



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS

**ÜREAZ ENZİMİNİN BAZI TIBBİ BİTKİLER
TARAFINDAN İNHİBİSYONU**

**Yasemin DİNÇ
Kimya Anabilim Dalı
Biyokimya Programı**

**Danışman
Prof.Dr. Refiye YANARDAĞ**

Aralık, 2009

İSTANBUL



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS

**ÜREAZ ENZİMİNİN BAZI TIBBİ BİTKİLER
TARAFINDAN İNHİBİSYONU**

**Yasemin DİNÇ
Kimya Anabilim Dalı
Biyokimya Programı**

**Danışman
Prof.Dr. Refiye YANARDAĞ**

Aralık, 2009

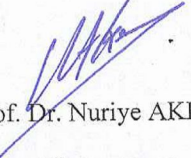
İSTANBUL

Bu çalışma 14.01.2010 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı Biyokimya programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

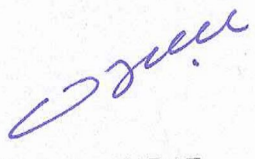
Tez Jürisi


Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ (Danışman)

İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi
Kimya Bölümü Biyokimya Anabilim Dalı


Prof. Dr. Nuriye AKEV


İstanbul Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı


Prof. Dr. Ayşen YARAT

Marmara Üniversitesi
Dış Hekimliği Fakültesi
Biyokimya Bilim Dalı


Prof. Dr. İnci ARISAN ATAÇ

Yıldız Teknik Üniversitesi
Fen Edebiyat Fakültesi
Kimya Bölümü
Biyokimya Anabilim Dalı


Prof. Dr. Ayşe YUSUFOĞLU
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi
Kimya Bölümü Organik Kimya Anabilim Dalı

Bu çalışma **İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Biriminin T-2856** numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimim sırasında, tez çalışmalarımın yürütülmesi ve değerlendirilmesinde yardım ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım boyunca benden yardımlarını ve desteğini esirgemeyen hocam Sayın Yrd. Doç. Özlem SAÇAN'a teşekkür ederim. Ayrıca Yrd. Doç. Sevim TUNALI'ya, Arş. Gör. Mutluhan DÖĞER'e, Arş.Gör. Bertan BAYRAK'a, Arş.Gör. İ. Burcu TÜRKYILMAZ'a ve diğer çalışma arkadaşlarıma bana gösterdikleri ilgi ve anlayıştan dolayı teşekkür ederim.

Hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen ve bugünlere gelmemi sağlayan sevgili aileme en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Çalışmamın uygulama kısmını destekleyen İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim. Ayrıca Eczacıbaşı İlaç A.Ş. ve İlsan İlaç A.Ş.'lerine ilaç etken maddelerini sağladıkları için teşekkür ederim.

İstanbul, Aralık, 2009

Yasemin DİNÇ

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|------|
| ÖNSÖZ | i |
| İÇİNDEKİLER | ii |
| ŞEKİL LİSTESİ | v |
| TABLO LİSTESİ | vii |
| SEMBOL LİSTESİ | viii |
| ÖZET | ix |
| SUMMARY | x |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. GENEL KISIMLAR..... | 3 |
| 2.1. ENZİMLER VE GENEL ÖZELLİKLERİ..... | 3 |
| 2.2. ENZİMLERİN YAPISI..... | 4 |
| 2.3. ENZİMLERİN ADLANDIRILMASI VE SINIFLANDIRILMASI | 6 |
| 2.4. ENZİMLERE ETKİ EDEN ETMENLER | 7 |
| 2.4.1. Enzim Konsantrasyonu | 8 |
| 2.4.2. Substrat Konsantrasyonu..... | 8 |
| 2.4.3. Sıcaklık | 9 |
| 2.4.4. Ortamın pH'sı | 10 |
| 2.4.5. Zaman | 10 |
| 2.4.6. Reaksiyon Ürünleri | 10 |
| 2.4.7. Işık ve Diğer Fiziksel Etmenler | 10 |
| 2.4.8. Hormonlar ve Diğer Biyokimyasal Maddeler | 10 |
| 2.5. ENZİM İNHİBİSYONU | 11 |
| 2.5.1. Reversibl (Geri Dönüşümlü) Enzim İnhibisyonu | 11 |

| | |
|---|-----------|
| 2.5.1.1. <i>Kompetitif (yarışmalı) Enzim İnhibisyonu</i> | 11 |
| 2.5.1.2. <i>Nonkompetitif (yarışmasız) Enzim İnhibisyonu</i> | 12 |
| 2.5.1.3. <i>Ankompetitif (yarı yarışmalı) Enzim İnhibisyonu</i> | 13 |
| 2.5.2. Irreversibl (Geri Dönüşümsüz) Enzim İnhibisyonu | 14 |
| 2.6. ENZİMLERDEN TIP ALANINDA YARARLANILMASI | 14 |
| 2.7. ENZİMLERDEN YARARLANILARAK YAPILAN TEDAVİLER | 16 |
| 2.8. DİÜRETİKLER | 17 |
| 2.8.1. Böbeklerde Su Metabolizması | 19 |
| 2.8.2. Diüretiklerin Sınıflandırılması | 20 |
| 2.8.2.1. <i>Karbonik Anhidraz İnhibitörleri</i> | 20 |
| 2.8.2.2. <i>Osmotik Diüretikler</i> | 22 |
| 2.8.2.3. <i>Kıvrım(Loop)Diüretikler</i> | 23 |
| 2.8.2.4. <i>Tiyazid Grubu Diüretikler</i> | 24 |
| 2.8.2.5. <i>Potasyum Tutucu Diüretikler</i> | 26 |
| 2.9. DİÜRETİK ÖZELLİĞİNE SAHİP DOĞAL İLAÇLAR | 28 |
| 2.10. ÜREAZ | 29 |
| 2.10.1. Üreaz Enziminin Yapısı | 31 |
| 2.10.2. Bitki Metabolizmasında Üreazların Rolü | 35 |
| 2.10.3. Üreaz Enzim İnhibitörleri | 36 |
| 2.10.4. Üreaz Enziminin Kullanım Alanları | 40 |
| 3. MALZEME VE YÖNTEM | 43 |
| 3.1. DENEYLERDE KULLANILAN ALETLER VE KİMYASAL MADDELER | 43 |
| 3.2. ENZİM İNHİBİSYONU TAYİNLERİNDE KULLANILAN BİTKİ | |
| MATERYALLERİ | 43 |
| 3.2.1. Sulu Ekstrelerin Hazırlanması | 45 |
| 3.2.2. Etil Alkollü Ekstrelerin Hazırlanması | 45 |
| 3.3. ENZİM İNHİBİSYONU TAYİNLERİNDE KULLANILAN İLAÇ ETKEN | |
| MADDELERİ | 45 |
| 3.4. ENZİM İNHİBİSYONU TAYİNLERİNDE KULLANILAN ORGANİK VE | |
| ANORGANİK MADDELER | 46 |
| 3.5. ÜREAZ İNHİBİTÖR ETKİSİNİN ÖLÇÜLMESİ | 47 |
| 4. BULGULAR | 49 |
| 4.1. BİTKİ EKSTRELERİNİN ÜREAZ İNHİBİTÖRÜ ETKİSİ | 49 |

| | |
|---|----|
| 4.2. İLAÇ ETKEN MADDELERİNİN ÜREAZ İNHİBİTÖRÜ ETKİSİ..... | 69 |
| 4.3. ORGANİK VE ANORGANİK MADDELERİN ÜREAZ İNHİBİTÖRÜ ETKİSİ. | 73 |
| 5. TARTIŞMA VE SONUÇ | 76 |
| KAYNAKLAR | 81 |
| ÖZGEÇMİŞ | 89 |

ŞEKİL LİSTESİ

| | | |
|-----------------|---|----|
| Şekil 2.1.1 | : Enzim substrat ilişkisi | 4 |
| Şekil 2.4.1.1 | : Enzim konsantrasyonunun reaksiyon hızına etkisi | 8 |
| Şekil 2.4.2.1 | : Substrat miktarının reaksiyon hızına etkisi | 9 |
| Şekil 2.4.3.1 | : Sıcaklığın reaksiyon hızına etkisi | 9 |
| Şekil 2.5.1.1.1 | : Kompetitif enzim inhibisyonu | 12 |
| Şekil 2.5.1.2.1 | : Nonkompetitif enzim inhibisyonu | 13 |
| Şekil 2.5.1.3.1 | : Ankompetitif enzim inhibisyonu | 14 |
| Şekil 2.8.1 | : Nefron kısımları | 19 |
| Şekil 2.8.1.1 | : Nefronlarda su metabolizması | 20 |
| Şekil 2.8.2.1.1 | : Karbonik anhidraz reaksiyonu | 21 |
| Şekil 2.8.2.1.2 | : Asetazolamid formülü | 21 |
| Şekil 2.8.2.2.1 | : Mannitol formülü | 23 |
| Şekil 2.8.2.3.1 | : Furosemid formülü | 24 |
| Şekil 2.8.2.3.2 | : Bumetanid formülü | 24 |
| Şekil 2.8.2.3.3 | : Etakrinik asit formülü | 24 |
| Şekil 2.8.2.4.1 | : İndapamid formülü | 25 |
| Şekil 2.8.2.4.2 | : Hidroklorotiyazid formülü | 25 |
| Şekil 2.8.2.5.1 | : Aldosteron formülü | 26 |
| Şekil 2.8.2.5.2 | : Spironolakton formülü | 27 |
| Şekil 2.8.2.5.3 | : Triamteren formülü | 27 |
| Şekil 2.8.2.5.4 | : Amilorit hidroklorür formülü | 27 |
| Şekil 2.10.1 | : Ürenin hidroliz reaksiyonu | 29 |
| Şekil 2.10.2 | : Üreazın kataliz reaksiyonu | 30 |
| Şekil 2.10.3 | : Amonyakın su ile iyonlarına ayrışması | 30 |
| Şekil 2.10.4 | : Karbonik asit ayrışması | 30 |
| Şekil 2.10.1.1 | : Üreaz enziminin üç boyutlu yapısı | 32 |
| Şekil 2.10.1.2 | : <i>Klesbsiella aerogenes</i> üreazının üç boyutlu yapısı | 33 |
| Şekil 2.10.1.3 | : <i>Bacillus pasteurii</i> üreazının üç boyutlu yapısı | 33 |
| Şekil 2.10.1.4 | : <i>Helicobacter pylori</i> üreazının üç boyutlu yapısı | 34 |
| Şekil 2.10.2.1 | : Üre metabolizması | 35 |
| Şekil 2.10.3.1 | : Hidroksiüre formülü | 37 |
| Şekil 2.10.3.2 | : Fenofibrat formülü | 38 |
| Şekil 2.10.3.3 | : Klaritromisin formülü | 38 |
| Şekil 2.10.3.4 | : Lansaprazol formülü | 39 |
| Şekil 2.10.3.5 | : Omeprazol formülü | 40 |
| Şekil 4.1.1 | : Dut yaprağının sulu ekstresinin 15'inci dakikada üreaz % inhibisyon değerleri | 53 |
| Şekil 4.1.2 | : Mısır püskülünün sulu ekstresinin 30'uncu dakikada üreaz % inhibisyon değerleri | 58 |
| Şekil 4.1.3 | : Rokanın etil alkollü ekstresinin 15'inci dakikada üreaz % inhibisyon değerleri | 63 |

| | | |
|--------------------|---|----|
| Şekil 4.1.4 | : Pazının etil alkollü ekstresinin 30'uncu dakikada üreaz % inhibisyon değerleri..... | 68 |
| Şekil 4.2.1 | : Omeprazol ilaç etken maddesinin 15'inci dakikada üreaz % inhibisyon değerleri..... | 70 |
| Şekil 4.2.2 | : Omeprazol ilaç etken maddesinin 30'uncu dakikada üreaz % inhibisyon değerleri..... | 72 |

TABLO LİSTESİ

| | | |
|--------------------|---|----|
| Tablo 3.2.1 | : Bitki materyellerinin latince ismi | 44 |
| Tablo 3.3.1 | : İlaç etken maddelerin sistematik adları..... | 46 |
| Tablo 4.1.1 | : Çeşitli bitkilerden hazırlanan sulu ekstrelerin 15'inci dakikada üreaz üzerindeki % inhibisyon ve IC ₅₀ değerleri..... | 49 |
| Tablo 4.1.2 | : Çeşitli bitkilerden hazırlanan sulu ekstrelerin 30'uncu dakikada üreaz üzerindeki % inhibisyon ve IC ₅₀ değerleri..... | 54 |
| Tablo 4.1.3 | : Çeşitli bitkilerden hazırlanan etil alkollü ekstrelerin 15'inci dakikada üreaz üzerindeki % inhibisyon ve IC ₅₀ değerleri..... | 59 |
| Tablo 4.1.4 | : Çeşitli bitkilerden hazırlanan etil alkollü ekstrelerin 30'uncu dakikada üreaz üzerindeki % inhibisyon ve IC ₅₀ değerleri..... | 64 |
| Tablo 4.2.1 | : Çeşitli ilaç etken maddelerin 15'inci dakikada üreaz üzerindeki % inhibisyon ve IC ₅₀ değerleri..... | 69 |
| Tablo 4.2.2 | : Çeşitli ilaç etken maddelerin 30'uncu dakikada üreaz üzerindeki % inhibisyon ve IC ₅₀ değerleri..... | 71 |
| Tablo 4.3.1 | : Çeşitli organik maddelerin 0.1 µg/mL konsantrasyonda % inhibisyon değerleri..... | 73 |
| Tablo 4.3.2 | : Çeşitli anorganik maddelerin 0.1 µg/mL konsantrasyonda % inhibisyon değerleri..... | 75 |

SEMBOL LİSTESİ

| | |
|------------------------|--|
| RNA | : Ribonükleik asit |
| sAMP | : Siklik adenozinmonofosfat |
| ADH | : Antidiüretik hormon |
| KAH | : Karbonik anhidraz |
| KAU | : <i>Klebsiella aerogenes</i> |
| BPU | : <i>Bacillus pasteurii</i> |
| JBU | : Jack bean üreaz |
| HP | : <i>Helicobacter pylori</i> |
| PPI | : Proton pompası inhibitörü |
| IC₅₀ | : Aktivitenin % 50'sini inhibe eden konsantrasyon değeri |

ÖZET

ÜREAZ ENZİMİNİN BAZI TIBBİ BİTKİLER TARAFINDAN İNHİBİSYONU

Bitkiler binlerce yıldan beri tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Bugün sağlık alanında halk ilaçlarının yerini sentetik ilaçların almasına karşın, dünyanın birçok yerinde doğal ve bitkisel ilaçların kullanılışı hala yaygınlığını sürdürmektedir. Ancak bitkisel halk ilaçlarının bilimsel yönden araştırılarak olumlu ve olumsuz etkilerinin araştırılması halk sağlığı bakımından yararlı olacaktır.

Ülkemizde bitkilerde doğal olarak bulunan enzimler tıpta, sanayide ve daha birçok alanda kullanılmaktadır. Üreaz, hem hayvan, hem bitki, hem de mikroorganizmalarda bulunan azot metabolizmasının önemli enzimlerindedir. Üreaz inhibitörleri çeşitli hastalıklarda yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bu çalışmamızda; sağlık alanında özellikle diüretik etkili, gastrointestinal sistem ve böbrek rahatsızlıklarında kullanılan çeşitli bitki ekstralarının üreaz enzim aktivitesi üzerine inhibisyon etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla bu bitkilerden hazırlanan sulu ve etil alkollü ekstralarının, ilaç fabrikalarından elde edilen ilaç etken maddelerinin ve bazı organik ve anorganik maddelerin üreaz aktivitesi üzerine inhibitör etkileri analiz edildi.

Elde edilen bitki ekstraları, ilaç etken maddeleri ve organik ve anorganik maddelerin üreaz üzerine farklı inhibitör etki gösterdikleri saptandı.

SUMMARY

INHIBITION OF UREASE BY SOME MEDICAL PLANTS

Plants have been used for medicinal purposes thousands of years. Although synthetic drugs take place of common drugs in medicinal area nowadays, in most of the world, the use of natural and plants sources as drugs is still quite widespread. Nevertheless, scientific research on the detection of positive and negative effects of common plant drugs will be useful for public health.

Enzymes, which occur throughout plant kingdom are used in medical, industry and also other different areas. Urease is an important enzyme of nitrogen metabolism that is found in animals, plants and also in many microorganisms. The urease inhibitors are widely used in various diseases

In this study, different plant extracts specially used in healthy area for their diuretic effect and in gastrointestinal system and kidney diseases, are investigated for their inhibitory effect on urease activity. For this purpose, the urease inhibitory effects of water and ethanolic extracts of the plants as well as drug active substances and some organic and anorganic substances were analyzed.

According to the results, it was determined that the plant extracts, drug active substances and organic and anorganic substances showed different inhibitor effects on urease.

1.GİRİŞ

Enzimler canlı organizmada kimyasal reaksiyonları hızlandıran, hiçbir yan ürün oluşumuna fırsat vermeden % 100'lük bir verim sağlayan biyolojik katalizörlerdir. Proteinlerin en büyük özelleşmiş grubunu teşkil etmektedirler.

Enzimler, doğal ortamlar dışında yeterli koşullar sağlandığında dış ortamlarda da etkilerini gösterebilirler ve bundan dolayı pek çok alanda enzimlerden yararlanılabilmektedir. Bu nedenle, enzimlerin yer aldıkları dokuların veya hücrelerin belirlenmesi, biokimyasal reaksiyon işlevlerinin ortaya çıkarılması, etki mekanizmalarının ve kinetik özelliklerinin tüm ayrıntıları ile incelenmesi büyük önem taşımaktadır.

Enzimler ve enzim inhibitörleri tıpta ilaç olarak kullanılmaktadır. Enzim inhibisyonu, farmasötik araştırmalarda önemli bir alandır ve bu alanda yapılan çalışmalar çeşitli hastalıklarda kullanılan ilaçların çeşitliliğine yol açmaktadır.

Ürenin, önemli miktarları biyolojik faaliyetler sonucu oluşmaktadır. Her insan organizması yılda yaklaşık 10 kg üre üretmektedir. Ürenin kendi kendine bozulması uzun bir süre almakla birlikte, üreaz varlığında ürenin hidrolizi 10^4 kat daha hızlı olmaktadır.

Sistematik adı üre amidohidrolaz olan üreaz, üreyi bir mol karbondioksit ve iki mol amonyağa hidroliz eden nikel içerikli bir enzimdir. Üreaz birçok bitki, bakteri, mantar ve omurgasızda bulunmaktadır.

Üreaz belli hayvan ve insan patojenlerinde viral bir etki oluşturur. Üreaz başta peptik ülser, gastrit, mide rahatsızlıkları ve taş oluşumunda katkıda bulunmaktadır. Üreaz

inhibisyon çalışmaları medikal, çevresel ve tarımsal öneme sahiptir. Bu nedenle, üreaz inhibitörleri üzerine birçok çalışmalar yapılmış ve yeni antiülser ilaçlar için hedef olarak kabul edilmiştir.

Bitkilerin yapısında bulunan kimyasal maddeler, sentez edilen kimyasal maddelere göre yan etkilerinin daha az olması ve maliyetlerinin düşük olması nedeniyle, bitkilere ve bitki ekstrelerine olan ilgi giderek artmaktadır. Bu nedenle, bitkilerden ve bitkisel kaynaklı olan birçok bileşikten elde edilen kimyasal maddeler çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Buna paralel olarak bu kullanımların bilimsel dayanağının olup olmadığının araştırılması önem kazanmaktadır. Enzim inhibitörlerinin çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bilindiğinden, çalışmamızda çeşitli bitki ekstrelerinin, ilaç etken maddelerinin, anorganik ve organik kimyasal bileşiklerin üreaz enzimi üzerideki inhibisyon etkileri incelendi.

2. GENEL KISIMLAR

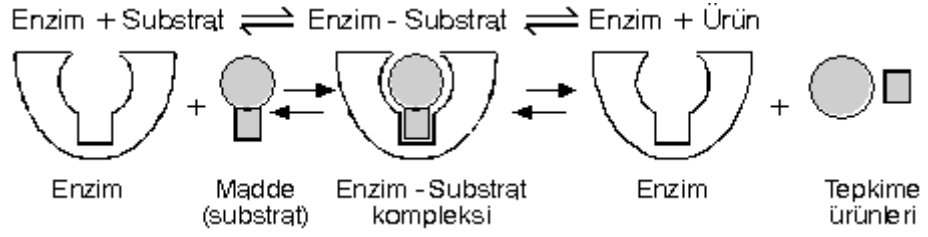
2.1. ENZİMLER VE GENEL ÖZELLİKLERİ

Enzimler, canlı hücrelerde oluşan ve organizmadaki tüm reaksiyonların çok ılıman koşullarda gerçekleşmesini sağlayan protein yapısındaki biyokimyasal katalizörlerdir [1]. Şekerlerden alkol teşekkülü, peynir yapılması, şarabın sirkeleşmesi ve idrarda amonyak teşekkülü gibi enzimatik olaylar tarihten önceki devirlerden beri bilinmektedir. Hücrelerde organik maddelerin yapılması ve yıkılması, sindirim, kas kasılması, hücre solunumu vb. önemli fizyolojik faaliyetler çeşitli metabolizma reaksiyonlarının sonucudur ve bütün bu reaksiyonlar enzimlerin katalitik etkisiyle mümkün olmaktadır. Bu sebeple yaşam birçok enzim reaksiyonlarının bir araya gelmesinden ibaret bir sistem olarak da tanımlanmıştır [2].

İlk enzim çalışmaları, sindirime ilişkin enzimlerin araştırılmaya başlandığı 1760-1825 yılları arasındadır. İlk kez 1825 yılında Berzelius, nişastanın sindiriminde etkili bitkisel enzimler üzerinde çalışmış, 1860 yıllarında Pasteur fermantasyon enzimleri üzerinde araştırmalar yapmıştır. Fermantasyon ile ilişkilerinden dolayı başlangıçta verilen ferment adı 1878 yılında Kühne tarafından Yunanca'da "maya içinde" anlamına gelen enzim ismi ile değiştirilmiştir [3]. İlk enzim molekülü olan üreaz, Amerikalı biolog J.B. Sumner tarafından 1926 yılında soya fasulyesi özütünden saf ve kristalize halde izole edilmiştir. Daha sonraki 1930 ve 1936 yılları arasında pepsin, kimotripsin ve tripsin enzimi başarıyla saflaştırıldı ve kristallerin protein yapısında olduğu doğrulandı. Böylece enzimlerin protein yapısında olduğu kanıtlanmıştır [4].

Enzimler çok etkili ve spesifik katalizörlerdir. Enzimler tepkime hızlarında büyük bir artışı da beraberinde getirme yeteneğine sahiptirler. Enzimle katalize edilen reaksiyonlar, enzimle katalize edilmeyen reaksiyonlardan 10^3-10^{17} defa daha hızlı cereyan ederler. Canlı organizmalar için bu büyüklükteki hız artışları, canlı hücrelerde var olan ılımlı koşullar altında bile, tepkimelere uygun hızlarda gerçekleşmesine fırsat verdikleri için önemlidirler (örneğin yaklaşık olarak nötr pH 'da ve 35°C sıcaklıkta) [5].

Enzimler etki ettikleri maddeler olan substratlar için oldukça spesifikler. Bazı enzimler benzer yapıda bir grup substrata etki ederken bazıları da tek bir molekül türü üzerine etki ederler. Birçok enzim stereospesifite gösterir [1]. Enzimler reaksiyon sırasında fiziksel değişiklikler geçirseler de reaksiyon tamamlandığında, tekrar kendi orijinal hallerine geri dönerler. RNA molekülleri ile katalizlenen birkaç olay bilinmekle beraber enzimlerin hemen hemen hepsi protein yapısındaki katalizörlerdir [6].



Şekil 2.1.1 Enzim substrat ilişkisi

Enzimler, birçok gıdanın yapısında çok az bulunmalarına rağmen gıdalarda önemli görevler üstlenirler. Enzimler, gıdaların doğal yapılarını değiştirebilir ve bazı örneklerde bu değişiklikler kabul edilebilir ama birçok örnek de bu durum istenmez. Bu nedenle istenmeyen durumlarda enzimler inaktive edilirler. Bitkilerin kararması, istenmeyen değişikliklere bir örnektir. Bazı enzimler analitik metodlarda indikatör olarak kullanılır. Örneğin, fosfataz enzimi pastörizasyon işlemlerinde kullanılır. Enzimler, gıda imalatında katkı maddesi olarak da kullanılırlar. Örneğin, rennin enzimi peynir üretimi sırasında sütte koagülant olarak kullanılır [4].

2.2. ENZİMLERİN YAPISI

Enzimler tüm proteinler gibi genler tarafından şifrelenir. Dolayısıyla amino asit dizilimi kendine özgüdür [7]. Enzimde proteini oluşturan amino asitlerin sayısı, diziliş sırası ve moleküllerin yapısı belirli bir düzen içindedir ve bu düzen enzimin substrat seçiciliğini sağlar [1].

Bazı enzimler sadece proteinden oluşurken, bazıları proteinin yanında protein olmayan bir kısım içerirler. Enzimlerin protein kısmına “apoenzim” denir. Bu kısım, enzimin hangi maddeye etki edeceğini saptar. Apoenzim ısı ile kolayca denatüre olur. Yapıları sadece proteinden ibaret olan enzimlere örnek olarak pepsin, tripsin, üreaz ve diğer hidrolaz sınıfı enzimler gösterilebilir. Protein olmayan kısmına ise “kofaktör” denir. Kofaktörler birçok enzimin katalitik aktivite gösterebilmesi için gerekli olan maddelerdir. Kofaktörler, esansiyel iyonlar ve koenzimler (organik bileşikler) olarak ikiye ayrılırlar [1].

Koenzim, organik ya da inorganik, çok defa fosfattan meydana gelmiş, protein kısmına göre çok daha küçük moleküllü olan kısımdır. Enzimde işlev gören ve esas iş yapan kısım bu kısımdır. Koenzim kısmı genellikle protein kısmından ayrılabilir ve analizlerinde birçok vitamini bünyesinde bulundurduğu (tiyamin, niasin, riboflavin vs.) görülmüştür. Koenzim içeren enzimlere nikotinamid nükleotidli enzimler örnek verilebilir. Bazı koenzimler nükleotid yapısındadırlar. Örneğin, niasinamid adenin dinükleotid (NAD^+), niasinamid adenin dinükleotid fosfat (NADP^+) ve birleşik nükleotid olan koenzim A [2].

Koenzimler, apoenzimden kolaylıkla ayrılabilir ancak tek başlarına katalitik etki göstermezler. Koenzim apoenzim kısmına kuvvetlice (kovalent) bağlanmışsa, bu sıkı bağlanan kısma "prostetik grup" denir. Nükleotid yapısında olan prostetik gruplar da vardır. Örneğin, flavin mononükleotid (FMN) ve flavin adenin dinükleotid (FAD) [2].

Apoenzim ve koenzim birlikte “holoenzim” olarak adlandırılırlar. Holoenzimin büyük bir kısmını apoenzim oluşturur [7].

Bazı enzimler ortama yalnız belirli iyonlar eklendiğinde etkindirler. Örneğin bazı enzim zincirine ancak Mg^{2+} iyonu eklenince glukozu laktik aside çevirebilir. Tükürükteki amilaz nişastayı yalnız Cl^- iyonlarının bulunduğu ortamda parçalayabilir. Canlı bünyesinde bulunan eser elementler, Mn, Cu, Zn, Fe ve diğer elementler bu enzimatik işlevlerde aktivatör olarak kullanılır. Bazen enzimin iş görebilmesi için bir metal iyonuna gereksinim vardır. Koenzim kısmı metal iyonu ise (Ca^{2+} , K^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+}) buna "kofaktör" denir [7].

Enzim molekülünün belirli bir bölgesinde belirli amino asitlerin oluşturduğu bir kısım bulunur. Protein zincirinin bu kısmı enzimin katalitik etkisinden sorumlu olup “aktif bölge” olarak tanımlanır. Substrat ve eğer varsa koenzim bu merkeze bağlanır [2]. Enzimin etki ettiği maddeye veya madde karışımına bu enzimin substratı denir. Koenzim veya prostetik grup enzimin etki edeceği kimyasal reaksiyonu, yani etki spesifitesini belirler. Apoenzim ise hangi substrata etki edeceğini diğer bir deyişle enzimin substrat spesifitesini belirler [2].

2.3. ENZİMLERİN ADLANDIRILMASI VE SINIFLANDIRILMASI

Enzimler önceleri üzerinde etki gösterdikleri substratlara “-az” takısı eklenerek adlandırılmışlardır. Nişastayı hidroliz edenlere amilazlar, yağı hidroliz edenlere lipazlar ve proteinleri hidroliz edenlere de proteazlar denmiştir. Bundan kısa bir süre sonra benzer reaksiyonları katalizleyen enzimlere katalizledikleri kimyasal reaksiyon tipini gösteren isimler verilmiştir. Bunlar, dehidrojenazlar, oksidazlar, dekarboksilazlar, açılazlar vb. diye isimlendirilmişlerdir.

Uluslararası Biyokimya Birliğinin (IUB) düzenlemesine göre enzimlerin katalizlediği kimyasal reaksiyon tipine ve reaksiyon metabolizmasına dayanılarak adlandırma ve sınıflandırma yapılmaktadır.

IUB sisteminin temel özellikleri şunlardır:

- 1- Reaksiyonlar ve onları katalizleyen enzimler 6 sınıfa bölünürler; bunların herbirinin 4-13 alt sınıfı vardır.
- 2- Enzim adının iki kısmı vardır. İlki substrat veya substratların adıdır; “-az” ile sonlanan ikincisi kataliz edilen reaksiyon tipini gösterir.
- 3- Söz konusu reaksiyonun doğasını aydınlatmak için eğer ek bilgi gerekli ise, parantez içinde verilebilir.

- 4- Her enzimin bir kod numarası (EC) vardır. Bu numaralar birbirinden nokta ile ayrılmış dört sayı içerir. Bunlardan birincisi enzimin sınıfını, ikincisi alt sınıfını, üçüncüsü alt-alt sınıfını gösterir. Dördüncü sayı ise enzimin özel adı içindir [6].

Uluslararası Biyokimya Birliği Enzim Komisyonu enzimleri, kataliz ettikleri genel reaksiyon tipinin sonuna 'az' eki getirmek suretiyle;

- 1- Oksidoredüktazlar: Redüksiyon ve oksidasyon reaksiyonlarını kataliz eden enzimlerdir. Örneğin; laktat dehidrojenaz, katalaz
- 2- Transferazlar: Fonksiyonel grupların bir molekülden diğerine transferini kataliz eden enzimlerdir.. Örneğin; alanin transaminaz, aspartat transaminaz, kreatin kinaz
- 3- Hidrolazlar: Su katılması nedeniyle bağların parçalandığı hidroliz reaksiyonlarını kataliz eden enzimlerdir. Örneğin; lipaz, α -amilaz, tripsin, üreaz
- 4- Liyazlar: Oksidasyon veya hidrolizden başka yollarla bağları yıkar veya oluştururlar. Örneğin; piruvat dekarboksilaz
- 5- İzomerazlar: Bir molekül içindeki değişiklikleri katalize eden enzimlerdir. Örneğin; glukoz-6-fosfat izomeraz
- 6- Ligazlar: Enerjice zengin bir bağın hidrolizi ile iki molekülün birbirine bağlanmasını katalize eden enzimlerdir. Örneğin; asetilCoa ligaz

altı sınıfa ayırmıştır. Her sınıf alt sınıflara ve bunları da alt-alt sınıflara ayırmıştır [2].

2.4. ENZİMLERE ETKİ EDEN ETMENLER

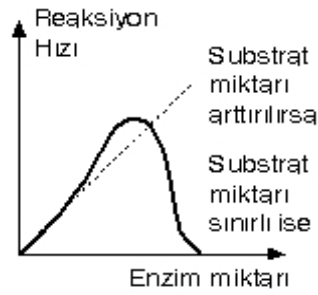
Enzimler biyolojik sistemlerde çok küçük miktarlarda bulunurlar. Bu nedenle bu proteinin miktarından ziyade biyolojik sistemde gösterdiği aktivite miktarı ölçülür.

Bir ünite enzim, standart koşullarda 1 μ mol substratı ürüne çeviren enzim miktarı "bir ünite" olarak kabul edilmektedir.

Enzim reaksiyon hızı üzerine enzim ve substrat konsantrasyonlarının, temperaturün, ortam pH'sının, zamanın, reaksiyon ürünlerinin, hormonların, ışık vb. fiziksel faktörlerin etkisi vardır [1].

2.4.1. Enzim Konsantrasyonu

Substratın çok bol olduğu bir ortamda optimal şartlarda enzimatik bir reaksiyonun ölçülen ilk hızı (V_0), enzim konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Belirli bir süre sonra ortamda enzimin reaksiyona girebileceği substrat sınırlı olduğundan hız giderek azalmaya başlar [1].



Şekil 2.4.1.1 Enzim konsantrasyonunun reaksiyon hızına etkisi [1]

2.4.2. Substrat Konsantrasyonu

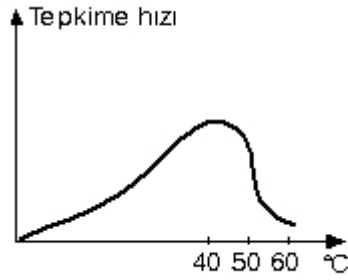
Enzim konsantrasyonu ve diğer bütün şartların sabit olduğu bir ortamda enzimatik tepkimenin hızı, substrat konsantrasyonunun artırılmasıyla başlangıçta doğrusal bir artış gösterir; fakat substrat ilave edildikçe ortamda reaksiyona girilebilecek enzim bulunmadığından hız giderek daha az artar ve belirli bir V_{max} düzeyinde sabit kalır [1].



Şekil 2.4.2.1 Substrat miktarının reaksiyon hızına etkisi [1]

2.4.3. Sıcaklık

Enzimatik reaksiyonların hızı sıcaklık artışıyla belirli bir noktaya kadar artar. Belirli bir sıcaklık aşıldıktan sonra enzimler de diğer proteinler gibi denatüre olurlar ve etkilerini kaybederler. Her enzim için substratını en fazla değişikliğe uğrattığı belirli bir maksimum sıcaklık vardır. Bu sıcaklığa "optimum sıcaklık" denir. İn vitro enzim reaksiyonları çok defa 37-40°C de yapılır [1].



Şekil 2.4.3.1 Sıcaklığın reaksiyon hızına etkisi [1]

2.4.4. Ortamın pH'sı

Her enzimin maksimum aktivite gösterdiği belirli bir pH alanı vardır. Bu pH'ya enzimin optimum pH'sı denir. Örneğin; pepsin pH 1-2 aralığında, üreaz ise pH 6-7 aralığında en kuvvetli etkiyi gösterirler. Enzimin optimum pH'sının aşağısında da yukarısında da reaksiyon hızı azdır. Enzim belirli bir pH'da tamamen etkisiz kalır ve çok defa harap olur [1].

2.4.5. Zaman

Bir enzim tarafından katalizlenen bir reaksiyonun hızı, zamanla azalır. Bunun sebebi, reaksiyon ürünlerinin kendi aralarında birleşerek aksi yönde bir reaksiyon meydana getirmeleri, enzimin zamanla inaktive olması, reaksiyonu önleyen maddelerin oluşması, substratın tükenmesidir [1].

2.4.6. Reaksiyon ürünleri

Enzim reaksiyonu devam ettikçe reaksiyon ürünleri enzimi inhibe ettikleri için enzim reaksiyonunun hızı azalır. Bu inhibisyonun sebebi, reaksiyon ürünlerinin molekül yapısı bakımından substratı andırmaları ve enzime sustrattan daha fazla bağlanmalarıdır [2].

2.4.7. Işık ve diğer fiziksel etkenler

Enzimlerin etkisi ışıkla arttırılabilir veya azaltılabilir. Enzim çözeltilerinin kuvvetli çalkalanması da enzimi denatüre eder [2].

2.4.8. Hormonlar ve diğer biokimyasal maddeler

Hormonlar, aminoasitler ve diğer bazı biokimyasal maddelerde enzim aktivitesi üzerinde değişiklikler meydana getirirler.

2.5. ENZİM İNHİBİSYONU

Bazı maddeler enzimlerle ilişki kurma yeteneğinde oldukları halde, substrat gibi hareket etmezler. Yani enzimler bunların yeni bir ürüne dönüşümünü sağlamazlar. Ancak bu birleşme nedeni ile enzimin kendisi de katalitik görevini yerine getiremez. Bu çeşit maddelere "enzim inhibitörleri" denir. Enzim inhibitörleri, enzim etkisini azaltan ya da tamamen durduran maddelerdir [8].

Enzimlerin inhibisyonu başlıca iki şekilde meydana gelir:

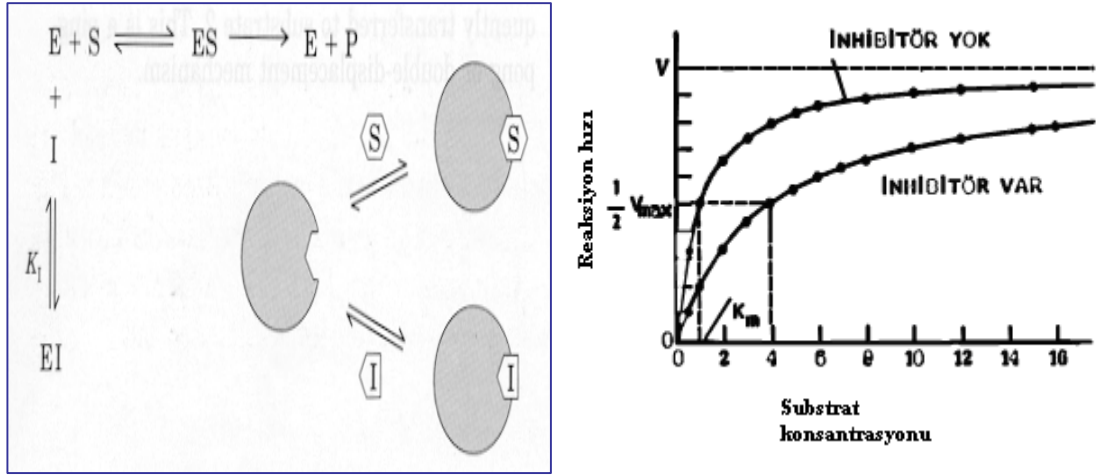
2.5.1. Reversibl (Geri Dönüşümlü) Enzim İnhibisyonu

2.5.1.1. Kompetitif (yarışmalı) Enzim İnhibisyonu

Kompetitif inhibisyonda, enzimin etki yaptığı substrata yapı olarak çok benzeyen bir madde, enzimin aktif yerini işgal ederek, asıl substratı ile ilişki kurmasını önler. Kompetitif inhibisyonda inhibitör madde molekülleri bazı enzim moleküllerini işgal ederek enzimin katalitik etkisini yavaşlatırlar. Buna çok klasik bir örnek olarak "suksinat dehidrojenaz" ın "malonik asit"le inhibisyonunu gösterebiliriz. Suksinik asit sitrik asit siklusu sırasında suksinat dehidrojenaz enziminin katalitik etkisi ile çok kolaylıkla fumarik aside dönüşebilir. Fakat ortamda malonik asidin bulunması formül yapı benzerliği nedeni ile bu dönüşümü yavaşlatır [8].

Kompetitif inhibisyonda enzimin inhibitör ile bağlanması reversibldir. Substrat konsantrasyonunun çoğaltılması ile bu ilişki kopabilir [8].

Kompetitif enzim inhibisyonunda inhibitör madde, enzimin substratına olan ilgisini azaltır; K_m değeri büyür, reaksiyon az çok normal bir V_{max} değeri gösterir [8].



2.5.1.1.1 Kompetitif enzim inhibisyonu [8]

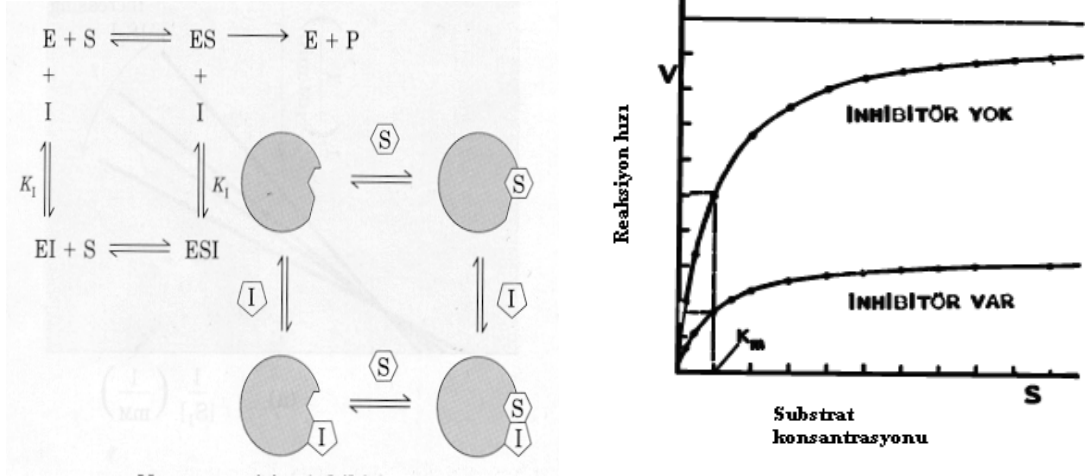
2.5.1.2. Nonkompetitif (yarışmasız) Enzim İnhibisyonu

Nonkompetitif enzim inhibisyonunun substratın konsantrasyonu ile ilişkisi yoktur. Non kompetitif enzim inhibisyonunda hem substrat hem de inhibitör madde aynı zamanda enzime bağlanmaktadır. İnhibitörün enzimin aktif yeri dışında bir yere bağlanması ile, o enzimin moleküllerinin substratla reaksiyona girme hızında bir azalma meydana gelmektedir. Halbuki kompetitif inhibisyonda sadece reaksiyona giren enzim moleküllerinin sayısı azalmaktadır. Nonkompetitif inhibisyonun en sık görülen şekli, inhibitörün, enzimin yapısında bulunan fonksiyonel gruplarla, bu grupların yapısını bozmadan reversibl bir şekilde birleşmesi halidir [8].

Bazı enzimler yapılarında fonksiyonları için esas olan -SH grupları taşırlar. Enzimin normal şekilde görev yapabilmesi için -SH gruplarının bozulmadan korunması gerekir. Bu -SH gruplarının metal iyonları tarafından nonkompetitif bir şekilde inhibe edilmesi enzimin normal katalitik etkisini sürdürmesini önler. Bu çeşit ağır metallere örnek olarak Ag^+ , Hg^+ , ve Pb^{2+} u göstermek mümkündür [8].

Enzime nonkompetitif inhibitörün bağlanması substrat bağlanmasını bloke etmez, substrat bağlanması da nonkompetitif inhibitörün bağlanmasını bloke etmez. ESI kompleksi ürün vermek üzere ES kompleksinden daha yavaş parçalandığı için

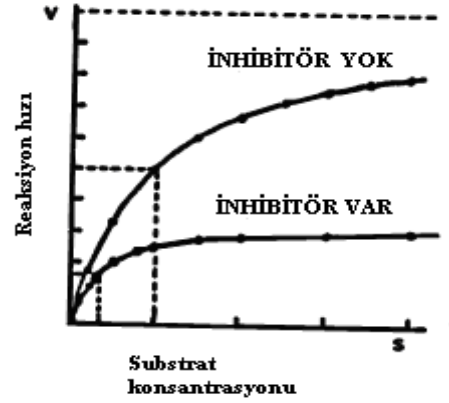
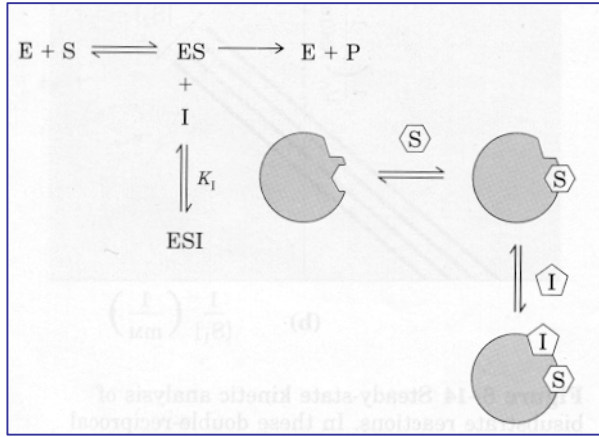
tepkimenin hızı yavaşlamaktadır. Bu tür inhibisyon ile, tepkimenin V_{max} değeri azaldığı halde K_m değeri değişmez [9].



2.5.1.2.1 Nonkompetitif enzim inhibisyonu [8]

2.5.1.3. Ankompetitif (yarı yarışmalı) Enzim İnhibisyonu

Bu enzim inhibisyonunda inhibitör, nonkompetitif inhibitörde olduğu gibi, enzim üzerinde substratın bağlandığı aktif yerden ayrı bir yere reversibl olarak bağlanır; fakat nonkompetitif inhibitör serbest enzime veya ES kompleksine bağlanabildiği halde ankompetitif inhibitör, yalnızca ES kompleksi oluşuktan sonra enzimin substratın bağlı olduğu aktif yerden başka bir yerine reversibl bağlanarak enzimi inaktive eder. Ankompetitif inhibisyon sonucu V_{max} değeri azalırken K_m değeri de küçülür [9].



2.5.1.3.1 Ankompetitif enzim inhibisyonu [8]

2.5.2. İrreversibl (Geri dönüşümsüz) Enzim İnhibisyonu

İrreversibl enzim inhibisyonu, irreversible inhibitörün enzim üzerinde bulunan ve aktivite için esas olan bir fonksiyonel grubu yıkması veya onunla irreversible olarak birleşmesi sonucu meydana gelir. Bu tip inhibisyonlarda aktif bölgeye kovalent olarak bağlanan inhibitör, enzim yapısını bozduğu için geri dönüşüm olmamaktadır [9]. Örneğin; sinir gazlarından diizopropil fosfluoridat, asetil kolin isimli nörotransmittörü parçalayan asetilkolin esteraz'ın tersinmez inhibitörüdür.

2.6. ENZİMLERDEN TIP ALANINDA YARARLANILMASI

Enzimlerden tıp alanında gittikçe artan bir ölçüde yararlanılmaya başlanmıştır. Enzimlerin nitelik ve nicelik tayinlerinin yapılabilmesi suretiyle katısal anormallikler ve hastalıkların teşhisleri yapılabilmekte ve hastalığın geleceği hakkında fikir edinebilmektedir. Bunun gibi bazı hastalıkların tedavisinde de enzim preparatlarından ilaç olarak yararlanılmaya başlanmıştır [8].

Enzimler protein yapısında maddeler olarak hücre içerisinde yapılır ve yapıldıkları amaçlar için kullanılırlar. Ancak normal enzim seviyesindeki artmalar bu enzimlerin

hücre dışı sıvıya daha fazla geçmelerine sebep olur. Hücre içersinde yapılan bir enzimin ekstrasellüler sıvıya geçişinde çeşitli faktörler rol oynarlar. Bunlardan birisi enzim sentezinin artmasıdır. Enzim seviyesinin artması mevcut hücrelerin daha fazla enzim yapmaları sonucu olabileceği gibi, enzim sentez eden hücrelerin sayılarının artması sonucu da olabilir. Ayrıca hücre dışı sıvı veya plazmadaki enzim salınımındaki çoğalma hücre zarı permeabilitesindeki bir artışın veya doğrudan doğruya zarın parçalanmasının, yani hücre nekrozunun sonucu da olabilir. Gerek normal geçişlerde gerek permeabilite artışı sonucu meydana gelen geçişlerde ayrıca enzim molekülünün büyüklüğü de rol oynar. Bundan başka enzimin sitoplazmik veya mitokondrial enzim olması da hücre dışı sıvıya geçme yönünden farklılık gösterir. Sitoplazmada yapılan enzimler, mitokondri enzimlerine kıyasla ekstrasellüler sıvıya daha kolay geçerler [8].

Hücre içi enzim miktarı ile plazma enzim miktarları arasında belirli enzimler yönünden çok büyük farklar vardır. Örneğin, karaciğer hücresi içerisindeki laktat dehidrojenaz düzeyi hücre dışındakinden 3000 kat daha fazladır. Alkol dehidrojenaz ise hücre içerisinde 10.000 kat daha konsantre haldedir [8].

Enzimlerden alanin aminotransferaz (GPT), karaciğer bozukluğu, laktat dehidrojenaz, kalp ve karaciğer bozuklukları, izositrik dehidrojenaz, karaciğer ve glutamat dehidrojenaz karaciğerde mitokondri bozuklukları hakkında fikir verebilirler [8].

Üreaz enzimi, üreyi karbondioksit ve amonyağa parçaladığında mide mukozasında bulunan konağın direnç mekanizmalarını ortadan kaldırarak yani bazik bir ortam oluşturarak, mide ülserine neden olan *Helicobacter pylori* bakterisi midenin asidik yapısından korur . Ancak bu bazik ortam negatif feed-back etkiyi ortadan kaldırarak, G hücrelerinden gastrin salınımını uyarır ve artan asit sekresyonu ile gastrit oluşumuna katkıda bulunur ya da direkt ve immünolojik yollar ile hasar oluşturur [10]. Ayrıca üreaz enzimi ülser, mide kanseri, böbrek taşı oluşumunda belirleyici bir enzimidir [11].

Kalıtsal olarak enzim yetersizlikleri sonucu ortaya çıkmış bulunan birçok hastalık, bu enzimlerin veya bunların katalize ettikleri reaksiyon ürünlerinin veya substratlarının gösterdikleri azalma veya birikime göre teşhis edilebilirler. Özellikle amino asitlerin metabolizmaları için gerekli enzimlerin bulunmayışı çoğu kez zeka ve gelişim geriliği

ile kendini belli eden kalıtsal hastalıkların ortaya çıkmasına neden olur. Aynı şekilde enzim yetersizliği karbohidratlarla ilgili olarak glikojen depolama bozukluklarına neden olabilir. Lipid metabolizması yönünden de enzim yapımındaki yetersizliklerden doğan Gaucher, Niemann Pick, Tay Sachs gibi hastalıklar ve başkalarından söz etmek mümkündür [9].

2.7. ENZİMLERDEN YARARLANILARAK YAPILAN TEDAVİLER

Enzimlerle tedavide daha çok hücre tarafından salgılanan enzimlerden yararlanılmaktadır. Özellikle midede sindirim bozukluklarında proenzim olan pepsinojeni kapsayan preparatlardan veya ince bağırsakların üst kısmında yine sindirime yardımcı olmak amacıyla pankreas enzimlerini ihtiva eden preparatlardan yararlanılmaktadır [9].

Tıpta enzim yetersizliği sonucu meydana gelen kalıtsal hastalıkların, doğrudan doğruya eksik bulunan enzimi yerine koymak suretiyle tedavisi henüz mümkün değildir. İleride böyle bir tedavi şeklinin mümkün olacağı hiç değilse humoral sıvılarda aktivite gösteren enzimlerin temini ile bazı başarılı sonuçların elde edileceği düşünülebilir. Hücre içi aktif enzimlerin paranteral olarak verilmesi suretiyle, molekül büyüklükleri nedeni ile, enzimlerin hücre içerisine girmelerine olanak sağlamak bakımından zorluklarla karşılaşılabilir. Ancak hücre içinde yapılan ve orada kalarak görev yapan enzimlerin yapımının uyarılması sonucu, hastalıkların tedavisinde yardımcı olunabilmesi mümkün olabilir. Ayrıca enzim elde eden dokunun hastaya transplantasyon yolu ile, enzim yapma veya yeterli enzim yapma yeteneğinde olmayan dokuların takviye edilmesi de mümkündür. Ancak enzimlerin geniş ölçüde tedavide kullanılabilmesi için zamanın henüz erken olduğunu kabul etmek lazımdır [9].

2.8. DİÜRETİKLER

Belirli bir zaman diliminde, böbrek nefronlarında idrar oluşumunu artıran ilaçlara diüretikler adı verilir. Diüretiklerin etkisiyle, Na^+ ve Cl^- iyonlarının geri emilimindeki azalma, pasif olarak suyun geri emilimini de azaltır ve bunun sonucu olarak da idrar hacmi artar [12].

Bazı diüretikler, ilave olarak, membranlarda iyon değişimini değiştirerek, damar düz kaslarının intrasellüler sodyum konsantrasyonunu da doğrudan azaltabilirler. İntrasellüler sodyumun azalması, intrasellüler kalsiyum konsantrasyonunun da azalmasına yol açar ($\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ değiş-tokuşu). Sonuçta, vasküler direnci düşürerek antihipertansif etki oluştururlar. Diüretikler, tedavide sodyum ve bunu izleyen su tutulmasıyla karakteristik ödem ve arteriyel hipertansiyon gibi önemli hastalıklarda öncelikle kullanılan ilaçlardır [12].

Böbreğin tubüler sistemi ve bu sistemin glomerüler yumağı, fonksiyonel bir birim olan nefronu oluşturur (Şekil 2.8.1). Böbreklerin organizmada su ve elektrolit dengesini koruyabilmesi (homeostasis) için, nefronda başlıca üç olay meydana gelmektedir [12]:

1. Glomerüler Filtrasyon: Plazma sıvısının içeriği ile birlikte, glomerüllerden süzülmesidir. Plazmadan ayrılan süzüntünün içeriğinde yüksek molekül ağırlıklı (>70 000 kDa) proteinler dışında, diğer plazma içerikleri de bulunur.
2. Geri Emilme (reabsorbsiyon): Filtrasyonla kandan ayrılan süzüntüden, homeostasis için gerekli olan maddelerin kana geri emilmesidir.
3. Salgılama (sekresyon): Bazı artık ya da yabancı maddelerin tubülüslerde kandan alınıp, idrar içine salınmasıdır.

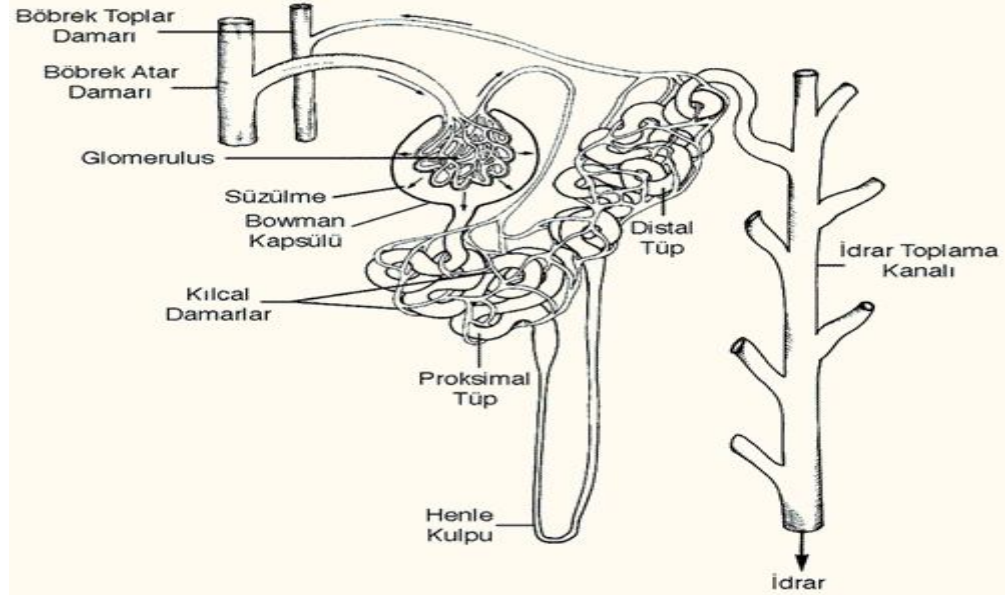
Nefronun 5 aktif kısmı vardır ve bu aktif kısımlar idrar hacmini kontrol eder:

1. Proksimal Tübüller: Kortekste yer alır. Karbonik anhidraz inhibitörü diüretiklerin etki yeridir. Glukozun tamamı, amino asitler, HCO_3^- ve diğer metabolitler geri emilir. Su, klor ve sodyumun % 60-70'i geri emilir. Organik

asit ve bazlar (ürik asit, diüretikler, antibiotikler vb.) kandan lümene sekrete olurlar. Diüretiklerin çoğu asit yapıda olup, etkilerini gösterebilmeleri için proksimal tübülün orta kısmından lümen içine salgılanmaları gerekir. Kronik böbrek yetmezliği olan üremili hastalarda, diüretiklerin lümente yeterli konsantrasyona ulaşması için, diüretikler yüksek dozlarda verilirler. Furosemid ve klototiyazid gibi diüretiklerle oluşan, kanda ürik asit artışının (hiperüriseminin) nedeni de budur [12].

2. Henle Kıvrımının İnen (ince) Kolu: İzotonik filtrat Henle kıvrımıyla medullaya girer. Na^+ ve Cl^- reabsorbsiyonu olmaz; sadece suya karşı geçirgenlik yüksektir ve medullanın hipertonic olması nedeniyle pasif olarak su reabsorbsiyonu olur. Tübül sıvısının tuz konsantrasyonu üç katına çıkar [12].
3. Henle Kulbunun Çıkan Kolunun Kalın Kısmı: Önce medulla, sonra korteks içinde seyrederek. En güçlü diüretikler olan kıvrım diüretiklerinin etki yeridir. Suya geçirgen olmayan özel hücrelerle döşelidir. Burada bulunan, $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ kotransportörü ile Na^+ , K^+ ve Cl^- aktif olarak geri emilir. Mg^{2+} ve Ca^{2+} gibi iki değerli katyonlar da potansiyel farkı nedeniyle buradan basit difüzyonla geri emilir. Sodyum klorürün % 25-30'u interstisyel sıvıya geri dönerek medullanın yüksek osmolaritesini korumasını sağlar. Buraya etki eden diüretikler, böbreğin hem dilüsyon hem de konsantrasyon yeteneğini azaltırken, sadece distal tübüllere etki edenler yalnız dilüsyon yeteneğini azaltırlar [12].
4. Distal tübüller: Hücreleri suya geçirgen değildir. Tiyazid grubu ve benzeri diüretiklerin etki yeridir. Sodyum klorürün % 10'u tiyazidlere duyarlı $\text{Na}^+/\text{2Cl}^-$ taşıyıcısıyla geri emilir. Bu mekanizma, aldosteron etkisinden bağımsızdır. Bu kısımda parathormon etkisi altında, Ca^{2+} aktif transportla reabsorbe edilir [12].
5. Toplayıcı tübüller: Özellikle kortikal bölümde olmak üzere, aldosterona bağımlı şekilde Na^+ geri emilimi ve K^+ sekresyonu (Na^+/K^+ değişimi) olur. Ana hücreler K^+ ve H^+ sekresyonundan, ara hücreler K^+ reabsorbsiyonundan (K^+/H^+ değişimi) sorumludur. Potasyum tutucu diüretiklerin etki yeridir. Diğer diüretikler ise, Na^+/K^+ değiş tokuşu nedeniyle potasyum kaybına (hipokalemi) neden olurlar.

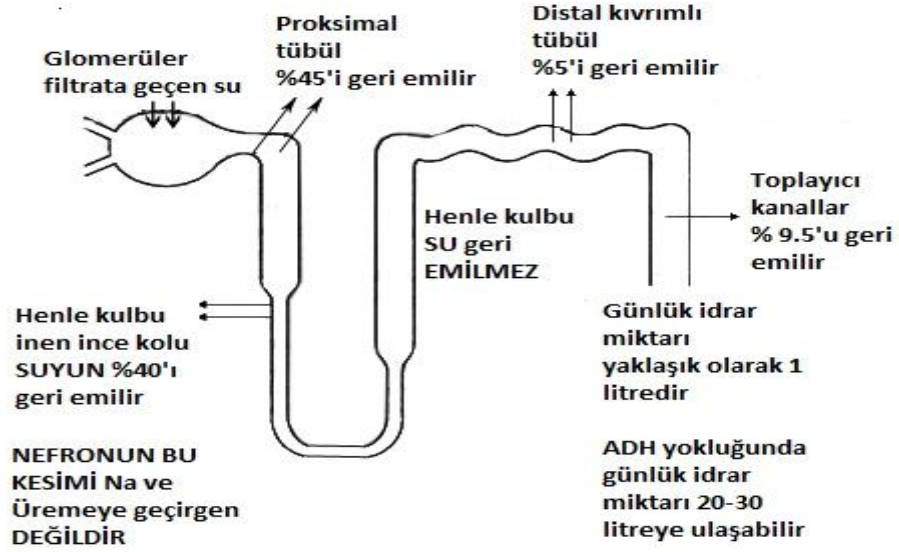
ADH (vazopressin), toplayıcı tübüllerden sAMP aracılığıyla suyun geri emilimine neden olur [12] (Şekil 2.8.1).



Şekil 2.8.1 Nefron kısımları [13]

2.8.1. Böbreklerde Su Metabolizması

Vücut ağırlığının % 60'ını su oluşturmaktadır. Kadınlarda bu oran % 50 iken çocuklarda % 66-75'tir. Vücutta intraselüler/ekstraselüler su oranı yaklaşık olarak 55/45'dir. Glomeruler filtrata günde 150-180 l su geçmektedir ve filtre olan suyun % 45'i proksimal tübülden, % 40'ı Henle kulpuunun inen kolundan, % 5'i distal tübülden, % 10'u toplayıcı tübülden geri emilirken, % 0.5'i idrar şeklinde atılmaktadır [14] (Şekil 2.8.1.1).



Şekil 2.8.1.1 Nefronlarda su metabolizması [14]

2.8.2. Diüretiklerin Sınıflandırılması

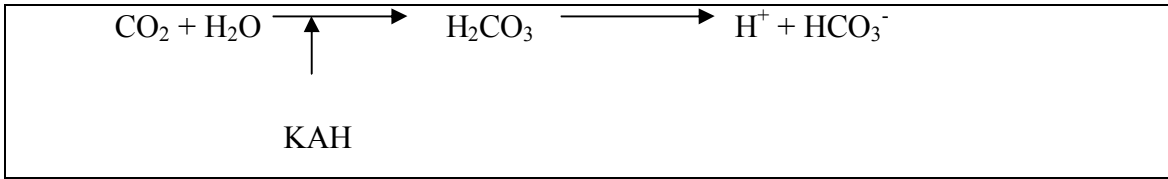
Diüretik ilaçlar farmakolojik özelliklerine göre 5 sınıfa ayrılırlar:

1. Karbonik anhidraz inhibitörleri
2. Ozmotik diüretikler
3. Kıvrım (Loop) diüretikler
4. Tiyazid grubu diüretikler
5. Potasyum tutucu diüretikler

2.8.2.1. Karbonik Anhidraz İnhibitörleri

Karbonik anhidraz inhibitörleri zayıf natriüretik ve diüretik etki gösterirler. Primer etki yerleri proksimal tübüllerdir, henle kıvrımını etkilemezler. Bu grup ilaçların ilk bulunanı ve prototipi asetazolamid'dir. Karbonik anhidraz inhibitörleri bugün en fazla glokom tedavisinde kullanılırlar [12].

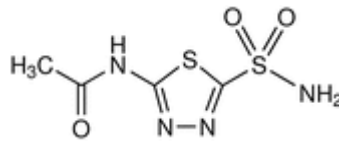
Karbonik anhidraz (KAH), böbreğin alkalileri tasarruf etmesini, asit idrar çıkarmasını ve böylece ekstrasellüler sıvının asit-baz dengesini korumasını sağlayan çok önemli bir enzimdir. Karbonik anhidraz reaksiyonu sonucu H_2O ve CO_2 'den H^+ ve HCO_3^- oluşur (Şekil 2.8.2.1.1). H^+ tübül lümenine salgılanır ve bunun karşılığında sodyum iyonu lümeden hücreye alınır (H^+ - Na^+ değiş tokuşu). Bu sayede idrarla net H^+ kaybı sağlanır.



Şekil 2.8.2.1.1 Karbonik anhidraz reaksiyonu

KAH inhibitörü olarak kullanılan asetazolamid, sulfonamid yapıdadır. Proksimal tübül epiteli hücre içi ve apikal membranda bulunan KAH enzimini inhibe eder. KAH enziminin inhibisyonu sonucu, Na^+ geri Emilimi azalacağından, Na^+ ve beraberinde su atılımı sonucu diüretik etki oluşur. Bu etki tübülün ileri kısımlarında telafi edileceğinden KAH inhibitörü ilaçlar zayıf diüretik etkilidirler. H^+ lümene atılmadığında, bununla birleşemeyip lümente kalan HCO_3^- idrarla atılır; idrar pH'sı artar ve net HCO_3^- kaybı nedeniyle hiperkloremik metabolik asidoz oluşur [12].

Asetazolamid (Şekil 2.8.2.1.2), antineoplastik tedavi esnasında ürik asidin idrar yolunda çökmesini önlemek için kalevi diürez oluşturmak amacıyla, diğer antiepileptiklerin etkisini artırmak için, epilepsi tedavisinde, kronik metabolik alkaloz veya respiratuvar alkaloz tedavisinde oral yoldan kullanılabilir [12].



Şekil 2.8.2.1.2 Asetazolamid formülü

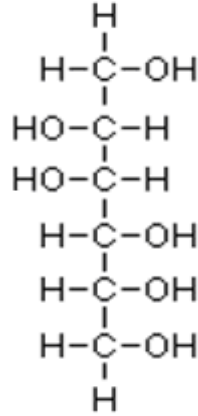
Asetazolamid kullanımını hafif metabolik asidoz, K^+ kaybı, böbrek taşı, sersemlik ve parestezi gibi genelde çok ciddi olmayan yan tesirleri gösterebilir [12].

2.8.2.2. Osmotik Diüretikler

Osmotik diüretikler, glomerüllerden süzülen basit yapıda hidrofilik kimyasal maddelerdir, sodyumdan çok suyun ekskresyonuna ihtiyaç varsa kullanılırlar. Osmotik diüretikler akut ilaç intoksikasyonları sırasında veya böbrek itrah fonksiyonunun azaldığı hastalıklarda gelişen oligüriye karşı, glomerüler filtrasyon hızını yeterli düzeyde sürdürmek ve akut böbrek yetmezliğini önlemek amacıyla, beyin ameliyatlarından önce veya sonra beyin omurilik sıvısı basıncını ve beyin hacmini azaltmak, beyin iskemi, tümör ve infeksiyon gibi hastalıklarında, beyin ödemi gidermek ve artmış olan intrakranial basıncı düşürmek amacıyla kullanılırlar [12].

Osmotik diüretiklerin primer etki yerleri Henle kıvrımının çıkan kalın koludur ve glomerüllerden hızlı bir şekilde süzülür, tübüllerden reabsorbe edilmezler. Başlıca osmotik diüretikler mannitol, isosorbit ve gliseroldür [12].

Osmotik diüretikler arasında en fazla kullanılan mannitoldür (Şekil 2.8.2.2.1). Mannitol birçok bitkide bulunan bir karbohidrat alkolüdür. Mannitol, suyun reabsorbsiyonunu azaltır; su ile birlikte sodyum ve klor iyonlarının da reabsorbsiyonu azalır. Mannitolün büyük bir kısmı, vücut tarafından glukoz gibi emilir ve metabolize edilir. Mannitolün en sık görülen yan etkileri bulantı, kusma, baş ağrısı, baş dönmesi, üşüme, polidipsi, göğüste sıkışma, duyumsama, letarji ve konfüzyondur. Mannitolün yüksek dozda uygulamasına bağlı ölüm olaylarının olduğu bildirilmiştir [15].



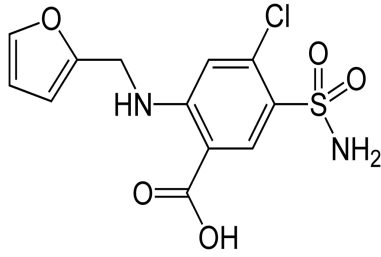
Şekil 2.8.2.2.1 Mannitol formülü

2.8.2.3. Kıvrım (Loop) Diüretikler

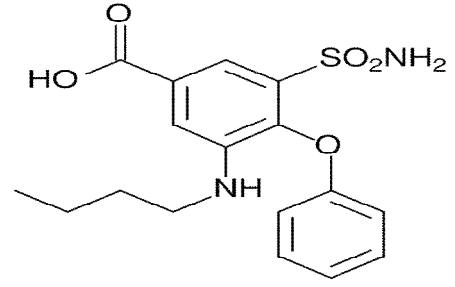
Kıvrım diüretikler en etkili diüretik grubudur ve Henle kıvrımının çıkan kolunun kalın kısmında etkilidirler. Burada, $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2\text{Cl}^-$ kotransportunu güçlü şekilde inhibe ederler. Kıvrım diüretikler idrardan Ca^{2+} ve Mg^{2+} atılımını arttırlar [12].

Kıvrım diüretikler arasında en çok kullanılanı, furosemid (Şekil 2.8.2.3.1) olmakla birlikte bumetanid (Şekil 2.8.2.3.2) ve etakrinik asitte (Şekil 2.8.2.3.3) kullanılmaktadır. Furosemid kıvrım diüretikleri içinde fazla tercih edilen ve güçlü bir diüretiktir. Bunun nedenleri, fraksiyonel sodyum itrahını % 40'a kadar çıkartabilmeleri, diğer kıvrım diüretiklere nazaran toksisitelerinin daha az olması, böbrek fonksiyonları bozuk olan veya diğer diüretiklere yanıt vermeyen hastalarda bile etki göstermeleri, alkaloz yapma eğilimleri daha azdır. Furosemid ve benzeri ilaçlar, kalsiyum reabsorbsiyonunu inhibe ederek kalsiyum atılımını belirgin şekilde artırırlar. Bu nedenle hiperkalsemi tedavisi için yararlı olabilirler [15].

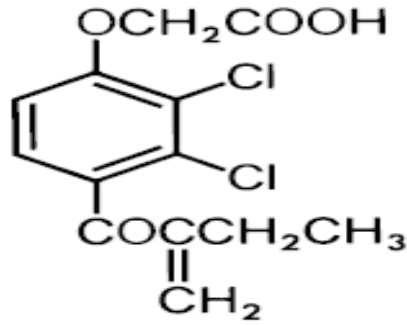
Kıvrım diüretikler, sol kapakçık yetersizliğine bağlı akciğer ödeminde, kronik kalp yetmezliğinde, tiazit grubu diüretiklerle yapılan tedaviye dirençli hipertansiyon tedavisinde, hiperkalsemi ve ağır böbrek yetmezliğinde kullanılırlar [15].



Şekil 2.8.2.3.1 Furosemid formülü



Şekil.2.8.2.3.2 Bumetanid formülü



Şekil 2.8.2.3.3 Etakrinik asit formülü

Kıvrım diüretiklerin yan etkileri, hipovalemi, dehidratasyon, hipotansiyon, hiponatremi, hipokloremik alkaloz yapabilir, ayrıca, hipeürisemi, hiperglisemi, reversibl sağırlığa sebebiyet verebilirler. Gut ve diyabet olgularında kıvrım diüretiklerinin kullanılması tavsiye edilmez [15].

2.8.2.4. Tiyazid Grubu Diüretikler

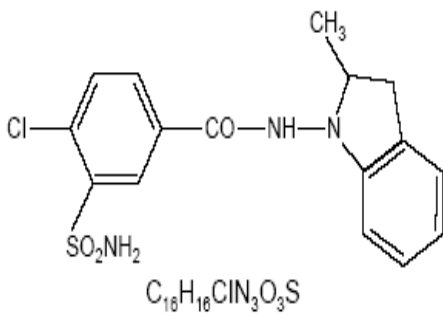
Tiyazid grubu diüretikler en sık kullanılan diüretiklerdendir. Tiyazid grubu diüretiklerin ağız yolundan kullanılabilmeleri, yaptıkları diürezin hızlı ve fazla olmaması, vücuttaki sodyumun fazlasını atmaları fakat aşırı derecede sodyum ve su kaybına neden olmamaları, belirgin dehidratasyon yapmamaları, toksisitelerinin düşük olması ve antihipertansif etki göstermeleri başlıca üstünlükleridir [12].

Tiyazid grubu diüretikler, sodyum ve klorür iyonlarının atılımını artırırken, kalsiyum ve fosfat iyonlarının atılımını da azaltırlar, büyük bir kısmı bağırsaklardan absorblanır ve proksimal tübülden aktif şekilde atılırlar. KAH inhibitörü olan asetazolamidden daha güçlüdürler. Tiyazid grubu diüretikler vücudun asit baz dengesini bozmazlar ve bozukluğundan da etkilenmezler. Potasyum salgılanmasını ve kalsiyum geri emilimini arttırlar [12].

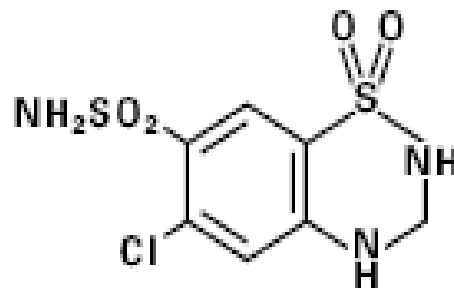
İndapamid (Şekil 2.8.2.4.1), metolazon, politiyazid, hidroklorotiyazid (Şekil 2.8.2.4.2), hidroflumetiyazid, klortalidon, bendroflumetiyazid, klorotiyazid, metilklorotiyazid ve tiyazid (sülfamoiltiyazid) türevi gibi diüretikler tiyazid grubuna giren ilaçlardır [12].

Tiyazid grubu diüretikler hipertansiyon, konjestif kalp yetmezliği, böbrek yetmezliği, hiperkalsüri, diyabetes insipidus (şekersiz diyabet) tedavilerinde kullanılırlar [12].

Tiyazid grubu diüretiklerin yan tesirleri olarak hipokalemi, hiponatremi, hipomagnezemi, hiperkalsemi, hiperürisemi (ürik asitle yarıştığından atılımını azaltır ve kanda ürik asit artırarak gut ataklarını artırabilir), hiperglisemi, hiperlipidemi, cinsel fonksiyon bozukluğu, LDL-kolesterol ve trigliserid artışı da gözlenebilir [15].



Şekil 2.8.2.4.1 İndapamid formülü



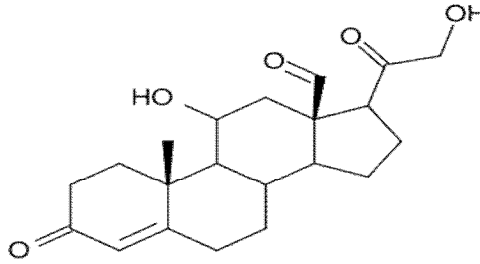
Şekil 2.8.2.4.2 Hidroklorotiyazid formülü

2.8.2.5.Potasyum Tutucu Diüretikler

Potasyum tutucu diüretikler, sodyum ve klorür iyonlarının eliminasyonunu arttırmalarına rağmen potasyum iyonlarının atılımını azaltan diüretiklerdir. Tek başına kullanıldıklarında zayıf etkilidirler. Potasyum tutulmasını sağladıklarından tiyazid veya kıvrım diüretikler ile kombine halde kullanılırlar. Potasyum tutucu diüretiklerin yan etkileri, bacak krampları, ürik asit artışı olasılığı, K^+ retansiyonu, böbrek taşları ve akut böbrek yetmezliğidir [15].

Potasyum tutucu diüretikler aldosteron antagonistleri ve Na^+ kanalı inhibitörleri olarak ikiye ayrılırlar:

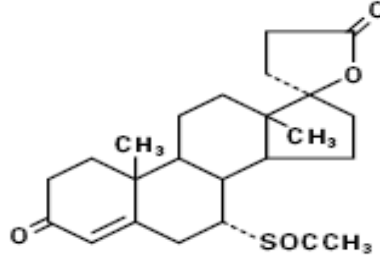
1. Aldosteron antagonistleri 17-spirolakton steroid grubundadır. Bunlardan spironolakton ve onun metaboliti olan karnenon ve potasyum kanreoat tedavide kullanılır. Aldosteron (Şekil 2.8.2.5.1), adrenal bezdeki adrenal korteksin dış kısmında üretilen, kanda sodyum ve potasyum dengesini düzenleyen bir steroid hormondur [12].



Şekil 2.8.2.5.1 Aldosteron formülü

Aldosteron, aldosteron sentaz enzimi tarafından kolesterolden sentezlenir. Aldosteron antagonistleri, böbrekleri etkilerek sodyum iyonları yerine potasyum iyonlarının dışarı atılmasına ve su tutulmasına yol açar. Aşırı aldosteron üretilmesi (hiperaldosteronizm) ödeme ve atardamar basıncı yükselmesine (yüksek tansiyon), yetersiz aldosteron üretilmesi ise su kaybına neden olur [15].

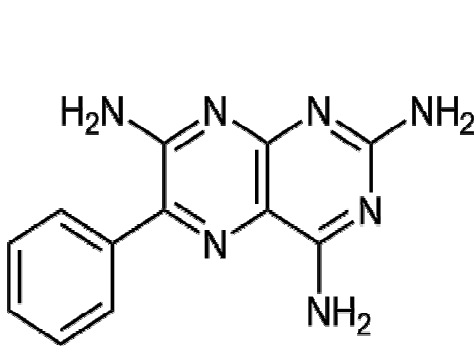
Spirolakton (Şekil 2.8.2.5.2), spesifik aldosteron antagonistidir. Aldosteron reseptörlerine bağlanarak, distal tübülüslerde potasyumu tutup, sodyumu ve suyu atarak etkisini gösterir [15].



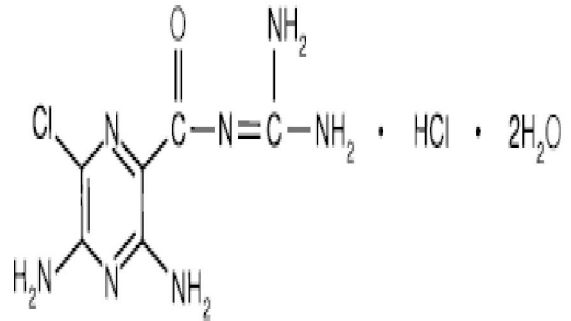
Şekil 2.8.2.5.2 Spirolakton formülü

Spirolaktonun kullanım alanları akut böbrek yetmezliği, hiperpotasemi ve önemli böbrek fonksiyon bozukluklarıdır. Yan etkileri ise, gastrik kanama, ülserasyon, kusma, ve diyare gibi gastrointestinal rahatsızlıklar, uyuşukluk ve uyku hali, halsizlik, baş ağrısı, ciltte kızarıklık ve döküntüler, kadınlarda menstrüasyon bozuklukları, erkeklerde jinekomasti, hiponatremi ve hiperkalemidir [15].

2. Na⁺ kanalı inhibitörleri, sikloamidin yapısını içeren triamteren (Şekil 2.8.2.5.3) ve amilorit hidroklorür (Şekil 2.8.2.5.4) toplayıcı kanalda ve distal tübülün son kısmında sodyum kanallarını bloke ederek etkilerini gösterirler [15].



Şekil 2.8.2.5.3 Triamteren formülü



Şekil 2.8.2.5.4 Amilorit hidroklorür formülü

Na^+ kanalı inhibitörleri, sodyum iyon proton değişiminide inhibe ederler. K^+ koruyucu etkileri spironolaktone benzer ve etkileri aldosterondan bağımsızdır [15].

2.9. DİÜRETİK ÖZELLİĞİNE SAHİP DOĞAL İLAÇLAR

Bitkiler binlerce yıldan beri tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Bu konuyla ilgili en eski bilgiler Halep'in güneyinde Elba yakınında bulunan kraliyet arşivindeki çivi yazısında yazılmış olan tabletlerdir ve bu tabletlere göre en az 5000 yıldan beri tedavi alanında kullanılmaktadır. Bitkisel kökenli droglar çok eski devirlerden beri hastalıkların tedavisinde kullanılmakla beraber etkili bileşikleri ve etki mekanizmaları hakkındaki bilgiler ancak 19. yüzyıl ortalarından itibaren yaklaşık yüz seneden beri bilinmektedir [16].

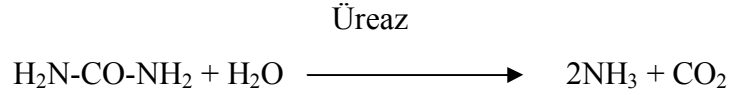
Anadolu'da tıbbi bitkiler ile ilgili bilgilerin temeli Hititler dönemine kadar dayanmaktadır. Bu dönemde Anadolu'da bazı tıbbi bitkilerin yetiştiği, haşhaş, mazı ve safran gibi bazı drogların dış satımının yapıldığı bilinmektedir [16].

Bugün sağlık alanında, genellikle halk ilaçlarının yerini sentetik ilaçların almasına karşın, dünyanın birçok yöresinde doğal ve bitkisel kaynaklı ilaçların kullanılışı hala yaygınlığını sürdürmektedir. Çok zengin bitki örtüsüne sahip Anadolu'da özellikle kırsal kesimde geleneksel halk ilaçları yapımında ve bazı hastalıkların tedavisinde birçok bitkinin kullanıldığı bilinmektedir. Ancak bitkisel halk ilaçlarının bilimsel yönden araştırılarak olumlu veya olumsuz etkilerinin saptanması halk sağlığı bakımından yararlı olacaktır [17,18-25].

Halk arasında çeşitli hastalıkların tedavilerinde kullanılan bir çok bitki bulunmaktadır. Bunlar arasında, dut yaprağı, kuşburnu, lahana, mısırpüskülü, roka, pazı, rezene, maydanoz, soğan, kabak, sarımsak, karnabahar, kiraz sapı, nane, yeşilçay ve ıhlamur gibi birçok bitki diüretik özelliklerinden dolayı kullanılmaktadır. Diüretik bitkiler idrar söktürücü, vücuttaki fazla suyun atılmasında, mide ve renal rahatsızlıklarda ve böbrek taşlarının düşürülmesinde kullanılmaktadır [18-25].

2.10. ÜREAZ

Üreaz (üre amidohidrolaz, E.C. 3.5.1.5.), yapısında nikel bulduran bir metaloenzimdir [28]. Bu enzim ürenin hidrolizinden amonyak ve karbondioksit oluşum reaksiyonunu katalizler (Şekil 2.10.1) [11]. Bir molekül ürenin hidrolizi sonucu iki molekül amonyak bir molekül karbondioksit serbest hale gelir [26].



Şekil 2.10.1 Ürenin hidroliz reaksiyonu

Üreaz enzimine özel ilgi gösterilmesinin başlıca üç nedeni vardır. İlk neden 1926'da Sumner tarafından soya fasulyesinden kristal halde izole edilen ilk enzim olması, ikinci neden proteinlerdeki sülfhidril gruplarının varlığının 1951'de aynı araştırmacı tarafından ilk kez üreaz için tanımlanmış olması, üçüncüsü ise 1975'de Dixon ve arkadaşları tarafından metaloenzimler içerisinde nikel içeren ilk enzim olduğunun bulunmasıdır [27].

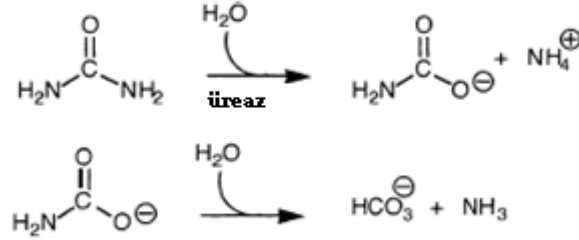
Üreaz enziminin sistematik adı üre amidohidrolaz olmakla birlikte Uluslararası Biokimya ve Moleküler Biyoloji Birliği (IUB) tarafından belirlenen enzim kod numarası E.C. 3.5.1.5.'dir.

Bu sıralamaya göre;

- 3: Tip no: Enzimin bir hidrolaz sınıfı olduğunu
- 5: Grup no: Enzimin C-N bağlarına etkili olan amidaz alt grubuna dahil olduğunu
- 1: Alt grup no: Enzimin bir açilamidaz olduğunu
- 5: Sistematik ad: Enzimin sistematik adının "üre amidohidrolaz" olduğunu gösterir.

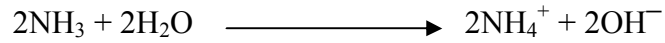
Üreaz, ürenin hidroliz reaksiyonunu normal reaksiyonlara göre 10^{14} kat daha hızlı katalize eder [28, 29]. Normalde ürenin hidrolizi yavaş gerçekleşen bir işlemdir [30]. Katalizör olmadan gerçekleşen reaksiyonda oluşan ürünler amonyak ve siyanürik asittir. Katalizör varlığında gerçekleşen reaksiyonda ise ürünler amonyak ve karbonik asittir.

Son olarak karbonik asit kendiliğinden parçalanarak karbondioksit ve suya dönüşür (Şekil 2.10.2) [31].

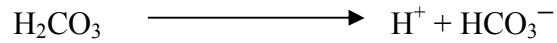


Şekil 2.10.2 Üreazın kataliz reaksiyonu [31]

Fizyolojik pH'larda amonyak su varlığında iyonlarına başlarken (Şekil 2.10.3), karbonik asit protona dissosiyeye olur (Şekil 2.10.4) ve bunun sonucunda net bir pH artışı oluşur [32].



Şekil 2.10.3 Amonyak su ile iyonlarına ayrışması [33]



Şekil 2.10.4 Karbonik asit ayrışması [33]

Üreaz birçok bitki, alg, omurgasız, lifli mantarlarda ve bakterilerde bulunan bir enzimdir [34] ve azot sirkülasyonunda önemli rol oynar [35]. Ayrıca zirai gübrelemede ürenin hidrolizini hızlandırmada, insan ve hayvanlarda gastrointestinal ve renal hastalıkların engellenmesinde önemli rol oynar.

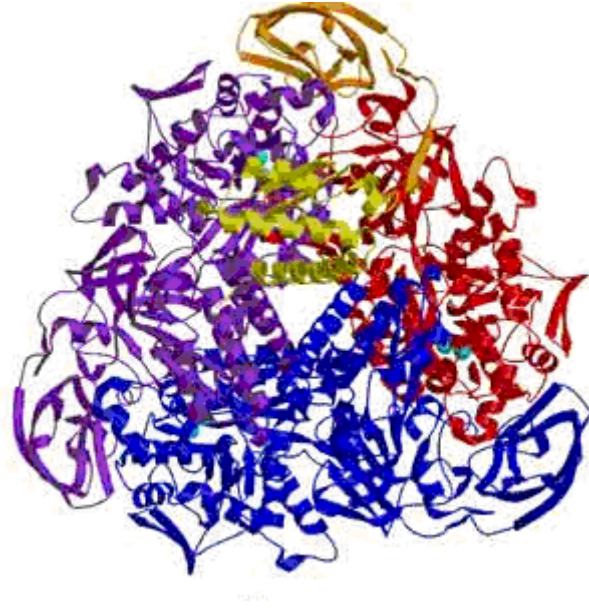
En yaygın üreaz içeren kaynaklar şunlardır;

- *Klebsiella aerogenes*: Geviş getiren hayvanların sindirim sisteminde yaşayan ve içerdiği üreaz (KAU) sayesinde azot metabolizmasında önemli rol oynayan bir bakteridir.
- *Bacillus pasteurii*: Toprakta, sularda ve pis sularda yaşar. Özellikle ziraat için çok önemlidir. İçerdiği üreaz (BPU) sayesinde bitkiler için toprağı azotça zenginleştirir.
- *Canavalia ensiformis*: Bir tür fasulyedir. Bulunduğı bitkide topraktan azot emiliminin yeterli olmadığı durumlarda azot deposu olarak kullanılan argininin açığa çıkardığı üreyi içerdiği üreaz (JBU) sayesinde amonyağı çevirerek azot kaynağı olarak kullanılmasında yardım eder.
- *Helicobacter pylori*: İnsanlarda mide rahatsızlığına sebep olan bir bakteridir. Midenin asidik yapısını etkileyerek ülser vb. rahatsızlıklara sebep olur [36].

2.10.1. Üreaz Enziminin Yapısı

Üreaz genellikle bakteri, mantar ve bitki çeşitlerinde yaygın olarak bulunur. Üreazların yapıları, alt birimlerinin yapısı ve sayıları, moleköl ağırlıkları ve amino asit dizilişleri çeşitli kaynaklardan elde edilmişlerine göre farklıdır [37]. Mantar ve bitki üreazları altbirimlerinin proteinleri homo-hekzamerik yapıda iken, bakteriyel üreazların iki veya üç altbirim kompleksleri multimer yapıdadır [38].

Üreaz monomer olarak aktiftir ve multimerik yapıda genel olarak trimer ya da hekzamer olarak bulunur (Şekil 2.10.1.1). Polipeptit zincirinin 840 amino asitten oluşan alt biriminin moleköl ağırlığı 90.7 kDa'dır. Üreazın yaklaşık moleköl ağırlığı 545.365 kDa olarak bulunmuştur [39].

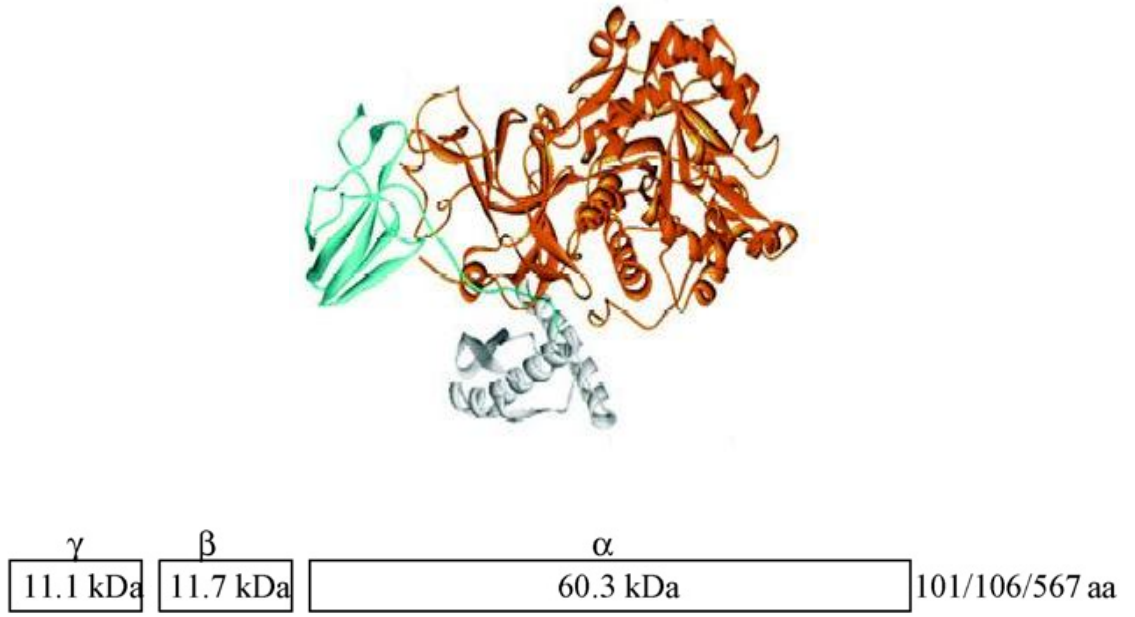


Şekil 2.10.1.1 Üreaz enzimin üç boyutlu yapısı

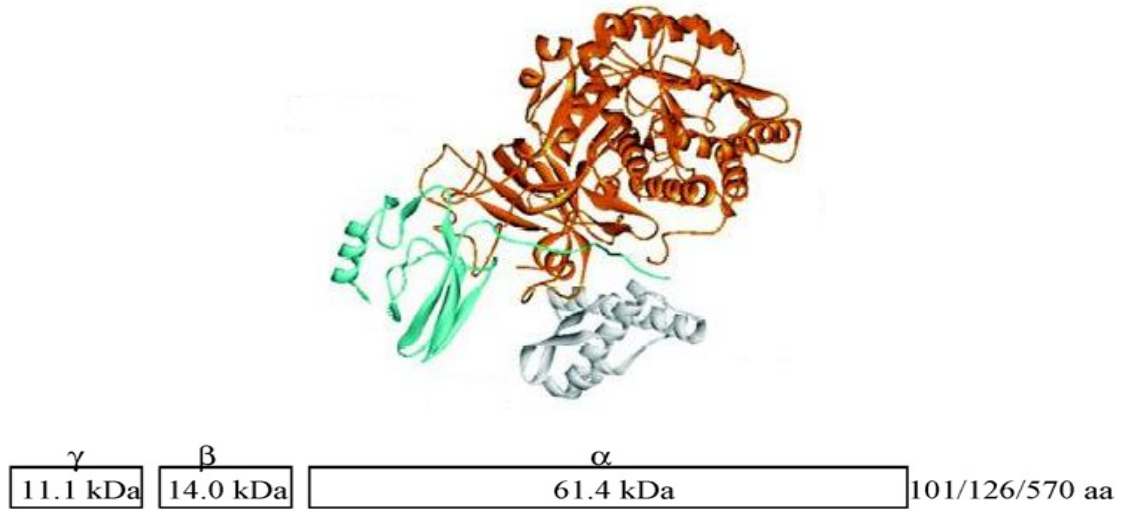
En çok bilinen üreazlar yeşil fasulye ve soya fasulyesi bitkilerinden elde edilenlerdir. En iyi karakterize edilen üreaz ise yeşil fasulye (*Canavalia ensiformis*) bitkisinden elde edilen enzimdir. Yeşil fasulye üreazı kristalize olarak elde edilen ve aynı zamanda yapısında nikel olduğu gösterilen ilk enzimdir [40]. Jack bean üreaz 91 kDa molekül ağırlığına sahip, altı benzer monerik altbirimin hegzameri olarak mevcuttur [41].

Bitki üreazları ile ilgili en iyi genetik veriler ise soya fasüyesi (*Glycine max*) üreazına aittir. Üreaz, soya fasulyesi ve yeşil fasulye gibi tohumlarda bol miktarda bulunurken diğer tip üreazlar bitkinin vejetatif dokularında daha düşük miktarlarda bulunmaktadır [26].

Bakteriyel kaynaklı üreazlardan en iyi bilinenler, *Klebsiella aerogenes* üreazı (Şekil 2.10.1.2), *Bacillus pasteurii* üreazı (Şekil 2.10.1.3) ve *Helicobacter pylori* üreazı (Şekil 2.10.1.4)'dır. Bu enzimlerin alt birimleri α , β , γ olarak adlandırılan üç alt birimin oluşturduğu bir heteropolimerdir ve aktif merkezleri α alt birimlerinde bulunur. *Klebsiella aerogenes* üreazının, aktif bölgesinde iki nikel atomu bulunur [42]. *Klebsiella aerogenes* üreazı üç farklı alt birime sahipken, yüksek ürolitik toprak bakterisi olan *Bacillus pasteurii* üreazının üç alt biriminden bir tanesi heteropolimerik olarak *Klebsiella aerogenes* ile benzer alt birime sahiptir [32].



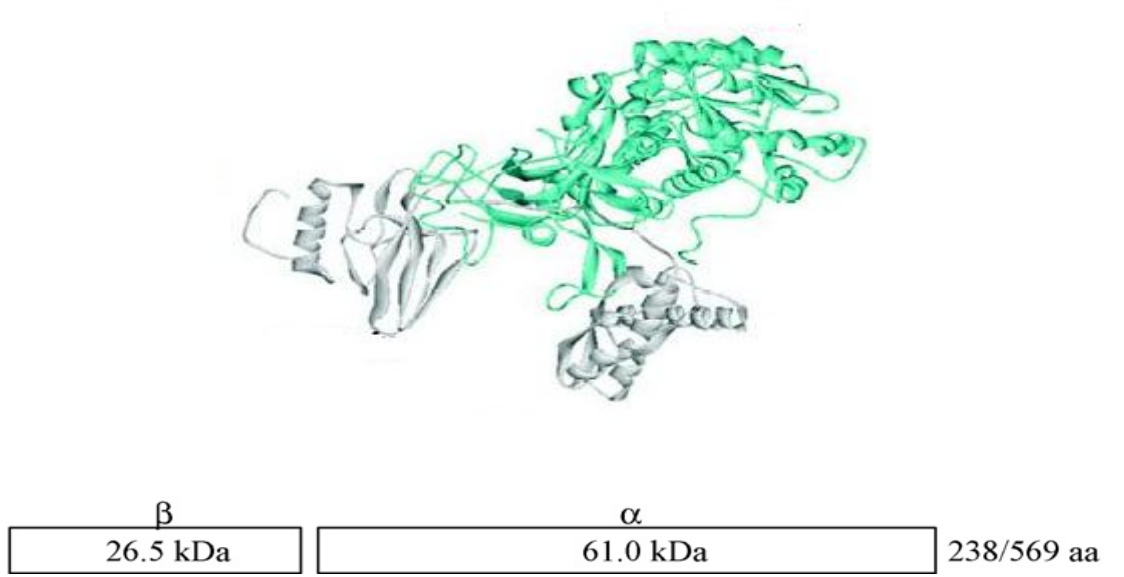
Şekil 2.10.1.2 *Klesbsiella aerogenes* üreazının üç boyutlu yapısı [40, 43]



Şekil 2.10.1.3 *Bacillus pasteurii* üreazının üç boyutlu yapısı [40, 43]

Bir diğer bakteriyel kaynaklı üreaz *Helicobacter pylori* üreazıdır (Şekil 2.10.1.4). *Helicobacter pylori*'nin ürettiği üreaz enzimi 550 kDa ağırlığında nikel içerikli bir enzimdir. Ürenin üreaz enzimi tarafından hidrolizi sonucu oluşan amonyak mide asidini nötralize ederek *Helicobacter pylori*'nin kolonizasyonuna yardımcı olur [44].

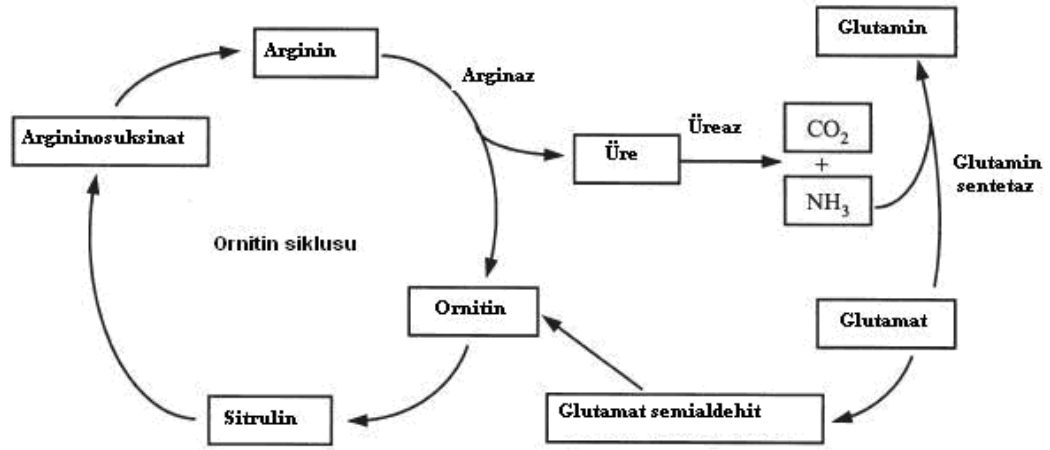
Helicobacter pylori üreazı yapısında iki alt birim içermektedir ve heterodimer yapıdadır [44,38].



Şekil 2.10.1.4. *Helicobacter pylori* üreazının üç boyutlu yapısı [40, 43]

2.10.2 Bitki Metabolizmasında Üreazların Rolü

Bitkilerde, üre metabolizmasında en az üç kilit enzim bulunmaktadır. Bunlar; arginaz, üreaz ve glutamin sentetaz'dır (Şekil 2.10.2.1).



Şekil 2.10.2.1 Üre metabolizması [26]

Üreazların temel rolü, azot kaynağı olarak içten ya da dıştan üretilen ürenin organizma tarafından kullanımını sağlamaktır. Bitki argininin ve purinlerin yıkılmasından oluşan üre aracılığıyla büyümek ve gelişmek için gerekli olan azotun büyük miktarını sağlar. Argininden üre oluşumu arginaz enzimi katalizi ile olmaktadır [26].

Üredeki mevcut azot üreaz tarafından üre hidroliz edilmedikçe bitki tarafından kullanılmaz. Üreaz aktivitesinin ürünü olan NH₃, genellikle glutamik asit ile glutamin sentetaz enzimi tarafından glutamin oluşturmak üzere kullanılır. Glutamin sentetaz aktivitesi, glutamat, glutamin ve onun substratının kullanılabilirliği açısından önemli olduğu gibi, amonyak da azot metabolizmasında ve bitki büyümesinde önemli bir faktördür [26].

Üre yüksek bitkilerde sadece üreaz tarafından asimile edilir ve üreaz bitkilerde yapısında Ni bulduran metaloenzim olarak bilinir. Bitkilerde üreaz aktivitesinin önemi üreden mahrum bırakılan pirinç fidelerinde üreaz aktivitesinin azaltılmasıyla

biriken ürenin fidelerde oluşturduğu gerilemiş büyümenin incelenmesiyle gösterilmiştir [26].

Bitkilerde üre metabolizmasının önemi, ürenin bünyesinde bulunan azot elementinin bitki büyümesinde gösterdiği etki ile açıklanır ve içerden üretilen üreye ek olarak dışardan alınan üre de bitkiler tarafından kullanılır. Üre genellikle düşük maliyetten, kolay kullanımdan ve yüksek azot içeriğinden dolayı gübrelemede kullanılır ve üreaz üreden azotun elde edilmesinde kullanılan tek enzimdir [26].

2.10.3. Üreaz Enzim İnhibitörleri

Üre, zirai uygulamalarda en yaygın kullanılan gübredir. Ürenin gübre olarak kullanılmasının nedeni, ucuz ve kolay uygulanabilir olması ve yüksek miktarda azot içermesidir. Toprakta yüksek üreaz aktivitesi bitkilerin amonyak zehirlenmesine ve pH artışıyla zarar görmesine sebep olduğu için problem oluşturur. Bazı topraklarda ise amonyak atmosfere verilir ve bu da çevre için tehdit oluşturan ve çözülmesi gereken bir sorundur [46]. Bu nedenle üreaz inhibisyonu ve buna bağlı stratejiler, üreaz üreten bakterilerin sebep olduğu enfeksiyonlar için tedavi olarak kabul edilir [47].

Üreaz aktivitesi tarım endüstrisi yanında tıp ve çevresel olarak da zararlı olabilecek bir çok klinik durumların olgularında önemli viral bir belirteçdir. Üreaz böbrek taşı rahatsızlıklarının oluşumuyla doğrudan ilişkilendirilerek, hepatik koma, peptik ülser, ürolityaz, gastrit ve piyelonefrit gibi bir çok hastalıkların gelişiminde sorumlu olan patojenlerde tehlikeli bir faktör oluşturur [47, 48].

İnsanlarda ve hayvanlarda üreaz içeren patojenlerin sebep olduğu hastalıkların tedavisinde kullanılacak ilaçların geliştirilebilmesi ve çevreye verilen bu olumsuz etkilerin onarılabilmesi için üreaz inhibitörü üzerinde yapılacak çalışmalar oldukça önemlidir [49, 50].

Üreaz inhibisyonu üzerindeki çalışmalar fizyolojik durumların çeşitliliğine göre kullanılan ilaçların kullanımında yol gösterene kadar tıp alanındaki araştırmalarda önemi yok sayılmıştır [51].

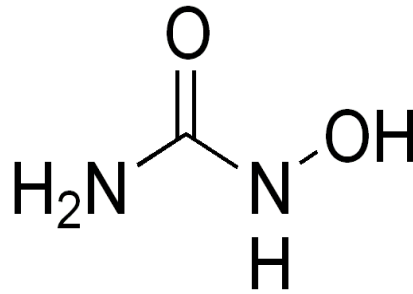
Üreaz inhibitörleri iki alt sınıfa ayrılmaktadır.

- İnhibitor olarak davranan substratlar: Hidroksiüre ve hidrosamik asit türevleri
- İnhibitörler: Fosforodiamidazlar ve proton pompası inhibitörleri olan Lansaprazol, Omeprazol, Rabeprazol gibi imidazoller [52]

Bu alt sınıf dışında da diüretik özellik gösteren bazı ilaçlar bulunmaktadır. Bu ilaçlara örnek olarak fenofibrat verilebilir.

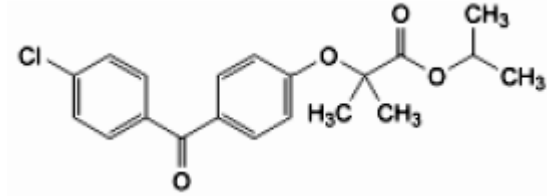
Hidrosamik asit türevleri farklı fonksiyonel gruplar içeren kimyasal bileşikler sınıfıdır. Genel formülü R-CO-NH-OH şeklindedir. Hidroksiüre, antitümör, antifungal, antibakteriyel ve antiinflamatuvar gibi birçok biyolojik aktivitelere neden olan demir taşıyan mikrobiyal hücrelerle ilişkilendirilen hidrosamik asitle yapısal olarak bağlantılıdır [53].

Hidroksiüre (Şekil 2.10.3.1), *Helicobacter pylori* üreazını içeren çeşitli mikroorganizmaları ve *jack bean* üreazını içeren çeşitli bitkileri inhibe etmesiyle bilinir. *Helicobacter pylori* üreazı, insanlarda mide kanseri oluşumunda yüksek risk oluşturmaktadır [54]. Hidroksiüre, antimetabolit ailesine ait olan bir antiülser ilaçtır [53].



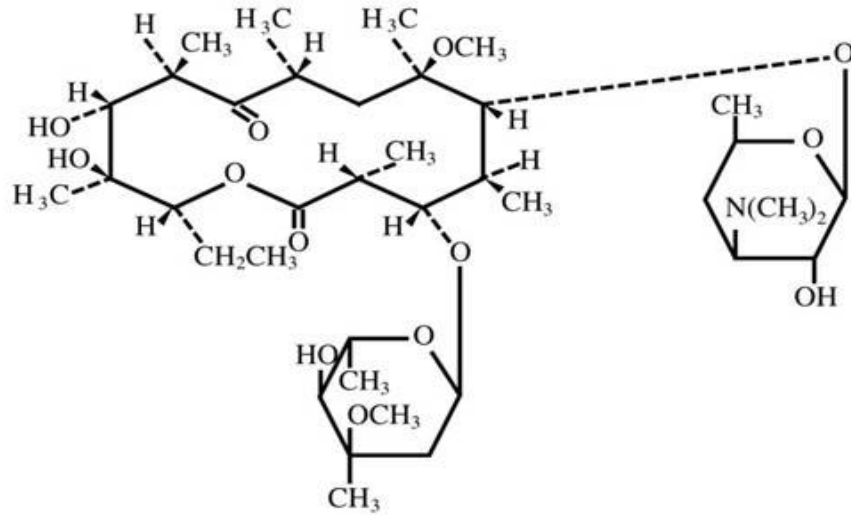
Şekil 2.10.3.1 Hidroksiüre formülü

Fenofibrat (Şekil 2.10.3.2), fibrik asit türevidir. Fenofibrat, plazmada trigliseridden zengin partiküllerin emilimini ve lipolizini artırır. Hiperproteinemili hastalarda plazma ürik asit düzeyi % 20 oranında artar. Fenofibratin ürikozürük aktivitesi vardır.



Şekil 2.10.3.2 Fenofibrat formülü

Helicobacter pylori enfeksiyonunun gastrit, peptik ülser ve gastrik kanser gibi gastroduodenal hastalıklarla olan ilişkisi iyi bilinmektedir. *H. pylori* enfeksiyonunun tedavisinde öncelikle proton pompası inhibitörleri ve bunlara ek olarak klaritromisin (Şekil 2.10.3.3) gibi antibiyotikler kullanılmaktadır [55].

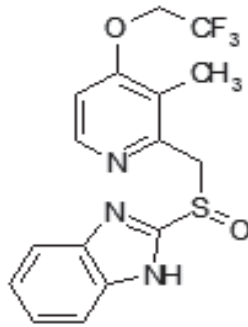


Şekil 2.10.3.3 Klaritromisin formülü

Peptik ülser tedavisinde proton pompası inhibitörleri (PPI) kullanılır ve PPI'leri mide asit sekresyonunun farmakolojik kontrolünde çok önemli bir kilometre taşı olmuştur. Mide asit sekresyonunu yüksek miktarlarda inhibe etmeleri, en önemli özellikleridir. Ayrıca, PPI'leri; *Helicobacter pylori*'nin gastrik mukoz membranında kolonizasyonunu engeller, bakterinin büyümesini inhibe eder, epitel hücresinin adezyonunu ve üreaz aktivitesini inhibe eder [56].

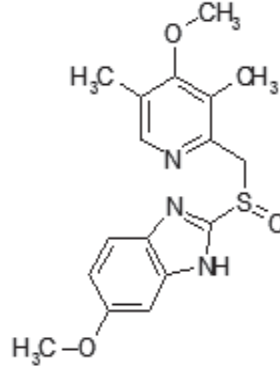
PPI'leri mide asidiyle ilişkili hastalıklar, reflü rahatsızlığı, duodenal ülser ve gastrik ülser tedavisi için seçilen ilaç sınıfıdır. Proton pompası inhibitörlerinin başında lansaprazol (Şekil 2.10.3.4) ve omeprazol (Şekil 2.10.3.5) gelir [57].

Üreaz ürenin hidroliziyle, tahriş edici amonyak oluşturarak ülserojenik etkinliğe katkıda bulunur. Lansaprazol, HP'nin mide mukozasında çoğalmasını ve bu bakterinin üreazının etkinliğini azaltır. Lansaprazol'un yan etkileri, diyare, bulantı, baş ağrısı ve astenidir [58]. Lansaprazol, mide ve duodenum ülseri, asitle ilişkili dispepsi, Zollinger-Ellison sendromu, gastroözofajeal reflü hastalığı ve düşük dozda aspirin kullanımı sonucu oluşan peptik ülserinin tedavisinde kullanılır [58, 59].



Şekil 2.10.3.4. Lansaprazol formülü

Omeprazol, tedaviye ilk giren benzoimidazol türevi PPI ilaçtır. Lansaprazol ile benzer tedavilerde kullanılarak, hemen hemen aynı yan tesiri gösterir [58].



Şekil 2.10.3.5 Omeprazol formülü

Üreaz aktivitesini etkilediği bilinen diğer inhibitörler arasında hidroksumik asit türevleri, tioller, borik asit ve boranik asit, bizmut bileşikleri, fosforamidaz ve ağır metal iyonları sayılabilir [32,45,51].

Bizmut bileşikleri, uzun zamandan beri tüm dünyada dispepsi, diyare ve peptik ülser hastalıklarında tedavi edici etken olarak kullanılmaktadır [45]. Çeşitli çalışmalarda *Helicobacter pylori*'nin oluşturduğu bakteriyel etkilere karşı birçok bizmut bileşiklerinin etkili olduğu gösterilmektedir [45].

2.10.4. Üreaz Enziminin Kullanım Alanları

Üreazın kullanım alanları şu şekilde sıralanabilir;

- Biyolojik sıvılarda üre miktarının hesaplanmasında
- Yapay böbrekte ürenin kandan uzaklaştırılmasında
- Atık sularda ürenin temizlenmesinde
- Gıda endüstrisinde üreyi meyve suyu ve yiyeceklerden uzaklaştırmakta kullanılır [50]

Biyolojik sıvılarda üre miktarının hesaplanmasında; üre vücudumuzda metabolik reaksiyonlar sonucu ortaya çıkan ve böbreklerden idrar yoluyla sürekli atılan en önemli

toksik maddelerden biridir [50]. Amino asitlerin başlıca α -amino asidinden türeyen amonyak insanlarda potansiyel olarak toksik etkilidir. Vücut bu toksik olan amonyaktan toksik olmayan üreyi meydana getirir. Amonyanın üreye çevrilişi ve üre döngüsündeki metabolik yolun normal işleyişi sağlığın korunması için esastır. Bazı sirozlu hasta bireylerde ve ağır hepatitli hastalarda karaciğer fonksiyonları ciddi bir şekilde etkilendiğinden amonyak kanda birikir ve klinik semptom ve belirtilere yol açar. Amonyak zehirlenmesinin semptomları, konuşmanın peltekleşmesi, görmede bulanıklık, ağır vakalarda koma ve ölümü kapsar. Tedavi, kan amonyak düzeyini düşürmek üzere tasarlanan tedbirleri kapsar [6].

Üreazın biyokatalizör olarak üre biyosensörlerinde kullanımının geliştirilmesi biyokimya ve klinik analizcilerin ilgisini çekmeye devam etmektedir. Yapılan çalışmalarda genel prensip immobilize üreaz ile membran yüzeyi kaplanarak oluşturulan biyosensörlerde ürenin amonyum ve bikarbonata dönüştürülerek ürün miktarını gözlemektir [60].

Yapay böbrekte ürenin kandan uzaklaştırılmasında; böbrek bir boşaltım organıdır. Vücutta biriken üre, ürik asit gibi metabolizma atıklarını dışarı atarak elektrolit ve su kaybını düzenler. İnsan vücudu günde yaklaşık 1.4 l suyu idrar yoluyla atar. Bu şekilde vücut idrarda bulunan zararlı madde olarak adlandırılan çeşitli kimyasal maddeleri atmış olur. Bu zararlı maddelerin vücuttan atılmasıyla böbrekler organizmadan zararlı zehirli maddelerin atılması gibi hayati öneme sahip işlevini yerine getirir. Böbrek fonksiyonlarının göstergesi olarak kandaki üre ve kreatinin seviyesi önemlidir. Böbreğin fonksiyonunu yerine getiremediği durumlarda kanda üre birikir. Böbrek yetmezliği çeken hastalarda ürenin fazlasının ortamdaki uzaklaştırılması büyük bir problemdir. Böbreğin fonksiyonlarını yürütemediği durumlarda hasta hayatının devamını sağlamak için bu fonksiyonları üstlenen çeşitli yapay böbrek sistemleri geliştirilmiştir [28].

Atık sularındaki ürenin temizlenmesinde, üre diyaliz çözültisinde bulunan bir atıktır. Her kullanımda yaklaşık 100 ile 300 l diyaliz suyu oluşur. Hem çevrenin korunması hem de bu suyun tekrar kullanılabilmesi için ürenin bu ortamdan uzaklaştırılması gerekir [61].

Bu alışmamızda sağlık alanında özellikle gastrointestinal sistem rahatsızlıklarında, böbrek ile ilgili Őikayetlerde kullanılan çeşitli bitki ekstralarının, ilaç etken maddelerinin ve bazı anorganik ve organik kimyasal bileşiklerin üreaz enzim aktivitesi üzerine inhibisyon etkileri araştırılacaktır.

3.MALZEME VE YÖNTEM

3.1. DENEYLERDE KULLANILAN ALETLER VE KİMYASAL MADDELER

| | |
|-------------------|---------------------------------|
| Buzdolabı | : Arçelik |
| Destile Su Cihazı | : Brand MonoDest3000 |
| Derin Dondurucu | : Beko |
| Etüv | : Nüve FN5000 |
| Evaporatör | : Bibby Rotary Vacum Evaporator |
| Isıtıcı | : Electromantle |
| pH Metre | : Hearus |
| Spektrofotometre | : Shimadzu UV-mini 1240 |
| Terazi | : Metlerr 110 Hassas Terazi |
| Terazi | : 1 Gec Avery |
| Vortex | : Fisons Whirlimixer |

Çalışmamızdaki deneylerde etil alkol (C_2H_5OH -Merck 100971), potasyum sekonder fosfat (KH_2PO_4 -Merck), sekonder sodyum fosfat (Na_2HPO_4 -Merck), sodyum hidroksit ($NaOH$ -Merck 6462), üre ($NH_2-CO-NH_2$ -Riedel-de-Haen 15604), üreaz (Fluka 94280) ve fenol kırmızısı (Merck 46541) kimyasalları kullanıldı.

3.2. ENZİM İNHİBİSYONU TAYİNLERİNDE KULLANILAN BİTKİ MATERYALLERİ

Çalışmamızda, üreaz inhibitörü etkilerinin tayinlerinde beyaz lahana, dut yaprağı, kara lahana, karnabahar, kiraz sapı, kuşburnu, labada, maydanoz, mısır püskülü, mor lahana, nane, pazı, pırasa, rezene, roka, soğan, yeşilçay ve zeytin yaprağı bitkileri kullanıldı. Bitki materyallerinin latince adları Tablo 3.2.1’de verilmiştir.

Mısır çarşısındaki aktarlardan ve pazarlardan alınan veya kendimizin yetiştirdiği bitkiler toplandı, yıkandı, distile sudan geçirildi ve gölgede kurutuldu.

Tablo3.2.1 Bitki materyallerinin latince adları.

| Bitki Materyalinin Türkçe Adı | Latince Adı |
|--------------------------------------|---|
| Beyaz Lahana | <i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i> f. <i>alba</i> |
| Dut Yaprağı | <i>Morus alba</i> L. |
| Kara Lahana | <i>Brassica oleracea</i> Acephala |
| Karnabahar | <i>Brassia oleracea</i> var. <i>Botrytis</i> |
| Kiraz sapı | <i>Prunus avium</i> |
| Kuşburnu | <i>Rosae caninae</i> L. |
| Labada | <i>Rumex cristatus</i> DC |
| Maydanoz | <i>Petroselinum crispum</i> |
| Mısır Püskülü | <i>Zea mays</i> |
| Mor Lahana | <i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i> f. <i>rubra</i> |
| Nane | <i>Mentha piperita</i> L. |
| Pazı | <i>Beta vulgaris</i> L. var <i>cicla</i> |
| Pırasa | <i>Allium porrum</i> |
| Rezene | <i>Foeniculum vulgare</i> Miller |
| Roka | <i>Eruca sativa</i> Miller |
| Soğan | <i>Allium cepa</i> L. |
| Yeşilçay | <i>Camellia sinensis</i> |
| Zeytin yaprağı | <i>Olea europea</i> L. |

Kurutulan bitkilerden sulu ve etil alkollü ekstreler hazırlandı.

3.2.1. Sulu Ekstrelerin Hazırlanması

30 g bitki toz haline getirildikten sonra balona konularak üzerine 300 mL distile su ilave edildi. Karışım geri soğutucu altında 5 saat reflüks edildi. Elde edilen karışım soğuduktan sonra süzgeç kağıdından süzüldü. Süzüntü, önceden darası alınan balona konuldu. Balon rota evaporatöre yerleştirilerek karışımın suyu düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Elde edilen ekstre miktarları tartılarak kaydedildi.

3.2.2 Etil Alkollü Ekstrelerin Hazırlanması

25 g bitki tartıldı. Sokslet cihazının kartuşuna yerleştirildi. Kartuş Sokslet cihazına yerleştirildi. Sokslet cihazının balonuna 100 mL % 96'lık etil alkol konuldu. Karışım geri soğutucu altında 4 saat reflüks edildi. Elde edilen karışım soğutuldu ve süzüldü. Süzüntü önceden darası alınan balona konuldu. Balon rota evaporatöre yerleştirilerek düşük basınç altında etil alkol karışımından uzaklaştırıldı. Elde edilen ekstre miktarları tartılarak kaydedildi.

3.3. ENZİM İNHİBİSYONU TAYİNLERİNDE KULLANILAN İLAÇ ETKEN MADDELERİ

Çalışmamızda üreaz inhibitörü etkilerinin tayinlerinde fenofibrat, klaritromisin, lansaprozol ve omeprazol ilaç etken maddeleri kullanıldı.

İlaç etken maddeler aşağıda belirtilen çeşitli firmalardan temin edilerek deneylerde kullanıldı.

Tablo 3.3.1 İlaç etken maddelerin sistematik adları.

| İlaç Etken Madde Adı | Sistemik (IUPAC) Adı |
|--------------------------------|--|
| Fenofibrat (İlsan İlaç A.Ş) | Propan-2-yl-2- {4-[(4-klorofenil)karbonil]fenoksi}-2-metilpropanoat |
| Klaritromisin (İlsan İlaç A.Ş) | (3R,4S,5S,6R,7R,9R,11S,12R,13S,14S)-6- {[(2S,3R,4S,6R)-4-(dimetilamino)-3-hidroksi-6-metiloksan-2-yl]oksi}-14-etil-12,13-dihidroksi-4- {[(2R,4S,5S,6S)-5-hidroksi-4-methoksi-4,6-dimetiloksan-2-yl]oksi}-7-methoksi-3,5,7,9,11,13-heksametil-1-oksasiklotetradekan-2,10-dion |
| Lansaprozol (Eczacıbaşı) | 2- {[3-metil-4-(2,2,2-trifluoroethoksi)piridin-2-yl]metilsulfinil}-1H-benzo[d]imidazol |
| Omeprazol (Eczacıbaşı) | 6-methoksi-2-((4-methoksi-3,5-dimetilpiridin-2-yl)metilsulfinil)-1H-benzo[d]imidazol |

3.4. ENZİM İNHİBİSYONU TAYİNLERİNDE KULLANILAN ORGANİK VE ANORGANİK MADDELER

Çalışmamızda üreaz inhibitörü etkilerinin tayinlerinde organik madde olarak asetohidroksamik asit (Aldrich 159034), merkaptometilpropanilprolin (kaptoril) (Sigma 8856), glutatyon (GSH) (Fluka 4970), 2-iyodoasetamid (Merck 504551), mannitol (Merck 5982), L-sistein (Merck 2214657) ve tiosemikarbazid (Merck 108156) anorganik madde olarak borik asit (Merck 100160), bizmut nitrat (Merck 1878) kullanıldı.

3.5. ÜREAZ İNHİBİTÖR ETKİSİNİN ÖLÇÜLMESİ

Üreaz inhibitörü etkisi Van Slyke ve Archibald [62] metodundan yararlanılarak spektrofotomerik olarak tayin edildi. Çalışmamızda hazırlanan bitkilerin sulu ve etil alkollü ekstrelerin, ilaç etken maddelerin, organik ve anorganik maddelerin 5 farklı konsantrasyonda olacak şekilde çözeltileri hazırlandı. Bitkilerin sulu ekstreleri suda, bitkilerin etil alkollü ekstreleri % 96'lık etil alkolde, ilaç etken maddeler % 70'lik etil alkolde, organik ve anorganik maddeler ise destile suda çözüldü. Hazırlanan farklı konsantrasyondaki çözeltilerinden 0.5'er mL alındı. Üzerine üreazın 100 mM fosfat tamponu pH 6.8'de hazırlanan 16 mg/mL'lik çözeltisinden 0.5 mL ilave edildi. Bu karışım 15 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Kontrol çözeltisi olarak 500 mM üre içeren fosfat tamponu pH 6.8 çözeltisinden 0.5 mL alındı. Üzerine üreazın 100 mM fosfat tamponunda pH 6.8'de hazırlanan 16 mg/mL'lik çözeltisinden 0.5 mL ilave edildi. Bu karışım 15 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Örnek ve kontrol çözeltilerinin üzerine 15 dakika inkübasyondan sonra 1 mL sinde 1 µg fenol kırmızısı bulunan üre fosfat tampon pH 6.8 çözeltisinden 0.4 mL ilave edildi ve spektrofotometrede 570 nm'de köre karşı absorbansı okundu.

Tüm üreaz inhibitörü ile ilgili işlemler örneklerin oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilmesiyle tekrarlandı.

Kör olarak 100 mM fosfat tampon pH 6.8 çözeltisi kullanıldı.

Yapılan çalışmada 5 farklı konsantrasyonda hazırlanan örneklerin üreaz enzimi üzerine inhibisyon değerleri aşağıdaki denkleme göre hesaplandı:

$$\% \text{ İnhibisyon} = [1-(B/A)] \times 100$$

A : Kontrol çözeltisinin 570'nm de köre karşı okunan absorbans değeri

B : Numune çözeltisinin 570'nm de köre karşı okunan absorbans değeri

DeneYler 4 kez tekrarlandı ve ortalaması alındı. Hazırlanan bitki ekstralarının, ilaç etken maddelerinin, organik ve anorganik maddelerinin üreaz enzimi üzerindeki % inhibisyon değerleri hesaplandı.

Üreaz enziminin IC_{50} (Enzim % 50 inhibisyon etkisi göstermesi için gerekli olan madde miktarı) konsantrasyonu absise madde miktarı, ordinata % enzim inhibisyon verilerinin uygulanması ile çizilen eğrinin lineer kısmından elde edilen regresyon denkleminde hesaplandı.

4. BULGULAR

Bu çalışmada çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan bitkilerinin, ilaç etken maddelerinin, organik ve anorganik maddelerinin üreaz enzimi üzerindeki inhibisyon etkileri incelendi.

Enzim kaynağı olarak üreazın saf preparatları kullanıldı.

4.1. BİTKİ EKSTRELERİNİN ÜREAZ İNHİBİTÖRÜ ETKİSİ

Beyaz lahana, dut yaprağı, kara lahana, karnabahar, kiraz sapı, kuşburnu, labada, maydanoz, mısır püskülü, mor lahana, nane, pazı, pırasa, rezene, roka, soğan, yeşilçay ve zeytin yaprağı sulu bitki ekstralarının farklı konsantrasyonlarında 15'inci ve 30'uncu dakikalarda hesaplanan inhibisyon grafikleri yardımı ile belirlenen % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri Tablo 4.1.1 ve Tablo 4.1.2'de verildi.

Tablo 4.1.1 Çeşitli bitkilerden hazırlanan sulu ekstraların 15'inci dakikada üreaz üzerindeki % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri

| Bitki Adı | Süre (dk) | Konsantrasyon (µg/mL) | % İnhibisyon | IC ₅₀ Değeri (µg/mL) |
|--------------|-----------|-----------------------|--------------|---------------------------------|
| Beyaz lahana | 15 | 5000 | 19.19 ± 2.23 | 2685.27 ± 107.66 |
| | | 4000 | 33.14 ± 1.16 | |
| | | 3000 | 46.51 ± 1.90 | |
| | | 2000 | 59.31 ± 1.35 | |
| | | 1000 | 71.51 ± 2.23 | |
| Dut yaprağı | 15 | 600 | 26.88 ± 0.80 | 72.81 ± 15.60 |
| | | 400 | 33.96 ± 0.80 | |
| | | 100 | 48.13 ± 1.42 | |
| | | 50 | 50.63 ± 0.80 | |
| | | 10 | 54.17 ± 0.68 | |

| | | | | |
|-------------|----|------|--------------|------------------|
| Kara lahana | 15 | 4000 | 7.93 ± 2.34 | 1266.55 ± 80.15 |
| | | 3000 | 20.12 ± 1.22 | |
| | | 2000 | 34.15 ± 1.99 | |
| | | 1000 | 53.05 ± 2.34 | |
| | | 500 | 66.46 ± 1.22 | |
| Karnabahar | 15 | 5000 | 7.74 ± 1.19 | 2336.67 ± 65.00 |
| | | 4000 | 28.57 ± 1.94 | |
| | | 3000 | 42.27 ± 2.28 | |
| | | 2000 | 54.17 ± 2.28 | |
| | | 1000 | 68.46 ± 2.28 | |
| Kiraz sapı | 15 | 5000 | 21.34 ± 3.07 | 3131.06 ± 20.73 |
| | | 4000 | 38.42 ± 2.33 | |
| | | 3000 | 49.50 ± 1.99 | |
| | | 2000 | 70.73 ± 1.99 | |
| | | 1000 | 80.49 ± 1.99 | |
| Kuşburnu | 15 | 2000 | 23.84 ± 2.23 | 1243.06 ± 42.22 |
| | | 1500 | 39.53 ± 1.90 | |
| | | 1000 | 62.79 ± 1.90 | |
| | | 500 | 75.00 ± 2.23 | |
| | | 250 | 81.40 ± 1.90 | |
| Labada | 15 | 5000 | 17.86 ± 1.37 | 2054.87 ± 45.94 |
| | | 4000 | 29.17 ± 1.19 | |
| | | 3000 | 36.91 ± 1.38 | |
| | | 2000 | 47.03 ± 1.19 | |
| | | 1000 | 65.48 ± 1.37 | |
| Maydanoz | 15 | 5000 | 40.13 ± 2.52 | 3981.34 ± 188.05 |
| | | 4000 | 50.00 ± 2.15 | |
| | | 3000 | 59.87 ± 2.52 | |
| | | 2000 | 69.08 ± 2.52 | |
| | | 1000 | 78.95 ± 2.15 | |

| | | | | |
|---------------|----|------|--------------|-----------------|
| Mısır püskülü | 15 | 500 | 25.00 ± 2.34 | 196.40 ± 4.40 |
| | | 250 | 44.51 ± 2.34 | |
| | | 100 | 56.09 ± 2.01 | |
| | | 50 | 62.20 ± 1.41 | |
| | | 10 | 68.29 ± 1.99 | |
| Mor lahana | 15 | 3000 | 8.34 ± 2.46 | 1127.19 ± 81.51 |
| | | 2000 | 28.85 ± 2.46 | |
| | | 1500 | 51.28 ± 2.46 | |
| | | 1000 | 64.75 ± 2.46 | |
| | | 500 | 71.15 ± 2.46 | |
| Nane | 15 | 2000 | 31.88 ± 1.25 | 1342.47 ± 41.35 |
| | | 1500 | 44.38 ± 2.39 | |
| | | 1000 | 58.75 ± 1.44 | |
| | | 500 | 75.00 ± 2.04 | |
| | | 250 | 82.50 ± 2.04 | |
| Pazı | 15 | 5000 | 40.79 ± 1.52 | 4233.87 ± 18.44 |
| | | 4000 | 51.32 ± 1.52 | |
| | | 3000 | 67.11 ± 1.52 | |
| | | 2000 | 78.95 ± 2.15 | |
| | | 1000 | 88.81 ± 1.32 | |
| Pırasa | 15 | 3000 | 15.13 ± 2.52 | 1761.69 ± 41.05 |
| | | 2000 | 47.37 ± 2.15 | |
| | | 1500 | 58.55 ± 1.32 | |
| | | 1000 | 69.08 ± 2.52 | |
| | | 500 | 80.92 ± 1.32 | |
| Rezene | 15 | 7000 | 34.52 ± 1.37 | 5011.08 ± 56.40 |
| | | 6000 | 42.27 ± 2.28 | |
| | | 5000 | 51.79 ± 1.19 | |
| | | 4000 | 55.95 ± 1.37 | |
| | | 3000 | 64.88 ± 1.19 | |

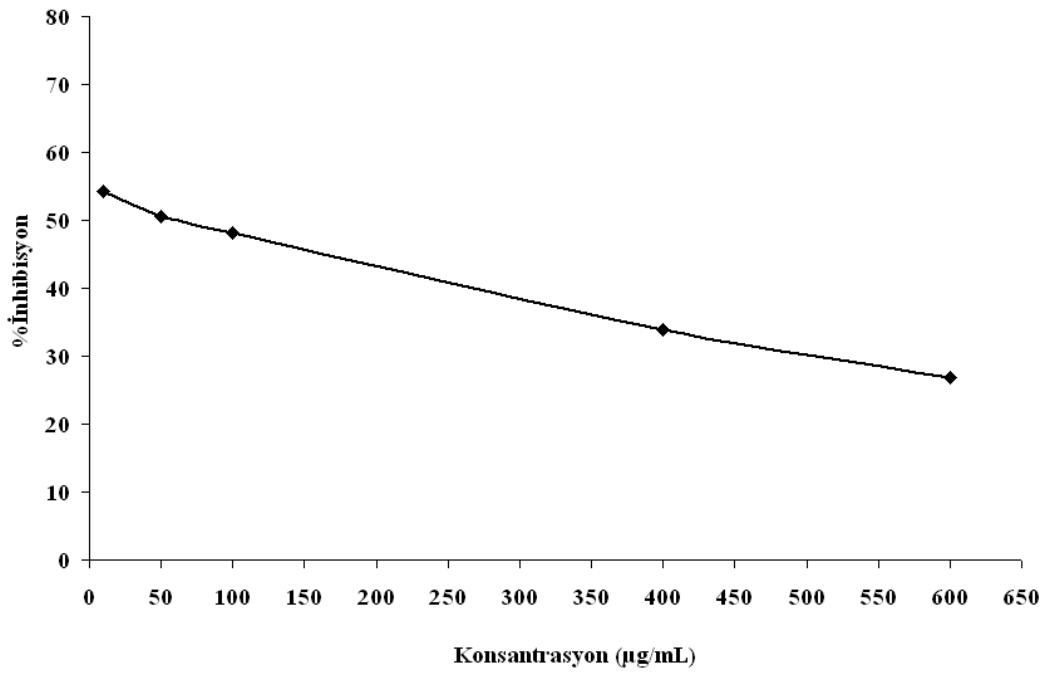
| | | | | |
|----------------|----|------|--------------|-----------------|
| Roka | 15 | 4000 | 7.05 ± 2.46 | 1376.28 ± 73.01 |
| | | 2000 | 39.78 ± 1.44 | |
| | | 1000 | 55.13 ± 1.48 | |
| | | 500 | 63.46 ± 2.46 | |
| | | 100 | 72.43 ± 1.29 | |
| Soğan | 15 | 4500 | 7.56 ± 1.16 | 2395.92 ± 60.25 |
| | | 4000 | 18.02 ± 2.23 | |
| | | 3000 | 41.86 ± 1.90 | |
| | | 2000 | 57.56 ± 2.23 | |
| | | 1000 | 76.16 ± 2.23 | |
| Yeşil çay | 15 | 1000 | 16.09 ± 2.29 | 406.24 ± 35.76 |
| | | 750 | 27.98 ± 2.29 | |
| | | 500 | 46.38 ± 1.94 | |
| | | 250 | 57.14 ± 1.94 | |
| | | 100 | 69.05 ± 1.94 | |
| Zeytin yaprağı | 15 | 3000 | 25.00 ± 3.07 | 2021.57 ± 23.19 |
| | | 2500 | 36.91 ± 1.40 | |
| | | 2000 | 51.79 ± 2.99 | |
| | | 1500 | 64.39 ± 2.75 | |
| | | 1000 | 75.00 ± 3.07 | |

Tablo 4.1.1'e göre

- a. En yüksek üreaz inhibisyonundan başlayarak sırasıyla dut yaprağı, mısır püskülü, yeşilçay, mor lahana, nane, roka, pırasa, zeytin yaprağı, labada, karnabahar, soğan, beyaz lahana, kiraz sapı, maydanoz, pazı ve rezene olduğu saptandı.
- b. Bitkiler içinde IC₅₀ değerinin en düşük olması nedeniyle, 15'inci dakikada en yüksek oranda üreazı inhibe eden ekstrenin dut yaprağının sulu ekstresi olduğu bulundu (Tablo 4.1.1).

- c. Genel olarak Tablo 4.1.1'deki sonuçlara bakıldığında diğer bitkilerin de kabul edilebilir etkin bir inhibitör aktivitesine sahip olduğu bulundu.

Çalışmamızda, hazırlanan sulu bitki ekstraları arasında en düşük konsantrasyonda en yüksek üreaz inhibisyonuna neden olan ve en düşük IC_{50} değerine sahip olan dut yaprağının sulu ekstresinin % inhibisyon değerine ait 15'inci dakikadaki grafiği şekil 4.1.1' de verilmiştir.



Şekil 4.1.1 Dut yaprağının sulu ekstresinin 15'inci dakikada üreaz % inhibisyon değerleri

Tablo 4.1.2 Çeşitli bitkilerden hazırlanan sulu ekstrelerin 30'uncu dakikada üreaz üzerindeki % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri

| Bitki Adı | Süre (dk) | Konsantrasyon (µg/mL) | % İnhibisyon | IC ₅₀ Değeri (µg/mL) |
|--------------|-----------|-----------------------|--------------|---------------------------------|
| Beyaz lahana | 30 | 5000 | 16.49 ± 2.04 | 2318.10 ± 93.55 |
| | | 4000 | 29.26 ± 2.03 | |
| | | 3000 | 40.43 ± 1.74 | |
| | | 2000 | 53.20 ± 1.73 | |
| | | 1000 | 67.56 ± 2.03 | |
| Dut yaprağı | 30 | 600 | 24.19 ± 0.78 | 16.88 ± 2.39 |
| | | 400 | 31.10 ± 0.78 | |
| | | 100 | 43.70 ± 0.78 | |
| | | 50 | 46.54 ± 0.78 | |
| | | 10 | 50.85 ± 0.47 | |
| Kara lahana | 30 | 4000 | 9.79 ± 1.25 | 1131.45 ± 123.42 |
| | | 3000 | 19.57 ± 1.78 | |
| | | 2000 | 33.15 ± 2.08 | |
| | | 1000 | 50.54 ± 2.08 | |
| | | 500 | 63.59 ± 2.08 | |
| Karnıbahar | 30 | 5000 | 13.04 ± 1.78 | 2601.69 ± 46.53 |
| | | 4000 | 33.70 ± 3.77 | |
| | | 3000 | 48.92 ± 1.25 | |
| | | 2000 | 57.07 ± 1.09 | |
| | | 1000 | 69.57 ± 1.78 | |
| Kiraz sapı | 30 | 5000 | 16.11 ± 2.13 | 2811.49 ± 59.57 |
| | | 4000 | 30.56 ± 2.13 | |
| | | 3000 | 46.47 ± 1.82 | |
| | | 2000 | 66.11 ± 2.13 | |
| | | 1000 | 75.56 ± 1.82 | |
| Kuşburnu | 30 | 2000 | 26.56 ± 2.00 | 1324.10 ± 19.63 |
| | | 1500 | 46.36 ± 2.00 | |
| | | 1000 | 63.54 ± 1.20 | |
| | | 500 | 74.48 ± 2.00 | |
| | | 250 | 81.77 ± 2.62 | |

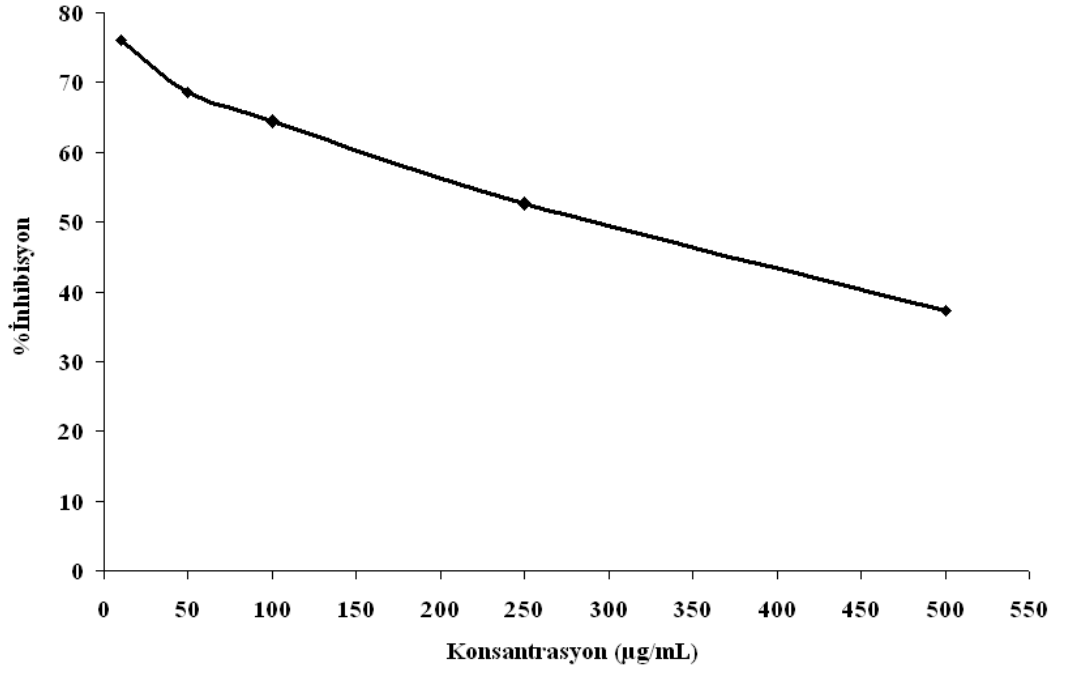
| | | | | |
|---------------|----|------|--------------|------------------|
| Labada | 30 | 5000 | 20.66 ± 1.25 | 2124.27 ± 95.91 |
| | | 4000 | 30.43 ± 1.78 | |
| | | 3000 | 36.96 ± 1.78 | |
| | | 2000 | 46.74 ± 1.26 | |
| | | 1000 | 67.39 ± 1.78 | |
| Maydanoz | 30 | 5000 | 43.48 ± 3.05 | 4381.72 ± 302.50 |
| | | 4000 | 54.17 ± 2.28 | |
| | | 3000 | 63.10 ± 1.38 | |
| | | 2000 | 73.81 ± 1.94 | |
| | | 1000 | 83.33 ± 1.94 | |
| Mısır püskülü | 30 | 500 | 37.24 ± 1.23 | 312.22 ± 10.24 |
| | | 250 | 52.66 ± 2.05 | |
| | | 100 | 64.36 ± 2.04 | |
| | | 50 | 68.62 ± 2.03 | |
| | | 10 | 76.07 ± 2.03 | |
| Mor lahana | 30 | 3000 | 18.75 ± 2.17 | 1283.32 ± 29.40 |
| | | 2000 | 36.37 ± 2.63 | |
| | | 1500 | 52.84 ± 2.18 | |
| | | 1000 | 64.21 ± 2.18 | |
| | | 500 | 71.59 ± 1.24 | |
| Nane | 30 | 2000 | 42.61 ± 2.17 | 1682.77 ± 56.56 |
| | | 1500 | 54.55 ± 1.86 | |
| | | 1000 | 66.48 ± 1.14 | |
| | | 500 | 78.41 ± 1.32 | |
| | | 250 | 86.93 ± 2.18 | |
| Pazı | 30 | 5000 | 29.76 ± 1.37 | 3271.39 ± 91.74 |
| | | 4000 | 39.29 ± 1.37 | |
| | | 3000 | 55.95 ± 1.37 | |
| | | 2000 | 65.48 ± 1.37 | |
| | | 1000 | 74.41 ± 2.28 | |

| | | | | |
|----------------|----|------|------------------|----------------------|
| Pırasa | 30 | 3000 | 19.77 ± 1.35 | 1783.88 ± 37.14 |
| | | 2000 | 47.68 ± 1.35 | |
| | | 1500 | 58.72 ± 2.23 | |
| | | 1000 | 66.86 ± 1.16 | |
| | | 500 | 77.81 ± 1.35 | |
| Rezene | 30 | 7000 | 45.63 ± 1.82 | 6202.50 ± 118.41 |
| | | 6000 | 51.09 ± 1.25 | |
| | | 5000 | 55.98 ± 1.09 | |
| | | 4000 | 64.13 ± 1.26 | |
| | | 3000 | 71.20 ± 1.09 | |
| Roka | 30 | 4000 | 5.95 ± 3.07 | 1200.19 ± 51.35 |
| | | 2000 | 38.69 ± 2.28 | |
| | | 1000 | 53.57 ± 1.37 | |
| | | 500 | 59.52 ± 1.94 | |
| | | 100 | 67.27 ± 1.19 | |
| Soğan | 30 | 4500 | 21.28 ± 1.74 | 3006.04 ± 35.73 |
| | | 4000 | 33.51 ± 2.04 | |
| | | 3000 | 52.13 ± 1.23 | |
| | | 2000 | 65.96 ± 1.74 | |
| | | 1000 | 87.23 ± 1.74 | |
| Yeşil çay | 30 | 1000 | 22.83 ± 1.25 | 465.42 ± 23.94 |
| | | 750 | 32.06 ± 1.25 | |
| | | 500 | 49.46 ± 1.25 | |
| | | 250 | 58.70 ± 1.25 | |
| | | 100 | 72.28 ± 2.08 | |
| Zeytin yaprağı | 30 | 3000 | 29.35 ± 2.81 | 2249.61 ± 15.49 |
| | | 2500 | 43.48 ± 1.78 | |
| | | 2000 | 58.70 ± 1.78 | |
| | | 1500 | 71.20 ± 2.08 | |
| | | 1000 | 79.89 ± 2.08 | |

Tablo 4.1.2'e göre

- a. En yüksek üreaz inhibisyonundan başlayarak sırasıyla dut yaprağı, mısır püskülü, yeşilçay, kara lahana, roka, mor lahana, kuşburnu, nane, pırasa, labada, zeytin yaprağı, beyaz lahana, karnabahar, kiraz sapı, soğan, pazı, maydanoz ve rezene olduğu saptandı (Tablo 4.1.2).
- b. Bitkiler içinde IC_{50} değerinin en düşük olması nedeniyle, 30'uncu dakikada en yüksek oranda üreazı inhibe eden ekstrenin dut yaprağının sulu ekstresi olduğu bulundu. Dut yaprağının 30'uncu dakikadaki IC_{50} değeri çok düşük konsantrasyonda olduğundan grafik ile gösterilmedi. Bu nedenle dut yaprağından sonra IC_{50} değeri en düşük olan 30'uncu dakikada en yüksek oranda üreazı inhibe eden mısır püskülünün sulu ekstresinin grafiği Şekil 4.1.2'de verildi.
- c. Genel olarak Tablo 4.1.2' deki sonuçlara bakıldığında diğer bitkilerin de kabul edilebilir etkin bir inhibitör aktivitesine sahip olduğu bulundu.

Çalışmamızda, hazırlanan sulu bitki ekstraktları arasında en düşük konsantrasyonda en yüksek üreaz inhibisyonuna neden olan ve en düşük IC_{50} değerine sahip olan dut yaprağı sulu ekstresinin % inhibisyon değerine ait 30'uncu dakikadaki grafiği şekil 4.1.2' de verilmiştir.



Şekil 4.1.2 Mısır püskülünün sulu ekstresinin 30'uncu dakikada üreaz % inhibisyon değerleri

Beyaz lahana, dut yaprağı, kara lahana, karnabahar, kiraz sapı, kuşburnu, labada, maydanoz, mısır püskülü, mor lahana, nane, pazı, pırasa, rezene, roka, soğan, yeşilçay ve zeytin yaprağı etil alkollü bitki ekstralarının farklı konsantrasyonlarında 15'inci ve 30'uncu dakikalarda hesaplanan inhibisyon grafikleri yardımı ile belirlenen % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri Tablo 4.1.3 ve Tablo 4.1.4'de verildi.

Tablo 4.1.3 Çeşitli bitkilerden hazırlanan etil alkollü ekstraların 15'inci dakikada üreaz üzerindeki % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri

| Bitki Adı | Süre (dk) | Konsantrasyon (µg/mL) | % İnhibisyon | IC ₅₀ Değeri (µg/mL) |
|--------------|-----------|-----------------------|--------------|---------------------------------|
| Beyaz lahana | 15 | 1000 | 28.13 ± 0.80 | 60.13 ± 1.93 |
| | | 600 | 32.71 ± 0.79 | |
| | | 400 | 37.92 ± 0.48 | |
| | | 100 | 45.00 ± 0.68 | |
| | | 50 | 52.50 ± 0.96 | |
| Dut yaprağı | 15 | 600 | 19.07 ± 0.84 | — |
| | | 400 | 24.37 ± 1.27 | |
| | | 100 | 29.66 ± 1.70 | |
| | | 50 | 38.99 ± 1.70 | |
| | | 10 | 45.55 ± 0.42 | |
| Kara lahana | 15 | 100 | 20.51 ± 2.09 | 4.63 ± 0.63 |
| | | 50 | 28.85 ± 2.46 | |
| | | 10 | 46.15 ± 2.10 | |
| | | 5 | 48.72 ± 2.09 | |
| | | 1 | 55.77 ± 1.28 | |
| Karnabahar | 15 | 3500 | 11.55 ± 1.47 | 1479.55 ± 78.17 |
| | | 3000 | 19.53 ± 1.49 | |
| | | 2000 | 35.26 ± 1.29 | |
| | | 1000 | 58.33 ± 2.46 | |
| | | 500 | 73.08 ± 1.48 | |

| | | | | |
|---------------|----|------|--------------|-----------------|
| Kiraz sapı | 15 | 1250 | 17.86 ± 1.37 | 527.16 ± 34.44 |
| | | 1000 | 27.98 ± 2.99 | |
| | | 750 | 39.88 ± 3.00 | |
| | | 500 | 50.00 ± 1.94 | |
| | | 250 | 63.69 ± 3.00 | |
| Kuşburnu | 15 | 2500 | 11.93 ± 2.18 | 1036.05 ± 55.69 |
| | | 2000 | 23.30 ± 2.86 | |
| | | 1500 | 37.23 ± 2.80 | |
| | | 1000 | 51.71 ± 2.86 | |
| | | 500 | 64.20 ± 3.41 | |
| Labada | 15 | 500 | 25.00 ± 2.34 | 311.04 ± 9.42 |
| | | 400 | 38.41 ± 1.22 | |
| | | 300 | 50.00 ± 1.41 | |
| | | 200 | 65.85 ± 1.99 | |
| | | 100 | 78.05 ± 1.99 | |
| Maydanoz | 15 | 100 | 35.90 ± 2.09 | 70.60 ± 2.73 |
| | | 80 | 48.08 ± 1.28 | |
| | | 60 | 56.14 ± 1.68 | |
| | | 40 | 62.82 ± 1.48 | |
| | | 20 | 67.95 ± 1.48 | |
| Mısır püskülü | 15 | 500 | 17.86 ± 1.37 | 61,66 ± 19,98 |
| | | 250 | 29.76 ± 1.37 | |
| | | 100 | 44.05 ± 1.37 | |
| | | 50 | 51.79 ± 2.28 | |
| | | 10 | 58.33 ± 1.37 | |
| Mor lahana | 15 | 100 | 40.39 ± 1.28 | 71.71 ± 0.97 |
| | | 80 | 47.44 ± 1.48 | |
| | | 60 | 55.13 ± 1.48 | |
| | | 40 | 59.61 ± 1.29 | |
| | | 20 | 66.03 ± 2.46 | |

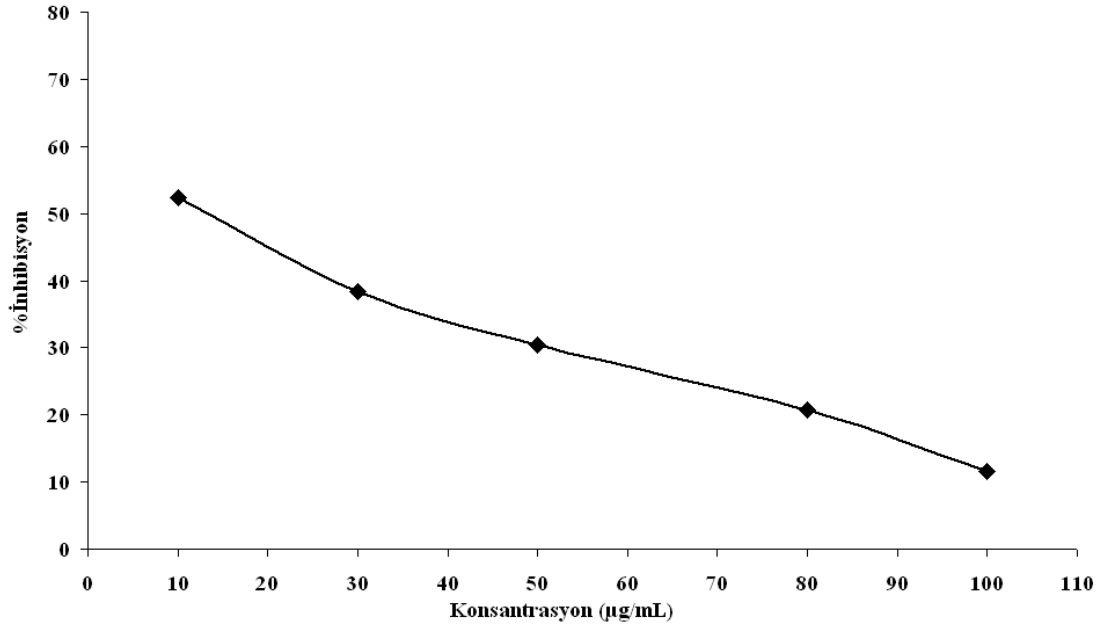
| | | | | |
|--------|----|------|--------------|----------------|
| Nane | 15 | 500 | 10.79 ± 1.14 | 266.93 ± 3.53 |
| | | 400 | 27.27 ± 1.86 | |
| | | 250 | 56.82 ± 1.85 | |
| | | 100 | 77.27 ± 1.86 | |
| | | 50 | 83.52 ± 2.17 | |
| Pazı | 15 | 100 | 12.50 ± 2.28 | 49.15 ± 2.12 |
| | | 80 | 30.95 ± 1.94 | |
| | | 60 | 46.43 ± 1.37 | |
| | | 40 | 57.74 ± 1.19 | |
| | | 20 | 66.08 ± 1.19 | |
| Pırasa | 15 | 1000 | 16.67 ± 1.94 | 478.91 ± 6.46 |
| | | 600 | 39.29 ± 1.37 | |
| | | 400 | 52.38 ± 1.94 | |
| | | 200 | 69.05 ± 1.94 | |
| | | 100 | 79.19 ± 2.30 | |
| Rezene | 15 | 500 | 16.03 ± 2.47 | 294.68 ± 7.64 |
| | | 400 | 33.33 ± 2.09 | |
| | | 300 | 46.79 ± 1.29 | |
| | | 200 | 62.18 ± 2.46 | |
| | | 100 | 87.18 ± 2.09 | |
| Roka | 15 | 100 | 11.59 ± 1.22 | 9.02 ± 3.03 |
| | | 80 | 20.73 ± 1.41 | |
| | | 50 | 30.49 ± 1.41 | |
| | | 30 | 38.41 ± 1.22 | |
| | | 10 | 52.44 ± 1.41 | |
| Soğan | 15 | 1500 | 11.36 ± 1.86 | 910.20 ± 14.11 |
| | | 1250 | 27.27 ± 1.86 | |
| | | 1000 | 44.88 ± 1.14 | |
| | | 750 | 63.07 ± 2.18 | |
| | | 500 | 74.43 ± 2.17 | |
| | | 200 | 13.69 ± 1.20 | |

| | | | | |
|----------------|----|------|--------------|----------------|
| Yeşil çay | 15 | 150 | 31.55 ± 2.28 | 64.28 ± 3.22 |
| | | 100 | 44.05 ± 1.37 | |
| | | 50 | 52.98 ± 1.19 | |
| | | 25 | 57.74 ± 1.19 | |
| Zeytin yaprağı | 15 | 1000 | 20.24 ± 3.07 | 495.45 ± 12.66 |
| | | 750 | 34.54 ± 1.92 | |
| | | 500 | 52.38 ± 1.94 | |
| | | 250 | 62.50 ± 3.00 | |
| | | 100 | 73.22 ± 2.29 | |

Tablo 4.1.3'e göre

- a. En yüksek üreaz inhibisyonundan başlayarak sırasıyla dut yaprağı, kara lahanaya, roka, pazı, beyaz lahanaya, mısır püskülü, yeşilçay, maydanoz, mor lahanaya, nane, rezene, labada, pırasa, zeytin yaprağı, kiraz sapı, soğan, kuşburnu ve karnıbahar olduğu saptandı (Tablo 4.1.3).
- b. Çeşitli bitkilerden hazırlanan etil alkollü ekstraktlar arasında etil alkollü dut yaprağı ekstresinin 15'inci dakikadaki IC₅₀ değeri çalşılan konsantrasyondan daha düşük olduğundan IC₅₀ değeri hesaplanamadı.
- c. Bitkiler içinde IC₅₀ değerinin en düşük olması nedeniyle, 15'inci dakikada en yüksek oranda üreazı inhibe eden ekstraktın kara lahanaya etil alkollü ekstresi olduğu bulundu. Kara lahananın etil alkollü ekstresi 15'inci dakikadaki IC₅₀ değeri çok düşük konsantrasyonda olduğundan grafik ile gösterilmedi. Bu nedenle kara lahanadan sonra IC₅₀ değeri en düşük olan 15'inci dakikada en yüksek oranda üreazı inhibe eden rokanın etil alkollü ekstresinin grafiğı Şekil 4.1.3'de verilmiştir.
- d. Genel olarak Tablo 4.1.3'de sonuçlara bakıldığında hazırlanan diğer etil alkollü bitkilerin de kabul edilebilir etkin bir inhibitör aktivitesine sahip olduğu bulundu.

Çalışmamızda, hazırlanan etil alkollü bitki ekstreleri arasında en düşük konsantrasyonda en yüksek üreaz inhibisyonuna neden olan ve en düşük IC_{50} değerine sahip olan roka etil alkollü ekstresinin % inhibisyon değerine ait 15'inci dakikadaki grafiği şekil 4.1.3' de verilmiştir.



Şekil 4.1.3 Rokanın etil alkollü ekstresinin 15'inci dakikada üreaz % inhibisyon değerleri

Tablo 4.1.4 Çeşitli bitkilerden hazırlanan etil alkollü ekstrelerin 30'uncu dakikada üreaz üzerindeki % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri

| Bitki Adı | Süre (dk) | Konsantrasyon (µg/mL) | % İnhibisyon | IC ₅₀ Değeri (µg/mL) |
|--------------|-----------|-----------------------|--------------|---------------------------------|
| Beyaz lahana | 30 | 1000 | 23.79 ± 1.04 | 56.13 ± 3.17 |
| | | 600 | 28.63 ± 0.80 | |
| | | 400 | 32.66 ± 1.92 | |
| | | 100 | 41.33 ± 1.38 | |
| | | 50 | 52.22 ± 1.38 | |
| Dut yaprağı | 30 | 600 | 18.80 ± 1.53 | — |
| | | 400 | 21.60 ± 0.65 | |
| | | 100 | 29.80 ± 1.20 | |
| | | 50 | 35.00 ± 1.20 | |
| | | 10 | 40.60 ± 0.77 | |
| Kara lahana | 30 | 100 | 30.26 ± 1.19 | 8.69 ± 1.52 |
| | | 50 | 39.29 ± 1.37 | |
| | | 10 | 48.81 ± 1.37 | |
| | | 5 | 57.74 ± 2.28 | |
| | | 1 | 66.08 ± 2.28 | |
| Karnıbahar | 30 | 3500 | 13.37 ± 1.16 | 1439.32 ± 71.94 |
| | | 3000 | 19.77 ± 1.35 | |
| | | 2000 | 35.46 ± 1.17 | |
| | | 1000 | 55.81 ± 1.90 | |
| | | 500 | 72.09 ± 1.90 | |
| Kiraz sapı | 30 | 1250 | 8.89 ± 1.81 | 380.06 ± 18.40 |
| | | 1000 | 20.56 ± 2.13 | |
| | | 750 | 34.46 ± 1.29 | |
| | | 500 | 47.23 ± 1.11 | |
| | | 250 | 53.33 ± 1.82 | |

| | | | | |
|---------------|----|------|--------------|-----------------|
| Kuşburnu | 30 | 2500 | 31.12 ± 1.95 | 1687.69 ± 30.12 |
| | | 2000 | 43.37 ± 1.95 | |
| | | 1500 | 55.10 ± 1.67 | |
| | | 1000 | 65.31 ± 1.67 | |
| | | 500 | 75.51 ± 1.67 | |
| Labada | 30 | 500 | 10.33 ± 2.08 | 201.49 ± 2.16 |
| | | 400 | 19.02 ± 2.08 | |
| | | 300 | 33.15 ± 2.08 | |
| | | 200 | 50.54 ± 2.08 | |
| | | 100 | 66.31 ± 2.81 | |
| Maydanoz | 30 | 100 | 34.09 ± 1.85 | 67.07 ± 2.24 |
| | | 80 | 46.59 ± 1.32 | |
| | | 60 | 53.41 ± 1.32 | |
| | | 40 | 62.82 ± 1.48 | |
| | | 20 | 67.95 ± 1.48 | |
| Mısır püskülü | 30 | 500 | 31.52 ± 1.26 | 240.35 ± 9.87 |
| | | 250 | 42.39 ± 1.26 | |
| | | 100 | 57.06 ± 2.08 | |
| | | 50 | 63.04 ± 1.78 | |
| | | 10 | 67.39 ± 1.78 | |
| Mor lahana | 30 | 100 | 43.03 ± 1.35 | 80.17 ± 3.76 |
| | | 80 | 49.42 ± 2.23 | |
| | | 60 | 58.14 ± 1.90 | |
| | | 40 | 63.96 ± 1.35 | |
| | | 20 | 69.19 ± 2.23 | |
| Nane | 30 | 500 | 26.53 ± 1.67 | 344.98 ± 9.99 |
| | | 400 | 42.86 ± 1.67 | |
| | | 250 | 67.35 ± 1.67 | |
| | | 100 | 82.65 ± 1.18 | |
| | | 50 | 89.29 ± 1.95 | |

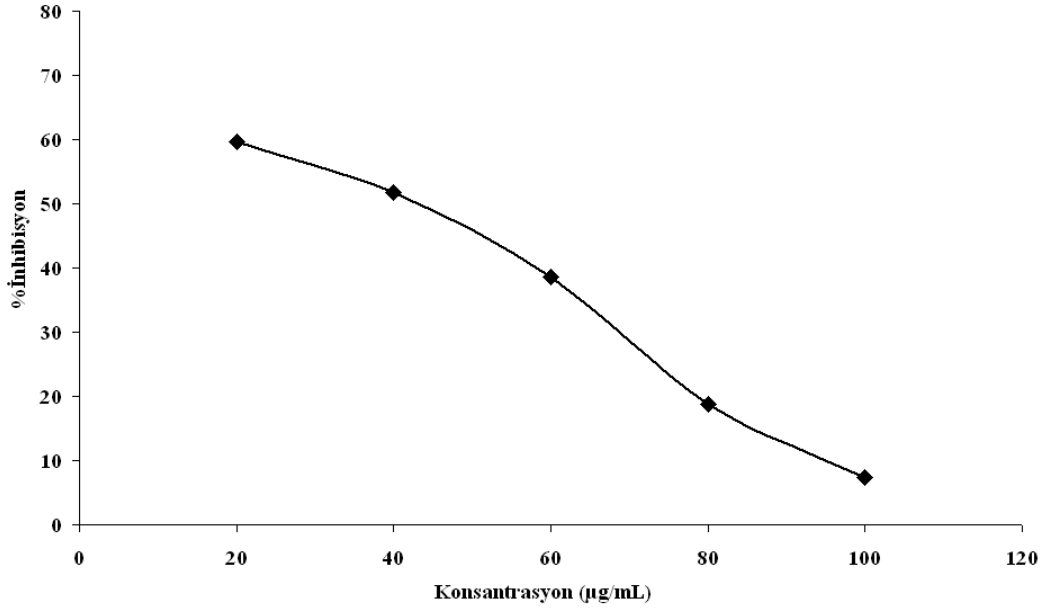
| | | | | |
|-----------|----|------|------------------|--------------------|
| Pazı | 30 | 100 | 7.39 ± 1.14 | 38.50 ± 1.24 |
| | | 80 | 18.75 ± 2.17 | |
| | | 60 | 38.61 ± 1.90 | |
| | | 40 | 51.70 ± 1.13 | |
| | | 20 | 59.66 ± 2.17 | |
| Pırasa | 30 | 1000 | 11.67 ± 2.13 | 377.31 ± 11.11 |
| | | 600 | 33.89 ± 2.13 | |
| | | 400 | 45.56 ± 1.29 | |
| | | 200 | 62.22 ± 1.81 | |
| | | 100 | 70.00 ± 1.28 | |
| Rezene | 30 | 500 | 21.43 ± 1.94 | 294.82 ± 8.70 |
| | | 400 | 36.91 ± 1.38 | |
| | | 300 | 49.41 ± 2.28 | |
| | | 200 | 59.52 ± 1.94 | |
| | | 100 | 79.17 ± 1.94 | |
| Roka | 30 | 100 | 35.00 ± 2.13 | 46.92 ± 5.19 |
| | | 80 | 42.78 ± 1.11 | |
| | | 50 | 48.29 ± 1.21 | |
| | | 30 | 53.89 ± 2.13 | |
| | | 10 | 60.56 ± 1.11 | |
| Soğan | 30 | 1500 | 7.07 ± 1.09 | 587.32 ± 34.55 |
| | | 1250 | 21.20 ± 1.09 | |
| | | 1000 | 31.52 ± 1.27 | |
| | | 750 | 41.31 ± 1.78 | |
| | | 500 | 54.35 ± 1.78 | |
| Yeşil çay | 30 | 200 | 11.41 ± 2.08 | 40.84 ± 3.85 |
| | | 150 | 21.74 ± 1.77 | |
| | | 100 | 34.24 ± 1.09 | |
| | | 50 | 48.92 ± 1.25 | |
| | | 25 | 53.81 ± 1.09 | |

| | | | | |
|----------------|----|------|--------------|----------------|
| Zeytin yaprağı | 30 | 1000 | 17.94 ± 2.08 | 440.89 ± 28.04 |
| | | 750 | 32.61 ± 1.78 | |
| | | 500 | 50.00 ± 1.77 | |
| | | 250 | 60.87 ± 1.77 | |
| | | 100 | 66.85 ± 2.08 | |

Tablo 4.1.4'e göre

- a. En yüksek üreaz inhibisyonundan başlayarak sırasıyla dut yaprağı, kara lahanaya, pazı, yeşilçay, roka, beyaz lahanaya, maydanoz, mor lahanaya, labada, mısır püskülü, rezene, nane, pırasa, kiraz sapı, zeytin yaprağı, soğan, karnıbahar ve kuşburnu olduğu saptandı (Tablo 4.1.4).
- b. Çeşitli bitkilerden hazırlanan etil alkollü ekstraktlar arasında etil alkollü dut yaprağı ekstresinin 30'uncu dakikadaki IC₅₀ değeri çalışılan konsantrasyondan daha düşük olduğundan IC₅₀ değeri hesaplanamadı.
- c. Bitkiler içinde IC₅₀ değerinin en düşük olması nedeniyle, 30'uncu dakikada en yüksek oranda üreazı inhibe eden ekstrenin kara lahanaya etil alkollü ekstresi olduğu bulundu. Kara lahananın etil alkollü ekstresinin 30'uncu dakikadaki IC₅₀ değeri çok düşük konsantrasyonda olduğundan grafik ile gösterilmedi. Bu nedenle kara lahanadan sonra IC₅₀ değeri en düşük olan 30'uncu dakikada en yüksek oranda üreazı inhibe eden pazının etil alkollü ekstresinin grafiği Şekil 4.1.4'de verilmiştir.
- d. Genel olarak Tablo 4.1.4'de sonuçlara bakıldığında hazırlanan diğer etil alkollü bitkilerin de kabul edilebilir etkin bir inhibitör aktivitesine sahip olduğu bulundu.

Çalışmamızda, hazırlanan etanollü bitki ekstreleri arasında en düşük konsantrasyonda en yüksek üreaz inhibisyonuna neden olan ve en düşük IC_{50} değerine sahip olan pazı etil alkollü ekstresinin % inhibisyon değerine ait 30'uncu dakikadaki grafiği şekil 4.1.4' de verilmiştir.



Şekil 4.1.4 Pazı etil alkollü ekstresinin 30'uncu dakikada üreaz % inhibisyon değerleri

4.2. İLAÇ ETKEN MADDELERİNİN ÜREAZ İNHİBİTÖRÜ ETKİLERİ

Fenofibrat, klaritromisin, lansaprazol ve omeprazol ilaç etken maddelerin farklı konsantrasyonlarında 15'inci ve 30'uncu dakikalarda hesaplanan inhibisyon grafikleri yardımı ile belirlenen % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri Tablo 4.2.1 ve Tablo 4.2.2'de verildi.

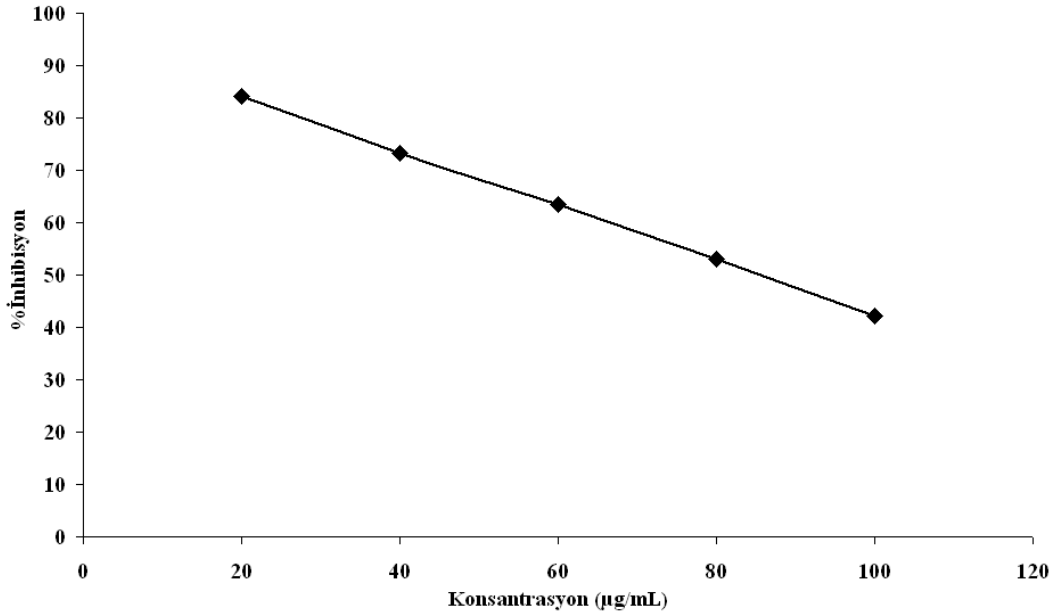
Tablo 4.2.1 Çeşitli ilaç etken maddelerin 15'inci dakikada üreaz üzerindeki % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri

| İlaç Etken Adı | Süre (dk) | Konsantrasyon (µg/mL) | % İnhibisyon | IC ₅₀ Değeri (µg/mL) |
|----------------|-----------|-----------------------|--------------|---------------------------------|
| Fenofibrat | 15 | 150 | 39.78 ± 1.31 | 118.99 ± 4.59 |
| | | 100 | 55.12 ± 2.86 | |
| | | 75 | 65.91 ± 1.85 | |
| | | 50 | 75.71 ± 2.14 | |
| | | 25 | 85.38 ± 1.49 | |
| Klaritromisin | 15 | 1250 | 37.50 ± 2.52 | 854.23 ± 9.54 |
| | | 1000 | 45.50 ± 2.52 | |
| | | 750 | 53.95 ± 1.52 | |
| | | 500 | 61.19 ± 1.32 | |
| | | 250 | 67.76 ± 1.31 | |
| Lansoprazol | 15 | 3500 | 40.27 ± 2.74 | 3025.14 ± 140.02 |
| | | 3000 | 52.15 ± 2.74 | |
| | | 2500 | 59.29 ± 2.74 | |
| | | 2000 | 65.00 ± 2.73 | |
| | | 1000 | 78.57 ± 1.65 | |
| Omeprazol | 15 | 100 | 42.07 ± 2.34 | 85.26 ± 1.73 |
| | | 80 | 53.05 ± 2.34 | |
| | | 60 | 63.41 ± 1.99 | |
| | | 40 | 73.17 ± 1.99 | |
| | | 20 | 84.15 ± 1.41 | |

Tablo 4.2.1'e göre

- İlaç etken maddelerinin en yüksek üreaz inhibisyonundan başlayarak sırasıyla omeprazol, fenofibrat, klaritromisin ve lansoprazol olduğu saptandı.
- İlaç etken maddeleri içinde 15'inci dakikada üreaz inhibitör etkisi en fazla olanın omeprazol olduğu bulundu. En yüksek oranda üreazı inhibe eden omeprazol'un IC_{50} değerinin en düşük olduğu bulundu (Tablo 4.2.1).
- Genel olarak sonuçlara bakıldığında diğer ilaç etken maddelerin de kabul edilebilir etkin bir inhibitör aktivitesine sahip olduğu bulundu.

Çalışmamızda hazırlanan ilaç etken maddeler arasında en düşük konsantrasyonda en yüksek üreaz inhibisyona neden olan ve en düşük IC_{50} değerine sahip olan omeprazol ilaç etken maddesinin 15'inci dakikada üreaz üzerindeki % inhibisyon değeri ile elde edilen grafikler Şekil 4.2.1'de verilmiştir.



Şekil 4.2.1 Omeprazol ilaç etken maddesinin 15'inci dakikada üreaz % inhibisyon değerleri

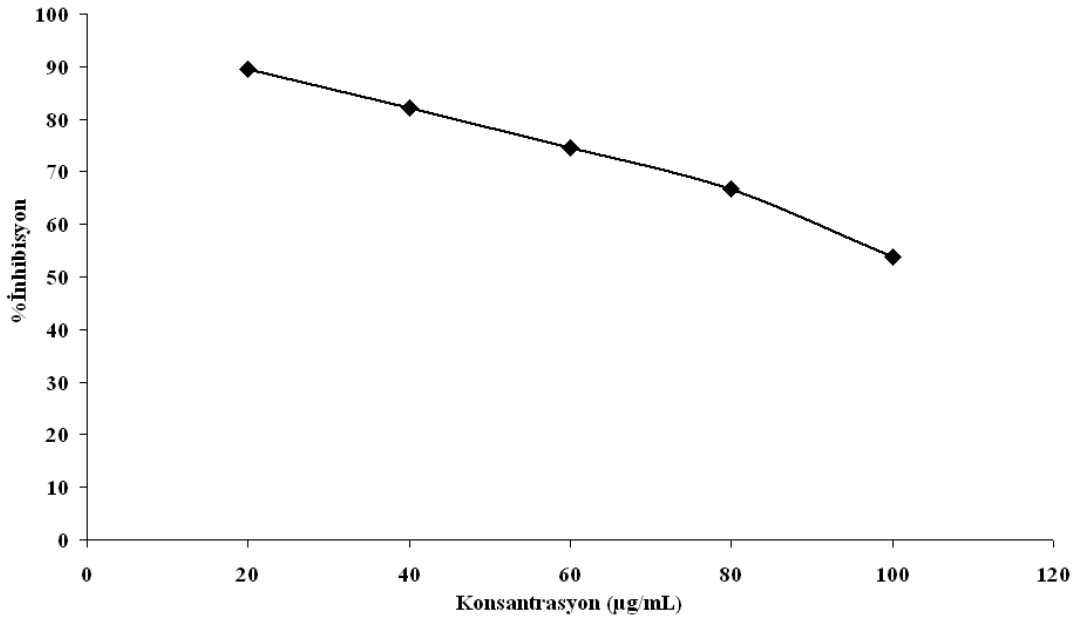
Tablo 4.2.2 Çeşitli ilaç etken maddelerin 30'uncu dakikada üreaz üzerindeki % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri

| İlaç Etken Adı | Süre (dk) | Konsantrasyon (µg/mL) | % İnhibisyon | IC ₅₀ Değeri (µg/mL) |
|----------------|-----------|-----------------------|--------------|---------------------------------|
| Fenofibrat | 30 | 150 | 51.02 ± 1.67 | 157.49 ± 4.29 |
| | | 100 | 69.90 ± 1.95 | |
| | | 75 | 77.03 ± 1.01 | |
| | | 50 | 83.67 ± 1.67 | |
| | | 25 | 90.87 ± 1.12 | |
| Klaritromisin | 30 | 1250 | 47.62 ± 1.94 | 1188.29 ± 34.89 |
| | | 1000 | 54.76 ± 1.94 | |
| | | 750 | 63.10 ± 1.38 | |
| | | 500 | 6.46 ± 1.19 | |
| | | 250 | 73.81 ± 1.94 | |
| Lansoprazol | 30 | 3500 | 25.64 ± 2.09 | 2263.03 ± 59.27 |
| | | 3000 | 38.46 ± 2.09 | |
| | | 2500 | 46.16 ± 2.96 | |
| | | 2000 | 58.97 ± 2.09 | |
| | | 1000 | 69.23 ± 2.09 | |
| Omeprazol | 30 | 100 | 53.89 ± 2.13 | 113.84 ± 4.72 |
| | | 80 | 66.67 ± 1.82 | |
| | | 60 | 74.45 ± 1.29 | |
| | | 40 | 82.22 ± 1.81 | |
| | | 20 | 89.44 ± 2.13 | |

Tablo 4.2.2'e göre

- İlaç etken maddelerinin en yüksek üreaz inhibisyonundan başlayarak sırasıyla, omeprazol, fenofibrat, klaritromisin ve lansoprazol olduğu saptandı.
- İlaç etken maddeleri içinde 30'uncu dakikada üreaz inhibitör etkisi en fazla olanın omeprazol olduğu bulundu. En yüksek oranda üreazı inhibe eden omeprazol ilaç etken maddesinin IC_{50} değerinin en düşük değerde olduğu bulundu (Tablo 4.2.2).
- Genel olarak sonuçlara bakıldığında diğer ilaç etken maddelerin de kabul edilebilir etkin bir inhibitör aktivitesine sahip olduğu bulundu.

Çalışmamızda hazırlanan ilaç etken maddeler arasında en düşük konsantrasyonda en yüksek üreaz inhibisyona neden olan ve en düşük IC_{50} değerine sahip olan omeprazol ilaç etken maddesinin 30'uncu dakikada üreaz üzerindeki % inhibisyon değeri ile elde edilen grafikler Şekil 4.2.2'de verilmiştir..



Şekil 4.2.2 Omeprazol ilaç etken maddesinin 30 dakikada üreaz % inhibisyon değerleri

4.3. ORGANİK VE ANORGANİK MADDELERİN ÜREAZ İNHİBİTÖRÜ ETKİSİ

Asetohidroksamik asit, kaptopril, glutatyon (GSH), 2-iyodoasetamid, mannitol, L-sistein ve tiyosemikarbazid gibi organik maddelerin 0.1 µg/mL konsantrasyonunda 15'inci ve 30'uncu dakikalarda hesaplanan inhibisyon değerleri Tablo 4.3.1'de ve H₃BO₃, Bi(NO₃)₃ gibi anorganik maddelerin 0.1 µg/mL konsantrasyonunda 15'inci ve 30'uncu dakikalara göre hesaplanan % inhibisyon değerleri Tablo 4.3.2'de verildi.

Tablo 4.3.1 Çeşitli organik maddelerin 0.1 µg/mL konsantrasyonda % inhibisyon değerleri

| Madde Adı | Konsantrasyon (µg/mL) | Süre (dk) | % İnhibisyon |
|--|-----------------------|-----------|--------------|
| Asetohidroksamik asit | 0.1 | 15 | 68.75 ± 3.23 |
| | | 30 | 76.19 ± 1.94 |
| Merkapto metil propanil prolin (kaptopril) | 0.1 | 15 | 63.13 ± 2.39 |
| | | 30 | 56.55 ± 2.28 |
| GSH | 0.1 | 15 | 80.36 ± 2.99 |
| | | 30 | 85.79 ± 1.14 |
| 2-iyodoasetamid | 0.1 | 15 | 86.88 ± 2.39 |
| | | 30 | 88.96 ± 2.23 |
| | | | |

| | | | |
|------------------|-----|----|--------------|
| Mannitol | 0.1 | 15 | 88.13 ± 1.25 |
| | | 30 | 89.89 ± 1.19 |
| L-Sistein | 0.1 | 15 | 80.00 ± 2.04 |
| | | 30 | 76.79 ± 1.19 |
| Tiyosemikarbazid | 0.1 | 15 | 89.38 ± 3.14 |
| | | 30 | 83.33 ± 3.37 |

Tablo 4.3.1'e göre

- a. Organik maddelerin 15'inci dakikada en yüksek üreaz inhibisyonunda başlayarak sıralandığında kaptopril, asetohidroksamik asit, L-sistein, GSH, 2-iyodoasetamid, mannitol ve tiyosemikarbazid olduğu saptandı.
- b. Organik maddeler 30'uncu dakikada en yüksek üreaz inhibisyonunda başlayarak sıralandığında kaptopril, asetohidroksamik asit, L-sistein, tiyosemikarbazid, GSH, 2-iyodoasetamid ve mannitol olduğu saptandı.
- c. Çalışmamızda hazırlanan organik maddeler içinde 15'inci ve 30'uncu dakikalarda üreaz inhibitör etkisi en fazla olanın kaptopril olduğu bulundu.
- d. Genel olarak sonuçlara bakıldığında diğer organik maddelerinin de kabul edilebilir etkin bir inhibitör aktivitesine sahip olduğu bulundu.

Tablo 4.3.2 Çeşitli anorganik maddelerin 0.1 µg/mL konsantrasyonda % inhibisyon değerleri

| Madde Adı | Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$) | Süre (dk) | % İnhibisyon |
|----------------------------|---------------------------------------|-----------|------------------|
| H_3BO_3 | 0.1 | 15 | 82.50 ± 2.04 |
| | | 30 | 88.37 ± 1.90 |
| $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ | 0.1 | 15 | 81.88 ± 2.39 |
| | | 30 | 83.93 ± 2.28 |

Tablo 4.3.2'e göre

- a. Anorganik maddeler içinde 15'inci ve 30'uncu dakikalarda üreaz inhibitör etkisi en fazla olanın $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ olduğu bulundu.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Vücudun normal fonksiyonlarının sürdürülmesi için su ve elektrolit dengesinin korunmasında böbreklerin önemi büyüktür. Böbreğin, vücut sıvılarının hacmi ve bileşiminin korunmasında önemli rolü vardır. Böbrekler, vücutta su, tuz ve kalsiyum dengesinin sağlanmasını, idrar aracılığı ile zararlı maddelerin ve ilaçların vücuttan atılmasını sağlarken hormon ve şeker metabolizmasında önemli fonksiyonları vardır. Bu organın fonksiyonlarını etkileyen ilaçlar arasında diüretikler önemli bir yer tutar.

Böbrek hastalıklarından başlıcası olan böbrek yetmezliği, böbreğin fonksiyonlarını yitirmesidir. Böbrek yetmezliğinde, zararlı maddelerin vücuttan idrar yoluyla uzaklaştırılması, fazla suyun uzaklaştırılması ve kan basıncının (tansiyon) kontrol edilmesi gibi fonksiyonlarda aksamalar meydana gelir.

Diüretikler başlıca, epilepsi tedavisinde, glokom tedavisinde, oligüride, böbrek yetmezliğinde, ilaç zehirlenmesinde, ödemli hastalarda, kronik kalp yetmezliğinde, hiperkalsemide ve hipertansiyon tedavisinde kullanılır [15].

Böbrek yetmezliğinde kullanılan diüretik ilaçların başında çoğunlukla kıvrım diüretikler sınıfına giren furosemid gelir, tiyazit grubu diüretikler sınıfına giren indapamid ve hidroklorotiyazit ve osmotik diüretiklerden mannitol ve izosorbit gibi diüretikler de kullanılabilir [63-65]. Aynı zamanda böbrek yetmezliğinde kullanılan ilaçlar böbrek yetmezliğini arttırabilir, böbrekten atılmadıkları için birikebilir ve etkisiz olabilirler. Örneğin, KAH inhibitörleri sınıfına giren asetazolamid asit-baz dengesi bozukluğu oluştururken, loop diüretiklerden olan furosemid dokular arasında iltihaplanma meydana getirebilmektedir [66]. Bu ilaçların meydana getirdiği yan etkiler, bitkisel droglar kullanıldığında en aza indirilebilir.

Bitkisel droglarla yapılan çalışmalarda halk arasında kullanımı oldukça yaygın ve diüretik aktiviteye sahip olan bir çok bitkisel droga rastlanmaktadır [67,68,69].

Ülkemizde, ödemli hastalar, glokom ve epilepsi tedavisinde, hipertansiyon, idrar yolu enfeksiyonlarında ve böbrek yetmezliğinde diüretik etkili bitkisel droglar kullanılmaktadır [68,69,70].

Bazı araştırmacılar, diüretik etkili bitkilerin sulu ekstrelerini ya da farklı çözücülerdeki ekstrelerini hazırlayarak diüretik etkiyi incelemek amacı ile bazı araştırmalar yapmışlardır. Diüretik aktivite gösteren bitkilerin kimyasal yapılarına bakıldığında benzer maddelerin olduğu saptanmıştır. Diüretik etkili bitkilerin genel olarak flavonoid, polifenol, alkaloid, steroid ve polisakkarit yapıda olduğu saptanmıştır.[29,71,72].

Dut yaprağı, gastrointestinal hastalıklarda, cilt hastalıklarında, şeker hastalığında, hipertansiyonda, hipoglisemide ve idrar salınımını kolaylaştırmada kullanılan iyi bir diüretik etkili bitkidir [29,71,73].

Çalışmalarımız sonucunda elde ettiğimiz bulgularda bitkilerden hazırlanan sulu ekstreler arasında 15'inci dakikada yapılan deneylerde düşük konsantrasyonda yüksek üreaz enzim inhibisyonu ve düşük IC₅₀ değeri bulunan bitkilerden biri olan dut yaprağıdır (Tablo 4.1.1). Diğer diüretik etkili bitkilerin yapısında olduğu gibi dut yaprağının yapısında da rutin ve kuersetin gibi flavonoidler bulunurken, steroidler ve alkaloidler de bulunmaktadır [72,74]. Çalışmamızda dut yaprağının en yüksek oranda üreaz enzimini inhibe etmesi bu bitkinin diüretik özelliğinden ve bitkide bulunan rutin ve kuersetin gibi flavonoidlerden dolayı olabilir [72,74].

Kimyasal yapısında flavonoidler, glukoz ve ramnoz gibi şekerler, steroidler ve alkaloidler bulunan mısır püskülü, diüretik etkisi yanında taş oluşumu, ürikozürük ve antiseptik özellikleriyle geleneksel olarak kullanılmaktadır [75]. Diüretik etkili olan mısır püskülü, oligüri, sistit, piyelit ve ödem durumlarında etkilidir. Ayrıca, mısır püskülü üriner sistemin akut ve kronik enflamasyonlarında, geceleri istem dışı idrar kaçırma ve idrar yolları enfeksiyonlarında kullanılan bitkisel destektir [76]. Çalışmamızda sulu bitki ekstreleri arasında 30'uncu dakikada dut yaprağından sonra mısır püskülünün sulu ekstresinin IC₅₀ değeri düşük değerde bulunmuş ve yüksek üreaz enzim inhibisyonu etkisi göstermiştir (Tablo 4.1.2).

Son yıllarda bitkilerde bulunan biyolojik aktif bileşenlerden dolayı hastalıkların önlenmesinde yada tedavisinde, bitkisel ilaçların önemi artmaktadır. Bitkisel ilaçlardan olan baharatlar ve yaş bitkiler çeşitli mide hastalıklarında, böbrek rahatsızlıklarında, antioksidan ve diüretik özellik gösteren etkili doğal kaynaklardır [77, 78].

Roka, karotinoitler, flavonoitler, vitamin C ve Zn, Cu, Fe, Mg, Mn gibi bir takım kimyasal maddeler içerir [78, 79]. Roka bitkisi antioksidan [80], diüretik ve uyarıcı etki gösteren bir bitkidir. Mide hastalıklarında, antimikrobiyal, renal yetmezlikte ve skorbüt hastalığında kullanılır. Rokanın yapısında bulunan asidik bileşenler, mide hazmına yardımcı olurken, böbreklerin çalışmasını, vücuttaki ödemin atılmasını ve idrar söktürücü olarak kullanılmasını sağlar [77, 78]. Rokadan hazırlanan etil alkol ekstresi antioksidan, böbrek koruyucu ve diüretik etkilidir [77]. Çalışmamızda roka bitkisinden hazırlanan etil alkollü ekstrenin 15'inci dakikada, diğer etil alkolle hazırlanan bitki ekstrelerine oranla daha yüksek oranda üreaz enzimini inhibe ettiği ve düşük IC₅₀ değerine sahip olduğu bulunmuştur (Tablo 4.2.1).

Vücudumuza aldığımız yiyeceklerin geçici bir süre depolandığı yer mide olmakla birlikte, fiziksel ve kimyasal olarak parçalandığı yerde midedir. Mide, salgı yapan bir organdır ve içeriğinde gastrik asit bulunur. Mide, bu salgıdan kendini korumak için mukuslu yapışkan bir sıvı üretir. Gastrik asit fazla üretildiğinde midede yaralar ve ülser oluşumu başlarken, az üretildiğinde de sindirim problemleri başlar [81].

Midenin başlıca hastalıkları, infeksiyon ile ilişkili bir hastalık olan peptik ülser, mide mukozasının iltihaplanması olan gastrit, mide asidinin mideden yemek borusuna geçmesi olarak adlandırılan reflüdür [81].

Gastrit ve peptik ülserin en önemli sebebi, midede kolonize olan ve her öğüde midede kronik mukozal inflamasyon gelişimine neden olan *H. pylori* bakterisidir [55]. *H. pylori* mide ve duodenumun çeşitli alanlarına yerleşen gram negatif ve mikroaerofilik bir bakteridir. *H. pylori*, gastrik epitelinin mukus tabakasında kolonize olur ve gastrit, mide kanseri ve peptik ülser oluşumunun en büyük sebebi [82] olmakla birlikte kişiye ait genetik, immünolojik özellikler, sigara ve alkol alışkanlıkları, çinko ve selenyum

eksikliği, C, A ve E vitamin eksiklikleri ve çevreye ait faktörlerin yanı sıra bakteriye ait patojenik özelliklerin rolü olduğu bilimektedir [83].

Üreaz enzimi, *H. pylori*'nin neden olduğu hastalıklar üzerinde önemli rol oynamaktadır. Üreaz, üreyi parçalayarak amonyak ve karbondioksit oluştururken *H. pylori*'yi midenin asitli ortamından korur. Oluşan amonyak mide asidini nötralize eder [84].

H. pylori bakterisinin midede meydana getirdiği enfeksiyonları engellemek amacıyla üreaz inhibitörleri olarak bilinen proton pompası inhibitörleri kullanılmaktadır. Günümüzde kullanılan PPI'leri lansaprazol, omeprazol, ranitidin ve fluoramid gibi anti ülser ilaçlarıdır. Ülser tedavisi sırasında PPI'lerine ek olarak çeşitli antibiyotiklerde kullanılmakla birlikte, bizmut tuzları da antiülserojenik ilaç olarak kullanılmaktadır [55].

Çalışmamızda PPI'lerinden lansaprazol ve omeprazol ilaç etken maddelerinin üreaz enzim inhibitör etkisi araştırılmıştır. Bu araştırmada, omeprazol ilaç etken maddesinin 15'inci ve 30'uncu dakikalarda yapılan çalışmalarda lansaprazol ilaç etken maddesinden daha iyi üreaz inhibitör etkisi ve en düşük IC₅₀ değeri olduğu saptanmıştır. PPI'leri ile kombineli olarak kullanılan antibiyotiklerden klaritromisin ilaç etken maddesi de çalışılmış ve bu antibiyotiginde üreaz inhibitör etkisi gösterdiği bulunmuştur (Tablo 4.2.1 ve Tablo 4.2.2).

Üreazın neden olduğu bazı hastalıkların önlenmesi için üreaz inhibitörlerinin bilinmesi önemlidir [85]. Üreaz inhibitörlerinin idrar yolu enfeksiyonlarını ve böbrek taşlarının oluşumunu önlemek ve tedavi etmek için faydalı olduğu çeşitli araştırmalar tarafından ortaya atılmıştır [53, 54].

Borik asit, bilinen iyi üreaz inhibitörlerinden biridir. Çalışmamızda inhibisyon etkisi bizmut nitrat dan sonra yüksek oranda üreazı inhibe etmiştir (Tablo 4.3.2) [51, 86]. Bu bileşiğin üreaz için etkili bir inhibitör olmasının nedeni, üreaz enziminin aktif merkezi olan nikel atomuna bağlanıp tetrahedral bir merkez oluşturup enzimi bloke etmesidir [85, 87, 88].

Spektrofotometrik olarak elde edilen ettiğimiz sonuçlarda yapısında kükürt bulunan kaptopril organik maddeler arasında en yüksek üreaz enzim inhibisyonu ve en düşük IC₅₀ değerine sahip olduğu verilerle saptandı. (Tablo 4.3.1). Kükürtlü bileşiklerin hem yeşil fasulye üreazını, hem de *Klebsiella aerogenes* üreazını kompetitif olarak inhibe ettikleri literatürde bildirilmektedir [89]. Kükürtlü bileşiklerin üreaz enzimini inhibe etmesinin nedeni, enzimin aktif nikel merkezi ile yük transferine dayalı bir kompleks oluşturmasından kaynaklanır [87].

Sonuç olarak, çalışmamızda kullandığımız 18 bitki sulu ve etil alkollü ekstralarının, ilaç etken maddelerinin, anorganik ve organik kimyasal maddelerin tümünde üreaz inhibitör etkisi saptanmıştır. Bunlardan sulu bitki ekstralarından 15'inci dakikada dut yaprağı, 30'uncu dakikada mısır püskülü, etil alkollü ekstralarında 15'inci dakikada roka, 30'uncu dakikada pazı üreaz inhibitör etkisi diğer bitkilere göre daha yüksek oranda bulunmuştur. İlaç etken maddelerin 15'inci ve 30'uncu dakikada da omeprazolün ilaç etken maddesinin üreaz inhibitörü etkisinin diğer ilaç etken maddelere göre daha yüksek olduğu bulunmuştur. Anorganik maddelerden bizmut nitrat ve organik maddelerden kaptoprilin kimyasal maddelerinin 15'inci ve 30'uncu dakikalarda üreaz inhibisyon etkileri, diğer kimyasal maddelere oranla daha yüksek bulunmuştur.

Çalışmamızda, yüksek üreaz inhibitör etkisi gösteren dut yaprağı, mısır püskülü, roka ve pazı bitkisinin üreaz inhibitörü olarak diüretiklerde, böbrek rahatsızlıklarında ve mide rahatsızlıklarında bitkisel ilaç olarak kullanımı uygun olacağı ileri sürülebilir.

Çalışmamızda, üreaz enzimini en yüksek oranda inhibe eden bitkilerden etken maddelerin izole edilerek yapı tayinlerinin yapılması ve bu maddelerin enzim inhibisyonlarının invivo deneylerle de kanıtlanması için daha ileri düzeyde çalışmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. KALAYCIOĞLU, L., SERPEK, B., NİZAMLIOĞLU, M., BAŞPINAR, N., TİFTİK, A.M., 2006, *Biokimya*, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 975-591-131-6.
2. CAN, A., AKEV, N., 2008, *Eczacılık Fakültesi Öğrencileri İçin Biokimya Dersleri*, İstanbul Üniversitesi Basım ve Yayınevi Müdürlüğü, İstanbul, 978-975-404-820-9.
3. ONAT, T., EMERK, K., SÖZMEN, E.Y., 2002, *İnsan Biokimyası*, Palme Yayıncılık, 979-975-862-420-2.
4. GÖGÜŞ, F., FADİLOĞLU, S., 2006, *Food Chemistry*, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara 975-591-871-x.
5. SOLOMONS, G.T.W., FRYHLE, C.B., OKAY, G., YILDIRIR, Y., 2002, *Organik Kimya*, Literatür Yayıncılık, 975-8431-87-0.
6. MURRAY, R.K., GRANNER, D.K., MAYES, P.A., ERSOZ, B., DİKMEN, N., MENTES, G., ÖZGÜNEN, T., 1993, *Harper'ın Biokimyası*, Barış Kitapevi, 978-975-953-311-3.
7. DEMİRSOY, A., 2006, *Enzimlerin yapısı ve işleyişi*, <http://www.genbilim.com/content/view/154/34>, [Ziyaret tarihi: 9 Temmuz 2009].
8. BİNGOL, G., 1977, *Vitaminler ve Enzimler*, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları Ders Kitap Serisi No: 46, Ankara.
9. ALTINIŞIK, M., 2009, *Enzimler*, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, <http://www.mustafaaltinisik.org.uk>, [Ziyaret tarihi: 9 Temmuz 2009].
10. ARI, A., 2006, *Histolojik olarak mide kanseri ile Helicobacter Pylori arasındaki ilişki*, Uzmanlık Tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı İstanbul Eğitim Hastanesi II. Genel Cerrahi Kliniği.
11. TANAKA, T., KAWASE, M., TANI, S, 2004, α -Hydroxyketones as inhibitors of urease, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 12, 501-505.
12. <http://www.web.inonu.edu.tr>, [Ziyaret tarihi: 8 Temmuz 2009].
13. <http://www.canlibilimi.com>, [Ziyaret tarihi 8 Temmuz 2009].

14. <http://www.gata.edu.tr>, [Ziyaret tarihi: 8 Temmuz 2009].
15. <http://www.tip.cumhuriyet.edu.tr>, [Ziyaret tarihi 6 Temmuz 2009].
16. BAYTOP, T., 1984, *Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi*, İstanbul Üniversitesi Yayınları, V-VIII, İstanbul, 3255.
17. TUZLACI, E., 1985, Türkiye’de bitkilerin yöresel kullanılışları, *Marmara Pharmaceutical Journal*, 1, 101-106.
18. KREYDIYYEH, I.S., USTA, J., 2002, Diuretic effect and mechanism of action of parsley, *Journal of Ethnopharmacology*, 79, 353-357.
19. DAS, N., KAYASTHA, A.M., SRIVASTAVA, P.K., 2002, Purification and characterization of urease from dehused pigeonpea (*Cajanus cajan L.*) seeds, *Phytochemistry*, 61, 513-521.
20. MARTIN-HERRERA, D., ABDALA, S., BENJUMEA, D., PEREZ-PAZ, P., 2007, Diuretic activity of *Withania aristata*: An endemic Canary Island species, *Journal of Ethnopharmacology*, 113, 487-491.
21. FOLLMER, C., WASSERMANN, G.E., CARLINI, C.R., 2004, Separation of jack bean (*Canavalia ensiformis*) urease isoforms by immobilized metal affinity chromatography and characterization of insecticidal properties unrelated to ureolytic activity, *Plant Science*, 167, 241-246.
22. HALOUI, M., LOUEDEC, L., MICHEL, J., LYOUSSI, B., 2000, Experimental diuretic effects of *Rosmarinus officinalis* and *Centaurium erythraea*, *Journal of Ethnopharmacology*, 71, 465-472.
23. WRIGHT, C. I., VAN-BUREN, L., KRONER, C. I., KONING, M. M. G., 2007, Herbal medicines as diuretics: A review of the scientific evidence, *Journal of Ethnopharmacology*, 114, 1-31.
24. AHMAD, N. S., FARMAN, M., NAJMI, M. H., MIAN, K. B., HASAN, A., 2008, Pharmacological basis for use of *Pistacia integerrima* leaves in hyperuricemia and gout, *Journal of Ethnopharmacology*, 117, 478-482.
25. EL-SHORA, H.M., 2001, Properties and immobilization of urease from leaves of *Chenopodium album* (C₃), *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 42, 251-258.
26. SIRKO, A., BRODZIK, R., 2000, Review: Plant ureases: Roles and regulation, *Acta Biochimica Polonica*, 47, 1189-1195.
27. QIN, Y., CABRAL, J.M.S., 2002, Properties an application of urease, *Biocatalysis and Biotransformation*, 20, 1-14.

28. KAYASTHA, A.M., DAS, N., 1999, A simple laboratory experiment for teaching enzyme immobilization with urease and its application in blood urea estimation, *Biochemical Education*, 27, 114-117.
29. HIRAYAMA, C., SUGIMURA, M., SAITO, H., NAKAMURA, M., 2000, Purification and properties of urease from the leaf of mulberry, *Morus alba*, *Phytochemistry*, 53, 325-330.
30. BLAKEYAND, R.L., ZERNER, B., 1984, Jack bean urease: the first nickel enzyme, *Journal of Molecular Catalysis*, 23, 263-292.
31. CIURCI, S., BENINI, S., MANGANA, S., 1999, Structural properties of nickel ions in urease: novel insights into the catalytic and inhibition mechanisms, *Coordination Chemistry Reviews*, 190-192, 331-335.
32. AMTUL, Z., RAHMAN, A., SIDDIQUI, R.A., CHOUDHARY, M.I., 2002, Chemistry and mechanism of urease inhibition, *Current Medicinal Chemistry*, 9, 1323-1348.
33. BURNE, R.A., CHEN, Y.Y.M., 2000, Bacterial ureases in infectious diseases, *Microbes and Infection*, 2, 533-542.
34. LUBBERS, M.W., RODRIGUES, S.B., HONEY, N.K., THORNTON, R.J., 1996, Purification and characterization of urease from *Schizosaccharomyces pombe*, *Canadian Journal of Microbiology*, 42, 132-140.
35. KRAJEWSKA, B., ZABORSKA, W., LESZKO, M., 2001, Inhibition of chitosan-immobilized urease by slow-binding inhibitors, *Journal of Molecular Catalysis B:Enzymatic*, 14, 101-109.
36. DEMIRAY, E., YILMAZ, O., 2007, *Helicobacter pylori* infeksiyonunda üreaz enziminin rolü ve önemi, *Türk Mikrobiyol Cemiyeti Dergisi*, 37, 112-117.
37. KOT, M., ZABORSKA, W., JUSZKIEWICZ, A., 2000, Inhibition of jack bean urease by tiols calorimetric studies, *Thermochimica Acta*, 354, 63-69.
38. BECKER-RITT, A.B., MARTINELLI, A.H.S., MITIDIERI, S., FEDER, V., WASSERMANN, G.E., SANTI, L., VAINSTEIN, M.H., OLIVERIA, J.T.A., FIUZA, L.M., PASQUALI, G., CARLINI, C.R., 2007, Antifungal activity of plant and bacterial ureases, *Toxicon*, 50, 971-983.
39. TAKASHIMA, K., SUGA, T., MAMIYA, G., 1988, The structure of jack bean urease the complete amino acid sequence limited proteolysis and reactive cystein residues, *European Journal of Biochemistry*, 175, 151-165.
40. FOLLMER, C., 2008, Review: Insights into the role and structure of plant ureases, *Phytochemistry*, 69, 18-28.

41. WEBER, M., JONES, M.J., ULRICH, J., 2008, Optimisation of isolation and purification of the jack bean enzyme urease by extraction and subsequent crystallization, *Food and Bioproducts Processing*, 86, 43-52.
42. CARTER, E.L., FLUGGA, N., BOER, J.L., MULROONEY, S.B., HAUSINGER, R.P., 2009, Interplay of metal ions and urease, *Metallomics*, 1, 207-221.
43. KRAJEWSKA, B., 2009, Ureases I. functional, catalytic and kinetic properties: A review, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 59, 9-21.
44. DUNN, B.E., CAMPBELL, G.P., PEREZ-PEREZ, G.L., BLASER, M.J., 1990, Purification and characterization of urease from *Helicobacter pylori*, *The Journal of Biological Chemistry*, 265, 9464-9469.
45. ZHANG, L., MULROONEY, S.B., LEUNG, A.F.K., ZENG, Y., KO, B.B.C., HAUSINGER, R.P., SUN, H., 2006, Inhibition of urease by bismuth (III) : Implications for the mechanism of action of bismuth drugs, *Bimedical and Life Sciences*, 19, 503-511.
46. EL-SHERIF, H., MARTELLI, P.L., CASADIO, R., PORTACCIO, M., 2001, Urease immobilization on chemically grafted nylon membranes part1: isothermal characterizaion, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 14, 15-29.
47. AHMAD, M., MUHAMMAD, N., AHMAD, M., LODHI, M.A., MAHJABEEN, JEHAN, N., KHAN, Z., RANJIT, R., SHAHEEN, F., CHOUDHARY, M.I., 2008, Urease inhibitor from *Datisca cannabia linn*, *Journal of Enzyme Inhibitoin and Medicinal Chemistry*, 23, 386-390.
48. LODHI, M.A., HUSSAIN, J., ABBASI, M.A., JASSBI, A.R., CHOUDHARY, M.I., AHMAD, V.U., 2005, A new *Bacillus pasterii* urease inhibitor from *Euphorbia decipiens*, *Jornual of Enzyme Inhibition and Medical Chemistry*, 21, 531-535.
49. AMTUL, Z., RASHEED, M., CHOUDHARY, M.I., 2004, Kinetics of novel competitive inhibitors urease enzymes by a focused library of oxadiazoles/thiadiazoles and triazoles, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 319, 1053-1063.
50. AKGÖL, S., YALÇINKAYA, Y., ARICA, Y., 2002, Reversible immobilization of urease, *Process Chemistry*, 38, 675-683.
51. RAVI CHARAN REDDY, K., KAYASTHA, M.A., 2006, Boric acid and boronic acids inhibition of pigeonpea urease, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 21, 467-470.
52. TANAKA, T., KAWASE, M., TANI, S., 2003, Urease inhibitory activity of simple α,β -unsaturated ketones, *Life Sciences*, 73, 2985-2990.

53. SABAN, N., BUJAK, M., 2009, Hydroxyurea and hydroxamic acid derivatives as antitumor drugs, *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 64, 213-221.
54. UESATO, S., HASHIMOTO, Y., NISHINO, M., NAGAOKA, Y., KUWAJIMA, H., 2002, N-Substituted hydroxyureas as urease inhibitors, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 50, 1280-1282.
55. ÖZER, B., SERİN, E., COŞAR, A., KAYASELÇUK, F., GÜR, G., YILMAZ, U., BOYACIOĞLU, S., 2004, *Helicobacter pylori* eradikasyon tedavisinde lansoprazol, klaritromisin ve amoksilin ile ranitidin bizmut sitrat, lansoprazol, klaritromisin ve amoksilin rejimlerinin etkinliğinin karşılaştırılması, *Akademik Gastroenteroloji Dergisi*, 3, 125-128.
56. GÖRAL, V., 2003, Günümüzde ve gelecekte peptik ülser tedavisi, *Güncel Gastroenteroloji*, 7, 115-119.
57. HORN, J., 2000, The proton pump inhibitors: similarities and differences, *Clinical Therapeutics Vol*, 22, 266-280.
58. KAYAALP, O.S., 2005, *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti., 975-8506-27-7.
59. KAM CHUEN LAI, M.R.C.P., SHIU KUM LAM, M.D., KENT MAN CHU, F.R.C.S., BENJAMIN C.Y., WONG, M.D., WAI MO HUI, M.D., WAYNE H.C., HU, M.R.C.P., GEORGE, K.K., LAU, M.D., WAI MAN WONG, M.R.C.P., MAN FUNG YUEN, M.R.C.P., ANNIE, O.O., CHAN, M.R.C.P., CHING LUNG LAI, M.D., JOHN WONG, F.R.A.C.S., 2002, Lansaprazole for the prevention of recurrences of ulcer complications from long-term low dose aspirin use, *The New England Journal of Medicine*, 26, 2033-2038.
60. SINGHAL, R., GAMBHIR, A., PANDEY, M.K., 2002, Immobilization of urease on poly (N-vinyl carbazole)/stearic acid Langmuir-Blodgett films f application to urea biosensor, *Biosensors and Bioelectronics*, 17, 697-703.
61. CHEN, J., CHIU, S., 2000, A poly (N-isopropylacrylamide-co-Nacryloxysuccinimide-co-2-hydroxyethyl methacrylate) composite hydrogel membrane for urease immobilization to enhance urea hydrolysis rate by temperature swing, *Enzyme and Microbial Technology*, 26, 359-367.
62. VAN SLYKE, D.D., ARCHIBALD, R.M., 1944, Manometric, titrimetric and colorimetric methods for measurements of urease activity, *The Journal of Biological Chemistry*, 154, 623-642.
63. MEDCALF, F.J., HARRIS, P.G.K., WALLS, J., 2001, Role of diuretics in the preservation of residual renal function in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis, *Kidney International*, 59, 1128-1133.

64. ONER, A., 2006, Akut böbrek yetmezliğinin tedavisi ve yenilikleri, *Güncel Pediatri*, 4, 82-86.
65. BRUNTON, L.L., LAZO, J.S., PAKER, K.L., SUZER, O., 2009, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, Nobel Tıp Kitabevi, Ankara, 978-975-420-658-6.
66. <http://www.ctf.edu.tr>, [Ziyaret tarihi: 14 Aralık 2009].
67. ZEGGWAGH, N.A., MOUFID, A., MICHEL J.B., EDDOUKS, M., 2009, Hypotensive effect of chamaemelum nobile aqueous extract in spontaneously hypertensive rats, *Clinical and Experimental Hypertension* 31, 440-450
68. 2009, Diuretic effect of powdered *Cerasus avium* (cherry) tails on healthy volunteers, *Pakistan Journal of Pharmaceutical*, 22, 381-383
69. CLARE, B.A., CONROY, R.S., SPELMAN, K., 2009, The diuretic effect in human subjects of an extract of *Taraxacum officinale* folium over a single day, *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 15, 929-934
70. GASPAROTTO, A.J., BOFFO, M.A., LOURENCO, E.L., STEFANELLO, M.E., KASSUYA, C.A., MARQUES, M.C., 2009, Natriuretic and diuretic effects of tropaeolum majus (*Tropaeolaceae*) in rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 122, 517-522
71. ASANO, N., YAMASHITA, T., YASUDA, K., IKEDA, K., KIZU, H., KAMEDA, Y., KATO, A., NASH, J.R., SAM LEE, H., SUN RYU, K., 2001, Polyhydroxylated alkaloids isolated from mulberry trees (*Morus alba* L.) and silkworm (*Bombyx mori* L.), *Journal Agriculture and Food Chemistry*, 49, 4208-4213.
72. ANDREONI, N., 2009, Detection of flavonoids in some mediterranean plants, *Acta Horticulturea*, 818, 253-256.
73. TETSUHIRO, N., KEITA, T., YASUAKI, G., SAORI, G., NAOKI, T., KAEKO, K., MASATOSHI, I., SABURO, H., AKINORI, A., TAKESHI, K., HAZHIRO, S., 2007, mulberry leaf extrate prevents amyloid beta-peptide fibril formation and neurotoxicity, *NeuroReport*, 18, 813-816.
74. ZHISHEN, J., MENGCHENG, T., JIANMING, W., 1999, The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects of superoxide radicals, *Food Chemistry*, 64, 555-559.
75. VELAZQUEZ, D.V.O., XAVIER, H.S., BATISTA, J.E.M., CHAVES-CASTRO, C., 2005, *Zea mays* L. extracts modiy glomerular function and potassium urinary excretion in conscious rats, *Phytomedicine*, 12, 363-369.
76. EL-DARIER, S.M., KAMAL, S.A., YOUSSEF, R.S., 2001, Diuretic plant ecology and medicine in the west, *The Sciences*, 1, 258-266.

77. ALGASOUMI, S., AL-SOHAIBANI, M., AL-HOWIRINY, T., AL-YAHYA, M., RAFATULLAH, S., 2009, Rocket "*Eruca sativa*": A salad herb with tential gastric anti-ulser activity, *World Journal of Gastroenterology*, 15, 1958-1965.
78. EL-NATTAT, W.S., EL-KADY, R.I., 2007, Effect of different medical plant seeds residues on the nuritional and reproductive performance of adult male rabbits, *International Journal of Agriculture and Biology*, 9, 479-485.
79. JIN, J., KOROLEVA, O.A., GIBSON, T., SWANSTON, T., MAGAN, J., ZHANG, Y., ROWLAND, I.R., WAGSTAFF, C., 2009, Analysis of phytochemical composition and chemorotective capacity o rocket (*Eruca sativa* and *Diplotasis tenuifolia*) leafy salad followng cultivation in different enviroments, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 57, 5727-5234.
80. SACAN, O., ORAK, H., YANARDAG, R., 2008, Antioxidant activity of water extract of *Eruca sativa* Mill, *Asian Journal of Chemistry*, 20, 3462-3474.
81. <http://www.wikipedia.com>, [Ziyaret tarihi: 20 Aralık 2009].
82. NAKAMURA, H., YOSHIYAMA, H., TAKEUCHI, H., MIZOTE, T., OKITA, K., NAKAZAWA, T., 1998, Urease plays an important role in the chemotactic motility of *Helicobacter pylori* in a viscous enviroment, *American Society for Microbiology*, 46, 4832-4837.
83. TÜNGER, O., 2008, *Helicobacter pylori* infeksiyonları, *Turkish Journal of Infection*, 22, 107-115.
84. OHTA, T., SHIBATA, H., KAWAMORI, T., LIMURO, M., SUGIMURA, T., WAKABAYASHI, K., 2001, Marked reduction of *Helicobacter pylori*-induced gastrits by urease inhibitors, acetohydroxamic acid and fluorofamide, in mongolian gerbils, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 285, 728-733.
85. AMTUL, Z., RASHEED, M., CHOUDHARY, M.I., ROSSNA, KHAN, K.M., RAHMAN, A., 2004, Kinetics of novel competitie inhibitors of urease enzymes by a focused library of oxadiazoles/thiadiazoles and triazoles, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 319, 1053-1063.
86. JONES G.R.D., 1997, More on the inhibition of the urease by boric acid, *Annual Clinical Biochemistry*, 34, 430-432.
87. MOBLEY, H.L.T., HAUSINGER, R.P., 1989, Microbial ureases: Significacance, regulation, and molecular characterization, *Microbiological Reviews*, 53, 85-108.
88. KOIVUNEN, M.E., MORISSEAU, C., NEWMAN, J.W., HORWATH, W.R., HAMMOCK, B.D., 2003, Purification and characterization of a methylene urea-

hydrolyzing enzyme from *Rhizobium radiobacter*, *Soil Biology and Biochemistry*, 35, 1433-1442.

89. ANDREWS, R.K., BLAKELEY, R.L., ZERNER, B., 1984, Urea and urease, *Advances in Inorganic Biochemistry*, 6, 245-283.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Yasemin DİNÇ

Doğum Tarihi : 15.09.1983

Doğum Yeri : Zonguldak

Öğrenim Durumu

İlk Okul : TED Zonguldak Koleji ve Vakfi 1988-1993

Orta Okul : TED Zonguldak Koleji ve Vakfi 1993-1997

Lise : Zonguldak Mehmet Çelikel Anadolu Lisesi 1997-2000

Yüksek Öğrenim : İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Kimya Bölümü
2002-2006

Yüksek Lisans : İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim
Dalı Biokimya Programı 2006-2009

Yüksek Lisans Tezi Konusu: Üreaz Enziminin Bazı Bitkiler Tarafından İnhibisyonu

Bildiği Yabancı Dil : İngilizce

Medeni Hali :Bekar

