

**SEÇİLMİŞ FENOL TÜREV BİLEŞİKLERİNİN PANKREATİK
KOLESTEROL ESTERAZ ENZİM AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
İN VİTRO VE *İN SİLİCO* OLARAK BELİRLENMESİ**

ZEYNEP YARDIMCI

**Yüksek Lisans Tezi
Kimya Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Veysel ÇOMAKLI
AĞRI-2022
Her hakkı saklıdır**

T.C.
AĞRI İBRAHİM ÇEÇEN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

ZEYNEP YARDIMCI

SEÇİLMİŞ FENOL TÜREV BİLEŞİKLERİNİN
PANKREATİK KOLESTEROL ESTERAZ ENZİM AKTİVİTESİ
ÜZERİNE ETKİLERİNİN *İN VİTRO* VE *İN SİLİCO* OLARAK
BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ YÖNETİCİSİ
Prof. Dr. Veysel ÇOMAKLI

AĞRI-2022

...../...../2022

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum “Seçilmiş Fenol Türev Bileşiklerinin Pankreatik Kolesterol Esteraz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkilerinin *İn Vitro* ve *İn Silico* Olarak Belirlenmesi” adlı tezin tamamen kendi çalışmam olduğunu ve her alıntıya kaynak gösterdiğimi taahhüt eder, tezimin kâğıt ve elektronik kopyalarının Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü arşivlerinde aşağıda belirttiğim koşullarda saklanmasına izin verdiğimi onaylarım.

Lisansüstü Eğitim-Öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim.

☐

Tezimin tamamı her yerden erişime açılabilir.

☐

Tezim sadece Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi yerleşkelerinden erişime açılabilir.

☐

Tezimin yıl süreyle erişime açılmasını istemiyorum. Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin tamamı her yerden erişime açılabilir.

[Tarih ve İmza]

Zeynep YARDIMCI

TEZ KABUL VE ONAY TUTANAĞI
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

SEÇİLMİŞ FENOL TÜREV BİLEŞİKLERİNİN PANKREATİK
KOLESTEROL ESTERAZ ENZİM AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN *İN*
***VİTRO* VE *İN SİLİCO* OLARAK BELİRLENMESİ**

Prof. Dr. Veysel ÇOMAKLI danışmanlığında, Zeynep YARDIMCI tarafından hazırlanan bu çalışma/...../2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından. Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan :	İmza:
Jüri Üyesi :	İmza:
Jüri Üyesi :	İmza:
Jüri Üyesi :	İmza:
Jüri Üyesi :	İmza:

Yukarıdaki imzalar adı geçen öğretim üyelerine ait olup;

Enstitü Yönetim Kurulunun .../.../2021 tarih ve / nolu kararı ile onaylanmıştır.

.... /...../2021

Prof. Dr. İbrahim HAN

Enstitü Müdürü

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SEÇİLMİŞ FENOL TÜREV BİLEŞİKLERİNİN PANKREATİK KOLESTEROL ESTERAZ ENZİM AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN *İN VİTRO* VE *İN SİLİCO* OLARAK BELİRLENMESİ

Zeynep YARDIMCI

Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Veysel ÇOMAKLI

Jüri: Prof. Dr. Veysel ÇOMAKLI

Dr. Öğr. Üyesi Aykut ÖZTEKİN

Dr. Öğr. Üyesi Uğur GÜLLER

Bu tez kapsamında seçilmiş pankreatik kolesterol esteraz enzim aktivitesi üzerinde bazı fenolik bileşiklerinin inhibisyon etkisi *in vitro* ve *in silico* olarak test edilmiştir.

Enzimin inhibisyonu diyetle alınan kolesterolü durduracağı için farmakolojik uygulamalar için önem taşımaktadır. *İn vitro* sonuçlardan elde edilen IC₅₀ değerleri 12-64 µM aralığındadır.

Enzim-ligand etkileşimlerini moleküler seviyede belirlemek için Molegro Virtual Docker MVD 2019.7.0 programı kullanılarak doking çalışması yapıldı. Hidrojen bağlarının ligand-protein bağlanmasında etkili olduğu gözlemlendi. *İn vitro* ve *in silico* çalışmalar değerlendirildiğinde oleropinin enzim üzerinde en etkili molekül olduğu belirlenmiştir.

2022, 72 sayfa

Anahtar sözcükler: Fenolik bileşik, İnhibisyon, *İn silico*, *İn vitro*, Pankreatik Kolesterol Esteraz,

ABSTRACT

MASTER OF SCIENCE THESIS

DETERMINATION OF THE EFFECTS OF SELECTED PHENOL DERIVATIVE COMPOUNDS ON PANCREATIC CHOLESTEROL ESTERASE ENZYME ACTIVITY AS IN VITRO AND IN SILICO

Zeynep YARDIMCI

**Ağrı İbrahim Çeçen University
Institute of Graduate Studies
Department of Chemistry**

Supervisor: Prof. Dr. Veysel ÇOMAKLI

Jury: Prof. Dr. Veysel ÇOMAKLI

Assist. Prof. Dr. Aykut ÖZTEKİN

Assist. Prof. Dr. Uğur GÜLLER

In this thesis, the inhibition effect of some phenolic compounds on selected pancreatic cholesterol esterase enzyme activity was tested *in silico* and *in vitro*.

Inhibition of the enzyme is important for pharmacological applications as it will stop dietary cholesterol intake. IC₅₀ values obtained from *in vitro* results are in the range of 12-64 µM.

In order to determine enzyme-ligand interactions at the molecular level, a docking study was performed using the Molegro Virtual Docker MVD 2019.7.0 program. It has been observed that hydrogen bonds are effective in ligand-protein binding. When *in vitro* and *in silico* studies are evaluated, oleuropein is the most effective molecule on the enzyme.

2022, 72 pages

Keywords: Phenolic Compound, Inhibition, *In silico*, *In vitro*, Pancreatic Cholesterol Esterase

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca, benden bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen, çalışmalarımın tamamlanabilmesi için her türlü şartı sağlayan ve bana her zaman her türlü desteği sunan çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Veysel ÇOMAKLI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her kademesini güzelleştiren, bugünlere gelmem için elinden geleni esirgemeyen, eğitim ve sosyal hayatımı tüm incelik ve bilgisiyle donatan kıymetli annem Meryem ve babam Mehmet' e, her daim izinden gittiğim en yakın arkadaşım olan ablam Ümmügülsüm' e, kıymetli kardeşim Ahmet' e ve ailemizin neşesi yeğenlerim Mustafa Talha ve Ayşe Hafsa' ya ayrıca desteğini ve varlığını hiç esirgemeyip tüm sürecime yakından tanık olup motivasyonumu her daim arttıran kıymetli eşim Mehmet Melik ve oğlum Yiğit Ali' ye teşekkürlerimi sunarım.

.../.../2022

Zeynep YARDIMCI

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1.GİRİŞ	1
1.1.Enzimler	1
1.1.1.Enzimlerin sınıflandırılmaları:	2
1.2.Kolesterol	3
1.2.1. Kolesterolün keşfi	3
1.2.2. Kolesterolün özellikleri	3
1.2.3.Kolesterol metabolizması.....	5
1.2.4.Kolesterol biyosentezi	7
1.2.5. Kolesterol yıkılması	8
1.2.6. Yüksek kolesterolün tedavisi	9
1.3.Pankreatik Kolesterol Esteraz Enzimi (CE; E.C. 3.1.1.13).....	13
1.4. Fenolik Bileşikler	14
1.4.1. Kateşin gallat.....	16
1.4.2. Glabridin	17
1.4.3. Kemferol	18
1.4.4. Mirisetin	19
1.4.5. Morin hidrat	20
1.4.6. Oleropin.....	21
1.4.7. Vitexin 2-O-rhamnosit	22

2.KAYNAK ÖZETLERİ.....	24
3.MATERYAL VE YÖNTEM	30
3.1.Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar	30
3.1.1.Kullanılan kimyasallar	30
3.1.2.Kullanılan cihazlar	30
3.2.Deneysel Yöntem	31
3.2.1. Kolesterol Esteraz enzim aktivitesi ölçümünde kullanılan çözeltiler	31
3.2.2. Kolesterol Esteraz enzim aktivitesi ölçümü	32
3.2.3. <i>İn vitro</i> inhibisyon çalışmaları	32
3.2.4. Docking Çalışmaları.....	33
4.ARAŞTIRMA BULGULARI	35
5.TARTIŞMA VE SONUÇ	43
KAYNAKLAR.....	47
ÖZGEÇMİŞ.....	59

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<	Küçüktür
≥	Büyük veya Eşittir
%	Yüzde
°C	Santigrat Derece
±	Artı-Eksi
α	Alfa
β	Beta
Δ	Delta
CE	Kolesterol esteraz
EC	Enzim kodu
g	Gram
kg	Kilogram
m ³	Metreküp
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
μL	Mikrolitre
μM	Mikromolar
nm	Nanometre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Kolesterolün Yapısı	3
Şekil 1.2. Siklopentano Perhidro Fenantrenin Kimyasal Yapısı	5
Şekil 1.3. Lipoproteinlerin Taşınması (Koolman and Roehm 2005).....	6
Şekil 1.4. İnsan Vücudunda Lipoprotein Aracılı Kolesterol Metabolizması (Yang <i>et al.</i> 2018)	7
Şekil 1.5. Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması (Üstün ve Demirci 2013)	15
Şekil 1.6. Kateşin Gallat Yapısı.....	17
Şekil 1.7. Glabridin Yapısı	18
Şekil 1.8. Kemferol' ün Yapısı	19
Şekil 1.9. Mirisetin' in Yapısı.....	20
Şekil 1.10. Morin Hidrat' ın Yapısı	21
Şekil 1.11. Oleropin' in Yapısı	22
Şekil 1.12. Vitexin 2-o-rhamnosit' in Yapısı.....	22
Şekil 4.1. Mirisetin' in Pankreatik Kolesterol Esteraz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi	36
Şekil 4.2. Kemferol' ün Pankreatik Kolesterol Esteraz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi	36
Şekil 4.3. Oleropin' in Pankreatik Kolesterol Esteraz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi	36
Şekil 4.4. (-)-Kateşin gallat' ın Pankreatik Kolesterol Esteraz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	37
Şekil 4.5. Glabridin' in Pankreatik Kolesterol Esteraz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi	37
Şekil 4.6. Vitexin 2-O- Rhamnosit' in Pankreatik Kolesterol Esteraz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	37
Şekil 4.7. Morin Hidrat' ın Pankreatik Kolesterol Esteraz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi	38

Şekil 4.8. Fenolik Bileşiklerin Pankreatik Kolesterol Esteraz Enzimiyle Etkileşiminin Üç Boyutlu Gösterimi	39
Şekil 4.9. Kateşin Gallat' ın Enzimle Etkileşiminin İki Boyutlu Gösterimi.....	39
Şekil 4.10. Glabridin' in Enzimle Etkileşiminin İki Boyutlu Gösterimi	40
Şekil 4.11. Kemferol' ün Enzimle Etkileşiminin İki Boyutlu Gösterimi	40
Şekil 4.12. Morin Hidrat' ın Enzimle Etkileşiminin İki Boyutlu Gösterimi	41
Şekil 4.13. Mirisetin' in Enzimle Etkileşiminin İki Boyutlu Gösterimi	41
Şekil 4.14. Oleropin' in Enzimle Etkileşiminin İki Boyutlu Gösterimi	42
Şekil 4.15. Vitexin 2"-O-Rhamnosit' in Enzimle Etkileşiminin İki Boyutlu Gösterimi	42

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Yetişkinlerde Lipit Parametrelerin Referans Değerleri (NCEP, 2001) .	11
Çizelge 3.1. Çalışmalarda Kullanılan Alet, Cihazlar ve Markaları	31
Çizelge 3.2. Pankreatik Kolesterol Esteraz Enzim Aktivite Tayininde Küvet İçeriği	32
Çizelge 4.1. Pankreatik Kolesterol Esteraz Enzim Aktivitesi Üzerine Fenolik Bileşiklerin Etkisi.....	35
Çizelge 4.2. Molegro Virtual Docker Programdan Elde Edilen Flavone-Enzim Etkileşimi Docking Genel Sonuçları.....	38

1.GİRİŞ

1.1.Enzimler

“Enzim” biyolojik sistemlerde gerçekleşen biyokimyasal reaksiyonları katalize eden ve yüksek bir verim ile reaksiyonu gerçekleştiren proteinden yapıli moleküllerdir. Katalizleme gücü ve spesifikklik enzimin katalizör olarak en önemli özelliklerindendir (Kılıç ve Karataş 2017).

Enzim ilk defa W. Kühne tarafından kullanılan bir terim olup "Maya" anlamına gelmektedir. İnsanlar enzimatik reaksiyonlardan tarihin en eski zamanlarından beri yararlanmış olup şarap, ekmek, yoğurt, kımız ve boza yapımında kullanmışlardır. Nasıl olduğunu bilmedikleri halde enzimin katalitik etkisinden faydalanarak bazı besin maddelerini üretmişlerdir (Bingöl 1977).

Protein yapısında olan enzimler biyokimyasal olarak aktif olmak için bazen protein yapısında olmayan metal iyonu ya da organik bileşik taneciklerine ihtiyaç duyarlar. Bu bileşenler kofaktör olarak ifade edilirken bileşen bir organik molekül ise bu koenzim olarak ifade edilir. Bu tanecikler enzimin protein kısmına kimyasal bir bağ ile çok sıkı bağlanmışsa, enzimin prostetik grubu olarak adlandırılır. Bir enzimin ya da proteinin kofaktörsüz haline apoprotein ve apoenzim, kofaktörlü hallerine ise holoprotein ve holoenzim denir (Lehninger 1993; Keha ve Küfrevioğlu 2012).

Enzimler biyokimyasal reaksiyonları çok yüksek katalizleme gücü ile gerçekleştirirler. Enzimli reaksiyonlarda enzimin etki ederek farklı bir maddeye dönüştürdüğü moleküllere subsrat adı verilir. Aynı canlı organizmada aynı reaksiyonların gerçekleşmesini sağlayan fakat farklı fiziksel ve kimyasal özelliğe sahip enzimlere izoenzim denir. İzoenzimlerin kofaktörlerine, substratlarına ve inhibitörlere karşı afiniteleri farklıdır. İzoenzimlerin aminoasit sayısı ve diziliminin farklı olması, izoelektrik noktalarının, elektroforetik hareketliliklerinin ve üç boyutlu yapılarının da farklı olmasına neden olmaktadır (Devlin 2002).

Enzimlerin katalitik gücünü artırıcı yönde etki gösteren tanecikler aktivatör olarak adlandırılır. Bu tanecikler genelde iyonlar ve küçük moleküllerdir.

Enzimlerdeki *in vivo* ve *in vitro* katalitik gücü azaltıp ya da tamamen bitiren taneciklere inhibitör ismi verilmektedir (Gözükara 1989; Keha ve Küfrevioğlu 2012).

Enzim aktivitelerinin inhibitör bileşenlerle azaltılması olayına inhibisyon denir. Dönüşümlü ve dönüşümsüz olarak ikiye ayrılan inhibisyon türü vardır. Enzim ile inhibitör arasındaki etkileşimin denge halinde olduğu dönüşümlü inhibisyon yarışmalı, yarı yarışmalı ve yarışmasız olarak üçe ayrılır. Yarışmalı inhibisyonda, substrat ile inhibitörün üç boyutlu yapıları benzer olduğundan enzimin aktif bölgesine bağlanma noktasında yarış halindedir. İnhibisyon etkisini azaltmak için substrat konsantrasyonu artırılır. Bu durum, enzimin V_{max} değerini değiştirmezken K_M değerinin artmasına neden olur. Substrat ile inhibitörün enzimin farklı bölgelerine bağlandığı yarışmasız inhibisyonda ise substratın konsantrasyonu artırılarak inhibisyon etkisi değişmez. Bu durumda, V_{max} azalırken K_M sabit kalır. Yarı yarışmalı inhibisyonda ise inhibitör sadece ES (enzim-substrat) kompleksine bağlanarak hem V_{max} ' ın hem de K_M ' nin azalmasına neden olur. Dönüşümsüz inhibisyon türünde ise inhibitör ile enzim arasındaki bağlanma kovalent veya zor ayrılabilen bir kompleks şeklindedir (Lehninger 1993; Keha ve Küfrevioğlu 2012).

1.1.1.Enzimlerin sınıflandırılmaları:

Uluslararası Biyokimya Birliği tarafından enzimler başlıca altı sınıfa ayrılmaktadır.

Bu sınıflar:

1. Oksidoredüktazlar: Yükseltgenme ve indirgenme reaksiyonlarını katalizleyen enzim sınıfıdır.
2. Transferazlar: Fonksiyonel grupların yerinin değiştiği reaksiyonları katalizleyen enzim sınıfıdır.
3. Hidrolazlar: Hidrolitik reaksiyonların katalizlenmesini sağlayan enzim sınıfıdır.
4. Liyazlar: Çift bağlarda değişiklik yapan enzim sınıfıdır.
5. İzomerazlar: İzomerleşme reaksiyonlarını katalizleyen enzim sınıfıdır.
6. Ligazlar (Sentetazlar): ATP parçalanması yoluyla moleküller arasında yeni bağlar oluşturan enzim sınıfıdır.

Bu tez kapsamında çalışılacak olan pankreatik kolesterol esteraz (CE) enzimi bir hidrolaz sınıfı enzimidir.

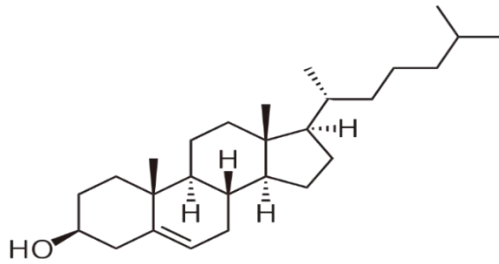
1.2.Kolesterol

1.2.1. Kolesterolün keşfi

Kolesterol ilk kez Fransız kimyacı M.E. Chevreul tarafından 1815 yılında insan safra taşındaki bir bileşen olarak bulunmuş ve kolesterin olarak isimlendirilmiştir. Kolesterolün moleküler formülü F. Reinitzer tarafından 1888 yılında $C_{27}H_{46}O$ olarak belirlenmiştir. Heinrich Wieland 1927 yılında kolesterol ve kolik asidin yapısı üzerine yaptığı çalışmayla kimya dalında Nobel ödülü kazanmıştır. Kolesterolün biyosentezini ise 1952 yılında Konrad Bloch açıklamış ve 1964’ te bu çalışmasından dolayı Nobel ödülü almıştır (Ateşşahin 2016).

1.2.2. Kolesterolün özellikleri

Kolesterol, hayvan hücreleri tarafından sentezlenen ve hayvansal kaynaklı besinlerde bulunan bir steroldür (Zampelas 2019). Yunanca safra anlamına gelen ‘chole’, katı anlamına gelen ‘asteros’ ve alkol anlamına gelen ‘ol’ kelimelerinden oluşmaktadır (Sonal Sekhar *et al.* 2020). Kolesterolün yapısı Şekil 1.1’ de gösterilmiştir.

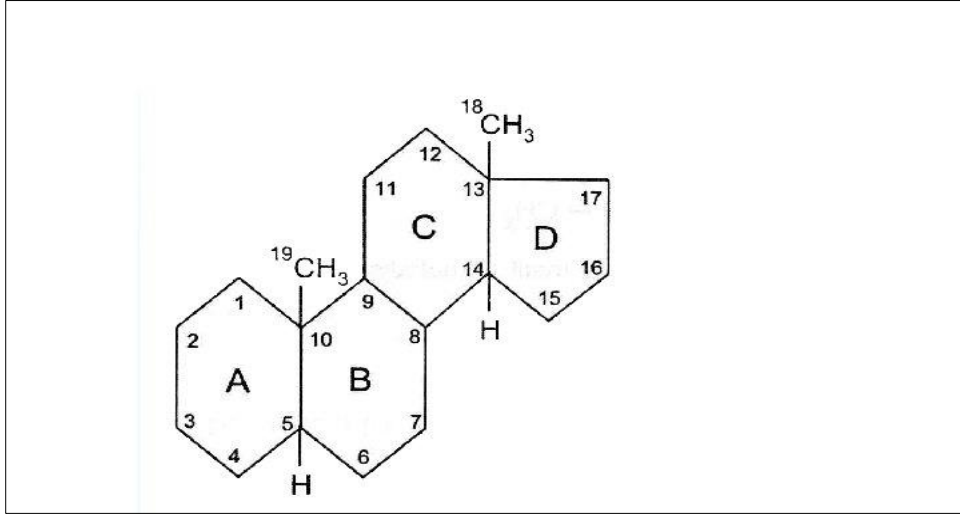


Şekil 1.1. Kolesterolün Yapısı

Kolesterol tüm memeli hücrelerinde sentezlenmekte ve çoğunlukla hücre zarında lokalize olmaktadır (Luo *et al.* 2020). Plazmanın yapısal bileşenlerinden biridir ve işlevsel olarak birçok önemli görevi mevcuttur. Hücre zarının bütünlüğünün ve akışkanlığının korunması, steroid hormonlar, safra asitleri ile D vitamini gibi hayati

fonksiyonlara sahip maddelerin sentezi, hücresel sinyalizasyon gibi önemli hayati fonksiyonlara sahiptir (Luo *et al.* 2020; Yu *et al.* 2019). Hemen hemen tüm hücreler kolesterolü sentezleyebilmekte ve insanlarda toplam sentezin yaklaşık %50' si karaciğerde gerçekleşmektedir (Luo *et al.* 2020; Repa and Mangelsdorf 2000). Vücutta kolesterol seviyelerinin yeterli düzeyde olmaması hücre fonksiyonu, doku gelişimi gibi hayati durumları etkilemekte ve tüm vücut fizyolojisi üzerinde olumsuz etkiler oluşturmaktadır (Yu *et al.* 2019; Carson *et al.* 2020). Plazma kolesterol seviyeleri ekzojen olarak diyetle alınan kolesterol ile endojen olarak vücutta sentezlenen kolesterol olmak üzere iki farklı yol ile elde edilmekte ve kolesterol sentezi feedback mekanizması ile kontrol edilmektedir (Soliman 2018). Fizyolojik koşullar altında, hücresel kolesterol alımı, sentezi ve salınımı aktif dengededir. Bu süreçteki bir dengesizlik, hücresel lipid birikiminde bir artışa yol açabilir ve arter duvarında aterosklerozun gelişmesine ve ilerlemesine katkıda bulunan makrofaj-köpük hücre dönüşüm sürecini başlatabilmektedir (Hafiane *et al.* 2019). Vücutta kolesterol sentezi yüksek enerji gerektiren bir durum olduğundan vücut barsak lümeninden ve safradan kolayca temin edilebilen kolesterol moleküllerini alacak şekilde evrimleşmiştir (Yu *et al.* 2019; Wang and Song 2012). Kolesterol seviyeleri ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalık riski ile güçlü bir şekilde ilişkilendirilmiştir (Luo *et al.* 2020). Aşırı kolesterol alımı veya hiperkolesteroleminin ateroskleroz, miyokard enfarktüsü, felç ve periferik arter hastalığı gibi birçok patolojik sonucu bulunmaktadır (Yu *et al.* 2019; Carson *et al.* 2020).

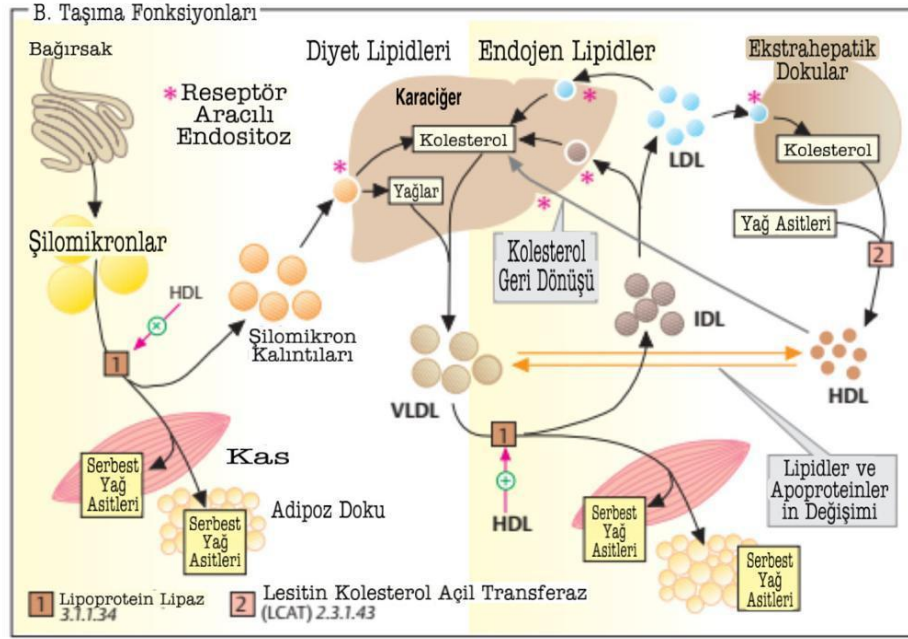
Siklopentano-perhidro-fenantren halka yapısına sahip kolesterol bir zoosterol olup insan kanında ester ya da serbest halde bulunur (Aksu and Sabuncuoğlu 2019). Siklopentano Perhidro Fenantrenin Kimyasal Yapısı Şekil 1.2' de gösterilmiştir.



Şekil 1.2. Siklopentano Perhidro Fenantrenin Kimyasal Yapısı

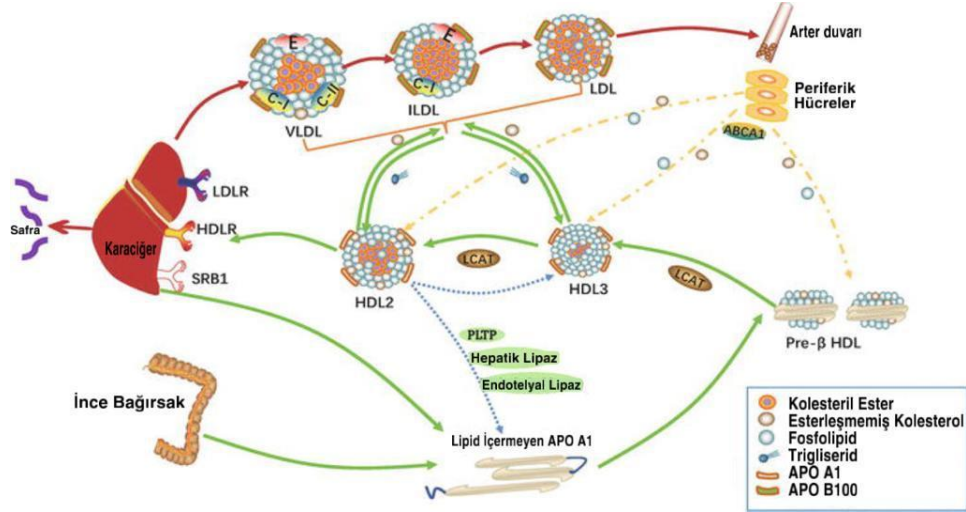
1.2.3.Kolesterol metabolizması

Kolesterol ince bağırsaktan karaciğere şilomikronlar tarafından taşınır. Vücuttaki kolesterol miktarı; günlük alınan besinler ve karaciğer tarafından salgılanan safra kaynaklı olarak değişir. Şilomikronlar tarafından taşınan lipit moleküllerinin bir kısmı dokulara bırakılıp daha sonra karaciğer vasıtasıyla alınırlar. Besin alınmadığı zamanlarda şilomikronlar aktif olamaz ve böyle zamanlarda karaciğer tarafından vücudun kolesterol miktarı düzenlenir (Karlıbaş 2008). Lipoproteinlerin taşınması Şekil 1.3’ de gösterilmiştir.



Şekil 1.3. Lipoproteinlerin Taşınması (Koolman and Roehm 2005)

Karaciğerde üretilen kolesterol VLDL içinde kana salgılanarak diğer vücut dokularına ulaştırılır. VLDL' in yapı ve yoğunluğu kolesterol vücut dokularına ulaştıkça değişerek öncelikle IDL' ye ve sonrasında da LDL' ye dönüşür. Bu olaylar neticesinde karaciğer kolesterol içerikli LDL' yi bünyesine geri alır. LDL' nin kandaki miktarı çoğaldıkça lipoproteinler atardamarların çeperlerinde birikerek aterosklerozun ilk aşamasını oluşturur. Diğer yandan HDL vücutta üretilen kolesterolün karaciğere taşınarak atılmasını sağlamaktadır (Karlıbaş 2008). İnsan vücudunda lipoprotein aracılı kolesterol metabolizması Şekil 1.4' de gösterilmiştir.



Şekil 1.4. İnsan Vücudunda Lipoprotein Aracılı Kolesterol Metabolizması (Yang *et al.* 2018)

1.2.4.Kolesterol biyosentezi

Karaciğer vücudun kolesterol dengesinin düzenlenmesinde merkezi bir role sahip olmakla birlikte karaciğerin kolesterol havuzuna birçok kaynaktan kolesterol gelir; diyetle alınan kolesterol, karaciğer dışı dokularda sentezlenen kolesterol ve karaciğerde *de novo* sentezi sonucu oluşan kolesterol gibi. Kolesterolün karaciğer tarafından elimine edilmesi; safrada değişmemiş kolesterol, çevre dokulara gönderilen plazma lipoproteinlerinin bileşeni veya bağırsak lümenine salgılanan safra tuzları şeklinde olmaktadır (Seçkin ve Metin 2003).

Vücut için gerekli olan kolesterolün günlük ihtiyaç miktarının %20-25' i karaciğer tarafından üretilir. Kolesterolün üretimi doku ve hücrelerde HMG-COA redüktaz enzimi tarafından başlatılan mevalonat yolağı isimli reaksiyon ile gerçekleşir (Karlubaş 2008).

Karaciğer, bağırsak, adrenal korteks, yumurtalık, testis ve plasenta gibi üreme ile ilgili dokular vücudun kolesterol havuzuna en çok katkırıyı yapsalar da kolesterol vücuttaki tüm dokularda sentezlenmektedir. Yağ asitlerindeki gibi kolesterolde de tüm karbonlar asetat tarafından sağlanır ve nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) indirgeyici eşdeğerleri temin eder. Sentez yolağı asetil KoA' nın yüksek enerjili

tiyoester bağının ve ATP' nin terminal fosfat bağının hidrolizi ile devam eder. Sentez sitozoldeki ve endoplazmik retikulum membranındaki enzimlerle beraber sitoplazmada meydana gelir. Sentez yolağı kolesterol konsantrasyonundaki değişimlere duyarlıdır, vücutta kolesterol sentezi hızını kolesterol atılım hızına göre dengeleyecek düzenleyici mekanizmalar bulunmaktadır. Bu düzenleyici sistemde herhangi bir dengesizlik durumu dolaşımdaki kolesterol düzeyinin artışına ve koroner arter hastalığı olasılığına yol açabilir.

Kolesterol biyosentezi dört aşamada gerçekleşir;

- 1- Mevalonatin asetattan sentezi
- 2- Mevalonatin iki adet aktif izopren birimine dönüşmesi
- 3- Altı adet aktifleşmiş izopren biriminin skualeni oluşturmak üzere kondenzasyonu
- 4- Skualenin dört halkalı steroid çekirdeğine dönüşmesi

Kolesterol hayvan hücrelerine özgü bir steroldür. Bitkiler, mantarlar ve protistler başka sterolleri kullanırlar. Skualen 2,3-epoksida kadar tüm canlılar aynı sentez yolunu kullanırlar ve kolesterol yerine diğer sterolleri yaparlar. Sentez yolağı bu noktada, birçok bitkide stigmasterolü ve mantarlarda ergosterol gibi diğer sterolleri oluşturmak üzere farklılık gösterir (Ateşşahin 2016).

1.2.5. Kolesterol yıkılması

Yapısı itibari ile kolesterolün, insanlarda, karbondioksit ve suya metabolize edilemediği için yapısı türlere göre farklılık gösteren safra asitlerine dönüşerek yıkıldığı bildirilmiştir. Genel olarak sterol yapısı, dışkı ile atılmak üzere safra asitleri ya da safra tuzlarına dönüştürülmektedir. Safra tuzları kolesterol yıkımı üzerine retroregülatör bir etkiye sahiptir. Bazen de atılmak üzere bağırsağa taşınarak safra içine kolesterol salınımı ile vücuttan atılmaktadır. Safra ile salınan safra tuzlarının enterohepatik yolla karaciğere geri dönüşü engellenirse kolesterolün yıkımının hızlandığı bildirilmiştir. Bağırsaklarda da bulunan kolesterolün birazının atılmadan önce bakteriler tarafından değiştirildiği ve bu değişim yoluyla oluşan koprostanol ve kolestanolün kolesterol ile beraber başlıca dışkı sterollerini oluşturdukları ifade edilmiştir. Safra asitlerinin sentezi esnasında kolesterolün B halkasının çift bağı

indirgenir ve zincirin sonuna bir karboksil grubu eklenirse zincir 3 karbon kısılır. Oluşan bu bileşikler birincil safra asitleri olarak adlandırılır. Burada önemli olan sentez sırasında hız belirleyici olarak steroid halka yapısının 7. karbonuna hidroksil eklenmesidir. Bu eklenme olayı yalnızca karaciğerde bulunan kolesterol-7- α -hidroksilaz tarafından gerçekleştirilir. Enzim kolesterol tarafından uyarılır ve kolik asit (safra asidi) tarafından da baskılanır (Tuna 2017).

1.2.6. Yüksek kolesterolün tedavisi

Hiperlipidemi, plazmadaki yüksek kolesterol ve trigliserit seviyeleri olarak ifade edilen bir grup metabolik bozukluktur ve koroner kalp hastalığı ile ilişkili ana risk faktörlerinden birini temsil etmektedir. Bu patolojik değişikliklere sahip olma riski, kandaki kolesterol seviyesini koruyarak engellenebilir (Su *et al.* 2016).

Günümüzde, hiperkolesteroleminin önlenmesine yönelik stratejiler, kolesterol emilimini veya endojen kolesterol sentezini azaltmaya yönelik hedefler üzerine çalışmalar dikkat çekmektedir. Kolesterol esteraz, kolesterol esterlerini, emilmelerinden önce kolesterol ve serbest yağ asidine hidroliz eden hidrolaz sınıfı bir enzimdir. Bağırsak epitel hücreleri kolesterol esterini doğrudan ememediğinden, CE'ın diyet kolesterol emiliminde oynadığı rol önemlidir (Howles *et al.* 1996). Literatürde lipit metabolizmasının önemli enzimlerinden olan hem pankreatik lipaz hem de pankreatik kolesterol esterazın inhibisyonu, sırasıyla diyet trigliserit ve kolesterol esterlerinin hidrolize edilmesi sürecini geciktirir (Brodt-Eppley *et al.* 1995; Birari and Bhutani 2007).

Birçok araştırma sonucu HDL' nin plazma içerisinde risk faktörü olmadığını göstermiştir. LDL' nin ise plazmadaki total kolesterol miktarının artmasına aynı zamanda kalp ve damar hastalıklarına sebep olduğu açıklanmıştır. LDL nin içeriğinde yüksek düzeyde oksitlenmiş kolesterolün bulunması durumlarında, damarlarda aterom isimli birikmelere sebebiyet vermekte ve bu durum ateroskleroz olarak adlandırılmaktadır. Kandaki miktarı yükselen LDL' nin damarlarda birikmesi sonucu damarda sertleşmeye neden olur. Koroner arter rahatsızlıklarında kolesterol miktarı yüksek lipoproteinler ve kolesterol arterlerde birikerek ateroskleroz oluşumuna sebep olmaktadır (Sevinç ve Ercoşkun 2020).

Kandaki kolesterol miktarını LDL kolesterol ve total kolesterol yükseltmektedir. Kolesterolle hassas insanlarda yüksek kolesterol içerikli diyet, kandaki LDL ve total kolesterol miktarını önemli ölçüde artırır. Aynı zamanda kolesterol miktarını doymuş yağ asitleri de artırır. Beslenme içeriğinde bulunan yağ çeşitleri ve yağ asitleri içeriği; kandaki lipit profili LDL, HDL, trigliserit, kolesterol düzeyleri üzerinde etkili olmaktadır. Doymuş yağ asitleri açısından zengin diyetlerde; kandaki kolesterol miktarı artmakta, tekli doymamış yağ açısından zengin diyetlerde ise HDL miktarı artmaktadır (Sevinç ve Ercoşkun 2020). Yirmi yaş üstündeki yetişkinlerde LDL kolesterol, trigliserit ve toplam kolesterol değerlerinin kanda istenilen miktarı, yüksek ve sınır düzeyleri Çizelge 1.1' de gösterilmiştir.

Kanda uzun süre kolesterolün yüksek olması kalp ve damar hastalıklarına sebebiyet vermektedir. Kolesterol yüksekliğinin sebep olduğu sorunların hastaya zarar vermesini engellemek için öncelikle kolesterol yükselmeden önlemek, yükselme durumunda ise hemen düşürmek büyük önem arz eder. Kandaki kolesterol miktarının artmasının başlıca sebepleri arasında

- Belirgin beyin, kalp böbrek, tiroid veya damar hastalığı
- Lipit metabolizma bozukluğu
- Şeker hastalığı
- Sigara ve alkol
- Şişmanlık
- Kan basıncı dengesizlikleri
- Fibrinojen yüksekliği
- Fiziksel aktivite azlığı
- İleri yaş
- Östrojen eksikliği
- Ailenin genetik olarak öyküsü
- Beslenme
- Stres ve düzensiz hayat olarak ifade edilebilir

Çizelge 1.1. Yetişkinlerde Lipit Parametrelerin Referans Değerleri (NCEP, 2001)

Parametre	Değerler (mg/dL)
Total Kolesterol	<200; Kabul edilebilir değer
	200-239; Sınırdaki yüksek değer
	≥240; Yüksek değer
LDL	<100; Optimal değer
	100-129; Kabul edilebilir değer
	130-159; Sınırdaki yüksek değer
	≥190; Çok yüksek değer
HDL	<40; Düşük değer
	≥60; Yüksek değer
Trigliserit	<150; Normal değer
	150-199; Sınırdaki yüksek değer
	200-499; Yüksek değer
	≥500; Çok yüksek değer

1.2.6.1.Diyet

Kolesterol yüksekliği tedavisinde beslenme en önemli aşamadır. Kolesterol hakkındaki yanlış ve eksik bilgiler sebebi ile hayvansal ürünlerle beslenme oranı azalmıştır. Tüketim sektöründe ve yeterli bilgiye sahip olmayanlarda sadece hayvansal ürünlerle beslenme sonucu kolesterolün arttığı ile ilgili temelsiz fikirler bulunmaktadır. İşin gerçeğinde ise kolesterolsüz beslenme kandaki kolesterol miktarını etkileyen en önemsiz etken olduğudur. Metabolizmadaki fazla enerjinin tüketilmesi sonucunda enerjinin fazlası yağa dönüştürülmektedir. Yağın taşınabilmesi

için kolesterol esterleri en büyük ihtiyacı oluşturur. Tüm bunların sonucunda da toplam kolesterol ve LDL miktarlarında artış görülür (Sevinç ve Ercoşkun 2020).

Kolesterol yüksekliği bulunan hastalarda beslenme düzeni ile alınan kolesterol miktarına önem gösterilir. Bundan dolayı sağlık otoriteleri tarafından beslenme ile vücuda alınan yağ molekülünün türü ve miktarının kontrol edilmesi tavsiye edilmektedir. Koroner kalp hastalıklarının önlenmesi için diyetlerde kırmızı et tüketiminde yağsız et tercih edilmesi, pişirmede az yağlı pişirme yöntemlerin kullanımı tavsiye edilmektedir. Besinler yoluyla vücuda alınan kolesterol plazma kolesterol miktarını %15' ten daha fazla artırmamaktadır ve bu yolla vücuda alınan kolesterolün daha fazlası vücut tarafından ihtiyaca bağlı olarak üretilmektedir. Sağlıklı bir bireyde kolesterol karaciğer tarafından günde 750-1500 mg üretilmektedir (Sevinç ve Ercoşkun 2020).

1.2.6.2. İlaçla tedavi

Kandaki kolesterol miktarının kontrolü için egzersiz, diyet, egzersiz ve kilo kaybı gibi seçeneklerin işe yaramadığı durumlarda en son olarak ilaçla tedavi seçeneği devreye girer. Kardiyovasküler hastalıkların morbidite ve mortalitesini azaltmak için statin grubu ilaçlarla tedavi en etkili tedavi yöntemidir. Bu grup ilaçlar kolesterolün sentezlenmesi sırasındaki hız kısıtlayıcısı enzim olarak 3-hidroksi 3-metil glutaryl koenzim A redüktaz enziminin inhibisyonunu sağlayarak etki gösterir. HMG-CoA redüktaz inhibitörleri olarak bilinen statin grubu ilaçlarla yapılan kontrollü deneylerde LDL miktarının azalmasının kardiyovasküler hastalıklarda azalmaya imkan sağladığı görülmüştür. Böylece farklı bir tedavinin temelleri aterosklerozun yavaşlaması, durdurulması ve gerilemesi ile atılmıştır. Karaciğerde inhibe olan bu enzim hücre içi kolesterol miktarını artırıp ve böylelikle hücre yüzeyinde LDL reseptörlerinin artışına sebep olur. Bu yüzden plazmadan karaciğer hücrelerine daha fazla kolesterol geçer ve kandaki kolesterol düzeyi azalmış olur (Başaran 2020). Ayrıca son zamanlarda kolesterolün alımı ve taşınması sırasında görev alan kolesterol esteraz enzim aktivitesinin inhibisyonu da kolesterol tedavisinde önemli bir terapötik yöntem olarak dikkat çekmektedir (Sakunpak *et al.* 2021; Wei *et al.* 2014).

1.2.6.3. Doğal ürünlerle tedavi

Cyrain isimli madde enginarın yapraklarında bulunmakta ve karaciğerin safra üretimi artışını sağlayarak vücutta bulunan kolesterolün fazlasının atılmasında önemli rol oynamaktadır. Enginar yapraklarının ekstrelerini içeren kapsüllerden kullanan kişilerde LDL kolesterol miktarının plasebo grubuna oranının %10 azaldığı, HDL kolesterol miktarının ise arttığı gözlemlenmiştir. Aynı zamanda enginarın yapraklarının içeriğinde bulunan bazı antioksidan maddelerle ateroskleroz gelişimi de yavaşlamaktadır. Balıklardaki omega-3 yağ asitlerinin yağları da kolesterol miktarının düzenlenmesinde kullanılır (Karlıbaş 2008).

Kolesterol yüksekliğe sebep olan obeziteyi engellemenin etkili bir yolu, ince bağırsakta pankreas lipaz (PL) ve pankreas kolesterol esteraz aktivitesini baskılayarak yağ sindirimini geciktirmek ve emilimini azaltmaktır (Tina and Melzig 2015).

Araştırmacılar, pankreatik lipaz (PL) hem de pankreatik kolesterol esteraz enzimlerinin ilaç olarak kullanılan inhibitörlerin yan etkilerinin olmasından dolayı bitkilerden doğal, güvenli ve oldukça etkili PL ve CE inhibitörlerinin araştırılmasının faydalı olacağını belirtmişlerdir. Günümüzde çok sayıda bitkisel ilacın, polifenoller ve flavonoidler gibi benzersiz fitokimyasal bileşiklerin iyi kaynakları olduğu rapor edilmiştir. Bilim adamları, biyolojik olarak aktif antioksidanlar, antihiperlipidemik ve antihiperlipidemik ajanlar için doğal kaynaklardan, özellikle karbonhidrat ve yağ sindirimi ve emiliminin azaltılması için yeni terapötiklerin geliştirilmesi için tedavide potansiyel güce sahip olduğu düşünülen bitkisel ilaçları incelemişlerdir. Bitkisel ilaçlar, kardiyovasküler hastalıklar ve tip 2 diyabet gibi kronik dejeneratif hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için alternatif yaklaşımlardan biri olmaya devam etmektedir (Seyedan *et al.* 2015; Sompong *et al.* 2016).

1.3.Pankreatik Kolesterol Esteraz Enzimi (CE; E.C. 3.1.1.13)

Pankreatik kolesterol esteraz (CE; E.C 3.1.1.13), Safra tuzuna bağımlı lipaz, Safra tuzu ile uyarılan lipaz, pankreatik lizofosfolipaz, karboksil ester lipaz ve spesifik olmayan lipaz olarak bilinen, diyet kolesterolünün emilimi ve taşınmasını önlemek için potansiyel bir hedef olan hidrolaz ailesine ait önemli bir metabolik enzimdir (Heynekamp *et al.* 2008).

Pankreatik kolesterol esteraz omurgalı pankreasından bağırsak yoluna salgılanır ve birincil safra tuzları ile aktifleştirilir. İnsanlar da dahil olmak üzere birçok memelide bulunur (Thirumalaisamy *et al.* 2013). Kolesterol esteraz enziminin protein yapısında 579 tane amino asit kalıntısı bulunmaktadır. Aktif merkezindeki aminoasitler Ser194, His435, Asp320'dir (Hui and Howles 2002). Aktif bölge hem katalitik triad (His-435, Asp-320, Ser-194) hem de oksyanyon deliği (Ala-108, Ala-195, Gly-107) kalıntılarını içerir. CE, hidrolitlerin bileşen sterollere ve yağ asitlerine sterol esterlerini katalizleyerek etki gösterir (Thirumalaisamy *et al.* 2013).

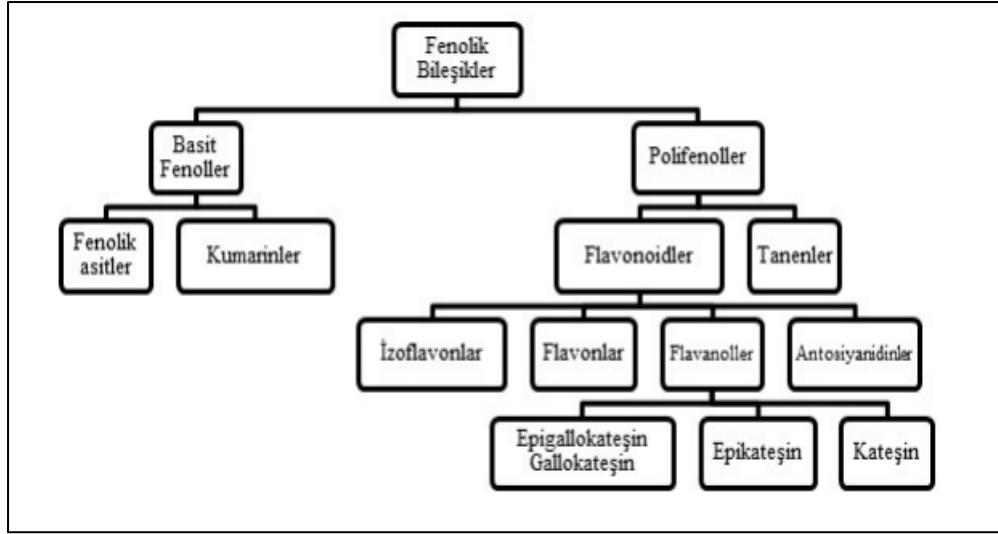
Kolesterol esteraz enzimi kolesterolün yağ asidi esterlerini ve diğer sterolleri hidrolize edebilen ve aynı zamanda sentezleyebilen tersinir bir enzimdir. Pankreas ve pankreas sıvısında bulunur (Hui and Howles 2002).

Pankreatik kolesterol esterazın inhibisyonu, diyet kolesterolünün biyoyararlanımını sınırlayarak hiperkolesterolemi ve ateroskleroza tedavi etmenin potansiyel bir yolu olarak son yıllarda dikkat çekmektedir (Sakunpak *et al.* 2021; Wei *et al.* 2014).

1.4. Fenolik Bileşikler

Çeşitli epidemiyolojik çalışmalar yüksek miktarda meyve ve sebze alımı ile kardiyovasküler hastalıklar, kanser, obezite, diyabet gibi bulaşıcı olmayan kronik hastalıkların insidansı arasında ters bir ilişki olduğunu göstermiştir (de la Rosa *et al.* 2019). Bu etkinin meyve ve sebzelerin yapısında bulunan ve sayısının 8000' den fazla olduğu tahmin edilen fenolik bileşiklerden kaynaklandığı bildirilmiştir (Tungmunthum *et al.* 2018; Ahmed *et al.* 2016). Bu fenolik bileşiklerin neredeyse yarısının aglikon, glikozitler ve metillenmiş türevler olarak sunulan flavonoidler olduğu bilinmektedir (Tungmunthum *et al.* 2018; Kumar and Pandey 2013). Fenolik bileşiklerin antioksidan özelliği serbest radikal hasarına karşı koruyucu olan indirgen özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Bir veya daha fazla hidroksil grubu içeren aromatik bir halkadan oluşan fenolik bileşiklerin antioksidan özelliği hidroksil gruplarının sayısı ve karboksil fonksiyonel grubun konumlarına göre değişmektedir (Vuolo *et al.* 2019)

Fenolik bileşikler bitkilerin sekonder metabolit olarak ürettiği, yapısında bulunan benzen halkasında bir ya da daha fazla hidroksil grubu barındıran fonksiyonel gruplu bileşiklerdir. Bütün bitkiler doğada korunma amacıyla çoğu fenolik bileşiği farklı konsantrasyon ve nitelikte üretirler. Bitkilerde en bol bulunan sekonder metabolitler olan bu bileşiklerin miktarları bitkilere göre farklılık gösterir. Bitkilerin yoğun strese maruz kaldıklarında korunma amacıyla ürettiği maddelerdir. Aynı zamanda fenolik bileşikler, meyvelerin ve sebzelerin de dokusunda bulunur ve bunlara renk ve tat verme özelliklerine de sahiptirler. Tahıl, çay, şarap, sebze, bira, baklagil ve meyve vb. gibi bitkisel kaynaklı olan içeceklerde bulunmaktadır. Fenolik bileşiklerin insan sağlığı üzerinde antitrombotik, antialerjik, antiviral, antidiyabetik, antipatojenik, antimikrobiyal ve antienflamatuar etkileri bulunur. Fenolik bileşikler sahip oldukları halka yapısına ve yapısal unsurlara göre isimlendirilirler (Atak ve Uslu 2018). Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması Şekil 1.5' de gösterilmiştir.



Şekil 1.5. Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması (Üstün ve Demirci 2013)

Flavonoidler, çeşitli meyvelerde, sebzelerde, köklerde bulunan fenolik bileşiklerin büyük kısmını oluşturan bir gruptur. Bu bileşiklerin monomerik birimleri, iki benzen halkasından ve çoğu durumda bir heterosiklik halkadan oluşur. Farklı biyolojik özelliklere sahip çeşitli flavonoid türleri vardır. Flavonoidler, farklı alt sınıflardan oluşur: flavanonlar, flavonoller, flavonlar, flavanoller (veya flavan-3-ols), izoflavonlar ve antosiyanidinlerdir. Üzüm, şarap, kiraz ve patlıcan kabuğunda

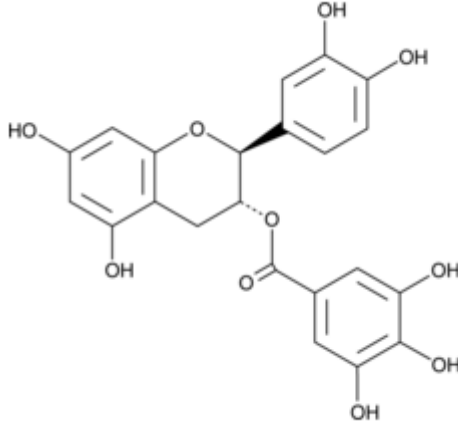
antosiyandır; soğan, brokoli, lahana, elma kabuğu, çay ve üzümde flavonoller; limon, kırmızı biber ve maydanozdaki flavonlar; elma kabuğundaki flavanoller, muz, çilek, *Camelia sinensis* çayları; soya fasulyesi ve soya ürünlerindeki izoflavonoidler; narenciye ve domates kabuğundaki flavanonlar, birçoğu antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelere sahiptir. En yüksek aktiviteler flavanol sınıfı, özellikle prosiyanidin grubu ve kateşinler, epikateşinler ve bunların esterlenmiş türevlerinde görülür. Fenolikler içinde, flavonoid olmayanlar fenolik asitler, tanenler, stilbenler ve lignanlardır. Fenolik asitler, bitkiler aleminde geniş çapta bulunur ve antioksidan, antimutajenik, antikarsinojenik, antimikrobiyal etkileri bulunur. Hidroksibenzoik ve hidroksisinnamik asitlerin türevleri, baskın fenolik asitlerdir. En yaygın hidroksisinnamik asitler, yiyeceklerde sıklıkla kinik asit veya glikoz ile basit esterler olarak ortaya çıkan kafeik, p-kumarik ve ferulik asitlerdir, en yaygın benzoik asit ise kırmızı renkte oluşan gallik asittir. Soğan ve kara turpta bulunur (Shirahigue and Antonini 2020).

Tanenler, genellikle hidrolize edilebilir tanenler veya yoğunlaştırılmış tanenler olarak iki şekilde bulunan suda çözünür polifenollerdir, ikincisi en yaygın olanıdır, iki veya daha fazla monomerik (+) - kateşin veya (-) - epikateşin biriminden oluşur. Tanenler, sulu çözeltilerde proteinleri ve diğer makromolekülleri bağlayıp çökeltebilir, metalleri bağlayabilir ve moleküler ağırlığı 500 ila 3000 dalton arasında değişen demir tuzları ile mavi ile siyah kompleksler oluşturabilir. En çok bilinen stilben, asma bitkisi, yer fıstığı ve meyvelerde bildirilen ve çoklu biyoaktiviteleri için kapsamlı olarak çalışılan resveratrol'dur. Lignanlar tohumlarda, bitkisel yağlarda, tahıllarda, baklagillerde, meyvelerde ve sebzelerde bulunur ve muazzam bir yapısal çeşitlilik gösterir. En yaygın lignanlar, larisiresinol, pinoresinol, sekoizolarisiresinol, syringaresinol, matairesinol, 7-hidroksimatairesinol, sesamin, sesamolin ve sesamoldür (Shirahigue and Antonini 2020).

1.4.1. Kateşin gallat

Molekül formülü $C_{22}H_{18}O$ olan ve moleküler ağırlığı 442,4 g/mol olan (-)-kateşin-3-O-gallat, gallik asidin karboksi grubunun (-)-kateşinin (3R)-hidroksi grubu ile biyokimyasal yoğunlaştırılmasıyla elde edilen bir gallat esteridir. Metabolit görevi görmektedir. Bir gallat ester, bir polifenol ve flavanların bir üyesidir. Bir (-) - kateşin

ve bir gallik asitten türemiştir ve bir (+)-kateşin-3-O-gallatın bir enantiyomeridir (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6419835>). Kateşin gallat' ın yapısı Şekil 1.6' da gösterilmiştir.



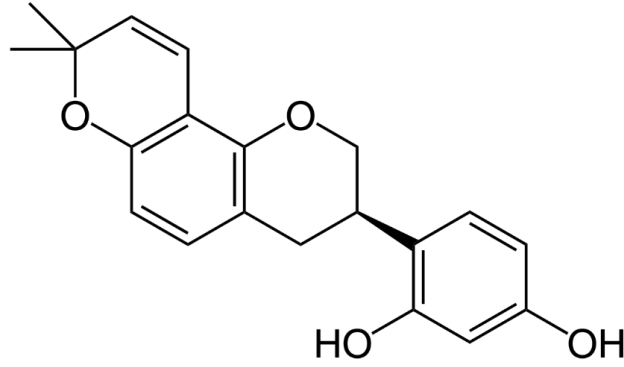
Şekil 1.6. Kateşin Gallat Yapısı

(-)-Kateşin gallat ((-) - CG), çeşitli biyolojik aktivitelere sahip yeşil çay ekstraktlarında bulunan bir kateşin polifenolü moleküldür. MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinin proliferasyonunun inhibisyonunu sağlar. Sığır aort endotel hücrelerinde (BAEC'ler) konsantrasyona bağlı bir şekilde VEGF reseptör 2' nin (VEGFR2) VEGF' ye bağlı tirozin fosforilasyonunu azaltır. (-) - CG, kolaylaştırıcı glikoz taşıyıcı GLUT4' ün ($K_i = 90 \mu\text{M}$) rekabetçi bir inhibitördür. İzole edilmiş sıçan adipositleri tarafından metilglukoz alımını inhibe etmektedir ($\text{IC}_{50} = 50 \mu\text{M}$). 48 pM %50 bakterisidal konsantrasyon (MBC50) değeri ile *T.cruzi* amastigotlarına karşı litiktir ([https://www.caymanchem.com/product/24963/\(-\)-catechin-gallate](https://www.caymanchem.com/product/24963/(-)-catechin-gallate)).

1.4.2. Glabridin

Glycyrrhiza glabra' nın hidrofobik ekstraktında bulunmakta olan polifenolik bir izoflavonoiddir. Son çalışmalar, glabridinin, antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuvar ve anti-gastrik ülser aktivitelere sahip geniş bir farmakolojik etkiye sahip olduğunu aynı zamanda melanin ve düşük yoğunluklu lipoprotein oluşumu

üzerinde inhibe edici etkileri olduğunu göstermiştir (Ao *et al.* 2010). Glabridin' in yapısı Şekil 1.7'de gösterilmiştir.



Şekil 1.7. Glabridin Yapısı

Meyan kökü'nün içeriğinde bulunan biyoaktif bileşenlerden biri olan glabridinin ağız hastalıklarında yararlı etkilere sahip olduğu belirtilmiştir. (Özyazıcı 2020). Meyan kökü (licorice) ekstraktının antiinflamatuvar özelliği vardır ve içeriğinde bulunan glabridin sayesinde tirozinazı inhibe eder (Cüre vd. 2016). Ayrıca glabridinin *Mycobacterium smegmatis* ve *Staplylococcus Aureus*' e karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Hocaoğlu 2010).

Glabridinin sitotoksik, östrojenik, antiinflamatuvar, meme kanserinde antiproliferatif, antitüsitif ve antimikrobiyal gibi çeşitli farmakolojik etkileri bulunmaktadır. *İn vitro* şartlarda insanlardaki Sit P450 3A4' ü inhibe ettiği belirlenmiştir. Ayrıca teofilinin toksisitesini arttırabilir (Charehsaz *et al.* 2012).

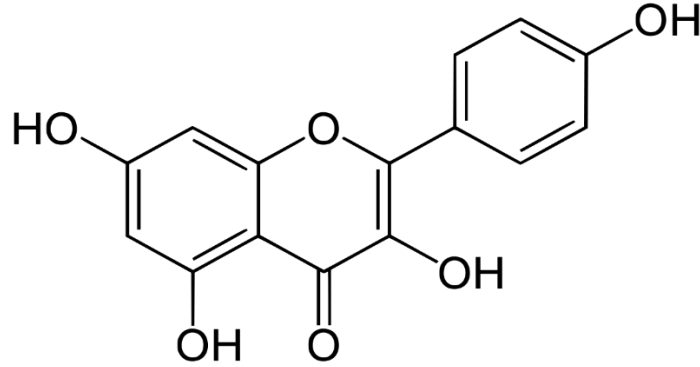
1.4.3. Kemferol

Kemferol bitkilerin (çay, brokoli, lahana, fasulye, hindiba, pırasa, domates, çilek ve üzüm vb.) tohum, yaprak, meyve ve çiçeklerinde bulunur. Ayrıca geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılan bitkilerde veya botanik ürünlerde de bulunur. Kemferolün kardiyoprotektik, nöroprotektif, antiinflamatuvar, antidiyabetik,

antioksidan, antimikrobiyal, antitümör ve antikanser aktiviteleri olduğu bildirilmiştir (Kılıç Altun and Aydemir 2020).

Kemferol serbest radikalleri uzaklaştırmak için güçlü antioksidan özelliklere sahiptir. Radikal giderme kapasitesine sahip antioksidanların, serbest radikal hasarına karşı potansiyel koruyucu etkiye sahip olduğu düşünülmektedir (Özmatara 2020).

Kemferol aynı zamanda tromboksan alıcısına karşı etkili davranmaktadır. Damar tıkanıklığının ve akut trombosit pıhtı oluşumunun önlenmesinde etkili bir madde olduğu düşünülmektedir. Özellikle soğan, sarımsak ve pırasada sırasıyla yüksek oranlarda bulunan kemferol insan sağlığı açısından son derece önem arz eden biyoaktif bir bileşiktir. Bunun vücuda alınması insanların bağışıklık sistemi üzerinde olumlu etki göstermekle birlikte çeşitli hastalıkların tedavisinde de olumlu etki göstermektedir (Atik and Dıraman 2019). Kemferol' ün yapısı Şekil 1.8' de gösterilmiştir.



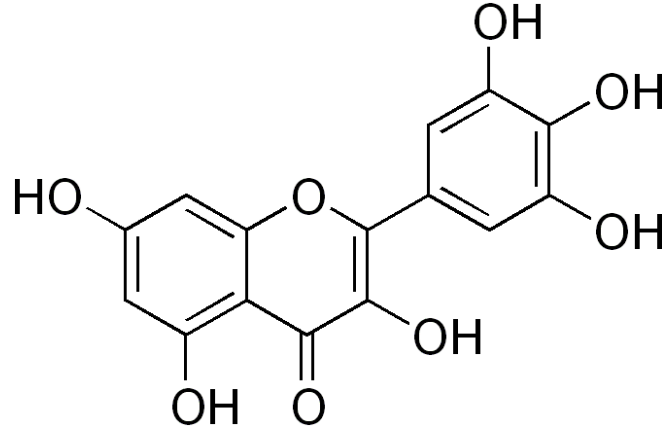
Şekil 1.8. Kemferol' ün Yapısı

Bitkisel kaynaklı flavonoid yapıdaki bir ajan olan kemferol antioksidan, antienflamatuar ve antibakteriyel özellikleriyle inflamasyonun eşlik ettiği pek çok hastalığın tedavisi için umut vericidir. Kemferol antiinflamatuar etkilerini aktivatör protein-1 ve nükleer faktör k β yolağını baskılayarak yapmaktadır (Musa *et al.* 2020)

1.4.4. Mirisetin

Mirisetin (3, 3', 4', 5, 5', 7-heksahidroksiflavon, Myr) kaynakları arasında çay, sebzeler, meyveler ve fındık bulunur. Mirisetin' in antiinflamatuar, antioksidatif,

analjezik, antitümör ve antibakteriyel etkileri olduğu gösterilmiştir (Topdağı *et al.* 2021). Mirisetin esas olarak glikozitler şeklindedir. Gastrointestinal sistem tarafından emilir ve çoğunlukla karaciğer tarafından metabolize edilir. Mirisetin' in metaboliti idrarla 3,5-dihidroksifenilasetik asit olarak atılır (Öztürk *et al.* 2021). Mirisetin' in yapısı Şekil 1.9' de gösterilmiştir.



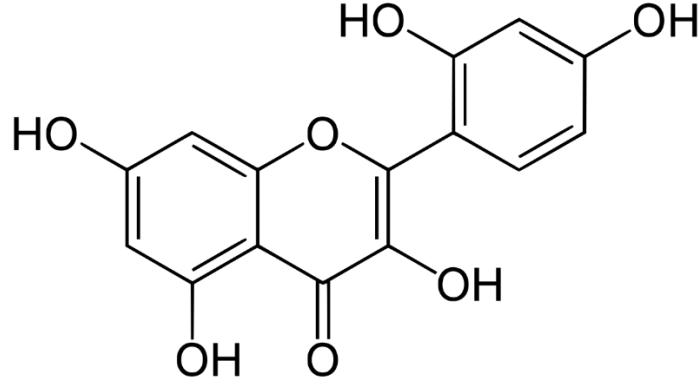
Şekil 1.9. Mirisetin' in Yapısı

Mirisetin yapısında, 4-okso, 2–3 çift bağı ve 3, 5, 7, 3', 4', 5' hidroksil yan grupları içeren önemli bir flavonoiddir. İçerdiği bu yan gruplardan 3'4'-katekol yapısı B-halkasında güçlü bir şekilde lipid peroksidasyonun inhibisyonunu artırır. Mirisetin' in 5' pozisyonunda ek hidroksil grubuna sahip olması antioksidan aktivitenin güçlenmesine sebep olur ve 2–3 çift bağ, 4-karbonil grubu ve 3 hidroksil grubu olan flavonoidlerin daha güçlü antioksidan olduğuyula ilişkili çalışmalar mevcuttur. Mirisetin anti-inflamatuar aktiviteye sahiptir ve antikarsinogenik, antiviral ve antimikrobiyal ajan olarak rol oynar ve ayrıca platelet agregasyonundan koruyucu etkiye de sahiptir (Sugihara *et al.* 2001)

1.4.5. Morin hidrat

Morin hidrat' ın yapısı 3,5,2',7 4'-pentahidroksiflavondur. *Morus alba L* (beyaz dut)' nin dallarından izole edilerek üretilen biyoflavonoid bir maddedir. Bu kristal yapıdaki sarı molekül polifenolik bir bileşik olup, çay, meyve, incir, kırmızı şarap ve

bademde bulunur (Çağlayan 2019). Morin hidrat' ın yapısı Şekil 1.10' da gösterilmiştir.

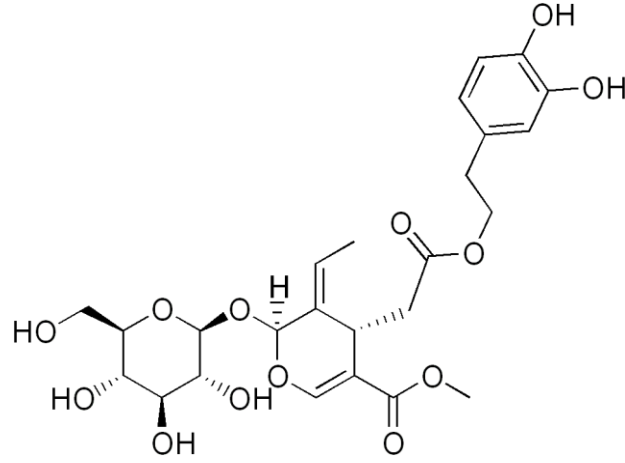


Şekil 1.10. Morin Hidrat' ın Yapısı

Morin hidrat' ın yüksek dozlarda kullanımında bile çok az toksisiteye sahip olması en önemli avantajıdır. Yapılan çeşitli *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda Morin hidrat' ın antidiyabetik, antienflamatuar, antioksidan, anti-proliferatif ve antiapoptotik etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Çağlayan 2019).

1.4.6. Oleropin

Oleaceae familyasının bir üyesi olan Oleropin çeşitli bitkilerde fazla miktarlarda bulunan sekoiridoit isimli kumarine benzer bileşiklerin ait olduğu spesifik bir gruba dahil olan fenolik bir bileşiktir. Oleropin, 3,4-dihidroksifeniletanolün ve elenolik asitin heterozidik esterlerinden olup zeytinin meyvesi ve yaprağında bulunmaktadır. Böylece Oleropin glikoz molekülü, elenolik asit olarak isimlendirilen sekoiridoit, hidroksitirozol olarak da bilinen 4-(2- hidroksietil) benzen-1,2-diol molekülü olarak üç yapısal kısımdan oluşmaktadır. Oleropin molekülünün formülü $C_{25}H_{32}O_{13}$ olup molekül ağırlığı ise 540.518 g/mol' dür (Bayram vd 2020). Oleropin' in yapısı Şekil 1.11' de gösterilmiştir.

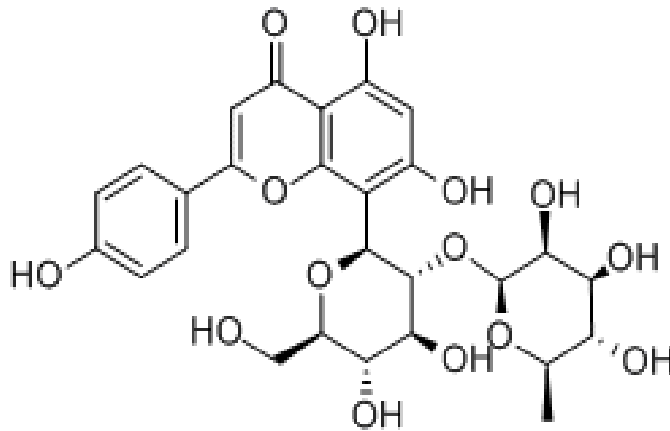


Şekil 1.11. Oleropin' in Yapısı

Oleropin antimikrobiyal, antioksidan, antidiyabetik, antikanser, antiinflamatuvar, hipokolesterolemik, kardiyovasküler sistemi koruyucu, obeziteyi önleyici etkilere sahiptir (Bayram vd 2020).

1.4.7. Vitexin 2-O-rhamnosit

Vitexin 2-O-rhamnosit, alıç, karabuğday gibi birçok bitkide bulunan kimyasal bir bileşiktir. Vitexin, maş fasulyesi gibi gıdalarda bulunan önemli bir polifenoldür (Babaei *et al.* 2020). Vitexin 2-o-rhamnosit' in yapısı Şekil 1.12' de gösterilmiştir.



Şekil 1.12. Vitexin 2-o-rhamnosit' in Yapısı

Maş fasulyesi Çin’ de ve birçok Asya ülkesinde çorba olarak tüketilen ve sıcak çarpmasını kontrol ettiğine inanılan popüler bir gıda maddesidir. Vitexin, antioksidan, anti-inflamatuar, antikolinesteraz, antibakteriyel, antiviral, antinosiseptif, hepatoprotektif, kardiyoprotektif, nöroprotektif ve antikanser dahil olmak üzere çeşitli farmakolojik etkilere sahiptir (Babaei *et al.* 2020).

2.KAYNAK ÖZETLERİ

Dünyada kardiyovasküler hastalıklar morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenlerinden biridir. Hiperlipidemi ve özellikle hiperkolesterolemi, kardiyovasküler hastalıkların ana sebebi olan aterosklerozun gelişmesinde önemli bir risk faktörüdür. Birçok fizyolojik fonksiyona sahip olan özellikle hücre zarının hayati bir bileşeni olan kolesterolün, plazmadaki düzeyinin yüksek olması durumunda bu molekül, damarlarda birikerek plak oluşturmasıyla ateroskleroze sebep olur. Bu hastalığın tedavisi için sayısız araştırmalar yapılmaktadır. Bu araştırmalarda, hastalıkla mücadele için yeni ve özel stratejiler belirlenmeye çalışılmaktadır. Bu yüzden, kolesterolün plazmadaki seviyesinin etkili bir şekilde korunması için, kolesterolün alımı, endojen sentezi ve katabolizmasını dengeleyecek mekanizmaların işlevi oldukça önem kazanmaktadır. Bu mekanizmalardan biri kolesterol esteraz enziminin inhibisyonudur (Stone *et al.* 2014; Lloyd-Jones *et al.* 2016).

Bilim insanlarının kolesterol esteraz enzimi üzerine yaptıkları gen nakavt çalışmaları, CE eksikliğinin diyet kolesterol esterlerinin bağırsak emilimini azalttığını göstermiştir. Yapılan hayvan çalışmalarında kolesterol esteraz enzim inhibitörlerinin kolesterol esterlerinin absorpsiyonunu azalttığı ifade edilmiştir. Bu yüzden kolesterol esteraz enzim aktivitesinin inhibisyonu aterosklerozun oluşumuna sebep olan hiperkolesteroleminin önlenmesi için potansiyel bir yaklaşım haline gelmiştir. Şu ana kadar bilim insanları tarafından fosfoizokumarinler (Li *et al.* 2010), karbamat (Lin *et al.* 1999), 3-alkil-6-kloro-2-pironlar (Deck *et al.* 1999), 6-kloro-2-pironlar (Hatch *et al.* 2002), tiazolidindionlar ve fosforlanmış flavonlar (Peng *et al.* 2011) gibi birkaç sınıf kolesterol esteraz inhibitörleri çalışılmıştır. Bu enzim için yeni ve farklı inhibitör çalışmaları devam etmektedir.

Aissata ve arkadaşlarının 2019 yılında yapmış olduğu bir çalışmada dört yenilebilir bitki özünün (*Dendrobium nobile*, Alıç, *Wolfberry* ve Çay Özü) pankreatik lipaz inhibisyonu, kolesterol esteraz inhibitör aktiviteleri ve kolesterol miselizasyon çözünürlüğü gibi indeks parametreleri değerlendirilmiştir. Bitki ekstraktlarının toplam polisakkarit içeriğinin %6,17–25,2 aralığında olduğu tespit edilmiştir. Çalışma

sonucunda ekstraktların (12 mg/ml) kolesterol misel oluşumunu yaklaşık %19' dan %42' ye kadar önemli ölçüde inhibe ettiği sonucuna varılmıştır. Çay özü en düşük inhibisyon seviyesini (%19.67) gösterirken onu alıç (%23.14) ve *Wolfberry* (%31.15) takip etmiştir. *Dendrobium* özleri ise (%51.60) en güçlü inhibisyon etkisini göstermiştir (Aissata *et al.* 2019).

Yapılan farklı bir çalışmada ise benzaflavonların kolesterol esterazı inhibe etme potansiyelini incelemek amacıyla spektrofotometrik deney yöntemi kullanılmıştır. Kırk bileşik serisi içerisinde yedi türev (3-(2,6-Diflorofenil)-1 *H*- benzo[*f*]kromen-1-on, 3-(2,4-diflorofenil)-1 *H*- benzo[*f*]kromen-1-on, 3-(3,5-Diflorofenil)-1 *H*- benzo[*f*]kromen-1-on, 3-(2,5-Diflorofenil)-1 *H*- benzo[*f*]kromen-1-on, 3-(3,4-Diflorofenil)-1 *H*- benzo[*f*]kromen-1-on, 3-(3-Klorofenil)-1 *H*- benzo[*f*]kromen-1-on, 3-(2,3-Diklorofenil)-1 *H*- benzo[*f*]kromen-1-on) *in vitro* enzimatik değerlendirmede kolesterol esteraza karşı yüzde 90' ın üzerinde inhibisyon gözlenmiştir. Bileşik 3-(2,3-Diklorofenil)-1 *H*- benzo[*f*]kromen-1-on kolesterol esteraza karşı 0,73 nM IC₅₀ değeri ile en fazla inhibitör aktiviteyi göstermiştir. 3-(2,3-Diklorofenil)-1 *H*- benzo[*f*]kromen-1-on' un kolesterol esterazın hidrolize edici özelliğini inhibe ederek katabolizma sürecini sekteye uğrattığı sonucuna varılmıştır (Singh *et al.* 2017).

Önceki çalışmalarda, Üzüm çekirdeklerinden ekstrakte edilen prosiyanidin, *in vitro* ortamda kinetik çalışmaları yapılarak PL ve CE' a karşı güçlü bir inhibitör etki göstermiştir (Nie and Stürzenbaum 2019).

Başka bir çalışmada ise *Cornus alba* meyve özleri, kuersetin ve kemferol gibi çok sayıda polifenol içerir ve *in vitro* olarak PL aktivitesinin (IC₅₀ 15.2 µg/mL) güçlü inhibisyon etkisi gösterdiği ifade edilmiştir (Tina *et al.* 2019). Aynı şekilde yeşil çay, siyah çay ve oolong çayı, polifenolik bileşikleri nedeniyle PL ve CE' a karşı güçlü bir inhibitör etkiye sahiptir (Glisan *et al.* 2017).

Üzüm çekirdeği, üzüm çekirdeği sulu çözeltisi ve çay kateşin polimerlerindeki başlıca polifenoller, pankreas kolesterol esterazına karşı önemli ölçüde inhibitör etki gösterdi ve kolesterol misellerinin oluşumunu engelledi (Adisakwattana *et al.* 2010 ; Ngamukote *et al.* 2011; Jeon and Imm 2014).

Bazı bitkilerin tıbbi özellikleri potansiyel antioksidanları açısından araştırılmıştır. İncelenen bitki özüleri arasında, üç bitkisel ilaç, *Syzygium aromaticum*, *Thunbergia laurifolia* ve *Phyllanthus amarus* dahil olmak üzere antihiperglisemik ve antihiperlipidemik aktivite için yüksek bir potansiyel sergilemişlerdir. Bazı raporlar, bitkisel ilaçlardaki toplam fenolik bileşiklerin pankreatik kolesterol esteraz inhibe etme yeteneğine sahip olduğunu ve kolesterol miselleri ve safra asidi bağlanmasının oluşumunu azalttığını bildirmiştir. Onbir bitkisel ilaç (*Rhinacanthus nasutus*, *Cissus quadrangularis*, *Syzygium aromaticum*, *Acanthus ebracteatus*, *Thunbergia laurifolia*, *Phyllanthus amarus*, *Cassia alata*, *Pluchea indica*, *Cryptolepis buchanani*, *Derris scandens*, *Schefflera leucantha*) özellikle *Syzygium aromaticum*, *Thunbergia laurifolia* ve *Phyllanthus amarus* olmak üzere belirgin bir şekilde antioksidan, antihiperglisemik ve antihiperlipidemik aktiviteler göstermiştir. Bu sonuçlar, bu bitkisel ilaçların antioksidan, antihiperglisemik ve antihiperlipidemik ajanlar için doğal bir kaynak olabileceğini göstermektedir (Sompong *et al.* 2016).

Pek çok yenilebilir bitki, özellikle yağ sindirimi ve emiliminin azaltılması olmak üzere, doğal kaynaklardan biyolojik olarak aktif antihiperlipidemik ajanlar için yeni terapötiklerin geliştirilmesi için heyecan verici bir fırsat sunmak amacıyla değerlendirilmiştir. Mevcut araştırmanın amacı, dokuz yenilebilir bitkinin (*Murdannia loriformis*, *Stevia rebaudiana*, *Centella asiatica*, *Carthamus tinctorius*, *Ginkgo biloba*, *Orthosiphon aristatus*, *Cassia angustifolia*, *Gynostemma pentaphyllum*, *Morus alba*) pankreatik kolesterol esterazın inhibisyonu üzerindeki etkilerini değerlendirmektir. Araştırma sonucunda bu dokuz bitki pankreatik kolesterol esteraza karşı güçlü bir inhibitör etki göstermiştir (Adisakwattana *et al.* 2012).

Fenolik bileşikler, bitkilerin yapısında bulunmakta olan, meyve çiçeklerinin renklenmesini sağlayan, çevresel stres faktörlerinden bitkileri koruyan, bitkilerdeki sekonder metabolitlerin ana sınıfını oluşturan, benzen halkasına hidroksil bağlı kimyasal bileşiklerdir. Fenolik bileşikler yıllardır geleneksel olarak tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Ayrıca antioksidan, antikanser ve antienflamatuar gibi farklı biyolojik etkilerinden dolayı önemli bileşiklerdir (Kris-Etherton *et al.* 2002; nee'Nigam 2009). Sözü edilen bileşiklerin insan sağlığına faydalı olabileceği gibi birçok hastalığın önlenmesi ve tedavisinde de kullanılabileceği literatürde

belirtilmiştir (Rice-Evans 2001; Kris-Etherton As 2002). Daha önce literatürde fenolik bileşiklerin çeşitli enzimler üzerinde etkisi rapor edilmiştir (Adem *et al.* 2014; Aslan and Adem 2015a, 2015b; Aslan *et al.* 2016).

Schinus molle, *Pinus brutia*, *Hedera helix*, *Ecballium elaterium* ve *Plantago lanceolata*'nın kolesterol esteraz inhibitör aktivitesini *in vitro* olarak değerlendirmeyi amaçlayan bir çalışmada bitkilerin farklı kısımlarının metanolik ve su ekstraktları hazırlanmıştır. *Schinus molle*'nin yaprak ve meyvelerinden ve *Ecballium elaterium*'un meyve suyundan ekstrakte edilen uçucu yağlar elde edilmiş ve bunlar test edilmiştir. Sonuçlar, *Ecballium elaterium* yapraklarından meyve suyu ve kuru sulu ekstrakt, *Hedera helix* yapraklarının kuru metanolik ekstraktı ve *Pinus brutia* kabuğu için pankreatik kolesterol esteraz inhibisyon yüzdesinin 0,2 mg/ml konsantrasyonda sırasıyla %22.25±0.9, %21.58±0.48, %17.96±0.60 ve %19.97±0.29 olduğunu göstermiştir. Bu bulgular, bu bitkilerin, kolesterol emiliminin azalmasına ve sonuç olarak mikro ve makrovasküler komplikasyonların ilerlemesinde gecikmeye neden olabilecek kolesterol esterazın potansiyel inhibitörleri gibi görüldüğünü göstermektedir (Asmaa and Ream 2016).

In silico çalışmalarında kullanılan flavonoidlerin kolesterol esteraz enzimi üzerinde inhibitör etkisini araştıran bir çalışmada Antosiyaninler, Krizin, Diosmin, Dorsilurin-F, Galangin, Genistein, İzoviteksin, Theaflavin ve Rotenone gibi flavonoidler kullanılmıştır. Bilinen standart olarak gallik asit kullanılmıştır. *In silico* yerleştirme çalışmaları, Lamarckian genetik algoritma ilkesine dayalı olarak AutoDock 4,2 kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bağlanma enerjisi, inhibisyon sabiti ve moleküller arası enerji gibi üç önemli parametre belirlenmiştir. Seçilen tüm flavonoidlerin standartla (-4.11 kcal/mol) karşılaştırıldığında -4.54 kcal/mol ila -8.15 kcal/mol arasında daha az bağlanma enerjisi gösterdiği görülmüştür. Ligandların moleküller arası enerjisi (-7.2 kcal/mol ila -11.73kcal/mol) ve inhibisyon sabiti (1.05 µM ila 466,13 µM) de bağlanma enerjisiyle örtüşmektedir. Sonuçta seçilen tüm flavonoidlerin kolesterol esteraz inhibe edici aktiviteye katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Madeswaran *et al.* 2012).

Yapılan farklı bir çalışmada fosforile flavonoid sentezlenmiş ve pankreatik kolesterol esteraz ve asetilkolinesteraz inhibitörleri olarak *in vitro* incelenmiştir.

Sentezlenen bileşiklerin çoğu, kolesterol esteraza karşı nanomolar düzeyde inhibitör potansiyel etki ve sadece asetilkolin esteraza karşı mikromolar düzeyde inhibisyon etkisi göstermiştir. Bu durum da iki enzim arasında yüksek seçiciliği gösterir. İnhibisyon mekanizması ve kinetik karakterizasyon çalışmaları kolesterol esterazı geri dönüşümü olmayacak şekilde inaktive ettiği sonucuna ulaşılmıştır (Wei *et al.* 2014)).

Bir başka çalışmada da *Garcinia mangostana*'nın öncü moleküllerini (28 fitokimyasal arasından) belirlemek için *in silico* yaklaşımla girişimde bulunulmuştur. Çalışmada GOLD Suite of Programs 5.2 ve AutoDock 4.2 yazılım uygulamaları kullanılmıştır. *In silico* tarama, *G. mangostana*'da rapor edilen 28 kimyasal molekül arasında üç molekülün (epikateşin, öksanton ve 1,3,5,6-tetrahidroksiksanton) pankreas kolesterol esteraz ile bağlanma potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir. Bu bulgu, *G. mangostana* meyve kabuğunun hiperkolesterolemi için bir ilaç kaynağı olarak kullanılabileceğine dair umut verici bir sonuçtur (Varghese *et al.* 2019).

Clausena cambodiana Guill yapraklarından dört piranokarbazol alkaloidin [8-hidroksimahanimbisin (1), mahanine (2), mahanimbisin (3) ve mahanimbisin (4)] ilk kez izole edildiği çalışmada, izole edilen bileşiklerin kimyasal yapıları 1D ve 2D-NMR dâhil olmak üzere kapsamlı spektroskopik analiz ile değerlendirilmiştir. Bileşik 1 ve 2, sırasıyla 48.56 ve 34.56 µg/mL IC_{50} değerleri ile pankreas kolesterol esteraza karşı güçlü inhibitör aktivite sergilemiştir. Çalışmadan elde edilen bulgular *cambodiana* yapraklarının hiperkolesteroleminin önlenmesi ve tedavisi için fonksiyonel bir gıda veya farmasötik bileşen olarak kullanılabileceği yönündedir (Sakunpak *et al.* 2021).

Yapılan farkı bir çalışmada da *Camellia nitidissima* Chi çiçek özlerinin domuz pankreasından elde edilen pankreas lipaz ve kolesterol esteraz üzerine inhibe edici etkileri incelenmiştir. *Chi* çiçek özlerinin pankreas lipazı, pankreas kolesterol esterazı ve kolesterol miselizasyonu üzerinde doza bağlı olarak önemli bir şekilde güçlü bir inhibitör etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Pankreas lipaz, kolesterol esteraz ve kolesterol çözünürlüğünün IC_{50} 'si sırasıyla 320, 200 ve 600 µg/mL olduğu bulunmuştur. Çalışma sonucunda *Chi* çiçek özlerinin *in vitro* ve *in vivo* kolesterol esteraz ve pankreas lipaza karşı inhibitör etkilerinin yanı sıra ağırlık kaybı programlarında da etkili olabileceği vurgulanmıştır (Zhang *et al.* 2020).

Agaricus bisporus ekstraktları ve saflaştırılmış polifenolik içerikleri kolesterol esterazın inhibitör aktivitesi açısından incelenmiştir. Ekstraktları hazırlamak için organik solvent bazlı ekstraksiyon metodolojileri kullanılmıştır. Polifenolik yapıların saflaştırılması ve ortaya çıkarılması için iki boyutlu hazırlayıcı ince tabaka kromatografisi (2D PTLC) tekniği ve direkt MS/ESI+ yöntemi de kullanılmıştır. Hem ekstrakt hem de saflaştırılmış polifenollerde flavonoid ve fenolik asit içeriklerinin yanı sıra inhibitör aktivitesini belirlemek için standart spektrofotometrik analizler kullanılmıştır. Çalışma sonucunda saflaştırılmış fenolik asitlerin orta düzeyde bir kolesterol esteraz önleyici aktivite gösterdiği bildirilmiştir (%24,7 $\pm$ 1.7; IC₅₀ = 2.61 g) (Sathishkumar *et al.* 2020).

Başka bir çalışmada da yoğunlaştırılmış tanenlerin kolesterol esteraz üzerindeki inhibitör etkisi incelenmiştir. Altta yatan mekanizmalar; reaksiyon kinetiği, yoğunluk ve parçacık boyutu analizleri, multispektroskopi yöntemleri, termodinamik ve bilgisayar moleküler simülasyonları ile değerlendirilmiştir. Yoğunlaştırılmış tanenlerin 64.19 μ g/mL IC₅₀ değeri ile güçlü CE inhibitör aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda yoğunlaştırılmış tanenlerin kolesterol esteraz inhibitör etkisi nedeniyle kolesterol seviyelerinin düşürülmesinde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (Li *et al.* 2019). Comakli ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada metabolizmanın önemli yollarından olan poliyol yolağı enzimi aldoz redüktaz üzerine fenolik bileşiklerin *in vitro* ve *in siliko* olarak inhibisyon etkileri incelenmiştir. Çalışmada 6-hidroksi flavon, siringik asit, diosmetin, 6-floroflavon, 7-hidroksi-4'-nitroizoflavon ve mirisetin moleküllerinin enzimi, düşük IC₅₀ konsantrasyonunda inhibe ettiğini ve bu sonuçların docking değerleriyle desteklendiğini rapor etmişlerdir (Comakli *et al.* 2020).

3.MATERYAL VE YÖNTEM

3.1.Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar

Çalışmamızda kullandığımız cihazlar ve kimyasallar Bölüm 3.1.1 ve 3.1.2’ de gösterilmiştir.

3.1.1.Kullanılan kimyasallar

Deneyisel çalışmalarda,

- Pankreatik Kolesterol Esteraz (Sigma 26745-10MG-F, lyophilized, powder, white, ~35 U/mg),
- Enzim substratı olarak Para-nitro fenil bütürat,
- Fenolik bileşiklerin çözünmesi için dimetilsülfoksit (DMSO),
- Tampon hazırlamada, Merck marka disodyum hidrojen fosfat dodekahidrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) ve sodyum fosfat (Na_2HPO_4) kullanılmıştır.
- Tarokolik asit sodyum tuzu ve fenolik bileşikler daha önceki çalışmalar için ticari olarak alınmış ve elimizde mevcut kimyasallardır.

3.1.2.Kullanılan cihazlar

Çalışmada bazı çözeltilerin hazırlanmasında saf su ve deiyonize su kullanılmıştır. Çalışmalarda kullanılan alet, cihazlar ve markaları Çizelge 3.1’ de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmalarda Kullanılan Alet, Cihazlar ve Markaları

Alet ve Cihazlar	Markası
Spektrofotometre	SHIMADZU (UV-1800)
pH Metre	İnoLab pH-
Karıştırıcı (Vorteks)	Wise ix
Hassas terazi	OHAUS pioneer
Manyetik karıştırıcı	BioCote
Saf su cihazı	Ultra Pure (Typ1) Water
Güç kaynağı	1-Bio Rad Power Pac 3000
Otomatik Pipetler	Eppendorf
Corporation EC Buzdolapları	Arçelik
Derin dondurucu (-20°C)	Arçelik

3.2.Deneysel Yöntem

3.2.1. Kolesterol Esteraz enzim aktivitesi ölçümünde kullanılan çözeltiler

1. 0,1 M fosfat tamponu (pH=7,0); 2,4g NaH_2PO_4 (0,02 mol) ve 0,1 M NaCl (pH=7,0) 1,17g NaCl (0,02 mol) tartılarak 180 ml saf su içerisinde çözülerek pH=7,0' ye ayarlandı ve toplam hacim saf su ile 200 ml' ye tamamlandı.
2. 12 mM Tarokolik asit sodyum tuzu çözeltisi; 0,645 gram Tarokolik asit sodyum tuzu alınarak son hacmi 100 ml olacak şekilde aktivite tamponu içerisinde çözüldü.
3. 20 mM para nitro fenil bütirat çözeltisi; 0,84 gram (pNPB) alınarak son hacmi 200 ml olacak şekilde aktivite tamponu içerisinde çözüldü.

4. Lyophilized, powder, white, ~35 U/mg olarak ticari alınan kolesterol esteraz enziminden elde edilen stok çözelti; 1mg/1ml enzim olacak şekilde 10 ml aktivite tamponu içerisinde 10 mg Kolesterol esteraz enzimi çözülerek hazırlandı.
5. İnhibitör çözeltileri; 1mg/1ml olacak şekilde her bir fenolik bileşik 5 ml DEMSO da çözülerek stok çözeltiler hazırlandı.

3.2.2. Kolesterol Esteraz enzim aktivitesi ölçümü

Pankreatik kolestrol esteraz enzim aktivitesi, (Pietsch ve Gütschow 2002) tayin metoduna göre Shimadzu (UV-1800) marka spektrofotometrede 405 nm deki absorbans ölçümü ile yapıldı. Kullanılan çözeltiler ve miktarları Çizelge 3.2' de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. Pankreatik Kolesterol Esteraz Enzim Aktivite Tayininde Küvet İçeriği

Kolesterol esteraz	
Madde	Pipetleme miktarı µl
100 mM fosfat tampon (pH=7)/100 mM NaCl	275
Tarokolik asit sodyum tuzu 12 mM	350
Para-nitro fenil bütirat (20 mM)	75
Enzim	40
Saf su	260
Toplam hacim	1000

3.2.3. *İn vitro* inhibisyon çalışmaları

Moleküllerin enzim inhibisyon üzerine etkisini değerlendirmek için ilk önce sırasıyla moleküllerin 5 farklı konsantrasyonunda enzim aktiviteleri ölçüldü. İnhibisyon olmayan koşuldaki aktivite değeri %100 olarak kabul edildi ve inhibitör bulunan ortamlarda aktiviteler bağlı yüzde olarak belirlendi. % Aktivite-[Konsantrasyon] grafiklerinin eğrilerinden IC₅₀ değerleri hesaplandı.

3.2.4. Docking Çalışmaları

Molegro Virtual Docker MVD 2019.7.0 programı kullanılarak Docking çalışmaları yapıldı. Enzimin üç boyutlu yapısı <http://www.rcsb.org/pdb> sitesinden 1F6W (Method: X-RAY DIFFRACTION, Resolution: 2.3 Å, R-Value Work: 0.181) kodu ile verilen kristal yapı kullanıldı. Referans ligand olarak di(hydroxyethyl)ether (PEG) kullanılmıştır (Terzyan *et al.* 2000).

Moleküllerin SDS formatları <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> web sayfasından indirildi. Programa uyum sağlamaması durumunda moleküllerin yapıları ChemDraw Professional 16.0 da çizildi ve Chem3D 16.0. de sdf formatına çevrildi. Bu programda uymaması durumunda Gaussian programı kullanılarak moleküllerin SDF formatları hazırlandı.

Molegro Virtual Docker MVD 2019.7.0 programında doking çalışmalarında programın kullanılışı

1. File menüsünden Import Molecule kullanılarak protein (enzim) programa alındı.
2. Protein üzerinde çalışma yapılacak şekilde ayarlamalar yapıldı.
3. Enzim üzerindeki oyuklar (Cavit) belirlendi.
4. Docking sekmesindeki Docking Wizard kullanılarak doking yapılacak molekül programa aktarıldı.
5. Docking ayarları yapıldıktan sonra program çalıştırıldı.
6. Docking sonuçları “Import Docking Result” seçeneğinden çalışmada kullanılan Docking programa sırasıyla çekildi.
7. Sekilen moleküldeki en uygun model seçilerek “Convert Pose to Ligand” seçeneğiyle liganda çevrildi.
8. View menüsünden Hidrojen bağ etkileşimlerini göster seçeneğiyle hidrojen bağlarını gösterilmesi sağlandı. Burada hidrojen bağının bağlanma şekli enerjisi ve uzunluğu gösterilmektedir.
9. Ligand map seçeneğinde program ligandın hangi amino asitle hidrojen bağı yaptığı göstermektedir. Ayrıca buradaki sterik etkileşimleri hangi amino asitle yapmış olduğu da görülebilmektedir. Bu sterik etkileşimlerin enerji ve uzunluklarını da hesaplanmaktadır.

10. Docking görselleri Ekran Alıntı Aracı kullanılarak alındı.

4.ARAŞTIRMA BULGULARI

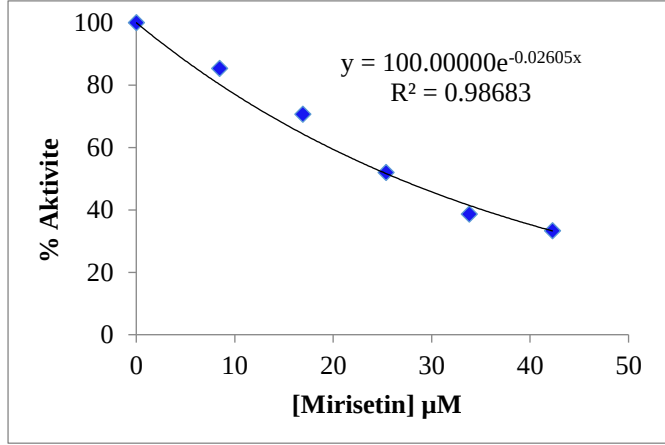
Yapılan tez çalışmasında daha önceden ticari olarak satın alınan bileşiklerin inhibisyon etkileri incelendi ve bunlar içerisinde 7 adet fenolik bileşiğin pankreatik kolesterol esteraz enzim aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi belirlenmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.1’ de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Pankreatik Kolesterol Esteraz Enzim Aktivitesi Üzerine Fenolik Bileşiklerin Etkisi

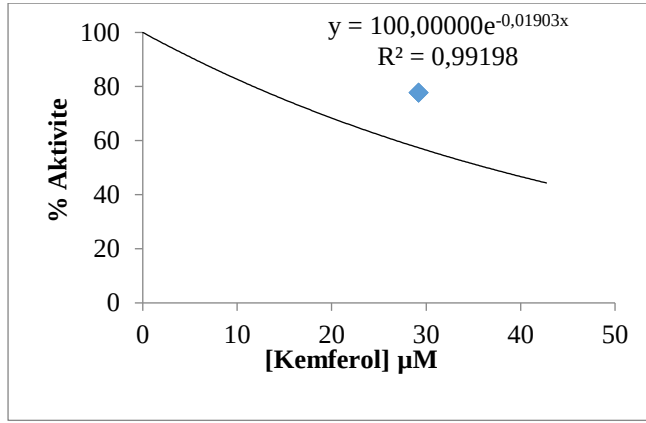
Bileşik	IC ₅₀ değeri μ M
Oleropin	12,9
(-)-Kateşin gallat	17,4
Vitexin 2-o-rhamnosit	25,0
Mirisetin	26,6
Glabridin	33,5
Kemferol	36,5
Morin hidrat	64,5

Çizelge 4.1. incelendiğinde; fenolik bileşikler değerleri 12,9 ile 64,5 μ M aralıkta IC₅₀ değerleri ile inhibisyon etkisi göstermiştir. Oleropin 12,9 μ M IC₅₀ değeri ile en yüksek inhibisyon etkisi gösteren bileşiktir. Morin hidrat 64,5 μ M IC₅₀ değeri ile pankreatik kolesterol esteraz enzimine karşı en düşük inhibisyon etkisine sahip moleküldür.

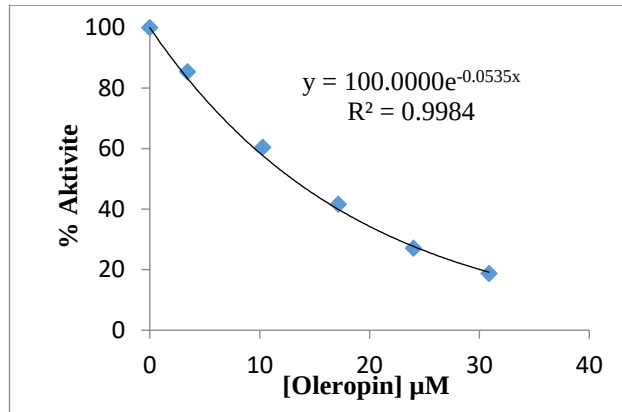
İnhibisyon çalışmaları sonucunda elde edilen % Aktivite–[Konsantrasyon] grafikleri şekil 4.1- 4.7 de gösterilmiştir.



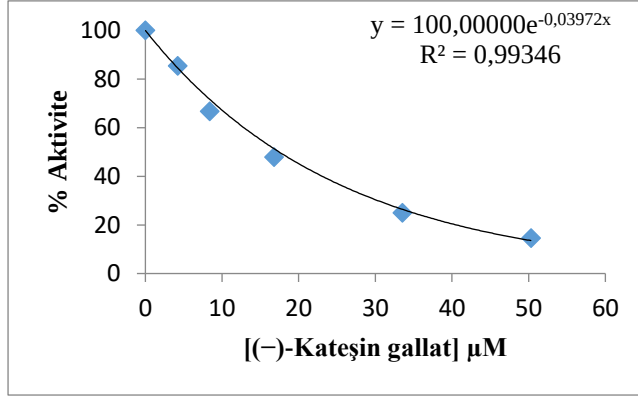
Şekil 4.1. Mirisetin' in Pankreatik Kolesterol Esteraz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi



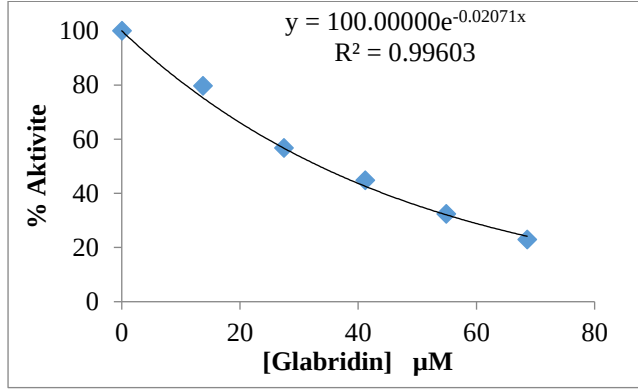
Şekil 4.2. Kemferol' ün Pankreatik Kolesterol Esteraz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi



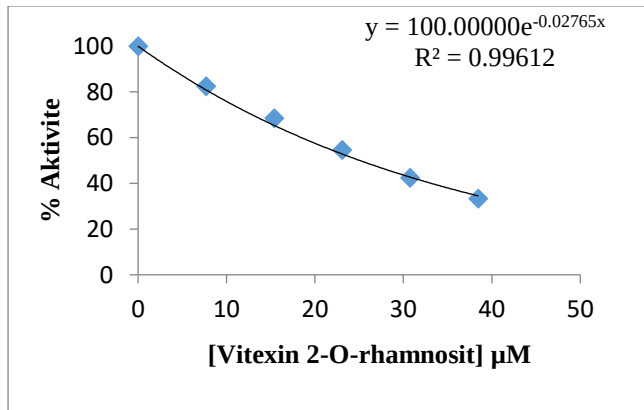
Şekil 4.3. Oleropin' in Pankreatik Kolesterol Esteraz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi



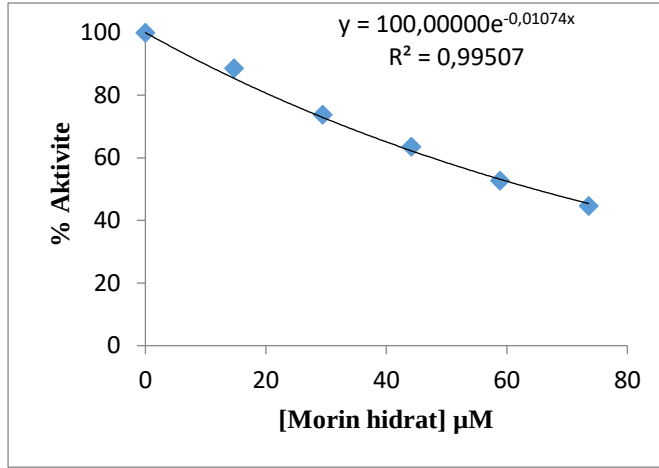
Şekil 4.4. (-)-Kateşin gallat' in Pankreatik Kolesterol Esteraz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi



Şekil 4.5. Glabridin' in Pankreatik Kolesterol Esteraz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi



Şekil 4.6. Vitexin 2-O- Rhamnosit' in Pankreatik Kolesterol Esteraz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi

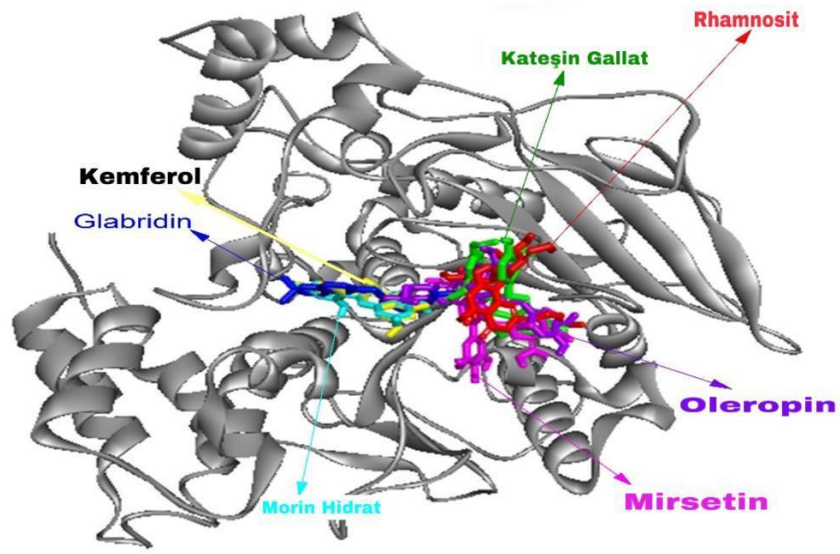


Şekil 4.7. Morin Hidrat' ın Pankreatik Kolesterol Esteraz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi

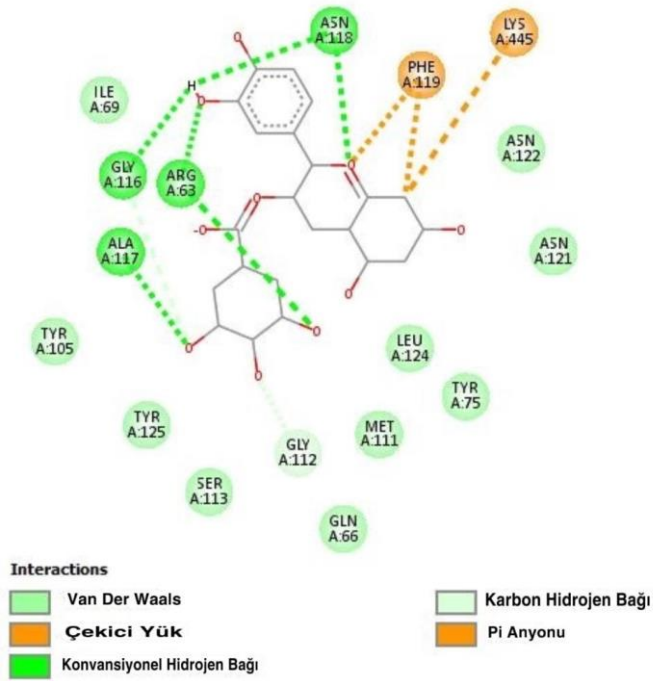
Docking sonuçlarına göre moleküller ve enzimin aktif bölgesi arasındaki etkileşimde hidrojen bağlarının önemli rol oynadığı gözlemlenmiştir. Bu etkileşimleri gösteren docking görüntüleri şekil 4.8-4.15'de gösterilmiştir. *İn vitro* ve *in silico* sonuçlar beraber değerlendirildiğinde oleropinin enzim üzerinde en iyi inhibisyon etkisine sahip bileşik olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.2. Molegro Virtual Docker Programdan Elde Edilen Flavone-Enzim Etkileşimi Docking Genel Sonuçları

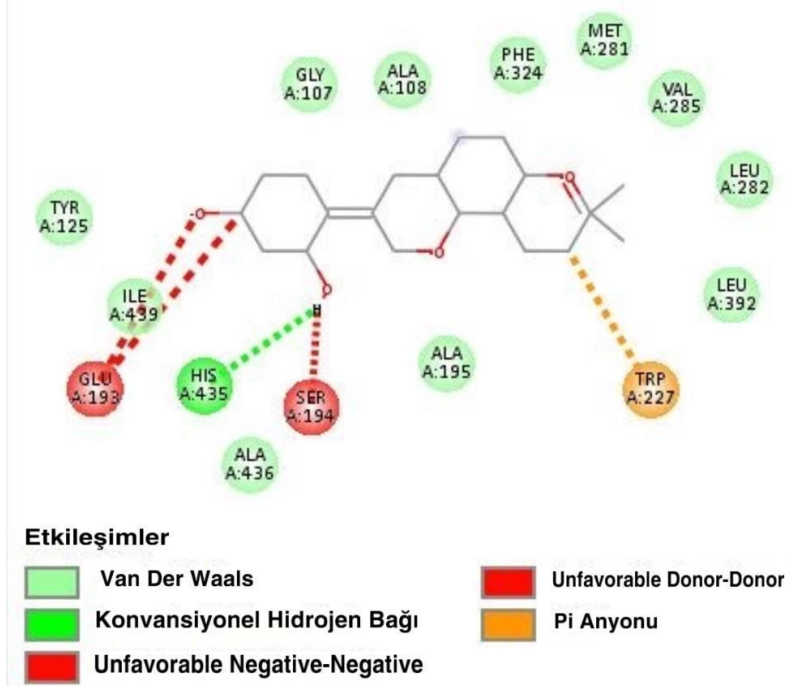
Name	IC ₅₀	Avarege	Mol dock
Kateşin gallat	17	-7.7	-137.774
Oleropin	13	-7.5	-133.913
Vitexin 2"-O-Rhamnosit	25	-7.6	-113.545
Mirisetin	26	-7.8	-102.672
Glabridin	33	-8.3	-98.1479
Morin hidrat	64	-7.1	-93.7348
Kemferol	36	-6.8	-87.01



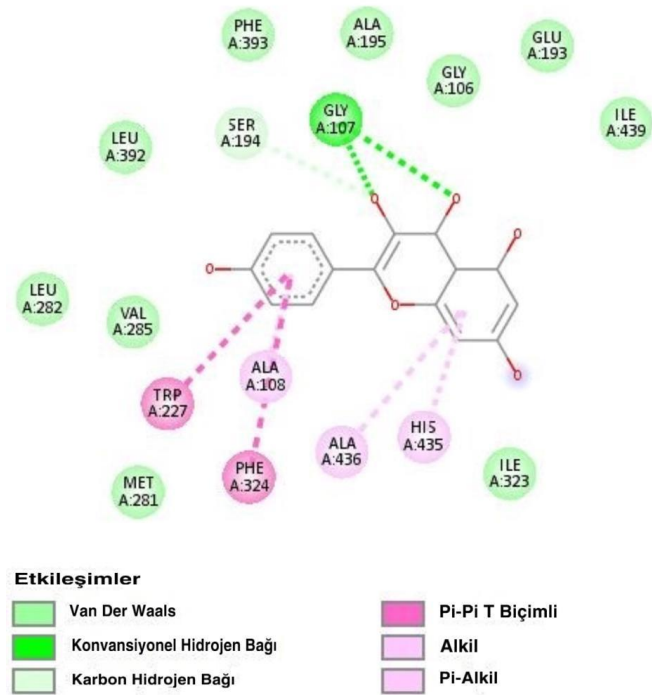
Şekil 4.8. Fenolik Bileşiklerin Pankreatik Kolesterol Esteraz Enzimiyle Etkileşiminin Üç Boyutlu Gösterimi



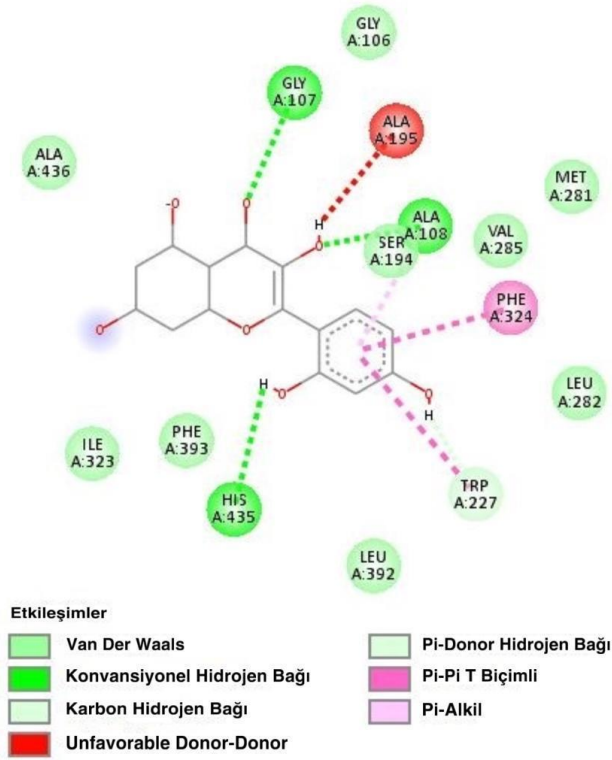
Şekil 4.9. Kateşin Gallat' ın Enzimle Etkileşiminin İki Boyutlu Gösterimi



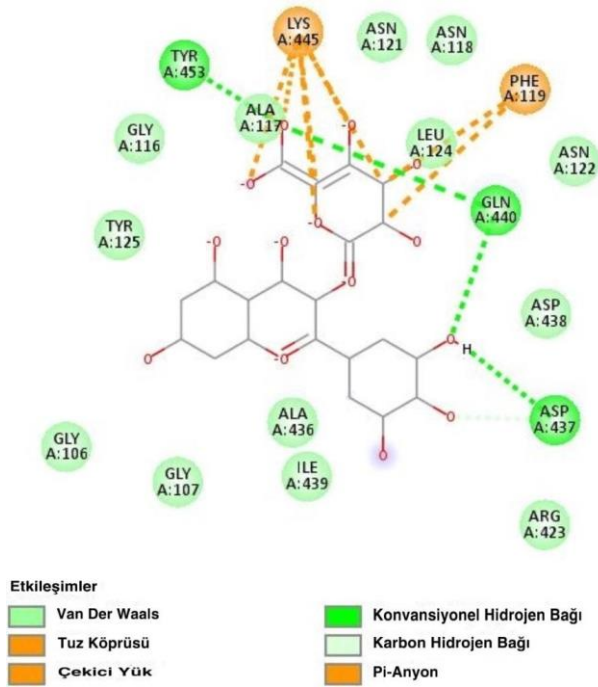
Şekil 4.10. Glabridin' in Enzimle Etkileşiminin İki Boyutlu Gösterimi



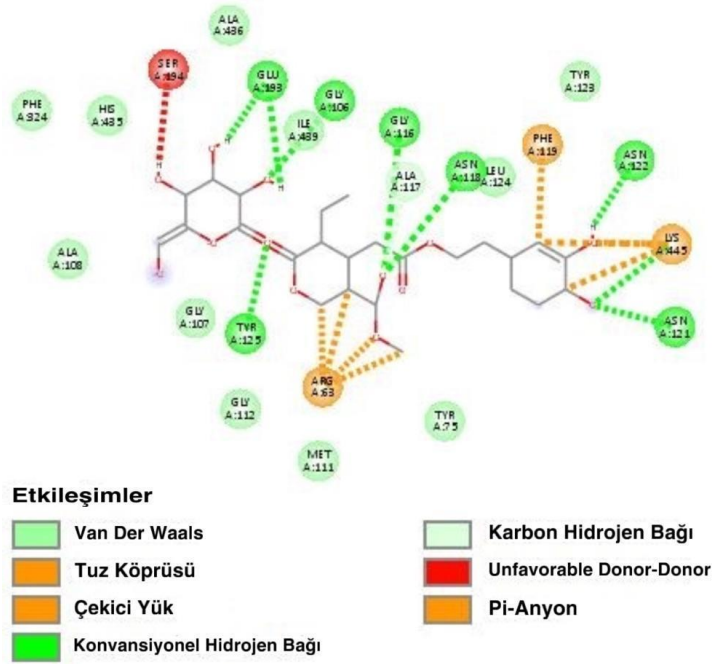
Şekil 4.11. Kemferol' ün Enzimle Etkileşiminin İki Boyutlu Gösterimi



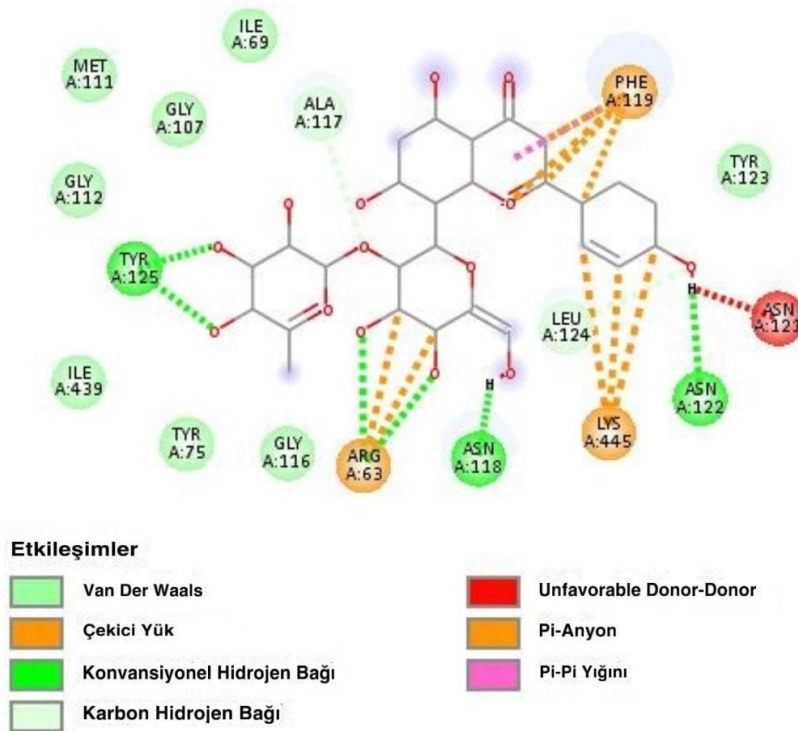
Şekil 4.12. Morin Hidrat' ın Enzimle Etkileşiminin İki Boyutlu Gösterimi



Şekil 4.13. Mirisetin' in Enzimle Etkileşiminin İki Boyutlu Gösterimi



Şekil 4.14. Oleropin' in Enzimle Etkileşiminin İki Boyutlu Gösterimi



Şekil 4.15. Vitexin 2''-O-Rhamnosit' in Enzimle Etkileşiminin İki Boyutlu Gösterimi

5.TARTIşMA VE SONUÇ

1980 yılından günümüze kadar dünya çapında obezite yaygınlığı hızlı bir şekilde artmıştır. Bu artışın büyük ölçüde hareketsiz yaşam tarzı, sağlıklı beslenme alışkanlıkları, karbohidrat içeren yiyecekler ve özellikle aşırı yağlı yiyeceklerin neden olduğu lipit metabolizmasıyla ilgili bozukluklardan kaynaklandığı düşünülmektedir (Chooi *et al.* 2019).

Lipit metabolizmasındaki hiperlipidemi ve hiperkolesterolemi gibi metabolik sendromlar dünyadaki ölüm oranlarında ilk sıralarda yer alan kardiyovasküler hastalıkların gelişimine katkı sağlamaktadır. Metabolizmada önemli fonksiyonların doğrudan ya da dolaylı olarak gerçekleşmesinde önemli görevi olan kolesterolün, plazmadaki düzeyinin yüksek olması durumu damarlarda birikmesi suretiyle ateroskleroze sebep olur. Bu hastalığın tedavisi için birçok çalışma ve stratejiler belirlenmeye çalışılmıştır. Bu stratejilerden biri araştırmacıların son zamanlarda üzerinde yoğunlaştığı kolesterol esteraz enziminin inhibisyonudur.

Pankreatik kolesterol esteraz, ince bağırsak lümeninde bulunan bir tür α/β hidrolazdır. Pankreastan bağırsaklara salgılanır ve sindirilen kolesterol esterlerinin serbest kolesterole dönüşümünü katalize eder. Kolesterol metabolizması sürecinde CE, kolesterol misellerinin enterositlere Emilimi ve taşınması ile ilgili anahtar bir enzimdir (Li *et al.* 2019).

Kolesterol, hücre zarının önemli bir yapısal bileşenidir ve memeli biyolojisinde önemli roller oynayan steroid hormonları, D vitamini ve safra asitlerinin sentezi için gereklidir. Bununla birlikte, aşırı kolesterol alımı hiperlipidemiye katkıda bulunan ana faktördür ve kolesterol birikimi ile ateroskleroz riski arasında doğrudan bir ilişki vardır. Arteriyel intimada aşırı kolesterol birikimi, kardiyovasküler hastalıklar ve komorbiditeleri ile ilgili kronik bir süreç olan aterosklerotik lezyonların oluşumuna neden olur. Dünya çapında insan sağlığını iyileştirmek ve kanser, obezite ve diyabet gibi ölüm, sakatlık ve hastalık risklerini azaltmak için kolesterolün azaltılması önemli hedeflerden biridir (Li *et al.* 2019).

Plazma kolesterol düzeyi, koroner arter hastalığı, kanser, obezite ve diyabet gibi birçok hastalıkla bağlantılı olduğundan, kolesterol düzeyinin kontrolü büyük ilgi

görmüştür. Geçtiğimiz yıllarda, pankreatik kolesterol esteraz, kolesterol seviyesini kontrol etmek için potansiyel bir hedef olarak kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Diyet kolesterol esterlerinin hidrolizinde ve serbest kolesterolün enterositlere taşınmasında CE' ın önemli rol oynadığı öne sürülmüştür. Gen nakavt çalışmaları göstermiştir ki CE eksikliği, diyet kolesterol esterlerinin bağırsak emilimini azaltmakta, ancak serbest kolesterolün bağırsak emilimini etkilememektedir (Li *et al.* 2010).

Bu enzimin, kolesterolün optimal emilimi için gerekli olan tam trigliserit ve fosfolipid hidrolizi için yeterli lipolitik enzim aktivitelerinin sağlanmasında önemli bir telafi edici rol oynadığına inanılmaktadır. Ek olarak, CE' ın daha büyük ve daha az aterojenik lipoprotein partiküllerinin daha küçük ve daha aterojenik lipoprotein alt türlerine dönüşmesini kolaylaştırdığı için proaterojenik olduğu bildirilmiştir. Bu bulgular, aterosklerozda potansiyel bir ilaç hedefi olarak CE' ın inhibisyonuna ve hipokolesterolemik ajanların gelişimine yönelik araştırma ilgilerini daha da artırmıştır (Li *et al.* 2010).

Aterosklerozda potansiyel bir hedef olarak pankreatik kolesterol esterazın önemi ve hipokolesterolemik ajanların gelişimi için, CE inhibitörlerinin tasarlanması ve sentezlenmesine artan bir ilgi vardır. Mevcut sentetik ilaçların hepsinin yan etkilere sahip olduğu tespit edildiğinden, bitki kaynaklı CE inhibe edici ve antioksidan bileşikler geliştirmeye ihtiyaç vardır. Bitki özlerinden potansiyel CE inhibe edici ve antioksidan bileşikleri keşfetmek için çeşitli çalışmalar yapılmıştır.

Fenolik bileşikler, antimikrobiyal, antikanserojenik, antiobezite ve antidiyabetik eylemler dahil olmak üzere önemli biyolojik ve farmakolojik özelliklere sahiptir. Bunlar, meyvelere, sebzelere ve tahıllara tat ve renk sağlayan yapısal çeşitlilik sağlayan ikincil metabolitlerdir. Yapısal olarak, bu bileşiklerin en az bir aromatik halkaya bağlanmış bir ya da daha çok hidroksil grubuna sahip olmaları ile karakterize edilir. Hidroksil gruplarının sayısı ve konumu fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesini etkileyen önemli özelliklerdir. Fenolik bileşikler, kanser ve kardiyovasküler, nörodejeneratif ve metabolik bozuklukların önlenmesi ile ilişkilidir. Bu bileşiklerin koruyucu etkileri, sadece içsel antioksidan aktivitelerine değil, aynı zamanda hücre sinyal yollarının modülasyonuna da atfedilmiştir (Demir *et al.* 2017).

Literatürde pankreatik kolesterol esteraz enziminin inhibisyonuna dair birçok çalışma bulunmaktadır. Bunlardan bazıları; *Clausena cambodiana* yapraklarından ilk kez dört piranokarbazol alkaloid, 8-hidroksimahanimbin, mahanine, mahanimbisin ve mahanimbin izole edilmiş ve bu dört piranokarbazol alkaloidi, pankreatik kolesterol esteraz inhibitör aktiviteleri açısından değerlendirilmiştir. 8-Hidroksimahanimbin ve mahanine, 48.56 ve 34.56 µg/ mL IC₅₀ değerleri ile pankreas kolesterol esterazına karşı orta düzeyde inhibitör aktiviteler göstermiştir (Sakunpak *et al.* 2021). Yoğunlaştırılmış tanenlerin (CT'ler) kolesterol esteraz üzerindeki inhibitör etkisi incelendiğinde ve CT'ler, 64.19 µg/mL IC₅₀ değeri ile güçlü CE inhibitör aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Li *et al.* 2009). *Camellia nitidissima* Chi, pankreas kolesterol esteraza karşı 200 µg/mL IC₅₀ değeri ile kolesterol miselizasyonu üzerinde doza bağlı olarak önemli bir şekilde güçlü bir inhibitör etkiye sahiptir (Zhang *et al.* 2020).

Bu tez kapsamında fenolik bileşiğin pankreatik kolesterol esteraz enzim aktivitesi üzerinde inhibisyon etkisi test edildi. Fenolik bileşiklerden 7' si de enzim üzerinde inhibisyon etkisi gösterdi. Enzim üzerinde en yüksek inhibisyon etki gösteren bileşik Oleropin (IC₅₀:13 µM/mL) olmuştur. Onu sırasıyla (-)-Kateşin gallat (IC₅₀:17 µM/mL), Vitexin 2-o-Rhamnosit (IC₅₀:25 µM/mL), Mirisetin (IC₅₀:26 µM/mL), Glabridin (IC₅₀:33 µM/mL), Kemferol (IC₅₀:36 µM/mL) ve Morin Hidrat (IC₅₀: 64 µM/mL) takip etmiştir.

Tez kapsamında incelediğimiz 7 adet fenolik bileşiğin pankreatik kolesterol esteraz enzim inhibisyonuna ait IC₅₀ değerleri genel anlamda daha düşüktür. Li *et al.* 2010' un yürüttüğü çalışmada kırk beş izokumarin fosfor analogu (yani fosfaizokumarinler) hazırlanmış ve bu bileşiklerin CE üzerindeki inhibisyonunu araştırılmıştır. Sonuçlar, bazı fosfoizokumarinlerin sırasıyla 48 µg/ mL, 23 µg/ mL ve 19 µg/ mL IC₅₀ değerleri ile güçlü CE inhibitörleri olarak kullanılabileceklerini göstermiştir. Böylece incelediğimiz 7 adet fenolik bileşiğe ait IC₅₀ değerleri genel anlamda daha düşük olduğu için pankreatik kolesterol enzim inhibisyonuna katkıları daha etkili olacaktır.

Bileşiklerin enzim aktivitesini nasıl etkilediğini anlamak üzere docking çalışmaları yapılmıştır. Bu bileşiklerde aromatik halkalar üzerinde bioaktivitelerini sağlayan farklı sayılardaki fonksiyonel grupların olması ile enzim ile moleküller

arasında hidrojen bağları, van der wals etkileşimleri ve hidrofobik etkileşimler olmuştur ve böylece bu etkileşimlerin enzim inhibisyonunda önemli bir etken olduğu görölmüştür. *İn silico* ve *in vitro* sonuçlar arasında korelasyon görölmektedir.

Tez kapsamında incelediğimiz fenolik bileşiklerden oleropinin enzim üzerinde daha yüksek inhibisyon etkisi görölmektedir. Sebebi incelendiğinde Şekil 4.14.' de göröldüğü gibi oleropinde daha çok görülen hidrojen bağları bulunmaktadır. Oleropin hidrojen bağları sayesinde enzime daha kuvvetli bağlanmakta ve bu sayede güçlü bir inhibisyon etki göstermektedir. Docking çalışması, oleropin bileşiğinin kolesterol esteraz enziminin bağlayıcı cebine iyi oturduğunu ve CE' ın ester hidroliz mekanizmasına katılmasını engelleyerek etkisini göstermiştir.

Tezimiz kapsamında incelediğimiz fenolik bileşiklerin enzim aktivitesini önemli ölçüde etkilediği gözlemlenmiştir. Bu moleküllerden yola çıkarak daha aktif moleküller sentezlenebilir.

KAYNAKLAR

- Adem, S., Comakli, V., Kuzu, M., & Demirdag, R. (2014). Investigation of the Effects of Some Phenolic Compounds on the Activities of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase and 6-Phosphogluconate Dehydrogenase from Human Erythrocytes. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 28(11), 510-514.
- Adisakwattana , S., Moonrat, J., Srichairat , S., Chanasit, C., Tirapongporn, H., Chanathong, B., & Sapwarobol, S. (2010). Lipid-Lowering Mechanisms of Grape Seed Extract (*Vitis vinifera* L) and Its Antihyperlidemic Activity. *J Med Plants Res* , 4, 2113-2120.
- Adisakwattana, S., Intrawangso , J., Hemrid, A., Chanathong, B., & Mäkynen, K. (2012). Extracts of Edible Plants Inhibit Pancreatic Lipase, Cholesterol Esterase and Cholesterol Micellization, and Bind Bile Acids. *Food Technology and Biotechnology*, 50(1), 11-16.
- Ahmed, S., Hayat, M., Tahir, M., Mansoor, Q., Ismail, M., Keck, K., & Bates, R. (2016). Pharmacologically Active Flavonoids from the Anticancer, Antioxidant and Antimicrobial Extracts of *Cassia Angustifolia* Vahl. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1). doi:10.1186/s12906-016-1443-z
- Aissata, K., Wenping, L., Lamine, T., Barra, C., Sidibe Sidikiba, S., Sidikiba, S., . . . et al. (2019). Effect of Selected Plant Extracts on Pancreatic Lipase Inhibition, Pancreatic Cholesterol Esterase Activities and Cholesterol Micellization. *Journal of Academia and Industrial Research*, 7(11).
- Aksu, N., & Sabuncuoğlu, S. (2019). Oxysterols: Cellular Effects and Relations with Chronical Diseases. *Journal of Literature Pharmacy Sciences*, 8(3), 225-234.
- Ao, M., Shi, Y., Cui, Y., Guo, W., Wang, J., & Yu, L. (2010). Factors Influencing Glabridin Stability. *Natural Product Communications*, 5(12), 1907-1912.

- Aslan, E., & Adem, S. (2015a). In Vitro Effects of Some Flavones on Human Pyruvate Kinase Isoenzyme M2. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 29(3), 109-113.
- Aslan, E., & Adem, S. (2015b). Investigation of the Effects of Some Drugs and Phenolic Compounds on Human Dihydrofolate Reductase Activity. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 29(3), 135-139.
- Aslan, E., Guler, C., & Adem, S. (2016). In vitro effects of some flavonoids and phenolic acids on human pyruvate kinase isoenzyme M2. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 31(2), 314-317.
- Asmaa , B., & N. (2016). In Vitro Screening of the Pancreatic Cholesterol Esterase Inhibitory Activity of Some Medicinal Plants Grown in Syria. *Int J Pharmacogn Phytochem Res.*, 8(8), 1432–1436.
- Atak, E., & Uslu, M. E. (2018). Fenolik Bileşikler, Ekstraksiyon Metotları ve Analiz Yöntemleri. *Manisa Celal Bayar Üniversitesi Soma Meslek Yüksekokulu Teknik Bilimler Dergisi*, 27(III), 39-48.
- Ateşşahin, D. (2016). *Deneyisel Hiperkolesterolemi Oluşturulan Sıçanlarda Likopenin Kolesterol Düzeyleri ve Oksidatif Stres Üzerine Etkileri*. Doktora Tezi. Elazığ: T.C. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı.
- Atik, İ., & Dıraman, H. (2019). Prominent Features of Commonly Consumed Allium Species and Effects on Human Health. *Journal of Food and Feed Science - Technology*, 21, 1-8.
- Babaei, F., Moafizad, A., Darvishvand, Z., Mirzababaei, M., Hosseinzadeh, H., & Nassiri-Asl, M. (2020). Review of the effects of vitexin in oxidative stress-related diseases. *Food Science and Nutrition*, 8, 2569-2580.
- Başaran, Ö. (2020). Statin Intolerance. *Updates in Cardiology Journal of the Turkish Society of Cardiology*, 3(1), 20-24.
- Bayram, M., Topuz, S., & Kaya, C. (2020). Antioxidant, Antimicrobial Activity of Olive Leaf Extract and Oleuropein, Their Possibilities Usage in Foods. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 8(2), 337-347.

- Bingöl, G. (1977). *Vitaminler ve Enzimler*. Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları Ders Kitabı Serisi No: 46.
- Birari, R., & Bhutani , K. (2007). Pancreatic Lipase Inhibitors From Natural Sources: Unexplored Potential. *Drug Discov Today*, 12, 879–889.
- Brodt-Eppley , J., White , P., Jenkins , S., & Hui , D. (1995;1272:69–72.). Plasma Cholesterol Esterase Level is a Determinant for an Atherogenic Lipoprotein Profile in Normolipidemic Human Subjects. *Biochim Biophys Acta*, 1272, 69-72.
- Carson , J., Lichtenstein , A., Anderson, C., Appel , L., Kris-Etherton, P., Meyer, K., & et al. (2020). Dietary Cholesterol and Cardiovascular Risk: A Science Advisory From the American Heart Association. *Circulation*, 141, e39-e53.
- Charehsaz, M., Gürbay, A., Karakılıç, M., & Şahin, G. (2012). Teofilinin İlaç, Diyet, Bazı Ksenobiyotik ve Alışkanlıklarla Etkileşmesi ve Toksikolojik Sonuçları. *Journal of Clinical and Analytical Medicine* |, 3(1), 117-122.
- Chooi, Y., Ding , C., & Magkos , F. (2019). The Epidemiology of Obesity. *T Metabolism*, 92, 6-10.
- Comakli, V., Adem, S., Oztekin, A., & Demirdag, R. (2020). Screening Inhibitory Effects of Selected Flavonoids on Human Recombinant Aldose Reductase Enzyme: In Vitro and In Silico Study. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 1-7.
- Cüre, K., Kocatürk, E., & Kızıldağ, U. (2016). Fasiyal Hiperpigmentasyonlar ve Tedavisi. *Okmeydanı Tıp Dergisi*, 32(4), 211-218.
- Çağlayan, C. (2019). Morin'in Karbonik Anhidraz, Asetilkolinesteraz ve α -glukozidaz Enzimleri Üzerindeki. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(3), 1443-1451.
- de la Rosa, L., Moreno-Escamilla , J., Rodrigo-García, J., & Alvarez-Parrilla, E. (2019). Phenolic Compounds. *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables* (s. 253-271). içinde

- Deck , L. M., Baca , M. L., Salas , S. L., Hunsaker , L. A., & Vander Jagt, D. L. (1999). 3-Alkyl-6-chloro-2-pyrones: selective inhibitors of pancreatic cholesterol esterase. *Journal of medicinal chemistry*, 42(20), 4250-4256.
- Demir, Y., Işık, M., Gülçin, İ., & Beydemir, Ş. (2017). Phenolic Compounds Inhibit the Aldose Reductase Enzyme From the Sheep Kidney. *Journal of Biochemical and Moleküler Toxicology*.
- Devlin, T. (2002). *Biochemistry with clinical correlations* (5th Ed b.). New York: Wiley-Liss Inc.
- Glisan, S., Grove, K., Yennawar, N., & Lambert, J. (2017). Inhibition of Pancreatic Lipase by Black Tea Theaflavins: Comparative Enzymology and In silico Modeling Studies. *Food Chemistry*, 216, 296-300.
- Gözükara, E. (1989). *Biyokimya*. Ankara: Ofset Repromat Basımevi.
- Gürdöl, F. (2015). *Tıbbi Biyokimya*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
- Hafiane, A., Gasbarrino , K., & Daskalopoulou, S. (2019). The Role of Adiponectin in Cholesterol Efflux and HDL Biogenesis and Metabolism. *Metabolism*, 100, 1-11. doi:10.1016/j.metabol.2019.153953
- Hatch , M. S., Brown , W. M., Deck , J. A., Hunsaker , L. A., Deck, L. M., & Vander Jagt, D. L. (2002). Inhibition of yeast lipase (CRL1) and cholesterol esterase (CRL3) by 6-chloro-2-pyrones: comparison with porcine cholesterol esterase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1596(2), 381-391.
- Heynekamp, J., Hunsaker, L., Jagt, T., Royer, R., Decka, L., & Jagt, D. (2008). Isocoumarin-Based Inhibitors of Pancreatic Cholesterol Esterase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16, 5285–5294.
- Hocaoğlu, A. (2010). *Astım Modeli Oluştur BALB/c Farelerde Glycyrrhizin2'in Akciğerde Mevcut Kronik Histolojik Değişiklikler Üzerine Etkileri*. Yan Dal Uzmanlık Tezi. İzmir: T.C. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı.

- Howles, P., Carter, C., & Hui, D. (1996). Dietary Free and Esterified Cholesterol Absorption in Cholesterol Esterase (Bile Salt-Stimulated Lipase) Gene-Targeted Mice. *J Biol Chem*, 271, 7196-7202.
- Hui, D. Y., & Howles, P. N. (2002). Carboxyl Ester Lipase:Structure-Function Relationship and Physiological Role in Lipoprotein Metabolism and Atherosclerosis". *Journal of Lipid Research*, 43(12), 2017-2030.
- Jeon , S., & Imm , J. (2014). Lipase Inhibition and Cholesterol-Lowering Activities of Lactase-Catalyzed Catechin Polymers. *Food Sci Biotechnol*, 23, 1703–1707.
- Karlıbaş, H. (2008). *Kanserli Hastalarla Kolesterol Düşüklüğü Arasında Sebep Sonuç İlişkisi*. Uzmanlık Tezi. İstanbul: T.C Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Aile Hekimliği.
- Keha, E., & Küfrevioğlu, Ö. İ. (2012). *Biyokimya*. İstanbul: Aktif Yayınevi.
- Kılıç Altun, S., & Aydemir, M. (2020). Phenolic Characterization of Some Propolis Samples of Anatolia. *Journal of Bahri Dagdas Animal Research*, 9(2), 97-104.
- Kılıç, S., & Karataş, F. (2017). Van Kedisi Eritrositi'nden 6-Fosfoglukonat Dehidrogenaz Enzimi (E.C. 1.1.1.44)'nin Saflaştırılması, Karakterizasyonu ve Kinetik Özellikleri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 12(2), 187-194.
- Koolman, J., & Roehm, K. (2005). *Color Atlas Of Biochemistry*. New York: Thieme Stuttgart.
- Kris-Etherton, P. M., Hecker , K. D., Bonanome, A., Coval , S. M., Binkoski, A. E., Hilpert, K. F., & et al. (2002). Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *The American journal of medicine*, 113(9), 71-88.
- Kumar, P., Umamaheswari, T. M., Subhadradevi, V., & Jagannath, P. (2011). Cholesterol Esterase Enzyme Inhibitory and Antioxidant Activities of Leaves of Camellia Sinensis (L.) Kuntze. Using In Vitro Models. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(11), 2923-2928.

- Kumar, S., & Pandey, A. (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*, 16. <https://doi.org/10.1155/2013/162750> adresinden alındı
- Kurnaz, Ç., & Gül, B. (2018). Determination of the relationship between sodium ring width on iris and cholesterol level. *Gazi Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 33(4), 1557-1568.
- Lehninger A. L. (1993). *Principles of Biochemistry* (2th Edition b.). New York: Worth Publisher Inc.
- Li , X., Jiang , H., Pu , Y., Cao, J., & Jiang W, W. (2019). Inhibitory Effect of Condensed Tannins from Banana Pulp on Cholesterol Esterase and Mechanisms of Interaction. *J Agric Food Chem*, 67(51), 14066–14073.
- Li, B., Zhou, B., Lu, H., Ma, L., & Peng, A.-Y. (2010). Phosphaisocoumarins as a New Class of Potent Inhibitors for Pancreatic. *European Journal of Medicinal Chemistry*(45), 1955-1963.
- Li, J. H., Qian Lao , X., Tillmann , H. L., Rowell, J., Patel , K., Thompson A , A., & et al. (2010). Interferon-lambda genotype and low serum low-density lipoprotein cholesterol levels in patients with chronic hepatitis C infection. *Hepatology*, 51(6), 1904-1911.
- Lin , G., Shieh , C.-T., Tsai , Y.-C., Hwang, C.-I., Lu , C.-P., & Chen, G.-H. (1999). Structure-reactivity probes for active site shapes of cholesterol esterase by carbamate inhibitors. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1431(2), 500-511.
- Lloyd-Jones , D. M., Morris , P. B., Ballantyne , C. M., Birtcher, K. K., Daly, D. D., Depalma, S. M., & et al. (2016). 2016 ACC Expert Consensus Decision Pathway on the Role of Non-Statins Therapies for LDL-Cholesterol Lowering in the Management of Atherosclerotic Cardiovascular Disease Risk A Report of the American College of Cardiology Task Force on Clinical Expert Conse. *Journal of the American College of Cardiology*, 68(1), 92-125.

- Luo, J., Yang, H., & Song, B. (2020). Mechanisms and regulation of cholesterol homeostasis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 21(4), 225-245. <https://doi.org/10.1038/s41580-019-0190-7> adresinden alındı
- Madeswaran , A., Umamaheswari, M., Asokkumar , K., Sivashanmugam , T., Subhadradevi , V., & Jagannath , P. (Madeswaran A, Umamaheswari M, Asokkumar K, Sivashanmugam T, Subhadradevi V, Jagannath P. In silico docking studies of phosphodiesterase inhibitory acti2012). In *Silico Docking Studies of Phosphodiesterase Inhibitory Activity of Commercially Available Flavonoids. Orient Pharm Exp Med.*, 12(4), 301–306.
- nee'Nigam, P. S. (2009). Production of bioactive secondary metabolites. *Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation* (s. 129-145). içinde Springer.
- Ngamukote, S., Mäkynen, K., Thilawech , T., & Adisakwattana, S. (2011). Cholesterol-Lowering Activity of the Major Polyphenols in Grape Seed. *Molecules* , 16, 5054-5061.
- Nie, Y., & Stürzenbaum, S. (2019). Proanthocyanidins of Natural Origin: Molecular Mechanisms and Implications for Lipid Disorder and Aging-Associated Diseases. *Advances in Nutrition*, 10(3), 464-478.
- Özmatara, M. (2020). The Antioxidant Activity of Apium Graveolens. *International Journal of Food Engineering Research*, 6(1), 17-23.
- Öztürk, D., Tanyeli, A., Erdoğan, D., Güler, M., Eraslan, E., & Baylan, H. (2021). The Effects of Myricetin Against Testicular and Lung Injury Induced by Testicular Ischemia Reperfusion Model. *Sakarya Medical Journal*, 11(1), 109-114.
- Özyazıcı, A. (2020). *Research in Medicinal and Aromatic Plants*. Ankara: Iksad Publications.
- Peng, G., Du, Y., Wei, Y., Tang, J., Peng, A.-Y., & Rao, L. (2011). A new synthesis of fully phosphorylated flavones as potent pancreatic cholesterol esterase inhibitors. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 9, 2530-2534.

- Pietsch, M., & Gütschow, M. (2002). Alternate Substrate Inhibition of Cholesterol Esterase by Thieno[2,3-d][1,3]oxazin-4-ones. *Journal of Biological Chemistry*, 277(27), 24006-24013.
- Repa, J., & Mangelsdorf, D. (2000). The Role of Orphan Nuclear Receptors in the Regulation of Cholesterol Homeostasis. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 16, 459-481. doi:10.1146/annurev.cellbio.16.1.459
- Rice-Evans, C. (2001). Flavonoid antioxidants. *Current medicinal chemistry*, 8(7), 797-807.
- Sakunpak, A., Saingam, W., Jaisamut, S., Issuriya, A., & Ruangrunsi, N. (2021). Pyranocarbazole Alkaloids, Isolated from *Clausena Cambodiana* Leaves, as a Pancreatic Cholesterol Esterase Inhibitor, and Their HPLC–DAD Quantitative Determination Method. *Chemical Papers*, 75(6), 2451-2458. <https://doi.org/10.1007/s11696-020-01471-0> adresinden alındı
- Sathishkumar, T., Suriyakala, V., Lakshmanabharathy, M., Suganya, S., Kumaresan, K., Rapheal, V., & et al. (2020). Sathishkumar T, Suriyakala V, Lakshmanabharathy M, Suganya S, Kumaresan K, Raph In Vitro Cholesterol Esterase Inhibitory Activity of Some Purified Phenolic Acids from *Agaricus Bisporus*: An Investigation of Cardioprotective Properties. *Jundishapur J Nat Pharm Prod*, 15(2), 4-11.
- Seçkin, A. K., & Metin, M. (2004). Süt ve Ürünlerinde Kolesterol Oksidasyon. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 10(2), 267-274.
- Sevinç, İ. A., & Ercoşkun, H. (2020). Kırmızı Et Tüketimi, Kolesterol ve Beslenme. *Gıda ve Yem Bilimi - Teknolojisi Dergisi*, 24(4), 1-7.
- Seyedan, A., Alshawsh, M., Alshagga, M., Koosha, S., & Mohamed, Z. (2015). Medicinal Plants and Their Inhibitory Activities Against Pancreatic Lipase: A Review. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015(973143).
- Shirahigue, L. D., & Antonini, S. C. (2020). Agro-industrial wastes as sources of bioactive compounds for. *Ciência Rural*, 50(4), 1-17.

- Singh, J., Kaur , A., Bhagat , K., Gupta , M. K., Singh , M., Singh, H., & et al. (2017). 5,6-Benzoflavones as cholesterol esterase inhibitors: synthesis, biological evaluation and docking studies. *Medchemcomm.* , 9(3), 490-502.
- Soliman, G. (2018). Dietary Cholesterol and the Lack of Evidence in Cardiovascular Disease. *Nutrients*, 10(6). doi:10.3390/nu10060780
- Sompong, W., Muangngam, N., Kongpatpharnich, A., Manacharoenlarp, C., Amorworasin, C., Suantawee, T., & et al. (2016). The inhibitory activity of herbal medicines on the keys enzymes and steps related to carbohydrate and lipid digestion. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(439), 439.
- Sonal Sekhar, M., Marupuru, S., Reddy, B., Kurian, S., & Rao, M. (2020). Physiological role of cholesterol in human body. H. Preuss, & D. Bagchi içinde, *Dietary Sugar, Salt and Fat in Human Health* (s. 453-481). Academic Press. doi:10.1016/B978-0-12-816918-6.00021-4
- Stone , N. J., Robinson , J. G., Lichtenstein , A. H., Bairey Merz, C. N., Blum, C. B., Eckel, R. H., & et al. (2014). 2013 ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: A report of the American college of cardiology/ American heart association task force on practice guidelines. *Journal of the American College of Cardiology*, 63(25 PART B), 2889-2934.
- Su, J., Wang, H., Ma, C., Liu , C., Gao, C., Nie, R., & Rahman, M. (2016). Hypocholesterolaemic Mechanism of Bitter Melon Aqueous Extracts Via Inhibition of Pancreatic Cholesterol Esterase and Reduction of Cholesterol Micellar Solubility . *Hypocholesterolaemic mechanism of bitter melon aqueous extracts via inhibition of pancreatic cholesterol esterase and reduction of cholesterol micellar solubility*International Journal of Food Sciences and Nutrition, 67(1), 1-9.
- Sugihara, N., Ohnishi, M., Imamura, M., & Furuno, K. (2001). Differences in Antioxidative Efficiency of Catechins in Various Metal-Induced Lipid Peroxidations in Cultured Hepatocytes. *Journal of Healty Science*, 47(2), 99-106.

- Terzyan, S., Wang, C.-S., Downs, D., Hunter, B., & C. Zhang, X. (2000). Crystal Structure of the Catalytic Domain. *Protein Science*, 9(9), 1783-1790.
- Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. (2002). 106, 3143-4217.
- Thirumalaisamy, S., Muthukrishnan, S., Umamaheswari, M., Asokkumar, K., Subhadradevi, V., Jagannath, P., & Madeswaran, A. (2013). Discovery of potential cholesterol esterase inhibitors using in silico docking studies. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 8, 223-229.
- Tina, B., & Melzig, M. (2015). Polyphenolic Compounds as Pancreatic Lipase Inhibitors. *Planta Medica*, 81(10), 771-783.
- Tina, B., Melzig, M., & Czerwińska, M. (2019). In Vitro α -amylase and Pancreatic Lipase Inhibitory Activity of Cornus Mas L. and Cornus alba L. fruit Extracts. *Journal of Food and Drug Analysis*, 27(1), 249-258.
- Topdağı, Y., Tanyeli, A., Akdemir, F., Eraslan, E., & Güler, M. (2021). Myricetin Decreases Ovarian and Lung Tissue Injury Induced by Ovarian Torsion/Detorsion: A Biochemical Study. *Southern Clinics of Istanbul Eurasia*, 32(1), 25-29.
- Tuna, E. (2017). *Kolesterol ve Lactobacillus Acidophilus' un Ratlarda Testikular Fonksiyona Etkisinin Araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi. Samsun: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veterinerlik Biyokimyası Anabilim Dalı.
- Tungmunnithum, D., Thongboonyou, A., Pholboon, A., & Yangsabai, A. (2018). Flavonoids and Other Phenolic Compounds from Medicinal Plants for Pharmaceutical and Medical Aspects: An Overview. *Medicines*, 5(3).
- Turgut, M., Kocamaz, H., Avcı, E., & Yaka, M. (2020). The Ameliorative Effects of Kaempferol, Curcumin and Kaempferol-Curcumin Combination on Experimental Acute Pancreatitis. *Pamukkale Medical Journal*, 13(1), 101-108.

- Üstün, Ç., & Demirci, N. (2013). The Plant of Tea (*Camellia Sinensis* L.) Historical Development and Medical Evaluation. *Lokman Hekim Journal*, 3(3), 5-12.
- Varghese , G., Abraham, R., Chandran , N., & Habtemariam , S. (2019). Identification of Lead Molecules in *Garcinia mangostana* L. Against Pancreatic Cholesterol Esterase Activity: An In Silico Approach. *Interdiscip Sci Comput Life Sci.*, 11(2), 170–179.
- Vuolo, M., Lima, V., & Junior, M. (2019). Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power. *Bioactive Compounds* (s. 33-50). içinde Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00002-5> adresinden alındı
- Wang, L., Song, B., & Niemann-Pick. (2012). Niemann-Pick C1-Like 1 and cholesterol uptake. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*, 1821(7), 964-972. doi:10.1016/j.bbalip.2012.03.004
- Wei, Y., Peng, A.-Y., Wang, B., Ma, L., Peng, G., Du, Y., & Tang, J. (2014). Synthesis and biological evaluation of phosphorylated flavonoids as potent and selective inhibitors of cholesterol esterase. *European Journal of Medicinal Chemistry* (Cilt 74, s. 751-758). içinde <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.03.025> adresinden alındı
- Yang, Z., Hao, D., Che, Y., Zhang , L., & Zhang, S. (2018). Structural Basis and Functional Mechanism of Lipoprotein in Cholesterol Transport. M. N. Nagpal (Dü.) içinde, *Cholesterol - Good, Bad and the Heart*. IntechOpen.
- Yu, X.-H., Zhang, D.-W., Zheng, X.-L., & Tang, C.-K. (2019). Cholesterol transport system: An integrated cholesterol transport model involved in atherosclerosis. *Progress in Lipid Research* (Cilt 73, s. 65-91). içinde Prog Lipid Res. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2018.12.002> adresinden alındı
- Zampelas, A., & Magriplis, E. (2019). New Insights into Cholesterol Functions: A Friend or. *Nutrients*, 11(7), 1645. www.mdpi.com/journal/nutrients adresinden alındı

Zhang, H.-l., Wu, Q.-x., Wei, X., & Qin, X.-m. (2020). Pancreatic lipase and cholesterol esterase inhibitory effect of *Camellia nitidissima* Chi flower extracts in vitro and in vivo. *Food Bioscience* (Cilt 37). içinde Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100682> adresinden alındı

(2021, 03 27). PubChem: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6419835> adresinden alındı

(2021, 3 25). Cayman Chemical: [https://www.caymanchem.com/product/24963/\(%E2%88%92\)-catechin-gallate](https://www.caymanchem.com/product/24963/(%E2%88%92)-catechin-gallate) adresinden alındı