-2000	0.999	1.021
51	Kirisin	20.85	254.9 -> 153.0	Pozitif	y=110.91* x -79.97	4.84	15.63	31.25-1000	0.999	1.034
52	Flavon	21.69	223.0 -> 77.2	Pozitif	y=824.05* x +1669.38	1.52	6.02	6.25-200	0.999	1.005
53	5-Hidroksiflavan	23.69	238.9 -> 103.1	Pozitif	y=385.68* x -5756.96	17.98	27.5	62.5-2000	0.999	1.024
54	6,2,4-Trimetoksiflavan	24.57	312.9 -> 148.0	Positive	y=658.84* x -1069.56	3.21	5.36	12.5-400	0.999	1.026
55	Diosgenin	34.51	415.0 -> 271.0	Positive	y=280.53*x-774.40	4.12	8.19	25-800	0.999	1.013



Askorik asit (1), şikimik asit (2), gallik asit (3), protokatekik asit (4), gentisik asit (5), kateşin (6), 4-hidroksbenzoik asit (7), klorojenik asit (8), 4-hidroksbenzaldehit (9), vanilik asit (10), kafeik asit (11), epikateşin (12), siringik asit (13), *p*-kumarik asit (14), salisilik asit (15), taksifolin (16), polidatin (17), *t*-ferulik asit (18), sinapik asit (19), kuersimeritrin (20), kumarin (21), skuteların (22), *o*-kumarik asit (23), sinarin (24), protokatekik etil ester (25), hiperosit (26), kuersetin-3-glikozit (27), rutin (28), isokuersitrin (29), resveratrol (30), naringin (31), rozmarinik asit (32), kuersetin-3-kilozid (33), hesperidin (34), neohesperidin (35), kaemferol-3-glikozit (36), fisetin (37), oleropen (38), baikalın (39), *t*-sinnamik asit (40), ellajik asit (41), kuersetin (42), naringenin (43), silibinin (44), hesperetin (45), morin (46), kaemferol (47), tamariksetin (48), baikalein (49), 7-hidroksiflavin (50), 6-hidroksiflavin (51), biokanin A (52), krisin (53), flavon (54), 5-hidroksiflavin (55), 6'2'4-trimetoksiflavin (56), diosgenin (57).

Şekil 3.8. Standart yapıların HPLC-MS/MS kromatogramları

3.6.4. GC-MS/MS

GC-MS/MS analizi için, Agilent 7000 A GC/MS Triple Quad with 7890 GC, 7693 Autosampler and 7697A Headspace Sampler cihazı kullanıldı (Şekil 3.9.). Esterleştirme süreci: Örneklerden 100 mg alınarak 2 ml MeOH çözüldü ve üzerine 2 ml *n*-hekzan eklendi. Daha sonra 1 ml KOH çözeltisi (1M) eklenerek 2500 rpm'de vorteks cihazı ile 30 sn karıştırıldı. Yağ asidi metil esterlerinin bulunduğu üst fazdan (*n*-hekzan fazı) alındı ve 0.22 mikronluk PVDF ile süzülerek enjekte edildi. Prosedür olarak, başlangıç sıcaklığı 50°C ve 2 dakika boyunca devam edecek şekilde ayarlandı, daha sonra 3°C/dakika ile 140°C'ye çıkarıldı, 4°C/dakika 220°C'de 10 dakika boyunca sabit 4°C/dakika 270°C'ye ve son olarak 270°C'de 30 dk boyunca devam ettirildi. MS dedektörünün iyon sıcaklığı 280°C' dir. 0.22 µm tek kullanımlık şırınga filtresi ile filtre edilmiş *N. baytopii* *n*-hekzan ve kloroform fraksiyonları 1:10 oranında, 1 µL'lik bir hacim enjekte edilerek 1 mL He gaz akışıyla yürütüldü. GC kolonunda Agilent J&W HP-5ms Ultra Inert, aktif bileşiklerin analizinde inertlik açısından özel olarak test edilmiş (%5-fenil)-metilpolisiloksan (30m X 0.25 mm X 0.25 µm) ile gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.9. GC-MS/MS cihazının görüntüsü (Agilent 7000 Triple Quad, Iğdır Üniversitesi, ALUM)

3.6.5. GC-MS

0.5 g katı *N. baytopii* *n*-hekzan ikinci fraksiyonları viale alınarak üzerine 10 ml ultra saf su eklendi. Vialin kapağı kapatılarak manyetik karıştırıcı üzerinde 45°C’de 30 dk karıştırma işlemi uygulanarak bekletildi. Daha sonra SPME 1 (Solid (Katı) faz mikro ekstraksiyon) konumuna getirilerek vialin ucuna takıldı ve fiber aşağıda 7 dk karıştırıcı üzerinde bekletildi. Bu süre sonunda fiber geri çekildi. SPME 4 konumuna getirilerek cihaza takıldı ve fiber aşağı indirilerek 4 dk cihaza takılı biçimde bekletildi. Thermo GC-MS Trace Ultra cihazına SPME metoduyla verilen numune 240°C enjeksiyon sıcaklığı, 1/10 split oranı ve 1ml/dak Helyum gaz akışı ile DB-5MS (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm) kolondan ayrılarak MS dedektöründen okuma yapılarak NIST Demo, Wiley7, Wiley9, redlip, mainlip kütüphaneleri tarama yapılarak moleküller belirlendi. Fırın programı: 40°C de 1 dk bekletildi. Dakikada 5°C artışla 120°C’ye çıkarılarak 120°C’de 2 dk bekletildi. Dakikada 10°C artışla 240°C’ye çıkarılarak 240°C’de 3 dk bekletildi. MS Koşulları: 45-450 m/z, Scan Aralığı: 0.2 sn, İyon Kaynağı Sıcaklığı: 200°C, MS Transfer Line Sıcaklığı: 250°C (Şekil 3.10.).



Şekil 3.10. GC-MS cihazının görüntüsü (Thermo, Iğdır Üniversitesi, ALUM)

3.6.6. GC-FID

N. baytopii *n*-hekzan ve kloroform fraksiyonlarının GC-FID analizi Agilent 7820 A GC-FID ile gerçekleştirildi. Prosedür olarak, başlangıç sıcaklığı 100°C ve 5 dakika boyunca devam edecek şekilde ayarlandı, daha sonra 4°C/dakika ile

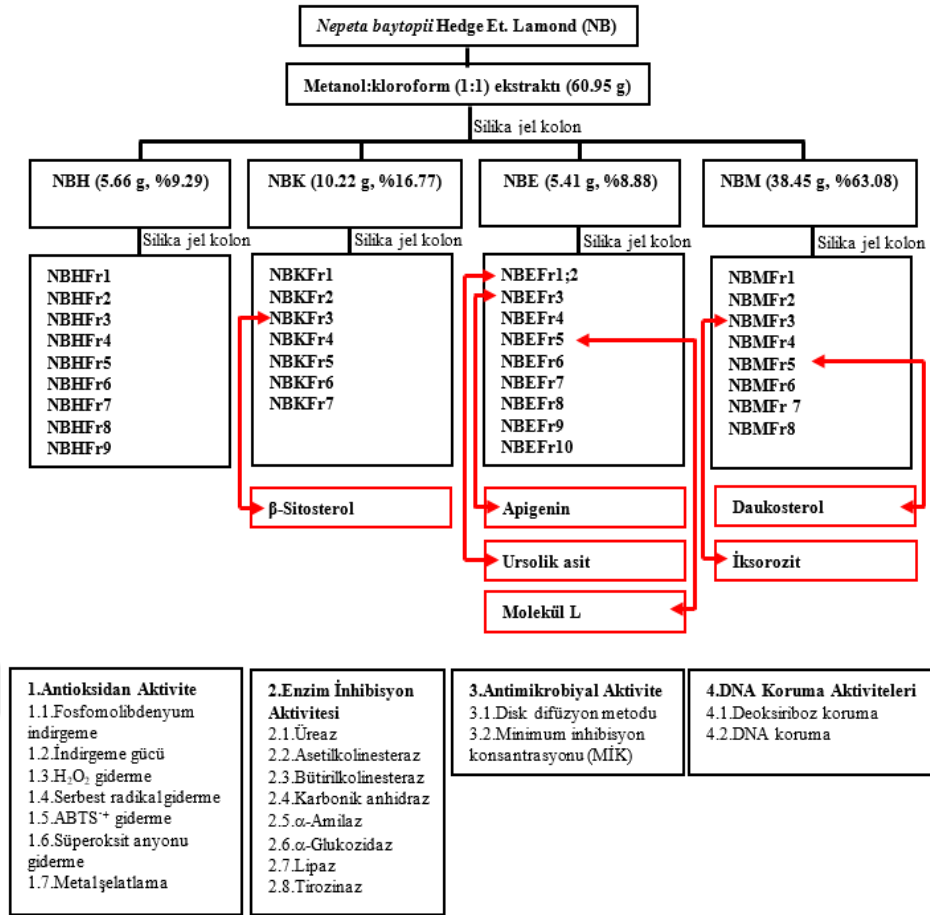
240°C'ye çıkarıldı ve son olarak 240°C'de 20 dakika boyunca devam ettirildi. FID dedektörünün sıcaklığı 260°C'dir. 0.22 µm tek kullanımlık şırınga filtresi ile filtre edilmiş numune 1:5 oranında 1 µL'lik bir hacim enjekte edildi. Numunenin ayrılması, 41 cm/saniye hidrojen yakma gazı kullanılarak bir Supelco SP 2560 GC kolonunda (100 m x 0.25 mm ID x 0.20 µm) gerçekleştirildi (Şekil 3.11.).



Şekil 3.11. GC-FID cihazının görüntüsü (Agilent 7820 A, Iğdır Üniversitesi, ALUM)

3.7. *In vitro* Biyoaktivite Yöntemleri

N. baytopii ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların *in vitro* antioksidan aktivite (fosfomolibdenyum indirgenme, indirgeme gücü, metal şelat, H₂O₂, DPPH[•], ABTS^{•+} ve süperoksit anyonu giderme); enzim inhibisyon (üreaz, asetilkolinesteraz (AChE), bütirilkolinesteraz (BChE), karbonik anhidraz (KA), α-amilaz, α-glikozidaz, lipaz ve tirozinaz) ve DNA ile ilgili aktivite testleri (deoksiriboz ve DNA koruma) spektroskopik olarak tayin edildi. Ayrıca örneklerin antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon ve minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) yöntemleri ile belirlendi (Şekil 3.12.).

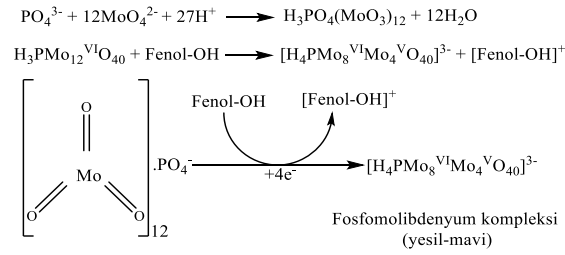


Şekil 3.12. *N. baytopii* ham ekstraktı, fraksiyonları ve izolatların aktivite şeması

3.7.1. Antioksidan Aktivite Tayinleri

3.7.1.1. Fosfomolibdenyum İndirgeme Aktivitesi

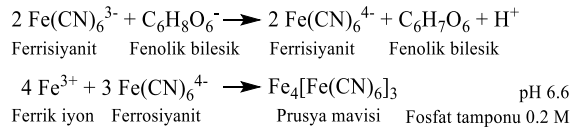
N. baytopii ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonlar ve izolatların fosfomolibdenyum indirgeme aktivitesi spektroskopik olarak tayin edildi (Mohamed vd, 2007; Prieto vd, 1999). 300 µL farklı konsantrasyonlardaki örnekler veya standartlar (BHA, BHT, TBHQ, troloks, α-tokoferol ve askorbik asit) ile 2.7 mL reaktif çözeltisi (0.6 M H₂SO₄ + 28 mM Sodyum fosfat + 4 mM Amonyum molibdat) homojen olana kadar karıştırıldı (Şekil 3.13.). Karışım çözeltisi, 95°C'de 90 dk boyunca sallantılı su banyosunda bekletildi. Oda sıcaklığına kadar soğuduktan sonra karışım çözeltilerinden her birinin 200 µL'si 96 kuyucuklu plakanın kuyularına aktarıldı. Her bir kuyudaki karışımın absorbans değeri 695 nm'de ölçüldü ve aktivite sonuçları A_{0.5} (µg/mL) olarak belirlendi.



Şekil 3.13. Amonyum molibdenyumun indirgeme mekanizması

3.7.1.2. İndirgeme Gücü

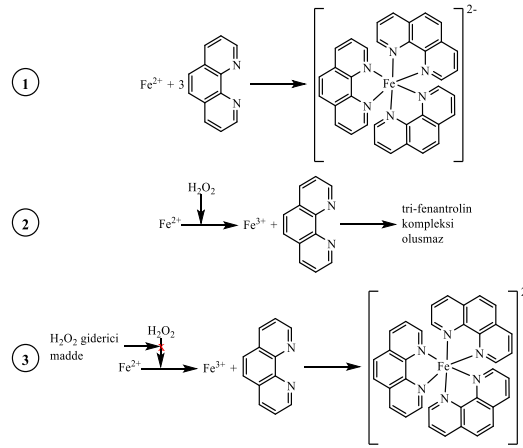
N. baytopii ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların indirgeme gücü Oyaizu metodu kullanılarak tayin edildi (Huang vd, 2005; Oyaizu, 1986). 96 kuyucuklu plakada, her bir kuyuya 20 µL farklı konsantrasyonlardaki örnekler veya standartlar (BHA, BHT, TBHQ, troloks, α-tokoferol ve askorbik asit) ile 50 µL 0.2 M fosfat tamponu (pH 6.6) ve 50 µL %1 K₃Fe(CN)₆ çözeltisi homojen olana kadar karıştırıldı. Karışım çözeltisi 50°C’de 20 dk bekletildi. Üzerine 50 µL %10 TCA ile 10 µL ddH₂O ve 50 µL %0.1 FeCl₃ çözeltisi eklendi (Şekil 3.14.). Her bir kuyudaki karışımın absorbans değerleri 700 nm’de ölçüldü ve aktivite sonuçları A_{0.5} (µg/mL) olarak belirlendi.



Şekil 3.14. İndirgeme gücü tayininde Fe’in indirgeme mekanizması

3.7.1.3. H₂O₂ Giderme Aktivitesi

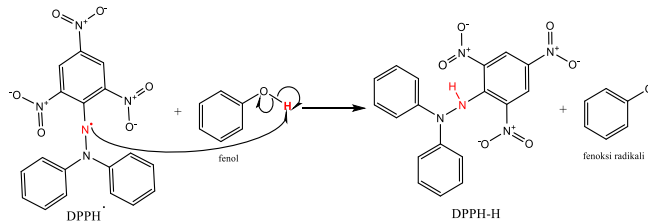
N. baytopii ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların H₂O₂ giderme aktivitesi fenantrolin metodu kullanılarak tayin edildi (Mukhopadhyay vd, 2016; Utami vd, 2017). 96 kuyucuklu plakada, her bir kuyuya 60 µL farklı konsantrasyonlardaki örnekler veya standartlar (BHA, BHT, TBHQ, troloks, α-tokoferol ve askorbik asit) ile 12 µL 1 mM (NH₄)₂Fe(SO₄)₂·6H₂O ve 3 µL 5 mM H₂O₂ homojen olana kadar karıştırıldı. Oda sıcaklığında ve karanlıkta 5 dk bekletildi. Karışım çözeltisine 75 µL 1 mM 1,10-phenantrolin çözeltisi eklendi ve oda sıcaklığında, karanlıkta 10 dk bekletildi (Şekil 3.15.). Her bir kuyudaki karışımın absorbans değerleri 510 nm’de ölçüldü ve aktivite sonuçları A_{0.5} (µg/mL) olarak belirlendi.



Şekil 3.15. H₂O₂ giderme aktivitesindeki reaksiyon mekanizması

3.7.1.4. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi

N. baytopii ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların serbest radikal giderme aktivitesi DPPH[•] (1,1-difenil-2-pikril-hidrazil) metodu kullanılarak tayin edildi (Blois, 1958). 96 kuyucuklu plakada, her bir kuyuya 150 µL farklı konsantrasyonlardaki örnekler veya standartlar (BHA, BHT, TBHQ, troloks, α-tokoferol ve askorbik asit) ile 50 µL 0.1 mM DPPH[•] (etanolde) çözeltisi homojen olana kadar karıştırıldı ve oda sıcaklığında, karanlıkta 30 dk bekletildi (Şekil 3.16.). Her bir kuyudaki karışımın absorbans değerleri 517 nm’de ölçüldü ve IC₅₀ (µg/mL) değerleri belirlendi.

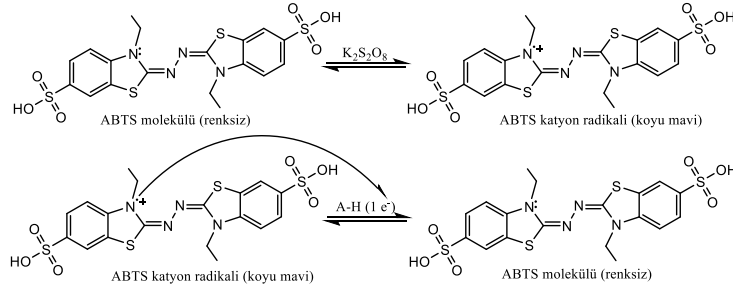


Şekil 3.16. DPPH[•] radikalinin antioksidan tarafından giderilmesi

3.7.1.5. ABTS^{•+} Giderme Aktivitesi

N. baytopii ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların ABTS^{•+} (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) giderme aktivitesi ABTS-K₂SO₈ metodu kullanılarak tayin edildi (Dechayont vd, 2017; Re vd, 1999). 7 mM ABTS ile 2.45 mM K₂SO₈ (2:1) karıştırıldı ve 12-16 saat oda sıcaklığında, karanlıkta bekletildi. Karışımın absorbans değeri 0.700±0.020 olacak şekilde 1:33 (v/v) oranında etanolle seyreltilti. 96 kuyucuklu plakada, her bir kuyuya 20 µL farklı konsantrasyonlardaki örnekler veya

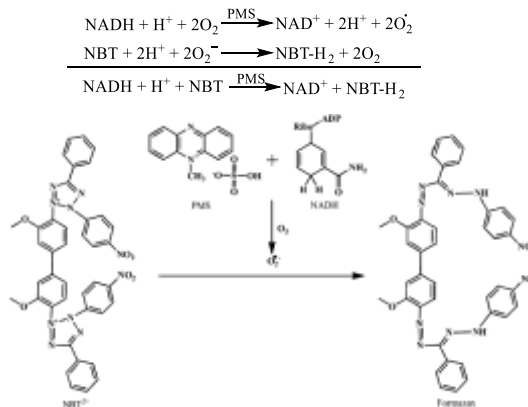
standartlar (BHA, BHT, TBHQ, troloks, α -tokoferol ve askorbik asit) ve 180 μ L ABTS^{•+} çözeltisi homojen olana kadar karıştırıldı (Şekil 3.17.). Her bir kuyudaki karışımın absorbans değeri 6 dk sonra 734 nm’de ölçüldü ve IC₅₀ (μ g/mL) değerleri belirlendi.



Şekil 3.17. ABTS^{•+} katyonik radikal oluşumu ve antioksidanlarla radikal giderme mekanizması

3.7.1.6. Süperoksit Anyonu Giderme Aktivitesi

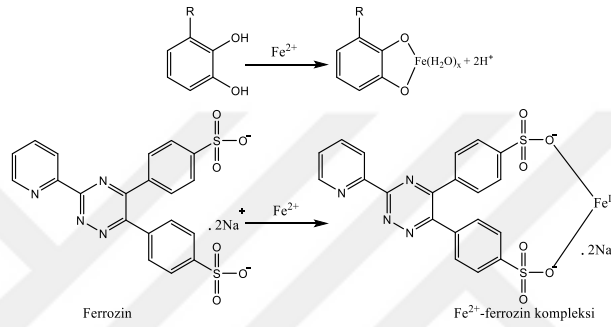
N. baytopii ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların süperoksit giderme aktivitesi Nishikimi metodu kullanılarak tayin edildi (Nishikimi vd, 1972; Yang vd, 2008). 96 kuyucuklu plakada, her bir kuyuya 62.5 μ L farklı konsantrasyonlardaki örnekler veya standartlar (BHA, BHT, TBHQ, troloks, α -tokoferol ve askorbik asit) ile 62.5 μ L 468 μ M NADH (20 mM pH 7.4 fosfat tamponunda) ve 62.5 μ L 156 μ M (20 mM pH 7.4 fosfat tamponunda) çözeltileri homojen olana kadar karıştırıldı. Örnekler oda sıcaklığında 5 dk bekletildi. Her bir kuyudaki karışıma 25 μ L 100 μ M PMS (20 mM pH 7.4 fosfat tamponunda) çözeltisi eklendi (Şekil 3.18.). Her bir kuyunun absorbans değerleri 560 nm’de ölçüldü ve IC₅₀ (μ g/mL) değerleri belirlendi.



Şekil 3.18. PMS-NADH reaksiyonu ile üretilen süperoksit anyon radikalının NBT’yi indirgemesi

3.7.1.7. Metal Şelat Aktivitesi

N. baytopii ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların metal-şelat aktivitesi ferrozin metodu kullanılarak tayin edildi (Dinis vd, 1994). 96 kuyucuklu plakada, her bir kuyuya 12.5 µL farklı konsantrasyonlardaki örnekler veya EDTA ile 3.125 µL 2 mM FeCl₂.4H₂O, 21.875 µL ddH₂O, 212.5 µL etanol ve 12.5 µL 5 mM ferrozin çözeltileri eklenerek homojen olana kadar karıştırıldı. Örnekler oda sıcaklığında 10 dk bekletildi (Şekil 3.19.). Her bir kuyunun absorbans değerleri 562 nm’de ölçüldü ve IC₅₀ (µg/mL) değerleri belirlendi.



Şekil 3.19. Fe (II)-ferrozin kompleksinin oluşum mekanizması

3.7.2. Enzim İnhibisyon Aktiviteleri ve İnhibisyon Kinetikleri

İzolatların enzim kinetiği, üreaz, AChE, BChE, karbonik anhidraz, α-amilaz, α-glikozidaz, lipaz ve tirozinaza karşı bakıldı. İnhibisyonun türüne, çeşitli substrat ve inhibitör konsantrasyonları kullanılarak karar verildi. Yarışmasız inhibisyon mekanizması Lineweaver-Burk grafiği ile analiz edildi ve Denklem 3.3 ve 3.4 ile belirlendi (Zeng vd, 2016).

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{max}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}} \left(1 + \frac{[I]}{\alpha K_i} \right) \quad (3.3)$$

$$\text{Eğim} = \frac{K_m}{V_{max}} + \frac{K_m[I]}{V_{max}K_i} \quad (3.4)$$

Burada v , inhibitörlerin yokluğunda ve varlığındaki enzimatik reaksiyon hızıdır. Michaelis-Menten sabiti ve inhibisyon sabiti sırasıyla K_m ve K_i olarak ifade edilir. α yarışmasız inhibisyon sabitinin yarışmalı inhibisyon sabitine oranını gösterir ve α 'nın değeri yarışmasız inhibisyon için 1'dir. $[I]$ inhibitör ve $[S]$ substrat konsantrasyonlarıdır (Wu vd, 2017b).

Karışık tip inhibisyon mekanizmasını analiz etmek için Lineweaver-Burk denklemi ile analiz edildi ve Denklem 3.5, 3.6 ve 3.7 ile belirlendi (Zeng vd, 2016).

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{max}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}} \left(1 + \frac{[I]}{K_{is}} \right) \quad (3.5)$$

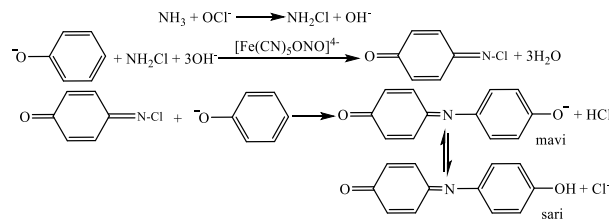
$$\text{Eğim} = \frac{K_m}{V_{max}} + \frac{K_m[I]}{V_{max}K_i} \quad (3.6)$$

$$\text{Y-kesim noktası} = \frac{1}{V_{max}^{app}} = \frac{1}{V_{max}} + \frac{1}{V_{max}K_{is}} [I] \quad (3.7)$$

Burada K_{is} , enzim-substrat kompleksinin bağlanması için inhibisyon sabitidir. Y-kesim noktasına karşı $[I]$ ' nin ikincil çizimleri doğrusal olarak yerleştirilmiştir.

3.7.2.1. Üreaz İnhibisyon Aktivitesi ve İnhibisyon Kinetiği

N. baytopii ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların üreaz inhibisyonu indofenol metodu kullanılarak tayin edildi (Ozen vd, 2017; Zhang vd, 2006). 96 kuyucuklu plakada, her bir kuyuya 10 µL farklı konsantrasyonlardaki örnekler veya standart olarak tiyoüre ile 25 µL 1 U üreaz (100 mM pH 8.2 sodyum-fosfat tamponunda) ve 50 µL 100 mM üre çözeltisi homojen olana kadar karıştırıldı ve 30°C'de 15 dk bekletildi. İzolatların inhibisyon kinetiği için ürenin sekiz farklı konsantrasyonu (20 mM-0.078 mM arasında) kullanıldı. Her bir kuyudaki karışıma 45 µL fenol reaktifi [%8 (w/v) fenol ve %0.1 (w/v) sodyum nitroprusid] ve 70 µL alkali reaktif [%2.5 (w/v) NaOH ve %4.7 NaOCl] çözeltileri eklendi. Örnekler 30°C'de 50 dk bekletildi (Şekil 3.20.). Her bir kuyunun absorbans değerleri 630 nm'de ölçüldü ve IC_{50} (µg/mL) değerleri belirlendi.

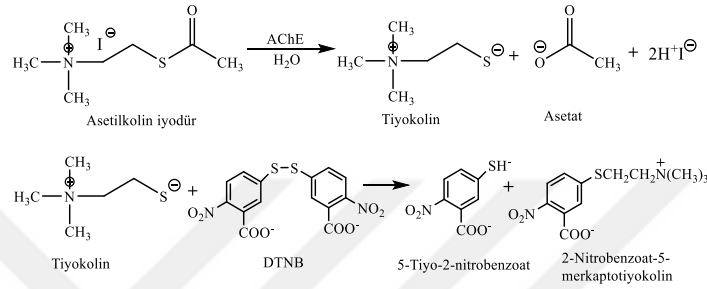


Şekil 3.20. İndofenol oluşum reaksiyonu

3.7.2.2. Asetikolinesteraz İnhibisyon Aktivitesi ve İnhibisyon Kinetiği

N. baytopii ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların asetilkolinesteraz (AChE) inhibisyonu Ellman metodu kullanılarak tayin edildi (Ellman vd, 1961; Ozen vd, 2017; Özçelik vd, 2010). 96 kuyucuklu plakada, her bir

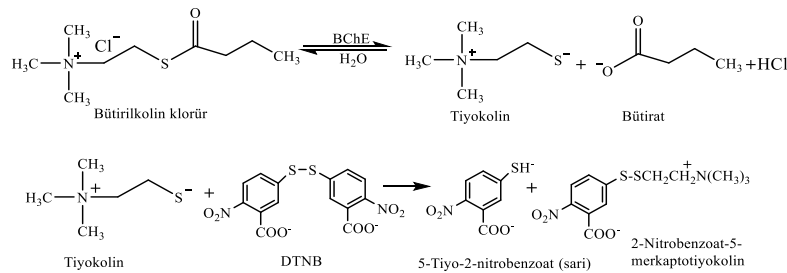
kuyuya 20 µL farklı konsantrasyonlardaki örnekler veya galantamin ile 20 µL 0.03 U AChE (100 mM pH 8.0 fosfat tamponunda), 20 µL 3.3 mM DTNB ve 140 µL 100 mM pH 8.0 fosfat tamponu eklenerek homojen olana kadar karıştırıldı ve oda sıcaklığında 15 dk bekletildi. Her bir kuyudaki karışıma 10 µL 1 mM ATCh (asetiltiyokolin iyodür) çözeltisi eklendi (Şekil 3.21.). İzolatların inhibisyon kinetiği için ATCh'nin sekiz farklı konsantrasyonu (0.5 mM-0.004 mM arasında) kullanıldı. Her bir kuyunun absorbans değerleri 412 nm'de ölçüldü ve IC₅₀ (µg/mL) değerleri belirlendi.



Şekil 3.21. Asetilkolinesteraz inhibisyonu mekanizması

3.7.2.3. Bütirilkolinesteraz İnhibisyon Aktivitesi ve İnhibisyon Kinetiği

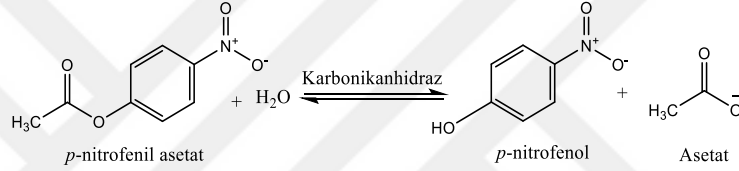
N. baytopii ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların bütirilkolinesteraz (BChE) inhibisyonu Ellman metodu kullanılarak tayin edildi (Ellman vd, 1961; Ozen vd, 2017; Özçelik vd, 2010). 96 kuyucuklu plakada, her bir kuyuya 20 µL farklı konsantrasyonlardaki örnekler veya galantamin ile 20 µL 0.03 U BChE (100 mM pH 8.0 fosfat tamponunda), 20 µL 3.3 mM DTNB ve 140 µL 100 mM pH 8.0 fosfat tamponu eklenerek homojen olana kadar karıştırıldı ve oda sıcaklığında 15 dk bekletildi. Her bir kuyudaki karışıma 10 µL 1 mM BTCh (bütiriltiyokolin klorür) eklendi (Şekil 3.22.). İzolatların inhibisyon kinetiği için BTCh'nin sekiz farklı konsantrasyonu (0.5 mM-0.004 mM arasında) kullanıldı. Her bir kuyunun absorbans değerleri 412 nm'de ölçüldü ve IC₅₀ (µg/mL) değerleri belirlendi.



Şekil 3.22. Bütirilkolinesteraz inhibisyonu mekanizması

3.7.2.4. Karbonik Anhidraz İnhibisyon Aktivitesi ve İnhibisyon Kinetiği

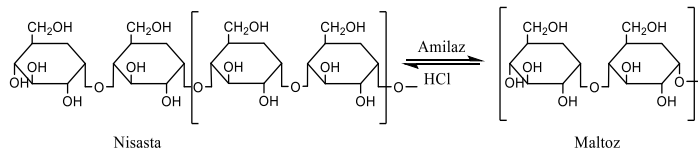
N. baytopii ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların karbonik anhidraz (KA) inhibisyonu 4-nitrofenil asetat metodu kullanılarak tayin edildi (Chanda vd, 2019). 96 kuyucuklu plakada, her bir kuyuya 60 µL farklı konsantrasyonlardaki örnekler veya asetazolamid ile 90 µL 115 U KA (0.05 M pH 7.4 Tris-SO₄ tamponunda) çözeltisi homojen olana kadar karıştırıldı ve oda sıcaklığında 15 dk bekletildi. Her bir kuyudaki karışıma 60 µL 10 mM 4-nitrofenil asetat çözeltisi eklendi ve oda sıcaklığında 15 dk bekletildi (Şekil 3.23.). İzolatların inhibisyon kinetiği için asetazolamidin sekiz farklı konsantrasyonu (10 mM-0.078 mM arasında) kullanıldı. Her bir kuyunun absorbans değerleri 400 nm’de ölçüldü ve IC₅₀ (µg/mL) değerleri belirlendi.



Şekil 3.23. Karbonik anhidrazın esteraz mekanizması

3.7.2.5. α-Amilaz İnhibisyon Aktivitesi ve İnhibisyon Kinetiği

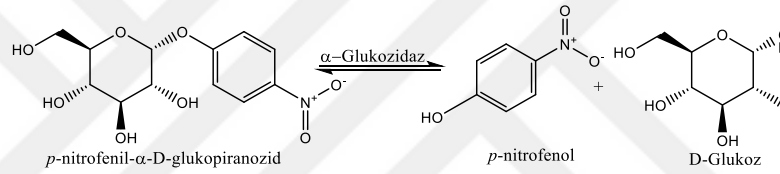
N. baytopii ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların α-amilaz inhibisyonu iyot-KI (potasyum iyodür) metodu kullanılarak tayin edildi (Ercan ve El, 2016; Koh vd, 2010; Yang vd, 2012). 96 kuyucuklu plakada, her bir kuyuya 82 µL farklı konsantrasyonlardaki örnekler veya akarboz ile 10 µL 1 U α-amilaz (20 mM pH 6.9 potasyum fosfat tamponunda) çözeltisi homojen olana kadar karıştırıldı ve 37°C’de 10 dk bekletildi. Her bir kuyudaki karışıma 8 µL %1 nişasta çözeltisi eklendi ve 37°C’de 12 dk bekletildi. Üzerine 50 µL %10 HCl ve 15 µL iyot-KI (2.5 mM iyot+6.5 mM KI) çözeltileri eklendi (Şekil 3.24.). Örnekler kaynar suda 10 dk bekletildi ve her bir kuyunun absorbans değerleri 620 nm’de ölçüldü ve IC₅₀ (µg/mL) değerleri belirlendi.



Şekil 3.24. Nişastanın α-amilaz ile hidrolizi

3.7.2.6. α -Glikozidaz İnhibisyon Aktivitesi ve İnhibisyon Kinetiği

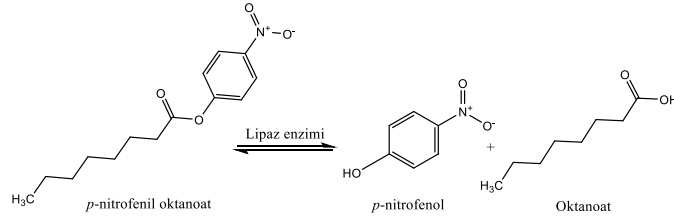
N. baytopii ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların α -glikozidaz inhibisyonu 4-*p*-nitrofenil α -D-glikopiranozid (*p*-NPG) metodu kullanılarak tayin edildi (Mayur vd, 2010; Sancheti vd, 2010). 96 kuyucuklu plakada, her bir kuyuya 10 μ L farklı konsantrasyonlardaki örnekler veya akarboz ile 25 μ L 0.2 U α -glikozidaz (20 mM pH 6.9 potasyum fosfat tamponunda) çözeltisi homojen olana kadar karıştırıldı. Her bir kuyudaki karışıma 25 μ L 0.5 mM *p*-NPG ve 20 μ L 20 mM pH 6.9 potasyum fosfat tamponu eklendi. İzolatların inhibisyon kinetiği için *p*-NPG'nin sekiz farklı konsantrasyonu (4 mM-0.03 mM arasında) kullanıldı. Örnekler 37°C'de 12 dk bekletildi. Her bir kuyudaki karışıma 100 μ L 0.2 M Na₂CO₃ çözeltisi eklenerek homojen olana kadar karıştırıldı (Şekil 3.25). Her bir kuyunun absorbans değerleri 410 nm'de ölçüldü ve IC₅₀ (μ g/mL) değerleri belirlendi.



Şekil 3.25. α -Gikozidazın inhibisyon mekanizması

3.7.2.7. Lipaz İnhibisyon Aktivitesi ve İnhibisyon Kinetiği

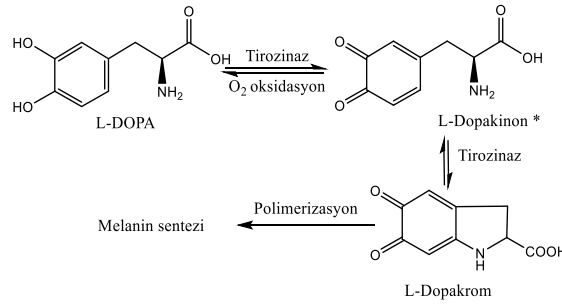
N. baytopii ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların lipaz inhibisyonu 4-nitrofenil oktanoat metodu kullanılarak tayin edildi (Trentin vd, 2020). 96 kuyucuklu plakada, her bir kuyuya 20 μ L farklı konsantrasyonlardaki örnekler veya orlistat ile 200 μ L 100 mM pH 8.2 Tris-HCl tamponu ve 20 μ L 1 mg/mL lipaz (100 mM pH 8.2 Tris-HCl tamponunda) çözeltisi eklenerek homojen olana kadar karıştırıldı. Her bir kuyudaki karışıma 20 μ L 5.1 mM *p*-nitrofenil oktanoat (100 mM pH 8.2 Tris-HCl tamponunda) çözeltisi eklendi ve 37°C'de 30 dk bekletildi (Şekil 3.26.). İzolatların inhibisyon kinetiği için *p*-nitrofenil oktanoatın sekiz farklı konsantrasyonu (25 mM-0.039 mM arasında) kullanıldı. Her bir kuyunun absorbans değerleri 410 nm'de ölçüldü ve IC₅₀ (μ g/mL) değerleri belirlendi.



Şekil 3.26. *p*-Nitrofenil oktanoattan *p*-nitrofenol ve oktanoat oluşum reaksiyonu

3.7.2.8. Tirozinaz İnhibisyon Aktivitesi ve İnhibisyon Kinetiği

N. baytopii ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların tirozinaz inhibisyonu L-DOPA (3,4-dihidroksi-L-fenilalanin) metodu kullanılarak tayin edildi (Addar vd, 2019). 96 kuyucuklu plakada, her bir kuyuya 10 μ L farklı konsantrasyonlardaki örnekler veya kojik asit ile 20 μ L 150 U tirozinaz (0.1 M pH 6.8 potasyum fosfat tamponunda) ve 20 μ L 0.1 M pH 6.8 potasyum fosfat tamponu homojen olana kadar karıştırıldı ve 37°C’de 10 dk bekletildi. Her bir kuyudaki karışıma 20 μ L 5 mM L-DOPA çözeltisi eklendi (Şekil 3.27.). İzolatların inhibisyon kinetiği için L-DOPA’nın sekiz farklı konsantrasyonu (2.5 mM-0.04 mM arasında) kullanıldı. Her bir kuyunun absorbans değerleri 475 nm’de ölçüldü ve IC₅₀ (μ g/mL) değerleri belirlendi.



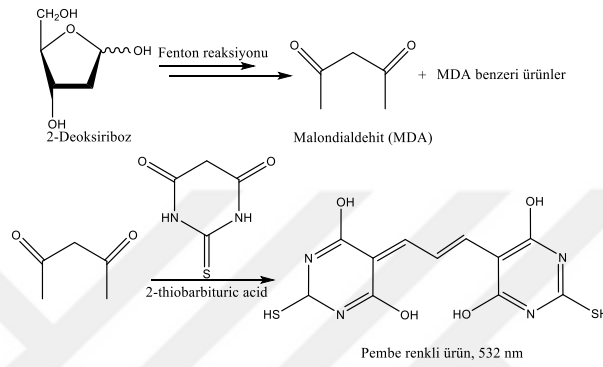
Şekil 3.27. L-DOPA’dan dopakinon oluşumu ve melanin sentezi

3.7.3. DNA Koruma ile İlgili Aktiviteler

3.7.3.1. Deoksiriboz Koruma Aktivitesi

N. baytopii ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların deoksiriboz koruma aktivitesi hidroksil radikali giderme metodu kullanılarak tayin edildi (Motamed ve Naghibi, 2010; Özyürek vd, 2008). 100 μ L farklı konsantrasyonlardaki örnekler veya standartlar (BHA, BHT, TBHQ, troloks, α -tokoferol, askorbik asit) ile 200 μ L 15 mM deoksiriboz, 200 μ L 100 mM pH 7.4 fosfat tamponu, 200 μ L 500 μ M

FeCl₃, 100 µL 1 mM EDTA, 100 µL 1 mM askorbik asit ve 100 µL 10 mM H₂O₂ çözeltileri sırasıyla eklenerek homojen olana kadar karıştırıldı ve 37°C'de 60 dk sallantılı su banyosunda bekletildi. Her bir karışıma 1 mL %2.8 TCA ve 1 mL %1 TBA (50 mM NaOH' de) çözeltisi eklendi ve 80°C'de 20 dk sallantılı su banyosunda bekletildi (Şekil 3.28.). Karışımın 200 µL alınarak 96 kuyucuklu plakaya aktarıldı. Her bir kuyunun absorbens değerleri 532 nm'de ölçüldü ve IC₅₀ (µg/mL) değerleri belirlendi.



Şekil 3.28. 2-Deoksiribozdan MDA oluşum mekanizması

3.7.3.2. Jel Elektrophorezle DNA Koruma Aktivitesi

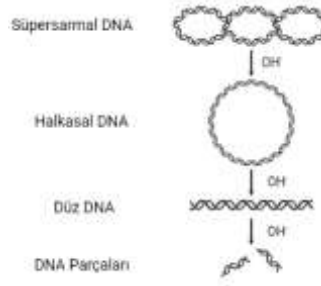
N. baytopii ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların DNA koruma aktivitesi agaroz jel elektrophorez metodu kullanılarak tayin edildi (Baiseitova vd, 2019; Ozen vd, 2022; Russo vd, 2003; Sevgi vd, 2015; Tepe vd, 2011; Yenigun vd, 2023; Yenigün vd, 2023). %1'lik agaroz jel hazırlandı ve 2 µL etidyum bromür ilave edildi. Katılaştan jel, elektrophorez tankına bırakıldı ve 1X TBE tamponu döküldü.

Kontrol 1: Plazmit DNA (3 µL)+dH₂O (6 µL)+gliserol (4 µL)

Kontrol 2: Plazmit DNA (3 µL)+dH₂O (6 µL)+gliserol (4 µL)+H₂O₂ (1 µL)+UV (5 dk)

Örnek: Plazmit DNA (3 µL)+Örnekler (5 µL)+gliserol (4 µL)+H₂O₂ (1 µL)+UV (5 dk)

Kontrol ve örneklere 2 µL yükleme boyası ilave edildi. Kontrol ve örnekler ve kuersetin (1024 µg/mL) kuyulara yüklendi ve 60 dk 90 voltta yürütüldü (Şekil 3.29.). UV translüminatörü (320 nm, 8000 µW/cm) ile görüntüleme sağlandı. Elde edilen görüntülerden Form I ve Form II'nin yüzde olarak değerleri ImageJ programı ile hesaplandı.



Şekil 3.29. OH[·] ile plazmid DNA oksidasyonunun mekanizması

3.7.4. Antimikrobiyal Aktivitesi

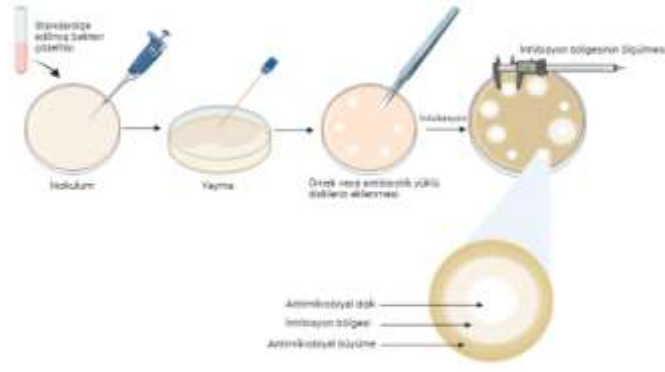
Antimikrobiyal aktivitelerde gram negatif bakteriler olarak *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031) ve gram pozitif bakteriler olarak ise *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Bacillus cereus* (CCM 99), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25213) kullanıldı. Pozitif kontrol olarak amoksisilin ve tetrasiklin antibiyotikleri, negatif kontrol olarak örneklerin çözücülerini kullanıldı. Mikroorganizmalar Biyokimya Araştırma Laboratuvarında (Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü) kültüre edildi ve yeni kültürlenmiş mikroorganizmalar kullanıldı.

3.7.4.1. Bakterilerin Çoğaltılması ve Saklanması

Bakteriler steril Muller Hinton Agar (MHA)'da inokülasyon çubuğunun pamuk ucu ile köşelerine doğru zikzak çizerek yayıldı ve petri kabı ters olacak şekilde 37°C inkübatörde 16-18 saat bekletilerek bakterilerin çoğalması sağlandı. Çoğaltılan bu bakteriler tekrar analiz için kullanmak amacıyla steril kapaklı tüpünde steril %20'lik gliserol çözeltisi ile vortekste homojen olana kadar karıştırıldı ve -80°C'de saklandı (Ozen vd, 2020; Ozen vd, 2019; Ozen vd, 2022; Yakan vd, 2020).

3.7.4.2. Disk Difüzyon Metodu

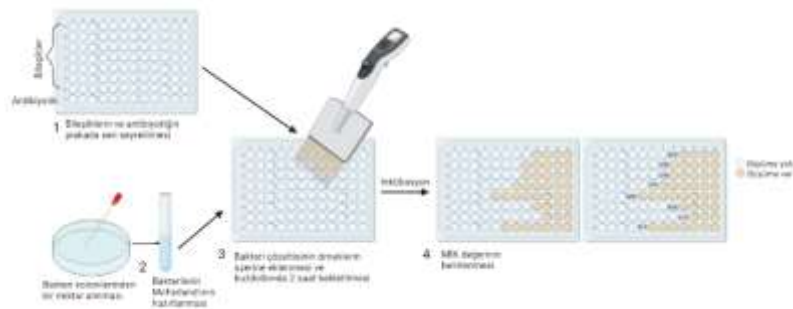
N. baytopii ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların antibakteriyel aktivitesi disk difüzyon metodu ile belirlendi (Reller vd, 2009). 5 mL steril serum fizyolojik (%0.85 NaCl) çözeltisine bir miktar bakteri eklendi ve McFarland 0.5 değerine (10^8 koloni sayısı/mL) ayarlandı. Steril petrilere 25 mL MHA ilave edildi. McFarland 0.5 değeri ayarlanan bakteri çözeltisi agar üzerine sürüldü. 1024 µg/mL derişimindeki örnekler 40 µL olarak disklerle emdirildi ve diskler agar üzerine yerleştirildi. 37°C'de 16-18 saat inkübasyona bırakıldı. İnhibisyon bölgesi mm olarak verildi (Şekil 3.30.).



Şekil 3.30. Disk difüzyon metodunun uygulaması

3.7.4.3. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon Metodu

N. baytopii ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların antibakteriyel aktivitesi minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) metodu ile belirlendi (Andrews, 2001). Katyonlu Muller Hinton II Broth (MHB) için; 100 mL MHB üzerine 400 μ L $MgCl_2$ (2 mg/mL) ve 1 mL $CaCl_2$ (2 mg/mL) ilave edildi. 5 mL steril serum fizyolojik çözeltisine (%0.85 NaCl) bir miktar bakteri eklendi ve McFarland 0.5 değerine ayarlandı. Steril 96-kuyucuklu plakadaki her bir kuyuya 100 μ L katyonlu MHB ilave edildi. 100 μ L örneklerin 2048 μ g/mL derişimleri veya antibiyotikler (amoksisilin (2048 μ g/mL) ve tetrasiklin (1024 μ g/mL)) ilk kuyuya eklendi, karıştırıldı ve 100 μ L alınarak ikinci kuyuya eklendi. Bu işlem 12. kuyuya kadar devam edildi ve son olarak 12. kuyudan alınan 100 μ L çözelti atıldı. McFarland 0.5 değeri ayarlanan bakteri çözeltisinden 1 mL alınarak 9 mL katyonlu MHB karıştırıldı ve bu çözeltiden 5 μ L bütün kuyulara eklendi. +4°C buzdolabında 2 saat bekletildi ve sonra 37°C’de 16-18 saat inkübasyona bırakıldı. Çökelmenin olduğu kuyudan bir önceki kuyu minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değeri μ g/mL olarak verildi (Şekil 3.31.).



Şekil 3.31. MİK metodunun uygulaması

3.7.5. İstatistiksel analiz

In vitro biyolojik aktivite çalışmalarından elde edilen üç tekrarlı analizlerin sonuçlarına ait her bir parametre için $\pm$ standart sapma değerleriyle ifade edildi. Tüm veriler IBM Statistical Package for Social Studies (SPSS) 20.0 programında analiz edildi. Analiz ortalamaları arasındaki ikiden çok bağımsız grup ortalamaları ve veriler normal dağılışıla varyanslar homojen olduğundan ANOVA kullanıldı. Elde edilen veriler doğrultusunda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD^{a,b} kullanıldı. Değerlerin istatistiksel olarak anlamlılık derecesi, aktivite analiz sonucu grubuyla karşılaştırılarak $p < 0.05$ değerleriyle anlamlılık derecesi ifade edildi ve istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Temel bileşen analizi, Minitab 19 programı kullanılarak aydınlatıldı.

3.7.6. Moleküler Doking Çalışmaları

Moleküler doking, moleküllerin enzimlerle nasıl etkileşime girebileceğini ve bu bileşiklerin etkili inhibitörler olup olamayacağını araştırmak açısından değerlidir. Moleküler dokingde bir alan (grid box) oluşturmak için aktif bölgeyi belirleme önemlidir (Pinzi ve Rastelli, 2019). Aktif bölge, cep oluşumunda yer alan amino asitler, proteinin Yüzey Topografisi için Hesaplanmış Atlas (Computed Atlas for Surface Topography) programı kullanılarak belirlendi. İzolatlar Chem-Draw Ultra 18.0'de çizildi ve Chem3D 18.0 ile minimum enerjiye ayarlandı. Minimal enerjili izolatlar Mol2 formatında kaydedildi. Kullanılan tüm enzimlerin 3 boyutlu yapısı, Protein Veri Bankasından (RCSB PDB: biyolojik makromoleküler yapılar için bir bilgi portalı) seçildi (Berman vd, 2000). İnhibisyon deneylerinde kullanılan enzimler doking uygulamasında kullanıldı; *Porcine pancreas*'dan izole edilen α -amilaz (PDB-ID 1OSE (2.30 Å)), *Saccharomyces cerevisiae*'dan izole edilen α -glukozidaz (PDB-ID 3AJ7 (1.30 Å)), *Electrophorus electricus*'dan izole edilen AChE (PDB-ID 1C2O (4.20 Å)), *Equine serum*'dan izole edilen BChE (PDB-ID 1P0I (2.00 Å)), *Porcine pancreas*'dan izole edilen lipaz (PDB-ID 1HPL (2.30 Å)), mushroom'dan izole edilen tirozinaz (PDB-ID 5M6B (3.25 Å)), *Jack bean*'den izole edilen üreaz (PDB-ID 4GY7 (1.49 Å)), *Bovine erythrocytes*'den izole edilen KA (PDB-ID 3HS4 (1.10 Å)) (Yakan vd, 2023; Yenigun vd, 2023; Yenigün vd, 2023). Enzimler pdb formatında kaydedildi. Enzimlerin aktif bölgeleriyle moleküllerin etkileşimleri Molegro Virtual Docker 6.0.1 ve AutoDock Vina 1.5.7 programları kullanılarak araştırıldı. En yüksek MolDock puanı bileşiğin hangi pozun kullanılacağı belirledi (Alyar vd, 2021; Thomsen ve Christensen, 2006). Bu enzim ve pozlar BIOVIA Discovery Studio 2021 Client

programına aktararak hedef enzimler ve moleküller arasındaki etkileşimlerin 2D ve 3D yapıları elde edilmiştir. Ayrıca bu program ile moleküler yerleşmesinin etkileşim kategorileri, türleri, mesafesi gibi parametreleri de kaydedilmiştir (Almaz vd, 2021; BIOVIA, 2019). Bağlanma afiniteleri, AutoDock Vina 1.5.7 yazılımı kullanılarak belirlendi ve bağlanma sabitleri (K_i) ise bağlanma afiniteleri kullanılarak Denklem 3.8’da yerleştirilerek Excel’de hesaplandı (Trott ve Olson, 2010).

$$\Delta G = R.T.\ln K_i \quad (3.8)$$

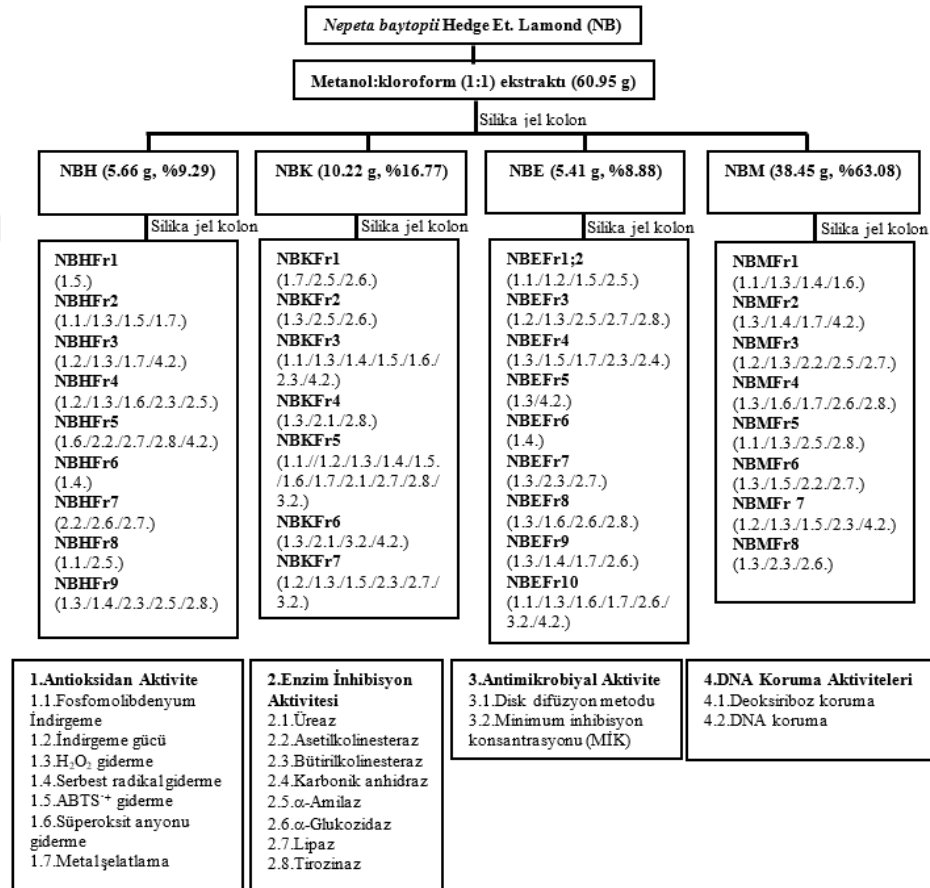
ΔG (cal); serbest bağlanma enerjisi, R; korelasyon katsayısı (1.986 cal/mol.K) ve T; sıcaklıktır (K).



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Fitokimyasal Yöntemler

N. baytopii bitkisinin toprak üstü kısmından 1000 g alınarak metanol:kloroform (1:1) çözücü karışımı ile ekstraksiyonundan 60.95 g ham ekstrakt elde edildi (Şekil 4.22.). Ham ekstrakt kolon kromatografisine yüklenerek dört farklı çözücü (*n*-hekzan: H, kloroform: K, etil asetat: E ve metanol: M) ile fraksiyonlandırıldı. Elde edilen fraksiyonlar kromatografik yöntemler ile (silika jel, *p*-HPLC vb.) ayrıldı. Elde edilen benzer fraksiyonlar ince tabaka kromatografisi uygulanarak birleştirildi. Ham ekstrakt, birinci ve ikinci fraksiyonlara aktivite testleri uygulandı. İkinci fraksiyonlar biyoaktivite yönlendirmeli izolasyona göre aktif olanları belirlendi. Aktif fraksiyonlardan moleküller (izolatlar) saflaştırıldı ve molekül yapıları spektroskopik yöntemler (NMR, GC-MS, GC-MS/MS, GC-FID, HPLC-MS/MS) ile aydınlatıldı.



Şekil 4.1. *N. baytopii* bitkisinin kloroform, etil asetat, *n*-hekzan ve metanol birinci fraksiyonlardan ikinci fraksiyonların eldesi ve biyoaktivite testlerinin genel uygulama şeması

4.1.1. Ekstraksiyon Verimi

N. baytopii bitkisinin toprak üstü kısmının metanol:kloroform (1:1) ekstraktının verimi %6.09, *n*-hekzan fraksiyonunun verimi %9.29, kloroform fraksiyonunun verimi %16.77, etil asetat fraksiyonunun verimi %8.08 ve metanol fraksiyonunun verimi %63.08 olarak hesaplandı (Tablo 4.1.).

Tablo 4.1. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktının ve birinci fraksiyonların ekstraksiyon verimleri

<i>N. baytopii</i> ekstrakt ve fraksiyonları	Kodlar	Örnek miktarı, g	Miktar, g ekstrakt	Verim, %
Metanol:kloroform ekstraktı	NBMK	1000.00	60.95	6.09
<i>n</i> -Hekzan fraksiyonu	NBH	60.95	5.66	9.29
Kloroform fraksiyonu	NBK		10.22	16.77
Etil asetat fraksiyonu	NBE		5.41	8.88
Metanol fraksiyonu	NBM		38.45	63.08

Dienaité vd (2018) yaptıkları çalışmada, *N. cataria*, *N. racemosa*, *N. sibirica*, *N. nuda*, *N. melissifolia* ve *N. grandiflora*'nın aseton, metanol ve su ekstraktlarının verimlerini %3.01-%36.21 arasında değiştiğini bildirmiştir. Miceli vd (2005) yaptıkları araştırmada, *N. sibthorpii*'nin toprak üstü kısmının metanol ekstraktının verimini %11.41 olarak belirlemiştir. Sarikurkcu vd (2019) yaptıkları çalışmada *N. cadmea* ve *N. nuda* subsp. *glandulifera* bitkilerinin toprak üstü kısmının metanol ekstraktının verimini sırasıyla %13.81 ve %12.84 olarak belirlemiştir. Tundis vd (2013) yaptıkları çalışmada *N. crassifolia* Boiss & Buhse ve *N. binaludensis* Jamzad' ın metanol ekstraktının verimini sırasıyla %10.2 ve %8.2 olarak bulmuştur. Tablo 4.1'de görüldüğü üzere, *N. baytopii* metanol fraksiyonunun verimi literatürdeki değerlerden daha yüksek olarak belirlendi.

Nepeta türleri ile ilgili yapılan daha önceki çalışmaların bir kısmında, metanol çözücüsü kullanılarak ekstraktlar elde edilirken bir kısmında farklı çözücüler kullanılarak ekstraktlar elde edilmiştir. Bu ekstraktlar, silika jel kolon veya farklı teknikler kullanılarak fraksiyonlandırılmış ve en çok kloroform ve etil asetat fraksiyonları toplanmıştır. Bu çalışmalar ışığında, tez çalışmamızda ekstraksiyon aşamasında metanol:kloroform (1:1) çözücü karışımını tercih ettik. Bu karışımı tercih etmemizin nedeni, metanol yüksek polariteye sahip olduğundan flavonoidlerin, antosiyanidinlerin vb. bileşenlerin yüksek verimle çözücü ortamında toplayabilmektir. Ek olarak, kloroform bitkideki selülozik yapıyı parçaladığından bazı alkaloidleri,

yağları vb. bileşenleri çözücü ortamında toplayabilmek amacıyla kullanılmıştır. Ayrıca ayırmada en çok tercih edilen silika jel kolon kullandık ve bu kolonda da en çok tercih edilen dört farklı çözücüyü kullanarak *n*-hekzan, kloroform, etil asetat ve metanol fraksiyonlarını elde ettik.

4.1.2. Toplam Fenol Miktarları

Bitkilerin toplam fenolik miktarlarının belirlenmesinde basitliği ve özel bir ekipman gerektirmemesinden dolayı Folin C Reaktifi yöntemi yaygın olarak uygulanmaktadır ve galik asit fenolik standart olarak kullanıldı (Golmakani vd, 2014). Tablo 4.2’de *N. baytopii* bitkisinin metanol:kloroform (1:1) ekstraktın ve birinci fraksiyonların toplam fenol miktarlarının sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.2. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktının ve birinci fraksiyonların toplam fenol miktarları

Örnekler	Toplam Fenol Miktarları, mg GAE/g ekstrakt
NBMK	20.24±0.15
NBH	6.79±0.08
NBK	12.47±0.23
NBE	17.56±0.61
NBM	10.12±0.08

Zengin vd (2021), *N. baytopii* *n*-hekzan, etil asetat, metanol, su/metanol ve su ekstraktlarının toplam fenol miktarlarını 13.23±0.21, 19.57±0.24, 33.81±0.22, 41.25±0.18 ve 50.30±0.13 mg GAE/g olarak belirlemiştir. Tablo 4.2’de görüldüğü üzere, *N. baytopii* *n*-hekzan, etil asetat ve metanol fraksiyonlarının toplam fenol miktarlarının literatürdeki değerlerden daha düşük olduğu gözlemlendi. Bunun nedeni, literatürdeki ile çalışmamızdaki ekstraksiyon yönteminin farklı olmasından kaynaklanmaktadır.

Mustafa vd (2023) yaptıkları araştırmada, *N. leucolaena* çiçek kısmının etanol, etil asetat, kloroform ve *n*-hekzan ekstraktlarının toplam fenol miktarlarını sırasıyla 39.50±0.53, 8.82±0.58, 19.20±0.58, 16.25±1.23 ve yaprak kısmının ise 31.71±0.46, 19.26±0.24, 21.57±0.85, 15.90±1.10 mg GAE/g ekstrakt olarak bulmuşlardır. Gökbulut ve Yılmaz (2020), *N. humilis* çiçek, yaprak ve kök kısımlarının metanol ekstraktlarının toplam fenolik miktarları sırasıyla 123.18±1.01, 66.20±0.49 ve 54.77±1.23 mg GAE/g ekstrakt olarak tahmin edilmiştir. Tablo 4.2’de görüldüğü üzere, *N. baytopii* *n*-hekzan, etil asetat, kloroform ve metanol fraksiyonlarının toplam

fenol miktarlarının literatürdeki değerlerden daha düşük olduğu kaydedildi. Çünkü, karşılaştırılan bitki türleri ve içerdikleri fenolik miktarları farklıdır. Fakat, fenolik miktarlarının belirlenmesinde kullanılan standart aynı olduğundan karşılaştırıldı.

Azizian vd (2021) yaptıkları çalışmada, *N. saccharata* ve *N. cataria*'nın metanol ekstraktlarının toplam fenol miktarlarını 24.59 ve 87.40 g GAE/kg kuru bitki olarak belirlemiştir. Khaladgi vd (2018), *N. binaludensis*'in toprak üstü kısmının toplam fenol miktarını %50 metanol:su ekstraktında 4.42 ± 0.00 mg GAE/g kuru bitki, su ekstraktında 2.29 ± 0.00 mg GAE/g kuru bitki ve metanol ekstraktında 1.30 ± 0.01 mg GAE/g kuru bitki olarak gözlemlemiştir. Mirjalili vd (2021) yaptıkları çalışmada, *N. asterotricha*'nın su, hidro-etanol (50/50) ve metanol ekstraktlarının toplam fenol miktarlarını sırasıyla 47.48, 156.84 ve 54.60 mg GAE/g kuru bitki olarak hesaplamıştır. Moshari Nasirkandi vd (2019) yaptıkları çalışmada, *N. fissa*'nın metanol ekstraktının toplam fenol miktarını 43.07 mg GAE/g kuru bitki olarak belirlemiştir. Seladji vd (2014) yaptıkları çalışmada *N. nepetalla*'nın toplam fenol miktarını yaprak su ekstraktında 41.65 ± 2.18 mg GAE/g kuru bitki, metanol ekstraktında 58.11 ± 1.24 mg GAE/g kuru bitki; çiçek su ekstraktında 13.18 ± 1.04 mg GAE/g kuru bitki, metanol ekstraktında 21.42 ± 0.96 mg GAE/g kuru bitki; kök su ekstraktında 14.98 ± 1.07 mg GAE/g kuru bitki, metanol ekstraktında 41.725 ± 0.38 mg GAE/g kuru bitki olarak gözlemlemiştir. Çünkü, karşılaştırılan bitki türleri ve içerdikleri fenolik miktarları farklıdır.

Dienaité vd (2018) yaptıkları çalışmada, *N. cataria*, *N. racemosa*, *N. sibirica*, *N. nuda*, *N. melissifolia* ve *N. grandiflora*'nın aseton, metanol ve su ekstraktlarının toplam fenol miktarları 62.44 ± 1.83 ile 669.00 ± 7.77 mg GAE/g ekstrakt arasında değiştiğini bildirmiştir. Karafakıoğlu ve Aksoy (2019) yaptıkları araştırmada, *N. viscida* Boiss.'in kök ve kök kısımlarının karışımının toplam fenol miktarını aseton ekstraktında 134.78 ± 9.30 µg GAE/mg ekstrakt ve metanol ekstraktında 128.86 ± 4.52 µg GAE/mg ekstrakt olarak gözlenmiştir. Sarikurkcu vd (2019) yaptıkları çalışmada *N. cadmea* ve *N. nuda* subsp. *glandulifera*'nın toprak üstü kısmının metanol ekstraktının toplam fenol miktarlarını 55.17 ± 1.87 ve 86.30 ± 1.17 mg GAE/g ekstrakt olarak gözlemlemiştir. Tekin (2018) yaptığı çalışmada *N. congesta* var. *congesta*'nın metanol ekstraktının toplam fenol miktarını 32.03 ± 0.48 mg GAE/g ekstrakt olarak belirlemiştir. Tablo 4.2'de görüldüğü üzere, *N. baytopii* metanol fraksiyonunun toplam fenol miktarı yapılan çalışmalarda literatürdeki değerlerden daha düşük olarak

belirlendi. Çünkü, karşılaştırılan bitki türleri ve içerdikleri fenolik miktarları farklıdır.

Patial vd (2019), *N. spicata*'nın toprak üstü kısmının metanol, aseton, kloroform ve *n*-hekzan ekstraktlarının toplam fenol miktarlarını sırasıyla 35.71 ± 3.56 , 29.94 ± 3.56 , 3.01 ± 0.56 ve 1.42 ± 1.11 mg GAE/g olarak bulmuştur. Tablo 4.2'de görüldüğü üzere, *N. baytopii* metanol fraksiyonun toplam fenol miktarının literatürdeki değerlerden daha düşük bulunurken kloroform ve *n*-hekzan ekstraktının ise literatürdeki değerlerden daha yüksek olduğu gözlemlendi. Tepe vd (2007) yaptıkları çalışmada *N. flavida* Hub.-Mor.'nın toplam fenol miktarını metanol:su ekstraktında 200.00 µg GAE/mg, metanol:kloroform ekstraktında 188.00 µg GAE/mg, diklorometan ekstraktında 23.80 µg GAE/mg ve *n*-hekzan ekstraktında ise 11.90 µg GAE/mg olarak bulmuştur. Tablo 4.2'de görüldüğü üzere, *N. baytopii* kloroform ve *n*-hekzan fraksiyonlarının toplam fenol miktarlarının literatürdeki değerlerden daha düşük olduğu kaydedildi.

4.1.3. Toplam Flavonoid Miktarları

Bitkilerin toplam flavonoid miktarı özel bir ekipman gerektirmemesinden dolayı $AlCl_3/KCH_3COO$ yöntemi uygulanmaktadır ve kuersetin standart olarak kullanılmaktadır (Golmakani vd, 2014). Tablo 4.3'de *N. baytopii* bitkisinin metanol:kloroform (1:1) ekstraktının ve birinci fraksiyonların toplam flavonoid miktarının sonuçları verilmiştir.

Tablo 4.3. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktın ve birinci fraksiyonların toplam flavonoid miktarları

Örnekler	Toplam Flavonoid Miktarları, mg KE/g ekstrakt
NBMK	12.86 ± 0.05
NBH	6.09 ± 0.03
NBK	11.74 ± 0.13
NBE	10.17 ± 0.00
NBM	8.33 ± 0.03

Zengin vd (2021), *N. baytopii* *n*-hekzan, etil asetat, metanol, su/metanol ve su ekstraktlarının toplam flavonoid miktarlarını 7.77 ± 0.07 , 27.02 ± 0.60 , 23.78 ± 0.87 , 10.61 ± 0.54 ve 13.48 ± 0.18 mg RE (Rutin eşdeğeri)/g olarak belirlemiştir. Tablo 4.3.'de görüldüğü üzere, *N. baytopii* *n*-hekzan, etil asetat ve metanol fraksiyonlarının toplam flavonoid miktarları farklı standartla belirlenmiş olsa da literatürdeki değerlerden daha düşüktür. Bunun nedeni, ekstraksiyon yöntemindeki farklılıktan kaynaklanmaktadır.

Azizian vd (2021) yaptıkları çalışmada, *N. cataria*'nın metanol ekstraktının toplam flavonoid miktarını 1.99 g KE/kg kuru bitki olarak bildirmiştir. Khaladgi vd (2018) yaptıkları çalışmada *N. binaludensis*' in toprak üstü kısmının toplam flavonoid miktarını % 50 metanol:su ekstraktında 0.8 mg KE/g kuru bitki, su ekstraktında 0.11 mg KE/g kuru bitki ve metanol ekstraktında ise 0.16 mg KE/g kuru bitki olarak gözlemlemiştir. Moshari Nasirkandi vd (2019) yaptıkları çalışmada *N. fissa*' ın metanol ekstraktının toplam flavonoid miktarını 3.77 mg KE/g kuru bitki olarak belirlemiştir. Tablo 4.3'de görüldüğü üzere, *N. baytopii* metanol fraksiyonunun toplam flavonoid miktarının literatürdeki değerlerden daha yüksek olduğu belirlendi. Çünkü hem karşılaştırılan bitki türleri farklıdır hem de içerdikleri flavonoid miktarları farklıdır.

Malik vd (2018) yaptıkları çalışmada *N. cataria*'nın etanol, metanol ve su ekstraktının toplam flavonoid miktarlarını sırasıyla 15.04±1.80, 9.02±1.57 ve 4.58±1.47 mg KE/g olarak belirlemiştir. Tundis vd (2013) yaptıkları çalışmada *N. crassifolia* Boiss & Buhse ve *N. binaludensis* Jamzad'ın metanol ekstraktının toplam flavonoid miktarlarını sırasıyla 109.3±1.5 ve 38.7±1.0 mg KE/100 g bitki olarak gözlemiştir. Yılmaz (2011) yaptığı çalışmada *N. sorgerae* ve *N. obtusicrena*'nın diklorometan ekstraktlarının toplam flavonoid miktarlarını sırasıyla 31.29±0.34, 24.65±1.25 µg KE/mg ekstrakt ve metanol ekstraktının ise 19.76±0.56, 21.52±0.88 µg KE/mg ekstrakt olarak belirlemiştir. Tablo 4.3'de görüldüğü üzere, *N. baytopii* kloroform ve metanol fraksiyonunun toplam flavonoid miktarının literatürdeki değerlerden daha düşük olduğu gözlemlendi. Çünkü hem karşılaştırılan bitki türleri farklıdır hem de içerdikleri flavonoid miktarları farklıdır.

4.1.4. HPLC-MS/MS Analiz Sonuçları

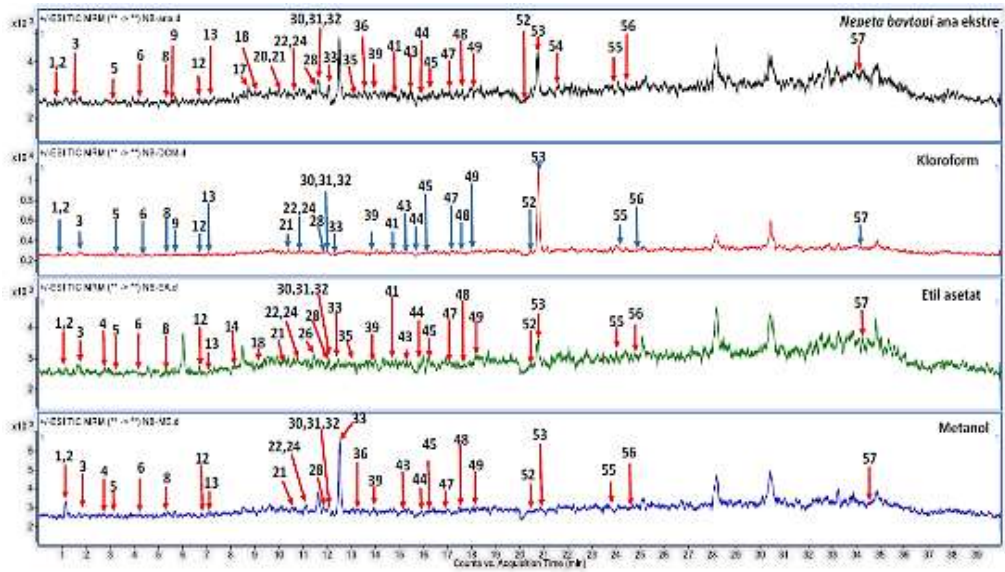
N. baytopii kloroform, etil asetat ve metanol ekstraktlarının spektrumları **Error! Reference source not found.**'de ve HPLC-MS/MS analiz sonuçları Tablo 4.4'de gösterildi. Fenolik bileşen analizine göre; *N. baytopii* metanol:kloroform ekstraktında ise en fazla rosmarinik asit (794.02 µg/g ekstrakt), rutin (140.05 µg/g ekstrakt), klorojenik asit (86.32 µg/g ekstrakt), ve kafeik asit (85.63 µg/g ekstrakt); kloroform ekstraktında ise en fazla krisin (493.56 µg/g ekstrakt), kuersetin-3-glikozit (351.38 µg/g ekstrakt), şikimik asit (302.04 µg/g ekstrakt), naringin (286.44 µg/g bitki), rutin (238.42 µg/g ekstrakt) ve sirinik asit (117.77 µg/g ekstrakt); etil asetat ekstraktında ise en fazla kuersetin-3-glikozit (343.66 µg/g ekstrakt), naringin (285.82 µg/g

ekstrakt), şikimik asit (280.91 µg/g ekstrakt), rutin (222.79 µg/g ekstrakt), siringik asit (135.99 µg/g ekstrakt) ve rosmarinik asit (116.52 µg/g ekstrakt) ve metanol ekstraktında ise en fazla kuersetin-3-glikozit (343.80 µg/g ekstrakt), rosmarinik asit (330.32 µg/g ekstrakt), naringin (297.12 µg/g ekstrakt), şikimik asit (283.93 µg/g ekstrakt), rutin (237.69 µg/g ekstrakt) ve siringik asit (125.38 µg/g ekstrakt) bileşiklerini içerdiği belirlendi.

Tablo 4.4. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktı, kloroform, etil asetat ve metanol fraksiyonlarının HPLC-MS/MS analiz sonuçları

No	Fenolik bileşikler	A.Z, Dak.	NBMK µg/g ekstrakt	NBK	NBE	NBM
1	Şikimik asit	1.16	B	302.04	280.91	283.93
2	Gallik asit	1.73	B	75.18	41.10	50.71
3	Protokatekuik asit	2.79	23.12	B	11.76	0.94
4	Gentisik asit	3.28	B	24.81	26.70	23.99
5	Kateşin	4.21	B	27.55	42.83	24.58
6	Klorojenik asit	5.36	86.32	8.30	0.95	33.17
7	4-Hidroksibenzaldehit	5.78	12.28	3.21	B	B
8	Kafeik asit	6.07	85.63	B	73.54	B
9	Epikateşin	6.82	B	30.55	30.64	29.69
10	Siringik asit	7.07	B	117.77	135.99	125.38
11	p-Kumarik asit	8.52	12.63	B	10.89	B
12	Salisilik asit	8.93	19.95	B	B	B
13	t-Ferulik asit	9.59	14.83	B	29.34	B
14	Sinapik asit	10.08	25.41	B	B	B
15	Kuersimeritrin	10.69	31.15	B	B	B
16	Kumarin	10.67	17.19	21.14	18.80	20.28
17	Skutellarin	11.21	8.14	3.98	3.82	5.59
18	Sinarin	11.36	B	22.43	22.47	22.43
19	Hiperosit	11.70	4.80	B	0.23	B
20	Rutin	11.93	140.05	238.42	222.79	237.69
21	Resveratrol	11.98	B	8.89	3.71	1.46
22	Naringin	11.99	B	286.44	285.82	297.12
23	Rosmarinik asit	12.13	794.02	104.44	116.52	330.32
24	Kuersetin-3-glikozit	12.52	1.20	351.38	343.66	343.80
25	Neohesperidin	12.91	B	B	6.13	B
26	Kaemferol-3-glikozit	13.37	B	B	B	8.52
27	Baikalin	13.91	B	0.87	0.90	18.61
28	Naringenin	14.98	36.38	3.58	11.45	9.09
29	Silibinin	15.87	B	9.98	10.10	10.37
30	Hesperedin	15.96	7.69	99.74	100.57	100.18
31	Kaemferol	16.91	B	97.93	99.47	97.91
32	Tamariksetin	17.54	B	8.24	9.62	8.15
33	Baikalein	18.17	B	29.40	29.45	29.32
34	Biokanin A	20.42	6.90	14.40	14.34	14.61
35	Kirisin	20.60	57.45	493.56	48.69	12.69
36	5-Hidroksiflavon	23.72	B	15.60	15.26	15.08
37	6,2,4-Trimetoksiflavon	24.52	B	1.61	1.63	1.62
38	Diosgenin	34.57	B	75.80	3.20	4.38

B: Belirlenemedi, A.Z.: alıkonma zamanı



Şekil 4.2. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktı, kloroform, etil asetat ve metanol fraksiyonlarının HPLC-MS/MS kromatogramları

Azizian vd (2021) yaptıkları HPLC-MS/MS analizi sonucunda, *N. saccharata*, *N. cataria*, *N. congesta* ve *N. racemosa*'nın metanol ekstraktlarında ferulik asit belirlenmiş olup bitkilerdeki miktarları sırasıyla 18.28 ± 0.10 , 26.08 ± 0.86 , 9.30 ± 0.21 ve 8.03 ± 0.35 g/kg olarak kaydedilmiştir. Tez çalışmamızda, *N. baytopii* metanol-kloroform ve etil asetat ekstraktlarının *t*-ferulik asit içeriği literatürdekinden düşük olarak belirlendi. Bunun nedeni de bitkinin içerdiği fenolik içeriklerinin ve miktarlarının farklı olmasından kaynaklanmaktadır.

Aras vd (2016) yaptıkları çalışmada *N. nuda* subsp. *lydiae*'nin etanol ekstraktının LC-MS/MS analizi sonucunda en fazla klorojenik asit (1325.22 ± 65 µg/kg ekstrakt), rosmarinik asit (238.06 ± 12 µg/kg ekstrakt) ve kuinik asit (223.83 ± 11 µg/kg ekstrakt) bileşiklerini belirlemiştir. Köksal vd (2017) yaptıkları çalışmada *N. trachonitica*'nın HPLC analizi sonucunda etanol ekstraktında en fazla rosmarinik asit (250.06 ± 12.25 µg/kg ekstrakt), klorojenik asit (160.15 ± 7.84 µg/kg ekstrakt), kuinik asit (109.20 ± 5.20 µg/kg ekstrakt) bileşiklerini belirlemiştir.

Iscan vd (2017) yaptıkları çalışmada *N. cilicia*'nın LC-MS/MS analizi sonucunda metanol ekstraktında en fazla 5-kafeoilkuinik asit, luteolin glikozit, luteolin glikuronit, apigenin glikozit ve apigenin glikuronit bileşiklerini bulmuştur.

Nestorović Živković vd (2018) yaptıkları çalışmada HPLC analizleri yapılmış ve *N. rtanjensis*'in metanol ekstraktında en fazla *trans,cis*-nepetalakton (2657.23 ± 291.49 µg/100 mg), rosmarinik asit (296.73 ± 2.45 µg/100 mg), klorojenik

asit ($228.51 \pm 7.89 \mu\text{g}/100 \text{ mg}$); *N. sibirica*'nın metanol ekstraktında en fazla *cis,trans*-nepetalakton ($1777.72 \pm 296.38 \mu\text{g}/100 \text{ mg}$), rosmarinik asit ($136.98 \pm 6.44 \mu\text{g}/100 \text{ mg}$) ve *N. nervosa*'nın metanol ekstraktında en fazla rosmarinik asit ($391.98 \pm 6.30 \mu\text{g}/100 \text{ mg}$) bileşiklerini belirlemiştir.

4.1.5. GC-MS/MS Analiz Sonuçları

N. baytopii *n*-hekzan ve kloroform fraksiyonlarının GC-MS/MS analizinin sonuçları Tablo 4.5'de gösterildi. Sonuçlara göre, *N. baytopii* *n*-hekzan fraksiyonunda en fazla 9,12,15-oktadekatrienoik asit, metil ester (%33.28), oktadekanoik asit, metil ester (%31.75) ve hekzadekanoik asit, metil ester (% 15.54) bileşikleri bulunurken kloroform fraksiyonunda ise en fazla oktadekanoik asit, metil ester (% 48.13) ve hekzadekanoik asit, metil ester (% 23.87) bileşikleri bulundu.

Avasthi vd (2017) yaptıkları çalışmada, *N. longibracteata*'nın *n*-hekzan ekstraktında *n*-hekzadekanoik asit (%50.32) ve metil esteri (%17.18) elde edilmiştir. Tablo 4.5.'de görüldüğü üzere, *N. baytopii* *n*-hekzan fraksiyonunda hekzadekanoik asit metil esteri miktarı literatürdeki değerden daha düşük olarak bulundu.

Sharma ve Cannoo (2016), *N. leucophyllas* metanol ekstraktında 12.51 ± 1.43 linoleik asit, metil esteri ve 6.37 ± 0.18 abieta-9(11),8(14),12-trien-12-ol belirlenmiştir.

Tablo 4.5. *N. baytopii* *n*-hekzan ve kloroform fraksiyonlarının GC-MS/MS analiz sonuçları

Bileşikler	No	A.Z., dak	NBH,%	NBK,%
Tanımlanamayan C3-benzen	1	9.95	1.79	B
2-Etilhekzanol	2	11.03	2.45	B
Okaliptol	3	11.14	B	2.26
Linalool	4	13.16	1.53	1.37
Izoborneol	5	15.03	1.48	B
3,7,11-Trimetil-oksa-siklotrideka-7,11-dien-2,4-dion	6	21.58	1.50	1.46
Dimetil benzen-1,3-dikarboksilat	7	23.75	1.39	3.03
Fenol, bis(1,1-dimetiletıl)- (CAS)	8	23.91	0.99	2.12
(-)-Kariyofilen oksit	9	25.18	4.81	B
Widdrol	10	26.16	B	1.20
4-(2-Asetil-5,5-dimetilsiklopent-2-eniliden) butan-2-on	11	26.58	B	B
Tetradekanoik asit, metil ester (CAS)	12	26.94	1.22	B
1-Oktadeken, (CAS)	13	27.78	1.35	B
2-Pentadekanon, 6,10,14-trimetil-	14	28.28	B	1.54
Hekzadekanoik asit, metil ester	15	29.17	15.54	23.87
1-Hekzadekanol, (CAS)	16	29.93	0.90	4.50
9,12,15-Oktadekatrienoik asit, metil ester, (Z,Z,Z)-	17	30.91	33.28	5.13
Oktadekanoik asit, metil ester	18	31.20	31.75	48.13
Hekzadekanoik asit,14-metil-,metil ester	20	29.91	B	1.64
Toplam			99.98	96.25

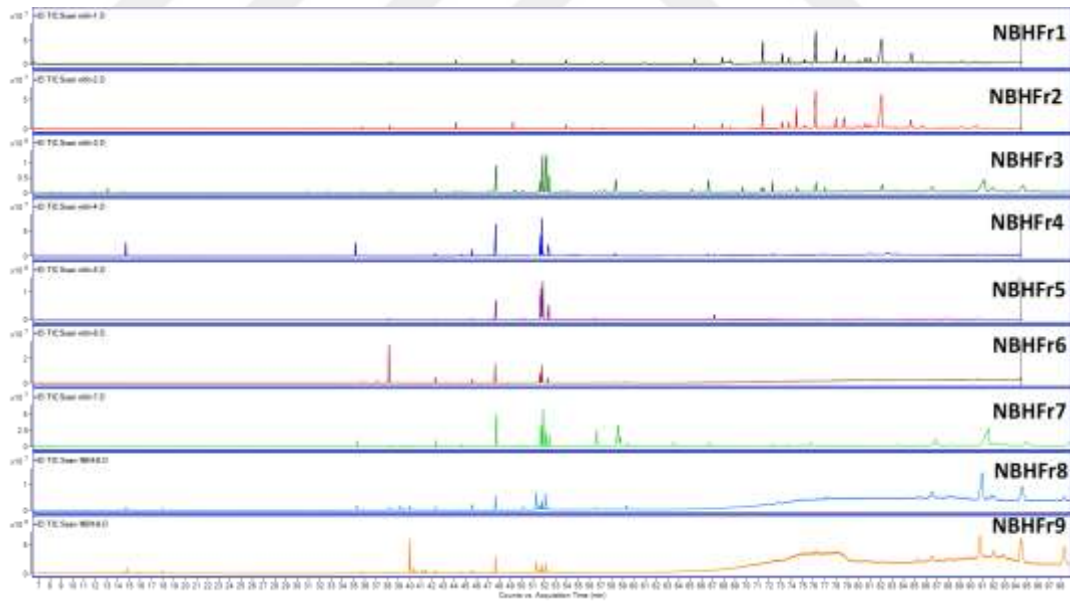
B: Belirlenemedi, A.Z.: Alıkonma Zamanı

Ahmad vd (2020), *N. deflersiana* etanol ekstraktında %17.36 metil perilat, %16.72 2,5-sikloheksadien-1,4-dion ve %10.77 selina-3,7(11)-dien tespit edilmiştir.

Ali vd (2021) yaptıkları analizde, *N. adenophyta*'nın etanol ekstraktında metandriol veya 12 α -hidroksi-5 α -pregnan (%65.39) ve 3-buten-1-on,4-[2,6,6-trimetil-1(veya 2)-sikloheksen-1-il] (%9.77) sonuçları elde edilmiştir.

4.1.6. GC-MS Analiz Sonuçları

n-Hekzan fraksiyonunun ikinci fraksiyonlarının GC-MS kromatogramları **Error! Reference source not found.**'de ve analiz sonuçları Tablo 4.6'da gösterildi. GC-MS analizinde *N. baytopii* *n*-hekzan fraksiyonlarının 9 alt fraksiyonu ayrı ayrı yüzde bağıl olarak hesaplandı ve 88 farklı bileşen tespit edildi. Analiz sonucunda, NBHFr1'de hentriakontan (%20.91), NBHFr2'de hentriakontan (%27.30), NBHFr3'de γ -sitosterol (%13.38), NBHFr4'de oleik asit, metil esteri (%22.41), NBHFr5'de oleik asit, metil esteri (%26.91), NBHFr6'da karyofilen oksit-izomeri (%31.26), NBHFr7'de γ -sitosterol (%21.59), NBHFr8'de fitol (%10.92) ve palmitik asit metil esteri (%10.19), NBHFr9'da tau-kadinol (%15.33) olarak belirlendi.



Şekil 4.3. *N. baytopii* *n*-hekzan ikinci fraksiyonlarının GC-MS kromatogramları

Yaylı vd (2014), *N. conferta* bitkisinin yapılan SPME/GC-MS analizinde; *p*-simen (%25.5), okaliptol (%9.8), limonen (%5.0), sabinen (%4.8), karvakrol (%3.7), E-linalool oksit (%3.3) ve Z-linalool oksit (%3.0) bileşiklerini bulmuştur.

Tablo 4.6. *N. baytopii* n-hekzan ikinci fraksiyonların GC-MS sonuçları

No	A.Z., dk.	Bileşen isimleri	NBHF1, %	NBHF2, %	NBHF3, %	NBHF4, %	NBHF5, %	NBHF6, %	NBHF7, %	NBHF8, %	NBHF9, %
1	8.86	2-Heptanon	B	B	B	B	B	B	B	0.557	0.911
2	14.65	Etilheksanol	0.074	B	0.099	9.370	0.250	0.677	0.217	2.315	0.425
3	14.97	Ökalyptol	B	B	0.045	B	B	B	B	0.780	1.273
4	18.02	Linalool	B	B	B	B	B	B	B	1.049	1.052
5	35.17	Terepithalik asit, dimetil ester	B	B	0.131	8.758	0.060	B	0.265	B	B
6	35.26	2,4-Diflorobenzoik asit, 2-nitro-5-florofenil ester	B	B	B	B	B	B	1.182	8.866	B
7	35.72	γ -Cadinene	B	0.125	0.279	B	0.074	1.239	B	B	B
8	35.75	β -Sitriliden etanol	B	B	B	B	B	B	B	0.733	0.448
9	35.88	Germacren D-4-ol	B	B	B	B	B	B	0.076	B	1.185
10	37.12	Karyofilen oksit	B	B	B	B	0.161	1.978	B	B	B
11	38.15	Karyofilen oksit -isomer	B	B	B	B	0.761	31.262	0.232	0.544	0.094
12	38.24	1-Hekzadeken	0.458	0.998	0.309	B	B	B	0.101	B	B
13	38.98	Humulene epoksit 2	B	B	B	B	B	0.910	0.162	2.535	B
14	39.97	tau-Kadinol	B	B	B	B	B	B	0.324	2.535	15.330
15	40.59	3-Carene, 4-isopropenil-	B	B	B	B	B	B	B	B	0.979
16	41.50	Murol-5-en-4-one <cis-14-nor->	B	B	B	B	B	B	B	B	1.129
17	42.29	Tetradekanoik asit, metil ester	B	B	0.579	1.150	0.519	4.363	1.017	2.160	1.524
18	44.12	1-Hekzadekanol	0.910	1.802	0.262	B	B	B	0.089	0.123	B
19	44.59	9-Hekzadecenoik asit, metil ester	B	B	B	1.287	0.137	0.595	0.375	0.037	B
20	45.56	Hekzahidrofarnesil aseton	B	B	0.172	3.660	0.668	2.712	0.235	1.973	0.780
21	47.09	Palmitoleik asit, metil ester	B	B	0.307	0.736	0.636	0.231	0.185	B	B
22	47.66	Palmitik asit, metil ester	0.099	0.086	9.820	20.809	12.537	13.560	7.356	10.192	8.311
23	48.16	Izofitol	B	B	B	B	B	B	0.086	0.822	B
24	49.19	9-Eikosen	1.107	1.798	0.248	B	B	B	B	B	B
25	51.31	γ -Linolenik asit, metil ester	B	B	B	B	B	B	B	4.255	2.046
26	51.64	Linoleik asit, metil ester	B	B	2.069	11.290	22.129	7.033	4.399	1.141	0.404
27	51.74	Estra-1,3,5(10),9(11)-tetraen-17-one, 3-hidroksi	B	B	B	B	B	B	B	0.658	B
28	51.80	Linolenik asit, metil ester	B	B	B	B	B	B	B	2.160	1.171
29	51.86	Oleik asit, metil ester	B	B	10.280	22.411	26.911	13.440	8.546	B	B
30	51.92	Oleik asit, metil ester-izomer	B	B	0.424	1.266	1.021	0.579	0.273	B	B
31	52.19	Fitol	B	B	13.341	B	B	B	2.627	10.921	4.433
32	52.39	Stearik asit, metil ester	0.089	0.076	3.183	8.775	8.205	3.793	2.160	0.845	0.723

Tablo 4.6. (devam)

No	A.Z., dk	Bileşen isimleri	NBHF _{r1} , %	NBHF _{r2} , %	NBHF _{r3} , %	NBHF _{r4} , %	NBHF _{r5} , %	NBHF _{r6} , %	NBHF _{r7} , %	NBHF _{r8} , %	NBHF _{r9} , %
33	53.93	1-Dokosen	1.181	1.379	B	B	B	B	B	B	B
34	56.25	11-Trikosen	0.371	0.564	B	B	B	B	B	B	B
35	56.50	Linolenik asit, metil ester-izomer	B	B	B	0.474	1.328	0.541	5.126	0.715	B
36	57.13	Trikosan	0.751	0.542	B	B	B	B	B	B	B
37	57.34	11-Eikosenoik asit, metil ester	B	B	0.967	0.406	B	B	0.562	B	B
38	58.39	Eikosenoik asit, metil ester	B	B	4.626	2.531	1.055	0.947	11.281	B	B
39	58.57	2-Heptenoik asit, tridec-2-in-1-il ester	B	B	B	B	B	B	2.770	B	B
40	59.35	4,8,12,16-Tetrametilheptadecan-4-olid	B	B	B	B	B	2.002	1.290	5.462	B
41	60.53	Linolenin, 1-mono-	B	B	0.806	B	B	B	0.307	B	B
42	60.86	Trikosanol	0.912	0.837	0.119	B	B	B	B	B	B
43	61.10	Tetrakosan	0.115	0.089	B	B	B	B	B	B	B
44	62.64	Heneikosenoik asit, metil ester	B	B	0.667	0.367	B	B	0.327	B	B
45	63.35	Belirlenemedi	B	B	B	B	B	B	1.311	B	B
46	65.15	1-Heneikosanol	B	B	1.109	B	B	B	0.087	B	B
47	65.39	Pentakosan	2.389	1.762	B	B	B	B	B	B	B
48	66.63	Dokosenoik asit, metil ester	B	B	4.085	1.870	0.704	B	1.103	B	B
49	67.85	2-Metilheksakosan	2.434	1.846	0.180	B	B	B	B	B	B
50	68.52	Belirlenemedi	0.626	0.660	B	B	B	B	B	B	B
51	69.67	Trikosenoik asit, metil ester	B	B	1.235	0.460	B	B	0.307	B	B
52	71.38	Trikosanol	B	B	1.154	B	B	B	0.061	B	B
53	71.46	Heptakosan	9.022	8.244	0.753	B	B	B	B	B	B
54	71.66	15-Tetrakosenoik asit, metil ester	B	B	B	B	0.584	B	0.071	B	B
55	72.32	Lignoserik asit metil ester	B	B	2.411	0.952	0.741	B	0.566	B	B
56	73.20	Belirlenemedi	3.459	2.098	0.170	B	0.581	B	B	B	B
57	73.80	Belirlenemedi	1.972	1.846	B	B	B	B	B	B	B
58	73.80	Belirlenemedi	B	B	B	B	0.771	B	B	B	B
59	74.50	Skualen	B	B	0.909	B	B	B	B	B	B
60	75.19	Belirlenemedi	1.413	0.849	B	B	B	B	B	B	B
61	75.56	α -Tocospiro A	B	B	B	B	B	B	1.246	B	B
62	76.19	Nonakosan	19.264	19.760	2.567	B	B	B	0.050	B	B
63	77.01	Hekzakosenoik asit, metil ester	B	B	1.087	B	B	B	0.322	B	B
64	78.01	Belirlenemedi	6.868	3.939	0.329	B	B	B	B	B	B
65	78.72	Benzil oleat	4.149	4.829	B	B	B	B	B	B	B

Tablo 4.6. (devam)

No	A.Z., dk	Bileşen isimleri	NBHFr1, %	NBHFr2, %	NBHFr3, %	NBHFr4, %	NBHFr5, %	NBHFr6, %	NBHFr7, %	NBHFr8, %	NBHFr9, %
66	80.04	Belirlenemedi	1.238	0.637	B	B	B	B	B	B	B
67	80.39	Belirlenemedi	B	B	B	B	1.548	B	0.229	B	B
68	80.61	Belirlenemedi	2.838	2.238	B	B	B	B	B	B	B
69	80.99	Belirlenemedi	2.638	1.678	B	B	B	B	B	B	B
70	81.38	Lupeol	B	B	B	B	1.177	B	0.067	B	B
71	82.04	Hentriakontan	20.910	27.297	2.941	B	B	B	B	B	B
72	83.33	Oktakosanoik asit, metil ester	B	B	0.756	B	B	B	0.662	B	B
73	84.17	Belirlenemedi	0.418	0.375	B	B	B	B	B	B	B
74	84.71	Tetrakosan, 11-desil-	6.983	5.142	0.640	B	B	B	B	B	B
75	85.19	Belirlenemedi	B	B	B	B	B	B	0.597	B	0.977
76	85.70	Belirlenemedi	0.914	1.781	B	B	B	B	B	B	B
77	86.58	Kampesterol	B	B	2.655	B	1.458	B	4.122	B	1.116
78	87.93	Stigmasterol	B	B	0.505	B	2.860	B	0.894	B	B
79	89.17	17-Pentatriakonten	1.860	1.202	B	B	B	B	B	B	B
80	90.44	Belirlenemedi	1.231	2.334	B	B	B	B	B	B	B
81	90.67	β -sitosterol	B	B	B	B	1.196	3.763	B	B	5.412
82	91.24	γ -sitosterol	B	B	13.377	B	B	B	21.591	4.357	B
83	91.35	Stigmastanol	B	B	B	B	B	B	0.924	B	B
84	91.74	Kolest-5-en-3-ol, 24-propiliden	B	B	B	B	B	B	1.747	B	B
85	91.90	Fucosterol	B	B	3.364	B	B	B	B	B	B
86	91.97	Olean-12-en-3-one	B	B	B	B	B	B	1.300	B	B
87	92.48	β -Amyrin	B	B	B	B	B	B	B	8.479	8.656
88	94.67	Lanosterol	B	B	5.462	B	B	3.951	2.319	B	B

B: Belirlenemedi, A.Z.: alıkonma zamanı

4.1.7. GC-FID Analiz Sonuçları

N. baytopii metanol:klorofom (1:1) ekstraktının GC-FID analizi ile yağ asitlerinin miktarları belirlendi ve sonuçları Tablo 4.7’de özetlendi. Bu sonuçlara göre, *N. baytopii* metanol:kloroform ekstraktında *cis*-11-eikosanoat (%34.36) ve palmitat (% 18.29) yağ asitleri yüksek oranda belirlendi.

Tablo 4.7. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktının GC-FID analiz sonuçları

Yağ asitleri	Doymamışlık derecesi	A. Z., dk	NBMK, %
Doymuş yağ asitleri			
Hekzanoat	(C6:0)	6.00	0.44
Laurat	(C12:0)	9.59	0.24
Miristat	(C14:0)	11.78	0.68
Palmitat	(C16:0)	15.02	18.29
Heptadekanoat	(C17:0)	17.17	0.39
Stearat	(C18:0)	19.42	2.82
Araşidat	(C20:0)	23.42	1.30
Trikosanoat	(C23:0)	28.57	0.09
Doymamış yağ asitleri			
Palmitoleat	(C16:1)	16.23	0.88
<i>cis</i> -10-Heptadekanoat	(C17:1)	18.57	0.08
<i>cis</i> -9-Oleat	(C18:1)	20.63	3.96
Linoleat	(C18:2)	22.43	5.01
Linolenat	(C18:3)	22.92	1.99
<i>cis</i> -11-Eikosanoat	(C20:1N9)	24.45	34.36
Bilinmeyenler			
		5.79	16.55
		11.00	0.08
		18.35	0.77
		20.05	0.84
		23.69	7.88
		23.80	0.56
		27.46	1.09
		32.47	1.54
		32.64	0.15
Toplam			99.99

Akpınar vd (2008) yaptıkları çalışmada, *N. caesarea*, *N. isaurica*, *N. italica*, *N. nuda ssp. albiflora* ve *N. transcaucasica*’nın toprak üstü kısmının GC-MS yağ asidi analiz sonuçlarına göre sırasıyla en fazla linolenik asit (%57.85±0.21, 48.20±0.30, 59.51±0.81, 61.62±0.32 ve 59.47±0.76), linoleik asit (%15.66±0.37, 21.93±0.24, 17.67±0.28, 22.33±0.44 ve 20.49±0.36) ve oleik asit (%19.85±0.15, 19.72±0.36, 14.22±0.18, 10.47±0.33 ve 12.55±0.24) bileşiklerini saptamışlardır.

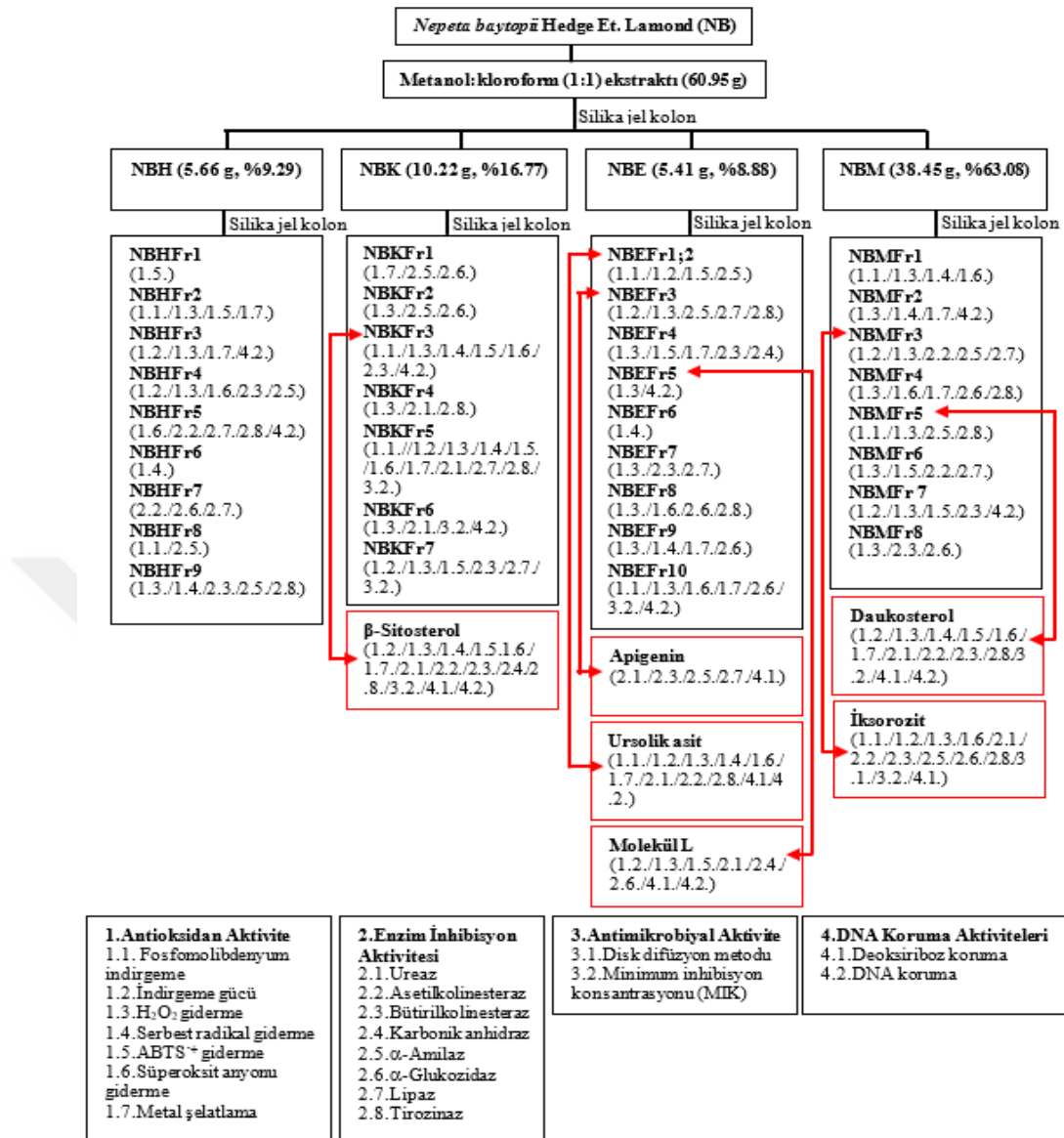
Hemaia vd (2015), *N. cataria L.*’nin toprak üstü kısmının GC-MS yağ asidi analiz sonuçlarına göre en fazla palmitik asit (%20.30), stearik asit (%18.60) ve oleik asit (%14.20) bileşiklerini bulmuştur.

Emre vd (2011) araştırmasında, *N. italica*'nın toprak üstü kısmının GC-MS yağ asidi analiz sonuçlarına göre en fazla linolenik asit (%39.56±0.67), linoleik asit (%22.80±0.14) ve oleik asit (%22.41±0.80) bileşiklerini belirlemişlerdir.

Kiliç vd (2007), *N. aristata*, *N. cilicica*, *N. crinita*, *N. nuda* ssp. *glandulifera* ve *N. viscida*'nın toprak üstü kısmının GC-MS yağ asidi analiz sonuçlarına göre sırasıyla en fazla linolenik asit (%47.60, 36.80, 40.10, 42.10 ve 36.20), linoleik asit (%17.90, 19.60, 25.80, 19.70 ve 18.60) ve oleik asit (%15.90, 25.80, 16.70, 15.40 ve 19.50) bileşiklerini bulmuştur.

4.2. *In vitro* Biyoaktivite Yöntemleri

N. baytopii bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen metanol:kloroform (1:1) ham ekstraktın, fraksiyonların, izolatların elde edilme ve aktivite uygulama aşamaları Şekil 4.4'de özetlendi. Şekilde gösterildiği gibi, biyoaktivite yönlendirmeli izolasyona göre yüksek aktivite gösteren altı fraksiyondan bileşikler saflaştırıldı. Bunlar; NBKFr3 fraksiyonundan β -sitosterol, NBEFr1;2 fraksiyonundan ursolik asit, NBEFr3-4 fraksiyonundan apigenin, NBEFr5-4 fraksiyonundan Molekül L, NBMFr3 fraksiyonundan iksorozit ve NBMFr5 fraksiyonundan daukosteroldür. Bu moleküller NMR spektroskopisi teknikleri kullanılarak karakterize edildi ve aktivite çalışmaları gerçekleştirildi.



Şekil 4.4. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların aktivite şeması

4.2.1. Antioksidan Aktivite Sonuçları

Antioksidan aktivite yöntemlerinde sentetik antioksidanlar (EDTA, BHA, BHT, TBHQ ve troloks) ve doğal antioksidanlar (α - tokoferol ve askorbik asit) standart olarak kullanıldı. Antioksidan aktivitelerin sonuçları $A_{0.5}$ ve IC_{50} olarak verildi. $A_{0.5}$ değeri, H₂O₂ giderme, fosfomolibdenyum indirgenme aktiviteleri ve indirgeme gücü kapasitesi için 0.50 absorbansın etkili olduğu konsantrasyondur. IC_{50} değeri, metal şelatlama, ABTS^{•+}, serbest radikal ve süperoksit anyon giderme aktiviteleri için %50 absorbansın etkili olduğu konsantrasyondur.

Moleküllerin aktivitesinin düşük fakat saflaştırıldığı fraksiyonun aktivitesinin yüksek olmasının sebebi; fraksiyonların birden fazla molekül içermesinden ve bu moleküllerin de birbirleriyle sinerjik etkileşimden kaynaklanmasından olabilir. Fakat bunun tam tersi durumda yani moleküllerin aktivitesinin yüksek fakat saflaştırıldığı fraksiyonun aktivitesinin düşük olması durumunda biyoaktivite yönlendirmeli izolasyon amacına ulaşmış demektir.

4.2.1.1. Fosfomolibdenyum İndirgeme Aktiviteleri

Fosfomolibdenyum indirgeme yöntemi kullanılarak asitli ortamda antioksidan madde içeren bileşiklerin Mo (VI)'yi, Mo (V)'e indirgemesi sonucunda oluşan fosfat/Mo (V) (yeşil renkli) kompleksinin spektrofotometrik olarak 695 nm'de ölçümüne dayanmaktadır (Mohamed vd, 2007; Prieto vd, 1999).

N. baytopii ham ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların fosfomolibdenyum indirgenme aktiviteleri Tablo 4.8'de gösterildi. Ham ekstraktın ve birinci fraksiyonlarının fosfomolibdenyum indirgenme aktiviteleri standartlarla karşılaştırıldığında düşük aktiviteye sahip olduğu belirlenirken ikinci fraksiyonların yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlendi. En yüksek aktivite, NBHFr8 (17.81 ± 0.01 $\mu\text{g/mL}$), NBKFr5 (41.93 ± 0.83 $\mu\text{g/mL}$), NBEFr10 (89.82 ± 2.06 $\mu\text{g/mL}$) ve NBMFr1 (77.10 ± 0.11 $\mu\text{g/mL}$) fraksiyonlarında gözlemlendi. Ayrıca, NBHFr2, NBHFr1, NBKFr2, NBKFr3, NBEFr1;2, NBEFr3, NBMFr5 ve NBMFr7 fraksiyonlarının da yüksek aktiviteye sahip olduğu kaydedildi.

Biyoaktivite yönlendirmeli izolasyona göre, NBKFr3'den β -sitosterol, NBEFr1;2'den ursolik asit, NBEFr3-4'den apigenin ve NBEFr5-4'den Molekül L, NBMFr3'den iksorozit ve NBMFr5'den daukosterol saflaştırıldı. Saflaştırılan β -sitosterol, ursolik asit, apigenin, Molekül L ve daukosterolün aktiviteleri elde edildiği fraksiyonlardan daha düşük aktiviteye sahip iken iksorozit molekülünün aktivitesi elde edildiği fraksiyondan daha yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlendi.

Zengin vd (2021), *N. baytopii* n-hekzan, etil asetat, metanol, su/metanol ve su ekstraktlarının fosfomolibdenyum indirgenme aktivitelerini 1.28 ± 0.15 , 2.36 ± 0.20 , 2.45 ± 0.15 , 1.87 ± 0.06 ve 2.09 ± 0.07 mmol troloks eşdeğeri (TE)/g olarak belirlemiştir. Tez çalışmamızda, literatürdeki veriler ile uyumlu olarak metanol fraksiyonunun yüksek aktiviteye sahip olduğunu belirlendi.

Tablo 4.8. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların fosfomolibdenyum indirgenme aktiviteleri

Örnek ve Standart	Kodlar	A _{0.5} (µg/mL)	Kodlar	A _{0.5} (µg/mL)	Kodlar	A _{0.5} (µg/mL)	Kodlar	A _{0.5} (µg/mL)
Ham Ekstrakt	NBMK	270.56±0.01 ⁿ	NBMK	270.56±0.01 ⁿ	NBMK	270.56±0.01 ^p	NBMK	270.56±0.01 ^p
Birinci fraksiyonlar	NBH	390.14±0.00 ^p	NBK	477.96±0.71 ^o	NBE	160.34±0.20 ^m	NBM	139.65±0.61 ^j
İkinci fraksiyonlar	NBHFr1	64.76±0.00 ^c	NBKFr1	134.71±1.60 ^j	NBEFr1;2	81.96±0.85 ^b	NBMFr1	77.10±0.11 ^b
	NBHFr2	54.60±0.00 ^b	NBKFr2	76.13±0.44 ^c	NBEFr3	91.28±2.93 ^d	NBMFr2	146.24±0.01 ^l
	NBHFr3	190.57±0.00 ^l	NBKFr3	64.17±0.17 ^b	NBEFr4	143.52±0.04 ^j	NBMFr3	141.57±1.56 ^{jk}
	NBHFr4	375.62±0.00 ^o	NBKFr4	124.38±2.25 ^h	NBEFr5	133.78±0.78 ^h	NBMFr4	131.44±0.55 ⁱ
	NBHFr5	204.35±3.93 ^m	NBKFr5	41.93±0.83 ^a	NBEFr6	147.57±0.39 ^k	NBMFr5	88.54±0.02 ^d
	NBHFr6	101.00±5.24 ^f	NBKFr6	112.10±1.68 ^f	NBEFr7	114.31±0.77 ^{ef}	NBMFr6	115.18±2.99 ^f
	NBHFr7	127.13±2.35 ^{hi}	NBKFr7	108.35±2.84 ^e	NBEFr8	138.10±0.66 ⁱ	NBMFr7	97.15±2.55 ^e
	NBHFr8	17.81±0.01 ^a			NBEFr9	112.18±0.84 ^e	NBMFr8	154.47±4.15 ⁿ
	NBHFr9	91.13±1.57 ^e			NBEFr10	59.82±2.06 ^a		
İzolatlar			β-sitosterol	214.03±2.70 ^m	Ursolik asit	122.61±3.09 ^g	Daukosterol	135.53±2.90 ^{ij}
					Apigenin	176.72±0.63 ^o	İksorozit	55.65±0.02 ^a
					Molekül L	154.27±0.96 ^l		
Standart Maddeler	BHA	85.38±0.22 ^d		85.38±0.22 ^d		85.38±0.22 ^c		85.38±0.22 ^c
	BHT	117.82±0.11 ^g		117.82±0.11 ^g		117.82±0.11 ^f		117.82±0.11 ^f
	Troloks	129.96±0.64 ⁱ		129.96±0.64 ⁱ		129.96±0.64 ^{hi}		129.96±0.64 ^{gh}
	TBHQ	126.00±0.48 ^h		126.00±0.48 ^{hi}		126.00±0.48 ^{gh}		126.00±0.48 ^g
	α-tokoferol	165.05±0.94 ^k		165.05±0.94 ^l		165.05±0.94 ⁿ		165.05±0.94 ^o
	Askorbik asit	145.49±0.20 ^j		145.49±0.20 ^k		145.49±0.20 ^{jk}		145.49±0.20 ^l

NBMK: *N. baytopii* metanol-kloroform ekstraktı, NBH: *N. baytopii* n-hekzan fraksiyonu, NBK: *N. baytopii* kloroform fraksiyonu, NBE: *N. baytopii* etil asetat fraksiyonu, NBM: *N. baytopii* metanol fraksiyonu, Fr: Fraksiyon, n:3

Farklı harfli ortalamalar (a,b,c, vs.) istatistiksel olarak anlamlı bir farkı göstermektedir ($p<0.05$)

Mustafa vd (2023) yaptıkları araştırmada, *N. leucolaena* çiçek kısmının etanol, etil asetat, kloroform ve *n*-hekzan ekstraktlarının fosfomolibdenyum indirgenme aktivitelerini sırasıyla 1.60 ± 0.016 , 0.65 ± 0.001 , 0.95 ± 0.004 , 1.23 ± 0.052 mmol TE/g ve yaprak kısmının aynı çözücü ekstraktlarının aktivitelerini ise 1.64 ± 0.035 , 1.23 ± 0.009 , 1.19 ± 0.054 , 1.60 ± 0.033 mmol TE/g olarak hesaplamışlardır. Tez çalışmamızda, farklı bitkinin toprak üstü kısmı kullanıldı ve metanol fraksiyonunun aktivitesinin yüksek olduğu belirlendi.

Gül (2020), *Kickxia lanigera* kloroform ekstraktından izole edilen daukosterolün fosfomolibdenyum indirgenme aktivitesinin $A_{0.5}$ değerini 249.04 ± 1.80 µg/mL olarak belirlemiştir. Tablo 4.8’de görüldüğü üzere, farklı *Nepeta* türlerinden izole edilen daukosterol molekülü ile ilgili aktivite çalışması olmadığından karşılaştırma yapmak için farklı bitkiden izole edilen daukosterol molekülü kullanıldı ve literatürdeki değerinden daha yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlendi. Bunun sebebi de molekülün içerisinde azda olsa yapısının çok benzer olduğu ikinci bir molekülün bulunmasından kaynaklanmaktadır.

Sarikurkcu vd (2019) yaptıkları çalışmada, *N. cadmea* ve *N. nuda* subsp. *glandulifera*’nın toprak üstü kısmının metanol ekstraktının fosfomolibdenyum indirgenme aktivitelerini sırasıyla 2.08 ± 0.03 ve 2.59 ± 0.03 mmol TE/g ekstrakt olduklarını saptamışlardır. Tekin (2018)’nin yaptığı çalışmada, *N. congesta* var. *congesta*’nın metanol ekstraktının fosfomolibdenyum indirgenme aktivitesini 1.61 ± 0.07 mmol TE/g ekstrakt olarak bildirmiştir.

4.2.1.2. İndirgeme Gücü Kapasiteleri

İndirgeme gücü yöntemi, ekstrakttaki bileşenlerin ortamdaki demir bileşiğine bir elektron vererek demirin sarı renkli Fe^{3+} halinden mavi renkli Fe^{2+} haline indirgenmesi esasına göre oluşan mavi rengin absorbansının spektrofotometrik olarak 700 nm’ de ölçümüne dayanmaktadır (Huang vd, 2005; Oyaizu, 1986).

N. baytopii ham ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların indirgeme gücü kapasiteleri Tablo 4.9’da gösterildi. Ham ekstraktın indirgeme gücü kapasitesi standartlarla karşılaştırıldığında yüksek aktivite gösterirken *n*-hekzan, kloroform, etil asetat ve metanol fraksiyonları düşük aktivite gösterdi. İkinci fraksiyonların ise aktivitesi daha yüksektir ve en yüksek aktivite, NBHFr4 (41.06 ± 0.06 µg/mL), NBKFr5 (36.89 ± 1.23 µg/mL), NBEFr1;2 (74.36 ± 0.08 µg/mL) ve NBMFr7

(54.58±1.04 µg/mL) fraksiyonlarında belirlendi. Ek olarak, NBHFr3, NBKFr7, NBEFr3, NBMFr3 ve NBMFr8 fraksiyonlarındadır. Saflaştırılan, ursolik asit ve apigeninin aktiviteleri elde edildiği fraksiyonlardan daha düşük aktivite gösterirken β -sitosterol, Molekül L, iksorozit ve daukosterol moleküllerinin yüksek aktivite gösterdi.

Zengin vd (2021), *N. baytopii* *n*-hekzan, etil asetat, metanol, su/metanol ve su ekstraktlarının indirgeme gücü kapasitelerini 22.38±0.66, 29.24±0.27, 88.78±1.36, 124.78±1.40 ve 129.55±1.23 mg TE/g olarak belirlemiştir. Tez çalışmamızda, literatürdeki ile farklı ekstraksiyon yöntemi kullanıldı ve literatürdekinin aksine çalışmamızda *n*-hekzan fraksiyonunun yüksek aktiviteye sahip olduğunu belirlendi.

Mustafa vd (2023) yaptıkları araştırmada, *N. leucolaena* çiçek kısmının etanol, etil asetat, kloroform ve *n*-hekzan ekstraktlarının indirgeme gücü kapasitelerini sırasıyla 108.30±0.98, 23.74±0.52, 28.20±0.60, 27.29±0.08 mg TE/g ekstrakt ve yaprak kısmının ise 101.30±0.32, 34.21±0.28, 34.29±0.29, 23.84±0.61 mg TE/g ekstrakt olarak hesaplamışlardır. Tez çalışmamızda, farklı bitkinin toprak üstü kısmı kullanıldı ve *n*-hekzan fraksiyonunun aktivitesinin yüksek olduğu belirlendi.

Kaska vd (2019) yaptıkları çalışmada, *N. italica* subsp. *cadmea*'nın toprak üstü kısmının etanol:su (70:30; w:w) ve metanol:su (70:30; w:w) ekstraktlarının indirgeme gücü aktivitelerini sırasıyla 0.64±0.07 ve 0.40±0.05 mg/mL olarak belirlemiştir. Tablo 4.9.'da görüldüğü üzere, *N. baytopii* ham ekstrakt ve birinci fraksiyonlarının literatürdeki değerlerden daha yüksek indirgeme gücü kapasitesine sahip oldukları belirlendi. Bunun sebebi, farklı bitki ve ekstrakt çözücüsünün kullanılmasından kaynaklanmaktadır.

Sánchez-Marzo vd (2019), apigeninin indirgeme gücü kapasitesini 113.20±12.20 µmol Fe²⁺/mmol olarak bildirmiştir. Tian vd (2021) yaptıkları çalışmada, apigeninin indirgeme gücü kapasitesini 0.010±0.001 mmol Fe²⁺/(µg/mL) olarak kaydetmiştir. Tablo 4.9'da görüldüğü üzere, apigenin molekülünün literatürdeki değerler ile birim farklılığından dolayı birebir karşılaştırma yapılamamıştır. Fakat çalışmamızda apigenin molekülünün daha düşük aktiviteye sahip olduğu gözlemlendi. Bunun sebebi molekülün içerisinde azda olsa yapısının çok benzer olduğu ikinci bir molekülün bulunmasından kaynaklanmaktadır.

Tablo 4.9. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların indirgeme gücü kapasiteleri

Örnek ve Standart	Kodlar	A _{0.5} (µg/mL)	Kodlar	A _{0.5} (µg/mL)	Kodlar	A _{0.5} (µg/mL)	Kodlar	A _{0.5} (µg/mL)
Ham Ekstrakt	NBMK	63.52±0.63 ^c	NBMK	63.52±0.63 ^d	NBMK	63.52±0.63 ^b	NBMK	63.52±0.63 ^d
Birinci fraksiyonlar	NBH	142.52±0.32 ^j	NBK	145.50±1.34 ^k	NBE	221.31±0.14 ⁿ	NBM	241.71±1.39 ⁿ
İkinci fraksiyonlar	NBHFr1	83.36±0.76 ^{ef}	NBKFr1	126.20±2.49 ^j	NBEFr1;2	74.36±0.08 ^d	NBMFr1	92.43±1.58 ^h
	NBHFr2	81.89±0.62 ^e	NBKFr2	251.49±1.91 ^o	NBEFr3	87.56±1.93 ^f	NBMFr2	103.91±0.82 ⁱ
	NBHFr3	50.71±0.67 ^b	NBKFr3	104.96±3.44 ^h	NBEFr4	93.49±2.18 ^g	NBMFr3	58.75±0.16 ^c
	NBHFr4	41.06±0.87 ^a	NBKFr4	172.88±3.88 ^m	NBEFr5	171.21±1.54 ^k	NBMFr4	65.02±3.46 ^{de}
	NBHFr5	168.10±0.35 ^{lm}	NBKFr5	36.89±1.23 ^b	NBEFr6	220.37±0.51 ⁿ	NBMFr5	134.94±2.00 ^j
	NBHFr6	167.39±1.35 ^l	NBKFr6	91.39±0.86 ^{fg}	NBEFr7	174.16±0.58 ^l	NBMFr6	145.05±4.75 ^k
	NBHFr7	181.94±0.94 ^k	NBKFr7	51.48±1.60 ^c	NBEFr8	179.10±4.27 ^l	NBMFr7	54.58±1.04 ^b
	NBHFr8	135.00±2.18 ⁱ			NBEFr9	203.77±1.55 ^m	NBMFr8	63.17±1.01 ^d
	NBHFr9	94.54±3.40 ^h			NBEFr10	130.45±2.24 ⁱ		
İzolatlar			β-sitosterol	29.23±0.47 ^a	Ursolik asit	81.05±2.51 ^e	Daukosterol	25.90±1.49 ^a
					Apigenin	118.38±1.99 ^h	İksorozit	63.69±1.58 ^d
					Molekül L	11.89±0.25 ^a		
Standart Maddeler	BHA	68.82±0.19 ^d		68.82±0.19 ^e		68.82±0.19 ^c		68.82±0.19 ^f
	BHT	91.83±1.85 ^{gh}		91.83±1.85 ^{de}		91.83±1.85 ^{fg}		91.83±1.85 ^g
	Troloks	150.28±2.20 ^k		150.28±2.20 ^l		150.28±2.20 ^j		150.28±2.20 ^l
	TBHQ	67.17±0.92 ^d		67.17±0.92 ^e		67.17±0.92 ^c		67.17±0.92 ^{ef}
	α-tokoferol	176.63±1.21 ⁿ		176.63±1.21 ⁿ		176.63±1.21 ^{kl}		176.63±1.21 ^m
	Askorbik asit	88.11±0.94 ^g		88.11±0.94 ^f		88.11±0.94 ^f		88.11±0.94 ^g

NBMK: *N. baytopii* metanol-kloroform ekstraktı, NBH: *N. baytopii* n-hekzan fraksiyonu, NBK: *N. baytopii* kloroform fraksiyonu, NBE: *N. baytopii* etil asetat fraksiyonu, NBM: *N. baytopii* metanol fraksiyonu, Fr: Fraksiyon, n:3

Farklı harfli ortalamalar (a,b,c, vs.) istatistiksel olarak anlamlı bir farkı göstermektedir ($p<0.05$)

Azizian vd (2021) yaptıkları çalışmada, *N. cataria*'nın metanol ekstraktının indirgeme gücü kapasitesini 2.23 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ kuru bitki olarak belirlemiştir. Motaghd vd (2022), *N. crista*'nın metanol ekstraktının indirgeme gücü kapasitesini $21.19 \pm 1.60 \text{ mM Fe}^{2+}/\text{g}$ olarak hesaplamıştır. Mirjalili vd (2021) yaptıkları çalışmada, *N. asterotricha*'nın su, hidro-etanol (50/50) ve metanol ekstraktlarının indirgeme gücü kapasitesini sırasıyla 63.78 mg, 318.55 ve 115.05 AA (Askorbik asit)/g kuru bitki olarak hesaplamıştır. Tablo 4.9'da görüldüğü üzere, farklı bitkinin toprak üstü kısmı kullanıldı ve aktivite sonuçlarının birimlerinin farklı olmasından kaynaklı karşılaştırma yapılamadı.

Gül (2020), *Kickxia lanigera* kloroform ekstraktından izole edilen daukosterolün indirgeme gücü kapasitesinin $A_{0.5}$ değerini $155.01 \pm 3.07 \mu\text{g/mL}$ olarak belirlemiştir. Tablo 4.9'da görüldüğü üzere, farklı *Nepeta* türlerinden izole edilen daukosterol molekülü ile ilgili aktivite çalışması olmadığından karşılaştırma yapmak için farklı bitkiden izole edilen daukosterol molekülü kullanıldı ve literatürdeki değerinden daha yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlendi. Bunun sebebi de molekülün içerisinde azda olsa yapısının çok benzer olduğu ikinci bir molekülün bulunmasından kaynaklanmaktadır.

4.2.1.3. H_2O_2 Giderme Aktiviteleri

H_2O_2 giderme yöntemi, 1,10-fenantrolin yöntemine kullanılarak ferröz iyonunun turuncu tri-fenantrolin kompleksinin spektrofotometrik olarak 510 nm' de ölçümüne dayanmaktadır (Mukhopadhyay vd, 2016). 1,10-fenantrolin eklenmeden önce H_2O_2 eklenirse, H_2O_2 tüm ferröz iyonunu ferrik iyonla oksitleyebilir ve 1,10-fenantrolin turuncu kompleksi oluşmayacağı için absorbansta keskin bir azalma görülebilir.

N. baytopii ham ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların H_2O_2 giderme aktiviteleri Tablo 4.10'da gösterildi. Ham ekstraktın ve metanol fraksiyonunun aktiviteleri standartlarla karşılaştırıldığında yüksek aktivite gösterirken *n*-hekzan, kloroform ve etil asetat fraksiyonları düşük aktivite gösterdi. İkinci fraksiyonların ise aktivitesi daha yüksektir ve en yüksek aktivite, NBHFr2 ($26.01 \pm 0.91 \mu\text{g/mL}$), NBKFr5 ($7.07 \pm 0.00 \mu\text{g/mL}$), NBEFr8 ($4.24 \pm 0.23 \mu\text{g/mL}$) ve NBMFr2 ($4.55 \pm 0.29 \mu\text{g/mL}$) fraksiyonlarında belirlendi. Ek olarak, NBHFr3, NBKFr6, NBKFr3, NBKFr7, NBEFr10, NBEFr4, NBEFr3, NBEFr7, NBMFr7, NBMFr4 ve NBMFr8 fraksiyonlarındadır. Saflaştırılan moleküllerden apigenin hariç diğer moleküllerin aktiviteleri yüksektir. Apigenin de ise aktivite belirlenemedi.

Tablo 4.10. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların H₂O₂ giderme aktiviteleri

Örnek ve Standart	Kodlar	A _{0.5} (µg/mL)	Kodlar	A _{0.5} (µg/mL)	Kodlar	A _{0.5} (µg/mL)	Kodlar	A _{0.5} (µg/mL)
Ham Ekstrakt	NBMK	61.62±0.31 ^e	NBMK	61.62±0.31 ^g	NBMK	61.62±0.31 ^h	NBMK	61.62±0.31 ^h
Birinci fraksiyonlar	NBH	110.33±0.17 ^j	NBK	80.04±0.66 ^d	NBE	110.83±1.09 ⁿ	NBM	69.73±0.54 ⁱ
İkinci fraksiyonlar	NBHF _{r1}	145.78±0.26 ^l	NBKFr ₁	94.77±0.39 ^j	NBEFr _{1;2}	163.79±0.08 ^o	NBMFr ₁	32.47±0.52 ^e
	NBHF _{r2}	26.01±0.91 ^a	NBKFr ₂	82.93±0.18 ^h	NBEFr ₃	19.65±0.26 ^c	NBMFr ₂	4.55±0.29 ^b
	NBHF _{r3}	51.99±0.46 ^c	NBKFr ₃	21.72±0.46 ^c	NBEFr ₄	18.80±0.36 ^{bc}	NBMFr ₃	77.06±0.00 ^j
	NBHF _{r4}	67.25±0.42 ^f	NBKFr ₄	55.62±0.59 ^f	NBEFr ₅	74.66±0.93 ^j	NBMFr ₄	25.72±0.26 ^d
	NBHF _{r5}	171.77±0.52 ^m	NBKFr ₅	7.07±0.00 ^a	NBEFr ₆	89.15±1.22 ^k	NBMFr ₅	83.50±3.24 ^k
	NBHF _{r6}	134.45±3.40 ^k	NBKFr ₆	18.10±0.30 ^b	NBEFr ₇	23.45±0.04 ^d	NBMFr ₆	40.07±0.12 ^f
	NBHF _{r7}	180.29±1.07 ⁿ	NBKFr ₇	28.24±0.19 ^d	NBEFr ₈	4.24±0.23 ^a	NBMFr ₇	19.11±1.22 ^c
	NBHF _{r8}	233.28±3.55 ^o			NBEFr ₉	68.75±1.47 ⁱ	NBMFr ₈	26.20±0.08 ^d
	NBHF _{r9}	67.97±1.82 ^f			NBEFr ₁₀	16.07±0.42 ^b		
İzolatlar			β-sitosterol	32.08±0.45 ^e	Ursolik asit	38.42±0.42 ^f	Daukosterol	22.56±0.63 ^d
					Apigenin	-	İksorozit	2.97±0.50 ^a
					Molekül L	21.96±1.17 ^d		
Standart	BHA	33.43±0.08 ^b		33.43±0.08 ^e		33.43±0.08 ^e		33.43±0.08 ^e
Maddeler	BHT	101.11±0.30 ⁱ		101.11±0.30 ^k		101.11±0.30 ^m		101.11±0.30 ^j
	Trolaks	95.68±0.40 ^h		95.68±0.40 ^j		95.68±0.40 ^l		95.68±0.40 ^m
	TBHQ	88.30±0.90 ^g		88.30±0.90 ⁱ		88.30±0.90 ^k		88.30±0.90 ^l
	α-tokoferol	56.84±0.96 ^d		56.84±0.96 ^f		56.84±0.96 ^g		56.84±0.96 ^g
	Askorbik asit	250.52±0.47 ^p		250.52±0.47 ^l		250.52±0.47 ^p		250.52±0.47 ⁿ

NBMK: *N. baytopii* metanol-kloroform ekstraktı, NBH: *N. baytopii* n-hekzan fraksiyonu, NBK: *N. baytopii* kloroform fraksiyonu, NBE: *N. baytopii* etil asetat fraksiyonu, NBM: *N. baytopii* metanol fraksiyonu, Fr: Fraksiyon, n:3

Farklı harfli ortalamalar (a,b,c, vs.) istatistiksel olarak anlamlı bir farkı göstermektedir ($p<0.05$)

Kaska vd (2018) yaptıkları çalışmada *N. cadmea*'nın etanol, metanol, aseton ve su ekstraktlarının H₂O₂ giderme aktivitelerini sırasıyla %17.8±0.39, %13.17±0.25, %47.37±0.16 ve %28.49±0.23 olarak belirlemiştir.

Ayaz vd (2017) yaptıkları araştırmada, *P. hydropiper* L.'dan izole edilen β -sitosterolün H₂O₂ giderme aktivitesinin IC₅₀ değerini 280.00 µg/mL olarak bulmuştur. Tablo 4.10'da görüldüğü üzere, farklı *Nepeta* türlerinden izole edilen β -sitosterol molekülü ile ilgili aktivite çalışması olmadığından karşılaştırma yapmak için farklı bitkiden izole edilen β -sitosterol molekülü kullanıldı ve literatürdeki değerinden daha yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlendi.

Gül (2020), *Kickxia lanigera* kloroform ekstraktından izole edilen daukosterolün H₂O₂ giderme aktivitesinin A_{0.5} değerini 88.43±4.46 µg/mL olarak belirlemiştir. Tablo 4.10'da görüldüğü üzere, farklı *Nepeta* türlerinden izole edilen daukosterol molekülü ile ilgili aktivite çalışması olmadığından farklı bitkiden izole edilen daukosterol molekülü kullanıldı ve literatürdeki değerinden daha yüksek olduğu belirlendi. Bunun sebebi de molekülün içerisinde azda olsa yapısının çok benzer olduğu ikinci bir molekülün bulunmasından kaynaklanmaktadır.

4.2.1.4. Serbest Radikal Giderme Aktiviteleri

Antioksidan aktivite yöntemlerinin başında serbest radikal giderme (DPPH) yöntemi gelir. DPPH' bileşiğinin antioksidanlarla reaksiyonu sonucunda antioksidanlardan elektron alır ve renk açılması meydana geldiği için absorban değerlerinde düşmeler meydana gelir. Serbest radikal giderme aktivitesi 517 nm'de menekşe-mor rengin spektrofotometrik olarak ölçümüne dayanmaktadır (Blois, 1958).

N. baytopii ham ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların serbest radikal giderme aktiviteleri Tablo 4.11'de gösterildi. Ham ekstraktın, etil asetat ve metanol fraksiyonların serbest radikal giderme aktiviteleri standartlarla karşılaştırıldığında düşük aktiviteye sahip olduğu belirlenirken *n*-hekzan ve kloroform fraksiyonlarının yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlendi. İkinci fraksiyonların ise aktivitesi daha düşüktür ve bu fraksiyonlar arasından en yüksek aktivite NBKFr5 (2.38±0.48 µg/mL) ve NBMFr1 (1.61±0.17 µg/mL) fraksiyonlarında belirlendi. Saflaştırılan apigenin ve iksorozitin aktiviteleri elde edildiği fraksiyonlardan daha düşük aktivite gösterirken β -sitosterol, ursolik asit ve daukosterol molekülleri daha yüksek aktivite gösterdi. Molekül L'de ise aktivite belirlenemedi.

Tablo 4.11. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların serbest radikal (DPPH') giderme aktiviteleri

Örnek ve Standart	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)
Ham Ekstrakt	NBMK	5.30±0.25 ^{de}	NBMK	5.30±0.25 ^{fg}	NBMK	5.30±0.25 ^d	NBMK	5.30±0.25 ^e
Birinci fraksiyonlar	NBH	2.68±0.90 ^a	NBK	1.74±0.12 ^a	NBE	21.07±0.98 ^g	NBM	48.86±0.23 ^l
İkinci fraksiyonlar	NBHFr1	51.54±0.89 ^k	NBKFr1	22.80±0.21 ^k	NBEFr1;2	35.40±0.83 ^l	NBMFr1	1.61±0.17 ^a
	NBHFr2	56.00±1.98 ^l	NBKFr2	19.11±0.27 ^j	NBEFr3	23.37±1.65 ^h	NBMFr2	7.39±0.00 ^f
	NBHFr3	50.67±1.79 ^{jk}	NBKFr3	4.89±0.57 ^{ef}	NBEFr4	27.88±0.22 ^{ij}	NBMFr3	12.18±0.00 ^g
	NBHFr4	-	NBKFr4	-	NBEFr5	38.13±0.25 ^m	NBMFr4	50.67±1.79 ^{lm}
	NBHFr5	10.23±0.36 ^h	NBKFr5	2.38±0.48 ^b	NBEFr6	16.52±0.49 ^e	NBMFr5	64.19±2.19 ^o
	NBHFr6	9.90±0.10 ^g	NBKFr6	6.08±0.46 ^h	NBEFr7	28.99±0.91 ^k	NBMFr6	50.26±2.37 ^{lm}
	NBHFr7	-	NBKFr7	7.97±0.28 ⁱ	NBEFr8	28.04±0.88 ^{jk}	NBMFr7	58.54±1.61 ⁿ
	NBHFr8	65.77±2.66 ^m			NBEFr9	16.33±0.49 ^e	NBMFr8	45.61±0.64 ^k
	NBHFr9	7.64±0.52 ^f			NBEFr10	20.14±0.88 ^{fg}		
İzolatlar			β -sitosterol	1.66±0.12 ^a	Ursolik asit	2.68±0.05 ^a	Daukosterol	2.38±0.70 ^b
					Apigenin	44.71±0.34 ^m	İksorozit	21.65±0.26 ⁱ
					Molekül L	-		
Standart Maddeler	BHA	4.06±0.10 ^c		4.06±0.10 ^d		4.06±0.10 ^c		4.06±0.10 ^d
	BHT	26.98±0.18 ⁱ		26.98±0.18 ^l		26.98±0.18 ⁱ		26.98±0.18 ^j
	Troloks	5.70±0.31 ^e		5.70±0.31 ^{gh}		5.70±0.31 ^d		5.70±0.31 ^e
	TBHQ	2.65±0.36 ^a		2.65±0.36 ^b		2.65±0.36 ^a		2.65±0.36 ^b
	α -tokoferol	3.44±0.62 ^b		3.44±0.62 ^c		3.44±0.62 ^b		3.44±0.62 ^c
	Askorbik asit	3.11±0.07 ^b		3.11±0.07 ^c		3.11±0.07 ^b		3.11±0.07 ^c

NBMK: *N. baytopii* metanol-kloroform ekstraktı, NBH: *N. baytopii* n-hekzan fraksiyonu, NBK: *N. baytopii* kloroform fraksiyonu, NBE: *N. baytopii* etil asetat fraksiyonu, NBM: *N. baytopii* metanol fraksiyonu, Fr: Fraksiyon, n:3

Farklı harfli ortalamalar (a,b,c, vs.) istatistiksel olarak anlamlı bir farkı göstermektedir ($p<0.05$)

Zengin vd (2021), *N. baytopii* metanol, su/metanol ve su ekstraktlarının serbest radikal giderme aktivitelerini 90.88 ± 0.37 , 94.40 ± 0.09 ve 93.16 ± 0.20 mg TE/g olarak belirlemiştir. Tablo 4.11’de görüldüğü üzere, literatürdeki ile farklı ekstraksiyon yöntemi kullanıldığından kloroform fraksiyonunun yüksek aktiviteye sahip olduğu kaydedildi.

Mustafa vd (2023) yaptıkları araştırmada, *N. leucolaena* çiçek kısmının etanol ve etil asetat ekstraktlarının serbest radikal giderme aktivitelerini sırasıyla 49.02 ± 0.12 , 2.65 ± 0.31 mg TE/g ekstrakt ve yaprak kısmının etanol ekstraktının ise 46.33 ± 0.10 mg TE/g ekstrakt olarak hesaplamışlardır.

Gökbulut ve Yılmaz (2020), *N. humilis* çiçek, yaprak ve kök kısımlarının metanol ekstraktlarının serbest radikal giderme aktivitelerinin IC₅₀ değerlerini sırasıyla 1.29 ± 0.02 , 5.02 ± 0.35 ve 13.13 ± 0.20 mg/mL olarak tahmin edilmiştir. Tepe vd (2007) araştırmalarında, *N. flavida*’nın metanol-su, metanol-kloroform, diklorometan ve *n*-hekzan ekstraktlarının serbest radikal giderme aktivitelerinin IC₅₀ değerlerini sırasıyla 63.2 ± 1.75 , 102.0 ± 2.14 , 146.0 ± 1.26 ve 162.0 ± 1.73 µg/mL olarak bulmuştur. Adiguzel vd (2009) yaptıkları çalışmada, *N. cataria*’nın metanol ekstraktının serbest radikal giderme aktivitesinin IC₅₀ değerini 171.98 ± 3.60 µg/mL olarak belirlemiştir. Motaghed vd (2022), *N. crispa*’nın metanol ekstraktının serbest radikal giderme aktivitesinin IC₅₀ değerini 93.20 ± 6.11 µg/mL olarak hesaplamıştır. Tablo 4.11’de görüldüğü üzere, *N. baytopii* ham ekstraktı, *n*-hekzan, kloroform ve metanol fraksiyonların literatürdeki değerlerden daha yüksek serbest radikal giderme aktivitelerine sahip oldukları belirlendi. Bunun sebebi, farklı bitki kullanılmasından kaynaklanmaktadır.

Heshmati Afshar vd (2021) yaptıkları çalışmada, *N. raemosa*’nın kloroform, metanol ve *n*-hekzan ekstraktlarının, Fr10, Fr20, Fr40, Fr60, Fr80 ve Fr100 fraksiyonlarının serbest radikal giderme aktivitelerinin IC₅₀ değerlerini sırasıyla 0.16 ± 0.05 , 0.09 ± 0.04 , 0.41 ± 0.01 , 0.32 ± 0.13 , 0.19 ± 0.02 , 0.01 ± 0.00 , 0.09 ± 0.04 , 0.42 ± 0.02 ve 0.34 ± 0.04 mg/mL olarak belirlemiştir. Tablo 4.11’de görüldüğü üzere, *N. baytopii* kloroform fraksiyonunun literatürdeki değerlerin aksine farklı bitki kullanılmasından kaynaklı olarak daha yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlendi.

Khaladgi vd (2018) araştırmalarında, *N. binaludensis*’in toprak üstü kısmının serbest radikal giderme aktivitesinin IC₅₀ değerini %50 metanol:su ekstraktında 3.0 mg/mL, su ekstraktında 4.5 mg/mL ve metanol ekstraktında 5.2 mg/mL olarak

gözlemlemiştir. Kaska vd (2018)'nın *N. cadmea*'nın etanol, metanol, aseton ve su ekstraktlarının serbest radikal giderme aktivitelerinin IC₅₀ değerlerini sırasıyla 665.59±21.5, 109.96±26.3, 287.07±15.8 ve 25.54±3.60 µg/mL olarak belirlemiştir. Miceli vd (2005) yaptıkları çalışmada, *N. sibthorpii*'nin toprak üstü kısmının metanol ekstraktının serbest radikal giderme aktivitesinin IC₅₀ değerini 97.18 µg/mL olarak belirlemiştir. Moshari Nasirkandi vd (2019) yaptıkları çalışmada, *N. fissa*'nın metanol ekstraktının serbest radikal giderme aktivitesinin IC₅₀ değerini 197.85 µg/mL olarak bulmuştur. Sharifi-Rad vd (2020) yaptıkları çalışmada, *N. juncea*'nın yaprak metanol ekstraktının serbest radikal giderme aktivitesinin IC₅₀ değerini 1.19±0.03 mg/mL ve kök su ekstraktının 2.46±0.02 mg/mL olarak bulmuştur. Singh ve Dhaliwal (2019) yaptıkları çalışmada, *N. leucophylla*'nın kök metanol ekstraktının serbest radikal giderme aktivitesi IC₅₀ değerini 156.38±0.00 µg/mL olarak belirlemiştir. Tundis vd (2013) yaptıkları çalışmada, *N. crassifolia* Boiss & Buhse ve *N. binalidensis* Jamzad'ın metanol ekstraktının serbest radikal giderme aktivitelerinin IC₅₀ değerlerini 12.8±0.9 µg/mL ve 62.8±1.1 µg/mL olarak bulmuştur. Fareed vd (2013)'nin *N. praeterxisa*'nın kloroform, etil asetat, metanol, *n*-bütanol, su ve *n*-hekzan ekstraktlarının serbest radikal giderme aktivitelerinin IC₅₀ değerlerini sırasıyla 180, 110, 640, 300, 260 ve 460 µg/mL olarak gözlemlemiştir. Seladji vd (2014) araştırmalarında, *N. nepetalla*'nın su ve metanol ekstraktlarının serbest radikal giderme aktivitesinin IC₅₀ değerini yaprak kısmında 10.435±0.61 ve 1.45±0.07 mg/mL; çiçek kısmında 17.7±0.14 ve 2.75±0.03 mg/mL; kök kısmında 20.16±0.23 ve 7.37±0.17 mg/mL olarak gözlemlemiştir. Tablo 4.11'de görüldüğü üzere, *N. baytopii* ham ekstraktının ve metanol fraksiyonunun serbest radikal giderme aktivitelerinin literatürdeki değerlerden daha yüksek olduğu gözlemlendi. Bunun nedeni, ekstraksiyon yönteminin farklı olmasından kaynaklanmaktadır.

Avasthi vd (2016) yaptıkları çalışmada, *N. longibracteata* metanol-su ekstraktının *n*-hekzan, diklorometan, etil asetat ve su fraksiyonlarının serbest radikal giderme aktivitelerinin IC₅₀ değerleri *n*-hekzan için 139.33±0.35 µg/mL, diklorometan için 138.72±0.09 µg/mL, etil asetat için 64.31±0.08 µg/mL ve su için 151.36±0.02 µg/mL olarak gözlemlemiştir. Gkinis vd (2010) yaptıkları çalışmada, *N. nuda* L. ssp. *nuda*'nın *n*-hekzan ekstraktının serbest radikal giderme aktivitesinin IC₅₀ değerini yaprak kısmında 40.61 µg/mL olarak bulmuştur. Tablo 4.11'de görüldüğü üzere, *N. baytopii* *n*-hekzan, kloroform ve etil asetat fraksiyonlarının aktivitesinin

literatürdeki değerlerden daha yüksek olduğu kaydedildi. Yüksek olmasının nedeni, farklı ekstraksiyon yönteminin kullanılmasından kaynaklanmaktadır.

Islam vd (2021), *Wedelia chinensis* metanol ekstraktının etil asetat fraksiyonundan izole edilen apigeninin serbest radikal giderme aktivitesinin IC₅₀ değerini 56.12±3.14 µM olarak bildirmiştir. Tian vd (2021) yaptıkları çalışmada, apigeninin serbest radikal giderme aktivitesinin IC₅₀ değerini belirleyememiştir. Sharififar vd (2009), *T. polium* toprak üstü kısmının metanol ekstraktından izole edilen apigeninin serbest radikal giderme aktivitesinin IC₅₀ değerini 30.30±2.10 µg/mL olarak belirlemiştir. Tablo 4.11’de görüldüğü üzere, farklı *Nepeta* türlerinden izole edilen apigenin molekülü ile ilgili aktivite çalışması olmadığından farklı bitkiden izole edilen apigenin molekülü ile karşılaştırıldı ve literatürdeki değerinden daha düşük aktiviteye sahip olduğu belirlendi. Bunun sebebi de molekülün içerisinde azda olsa yapısının çok benzer olduğu ikinci bir molekülün bulunmasından kaynaklanmaktadır.

Bhat vd (2019), β-sitosterolün 12 µg/mL derişiminin serbest radikal giderme aktivitesini %28.33 olarak bulmuştur. Ayaz vd (2017) yaptıkları araştırmada, *P. hydropiper* L.’dan izole edilen β-sitosterolün serbest radikal giderme aktivitesinin IC₅₀ değerini 140.00 µg/mL olarak bulmuştur. Quek vd (2021) yaptıkları araştırmada, *M. latifolia* kabuğunun *n*-hekzan ekstraktının kloroform fraksiyonundan izole edilen β-sitosterolün serbest radikal giderme aktivitesini belirleyememiştir. Tablo 4.11’de görüldüğü üzere, farklı *Nepeta* türlerinden izole edilen β-sitosterol molekülü ile ilgili aktivite çalışması olmadığından farklı bitkiden izole edilen β-sitosterol molekülü ile karşılaştırıldı ve literatürdeki değerlerden daha yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlendi. Bunun sebebi de molekülün içerisinde azda olsa yapısının çok benzer olduğu ikinci bir molekülün bulunmasından kaynaklanmaktadır.

Adsiz (2018), *Salvia cerino-pruinosa* var. *elazigensis* etanol ekstraktından izole edilen apigenin, β-sitosterol ve ursolik asidin serbest radikal giderme aktivitelerini yüzde olarak hesapladıktan sonra IC₅₀ değerlerini sırasıyla 45.87±1.43, 72.11±1.94 ve 20.04±1.04 olarak gözlemlemiştir. Anh vd (2021), *Polyscias guilfoylei* etanol ekstraktının diklorometan fraksiyonundan saflaştırılan β-sitosterol ve daukosterolün serbest radikal giderme aktivitelerini diklorometan için >128.00 µg/mL, daukosterol için >128.00 µg/mL ve β-sitosterol için >128.00 µg/mL olarak belirlemiştir. Tablo 4.11.’de görüldüğü üzere, β-sitosterol ve daukosterolün serbest radikal giderme aktiviteleri literatürdeki değerlerden daha yüksek olarak gözlemlendi.

Dehghan vd (2018) yaptıkları çalışmada, *Rheum turkestanicum* etil asetat ekstraktının kloroform-metanol gradiyent sistemine göre elde edilen Fr9 dan saflaştırılan daukosterolün serbest radikal giderme aktivitelerini etil asetat ekstraktı için %64.3, Fr9 için 10.40 ± 0.80 ve daukosterol için 155.00 ± 0.50 μM olarak belirlemiştir. Madeleine vd (2020), *Ficus abutilifolia* etil asetat ekstraktından izole edilen daukosterolün serbest radikal giderme aktivitesinin IC_{50} değerini 13.00 ± 0.00 mg/mL olarak tespit etmiştir. Luo vd (2009), *Phyllanthus emblica* L. meyvesinin etil asetat fraksiyonundan izole edilen β -daukosterolün serbest radikal giderme aktivitesinin IC_{50} değerini 38.86 $\mu\text{g/mL}$ olarak hesaplamıştır. Delnavazi vd (2015), *Dorema glabrum* toprak üstü kısmının metanol ekstraktının etil asetat fraksiyonundan izole edilen daukosterolün serbest radikal giderme aktivitesinin IC_{50} değerini 224.10 ± 8.20 $\mu\text{g/mL}$ olarak belirlemiştir. Gül (2020), *Kickxia lanigera* kloroform ekstraktından izole edilen daukosterolün serbest radikal giderme aktivitesinin IC_{50} değerini 106.72 ± 4.43 $\mu\text{g/mL}$ olarak belirlemiştir. Tablo 4.11’de görüldüğü üzere, daukosterolün serbest radikal giderme aktivitesi literatürdeki değerlerden daha yüksek olarak gözlenmiştir. Bunun sebebi de molekülün içerisinde azda olsa yapısının çok benzer olduğu ikinci bir molekülün bulunmasından kaynaklanmaktadır.

Somantri vd (2021), ursolik asidin serbest radikal giderme aktivitesinin IC_{50} değerini 1721 $\mu\text{g/mL}$ olarak bulunmuştur. Yılmaz vd (2012), *N. obtusicrena* toprak üstü kısmının diklorometan ekstraktından izole edilen ursolik asidin serbest radikal giderme aktivitesini belirleyememiştir. Yılmaz vd (2016) yaptıkları çalışmada, *N. sorgerae* toprak üstü kısmının metanol ekstraktının serbest radikal giderme aktivitesinin IC_{50} değerini 162.21 $\mu\text{g/mL}$ olarak belirlemiş ve diklorometan ekstraktının ve diklorometan ekstraktından izole edilen ursolik asidin ise aktivitesini belirleyememiştir. Bisht vd (2010), *N. clarkei* Hook.f. kök kısmının kloroform ekstraktından izole edilen ursolik asidin serbest radikal giderme aktivitesinin IC_{50} değerini 0.305 mg/mL olarak belirlemiştir. Do Nascimento vd (2014), ursolik asidin serbest radikal giderme aktivitesinin IC_{50} değerini 59.70 ± 1.00 $\mu\text{g/mL}$ olarak gözlemlemiştir. Tablo 4.11’de görüldüğü üzere, ursolik asidin serbest radikal giderme aktivitesinin literatürdeki değerlerden daha yüksek olduğu bulundu. Daha yüksek olmasının sebebi, içerisinde az miktarda da olsa yapısının çok benzer olduğu ikinci bir molekülün bulunmasından kaynaklanmaktadır.

4.2.1.5. ABTS^{•+} Giderme Aktiviteleri

ABTS^{•+} giderme aktivitesi, antioksidan yöntemlerde yaygın olarak kullanılan kararlı yapılarıdır. Bu yöntemin temeli 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat) (ABTS^{•+}) radikal katyonunun antioksidanlar tarafından giderilmesine dayanmaktadır (Re vd, 1999).

N. baytopii ham ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların ABTS^{•+} giderme aktiviteleri Tablo 4.12'de gösterildi. Ham ekstrakt ve birinci fraksiyonlarının ABTS^{•+} giderme aktiviteleri standartlarla karşılaştırıldığında düşük aktiviteye sahiptir. İkinci fraksiyonların aktiviteleri ise daha düşüktür ve bu fraksiyonlar arasından en yüksek aktivite NBHFr2 (3.97±0.42 µg/mL) fraksiyonunda belirlendi. Saflaştırılan apigenin, daukosterol ve iksorozitin aktiviteleri elde edildiği fraksiyonlardan daha düşük aktivite gösterdi. Buna rağmen, Molekül L, β -sitosterol ve ursolik asit moleküllerinin aktivitesi yüksektir.

Zengin vd (2021), *N. baytopii* n-hekzan, etil asetat, metanol, su/metanol ve su ekstraktlarının ABTS^{•+} giderme aktivitelerini 12.04±0.84, 13.33±0.58, 92.43±1.30, 129.22±0.78 ve 86.56±2.54 mg TE/g olarak belirlemiştir.

Mustafa vd (2023) yaptıkları araştırmada, *N. leucolaena* çiçek kısmının etanol, etil asetat, kloroform ve n-hekzan ekstraktlarının ABTS^{•+} giderme aktivitelerini sırasıyla 113.37±0.07, 19.33±0.95, 12.25±0.80, 5.38±0.17 mg TE/g ekstrakt ve yaprak kısmının ise 98.95±0.57, 21.01±0.41, 16.32±2.75, 8.09±0.47 mg TE/g ekstrakt olarak hesaplamışlardır.

Sánchez-Marzo vd (2019), apigeninin ABTS^{•+} giderme aktivitesini 2022.20±154.80 µmol TE/mmol olarak bildirmiştir. Tian vd (2021) yaptıkları çalışmada, apigeninin ABTS^{•+} giderme aktivitesinin IC₅₀ değerini 0.824±0.004 µg/mL olarak gözlemlemiştir. Tablo 4.12'de görüldüğü üzere, *Nepeta* türlerinden izole edilen apigeninin aktivite çalışmaları mevcut olmadığından farklı bitkilerden izole edilen molekülle karşılaştırıldı ve aktivitesinin literatürdeki değerden daha düşük olduğu gözlemlendi. Bunun sebebi de molekülün içerisinde azda olsa yapısının benzer olduğu ikinci bir molekülün bulunmasından kaynaklanmaktadır.

Tablo 4.12. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların ABTS^{•+} giderme aktiviteleri

Örnek ve Standart	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)
Ham Ekstrakt	NBMK	76.90±0.60 ^j	NBMK	76.90±0.60 ^h	NBMK	76.90±0.60 ^f	NBMK	76.90±0.60 ^h
Birinci fraksiyonlar	NBH	62.13±0.37 ⁱ	NBK	39.28±0.23 ^g	NBE	138.06±0.52 ^h	NBM	266.75±0.73 ⁿ
İkinci fraksiyonlar	NBHFr1	29.64±1.89 ^f	NBKFr1	210.57±0.74 ^m	NBEFr1;2	208.72±1.02 ^j	NBMFr1	224.07±5.12 ^m
	NBHFr2	3.97±0.42 ^a	NBKFr2	265.65±3.03 ^o	NBEFr3	252.92±1.71 ⁿ	NBMFr2	202.36±2.86 ^{kl}
	NBHFr3	33.12±0.67 ^g	NBKFr3	137.95±2.70 ⁱ	NBEFr4	178.11±1.22 ⁱ	NBMFr3	593.05±8.58 ^r
	NBHFr4	35.80±3.79 ^{gh}	NBKFr4	164.05±4.30 ^l	NBEFr5	430.01±3.59 ⁱ	NBMFr4	321.64±1.75 ^o
	NBHFr5	216.07±1.03 ^m	NBKFr5	222.26±1.21 ⁿ	NBEFr6	324.60±0.93 ^p	NBMFr5	188.48±2.05 ^k
	NBHFr6	107.27±3.79 ^k	NBKFr6	159.97±4.19 ^k	NBEFr7	243.03±3.74 ^l	NBMFr6	150.63±3.13 ⁱ
	NBHFr7	252.97±0.36 ⁿ	NBKFr7	145.31±0.23 ^{ij}	NBEFr8	225.67±6.03 ^k	NBMFr7	171.57±1.21 ^j
	NBHFr8	258.74±5.75 ^{no}			NBEFr9	301.81±4.16 ^o	NBMFr8	366.07±6.35 ^p
	NBHFr9	117.05±2.07 ^l			NBEFr10	246.25±0.04 ^{lm}		
İzolatlar			β-sitosterol	2.21±0.16 ^a	Ursolik asit	107.29±2.34 ^g	Daukosterol	2.95±0.00 ^a
					Apigenin	138.75±0.13	İksorozit	38.12±2.16 ^g
					Molekül L	18.51±0.00		
Standart Maddeler	BHA	5.50±0.08 ^b		5.50±0.08 ^c		5.50±0.08 ^b		5.50±0.08 ^c
	BHT	9.46±0.07 ^{cd}		9.46±0.07 ^{de}		9.46±0.07 ^{cd}		9.46±0.07 ^{de}
	Troloks	8.63±0.05 ^c		8.63±0.05 ^d		8.63±0.05 ^c		8.63±0.05 ^d
	TBHQ	3.74±0.01 ^a		3.74±0.01 ^b		3.74±0.01 ^a		3.74±0.01 ^b
	α-tokoferol	11.16±0.09 ^e		11.16±0.09 ^f		11.16±0.09 ^e		11.16±0.09 ^f
	Askorbik asit	11.70±0.01 ^e		11.70±0.01 ^f		11.70±0.01 ^e		11.70±0.01 ^f

NBMK: *N. baytopii* metanol-kloroform ekstraktı, NBH: *N. baytopii* *n*-hekzan fraksiyonu, NBK: *N. baytopii* kloroform fraksiyonu, NBE: *N. baytopii* etil asetat fraksiyonu, NBM: *N. baytopii* metanol fraksiyonu, Fr: Fraksiyon, n:3

Farklı harfli ortalamalar (a,b,c, vs.) istatistiksel olarak anlamlı bir farkı göstermektedir ($p<0.05$)

Adsiz (2018), *S. cerino-pruinosa* var. *elazigensis* etanol ekstraktından izole edilen apigenin, β -sitosterol ve ursolik asidin ABTS^{•+} giderme aktivitelerini yüzde olarak hesapladıktan sonra IC₅₀ değerlerini sırasıyla 2.57±0.05, 154.34±2.12 ve 104.44±8.06 olarak gözlemlemiştir. Kolak vd (2009) yaptıkları araştırmada, *S. poculata* toprak üstü kısmının metanol ekstraktından izole edilen β -sitosterol ve ursolik asidin ABTS^{•+} giderme aktivitelerinin IC₅₀ değerlerini her ikisi için de >100 µg/mL olarak belirlemiştir. Tablo 4.12’de görüldüğü üzere, β -sitosterolün ABTS^{•+} giderme aktivitesinin literatürdeki değerden daha yüksek olduğu tespit edilirken ursolik asidin daha düşük olduğu tespit edildi. Bunun sebebi de molekülün içerisinde azda olsa yapısının benzer olduğu ikinci bir molekülün bulunmasından kaynaklanmaktadır.

Ayaz vd (2017) yaptıkları araştırmada, *Polygonum hydropiper* L.’dan izole edilen β -sitosterolün ABTS^{•+} giderme aktivitesinin IC₅₀ değerini 120.00 µg/mL olarak bulmuştur. Tablo 4.12’de görüldüğü üzere, β -sitosterolün literatürdeki değerden daha yüksek ABTS^{•+} giderme aktivitesine sahip olduğu bulundu. Bunun sebebi de molekülün içerisinde azda olsa yapısının benzer olduğu ikinci bir molekülün bulunmasından kaynaklanmaktadır.

Yılmaz vd (2016), *N. obtusicrena* toprak üstü kısmının metanol ekstraktının ABTS^{•+} giderme aktivitesinin IC₅₀ değerini 69.16 µg/mL olarak belirlemiş ve diklorometan ekstraktının ve diklorometan ekstraktından izole edilen ursolik asidin ise aktivitesini belirleyememiştir. Gökbulut ve Yılmaz (2020), *N. humilis* çiçek, yaprak ve kök kısımlarının metanol ekstraktlarının ABTS^{•+} giderme aktivitelerinin IC₅₀ değerlerini sırasıyla 0.35±0.01 mg/mL, 0.93±0.01 mg/mL ve 1.73±0.01 mg/mL olarak tahmin edilmiştir. Tablo 4.12’de görüldüğü üzere, *N. baytopii* metanol fraksiyonunun ABTS^{•+} giderme aktivitesinin literatürdeki değerden daha düşük olduğu tespit edildi. Bunun sebebi de molekülün içerisinde azda olsa yapısının benzer olduğu ikinci bir molekülün bulunmasından kaynaklanmaktadır.

Kaska vd (2018) araştırmalarında, *N. cadmea*’nın etanol, metanol, aseton ve su ekstraktlarının ABTS^{•+} giderme aktivitelerinin IC₅₀ değerlerini sırasıyla 456.64±9.11 µg/mL, 125.19±20.19 µg/mL, 111.02±10.07 µg/mL ve 14.51±2.36 µg/mL olarak gözlemlemiştir. Tundis vd (2013) yaptıkları çalışmada, *N. crassifolia* Boiss & Buhse ve *N. binaludensis* Jamzad’ ın metanol ekstraktlarının ABTS^{•+} giderme aktivitelerinin IC₅₀ değerlerini 13.4±0.5 µg/mL ve 58.1±0.9 µg/mL olarak gözlemlemiştir. Tablo

4.12’de görüldüğü üzere, *N. baytopii* ham ekstraktının ve metanol fraksiyonunun ABTS^{•+} giderme aktivitesinin literatürdeki değerlerden daha düşük olduğu gözlemlendi. Bunun sebebi de molekülün içerisinde azda olsa yapısının benzer olduğu ikinci bir molekülün bulunmasından kaynaklanmaktadır.

4.2.1.6. Süperoksit Anyonu Giderme Aktivitesi

Süperoksit anyonu giderme aktivitesi NBT-PMS-NADH sistemindeki renk değişiminin spektrofotometrik olarak 560 nm’de ölçümüne dayanmaktadır (Nishikimi vd, 1972; Yang vd, 2008). Süperoksit radikali NBT’nin indirgenmesi ve NADH’nin oksidasyonu ile PMS-NADH sistemi ile üretilmektedir.

N. baytopii ham ekstraktın, birinci fraksiyonların, ikinci fraksiyonların ve izolatların süperoksit anyonu giderme aktiviteleri Tablo 4.13’de gösterildi. Ham ekstraktın, *n*-hekzan, kloroform, etil asetat ve metanol fraksiyonlarının süperoksit anyonu giderme aktiviteleri standartlarla karşılaştırıldığında yüksek aktivite gösterdi. İkinci fraksiyonlardan kloroform, etil asetat ve metanol fraksiyonlarının aktiviteleri düşük olarak belirlenirken *n*-hekzan fraksiyonunun aktivitesi ise yüksek olarak belirlendi. En yüksek aktivite NBHFr4 ($1.00 \pm 0.28 \mu\text{g/mL}$), NBKFr5 ($1.54 \pm 0.50 \mu\text{g/mL}$), NBEFr8 ($5.02 \pm 0.93 \mu\text{g/mL}$) ve NBMFr1 ($11.69 \pm 0.19 \mu\text{g/mL}$) fraksiyonlarında belirlendi. Bu fraksiyonların dışında, NBHFr5, NBHFr9, NBHFr1, NBKFr3, NBKFr1, NBEFr10, NBEFr3 ve NBMFr4 fraksiyonlarının da aktiviteleri yüksek olarak kaydedildi. Saflaştırılan apigenin ve Molekül L aktiviteleri elde edildiği fraksiyonlardan daha düşük aktivite gösterdi. Buna rağmen, β -sitosterol, daukosterol, iksorozit ve ursolik asit moleküllerinin aktiviteleri yüksektir.

Kolak vd (2009) yaptıkları araştırmada, *S. poculata* toprak üstü kısmının metanol ekstraktından izole edilen β -sitosterol ve ursolik asidin süperoksit anyon giderme aktivitelerinin IC₅₀ değerlerini $>100 \mu\text{g/mL}$ ve $94.43 \pm 0.13 \mu\text{g/mL}$ olarak belirlemiştir. Tablo 4.13’de görüldüğü üzere, β -sitosterol ve ursolik asidin süperoksit anyon giderme aktivitesinin literatürdeki değerlerden daha yüksek olduğu tespit edildi. Bunun sebebi de molekülün içerisinde azda olsa yapısının benzer olduğu ikinci bir molekülün bulunmasından kaynaklanmış olabilir.

Tablo 4.13. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların süperoksit anyon giderme aktiviteleri

Örnek ve Standart	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)
Ham Ekstrakt	NBMK	26.22±0.69 ^h	NBMK	26.22±0.69 ^g	NBMK	26.22±0.69 ^g	NBMK	26.22±0.69 ^f
Birinci fraksiyonlar	NBH	16.65±0.04 ^f	NBK	4.96±0.47 ^c	NBE	7.26±0.07 ^c	NBM	10.06±0.33 ^b
İkinci fraksiyonlar	NBHF _{r1}	6.42±0.06 ^d	NBKFr ₁	4.12±0.31 ^{bc}	NBEFr _{1;2}	-	NBMFr ₁	11.69±0.19 ^c
	NBHF _{r2}	9.14±1.18 ^e	NBKFr ₂	18.02±0.21 ^e	NBEFr ₃	9.27±0.07 ^d	NBMFr ₂	21.97±0.54 ^e
	NBHF _{r3}	37.85±2.96 ^{kl}	NBKFr ₃	3.43±0.55 ^b	NBEFr ₄	42.30±1.73 ^j	NBMFr ₃	33.42±1.16 ^{gh}
	NBHF _{r4}	1.00±0.28 ^a	NBKFr ₄	9.12±0.03 ^e	NBEFr ₅	33.79±1.18 ^h	NBMFr ₄	15.22±0.48 ^d
	NBHF _{r5}	1.75±0.06 ^b	NBKFr ₅	1.54±0.50 ^a	NBEFr ₆	-	NBMFr ₅	32.09±1.44 ^g
	NBHF _{r6}	29.86±0.69 ⁱ	NBKFr ₆	6.32±0.21 ^d	NBEFr ₇	23.48±0.43 ^f	NBMFr ₆	46.90±0.97 ⁱ
	NBHF _{r7}	-	NBKFr ₇	-	NBEFr ₈	5.02±0.93 ^b	NBMFr ₇	90.14±1.17 ^m
	NBHF _{r8}	30.27±2.49 ^{ij}			NBEFr ₉	60.84±1.82 ^k	NBMFr ₈	66.22±1.85 ^j
	NBHF _{r9}	5.67±0.20 ^c			NBEFr ₁₀	6.24±0.28 ^{bc}		
İzolatlar			β-sitosterol	1.17±0.01 ^a	Ursolik asit	3.99±0.70 ^a	Daukosterol	8.69±0.15 ^a
					Apigenin	-	İksorozit	11.31±0.19 ^c
					Molekül L	-		
Standart Maddeler	BHA	21.04±0.87 ^g		21.04±0.87 ^{ef}		21.04±0.87 ^e		21.04±0.87 ^e
	BHT	-		-		-		-
	Troloks	35.76±0.84 ^k		35.76±0.84 ^h		35.76±0.84 ^{hi}		35.76±0.84 ^h
	TBHQ	82.83±1.95 ⁿ		82.83±1.95 ^k		82.83±1.95 ^m		82.83±1.95 ^l
	α-tokoferol	-		-		-		-
	Askorbik asit	78.33±0.49 ^m		78.33±0.49 ^j		78.33±0.49 ^l		78.33±0.49 ^k

NBMK: *N. baytopii* metanol-kloroform ekstraktı, NBH: *N. baytopii* n-hekzan fraksiyonu, NBK: *N. baytopii* kloroform fraksiyonu, NBE: *N. baytopii* etil asetat fraksiyonu, NBM: *N. baytopii* metanol fraksiyonu, Fr: Fraksiyon, n:3

Farklı harfli ortalamalar (a,b,c, vs.) istatistiksel olarak anlamlı bir farkı göstermektedir ($p<0.05$)

4.2.1.7. Metal Şelat Aktiviteleri

Demir oksijen taşımada, solunumda ve birçok enzimin aktivitesinde olmak üzere vücutta hayati öneme sahip bir metaldir. Fakat aynı zamanda aşırı derecede reaktif bir metal olup Fenton tipi reaksiyonlar yoluyla hidroksil radikallerinin oluşumunda rol oynar. Mitokondri ya da çekirdeğe yakın oluşturulduğunda ise hidroksil radikalleri gen mutasyonlarına yol açan DNA oksidasyonuna neden olur (Klaunig vd, 2011). Bu yüzden demir iyonlarının şelatlaşması oksidatif stresi azaltma açısından oldukça önemli bir parametredir (Aprotosoie vd, 2017; Flora, 2009). Metal şelat yöntemin temelini Fe (II) iyonlarının ferrozin molekülüyle kompleks oluşum tepkimesini antioksidan madde içerisindeki ilgili şelatlayıcıların ne derece inhibe ettiği oluşturmaktadır (Dinis vd, 1994).

N. baytopii ham ekstraktı, birinci fraksiyonları, ikinci fraksiyonları ve izolatların metal şelat aktiviteleri Tablo 4.14’de gösterildi. Ham ekstraktın metal şelat aktiviteleri standartlarla karşılaştırıldığında yüksek aktiviteye sahip iken *n*-hekzan, kloroform, etil asetat ve metanol fraksiyonlarının ise düşük aktiviteye sahiptir. İkinci fraksiyonlardan *n*-hekzan, kloroform ve etil asetat fraksiyonların aktiviteleri düşük olarak belirlenirken metanol fraksiyonun aktivitesi ise yüksek olarak belirlendi. En yüksek aktivite NBHFr3 (0.82 ± 0.18 µg/mL), NBKFr1 (20.24 ± 1.27 µg/mL), NBEFr10 (9.46 ± 0.54 µg/mL) ve NBMFr2 (3.28 ± 0.00 µg/mL) fraksiyonlarında gözlemlendi. Bu fraksiyonların dışında, NBHFr4, NBHFr2, NBHFr1, NBKFr5, NBKFr4, NBEFr4, NBEFr6, NBMFr4 ve NBMFr7 fraksiyonlarının da aktiviteleri yüksek olarak kaydedildi. Saflaştırılan iksorozitin aktivitesi elde edildiği fraksiyondan daha düşük aktivite gösterdi, fakat apigenin, molekül L, β -sitosterol, daukosterol ve ursolik asit molekülleri yüksek aktivite gösterdi.

Zengin vd (2021), *N. baytopii* *n*-hekzan, etil asetat, metanol, su/metanol ve su ekstraktlarının metal şelat aktivitelerini 0.34 ± 0.02 , 22.15 ± 2.16 , 15.61 ± 0.54 , 26.88 ± 2.10 ve 27.14 ± 0.58 mg EDTA eşdeğeri (EDTAE)/g olarak belirlemiştir.

Tablo 4.14. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların metal şelat aktiviteleri

Örnek ve Standart	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)
Ham Ekstrakt	NBMK	8.69±0.15 ^c	NBMK	8.69±0.15 ^b	NBMK	8.69±0.15 ^b	NBMK	8.69±0.15 ^d
Birinci fraksiyonlar	NBH	36.04±0.39 ^g	NBK	57.11±0.40 ^f	NBE	64.98±0.86 ⁱ	NBM	83.86±0.49 ^g
İkinci fraksiyonlar	NBHFr1	15.94±0.88 ^e	NBKFr1	20.24±1.27 ^c	NBEFr1;2	68.00±4.06 ^{ij}	NBMFr1	5.60±0.36 ^c
	NBHFr2	11.34±1.45 ^d	NBKFr2	80.74±1.00 ^h	NBEFr3	35.27±3.04 ^g	NBMFr2	3.28±0.00 ^a
	NBHFr3	0.82±0.18 ^a	NBKFr3	54.51±1.23 ^e	NBEFr4	17.65±1.70 ^d	NBMFr3	4.43±0.61 ^b
	NBHFr4	5.12±0.24 ^b	NBKFr4	28.97±1.89 ^d	NBEFr5	-	NBMFr4	3.38±0.32 ^a
	NBHFr5	279.99±3.85 ^l	NBKFr5	28.08±0.43 ^d	NBEFr6	21.31±0.48 ^e	NBMFr5	5.63±0.60 ^c
	NBHFr6	216.48±0.77 ^k	NBKFr6	62.38±1.66 ^g	NBEFr7	64.35±1.30 ⁱ	NBMFr6	4.51±0.37 ^b
	NBHFr7	44.81±6.49 ^h	NBKFr7	85.37±2.03 ⁱ	NBEFr8	135.50±6.04 ^l	NBMFr7	3.78±0.24 ^a
	NBHFr8	148.99±0.81 ^j			NBEFr9	82.59±2.96 ^k	NBMFr8	381.37±3.37 ^h
	NBHFr9	140.41±1.75 ⁱ			NBEFr10	9.46±0.54 ^c		
İzolatlar			β-sitosterol	1.47±0.18 ^a	Ursolik asit	2.88±0.44 ^a	Daukosterol	5.82±0.09 ^c
					Apigenin	43.34±0.62 ^h	İksorozit	37.67±3.42 ^f
					Molekül L	42.54±1.80 ^h		
Standart Madde	EDTA	30.01±0.38 ^f		30.01±0.38 ^d		30.01±0.38 ^f		30.01±0.38 ^e

NBMK: *N. baytopii* metanol-kloroform ekstraktı, NBH: *N. baytopii* n-hekzan fraksiyonu, NBK: *N. baytopii* kloroform fraksiyonu, NBE: *N. baytopii* etil asetat fraksiyonu, NBM: *N. baytopii* metanol fraksiyonu, Fr: Fraksiyon, n:3

Farklı harfli ortalamalar (a,b,c, vs.) istatistiksel olarak anlamlı bir farkı göstermektedir ($p<0.05$)

Ranjbaran ve Moradkhani (2022) yaptıkları çalışmada, *N. crisper* metanol ekstraktı, *n*-hekzan, etil asetat, kloroform ve su fraksiyonların metal şelat aktivitelerini IC₅₀ değerlerini sırasıyla 3.05±0.17 mg/mL, 0.43±0.03 mg/mL, 2.16±0.07 mg/mL, 3.62±0.11 mg/mL ve 1.43±0.10 mg/mL olarak belirlemiştir. Tablo 4.14’de görüldüğü üzere, *N. baytopii* ham ekstraktı, *n*-hekzan, etil asetat ve kloroform fraksiyonların literatürdeki değerlerden daha yüksek metal şelat aktivitesine sahip olduğu belirlendi. Bunun nedeni, farklı ekstraksiyon yöntemi kullanıldığından kaynaklanmaktadır.

Mustafa vd (2023) yaptıkları araştırmada, *N. leucolaena* çiçek kısmının etanol, etil asetat, kloroform ve *n*-hekzan ekstraktlarının metal şelat aktivitelerini sırasıyla 15.94±0.37, 16.30±0.19, 19.00±0.80, 25.99±0.10 mg EDTAE/g ve yaprak kısmının ise 15.74±0.31, 22.90±1.12, 19.31±0.50, 25.93±0.79 mg EDTAE/g olarak hesaplamışlardır.

Malik vd (2018) yaptıkları çalışmada, *N. cateria*’nın etanol, metanol ve su ekstraktlarının metal şelat aktivitelerinin IC₅₀ değerlerini sırasıyla 25.15±1.02, 26.09±0.71 ve 16.20±0.71 µg/mL olarak gözlemlemiştir. Tablo 4.14’de görüldüğü üzere, *N. baytopii* ham ekstraktının ve metanol fraksiyonunun metal şelat aktiviteleri literatürdeki değerlerden daha düşük olduğu belirlendi. Bunun nedeni, farklı ekstraksiyon yöntemi kullanıldığından kaynaklanmaktadır.

Kaska vd (2018) yaptıkları çalışmada, *N. cadmea*’nın etanol, metanol, aseton ve su ekstraktlarının metal şelat aktivitelerini sırasıyla %22.77±1.97, %25.77±2.14, %36.86±2.96 ve %29.41±1.07 olarak bulmuştur. Kaska vd (2019)’nın *N. italica* subsp. *cadmea*’nın toprak üstü kısmının etanol:su (70:30; w/w) ve metanol:su (70:30; w:w) ekstraktlarının metal-şelat aktivitelerini %40.94±0.98 ve %45.36±0.83 olarak belirlemiştir. Sarikurkcu vd (2019) araştırmalarında, *N. cadmea* ve *N. nuda* subsp. *glandulifera*’nın toprak üstü kısmının metanol ekstraktlarının metal-şelat aktivitelerini 2.52±0.12 ve 1.41±0.58 mg EDTAE/g ekstrakt olarak gözlemlemiştir. Tekin (2018) yaptığı çalışmada, *N. congesta* var. *congesta*’nın metanol ekstraktının metal şelat aktivitesini 49.34±0.41 mg EDTAE/g ekstrakt olarak belirlemiştir.

4.2.2. Enzim İnhibisyonlarının Sonuçları

Enzim inhibisyonu, biyolojik sistemlerde kontrol mekanizması oluşturduğundan önemlidir. İnhibitörler hem metabolik yolların hem de enzim etki mekanizmalarının aydınlatılmasında önemli bir role sahiptir. Modern ilaç tedavisinde iki ana sınıf

biyolojik makromolekölün (G-proteinine bağı reseptörler ve enzimler) tanımlanmasını hedeflemektedir (Birari ve Bhutani, 2007; Copeland vd, 2007; Feldhammer vd, 2013). Enzim inhibitörleri, enzimlerin inhibisyonunu gerçekleştiren moleküllerdir ve ilaçların yarısını oluşturmaktadır (Hopkins ve Groom, 2002). Bu inhibitörler etki mekanizmalarına göre yarışmalı, yarı yarışmalı ve yarışmasız olarak sınıflandırılmaktadır (Smith ve Simons, 2004). Enzim inhibitörleri doğa da bulunur ve metabolizmanın düzenlenmesinde görev alır (Aksu, 2018). Enzim inhibitörleri metabolik, bulaşıcı, kardiyovasküler, kanser ve nörolojik hastalıklar gibi pek çok hastalığın tedavisinde kullanılan çeşitli ilaçlar sınıfına dahil edilmiştir (Copeland vd, 2007).

4.2.2.1. Üreaz İnhibisyonları

Üreaz inhibisyonu indofenol yöntemi kullanılarak spektrofotometrik olarak 630 nm'de ölçümüne dayanmaktadır (Zhang vd, 2006). Bu yöntemde en etkili üreaz inhibitörü olan tiyoüre standart olarak kullanıldı ve sonuç bu standartla karşılaştırılarak verildi.

N. baytopii ham ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların üreaz inhibisyonları Tablo 4.15'de gösterildi. Ham ekstraktın üreaz inhibisyonları standartlarla karşılaştırıldığında yüksek aktiviteye sahip iken *n*-hekzan, kloroform, etil asetat ve metanol fraksiyonlarının ise düşük aktiviteye sahiptir. İkinci fraksiyonlardan *n*-hekzan, kloroform, etil asetat ve metanol fraksiyonlarının aktiviteleri düşük olarak belirlendi. En yüksek aktivite NBKFr4 (6.08 ± 0.86 µg/mL) fraksiyonunda gözlemlendi. Bu fraksiyonların dışında, NBKFr6 fraksiyonunun da aktiviteleri yüksek olarak kaydedildi. Saflaştırılan iksorozit, apigenin, Molekül L, β -sitosterol, daukosterol ve ursolik asit molekülleri yüksek aktivite gösterdi.

Tablo 4.15. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların üreaz inhibisyonları

Örnek ve Standart	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)
Ham Ekstrakt	NBMK	4.95±0.00 ^a	NBMK	4.95±0.00 ^a	NBMK	4.95±0.00 ^b	NBMK	4.95±0.00 ^a
Birinci fraksiyonlar	NBH	-	NBK	12.05±1.46 ^e	NBE	32.31±1.14 ^h	NBM	-
İkinci fraksiyonlar	NBHFr1	219.30±17.21 ^c	NBKFr1	-	NBEFr1;2	-	NBMFr1	-
	NBHFr2	-	NBKFr2	22.01±2.72 ^c	NBEFr3	-	NBMFr2	190.57±0.00 ^f
	NBHFr3	-	NBKFr3	-	NBEFr4	90.02±0.00 ⁱ	NBMFr3	-
	NBHFr4	-	NBKFr4	6.08±0.86 ^b	NBEFr5	26.73±0.00 ^g	NBMFr4	-
	NBHFr5	-	NBKFr5	24.06±5.62 ^f	NBEFr6	85.63±0.00 ⁱ	NBMFr5	-
	NBHFr6	-	NBKFr6	7.78±0.55 ^c	NBEFr7	33.12±0.00 ^h	NBMFr6	-
	NBHFr7	-	NBKFr7	-	NBEFr8	33.96±1.20 ^h	NBMFr7	57.47±4.06 ^e
	NBHFr8	-			NBEFr9	15.63±3.60 ^f	NBMFr8	185.92±6.57 ^f
	NBHFr9	-			NBEFr10	123.05±2.18 ^k		
İzolatlar			β-sitosterol	7.89±0.02 ^c	Ursolik asit	6.30±0.00 ^c	Daukosterol	6.85±0.05 ^b
					Apigenin	1.35±0.01 ^a	İksorozit	7.01±0.00 ^c
					Molekül L	8.04±0.02 ^d		
Standart Madde	Tiyoüre	9.97±0.00 ^b		9.97±0.00 ^d		9.97±0.00 ^e		9.97±0.00 ^d

NBMK: *N. baytopii* metanol-kloroform ekstraktı, NBH: *N. baytopii* n-hekzan fraksiyonu, NBK: *N. baytopii* kloroform fraksiyonu, NBE: *N. baytopii* etil asetat fraksiyonu, NBM: *N. baytopii* metanol fraksiyonu, Fr: Fraksiyon, n:3

Farklı harfli ortalamalar (a,b,c, vs.) istatistiksel olarak anlamlı bir farkı göstermektedir ($p<0.05$)

Akdeniz vd (2020) yaptıkları çalışmada *N. heliotropifolia* ve *N. congesta* subsp. *cryptantha*'nın kök, sap, yaprak, çiçek ve karışık kısmının etanol ekstraktlarının üreaz inhibisyonlarını bulamamıştır. Fareed vd (2013) yaptıkları çalışmada *N. praetervisa*'nın toprak üstü kısmının kloroform, etil asetat, metanol, su ve *n*-hekzan ekstraktlarının üreaz inhibisyon aktiviteleri sırasıyla %45.00, %68.00, %10.00, %25.00 ve %30.00 olarak bulmuştur. Tablo 4.15'de görüldüğü üzere, *N. baytopii* bitkisinin kloroform fraksiyonunun inhibisyonu literatürdeki aksine daha yüksek bulundu. Bunun sebebi, ekstraksiyon yönteminin farklılığındandır. Adsız (2018), *Salvia cerino-pruinosa* var. *elazigensis* etanol ekstraktından izole edilen apigenin ve β -sitosterolün üreaz inhibisyonlarını belirleyememişken ursolik asidin 125.68 μ g tiyoüre eşdeğeri/mg ekstrakt olarak belirlemiştir.

4.2.2.2. Asetilkolinesteraz İnhibisyonları

Asetilkolinesteraz (AChE) Ellman metodu kullanılarak sarı renkli 5-tiyo-2-nitro benzoat anyonunun spektrofotometrik olarak 412 nm'de ölçümüne dayanmaktadır (Ellman vd, 1961; Özçelik vd, 2010). AChE inhibitörü olan galantamin kullanıldı ve sonuçlarla karşılaştırılarak verildi.

N. baytopii ham ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların AChE inhibisyonları Tablo 4.16'de gösterildi. Ham ekstraktın, *n*-hekzan, kloroform ve etil asetat fraksiyonlarının AChE inhibisyonları standartla karşılaştırıldığında düşük aktiviteye sahip olduğu belirlenirken metanol fraksiyonun ise yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlendi. İkinci fraksiyonlardan *n*-hekzan, kloroform, etil asetat ve metanol fraksiyonlarının aktiviteleri düşük olarak belirlendi. En yüksek aktivite ise NBMFr6 (6.18 ± 1.37 μ g/mL) fraksiyonunda belirlendi. Bu fraksiyon dışında NBMFr3 ve NBMFr5 fraksiyonlarının standartlardan ve ikinci fraksiyonlardan yüksek aktiviteye sahip olduğu gözlemlendi. Saflaştırılan daukosterol ve iksorozitin aktiviteleri elde edildiği fraksiyonlardan daha düşüktür. Buna rağmen, β -sitosterol ve ursolik asit moleküllerinin aktivitesi yüksektir. Apigenin ve Molekül L'nin aktivitesi belirlenememiştir.

Zengin vd (2021), *N. baytopii* *n*-hekzan, etil asetat, metanol ve su/metanol ekstraktlarının AChE inhibisyonlarını 3.97 ± 0.32 , 4.57 ± 0.06 , 3.65 ± 0.11 ve 2.68 ± 0.07 mg galantamin eşdeğeri (GALAE)/g olarak belirlemiştir. Tablo 4.16'da görüldüğü üzere, *N. baytopii* bitkisinin metanol fraksiyonunun inhibisyonu literatürdeki aksine daha yüksektir. Bunun sebebi, ekstraksiyon yönteminin farklılığındandır.

Tablo 4.16. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların AChE inhibisyonları

Örnek ve Standart	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)
Ham Ekstrakt	NBMK	-	NBMK	-	NBMK	-	NBMK	-
Birinci fraksiyonlar	NBH	-	NBK	-	NBE	-	NBM	18.50±1.31 ^e
İkinci fraksiyonlar	NBHFr1	-	NBKFr1	-	NBEFr1;2	-	NBMFr1	-
	NBHFr2	-	NBKFr2	-	NBEFr3	-	NBMFr2	26.65±4.69 ^f
	NBHFr3	39.46±1.39 ^{de}	NBKFr3	-	NBEFr4	-	NBMFr3	7.48±0.13 ^b
	NBHFr4	-	NBKFr4	-	NBEFr5	-	NBMFr4	60.90±3.59 ^h
	NBHFr5	3.48±0.67 ^{bc}	NBKFr5	-	NBEFr6	-	NBMFr5	15.23±2.50 ^d
	NBHFr6	-	NBKFr6	-	NBEFr7	-	NBMFr6	6.18±1.37 ^a
	NBHFr7	2.93±0.30 ^b	NBKFr7	-	NBEFr8	-	NBMFr7	27.56±3.40 ^f
	NBHFr8	3.62±0.43 ^c			NBEFr9	-	NBMFr8	38.32±1.13 ^g
	NBHFr9	1.50±0.27 ^a			NBEFr10	-		
İzolatlar			β-sitosterol	1.18±0.06 ^a	Ursolik asit	2.32±0.03 ^a	Daukosterol	12.02±1.41 ^c
					Apigenin	-	İksorozit	19.06±0.51 ^e
					Molekül L	-		
Standart Madde	Galantamin	38.47±0.00 ^d		38.47±0.00 ^b		38.47±0.00 ^b		38.47±0.00 ^g

NBMK: *N. baytopii* metanol-kloroform ekstraktı, NBH: *N. baytopii* n-hekzan fraksiyonu, NBK: *N. baytopii* kloroform fraksiyonu, NBE: *N. baytopii* etil asetat fraksiyonu, NBM: *N. baytopii* metanol fraksiyonu, Fr: Fraksiyon, n:3

Farklı harfli ortalamalar (a,b,c, vs.) istatistiksel olarak anlamlı bir farkı göstermektedir ($p<0.05$)

Mustafa vd (2023) yaptıkları araştırmada, *N. leucolaena* çiçek kısmının etanol, etil asetat, kloroform ve *n*-hekzan ekstraktlarının AChE inhibisyonlarını sırasıyla 3.49 ± 0.10 , 3.14 ± 0.14 , 3.63 ± 0.07 , 3.22 ± 0.13 mg GALAE/g ekstrakt ve yaprak kısmının ise 4.06 ± 0.18 , 3.42 ± 0.09 , 3.06 ± 0.35 , 4.06 ± 0.13 mg GALAE/g ekstrakt olarak hesaplamışlardır.

Islam vd (2021), *Wedelia chinensis* metanol ekstraktının etil asetat fraksiyonundan izole edilen apigeninin AChE inhibisyonunun IC_{50} değerini 38.47 ± 0.32 μ M olarak bildirmiştir. Adsiz (2018) yaptıkları araştırmada, *Salvia cerinopruinosa* var. *elazigensis* etanol ekstraktından izole edilen apigenin ve β -sitosterolün AChE inhibisyonlarını belirleyememişken ursolik asidin yüzde olarak hesapladıktan sonraki IC_{50} değerini 49.89 olarak belirlemiştir.

Akramov vd (2020), *Lagochilus gypsaceus* toprak üstü kısmının metanol ekstraktından izole edilen β -sitosterolün AChE inhibisyonunu 0.86 ± 0.01 mg GALAE/g olarak bulmuştur. Balaei-Kahnamoei vd (2021), *Lawsonia inermis* L. metanol ekstraktından izole edilen β -sitosterolün AChE inhibisyonunun IC_{50} değerini >100 μ M olarak kaydetmiştir. Ayaz vd (2017) yaptıkları araştırmada, *P. hydropiper* L.'dan izole edilen β -sitosterolün AChE inhibisyonunun IC_{50} değerini 55.00 μ g/mL olarak bulmuştur. Tablo 4.16'da görüldüğü üzere, β -sitosterolün literatürdeki değerden daha yüksek AChE inhibisyonuna sahip olduğu bulundu. Bunun nedeni, içerisinde az miktarda da olsa yapısının benzer olduğu ikinci bir molekülün bulunmasından kaynaklanmaktadır.

Bahadori vd (2016) yaptıkları çalışmada, *Salvia syriaca* L. aseton ekstraktının *n*-hekzan-etil asetat gradiyent sistemine göre elde edilen Fr15'den saflaştırılan daukosterolün, Fr9'dan saflaştırılan β -sitosterolün ve Fr7'den saflaştırılan ursolik asidin AChE inhibisyonlarının IC_{50} değerlerini 34.30 ± 0.30 , 24.10 ± 0.70 ve 46.30 ± 1.20 μ g/mL olarak belirlemiştir. Tablo 4.16'da görüldüğü üzere, daukosterol, β -sitosterol ve ursolik asidin aktiviteleri literatürdeki değerlerden daha yüksek olarak belirlendi. Bunun nedeni, içerisinde az miktarda da olsa safsızlık içermesinden kaynaklanmaktadır.

Mangmool vd (2021) yaptıkları çalışmada, *Syzygium antisepticum* *n*-hekzan, etil asetat ve metanol ekstraktlarının 50 μ g/mL konsantrasyonlarının ve etil asetat ekstraktından elde edilen Fr14'den saflaştırılan daukosterolün ve Fr3'den saflaştırılan ursolik asidin 100 μ g/mL konsantrasyonunun AChE inhibisyonlarını *n*-hekzan için ve

etil asetat için belirleyememiş, metanol için 61.90 ± 0.08 , daukosterol için 5.53 ± 1.47 ve ursolik asit için 73.39 ± 1.32 olarak belirlemiştir.

Kolak vd (2009) yaptıkları araştırmada, *Salvia pocalata* toprak üstü kısmının metanol ekstraktından izole edilen β -sitosterol ve ursolik asidin $200 \mu\text{M}$ derişiminin AChE inhibisyonlarını aktivite belirlenememiş ve 54.26 ± 0.21 olarak belirlemiştir. Yılmaz vd (2012), *N. obtusicrena* toprak üstü kısmının metanol ve diklorometan ekstraktlarının AChE inhibisyonlarını sırasıyla 66.70 ± 0.70 ve 55.90 ± 1.20 ve diklorometan ekstraktından izole edilen ursolik asidin AChE inhibisyonunun IC_{50} değerini $39.19 \mu\text{g/mL}$ olarak belirlemiştir. Yılmaz vd (2016), *N. obtusicrena* toprak üstü kısmının diklorometan ve metanol ekstraktlarının AChE inhibisyonlarını sırasıyla 71.03 ve 73.59 ve diklorometan ekstraktından izole edilen ursolik asidin ise IC_{50} değerini $36.09 \mu\text{g/mL}$ olarak belirlemiştir. Tablo 4.16'da görüldüğü üzere, ursolik asidin AChE inhibisyonu literatürdeki değerden daha yüksek olarak kaydedildi. Bunun nedeni, içerisinde az miktarda da olsa safsızlık içermesinden kaynaklanmaktadır.

Yılmaz (2011)'nin *N. sorgerae* ve *N. obtusicrena* türlerinin diklorometan ve metanol ekstraktlarının AChE inhibisyonlarını sırasıyla 40.43 , 23.14 , 20.10 ve 25.16 olarak belirlemiştir. Sarıkurkcu vd (2019) araştırmalarında, *N. cadmea* ve *N. nuda* subsp. *glandulifera*'nın toprak üstü kısmının metanol ekstraktının AChE inhibisyonları 1.35 ± 0.02 ve 1.26 ± 0.01 mg GALAE/g ekstrakt olarak gözlemlemiştir. Tekin (2018), *N. congesta* var. *congesta*'nın metanol ekstraktının AChE inhibisyonunu 2.69 ± 0.03 mg GALAE/g ekstrakt olarak gözlemlemiştir.

4.2.2.3. Bütirilkoliesteraz İnhibisyonları

Bütirilkolinesteraz (BChE) inhibisyonu Ellman metodu kullanılarak spektrofotometrik olarak 412 nm 'de ölçümüne dayanmaktadır (Ellman vd, 1961; Özçelik vd, 2010). BChE inhibitörü olan galantamin standardı kullanıldı ve sonuç bu standartla karşılaştırılarak verildi.

N. baytopii ham ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların BChE inhibisyonları Tablo 4.17'de gösterildi. Ham ekstraktın ve etil asetat fraksiyonu BChE inhibisyonları standartla karşılaştırıldığında düşük aktivite gösterirken *n*-hekzan, kloroform ve metanol fraksiyonları ise yüksek aktivite gösterdi. İkinci fraksiyonlardan *n*-hekzan, kloroform, etil asetat ve metanol fraksiyonlarının aktiviteleri yüksektir ve en yüksek aktivite ise NBHFr4 ($1.86 \pm 1.22 \mu\text{g/mL}$), NBKFr7 ($2.36 \pm 0.19 \mu\text{g/mL}$),

NBEFr7 ($1.03 \pm 0.03 \mu\text{g/mL}$) ve NBMFr8 ($1.16 \pm 0.00 \mu\text{g/mL}$) fraksiyonlarında belirlendi. Ayrıca, NBHFr8, NBHFr6, NBKFr3, NBKFr1, NBEFr4, NBEFr9, NBMFr7 ve NBMFr3 fraksiyonlarının aktiviteleri standartlardan ve ikinci fraksiyonlardan daha yüksek olarak belirlendi. Saflaştırılan ursolik asit, apigenin, Molekül L ve daukosterolün aktiviteleri elde edildiği fraksiyonlardan daha düşük iken β -sitosterol ve iksorozit moleküllerinin aktivitesi yüksektir.

Zengin vd (2021), *N. baytopii* *n*-hekzan, etil asetat ve metanol ekstraktlarının BChE inhibisyonlarını 6.93 ± 1.14 , 10.85 ± 0.73 ve 2.98 ± 0.46 mg GALAE/g olarak belirlemiştir. Tablo 4.17’de görüldüğü üzere, *N. baytopii* bitkisinin *n*-hekzan fraksiyonunun inhibisyonu literatürdeki aksine daha yüksektir. Bunun sebebi, ekstraksiyon yönteminin farklılığındandır.

Mustafa vd (2023) yaptıkları araştırmada, *N. leucolaena* çiçek kısmının etanol, etil asetat, kloroform ve *n*-hekzan ekstraktlarının BChE inhibisyonlarını sırasıyla 0.77 ± 0.05 , 2.38 ± 0.06 , 1.94 ± 0.08 , 2.44 ± 0.10 mg GALAE/g ekstrakt ve yaprak kısmının ise 2.22 ± 0.25 , 2.63 ± 0.23 , 3.67 ± 0.48 , 3.99 ± 0.20 mg GALAE/g ekstrakt olarak hesaplamışlardır.

Islam vd (2021), *Wedelia chinensis* metanol ekstraktının etil asetat fraksiyonundan izole edilen apigeninin BChE inhibisyonunun IC_{50} değerini $36.33 \pm 0.38 \mu\text{M}$ olarak bildirmiştir.

Adsız (2018), *Salvia cerino-pruinosa* var. *elazigensis* etanol ekstraktından izole edilen β -sitosterolün BChE inhibisyonlarını belirleyememişken apigenin ve ursolik asidi yüzde olarak hesapladıktan sonraki IC_{50} değerini 16.45 ve 32.34 olarak belirlemiştir. Akramov vd (2020), *Lagochilus gypsaceus* toprak üstü kısmının metanol ekstraktından izole edilen β -sitosterolün BChE inhibisyonunu 1.38 ± 0.15 mg GALAE/g olarak bulmuştur. Balaei-Kahnamoei vd (2021), *Lawsonia inermis* L. metanol ekstraktından izole edilen β -sitosterolün BChE inhibisyonunun IC_{50} değerini $>100 \mu\text{M}$ olarak kaydetmiştir. Ayaz vd (2017) yaptıkları araştırmada, *P. hydropiper* L.’dan izole edilen β -sitosterolün BChE inhibisyonunun IC_{50} değerini $50.00 \mu\text{g/mL}$ olarak bulmuştur. Tablo 4.17’de görüldüğü üzere, β -sitosterolün literatürdeki değerlerden daha yüksek BChE inhibisyonuna sahip olduğu bulundu. Bunun sebebi, molekülün içerisinde az miktarda da olsa yapısının benzer olduğu ikinci bir molekül bulunmaktadır.

Tablo 4.17. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların BChE inhibisyonları

Örnek ve Standart	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)
Ham Ekstrakt	NBMK	-	NBMK	-	NBMK	-	NBMK	-
Birinci fraksiyonlar	NBH	8.17±0.00 ^e	NBK	11.02±0.00 ^d	NBE	54.60±0.00 ^g	NBM	21.14±1.49 ^e
İkinci fraksiyonlar	NBHFr1	9.50±0.67 ^f	NBKFr1	3.82±1.29 ^{bc}	NBEFr1;2	2.44±0.39 ^d	NBMFr1	-
	NBHFr2	-	NBKFr2	4.57±1.67 ^c	NBEFr3	1.72±0.52 ^{abc}	NBMFr2	-
	NBHFr3	-	NBKFr3	3.69±0.52 ^b	NBEFr4	1.11±0.16 ^a	NBMFr3	1.25±0.56 ^{ab}
	NBHFr4	1.86±1.22 ^a	NBKFr4	-	NBEFr5	1.36±0.02 ^{ab}	NBMFr4	2.15±0.29 ^c
	NBHFr5	-	NBKFr5	-	NBEFr6	1.35±0.00 ^{ab}	NBMFr5	-
	NBHFr6	4.32±0.23 ^d	NBKFr6	-	NBEFr7	1.03±0.03 ^a	NBMFr6	1.33±0.16 ^{ab}
	NBHFr7	8.03±0.19 ^e	NBKFr7	2.36±0.19 ^a	NBEFr8	1.97±0.01 ^{bc}	NBMFr7	1.21±0.30 ^a
	NBHFr8	2.94±0.31 ^{bc}			NBEFr9	1.31±0.00 ^{ab}	NBMFr8	1.16±0.00 ^a
	NBHFr9	2.01±0.10 ^{ab}			NBEFr10	-		
İzolatlar			β-sitosterol	3.49±0.00 ^b	Ursolik asit	26.92±0.27 ^f	Daukosterol	9.65±0.06 ^d
					Apigenin	2.83±0.03 ^d	İksorozit	9.90±0.58 ^d
					Molekül L	-		
Standart Madde	Galantamin	22.20±0.00 ^g		22.20±0.00 ^e		22.20±0.00 ^e		22.20±0.00 ^e

NBMK: *N. baytopii* metanol-kloroform ekstraktı, NBH: *N. baytopii* n-hekzan fraksiyonu, NBK: *N. baytopii* kloroform fraksiyonu, NBE: *N. baytopii* etil asetat fraksiyonu, NBM: *N. baytopii* metanol fraksiyonu, Fr: Fraksiyon, n:3

Farklı harfli ortalamalar (a,b,c, vs.) istatistiksel olarak anlamlı bir farkı göstermektedir ($p<0.05$)

Kolak vd (2009) yaptıkları araştırmada, *Salvia pocolata* toprak üstü kısmının metanol ekstraktından izole edilen β -sitosterol ve ursolik asidin 200 μ M derişiminin BChE inhibisyonlarını %11.04 $\pm$ 0.88 ve %70.80 $\pm$ 0.17 olarak belirlemiştir. Yılmaz (2011) yaptığı çalışmada, *N. sorgerae* ve *N. obtusicrena* türlerinin diklorometan ve metanol ekstraktlarının BChE inhibisyonları sırasıyla %45.62, %20.35, %19.54 ve %19.37 olarak belirlemiştir. Sarikurkcu vd (2019) araştırmalarında, *N. cadmea* ve *N. nuda* subsp. *glandulifera*'nın toprak üstü kısmının metanol ekstraktının BChE inhibisyonları bulunamamıştır. Tekin (2018)'nin *N. congesta* var. *congesta*'nın metanol ekstraktının BChE inhibisyonları 2.99 $\pm$ 0.70 mg GALAE/g ekstrakt olarak gözlemlemiştir.

4.2.2.4. Karbonik Anhidraz İnhibisyonları

Karbonik anhidraz (KA) inhibisyonu renksiz *p*-nitrofenil asetatın sarı renkli *p*-nitrofenole dönüşümünün spektrofotometrik olarak 400 nm' de ölçümüne dayanmaktadır (Chanda vd, 2019). KA inhibitörü olan asetazolamid standart olarak kullanıldı.

N. baytopii ham ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların KA inhibisyonları Tablo 4.18'de gösterildi. Ham ekstraktın ve *n*-hekzan, kloroform etil asetat ve metanol fraksiyonların KA inhibisyonları standartla karşılaştırıldığında düşük aktivite gösterdi. İkinci fraksiyonlardan *n*-hekzan, kloroform, etil asetat ve metanol fraksiyonlarının aktiviteleri de düşüktür. NBHFr9, NBKFr6, NBEFr4 ve NBMFr2 fraksiyonlarının aktiviteleri ikinci fraksiyonlardan daha yüksek olarak belirlendi. Saflaştırılan ursolik asit ve iksorozit aktiviteleri elde edildiği fraksiyonlardan daha düşük iken apigenin, β -sitosterol, Molekül L ve daukosterolün moleküllerinin aktivitesi yüksektir.

Tablo 4.18. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların KA inhibisyonları

Örnek ve Standart	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)
Ham Ekstrakt	NBMK	12.50±0.40 ^d	NBMK	12.50±0.40 ^e	NBMK	12.50±0.40 ^e	NBMK	12.50±0.40 ^d
Birinci fraksiyonlar	NBH	13.38±0.91 ^e	NBK	6.09±0.23 ^c	NBE	22.37±1.42 ^g	NBM	34.16±0.29 ^h
İkinci fraksiyonlar	NBHF ₁	11.08±0.21 ^c	NBKFr ₁	10.71±0.81 ^d	NBEFr _{1;2}	60.31±0.30 ^j	NBMFr ₁	12.20±0.82 ^d
	NBHF ₂	18.14±0.31 ^f	NBKFr ₂	14.78±0.61 ^e	NBEFr ₃	35.57±0.85 ^h	NBMFr ₂	5.85±0.60 ^c
	NBHF ₃	39.96±0.32 ^g	NBKFr ₃	13.84±1.04 ^e	NBEFr ₄	2.38±0.08 ^b	NBMFr ₃	26.91±1.40 ^g
	NBHF ₄	165.14±4.46 ^j	NBKFr ₄	22.94±0.20 ^f	NBEFr ₅	5.81±0.01 ^d	NBMFr ₄	13.15±0.57 ^e
	NBHF ₅	50.19±2.70 ^e	NBKFr ₅	11.20±0.82 ^d	NBEFr ₆	4.46±0.13 ^c	NBMFr ₅	33.56±2.12 ^g
	NBHF ₆	91.19±2.32 ^h	NBKFr ₆	5.88±0.17 ^c	NBEFr ₇	94.94±2.64 ^e	NBMFr ₆	86.47±0.38 ^j
	NBHF ₇	14.84±2.12 ^e	NBKFr ₇	6.59±0.65 ^c	NBEFr ₈	22.89±0.00 ^g	NBMFr ₇	20.25±0.80 ^f
	NBHF ₈	119.37±4.51 ⁱ			NBEFr ₉	20.09±0.21 ^f	NBMFr ₈	30.53±1.22 ^g
	NBHF ₉	7.33±0.03 ^b			NBEFr ₁₀	57.81±1.32 ⁱ		
İzolatlar			β-sitosterol	1.55±0.00 ^a	Ursolik asit	83.10±1.11 ^k	Daukosterol	3.76±0.13 ^b
					Apigenin	22.04±0.59 ^g	İksorozit	39.30±4.40 ^{hi}
					Molekül L	1.80±0.20 ^a		
Standart Madde	Asetazolamid	2.35±0.06 ^a		2.35±0.06 ^b		2.35±0.06 ^b		2.35±0.06 ^a

NBMK: *N. baytopii* metanol-kloroform ekstraktı, NBH: *N. baytopii* n-hekzan fraksiyonu, NBK: *N. baytopii* kloroform fraksiyonu, NBE: *N. baytopii* etil asetat fraksiyonu, NBM: *N. baytopii* metanol fraksiyonu, Fr: Fraksiyon, n:3

Farklı harfli ortalamalar (a,b,c, vs.) istatistiksel olarak anlamlı bir farkı göstermektedir ($p<0.05$)

4.2.2.5. α -Amilaz İnhibisyonları

α -amilaz inhibisyonu nişasta ile oluşan kompleksin HCl ile parçalanarak iyot-potasyum iyodür karışımının eklenmesi sonucunda oluşan mavi-mor renkli bileşiğinin spektrofotometrik olarak 620 nm’de ölçümüne dayanmaktadır (Ercan ve El, 2016; Koh vd, 2010; Yang vd, 2012). α -amilaz inhibitörü olan akarboz kullanıldı ve sonuç bu standart ile karşılaştırılarak verildi.

N. baytopii ham ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların α -amilaz inhibisyonları Tablo 4.19’da gösterildi. Ham ekstraktın, *n*-hekzan, kloroform, etil asetat ve metanol fraksiyonlarının α -amilaz inhibisyonları standartla karşılaştırıldığında düşük aktivite gösterdi. İkinci fraksiyonlarının aktiviteleri ise yüksek olarak belirlendi ve en yüksek aktivite ise NBHFr4 (1.48 ± 0.09 $\mu\text{g/mL}$), NBKFr2 (1.12 ± 0.10 $\mu\text{g/mL}$), NBEFr7 (1.03 ± 0.03 $\mu\text{g/mL}$) ve NBMFr3 (2.61 ± 0.32 $\mu\text{g/mL}$) fraksiyonları belirlendi. Ek olarak, NBHFr8, NBHFr7, NBKFr3, NBKFr1, NBEFr4, NBEFr9, NBMFr5 ve NBMFr4 fraksiyonlarının aktiviteleri ise standartlardan ve ikinci fraksiyonlardan daha yüksek olarak kaydedildi. Saflaştırılan β -sitosterol, ursolik asit, apigenin, Molekül L, iksorozit ve daukosterolün aktiviteleri elde edildiği fraksiyonlardan daha düşüktür.

Zengin vd (2021), *N. baytopii* *n*-hekzan, etil asetat, metanol, su/metanol ve su ekstraktlarının α -amilaz inhibisyonlarını 0.66 ± 0.01 , 0.84 ± 0.02 , 0.67 ± 0.02 , 0.50 ± 0.01 ve 0.10 ± 0.01 mmol akarboz eşdeğeri (ACAE)/g olarak belirlemiştir. Tablo 4.19’da görüldüğü üzere, *N. baytopii* bitkisinin kloroform fraksiyonunun inhibisyonu literatürdekinin aksine daha yüksektir. Bunun sebebi, ekstraksiyon yönteminin farklılığından ve sekonder metabolit içeriğinden kaynaklı olabilir.

Tiji vd (2021), *Nigella sativa* *n*-hekzan ekstraktından izole edilen apigeninin α -amilaz inhibisyonunun IC_{50} değerini 13.91 ± 2.79 μM olarak tespit etmiştir.

Mustafa vd (2023) yaptıkları araştırmada, *N. leucolaena* çiçek kısmının etanol, etil asetat, kloroform ve *n*-hekzan ekstraktlarının α -amilaz inhibisyonlarını sırasıyla 0.47 ± 0.009 , 0.55 ± 0.010 , 0.61 ± 0.031 , 0.67 ± 0.016 mmol ACAE/g ekstrakt ve yaprak kısmının ise 0.48 ± 0.019 , 0.64 ± 0.006 , 0.57 ± 0.032 , 0.67 ± 0.013 mmol ACAE/g ekstrakt olarak hesaplamışlardır.

Tablo 4.19. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların α -amilaz inhibisyonları

Örnek ve Standart	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)
Ham Ekstrakt	NBMK	101.39±0.45 ^h	NBMK	101.39±0.45 ^h	NBMK	101.39±0.45 ^l	NBMK	101.39±0.45 ^k
Birinci fraksiyonlar	NBH	48.04±0.64 ^g	NBK	31.29±1.09 ^f	NBE	75.68±0.51 ^j	NBM	64.62±0.01 ⁱ
İkinci fraksiyonlar	NBHFr1	20.23±0.20 ^e	NBKFr1	2.55±0.24 ^b	NBEFr1;2	1.88±0.19 ^{ab}	NBMFr1	-
	NBHFr2	13.91±2.45 ^{cd}	NBKFr2	1.12±0.10 ^a	NBEFr3	1.07±0.01 ^a	NBMFr2	10.12±0.08 ^d
	NBHFr3	12.50±0.85 ^c	NBKFr3	3.40±0.01 ^c	NBEFr4	6.02±0.00 ^e	NBMFr3	2.61±0.32 ^a
	NBHFr4	1.48±0.09 ^a	NBKFr4	-	NBEFr5	5.17±0.10 ^d	NBMFr4	7.97±0.28 ^c
	NBHFr5	-	NBKFr5	-	NBEFr6	8.52±0.09 ^f	NBMFr5	5.95±0.14 ^b
	NBHFr6	-	NBKFr6	12.88±0.00 ^d	NBEFr7	8.36±0.40 ^f	NBMFr6	40.17±1.03 ^h
	NBHFr7	11.54±0.72 ^c	NBKFr7	39.41±1.11 ^g	NBEFr8	29.89±0.17 ⁱ	NBMFr7	17.62±0.47 ^e
	NBHFr8	5.09±0.01 ^b			NBEFr9	3.68±0.08 ^c	NBMFr8	33.97±0.49 ^g
	NBHFr9	-			NBEFr10	17.22±0.18 ^g		
İzolatlar			β -sitosterol	116.16±0.00 ⁱ	Ursolik asit	81.97±3.73 ^k	Daukosterol	74.23±3.04 ^j
					Apigenin	16.37±1.61 ^g	İksorozit	16.87±0.08 ^e
					Molekül L	152.04±1.09 ^m		
Standart Madde	Akarboz	25.93±0.16 ^f		25.93±0.16 ^e		25.93±0.16 ^h		25.93±0.16 ^f

NBMK: *N. baytopii* metanol-kloroform ekstraktı, NBH: *N. baytopii* n-hekzan fraksiyonu, NBK: *N. baytopii* kloroform fraksiyonu, NBE: *N. baytopii* etil asetat fraksiyonu, NBM: *N. baytopii* metanol fraksiyonu, Fr: Fraksiyon, n:3

Farklı harfli ortalamalar (a,b,c, vs.) istatistiksel olarak anlamlı bir farkı göstermektedir ($p<0.05$)

Quek vd (2021) yaptıkları araştırmada, *M. latifolia* kabuğunun *n*-hekzan ekstraktının kloroform fraksiyonundan izole edilen β -sitosterolün α -amilaz inhibisyonunun IC_{50} değerini $154.40 \pm 15.80 \mu\text{g/mL}$ olarak hesaplamıştır. Tablo 4.19'da görüldüğü üzere, NBKFr3 fraksiyonundan saflaştırılan β -sitosterolün α -amilaz inhibisyonu literatürdeki değerden daha yüksek olarak gözlemlendi. Sheng vd (2017), *Musa* spp. çiçeğinden izole edilen β -sitosterolün α -amilaz inhibisyonunun IC_{50} değerini $52.55 \mu\text{g/mL}$ olarak belirlemiştir. Akramov vd (2020)'nin yaptıkları çalışmada, *Lagochilus gypsaceus* toprak üstü kısmının metanol ekstraktından izole edilen β -sitosterolün α -amilaz inhibisyonunu $0.21 \pm 0.01 \text{ mmol ACAE/g}$ olarak bulmuştur. Torres-Naranjo vd (2016), *Muehlenbeckia tamnifolia* *n*-hekzan ekstraktından izole edilen β -sitosterolün α -amilaz inhibisyonunu bulamamıştır. Tablo 4.19'da görüldüğü üzere, β -sitosterolün literatürdeki değerden daha düşük α -amilaz inhibisyonuna sahip olduğu tespit edildi. Bunun sebebinin az miktarda içerdiği safsızlıktan kaynaklanmaktadır.

Dehghan vd (2018) yaptıkları çalışmada, *Rheum turkestanicum* etil asetat ekstraktının kloroform-metanol gradiyent sistemine göre elde edilen Fr9 dan saflaştırılan daukosterolün α -amilaz inhibisyonları Fr9 için $\%91.10 \pm 2.10$, daukosterol için $46.40 \pm 1.50 \mu\text{M}$ olarak belirlemiştir.

Malik vd (2018) yaptıkları çalışmada, *N. cataria*'nın etanol, metanol ve su ekstraktlarının α -amilaz inhibisyonları sırasıyla $\%29.37 \pm 1.45$, $\%52.03 \pm 0.71$ ve $\%16.59 \pm 1.79$ olarak gözlemlemiştir. Sarikurkcu vd (2019) araştırmalarında, *N. cadmea* ve *N. nuda* subsp. *glandulifera*'nın toprak üstü kısmının metanol ekstraktlarının α -amilaz inhibisyonları sırasıyla $0.24 \pm 0.01 \text{ mg ACAE/g}$ ekstrakt ve $0.36 \pm 0.01 \text{ mg ACAE/g}$ ekstrakt olarak bulmuştur. Tekin (2018) yaptığı çalışmada, *N. congesta* var. *congesta*'nın metanol ekstraktının α -amilaz inhibisyonunu $0.36 \pm 0.04 \text{ mg ACAE/g}$ ekstrakt olarak gözlemlemiştir.

4.2.2.6. α -Glikozidaz İnhibisyonları

α -glikozidaz inhibisyonu 4-*p*-nitrofenil α -D-glikopiranozid (PNPG) metodu kullanılarak oluşan sarı renkli bileşiğin spektrofotometrik olarak 410 nm'de ölçümüne dayanmaktadır (Mayur vd, 2010; Sancheti vd, 2010). α -glikozidaz inhibitörü olan akarboz standart olarak kullanıldı ve sonuç bu standartla karşılaştırılarak verildi.

N. baytopii ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların α -glukozidaz inhibisyonları Tablo 4.20’de gösterildi. Ham ekstraktın, *n*-hekzan, kloroform, etil asetat ve metanol fraksiyonlarının ve ikinci fraksiyonların α -glukozidaz inhibisyonları standartla karşılaştırıldığında düşük aktivite gösterdi. Saflaştırılan β -sitosterol, ursolik asit, apigenin ve daukosterolün aktiviteleri elde edildiği fraksiyonlardan daha düşüktür. Buna rağmen, Molekül L ve iksorozitin aktivitesi ise yüksektir.

Zengin vd (2021), *N. baytopii* *n*-hekzan, etil asetat, metanol, su/metanol ve su ekstraktlarının α -glukozidaz inhibisyonlarını 7.87 ± 0.02 , 7.76 ± 0.01 , 8.15 ± 0.08 , 0.61 ± 0.04 ve 1.06 ± 0.09 mmol ACAE/g olarak belirlemiştir. Tablo 4.20’de görüldüğü üzere, *N. baytopii* bitkisinin kloroform fraksiyonunun inhibisyonu daha yüksektir. Bunun sebebi, ekstraksiyon yönteminin farklılığındandır.

Mustafa vd (2023) yaptıkları araştırmada, *N. leucolaena* çiçek kısmının etanol, etil asetat, kloroform ve *n*-hekzan ekstraktlarının α -glukozidaz inhibisyonlarını sırasıyla 0.02 ± 0.004 , 1.07 ± 0.004 , 0.94 ± 0.006 , 1.08 ± 0.006 mmol ACAE/g ekstrakt ve yaprak kısmının ise 0.72 ± 0.004 , 1.04 ± 0.012 , 0.96 ± 0.009 , 1.05 ± 0.019 mmol ACAE/g ekstrakt olarak hesaplamışlardır.

Sarikurkcu vd (2019) yaptıkları çalışmada, *N. cadmea* ve *N. nuda* subsp. *glandulifera*’nın toprak üstü kısmının metanol ekstraktının α -glukozidaz inhibisyonlarını sırasıyla 2.02 ± 0.01 ve 3.67 ± 0.02 mg ACAE/g ekstrakt olarak bulmuştur. Tekin (2018) araştırmasında, *N. congesta* var. *congesta*’nın metanol ekstraktının α -glukozidaz inhibisyonunu 0.67 ± 0.02 mg ACAE/g ekstrakt olarak gözlemlemiştir.

Zeng vd (2016), apigeninin α -glukozidaz inhibisyonunun IC_{50} değerini 10.50 ± 0.05 μ mol/L olarak bulmuştur. Anh vd (2021) yaptıkları çalışmada, *Polyscias guilfoylei* etanol ekstraktının diklorometan fraksiyonundan saflaştırılan β -sitosterol ve daukosterolün α -glukozidaz inhibisyonlarını diklorometan için 32.00 μ g/mL, daukosterol için 1.00 μ g/mL ve β -sitosterol için 1.49 μ g/mL olarak belirlemiştir. Tablo 4.20’de görüldüğü üzere, apigeninin α -glukozidaz inhibisyonu ise belirlenememiştir. Bunun yanı sıra, β -sitosterol ve daukosterolün α -glukozidaz inhibisyonları literatürdeki değerlerden daha düşük olarak belirlendi.

Tablo 4.20. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların α -glukozidaz inhibisyonları

Örnek ve Standart	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)
Ham Ekstrakt	NBMK	41.30±0.43 ^d	NBMK	41.30±0.43 ⁱ	NBMK	41.30±0.43 ^f	NBMK	41.30±0.43 ^f
Birinci fraksiyonlar	NBH	27.81±0.02 ^b	NBK	21.36±0.34 ^b	NBE	91.76±0.33 ^k	NBM	46.26±0.86 ^g
İkinci fraksiyonlar	NBHF1	191.09±0.00 ^j	NBKFr1	31.58±0.20 ^d	NBEFr1;2	36.27±0.05 ^e	NBMFr1	106.75±5.93 ^j
	NBHF2	111.43±1.05 ^h	NBKFr2	27.08±0.28 ^c	NBEFr3	87.39±1.36 ^j	NBMFr2	23.65±1.91 ^{cd}
	NBHF3	128.16±0.87 ⁱ	NBKFr3	35.29±0.06 ^f	NBEFr4	80.53±4.32 ⁱ	NBMFr3	75.02±1.87 ⁱ
	NBHF4	319.21±1.10 ^k	NBKFr4	39.66±0.08 ^h	NBEFr5	101.92±0.99 ^l	NBMFr4	22.02±0.25 ^c
	NBHF5	43.36±0.06 ^f	NBKFr5	33.01±0.29 ^e	NBEFr6	65.93±0.14 ^g	NBMFr5	59.56±2.54 ^h
	NBHF6	53.53±0.07 ^g	NBKFr6	39.07±0.21 ^h	NBEFr7	-	NBMFr6	639.77±0.00 ^l
	NBHF7	42.54±0.00 ^e	NBKFr7	36.87±0.39 ^{fg}	NBEFr8	33.02±0.57 ^d	NBMFr7	27.29±0.26 ^e
	NBHF8	42.86±0.03 ^e			NBEFr9	73.78±1.15 ^h	NBMFr8	3.90±0.10 ^a
	NBHF9	31.85±0.20 ^c			NBEFr10	25.19±0.74 ^c		
İzolatlar			β -sitosterol	113.90±2.82 ^j	Ursolik asit	74.19±0.05 ^h	Daukosterol	125.57±0.09 ^k
					Apigenin	-	İksorozit	4.11±0.36 ^a
					Molekül L	22.48±0.40 ^b		
Standart Madde	Akarboz	13.50±0.04 ^a		13.50±0.04 ^a		13.50±0.04 ^a		13.50±0.04 ^b

NBMK: *N. baytopii* metanol-kloroform ekstraktı, NBH: *N. baytopii* n-hekzan fraksiyonu, NBK: *N. baytopii* kloroform fraksiyonu, NBE: *N. baytopii* etil asetat fraksiyonu, NBM: *N. baytopii* metanol fraksiyonu, Fr: Fraksiyon, n:3

Farklı harfli ortalamalar (a,b,c, vs.) istatistiksel olarak anlamlı bir farkı göstermektedir ($p<0.05$)

Akramov vd (2020), *Lagochilus gypsaceus* toprak üstü kısmının metanol ekstraktından izole edilen β -sitosterolün α -glikozidaz inhibisyonunu 14.69 ± 0.15 mmol ACAE/g olarak bulmuştur. Torres-Naranjo vd (2016), *Muehlenbeckia tamnifolia* *n*-hekzan ekstraktından izole edilen β -sitosterolün α -glikozidaz inhibisyonunu bulamamıştır. Sheng vd (2017), *Musa* spp. çiçeğinden izole edilen β -sitosterolün α -glikozidaz inhibisyonunun IC_{50} değerini $283.67 \mu\text{g/mL}$ olarak belirlemiştir. Tablo 4.20'de görüldüğü üzere, β -sitosterolün literatürdeki değerden daha yüksek α -glikozidaz inhibisyonuna sahip olduğu tespit edildi. Bunun sebebi, az miktarda da olsa safsızlık içermesinden kaynaklanmaktadır.

Gu vd (2021) yaptıkları çalışmada, *Eleocharis dulcis* metanol ekstraktının *n*-bütanol fraksiyonundan elde edilen Fr3 ve Fr4 den saflaştırılan daukosterolün α -glikozidaz inhibisyonlarını $5.67 \pm 0.14 \mu\text{g/mL}$ olarak belirlemiştir. Tablo 4.20'de görüldüğü üzere, daukosterolün α -glikozidaz inhibisyonu literatürdeki değerden daha düşük olarak belirlendi.

Numonov vd (2017) yaptıkları çalışmada, *Gernium collinum* su, %30 etanol, %50 etanol, %70 etanol ve %100 etanol ekstraktlarının ve %50 etanol ekstraktından elde edilen Fr6'dan saflaştırılan daukosterolün α -glikozidaz inhibisyonlarını incelemiş ve su için $0.11 \pm 0.01 \mu\text{g/mL}$, %30 etanol için $0.10 \pm 0.01 \mu\text{g/mL}$, %50 etanol için $0.07 \pm 0.01 \mu\text{g/mL}$, %70 etanol için $0.09 \pm 0.01 \mu\text{g/mL}$, %100 etanol için $1.98 \pm 0.21 \mu\text{g/mL}$ ve daukosterol için $30.19 \pm 1.56 \mu\text{g/mL}$ olarak belirlemiştir. Tablo 4.20.'de görüldüğü üzere, daukosterolün α -glikozidaz inhibisyonu literatürdeki değerlerden daha yüksek olarak belirlendi. Bunun sebebi, az miktarda da olsa safsızlık içermesinden kaynaklanmaktadır. Nyemb vd (2018), *Cissus populnea* kök kısmının metanol ekstraktından izole edilen daukostreolün α -glikozidaz inhibisyonunu %28.32 olarak bulmuştur.

Sheng vd (2014) yaptıkları çalışmada, *Musa* spp. (Baxijiao) etanol ekstraktının petrol eteri, *n*-bütanol, etil asetat ve su fraksiyonlarının, petrol eteri fraksiyonunun Fr5 den saflaştırılan β -sitosterolün ve etil asetat fraksiyonunun Fr4 den saflaştırılan daukosterolün α -glikozidaz inhibisyonlarını araştırmış ve etanol ekstraktı için $343.09 \pm 4.35 \mu\text{g/mL}$, petrol eteri için $788.36 \pm 19.12 \mu\text{g/mL}$, etil asetat için $1877.77 \pm 12.53 \mu\text{g/mL}$, β -sitosterol için $283.67 \mu\text{g/mL}$ ve daukosterol için $247.35 \mu\text{g/mL}$ olarak belirlemiştir. Tablo 4.20'de görüldüğü üzere, β -sitosterol ve daukosterolün α -glikozidaz inhibisyon aktivitesi literatürdeki değerlerden daha yüksek

olarak belirlendi. Bunun sebebi, az miktarda da olsa safsızlık içermesinden kaynaklanmış olabilir.

Dehghan vd (2018) yaptıkları çalışmada, *Rheum turkestanicum* etil asetat ekstraktının kloroform-metanol gradiyent sistemine göre elde edilen Fr9'dan saflaştırılan daukosterolün α -glukozidaz inhibisyonlarını Fr9 için 67.20 ± 0.70 ve daukosterol için 17.00 ± 1.00 μ M olarak belirlemiştir.

Liu vd (2021b) yaptıkları çalışmada, *Elscholtzia rugulosa* Hemsl. etanol ekstraktının etil asetat ve *n*-bütanol fraksiyonlarının ve etil asetat fraksiyonundan saflaştırılan β -daukosterolün α -glukozidaz inhibisyonlarını, etil asetat için 7.05 ± 0.63 μ g/mL, *n*-bütanol için 20.47 ± 3.88 μ g/mL ve β -daukosterol için 18.34 ± 4.19 μ M olarak belirlemiştir.

Ha vd (2022), *Tecoma stans* metanol ekstraktından izole edilen ursolik asidin α -glukozidaz inhibisyonunun IC_{50} değerini 39.20 ± 0.60 μ M olarak bulmuştur. Salah El Dine vd (2014) yaptıkları çalışmada, *Punica granatum* L. çiçek kısmının metanol ekstraktından izole edilen apigenin, β -sitosterol ve ursolik asidin α -glukozidaz inhibisyonlarının IC_{50} değerlerini sırasıyla >100 μ g/mL, >100 μ g/mL ve 17.74 μ g/mL olarak hesaplamıştır.

Wu vd (2014), ursolik asidin α -glukozidaz inhibisyonunun IC_{50} değerini 5.04 ± 0.80 μ M olarak bulmuştur. Wu vd (2017a) yaptıkları araştırmada, ursolik asidin α -glukozidaz inhibisyonunun IC_{50} değerini 5.80 ± 0.70 μ M olarak belirlemiştir. Ding vd (2017) yaptıkları çalışmada, ursolik asidin α -glukozidaz inhibisyonunun IC_{50} değerini 16.90 ± 0.30 μ M olarak belirlemiştir.

4.2.2.7. Lipaz İnhibisyonları

Lipaz inhibisyonu *p*-nitrofenil oktanoatın *p*-nitrofenole dönüşümünün spektrofotometrik olarak 410 nm'de ölçümüne dayanmaktadır (Trentin vd, 2020). Lipaz inhibitörü olan orlistat olarak kullanıldı ve sonuç bu standartla karşılaştırılarak verildi.

Tablo 4.21. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların lipaz inhibisyonları

Örnek ve Standart	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)
Ham Ekstrakt	NBMK	8.15±0.28 ^f	NBMK	8.15±0.28 ^g	NBMK	8.15±0.28 ^g	NBMK	8.15±0.28 ^f
Birinci fraksiyonlar	NBH	5.03±0.11 ^d	NBK	4.06±0.18 ^c	NBE	7.08±0.58 ^f	NBM	5.03±0.43 ^d
İkinci fraksiyonlar	NBHFr1	19.80±0.40 ^h	NBKFr1	4.77±0.14 ^d	NBEFr1;2	4.87±0.48 ^d	NBMFr1	19.52±2.75 ⁱ
	NBHFr2	4.61±0.18 ^{cd}	NBKFr2	-	NBEFr3	3.57±0.58 ^b	NBMFr2	4.48±0.00 ^c
	NBHFr3	9.04±0.64 ^g	NBKFr3	4.53±0.19 ^d	NBEFr4	6.54±0.69 ^e	NBMFr3	2.76±0.00 ^a
	NBHFr4	2.29±0.24 ^{ab}	NBKFr4	6.45±0.01 ^f	NBEFr5	6.35±0.25 ^e	NBMFr4	5.48±0.26 ^d
	NBHFr5	1.98±0.35 ^a	NBKFr5	3.02±0.43 ^b	NBEFr6	8.60±0.61 ^g	NBMFr5	4.98±0.70 ^c
	NBHFr6	3.98±0.34 ^{bc}	NBKFr6	5.62±0.02 ^e	NBEFr7	2.86±0.07 ^a	NBMFr6	3.38±0.08 ^b
	NBHFr7	2.01±0.20 ^a	NBKFr7	0.78±0.04 ^a	NBEFr8	4.22±0.24 ^d	NBMFr7	4.71±0.53 ^c
	NBHFr8	2.66±0.22 ^{ab}			NBEFr9	3.93±0.13 ^c	NBMFr8	3.49±0.06 ^b
	NBHFr9	3.36±0.00 ^{abc}			NBEFr10	3.70±0.22 ^b		
İzolatlar			β -sitosterol	17.64±0.28 ^h	Ursolik asit	28.54±2.02 ⁱ	Daukosterol	10.47±0.02 ^g
					Apigenin	8.85±0.00 ^g	İksorozit	11.98±0.29 ^h
					Molekül L	23.39±2.31 ^h		
Standart Madde	Orlistat	6.30±1.01 ^e		6.30±1.01 ^f		6.30±1.01 ^e		6.30±1.01 ^e

NBMK: *N. baytopii* metanol-kloroform ekstraktı, NBH: *N. baytopii* *n*-hekzan fraksiyonu, NBK: *N. baytopii* kloroform fraksiyonu, NBE: *N. baytopii* etil asetat fraksiyonu, NBM: *N. baytopii* metanol fraksiyonu, Fr: Fraksiyon, n:3

Farklı harfli ortalamalar (a,b,c, vs.) istatistiksel olarak anlamlı bir farkı göstermektedir ($p<0.05$)

N. baytopii ham ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların lipaz inhibisyonları Tablo 4.21’de gösterildi. Ham ekstraktın ve etil asetat fraksiyonu lipaz inhibisyonları standartla karşılaştırıldığında düşük aktivite gösterirken *n*-hekzan, kloroform ve metanol fraksiyonları ise yüksek aktivite gösterdi. İkinci fraksiyonlardan kloroform fraksiyonunun aktivitesinin düşük, *n*-hekzan, etil asetat ve metanol fraksiyonlarının aktiviteleri ise yüksektir. En yüksek aktivite ise NBHFr5 (1.98 ± 0.35 $\mu\text{g/mL}$), NBKFr7 (0.78 ± 0.04 $\mu\text{g/mL}$), NBEFr7 (2.86 ± 0.07 $\mu\text{g/mL}$) ve NBMFr3 (2.76 ± 0.00 $\mu\text{g/mL}$) fraksiyonlarında belirlendi. Ek olarak, NBHFr7, NBHFr4, NBKFr5, NBKFr3, NBEFr10, NBEFr3, NBMFr6 ve NBMFr8 fraksiyonlarının aktiviteleri standartlardan ve ikinci fraksiyonlardan daha yüksek olarak belirlendi. Saflaştırılan β -sitosterol, ursolik asit, apigenin, Molekül L, iksorozit ve daukosterolün aktiviteleri elde edildiği fraksiyonlardan daha düşüktür.

Roh ve Jung (2012) yaptıkları çalışmada, *N. japonica* Maximowicz’in etanol ekstraktının lipaz inhibisyonunu 37.3 ± 2.5 olarak belirlemiştir.

4.2.2.8. Tirozinaz İnhibisyonları

Tirozinaz inhibisyonu L-DOPA’nın dopamine dönüşümünün spektrofotometrik olarak 475 nm’de ölçümüne dayanmaktadır (Addar vd, 2019). Tirozinaz inhibitörü olarak kojik asit kullanıldı ve sonuç bu standartla karşılaştırılarak verildi.

N. baytopii ham ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların tirozinaz inhibisyonları Tablo 4.22’de gösterildi. Ham ekstraktın tirozinaz inhibisyonları standartla karşılaştırıldığında düşük aktivite gösterirken *n*-hekzan, kloroform, etil asetat ve metanol fraksiyonları ise yüksek aktivite gösterdi. Ayrıca, ikinci fraksiyonlarının aktiviteleri ise yüksek olarak belirlendi. En yüksek aktivite ise NBHFr5 (2.18 ± 0.76 $\mu\text{g/mL}$), NBKFr5 (3.47 ± 0.11 $\mu\text{g/mL}$) ve NBMFr4 (11.47 ± 1.01 $\mu\text{g/mL}$) fraksiyonlarında belirlendi. Ek olarak, NBHFr9, NBHFr8, NBKFr4, NBKFr3, NBMFr6 ve NBMFr5 fraksiyonlarının aktiviteleri standartlardan ve ikinci fraksiyonlardan daha yüksek olarak belirlendi. Saflaştırılan apigenin ve Molekül L’nin aktiviteleri elde edildiği fraksiyonlardan daha düşüktür. Buna rağmen, β -sitosterol, ursolik asit, iksorozit ve daukosterol moleküllerinin aktivitesi yüksektir.

Tablo 4.22. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların tirozinaz inhibisyonları

Örnek ve Standart	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)
Ham Ekstrakt	NBMK	29.96±0.00 ^g	NBMK	29.96±0.00 ^f	NBMK	29.96±0.00 ^f	NBMK	29.96±0.00 ^g
Birinci fraksiyonlar	NBH	12.79±0.86 ^d	NBK	8.70±1.02 ^d	NBE	8.23±0.92 ^a	NBM	18.69±0.73 ^d
İkinci fraksiyonlar	NBHFr1	14.15±0.00 ^{de}	NBKFr1	9.07±1.28 ^d	NBEFr1;2	35.94±3.05 ^g	NBMFr1	26.07±1.47 ^f
	NBHFr2	12.18±0.00 ^d	NBKFr2	-	NBEFr3	20.09±0.00 ^c	NBMFr2	-
	NBHFr3	-	NBKFr3	7.46±0.11 ^d	NBEFr4	27.57±0.65 ^e	NBMFr3	22.01±1.06 ^e
	NBHFr4	30.81±3.26 ^h	NBKFr4	6.80±0.84 ^c	NBEFr5	81.45±0.00 ⁱ	NBMFr4	11.47±1.01 ^b
	NBHFr5	2.18±0.76 ^a	NBKFr5	3.47±0.11 ^b	NBEFr6	29.08±0.41 ^f	NBMFr5	11.60±0.82 ^b
	NBHFr6	10.13±1.27 ^c	NBKFr6	-	NBEFr7	39.27±1.67 ^{gh}	NBMFr6	16.26±0.26 ^c
	NBHFr7	-	NBKFr7	10.75±0.38 ^d	NBEFr8	18.54±2.18 ^b	NBMFr7	44.18±2.34 ⁱ
	NBHFr8	3.34±0.47 ^b			NBEFr9	102.83±0.65 ^k	NBMFr8	32.57±0.77 ^h
	NBHFr9	2.46±0.00 ^a			NBEFr10	120.83±4.68 ^l		
İzolatlar			β -sitosterol	2.37±0.13 ^a	Ursolik asit	25.79±0.00 ^d	Daukosterol	1.83±0.26 ^a
					Apigenin	48.02±3.89 ⁱ	İksorozit	2.23±0.00 ^a
					Molekül L	-		
Standart Madde	Kojik asit	25.83±1.58 ^f		25.83±1.58 ^e		25.83±1.58 ^d		25.83±1.58 ^f

NBMK: *N. baytopii* metanol-kloroform ekstraktı, NBH: *N. baytopii* *n*-hekzan fraksiyonu, NBK: *N. baytopii* kloroform fraksiyonu, NBE: *N. baytopii* etil asetat fraksiyonu, NBM: *N. baytopii* metanol fraksiyonu, Fr: Fraksiyon, n:3

Farklı harfli ortalamalar (a,b,c, vs.) istatistiksel olarak anlamlı bir farkı göstermektedir ($p<0.05$).

Zengin vd (2021), *N. baytopii* *n*-hekzan, etil asetat, metanol, su/metanol ve su ekstraktlarının tirozinaz inhibisyonlarını 77.84 ± 1.83 , 78.60 ± 1.58 , 96.06 ± 0.70 , 95.31 ± 1.77 ve 6.15 ± 1.02 mg kojik asit eşdeğeri (KAE)/g olarak belirlemiştir. Tablo 4.22’de görüldüğü üzere, *N. baytopii* bitkisinin etil asetat fraksiyonunun inhibisyonu daha yüksektir. Bunun sebebi, ekstraksiyon yönteminin farklılığındandır.

Mustafa vd (2023) yaptıkları araştırmada, *N. leucolaena* çiçek kısmının etanol, etil asetat, kloroform ve *n*-hekzan ekstraktlarının tirozinaz inhibisyonlarını sırasıyla 21.29 ± 0.75 , 30.65 ± 1.19 , 28.90 ± 0.57 , 34.45 ± 0.48 mg KAE/g ekstrakt ve yaprak kısmının ise 26.08 ± 0.69 , 29.49 ± 0.75 , 26.65 ± 1.73 , 27.67 ± 0.22 mg KAE/g ekstrakt olarak hesaplamışlardır.

Akramov vd (2020), *Lagochilus gypsaceus* toprak üstü kısmının metanol ekstraktından izole edilen β -sitosterolün tirozinaz inhibisyonunu 8.10 ± 0.24 mg KAE/g olarak bulmuştur. Adsiz (2018), *Salvia cerino-pruinosa* var. *elazigensis* etanol ekstraktından izole edilen apigenin, β -sitosterol ve ursolik asidin tirozinaz inhibisyonlarını belirleyememiştir.

Akdeniz vd (2020) yaptıkları çalışmada, *N. heliotropifolia* ve *N. congesta* subsp. *cryptantha*’nın kök, sap, yaprak, çiçek ve karışık kısmının etanol ekstraktlarının tirozinaz inhibisyonları $\%5.58 \pm 0.52$ ile $\%51.78 \pm 0.82$ arasında değiştiğini bulmuştur. Sarikurkcu vd (2019)’nin araştırmalarında, *N. cadmea* ve *N. nuda* subsp. *glandulifera*’nın toprak üstü kısmının metanol ekstraktının tirozinaz inhibisyonlarını bulamamıştır. Tekin (2018) yaptığı çalışmada, *N. congesta* var. *congesta*’nın metanol ekstraktının tirozinaz inhibisyonunu 30.29 ± 0.83 mg KAE/g ekstrakt olarak gözlemlemiştir.

4.2.3. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Antimikrobiyal aktiviteler iki farklı yöntemle yapıldı (Andrews, 2001; Reller vd, 2009). Bu yöntemlerde gram negatif bakteriler (*Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031)) ve gram pozitif bakteriler (*Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Bacillus cereus* (CCM 99), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25213)) kullanıldı. Her iki yöntemde de antibiyotik olarak amoksisilin ve tetrasiklin tercih edildi. Sonuçlar CLSI kataloğunda belirtilen değerlerle karşılaştırılarak değerlendirildi (CLSI/NCCLS, 2009).

4.2.3.1. Disk Difüzyon Metodu

N. baytopii ham ekstraktın, *n*-hekzan fraksiyonu ve ikinci fraksiyonların disk difüzyon metodu ile yapılan antibakteriyel aktiviteleri Tablo 4.23’de gösterildi. Ham ekstrakt *B. cereus* bakterisine karşı aktivite gösterirken *n*-hekzan fraksiyonu *K. pneumoniae* ve *B. cereus* bakterilerine karşı aktivite gösterdi. Buna rağmen, ikinci fraksiyonları aktivite göstermedi.

N. baytopii ham ekstraktı, kloroform fraksiyonu ve ikinci fraksiyonların disk difüzyon metodu ile yapılan antibakteriyel aktiviteleri Tablo 4.24’de gösterildi. Ham ekstraktı *E. faecalis* bakterisine karşı aktivite gösterirken kloroform fraksiyonu *P. aeruginosa* ve *E. faecalis* bakterilerine karşı aktivite gösterdi. Buna rağmen, ikinci fraksiyonları ve saflaştırılan β -sitosterolün aktivitesi belirlenemedi.

N. baytopii ham ekstraktı, etil asetat fraksiyonu ve ikinci fraksiyonların disk difüzyon metodu ile yapılan antibakteriyel aktiviteleri Tablo 4.25’de gösterildi. Ham ekstraktı ve etil asetat fraksiyonunu *B. cereus* bakterisine karşı aktivite gösterdi. Buna rağmen, ikinci fraksiyonları ve saflaştırılan ursolik asit, apigenin ve Molekül L’nin aktiviteleri ise gözlenmedi.

N. baytopii ham ekstraktı, metanol fraksiyonu ve ikinci fraksiyonların disk difüzyon metodu ile yapılan antibakteriyel aktiviteleri Tablo 4.26’de gösterildi. Ham ekstraktı *B. cereus* bakterisine karşı aktivite gösterirken metanol fraksiyonu ve ikinci fraksiyonlar aktivite göstermedi. Saflaştırılan daukosterolün aktivitesi belirlenmezken iksorozitin aktivitesi *K. pneumoniae*, *E. faecalis* ve *S. aureus* bakterilerine karşı aktivite belirlendi.

Alkahtani vd (2022), *N. distans* metanol ekstraktının 300 mg/mL derişiminin disk difüzyon metodu ile yapılan antibakteriyel aktivitelerinin inhibisyon bölgelerini *E. coli*, *S. aureus* ve *K. pneumoniae* bakterilerine karşı sırasıyla 27, 32 ve 33 mm ve kloroform fraksiyonun ise 28, 30 ve 28 mm olarak bulmuştur. Tez çalışmasında, *N. baytopii* kloroform ve metanol fraksiyonun *E. coli*, *S. aureus* ve *K. pneumoniae* bakterilerine karşı inhibisyon bölgelerinin değerleri daha düşük olarak belirlendi.

Tablo 4.23. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktın, *n*-hekzan ve ikinci fraksiyonların ve izolatların disk difüzyon metodu ile antimikrobiyal aktiviteleri

Örnekler ve Antibiyotik	Kodlar	İnhibisyon bölgeleri, mm					
		Gram-negatif bakteriler			Gram-pozitif bakteriler		
		<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>
Ham Ekstrakt	NBMK	-	-	-	-	14.00±1.41	-
Birinci fraksiyonlar	NBH	-	-	6.50±0.71	-	19.00±0.00	-
İkinci fraksiyonlar	NBHFr1	-	-	-	-	-	-
	NBHFr2	-	-	-	-	-	-
	NBHFr3	-	-	-	-	-	-
	NBHFr4	-	-	-	-	-	-
	NBHFr5	-	-	-	-	-	-
	NBHFr6	-	-	-	-	-	-
	NBHFr7	-	-	-	-	-	-
	NBHFr8	-	-	-	-	-	-
	NBHFr9	-	-	-	-	-	-
Antibiyotik/	Amoksisilin	21.00±5.66	-	-	-	27.00±0.00	8.00±0.00
Kontrol	Tetrasiklin	31.00±0.00	32.00±0.00	31.00±0.00	32.00±0.00	37.00±0.00	31.00±0.00
	Kontrol	6.0±0.0	6.0±0.0	6.0±0.0	6.0±0.0	6.0±0.0	6.0±0.0

NBMK: *N. baytopii* metanol-kloroform ekstraktı, NBH: *N. baytopii* *n*-hekzan fraksiyonu, Fr: Fraksiyon, n:3

Tablo 4.24. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktın, kloroform ve ikinci fraksiyonların ve izolatların disk difüzyon metodu ile antimikrobiyal aktiviteleri

Örnekler ve Antibiyotik	Kodlar	İnhibisyon bölgeleri, mm					
		Gram-negatif bakteriler			Gram-pozitif bakteriler		
		<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>
Ham Ekstrakt	NBMK	-	-	-	-	14.00±1.41	-
Birinci fraksiyonlar	NBK	-	-	9.00±0.24	-	19.00±0.00	-
İkinci fraksiyonlar	NBKFr1	-	-	-	-	-	-
	NBKFr2	-	-	-	-	-	-
	NBKFr3	-	-	-	-	-	-
	NBKFr4	-	-	-	-	-	-
	NBKFr5	-	-	-	-	-	-
	NBKFr6	-	-	-	-	-	-
	NBKFr7	-	-	-	-	-	-
İzolatlar	β -sitosterol	-	-	-	-	-	-
Antibiyotik/	Amoksisilin	21.00±5.66	-	-	-	27.00±0.00	8.00±0.00
Kontrol	Tetrasiklin	31.00±0.00	32.00±0.00	31.00±0.00	32.00±0.00	37.00±0.00	31.00±0.00
	Kontrol	6.0±0.0	6.0±0.0	6.0±0.0	6.0±0.0	6.0±0.0	6.0±0.0

NBMK: *N. baytopii* metanol-kloroform ekstraktı, NBK: *N. baytopii* kloroform fraksiyonu, Fr: Fraksiyon, n:3

Tablo 4.25. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktın, etil asetat ve ikinci fraksiyonların ve izolatların disk difüzyon metodu ile antimikrobiyal aktiviteleri

Örnekler ve Antibiyotik	Kodlar	İnhibisyon bölgeleri, mm					
		Gram-negatif bakteriler			Gram-pozitif bakteriler		
		<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>
Ham Ekstrakt	NBMK	-	-	-	-	14.00±1.41	-
Birinci fraksiyonlar	NBE	-	-	-	-	25.00±0.00	-
İkinci fraksiyonlar	NBEFr1;2	-	-	-	-	-	-
	NBEFr3	-	-	-	-	-	-
	NBEFr4	-	-	-	-	-	-
	NBEFr5	-	-	-	-	-	-
	NBEFr6	-	-	-	-	-	-
	NBEFr7	-	-	-	-	-	-
	NBEFr8	-	-	-	-	-	-
	NBEFr9	-	-	-	-	-	-
	NBEFr10	-	-	-	-	-	-
İzolatlar	Ursolik asit	-	-	-	-	-	-
	Apigenin	-	-	-	-	-	-
	Molekül L	-	-	-	-	-	-
Antibiyotik/ Kontrol	Amoksisilin	21.00±5.66	-	-	-	27.00±0.00	8.00±0.00
	Tetrasiklin	31.00±0.00	32.00±0.00	31.00±0.00	32.00±0.00	37.00±0.00	31.00±0.00
	Kontrol	6.0±0.0	6.0±0.0	6.0±0.0	6.0±0.0	6.0±0.0	6.0±0.0

NBMK: *N. baytopii* metanol-kloroform ekstraktı, NBE: *N. baytopii* etil asetat fraksiyonu, Fr: Fraksiyon, n:3

Tablo 4.26. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktın, metanol ve ikinci fraksiyonların ve izolatların disk difüzyon metodu ile antimikrobiyal aktiviteleri

Örnekler ve Antibiyotik	Kodlar	İnhibisyon bölgeleri, mm					
		Gram-negatif bakteriler			Gram-pozitif bakteriler		
		<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>
Ham Ekstrakt	NBMK	-	-	-	-	14.00±1.41	-
Birinci fraksiyonlar	NBM	-	-	-	-	-	-
İkinci fraksiyonlar	NBMFr1	-	-	-	-	-	-
	NBMFr2	-	-	-	-	-	-
	NBMFr3	-	-	-	-	-	-
	NBMFr4	-	-	-	-	-	-
	NBMFr5	-	-	-	-	-	-
	NBMFr6	-	-	-	-	-	-
	NBMFr7	-	-	-	-	-	-
	NBMFr8	-	-	-	-	-	-
İzolatlar	Daukosterol	-	-	-	-	-	-
	İksorozit	-	-	10.00±0.00	9.00±0.00	-	11.00±1.41
Antibiyotik/ Kontrol	Amoksisilin	21.00±5.66	-	-	-	27.00±0.00	8.00±0.00
	Tetrasiklin	31.00±0.00	32.00±0.00	31.00±0.00	32.00±0.00	37.00±0.00	31.00±0.00
	Kontrol	6.0±0.0	6.0±0.0	6.0±0.0	6.0±0.0	6.0±0.0	6.0±0.0

:- Aktivite belirlenemedi, NBMK: *N. baytopii* metanol-kloroform ekstraktı, NBM: *N. baytopii* metanol fraksiyonu, Fr: Fraksiyon, n:3

Bejestani (2018) yaptığı çalışmada, *N. depauperata* metanol ekstraktının metanol fraksiyonunun disk difüzyon metodu ile yapılan antibakteriyel aktivitelerinin inhibisyon bölgelerini *P. aeruginosa*'ya karşı 12.58 ± 1.01 mm olarak belirlemiştir. Shinwari vd (2013) yaptıkları çalışmada, *N. leavigata*'nın metanol ekstraktının inhibisyon bölgelerini *E. coli*'ye karşı 7.00 mm ve *K. pneumoniae*'ye karşı 8.00 mm olarak gözlemlemiştir. Tez çalışmasında, *N. baytopii* ham ekstraktının ve metanol fraksiyonun *P. aeruginosa*'ya, *E. coli*'ye ve *K. pneumoniae*'ye karşı inhibisyon bölgelerinin değerleri daha düşük olarak belirlendi.

Avasthi vd (2017), *N. longibracteata*'nın *n*-hekzan, diklorometan, etil asetat ve su ekstraktlarının *E. coli* bakterisine karşı inhibisyon bölgeleri sırasıyla 20.33 ± 0.58 mm, 12.33 ± 0.57 , 10.67 ± 0.58 ve 10.67 ± 0.57 mm olarak ve *S. aureus* bakterisine karşı inhibisyon bölgeleri sırasıyla 21.67 ± 0.58 , 12.67 ± 1.15 , 10.33 ± 1.15 mm ve 10.33 ± 0.58 mm olarak belirlemiştir. Tez çalışmasında, *N. baytopii* *n*-hekzan, kloroform ve etil asetat fraksiyonun *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı inhibisyon bölgelerinin değerleri daha düşük olarak belirlendi.

Gutiérrez-Venegas vd (2019), apigeninin inhibisyon bölgelerini *E. coli* bakterisine karşı belirleyememiş ve *E. faecalis* ve *S. aureus* bakterilerine karşı ise 1.30 ± 0.45 ve 1.17 ± 0.03 mm olarak belirlemiştir. Nayaka vd (2014) yaptıkları çalışmada, *P. oleracea* L. toprak üstü kısmının petrol eteri ekstraktından izole edilen apigeninin inhibisyon bölgelerini *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae* bakterilerine karşı ise 12.24 ± 0.41 ve 10.52 ± 0.38 mm olarak bulmuştur. Tez çalışmasında, apigeninin *E. coli*, *E. faecalis* ve *S. aureus* bakterilerine karşı inhibisyon bölgelerinin değerleri daha düşük olarak belirlendi. Bunun sebebi, içerisinde az miktardaki safsızlıktan kaynaklanmaktadır.

Hidayathulla vd (2018), *Schimpera arabica* metanol ekstraktından izole edilen β -sitosterolün inhibisyon bölgelerini *P. aeruginosa*, *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı ise 20.30 ± 3.10 , 20.30 ± 2.60 ve 22.30 ± 2.40 mm olarak bulmuştur. Nweze vd (2019) yaptıkları araştırmada, *Punica granatum* Linn. metanol ekstraktından izole edilen β -sitosterolün inhibisyon bölgesini *E. coli* bakterisine karşı 35.00 mm olarak bulmuştur. Kumar vd (2016), *Helicteres isora* Linn. meyvesinin petrolyum eter ekstraktından izole edilen β -sitosterolün inhibisyon bölgesini *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *B. cereus* bakterilerine karşı 14.00, 13.00, 12.00 ve 10.00 mm olarak bulmuştur. Lee vd (2014) yaptıkları araştırmada, *Lycoris radiata* izole edilen β -

sitosterolün inhibisyon bölgelerini *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı 13.00, 15.00 mm ve daukosterolün ise 14.00 ve 9.00 mm olarak bulmuştur. Tez çalışmasında, β -sitosterolün *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *B. cereus* bakterilerine karşı daha düşük inhibisyon bölgesi belirlendi. Bunun sebebi, içerisinde az miktardaki safsızlıktan kaynaklanmaktadır.

Ahmad vd (2020) yaptıkları çalışmada, *N. deflersiana*'nın inhibisyon bölgelerini etanol ekstraktında *P. aeruginosa*'ya karşı 14.00 ± 0.47 , *K. pneumoniae*'ye karşı 11.00 ± 0.65 , aseton ekstraktında *K. pneumoniae*'ye karşı 13.00 ± 0.82 , etil asetat ekstraktında *K. pneumoniae*'ye karşı 13.00 ± 0.70 , *E. coli*'ye karşı 16.00 ± 0.22 mm olarak belirlemiştir. Bandh vd (2011) araştırmalarında, *N. cataria*'nın su ekstraktının 500 mg/mL' sinde inhibisyon bölgelerini *K. pneumoniae*'ye karşı 14.00 ± 0.03 , *P. aeruginosa*'ya karşı 10.00 ± 0.33 , *E. coli*'ye karşı 15.00 ± 0.88 , *S. aureus*'a karşı 20.00 ± 0.11 mm olarak bulmuştur.

Bisht vd (2010), *N. leucopylla*, *N. discolor*, *N. govaniana*, *N. clarkei*, *N. elliptica* ve *N. erecta*'nın inhibisyon bölgelerinin *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *S. aureus*'a karşı 9.00 ile 28.40 mm arasında değiştiğini belirlemiştir. Kariminejad vd (2014) yaptıkları çalışmada, *N. depauperata* metanol ekstraktının kloroform, metanol ve su alt fraksiyonlarının disk difüzyon metodu ile yapılan antibakteriyel aktivitelerinin inhibisyon bölgelerini *S. aureus*' ya karşı metanol ekstraktının 12.70 mm, kloroform alt fraksiyonunun 13.00 mm, metanol ve su alt fraksiyonlarının inhibisyon bölgeleri belirlenmemiş, *E. coli*'ye karşı inhibisyon bölgeleri gözlemlenmemiş ve *P. aeruginosa*'ya karşı metanol ekstraktının 13.30 mm, kloroform alt fraksiyonunun 18.00 mm, metanol alt fraksiyonunun 14.3 mm olarak belirlenmiş ve su alt fraksiyonunun inhibisyon bölgesi bulunmamıştır.

Cho vd (2012) yaptıkları çalışmada, *Parasenecio pseudotaimingasa* metanol ekstraktının *n*-hekzan ve *n*-bütanol fraksiyonlarının ve *n*-hekzan fraksiyonundan saflaştırılan β -sitosterol ve daukosterolün antibakteriyel aktivitelerini *E. coli*'ye karşı metanol ekstraktı için 11 mm, *n*-hekzan fraksiyonu için 14 mm, *n*-bütanol fraksiyonu için 14 mm, β -sitosterol için 12 mm ve daukosterol için 11 mm, *S. aureus*'a karşı metanol ekstraktı için 11 mm, *n*-hekzan fraksiyonu için 14 mm, *n*-bütanol fraksiyonu için 12 mm, β -sitosterol için 12 mm ve daukosterol için 12 mm olarak belirlemiştir. Tez çalışmasında, *N. baytopii* ham ekstraktı, metanol ve *n*-hekzan fraksiyonları ve β -sitosterol ve daukosterol moleküllerin, *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı inhibisyon

bölgelerinin değerleri daha düşük olarak belirlendi.

4.2.3.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon Metodu

N. baytopii ham ekstraktı, *n*-hekzan fraksiyonu ve ikinci fraksiyonların MİK metodu ile yapılan antibakteriyel aktiviteleri Tablo 4.27’de gösterildi. Ham ekstraktı bakterilerin hemen hepsine karşı aktivite gösterirken *n*-hekzan fraksiyonunu sadece *B. cereus* bakterisine karşı aktivite gösterdi. *n*-Hekzan ikinci fraksiyonları ise düşük aktivite gösterdi.

N. baytopii ham ekstraktı, kloroform fraksiyonu ve ikinci fraksiyonların MİK metodu ile yapılan antibakteriyel aktiviteleri Tablo 4.28’da gösterildi. Ham ekstraktı ve kloroform fraksiyonunu bakterilerin hemen hepsine karşı aktivite gösterirken kloroform ikinci fraksiyonları ise genel olarak düşük aktivite gösterdi ve NBKFr6 fraksiyonunun yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlendi. Saflaştırılan β -sitosterolün elde edildiği fraksiyondan daha yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlendi.

N. baytopii ham ekstraktı, etil asetat fraksiyonu ve ikinci fraksiyonların MİK metodu ile yapılan antibakteriyel aktiviteleri Tablo 4.29’da gösterildi. Ham ekstraktı ve etil asetat fraksiyonu bakterilerin hemen hepsine karşı aktivite gösterdi. Etil asetat ikinci fraksiyonları ise düşük aktivite gösterdi ve NBEFr10 fraksiyonu ise yüksek aktivite gösterdi. Saflaştırılan ursolik asit, apigenin ve Molekül L’nin aktiviteleri elde edildiği fraksiyonlardan düşük bulundu.

N. baytopii ham ekstraktı, metanol fraksiyonu ve ikinci fraksiyonların MİK metodu ile yapılan antibakteriyel aktiviteleri Tablo 4.30’de gösterildi. Ham ekstraktı bakterilerin hemen hepsine karşı aktivite gösterirken metanol fraksiyonu ve ikinci fraksiyonların düşük aktivite gösterdi. Saflaştırılan daukosterol ve iksorozitin aktivitesi elde edildiği fraksiyonlardan yüksek olduğu belirlendi.

Alkahtani vd (2022), *N. distans* metanol ekstraktının 300 mg/mL derişiminin MİK metodu ile yapılan antibakteriyel aktivitelerinin MİK değerlerini *E. coli*, *S. aureus* ve *K. pneumoniae* bakterilerine karşı sırasıyla 2, 6 ve 4 mg/mL ve kloroform fraksiyonun ise 4, 2 ve 6 mg/mL olarak bulmuştur. Tez çalışmasında, *N. baytopii* kloroform ve metanol fraksiyonun *E. coli*, *S. aureus* ve *K. pneumoniae* bakterilerine karşı MİK değerleri daha düşük olarak belirlendi.

Tablo 4.27. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktın, *n*-hekzan ve ikinci fraksiyonların ve izolatların MİKmetodu ile antimikrobiyal aktiviteleri

Örnek ve Antibiyotik	Kodlar	MİK, µg/mL					
		Gram-negatif bakteriler			Gram-pozitif bakteriler		
		<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>
Ham Ekstrakt	NBMK	128	256	128	128	1024	512
Birinci fraksiyonlar	NBH	4096	512	4096	1024	64	4096
İkinci fraksiyonlar	NBHFr1	512	512	512	512	512	512
	NBHFr2	512	512	512	512	512	512
	NBHFr3	512	512	512	512	512	512
	NBHFr4	512	512	512	512	512	512
	NBHFr5	512	512	512	512	512	512
	NBHFr6	512	512	512	512	512	512
	NBHFr7	512	512	512	512	512	512
	NBHFr8	512	512	512	512	512	512
	NBHFr9	512	512	512	512	512	512
Antibiyotik	Amoksisilin	1024	1024	1024	1024	<1	1024
	Tetrasiklin	8	<2	8	8	<0.5	8

NBMK: *N. baytopii* metanol-kloroform ekstraktı, NBH: *N. baytopii* *n*-hekzan fraksiyonu, Fr: Fraksiyon, n:3

Tablo 4.28. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktın, kloroform ve ikinci fraksiyonların ve izolatların MİKmetodu ile antimikrobiyal aktiviteleri

Örnek ve Antibiyotik	Kodlar	MİK, µg/mL					
		Gram-negatif bakteriler			Gram-pozitif bakteriler		
		<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>
Ham Ekstrakt	NBMK	128	256	128	128	1024	512
Birinci fraksiyonlar	NBK	128	256	512	128	128	128
İkinci fraksiyonlar	NBKFr1	512	512	512	512	512	512
	NBKFr2	512	512	512	512	512	512
	NBKFr3	512	512	512	512	512	512
	NBKFr4	512	512	512	512	512	512
	NBKFr5	128	256	256	256	256	256
	NBKFr6	128	128	256	256	256	256
	NBKFr7	512	256	256	256	256	256
İzolatlar	β -sitosterol	256	64	2	512	256	>512
Antibiyotik	Amoksisilin	1024	1024	1024	1024	<1	1024
	Tetrasiklin	8	<2	8	8	<0.5	8

NBMK: *N. baytopii* metanol-kloroform ekstraktı, NBK: *N. baytopii* kloroform fraksiyonu, Fr: Fraksiyon, n:3

Tablo 4.29. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktın, etil asetat ve ikinci fraksiyonların ve izolatların MİKmetodu ile antimikrobiyal aktiviteleri

Örnek ve Antibiyotik	Kodlar	MİK, µg/mL					
		Gram-negatif bakteriler			Gram-pozitif bakteriler		
		<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>
Ham Ekstrakt	NBMK	128	256	128	128	1024	512
Birinci fraksiyonlar	NBE	1024	512	1024	2048	256	2048
İkinci fraksiyonlar	NBEFr1;2	512	512	512	512	256	256
	NBEFr3	512	512	512	512	512	512
	NBEFr4	512	512	512	512	512	256
	NBEFr5	256	512	512	512	512	256
	NBEFr6	512	512	512	512	512	256
	NBEFr7	512	512	512	512	512	512
	NBEFr8	512	512	512	512	512	256
	NBEFr9	512	512	512	512	512	256
	NBEFr10	256	512	256	512	256	256
İzolatlar	Ursolik asit	>512	512	>512	512	512	>512
	Apigenin	512	512	512	512	512	512
	Molekül L	>512	>512	512	512	128	>512
Antibiyotik	Amoksisilin	1024	1024	1024	1024	<1	1024
	Tetrasiklin	8	<2	8	8	<0.5	8

NBMK: *N. baytopii* metanol-kloroform ekstraktı, NBE: *N. baytopii* etil asetat fraksiyonu, Fr: Fraksiyon, n:3

Tablo 4.30. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktın, metanol ve ikinci fraksiyonların ve izolatların MİKmetodu ile antimikrobiyal aktiviteleri

Örnek ve Antibiyotik	Kodlar	MİK, µg/mL					
		Gram-negatif bakteriler			Gram-pozitif bakteriler		
		<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>
Ham Ekstrakt	NBMK	128	256	128	128	1024	512
Birinci fraksiyonlar	NBM	1024	1024	1024	256	512	4096
İkinci fraksiyonlar	NBMFr1	512	512	512	512	512	512
	NBMFr2	512	256	512	512	>512	512
	NBMFr3	512	512	512	512	512	512
	NBMFr4	512	512	512	512	512	512
	NBMFr5	512	512	512	512	512	512
	NBMFr6	512	512	512	512	512	512
	NBMFr7	512	512	512	512	512	512
	NBMFr8	512	512	512	512	512	512
İzolatlar	Daukosterol	256	>512	>512	32	512	>512
	İksorozit	128	512	512	128	512	>512
Antibiyotik	Amoksisilin	1024	1024	1024	1024	<1	1024
	Tetrasiklin	8	<2	8	8	<0.5	8

NBMK: *N. baytopii* metanol-kloroform ekstraktı, NBM: *N. baytopii* metanol fraksiyonu, Fr: Fraksiyon, n:3

Anićić vd (2020) yaptıkları çalışmada, *N. rtanjensis* metanol ekstraktının MİK metodu ile yapılan antibakteriyel aktivitelerinin MİK değerlerini *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus*, *E. faecalis* ve *P. aeruginosa* bakterilerine karşı sırasıyla 0.20, 0.15, 0.20, 0.40, 0,10 mg/mL ve *N. argolica* metanol ekstraktının ise sırasıyla 0.15, 0.20, 0.20, 0.30, 0,30 mg/mL olarak kaydetmiştir. Khaladgi vd (2018) araştırmalarında, *N. binaludensis*'in toprak üstü % 50 metanol:su ve etil asetat ekstraktlarının MİK değerlerini *S. aureus*'a karşı 29.3 ve 4.0 mg/mL olarak gözlemlemişlerdir. Tez çalışmasında, *N. baytopii* ham ekstraktının ve etil asetat fraksiyonunun MİK metodu ile yapılan antimikrobiyal aktivitelerinin *S. aureus* 'a karşı yüksek olduğu belirlendi.

Kariminejad vd (2014) yaptıkları çalışmada, *N. depauperata* metanol ekstraktının kloroform ve metanol alt fraksiyonlarının MİK metodu ile yapılan antibakteriyel aktivitelerinin *S. aureus* ve *P. aeruginosa* 'ya karşı metanol ekstraktı, kloroform ve metanol alt fraksiyonlarının MİK değerleri 500 ile 1000 mg/mL arasında değiştiğini belirlemiştir. Petrova vd (2022), *N. nuda*'nın metanol ekstraktının *K. pneumoniae*, *B. cereus* ve *S. aureus* bakterilerine karşı MİK değerleri sırasıyla 5, 1.25 ve 5 mg/mL olarak hesaplamıştır. Tez çalışmasında, *N. baytopii* ham ekstraktının ve metanol fraksiyonunun antimikrobiyal aktivitelerinin *K. pneumoniae*, *B. cereus*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* 'ya karşı yüksek olduğu gözlemlendi.

Sharifi-Rad vd (2020) tarafından yapılan *N. juncea*'nın yaprak, çiçek ve kök kısımlarının metanol, etanol ve su ekstraktlarının MİK değerleri *E. coli*, *S. aureus* ve *B. cereus*'a karşı 25 ile 100 µg/mL arasında değiştiğini gözlemlemiştir. Avasthi vd (2017) yaptıkları çalışmada, *N. longibracteata*'nın *n*-hekzan ekstraktının *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı MİK değerleri her ikisi içinde 125 µg/mL olarak bildirmiştir. Tez çalışmasında, *N. baytopii* ham ekstraktının ve metanol fraksiyonunun antimikrobiyal aktivitelerinin *E. coli*, *S. aureus* ve *B. cereus*'a karşı düşük olduğu kaydedildi.

Nayaka vd (2014) yaptıkları çalışmada, *P. oleracea* L. toprak üstü kısmının petrol eteri ekstraktından izole edilen apigeninin MİK değerlerini *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae* bakterilerine karşı >4 mg/mL olarak bulmuştur. Özçelik vd (2011), apigeninin MİK değerlerini *E. coli*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae* bakterilerine karşı 4, 16, 8, 2 ve 8 µg/mL olarak bulmuştur. Tez çalışmasında, apigeninin MİK değeri daha düşük olarak kaydedildi. Bunun nedeni, içerdiği safsızlıklardan kaynaklı olabilir.

Sanches vd (2005), *Psidium guajava*’dan izole edilen β -sitosterolün MİK değerlerini *K. pneumoniae*, *E. faecalis* ve *S. aureus* bakterilerine karşı üçü için de <100 $\mu\text{g/mL}$ olarak bulmuştur. Nweze vd (2019) yaptıkları araştırmada, *Punica granatum* Linn. metanol ekstraktından izole edilen β -sitosterolün MİK değerlerini *E. coli* bakterisine karşı 6.25 $\mu\text{g/mL}$ olarak bulmuştur. Tez çalışmasında, β -sitosterolün *K. pneumoniae* bakterisine karşı daha yüksek MİK değeri belirlenirken *E. coli*, *E. faecalis* ve *S. aureus* bakterilerine karşı daha düşük belirlendi.

Cunha vd (2010), *Miconia ligustroides* metilen klorür ekstraktından izole edilen ursolik asidin MİK değerlerini *K. pneumoniae* ve *B. cereus*’a karşı >1000 ve 625 $\mu\text{g/mL}$ olarak gözlemlemiştir. Fontanay vd (2008) yaptıkları araştırmada, ursolik asidin MİK değerlerini *E. coli*, *S. aureus*, *E. faecalis* ve *P. aeruginosa*’a karşı >256, 8, 4 ve 256 $\mu\text{g/mL}$ olarak gözlemlemiştir. Oloyede vd (2017) yaptıkları çalışmada, ursolik asidin MİK değerlerini *E. coli*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa*’a karşı 256, 64 ve 256 $\mu\text{g/mL}$ olarak gözlemlemiştir. Do Nascimento vd (2014), ursolik asidin MİK değerlerini *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus*, *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa*’a karşı 64 ile ≥ 1024 $\mu\text{g/mL}$ arasında değiştiğini gözlemlemiştir. Tez çalışmasında, ursolik asidin MİK değerleri daha düşük olarak bulundu. Bunun nedeni, içerdiği safsızlıktan kaynaklı olmaktadır.

4.2.4. DNA Koruma İle İlgili Aktivite Sonuçları

4.2.4.1. Deoksiriboz Koruma Aktiviteleri

Demir, $\cdot\text{OH}$ radikallerinin oluşumunda ve canlı organizmalarda oksidatif strese rol oynar. Demir-katalizli $\cdot\text{OH}$ radikal oluşumu, deoksiribozu tiyobarbitürik asit-reaktif maddelere (TBARS) indirgemektedir. Askorbat varlığında Fe(III)-EDTA-katalizli reaksiyonlarda deoksiriboz degradasyonuna yol açar (Hermes-Lima vd, 1994). Deoksiriboz koruma aktivitesi hidroksil radikalının deoksiribozun yapısını bozarak malonaldehit türevli molekül oluşturması ve oluşan bu molekülün ortama eklenen TBA ile pembe renkli kompleksin spektrofotometrik olarak 532 nm’de ölçümüne dayanmaktadır (Motamed ve Naghibi, 2010; Özyürek vd, 2008).

Tablo 4.31. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktın, birinci ve ikinci fraksiyonların ve izolatların deoksiriboz koruma aktiviteleri

Örnek ve Standart	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)	Kodlar	IC ₅₀ (µg/mL)
Ham Ekstrakt	NBMK	132.01±0.67 ^k	NBMK	132.01±0.67 ^l	NBMK	132.01±0.67 ⁿ	NBMK	132.01±0.67 ^m
Birinci fraksiyonlar	NBH	34.82±0.60 ^f	NBK	34.00±0.49 ^f	NBE	13.23±0.04 ^e	NBM	24.29±0.49 ^h
İkinci fraksiyonlar	NBHF1	4.98±0.08 ^b	NBKFr1	7.54±0.36 ^a	NBEFr1;2	8.15±0.16 ^d	NBMFr1	12.02±0.03 ^f
	NBHF2	16.94±1.04 ^d	NBKFr2	68.14±0.38 ^j	NBEFr3	11.98±0.58 ^b	NBMFr2	6.82±0.71 ^c
	NBHF3	23.96±0.47 ^e	NBKFr3	17.42±0.18 ^b	NBEFr4	2.53±0.75 ^{ab}	NBMFr3	3.97±0.37 ^a
	NBHF4	33.73±0.87 ^f	NBKFr4	26.02±1.10 ^d	NBEFr5	5.43±0.92 ^c	NBMFr4	3.03±0.04 ^a
	NBHF5	8.06±0.30 ^b	NBKFr5	13.48±0.18 ^b	NBEFr6	8.59±0.70 ^d	NBMFr5	9.23±0.29 ^e
	NBHF6	2.13±0.47 ^a	NBKFr6	30.03±0.23 ^e	NBEFr7	5.48±0.49 ^c	NBMFr6	4.71±0.88 ^b
	NBHF7	3.19±0.86 ^b	NBKFr7	19.64±2.08 ^c	NBEFr8	29.33±1.40 ⁱ	NBMFr7	8.29±0.70 ^d
	NBHF8	6.11±0.59 ^c			NBEFr9	21.37±1.17 ^g	NBMFr8	21.68±0.58 ^g
	NBHF9	39.92±1.02 ^g			NBEFr10	22.80±0.28 ^g		
İzolatlar			β-sitosterol	7.25±0.08 ^a	Ursolik asit	1.95±0.55 ^a	Daukosterol	12.62±0.35 ^f
					Apigenin	24.42±1.58 ^h	İksorozit	4.12±0.52 ^b
					Molekül L	18.73±0.83 ^f		
Standart Maddeler	BHA	53.12±1.02 ⁱ		53.12±1.02 ⁱ		53.12±1.02 ^l		53.12±1.02 ^k
	BHT	150.54±0.59 ^l		150.54±0.59 ^m		150.54±0.59 ^o		150.54±0.59 ⁿ
	Troloks	104.66±1.70 ^j		104.66±1.70 ^k		104.66±1.70 ^m		104.66±1.70 ^l
	TBHQ	41.30±1.35 ^g		41.30±1.35 ^g		41.30±1.35 ^j		41.30±1.35 ⁱ
	α-tokoferol	45.38±1.62 ^h		45.38±1.62 ^h		45.38±1.62 ^k		45.38±1.62 ^j
	Askorbik asit	-		-		-		-

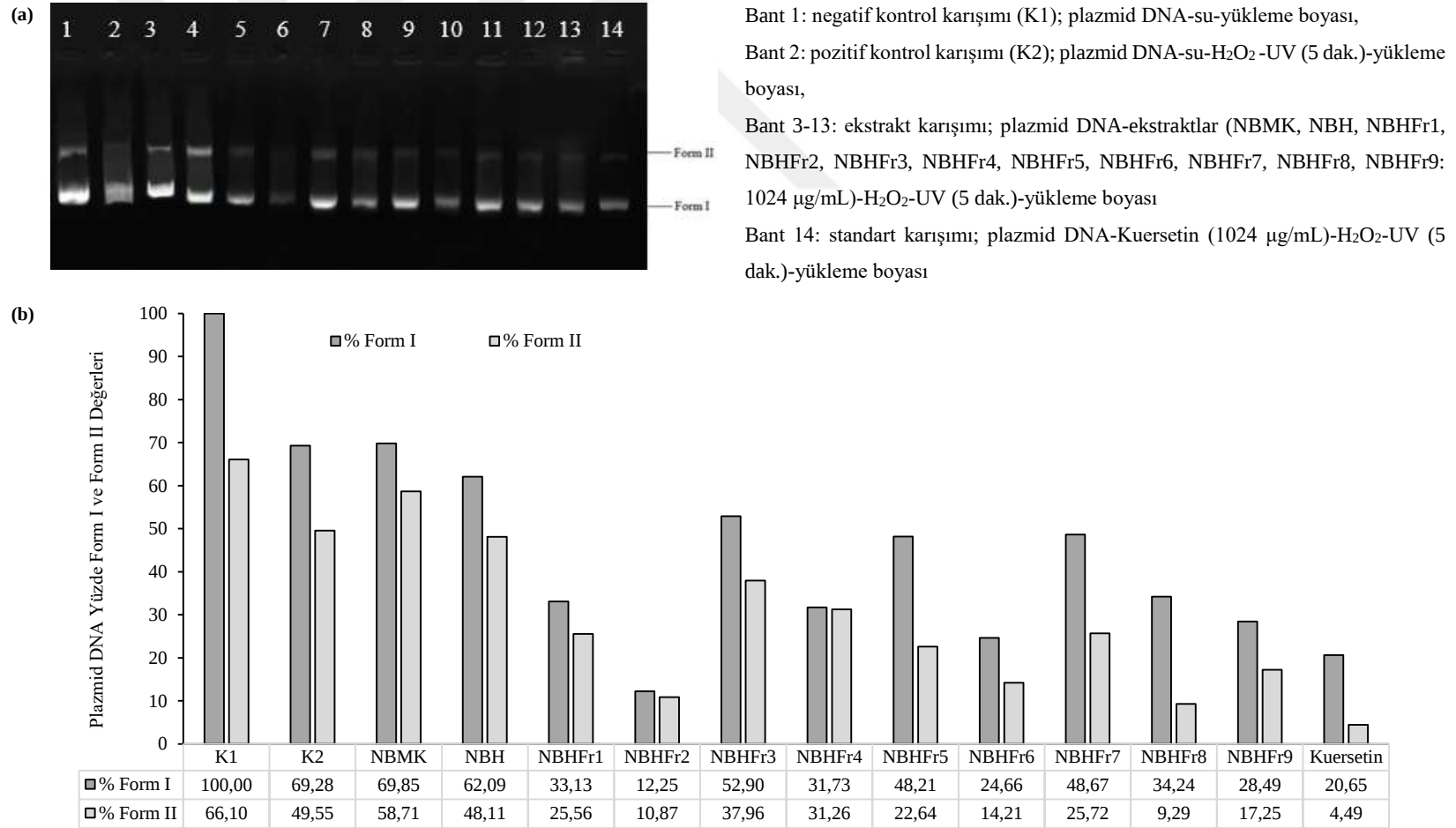
NBMK: *N. baytopii* metanol-kloroform ekstraktı, NBH: *N. baytopii* n-hekzan fraksiyonu, NBK: *N. baytopii* kloroform fraksiyonu, NBE: *N. baytopii* etil asetat fraksiyonu, NBM: *N. baytopii* metanol fraksiyonu, Fr: Fraksiyon, n:3

Farklı harfli ortalamalar (a,b,c, vs.) istatistiksel olarak anlamlı bir farkı göstermektedir ($p<0.05$)

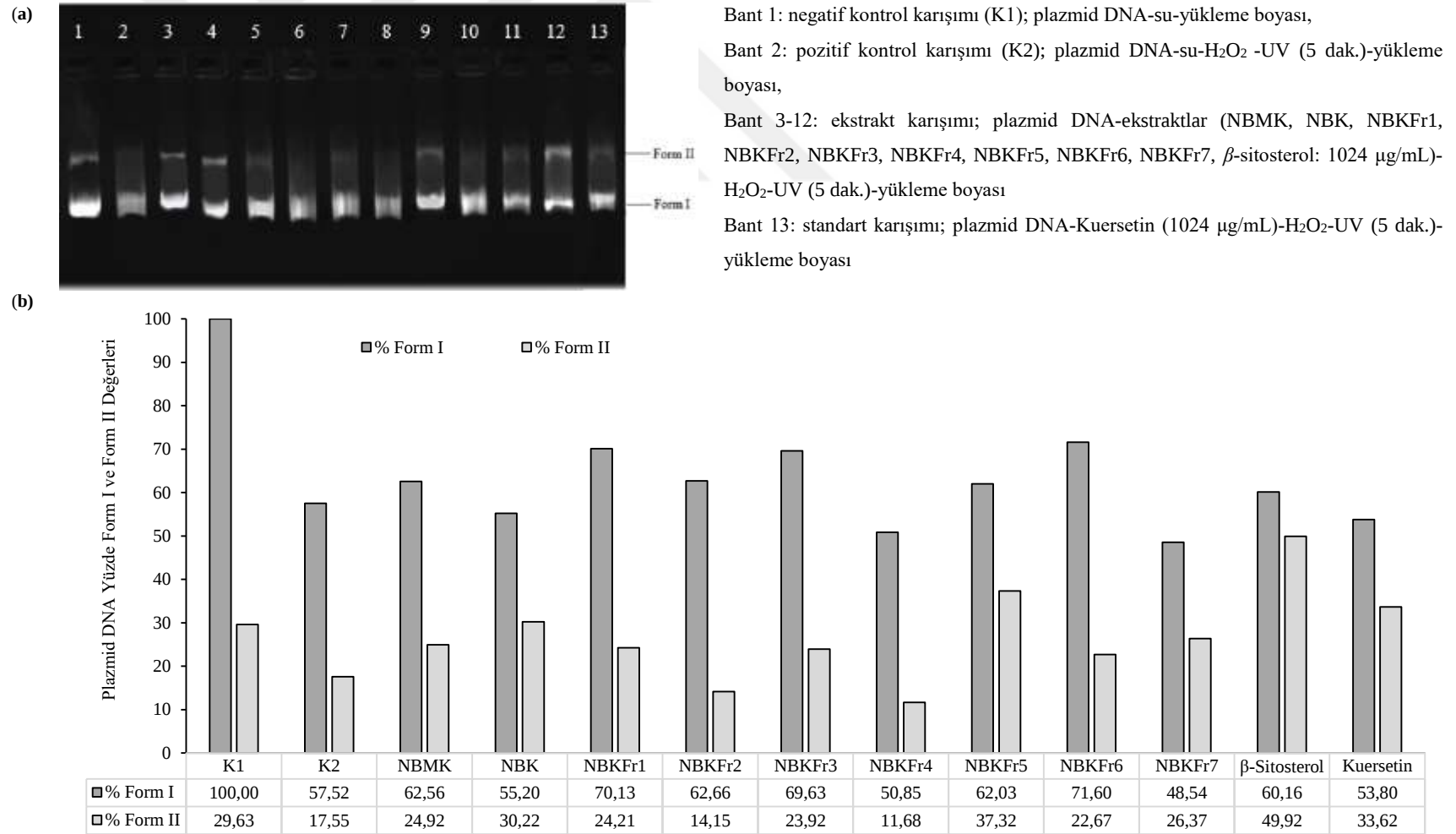
N. baytopii ham ekstraktı, birinci ve ikinci fraksiyonları ve izolatların deoksiriboz koruma aktiviteleri Tablo 4.31’de gösterildi. Ham ekstraktın deoksiriboz koruma aktiviteleri standartla karşılaştırıldığında düşük aktivite gösterirken *n*-hekzan, kloroform, etil asetat ve metanol fraksiyonları ise yüksek aktivite gösterdi. Ayrıca, ikinci fraksiyonlarının aktiviteleri ise yüksek olarak belirlendi. En yüksek aktivite ise NBHFr6 (2.13 ± 0.47 µg/mL), NBKFr1 (7.54 ± 0.36 µg/mL), NBEFr4 (2.53 ± 0.75 µg/mL) ve NBMFr4 (3.03 ± 0.04 µg/mL) fraksiyonlarında belirlendi. Ek olarak, NBHFr7, NBHFr1, NBHFr5, NBKFr5, NBKFr3, NBKFr7, NBEFr5, NBEFr7, NBEFr1;2, NBMFr3, NBMFr6 ve NBMFr2 fraksiyonlarının aktiviteleri standartlardan ve ikinci fraksiyonlardan daha yüksek olarak belirlendi. Saflaştırılan apigenin, Molekül L, iksorozit ve daukosterol aktiviteleri elde edildiği fraksiyonlardan daha düşüktür. Buna rağmen, β -sitosterol ve ursolik asit moleküllerinin aktivitesi yüksektir.

4.2.4.2. Jel Elektroforezle DNA Koruma Aktiviteleri

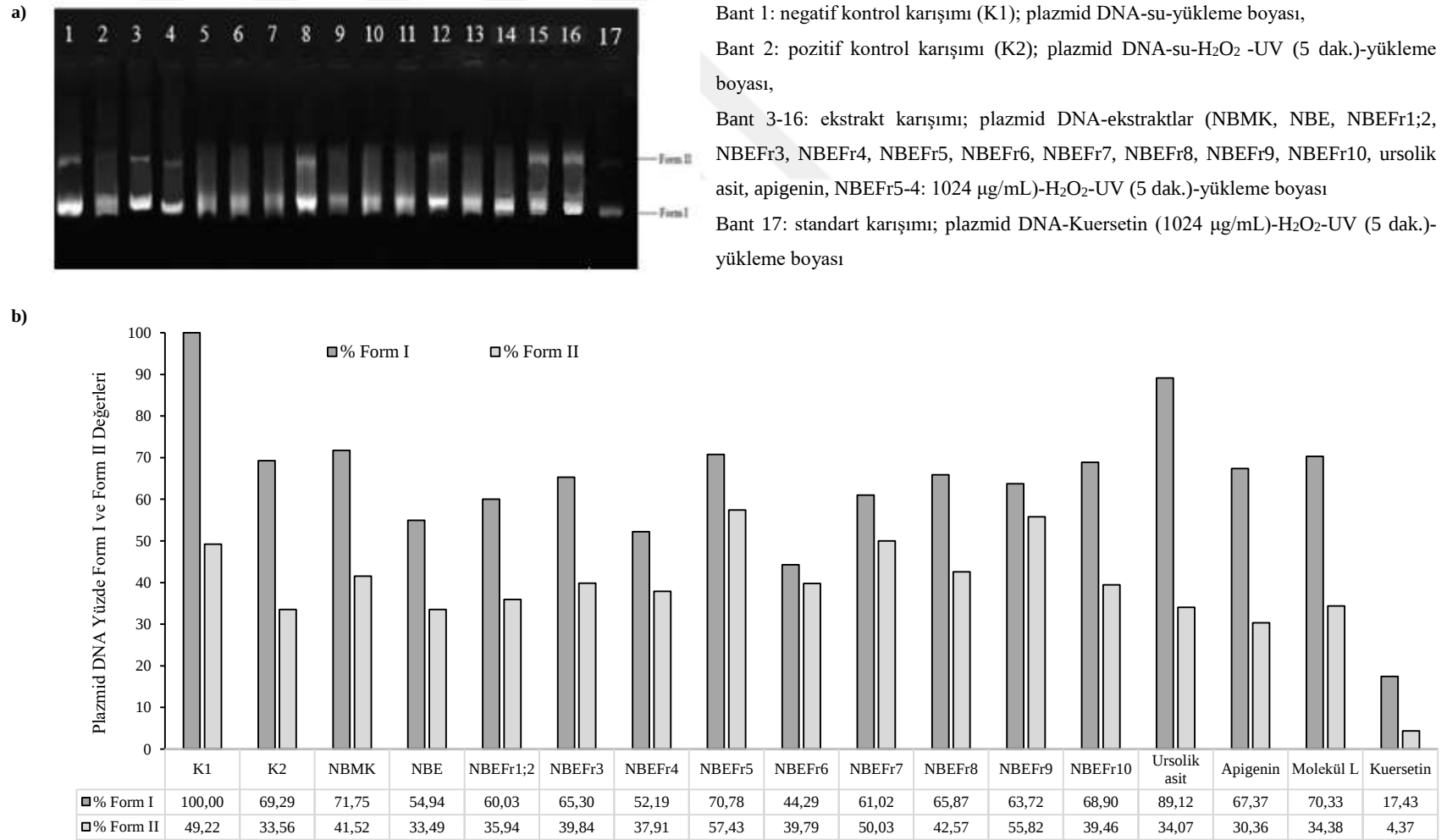
DNA moleküllerinin analizinde sık kullanılan yöntemlerden bir tanesi de agaroz jel elektroforezidir. Agaroz jelde örnekler yatay pozisyonda, sabit güç ve yöndeki elektriksel alanda yürütülmektedir. DNA şeker fosfat omurgasından dolayı negatif yüklüdür ve bir elektriksel alana konulduğu zaman bu negatif yükünden dolayı anottan katoda doğru hareket eder (Topal, 2012). DNA koruma aktivitesi agaroz jel elektroforezi metodu kullanılarak tayin edildi (Baiseitova vd, 2019; Russo vd, 2003; Sevgi vd, 2015; Tepe vd, 2011). *N. baytopii* ham ekstraktı, *n*-hekzan fraksiyonu ve ikinci fraksiyonların DNA koruma aktiviteleri Şekil 4.5’de gösterildi. Ham ekstraktın DNA koruma aktivitesi kontrol 2 (K2) ile karşılaştırıldığında aynı oranda DNA’yı koruduğu gözlenirken *n*-hekzan fraksiyonunda ise K2’ye göre aktivitenin azaldığı gözlemlendi. *n*-Hekzan fraksiyonuna kıyasla ikinci fraksiyonların aktivitesinde düşüş olduğu belirlendi. Buna rağmen ikinci fraksiyonlar arasında en yüksek aktivite NBHFr3 ve NBHFr7 fraksiyonlarında gözlemlendi.



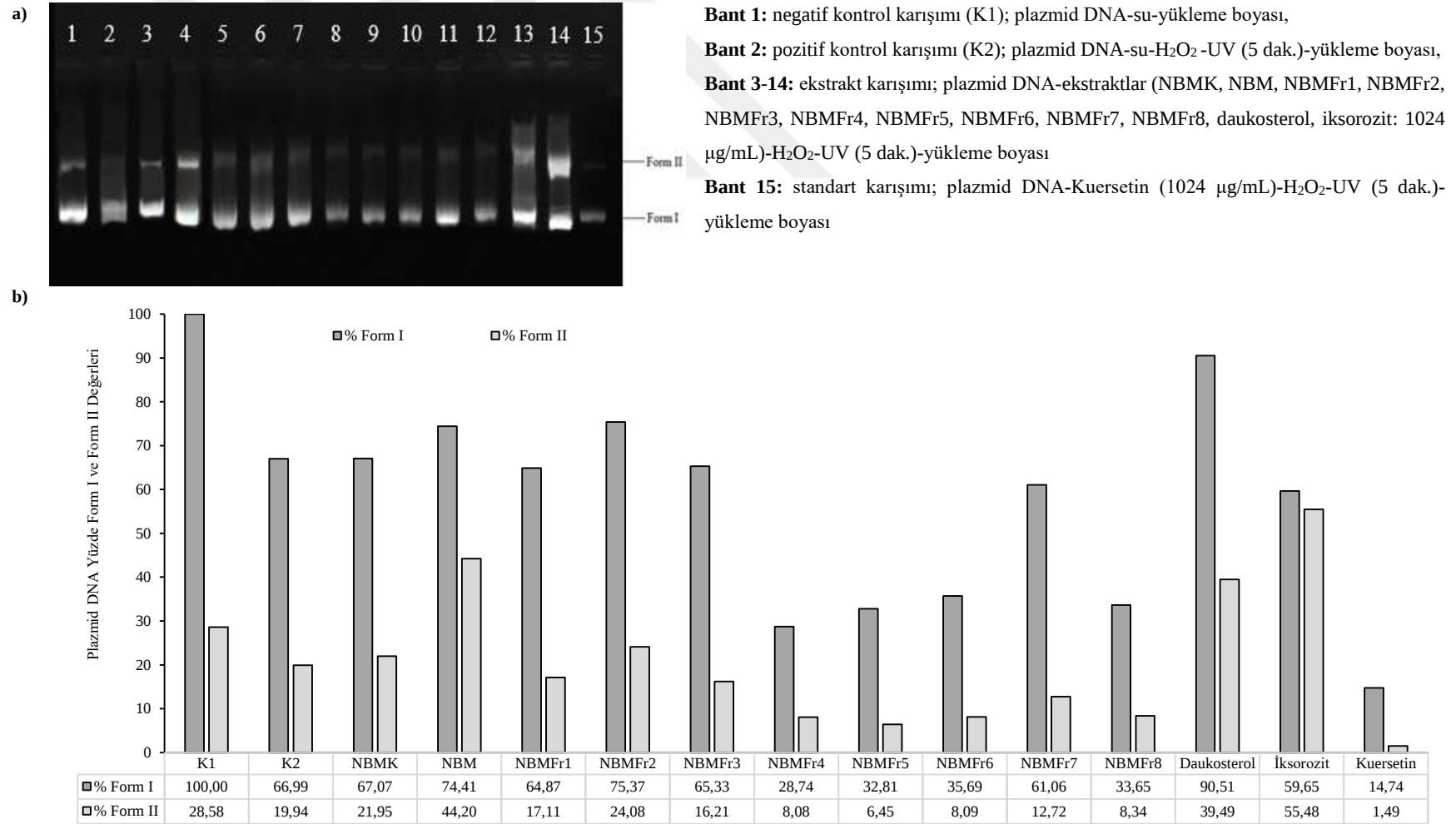
Şekil 4.5. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktın, *n*-hekzan ve ikinci fraksiyonların ve izolatların DNA koruma aktivitesi, Agaroz jel görüntüsü (a), Plazmid DNA' nın form I (süper kıvrımlı çembersel DNA) ve form II (kesik DNA) etki yoğunluğunun yüzde karşılaştırması (b)



Şekil 4.6. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktı, kloroform ve ikinci fraksiyonları ve izolatların DNA koruma aktivitesi, Agaroz jel görüntüsü (a), Plazmid DNA' nın form I (süper kıvrımlı çembersel DNA) ve form II (kesik DNA) etki yoğunluğunun yüzde karşılaştırması (b)



Şekil 4.7. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktı, etil asetat ve ikinci fraksiyonları ve izolatların DNA koruma aktivitesi, Agaroz jel görüntüsü (a), Plazmid DNA' nın form I (süper kıvrımlı çembersel DNA) ve form II (kesik DNA) etki yoğunluğunun yüzde karşılaştırması (b)



Şekil 4.8. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktı, metanol ve ikinci fraksiyonları ve izolatların DNA koruma aktivitesi, Agaroz jel görüntüsü (a), Plazmid DNA' nın form I (süper kıvrımlı çembersel DNA) ve form II (kesik DNA) etki yoğunluğunun yüzde karşılaştırması (b)

N. baytopii ham ekstraktı, kloroform fraksiyonu ve ikinci fraksiyonların DNA koruma aktiviteleri Şekil 4.6’da gösterildi. Ham ekstraktın DNA koruma aktivitesi K2 ile karşılaştırıldığında yüksek oranda DNA’yı koruduğu gözlenirken kloroform fraksiyonunda ise K2’ye göre aktivitenin azaldığı gözlemlendi. Kloroform fraksiyonuna kıyasla ikinci fraksiyonların aktivitesinin genel olarak yüksek olduğu belirlendi ve NBKFr6 fraksiyonunun aktivitesinin en yüksek olduğu saptandı. Bunun dışında NBKFr1, NBKFr2 ve NBKFr3 fraksiyonlarının da aktivitelerinin yüksek olduğu belirlendi. Saflaştırılan β -sitosterolün aktivitesi, elde edildiği fraksiyondan düşük bulundu.

N. baytopii ham ekstraktı, etil asetat fraksiyonu ve ikinci fraksiyonların DNA koruma aktiviteleri Şekil 4.7’de gösterildi. Ham ekstraktın DNA koruma aktivitesi K2 ile karşılaştırıldığında yüksek oranda DNA’yı koruduğu gözlenirken etil asetat fraksiyonunda ise K2’ye göre aktivitenin azaldığı gözlemlendi. Etil asetat fraksiyonuna kıyasla ikinci fraksiyonların aktivitesinin genel olarak yüksek olduğu belirlendi ve NBEFr3 fraksiyonunun aktivitesinin en yüksek olduğu saptandı. Saflaştırılan ursolik asidin, apigeninin ve Molekül L’nin aktivitesi de elde edildiği fraksiyonlardan yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlendi.

N. baytopii ham ekstraktı, metanol ve ikinci fraksiyonların DNA koruma aktiviteleri Şekil 4.8’de gösterildi. Ham ekstraktın DNA koruma aktivitesi K2 ile karşılaştırıldığında düşük oranda gözlenirken metanol fraksiyonunda ise K2’ye göre aktivitenin arttığı gözlemlendi. Metanol fraksiyonuna kıyasla ikinci fraksiyonların aktivitesinin genel olarak düşük olduğu belirlendi ve NBMFr2 fraksiyonunun aktivitesinin en yüksek olduğu saptandı. Bunun dışında NBMFr1, NBMFr3 ve NBMFr7 fraksiyonlarının aktivitesinin yüksek olduğu belirlendi. Saflaştırılan daukosterolün aktivitesi, elde edildiği fraksiyondan yüksek olarak belirlenirken iksorozitin aktivitesi düşük bulundu.

Savci vd (2020)’nın *N. transcaucasica* ekstraktı ile ilgili araştırmasında, ekstrakt tek başına uygulandığında DNA’yı koruduğunu ama H₂O₂ eklendiğinde ise koruyamadığını ortaya koymuştur. Guha vd (2011)’nin yaptıkları çalışmada, *Lamiaceae* familyasına ait *Leucas aspera* bitkisinin su ekstraktının DNA’yı daha iyi koruduğu belirlenmiştir. Hamza vd (2016) yaptıkları çalışmada, *Lamiaceae* familyasına ait bitkilerin uçucu yağlarının plazmid DNA’yı kararlı hale getirdiğini bulmuştur. Tepe vd (2011) araştırmalarında, *Lamiaceae* familyasına ait bitkilerden

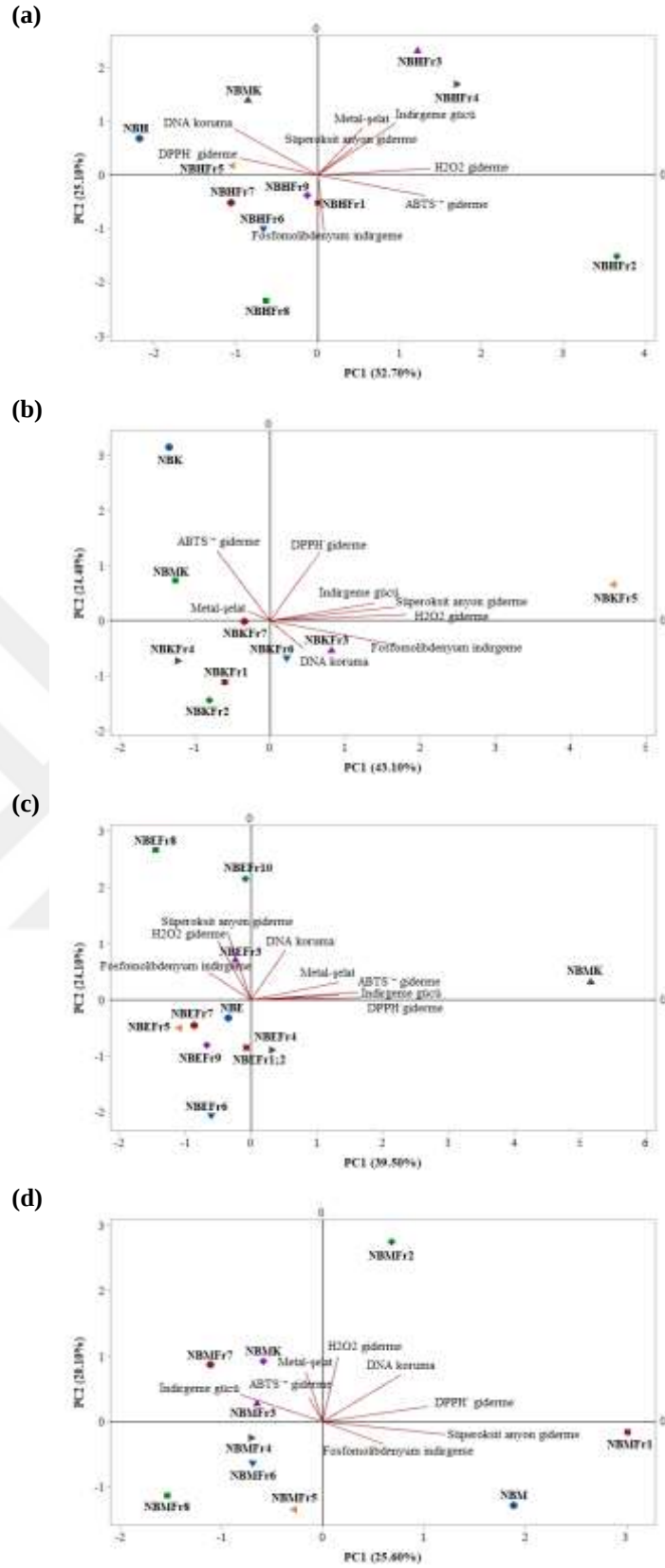
elde edilen su ekstraktlarının H_2O_2 ve UV ışınına maruz bırakılarak hasara uğratılan pBR322 plazmid DNA'yı koruyucu etkisinin olduğunu belirlemiştir.

4.3. Temel Bileşen Analizi ile *N. baytopii* Ham Ekstraktın ve Fraksiyonların Aktivite Sonuçlarının Arasındaki İlişkinin Belirlenmesi

4.3.1. Antioksidan ve DNA Koruma Aktiviteleri Arasındaki İlişki

Temel bileşen analizinde, toplam varyasyonun %57.80'ini açıklamıştır; burada PC1, %32.70'unu ve PC2, %25.10'ını açıklamaktadır (Şekil 4.9.a). PC1 ve PC2'nin pozitif tarafındaki bölge, NBHFr3 ve NBHFr4'ü içermektedir ve bu fraksiyonlar yüksek indirgeme gücü, metal şelat, H_2O_2 giderme ve süperoksit anyonu giderme aktivitelerine sahiptir. PC1'in pozitif tarafındaki sağ alt bölge, NBHFr1 ve NBHFr2'i içermektedir ve bu fraksiyonlar ise yüksek fosfomolibdenyum indirgeme ve ABTS^{•+} giderme aktivitelerine sahiptir. PC1'in pozitif ve PC2'nin negatif tarafındaki bölge, NBHFr3 ve NBHFr4'ü içermektedir ve bu fraksiyonlar yüksek indirgeme gücü, metal şelat, H_2O_2 giderme ve süperoksit anyonu giderme aktivitelerine sahiptir. PC1'in negatif ve PC2'nin pozitif tarafındaki bölge, NBMK, NBH ve NBHFr5'i içermektedir ve bu fraksiyonlar ise yüksek DPPH[•] giderme ve DNA koruma aktivitelerine sahiptir. Bu biplot grafiğinden de anlaşılacağı üzere NBHFr3, NBHFr4 ve NBHFr5 fraksiyonlarından biyoaktivite yönlendirmeli izolasyon yapılarak isolatlar elde edilebilir. Ancak öngörülen bu biplot grafiğindeki fraksiyonlardan isolat elde edilemedi.

Temel bileşen analizinde, toplam varyasyonun %67.50'ini açıklamıştır; burada PC1, %43.10'unu ve PC2, %24.40'ını açıklamaktadır (Şekil 4.9.b). PC1 ve PC2'nin pozitif tarafındaki bölge, NBKFr5'i içermektedir ve bu fraksiyon yüksek süperoksit anyonu giderme ve H_2O_2 giderme aktivitelerine sahiptir. PC1'in pozitif ve PC2'nin negatif tarafındaki bölge, NBKFr3 ve NBKFr6'yı içermektedir ve bu fraksiyonlar yüksek fosfomolibdenyum indirgeme ve DNA koruma aktivitesine sahiptir. Bu biplot grafiğinden de anlaşılacağı üzere NBKFr3, NBKFr5 ve NBKFr6 fraksiyonlarından biyoaktivite yönlendirmeli izolasyon yapılarak isolatlar elde edilebilir. Öngörülen bu sonuca göre, NBKFr3 fraksiyonundan β -sitosterol molekülü izole edilmiştir.



Şekil 4.9. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktı, *n*-hekzan (a), kloroform (b), etil asetat (c) ve metanol (d) birinci ve ikinci fraksiyonların antioksidan ve DNA koruma aktivitelerinin temel bileşen analizi

Temel bileşen analizinde, toplam varyasyonun %63.60'ini açıklamıştır; burada PC1, %39.50'sini ve PC2, %24.10'unu açıklamaktadır (Şekil 4.9.c). PC1'in negatif ve PC2'nin pozitif tarafındaki bölge, NBEFr3, NBEFr8 ve NBEFr10'u içermektedir ve bu fraksiyonlar yüksek fosfomolibdenyum indirgeme, süperoksit anyon giderme ve H₂O₂ giderme aktivitelerine sahiptir. Bu biplot grafiğinden de anlaşılabacağı üzere NBEFr3, NBEFr8 ve NBEFr10 fraksiyonlarından biyoaktivite yönlendirmeli izolasyon yapılarak izolatlar elde edilebilir. Öngörülen bu sonuca göre, NBEFr3 fraksiyonundan apigenin molekülü izole edilmiştir.

Temel bileşen analizinde, toplam varyasyonun %45.70'ini açıklamıştır; burada PC1, %25.60'ını ve PC2, %20.10'unu açıklamaktadır (Şekil 4.9.d). PC1 ve PC2'nin pozitif tarafındaki bölge, NBMFr2'i içermektedir ve bu fraksiyon yüksek H₂O₂ giderme, DPPH[•] giderme ve DNA koruma aktivitelerine sahiptir. PC1'in pozitif ve PC2'nin negatif tarafındaki bölge, NBMFr1'i içermektedir ve bu fraksiyon yüksek süperoksit anyon giderme ve fosfomolibdenyum indirgeme aktivitelerine sahiptir. PC1'in negatif ve PC2'nin pozitif tarafındaki bölge, NBMFr3 ve NBMFr7'i içermektedir ve bu fraksiyonlar ise yüksek indirgeme gücü kapasitesine, metal şelat ve ABTS^{•+} giderme aktivitelerine sahiptir. Bu biplot grafiğinden de anlaşılabacağı üzere NBMFr2, NBMFr3, NBMFr1 ve NBMFr7 fraksiyonlarından biyoaktivite yönlendirmeli izolasyon yapılarak izolatlar elde edilebilir. Öngörülen bu sonuca göre, NBMFr3 fraksiyonundan daukosterol molekülü izole edilmiştir.

4.3.2. Enzim İnhibisyonları Arasındaki İlişki

Temel bileşen analizinde, toplam varyasyonun %64.50'ini açıklamıştır; burada PC1, %34.50'ini ve PC2, %30.00'unu açıklamaktadır (Şekil 4.10.a). PC1 ve PC2'nin pozitif tarafındaki bölge, NBHFr5, NBHFr7 ve NBHFr8'i içermektedir ve bu fraksiyonlar yüksek BChE, lipaz ve tirozinaz inhibisyon aktivitelerine sahiptir. PC1'in pozitif ve PC2'nin negatif tarafındaki bölge, NBHFr9'u içermektedir ve bu fraksiyon ise yüksek AChE, KA ve α -glukozidaz inhibisyon aktivitelerine sahiptir. Bu biplot grafiğinden de anlaşılabacağı üzere NBHFr5, NBHFr7, NBHFr8 ve NBHFr9 fraksiyonlarından biyoaktivite yönlendirmeli izolasyon yapılarak izolatlar elde edilebilir. Ancak öngörülen bu biplot grafiğindeki fraksiyonlardan izolat elde edilemedi.

Temel bileşen analizinde, toplam varyasyonun %53.10'ini açıklamıştır; burada PC1, %30.30'unu ve PC2, %22.80'unu açıklamaktadır (Şekil 4.10.b). PC1'in ve

PC2'nin pozitif tarafındaki bölge, NBKFr7'i içermektedir ve bu fraksiyon yüksek AChE, KA, lipaz ve tirozinaz inhibisyon aktivitelerine sahiptir. PC1'in pozitif ve PC2'nin negatif tarafındaki bölge, NBKFr1, NBKFr2 ve NBKFr3'ü içermektedir ve bu fraksiyonlar yüksek BChE, α -amilaz ve α -glukozidaz inhibisyon aktivitelerine sahiptir. Bu biplot grafiğinden de anlaşılacağı üzere NBKFr1, NBKFr2, NBKFr3 ve NBKFr7 fraksiyonlardan biyoaktivite yönlendirmeli izolasyon yapılarak izolatlar elde edilebilir. Öngörülen bu sonuca göre, NBKFr3 fraksiyonundan β -sitosterol molekülü izole edilmiştir.

Temel bileşen analizinde, toplam varyasyonun %55.30'ini açıklamıştır; burada PC1, %32.60'ini ve PC2, %22.70'ini açıklamaktadır (Şekil 4.10.c). PC1 ve PC2'nin pozitif tarafındaki bölge, NBEFr1;2, NBEFr3, NBEFr7 ve NBEFr9'u içermektedir ve bu fraksiyonlar yüksek α -amilaz ve lipaz inhibisyon aktivitelerine sahiptir. PC1'in pozitif ve PC2'nin negatif tarafındaki bölge, NBEFr5 ve NBEFr6'yı içermektedir ve bu fraksiyonlar yüksek AChE, BChE ve KA inhibisyon aktivitelerine sahiptir. PC1'in negatif ve PC2'nin pozitif tarafındaki bölge, NBEFr8 ve NBEFr10'u içermektedir ve bu fraksiyon yüksek α -glukozidaz inhibisyonuna sahiptir. Bu biplot grafiğinden de anlaşılacağı üzere NBEFr1;2, NBEFr3, NBEFr5, NBEFr6, NBEFr7, NBKFr8 ve NBEFr10 fraksiyonlarından biyoaktivite yönlendirmeli izolasyon yapılarak izolatlar elde edilebilir. Öngörülen bu sonuca göre, NBEFr3 fraksiyonundan apigenin molekülü ve NBEFr5 fraksiyonundan Molekül L izole edilmiştir.

Temel bileşen analizinde, toplam varyasyonun %60.70'ini açıklamıştır; burada PC1, %40.60'unu ve PC2, %20.10'ini açıklamaktadır (Şekil 4.10.d). PC1'in pozitif ve PC2'nin negatif tarafındaki bölge, NBMFr3, NBMFr5 ve NBMFr6'ı içermektedir ve bu fraksiyonlar yüksek AChE, α -amilaz ve tirozinaz inhibisyon aktivitelerine sahiptir. PC1 ve PC2'nin pozitif tarafındaki bölge, NBMFr7 ve NBMFr8'i içermektedir ve bu fraksiyonlar ise yüksek BChE, lipaz ve α -glukozidaz inhibisyon aktivitelerine sahiptir. PC1'in negatif ve PC2'nin pozitif tarafındaki bölge, NBMFr2'i içermektedir ve bu fraksiyon yüksek KA ve üreaz inhibisyon aktivitelerine sahiptir. Bu biplot grafiğinden de anlaşılacağı üzere NBMFr2, NBMFr3, NBMFr5, NBMFr6, NBMFr7 ve NBMFr8 fraksiyonlarından biyoaktivite yönlendirmeli izolasyon yapılarak izolatlar elde edilebilir. Öngörülen bu sonuca göre, NBMFr3 fraksiyonundan daukosterol molekülü ve NBMFr5 fraksiyonundan iksorozit molekülü izole edilmiştir.

4.3.3. Antimikrobiyal Aktiviteler Arasındaki İlişki

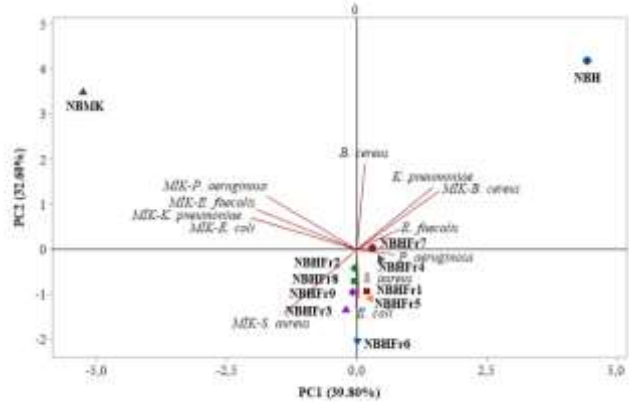
Temel bileşen analizinde, toplam varyasyonun %72.40'ini açıklamıştır; burada PC1, %39.80'ini ve PC2, %32.60'ını açıklamaktadır (Şekil 4.11.a). PC1'in pozitif tarafındaki sağ alt bölge, NBHFr1, NBHFr4, NBHFr5, NBHFr6 ve NBHFr7'i içermektedir ve bu fraksiyonlar *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *S. aureus* bakterilerine karşı yüksek inhibisyon bölgesine sahiptir. Bu biplot grafiğinden de anlaşılacağı üzere NBHFr1, NBHFr4, NBHFr5, NBHFr6 ve NBHFr7 fraksiyonlarından biyoaktivite yönlendirmeli izolasyon yapılarak izolatlar elde edilebilir. Ancak öngörülen bu biplot grafiğindeki fraksiyonlardan izolat elde edilemedi.

Temel bileşen analizinde, toplam varyasyonun %70.40'ını açıklamıştır; burada PC1, %43.60'ını ve PC2, %26.80'ini açıklamaktadır (Şekil 4.11.b). PC1'in negatif tarafındaki sol alt bölge, NBKFr3, NBKFr5 ve NBKFr6'yı içermektedir ve bu fraksiyonlar *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. aureus* ve *B. cereus* bakterilerine karşı yüksek inhibisyon bölgesine sahiptir. Bu biplot grafiğinden de anlaşılacağı üzere bu fraksiyonlardan biyoaktivite yönlendirmeli izolasyon yapılarak izolatlar elde edilebilir. Öngörülen bu sonuca göre, NBKFr3 fraksiyonundan β -sitosterol molekülü izole edilmiştir.

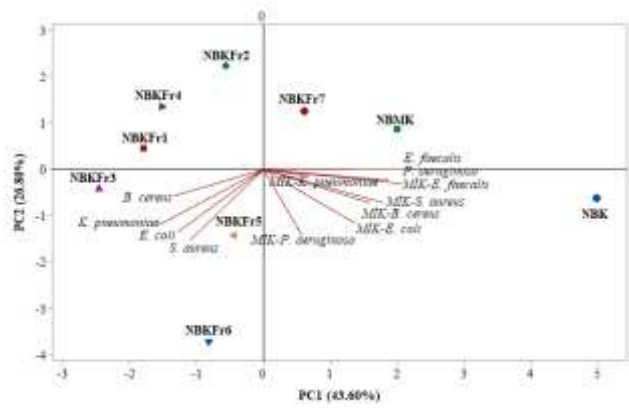
Temel bileşen analizinde, toplam varyasyonun %60.10'ini açıklamıştır; burada PC1, %33.40'ını ve PC2, %26.70'ini açıklamaktadır (Şekil 4.11.c). PC1'in negatif tarafındaki sol üst bölge, NBEFr3, NBEFr5 ve NBEFr6'yı içermektedir ve bu fraksiyonlar *P. aeruginosa*, *E. faecalis* ve *B. cereus* bakterilerine karşı yüksek inhibisyon bölgesine sahiptir. PC1'in pozitif tarafındaki sağ üst bölge, NBKFr8'i içermektedir ve bu fraksiyon *E. coli*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis* ve *K. pneumoniae* bakterilerine karşı yüksek MİK değerlerine sahiptir. PC1'in negatif tarafındaki sol alt bölge, NBEFr1;2, NBEFr4 ve NBEFr10'u içermektedir ve bu fraksiyonlar *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *S. aureus* bakterilerine karşı yüksek inhibisyon bölgesine sahiptir. PC1'in pozitif tarafındaki sağ alt bölge, NBEFr7 ve NBEFr9'u içermektedir ve bu fraksiyonlar *B. cereus* ve *S. aureus* bakterilerine karşı yüksek MİK değerlerine sahiptir. Bu biplot grafiğinden de anlaşılacağı üzere NBEFr1;2, NBEFr3, NBEFr4, NBEFr5, NBEFr6, NBEFr8, NBEFr9 ve NBEFr10 fraksiyonlarından biyoaktivite yönlendirmeli izolasyon yapılarak izolatlar elde edilebilir. Öngörülen bu sonuca göre, NBEFr3 fraksiyonundan apigenin molekülü ve NBEFr5 fraksiyonundan L molekülü

izole edilmiştir.

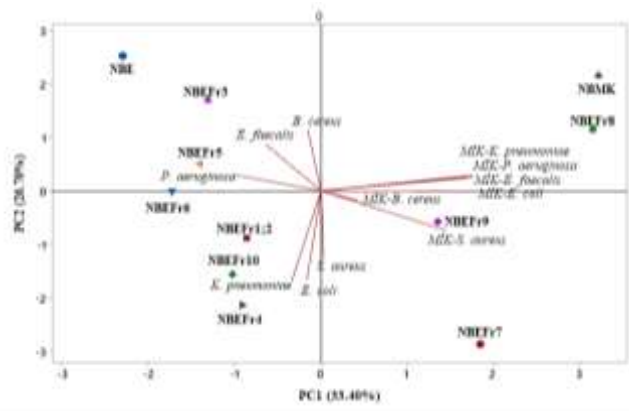
(a)



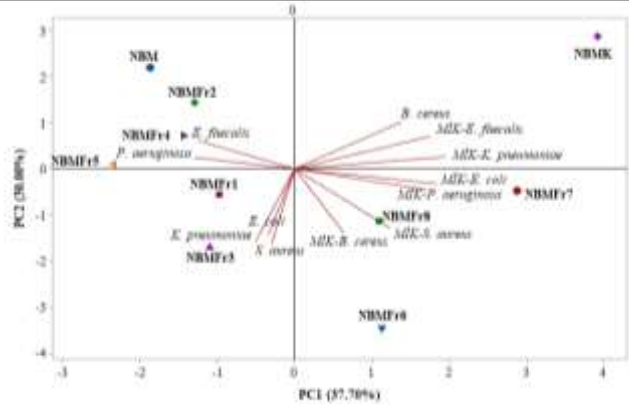
(b)



(c)



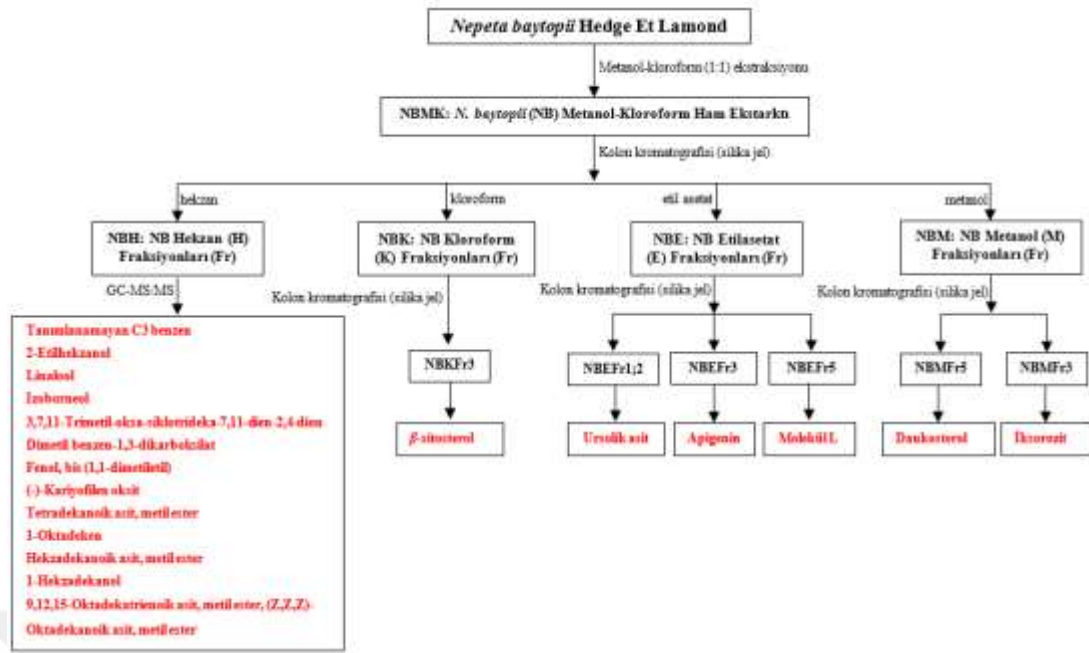
(d)



Şekil 4.11. *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktı, *n*-hekzan (a), kloroform (b), etil asetat (c) ve metanol (d) birinci ve ikinci fraksiyonlarının antimikrobiyal aktivitelerinin temel bileşen analizi

Temel bileşen analizinde, toplam varyasyonun %67.70'ini açıklamıştır; burada PC1, %37.70'ini ve PC2, %30.00'unu açıklamaktadır (Şekil 4.11.d). PC1'in negatif tarafındaki sol üst bölge, NBMFr2, NBMFr4 ve NBMFr5'i içermektedir ve bu fraksiyonlar *P. aeruginosa* ve *E. faecalis* bakterilerine karşı yüksek inhibisyon bölgesine sahiptir. PC1'in negatif tarafındaki sol alt bölge, NBMFr1 ve NBMFr3'ü içermektedir ve bu fraksiyonlar *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *S. aureus* bakterilerine karşı yüksek inhibisyon bölgesine sahiptir. PC1'in pozitif tarafındaki sol alt bölge, NBMFr6, NBMFr7 ve NBMFr8'i içermektedir ve bu fraksiyonlar *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* ve *B. cereus* bakterilerine karşı yüksek MİK değerlerine sahiptir. Bu biplot grafiğinden de anlaşılacağı üzere NBMFr1, NBMFr2, NBMFr3, NBMFr4, NBMFr5, NBMFr6, NBMFr7 ve NBMFr8 fraksiyonlarından biyoaktivite yönlendirmeli izolasyon yapılarak izolatlar elde edilebilir. Öngörülen bu sonuca göre, NBMFr3 fraksiyonundan daukosterol molekülü ve NBMFr5 fraksiyonundan iksorozit molekülü izole edilmiştir.

Şekil 4.12'de gösterildiği gibi, *N. baytopii* bitkisinin toprak üstü kısmı metanol-kloroform (1:1) çözücü karışımı ile maserasyon yöntemi ile ekstrakte edildi. Kolon kromatografisi ile silika jele emdirilen ham ekstraktı *n*-hekzan, kloroform, etil asetat ve metanol çözücülerini ile fraksiyonlandırıldı. Bu fraksiyonlar tekrar ayrı ayrı kendi çözücülerini ile fraksiyonlandırıldı. Ham ekstrakt ve fraksiyonlara kimyasal içerikleri analizleri ve aktivite testleri uygulandı. Elde edilen ikinci fraksiyonlardan aktivitesi yüksek olanlardan biyoaktivite yönlendirmeli izolasyon kapsamında moleküller izole edildi. Elde edilen moleküllere aktivite testlerinin yanı sıra enzim inhibisyon kinetiği ve moleküler doking çalışmaları uygulandı.



Şekil 4.12. *N. baytopii* bitkisinin biyoaktivite yönlendirmeli izolasyon şeması

4.4. Saflaştırılan Bileşikler

NBKFr3 fraksiyonundan β -sitosterol molekülü, NBEFr1 ve 2 fraksiyonlarından ursolik asit molekülü, NBEFr3 ve 4 fraksiyonlarından apigenin molekülü, NBEFr5 ve 4 fraksiyonlarından Molekül L, NBMFr3 fraksiyonundan iksorozit ve NBMFr5 fraksiyonundan daukosterol molekülü saflaştırıldı. Saflaştırılan moleküllerin yapıları $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ ve iki boyutlu COSY, HMBC ve HSQC spektroskopileri ile aydınlatıldı ve LC-MS/MS spektroskopisi ile molekül kütlesi belirlendi. Literatürdeki verilerle karşılaştırıldı ve yapıların doğruluğu kanıtlandı. Ayrıca saflaştırılan moleküllerin enzim inhibisyon kinetikleri ve enzimlerle etkileşimleri incelendi.

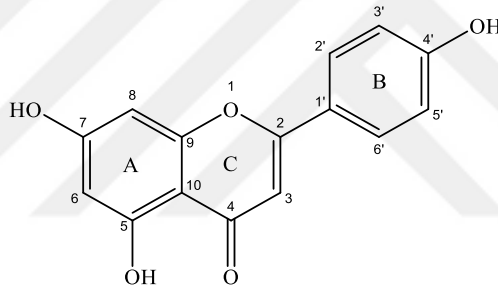
4.4.1. Apigenin

Apigenin molekülü *N. baytopii* metanol-kloroform ham ekstraktından elde edilen etil asetat birinci fraksiyonunun silika jel kolon kromatografisi sonucu elde edilen 3. fraksiyonun 4. alt fraksiyonundan (NBEFr3-4) saflaştırıldı.

Nepeta türleri üzerine yapılan çalışmalarda, Tundis vd (2013), *N. binaludensis* ve *N. crassifolia* etil asetat ekstraktlarından ve Rabee vd (2020), *N. curviflora* metanol ekstraktından apigenin saflaştırmıştır.

4.4.1.1. Apigeninin Karakterizasyonu

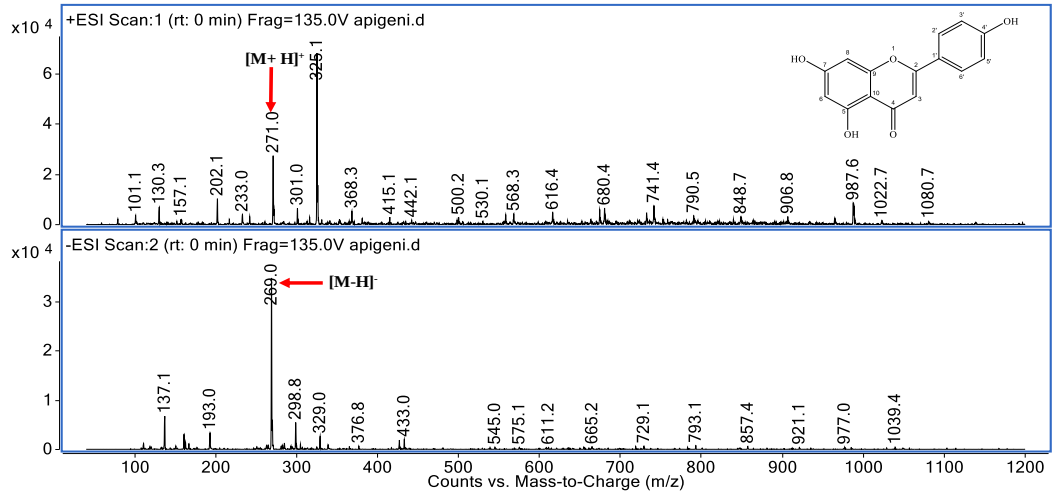
Apigeninin molekül yapısı, DMSO-*d*₆ çözücüsüne alınarak NMR ve MS spektrumları ile belirlendi (Şekil 4.13.- 4.15. ve Tablo 4.32.). ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde görülen 7.90 ve 6.91 ppm'deki aromatik sinyallerin integrasyon değerlerinin diğer proton sinyallerinden iki kat fazla olduğu ve COSY etkileşimleriyle komşu protonlarda oldukları belirlendi ve aromatik halkada bir simetrinin var olduğu düşünüldü. 6.46 ve 6.17 ppm'de rezonans olan protonların meta konumda oldukları etkileşme sabitlerinden belirlendi. 6.75 ppm'deki singlet protonunun 182 ppm'deki karbonil karbonuyla doğrudan etkileştiği ve A halkasındaki karbonların B halkasındaki aromatik karbonlarla etkileştikleri HMBC spektrumundan belirlendi. HSQC etkileşimleriyle doğrudan protonların bağlı olduğu karbonlar belirlendi ve yapının spesifik bir flavanoid olan apigenin molekülü olduğu literatür karşılaştırmasıyla doğrulandı (Rabee vd, 2020).



Şekil 4.13. Apigenin molekülünün yapısı

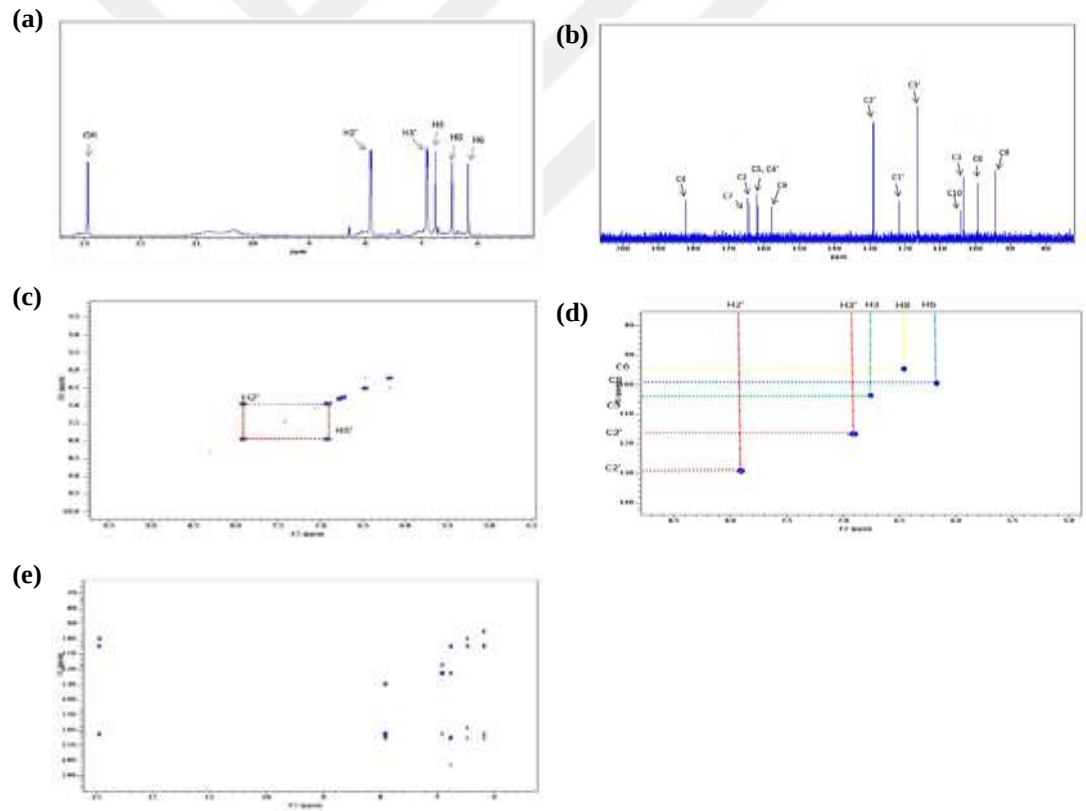
Tablo 4.32. Apigenin molekülünün ¹H ve ¹³C NMR veri ve literatür değerleri

No	¹ H NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , 600 MHz)	¹³ C NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , 150 MHz)	¹ H NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , 600.13 MHz) (Rabee vd, 2020)	¹³ C NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , 150.90 MHz) (Rabee vd, 2020)
1	-	-	-	-
2	-	164.19	-	163.6
3	6.76 (s)	103.29	6.77 (s)	102.9
4	-	182.19	-	181.9
5	-	161.91	-	161.6
6	6.17 (d-2.1)	99.29	6.18 (d-2.1)	98.90
7	-	164.61	-	164.2
8	6.46 (d-2.1)	94.41	6.48 (d-2.1)	94.00
9	-	157.76	-	157.3
10	-	104.15	-	103.8
1'	-	121.63	-	121.3
2'	7.90 (d-8.51)	128.91	7.92 (d-8.9)	128.6
3'	6.90 (d-8.51)	116.41	6.92 (d-8.9)	116.1
4'	-	161.63	-	161.3
5'	6.90 (d-8.51)	116.41	6.92 (d-8.9)	116.1
6'	7.90 (d-8.51)	128.91	7.92 (d-8.9)	128.6
5-OH	12.94 (s)	-	12.95 (s)	-
7-OH	10.82 (s)	-	10.88 (s)	-
4'-OH	10.35 (s)	-	10.38 (s)	-



Şekil 4.14. Apigenin molekülünün MS kromatogramı

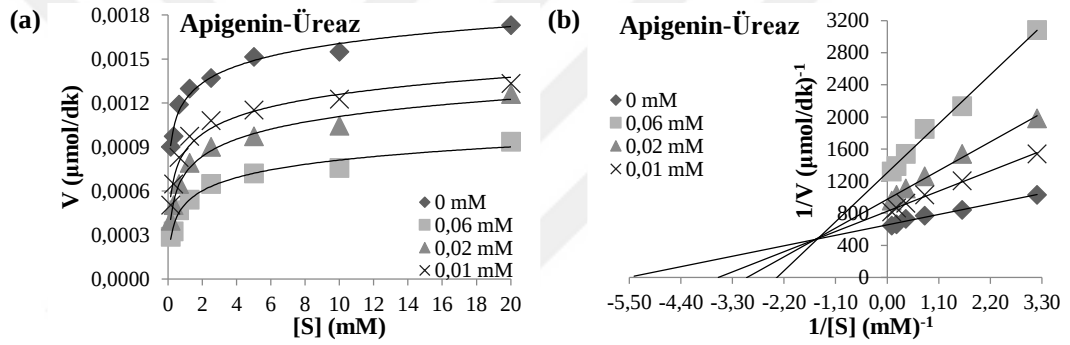
Apigenin molekülünün $C_{15}H_{10}O_5$ kapalı formülüne göre kütlesi [m/z] 270.05 g/mol olarak hesaplandı ve literatür bilgileri ile doğrulandı (Avallone vd, 2000).



Şekil 4.15. Apigenin molekülünün ¹H-NMR (DMSO) (a), ¹³C-NMR (DMSO) (b), COSY (c), HSQC (d) ve HMBC (e) spektrumları

4.4.1.2. Apigeninin Enzim İnhibisyon Kinetikleri

Apigenin molekülünün üreaz inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için apigenin molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamlarında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.16. ve Tablo 4.33.). Üreaz inhibisyon mekanizmasında apigenin molekülünün etkisi karışık inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri hesaplandı. Bu hesaplamada, apigeninin farklı konsantrasyonlardaki etkilerine bağlı üreaz aktivitelerinin belirlenmesi sonucunda V_{maks} değerinin azaldığı ve K_m değerinin ise arttığı belirlendi. Bu sonuca göre, K_i değerinin belirlenmesinde yarı yarışmalı inhibisyona göre, $K_i = \frac{V_{maks}^i [I]}{(V_{maks} - V_{maks}^i)}$ formülü kullanıldı ve K_i değeri 0.05 mM olarak bulundu.



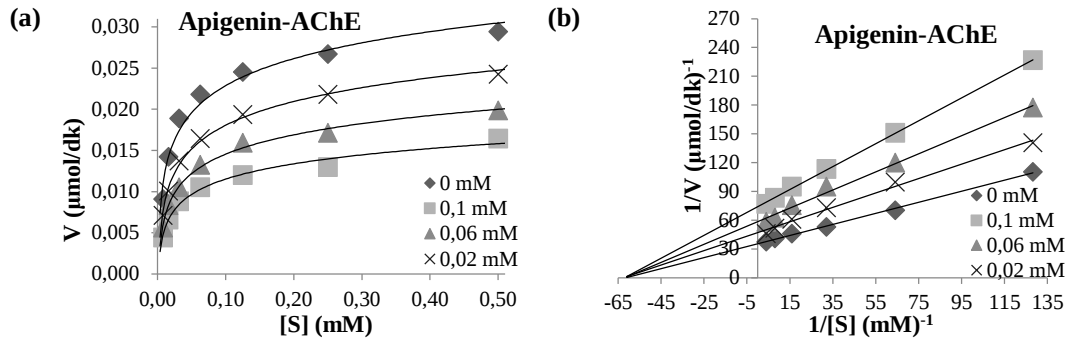
Şekil 4.16. Apigenin molekülünün varlığında üreaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

Tablo 4.33. Apigenin molekülünün varlığında üreaz inhibisyon türü ve K_i değeri

Apigenin, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.00153	0.180	Karışık-Yarı	0.05
0.01	0.00121	0.277	yarışmalı	
0.02	0.00103	0.335		
0.06	0.00077	0.426		

Apigenin molekülünün AChE inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için apigenin molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.17. ve Tablo 4.34.). AChE inhibisyon mekanizmasında apigenin molekülünün etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri hesaplandı. Apigenin molekülünün farklı dozlarının K_m değerlerinin sabit kaldığı ve V_{maks} değerlerinin ise azaldığı belirlendi. Bu sonuca göre, K_i değerinin belirlenmesinde yarışmasız inhibisyona göre, $K_i = \frac{V_{maks} [I]}{(V_{maks} - V_{maks}^i)}$ formülü kullanılarak K_i değeri 0.14 mM olarak

hesaplandı.

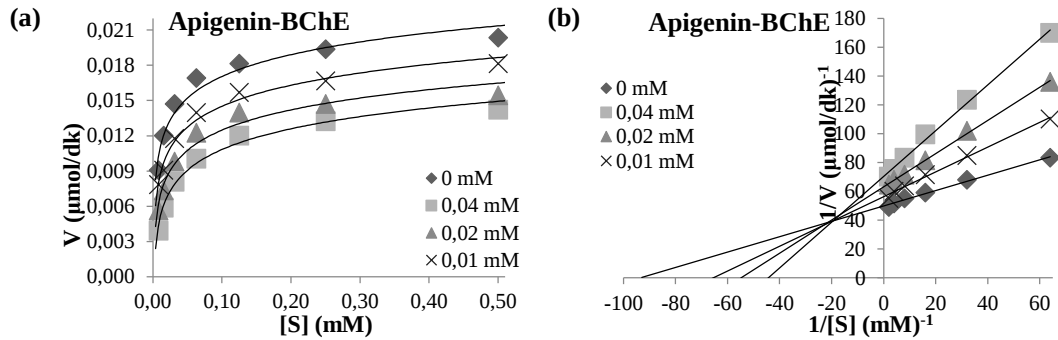


Şekil 4.17. Apigenin molekülünün varlığında AChE inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

Tablo 4.34. Apigenin molekülünün varlığında AChE inhibisyon türü ve K_i değeri

Apigenin, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.0283	0.0163	Yarışmasız	0.14
0.02	0.0213	0.0160		
0.06	0.0171	0.0161		
0.10	0.0135	0.0161		

Apigenin molekülünün BChE inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için apigenin molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.18. ve Tablo 4.35.). BChE inhibisyon mekanizmasında apigenin molekülünün etkisi karışık inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.08 mM olarak hesaplandı.

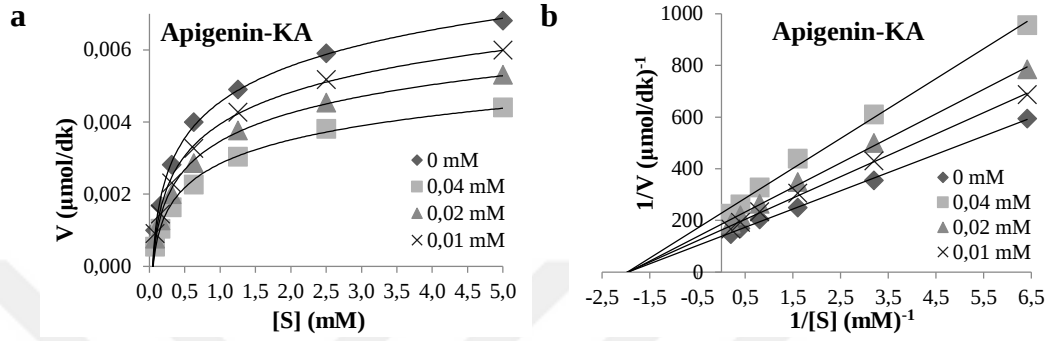


Şekil 4.18. Apigenin molekülünün varlığında BChE inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk b) grafikleri

Tablo 4.35. Apigenin molekülünün varlığında BChE inhibisyon türü ve K_i değeri

Apigenin, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.0201	0.0107	Karışık-Yarı	0.08
0.01	0.0178	0.0153	yarışmalı	
0.02	0.0158	0.0182		
0.04	0.0142	0.0225		

Apigenin molekülünün KA inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için apigenin molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.19. ve Tablo 4.36.). KA inhibisyon mekanizmasında apigenin molekülünün etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.08 mM olarak hesaplandı.

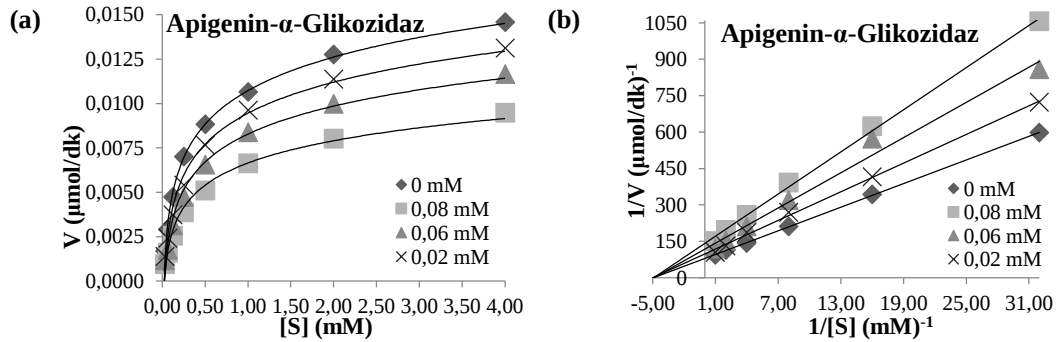


Şekil 4.19. Apigenin molekülünün varlığında KA inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

Tablo 4.36. Apigenin molekülünün varlığında KA inhibisyon türü ve K_i değeri

Apigenin, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.0072	0.512	Yarışmasız	0.08
0.01	0.0061	0.508		
0.02	0.0054	0.514		
0.04	0.0044	0.509		

Apigenin molekülünün α -glukozidaz inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için apigenin molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.20. ve Tablo 4.37.). α -Glukozidaz inhibisyon mekanizmasında apigenin molekülünün etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.16 mM olarak hesaplandı.



Şekil 4.20. Apigenin molekülünün varlığında α -glukozidaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

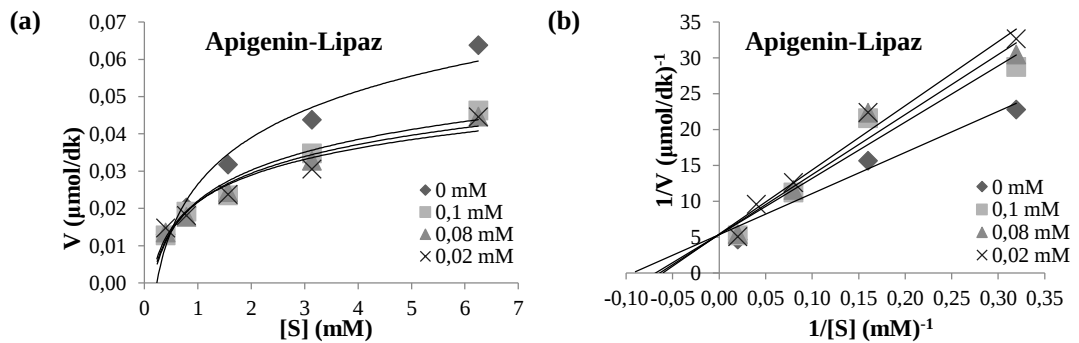
Tablo 4.37. Apigenin molekülünün varlığında α -glukozidaz inhibisyon türü ve K_i değeri

Apigenin, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.0125	0.202	Yarışmasız	0.16
0.02	0.0102	0.201		
0.06	0.0084	0.204		
0.08	0.0070	0.203		

Yang vd (2021) ve Zeng vd (2016), apigeninin α -glukozidaza karşı yarışmasız inhibisyon sergilediğini ve K_i değerini ise sırasıyla $17.09 \pm 0.40 \mu\text{M}$ ve $10.70 \pm 0.07 \mu\text{M}$ olarak belirlemiştir. Tolmie vd (2021) yaptığı araştırmada, apigeninin α -glukozidaza karşı karışık inhibisyon gösterdiğini ve K_i değerini $160.00 \pm 50.00 \mu\text{M}$ olarak tahmin etmiştir. Tez çalışmasında, apigeninin K_i değerinin daha yüksek olduğu kaydedildi.

Zeng vd (2016), apigeninin α -glukozidaza karşı yarışmasız inhibisyon sergilediğini ve K_i değerini $0.11 \pm 0.07 \mu\text{mol/L}$ olarak belirlemiştir. Tez çalışmasında, apigeninin K_i değerinin daha düşük olduğu kaydedildi.

Apigenin molekülünün lipaz inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için apigenin molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.21. ve Tablo 4.38). Lipaz inhibisyon mekanizmasında apigenin molekülünün etkisi yarışmalı inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri hesaplandı. Apigenin molekülünün farklı dozlarının V_{maks} değerlerinin sabit kaldığı ve K_m değerlerinin ise azaldığı belirlendi. Bu sonuca göre, K_i değerinin belirlenmesinde yarışmalı inhibisyona göre, $K_i = \frac{K_m[I]}{(K_m - K_m^i)}$ formülü kullanıldı ve K_i değeri 0.16 mM olarak hesaplandı.



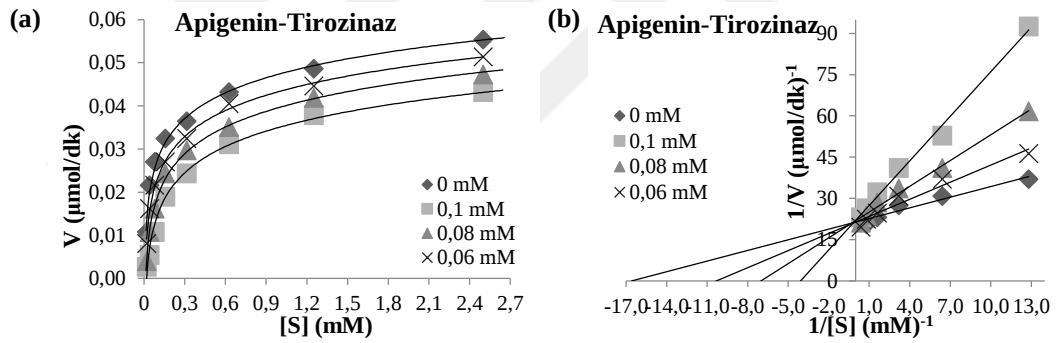
Şekil 4.21. Apigenin molekülünün varlığında lipaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

Tablo 4.38. Apigenin molekülünün varlığında lipaz inhibisyon türü ve K_i değeri

Apigenin, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.187	10.752	Yarışmalı	0.16
0.02	0.185	16.549		
0.08	0.187	15.650		
0.10	0.187	14.625		

Li vd (2021), apigeninin lipaz inhibisyon tipinin yarışmalı olduğunu ve K_i değerini 0.29 ± 0.57 mM olarak tahmin etmiştir. Tez çalışmasında, apigeninin K_i değeri daha yüksek olarak bildirildi ve inhibisyon türünün de farklı olduğu gözlemlendi.

Apigenin molekülünün tirozinaz inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için apigenin molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.22. ve Tablo 4.39.). Tirozinaz inhibisyon mekanizmasında apigenin molekülünün etkisi yarışmalı inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.06 mM olarak hesaplandı.



Şekil 4.22. Apigenin molekülünün varlığında tirozinaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

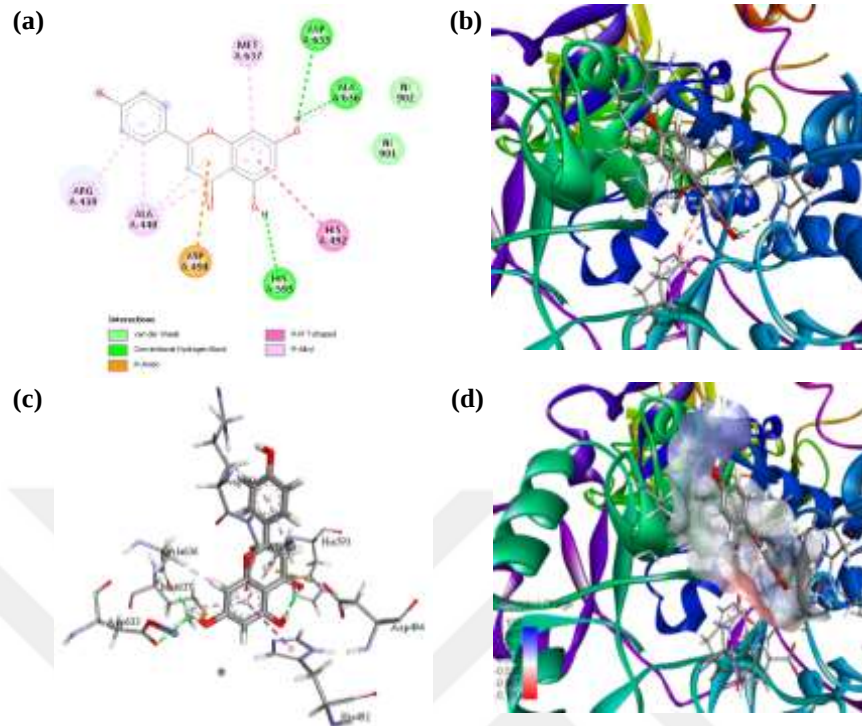
Tablo 4.39. Apigenin molekülünün varlığında tirozinaz inhibisyon türü ve K_i değeri

Apigenin, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.047	0.060	Yarışmalı	0.06
0.06	0.047	0.097		
0.08	0.046	0.143		
0.10	0.046	0.246		

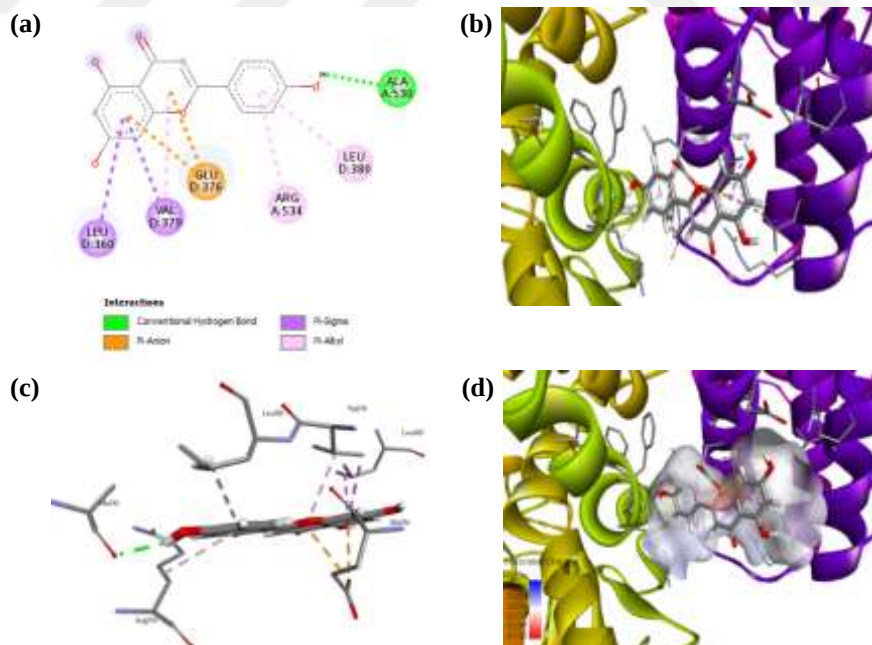
4.4.1.3. Apigeninin Moleküler Doking Çalışmaları

Şekil 4.23 ve Tablo 4.40'de görüldüğü gibi üreaz enziminin aktif bölgesi ile etkileşen apigeninin ALA636, ASP633 ve HIS593 ile kromen-4-on hidrosilleri ile üç adet konvensiyonel hidrojen bağı, ALA440, ALA636 ve MET637 ile kromen-4-on dört adet ve ALA440, ARG439 ile fenil halkası iki adet pi-alkil etkileşimi, HIS492 ile

kromen-4-on bir adet pi-pi T-şekilli etkileşimi ve ASP494 ile kromen-4-on bir adet pi-anyon etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.



Şekil 4.23. Apigenin molekülünün üreaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri



Şekil 4.24. Apigenin molekülünün AChE ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri

Tablo 4.40. Apigenin molekülünün üreaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	: [001:H2 - A:HIS593:NE2	2.57	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H2	H-Verici	A:HIS593:NE2	H-Alıcı
2	: [001:H4 - A:ASP633:OD2	2.79	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H4	H-Verici	A:ASP633:OD2	H-Alıcı
3	: [001:H4 - A:ALA636:O	2.02	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H4	H-Verici	A:ALA636:O	H-Alıcı
4	A:ASP494:OD2 - : [001	4.07	Elektrostatik	Pi-Anyon	A:ASP494:OD2	Negatif	: [001	Pi-Orbital
5	A:HIS492 - : [001	5.47	Hidrofbik	Pi-Pi T-şekilli	A:HIS492	Pi-Orbital	: [001	Pi-Orbital
6	: [001 - A:ALA440	3.98	Hidrofbik	Pi-Alkil	: [001	Pi-Orbital	A:ALA440	Alkil
7	: [001 - A:ALA440	5.38	Hidrofbik	Pi-Alkil	: [001	Pi-Orbital	A:ALA440	Alkil
8	: [001 - A:ALA636	5.49	Hidrofbik	Pi-Alkil	: [001	Pi-Orbital	A:ALA636	Alkil
9	: [001 - A:MET637	4.85	Hidrofbik	Pi-Alkil	: [001	Pi-Orbital	A:MET637	Alkil
10	: [001 - A:ARG439	4.40	Hidrofbik	Pi-Alkil	: [001	Pi-Orbital	A:ARG439	Alkil
11	: [001 - A:ALA440	4.10	Hidrofbik	Pi-Alkil	: [001	Pi-Orbital	A:ALA440	Alkil

Tablo 4.41. Apigenin molekülünün AChE ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

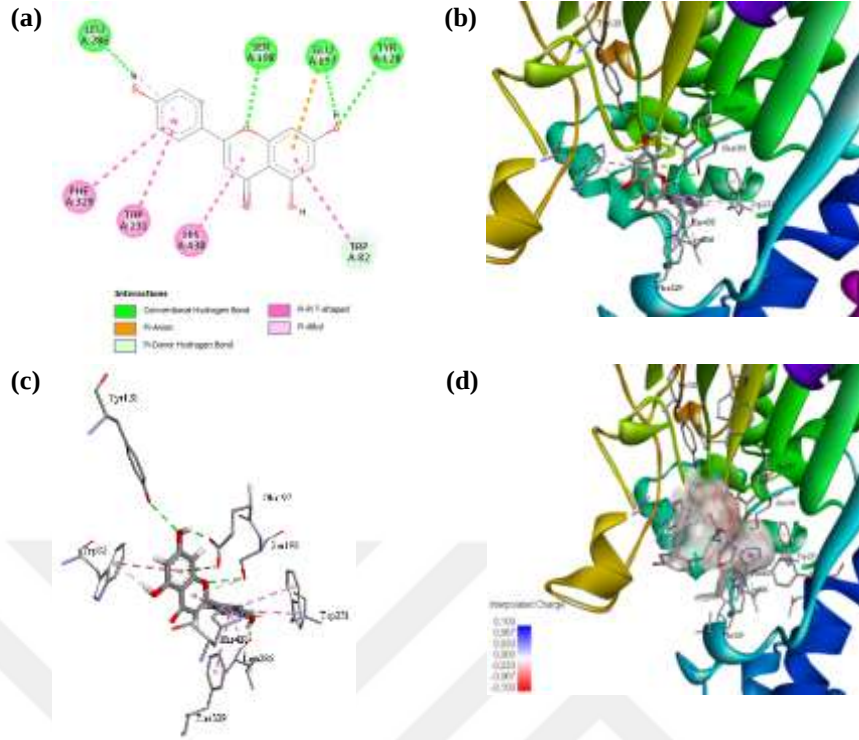
No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	: [001:H8 - A:ALA530:O	2.09	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H8	H-Verici	A:ALA530:O	H-Alıcı
2	D:GLU376:OE2 - : [001	3.68	Elektrostatik	Pi-Anyon	D:GLU376:OE2	Negatif	: [001	Pi-Orbital
3	D:GLU376:OE2 - : [001	3.42	Elektrostatik	Pi-Anyon	D:GLU376:OE2	Negatif	: [001	Pi-Orbital
4	D:LEU360:CD1 - : [001	3.81	Hidrofbik	Pi-Sigma	D:LEU360:CD1	C-H	: [001	Pi-Orbital
5	D:VAL379:CG2 - : [001	3.71	Hidrofbik	Pi-Sigma	D:VAL379:CG2	C-H	: [001	Pi-Orbital
6	: [001 - D:VAL379	4.22	Hidrofbik	Pi-Alkil	: [001	Pi-Orbital	D:VAL379	Alkil
7	: [001 - A:ARG534	4.51	Hidrofbik	Pi-Alkil	: [001	Pi-Orbital	A:ARG534	Alkil
8	: [001 - D:LEU380	4.62	Hidrofbik	Pi-Alkil	: [001	Pi-Orbital	D:LEU380	Alkil

Şekil 4.24 ve Tablo 4.41’de görüldüğü gibi AChE enziminin aktif bölgesi ile etkileşen apigeninin ALA530 ile fenil hidroksilleri bir adet konvensiyonel hidrojen bağı, GLU376 ile kromen-4-on iki adet pi-anyon etkileşimi, LEU360 ve VAL379 ile kromen-4-on iki adet pi-sigma etkileşimi ve ARG534, LEU380 ile fenil iki adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

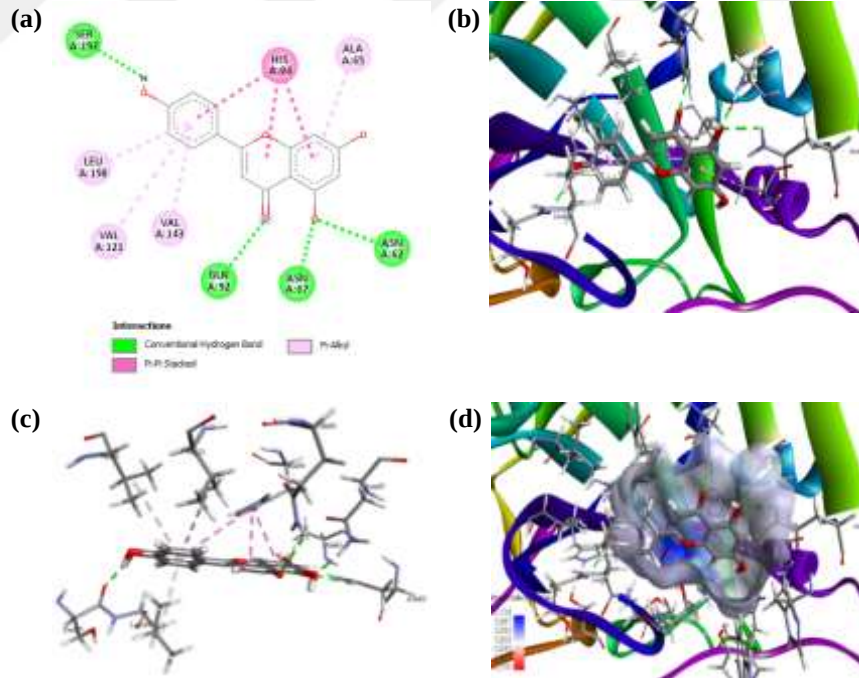
Şekil 3.25 ve Tablo 3.42’de görüldüğü gibi BChE enziminin aktif bölgesi ile etkileşen apigeninin TRP128, SER198 ve GLU197 ile kromen-4-on hidroksilleri üç adet ve LEU286 ile fenil bir adet konvensiyonel hidrojen bağı, SER198 ve TRY82 ile kromen-4-on iki adet pi-verici hidrojen bağı, LEU286 ile fenil bir adet pi-alkil etkileşimi, TRP82 ve HIS438 ile kromen-4-on iki adet ve TRP231, PHE329 ile fenil üç adet pi-pi T-şekilli etkileşimi ve GLU197 ile kromen-4-on bir adet pi-anyon etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

Şekil 4.26 ve Tablo 4.43’de görüldüğü gibi KA enziminin aktif bölgesi ile etkileşen apigeninin ASN62, ASN67, GLN92 ile kromen-4-on hidroksilleri üç adet ve SER197 ile fenil hidroksili bir adet konvensiyonel hidrojen bağı, HIS94 ile kromen-4-on ve fenil üç adet pi-pi yığılmış, ALA65 kromen-4-on bir adet ve VAL121, VAL143

ve LEU198 ile üç adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.



Şekil 4.25. Apigenin molekülünün BCHE ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri



Şekil 4.26. Apigenin molekülünün KA ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri

Tablo 4.42. Apigenin molekülünün BChE ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

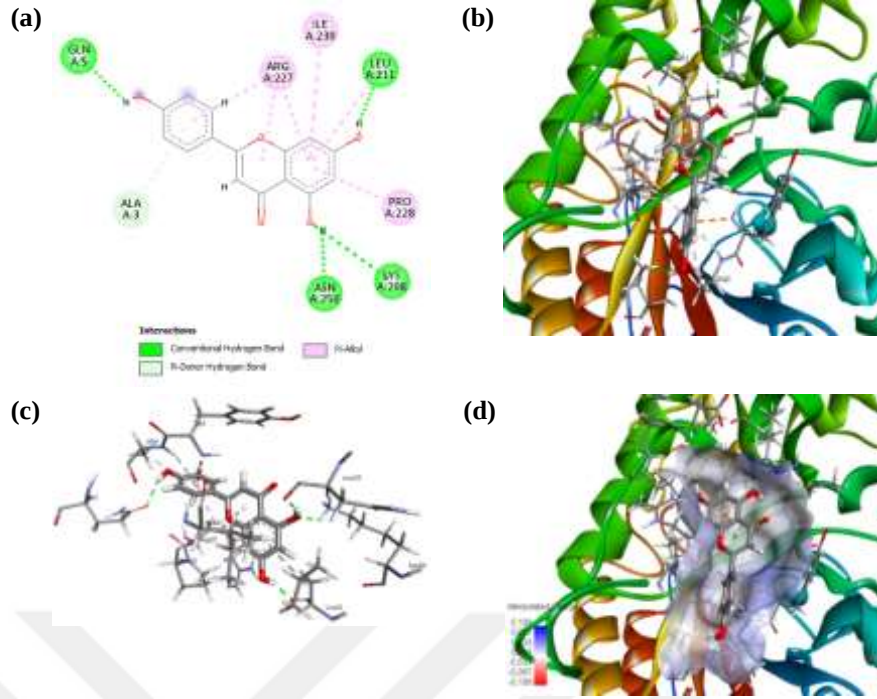
No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	A:TYR128:OH - :[031:O3	2.93	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:TYR128 :OH	H-Verici	: [031:O3	H-Alıcı
2	A:SER198:OG - :[031:O4	3.14	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:SER198:OG	H-Verici	: [031:O4	H-Alıcı
3	: [031:H4 - A:GLU197:OE1	1.91	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [031:H4	H-Verici	A:GLU197:OE1	H-Alıcı
4	: [031:H8 - A:LEU286:O	1.83	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [031:H8	H-Verici	A:LEU286:O	H-Alıcı
5	A:GLU197:OE2 - :[031	4.18	Elektrostatik	Pi-Anyon	A:GLU197:OE2	Negatif	: [031	Pi-Orbital
6	A:SER198:OG - :[031	3.91	Hidrojen Bağı	Pi-Verici Hidrojen Bağı	A:SER198:OG	H-Verici	: [031	Pi-Orbital
7	: [031:H2 - A:TRP82	2.63	Hidrojen Bağı	Pi-Verici Hidrojen Bağı	: [031:H2	H-Verici	A:TRP82	Pi-Orbital
8	A:TRP82 - :[031	5.05	Hidrofobik	Pi-Pi T-şekilli	A:TRP82	Pi-Orbital	: [031	Pi-Orbital
9	A:TRP231 - :[031	5.23	Hidrofobik	Pi-Pi T-şekilli	A:TRP231	Pi-Orbital	: [031	Pi-Orbital
10	A:TRP231 - :[031	5.16	Hidrofobik	Pi-Pi T-şekilli	A:TRP231	Pi-Orbital	: [031	Pi-Orbital
11	A:PHE329 - :[031	5.33	Hidrofobik	Pi-Pi T-şekilli	A:PHE329	Pi-Orbital	: [031	Pi-Orbital
12	A:HIS438 - :[031	4.24	Hidrofobik	Pi-Pi T-şekilli	A:HIS438	Pi-Orbital	: [031	Pi-Orbital
13	: [031 - A:LEU286	5.12	Hidrofobik	Pi-Alkil	: [031	Pi-Orbital	A:LEU286	Alkil

Tablo 4.43. Apigenin molekülünün KA ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

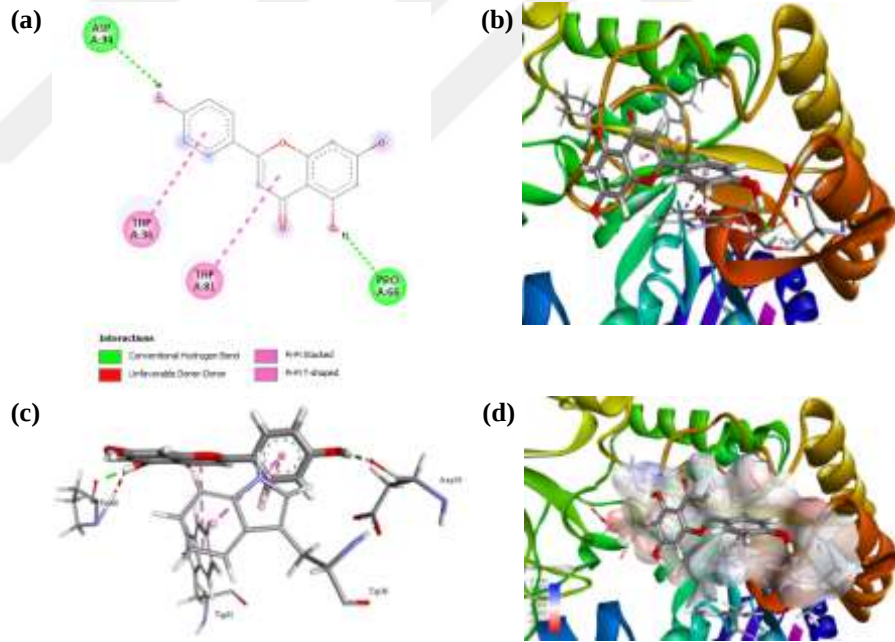
No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	A:ASN62:HD22 - :[001:O2	2.40	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:ASN62:HD22	H-Verici	: [001:O2	H-Alıcı
2	A:ASN67:HD21 - :[001:O2	1.77	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:ASN67:HD21	H-Verici	: [001:O2	H-Alıcı
3	A:GLN92:HE21 - :[001:O1	2.68	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:GLN92:HE21	H-Verici	: [001:O1	H-Alıcı
4	: [001:H8 - A:SER197:O	2.16	Hidrofobik	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H8	H-Verici	A:SER197:O	H-Alıcı
5	A:HIS94 - :[001	3.83	Hidrofobik	Pi-Pi Yığılmış	A:HIS94	Pi-Orbital	: [001	Pi-Orbital
6	A:HIS94 - :[001	4.03	Hidrofobik	Pi-Pi Yığılmış	A:HIS94	Pi-Orbital	: [001	Pi-Orbital
7	A:HIS94 - :[001	5.61	Hidrofobik	Pi-Pi Yığılmış	A:HIS94	Pi-Orbital	: [001	Pi-Orbital
8	: [001 - A:ALA65	4.70	Hidrofobik	Pi-Alkil	: [001	Pi-Orbital	A:ALA65	Alkil
9	: [001 - A:VAL121	5.27	Hidrofobik	Pi-Alkil	: [001	Pi-Orbital	A:VAL121	Alkil
10	: [001 - A:VAL143	4.79	Hidrofobik	Pi-Alkil	: [001	Pi-Orbital	A:VAL143	Alkil
11	: [001 - A:LEU198	4.24	Hidrofobik	Pi-Alkil	: [001	Pi-Orbital	A:LEU198	Alkil

Şekil 4.27 ve Tablo 4.44’de görüldüğü gibi α -amilaz enziminin aktif bölgesi ile etkileşen apigeninin LYS208, ASN250 ve LEU211 ile kromen-4-on hidroksilleri üç adet ve GLN5 ile fenil hidroksili bir adet konvensiyonel hidrojen bağı, TYR2 ile bir adet pi-katyon etkileşimi, ALA3 ile bir adet pi-verici hidrojen bağı, ARG227, LEU211, PRO228, ILE230 ve ALA3 ile yedi adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

Şekil 4.28 ve Tablo 4.45’de görüldüğü gibi α -glukozidaz enziminin aktif bölgesi ile etkileşen apigeninin PRO66 ve ASP34 ile iki adet konvensiyonel hidrojen bağı, TRP36 ile iki adet pi-pi-yığılmış ve TRP81 ile bir adet pi-pi T-şekilli etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.



Şekil 4.27. Apigenin molekülünün α -amilaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri



Şekil 4.28. Apigenin molekülünün α -glukozidaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri

Tablo 4.44. Apigenin molekülünün α -amilaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

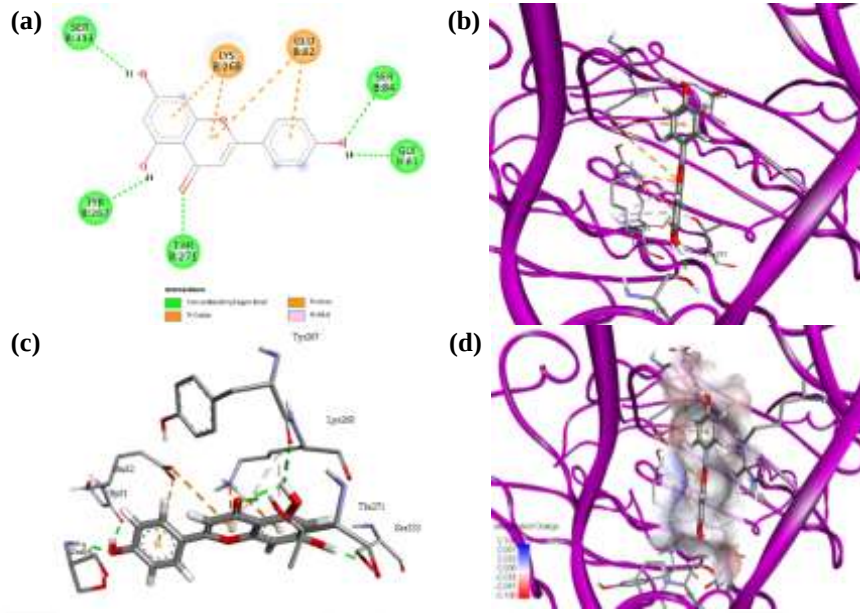
No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	A:LYS208:HZ2 - :[001:O2	2.18	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:LYS208:HZ2	H-Verici	: [001:O2	H-Alıcı
2	: [001:H2 - A:ASN250:O	1.96	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H2	H-Verici	A:ASN250:O	H-Alıcı
3	: [001:H4 - A:LEU211:O	1.93	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H4	H-Verici	A:LEU211:O	H-Alıcı
4	: [001:H8 - A:GLN5:OE1	2.20	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H8	H-Verici	A:GLN5:OE1	H-Alıcı
5	A:TYR2:N - :[001	3.69	Elektrostatik	Pi-Katyon	A:TYR2:N	Pozitif	: [001	Pi-Orbital
6	A:ALA3:HN - :[001	2.99	Hidrojen Bağı	Pi-Verici	A:ALA3:HN	H-Verici	: [001	Pi-Orbital
7	: [001 - A:ARG227	3.90	Hidrofobik	Pi-Alkil	: [001	Pi-Orbital	A:ARG227	Alkil
8	: [001 - A:LEU211	4.51	Hidrofobik	Pi-Alkil	: [001	Pi-Orbital	A:LEU211	Alkil
9	: [001 - A:ARG227	4.64	Hidrofobik	Pi-Alkil	: [001	Pi-Orbital	A:ARG227	Alkil
10	: [001 - A:PRO228	5.29	Hidrofobik	Pi-Alkil	: [001	Pi-Orbital	A:PRO228	Alkil
11	: [001 - A:ILE230	4.94	Hidrofobik	Pi-Alkil	: [001	Pi-Orbital	A:ILE230	Alkil
12	: [001 - A:ALA3	4.25	Hidrofobik	Pi-Alkil	: [001	Pi-Orbital	A:ALA3	Alkil
13	: [001 - A:ARG227	4.13	Hidrofobik	Pi-Alkil	: [001	Pi-Orbital	A:ARG227	Alkil

Tablo 4.45. Apigenin molekülünün α -glukozidaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

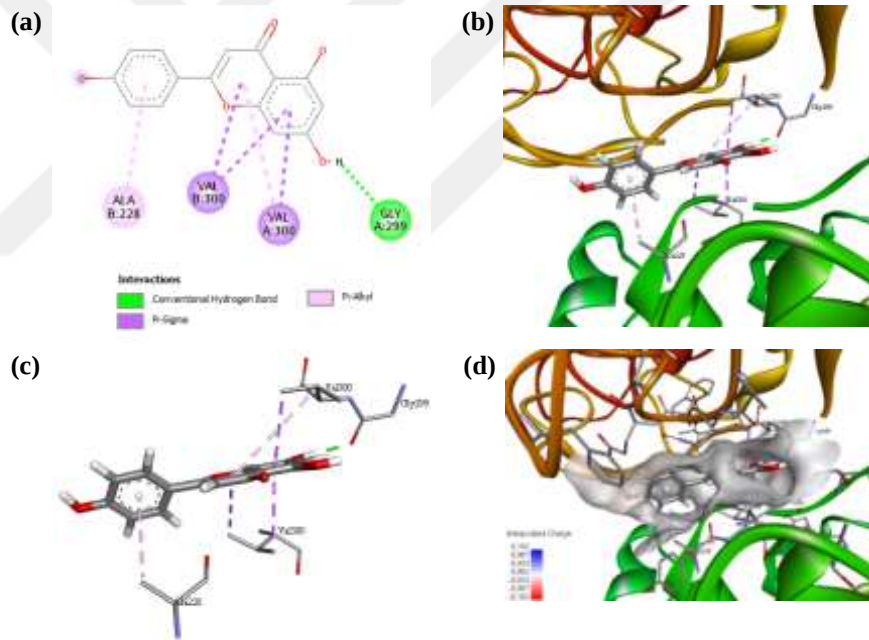
No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	: [001:H2 - A:PRO66:O	1.75	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H2	H-Verici	A:PRO66:O	H-Alıcı
2	: [001:H8 - A:ASP34:O	2.12	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H8	H-Verici	A:ASP34:O	H-Alıcı
3	A:TRP36 - :[001	3.98	Hidrofobik	Pi-Pi Yığılmış	A:TRP36	Pi-Orbital	: [001	Pi-Orbital
4	A:TRP36 - :[001	5.40	Hidrofobik	Pi-Pi Yığılmış	A:TRP36	Pi-Orbital	: [001	Pi-Orbital
5	A:TRP81 - :[001	4.82	Hidrofobik	Pi-Pi T-şekli	A:TRP81	Pi-Orbital	: [001	Pi-Orbital

Şekil 4.29 ve Tablo 4.46’de görüldüğü gibi lipaz enziminin aktif bölgesi ile etkileşen apigeninin SER84, THR271, TYR267, SER333 ve GLY81 ile beş adet konvensiyonel hidrojen bağı, LYS268 ile bir adet pi-katyon etkileşimi ve pi-verici hidrojen bağı, GLU82 ile iki adet pi-anyon etkileşimi, LYS268 ile pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

Şekil 4.30 ve Tablo 4.47’de görüldüğü gibi tirozinaz enziminin aktif bölgesi ile etkileşen apigeninin GLY299 ile kromen-4-on hidroksili bir adet konvensiyonel hidrojen bağı, enzimin A ve B alt birimindeki VAL300 ile kromen-4-on üç adet pi-sigma etkileşimi ve VAL300 ile kromen-4-on ve ALA228 ile fenil iki adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.



Şekil 4.29. Apigenin molekülünün lipaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri



Şekil 4.30. Apigenin molekülünün tirozinaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri

Tablo 4.46. Apigenin molekülünün lipaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	B:SER84:HN - :[001:O5	2.20	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	B:SER84:HN	H-Verici	: [001:O5	H-Alıcı
2	B:THR271:HG1 - :[001:O1	1.85	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	B:THR271:HG1	H-Verici	: [001:O1	H-Alıcı
3	: [001:H2 - B:TYR267:O	2.48	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H2	H-Verici	B:TYR267:O	H-Alıcı
4	: [001:H4 - B:SER333:OG	1.96	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H4	H-Verici	B:SER333:OG	H-Alıcı
5	: [001:H8 - B:GLY81:O	1.67	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H8	H-Verici	B:GLY81:O	H-Alıcı
6	B:LYS268:NZ - :[001	3.14	Elektrostatik	Pi-Katyon	B:LYS268:NZ	Pozitif	: [001	Pi-Orbital
7	B:LYS268:HZ2 - :[001	2.98	Hidrojen Bağı; Elektrostatik	Pi-Katyon;Pi-Verici Hidrojen Bağı	B:LYS268:HZ2	Pozitif;H-Verici	: [001	Pi-Orbital;Pi-Orbital
8	B:GLU82:OE1 - :[001	4.96	Elektrostatik	Pi-Anyon	B:GLU82:OE1	Negatif	: [001	Pi-Orbital
9	B:GLU82:OE2 - :[001	4.61	Elektrostatik	Pi-Anyon	B:GLU82:OE2	Negatif	: [001	Pi-Orbital
10	: [001 - B:LYS268	4.55	Hidroforobik	Pi-Alkil	: [001	Pi-Orbital	B:LYS268	Alkil
11	: [001 - B:LYS268	3.89	Hidroforobik	Pi-Alkil	: [001	Pi-Orbital	B:LYS268	Alkil

Tablo 4.47. Apigenin molekülünün tirozinaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	: [001:H4 - A:GLY299:O	1.91	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H4	H-Verici	A:GLY299:O	H-Alıcı
2	A:VAL300:CG1 - :[001	3.45	Hidroforobik	Pi-Sigma	A:VAL300:CG1	C-H	: [001	Pi-Orbital
3	B:VAL300:CG1 - :[001	3.85	Hidroforobik	Pi-Sigma	B:VAL300:CG1	C-H	: [001	Pi-Orbital
4	B:VAL300:CG2 - :[001	3.93	Hidroforobik	Pi-Sigma	B:VAL300:CG2	C-H	: [001	Pi-Orbital
5	: [001 - A:VAL300	5.12	Hidroforobik	Pi-Alkil	: [001	Pi-Orbital	A:VAL300	Alkil
6	: [001 - B:ALA228	4.22	Hidroforobik	Pi-Alkil	: [001	Pi-Orbital	B:ALA228	Alkil

Tablo 4.48’de gösterildiği gibi apigeninin; üreaz, AChE, BChE, KA, α -amilaz, α -glikozidaz, lipaz ve tirozinaz ile etkileşimlerinin MolDock skorları sırasıyla -77.49, -79.90, -104.75, -97.16, -76.05, -62.15, -75.02 ve -97.98 olarak bildirilmiştir. En yüksek MolDock skoru BChE gözlenmiştir. Ayrıca, bağlanma enerjileri sırasıyla -7.60, -9.00, -9.50, -7.80, -9.50, -8.70, -8.00 ve -8.80 kcal/mol olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda BChE ve α -amilaz en yüksek bağlanma enerjisine sahiptir. Elde edilen bağlanma enerjileri $\Delta G = R.T.\ln K_i$ denkleminde yerine koyularak bağlanma sabitleri üreaz için 3.27 μ M, AChE için 0.62 μ M, BChE için 0.25 μ M, KA için 1.89 μ M, α -amilaz için 0.20 μ M, α -glikozidaz için 0.73 μ M, lipaz için 2.27 μ M ve tirozinaz için 0.62 μ M olarak hesaplanmıştır. Bağlanma enerjisi yüksek olan molekülün bağlanma sabitinin düşük olması beklenir. Bu bağlamda bağlanma enerjileri yüksek olan BChE ve α -amilazın bağlanma sabitlerinin düşük olduğu gözlenmiştir.

Tablo 4.48. Apigeninin enzimlerle etkileşiminin bağlanma enerjileri ve K_i değerleri

Apigenin	MolDock Skoru	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)	Bağlanma sabiti (K_i (μ M))
Üreaz	-77.49	-7.60	3.27
AChE	-79.90	-9.00	0.25
BChE	-104.75	-9.50	0.11
KA	-97.16	-7.80	1.89
α -Amilaz	-76.08	-9.50	0.20
α -Glikozidaz	-62.15	-8.70	0.73
Lipaz	-75.02	-8.00	2.27
Tirozinaz	-97.98	-8.80	0.62

Sarkar vd (2022), apigeninin α -amilaz moleküler etkileşiminin bağlanma enerjisini -8.50 kcal/mol olarak belirlemiştir. Tiji vd (2021), *Nigella sativa* n-hekzan ekstraktından izole edilen apigeninin α -amilaz ile moleküler etkileşiminin bağlanma enerjisini -7.70 kcal/mol olarak bildirmiştir. Tolmie vd (2021), apigeninin α -amilaz moleküler etkileşiminin bağlanma enerjisini -6.10 kcal/mol olarak incelemiştir. Tez çalışmasında, apigenin molekülünün bağlanma enerjisi, Sarkar vd (2022), Tiji vd (2021) ve Tolmie vd (2021)'nin hesapladığı bağlanma enerjilerinden daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Zeng vd (2016) ve Yang vd (2021), apigeninin α -glikozidaz enzimi ile moleküler etkileşimlerini incelemiştir. Tolmie vd (2021), apigeninin α -glikozidaz enziminin moleküler etkileşiminin bağlanma enerjisini -5.30 kcal/mol olarak incelemiştir. Tez çalışmasında, apigenin molekülünün bağlanma enerjisi, Tolmie vd (2021)'nin hesapladığı bağlanma enerjisinden daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Li vd (2021), apigeninin lipaz enzimi ile moleküler etkileşiminin bağlanma enerjisini -38.87 kJ/mol olarak belirlemiştir. Liang vd (2022), apigeninin lipaz enzimi ile moleküler etkileşiminin bağlanma enerjisini -10.10 kcal/mol olarak tahmin etmiştir. Sarkar vd (2022), apigeninin lipaz enziminin moleküler etkileşiminin bağlanma enerjisini -9.40 kcal/mol olarak belirlemiştir. Tez çalışmasında, apigenin molekülünün bağlanma enerjisi, Li vd (2021), Liang vd (2022) ve Sarkar vd (2022)'nin hesapladığı bağlanma enerjisinden daha düşük olduğu gözlenmiştir.

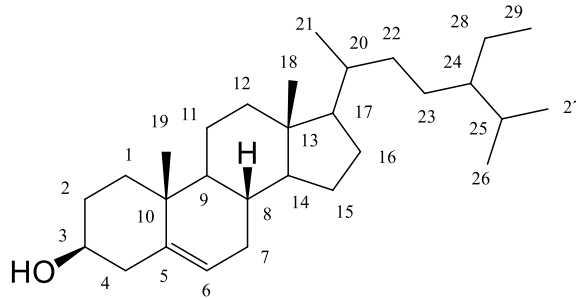
4.4.2. β -Sitosterol

β -Sitosterol molekülü, *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktından elde edilen kloroform birinci fraksiyonunun silika kolon kromatografisi sonucu elde edilen 3. fraksiyonundan (NBKFr3) kristallendirilerek ayrıldı.

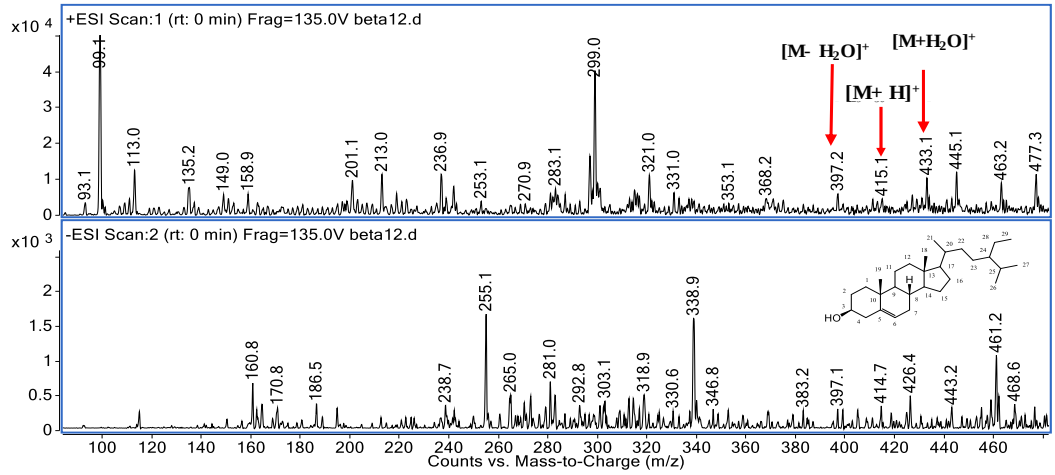
Nepeta türleri üzerine yapılan çalışmalarda, Rehman vd (2017), *N. kurramensis* metanol ekstraktından; Hemaia vd (2015), *N. cataria* petrol eteri ekstraktından; Siddique vd (2017a), *N. hindostana* metanol ekstraktından; Hussain vd (2008), *N. suaveis* metanol ekstraktından; Bisht vd (2010), *N. clarkei* kloroform ekstraktından; Klimek ve Modnicki (2005), *N. cataria* L. var. *citriodora* metanol ekstraktından; Jamila vd (2011), *N. juncea* metanol ekstraktından ve Al-Taweel vd (2017), *N. deflersiana* etanol ekstraktının fraksiyonlarından β -sitosterol molekülü izole edilmiştir.

4.4.2.1. β -Sitosterolün Karakterizasyonu

β -Sitosterolün NMR ve MS spektrumları alınıp ve yapısı belirlendi (Şekil 4.31. - 4.33. ve Tablo 4.49.). ^1H -NMR analizi sonucunda görülen alifatik bölgedeki karmaşık sinyaller, molekülün bir fitosterol olduğunu, olefinik bölgedeki spesifik 5.34 ppm'deki olefinik sinyali yapıda bir çift bağ olduğunu, 0.6-1.2 ppm aralığındaki sinyaller metil gruplarının varlığını, 3.51 ppm'deki sinyal ise oksijen atomunun bağlı olduğunu, 2.25-2.28 ppm'deki sinyaller ve COSY etkileşmelerine bakıldığında bu sinyaller $-\text{CH}_2$ grubunun elektronegatif bölgeye komşu olduğunu gösterdi. HSQC ve HMBC etkileşmelerinin incelenmesi ve literatürdeki ^1H ve ^{13}C NMR verilerinin karşılaştırılması yapının β -sitosterol olduğunu doğruladı (Ododo vd, 2016).



Şekil 4.31. β -Sitosterol molekülünün yapısı

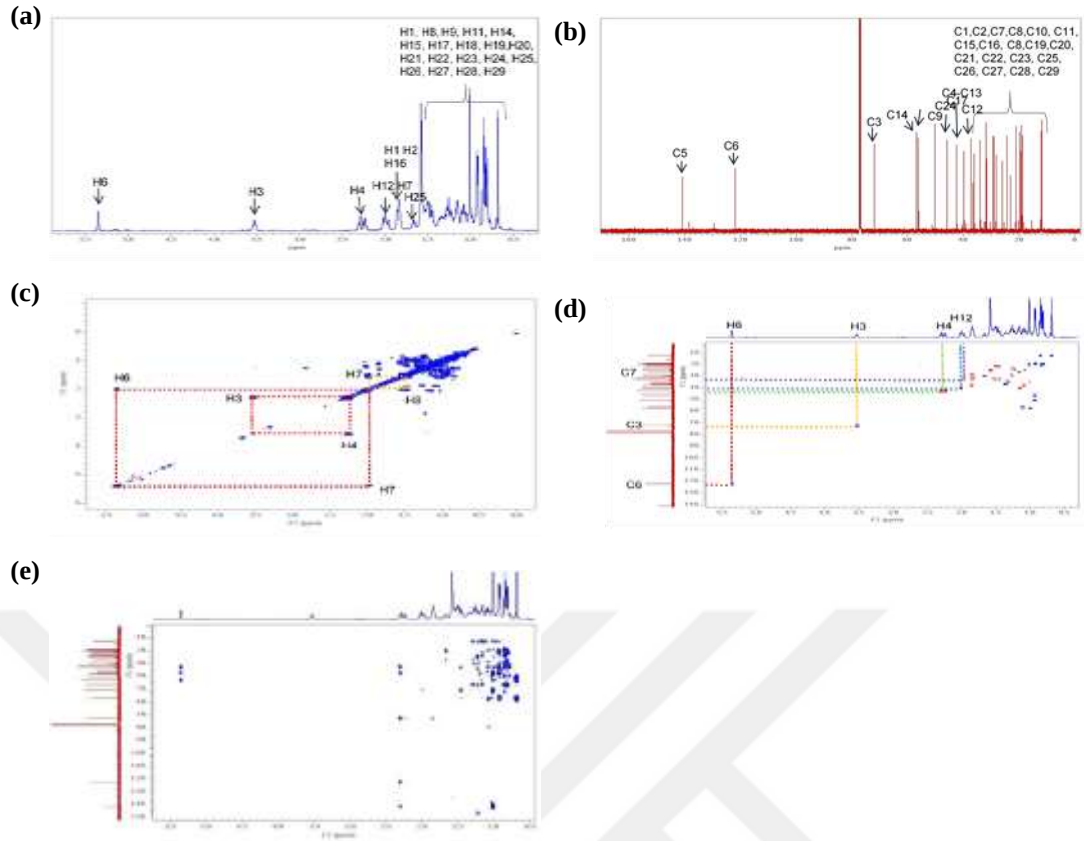


Şekil 4.32. β -Sitosterol molekülünün MS kromatogramı

β -Sitosterol molekülünün $C_{29}H_{50}O$ kapalı formülüne göre kütlesi $[m/z]$ kütlesi 414.71 g/mol olarak hesaplandı ve literatür bilgileri ile doğrulandı (Hemaia vd, 2015).

Tablo 4.49. β -Sitosterol molekülünün 1H ve ^{13}C NMR veri ve literatür değerleri

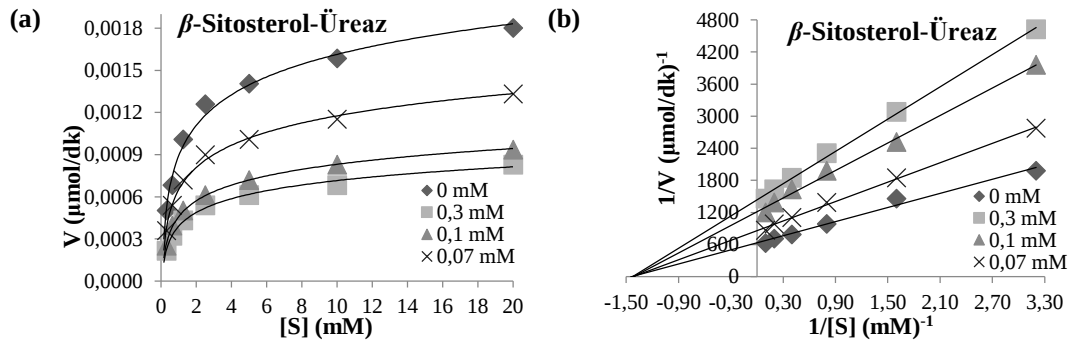
No	1H NMR ($CDCl_3$ 600 MHz)	^{13}C NMR ($CDCl_3$ 150 MHz)	1H NMR ($CDCl_3$ 400 MHz) (Ododo vd, 2016)	^{13}C NMR ($CDCl_3$ 100.06 MHz) (Ododo vd, 2016)
1	1.07-1.84	37.23	1.46	37.28
2	1.50-1.83	31.64	1.56	31.69
3	3.51	71.8	3.54	71.82
4	2.25-2.28	42.28	2.32	42.33
5	-	140.7	-	140.77
6	5.34	121.25	5.37	121.73
7	1.97	31.9	2.04	31.93
8	1.44	31.88	1.69	31.93
9	0.93	50.1	1.55	50.16
10	-	36.49	-	36.51
11	1.48	21.07	1.52	21.11
12	1.15-1.99	39.75	1.51	39.80
13		42.3		42.34
14	0.98	56.75	1.50	56.79
15	1.57	24.29	1.58	24.33
16	1.83	28.24	1.85	28.27
17	1.1	56.02	1.45	56.08
18	0.84	11.85	0.7	11.89
19	1.0	19.39	1.03	19.42
20	1.35	36.13	1.6	36.17
21	0.91	18.77	0.94	18.84
22	1.0-1.31	33.92	0.93	33.98
23	1.15	26.02	1.15	26.11
24	0.92	45.80	1.38	45.86
25	1.65	29.11	1.57	29.19
26	0.82	19.82	0.84	19.84
27	0.8	19.01	0.86	19.06
28	1.21-1.26	23.04	1.12	23.10
29	0.67	11.97	0.82	12.01



Şekil 4.33. β -Sitosterol molekülünün ^1H -NMR (CDCl_3) (a), ^{13}C -NMR (CDCl_3) (b), COSY (c), HSQC (d) ve HMBC (e) spektrumları

4.4.2.2. β -Sitosterolün Enzim İnhibisyon Kinetikleri

β -Sitosterol molekülünün üreaz inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için β -sitosterol molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.34. ve Tablo 4.50.). Üreaz inhibisyon mekanizmasında β -sitosterol molekülünün etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.34 mM olarak hesaplandı.

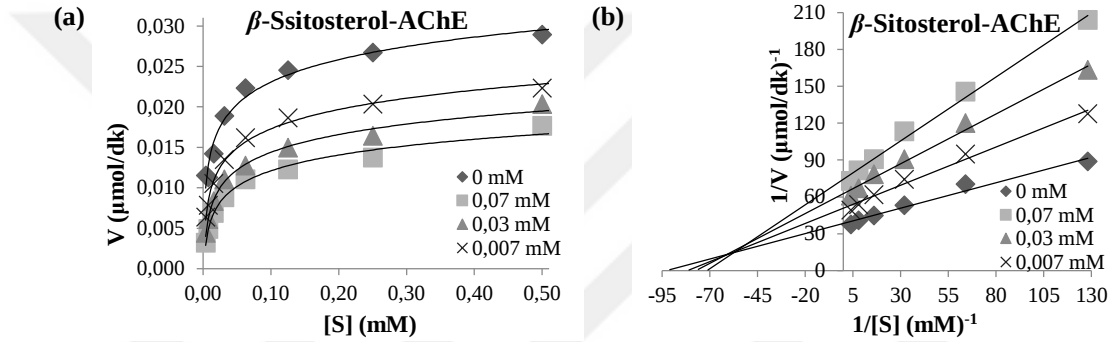


Şekil 4.34. β -Sitosterol molekülünün varlığında üreaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

Tablo 4.50. β -Sitosterol molekülünün varlığında üreaz inhibisyon türü ve K_i değeri

β -Sitosterol, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.00158	0.696	Yarışmasız	0.34
0.07	0.00116	0.700		
0.10	0.00082	0.705		
0.30	0.00070	0.701		

β -Sitosterol molekülünün AChE inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için β -sitosterol molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.35. ve Tablo 4.51.). AChE inhibisyon mekanizmasında β -sitosterol molekülünün etkisi karışık inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.07 mM olarak hesaplandı.

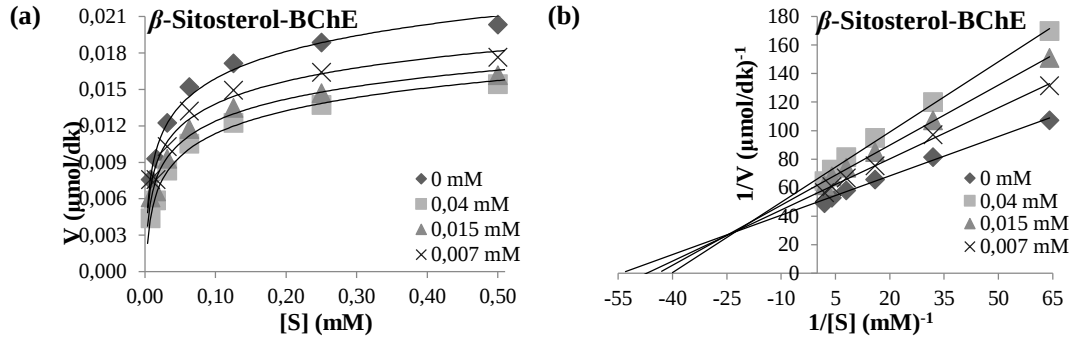


Şekil 4.35. β -Sitosterol molekülünün varlığında AChE inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

Tablo 4.51. β -Sitosterol molekülünün varlığında AChE inhibisyon türü ve K_i değeri

β -Sitosterol, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.0260	0.0108	Karışık-Yarı	0.07
0.07	0.0197	0.0123	yarışmalı	
0.30	0.0160	0.0129		
0.70	0.0135	0.0140		

β -Sitosterol molekülünün BChE inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için β -sitosterol molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.36. ve Tablo 4.52.). BChE inhibisyon mekanizmasında β -sitosterol molekülünün etkisi karışık inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.11 mM olarak hesaplandı.

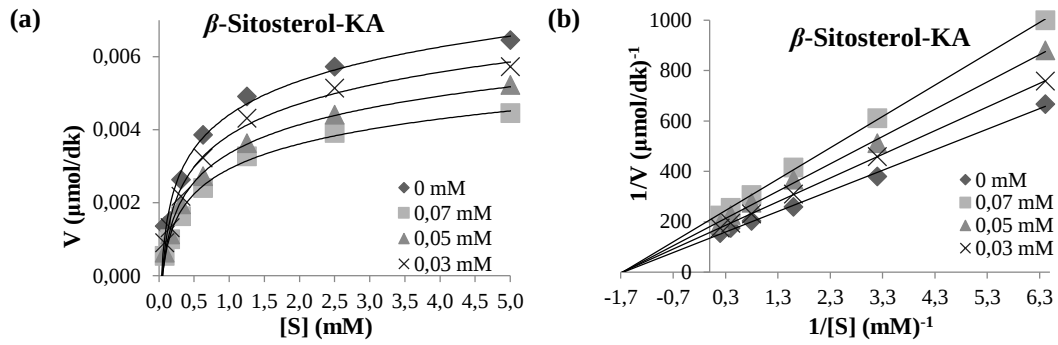


Şekil 4.36. β -Sitosterol molekülünün varlığında BChE inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

Tablo 4.52. β -Sitosterol molekülünün varlığında BChE inhibisyon türü ve K_i değeri

β -Sitosterol, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.000	0.0201	0.0184	Karışık-Yarı	0.11
0.007	0.0177	0.0212	yarışmalı	
0.015	0.0162	0.0228		
0.040	0.0151	0.0248		

β -Sitosterol molekülünün KA inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için β -sitosterol molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.37. ve Tablo 4.53.). KA inhibisyon mekanizmasında β -sitosterol molekülünün etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.20 mM olarak hesaplandı.



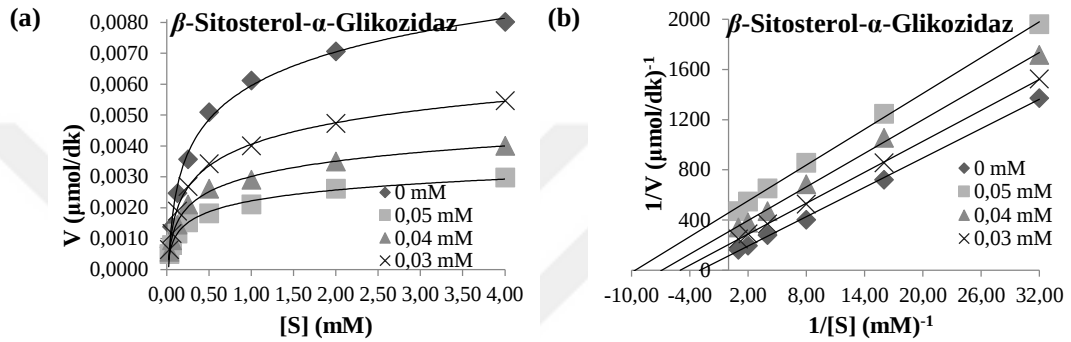
Şekil 4.37. β -Sitosterol molekülünün varlığında KA inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

Tablo 4.53. β -Sitosterol molekülünün varlığında KA inhibisyon türü ve K_i değeri

β -Sitosterol, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.0074	0.604	Yarışmasız	0.20
0.03	0.0064	0.598		
0.05	0.0055	0.601		
0.07	0.0048	0.600		

Sheng vd (2017), *Musa* spp. çiçeğinden izole edilen β -sitosterolün α -amilaz inhibisyon türünü yarı yarışmalı ve K_i değerini 5.51 $\mu\text{g/mL}$ olarak belirlemiştir.

β -Sitosterol molekülünün α -glikozidaz inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için β -sitosterol molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.38. ve Tablo 4.54.). α -Glikozidaz inhibisyon mekanizmasında β -sitosterol molekülünün etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.03 mM olarak hesaplandı.



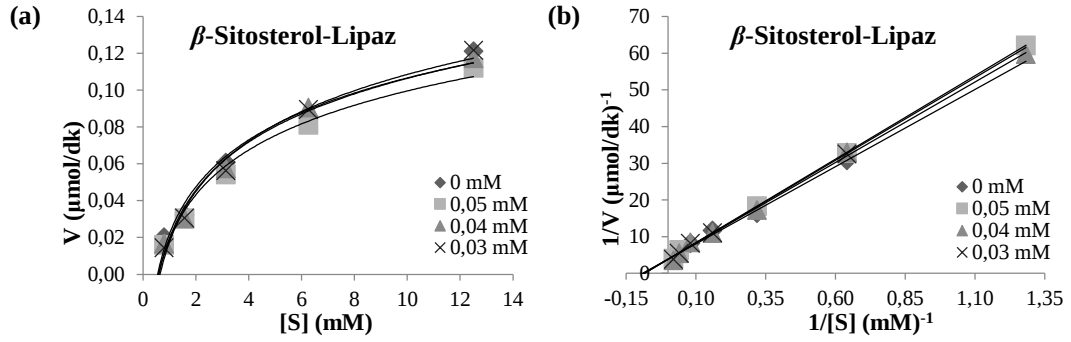
Şekil 4.38. β -Sitosterol molekülünün varlığında α -glikozidaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk b) grafikleri

Tablo 4.54. β -Sitosterol molekülünün varlığında α -glikozidaz inhibisyon türü ve K_i değeri

β -Sitosterol, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.00158	0.696	Yarışmasız	0.34
0.07	0.00116	0.700		
0.10	0.00082	0.705		
0.30	0.00070	0.701		

Sheng vd (2014), β -sitosterolün α -glikozidaz inhibisyon tipinin yarışmalı olduğunu ve K_i değerini 20.09 mg/L olarak hesaplamıştır. Sheng vd (2017), *Musa* spp. çiçeğinden izole edilen β -sitosterolün α -amilaz inhibisyon türünü yarışmasız ve K_i değerini 20.09 $\mu\text{g/mL}$ olarak belirlemiştir.

β -Sitosterol molekülünün lipaz inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için β -Sitosterol molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.39. ve Tablo 4.55.). Lipaz inhibisyon mekanizmasında β -sitosterol molekülünün etkisi yarışmalı inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 1.03 mM olarak hesaplandı.

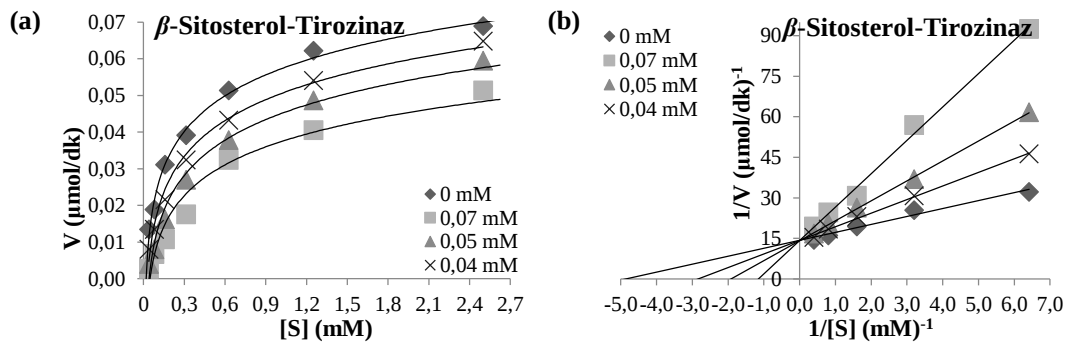


Şekil 4.39. β -Sitosterol molekülünün varlığında lipaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

Tablo 4.55. β -Sitosterol molekülünün varlığında lipaz inhibisyon türü ve K_i değeri

β -Sitosterol, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.263	11.074	Yarışmalı	1.03
0.03	0.264	11.894		
0.04	0.258	11.306		
0.05	0.262	11.939		

β -Sitosterol molekülünün tirozinaz inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için β -sitosterol molekülünün içerdği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.40. ve Tablo 4.56.). Tirozinaz inhibisyon mekanizmasında β -sitosterol molekülünün etkisi yarışmalı inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.04 mM olarak hesaplandı.



Şekil 4.40. β -Sitosterol molekülünün varlığında tirozinaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

Tablo 4.56. β -Sitosterol molekülünün varlığında tirozinaz inhibisyon türü ve K_i değeri

β -Sitosterol, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.070	0.206	Yarışmalı	0.04
0.04	0.070	0.351		
0.05	0.070	0.518		
0.07	0.070	0.868		

4.4.2.3. β -Sitosterolün Moleküler Doking Çalışmaları

Şekil 4.41 ve Tablo 4.57’de görüldüğü gibi üreaz enziminin aktif bölgesi ile etkileşen β -sitosterolün ALA440, ARG439 ve MET588 ile halkalarla dört adet ve MET637 ile bir adet alkil etkileşimi, HIS492ve HIS519 ile dört adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

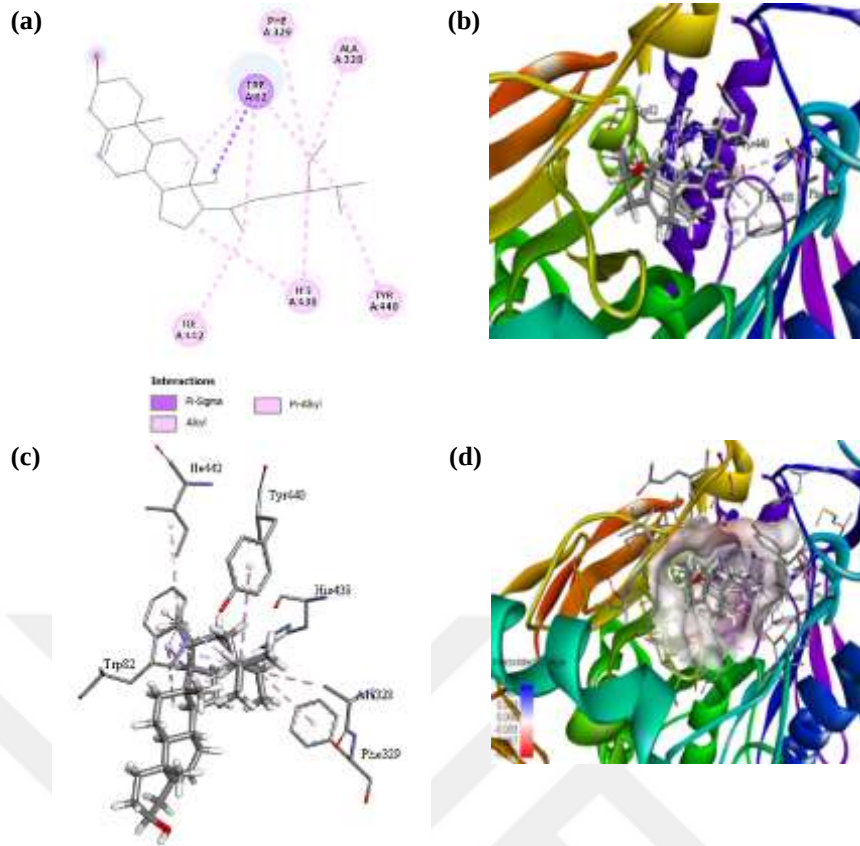
Şekil 4.42 ve Tablo 4.58’de görüldüğü gibi AChE enziminin aktif bölgesi ile etkileşen β -sitosterolün ARG364 ile bir adet konvensiyonel hidrojen bağı, LEU360, ARG364, ALA375, VAL379, LEU380 ve ARG534 ile on adet alkil etkileşimi ve PHE535 ile bir adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

Tablo 4.57. β -Sitosterol molekülünün üreaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

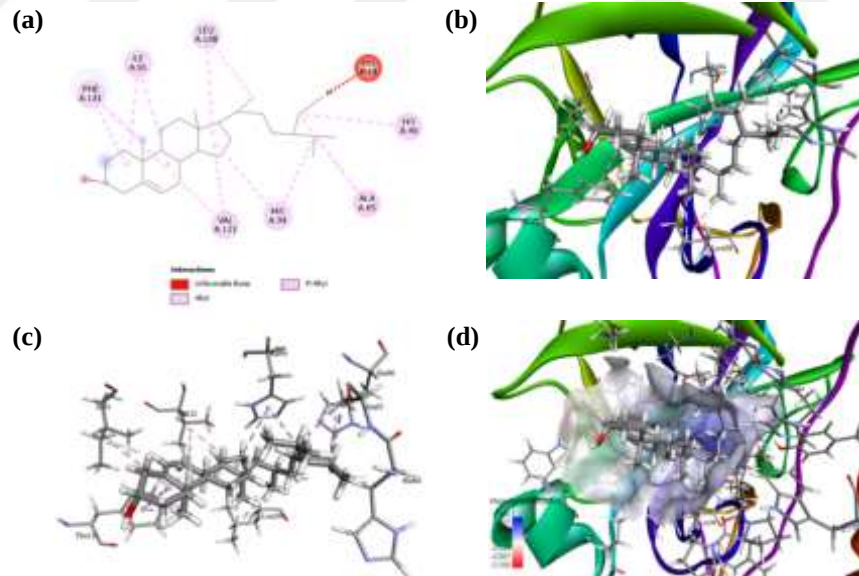
No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	A:ARG439 - :[021	5.22	Hidrofobik	Alkil	A:ARG439	Alkil	:[021	Alkil
2	A:ALA440 - :[021	4.33	Hidrofobik	Alkil	A:ALA440	Alkil	:[021	Alkil
3	A:MET588 - :[021	5.17	Hidrofobik	Alkil	A:MET588	Alkil	:[021	Alkil
4	:[021:C23 - A:MET637	4.44	Hidrofobik	Alkil	:[021:C23	Alkil	A:MET637	Alkil
5	:[021:C28 - A:MET588	5.25	Hidrofobik	Alkil	:[021:C28	Alkil	A:MET588	Alkil
6	A:HIS492 - :[021:C23	5.45	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:HIS492	Pi-Orbital	:[021:C23	Alkil
7	A:HIS492 - :[021:C24	4.69	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:HIS492	Pi-Orbital	:[021:C24	Alkil
8	A:HIS519 - :[021:C23	5.17	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:HIS519	Pi-Orbital	:[021:C23	Alkil
9	A:HIS519 - :[021:C24	3.76	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:HIS519	Pi-Orbital	:[021:C24	Alkil

Tablo 4.58. β -Sitosterol molekülünün AChE ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	B:ARG364:NH1 - :[001:O1	3.19	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	B:ARG364:NH1	H-Verici	:[001:O1	H-Alıcı
2	B:LEU360 - :[001	4.73	Hidrofobik	Alkil	B:LEU360	Alkil	:[001	Alkil
3	B:LEU360 - :[001	4.37	Hidrofobik	Alkil	B:LEU360	Alkil	:[001	Alkil
4	B:LEU360 - :[001	4.09	Hidrofobik	Alkil	B:LEU360	Alkil	:[001	Alkil
5	B:ARG364 - :[001	5.30	Hidrofobik	Alkil	B:ARG364	Alkil	:[001	Alkil
6	B:ALA375 - :[001	4.88	Hidrofobik	Alkil	B:ALA375	Alkil	:[001	Alkil
7	B:VAL379 - :[001	4.78	Hidrofobik	Alkil	B:VAL379	Alkil	:[001	Alkil
8	B:VAL379 - :[001	4.88	Hidrofobik	Alkil	B:VAL379	Alkil	:[001	Alkil
9	B:VAL379 - :[001	3.52	Hidrofobik	Alkil	B:VAL379	Alkil	:[001	Alkil
10	:[001:C23 - B:LEU380	4.37	Hidrofobik	Alkil	:[001:C23	Alkil	B:LEU380	Alkil
11	:[001:C23 - C:ARG534	4.38	Hidrofobik	Alkil	:[001:C23	Alkil	C:ARG534	Alkil
12	C:PHE535 - :[001:C23	5.04	Hidrofobik	Pi-Alkil	C:PHE535	Pi-Orbital	:[001:C23	Alkil



Şekil 4.43. β -Sitosterol molekülünün BChE ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri



Şekil 4.44. β -Sitosterol molekülünün KA ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri

Tablo 4.59. β -Sitosterol molekülünün BChE ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

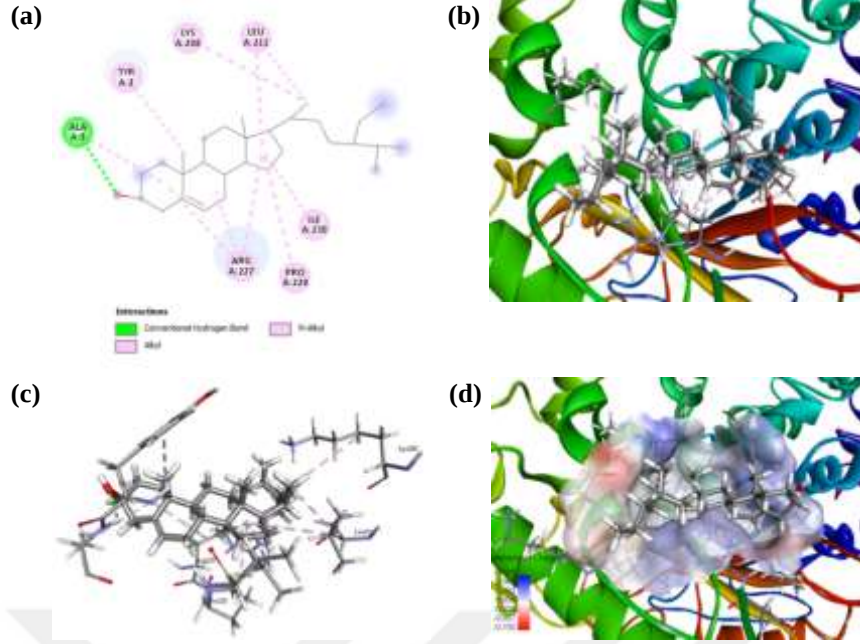
No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	: [011:H48 - A:TRP82	2.90	Hidrofbik	Pi-Sigma	: [011:H48	C-H	A:TRP82	Pi-Orbital
2	A:ALA328 - : [011:C24	3.92	Hidrofbik	Alkil	A:ALA328	Alkil	: [011:C24	Alkil
3	: [011:C19 - A:ILE442	5.50	Hidrofbik	Alkil	: [011:C19	Alkil	A:ILE442	Alkil
4	A:TRP82 - : [011	5.11	Hidrofbik	Pi-Alkil	A:TRP82	Pi-Orbital	: [011	Alkil
5	A:TRP82 - : [011:C19	5.14	Hidrofbik	Pi-Alkil	A:TRP82	Pi-Orbital	: [011:C19	Alkil
6	A:TRP82 - : [011:C23	3.83	Hidrofbik	Pi-Alkil	A:TRP82	Pi-Orbital	: [011:C23	Alkil
7	A:TRP82 - : [011:C19	3.86	Hidrofbik	Pi-Alkil	A:TRP82	Pi-Orbital	: [011:C19	Alkil
8	A:TRP82 - : [011:C23	4.83	Hidrofbik	Pi-Alkil	A:TRP82	Pi-Orbital	: [011:C23	Alkil
9	A:PHE329 - : [011:C24	5.03	Hidrofbik	Pi-Alkil	A:PHE329	Pi-Orbital	: [011:C24	Alkil
10	A:HIS438 - : [011	4.91	Hidrofbik	Pi-Alkil	A:HIS438	Pi-Orbital	: [011	Alkil
11	A:HIS438 - : [011:C24	4.16	Hidrofbik	Pi-Alkil	A:HIS438	Pi-Orbital	: [011:C24	Alkil
12	A:TYR440 - : [011:C23	5.26	Hidrofbik	Pi-Alkil	A:TYR440	Pi-Orbital	: [011:C23	Alkil

Tablo 4.60. β -Sitosterol molekülünün KA ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

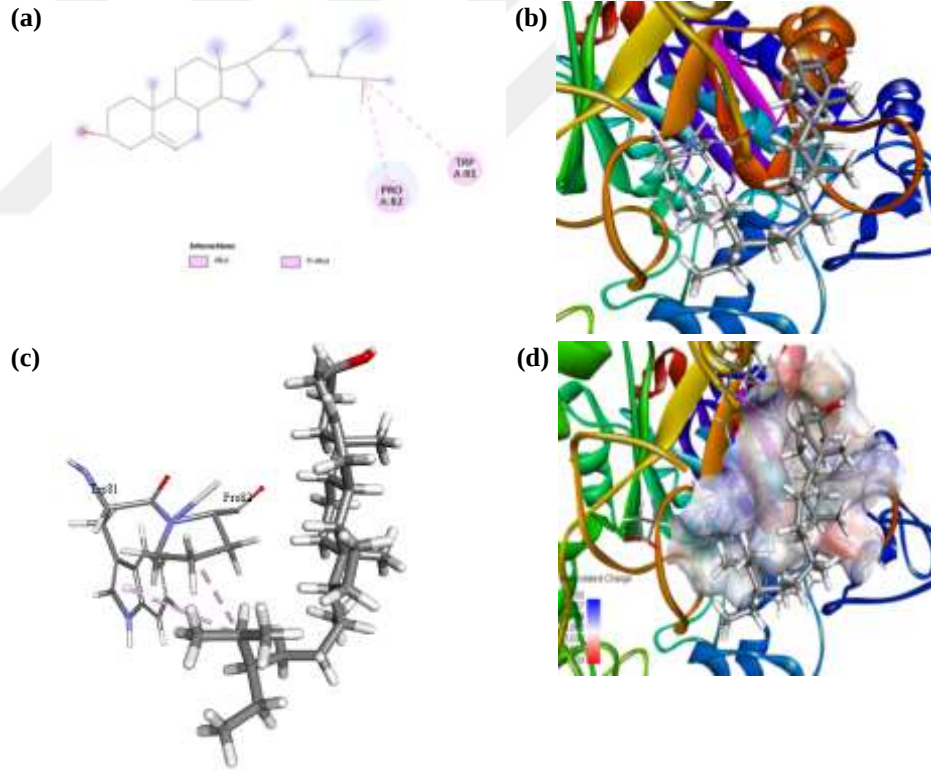
No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	A:ALA65 - : [001:C23	3.53	Hidrofbik	Alkil	A:ALA65	Alkil	: [001:C23	Alkil
2	A:ALA65 - : [001:C24	4.25	Hidrofbik	Alkil	A:ALA65	Alkil	: [001:C24	Alkil
3	A:ILE91 - : [001	5.04	Hidrofbik	Alkil	A:ILE91	Alkil	: [001	Alkil
4	A:ILE91 - : [001	5.21	Hidrofbik	Alkil	A:ILE91	Alkil	: [001	Alkil
5	A:VAL121 - : [001	3.81	Hidrofbik	Alkil	A:VAL121	Alkil	: [001	Alkil
6	A:VAL121 - : [001	4.10	Hidrofbik	Alkil	A:VAL121	Alkil	: [001	Alkil
7	A:LEU198 - : [001	5.03	Hidrofbik	Alkil	A:LEU198	Alkil	: [001	Alkil
8	: [001:C19 - A:LEU198	3.94	Hidrofbik	Alkil	: [001:C19	Alkil	A:LEU198	Alkil
9	A:HIS94 - : [001	4.52	Hidrofbik	Pi-Alkil	A:HIS94	Pi-Orbital	: [001	Alkil
10	A:HIS94 - : [001:C23	3.85	Hidrofbik	Pi-Alkil	A:HIS94	Pi-Orbital	: [001:C23	Alkil
11	A:HIS96 - : [001:C24	4.53	Hidrofbik	Pi-Alkil	A:HIS96	Pi-Orbital	: [001:C24	Alkil
12	A:PHE131 - : [001	4.53	Hidrofbik	Pi-Alkil	A:PHE131	Pi-Orbital	: [001	Alkil
13	A:PHE131 - : [001	4.23	Hidrofbik	Pi-Alkil	A:PHE131	Pi-Orbital	: [001	Alkil
14	A:PHE131 - : [001:C28	3.59	Hidrofbik	Pi-Alkil	A:PHE131	Pi-Orbital	: [001:C28	Alkil

Şekil 4.45 ve Tablo 4.61’de görüldüğü gibi α -amilaz enziminin aktif bölgesi ile etkileşen β -sitosterolün ALA3 ile bir adet konvensiyonel hidrojen bağı, ALA3, LEU211, ARG227, PRO228, ILE230 ve LYS208 ile dokuz adet alkil etkileşimi ve TYR2 ile bir adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

Şekil 4.46 ve Tablo 4.62’de görüldüğü gibi α -glukozidaz enziminin aktif bölgesi ile etkileşen β -sitosterolün PRO82 ile bir adet alkil etkileşimi ve TRP81 ile bir adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.



Şekil 4.45. β -Sitosterol molekülünün α -amilaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri



Şekil 4.46. β -Sitosterol molekülünün α -glukozidaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri

Tablo 4.61. β -Sitosterol molekülünün α -amilaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	A:ALA3:HN - :[001:O1	2.61	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:ALA3:HN	H-Verici	: [001:O1	H-Alıcı
2	A:ALA3 - :[001	4.68	Hidrofobik	Alkil	A:ALA3	Alkil	: [001	Alkil
3	A:LEU211 - :[001	5.10	Hidrofobik	Alkil	A:LEU211	Alkil	: [001	Alkil
4	A:ARG227 - :[001	4.73	Hidrofobik	Alkil	A:ARG227	Alkil	: [001	Alkil
5	A:ARG227 - :[001	3.55	Hidrofobik	Alkil	A:ARG227	Alkil	: [001	Alkil
6	A:ARG227 - :[001	4.20	Hidrofobik	Alkil	A:ARG227	Alkil	: [001	Alkil
7	A:PRO228 - :[001	5.03	Hidrofobik	Alkil	A:PRO228	Alkil	: [001	Alkil
8	A:ILE230 - :[001	4.84	Hidrofobik	Alkil	A:ILE230	Alkil	: [001	Alkil
9	: [001:C19 - A:LYS208	4.81	Hidrofobik	Alkil	: [001:C19	Alkil	A:LYS208	Alkil
10	: [001:C19 - A:LEU211	3.79	Hidrofobik	Alkil	: [001:C19	Alkil	A:LEU211	Alkil
11	A:TYR2 - :[001:C28	3.90	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:TYR2	Pi-Orbital	: [001:C28	Alkil

Tablo 4.62. β -Sitosterol molekülünün α -glukozidaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

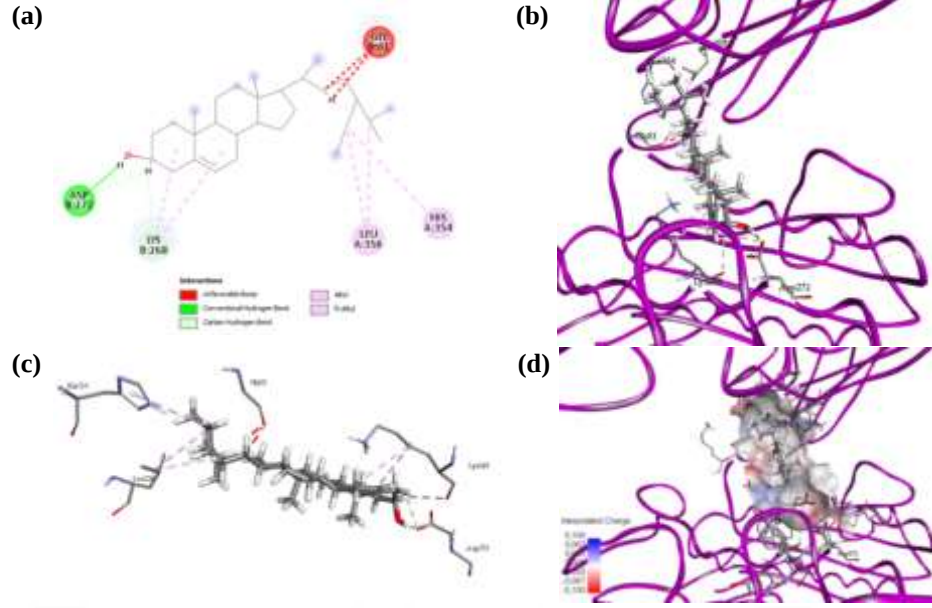
No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	: [001:C23 - A:PRO82	4.01	Hidrofobik	Alkil	: [001:C23	Alkil	A:PRO82	Alkil
2	A:TRP81 - :[001:C23	4.98	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:TRP81	Pi-Orbital	: [001:C23	Alkil

Şekil 4.47 ve Tablo 4.63’de görüldüğü gibi lipaz enziminin aktif bölgesi ile etkileşen β -sitosterolün ASP272 ile bir adet konvensiyonel hidrojen bağı, ASP272 ve LYS268 ile iki adet karbon hidrojen bağı, LYS268 ve LEU356 ile dört adet alkil etkileşimi ve HIS354 ile bir adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

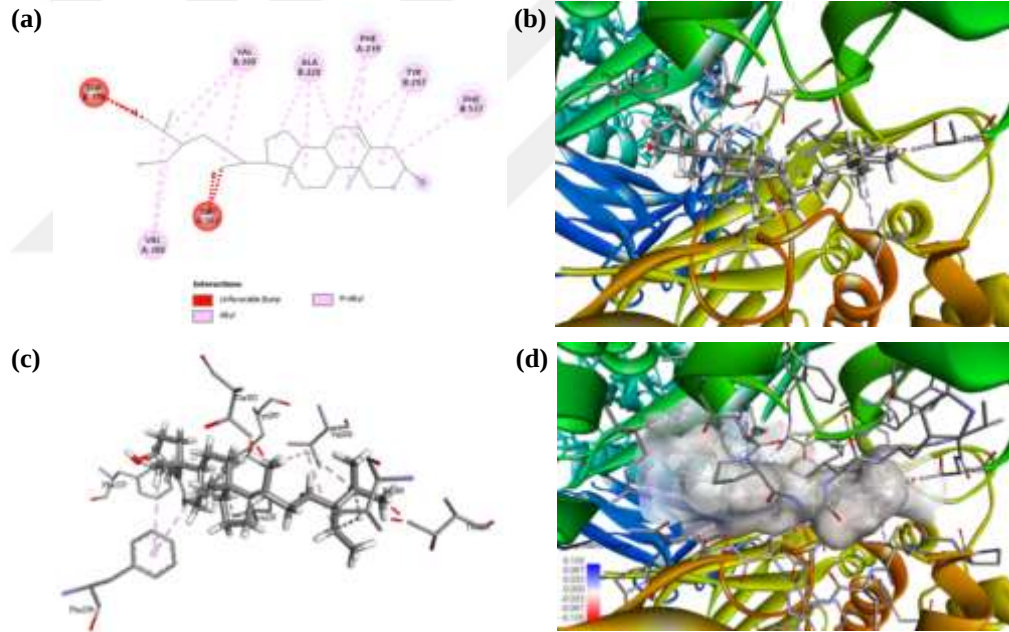
Şekil 4.48 ve Tablo 4.64’de görüldüğü gibi tirozinaz enziminin aktif bölgesi ile etkileşen β -sitosterolün ALA228 ve VAL300 ile sekiz adet alkil etkileşimi, PHE239, TYR297 ve PHE537 ile beş adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

Tablo 4.63. β -Sitosterol molekülünün lipaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	: [011:H44 - B:ASP272:OD1	1.66	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [011:H44	H-Verici	B:ASP272:OD1	H-Alıcı
2	: [011:H9 - B:LYS268:O	3.09	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	: [011:H9	H-Verici	B:LYS268:O	H-Alıcı
3	: [011:H9 - B:ASP272:OD1	2.81	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	: [011:H9	H-Verici	B:ASP272:OD1	H-Alıcı
4	B:LYS268 - :[011	4.36	Hidrofobik	Alkil	B:LYS268	Alkil	: [011	Alkil
5	B:LYS268 - :[011	4.95	Hidrofobik	Alkil	B:LYS268	Alkil	: [011	Alkil
6	: [011:C23 - A:LEU356	4.25	Hidrofobik	Alkil	: [011:C23	Alkil	A:LEU356	Alkil
7	: [011:C24 - A:LEU356	4.85	Hidrofobik	Alkil	: [011:C24	Alkil	A:LEU356	Alkil
8	A:HIS354 - :[011:C24	4.84	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:HIS354	Pi-Orbital	: [011:C24	Alkil



Şekil 4.47. β -Sitosterol molekülünün lipaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri



Şekil 4.48. β -Sitosterol molekülünün tirozinaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri

Tablo 4.64. β -Sitosterol molekülünün tirozinaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	B:ALA228 - :[001	3.16	Hidrofobik	Alkil	B:ALA228	Alkil	:[001	Alkil
2	B:ALA228 - :[001	4.25	Hidrofobik	Alkil	B:ALA228	Alkil	:[001	Alkil
3	B:ALA228 - :[001	3.81	Hidrofobik	Alkil	B:ALA228	Alkil	:[001	Alkil
4	:[001:C19 - B:VAL300	4.56	Hidrofobik	Alkil	:[001:C19	Alkil	B:VAL300	Alkil
5	:[001:C23 - A:VAL300	4.29	Hidrofobik	Alkil	:[001:C23	Alkil	A:VAL300	Alkil
6	:[001:C23 - B:VAL300	4.18	Hidrofobik	Alkil	:[001:C23	Alkil	B:VAL300	Alkil
7	:[001:C24 - A:VAL300	4.61	Hidrofobik	Alkil	:[001:C24	Alkil	A:VAL300	Alkil
8	:[001:C24 - B:VAL300	5.26	Hidrofobik	Alkil	:[001:C24	Alkil	B:VAL300	Alkil
9	A:PHE239 - :[001	4.98	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:PHE239	Pi-Orbital	:[001	Alkil
10	A:PHE239 - :[001:C28	5.34	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:PHE239	Pi-Orbital	:[001:C28	Alkil
11	B:TYR297 - :[001	4.81	Hidrofobik	Pi-Alkil	B:TYR297	Pi-Orbital	:[001	Alkil
12	B:TYR297 - :[001	4.83	Hidrofobik	Pi-Alkil	B:TYR297	Pi-Orbital	:[001	Alkil
13	B:PHE537 - :[001	5.47	Hidrofobik	Pi-Alkil	B:PHE537	Pi-Orbital	:[001	Alkil

Tablo 4.65’de gösterildiği gibi β -sitosterolün; üreaz, AChE, BChE, KA, α -amilaz, α -glikozidaz, lipaz ve tirozinaz ile etkileşimlerinin MolDock skorları sırasıyla -108.43, -116.61, -122.78, -85.55, -106.09, -78.47, -102.09 ve -125.86 olarak bildirilmiştir. En yüksek MolDock skoru tirozinaz etkileşmesinde gözlenmiştir. Ayrıca, bağlanma enerjileri sırasıyla -7.50, -10.80, -9.80, -7.40, -8.90, -8.00, -7.00 ve -8.80 kcal/mol olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda AChE ve BChE en yüksek bağlanma enerjisine sahiptir. Elde edilen bağlanma enerjileri $\Delta G = R.T.\ln K_i$ denkleminde yerine koyularak bağlanma sabitleri üreaz için 3.86 μM , AChE için 0.01 μM , BChE için 0.06 μM , KA için 3.71 μM , α -amilaz için 0.53 μM , α -glikozidaz için 2.27 μM , lipaz için 11.54 μM ve tirozinaz için 0.62 μM olarak hesaplanmıştır. Bağlanma enerjisi yüksek olan molekülün bağlanma sabitinin düşük olması beklenir. Bu bağlamda bağlanma enerjileri yüksek olan AChE ve BChE bağlanma sabitlerinin düşük olduğu gözlenmiştir.

Tablo 4.65. β -Sitosterolün enzimlerle etkileşiminin bağlanma enerjileri ve K_i değerleri

β -Sitosterol	MolDock Skoru	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)	Bağlanma sabiti (K_i (μM))
Üreaz	-108.43	-7.50	3.86
AChE	-116.61	-10.80	0.01
BChE	-122.78	-9.80	0.06
KA	-85.55	-7.40	3.71
α -Amilaz	-106.09	-8.90	0.53
α -Glikozidaz	-78.47	-8.00	2.27
Lipaz	-102.09	-7.00	11.54
Tirozinaz	-125.86	-8.80	0.62

Bahadori vd (2016) yaptıkları çalışmada, *S. syriaca* L. aseton ekstraktının *n*-hekzan-etil asetat gradiyent sistemine göre elde edilen Fr9’dan saflaştırılan β -sitosterolün AChE etkileşiminin bağlanma enerjisini -11.31 kcal/mol olarak

belirlemiştir. Tez çalışmasında, β -sitosterolün bağlanma enerjisi daha düşük olarak belirlendi.

Ayaz vd (2017) yaptıkları araştırmada, *P. hydropiper* L.'dan izole edilen β -sitosterolün AChE ve BChE etkileşimlerinin bağlanma enerjilerini sırasıyla -5.62 ve -5.77 kcal/mol olarak bulmuştur. Tez çalışmasında, β -sitosterolün bağlanma enerjisi daha yüksek olarak bulundu.

Quek vd (2021) yaptıkları araştırmada, *M. latifolia* kabuğunun *n*-hekzan ekstraktının kloroform fraksiyonundan izole edilen β -sitosterol- α -amilaz etkileşiminin bağlanma enerjisini -9.30 kcal/mol olarak hesaplamıştır. Tez çalışmasında, NBKFr3 fraksiyonundan saflaştırılan β -sitosterol- α -amilaz etkileşiminin bağlanma enerjisi daha yüksek olarak gözlemlendi.

Hasan vd (2016), *Nauclea latifolia*'dan izole edilen β -sitosterol- α -amilaz etkileşiminin doking skoru -3.21 olarak belirlemiştir.

Purnomo vd (2021) yaptıkları çalışmada, *Urena lobata* yaprak kısmının etanol ekstraktından izole edilen β -sitosterolün α -amilaz ve α -glukozidaz etkileşiminin bağlanma enerjilerini sırasıyla -8.66 ve -9.59 kcal/mol olarak hesaplamıştır. Tez çalışmasında, β -sitosterol- α -amilaz etkileşiminin bağlanma enerjisi daha düşük iken α -glukozidaz etkileşiminin ise daha yüksek olarak kaydedildi.

Mandar vd (2021), *Tinospora cordifolia*'dan izole edilen β -sitosterolün α -amilaz ve α -glukozidaz etkileşiminin bağlanma enerjilerini sırasıyla -9.30 kcal/mol ve -8.50 kcal/mol olarak bulmuştur. Tez çalışmasında, NBKFr3 fraksiyonundan saflaştırılan β -sitosterolün α -amilaz ve α -glukozidaz etkileşiminin bağlanma enerjileri daha yüksek olarak gözlemlendi.

Shanak vd (2021)'nin yaptıkları araştırmada, *Ocimum basilicum* metanol ekstraktından izole edilen β -sitosterolün α -amilaz ve α -glukozidaz etkileşiminin bağlanma enerjilerini sırasıyla -8.38 kcal/mol, -7.93 kcal/mol ve bağlanma sabitlerini ise 719.79 nM, 1.53 μ M olarak gözlemlemiştir. Tez çalışmasında, β -sitosterolün α -amilaz ve α -glukozidaz etkileşiminin bağlanma enerjileri daha düşük olarak gözlemlendi.

Sari vd (2016), *Terminalia catappa* L. meyvesinin *n*-hekzan ekstraktından saflaştırılan β -sitosterolün α -glukozidaz etkileşiminin bağlanma enerjisini -10.61 kcal/mol olarak belirlemiştir. Tez çalışmasında, β -sitosterol- α -glukozidaz etkileşiminin bağlanma enerjisi daha düşük olarak belirlendi.

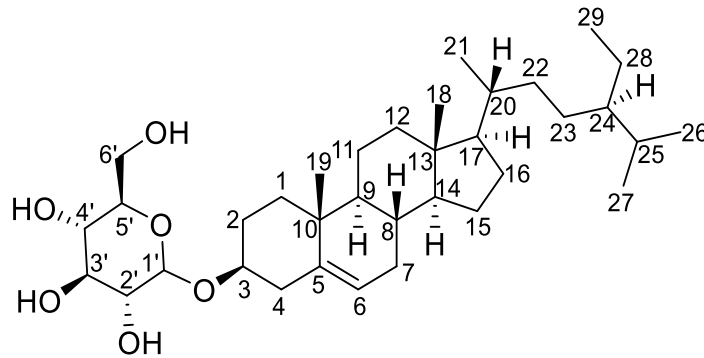
4.4.3. Daukosterol

Daukosterol molekülü *N. baytopii* metanol:kloroform ham ekstraktından elde edilen metanol birinci fraksiyonunun silika kolon kromatografisi sonucu elde edilen 3. fraksiyonundan (NBMFr3) kristallendirildi.

Nepeta türleri üzerine yapılan çalışmalarda, Klimek ve Modnicki (2005), *N. cataria* L. var. *citriodora* metanol ekstraktının fraksiyonlarından daukosterol molekülü izole edilmiştir.

4.4.3.1. Daukosterolün Karakterizasyonu

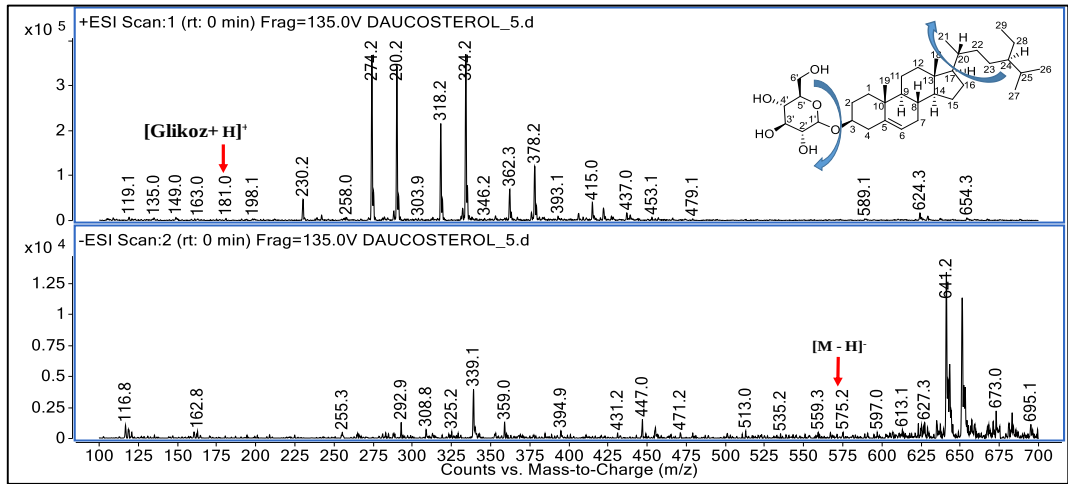
Daukosterolün NMR ve MS spektrumları alınıp yapısı belirlendi (Şekil 4.49. - 4.51. ve Tablo 4.66.). ¹H-NMR spektrumunda gözlenen 5.30 ppm deki olefinik sinyal, alifatik bölgedeki karmaşık sinyaller ve ¹³C-NMR spektrumunda glikozit grubunu gösteren 101.1 ve 61.6 ppm deki sinyaller kullanılarak belirlenmiştir. 0-1 ppm arasındaki metil gruplarının varlığını, 3.43 ppm deki H-3 protonu glikozit yapısına bu konumdan bağlanıldığını gösterdi ve bu HMBC spektrumunda doğrulandı. Glikozit formunun β konformasyonunda bağlandığı anomerik proton, etkileşme sabitinden belirlendi (4.20 ppm ¹H, H-1', $j=7.8$ Hz). Yapılan literatür karşılaştırmaları ve 2D HSQC ve HMBC spektrumları, molekülün daukosterol olduğunu doğruladı (Zhang vd, 2018).



Şekil 4.49. Daukosterol molekülünün yapısı

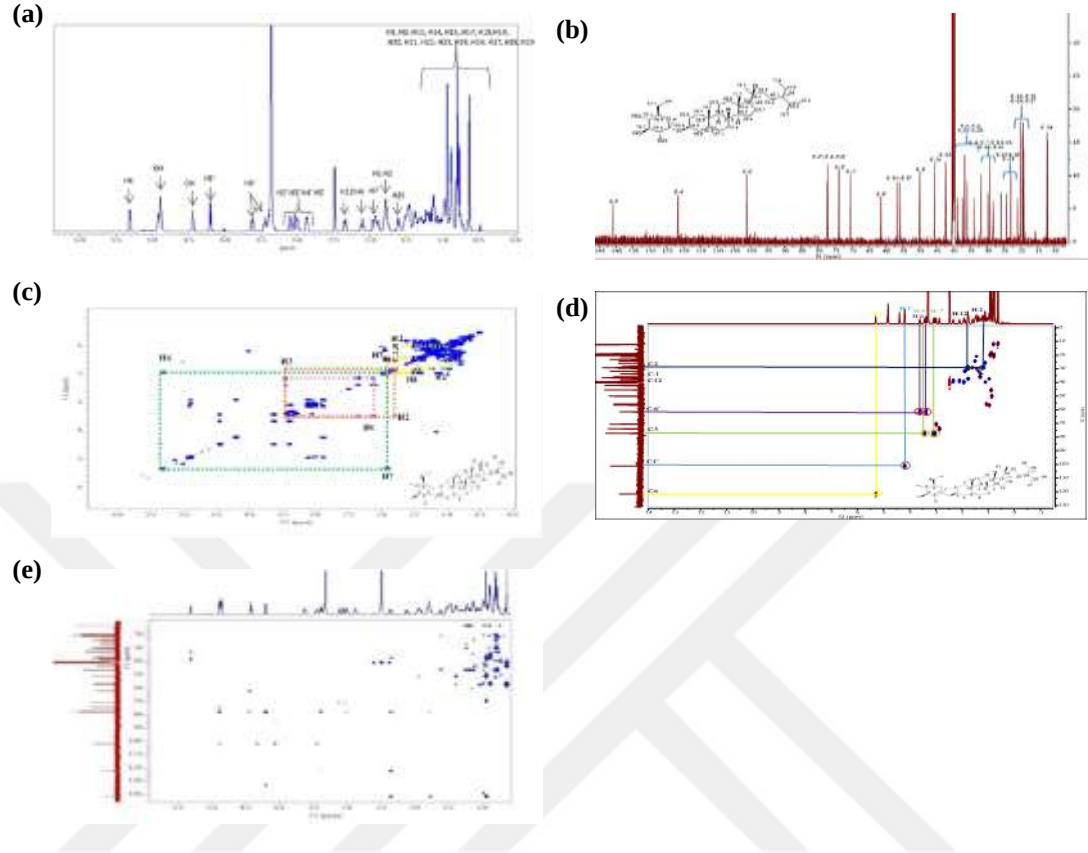
Tablo 4.66. Daukosterol molekülünün ^1H ve ^{13}C NMR veri ve literatür değerleri

No	^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz)	^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz)	^1H NMR (CDCl $_3$:MeOD, DMSO- d_6 400 MHz) (Akramov vd, 2020; Nyemb vd, 2018)	^{13}C NMR (DMSO- d_6) (Zhang vd, 2018)
1	0.96-1.77	37.27	1.04-1.83 (m)	38.3
2	1.44-1.78	29.69	1.58-1.89 (m)	29.2
3	3.43	77.30	3.46 (m)	76.9
4	2.10-2.35	38.72	2.11-2.35 (m)	39.6
5	-	140.1	-	140.4
6	5.30	121.67	5.33 (m)	121.1
7	1.90	31.85	1.52-1.95 (m)	31.4
8	1.37	31.82	1.42 (m)	31.4
9	0.87	50.04	0.90 (m)	49.6
10	-	36.8	-	36.8
11	1.37-1.45	21.04	1.46 (m)	20.6
12	2.35-2.09	39.9	1.99 (m)	39.8
13	-	42.5	-	41.8
14	0.95	56.61	0.98 (m)	56.2
15	1.50	24.32	1.55 (m)	25.4
16	-	28.01	-	28.7
17	1.04	55.81	1.82 (m)	56.2
18	0.67	12.11	0.65 (s)	11.7
19	0.78	19.55	0.96 (s)	19.7
20	1.32	35.94	1.33 (m)	36.2
21	0.93	19.06	0.90 (d, $J=6.5$ Hz)	19.1
22	0.97	33.76	0.99 (m)	35.5
23	1.11	25.81	1.13 (m)	25.4
24	0.88	45.56	0.90 (m)	45.1
25	1.60	29.1	1.63 (m)	29.2
26	0.87	19.56	0.81 (d, $J=6.9$ Hz)	20.6
27	0.87	19.37	0.80 (d, $J=6.9$ Hz)	19.7
28	1.22-1.16	23.02	1.23 (m)	23.8
29	0.79	12.22	0.82 (d, $J=7.2$ Hz)	11.6
1'	4.18	101.1	4.22 (d, $J=7.8$ Hz)	100.8
2'	2.86	73.86	2.90 (t, $J=8.3$ Hz)	73.4
3'	3.04	77.32	3.12 (t, $J=8.8$ Hz)	76.7
4'	2.99	70.45	3.02 (t, $J=8.9$ Hz)	70.1
5'	3.04	77.20	3.07 (ddd, $J=11.1, 5.8, 1.9$ Hz)	76.9
6'	3.38-3.61	61.46	3.64-3.40 (d, $J=11.1$ Hz)	61.1



Şekil 4.50. Daukosterol molekülünün MS kromatogramı

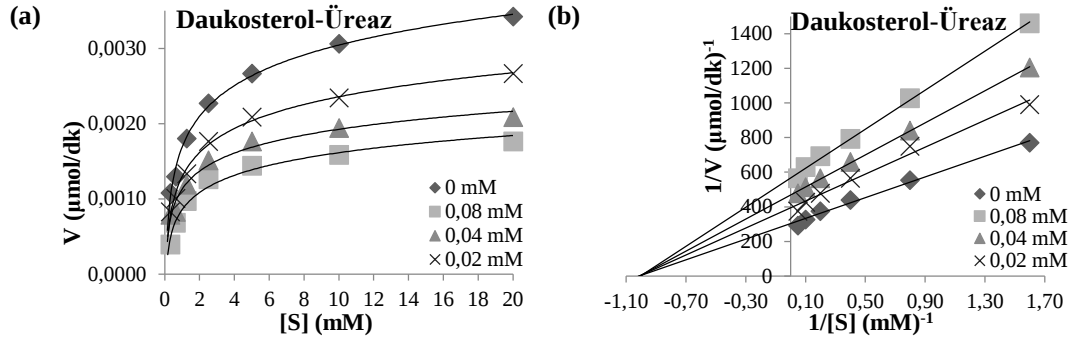
Daukosterol molekülünün $C_{35}H_{60}O_6$ kapalı formülüne göre kütlesi [m/z] kütlesi 576.85 g/mol olarak hesaplandı ve literatür bilgileri ile doğrulandı (Lee vd, 2015).



Şekil 4.51. Daukosterol molekülünün 1H -NMR (DMSO) (a), ^{13}C -NMR (DMSO) (b), COSY (c), HSQC (d) ve HMBC (e) spektrumları

4.4.3.2. Daukosterolün Enzim İnhibisyon Kinetikleri

Daukosterol molekülünün üreaz inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için daukosterol molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.52. ve Tablo 4.67.). Üreaz inhibisyon mekanizmasında daukosterol molekülünün etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.12 mM olarak hesaplandı.

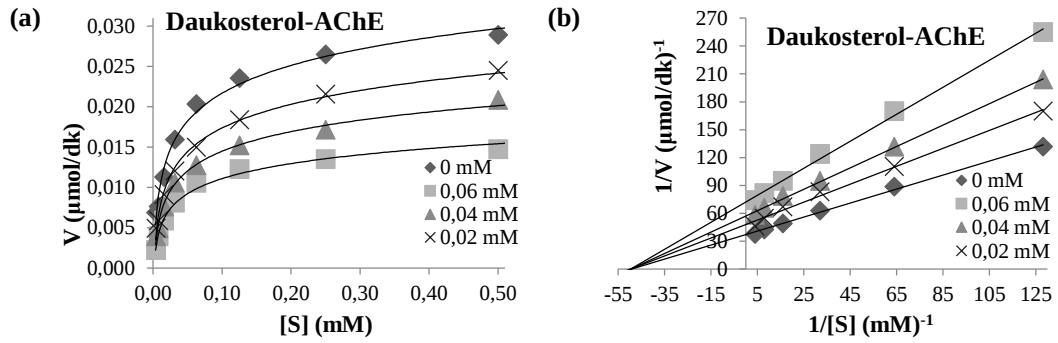


Şekil 4.52. Daukosterol molekülünün varlığında üreaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

Tablo 4.67. Daukosterol molekülünün varlığında üreaz inhibisyon türü ve K_i değeri

Daukosterol, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.00330	0.990	Yarışmasız	0.12
0.02	0.00254	0.992		
0.04	0.00214	0.992		
0.08	0.00177	0.995		

Daukosterol molekülünün AChE inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için daukosterol molekülünün içerdiği veya içermediği ortamlarda Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.53. ve Tablo 4.68.). AChE inhibisyon mekanizmasında daukosterol molekülünün etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.11 mM olarak hesaplandı.

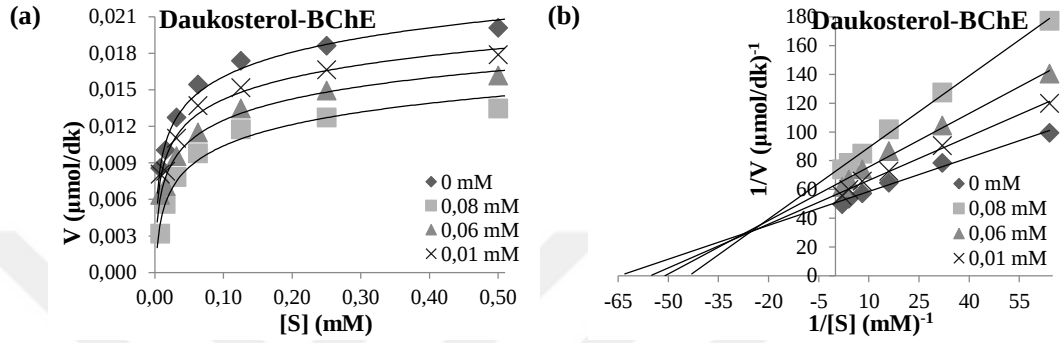


Şekil 4.53. Daukosterol molekülünün varlığında AChE inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

Tablo 4.68. Daukosterol molekülünün varlığında AChE inhibisyon türü ve K_i değeri

Daukosterol, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.0269	0.0203	Yarışmasız	0.11
0.02	0.0208	0.0201		
0.04	0.0175	0.0202		
0.06	0.0139	0.0201		

Daukosterol molekülünün BChE inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için daukosterol molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.54. ve Tablo 4.69.). BChE inhibisyon mekanizmasında daukosterol molekülünün etkisi karışık inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.12 mM olarak hesaplandı.

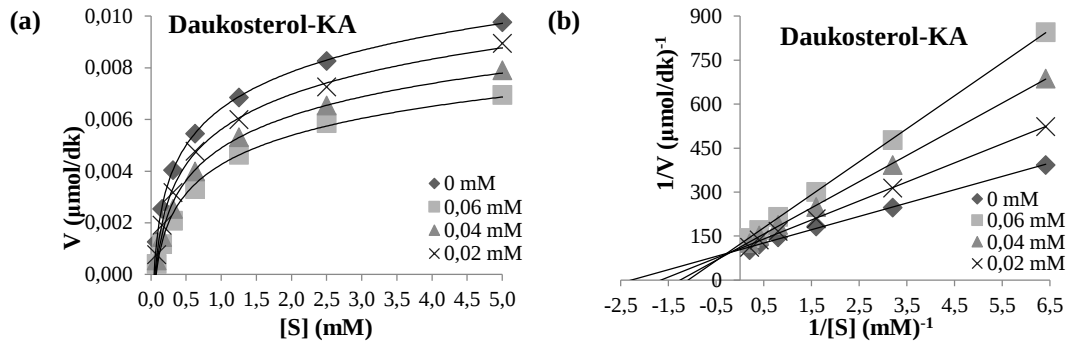


Şekil 4.54. Daukosterol molekülünün varlığında BChE inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

Tablo 4.69. Daukosterol molekülünün varlığında BChE inhibisyon türü ve K_i değeri

Daukosterol, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.0197	0.0155	Karışık-Yarı	0.12
0.01	0.0178	0.0180	yarışmalı	
0.06	0.0158	0.0196		
0.08	0.0138	0.0228		

Daukosterol molekülünün KA inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için daukosterol molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.55. ve Tablo 4.70.). KA inhibisyon mekanizmasında daukosterol molekülünün etkisi karışık inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.43 mM olarak hesaplandı.

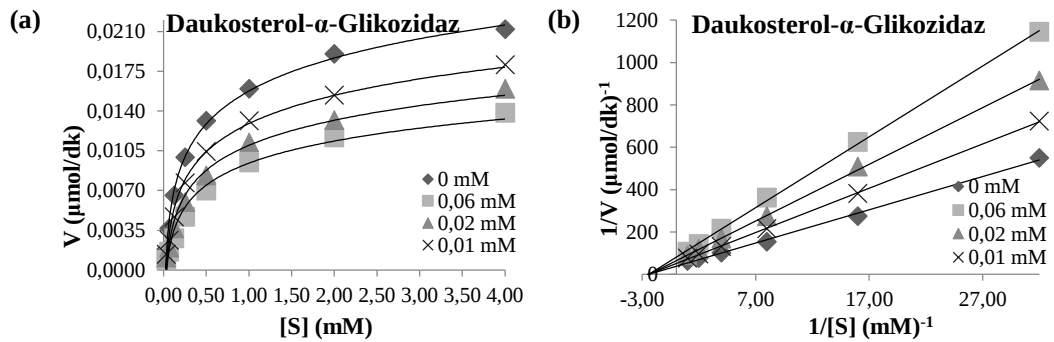


Şekil 4.55. Daukosterol molekülünün varlığında KA inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

Tablo 4.70. Daukosterol molekülünün varlığında KA inhibisyon türü ve K_i değeri

Daukosterol, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.0097	0.440	Karışık-Yarı	0.43
0.02	0.0093	0.605	yarışmalı	
0.04	0.0089	0.800		
0.06	0.0081	0.915		

Daukosterol molekülünün α -glukozidaz inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için daukosterol molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.56. ve Tablo 4.71.). α -Glukozidaz inhibisyon mekanizmasında daukosterol molekülünün etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.07 mM olarak hesaplandı.



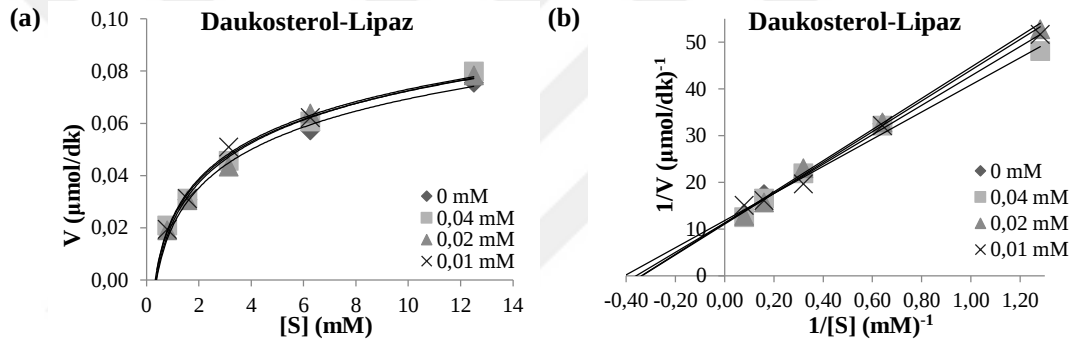
Şekil 4.56. Daukosterol molekülünün varlığında α -glukozidaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

Tablo 4.71. Daukosterol molekülünün varlığında α -glukozidaz inhibisyon türü ve K_i değeri

Daukosterol, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.0263	0.413	Yarışmasız	0.07
0.01	0.0197	0.412		
0.02	0.0154	0.413		
0.06	0.0123	0.412		

Sheng vd (2014), daukosterol ile α -glikozidaz inhibisyon tipinin yarışmalı olduğunu ve K_i değerini 2.34 mg/L olarak bildirmiştir. Asghari vd (2015), daukosteol ile α -glikozidaz inhibisyon tipinin yarışmalı olduğunu belirlemiştir. Tez çalışmasında, daukosterol inhibitörünün inhibisyon türü Asghari vd (2015) ve Sheng vd (2014)'in yaptığı çalışmadaki inhibisyon türünden farklı belirlenmiştir.

Daukosterol molekülünün lipaz inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için daukosterol molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.57. ve Tablo 4.72.). Lipaz inhibisyon mekanizmasında daukosterol molekülünün etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 1.19 mM olarak hesaplandı.

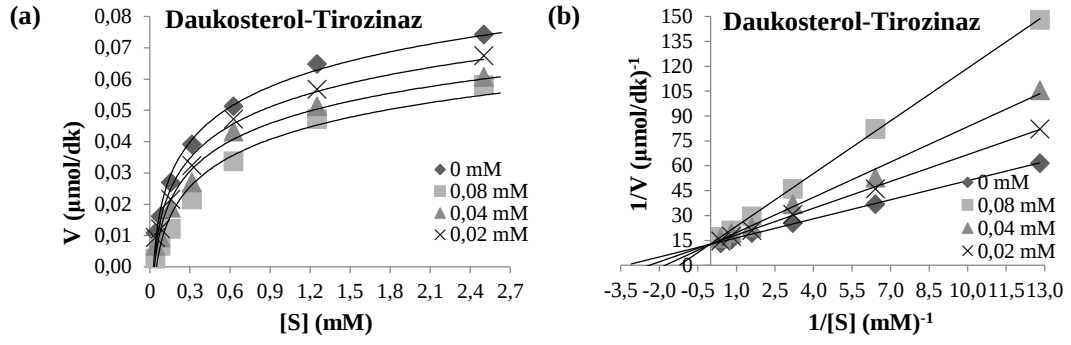


Şekil 4.57. Daukosterol molekülünün varlığında lipaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

Tablo 4.72. Daukosterol molekülünün varlığında lipaz inhibisyon türü ve K_i değeri

Daukosterol, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.089	2.956	Yarışmalı	1.19
0.01	0.088	2.777		
0.02	0.091	2.984		
0.04	0.085	2.464		

Daukosterol molekülünün tirozinaz inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için daukosterol molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.58. ve Tablo 4.73.). Tirozinaz inhibisyon mekanizmasında daukosterol molekülünün etkisi yarışmalı inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.05 mM olarak hesaplandı.



Şekil 4.58. Daukosterol molekülünün varlığında tirozinaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

Tablo 4.73. Daukosterol molekülünün varlığında tirozinaz inhibisyon türü ve K_i değeri

Daukosterol, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.079	0.303	Yarışmalı	0.05
0.02	0.078	0.419		
0.04	0.079	0.562		
0.08	0.077	0.820		

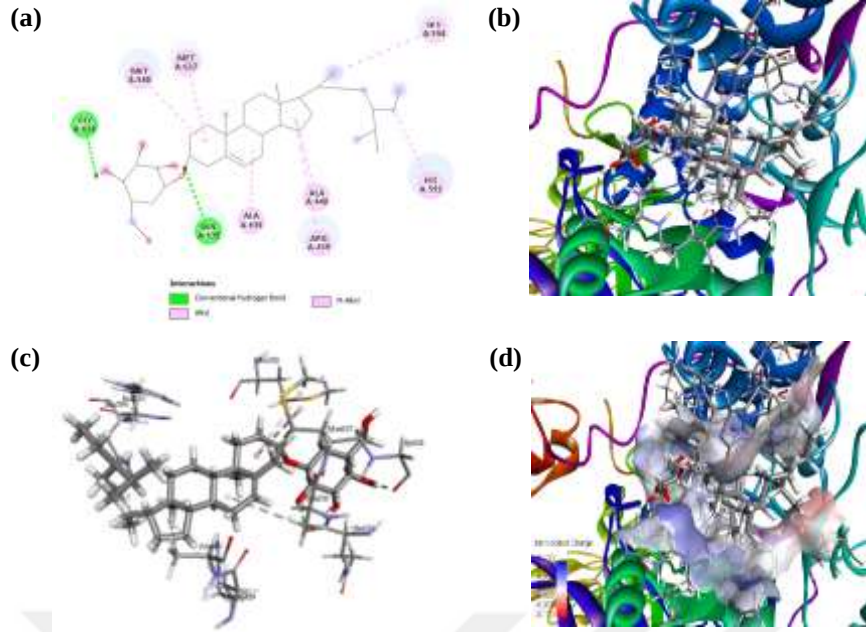
4.4.3.3. Daukosterolün Moleküler Doking Çalışmaları

Şekil 4.59 ve Tablo 4.74’de görüldüğü gibi üreaz enziminin aktif bölgesi ile etkileşen daukosterolün GLY638 ve GLN635 ile hidroksiller ile iki adet konvensiyonel hidrojen bağı, ALA440, ALA636, ARG439, MET588 ve MET637 ile beş adet alkil etkileşimi, HIS593 ve HIS594 ile iki adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

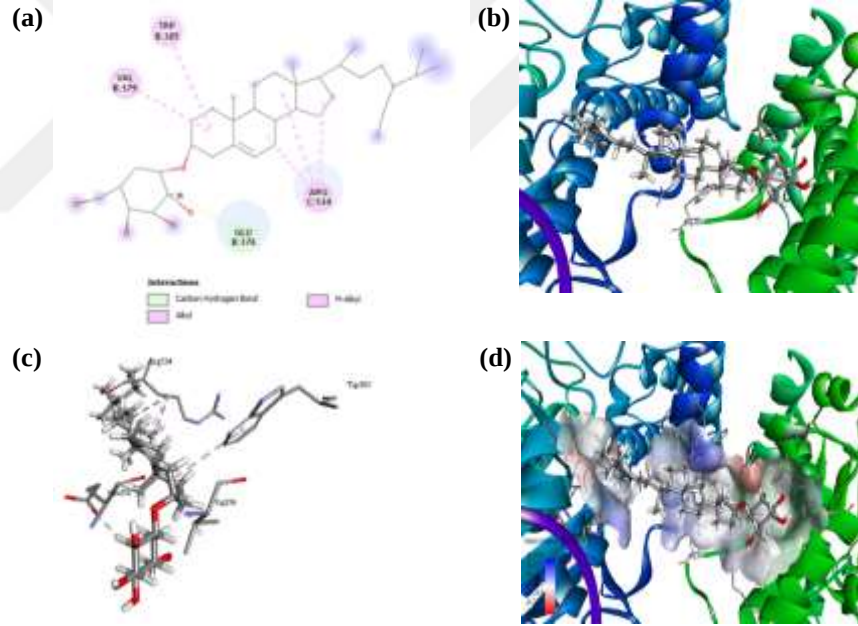
Şekil 4.60 ve Tablo 4.75’de görüldüğü gibi AChE enziminin aktif bölgesi ile etkileşen daukosterolün GLU376 ile bir adet karbon hidrojen bağı, VAL379 ve ARG534 ile dört adet alkil etkileşimi ve TRP385 ile bir adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

Tablo 4.74. Daukosterol molekülünün üreaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	: [001:H61 - A:GLY638:O	1.89	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H61	H-Verici	A:GLY638:O	H-Alıcı
2	: [001:H62 - A:GLN635:O	2.03	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H62	H-Verici	A:GLN635:O	H-Alıcı
3	A:ARG439 - : [001	5.43	Hidrofobik	Alkil	A:ARG439	Alkil	: [001	Alkil
4	A:ALA440 - : [001	4.96	Hidrofobik	Alkil	A:ALA440	Alkil	: [001	Alkil
5	A:MET588 - : [001	5.09	Hidrofobik	Alkil	A:MET588	Alkil	: [001	Alkil
6	A:ALA636 - : [001	5.34	Hidrofobik	Alkil	A:ALA636	Alkil	: [001	Alkil
7	A:MET637 - : [001	4.97	Hidrofobik	Alkil	A:MET637	Alkil	: [001	Alkil
8	A:HIS593 - : [001:C24	3.95	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:HIS593	Pi-Orbital	: [001:C24	Alkil
9	A:HIS594 - : [001:C19	4.54	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:HIS594	Pi-Orbital	: [001:C19	Alkil



Şekil 4.59. Daukosterol molekülünün üreaz ile moleküler d doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri



Şekil 4.60. Daukosterol molekülünün AChE ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri

Tablo 4.75. Daukosterol molekülünün AChE ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	: [021:H56 - B:GLU376:OE2	2.04	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	: [021:H56	H-Verici	B:GLU376:OE2	H-Alıcı
2	B:VAL379 - : [021	5.07	Hidrofofik	Alkil	B:VAL379	Alkil	: [021	Alkil
3	C:ARG534 - : [021	3.98	Hidrofofik	Alkil	C:ARG534	Alkil	: [021	Alkil
4	C:ARG534 - : [021	4.11	Hidrofofik	Alkil	C:ARG534	Alkil	: [021	Alkil
5	C:ARG534 - : [021	4.22	Hidrofofik	Alkil	C:ARG534	Alkil	: [021	Alkil
6	B:TRP385 - : [021	5.33	Hidrofofik	Pi-Alkil	B:TRP385	Pi-Orbital	: [021	Alkil

Şekil 4.61 ve Tablo 4.76’de görüldüğü gibi BChE enziminin aktif bölgesi ile etkileşen daukosterolün ASP70, TYR332 ve HIS438 ile dört adet konvensiyonel hidrojen bağı, TRP82, ASP7 ve TYR332 ile üç adet karbon hidrojen bağı, TRP82 ile bir adet pi-yalnız elektron çifti etkileşimi, ALA199, VAL288 ve LEU286 ile üç adet alkil etkileşimi ve TRP82, TRP231, PHE329, PHE398 ve HIS438 ile dokuz adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

Şekil 4.62 ve Tablo 4.77’de görüldüğü gibi KA enziminin aktif bölgesi ile etkileşen daukosterolün ASN67, GLN92, THR199 ve THR200 ile dört adet konvensiyonel hidrojen bağı, HIS94, THR200 ve ASN67 ile üç adet karbon hidrojen bağı, PHE131 ile iki adet pi-alkil etkileşimi, ILE91, VAL121 ve LEU198 ile beş adet alkil etkileşimi ve PHE131, HIS94 ile iki adet pi-sigma etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

Tablo 4.76. Daukosterol molekülünün BChE ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	:{001:H60 - A:ASP70:OD1	1.86	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:{001:H60	H-Verici	A:ASP70:OD1	H-Alıcı
2	:{001:H60 - A:TYR332:OH	2.67	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:{001:H60	H-Verici	A:TYR332:OH	H-Alıcı
3	:{001:H61 - A:TYR332:OH	2.06	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:{001:H61	H-Verici	A:TYR332:OH	H-Alıcı
4	:{001:H62 - A:HIS438:O	1.73	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:{001:H62	H-Verici	A:HIS438:O	H-Alıcı
5	A:TRP82:CD1 - :{001:O3	3.57	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	A:TRP82:CD1	H-Verici	:{001:O3	H-Alıcı
6	:{001:H58 - A:ASP70:OD1	3.00	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	:{001:H58	H-Verici	A:ASP70:OD1	H-Alıcı
7	:{001:H58 - A:TYR332:OH	2.52	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	:{001:H58	H-Verici	A:TYR332:OH	H-Alıcı
8	:{001:O1 - A:TRP82	2.98	Diğer	Pi-Lone Pair	:{001:O1	Lone Pair	A:TRP82	Pi-Orbital
9	A:ALA199 - :{001:C23	4.36	Hidrofobik Alkil	Alkil	A:ALA199	Alkil	:{001:C23	Alkil
10	:{001:C23 - A:VAL288	5.19	Hidrofobik Alkil	Alkil	:{001:C23	Alkil	A:VAL288	Alkil
11	:{001:C24 - A:LEU286	4.00	Hidrofobik Alkil	Alkil	:{001:C24	Alkil	A:LEU286	Alkil
12	A:TRP82 - :{001	4.66	Hidrofobik Pi-Alkil	Pi-Alkil	A:TRP82	Pi-Orbital	:{001	Alkil
13	A:TRP82 - :{001	4.52	Hidrofobik Pi-Alkil	Pi-Alkil	A:TRP82	Pi-Orbital	:{001	Alkil
14	A:TRP231 - :{001:C23	4.17	Hidrofobik Pi-Alkil	Pi-Alkil	A:TRP231	Pi-Orbital	:{001:C23	Alkil
15	A:TRP231 - :{001:C24	4.35	Hidrofobik Pi-Alkil	Pi-Alkil	A:TRP231	Pi-Orbital	:{001:C24	Alkil
16	A:TRP231 - :{001:C23	3.43	Hidrofobik Pi-Alkil	Pi-Alkil	A:TRP231	Pi-Orbital	:{001:C23	Alkil
17	A:TRP231 - :{001:C24	4.78	Hidrofobik Pi-Alkil	Pi-Alkil	A:TRP231	Pi-Orbital	:{001:C24	Alkil
18	A:PHE329 - :{001:C24	4.93	Hidrofobik Pi-Alkil	Pi-Alkil	A:PHE329	Pi-Orbital	:{001:C24	Alkil
19	A:PHE398 - :{001:C24	5.42	Hidrofobik Pi-Alkil	Pi-Alkil	A:PHE398	Pi-Orbital	:{001:C24	Alkil
20	A:HIS438 - :{001	4.52	Hidrofobik Pi-Alkil	Pi-Alkil	A:HIS438	Pi-Orbital	:{001	Alkil

Tablo 4.77. Daukosterol molekülünün KA ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

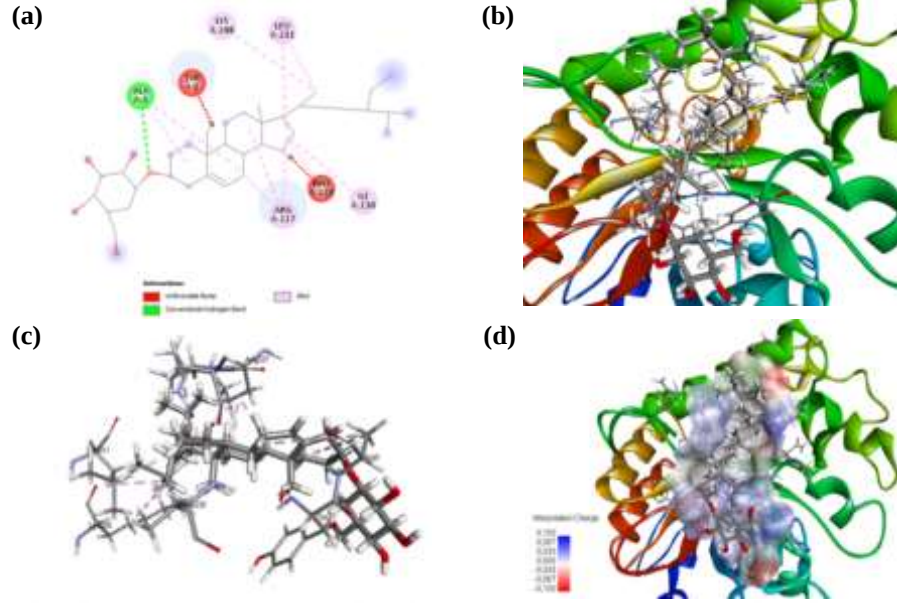
No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	A:ASN67:HD21 - :[031:O3	1.95	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:ASN67:HD21	H-Verici	:[031:O3	H-Alıcı
2	A:GLN92:HE22 - :[031:O3	2.73	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:GLN92:HE22	H-Verici	:[031:O3	H-Alıcı
3	A:THR199:HG1 - :[031:O2	2.75	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:THR199:HG1	H-Verici	:[031:O2	H-Alıcı
4	A:THR200:HN - :[031:O5	2.92	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:THR200:HN	H-Verici	:[031:O5	H-Alıcı
5	A:HIS94:HE1 - :[031:O1	2.55	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	A:HIS94:HE1	H-Verici	:[031:O1	H-Alıcı
6	:[031:H7 - A:THR200:OG1	2.70	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	:[031:H7	H-Verici	A:THR200:OG1	H-Alıcı
7	:[031:H58 - A:ASN67:OD1	2.57	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	:[031:H58	H-Verici	A:ASN67:OD1	H-Alıcı
8	:[031:H3 - A:PHE131	2.29	Hidrofobik	Pi-Sigma	:[031:H3	C-H	A:PHE131	Pi-Orbital
9	:[031:H51 - A:HIS94	2.24	Hidrofobik	Pi-Sigma	:[031:H51	C-H	A:HIS94	Pi-Orbital
10	A:ILE91 - :[031	4.99	Hidrofobik	Alkil	A:ILE91	Alkil	:[031	Alkil
11	A:VAL121 - :[031	4.77	Hidrofobik	Alkil	A:VAL121	Alkil	:[031	Alkil
12	A:VAL121 - :[031	4.10	Hidrofobik	Alkil	A:VAL121	Alkil	:[031	Alkil
13	A:LEU198 - :[031	4.17	Hidrofobik	Alkil	A:LEU198	Alkil	:[031	Alkil
14	:[031 - A:ILE91	3.84	Hidrofobik	Alkil	:[031	Alkil	A:ILE91	Alkil
15	A:PHE131 - :[031	3.87	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:PHE131	Pi-Orbital	:[031	Alkil
16	A:PHE131 - :[031	4.26	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:PHE131	Pi-Orbital	:[031	Alkil

Şekil 4.63 ve Tablo 4.78’de görüldüğü gibi α -amilaz enziminin aktif bölgesi ile etkileşen daukosterolün ALA3 ile bir adet konvensiyonel hidrojen bağı, ALA3, ARG227, PRO228, LEU211, ILE230 ve LYS208 ile on adet alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

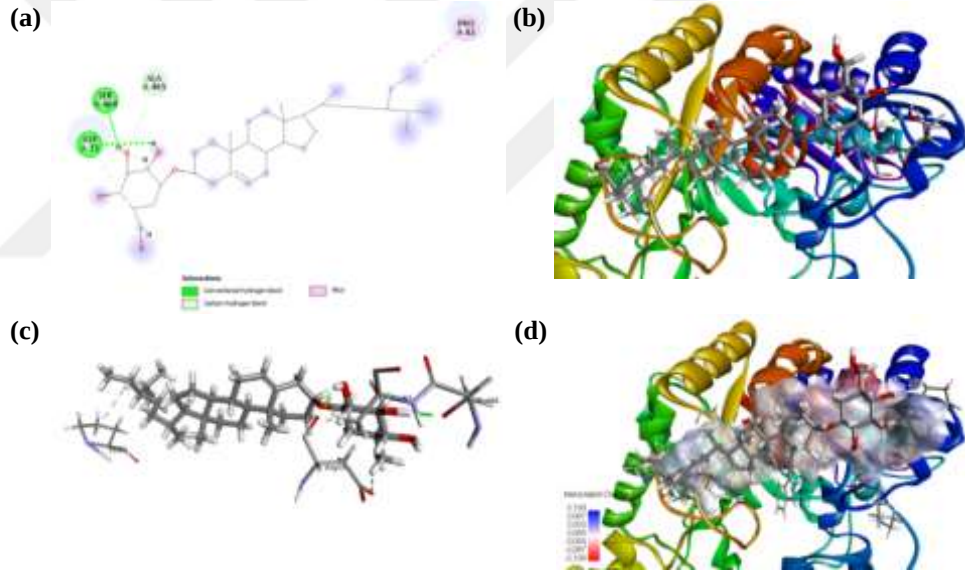
Şekil 4.64 ve Tablo 4.79’de görüldüğü gibi α -glukozidaz enziminin aktif bölgesi ile etkileşen daukosterolün SER464 ve ASP33 ile iki adet konvensiyonel hidrojen bağı, ALA465 ve ASP33 ile üç adet karbon hidrojen ve PRO82 ile bir adet alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

Tablo 4.78. Daukosterol molekülünün α -amilaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	A:ALA3:HN - :[001:O1	2.49	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:ALA3:HN	H-Verici	:[001:O1	H-Alıcı
2	A:ALA3 - :[001	4.39	Hidrofobik	Alkil	A:ALA3	Alkil	:[001	Alkil
3	A:ALA3 - :[001	5.45	Hidrofobik	Alkil	A:ALA3	Alkil	:[001	Alkil
4	A:ARG227 - :[001	3.58	Hidrofobik	Alkil	A:ARG227	Alkil	:[001	Alkil
5	A:ARG227 - :[001	3.48	Hidrofobik	Alkil	A:ARG227	Alkil	:[001	Alkil
6	A:ARG227 - :[001	3.94	Hidrofobik	Alkil	A:ARG227	Alkil	:[001	Alkil
7	A:PRO228 - :[001	4.41	Hidrofobik	Alkil	A:PRO228	Alkil	:[001	Alkil
8	:[001 - A:LEU211	5.08	Hidrofobik	Alkil	:[001	Alkil	A:LEU211	Alkil
9	:[001 - A:ILE230	4.86	Hidrofobik	Alkil	:[001	Alkil	A:ILE230	Alkil
10	:[001:C19 - A:LYS208	5.28	Hidrofobik	Alkil	:[001:C19	Alkil	A:LYS208	Alkil
11	:[001:C19 - A:LEU211	3.57	Hidrofobik	Alkil	:[001:C19	Alkil	A:LEU211	Alkil



Şekil 4.63. Daukosterol molekülünün α -amilaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri



Şekil 4.64. Daukosterol molekülünün α -glukozidaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri

Tablo 4.79. Daukosterol molekülünün α -glukozidaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	: [001:H57 - A:SER464:OG	1.64	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel	: [001:H57	H-Verici	A:SER464:OG	H-Alıcı
2	: [001:H62 - A:ASP33:O	1.95	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel	: [001:H62	H-Verici	A:ASP33:O	H-Alıcı
3	A:ALA465:HA - : [001:O2	2.82	Hidrojen Bağı	Karbon	A:ALA465:HA	H-Verici	: [001:O2	H-Alıcı
4	: [001:H56 - A:ASP33:O	1.77	Hidrojen Bağı	Karbon	: [001:H56	H-Verici	A:ASP33:O	H-Alıcı
5	: [001:H58 - A:ASP33:OD2	2.72	Hidrojen Bağı	Karbon	: [001:H58	H-Verici	A:ASP33:OD2	H-Alıcı
6	: [001:C24 - A:PRO82	3.97	Hidrofobik	Alkil	: [001:C24	Alkil	A:PRO82	Alkil

Şekil 4.65 ve Tablo 4.80’de görüldüğü gibi lipaz enziminin aktif bölgesi ile etkileşen daukosterolün SER84, GLU370, GLY81 ve GLU83 ile altı adet konvensiyonel hidrojen bağı, GLU83 ile bir adet karbon hidrojen bağı, LEU356 ile bir adet alkil etkileşimi ve TYR369 ile iki adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

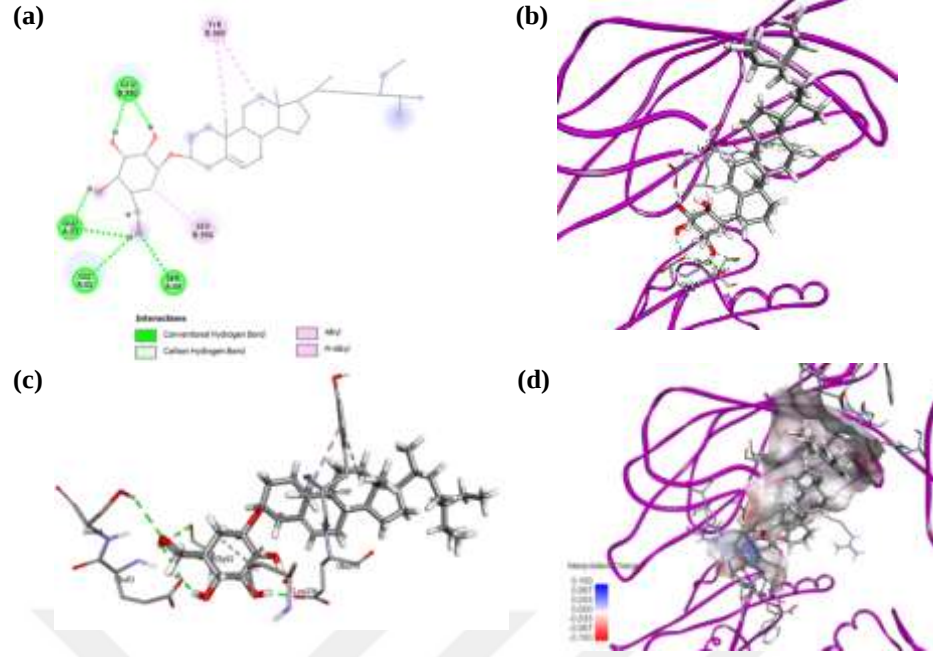
Şekil 4.66 ve Tablo 4.81’de görüldüğü gibi tirozinaz enziminin aktif bölgesi ile etkileşen daukosterolün ARG367, PRO298, ALA228 ve LEU296 ile beş adet konvensiyonel hidrojen bağı, LEU296 ve GLN304 ile iki adet karbon hidrojen bağı, PHE537 ile bir adet pi-sigma etkileşimi, ARG367 ve VAL535 ile iki adet alkil etkileşimi ve TYR297, PHE537 ile üç adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

Tablo 4.80. Daukosterol molekülünün lipaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

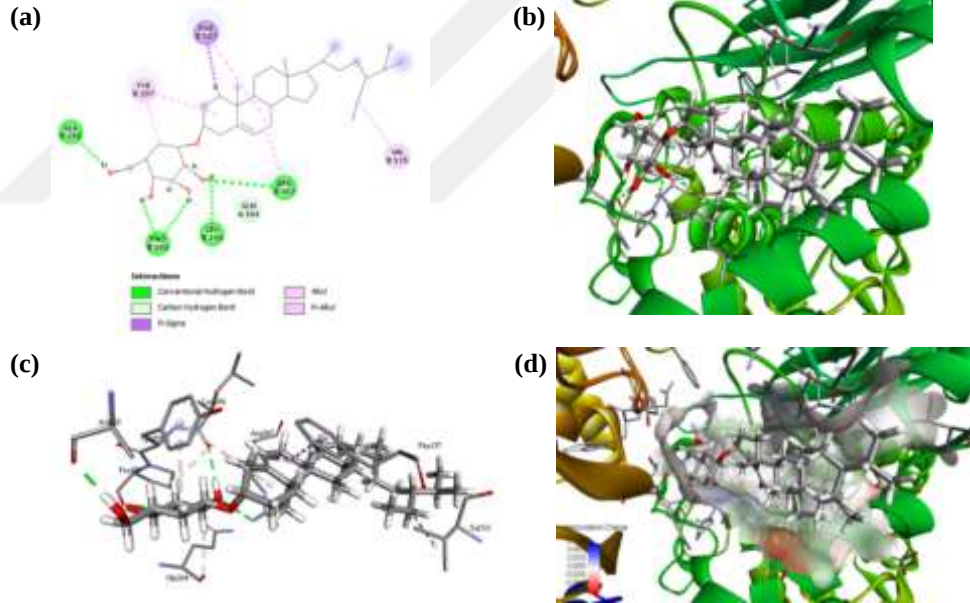
No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	A:SER84:HG - :[011:O3	2.69	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:SER84:HG	H-Verici	:[011:O3	H-Alıcı
2	:[011:H57 - B:GLU370:OE1	1.67	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[011:H57	H-Verici	B:GLU370:OE1	H-Alıcı
3	:[011:H60 - A:GLY81:O	2.93	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[011:H60	H-Verici	A:GLY81:O	H-Alıcı
4	:[011:H60 - A:GLU83:OE2	2.50	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[011:H60	H-Verici	A:GLU83:OE2	H-Alıcı
5	:[011:H61 - A:GLU83:OE2	1.50	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[011:H61	H-Verici	A:GLU83:OE2	H-Alıcı
6	:[011:H62 - B:GLU370:OE1	1.87	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[011:H62	H-Verici	B:GLU370:OE1	H-Alıcı
7	:[011:H59 - A:GLU83:OE2	2.52	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	:[011:H59	H-Verici	A:GLU83:OE2	H-Alıcı
8	:[011 - B:LEU356	4.47	Hidrofobik	Alkil	:[011	Alkil	B:LEU356	Alkil
9	B:TYR369 - :[011	5.39	Hidrofobik	Pi-Alkil	B:TYR369	Pi-Orbital	:[011	Alkil
10	B:TYR369 - :[011:C28	4.79	Hidrofobik	Pi-Alkil	B:TYR369	Pi-Orbital	:[011:C28	Alkil

Tablo 4.81. Daukosterol molekülünün tirozinaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	B:ARG367:NH1 - :[001:O5	3.03	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	B:ARG367: NH1	H-Verici	:[001:O5	H-Alıcı
2	:[001:H57 - B:PRO298:O	2.14	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[001:H57	H-Verici	B:PRO298:O	H-Alıcı
3	:[001:H60 - B:ALA228:O	1.91	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[001:H60	H-Verici	B:ALA228:O	H-Alıcı
4	:[001:H61 - B:PRO298:O	1.76	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[001:H61	H-Verici	B:PRO298:O	H-Alıcı
5	:[001:H62 - B:LEU296:O	2.14	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[001:H62	H-Verici	B:LEU296:O	H-Alıcı
6	:[001:H55 - B:LEU296:O	2.93	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	:[001:H55	H-Verici	B:LEU296:O	H-Alıcı
7	:[001:H56 - A:GLN304:O	2.67	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	:[001:H56	H-Verici	A:GLN304:O	H-Alıcı
8	:[001:H13 - B:PHE537	2.33	Hidrofobik	Pi-Sigma	:[001:H13	C-H	B:PHE537	Pi-Orbital
9	B:ARG367 - :[001	4.71	Hidrofobik	Alkil	B:ARG367	Alkil	:[001	Alkil
10	:[001:C24 - B:VAL535	4.31	Hidrofobik	Alkil	:[001:C24	Alkil	B:VAL535	Alkil
11	B:TYR297 - :[001	5.34	Hidrofobik	Pi-Alkil	B:TYR297	Pi-Orbital	:[001	Alkil
12	B:TYR297 - :[001	4.21	Hidrofobik	Pi-Alkil	B:TYR297	Pi-Orbital	:[001	Alkil
13	B:PHE537 - :[001	5.33	Hidrofobik	Pi-Alkil	B:PHE537	Pi-Orbital	:[001	Alkil



Şekil 4.65. Daukosterol molekülünün lipaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri



Şekil 4.66. Daukosterol molekülünün tirozinaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri

Tablo 4.82’de gösterildiği gibi daukosterolün; üreaz, AChE, BChE, KA, α -amilaz, α -glikozidaz, lipaz ve tirozinaz ile etkileşimlerinin MolDock skorları sırasıyla -134.64, -110.61, -137.38, -84.86, -124.81, -86.14, -109.53 ve -161.78 olarak bildirilmiştir. En yüksek MolDock skoru tirozinaz ile ilgili incelemede gözlenmiştir. Ayrıca, bağlanma enerjileri sırasıyla -8.70, -9.90, -9.90, -7.50, -9.70, -8.90, -7.60 ve -9.50 kcal/mol olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda AChE ve BChE en yüksek bağlanma enerjisine sahiptir. Elde edilen bağlanma enerjileri $\Delta G=R.T.\ln K_i$ denkleminde yerine koyularak bağlanma sabitleri üreaz için 0.53 μ M, AChE için 0.05 μ M, BChE için 0.05 μ M, KA için 3.14 μ M, α -amilaz için 0.15 μ M, α -glikozidaz için 0.53 μ M, lipaz için 4.35 μ M ve tirozinaz için 0.20 μ M olarak hesaplanmıştır. Bağlanma enerjisi yüksek olan molekülün bağlanma sabitinin düşük olması beklenir. Bu bağlamda bağlanma enerjileri yüksek olan AChE ve BChE bağlanma sabitlerinin düşük olduğu gözlenmiştir.

Tablo 4.82. Daukosterolün enzimlerle etkileşiminin bağlanma enerjileri ve K_i değerleri

Daukosterol	MolDock Skoru	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)	Bağlanma sabiti (K_i (μ M))
Üreaz	-134.64	-8.70	0.53
AChE	-110.61	-9.90	0.05
BChE	-137.38	-9.90	0.05
KA	-84.86	-7.50	3.14
α -Amilaz	-124.81	-9.70	0.15
α -Glikozidaz	-86.14	-8.90	0.53
Lipaz	-109.53	-7.60	4.35
Tirozinaz	-161.78	-9.50	0.20

Bahadori vd (2016) yaptıkları çalışmada, *S. syriaca* L. aseton ekstraktının *n*-hekzan-etil asetat gradiyent sistemine göre elde edilen Fr15’den saflaştırılan daukosterolün AChE etkileşiminin bağlanma enerjisini -5.22 kcal/mol olarak belirlemiştir. Tez çalışmasında, daukosterolün bağlanma enerjisini daha yüksek olarak belirlendi.

Hasan vd (2016), *Nauclea latifolia*’dan izole edilen daukosterol- α -amilaz etkileşiminin doking skoru -3.53 olarak belirlemiştir.

Gu vd (2021) yaptıkları çalışmada, *Eleocharis dulcis* metanol ekstraktının *n*-bütanol fraksiyonundan elde edilen Fr3 ve Fr4 den saflaştırılan daukosterolün α -glikozidaz etkileşiminin bağlanma enerjisini -9.55 kcal/mol olarak belirlemiştir. Tez çalışmasında, daukosterol- α -glikozidaz etkileşiminin bağlanma enerjisi daha düşük olarak belirlendi.

Sari vd (2016), *T. catappa* L. meyvesinin *n*-hekzan ekstraktından saflaştırılan daukosterolün α -glukozidaz etkileşiminin bağlanma enerjisini -10.05 kcal/mol olarak belirlemiştir. Tez çalışmasında, daukosterol- α -glukozidaz etkileşiminin bağlanma enerjisi daha düşük olarak belirlendi.

4.4.4. İksorozit

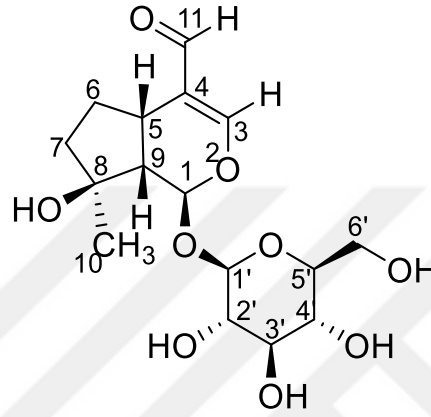
İksorozit molekülü *N. baytopii* ham ekstraktından elde edilen metanol birinci fraksiyonunun silika kolon kromatografisi sonucu elde edilen 5. fraksiyonundan (NBMFr5) kristallendirilerek saflaştırıldı.

Nepeta türleri üzerine yapılan çalışmalarda, Hemaia vd (2015), *N. cateria* *n*-hekzan ekstraktından ve Tundis vd (2013), *N. crassifolia* metanol ekstraktının fraksiyonlarından iksorozit molekülünü izole etmişlerdir.

4.4.4.1. İksorozitin Karakterizasyonu

İksorozitin NMR spektrumları alınıp yapısı belirlendi (Şekil 4.67. - 4.69. ve Tablo 4.83.). ¹H-NMR spektrumunda aldehid grubu ve alifatik bölgede sinyaller ile ¹³C-NMR spektrumunda glukozit yapısına özgü 102.61 ppm'deki sinyaller gözlemlendi. δ 7.39 ppm'deki (H-3) olefinik singletinin HSQC spektrumunda 162.44 ppm'de ki C-3 karbonuna bağlı olduğu belirlendi. H-3 sinyalinin HMBC etkileşimlerinden δ 191.29 (C-11), 124.13 (C-4), 99.35 (C-1), 28.59 (C-5) ppm'deki karbonlarla etkileşimi tespit edildi. C-5 (δ 28.59 ppm) karbonunun HSQC spektrumunda 2.89 ppm'deki H-5 protonuyla etkileştiği, bu protonun 1.30 (H-6a), 2.07 (H-6b), 2.21 (H-9) ppm'lerde ki protonlarla spin-spin etkileşimi verdiği ve komşu protonlar olduğu COSY spektrumundan anlaşılmıştır. 1.32-2.08 (H-6) protonlarının diastrotopik protonlar olduğu ve 28.61 (C-6) karbonun bağlı oldukları HSQC spektrumundan belirlendi. 2.08 (H-6b) protonunun COSY etkileşmelerinden 40.32 ppm'deki (C-7) karbona bağlı 1.56 ve 1.43 ppm'deki diastrotopik protonlarla (H-7ab) komşu oldukları tespit edildi. C-7 karbonun HMBC etkileşmelerinden 4.68 ppm'deki ¹H sinyaliyle etkileştiği ve bu sinyalin HSQC de bir karbona bağlı olmaması bir OH grubuyla kuvvetli bir etkileşiminin olduğunu gösterdi. 4.68 ppm'deki OH sinyalinin etkileşimleri HMBC spektrumunda incelendiğinde 24.74 (C-10), 40.64 (C-7), 50.96 (C-9) ve 78.05 (C-8) ppm'lerdeki ¹³C sinyalleriyle etkileştiği benzer etkileşmelerin H-7 protonlarında da görülmesi C-8 kuarterner karbonuna bağlı bir OH grubunun ve bir metil (C-10) grubun varlığını gösterdi. H-5 (2.89 ppm) protonuna komşu olan H-9 (2.21 ppm) protonun

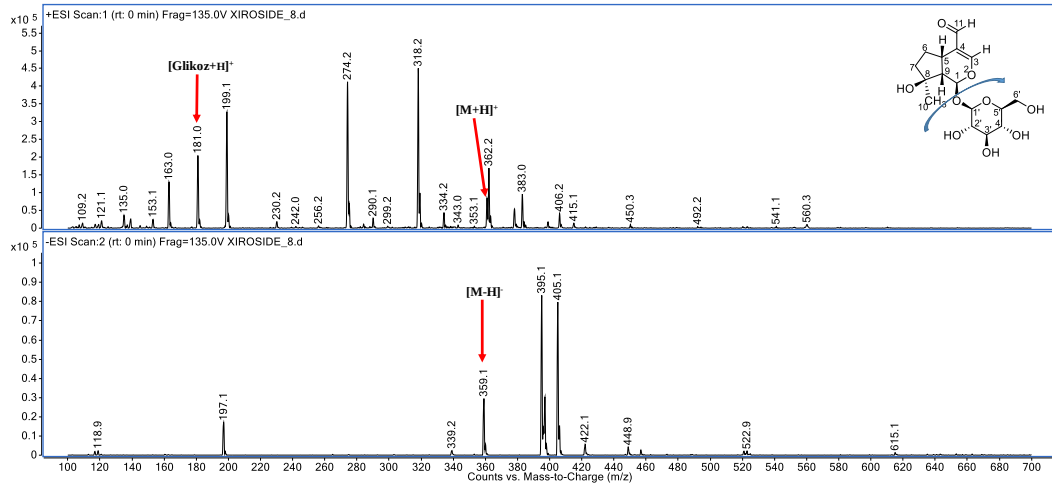
5.42 ppm'deki H-1 protonuyla COSY etkileşmesi verdiği ve komşu protonlar olduğu belirlendi. H-1 (5.42 ppm) protonunun 99.35 ppm'deki karbona bağlı olduğu ve 102.98 ppm'deki anomerik karbonla HMBC etkileşimi verdiği ve glikozit grubunun C-1 karbonuna bağlı olduğu belirlendi. Sayılan etkileşimler molekülün bir iridoit iskeleti içerdiğini gösterdi. Etkileşmelerin doğruluğu HMBC etkileşmeleriyle teyit edilerek doğrulanmış ve literatür karşılaştırması yapılarak molekülün iksorozit olduğu kesinleştirildi (Güvenalp vd, 2009).



Şekil 4.67. İksorozit molekülünün yapısı

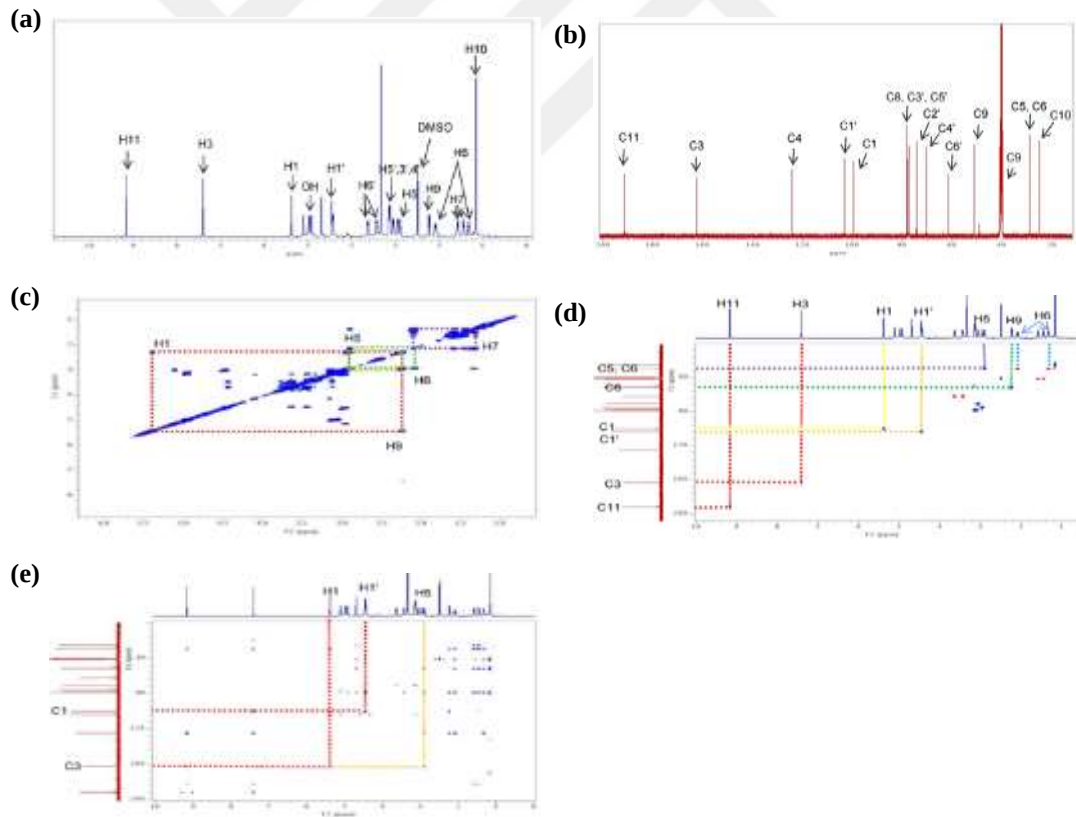
Tablo 4.83. İksorozit molekülünün ^1H ve ^{13}C NMR veri ve literatür değerleri

No	^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz)	^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz)	^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) (Güvenalp vd, 2009)	^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) (Güvenalp vd, 2009)
1	5.37	99.35	5.38	99.6
2	-	-	-	-
3	7.39 (s)	162.44	7.40	162.6
4	-	124.13	-	124.4
5	2.88 (dt, 9.4- 5.8Hz)	28.59	2.88	28.9
6	1.30-2.07 (m)	28.61	1.31-2.08	28.8
7	1.43-1.56 (m)	40.64	1.43-1.57	40.9
8	-	78.05	-	78.3
9	2.21 (d, 9.6 Hz)	50.96	2.22	51.1
10	1.15 (s)	24.74	1.15	25.0
11	9.15 (s)	191.29	9.16	191.5
1'	4.44 (d, 7.8Hz)	102.98	4.45	103.2
2'	2.94	74.06	2.90-3.35	74.3
3'	3.11	77.08	2.90-3.35	77.1
4'	3.03	70.08	2.90-3.35	70.0
5'	3.15	77.76	2.90-3.35	77.7
6'	3.42-3.62	61.31	3.43-3.63	61.3



Şekil 4.68. İksorozit molekülünün MS kromatogramı

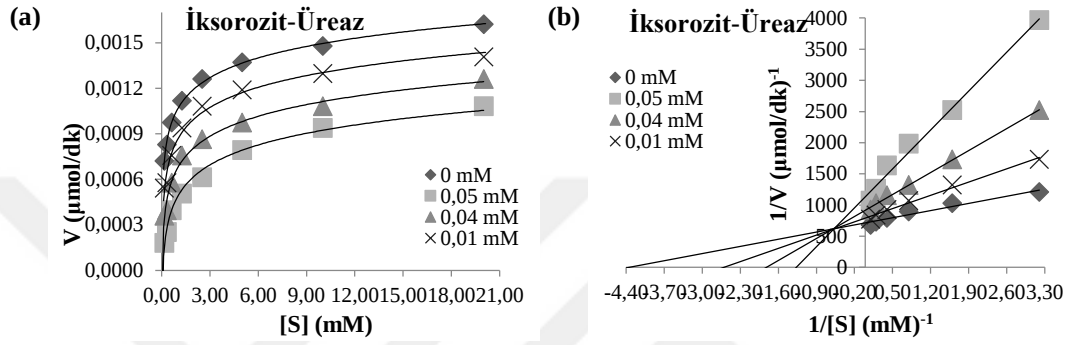
İksorozit molekülünün $C_{16}H_{24}O_9$ kapalı formülüne göre kütlesi $[m/z]$ kütlesi 360.36 g/mol olarak hesaplandı ve literatür bilgileri ile doğrulandı (Güvenalp vd, 2009).



Şekil 4.69. İksorozit molekülünün a) 1H -NMR (DMSO), b) ^{13}C -NMR (DMSO), c) COSY, d) HSQC ve e) HMBC spektrumları

4.4.4.2. İksorozitin Enzim İnhibisyon Kinetikleri

İksorozit molekülünün üreaz inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için iksorozit molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.70 ve Tablo 4.84). Üreaz inhibisyon mekanizmasında iksorozit molekülünün etkisi karışık inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.11 mM olarak hesaplandı.

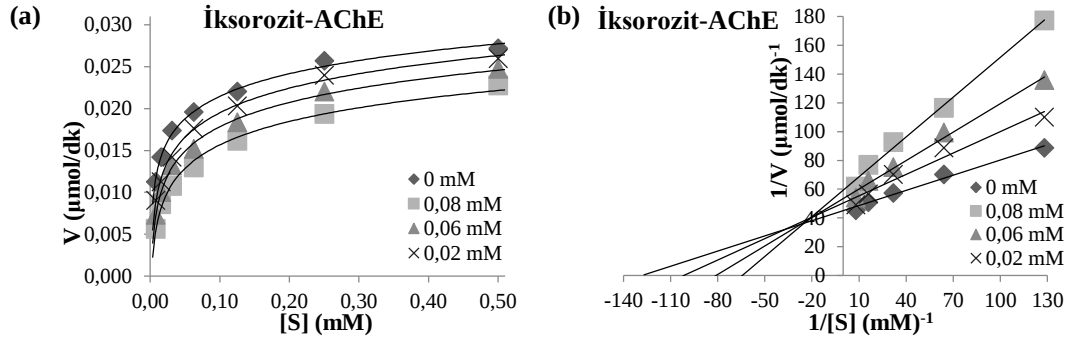


Şekil 4.70. İksorozit molekülünün varlığında üreaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten a) ve Lineweaver-Burk b) grafikleri

Tablo 4.84. İksorozit molekülünün varlığında üreaz inhibisyon türü ve K_i değeri

İksorozit, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.00140	0.401	Karışık-Yarı	0.11
0.01	0.00127	0.812	yarışmalı	
0.04	0.00109	0.548		
0.05	0.00088	0.406		

İksorozit molekülünün AChE inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için iksorozit molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.71 ve Tablo 4.85). AChE inhibisyon mekanizmasında iksorozit molekülünün etkisi karışık inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.25 mM olarak hesaplandı.

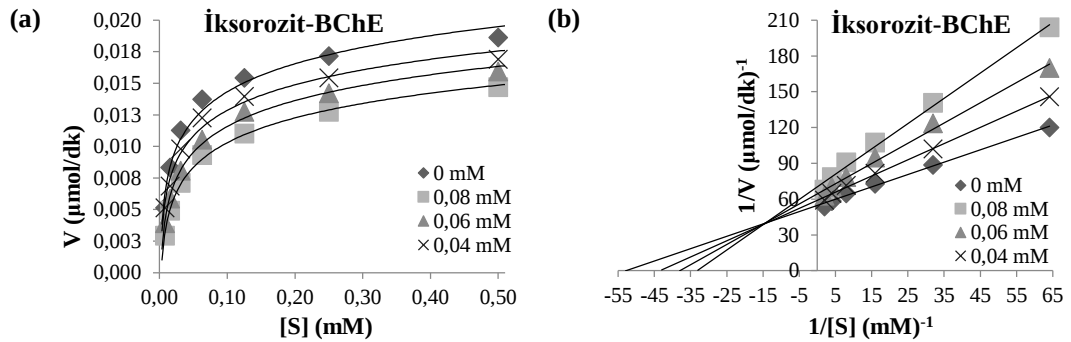


Şekil 4.71. İksorozit molekülünün varlığında AChE inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten a) ve Lineweaver-Burk b) grafikleri

Tablo 4.85. İksorozit molekülünün varlığında AChE inhibisyon türü ve K_i değeri

İksorozit, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.0222	0.0078	Karışık-Yarı yarışmalı	0.25
0.02	0.0198	0.0099		
0.06	0.0187	0.0123		
0.08	0.0169	0.0155		

İksorozit molekülünün BChE inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için iksorozit molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.72. ve Tablo 4.86.). BChE inhibisyon mekanizmasında iksorozit molekülünün etkisi karışık inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.37 mM olarak hesaplandı.

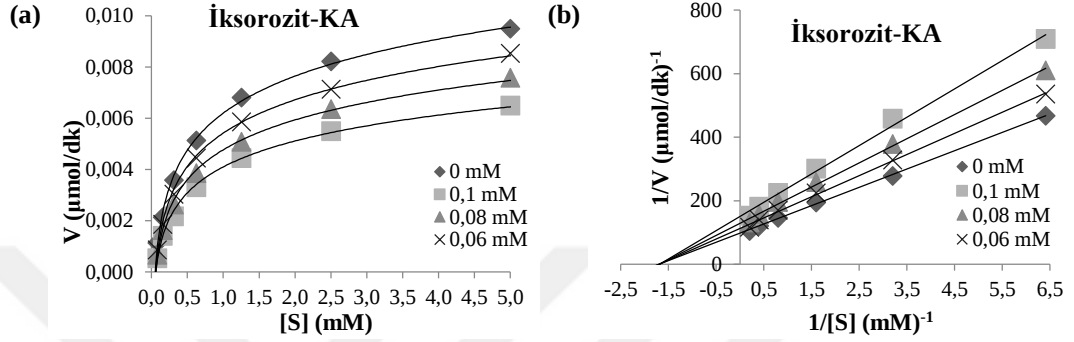


Şekil 4.72. İksorozit molekülünün varlığında BChE inhibisyon türünün belirlenmesinde a) Michaelis-Menten ve b) Lineweaver-Burk grafikleri

Tablo 4.86. İksorozit molekülünün varlığında BChE inhibisyon türü ve K_i değeri

İksorozit, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.0183	0.0190	Karışık-Yarı yarışmalı	0.37
0.04	0.0170	0.0230		
0.06	0.0155	0.0264		
0.08	0.0142	0.0302		

İksorozit molekülünün KA inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için iksorozit molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.73 ve Tablo 4.87). KA inhibisyon mekanizmasında iksorozit molekülünün etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.35 mM olarak hesaplandı.

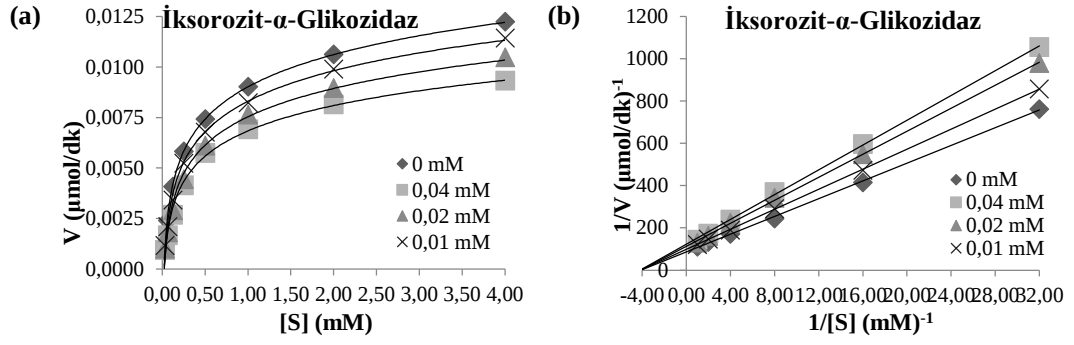


Şekil 4.73. İksorozit molekülünün varlığında KA inhibisyon türünün belirlenmesinde a) Michaelis-Menten ve b) Lineweaver-Burk grafikleri

Tablo 4.87. İksorozit molekülünün varlığında KA inhibisyon türü ve K_i değeri

İksorozit, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.0102	0.588	Yarışmasız	0.35
0.06	0.0088	0.588		
0.08	0.0077	0.588		
0.10	0.0066	0.590		

İksorozit molekülünün α -glukozidaz inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için iksorozit molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.74 ve Tablo 4.88). α -Glukozidaz inhibisyon mekanizmasında iksorozit molekülünün etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.10 mM olarak hesaplandı.

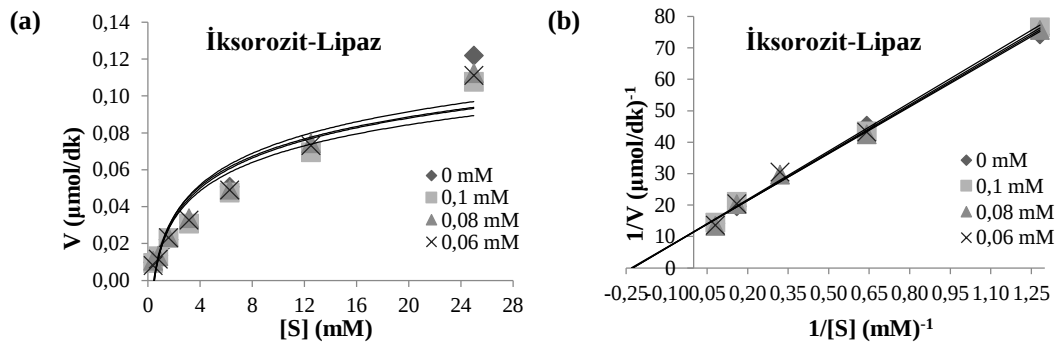


Şekil 4.74. İksorozit molekülünün varlığında α -glikozidaz inhibisyon türünün belirlenmesinde a) Michaelis-Menten ve b) Lineweaver-Burk grafikleri

Tablo 4.88. İksorozit molekülünün varlığında α -glikozidaz inhibisyon türü ve K_i değeri

İksorozit, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.0116	0.243	Yarışmasız	0.10
0.01	0.0102	0.241		
0.02	0.0089	0.241		
0.04	0.0082	0.240		

İksorozit molekülünün lipaz inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için iksorozit molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.75. ve Tablo 4.89.). Lipaz inhibisyon mekanizmasında iksorozit molekülünün etkisi yarışmalı inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 5.86 mM olarak hesaplandı.

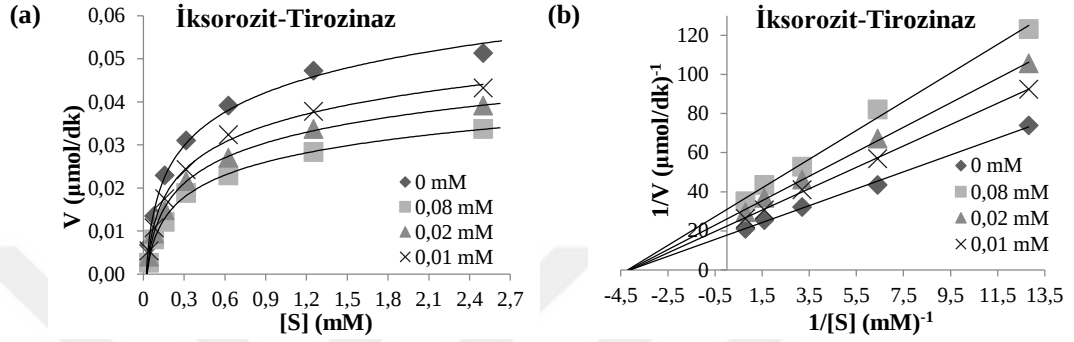


Şekil 4.75. İksorozit molekülünün varlığında lipaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten a) ve Lineweaver-Burk b) grafikleri

Tablo 4.89. İksorozit molekülünün varlığında lipaz inhibisyon türü ve K_i değeri

İksorozit, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.087	4.332	Yarışmalı	5.86
0.06	0.086	4.427		
0.08	0.087	4.366		
0.10	0.087	4.423		

İksorozit molekülünün tirozinaz inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için iksorozit molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.76 ve Tablo 4.90). Tirozinaz inhibisyon mekanizmasında iksorozit molekülünün etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.10 mM olarak hesaplandı.



Şekil 4.76. İksorozit molekülünün varlığında tirozinaz inhibisyon türünün belirlenmesinde a) Michaelis-Menten ve b) Lineweaver-Burk grafikleri

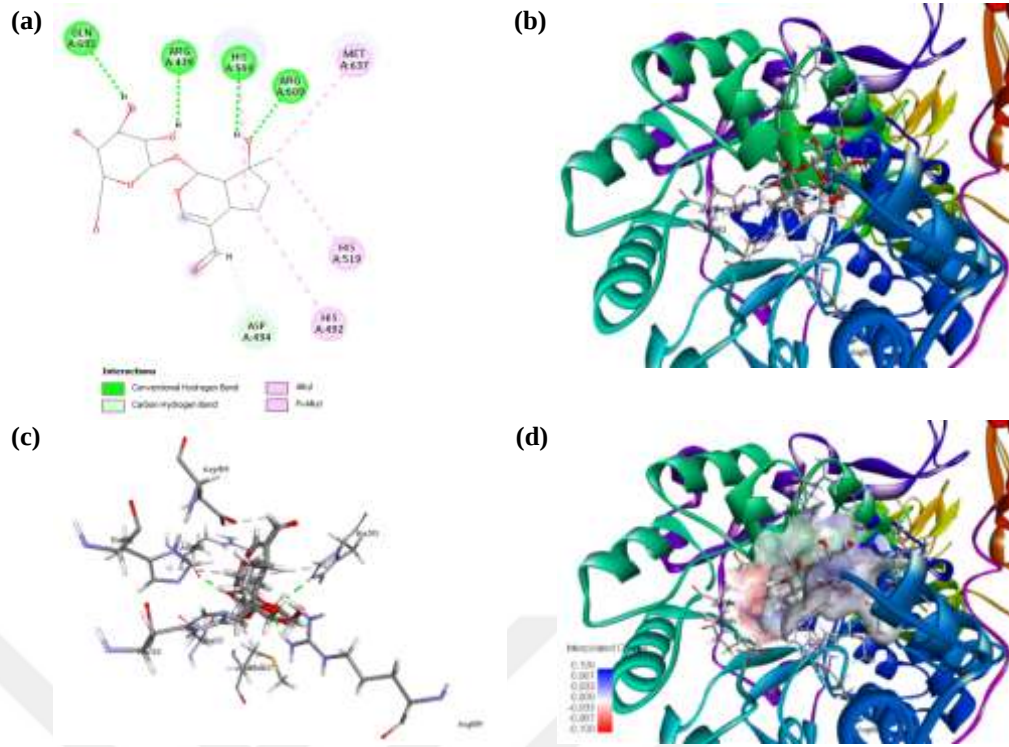
Tablo 4.90. İksorozit molekülünün varlığında tirozinaz inhibisyon türü ve K_i değeri

İksorozit, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.056	0.243	Yarışmasız	0.10
0.01	0.045	0.244		
0.02	0.038	0.240		
0.08	0.032	0.236		

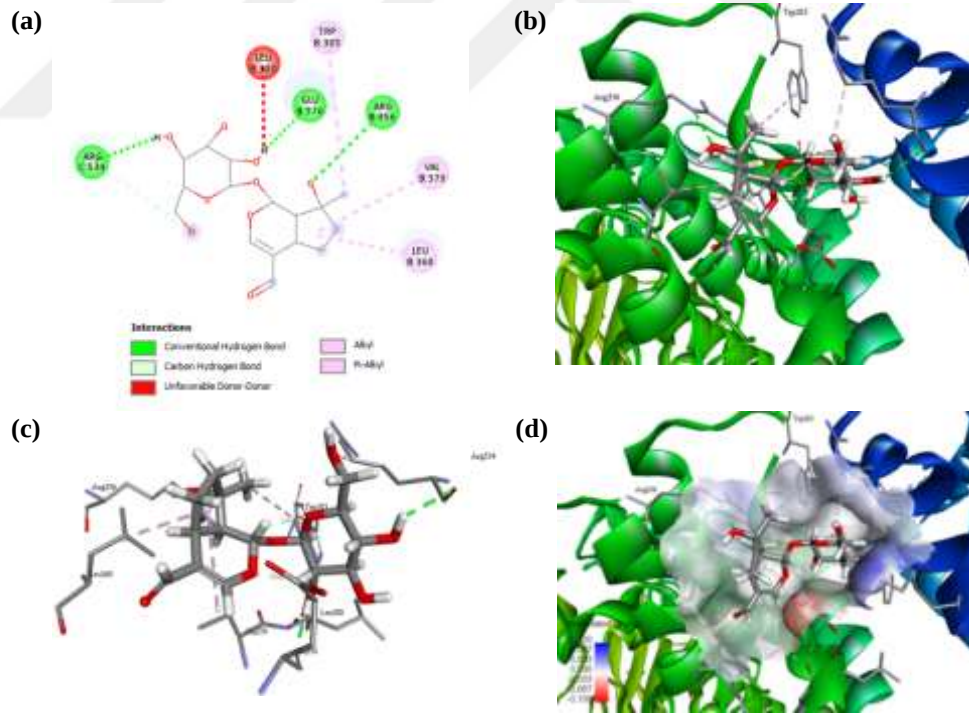
4.4.4.3. İksorozitin Moleküler Doking Çalışmaları

Şekil 4.77 ve Tablo 4.91’de görüldüğü gibi üreaz enziminin aktif bölgesi ile etkileşen iksorozitin ARG609, ARG439, GLN635 ve HIS593 ile hidroksiller ile dört adet konvensiyonel hidrojen bağı, ASP494 ile bir adet karbon hidrojen bağı, MET637 ile bir adet alkil etkileşimi ve HIS492, HIS519 ve HIS593 ile üç adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

Şekil 4.78 ve Tablo 4.92’de görüldüğü gibi AChE enziminin aktif bölgesi ile etkileşen iksorozitin ARG356, GLU376 ve ARG534 ile üç adet konvensiyonel hidrojen bağı, ARG534 ile bir adet karbon hidrojen bağı, LEU360 ve VAL379 ile iki adet alkil etkileşimi ve TRP385 ile bir adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.



Şekil 4.77. İksorozit molekülünün üreaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri



Şekil 4.78. İksorozit molekülünün AChE ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri

Tablo 4.91. İksorozit molekülünün üreaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

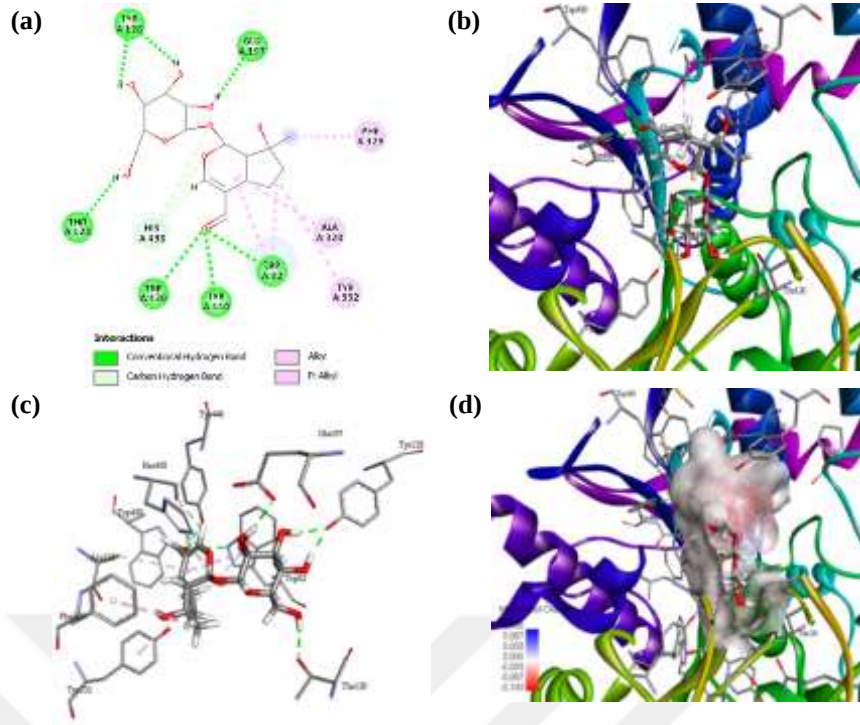
No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	A:ARG609:HH22 - :[001:O7	1.61	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:ARG609:HH22	H-Verici	:[001:O7	H-Alıcı
2	:[001:H16 - A:ARG439:O	1.72	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[001:H16	H-Verici	A:ARG439:O	H-Alıcı
3	:[001:H17 - A:GLN635:O	2.24	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[001:H17	H-Verici	A:GLN635:O	H-Alıcı
4	:[001:H18 - A:HIS593:NE2	2.19	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[001:H18	H-Verici	A:HIS593:NE2	H-Alıcı
5	:[001:H1 - A:ASP494:OD2	2.91	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	:[001:H1	H-Verici	A:ASP494:OD2	H-Alıcı
6	:[001:C15 - A:MET637	4.00	Hidrofofik Alkil	Alkil	:[001:C15	Alkil	A:MET637	Alkil
7	A:HIS492 - :[001	5.47	Hidrofofik Pi-Alkil	Pi-Alkil	A:HIS492	Pi-Orbital	:[001	Alkil
8	A:HIS519 - :[001:C15	5.44	Hidrofofik Pi-Alkil	Pi-Alkil	A:HIS519	Pi-Orbital	:[001:C15	Alkil
9	A:HIS593 - :[001	4.41	Hidrofofik Pi-Alkil	Pi-Alkil	A:HIS593	Pi-Orbital	:[001	Alkil

Tablo 4.92. İksorozit molekülünün AChE ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

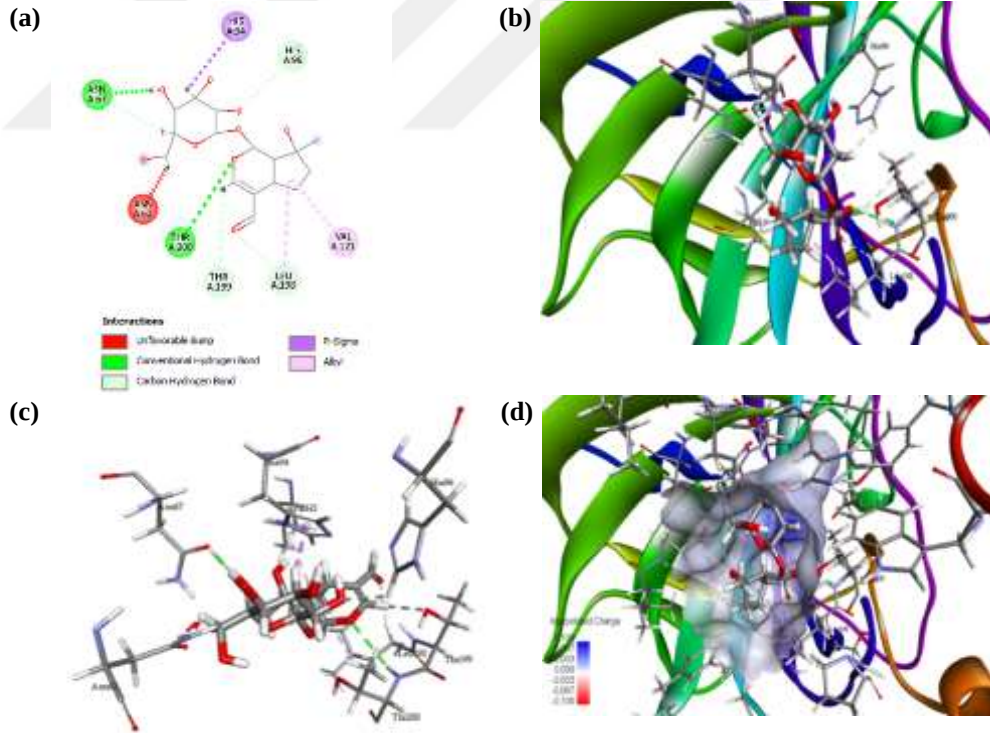
No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	B:ARG356:NE - :[001:O7	2.97	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	B:ARG356:NE	H-Verici	:[001:O7	H-Alıcı
2	:[001:H16 - B:GLU376:O	1.80	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[001:H16	H-Verici	B:GLU376:O	H-Alıcı
3	:[001:H24 - C:ARG534:O	2.60	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[001:H24	H-Verici	C:ARG534:O	H-Alıcı
4	C:ARG534:CD - :[001:O4	3.60	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	C:ARG534:CD	H-Verici	:[001:O4	H-Alıcı
5	B:LEU360 - :[001	4.22	Hidrofofik Alkil	Alkil	B:LEU360	Alkil	:[001	Alkil
6	B:VAL379 - :[001	5.05	Hidrofofik Alkil	Alkil	B:VAL379	Alkil	:[001	Alkil
7	B:TRP385 - :[001:C15	5.38	Hidrofofik Pi-Alkil	Pi-Alkil	B:TRP385	Pi-Orbital	:[001:C15	Alkil

Şekil 4.79 ve Tablo 4.93’de görüldüğü gibi BChE enziminin aktif bölgesi ile etkileşen iksorozitin TRP82, TRP430, TYR440, THR120, GLU197 ve TYR128 ile yedi adet konvensiyonel hidrojen bağı, HIS438 ile üç adet karbon hidrojen bağı, ALA328 ile bir adet alkil etkileşimi ve TRP82, PHE329 ve TYR332 ile dört adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

Şekil 4.80 ve Tablo 4.94’de görüldüğü gibi KA enziminin aktif bölgesi ile etkileşen iksorozitin THR200 ve ASN67 ile iki adet konvensiyonel hidrojen bağı, HIS96, LEU198, THR199 ve ASN67 ile dört adet karbon hidrojen bağı, VAL121, LEU198 ile iki adet alkil etkileşimi ve HIS94 ile bir adet pi-sigma etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.



Şekil 4.79. İksorozit molekülünün BChE ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri



Şekil 4.80. İksorozit molekülünün KA ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri

Tablo 4.93. İksorozit molekülünün BChE ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

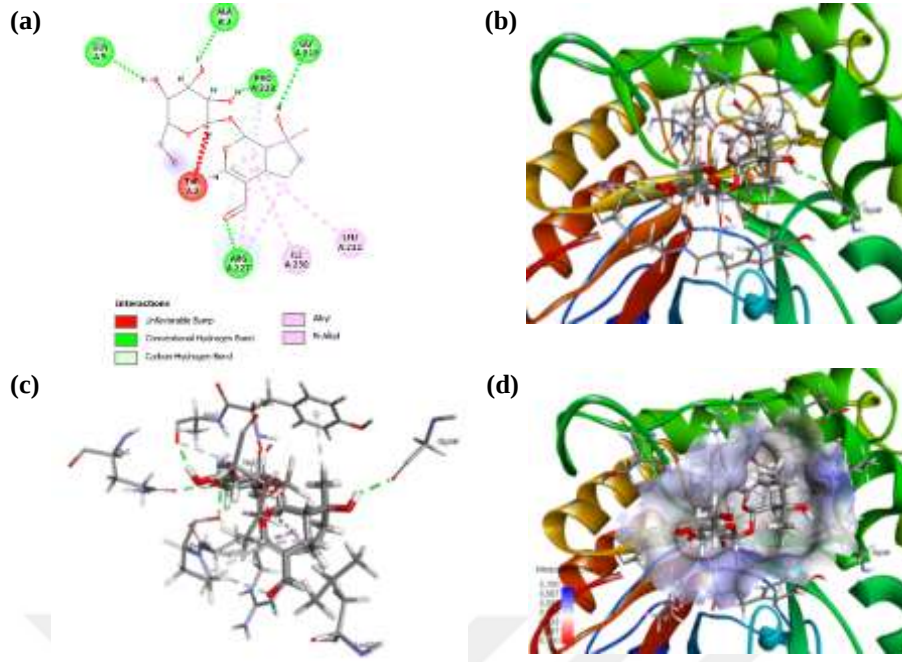
No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	A:TRP82:NE1 - :[001:O2	2.90	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:TRP82:NE1	H-Verici	:[001:O2	H-Alıcı
2	A:TRP430:NE1 - :[001:O2	2.81	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:TRP430:NE1	H-Verici	:[001:O2	H-Alıcı
3	A:TYR440:OH - :[001:O2	2.76	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:TYR440:OH	H-Verici	:[001:O2	H-Alıcı
4	:[001:H15 - A:THR120:OG1	2.15	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[001:H15	H-Verici	A:THR120:OG1	H-Alıcı
5	:[001:H16 - A:GLU197:OE1	2.01	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[001:H16	H-Verici	A:GLU197:OE1	H-Alıcı
6	:[001:H17 - A:TYR128:OH	2.10	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[001:H17	H-Verici	A:TYR128:OH	H-Alıcı
7	:[001:H24 - A:TYR128:OH	1.95	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[001:H24	H-Verici	A:TYR128:OH	H-Alıcı
8	A:HIS438:CD2 - :[001:O1	3.71	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	A:HIS438:CD2	H-Verici	:[001:O1	H-Alıcı
9	A:HIS438:CD2 - :[001:O8	3.74	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	A:HIS438:CD2	H-Verici	:[001:O8	H-Alıcı
10	:[001:H2 - A:HIS438:O	2.64	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	:[001:H2	H-Verici	A:HIS438:O	H-Alıcı
11	A:ALA328 - :[001	4.38	Hidrofobik	Alkil	A:ALA328	Alkil	:[001	Alkil
12	A:TRP82 - :[001	4.57	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:TRP82	Pi-Orbital	:[001	Alkil
13	A:TRP82 - :[001	4.98	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:TRP82	Pi-Orbital	:[001	Alkil
14	A:PHE329 - :[001:C15	5.40	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:PHE329	Pi-Orbital	:[001:C15	Alkil
15	A:TYR332 - :[001	5.02	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:TYR332	Pi-Orbital	:[001	Alkil

Tablo 4.94. İksorozit molekülünün KA ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

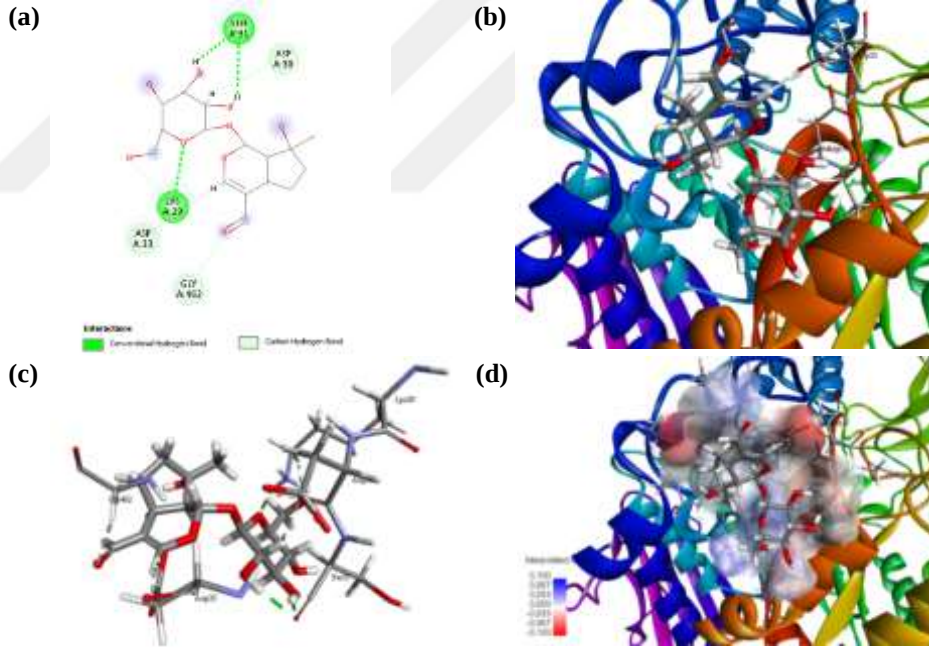
No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	A:THR200:HN - :[001:O1	2.96	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:THR200:HN	H-Verici	:[001:O1	H-Alıcı
2	:[001:H24 - A:ASN67:OD1	1.78	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[001:H24	H-Verici	A:ASN67:OD1	H-Alıcı
3	A:HIS96:HE1 - :[001:O5	2.67	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	A:HIS96:HE1	H-Verici	:[001:O5	H-Alıcı
4	A:LEU198:HA - :[001:O2	2.55	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	A:LEU198:HA	H-Verici	:[001:O2	H-Alıcı
5	:[001:H2 - A:THR199:OG1	2.81	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	:[001:H2	H-Verici	A:THR199:OG1	H-Alıcı
6	:[001:H14 - A:ASN67:OD1	2.84	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	:[001:H14	H-Verici	A:ASN67:OD1	H-Alıcı
7	:[001:H12 - A:HIS94	2.35	Hidrofobik	Pi-Sigma	:[001:H12	C-H	A:HIS94	Pi-Orbital
8	A:VAL121 - :[001	3.97	Hidrofobik	Alkil	A:VAL121	Alkil	:[001	Alkil
9	A:LEU198 - :[001	4.36	Hidrofobik	Alkil	A:LEU198	Alkil	:[001	Alkil

Şekil 4.81 ve Tablo 4.95’de görüldüğü gibi α -amilaz enziminin aktif bölgesi ile iksorozitin ARG227, PRO228, ALA3, GLY249 ve GLN5 ile beş adet konvensiyonel hidrojen bağı, PRO228 ve ALA3 ile dört adet karbon hidrojen bağı, ARG227, PRO228, LEU211 ve ILE230 ile bir adet alkil etkileşimi ve TYR2 ile bir adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

Şekil 4.82 ve Tablo 4.96’de görüldüğü gibi α -glikozidaz enziminin aktif bölgesi ile etkileşen iksorozitin LYS29 ve SER31 ile üç adet konvensiyonel hidrojen bağı ve LYS29, GLY462, ASP33 ve ASP30 ile karbon hidrojen bağı yaptığı gözlenmiştir.



Şekil 4.81. İksorozit molekülünün α -amilaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri



Şekil 4.82. İksorozit molekülünün α -glukozidaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri

Tablo 4.95. İksorozit molekülünün α -amilaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

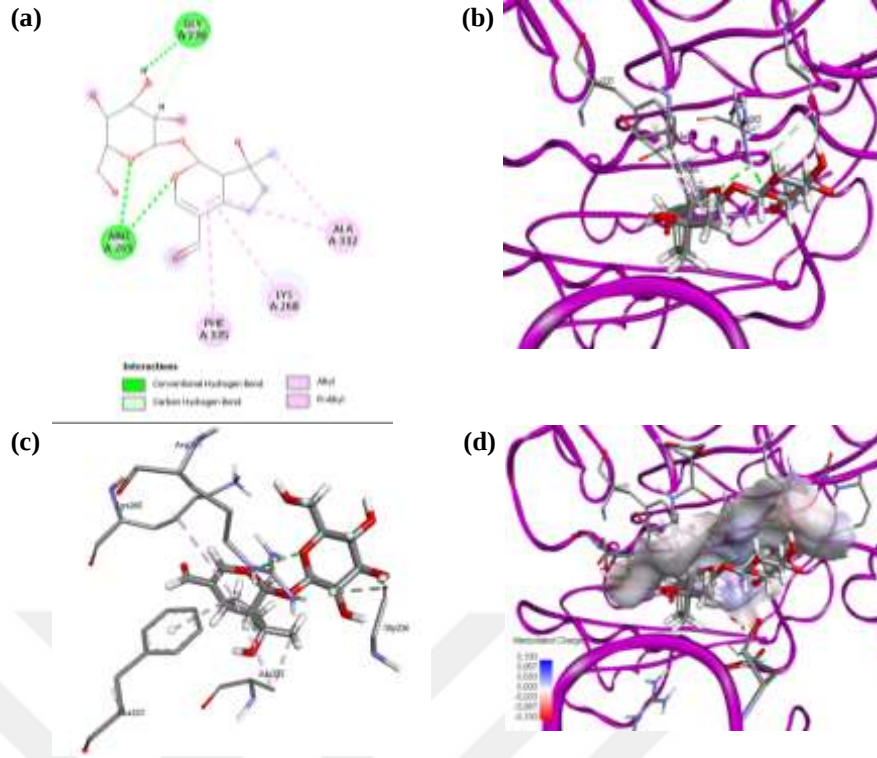
No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	A:ARG227:HH11 - :[001:O2	2.19	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:ARG227:HH11	H-Verici	:[001:O2	H-Alıcı
2	:[001:H16 - A:PRO228:O	2.24	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[001:H16	H-Verici	A:PRO228:O	H-Alıcı
3	:[001:H17 - A:ALA3:O	1.65	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[001:H17	H-Verici	A:ALA3:O	H-Alıcı
4	:[001:H18 - A:GLY249:O	2.11	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[001:H18	H-Verici	A:GLY249:O	H-Alıcı
5	:[001:H24 - A:GLN5:OE1	1.78	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[001:H24	H-Verici	A:GLN5:OE1	H-Alıcı
6	A:PRO228:HD1 - :[001:O2	2.94	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	A:PRO228:HD1	H-Verici	:[001:O2	H-Alıcı
7	:[001:H2 - A:PRO228:O	2.22	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	:[001:H2	H-Verici	A:PRO228:O	H-Alıcı
8	:[001:H11 - A:PRO228:O	1.97	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	:[001:H11	H-Verici	A:PRO228:O	H-Alıcı
9	:[001:H12 - A:ALA3:O	2.73	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	:[001:H12	H-Verici	A:ALA3:O	H-Alıcı
10	A:ARG227 - :[001	4.59	Hidrofobik	Alkil	A:ARG227	Alkil	:[001	Alkil
11	A:ARG227 - :[001	4.72	Hidrofobik	Alkil	A:ARG227	Alkil	:[001	Alkil
12	A:PRO228 - :[001	5.41	Hidrofobik	Alkil	A:PRO228	Alkil	:[001	Alkil
13	:[001 - A:LEU211	4.92	Hidrofobik	Alkil	:[001	Alkil	A:LEU211	Alkil
14	:[001 - A:ILE230	4.72	Hidrofobik	Alkil	:[001	Alkil	A:ILE230	Alkil
15	A:TYR2 - :[001:C15	4.23	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:TYR2	Pi-Orbital	:[001:C15	Alkil

Tablo 4.96. İksorozit molekülünün α -glukozidaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

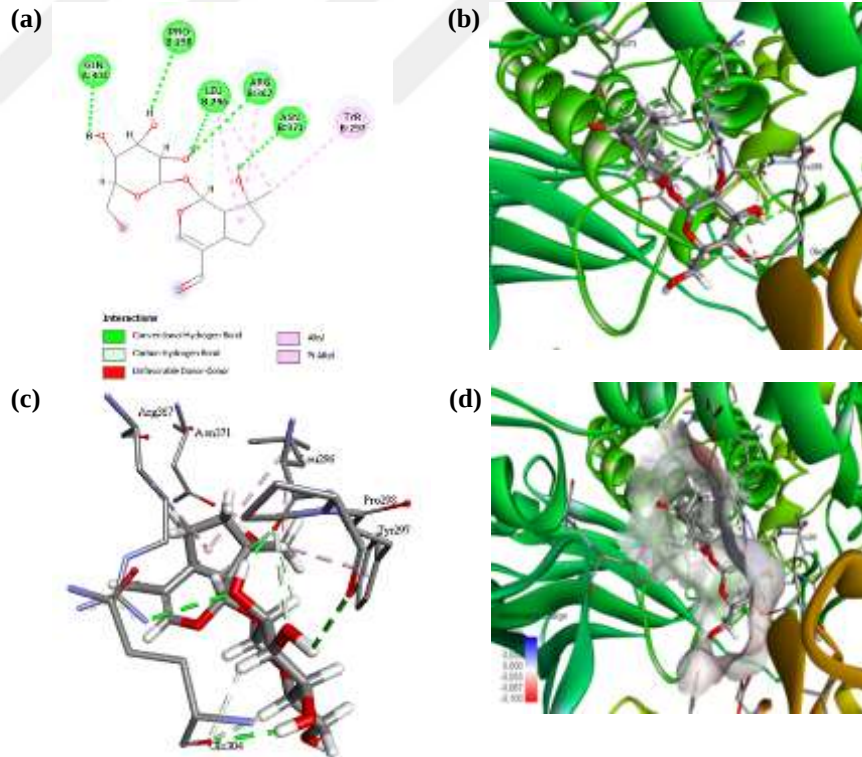
No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	A:LYS29:HZ3 - :[011:O3	1.64	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:LYS29:HZ3	H-Verici	:[011:O3	H-Alıcı
2	:[011:H16 - A:SER31:O	1.93	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[011:H16	H-Verici	A:SER31:O	H-Alıcı
3	:[011:H17 - A:SER31:O	1.82	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[011:H17	H-Verici	A:SER31:O	H-Alıcı
4	A:LYS29:HE1 - :[011:O4	2.29	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	A:LYS29:HE1	H-Verici	:[011:O4	H-Alıcı
5	A:GLY462:HA2 - :[011:O2	2.85	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	A:GLY462:HA2	H-Verici	:[011:O2	H-Alıcı
6	:[011:H2 - A:ASP33:OD1	2.84	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	:[011:H2	H-Verici	A:ASP33:OD1	H-Alıcı
7	:[011:H2 - A:ASP33:OD2	2.65	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	:[011:H2	H-Verici	A:ASP33:OD2	H-Alıcı
8	:[011:H11 - A:ASP30:O	2.72	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	:[011:H11	H-Verici	A:ASP30:O	H-Alıcı

Şekil 4.83 ve Tablo 4.97’de görüldüğü gibi lipaz enziminin aktif bölgesi ile etkileşen iksorozitin ARG265 ve GLY236 ile üç adet konvensiyonel hidrojen bağı, GLY236 ile bir adet karbon hidrojen bağı, LYS268 ve ALA332 ile üç adet alkil etkileşimi ve PHE335 ile bir adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

Şekil 4.84 ve Tablo 4.98’de görüldüğü gibi tirozinaz enziminin aktif bölgesi ile etkileşen iksorozitin ARG367, LEU296, PRO298, ASN371 ve GLN304 ile beş adet konvensiyonel hidrojen bağı, PRO298, LEU296 ve GLN304 ile beş adet karbon hidrojen bağı, LEU296 ve ARG367 ile üç adet alkil etkileşimi ve TYR297 ile bir adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.



Şekil 4.83. İksorozit molekülünün lipaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri



Şekil 4.84. İksorozit molekülünün tirozinaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri

Tablo 4.97. İksorozit molekülünün lipaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	A:ARG265:HH12 - :[011:O1	2.35	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:ARG265:HH12	H-Verici	: [011:O1	H-Alıcı
2	A:ARG265:HH12 - :[011:O3	1.63	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:ARG265:HH12	H-Verici	: [011:O3	H-Alıcı
3	: [011:H17 - A:GLY236:O	1.66	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [011:H17	H-Verici	A:GLY236:O	H-Alıcı
4	: [011:H11 - A:GLY236:O	2.88	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	: [011:H11	H-Verici	A:GLY236:O	H-Alıcı
5	A:LYS268 - :[011	5.05	Hidrofobik	Alkil	A:LYS268	Alkil	: [011	Alkil
6	A:ALA332 - :[011	5.11	Hidrofobik	Alkil	A:ALA332	Alkil	: [011	Alkil
7	A:ALA332 - :[011:C15	3.60	Hidrofobik	Alkil	A:ALA332	Alkil	: [011:C15	Alkil
8	A:PHE335 - :[011	4.54	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:PHE335	Pi-Orbital	: [011	Alkil

Tablo 4.98. İksorozit molekülünün tirozinaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	B:ARG367:NH1 - :[001:O5	3.10	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	B:ARG367:NH1	H-Verici	: [001:O5	H-Alıcı
2	: [001:H16 - B:LEU296:O	1.73	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H16	H-Verici	B:LEU296:O	H-Alıcı
3	: [001:H17 - B:PRO298:O	2.83	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H17	H-Verici	B:PRO298:O	H-Alıcı
4	: [001:H18 - B:ASN371:OD1	1.79	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H18	H-Verici	B:ASN371:OD1	H-Alıcı
5	: [001:H24 - A:GLN304:O	2.17	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H24	H-Verici	A:GLN304:O	H-Alıcı
6	B:PRO298:CD - :[001:O6	3.31	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	B:PRO298:CD	H-Verici	: [001:O6	H-Alıcı
7	: [001:H5 - B:LEU296:O	2.99	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	: [001:H5	H-Verici	B:LEU296:O	H-Alıcı
8	: [001:H11 - B:LEU296:O	2.54	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	: [001:H11	H-Verici	B:LEU296:O	H-Alıcı
9	: [001:H12 - A:GLN304:O	2.45	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	: [001:H12	H-Verici	A:GLN304:O	H-Alıcı
10	: [001:H14 - A:GLN304:O	2.96	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	: [001:H14	H-Verici	A:GLN304:O	H-Alıcı
11	B:LEU296 - :[001	4.93	Hidrofobik	Alkil	B:LEU296	Alkil	: [001	Alkil
12	B:ARG367 - :[001	4.36	Hidrofobik	Alkil	B:ARG367	Alkil	: [001	Alkil
13	: [001:C15 - B:LEU296	3.75	Hidrofobik	Alkil	: [001:C15	Alkil	B:LEU296	Alkil
14	B:TYR297 - :[001:C15	3.36	Hidrofobik	Pi-Alkil	B:TYR297	Pi-Orbital	: [001:C15	Alkil

Tablo 4.99’de gösterildiği gibi iksorozitin; üreaz, AChE, BChE, KA, α -amilaz, α -glikozidaz, lipaz ve tirozinaz ile etkileşimlerinin MolDock skorları sırasıyla -104.70, -93.53, -123.78, -111.41, -107.26, -73.70, -75.05 ve -108.06 olarak bildirilmiştir. En yüksek MolDock skoru BChE de gözlenmiştir. Ayrıca, bağlanma enerjileri sırasıyla -7.00, -7.70, -8.60, -6.40, -7.40, -8.40, -7.30 ve -7.80 kcal/mol olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda BChE en yüksek bağlanma enerjisine sahiptir. Elde edilen bağlanma enerjileri $\Delta G = R.T.\ln K_i$ denkleminde yerine koyularak bağlanma sabitleri üreaz için 8.87 μ M, AChE için 2.24 μ M, BChE için 0.49 μ M, KA için 20.12 μ M, α -amilaz için 6.02 μ M, α -glikozidaz için 1.19 μ M, lipaz için 7.09 μ M ve tirozinaz için 3.15 μ M olarak hesaplanmıştır. Bağlanma enerjisi yüksek olan molekülün bağlanma sabitinin düşük olması beklenir. Bu bağlamda bağlanma enerjileri yüksek olan BChE

bağlanma sabitlerinin düşük olduğu gözlenmiştir.

Tablo 4.99. İksorozitin enzimlerle etkileşiminin bağlanma enerjileri ve K_i değerleri

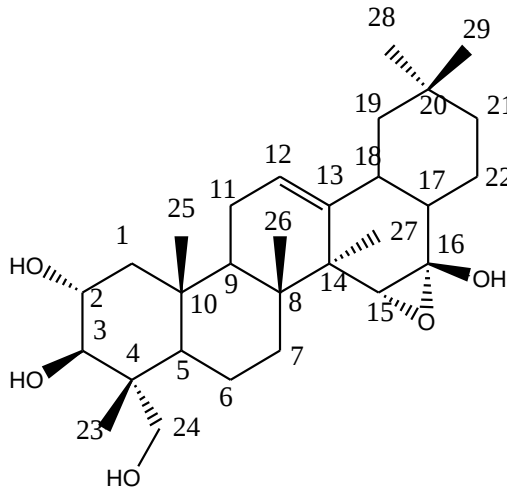
İksorozit	MolDock Skoru	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)	Bağlanma sabiti (K_i (μ M))
Üreaz	-104.70	-7.00	8.87
AChE	-93.53	-7.70	2.24
BChE	-123.78	-8.60	0.49
KA	-111.41	-6.40	20.12
α -Amilaz	-107.26	-7.40	6.02
α -Glikozidaz	-73.70	-8.40	1.19
Lipaz	-75.05	-7.30	7.09
Tirozinaz	-108.06	-7.80	3.15

4.4.5. Molekül L

N. baytopii metanol:kloroform ham ekstraktından elde edilen etil asetat birinci fraksiyonunun silika kolon kromatografisi sonucu elde edilen 5. fraksiyonun 4. alt fraksiyonundan (NBEFr5-4) beyaz amorf toz formda tespit edildi.

4.4.5.1. Molekül L Bileşiğinin Karakterizasyonu

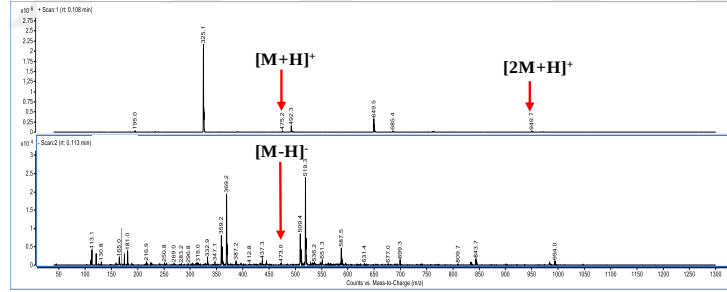
Molekül L'nin yapısı DMSO- d_6 çözücüsünde alınan NMR ve MS spektrumları kullanılarak belirlendi (Şekil 4.85. - 4.88. ve Tablo 4.100.). Molekül L bileşiğinin IUPAC ismi (4bS,5aR,5bS,5cR,8R,9R,10R,11aR)-8-(hydroxymethyl)-2,2,5b,5c,8,11a-hexamethyl-2,3,4,4a,5a,5b,5c,6,7,7a,8,9,10,11,11a,11b,12,13b-octadecahydroniceno[5,6-b]oxirene-4b,9,10(1H)-triol olarak belirlendi.



Şekil 4.85. Molekül L bileşiğinin yapısı

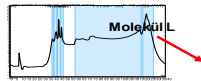
Tablo 4.100. Molekül L bileşiğinin ^1H ve ^{13}C NMR veri ve literatür değerleri

No	^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz)	^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz)
1	0.78-1.73	47.43
2	3.54	67.60
3	2.87	84.50
4		43.40
5	0.82	56.00
6	1.39-1.73	22.35
7	1.12-1.32	33.23
8		38.70
9	1.58	47.36
10		38.19
11	1.80-1.88	23.67
12	5.18	120.17
13		144.4
14		43.50
15	1.32-1.64	43.76
16		106.4
17	1.41	43.20
18	2.54	51.11
19	1.51-1.41	19.32
20		35.78
21	1.80-0.97	32.12
22	3.26	87.54
23	1.06	24.24
24	3.71-3.28	64.50
25	0.88	17.19
26	0.68	17.27
27	1.21	26.32
28	0.83	24.49
29	0.82	29.29



Şekil 4.86. Molekül L bileşiğinin MS kromatogramı

Molekül L bileşiğinin $\text{C}_{29}\text{H}_{46}\text{O}_5$ kapalı formülüne göre $[m/z]$ kütlesi 474.68 g/mol olarak hesaplandı.



Şekil 4.87. Molekül L bileşiğinin *p*-HPLC kromatogramı

¹H-NMR spektrumu incelendiğinde triterpenoid yapısında bir molekül olduğu gözlemlendi. Alifatik bölgede singlet olarak 6 adet metil grubunun varlığı tespit edildi. 5.17 ppm de olefinik çift bağ protonunun varlığı ve 4-6 ppm arasında yayvan 4 adet OH sinyalleri belirlendi.

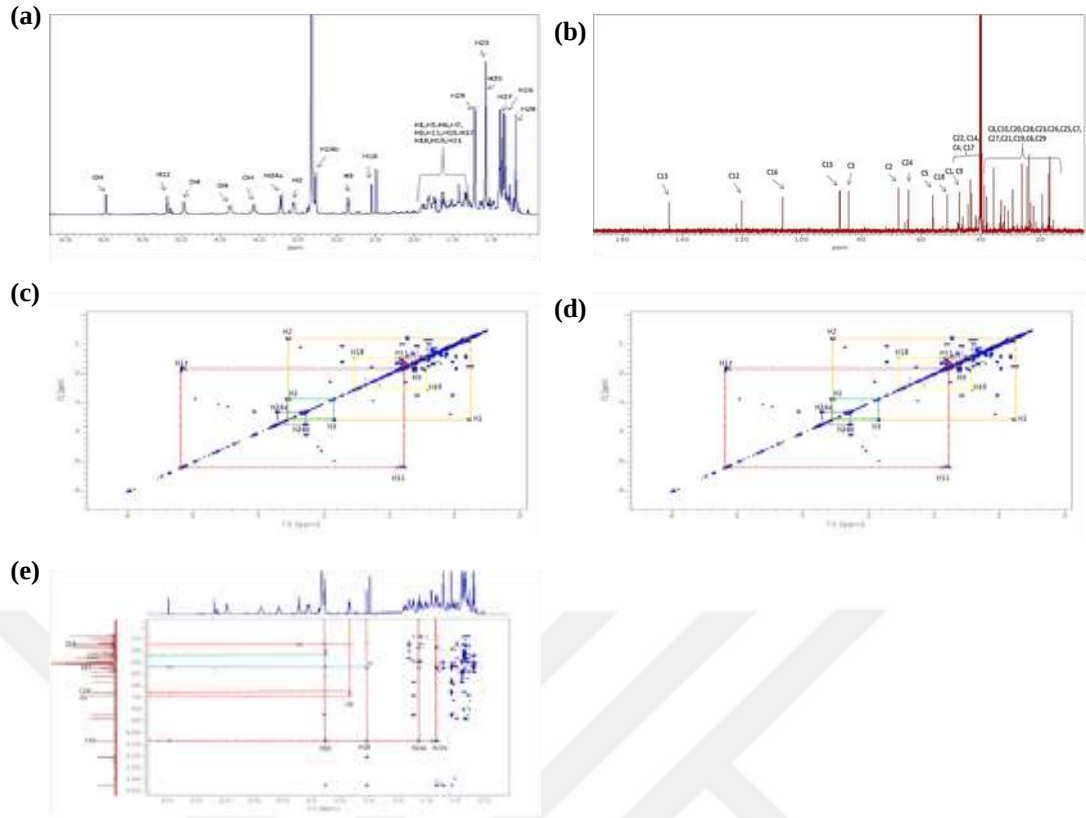
Bileşiğin ¹³C-NMR spektrumu incelendiğinde 29 adet farklı ¹³C sinyali tespit edildi. ¹H- NMR spektrumunda gözlenen olefinik çift bağ yapısı olefinik bölgede gözlenen iki karbon sinyaliyle doğrulandı ve molekülde bir adet çift bağın varlığı belirlendi (C12, C13 karbonları). 60-110 ppm arasında aşağı alanda gözlenen sinyaller ¹H-NMR spektrumundaki yayvan sinyallerin yapıdaki OH gruplarına bağlı karbon atomları olduğu ve yapıda dört adet OH grubunun bulunduğu tespit edildi.

COSY spektrumu incelendiğinde, H12 olefinik protonunun H11 protonuyla komşu olduğu, H11 protonunda H9 protonuyla etkileştiği ve komşu spesifik gruplar oldukları belirlendi. Ayrıca spektrumdan OH grubuyla aynı karbona bağlı olan 3.54 ppm de ki H2 protonunun 2.87 ppm de ki H3 protonu ve 0.78 ppm de ki H1b protonuyla komşu oldukları tespit edildi. H2 protonunun ¹H-NMR spektrumunda dubletin dubletinin dubleti (ddd) şeklinde yarıldığı ve etkileşim sabitinin 10.4 Hz ve 4.2 Hz olduğu görüldü. H2 protonuna komşu H3 protonunun dublet şeklinde yarıldığı ve 9.9 Hz etkileşim sabitine sahip olduğu belirlendi. Etkileşim sabitlerinden bu iki komşu diol yapısının birbirlerine trans konumunda oldukları tespit edilerek literatürde belirlenen benzer moleküllerin etkileşim sabitleriyle uyumlu oldukları görüldü (Chiu vd, 2008; Tanaka vd, 2003). 2.54 ppm deki H18 protonunun 1.41 ppm deki H19 protonuyla ve aynı ppm değerine sahip H17 protonuyla etkileştiği ve bu protonlara komşu olduğu belirlendi.

HSQC spektrumu incelendiğinde, olefinik H12 protonunun 120.17 ppm deki C12 karbonuna bağlı olduğu, 60-110 ppm arasında gözlenen ¹³C-NMR sinyallerinin ise oksijen atomlarının bağlı olduğu karbon atomlarından bir kuarterner, bir CH₂ ve üç CH karbon atomunun olduğu belirlendi. 106 ppm deki karbon atomunun kimyasal kayma değerinden iki oksijen atomunun bağlı olduğu kuarterner karbon atomu olduğu görüldü. 64.5 ppm deki rezonans olan C24 karbon atomuna bağlı iki adet (CH₂) H24 protonlarının kiral merkeze komşu oldukları için AB sistemi oluşturdukları ve diastrotopik protonlar oldukları tespit edildi. 2.54 ppm deki H18 protonunun 51.11 ppm deki karbona bağlı olduğu belirlendi. Yapıdaki diğer protonların bağlı oldukları karbonlar HSQC spektrumundan belirlendi ve tabloda sunuldu. Buna göre molekülde

altı adet CH₃ grubu, sekiz adet her biri diastrotopik yapıda CH₂ grubu ve sekiz adet CH grubunun varlığı belirlendi. Yedi adet karbon atomunun HSQC etkileşimi olmadığı ve kuarterner karbon olduğu tespit edildi.

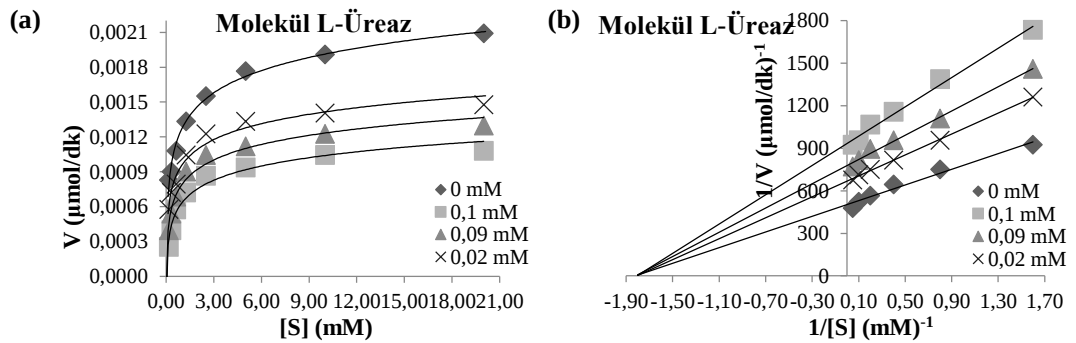
HMBC spektrumundan H₃ protonunun C₂, C₂₄ ve C₂₃ karbonlarıyla etkileştikleri gözlemlendi. C₁₆ karbonunun H₂₂, H₁₈ ve H₁₅ protonlarıyla HMBC etkileşimleri belirlendi. H₂₂ protonlarının C₁₇, C₂₉ ve C₂₁ karbonlarıyla, H₁₇ protonunun C₁₆ karbonuyla etkileşimi gözlemlendi. H_{1a} protonunun C₃, C₂, C₅ ve C₂₅ karbonlarıyla etkileşimleri olduğu, H₂₇ metil grubunun C₁₃ olefinik karbonu, C₂₀ ve C₂₂ karbon atomlarıyla etkileştikleri belirlendi. H₂₁ metilen grubunun C₂₂ karbonuyla etkileşimleri tespit edilip COSY spektrumunda ki etkileşimleri komşu oldukları doğrulandı. C₁₉ karbon atomunun H₂₈ metil grubuyla, H₁₅ protonunun C₁₇, C₇ ve C₂₇ karbonlarıyla etkileştikleri belirlendi. H₂₈-H₂₉ metil gruplarının 38,7 ppm deki C₂₀ karbon atomuna bağlı oldukları ve molekül yapısının olean formunda olduğu tespit edildi. 1.64 ppm deki H_{22a} protonunun C₁₆, C₂₀ karbonlarıyla, 1,32 ppm de ki H_{22b} protonunun C₁₇ karbonuyla etkileşimleri gözlemlendi. H₂₆ metil grubunun C₇ karbonuyla etkileşimi spektrumdan belirlendi. H₉ protonunun C₈ ve C₂₆ karbonlarıyla etkileşimleri gözlemlendi. C₂₅ metil karbonunun 0.78-1.73 ppm deki H_{1a}-b diastrotopik protonlarının her biriyle etkileştiği gözlemlendi. Aynı şekilde C₅ karbonunda bu protonlarla etkileşimi spektrumdan bulundu. C₅ karbonunun H₆ protonuyla etkileşimi ve C₆ karbonunun H₇ protonuyla etkileşimi belirlendi. Ayrıca 56 ppm de ki C₅ karbonunun H₂₃ metil grubuyla etkileştiği, H₂₃ metil grubunun ise 43.4 ppm de rezonans olan C₄ kuarterner karbonu ve C₂₄ karbonuyla etkileşmesi H₂₃ metil grubu ve H₂₄ metilen grubunun C₄ kuarterner karbonuna bağlı olduğunu düşündürdü. C₂₃ ve C₂₄ karbonlarının H₃ ve H₂ gruplarıyla etkileşimlerinin bu veriyi desteklediği görüldü. H₂₄ diastrotopik metilen grubunun H₃ protonuyla zayıf COSY etkileşiminin bulunması aynı yönlenebilirliğe sahip olduğunu gösterdi. Belirtilen etkileşimler takip edilerek molekülün olean formunda bir triterpenoid olduğu, kütle spektrometresinden elde edilen kütle verisi ve yapıdaki 4 adet hidroksil grubunun ¹H NMR’ dan tespiti alkol gruplarından daha aşağı alana kayan C₁₆ karbonuna fazladan bir oksijen atomunun bağlı olduğunu ve komşu C₁₅ karbonuyla arasında bu oksijen atomu üzerinden bir epoksit köprü yapısı olduğunu gösterdi.



Şekil 4.88. Molekül L bileşiğinin ^1H -NMR (DMSO) (a), ^{13}C -NMR (DMSO) (b), COSY (c), HSQC (d) ve HMBC (e) spektrumları

4.4.5.2. Molekül L'nin Enzim İnhibisyon Kinetikleri

Molekül L'nin üreaz inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için Molekül L'nin içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.89. ve Tablo 4.101.). Üreaz inhibisyon mekanizmasında iksorozit molekülünün etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.18 mM olarak hesaplandı.

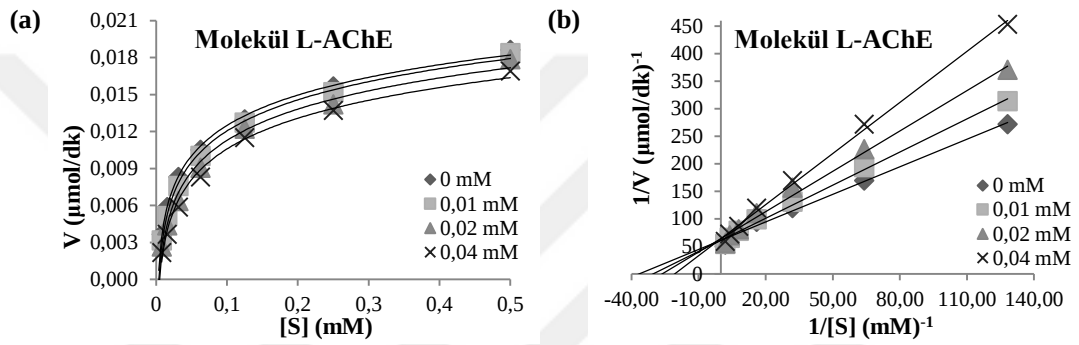


Şekil 4.89. Molekül L'nin varlığında üreaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

Tablo 4.101. Molekül L'nin varlığında üreaz inhibisyon türü ve K_i değeri

Molekül L, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.00199	0.549	Yarışmasız	0.18
0.02	0.00150	0.553		
0.09	0.00129	0.550		
0.10	0.00107	0.553		

Molekül L'nin AChE inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için Molekül L'nin içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.90. ve Tablo 4.102.). AChE inhibisyon mekanizmasında Molekül L'nin etkisi yarışmalı inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.05 mM olarak hesaplandı.

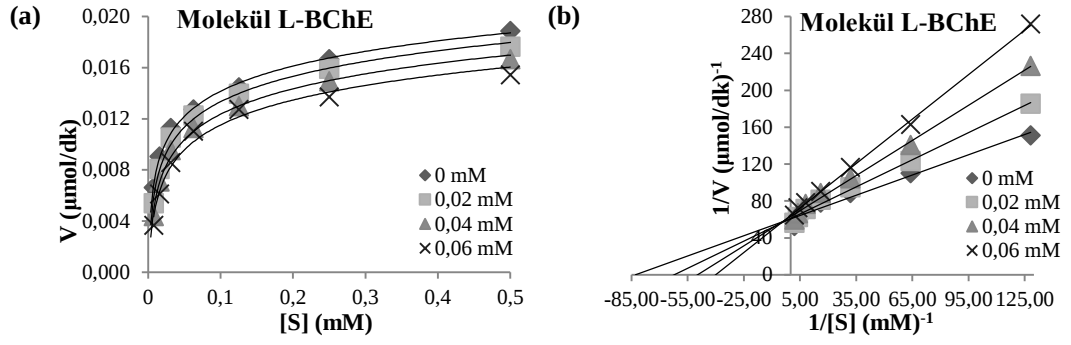


Şekil 4.90. Molekül L'nin varlığında AChE inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

Tablo 4.102. Molekül L'nin varlığında AChE inhibisyon türü ve K_i değeri

Molekül L, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.016	0.027	Yarışmalı	0.05
0.01	0.016	0.033		
0.02	0.016	0.038		
0.04	0.016	0.048		

Molekül L'nin BChE inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için Molekül L'nin içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.91. ve Tablo 4.103.). BChE inhibisyon mekanizmasında Molekül L'nin etkisi yarışmalı inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.03 mM olarak hesaplandı.

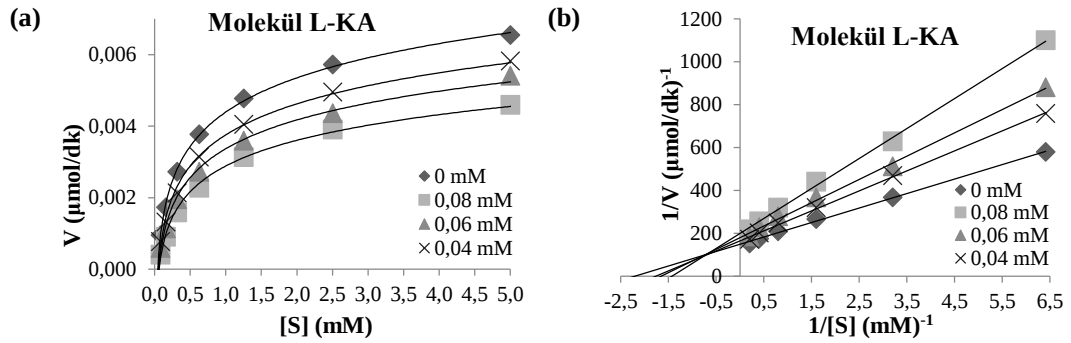


Şekil 4.91. Molekül L'nin varlığında BChE inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

Tablo 4.103. Molekül L'nin varlığında BChE inhibisyon türü ve K_i değeri

Molekül L, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.016	0.016	Yarışmalı	0.03
0.02	0.016	0.022		
0.04	0.016	0.028		
0.06	0.016	0.033		

Molekül L'nin KA inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için Molekül L'nin içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.92. ve Tablo 4.104.). KA inhibisyon mekanizmasında Molekül L'nin etkisi karışık inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.30 mM olarak hesaplandı.

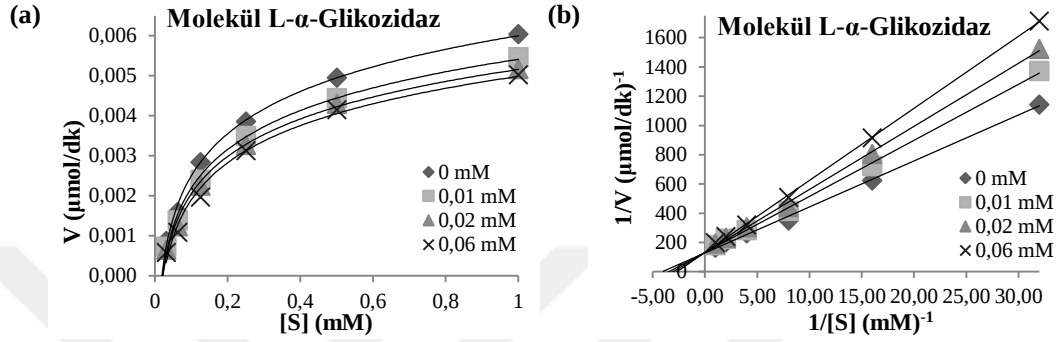


Şekil 4.92. Molekül L'nin varlığında KA inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

Tablo 4.104. Molekül L'nin varlığında KA inhibisyon türü ve K_i değeri

Molekül L, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.0067	0.451	Karışık-Yarı	0.30
0.04	0.0061	0.564	yarışmalı	
0.06	0.0055	0.603		
0.08	0.0050	0.699		

Molekül L'nin α -glikozidaz inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için Molekül L'nin içerdği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.93. ve Tablo 4.105.). α -Glikozidaz inhibisyon mekanizmasında Molekül L'nin etkisi yarışmalı inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.08 mM olarak hesaplandı.

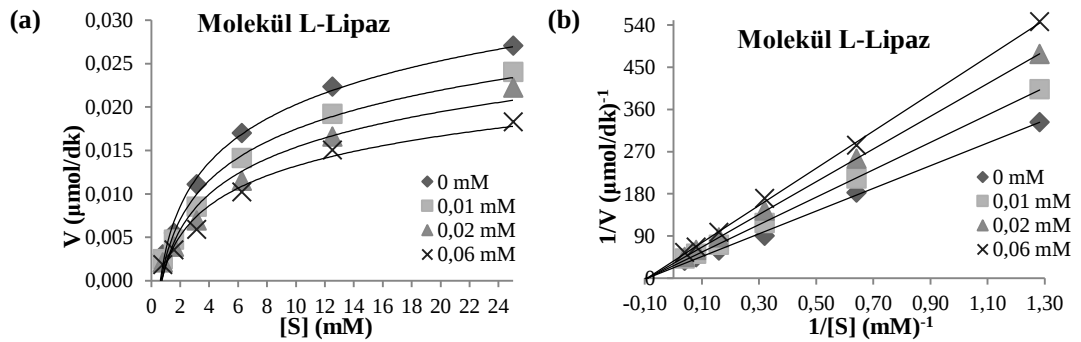


Şekil 4.93. Molekül L'nin varlığında α -glikozidaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

Tablo 4.105. Molekül L'nin varlığında α -glikozidaz inhibisyon türü ve K_i değeri

Molekül L, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.008	0.246	Yarışmalı	0.08
0.01	0.008	0.290		
0.02	0.008	0.327		
0.06	0.008	0.371		

Molekül L'nin lipaz inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için Molekül L'nin içerdği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.94. ve Tablo 4.106.). Lipaz inhibisyon mekanizmasında Molekül L'nin etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.11 mM olarak hesaplandı.

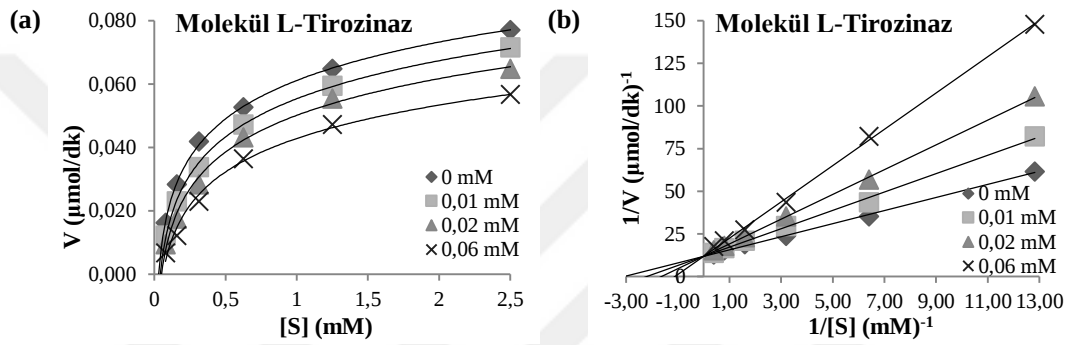


Şekil 4.94. Molekül L'nin varlığında lipaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

Tablo 4.106. Molekül L'nin varlığında lipaz inhibisyon türü ve K_i değeri

Molekül L, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.044	10.700	Yarışmasız	0.11
0.01	0.037	10.916		
0.02	0.031	10.926		
0.06	0.027	10.774		

Molekül L'nin tirozinaz inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için Molekül L'nin içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.95. ve Tablo 4.107.). Tirozinaz inhibisyon mekanizmasında Molekül L'nin etkisi yarışmalı inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.03 mM olarak hesaplandı.



Şekil 4.95. Molekül L'nin varlığında tirozinaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

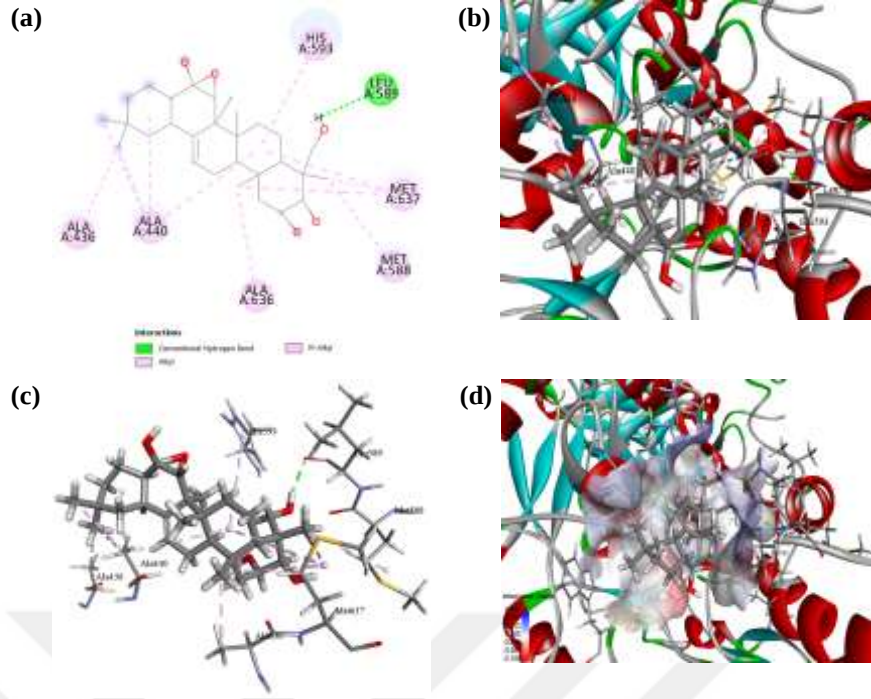
Tablo 4.107. Molekül L'nin varlığında tirozinaz inhibisyon türü ve K_i değeri

Molekül L, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.084	0.323	Yarışmalı	0.03
0.01	0.084	0.454		
0.02	0.084	0.612		
0.06	0.084	0.894		

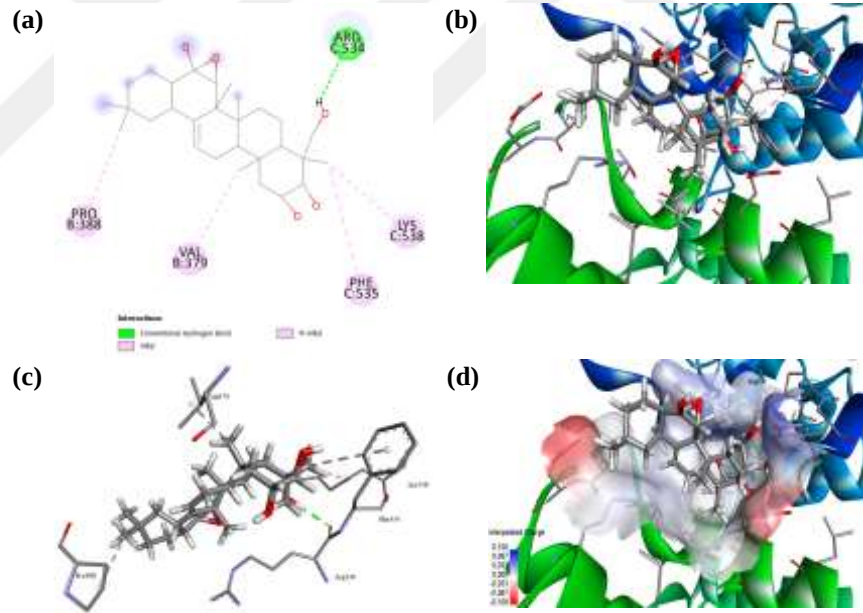
4.4.5.3. Molekül L Bileşiğinin Moleküler Doking Çalışmaları

Şekil 4.96 ve Tablo 4.108'de görüldüğü gibi üreaz enziminin aktif bölgesi ile etkileşen Molekül L bileşiğinin LEU589 ile bir adet konvensiyonel hidrojen bağı, ALA436, ALA440, ALA636, MET637 ve MET588 ile on adet alkil etkileşimi ve HIS593 ile bir adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

Şekil 4.97 ve Tablo 4.109'de görüldüğü gibi AChE enziminin aktif bölgesi ile etkileşen Molekül L bileşiğinin ARG534 ile bir adet konvensiyonel hidrojen bağı, PRO388, LYS538 ve VAL379 ile üç adet alkil etkileşimi ve PHE535 ile bir adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.



Şekil 4.96. Molekül L molekülünün üreaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri



Şekil 4.97. Molekül L molekülünün AChE ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri

Tablo 4.108. Molekül L molekülünün üreaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

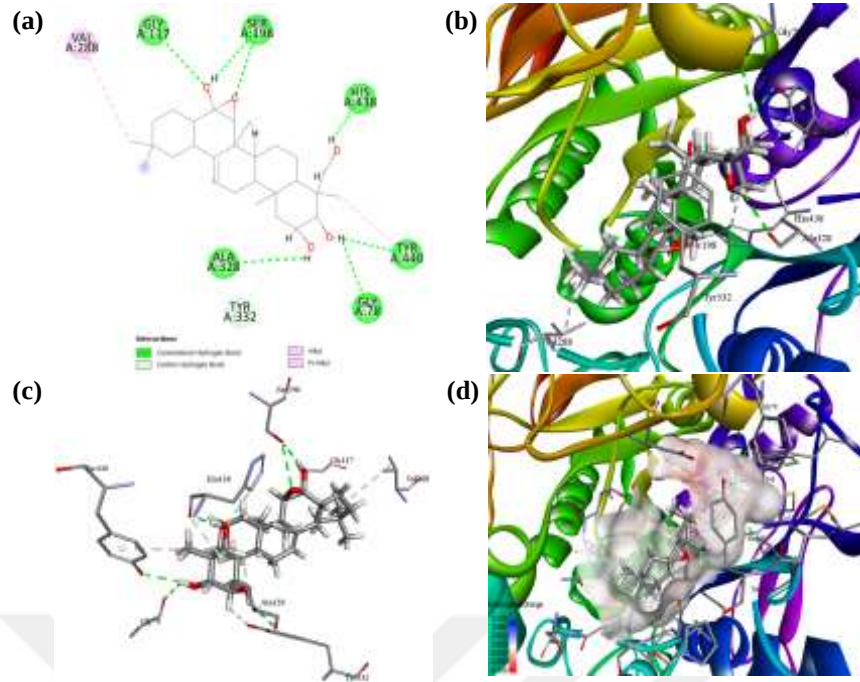
No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	:{001:H40 - A:LEU589:O	2.16	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:{001:H40	H-Verici	A:LEU589:O	H-Alıcı
2	A:ALA436 - :{001:C23	3.30	Hidrofobik	Alkil	A:ALA436	Alkil	:{001:C23	Alkil
3	A:ALA440 - :{001	5.50	Hidrofobik	Alkil	A:ALA440	Alkil	:{001	Alkil
4	A:ALA440 - :{001	4.30	Hidrofobik	Alkil	A:ALA440	Alkil	:{001	Alkil
5	A:ALA440 - :{001:C23	4.33	Hidrofobik	Alkil	A:ALA440	Alkil	:{001:C23	Alkil
6	A:ALA440 - :{001:C24	4.28	Hidrofobik	Alkil	A:ALA440	Alkil	:{001:C24	Alkil
7	A:ALA636 - :{001:C27	3.55	Hidrofobik	Alkil	A:ALA636	Alkil	:{001:C27	Alkil
8	A:MET637 - :{001	5.41	Hidrofobik	Alkil	A:MET637	Alkil	:{001	Alkil
9	:{001:C27 - A:MET637	5.01	Hidrofobik	Alkil	:{001:C27	Alkil	A:MET637	Alkil
10	:{001:C28 - A:MET588	4.69	Hidrofobik	Alkil	:{001:C28	Alkil	A:MET588	Alkil
11	:{001:C28 - A:MET637	3.645	Hidrofobik	Alkil	:{001:C28	Alkil	A:MET637	Alkil
12	A:HIS593 - :{001	4.95	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:HIS593	Pi-Orbital	:{001	Alkil

Tablo 4.109. Molekül L molekülünün AChE ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

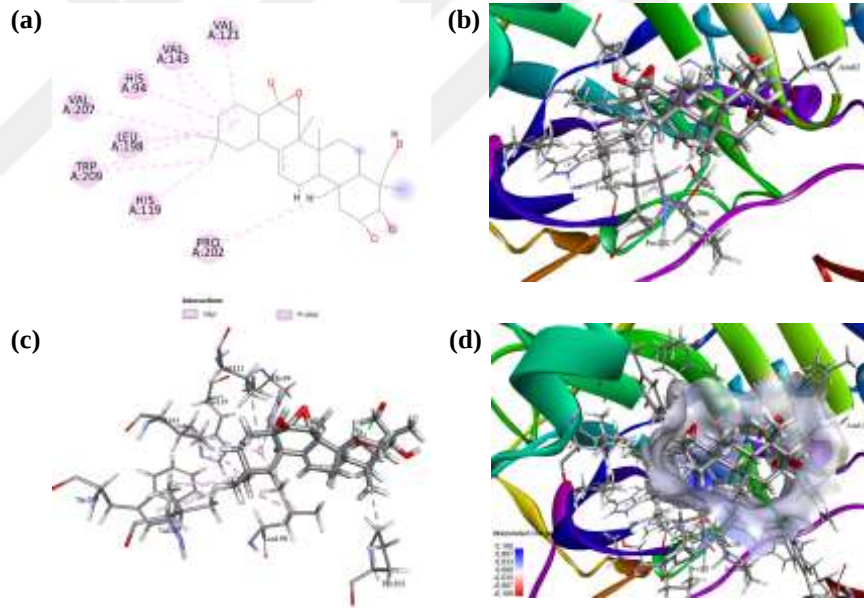
No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	:{001:H40 - C:ARG534:O	2.12	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:{001:H40	H-Verici	C:ARG534:O	H-Alıcı
2	:{001:C23 - B:PRO388	4.53	Hidrofobik	Alkil	:{001:C23	Alkil	B:PRO388	Alkil
3	:{001:C27 - B:VAL379	3.60	Hidrofobik	Alkil	:{001:C27	Alkil	B:VAL379	Alkil
4	:{001:C28 - C:LYS538	3.98	Hidrofobik	Alkil	:{001:C28	Alkil	C:LYS538	Alkil
5	C:PHE535 - :{001:C28	4.77	Hidrofobik	Pi-Alkil	C:PHE535	Pi-Orbital	:{001:C28	Alkil

Şekil 4.98 ve Tablo 4.110’de görüldüğü gibi BChE enziminin aktif bölgesi ile etkileşen Molekül L bileşiğinin GLY117, SER198, HIS438, GLY78, TYR440 ve ALA328 ile yedi adet konvensiyonel hidrojen bağı, HIS438 ve TYR332 ile üç adet karbon hidrojen bağı, VAL288 ile bir adet alkil etkileşimi ve TRP82, PHE329 ve TYR440 ile sekiz adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

Şekil 4.99 ve Tablo 4.111’de görüldüğü gibi KA enziminin aktif bölgesi ile etkileşen Molekül L bileşiğinin VAL121, VAL143, LEU198, VAL207 ve PRO202 ile yedi adet alkil etkileşimi ve HIS94, HIS119 ve TRP209 ile beş adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.



Şekil 4.98. Molekül L molekülünün BChE ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri



Şekil 4.99. Molekül L molekülünün KA ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri

Tablo 4.110. Molekül L molekülünün BChE ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

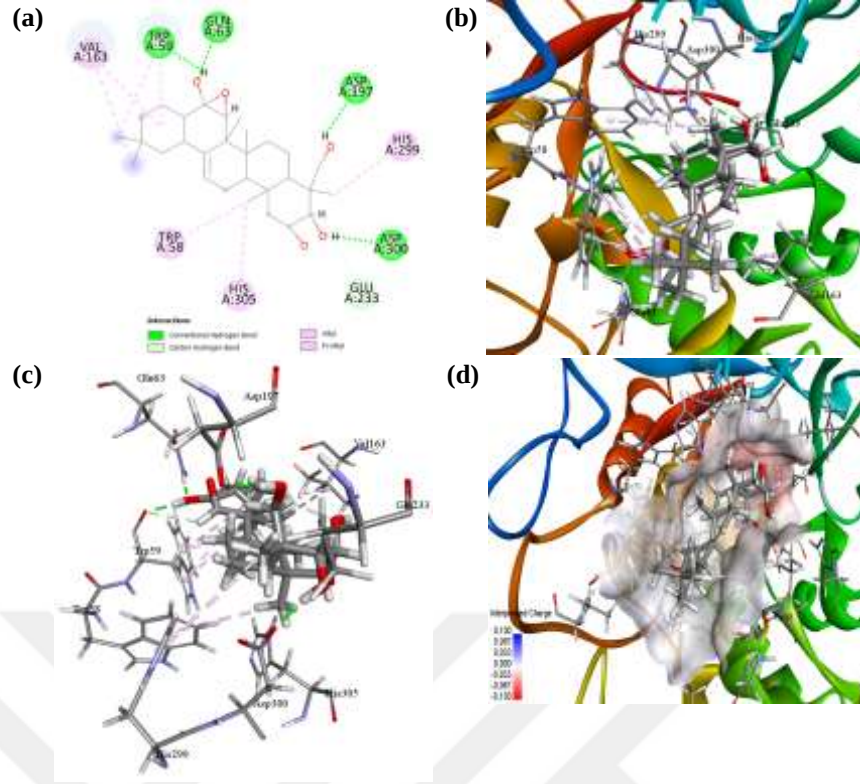
No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	A:GLY117:N - :[001:O2	2.86	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:GLY117:N	H-Verici	: [001:O2	H-Alıcı
2	A:SER198:OG - :[001:O1	3.12	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:SER198:OG	H-Verici	: [001:O1	H-Alıcı
3	: [001:H11 - A:SER198:OG	2.19	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H11	H-Verici	A:SER198:OG	H-Alıcı
4	: [001:H40 - A:HIS438:O	1.64	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H40	H-Verici	A:HIS438:O	H-Alıcı
5	: [001:H43 - A:GLY78:O	2.72	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H43	H-Verici	A:GLY78:O	H-Alıcı
6	: [001:H43 - A:TYR440:OH	2.51	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H43	H-Verici	A:TYR440:OH	H-Alıcı
7	: [001:H45 - A:ALA328:O	2.67	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H45	H-Verici	A:ALA328:O	H-Alıcı
8	A:HIS438:CD2 - :[001:O3	2.75	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	A:HIS438:CD2	H-Verici	: [001:O3	H-Alıcı
9	: [001:H41 - A:HIS438:O	2.99	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	: [001:H41	H-Verici	A:HIS438:O	H-Alıcı
10	: [001:H46 - A:TYR332:OH	2.81	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	: [001:H46	H-Verici	A:TYR332:OH	H-Alıcı
11	: [001:C24 - A:VAL288	4.81	Hidrofobik Alkil		: [001:C24	Alkil	A:VAL288	Alkil
12	A:TRP82 - :[001	4.43	Hidrofobik Pi-Alkil		A:TRP82	Pi-Orbital	: [001	Alkil
13	A:TRP82 - :[001:C27	3.81	Hidrofobik Pi-Alkil		A:TRP82	Pi-Orbital	: [001:C27	Alkil
14	A:TRP82 - :[001:C28	3.70	Hidrofobik Pi-Alkil		A:TRP82	Pi-Orbital	: [001:C28	Alkil
15	A:TRP82 - :[001	5.28	Hidrofobik Pi-Alkil		A:TRP82	Pi-Orbital	: [001	Alkil
16	A:TRP82 - :[001:C27	5.39	Hidrofobik Pi-Alkil		A:TRP82	Pi-Orbital	: [001:C27	Alkil
17	A:TRP82 - :[001:C28	4.24	Hidrofobik Pi-Alkil		A:TRP82	Pi-Orbital	: [001:C28	Alkil
18	A:PHE329 - :[001	4.99	Hidrofobik Pi-Alkil		A:PHE329	Pi-Orbital	: [001	Alkil
19	A:TYR440 - :[001:C28	3.94	Hidrofobik Pi-Alkil		A:TYR440	Pi-Orbital	: [001:C28	Alkil

Tablo 4.111. Molekül L molekülünün KA ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

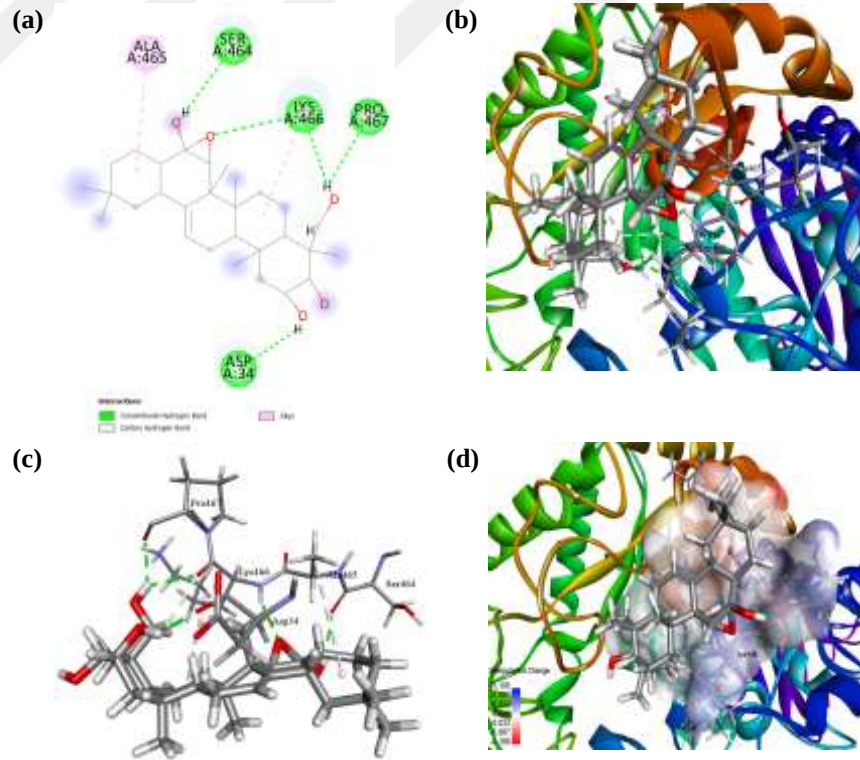
No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	A:VAL121 - :[001	4.36	Hidrofobik Alkil		A:VAL121	Alkil	: [001	Alkil
2	A:VAL143 - :[001	4.54	Hidrofobik Alkil		A:VAL143	Alkil	: [001	Alkil
3	A:LEU198 - :[001	4.90	Hidrofobik Alkil		A:LEU198	Alkil	: [001	Alkil
4	: [001:C24 - A:VAL143	4.23	Hidrofobik Alkil		: [001:C24	Alkil	A:VAL143	Alkil
5	: [001:C24 - A:LEU198	4.32	Hidrofobik Alkil		: [001:C24	Alkil	A:LEU198	Alkil
6	: [001:C24 - A:VAL207	4.03	Hidrofobik Alkil		: [001:C24	Alkil	A:VAL207	Alkil
7	: [001:C27 - A:PRO202	4.92	Hidrofobik Alkil		: [001:C27	Alkil	A:PRO202	Alkil
8	A:HIS94 - :[001	4.86	Hidrofobik Pi-Alkil		A:HIS94	Pi-Orbital	: [001	Alkil
9	A:HIS119 - :[001:C23	4.32	Hidrofobik Pi-Alkil		A:HIS119	Pi-Orbital	: [001:C23	Alkil
10	A:TRP209 - :[001:C24	4.81	Hidrofobik Pi-Alkil		A:TRP209	Pi-Orbital	: [001:C24	Alkil
11	A:TRP209 - :[001:C23	4.61	Hidrofobik Pi-Alkil		A:TRP209	Pi-Orbital	: [001:C23	Alkil
12	A:TRP209 - :[001:C24	4.24	Hidrofobik Pi-Alkil		A:TRP209	Pi-Orbital	: [001:C24	Alkil

Şekil 4.100 ve Tablo 4.112’de görüldüğü gibi α -amilaz enziminin aktif bölgesi ile Molekül L bileşiğinin GLN63, TRP59, ASP197 ve ASP300 ile dört adet konvensiyonel hidrojen bağı, TRP59 ve GLU233 ile iki adet karbon hidrojen bağı, VAL163 ile iki adet alkil etkileşimi ve TRP59, TRP59, HIS209 ve HIS305 ile yedi adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

Şekil 4.101 ve Tablo 4.113’de görüldüğü gibi α -glukozidaz enziminin aktif bölgesi ile etkileşen Molekül L bileşiğinin LYS466, SER464 ve PRO467 ile dört adet konvensiyonel hidrojen bağı, LYS466 ile bir adet karbon hidrojen bağı ve Ala465 ve LYS466 ile iki adet alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.



Şekil 4.100. Molekül L molekülünün α -amilaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri



Şekil 4.101. Molekül L molekülünün α -glukozidaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri

Tablo 4.112. Molekül L molekülünün α -amilaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

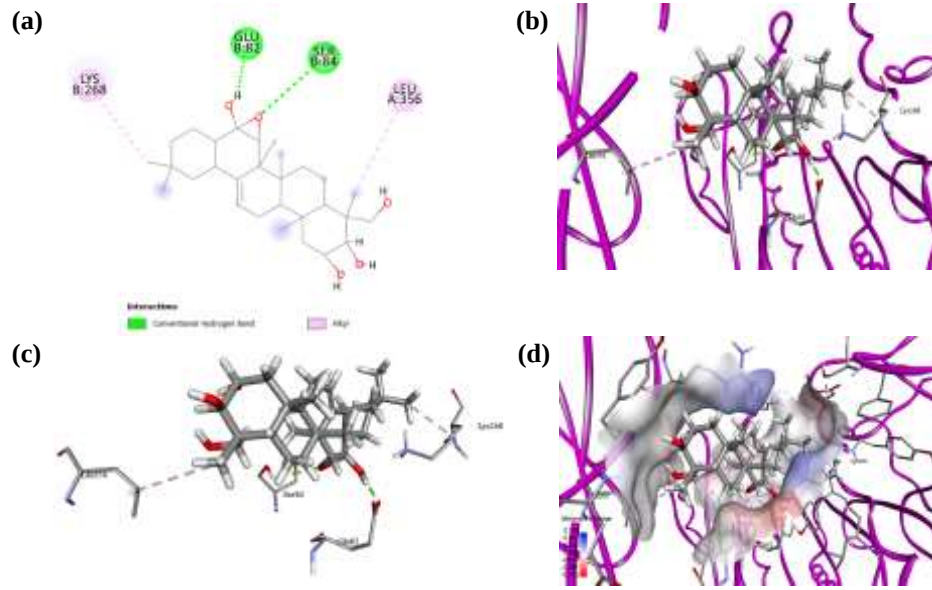
No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	A:GLN63:HE21 - :[001:O2	1.50	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:GLN63:HE21	H-Verici	:[001:O2	H-Alıcı
2	:[001:H11 - A:TRP59:O	1.70	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[001:H11	H-Verici	A:TRP59:O	H-Alıcı
3	:[001:H40 - A:ASP197:OD1	1.89	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[001:H40	H-Verici	A:ASP197:OD1	H-Alıcı
4	:[001:H43 - A:ASP300:OD2	1.65	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[001:H43	H-Verici	A:ASP300:OD2	H-Alıcı
5	:[001:H10 - A:TRP59:O	2.86	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	:[001:H10	H-Verici	A:TRP59:O	H-Alıcı
6	:[001:H44 - A:GLU233:OE2	2.94	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	:[001:H44	H-Verici	A:GLU233:OE2	H-Alıcı
7	A:VAL163 - :[001	4.66	Hidrofobik Alkil	Alkil	A:VAL163	Alkil	:[001	Alkil
8	:[001:C23 - A:VAL163	4.31	Hidrofobik Alkil	Alkil	:[001:C23	Alkil	A:VAL163	Alkil
9	A:TRP58 - :[001:C27	5.41	Hidrofobik Pi-Alkil	Pi-Alkil	A:TRP58	Pi-Orbital	:[001:C27	Alkil
10	A:TRP59 - :[001	5.29	Hidrofobik Pi-Alkil	Pi-Alkil	A:TRP59	Pi-Orbital	:[001	Alkil
11	A:TRP59 - :[001:C24	4.68	Hidrofobik Pi-Alkil	Pi-Alkil	A:TRP59	Pi-Orbital	:[001:C24	Alkil
12	A:TRP59 - :[001	4.59	Hidrofobik Pi-Alkil	Pi-Alkil	A:TRP59	Pi-Orbital	:[001	Alkil
13	A:TRP59 - :[001:C24	3.56	Hidrofobik Pi-Alkil	Pi-Alkil	A:TRP59	Pi-Orbital	:[001:C24	Alkil
14	A:HIS299 - :[001:C28	5.28	Hidrofobik Pi-Alkil	Pi-Alkil	A:HIS299	Pi-Orbital	:[001:C28	Alkil
15	A:HIS305 - :[001:C27	4.36	Hidrofobik Pi-Alkil	Pi-Alkil	A:HIS305	Pi-Orbital	:[001:C27	Alkil

Tablo 4.113. Molekül L molekülünün α -glukozidaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

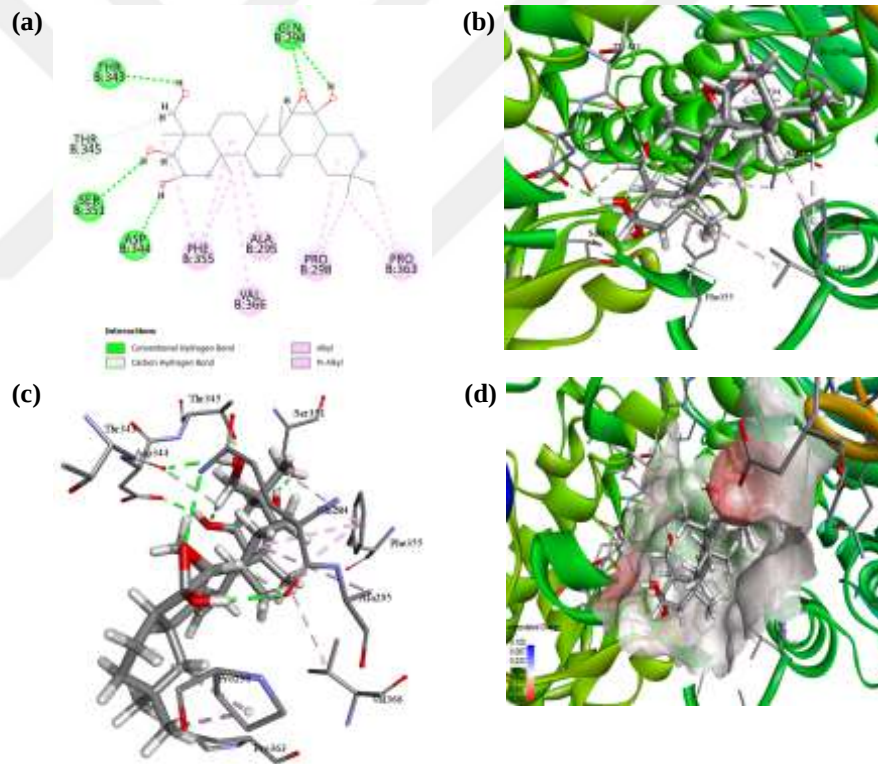
No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	A:LYS466:HN - :[001:O1	2.26	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:LYS466:HN	H-Verici	:[001:O1	H-Alıcı
2	:[001:H11 - A:SER464:O	2.31	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[001:H11	H-Verici	A:SER464:O	H-Alıcı
3	:[001:H40 - A:LYS466:O	2.30	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[001:H40	H-Verici	A:LYS466:O	H-Alıcı
4	:[001:H40 - A:PRO467:O	2.29	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[001:H40	H-Verici	A:PRO467:O	H-Alıcı
5	:[001:H45 - A:ASP34:O	1.81	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:[001:H45	H-Verici	A:ASP34:O	H-Alıcı
6	:[001:H41 - A:LYS466:O	2.52	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	:[001:H41	H-Verici	A:LYS466:O	H-Alıcı
7	A:ALA465 - :[001	5.04	Hidrofobik Alkil	Alkil	A:ALA465	Alkil	:[001	Alkil
8	A:LYS466 - :[001	5.50	Hidrofobik Alkil	Alkil	A:LYS466	Alkil	:[001	Alkil

Şekil 4.102 ve Tablo 4.114’de görüldüğü gibi lipaz enziminin aktif bölgesi ile etkileşen Molekül L bileşiğinin SER84, GLU82 ve GLN368 ile beş adet konvensiyonel hidrojen bağı, LYS268 ve LEU356 ile iki adet alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

Şekil 4.103 ve Tablo 4.115’de görüldüğü gibi tirozinaz enziminin aktif bölgesi ile etkileşen Molekül L bileşiğinin GLN294, THR343, SER351 ve ASP344 ile beş adet konvensiyonel hidrojen bağı, GLN294, THR345 ve THR343 ile dört adet karbon hidrojen bağı, ALA295, PRO298, PRO363 ve VAL366 ile altı adet alkil etkileşimi ve PHE355 ile üç adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.



Şekil 4.102. Molekül L molekülünün lipaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri



Şekil 4.103. Molekül L molekülünün tirozinaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri

Tablo 4.114. Molekül L molekülünün lipaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	B:SER84:HG - :[001:O1	2.92	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	B:SER84:HG	H-Verici	: [001:O1	H-Alıcı
2	: [001:H11 - B:GLU82:OE1	1.43	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H11	H-Verici	B:GLU82:OE1	H-Alıcı
3	: [001:H40 - A:GLN368:O	2.14	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H40	H-Verici	A:GLN368:O	H-Alıcı
4	: [001:H43 - A:GLN368:O	2.34	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H43	H-Verici	A:GLN368:O	H-Alıcı
5	: [001:H45 - A:GLN368:O	2.54	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H45	H-Verici	A:GLN368:O	H-Alıcı
6	: [001:C24 - B:LYS268	3.33	Hidrofobik	Alkil	: [001:C24	Alkil	B:LYS268	Alkil
7	: [001:C28 - A:LEU356	5.48	Hidrofobik	Alkil	: [001:C28	Alkil	A:LEU356	Alkil

Tablo 4.115. Molekül L molekülünün tirozinaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	B:GLN294:NE2 - : [001:O1	2.93	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	B:GLN294:NE2	H-Verici	: [001:O1	H-Alıcı
2	: [001:H11 - B:GLN294:O	2.20	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H11	H-Verici	B:GLN294:O	H-Alıcı
3	: [001:H40 - B:THR343:O	2.35	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H40	H-Verici	B:THR343:O	H-Alıcı
4	: [001:H43 - B:SER351:OG	2.41	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H43	H-Verici	B:SER351:OG	H-Alıcı
5	: [001:H45 - B:ASP344:OD1	2.00	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H45	H-Verici	B:ASP344:OD1	H-Alıcı
6	: [001:H10 - B:GLN294:O	2.22	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	: [001:H10	H-Verici	B:GLN294:O	H-Alıcı
7	: [001:H41 - B:THR345:OG1	2.89	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	: [001:H41	H-Verici	B:THR345:OG1	H-Alıcı
8	: [001:H42 - B:THR343:O	3.02	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	: [001:H42	H-Verici	B:THR343:O	H-Alıcı
9	: [001:H44 - B:THR345:OG1	2.30	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	: [001:H44	H-Verici	B:THR345:OG1	H-Alıcı
10	B:ALA295 - : [001	5.07	Hidrofobik	Alkil	B:ALA295	Alkil	: [001	Alkil
11	B:PRO298 - : [001	4.64	Hidrofobik	Alkil	B:PRO298	Alkil	: [001	Alkil
12	: [001:C23 - B:PRO363	3.81	Hidrofobik	Alkil	: [001:C23	Alkil	B:PRO363	Alkil
13	: [001:C24 - B:PRO298	3.75	Hidrofobik	Alkil	: [001:C24	Alkil	B:PRO298	Alkil
14	: [001:C24 - B:PRO363	4.43	Hidrofobik	Alkil	: [001:C24	Alkil	B:PRO363	Alkil
15	: [001:C27 - B:VAL366	4.12	Hidrofobik	Alkil	: [001:C27	Alkil	B:VAL366	Alkil
16	B:PHE355 - : [001	5.14	Hidrofobik	Pi-Alkil	B:PHE355	Pi-Orbital	: [001	Alkil
17	B:PHE355 - : [001:C27	4.22	Hidrofobik	Pi-Alkil	B:PHE355	Pi-Orbital	: [001:C27	Alkil
18	B:PHE355 - : [001:C28	4.31	Hidrofobik	Pi-Alkil	B:PHE355	Pi-Orbital	: [001:C28	Alkil

Tablo 4.116’ de gösterildiği gibi Molekül L bileşiğinin; üreaz, AChE, BChE, KA, α -amilaz, α -glikozidaz, lipaz ve tirozinaz ile etkileşimlerinin MolDock skorları sırasıyla -97.39, -84.60, -120.16, -87.94, -116.87, -71.46, -92.32 ve -110.55 olarak bildirilmiştir. En yüksek MolDock skoru BChE ve tirozinaz etkileşmesinde gözlenmiştir. Ayrıca, bağlanma enerjileri sırasıyla -7.80, -9.70, -10.90, -7.70, -8.70, -8.60, -8.60 ve -11.00 kcal/mol olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda BChE ve tirozinaz da en yüksek bağlanma enerjisine sahiptir. Elde edilen bağlanma enerjileri $\Delta G = R.T.\ln K_i$ denkleminde yerine koyularak bağlanma sabitleri üreaz için 2.35 μ M, AChE için 0.08 μ M, BChE için 0.01 μ M, KA için 2.24 μ M, α -amilaz için 0.73 μ M, α -glikozidaz için 0.86 μ M, lipaz için 0.86 μ M ve tirozinaz için 0.02 μ M olarak

hesaplanmıştır. Bağlanma enerjisi yüksek olan molekülün bağlanma sabitinin düşük olması beklenir. Bu bağlamda bağlanma enerjileri yüksek olan BChE ve tirozinaz da bağlanma sabitlerinin düşük olduğu gözlenmiştir.

Tablo 4.116. Molekül L bileşiğinin enzimlerle etkileşiminin bağlanma enerjileri ve K_i değerleri

Molekül L	MolDock Skor	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)	Bağlanma sabiti (K_i (μ M))
Üreaz	-97.39	-7.80	2.35
AChE	-84.60	-9.70	0.08
BChE	-120.16	-10.90	0.01
KA	-87.94	-7.70	2.24
α -Amilaz	-116.87	-8.70	0.73
α -Glikozidaz	-71.46	-8.60	0.86
Lipaz	-92.32	-8.60	0.86
Tirozinaz	-110.55	-11.00	0.02

4.4.6. Ursolik Asit

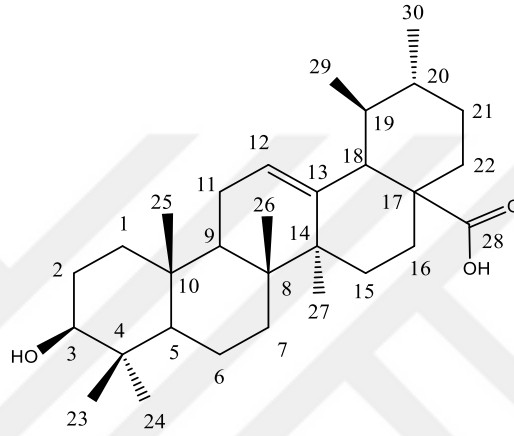
Ursolik asit molekülü, *N. baytopii* etil asetat fraksiyonunun 1;2 fraksiyonunda (NBKFr1;2) beyaz amorf toz formda fazla miktarda tespit edildi.

Nepeta türleri üzerine yapılan çalışmalarda, Klimek ve Modnicki (2005), *N. cataria* var. *citriodora* *n*-hekzan ekstraktından; Hemaia vd (2015), *N. cataria* *n*-hekzan ekstraktından; Jamila vd (2011), *N. juncea* metanol ekstraktından; Hussain vd (2008), *N. suaveis* metanol ekstraktından; Orfali vd (2018), *N. deflersiana* etanol ekstraktından; Al-Taweel vd (2017), *N. deflersiana* etanol ekstraktının *n*-hekzan fraksiyonundan; Rehman vd (2017), *N. kurramensis* metanol ekstraktından; Siddique vd (2017b), *N. hindostana* etil asetat ekstraktından ve Tundis vd (2013), *N. binaludensis* ve *N. crassifolia* metanol ekstraktlarından ursolik asit molekülünü saflaştırmışlardır.

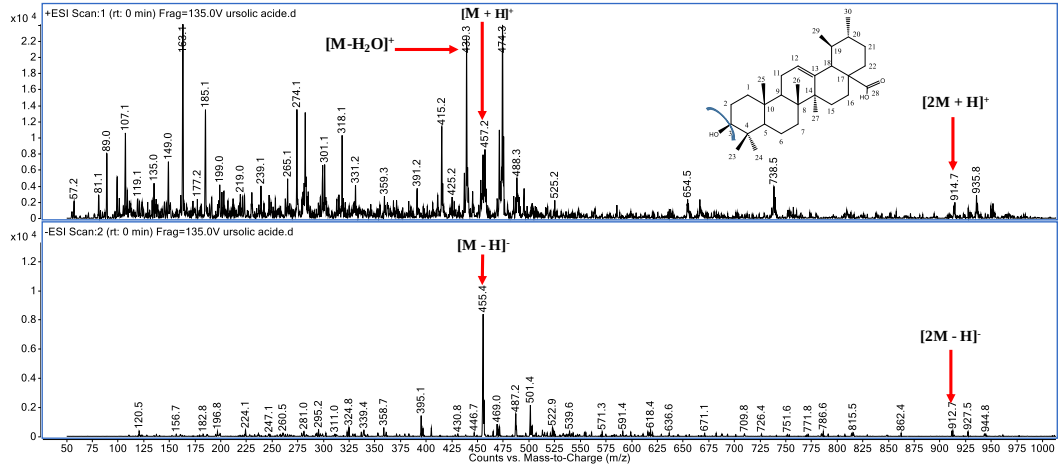
4.4.6.1. Ursolik Asidin Karakterizasyonu

Ursolik asit molekülünün yapısı DMSO-*d*₆ çözücüsünde alınan NMR spektrumları kullanılarak belirlendi (Şekil 4.104.- 4.106. ve Tablo 4.117.). ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde 12 ppm’de bir asit sinyali görülmektedir, aynı şekilde ¹³C spektrumunda buna bağlı 179 ppm’de karbonil karbonu tespit edildi. C12 ve C13 karbonlarının olefinik bölgede sinyal verdiği gözlemlendi ve bu da yapıda bir çift bağ olduğunu göstermektedir. 77.24 ppm’de C3 karbonuna bağlı 2.97 ppm’de ki protonun OH grubuna bağlı olduğu belirlendi. Molekülün diğer bölümlerinin alifatik yapıda olduğu NMR spektrumlarından gözlemlendi. Ayrıca yapıda 7 adet farklı metil sinyali belirlendi. COSY spektrumu incelendiğinde C12 protonunun (5.10 ppm), C11

protonuyla (1.81 ppm) C3 protonunun (2.97 ppm) ile C2 protonunun (1.42 ppm) etkileşimleri gözlenmiş ve komşu gruplar oldukları belirlenmiştir. Diğer alifatik grupların etkileşimler ve bağlı oldukları karbonlar HSQC spektrumundan tespit edildi. HMBC spektrumu incelenerek 5.10 ppm'de ki protonun etkileşimleri belirlendi. Aynı şekilde OH grubunun 2.97 ppm'de ki C3 protonun etkileşimi izlendi. Alifatik yapıdaki diğer etkileşimler de aynı şekilde takip edilerek yapının ana hatları oluşturuldu. Yapılan literatür taraması ve karşılaştırmalar sonucunda molekülün yaygın olarak bitkilerde bulunan ursolik asit olduğu tespit edilerek doğrulandı (Silva vd, 2008).



Şekil 4.104. Ursolik asit molekülünün yapısı

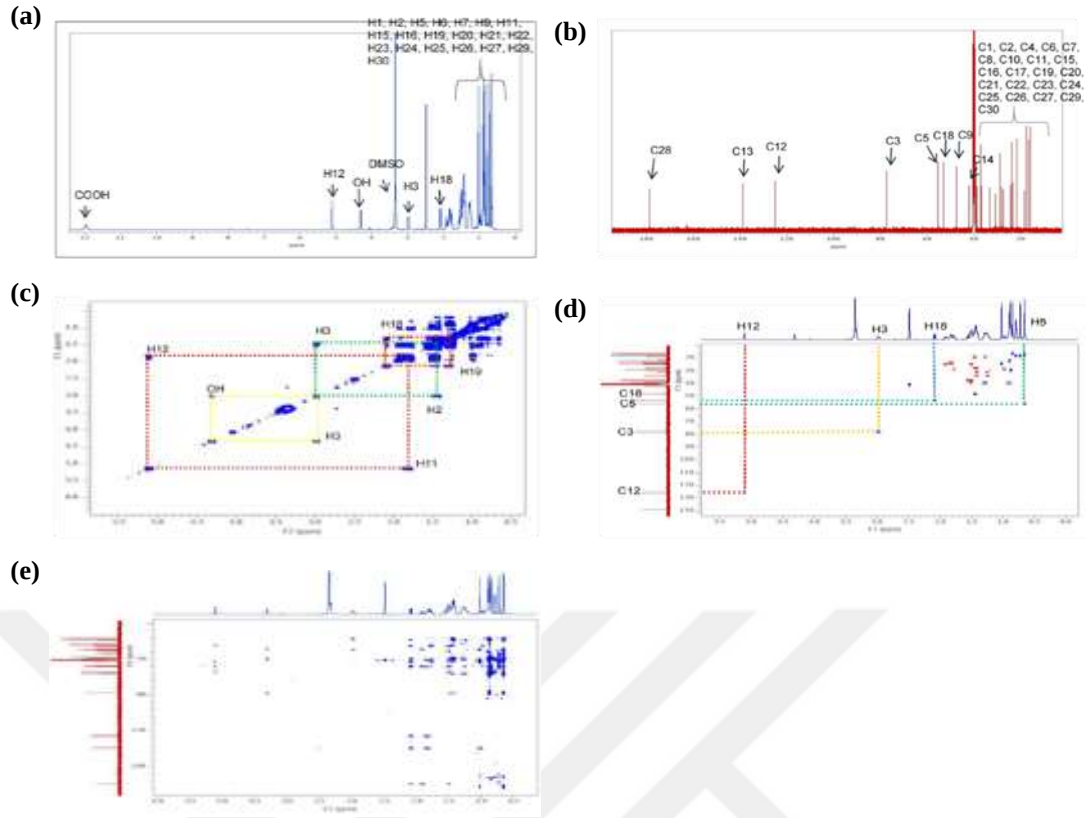


Şekil 4.105. Ursolik asit molekülünün MS kromatogramı

Ursolik asit molekülünün $C_{30}H_{48}O_3$ kapalı formülüne göre $[m/z]$ kütlesi 456.70 g/mol olarak hesaplandı ve literatür bilgileri ile doğrulandı (Hemaia vd, 2015).

Tablo 4.117. Ursolik asit molekülünün ^1H ve ^{13}C NMR veri ve literatür değerleri

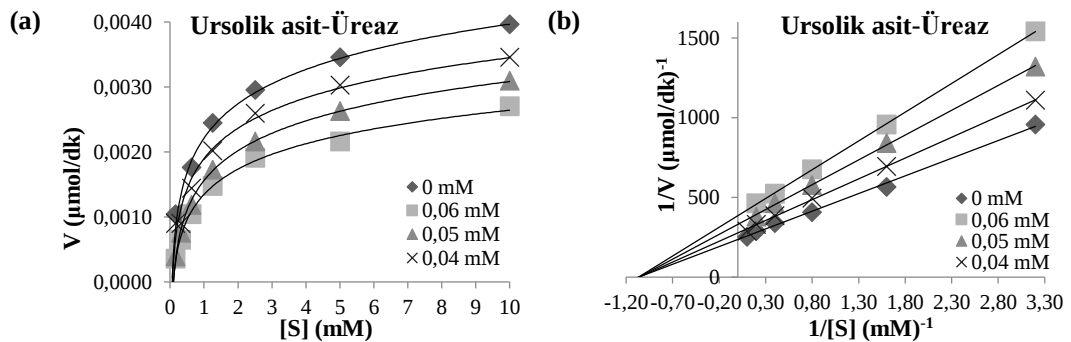
No	^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz)	^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz)	^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) (Silva vd, 2008)	^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) (Silva vd, 2008)
1	1.50-0.87	38.72	1.56	38.22
2	1.42	27.47	1.43	26.79
3	2.97 (dt 10.2-4.74)	77.24	3.01	76.82
4		38.65		38.35
5	0.64	55.14	0.66	54.77
6	1.27-1.43	18.45	1.47-1.29	17.97
7	124-1.40	30.53	1.27	30.77
8		39.47		39.09
9	1.43	47.44	1.58	47.00
10		36.94		36.51
11	1.81	23.30	1.92	23.80
12	5.10 (t)	125.0	5.14	124.54
13		138.		138.18
14		42.0		41.62
15	1.23-1.41	33.18	1.01	32.69
16	1.92-1.48 (dt 13.2-4)	24.22	1.53	22.82
17		47.44		46.81
18	2.08 (d 11.16)	52.78	2.12	52.37
19	1.28	38.80	1.31	38.42
20	0.90	39.03	1.50	38.48
21	1.76-0.96	27.96	1.45-1.29	27.52
22	1.48-1.54	36.77	1.54	36.29
23	0.86 (s)	28.27	0.90	28.23
24	0.65 (s)	16.38	0.68	16.90
25	0.84 (s)	15.61	0.87	16.03
26	0.71 (s)	17.36	0.69	15.18
27	1.01 (s)	23.60	1.05	23.24
28		178.00		178.23
29	0.78 (d 6.9)	17.46	0.82	16.97
30	0.88 (s)	21.46	0.92	21.10



Şekil 4.106. Ursolik asit molekülünün ^1H -NMR (DMSO) (a), ^{13}C -NMR (DMSO) (b), COSY (c), HSQC (d) ve HMBC (e) spektrumları

4.4.6.2. Ursolik Asidin Enzim İnhibisyon Kinetikleri

Ursolik asit molekülünün üreaz inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için ursolik asit molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.107. ve Tablo 4.118.). Üreaz inhibisyon mekanizmasında ursolik asit molekülünün etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.20 mM olarak hesaplandı.

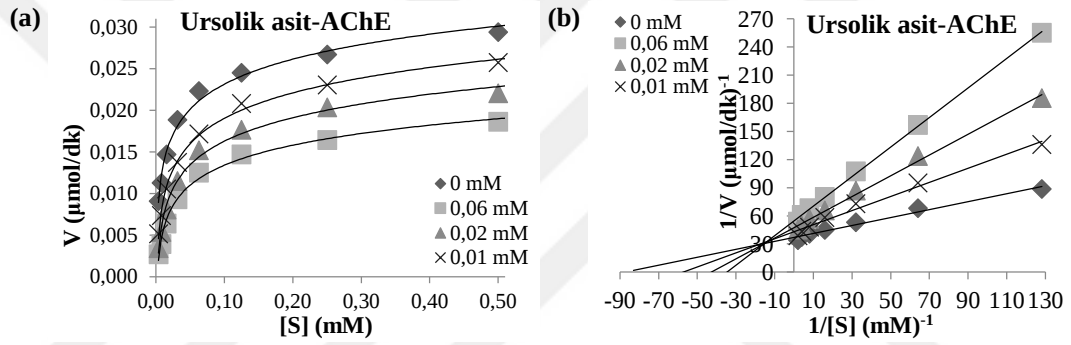


Şekil 4.107. Ursolik asit molekülünün varlığında üreaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

Tablo 4.118. Ursolik ait molekülünün varlığında üreaz inhibisyon türü ve K_i değeri

Ursolik asit, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.0042	0.943	Yarışmasız	0.20
0.04	0.0036	0.946		
0.05	0.0030	0.943		
0.06	0.0026	0.937		

Ursolik asit molekülünün AChE inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için ursolik asit molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.108. ve Tablo 4.119.). AChE inhibisyon mekanizmasında ursolik asit molekülünün etkisi karışık inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.13 mM olarak hesaplandı.



Şekil 4.108. Ursolik asit molekülünün varlığında AChE inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

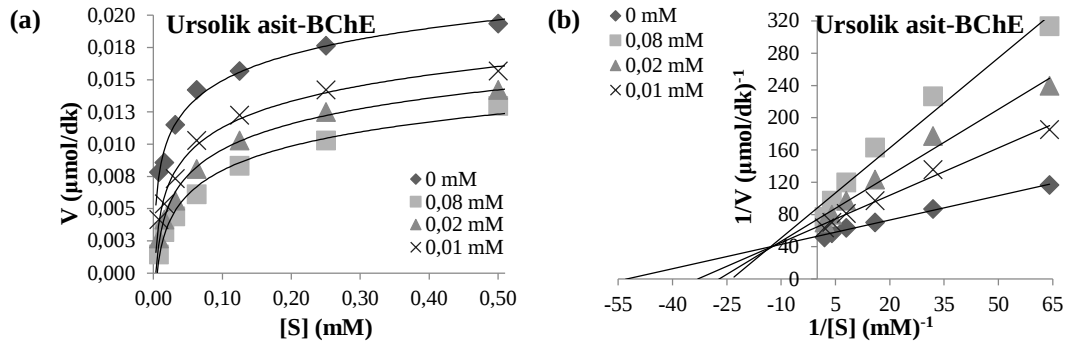
Tablo 4.119. Ursolik ait molekülünün varlığında AChE inhibisyon türü ve K_i değeri

Ursolik asit, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.0270	0.0114	Karışık-Yarı yarışmalı	0.13
0.01	0.0233	0.0175		
0.02	0.0211	0.0233		
0.06	0.0184	0.0289		

Loesche vd (2019), ursolik asidin AChE inhibisyon türünü karışık inhibisyon ve K_i değerini de $8.54 \pm 1.33 \mu\text{M}$ olarak belirlemiştir. Chung vd (2001) yaptıkları çalışmada, *Origanum majorana* L. etanol ekstraktının kloroform fraksiyonundan izole edilen ursolik asidin AChE inhibisyon türünü karışık inhibisyon ve K_i değerini de 6.00 pM olarak belirlemiştir.

Ursolik asit molekülünün BChE inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için ursolik asit molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.109. ve Tablo 4.120.). BChE inhibisyon mekanizmasında ursolik asit molekülünün

etkisi karışık inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.07 mM olarak hesaplandı.



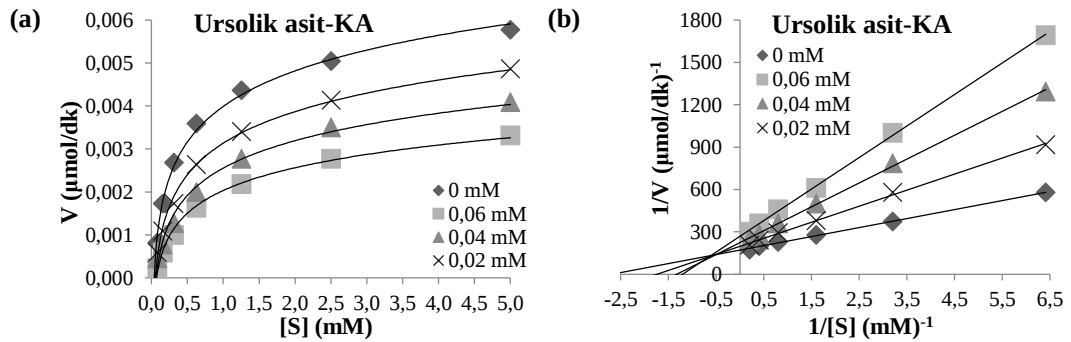
Şekil 4.109. Ursolik asit molekülünün varlığında BChE inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

Tablo 4.120. Ursolik asit molekülünün varlığında BChE inhibisyon türü ve K_i değeri

Ursolik asit, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.0188	0.0190	Karışık-Yarı	0.07
0.01	0.0155	0.0303	yarışmalı	
0.02	0.0135	0.0369		
0.08	0.0114	0.0423		

Loesche vd (2019), ursolik asidin BChE inhibisyon türünü araştırmış ama belirleyememiştir.

Ursolik asit molekülünün KA inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için ursolik asit molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.110 ve Tablo 4.121). KA inhibisyon mekanizmasında ursolik asit molekülünün etkisi karışık inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.07 mM olarak hesaplandı.

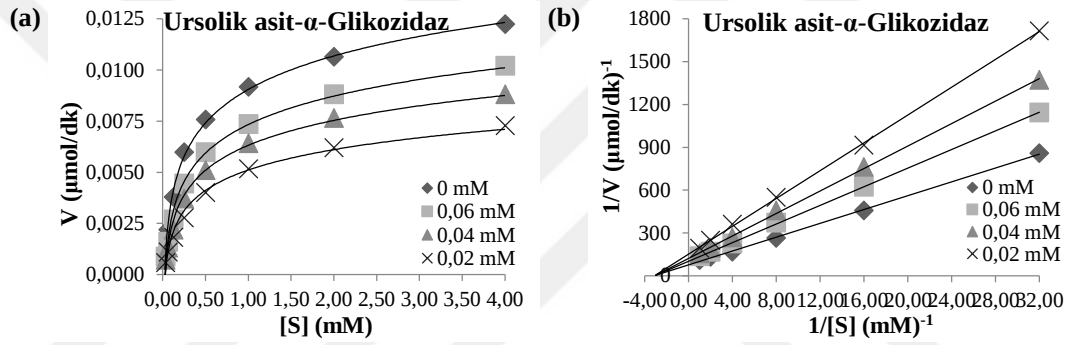


Şekil 4.110. Ursolik asit molekülünün varlığında KA inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

Tablo 4.121. Ursolik ait molekülünün varlığında KA inhibisyon türü ve K_i değeri

Ursolik asit, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.0058	0.372	Karışık-Yarı	0.12
0.02	0.0051	0.578	yarışmalı	
0.04	0.0045	0.756		
0.06	0.0037	0.832		

Ursolik asit molekülünün α -glikozidaz inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için ursolik asit molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.111. ve Tablo 4.122.). α -Glikozidaz inhibisyon mekanizmasında ursolik asit molekülünün etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.13 mM olarak hesaplandı.



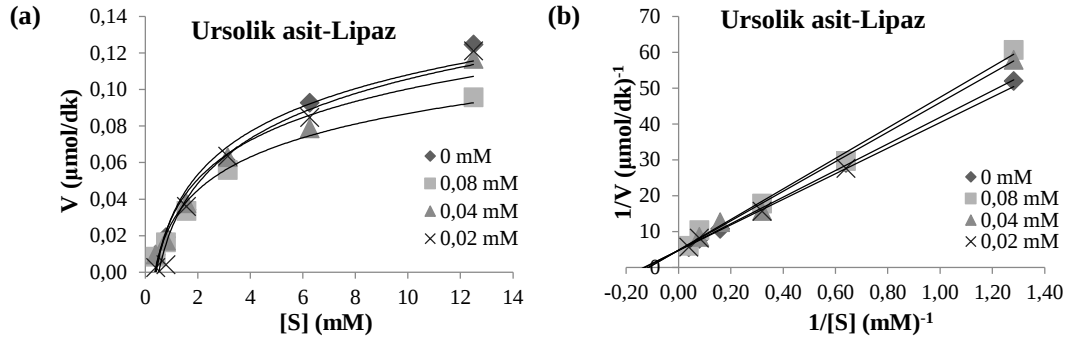
Şekil 4.111. Ursolik asit molekülünün varlığında α -glikozidaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

Tablo 4.122. Ursolik ait molekülünün varlığında α -glikozidaz inhibisyon türü ve K_i değeri

Ursolik asit, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.0130	0.316	Yarışmasız	0.13
0.02	0.0065	0.318		
0.04	0.0081	0.320		
0.06	0.0098	0.318		

Wang vd (2020), ursolik asidin α -glikozidaza karşı inhibisyon türü yarışmasız olarak göstermiştir. Ding vd (2017) yaptıkları çalışmada, ursolik asidin α -glikozidaza karşı inhibisyon türü yarışmasız ve K_i değerini 21.50 μ M olarak belirlemiştir.

Ursolik asit molekülünün lipaz inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için ursolik asit molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.112 ve Tablo 4.123). Lipaz inhibisyon mekanizmasında ursolik asit molekülünün etkisi yarışmalı inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.08 mM olarak hesaplandı.

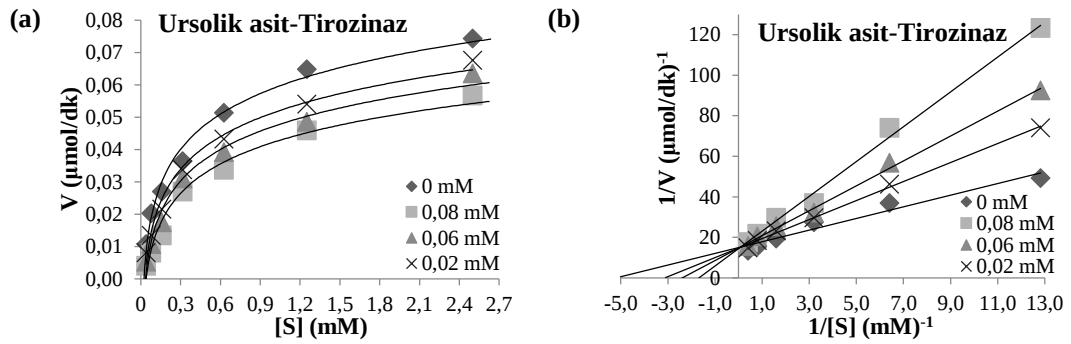


Şekil 4.112. Ursolik asit molekülünün varlığında lipaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

Tablo 4.123. Ursolik asit molekülünün varlığında lipaz inhibisyon türü ve K_i değeri

Ursolik asit, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.209	7.749	Yarışmalı	0.08
0.02	0.211	7.523		
0.04	0.209	8.609		
0.08	0.208	8.850		

Ursolik asit molekülünün tirozinaz inhibisyon etki mekanizmasının belirlenmesi için Ursolik asit molekülünün içerdiği veya içermediği reaksiyon ortamında Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.113 ve Tablo 4.124). Tirozinaz inhibisyon mekanizmasında ursolik asit molekülünün etkisi yarışmalı inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri 0.04 mM olarak hesaplandı.



Şekil 4.113. Ursolik asit molekülünün varlığında tirozinaz inhibisyon türünün belirlenmesinde Michaelis-Menten (a) ve Lineweaver-Burk (b) grafikleri

Tablo 4.124. Ursolik asit molekülünün varlığında tirozinaz inhibisyon türü ve K_i değeri

Ursolik asit, mM	V_{maks}	K_m	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0.00	0.067	0.193	Yarışmalı	0.04
0.02	0.068	0.321		
0.06	0.068	0.417		
0.08	0.069	0.595		

4.4.6.3. Ursolik Asidin Moleküler Doking Çalışmaları

Şekil 4.114 ve Tablo 4.125’ de görüldüğü gibi üreaz enziminin aktif bölgesi ile etkileşen ursolik asidin ARG439 ile bir adet konvensiyonel hidrojen bağı, GLY638 ile bir adet karbon hidrojen bağı, ARG439, ALA636 ve MET588 ile üç adet alkil etkileşimi ve HIS593, HIS594 ile üç adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

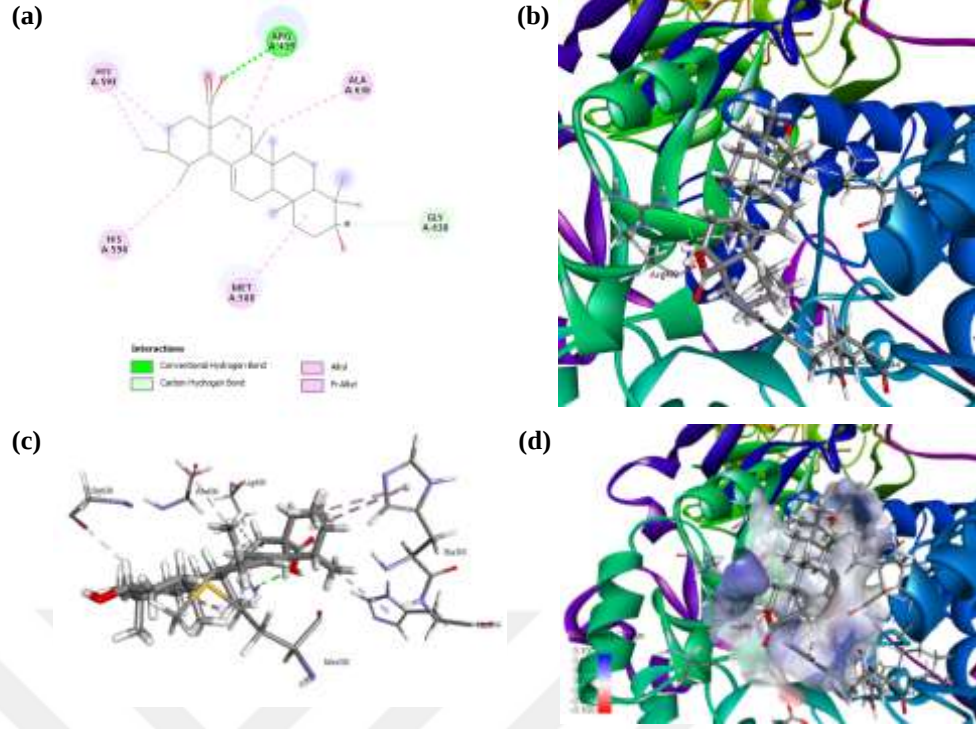
Şekil 4.115 ve Tablo 4.126’de görüldüğü gibi AChE enziminin aktif bölgesi ile etkileşen ursolik asidin SER293 ile bir adet konvensiyonel hidrojen bağı, HIS287 ile bir adet karbon hidrojen bağı ve TRP286 ile iki adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

Tablo 4.125. Ursolik asit molekülünün üreaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

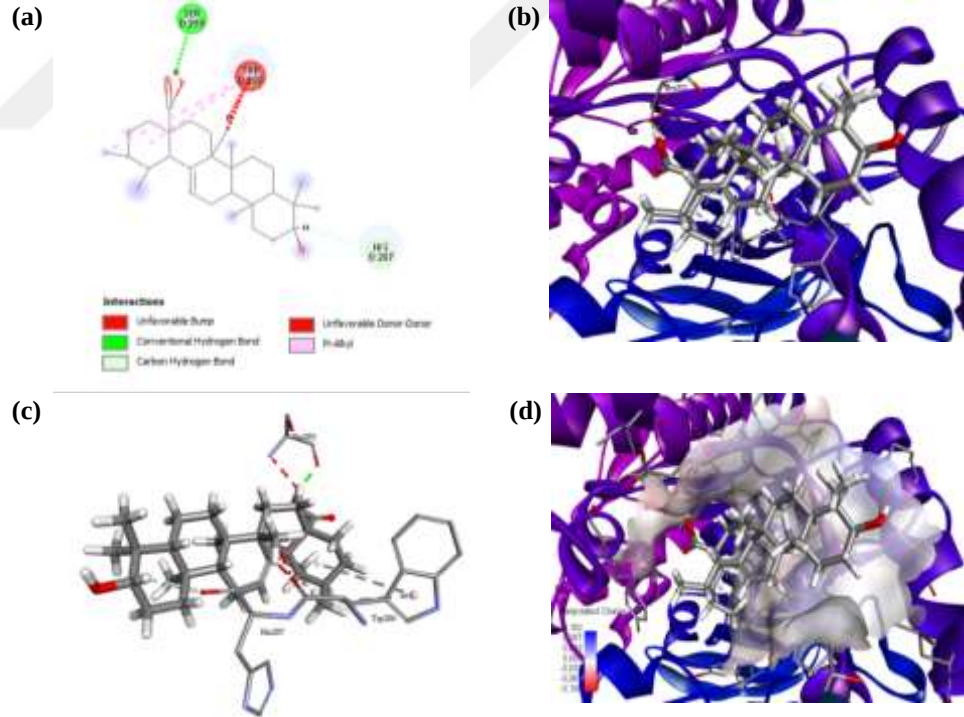
No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	A:ARG439:HH11 - :[001:O3	2.32	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:ARG439:HH11	H-Verici	: [001:O3	H-Alıcı
2	: [001:H3 - A:GLY638:O	2.66	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	: [001:H3	H-Verici	A:GLY638:O	H-Alıcı
3	A:ARG439 - : [001	5.38	Hidrofobik Alkil	Alkil	A:ARG439	Alkil	: [001	Alkil
4	A:MET588 - : [001	4.73	Hidrofobik Alkil	Alkil	A:MET588	Alkil	: [001	Alkil
5	A:ALA636 - : [001:C14	3.56	Hidrofobik Alkil	Alkil	A:ALA636	Alkil	: [001:C14	Alkil
6	A:HIS593 - : [001	5.50	Hidrofobik Pi-Alkil	Pi-Alkil	A:HIS593	Pi-Orbital	: [001	Alkil
7	A:HIS593 - : [001:C21	4.42	Hidrofobik Pi-Alkil	Pi-Alkil	A:HIS593	Pi-Orbital	: [001:C21	Alkil
8	A:HIS594 - : [001:C23	4.68	Hidrofobik Pi-Alkil	Pi-Alkil	A:HIS594	Pi-Orbital	: [001:C23	Alkil

Tablo 4.126. Ursolik asit molekülünün AChE ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	: [011:H48 - D:SER293:O	1.74	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [011:H48	H-Verici	D:SER293:O	H-Alıcı
2	: [011:H3 - D:HIS287:O	2.39	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	: [011:H3	H-Verici	D:HIS287:O	H-Alıcı
3	D:TRP286 - : [011	5.50	Hidrofobik Pi-Alkil	Pi-Alkil	D:TRP286	Pi-Orbital	: [011	Alkil
4	D:TRP286 - : [011:C21	4.55	Hidrofobik Pi-Alkil	Pi-Alkil	D:TRP286	Pi-Orbital	: [011:C21	Alkil



Şekil 4.114. Ursolik asit molekülünün üreaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri



Şekil 4.115. Ursolik asit molekülünün AChE ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri

Şekil 4.116 ve Tablo 4.127’de görüldüğü gibi BChE enziminin aktif bölgesi ile etkileşen ursolik asidin HIS438 ile bir adet konvensiyonel hidrojen bağı, HIS438 ile bir adet karbon hidrojen bağı, PHE329 ile bir adet pi-sigma etkileşimi, ALA328 ve

MET437 ile üç adet alkil etkileşimi, TRP82, TYR332, TRP430 ve TRP440 ile dokuz adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

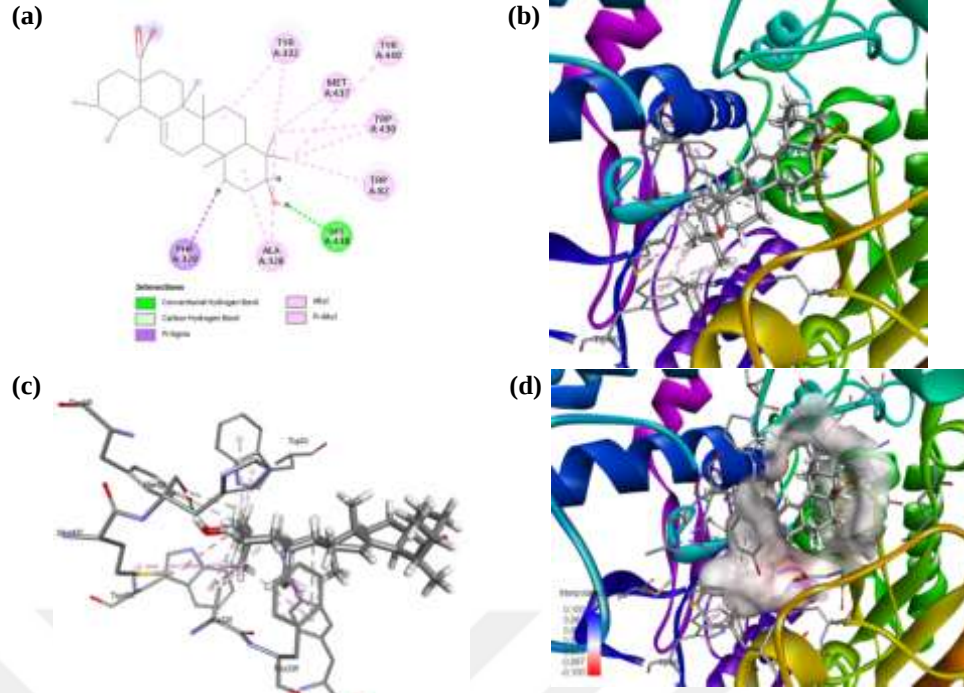
Şekil 4.117 ve Tablo 4.128’de görüldüğü gibi KA enziminin aktif bölgesi ile etkileşen ursolik asidin THR199 kalıntısı ile bir adet konvensiyonel hidrojen bağı, ILE91, VAL121, LEU198, VAL207, LEU141 ve VAL143 kalıntıları ile on üç adet alkil etkileşimi ve HIS94, HIS119, PHE 131 ve TRP209 kalıntıları ile sekiz adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

Tablo 4.127. Ursolik asit molekülünün BChE ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

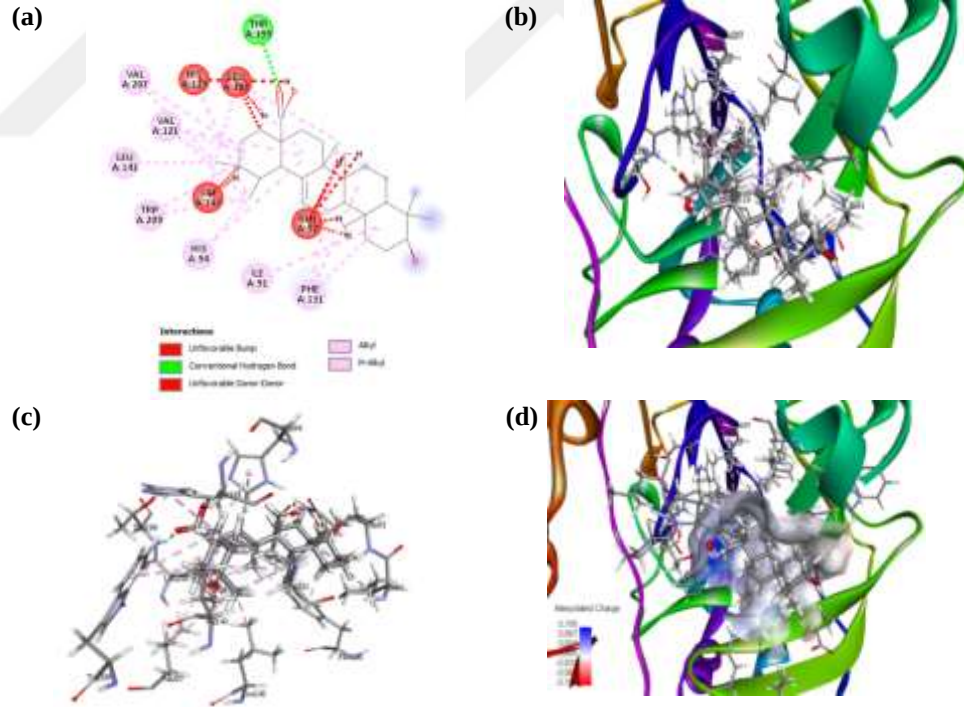
No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	: [001:H4 - A:HIS438:O	1.88	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H4	H-Verici	A:HIS438:O	H-Alıcı
2	: [001:H3 - A:HIS438:O	2.99	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	: [001:H3	H-Verici	A:HIS438:O	H-Alıcı
3	: [001:H7 - A:PHE329	2.84	Hidrofobik	Pi-Sigma	: [001:H7	C-H	A:PHE329	Pi-Orbital
4	A:ALA328 - : [001	3.49	Hidrofobik	Alkil	A:ALA328	Alkil	: [001	Alkil
5	A:ALA328 - : [001:C7	3.32	Hidrofobik	Alkil	A:ALA328	Alkil	: [001:C7	Alkil
6	: [001:C7 - A:MET437	5.29	Hidrofobik	Alkil	: [001:C7	Alkil	A:MET437	Alkil
7	A:TRP82 - : [001:C6	3.49	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:TRP82	Pi-Orbital	: [001:C6	Alkil
8	A:TRP82 - : [001:C6	5.00	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:TRP82	Pi-Orbital	: [001:C6	Alkil
9	A:TYR332 - : [001:C7	5.46	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:TYR332	Pi-Orbital	: [001:C7	Alkil
10	A:TYR332 - : [001	4.95	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:TYR332	Pi-Orbital	: [001	Alkil
11	A:TRP430 - : [001:C6	4.87	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:TRP430	Pi-Orbital	: [001:C6	Alkil
12	A:TRP430 - : [001:C7	4.52	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:TRP430	Pi-Orbital	: [001:C7	Alkil
13	A:TRP430 - : [001:C6	5.00	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:TRP430	Pi-Orbital	: [001:C6	Alkil
14	A:TRP430 - : [001:C7	4.01	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:TRP430	Pi-Orbital	: [001:C7	Alkil
15	A:TYR440 - : [001:C6	5.41	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:TYR440	Pi-Orbital	: [001:C6	Alkil

Tablo 4.128. Ursolik asit molekülünün KA ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	A:THR199:HN - : [001:O2	1.86	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:THR199: HN	H-Verici	: [001:O2	H-Alıcı
2	A:ILE91 - : [001	5.07	Hidrofobik	Alkil	A:ILE91	Alkil	: [001	Alkil
3	A:VAL121 - : [001	5.05	Hidrofobik	Alkil	A:VAL121	Alkil	: [001	Alkil
4	A:VAL121 - : [001	4.42	Hidrofobik	Alkil	A:VAL121	Alkil	: [001	Alkil
5	A:LEU198 - : [001	4.28	Hidrofobik	Alkil	A:LEU198	Alkil	: [001	Alkil
6	A:VAL207 - : [001	4.95	Hidrofobik	Alkil	A:VAL207	Alkil	: [001	Alkil
7	: [001:C14 - A:LEU198	3.60	Hidrofobik	Alkil	: [001:C14	Alkil	A:LEU198	Alkil
8	: [001:C21 - A:VAL121	3.31	Hidrofobik	Alkil	: [001:C21	Alkil	A:VAL121	Alkil
9	: [001:C21 - A:LEU141	3.96	Hidrofobik	Alkil	: [001:C21	Alkil	A:LEU141	Alkil
10	: [001:C21 - A:VAL143	3.48	Hidrofobik	Alkil	: [001:C21	Alkil	A:VAL143	Alkil
11	: [001:C21 - A:LEU198	5.24	Hidrofobik	Alkil	: [001:C21	Alkil	A:LEU198	Alkil
12	: [001:C21 - A:VAL207	4.66	Hidrofobik	Alkil	: [001:C21	Alkil	A:VAL207	Alkil
13	: [001:C23 - A:VAL121	4.30	Hidrofobik	Alkil	: [001:C23	Alkil	A:VAL121	Alkil
14	: [001:C23 - A:VAL143	3.68	Hidrofobik	Alkil	: [001:C23	Alkil	A:VAL143	Alkil
15	A:HIS94 - : [001	5.32	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:HIS94	Pi-Orbital	: [001	Alkil
16	A:HIS94 - : [001:C23	3.97	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:HIS94	Pi-Orbital	: [001:C23	Alkil
17	A:HIS119 - : [001:C23	3.88	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:HIS119	Pi-Orbital	: [001:C23	Alkil
18	A:PHE131 - : [001	4.12	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:PHE131	Pi-Orbital	: [001	Alkil
19	A:PHE131 - : [001	5.28	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:PHE131	Pi-Orbital	: [001	Alkil
20	A:PHE131 - : [001:C14	4.85	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:PHE131	Pi-Orbital	: [001:C14	Alkil
21	A:TRP209 - : [001	5.24	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:TRP209	Pi-Orbital	: [001	Alkil
22	A:TRP209 - : [001:C23	5.19	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:TRP209	Pi-Orbital	: [001:C23	Alkil



Şekil 4.116. Ursolik asit molekülünün BChE ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri



Şekil 4.117. Ursolik asit molekülünün KA ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri

Şekil 4.118 ve Tablo 4.129'de görüldüğü gibi α -amilaz enziminin aktif bölgesi ile etkileşen ursolik asidin LEU211 ile bir adet konvensiyonel hidrojen bağı, ALA3, LEU211, ARG227, PRO228 ve ILE230 ile on iki adet ve TYR2 ile iki adet pi-alkil

etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

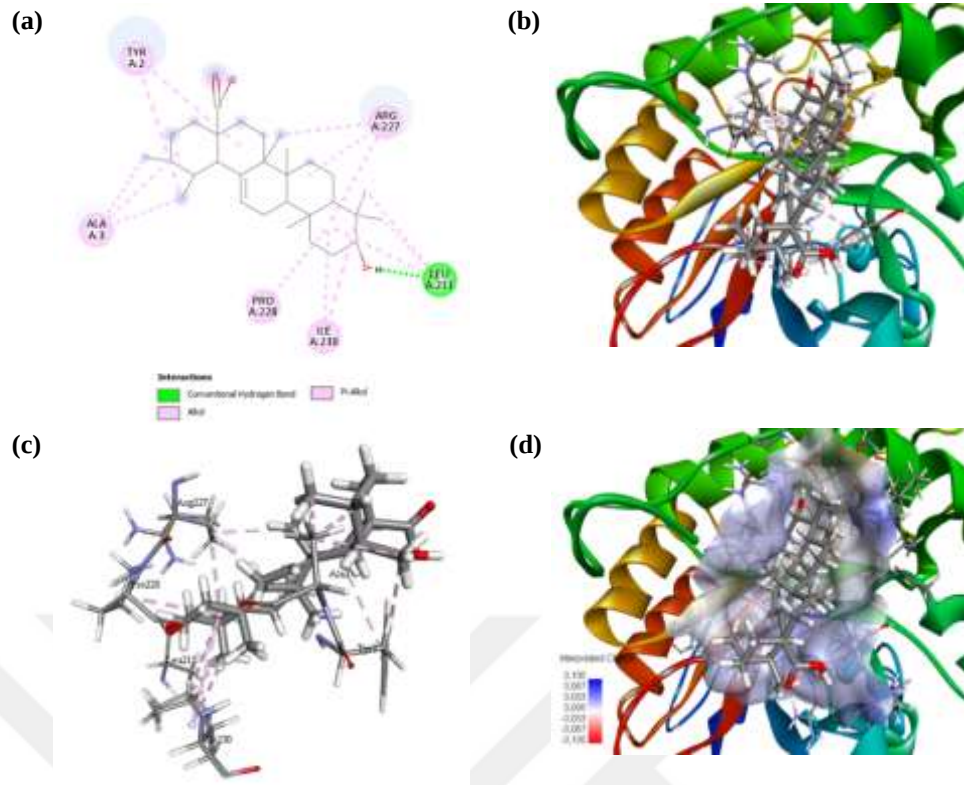
Şekil 4.119 ve Tablo 4.130’de görüldüğü gibi α -glikozidaz enziminin aktif bölgesi ile etkileşen ursolik asidin ASN32 ve ASP34 ile üç adet konvensiyonel hidrojen bağı ve TRP36 üç adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

Tablo 4.129. Ursolik asit molekülünün α -amilaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

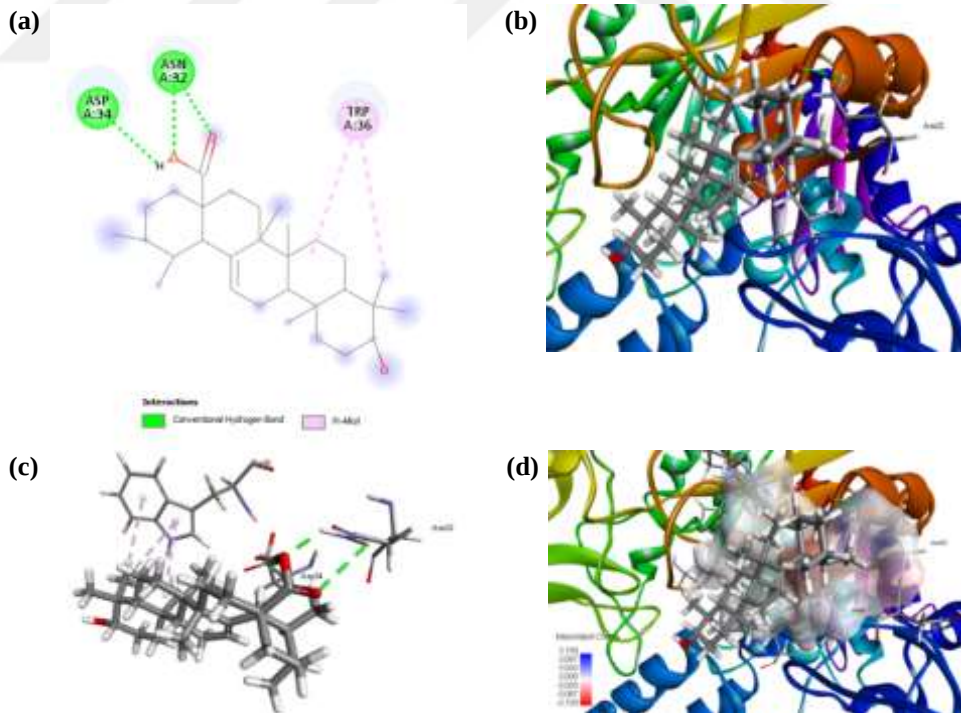
No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	:{001:H4 - A:LEU211:O	1.86	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:{001:H4	H-Verici	A:LEU211:O	H-Alıcı
2	A:ALA3 - :{001	4.31	Hidrofobik	Alkil	A:ALA3	Alkil	:{001	Alkil
3	A:ALA3 - :{001:C21	3.08	Hidrofobik	Alkil	A:ALA3	Alkil	:{001:C21	Alkil
4	A:ALA3 - :{001:C23	4.26	Hidrofobik	Alkil	A:ALA3	Alkil	:{001:C23	Alkil
5	A:LEU211 - :{001	5.30	Hidrofobik	Alkil	A:LEU211	Alkil	:{001	Alkil
6	A:ARG227 - :{001	3.81	Hidrofobik	Alkil	A:ARG227	Alkil	:{001	Alkil
7	A:ARG227 - :{001	4.28	Hidrofobik	Alkil	A:ARG227	Alkil	:{001	Alkil
8	A:PRO228 - :{001	4.65	Hidrofobik	Alkil	A:PRO228	Alkil	:{001	Alkil
9	A:ILE230 - :{001	5.04	Hidrofobik	Alkil	A:ILE230	Alkil	:{001	Alkil
10	:{001:C6 - A:LEU211	4.51	Hidrofobik	Alkil	:{001:C6	Alkil	A:LEU211	Alkil
11	:{001:C7 - A:LEU211	3.09	Hidrofobik	Alkil	:{001:C7	Alkil	A:LEU211	Alkil
12	:{001:C7 - A:ILE230	4.52	Hidrofobik	Alkil	:{001:C7	Alkil	A:ILE230	Alkil
13	:{001:C14 - A:ARG227	3.61	Hidrofobik	Alkil	:{001:C14	Alkil	A:ARG227	Alkil
14	A:TYR2 - :{001	5.04	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:TYR2	Pi-Orbital	:{001	Alkil
15	A:TYR2 - :{001:C23	5.05	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:TYR2	Pi-Orbital	:{001:C23	Alkil

Tablo 4.130. Ursolik asit molekülünün α -glikozidaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	A:ASN32:HD21 - :{001:O3	1.80	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:ASN32:HD21	H-Verici	:{001:O3	H-Alıcı
2	A:ASN32:HD22 - :{001:O2	2.82	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	A:ASN32:HD22	H-Verici	:{001:O2	H-Alıcı
3	:{001:H48 - A:ASP34:OD2	1.86	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	:{001:H48	H-Verici	A:ASP34:OD2	H-Alıcı
4	A:TRP36 - :{001:C7	4.46	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:TRP36	Pi-Orbital	:{001:C7	Alkil
5	A:TRP36 - :{001	4.79	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:TRP36	Pi-Orbital	:{001	Alkil
6	A:TRP36 - :{001:C7	4.72	Hidrofobik	Pi-Alkil	A:TRP36	Pi-Orbital	:{001:C7	Alkil



Şekil 4.118. Ursolik asit molekülünün α -amilaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri



Şekil 4.119. Ursolik asit molekülünün α -glukozidaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri

Şekil 4.120 ve Tablo 4.131’de görüldüğü gibi lipaz enziminin aktif bölgesi ile etkileşen ursolik asidin SER366 ve GLU82 ile iki adet konvensiyonel hidrojen bağı ve SER366 ile bir adet karbon hidrojen bağı yaptığı gözlenmiştir.

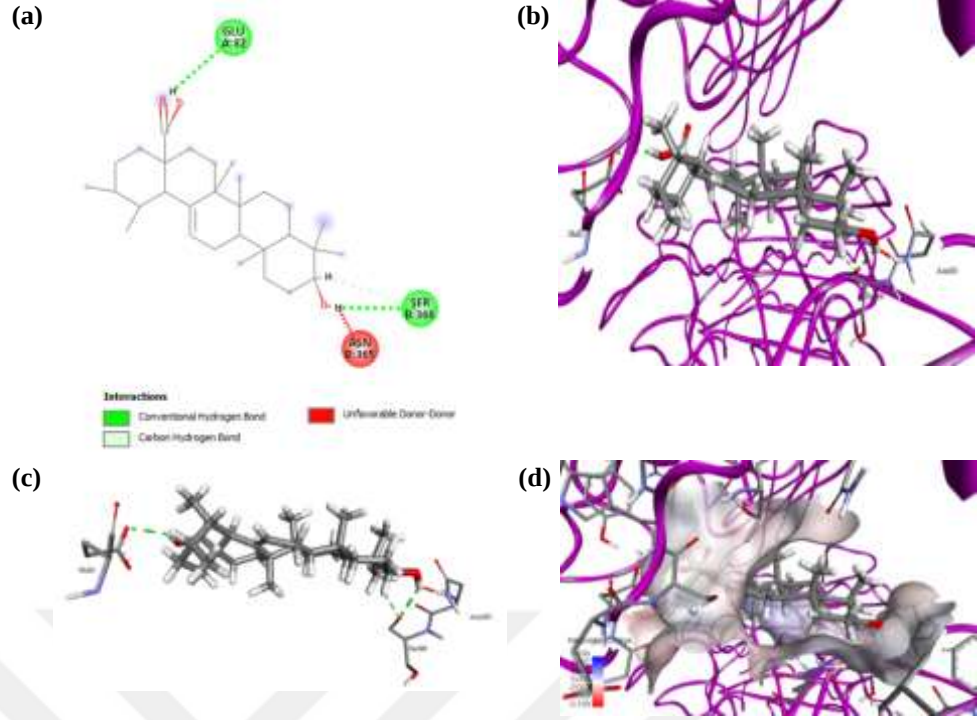
Şekil 4.121 ve Tablo 4.132’de görüldüğü gibi tirozinaz enziminin aktif bölgesi ile etkileşen ursolik asidin ALA228, PHE226 ve HIS243 ile üç adet konvensiyonel hidrojen bağı, HIS243 ile bir adet karbon hidrojen bağı, ALA228 ve ALA232 ile beş adet alkil etkileşimi ve HIS243, PHE239 ile beş adet pi-alkil etkileşimi yaptığı gözlenmiştir.

Tablo 4.131. Ursolik asit molekülünün lipaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

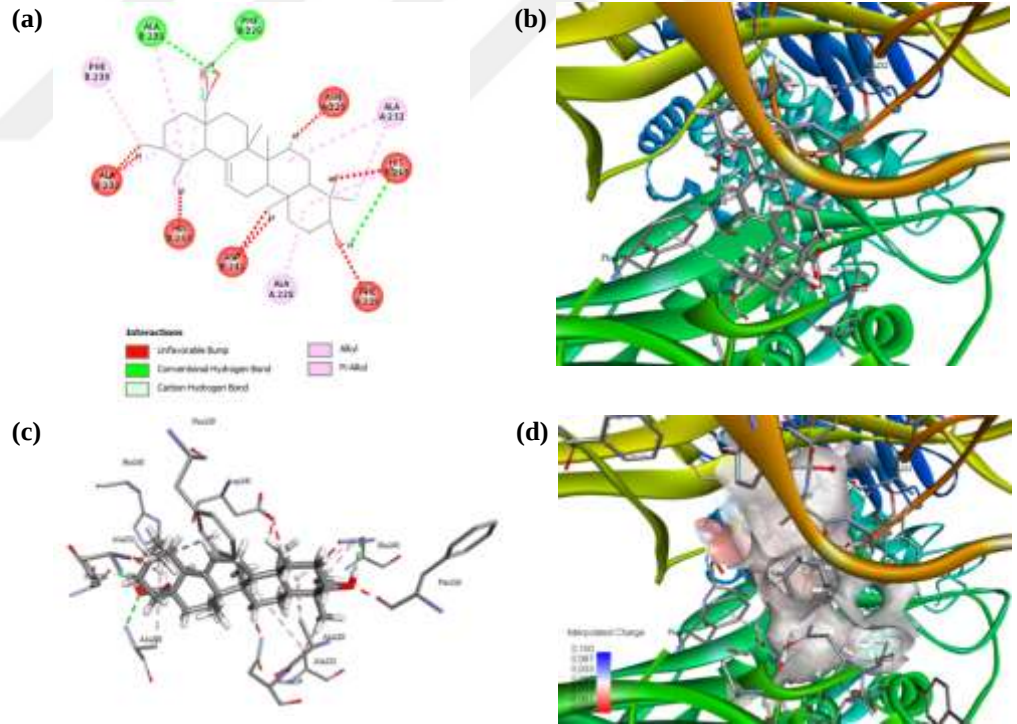
No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	: [001:H4 - B:SER366:O	2.31	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H4	H-Verici	B:SER366:O	H-Alıcı
2	: [001:H48 - A:GLU82:OE1	2.29	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H48	H-Verici	A:GLU82:OE1	H-Alıcı
3	: [001:H3 - B:SER366:O	2.52	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	: [001:H3	H-Verici	B:SER366:O	H-Alıcı

Tablo 4.132. Ursolik asit molekülünün tirozinaz ile moleküler doking etkileşim kategorileri, türleri ve mesafesi

No	İsim	Mesafe	Kategori	Tür	Verici	Verici Grup Tipi	Alıcı	Alıcı Grup Tipi
1	B:ALA228:N - : [001:O3	3.10	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	B:ALA228:N	H-Verici	: [001:O3	H-Alıcı
2	: [001:H4 - A:HIS243:NE2	2.29	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H4	H-Verici	A:HIS243 :NE2	H-Alıcı
3	: [001:H48 - B:PHE226:O	1.67	Hidrojen Bağı	Konvensiyonel Hidrojen Bağı	: [001:H48	H-Verici	B:PHE226:O	H-Alıcı
4	B:HIS243:CE1 - : [001:O2	3.30	Hidrojen Bağı	Karbon Hidrojen Bağı	B:HIS243:CE1	H-Verici	: [001:O2	H-Alıcı
5	A:ALA228 - : [001	4.01	Hidrofobik Alkil		A:ALA228	Alkil	: [001	Alkil
6	A:ALA232 - : [001:C6	3.26	Hidrofobik Alkil		A:ALA232	Alkil	: [001:C6	Alkil
7	A:ALA232 - : [001	5.19	Hidrofobik Alkil		A:ALA232	Alkil	: [001	Alkil
8	B:ALA228 - : [001	4.86	Hidrofobik Alkil		B:ALA228	Alkil	: [001	Alkil
9	B:ALA232 - : [001	3.81	Hidrofobik Alkil		B:ALA232	Alkil	: [001	Alkil
10	A:HIS243 - : [001	4.87	Hidrofobik Pi-Alkil		A:HIS243	Pi-Orbital	: [001	Alkil
11	A:HIS243 - : [001:C7	3.05	Hidrofobik Pi-Alkil		A:HIS243	Pi-Orbital	: [001:C7	Alkil
12	B:PHE239 - : [001:C21	4.92	Hidrofobik Pi-Alkil		B:PHE239	Pi-Orbital	: [001:C21	Alkil
13	B:HIS243 - : [001	5.34	Hidrofobik Pi-Alkil		B:HIS243	Pi-Orbital	: [001	Alkil
14	B:HIS243 - : [001:C23	3.04	Hidrofobik Pi-Alkil		B:HIS243	Pi-Orbital	: [001:C23	Alkil



Şekil 4.120. Ursolik asit molekülünün lipaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri



Şekil 4.121. Ursolik asit molekülünün tirozinaz ile moleküler doking 2D (a), 3D (b), genel (c) ve enterpolasyonlu yük (d) görüntüleri

Tablo 4.133’de gösterildiği gibi ursolik asidin; üreaz, AChE, BChE, KA, α -amilaz, α -glukozidaz, lipaz ve tirozinaz ile etkileşimlerinin MolDock skorları sırasıyla -80.64, -79.90, -103.45, -47.72, -82.39, -57.26, -76.89 ve -95.27 olarak bildirilmiştir. En yüksek MolDock skoru BChE gözlenmiştir. Ayrıca, bağlanma enerjileri sırasıyla -8.80, -9.00, -10.90, -7.70, -9.10, -8.60, -8.50 ve -9.40 kcal/mol olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda BChE en yüksek bağlanma enerjisine sahiptir. Elde edilen bağlanma enerjileri $\Delta G = R.T.\ln K_i$ denkleminde yerine koyularak bağlanma sabitleri üreaz için 0.45 μ M, AChE için 0.25 μ M, BChE için 0.01 μ M, KA için 2.24 μ M, α -amilaz için 0.38 μ M, α -glukozidaz için 0.86 μ M, lipaz için 1.01 μ M ve tirozinaz için 0.23 μ M olarak hesaplanmıştır. Bağlanma enerjisi yüksek olan molekülün bağlanma sabitinin düşük olması beklenir. Bu bağlamda bağlanma enerjileri yüksek olan BChE bağlanma sabitlerinin düşük olduğu gözlenmiştir.

Tablo 4.133. Ursolik asidin enzimlerle etkileşiminin bağlanma enerjileri ve K_i değerleri

Ursolik asit	MolDock Skoru	Bağlanma enerjisi (kcal/mol)	Bağlanma sabiti (K_i (μ M))
Üreaz	-80.64	-8.80	0.45
AChE	-79.90	-9.00	0.25
BChE	-103.45	-10.90	0.01
KA	-47.72	-7.70	2.24
α -Amilaz	-82.39	-9.10	0.38
α -Glukozidaz	-57.26	-8.60	0.86
Lipaz	-76.89	-8.50	1.01
Tirozinaz	-95.27	-9.40	0.23

Bahadori vd (2016) yaptıkları çalışmada, *S. syriaca* L. aseton ekstraktının *n*-hekzan-etil asetat gradiyent sistemine göre elde edilen Fr7’den saflaştırılan ursolik asidin AChE etkileşiminin bağlanma enerjisini +18.98 kcal/mol olarak belirlemiştir. Tez çalışmasında, ursolik asidin bağlanma enerjisi daha yüksek olarak belirlendi.

Sun vd (2017), ursolik asit ile α -amilaz moleküler etkileşiminin bağlanma enerjisini -11.96 ± 2.04 kcal/mol olarak tahmin etmiştir. Wang vd (2020), ursolik asidin α -amilaz moleküler etkileşimini araştırmış ve bağlanma enerjisini -15.04 kcal/mol olarak belirlemiştir. Tez çalışmasında, ursolik asit molekülünün bağlanma enerjisi, Sun vd (2017) ve Wang vd (2020)’nin hesapladığı bağlanma enerjilerinden daha düşük olduğu gözlenmiştir.

Ding vd (2018), ursolik asidin α -glukozidaz enziminin moleküler etkileşimini incelemiştir. Wang vd (2020), ursolik asidin α -glukozidaz enziminin moleküler etkileşimini araştırmış ve bağlanma enerjisini -43.94 kcal/mol olarak belirlemiştir. Wu

vd (2017a) yaptıkları araştırmada, ursolik asidin α -glikozidaz enziminin moleküler etkileşimini araştırmış ve bağlanma enerjisini -3.01 kcal/mol olarak hesaplamıştır. Tez çalışmasında, ursolik asidin molekülünün bağlanma enerjisi, Wang vd (2020)'nin hesapladığı bağlanma enerjisinden daha düşük ve Wu vd (2017a)'nin hesapladığı bağlanma enerjisinden ise daha yüksek olduğu gözlenmiştir.



5. SONUÇ

Teknolojik alandaki gelişmelerin artmasıyla geleneksel tedavi alanında kullanılan ve tedavi edici özelliğe sahip olan bitki türlerini kapsayan çalışmalar önem kazanmıştır. Bu nedenle geleneksel tedavi, son yıllarda tekrar araştırmacıların ilgisini çekmiş olup tamamlayıcı tıp adı altında değerlendirilmektedir. Bu alanda da özellikle tıbbi ve aromatik bitkiler kullanılmaktadır. Ülkemizde yaklaşık olarak 12.000 bitki taksonunun bulunması ve bu taksonların da yaklaşık üçte birinin endemik olması sebebiyle fitoterapi çalışmaları ülkemizde de hız kazanmıştır.

Son zamanlarda en büyük sağlık problemleri arasında yer alan, kalp-damar rahatsızlıkları, kanser, diyabet, yetersiz beslenme, stres, yaşlanma vb. durumlarla mücadele hem bilimsel hem de ekonomik yönden birçok çalışmaya konu olmasına rağmen, bu sorunlara kesin ve kalıcı bir çözüm bulunamadığı gibi, olumsuz etkileri de her geçen gün artmaktadır. Bu nedenle yukarıda sıralanan problemlerin sebepleri arasında yer alan serbest radikaller, enfeksiyona neden olabilen mikroorganizmalar ve kanser türleriyle başa çıkabilmek için sürekli olarak bilimsel araştırmalar yapılmakta ve ülkeler tarafından bu araştırmalar ekonomik olarak desteklenmektedir. Günümüzde bu problemlerle mücadele edebilmek için sentetik ilaç ve yöntemlerin yanında bitkisel kökenli sekonder metabolitlerden elde edilen ilaçlar ve farklı ürünler alternatif çözüm olarak önerilmekte ve kullanılmaktadırlar. Bitkisel kökenli ürünler, sentetik ürünlere göre düşük maliyete, daha kolay erişilebilirliğe ve en önemlisi çok daha az istenmeyen yan etkilere sahiptirler.

Bütün bu bilgiler göz önüne alındığında, Bingöl ilinde yetişen endemik *N. baytopii* bitkisinin toprak üstü kısmı kullanıldı ve maserasyon yöntemi ile metanol:kloroform (1:1) ekstraktı elde edildi. Bu ekstraktın toplam fenol miktarı 20.24 ± 0.15 mg GAE/g ekstrakt ve toplam flavonoid miktarı ise 12.86 ± 0.05 mg KE/g ekstrakt olarak belirlendi. Ayrıca, yüksek miktarda rosmarinik asit ($794.02 \mu\text{g/g}$ ekstrakt), cis-11-eikosoanoat (%34.36) ve palmitat (%18.29) içermektedir. İndirgeme gücü kapasitesi $63.52 \pm 0.63 \mu\text{g/mL}$, H_2O_2 giderme aktivitesi $61.62 \pm 0.31 \mu\text{g/mL}$, süperoksit anyon giderme aktivitesi $26.22 \pm 0.69 \mu\text{g/mL}$ ve üreaz inhibisyonu $4.95 \pm 0.00 \mu\text{g/mL}$ olarak hesaplandı ve kullanılan standartlardan daha yüksek aktivite gösterdiği kaydedildi. Ayrıca, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. faecalis*, *B. cereus* ve *S. aureus* bakterilerine karşı MİK değerleri sırasıyla 128, 256, 128, 128, 1024 ve 512 $\mu\text{g/mL}$ olarak yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdi.

Ham ekstrakt silika jel kolon kromatografisi kullanılarak *n*-hekzan, kloroform, etil asetat ve metanol çözücülerini ile fraksiyonlandırıldı. Dört ekstrakt arasında etil asetat ekstraktının toplam fenol miktarı (17.56 ± 0.61 mg GAE/g ekstrakt) yüksek bulunurken kloroform ekstraktının toplam flavonoid miktarı (11.74 ± 0.13 mg KE/g ekstrakt) yüksek bulundu.

n-Hekzan ekstraktının yüksek miktarda 9,12,15-oktadekatrienoik asit, metil esteri (%33.28), oktadekanoik asit, metil esteri (%31.75) ve hegzadekanoik asit, metil esteri (%15.54) belirlendi. Ekstraktın yüksek DPPH[•] giderme (2.18 ± 0.90 µg/mL) ve süperoksit anyonu giderme (16.65 ± 0.04 µg/mL), deoksiriboz koruma (34.82 ± 0.60 µg/mL), BChE (8.17 ± 0.00 µg/mL), lipaz (5.03 ± 0.11 µg/mL) ve tirozinaz (12.79 ± 0.86 µg/mL) inhibisyon aktivitelerine sahip olduğu kaydedildi.

Kloroform ekstraktının yüksek miktarda krisin (493.56 µg/g ekstrakt), kuersetin-3-glikozit (351.38 µg/g ekstrakt), şikimik asit (302.04 µg/g ekstrakt), oktadekanoik asit, metil esteri (%48.13) ve hegzadekanoik asit, metil esteri (%23.87) gözlemlendi. Ekstraktın yüksek DPPH[•] giderme (1.74 ± 0.12 µg/mL), süperoksit anyonu giderme (4.96 ± 0.47 µg/mL), deoksiriboz koruma (34.00 ± 0.49 µg/mL), BChE (11.02 ± 0.00 µg/mL), lipaz (4.06 ± 0.18 µg/mL) ve tirozinaz (8.70 ± 1.02 µg/mL) inhibisyon aktivitelerine sahip olduğu kaydedildi. Ek olarak, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. faecalis*, *B. cereus* ve *S. aureus* bakterilerine karşı MİK değerleri sırasıyla 128 µg/mL, 256 µg/mL, 512 µg/mL, 128 µg/mL, 128 µg/mL ve 128 µg/mL olarak yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdi.

Etil asetat ekstraktının yüksek miktarda kuersetin-3-glikozit (343.66 µg/g ekstrakt), naringin (285.82 µg/g ekstrakt) ve şikimik asit (280.91 µg/g ekstrakt) bulundu. Ekstraktın yüksek süperoksit anyonu giderme (7.26 ± 0.07 µg/mL), deoksiriboz koruma (13.23 ± 0.04 µg/mL) ve tirozinaz (8.23 ± 0.92 µg/mL) inhibisyon aktivitelerine sahip olduğu belirlendi.

Metanol ekstraktının yüksek miktarda kuersetin-3-glikozit (343.80 µg/g ekstrakt), rosmarinik asit (330.32 µg/g ekstrakt) ve naringin (297.12 µg/g ekstrakt) belirlendi. Ekstraktın yüksek H₂O₂ giderme (2.18 ± 0.90 µg/mL), süperoksit anyonu giderme (16.65 ± 0.04 µg/mL), deoksiriboz koruma (24.29 ± 0.49 µg/mL), DNA koruma (%74.41), AChE (18.50 ± 1.31 µg/mL), BChE (21.14 ± 1.49 µg/mL), lipaz (5.03 ± 0.43 µg/mL) ve tirozinaz (18.69 ± 0.73 µg/mL) inhibisyon aktivitelerine sahip olduğu kaydedildi.

Dört ekstraktta ayrı ayrı silika jel kolon kromatografisi kullanılarak fraksiyonlandırıldı. *n*-Hekzan ekstraktından 9 adet, kloroform ekstraktından 7 adet, etil asetat ekstraktından 10 adet ve metanol ekstraktından 8 adet fraksiyon elde edildi. İkinci fraksiyonlardan NBHFr6, karyofilen oksit izomeri (%31.26); NBHFr5, oleik asit, metil esteri (%26.91) ve NBHFr2, hentriakontan (%27.30) bileşiklerini yüksek miktarda içermektedir.

Biyoaktivite yönlendirmeli izolasyon göre *n*-hekzan ekstraktında NBHFr5, NBHFr4 ve NBHFr9, kloroform ekstraktında NBKFr5, NBKFr3 ve NBKFr7, etil asetat ekstraktında NBEFr10, NBEFr3 ve NBHFr4, metanol ekstraktında ise NBMFr3, NBMFr4 ve NBMFr7 fraksiyonlarının aktivitelerinin yüksek olduğu gözlemlendi.

NBHFr5 yüksek süperoksit anyon giderme (1.75 ± 0.06 µg/mL), deoksiriboz koruma (8.06 ± 0.30 µg/mL), AChE (3.48 ± 0.67 µg/mL), lipaz (1.98 ± 0.53 µg/mL) ve tirozinaz (2.18 ± 0.76 µg/mL) inhibisyon aktivitelerine sahiptir. NBHFr4 yüksek indirgeme gücü (41.06 ± 0.87 µg/mL), H₂O₂ giderme (67.25 ± 0.42 µg/mL), süperoksit anyon giderme (1.00 ± 0.28 µg/mL), deoksiriboz koruma (33.73 ± 0.87 µg/mL), BChE (11.86 ± 1.22 µg/mL) ve α-amilaz (1.48 ± 0.09 µg/mL) inhibisyon aktivitelerine sahiptir. NBHFr9 yüksek H₂O₂ giderme (67.97 ± 1.82 µg/mL) ve DPPH[·] giderme (7.64 ± 0.52 µg/mL), deoksiriboz koruma (39.92 ± 1.02 µg/mL), BChE (2.01 ± 0.10 µg/mL) ve tirozinaz (2.46 ± 0.00 µg/mL) inhibisyon aktivitelerine sahiptir.

NBKFr5 yüksek indirgeme gücü (36.89 ± 1.23 µg/mL), H₂O₂ giderme (7.07 ± 0.00 µg/mL), DPPH[·] giderme (2.38 ± 0.48 µg/mL), süperoksit anyon giderme (1.54 ± 0.50 µg/mL), metal şelat (28.08 ± 0.43 µg/mL), deoksiriboz koruma (13.48 ± 0.18 µg/mL), lipaz (3.02 ± 0.43 µg/mL), antimikrobiyal ve tirozinaz (3.47 ± 0.11 µg/mL) inhibisyon aktivitelerine sahiptir. NBKFr3 yüksek fosfomolibdenyum indirgeme (64.17 ± 0.17 µg/mL), H₂O₂ giderme (21.72 ± 0.46 µg/mL), DPPH[·] giderme (4.89 ± 0.57 µg/mL), süperoksit anyon giderme (3.43 ± 0.55 µg/mL), deoksiriboz koruma (17.42 ± 0.18 µg/mL), DNA koruma (%69.63) ve BChE (3.69 ± 0.19 µg/mL) inhibisyon aktivitelerine sahiptir. NBKFr7 yüksek indirgeme gücü (51.48 ± 1.60 µg/mL), H₂O₂ giderme (28.24 ± 0.19 µg/mL), deoksiriboz koruma (19.64 ± 2.08 µg/mL), antimikrobiyal, BChE (2.36 ± 0.19 µg/mL) ve lipaz (0.78 ± 0.04 µg/mL) inhibisyon aktivitelerine sahiptir.

NBEFr10 yüksek fosfomolibdenyum indirgeme (59.82 ± 2.06 µg/mL), H₂O₂ giderme (16.07 ± 0.42 µg/mL), süperoksit anyon giderme (6.24 ± 0.28 µg/mL), metal

şelat ($9.46 \pm 0.54 \mu\text{g/mL}$), deoksiriboz koruma ($22.80 \pm 0.28 \mu\text{g/mL}$) ve antimikrobiyal aktivitelere sahiptir. NBEFr3 yüksek indirgeme gücü ($87.56 \pm 1.93 \mu\text{g/mL}$), H_2O_2 giderme ($19.65 \pm 0.26 \mu\text{g/mL}$), deoksiriboz koruma ($11.98 \pm 0.58 \mu\text{g/mL}$), α -amilaz ($1.07 \pm 0.01 \mu\text{g/mL}$), lipaz ($3.57 \pm 0.58 \mu\text{g/mL}$) ve tirozinaz ($20.09 \pm 0.00 \mu\text{g/mL}$) inhibisyon aktivitelere sahiptir. NBEFr4 yüksek H_2O_2 giderme ($18.80 \pm 0.36 \mu\text{g/mL}$), metal şelat ($17.65 \pm 1.70 \mu\text{g/mL}$) deoksiriboz koruma ($2.53 \pm 0.75 \mu\text{g/mL}$), BChE ($1.11 \pm 0.16 \mu\text{g/mL}$) ve karbonik anhidraz ($2.38 \pm 0.08 \mu\text{g/mL}$) inhibisyon aktivitelere sahiptir.

NBMFr3 yüksek indirgeme gücü ($58.75 \pm 0.16 \mu\text{g/mL}$), H_2O_2 giderme ($77.06 \pm 0.00 \mu\text{g/mL}$), deoksiriboz koruma ($3.97 \pm 0.37 \mu\text{g/mL}$), AChE ($7.48 \pm 0.13 \mu\text{g/mL}$), α -amilaz ($2.61 \pm 0.32 \mu\text{g/mL}$) ve lipaz ($2.76 \pm 0.00 \mu\text{g/mL}$) inhibisyon aktivitelere sahiptir. NBMFr4 yüksek H_2O_2 giderme ($25.72 \pm 0.26 \mu\text{g/mL}$), süperoksit anyon giderme ($15.22 \pm 0.48 \mu\text{g/mL}$), metal şelat ($3.38 \pm 0.32 \mu\text{g/mL}$), deoksiriboz koruma ($3.03 \pm 0.04 \mu\text{g/mL}$) ve tirozinaz ($11.47 \pm 1.01 \mu\text{g/mL}$) inhibisyon aktivitelere sahiptir. NBMFr7 yüksek indirgeme gücü ($54.58 \pm 1.04 \mu\text{g/mL}$), H_2O_2 giderme ($19.11 \pm 1.22 \mu\text{g/mL}$), deoksiriboz koruma ($8.29 \pm 0.70 \mu\text{g/mL}$) ve BChE ($1.21 \pm 0.30 \mu\text{g/mL}$) inhibisyon aktivitelere sahiptir.

Bu sonuçlara göre aktivite yönlendirmeli fraksiyonlandırma yöntemi kullanılarak *N. baytopii*'den apigenin, β -sitosterol, daukosterol, iksorozit, ursolik asit ve Molekül L izole edilerek moleküllerin yapıları spektroskopik yöntemler ile belirlendi.

Apigenin molekülünün enzim inhibisyonları en yüksek sırasıyla; BChE ($2.83 \pm 0.03 \mu\text{g/mL}$), lipaz ($8.85 \pm 0.00 \mu\text{g/mL}$) ve α -amilaz ($16.37 \pm 1.61 \mu\text{g/mL}$) olarak belirlendi. Enzim inhibisyon kinetikleri incelendiğinde, üreazın (K_i , 0.05 mM) ve tirozinazın (K_i , 0.06 mM) yüksek inhibisyon sabitlerine sahip olduğu belirlendi. Enzimlerle etkileşimlerinde ise BChE (K_i , 0.11 μM) ve α -amilaz (K_i , 0.20 μM) yüksek bağlanma sabitlerine sahiptir.

β -Sitosterol molekülünün antioksidan aktiviteler en yüksek sırasıyla; süperoksit anyon giderme ($1.17 \pm 0.01 \mu\text{g/mL}$), serbest radikal giderme ($1.66 \pm 0.12 \mu\text{g/mL}$), ABTS^{•+} giderme ($2.21 \pm 0.16 \mu\text{g/mL}$) ve metal şelatır ($1.17 \pm 0.01 \mu\text{g/mL}$). Enzim inhibisyonlarında ise; AChE ($1.18 \pm 0.06 \mu\text{g/mL}$), tirozinaz ($2.37 \pm 0.13 \mu\text{g/mL}$) ve BChE ($3.49 \pm 0.00 \mu\text{g/mL}$) olarak belirlendi. Enzim inhibisyon kinetikleri incelendiğinde, AChE (K_i , 0.07 mM) ve tirozinazın (K_i , 0.04 mM) yüksek inhibisyon

sabitlerine sahip olduğu belirlendi. Enzimlerle etkileşimlerinde ise AChE (K_i , 0.01 μ M) ve BChE (K_i , 0.06 μ M) yüksek bağlanma sabitlerine sahiptir.

Daukosterol molekülünün antioksidan aktiviteleri en yüksek sırasıyla; serbest radikal giderme (2.86 ± 0.20 μ g/mL), ABTS^{•+} giderme (2.95 ± 0.00 μ g/mL), metal şelat (5.82 ± 0.09 μ g/mL), süperoksit anyon giderme (5.82 ± 0.09 μ g/mL) ve indirgeme gücüdür (25.90 ± 1.49 μ g/mL). Enzim inhibisyonlarında ise; tirozinaz (1.83 ± 0.26 μ g/mL), BChE (9.65 ± 0.06 μ g/mL) ve AChE'dir (12.02 ± 1.41 μ g/mL). Yüksek DNA koruma aktivitesinin olduğu da belirlendi. Enzim inhibisyon kinetikleri incelendiğinde, α -glukozidazın (K_i , 0.07 mM) ve tirozinazın (K_i , 0.05 mM) yüksek inhibisyon sabitlerine sahip olduğu belirlendi. Enzimlerle etkileşimlerinde ise AChE (K_i , 0.05 μ M) ve BChE (K_i , 0.05 μ M) yüksek bağlanma sabitlerine sahiptir.

İksorozit molekülünün antioksidan aktivitelerden en yüksek sırasıyla; süperoksit anyon giderme (16.87 ± 0.08 μ g/mL), fosfomolibdenyum indirgeme (55.65 ± 0.02 μ g/mL) ve indirgeme gücüdür (63.69 ± 1.58 μ g/mL). Enzim inhibisyonlarında ise; tirozinaz (2.23 ± 0.00 μ g/mL), α -glukozidaz (4.11 ± 0.36 μ g/mL), BChE (9.90 ± 0.58 μ g/mL), α -amilaz (16.87 ± 0.08 μ g/mL) ve AChE (24.56 ± 1.74 μ g/mL) olarak belirlendi. Enzim inhibisyon kinetikleri incelendiğinde, α -glukozidazın (K_i , 0.10 mM) ve tirozinazın (K_i , 0.10 mM) yüksek inhibisyon sabitlerine sahip olduğu belirlendi. Enzimlerle etkileşimlerinde ise BChE (K_i , 0.49 μ M) ve α -glukozidaz (K_i , 1.19 μ M) yüksek bağlanma sabitlerine sahiptir.

Molekül L'nin antioksidan aktivite olarak en yüksek indirgeme gücü (11.89 ± 0.25 μ g/mL) ve DNA koruma aktivitesi gösterdiği belirlendi.

Ursolik asit molekülünün antioksidan aktiviteler en yüksek sırasıyla; serbest radikal giderme (2.68 ± 0.05 μ g/mL), metal şelat (2.88 ± 0.44 μ g/mL) ve süperoksit anyon gidermedir (3.99 ± 0.70 μ g/mL). Enzim inhibisyonlarında ise; AChE (2.32 ± 0.03 μ g/mL) ve tirozinazdır (25.79 ± 0.00 μ g/mL). Yüksek DNA koruma aktivitesi de gösterdiği belirlendi. Enzim inhibisyon kinetikleri incelendiğinde, BChE (K_i , 0.07 mM) ve tirozinazın (K_i , 0.04 mM) yüksek inhibisyon sabitlerine sahip olduğu belirlendi. Enzimlerle etkileşimlerinde ise BChE (K_i , 0.01 μ M) ve tirozinaz (K_i , 0.23 μ M) yüksek bağlanma sabitlerine sahiptir.

Özet olarak; biyoaktivite yönlendirmeli izolasyona göre saflaştırılan moleküllerin izole edildiği fraksiyonlardan yüksek aktivite gösterdiği görüldü.

Saflaştırılan moleküllerin enzim inhibisyonları daha yüksek aktivite gösterdiği için bu moleküllerin enzimlerle nasıl bir inhibisyon gösterdiği, inhibisyonun ne kadar kuvvetli olduğu ve ne kadar kuvvetli bağlanma gösterdikleri belirlendi. Bu bağlamda, moleküllerin üreaz, AChE, BChE ve tirozinaz inhibisyonları yüksek etki gösterdi. İnhibisyon kinetiğinde ise tirozinaz ile olan inhibisyon sabitleri bütün moleküllerde yüksektir. Ayrıca, moleküllerin BChE ile bağlanma enerjileri ve sabitlerinin kuvvetli olduğu gözlemlendi. Bu özellikleri göz önüne alındığında moleküller ilaç olarak kullanılabilir ve bu sayede enzimlerin yarattığı hastalıkların tedavisinde kullanılabilir.

Daha sonra gerçekleştirilecek olan çalışmalarla elde edilen aktif sekonder metabolitlerin yüksek miktarlarda üretilmesi için yöntemler geliştirilebilir. Bu kapsamda TÜBİTAK'a sunulan ve kabul edilen yeni bir proje ile, sekonder metabolitlerin endofitik funguslardan üretim çalışmalarına başlanmıştır. *N. baytopii* bitkisinin ham ekstraktı veya uçucu yağı ile *in vivo* çalışmalar gerçekleştirilebilir. Ayrıca, moleküllerin *in vitro* ve *in siliko* olarak belirlenen enzim inhibisyonu, DNA koruma, antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerinin ileriki aşamalarda *in vivo* çalışmalarla güçlendirilmesi için yeni çalışmalar yapılabilir. Daha önce çalışılmamış olan iksorozit molekülünün antikanser özellikleri ve ADMET hesaplamaları da araştırılabilir. Bu çalışma ile moleküllerin ilaç olarak kullanılabilirliğindeki diğer aşamalara öncülük edeceği de göz ardı edilemeyecek bir gerçektir.

KAYNAKLAR

- Aćimović, M., Zeremski, T., Kiproviski, B., Brdar-Jokanović, M., Popović, V., Koren, A. ve Sikora, V. 2021. *Nepeta cataria*—cultivation, chemical composition and biological activity. *Journal of Agronomy, Technology and Engineering Management (JATEM)*, 4:4, 620-634.
- Addar, L., Bensouici, C., Zennia, S. S. A., Haroun, S. B. ve Mati, A. 2019. Antioxidant, tyrosinase and urease inhibitory activities of camel α S-casein and its hydrolysate fractions. *Small Ruminant Research*, 173, 30-35.
- Adiguzel, A., Ozer, H., Sokmen, M., Gulluce, M., Sokmen, A., Kilic, H., Sahin, F. ve Baris, O. 2009. Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of *Nepeta cataria*. *Polish Journal of Microbiology*, 58:1, 69-76.
- Adsiz, L. B. 2018. *Salvia cerino-pruinosa* var. *elazigensis* türünün antioksidan aktivite kontrollü sekonder metabolit izolasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
- Agirman, E., Celik, I. ve Dogan, A. 2022. Consumption of the Syrian mesquite plant (*Prosopis farcta*) fruit and seed lyophilized extracts may have both protective and toxic effects in STZ-induced diabetic rats. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 128:4, 887-896.
- Ahmad, I., Irfan, S., Dera, A. A., Zaman, G. S., Chandramoorthy, H. C., Mir, M. A. ve Rajagopalan, P. 2020. GC-MS analysis of ethanol extract from areal parts of *Nepeta deflersiana* and its anticancer and antimicrobial efficacies. *Biologia*, 1-12.
- Akdeniz, M., Ertas, A., Yener, I., Firat, M. ve Kolak, U. 2020. Phytochemical and biological investigations on two *Nepeta* species: *Nepeta heliotropifolia* and *N. congesta* subsp. *cryptantha*. *Journal of Food Biochemistry*, 44:2, e13124.
- Akpınar, N., Akpınar, M., Gorgun, S., Dirmenci, T. ve Aktumsek, A. 2008. Fatty acid composition of the seeds of five *Nepeta* species from Turkey. *Chemistry of Natural Compounds*, 44:1, 90-92.
- Akramov, D. K., Bacher, M., Böhmendorfer, S., Rosenau, T., Zengin, G., Potthast, A., Nahar, L., Sarker, S. D. ve Mamadalieva, N. Z. 2020. Phytochemical analysis and biological evaluation of *Lagochilus* species from Uzbekistan. *Industrial Crops and Products*, 154, 112715.
- Aksu, F. 2018. Ordu İlinden Toplanan Yabani Ve Yenilebilir Mantar Türlerinin Antioksidan Aktivitelerinin Ve Kolinesteraz, Tirosinaz Ve Üreaz İnhibisyon Potansiyellerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Al-Taweel, A. M., Raish, M., Perveen, S., Fawzy, G. A., Ahmad, A., Ansari, M. A., Mudassar, S. ve Ganaie, M. A. 2017. *Nepeta deflersiana* attenuates isoproterenol-induced myocardial injuries in rats: Possible involvement of oxidative stress, apoptosis, inflammation through nuclear factor (NF)- κ B downregulation. *Phytomedicine*, 34, 67-75.
- Alaşehirli, B. 2005. Kolinesteraz inhibitörleri (antikolinesterazlar). *Türkiye Klinikleri Journal of Internal Medical Sciences*, 1, 47-57.
- Aleem, A., Janbaz, K. H., Imran, I., Wahid, M., Bibi, S., Afzal, K. ve Asad, M. H. H. B. 2020. Antiplatelet Aggregation, Cardiogenic, Anti-Inflammatory, Antioxidant, and Calcium Channel Antagonistic Potentials of *Nepeta ruderalis* Buch. *BioMed Research International*, 2020.
- Ali, F., Naz, F., Jyoti, S. ve Siddique, Y. H. 2014. Protective effect of apigenin against N-nitrosodiethylamine (NDEA)-induced hepatotoxicity in albino rats. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 767, 13-20.

- Ali, F., Rahul, Naz, F., Jyoti, S. ve Siddique, Y. H. 2017. Health functionality of apigenin: A review. *International Journal of Food Properties*, 20:6, 1197-1238.
- Ali, I., Ali, M., Shareef, H., Naeem, S., Khadim, A., Ali, M., Amber, F., Hussain, H., Ismail, M. ve Shah, S. T. A. 2021. Phytochemical analysis and biological activities of “Cherchoomoro”(Nepeta adenophyta Hedge). *Journal of Ethnopharmacology*, 279, 114402.
- Alim, A., Goze, I., Cetin, A., Atas, A. D., Cetinus, S. A. ve Vural, N. 2009. Chemical composition and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of *Nepeta nuda* L. subsp. *Albiflora* (Boiss.) gams. *African Journal of Microbiology Research*, 3:8, 463-467.
- Alkahtani, J., Asma, A., Adil, M., Rashid, A., Dawoud, T. M., Alsofi, A. A., Gawwad, M. R. A. ve Elshaer, M. 2022. Phytochemical Investigation and Antimicrobial Potential of Medicinal Plant *Nepeta distans* Royle ex Benth. *Journal of Food Quality*, 2022.
- Almaz, Z., Oztekin, A., Tan, A. ve Ozdemir, H. 2021. Biological evaluation and molecular docking studies of 4-aminobenzohydrazide derivatives as cholinesterase inhibitors. *Journal of Molecular Structure*, 130918.
- Altenburger, R., Backhaus, T., Boedeker, W., Faust, M., Scholze, M. ve Grimme, L. H. 2000. Predictability of the toxicity of multiple chemical mixtures to *Vibrio fischeri*: mixtures composed of similarly acting chemicals. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 19:9, 2341-2347.
- Alyar, S., Özmen, Ü. Ö., Adem, Ş., Alyar, H., Bilen, E. ve Kaya, K. 2021. Synthesis, spectroscopic characterizations, carbonic anhydrase II inhibitory activity, anticancer activity and docking studies of new Schiff bases of sulfa drugs. *Journal of Molecular Structure*, 1223, 128911.
- Amtul, Z., Rasheed, M., Choudhary, M. I., Rosanna, S. ve Khan, K. M. 2004. Kinetics of novel competitive inhibitors of urease enzymes by a focused library of oxadiazoles/thiadiazoles and triazoles. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 319:3, 1053-1063.
- Andre, C. M., Greenwood, J. M., Walker, E. G., Rassam, M., Sullivan, M., Evers, D. I., Perry, N. B. ve Laing, W. A. 2012. Anti-inflammatory procyanidins and triterpenes in 109 apple varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60:42, 10546-10554.
- Andrews, J. M. 2001. Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48:suppl_1, 5-16.
- Anh, L. T. T., Van Tuyen, N., Thuy, P. T., Quan, P. M., Ha, N. T. T. ve Tra, N. T. 2021. Antioxidative and α -glucosidase inhibitory constituents of *Polyscias guilfoylei*: experimental and computational assessments. *Molecular Diversity*, 1-15.
- Ani, V. ve Naidu, K. A. 2008. Antihyperglycemic activity of polyphenolic components of black/bitter cumin *Centratherum anthelminticum* (L.) Kuntze seeds. *European Food Research and Technology*, 226, 897-903.
- Aničić, N., Matekalo, D., Skorić, M., Živković, J. N., Petrović, L., Dragičević, M., Dmitrović, S. ve Mišić, D. 2020. Alterations in nepetalactone metabolism during polyethylene glycol (PEG)-induced dehydration stress in two *Nepeta* species. *Phytochemistry*, 174, 112340.
- Aprotosoiaie, A. C., Zavastin, D. E., Mihai, C.-T., Voichita, G., Gherghel, D., Sillion, M., Trifan, A. ve Miron, A. 2017. Antioxidant and antigenotoxic potential of *Ramaria largentii* Marr & DE Stuntz, a wild edible mushroom collected from Northeast Romania. *Food and Chemical Toxicology*, 108, 429-437.

- Aras, A. 2017. Türkiye’de Yetişen Endemik (*Nepeta Nuda* Subsp. *Lydiae*) Bitkisine Ait Farklı Ekstrelerin Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi Ve Fenolik Bileşik İçeriklerinin Lc-MS/MS İle Analizi. Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Aras, A., Bursal, E. ve Dogru, M. 2016. UHPLC-ESI-MS/MS analyses for quantification of phenolic compounds of *Nepeta nuda* subsp. *Lydiae*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6:11, 009-013.
- Asghari, B., Salehi, P., Farimani, M. M. ve Ebrahimi, S. N. 2015. [alpha]-Glucosidase Inhibitors from Fruits of *Rosa canina* L. *Records of Natural Products*, 9:3, 276.
- Asgharian, P., Heshmati Afshar, F., Mahmoodzadeh, E. ve Hallaj-Nezhadi, S. 2019. Antibacterial Activity of Different Extracts of Aerial Parts of *Chondrilla juncea* L, *Ajuga comata* Stapf, *Nepeta ucrainica* L, and *Delphinium speciosum* MB. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*, 29:180, 24-35.
- Ashrafi, B., Ramak, P., Ezatpour, B. ve Talei, G. R. 2019. Biological activity and chemical composition of the essential oil of *Nepeta cataria* L. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 23:2.
- Atal, C. K. ve Kapur, B. 1982. Cultivation and utilization of medicinal plants. *Food and Agriculture Organization of The United Nations*.
- Atanasov, A. G., Waltenberger, B., Pferschy-Wenzig, E.-M., Linder, T., Wawrosch, C., Uhrin, P., Temml, V., Wang, L., Schwaiger, S. ve Heiss, E. H. 2015. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. *Biotechnology Advances*, 33:8, 1582-1614.
- Avallone, R., Zanolli, P., Puia, G., Kleinschmitz, M., Schreier, P. ve Baraldi, M. 2000. Pharmacological profile of apigenin, a flavonoid isolated from *Matricaria chamomilla*. *Biochemical Pharmacology*, 59:11, 1387-1394.
- Avasthi, A. S., Bhatnagar, M. ve Ghosal, S. 2017. High Altitude Medicinal Plants Against Multidrug Resistant Microorganisms: Screening and Chemical Profiling of the Most Active *Nepeta longibracteata*. *International Journal of Pharmacology*, 13:6, 552-562.
- Avasthi, A. S., Bhatnagar, M., Sarkar, N., Kitchlu, S. ve Ghosal, S. 2016. Bioassay guided screening, optimization and characterization of antioxidant compounds from high altitude wild edible plants of Ladakh. *Journal of Food Science and Technology*, 53:8, 3244-3252.
- Ayaz, M., Junaid, M., Ullah, F., Subhan, F., Sadiq, A., Ali, G., Ovais, M., Shahid, M., Ahmad, A. ve Wadood, A. 2017. Anti-Alzheimer’s studies on β -sitosterol isolated from *Polygonum hydropiper* L. *Frontiers in Pharmacology*, 8, 697.
- Azizian, T., Alirezalu, A., Hassani, A., Bahadori, S. ve Sonboli, A. 2021. Phytochemical analysis of selected *Nepeta* species by HPLC-ESI-MS/MS and GC-MS methods and exploring their antioxidant and antifungal potentials. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15:3, 2417-2429.
- Babu, S. ve Jayaraman, S. 2020. An update on β -sitosterol: A potential herbal nutraceutical for diabetic management. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 131, 110702.
- Babu, S., Krishnan, M., Rajagopal, P., Periyasamy, V., Veeraraghavan, V., Govindan, R. ve Jayaraman, S. 2020. Beta-sitosterol attenuates insulin resistance in adipose tissue via IRS-1/Akt mediated insulin signaling in high fat diet and sucrose induced type-2 diabetic rats. *European journal of Pharmacology*, 873, 173004.
- Bahadori, M. B., Dinparast, L., Valizadeh, H., Farimani, M. M. ve Ebrahimi, S. N. 2016. Bioactive constituents from roots of *Salvia syriaca* L.: Acetylcholinesterase inhibitory activity and molecular docking studies. *South African Journal of Botany*, 106, 1-4.

- Baiseitova, A., Jenis, J., Kim, J. Y., Li, Z. P. ve Park, K. H. 2019. Phytochemical analysis of aerial part of *Ikonnikovia kaufmanniana* and their protection of DNA damage. *Natural Product Research*, 1-4.
- Bakhtiari, N., Hosseinkhani, S., Tashakor, A. ve Hemmati, R. 2015. Ursolic acid ameliorates aging-metabolic phenotype through promoting of skeletal muscle rejuvenation. *Medical Hypotheses*, 85:1, 1-6.
- Balaei-Kahnamoei, M., Saeedi, M., Rastegari, A., Shams Ardekani, M. R., Akbarzadeh, T. ve Khanavi, M. 2021. Phytochemical analysis and evaluation of biological activity of *Lawsonia inermis* Seeds related to Alzheimer's disease. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021.
- Bandh, S. A., Kamili, A. N., Ganai, B. A., Lone, B. A. ve Saleem, S. 2011. Evaluation of antimicrobial activity of aqueous extracts of *Nepeta cataria*. *Journal of Pharmacy Research*, 4:9, 3141-3142.
- Baranauskienė, R., Bendžiuvienė, V., Ragažinskienė, O. ve Venskutonis, P. R. 2019. Essential oil composition of five *Nepeta* species cultivated in Lithuania and evaluation of their bioactivities, toxicity and antioxidant potential of hydrodistillation residues. *Food and Chemical Toxicology*, 129, 269-280.
- Baricevic, D., Sosa, S., Della Loggia, R., Tubaro, A., Simonovska, B., Krasna, A. ve Zupancic, A. 2001. Topical anti-inflammatory activity of *Salvia officinalis* L. leaves: the relevance of ursolic acid. *Journal of Ethnopharmacology*, 75:2-3, 125-132.
- Baser, K., Kirimer, N., Kurkuoglu, M. ve Demirci, B. 2000. Essential Oils of *Nepeta* Species Growing in Turkey. *Chemistry of Natural Compounds*, 36:4, 356-359.
- Başçi, N. 1985. Sakkarozun invertaz ile hidroliz kinetiğinin ve invertaz deaktivasyonunun incelenmesi. Yüksek Mühendislik Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
- Baytop, T. 1999. Türkiye'de bitkiler ile tedavi. *İstanbul Eczacılık Fakültesi Yayınları, İstanbul*, 444.
- Bejestani, F. B. 2018. The antibacterial effect of methanolic fraction of *Nepeta depauperata* against *Pseudomonas aeruginosa* isolates from burn wound infections. *Novelty in Biomedicine*, 6:2, 61-67.
- Bello, R., Moreno, L., Primo-Yúfera, E. ve Esplugues, J. 2002. *Globularia alypum* L. extracts reduced histamine and serotonin contraction in vitro. *Phytotherapy Research*, 16:4, 389-392.
- Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T. N., Weissig, H., Shindyalov, I. N. ve Bourne, P. E. 2000. The protein data bank. *Nucleic Acids Research*, 28:1, 235-242.
- Bernhoft, A. 2010. A brief review on bioactive compounds in plants. *The Norwegian Academy of Science and Letters*, 50, 11-17.
- Bhat, A. H., Alia, A., Rather, G. M. ve Kumar, B. 2019. Isolation & characterisation of beta-sitosterol from the rhizomes of *Arisaema utile* and its evaluation for antioxidant activity. *International Journal of Scientific Research in Biological Sciences*, 6, 111-118.
- BIOVIA, D. S. 2019. BIOVIA Discovery Studio Visualize 2019, version 2019. *Dassault Systèmes BIOVIA: San Diego, CA, USA*.
- Birari, R. B. ve Bhutani, K. K. 2007. Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: unexplored potential. *Drug Discovery Today*, 12:19-20, 879-889.
- Birel, S. 2017. Protein-Enzim Çözeltilerinin Nmr Proton Durulma Zamanlarına Dair Çalışmaların İncelenmesi, Çıkan Bulguların Değerlendirilmesi Ve Geleceğe Yönelik

Analizlerin Yapılması. Yüksek Lisans Tezi, Batman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

- Bisht, D., Padalia, R., Joshi, S., Tewari, A. ve Mathela, C. 2010. Constituents of *Nepeta clarkei* Hook. f. and their antioxidant activity. *Indian Journal of Chemistry*, 49B, 807-811.
- Bisht, V., Takashima, W. ve Kaneto, K. 2005. An amperometric urea biosensor based on covalent immobilization of urease onto an electrochemically prepared copolymer poly (N-3-aminopropyl pyrrole-co-pyrrole) film. *Biomaterials*, 26:17, 3683-3690.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181:4617, 1199-1200.
- Bouic, P., Etsebeth, S., Liebenberg, R., Albrecht, C., Pegel, K. ve Van Jaarsveld, P. 1996. Beta-sitosterol and beta-sitosterol glucoside stimulate human peripheral blood lymphocyte proliferation: Implications for their use as an immunomodulatory vitamin combination. *International Journal of Immunopharmacology*, 18:12, 693-700.
- Boutiti, A., Benguerba, A., Kitouni, R., Bouhroum, M., Benayache, S. ve Benayache, F. 2008. Secondary metabolites from *Globularia alypum*. *Chemistry of Natural Compounds*, 44:4, 543-544.
- Bresson, J.-L. F., Albert; Heinonen, Marina; Hulshof, Karin; Korhonen, Hannu; , Lagiou, P. L., Martinus; Marchelli, Rosangela; Martin, Ambroise; Moseley, Bevan; , Palou, A. P., Hildegard; Salminen, Seppo; Strain, Sean (J.J.); Strobel, Stephan; Tetens, Inge; ve van den Berg, H. v. L., Hendrik; Verhagen, Hans (2008). Plant Sterols and Blood Cholesterol. The EFSA Journal, European Food Safety Authority, 2-12.
- Brodowska, K. M. 2017. Natural flavonoids: classification, potential role, and application of flavonoid analogues. *European Journal of Biological Research*, 7:2, 108-123.
- Brusotti, G., Cesari, I., Dentamaro, A., Caccialanza, G. ve Massolini, G. 2014. Isolation and characterization of bioactive compounds from plant resources: the role of analysis in the ethnopharmacological approach. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 87, 218-228.
- Budantsev, A. 1991. A synopsis of the species or the genus *Nepeta* L (Lamiaceae). *The Section Macrostegiae and Setanepeta. Bot Zhurn*, 76, 1600-1602.
- Buhăianu, S. ve Jităreanu, D. C. 2019. The Relationship between Chlorophyll Content and Antioxidant Activity of *Abies alba* and *Nepeta pannonica* Extracts According to Phenophase and Harvesting Area. *Cercetari Agronomice in Moldova*, 52:2, 158-165.
- Buitrago, E., Hardre, R., Haudecoeur, R., Jamet, H., Belle, C., Boumendjel, A., Bubacco, L. ve Reglier, M. 2016. Are human tyrosinase and related proteins suitable targets for melanoma therapy? *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 16:27, 3033-3047.
- Butterworth, P. J., Warren, F. J. ve Ellis, P. R. 2011. Human α -amylase and starch digestion: An interesting marriage. *Starch-Stärke*, 63:7, 395-405.
- Cai, L. 2014. Thin layer chromatography. *Current Protocols Essential Laboratory Techniques*, 8:1, 6.3. 1-6.3. 18.
- Cantino, P. 1992. Toward a phylogenetic classification of the Labiatae. *Advances in Labiatae Science*, 27-37.
- Cao, C., Wang, W., Lu, L., Wang, L., Chen, X., Guo, R., Li, S. ve Jiang, J. 2018. Inactivation of Beclin-1-dependent autophagy promotes ursolic acid-induced apoptosis in hypertrophic scar fibroblasts. *Experimental Dermatology*, 27:1, 58-63.
- Castrillón, B. V. ve Jiménez, J. L. U. 1983. Revisión del género *Nepeta* (Labiatae) en la Península Ibérica e islas Baleares. *Lagascalia*, 12:1, 3-80.

- Celis, Á., Mendoza, C., Pachón, M., Cardona, J., Delgado, W. ve Cuca, L. E. 2008. Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia Piperaceae. Una revisión. *Agronomía Colombiana*, 26:1, 97-106.
- Chanda, J., Mukherjee, P. K., Biswas, R., Biswas, S., Tiwari, A. K. ve Pargaonkar, A. 2019. UPLC-QTOF-MS analysis of a carbonic anhydrase-inhibiting extract and fractions of *Luffa acutangula* (L.) Roxb (ridge gourd). *Phytochemical Analysis*, 30:2, 148-155.
- Cherry, H., Hossain, M. T. ve Anwar, M. 2004. Extracellular glucoamylase from the isolate *Aspergillus fumigatus*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7:11, 1988-1992.
- Chiu, H.-L., Wu, J.-H., Tung, Y.-T., Lee, T.-H., Chien, S.-C. ve Kuo, Y.-H. 2008. Triterpenoids and aromatics from *Derris laxiflora*. *Journal of Natural Products*, 71:11, 1829-1832.
- Cho, E. J., Choi, J. Y., Lee, K. H. ve Lee, S. 2012. Isolation of antibacterial compounds from *Parasenecio pseudotaimingasa*. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 53:6, 561-564.
- Choi, J. N., Choi, Y.-H., Lee, J.-M., Noh, I. C., Park, J. W., Choi, W. S. ve Choi, J. H. 2012. Anti-inflammatory effects of β -sitosterol- β -D-glucoside from *Trachelospermum jasminoides* (Apocynaceae) in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 murine macrophages. *Natural Product Research*, 26:24, 2340-2343.
- Chung, Y.-K., Heo, H.-J., Kim, E.-K., Kim, H.-K., Huh, T.-L., Lim, Y., Kim, S.-K. ve Shin, D.-H. 2001. Inhibitory Effect of Ursolic Acid Purified from *Origanum majorana* L. on the Acetylcholinesterase. *Molecules & Cells (Springer Science & Business Media BV)*, 11:2.
- Cigremis, Y., Ulukanli, Z., Ilcim, A. ve Akgoz, M. 2010. In vitro antioxidant and antimicrobial assays of acetone extracts from *Nepeta meyeri* Benth. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 14, 661-668.
- CLSI/NCCLS 2009. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 19th informational supplement. Document M100-S19: Clinical Laboratory Standards Institute Wayne, PA, USA.
- Copeland, R. 2005. Evaluation of enzyme inhibitors in drug discovery: A guide to chemists and pharmacologists. Hoboken: New Jersey, USA: Wiley-Interscience.
- Copeland, R. A., Harpel, M. R. ve Tummino, P. J. 2007. Targeting enzyme inhibitors in drug discovery. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 11:7, 967-978.
- Costa, M. A., Xia, Z.-Q., Davin, L. B. ve Lewis, N. G. 1999. *Phytochemicals in Human Health Protection, Nutrition, and Plant Defense*. Springer, 67-87.
- Cunha, W. R., de Matos, G. X., Souza, M. G. M., Tozatti, M. G., Andrade e Silva, M. L., Martins, C. H., Silva, R. d. ve Da Silva Filho, A. A. 2010. Evaluation of the antibacterial activity of the methylene chloride extract of *Miconia ligustroides*, isolated triterpene acids, and ursolic acid derivatives. *Pharmaceutical Biology*, 48:2, 166-169.
- Çavdar, C., Sifil, A. ve Çamsarı, T. 1997. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 3:4, 92-95.
- Çelik, S. A. ve Ayran, İ. 2020. Antioksidan Kaynağı Olarak Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitkiler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 13:2, 115-125.
- Çopuroğlu, Ö. 2013. Niğde Yöresindeki Bazı Endemik Bitki Türlerinin Antimikrobiyal Aktiviteleri. Yüksek Lisans Tezi, Niğde Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- D Catarino, M., M Alves-Silva, J., R Pereira, O. ve M Cardoso, S. 2015. Antioxidant capacities of flavones and benefits in oxidative-stress related diseases. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 15:2, 105-119.

- Darras, A., Spiliopoulos, I., Kartsonas, E., Assimomitis, P. ve Karras, S. 2020. Antioxidant profile, propagation and cultivation of *Nepeta camphorata*, the endemic species of Mt Taygetos (Greece). *South African Journal of Botany*, 131, 391-397.
- Dass, C. 2007. Fundamentals of contemporary mass spectrometry. *American Society for Mass Spectrometry*, 18, R1-R2.
- De Pooter, H. L., Nicolai, B., De Buyck, L. F., Goetghebeur, P. ve Schamp, N. M. 1987. The essential oil of *Nepeta nuda*. Identification of a new nepetalactone diastereoisomer. *Phytochemistry*, 26:8, 2311-2314.
- De Simone, G., Alterio, V. ve Supuran, C. T. 2013. Exploiting the hydrophobic and hydrophilic binding sites for designing carbonic anhydrase inhibitors. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 8:7, 793-810.
- Dechayont, B., Ruamdee, P., Poonnaimuang, S., Mokmued, K. ve Chunthorng-Orn, J. 2017. Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. *Journal of Botany*, 2017.
- Dehghan, H., Salehi, P. ve Amiri, M. S. 2018. Bioassay-guided purification of α -amylase, α -glucosidase inhibitors and DPPH radical scavengers from roots of *Rheum turkestanicum*. *Industrial Crops and Products*, 117, 303-309.
- Delnavazi, M.-R., Hadjiakhoondi, A., Delazar, A., Ajani, Y., Tavakoli, S. ve Yassa, N. 2015. Phytochemical and Antioxidant Investigation of the Aerial Parts of *Dorema glabrum* Fisch. & CA Mey. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 14:3, 925.
- Delorme, V., Dhouib, R., Canaan, S., Fotiadu, F., Carrière, F. ve Cavalier, J.-F. 2011. Effects of surfactants on lipase structure, activity, and inhibition. *Pharmaceutical Research*, 28:8, 1831-1842.
- Dienaitė, L., Pukalskienė, M., Matias, A. A., Pereira, C. V., Pukalskas, A. ve Venskutonis, P. R. 2018. Valorization of six *Nepeta* species by assessing the antioxidant potential, phytochemical composition and bioactivity of their extracts in cell cultures. *Journal of Functional Foods*, 45, 512-522.
- Dighe, S. B., Kuchekar, B. ve Wankhede, S. 2016. Analgesic and anti-inflammatory activity of β -sitosterol isolated from leaves of *Oxalis corniculata*. *International Journal of Pharmacological Research*, 6:3, 109-113.
- Dinda, B., Chowdhury, D. R. ve Mohanta, B. C. 2009. Naturally occurring iridoids, secoiridoids and their bioactivity. An updated review, part 3. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 57:8, 765-796.
- Dindar, B., Karakuş, E. ve Abasıyanık, F. 2011. New urea biosensor based on urease enzyme obtained from *Helicobacter pylori*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 165, 1308-1321.
- Ding, H., Hu, X., Xu, X., Zhang, G. ve Gong, D. 2018. Inhibitory mechanism of two allosteric inhibitors, oleanolic acid and ursolic acid on α -glucosidase. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107, 1844-1855.
- Ding, H., Wang, H., Zhu, L. ve Wei, W. 2017. Ursolic acid ameliorates early brain injury after experimental traumatic brain injury in mice by activating the Nrf2 pathway. *Neurochemical research*, 42:2, 337-346.
- Dinis, T. C., Madeira, V. M. ve Almeida, L. M. 1994. Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 315:1, 161-169.
- Dirmenci, T. 2003. Türkiye'de Yetişen *Nepeta* L.(Lamiaceae) Türleri Üzerinde Taksonomik Araştırmalar. Doktora Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

- Do Nascimento, P. G., Lemos, T. L., Bizerra, A. M., Arriaga, Â. M., Ferreira, D. A., Santiago, G. M., Braz-Filho, R. ve Costa, J. G. M. 2014. Antibacterial and antioxidant activities of ursolic acid and derivatives. *Molecules*, 19:1, 1317-1327.
- Dobler, S., Petschenka, G. ve Pankoke, H. 2011. Coping with toxic plant compounds—the insect's perspective on iridoid glycosides and cardenolides. *Phytochemistry*, 72:13, 1593-1604.
- Dong, X., Liu, S., Zhang, L., Yu, S., Huo, L., Qile, M., Liu, L., Yang, B. ve Yu, J. 2015. Down regulation of miR-21 is Involved in Direct Actions of Ursolic Acid on the Heart: Implications for Cardiac Fibrosis and Hypertrophy. *Cardiovascular Therapeutics*, 33:4, 161-167.
- Ebert, S. M., Dyle, M. C., Bullard, S. A., Dierdorff, J. M., Murry, D. J., Fox, D. K., Bongers, K. S., Lira, V. A., Meyerholz, D. K. ve Talley, J. J. 2015. Identification and small molecule inhibition of an activating transcription factor 4 (ATF4)-dependent pathway to age-related skeletal muscle weakness and atrophy. *Journal of Biological Chemistry*, 290:42, 25497-25511.
- Elisha, I. L., Botha, F. S., McGaw, L. J. ve Eloff, J. N. 2017. The antibacterial activity of extracts of nine plant species with good activity against *Escherichia coli* against five other bacteria and cytotoxicity of extracts. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17:1, 1-10.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V. ve Featherstone, R. M. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7:2, 88-95.
- Emami, S. A., Yazdian-Robati, R., Sadeghi, M., Baharara, J., Amini, E., Salek, F. ve Tayarani-Najaran, Z. 2017. Inhibitory effects of different fractions of *Nepeta saturoioides* on melanin synthesis through reducing oxidative stress. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 12:2, 160.
- Emre, İ., Kuşat, M. ve Yılmaz, Ö. 2011. Some biological compounds, radical scavenging capacities and antimicrobial activities in the seeds of *Nepeta italica* L. and *Sideritis montana* L. subsp. *montana* from Turkey. *Grasas y Aceites*, 62:1.
- Ercan, P. ve El, S. N. 2016. Inhibitory effects of chickpea and *Tribulus terrestris* on lipase, α -amylase and α -glucosidase. *Food Chemistry*, 205, 163-169.
- Fan, M., Zhang, G., Hu, X., Xu, X. ve Gong, D. 2017. Quercetin as a tyrosinase inhibitor: Inhibitory activity, conformational change and mechanism. *Food Research International*, 100, 226-233.
- Fareed, G., Afza, N., Mali, A., Fareed, N., Lateef, M., Iqbal, L. ve Mughal, U. 2013. Phytochemical screening, total phenolic contents and biological evaluation of aerial parts of *Nepeta praetervisa*. *Journal of The Chemical Society of Pakistan*, 35, 1364-1368.
- Feldhammer, M., Uetani, N., Miranda-Saavedra, D. ve Tremblay, M. L. 2013. PTP1B: a simple enzyme for a complex world. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 48:5, 430-445.
- Feldman, R. M. ve Bell, N. P. 2013. *Complications of glaucoma surgery*. Oxford University Press,
- Feng, S., Gan, L., Yang, C. S., Liu, A. B., Lu, W., Shao, P., Dai, Z., Sun, P. ve Luo, Z. 2018. Effects of stigmasterol and β -sitosterol on nonalcoholic fatty liver disease in a mouse model: a lipidomic analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66:13, 3417-3425.

- Finucane, M., Stevens, G., Cowan, M., Danaei, G., Lin, J., Paciorek, C., Singh, G., Gutierrez, H., Lu, Y. ve Bahalim, A. 2011. Global Burden of Metabolic Risk Factors of Chronic Diseases Collaborating Group (Body Mass Index) National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9.1 million participants. *Lancet*, 377:9765, 557-567.
- Firenzuoli, F. ve Gori, L. 2007. Herbal medicine today: Clinical and Research Issues. . *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 4:S1, 37-40.
- Flora, S. J. 2009. Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2.
- Fontanay, S., Grare, M., Mayer, J., Finance, C. ve Duval, R. E. 2008. Ursolic, oleanolic and betulinic acids: antibacterial spectra and selectivity indexes. *Journal of Ethnopharmacology*, 120:2, 272-276.
- Forouhi, N. G. ve Wareham, N. J. 2010. Epidemiology of diabetes. *Medicine*, 38:11, 602-606.
- Gajula, H., Kumar, V., Vijendra, P. D., Rajashekar, J., Sannabommaji, T. ve Basappa, G. 2020. *Biotechnological Utilization of Mangrove Resources*. Elsevier, 117-134.
- Gambero, A. ve Ribeiro, M. L. 2015. The positive effects of yerba maté (*Ilex paraguariensis*) in obesity. *Nutrients*, 7:2, 730-750.
- Garcia-Galan, C., dos Santos, J. C., Barbosa, O., Torres, R., Pereira, E. B., Corberan, V. C., Goncalves, L. R. ve Fernandez-Lafuente, R. 2014. Tuning of Lecitase features via solid-phase chemical modification: Effect of the immobilization protocol. *Process Biochemistry*, 49:4, 604-616.
- Garret, R. ve Grisham, C. 2010. Biochemistry 4ed. *University of Virginia, Boston, MA*.
- Gibson, E. L., Wardle, J. ve Watts, C. J. 1998. Fruit and vegetable consumption, nutritional knowledge and beliefs in mothers and children. *Appetite*, 31:2, 205-228.
- Gkinis, G., Bozin, B., Mimica-Dukic, N. ve Tzakou, O. 2010. Antioxidant activity of *Nepeta nuda* L. ssp. *nuda* essential oil rich in nepetalactones from Greece. *Journal of Medicinal Food*, 13:5, 1176-1181.
- Gkinis, G., Tzakou, O., Iliopoulou, D. ve Roussis, V. 2003. Chemical composition and biological activity of *Nepeta parnassica* oils and isolated nepetalactones. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 58:9-10, 681-686.
- Goldansaz, S. M., Jafarian Jeloudar, Z., Safaeian, R. ve Sonboli, A. 2019. Comparison of the chemical constitutions, antibacterial, anti-Candida, and antioxidant activity of *Nepeta asterotricha* Rech. f. essential oil. *American Journal of Essential Oils and Natural Products*, 7:2, 15-22.
- Golmakani, E., Mohammadi, A., Sani, T. A. ve Kamali, H. 2014. Phenolic and flavonoid content and antioxidants capacity of pressurized liquid extraction and percolation method from roots of *Scutellaria pinnatifida* A. Hamilt. subsp. *alpina* (Bornm) Rech. f. *The Journal of Supercritical Fluids*, 95, 318-324.
- Gökbulut, A. ve Yilmaz, G. 2020. *Nepeta humilis* Benth: First evaluation of phenolic profile and radical scavenging potential. *Journal of Research in Pharmacy*, 24, 901-907.
- Gram, C. 1884. Ueber die isolirte Färbung der Schizomyceten in Schnitt-und Trockenpreparaten. *Fortschritte der Medicin*, 2, 185-189.
- Gu, Y., Yang, X., Shang, C., Thao, T. T. P. ve Koyama, T. 2021. Inhibitory properties of saponin from *Eleocharis dulcis* peel against α -glucosidase. *RSC Advances*, 11:25, 15400-15409.

- Guha, G., Rajkumar, V., Mathew, L. ve Kumar, R. A. 2011. The antioxidant and DNA protection potential of Indian tribal medicinal plants. *Turkish Journal of Biology*, 35:2, 233-242.
- Gulcin, İ. 2020. Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. *Archives of Toxicology*, 94:3, 651-715.
- Gulcin, I. ve Beydemir, S. 2013. Phenolic compounds as antioxidants: carbonic anhydrase isoenzymes inhibitors. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 13:3, 408-430.
- Gupta, S., Afaq, F. ve Mukhtar, H. 2001. Selective growth-inhibitory, cell-cycle deregulatory and apoptotic response of apigenin in normal versus human prostate carcinoma cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 287:4, 914-920.
- Gutiérrez-Venegas, G., Gómez-Mora, J. A., Meraz-Rodríguez, M. A., Flores-Sánchez, M. A. ve Ortiz-Miranda, L. F. 2019. Effect of flavonoids on antimicrobial activity of microorganisms present in dental plaque. *Heliyon*, 5:12, e03013.
- Gül, F. 2020. Kickxia lanigera ve kickxia spuria bitkilerinde aktivite ve izolasyon çalışmaları. Doktora Tezi, Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
- Gülçin, I. 2012. Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, 86:3, 345-391.
- Gülçin, İ., Bingöl, Z., Taslimi, P., Gören, A. C., Alwasel, S. H. ve Tel, A. Z. 2022. Polyphenol contents, potential antioxidant, anticholinergic and antidiabetic properties of mountain mint (*Cyclotrichium leucotrichum*). *Chemistry & Biodiversity*, 19:3, e202100775.
- Gümüş, M. 2008. Yeni karbonik anhidraz inhibitörleri sentezi ve in vitro inhibitör aktivitelerinin incelenmesi/Synthesis and investigation of in vitro inhibitory activities of novel carbonic anhydrase inhibitors. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
- Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T. ve Başer, K. 2000. Flora of Turkey and the east Aegean Islands. *Supplement*, 2, 28.
- Gürbüz, E. D. ve Yılmaz, Ö. 2011. Helicobacter Pylori'nin Yaşam Stratejisi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 41:2, 49-56.
- Güvenalp, Z., Özbek, H., Kuruüzüm-Uz, A., Kazaz, C. ve Demirezer, L. Ö. 2009. Secondary metabolites from Nepeta heliotropifolia. *Turkish Journal of Chemistry*, 33:5, 667-675.
- Ha, K.-N., Mai, D.-T., Nguyen, N.-H., Van Vo, G., Duong, T.-H. ve Nguyen, H. T. 2022. Alpha-glucosidase inhibitors from Nervilia concolor, Tecoma stans, and Bouea macrophylla. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29:2, 1029-1042.
- Hamza, B., Boumediene, M., Aicha, T. T. ve Şekeroğlu, N. 2016. Chemical composition and DNA damage protective effect of essential oil of Rosmarinus officinalis and Populus alba. *International Journal of Phytopharmacology*, 7:4, 196-201.
- Hasan, M., Kabir, M. S. H., Mojumdar, M., Paul, A., Rahman, M. R., Akter, Y., Paul, R. ve Golamur, M. 2016. In Silico Molecular Docking Studies of Some Isolated Compounds From Nauclea Latifolia For A-Amylase Inhibitory Activity And ADME/T Property Analysis of The Compounds. *World Journal of Pharmaceutical Research* 5:7, 1742-1750.
- Haslam, D. ve James, W. 2005. Obesity *Lancet*, 366 (9492), 1197–1209.
- Hasler, C. M. ve Blumberg, J. B. 1999. Phytochemicals: biochemistry and physiology. Introduction. *The Journal of Nutrition*, 129:3, 756S-757S.
- Haytowitz, D., Bhagwat, S., Harnly, J., Holden, J. ve Gebhardt, S. 2006. Sources of flavonoids in the US diet using USDA's updated database on the flavonoid content of selected foods. *US Department of Agriculture (USDA). Agricultural Research Service, Beltsville*

- Hedge, I. 1986. Labiatae of South-West Asia: diversity, distribution and endemism. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh, Section B: Biological Sciences*, 89, 23-35.
- Hedge, I. 1992. A global survey of the Lamiaceae. *Advencis in Labiatae Science*, 7-18.
- Hemaia, M., Motawe, L., Ibrahim, F., Ibrahim, M., Mahmoud, E. ve Aly, H. 2015. Isolation and Identification of Terpenoids and Sterols of *Nepeta cataria* L. *International Journal of PharmTech Research*, 8:10, 10-17.
- Hermes-Lima, M., Wang, E., Schulman, H., Storey, K. B. ve Ponka, P. 1994. Deoxyribose degradation catalyzed by Fe (III)-EDTA: kinetic aspects and potential usefulness for submicromolar iron measurements. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 137:1, 65-73.
- Heshmati Afshar, F., Delazar, A., Rahimpour, Y., Moharrer Navaei, N., Asnaashari, S. ve Asgharian, P. 2021. Phytochemistry and bioactivity of *Nepeta racemosa*. *Research Journal of Pharmacognosy*, 8:4, 1-8.
- Heywood, V. H., Moore, D., Dunkley, J. ve King, C. 1978. *Flowering plants of the world*. Oxford University Press Oxford,
- Hidayathulla, S., Shahat, A., Ahamad, S., Al Moqbil, A., Alsaid, M. ve Divakar, D. 2018. GC/MS analysis and characterization of 2-Hexadecen-1-ol and beta sitosterol from *Schimperia arabica* extract for its bioactive potential as antioxidant and antimicrobial. *Journal of Applied Microbiology*, 124:5, 1082-1091.
- Hopkins, A. L. ve Groom, C. R. 2002. The druggable genome. *Nature Reviews Drug Discovery*, 1:9, 727-730.
- Huang, D., Ou, B. ve Prior, R. L. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53:6, 1841-1856.
- Huang, H. C., Huang, C. Y., Lin-Shiau, S. Y. ve Lin, J. K. 2009. Ursolic acid inhibits IL-1 β or TNF- α -induced C6 glioma invasion through suppressing the association ZIP/p62 with PKC- ζ and downregulating the MMP-9 expression. *Molecular Carcinogenesis*, 48:6, 517-531.
- Huang, M.-T., Ho, C.-T., Wang, Z. Y., Ferraro, T., Lou, Y.-R., Stauber, K., Ma, W., Georgiadis, C., Laskin, J. D. ve Conney, A. H. 1994. Inhibition of skin tumorigenesis by rosemary and its constituents carnosol and ursolic acid. *Cancer Research*, 54:3, 701-708.
- Huber, U. ve Majors, R. E. 2007. Principles in preparative HPLC. *Agilent Technologies Primer, Publication Number*.
- Hussain, G., Zhang, L., Rasul, A., Anwar, H., Sohail, M. U., Razzaq, A., Aziz, N., Shabbir, A., Ali, M. ve Sun, T. 2018. Role of plant-derived flavonoids and their mechanism in attenuation of Alzheimer's and Parkinson's diseases: An update of recent data. *Molecules*, 23:4, 814.
- Hussain, J., Ullah, F., Hussain, H., Hussain, T. ve Shah, M. R. 2008. Nepetolide: A new diterpene from *Nepeta suaveis*. *Zeitschrift für Naturforschung B*, 63:5, 591-594.
- Inao, S., Kawai, T., Kabeya, R., Sugimoto, T., Yamamoto, M., Hata, N., Isobe, T. ve Yoshida, J. 2001. Relation between brain displacement and local cerebral blood flow in patients with chronic subdural haematoma. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 71:6, 741-746.

- Iscan, G., Göger, F., Demirci, B. ve Köse, Y. B. 2017. Chemical composition and biological activity of *Nepeta cilicica*. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 12:2, 204-209.
- Islam, M. A., Zaman, S., Biswas, K., Al-Amin, M. Y., Hasan, M. K., Alam, A., Tanaka, T. ve Sadik, G. 2021. Evaluation of cholinesterase inhibitory and antioxidant activity of *Wedelia chinensis* and isolation of apigenin as an active compound. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 21, 1-12.
- Jamila, N., Ullah, R., Alwahsh, M. A. A., Haider, S., Wong, K. ve Ullah, Z. 2011. Secondary metabolites from *Nepeta juncea*. *African Journal of Biotechnology*, 10:77, 17884-17886.
- Jiang, L.-h., Yang, N.-y., Yuan, X.-l., Zou, Y.-j., Zhao, F.-m., Chen, J.-p., Wang, M.-y. ve Lu, D.-x. 2014. Daucosterol promotes the proliferation of neural stem cells. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 140, 90-99.
- Jin, H., Pi, J., Yang, F., Wu, C., Cheng, X., Bai, H., Huang, D., Jiang, J., Cai, J. ve Chen, Z. W. 2016. Ursolic acid-loaded chitosan nanoparticles induce potent anti-angiogenesis in tumor. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100:15, 6643-6652.
- Jouad, H., Maghrani, M. ve Eddouks, M. 2002. Hypoglycaemic effect of *Rubus fruticosus* L. and *Globularia alypum* L. in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 81:3, 351-356.
- Jung, S. H., Ha, Y. J., Shim, E. K., Choi, S. Y., Jin, J. L., Yun-Choi, H. S. ve Lee, J. R. 2007. Insulin-mimetic and insulin-sensitizing activities of a pentacyclic triterpenoid insulin receptor activator. *Biochemical Journal*, 403:2, 243-250.
- Kahkeshani, N., Razzaghirad, Y., Ostad, S. N., Hadjiakhoondi, A., Shams Ardekani, M. R., Hajimehdipoor, H., Attar, H., Samadi, M., Jovel, E. ve Khanavi, M. 2014. Cytotoxic, acetylcholinesterase inhibitor and antioxidant activity of *Nepeta menthoides* Boiss & Buhse essential oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 17:4, 544-552.
- Kalaycıoğlu, L., Serpek, B., Nizamlioğlu, M., Başpınar, N. ve Tiftik, A. 2010. Biyokimya, 4. Baskı. *Nobel Yayın Dağıtım*, 654.
- Karafakıoğlu, Y. S. ve Aksoy, L. 2019. Evaluation Of Minerals, Phenolics, Radical Scavenging Activity, Total Oxidant Status And Total Antioxidant Status Of *Nepeta Viscida* Boiss. *International Journal of Agriculture, Forestry and Life Sciences*, 3:1, 98-105.
- Kariminejad, S., Asgarpanah, J. ve Doust, S. R. H. 2014. Antifungal Activity of Total Extract and Chloroform, Methanol and Aqueous Fractions of Aerial Parts of *Nepeta Depauperata* against 5 Fungal Strains. *Iranian Journal of Public Health*, 43:2, 218.
- Kaska, A., Çiçek, M. ve Mammadov, R. 2019. Biological activities, phenolic constituents and mineral element analysis of two endemic medicinal plants from Turkey: *Nepeta italica* subsp. *cadmea* and *Teucrium sandrasicum*. *South African Journal of Botany*, 124, 63-70.
- Kaska, A., Deniz, N., Çiçek, M. ve Mammadov, R. 2018. Evaluation of antioxidant properties, phenolic compounds, anthelmintic, and cytotoxic activities of various extracts isolated from *Nepeta cadmea*: an endemic plant for Turkey. *Journal of Food Science*, 83:6, 1552-1559.
- Kaur, P., Shukla, S. ve Gupta, S. 2008. Plant flavonoid apigenin inactivates Akt to trigger apoptosis in human prostate cancer: an in vitro and in vivo study. *Carcinogenesis*, 29:11, 2210-2217.
- Keha, E. ve Küfrevioğlu, Ö. 2015. Biyokimya. 11. Baskı, 635s. *Erzurum: Aktif Yayınevi*.

- Khaladgi, M., Jamzad, M. ve Mirahmadpour, P. 2018. Total Phenolic and Flavonoid Contents, Antioxidant and Antimicrobial Activity of *Nepeta binaludensis* Jamzad Extracts. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 13:2.
- Kiliç, O., Behcet, L. ve Bağcı, E. 2013. Essential oil compounds of three *Nepeta* L. taxa from Turkey and their chemotaxonomy. *Asian Journal of Chemistry*, 25:14, 8181-8183.
- Kılıç, Ö. ve Kökten, K. 2020. Essential oil and fatty acid compounds of some endemic plant species from Turkey. *İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*:2, 7-9.
- Kiliç, T., Dirmenci, T. ve Gören, A. C. 2007. Fatty acid composition of seeds of some species of *Nepeta* L. *Natural Product Research*, 21:5, 465-468.
- Kırmızıbekmez, H. 1999. *Globularia trichosantha* Fisch. & Mey. Üzerinde fitokimyasal araştırmalar, HÜ Sağlık Bilimleri Enst. Yüksek Lisans Tezi
- Klaunig, J. E., Wang, Z., Pu, X. ve Zhou, S. 2011. Oxidative stress and oxidative damage in chemical carcinogenesis. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 254:2, 86-99.
- Klimek, B. ve Modnicki, D. 2005. Terpenoids and sterols from *Nepeta cataria* L. var. *citriodora* (Lamiaceae). *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, 62:3, 231-235.
- Kobayashi, S. 2006. UVB-induced skin damage and the protection/treatment-effects of a novel, hydrophilic gamma-tocopherol derivative. *Journal-Pharmaceutical Society of Japan*, 126:9, 677.
- Koçancı, F. G. ve Aslım, B. 2016. Structure and functions of acetylcholinesterase and acetylcholinesterase inhibitory activity of plants. *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences*, 6:1, 19-35.
- Koh, L. W., Wong, L. L., Loo, Y. Y., Kasapis, S. ve Huang, D. 2010. Evaluation of different teas against starch digestibility by mammalian glycosidases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58:1, 148-154.
- Kokotos, G. 2003. Inhibition of digestive lipases by 2-oxo amide triacylglycerol analogues. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 22:5-6, 255-269.
- Kolak, U., HACİBEKİROĞLU, I., Öztürk, M., Özgökçe, F., Topcu, G. ve Ulubelen, A. 2009. Antioxidant and anticholinesterase constituents of *Salvia pocalata*. *Turkish Journal of Chemistry*, 33:6, 813-823.
- Kopelman, P. G. 2000. Obesity as a medical problem. *Nature*, 404:6778, 635-643.
- Köksal, E., Tohma, H., Kılıç, Ö., Alan, Y., Aras, A., Gülçin, I. ve Bursal, E. 2017. Assessment of antimicrobial and antioxidant activities of *Nepeta trachonitica*: analysis of its phenolic compounds using HPLC-MS/MS. *Scientia Pharmaceutica*, 85:2, 24.
- Kumar, D., Singh, R. ve Farooq, S. 2016. In vitro antimicrobial activity of β -sitosterol identified in petroleum ether extract of fruits of *Helicteres isora* Linn. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 6:1, 841-849.
- Kumazawa, Y., Kawaguchi, K. ve Takimoto, H. 2006. Immunomodulating effects of flavonoids on acute and chronic inflammatory responses caused by tumor necrosis factor α . *Current Pharmaceutical Design*, 12:32, 4271-4279.
- Kunkel, S. D., Elmore, C. J., Bongers, K. S., Ebert, S. M., Fox, D. K., Dyle, M. C., Bullard, S. A. ve Adams, C. M. 2012. Ursolic acid increases skeletal muscle and brown fat and decreases diet-induced obesity, glucose intolerance and fatty liver disease. *PLoS One*, 7:6, e39332.
- Kunkel, S. D., Suneja, M., Ebert, S. M., Bongers, K. S., Fox, D. K., Malmberg, S. E., Alipour, F., Shields, R. K. ve Adams, C. M. 2011. mRNA expression signatures of human

- skeletal muscle atrophy identify a natural compound that increases muscle mass. *Cell Metabolism*, 13:6, 627-638.
- Kurek, A., Markowska, K., Grudniak, A. M., Janiszowska, W. ve Wolska, K. I. 2014. The effect of oleanolic and ursolic acids on the hemolytic properties and biofilm formation of *Listeria monocytogenes*. *Polish Journal of Microbiology*, 63, 21-25.
- Kwon, O., Eck, P., Chen, S., Corpe, C. P., Lee, J. H., Kruhlak, M. ve Levine, M. 2007. Inhibition of the intestinal glucose transporter GLUT2 by flavonoids. *The FASEB Journal*, 21:2, 366-377.
- Lai, X., Wichers, H. J., Soler-Lopez, M. ve Dijkstra, B. W. 2018. Structure and function of human tyrosinase and tyrosinase-related proteins. *Chemistry–A European Journal*, 24:1, 47-55.
- Lawrence, B. 1992. Chemical components of Labiatae oils and their exploitation. *Advances in Labiatae Science*, 399-436.
- Lee, D. G., Lee, A. Y., Kim, S.-J., Jung, Y.-S., Lee, D.-H., Cho, E. J. ve Lee, S. 2014. Antibacterial phytosterols and alkaloids from *Lycoris radiata*. *Natural Product Sciences*, 20:2, 107-112.
- Lee, H., Kim, B. G., Kim, M. ve Ahn, J.-H. 2015. Biosynthesis of two flavones, apigenin and genkwanin, in *Escherichia coli*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25:9, 1442-1448.
- Lee, J.-H., Lee, J. Y., Park, J. H., Jung, H. S., Kim, J. S., Kang, S. S., Kim, Y. S. ve Han, Y. 2007. Immunoregulatory activity by daucosterol, a β -sitosterol glycoside, induces protective Th1 immune response against disseminated Candidiasis in mice. *Vaccine*, 25:19, 3834-3840.
- Levi, S., Haddad, G., Ghosh, P., Beardshall, K., Playford, R. ve Calam, J. 1989. *Campylobacter pylori* and duodenal ulcers: the gastrin link. *The Lancet*, 333:8648, 1167-1168.
- Lewinska, A., Adamczyk-Grochala, J., Kwasniewicz, E., Deregowska, A. ve Wnuk, M. 2017. Ursolic acid-mediated changes in glycolytic pathway promote cytotoxic autophagy and apoptosis in phenotypically different breast cancer cells. *Apoptosis*, 22:6, 800-815.
- Li, J.-S., Wang, W.-J., Sun, Y., Zhang, Y.-H. ve Zheng, L. 2015. Ursolic acid inhibits the development of nonalcoholic fatty liver disease by attenuating endoplasmic reticulum stress. *Food & Function*, 6:5, 1643-1651.
- Li, S., Hu, X., Pan, J., Gong, D. ve Zhang, G. 2021. Mechanistic insights into the inhibition of pancreatic lipase by apigenin: Inhibitory interaction, conformational change and molecular docking studies. *Journal of Molecular Liquids*, 335, 116505.
- Li, S., Meng, F., Liao, X., Wang, Y., Sun, Z., Guo, F., Li, X., Meng, M., Li, Y. ve Sun, C. 2014. Therapeutic role of ursolic acid on ameliorating hepatic steatosis and improving metabolic disorders in high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease rats. *PLoS One*, 9:1, e86724.
- Li, W., Zhang, H., Nie, M., Tian, Y., Chen, X., Chen, C., Chen, H. ve Liu, R. 2017. Ursolic acid derivative FZU-03,010 inhibits STAT3 and induces cell cycle arrest and apoptosis in renal and breast cancer cells. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 49:4, 367-373.
- Liang, F., Shi, Y., Cao, W. ve Shi, J. 2022. The inhibition mechanisms of pancreatic lipase by apigenin and its anti-obesity mechanisms revealed by using network pharmacology. *Food Bioscience*, 45, 101515.
- Liu, H. R., Ahmad, N., Lv, B. ve Li, C. 2021a. Advances in production and structural derivatization of the promising molecule ursolic acid. *Biotechnology Journal*, 16:11, 2000657.

- Liu, L., Gao, Q., Zhang, Z. ve Zhang, X. 2021b. Elsholtzia rugulosa: Phytochemical Profile and Antioxidant, Anti-Alzheimer's Disease, Antidiabetic, Antibacterial, Cytotoxic and Hepatoprotective Activities. *Plant Foods for Human Nutrition*, 1-6.
- Liu, R. H. 2004. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *The Journal of Nutrition*, 134:12, 3479S-3485S.
- Loesche, A., Köwitsch, A., Lucas, S. D., Al-Halabi, Z., Sippl, W., Al-Harrasi, A. ve Csuk, R. 2019. Ursolic and oleanolic acid derivatives with cholinesterase inhibiting potential. *Bioorganic Chemistry*, 85, 23-32.
- Lu, J., Wu, D.-m., Zheng, Y.-l., Hu, B., Zhang, Z.-f., Ye, Q., Liu, C.-m., Shan, Q. ve Wang, Y.-j. 2010. Ursolic acid attenuates D-galactose-induced inflammatory response in mouse prefrontal cortex through inhibiting AGEs/RAGE/NF- κ B pathway activation. *Cerebral Cortex*, 20:11, 2540-2548.
- Luo, J., Hu, Y. L. ve Wang, H. 2017. Ursolic acid inhibits breast cancer growth by inhibiting proliferation, inducing autophagy and apoptosis, and suppressing inflammatory responses via the PI3K/AKT and NF- κ B signaling pathways in vitro. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 14:4, 3623-3631.
- Luo, W., Zhao, M., Yang, B., Shen, G. ve Rao, G. 2009. Identification of bioactive compounds in *Phyllanthus emblica* L. fruit and their free radical scavenging activities. *Food Chemistry*, 114:2, 499-504.
- Madeleine, D. T., Noël, N. J., Theodore, A. A. d., Abdoulaye, H., Emmanuel, T., Laurent, S., Henoumont, C., Leonel, D. T. C. ve Tanyi, J. M. 2020. Antioxidant Activity and Chemical Constituents from Stem Bark of *Ficus abutilifolia*. Miq (Moraceae). *European Journal of Medicinal Plants*, 31:13, 48-59.
- Mahalleh, A. A., Sharayei, P., Azarpazhooh, E. ve Ramaswamy, H. S. 2019. Evaluation of the oxidation kinetics and stability of soybean oil supplemented with ethanolic extract of *Nepeta* (*Nepeta binaludensis* Jamzad) as compared to butylated hydroxytoluene. *Chemical Papers*, 73:9, 2231-2239.
- Malik, T., Roy, P., Shafi, Z., Okram, A. ve Pandey, D. K. 2018. Phytochemicals, Antioxidant and Antidiabetic Properties of *Nepeta cateria* and *Arnebia benthamii* of Kashmir (India). *Research & Reviews: Journal of Herbal Science*, 5:2, 6-13.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C. ve Jiménez, L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79:5, 727-747.
- Manandhar, S., Luitel, S. ve Dahal, R. K. 2019. In vitro antimicrobial activity of some medicinal plants against human pathogenic bacteria. *Journal of Tropical Medicine*, 2019.
- Mandar, B. K., Khanal, P., Patil, B., Dey, Y. N. ve Pasha, I. 2021. In silico analysis of phytoconstituents from *Tinospora cordifolia* with targets related to diabetes and obesity. *In Silico Pharmacology*, 9:1, 3.
- Mangmool, S., Kunpukpong, I., Kitphati, W. ve Anantachoke, N. 2021. Antioxidant and Anticholinesterase Activities of Extracts and Phytochemicals of *Syzygium antisepticum* Leaves. *Molecules*, 26:11, 3295.
- Martínez, V. M. V., Estrada-Soto, S. E., de Jesús Arellano-García, J., Rivera-Leyva, J. C., Castillo-España, P., Flores, A. F., Cardoso-Taketa, A. T. ve Perea-Arango, I. 2017. Methyl jasmonate and salicylic acid enhanced the production of ursolic and oleanolic acid in callus cultures of *Lepechinia caulescens*. *Pharmacognosy Magazine*, 13:Suppl 4, S886.
- Massoulié, J., Pezzementi, L., Bon, S., Krejci, E. ve Vallette, F.-M. 1993. Molecular and cellular biology of cholinesterases. *Progress in Neurobiology*, 41:1, 31-91.

- Mat, Z., Grensemann, B., Yakin, Y., Knobloch, J. ve Koch, A. 2012. Effect of lipoteichoic acid on IL-2 and IL-5 release from T lymphocytes in asthma and COPD. *International Immunopharmacology*, 13:3, 284-291.
- Mayur, B., Sandesh, S., Shruti, S. ve Sung-Yum, S. 2010. Antioxidant and α -glucosidase inhibitory properties of *Carpesium abrotanoides* L. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4:15, 1547-1553.
- McGeer, E. G. ve McGeer, P. L. 2003. Clinically tested drugs for Alzheimer's disease. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 12:7, 1143-1151.
- Mehta, M., Adem, A. ve Sabbagh, M. 2012. New acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *International Journal of Alzheimer's disease*, 2012.
- Memariani, Z., Rahimi, A., Farzaei, M. H. ve Nejad, N. Z. 2019. *Nepeta menthoides* Boiss. & Buhse, an endemic species in Iran: A review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Herbmmed Pharmacology*, 8:3, 194-204.
- Mendes, E., Perry, M. d. J. ve Francisco, A. P. 2014. Design and discovery of mushroom tyrosinase inhibitors and their therapeutic applications. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 9:5, 533-554.
- Miceli, N., Taviano, M., Giuffrida, D., Trovato, A., Tzakou, O. ve Galati, E. 2005. Anti-inflammatory activity of extract and fractions from *Nepeta sibthorpii* Benth. *Journal of Ethnopharmacology*, 97:2, 261-266.
- Middleton, E., Kandaswami, C. ve Theoharides, T. C. 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52:4, 673-751.
- Mikail, A., OZCAN, T., SATIL, F. ve Dirmenci, T. 2011. A comparative anatomical study on two endemic *Nepeta* L. species *N. baytopii* and *N. sorgerae*. *Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma*, 4:3, 58-70.
- Mirjalili, M. H., Sonboli, A., Aliahmadi, A. ve Goldansaz, S. M. 2021. Effect of Solvent Type on Rosmarinic Acid, Total Phenol, Flavonoids, and Antioxidant Activity of *Nepeta asterotricha* Rech. f: An Endemic Plant from Iran. *Journal of Medicinal plants and By-product*, 10:Special, 89-93.
- Mohamed, R., Pineda, M. ve Aguilar, M. 2007. Antioxidant capacity of extracts from wild and crop plants of the Mediterranean region. *Journal of Food Science*, 72:1, S059-S063.
- Moreno, M. a. I. N., Isla, M. a. I., Sampietro, A. R. ve Vattuone, M. A. 2000. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *Journal of Ethnopharmacology*, 71:1-2, 109-114.
- Moshari Nasirkandi, A., Alirezalu, A. ve Bahadori, S. 2019. Phenolic compounds and antioxidant activity of *Nepeta fissa*-first report from Iran. *Natural Product Research*, 1-4.
- Motaghed, M., Nili-Ahmadabadi, A. ve Moradkhani, S. 2022. Assessment of the anti-oxidative potential of *Nepeta crispa* Willd.(Lamiaceae) and its effects on oxidative stability of virgin sunflower oil under accelerated storage conditions. *Journal of Medicinal Plants*, 21:82, 13-27.
- Motamed, S. M. ve Naghibi, F. 2010. Antioxidant activity of some edible plants of the Turkmen Sahra region in northern Iran. *Food Chemistry*, 119:4, 1637-1642.
- Mothana, R. A. 2012. Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Essential Oil of *Nepeta deflersiana* Growing in Yemen. *Records of Natural Products*, 6:2.

- Mukherjee, P. K., Maiti, K., Mukherjee, K. ve Houghton, P. J. 2006. Leads from Indian medicinal plants with hypoglycemic potentials. *Journal of Ethnopharmacology*, 106:1, 1-28.
- Mukhopadhyay, D., Dasgupta, P., Roy, D. S., Palchoudhuri, S., Chatterjee, I., Ali, S. ve Dastidar, S. G. 2016. A Sensitive In vitro Spectrophotometric Hydrogen Peroxide Scavenging Assay using 1, 10-Phenanthroline. *Free Radicals & Antioxidants*, 6:1.
- Mustafa, S., Nazir, M., Riaz, N., Saleem, M., Tauseef, S., Tousif, M. I., Abbas, Z., Kamran, A. B., Alaerjani, W. M. A. ve Alarfaji, S. S. 2023. In vitro and in silico bioactivities and chemical profiling of *Nepeta leucolaena* to validate its use in nutraceutical or biopharmaceutical applications. *Process Biochemistry*, 125, 61-74.
- Mutlu, S., Atici, O. ve Esim, N. 2010. Bioherbicidal effects of essential oils of *Nepeta meyeri* Benth. on weed spp. *Allelopathy Journal*, 26:2, 291-300.
- Nayaka, H. B., Londonkar, R. L., Umesh, M. K. ve Tukappa, A. 2014. Antibacterial attributes of apigenin, isolated from *Portulaca oleracea* L. *International Journal of Bacteriology*, 2014.
- Nelson, D. L. 2005. *Lehninger biyokimyanın ilkeleri*. Palme Yayınları,
- Nestorović Živković, J., Živković, S., Šiler, B., Aničić, N., Dmitrović, S., Divac-Rankov, A., Giba, Z. ve Mišić, D. 2018. Differences in bioactivity of three endemic *Nepeta* species arising from main terpenoid and phenolic constituents. *Archives of Biological Sciences*, 70:1, 63-76.
- Nicholas, C., Batra, S., Vargo, M. A., Voss, O. H., Gavrilin, M. A., Wewers, M. D., Guttridge, D. C., Grotewold, E. ve Doseff, A. I. 2007. Apigenin blocks lipopolysaccharide-induced lethality in vivo and proinflammatory cytokines expression by inactivating NF- κ B through the suppression of p65 phosphorylation. *The Journal of Immunology*, 179:10, 7121-7127.
- Nishikimi, M., Rao, N. A. ve Yagi, K. 1972. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 46:2, 849-854.
- Noel, S., Kasinathan, M. ve Rath, S. K. 2006. Evaluation of apigenin using in vitro cytochalasin blocked micronucleus assay. *Toxicology In vitro*, 20:7, 1168-1172.
- Numonov, S., Edirs, S., Bobakulov, K., Qureshi, M. N., Bozorov, K., Sharopov, F., Setzer, W. N., Zhao, H., Habasi, M. ve Sharofova, M. 2017. Evaluation of the antidiabetic activity and chemical composition of *Geranium collinum* root extracts—Computational and experimental investigations. *Molecules*, 22:6, 983.
- Nweze, C., Ibrahim, H. ve Ndukwe, G. 2019. Beta-sitosterol with antimicrobial property from the stem bark of pomegranate (*Punica granatum* Linn). *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 23:6, 1045-1049.
- Nyambe-Silavwe, H., Villa-Rodriguez, J. A., Ifie, I., Holmes, M., Aydin, E., Jensen, J. M. ve Williamson, G. 2015. Inhibition of human α -amylase by dietary polyphenols. *Journal of Functional Foods*, 19, 723-732.
- Nyemb, J., Djankou, M., Talla, E., Tchinda, A. ve Ngoudjou, D. 2018. Antimicrobial, α -Glucosidase and Alkaline Phosphatase Inhibitory Activities of Bergenin, The Major Constituent of *Cissus populnea* Roots. *Medicinal Chemistry*, 8, 426-430.
- O'prey, J., Brown, J., Fleming, J. ve Harrison, P. R. 2003. Effects of dietary flavonoids on major signal transduction pathways in human epithelial cells. *Biochemical Pharmacology*, 66:11, 2075-2088.

- Ododo, M. M., Choudhury, M. K. ve Dekebo, A. H. 2016. Structure elucidation of β -sitosterol with antibacterial activity from the root bark of *Malva parviflora*. *SpringerPlus*, 5:1, 1-11.
- Oliveira Pinho, J., Matias, M. ve Gaspar, M. M. 2019. Emergent nanotechnological strategies for systemic chemotherapy against melanoma. *Nanomaterials*, 9:10, 1455.
- Oloyede, H., Ajiboye, H., Salawu, M. ve Ajiboye, T. 2017. Influence of oxidative stress on the antibacterial activity of betulin, betulinic acid and ursolic acid. *Microbial Pathogenesis*, 111, 338-344.
- Onoda, Y., Takido, M., Magaribuchi, T. ve Tamaki, H. 1990. Effects of 12-sulfodehydroabietic acid monosodium salt (TA-2711), a new anti-ulcer agent, on gastric mucosal lesions induced by necrotizing agents and gastric mucosal defensive factors in rats. *The Japanese Journal of Pharmacology*, 52:4, 631-638.
- Orfali, R., Siddiqui, N. A., Alam, P., Alhowiriny, T. A., Al-Taweel, A. M., Al-Yahya, S., Majrashi, N. M., Mehmood, R., Khan, S. I. ve Perveen, S. 2018. Biological evaluation of different extracts of aerial parts of *nepeta deflersiana* and standardization of active extracts using 8-Epi-7-deoxyloganin acid and ursolic acid by validated HPTLC method. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018.
- Oyaizu, M. 1986. Studies on products of browning reaction. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44:6, 307-315.
- Ozen, T., Bora, N., Yenigun, S. ve Korkmaz, H. 2020. An investigation of chemical content, enzyme inhibitory property, antioxidant and antibacterial activity of *Aristolochia bodanensis* Dingler (deleviotu)(Aristolochiaceae) root extracts from Samsun, Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*, 35:3, 270-283.
- Ozen, T., Kızıl, D., Yenigun, S., Cesur, H. ve Turkekul, İ. 2019. Evaluation of Bioactivities, Phenolic and Metal Content of Ten Wild Edible Mushrooms from Western Black Sea Region of Turkey. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 21:10, 979-994.
- Ozen, T., Yenigun, S., Altun, M. ve Demirtas, I. 2017. Phytochemical Constituents, ChEs and Urease Inhibitions, Antiproliferative and Antioxidant Properties of *Elaeagnus umbellata* Thunb. *Comb Chem High Throughput Screen*, 20:6, 559-578.
- Ozen, T., Yenigun, S. ve Toka, M. 2022. Phenolic profile, antioxidant, DNA protection, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase and urease inhibition activities of *Coriandrum sativum* L. leaf, seed and flower extracts. *International Journal of Chemistry and Technology*, 6:1, 21-32.
- Özata, A. ve Kutlu, M. 2000. *Enzimoloji ders notları*. Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi,
- Özçelik, A. B., Gökçe, M., Orhan, I. ve Sahin, M. F. 2010. Synthesis and Acetylcholinesterase/Butyrylcholinesterase Inhibitory Activities of (Substituted/Nonsubstituted Benzal)Hydrazone Derivatives of 3-(6-Substituted-3(2H)-Pyridazinon-2-yl) propionohydrazides. *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*, 35:3, 153.
- Özçelik, B., Kartal, M. ve Orhan, I. 2011. Cytotoxicity, antiviral and antimicrobial activities of alkaloids, flavonoids, and phenolic acids. *Pharmaceutical Biology*, 49:4, 396-402.
- Öztürk, R. ve Aktuğlu, Y. 2002. *Akılcı antibiyotik kullanımı ve erişkinde toplumdan edinilmiş enfeksiyonlar*. İ. Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Komisyonu,
- Özyürek, M., Bektaşoğlu, B., Güçlü, K. ve Apak, R. 2008. Hydroxyl radical scavenging assay of phenolics and flavonoids with a modified cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC) method using catalase for hydrogen peroxide degradation. *Analytica Chimica Acta*, 616:2, 196-206.

- Pagadala, N. S., Syed, K. ve Tuszynski, J. 2017. Software for molecular docking: a review. *Biophysical Reviews*, 9:2, 91-102.
- Palmer, T. ve Bonner, P. L. 2007. *Enzymes: biochemistry, biotechnology, clinical chemistry*. Elsevier,
- Pandey, V., Chaube, B. ve Bhat, M. K. 2011. Hyperglycemia regulates MDR-1, drug accumulation and ROS levels causing increased toxicity of carboplatin and 5-fluorouracil in MCF-7 cells. *Journal of Cellular Biochemistry*, 112:10, 2942-2952.
- Paniagua-Pérez, R., Flores-Mondragón, G., Reyes-Legorreta, C., Herrera-López, B., Cervantes-Hernández, I., Madrigal-Santillán, O., Morales-González, J. A., Álvarez-González, I. ve Madrigal-Bujaidar, E. 2017. Evaluation of the anti-inflammatory capacity of beta-sitosterol in rodent assays. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 14:1, 123-130.
- Papachristou, F., Chatzaki, E., Petrou, A., Kougioumtzi, I., Katsikogiannis, N., Papalambros, A., Tripsianis, G., Simopoulos, C. ve Tsaroucha, A. K. 2013. Time course changes of anti-and pro-apoptotic proteins in apigenin-induced genotoxicity. *Chinese Medicine*, 8:1, 1-8.
- Park, Y. J., Bang, I. J., Jeong, M. H., Kim, H. R., Lee, D. E., Kwak, J. H. ve Chung, K. H. 2019. Effects of β -Sitosterol from Corn Silk on TGF- β 1-Induced Epithelial–Mesenchymal Transition in Lung Alveolar Epithelial Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67:35, 9789-9795.
- Patel, D., Shukla, S. ve Gupta, S. 2007. Apigenin and cancer chemoprevention: progress, potential and promise. *International Journal of Oncology*, 30:1, 233-245.
- Pateraki, I., Heskes, A. M. ve Hamberger, B. 2015. Cytochromes P450 for terpene functionalisation and metabolic engineering. *Biotechnology of Isoprenoids*, 107-139.
- Patial, P. K., Sharma, A., Kaur, I. ve Cannoo, D. S. 2019. Correlation study among the extraction techniques, phytochemicals, and antioxidant activity of *Nepeta spicata* aerial part. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 20, 101275.
- Petrova, D., Gašić, U., Yocheva, L., Hinkov, A., Yordanova, Z., Chaneva, G., Mantovska, D., Paunov, M., Ivanova, L. ve Rogova, M. 2022. Catmint (*Nepeta nuda* L.) Phylogenetics and Metabolic Responses in Variable Growth Conditions. *Frontiers in Plant Science*, 13.
- Pinzi, L. ve Rastelli, G. 2019. Molecular docking: shifting paradigms in drug discovery. *International Journal of Molecular Sciences*, 20:18, 4331.
- Pisoschi, A. M. ve Pop, A. 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55-74.
- Pisoschi, A. M., Pop, A., Cimpeanu, C. ve Predoi, G. 2016. Antioxidant capacity determination in plants and plant-derived products: A review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016.
- Pohanka, M. 2012. Acetylcholinesterase inhibitors: a patent review (2008–present). *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 22:8, 871-886.
- Ponnulakshmi, R., Shyamaladevi, B., Vijayalakshmi, P. ve Selvaraj, J. 2019. In silico and in vivo analysis to identify the antidiabetic activity of beta sitosterol in adipose tissue of high fat diet and sucrose induced type-2 diabetic experimental rats. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 29:4, 276-290.
- Prasad, S., Yadav, V. R., Sung, B., Reuter, S., Kannappan, R., Deorukhkar, A., Diagaradjane, P., Wei, C., Baladandayuthapani, V. ve Krishnan, S. 2012. Ursolic acid inhibits growth and metastasis of human colorectal cancer in an orthotopic nude mouse model by

- targeting multiple cell signaling pathways: chemosensitization with capecitabine. *Clinical Cancer Research*, 18:18, 4942-4953.
- Prieto, P., Pineda, M. ve Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269:2, 337-341.
- Purnomo, Y., Makdasari, J. ve Fatahillah, F. I. 2021. Inhibitory activity of *Urena lobata* leaf extract on alpha-amylase and alpha-glucosidase: in vitro and in silico approach. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 32:4, 889-894.
- Quek, A., Kassim, N. K., Lim, P. C., Tan, D. C., Mohammad Latif, M. A., Ismail, A., Shaari, K. ve Awang, K. 2021. α -Amylase and dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) inhibitory effects of *Melicope latifolia* bark extracts and identification of bioactive constituents using in vitro and in silico approaches. *Pharmaceutical Biology*, 59:1, 962-971.
- Quinn, D. M. 1987. Acetylcholinesterase: enzyme structure, reaction dynamics, and virtual transition states. *Chemical Reviews*, 87:5, 955-979.
- Rabee, M., Andersen, Ø. M., Fossen, T., Enerstvedt, K. H., Abu Ali, H. ve Rayyan, S. 2020. Acylated flavone O-glucuronides from the aerial parts of *Nepeta curviflora*. *Molecules*, 25:17, 3782.
- Ranjbaran, P. ve Moradkhani, S. 2022. Iron Chelating Activity of *Nepeta Crispa* Willd., an Endemic Plant in the West of Iran. *Avicenna Journal of Medical Biochemistry*, 10:1, 65-70.
- Rao, B. N. 2003. Bioactive phytochemicals in Indian foods and their potential in health promotion and disease prevention. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 12:1.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. ve Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26:9-10, 1231-1237.
- Rechinger, K. H. 1982. Flora iranica. *Graz-Austria: Akademik Druck-u Verlagsanstalt*, 150, 292-313.
- Rehman, N. U., Ahmad, N., Hussain, J., Ali, L., Hussain, H., Bakht, N., Al-Harrasi, A. ve Shinwari, Z. K. 2017. One new phthalate derivative from *Nepeta kurramensis*. *Chemistry of Natural Compounds*, 53:3, 426-428.
- Rehman, N. U., Hussain, J., Ali, S., Hussain, H., Abbas, G., Bakht, N., Al-Sabahi, J. N. ve Al-Harrasi, A. 2020. Chemical Constituents of the Essential Oil of *Nepeta distans*. *Chemistry of Natural Compounds*, 56:1, 159-160.
- Reller, L. B., Weinstein, M., Jorgensen, J. H. ve Ferraro, M. J. 2009. Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. *Clinical Infectious Diseases*, 49:11, 1749-1755.
- Riley, P. 1991. Melanogenesis: a realistic target for antimelanoma therapy? *European Journal of Cancer and Clinical Oncology*, 27:9, 1172-1177.
- Roberts, G. C. K. 2013. *Encyclopedia of biophysics*. Springer Berlin,
- Roh, C. ve Jung, U. 2012. *Nepeta japonica* Maximowicz extract from natural products inhibits lipid accumulation. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 92:10, 2195-2199.
- Rosenthal, G. A. ve Berenbaum, M. R. 2012. Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites: Ecological and Evolutionary Processes. *Elsevier Science*, 493.
- Roughton, F. ve Booth, V. 1946. The effect of substrate concentration, pH and other factors upon the activity of carbonic anhydrase. *Biochemical Journal*, 40:2, 319.

- Ruiz, B., Correa, P., Fontham, E. T. ve Ramakrishnan, T. 1996. Antral atrophy, *Helicobacter pylori* colonization, and gastric pH. *American Journal of Clinical Pathology*, 105:1, 96-101.
- Russo, A., Izzo, A. A., Borrelli, F., Renis, M. ve Vanella, A. 2003. Free radical scavenging capacity and protective effect of *Bacopa monniera* L. on DNA damage. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 17:8, 870-875.
- Sagharyan, M., Ganjeali, A., Cheniany, M. ve Mousavi Kouhi, S. M. 2020. Optimization of callus induction with enhancing production of phenolic compounds production and antioxidants activity in callus cultures of *Nepeta binaloudensis* Jamzad (Lamiaceae). *Iranian Journal of Biotechnology*, 18:4, 47-55.
- Sahyouni, R., Brown, N. ve Chen, J. 2017. *Alzheimer's disease decoded: The history, present, and future of Alzheimer's disease and dementia*. World Scientific,
- Salah El Dine, R., Ma, Q., Kandil, Z. A. ve El-Halawany, A. M. 2014. Triterpenes as uncompetitive inhibitors of α -glucosidase from flowers of *Punica granatum* L. *Natural Product Research*, 28:23, 2191-2194.
- Sanches, N. R., Garcia Cortez, D. A., Schiavini, M. S., Nakamura, C. V. ve Dias Filho, B. P. 2005. An evaluation of antibacterial activities of *Psidium guajava* (L.). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48, 429-436.
- Sancheti, S., Sancheti, S. ve Seo, S.-Y. 2010. Evaluation of antiglycosidase and anticholinesterase activities of *Boehmeria nivea*. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 23:2.
- Sánchez-Marzo, N., Pérez-Sánchez, A., Ruiz-Torres, V., Martínez-Tébar, A., Castillo, J., Herranz-López, M. ve Barrajón-Catalán, E. 2019. Antioxidant and photoprotective activity of apigenin and its potassium salt derivative in human keratinocytes and absorption in Caco-2 cell monolayers. *International Journal of Molecular Sciences*, 20:9, 2148.
- Saravanan, R., Viswanathan, P. ve Pugalandi, K. V. 2006. Protective effect of ursolic acid on ethanol-mediated experimental liver damage in rats. *Life Sciences*, 78:7, 713-718.
- Sari, B. L., Munâ, A., Yanuar, A. ve Riadhi, R. 2016. Screening of α -Glucosidase Inhibitors From *Terminalia catappa* L. Fruits Using Molecular Docking Method And In vitro Test. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 184-189.
- Sarikurkcü, C., Ceylan, O., Targan, S. ve Zeljković, S. Ć. 2018. Chemical composition and biological activities of the essential oils of two endemic *Nepeta* species. *Industrial Crops and Products*, 125, 5-8.
- Sarikurkcü, C., Eskici, M., Karanfil, A. ve Tepe, B. 2019. Phenolic profile, enzyme inhibitory and antioxidant activities of two endemic *Nepeta* species: *Nepeta nuda* subsp. *glandulifera* and *N. cadmea*. *South African Journal of Botany*, 120, 298-301.
- Sarkar, T., Bharadwaj, K. K., Salauddin, M., Pati, S. ve Chakraborty, R. 2022. Phytochemical characterization, antioxidant, anti-inflammatory, anti-diabetic properties, molecular docking, pharmacokinetic profiling, and network pharmacology analysis of the major phytoconstituents of raw and differently dried *Mangifera indica* (himsagar cultivar): an in vitro and in silico investigations. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 194:2, 950-987.
- Savci, A., Koçpinar, E. F., Yusuf, A. ve Kürşat, M. 2020. *Nepeta transcaucasica* Ekstraktının HPLC ile Fenolik Madde İçeriğinin Tayini, Antimikrobiyal, Antioksidan ve DNA Koruyucu Aktivitelerinin Belirlenmesi. *Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8:2, 797-803.

- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C. ve Jiménez, L. 2005. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45:4, 287-306.
- Schippmann, U., Leaman, D. J. ve Cunningham, A. 2002. Impact of cultivation and gathering of medicinal plants on biodiversity: global trends and issues. *Biodiversity and The Ecosystem Approach in Agriculture, Forestry and Fisheries*.
- Sehrawat, A., Roy, R., Pore, S. K., Hahm, E.-R., Samanta, S. K., Singh, K. B., Kim, S.-H., Singh, K. ve Singh, S. V. (2017). Mitochondrial dysfunction in cancer chemoprevention by phytochemicals from dietary and medicinal plants. *Seminars in Cancer Biology*, Elsevier, 147-153.
- Seladji, M., Bekhechi, C., Beddou, F., Hanane, D. ve Bendimerad, N. 2014. Antioxidant activity and phytochemical screening of *Nepeta nepetella* aqueous and methanolic extracts from Algeria. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4:2, 12.
- Sesterhenn, K., Distl, M. ve Wink, M. 2007. Occurrence of iridoid glycosides in in vitro cultures and intact plants of *Scrophularia nodosa* L. *Plant Cell Reports*, 26:3, 365-371.
- Sevgi, K., Tepe, B. ve Sarikurkcü, C. 2015. Antioxidant and DNA damage protection potentials of selected phenolic acids. *Food and Chemical Toxicology*, 77, 12-21.
- Shakeri, A., Khakdan, F., Soheili, V., Sahebkar, A., Rassam, G. ve Asili, J. 2014. Chemical composition, antibacterial activity, and cytotoxicity of essential oil from *Nepeta ucrainica* L. spp. *kopetdagensis*. *Industrial Crops and Products*, 58, 315-321.
- Shanak, S., Bassalat, N., Albzoor, R., Kadan, S. ve Zaid, H. 2021. In vitro and in silico evaluation for the inhibitory action of *O. basilicum* methanol extract on α -glucosidase and α -amylase. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021.
- Sharifi-Rad, M., Epifano, F., Fiorito, S. ve Álvarez-Suarez, J. M. 2020. Phytochemical Analysis and Biological Investigation of *Nepeta juncea* Benth. Different Extracts. *Plants*, 9:5, 646.
- Sharififar, F., Dehghn-Nudeh, G. ve Mirtajaldini, M. 2009. Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium* L. *Food Chemistry*, 112:4, 885-888.
- Sharma, A. ve Cannoo, D. S. 2013. Phytochemical composition of essential oils isolated from different species of genus *Nepeta* of Labiatae family: a review. *Pharmacophore*, 4:6.
- Sharma, A. ve Cannoo, D. S. 2016. Effect of extraction solvents/techniques on polyphenolic contents and antioxidant potential of the aerial parts of *Nepeta leucophylla* and the analysis of their phytoconstituents using RP-HPLC-DAD and GC-MS. *RSC Advances*, 6:81, 78151-78160.
- Sharmila, R. ve Sindhu, G. 2017. Evaluate the Antigenotoxicity and anticancer role of β -Sitosterol by determining oxidative DNA damage and the expression of phosphorylated mitogen-activated protein Kinases', C-fos, C-Jun, and endothelial growth factor receptor. *Pharmacognosy Magazine*, 13:49, 95.
- Sheng, Z., Dai, H., Pan, S., Ai, B., Zheng, L., Zheng, X., Prinyawiwatukul, W. ve Xu, Z. 2017. Phytosterols in banana (*Musa* spp.) flower inhibit α -glucosidase and α -amylase hydrolyses and glycation reaction. *International Journal of Food Science & Technology*, 52:1, 171-179.
- Sheng, Z., Dai, H., Pan, S., Wang, H., Hu, Y. ve Ma, W. 2014. Isolation and characterization of an α -glucosidase inhibitor from *Musa* spp.(Baxijiao) flowers. *Molecules*, 19:7, 10563-10573.
- Sheweita, S., Newairy, A., Mansour, H. ve Yousef, M. 2002. Effect of some hypoglycemic herbs on the activity of phase I and II drug-metabolizing enzymes in alloxan-induced diabetic rats. *Toxicology*, 174:2, 131-139.

- Shih, Y.-H., Chein, Y.-C., Wang, J.-Y. ve Fu, Y.-S. 2004. Ursolic acid protects hippocampal neurons against kainate-induced excitotoxicity in rats. *Neuroscience Letters*, 362:2, 136-140.
- Shim, Y.-J., Doo, H.-K., Ahn, S.-Y., Kim, Y.-S., Seong, J.-K., Park, I.-S. ve Min, B.-H. 2003. Inhibitory effect of aqueous extract from the gall of *Rhus chinensis* on alpha-glucosidase activity and postprandial blood glucose. *Journal of Ethnopharmacology*, 85:2-3, 283-287.
- Shin, G.-C., Kim, C., Lee, J.-M., Cho, W.-S., Lee, S.-G., Jeong, M., Cho, J. ve Lee, K. 2009. Apigenin-induced apoptosis is mediated by reactive oxygen species and activation of ERK1/2 in rheumatoid fibroblast-like synoviocytes. *Chemico-Biological Interactions*, 182:1, 29-36.
- Shinwari, Z. K., Ahmad, N., Hussain, J. ve Rehman, N. U. 2013. Antimicrobial evaluation and proximate profile of *Nepeta leavigata*, *Nepeta kurramensis* and *Rhynchosia reniformis*. *Pak. J. Bot*, 45:1, 253-259.
- Si, D., Wang, Y., Zhou, Y.-H., Guo, Y., Wang, J., Zhou, H., Li, Z.-S. ve Fawcett, J. P. 2009. Mechanism of CYP2C9 inhibition by flavones and flavonols. *Drug Metabolism and Disposition*, 37:3, 629-634.
- Siddique, A. A., Bhakuni, R. S., Misra, L., Gupta, P. ve Darokar, M. P. 2017a. New triglycerides from antimicrobial extracts of *Nepeta hindostana* weed.
- Siddique, A. A., Bhakuni, R. S., Misra, L., Gupta, P. ve Darokar, M. P. 2017b. New triglycerides from antimicrobial extracts of *Nepeta hindostana* weed. *Indian Journal of Chemistry*, 56, 542-550.
- Siddique, Y. H. ve Afzal, M. 2009. Antigenotoxic effect of apigenin against mitomycin C induced genotoxic damage in mice bone marrow cells. *Food and Chemical Toxicology*, 47:3, 536-539.
- Siddique, Y. H., Beg, T. ve Afzal, M. 2008. Antigenotoxic effect of apigenin against anti-cancerous drugs. *Toxicology In vitro*, 22:3, 625-631.
- Siddiqui, M. W., Prasad, K. ve Bansal, V. 2017. *Plant Secondary Metabolites, Three-Volume Set*. CRC Press,
- Silva, M. G. V., Vieira, Í. G., Mendes, F. N., Albuquerque, I. L., Dos Santos, R. N., Silva, F. O. ve Morais, S. M. 2008. Variation of ursolic acid content in eight *Ocimum* species from northeastern Brazil. *Molecules*, 13:10, 2482-2487.
- Singh, J. ve Dhaliwal, A. S. 2019. Novel green synthesis and characterization of the antioxidant activity of silver nanoparticles prepared from *nepeta leucophylla* root extract. *Analytical Letters*, 52:2, 213-230.
- Skaltsa, H. D., Lazari, D. M., Loukis, A. E. ve Constantinidis, T. 2000. Essential oil analysis of *Nepeta argolica* Bory & Chaub. subsp. *argolica* (Lamiaceae) growing wild in Greece. *Flavour and Fragrance Journal*, 15:2, 96-99.
- Skim, F., Kaaya, A., Jaouhari, J., Lazrek, H., Jana, M. ve El Amri, H. 1999a. Hypoglycaemic activity of *Globularia alypum* leaves in rats. *Fitoterapia*, 70:4, 382-389.
- Skim, F., Lazrek, H., Kaaya, A., El Amri, H. ve Jana, M. 1999b. Pharmacological studies of two antidiabetic plants: *Globularia alypum* and *Zygophyllum gaetulum*. *Therapie*, 54:6, 711-715.
- Slominski, A. T. ve Carlson, J. A. (2014). Melanoma resistance: a bright future for academicians and a challenge for patient advocates. *Mayo Clinic Proceedings*, Elsevier, 429-433.
- Smith, H. J. ve Simons, C. 2004. *Enzymes and their inhibitors: drug development*. CRC press,

- Somantri, A. D., Kurnia, D., Zainuddin, A., Dharsono, H. D. A. ve Satari, M. H. 2021. Action mode of ursolic acid as a natural antioxidant and inhibitor of superoxide dismutase: In vitro and in silico study. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 12:4, 389.
- Sonboli, A., Gholipour, A., Yousefzadi, M. ve Mojarad, M. 2009. Antibacterial activity and composition of the essential oil of *Nepeta menthoides* from Iran. *Natural Product Communications*, 4:2, 1934578X0900400224.
- Sonboli, A., Salehi, P. ve Yousefzadi, M. 2004. Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oil of *Nepeta crispa* Willd. from Iran. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 59:9-10, 653-656.
- Sökmen, B. B., Aydın, S., Sağkal, Y. ve Akyurt, İ. 2016. Giresun'dan Toplanan *Cystoseira barbata* (Stackhouse) C. Agardh Deniz Yosununun Antioksidan Aktivitesinin İncelenmesi. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 6:14, 66-76.
- Strid ve Kit Tan, K. 1991. *Mountain Flora of Greece*, vol. 2. Edinburgh University Press,
- Sun, J., Dong, S., Wu, Y., Zhao, H., Li, X. ve Gao, W. 2017. Oleanolic acid and ursolic acid as potential inhibitors of human salivary α -amylase: insights from in vitro assays and in silico simulations. *Journal of Molecular Modeling*, 23:8, 1-11.
- Sundaram, A. ve Murthy, T. P. K. 2014. α -amylase production and applications: a review. *Journal of Applied & Environmental Microbiology*, 2:4, 166-175.
- Suppakul, P., Miltz, J., Sonneveld, K. ve Bigger, S. W. 2003. Antimicrobial properties of basil and its possible application in food packaging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:11, 3197-3207.
- Supuran, C. T. 2011. Carbonic anhydrase inhibitors and activators for novel therapeutic applications. *Future Medicinal Chemistry*, 3:9, 1165-1180.
- Supuran, C. T. ve De Simone, G. 2015. *Carbonic anhydrases as biocatalysts: from theory to medical and industrial applications*. Elsevier,
- Supuran, C. T. ve Scozzafava, A. 2000. Carbonic anhydrase inhibitors-Part 94. 1, 3, 4-Thiadiazole-2-sulfonamide derivatives as antitumor agents? *European journal of Medicinal Chemistry*, 35:9, 867-874.
- Surh, Y.-J. 2003. Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. *Nature Reviews Cancer*, 3:10, 768-780.
- Sussman, J. L., Harel, M., Frolow, F., Oefner, C., Goldman, A., Toker, L. ve Silman, I. 1991. Atomic structure of acetylcholinesterase from *Torpedo californica*: a prototypic acetylcholine-binding protein. *Science*, 253:5022, 872-879.
- Şahin, Y. 2013. Giresun yöresindeki bazı yenilebilir bitkilerin farklı çözücülerdeki ekstraktlarının anti-üreaz aktivitelerinin incelenmesi. *Fen Bilimleri Enstitüsü*
- Taleb-Dida, N., Krouf, D. ve Bouchenak, M. 2011. *Globularia alypum* aqueous extract decreases hypertriglyceridemia and ameliorates oxidative status of the muscle, kidney, and heart in rats fed a high-fructose diet. *Nutrition Research*, 31:6, 488-495.
- Talebi, S. M., Nohooji, M. G. ve Yarmohammadi, M. 2020. Essential oil analysis of eight *Nepeta* taxa in Iran. *Mediterranean Botany*, 41:1, 43-53.
- Tanaka, J. C., Vidotti, G. J. ve Silva, C. C. d. 2003. A new tormentic acid derivative from *Luehea divaricata* Mart.(Tiliaceae). *Journal of The Brazilian Chemical Society*, 14, 475-478.
- Tatar, S. 2007. Termofil moderately halofilik *Bacillus* sp. suşlarından amilaz enzimi üretimi ve endüstriyel kullanım olanaklarının araştırılması. *ÇÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi*.

- Taylor, P. 1998. Ostwald ripening in emulsions. *Advances in Colloid and Interface Science*, 75:2, 107-163.
- Taylor, P. ve Radic, Z. 1994. The cholinesterases: from genes to proteins. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 34:1, 281-320.
- Tekin, Z. 2018. Türkiye için endemik bir tür olan *Nepeta congesta* var. *congesta*'nın (Lamiaceae) antioksidan özelliklerinin ve enzim inhibitör etkisinin değerlendirilmesi. *Necmettin Erbakan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı*.
- Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M. ve Polissiou, M. 2005. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry*, 90:3, 333-340.
- Tepe, B., Daferera, D., Tepe, A.-S., Polissiou, M. ve Sokmen, A. 2007. Antioxidant activity of the essential oil and various extracts of *Nepeta flavida* Hub.-Mor. from Turkey. *Food Chemistry*, 103:4, 1358-1364.
- Tepe, B., Degerli, S., Arslan, S., Malatyali, E. ve Sarikurkcu, C. 2011. Determination of chemical profile, antioxidant, DNA damage protection and antiamoebic activities of *Teucrium polium* and *Stachys iberica*. *Fitoterapia*, 82:2, 237-246.
- Thiery-Vuillemin, A., Nguyen, T., Pivot, X., Spano, J., Dufresne, A. ve Soria, J. 2005. Molecularly targeted agents: their promise as cancer chemopreventive interventions. *European Journal of Cancer*, 41:13, 2003-2015.
- Thomsen, R. ve Christensen, M. H. 2006. MolDock: a new technique for high-accuracy molecular docking. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49:11, 3315-3321.
- Tian, C., Liu, X., Chang, Y., Wang, R., Lv, T., Cui, C. ve Liu, M. 2021. Investigation of the anti-inflammatory and antioxidant activities of luteolin, kaempferol, apigenin and quercetin. *South African Journal of Botany*, 137, 257-264.
- Tiji, S., Bouhrim, M., Addi, M., Drouet, S., Lorenzo, J. M., Hano, C., Bnouham, M. ve Mimouni, M. 2021. Linking the phytochemicals and the α -glucosidase and α -amylase enzyme inhibitory effects of *Nigella sativa* seed extracts. *Foods*, 10:8, 1818.
- Tolmie, M., Bester, M. J. ve Apostolides, Z. 2021. Inhibition of α -glucosidase and α -amylase by herbal compounds for the treatment of type 2 diabetes: a validation of in silico reverse docking with in vitro enzyme assays. *Journal of Diabetes*, 13:10, 779-791.
- Topal, N. 2012. Malatyada Yetişen Kayısı Meyvesi Ekstraktlarının Antioksidan Kapasitesi Ve Oksidatif DNA Hasarı Üzerine Etkisinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Topcu, Ş. ve Çölgeçen, H. 2015. Bitki sekonder metabolitlerinin biyoreaktörlerde üretilmesi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*:2, 9-29.
- Torres-Naranjo, M., Suárez, A., Gilardoni, G., Cartuche, L., Flores, P. ve Morocho, V. 2016. Chemical constituents of *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn (Polygonaceae) and its in vitro α -amilase and α -glucosidase inhibitory activities. *Molecules*, 21:11, 1461.
- Trentin, R., Custódio, L., Rodrigues, M. J., Moschin, E., Sciuto, K., da Silva, J. P. ve Moro, I. 2020. Exploring *Ulva australis* Areschoug for possible biotechnological applications: In vitro antioxidant and enzymatic inhibitory properties, and fatty acids contents. *Algal Research*, 50, 101980.
- Trott, O. ve Olson, A. J. 2010. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 31:2, 455-461.

- Tunalier, Z., Öztürk, N., Koşar, M., Başer, K., Duman, H. ve Kırimer, N. 2002. Bazı Sideritis türlerinin antioksidan etki ve fenolik bileşikler yönünden incelenmesi 14. *Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, 29-31.
- Tundis, R., Nadjafi, F. ve Menichini, F. 2013. Angiotensin-Converting enzyme inhibitory activity and antioxidant properties of *Nepeta crassifolia* Boiss & Buhse and *Nepeta binaludensis* Jamzad. *Phytotherapy Research*, 27:4, 572-580.
- Türkkan, S. 2013. Monoamin Oksidaz (Mao) İnhibitör Etkili Yeni Pirazolin Türevleri İle Moleküler Dokıng. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
- Ullevig, S. L., Zhao, Q., Zamora, D. ve Asmis, R. 2011. Ursolic acid protects diabetic mice against monocyte dysfunction and accelerated atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 219:2, 409-416.
- Utami, S., Adityaningsari, P., Sosiawan, I., Endrini, S., Sachrowardi, Q. R., Laksono, S. P., Nafik, S., Arrahmani, B. C., Afifah, E. ve Widowati, W. 2017. Antioxidants and Anticholinesterase Activities of the Characterized Ethanolic of ripe Sesoot (*Garcinia picorrhiza* Miq.) Fruit Extract (GpKar) and Xanthone. *Majalah Obat Tradisional*, 22:3, 160-165.
- Vohra, A. ve Kaur, H. 2011. Chemical investigation of medicinal plant *Ajuga bracteosa*. *J Nat Prod Plant Resour*, 1:1, 37-45.
- Von Staszewski, M., Pilosof, A. M. ve Jagus, R. J. 2011. Antioxidant and antimicrobial performance of different Argentinean green tea varieties as affected by whey proteins. *Food Chemistry*, 125:1, 186-192.
- Wan, L. ve Jiang, J.-G. 2018. Protective effects of plant-derived flavonoids on hepatic injury. *Journal of Functional Foods*, 44, 283-291.
- Wang, G.-Q., Gu, J.-F., Gao, Y.-C. ve Dai, Y.-J. 2016. Daucosterol inhibits colon cancer growth by inducing apoptosis, inhibiting cell migration and invasion and targeting caspase signalling pathway. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 11:2, 395-401.
- Wang, H. ve Ng, T. 1999. Natural products with hypoglycemic, hypotensive, hypocholesterolemic, antiatherosclerotic and antithrombotic activities. *Life Sciences*, 65:25, 2663-2677.
- Wang, J., Zhao, J., Yan, Y., Liu, D., Wang, C. ve Wang, H. 2020. Inhibition of glycosidase by ursolic acid: In vitro, in vivo and in silico study. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 100:3, 986-994.
- Wang, Y., Chen, S. ve Yu, O. 2011. Metabolic engineering of flavonoids in plants and microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 91:4, 949-956.
- Warne, M. S. J. ve Hawker, D. W. 1995. The number of components in a mixture determines whether synergistic and antagonistic or additive toxicity predominate: The funnel hypothesis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 31:1, 23-28.
- Weihrach, J. L. ve Gardner, J. M. 1978. Sterol content of foods of plant origin. *Journal of The American Dietetic Association*, 73:1, 39-47.
- Weller, M. G. 2012. A unifying review of bioassay-guided fractionation, effect-directed analysis and related techniques. *Sensors*, 12:7, 9181-9209.
- Wen, W., Li, D., Li, X., Gao, Y., Li, W., Li, H., Liu, J., Liu, H., Chen, W. ve Luo, J. 2014. Metabolome-based genome-wide association study of maize kernel leads to novel biochemical insights. *Nature Communications*, 5:1, 1-10.
- World Health Organization 2015. *World health statistics 2015*. World Health Organization,
- Wu, P.-P., Zhang, B.-J., Cui, X.-P., Yang, Y., Jiang, Z.-Y., Zhou, Z.-H., Zhong, Y.-Y., Mai, Y.-Y., Ouyang, Z. ve Chen, H.-S. 2017a. Synthesis and biological evaluation of novel

- ursolic acid analogues as potential α -glucosidase inhibitors. *Scientific Reports*, 7:1, 1-12.
- Wu, P.-P., Zhang, K., Lu, Y.-J., He, P. ve Zhao, S.-Q. 2014. In vitro and in vivo evaluation of the antidiabetic activity of ursolic acid derivatives. *European journal of Medicinal Chemistry*, 80, 502-508.
- Wu, Z., Shen, L., Han, Q., Lu, J., Tang, H., Xu, X., Xu, H., Huang, F., Xie, J. ve He, Z. 2017b. Mechanism and nature of inhibition of trypsin by ligupurpuroside A, a Ku-Ding tea extract, studied by spectroscopic and docking methods. *Food Biophysics*, 12, 78-87.
- Xiang, L., Chi, T., Tang, Q., Yang, X., Ou, M., Chen, X., Yu, X., Chen, J., Ho, R. J. ve Shao, J. 2015. A pentacyclic triterpene natural product, ursolic acid and its prodrug US597 inhibit targets within cell adhesion pathway and prevent cancer metastasis. *Oncotarget*, 6:11, 9295.
- Yakan, H., Cakmak, S., Kutuk, H., Yenigun, S. ve Ozen, T. 2020. Synthesis, characterization, antioxidant, and antibacterial activities of new 2, 3-dimethoxy and 3-acetoxy-2-methyl benzamides. *Research on Chemical Intermediates*, 46, 2767-2787.
- Yakan, H., Ozturk, S., Tolgay, E. U., Yenigun, S., Marah, S., Doruk, T., Ozen, T. ve Kutuk, H. 2023. Kinetic Studies, Antioxidant Activities, Enzyme Inhibition Properties and Molecular Docking of 1, 3-Dihydro-1, 3-Dioxoisindole Derivatives. *Acta Chimica Slovenica*, 70:1, 29-43.
- Yaman, M. 2018. Peroksidazın üç fazlı ayırma yöntemi ile pazıdan (*Beta vulgaris* L. var. cicla) saflaştırılması. Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
- Yan, J., Yu, L., Xu, S., Gu, W. ve Zhu, W. 2014. Apigenin accumulation and expression analysis of apigenin biosynthesis relative genes in celery. *Scientia Horticulturae*, 165, 218-224.
- Yang, C. S., Landau, J. M., Huang, M.-T. ve Newmark, H. L. 2001. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Annual Review of Nutrition*, 21, 381.
- Yang, J., Guo, J. ve Yuan, J. 2008. In vitro antioxidant properties of rutin. *LWT-Food Science and Technology*, 41:6, 1060-1066.
- Yang, J., Wang, X., Zhang, C., Ma, L., Wei, T., Zhao, Y. ve Peng, X. 2021. Comparative study of inhibition mechanisms of structurally different flavonoid compounds on α -glucosidase and synergistic effect with acarbose. *Food Chemistry*, 347, 129056.
- Yang, S., Bai, M., Yang, J., Yuan, Y., Zhang, Y., Qin, J., Kuang, Y. ve Sampietro, D. A. 2020. Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from *Peganum harmala*, *Nepeta cataria* and *Phellodendron amurense* against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Saudi Pharmaceutical Journal*.
- Yang, X.-W., Huang, M.-Z., Jin, Y.-S., Sun, L.-N., Song, Y. ve Chen, H.-S. 2012. Phenolics from *Bidens bipinnata* and their amylase inhibitory properties. *Fitoterapia*, 83:7, 1169-1175.
- Yayli, B., Tosun, G., Karaköse, M., Renda, G. ve Yayli, N. 2014. SPME/GC-MS analysis of volatile organic compounds from three Lamiaceae species (*Nepeta conferta* Hedge & Lamond, *Origanum onites* L. and *Satureja cuneifolia* Ten.) growing in Turkey. *Asian Journal of Chemistry*, 26:9, 2541.
- Yenigun, S., Ipek, Y., Marah, S., Demirtas, I. ve Ozen, T. 2023. DNA protection, molecular docking, antioxidant, antibacterial, enzyme inhibition, and enzyme kinetic studies for parietin, isolated from *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1-15.

- Yenigün, S., Başar, Y., İpek, Y., Behçet, L., Özen, T. ve Demirtaş, İ. 2023. Determination of antioxidant, DNA protection, enzyme inhibition potential and molecular docking studies of a biomarker ursolic acid in Nepeta species. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1-18.
- Yildirim, A. B., Karakas, F. P. ve Turker, A. U. 2013. In vitro antibacterial and antitumor activities of some medicinal plant extracts, growing in Turkey. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 6:8, 616-624.
- Yılmaz, A. 2011. Nepeta Sorgerae Ve Nepeta Obtusicrena Bitkilerinin Antioksidan Ve Anti-alzheimer Bileşenlerinin İzolasyonu Ve Yapılarının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Yılmaz, A., Boga, M. ve Topcu, G. 2016. Novel terpenoids with potential anti-alzheimer activity from Nepeta obtusicrena. *Records of Natural Products*, 10:5, 530.
- Yılmaz, A., Çağlar, P., Dirmenci, T., Gören, N. ve Topcu, G. 2012. A novel isopimarane diterpenoid with acetylcholinesterase inhibitory activity from Nepeta sorgerae, an endemic species to the Nemrut Mountain. *Natural Product Communications*, 7:6, 693-696.
- Yılmaz, Ö. B. ve Boyacıoğlu, M. 2020. Bazı sentetik antioksidanların 2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürme kapasitesi yöntemi ile antioksidan aktivitelerinin araştırılması. *Veteriner Hekimlikte Araştırma Dergisi*, 39:2, 67-72.
- Yoshimura, M., Watanabe, Y., Kasai, K., Yamakoshi, J. ve Koga, T. 2005. Inhibitory effect of an ellagic acid-rich pomegranate extract on tyrosinase activity and ultraviolet-induced pigmentation. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 69:12, 2368-2373.
- Yuan, C., Zhang, X., Long, X., Jin, J. ve Jin, R. 2019. Effect of β -sitosterol self-microemulsion and β -sitosterol ester with linoleic acid on lipid-lowering in hyperlipidemic mice. *Lipids in Health and Disease*, 18:1, 1-11.
- Yüce, A. 2001. Antimikrobik ilaçlara direnç kazanma mekanizmaları. *Klinik Dergisi*, 14:2, 41-46.
- Zargari, A. 1995. Medicinal plants (in Persian): Tehran University Publication, Iran.
- Zeng, L., Zhang, G., Lin, S. ve Gong, D. 2016. Inhibitory mechanism of apigenin on α -glucosidase and synergy analysis of flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64:37, 6939-6949.
- Zengin, G., Mahomoodally, M. F., Aktumsek, A., Jekő, J., Cziáky, Z., Rodrigues, M. J., Custodio, L., Polat, R., Cakilcioglu, U. ve Ayna, A. 2021. Chemical Profiling and Biological Evaluation of Nepeta baytopii Extracts and Essential Oil: An Endemic Plant from Turkey. *Plants*, 10:6, 1176.
- Zhang, L., Mulrooney, S. B., Leung, A. F., Zeng, Y., Ko, B. B., Hausinger, R. P. ve Sun, H. 2006. Inhibition of urease by bismuth (III): implications for the mechanism of action of bismuth drugs. *Biometals*, 19:5, 503-511.
- Zhang, L., Zhao, X., Tao, G.-J., Chen, J. ve Zheng, Z.-P. 2017. Investigating the inhibitory activity and mechanism differences between norartocarpetin and luteolin for tyrosinase: A combinatory kinetic study and computational simulation analysis. *Food Chemistry*, 223, 40-48.
- Zhang, T., Su, J., Wang, K., Zhu, T. ve Li, X. 2014. Ursolic acid reduces oxidative stress to alleviate early brain injury following experimental subarachnoid hemorrhage. *Neuroscience Letters*, 579, 12-17.
- Zhang, X.-w., Wang, K.-W. ve Wang, H. 2018. Chemical Constituents of Streptocaulon griffithii. *Chemistry of Natural Compounds*, 54:4, 803-805.

- Zhao, C., She, T., Wang, L., Su, Y., Qu, L., Gao, Y., Xu, S., Cai, S. ve Shou, C. 2015. Daucosterol inhibits cancer cell proliferation by inducing autophagy through reactive oxygen species-dependent manner. *Life Sciences*, 137, 37-43.
- Zhou, J.-X. ve Wink, M. 2019. Evidence for anti-inflammatory activity of isoliquiritigenin, 18 β glycyrrhetic acid, ursolic acid, and the traditional Chinese medicine plants *Glycyrrhiza glabra* and *eriobotrya japonica*, at the molecular level. *Medicines*, 6:2, 55.
- Zolghadri, S., Bahrami, A., Hassan Khan, M. T., Munoz-Munoz, J., Garcia-Molina, F., Garcia-Canovas, F. ve Saboury, A. A. 2019. A comprehensive review on tyrosinase inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 34:1, 279-309.



ÖZ GEÇMİŞ

Semiha Yenigün; Çanakkale Lisesi'ni 2005 yılında bitirdi. 2011 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü'nden mezun oldu. 2015 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans programından mezun oldum. 2018 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Doktora programına başladım. Orta derecede İngilizce bilmekteyim. İlgi alanlarım; kolon kromatografisi ile fraksiyonlandırma, saflaştırma ve izolasyon, *in vitro* ve *in vivo* antioksidan aktiviteler, enzim inhibisyonları ve kinetikleri, antimikrobiyal aktiviteler, elektroforez uygulamaları, *in silico* (moleküler doking) ve istatistiksel hesaplamaları (IBM SPSS Statistics 22 ve Minitab 19 programları) ile ilgili çalışmalardır.

İletişim Bilgileri

ORCID ID : 0000-0002-1979-5427

Yayınlar:

1. Başar, Y., Yenigün, S., İpek, Y., Behçet, L., Gül, F., Özen, T. ve Demirtaş, İ. 2023. DNA protection, molecular docking, enzyme inhibition and enzyme kinetic studies of 1,5,9-epideoxyloganic acid isolated from *Nepeta aristata* with bio-guided fractionation. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, Yayımnda. <https://doi.org/10.1080/07391102.2023.2250461>.
2. Yenigün, S., Başar, Y., İpek, Y., Behçet, L., Özen, T. ve Demirtaş, İ. 2023. Determination of antioxidant, DNA protection, enzyme inhibition potential and molecular docking studies of a biomarker ursolic acid in *Nepeta* species. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1-18.
3. Yenigun, S., Ipek, Y., Marah, S., Demirtas, I. ve Ozen, T. 2023. DNA protection, molecular docking, antioxidant, antibacterial, enzyme inhibition, and enzyme kinetic studies for parietin, isolated from *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1-15.
4. Yakan, H., Ozturk, S., Tolgay, E. U., Yenigun, S., Marah, S., Doruk, T., Ozen, T. ve Kutuk, H. 2023. Kinetic Studies, Antioxidant Activities, Enzyme Inhibition Properties and Molecular Docking of 1, 3-Dihydro-1, 3-Dioxoisindole Derivatives.

Acta Chimica Slovenica, 70:1, 29-43.

5. Özen, T., Yenigün, S. ve Toka, M. 2022. Phenolic profile, antioxidant, DNA protection, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase and urease inhibition activities of *Coriandrum Sativum* L. leaf, seed and flower extracts. *International Journal of Chemistry and Technology*, 2602-277x, 6, 1, 21-32.
6. Ozen, T., Bora, N., Yenigun, S. ve Korkmaz, H. 2020. An Investigation of chemical content, enzyme inhibitory property, antioxidant and antibacterial activity of *Aristolochia Bodamae* Dingler (Develiotu) (Aristolochiaceae) root extracts from Samsun, Turkey. *Flavour And Fragrance Journal*, 35; 270-283.
7. Yakan, H., Cakmak, S., Kutuk, H., Yenigun S., ve Ozen, T. 2020. Synthesis, characterization, antioxidant, and antibacterial activities of new 2,3-dimethoxy and 3-acetoxy-2-methyl benzamides. *Research on Chemical Intermediates*, 46; 2767-2787.
8. Ozen, T., Kizil, D., Yenigun, S., Cesur, H. ve Turkecul, I. 2019. Evaluation of bioactivities, phenolic and metal content of ten wild edible mushrooms from Western Black Sea Region of Turkey. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 21 (10); 979-994.
9. Bekhouche, K., Ozen, T., Boussaha, S., Koldas, S., Yenigun, S., Lassed, S., Demirtas, I., Benayache, F., Benayache, S. ve Zama, D. 2018. Anti-Oxidant, DNA-damage protection and anti-cancer properties of n-butanol extract of the endemic *Perralderia coronopifolia*. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 13 (1); 82-89.
10. Ozen, T., Yenigun, S., Altun, M. ve Demirtas, I. 2017. Phytochemical constituents, CHEs and urease inhibitions, antiproliferative and antioxidant properties of *Elaeagnus umbellata* Thunb. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 20 (6); 559-578.

Kazanılan Ödüller, Teşvikler ve Burslar

1. TÜBİTAK-3001 (114Z683), Güz Yemişi (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) Meyve ve Yaprakının Kimyasal İçeriği, Antiproliferatif, Biyotransformasyon Enzimleri ve Antioksidant Aktivitelerine Etkilerinin Araştırılması, Bırsu, Projeye Katılma/Ayrılma Tarihleri: 15.11.2014 - 15.11.2016.
2. TÜBİTAK-1001 (119Z442), *Nepeta* Türleri Üzerinde Fitokimyasal ve Aktivite Yönlendirmeli İzolasyon Çalışmaları, Bırsu, Projeye Katılma/Ayrılma Tarihleri: 01.06.2020 - 01.02.2023.
3. TÜBİTAK, Etkinlik Destekleri ve Eğitim Bursları Müdürlüğü, 2250-Lisansüstü

Bursları Performans Programı, 2022 - 1.

4. TÜBİTAK, Etkinlik Destekleri ve Eğitim Bursları Müdürlüğü, 2250-Lisansüstü Bursları Performans Programı, 2023 - 1.

Sertifika Eğitimleri

1. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası-A kategorisi,

2. Moleküler Genetik Kursu-I Katılım Sertifikası

3. BioTek-EPOCH-2 Eğitim Sertifikası,

4. Sorumlu Müdürlük/Yöneticilik-Eğitim Sertifikası

5. TSE-EN-ISO 9001-2008 Kalite Yönetim Sistemi Temel Eğitimi-Eğitim Sertifikası

6. TS EN ISO/IEC 17025:2005-Laboratuvar Akreditasyonu Bilgilendirme Toplantısı-Katılım Belgesi