

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



***PRANGOS ARICAKENSIS (APIACEAE) BİTKİSİNİN
FİTOKİMYASAL VE BİYOAKTİVİTE ÇALIŞMALARI***

Yüksek Lisans Tezi

Serbay Şafak GÖKÇİMEN

Danışman

Prof. Dr. Tevfik ÖZEN

Bu tez çalışması TÜBİTAK tarafından 221Z330 proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN
2023

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Yüksek Lisans 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 ☒

10/03/2023

Serbay Şafak GÖKÇİMEN

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı : *PRANGOS ARICAKENSIS* (APIACEAE) BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL VE BİYOAKTİVİTE ÇALIŞMALARI

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 06/01/2023 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 20

Tek kaynak oranı : % 1 çıkmıştır.

10/03/2023

Prof. Dr. Tefik ÖZEN

ÖZET

PRANGOS ARICAKENSIS (APIACEAE) BİTKİSİNİN FİTOKİMYASAL VE BİYOAKTİVİTE ÇALIŞMALARI

Serbay Şafak GÖKÇİMEN
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Kimya Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans, Mart/2023
Danışman: Prof. Dr. Tefvik ÖZEN

Prangos aricakensis, Apiaceae ailesine ait endemik bir bitki türüdür. Bu çalışmada *P. aricakensis* (PA) bitkisinin ekstraksiyonu sonucu yaprak (PAY), meyve (PAM), kök (PAK) ve sap (PAS) ham ekstraktları elde edilmiş, Clevenger cihazı ile de yaprak uçucu yağı (PAYUY), meyve uçucu yağı (PAMUY), kök uçucu yağı (PAKUY) ve sap uçucu yağı (PASUY) toplanmıştır. Ayrıca her bir ham ekstrakt, kromatografik yöntemler ile fraksiyonlara ve sonrasında da alt fraksiyonlara ayrılarak aktivite yönlendirmeli bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Yapılan NMR analizleriyle 6 farklı izolatın (*trans*-sinamik asit, rutin, oksipeusedanin, ostol, sükroz ve daukosterol) yapısı aydınlatılmış olup MS analizleri ile kütleleri belirlenmiştir. Ayrıca bu izolatlardan ostol, kristal formda elde edilerek FT-IR ve X-ışını kristalografisi analizleri gerçekleştirilmiş ve kristal yapısı belirlenmiştir. İzole edilen moleküllerden *trans*-sinamik asit ve daukosterol bir *Prangos* türünden ilk kez (*P. aricakensis* bitkisinden) izole edilmiştir. Ekstraktların fenolik ve uçucu bileşenlerinin analizleri LC-MS/MS ve GC-MS/MS ile gerçekleştirilmiştir. Ham ekstraktların, uçucu yağların, fraksiyonların, alt fraksiyonların ve izolatların biyoaktiveleri, antioksidan (toplam antioksidan, DPPH[•] giderme ve ABTS^{•+} giderme aktiviteleri), enzim inhibisyon (asetilkolinesteraz (AChE), bütirilkolinesteraz (BChE), tirozinaz ve üreaz), antimikrobiyal (minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) metodu), DNA koruma aktiviteleri gerçekleştirilmiş, temel bileşen analizleri ile deney-fraksiyon korelasyonları araştırılmış ve istatistiksel analizleri yapılarak standart ilaç molekülleriyle karşılaştırılmıştır. Ayrıca izolat-enzim etkileşimleri “Moleküler Doking” tekniği ile incelenmiş ve enzim kinetiği çalışmaları yapılmıştır.

Fitokimyasal analizler sonucunda en etkili ekstraktın PAY ekstraktı olduğu görülmüştür. PAY’ın toplam fenolik içerik değeri 26.37±2.10 mg galik asit eşdeğeri/g iken toplam flavonoid içeriği de 15.64±0.07 mg kuersetin eşdeğeri/g olarak belirlenmiştir. Örnekler içerisinde en etkili toplam antioksidan aktiviteyi izolatlardan daukosterol (34.69±0.22 µg/mL) vermiştir. DPPH[•] giderme aktivitesi sonucu en iyi çıkan örnekler ise (PAYUY, 2.12±0.84 µg/mL), oksipeusedanin (2.19±0.38 µg/mL) ve daukosterol (2.92±0.29 µg/mL) olmuştur. Enzim inhibisyon sonuçlarına göre yaprak ekstraktı diğer ekstraktlardan daha etkili bulunmuştur. Alzheimer hastalığı için en iyi sonuç (AChE için PAY9, 3.05±1.78 µg/mL ve BChE için PAY10, 0.98±0.01 µg/mL), cilt koruyucu özellik bakımından en etkili tirozinaz inhibisyon sonucu (PAY63, 2.30±1.25 µg/mL) olarak görülmüştür.

MİK sonuçlarında *K. pneumonia*’ya karşı bütün ham ekstraktların antibiyotiklerden daha etkili olduğu görülmüştür.

Bu sonuçlar çerçevesinde *P. aricakensis* bitkisinin iyi bir antioksidan aktivite ve enzim inhibisyon özellikleri gösterdiği, iyi bir antimikrobiyal ajan olabileceği ve iyi bir DNA koruma aktivitesi sergilediği, izolatlarının da enzimler ile kuvvetli etkileşimler gösterdiği gözlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: *Prangos aricakensis* (Apiaceae), Fenolikler, Biyoaktivite yönlendirmeli çalışma, Antioksidan aktivite, Enzim inhibisyonu, Enzim kinetiği, Antimikrobiyal aktivite, DNA koruma aktivitesi, Temel bileşen analizi, Moleküler doking



ABSTRACT

PHYTOCHEMICAL AND BIOACTIVITY STUDIES OF *PRANGOS* *ARICAKENSIS* (APIACEAE) PLANT

Serbay Şafak GÖKÇİMEN
Ondokuz Mayıs University
Institute of Graduate Studies
Department of Chemistry
Master, March/2023
Supervisor: Prof. Dr. Tevfik ÖZEN

Prangos aricakensis is an endemic plant species belonging to the Apiaceae family. In this study, crude extracts of leaf (PAY), fruit (PAM), root (PAK) and stem (PAS) were obtained with extraction of *P. aricakensis* (PA) plant. Leaf oil (PAYUY), fruit oil (PAMUY), root oil (PAKUY) and stem oil (PASUY) were also collected with Clevenger type apparatus. A bioguided approach was carried out by separating each crude extract into fractions and then sub-fractions by chromatographic methods. The structures of 6 different isolates (*trans*-cinnamic acid, rutin, oxypeucedanin, osthol, sucrose and daucosterol) were clarified by NMR analyzes and also molecular mass values determined by MS analysis. In addition, FT-IR and X-ray crystallography analyzes carried out for osthol molecule, which obtained in crystal form. The isolated compounds *trans*-cinnamic acid and daucosterol were isolated for the first time in *Prangos* species (from *P. aricakensis* plant). The analyzes of phenolics and essential oils of the extracts were performed by LC-MS/MS and GC-MS/MS. Bioactivities of crude extracts, essential oils, fractions, sub-fractions and isolates were determined by antioxidant (total antioxidant, DPPH[•] scavenging and ABTS^{•+} scavenging), enzyme inhibition (acetylcholinesterase (AChE), butyrylcholinesterase (BChE), tyrosinase and urease), antimicrobial (minimum inhibition concentration (MIC) method), DNA protection activities. Principal component analysis were carried out between the fractions and experiments. Statistical analyzes were made and results were compared with standard drug molecules. In addition to these, isolate-enzyme interactions investigated with “Molecular Docking” technique and enzyme kinetics studies were carried out.

As a result of phytochemical analysis, it was seen that the most effective extract was PAY extract, the total phenolic content value was calculated as 26.37±2.10 mg gallic acid equivalent/g and the total flavonoid content was calculated as 15.64±0.07 mg quercetin equivalent/g. Among the samples, the most effective total antioxidant activity was daucosterol (34.69±0.22 µg/mL). The most effective DPPH[•] scavenging activity was PAYUY (2.12±0.84 µg/mL), oxypeucedanin (2.19±0.38 µg/mL) and daucosterol (2.92±0.29 µg/mL). According to the enzyme inhibition results, the best extract was PAY, for Alzheimer's disease (PAY9, 3.05±1.78 µg/mL for AChE and PAY10, 0.98±0.01 µg/mL for BChE), for skin protective effect (PAY63, 2.30±1.25 µg/mL for tyrosinase).

MIC results showed that all crude extracts were more effective than antibiotics against *K. pneumonia*.

Within the framework of these results, it was observed that *P. aricakensis* plant showed good antioxidant activity, enzyme inhibition properties, DNA protection activity and its isolates also showed strong interactions with enzymes.

Keywords: *Prangos aricakensis* (Apiaceae), Phenolics, Bioguided approach, Antioxidant activity, Enzyme inhibition, Enzyme kinetics, Antimicrobial activity, DNA protection activity, PCA, Molecular docking



ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans sürecinde bilgi ve desteklerini esirgemeyen danışmanım Prof. Dr. Tefvık ÖZEN’e, deney çalışmalarına destek veren Prof. Dr. İbrahim DEMİRTAŞ ve Dr. Öğr. Üyesi Fatih GÜL’e, bitki teminini sağlayan Prof. Dr. Lütfl BEHÇET’e saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu süreç boyunca çalışmalarımnda büyük emek sarf eden Sinem YILMAZ’a teşekkürü borç bilirim. Katkıda bulunan laboratuvar ve çalışma arkadaşlarım Semiha YENİGÜN, Sarmad MARAH, Hiba HASSAN, Onur Furkan BAYRAM, Yaşar İPEK ve Yunus BAŞAR’a desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

10 yıl öncesinde, çocukluğumda annemin kanser hastalığına yakalandığını öğrendiğim an “Anneme ilaç bulmak istiyorum.” cümlemlle ilk adımımı attığım biyoloji ve kimya alanına yönelmemde bana ışık tutan ve bugünlerde tekrar kanser hastalığına yakalanan anneme her adımımnda beni yüreklendirdiği ve hep yanımda olduğu için sonsuz teşekkür ederim.

TÜBİTAK tarafından 221Z330 kodu ile desteklenen bu tez çalışması için TÜBİTAK’a teşekkür ederim.

Serbay Şafak GÖKÇİMEN

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
TABLolar DİZİNİ	xix
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER	3
2.1. Apiaceae Ailesi	3
2.1.1. <i>Prangos</i> Türleri ve <i>Prangos aricakensis</i>	4
2.1.2. <i>Prangos</i> Türlerinin Kullanım Alanları	5
2.1.3. <i>Prangos</i> Türlerinin Fitokimyasal Çalışmaları	6
2.1.4. <i>Prangos</i> Türlerinin Farmakolojik ve Biyoaktivite Çalışmaları	7
2.2. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller	9
2.3. Antioksidanlar	10
2.3.1. Sentetik Antioksidanlar	12
2.3.2. Doğal Antioksidanlar	13
2.3.2.1. Fenolik Bileşikler	16
2.3.2.2. Fenolik Asitler	16
2.3.2.3. Flavonoidler	17
2.4. Antioksidan Aktivite	19
2.5. <i>In vitro</i> Enzim İnhibisyonu	19
2.6. Enzim Kinetik Çalışmaları	20
2.7. Antimikrobiyal Aktivite	20
2.7.1. Gram-negatif Bakteriler	21
2.7.1.1. <i>Escherichia coli</i>	22
2.7.1.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22
2.7.1.3. <i>Klebsiella pneumonia</i>	22
2.7.1.4. <i>Salmonella enterica</i>	22
2.7.2. Gram-pozitif Bakteriler	23
2.7.2.1. <i>Enterococcus faecalis</i>	23
2.7.2.2. <i>Bacillus cereus</i>	23
2.7.2.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	23
2.7.2.4. <i>Listeria monocytogenes</i>	24
2.8. DNA Koruma Aktivitesi	24
2.9. Biyoaktivite Yönlendirmeli Çalışmalar	25
2.10. Moleküler Doking	26
3. MATERYAL VE METOT	28
3.1. Kullanılan Kimyasallar	28
3.2. Kullanılan Cihazlar	28
3.3. Bitki Materyalinin Toplanması ve Hazırlanması	29
3.4. Ham Ekstraktların Eldesi	30
3.5. Fraksiyonlandırma	31
3.5.1. Hazırlık Aşaması	31
3.5.2. Kolon Kromatografisi	31
3.5.3. İTK	34
3.5.4. Alt Fraksiyonların Eldesi	35
3.5.5. Preparatif HPLC	38
3.6. Uçucu Yağların Ekstraksiyonu	39
3.7. Örneklerin Karakterizasyonu	40
3.7.1. Fitokimyasal Analizler	40

3.7.1.1. Toplam Fenolik Kapasite.....	40
3.7.1.2. Toplam Flavonoid İçeriği	41
3.7.1.3. LC-MS/MS Analizleri	42
3.7.1.4. GC-MS/MS Analizleri.....	43
3.7.2. NMR Analizleri	45
3.7.3. FT-IR Analizleri	45
3.7.4. X-Işını Kristalografisi Analizleri	46
3.8. Biyoaktivite Testleri.....	47
3.8.1. Antioksidan Aktivite Tayinleri	47
3.8.1.1. Toplam Antioksidan Aktivite Tayini.....	48
3.8.1.2. DPPH [•] Giderme Aktivitesi Tayini	48
3.8.1.3. ABTS ^{•+} Giderme Aktivitesi Tayini.....	49
3.8.2. <i>In vitro</i> Enzim İnhibisyon Etkileri ve Kinetik Çalışmaları	50
3.8.2.1. AChE ve BChE İnhibisyon ve Kinetik Çalışmaları.....	51
3.8.2.2. Tirozinaz İnhibisyon ve Kinetik Çalışmaları.....	52
3.8.2.3. Üreaz İnhibisyon ve Kinetik Çalışmaları	53
3.8.3. Antimikrobiyal Aktivite Tayini	53
3.8.3.1. Bakterilerin Çoğaltılması.....	54
3.8.3.2. MİK Metodu.....	54
3.8.4. DNA Koruma Aktivitesi Tayini.....	55
3.9. <i>In silico</i> Moleküler Doking Analizleri	55
3.10. İstatistiksel Analizler.....	56
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	57
4.1. Fitokimyasal Analizler.....	57
4.1.1. Ekstraksiyon Verimi	57
4.1.2. Toplam Fenol İçeriği	59
4.1.3. Toplam Flavonoid İçeriği	60
4.1.4. Fenolik Bileşen İçerikleri.....	61
4.2. Uçucu Bileşen İçerikleri.....	64
4.3. Fraksiyon ve Alt Fraksiyonların Eldesi.....	68
4.4. İzolatların Karakterizasyonu	69
4.4.1. <i>trans</i> -sinamik asit.....	70
4.4.2. Rutin	74
4.4.3. Oksipeusedanin.....	80
4.4.4. Ostol.....	86
4.4.5. Sükroz	93
4.4.6. Daukosterol.....	98
4.5. Biyoaktivite Testleri.....	104
4.5.1. Antioksidan Aktivite Çalışmaları	104
4.5.1.1. Toplam Antioksidan Aktivitesi.....	105
4.5.1.2. DPPH [•] Giderme Aktivitesi.....	112
4.5.1.3. ABTS ^{•+} Giderme Aktivitesi	120
4.5.2. <i>In vitro</i> Enzim İnhibisyon Etkileri ve Kinetik Çalışmaları	127
4.5.2.1. AChE İnhibisyon Etkisi ve Kinetik Çalışmaları.....	127
4.5.2.2. BChE İnhibisyon Etkisi ve Kinetik Çalışmaları	141
4.5.2.3. Tirozinaz İnhibisyon Etkisi ve Kinetik Çalışmaları	155
4.5.2.4. Üreaz İnhibisyon Etkisi ve Kinetik Çalışmaları	171
4.5.3. Antimikrobiyal Aktivite.....	187
4.5.4. DNA Koruma Aktivitesi	192
4.6. Temel Bileşen Analizleri (PCA)	201
4.7. <i>In silico</i> Moleküler Doking Çalışmaları.....	204
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	223
KAYNAKLAR	228
ÖZGEÇMİŞ.....	242

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	: Yüzde
$(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4).6\text{H}_2\text{O}$	: Amonyum Demir (II) Sülfat Hekzahidrat
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}.4\text{H}_2\text{O}$	: Amonyum Heptamolibdat Tetrahidrat
$^{\circ}\text{C}$	: Santigrat derece
μL	: Mikrolitre
μM	: Mikromolar
^{13}C	: Karbon 13 İzotopu
1D	: 1 Boyutlu
^1H	: Hidrojen 1 İzotopu
$^1\text{O}_2$	: Singlet Moleküler Oksijen
2D	: 2 Boyutlu
3D	: 3 Boyutlu
$\text{A}_{0.5}$	: Olası Maksimum Etkinin %50'sini Oluşturan Konsantrasyon
ABTS $^{+}$	: 2,2-azinobis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
ACh	: Asetilkolin
AChE	: Asetilkolinesteraz
AH	: Alzheimer Hastalığı
AlCl_3	: Alüminyum Klorür
BCh	: Bütirilkolin
BChE	: Bütirilkolinesteraz
BHA	: Bütilenmiş Hidroksianisol
CaCl_2	: Kalsiyum Klorür
CFU	: Koloni Oluşturan Birim
CH_3COOK	: Potasyum Asetat
ddH_2O	: Ultra Deiyonize Su
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DPPH $^{\cdot}$	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
DTNB	: 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit)
EDTA	: Etilendiamintetraasetik Asit
EtBr	: Etidyum Bromür

FeCl ₂	: Demir (II) Klorür
FeCl ₂ .4H ₂ O	: Demir (II) Klorür Tetrahidrat
FeCl ₃	: Demir (III) Klorür
FeSO ₄	: Demir (II) Sülfat
FT-IR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
GA	: Gallik Asit
GC	: Gaz Kromatografisi
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
H ₂ SO ₄	: Sülfirik Asit
HCl	: Hidroklorik Asit
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IC ₅₀	: Hücrenin %50 Canlılık Gösterdiği İnhibisyon Konsantrasyonu
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
K ₂ HPO ₄	: Dipotasyum Hidrojen Fosfat
K ₂ S ₂ O ₈	: Potasyum Persülfat
K ₃ Fe(CN) ₆	: Potasyum Ferrisiyanür
KE	: Kuersetin
KH ₂ PO ₄	: Potasyum Dihidrojen Fosfat
KI	: Potasyum İyodür
L-DOPA	: 3,4-dihidroksi-L-fenilalanin
m	: Kütle (g)
M	: Molarite (mol/L)
M _A	: Molekül Ağırlığı (g/mol)
mg	: Miligram
MgCl ₂	: Magnezyum Klorür
MHA	: Mueller Hinton Agar
MHB	: Mueller Hinton Broth
MIK	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
MS	: Kütle Spektrometresi
Na ₂ CO ₃	: Sodyum Karbonat

Na ₃ PO ₄	: Trisodyum Fosfat
NaCl	: Sodyum Klorür
NAD	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NADH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Hidrojen
NaOCl	: Sodyum Hipoklorit
NaOH	: Sodyum Hidroksit
NBT	: Nitro Blue Tetrazolium
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
NO [•]	: Azot Oksit Radikali
NO ₂ [•]	: Azot Dioksit Radikali
O ₂ ^{•-}	: Süperoksit Anyonu
OG	: Oktil Gallat
[•] OH	: Hidroksil
OH [•]	: Hidroksil Radikali
PA	: <i>Prangos aricakensis</i>
PAK	: <i>Prangos aricakensis</i> Kök Ekstraktı
PAKUY	: <i>Prangos aricakensis</i> Kök Uçucu Yağı
PAM	: <i>Prangos aricakensis</i> Meyve Ekstraktı
PAMUY	: <i>Prangos aricakensis</i> Meyve Uçucu Yağı
PAS	: <i>Prangos aricakensis</i> Sap Ekstraktı
PASUY	: <i>Prangos aricakensis</i> Sap Uçucu Yağı
PAY	: <i>Prangos aricakensis</i> Yaprak Ekstraktı
PAYUY	: <i>Prangos aricakensis</i> Yaprak Uçucu Yağı
PCA	: Temel bileşen analizi
PG	: Propil Gallat
pH	: Hidrojen Kuvveti
PMS	: Fenazin metosülfat
PNPG	: 4-nitrofenil α-D-glukopiranosid
R ²	: Korelasyon katsayısı
RAT	: Reaktif Azot Türleri
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SDB	: Sabouraud Dextrose Broth
TBA	: Tiyobarbitürik Asit

TBHQ	: <i>ter</i> -Bütil Hidrokinon
TCA	: Trikloroasetik Asit
U	: Enzim Ünitesi
UV	: Ultraviyole
UV-Vis	: Ultraviyole-Görünür Bölge
α - tokoferol	: E Vitamini



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>Prangos</i> türlerinin Türkiye’de dağılımı, <i>Prangos aricakensis</i> , <i>P.turcica</i> , <i>P.hulusii</i> , <i>P.ilanae</i> .	4
Şekil 2.2. <i>Prangos aricakensis</i> Behçet&Yapar’ın orijinal habitatındaki görünümü ...	5
Şekil 2.3. Fenolik antioksidanların sınıflandırılması	12
Şekil 2.4. BHT, BHA ve TBHQ antioksidanların yapısı	13
Şekil 2.5. L-askorbik asidin yapısı	14
Şekil 2.6. α - tokoferol’ün yapısı	15
Şekil 2.7. β -karoten’in yapısı	16
Şekil 2.8. Fenolik asitlerin kimyasal yapıları	17
Şekil 2.9. Flavonoidlerin kimyasal yapıları	18
Şekil 2.10. Kumarin’in kimyasal yapısı	19
Şekil 3.1. <i>P. aricakensis</i> bitkisi ve farklı kısımları (A: Meyve, B: Sap, C:Kök, D:Yaprak)	30
Şekil 3.2. Kuru bitki örneklerinin öğütme sonrası ekstraksiyon (1), süzme (2), evaporasyon (3), liyofilizasyon (4) ve liyofilizasyon sonrası (5) uygulamaları	31
Şekil 3.3. PAY ekstraktının artan polarite ile kolon kromatografisinde fraksiyonlarına ayrılması aşamaları. Hekzan (1), kloroform (2), kloroform-etil asetat (3), etil asetat (4) etil asetat-metanol (5) ve metanol (6) fraksiyonları.	32
Şekil 3.4. PAM ekstraktının artan polarite ile kolon kromatografisinde fraksiyonlarına ayrılması aşamaları. Hekzan (1), kloroform (2), etil asetat (3) etil asetat-metanol (4) ve metanol (5) fraksiyonları	32
Şekil 3.5. PAK ekstraktının artan polarite ile kolon kromatografisinde fraksiyonlarına ayrılması aşamaları. Hekzan (1), kloroform (2), etil asetat (3) etil asetat-metanol (4) ve metanol (5) fraksiyonları	33
Şekil 3.6. PAS ekstraktının artan polarite ile kolon kromatografisinde fraksiyonlarına ayrılması aşamaları. Hekzan (1), kloroform (2), etil asetat (3) etil asetat-metanol (4) ve metanol (5) fraksiyonları	33
Şekil 3.7. PAY ekstraktından elde edilen 15 fraksiyon ve İTK’de görünümü	34
Şekil 3.8. PAM ekstraktından elde edilen 10 fraksiyon ve İTK’de görünümü	34
Şekil 3.9. PAK ekstraktından elde edilen fraksiyonlar ve İTK’de görünümü	35
Şekil 3.10. PAS ekstraktından elde edilen fraksiyonlar ve birleştirilmeleri ile elde edilen 7 fraksiyon’un İTK’de görünümü	35
Şekil 3.11. Kolon kromatografisi ile sırasıyla PAY5, PAY6 ve PAY7 fraksiyonlarından elde edilen alt fraksiyonların İTK’de gösterimi	36
Şekil 3.12. Kolon kromatografisi ile sırasıyla PAY8 ve PAY10 fraksiyonlarından elde edilen alt fraksiyonların İTK’de gösterimi	36
Şekil 3.13. Kolon kromatografisi ile sırasıyla PAM3 ve PAM6 fraksiyonlarından elde edilen alt fraksiyonların İTK’de gösterimi	37
Şekil 3.14. Kolon kromatografisi ile sırasıyla PAM8 ve PAM9 fraksiyonlarından elde edilen alt fraksiyonların İTK’de gösterimi	37
Şekil 3.15. Kolon kromatografisi ile sırasıyla PAK4, PAK6 ve PAK9 fraksiyonlarından elde edilen alt fraksiyonların İTK’de gösterimi	38
Şekil 3.16. Kolon kromatografisi ile sırasıyla PAS4, PAS6 ve PAS7 fraksiyonlarından elde edilen alt fraksiyonların İTK’de gösterimi	38
Şekil 3.17. Preparatif HPLC cihazı	39
Şekil 3.18. Clevenger cihazı ile uçucu yağların eldesi	39
Şekil 3.19. LC-MS/MS analizinde kullanılan standartlar ve kromatogramları	43

Şekil 3.20. LC-MS/MS cihazı	43
Şekil 3.21. GC-MS/MS cihazı	44
Şekil 3.22. NMR cihazı	45
Şekil 3.23. FT-IR cihazı	46
Şekil 3.24. X-ışını kristalografisi cihazı	47
Şekil 3.25. DPPH [•] ve DPPH molekülleri ve gözlenen renkler	49
Şekil 4.1. <i>P. aricakensis</i> fitokimyasal ve biyoaktivite şeması	57
Şekil 4.2. Gallik asit çözeltisinin kalibrasyon grafiği	59
Şekil 4.3. Kuersetin çözeltisinin kalibrasyon grafiği	60
Şekil 4.4. LC-MS/MS analizi sonucu <i>P. aricakensis</i> bitkisinde ana bileşen olarak bulunan moleküller	63
Şekil 4.5. GC-MS/MS analizi sonucunda PAYUY ve PASUY'ya ait kromatogramlar	64
Şekil 4.6. GC-MS/MS analizi sonucu PAS ve PAY'da bulunan ana bileşenler	67
Şekil 4.7. <i>P. aricakensis</i> bitkisinin fraksiyon şeması	69
Şekil 4.8. <i>trans</i> -sinamik asit molekülünün açık yapısı	71
Şekil 4.9. <i>trans</i> -sinamik asit molekülünün ¹ H NMR spektrumu	72
Şekil 4.10. <i>trans</i> -sinamik asit molekülünün ¹³ C NMR spektrumu	72
Şekil 4.11. <i>trans</i> -sinamik asit molekülünün COSY spektrumu	73
Şekil 4.12. <i>trans</i> -sinamik asit molekülünün HMBC spektrumu	73
Şekil 4.13. <i>trans</i> -sinamik asit molekülünün HSQC spektrumu	74
Şekil 4.14. <i>trans</i> -sinamik asit molekülünün MS spektrumu	74
Şekil 4.15. Rutin molekülünün açık yapısı	76
Şekil 4.16. Rutin molekülünün ¹ H NMR spektrumu	78
Şekil 4.17. Rutin molekülünün ¹³ C NMR spektrumu	78
Şekil 4.18. Rutin molekülünün COSY spektrumu	79
Şekil 4.19. Rutin molekülünün HMBC spektrumu	79
Şekil 4.20. Rutin molekülünün HSQC spektrumu	80
Şekil 4.21. Rutin molekülünün MS spektrumu	80
Şekil 4.22. Oksipeusedanin molekülünün açık yapısı	82
Şekil 4.23. Oksipeusedanin molekülünün ¹ H NMR spektrumu	84
Şekil 4.24. Oksipeusedanin molekülünün ¹³ C NMR spektrumu	84
Şekil 4.25. Oksipeusedanin molekülünün COSY spektrumu	85
Şekil 4.26. Oksipeusedanin molekülünün HMBC spektrumu	85
Şekil 4.27. Oksipeusedanin molekülünün HSQC spektrumu	86
Şekil 4.28. Oksipeusedanin molekülünün MS spektrumu	86
Şekil 4.29. Ostol molekülünün açık yapısı	88
Şekil 4.30. Ostol molekülünün ¹ H NMR spektrumu	89
Şekil 4.31. Ostol molekülünün ¹³ C NMR spektrumu	90
Şekil 4.32. Ostol molekülünün COSY spektrumu	90
Şekil 4.33. Ostol molekülünün HMBC spektrumu	91
Şekil 4.34. Ostol molekülünün HSQC spektrumu	91
Şekil 4.35. Ostol molekülünün MS spektrumu	92
Şekil 4.36. Ostol molekülünün FT-IR spektrumu	92
Şekil 4.37. Ostol kristalinin ortepe diyagramı	92
Şekil 4.38. Sükroz molekülünün açık yapısı	94
Şekil 4.39. Sükroz molekülünün ¹ H NMR spektrumu	95
Şekil 4.40. Sükroz molekülünün ¹³ C NMR spektrumu	96
Şekil 4.41. Sükroz molekülünün COSY spektrumu	96
Şekil 4.42. Sükroz molekülünün HMBC spektrumu	97

Şekil 4.43. Sükroz molekülünün HSQC spektrumu	97
Şekil 4.44. Sükroz molekülünün MS spektrumu	98
Şekil 4.45. Daukosterol molekülünün açık yapısı.....	99
Şekil 4.46. Daukosterol molekülünün ¹ H NMR spektrumu.....	101
Şekil 4.47. Daukosterol molekülünün ¹³ C NMR spektrumu.....	101
Şekil 4.48. Daukosterol molekülünün COSY spektrumu	102
Şekil 4.49. Daukosterol molekülünün HMBC spektrumu	102
Şekil 4.50. Daukosterol molekülünün HSQC spektrumu	103
Şekil 4.51. Daukosterol molekülünün MS spektrumu	103
Şekil 4.52. Biyoaktivite yönlendirmeli çalışmalar ve izolatların fraksiyon şeması .	104
Şekil 4.53. AChE- <i>trans</i> -sinamik asit etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği	135
Şekil 4.54. AChE- <i>trans</i> -sinamik asit etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği.....	136
Şekil 4.55. AChE-oksipeusedanin etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği.....	136
Şekil 4.56. AChE-oksipeusedanin etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği.....	137
Şekil 4.57. AChE-ostol etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği.....	137
Şekil 4.58. AChE-ostol etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği.....	138
Şekil 4.59. AChE-sükroz etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği.....	138
Şekil 4.60. AChE-sükroz etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği.....	139
Şekil 4.61. AChE-daukosterol etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği.....	139
Şekil 4.62. AChE-daukosterol etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği.....	140
Şekil 4.63. BChE- <i>trans</i> -sinamik asit etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği.....	149
Şekil 4.64. BChE- <i>trans</i> -sinamik asit etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği.....	150
Şekil 4.65. BChE-oksipeusedanin etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği.....	150
Şekil 4.66. BChE-oksipeusedanin etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği.....	151
Şekil 4.67. BChE-ostol etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği.....	151
Şekil 4.68. BChE-ostol etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği.....	152
Şekil 4.69. BChE-sükroz etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği.....	152
Şekil 4.70. BChE-sükroz etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği	153
Şekil 4.71. BChE-daukosterol etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği.....	153
Şekil 4.72. BChE-daukosterol etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği	154
Şekil 4.73. Tirozinaz-rutin etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği	163
Şekil 4.74. Tirozinaz-rutin etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği.....	164
Şekil 4.75. Tirozinaz- <i>trans</i> -sinamik asit etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği .	164
Şekil 4.76. Tirozinaz- <i>trans</i> -sinamik asit etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği ...	165
Şekil 4.77. Tirozinaz-oksipeusedanin etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği	165
Şekil 4.78. Tirozinaz-oksipeusedanin etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği	166
Şekil 4.79. Tirozinaz-ostol etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği	166
Şekil 4.80. Tirozinaz-ostol etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği	167
Şekil 4.81. Tirozinaz-sükroz etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği	167
Şekil 4.82. Tirozinaz-sükroz etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği	168
Şekil 4.83. Tirozinaz-daukosterol etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği	168
Şekil 4.84. Tirozinaz-daukosterol etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği	169
Şekil 4.85. Üreaz-rutin etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği	179
Şekil 4.86. Üreaz-rutin etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği	180
Şekil 4.87. Üreaz- <i>trans</i> -sinamik asit etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği.....	180
Şekil 4.88. Üreaz- <i>trans</i> -sinamik asit etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği	181
Şekil 4.89. Üreaz-oksipeusedanin etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği	181
Şekil 4.90. Üreaz-oksipeusedanin etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği	182
Şekil 4.91. Üreaz-ostol etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği	182
Şekil 4.92. Üreaz-ostol etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği	183

Şekil 4.93. Üreaz-sükroz etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği	183
Şekil 4.94. Üreaz-sükroz etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği	184
Şekil 4.95. Üreaz-daukosterol etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği	184
Şekil 4.96. Üreaz-daukosterol etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği	185
Şekil 4.97. Ham ekstraktların jel görüntüsü.....	193
Şekil 4.98. Ham ekstraktların plazmid DNA % Form I ve II dağılımları.....	193
Şekil 4.99. Uçucu yağların jel görüntüsü	194
Şekil 4.100. Uçucu yağların plazmid DNA % Form I ve II dağılımları	194
Şekil 4.101. PAY fraksiyonlarının jel görüntüsü	195
Şekil 4.102. PAY fraksiyonlarının plazmid DNA % Form I ve II dağılımları	195
Şekil 4.103. PAM fraksiyonlarının jel görüntüsü	196
Şekil 4.104. PAM fraksiyonlarının plazmid DNA % Form I ve II dağılımları	197
Şekil 4.105. PAK fraksiyonlarının jel görüntüsü	198
Şekil 4.106. PAK fraksiyonlarının plazmid DNA % Form I ve II dağılımları	198
Şekil 4.107. PAS fraksiyonlarının jel görüntüsü.....	199
Şekil 4.108. PAS fraksiyonlarının plazmid DNA % Form I ve II dağılımları.....	199
Şekil 4.109. İzolatların jel görüntüsü	200
Şekil 4.110. İzolatların plazmid DNA % Form I ve II dağılımları	200
Şekil 4.111. PAY ham ekstrakt, uçucu yağ ve fraksiyonlarının antioksidan, enzim inhibisyonu ve DNA koruma aktivitesi ile etkileşimini gösteren biplot grafiği.....	202
Şekil 4.112. PAM ham ekstrakt, uçucu yağ ve fraksiyonlarının antioksidan, enzim inhibisyonu ve DNA koruma aktivitesi ile etkileşimini gösteren biplot grafiği.....	203
Şekil 4.113. PAK ham ekstrakt, uçucu yağ ve fraksiyonlarının antioksidan, enzim inhibisyonu ve DNA koruma aktivitesi ile etkileşimini gösteren biplot grafiği.....	203
Şekil 4.114. PAS ham ekstrakt, uçucu yağ ve fraksiyonlarının antioksidan, enzim inhibisyonu ve DNA koruma aktivitesi ile etkileşimini gösteren biplot grafiği.....	204
Şekil 4.115. Daukosterol-AChE arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d).....	205
Şekil 4.116. Oksipeusedanin-AChE arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d)	205
Şekil 4.117. Ostol-AChE arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d).....	206
Şekil 4.118. Rutin-AChE arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d).....	206
Şekil 4.119. <i>trans</i> -sinamik asit-AChE arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d)	207
Şekil 4.120. Sükroz-AChE arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d).....	207
Şekil 4.121. Daukosterol-BChE arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d).....	208
Şekil 4.122. Oksipeusedanin-BChE arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d)	208
Şekil 4.123. Ostol-BChE arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d).....	209
Şekil 4.124. Rutin-BChE arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d).....	209

Şekil 4.125. <i>trans</i> -sinamik asit-BChE arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d)	210
Şekil 4.126. Sükroz-BChE arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d).....	210
Şekil 4.127. Daukosterol-tirozinaz arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d)	211
Şekil 4.128. Oksipeusedanin-tirozinaz arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d)	211
Şekil 4.129. Ostol-tirozinaz arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d).....	212
Şekil 4.130. Rutin-tirozinaz arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d).....	212
Şekil 4.131. <i>trans</i> -sinamik asit-tirozinaz arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d)	213
Şekil 4.132. Sükroz-tirozinaz arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d).....	213
Şekil 4.133. Daukosterol-üreaz arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d).....	214
Şekil 4.134. Oksipeusedanin-üreaz arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d)	214
Şekil 4.135. Ostol-üreaz arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d).....	215
Şekil 4.136. Rutin-üreaz arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d).....	215
Şekil 4.137. <i>trans</i> -sinamik asit-üreaz arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d)	216
Şekil 4.138. Sükroz-üreaz arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d).....	216

TABLolar DİZİNİ

Tablo 4.1. Ekstraktların ve uçucu yağların verim değerleri.....	58
Tablo 4.2. Ekstraktların toplam fenol içeriği	59
Tablo 4.3. Ekstraktların toplam flavonoid içeriği	61
Tablo 4.4. Ekstraktların fenolik bileşenlerinin LC-MS/MS analiz sonuçları	62
Tablo 4.5. PAS ve PAY uçucu bileşenlerinin GC-MS/MS analiz sonuçları	65
Tablo 4.6. <i>trans</i> -sinamik asit molekülünün ¹ H ve ¹³ C NMR verileri	71
Tablo 4.7. Rutin molekülünün ¹ H ve ¹³ C NMR verileri	77
Tablo 4.8. Oksipeusedanin molekülünün ¹ H ve ¹³ C NMR verileri.....	83
Tablo 4.9. Ostol molekülünün ¹ H ve ¹³ C NMR verileri.....	89
Tablo 4.10. Ostol molekülünün X-ışını kristalografi verisi	93
Tablo 4.11. Sükroz molekülünün ¹ H ve ¹³ C NMR verileri.....	95
Tablo 4.12. Daukosterol molekülünün ¹ H ve ¹³ C NMR verileri.....	100
Tablo 4.13. PAY ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların toplam antioksidan aktivite sonuçları	105
Tablo 4.14. PAM ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar ve alt fraksiyonların toplam antioksidan aktivite sonuçları	107
Tablo 4.15. PAK ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların toplam antioksidan aktivite sonuçları	109
Tablo 4.16. PAS ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların toplam antioksidan aktivite sonuçları	111
Tablo 4.17. PAY ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların DPPH' giderme aktivite sonuçları	113
Tablo 4.18. PAM ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar ve alt fraksiyonların DPPH' giderme aktivite sonuçları.....	115
Tablo 4.19. PAK ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların DPPH' giderme aktivite sonuçları	116
Tablo 4.20. PAS ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların DPPH' giderme aktivite sonuçları	118
Tablo 4.21. PAY ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların ABTS ⁺ giderme aktivite sonuçları	120
Tablo 4.22. PAM ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar ve alt fraksiyonlarının ABTS ⁺ giderme aktivite sonuçları	122
Tablo 4.23. PAK ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların ABTS ⁺ giderme aktivite sonuçları.....	123
Tablo 4.24. PAS ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların ABTS ⁺ giderme aktivite sonuçları	125
Tablo 4.25. PAY ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların AChE inhibisyonu sonuçları.....	129
Tablo 4.26. PAM ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar ve alt fraksiyonların AChE inhibisyonu sonuçları	131
Tablo 4.27. PAK ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların AChE inhibisyonu sonuçları.....	132
Tablo 4.28. PAS ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların AChE inhibisyonu sonuçları	134
Tablo 4.29. AChE ile izolatlar arasındaki etkileşimlere ait V_{maks} , K_m , inhibisyon türü ve K_i değerleri	140
Tablo 4.30. PAY ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların BChE inhibisyonu sonuçları	143

Tablo 4.31. PAM ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar ve alt fraksiyonların BChE inhibisyonu sonuçları	145
Tablo 4.32. PAK ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların BChE inhibisyonu sonuçları	146
Tablo 4.33. PAS ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların BChE inhibisyonu sonuçları	148
Tablo 4.34. BChE ile izolatlar arasındaki etkileşimlere ait V_{maks} , K_m , inhibisyon türü ve K_i değerleri	154
Tablo 4.35. PAY ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların tirozinaz inhibisyonu sonuçları	157
Tablo 4.36. PAM ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar ve alt fraksiyonların tirozinaz inhibisyonu sonuçları	159
Tablo 4.37. PAK ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların tirozinaz inhibisyonu sonuçları	160
Tablo 4.38. PAS ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların tirozinaz inhibisyonu sonuçları	162
Tablo 4.39. Tirozinaz ile izolatlar arasındaki etkileşimlere ait V_{maks} , K_m , inhibisyon türü ve K_i değerleri.....	170
Tablo 4.40. PAY ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların üreaz inhibisyonu sonuçları	173
Tablo 4.41. PAM ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar ve alt fraksiyonların üreaz inhibisyonu sonuçları	175
Tablo 4.42. PAK ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların üreaz inhibisyonu sonuçları	176
Tablo 4.43. PAS ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların üreaz inhibisyonu sonuçları	178
Tablo 4.44. Üreaz ile izolatlar arasındaki etkileşimlere ait V_{maks} , K_m , inhibisyon türü ve K_i değerleri	186
Tablo 4.45. PAY ham ekstraktın, fraksiyonların, alt fraksiyonların, uçucu yağların ve izolatların MİK değerleri ($\mu\text{g/mL}$).....	188
Tablo 4.46. PAM ham ekstraktın, fraksiyonların, alt fraksiyonların ve uçucu yağların MİK değerleri ($\mu\text{g/mL}$).....	189
Tablo 4.47. PAK ham ekstraktın, fraksiyonların, alt fraksiyonların, uçucu yağların ve izolatların MİK değerleri ($\mu\text{g/mL}$).....	190
Tablo 4.48. PAS ham ekstraktın, fraksiyonların, alt fraksiyonların, uçucu yağların ve izolatların MİK değerleri ($\mu\text{g/mL}$).....	191
Tablo 4.49. Ham ekstraktların plazmid DNA % Form I ve II değerleri	193
Tablo 4.50. Uçucu yağların plazmid DNA % Form I ve II değerleri	194
Tablo 4.51. PAY fraksiyonlarının plazmid DNA % Form I ve II değerleri	196
Tablo 4.52. PAM fraksiyonlarının plazmid DNA % Form I ve II değerleri.....	197
Tablo 4.53. PAK fraksiyonlarının plazmid DNA % Form I ve II değerleri	198
Tablo 4.54. PAS fraksiyonlarının plazmid DNA % Form I ve II değerleri	199
Tablo 4.55. İzolatların plazmid DNA % Form I ve II değerleri	201
Tablo 4.56. AChE ile izolatlar arasında en iyi pozdaki etkileşimler	217
Tablo 4.57. BChE ile izolatlar arasında en iyi pozdaki etkileşimler.....	218
Tablo 4.58. Tirozinaz ile izolatlar arasında en iyi pozdaki etkileşimler	219
Tablo 4.59. Üreaz ile izolatlar arasında en iyi pozdaki etkileşimler.....	220
Tablo 4.60. Enzimlerin izolatlarla bağlanma enerjileri ve bağlanma sabitleri	221

1. GİRİŞ

Antioksidanlar çok eskiden beri bilinmekte ve birçok gıda maddesinde bozulma önleyici ve raf ömrünü uzatma gibi sebeplerle katkı maddesi olarak kullanılmakla birlikte günümüzde hala popülerliğini korumaktadır. Bunun sebebi mevcut sentetik antioksidanların zararlı oluşu ve bunun yerine doğal antioksidan madde arayışıdır. Doğal antioksidanlar sayesinde daha güvenli, ucuz ve sürdürülebilir bir etki yaratmak mümkün olmaktadır.

Enzimler katalizledikleri tepkimelerin hızını artırarak ortamdan herhangi bir değişime uğramadan ayrılan protein yapılı maddelerdir. Bazı hastalıklarda enzim inhibitörleri ile yıkımdan sorumlu enzimlerin bloke edilmesi prensibi ile yıkım azaltılmakta ya da yok edilmektedir. Bu hastalıklarda umut olabilecek enzim inhibitörü çalışmalarının sayısı da artmaktadır.

Bilinçsiz ve gereksiz antibiyotik kullanımları ile bakterilerde antibiyotiklere karşı oluşan direnç ve yeni antibiyotiklere ihtiyaç duyulması da doğal antibiyotik olabilecek maddelerin keşfiyle ilgili çalışmalarının sayısını artırmıştır.

Bitkiler, kendi bünyelerinde ürettikleri bileşenler ile kendilerini savunmalarının yanı sıra çevreye uyum sağlama ve hatta tozlaşmaya kadar birçok işlevi yerine getirirler. Bitkilerin ürettikleri bu bileşenlere sekonder metabolitler denir ve genel bir sınıflandırma ile bu bileşenleri; terpenler, fenolik bileşikler ve alkaloidler olarak sınıflandırabiliriz. Sekonder metabolitlerin sadece bitkinin kendisi için değil aslında tıbbi açıdan da önemli olan bazı özellikleri bulunmaktadır.

Binlerce yıldır, şifalı bitkiler değerli birer tedavi kaynağı olmuş ve günümüzdeki ilaçlarının birçoğu hala bitki kaynaklı doğal ürünler veya bunların türevlerinden oluşmaktadır (Kinghorn vd, 2011; Newman ve Cragg, 2012).

Doğal ürün tabanlı ilaç keşfinin yapısal karmaşıklığı, son derece entegre bir disiplinler-arası yaklaşım gerektirse de, bilimsel gelişmeler, son teknolojik gelişmeler ve araştırma eğilimleri, doğal ürünlerin gelecekte de yeni ilaçların en önemli kaynakları arasında olacağını açıkça göstermektedir (Atanasov vd, 2015).

Bitkiler alemi, farklı kimyasal iskelelere sahip çeşitli biyoaktif bileşikler üreten çok sayıda tür içerir. Tahminlere göre, mevcut bitki türlerinin sadece % 6'sı farmakolojik açıdan ve sadece % 15'i fitokimyasal açıdan sistematik olarak araştırılmıştır (Atanasov vd, 2015).

Apiaceae ailesi aromatik bitkiler arasında en eski ailelerden biri olarak kabul edilir (Rajamanickam vd, 2013; Sayed-Ahmad vd, 2017). Apiaceae ailesine ait bitkiler tıbbi özellikler gösterir ve antik çağlardan beri geleneksel tıpta kullanılmaktadır. Bu ürünler gastrointestinal ve nörolojik bozukluklar, kusma ve ishal için tavsiye edilir, özellikle başta kimyon, karaman kimyonu ve rezene olmak üzere antispazmodik, antiseptik, gaz giderici ve ülser önleyici özellikler gösterirler (Koppula ve Choi, 2011).

Apiaceae ailesine mensup olan *Prangos* bitkisi daha önce Türkiye'de gaz giderici, tonik ve antelmintik ajan olarak dış kanamada, mide veya sindirim bozukluklarında, yaralar, yara izlerinin kapatılmasında ve lökoplaki tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca *Prangos* türleri uyarıcı, afrodizyak ve doğal gübre olarak da kullanılmaktadır (Oke Altuntas vd, 2016; Özek vd, 2018).

Bu bilgiler ışığında yeni keşfedilen endemik bir tür olan *P.aricakensis*'in yaprak, meyve, kök ve sap kısımlarının ekstraksiyonu ile elde edilen ham ekstraktların, uçucu yağların, fraksiyonların, bunların alt fraksiyonlarının ve fraksiyonlardan izole edilen moleküllerinin antioksidan, enzim inhibisyon, antimikrobiyal ve DNA koruma aktiviteleri araştırılmıştır. Ayrıca izolatların enzimlerle olan etkileşimleri, bağlanma enerjileri ve K_i sabitleri de bilgisayar ortamında "Moleküler Doking" tekniği kullanılarak belirlenmiştir. Bu tez çalışması endemik *P. aricakensis* bitkisi üzerinde biyoaktivite yönlendirmeli izolasyon, karektrizasyon ve moleküler etkileşim-gösterim çalışmaların yapıldığı ilk çalışma olarak gerçekleştirilmiştir.

Ayrıca bu tez çalışması 221Z330 kodlu TÜBİTAK 1002 projesi ile desteklenmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Apiaceae Ailesi

Apiaceae ailesi, tüm bitki organlarında meydana gelen, borular ve vittae olarak bilinen iç salgı yapılarında önemli sekonder metabolitleri depolayan bir takım tıbbi ve aromatik bitkiden oluşur (Maggi vd, 2015).

Apiaceae, yüksek bitkiler arasında en büyük taksonlardan biridir. Kimyon (*Cuminum cyminum* L.), karaman kimyonu (*Carum carvi* L.), rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.), kişniş (*Coriandrum sativum* L.), anason (*Pimpinella anisum* L.), dereotu (*Anethum graveolens* L.) ve maydanoz (*Petroselinum crispum* L.) dünya çapında 1.2 milyon hektardan fazla alanda yetişen, ailenin en çok ekilen üyeleridir ve yıllık üretimleri yaklaşık 25 milyon tondur (Sayed-Ahmad vd, 2017).

Apiaceae ailesi aromatik bitkiler arasında en eski ailelerden biri olarak kabul edilir, üyelerinin çoğu Akdeniz bölgesi ve Güneybatı Asya'ya özgüdür. Gıda, ilaç, parfüm ve kozmetik üretiminde kullanımlarından dolayı dünya çapında tanınmakta ve yetiştirilmektedir (Rajamanickam vd, 2013; Sayed-Ahmad vd, 2017).

Apiaceae ailesine ait bitkiler tıbbi özellikler gösterir ve antik çağlardan beri geleneksel tıpta kullanılmaktadır. Bu ürünler gastrointestinal ve nörolojik bozukluklar, kusma ve ishal için tavsiye edilir, özellikle başta kimyon, karaman kimyonu ve rezene olmak üzere antispazmodik, antiseptik, gaz giderici ve ülser önleyici özellikler gösterirler (Koppula ve Choi, 2011).

Apiaceae Lindley ailesi Türkiye’de, 100 cins ve toplamda 505 taksondan (477 tür dahil) oluşmakta olup bunlardan 167 tanesi endemiktir (Güner ve Aslan, 2012).

Bu aile, antik çağlardan beri geleneksel tıpta kullanılmıştır. Ayrıca kumarinler, flavonoidler, poliasetilenler ve esans yağlar da dahil olmak üzere biyoaktif bileşik içerikleri için yemek pişirmede kullanılmıştır (Ekiert, 2000). Bu bileşiklerin elde edildikleri ham maddenin kolayca bulunabilir olmasının yanı sıra, nispeten güvenilirliği onları farklı alanlarda kullanılabilir kılmıştır (Sayed-Ahmad vd, 2017). Kullanılabilen Apiaceae'lerin ana örnekleri arasında; anason, kimyon, rezene, dereotu, kimyon ve kişniş gösterilebilir (Benelli vd, 2018).

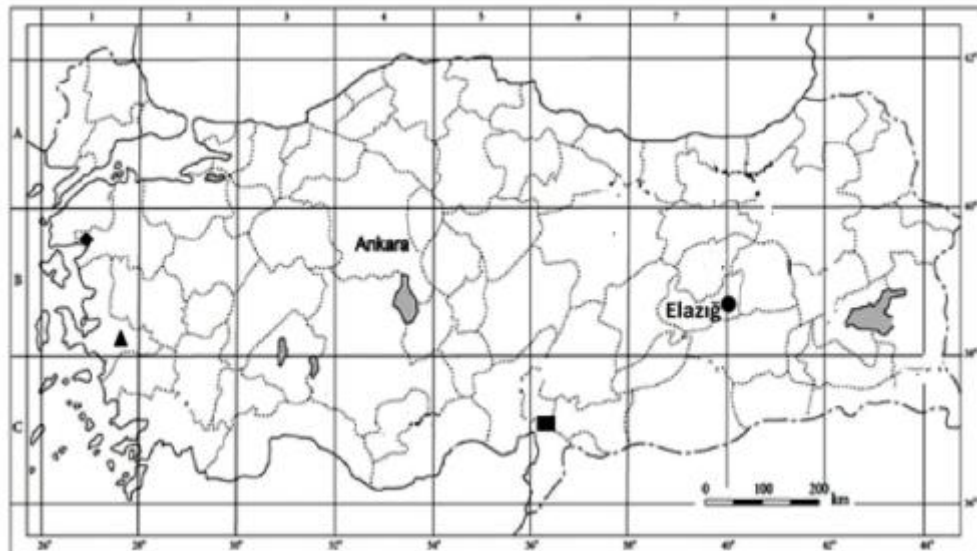
Apiaceae gruplarının, özellikle *Cachrys* grubunun, endüstriyel düzeyde kullanımı için daha fazla araştırılması gerekmektedir. *Cachrys* grubu (Apiaceae ailesi, Apioideae alt ailesi), *Prangos*, *Alocacarpum*, *Cachrys*, *Bilacunaria*, *Ferulago*, *Diplotaenia*, *Eriocycla* ve *Azilia* gibi birkaç cins içerir (Ajani vd, 2008).

2.1.1. *Prangos* Türleri ve *Prangos aricakensis*

Prangos türleri genellikle kurak, taşlı ve dağ meralarında standart topraklarda yetişir. Sicilya'da, 1000 metre rakımın üzerindeki karbonat dağlarında oldukça yaygındır. *Prangos* türleri genellikle Mayıs ayından Haziran ayına kadar çiçek açar ve Temmuz ayından Ağustos ayına kadar da meyve verir. Sicilya'nın Madonie Dağları'nda, *Prangos* türleri genellikle sığır ve koyun otlatılarak bu hayvanlara tükettirilmekte ve bu hayvanların verdikleri sütlerde karakteristik kokular ve tatlar oluşturulmaktadır. Bu sayede yerel halk tarafından çok beğenilen ve talep edilen peynir ve tuzlu ricotta gibi süttten türetilen ürünler elde edilmektedir (Di Martino ve Raimondo, 1974).

Prangos aricakensis (Apiaceae), Türkiye'nin Doğu Anadolu bölgesinde yer alan Elazığ ilinin Arıcak mevkinde yetişen ve yeni tanımlanmış bir bitkidir. Bu bitki 10 km² alandan daha az bir alanda ve 2000-2050 metre yükseklikte kayalık yamaçlarda yetişmektedir (Şekil 2.1.) (Behçet vd, 2019) ve Türkiye'de Elazığ, Hatay, İzmir ve Balıkesir'de çeşitli türleri yetişmektedir (Şekil 2.2.) (Behçet vd, 2019).

P. aricakensis; *P. turcica*, *P. hulusii*, *P. ilanae* ve *P. trifida* türleri ile yakın benzerlik gösterirken; trikom, yaprak ve meyve karakteristiği açısından farklılık göstermektedir (Behçet vd, 2019).



Şekil 2.1. *Prangos* türlerinin Türkiye'de dağılımı, *Prangos aricakensis*(●), *P.turcica* (■), *P.hulusii*(▲), *P.ilanae*(■).

Türkiye'nin bitki örtüsünde *Prangos*, 16 tür, 2 alttür ve 2 çeşitten oluşan 20 takson ile temsil edilmiştir. Türkiye, *Prangos* cinsi için önemli bir merkezdir ve bu cinsin taksonların yaklaşık yarısı Anadolu'da yetişmektedir (Duman vd, 2000; Duran vd, 2005; Pimenov vd, 2005).



Şekil 2.2. *Prangos aricakensis* Behçet&Yapar'ın orijinal habitatındaki görünümü

Royal Botanic Gardens'ın bitki listesine göre kabul edilmiş 19 *Prangos* türü bulunmaktadır. Bunlar çoğunlukla Doğu Akdeniz bölgesi, Balkanlar, Orta Doğu ve Batı Asya'da dağılım gösterirken çoğu Türkiye'de endemik olan türlerdir.

2.1.2. *Prangos* Türlerinin Kullanım Alanları

Pers halk tıbbında *P. ferulacea*, gastrointestinal rahatsızlıklar ve karaciğer rahatsızlıkları için gaz giderici, yumuşatıcı, yatıştırıcı, antienflamatuvar, anti-viral, anti-helmintik, anti-fungal ve anti-bakteriyel ajan olarak kullanılmıştır (Kafash-Farkhad vd, 2013). İran'da yerel olarak "jashir" olarak bilinir, yiyecek ve yoğurt çeşnişi olarak sunulur (Sadraei vd, 2013).

Türkiye'de *P. ferulacea*, "heliz" olarak bilinmektedir ve doğu illerinde, özellikle Van ili ve çevresinde, geleneksel olarak üretilen çok ünlü bir peynir olan "otlu"nun bir bileşeni olarak kullanılmaktadır. *P. ferulacea*, karakteristik görünümü ve özel aroma verici olmasının yanı sıra antimikrobiyal koruma da sağlamaktadır

(Dagdelen vd, 2014b). Türkiye'nin orta, güney ve doğu dağlarında bu bitkinin genç filizleri “çaşır” olarak bilinir ve bu sebze haşlanarak, kızartılarak ve salamura edilerek tüketilir (Musa Özcan vd, 2007).

Türkiye'de *Prangos* bitkisi gaz giderici, tonik ve antelmintik ajan olarak dış kanamada, mide veya sindirim bozukluklarında, yaralar, yara izlerinin kapatılmasında ve lökoplaki tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca *Prangos* türleri uyarıcı, afrodizyak ve doğal gübre olarak da kullanılmaktadır (Oke Altuntas vd, 2016; Özek vd, 2018).

P. ferulacea ve *P. pabularia* bitkilerin yaprakları geleneksel olarak müshil, antihipertansif ve gaz giderici maddeler olarak kullanılır ve ayrıca sindirim bozukluklarının tedavisi için önerilir (Mottaghipisheh vd, 2020).

Kuzeybatı İran'da, *P. ferulacea*'nın köklerinden elde edilen uçucu yağ, geleneksel olarak yara iyileşmesi için kullanılmıştır (Yousefi vd, 2017).

2.1.3. *Prangos* Türlerinin Fitokimyasal Çalışmaları

Prangos cinsine ait 16 türün sekonder metabolitleri incelenmiştir. Kumarinlerin ana sekonder metabolitler olduğu görülmüştür. *Prangos* türlerinden, 30 farklı kumarin türeği, 66 farklı furokumarin, 6 flavonoid, 16 terpenoid, 7 γ -piron, 3 fitosterol izole edilmiş ve toplam 131 uçucu olmayan doğal ürün rapor edilmiştir (Mottaghipisheh vd, 2020).

***Prangos* türlerine ait fitokimyasal çalışmalar;**

P. ferulacea uçucu yağlarının yaprak kısmında α -pinen (% 36.82), kampen (% 15.83), limonen (% 10.52), β -pinen (% 8.73) ve mirsen (% 5.88), çiçekte ise α -pinen (% 20.91), bornil asetat (% 13.80), camphene (% 11.94), limonene (% 8.57), β -pinen (% 7.47) ve mirsen (% 6.03) olarak bulunmuştur (Bazdar vd, 2018).

Ticari olarak kullanılan Van otlu peynirinde (*P. ferulacea*), heptanal (% 24.48), β -fellandren (% 22.33) ve α -pinen (% 16.20) olarak belirlenmiştir (Dagdelen vd, 2014b).

P. ferulacea bitkisinin yaprak kısımlarında yoğun olarak, β -pinen (% 43.13) ve α -pinen (% 22.1) tespit etmişlerdir. Ayrıca fenolik ve flavonoidlere yönelik yaptıkları fitokimyasal analizlerinde başarıyla isoimpatorin, Ferudenol, kafeik asit glukosil esteri, isohamnetin-3-O-glukozit ve kuersetin-3-O-glukozit karakterize edilmiştir (Delnavazi vd, 2017).

P. gaubae'a ait yapraklarda, germakren D (% 26.7), karyofilen oksit (% 14.3) ve (E)-karyofilen (% 13.8) olarak bulunmuştur (Bahadori vd, 2017).

P. peucedanifolia'ya ait çiçek ekstraktından 1,2-dehidro-7-episeskuisineol, isodausen ve kessan bileşiklerini izole ederken yaprak ekstraktından ise β -cubeben, (+)-spatulenol, presilphiperfolan-8-ol, salvial-4(14)-en-1-on ve akorenol bileşiklerini başarıyla izole edilmiştir (Brusotti vd, 2013).

Fenolik ve flavonoidler ile ilgili literatürde;

- *P. ferulacea* ve *P. peucedanifolia*'nın (Zengin vd, 2020),
- *P. ferulacea*'nın (Bazdar ve Sadeghi, 2017; Bazdar vd, 2018; Dagdelen vd, 2014a; Delnavazi vd, 2017; Mavi vd, 2004),
- *P. gaubae*'nın (Bahadori vd, 2017),
- *P. heynia* ve *P. denticulata*'nın (Oke-Altuntas vd, 2015)
- *P. asperula*'nın *meliocarpoides* Boiss var. *meliocarpoides*'nin (Abdolmohammad-Zadeh vd, 2014; Oke Altuntas vd, 2016),
- *P. ferulacea*, *P. heyniae*, *P. meliocarpoides* var. *meliocarpoides* ve *P. uechtrizii*'nin (Ahmed vd, 2011),
- *P. ferulacea* (L.) Lindl.'ın (Çelik vd, 2008; Çoruh vd, 2007) çalışmaları yapılmıştır.

2.1.4. Prangos Türlerinin Farmakolojik ve Biyoaktivite Çalışmaları

Prangos türlerinin ham ekstraktlarının, uçucu yağlarının ve izole edilen sekonder metabolitlerinin biyoaktivitesi, çeşitli araştırma grupları tarafından incelenmiştir. *Prangos* türlerinin en kapsamlı incelenen etkisi *in vitro* olarak denenmiştir. Bunlar arasında antioksidan aktivite başlıca biyoaktivite değerlendirmesidir. Tek *in vivo* çalışma, *P. ferulacea* yaprak özlerinin düşük yapıcı etkisinin değerlendirilmesidir. *Prangos* türlerinin antimikrobiyal (antibakteriyel, antifungal ve antiviral), antikanser (sitotoksik ve antiproliferatif), antienflamatuar, antidiyabetik, nöroprotektif ve diğer farmakolojik aktiviteleri de değerlendirilmiştir. *Prangos* türlerinin uçucu yağlarının fitotoksik, insektisidal ve kovucu aktiviteleri dahil olmak üzere allelopatik etkiler de rapor edilmiştir. Deneylerin çoğunda, genellikle metanolik veya hidroetanollü ekstraktlar kullanılmıştır (Mottaghipisheh vd, 2020).

Prangos türlerine ait biyoaktivite çalışmaları;

P. gaubae bitkisinin metanolik ekstraktının fosfomolibidyum metodu kullanılarak yapılan aktivite tayininde 1.47 ± 0.06 mmol troloks eşdeğeri (TE)/g kuru bitki olarak belirlenmiştir (Zengin vd, 2020). *P. ferulacea* ve *P. peucedanifolia* bitkilerinin metanolik ekstraktları için ise mmol TE/g kuru bitki cinsinden sırasıyla, 1.80 ± 0.19 ve 2.17 ± 0.15 olarak belirlenmiştir (Bahadori vd, 2017).

P. gaubae bitkisinin metanolik ekstraktı için AChE inhibisyonu 1.80 ± 0.03 mg GE/g, BChE inhibisyonu ise 1.26 ± 0.04 mg GE/g olarak belirlenirken (Bahadori vd, 2017), *P. ferulacea* bitkisinin metanolik ekstraktı için AChE inhibisyon aktivitesi 1.47 ± 0.34 mg GE/g ekstrakt ve *P. peucedanifolia* için ise 4.09 ± 0.16 mg GE/g ekstrakt olarak bulunmuştur ve BChE inhibisyonunda ise *P. ferulacea* ve *P. peucedanifolia* bitkilerinin metanolik ekstraktlarının etki göstermediği belirtilmiştir (Zengin vd, 2020).

Prangos türlerinin antioksidan aktivite tayinleri ile ilgili literatürde;

Toplam antioksidan aktivitesi,

- *P. gaubae*' nin (Bahadori vd, 2017),
- *P. ferulacea* ve *P. peucedanifolia*' nin (Zengin vd, 2020) aktiviteleri belirlenmiştir.

Serbest radikal giderme aktivitesi,

- *P. ferulacea*' nin (Dagdelen vd, 2014a),
- *P. denticulata* ve *P. heyndiae*' nin (Oke-Altuntas vd, 2015),
- *P. meliocarpoides* var. *meliocarpoides*' nin (Oke Altuntas vd, 2016),
- *P. gaubae*' nin (Bahadori vd, 2017),
- *P. ferulacea* ve *P. peucedanifolia*' nin (Zengin vd, 2020) aktiviteleri belirlenmiştir.

ABTS^{•+} giderme aktivitesi,

- *P. ferulacea*' nin (Çelik vd, 2008; Dagdelen vd, 2014a),
- *P. gaubae*' nin (Bahadori vd, 2017),
- *P. ferulacea* ve *P. peucedanifolia*' nin (Zengin vd, 2020) aktiviteleri belirlenmiştir.

***Prangos* türlerinin enzim inhibisyon etkileri ile ilgili literatürde;**

AChE, BChE, tirozinaz ve üreaz inhibisyon etkileri,

- *P. gaubae*' nin (Bahadori vd, 2017)
- *P. ferulacea* ve *P. peucedanifolia*'nın (Zengin vd, 2020) aktiviteleri belirlenmiştir.
- *Prangos* türlerinin üreaz inhibisyon aktivitesi ile ilgili çalışma bulunmamaktadır.

***Prangos* türlerinin antibakteriyel aktivite tayinleri ile ilgili literatürde;**

- *P. pabularia*'dan elde edilen kumarin ve γ -piron türevlerinin *P. aeruginosa* ve *S. aureus*' a karşı (Tada vd, 2002),
- Durmaz ve ark. (2006) tarafından *P. ferulacea*' nın *B.cereus* ve *S. aureus*' a karşı (Durmaz vd, 2006),
- *P. ferulacea*' nın meyve ekstraktının esansiyel yağları kullanılarak *S.aureus*'a karşı (Massumi vd, 2007),
- *P. uloptera*'nın kök ekstraktının *S.aureus* ve *E. coli*'ye karşı (Razavi vd, 2010b),
- *P. ferulacea* bitkisinin uçucu yağlarının ekstraksiyonunun *S. aureus*, *B.cereus*, *E. Coli*' ye karşı (Seidi Damyeh vd, 2016),
- *P. ferulacea* ve *P. uloptera*' nın *S. aureus*, *E.coli*' ye karşı (Nosrati ve Behbahani, 2016),
- *P. ferulacea* ve *P. peucedanifolia*' nın *S. aureus*, *B.cereus*, *L. monovytogenes* ve *E. Coli*' ye karşı (Zengin vd, 2020) antibakteriyel etkileri araştırılmıştır.

2.2. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller

Oksidatif stres, bir organizmadaki artan reaktif serbest radikal seviyeleri ile karakterize edilen bir terimdir. Organizmada azalan antioksidanlardan veya artan reaktif oksijen türleri (ROT) ve reaktif azot türleri (RAT) gibi serbest radikallerden kaynaklanabilir. Artan serbest radikal üretimi de çeşitli hastalıkların oluşumuna neden olmaktadır (Mandelker, 2011).

Serbest radikaller, ROT veya RAT türlerinin bir alt kümesi olarak düşünülebilir ve eşlenmemiş elektron bulunduran kimyasal bir türdür. Sahip oldukları bu kararsız yapı, başka maddelerle tepkimeye girip kararlı yapıya geçme eğiliminde olmalarını sağlamaktadır. Oksidatif stres bağlamında radikaller, küçük

aktivasyon enerjileri ve kısa ömürleri ile reaktif olan küçük moleküller/iyonlardır. Sahip oldukları küçük boyut birçoğunun hücre zarlarına nüfuz etmesini kolaylaştırır (Jensen, 2003).

Serbest radikaller oksijen veya azot kaynaklı olabilir. Bazı yaygın görülen ROT arasında süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil ($\cdot OH$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gösterilebilirken yaygın görülen RAT arasında ise azot oksit ($NO^{\cdot}$) ve azot dioksit ($NO_2^{\cdot}$) yer alır.

Serbest radikal oluşumu endojen (hücre içi) ve ekzojen (hücre dışı) kaynak olarak sınıflandırılan iki farklı genel sebepten oluşabilmektedir. Endojen kaynaklar içerisinde mitokondri ve elektron taşıma zinciri kaynaklı oluşum, çeşitli oksidasyon ve enzim tepkimeleri kaynaklı oluşumlar yer alırken ekzojen kaynaklar içerisinde ise genellikle vücudumuza çevreden etki eden UV ışınları, radyasyon, çeşitli kimyasallar ve ksenobiyotikler ile sigara dumanı gibi etkenler yer almaktadır. Vücudumuzda zamanla biriken serbest radikaller ise DNA bazlarında değişiklik ve mutasyon, lipid peroksidasyonu ve protein hasarı gibi sebeplere yol açarak bunun sonucunda da doku hasarı oluşturmakta ve bu yolla çeşitli hastalıkların meydana gelmesine zemin hazırlamaktadır.

Oksidatif strese serbest radikal kaynaklı hasarın, nörodejeneratif hastalıklar (Parkinson, Alzheimer, Huntington ve amyotrofik lateral skleroz), amfizem, kardiyovasküler ve enflamatuvar hastalıklar, katarakt ve kanser gibi birçok sağlık sorununa katkıda bulunduğu doğrulanmıştır (Pisoschi ve Pop, 2015).

2.3. Antioksidanlar

Antioksidan madde, diğer moleküllerin oksidasyonunu inhibe edebilen bir moleküldür. Bu bağlamda antioksidan madde, hedef bir molekülde oksidatif hasarı geciktiren, önleyen veya ortadan kaldıran herhangi bir madde olarak tanımlanmıştır (Halliwell vd, 1995).

Antioksidanlar, ROT'un oksidatif süreçlerini ve zararlı etkilerini azaltmak için hem gıda sistemlerinde hem de insan vücudunda hayati bir rol oynar. Gıda sistemlerinde, lipid peroksidasyonunu geciktirici ve sekonder lipid peroksidasyon ürününün oluşumu, besleyici antioksidan moleküllerin kullanılmasıyla önlenabilir ve böylece depolama sırasında gıda ürününün lezzetinin, renginin ve dokusunun korunmasına yardımcı olurlar (Çakmakçı vd, 2015). Gıdalardaki antioksidanlar, bitkilerdeki ana sekonder metabolit sınıflarından kaynaklanır ve gıdayı düşük

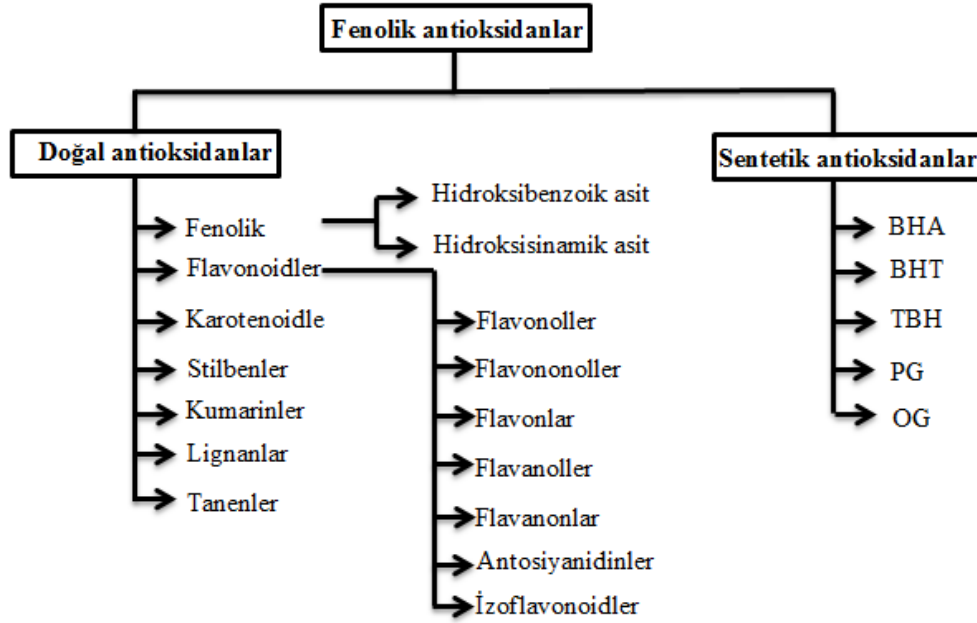
konsantrasyonda oksidatif ekşimeden korurlar (Karakaya, 2004).

Antioksidanlar insan vücudunu serbest radikallerden ve ROT etkilerinden koruyabilir. Lipit peroksidasyonunun yanı sıra birçok kronik hastalığın ilerlemesini geciktirirler. Son yıllarda, gıda antioksidanlarının alternatif doğal ve güvenli kaynaklarının belirlenmesine ve özellikle bitki kaynaklı doğal antioksidan arayışlarına büyük ilgi vardır. Antioksidanlar genellikle oksidasyonun radikal zincir reaksiyonlarını önlemek için gıdalara eklenirler ve reaksiyonun sonlanmasına yol açan başlama ve yayılma adımını engelleyerek etki ederler ve oksidasyon sürecini geciktirirler (Gülçin vd, 2006).

Stres, patojen istilası, yaşlanma, apoptoz ve nörolojik hastalıklar gibi süreçlerde antioksidanların çeşitli sağlık yararlarını ele alan bir dizi bilimsel çalışma devam etmektedir. Antioksidanlar, serbest radikallerin hücreye zarar veren etkilerini azaltır. İnsanlar, kanserler ve kardiyovasküler sağlık sorunları da dahil olmak üzere farklı hastalık türlerine karşı korumaya katkıda bulunan çok miktarda flavonoid ve antioksidan takviyesi içeren taze ve kuru meyve ve sebzelerden doğrudan antioksidan alırlar (Sindhi vd, 2013).

Fenolik bileşikler bir veya daha fazla aromatik halka içeren biyolojik olarak aktif moleküllerdir ve bitkisel gıdalarda doğal olarak bulunurlar. En basit fenolik maddeler; meyvelerde ve tohumlarda bulunan 3-etilfenol ve 3,4-dimetilfenol gibi tek benzen halkasına sahip monofenoller, kafeik ve ferulik asit içeren hidroksisinamik asit grubu bileşikler, kateşinler, proantosiyantinler, antosiyanidinler ve flavonoller içeren flavonoid ve glikozitleridir (Pokorny vd, 2001).

Fenolik antioksidanlar kaynaklarına ve üretim şekillerine göre sentetik ve doğal antioksidanlar olarak incelenebilir (Şekil 2.3.) (Gulcin, 2020).

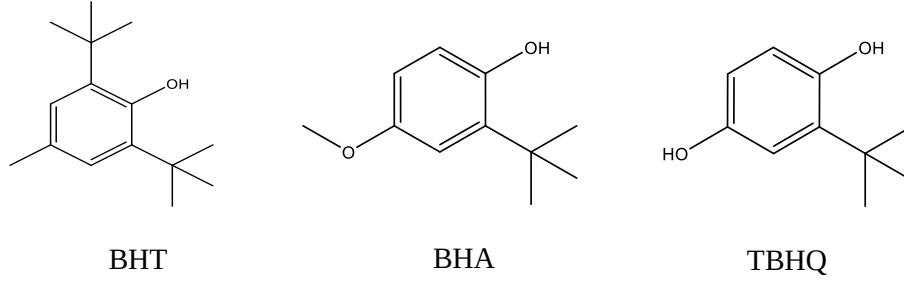


Şekil 2.3. Fenolik antioksidanların sınıflandırılması

2.3.1. Sentetik Antioksidanlar

Sentetik antioksidanlar, doğal antioksidanlarla karşılaştırmak ve gıdaya dahil edilmek üzere standart bir antioksidan aktivite ölçüm sistemine sahip olacak şekilde geliştirilmiştir. Çeşitli işlemlere ve koşullara dayanabilmesi ve raf ömrünü uzatması için gıdalara eklenirler. Bazı araştırmalar aksini gösterse de, hemen hemen tüm işlenmiş gıda ürünlerinde güvenli olduğu bildirilen sentetik antioksidanlar bulunur (Carocho ve Ferreira, 2013). Bu sentetik antioksidanlar, katı ve sıvı yağların ve lipit içeren gıdaların işlenmesi ve depolanması sırasında lipit oksidasyonunun başlamasını önlemek veya geciktirmek için eklenir.

Kullanılan popüler sentetik antioksidanlar, bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), bütillenmiş hidroksianisol (BHA), *ter*-bütildihidrokinon (TBHQ) gibi fenolik bileşiklerdir (Şekil 2.4.).



Şekil 2.4. BHT, BHA ve TBHQ antioksidanların yapısı

BHA kısa zincirli yağ asitlerinin oksidasyonunu kontrol etmede etkilidir. Ayrıca uçucu yağların renk, tat ve kokularının korunmasında da rol almaktadır. BHT molekülü BHA'dan daha fazla sterik engel oluşturan iki *ter*-bütil grubunun varlığı nedeniyle BHA kadar etkili değildir (Nanditha ve Prabhasankar, 2008).

TBHQ birçok yenilebilir hayvansal yağ, doymamış bitkisel yağ ve et ürünleri için oldukça etkili bir koruyucudur. Hayvansal gıda ürünlerinin tazeliğini, besin değerini, rengini ve lezzetini korur ve dengeler. Demir varlığında bile renk atmasına neden olmaz. Ayrıca eklendiği malzemenin tadını ve kokusunu değiştirmez (Kashanian ve Dolatabadi, 2009). TBHQ'daki iki *para*-hidroksil grubu, antioksidan aktivitesinden sorumludur (Nanditha ve Prabhasankar, 2008).

Çalışmalar sentetik antioksidanların toksik olabileceğini ve kansere yol açabileceğini ortaya koymuştur (Shahidi vd, 1992). Bu durum bazı ülkelerde kullanımları ile ilgili ciddi sınırlama ve yasakları beraberinde getirmiş ve sentetik antioksidanlar hakkındaki bu gelişmeler, doğal antioksidanlara olan eğilim ve çalışmaları artırmıştır.

2.3.2. Doğal Antioksidanlar

Bitki ürünlerinin ROT'a ve serbest radikallerin neden olduğu çeşitli hastalıklara karşı koruma sağlamak için antioksidan görevi görme potansiyeli araştırılmaktadır (Hou vd, 2003). Doğal antioksidanların kaynakları, başta meyveler, sebzeler, tohumlar, kabuklu yemişler, yapraklar, kökler dahil olmak üzere bitkilerin tüm kısımlarında bulunabilen bitki fenolikleridir. Bitkiler, normal metabolik yollarının yanı sıra flavonoidler, esansiyel yağlar, alkaloidler, lignanlar, terpenler, terpenoidler, tokoferoller, fenolik asitler, fenolikler, peptitler, çok işlevli organik asitler gibi geniş bir sekonder metabolit repertuarı üretir. Ancak doğal antioksidanların ana kaynakları, öncelikle bitkilerin tüm kısımlarında bulunabilen bitki fenolikleridir (Shahidi ve

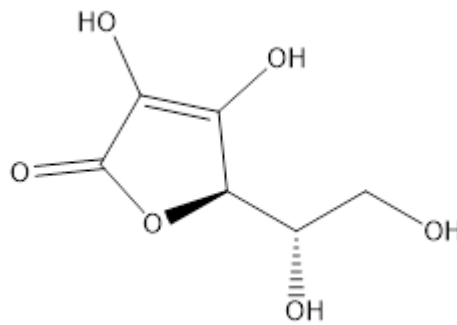
Ambigaipalan, 2015).

Besinlerle alınan antioksidanlarının en yaygınları C vitamini, tokoferoller, karotenoidler ve flavonoidlerdir. C vitamini dışında, bu antioksidanların her bir grubu yapısal olarak farklı bir dizi bileşik içerir, örneğin bugüne kadar 600'den fazla farklı karotenoid tanımlanmıştır ve bunların yaklaşık elli tanesi besinlerden alınmaktadır (Rice-Evans vd, 1996).

Askorbik Asit (C Vitamini)

Askorbik asit (Şekil 2.5.), antioksidan aktiviteye sahip L-askorbik asit ve L-dehidroaskorbik asit olmak üzere iki form içerir. Her ikisi de gastrointestinal sistem yoluyla emilir ve enzimatik olarak *in vivo* olarak çalışır. Askorbik asidin O_2^- , H_2O_2 , $OH^\cdot$, $^1O_2$ ve reaktif NO_2 'ye karşı etkili süpürücü özellikte olduğu bildirilmiştir (Barros vd, 2011).

Suda çözünen bir vitamindir ve birçok diyet gıdasında ve bitkide yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Tipik olarak oksidanlarla reaksiyona girer. Askorbik asit, elektron transferi ile zincir radikal reaksiyonlarını sonlandırabilir. Özel bir moleküldür, tek bir elektron aktarabilir ve çok etkili bir redüktondur. İki ana rezonans yapısı, askorbik asidin protonsız eşlenik bazını stabilize ettiğinden, askorbik asitteki hidroksil grubu, tipik hidroksil gruplarından çok daha asidiktir. Başka bir deyişle, askorbik asit, deprotone edilmiş formun stabilize edilmiş bir enolat olduğu bir enol olarak kabul edilebilir (Gulcin, 2020).



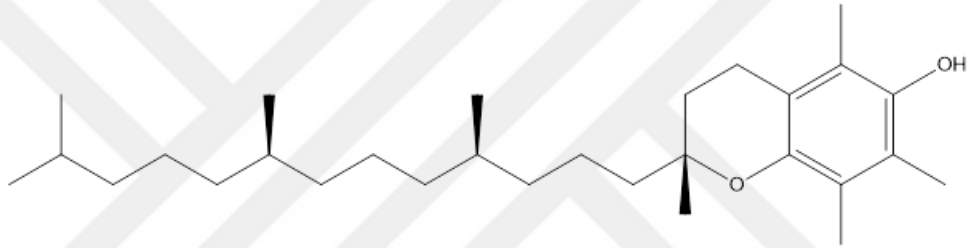
Şekil 2.5. L-askorbik asidin yapısı

α -tokoferol (E Vitamini)

α -tokoferol yağda çözünen vitaminlerdendir ve organizmada özellikle vücut hücrelerini serbest radikallerin ve ROT'un neden olduğu hasardan korumak için antioksidan özelliklere sahiptir. E Vitamini, kimyasal fenolik bileşiklerin bir sınıfı

olan tokoferollerin genel adıdır. (Aras-Hisar vd, 2004). En iyi bilinen ve en çok kullanılan antioksidanlardır (Cetinkaya vd, 2012).

α -tokoferol (Şekil 2.6.), yalnızca inorganik çözücüler ve membranda çözünen ve tamponlu reaksiyon ortamında işlenmesi zor olan hidrofobik bir antioksidandır. Bu durum deneysel çalışmalar için zorluklar yaratmaktadır. Önemli bir antioksidan aktiviteye sahip olmasının yanı sıra homojen sulu çözeltilerde çalışma kabiliyeti sağlayan α -tokoferol analoglarının kullanımı konusunu yeniden canlandırır. Bunların arasında, α -tokoferolün poliizoprenoid kuyruğunun bir karboksil kısmı ile değiştirildiği troloks, orta derecede suda çözünür olma özelliğine sahiptir. Bu molekülde karboksil grubu suda çözünürlük özelliğini sağlarken, antioksidan etki kromanol kısmı tarafından sağlanmaktadır (Aksu vd, 2015).

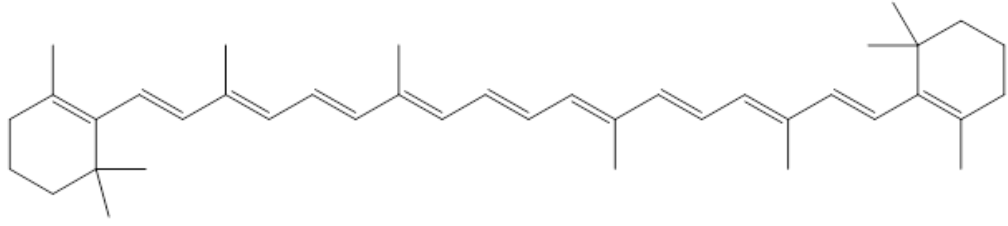


Şekil 2.6. α -tokoferol'ün yapısı

Karotenoidler

Bitki ve mikroorganizmalarda sentezlenebilen ancak hayvanlarda sentezi mümkün olmayan karotenoidler, 40 karbon atomu içeren çoklu doymamış hidrokarbonlardır (Şekil 2.7.). Karotenler ve ksantofillerden meydana gelirler. Antioksidan özellikleri nedeniyle, β -karoten, likopen, lutein, β -kriptoksantin, zeaksantin ve astaksantin gibi karotenoidler açısından zengin beslenme, çeşitli kanser türleri, oftalmolojik ve kardiyovasküler hastalıklar gibi oksidatif stresin neden olduğu çeşitli bozuklukların gelişme riskinin azalmasıyla ilişkili olduğu bilinmektedir (Lichtenstein, 2009).

Karotenoidler, kimyasal özelliklerinin uzatılmış konjuge çift bağların varlığıyla yakından ilişkili olduğu, doğal yağda çözünen bileşiklerin bir sınıfıdır. Renkli meyve ve sebzelerde bulunurlar ve açık sarıdan kırmızıya kadar renkleri olan, birçok bitki ve hayvanlarda bulunan, azot içermeyen, suda çözünmeyen fakat yağlarda ve organik çözücülerde çözünen pigmentler (Riccioni, 2009).



Şekil 2.7. β -karoten'in yapısı

2.3.2.1. Fenolik Bileşikler

Doğal antioksidanlar olarak fenolik bileşikler, bitki kaynaklı maddeler arasında büyük yapısal çeşitliliğe ve kimyasal bileşimde farklılıklara sahiptir. Ayrıca nerdeyse tüm bitkilerde, mikroorganizmalarda, mantarlarda ve hatta hayvan dokularında bulunurlar (Gulcin, 2020). Çok amaçlı biyoaktif bileşikler olarak etki gösteren fenolik bileşikler, bitkiler aleminde geniş bir alana yayılmıştır. Fenolik bileşiklerin çoğu, insan diyetinin ayrılmaz bir parçasıdır ve aynı zamanda tıbbi amaçla da tüketilir. Fenolik bileşiklerin sağlığı koruyucu etkilerinin çoğu, antioksidan, antikanserojenik, antimutajenik, antimikrobiyal, antiinflamatuvar ve diğer biyolojik özelliklerine atfedilmiştir. En yaygın olarak bulunan bitki fenolik bileşikleri arasında fenolik asitler, flavonoidler, tanenler, lignanlar ve terpenler bulunur (Shahidi ve Ambigaipalan, 2015).

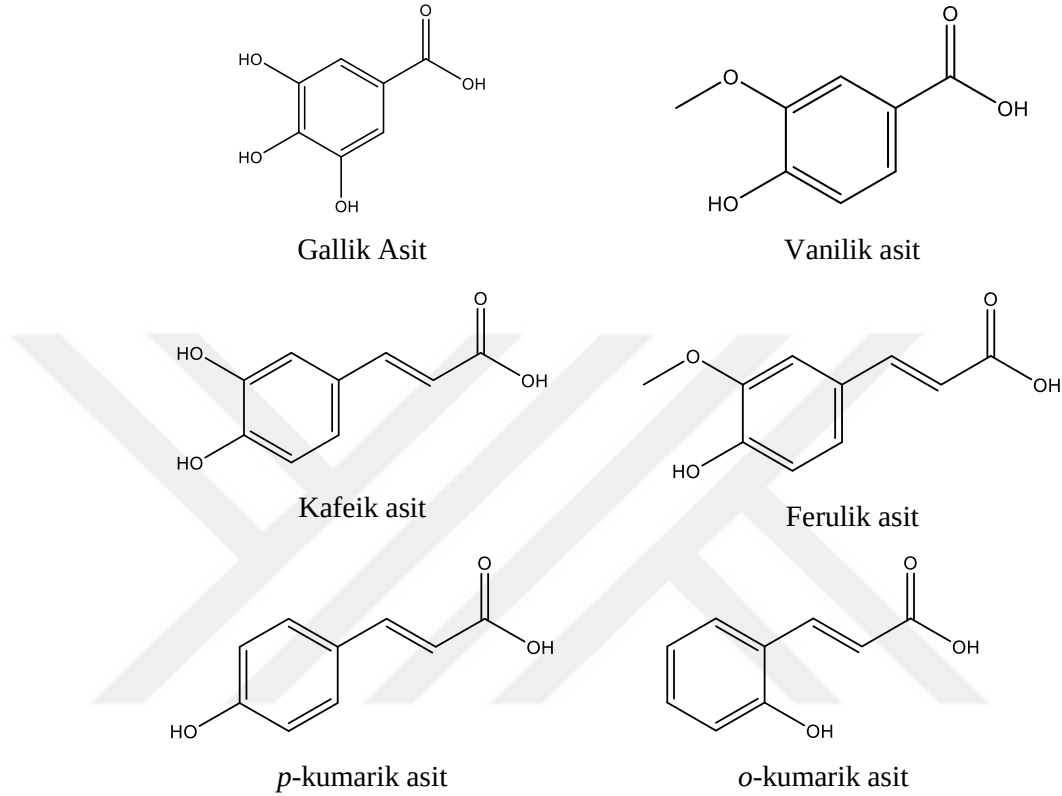
Fenolik bileşiklerin antioksidan potansiyeli ilgili moleküllerdeki hidroksil gruplarının sayısına ve düzenine bağlıdır. Fenolikler, *orto* veya *para* pozisyonundaki yer değiştirme ile hidroksil grubundaki elektron yoğunluğunu artırmadıkça ve oksijen-hidrojen bağ enerjisini düşürmedikçe, aktif antioksidanlar değildir. Fenolik bileşiklerde *meta* pozisyonunda yer değiştirme oldukça sınırlı bir etkiye sahiptir (Gulcin, 2020).

2.3.2.2. Fenolik Asitler

Fenolik asitler hemen hemen tüm bitkilerde ve bitki kaynaklı gıdalarda bulunur ve insan diyetinin önemli bir bölümünü temsil eder. Son zamanlarda fenolik asitlere olan ilgi odağı, koroner kalp hastalığı, inme ve kanserler ve antiglokom gibi oksidatif hasar hastalıklarına karşı meyve ve sebzelerin yenmesi yoluyla potansiyel koruyucu rollerinden kaynaklanmaktadır (Gulcin, 2020).

Fenolik asitler, aromatik karboksilik asitlerin benzoik asit grubundan veya sinamik asit grubundan kaynaklanan hidroksi türevleridir (Şekil 2.8.). *p*-hidroksibenzoik asit, 3,4-dihidroksibenzoik asit, vanilik asit, siringik asit, *p*-kumarik

asit, kafeik asit, ferulik asit, sinapik asit, klorojenik asit ve rosmarinik asit gibi fenolik asitler bitkilerde yaygın olarak bulunur (Beyza Öztürk Sarıkaya vd, 2010). Sinamik asit türevleri, benzoik asit türevlerine göre daha aktif antioksidanlardır (Chen ve Ho, 1997).



Şekil 2.8. Fenolik asitlerin kimyasal yapıları

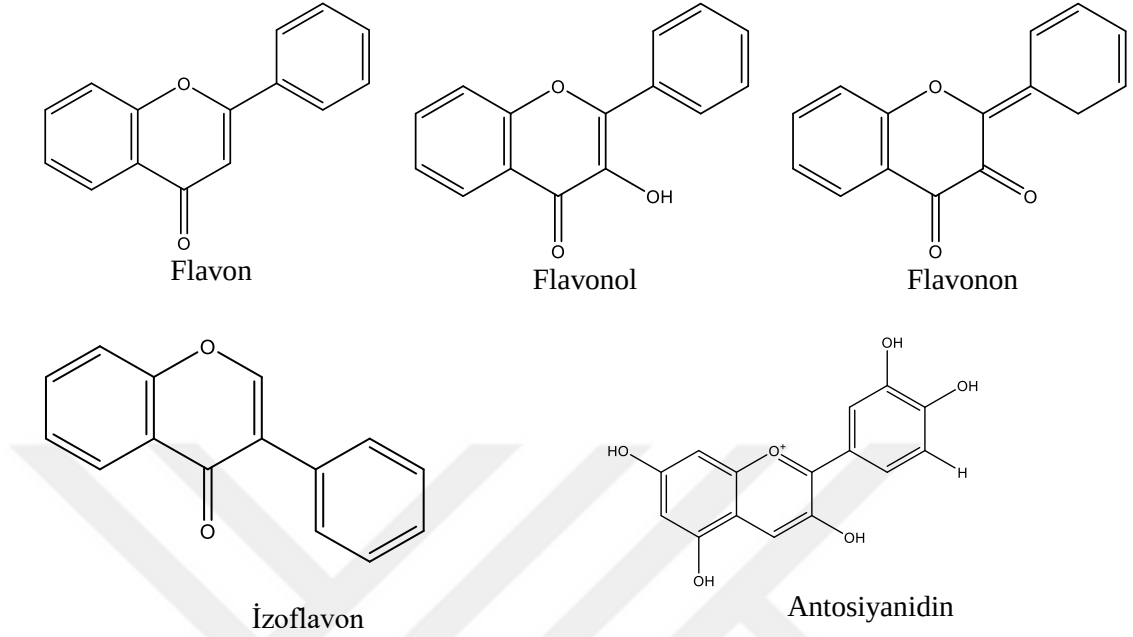
Fenolik asitlerin ve türevlerinin antioksidan aktivitesi, aromatik halkaya bağlı hidroksil gruplarının sayısına ve pozisyonuna, aromatik halkadaki hidroksil gruplarının bağlanma yerine ve karşılıklı pozisyonuna bağlıdır (Rice-Evans vd, 1996).

2.3.2.3. Flavonoidler

Flavonoidler, flavonlar, flavonoller, izoflavonlar, flavononlar ve kalkonlar dahil olmak üzere tüm yüksek bitkilerin dokusunda bulunurlar (Şekil 2.9.) (Shahidi, 1997).

Flavonoidler, bitkilerde ve özellikle bitkisel gıdalarda yaygın olarak bulunan siklize difenilpropanlardır. Kronik hastalıklara karşı görev yapan çok etkili antioksidanlar olan polifenolik bileşiklerdir. Çeşitli bitki türlerinde 4000'den fazla

flavonoid dahil olmak üzere 8000'den fazla polifenolik bileşik tanımlanmıştır ve bu sayı artmaktadır (Harborne vd, 1999).



Şekil 2.9. Flavonoidlerin kimyasal yapıları

Flavonoidlerin en önemli faydaları, oksidatif hastalıklara karşı koruma, çeşitli enzimlerin aktivitesini modüle etme yeteneği ve spesifik reseptörlerle etkileşimleridir (Williams vd, 2004). Flavonoidler çok etkili antioksidanlardır ve düşük yoğunluklu lipoproteinlerin oksidasyonunu azaltarak kardiyovasküler hastalıklara karşı bünyeyi korudukları öne sürülmüştür (Ghosh vd, 2015).

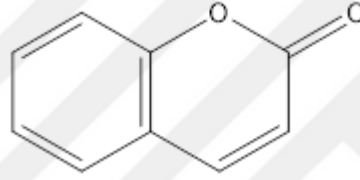
Flavonlar ve flavonoller hemen hemen her bitkide, özellikle yapraklarda ve taç yapraklarında bulunur ve flavonoller flavonlardan daha sık görülür. Yaygın flavonoidlerden bazıları apigenin, krisin, luteolin, mirisetin, kuersetin, kaemferol ve morindir. Bitkilerde flavonoidlerin çoğu glikozidik yapıda bulunur (Macheix, 1990).

Kumarinler

Kumarinler (2H-kromen-2-on) ve ilgili analogları, yüksek bitkilerde ve ayrıca sekonder metabolitler olarak mikroorganizmalarda doğal olarak bulunur (Şekil 2.10.). Her bitki kısmının düzgün çalışmasında önemli bir rol oynarlar. Birçok alanda yararlı olan, sentetik ve doğal kaynaklardan elde edilen önemli bir bileşik grubudur (Jayashree vd, 2014).

Kumarinler ayrıca düşük toksisite ile ilişkilendirilen flavonoid ailesinin bir üyesidir. Son zamanlarda, kumarinlerin biyokimyasal ve farmakolojik özelliklerinin, terapötik uygulamaları ile toksisiteyi yararlı bir şekilde etkileyebildiği gösterilmiştir. Bir hidroksil ve amin grubunun varlığının birçok biyolojik aktif kumarin için önemli olduğu iyi bilinmektedir (Skalicka-Woźniak vd, 2016).

Son zamanlarda, kumarin ve türevlerinin sentezi, antitümör, antimikrobiyal, anti-HIV, serin proteaz inhibisyonu, anti-kanser, antioksidan gibi çeşitli biyolojik aktiviteleri nedeniyle hem tıp hem de organik kimya alanında araştırma yapılmasına sebep olmuştur (Koleva vd, 2019). Kumarin türevlerine dayalı yaygın olarak kullanılan ilaçların en önemli grubu antikoagülan olarak kullanılan varfarin, fenprokumon veya asenokumarol gibi K vitamini antagonistleridir (Salvo vd, 2017).



Şekil 2.10. Kumarin'in kimyasal yapısı

2.4. Antioksidan Aktivite

Antioksidanlar, ROT'un oksidatif süreçlerini ve zararlı etkilerini azaltmak için hem gıda sistemlerinde hem de insan vücudunda hayati bir rol oynar (Çakmakçı vd, 2015). Ticari antioksidanların, gıdaların, tıbbi ürünlerin, farmasötiklerin ve biyolojik numunelerin antioksidan özelliğini ve kapasitesini ölçmek ve araştırmak için farklı antioksidan yöntemler geliştirilmiştir. Antioksidan kapasite kavramı ilk olarak kimyadan kaynaklanmış ve daha sonra biyoloji, tıp, epidemiyoloji ve beslenmeye uyarlanmıştır (Floegel vd, 2011). En çok çalışılan antioksidan aktiviteler arasında, toplam antioksidan, DPPH[•] giderme, ABTS^{•+} giderme, metal şelat, indirgeme gücü, süperoksit anyonu giderme, hidrojen peroksit giderme aktiviteleri yer almaktadır.

2.5. *In vitro* Enzim İnhibisyonu

Enzim inhibisyonu çalışmaları farmasötik araştırmalarda önemli rol oynamaktadır. Çünkü bu alandaki çalışmalar halihazırda birçok hastalıkta fayda sağlayan çeşitli ilaçların keşfine yol açmaktadır. Spesifik inhibitörler, enzimlerle etkileşime girer ve ilgili enzimin aktivitesini bloke eder. Bazı fizyolojik hastalıkların tedavisinde enzim inhibitörleri ilaç olarak kullanılmaktadır (Amtul vd, 2002). Bu

sayede inhibe edilen enzim aktif bölgesi görevini yerine getiremeyince, bazı biyokimyasal yıkım olaylarının gerçekleşme hızı yavaşlayabilir veya durabilir. Bu durum da bazı hastalıklara sebep olan ürün ya da birikimlerin daha yavaş ya da daha az oluşumunu sağlar. En çok çalışılan *in vitro* enzim inhibisyonları arasında, asetilkolinesteraz (AChE), bütirikolinesteraz (BChE), tirozinaz, üreaz, α -amilaz, α -glukosidaz, lipaz ve karbonik anhidraz enzim inhibisyonları gösterilebilir.

2.6. Enzim Kinetik Çalışmaları

İnhibitörler ve enzim molekülleri arasındaki etkileşim, tersinir inhibisyon ve tersinmez inhibisyon şeklinde gerçekleşebilir. Tersinir inhibisyon, enzim aktivitesini azaltmak için kovalent olmayan bağlanma yoluyla inhibitörlerin enzim moleküllerine bağlanmasını ifade eder. Geri dönüşümsüz inhibisyon, inhibitör ile enzimin temel grubu veya aktif bölgesi arasındaki kovalent bağın neden olduğu enzim aktivitesinin kaybını ifade eder. Tersinir inhibisyon ayrıca yarışmalı inhibisyon, yarı yarışmalı inhibisyon ve yarışmasız inhibisyon olarak alt bölümlere ayrılabilir. Yarışmalı inhibisyon, inhibitörün substrat ile rekabet halinde enzimin aynı aktif merkezine bağlanmasını ifade eder, böylece enzimin katalitik aktivitesini azaltır. Yarı yarışmalı inhibisyon, inhibitörün enzime bağlanamaması, ancak enzim-substrat kompleksine bağlanabilmesi ve ürünlerin oluşumunu önleyebilmesi, böylece enzimlerin katalitik aktivitesini azaltabilmesi anlamına gelir. Yarışmasız inhibisyon, inhibitörün enzimin katalitik aktivitesini azaltmak için enzime veya enzim-substrat kompleksine bağlanabilmesi anlamına gelir (Wang vd, 2020).

2.7. Antimikrobiyal Aktivite

Antibakteriyel direnç büyük bir küresel sağlık sorunudur ve halk sağlığını tehdit etmektedir. (Seleem vd, 2017). Dünyadaki ilk antimikrobiyal ajan, 1910'da Ehrlich tarafından sentezlenen bir frengi ilacı olan salvarsan'dı. 1935'te Domagk ve diğer araştırmacılar tarafından sülfonamidler geliştirildi. Bu ilaçlar sentetik bileşiklerdi ve güvenlik ve etkinlik açısından sınırlamaları vardı. 1928'de Fleming penisilini keşfetti. Kültür kaplarında *Staphylococcus aureus* büyümesini kontamine eden mavi fungusu (*Penicillium* cinsinden bir mantar) buldu ve bu da bir mikroorganizmanın diğer mikroorganizmaların büyümesini engelleyebilecek maddeler üretebileceğinin bulunmasına yol açtı. Antibiyotiğe penisilin adı verildi ve 1940'larda klinik kullanıma girdi. Güvenlik ve etkinlik açısından öne çıkan bir ajan

olan penisilin, II. Dünya Savaşı sırasında birçok yaralı askerin hayatını kurtararak antimikrobiyal kemoterapi çağına öncülük etmiştir (Saga ve Yamaguchi, 2009).

Günümüzde mikrobiyal dirençle mücadelede çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Yeni nesil antibiyotiklerin kullanılması, doğal antibakteriyel maddelerle kombinasyon tedavisi ve ayrıca ilaç taşıyıcı sistemlerin kullanılması bu alanda önemli yaklaşımlardır (Barbieri vd, 2017). Ancak, doğal ürünlerle çalışırken bu konudaki temel boşluk, klinik çalışmaların olmamasıdır. Bazı flavonoidler bazı hastalıklar için klinik olarak test edilmiştir ve minimum yan etki göstermiştir. Örneğin, kuersetin birçok klinik denemede kullanılmış ve faz I klinik denemeleri başarıyla geçmiştir. Kuersetin, referans ilaçlarla kombinasyon halinde dikkate değer sinerjistik aktivite göstermiş ve gelecekte daha ileri araştırmalar için güvenle kullanılabilir olduğu düşünülmektedir. Gelecekteki klinik çalışmalar için listeye başka birçok flavonoid de eklenebilir (Farhadi vd, 2019).

Geçtiğimiz on yılda, birçok doğal ürün sınıfı, özellikle çoklu ilaca dirençli Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilere karşı bu amaçla yoğun bir şekilde çalışılmıştır (Barbieri vd, 2017).

1884'te Hans Christian Gram, kristal menekşe-iyot kompleksi ile safran boyası kullanarak Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterileri ayırt etmek için bir yöntem geliştirdi. Gram-pozitif bakteriler menekşe veya mor renge boyanırken Gram-negatif bakteriler boyayı tutmaz ve pembe bir renk vermek üzere safran ile karşıt leke yapmaktaydı. Bu fark, her bakteri tipindeki hücre duvarının bileşimi veya morfolojisinden kaynaklanmaktadır (Coico, 2006; Moyes vd, 2009).

2.7.1. Gram-negatif Bakteriler

Gram-negatif bakterilerin üç katmandan oluşan bir membranik yapısı vardır. İlk katman, Gram-negatif bakterileri gram-pozitif bakterilerden ayıran koruyucu ve benzersiz bir özellik olan dış zardır. Dış zar, zarın iç kısmına bağlı fosfolipitlere ve lipopolisakaritlere sahiptir. Ayrıca dış zar, porinler gibi hücre dışı membran proteinleri adı verilen proteinlere ve aminoasitler ve küçük sakkaritler gibi küçük moleküllerin geçişine izin veren diğer bileşenlere sahiptir. İkinci katman, hücre şeklini belirleyen sert bir dış iskelet olan ve disakkarit birimlerinden oluşan N-asetil glukozamin-N-asetilmuramik asidin tekrarlamaıyla oluşan peptidoglikan hücre duvarıdır (Silhavy vd, 2010). Üçüncü katman ise yapı, taşıma ve biyosentetik işlevler gibi çok işlevli işlemlerden sorumlu bir çift katmanlı fosfolipit iç membrandır.

Burası, DNA'nın bağlanma yeridir ve kardeş kromozomların ayrılmasında önemli bir rol oynar (Murray vd, 2020).

2.7.1.1. *Escherichia coli*

Bağırsak mikroflorası, hayvanları ve insanları patojenik bakterilerin bağırsak kolonizasyonuna karşı koruyan ana faktördür. Florada korumadan sorumlu bakteri türlerinin izole edilmesi ve koruma mekanizmasının aydınlatılması mümkün olmuştur. *E. coli*, *Streptococcus* ile birlikte insan bağırsağında kolonize olan ilk bakteri cinslerinden biridir ve K2 vitamini üretiminden sorumludurlar (Hudault vd, 2001).

2.7.1.2. *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa, pnömoni, idrar yolu enfeksiyonları, cerrahi yara enfeksiyonları ve kan dolaşımı enfeksiyonları dahil olmak üzere çeşitli nozokomiyal enfeksiyonlara neden olan fırsatçı bir patojendir (Jerse vd, 2000). Ayrıca kistik fibrozlu hastalarda hayatı tehdit edici duruma sebep olur. Başlangıçta *P. aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* ve *Staphylococcus aureus* gibi diğer patojenlerle hava yollarında kolonize olur. Bununla birlikte, bu hastaların çoğunda, bakteri popülasyonunun neredeyse tamamen biyofilmler şeklinde *P.aeruginosa*'dan oluştuğu kronik akciğer hastalığı gelişir (Govan ve Deretic, 1996).

2.7.1.3. *Klebsiella pneumonia*

Normalde bağırsak, ağız ve deri mikroflorasında bulunur ancak yutulması halinde insan akciğerlerinde yıkıcı değişikliklere yol açabilir. Normalde hastanede yatan, diyabetik hastalar veya kronik akciğer hastalığı olan hastalar gibi bağışıklığı baskılanmış kişileri etkiler. *K. pneumoniae*, *E. coli* ile birlikte idrar yolu enfeksiyonlarının çoğundan sorumlu olabilir. Aynı zamanda, dolaşım enfeksiyonlarının sık görülen bir nedenidir. Özellikle bronşit şeklinde pnömoni ve sepsis hastane dışında neden olduğu başlıca sağlık durumlarıdır (Şermet, 2015).

2.7.1.4. *Salmonella enterica*

Salmonella enfeksiyonları, dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir ve hastalığın sürveyansı, önlenmesi ve tedavisi oldukça maliyetlidir (Crump vd, 2004). Gastroenterit, dünya çapında *Salmonella*

enfeksiyonunun en yaygın tezahürüdür, bunu bakteriyemi ve enterik ateş takip eder (Majowicz vd, 2010). Patojenlerin başlıca yayılma yolları, hayvanlar ve pişmemiş hayvansal gıda ürünleri ticaretidir. Mezbahalardaki hayvanların kesim süreci, *Salmonella* ile organ ve karkas kontaminasyonunun önemli kaynaklarından biri olarak kabul edilir (Gillespie vd, 2005).

2.7.2. Gram-pozitif Bakteriler

Gram-pozitif bakteriler peptidoglikan hücre duvarı ve fosfolipit iç membrana sahipken Gram-negatif bakterilerde olan dış membrana sahip değildir (Silhavy vd, 2010).

2.7.2.1. *Enterococcus faecalis*

E. faecalis, normal enterik floranın saprofitik bir bileşenidir ve birçok ciddi hastalığa sebep olabilmektedir. Üriner sistemi etkileyebilir, yara enfeksiyonlarına neden olabilir ve kalp dokusunda kolonize olarak subakut ve akut bakteriyel endokardite sebep olabilir (Guzman vd, 1989).

2.7.2.2. *Bacillus cereus*

B. cereus, çürüten organik maddeler, tatlı su ve deniz suları, sebzeler ve fomitler ile omurgasızların bağırsak yolunda oluşur ve buralardan toprak ve gıda ürünlerini kontamine eder. Daha sonrasında da insan bağırsağında kolonizasyonuna yol açar (Grosh, 1978). İdrar yolu enfeksiyonları, kemik iliği iltihabı, kalp zarının iltihabı, merkezi sinir sistemi enfeksiyonları, hastane enfeksiyonları, solunum yolu enfeksiyonları *B. cereus*'un sebep olduğu en yaygın hastalıklardır (Bottone, 2010).

2.7.2.3. *Staphylococcus aureus*

İnsan ve hayvanların deri ve saçlarında, burun ve boğazlarında yaygın olarak bulunan bir bakteri türüdür. Kolonilerin çoğu pigmentli donuk sarı renge sahiptir. Cilt, göz, burun veya boğaz enfeksiyonu olan kişilerde daha sık görülür. İmpetigo, haşlanmış deri sendromu, selülit ve sivilceler gibi cilt enfeksiyonları veya pnömoni, endokardit, menenjit ve toksik şok sendromu gibi daha ciddi hastalıklarda rol oynamaktadır. *Staphylococcus* pişirme ve pastörizasyon yoluyla öldürülür (Forbes, 2007).

2.7.2.4. *Listeria monocytogenes*

L. monocytogenes, gıda kaynaklı hastalıkların önemli bir nedenidir. Hastalık çoğu durumda hafif, ateşli bir hastalık olarak ifade edilse de, daha şiddetli semptomlar ve yüksek hastaneye yatış ve vaka ölüm oranları ile sistemik listeriosis olarak da ortaya çıkmaktadır (Buchanan vd, 2017).

2.8. DNA Koruma Aktivitesi

DNA'daki oksidatif hasarın insan sağlığı için önemli etkileri vardır ve çok sayıda hastalığın başlamasında ve gelişmesinde kilit bir faktör olarak tanımlanmıştır. Bu nedenle, DNA'nın oksidatif hasardan korunmasının canlılar için çok önemli olduğu açıktır (Galano vd, 2018).

Oksidatif DNA hasarının kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde rol oynadığı bilinmektedir (Malik ve Herbert, 2012). Ayrıca, kalp yetmezliği hastalarına implante edilen sürekli akışlı sol ventriküler destek cihazlarının, kan lökositlerinde yüksek oksidatif stres ve DNA hasarına yol açtığı ve ayrıca DNA onarım yollarında arızaya yol açtığı bulunmuştur (Mondal vd, 2013).

Yüksek oksidatif stresin neden olduğu DNA hasarı ile ilişkili olan birçok başka sağlık problemi de vardır. Bu problemler, bakır birikimi ve bunun sonucunda ROT üretimindeki artış ile karakterize olan Wilson hastalığı (Yu vd, 2016), ülseratif kolit ve Crohn hastalığı başta olmak üzere inflamatuvar bağırsak hastalıkları (Sohn vd, 2012), diyabet (Tatsch vd, 2012), AIDS hastalığı (Olinski vd, 2002), Huntington hastalığı (Ayala-Peña, 2013), romatoid artrit (Hajizadeh vd, 2003) ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (Neofytou vd, 2012) olarak sıralanabilir.

Son yıllarda, süperoksit radikallerinden ve hidrojen peroksitten türetilen hidroksil radikallerinin, guanin'i 8-hidroksiguanin'e dönüştürerek DNA hasarına neden olan en güçlü reaktif oksijen radikali olduğu kabul edilmiştir (Gutteridge, 1984). Özellikle karsinogenezde oksidatif DNA hasarını kontrol edecek yeni bileşikler bulma ihtiyacını doğurmuştur (Feig vd, 1994). Bu gelişmeler de bazı tıbbi ve/veya aromatik bitkilerden elde edilen ekstraktların DNA bölünmesi üzerindeki etkilerinin araştırılmaya başlanmasını sağlamıştır (Tepe vd, 2011).

2.9. Biyoaktivite Yönlendirmeli Çalışmalar

Numunenin kromatografi, elektroforez veya diğer ayırma teknikleri ile ayrılması en basit manuel fraksiyonlamadır. Biyolojik bir sistemde fraksiyonların elde edilmesinden sonra bu fraksiyonların aktivite testlerinin yapılması biyoaktivite yaklaşımlı bir fraksiyonasyon sistemini tanımlar. Genellikle fraksiyonlar zaman kontrollü bir şekilde toplanır. Diğer seçenek ise bir kromatogramda yalnızca bazı önemli pikleri toplamaktır. Bu, "biyotahlil" için gereken zamanı ve çabayı önemli ölçüde azaltır. Bu sayede *in vivo* testler bile mümkün olabilir (Weller, 2012).

Biyoaktivite yönlendirmeli çalışmaların amacı, biyoafinite etkileşim adımında farklı bileşiklerin aynı anda bulunmasını önlemektir. Karışımların etkisinin veya toksisitesinin incelenmesi çok karmaşık ve çok tartışılan bir alandır. Sinerjistik, antagonistik veya aditif toksisite meydana gelebilir ki bu da tahmin edilmesi son derece zordur (Altenburger vd, 2000; Warne ve Hawker, 1995).

Biyoaktivite yönlendirmeli çalışmalar, kompleks yapıyı basite indirgemek için fraksiyonlandırmanın gerekli olduğu karmaşık örneklerde uygulanır. Bu sayede araştırılan bitkide biyolojik olarak aktif bir fraksiyon veya önceden etkisi kanıtlanmış biyolojik etkileşimlere sahip bir bileşik saflaştırılabilir (Weller, 2012).

Ekstraktlar üzerinden gerçekleştirilen biyoaktivite yönlendirmeli testler ile, araştırmacılar saflaştırma aşamalarında yoğunluklu olarak hangi fraksiyonları seçeceklerine karar verebilirler. Bu yöntem, yeni bileşiklerin izolasyonu ve kimyasal yapılarının belirlenmesini kolaylaştırır. Çünkü biyolojik öneme sahip fraksiyonlar daha fazla araştırılır (Bankova, 2005).

Ham ekstrakt, kromatografik teknikler kullanılarak fraksiyonlarına ayrılır ve ardından her fraksiyonun biyolojik değerlendirilmesi (biyoaktivite) yapılır. Böylelikle biyolojik aktivite sergileyen fraksiyonlar alt fraksiyonlandırma için seçilir. Fraksiyonlama ve biyoaktivite çalışmaları, istenen aktiviteye sahip saf bir bileşik izole edilene kadar tekrarlanır (Weller, 2012).

Çok sayıda farklı bileşik içeren nispeten büyük fraksiyonlar üzerinde en yüksek aktivite gösteren fraksiyon alınır ve ikinci kez ayırma adımı tabi tutulur. Aktivite mümkün olduğunca sabit hale gelene kadar tekrarlanır ve bazen birçok adım gerektirir. Tıbbi bitkilerden ilaç keşfine yönelik modern araştırmalar, botanik, fitokimyasal, biyokimyasal çalışmalar ile biyoaktivite yönlendirmeli fraksiyonlama yaklaşımlarını birleştiren çok boyutlu bir yaklaşımı içerir (Sharma ve Gupta, 2015).

Biyoaktivite yönlendirmeli çalışmalar, fraksiyonlama, ayırma ve saflaştırma dahil olmak üzere enstrümental ve analitik teknikleri birbirine bağlar ve her adım uygun bir biyoaktivite testi ile desteklenir. Bu durum, aktif bileşenlerin karmaşık biyolojik karışımlardan seçici olarak saptanmasını, izolasyonunu ve fraksiyonlanmasını sağlar. Doğal ürün kütüphanesinden biyoterapötik ilaç keşfi sırasında kullanılır (Rakshith vd, 2016).

2.10. Moleküler Doking

Farmasötik araştırmalar, karmaşık biyolojik ve kimyasal sistemleri incelemek için çeşitli ilaç keşif programlarına zengin moleküler modelleme yöntemlerini başarıyla dahil etmiştir. Modern ilaç tasarımı yaygın olarak kullanılan moleküler doking yöntemleri, makromoleküler hedeflerin bağlanma bölgelerinde benimsenen ligand konformasyonlarını araştırır. Bu yaklaşım ayrıca moleküller arası tanıma sürecinde yer alan olayları değerlendirerek ligand-reseptör bağlanma enerjisini de tahmin eder (Ferreira vd, 2015).

Yapı tabanlı yöntemler, ilgilenilen bir hedefin 3 boyutlu yapısının bilgisine dayanır ve ligandların belirli bir hedefe yönelik yapısal ve elektronik tamamlayıcılığına göre molekül veritabanlarının sıralanmasına izin verir. Böylelikle önce bir reseptör içindeki ligandın moleküler oryantasyonunu tahmin edilir ve ardından bir puanlama fonksiyonu kullanılarak tamamlayıcılıklarını tahmin ederek gerçekleştirilir (Kitchen vd, 2004).

Moleküler Doking, ilaç keşfinde yaygın olarak kullanılan *in silico* yapı tabanlı yöntemdir. Doking, hedef modülatörlerin kimyasal yapısını önceden bilmeden, moleküler düzeyde ligand-hedef etkileşimlerini tahmin ederek veya yapı-aktivite ilişkilerini tasvir ederek terapötik açıdan ilgi çekici yeni bileşiklerin tanımlanmasını sağlar. Başlangıçta küçük ve büyük moleküller arasındaki moleküler tanıma mekanizmalarını anlamaya yardımcı olmak için geliştirilmiş olmasına rağmen, ilaç keşfinde kullanımı ve uygulamaları son yıllarda büyük ölçüde değişmiştir (Pinzi ve Rastelli, 2019).

Moleküler doking, küçük moleküllerin bağlanma yerlerindeki tamamlayıcı değerlerini puanlamak için makromoleküler yapılara etkileştiği bir süreçtir. Yapı tabanlı ilaç tasarımı, biyokimyasal yollar için dinamik fayda sağlayan canlı bir araştırma alanıdır (Saikia ve Bordoloi, 2019). Moleküler doking temel olarak iki aşamadan oluşur. Bunlar, konformasyon/yönelim örnekleme için bir motor ve

tahmin edilen pozlarla ilgili olan skor işlevidir. Bağlanma enerjisi, etkileşimdeki puanlama işlevi tarafından yaklaşık olarak belirlenir. Puanlama işlevi, moleköl minimum enerjili halindeyken hesaplanmalıdır. Moleköl doking teknikleri, bir ligandın bir makromoleküle (protein) en iyi uyan bağlanma modunu tahmin etmeyi amaçlar ve ligandın, protein bağlama bölgesi içindeki bir dizi olası konformasyon/yöneliminin, yani pozlarının üretilmesinden oluşur. Bu nedenle moleköl hedefin üç boyutlu yapısının bulunması gerekli bir koşuldur. Bu ligand deneysel olarak çözülmüş bir yapı (X-ışını kristalografisi veya NMR) veya hesaplama teknikleriyle (homoloji modellemesi) elde edilen bir yapı olmalıdır (Salmaso vd, 2018).

Moleköl doking ve modelleme programlarının patojenik hastalıklara ve kanserlere karşı yapı tabanlı aşı tasarımında kullanılması öngörülebilirdir ve ilaç adaylarının hedef dışı bağlanmalarının hesaplanması yoluyla toksisite tahmini olasılığı da hesaplanabilir. Ayrıca, artan bilgisayar gücüyle birleşen günümüz genom dizilemesinin hızı, ilerde bireylerde ilaç etkinliği ve toksisitesinin tahmin edilmesi için kullanılabilecek kişiselleştirilmiş protein kütüphanesinin oluşturulması ve hesaplanmasını mümkün kılabilir (Amaro vd, 2018).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kullanılan Kimyasallar

Sigma-Aldrich: Metanol, etanol, kloroform, *n*-hekzan, etil asetat, gallik asit, Folin&Ciocalteu reaktifi, sodyum karbonat (Na_2CO_3), kuersetin, potasyum asetat (CH_3COOK), bütillenmiş hidroksianisol (BHA), ter-bütil hidrokinon (TBHQ), E vitamini, amonyum heptamolibdat tetrahidrat $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$, sülfirik asit (H_2SO_4), 2,2-azinobis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS^{++}), potasyum persülfat ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), dipotasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4), potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4), AChE (500 UN), BChE (1.2 KU), tirozinaz (50 KU), üreaz (1 U), [5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit)] (DTNB), asetilkolin iyodür, bütirilkolin klorür, amoksisilin, tetrasiklin, galantamin, hidrojen peroksit (H_2O_2), 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil ($\text{DPPH}^\cdot$), 3,4-dihidroksi-L-fenilalanin (L-DOPA), seryum (IV) sülfat.

Merck: Silika jel 60, İTK silika jel 60 F254 20x20, trisodyum fosfat (Na_3PO_4), gliserol, tiyoüre, üre, borik asit, magnezyum klorür (MgCl_2), kalsiyum klorür (CaCl_2), fenol, sodyum klorür (NaCl), sodyum hidroksit (NaOH), sodyum hipoklorit (NaOCl).

Fluka: Alüminyum klorür (AlCl_3).

Himedia: Mueller Hinton Agar (MHA), Mueller Hinton Broth (MHB).

Thermo Scientific: Plazmid DNA(pBr322).

Fisher Scientific: Dimetil sülfoksit (DMSO).

Glenthams: Kojik asit.

Carl Roth: Etidyum bromür (EtBr).

Riedel-de-Haen: Sodyum nitroprussid.

3.2. Kullanılan Cihazlar

Prep-HPLC (Agilent, C18 ters faz kolonu, UltiMate™ 3000 Semi-Preparative System)

7697A model HeadSpace Sampler ve Agilent 7890A model GC sistemine sahip 7000 Triple Quad Mass Spektrometer model kütle spektrometresi

NMR cihazı (Agilent)

FT-IR-ATR cihazı (Perkin Elmer Spectrum Two)

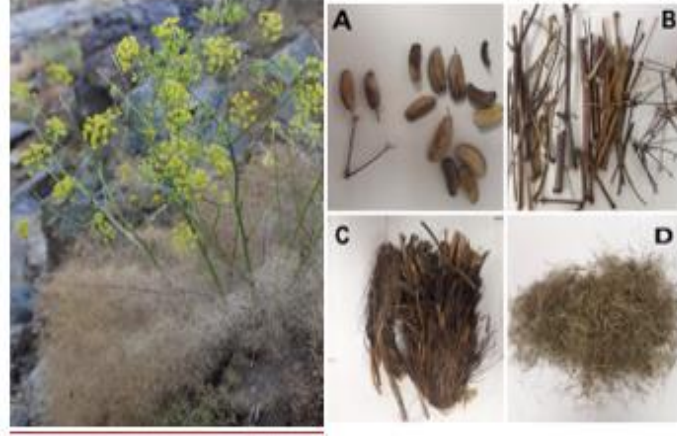
X-ışını difraktometresi (STOE IPDS-II)

ELISA microplate reader (Bio Tek: Epoch2)

Mc-Farland cihazı (Biosan)
İnkübatör (Memmert)
Elektroforez (Bio-Rad JY-SPBT)
UV translüminatörü (Bio-Rad)
Isıtıcı (Electomantle)
Ultrasonik banyo (Kudos)
Vorteks (Velp Svientifica)
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 Commerical)
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)
Agilent LC-MS/MS spektrometresi
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 Materyalinin Toplanması ve Hazırlanması

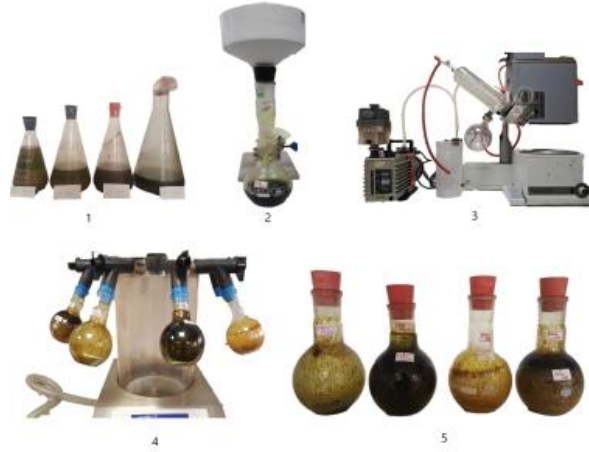
Bu çalışmada çalışılan endemik *P. aricakensis* (Apiaceae) bitkisi Elazığ'da (B8: Arıcak, Akdağ Dağı, Cuber Yaylası, 38°36'01"N 40°07'58"E, kayalık yamaç alanlarda) ve yaklaşık 2000-2050 m yüksekliğin bulunduğu alanda Bingöl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Botanik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi, Prof. Dr. Lütfi BEHÇET tarafından Orman Genel Müdürlüğü (OGM), Dış İlişkiler, Eğitim ve Araştırma Dairesi Başkanlığı'ndan 6178555-604.01.01-E.2178323 sayılı yazı ve ve 25.10.2019 tarihli izin belgesine göre toplanmıştır. Şekil 3.1.'de bitkinin doğadaki hali ve toplanarak laboratuvara getirilip kısımlarının ayrılması işlemi sonrasındaki görsel görülmektedir (Behçet vd, 2019). Bitki serin, kuru ve hava akımı olan kapalı ortamda kurutulmuştur.



Şekil 3.1. *P. aricakensis* bitkisi ve farklı kısımları (A: Meyve, B: Sap, C:Kök, D:Yaprak)

3.4. Ham Ekstraktların Eldesi

P. aricakensis (PA) bitkisinin örnekleri laboratuvar tipi parçalayıcı ile öğütülerek toz hale getirildi. Sap (S), kök (K) ve yaprak (Y) kısımlarından 100 g, meyve (M) kısmından ise 50 g bitki örneği selülozik yapılarının parçalanması için 300 mL metanol:kloroform (1:1) çözücü karışımında cam kavanozda 10 gün bekletildi ve ardından süzüldü. Elde edilen ekstraksiyon karışımının içerdiği çözücü döner buharlaştırıcıda 45 °C’de uzaklaştırıldı. Toplanan metanol-kloroform karışımı tekrar sap, kök, meyve ve yaprak kısımlarına süzüntüler ile ekstraksiyon işlemi için 10 gün bekletildi, süzüldü ve buharlaştırma işlemleri uygulandı. Bu uygulamalara ekstraksiyon sonunda çok açık süzüntü elde edilinceye kadar devam edildi. Elde edilen *P. aricakensis* yaprak (PAY), *P. aricakensis* meyve (PAM), *P. aricakensis* kök (PAK) ve *P. aricakensis* sap (PAS) ham ekstraktları ayrı ayrı cam balonlarda toplandı. Ekstraktların içerdiği çözücü döner buharlaştırıcı ile uçurulduktan sonra -51 °C ve 0.021 mbar koşullarında liyofilizasyon işlemi uygulandı ve toz halde kuru örnekler elde edildi. Şekil 3.2.’de ekstraksiyon, evaporasyon ve liyofilizasyonla ham ekstrakt eldesi aşamaları gösterilmektedir. Liyofilizasyon sonrası kurutulan örnekler tartıldı ve yüzde verim değerleri hesaplandı. Uygulama Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Fakültesi Biyokimya Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi.



Şekil 3.2. Kuru bitki örneklerinin öğütme sonrası ekstraksiyon (1), süzme (2), evaporasyon (3), liyofilizasyon (4) ve liyofilizasyon sonrası (5) uygulamaları

3.5. Fraksiyonlandırma

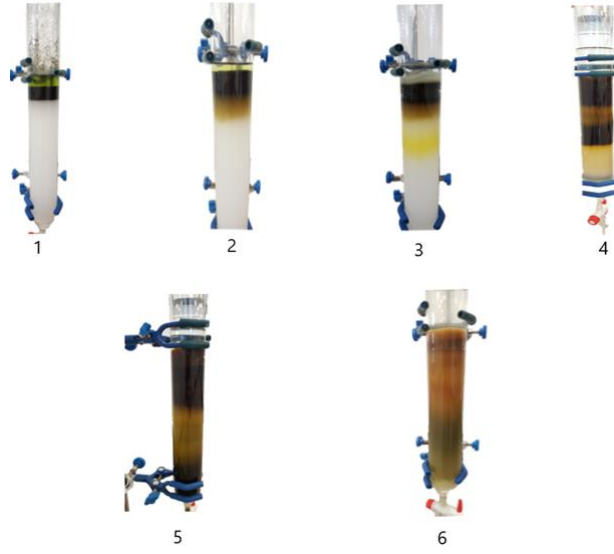
Ham ekstraktlardan izolatlara ulaşılırken kromatografik yöntemler (kolon kromatografisi, ince tabaka kromatografisi (İTK) ve preparatif HPLC) ile farklı polaritelerde fraksiyonlar ve alt fraksiyonlar elde edilmiştir. Uygulamalar Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Fakültesi Biyokimya Araştırma Laboratuvarı, Çankırı Karatekin Üniversitesi Kimya Bölümü ve Iğdır Üniversitesi ALUM Laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

3.5.1. Hazırlık Aşaması

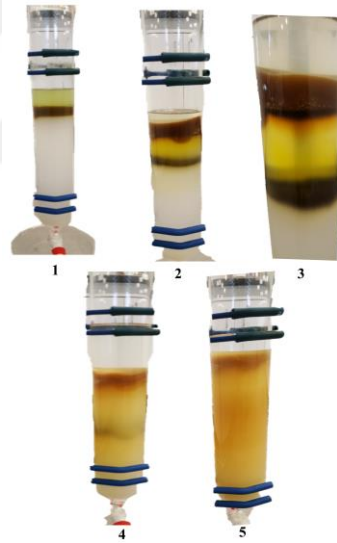
Her bir ham ekstraktın (PAY, PAM, PAK, PAS) üzerine 1:1 oranında silika jel ve metanol:kloroform (1:1) ilave edilerek çözdürüldü ve sonrasında evaporatörde kurutulup toz hale getirildi.

3.5.2. Kolon Kromatografisi

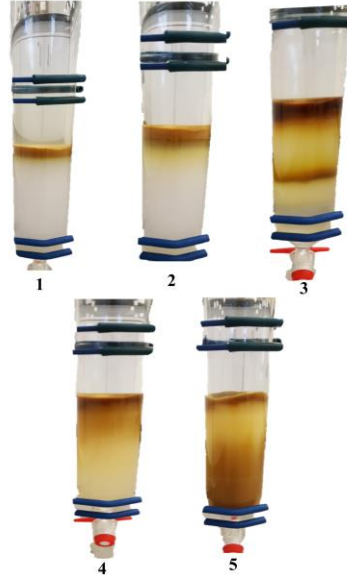
Kolon sistemi kurulup silika jel, *n*-hekzan ile elue edilerek kolona eklendi. Toz hale getirilen ekstraktlar sisteme yüklenerek (300 g, 3x25 cm) en apolar çözücünden en polar çözücüye doğru sırasıyla *n*-hekzan, kloroform, etil asetat ve metanol gradyan sistemi ile kolona eklendi ve fraksiyonlar elde edildi (Şekil 3.3. ile 3.6. arası). Fraksiyonlar elde edilirken *P. aricakensis* ekstraktları, *n*-hekzan:kloroform (100 mL:0 mL ile 0 mL:100 mL, % 10 artan polarite) çözücü sistemi kullanılarak ayrıldı. Daha sonra çözücü sistemi sırasıyla kloroform:etil asetat ve etil asetat:metanol olacak şekilde devam edildi. Son olarak % 100 metanol ile işlem sonlandırıldı.



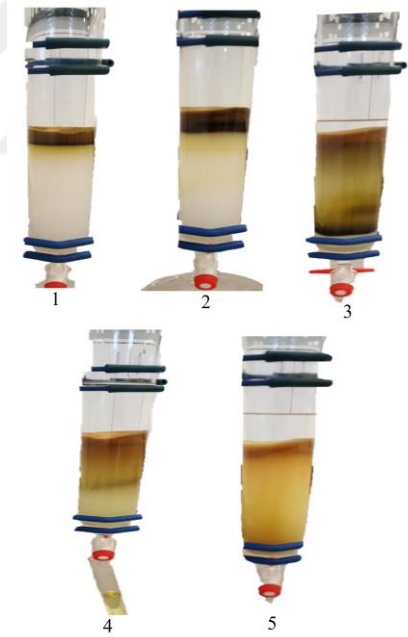
Şekil 3.3. PAY ekstraktının artan polarite ile kolon kromatografisinde fraksiyonlarına ayrılması aşamaları. Hekzan (1), kloroform (2), kloroform-etil asetat (3), etil asetat (4) etil asetat-metanol (5) ve metanol (6) fraksiyonları



Şekil 3.4. PAM ekstraktının artan polarite ile kolon kromatografisinde fraksiyonlarına ayrılması aşamaları. Hekzan (1), kloroform (2), etil asetat (3) etil asetat-metanol (4) ve metanol (5) fraksiyonları



Şekil 3.5. PAK ekstraktının artan polarite ile kolon kromatografisinde fraksiyonlarına ayrılması aşamaları. Hekzan (1), kloroform (2), etil asetat (3) etil asetat-metanol (4) ve metanol (5) fraksiyonları

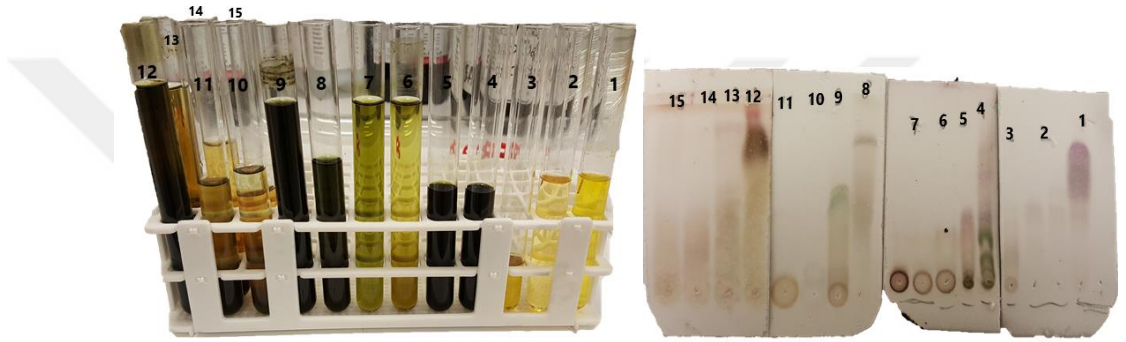


Şekil 3.6. PAS ekstraktının artan polarite ile kolon kromatografisinde fraksiyonlarına ayrılması aşamaları. Hekzan (1), kloroform (2), etil asetat (3) etil asetat-metanol (4) ve metanol (5) fraksiyonları

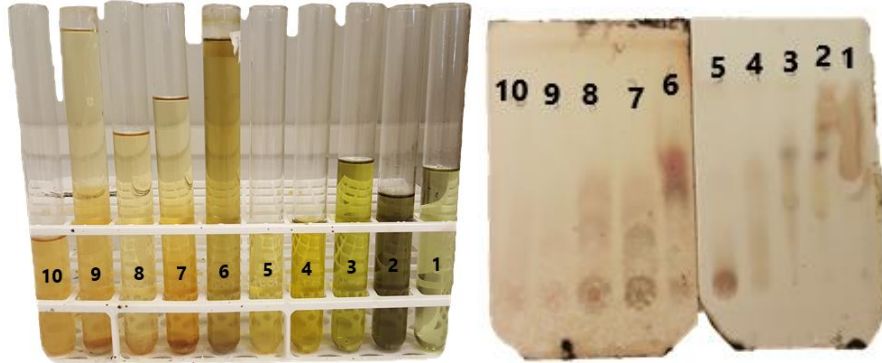
3.5.3. İTK

Fraksiyonların tabakaya yüklenip yürümleri sağlanarak UV altında yürüdükleri gözlemlendi. Ardından seryum sülfat çözeltisi ile yakılarak yaklaşık 120 °C’de hot plate’de ısıtılıp bantlar gözlemlendi. Elde edilen fraksiyonlara yapılan İTK sayesinde aynı ya da benzer olan fraksiyonlar birleştirildi.

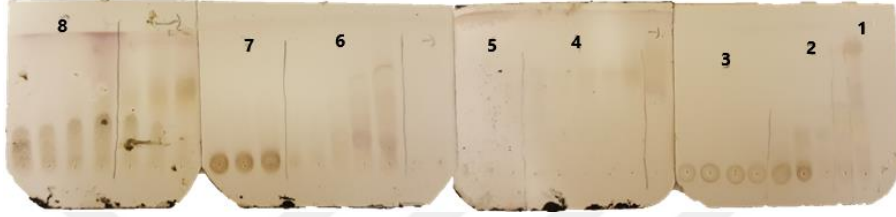
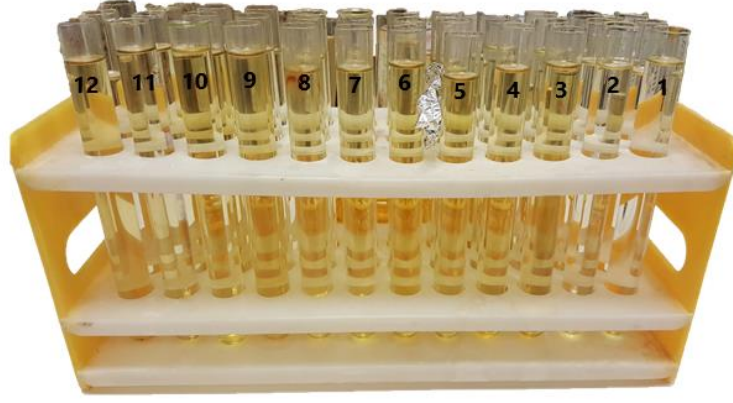
Yapılan fraksiyonlandırma işlemleri sonucunda PAY 1 ile 15 arası (Şekil 3.7.), PAM 1 ile 10 arası (Şekil 3.8.), PAK 1 ile 10 arası (Şekil 3.9.) ve PAS 1 ile 7 arası (Şekil 3.10.) olmak üzere 42 farklı fraksiyon elde edildi. Bu fraksiyonlardan alınan 10’ar mg örnekler ile aktivite deneyleri yapıldı.



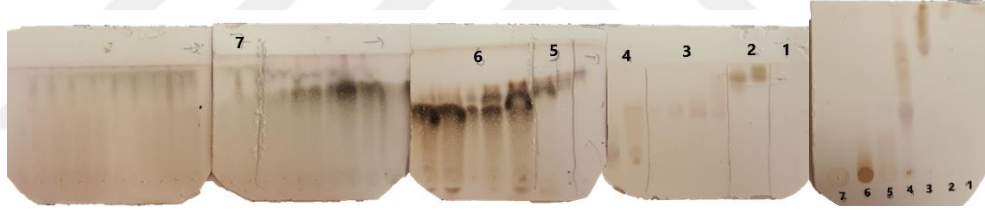
Şekil 3.7. PAY ekstraktından elde edilen 15 fraksiyon ve İTK’de görünümü



Şekil 3.8. PAM ekstraktından elde edilen 10 fraksiyon ve İTK’de görünümü



Şekil 3.9. PAK ekstraktından elde edilen fraksiyonlar ve İTK’de görünümü



Şekil 3.10. PAS ekstraktından elde edilen fraksiyonlar ve birleştirilmeleri ile elde edilen 7 fraksiyon’un İTK’de görünümü

3.5.4. Alt Fraksiyonların Eldesi

Elde edilen fraksiyonlara yapılan aktivite deneyleri sonucunda daha aktif olduğu saptanan fraksiyonlardan alt fraksiyonlar elde edildi. Bunun için seçilen her bir fraksiyona ayrı ayrı kolon sistemi kuruldu (300 g, 3x25 cm) ve örnekler çözülerek kolona yüklendi. Alt fraksiyonlar elde edilirken *P. aricakensis* fraksiyonları, *n*-hekzan:kloroform (100 mL:0 mL ile 0 mL:100 mL, % 10 artan polarite) çözücü sistemi kullanılarak ayrıldı. Daha sonra çözücü sistemi sırasıyla kloroform:etil asetat ve etil asetat:metanol olacak şekilde devam edildi. Son olarak % 100 metanol ile işlem sonlandırıldı. İnce tabaka kromatografisi ile aynı ya da benzer fraksiyonlar birleştirildi (Şekil 3.11. ile 3.16. arası).



Şekil 3.11. Kolon kromatografisi ile sırasıyla PAY5, PAY6 ve PAY7 fraksiyonlarından elde edilen alt fraksiyonların İTK'de gösterimi



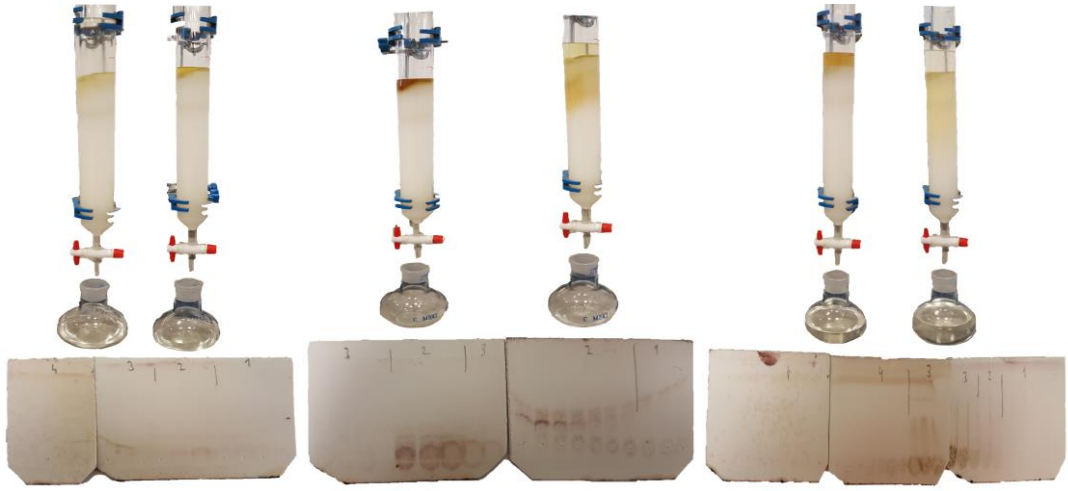
Şekil 3.12. Kolon kromatografisi ile sırasıyla PAY8 ve PAY10 fraksiyonlarından elde edilen alt fraksiyonların İTK'de gösterimi



Şekil 3.13. Kolon kromatografisi ile sırasıyla PAM3 ve PAM6 fraksiyonlarından elde edilen alt fraksiyonların İTK'de gösterimi



Şekil 3.14. Kolon kromatografisi ile sırasıyla PAM8 ve PAM9 fraksiyonlarından elde edilen alt fraksiyonların İTK'de gösterimi



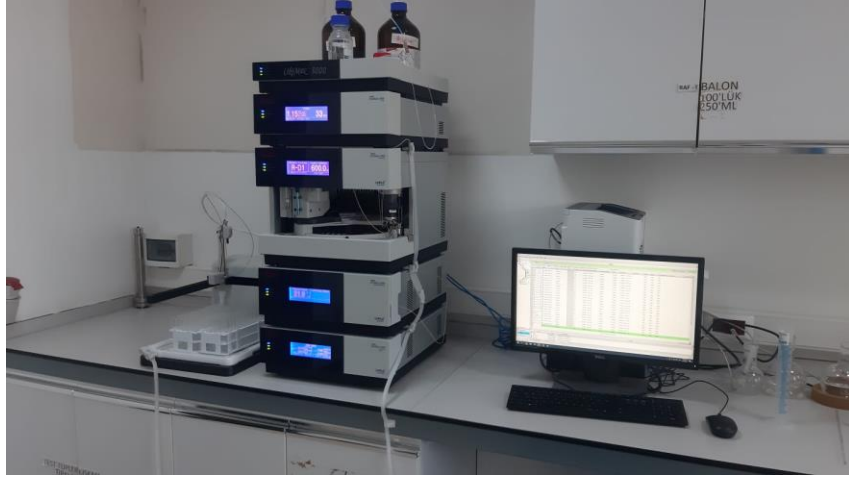
Şekil 3.15. Kolon kromatografisi ile sırasıyla PAK4, PAK6 ve PAK9 fraksiyonlarından elde edilen alt fraksiyonların İTK’de gösterimi



Şekil 3.16. Kolon kromatografisi ile sırasıyla PAS4, PAS6 ve PAS7 fraksiyonlarından elde edilen alt fraksiyonların İTK’de gösterimi

3.5.5. Preparatif HPLC

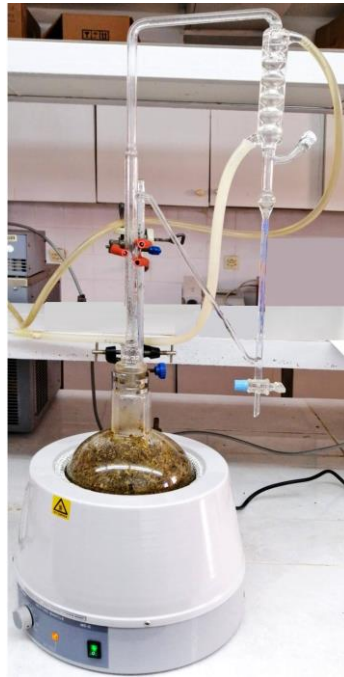
Polar karakterli sekonder metabolitleri daha etkin fraksiyonlandırmada kullanılan preparatif HPLC yöntemi için, Iğdır Üniversitesi ALUM Merkez Laboratuvarı’ndaki Agilent, UltiMate™ 3000 Semi-Preparative System model preparatif HPLC kullanılmıştır. Saflaştırma işleminde klasik kolon işlemi sonrasında, polar fraksiyonlar preparatif HPLC kolonuna (C18 ters faz kolonu) verilerek ayırma işlemleri yapılmıştır. Kullanılan cihazın resmi Şekil 3.17.’de gösterilmiştir.



Şekil 3.17. Preparatif HPLC cihazı

3.6. Uçucu Yağların Ekstraksiyonu

Uçucu yağlar Şekil 3.18.'de gösterilen Clevenger tipi cihaz ile elde edildi. PAY, PAM, PAK ve PAS'dan alınan 100'er g kurutulmuş bitki numuneleri hidrodistilasyona tabi tutularak *P. aricakensis* yaprak uçucu yağı (PAYUY), *P. aricakensis* meyve uçucu yağı (PAMUY), *P. aricakensis* kök uçucu yağı (PAKUY) ve *P. aricakensis* sap uçucu yağı (PASUY) elde edildi ve koyu vial şişelere alınarak analizleri gerçekleştirildi. Uygulama Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Fakültesi Biyokimya Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi.



Şekil 3.18. Clevenger cihazı ile uçucu yağların eldesi

3.7. Örneklerin Karakterizasyonu

Örneklerin karakterizasyonu için öncelikle fitokimyasal analizler (toplam fenol ve flavonoid içerikleri, fenolik bileşenlerin belirlenmesi amacıyla (LC-MS/MS analizleri) ve uçucu yağ bileşimlerinin saptanması (GC-MS/MS analizleri) gerçekleştirilmiştir.

Fraksiyonların ve izolatların karakterizasyonunda ise NMR, FT-IR ve X-ışını kristalografisi yöntemlerine başvurulmuştur. Kromatografik yöntemlerle ayrılan örneklerden biyolojik aktivitesi yüksek olan fraksiyonlar öncelikle NMR analizine gönderildi ve saf olduğu tespit edilen örneklerin yapıları aydınlatıldı. Tek kristal özellik gösteren örnek için ise ayrıca FT-IR analizi ve X-ışını kristalografisi teknikleri uygulandı.

3.7.1. Fitokimyasal Analizler

3.7.1.1. Toplam Fenolik Kapasite

Toplam fenolik kapasite yönteminde, bitki ve gıda maddelerinin toplam fenolik içeriği, gallik asit veya başka bir fenolik bileşik eşdeğeri olarak belirlenir. Toplam fenolik kapasite bazen de kafeik asit, kateşin, klorojenik asit veya ferulik asit eşdeğerleri olarak ifade edilebilir. Bununla birlikte, yüksek miktarda fenolik içerik, yüksek antioksidan yeteneği ile ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle, bu test, toplam antioksidan kapasitenin belirlenmesi için önemli bir parametredir. Bitkiler, baharatlar ve meyveler, tahıllar ve baklagillerden elde edilen ekstratlar dahil olmak üzere antioksidan özelliğinin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılır. Bu metod pH ve sıcaklık uygulama süresi dahil olmak üzere çeşitli dezavantajlara sahiptir (Shahidi ve Zhong, 2015).

Folin-Ciocalteu testi, toplam fenolik içeriği belirlemek için iyi bilinen bir yöntemdir. Başlangıçta, proteinlerdeki fenolik aminoasit olarak tirozinden yararlanan proteinlerin analizi için tasarlanmıştır (Folin ve Ciocalteu, 1927). Daha sonra gıda ve bitki ekstraktlarındaki fenolik içeriği analiz etmek için (Singleton vd, 1999) tarafından kullanılmıştır. Folin–Ciocalteu indirgeme tahlili, daha yüksek hassasiyet ve iyi tekrarlanabilirlik ile tirozin ve triptofan amino asitlerinin dolaylı toplam tayinine uygulanan Folin–Denis indirgeme kapasitesinin modifikasyonudur. Her iki yöntemin de temel ilkesi bir oksitleyici ajan ile aminoasitlerin herhangi biri arasındaki reaksiyona dayanır ve sonuçta protein konsantrasyonu ile orantılı olarak indirgenmiş molibden mavisi oluşumuna neden olur. (Shahidi ve Zhong, 2015).

Genel olarak gallik asit, referans standart bileşik olarak kullanılmaktadır ve sonuçlar gallik asit eşdeğerleri olarak ifade edilmektedir.

Ekstraktların toplam fenol içeriği Folin-Ciocalteu reaktif metodu uygulanarak belirlendi (Nurcholis vd, 2019). Standart olarak gallik asit (GA) kullanıldı ve çözücüsü olan etanol ile standart derişimleri olarak; 1024 µg/mL'den başlayarak ikişer kat seyreltmeler ile 0.5 µg/mL'ye kadar 12 farklı konsantrasyon elde edildi. Örnekler için ise 4 farklı ekstraktan da 3 tekrarlı olacak şekilde 1.000, 5.000 ve 10.000 µg/mL konsantrasyonlarda 3 farklı stok kullanıldı. Her tüpe 100 µL gallik asit eklendikten sonra 100 µL örnek ilave edildi. Ardından 500 µL 1/10'luk Folin-Ciocalteu eklendi. Daha sonra her tüpe 1.5 mL % 20'lik Na₂CO₃ eklendi ve tüpler, 120 dakika boyunca 25 °C'de karanlıkta inkübe edildikten sonra ddH₂O karşısında 765 nm dalga boyunda absorbansları ölçüldü. Kalibrasyon eğrisinden elde edilen veriler aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$\text{Toplam fenol içeriği} = (cxV)/m$$

Burada c, kalibrasyon eğrisinde x eksenindeki değeri, yani konsantrasyonu mg/mL cinsinden göstermekte olup V, stok hacmini mL olarak ve m ise stoktaki ekstrakt miktarını g olarak göstermektedir. Bu formül, g ekstrakt/g kuru bitki değeri ile çarpılarak toplam fenol içerikleri mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g kuru bitki olacak şekilde ifade edildi.

3.7.1.2. Toplam Flavonoid İçeriği

Alüminyum klorit metodu bitkilerdeki toplam flavonoid içeriklerinin belirlenmesi amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Burada, 4-karbonil grubuna sahip flavonoidler, alüminyum klorür ile katalize edilmiş sodyum borohidrit kullanılarak flavan-4-ollere indirgenir. Bundan sonra, flavan-4-oller, asetik asit çözeltisi içinde kloranil tarafından antosiyaninlere oksitlenir ve oluşan antosiyaninler, 490 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülen vanilin-antosiyanin etkileşimlerini oluşturan konsantre hidroklorik asit içinde vanilin ile reaksiyona girer. Flavonoid bileşikler için bu testin özgünlüğüne rağmen, konsantre asitlerin (asetik ve hidroklorik asit) eklenmesi, 60 dakika boyunca 100 °C'de ısıtma aşamasını gerektirir ve bu da ortalama bir analiz süresini 150 dakika gibi bir süreye çıkarabilir (Magalhães vd, 2012).

Ekstraktların toplam flavonoid tayini alüminyum klorit metoduna göre yapıldı (Nurcholis vd, 2019). Standart olarak kuersetin (KE) kullanıldı ve çözücüsü olan

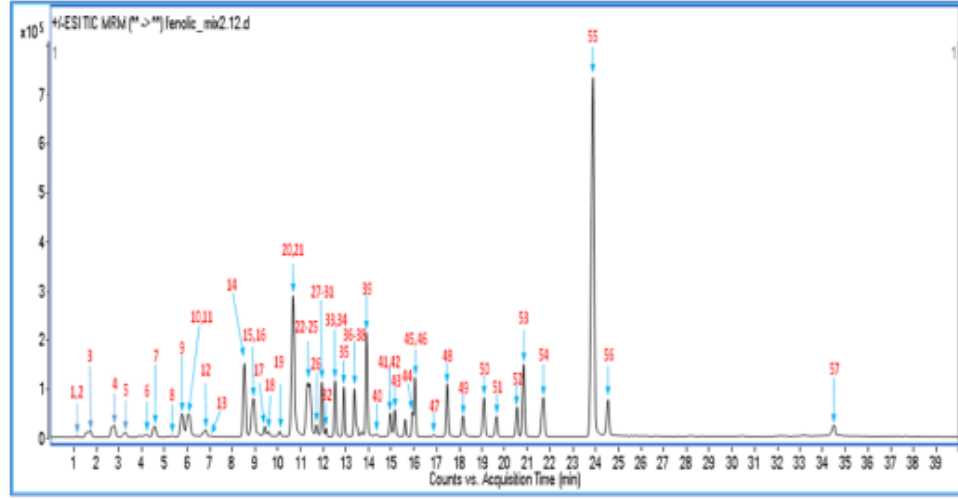
etanol ile standart derişimleri olarak; 1024 µg/mL'den başlayarak ikişer kat seyreltmeler ile 0.5 µg/mL'ye kadar 12 farklı konsantrasyon elde edildi. Örnekler için ise 4 farklı ekstraktan da 3 tekrarlı olacak şekilde 1.000, 5.000 ve 10.000 µg/mL konsantrasyonlarda 3 farklı stok kullanıldı. Her tüpe 500 µL kuersetin eklendikten sonra 500 µL örnek eklendi. Ardından her tüpe 1.5 mL etanol eklendi. Sonrasında ise 100 µL % 10'luk AlCl₃ ve 100 µL 1M CH₃COOK eklendi. Tüplere 2,8 mL ddH₂O eklendikten sonra 30 dakika boyunca 25 °C'de inkübe edildi ve ddH₂O karşısında 415 nm dalga boyunda absorbans ölçüldü. Kalibrasyon eğrisinden elde edilen veriler aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

$$\text{Toplam flavonoid içeriği} = (cxV)/m$$

Burada c, kalibrasyon eğrisinde x eksenindeki değeri, yani konsantrasyonu mg/mL cinsinden göstermekte olup V, stok hacmini mL olarak ve m ise stoktaki ekstrakt miktarını g olarak göstermektedir. Bu formül, g ekstrakt/g kuru bitki değeri ile çarpılarak toplam flavonoid içerikleri mg kuersetin eşdeğeri (KE)/g kuru bitki olacak şekilde ifade edildi.

3.7.1.3. LC-MS/MS Analizleri

LC-MS/MS analizleri Iğdır Üniversitesi Merkez Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. *P. aricakensis* ham ekstraktlarının bileşenlerinin kütle spektrometrisine bağlı 1260 Infinity II LC sistem modelinde HPLC kullanılmıştır. Ters fazlı HPLC, bir kolon fırını (1260-TCC), çift pompa (1260 hazneli pompa) ve bir gaz giderici (1260-gaz giderici) ile donatılmıştı. Kromatografik koşullar, bileşik için optimum ayırma elde etmek ve baskı etkilerinin üstesinden gelmek üzere optimize edilmiştir. Kromatografik ayırmalar, ters fazlı bir Agilent Poroshell 120 EC-C18 modelinde (100 mm x 3.0 mm, 2.7 µm) analitik bir kolon ile yapılmış ve kolon sıcaklığı 40 °C'ye ayarlanmıştır. LC-MS/MS analizleri, elüent A (H₂O + 5 mM NH₄HCO₂ + % 0.1 CH₂O₂:% 85.0) ve elüent B (5 mM NH₄HCO₂ + CH₃OH +% 0.1 CH₂O₂:% 15.0) ile gradyan elüsyon sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Gradyan analiz sistemi için, analiz akış hızı (0.4 mL/dak), basınç (400 bar) ve zaman [(12.00 dak (A:% 50.0-B:% 50.0), 30.00 dk (A:% 10.0 -B:% 90.0), 32.00 dk (A:% 10.0 -B:% 90.0) ve 35.00 dk (A:% 85.0 -B:% 15.0)] olarak belirlenmiştir. LC-MS/MS analizinde kullanılan standartlar ve kromatogramları Şekil 3.19.'da gösterilmiştir. Kullanılan cihazın resmi Şekil 3.20.'de gösterilmiştir. Yöntemin MS kısmı izole edilen maddelerin kütlelerini belirleme aşamasında kullanılmıştır.



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

Şekil 3.19. LC-MS/MS analizinde kullanılan standartlar ve kromatogramları



Şekil 3.20. LC-MS/MS cihazı

3.7.1.4. GC-MS/MS Analizleri

GC-MS/MS analizleri Iğdır Üniversitesi Merkez Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Analizler 7697A model Headspace Sampler ve Agilent 7890A model GC sistemine sahip 7000Triple Quad Mass Spectrometer model kütle spektroskopisi ile yapılmıştır. GC-MS analizleri için HP-5ms Kolon (30 m x 250 m x

0.25 m), elektron iyonlaştırma enerjisi ve 70 eV'lik enerji kullanılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak dakikada 1 mL/dk akış hızı ile He gazı kullanılmıştır. Örneğin derişimine bağılı olarak splitless ve split modda enjeksiyon hacmi 1 µL olarak belirlenmiştir. Örneklerin analizi ile elde edilen kromatogram grafiklerindeki bileşenlerin parçalanması sonucunda oluşan MS spektrumları ile cihaz yazılımında mevcut olan Famedb23, Famdbwax, WILLEY ve NIST05 kütüphanelerindeki MS spektrumları karşılaştırılmış ve örnekteki bileşenler nitel olarak belirlenmiştir. Ayrıca elde edilen total iyon kromatogramlarındaki (TIC) piklerin altında kalan alan yazılım ile belirlenerek, her maddenin örnekteki % bağılı oranı hesaplanmıştır. Bunun yanında uçucu bileşenlerin tayini için cihaz donanımında mevcut olan Headspace sampler kullanılarak, herhangi bir ön işlem yapmadan, yani direkt olarak örnekler Headspace tüplerinde (vial) ısıtılarak uçucu bileşenler analiz edilmiştir. Böylece GC-MS/MS cihazı ile sıvı enjeksiyon ve katı enjeksiyon arasındaki uçucu bileşen bakımından farklılık tespit edilerek yöntemler arasındaki farklar ortaya konulmuştur. GC-MS fırın programında toplam sıcaklık programlaması 100 dakikadır. Optimizasyon sonucunda başlangıç sıcaklığı 40 °C olarak belirlenmiş ve program bu sıcaklık değerinden başlatılmıştır. Bu sıcaklıkta 2 dakika boyunca bekletilmiş ve daha sonra dakikada 5 °C artışla sıcaklık 250 °C'ye çıkarılmıştır. Yine dakikada 5 °C'lik artışla sıcaklık 300 °C'ye yükseltilmiş ve bu sıcaklıkta 30 dakika bekletilerek sıcaklık programlaması sonlandırılmıştır. Kullanılan cihazın resmi Şekil 3.21.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.21. GC-MS/MS cihazı

3.7.2. NMR Analizleri

Yüksek biyoaktivite gösteren, saf olduğu düşünülen ya da kristal oluşturduğu gözlenen fraksiyonlar için NMR analizleri gerçekleştirilmiştir. Bunun için Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü'nde bulunan NMR cihazı kullanılmıştır. Uygulanan kromatografi tekniklerinin ardından saflaştırılan bileşiklerin döteryumlu DMSO ve CDCl_3 çözücülerde çözünen yapıları bir ve iki boyutlu 600 MHz NMR cihazı kullanılarak (^1H -NMR ve ^{13}C -NMR tekniklerine ilave olarak iki boyutlu COSY, HMBC, HSQC) spektrumları alındı ve molekül yapıları aydınlatıldı. Kullanılan cihazın resmi Şekil 3.22.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.22. NMR cihazı

3.7.3. FT-IR Analizleri

Kristal oluşturan örneğin karakterizasyonu için NMR analizi haricinde infrared spektroskopisine de başvuruldu. Bunun için Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü'nde bulunan FT-IR cihazı kullanılmıştır. Bu amaçla ekstrakte edilen örnek saflaştırılıp liyofilizasyon yöntemiyle kurutuldu. Kurutulan örneğin analizi ATR'li FT-IR spektrometresi ile $500\text{--}4500\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısı aralığındaki değişen % geçirgenlik değerleri ölçülerek IR spektrumu elde edildi. Elde edilen spektrum literatürdeki değerlerle karşılaştırıldı. Kullanılan cihazın resmi Şekil 3.23.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.23. FT-IR cihazı

3.7.4. X-Işını Kristalografisi Analizleri

Örnek karakterizasyonunda kullanılmış olan bir diğer yöntem de X-ışını kristalografisidir. Bunun için Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Fakültesi Fizik Bölümü'nde bulunan X-ışını kristalografisi cihazı kullanılmıştır. Bu amaçla ekstrakte edilen örnek saflaştırılmış olup ardından kristallendirilerek tek kristal halinde X-ışını analizi gerçekleştirildi. Kullanılan cihazın resmi Şekil 3.24.'de gösterilmiştir.

Molekülün uygun tek kristali seçildi ve difraktometrede ölçüldü. Veri toplama sırasında kristal 293(2) K'de tutuldu. Olex2 (Dolomanov vd, 2009) kullanılarak yapı, Intrinsic Phaseing kullanılarak SHELXT (Sheldrick, 2015) yapı çözüm programı ile çözüldü ve Least Squares minimizasyonu kullanılarak SHELXL (Sheldrick, 2015) iyileştirme paketi ile düzeltildi.



Şekil 3.24. X-ışını kristalografisi cihazı

3.8. Biyoaktivite Testleri

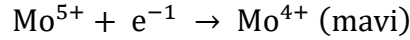
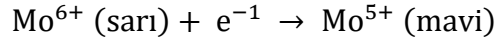
Bitki kısımlarından elde edilen ham ekstraktların, fraksiyon ve alt fraksiyonların, uçucu yağların ve izolatların biyoaktivite özelliklerinin araştırılması ve süreç boyunca çalışmaların biyoaktivite yönlendirmeli olarak ilerleyebilmesi için farklı *in vitro* testler uygulandı. Bu testler arasında antioksidan aktivite, enzim inhibisyon, antibakteriyel aktivite, DNA koruma aktivite tayinleri bulunmaktadır. Uygulamalar Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Fakültesi Biyokimya Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.8.1. Antioksidan Aktivite Tayinleri

P. aricakensis bitkisine ait elde edilen ekstraktların, uçucu yağların, fraksiyonların, alt fraksiyonların ve izolatların antioksidan aktivite tayinleri toplam antioksidan, DPPH[•] giderme, ABTS^{•+} giderme ile tayin edildi. Aktiviteler BHA, TBHQ ve E vitamini standart antioksidanlar ile karşılaştırıldı. Örnekler için çözücü olarak metanol, standartlar için ise etanol kullanıldı. Örnekler ve standartlara 1024 µg/mL konsantrasyondan 8 µg/mL'ye kadar seri seyreltme işlemi uygulandı. Deneyler sonucunda kaydedilen veriler ile A_{0.5} veya IC₅₀ değerleri hesaplandı.

3.8.1.1. Toplam Antioksidan Aktivite Tayini

Bilinen en yaygın toplam antioksidan kapasite testi fosfomolibden yöntemidir. Bu yöntem, fosfomolibden kompleksinin oluşumu yoluyla antioksidan kapasitenin kantitatif tayini için geliştirilmiş bir metottur. Test, numune analiti tarafından Mo^{6+} 'nın Mo^{5+} 'ya indirgenmesine (Platzer vd, 2021) ve ardından asidik pH'ta yeşil bir fosfat- Mo^{5+} kompleksinin oluşumuna dayanır (Alam vd, 2013).

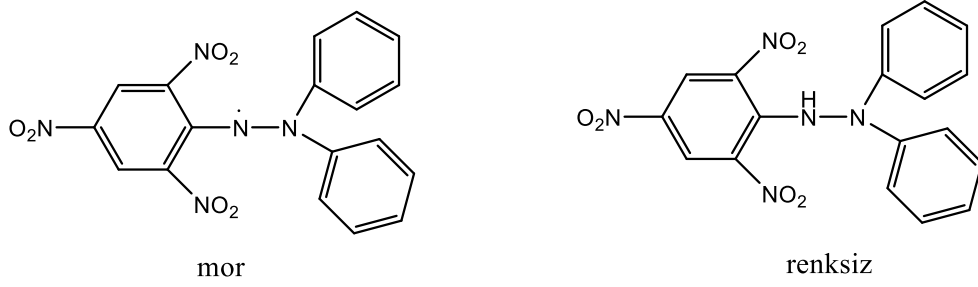


Örneklerin toplam antioksidan aktivite tayini amonyum molibidyum metodu ile yapıldı (Mohamed vd, 2007; Prieto vd, 1999). Her kuyuya 150 μL örnek veya standart ve 1.35 mL reaktif karışımdan eklendi. Reaktif karışım için, 4 mM $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 28mM Na_3PO_4 , 0.6 mM H_2SO_4 'den oluşan ve dd H_2O ile 250 mL'ye tamamlanan bir çözelti hazırlandı. Tüpler hazırlandıktan sonra 95°C'de 90 dakika boyunca çalkalamalı su banyosunda inkübe edildi. Ardından soğuk su içerisinde soğutulup kör olarak reaktif karışım karşısında 695 nm'de absorbans ölçüldü ve $A_{0.5}$ değerleri hesaplandı.

3.8.1.2. DPPH' Giderme Aktivitesi Tayini

DPPH' giderme aktivitesi en sık kullanılan radikal giderme aktivitesi yöntemlerinden birisidir ve antioksidan aktiviteyi değerlendirmek için ilk izlenimi veren basit, kolay, ekonomik, hızlı ve etkili bir analizdir. DPPH' giderme aktivite testi, antioksidan aktivitenin belirlenmesi için en eski dolaylı yöntemdir ve ilk olarak fenolik bileşiklerin antioksidan potansiyelini belirlemek için kullanılmıştır. Daha sonra test, hem fenoliklerin hem gıda maddelerinin hem de biyolojik aktivite gösteren ilgili numunelerin antioksidan potansiyelini belirlemek için ölçülmeye başlanmıştır (Roginsky ve Lissi, 2005).

Koyu mavi renge sahiptir ve dimerizasyona uğramaması nedeniyle uzun ömürlü bir azot radikal türüdür. Boştaki elektronun molekül üzerinde delokalizasyonu sayesinde kararlı bir serbest radikal olarak karakterize edilir, böylece molekül diğer birçok serbest radikalde olduğu gibi dimerleşmez. Bu elektronun delokalizasyonu, yaklaşık 517 nm merkezli organik çözeltide karakterize edilen koyu mor renge yol açar. DPPH' radikal çözeltisi, hidrojen atomu verebilen bir antioksidan molekül ile karıştırıldığında bu menekşe rengini kaybederek indirgenmiş formu meydana getirir (Şekil 3.19.) (Alam vd, 2013).



Şekil 3.25. DPPH[•] ve DPPH molekülleri ve gözlenen renkler

Örneklerin serbest radikal giderme aktivitesi DPPH[•] kullanılarak gerçekleştirildi (Blois, 1958). Her kuyuya 150 μ L örnek veya standart ve 50 μ L DPPH eklenerek yapıldı. Başlangıçta 0.1 mM'lık 25 mL DPPH çözeltisi hazırlandı ve 60 dakika karanlıkta bekletildi. Örnekler 30 dakika boyunca 25 °C'de karanlıkta inkübe edildikten sonra 520 nm'de absorbans ölçüldü ve IC₅₀ değerleri hesaplandı.

3.8.1.3. ABTS^{•+} Giderme Aktivitesi Tayini

Bu metotta ABTS oksidanlar tarafından yoğun renkli radikal katyonu ABTS^{•+}'ye oksitlendirilir ve sonrasında aktivite, örneğin doğrudan ABTS^{•+} ile reaksiyona girerek rengi azaltma yeteneği olarak ölçülür. ABTS^{•+}, sulu ortamda (414, 734 ve 815 nm) ve etanolik ortamda (414, 730 ve 873 nm) maksimum absorplama kapasitesine sahiptir. İlk kez bu metod (Miller vd, 1993) tarafından geliştirilmiş ve çeşitli modifikasyonlarla günümüze gelmiştir.

ABTS^{•+} metodu, hem lipofilik hem de hidrofilik bileşikler için geçerlidir. ABTS^{•+}, DPPH'den daha reaktiftir ve bu radikal katyonun üretilmesi, saf maddelerin, sulu karışımların ve içeceklerin toplam antioksidan aktivitesini ölçmek için uygulanan spektrofotometrik yöntemlerin temelini oluşturur (Gulcin, 2020).

Örneklerin katyon radikal giderme aktivitesi ABTS^{•+} kullanılarak uygulandı. (Dechayont vd, 2017; Re vd, 1999). Her kuyudaki 20 μ L örnek ya da standardın üzerine 180 μ L reaktif çözelti karışımı eklendi. Reaktif karışım, 2:1 (ABTS^{•+}: K₂S₂O₈) oranında, 7mM ABTS^{•+} ve 2,45 mM K₂S₂O₈'dan oluşmakta olup toplam 3 mL hacimde hazırlandı. Koyu şişe içerisindeki bu karışım deneyden önce 16 saat karanlıkta bekletildi. Ardından reaktif çözelti karışımı, 1/33 oranında seyreltilti. Bunun için 1 mL karışım çözeltisine 33 mL etanol eklendi ve absorbans değeri 0.700 $\pm$ 0.02 olacak şekilde ayarlandı. Sonrasında 6 dakika beklendi ve 734 nm dalga boyunda etanol karşısında absorbans değerleri ölçüldü ve IC₅₀ değerleri hesaplandı.

3.8.2. *In vitro* Enzim İnhibisyon Etkileri ve Kinetik Çalışmaları

P. aricakensis bitkisine ait elde edilen ekstraktların, uçucu yağların, fraksiyonların, alt fraksiyonların ve izolatların enzim inhibisyonu çalışmaları AChE, BChE, tirozinaz ve üreaz enzimleri ile çalışıldı. Aktivite tayinlerinde AChE ve BChE için galantamin, tirozinaz için kojik asit ve üreaz için tiyoüre standart enzim inhibitörleri olarak örneklerle karşılaştırıldı. Örnekler için çözücü olarak metanol, standartlar için ise ddH₂O kullanıldı. Örnek ve standartlara 1024 µg/mL konsantrasyondan 0.5 µg/mL'ye kadar seri seyreltme işlemi uygulandı. Deneyler sonucunda kaydedilen veriler ile IC₅₀ değerleri hesaplandı.

Saf maddelerin enzim kinetiği çalışmaları AChE, BChE, tirozinaz ve üreaz enzimleri ile etkileşimlerine dayanarak yapılmıştır.

Kinetiğinin türüne, çeşitli substrat ve inhibitör konsantrasyonları kullanılarak karar verildi. Yarışmasız (non-competitive) inhibisyon mekanizması Lineweaver-Burk grafikleri ile analiz edildi ve aşağıdaki denklemlerle belirlendi (Zeng vd, 2016).

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{maks}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{maks}} \left(1 + \frac{[I]}{\alpha K_i} \right)$$

$$\text{Eğim} = \frac{K_m}{V_{maks}} + \frac{K_m[I]}{V_{maks}K_i}$$

Burada α , inhibitörlerin yokluğunda ve varlığında enzim 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, 2017).

Karışık tip inhibisyon mekanizmasını analiz etmek için Lineweaver-Burk denklemi ile analiz edildi ve aşağıdaki denklemlerle belirlendi (Zeng vd, 2016).

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{maks}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{maks}} \left(1 + \frac{[I]}{K_{is}} \right)$$

$$\text{Eğim} = \frac{K_m}{V_{maks}} + \frac{K_m[I]}{V_{maks}K_i}$$

$$Y\text{-kesim noktası} = \frac{1}{\frac{1}{V_{maks}^{app}} + \frac{1}{V_{maks}K_{is}}} [I]$$

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

3.8.2.1. AChE ve BChE İnhibisyon ve Kinetik Çalışmaları

Alzheimer hastalığı (AH), beynin ilerleyici, dejeneratif bir bozukluğudur ve özellikle sanayileşmiş ülkelerde yaşlılar arasında en yaygın ileri yaş hastalığıdır. AH, öğrenme, hafıza, davranış ve duygusal tepkilerle ilgili beyin bölgelerinde azalmış asetilkolin (ACh) ve bütirilkolin (BCh) seviyeleri ve kolinerjik sistem kaybı ile ilişkilidir. Nöropatolojik olarak AH, beta-amiloid ($A\beta$) plaklarının, nörofibriler yumaklar ve bazal ön beyin kolinerjik nöronlarının dejenerasyonu/atrofisinin varlığı ile karakterize edilir (Roberson ve Harrell, 1997).

AH ile ilgili araştırmalarda hastaların beyinlerinde nöromediatör olarak görev alan ACh ve BCh seviyelerinin normal olmadığı gözlenmiştir. ACh ve BCh nörotransmitterleri hidrolize eden enzimler olan AChE (EC 3.1.1.7) ve BChE (EC 3.1.1.8) inhibisyonu, AH için bir tedavi seçeneği haline gelmektedir. Dolayısıyla bu enzimlerin inhibisyonu ile ilgili birçok çalışma literatürde mevcuttur (Burmaoglu vd, 2019).

AChE, ACh'yi metabolize eder ve beyindeki seviyesini düşürür. ACh, AChE tarafından asetat ve kolin moleküllerine dönüştürülür (Aksu vd, 2018). ACh seviyelerinin düşmesi de AH'da rol oynadığından dolayı AChE inhibitörlerinin aracılığıyla beyindeki ACh seviyesinin yükseltilmesi ve bu sayede de AH hastalığında yeni bir umut olması beklenmektedir (Köse vd, 2015). Kolinesteraz inhibitörleri kolinesterazları inhibe eder, ACh ve BCh etkisinin seviyesini ve uzunluğunu artırır (Topal vd, 2017).

AChE inhibisyonu Ellman metodu ile spektrofotometrik olarak tayin edildi (Özçelik vd, 2010). Her kuyuya 20 μ L standart ya da örnek eklendikten sonra 140 μ L fosfat tamponu (0.1 M ve pH= 8) ve 3.3 mM'lık 20 μ L DTNB eklendi. Sonrasında kuyulara 0.03 U/mL AChE enziminden 20'şer μ L eklendi. Oda sıcaklığında 15 dakika inkübasyon süresinin ardından 10 μ L 1 mM asetilkolin iyodür eklenerek 412 nm dalga boyunda absorbans ölçüldü.

Kinetik çalışmalarında ise bu metoda ek olarak substrat konsantrasyonu 2 mM ile 0.03 mM arasında seyreltilerek kullanıldı. Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek V_{maks} ve K_m değerlerinden K_i değeri hesaplandı ve inhibisyon türü belirlendi (Malomo ve Aluko, 2019).

BChE inhibisyonu Ellman metodu ile spektrofotometrik olarak tayin edildi (Özçelik vd, 2010). Her kuyuya 20 µL standart ya da örnek eklendikten sonra 140 µL fosfat tamponu (0.1 M ve pH= 8) ve 3.3 mM'lık 20 µL DTNB eklendi. Sonrasında kuyulara 0.03 U/mL BChE enziminden 20'şer µL eklendi. Oda sıcaklığında 15 dakika inkübasyon süresinin ardından 10 µL 1 mM bütirilkolin klorür eklenerek 412 nm dalga boyunda absorbans ölçüldü.

Kinetik çalışmalarında ise bu metoda ek olarak substrat konsantrasyonu 20 mM ile 0.625 mM arasında seyreltilerek kullanıldı. Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek V_{maks} ve K_m değerlerinden K_i değeri hesaplandı ve inhibisyon türü belirlendi (Malomo ve Aluko, 2019).

3.8.2.2. Tirozinaz İnhibisyon ve Kinetik Çalışmaları

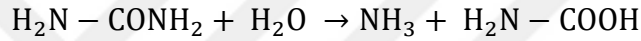
Son yıllarda tirozinaz (EC 1.14.18.1) inhibitörleri, hem memeli melanogenezinde hem de meyve veya mantarların enzimatik kararmasında anahtar rolü nedeniyle araştırılmaktadır. Melanogenez, koyu makromoleküler pigmentlerin, yani melaninin oluşumuna yol açan tüm süreçler olarak tanımlanabilir. Melanin, insan cildinin güneşten gelen UV radyasyonunun zararlı etkilerinden korunmasında önemli bir rol oynar. Melanin ayrıca fenotipik görünümümüzü de belirler. Melanin insan derisinde esas olarak fotokoruyucu bir işleve sahip olmasına rağmen, cildin farklı spesifik bölümlerinde anormal miktarda melanin birikmesi, büyük sorunlara yol açmaktadır. Ek olarak, meyve ve mantarlarda enzimatik kararma istenmeyen bir durumdur. Bu fenomen, araştırmacıları gıdaların koyulaşmasını önleme ve cilt beyazlatmada kullanılmak üzere yeni güçlü tirozinaz inhibitörleri aramaya teşvik etmiştir (Chang, 2009).

Tirozinaz inhibisyonu spektrofotometrik olarak tayin edildi (Addar vd, 2019). Her kuyuya 10 µL standart ya da örnek, 150 µL fosfat tamponu (0.1 M'lık ve pH= 6.8), 20 µL 200 µg/mL tirozinaz enzimi eklenerek 37°C'de 10 dakika inkübasyona bırakıldı. Son olarak 20 µL 5mM L-DOPA eklendi ve 475 nm'de absorbans değerleri ölçüldü.

Kinetik çalışmalarında ise bu metoda ek olarak substrat konsantrasyonu 2 mM ile 0.0625 mM arasında seyreltilerek kullanıldı. Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek V_{maks} ve K_m değerlerinden K_i değeri hesaplandı ve inhibisyon türü belirlendi (Alqahtani vd, 2022; Sari vd, 2019).

3.8.2.3. Üreaz İnhibisyon ve Kinetik Çalışmaları

Üreaz enzimi (EC 3.5.1.5), üreyi amonyak'a çevirerek organizmanın üreyi azot kaynağı olarak kullanmasını sağlamaktır. Ayrıca üre, *Helicobacter pylori* (HP) patolojilerinin ana sebebi olarak bilinmektedir. Yani HP'nin kolonizasyon sırasında midenin düşük pH'ında yaşamasını sağlar ve bu nedenle bazı durumlarda kansere ilerleyebilen mide ve peptik ülserlerin patogeneğinde önemli bir rol oynar. Bu gibi sebeplerden dolayı üreaz inhibitörleri, yeni antiülser ilaçları için hedef olarak kabul edilmiştir (Amtul vd, 2002).



Üreaz inhibisyonu spektrofotometrik olarak tayin edildi (Zhang vd, 2006). Her kuyuya 5 µL standart ya da örnek, 25 µL 1 U üreaz enzimi ve 55 µL 100 mM'lık üre eklenerek 30 °C'de 15 dakika inkübe edildi. Sonrasında örneklere 45 µL fenol reaktifi ve 70 µL alkali reaktifi eklendi ve absorbans ölçümü öncesi 30 °C'de 50 dakika beklemeye alındı. Kullanılan fenol reaktifi % 8 fenol ve % 0.1 sodyum nitroprussid içerirken alkali reaktifi ise % 2.85 NaOH ve % 4.7 NaOCl içermektedir. Absorbans ölçümü 630 nm'de gerçekleştirildi.

Kinetik çalışmalarında ise bu metoda ek olarak substrat konsantrasyonu 40 mM ile 0.625 mM arasında seyreltilerek kullanıldı. Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek V_{maks} ve K_m değerlerinden K_i değeri hesaplandı ve inhibisyon türü belirlendi (Ahmed vd, 2017; Weatherburn, 1967).

3.8.3. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Örneklerin antibakteriyel aktivite tayininde gram negatif [*Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031), *Salmonella enterica* (ATCC 13311)] ve gram pozitif [*Enterococcus Faecalis* (ATCC 29212), *Bacillus cereus* (CCM 99), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25213), *Listeria monocytogenes* (ATCC 35152)] patojenler kullanılarak amoksisilin ve tetrasiklin antibiyotikleri ile karşılaştırıldı.

Ham ekstraktların, uçucu yağların, fraksiyonların, alt fraksiyonların ve izolatların antibakteriyel aktivite çalışmaları MİK (Minimum inhibisyon konsantrasyonu) metodu ile çalışıldı.

200 mL Mueller Hinton Agar (MHA) ve Mueller Hinton Broth (MHB) ile bakterilerin Mc-Farland ayarını yapmak için gerekli olan % 0.85'lik serum fizyolojik hazırlandı ve kabinde kullanılacak diğer bütün ekipmanlarla birlikte 121 °C'de 15 dakika otoklavlandı.

3.8.3.1. Bakterilerin Çoğaltılması

Petriler kabin içerisinde etiketlendikten sonra her petriye 25 mL agar gelecek şekilde döküm yapıldı. Agarlar yeterince soğuduktan sonra bakterilerden 20 µL alındı ve zik-zak yöntemi ile ekim yapıldı. Ardından streçlenen petriler, bakterilerin üremesi için 1 gün süre ile ters şekilde 37 °C'de inkübatöre bırakıldı.

3.8.3.2. MİK Metodu

MİK metodu, *in vitro* koşullar altında bir mikroorganizma süşunun gözle görülür büyümesini tamamen önleyen ve mg/L (µg/mL) cinsinden ifade edilen, bir antibakteriyel belirteç olup maddenin en düşük konsantrasyonunu ifade eder (Phillips vd, 1998). MİK değeri, bakteri üremesinin tamamen engellendiği en düşük antibiyotik konsantrasyonu olarak kabul edilir ve agar seyreltme yönteminde 1-2 koloni oluşumu veya hafif bulanıklık göz ardı edilir, tamamen bulanıklık referans olarak alınır (Andrews, 2001; Microbiology ve Diseases, 2000).

Örneklerin bakteriler üzerindeki antibakteriyel aktivitesinin gözlenmesi amacıyla mikrodilüsyon yöntemi ile MİK değerleri belirlendi (Andrews, 2001). Öncelikle 100 mL MHB'ye 1000 µL 2 mg/mL CaCl₂ ve 400 µL 2 mg/mL MgCl₂ çözeltilerinden eklenerek katyonlu MHB oluşturuldu. Her bakteri için eppendorflara, Mc-Farland değeri ayarlanmış bakterilerden 100 µL, katyonlu MHB'den 900 µL olacak şekilde eklenerek karışım hazırlandı. Kabin içerisinde birinci kuyuya 100 µL katyonlu MHB ve 100 µL ekstrakt (1024 µg/mL) veya antibiyotik çözeltisi eklendi ve karıştırılarak seri seyreltme işlemi yapıldı. En son 100 µL bakteri çözeltisi eklendi ve son hacim 200 µL oldu. Kontrol olarak 100 µL katyonlu MHB, 100 µL katyonlu MHB ve 100 µL bakteri çözeltisi, 100 µL katyonlu MHB ve 100 µL ekstrakt çözücüsü (metanol), 100 µL bakteri çözeltisi ve 100 µL ekstrakt çözücüsü kullanıldı. Plakalar hazırlandıktan sonra 2 saat 4 °C'de bekletilip sonrasında 37 °C'de 16-18

saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından hangi kuyuda çökelme ya da bulanıklık başlamışsa bir önceki kuyunun konsantrasyon değeri MİK değeri olarak not edildi. Bu metotta funguslar için tek fark katyonik olmayan Sabouraud Dextrose Broth (SDB) kullanılması olmuştur.

3.8.4. DNA Koruma Aktivitesi Tayini

P. aricakensis bitkisine ait elde edilen ekstraktların, uçucu yağların, fraksiyonların ve izolatların DNA koruma aktivite tayini, elektroforetik yöntem ile gerçekleştirildi.

Hidroksil radikali supercoil plazmid DNA'nın, açık dairesel formda ve tek sarmallı hale gelmesine yol açar ve bu durum jel elektroforezinde görüntülenebilir (Schaich vd, 2015). Antioksidanların plazmid DNA hasarı koruma potansiyeli, karsinogenezi, mutajenezi ve birçok genetik bozukluğu önleyebilir (Baiseitova vd, 2019).

P.aricakensis örneklerinin DNA koruma aktivitesi agaroz jel elektroforez metodu kullanılarak tayin edildi (Baiseitova vd, 2019; Russo vd, 2003; Sevgi vd, 2015; Tepe vd, 2011). İlk olarak % 1'lik agaroz jel hazırlandı ve 2 µL etidyum bromür ilave edildi. Agaroz jel döküldü ve 2 saat boyunca katılaşması beklendi. Daha sonra katılaşan jel, elektroforez tankına bırakıldı. Elektroforez tankına 1X TBE tamponu döküldü. Negatif kontrol 3 µL plazmit DNA, 6 µL dH₂O, 4 µL gliserol, pozitif kontrol 3 µL plazmit DNA, 6 µL dH₂O, 4 µL gliserol, 1 µL H₂O₂, örnekler ise 3 µL plazmit DNA, 5 µL örnek, 4 µL gliserol, 1 µL H₂O₂ olacak şekilde hazırlandı. Pozitif kontrol ve örnekler 20 dakika UV'ye maruz bırakıldı. Kontrol ve örnekler 2 µL yükleme boyası ilave edildi. Kontrol ve örnekler (1 mg/mL) kuyulara yüklendi ve 60 dk 90 voltta yürütüldü. UV translüminatörü (320 nm 8000 µW/cm) ile görüntüleme sağlandı.

3.9. *In silico* Moleküler Doking Analizleri

Doking çalışmaları “AutoDock Vina” programı ile yapılarak etkileşimlere ait görüntüler de “BIOVIA Discovery Studio” programından alındı. “AutoDock Vina” programından alınan bağlanma skorları ile enzimlerle moleküller arasındaki teorik K_i değerleri (mM) hesaplandı.

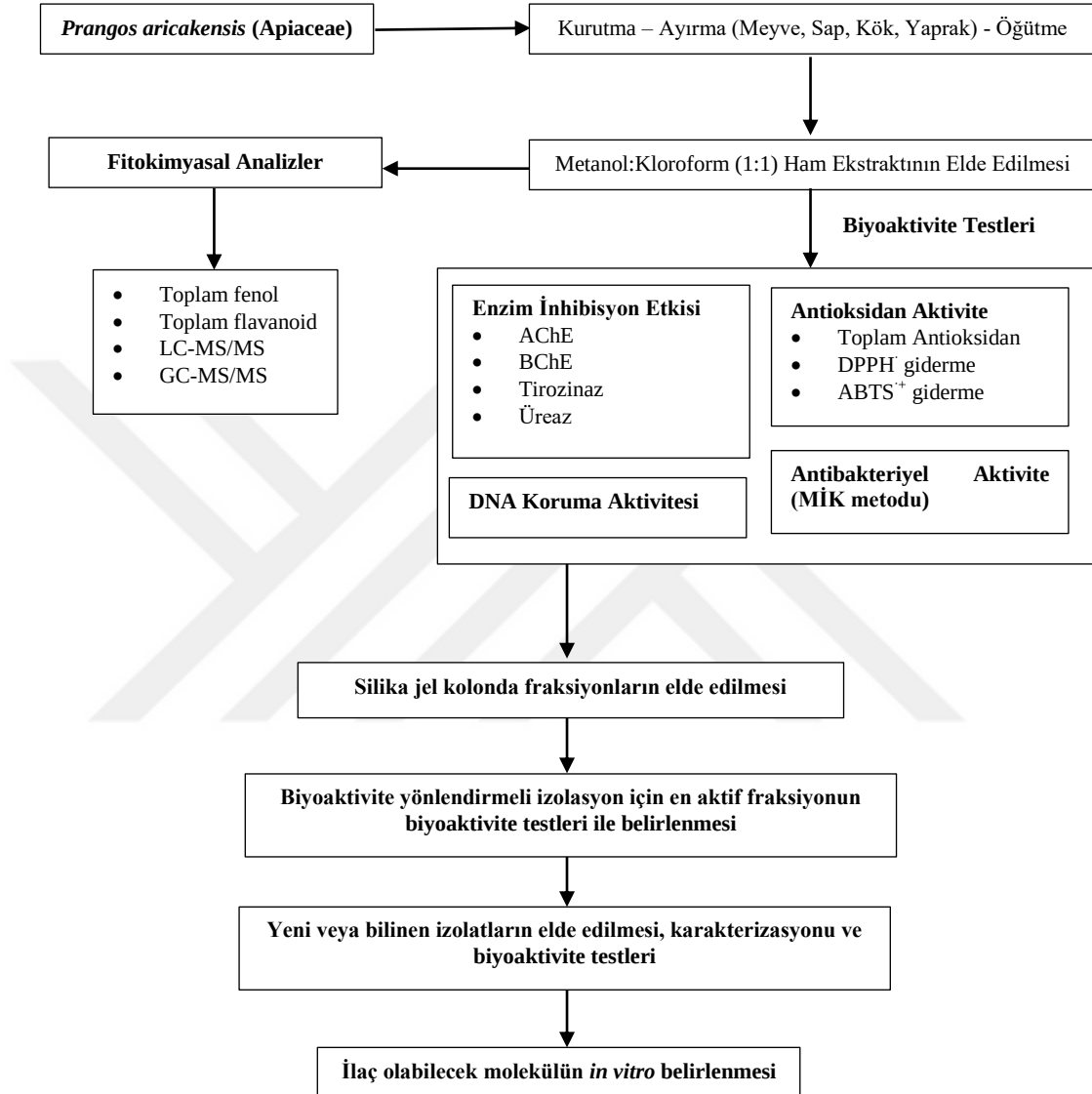
3.10. İstatistiksel Analizler

Testlerden elde edilen üç tekrarlı ortalama sonuç verileri $\pm$ standart sapma değerleriyle ifade edildi ve “Statistical Package for Social Studies” (SPSS) programı kullanılarak önce ANOVA ve sonra TukeyHSD^{a,b} analizleriyle değerlendirildi. Değerlerin istatistiksel anlamlılık derecesi kontrol grubuyla karşılaştırılarak “ $p<0.05$ ” değerleriyle ifade edildi. Aktivite sonuçlarında ortalama korelasyon katsayısı (R^2) değerleri belirtildi. Ayrıca temel bileşen analizi (PCA) Minitab 19 programında gerçekleştirildi.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

P. aricakensis bitkisi ile çalışılan deneyler ve hedeflerin yer aldığı akış şeması Şekil 4.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. *P. aricakensis* fitokimyasal ve biyoktivite şeması

4.1. Fitokimyasal Analizler

4.1.1. Ekstraksiyon Verimi

P. aricakensis bitkisinin meyve, sap, kök ve yaprak kısımlarının ekstraksiyonları sonucu hesaplanan ham ekstrakt yüzde verim değerleri, liyofilizasyon sonunda elde edilen ağırlık değerlerine göre hesaplandı ve uçucu yağların verim değerleriyle birlikte Tablo 4.1.'de gösterildi.

Ekstraksiyon için 1:1 oranında metanol:kloroform çözücülerini kullanılmış olup meyve kısmından 50 g, yaprak, kök ve sap kısımlarından 100 g kuru bitki kullanılmıştır. Uçucu yağlar için meyve kısmından 10 g, yaprak, kök ve sap kısımlarından 100 g bitki kullanılmış olup ddH₂O içerisinde çözülerek Clevenger cihazında uçucu yağlar elde edilmiştir. Ham ekstraktlar içerisinde en yüksek yüzde ekstraksiyon veriminin % 20.66 ile PAM’da ve uçucu yağlarda ise % 0.3 ile PAYUY’da olduğu görülmüştür.

Tablo 4.1. Ekstraktların ve uçucu yağların verim değerleri

Örnekler	Kısaltma	Örnek kütlesi, g	Çözücü hacmi, mL	Verim, %
<i>P.aricakensis</i> yaprak	PAY	100	1600	16.33
<i>P.aricakensis</i> yaprak uçucu yağı	PAYUY	100	600	0.3
<i>P.aricakensis</i> meyve	PAM	50	1300	20.66
<i>P.aricakensis</i> meyve uçucu yağı	PAMUY	10	300	0.01
<i>P.aricakensis</i> kök	PAK	100	1300	8.95
<i>P.aricakensis</i> kök uçucu yağı	PAKUY	100	600	0.08
<i>P.aricakensis</i> sap	PAS	100	1400	18.55
<i>P.aricakensis</i> sap uçucu yağı	PASUY	100	600	0.2

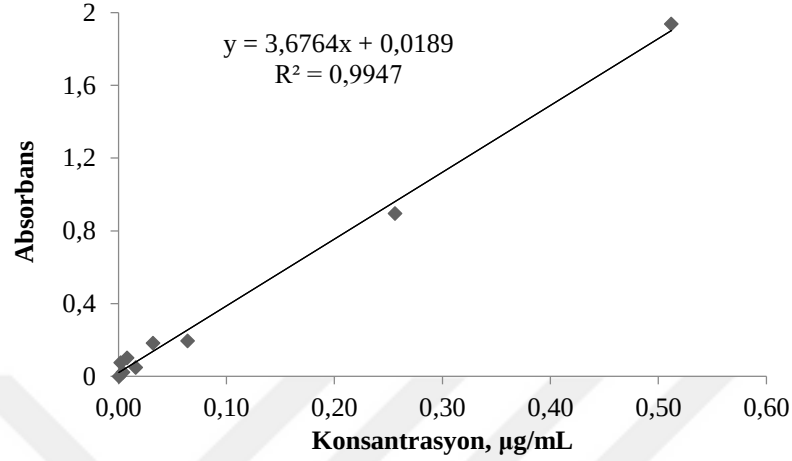
Oke-Altuntas vd (2015) çalışmalarında *P. denticulata* bitkisinin metanolik meyve ve yaprak ekstraktları için verim değerlerini sırasıyla % 32.9 ve % 14.5, *P. heyntiae* bitkisinin metanolik meyve ve yaprak ekstraktları için ise sırasıyla % 17.6 ve % 16.6 olarak belirlemişlerdir.

Oke Altuntas vd (2016), *P. meliocarpoides* var. *meliosarpoides* bitkisinin metanolik meyve ekstraktı için yüzde verim değerini % 14.1 olarak hesaplamışlardır.

PAY ekstraktının yüzde veriminin *P. denticulata* yaprak ekstraktından daha yüksek ve PAM ekstraktının da *P. heyntiae* meyve ekstraktından daha yüksek olduğu görülmüştür. *P. meliocarpoides* var. *meliosarpoides* bitkisinin meyve ekstraktının yüzde verim değeri de PAM’a göre daha düşüktür.

4.1.2. Toplam Fenol İçeriği

Ekstraktlarının toplam fenol içerikleri standart olarak kullanılan gallik asit'in kalibrasyon grafiği yardımıyla (Şekil 4.2.) hesaplandı ve Tablo 4.2.'de gösterildi.



Şekil 4.2. Gallik asit çözeltisinin kalibrasyon grafiği

Ekstraktların toplam fenol içerikleri hesaplandığında PAY ekstraktının 26.37 ± 2.10 mg GAE/g ekstrakt değeri göstererek diğer ekstraktlardan daha etkili olduğu saptanmış ve onu sırasıyla PAK, PAS ve PAM ekstraktları PAY'ı takip etmiştir.

Tablo 4.2. Ekstraktların toplam fenol içeriği

Örnekler	Toplam fenol içeriği, mg GAE/g ekstrakt
PAY	26.37±2.10
PAM	10.20±0.35
PAK	20.41±4.00
PAS	17.66±2.06

Çoruh vd (2007) çalışmalarında *P. ferulacea* bitkisinin metanol ekstraktının, Folin–Ciocalteu metodu ile toplam fenolik içeriğini 65.1 ± 6.4 µg GAE/mg kuru bitki olarak hesaplamışlardır.

Ahmed vd (2011) yaptıkları çalışmada *P. ferulacea*, *P. uechritzii* ve *P. heyniae* bitkilerinin metanolik kök ekstraktları için sırasıyla 96.67 ± 1.84 , 120.73 ± 2.64 ve 95.99 ± 2.78 meyve ekstraktları için sırasıyla 140.29 ± 1.73 , 128.23 ± 2.17 ve 127.33 ± 5.1 µg GAE/mg ekstrakt olarak bulmuşlardır.

Dagdelen vd (2014b), *P. ferulacea* bitkisinin metanol ekstraktı için 15.4 ± 0.2 mg GAE/g ekstrakt bulmuşlardır.

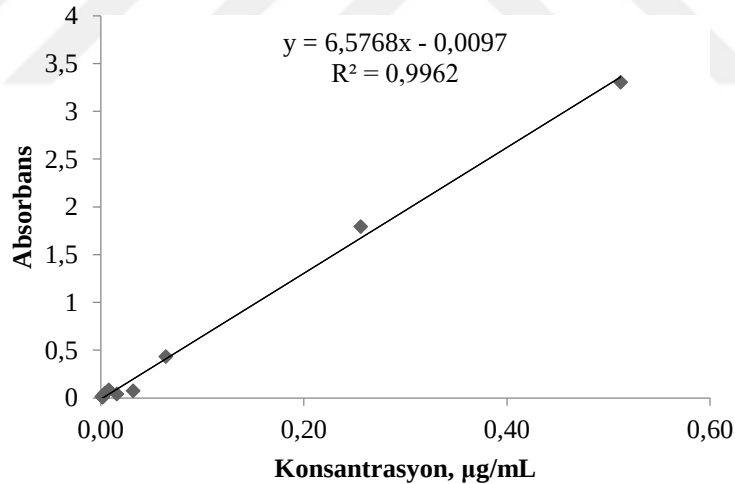
Oke-Altuntas vd (2015), *P. denticulata* bitkisinin metanolik meyve ve yaprak ekstraktları için sırasıyla 35.7 ± 0.6 ve 62.8 ± 0.1 μg GAE/mg ekstrakt, *P. heyneiae* bitkisinin metanolik meyve ve yaprak ekstraktları için ise sırasıyla 37.9 ± 0.1 ve 64.1 ± 0.7 μg GAE/mg ekstrakt bulmuşlardır.

Oke Altuntas vd (2016), *P. meliocarpoides* var. *meliocarpoides* bitkisinin metanolik meyve ekstraktı için 48.01 ± 0.4 μg GAE/mg ekstrakt bulmuşlardır.

Bahadori vd (2017), *P. gaubae* bitkisinin metanol ekstraktı için 53.85 ± 1.28 mg GAE/g ekstrakt olarak hesaplamışlardır.

4.1.3. Toplam Flavonoid İçeriği

P. aricakensis ekstraktlarının toplam flavonoid içeriği, standart olarak kullanılan kuersetin'in kalibrasyon grafiğinden yararlanarak (Şekil 4.3.) hesaplandı ve Tablo 4.3.'de gösterildi.



Şekil 4.3. Kuersetin çözeltisinin kalibrasyon grafiği

PAY ekstraktının toplam flavonoid içeriğinin 15.64 ± 0.07 mg KE/g ekstrakt değeri ile diğer ekstraktlara göre daha yüksek olduğu gözlemlendi.

Tablo 4.3. Ekstraktların toplam flavonoid içeriği

Örnekler	Toplam flavonoid içeriği, mg KE/g ekstrakt
PAY	15.64±0.07
PAM	0.70±1.43
PAK	3.34±2.63
PAS	1.53±0.12

Bahadori vd (2017), *P. gaubae*, bitkisinin metanolik ekstraktının toplam flavonoid içeriğini 12.42±0.16 mg Rutin (RT)/g ekstrakt olarak belirlemişlerdir.

Bazdar vd (2018), *P. ferulacea* bitkisinin hidroalkolik yaprak ekstraktında 23.97±1.96, hidroalkolik çiçek ekstraktında 34.88±4.12, sulu yaprak ekstraktında 10.5±0.55 ve sulu çiçek ekstraktında ise 16.75±2.91 mg RT/g kuru bitki bulmuşlardır.

Zengin vd (2020), *P. ferulacea* ve *P. peucedanifolia* bitkilerinin metanolik ekstraktlarının toplam flavonoid içeriklerini sırasıyla 13.02±0.11 ve 7.38±0.07 mg RT/g ekstrakt olarak bulmuşlardır.

4.1.4. Fenolik Bileşen İçerikleri

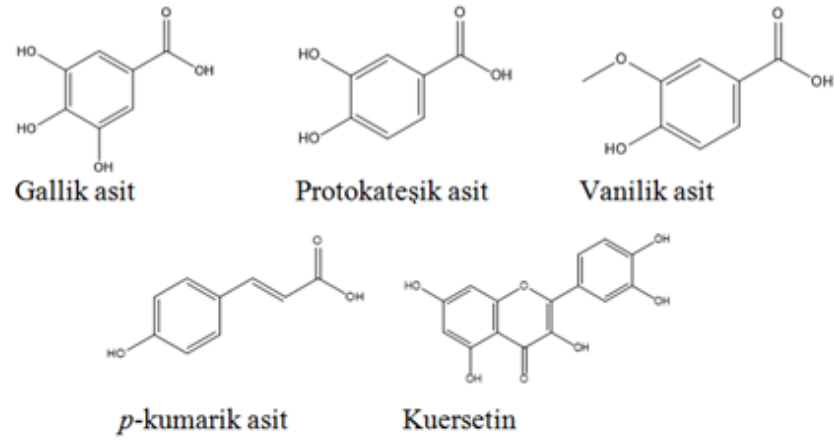
Ekstraktların fenolik bileşenleri LC-MS/MS analizi ile belirlenmiş olup analiz sonuçları Tablo 4.4.'de ve analiz sonucunda bitkide en yüksek miktarda saptanan moleküller de Şekil 4.4.'de gösterilmiştir.

LC-MS/MS analizinde bileşiklerin miktarları, 19 farklı standart bileşiğe göre belirlenmiştir. PAK ekstraktında kuersetin (25.29 ppm) ve vanilik asit (16.39 ppm) en yüksek değerlerde tespit edilmişken PAM ekstraktında gallik asit (10.74 ppm) ile, PAS ekstraktında *p*-kumarik asit (746.66 ppm), PAY ekstraktında ise gallik asit (17.98 ppm) ve protokateşik asit (16.09 ppm) ile tayin edilmiştir. Ekstraktlar arasında en yüksek bileşik miktarına PAS'ın sahip olduğu görülmüştür.

Tablo 4.4. Ekstraktların fenolik bileşenlerinin LC-MS/MS analiz sonuçları

Fenolik Bileşikler	RT, dak	PAK	PAM	PAS	PAY	Öncül iyonlar (m/z) - >Ürün iyonları (m/z)	İyon polaritesi	Kalibrasyon Denklemi	LOD (µg/L)	LOQ (µg/L)	Doğrusallık Aralığı (µg/L)	R ²	Gerikazanım
Gallik asit	4.175	8.41	10.74	6.46	17.98	169.0 -> 125.0	Negatif	y=33.302550*x+31.236161	4.8	15.25	31.25-1000	0.999	0.982
Protokateşuik asit	5.790	B	0.04	0.00	16.09	152.9 -> 108.9	Negatif	y=45.971134*x-16.605070	4.62	14.77	31.25-1000	0.997	0.958
Gentisik asit	10.084	1.54	0.77	0.84	B	153.0 -> 109.0	Negatif	y=8.767660*x+31.286556	9.45	32.5	125-2000	0.996	0.996
Kateşin	6.440	2.17	0.66	0.89	0.29	288.9 -> 245.1	Negatif	y=5,541117* x +38.118578	28.74	69.24	250-8000	0.999	0.962
Vanillik asit	9.722	16.39	4.56	5.32	B	167.0 -> 151.8	Negatif	y=2.267071* x +67.750067	19.28	68.47	250-4000	0.999	0.993
p-kumarik asit	16.809	0.27	0.22	746.66	1.99	163.0 -> 119.0	Negatif	y=156.092517* x -210.319760	2.25	7.8	15.625-1000	0.999	1.009
Kumarin	30.713	3.65	0.68	0.12	14.68	147.1 -> 91.3	Pozitif	y=268.859912* x -3683.878676	15.63	23.04	62.5-2000	0.999	1.016
o-kumarik asit	28.792	1.82	1.88	1.18	0.22	163.0 -> 119.1	Negatif	y=48.551907* x +174.935860	6.06	13.36	62.5-1000	0.998	1.001
Rutin	19.285	1.82	0.15	0.51	B	608.9 -> 299.4	Negatif	y=1.209016* x +37.944421	21.3	62.5	250-8000	0.999	0.994
Resveratrol	32.260	B	B	B	0.19	227.0 -> 142.9	Negatif	y=3.303767* x -3.646396	18.25	38.44	125-2000	0.998	1.017
Naringin	27.180	0.70	2.09	1.55	2.38	580.7 -> 272.8	Pozitif	y=1.253812* x +38.646814	14.68	47.85	62.5-8000	0.998	0.989
Hesperidin	36.732	B	1.12	0.67	1.19	611.0 -> 302.9	Pozitif	y=44.632063* x +2527.789820	10.6	38.3	62.5-2000	0.999	0.995
Neohesperidin	29.685	B	2.82	8.67	B	610.7 -> 302.9	Pozitif	y=3.001342* x +14.970661	27.32	69.5	250-4000	0.998	0.962
t-sinamik asit	35.712	B	2.06	0.65	1.41	147.1 -> 103.1	Negatif	y=3.808449* x +141.013284	60.35	190.1	500-8000	0.997	1.015
Kuersetin	34.710	25.29	5.72	4.27	2.58	300.7 -> 150.9	Negatif	y=51.091256* x +511.7710295	4.54	12.6	15.625-1000	0.999	1.006
Flavon	40.769	B	6.78	B	0.12	223.0 -> 77.2	Pozitif	y=824.050801* x +1669.381039	1.52	6.02	6.25-200	0.999	1.005
Ferulik asit	20.027	B	B	B	0.88	193,1 -> 133,9	Negatif	y=5,887290* x +28,899162	12,45	35,32	62,5-4000	0,997	0,956

B: Belirlenemedi.



Şekil 4.4. LC-MS/MS analizi sonucu *P. aricakensis* bitkisinde ana bileşen olarak bulunan moleküller

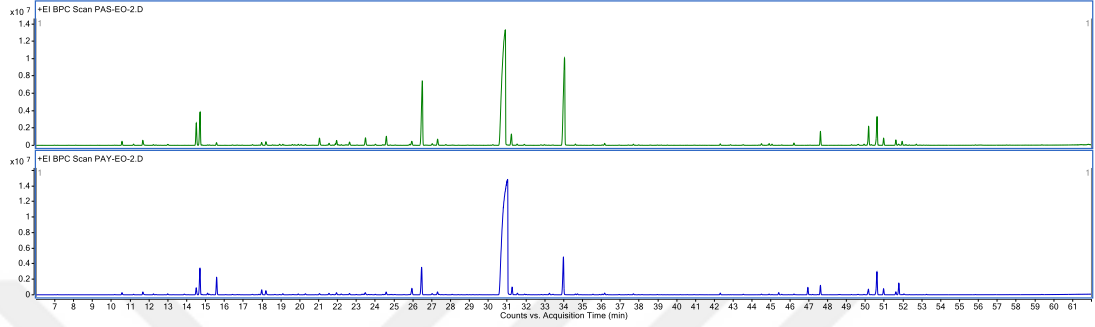
Prangos cinsine ait 16 türün sekonder metabolitleri incelenmiştir. Kumarinlerin ana sekonder metabolitler olduğu görülmüştür. *Prangos* türlerinden, 30 farklı kumarin türevi, 66 farklı doğrusal ve açısız furokumarin, 6 flavonoid, 16 terpenoid, 7 γ -piron, 3 fitosterol izole edilmiş ve toplam 131 uçucu olmayan doğal ürün rapor edilmiştir (Mottaghipisheh vd, 2020).

P. ferulacea'nın kök ekstraktından 8 farklı kumarin (ostol, isoimperatorin, oksipeusedanin, psoralen, oksipeusedanin hidrat, gosferol, oksipeusedanin metnolat ve pranferol) izole edilmiştir (Shokoohinia vd, 2014b).

P. pabularia'dan umbelliferon, 6-hidroksikumarin, ostol ve meranzin molekülleri (Farooq vd, 2014), *P. ferulacea*'dan kuersetin, isorhamnetin, kuersetin-3-O-glukozit ve isorhamnetin-3-O- β -D-glukopiranosid ile kuersitoron (Abbas-Mohammadi vd, 2018; Delnavazi vd, 2017), *P. tschimganica*'nın toprak üstü kısımlarının metanolik ekstraktından, iki yeni monoterpen, tschimganical A ve 1,1,5-trimetil-2-hidroksimetil-(2,5)-sikloheksadien-(4)-on), bilinen iki monoterpen 1,1,5-trimetil-2-formil-4-metoksil-(2,5)-sikloheksadien ve 1,1,5-trimetil-2-formil-6-metoksil-(2,4)-sikloheksadien, 2,3,4-trimetilbenzilalkol-O- β -D-glukopiranosid, 1,1,5-trimetil-2-hidroksimetil-(2,5)-sikloheksadien-(4)-on-O- β -D-glukopiranosid, 1,1,5-trimetil-2-hidroksimetil-5-sikloheksadien-(4)-on-7-O- β -D-glukopiranozid, vervenon-8-O- β -D-glukopiranozid ve vervenon-5-O- β -D-glukopiranozid izole edilmiştir (Shikishima vd, 2001).

4.2. Uçucu Bileşen İçerikleri

P.aricakensis bitkisindeki uçucu bileşenler GC-MS/MS analizi ile tayin edilmiş olup PAYUY ve PASUY'ya ait kromatogramlar Şekil 4.5.'de, analiz sonuçları Tablo 4.5.'de ve analiz sonucunda bitkide en çok miktarda saptanan bileşikler de Şekil 4.6.'da gösterilmiştir.



Şekil 4.5. GC-MS/MS analizi sonucunda PAYUY ve PASUY'ya ait kromatogramlar

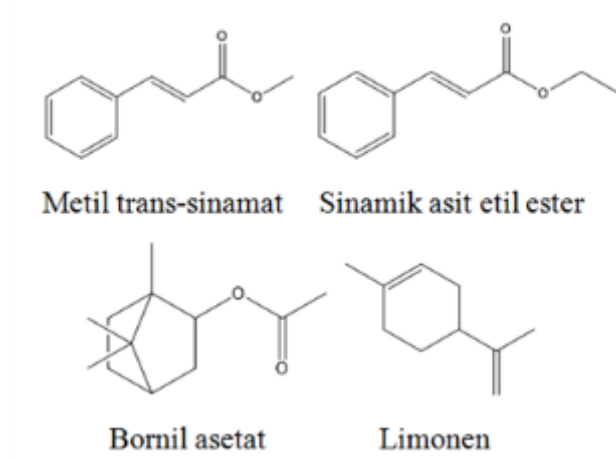
PASUY için tespit edilen 58 bileşen (% 0.02-44.36) ve PAYUY için 15 bileşen (%0.43-76.06) görülmektedir. İki uçucu yağ kompozisyonunda da ortak olarak 14 bileşen (β -simen, limonen, *cis*-ocimen, linalool, *cis*-karveol, karvon, peril aldehyt, bornil asetat, peril alkol, metil *cis*-sinamat, metil *trans*-sinamat, metil 4-(prop-1-en-2-yl)siklohex-1-enkarboksilat, sinamik asit etil ester, neofitadien) saptandı. Bu bileşenlerden ortak ve ana bileşen olarak sırasıyla % 44.36 ve % 76.06 ile saptanan metil *trans*-sinamat olurken diğer bileşenler arasında PASUY için sinamik asit etil ester (% 11.82), bornil asetat (% 11.39) ve limonen (% 5.26) dikkat çekerken PAYUY için ise limonen (% 4.67), bornil asetat (% 4.57) ve sinamik asit etil ester (% 3.74) öne çıkmıştır.

Tablo 4.5. PAS ve PAY uçucu bileşenlerinin GC-MS/MS analiz sonuçları

No	Uçucu moleküller, %	RT, dak.	PAS	PAY
1	α -pinen	10.567	0.30	—
2	Kampen	11.183	0.15	—
3	Benzaldehit	11.673	0.56	—
4	Sabinen	12.238	0.05	—
5	β -pinen	12.373	0.03	—
6	2-amilfuran	13.000	0.11	—
7	Oktanal	13.514	0.02	—
8	β -simen	14.509	1.50	0.51
9	Limonen	14.709	5.26	4.67
10	Ökalyptol	14.810	0.11	—
11	<i>cis</i> -osimen	15.582	0.31	2.11
12	<i>trans</i> -2-oktenal	16.025	0.02	—
13	Asetofenon	16.427	0.04	—
14	1-oktanol	16.636	0.03	—
15	<i>cis</i> -linalool oksit	16.700	0.06	—
16	α -pinen oksit	16.942	0.04	—
17	<i>p</i> -simenen	17.494	0.10	—
18	Linalool	17.977	0.53	0.96
19	6-metil-3,5-heptadien-2-on	18.203	0.29	—
20	<i>p</i> -2,8-mentadien-1-ol	18.932	0.33	—
21	α -kampolenal	19.604	0.29	—
22	<i>cis</i> -karveol	19.736	0.22	—
23	Limonen oksit	19.917	0.11	—
24	Miroksit	20.068	0.26	—
25	<i>trans</i> -verbenol	20.302	0.10	—
26	1,4-dimetil-4-asetilsikloheksan	21.045	0.55	—
27	<i>Endo</i> -borneol	21.555	0.47	—
28	Karan, 4,5-epoksi-, <i>trans</i>	21.954	0.63	—
29	<i>p</i> -simen-8-ol	22.047	0.16	—
30	Isokarveol	22.203	0.11	—
31	<i>cis</i> -dihidrokarvon	22.459	0.22	—

No	Uçucu moleküller, %	RT, dak.	PAS	PAY
32	<i>trans</i> -isopiperitenol	22.637	0.34	—
33	Verbenon	23.035	0.10	—
34	<i>cis</i> -karveol	23.484	1.24	0.49
35	Karveol-isomer	24.015	0.32	—
36	Kuminaldehit	24.412	0.13	—
37	Karvon	24.591	1.25	0.43
38	Peril aldehit	25.943	1.22	2.04
39	Bornil asetat	26.499	11.39	4.57
40	<i>p</i> -simen-7-ol	26.669	0.09	—
41	Peril alkol	27.028	0.57	0.45
42	Metil <i>cis</i> -sinamat	27.312	0.72	0.45
43	2,4-dekadienal	27.752	0.06	—
44	Limonen glikol	28.907	0.10	—
45	Metil <i>trans</i> -sinamat	30.897	44.36	76.06
46	Metil4-(prop-1-en-2-yl)siklohex-1-enkarboksilat	31.226	2.45	1.58
47	Metil öjenol	31.529	0.25	—
48	Myrtanyl asetat	31.910	0.24	—
49	Peril asetat	32.787	0.18	—
50	Sinamik asit, etil ester	34.044	11.82	3.74
51	α -kurkumin	34.624	0.20	—
52	β -bisabolen	35.556	0.15	—
53	<i>trans</i> -nerolidol	37.425	0.07	—
54	Karyofilen oksit	37.700	0.11	—
55	Isoamil sinamat	42.844	0.06	—
56	Neofitadien	45.410	—	0.59
57	Hekzahidrofarneasil aseton	45.571	0.09	—
58	B	50.164	—	1.28
59	<i>trans</i> -geranilgeraniol	50.180	3.39	—
60	B	50.626	3.31	—
Toplam tanımlanan (%)			97.15	99.93

B: Belirlenemedi.



Şekil 4.6. GC-MS/MS analizi sonucu PAS ve PAY’da bulunan ana bileşenler

Bazdar vd (2018) yaptıkları çalışmada *P. ferulacea* bitkisinin yaprak ve çiçeklerinin uçucu yağlarını Clevenger tipi cihaz ile elde edip GC-MS analizleri sonucunda yaprak yağında ana bileşen olarak α -pinen (% 36.82) ve kampen (% 15.83), çiçek yağında ise α -pinen (% 20.91) ve bornil asetat (% 13.80) elde etmişlerdir. Ayrıca çiçek kısmından elde edilen uçucu yağların yaprak kısmına göre daha verimli olduğunu bulmuşlardır.

Özek vd (2018) çalışmalarında Türkiye’nin dört farklı lokasyonundan toplanan endemik *P. heyniae* bitkisinin uçucu yağlarını Clevenger tipi cihazla hidrodistilasyona tabi tutmuş ve GC-MS ile GC-FID analizleri yapmışlardır. Analiz sonuçlarında seskiterpenler, germakren D (% 10,3-12,1), β -bisabolen (% 14,4), kessan (% 26.9), germakren B (% 8.2), elemol (% 3.4-46.9), β -bisabolenal (% 1.4-70.7), β -bisabolenol (% 8.4) ve ödesman tipi seskiterpen (%16.1) elde etmişlerdir.

Rahman vd (2020), *P. Platychlaena Boiss* uçucu yağlarının sylvestrene, α -pinen oksit, (Z)-Epoksi-osimen, borneol, epi Longipinanol, Germakren D-4-ol, epi- α -kadinol, 3-tujanol asetat ve akorenol bileşiklerini farklı miktarlarda içerdiğini göstermiştir.

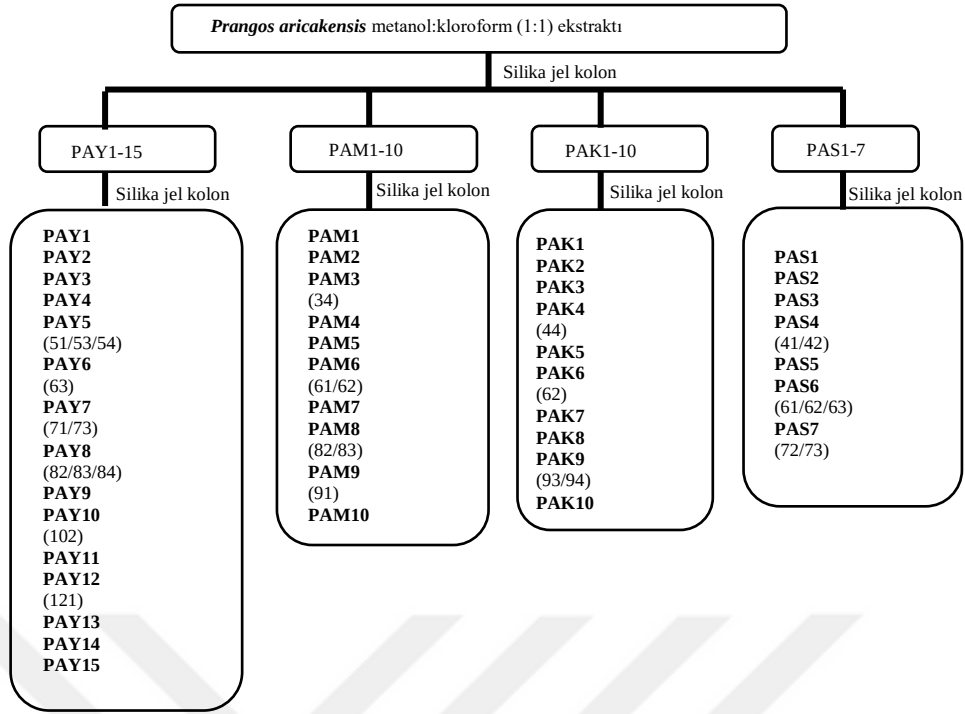
Karahisar vd (2022) yaptıkları çalışmada, endemik *P. heyniae* H. Duman ve M. F. Watson’ın toprak üstü kısımlarında uçucu yağ olarak elemol (% 36.2), β -bisabolenal (% 14.1) ve germakren D (% 12.7) bulurken, çiçek yağının ana bileşikleri olarak β -bisabolenal (% 21.6), germakren D (% 15.6) ve germakren B (% 12.4), kök yağında ise α -pinen (% 44.8), limonen (% 15.3), β -pinen (% 12.5) ve δ -3-karen (% 10.2) bulmuşlardır.

Kiliç ve Özdemir (2017) çalışmalarında, *P. pabularia* Lindl. ve *P. peucedanifolia* Fenzl.'in uçucu yağlarının sırasıyla % 91,3'ünü ve % 89,5'ini temsil eden otuz dört ve otuz yedi bileşen tespit etmişlerdir. *P. pabularia*'nın ana bileşenleri α -pinen (% 32.4), δ -3-karen (% 12.4), germakren D (% 8.1), limonen (% 6.4) ve bisiklogermakren (% 6.2); *P. peucedanifolia*'nın ana bileşenleri ise α -pinen (% 38.1), bisiklogermakren (% 11.3) ve δ -3-karen (% 9.2) olarak bulmuşlardır.

Bu tez çalışmasında da yeni bir tür olan *P. aricakensis*'in yaprak ve sap kısımlarının uçucu yağlarından GC-MS/MS analizi sonucu saptanan maddelerin literatürle uyumlu olduğu görülmektedir.

4.3. Fraksiyon ve Alt Fraksiyonların Eldesi

Yapılan kolon kromatografisi işlemleri sonucunda PAY ekstraktından 15, PAM ve PAK'dan 10'ar ve PAS'dan da 7 farklı fraksiyon toplanmış olup bunlar içerisinden seçilenlerden de alt fraksiyonlar elde edilmiştir (Şekil 4.7.). PAY5 fraksiyonundan PAY51 (10 mg), PAY53 (10 mg) ve PAY54 (10 mg) alt fraksiyonları elde edilirken; PAY6 fraksiyonundan PAY63 (7.5 mg), PAY7 fraksiyonundan PAY71 (5 mg) ve PAY73 (3 mg), PAY8 fraksiyonundan PAY82 (10 mg), PAY83 (5 mg) ve PAY84 (10 mg), PAY10 fraksiyonundan PAY102 (5 mg), PAY12 fraksiyonundan PAY121 (5 mg) elde edildi. Ayrıca PAM3 fraksiyonundan PAM34 (10 mg), PAM6 fraksiyonundan PAM61 (5 mg) ve PAM62 (10 mg), PAM8 fraksiyonundan PAM82 (10 mg) ve PAM83 (2.5 mg), PAM9 fraksiyonundan PAM91 (10 mg), PAK4 fraksiyonundan PAK44 (3 mg), PAK6 fraksiyonundan PAK62 (10 mg), PAK9 fraksiyonundan PAK93 (10 mg) ve PAK94 (10 mg), PAS4 fraksiyonundan PAS41 (5 mg) ve PAS42 (10 mg), PAS6 fraksiyonundan PAS61 (10 mg), PAS62(10 mg) ve PAS63 (10 mg) ve PAS7 fraksiyonundan PAS72 (10 mg) ile PAS73 (10 mg) elde edilmiştir.



Şekil 4.7. *P. aricakensis* bitkisinin fraksiyon şeması

Bu tez çalışmasında yapılan *in vitro* deneyler biyoaktivite yönlendirmeli olarak gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda *P. aricakensis* bitkisinin yaprak, meyve, kök ve sap kısımlarından elde edilen ham ekstraktlar ayrı ayrı olacak şekilde kolon kromatografisi ile fraksiyonlara ayrılmış ve benzer fraksiyonlar İTK sonuçlarına göre birleştirilmiştir. Bu aşamada elde edilen fraksiyonlara uygulanan biyoaktivite test sonuçlarına göre daha aktif olan fraksiyonlar tekrar kolona verilmiş ve alt fraksiyonlar elde edilmiştir. Tam ayırım görülemeyen polar fraksiyonlar ise preparatif HPLC cihazı yardımıyla ayrılmıştır.

Yapılan saflaştırma işlemleri sonucunda yaprak ekstraktından elde edilen PAY84 fraksiyonunda *trans*-sinamik asit, PAY121’de rutin belirlenirken, kök ekstraktından elde edilen PAK1’de oksipeusedanin, PAK2’de ostol, PAK9’da sükroz ve sap ekstraktı PAS4 fraksiyonunda daukosterol molekülü belirlenmiştir.

4.4. İzolatların Karakterizasyonu

Kromatografik yöntemler sonucunda elde edilen fraksiyonlar içerisinde 3’ü kök, 2’si yaprak ve 1’i sap kısımlarından olmak üzere 6 farklı saf maddeye ulaşılmış ve bu maddelerin yapıları 1D (^1H ve ^{13}C) ve 2D (COSY, HMBC, HSQC) NMR ile aydınlatılmış ve molekül kütleleri de MS analizleri ile belirlenmiştir. Tek kristal oluşturan ostol molekülü için ayrıca FT-IR ve X-ışını kristalografisi uygulanmıştır.

4.4.1. *trans*-sinamik asit

Sinamik asitler, tarçın asitleri olarak da bilinirler. Serbest radikalleri yok etme, antioksidan aktivite, ultraviyole radyasyondan koruma, antiviral ve antibakteriyel etkiler dahil olmak üzere çok çeşitli biyolojik aktiviteler sergiler. Sinamik asit ve türevleri, biyoaktif bitki besin bileşenleridir. Tahıllar, baklagiller, yağlı tohumlar, meyveler ve sebzelerde yaygın olarak bulunurlar. En yaygın hidroksisinamik asitler kumarik, kafeik, ferulik ve sinapik asitleri içerir. *In vivo* olarak yararlı bir sağlık etkisine sahip olabilecek *in vitro* antioksidan aktivite sergilerler (Kroon ve Williamson, 1999).

trans-sinamik asit (3-fenilprop-2-enoik asit), lignin ve flavonoidler gibi çeşitli fenilpropanoidlerin öncüsü olarak kabul edilen ve bitkilerde doğal olarak bulunan başlıca fenolik bileşiktir (Li vd, 2017). Sıtmanın tedavisinde, antibakteriyel, anti-kanser, kozmetik ve farmasötik alanlarında kullanım dahil olmak üzere geniş biyolojik aktivitelere sahiptir (Bang vd, 2018). Ayrıca Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından 'Genel Olarak Güvenli Olarak Kabul Edilen' bileşik olarak kabul edilmiş ve gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Shi vd, 2017). *trans*-sinamik asit ayrıca kozmetik, antinematod ajanları, termoplastikler ve farmasötiklerde yaygın olarak kullanılan stiren, *p*-hidroksisinamik asitler, sinamaldehit ve kafeik asit gibi çeşitli yüksek değerli bileşiklere dönüştürülebilir (Vargas-Tah ve Gosset, 2015). Dolayısıyla bu maddeye artan taleple birlikte, üretimi için uygun maliyetli ve ekonomik bir yaklaşım geliştirmek gereklidir (Bang vd, 2018).

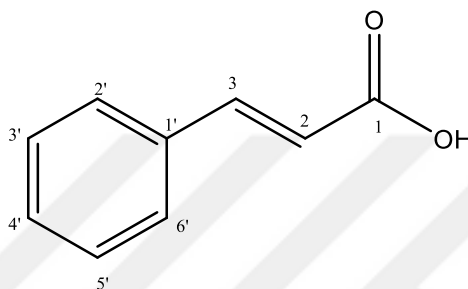
trans-sinamik asit *P. aricakensis* yaprak ekstraktının 8. fraksiyonunun 4. alt fraksiyonundan saflaştırılmış ve numaralandırılmış olup açık yapısı Şekil 4.8.'de görülmektedir. Gerçekleştirilen ^1H ve ^{13}C NMR analizi sonucunda moleküle ait veriler ve bu verilerin literatür verisi ile karşılaştırılması Tablo 4.6.'da verilerek molekülün 1D ve 2D spektrumları (Şekil 4.9. ile 4.13. arasında) gösterilmiştir.

trans-sinamik asit ^1H NMR spektrumu incelendiğinde aromatik bölgede sinyallerin olduğu görülmektedir. 6.5 ve 7.6 ppm'deki sinyaller incelendiğinde bir AB sisteminin varlığı dikkat çekmektedir, bu sistemin etkileşim sabiti bir trans çift bağın yapıda varlığını göstermiştir. ^1H NMR spektrumundaki sinyaller bir aromatik halkanın varlığına işaret etmektedir. ^{13}C NMR spektrumunda 169 ppm'de bir karbonil sinyali, olefinik ve aromatik karbonlar belirlenmiştir. COSY spektrumundan olefinik yapıdaki protonların komşu etkileşimleri doğrulanmış, aromatik halka protonlarının da komşu gruplar oldukları tespit edilmiştir. ^1H ve ^{13}C

spektrumlarından aromatik halkada simetri olduğu gözlenmiştir. HSQC etkileşimleri ile aromatik ve olefinik protonların bağlı oldukları karbon atomları belirlenmiş ve bu grupların etkileşimleri HMBC spektrumundan takip edilerek yapının *trans*-sinamik asit olduğu tespit edilmiştir.

trans-sinamik asit molekülünün MS spektrumundan elde edilen molekül ağırlığı 147.9 g/mol olarak belirlenmiş (Şekil 4.14.) ve literatürdeki bilgilerle doğrulanmıştır (Ayaz vd, 2005; Lee vd, 2015; Lee vd, 2010; Mighri vd, 2019).

Literatürde daha önce bir *Prangos* türünde *trans*-sinamik asit belirlenmemiştir.

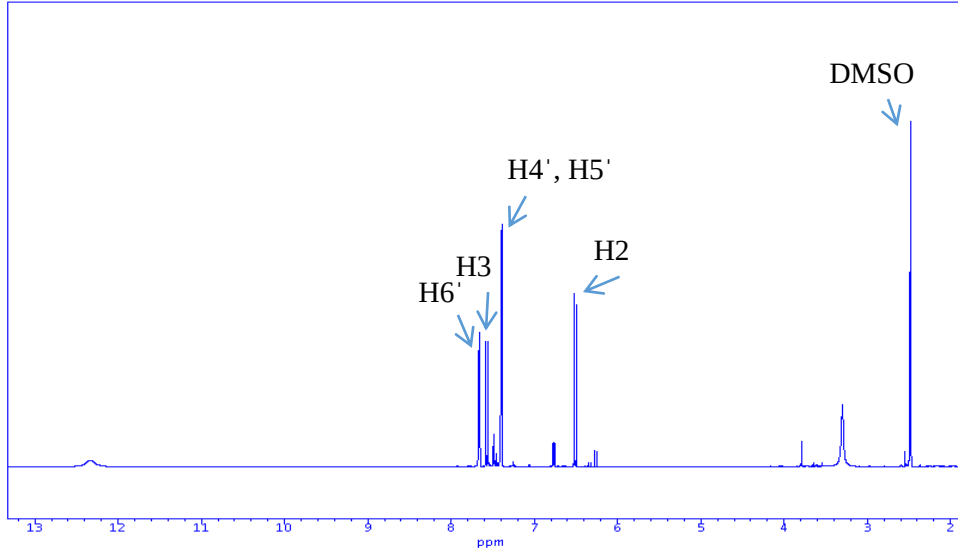


Şekil 4.8. *trans*-sinamik asit molekülünün açık yapısı

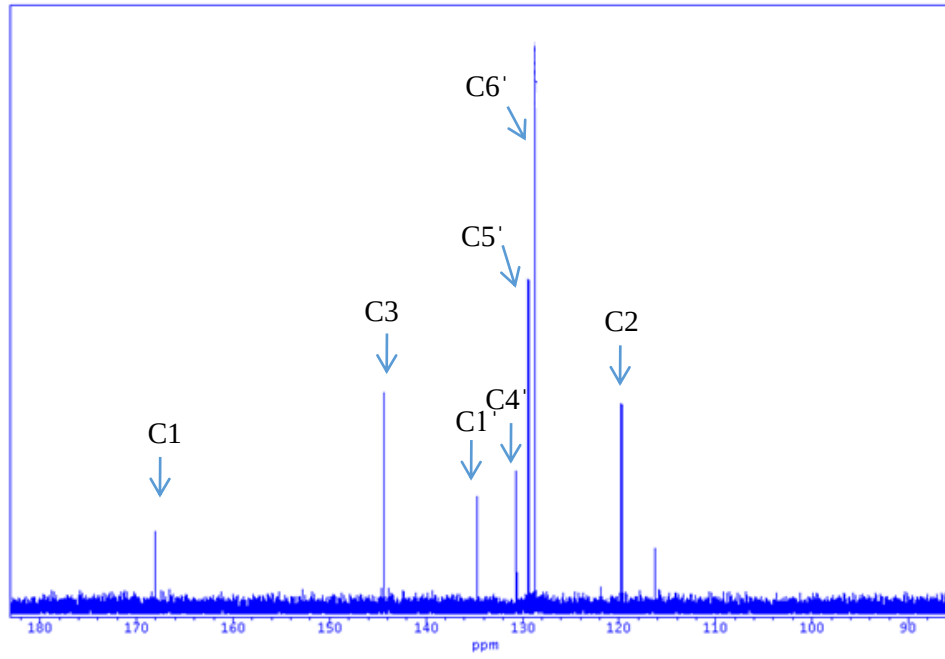
Tablo 4.6. *trans*-sinamik asit molekülünün ^1H ve ^{13}C NMR verileri

No	^1H NMR, DMSO d_6 600 MHz	^{13}C NMR, DMSO d_6 150 MHz	^1H NMR, CDCl_3 500 MHz (Januar vd, 2015)	^{13}C NMR, CDCl_3 125 MHz (Januar vd, 2015)
1	-	168.00	-	171.7
2	6.48 (d, 16.2 Hz)	116.17	6.4 (d)	117.2
3	7.74 (d, 16.2 Hz)	144.34	7.8 (d)	146.9
1'	-	134.68	-	134.0
2'/6'	7.60 (m, 6.6 Hz)	128.63	7.6 (m)	128.3
3'/5'	7.40 (d)	129.33	7.4 (t)	128.9
4'	7.40 (d)	130.64	7.4 (t)	130.7

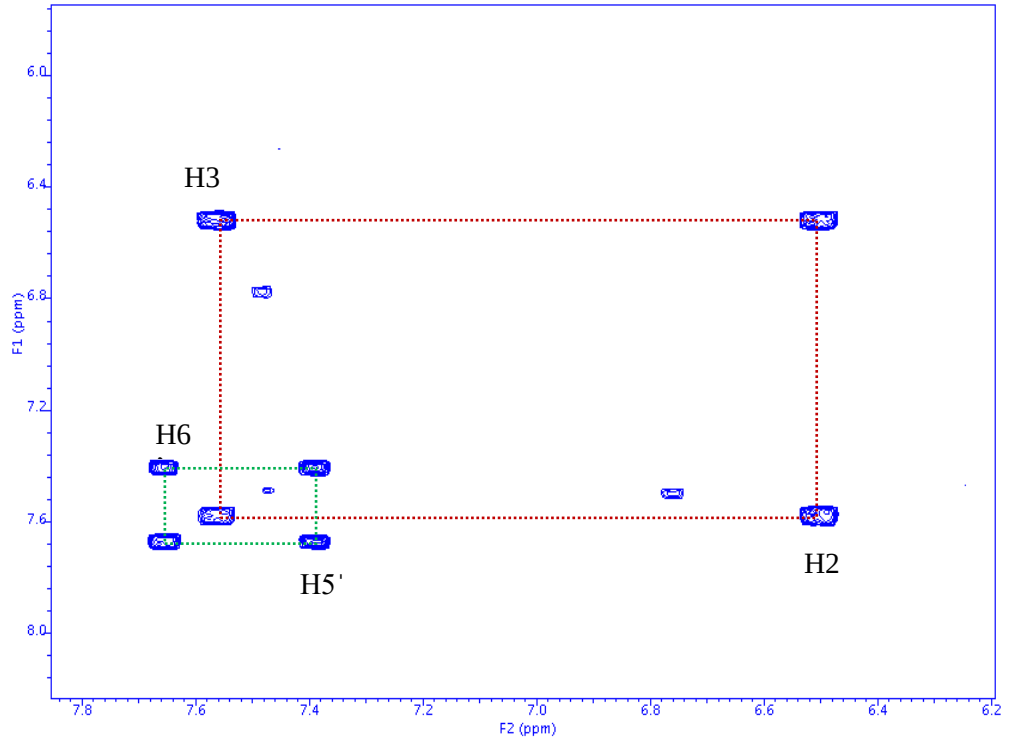
d: dublet, t: triplet, m: multiplet



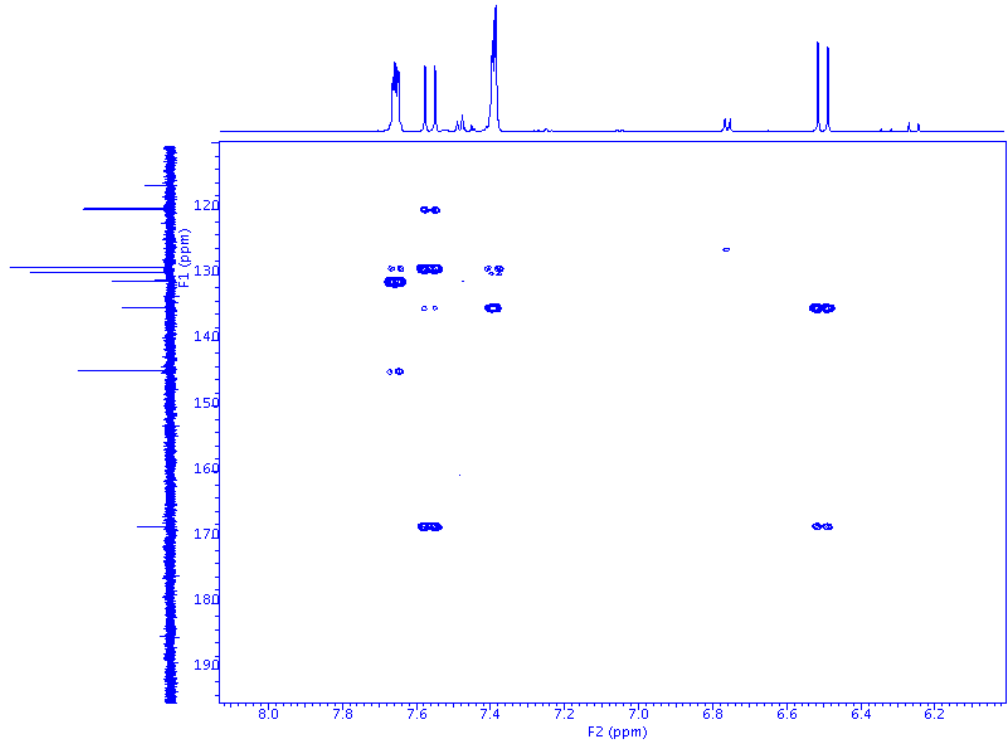
Şekil 4.9. *trans*-sinamik asit molekülünün ^1H NMR spektrumu



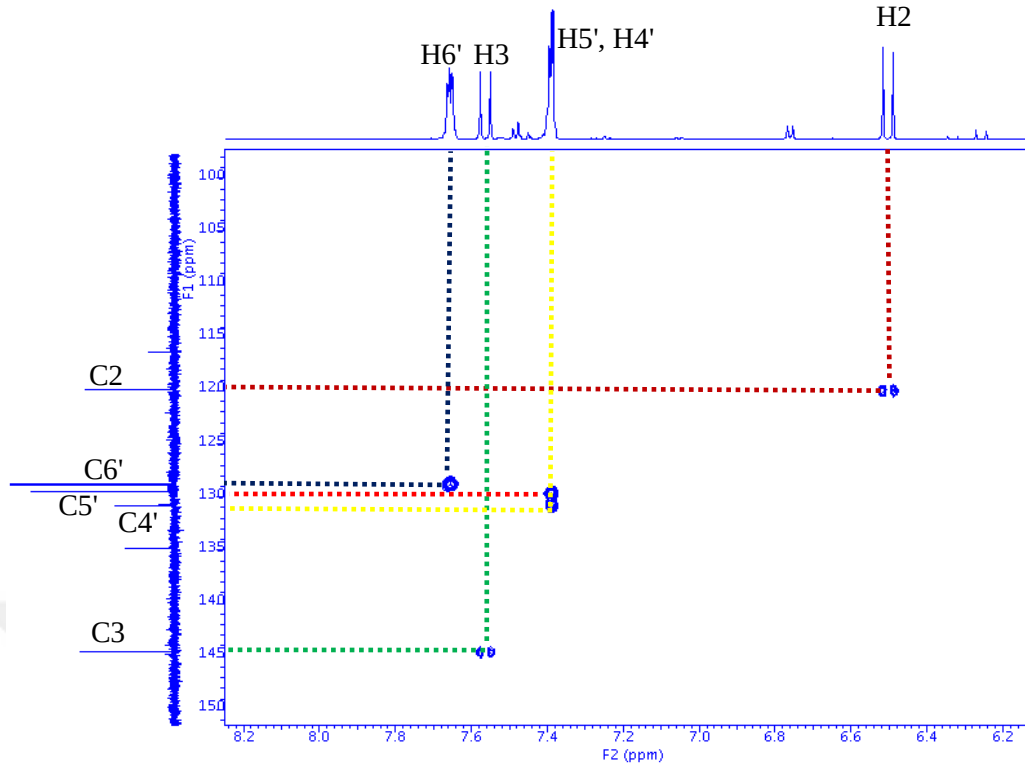
Şekil 4.10. *trans*-sinamik asit molekülünün ^{13}C NMR spektrumu



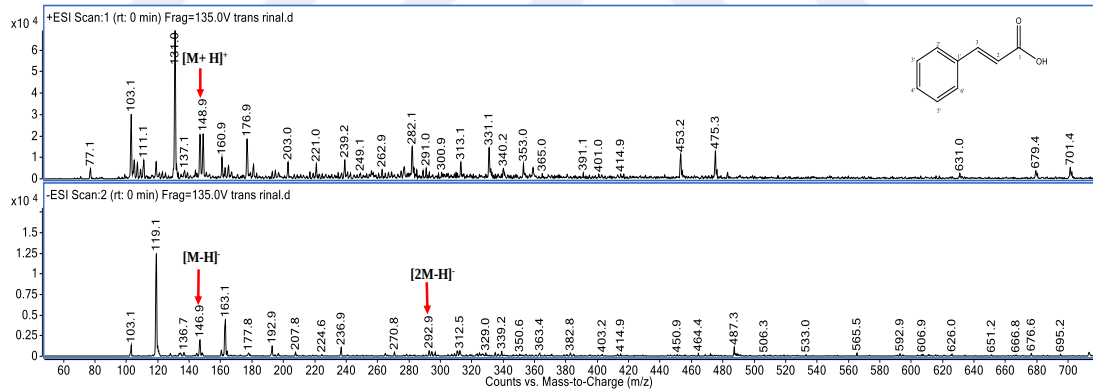
Şekil 4.11. *trans*-sinamik asit molekülünün COSY spektrumu



Şekil 4.12. *trans*-sinamik asit molekülünün HMBC spektrumu



Şekil 4.13. *trans*-sinamik asit molekülünün HSQC spektrumu



Şekil 4.14. *trans*-sinamik asit molekülünün MS spektrumu

4.4.2. Rutin

Rutin (rutosid, kuersetin-3-O-rutinosid) bir polifenolik flavanoid olarak sınıflandırılır. Birçok bitkide ve bitki kökenli gıda ürünlerinde bulunur. Rutin, pratik olarak suda çözünmeyen ve alkolde az çözünen, kokusuz sarı kristal bir toz olarak görünür (Koval'skii vd, 2014). Canlı organizmalar rutini sentezleyemezler. Bu nedenle organizmaya sadece bitkisel ürünlerle alınabilir. Rutin ve aglikonları çeşitli meyvelerde, sebzelerde, çay yapraklarında, kahve tanelerinde görülmektedir. Rutin, bağırsaklarda nispeten zayıf bir şekilde emilir. Bağırsak mikroflorası rutini aglikonuna, kuersetine ve daha sonra ince bağırsak duvarı tarafından emilen şeker

kalıntısına hidrolize eder (Scholz, 2007).

Rutin, serbest radikalleri ve metal iyonlarını bağlama kabiliyeti nedeniyle çok iyi bir antioksidan olarak kabul edilir (Mamani-Matsuda vd, 2006). Rutin ayrıca, enflamatuvar sitokin transkripsiyon faktörlerinin indüklenmesini önleyen serbest radikallerin bağlanması nedeniyle bir anti-enflamatuvar ajan olarak da kullanılabilir (Inal vd, 2002). Rutin molekülü araşidonik asidin, hücre zarı fosfolipidlerinden dönüşümünü katalize eden fosfolipaz'ı inhibe eder. Araşidonik asit, tromboksan ve inflamasyon mediatörleri (prostaglandinler, lökotrienler) gibi maddelerin üretilmesi için temel substrattır (Kim vd, 1998). Ayrıca yapılan *in vitro* çalışmalar, rutin bazofillerden ve yağ hücrelerinden histamin salınımını önleyebildiğini ve antialerji etki gösterdiğini göstermiştir (Joskova vd, 2011).

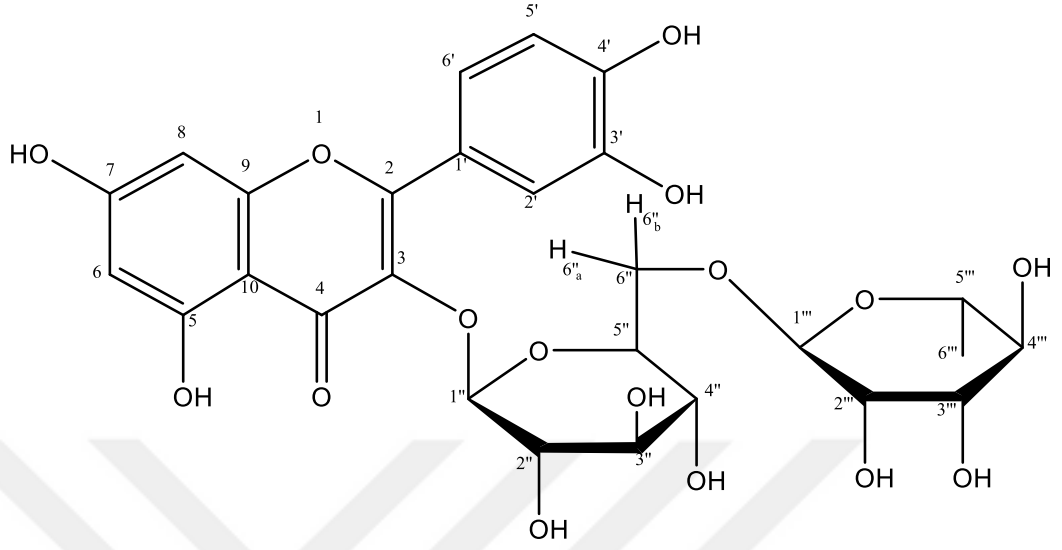
Rutin molekülü *P. aricakensis* yaprak ekstraktının 12. fraksiyonunun 1. alt fraksiyonundan saflaştırılmış ve numaralandırılmış olup açık yapısı Şekil 4.15.'de görülmektedir. Gerçekleştirilen ^1H ve ^{13}C NMR analizi sonucunda moleküle ait veriler ve bu verilerin literatür verisi ile karşılaştırılması Tablo 4.7.'de verilerek molekülün 1D ve 2D spektrumları (Şekil 4.16. ile 4.20. arasında) gösterilmiştir.

^1H NMR spektrumu incelendiğinde yapının aromatik ve şeker grubu protonları ile üç metil grubu içerdiği görülmektedir. ^{13}C NMR spektrumundan aromatik ve şeker grubu karbonları ile metil grubunun varlığı doğrulanmıştır. Böylelikle bu yapının bir flavonoid olduğu ve şeker grubu içerdiği görülmüştür. COSY spektrumundan yapıda aromatik bölgede sadece H5' ve H6' protonlarının komşu gruplar olduğu belirlenmiştir. Ayrıca şeker grubu protonlarının etkileşimleri tespit edilmiştir. Şeker grubunda metil yapısının olması yapının birbirine bağlı iki şeker monomeri içerdiğini göstermiş, bu veri ^{13}C sinyallerinin sayısı ile doğrulanmıştır. HSQC spektrumundan protonların bağlı olduğu karbonlar belirlenmiş, COSY etkileşimi olan protonların B halkasında, meta etkileşmesi veren protonların A halkasında olduğu ortaya çıkarılmıştır. Anomerik şeker grubu protonunun flavanoid ana iskeletinde C3 karbonuna bağlı olduğu HMBC spektrumundan belirlenmiş ve diğer ^1H - ^{13}C etkileşimleri de belirlenerek yapının rutin molekülü olduğu tespit edilmiş ve literatürdeki verilerle karşılaştırılarak molekül yapısı doğrulanmıştır.

Rutin molekülünün MS spektrumundan elde edilen molekül ağırlığı 610.1 g/mol olarak belirlenmiş (Şekil 4.21.) ve literatürdeki bilgilerle doğrulanmıştır (Wang vd, 2003).

Oke-Altuntas vd (2015), *P. denticula* yaprak kısmının sulu etanolik

ekstraktında, *P. heyniae* yaprak ve meyve ekstraktlarında rutin molekülünü belirlemişlerdir.

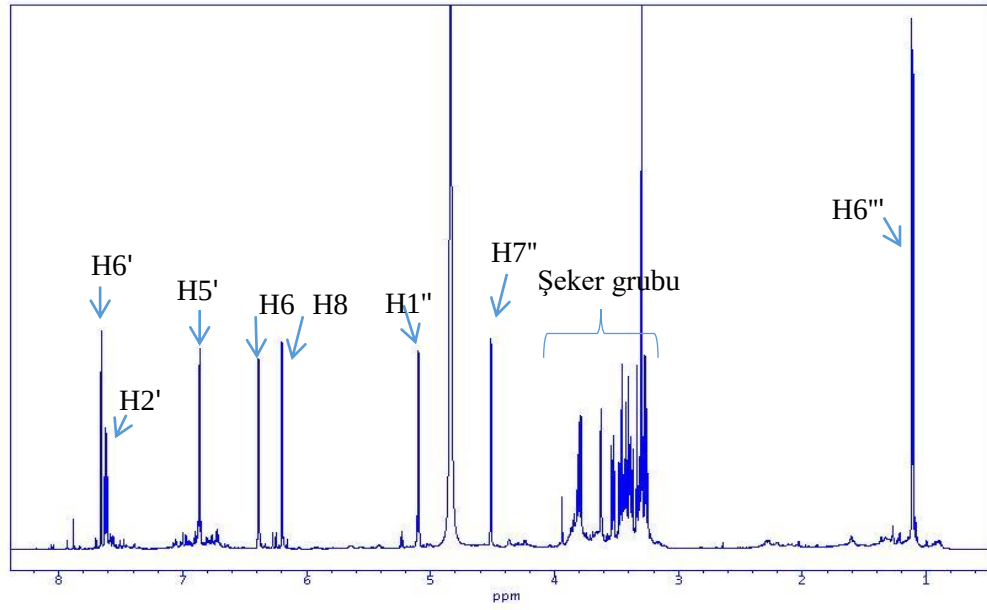


Şekil 4.15. Rutin molekülünün açık yapısı

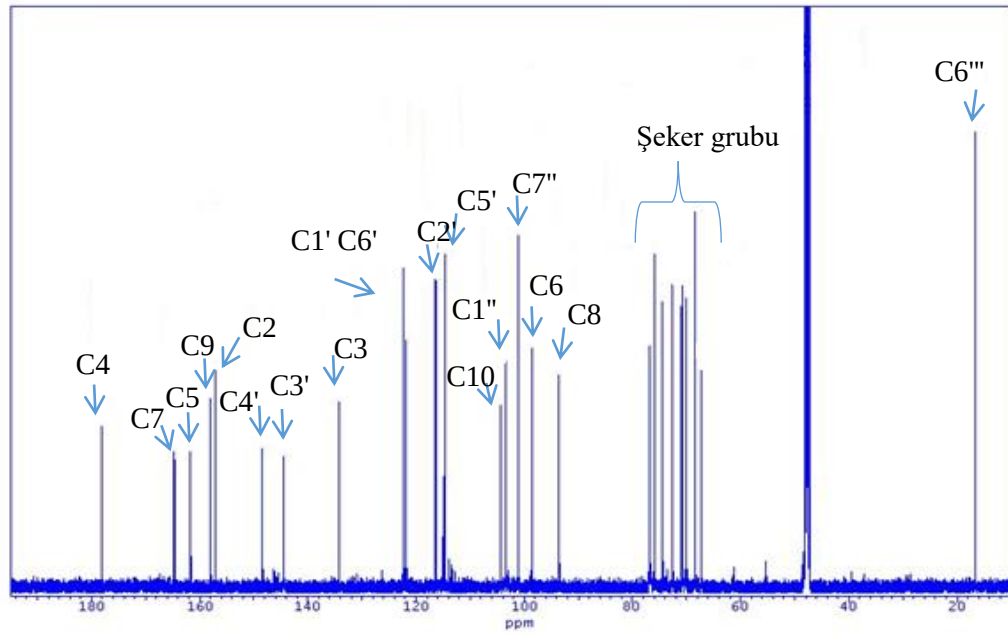
Tablo 4.7. Rutin molekülünün ^1H ve ^{13}C NMR verileri

No	^1H NMR, DMSO <i>d</i> 6 600MHz	^{13}C NMR, DMSO <i>d</i> 6 150MHz	^1H NMR, metanol <i>d</i> 4 600 MHz (Ganbaatar vd, 2015)	^{13}C NMR, metanol <i>d</i> 4 150MHz (Ganbaatar vd, 2015)
2	-	157.90	-	159.00
3	-	134.21	-	135.62
4	-	177.99	-	179.43
5	-	161.54	-	163.50
6	6.30 (d, 2.28 Hz)	98.51	6.26 (d)	99.98
7	-	164.58	-	167.00
8	6.42 (d, 2.28 Hz)	93.44	6.45 (d)	94.80
9	-	157.10	-	158.50
10	-	104.21	-	106.00
1'	-	121.69	-	123.20
2'	7.68 (d, 2.16 Hz)	116.27	7.71 (d)	117.67
3'	-	144.41	-	146.00
4'	-	148.37	-	150.00
5'	6.95 (d, 7.8 Hz)	114.63	6.92 (d)	116.05
6'	7.65 (m, 7.8-2.1 Hz)	122.13	7.68 (dd)	123.54
1''	5.15 (d, 6.6 Hz)	103.30	5.15 (d)	104.71
2''	3.40 (m)	74.30	3.38 (m)	75.72
3''	3.40 (m)	76.75	3.38 (m)	78.20
4''	3.35 (m)	70.67	3.29 (m)	71.40
5''	3.40 (m)	75.78	3.38 (m)	77.24
6''	3.85 (m)-3.40 (m)	67.13	3.84 (dd)-3.38 (m)	68.50
1'''	4.56 (d)	100.99	4.56 (d)	102.43
2'''	3.65 (dd)	69.96	3.67 (dd)	71.40
3'''	3.50 (dd)	70.81	3.58 (dd)	72.11
4'''	3.35 (m)	72.51	3.29 (m)	73.93
5'''	3.40 (m)	68.28	3.38 (m)	69.71
6'''	1.15 (d, 5.98 Hz)	16.46	1.16 (d)	17.88

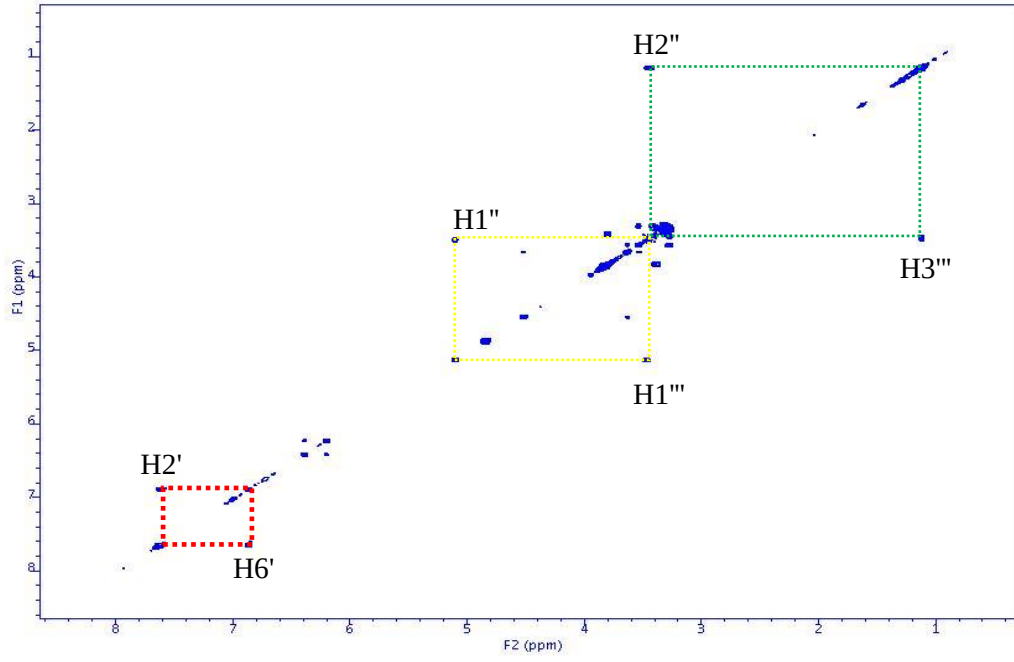
d: dublet, dd: dubletin dubleti, m: multiplet



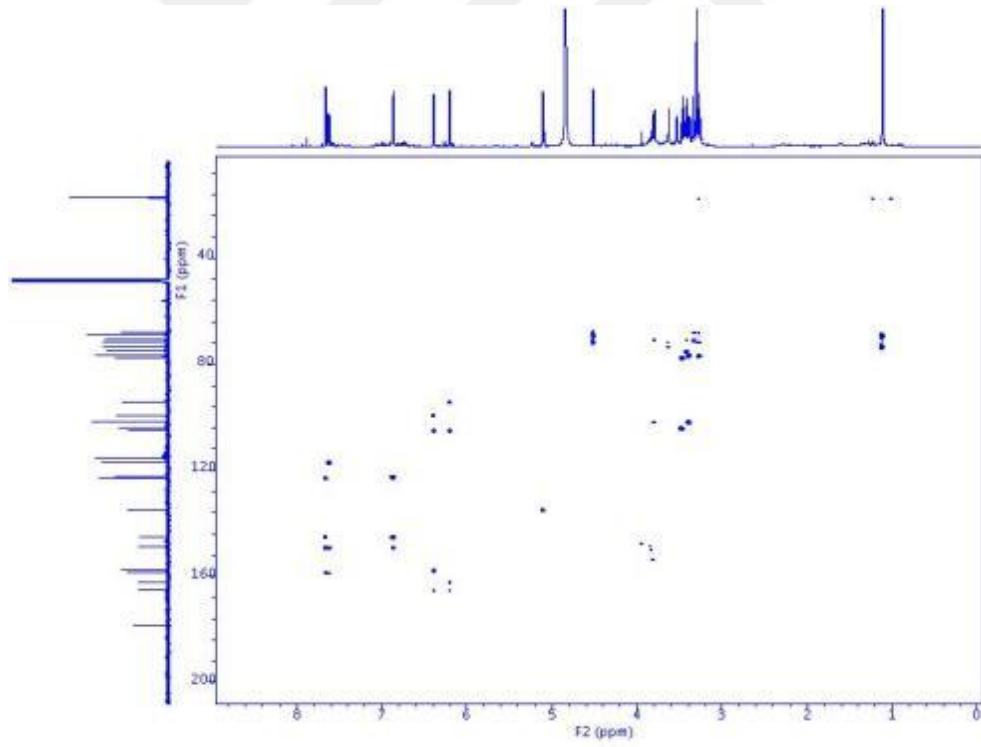
Şekil 4.16. Rutin molekülünün ^1H NMR spektrumu



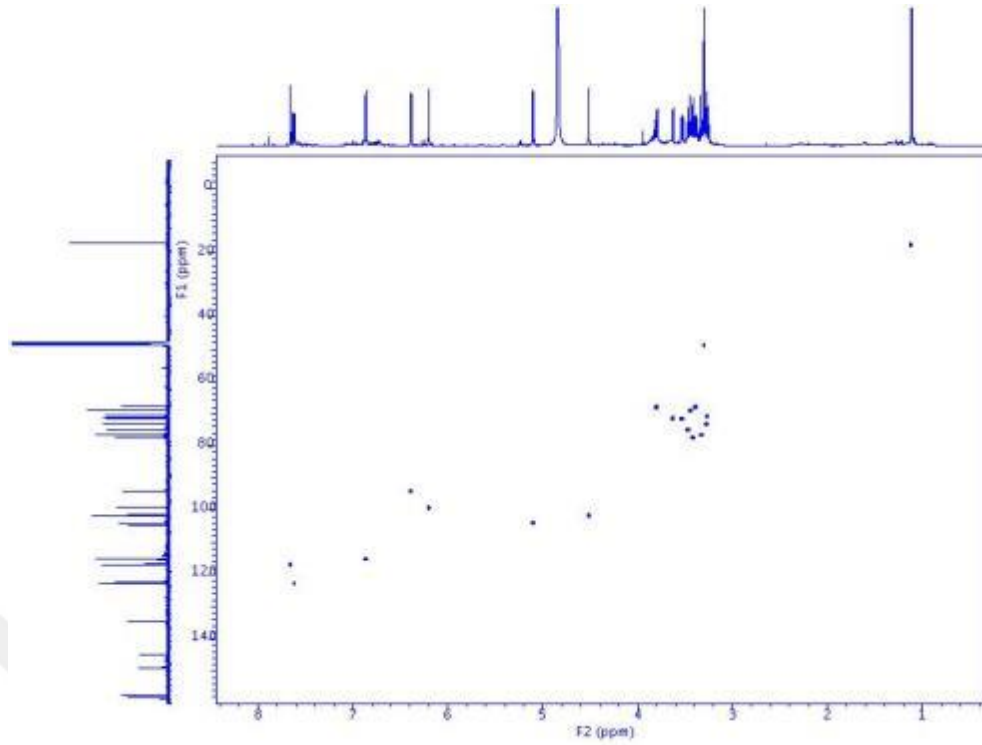
Şekil 4.17. Rutin molekülünün ^{13}C NMR spektrumu



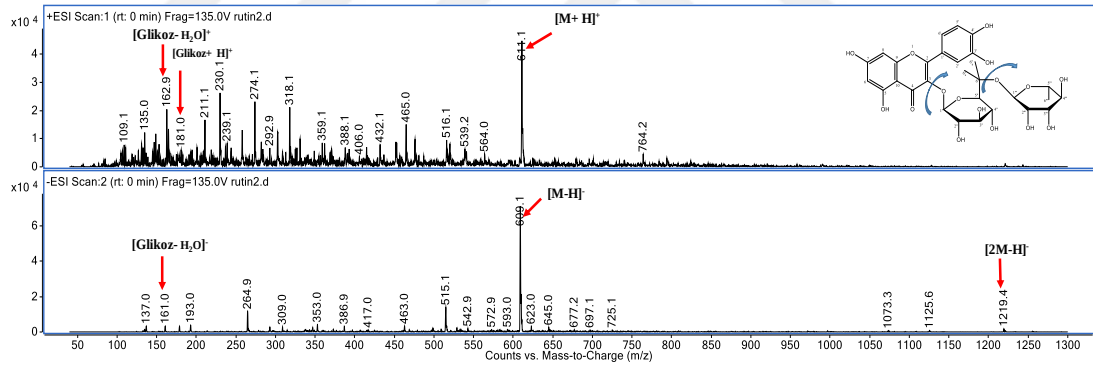
Şekil 4.18. Rutin molekülünün COSY spektrumu



Şekil 4.19. Rutin molekülünün HMBC spektrumu



Şekil 4.20. Rutin molekülünün HSQC spektrumu



Şekil 4.21. Rutin molekülünün MS spektrumu

4.4.3. Oksipeusedanin

Lineer bir furanokumarin olan oksipeusedanin (5-epoksi-isopenteniloksipsoralen, $C_{16}H_{14}O_5$), bazı bitkilerin, özellikle Umbelliferae familyasının, ana bileşenidir (Wei ve Ito, 2006). Apiaceae ve Rutaceae ailelerine ait çeşitli bitki türlerinden oksipeusedanin saflaştırılmış ve tanımlanmıştır (Mottaghipisheh, 2021).

Yapılan çalışmalar, oksipeusedanin'in antiaritmik aktivite, antioksidan, antienflamatuar, analjezik, anti-kanser ve antibakteriyel etkiler dahil olmak üzere çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğunu göstermiştir (Zheng vd, 2022). Ayrıca, oksipeusedanin'in sunitinib'in neden olduğu nefrotoksisite için potansiyel olarak

etkili bir ajan olduğu bildirilmiştir (Xiao vd, 2019).

Pek çok geleneksel bitkiden ekstrakte edilen bir furanokumarin olan oksipeusedanin'in çeşitli farmakolojik etkileri belirlenmiştir. Ancak, tek başına oksipeusedanin uygulamasından sonraki farmakokinetik özellikler rapor edilmemiştir. Bileşin karmaşıklığı ve ilaç sektöründe kullanımı ile ilgili ilaç-ilaç etkileşimlerinin varlığı nedeniyle, oksipeusedanin'in doğru farmakokinetik çalışmalarının yapılması gerekmektedir (Zheng vd, 2022).

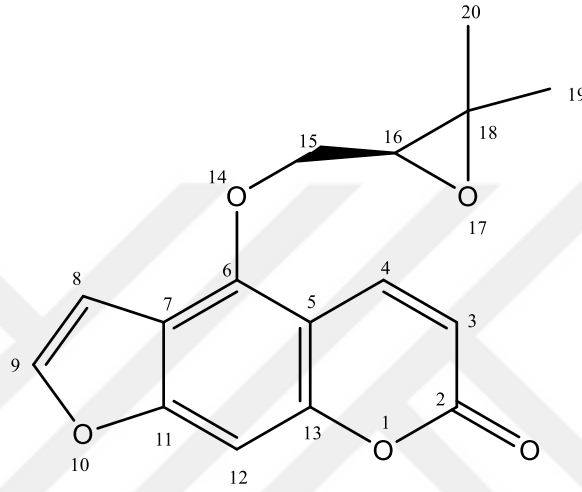
Oksipeusedanin molekülü *P. aricakensis* kök ekstraktının 1. fraksiyonundan beyaz pudra şeklinde saflaştırılmış olup açık yapısı şekil 4.22.'de grlmektedir. Gerçekleştirilen ^1H ve ^{13}C NMR analizi sonucunda moleküle ait veriler ve bu verilerin literatür verisi ile karşılaştırılması Tablo 4.8.'da verilerek molekln 1D ve 2D spektrumları (şekil 4.23. ile 4.27. arasında) gösterilmiştir.

^1H NMR spektrumu incelendiğinde yapının aromatik ve olefinik protonlar ve metil grupları içerdiği grlmektedir. COSY spektrumundan H3-H4 ve H8-H9 aromatik gruplarının komşu oldukları belirlenmiştir. Ayrıca H15-H16 gruplarının etkileşimleri grlmektedir. Bu protonların bağlı oldukları karbon atomları HSQC spektrumundan tespit edilmiş ve H15 grubunun ABX sistemi oluşturduğu görülmüştür. H3-H4 protonlarının karbonil karbonlarıyla etkileştikleri HMBC spektrumundan tespit edilmiş, H15 protonunun aromatik halkayla etkileştiği gözlenmiştir. H15 protonunun aşağı alana kayması yapının bir O- atomuyla aromatik halkaya bağlı olduğunu göstermiştir. H8 ve H9 protonlarının etkileşimleri incelendiğinde aromatik halkaya komşu bir furan grubunun bağlı olduğu görülmüştür. Molekl yapısının bir yan furan halkası içeren kumarin türevi olduğu belirlenmiştir. H15 protonunun bağlı olduğu yan zincirin aşağı alana kayması ve bağlı ^{13}C sinyalleri yapıya bağlı O gruplarının varlığını düşündürmüş ve HMBC etkileşimlerinden metil u gruplarının bu yan zincirde olduğu gözlenmiştir. Yan zincirdeki O atomunun epoksit yapısından kaynaklandığı belirlenmiş ve diğer etkileşimler takip edilerek yapının furan halkası ve yan zincirinde epoksit grubu içeren bir kumarin türevi olduğu belirlenmiştir.

Oksipeusedanin molekülünün MS spektrumundan elde edilen molekl ağırlığı 285.9 g/mol olarak belirlenmiş (şekil 4.28.) ve literatürdeki bilgilerle doğrulanmıştır (Eeva vd, 2004; Gökay vd, 2010; Xu vd, 2011).

Oksipeusedanin molekülü birçok farklı *Prangos* türünden izole edilmiştir. *P. ferulacea* bitkisinin kök kısmının metanol:su (70:30) ekstraktından (Gholivand vd,

2015), aseton ekstraktından (Jalilian vd, 2022; Shokoohinia vd, 2014b) ve *P. pabularia* bitkisinin kök kısmının sulu etanolik ekstraktından (Numonov vd, 2018), dikolorometan:metanol (1:1) ekstraktından (Farooq vd, 2014), petrol eteri ekstraktından (Mir vd, 2014), kloroform ekstraktından (Sevin vd, 2022) izole edilmiştir. Ayrıca oksipeusedanin molekülü *P. uloptera* (Razavi vd, 2008; Razavi vd, 2010a) ve *P. uechritzii* (Albayrak vd, 2022) bitkisinin kök kısmından ve *P. turcica* bitkisinden (Yazici-tütüniş vd, 2021) de saflaştırılmıştır.

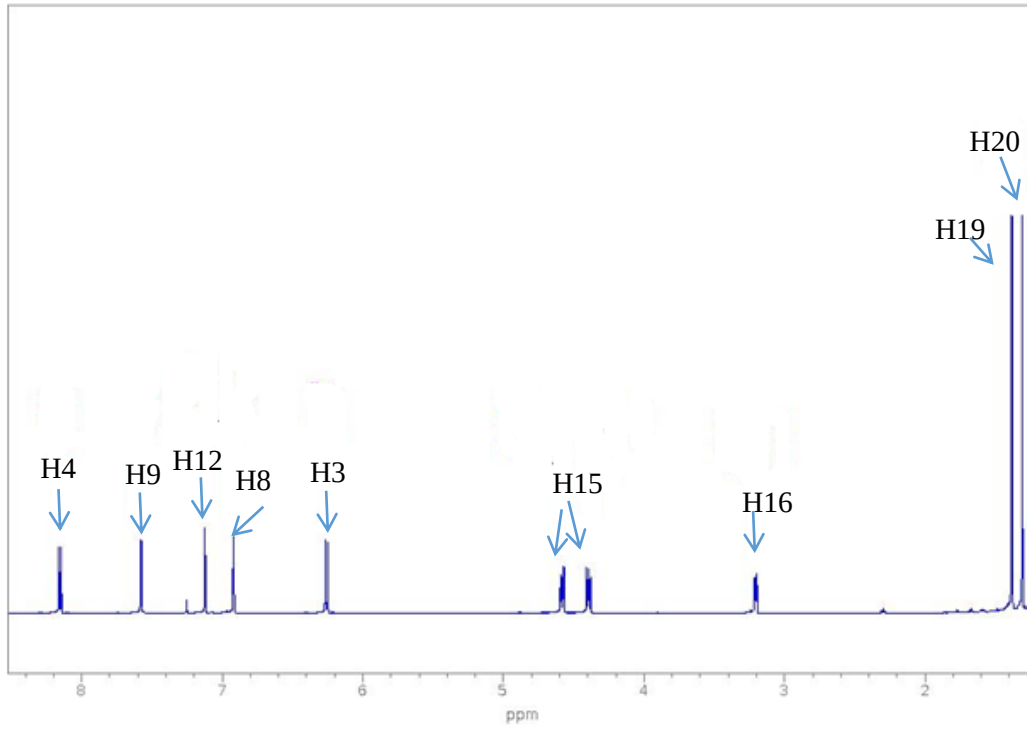


Şekil 4.22. Oksipeusedanin molekülünün açık yapısı

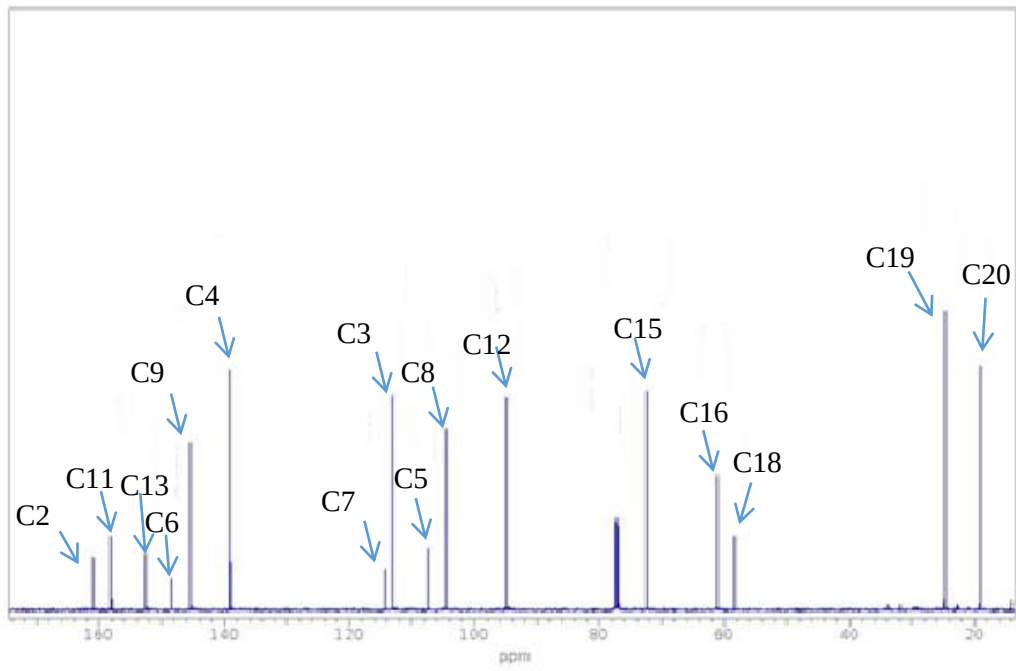
Tablo 4.8. Oksipeusedanin molekülünün ^1H ve ^{13}C NMR verileri

No	^1H NMR, CDCl_3 d 600 MHz	^{13}C NMR, CDCl_3 d 150MHz)	^1H NMR, CDCl_3 500 MHz (Aloui vd, 2015)	^{13}C NMR, CDCl_3 100.45 MHz (Stavri ve Gibbons, 2005)
2	-	160.98	-	161.20
3	6.25 (d)	113.03	6.33 (d)	112.80
4	8.14 (d)	138.98	8.20 (d)	139.40
5	-	107.34	-	107.40
6	-	148.33	-	148.60
7	-	114.13	-	114.10
8	6.91 (d)	104.49	6.95 (d)	104.90
9	7.57 (d)	145.28	7.61 (d)	145.10
10	-	-	-	-
11	-	157.98	-	158.10
12	7.12 (s)	94.73	7.20 (s)	94.50
13	-	152.48	-	152.70
14	-	-	-	-
15	4.37(dd)-4.56(dd)	72.30	4.42 (dd)-4.62 (dd)	68.90
16	3.20 (dd)	61.10	3.24 (dd)	61.23
17	-	-	-	-
18	-	58.30	-	58.48
19	1.38 (s)	24.56	1.41 (s)	24.73
20	1.30 (s)	19.00	1.33 (s)	19.15

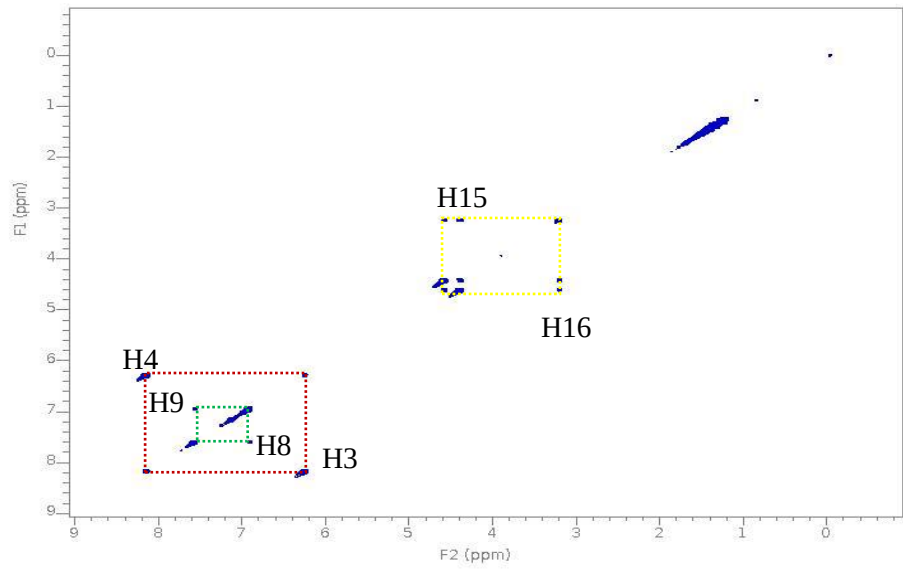
s: singlet, d: dublet, dd: dubletin dubleti



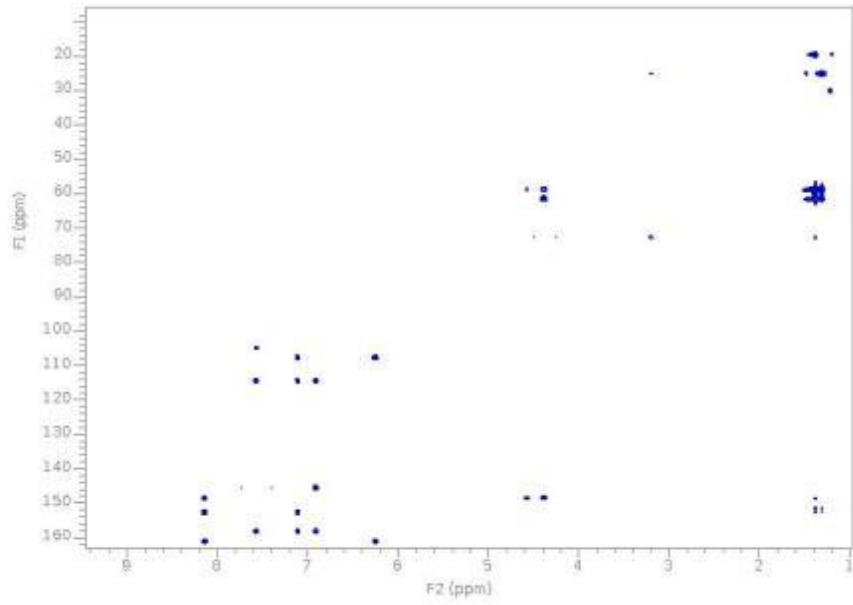
Şekil 4.23. Oksipeusedanin molekülünün ^1H NMR spektrumu



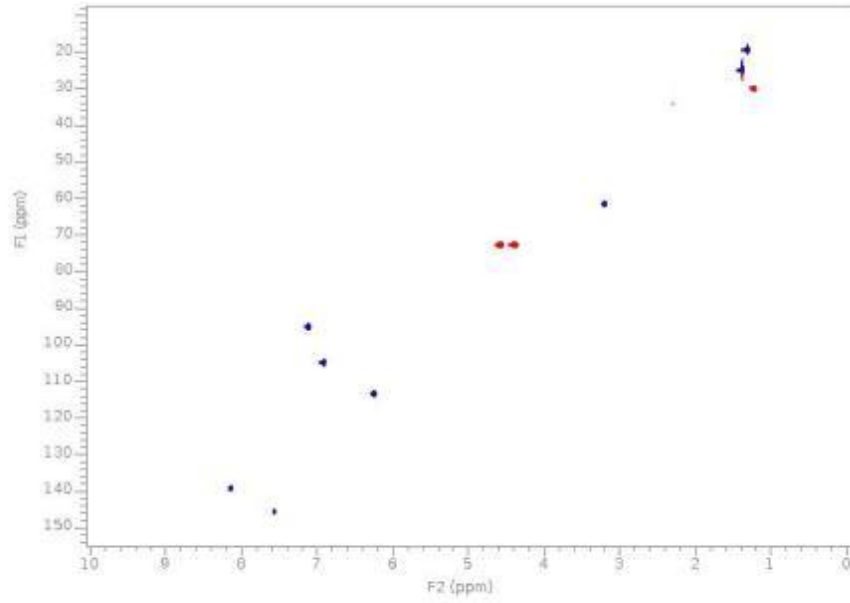
Şekil 4.24. Oksipeusedanin molekülünün ^{13}C NMR spektrumu



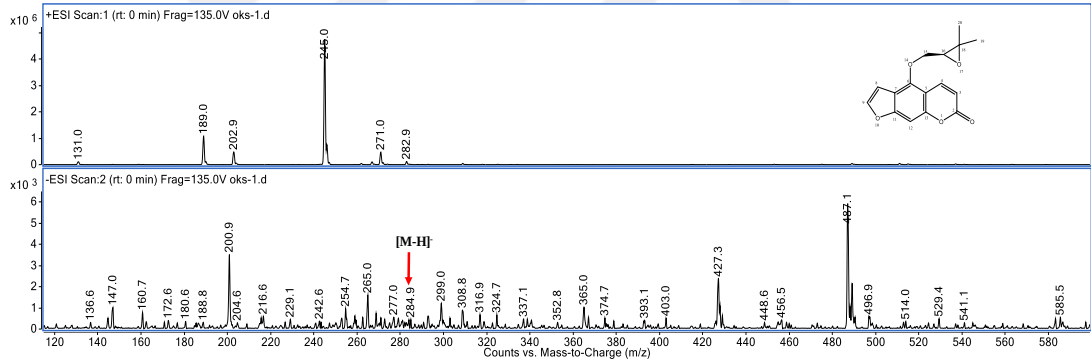
Şekil 4.25. Oksipeusedanin molekülünün COSY spektrumu



Şekil 4.26. Oksipeusedanin molekülünün HMBC spektrumu



Şekil 4.27. Oksipeusedanin molekülünün HSQC spektrumu



Şekil 4.28. Oksipeusedanin molekülünün MS spektrumu

4.4.4. Ostol

Ostol (7-metoksi-8-(3-metil-2-bütenil)-2H-1-benzopiran-2-on), *Cnidium* spp. ve Apiaceae ailesi bitkilerininden elde edilen doğal bir kumarindir. Ostol, nöroprotektif, spazmolitik immünomodülatör, osteojenik, hepatoprotektif, vazorelaksan, antimikrobiyal, antiviral gibi çok çeşitli farmakolojik etkilere sahip prenil edilmiş bir kumarindir ve kanserin önlenmesinde rol oynayabilir (Shokoohinia vd, 2018). Ostol, kanser hücrelerinin büyümesini ve apoptozun indüklenmesini baskılayarak dikkate değer antikanser özellikler sergilemektedir. Ostol'un koruyucu ve terapötik etkileri, yumurtalık, servikal, kolon ve prostat kanserlerinin yanı sıra kronik myeloid lösemi, akciğer adenokarsinomu, glioma,

hepatoselüler, glioblastoma, renal ve invaziv meme kansinimleri dahil olmak üzere farklı kanserlerde gözlemlenmiştir (Jelodarian vd, 2017).

Ostol molekülü *P. aricakensis* kök ekstraktının 2. fraksiyonundan kristal formda saflaştırılmış olup açık yapısı Şekil 4.29.'da görölmektedir. Gerçekleştirilen ^1H ve ^{13}C NMR analizi sonucunda moleküle ait veriler ve bu verilerin literatür verisi ile karşılaştırılması Tablo 4.9.'da verilerek molekülün 1D ve 2D spektrumları (Şekil 4.30. ile 4.34. arasında) gösterilmiştir.

^1H NMR spektrumu incelendiğinde aromatik ve olefinik bölgede sinyallerin varlığı görölmektedir. Ayrıca 2 metil grubu ve spesifik metoksi sinyali dikkat çekmektedir. ^{13}C NMR spektrumundan yapının aromatik halka içerdiği teyit edilmiştir. COSY spektrumunda H3-H4 ve H5-H6 protonlarının etkileşimleri ve komşu gruplar oldukları belirlenmiştir. HSQC spektrumundan bu grupların bağlı bulunduğu ^{13}C sinyalleri belirlenmiştir. H3 ve H4 protonlarının C2 karbonuyla etkileştiği HMBC spektrumundan tespit edilmiştir. Diğer protonların aromatik halka karbonlarıyla etkileşimleri belirlenerek yapının bir kumarin olduğu tespit edilmiştir. H1' protonunun aromatik halkaya doğrudan bağlı olduğu ve aromatik halka karbonlarıyla etkileşimleri belirlemiştir. Metoksi grubunun da aromatik halka karbonlarıyla etkileşimleri gözlenmiş ve halkaya C7 konumundan bağlı olduğu belirlenmiştir. COSY spektrumundan C1' ve C2' protonlarının komşu gruplar oldukları ve metil gruplarıyla bağlantılı oldukları gözlenmiştir. Yapının bu haliyle çift bağ ve metil grupları içeren bir yan zincire ve metoksi grubuna sahip bir kumarin türevi olan ostol olduğu belirlenmiş ve literatür verileriyle karşılaştırılarak molekülün ostol olduğu doğrulanmıştır.

Ostol molekülünün MS spektrumundan elde edilen molekül ağırlığı 244.3 g/mol olarak belirlenmiş (Şekil 4.35.) ve literatürdeki bilgilerle doğrulanmıştır (Lv vd, 2012; Vogl vd, 2011; Zheng vd, 2021).

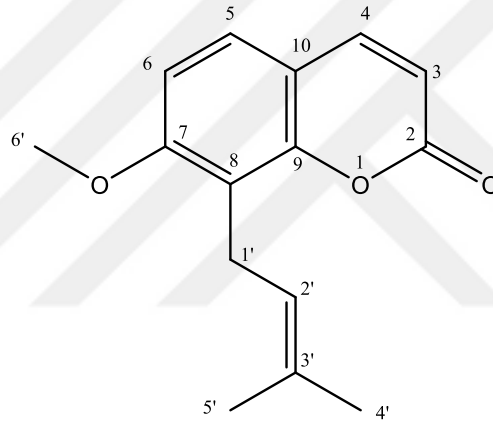
Ostol molekülü tek kristal oluşturduğu için bu madde FT-IR analizi ile incelenmiştir (Şekil 4.36.).

Ostol molekülünün FT-IR spektrumuna bakıldığında ve literatürle karşılaştırıldığında 1717 cm^{-1} (kumarinik karbonil), 1160 ve 1500 cm^{-1} (C-O gerilmeleri) ve 1604 cm^{-1} (aromatik C=C) ostol iskeletini doğrular niteliktedir (Sajadi vd, 2009).

Ostol molekülü mevcut karakterizasyon tekniklerine ilaveten X-ışını kristalografisi ile de incelenerek molekülün fiziksel özellikleri teyit edilmiş (Şekil

4.37.) ve literatür ile karşılaştırılmıştır (Tablo 4.10.).

Literatürde ostol molekülü birçok *Prangos* türünden izole edilmiştir. *P. pabularia* bitkisinin kök kısmının diklorometan:metanol (1:1) ekstraktından (Farooq vd, 2014), petrol eteri ekstraktından (Farazi vd, 2016; Mir ve Khan, 2016), sulu etanolik ekstraktından (Numonov vd, 2018) izole edilmiştir. Ayrıca (Rather vd, 2021; Rather vd, 2020) yaptıkları çalışmada aynı bitkiden ostol molekülünü elde etmişlerdir. *P. asperula* meyve kısmının *n*-hekzan ekstraktından (Sajadi vd, 2009), *P. turcica* bitkisinin kök kısmının diklorometan ekstraktından (Yazici-tütüniş vd, 2021), *P. uechtritzi* kök kısmından (Albayrak vd, 2022), *P. ferulacea* bitkisinin kök kısmının metanol:su (70:30) ekstraktından (Gholivand vd, 2015) ve aseton ekstraktından (Shokoohinia vd, 2014a) ostol molekülü belirlenmiştir.

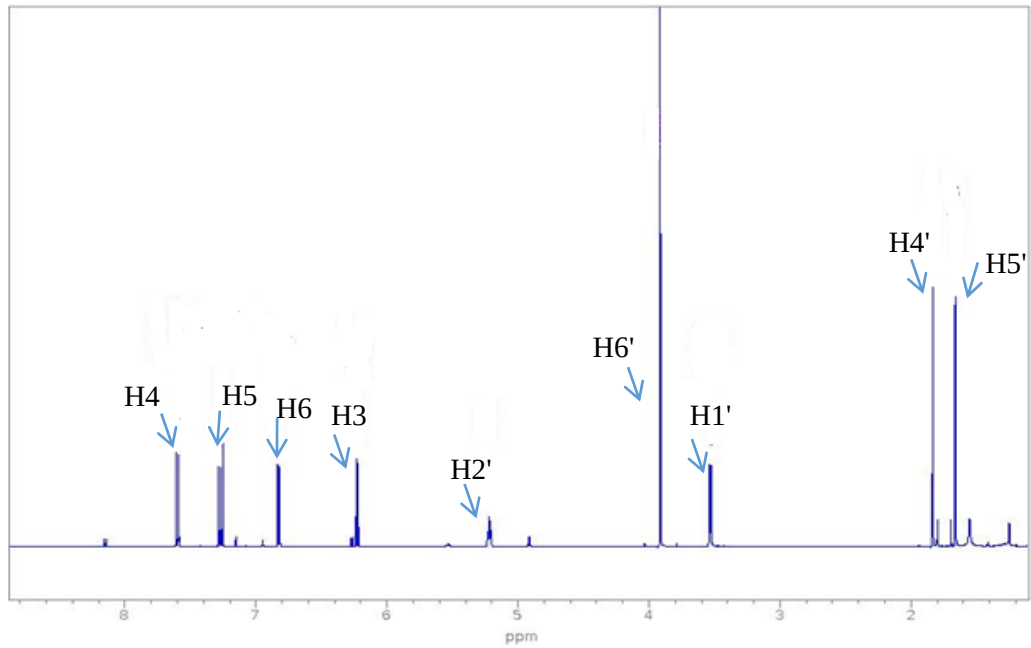


Şekil 4.29. Ostol molekülünün açık yapısı

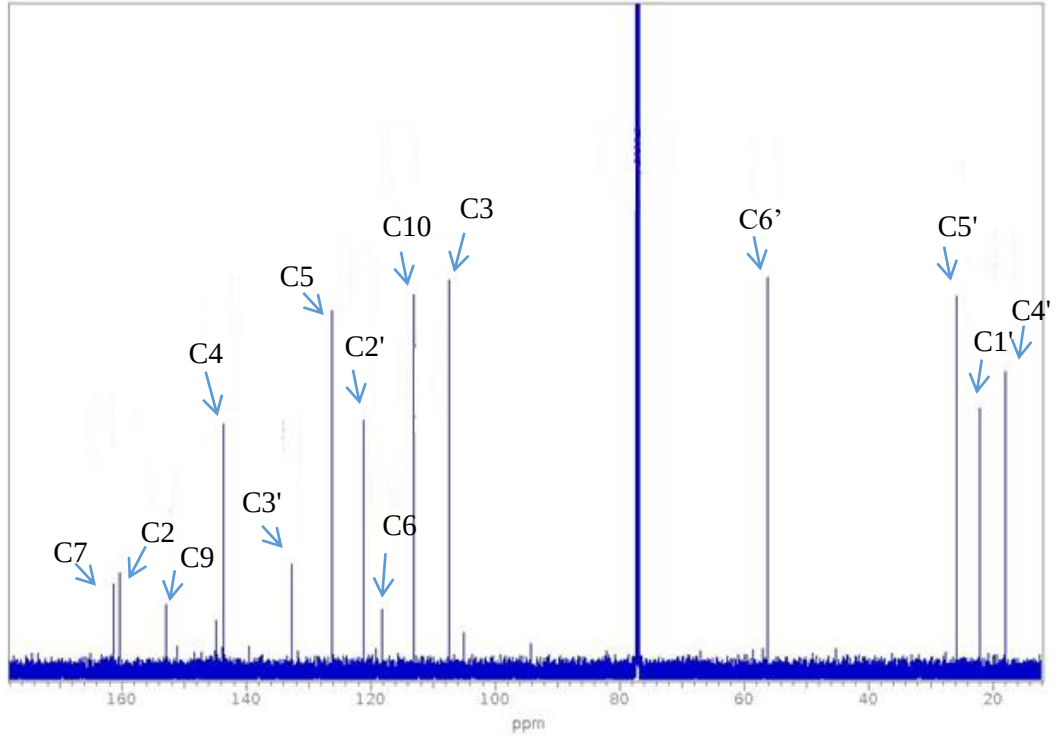
Tablo 4.9. Ostol molekülünün ^1H ve ^{13}C NMR verileri

No	^1H NMR, CDCl_3 d 600 MHz	^{13}C NMR, CDCl_3 d 150MHz	^1H NMR, CDCl_3 500 MHz (Sajadi vd, 2009)	^{13}C NMR, CDCl_3 125MHz (Sajadi vd, 2009)
1	-	-	-	-
2	-	161.32	-	161.78
3	6.21 (d)	112.99	6.20 (d)	113.34
4	7.59 (d)	143.62	7.60 (d)	144.19
5	7.25 (d)	126.14	7.30 (d)	126.66
6	6.81 (d)	107.32	6.80 (d)	107.78
7	-	160.21	-	160.64
8	-	118.03	-	118.32
9	-	113.02	-	113.39
10	-	152.83	-	153.22
1'	3.52 (d)	21.91	3.55 (d)	22.34
2'	5.21 (t)	121.10	5.25 (t)	121.57
3'	-	132.62	-	133.00
4'	1.83 (s)	25.74	1.86 (s)	26.20
5'	1.66 (s)	17.90	1.69 (s)	18.34
6'	4.00 (s)	56.02	3.94 (s)	56.46

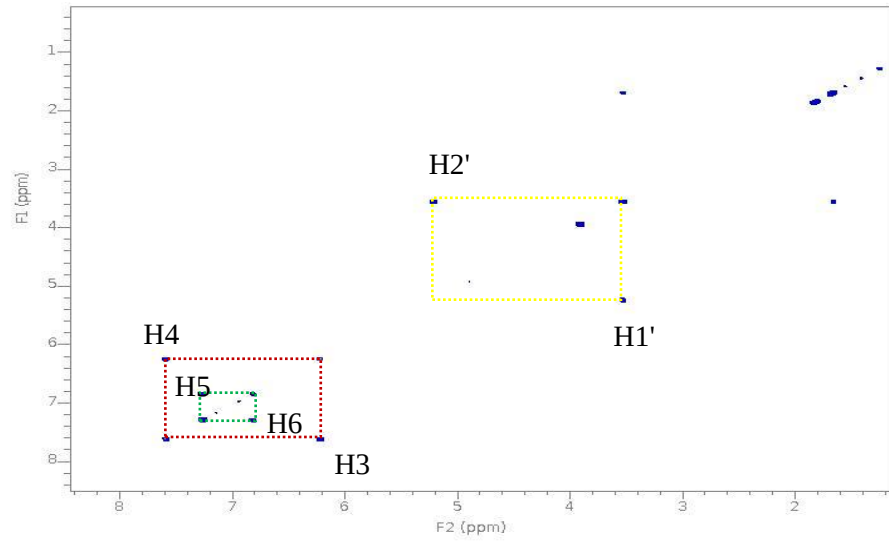
s: singlet, d: dublet, t: triplet



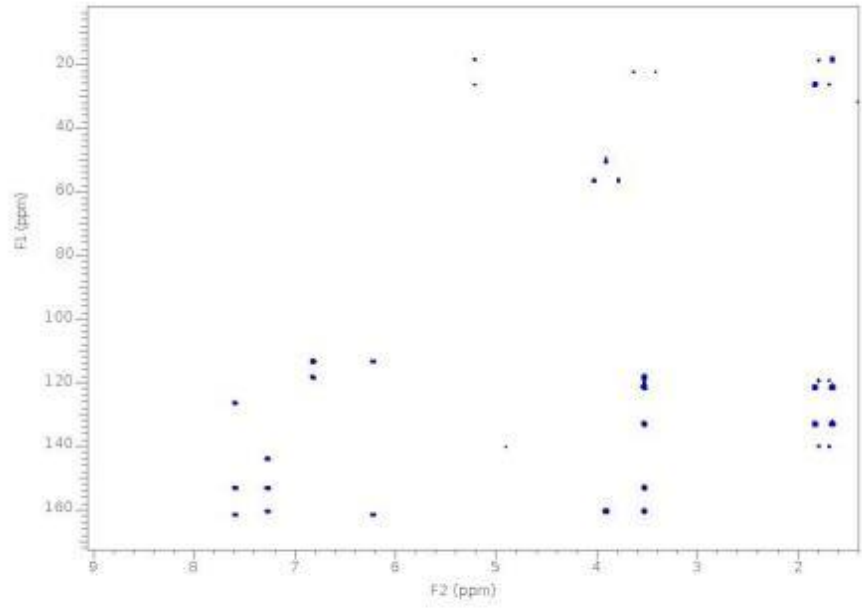
Şekil 4.30. Ostol molekülünün ^1H NMR spektrumu



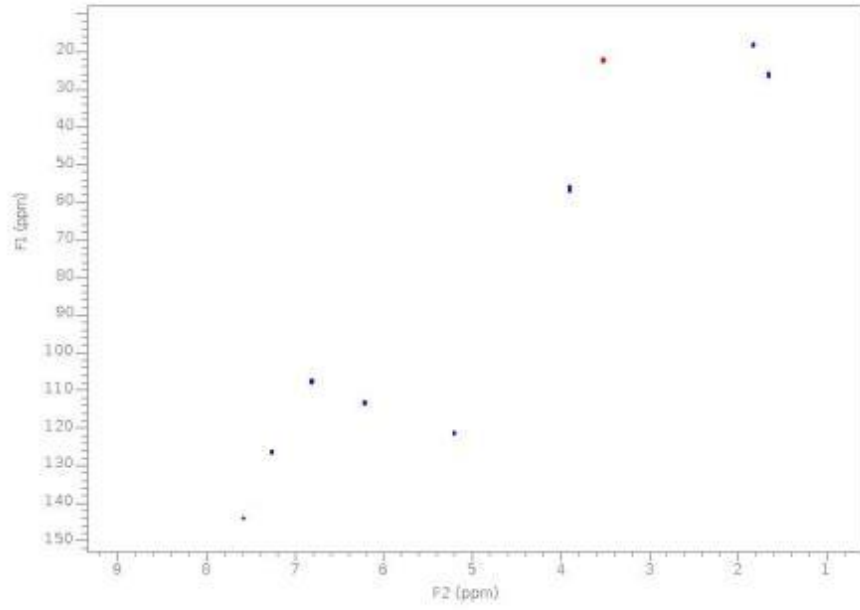
Şekil 4.31. Ostol molekülünün ^{13}C NMR spektrumu



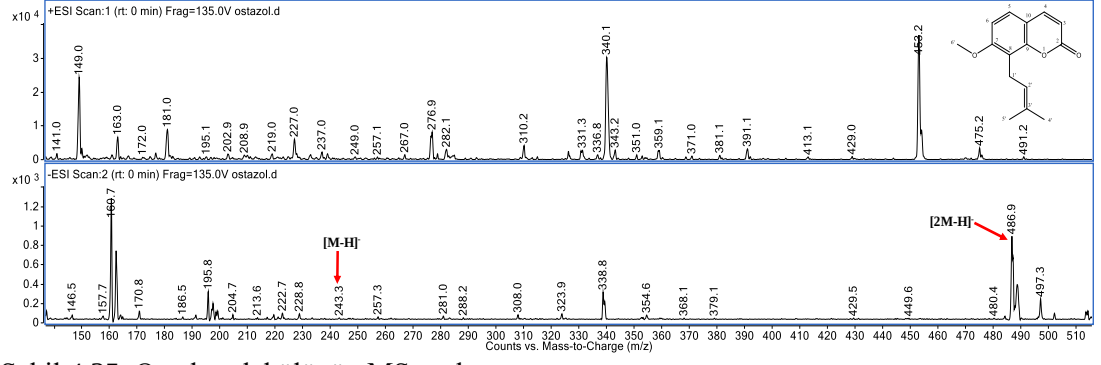
Şekil 4.32. Ostol molekülünün COSY spektrumu



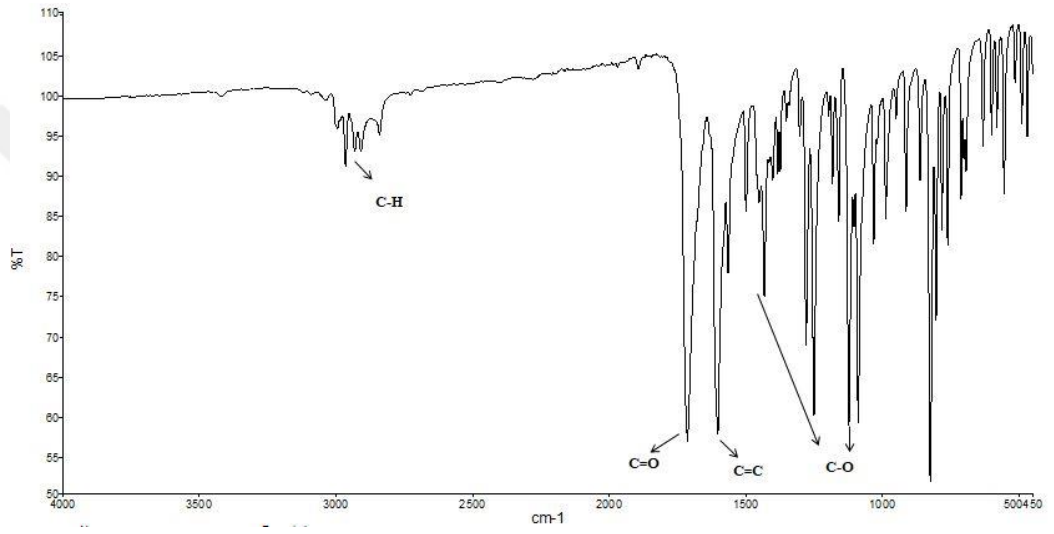
Şekil 4.33. Ostol molekülünün HMBC spektrumu



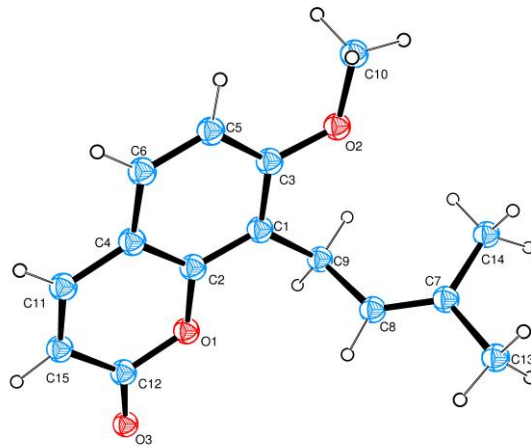
Şekil 4.34. Ostol molekülünün HSQC spektrumu



Şekil 4.35. Ostol molekülünün MS spektrumu



Şekil 4.36. Ostol molekülünün FT-IR spektrumu



Şekil 4.37. Ostol kristalinin ortep diyagramı

Tablo 4.10. Ostol molekülünün X-ışını kristalografi verisi

Parametreler	Kristal verileri	Literatür verisi (Borowiak ve Wolska, 1989)
Molekül Formülü	C ₃₀ H ₃₂ O ₆	C ₁₅ H ₁₆ O ₃
M _A (g/mol)	488.55	244.28
Kristal sistem	triklinik	triklinik
Uzay grubu	P-1	P-1
a/Å	7.518(13)	7.488(1)
b/Å	9.661(17)	9.643(2)
c/Å	10.77(3)	10.894(3)A
α /°	64.53(14)	117.34(2)
β /°	75.71(16)	87.97(2)
γ /°	71.76(13)	108.32(2)°
Hacim/Å ³	665(2)	657.8(3)
Z	1	2
ρ_{calc} g/cm ³	1.221	1.233
μ /mm ⁻¹	0.084	0.61
F(000)	260	260
Sıcaklık (K)	293	298
Yansıma açısı	4.226° ≤ 2 Θ ≤ 58.882°	9° < Θ < 26°
R değeri	R= 0.0576, wR= 0.1707	R= 0.045, wR= 0.068

4.4.5. Sükroz

Yenidoğanlarda ağrıyı azaltmaya yönelik çalışmalar klinik olarak önemlidir. Sükroz (sofra şekeri) rutin kullanım için büyük bir potansiyele sahiptir. Sükroz, yenidoğanlarda analjezik etkileri olan doğal olarak oluşan bir tatlandırıcıdır. Tam olarak anlaşılmamasına rağmen, etki mekanizmasının tat alma yoluyla endojen opioid sisteminin aktivasyonunu içerdiği düşünülmektedir. Bu, dilde opioid reseptörlerinin varlığı ve ağırlı uyarı sırasında analjezinin opioid antagonistleri tarafından tersine çevrilebileceğini gösteren hayvan çalışmaları ile desteklenmektedir. Ayrıca, tatlandırıcıların kronik tüketiminin, opioidlerin analjezik etkilerini ortadan kaldırdığı gösterilmiştir (Taddio vd, 2008).

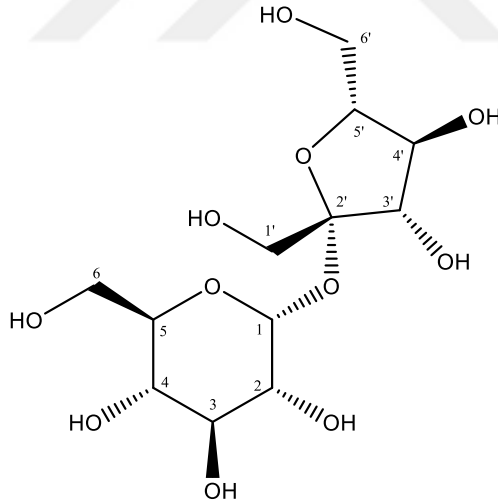
Sükroz molekülü *P. aricakensis* kök ekstraktının 9. fraksiyonundan saflaştırılmış olup açık yapısı Şekil 4.38.'da görülmektedir. Gerçekleştirilen ¹H ve ¹³C NMR analizi sonucunda moleküle ait veriler ve bu verilerin literatür verisi ile

karşılaştırılması Tablo 4.11.'de verilerek molekülün 1D ve 2D spektrumları (Şekil 4.39. ile 4.43. arasında) gösterilmiştir.

^1H ve ^{13}C NMR spektrumları incelendiğinde molekülün 12 karbonlu bir şeker olduğu görülmektedir. COSY spektrumundan yapıdaki protonların etkileşimleri bulunmuş ve HSQC spektrumu ile bağlı karbon atomları tespit edilmiştir. HSQC spektrumunda H6 ve H1'-H6' sinyallerinin diyastrotopik CH_2 grupları olduğu belirlenmiştir. H12 ve H6' sinyallerinin ^{13}C NMR spektrumunda çakışık olarak aynı ppm değerinde rezonans olduğu belirlenmiştir. C2' karbonuna proton bağlı olmadığı ve quaterner bir karbon olduğu görülmüştür. HMBC etkileşimlerinin takibi ve diğer spektrumlardaki veriler yapının bitkisel kaynaklarda bolca bulunan sükroz molekülü olduğunu göstermiştir.

Sükroz molekülünün MS spektrumundan elde edilen molekül ağırlığı 342 g/mol olarak belirlenmiş (Şekil 4.44.) ve literatürdeki bilgilerle doğrulanmıştır (Georgelis vd, 2018).

Numonov vd (2018), *P. pabularia* sulu etanolik kök ekstraktından sükroz molekülünü izole etmişlerdir.

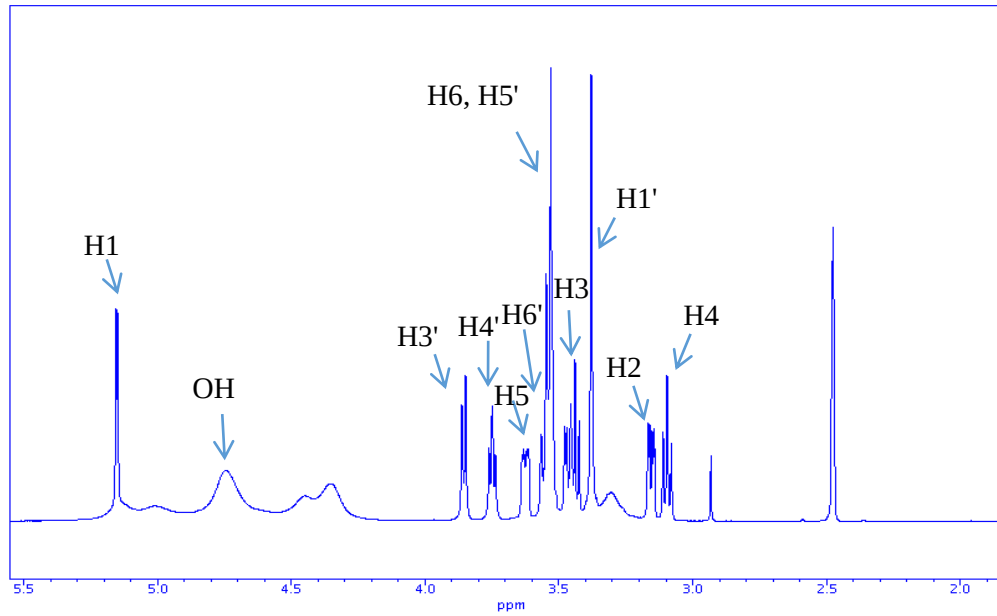


Şekil 4.38. Sükroz molekülünün açık yapısı

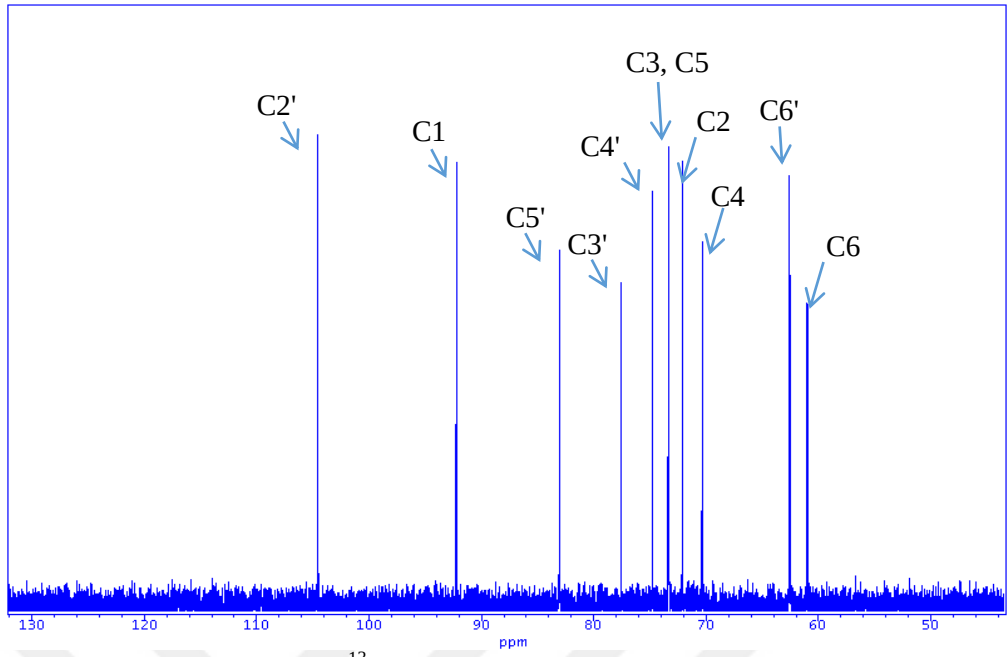
Tablo 4.11. Sükroz molekülünün ^1H ve ^{13}C NMR verileri

No	^1H NMR, DMSO <i>d</i> 6 600 MHz	^{13}C NMR, DMSO <i>d</i> 6 150MHz	^1H NMR, D_2O 400 MHz (Hernández-García vd, 2019)	^{13}C NMR, D_2O 100 MHz (Hernández- García vd, 2019)
1	5.20 (d, 4.02 Hz)	92.18	5.38 (d)	94.66
2	3.55 (dd, 10.2- 3.9 Hz)	72.07	3.52 (dd)	73.55
3	3.75 (t, 8.4 Hz)	73.32	3.72 (t)	75.05
4	3.45 (m, 8.4 Hz)	70.30	3.43 (t)	71.70
5	3.85 (m)	73.25	3.83 (m)	74.88
6	3.75 (d)	60.94	3.78 (d)	62.59
1'	3.60 (d)	62.50	3.63 (s)	63.82
2'	-	104.49	-	106.17
3'	4.70 (d, 7.8 Hz)	77.49	4.18 (d)	78.88
4'	4.30 (d, 6.6 Hz)	74.74	4.01 (t)	76.47
5'	3.90 (m)	83.00	3.86 (m)	83.85
6'	3.80 (d)	62.57	3.79 (d)	64.84

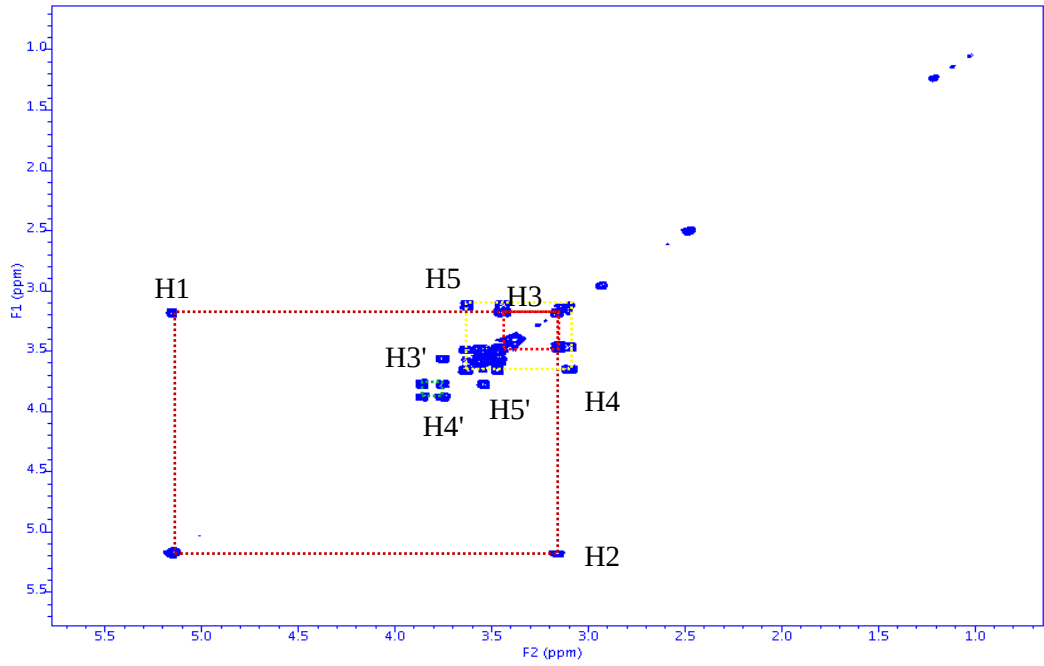
s: singlet, d: dublet, dd: dubletin dubleti, t: triplet, m: multiplet



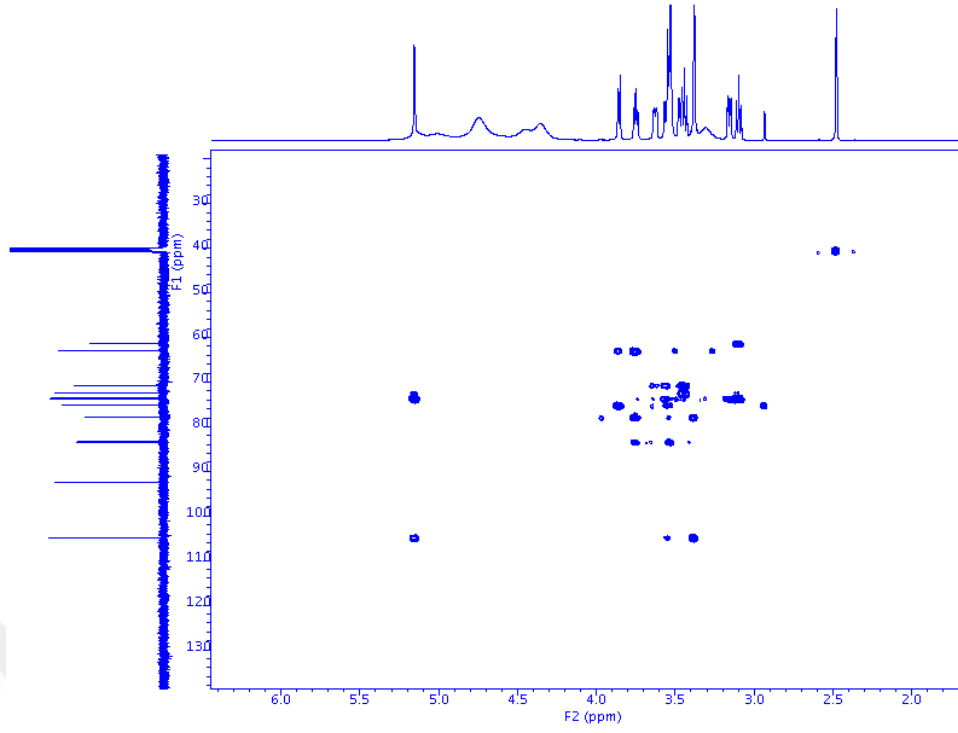
Şekil 4.39. Sükroz molekülünün ^1H NMR spektrumu



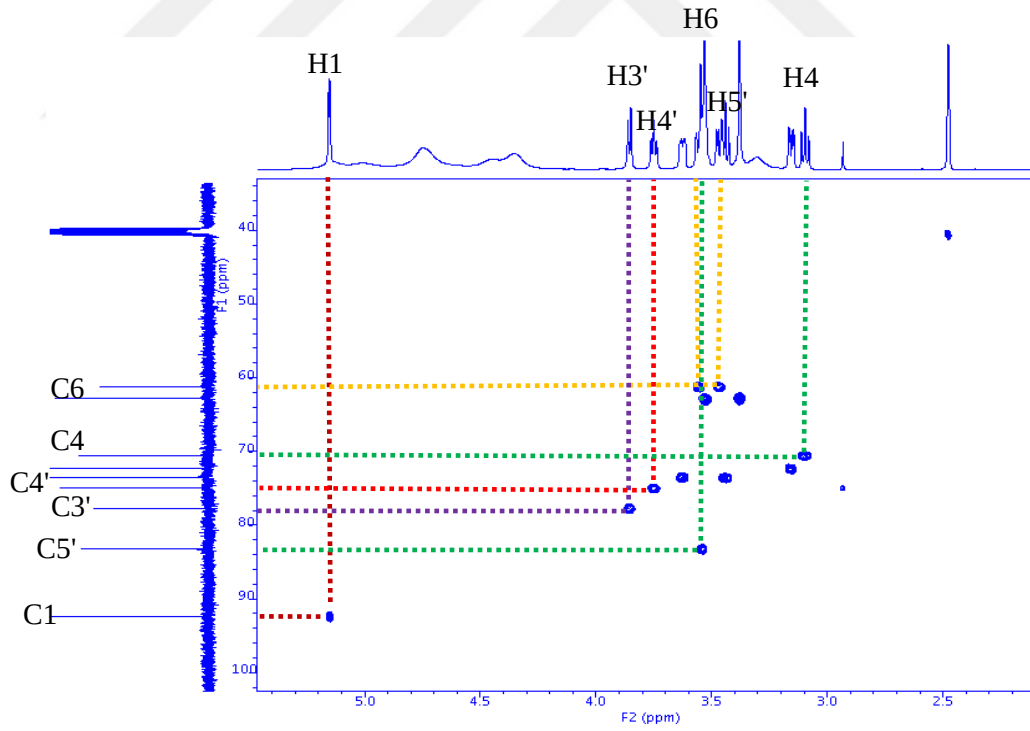
Şekil 4.40. Sükroz molekülünün ^{13}C NMR spektrumu



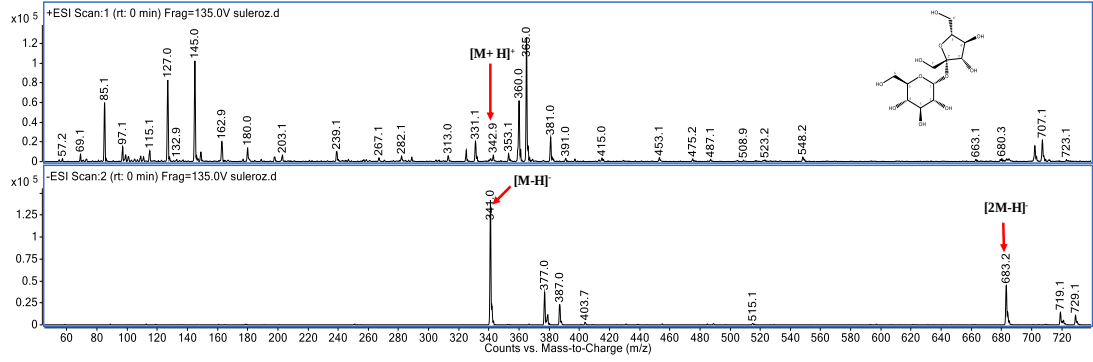
Şekil 4.41. Sükroz molekülünün COSY spektrumu



Şekil 4.42. Sükroz molekülünün HMBC spektrumu



Şekil 4.43. Sükroz molekülünün HSQC spektrumu



Şekil 4.44. Süktroz molekölünün MS spektrumu

4.4.6. Daukosterol

Doğal bir β -sitosterol glikozit olan daukosterol [(3 β)-stigmat-5-en-3-il β -D-glukopiranozit], birçok ölkede bulunan farklı ailelere ve cinslere ait bir saponin fitosteroldür (El Omari vd, 2022).

Bir β -sitosterol glikozit olan daukosterol, yüksek bitkilerdeki başlıca fitosterollerden biridir (Mozaffarian, 1996).

Kolesterol ile benzer yapısal ve biyolojik işlevlere sahip bitki sterolleri (fitosteroller), hücre büyümesinin modölasyonu, invazyon, metastaz, hücre döngüsünün durdurulması ve apoptoz yoluyla farklı tümörlerde anti-kanser etkiler gösterebileceğı belirtilmiştir (Ramprasath ve Awad, 2015).

Daukosterol'ün daha önce antienflamatuar ve immünomodölator aktiviteler gösterdiği bildirilmiştir (Choi vd, 2012).

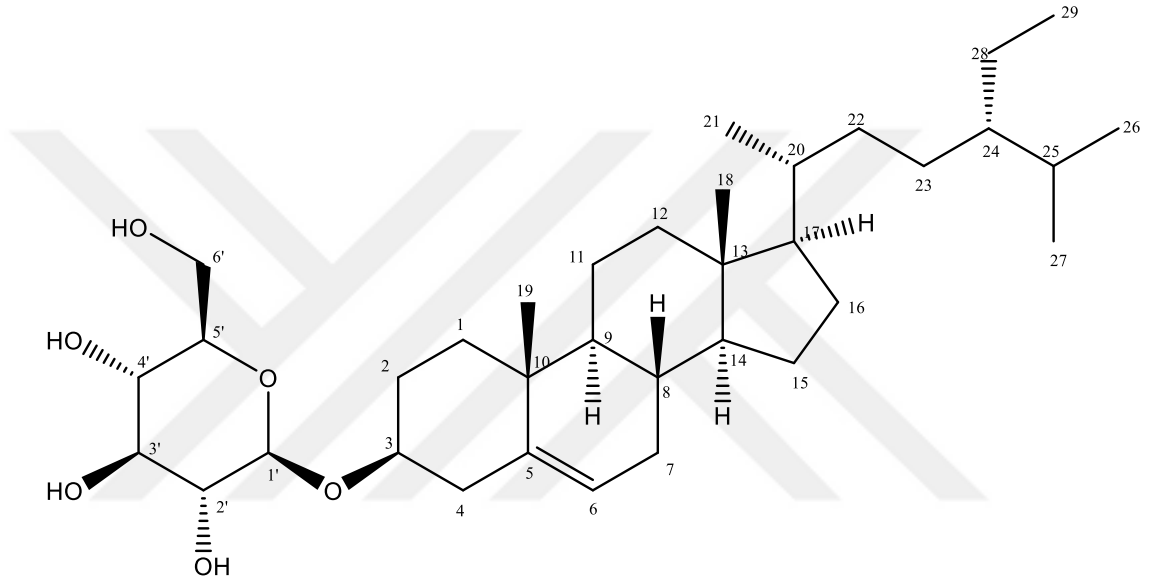
Daukosterol molekölü *P. aricakensis* sap ekstraktının 4. fraksiyonundan saflaştırılmış olup açık yapısı Şekil 4.45.'de görölmektedir. Gerçekleştirilen ^1H ve ^{13}C NMR analizi sonucunda molekölü ait veriler ve bu verilerin literatür verisi ile karşılaştırılması Tablo 4.12.'de verilerek molekölün 1D ve 2D spektrumları (Şekil 4.46. ile 4.50. arasında) gösterilmiştir.

^1H NMR spektrumu incelendiğinde şeker grubunun varlığını gösteren 2.5-5 ppm aralığındaki sinyaller ve alifatik grupların varlığı dikkat çekmektedir. ^{13}C NMR spektrumundan yapıda olefinik bir çift bağ ve anomerik karbon atomlarının varlığı belirlenmiştir. alifatik bölgedeki ^1H ve ^{13}C yoğunluğu, anomerik ve olefinik karbon atomlarının varlığı yapının şeker grubu içeren bir steroid olduğunu düşündürmüştür. COSY spektrumundan olefinik ve alifatik protonların etkileşimleri izlenmiş, HSQC spektrumundan bu protonların bağlı oldukları karbon atomları belirlenmiştir. H3 protonunun doğrudan anomerik karbon atomuyla etkileşimi HMBC spektrumundan

tespit edilmiştir. HMBC etkileşimlerinin takibi molekülün bitkisel kaynaklarda bolca bulunan β -sitosterol bileşiğinin *o*-glikozit formu olan daukosterol bileşiği olduğunu göstermiştir.

Daukosterol molekülünün MS spektrumundan elde edilen molekül ağırlığı 576.2 g/mol olarak belirlenmiş (Şekil 4.51.) ve literatürdeki bilgilerle doğrulanmıştır (Dien vd, 2015; Rajavel vd, 2017; Tan vd, 1996).

Daukosterol molekülü daha önce literatürde herhangi bir *Prangos* türünden elde edilmemiştir.

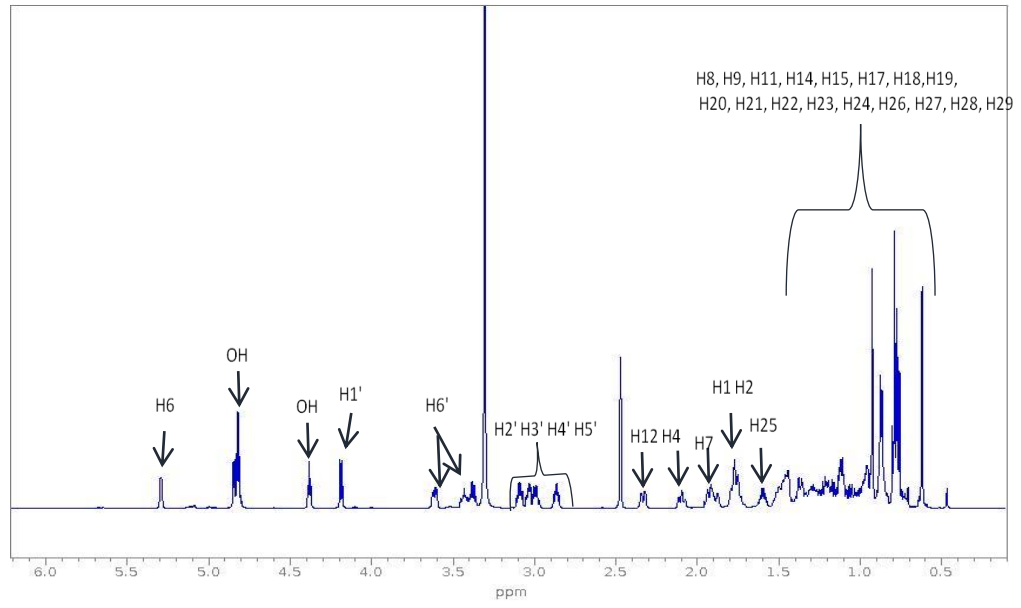


Şekil 4.45. Daukosterol molekülünün açık yapısı

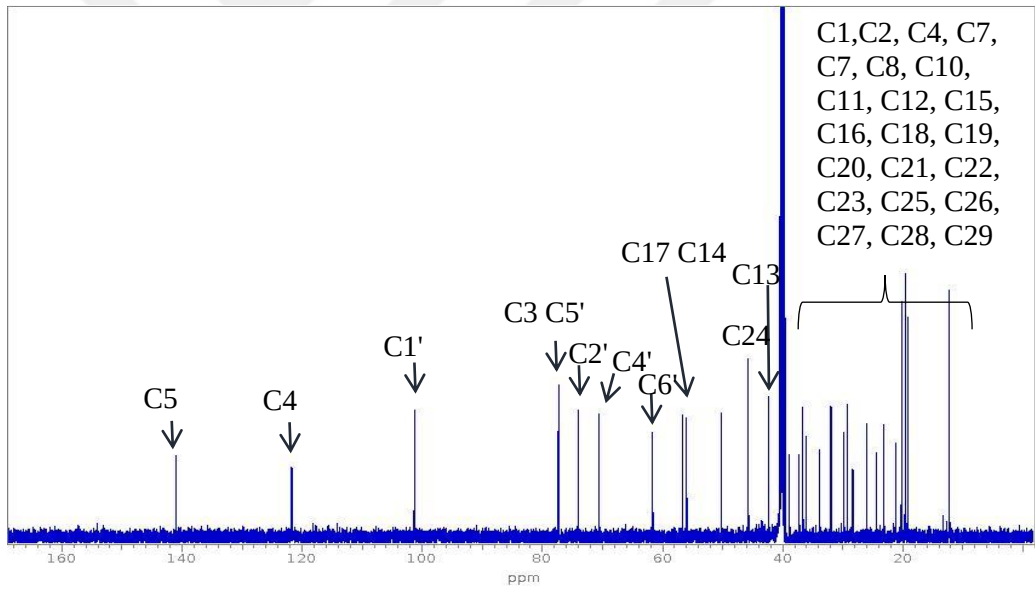
Tablo 4.12. Daukosterol molekülünün ^1H ve ^{13}C NMR verileri

No	^1H NMR, DMSO <i>d</i> 6 600MHz	^{13}C NMR, DMSO <i>d</i> 6 150MHz	^1H NMR (Li vd, 2010)	^{13}C NMR (Peshin ve Kar, 2017)
1	0.96 (d)	37.27	1.09 (d)	36.79
2	1.44 (d)	29.69	1.36 (d)	29.23
3	3.43 (s)	77.30	3.53 (s)	76.85
4	2.10 (d)	38.72	2.29 (d)	39.28
5	-	140.10	-	140.40
6	5.30 (d, 3.3 Hz)	121.67	5.30 (s)	121.20
7	1.90 (s)	31.85	1.56 (d)	31.38
8	1.37 (s)	31.82	1.45 (s)	31.26
9	0.87 (s)	50.04	0.95 (s)	49.55
10	-	36.80	-	36.18
11	1.37 (d)	21.04	1.48 (d)	20.56
12	2.35 (d)	39.90	1.17 (d)	38.26
13	-	42.50	-	41.82
14	0.95 (s)	56.61	1.01 (s)	56.13
15	1.50 (s)	24.32	1.10 (d)	23.83
16	-	28.01	1.85 (s)	27.76
17	1.04 (s)	55.81	1.15 (s)	55.38
18	0.67 (s)	12.11	0.61 (s)	11.64
19	0.78 (s)	19.55	0.95 (s)	19.07
20	1.32 (s)	35.94	1.36 (s)	35.45
21	0.93 (s)	19.06	0.85 (s)	18.58
22	0.97 (s)	33.76	1.04 (d)	33.29
23	1.11 (s)	25.81	1.12 (s)	25.36
24	0.88 (s)	45.56	0.98 (s)	45.09
25	1.60 (s)	29.10	1.67 (s)	28.64
26	0.87 (s)	19.56	0.75 (s)	19.69
27	0.87 (s)	19.37	0.76 (s)	18.89
28	1.22 (d)	23.02	1.23 (d)	22.06
29	0.79 (s)	12.22	0.80 (s)	11.75
1'	4.18 (d, 7.3 Hz)	101.10	4.35 (s)	100.75
2'	2.86 (s)	73.86	3.19 (s)	73.42
3'	3.04 (s)	77.32	3.38 (s)	76.86
4'	2.99 (s)	70.45	3.35 (s)	70.04
5'	3.04 (s)	77.20	3.23 (s)	76.72
6'	3.38 (d)	61.46	3.70 (d)	62.82

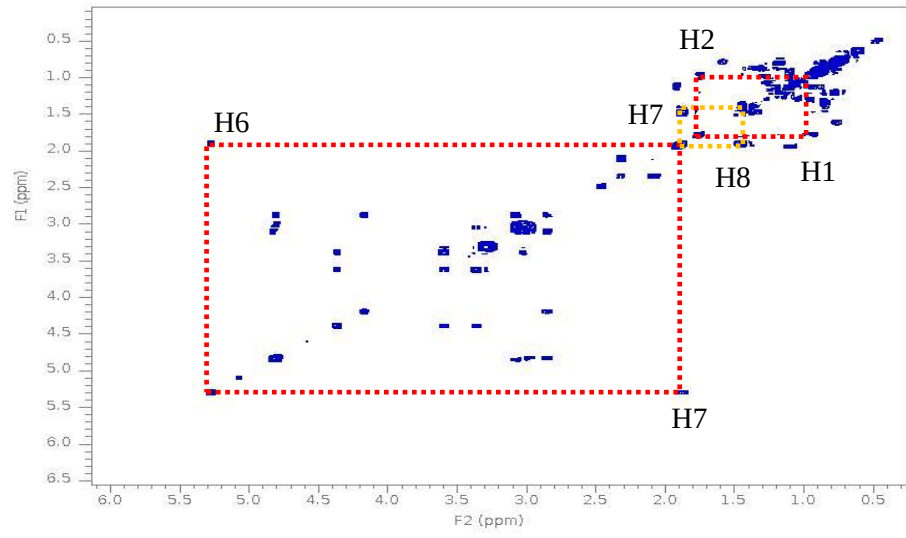
s: singlet, d: dublet



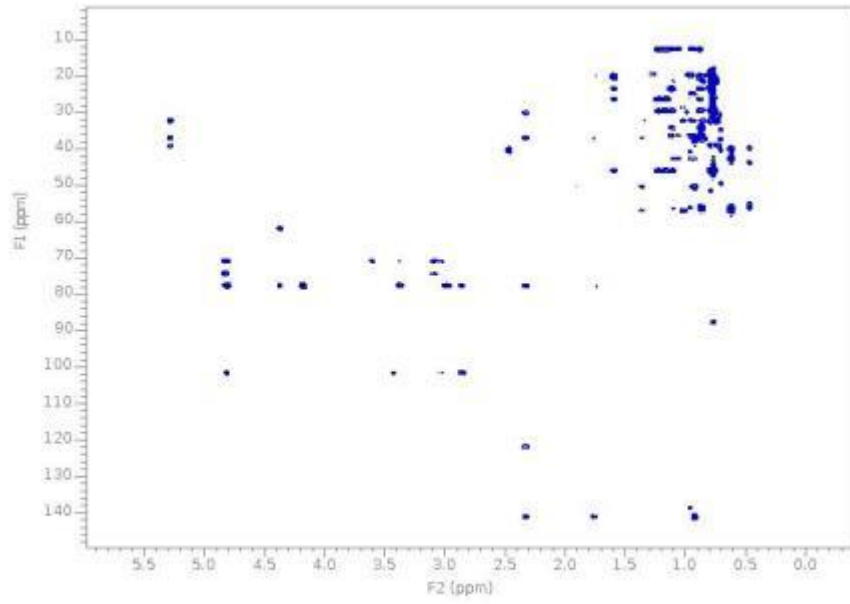
Şekil 4.46. Daukosterol molekülünün ^1H NMR spektrumu



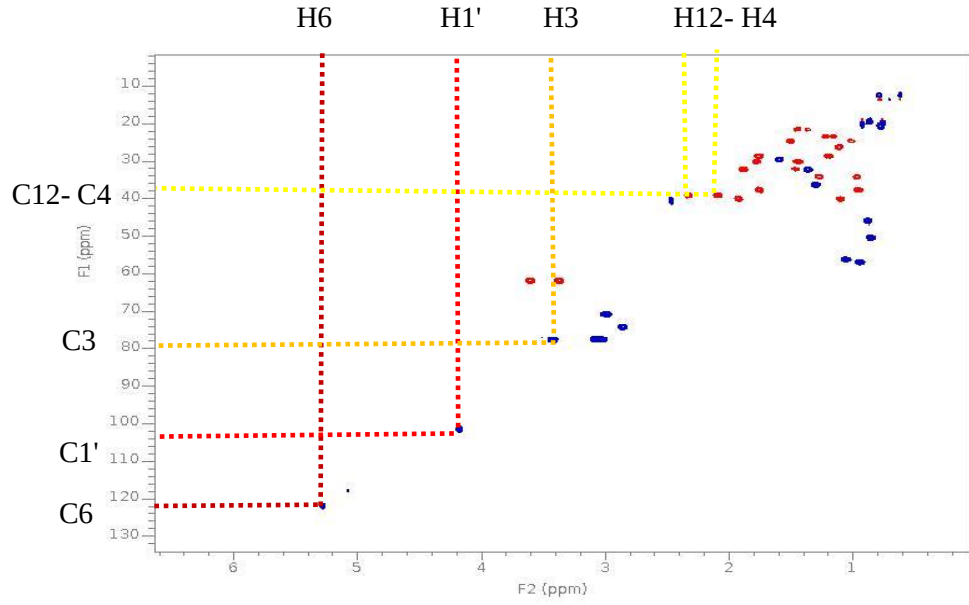
Şekil 4.47. Daukosterol molekülünün ^{13}C NMR spektrumu



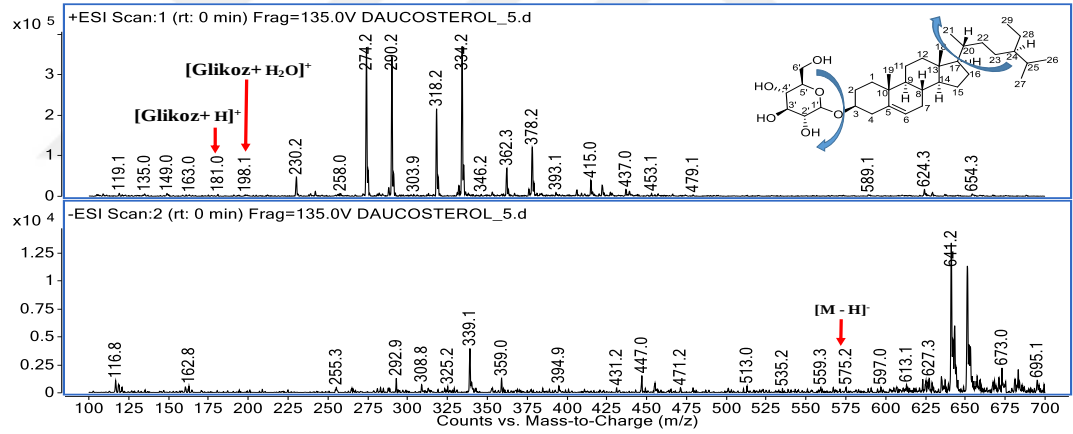
Şekil 4.48. Daukosterol molekülünün COSY spektrumu



Şekil 4.49. Daukosterol molekülünün HMBC spektrumu



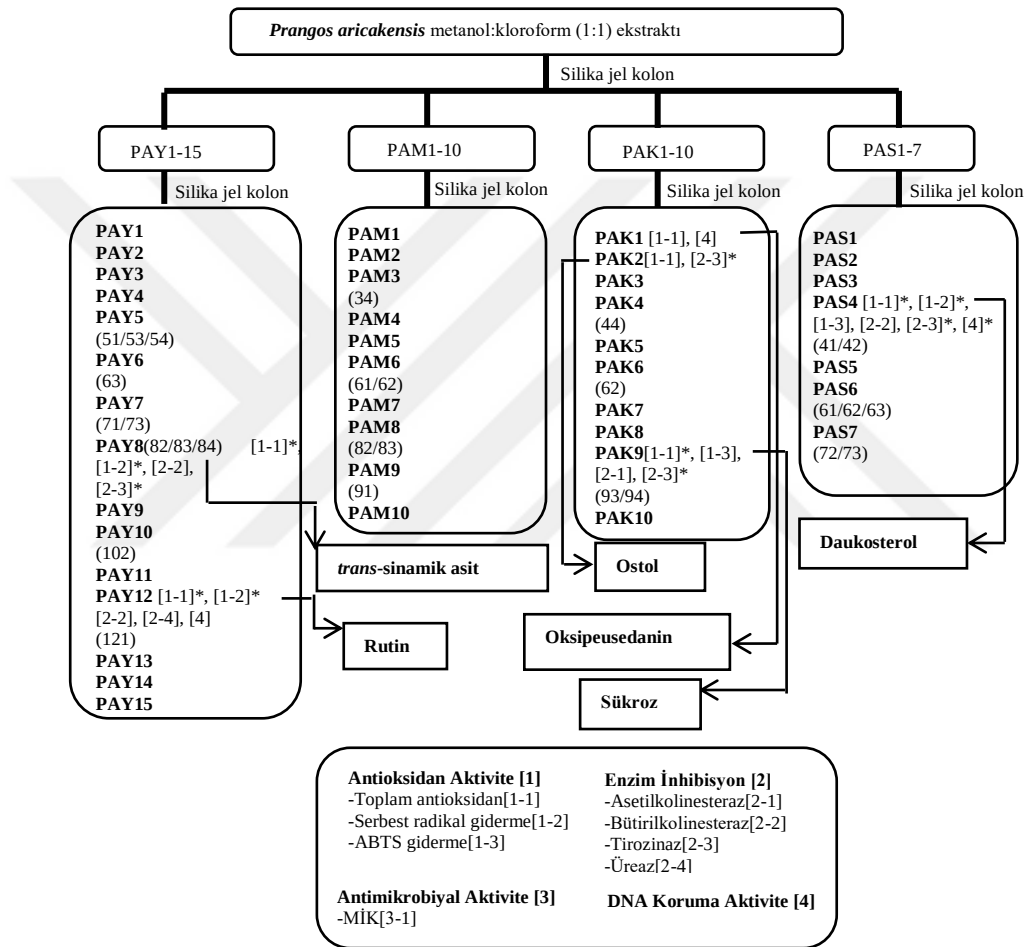
Şekil 4.50. Daukosterol molekülünün HSQC spektrumu



Şekil 4.51. Daukosterol molekülünün MS spektrumu

4.5. Biyoaktivite Testleri

Örneklerin biyoaktivitelerinin belirlenmesi için antioksidan, enzim inhibisyon, antimikrobiyal ve DNA koruma aktiviteleri çalışılmıştır. Biyoaktivite testleri, en yüksek aktivite değeri gösteren fraksiyonların seçilerek bunlardan alt fraksiyon elde edilmesi şeklinde, aktivite yönlendirmeli çalışma prensibi ile çalışılmıştır. Biyoaktivite yönlendirmeli çalışmalar ve izolatların fraksiyon şeması Şekil 4.52.'de gösterilmiştir.



NOT: Şekilde PAS4 fraksiyonu, PAS41 alt fraksiyonu gösterirken köşeli parantez [] içerisindeki numaralar aktivite kodlarını göstermektedir. Üzerinde yıldız * olan köşeli parantezler hem fraksiyon hem de izolat olarak yüksek etki gösterirken yıldız olmayanlar ise sadece fraksiyonda iyi sonuç verip izolatta ise daha düşük etkiye sahip olanları göstermektedir.

Şekil 4.52. Biyoaktivite yönlendirmeli çalışmalar ve izolatların fraksiyon şeması

4.5.1. Antioksidan Aktivite Çalışmaları

P. aricakensis ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri toplam antioksidan, DPPH[•] giderme, ABTS^{•+} giderme tayinleri uygulanarak belirlendi ve BHA, TBHQ ve E vitamini standart antioksidanlar ile karşılaştırıldı.

4.5.1.1. Toplam Antioksidan Aktivitesi

Örneklerin toplam antioksidan aktivite değerleri absorbands verilerinden hesaplanarak ($A_{0.5}$) tayin edilmiş ve Tablo 4.13. ile 4.16. arasında gösterilmiştir.

Tablo 4.13. PAY ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların toplam antioksidan aktivite sonuçları

Örnekler	Aktivite, $A_{0.5}$ ($\mu\text{g/mL}$)	R^2
PAY	255.58 $\pm$ 2.97 ^l	0.93
PAYUY	249.43 $\pm$ 2.81 ^l	0.82
PAY1	126.80 $\pm$ 8.49 ^{ef}	0.88
PAY2	159.81 $\pm$ 16.12 ^g	0.79
PAY3	108.08 $\pm$ 3.78 ^{cd}	0.82
PAY4	135.00 $\pm$ 0.68 ^{ef}	0.94
PAY5	106.47 $\pm$ 15.26 ^{bc}	0.90
PAY51	303.27 $\pm$ 1.98 ^{no}	0.91
PAY53	277.73 $\pm$ 0.72 ^m	0.87
PAY54	247.63 $\pm$ 3.90 ^l	0.91
PAY6	205.06 $\pm$ 2.93 ^k	0.85
PAY63	353.02 $\pm$ 0.17 ^p	0.99
PAY7	96.37 $\pm$ 3.30 ^{bc}	0.93
PAY71	507.46 $\pm$ 0.09 ^t	0.82
PAY73	408.43 $\pm$ 4.71 ^r	0.84
PAY8	137.24 $\pm$ 4.18 ^{ef}	0.61
PAY82	173.73 $\pm$ 1.80 ^{ghi}	0.93
PAY83	274.02 $\pm$ 0.55 ^m	0.92
PAY84	286.51 $\pm$ 7.38 ^{mn}	0.87
<i>trans</i> -sinamik asit (PAY84)	44.15 $\pm$ 0.67 ^a	0.90
PAY9	184.78 $\pm$ 3.01 ^{ij}	0.99
PAY10	130.51 $\pm$ 0.50 ^{ef}	0.95
PAY102	B	B
PAY11	139.67 $\pm$ 2.20 ^f	0.92
PAY12	164.33 $\pm$ 0.26 ^{gh}	0.87
Rutin (PAY121)	91.34 $\pm$ 1.31 ^b	0.96
PAY13	127.31 $\pm$ 1.13 ^{ef}	0.88
PAY14	180.05 $\pm$ 0.73 ^{hi}	0.73
PAY15	198.35 $\pm$ 0.00 ^{jk}	0.77
BHA	121.43 $\pm$ 0.08 ^{de}	0.68
TBHQ	312.65 $\pm$ 0.09 ^o	0.83
E vitamini	452.77 $\pm$ 1.60 ^s	0.84

($p < 0.05$), B: Belirlenemedi.

Toplam antioksidan aktivite çalışmasından elde edilen üç tekrarlı analizlerin sonuçlarına ait her bir parametre $\pm$ standart sapma değerleriyle ifade edildi. Bu veriler IBM Statistical Package for Social Studies (SPSS) 20.0 programında analiz edildi. Analiz ortalamaları arasındaki ikiden çok bağımsız grup ortalamaları ve veriler normal dağılımlı varyanslar homojen olduğundan ANOVA kullanıldı. Elde edilen verilerin doğrultusunda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD^{a,b} kullanıldı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, *P. aricakensis* yaprak ekstraktının, uçucu yağının, fraksiyonlarının, alt fraksiyonlarının, izolatlarının ve standart maddelerin toplam antioksidan aktivitesi ($A_{0.5}$) ortalama değerleri a ile t arasında harflendirilmiştir. “a” en düşük ortalamayı, “t” ise en yüksek ortalamayı belirtmektedir. Aktivite sonuçları arasında farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık vardır ($p<0.05$). Örnekler ve standartlar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; “a”, “b” gibi farklı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark varken “ab”, “bc” gibi aynı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark yoktur ($p<0.05$).

Toplam antioksidan aktivitesi incelendiğinde PAY84 ($286.51\pm7.38 \mu\text{g/mL}$) ve PAY12 ($164.33\pm0.26 \mu\text{g/mL}$) fraksiyonları genel olarak standartlardan daha yüksek aktivite göstermektedir. Bunların dışında PAY7 ($96.37\pm3.30 \mu\text{g/mL}$), PAY5 ($106.47\pm15.26 \mu\text{g/mL}$) ve PAY3 ($108.08\pm3.78 \mu\text{g/mL}$) fraksiyonları standartlardan ve diğer fraksiyonlardan daha yüksek aktivite göstermiştir. Fraksiyonlardan alt fraksiyonlara gidildikçe aktivitenin azaldığı görülmüştür.

Toplam antioksidan aktivite testinde, biyoaktivite yönlendirmeli izolasyona göre PAY84 ($286.51\pm7.38 \mu\text{g/mL}$) fraksiyonundan izole edilen *trans*-sinamik asit ($44.15\pm0.67 \mu\text{g/mL}$) ve PAY12 ($164.33\pm0.26 \mu\text{g/mL}$) fraksiyonundan izole edilen rutin ($91.34\pm1.31 \mu\text{g/mL}$) molekülleri izole edildiği fraksiyonlardan da daha yüksek aktivite göstermektedir. Fraksiyonların aktivitelerinin izole edilen moleküllerden düşük olmasının nedeni fraksiyonlarda bulunan farklı moleküllerin antagonistik etki göstermesinden kaynaklanıyor olabilir (Tablo 4.13.).

Tablo 4.14. PAM ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar ve alt fraksiyonların toplam antioksidan aktivite sonuçları

Örnekler	Aktivite, A _{0.5} (µg/mL)	R ²
PAM	290.94±5.0 ⁱ	0.79
PAMUY	245.72±2.66 ^{gh}	0.95
PAM1	236.79±2.44 ^{fg}	0.65
PAM2	231.61±7.51 ^f	0.63
PAM3	91.66±0.13 ^a	0.92
PAM34	343.63±2.04 ^k	0.84
PAM4	163.70±3.56 ^d	0.85
PAM5	200.55±6.25 ^e	0.78
PAM6	138.33±2.16 ^c	0.84
PAM61	243.65±3.74 ^{fgh}	0.91
PAM62	253.51±1.25 ^h	0.92
PAM7	136.89±0.53 ^c	0.85
PAM8	203.26±1.13 ^e	0.86
PAM82	B	B
PAM83	366.69±5.54 ^l	0.90
PAM9	96.96±2.84 ^a	0.90
PAM91	351.91±1.98 ^k	0.94
PAM10	135.58±0.73 ^c	0.89
BHA	121.43±0.08 ^b	0.68
TBHQ	312.65±0.09 ^j	0.83
E vitamini	452.77±1.60 ^m	0.84

($p < 0.05$), B: Belirlenemedi.

Toplam antioksidan aktivite çalışmasından elde edilen üç tekrarlı analizlerin sonuçlarına ait her bir parametre $\pm$ standart sapma değerleriyle ifade edildi. Bu veriler IBM Statistical Package for Social Studies (SPSS) 20.0 programında analiz edildi. Analiz ortalamaları arasındaki ikiden çok bağımsız grup ortalamaları ve veriler normal dağılımlı varyanslar homojen olduğundan ANOVA kullanıldı. Elde edilen verilerin doğrultusunda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD^{a,b} kullanıldı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, *P. aricakensis* meyve ekstraktının, uçucu yağının, fraksiyonlarının, alt fraksiyonlarının ve standart maddelerin toplam antioksidan aktivitesi (A_{0.5}) ortalama değerleri a ile m arasında harflendirilmiştir. “a” en düşük ortalamayı, “m” ise en yüksek ortalamayı belirtmektedir. Aktivite sonuçları

arasında farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık vardır ($p<0.05$). Örnekler ve standartlar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; “a”, “b” gibi farklı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark varken “ab”, “bc” gibi aynı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark yoktur ($p<0.05$).

PAM3 (91.66 ± 0.13 $\mu\text{g/mL}$) ve PAM9 (96.96 ± 2.84 $\mu\text{g/mL}$) en etkili fraksiyonlar olurken standartlardan da daha iyi aktivite göstermişlerdir. Ayrıca PAM10 (135.58 ± 0.73 $\mu\text{g/mL}$), PAM7 (136.89 ± 0.53 $\mu\text{g/mL}$) ve PAM6 (138.33 ± 2.16 $\mu\text{g/mL}$)’da iyi toplam antioksidan aktivite gösteren fraksiyonlar arasındadır (Tablo 4.14.).



Tablo 4.15. PAK ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların toplam antioksidan aktivite sonuçları

Örnekler	Aktivite, A _{0.5} (µg/mL)	R ²
PAK	261.52±0.12 ^j	0.90
PAKUUY	B	B
PAK1	61.37±4.43 ^b	0.94
Oksipeusedanin (PAK1)	B	B
PAK2	148.45±3.10 ^e	0.81
Ostol (PAK2)	B	B
PAK3	170.63±0.82 ^h	0.86
PAK4	120.61±0.56 ^c	0.90
PAK44	276.59±2.62 ^k	0.92
PAK5	125.30±0.60 ^c	0.94
PAK6	133.45±2.57 ^d	0.87
PAK62	268.72±2.41 ^j	0.95
PAK7	154.79±1.22 ^{ef}	0.91
PAK8	168.89±0.00 ^{gh}	0.83
PAK9	154.74±0.99 ^{ef}	0.86
PAK93	B	B
PAK94	221.63±5.17 ⁱ	0.91
Sükroz (PAK9)	47.75±0.05 ^a	0.94
PAK10	161.07±0.44 ^{fg}	0.79
BHA	121.43±0.08 ^c	0.68
TBHQ	312.65±0.09 ^l	0.83
E vitamini	452.77±1.60 ^m	0.84

($p < 0.05$), B: Belirlenemedi.

Toplam antioksidan aktivite çalışmasından elde edilen üç tekrarlı analizlerin sonuçlarına ait her bir parametre $\pm$ standart sapma değerleriyle ifade edildi. Bu veriler IBM Statistical Package for Social Studies (SPSS) 20.0 programında analiz edildi. Analiz ortalamaları arasındaki ikiden çok bağımsız grup ortalamaları ve veriler normal dağılımlı varyanslar homojen olduğundan ANOVA kullanıldı. Elde edilen verilerin doğrultusunda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD^{a,b} kullanıldı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, *P. aricakensis* kök ekstraktının, uçucu yağının, fraksiyonlarının, alt fraksiyonlarının, izolatlarının ve standart maddelerin toplam

antioksidan aktivitesi ($A_{0.5}$) ortalama değerleri a ile m arasında harflendirilmiştir. “a” en dūřuk ortalamayı, “m” ise en yūksek ortalamayı belirtmektedir. Aktivite sonuçları arasında farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık vardır ($p<0.05$). Örnekler ve standartlar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; “a”, “b” gibi farklı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark varken “ab”, “bc” gibi aynı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark yoktur ($p<0.05$).

Toplam antioksidan aktivitesi incelendięinde PAK1 (61.37 ± 4.43 $\mu\text{g/mL}$), PAK2 (148.45 ± 3.10 $\mu\text{g/mL}$) ve PAK9 (154.74 ± 0.99 $\mu\text{g/mL}$) fraksiyonları genel olarak standartlardan daha yūksek aktivite göstermektedir. Bunların dıřında PAK5 (125.30 ± 0.60 $\mu\text{g/mL}$) ve PAK6 (133.45 ± 2.57 $\mu\text{g/mL}$) fraksiyonları standartlardan ve dięer fraksiyonlardan daha yūksek aktivite göstermiřtir. Fraksiyonlardan alt fraksiyonlara gidildikçe aktivitenin azaldıęı grūlmūřtur.

Biyoaktivite yönlendirmeli izolasyona göre PAK1 (61.37 ± 4.43 $\mu\text{g/mL}$) fraksiyonundan izole edilen oksipeusedanin ve PAK2 (148.45 ± 3.10 $\mu\text{g/mL}$) fraksiyonundan izole edilen ostol molekūlleri izole edildięi fraksiyonlardan da daha dūřuk aktivite göstermektedir. Fraksiyonların aktivitelerinin izole edilen molekūllerden yūksek olmasının nedeni fraksiyonlarda bulunan farklı molekūllerin sinerjik etki göstermesinden kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca PAK9 (154.74 ± 0.99 $\mu\text{g/mL}$) fraksiyonundan izole edilen sūkroz (47.75 ± 0.05 $\mu\text{g/mL}$) molekūlū izole edildięi fraksiyondan da daha yūksek aktivite göstermektedir. Fraksiyonun aktivitelerinin izole edilen molekūlden dūřuk olmasının nedeni fraksiyonda bulunan farklı molekūllerin antagonistik etki göstermesinden kaynaklanıyor olabilir (Tablo 4.15.).

Tablo 4.16. PAS ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların toplam antioksidan aktivite sonuçları

Örnekler	Aktivite, A _{0.5} (µg/mL)	R ²
PAS	287.92±2.59 ^g	0.92
PASUY	394.90±0.21 ^l	0.84
PAS1	555.19±3.94 ⁿ	0.58
PAS2	212.50±1.55 ^e	0.92
PAS3	120.21±0.07 ^b	0.90
PAS4	169.53±1.80 ^d	0.86
PAS41	B	B
PAS42	354.77±8.27 ^j	0.88
Daukosterol (PAS4)	34.69±0.22 ^a	0.96
PAS5	141.94±1.53 ^c	0.87
PAS6	223.14±1.25 ^e	0.81
PAS61	380.54±8.85 ^k	0.88
PAS62	B	B
PAS63	222.28±0.34 ^e	0.84
PAS7	328.01±2.28 ⁱ	0.81
PAS72	302.64±1.85 ^h	0.91
PAS73	272.32±4.43 ^f	0.86
BHA	121.43±0.08 ^b	0.68
TBHQ	312.65±0.09 ^h	0.83
E vitamini	452.77±1.60 ^m	0.84

($p < 0.05$), B: Belirlenemedi.

Toplam antioksidan aktivite çalışmasından elde edilen üç tekrarlı analizlerin sonuçlarına ait her bir parametre $\pm$ standart sapma değerleriyle ifade edildi. Bu veriler IBM Statistical Package for Social Studies (SPSS) 20.0 programında analiz edildi. Analiz ortalamaları arasındaki ikiden çok bağımsız grup ortalamaları ve veriler normal dağılımlı varyanslar homojen olduğundan ANOVA kullanıldı. Elde edilen verilerin doğrultusunda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD^{a,b} kullanıldı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, *P. aricakensis* sap ekstraktının, uçucu yağının, fraksiyonlarının, alt fraksiyonlarının, izolatının ve standart maddelerin toplam antioksidan aktivitesi (A_{0.5}) ortalama değerleri a ile n arasında harflendirilmiştir. “a” en düşük ortalamayı, “n” ise en yüksek ortalamayı belirtmektedir. Aktivite sonuçları arasında farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık vardır

($p<0.05$). Örnekler ve standartlar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; “a”, “b” gibi farklı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark varken “ab”, “bc” gibi aynı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark yoktur ($p<0.05$).

Toplam antioksidan aktivitesi incelendiğinde PAS4 (169.53 ± 1.80 µg/mL) fraksiyonu genel olarak standartlardan daha yüksek aktivite göstermektedir. Bunların dışında PAS3 (120.21 ± 0.07 µg/mL) fraksiyonu standartlardan ve diğer fraksiyonlardan daha yüksek aktivite göstermiştir. Fraksiyonlardan alt fraksiyonlara gidildikçe aktivitenin azaldığı görülmüştür.

Biyoaktivite yönlendirmeli izolasyona göre PAS4 (169.53 ± 1.80 µg/mL) fraksiyonundan izole edilen daukosterol molekülü (34.69 ± 0.22 µg/mL) izole edildiği fraksiyondan da daha yüksek aktivite göstermektedir. Fraksiyonun aktivitesinin izole edilen molekülden düşük olmasının nedeni fraksiyonda bulunan farklı moleküllerin antagonistik etki göstermesinden kaynaklanıyor olabilir (Tablo 4.16.).

Doğal kaynaklardaki ve bunların ürünlerindeki toplam antioksidan kapasitesi, sinerjik etki, negatif etki ve aditif etkiden kaynaklandığı düşünülmektedir (Cirico ve Omaye, 2006; Philpott vd, 2004; Pinelo vd, 2004).

Bahadori vd (2017), *P. gaubae*, bitkisinin metanolik ekstraktının fosfomolibidyum metodu kullanılarak yapılan aktivite tayininde 1.47 ± 0.06 mmol troloks eşdeğeri (TE)/g kuru bitki bulmuşlardır.

Zengin vd (2020), *P. ferulacea* ve *P. peucedanifolia* bitkilerinin metanolik ekstraktları için mmol TE/g kuru bitki cinsinden sırasıyla, 1.80 ± 0.19 ve 2.17 ± 0.15 olarak belirlemişlerdir.

4.5.1.2. DPPH[•] Giderme Aktivitesi

Örneklerin DPPH[•] giderme aktivite değerleri absorbans verilerinden hesaplanarak (IC₅₀) tayin edilmiş ve Tablo 4.17. ile 4.20. arasında gösterilmiştir.

Tablo 4.17. PAY ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların DPPH giderme aktivite sonuçları

Örnekler	Aktivite, IC ₅₀ (µg/mL)	R ²
PAY	91.76±3.11 ^o	0.82
PAYUY	2.12±0.84 ^a	0.70
PAY1	B	B
PAY2	21.17±4.75 ^{fgh}	0.67
PAY3	17.01±0.80 ^{defg}	0.93
PAY4	B	B
PAY5	20.76±0.29 ^{efgh}	0.96
PAY51	30.81±3.26 ^{ijk}	0.78
PAY53	9.88±1.62 ^{abcd}	0.77
PAY54	B	B
PAY6	33.66±1.36 ^{jkl}	0.94
PAY63	B	0.66
PAY7	26.19±1.60 ^{hij}	0.97
PAY71	10.03±5.63 ^{abcd}	0.85
PAY73	4.92±0.41 ^{ab}	0.74
PAY8	24.26±1.09 ^{ghi}	0.86
PAY82	B	B
PAY83	9.07±3.83 ^{abcd}	0.93
PAY84	11.69±1.71 ^{bcde}	0.97
<i>trans</i> -sinamik asit (PAY84)	16.36±2.10 ^{cdefg}	0.88
PAY9	22.97±0.19 ^{fghi}	0.62
PAY10	39.38±3.94 ^{kl}	0.88
PAY102	14.06±0.46 ^{cdef}	0.91
PAY11	30.96±0.28 ^{ijk}	0.99
PAY12	28.08±1.07 ^{hij}	0.93
Rutin (PAY121)	7.82±2.97 ^{abc}	0.94
PAY13	41.13±0.42 ^l	0.93
PAY14	51.12±0.07 ^m	0.86
PAY15	74.73±2.08 ⁿ	0.96
BHA	14.96±0.46 ^{cdef}	0.99
TBHQ	28.39±3.67 ^{hij}	0.91
E vitamini	14.36±1.81 ^{cdef}	0.89

(*p* < 0.05), B: Belirlenemedi.

DPPH' giderme aktivite çalışmasından elde edilen üç tekrarlı analizlerin sonuçlarına ait her bir parametre $\pm$ standart sapma değerleriyle ifade edildi. Bu veriler IBM Statistical Package for Social Studies (SPSS) 20.0 programında analiz edildi. Analiz ortalamaları arasındaki ikiden çok bağımsız grup ortalamaları ve veriler normal dağılımlı varyanslar homojen olduğundan ANOVA kullanıldı. Elde edilen verilerin doğrultusunda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD^{a,b} kullanıldı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, *P. aricakensis* yaprak ekstraktının, uçucu yağının, fraksiyonlarının, alt fraksiyonlarının, izolatlarının ve standart maddelerin DPPH' giderme aktivitesi (IC₅₀) ortalama değerleri a ile o arasında harflendirilmiştir. "a" en düşük ortalamayı, "o" ise en yüksek ortalamayı belirtmektedir. Aktivite sonuçları arasında farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık vardır ($p < 0.05$). Örnekler ve standartlar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; "a", "b" gibi farklı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark varken "ab", "bc" gibi aynı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark yoktur ($p < 0.05$).

DPPH' giderme aktivitesi incelendiğinde PAY84 (11.69 $\pm$ 1.71 μ g/mL) ve PAY12 (28.08 $\pm$ 1.07 μ g/mL) fraksiyonları genel olarak standartlardan daha yüksek aktivite göstermektedir. Bunların dışında PAYUY (2.12 $\pm$ 0.84 μ g/mL), PAY73 (4.92 $\pm$ 0.41 μ g/mL), PAY83 (9.07 $\pm$ 3.83 μ g/mL) ve PAY53 (9.88 $\pm$ 1.62 μ g/mL) fraksiyonları standartlardan ve diğer fraksiyonlardan daha yüksek aktivite göstermiştir. Fraksiyonlardan alt fraksiyonlara gidildikçe aktivitenin azaldığı görülmüştür.

DPPH' giderme aktivitesinde, biyoaktivite yönlendirmeli izolasyona göre PAY84 (11.69 $\pm$ 1.71 μ g/mL) fraksiyonundan izole edilen *trans*-sinamik asit (16.36 $\pm$ 2.10 μ g/mL) molekülü izole edildiğinde fraksiyondan daha düşük ve PAY12 (28.08 $\pm$ 1.07 μ g/mL) fraksiyonundan izole edilen rutin (7.82 $\pm$ 2.97 μ g/mL) molekülleri izole edildiği fraksiyondan da daha yüksek aktivite göstermektedir. PAY84 fraksiyonunun aktivitesinin izole edilen molekülden yüksek olmasının nedeni fraksiyonda bulunan farklı moleküllerin sinerjik etki göstermesi olabilir iken PAY12 fraksiyonunun aktivitesinin izole edilen molekülden düşük olmasının nedeni fraksiyonda bulunan farklı moleküllerin antagonistik etki göstermesinden kaynaklanıyor olabilir (Tablo 4.17.).

Tablo 4.18. PAM ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar ve alt fraksiyonların DPPH' giderme aktivite sonuçları

Örnekler	Aktivite, IC ₅₀ (µg/mL)	R ²
PAM	59.53±3.62 ^h	0.93
PAMUY	3.55±1.54 ^a	0.40
PAM1	B	B
PAM2	86.66±0.06 ⁱ	0.88
PAM3	31.52±3.37 ^{defg}	0.99
PAM34	22.42±1.85 ^{bcd}	0.92
PAM4	41.48±6.16 ^g	0.98
PAM5	34.25±2.16 ^{efg}	0.97
PAM6	26.85±0.65 ^{cde}	0.90
PAM61	16.91±0.65 ^{bc}	0.93
PAM62	61.50±4.86 ^h	0.85
PAM7	40.45±4.14 ^{fg}	0.98
PAM8	33.22±0.68 ^{efg}	0.98
PAM82	175.23±2.21 ^j	0.95
PAM83	35.73±2.10 ^{efg}	0.60
PAM9	41.08±0.90 ^g	0.94
PAM91	55.87±0.82 ^h	0.86
PAM10	30.19±0.75 ^{def}	0.86
BHA	14.96±0.46 ^b	0.99
TBHQ	28.39±3.67 ^{de}	0.91
E vitamini	14.36±1.81 ^b	0.89

($p < 0.05$), B: Belirlenemedi.

DPPH' giderme aktivite çalışmasından elde edilen üç tekrarlı analizlerin sonuçlarına ait her bir parametre $\pm$ standart sapma değerleriyle ifade edildi. Bu veriler IBM Statistical Package for Social Studies (SPSS) 20.0 programında analiz edildi. Analiz ortalamaları arasındaki ikiden çok bağımsız grup ortalamaları ve veriler normal dağılımlı varyanslar homojen olduğundan ANOVA kullanıldı. Elde edilen verilerin doğrultusunda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD^{a,b} kullanıldı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, *P. aricakensis* meyve ekstraktının, uçucu yağının, fraksiyonlarının, alt fraksiyonlarının ve standart maddelerin DPPH' giderme aktivitesi (IC₅₀) ortalama değerleri a ile j arasında harflendirilmiştir. “a” en düşük ortalamayı, “j” ise en yüksek ortalamayı belirtmektedir. Aktivite sonuçları arasında

farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık vardır ($p<0.05$). Örnekler ve standartlar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; “a”, “b” gibi farklı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark varken “ab”, “bc” gibi aynı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark yoktur ($p<0.05$).

Meyve kısmında en etkili DPPH giderme aktivitesi gösteren örnekler PAMUY ($3.55\pm1.54 \mu\text{g/mL}$), PAM61 ($16.91\pm0.65 \mu\text{g/mL}$) ve PAM34 ($22.42\pm1.85 \mu\text{g/mL}$) olurken PAMUY’nun standartlardan daha etkin olduğu görülmüştür (Tablo 4.18).

Tablo 4.19. PAK ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların DPPH giderme aktivite sonuçları

Örnekler	Aktivite, IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	R ²
PAK	177.62 ± 1.43^j	0.94
PAKUY	3.09 ± 0.14^a	0.85
PAK1	67.21 ± 3.39^h	0.96
Oksipeusedanin (PAK1)	2.19 ± 0.38^a	0.86
PAK2	45.25 ± 2.47^g	0.94
Ostol (PAK2)	4.57 ± 1.28^a	0.87
PAK3	39.65 ± 3.41^{efg}	0.88
PAK4	36.33 ± 2.67^{def}	0.94
PAK44	90.03 ± 2.31^i	0.86
PAK5	39.56 ± 0.83^{efg}	0.92
PAK6	31.75 ± 0.19^{cd}	0.99
PAK62	29.18 ± 1.36^{cd}	0.93
PAK7	42.32 ± 0.84^{fg}	0.90
PAK8	33.70 ± 0.31^{cde}	0.96
PAK9	41.76 ± 0.73^{fg}	0.91
PAK93	B	B
PAK94	20.72 ± 0.23^b	0.85
Sükroz (PAK9)	18.57 ± 0.06^b	0.62
PAK10	29.50 ± 1.81^{cd}	0.94
BHA	14.96 ± 0.46^b	0.99
TBHQ	28.39 ± 3.67^c	0.91
E vitamini	14.36 ± 1.81^b	0.89

($p < 0.05$), B: Belirlenemedi.

DPPH· giderme aktivite çalışmasından elde edilen üç tekrarlı analizlerin sonuçlarına ait her bir parametre $\pm$ standart sapma değerleriyle ifade edildi. Bu veriler IBM Statistical Package for Social Studies (SPSS) 20.0 programında analiz edildi. Analiz ortalamaları arasındaki ikiden çok bağımsız grup ortalamaları ve veriler normal dağılımlı varyanslar homojen olduğundan ANOVA kullanıldı. Elde edilen verilerin doğrultusunda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD^{a,b} kullanıldı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, *P. aricakensis* kök ekstraktının, uçucu yağının, fraksiyonlarının, alt fraksiyonlarının, izolatlarının ve standart maddelerin DPPH· giderme aktivitesi (IC₅₀) ortalama değerleri a ile j arasında harflendirilmiştir. “a” en düşük ortalamayı, “j” ise en yüksek ortalamayı belirtmektedir. Aktivite sonuçları arasında farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık vardır ($p<0.05$). Örnekler ve standartlar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; “a”, “b” gibi farklı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark varken “ab”, “bc” gibi aynı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark yoktur ($p<0.05$).

DPPH· giderme aktivitesi incelendiğinde PAK1 (67.21 $\pm$ 3.39 μ g/mL), PAK2 (45.25 $\pm$ 2.47 μ g/mL) ve PAK9 (41.76 $\pm$ 0.73 μ g/mL) fraksiyonları genel olarak standartlardan daha düşük aktivite göstermektedir. Bunların dışında PAKUY (3.09 $\pm$ 0.14 μ g/mL) ve PAK94 (20.72 $\pm$ 0.23 μ g/mL) fraksiyonları standartlardan ve diğer fraksiyonlardan daha yüksek aktivite göstermiştir. Fraksiyonlardan alt fraksiyonlara gidildikçe aktivitenin azaldığı görülmüştür.

Biyoaktivite yönlendirmeli izolasyona göre PAK1 (67.21 $\pm$ 3.39 μ g/mL) fraksiyonundan izole edilen oksipeusedanin (2.19 $\pm$ 0.38 μ g/mL) ve PAK2 (45.25 $\pm$ 2.47 μ g/mL) fraksiyonundan izole edilen ostol (4.57 $\pm$ 1.28 μ g/mL) ve PAK9 (41.76 $\pm$ 0.73 μ g/mL) fraksiyonundan izole edilen sükroz molekülleri (18.57 $\pm$ 0.06 μ g/mL) izole edildiği fraksiyondan da daha yüksek aktivite göstermektedir. Fraksiyonun aktivitelerinin izole edilen molekülden düşük olmasının nedeni fraksiyonda bulunan farklı moleküllerin antagonistik etki göstermesinden kaynaklanıyor olabilir (Tablo 4.19.).

Tablo 4.20. PAS ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların DPPH giderme aktivite sonuçları

Örnekler	Aktivite, IC ₅₀ (µg/mL)	R ²
PAS	241.00±1.14 ⁱ	0.90
PASUY	22.03±3.08 ^{cd}	0.67
PAS1	56.02±2.97 ^h	0.97
PAS2	36.62±1.73 ^{ef}	0.85
PAS3	29.97±0.17 ^{de}	0.95
PAS4	35.43±1.41 ^{ef}	0.92
PAS41	11.08±0.09 ^{ab}	0.78
PAS42	29.44±1.10 ^{de}	0.93
Daukosterol (PAS4)	2.92±0.29 ^a	0.91
PAS5	29.90±0.95 ^{de}	0.96
PAS6	28.26±0.69 ^{de}	0.93
PAS61	43.14±3.81 ^{fg}	0.85
PAS62	50.87±2.57 ^{gh}	0.83
PAS63	17.48±0.67 ^{bc}	0.79
PAS7	30.58±1.08 ^{de}	0.86
PAS72	22.76±1.82 ^{cd}	0.75
PAS73	44.01±4.52 ^{fg}	0.91
BHA	14.96±0.46 ^{bc}	0.99
TBHQ	28.39±3.67 ^{de}	0.91
E vitamini	14.36±1.81 ^{bc}	0.89

(*p* < 0.05).

DPPH giderme aktivite çalışmasından elde edilen üç tekrarlı analizlerin sonuçlarına ait her bir parametre ± standart sapma değerleriyle ifade edildi. Bu veriler IBM Statistical Package for Social Studies (SPSS) 20.0 programında analiz edildi. Analiz ortalamaları arasındaki ikiden çok bağımsız grup ortalamaları ve veriler normal dağılımlı varyanslar homojen olduğundan ANOVA kullanıldı. Elde edilen verilerin doğrultusunda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD^{a,b} kullanıldı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, *P. aricakensis* sap ekstraktının, uçucu yağının, fraksiyonlarının, alt fraksiyonlarının, izolatının ve standart maddelerin DPPH giderme aktivitesi (IC₅₀) ortalama değerleri a ile i arasında harflendirilmiştir. “a” en düşük ortalamayı, “i” ise en yüksek ortalamayı belirtmektedir. Aktivite sonuçları arasında farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık vardır

($p<0.05$). Örnekler ve standartlar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; “a”, “b” gibi farklı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark varken “ab”, “bc” gibi aynı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark yoktur ($p<0.05$).

DPPH giderme aktivitesi incelendiğinde PAS4 (35.43 ± 1.41 µg/mL) fraksiyonu genel olarak standartlardan daha düşük aktivite göstermektedir. Bunların dışında PAS41 (11.08 ± 0.09 µg/mL), PAS63 (17.48 ± 0.67 µg/mL), PASUY (22.03 ± 3.08 µg/mL) ve PAS72 (22.76 ± 1.82 µg/mL) fraksiyonları standartlardan ve diğer fraksiyonlardan daha yüksek aktivite göstermiştir. Fraksiyonlardan alt fraksiyonlara gidildikçe aktivitenin azaldığı görülmüştür.

Biyoaktivite yönlendirmeli izolasyona göre PAS4 (35.43 ± 1.41 µg/mL) fraksiyonundan izole edilen daukosterol molekülü (2.92 ± 0.29 µg/mL) izole edildiği fraksiyondan da daha yüksek aktivite göstermektedir. Fraksiyonun aktivitesinin izole edilen molekülden düşük olmasının nedeni fraksiyonda bulunan farklı moleküllerin antagonistik etki göstermesinden kaynaklanıyor olabilir (Tablo 4.20.).

Antioksidan bileşiklerin sinerjik etkileri bulunmaktadır (Cirico ve Omaye, 2006). Pedrielli ve Skibsted (2002), iki farklı antioksidanın birlikte kullanılmasının daha uzun sinerjik etkilerini gözlemleyerek çalışmanın sonuçlarını desteklemektedir.

Dagdelen vd (2014b), *P. ferulacea* bitkisinin metanolik ekstraktı için 15.0 ± 0.00 mg TE/g kuru bitki hesaplamışlardır.

Oke-Altuntas vd (2015), *P. denticulata* bitkisinin metanolik meyve ve yaprak ekstraktları için IC_{50} değerleri mg/mL cinsinden sırasıyla 0.132 ± 0.003 , 0.058 ± 0.001 ve *P. heyniae* bitkisinin metanolik meyve ve yaprak ekstraktları sırasıyla 0.127 ± 0.005 , 0.099 ± 0.005 olarak bulunmuştur.

Oke Altuntas vd (2016), *P. meliocarpoides* var. *meliocarpoides* bitkisinin metanolik meyve ekstraktı için IC_{50} değeri 0.088 ± 0.001 mg/mL bulunmuştur.

Bahadori vd (2017), *P. gaubae* bitkisinin metanolik ekstraktında 0.47 ± 0.01 mmol TE/g kuru bitki hesaplanmıştır.

Zengin vd (2020), *P. ferulacea* ve *P. peucedanifolia* bitkilerinin metanolik ekstraktları için sırasıyla 66.02 ± 0.91 ve 81.53 ± 1.16 mg TE/g ekstrakt bulunmuştur.

Bu sonuçlar *P. aricakensis* ile karşılaştırıldığında PAM ekstraktının, meyve ekstraktlarına göre daha etkili olduğu görülmektedir.

4.5.1.3. ABTS^{•+} Giderme Aktivitesi

Örneklerin ABTS^{•+} giderme aktivite değerleri deney sonucunda ölçülen absorbans verilerinden hesaplanarak (IC₅₀) tayin edilmiş ve Tablo 4.21. ile 4.24. arasında gösterilmiştir.

Tablo 4.21. PAY ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların ABTS^{•+} giderme aktivite sonuçları

Örnekler	Aktivite, IC ₅₀ (µg/mL)	R ²
PAY	47.20±2.00 ^{ghijk}	0.79
PAYUY	32.78±1.26 ^{bcdef}	0.88
PAY1	27.32±2.98 ^{abcde}	0.84
PAY2	33.28±4.69 ^{bcdefg}	0.92
PAY3	28.04±0.88 ^{abcde}	0.93
PAY4	66.41±8.59 ^{mn}	0.73
PAY5	34.40±4.42 ^{bcdefg}	0.95
PAY51	116.09±3.42 ^o	0.82
PAY53	57.41±3.43 ^{klm}	0.87
PAY54	54.97±5.20 ^{ijklm}	0.95
PAY6	54.30±0.43 ^{ijklm}	0.94
PAY63	23.83±5.29 ^{ab}	0.95
PAY7	37.73±1.60 ^{klm}	0.86
PAY71	56.97±3.36 ^{bcdefgh}	0.87
PAY73	27.78±1.89 ^{abcd}	0.91
PAY8	26.73±1.73 ^{abc}	0.96
PAY82	32.73±6.64 ^{bcdef}	0.84
PAY83	62.74±2.49 ^{lmn}	0.86
PAY84	42.11±4.68 ^{efghij}	0.89
<i>trans</i> -sinamik asit (PAY84)	53.27±3.61 ^{ijklm}	0.77
PAY9	41.29±0.31 ^{defghij}	0.93
PAY10	66.52±4.36 ^{mn}	0.78
PAY102	72.97±1.03 ^h	0.75
PAY11	30.83±1.09 ^{abcde}	0.93
PAY12	40.22±2.86 ^{cdefghi}	0.91
Rutin (PAY121)	18.31±0.45 ^a	0.81
PAY13	46.85±1.88 ^{efghijk}	0.90
PAY14	37.68±1.85 ^{bcdefgh}	0.98
PAY15	50.38±5.01 ^{hijkl}	0.83
BHA	24.27±0.28 ^{ab}	0.97
TBHQ	27.69±0.77 ^{abcd}	0.93
E vitamini	26.56±2.35 ^{abc}	0.90

(*p* < 0.05).

ABTS⁺ giderme aktivite çalışmasından elde edilen üç tekrarlı analizlerin sonuçlarına ait her bir parametre $\pm$ standart sapma değerleriyle ifade edildi. Bu veriler IBM Statistical Package for Social Studies (SPSS) 20.0 programında analiz edildi. Analiz ortalamaları arasındaki ikiden çok bağımsız grup ortalamaları ve veriler normal dağılımlı varyanslar homojen olduğundan ANOVA kullanıldı. Elde edilen verilerin doğrultusunda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD^{a,b} kullanıldı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, *P. aricakensis* yaprak ekstraktının, uçucu yağının, fraksiyonlarının, alt fraksiyonlarının, izolatlarının ve standart maddelerin ABTS⁺ giderme aktivitesi (IC₅₀) ortalama değerleri a ile o arasında harflendirilmiştir. “a” en düşük ortalamayı, “o” ise en yüksek ortalamayı belirtmektedir. Aktivite sonuçları arasında farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık vardır ($p < 0.05$). Örnekler ve standartlar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; “a”, “b” gibi farklı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark varken “ab”, “bc” gibi aynı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark yoktur ($p < 0.05$).

ABTS⁺ giderme aktivitesi incelendiğinde PAY84 (42.11 $\pm$ 4.68 μ g/mL) ve PAY12 (40.22 $\pm$ 2.86 μ g/mL) fraksiyonları genel olarak standartlardan daha düşük aktivite göstermektedir. Bunların dışında PAY63 (23.83 $\pm$ 5.29 μ g/mL), PAY8 (26.73 $\pm$ 1.73 μ g/mL), PAY1 (27.32 $\pm$ 2.98 μ g/mL) ve PAY73 (27.78 $\pm$ 1.89 μ g/mL) fraksiyonları standartlardan ve diğer fraksiyonlardan daha yüksek aktivite göstermiştir. Fraksiyonlardan alt fraksiyonlara gidildikçe aktivitenin azaldığı görülmüştür.

ABTS⁺ giderme aktivitesinde, biyoaktivite yönlendirmeli izolasyona göre PAY84 (42.11 $\pm$ 4.68 μ g/mL) fraksiyonundan izole edilen *trans*-sinamik asit (53.27 $\pm$ 3.61 μ g/mL) molekülü izole edildiğinde fraksiyondan daha düşük ve PAY12 (40.22 $\pm$ 2.86 μ g/mL) fraksiyonundan izole edilen rutin (18.31 $\pm$ 0.45 μ g/mL) molekülleri izole edildiği fraksiyondan da daha yüksek aktivite göstermektedir. PAY84 fraksiyonunun aktivitesinin izole edilen molekülden yüksek olmasının nedeni fraksiyonda bulunan farklı moleküllerin sinerjik etki göstermesi olabilir iken PAY12 fraksiyonunun aktivitesinin izole edilen molekülden düşük olmasının nedeni fraksiyonda bulunan farklı moleküllerin antagonistik etki göstermesinden kaynaklanıyor olabilir (Tablo 4.21.).

Tablo 4.22. PAM ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar ve alt fraksiyonlarının ABTS⁺⁺ giderme aktivite sonuçları

Örnekler	Aktivite, IC ₅₀ (µg/mL)	R ²
PAM	36.70±1.89 ^{def}	0.89
PAMUY	18.64±0.66 ^{ab}	0.76
PAM1	53.47±2.70 ^{gh}	0.95
PAM2	47.52±6.24 ^{fg}	0.97
PAM3	37.25±1.73 ^{def}	0.94
PAM34	64.39±4.30 ^{hi}	0.87
PAM4	43.75±0.36 ^{efg}	0.92
PAM5	34.89±0.60 ^{cde}	0.95
PAM6	24.82±0.40 ^{abc}	0.94
PAM61	29.46±1.64 ^{bcd}	0.84
PAM62	15.94±1.91 ^a	0.76
PAM7	45.85±1.62 ^{efg}	0.85
PAM8	45.60±2.52 ^{efg}	0.86
PAM82	66.81±5.66 ⁱ	0.58
PAM83	124.46±4.17 ^j	0.58
PAM9	37.68±0.39 ^{def}	0.96
PAM91	60.06±4.77 ^{hi}	0.71
PAM10	45.84±0.11 ^{efg}	0.91
BHA	24.27±0.28 ^{abc}	0.97
TBHQ	27.69±0.77 ^{bcd}	0.93
E vitamini	26.56±2.35 ^{abcd}	0.90

(p <0.05).

ABTS⁺⁺ giderme aktivite çalışmasından elde edilen üç tekrarlı analizlerin sonuçlarına ait her bir parametre $\pm$ standart sapma değerleriyle ifade edildi. Bu veriler IBM Statistical Package for Social Studies (SPSS) 20.0 programında analiz edildi. Analiz ortalamaları arasındaki ikiden çok bağımsız grup ortalamaları ve veriler normal dağılımlı varyanslar homojen olduğundan ANOVA kullanıldı. Elde edilen verilerin doğrultusunda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD^{a,b} kullanıldı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, *P. aricakensis* meyve ekstraktının, uçucu yağının, fraksiyonlarının, alt fraksiyonlarının ve standart maddelerin ABTS⁺⁺ giderme aktivitesi (IC₅₀) ortalama değerleri a ile j arasında harflendirilmiştir. “a” en düşük ortalamayı, “j” ise en yüksek ortalamayı belirtmektedir. Aktivite sonuçları

arasında farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık vardır ($p<0.05$). Örnekler ve standartlar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; “a”, “b” gibi farklı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark varken “ab”, “bc” gibi aynı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark yoktur ($p<0.05$).

PAM62 ($15.94\pm1.91 \mu\text{g/mL}$), PAMUY ($18.64\pm0.66 \mu\text{g/mL}$) ve PAM6 ($24.82\pm0.40 \mu\text{g/mL}$) standartlardan daha iyi sonuçlar verirken PAM61 ($29.46\pm1.64 \mu\text{g/mL}$) ve PAM5 ($34.89\pm0.60 \mu\text{g/mL}$)’de etkili gözükmemektedir (Tablo 4.22.).

Tablo 4.23. PAK ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların ABTS⁺⁺ giderme aktivite sonuçları

Örnekler	Aktivite, IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	R ²
PAK	$71.17\pm1.51^{\text{hi}}$	0.74
PAKUY	$16.77\pm4.68^{\text{bc}}$	0.98
PAK1	$59.45\pm5.89^{\text{fgh}}$	0.94
Oksipeusedanin (PAK1)	B	B
PAK2	$38.01\pm2.93^{\text{e}}$	0.88
Ostol (PAK2)	$28.86\pm0.51^{\text{de}}$	0.75
PAK3	$38.25\pm5.05^{\text{e}}$	0.96
PAK4	$34.33\pm0.69^{\text{de}}$	0.94
PAK44	$75.52\pm0.06^{\text{i}}$	0.91
PAK5	$62.77\pm5.54^{\text{gh}}$	0.99
PAK6	$50.29\pm3.44^{\text{f}}$	0.88
PAK62	$6.29\pm0.05^{\text{ab}}$	0.82
PAK7	$28.69\pm0.14^{\text{cde}}$	0.96
PAK8	$36.40\pm0.60^{\text{e}}$	0.96
PAK9	$35.64\pm1.91^{\text{de}}$	0.93
PAK93	$116.06\pm5.27^{\text{j}}$	0.78
PAK94	$38.18\pm1.47^{\text{e}}$	0.84
Sükroz (PAK9)	$52.00\pm3.67^{\text{fg}}$	0.82
PAK10	$32.67\pm0.24^{\text{de}}$	0.86
BHA	$24.27\pm0.28^{\text{cd}}$	0.97
TBHQ	$27.69\pm0.77^{\text{cde}}$	0.93
E vitamini	$26.56\pm2.35^{\text{cde}}$	0.90

($p < 0.05$).

ABTS⁺ giderme aktivite çalışmasından elde edilen üç tekrarlı analizlerin sonuçlarına ait her bir parametre $\pm$ standart sapma değerleriyle ifade edildi. Bu veriler IBM Statistical Package for Social Studies (SPSS) 20.0 programında analiz edildi. Analiz ortalamaları arasındaki ikiden çok bağımsız grup ortalamaları ve veriler normal dağılımlı varyanslar homojen olduğundan ANOVA kullanıldı. Elde edilen verilerin doğrultusunda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD^{a,b} kullanıldı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, *P. aricakensis* kök ekstraktının, uçucu yağının, fraksiyonlarının, alt fraksiyonlarının, izolatlarının ve standart maddelerin ABTS⁺ giderme aktivitesi (IC₅₀) ortalama değerleri a ile j arasında harflendirilmiştir. “a” en düşük ortalamayı, “j” ise en yüksek ortalamayı belirtmektedir. Aktivite sonuçları arasında farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık vardır ($p<0.05$). Örnekler ve standartlar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; “a”, “b” gibi farklı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark varken “ab”, “bc” gibi aynı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark yoktur ($p<0.05$).

ABTS⁺ giderme aktivitesi incelendiğinde PAK1 (59.45 $\pm$ 5.89 μ g/mL), PAK2 (38.01 $\pm$ 2.93 μ g/mL) ve PAK9 (35.64 $\pm$ 1.91 μ g/mL) fraksiyonları genel olarak standartlardan daha düşük aktivite göstermektedir. Bunların dışında PAK62 (6.29 $\pm$ 0.05 μ g/mL), PAKUY (16.77 $\pm$ 4.68 μ g/mL) ve PAK7 (28.69 $\pm$ 0.14 μ g/mL) fraksiyonları standartlardan ve diğer fraksiyonlardan daha yüksek aktivite göstermiştir. Fraksiyonlardan alt fraksiyonlara gidildikçe aktivitenin azaldığı görülmüştür.

Biyoaktivite yönlendirmeli izolasyona göre PAK1 (59.45 $\pm$ 5.89 μ g/mL) fraksiyonundan izole edilen oksipeusedanın molekülünün aktivesi belirlenmemiştir. PAK2 (38.01 $\pm$ 2.93 μ g/mL) fraksiyonundan izole edilen ostol (28.86 $\pm$ 0.51 μ g/mL) molekülü izole edildiği fraksiyondan da daha yüksek aktivite gösterirken PAK9 (35.64 $\pm$ 1.91 μ g/mL) fraksiyonundan izole edilen sükroz molekülü (52.00 $\pm$ 3.67 μ g/mL) izole edildiği fraksiyondan da daha düşük aktivite göstermektedir. PAK2 fraksiyonunun aktivitesinin izole edilen molekülden düşük olmasının nedeni fraksiyonda bulunan farklı moleküllerin antagonistik etki göstermesinden kaynaklanıyor olabilir iken PAK9 fraksiyonunun aktivitesinin izole edilen molekülden daha yüksek olmasının nedeninin ise moleküllerin sinerjik etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Tablo 4.23.).

Tablo 4.24. PAS ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların ABTS⁺⁺ giderme aktivite sonuçları

Örnekler	Aktivite, IC ₅₀ (µg/mL)	R ²
PAS	63.82±0.35 ^{fg}	0.92
PASUY	13.14±0.46 ^a	0.87
PAS1	59.53±5.02 ^f	0.88
PAS2	36.96±1.24 ^{de}	0.93
PAS3	40.22±0.55 ^e	0.95
PAS4	27.20±5.42 ^{bcd}	0.90
PAS41	121.44±4.15 ^h	0.79
PAS42	75.29±1.84 ^g	0.85
Daukosterol (PAS4)	37.24±2.93 ^{de}	0.78
PAS5	32.52±4.13 ^{cde}	0.95
PAS6	32.55±2.09 ^{cde}	0.92
PAS61	137.49±1.14 ⁱ	0.82
PAS62	61.02±0.96 ^f	0.93
PAS63	62.99±4.85 ^f	0.86
PAS7	18.58±1.34 ^{ab}	0.94
PAS72	233.14±4.44 ^j	0.59
PAS73	39.45±0.46 ^e	0.72
BHA	24.27±0.28 ^{abc}	0.97
TBHQ	27.69±0.77 ^{bcd}	0.93
E vitamini	26.56±2.35 ^{bcd}	0.90

(*p* < 0.05).

ABTS⁺⁺ giderme aktivite çalışmasından elde edilen üç tekrarlı analizlerin sonuçlarına ait her bir parametre ± standart sapma değerleriyle ifade edildi. Bu veriler IBM Statistical Package for Social Studies (SPSS) 20.0 programında analiz edildi. Analiz ortalamaları arasındaki ikiden çok bağımsız grup ortalamaları ve veriler normal dağılımlı varyanslar homojen olduğundan ANOVA kullanıldı. Elde edilen verilerin doğrultusunda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD^{a,b} kullanıldı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, *P. aricakensis* sap ekstraktının, uçucu yağının, fraksiyonlarının, alt fraksiyonlarının, izolatının ve standart maddelerin ABTS⁺⁺ giderme aktivitesi (IC₅₀) ortalama değerleri a ile j arasında harflendirilmiştir. “a” en düşük ortalamayı, “j” ise en yüksek ortalamayı belirtmektedir. Aktivite sonuçları arasında farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık vardır

($p < 0.05$). Örnekler ve standartlar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; “a”, “b” gibi farklı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark varken “ab”, “bc” gibi aynı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark yoktur ($p < 0.05$).

ABTS⁺ giderme aktivitesi incelendiğinde PAS4 (27.20 ± 5.42 µg/mL) fraksiyonu genel olarak standartlarla aynı etkiyi göstermektedir. Bunların dışında PASUY (13.14 ± 0.46 µg/mL), PAS7 (18.58 ± 1.34 µg/mL) ve PAS4 (27.20 ± 5.42 µg/mL) fraksiyonları standartlardan ve diğer fraksiyonlardan daha yüksek aktivite göstermiştir. Fraksiyonlardan alt fraksiyonlara gidildikçe aktivitenin azaldığı görülmüştür.

Yapılan fraksiyonlandırma işlemleri incelendiğinde ABTS⁺ giderme aktivitesi açısından PAK (71.17 ± 1.51 µg/mL) < PAK6 (50.29 ± 3.44 µg/mL) < PAK62 (6.29 ± 0.05 µg/mL) olduğu görülmektedir. Kromatografik yöntemlerle ilerlendiği zaman bu şekildeki aktivite artışı yöntemin başarısını ve önemini göstermektedir. Ancak PAK62 fraksiyonundan saf madde elde edilememiştir. Bunun sebebi ise fraksiyonun çok etkili olmasına rağmen içerisinde birçok maddeyi az miktarlarda içermesidir. Dolayısıyla madde saflaştırma işlemi zor olmaktadır. Biyoaktivite yönlendirmeli izolasyona göre PAS4 (27.20 ± 5.42 µg/mL) fraksiyonundan izole edilen daukosterol molekülü (37.24 ± 2.93 µg/mL) izole edildiği fraksiyondan da daha düşük aktivite göstermektedir. Fraksiyonun aktivitesinin izole edilen molekülden yüksek olmasının nedeni fraksiyonda bulunan farklı moleküllerin sinerjik etki göstermesinden kaynaklanıyor olabilir (Tablo 4.24.).

Oksidasyon sürecinde karmaşık bir mekanizma bulunduğundan, aktif maddeler genellikle bağımsız çalışırlar, karıştırıldıklarında ise bitki kimyasallarının kendi arasındaki etkileşimleri insanları hastalıkların kötü etkilerinden korur (Lila, 2004). Yani, antioksidanların sinerjik etki oluşturduğu antioksidan karışımları kullanmak başarılı olabilir (Wang vd, 2015).

Çelik vd (2008), *P. ferulacea* bitkisinin etanolik ekstraktı için 0.04 ± 0.001 mmol TE/g hesaplamışlardır.

Dagdelen vd (2014b), *P. ferulacea* bitkisinin metanolik ekstraktı için 20.9 ± 0.2 mg TE/g bulmuşlardır.

Bahadori vd (2017), *P. gaubae* bitkisinin metanolik ekstraktı için 1.34 ± 0.05 mmol TE/g belirlemişlerdir.

Zengin vd (2020), *P. ferulacea* ve *P. peucedanifolia* bitkilerinin metanolik

ekstraktları için sırasıyla 96.64±4.91 ve 102.70±2.12 mg TE/g ekstrakt olarak bulmuşlardır.

4.5.2. *In vitro* Enzim İnhibisyon Etkileri ve Kinetik Çalışmaları

P. aricakensis ham ekstraktların, uçucu yağların, fraksiyonların, alt fraksiyonların ve izolatların enzim inhibisyon etkileri AChE, BChE, tirozinaz ve üreaz enzimleriyle yapılarak IC₅₀ değerleri hesaplandı. Aktivite tayinlerinde AChE ve BChE için galantamin, tirozinaz için kojik asit ve üreaz için tiyoüre standart enzim inhibitörleri olarak örneklerle karşılaştırıldı. İzolatların AChE, BChE, tirozinaz ve üreaz enzimleriyle kinetik çalışmaları yapıldı.

4.5.2.1. AChE İnhibisyon Etkisi ve Kinetik Çalışmaları

Ham ekstraktların, uçucu yağların, fraksiyonların, alt fraksiyonların ve izolatların AChE inhibisyonu sonuçları PAY, PAM, PAK ve PAS için ayrı ayrı olmak üzere Tablo 4.25. ile 4.28. arasında gösterilmiştir.

Saf maddelerin AChE inhibisyon etkileşimlerinin mekanizmalarının belirlenmesi amacıyla izolatların yer aldığı ve yer almadığı ortamlarda Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.53. ile Şekil 4.62. arasında) ve Tablo 4.29.'da ise AChE ile izolatlar arasındaki etkileşimlere ait V_{maks} , K_m , inhibisyon türü ve K_i değerleri gösterildi.

AChE inhibisyon mekanizmasında rutin molekülü ile etkileşim saptanmadı.

AChE inhibisyon mekanizmasında *trans*-sinamik asit molekülünün etkisi yarışmalı inhibisyon şeklinde belirlendi ve K_i değeri hesaplandı, *trans*-sinamik asit molekülünün farklı konsantrasyonlardaki etkilerine bağlı AChE aktivitelerinin belirlenmesi sonucunda V_{maks} değerinin sabit kaldığı ve K_m değerinin ise arttığı belirlendi. Bu sonuca göre, K_i değerinin belirlenmesinde yarışmalı inhibisyona göre, $K_i = \frac{K_m[I]}{(K_m^i - K_m)}$ formülü kullanıldı ve K_i değeri 2.90 mM olarak hesaplandı.

AChE inhibisyon mekanizmasında oksipeusedanin molekülünün etkisi yarışmalı inhibisyon şeklinde belirlendi ve K_i değeri hesaplandı, oksipeusedanin molekülünün farklı konsantrasyonlardaki etkilerine bağlı AChE aktivitelerinin belirlenmesi sonucunda V_{maks} değerinin sabit kaldığı ve K_m değerinin ise arttığı belirlendi. Bu sonuca göre, K_i değerinin belirlenmesinde yarışmalı inhibisyona göre, $K_i = \frac{K_m[I]}{(K_m^i - K_m)}$ formülü kullanıldı ve K_i değeri 4.21 mM olarak hesaplandı.

AChE inhibisyon mekanizmasında ostol molekülünün etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde belirlendi ve K_i değeri hesaplandı, ostol molekülünün farklı konsantrasyonlardaki etkilerine bağlı AChE aktivitelerinin belirlenmesi sonucunda V_{maks} değerinin azaldığı ve K_m değerinin ise sabit kaldığı belirlendi. Bu sonuca göre, K_i değerinin belirlenmesinde yarışmasız inhibisyona göre, $K_i = \frac{V_{maks}[I]}{(V_{maks} - V_{maks}^i)}$ formülü kullanıldı ve K_i değeri 2.04 mM olarak hesaplandı.

AChE inhibisyon mekanizmasında sükroz molekülünün etkisi yarışmalı inhibisyon şeklinde belirlendi ve K_i değeri hesaplandı, sükroz molekülünün farklı konsantrasyonlardaki etkilerine bağlı AChE aktivitelerinin belirlenmesi sonucunda V_{maks} değerinin sabit kaldığı ve K_m değerinin ise arttığı belirlendi. Bu sonuca göre, K_i değerinin belirlenmesinde yarışmalı inhibisyona göre, $K_i = \frac{K_m[I]}{(K_m^i - K_m)}$ formülü kullanıldı ve K_i değeri 1.54 mM olarak hesaplandı.

AChE inhibisyon mekanizmasında daukosterol molekülünün etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri hesaplandı, daukosterol molekülünün farklı konsantrasyondaki 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 kullanıldı ve K_i değeri 0.38 mM olarak hesaplandı.

Tablo 4.25. PAY ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların AChE inhibisyonu sonuçları

Örnekler	Aktivite, IC ₅₀ (µg/mL)	R ²
PAY	54.67±3.86 ⁱ	0.88
PAYUY	15.25±5.18 ^{def}	0.88
PAY1	17.97±2.23 ^{efg}	0.93
PAY2	10.84±0.31 ^{cde}	0.88
PAY3	23.23±3.36 ^{fg}	0.59
PAY4	5.52±0.33 ^{abc}	0.51
PAY5	3.46±1.29 ^{ab}	0.92
PAY51	7.85±0.33 ^{abcd}	0.88
PAY53	B	B
PAY54	B	B
PAY6	76.50±3.09 ^j	0.71
PAY63	7.93±6.02 ^{abcd}	0.67
PAY7	58.48±4.52 ⁱ	0.89
PAY71	9.67±0.91 ^{bcd}	0.59
PAY73	B	B
PAY8	40.84±4.60 ^h	0.89
PAY82	B	B
PAY83	4.18±2.65 ^{abc}	0.82
PAY84	B	B
<i>trans</i> -sinamik asit (PAY84)	13.49±1.27 ^{def}	0.99
PAY9	3.05±1.78 ^{ab}	0.73
PAY10	15.47±1.74 ^{efg}	0.88
PAY102	80.45±1.42 ^j	0.72
PAY11	4.86±0.59 ^{abc}	0.48
PAY12	13.27±1.00 ^{def}	0.56
Rutin (PAY121)	B	B
PAY13	10.80±1.12 ^{cde}	0.77
PAY14	13.77±1.79 ^{def}	0.74
PAY15	21.88±3.05 ^g	0.97
Galantamin	3.17±1.64 ^{ab}	0.94

(*p* < 0.05), B: Belirlenemedi.

ACHe inhibisyon çalışmasından elde edilen üç tekrarlı analizlerin sonuçlarına ait her bir parametre $\pm$ standart sapma değerleriyle ifade edildi. Bu veriler IBM Statistical Package for Social Studies (SPSS) 20.0 programında analiz edildi. Analiz ortalamaları arasındaki ikiden çok bağımsız grup ortalamaları ve veriler normal dağılımlı varyanslar homojen olduğundan ANOVA kullanıldı. Elde edilen verilerin doğrultusunda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD^{a,b} kullanıldı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, *P. aricakensis* yaprak ekstraktının, uçucu yağının, fraksiyonlarının, alt fraksiyonlarının, izolatlarının ve standart maddenin AChE inhibisyonu (IC₅₀) ortalama değerleri a ile j arasında harflendirilmiştir. “a” en düşük ortalamayı, “j” ise en yüksek ortalamayı belirtmektedir. Aktivite sonuçları arasında farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık vardır ($p < 0.05$). Örnekler ve standartlar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; “a”, “b” gibi farklı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark varken “ab”, “bc” gibi aynı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark yoktur ($p < 0.05$).

ACHe inhibisyonu incelendiğinde PAY84 ve PAY12 (13.27 $\pm$ 1.00 μ g/mL) fraksiyonları genel olarak standartlardan daha düşük aktivite göstermektedir. Bunların dışında PAY9 (3.05 $\pm$ 1.78 μ g/mL), PAY5 (3.46 $\pm$ 1.29 μ g/mL), PAY83 (4.18 $\pm$ 2.65 μ g/mL) ve PAY11 (4.86 $\pm$ 0.59 μ g/mL) fraksiyonları standartlardan ve diğer fraksiyonlardan daha yüksek aktivite göstermiştir. Fraksiyonlardan alt fraksiyonlara gidildikçe aktivitenin azaldığı görülmüştür.

ACHe inhibisyonunda, biyoaktivite yönlendirmeli izolasyona göre PAY84 (13.27 $\pm$ 1.00 μ g/mL) fraksiyonundan izole edilen *trans*-sinamik asit molekülü (13.49 $\pm$ 1.27 μ g/mL) izole edildiğinde fraksiyondan daha yüksek aktivite gösterirken PAY12 (13.27 $\pm$ 1.00 μ g/mL) fraksiyonundan izole edilen rutin molekülünün aktivite göstermediği belirlenmiştir. PAY84 (13.27 $\pm$ 1.00 μ g/mL) fraksiyonun aktivitesinin izole edilen molekülden yüksek olmasının nedeni fraksiyonda bulunan farklı moleküllerin sinerjik etki göstermesinden kaynaklanıyor olabilir (Tablo 4.25.).

Tablo 4.26. PAM ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar ve alt fraksiyonların AChE inhibisyonu sonuçları

Örnekler	Aktivite, IC ₅₀ (µg/mL)	R ²
PAM	70.06±2.86 ^d	0.93
PAMUY	19.96±6.47 ^{abc}	0.91
PAM1	9.54±1.34 ^{abc}	0.94
PAM2	6.22±0.66 ^{ab}	0.71
PAM3	26.28±2.47 ^{bc}	0.39
PAM34	8.57±5.11 ^{ab}	0.68
PAM4	13.21±2.80 ^{abc}	0.93
PAM5	8.26±1.74 ^{ab}	0.79
PAM6	7.82±0.61 ^{ab}	0.72
PAM61	B	B
PAM62	20.09±0.00 ^{abc}	0.46
PAM7	45.15±3.72 ^d	0.75
PAM8	6.79±0.56 ^{ab}	0.75
PAM82	17.31±7.26 ^{abc}	0.66
PAM83	6.92±2.98 ^{ab}	0.68
PAM9	7.63±0.48 ^{ab}	0.67
PAM91	30.30±6.38 ^c	0.89
PAM10	5.85±0.48 ^{ab}	0.99
Galantamin	3.17±1.64 ^a	0.94

(p < 0.05), B: Belirlenemedi.

AChE inhibisyon çalışmasından elde edilen üç tekrarlı analizlerin sonuçlarına ait her bir parametre $\pm$ standart sapma değerleriyle ifade edildi. Bu veriler IBM Statistical Package for Social Studies (SPSS) 20.0 programında analiz edildi. Analiz ortalamaları arasındaki ikiden çok bağımsız grup ortalamaları ve veriler normal dağılımlı varyanslar homojen olduğundan ANOVA kullanıldı. Elde edilen verilerin doğrultusunda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD^{a,b} kullanıldı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, *P. aricakensis* meyve ekstraktının, uçucu yağının, fraksiyonlarının, alt fraksiyonlarının ve standart maddenin AChE inhibisyonu (IC₅₀) ortalama değerleri a ile d arasında harflendirilmiştir. “a” en düşük ortalamayı, “d” ise en yüksek ortalamayı belirtmektedir. Aktivite sonuçları arasında farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık vardır ($p < 0.05$). Örnekler ve standartlar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; “a”, “b” gibi farklı harflerle

harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark varken “ab”, “bc” gibi aynı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark yoktur ($p < 0.05$).

Galantamin standartına en yakın AChE inhibisyonu etkisi gösteren meyve fraksiyonu PAM10 ($5.85 \pm 0.48 \mu\text{g/mL}$) olmuştur (Tablo 4.26.).

Tablo 4.27. PAK ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların AChE inhibisyonu sonuçları

Örnekler	Aktivite, IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	R ²
PAK	38.56 ± 1.73^k	0.93
PAKUY	9.54 ± 1.34^{bcde}	0.69
PAK1	16.75 ± 2.49^{fgh}	0.78
Oksipeusedanin (PAK1)	15.28 ± 1.65^{efg}	0.84
PAK2	16.71 ± 2.59^{fg}	0.86
Ostol (PAK2)	29.96 ± 0.00^{ij}	0.81
PAK3	14.75 ± 1.47^{defg}	0.73
PAK4	6.55 ± 1.09^{bcd}	0.65
PAK44	8.54 ± 3.52^{bcde}	0.53
PAK5	26.45 ± 0.94^i	0.68
PAK6	10.76 ± 1.53^{cdef}	0.65
PAK62	95.66 ± 1.45^l	0.98
PAK7	18.69 ± 1.98^{gh}	0.89
PAK8	34.86 ± 2.46^{jk}	0.95
PAK9	10.17 ± 2.84^{defg}	0.84
PAK93	13.47 ± 4.21^{defg}	0.95
PAK94	4.79 ± 0.23^{abc}	0.72
Sükroz (PAK9)	24.13 ± 0.57^{hi}	0.79
PAK10	28.15 ± 3.14^{ij}	0.94
Galantamin	3.17 ± 1.64^{ab}	0.94

($p < 0.05$).

AChE inhibisyon çalışmasından elde edilen üç tekrarlı analizlerin sonuçlarına ait her bir parametre $\pm$ standart sapma değerleriyle ifade edildi. Bu veriler IBM Statistical Package for Social Studies (SPSS) 20.0 programında analiz edildi. Analiz ortalamaları arasındaki ikiden çok bağımsız grup ortalamaları ve veriler normal dağılımlı varyanslar homojen olduğundan ANOVA kullanıldı. Elde edilen verilerin

doğrultusunda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD^{a,b} kullanıldı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, *P. aricakensis* kök ekstraktının, uçucu yağının, fraksiyonlarının, alt fraksiyonlarının, izolatlarının ve standart maddenin AChE inhibisyonu (IC₅₀) ortalama değerleri a ile l arasında harflendirilmiştir. “a” en düşük ortalama, “l” ise en yüksek ortalama, belirtmektedir. Aktivite sonuçları arasında farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık vardır ($p<0.05$). Örnekler ve standartlar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; “a”, “b” gibi farklı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark varken “ab”, “bc” gibi aynı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark yoktur ($p<0.05$).

AChE inhibisyonu incelendiğinde PAK1 (16.75±2.49 µg/mL), PAK2 (16.71±2.59 µg/mL) ve PAK9 (10.17±2.84 µg/mL) fraksiyonları genel olarak standartlardan daha düşük aktivite göstermektedir. Bunların dışında PAK94 (5.85±0.48 µg/mL), PAK4 (6.55±1.09 µg/mL) ve PAK44 (8.54±3.52 µg/mL) fraksiyonları standartlardan ve diğer fraksiyonlardan daha yüksek aktivite göstermiştir. Fraksiyonlardan alt fraksiyonlara gidildikçe aktivitenin azaldığı görülmüştür.

Biyoaktivite yönlendirmeli izolasyona göre PAK1 (16.75±2.49 µg/mL) fraksiyonundan izole edilen oksipeusedanin molekülü (15.28±1.65 µg/mL) izole edildiği fraksiyondan da daha yüksek aktivite gösterirken, PAK2 (16.71±2.59 µg/mL) fraksiyonundan izole edilen ostol (29.96±0.00 µg/mL) ve PAK9 (10.17±2.84 µg/mL) fraksiyonundan izole edilen sükroz molekülleri (24.13±0.57 µg/mL) izole edildiği fraksiyonlardan da daha düşük aktivite göstermektedir. PAK1 fraksiyonunun aktivitesinin izole edilen molekülden düşük olmasının nedeni fraksiyonda bulunan farklı moleküllerin antagonistik etki göstermesinden kaynaklanıyor olabilir iken PAK2 ve PAK9 fraksiyonlarının aktivitesinin izole edilen moleküllerden daha yüksek olmasının nedeninin ise moleküllerin sinerjik etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Tablo 4.27.).

Tablo 4.28. PAS ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların AChE inhibisyonu sonuçları

Örnekler	Aktivite, IC ₅₀ (µg/mL)	R ²
PAS	18.25±4.05 ^{efg}	0.65
PASUY	5.63±0.60 ^{ab}	0.87
PAS1	28.54±2.02 ^h	0.90
PAS2	12.23±2.04 ^{bcde}	0.92
PAS3	8.21±1.05 ^{abcd}	0.95
PAS4	23.99±2.54 ^{gh}	0.82
PAS41	15.49±3.80 ^{cdef}	0.64
PAS42	1.19±0.33 ^a	0.62
Daukosterol (PAS4)	8.09±1.98 ^{abcd}	0.72
PAS5	23.38±3.53 ^{fgh}	0.85
PAS6	8.38±0.87 ^{abcd}	0.60
PAS61	15.96±4.90 ^{defg}	0.48
PAS62	1.22±0.60 ^a	0.73
PAS63	11.33±1.64 ^{bcde}	0.62
PAS7	9.67±0.91 ^{bcd}	0.82
PAS72	15.91±0.75 ^{defg}	0.69
PAS73	7.21±0.25 ^{abc}	0.62
Galantamin	3.17±1.64 ^{ab}	0.94

(*p* < 0.05).

AChE inhibisyonu incelendiğinde PAS4 (23.99±2.54 µg/mL) fraksiyonu genel olarak standartlardan daha düşük aktivite göstermektedir. Bunların dışında PAS42 (1.19±0.33 µg/mL) ve PAS62 (1.22±0.60 µg/mL) fraksiyonları standartlardan ve diğer fraksiyonlardan daha yüksek aktivite göstermiştir. Fraksiyonlardan alt fraksiyonlara gidildikçe aktivitenin azaldığı görülmüştür.

AChE inhibisyon çalışmasından elde edilen üç tekrarlı analizlerin sonuçlarına ait her bir parametre ± standart sapma değerleriyle ifade edildi. Bu veriler IBM Statistical Package for Social Studies (SPSS) 20.0 programında analiz edildi. Analiz ortalamaları arasındaki ikiden çok bağımsız grup ortalamaları ve veriler normal dağılımlı varyanslar homojen olduğundan ANOVA kullanıldı. Elde edilen verilerin doğrultusunda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD^{a,b} kullanıldı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, *P. aricakensis* sap ekstraktının, uçucu yağının, fraksiyonlarının, alt fraksiyonlarının, izolatının ve standart maddenin AChE inhibisyonu (IC₅₀) ortalama

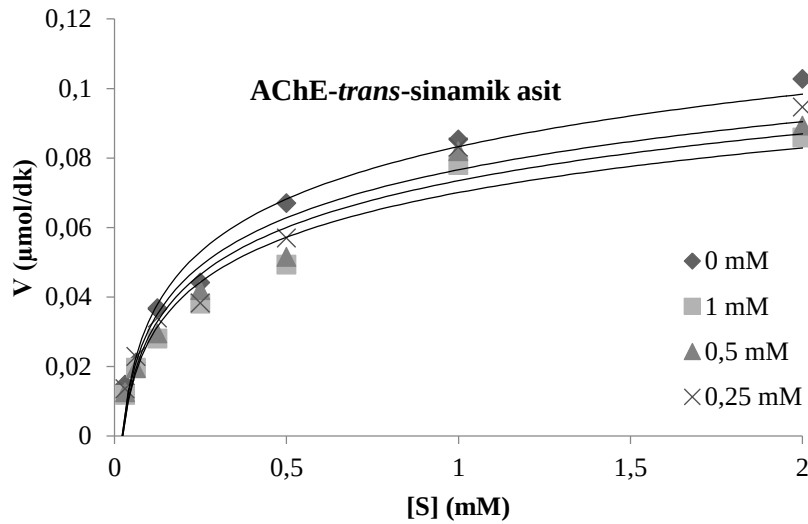
değerleri a ile h arasında harflendirilmiştir. “a” en düşük ortalamayı, “h” ise en yüksek ortalamayı belirtmektedir. Aktivite sonuçları arasında farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık vardır ($p<0.05$). Örnekler ve standartlar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; “a”, “b” gibi farklı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark varken “ab”, “bc” gibi aynı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark yoktur ($p<0.05$).

Biyoaktivite yönlendirmeli izolasyona göre PAS4 ($23.99\pm2.54 \mu\text{g/mL}$) fraksiyonundan izole edilen daukosterol molekülü ($8.09\pm1.98 \mu\text{g/mL}$) izole edildiği fraksiyondan da daha yüksek aktivite göstermektedir. Fraksiyonun aktivitesinin izole edilen molekülden düşük olmasının nedeni fraksiyonda bulunan farklı moleküllerin antagonistik etki göstermesinden kaynaklanıyor olabilir (Tablo 4.28.).

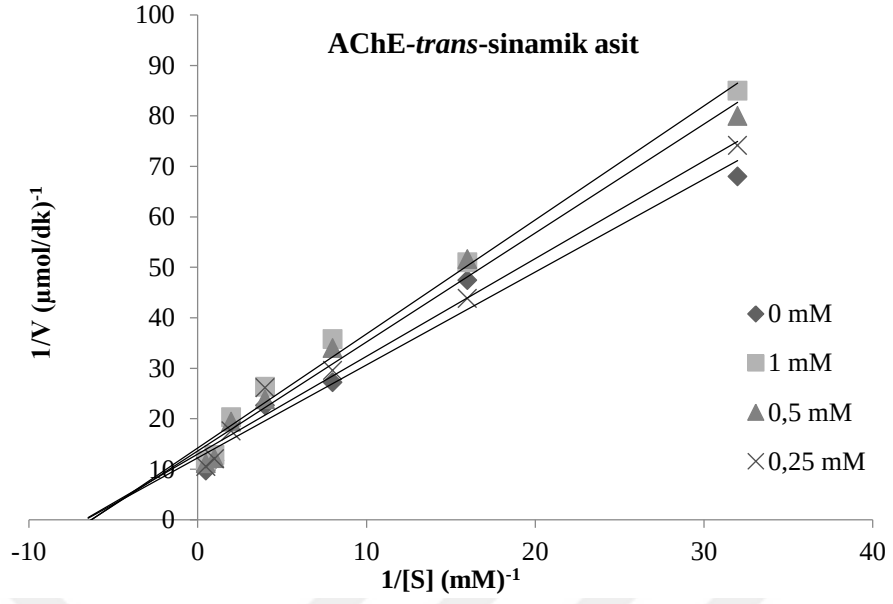
Uzun zamandan beri bitki özleri ve fraksiyonlarında bulunan sinerji, geleneksel tıpta Alzheimer Hastalığı ve ilgili bozukluklara karşı büyük etki ile kullanılmaktadır (Ahmed vd, 2021).

Bahadori vd (2017), *P. gaubae* bitkisinin metanolik ekstraktı için 1.80 ± 0.03 mg galantamin eşdeğeri (GE)/g örnek belirlemişlerdir.

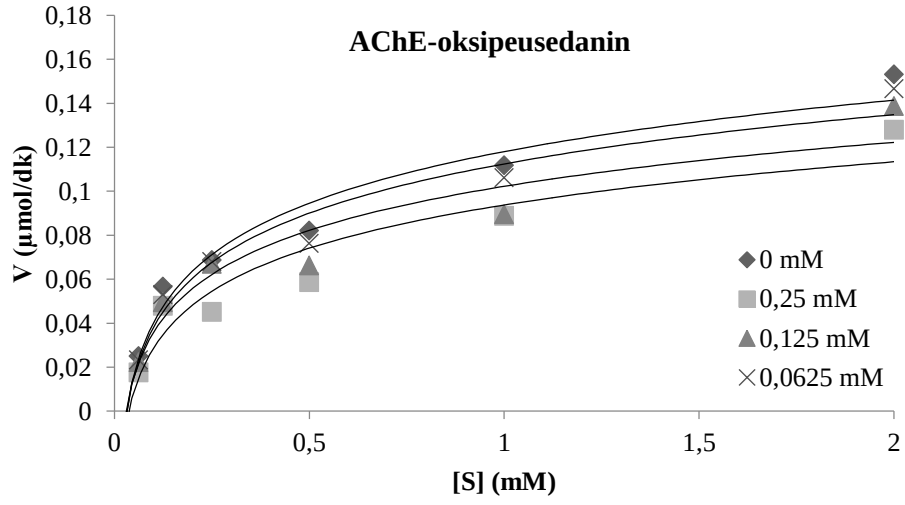
Zengin vd (2020), *P. ferulacea* bitkisinin metanolik ekstraktı için 1.47 ± 0.34 ve *P. peucedanifolia* için ise 4.09 ± 0.16 mg GE/g ekstrakt olarak bulmuşlardır.



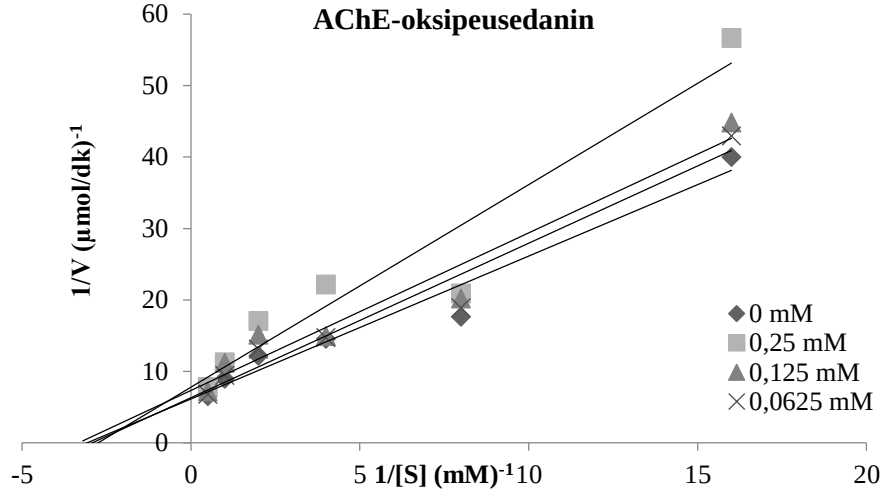
Şekil 4.53. AChE-trans-sinamik asit etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği



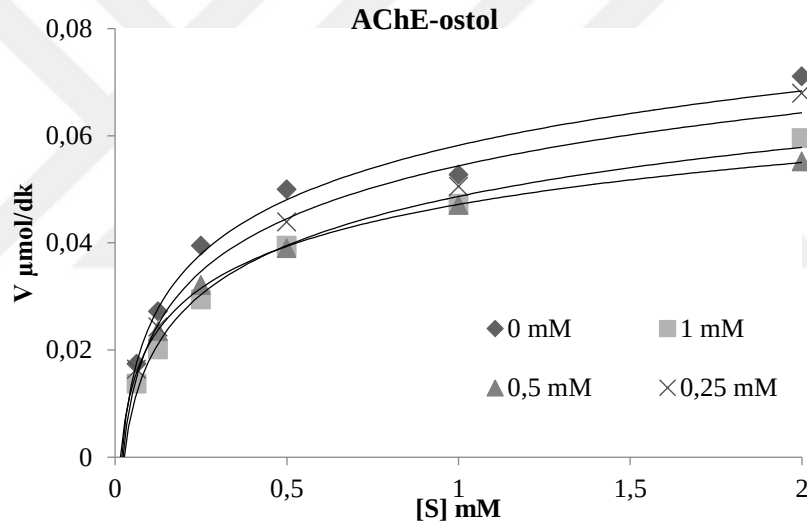
Şekil 4.54. AChE-*trans*-sinamik asit etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği



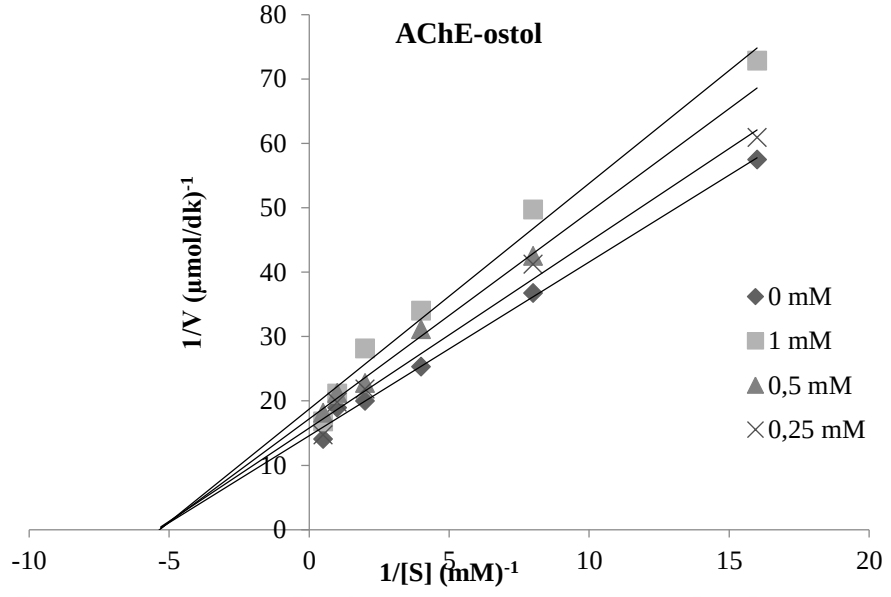
Şekil 4.55. AChE-oksipeusedanin etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği



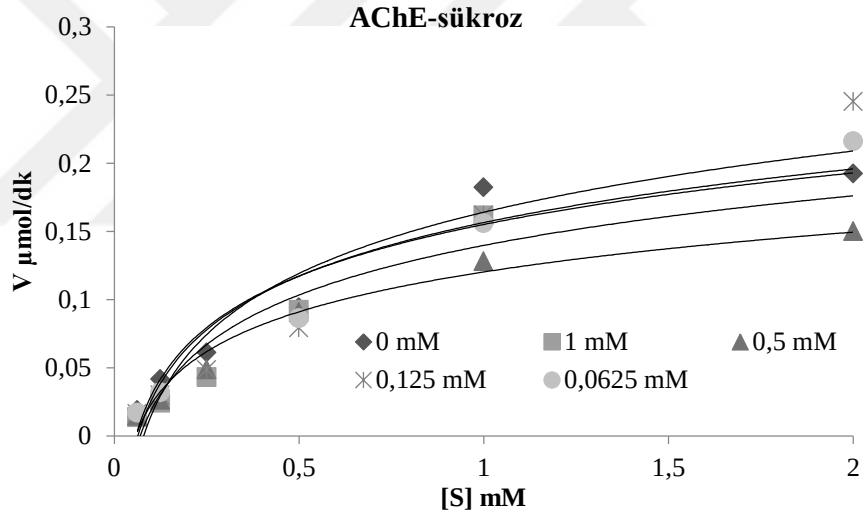
Şekil 4.56. AChE-oksipeusedanin etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği



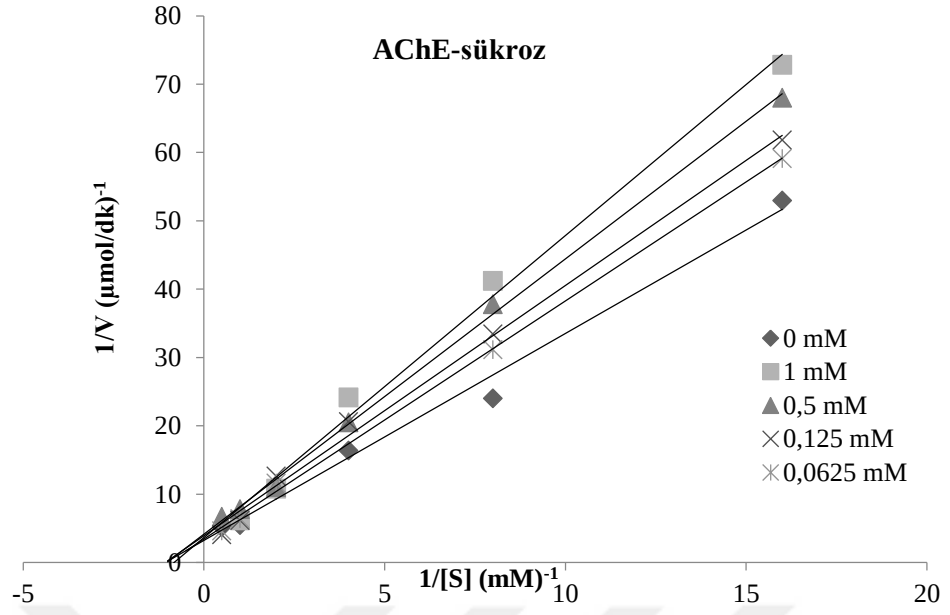
Şekil 4.57. AChE-ostol etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği



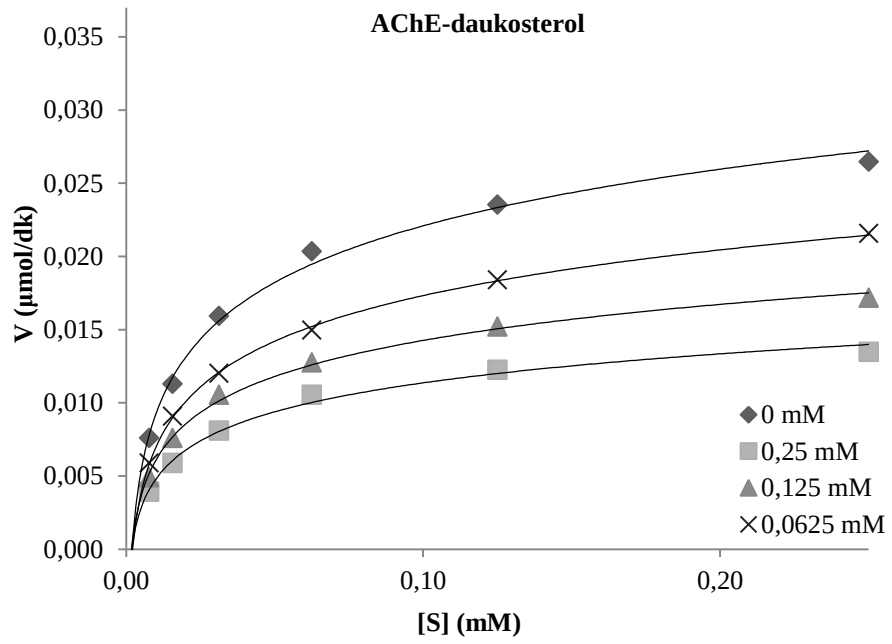
Şekil 4.58. AChE-ostol etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği



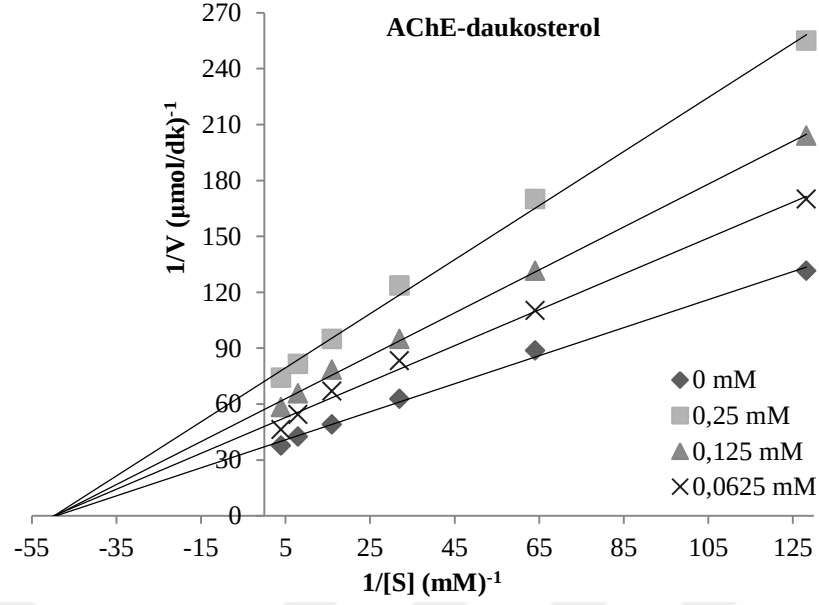
Şekil 4.59. AChE-sükroz etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği



Şekil 4.60. AChE-sükroz etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği



Şekil 4.61. AChE-daukosterol etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği



Şekil 4.62. AChE-daukosterol etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği

Tablo 4.29. AChE ile izolatlar arasındaki etkileşimlere ait V_{maks} , K_m , inhibisyon türü ve K_i değerleri

trans-sinamik asit				
Derişim (mM)	V_{maks} (μmol/dk)	K_m (mM)	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0	0.00075	0.180	Yarışmalı	2.90
0.25	0.00077	0.426		
0.5	0.00103	0.335		
1	0.00121	0.277		
Oksipeusedanin				
Derişim (mM)	V_{maks} (μmol/dk)	K_m (mM)	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0	0.163	0.325	Yarışmalı	4.21
0.0625	0.159	0.343		
0.125	0.136	0.301		
0.25	0.159	0.365		
Ostol				
Derişim (mM)	V_{maks} (μmol/dk)	K_m (mM)	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0	0.068	0.185	Yarışmasız	2.04
0.25	0.063	0.183		
0.5	0.058	0.187		
1	0.053	0.187		
Sükroz				
Derişim (mM)	V_{maks} (μmol/dk)	K_m (mM)	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0	0.311	0.942	Yarışmalı	1.54
0.25	0.256	0.939		
0.5	0.241	0.971		
1	0.274	1.210		
Daukosterol				
Derişim (mM)	V_{maks} (μmol/dk)	K_m (mM)	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0	0.0269	0.0203	Yarışmasız	0.38
0.0625	0.0208	0.0201		
0.125	0.0175	0.0202		
0.25	0.0139	0.0201		

Enzim kinetiği sonuçlarına bakıldığında rutin molekülü ile AChE arasında etkileşim gözlenmemiştir. AChE için en iyi sonucu daukosterol molekülü yarışmasız inhibisyon türü göstererek 0.38 K_i değeri vermiştir. Özellikle rutin molekülü için bilgisayar ortamında moleküler doking tekniğinde enzimin seçilen aktif bölgesi ile etkileşiminde yüksek etki gösterirken kinetik ve inhibisyon çalışmalarında farklı bir bölgeye bağlandığından dolayı düşük etki göstermiş olabilir.

4.5.2.2. BChE İnhibisyon Etkisi ve Kinetik Çalışmaları

Ham ekstraktların, uçucu yağların, fraksiyonların, alt fraksiyonların ve izolatların BChE inhibisyonu sonuçları PAY, PAM, PAK ve PAS için ayrı ayrı olmak üzere Tablo 4.30. ile 4.33. arasında gösterilmiştir.

Saf maddelerin BChE inhibisyon etkileşimlerinin mekanizmalarının belirlenmesi amacıyla izolatların yer aldığı ve yer almadığı ortamlarda Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.63. ile Şekil 4.72. arasında) ve Tablo 4.34.'de ise BChE ile izolatlar arasındaki etkileşimlere ait V_{maks} , K_m , inhibisyon türü ve K_i değerleri gösterildi.

BChE inhibisyon mekanizmasında rutin molekülü ile etkileşim saptanmadı.

BChE inhibisyon mekanizmasında *trans*-sinamik asit molekülünün etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde belirlendi ve K_i değeri hesaplandı, *trans*-sinamik asit molekülünün farklı konsantrasyonlardaki etkilerine bağlı BChE aktivitelerinin belirlenmesi sonucunda V_{maks} değerinin azaldığı ve K_m değerinin ise sabit kaldığı belirlendi. Bu sonuca göre, K_i değerinin belirlenmesinde yarışmasız inhibisyona göre, $K_i = \frac{V_{maks}[I]}{(V_{maks} - V_{maks}^i)}$ formülü kullanıldı ve K_i değeri 2.10 mM olarak hesaplandı.

BChE inhibisyon mekanizmasında oksipeusedanin molekülünün etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde belirlendi ve K_i değeri hesaplandı, oksipeusedanin molekülünün farklı konsantrasyonlardaki etkilerine bağlı BChE aktivitelerinin belirlenmesi sonucunda V_{maks} değerinin azaldığı ve K_m değerinin ise sabit kaldığı belirlendi. Bu sonuca göre, K_i değerinin belirlenmesinde yarışmasız inhibisyona göre, $K_i = \frac{V_{maks}[I]}{(V_{maks} - V_{maks}^i)}$ formülü kullanıldı ve K_i değeri 3.11 mM olarak hesaplandı.

BChE inhibisyon mekanizmasında ostol molekülünün etkisi karışık yarı yarışmalı inhibisyon şeklinde belirlendi ve K_i değeri hesaplandı, ostol molekülünün farklı konsantrasyonlardaki etkilerine bağlı BChE aktivitelerinin belirlenmesi

sonucunda V_{maks} ve K_m değerlerinin değiştiği 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 2.49 mM olarak hesaplandı.

BChE inhibisyon mekanizmasında sükroz molekülünün etkisi yarı yarışmalı inhibisyon şeklinde belirlendi ve K_i değeri hesaplandı, sükroz molekülünün farklı konsantrasyonlardaki etkilerine bağlı BChE aktivitelerinin belirlenmesi sonucunda V_{maks} ve K_m değerlerinin azaldığı 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 3.94 mM olarak hesaplandı.

BChE inhibisyon mekanizmasında daukosterol molekülünün etkisi karışık yarı yarışmalı inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri hesaplandı, daukosterol molekülünün farklı konsantrasyondaki K_m ve V_{maks} değerlerinin değiştiği 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 2.82 mM olarak hesaplandı.

Tablo 4.30. PAY ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların BChE inhibisyonu sonuçları

Örnekler	Aktivite, IC ₅₀ (µg/mL)	R ²
PAY	40.84±2.80 ^j	0.84
PAYUY	6.69±0.00 ^{abcd}	0.84
PAY1	3.25±0.36 ^{abc}	0.97
PAY2	3.70±0.11 ^{abc}	0.85
PAY3	4.38±0.54 ^{abcd}	0.90
PAY4	5.35±0.75 ^{abcd}	0.88
PAY5	7.24±1.56 ^{abcde}	0.72
PAY51	27.83±7.01 ⁱ	0.62
PAY53	5.35±2.88 ^{abcd}	0.83
PAY54	14.42±2.29 ^{defg}	0.75
PAY6	7.36±0.95 ^{abcd}	0.87
PAY63	93.35±4.71 ^l	0.92
PAY7	17.32±1.80 ^{fghi}	0.84
PAY71	B	B
PAY73	19.05±4.45 ^{fghi}	0.85
PAY8	18.02±1.47 ^{efgh}	0.78
PAY82	5.35±1.66 ^{abcd}	0.56
PAY83	11.48±2.81 ^{bcdef}	0.58
PAY84	6.92±4.33 ^{abcd}	0.60
<i>trans</i> -sinamik asit (PAY84)	13.18±1.12 ^{cdef}	0.95
PAY9	14.03±0.75 ^{def}	0.78
PAY10	0.98±0.01 ^a	0.63
PAY102	70.19±4.96 ^k	0.78
PAY11	13.89±1.83 ^{def}	0.95
PAY12	3.10±0.24 ^{ab}	0.83
Rutin (PAY121)	B	B
PAY13	25.33±2.07 ^{hi}	0.95
PAY14	4.97±0.50 ^{abcd}	0.68
PAY15	22.48±2.48 ^{ghi}	0.88
Galantamin	9.88±2.42 ^{abcdef}	0.95

(*p* < 0.05), B: Belirlenemedi.

BChE inhibisyon çalışmasından elde edilen üç tekrarlı analizlerin sonuçlarına ait her bir parametre $\pm$ standart sapma değerleriyle ifade edildi. Bu veriler IBM Statistical Package for Social Studies (SPSS) 20.0 programında analiz edildi. Analiz ortalamaları arasındaki ikiden çok bağımsız grup ortalamaları ve veriler normal dağılımlı varyanslar homojen olduğundan ANOVA kullanıldı. Elde edilen verilerin doğrultusunda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD^{a,b} kullanıldı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, *P. aricakensis* yaprak ekstraktının, uçucu yağının, fraksiyonlarının, alt fraksiyonlarının, izolatlarının ve standart maddenin BChE inhibisyonu (IC₅₀) ortalama değerleri a ile l arasında harflendirilmiştir. “a” en düşük ortalamayı, “l” ise en yüksek ortalamayı belirtmektedir. Aktivite sonuçları arasında farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık vardır ($p < 0.05$). Örnekler ve standartlar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; “a”, “b” gibi farklı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark varken “ab”, “bc” gibi aynı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark yoktur ($p < 0.05$).

BChE inhibisyonu incelendiğinde PAY84 (6.92 ± 4.33 µg/mL) ve PAY12 (3.10 ± 0.24 µg/mL) fraksiyonları genel olarak standartlardan daha yüksek aktivite göstermektedir. Bunların dışında PAY10 fraksiyonu (0.98 ± 0.01 µg/mL) fraksiyonları standartlardan ve diğer fraksiyonlardan daha yüksek aktivite göstermiştir. Fraksiyonlardan alt fraksiyonlara gidildikçe aktivitenin azaldığı görülmüştür.

BChE inhibisyonunda, biyoaktivite yönlendirmeli izolasyona göre PAY84 (6.92 ± 4.33 µg/mL) fraksiyonundan izole edilen *trans*-sinamik asit molekülü (13.18 ± 1.12 µg/mL) izole edildiğinde fraksiyondan daha düşük aktivite gösterirken PAY12 (3.10 ± 0.24 µg/mL) fraksiyonundan izole edilen rutin molekülünün aktivite göstermediği belirlenmiştir. PAY84 (6.92 ± 4.33 µg/mL) fraksiyonun aktivitesinin izole edilen molekülden yüksek olmasının nedeni fraksiyonda bulunan farklı moleküllerin sinerjik etki göstermesinden kaynaklanıyor olabilir (Tablo 4.30.).

Tablo 4.31. PAM ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar ve alt fraksiyonların BChE inhibisyonu sonuçları

Örnekler	Aktivite, IC ₅₀ (µg/mL)	R ²
PAM	58.70±3.18 ⁱ	0.94
PAMUY	5.99±0.98 ^{abc}	0.73
PAM1	28.98±0.63 ^{fg}	0.98
PAM2	24.73±1.17 ^{ef}	0.96
PAM3	11.22±1.27 ^{bcd}	0.75
PAM34	14.34±4.17 ^{cde}	0.88
PAM4	13.24±1.18 ^{bcd}	0.99
PAM5	11.87±1.77 ^{bcd}	0.79
PAM6	38.23±2.16 ^h	0.87
PAM61	3.32±0.23 ^{ab}	0.68
PAM62	11.18±7.44 ^{bcd}	0.98
PAM7	11.15±0.91 ^{bcd}	0.80
PAM8	5.16±0.31 ^{abc}	0.82
PAM82	35.11±0.41 ^{gh}	0.88
PAM83	36.78±5.18 ^{gh}	0.73
PAM9	10.84±1.75 ^{abcd}	0.88
PAM91	19.32±4.07 ^{def}	0.78
PAM10	3.29±0.91 ^{ab}	0.73
Galantamin	9.88±2.42 ^{abcd}	0.95

(*p* < 0.05).

BChE inhibisyon çalışmasından elde edilen üç tekrarlı analizlerin sonuçlarına ait her bir parametre ± standart sapma değerleriyle ifade edildi. Bu veriler IBM Statistical Package for Social Studies (SPSS) 20.0 programında analiz edildi. Analiz ortalamaları arasındaki ikiden çok bağımsız grup ortalamaları ve veriler normal dağılımlı varyanslar homojen olduğundan ANOVA kullanıldı. Elde edilen verilerin doğrultusunda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD^{a,b} kullanıldı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, *P. aricakensis* meyve ekstraktının, uçucu yağının, fraksiyonlarının, alt fraksiyonlarının ve standart maddenin BChE inhibisyonu (IC₅₀) ortalama değerleri a ile i arasında harflendirilmiştir. “a” en düşük ortalamayı, “i” ise en yüksek ortalamayı belirtmektedir. Aktivite sonuçları arasında farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık vardır (*p* < 0.05). Örnekler ve standartlar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; “a”, “b” gibi farklı harflerle

harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark varken “ab”, “bc” gibi aynı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark yoktur ($p<0.05$).

En etkili BChE inhibisyonunu PAM10 (3.29 ± 0.91 $\mu\text{g/mL}$), PAM61 (3.32 ± 0.23 $\mu\text{g/mL}$), PAM8 (5.16 ± 0.31 $\mu\text{g/mL}$) ve PAMUY (5.99 ± 0.98 $\mu\text{g/mL}$) göstermiştir (Tablo 4.31.).

Tablo 4.32. PAK ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların BChE inhibisyonu sonuçları

Örnekler	Aktivite, IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	R ²
PAK	46.59 ± 5.75^i	0.76
PAKUY	$18.20\pm1.29^{\text{def}}$	0.79
PAK1	$27.91\pm2.95^{\text{gh}}$	0.94
Oksipeusedanin (PAK1)	55.32 ± 2.93^i	0.91
PAK2	35.42 ± 1.95^h	0.72
Ostol (PAK2)	$28.33\pm4.49^{\text{gh}}$	0.82
PAK3	$22.28\pm1.07^{\text{efg}}$	0.86
PAK4	$18.00\pm0.83^{\text{cdef}}$	0.93
PAK44	$11.92\pm6.40^{\text{bcde}}$	0.90
PAK5	$6.12\pm1.92^{\text{ab}}$	0.78
PAK6	$2.68\pm0.07^{\text{ab}}$	0.97
PAK62	$17.31\pm1.22^{\text{cdef}}$	0.59
PAK7	$21.36\pm1.62^{\text{fg}}$	0.90
PAK8	$6.86\pm0.88^{\text{ab}}$	0.75
PAK9	$21.15\pm1.67^{\text{fg}}$	0.83
PAK93	$29.11\pm3.37^{\text{gh}}$	0.75
PAK94	$8.18\pm0.77^{\text{abc}}$	0.93
Sükroz (PAK9)	$23.44\pm0.69^{\text{fg}}$	0.96
PAK10	$3.41\pm0.97^{\text{ab}}$	0.92
Galantamin	$9.88\pm2.42^{\text{abcd}}$	0.95

($p < 0.05$).

BChE inhibisyon çalışmasından elde edilen üç tekrarlı analizlerin sonuçlarına ait her bir parametre $\pm$ standart sapma değerleriyle ifade edildi. Bu veriler IBM Statistical Package for Social Studies (SPSS) 20.0 programında analiz edildi. Analiz ortalamaları arasındaki ikiden çok bağımsız grup ortalamaları ve veriler normal

dağılışı varyanslar homojen olduğundan ANOVA kullanıldı. Elde edilen verilerin doğrultusunda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD^{a,b} kullanıldı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, *P. aricakensis* kök ekstraktının, uçucu yağının, fraksiyonlarının, alt fraksiyonlarının, izolatlarının ve standart maddenin BChE inhibisyonu (IC₅₀) ortalama değerleri a ile i arasında harflendirilmiştir. “a” en düşük ortalama, “i” ise en yüksek ortalama belirtmektedir. Aktivite sonuçları arasında farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık vardır ($p<0.05$). Örnekler ve standartlar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; “a”, “b” gibi farklı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark varken “ab”, “bc” gibi aynı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark yoktur ($p<0.05$).

BChE inhibisyonu incelendiğinde PAK1 (27.91 ± 2.95 µg/mL), PAK2 (35.42 ± 1.95 µg/mL) ve PAK9 (21.15 ± 1.67 µg/mL) fraksiyonları genel olarak standartlardan daha düşük aktivite göstermektedir. Bunların dışında PAK6 (2.68 ± 0.07 µg/mL) ve PAK10 (3.41 ± 0.97 µg/mL) fraksiyonları standartlardan ve diğer fraksiyonlardan daha yüksek aktivite göstermiştir. Fraksiyonlardan alt fraksiyonlara gidildikçe aktivitenin azaldığı görülmüştür.

Biyoaktivite yönlendirmeli izolasyona göre PAK1 (27.91 ± 2.95 µg/mL) fraksiyonundan izole edilen oksipeusedanin (55.32 ± 2.93 µg/mL) ve PAK9 (21.15 ± 1.67 µg/mL) fraksiyonundan izole edilen sükroz (23.44 ± 0.69 µg/mL) molekülleri izole edildiği fraksiyonlardan da daha düşük aktivite gösterirken, PAK2 (35.42 ± 1.95 µg/mL) fraksiyonundan izole edilen ostol molekülü (28.33 ± 4.49 µg/mL) izole edildiği fraksiyonlardan da daha yüksek aktivite göstermektedir. PAK1 ve PAK9 fraksiyonlarının aktivitesinin izole edilen molekülden düşük olmasının nedeni fraksiyonda bulunan farklı moleküllerin antagonistik etki göstermesinden kaynaklanıyor olabilir iken PAK2 fraksiyonunun aktivitesinin izole edilen moleküllerden daha yüksek olmasının nedeni ise moleküllerin sinerjik etkiden kaynaklanıyor olabilir (Tablo 4.32.).

Tablo 4.33. PAS ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların BChE inhibisyonu sonuçları

Örnekler	Aktivite, IC ₅₀ (µg/mL)	R ²
PAS	23.59±1.33 ^g	0.96
PASUY	B	B
PAS1	8.01±0.74 ^{cd}	0.80
PAS2	9.82±1.09 ^{de}	0.93
PAS3	12.40±0.96 ^e	0.78
PAS4	3.84±0.20 ^{abc}	0.90
PAS41	B	B
PAS42	B	B
Daukosterol (PAS4)	38.66±0.65 ⁱ	0.67
PAS5	16.54±1.10 ^f	0.95
PAS6	3.85±0.79 ^{bc}	0.94
PAS61	31.34±0.22 ^h	0.73
PAS62	B	B
PAS63	17.92±0.00 ^f	0.97
PAS7	2.51±0.81 ^{ab}	0.89
PAS72	33.07±2.96 ^h	0.98
PAS73	24.53±0.00 ^g	0.95
Galantamin	9.88±2.42 ^{de}	0.95

($p < 0.05$), B: Belirlenemedi.

BChE inhibisyon çalışmasından elde edilen üç tekrarlı analizlerin sonuçlarına ait her bir parametre $\pm$ standart sapma değerleriyle ifade edildi. Bu veriler IBM Statistical Package for Social Studies (SPSS) 20.0 programında analiz edildi. Analiz ortalamaları arasındaki ikiden çok bağımsız grup ortalamaları ve veriler normal dağılımlı varyanslar homojen olduğundan ANOVA kullanıldı. Elde edilen verilerin doğrultusunda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD^{a,b} kullanıldı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, *P. aricakensis* sap ekstraktının, uçucu yağının, fraksiyonlarının, alt fraksiyonlarının, izolatının ve standart maddenin BChE inhibisyonu (IC₅₀) ortalama değerleri a ile i arasında harflendirilmiştir. “a” en düşük ortalamayı, “i” ise en yüksek ortalamayı belirtmektedir. Aktivite sonuçları arasında farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık vardır ($p < 0.05$). Örnekler ve standartlar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; “a”, “b” gibi farklı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark varken “ab”, “bc” gibi aynı harflerle

harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark yoktur ($p<0.05$).

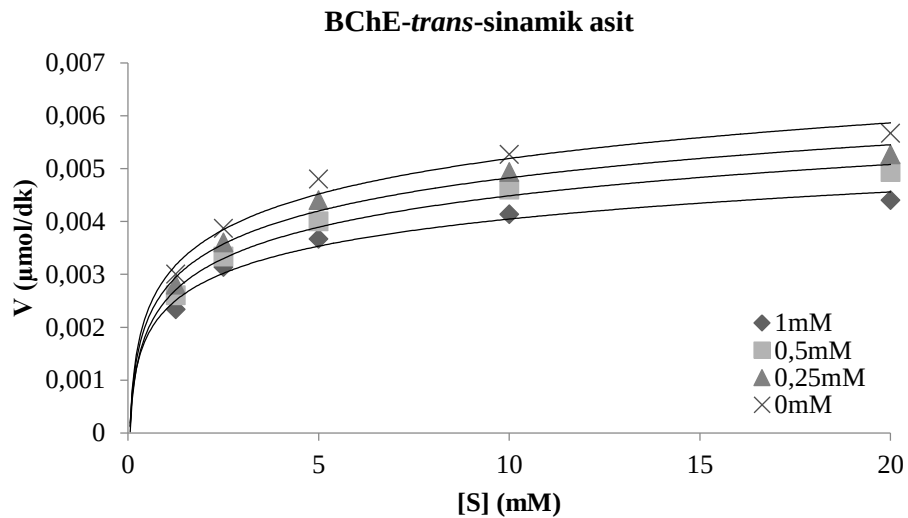
BChE inhibisyonu incelendiğinde PAS4 ($3.84\pm0.20 \mu\text{g/mL}$) fraksiyonu genel olarak standartlardan daha yüksek aktivite göstermektedir. Bunların dışında PAS7 ($2.51\pm0.81 \mu\text{g/mL}$), PAS4 ($3.84\pm0.20 \mu\text{g/mL}$) ve PAS6 ($3.85\pm0.79 \mu\text{g/mL}$) fraksiyonları standartlardan ve diğer fraksiyonlardan daha yüksek aktivite göstermiştir. Fraksiyonlardan alt fraksiyonlara gidildikçe aktivitenin azaldığı görülmüştür.

Biyoaktivite yönlendirmeli izolasyona göre PAS4 ($3.84\pm0.20 \mu\text{g/mL}$) fraksiyonundan izole edilen daukosterol molekülü ($38.66\pm0.65 \mu\text{g/mL}$) izole edildiği fraksiyondan da daha düşük aktivite göstermektedir. Fraksiyonun aktivitesinin izole edilen molekülden yüksek olmasının nedeni fraksiyonda bulunan farklı moleküllerin sinerjik etki göstermesinden kaynaklanıyor olabilir (Tablo 4.33.).

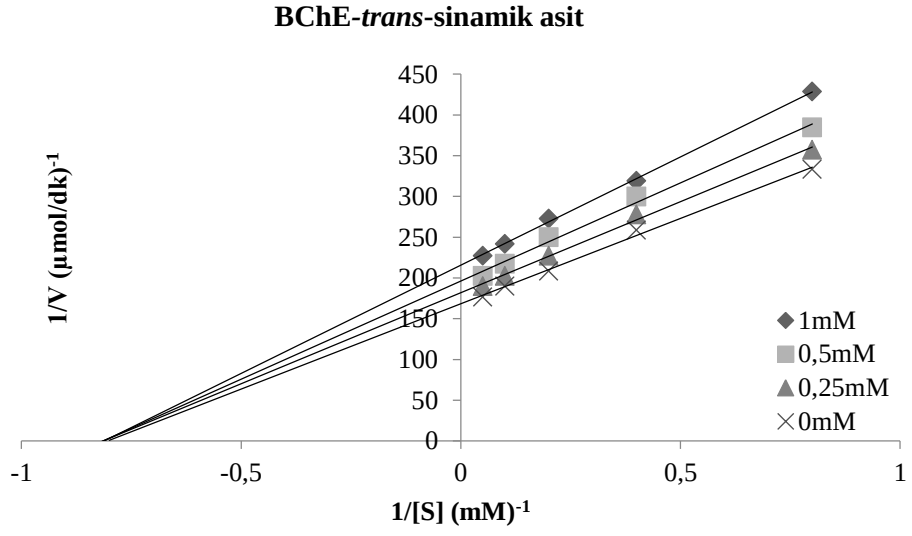
Moleküllerden birinin veya bunların sinerjik etkisinden dolayı bakteriyel üreaza karşı aktivite gösterebilir (Ghobadi vd, 2021). Flavonoidler ve fenolik asitler, ekstraktın enzim inhibisyon potansiyelinden veya muhtemelen aralarındaki sinerjik mekanizmadan sorumludur (Elsbaey vd, 2019).

Bahadori vd (2017), *P. gaubae* bitkisinin metanolik ekstraktı için 1.26 ± 0.04 mg GE/g örnek olarak hesaplamışlardır.

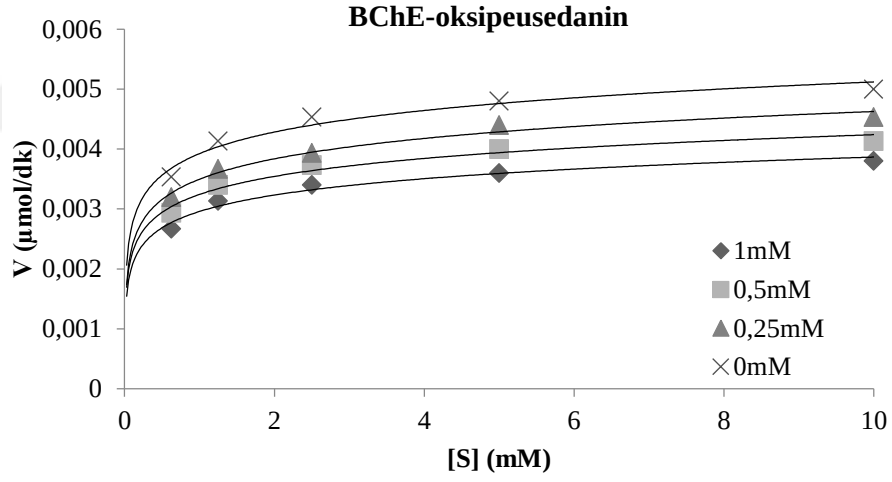
Zengin vd (2020), *P. ferulacea* ve *P. peucedanifolia* bitkilerinin metanolik ekstraktlarının BChE inhibisyon etkisi göstermediğini belirtmişlerdir.



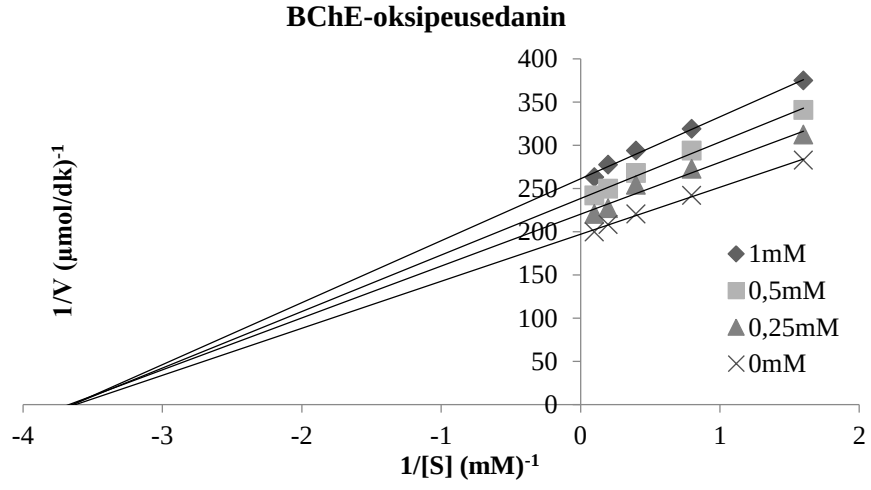
Şekil 4.63. BChE-*trans*-sinamik asit etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği



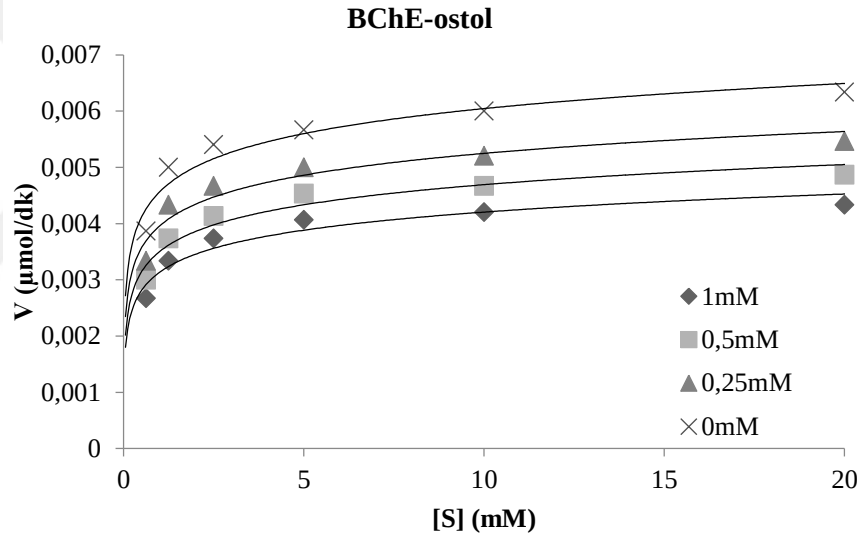
Şekil 4.64. BChE-*trans*-sinamik asit etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği



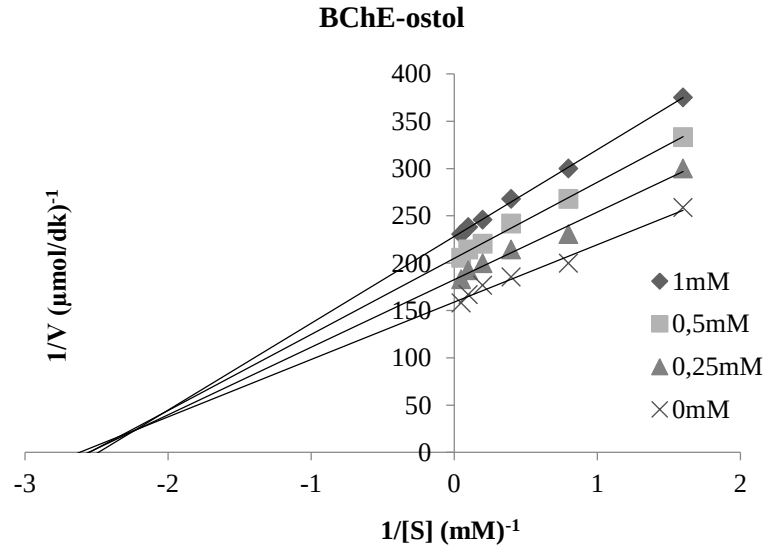
Şekil 4.65. BChE-oksipeusedanin etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği



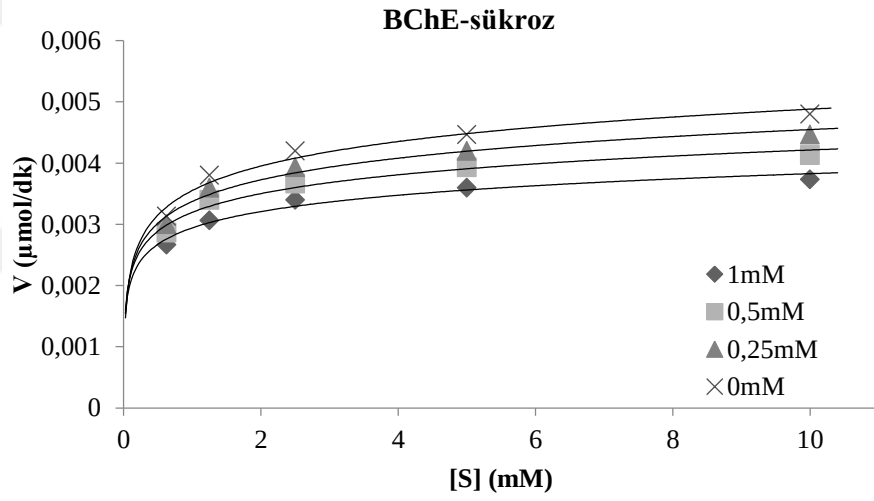
Şekil 4.66. BChE-oksipeusedanin etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği



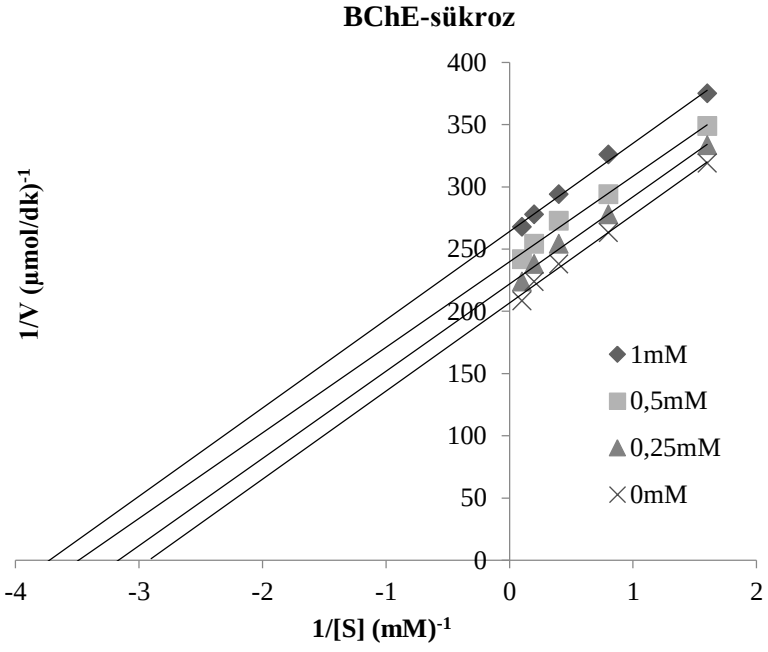
Şekil 4.67. BChE-ostol etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği



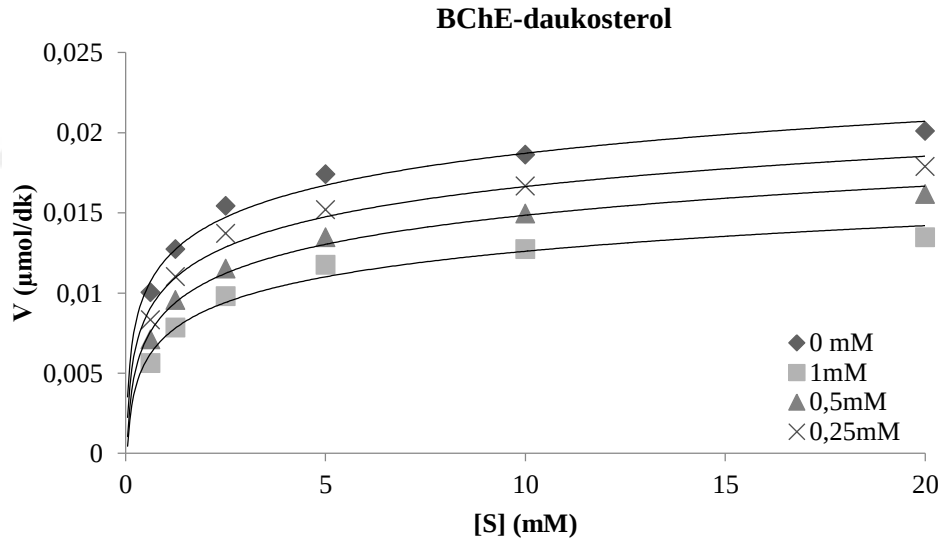
Şekil 4.68. BChE-ostol etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği



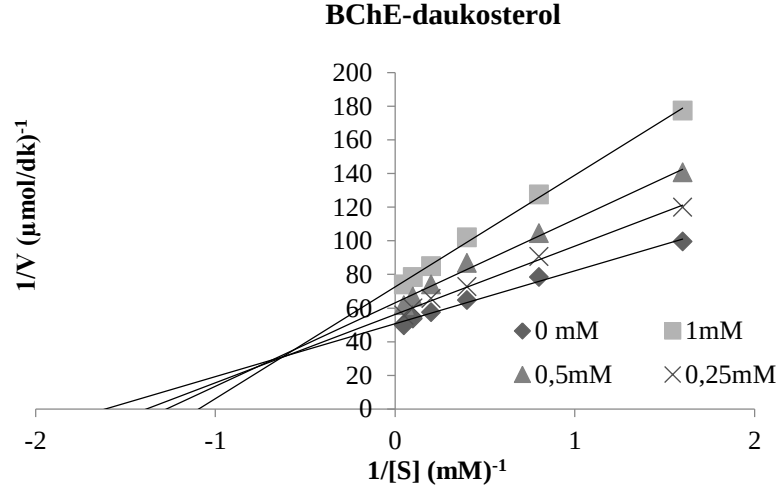
Şekil 4.69. BChE-sükroz etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği



Şekil 4.70. BChE-sükroz etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği



Şekil 4.71. BChE-daukosterol etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği



Şekil 4.72. BChE-daukosterol etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği

Tablo 4.34. BChE ile izolatlar arasındaki etkileşimlere ait V_{maks} , K_m , inhibisyon türü ve K_i değerleri

trans-sinamik asit					
Derişim (mM)	V_{maks} (μmol/dk)	K_m (mM)	İnhibisyon türü	K_i (mM)	
0	0.006	1.244	Yarışmasız	2.10	
0.25	0.006	1.229			
0.5	0.005	1.227			
1	0.005	1.232			
Oksipeusedanin					
Derişim (mM)	V_{maks} (μmol/dk)	K_m (mM)	İnhibisyon türü	K_i (mM)	
0	0.005	0.276	Yarışmasız	3.11	
0.25	0.005	0.272			
0.5	0.004	0.274			
1	0.004	0.274			
Ostol					
Derişim (mM)	V_{maks} (μmol/dk)	K_m (mM)	İnhibisyon türü	K_i (mM)	
0	0.006	0.382	Karışık Yarı Yarışmalı	2.49	
0.25	0.005	0.391			
0.5	0.005	0.392			
1	0.004	0.402			
Sükroz					
Derişim (mM)	V_{maks} (μmol/dk)	K_m (mM)	İnhibisyon türü	K_i (mM)	
0	0.005	0.343	Yarı Yarışmalı	3.94	
0.25	0.005	0.316			
0.5	0.004	0.286			
1	0.004	0.268			
Daukostreol					
Derişim (mM)	V_{maks} (μmol/dk)	K_m (mM)	İnhibisyon türü	K_i (mM)	
0	0.0197	0.6198	Karışık Yarı yarışmalı	2.82	
0.25	0.0178	0.7219			
0.5	0.0158	0.7861			
1	0.0138	0.9153			

Enzim kinetiği sonuçlarına bakıldığında rutin molekülü ile BChE arasında etkileşim gözlenmemiştir. BChE için en iyi sonucu *trans*-sinamik asit molekülü yarışmasız, 2.10 K_i değeri ile vermiştir. Özellikle rutin molekülü için bilgisayar ortamında moleküler doking tekniğinde enzimin seçilen aktif bölgesi ile etkileşiminde yüksek etki gösterirken kinetik ve inhibisyon çalışmalarında farklı bir bölgeye bağlandığından dolayı düşük etki göstermiş olabilir.

4.5.2.3. Tirozinaz İnhibisyon Etkisi ve Kinetik Çalışmaları

Ham ekstraktların, uçucu yağların, fraksiyonların, alt fraksiyonların ve izolatların tirozinaz inhibisyonu sonuçları PAY, PAM, PAK ve PAS için ayrı ayrı olmak üzere Tablo 4.35. ile 4.38. arasında gösterilmiştir.

Saf maddelerin tirozinaz inhibisyon etkileşimlerinin mekanizmalarının belirlenmesi amacıyla izolatların yer aldığı ve yer almadığı ortamlarda Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.73. ile Şekil 4.84. arasında) ve Tablo 4.39.'de ise tirozinaz ile izolatlar arasındaki etkileşimlere ait V_{maks} , K_m , inhibisyon türü ve K_i değerleri gösterildi.

Tirozinaz inhibisyon mekanizmasında rutin molekülünün etkisi yarı yarışmalı inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri hesaplandı, rutin molekülünün farklı konsantrasyondaki K_m ve V_{maks} değerlerinin azaldığı belirlendi. Bu sonuca göre, K_i değerinin belirlenmesinde yarı yarışmalı inhibisyona göre,

$$K_i = \frac{V_{maks}^i [I]}{(V_{maks} - V_{maks}^i)} \text{ formülü kullanıldı ve } K_i \text{ değeri 0.12 mM olarak hesaplandı.}$$

Tirozinaz inhibisyon mekanizmasında *trans*-sinamik asit molekülünün etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde belirlendi ve K_i değeri hesaplandı, *trans*-sinamik asit molekülünün farklı konsantrasyonlardaki etkilerine bağlı Tirozinaz aktivitelerinin belirlenmesi sonucunda V_{maks} değerinin azaldığı ve K_m değerinin ise sabit kaldığı belirlendi. Bu sonuca göre, K_i değerinin belirlenmesinde yarışmasız inhibisyona göre,

$$K_i = \frac{V_{maks} [I]}{(V_{maks} - V_{maks}^i)} \text{ formülü kullanıldı ve } K_i \text{ değeri 2.10 mM olarak hesaplandı.}$$

Tirozinaz inhibisyon mekanizmasında oksipeusedanin molekülünün etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde belirlendi ve K_i değeri hesaplandı, oksipeusedanin molekülünün farklı konsantrasyonlardaki etkilerine bağlı Tirozinaz aktivitelerinin belirlenmesi sonucunda V_{maks} değerinin azaldığı ve K_m değerinin ise sabit kaldığı belirlendi. Bu sonuca göre, K_i değerinin belirlenmesinde yarışmasız inhibisyona

göre, $K_i = \frac{V_{maks}[I]}{(V_{maks} - V_{maks}^i)}$ formülü kullanıldı ve K_i değeri 3.11 mM olarak hesaplandı.

Tirozinaz inhibisyon mekanizmasında ostol molekülünün etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde belirlendi ve K_i değeri hesaplandı, ostol molekülünün farklı konsantrasyonlardaki etkilerine bağlı Tirozinaz aktivitelerinin belirlenmesi sonucunda V_{maks} değerinin azaldığı ve K_m değerinin ise sabit kaldığı belirlendi. Bu sonuca göre, K_i değerinin belirlenmesinde yarışmasız inhibisyona göre, $K_i = \frac{V_{maks}[I]}{(V_{maks} - V_{maks}^i)}$ formülü kullanıldı ve K_i değeri 2.49 mM olarak hesaplandı.

Tirozinaz inhibisyon mekanizmasında sükroz molekülünün etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde belirlendi ve K_i değeri hesaplandı, sükroz molekülünün farklı konsantrasyonlardaki etkilerine bağlı Tirozinaz aktivitelerinin belirlenmesi sonucunda 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 kullanıldı ve K_i değeri 3.94 mM olarak hesaplandı.

Tirozinaz inhibisyon mekanizmasında daukosterol molekülünün etkisi yarışmalı inhibisyon şeklinde belirlendi ve K_i değeri hesaplandı, daukosterol molekülünün farklı konsantrasyonlardaki etkilerine bağlı AChE aktivitelerinin belirlenmesi sonucunda V_{maks} değerinin sabit kaldığı ve K_m değerinin ise arttığı belirlendi. Bu sonuca göre, K_i değerinin belirlenmesinde yarışmalı inhibisyona göre, $K_i = \frac{K_m[I]}{(K_m^i - K_m)}$ formülü kullanıldı ve K_i değeri 0.61 mM olarak hesaplandı.

Tablo 4.35. PAY ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların tirozinaz inhibisyonu sonuçları

Örnekler	Aktivite, IC ₅₀ (µg/mL)	R ²
PAY	18.47±1.06 ^{efgh}	0.84
PAYUY	11.99±6.30 ^{abcdef}	0.96
PAY1	27.11±0.00 ^{gh}	0.93
PAY2	10.07±1.15 ^{abcdef}	0.79
PAY3	3.00±0.35 ^{ab}	0.78
PAY4	13.32±1.39 ^{cdef}	0.88
PAY5	18.60±5.09 ^{efgh}	0.94
PAY51	10.64±1.62 ^{abcdef}	0.86
PAY53	20.19±2.85 ^{fgh}	0.74
PAY54	8.94±6.09 ^{abcde}	0.61
PAY6	4.32±1.25 ^{abc}	0.55
PAY63	2.30±1.25 ^a	0.46
PAY7	26.38±2.61 ^{gh}	0.79
PAY71	2.96±0.15 ^{ab}	0.55
PAY73	45.85±1.62 ⁱ	0.59
PAY8	9.78±0.28 ^{abcde}	0.61
PAY82	B	B
PAY83	B	B
PAY84	17.48±3.68 ^{efg}	0.66
<i>trans</i> -sinamik asit (PAY84)	14.80±3.70 ^{def}	0.80
PAY9	15.77±0.19 ^{ef}	0.54
PAY10	12.80±0.62 ^{bcdef}	0.74
PAY102	B	B
PAY11	13.89±3.19 ^{cdef}	0.95
PAY12	27.76±4.56 ^h	0.53
Rutin (PAY121)	B	B
PAY13	5.12±1.15 ^{abcd}	0.84
PAY14	5.16±1.02 ^{abcd}	0.67
PAY15	48.20±1.70 ⁱ	0.88
Kojik asit	12.82±0.91 ^{bcdef}	0.88

(*p* < 0.05), B: Belirlenemedi.

Tirozinaz inhibisyon çalışmasından elde edilen üç tekrarlı analizlerin sonuçlarına ait her bir parametre $\pm$ standart sapma değerleriyle ifade edildi. Bu veriler IBM Statistical Package for Social Studies (SPSS) 20.0 programında analiz edildi. Analiz ortalamaları arasındaki ikiden çok bağımsız grup ortalamaları ve veriler normal dağılımlı varyanslar homojen olduğundan ANOVA kullanıldı. Elde edilen verilerin doğrultusunda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD^{a,b} kullanıldı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, *P. aricakensis* yaprak ekstraktının, uçucu yağının, fraksiyonlarının, alt fraksiyonlarının, izolatlarının ve standart maddenin tirozinaz inhibisyonu (IC₅₀) ortalama değerleri a ile i arasında harflendirilmiştir. “a” en düşük ortalamayı, “i” ise en yüksek ortalamayı belirtmektedir. Aktivite sonuçları arasında farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık vardır ($p<0.05$). Örnekler ve standartlar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; “a”, “b” gibi farklı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark varken “ab”, “bc” gibi aynı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark yoktur ($p<0.05$).

Tirozinaz inhibisyonu incelendiğinde PAY84 (17.48 $\pm$ 3.68 μ g/mL) ve PAY12 (27.76 $\pm$ 4.56 μ g/mL) fraksiyonları genel olarak standartlardan daha yüksek aktivite göstermektedir. Bunların dışında PAY63 (2.30 $\pm$ 1.25 μ g/mL) ve PAY71 (2.96 $\pm$ 0.15 μ g/mL) fraksiyonları standartlardan ve diğer fraksiyonlardan daha yüksek aktivite göstermiştir. Fraksiyonlardan alt fraksiyonlara gidildikçe aktivitenin azaldığı görülmüştür.

Tirozinaz inhibisyonunda, biyoaktivite yönlendirmeli izolasyona göre PAY84 (17.48 $\pm$ 3.68 μ g/mL) fraksiyonundan izole edilen trans-sinamik asit molekülü (14.80 $\pm$ 3.70 μ g/mL) izole edildiğinde fraksiyondan daha yüksek aktivite gösterirken PAY12 (27.76 $\pm$ 4.56 μ g/mL) fraksiyonundan izole edilen rutin molekülünün aktivite göstermediği belirlenmiştir. PAY84 (17.48 $\pm$ 3.68 μ g/mL) fraksiyonun aktivitesinin izole edilen molekülden düşük olmasının nedeni fraksiyonda bulunan farklı moleküllerin antogonistik göstermesinden kaynaklanıyor olabilir (Tablo 4.35.).

Tablo 4.36. PAM ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar ve alt fraksiyonların tirozinaz inhibisyonu sonuçları

Örnekler	Aktivite, IC ₅₀ (µg/mL)	R ²
PAM	32.12±3.81 ^f	0.94
PAMUY	19.38±2.96 ^{de}	0.95
PAM1	45.46±1.07 ^g	0.85
PAM2	10.60±2.23 ^{bcd}	0.97
PAM3	9.30±1.31 ^{abc}	0.65
PAM34	B	B
PAM4	26.60±1.50 ^{ef}	0.75
PAM5	51.17±1.09 ^g	0.90
PAM6	6.80±0.16 ^{abc}	0.73
PAM61	B	B
PAM62	3.53±0.00 ^{ab}	0.60
PAM7	155.15±3.45 ^h	0.80
PAM8	45.57±2.48 ^g	0.85
PAM82	B	B
PAM83	B	B
PAM9	51.05±4.06 ^g	0.84
PAM91	15.71±6.18 ^{cd}	0.74
PAM10	47.73±3.37 ^g	0.95
Kojik asit	12.82±0.91 ^{bcd}	0.88

(p < 0.05), B: Belirlenemedi.

Tirozinaz inhibisyon çalışmasından elde edilen üç tekrarlı analizlerin sonuçlarına ait her bir parametre $\pm$ standart sapma değerleriyle ifade edildi. Bu veriler IBM Statistical Package for Social Studies (SPSS) 20.0 programında analiz edildi. Analiz ortalamaları arasındaki ikiden çok bağımsız grup ortalamaları ve veriler normal dağılımlı varyanslar homojen olduğundan ANOVA kullanıldı. Elde edilen verilerin doğrultusunda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD^{a,b} kullanıldı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, *P. aricakensis* meyve ekstraktının, uçucu yağının, fraksiyonlarının, alt fraksiyonlarının ve standart maddenin tirozinaz inhibisyonu (IC₅₀) ortalama değerleri a ile h arasında harflendirilmiştir. “a” en düşük ortalamayı, “h” ise en yüksek ortalamayı belirtmektedir. Aktivite sonuçları arasında farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık vardır ($p < 0.05$). Örnekler ve standartlar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; “a”,

“b” gibi farklı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark varken “ab”, “bc” gibi aynı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark yoktur ($p<0.05$).

En etkili tirozinaz inhibisyon aktivitesini PAM62 ($3.53\pm0.00 \mu\text{g/mL}$) fraksiyonu göstermiştir (Tablo 4.36.).

Tablo 4.37. PAK ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların tirozinaz inhibisyonu sonuçları

Örnekler	Aktivite, IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	R ²
PAK	$16.74\pm1.03^{\text{ef}}$	0.86
PAKUY	$13.92\pm7.34^{\text{def}}$	0.38
PAK1	$28.91\pm4.41^{\text{g}}$	0.63
Oksipeusedanin (PAK1)	$17.59\pm3.53^{\text{ef}}$	0.81
PAK2	$12.02\pm1.41^{\text{bcdef}}$	0.72
Ostol (PAK2)	$11.76\pm0.59^{\text{bcdef}}$	0.75
PAK3	$4.12\pm0.20^{\text{abc}}$	0.71
PAK4	$9.67\pm0.91^{\text{bcde}}$	0.71
PAK44	$43.97\pm1.04^{\text{h}}$	0.84
PAK5	$4.17\pm0.88^{\text{abc}}$	0.60
PAK6	$3.57\pm0.50^{\text{ab}}$	0.88
PAK62	B	B
PAK7	$61.89\pm2.19^{\text{i}}$	0.79
PAK8	$12.48\pm0.76^{\text{bcdef}}$	0.84
PAK9	$5.61\pm0.34^{\text{abcd}}$	0.70
PAK93	$20.78\pm0.98^{\text{fg}}$	0.73
PAK94	$6.11\pm2.91^{\text{abcd}}$	0.56
Sükroz (PAK9)	$3.49\pm0.00^{\text{ab}}$	0.90
PAK10	$11.45\pm1.61^{\text{bcde}}$	0.74
Kojik asit	$12.82\pm0.91^{\text{cdef}}$	0.88

($p < 0.05$), B: Belirlenemedi.

Tirozinaz inhibisyon çalışmasından elde edilen üç tekrarlı analizlerin sonuçlarına ait her bir parametre $\pm$ standart sapma değerleriyle ifade edildi. Bu veriler IBM Statistical Package for Social Studies (SPSS) 20.0 programında analiz edildi. Analiz ortalamaları arasındaki ikiden çok bağımsız grup ortalamaları ve

veriler normal dağılımlı varyanslar homojen olduğundan ANOVA kullanıldı. Elde edilen verilerin doğrultusunda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD^{a,b} kullanıldı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, *P. aricakensis* kök ekstraktının, uçucu yağının, fraksiyonlarının, alt fraksiyonlarının, izolatlarının ve standart maddenin tirozinaz inhibisyonu (IC₅₀) ortalama değerleri a ile i arasında harflendirilmiştir. “a” en düşük ortalamayı, “i” ise en yüksek ortalamayı belirtmektedir. Aktivite sonuçları arasında farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık vardır ($p<0.05$). Örnekler ve standartlar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; “a”, “b” gibi farklı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark varken “ab”, “bc” gibi aynı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark yoktur ($p<0.05$).

Tirozinaz inhibisyonu incelendiğinde PAK1 (28.91±4.41 µg/mL), PAK2 (12.02±1.41 µg/mL) ve PAK9 (5.61±0.34 µg/mL) fraksiyonları genel olarak standartlardan daha düşük aktivite göstermektedir. Bunların dışında PAK6 (3.57±0.50 µg/mL) fraksiyonları standartlardan ve diğer fraksiyonlardan daha yüksek aktivite göstermiştir. Fraksiyonlardan alt fraksiyonlara gidildikçe aktivitenin azaldığı görülmüştür.

Biyoaktivite yönlendirmeli izolasyona göre PAK1 (28.91±4.41 µg/mL) fraksiyonundan izole edilen oksipeusedanin (17.59±3.53 µg/mL), PAK2 (12.02±1.41 µg/mL) fraksiyonundan izole edilen ostol (11.76±0.59 µg/mL) ve PAK9 (5.61±0.34 µg/mL) fraksiyonundan izole edilen sükroz molekülleri (3.49±0.00 µg/mL) izole edildiği fraksiyonlardan da daha yüksek aktivite göstermektedir. PAK1, PAK2 ve PAK9 fraksiyonlarının aktivitesinin izole edilen molekülden düşük olmasının nedeni fraksiyonda bulunan farklı moleküllerin antagonistik etki göstermesinden kaynaklanıyor olabilir (Tablo 4.37.).

Tablo 4.38. PAS ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların tirozinaz inhibisyonu sonuçları

Örnekler	Aktivite, IC ₅₀ (µg/mL)	R ²
PAS	23.17±1.61 ^{cde}	0.96
PASUY	22.90±1.62 ^{cde}	0.81
PAS1	66.69±0.00 ^g	0.84
PAS2	7.29±0.86 ^{ab}	0.72
PAS3	130.70±2.38 ^h	0.70
PAS4	22.77±0.80 ^{cde}	0.69
PAS41	12.09±4.65 ^{bc}	0.51
PAS42	28.65±4.04 ^{def}	0.75
Daukosterol (PAS4)	19.13±1.35 ^{cde}	0.82
PAS5	35.48±3.34 ^f	0.70
PAS6	29.57±3.48 ^{ef}	0.85
PAS61	17.19±7.08 ^{bcd}	0.64
PAS62	27.88±2.95 ^{def}	0.72
PAS63	7.16±2.64 ^{ab}	0.81
PAS7	22.96±1.08 ^{cde}	0.69
PAS72	15.18±4.24 ^{bc}	0.60
PAS73	B	B
Kojik asit	12.82±0.91 ^{bc}	0.88

(*p* < 0.05), B: Belirlenemedi.

Tirozinaz inhibisyon çalışmasından elde edilen üç tekrarlı analizlerin sonuçlarına ait her bir parametre $\pm$ standart sapma değerleriyle ifade edildi. Bu veriler IBM Statistical Package for Social Studies (SPSS) 20.0 programında analiz edildi. Analiz ortalamaları arasındaki ikiden çok bağımsız grup ortalamaları ve veriler normal dağılımlı varyanslar homojen olduğundan ANOVA kullanıldı. Elde edilen verilerin doğrultusunda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD^{a,b} kullanıldı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, *P. aricakensis* sap ekstraktının, uçucu yağının, fraksiyonlarının, alt fraksiyonlarının, izolatının ve standart maddenin tirozinaz inhibisyonu (IC₅₀) ortalama değerleri a ile h arasında harflendirilmiştir. “a” en düşük ortalamayı, “h” ise en yüksek ortalamayı belirtmektedir. Aktivite sonuçları arasında farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık vardır (*p* < 0.05). Örnekler ve standartlar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; “a”, “b” gibi farklı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark varken “ab”,

“bc” gibi aynı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark yoktur ($p<0.05$).

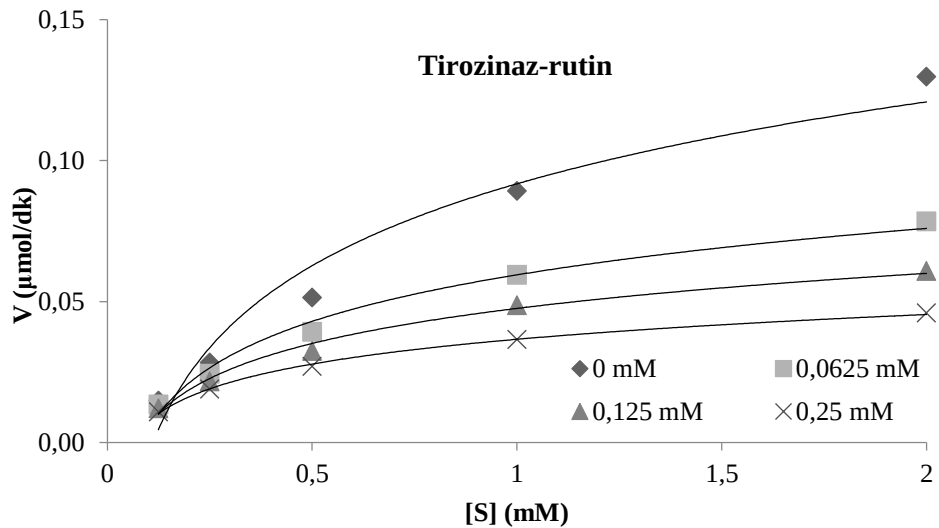
Tirozinaz inhibisyonu incelendiğinde PAS4 (22.77 ± 0.80 $\mu\text{g/mL}$) fraksiyonu genel olarak standartlardan daha yüksek aktivite göstermektedir. Bunların PAS63 (7.16 ± 2.64 $\mu\text{g/mL}$) ve PAS2 (7.29 ± 0.86 $\mu\text{g/mL}$) fraksiyonları standartlardan ve diğer fraksiyonlardan daha yüksek aktivite göstermiştir. Fraksiyonlardan alt fraksiyonlara gidildikçe aktivitenin azaldığı görülmüştür.

Biyoaktivite yönlendirmeli izolasyona göre PAS4 (22.77 ± 0.80 $\mu\text{g/mL}$) fraksiyonundan izole edilen daukosterol molekülü (19.13 ± 1.35 $\mu\text{g/mL}$) izole edildiği fraksiyondan da daha düşük aktivite göstermektedir. Fraksiyonun aktivitesinin izole edilen molekülden yüksek olmasının nedeni fraksiyonda bulunan farklı moleküllerin sinerjik etki göstermesinden kaynaklanıyor olabilir (Tablo 4.38.).

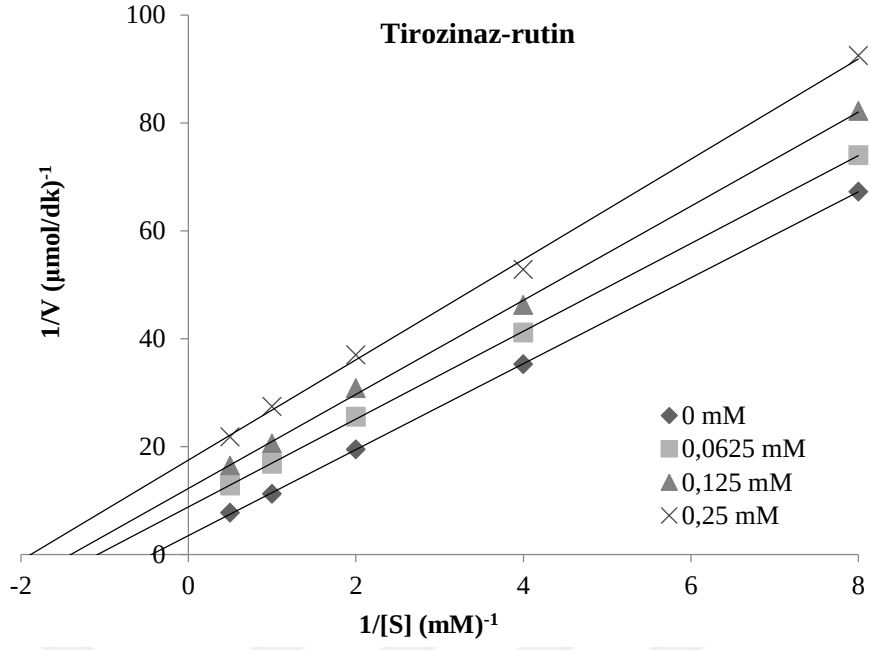
Moleküllerin birbirleriyle ilişkili riskleri ve uyumluluğu azaltan tek bir molekülden sinerjik etkiler oluşturmak için iki veya daha fazla enzimle etkileşime girebilen moleküller elde edilebilir (Omar vd, 2023).

Bahadori vd (2017), *P. gaubae* bitkisinin metanolik ekstraktı için 16.85 ± 2.79 mg kojik asit eşdeğeri (KAE)/g örnek bulmuşlardır.

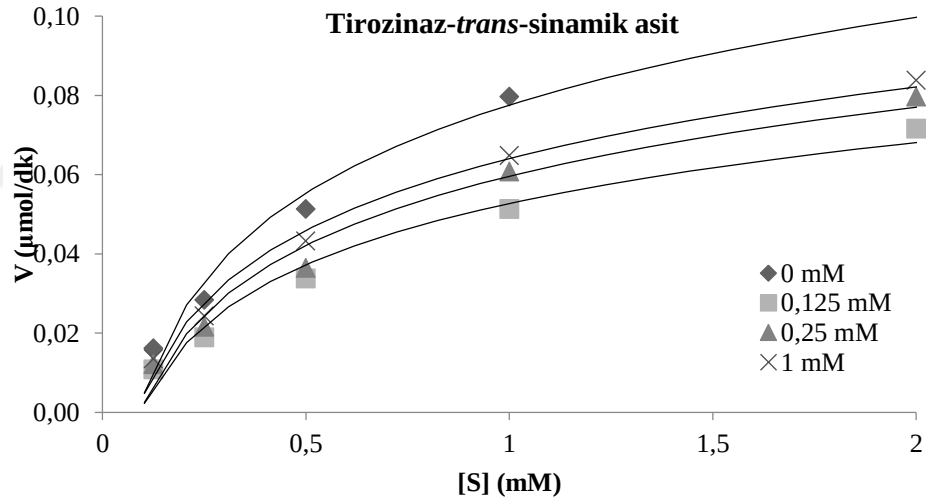
Zengin vd (2020), *P. ferulacea* bitkisinin metanolik ekstraktı için 131.94 ± 0.95 , *P. peucedanifolia* için 128.54 ± 1.79 mg KAE/g ekstrakt olarak hesaplamışlardır.



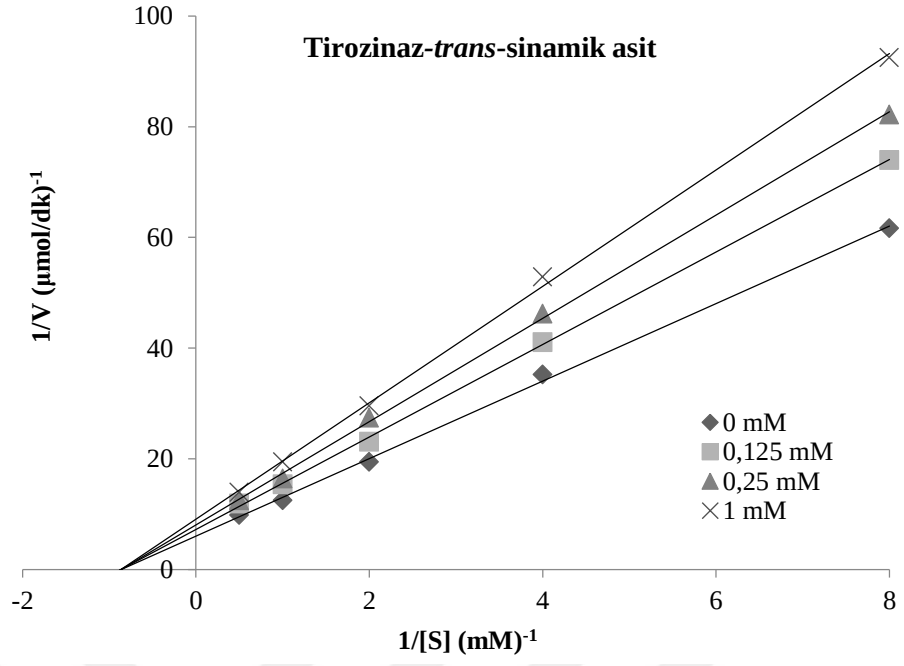
Şekil 4.73. Tirozinaz-rutin etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği



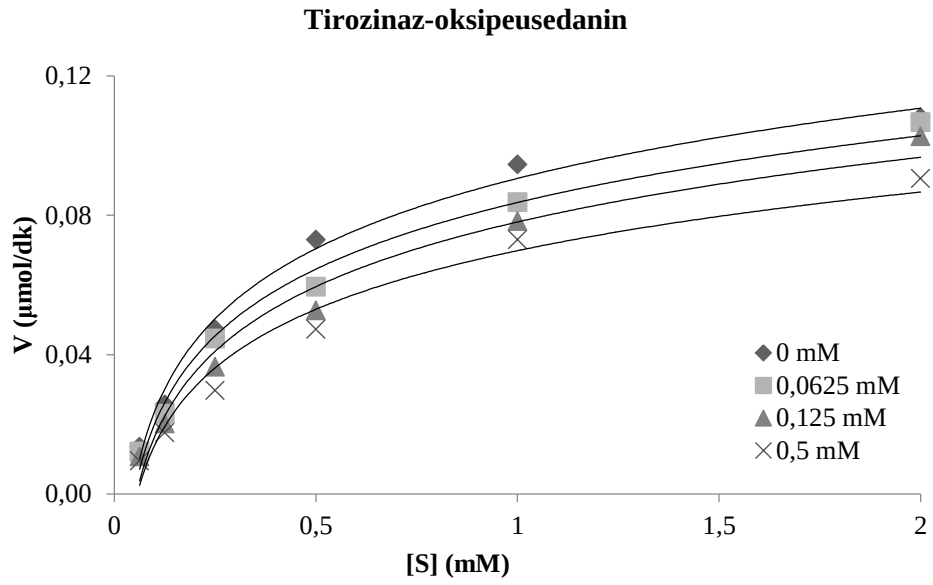
Şekil 4.74. Tirozinaz-rutin etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği



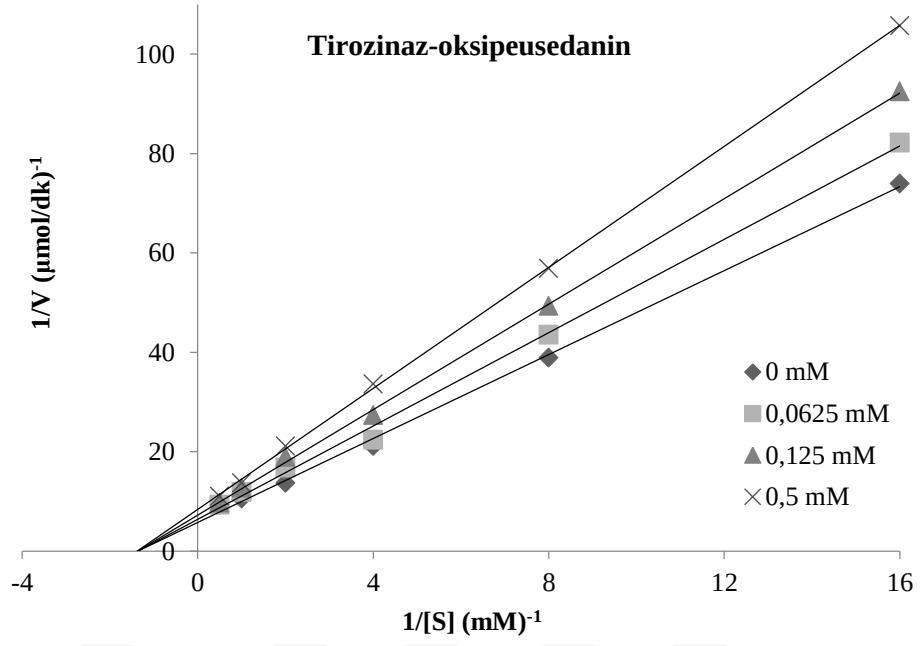
Şekil 4.75. Tirozinaz-*trans*-sinamik asit etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği



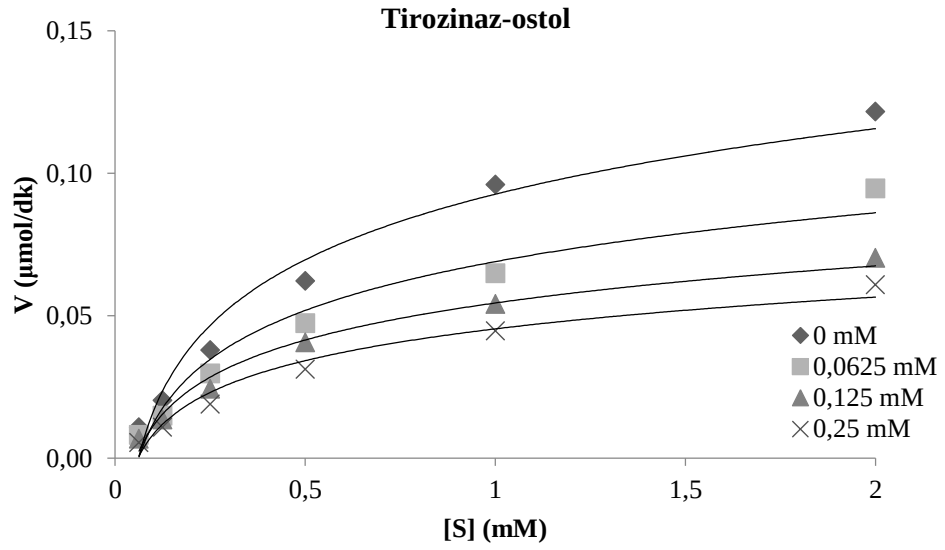
Şekil 4.76. Tirozinaz-*trans*-sinamik asit etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği



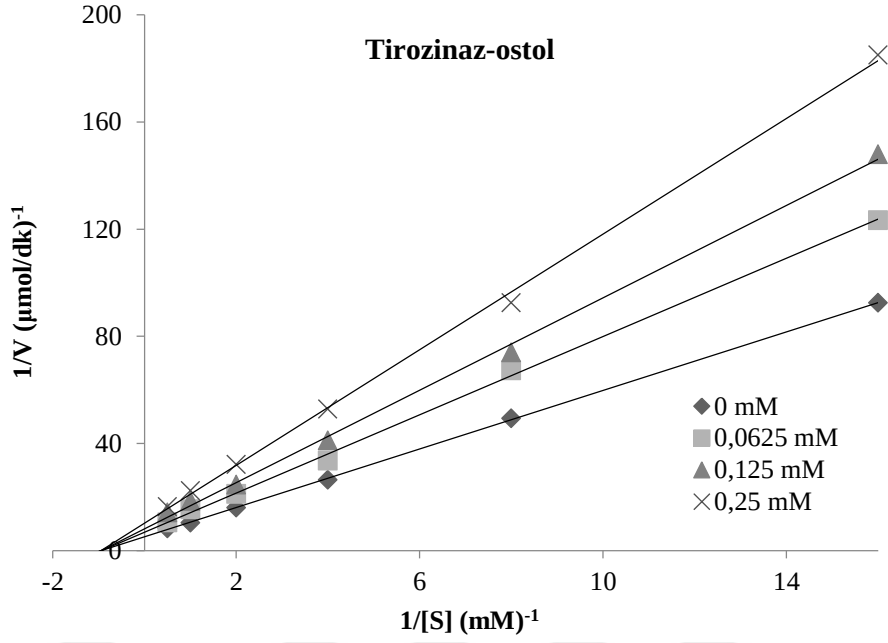
Şekil 4.77. Tirozinaz-oksipeusedanin etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği



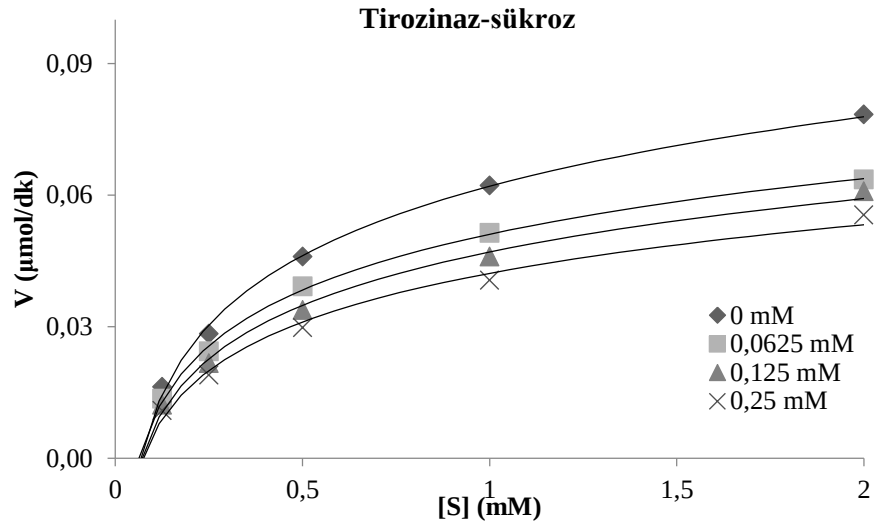
Şekil 4.78. Tirozinaz-oksipeusedanin etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği



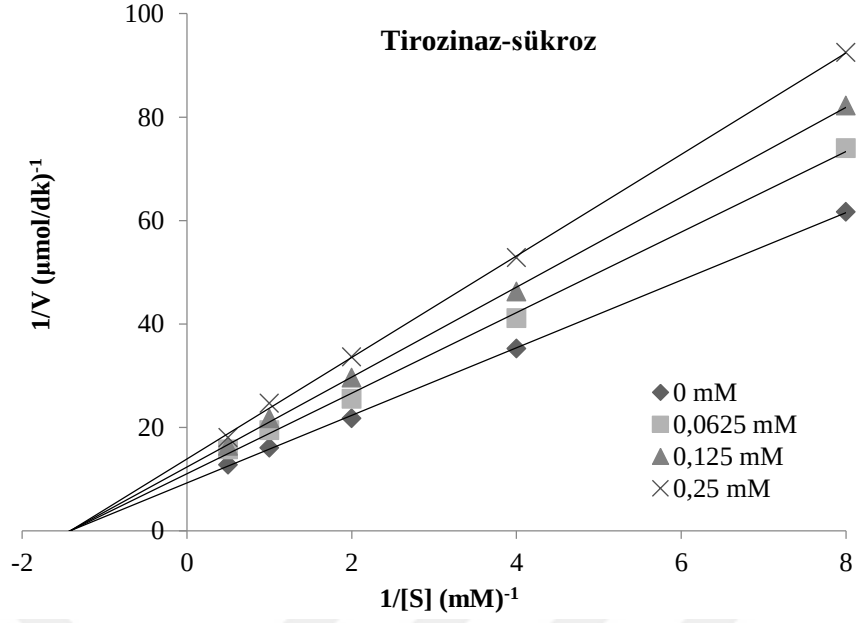
Şekil 4.79. Tirozinaz-ostol etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği



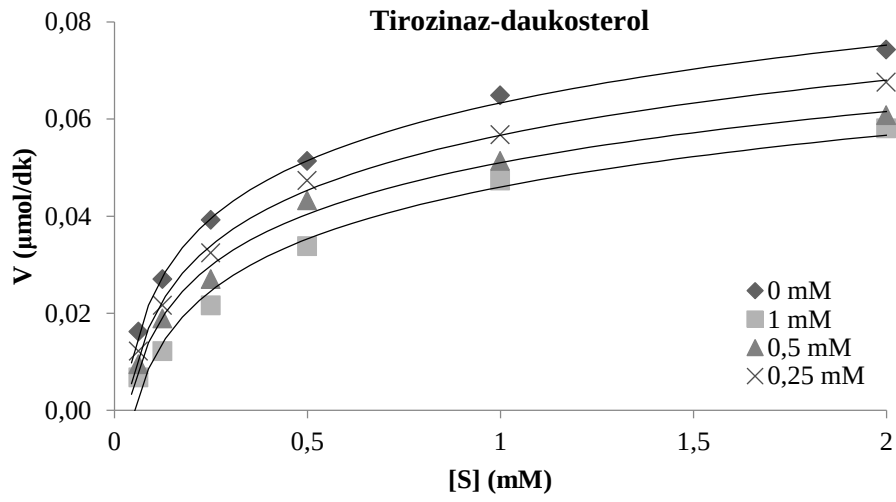
Şekil 4.80. Tirozinaz-ostol etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği



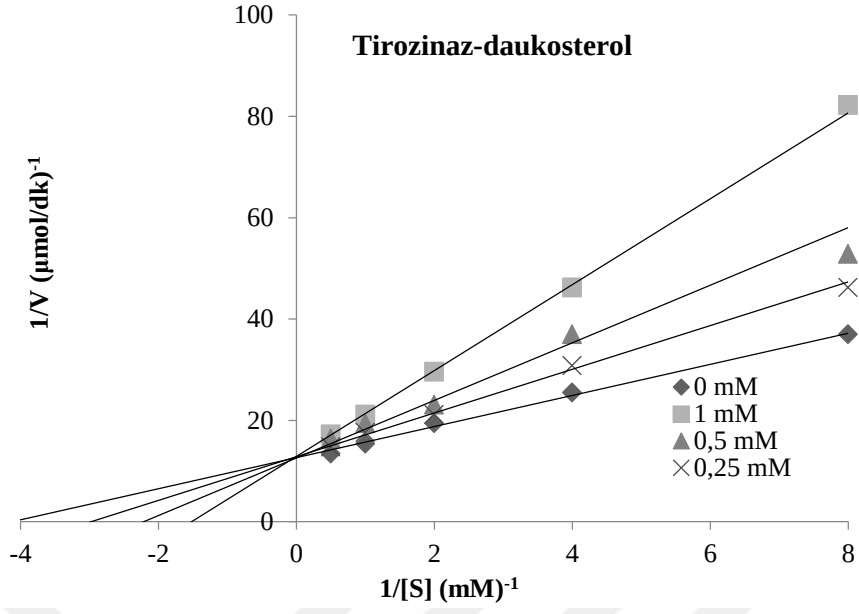
Şekil 4.81. Tirozinaz-sükroz etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği



Şekil 4.82. Tirozinaz-sükroz etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği



Şekil 4.83. Tirozinaz-daukosterol etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği



Şekil 4.84. Tirozinaz-daukosterol etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği

Tablo 4.39. Tirozinaz ile izolatlar arasındaki etkileşimlere ait V_{maks} , K_m , inhibisyon türü ve K_i değerleri

Rutin				
Derişim (mM)	V_{maks} (μmol/dk)	K_m (mM)	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0	0.287	2.285	Yarı Yarışmalı	0.12
0.0625	0.114	0.927		
0.125	0.082	0.715		
0.25	0.057	0.532		
trans-sinamik asit				
Derişim (mM)	V_{maks} (μmol/dk)	K_m (mM)	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0	0.165	1.157	Yarışmasız	2.10
0.125	0.138	1.157		
0.25	0.124	1.161		
1	0.110	1.156		
Oksipeusedanin				
Derişim (mM)	V_{maks} (μmol/dk)	K_m (mM)	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0	0.174	0.733	Yarışmasız	3.11
0.0625	0.156	0.733		
0.125	0.138	0.732		
0.5	0.120	0.735		
Ostol				
Derişim (mM)	V_{maks} (μmol/dk)	K_m (mM)	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0	0.195	1.065	Yarışmasız	2.49
0.0625	0.145	1.060		
0.125	0.123	1.059		
0.25	0.098	1.057		
Sükroz				
Derişim (mM)	V_{maks} (μmol/dk)	K_m (mM)	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0	0.108	0.706	Yarışmasız	3.94
0.0625	0.091	0.706		
0.125	0.081	0.707		
0.25	0.072	0.705		
Daukostreol				
Derişim (mM)	V_{maks} (μmol/dk)	K_m (mM)	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0	0.079	0.243	Yarışmalı	0.61
0.25	0.078	0.336		
0.5	0.079	0.451		
1	0.078	0.658		

Tirozinaz için en iyi sonucu rutin molekülü yarı yarışmalı, 0.12 K_i değeri ile vermiştir.

4.5.2.4. Üreaz İnhibisyon Etkisi ve Kinetik Çalışmaları

Ham ekstraktların, uçucu yağların, fraksiyonların, alt fraksiyonların ve izolatların üreaz inhibisyonu sonuçları PAY, PAM, PAK ve PAS için ayrı ayrı olmak üzere Tablo 4.40. ile 4.43. arasında gösterilmiştir.

Saf maddelerin üreaz inhibisyon etkileşimlerinin mekanizmalarının belirlenmesi amacıyla izolatların yer aldığı ve yer almadığı ortamlarda Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek K_m ve V_{maks} değerleri belirlendi (Şekil 4.85. ile Şekil 4.96. arasında) ve Tablo 4.44.'de ise üreaz ile izolatlar arasındaki etkileşimlere ait V_{maks} , K_m , inhibisyon türü ve K_i değerleri gösterildi.

Üreaz inhibisyon mekanizmasında rutin molekülünün etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri hesaplandı, Üreaz molekülünün farklı konsantrasyondaki 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 kullanıldı ve K_i değeri 1.24 mM olarak hesaplandı.

Üreaz inhibisyon mekanizmasında *trans*-sinamik asit molekülünün etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde belirlendi ve K_i değeri hesaplandı, *trans*-sinamik asit molekülünün farklı konsantrasyonlardaki etkilerine bağlı Üreaz aktivitelerinin belirlenmesi sonucunda V_{maks} değerinin azaldığı ve K_m değerinin ise sabit kaldığı belirlendi. Bu sonuca göre, K_i değerinin belirlenmesinde yarışmasız inhibisyona göre, $K_i = \frac{V_{maks}[I]}{(V_{maks} - V_{maks}^i)}$ formülü kullanıldı ve K_i değeri 0.70 mM olarak hesaplandı.

Üreaz inhibisyon mekanizmasında oksipeusedanin molekülünün etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde belirlendi ve K_i değeri hesaplandı, oksipeusedanin molekülünün farklı konsantrasyonlardaki etkilerine bağlı Üreaz aktivitelerinin belirlenmesi sonucunda V_{maks} değerinin azaldığı ve K_m değerinin ise sabit kaldığı belirlendi. Bu sonuca göre, K_i değerinin belirlenmesinde yarışmasız inhibisyona göre, $K_i = \frac{V_{maks}[I]}{(V_{maks} - V_{maks}^i)}$ formülü kullanıldı ve K_i değeri 0.26 mM olarak hesaplandı.

Üreaz inhibisyon mekanizmasında ostol molekülünün etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde belirlendi ve K_i değeri hesaplandı, ostol molekülünün farklı konsantrasyonlardaki etkilerine bağlı Üreaz aktivitelerinin belirlenmesi sonucunda V_{maks} değerinin azaldığı ve K_m değerinin ise sabit kaldığı belirlendi. Bu sonuca göre,

K_i değerin belirlenmesinde yarışmasız inhibisyona göre, $K_i = \frac{V_{maks}[I]}{(V_{maks} - V_{maks}^i)}$ formülü kullanıldı ve K_i değeri 0.52 mM olarak hesaplandı.

Üreaz inhibisyon mekanizmasında süroz molekülünün etkisi yarı yarışmalı inhibisyon şeklinde belirlendi ve K_i değeri hesaplandı, süroz molekülünün farklı konsantrasyonlardaki etkilerine bağlı Üreaz aktivitelerinin belirlenmesi sonucunda V_{maks} değerin sabit kaldığı ve K_m değerin ise arttığı belirlendi. Bu sonuca göre, K_i değerin belirlenmesinde yarı yarışmalı inhibisyona göre, $K_i = \frac{V_{maks}^i[I]}{(V_{maks} - V_{maks}^i)}$ formülü kullanıldı ve K_i değeri 0.22 mM olarak hesaplandı.

Üreaz inhibisyon mekanizmasında daukosterol molekülünün etkisi yarışmasız inhibisyon şeklinde gösterdiği belirlendi ve K_i değeri hesaplandı, Üreaz molekülünün farklı konsantrasyondaki K_m değerlerinin sabit kaldığı ve V_{maks} değerlerinin ise azaldığı belirlendi. Bu sonuca göre, K_i değerin belirlenmesinde yarışmasız inhibisyona göre, $K_i = \frac{V_{maks}[I]}{(V_{maks} - V_{maks}^i)}$ formülü kullanıldı ve K_i değeri 1.05 mM olarak hesaplandı.

Tablo 4.40. PAY ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların üreaz inhibisyonu sonuçları

Örnekler	Aktivite, IC ₅₀ (µg/mL)	R ²
PAY	37.07±5.60 ^{jk}	0.95
PAYUY	B	B
PAY1	9.21±1.08 ^{abcde}	0.60
PAY2	18.72±0.77 ^{hi}	0.89
PAY3	5.73±0.03 ^{abc}	0.63
PAY4	5.00±0.29 ^{ab}	0.86
PAY5	40.87±1.73 ^k	0.97
PAY51	16.57±0.58 ^{ghi}	0.95
PAY53	20.83±0.93 ⁱ	0.81
PAY54	9.47±0.13 ^{abcde}	0.62
PAY6	B	B
PAY63	14.49±0.53 ^{fgh}	0.82
PAY7	4.55±0.74 ^a	0.60
PAY71	13.80±0.96 ^{defgh}	0.79
PAY73	33.91±3.15 ^j	0.76
PAY8	4.71±0.36 ^{ab}	0.81
PAY82	18.46±1.61 ^{hi}	0.65
PAY83	5.74±0.13 ^{abc}	0.74
PAY84	14.13±0.16 ^{defgh}	0.89
<i>trans</i> -sinamik asit (PAY84)	11.50±0.14 ^{cdefg}	0.76
PAY9	14.31±1.08 ^{efgh}	0.93
PAY10	14.31±1.19 ^{efgh}	0.79
PAY102	7.35±0.09 ^{abc}	0.83
PAY11	9.97±0.00 ^{abcde}	0.93
PAY12	8.59±0.50 ^{abcde}	0.80
Rutin (PAY121)	B	B
PAY13	8.53±0.46 ^{abcd}	0.86
PAY14	10.36±0.55 ^{bcde}	0.81
PAY15	10.06±0.00 ^{abcde}	0.87
Tiyoüre	5.37±1.86 ^{ab}	0.88

(*p* < 0.05), B: Belirlenemedi.

Üreaz inhibisyon çalışmasından elde edilen üç tekrarlı analizlerin sonuçlarına ait her bir parametre $\pm$ standart sapma değerleriyle ifade edildi. Bu veriler IBM Statistical Package for Social Studies (SPSS) 20.0 programında analiz edildi. Analiz ortalamaları arasındaki ikiden çok bağımsız grup ortalamaları ve veriler normal dağılımlı varyanslar homojen olduğundan ANOVA kullanıldı. Elde edilen verilerin doğrultusunda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD^{a,b} kullanıldı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, *P. aricakensis* yaprak ekstraktının, uçucu yağının, fraksiyonlarının, alt fraksiyonlarının, izolatlarının ve standart maddenin üreaz inhibisyonu (IC₅₀) ortalama değerleri a ile k arasında harflendirilmiştir. “a” en düşük ortalamayı, “k” ise en yüksek ortalamayı belirtmektedir. Aktivite sonuçları arasında farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık vardır ($p < 0.05$). Örnekler ve standartlar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; “a”, “b” gibi farklı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark varken “ab”, “bc” gibi aynı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark yoktur ($p < 0.05$).

Üreaz inhibisyonu incelendiğinde PAY84 (14.13 $\pm$ 0.16 μ g/mL) ve PAY12 (8.59 $\pm$ 0.50 μ g/mL) fraksiyonları genel olarak standartlardan daha düşük aktivite göstermektedir. Bunların dışında PAY7 (4.55 $\pm$ 0.74 μ g/mL) fraksiyonları standartlardan ve diğer fraksiyonlardan daha yüksek aktivite göstermiştir. Fraksiyonlardan alt fraksiyonlara gidildikçe aktivitenin azaldığı görülmüştür.

Üreaz inhibisyonunda, biyoaktivite yönlendirmeli izolasyona göre PAY84 (14.13 $\pm$ 0.16 μ g/mL) fraksiyonundan izole edilen *trans*-sinamik asit molekülü (11.50 $\pm$ 0.14 μ g/mL) izole edildiğinde fraksiyondan daha yüksek aktivite gösterirken PAY12 (8.59 $\pm$ 0.50 μ g/mL) fraksiyonundan izole edilen rutin molekülünün aktivite göstermediği belirlenmiştir. PAY84 (14.13 $\pm$ 0.16 μ g/mL) fraksiyonun aktivitesinin izole edilen molekülden düşük olmasının nedeni fraksiyonda bulunan farklı moleküllerin antagonistik göstermesinden kaynaklanıyor olabilir (Tablo 4.40.).

Tablo 4.41. PAM ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar ve alt fraksiyonların üreaz inhibisyonu sonuçları

Örnekler	Aktivite, IC ₅₀ (µg/mL)	R ²
PAM	6.48±3.17 ^{ab}	0.95
PAMUY	B	B
PAM1	5.84±0.10 ^{ab}	0.86
PAM2	30.75±1.96 ^{gh}	0.87
PAM3	9.45±0.96 ^{bcd}	0.91
PAM34	16.65±0.14 ^{de}	0.75
PAM4	36.24±0.51 ^h	0.90
PAM5	46.46±3.01 ⁱ	0.97
PAM6	16.12±0.00 ^{de}	0.98
PAM61	4.60±1.88 ^{ab}	0.89
PAM62	2.81±0.02 ^{ab}	0.61
PAM7	15.33±0.00 ^{cde}	0.91
PAM8	3.00±0.00 ^{ab}	0.61
PAM82	8.68±0.21 ^{bc}	0.90
PAM83	3.23±0.01 ^{ab}	0.72
PAM9	25.1±5.72 ^{fg}	0.91
PAM91	4.31±0.04 ^{ab}	0.75
PAM10	21.33±0.30 ^{ef}	0.97
Tiyoüre	5.37±1.86 ^{ab}	0.88

($p < 0.05$), B: Belirlenemedi.

Üreaz inhibisyon çalışmasından elde edilen üç tekrarlı analizlerin sonuçlarına ait her bir parametre $\pm$ standart sapma değerleriyle ifade edildi. Bu veriler IBM Statistical Package for Social Studies (SPSS) 20.0 programında analiz edildi. Analiz ortalamaları arasındaki ikiden çok bağımsız grup ortalamaları ve veriler normal dağılımlı varyanslar homojen olduğundan ANOVA kullanıldı. Elde edilen verilerin doğrultusunda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD^{a,b} kullanıldı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, *P. aricakensis* meyve ekstraktının, uçucu yağının, fraksiyonlarının, alt fraksiyonlarının ve standart maddenin üreaz inhibisyonu (IC₅₀) ortalama değerleri a ile i arasında harflendirilmiştir. “a” en düşük ortalamayı, “i” ise en yüksek ortalamayı belirtmektedir. Aktivite sonuçları arasında farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık vardır ($p < 0.05$). Örnekler ve standartlar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; “a”, “b” gibi farklı harflerle

harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark varken “ab”, “bc” gibi aynı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark yoktur ($p < 0.05$).

Meyve fraksiyonları içerisinde PAM62 ($2.81 \pm 0.02 \mu\text{g/mL}$), PAM8 ($3.00 \pm 0.00 \mu\text{g/mL}$), PAM83 ($3.23 \pm 0.01 \mu\text{g/mL}$), PAM91 ($4.31 \pm 0.04 \mu\text{g/mL}$) ve PAM61 ($4.60 \pm 1.88 \mu\text{g/mL}$) fraksiyonları tiyoüre ($5.37 \pm 1.86 \mu\text{g/mL}$)’den daha iyi üreaz inhibisyon sonucu vermiştir (Tablo 4.41.).

Tablo 4.42. PAK ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların üreaz inhibisyonu sonuçları

Örnekler	Aktivite, IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	R ²
PAK	$14.20 \pm 3.96^{\text{cde}}$	0.88
PAKUY	B	B
PAK1	$29.24 \pm 1.55^{\text{gh}}$	0.94
Oksipeusedanin (PAK1)	$3.03 \pm 0.00^{\text{ab}}$	0.82
PAK2	$26.38 \pm 1.04^{\text{fg}}$	0.91
Ostol (PAK2)	$13.26 \pm 0.04^{\text{cde}}$	0.99
PAK3	$25.38 \pm 5.28^{\text{fg}}$	0.93
PAK4	$18.88 \pm 2.66^{\text{ef}}$	0.98
PAK44	$20.29 \pm 0.39^{\text{efg}}$	0.91
PAK5	$22.64 \pm 0.08^{\text{efg}}$	0.97
PAK6	$37.97 \pm 4.46^{\text{hi}}$	0.89
PAK62	$13.52 \pm 0.81^{\text{cde}}$	0.94
PAK7	$46.78 \pm 2.94^{\text{i}}$	0.95
PAK8	$18.29 \pm 5.52^{\text{def}}$	0.82
PAK9	$40.52 \pm 3.43^{\text{i}}$	0.95
PAK93	$8.42 \pm 0.46^{\text{abcd}}$	0.79
PAK94	$12.79 \pm 0.26^{\text{bcde}}$	0.94
Sükroz (PAK9)	$14.81 \pm 0.26^{\text{cde}}$	0.83
PAK10	$16.40 \pm 0.51^{\text{def}}$	0.81
Tiyoüre	$5.37 \pm 1.86^{\text{abc}}$	0.88

($p < 0.05$), B: Belirlenemedi.

Üreaz inhibisyon çalışmasından elde edilen üç tekrarlı analizlerin sonuçlarına ait her bir parametre $\pm$ standart sapma değerleriyle ifade edildi. Bu veriler IBM Statistical Package for Social Studies (SPSS) 20.0 programında analiz edildi. Analiz

ortalamaları arasındaki ikiden çok bağımsız grup ortalamaları ve veriler normal dağılımlı varyanslar homojen olduğundan ANOVA kullanıldı. Elde edilen verilerin doğrultusunda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD^{a,b} kullanıldı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, *P. aricakensis* kök ekstraktının, uçucu yağının, fraksiyonlarının, alt fraksiyonlarının, izolatlarının ve standart maddenin üreaz inhibisyonu (IC₅₀) ortalama değerleri a ile i arasında harflendirilmiştir. “a” en düşük ortalamayı, “i” ise en yüksek ortalamayı belirtmektedir. Aktivite sonuçları arasında farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık vardır ($p<0.05$). Örnekler ve standartlar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; “a”, “b” gibi farklı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark varken “ab”, “bc” gibi aynı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark yoktur ($p<0.05$).

Üreaz inhibisyonu incelendiğinde PAK1 (29.24±1.55 µg/mL), PAK2 (26.38±1.04 µg/mL) ve PAK9 (40.52±3.43 µg/mL) fraksiyonları genel olarak standartlardan daha düşük aktivite göstermektedir. Bunların dışında PAK93 (8.42±0.46 µg/mL) fraksiyonları standartlardan ve diğer fraksiyonlardan daha yüksek aktivite göstermiştir. Fraksiyonlardan alt fraksiyonlara gidildikçe aktivitenin azaldığı görülmüştür.

Biyoaktivite yönlendirmeli izolasyona göre PAK1 (29.24±1.55 µg/mL) fraksiyonundan izole edilen oksipeusedanin (3.03±0.00 µg/mL), PAK2 (26.38±1.04 µg/mL) fraksiyonundan izole edilen ostol (13.26±0.04 µg/mL) ve PAK9 (40.52±3.43 µg/mL) fraksiyonundan izole edilen sükroz molekülleri (14.81±0.26 µg/mL) izole edildiği fraksiyonlardan da daha yüksek aktivite göstermektedir. PAK1, PAK2 ve PAK9 fraksiyonlarının aktivitesinin izole edilen molekülden düşük olmasının nedeni fraksiyonda bulunan farklı moleküllerin antagonistik etki göstermesinden kaynaklanıyor olabilir (Tablo 4.42.).

Tablo 4.43. PAS ham ekstrakt, uçucu yağ, fraksiyonlar, alt fraksiyonlar ve izolatların üreaz inhibisyonu sonuçları

Örnekler	Aktivite, IC ₅₀ (µg/mL)	R ²
PAS	2.77±0.44 ^{ab}	0.76
PASUY	B	B
PAS1	4.82±1.45 ^{abc}	0.81
PAS2	14.07±5.80 ^{defg}	0.79
PAS3	15.18±4.24 ^{efgh}	0.96
PAS4	38.52±2.72 ⁱ	0.82
PAS41	15.62±0.42 ^{efgh}	0.84
PAS42	11.78±0.13 ^{cdefg}	0.92
Daukosterol (PAS4)	5.57±0.24 ^{abcd}	0.82
PAS5	7.60±1.60 ^{abcde}	0.83
PAS6	7.32±1.79 ^{abcde}	0.75
PAS61	17.62±0.24 ^{fgh}	0.93
PAS62	18.70±1.11 ^{gh}	0.91
PAS63	22.92±1.02 ^h	0.77
PAS7	4.41±0.77 ^{abc}	0.79
PAS72	77.51±3.68 ^j	0.80
PAS73	9.03±0.37 ^{bcdef}	0.63
Tiyoüre	5.37±1.86 ^{abc}	0.88

($p < 0.05$), B: Belirlenemedi.

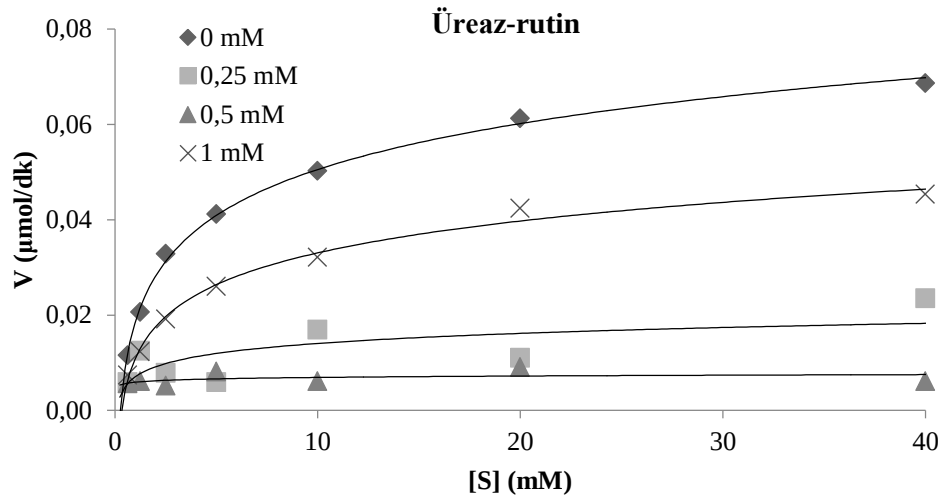
Üreaz inhibisyon çalışmasından elde edilen üç tekrarlı analizlerin sonuçlarına ait her bir parametre $\pm$ standart sapma değerleriyle ifade edildi. Bu veriler IBM Statistical Package for Social Studies (SPSS) 20.0 programında analiz edildi. Analiz ortalamaları arasındaki ikiden çok bağımsız grup ortalamaları ve veriler normal dağılımlı varyanslar homojen olduğundan ANOVA kullanıldı. Elde edilen verilerin doğrultusunda çoklu karşılaştırmalar için Tukey HSD^{a,b} kullanıldı. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, *P. aricakensis* sap ekstraktının, uçucu yağının, fraksiyonlarının, alt fraksiyonlarının, izolatının ve standart maddenin üreaz inhibisyonu (IC₅₀) ortalama değerleri a ile j arasında harflendirilmiştir. “a” en düşük ortalamayı, “j” ise en yüksek ortalamayı belirtmektedir. Aktivite sonuçları arasında farklı harflerin olduğu konsantrasyonlarda anlamlı bir farklılık vardır ($p < 0.05$). Örnekler ve standartlar kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; “a”, “b” gibi farklı harflerle harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark varken “ab”, “bc” gibi aynı harflerle

harflendirilen örnekler arasında anlamlı bir fark yoktur ($p < 0.05$).

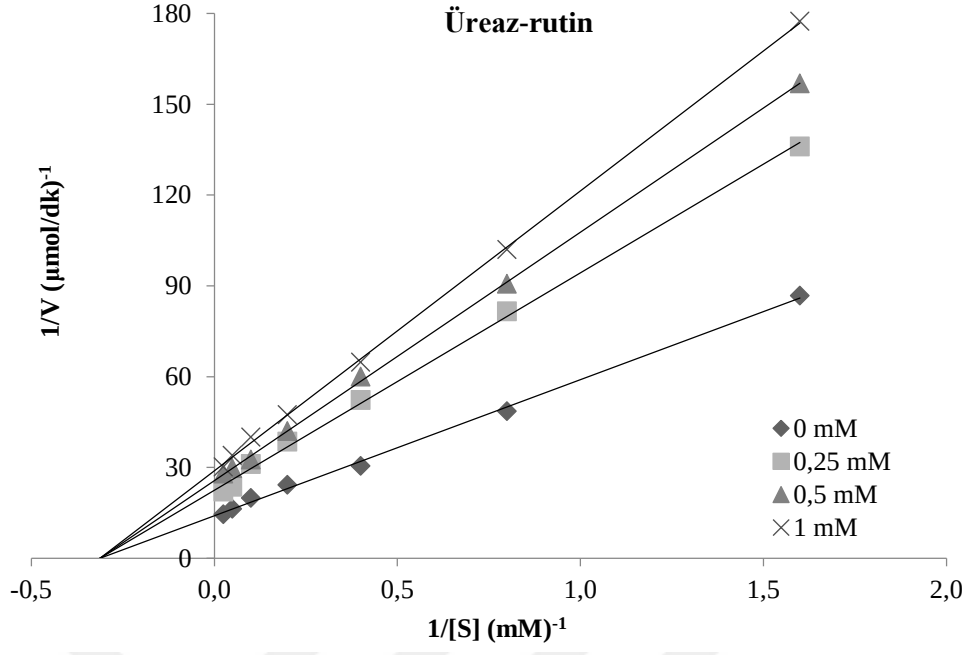
Üreaz inhibisyonu incelendiğinde PAS4 ($38.52 \pm 2.72 \mu\text{g/mL}$) fraksiyonu genel olarak standartlardan daha düşük aktivite göstermektedir. Bunların PAS ($2.77 \pm 0.44 \mu\text{g/mL}$) fraksiyonları standartlardan ve diğer fraksiyonlardan daha yüksek aktivite göstermiştir. Fraksiyonlardan alt fraksiyonlara gidildikçe aktivitenin azaldığı görülmüştür.

Biyoaktivite yönlendirmeli izolasyona göre PAS4 ($38.52 \pm 2.72 \mu\text{g/mL}$) fraksiyonundan izole edilen daukosterol molekülü ($5.57 \pm 0.24 \mu\text{g/mL}$) izole edildiği fraksiyondan da daha yüksek aktivite göstermektedir. Fraksiyonun aktivitesinin izole edilen molekülden düşük olmasının nedeni fraksiyonda bulunan farklı moleküllerin antagonistik etki göstermesinden kaynaklanıyor olabilir (Tablo 4.43.).

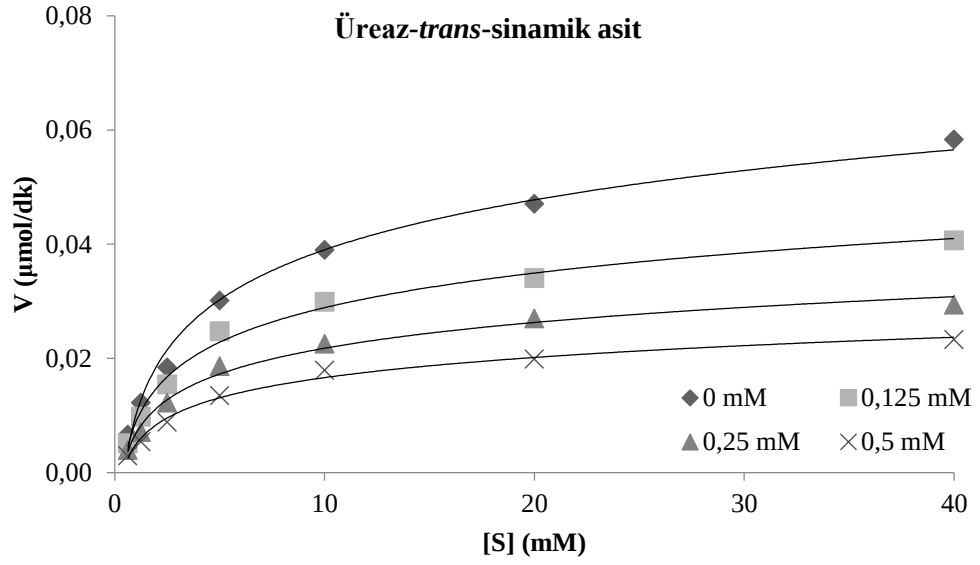
Moleküllerin sinerjik etkisinden dolayı bakteriyel kaynaklı üreaza karşı aktivite gösterebilir (Ghobadi vd, 2021).



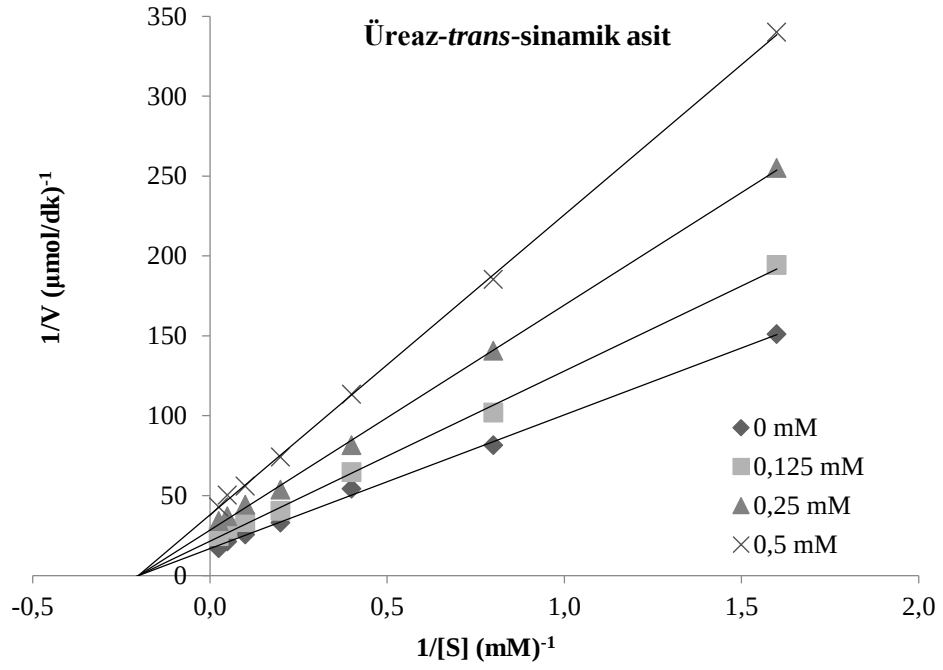
Şekil 4.85. Üreaz-rutin etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği



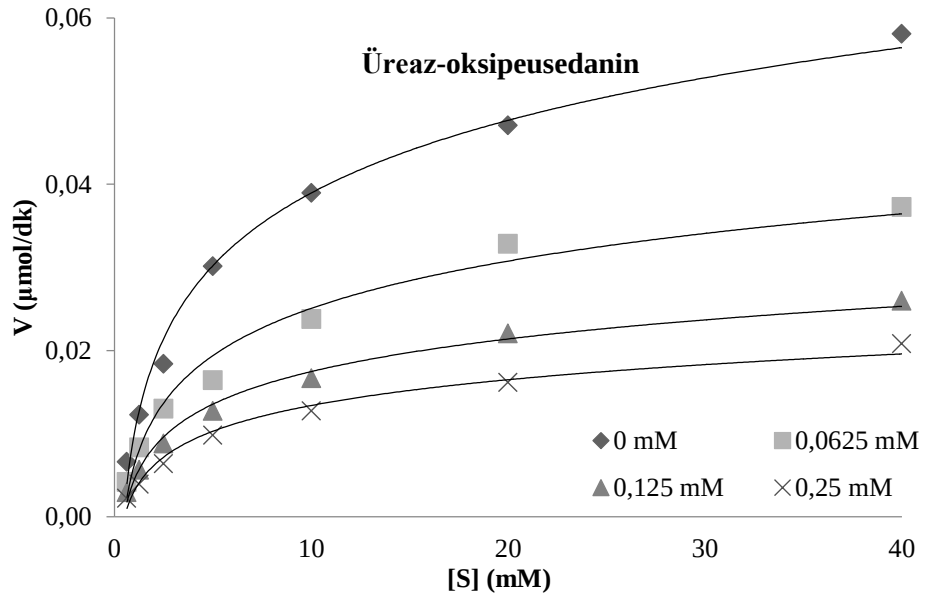
Şekil 4.86. Üreaz-rutin etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği



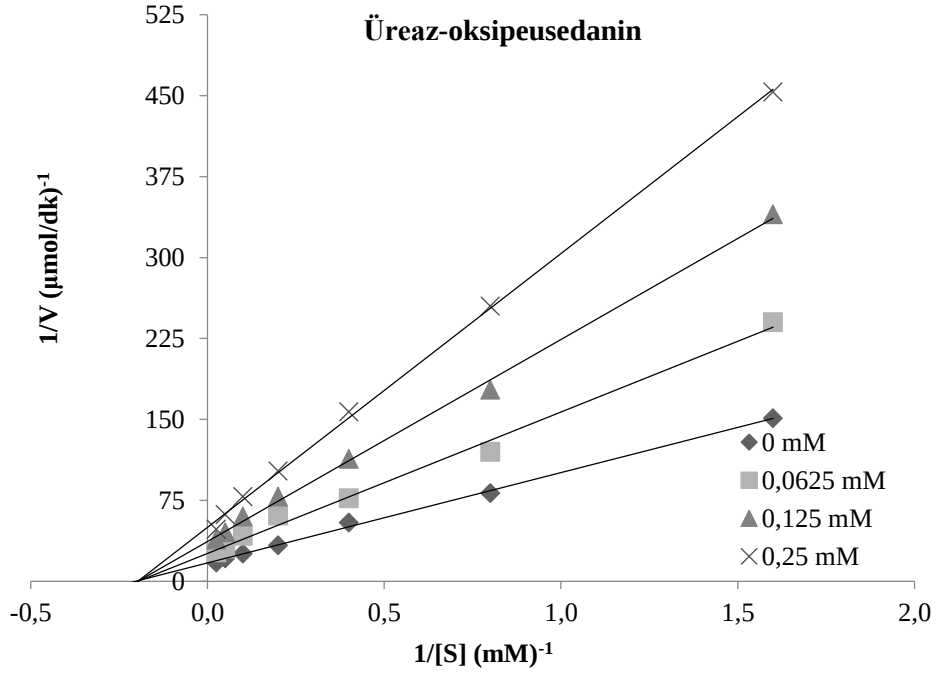
Şekil 4.87. Üreaz-trans-sinamik asit etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği



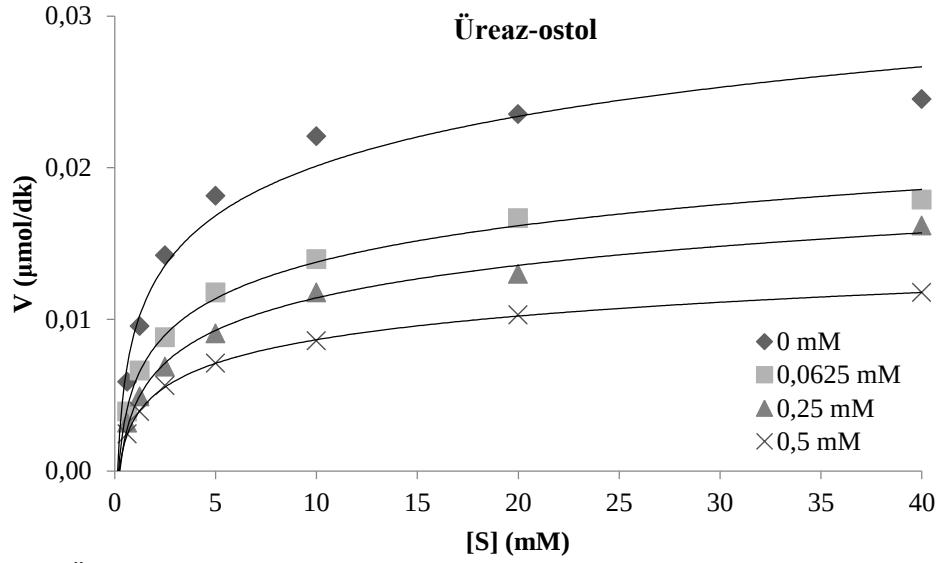
Şekil 4.88. Üreaz-*trans*-sinamik asit etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği



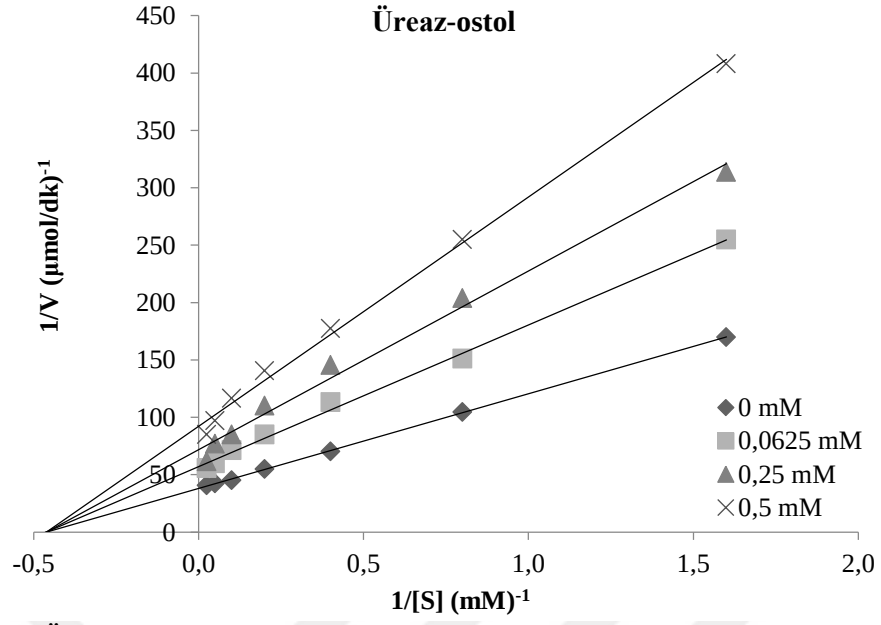
Şekil 4.89. Üreaz-oksipeusedanin etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği



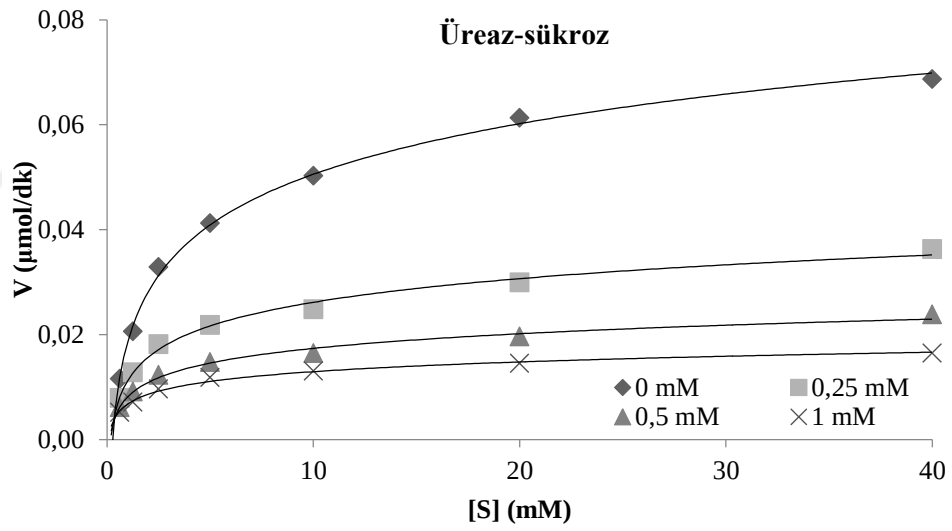
Şekil 4.90. Üreaz-oksipeusedanin etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği



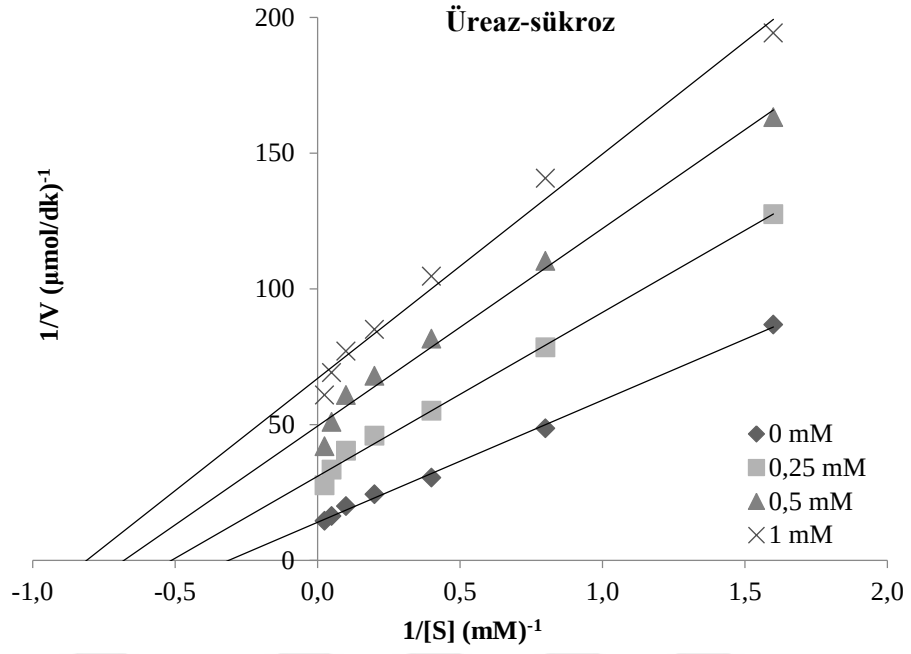
Şekil 4.91. Üreaz-ostol etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği



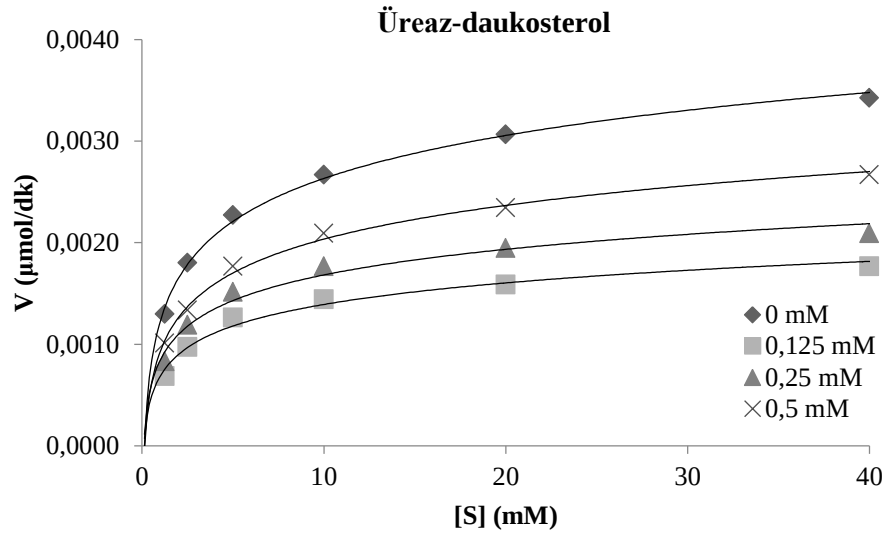
Şekil 4.92. Üreaz-ostol etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği



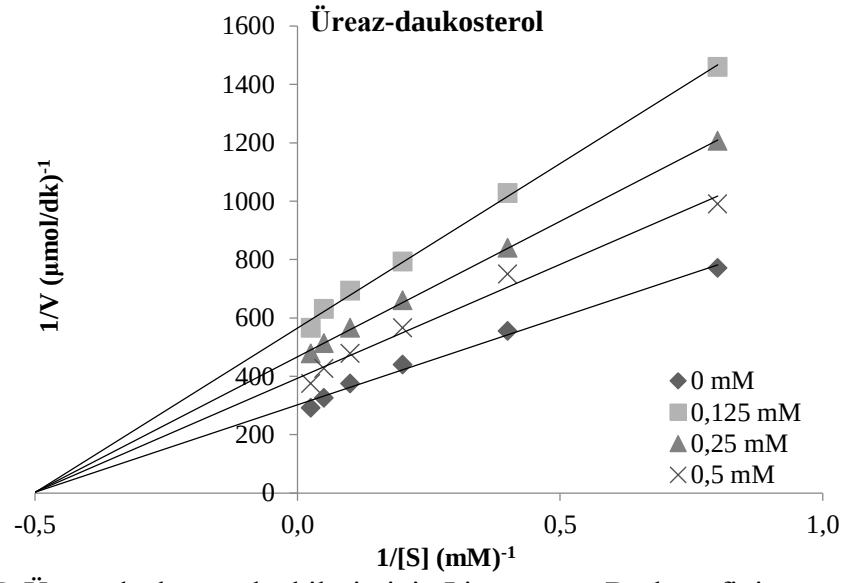
Şekil 4.93. Üreaz-sükroz etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği



Şekil 4.94. Üreaz-sükroz etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği



Şekil 4.95. Üreaz-daukosterol etkileşiminin Michaelis-Menten grafiği



Şekil 4.96. Üreaz-daukosterol etkileşiminin Lineweaver-Burk grafiği

Tablo 4.44. Üreaz ile izolatlar arasındaki etkileşimlere ait V_{maks} , K_m , inhibisyon türü ve K_i değerleri

Rutin				
Derişim (mM)	V_{maks} (μmol/dk)	K_m (mM)	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0	0.071	3.205	Yarışmasız	1.24
0.25	0.045	3.196		
0.5	0.039	3.200		
1	0.035	3.198		
trans-sinamik asit				
Derişim (mM)	V_{maks} (μmol/dk)	K_m (mM)	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0	0.059	4.945	Yarışmasız	0.70
0.125	0.046	4.949		
0.25	0.035	4.948		
0.5	0.026	4.049		
Oksipeusedanin				
Derişim (mM)	V_{maks} (μmol/dk)	K_m (mM)	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0	0.061	5.076	Yarışmasız	0.26
0.0625	0.039	5.059		
0.125	0.027	5.062		
0.025	0.020	5.072		
Ostol				
Derişim (mM)	V_{maks} (μmol/dk)	K_m (mM)	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0	0.026	2.163	Yarışmasız	0.52
0.625	0.018	2.161		
0.25	0.014	2.164		
0.5	0.011	2.165		
Sükroz				
Derişim (mM)	V_{maks} (μmol/dk)	K_m (mM)	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0	0.071	3.205	Yarı Yarışmalı	0.22
0.25	0.032	1.952		
0.5	0.020	1.472		
1	0.015	1.233		
Daukostreol				
Derişim (mM)	V_{maks} (μmol/dk)	K_m (mM)	İnhibisyon türü	K_i (mM)
0	0.00330	1.979	Yarışmasız	1.05
0.125	0.00177	1.991		
0.25	0.00214	1.984		
0.5	0.00254	1.983		

Üreaz için en iyi sonucu sükroz molekülü yarı yarışmalı, 0.22 K_i değeri ile göstermiştir.

4.5.3. Antimikrobiyal Aktivite

Ham ekstraktların, uçucu yağların, fraksiyonların, alt fraksiyonların ve izolatların antibakteriyel aktivite çalışmaları MİK metodu ile çalışılarak sonuçlar amoksisilin ve tetrasiklin antibiyotikleri ile karşılaştırıldı (Tablo 4.45. ile 4.48. arasında).



Tablo 4.45. PAY ham ekstraktın, fraksiyonların, alt fraksiyonların, uçucu yağların ve izolatların MİK değerleri (µg/mL)

Örnekler	Gram-negatif bakteriler				Gram-pozitif bakteriler			
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumonia</i>	<i>S. enterica</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>
PAY	64	64	64	B	256	B	64	B
PAYUY	64	128	32	128	32	64	128	128
PAY1	512	1024	512	512	512	1024	512	512
PAY2	512	512	512	512	512	1024	512	512
PAY3	512	512	1024	512	512	512	512	512
PAY4	1024	1024	1024	512	1024	512	256	512
PAY5	1024	1024	512	512	1024	1024	256	512
PAY51	512	1024	512	1024	512	512	1024	512
PAY53	512	1024	512	512	512	512	1024	256
PAY54	512	1024	512	512	512	512	1024	128
PAY6	512	1024	1024	512	1024	512	256	512
PAY63	512	1024	512	512	256	1024	1024	256
PAY7	1024	1024	1024	512	1024	1024	512	512
PAY71	512	1024	512	512	512	1024	1024	512
PAY73	512	1024	512	512	512	1024	1024	256
PAY8	512	512	512	512	512	512	512	512
PAY82	512	1024	1024	512	1024	1024	1024	512
PAY83	512	1024	512	256	512	512	1024	256
PAY84	512	512	512	512	512	512	512	512
<i>trans</i> -sinamik asit (PAY84)	512	512	512	512	512	512	512	256
PAY9	512	1024	1024	512	512	512	1024	512
PAY10	512	512	512	512	512	512	512	512
PAY102	512	256	512	512	512	512	512	512
PAY11	512	1024	1024	512	1024	1024	1024	512
PAY12	512	1024	512	512	1024	1024	512	512
Rutin (PAY121)	512	512	512	512	512	512	512	1024
PAY13	512	1024	512	512	1024	1024	512	512
PAY14	1024	1024	1024	512	1024	1024	1024	512
PAY15	512	1024	1024	512	512	512	512	512
Amoksisilin	2	256	512	B	512	B	512	B
Tetrasiklin	8	128	256	32	512	B	8	B

B: Belirlenemedi.

Tablo 4.46. PAM ham ekstraktın, fraksiyonların, alt fraksiyonların ve uçucu yağların MİK değerleri (µg/mL)

Örnekler	Gram-negatif bakteriler				Gram-pozitif bakteriler			
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumonia</i>	<i>S. enterica</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>
PAM	64	128	32	B	256	B	64	B
PAMUY	64	128	32	128	32	2	32	128
PAM1	1024	512	512	512	1024	1024	1024	512
PAM2	1024	512	1024	512	1024	1024	512	512
PAM3	1024	512	1024	512	1024	1024	1024	512
PAM34	512	128	512	512	512	512	1024	256
PAM4	512	512	1024	512	1024	1024	1024	512
PAM5	512	1024	512	512	1024	1024	512	512
PAM6	512	1024	512	512	1024	1024	512	512
PAM61	512	512	512	1024	512	1024	1024	512
PAM62	512	128	256	512	512	512	1024	1024
PAM7	512	1024	512	512	1024	1024	512	512
PAM8	256	512	512	256	512	512	1024	512
PAM82	512	512	512	512	512	512	1024	512
PAM83	512	512	512	512	512	512	1024	512
PAM9	512	512	512	1024	512	1024	512	512
PAM91	512	512	512	512	512	512	1024	512
PAM10	512	1024	512	1024	512	1024	512	512
Amoksisilin	2	256	512	B	512	B	512	B
Tetrasiklin	8	128	256	32	512	B	8	B

B: Belirlenemedi.

Tablo 4.47. PAK ham ekstraktın, fraksiyonların, alt fraksiyonların, uçucu yağların ve izolatların MİK değerleri (µg/mL)

Örnekler	Gram-negatif bakteriler				Gram-pozitif bakteriler			
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumonia</i>	<i>S. enterica</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>
PAK	64	128	128	B	256	64	64	B
PAKUY	128	128	32	128	128	16	8	128
PAK1	1024	1024	512	1024	1024	1024	1024	512
Oksipeusedanin (PAK1)	512	1024	512	512	512	1024	1024	512
PAK2	512	512	512	1024	512	512	512	512
Ostol (PAK2)	1024	1024	1024	512	1024	1024	1024	512
PAK3	1024	1024	1024	512	1024	1024	1024	512
PAK4	1024	1024	1024	1024	1024	1024	1024	512
PAK44	1024	32	128	512	512	512	1024	256
PAK5	1024	1024	1024	1024	1024	1024	1024	512
PAK6	512	512	512	512	512	512	512	512
PAK62	512	32	512	1024	256	512	256	1024
PAK7	1024	512	512	512	1024	1024	1024	512
PAK8	1024	1024	1024	512	1024	1024	1024	512
PAK9	1024	1024	1024	512	1024	1024	1024	512
PAK93	512	32	512	512	512	512	512	512
PAK94	512	32	512	512	512	512	512	512
Sükroz (PAK9)	1024	256	1024	512	1024	1024	1024	1024
PAK10	1024	1024	1024	512	1024	1024	1024	512
Amoksisilin	2	256	512	B	512	B	512	B
Tetrasiklin	8	128	256	32	512	B	8	B

B: Belirlenemedi.

Tablo 4.48. PAS ham ekstraktın, fraksiyonların, alt fraksiyonların, uçucu yağların ve izolatların MİK değerleri (µg/mL)

Örnekler	Gram-negatif bakteriler				Gram-pozitif bakteriler			
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumonia</i>	<i>S. enterica</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>
PAS	128	128	128	B	256	128	128	B
PASUY	64	128	32	64	128	32	32	64
PAS1	1024	1024	1024	512	1024	512	1024	512
PAS2	1024	1024	1024	512	1024	1024	1024	512
PAS3	1024	1024	1024	512	1024	1024	512	512
PAS4	512	512	512	512	512	512	512	512
PAS41	512	32	512	1024	512	512	512	1024
PAS42	512	32	512	512	256	256	256	512
Daukosterol (PAS4)	512	1024	512	1024	512	512	1024	1024
PAS5	512	512	512	512	512	512	512	512
PAS6	512	1024	1024	512	512	1024	512	512
PAS61	512	32	512	512	512	512	512	512
PAS62	512	32	512	512	512	512	512	512
PAS63	512	512	1024	512	512	512	512	512
PAS7	512	512	512	512	512	1024	512	512
PAS72	512	512	1024	512	512	512	512	512
PAS73	512	512	1024	512	512	512	512	512
Amoksisilin	2	256	512	B	512	B	512	B
Tetrasiklin	8	128	256	32	512	B	8	B

B: Belirlenemedi.

MİK sonuçlarına göre ham ekstraktlara bakıldığında *K. pneumonia*'ya karşı bütün ekstraktların antibiyotiklerden daha etkili olduğu dikkat çekerken yine bir başka gram negatif bakteri olan *P. aeruginosa*'ya karşı PAY ekstraktının hem amoksisilin hem de tetrasiklinden daha etkili olduğu gözlenmiştir. Ham ekstrakt sonuçları fraksiyonlardan daha etkili gözükmiştir. Bunun sebebi ham ekstraktlarda bulunan birçok maddenin birbirleri ile yaptıkları sinerjik etkileşimler olabilir. Ayrıca genel olarak fraksiyonlar ile alt fraksiyonlar arasında büyük farklılıklar gözlenmemiştir.

Tada vd (2002) çalışmalarında, *P. pabularia*'dan elde edilen kumarin ve γ -piron türevlerinin *P. aeruginosa* ve *S. aureus*'a karşı MİK metodu ile antibakteriyel aktivitesini 31.25 $\mu\text{g/mL}$ olarak bulmuşlardır.

Massumi vd (2007) yaptıkları çalışmada, MİK metodu ile *P. ferulacea* bitkisinin meyve ekstraktının uçucu yağlarının *S.aureus* için 6.5 $\mu\text{g/mL}$ ve *E. coli* için 12.5 $\mu\text{g/mL}$ değerlerini gösterdiğini belirtmişlerdir.

Seidi Damyeh vd (2016), *P. ferulacea* bitkisinin uçucu yağlarının ekstraksiyonunun *S. aureus*, *B.cereus*, *E. coli* bakterileri için MİK değerlerini 6.25 mg/mL olarak bulmuşlardır.

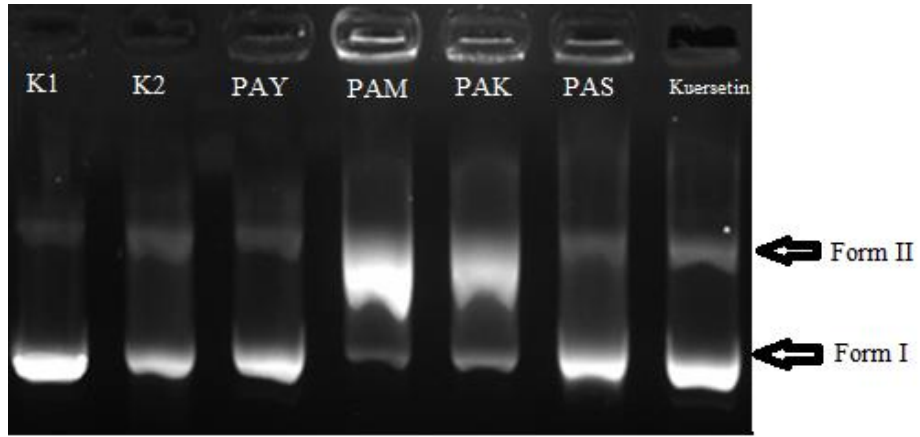
Zengin vd (2020), çalışmalarında *P. ferulacea* ve *P. peucedanifolia* bitkilerinin metanolik ekstraktlarına MİK testi uygulamışlar ve mg/mL cinsinden *S. aureus*'a karşı sırasıyla 1.12 ± 0.01 ve 1.12 ± 0.01 bulmuşlardır. Ayrıca *B. cereus* için sırasıyla 0.37 ± 0.01 ve 0.37 ± 0.03 , *L. monocytogenes* için 0.75 ± 0.02 ve 0.56 ± 0.01 , *E. coli* için 0.37 ± 0.02 ve 0.75 ± 0.01 olarak tayin etmişlerdir.

P. aricakensis bu bitkilerle karşılaştırıldığında *S. aureus* ve *E. coli* için daha düşük konsantrasyonlarda etkili gözükürken *B. cereus* için PAK ve PAS ekstraktları daha etkili olmuş fakat *L. monocytogenes*'e karşı etkili olamamıştır.

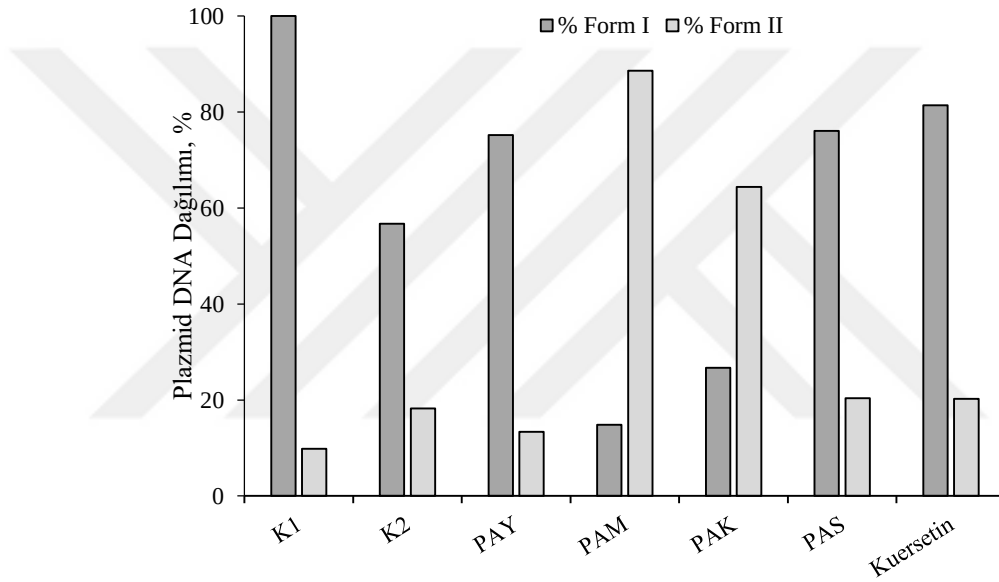
4.5.4. DNA Koruma Aktivitesi

Ham ekstraktların, uçucu yağların, fraksiyonların ve izolatların DNA koruma aktivite tayinleri, elektroforetik metoduyla gerçekleştirildi

Örneklerin DNA koruma aktivitesi agaroz jel elektroforez metodu kullanılarak tayin edildi ve (Şekil 4.97. ile 4.110. arasında, Tablo 4.49. ve 4.52. arasında) gösterildi.



Şekil 4.97. Ham ekstraktların jel görüntüsü



Şekil 4.98. Ham ekstraktların plazmid DNA % Form I ve II dağılımları

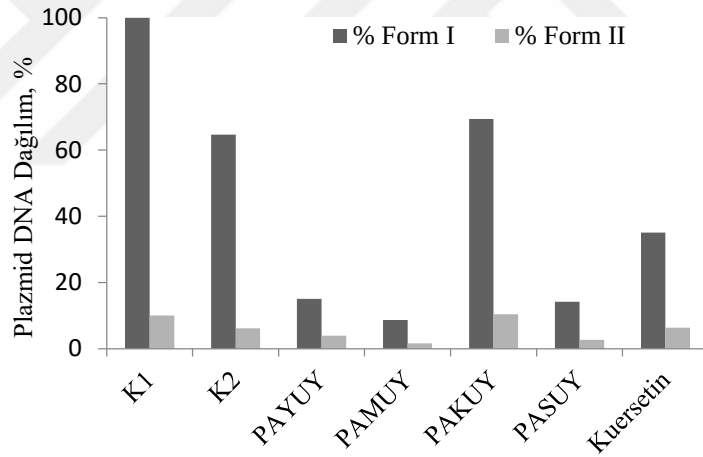
Tablo 4.49. Ham ekstraktların plazmid DNA % Form I ve II değerleri

Örnek	% Form I	% Form II
K1	100.00	9.81
K2	56.70	18.21
PAY	75.24	13.37
PAM	14.86	88.64
PAK	26.74	64.42
PAS	76.05	20.39
Kuersetin	81.39	20.23

Ham ekstraktların jel görüntülerine bakıldığı zaman form I yapısında en parlak görüntü PAS’da gözlenmiştir. Form I yapısında PAS % 76.05 ile en yüksek DNA koruma aktivitesi göstermiştir. Sırasıyla PAY (% 75.24), PAK (% 26.74) ve PAM (% 14.86), PAS’ı takip etmiştir. Form II’ye göre % 13.37 ile PAY en yüksek DNA koruma aktivitesine sahipken diğer uçucu yağlar sırasıyla PAS (% 20.39), PAK (% 64.42) ve PAM (% 88.64) şeklinde sıralanmıştır.



Şekil 4.99. Uçucu yağların jel görüntüsü



Şekil 4.100. Uçucu yağların plazmid DNA % Form I ve II dağılımları

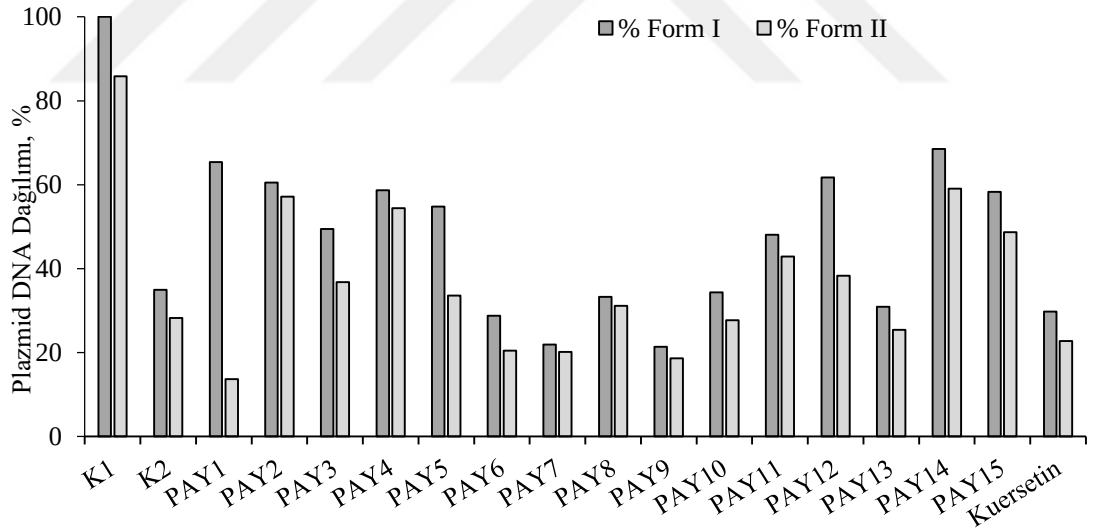
Tablo 4.50. Uçucu yağların plazmid DNA % Form I ve II değerleri

Örnek	% Form I	% Form II
K1	100.00	9.97
K2	64.62	6.19
PAYUY	15.00	3.96
PAMUY	8.67	1.61
PAKUY	69.44	10.41
PASUY	14.16	2.63
Kuersetin	35.02	6.30

Uçucu yağların jel görüntülerine bakıldığı zaman form I yapısında en parlak görüntü PAKUY’da gözlenmiştir. Form I yapısında PAKUY % 69.44 ile en yüksek DNA koruma aktivitesi göstermiştir. Sırasıyla PAYUY (% 15), PASUY (% 14.16) ve PAMUY (% 8.67), PAKUY’yu takip etmiştir. Form II’ye göre % 1.61 ile PAMUY en yüksek DNA koruma aktivitesine sahipken diğer uçucu yağlar sırasıyla PASUY (% 2.63), PAYUY (% 3.96) ve PAKUY (% 10.41) şeklinde sıralanmıştır.



Şekil 4.101. PAY fraksiyonlarının jel görüntüsü



Şekil 4.102. PAY fraksiyonlarının plazmid DNA % Form I ve II dağılımları

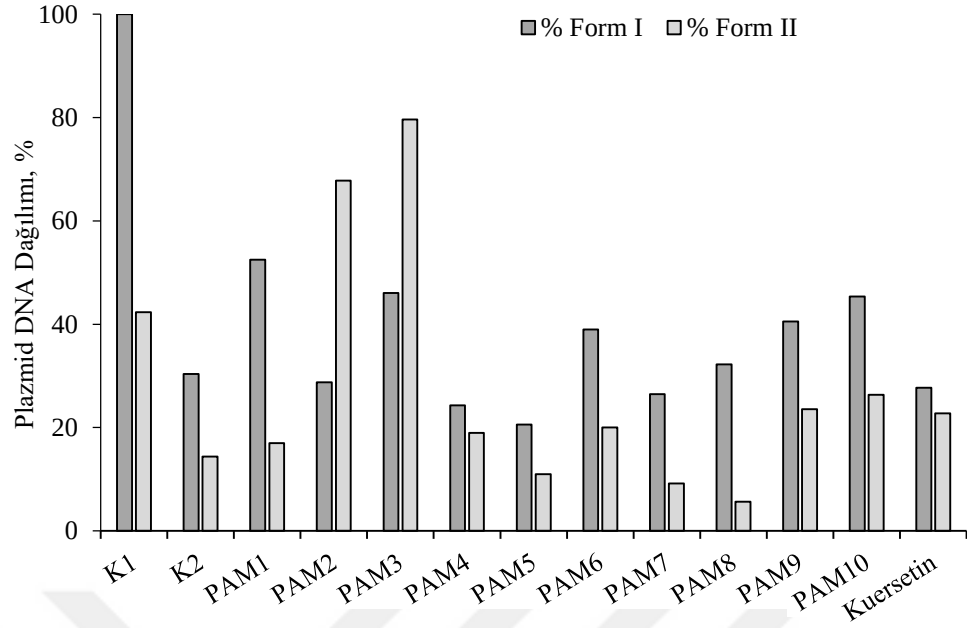
Tablo 4.51. PAY fraksiyonlarının plazmid DNA % Form I ve II değerleri

Örnek	% Form I	% Form II
K1	100.00	85.87
K2	34.98	28.23
PAY1	65.36	13.71
PAY2	60.54	57.19
PAY3	49.47	36.76
PAY4	58.71	54.42
PAY5	54.76	33.57
PAY6	28.80	20.50
PAY7	21.89	20.16
PAY8	33.27	31.14
PAY9	21.42	18.60
PAY10	34.34	27.75
PAY11	48.10	42.87
PAY12	61.75	38.29
PAY13	30.92	25.42
PAY14	68.54	59.07
PAY15	58.32	48.71
Kuersetin	29.79	22.72

PAY fraksiyonlarının jel elektroforezi sonuçlarına göre form I yapısında en parlak görüntü yani en yüksek DNA koruma aktivitesi PAY14’de (% 68.54) gözlenmiştir. Form II’ye göre ise en yüksek DNA koruma aktivitesine sahip örnek PAY1 (% 13.71) olmuştur.



Şekil 4.103. PAM fraksiyonlarının jel görüntüsü

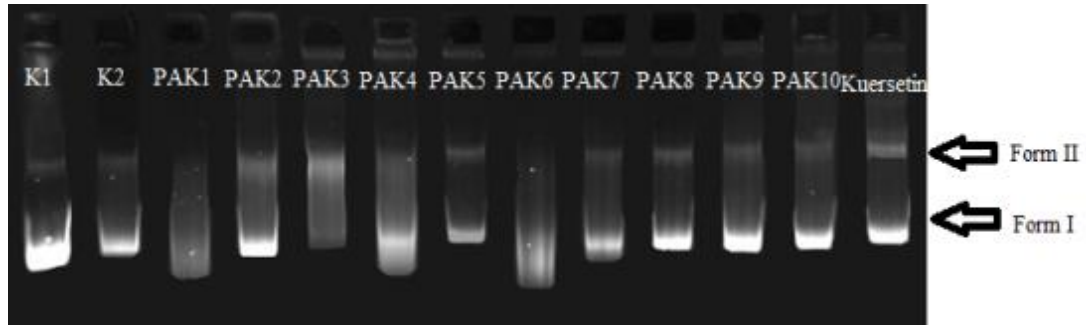


Şekil 4.104. PAM fraksiyonlarının plazmid DNA % Form I ve II dağılımları

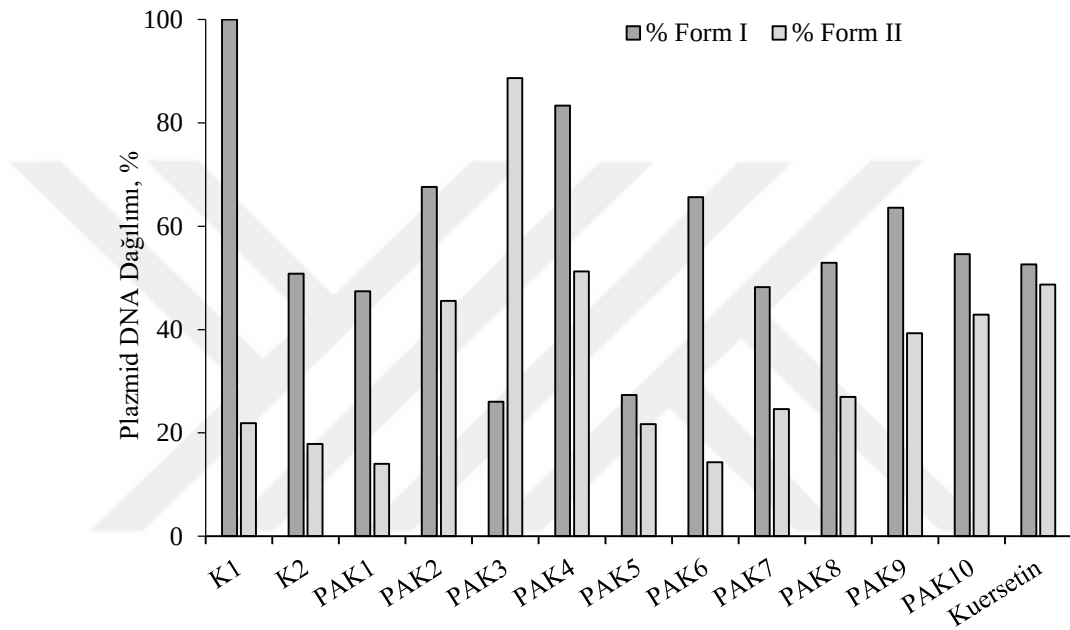
Tablo 4.52. PAM fraksiyonlarının plazmid DNA % Form I ve II değerleri

Örnek	% Form I	% Form II
K1	100.00	42.31
K2	30.34	14.38
PAM1	52.51	16.98
PAM2	28.77	67.80
PAM3	46.03	79.64
PAM4	24.26	18.95
PAM5	20.55	10.94
PAM6	38.96	20.02
PAM7	26.46	9.18
PAM8	32.20	5.64
PAM9	40.53	23.55
PAM10	45.34	26.33
Kuersetin	27.72	22.73

PAM fraksiyonlarının jel elektroforezi sonuçlarına göre form I yapısında en parlak görüntü yani en yüksek DNA koruma aktivitesi PAM1’de (% 52.51) gözlenmiştir. Form II’ye göre ise en yüksek DNA koruma aktivitesine sahip örnek PAM8 (% 5.64) olmuştur.



Şekil 4.105. PAK fraksiyonlarının jel görüntüsü

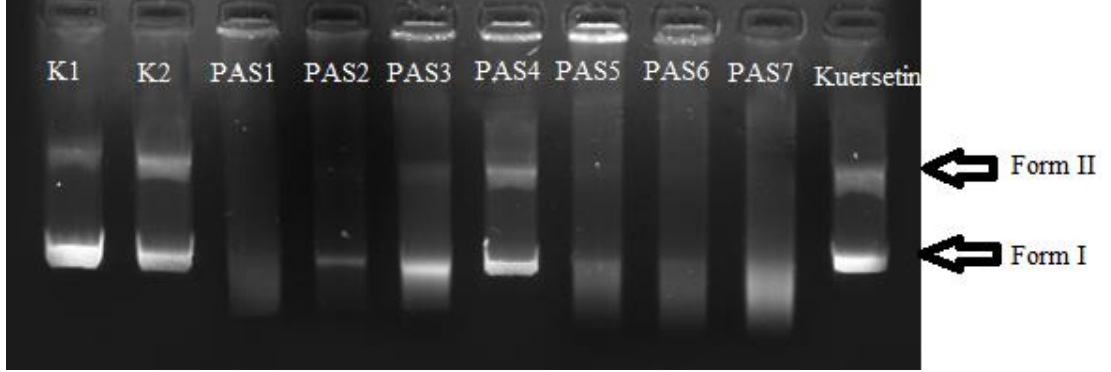


Şekil 4.106. PAK fraksiyonlarının plazmid DNA % Form I ve II dağılımları

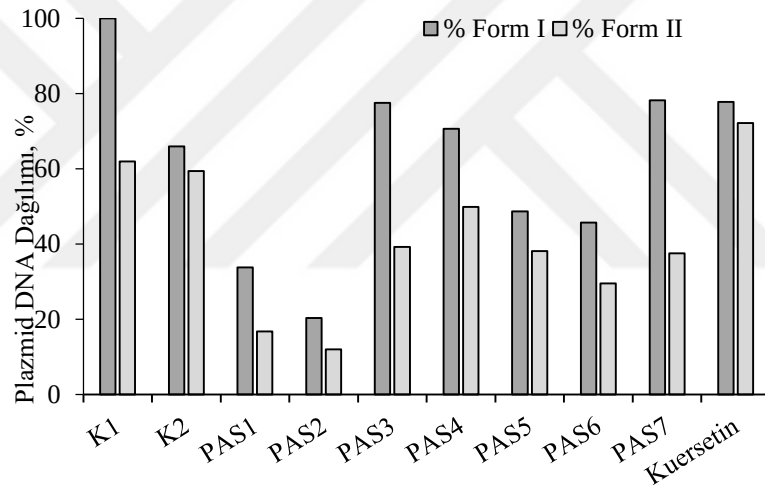
Tablo 4.53. PAK fraksiyonlarının plazmid DNA % Form I ve II değerleri

Örnek	% Form I	% Form II
K1	100.00	21.86
K2	50.82	17.85
PAK1	47.40	13.99
PAK2	67.59	45.54
PAK3	26.05	88.70
PAK4	83.33	51.24
PAK5	27.31	21.69
PAK6	65.60	14.32
PAK7	48.24	24.61
PAK8	52.95	26.95
PAK9	63.58	39.27
PAK10	54.60	42.87
Kuersetin	52.60	48.73

PAK fraksiyonlarının jel elektroforezi sonuçlarına göre form I yapısında en yüksek DNA koruma aktivitesi PAK4’de (% 83.33) gözlenmiştir. Form II’ye göre ise en yüksek DNA koruma aktivitesine sahip örnek PAK1 (% 13.99) olmuştur.



Şekil 4.107. PAS fraksiyonlarının jel görüntüsü

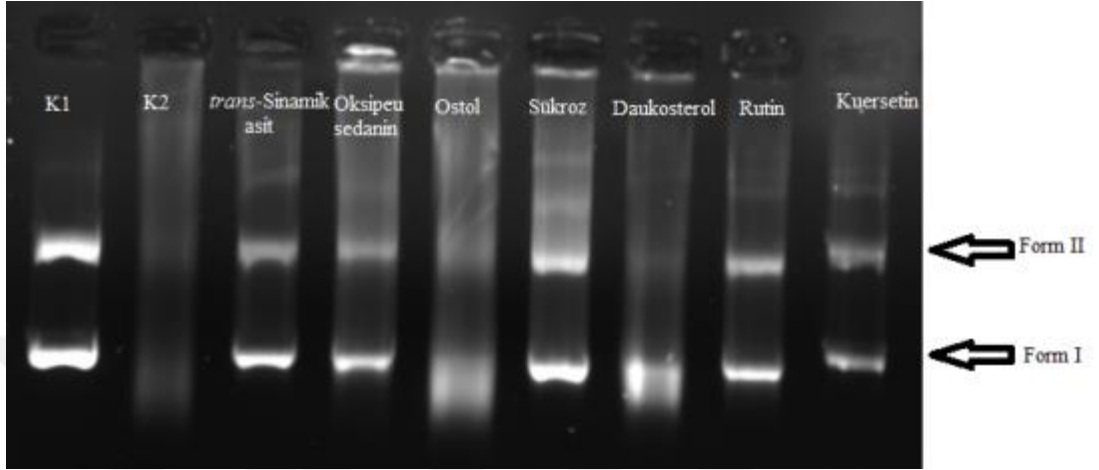


Şekil 4.108. PAS fraksiyonlarının plazmid DNA % Form I ve II dağılımları

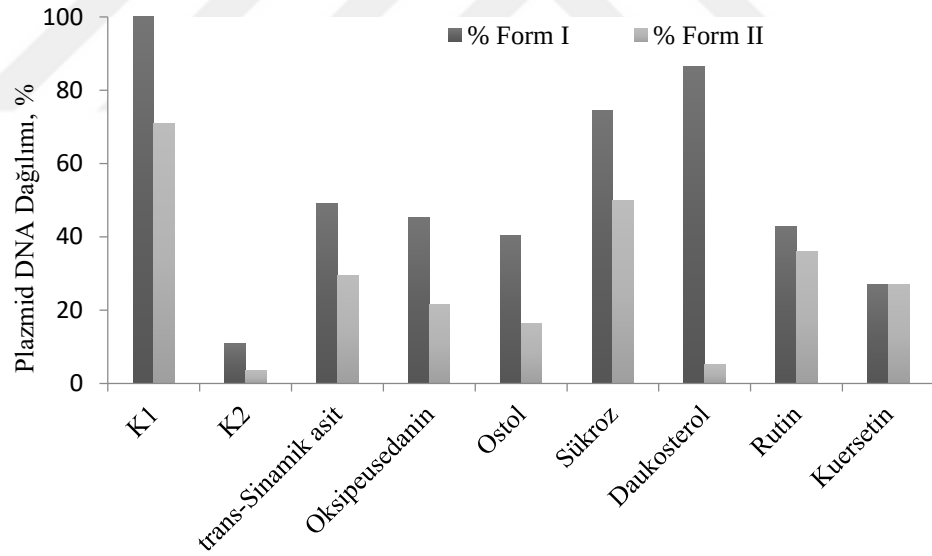
Tablo 4.54. PAS fraksiyonlarının plazmid DNA % Form I ve II değerleri

Örnek	% Form I	% Form II
K1	100.00	61.99
K2	65.96	59.45
PAS1	33.78	16.81
PAS2	20.40	12.00
PAS3	77.55	39.25
PAS4	70.63	49.87
PAS5	48.71	38.12
PAS6	45.76	29.57
PAS7	78.23	37.54
Kuersetin	77.83	72.23

PAS fraksiyonlarının jel elektroforezi sonuçlarına göre form I yapısında en yüksek DNA koruma aktivitesi en parlak görüntüsü ile PAS7'de (% 78.23) gözlenmiştir. Form II'ye göre ise en yüksek DNA koruma aktivitesine sahip örnek PAS2 (% 12.00) olmuştur.



Şekil 4.109. İzolatların jel görüntüsü



Şekil 4.110. İzolatların plazmid DNA % Form I ve II dağılımları

Tablo 4.55. İzolatların plazmid DNA % Form I ve II değerleri

Örnek	% Form I	% Form II
K1	100.00	70.94
K2	10.83	3.47
<i>trans</i> -sinamik asit	49.03	29.41
Oksipeusedanin	45.37	21.57
Ostol	40.44	16.27
Sükroz	74.53	49.76
Daukosterol	86.50	5.09
Rutin	42.84	35.95
Kuersetin	27.09	26.94

İzolatların jel elektroforez sonuçları incelendiğinde form I yapısında en parlak görüntüyü veren ve form II'ye göre de en yüksek aktiviteyi gösteren örnek daukosterol (% 86.50 ve % 5.09) olmuştur.

4.6. Temel Bileşen Analizleri (PCA)

PCA, örneklerin özelliklerini etkileyebilecek değişkenler hakkında daha fazla bilgi alabilmek ve örneklerin arasındaki farklılığı tanımlayabilmek için kullanılan istatistiksel bir araçtır. Burada birçok değişken, ortogonal dönüşümler kullanılarak analiz edilir ve verilerdeki en yüksek varyansı tanımlayan birkaç ana bileşene (PCs) indirgenir. Analiz edilen değişkenler ilişkilendirildiğinde, örnekteki en yüksek varyans olarak sayılan bileşene dönüştürülürler. Grafikteki iki özellik arasındaki mesafe, bu iki özelliğin benzerlik veya farklılıklarının orantısını gösterir. PCA, veri boyutunun azaltılmasıyla, orijinal verilerde mevcut olan bilgileri mümkün olduğunca koruyarak görselleştirmelerine izin verir. Böylece orijinal olarak ölçülen değişkenler temel bileşen adı verilen yeni ilişkisiz değişkenlere dönüştürülür (Çam vd, 2009).

Temel bileşen analizleri Minitab 19 programında yapılmış ve sonuçlar Şekil 4.111. ile 4.114. arasında gösterilmiştir.

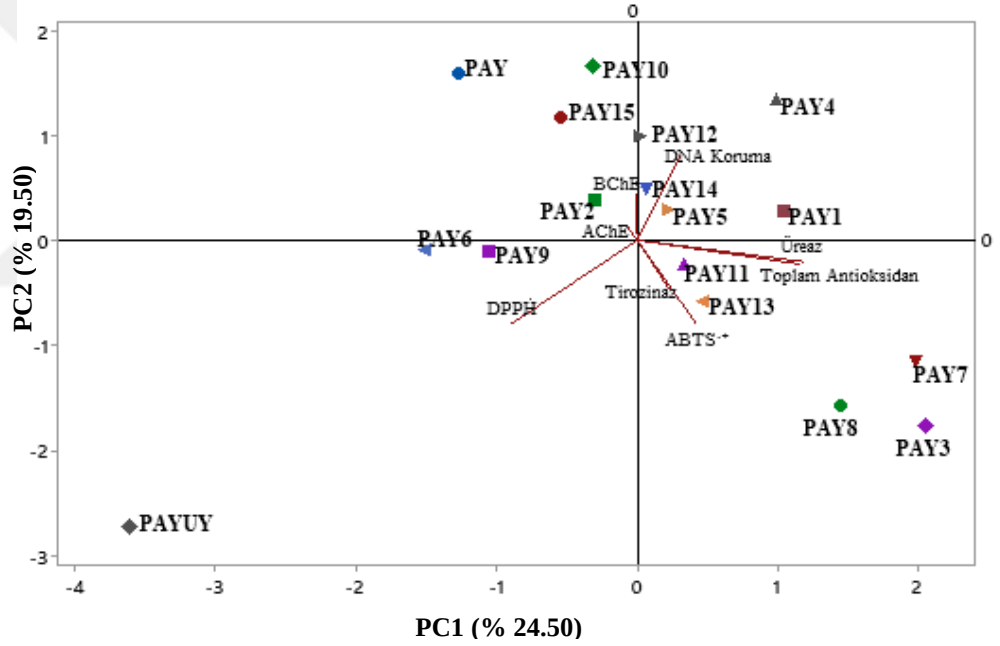
PAY kısmının biplot grafiğine göre PC1 % 24.50 ve PC2 % 19.50 olarak hesaplanmış ve özelliklerin toplamda % 44'ü tanımlanmıştır. Toplam antioksidan, ABTS⁺, tirozinaz ve üreaz deneyleri ile PAY11 ve PAY13 fraksiyonları pozitif korelasyonlu iken PAY3, PAY7 ve PAY8 fraksiyonları görece daha zayıf etkileşim göstermiştir. Ayrıca AChE ve BChE deneyleri ile PAY2 fraksiyonu pozitif korelasyonludur (Şekil 4.111.).

PAM kısmının biplot grafiğine göre PC1 % 34.00 ve PC2 % 24.40 olarak hesaplanmış ve özelliklerin toplamda % 58.40'ı tanımlanmıştır. Toplam antioksidan,

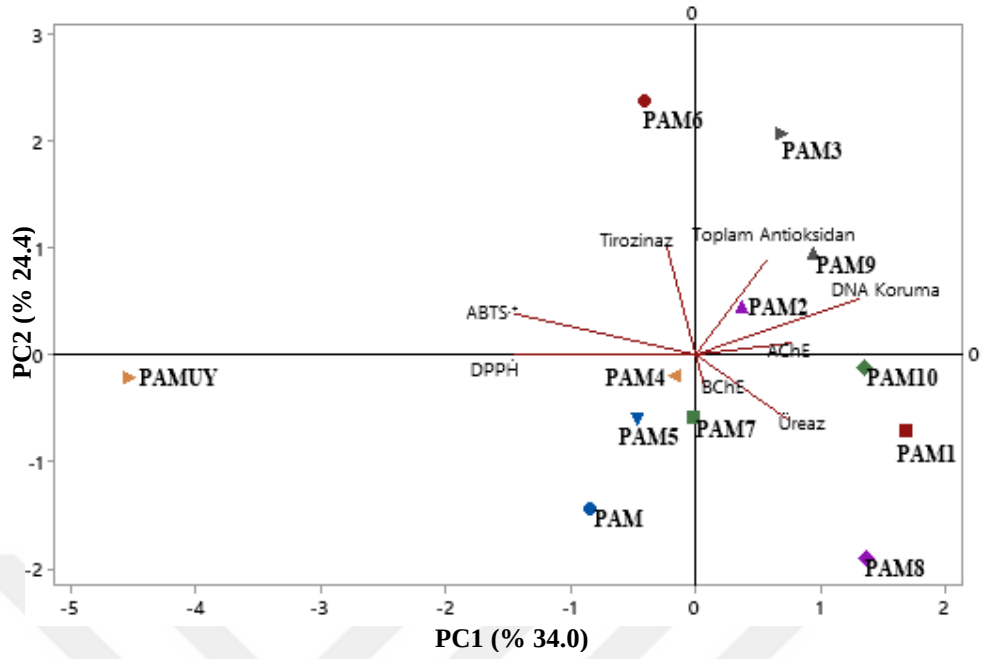
ACHe ve DNA koruma aktivitesi deneyleri ile PAM2 ve PAY9 fraksiyonları pozitif korelasyonludur (Şekil 4.112.).

PAK kısmının biplot grafiğine göre PC1 % 41.70 ve PC2 % 19.60 olarak hesaplanmış ve özelliklerin toplamda % 61.30'u tanımlanmıştır. Toplam antioksidan, BChE ve tirozinaz deneyleri ile PAK3, PAK5 ve PAK10 fraksiyonları pozitif korelasyonludur. Ayrıca AChE ve DNA koruma aktivitesi deneyleri PAK4 ve PAK9 fraksiyonları ile pozitif korelasyon göstermiştir (Şekil 4.113.).

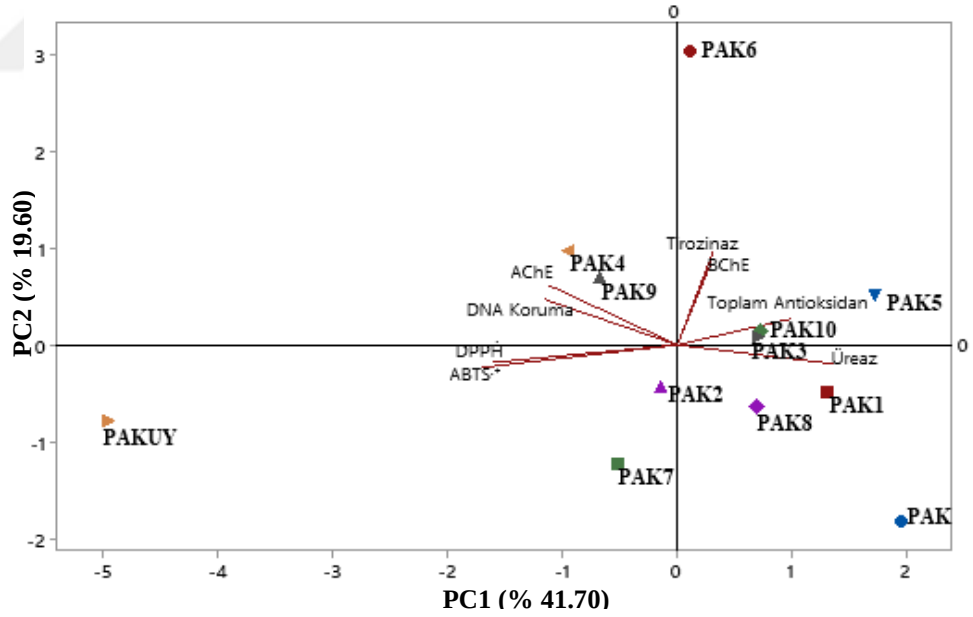
PAS kısmının biplot grafiğine göre PC1 % 38.70 ve PC2 % 20.50 olarak hesaplanmış ve özelliklerin toplamda % 59.20'si tanımlanmıştır. BChE ve DNA koruma aktivitesi deneyleri PAS4 ve PAS5 fraksiyonları ile pozitif korelasyonludur (Şekil 4.114.).



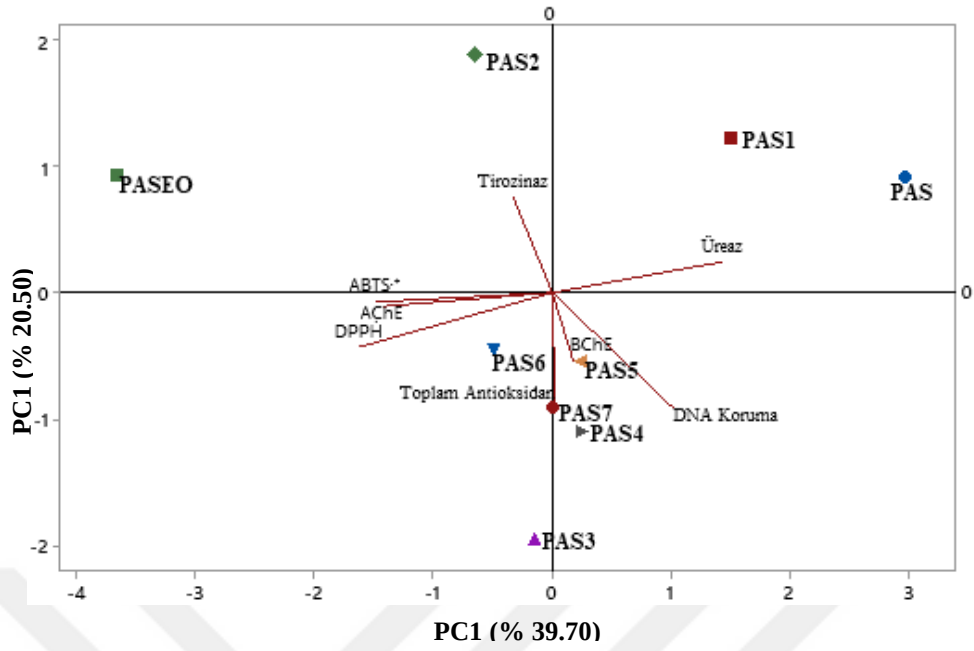
Şekil 4.111. PAY ham ekstrakt, uçucu yağ ve fraksiyonlarının antioksidan, enzim inhibisyonu ve DNA koruma aktivitesi ile etkileşimini gösteren biplot grafiği



Şekil 4.112. PAM ham ekstrakt, uçucu yağ ve fraksiyonlarının antioksidan, enzim inhibisyonu ve DNA koruma aktivitesi ile etkileşimini gösteren biplot grafiği



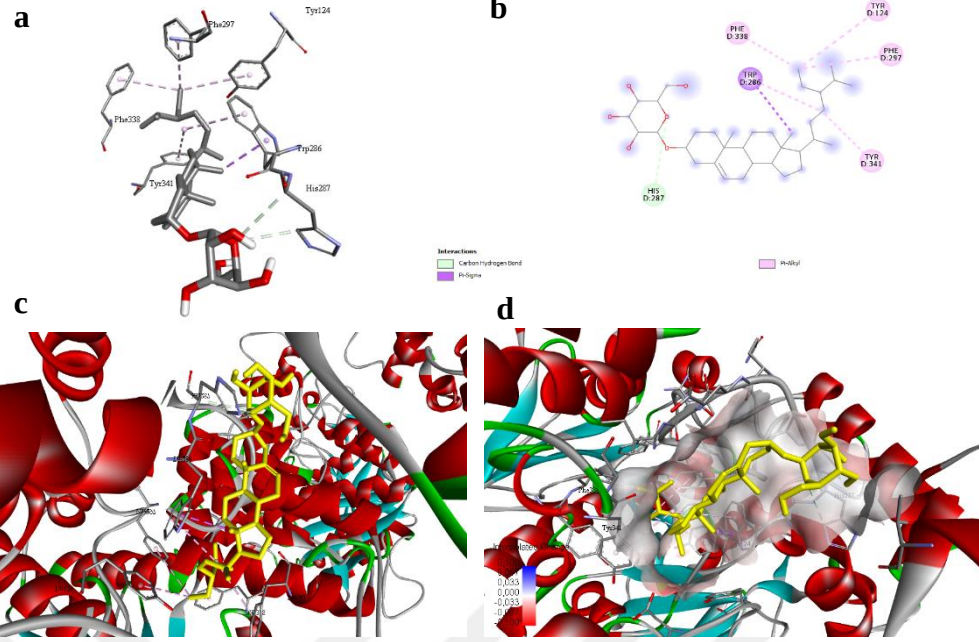
Şekil 4.113. PAK ham ekstrakt, uçucu yağ ve fraksiyonlarının antioksidan, enzim inhibisyonu ve DNA koruma aktivitesi ile etkileşimini gösteren biplot grafiği



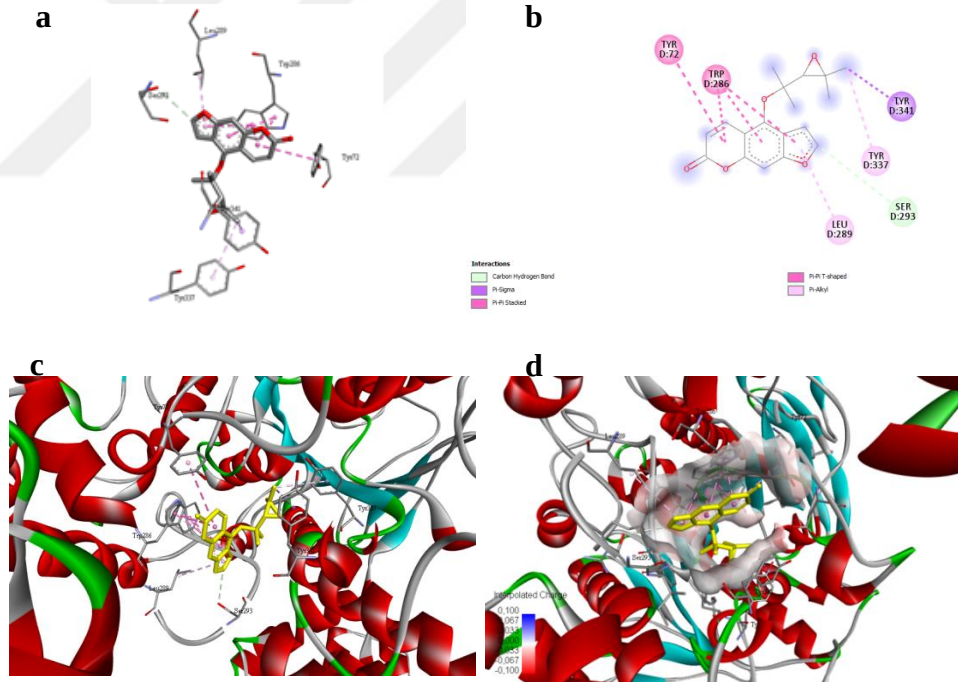
Şekil 4.114. PAS ham ekstrakt, uçucu yağ ve fraksiyonlarının antioksidan, enzim inhibisyonu ve DNA koruma aktivitesi ile etkileşimini gösteren biplot grafiği

4.7. *In silico* Moleküler Doking Çalışmaları

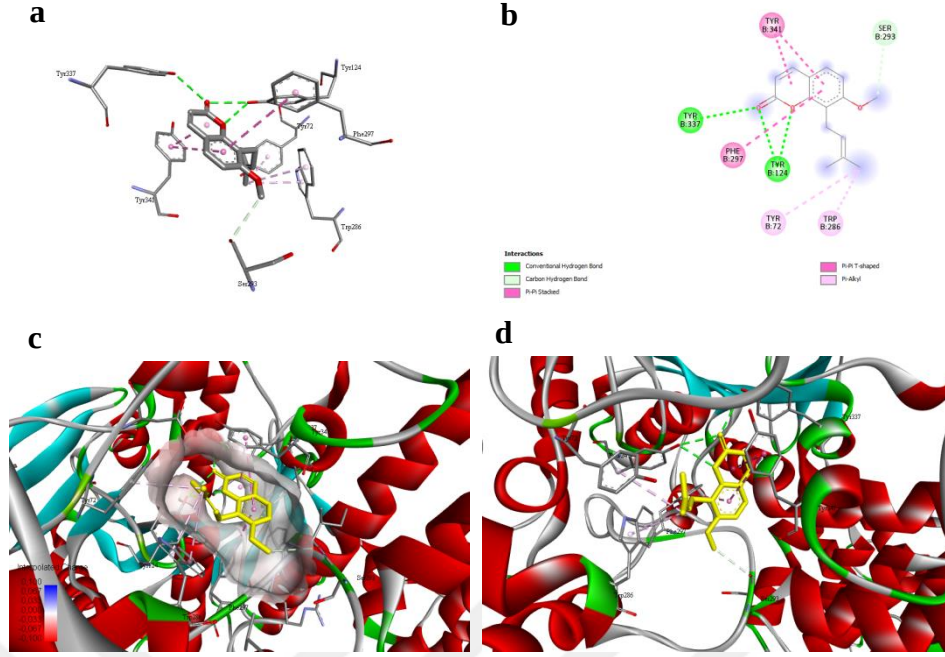
İzole edilen maddelerin AChE, BChE, tirozinaz ve üreaz enzimleri ile etkileşimleri bilgisayar ortamında gösterilmiş (Şekil 4.115. ve 4.138. arasında), enzimler ile izolatlar arasında en iyi pozdaki etkileşimler Tablo 4.56. ile 4.59. arasında gösterilmiş ve $\Delta G = RT \ln K_i$ denkleminde hesaplanan K_i değerleri Tablo 4.60.'da verilmiştir.



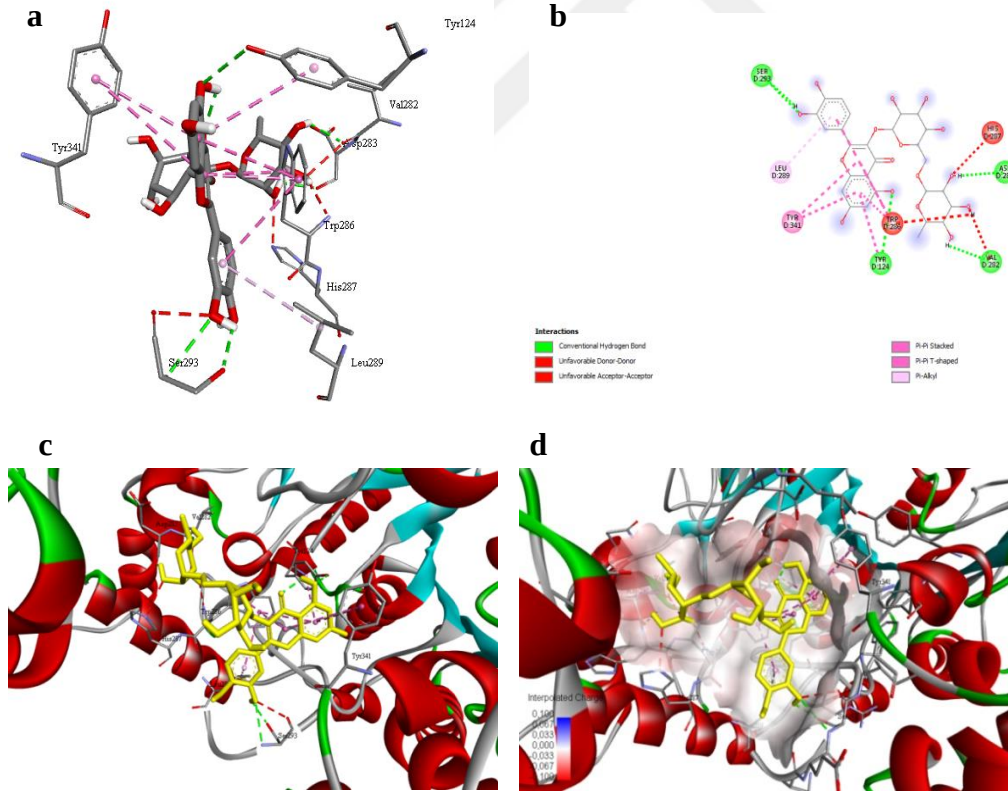
Şekil 4.115. Daukosterol-AChE arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d)



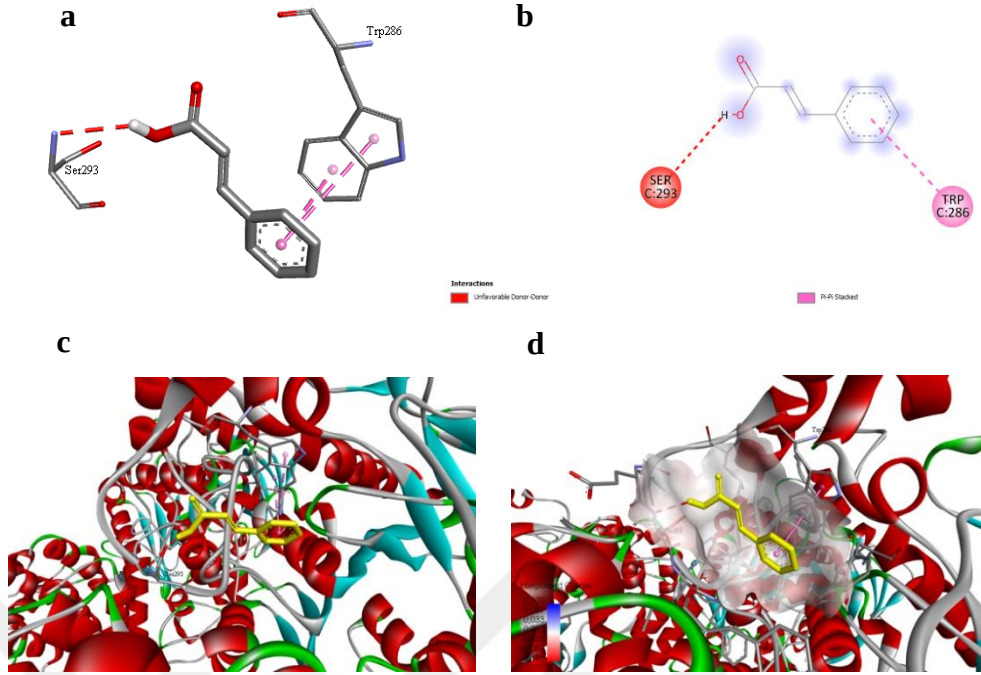
Şekil 4.116. Oksipeusedanin-AChE arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d)



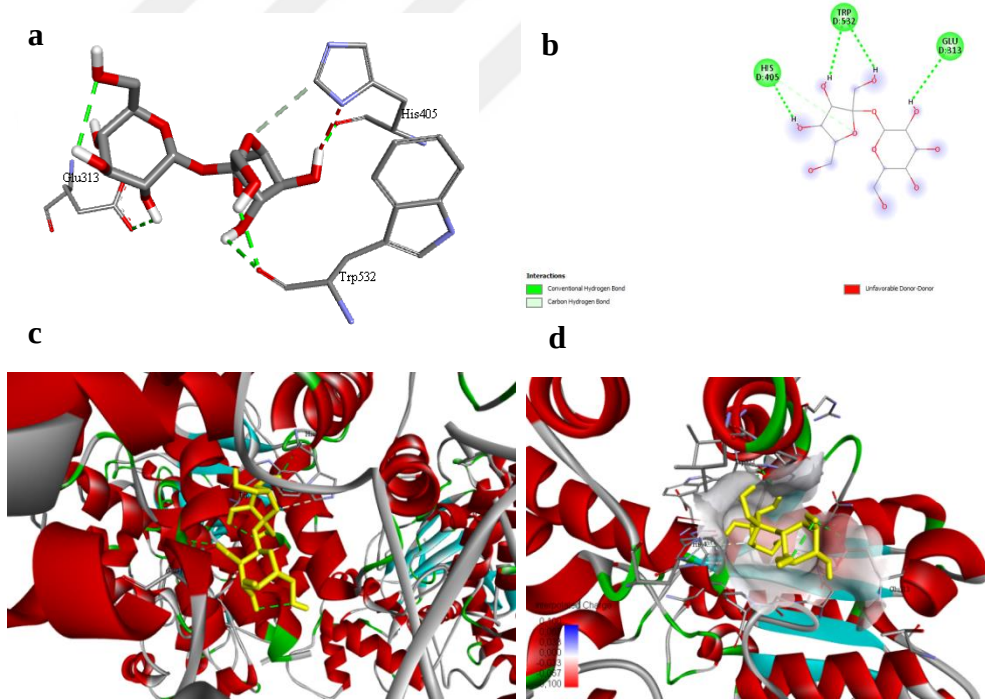
Şekil 4.117. Ostol-AChE arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d)



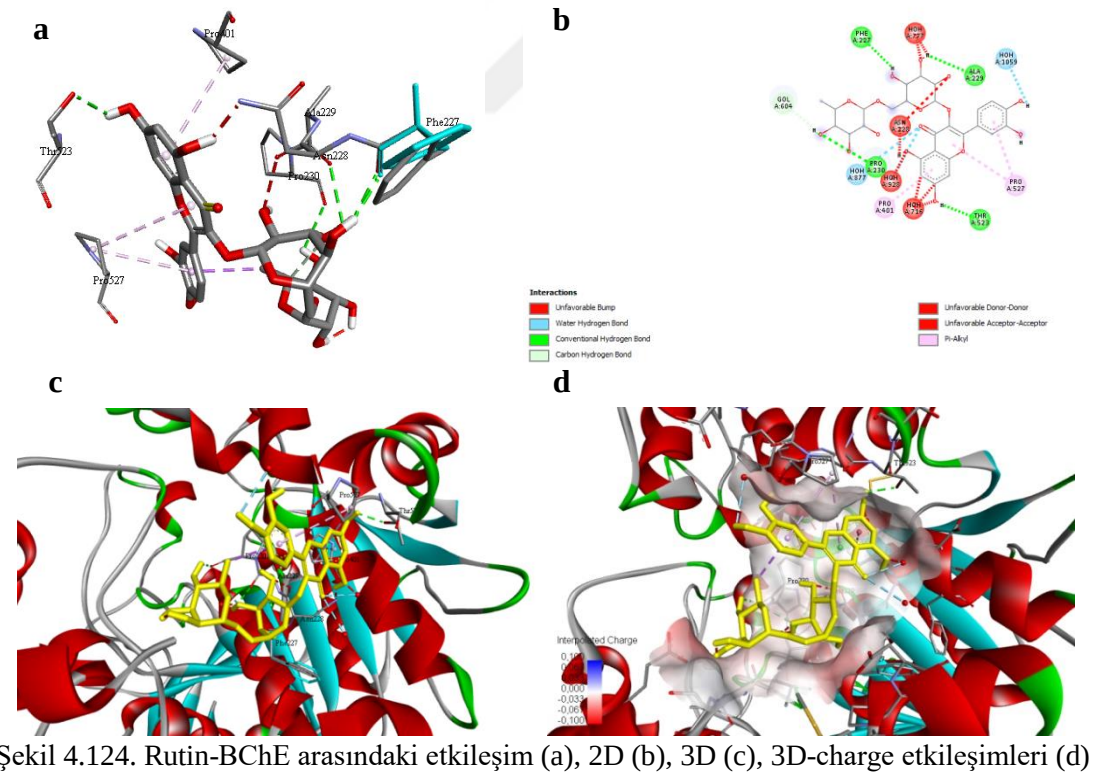
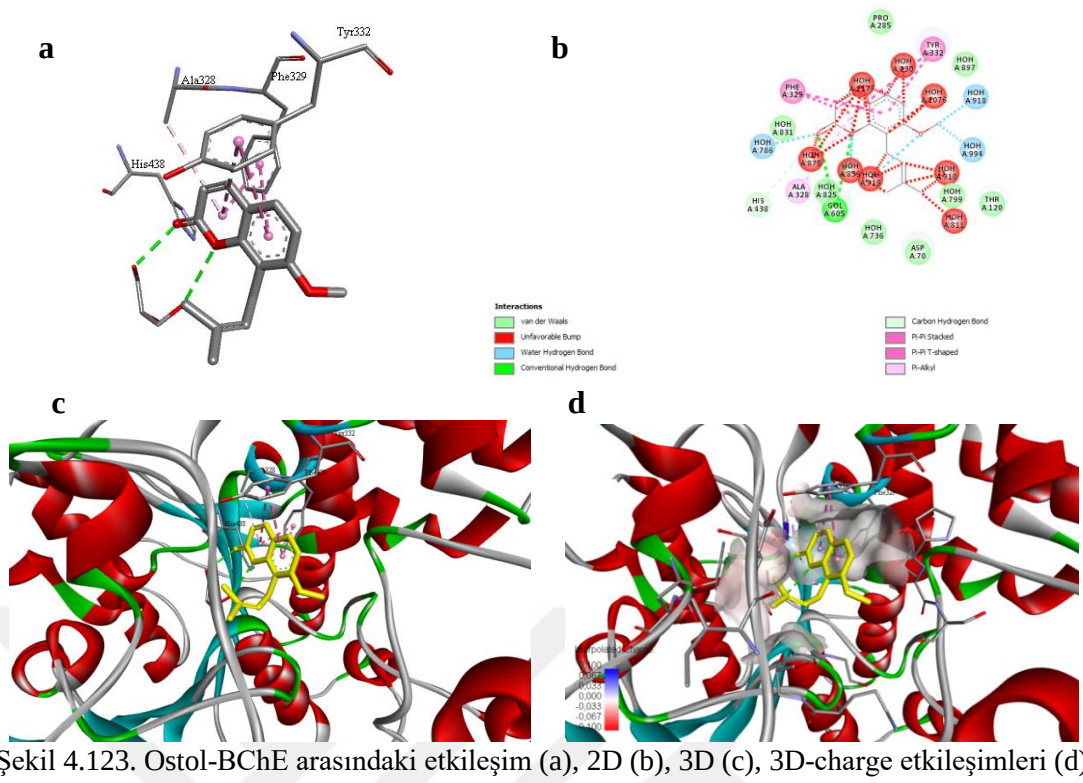
Şekil 4.118. Rutin-AChE arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d)

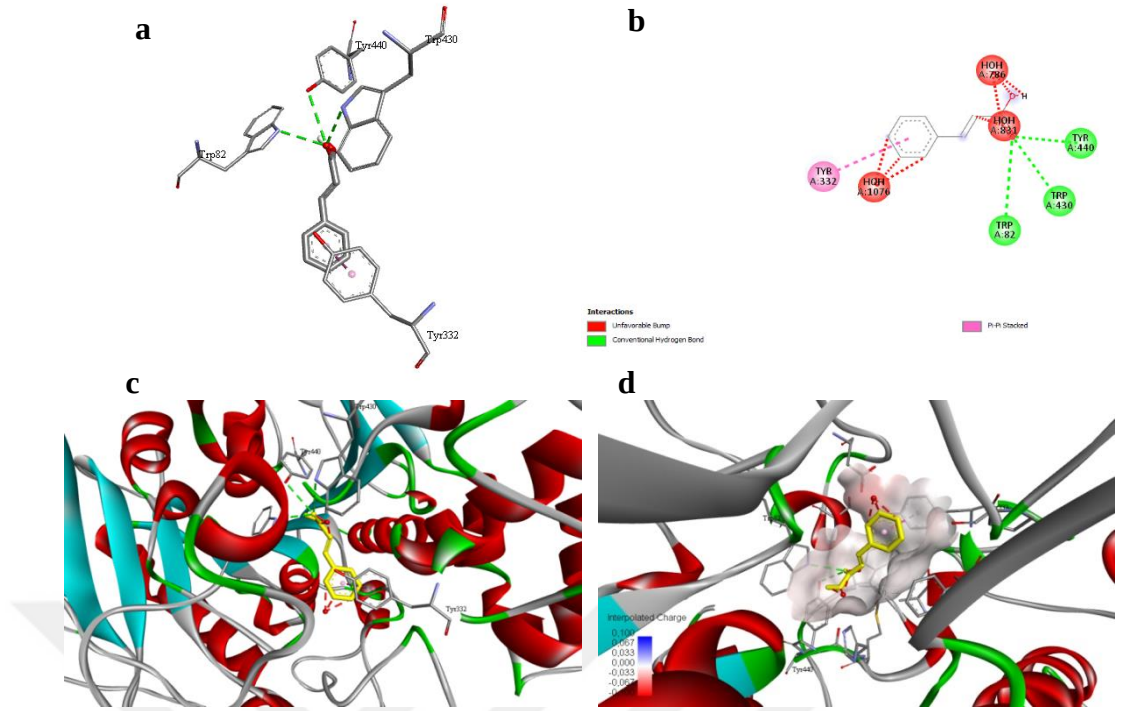


Şekil 4.119. *trans*-sinamik asit-AChE arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d)

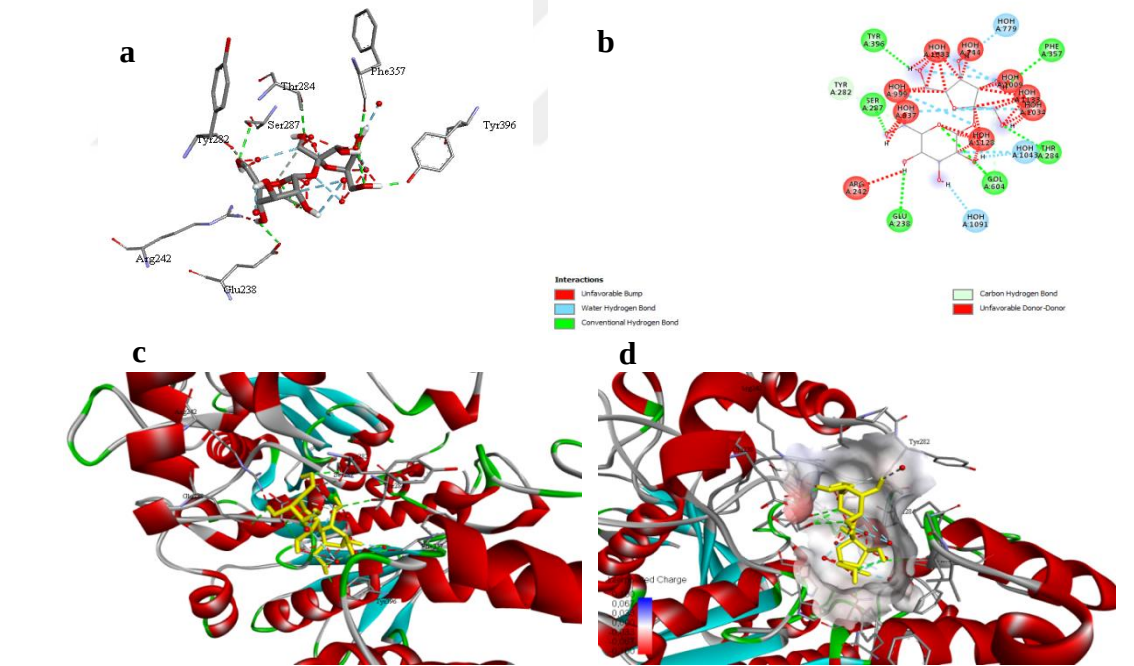


Şekil 4.120. Süktroz-AChE arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d)

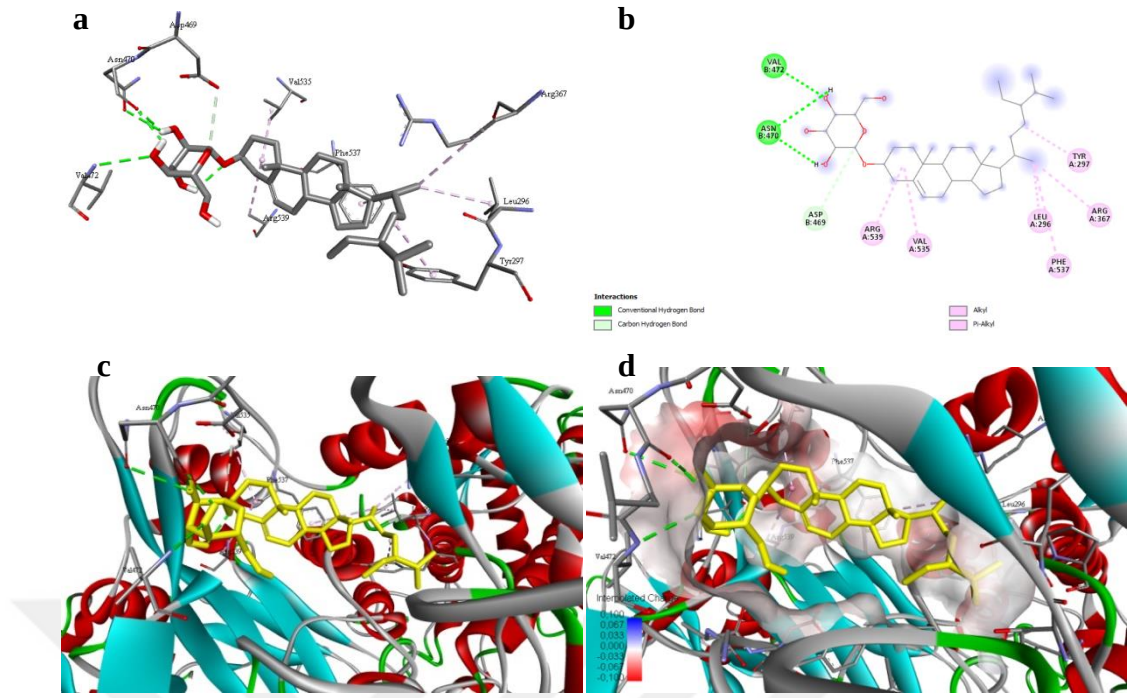




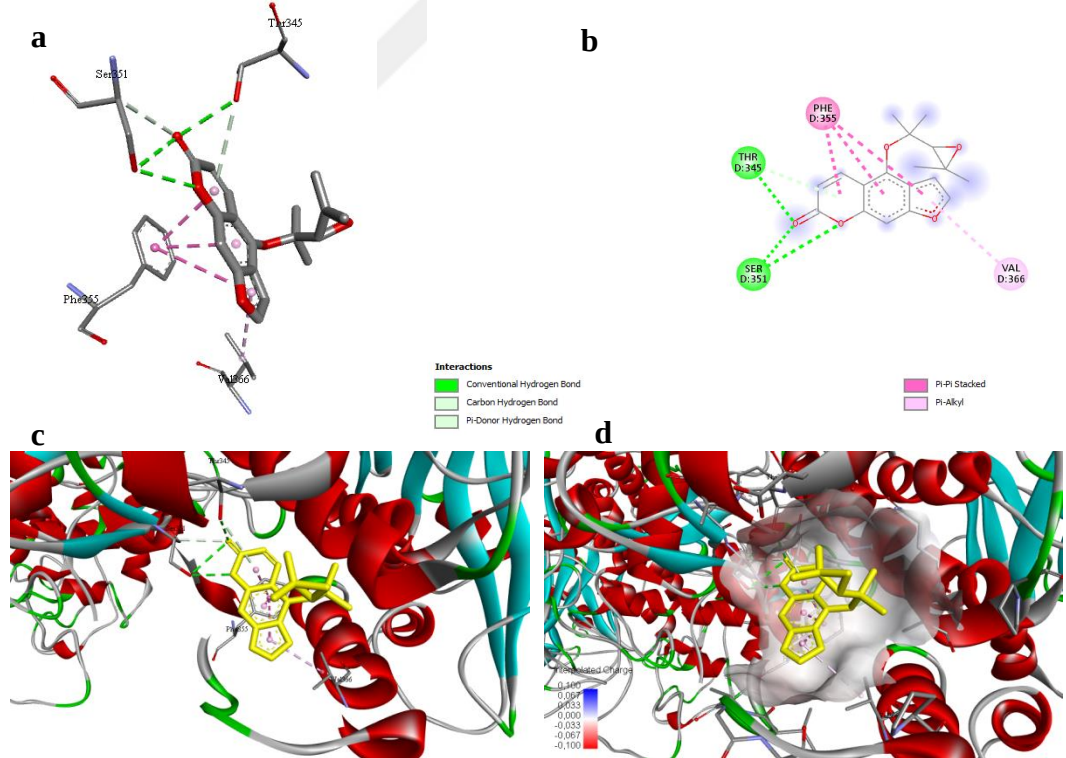
Şekil 4.125. *trans*-sinamik asit-BChE arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d)



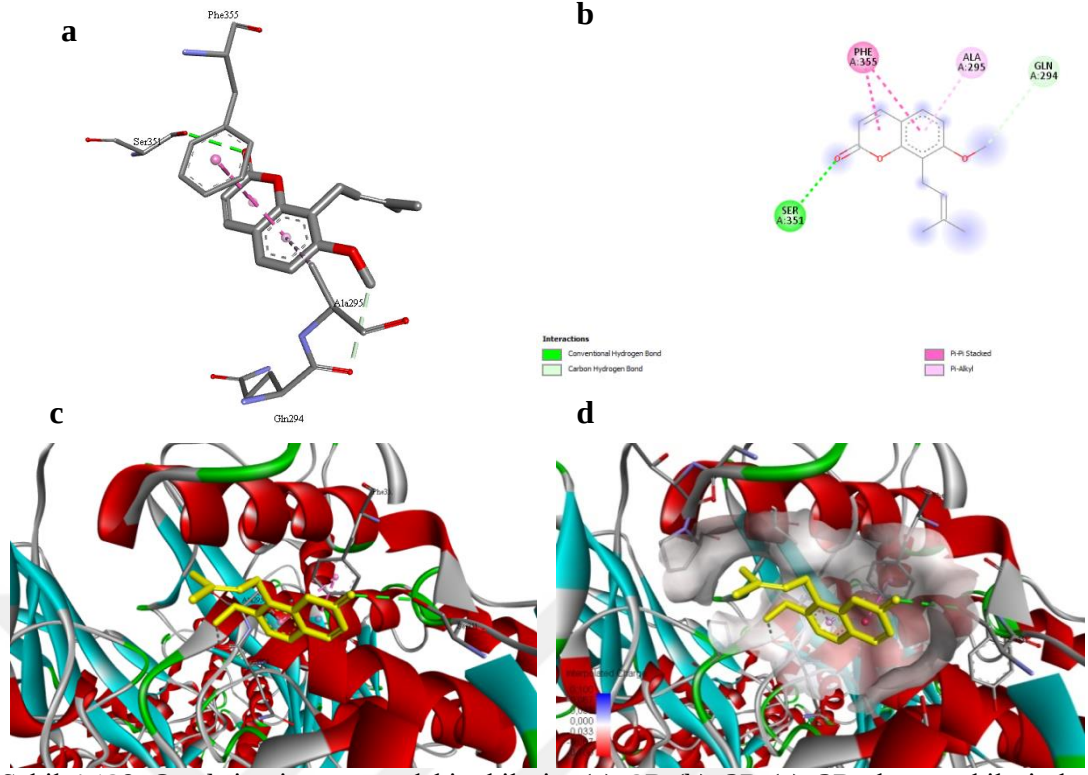
Şekil 4.126. Sükroz-BChE arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d)



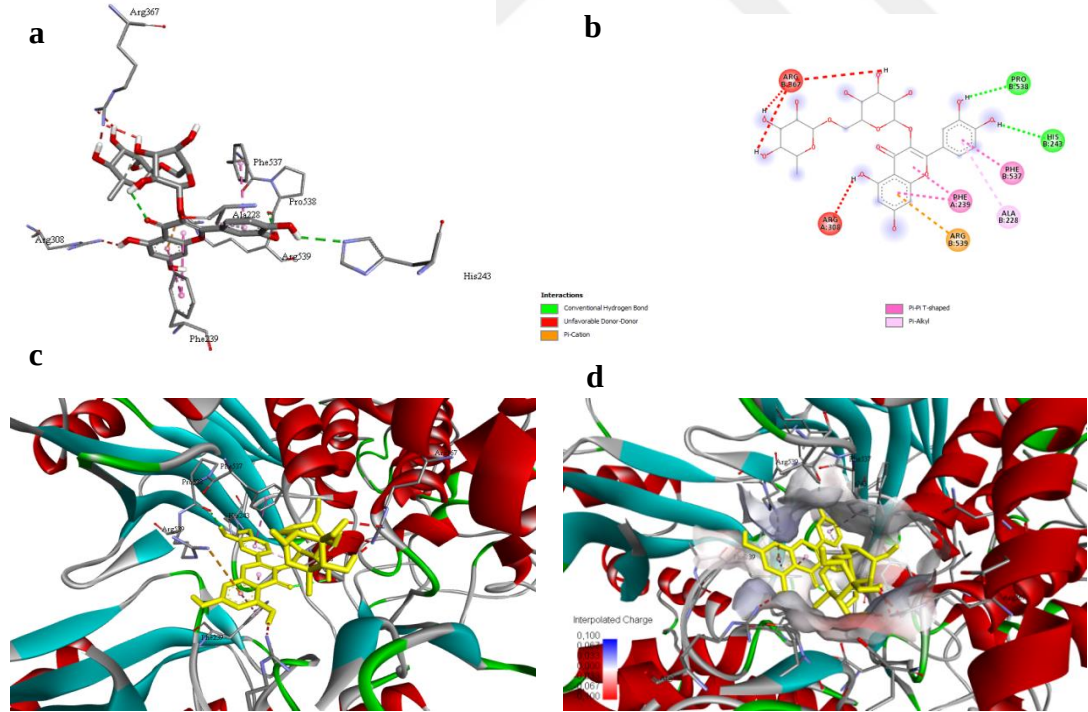
Şekil 4.127. Daukosterol-tirozinaz arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d)



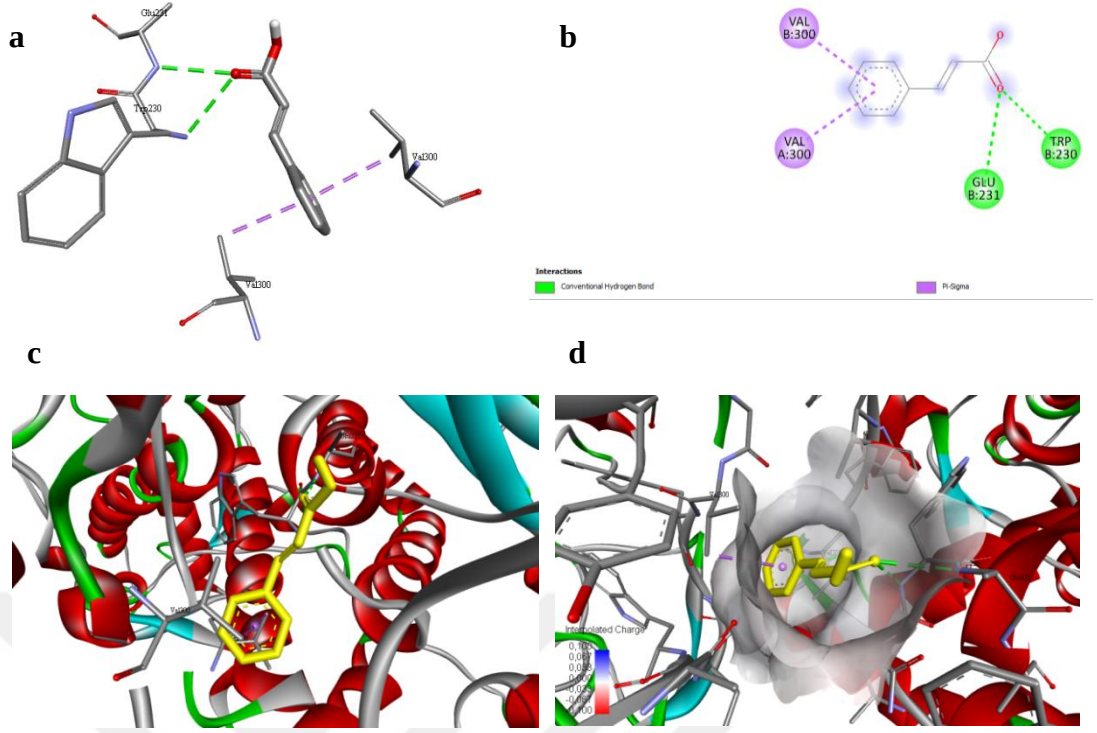
Şekil 4.128. Oksipeusedanin-tirozinaz arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d)



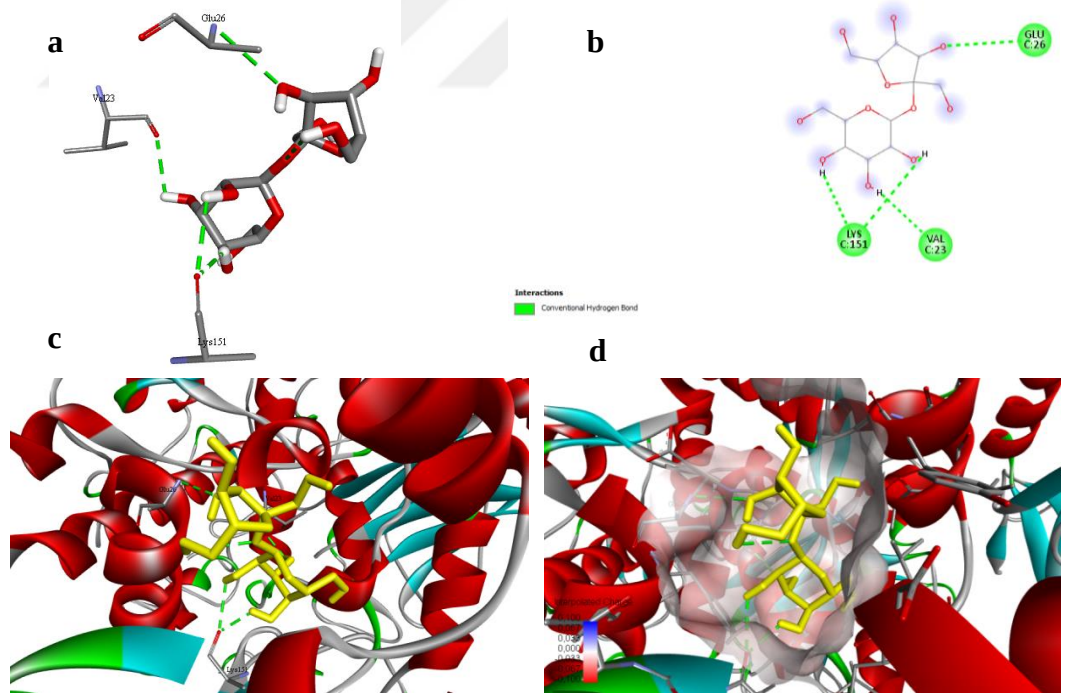
Şekil 4.129. Ostol-tirozinaz arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d)



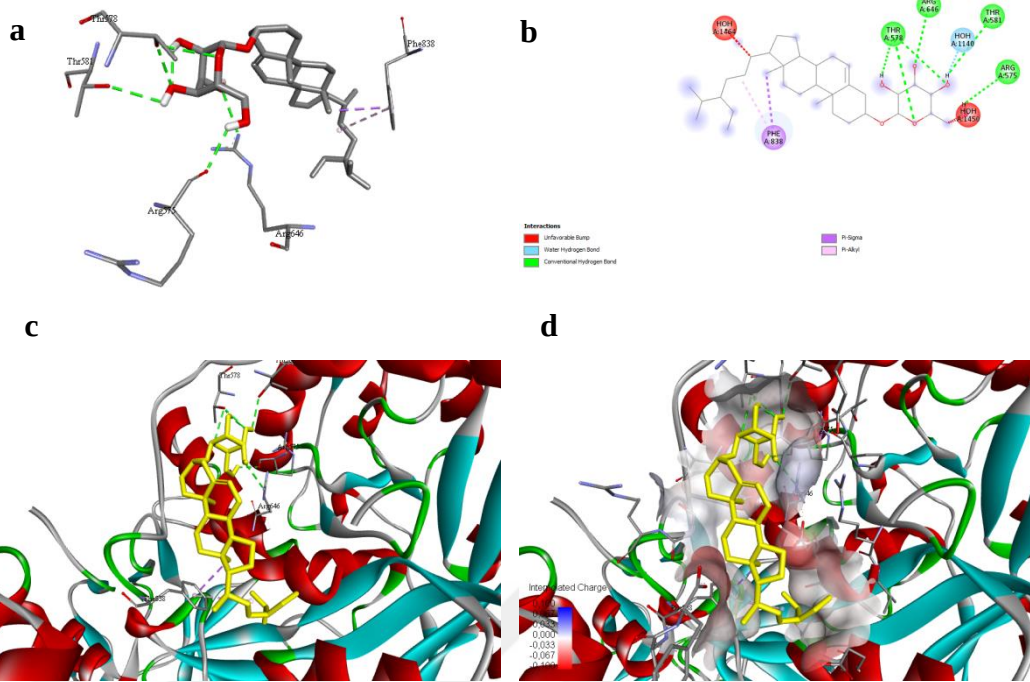
Şekil 4.130. Rutin-tirozinaz arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d)



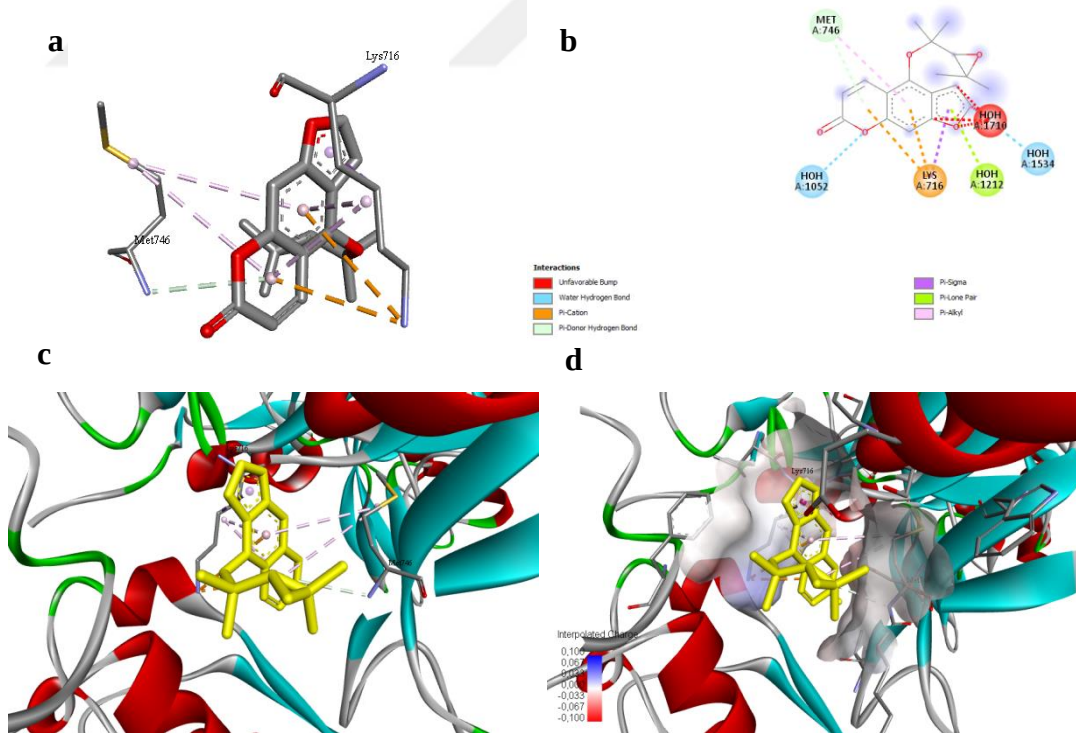
Şekil 4.131. *trans*-sinamik asit-tirozinaz arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d)



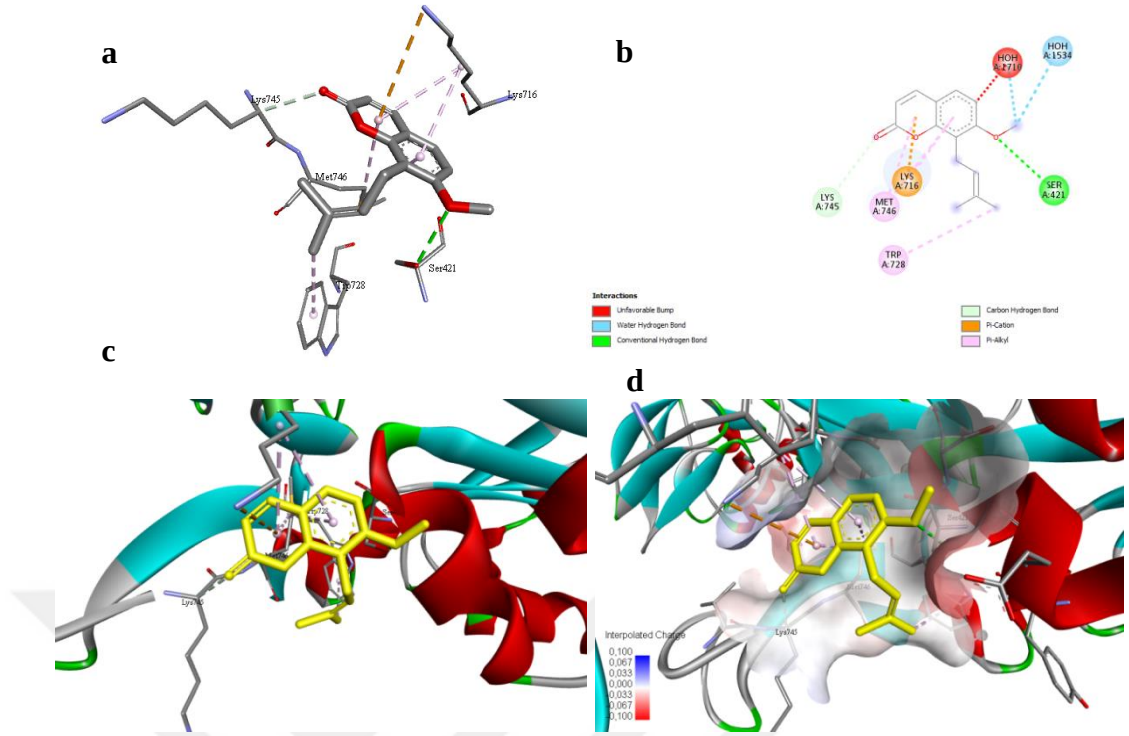
Şekil 4.132. Sükroz-tirozinaz arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d)



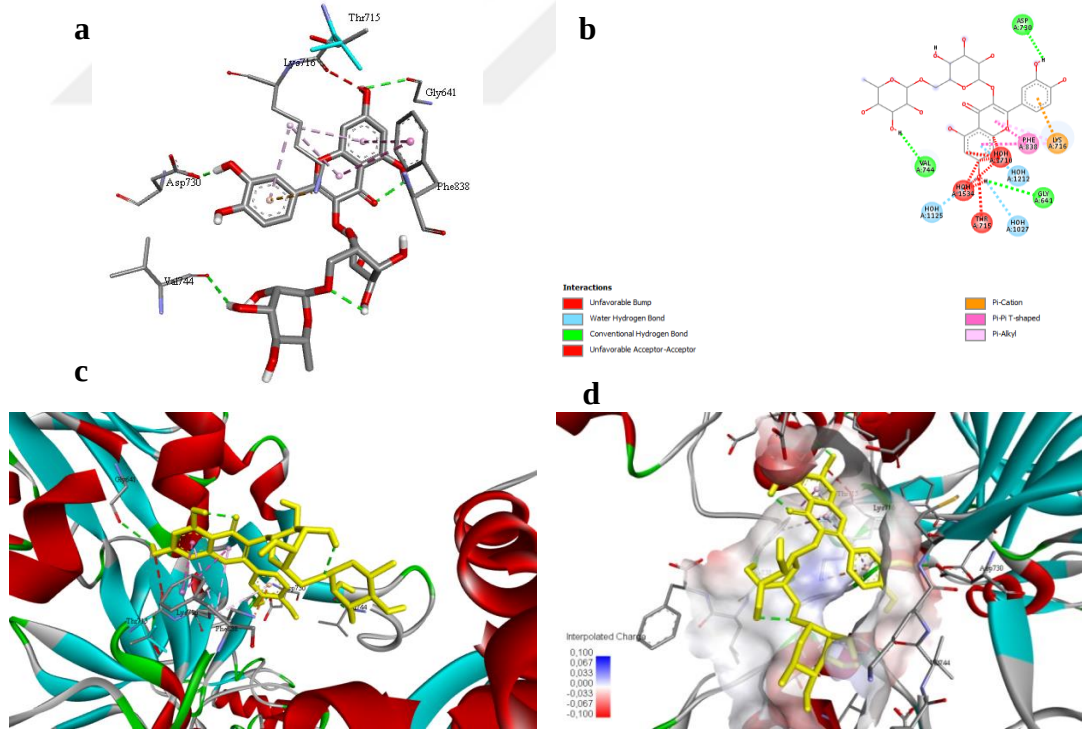
Şekil 4.133. Daukosterol-üreaz arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d)



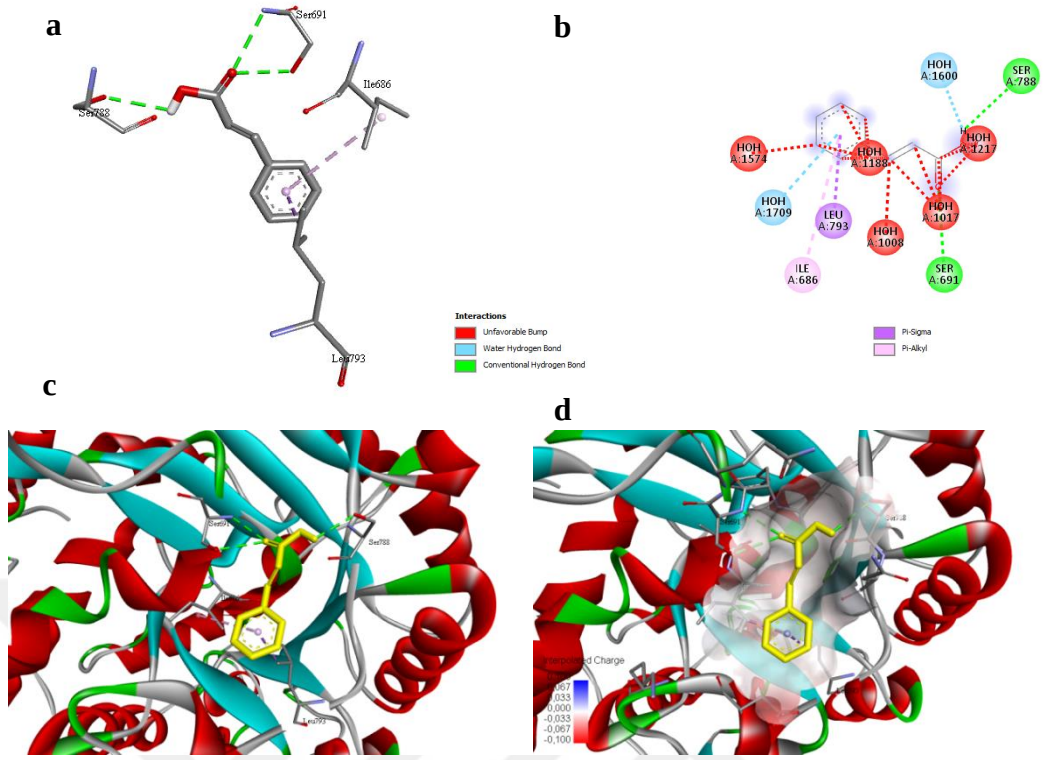
Şekil 4.134. Oksipeusedanin-üreaz arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d)



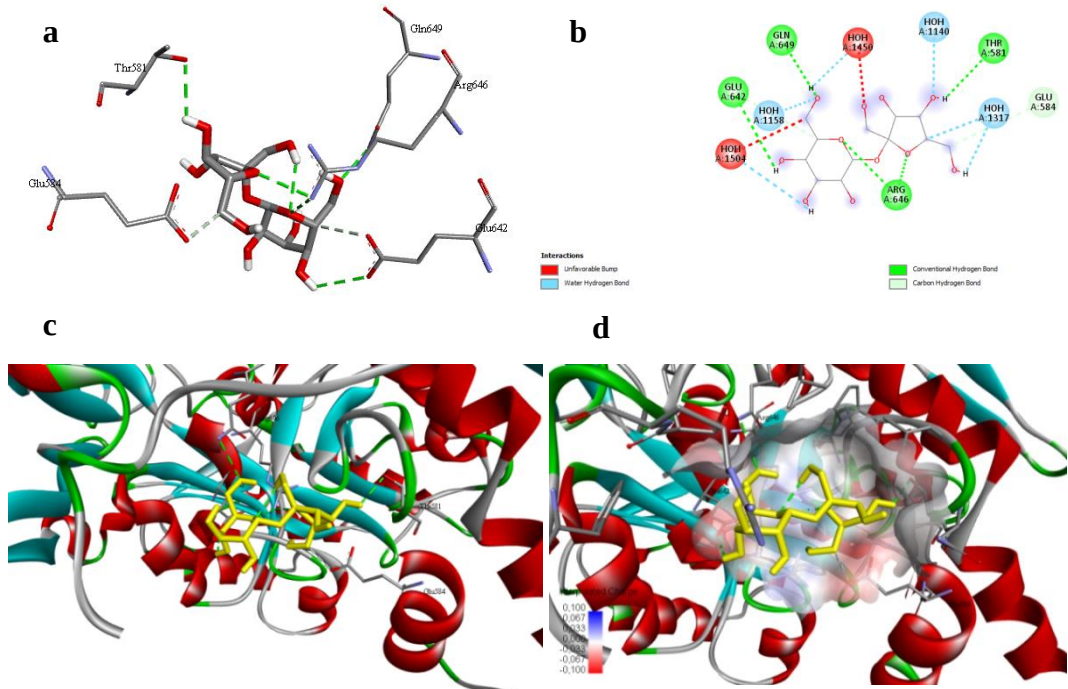
Şekil 4.135. Ostol-üreaz arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d)



Şekil 4.136. Rutin-üreaz arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d)



Şekil 4.137. *trans*-sinamik asit-üreaz arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d)



Şekil 4.138. Sükroz-üreaz arasındaki etkileşim (a), 2D (b), 3D (c), 3D-charge etkileşimleri (d)

Tablo 4.56. AChE ile izolatlar arasında en iyi pozdaki etkileşimler

AChE	Aminoasit bölgesi	Mesafe	Bağ tipi
Daukosterol	D:HIS287:CA	3.72028	Karbon hidrojen bağı
	D:HIS287:CD2	3.42808	Karbon hidrojen bağı
	D:TRP286	3.67627	Pi-Sigma
	D:TYR124	5.27971	Pi-Alkil
	D:TRP286	5.16372	Pi-Alkil
	D:PHE297	4.98846	Pi-Alkil
	D:PHE338	4.8119	Pi-Alkil
	D:TYR341	5.16812	Pi-Alkil
Oksipeusedanin	D:SER293:OG	3.64643	Karbon hidrojen bağı
	D:TYR341	3.78934	Pi-Sigma
	D:TRP286	4.72004	Pi-Pi
	D:TRP286	3.75676	Pi-Pi
	D:TRP286	3.93915	Pi-Pi
	D:TRP286	3.90131	Pi-Pi
	D:TRP286	4.85061	Pi-Pi
	D:TYR72	5.44783	Pi-Pi T-şekilli
	D:TYR337	4.7431	Pi-Alkil
	D:LEU289	5.34602	Pi-Alkil
Ostol	B:TYR124:OH	2.99616	Konvansiyonel hidrojen bağı
	B:TYR124:OH	3.01983	Konvansiyonel hidrojen bağı
	B:TYR337:OH	3.36808	Konvansiyonel hidrojen bağı
	B:SER293:O	3.35365	Karbon hidrojen bağı
	B:TYR341	5.20071	Pi-Pi
	B:TYR341	3.85243	Pi-Pi
	B:PHE297	5.71001	Pi-Pi T-şekilli
	B:TYR72	4.40528	Pi-Alkil
	B:TRP286	4.24301	Pi-Alkil
	B:TRP286	4.93545	Pi-Alkil
<i>t</i> -S _a	C:TRP286	4.83276	Pi-Pi
	C:TRP286	3.75591	Pi-Pi
Sükroz	D:TRP532:O	2.28763	Konvansiyonel hidrojen bağı
	D:TRP532:O	2.45817	Konvansiyonel hidrojen bağı
	D:HIS405:O	2.03712	Konvansiyonel hidrojen bağı
	D:GLU313:OE2	2.82458	Konvansiyonel hidrojen bağı
	d:***1:H	2.66822	Konvansiyonel hidrojen bağı
	D:HIS405:CE1	3.48838	Karbon hidrojen bağı
Rutin	D:TYR124:OH	2.96487	Konvansiyonel hidrojen bağı
	D:SER293:N	3.10713	Konvansiyonel hidrojen bağı
	UNK1:H	2.14458	Konvansiyonel hidrojen bağı
	D:ASP283:O	2.26156	Konvansiyonel hidrojen bağı
	D:VAL282:O	2.30664	Konvansiyonel hidrojen bağı
	D:SER293:OG	2.3527	Konvansiyonel hidrojen bağı
	D:TRP286	4.73357	Pi-Pi
	D:TRP286	5.24148	Pi-Pi
	D:TRP286	4.25854	Pi-Pi
	D:TRP286	5.07922	Pi-Pi
	D:TYR341	4.8003	Pi-Pi
	D:TYR341	5.95836	Pi-Pi
	D:TYR124	5.44163	Pi-Pi T-şekilli
	D:LEU289	5.25282	Pi-Alkil
	D:TYR124:OH	2.96487	Konvansiyonel hidrojen bağı

Tablo 4.57. BChE ile izolatlar arasında en iyi pozdaki etkileşimler

BChE	Aminoasit bölgesi	Mesafe	Bağ tipi
Daukosterol	A:HOH799:O	3.20959	Hidrojen bağı (su);Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:HOH930:O	1.37226	Hidrojen bağı (su);Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:HOH918:O	2.54649	Hidrojen bağı (su);Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:HOH875:O	1.74609	Hidrojen bağı (su);Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:THR120:OG1	3.19586	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:GOL605:O1	2.83711	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:BUA606:O1	1.84378	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:PRO285:O	2.84294	Konvansiyonel hidrojen bağı
	d:***1:O	2.62107	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:GOL605:O1	2.28967	Konvansiyonel hidrojen bağı
Oksepeusedanin	d:***1:O	2.07563	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:ALA277	4.28837	Alkil
	A:HOH711:O	2.79648	Hidrojen bağı (su); Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:HOH736:O	2.87604	Hidrojen bağı (su);Pi-Donör hidrojen bağı
	A:HOH799:O	2.20467	Hidrojen bağı (su);Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:HOH875:O	3.56822	Hidrojen bağı (su);Pi-Donör hidrojen bağı
	A:HOH919:O	3.56501	Hidrojen bağı (su);Pi-Donör hidrojen bağı
	A:HOH831:O	2.35072	Hidrojen bağı (su); Karbon hidrojen bağı
	A:HOH875:O	3.70452	Hidrojen bağı (su); Karbon hidrojen bağı
	A:GOL605:O3	2.94278	Konvansiyonel hidrojen bağı
Ostol	A:TRP82:CD1	3.4803	Karbon hidrojen bağı
	A:ASP70:OD1	4.37172	Pi-Anyon
	A:ASP70:OD1	3.69429	Pi-Anyon
	A:ASP70:OD1	4.05915	Pi-Anyon
	A:TYR332:OH	3.92172	Pi-Donör hidrojen bağı
	A:GOL605:O1	4.19018	Pi-Donör hidrojen bağı
	A:GOL605:O1	3.83182	Pi-Donör hidrojen bağı
	A:TYR332	3.86615	Pi-Sigma
	A:TYR332	5.54261	Pi-Pi
	A:TYR332	5.14027	Pi-Pi
Sinamik asit	A:HOH786:O	2.73309	Hidrojen bağı (su);Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:HOH839:O	3.42485	Hidrojen bağı (su);Pi-Donör hidrojen bağı
	A:HOH839:O	2.75988	Hidrojen bağı (su); Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:HOH919:O	3.18944	Hidrojen bağı (su); Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:HOH918:O	2.85233	Hidrojen bağı (su); Karbon hidrojen bağı
	A:HOH994:O	2.54786	Hidrojen bağı (su); Karbon hidrojen bağı
	A:GOL605:O1	3.20446	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:GOL605:O3	2.70465	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:HIS438:CD2	3.77894	Karbon hidrojen bağı
	A:PHE329	5.47168	Pi-Pi
Sükroz	A:PHE329	4.34148	Pi-Pi
	A:TYR332	4.62299	Pi-Pi T-şekilli
	A:TYR332	4.91583	Pi-Pi T-şekilli
	A:ALA328	5.07784	Pi-Alkil
	A:HOH875:O	3.79176	Hidrojen bağı (su);Pi-Donör hidrojen bağı
	A:TRP82:NE1	2.99473	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:TRP430:NE1	3.11748	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:TYR440:OH	3.17164	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:TYR332	3.89916	Pi-Pi
	A:HOH999:O	3.05181	Hidrojen bağı (su); Konvansiyonel hidrojen bağı
Rutin	A:HOH1009:O	2.94918	Hidrojen bağı (su); Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:HOH1034:O	2.27604	Hidrojen bağı (su); Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:HOH937:O	2.90062	Hidrojen bağı (su); Karbon hidrojen bağı
	A:HOH1033:O	2.65499	Hidrojen bağı (su); Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:HOH779:O	2.07086	Hidrojen bağı (su); Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:HOH1043:O	3.17451	Hidrojen bağı (su); Karbon hidrojen bağı
	A:HOH1043:O	3.04595	Hidrojen bağı (su); Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:HOH1091:O	2.77079	Hidrojen bağı (su); Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:THR284:OG1	2.86811	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:SER287:OG	2.70854	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:GOL604:O2	3.04695	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:GOL604:O3	2.55911	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:GOL604:O3	3.1762	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:PHE357:O	2.87334	Konvansiyonel hidrojen bağı
	d:***1:O	2.67365	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:TYR396:OH	1.96494	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:GLU238:OE2	2.53336	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:GOL604:O2	3.56139	Karbon hidrojen bağı
	A:TYR282:O	3.30441	Karbon hidrojen bağı
	A:HOH877:O	3.11254	Hidrojen bağı (su); Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:HOH895:O	2.93344	Hidrojen bağı (su); Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:HOH928:O	2.97442	Hidrojen bağı (su); Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:HOH933:O	3.29322	Hidrojen bağı (su); Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:HOH933:O	2.34529	Hidrojen bağı (su); Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:HOH933:O	2.55219	Hidrojen bağı (su); Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:HOH848:O	3.51422	Hidrojen bağı (su); Karbon hidrojen bağı
	A:HOH999:O	2.42536	Hidrojen bağı (su); Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:HOH962:O	2.0303	Hidrojen bağı (su); Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:HOH1059:O	3.00438	Hidrojen bağı (su); Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:THR523:OG1	2.24406	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:ALA229:O	2.93929	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:PHE227:O	2.19053	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:PHE227:O:B	2.0499	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:PRO230:O	2.65901	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:GOL604:C3	3.44842	Karbon hidrojen bağı
	UNK1:O	3.21435	Karbon hidrojen bağı
	UNK1:C	3.69743	Pi-Sigma
	A:PRO401	4.85701	Pi-Alkil
	A:PRO527	5.22333	Pi-Alkil
	A:PRO527	4.69522	Pi-Alkil

Tablo 4.58. Tirozinaz ile izolatlar arasında en iyi pozdaki etkileşimler

Tirozinaz	Aminoasit bölgesi	Mesafe	Bağ tipi
Daukosterol	B:VAL472:N	3.04521	Konvansiyonel hidrojen bağı
	B:ASN470:O	2.30732	Konvansiyonel hidrojen bağı
	d:***1:H	2.42435	Konvansiyonel hidrojen bağı
	B:ASN470:O	2.06597	Konvansiyonel hidrojen bağı
	B:ASN470:OD1	2.99108	Konvansiyonel hidrojen bağı
	B:ASP469:OD2	3.71097	Karbon hidrojen bağı
	A:VAL535	4.28127	Alkil
	A:ARG539	4.77027	Alkil
	A:LEU296	4.85255	Alkil
	A:ARG367	4.59269	Alkil
	A:TYR297	4.49138	Pi-Alkil
	A:PHE537	5.15747	Pi-Alkil
Oksipeusedanin	D:THR345:OG1	2.71985	Konvansiyonel hidrojen bağı
	D:SER351:OG	2.88558	Konvansiyonel hidrojen bağı
	D:SER351:OG	3.21714	Konvansiyonel hidrojen bağı
	D:SER351:CA	3.35891	Karbon hidrojen bağı
	D:THR345:OG1	3.82612	Pi-Donör hidrojen bağı
	D:PHE355	3.84741	Pi-Pi
	D:PHE355	3.72391	Pi-Pi
	D:PHE355	4.84041	Pi-Pi
Ostol	D:VAL366	4.44338	Pi-Alkil
	A:SER351:OG	2.88321	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:GLN294:O	3.54641	Karbon hidrojen bağı
	A:PHE355	4.17378	Pi-Pi
	A:PHE355	3.60568	Pi-Pi
<i>t</i> -Sinamik asit	A:ALA295	4.69659	Pi-Alkil
	B:TRP230:N	3.1162	Konvansiyonel hidrojen bağı
	B:GLU231:N	2.97892	Konvansiyonel hidrojen bağı
	B:VAL300:CG1	3.67918	Pi-Sigma
Sükroz	A:VAL300:CG1	3.59621	Pi-Sigma
	C:GLU26:N	3.19899	Konvansiyonel hidrojen bağı
	d:***1:H	3.04814	Konvansiyonel hidrojen bağı
	C:LYS151:O	2.66557	Konvansiyonel hidrojen bağı
	C:VAL23:O	2.50186	Konvansiyonel hidrojen bağı
Rutin	C:LYS151:O	2.10251	Konvansiyonel hidrojen bağı
	UNK1:H	2.87448	Konvansiyonel hidrojen bağı
	B:PRO538:O	2.27394	Konvansiyonel hidrojen bağı
	B:HIS243:NE2	2.66549	Konvansiyonel hidrojen bağı
	UNK1:C	3.08512	Karbon hidrojen bağı
	B:ARG539:NH2	4.93354	Pi-Katyon
	B:PHE537	4.73527	Pi-Pi T-şekilli
	A:PHE239	5.082	Pi-Pi T-şekilli
	A:PHE239	4.49882	Pi-Pi T-şekilli
	B:ALA228	5.12514	Pi-Alkil

Tablo 4.59. Üreaz ile izolatlar arasında en iyi pozdaki etkileşimler

Üreaz	Aminoasit bölgesi	Mesafe	Bağ tipi
Daukosterol	A:HOH1140:O	1.48134	Hidrojen bağı (su);Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:THR578:OG1	3.06322	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:THR578:OG1	2.48364	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:ARG646:NH2	2.80785	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:THR581:OG1	2.76247	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:ARG575:O	2.38299	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:THR578:OG1	1.87178	Konvansiyonel hidrojen bağı
	d:***1:H	2.03361	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:PHE838	3.94397	Pi-Sigma
	A:PHE838	4.9149	Pi-Alkil
Oksipeusedanin	A:HOH1052:O	2.30758	Hidrojen bağı (su);Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:HOH1534:O	2.88628	Hidrojen bağı (su);Karbon hidrojen bağı
	A:LYS716:NZ	4.7	Pi-Katyon
	A:LYS716:NZ	4.21486	Pi-Katyon
	A:MET746:N	4.1826	Pi-Donör hidrojen bağı
	A:LYS716:CG	3.84096	Pi-Sigma
	A:HOH1212:O	2.94232	Pi-Yalnız çift
	A:LYS716	3.7656	Pi-Alkil
	A:MET746	5.42204	Pi-Alkil
	A:LYS716	4.33995	Pi-Alkil
	A:MET746	5.44339	Pi-Alkil
Ostol	A:HOH1534:O	3.67878	Hidrojen bağı (su);Karbon hidrojen bağı
	A:HOH1710:O	2.51871	Hidrojen bağı (su);Karbon hidrojen bağı
	A:SER421:OG	3.03784	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:LYS745:CA	3.33642	Karbon hidrojen bağı
	A:LYS716:NZ	4.82683	Pi-Katyon
	A:TRP728	4.81181	Pi-Alkil
	A:LYS716	4.54325	Pi-Alkil
	A:MET746	4.92753	Pi-Alkil
	A:LYS716	4.37815	Pi-Alkil
	A:MET746	4.73617	Pi-Alkil
t-Sinamik asit	A:HOH1709:O	3.81793	Hidrojen bağı (su);Pi-Donör hidrojen bağı
	A:HOH1600:O	2.00223	Hidrojen bağı (su);Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:SER691:N	2.83408	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:SER691:OG	2.90748	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:SER788:OG	2.74065	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:LEU793:CD2	3.71204	Pi-Sigma
	A:ILE686	5.08555	Pi-Alkil
Sükroz	A:HOH1140:O	2.98903	Hidrojen bağı (su);Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:HOH1158:O	2.42558	Hidrojen bağı (su);Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:HOH1317:O	2.40473	Hidrojen bağı (su);Karbon hidrojen bağı
	A:HOH1317:O	2.68921	Hidrojen bağı (su);Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:HOH1504:O	2.86918	Hidrojen bağı (su);Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:HOH1450:O	2.68271	Hidrojen bağı (su);Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:ARG646:NH2	2.92952	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:ARG646:NH2	2.80167	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:GLN649:NE2	3.07401	Konvansiyonel hidrojen bağı
	d:***1:H	2.5964	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:THR581:OG1	2.58167	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:GLU642:OE2	3.01131	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:GLU584:OE2	3.20084	Karbon hidrojen bağı
	A:GLU642:OE1	3.72361	Karbon hidrojen bağı
Rutin	A:HOH1125:O	3.38056	Hidrojen bağı (su);Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:HOH1212:O	2.53784	Hidrojen bağı (su);Pi-Donör hidrojen bağı
	A:HOH1027:O	2.96551	Hidrojen bağı (su);Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:HOH1464:O	2.741	Hidrojen bağı (su);Konvansiyonel hidrojen bağı
	UNK1:H	2.13886	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:GLY641:O	2.75914	Konvansiyonel hidrojen bağı
	UNK1:H	2.36408	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:VAL744:O	2.7904	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:ASP730:OD1	1.69061	Konvansiyonel hidrojen bağı
	A:LYS716:NZ	4.12164	Pi-Katyon;Pi-Donör hidrojen bağı
	A:PHE838	5.02241	Pi-Pi T-şekilli
	A:PHE838	5.59681	Pi-Pi T-şekilli
	A:LYS716	5.34318	Pi-Alkil
	A:LYS716	4.87593	Pi-Alkil
	A:LYS716	4.33391	Pi-Alkil

Tablo 4.60. Enzimlerin izolatlarla bağlanma enerjileri ve bağlanma sabitleri

Etkileşimler	Bağlanma Enerjileri (kcal/mol)	Bağlanma sabitleri, $K_i \times 10^{-3}$ (mM)
AChE-daukosterol	-9.50	0.107
AChE-oksipeusedanin	-9.20	0.177
AChE-ostol	-8.50	0.579
AChE- <i>trans</i> -sinamik asit	-6.00	39.5
AChE-sükroz	-6.00	39.5
AChE-rutin	-10.10	0.038
BChE-daukosterol	-8.40	0.685
BChE-oksipeusedanin	-8.60	0.489
BChE-ostol	-7.60	2.65
BChE- <i>trans</i> -sinamik asit	-6.60	14.35
BChE-sükroz	-7.10	6.16
BChE-rutin	-9.70	0.076
Tirozinaz-daukosterol	-8.80	0.62
Tirozinaz-oksipeusedanin	-8.20	1.64
Tirozinaz-ostol	-7.50	5.12
Tirozinaz- <i>trans</i> -sinamik asit	-6.90	13.57
Tirozinaz-sükroz	-6.20	42.31
Tirozinaz-rutin	-9.50	0.199
Üreaz-daukosterol	-8.50	0.734
Üreaz-oksipeusedanin	-6.80	12.37
Üreaz-ostol	-6.40	24.05
Üreaz- <i>trans</i> -sinamik asit	-5.40	126.7
Üreaz-sükroz	-5.80	65.18
Üreaz-rutin	-8.60	0.621

Enzimler ile en iyi etkileşim gösteren moleküller her enzim için sıralandığında, AChE enzimi ile güçlü etkileşimler rutin, daukosterol, oksipeusedanin, ostol, *trans*-sinamik asit ve sükroz sırasında olmuştur. BChE enzimi ile en iyi etkileşim sırasıyla rutin, oksipeusedanin, daukosterol, ostol, *trans*-sinamik asit ve sükroz molekülleri ile olurken tirozinaz enzimi ile rutin, daukosterol, oksipeusedanin, ostol, *trans*-sinamik asit ve sükroz, üreaz enzimi ile ise rutin, daukosterol, oksipeusedanin, ostol, sükroz ve *trans*-sinamik asit şeklinde sıralanmıştır.

Enzim-izolat etkileşim sonuçlarına bakıldığında AChE, BChE, tirozinaz ve üreaz enzimleri için en iyi etkileşimler rutin molekülü ile sırasıyla -10.10, -9.70, -9.50 ve -8.60 kcal/mol olarak belirlenmiştir. En yüksek bağlanma enerjisine sahip etkileşimler en düşük bağlanma sabiti (K_i) değerini göstereceğinden dolayı tüm sonuçlar içerisinde en düşük K_i sabiti AChE-rutin etkileşiminde (0.038×10^{-3} mM) görülmüştür.

Abbas-Mohammadi vd (2018), *P. ferulacea* bitkisinden izole edilen oksipeusedanin molekülü ile AChE arasında doking çalışması yapmış olup etkileşimi -7.555 kJ/mol (-1.80 kcal/mol) bulmuşlardır. Bu çalışmada oksipeusedanin molekülünün AChE etkileşiminden elde edilen bağlanma enerjisi -9.20 kcal/mol olarak belirlenmiş olup literatürle karşılaştırıldığında bulunan etkileşimin daha yüksek olduğu kaydedilmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Mevcut sentetik ilaçların yan etkileri ve olumsuz toksik etkileri varken doğal ya da alternatif ilaçlar ile daha iyi etki düzeyi, emilim düzeyi ve yan etkilerin düşürülmesi hedeflenebilmektedir. Bu bağlamda tıbbi özelliği olan bitkilerin değişik yöntemlerle çeşitli kısımlarından ekstraksiyon işlemiyle elde edilen ekstraktların biyoaktiviteleri üzerinde çok sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışmalar ile hedeflenen, çok düşük miktarlardaki etkin dozların saptanarak bitkisel kökenli ilaçların geliştirilmesi ve hatta piyasaya sürülmesidir.

Şifalı bitkiler tarihsel olarak terapötik potansiyele sahip bir molekül kaynağı olarak değerini kanıtlamış ve günümüzde hala yeni ilaç potansiyellerinin tanımlanması için önemli bir havuzu temsil etmektedir. Son zamanlarda doğal kaynaklardan ilaç keşfine yönelik bilimsel ilgi yeniden artmaya başlamıştır.

Bu bağlamda bu tez çalışmasında yeni keşfedilen endemik bir tür olan *P. aricakensis* bitkisinin, yaprak, meyve, kök ve sap kısımlarının etkileri ayrı ayrı olacak şekilde, fitokimyasal ve biyoaktivite yönlendirmeli çalışmaları yapılmıştır.

Ekstraksiyon verimleri incelendiğinde en yüksek verimde elde edilen ekstraktın % 20.66 ile PAM olduğu ve onu % 18.55 ile PAS ve % 16.33 ile PAY'ın takip ettiği görülmüştür. Uçucu yağlarda ise PAYUY'nun % 0.3 ile en yüksek verimde elde edildiği gözlenmiştir.

Fitokimyasal analizler sonucunda en etkili ekstraktın PAY olduğu görülmüştür. Toplam fenol içerikleri bakımından karşılaştırıldığında PAY ekstraktının 26.37 ± 2.10 mg GAE/g ekstrakt değeri ile diğer ekstraktlardan daha etkili olduğu görülürken toplam flavonoid içeriğinin de 15.64 ± 0.07 mg KE/g ekstrakt değeri ile bu durumu desteklediği söylenebilir.

Yapılan fenolik bileşiklerin analizinde PAK ekstraktında kuersetin (25.29 ppm) ve vanilik asit (16.39 ppm) en yüksek değerlerde tespit edilirken PAM ekstraktında gallik asit (10.74 ppm) ile, PAS ekstraktında *p*-kumarik asit (746.66 ppm), PAY ekstraktında ise gallik asit (17.98 ppm) ve protokateşik asit (16.09 ppm) ile tayin edilmiştir. Ekstraktlar arasında en yüksek bileşik miktarına PAS'ın sahip olduğu görülmüştür.

Uçucu bileşen analizlerinde ise PASUY için 58 ve PAYUY için 15 farklı bileşen tespit edilmiştir. İki uçucu yağ kompozisyonunda da ortak olarak 14 bileşen (β -simen, limonen, *cis*-ocimen, linalool, *cis*-karveol, karvon, peril aldehit, bornil

asetat, peril alkol, metil cis-sinamat, metil trans-sinamat, metil 4-(prop-1-en-2-yl)sikloheks-1-enkarboksilat, sinamik asit etil ester, neofitadien) saptanmıştır. Bu bileşenlerden ortak ve ana bileşen olarak sırasıyla % 44.36 ve % 76.06 ile saptanan metil trans-sinamat olmuştur.

Kromatografik yöntemler sonucunda PAY ekstraktından 15 fraksiyon ve bazı fraksiyonlardan da 11 alt fraksiyon elde edilmiştir. Ayrıca PAM için (10 fraksiyon, 6 alt fraksiyon), PAK için (10 fraksiyon, 4 alt fraksiyon) ve PAS için (7 fraksiyon, 7 alt fraksiyon) olmak üzere toplam 42 fraksiyon ve 28 alt fraksiyon biyoaktivite yönlendirmeli olarak çalışılmıştır.

Yapılan saflaştırma işlemleri sonucunda yaprak ekstraktından elde edilen PAY84 fraksiyonunda *trans*-sinamik asit, PAY121'de rutin belirlenirken, kök ekstraktından elde edilen PAK1'de oksipeusedanin, PAK2'de ostol, PAK9'da sükroz ve sap ekstraktı PAS4 fraksiyonunda daukosterol molekülü belirlenmiş ve bu maddelerin yapıları 1D ve 2D NMR analizleri ile aydınlatılmış ve kütleleri MS analizleri ile belirlenmiştir. Tek kristal oluşturan ostol için ayrıca FT-IR ve X-ışını kristalografisi teknikleri uygulanmıştır. Bu çalışma ile bu moleküllerden *trans*-sinamik asit ve daukosterol ilk kez bir *Prangos* türünden izole edilmiştir.

Örnekler içerisinde en etkili toplam antioksidan aktivite gösterenler *trans*-sinamik asit (44.15 ± 0.67 µg/mL), sükroz (47.75 ± 0.05 µg/mL) ve daukosterol (34.69 ± 0.22 µg/mL) olurken saflaştırıldığı fraksiyonlardan daha etkili sonuçlar vermişlerdir.

En etkili DPPH[•] giderme aktivitesini sırasıyla PAYUY (2.12 ± 0.84 µg/mL), oksipeusedanin (2.19 ± 0.38 µg/mL), daukosterol (2.92 ± 0.29 µg/mL), PAKUY (3.09 ± 0.14 µg/mL), PAMUY (3.55 ± 1.54 µg/mL) ve ostol (4.57 ± 1.28 µg/mL) vermiştir.

En etkili ABTS^{•+} giderme aktivitesini sırasıyla PAK62 (6.29 ± 0.05 µg/mL), PASUY (13.14 ± 0.46 µg/mL), PAM62 (15.94 ± 1.91 µg/mL), PAKUY (16.77 ± 4.68 µg/mL), rutin (18.31 ± 0.45 µg/mL), PAS7 (18.58 ± 1.34 µg/mL) ve PAMUY (18.64 ± 0.66 µg/mL) vererek standartlardan daha etkili gözükmektedirler.

Genel olarak antioksidan aktivitelere bakıldığında en etkili ekstraktın PAY ekstraktı olduğu söylenebilir. Ancak bazı antioksidan aktivite testlerinde PAM ve PAK ekstraktlarının da etkili olabildiği görülmüştür.

AChE enzim inhibisyonunda veriler kendi içinde galantamin (3.17 ± 1.64 µg/mL) ile kıyaslandığında her ekstrakt ve fraksiyonları incelendiğinde en iyi

sonuçların PAY9 ($3.05 \pm 1.78 \mu\text{g/mL}$), PAK94 ($5.85 \pm 0.48 \mu\text{g/mL}$), PAS42 ($1.19 \pm 0.33 \mu\text{g/mL}$) ve PAS62 ($1.22 \pm 0.60 \mu\text{g/mL}$)’de olduğu görülmüştür. BChE için ise PAY10 ($0.98 \pm 0.01 \mu\text{g/mL}$), PAM10 ($3.29 \pm 0.91 \mu\text{g/mL}$), PAK6 ($2.68 \pm 0.07 \mu\text{g/mL}$), PAS7 ($2.51 \pm 0.81 \mu\text{g/mL}$) fraksiyonları en etkili fraksiyonlar olmuştur.

Tirozinaz inhibisyonunda PAY63 ($2.30 \pm 1.25 \mu\text{g/mL}$), PAM62 ($3.53 \pm 0.00 \mu\text{g/mL}$), Sükroz ($3.49 \pm 0.00 \mu\text{g/mL}$), PAS63 ($7.16 \pm 2.64 \mu\text{g/mL}$) en etkili örnekler olmuştur.

Üreaz inhibisyonunda PAM62 ($2.81 \pm 0.02 \mu\text{g/mL}$), oksipeusedanin ($3.03 \pm 0.00 \mu\text{g/mL}$) ve PAS ekstraktı ($2.77 \pm 0.44 \mu\text{g/mL}$) ve PAY7 ($4.55 \pm 0.74 \mu\text{g/mL}$) tiyoüre’den ($5.37 \pm 1.86 \mu\text{g/mL}$) daha etkili sonuçlar vermiştir.

Enzim inhibisyon çalışma sonuçları incelendiğinde herhangi bir ekstraktın öne çıktığını söylemek oldukça zordur. Çalışılmak istenilen konuya göre *P.aricakensis* bitkisinin farklı kısımları seçilmeli ve spesifik çalışmalar yapılmalıdır. Örneğin AH ile ilgili bir çalışmada yaprak ve sap, cilt koruyucu bir çalışma için yaprak seçilerek çalışma yapılması daha anlamlı olacaktır.

MİK sonuçlarına göre ham ekstraktlara bakıldığında *K. pneumonia*’ya karşı bütün ekstraktların antibiyotiklerden daha etkili olduğu görülmüş ve *P. aeruginosa*’ya karşı PAY ekstraktının hem amoksisilin hem de tetrasiklinden daha etkili olduğu gözlenmiştir. Ham ekstrakt sonuçları fraksiyonlardan daha etkili gözükmiştir. Bunun sebebi ham ekstraktlarda bulunan birçok maddenin birbirleri ile yaptıkları sinerjik etkileşimler olabilir. Ayrıca genel olarak fraksiyonlar ile alt fraksiyonlar arasında büyük farklılıklar gözlenmemiştir.

Antimikrobiyal çalışmalar incelendiğinde herhangi bir ekstraktın diğerlerinden çok daha üstün olduğunu söylemek zor olacaktır. Ancak çalışılacak bakteri türüne göre bir seçim yapmak mümkündür.

Ham ekstraktların jel görüntülerine bakıldığı zaman form I yapısında PAS % 76.05 ile en yüksek DNA koruma aktivitesi gösterirken onu PAY (% 75.24) yakından takip etmiştir. Form II’ye göre % 13.37 ile PAY en yüksek DNA koruma aktivitesine sahipken PAS (% 20.39) da oldukça etkili gözükmiştir. Uçucu yağların jel görüntülerine bakıldığında ise form I yapısında en parlak görüntü PAKUY % 69.44 da hesaplanmıştır. Form II’ye göre % 1.61 ile PAMUY en yüksek DNA koruma aktivitesine sahipken diğer uçucu yağlar sırasıyla PASUY (% 2.63), PAYUY (% 3.96) ve PAKUY (% 10.41) şeklinde sıralanmıştır. PAY fraksiyonlarında en parlak form I görüntüsü PAY14’de (% 68.54), en iyi form II sonucu da PAY1 (%

13.71)'de gözlenmiştir. PAM fraksiyonlarında form I PAM1 (% 52.51), form II PAM8 (% 5.64), PAK fraksiyonlarında form I PAK4 (% 83.33), form II PAK1 (% 13.99) iken PAS fraksiyonlarında ise form I PAS7 (% 78.23), form II PAS2 (% 12.00) olarak hesaplanmıştır. İzolatlarda ise form I yapısında en parlak görüntüyü veren ve form II'ye göre de en yüksek aktiviteyi gösteren örnek daukosterol (% 86.50 ve % 5.09) olmuştur.

DNA koruma aktivitesi çalışma sonuçlarına göre *P. aricakensis* ham ekstraktları içerisinde yaprak kısmı diğer kısımlara göre oldukça önde gözükmektedir.

Yapılan temel bileşen analizleri sonucunda toplam antioksidan, ABTS⁺⁺, tirozinaz ve üreaz deneyleri PAY11 ve PAY13 fraksiyonları ile, AChE ve BChE deneyleri de PAY2 fraksiyonu ile, toplam antioksidan, AChE ve DNA koruma aktivitesi deneyleri PAM 2 ve PAM9 fraksiyonları ile, toplam antioksidan, BChE ve tirozinaz deneyleri PAK3, PAK5 ve PAK10 fraksiyonları ile, AChE ve DNA koruma aktivitesi deneyleri PAK4 ve PAK9 fraksiyonları ile, BChE ve DNA koruma aktivitesi deneyleri PAS4 ve PAS5 fraksiyonları ile pozitif korelasyon göstermiştir.

Bilgisayar ortamında enzim-izolat etkileşim sonuçlarına bakıldığında AChE, BChE, tirozinaz ve üreaz enzimleri için en iyi etkileşimler rutin molekülü ile sırasıyla -10.10, -9.70, -9.50 ve -8.60 kcal/mol olarak belirlenmiştir. Tüm sonuçlar içerisinde en düşük K_i sabiti AChE-rutin etkileşiminde (0.038×10^{-3} mM) görülmüştür. Enzim kinetiği çalışmalarında AChE için en iyi sonucu daukosterol molekülü yarışmasız inhibisyon türü göstererek $0.38 K_i$ değeri vermiştir. BChE için *trans*-sinamik asit molekülü yarışmasız, $2.10 K_i$ değeri, tirozinaz için rutin molekülü yarı yarışmalı, $0.12 K_i$ değeri, üreaz için sükroz molekülü yarı yarışmalı, $0.22 K_i$ değeri göstermiştir. Özellikle rutin molekülü için bilgisayar ortamında moleküler doking tekniğinde enzimin seçilen aktif bölgesi ile etkileşiminde yüksek etki gösterirken kinetik ve inhibisyon çalışmalarında farklı bir bölgeye bağlandığından dolayı düşük etki göstermiş olabilir.

Bugün günümüzde tükettiğimiz ürünlerin çoğunda sentetik antioksidanlar bulunmaktadır. Bu antioksidanlar gıda sektöründe gıdaların bozulmasına karşı korunması ve raf ömürlerinin uzatılması amacıyla kullanılmaktadır. Fakat sentetik antioksidanların olası toksik etkileri sebebiyle daha güvenli ve doğal kaynaklı antioksidanlara olan ihtiyaç artmaktadır.

Bazı hastalıkların tedavisinde umut olabilecek enzim inhibitörü çalışmaları da git gide popülerleşmektedir. Bunun yanında bakterilerdeki antibakteriyel direnç oluşumu ve yeni antibiyotiklere ihtiyaç duyulması da oldukça güncel konulardır. Tüm bu konular çerçevesinde bakıldığında bu araştırmanın önemi daha net bir şekilde ortaya koyulabilmektedir.

Bu tez çalışmasında bitkiden izole edilen saf maddelerin de biyoaktiviteleri araştırılmış olup enzimlerle olan etkileşimleri bilgisayar ortamında incelenmiştir. Bu saf maddelerin (*trans*-sinamik asit, rutin, oksipeusedanin, ostol, sükroz ve daukosterol) literatürde çalışılmış ve başta kanserin önlenmesi olmak üzere nöroprotektif, spazmolitik immünomodülatör, osteojenik, hepatoprotektif, vazorelaksan, antimikrobiyal, antiviral gibi çok çeşitli farmakolojik etkilere sahip oldukları görülmüştür.

Henüz daha yeni keşfedilen bir tür olması sebebiyle *P. aricakensis* bitkisi hakkında literatürde bu tarz çalışmalar mevcut değildir. Dolayısıyla bu çalışma, alanındaki ilk çalışma olmakla birlikte *in vitro* aşamasında kalmış olup gelecekte *in vivo* çalışmaların yapılmasının önünü açacağı düşünülmektedir.

P. aricakensis bitkisinin farklı kısımlarından elde edilen ekstraktlar veya izolatlar, potansiyel bir doğal antioksidan, antibakteriyal, nöroprotektif, cilt koruyucu, antiülser özellikleri ile DNA koruma ürünü olarak kullanılabilir. Bu bulgular, *P. aricakensis* bitkisinin insan yararına geleneksel uygulamaları için maddi bir temel sağlayabilir. Ayrıca ekstraktlar ve izolatların arasında, güçlü metabolik enzimlerin (AChE, BChE, tirozinaz ve üreaz) inhibisyon etkileri bulunmuştur. Ek olarak, ekstraktlar enzimleri inhibe etme kapasitesine sahip fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda etkili olmuştur. Genel olarak, bu çalışma *P. aricakensis* kaynaklı izole edilen moleküllerin nörolojik, dermatolojik ve gastrik hastalıklar gibi bazı hastalıkların tedavisi için faydalı potansiyelleri bulunduğu *in vivo* çalışmalarda kullanılmak üzere aktif kaynak olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abbas-Mohammadi, M., Farimani, M. M., Salehi, P., Ebrahimi, S. N., Sonboli, A., Kelso, C. and Skropeta, D. 2018. Acetylcholinesterase-inhibitory activity of Iranian plants: Combined HPLC/bioassay-guided fractionation, molecular networking and docking strategies for the dereplication of active compounds. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 158, 471-479.
- Abdolmohammad-Zadeh, H., Mahmoudi-kordi, F. and Rahmati, M. 2014. Utilizing a nano-sorbent for the selective solid-phase extraction of vanillic acid prior to its determination by photoluminescence spectroscopy. *Luminescence*, 29:8, 1162-1168.
- Addar, L., Bensouici, C., Zennia, S. S. A., Haroun, S. B. and Mati, A. 2019. Antioxidant, tyrosinase and urease inhibitory activities of camel α S-casein and its hydrolysate fractions. *Small Ruminant Research*, 173, 30-35.
- Ahmed, J., Güvenç, A., Küçükboyacı, N., Baldemir, A. and Coskun, M. 2011. Total phenolic contents and antioxidant activities of Prangos Lindl.(Umbelliferae) species growing in Konya province (Turkey). *Turkish Journal of Biology*, 35:3, 353-360.
- Ahmed, M., Qadir, M. A., Hameed, A., Arshad, M. N., Asiri, A. M. and Muddassar, M. 2017. Azomethines, isoxazole, N-substituted pyrazoles and pyrimidine containing curcumin derivatives: Urease inhibition and molecular modeling studies. *Biochemical and biophysical research communications*, 490:2, 434-440.
- Ahmed, S., Khan, S. T., Zargaham, M. K., Khan, A. U., Khan, S., Hussain, A., Uddin, J., Khan, A. and Al-Harrasi, A. 2021. Potential therapeutic natural products against Alzheimer's disease with Reference of Acetylcholinesterase. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 139, 111609.
- Ajani, Y., Ajani, A., Cordes, J. M., Watson, M. F. and Downie, S. R. 2008. Phylogenetic analysis of nrDNA ITS sequences reveals relationships within five groups of Iranian Apiaceae subfamily Apioideae. *Taxon*, 57:2, 383-401.
- Aksu, K., Akıncioğlu, H., Akıncioğlu, A., Göksu, S., Tuemer, F. and Guelcin, I. 2018. Synthesis of novel sulfamides incorporating phenethylamines and determination of their inhibition profiles against some metabolic enzymes. *Archiv der Pharmazie*, 351:9, 1800150.
- Aksu, K., Topal, F., Gulcin, I., Tümer, F. and Göksu, S. 2015. Acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant activities of novel symmetric sulfamides derived from phenethylamines. *Archiv der Pharmazie*, 348:6, 446-455.
- Alam, M. N., Bristi, N. J. and Rafiquzzaman, M. 2013. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi pharmaceutical journal*, 21:2, 143-152.
- Albayrak, G., Demir, S., Koyu, H. and Baykan, S. 2022. Anticholinesterase compounds from endemic Prangos uechtritzii. *Chemistry & Biodiversity*, 19:11, e202200557.
- Aloui, L., Kossentini, M., Geffroy-Rodier, C., Guillard, J. and Zouari, S. 2015. Phytochemical investigation, isolation and characterization of coumarins from aerial parts and roots of Tunisian Pituranthus chloranthus (Apiaceae). *Pharmacogn Commun*, 5:4, 237-243.
- Alqahtani, Y. S., Alyami, B. A., Alqarni, A. O., Mahnashi, M. H., Ali, A., Javed, Q., Hassan, M. and Ehsan, M. 2022. Cephalosporin as Potent Urease and Tyrosinase Inhibitor: Exploration through Enzyme Inhibition, Kinetic Mechanism, and Molecular Docking Studies. *BioMed Research International*, 2022.
- Altenburger, R., Backhaus, T., Boedeker, W., Faust, M., Scholze, M. and 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.
- Amaro, R. E., Baudry, J., Chodera, J., Demir, Ö., McCammon, J. A., Miao, Y. and Smith, J. C. 2018. Ensemble docking in drug discovery. *Biophysical journal*, 114:10, 2271-2278.

- Amtul, Z., Siddiqui, R. and Choudhary, M. 2002. Chemistry and mechanism of urease inhibition. *Current medicinal chemistry*, 9:14, 1323-1348.
- Andrews, J. M. 2001. Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of antimicrobial Chemotherapy*, 48:suppl_1, 5-16.
- Aras-Hisar, Ş., Hisar, O., Beydemir, Ş., Gülçin, İ. and Yanik, T. 2004. Effect of vitamin E on carbonic anhydrase enzyme activity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) erythrocytes in vitro and in vivo. *Acta Veterinaria Hungarica*, 52:4, 413-422.
- Atanasov, A. G., Waltenberger, B., Pferschy-Wenzig, E.-M., Linder, T., Wawrosch, C., Uhrin, P., Temml, V., Wang, L., Schwaiger, S. and Heiss, E. H. 2015. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. *Biotechnology advances*, 33:8, 1582-1614.
- Ayala-Peña, S. 2013. Role of oxidative DNA damage in mitochondrial dysfunction and Huntington's disease pathogenesis. *Free radical biology and medicine*, 62, 102-110.
- Ayaz, F. A., Hayirlioglu-Ayaz, S., Gruz, J., Novak, O. and Strnad, M. 2005. Separation, characterization, and quantitation of phenolic acids in a little-known blueberry (*Vaccinium arctostaphylos* L.) fruit by HPLC-MS. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53:21, 8116-8122.
- Bahadori, M. B., Zengin, G., Bahadori, S., Maggi, F. and Dinparast, L. 2017. Chemical composition of essential oil, antioxidant, antidiabetic, anti-obesity, and neuroprotective properties of *Prangos gaubae*. *Natural Product Communications*, 12:12, 1934578X1701201233.
- Baiseitova, A., Jenis, J., Kim, J. Y., Li, Z. P. and Park, K. H. 2019. Phytochemical analysis of aerial part of *Ikonnikovia kaufmanniana* and their protection of DNA damage. *Natural Product Research*, 1-4.
- Bang, H. B., Lee, K., Lee, Y. J. and Jeong, K. J. 2018. High-level production of trans-cinnamic acid by fed-batch cultivation of *Escherichia coli*. *Process Biochemistry*, 68, 30-36.
- Bankova, V. 2005. Recent trends and important developments in propolis research. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2:1, 29-32.
- Barbieri, R., Coppo, E., Marchese, A., Daglia, M., Sobarzo-Sánchez, E., Nabavi, S. F. and Nabavi, S. M. 2017. Phytochemicals for human disease: An update on plant-derived compounds antibacterial activity. *Microbiological research*, 196, 44-68.
- Barros, A. I., Nunes, F. M., Gonçalves, B., Bennett, R. N. and Silva, A. P. 2011. Effect of cooking on total vitamin C contents and antioxidant activity of sweet chestnuts (*Castanea sativa* Mill.). *Food chemistry*, 128:1, 165-172.
- Bazdar, M. and Sadeghi, H. 2017. Antioxidant activity of *Trifolium resupinatum* L. exposed to different extracts from leaves, flowers and shoots of *Prangos ferulacea*. *Spanish journal of agricultural research*, 15:4, 8.
- Bazdar, M., Sadeghi, H. and Hosseini, S. 2018. Evaluation of oil profiles, total phenols and phenolic compounds in *Prangos ferulacea* leaves and flowers and their effects on antioxidant activities. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 14, 418-423.
- Behçet, L., Yapar, Y. and Olgun, Ş. 2019. *Prangos aricakensis* (Apiaceae), a new species from eastern Turkey. *Phytotaxa*, 401:1, 55-63.
- Benelli, G., Pavela, R., Petrelli, R., Cappellacci, L., Canale, A., Senthil-Nathan, S. and Maggi, F. 2018. Not just popular spices! Essential oils from *Cuminum cyminum* and *Pimpinella anisum* are toxic to insect pests and vectors without affecting non-target invertebrates. *Industrial crops and products*, 124, 236-243.
- Beyza Öztürk Sarıkaya, S., Gülçin, İ. and Supuran, C. T. 2010. Carbonic anhydrase inhibitors: Inhibition of human erythrocyte isozymes I and II with a series of phenolic acids. *Chemical biology & drug design*, 75:5, 515-520.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181:4617, 1199-1200.
- Borowiak, T. and Wolska, I. 1989. Structure of 7-methoxy-8-(3-methyl-2-butenyl) coumarin. *Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications*, 45:4, 620-622.

- Bottone, E. J. 2010. *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. *Clinical microbiology reviews*, 23:2, 382-398.
- Brusotti, G., Ibrahim, M. F., Dentamaro, A., Gilardoni, G., Tosi, S., Grisoli, P., Dacarro, C., Guglielminetti, M. L., Hussain, F. H. S. and Caccialanza, G. 2013. Chemical composition and antimicrobial activity of the volatile fractions from leaves and flowers of the wild Iraqi Kurdish plant *Prangos peucedanifolia* Fenzl. *Chemistry & Biodiversity*, 10:2, 274-280.
- Buchanan, R. L., Gorris, L. G., Hayman, M. M., Jackson, T. C. and Whiting, R. C. 2017. A review of *Listeria monocytogenes*: An update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments. *Food control*, 75, 1-13.
- Burmaoglu, S., Yilmaz, A. O., Polat, M. F., Kaya, R., Gulcin, I. and Algul, O. 2019. Synthesis of novel tris-chalcones and determination of their inhibition profiles against some metabolic enzymes. *Archives of physiology and biochemistry*, 1-9.
- Carocho, M. and Ferreira, I. C. 2013. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and chemical toxicology*, 51, 15-25.
- Cetinkaya, Y., Göçer, H., Menzek, A. and Gülçin, İ. 2012. Synthesis and antioxidant properties of (3, 4-dihydroxyphenyl)(2, 3, 4-trihydroxyphenyl) methanone and its derivatives. *Archiv der Pharmazie*, 345:4, 323-334.
- Chang, T.-S. 2009. An updated review of tyrosinase inhibitors. *International journal of molecular sciences*, 10:6, 2440-2475.
- Chen, J. H. and Ho, C.-T. 1997. Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 45:7, 2374-2378.
- Choi, J. N., Choi, Y.-H., Lee, J.-M., Noh, I. C., Park, J. W., Choi, W. S. and 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.
- Cirico, T. L. and Omaye, S. T. 2006. Additive or synergetic effects of phenolic compounds on human low density lipoprotein oxidation. *Food and Chemical Toxicology*, 44:4, 510-516.
- Coico, R. 2006. Gram staining. *Current protocols in microbiology*:1, A. 3C. 1-A. 3C. 2.
- Crump, J. A., Luby, S. P. and Mintz, E. D. 2004. The global burden of typhoid fever. *Bulletin of the World Health Organization*, 82:5, 346-353.
- Çakmakçı, S., Topdaş, E. F., Kalın, P., Han, H., Şekerci, P., P. Köse, L. and Gülçin, İ. 2015. Antioxidant capacity and functionality of oleaster (*E laeagnus angustifolia* L.) flour and crust in a new kind of fruity ice cream. *International Journal of Food Science & Technology*, 50:2, 472-481.
- Çam, M., Hışıl, Y. and Durmaz, G. 2009. Classification of eight pomegranate juices based on antioxidant capacity measured by four methods. *Food chemistry*, 112:3, 721-726.
- Çelik, S. E., Özyürek, M., Altun, M., Bektaşoğlu, B., Güçlü, K., Berker, K. I., Özgökçe, F. and Apak, R. 2008. Antioxidant Capacities of Herbal Plants Used in the Manufacture of Van Herby Cheese: 'Otlı Peynir'. *International Journal of Food Properties*, 11:4, 747-761.
- Çoruh, N., Celep, A. G. S. d. I. and Özgökçe, F. 2007. Antioxidant properties of *Prangos ferulacea* (L.) Lindl., *Chaerophyllum macropodium* Boiss. and *Heracleum persicum* Desf. from Apiaceae family used as food in Eastern Anatolia and their inhibitory effects on glutathione-S-transferase. *Food chemistry*, 100:3, 1237-1242.
- Dagdelen, S., Bilenler, T., Durmaz, G., Gokbulut, I., Hayaloglu, A. and Karabulut, I. 2014a. Volatile Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Herbal Plants Used in the Manufacture of V an Herby (OTLU) Cheese. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38:4, 1716-1725.
- Dagdelen, S., Bilenler, T., Durmaz, G., Gokbulut, I., Hayaloglu, A. A. and Karabulut, I. 2014b. Volatile Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Herbal

- Plants Used in the Manufacture of Van Herby (OTLU) Cheese. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38:4, 1716-1725.
- Dechayont, B., Ruamdee, P., Poonnaimuang, S., Mokmued, K. and Chunthorng-Orn, J. 2017. Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. *Journal of Botany*.
- Delnavazi, M.-R., Soleimani, M., Hadjiakhoondi, A. and Yass, N. 2017. Isolation of phenolic derivatives and essential oil analysis of *Prangos ferulacea* (L.) Lindl. aerial parts. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 16:Suppl, 207.
- Di Martino, A. and Raimondo, F. 1974. Distribuzione es ecologia di *Cachrys ferulacea* (L.) Calestani interessante foraggera dei pascoli alto montani della Sicilia. *Boll Stud Inform Bot Giardin Colon*, 26, 116-129.
- Dien, P. H., Yen, L. T. H. and Quang, D. N. 2015. Steroids from *Hedyotis leptoneura*. *Vietnam Journal of Chemistry*, 53:2, 178-181.
- Dolomanov, O. V., Bourhis, L. J., Gildea, R. J., Howard, J. A. and Puschmann, H. 2009. OLEX2: a complete structure solution, refinement and analysis program. *Journal of applied crystallography*, 42:2, 339-341.
- Duman, H., Guner, A., Ozhatay, N., Ekim, T. and Baser, K. 2000. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. XI, Suppl, 2, 209.
- Duran, A., Sağiroğlu, M. and Duman, H. (2005). *Prangos turcica* (Apiaceae), a new species from South Anatolia, Turkey. *Annales Botanici Fennici*, JSTOR, 67-72.
- Durmaz, H., Sagun, E., Tarakci, Z. and Ozgokce, F. 2006. Antibacterial activities of *Allium vineale*, *Chaerophyllum macropodium* and *Prangos ferulacea*. *African Journal of Biotechnology*, 5:19.
- Eeva, M., Rauha, J. P., Vuorela, P. and Vuorela, H. 2004. Computer-assisted, high-performance liquid chromatography with mass spectrometric detection for the analysis of coumarins in *Peucedanum palustre* and *Angelica archangelica*. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 15:3, 167-174.
- Ekiert, H. 2000. Medicinal plant biotechnology: the Apiaceae family as the example of rapid development. *Die Pharmazie*, 55:8, 561-567.
- El Omari, N., Jaouadi, I., Lahyaoui, M., Benali, T., Taha, D., Bakrim, S., El Menyiy, N., El Kamari, F., Zengin, G. and Bangar, S. P. 2022. Natural Sources, Pharmacological Properties, and Health Benefits of Daucosterol: Versatility of Actions. *Applied Sciences*, 12:12, 5779.
- Elsbaey, M., Amen, Y., Nakagawa, T. and Shimizu, K. 2019. White poplar: Targeted isolation of pancreatic lipase inhibitors. *Industrial Crops and Products*, 141, 111778.
- Farhadi, F., Khameneh, B., Iranshahi, M. and Iranshahy, M. 2019. Antibacterial activity of flavonoids and their structure–activity relationship: An update review. *Phytotherapy Research*, 33:1, 13-40.
- Farooq, S., Dangroo, N. A., Priya, D., Banday, J. A., Sangwan, P. L., Qurishi, M. A., Koul, S. and Saxena, A. K. 2014. Isolation, cytotoxicity evaluation and HPLC-quantification of the chemical constituents from *Prangos pabularia*. *Plos one*, 9:10, e108713.
- Faroz, A., Shah, S. A. and Banday, J. A. 2016. Structural and optical studies of 7-methoxy-8-(3-methylbut-2-enyl)-2-chromenone (osthol), a plant based coumarin. *Optik*, 127:5, 2802-2805.
- Feig, D. I., Reid, T. M. and Loeb, L. A. 1994. Reactive oxygen species in tumorigenesis. *Cancer research*, 54:7_Supplement, 1890s-1894s.
- Ferreira, L. G., Dos Santos, R. N., Oliva, G. and Andricopulo, A. D. 2015. Molecular docking and structure-based drug design strategies. *Molecules*, 20:7, 13384-13421.
- Floegel, A., Kim, D.-O., Chung, S.-J., Koo, S. I. and Chun, O. K. 2011. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of food composition and analysis*, 24:7, 1043-1048.
- Folin, O. and Ciocalteu, V. 1927. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *J. biol. Chem.*, 73:2, 627-650.

- Forbes, B. 2007. Blood Culture. *Forbes BA, Sham DF, Weissfeld AS. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 12th edition. St Louis, MO: Mosby Elsevier*, 778-781.
- Galano, A., Tan, D.-X. and Reiter, R. J. 2018. Melatonin: a versatile protector against oxidative DNA damage. *Molecules*, 23:3, 530.
- Ganbaatar, C., Gruner, M., Mishig, D., Duger, R., Schmidt, A. W. and Knölker, H.-J. 2015. Flavonoid glycosides from the aerial parts of *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce growing in Mongolia. *The Open Natural Products Journal*, 8:1.
- Georgelis, N., Fencil, K. and Richael, C. M. 2018. Validation of a rapid and sensitive HPLC/MS method for measuring sucrose, fructose and glucose in plant tissues. *Food chemistry*, 262, 191-198.
- Ghobadi, E., Ghanbarimasir, Z. and Emami, S. 2021. A review on the structures and biological activities of anti-*Helicobacter pylori* agents. *European journal of medicinal chemistry*, 223, 113669.
- Gholivand, M. B., Yamini, Y., Dayeni, M. and Shokoohinia, Y. 2015. The influence of the extraction mode on three coumarin compounds yield from *Prangos ferulacea* (L.) Lindl roots. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 12:4, 707-714.
- Ghosh, N., Chakraborty, T., Mallick, S., Mana, S., Singha, D., Ghosh, B. and Roy, S. 2015. Synthesis, characterization and study of antioxidant activity of quercetin–magnesium complex. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 151, 807-813.
- Gillespie, I. A., O'BRIEN, S., Adak, G., Ward, L. and Smith, H. 2005. Foodborne general outbreaks of *Salmonella* Enteritidis phage type 4 infection, England and Wales, 1992–2002: where are the risks? *Epidemiology & Infection*, 133:5, 795-801.
- Govan, J. R. and Deretic, V. 1996. Microbial pathogenesis in cystic fibrosis: mucoid *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia*. *Microbiological reviews*, 60:3, 539-574.
- Gökay, O., Kühner, D., Los, M., Götz, F., Bertsche, U. and Albert, K. 2010. An efficient approach for the isolation, identification and evaluation of antimicrobial plant components on an analytical scale, demonstrated by the example of *Radix imperatoriae*. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 398, 2039-2047.
- Grosh, A. 1978. Prevalence of *Bacillus cereus* in the faeces of healthy adults. *Epidemiology & Infection*, 80:2, 233-236.
- Gulcin, İ. 2020. Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. *Archives of toxicology*, 94:3, 651-715.
- Gutteridge, J. M. 1984. Lipid peroxidation initiated by superoxide-dependent hydroxyl radicals using complexed iron and hydrogen peroxide. *FEBS letters*, 172:2, 245-249.
- Guzman, C., Pruzzo, C., LiPira, G. and Calegari, L. 1989. Role of adherence in pathogenesis of *Enterococcus faecalis* urinary tract infection and endocarditis. *Infection and immunity*, 57:6, 1834-1838.
- Gülçin, İ., Elias, R., Gepdiremen, A. and Boyer, L. 2006. Antioxidant activity of lignans from fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.). *European Food Research and Technology*, 223:6, 759-767.
- Güner, A. and Aslan, S. 2012. *Türkiye bitkileri listesi:(damarlı bitkiler)*. Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları,
- Hajizadeh, S., DeGroot, J., TeKoppele, J. M., Tarkowski, A. and Collins, L. V. 2003. Extracellular mitochondrial DNA and oxidatively damaged DNA in synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*, 5:5, 1-7.
- Halliwell, B., Murcia, M. A., Chirico, S. and Aruoma, O. I. 1995. Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 35:1-2, 7-20.
- Harborne, J., Baxter, H. and Moss, G. 1999. *Pythochemical Dictionary: A Handbook of Bioactive Compounds from Plants.*: Taylor and Fransic Ltd: London.
- Hernández-García, E., García, A., Avalos-Alanís, F. G., Rivas-Galindo, V. M., Delgadillo-Puga, C. and del Rayo Camacho-Corona, M. 2019. Nuclear magnetic resonance

- spectroscopy data of isolated compounds from *Acacia farnesiana* (L.) Willd fruits and two esterified derivatives. *Data in brief*, 22, 255-268.
- Hou, W.-C., Lin, R.-D., Cheng, K.-T., Hung, Y.-T., Cho, C.-H., Chen, C.-H., Hwang, S.-Y. and Lee, M.-H. 2003. Free radical-scavenging activity of Taiwanese native plants. *Phytomedicine*, 10:2-3, 170-175.
- Hudault, S., Guignot, J. and Servin, A. L. 2001. *Escherichia coli* strains colonising the gastrointestinal tract protect germfree mice against *Salmonella typhimurium* infection. *Gut*, 49:1, 47-55.
- Inal, M., Altinişik, M. and Bilgin, M. D. 2002. The effect of quercetin on renal ischemia and reperfusion injury in the rat. *Cell Biochemistry and Function: Cellular biochemistry and its modulation by active agents or disease*, 20:4, 291-296.
- Jalilian, F., Moieni-Arya, M., Hosseinzadeh, L. and Shokoohinia, Y. 2022. Oxypeucedanin and isoimperatorin extracted from *Prangos ferulacea* (L.) Lindl protect PC12 pheochromocytoma cells from oxidative stress and apoptosis induced by doxorubicin. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 17:1, 12.
- Januar, S. E., Sugita, P. and Arifin, B. 2015. Identification of Trans-cinnamic acid in sinyo nakal (*Duranta repens*) fruits' methanol extract. *Int. Res. J. Pure Appl. Chem*, 8, 73-80.
- Jayashree, B., Nigam, S., Pai, A. and Chowdary, P. 2014. Overview on the recently developed coumarinyl heterocycles as useful therapeutic agents. *Arabian Journal of Chemistry*, 7:6, 885-899.
- Jelodarian, Z., Shokoohinia, Y., Rashidi, M., Ghiasvand, N., Hosseinzadeh, L. and Iranshahi, M. 2017. New polyacetylenes from *Echinophora cinerea* (Boiss.) Hedge et Lamond. *Natural Product Research*, 31:19, 2256-2263.
- Jensen, S. J. K. 2003. Oxidative stress and free radicals. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 666, 387-392.
- Jerse, A., NJP, B. M. and Cunningham-Rundles, S. 2000. *Neisseria gonorrhoeae*: adaptation and survival in the urogenital tract "in" Persistent bacterial infections. *Nataro JP, Blaser MJ, Cunningham-Rundles S*, 201, 227.
- Joskova, M., Franova, S. and Sadlonova, V. 2011. Acute bronchodilator effect of quercetin in experimental allergic asthma. *Bratisl Lek Listy*, 112:1, 9-12.
- Kafash-Farkhad, N., Asadi-Samani, M. and Rafieian-Kopaei, M. 2013. A review on phytochemistry and pharmacological effects of *Prangos ferulacea* (L.) Lindl. *Life Science Journal*, 10:SUPPL, 360-367.
- Karahisar, E., Köse, Y. B., İscan, G., Kurkcuoglu, M. and Tugay, O. 2022. Chemical Composition and Anticandidal Activity of Essential Oils Obtained from Different Parts of *Prangos heyneana* H. Duman & MF Watson. *Records of Natural Products*, 16:1.
- Karakaya, S. 2004. Bioavailability of phenolic compounds. *Critical reviews in food science and nutrition*, 44:6, 453-464.
- Kashanian, S. and Dolatabadi, J. E. N. 2009. DNA binding studies of 2-tert-butylhydroquinone (TBHQ) food additive. *Food chemistry*, 116:3, 743-747.
- Kiliç, Ö. and Özdemir, F. A. 2017. Essential oil composition of two *Prangos* Lindl. (Apiaceae) species from Turkey.
- Kim, H., Mani, I., Iversen, L. and Ziboh, V. 1998. Effects of naturally-occurring flavonoids and biflavonoids on epidermal cyclooxygenase and lipoxygenase from guinea-pigs. *Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids*, 58:1, 17-24.
- Kinghorn, A. D., Pan, L., Fletcher, J. N. and Chai, H. 2011. The relevance of higher plants in lead compound discovery programs. *Journal of natural products*, 74:6, 1539-1555.
- Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R. and Bajorath, J. 2004. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nature reviews Drug discovery*, 3:11, 935-949.
- Koleva, A. I., Petkova-Yankova, N. I. and Nikolova, R. D. 2019. Synthesis and chemical properties of 3-phosphono-coumarins and 1, 2-benzoxaphosphorins as precursors for bioactive compounds. *Molecules*, 24:11, 2030.

- Koppula, S. and Choi, D. K. 2011. Cuminum cyminum extract attenuates scopolamine-induced memory loss and stress-induced urinary biochemical changes in rats: a noninvasive biochemical approach. *Pharmaceutical biology*, 49:7, 702-708.
- Koval'skii, I., Krasnyuk, I., Nikulina, O., Belyatskaya, A., Kharitonov, Y., Feldman, N. and Lutsenko, S. 2014. Mechanisms of rutin pharmacological action. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 48:2, 73-76.
- Köse, L. P., Gülcin, I., Gören, A. C., Namiesnik, J., Martinez-Ayala, A. L. and Gorinstein, S. 2015. LC-MS/MS analysis, antioxidant and anticholinergic properties of galanga (*Alpinia officinarum* Hance) rhizomes. *Industrial crops and products*, 74, 712-721.
- Kroon, P. A. and Williamson, G. 1999. Hydroxycinnamates in plants and food: current and future perspectives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79:3, 355-361.
- Lee, J., Lee, D. G., Park, J. Y., Chae, S. and Lee, S. 2015. Analysis of the trans-cinnamic acid content in *Cinnamomum* spp. and commercial cinnamon powder using HPLC. *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*, 4:04, 102.
- Lee, M.-K., Lee, K.-Y., Park, J.-H., Kim, S.-H., Choi, O.-G., Park, J.-H., Cho, J.-H., Kim, D.-H., Baek, J.-H. and Oh, M.-H. 2010. Simultaneous determination of paeoniflorin, trans-cinnamic acid, schisandrin and glycyrrhizin in So-Cheong-Ryong-Tang by HPLC-DAD and HPLC-ESI-MS. *Natural Product Sciences*, 16:1, 26-31.
- Li, T., Yin, X., Pan, W., Yang, J. and Liang, G. 2010. Chemical constituents of *Humulus scandens*. *Zhong yao cai= Zhongyaocai= Journal of Chinese medicinal materials*, 33, 55-57.
- Li, X., Saleh, A. S., Wang, P., Wang, Q., Yang, S., Zhu, M., Duan, Y. and Xiao, Z. 2017. Characterization of organogel prepared from rice bran oil with cinnamic acid. *Food Biophysics*, 12:3, 356-364.
- Lichtenstein, A. H. 2009. Nutrient supplements and cardiovascular disease: a heartbreaking story. *Journal of lipid research*, 50, S429-S433.
- Lila, M. A. 2004. Anthocyanins and human health: an in vitro investigative approach. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2004:5, 306.
- Lv, X., Wang, C.-Y., Hou, J., Zhang, B.-J., Deng, S., Tian, Y., Huang, S.-S., Zhang, H.-L., Shu, X.-H. and Zhen, Y.-H. 2012. Isolation and identification of metabolites of osthole in rats. *Xenobiotica*, 42:11, 1120-1127.
- Macheix, J. 1990. Importance and role of phenolic compounds in fruit. *Fruit phenolics.*, 239-293.
- Magalhães, L. M., Almeida, M., Barreiros, L., Reis, S. and Segundo, M. A. 2012. Automatic aluminum chloride method for routine estimation of total flavonoids in red wines and teas. *Food Analytical Methods*, 5:3, 530-539.
- Maggi, F., Papa, F., Giuliani, C., Maleci Bini, L., Venditti, A., Bianco, A., Nicoletti, M., Iannarelli, R., Caprioli, G. and Sagratini, G. 2015. Essential oil chemotypification and secretory structures of the neglected vegetable *Smyrniolus olusatrum* L.(Apiaceae) growing in central Italy. *Flavour and Fragrance Journal*, 30:2, 139-159.
- Majowicz, S. E., Musto, J., Scallan, E., Angulo, F. J., Kirk, M., O'Brien, S. J., Jones, T. F., Fazil, A., Hoekstra, R. M. and Studies, I. C. o. E. D. B. o. I. 2010. The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis. *Clinical infectious diseases*, 50:6, 882-889.
- Malik, Q. and Herbert, K. E. 2012. Oxidative and non-oxidative DNA damage and cardiovascular disease. *Free radical research*, 46:4, 554-564.
- Malomo, S. A. and Aluko, R. E. 2019. Kinetics of acetylcholinesterase inhibition by hemp seed protein-derived peptides. *Journal of food biochemistry*, 43:7, e12897.
- Mamani-Matsuda, M., Kauss, T., Al-Kharat, A., Rambert, J., Fawaz, F., Thiolat, D., Moynet, D., Coves, S., Malvy, D. and Mossalayi, M. D. 2006. Therapeutic and preventive properties of quercetin in experimental arthritis correlate with decreased macrophage inflammatory mediators. *Biochemical pharmacology*, 72:10, 1304-1310.
- Mandelker, L. 2011. *Studies on veterinary medicine*. Springer, 1-17.

- Massumi, M. A., Fazeli, M. R., Alavi, S. H. R. and Ajani, Y. 2007. Chemical constituents and antibacterial activity of essential oil of *Prangos ferulacea* (L.) Lindl. fruits. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 3:3, 171-176.
- Mavi, A., Terzi, Z., Özgen, U., Yildirim, A. and Coşkun, M. 2004. Antioxidant properties of some medicinal plants: *Prangos ferulacea* (Apiaceae), *Sedum sempervivoides* (Crassulaceae), *malva neglecta* (malvaceae), *Cruciata taurica* (Rubiaceae), *Rosa pimpinellifolia* (Rosaceae), *Galium verum* subsp. *verum* (Rubiaceae), *urtica dioica* (urticaceae). *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27:5, 702-705.
- Microbiology, E. C. f. A. S. T. o. t. E. S. o. C. and Diseases, I. 2000. Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by agar dilution. *Clinical Microbiology and Infection*, 6:9, 509-515.
- Mighri, H., Akrouit, A., Bennour, N., Eljeni, H., Zammouri, T. and Neffati, M. 2019. LC/MS method development for the determination of the phenolic compounds of Tunisian *Ephedra alata* hydro-methanolic extract and its fractions and evaluation of their antioxidant activities. *South African Journal of Botany*, 124, 102-110.
- Miller, N. J., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V. and Milner, A. 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical science (London, England: 1979)*, 84:4, 407-412.
- Mir, F. A., Bhat, G., Asokan, K., Batoo, K. and Banday, J. A. 2014. Crystal structure, morphological, optical and electrical investigations of Oxypeucedanin micro crystals: an isolated compound from a plant. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 25:1, 431-437.
- Mir, F. A. and Khan, S. H. 2016. UV photoprotection of Osthol. *Radiation Effects and Defects in Solids*, 171:11-12, 943-950.
- Mohamed, R., Pineda, M. and Aguilar, M. 2007. Antioxidant capacity of extracts from wild and crop plants of the Mediterranean region. *J Food Sci*, 72:1, S059-063.
- Mondal, N. K., Sorensen, E., Hiiuala, N., Feller, E., Griffith, B. and Wu, Z. J. 2013. Oxidative stress, DNA damage and repair in heart failure patients after implantation of continuous flow left ventricular assist devices. *International Journal of Medical Sciences*, 10:7, 883.
- Mottaghipisheh, J. 2021. Oxypeucedanin: Chemotaxonomy, isolation, and bioactivities. *Plants*, 10:8, 1577.
- Mottaghipisheh, J., Kiss, T., Tóth, B. and Csupor, D. 2020. The *Prangos* genus: a comprehensive review on traditional use, phytochemistry, and pharmacological activities. *Phytochemistry Reviews*.
- Moyes, R. B., Reynolds, J. and Breakwell, D. P. 2009. Differential staining of bacteria: gram stain. *Current protocols in microbiology*, 15:1, A. 3C. 1-A. 3C. 8.
- Mozaffarian, V. 1996. A dictionary of Iranian plant names. *Tehran: Farhang Moaser*, 396.
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S. and Pfaller, M. A. 2020. *Medical microbiology E-book*. Elsevier Health Sciences,
- Musa Özcan, M., Dursun, N. and Arslan, D. 2007. Some nutritional properties of *Prangos ferulacea* (L.) Lindl and *Rheum ribes* L. stems growing wild in Turkey. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 58:2, 162-167.
- Nanditha, B. and Prabhasankar, P. 2008. Antioxidants in bakery products: a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 49:1, 1-27.
- Neofytou, E., Tzortzaki, E. G., Chatziantoniou, A. and Siafakas, N. M. 2012. DNA damage due to oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *International journal of molecular sciences*, 13:12, 16853-16864.
- Newman, D. J. and Cragg, G. M. 2012. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *Journal of natural products*, 75:3, 311-335.
- Nosrati, M. and Behbahani, M. 2016. In vitro and In silico Antibacterial Activity of *Prangos-ferulacea* (L.) Lindl and *Prangos uloptera* DC, and Their Mutagenicity in the Ames Test. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 6:3, 930-936.

- Numonov, S., Bobakulov, K., Numonova, M., Sharopov, F., Setzer, W. N., Khalilov, Q., Begmatov, N., Habasi, M. and Aisa, H. A. 2018. New coumarin from the roots of *Prangos pabularia*. *Natural Product Research*, 32:19, 2325-2332.
- Nurcholis, W., Bintang, M., Syukur, M. and Khumaida, N. 2019. Phenolic and flavonoid content in ethanol extract and agro-morphological diversity of *Curcuma aeruginosa* accessions growing in West Java, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 20:3, 656-663.
- Oke-Altuntas, F., Aslim, B., Duman, H., Gulpinar, A. R. and Kartal, M. 2015. The Relative Contributions of Chlorogenic Acid and Rutin to Antioxidant Activities of Two Endemic *Prangos* (Umbelliferae) Species (*P. Heynia* and *P. Denticulata*). *Journal of food biochemistry*, 39:4, 409-416.
- Oke Altuntas, F., Aslim, B. and Duman, H. 2016. The Anti-Lipid Peroxidative, Metal Chelating, and Radical Scavenging Properties of the Fruit Extracts From Endemic *Prangos meliocarpoides* Boiss var. *meliocarpoides*. *Gazi University Journal of Science*, 29:3.
- Olinski, R., Gackowski, D., Foksinski, M., Rozalski, R., Roszkowski, K. and Jaruga, P. 2002. Oxidative DNA damage: assessment of the role in carcinogenesis, atherosclerosis, and acquired immunodeficiency syndrome. *Free radical biology and medicine*, 33:2, 192-200.
- Omar, R. M., Badria, F. A. and Galala, A. A. 2023. An emerging flavone glycoside from *Phyllanthus emblica* L.: As promiscuous enzyme inhibitor and potential therapeutic in chronic diseases. *South African Journal of Botany*, 153, 290-296.
- Özçelik, A. B., Gökçe, M., Orhan, I. and 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/3-(6-Sübstitüe-3 (2H)-Piridazinon-2-il) Propiyionohidrazit Türevlerinin (Sübstitüe/Nonsübsitüe Benzal) Hidrazon bileşiklerinin Sentezi ve Asetilkolinesteraz/Butirilkolinesteraz Inhibitörü Aktivitesi. *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*, 35:3, 153.
- Özek, G., Bedir, E., Tabanca, N., Ali, A., Khan, I. A., Duran, A., Başer, K. H. and Özek, T. 2018. Isolation of eudesmane type sesquiterpene ketone from *Prangos heyneae* H. Duman & MF Watson essential oil and mosquitocidal activity of the essential oils. *Open Chemistry*, 16:1, 453-467.
- Pedrielli, P. and Skibsted, L. H. 2002. Antioxidant synergy and regeneration effect of quercetin, (-)-epicatechin, and (+)-catechin on α -tocopherol in homogeneous solutions of peroxidating methyl linoleate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50:24, 7138-7144.
- Peshin, T. and Kar, H. 2017. Isolation and Characterization of β -Sitosterol-3-O- β -D-glucoside from the Extract of the Flowers of *Viola odorata*. *Br. J. Pharm. Res*, 16:4, 1-8.
- Phillips, I., Acar, J., Bergan, T., Degener, J., Baquero, F., Forsgren, A., Schito, G. and Wiedemann, B. 1998. Methods for the determination of susceptibility of bacteria to antimicrobial agents. Terminology, EUCAST Definitive Document. *Clin. Microbiol. Infect*, 4, 291-296.
- Philpott, M., Gould, K. S., Lim, C. and Ferguson, L. R. 2004. In situ and in vitro antioxidant activity of sweetpotato anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52:6, 1511-1513.
- Pimenov, M. G., Akalin, E. and Kljuykov, E. 2005. *Prangos ilanae* (Umbelliferae), a new species from Western Turkey. *Candollea*, 60:2, 379.
- Pinelo, M., Manzocco, L., Nuñez, M. J. and Nicoli, M. C. 2004. Interaction among phenols in food fortification: negative synergism on antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52:5, 1177-1180.
- Pinzi, L. and Rastelli, G. 2019. Molecular docking: shifting paradigms in drug discovery. *International journal of molecular sciences*, 20:18, 4331.

- Pisoschi, A. M. and Pop, A. 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European journal of medicinal chemistry*, 97, 55-74.
- Platzer, M., Kiese, S., Herfellner, T., Schweiggert-Weisz, U. and Eisner, P. 2021. How Does the Phenol Structure Influence the Results of the Folin-Ciocalteu Assay? *Antioxidants*, 10:5, 811.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N. and Gordon, M. H. 2001. *Antioxidants in food: practical applications*. CRC press,
- Prieto, P., Pineda, M. and 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.
- Rahman, J., Jaff, D. and Dastan, D. 2020. Prangos Platychlaena Boiss Essential Oils: A Novel Study On Its Toxicity, Antibacterial Activity And Chemical Compositions Effect On Burn Rats. *The Iraqi Journal of Agricultural Science*, 51:2, 519-529.
- Rajamanickam, R., Kumar, R., Johnsy, G. and Sabapathy, S. 2013. Sorption characteristics and some physical properties of caraway (*Carum Carvi* L.) seeds. *International Food Research Journal*, 20:3, 1223.
- Rajavel, T., Mohankumar, R., Archunan, G., Ruckmani, K. and Devi, K. P. 2017. Beta sitosterol and Daucosterol (phytosterols identified in *Grewia tiliaefolia*) perturbs cell cycle and induces apoptotic cell death in A549 cells. *Scientific reports*, 7:1, 3418.
- Rakshith, D., Santosh, P., Pradeep, T., Gurudatt, D. M., Baker, S., Yashavantha Rao, H., Pasha, A. and Satish, S. 2016. Application of bioassay-guided fractionation coupled with a molecular approach for the dereplication of antimicrobial metabolites. *Chromatographia*, 79:23, 1625-1642.
- Ramprasath, V. R. and Awad, A. B. 2015. Role of phytosterols in cancer prevention and treatment. *Journal of AOAC International*, 98:3, 735-738.
- Rather, Z., Banday, J. and Chisti, H. 2021. Synthesis, Characterization, and Cytotoxic Evaluation of New Triazole Derivatives of Osthol. *Russian Journal of Organic Chemistry*, 57:6, 986-993.
- Rather, Z. u. k., Banday, J. A. and Chisti, H. T. N. 2020. Spectroscopic, X-ray Crystal, DFT and In Vitro Analysis of 3-(2, 4-Dimethoxy-3-(3-methylbut-2-en-1-yl) phenyl) Acrylic Acid. *ChemistrySelect*, 5:26, 7849-7854.
- Razavi, S. M., Nazemiyeh, H., Delazar, A., Hajiboland, R., Rahman, M. M., Gibbons, S., Nahar, L. and Sarker, S. D. 2008. Coumarins from the roots of *Prangos uloptera*. *Phytochemistry Letters*, 1:3, 159-162.
- Razavi, S. M., Zahri, S., Motamed, Z. and Ghasemi, G. 2010a. Bioscreening of oxypeucedanin, a known furanocoumarin.
- Razavi, S. M., Zarrini, G., Zahri, S. and Mohammadi, S. 2010b. Biological activity of *Prangos uloptera* DC. roots, a medicinal plant from Iran. *Natural Product Research*, 24:9, 797-803.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26:9-10, 1231-1237.
- Riccioni, G. 2009. Carotenoids and cardiovascular disease. *Current atherosclerosis reports*, 11:6, 434-439.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J. and Paganga, G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free radical biology and medicine*, 20:7, 933-956.
- Roberson, M. R. and Harrell, L. E. 1997. Cholinergic activity and amyloid precursor protein metabolism. *Brain Research Reviews*, 25:1, 50-69.
- Roginsky, V. and Lissi, E. A. 2005. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food chemistry*, 92:2, 235-254.
- Russo, A., Izzo, A. A., Borrelli, F., Renis, M. and Vanella, A. 2003. Free radical scavenging capacity and protective effect of *Bacopa monniera* L. on DNA damage.

- Sadraei, H., Shokoohinia, Y., Sajjadi, S. and Mozafari, M. 2013. Antispasmodic effects of Prangos ferulacea acetone extract and its main component osthole on ileum contraction. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 8:2, 137.
- Saga, T. and Yamaguchi, K. 2009. History of antimicrobial agents and resistant bacteria. *Jmaj*, 52:2, 103-108.
- Saikia, S. and Bordoloi, M. 2019. Molecular docking: challenges, advances and its use in drug discovery perspective. *Current drug targets*, 20:5, 501-521.
- Sajadi, S., Zeynivand, H. and Shokouhinia, Y. 2009. Isolation and identification of osthol from the fruits and essential oil composition of the leaves of Prangos asperula Boiss.
- Salmaso, V., Sturlese, M., Cuzzolin, A. and Moro, S. 2018. Combining self-and cross-docking as benchmark tools: the performance of DockBench in the D3R Grand Challenge 2. *Journal of computer-aided molecular design*, 32:1, 251-264.
- Salvo, F., Bezin, J., Bosco-Levy, P., Letinier, L., Blin, P., Pariente, A. and Moore, N. 2017. Pharmacological treatments of cardiovascular diseases: Evidence from real-life studies. *Pharmacological Research*, 118, 43-52.
- Sari, S., Barut, B., Özel, A. and Şöhretoğlu, D. 2019. Tyrosinase inhibitory effects of Vinca major and its secondary metabolites: Enzyme kinetics and in silico inhibition model of the metabolites validated by pharmacophore modelling. *Bioorganic chemistry*, 92, 103259.
- Sayed-Ahmad, B., Talou, T., Saad, Z., Hijazi, A. and Merah, O. 2017. The Apiaceae: Ethnomedicinal family as source for industrial uses. *Industrial crops and products*, 109, 661-671.
- Schaich, K., Tian, X. and Xie, J. 2015. Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. *Journal of functional foods*, 14, 111-125.
- Scholz 2007. Interactions affecting the bioavailability of dietary polyphenols in vivo. *International journal for vitamin and nutrition research*, 77:3, 224-235.
- Seidi Damyeh, M., Niakousari, M. and Saharkhiz, M. J. 2016. Ultrasound pretreatment impact on Prangos ferulacea Lindl. and Satureja macrosiphonia Bornm. essential oil extraction and comparing their physicochemical and biological properties. *Industrial crops and products*, 87, 105-115.
- Seleem, D., Pardi, V. and Murata, R. M. 2017. Review of flavonoids: A diverse group of natural compounds with anti-Candida albicans activity in vitro. *Archives of oral biology*, 76, 76-83.
- Sevgi, K., Tepe, B. and Sarikurkcü, C. 2015. Antioxidant and DNA damage protection potentials of selected phenolic acids. *Food and chemical toxicology*, 77, 12-21.
- Sevin, G., Alan, E., Demir, S., Albayrak, G., Demiroz, T., Yetik-Anacak, G. and Baykan, S. 2022. Comparative evaluation of relaxant effects of three Prangos species on mouse corpus cavernosum: Chemical characterization and the relaxant mechanisms of action of P. pabularia and (+)-oxypeucedanin. *Journal of ethnopharmacology*, 284, 114823.
- Shahidi, F. 1997. *Natural antioxidants: chemistry, health effects, and applications*. The American Oil Chemists Society,
- Shahidi, F. and Ambigaipalan, P. 2015. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *Journal of functional foods*, 18, 820-897.
- Shahidi, F., Janitha, P. and Wanasundara, P. 1992. Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 32:1, 67-103.
- Shahidi, F. and Zhong, Y. 2015. Measurement of antioxidant activity. *Journal of functional foods*, 18, 757-781.
- Sharma, S. B. and Gupta, R. 2015. Drug development from natural resource: a systematic approach. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 15:1, 52-57.

- Sheldrick, G. M. 2015. Crystal structure refinement with SHELXL. *Acta Crystallographica Section C: Structural Chemistry*, 71:1, 3-8.
- Shi, S., Fan, D., Xiang, H. and Li, H. 2017. Effective synthesis of magnetic porous molecularly imprinted polymers for efficient and selective extraction of cinnamic acid from apple juices. *Food chemistry*, 237, 198-204.
- Shikishima, Y., Takaishi, Y., Honda, G., Ito, M., Takeda, Y., Kodzhimatov, O. K. and Ashurmetov, O. 2001. Terpenoids and γ -pyrone derivatives from *Prangos tschimganica*. *Phytochemistry*, 57:1, 135-141.
- Shokoohinia, Y., Hosseinzadeh, L., Alipour, M., Mostafaie, A. and Mohammadi-Motlagh, H.-R. 2014a. Comparative evaluation of cytotoxic and apoptogenic effects of several coumarins on human cancer cell lines: osthole induces apoptosis in p53-deficient H1299 cells. *Advances in pharmacological sciences*, 2014.
- Shokoohinia, Y., Jafari, F., Mohammadi, Z., Bazvandi, L., Hosseinzadeh, L., Chow, N., Bhattacharyya, P., Farzaei, M. H., Farooqi, A. A. and Nabavi, S. M. 2018. Potential anticancer properties of osthole: A comprehensive mechanistic review. *Nutrients*, 10:1, 36.
- Shokoohinia, Y., Sajjadi, S.-E., Gholamzadeh, S., Fattahi, A. and Behbahani, M. 2014b. Antiviral and cytotoxic evaluation of coumarins from *Prangos ferulacea*. *Pharmaceutical biology*, 52:12, 1543-1549.
- Silhavy, T. J., Kahne, D. and Walker, S. 2010. The bacterial cell envelope. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2:5, a000414.
- Sindhi, V., Gupta, V., Sharma, K., Bhatnagar, S., Kumari, R. and Dhaka, N. 2013. Potential applications of antioxidants—A review. *Journal of pharmacy research*, 7:9, 828-835.
- Singleton, V. L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventós, R. M. 1999. *Methods in enzymology*. Elsevier, 152-178.
- Skalicka-Woźniak, K., Orhan, I. E., Cordell, G. A., Nabavi, S. M. and Budzyńska, B. 2016. Implication of coumarins towards central nervous system disorders. *Pharmacological Research*, 103, 188-203.
- Sohn, J. J., Schetter, A. J., Yfantis, H. G., Ridnour, L. A., Horikawa, I., Khan, M. A., Robles, A. I., Hussain, S. P., Goto, A. and Bowman, E. D. 2012. Macrophages, nitric oxide and microRNAs are associated with DNA damage response pathway and senescence in inflammatory bowel disease.
- Stavri, M. and Gibbons, S. 2005. The antimycobacterial constituents of dill (*Anethum graveolens*). *Phytotherapy research: an international Journal devoted to pharmacological and toxicological evaluation of natural product derivatives*, 19:11, 938-941.
- Şermet, M. Ö. 2015. Antioxidant, antimicrobial activity and phytochemical analysis of *Pistacia vera* L. skin. Middle East Technical University
- Tada, Y., Shikishima, Y., Takaishi, Y., Shibata, H., Higuti, T., Honda, G., Ito, M., Takeda, Y., Kodzhimatov, O. K. and Ashurmetov, O. 2002. Coumarins and γ -pyrone derivatives from *Prangos pabularia*: antibacterial activity and inhibition of cytokine release. *Phytochemistry*, 59:6, 649-654.
- Taddio, A., Shah, V., Hancock, R., Smith, R. W., Stephens, D., Atenafu, E., Beyene, J., Koren, G., Stevens, B. and Katz, J. 2008. Effectiveness of sucrose analgesia in newborns undergoing painful medical procedures. *Cmaj*, 179:1, 37-43.
- Tan, R., Wolfender, J.-L., Ma, W., Zhang, L. and Hostettmann, K. 1996. Secoiridoids and antifungal aromatic acids from *Gentiana algida*. *Phytochemistry*, 41:1, 111-116.
- Tatsch, E., Bochi, G. V., Piva, S. J., De Carvalho, J. A., Kober, H., Torbitz, V. D., Duarte, T., Signor, C., Coelho, A. C. and Duarte, M. M. 2012. Association between DNA strand breakage and oxidative, inflammatory and endothelial biomarkers in type 2 diabetes. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 732:1-2, 16-20.
- Tepe, B., Degerli, S., Arslan, S., Malatyali, E. and Sarikurkcu, C. 2011. Determination of chemical profile, antioxidant, DNA damage protection and antiamebic activities of *Teucrium polium* and *Stachys iberica*. *Fitoterapia*, 82:2, 237-246.

- Topal, F., Gulcin, I., Dastan, A. and Guney, M. 2017. Novel eugenol derivatives: Potent acetylcholinesterase and carbonic anhydrase inhibitors. *International journal of biological macromolecules*, 94, 845-851.
- Vargas-Tah, A. and Gosset, G. 2015. Production of cinnamic and p-hydroxycinnamic acids in engineered microbes. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 3, 116.
- Vogl, S., Zehl, M., Picker, P., Urban, E., Wawrosch, C., Reznicek, G., Saukel, J. and Kopp, B. 2011. Identification and quantification of coumarins in *Peucedanum ostruthium* (L.) Koch by HPLC-DAD and HPLC-DAD-MS. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59:9, 4371-4377.
- Wang, J., Zhao, J., Yan, Y., Liu, D., Wang, C. and 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, M., Tadmor, Y., Wu, Q.-L., Chin, C.-K., Garrison, S. A. and Simon, J. E. 2003. Quantification of protodioscin and rutin in asparagus shoots by LC/MS and HPLC methods. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51:21, 6132-6136.
- Wang, S., Wang, D. and Liu, Z. 2015. Synergistic, additive and antagonistic effects of *Potentilla fruticosa* combined with EGb761 on antioxidant capacities and the possible mechanism. *Industrial Crops and Products*, 67, 227-238.
- Warne, M. S. J. and 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.
- Weatherburn, M. 1967. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Analytical chemistry*, 39:8, 971-974.
- Wei, Y. and Ito, Y. 2006. Preparative isolation of imperatorin, oxypeucedanin and isoimperatorin from traditional Chinese herb “bai zhi” *Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm) Benth. et Hook using multidimensional high-speed counter-current chromatography. *Journal of chromatography A*, 1115:1-2, 112-117.
- Weller, M. G. 2012. A unifying review of bioassay-guided fractionation, effect-directed analysis and related techniques. *Sensors*, 12:7, 9181-9209.
- Williams, R. J., Spencer, J. P. and Rice-Evans, C. 2004. Flavonoids: antioxidants or signalling molecules? *Free radical biology and medicine*, 36:7, 838-849.
- Wu, Z., Shen, L., Han, Q., Lu, J., Tang, H., Xu, X., Xu, H., Huang, F., Xie, J. and He, Z. 2017. Mechanism and nature of inhibition of trypsin by ligupurpurosides A, a Ku-Ding tea extract, studied by spectroscopic and docking methods. *Food Biophysics*, 12, 78-87.
- Xiao, J., Wang, J., Yuan, L., Hao, L. and Wang, D. 2019. Study on the mechanism and intervention strategy of sunitinib induced nephrotoxicity. *European Journal of Pharmacology*, 864, 172709.
- Xu, K., Jiang, S., Zhou, Y., Zhang, Y., Xia, B., Xu, X., Zhou, Y., Li, Y., Wang, M. and Ding, L. 2011. Discrimination of the seeds of *Notopterygium incisum* and *Notopterygium franchetii* by validated HPLC-DAD-ESI-MS method and principal component analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 56:5, 1089-1093.
- Yazici-tütüniş, S., Erucar, F. M., Öztaş, E., Akalin, E., Özhan, G., Miski, M. and Tan, N. 2021. Chemical Composition and Cytotoxic Effect of *Prangos turcica* A. Duran, M. Sagioglu & H. Duman. *Records of Natural Products*, 15:6, 512.
- Yousefi, K., Hamedeyazdan, S., Hodaei, D., Lotfipour, F., Baradaran, B., Orangi, M. and Fathiazad, F. 2017. An in vitro ethnopharmacological study on *Prangos ferulacea*: a wound healing agent. *BioImpacts: BI*, 7:2, 75.
- Yu, Y., Guerrero, C. R., Liu, S., Amato, N. J., Sharma, Y., Gupta, S. and Wang, Y. 2016. Comprehensive assessment of oxidatively induced modifications of DNA in a rat model of human Wilson's disease. *Molecular & Cellular Proteomics*, 15:3, 810-817.
- Zeng, L., Zhang, G., Lin, S. and 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., Sinan, K. I., Ak, G., Mahomoodally, M. F., Paksoy, M. Y., Picot-Allain, C., Glamocilja, J., Sokovic, M., Jekő, J., Cziáky, Z., Rodrigues, M. J., Pereira, C. G. and Custodio, L. 2020. Chemical profile, antioxidant, antimicrobial, enzyme inhibitory, and cytotoxicity of seven Apiaceae species from Turkey: A comparative study. *Industrial crops and products*, 153.
- Zhang, L., Mulrooney, S. B., Leung, A. F. K., Zeng, Y., Ko, B. B. C., Hausinger, R. P. and Sun, H. 2006. Inhibition of urease by bismuth(III): implications for the mechanism of action of bismuth drugs. *Biometals : an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine*, 19:5, 503-511.
- Zheng, H., Chen, Y., Guo, Q., Wei, H., Yue, J., Zhou, H. and Zhao, M. 2021. Inhibitory Effect of Osthole from *Cnidium monnieri* (L.) Cusson on *Fusarium oxysporum*, a Common Fungal Pathogen of Potato. *Molecules*, 26:13, 3818.
- Zheng, M.-C., Tang, W.-T., Yu, L.-L., Qian, X.-J., Ren, J., Li, J.-J., Rong, W.-W., Li, J.-X. and Zhu, Q. 2022. Preclinical Pharmacokinetics and Bioavailability of Oxypeucedanin in Rats after Single Intravenous and Oral Administration. *Molecules*, 27:11, 3570.



ÖZGEÇMİŞ

Faruk Nafiz Çamlıbel Anadolu Lisesi'ni 2014 yılında bitirdikten sonra Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomühendislik Bölümünden 04/07/2018 tarihinde mezun oldu. 2019-2020 akademik yılında Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Bölümü Biyokimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans programına başladı. Araştırma görevlisi sınavını kazandıktan sonra 2020-2021 akademik yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Kimya Bölümü Biyokimya Anabilim Dalı'na yatay geçiş yaparak öğrenimine burada devam etti. Ayrıca 2018-2020 yılları arasında Eskişehir Anadolu Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi Adalet programında ikinci üniversite okudu. İyi derecede İngilizce bilmektedir. 2003 yılından beri lisanslı yüzücü olmakla beraber 2017 yılından beridir de açık su yüzme branşında spor kariyerini sürdürmekte ve ulusal ve uluslararası alanda birçok müsabakaya katılmaya devam etmektedir. Bunun yanında 2018 yılından beri Türkiye Yüzme Federasyonu bünyesinde Ankara bölgesi il hakemi olarak yüzme hakemliği yapmakta ve II.Kademe Yüzme Antrenörü olarak çalışmaktadır. 10/03/2023

İletişim Bilgileri

ORCID ID : 0000-0002-3147-7042

Yayınlar:

1. Gökçimen, S. 2022. Analysis and bioactivities of Essential Oils obtained from different parts of *Prangos aricakensis*. The 1st International Karatekin Science and Technology Conference, Oral Presentation, 1-3 September 2022.

Kazanılan Ödüller, Teşvikler ve Burslar

1. 221Z330 kodlu TÜBİTAK 1002 projesinde bursiyer olarak görev almıştır.