



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ECZACILIKTA BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Eryngium billardieri BİTKİ
EKSTRELERİNİN BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

Gülizar ATİK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Rezzan ALİYAZICIOĞLU

TRABZON - 2020

ONAY

Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Eczacılıkta Biyokimya Anabilim Dalı Tezli Yüksek Lisans Programı öğrencisi Gülizar ATİK'in hazırladığı *Eryngium billardieri* Bitki Ekstrelerinin Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi" başlıklı çalışma Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 17.12.2019

Prof. Dr. Rezzan ALİYAZICIOĞLU
(Danışman)

Doç. Dr. Atila Taner KALAYCIOĞLU

Doç. Dr. İbrahim TURAN



Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne/...../20..... tarihinde teslim edilen bu tez Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../20..... tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ersan KALAY
Enstitü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak hazırlanarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kullanılan kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

07.11.2019

Gülizar ATİK

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında bilgi, birikim ve tecrübeleri ile çalışmamın planlanması ve yürütülmesinde desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Rezzan ALİYAZICIOĞLU'na;

Örneklerimin toplanması için her türlü desteği sağlayan Prof. Dr. Ali KANDEMİR'e;

Çalışmam boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Arş. Gör. Şeyda KANBOLAT'a;

Tezimin son düzeltmelerinde yardımda bulunan çok sevdiğim arkadaşım olan Arş. Gör. Sadiye KANTARCI'ya ve benim için değerli olan Jeoloji Mühendisi Alper HEKİMOĞLU'na;

Tez çalışmam boyunca maddi desteği için Karadeniz Teknik Üniversitesi BAP Birimine (TYL-2018-7710);

Bu günlere gelmem için hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan ve her zaman yanımda olan sevgili aileme sonsuz teşekkür ederim.

Gülizar ATİK

Trabzon, 2019

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY	
BEYAN	
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER	v
TABLOLAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
RESİMLER DİZİNİ	xi
KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ	xii
ÖZET	xvii
ABSTRACT	xix
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. <i>Eryngium billardieri</i> Bitkisinin Taksonomik ve Biyolojik Özellikleri	3
2.2. Bitkilerin Tedavi Amaçlı Kullanılması	4
2.3. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar	5
2.3.1. Endojen Antioksidanlar	10
2.3.1.1. Enzimatik Antioksidanlar	10
2.3.1.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	12
2.3.2. Bitkiler Tarafından Üretilen Bazı Antioksidanlar (E vitamini, Karatenoidler, C vitamini)	12
2.4. Bitkisel Biyoaktif Bileşikler	16
2.4.1. Fenolik Bileşikler	16
2.5. Enzim İnhibisyonları ve Mekanizmaları	19
2.6. Antimikrobiyal Maddeler	22

3. GEREÇ ve YÖNTEM	24
3.1. Kullanılan Kimyasal Madde ve Malzemeler	24
3.2. Kullanılan Çözeltiler	24
3.3. Bitkinin Toplanması ve Ekstrelerin Hazırlanması	25
3.4. Antioksidan Aktivite Tayinleri	25
3.4.1. Toplam Fenolik Madde Tayini	25
3.4.2. Toplam Flavonoid Madde Miktarı Tayini	26
3.4.3. FRAP Tayini	26
3.4.4. CUPRAC Tayini	27
3.4.5. DPPH' Radikali Temizleme Aktivitesi Tayini	28
3.4.5.1. SC ₅₀ Değerinin Tayini	29
3.5. Antimikrobiyal Aktivite Tayini	29
3.5.1. Agar Kuyucuk Difüzyonu Metodu	29
3.6. Enzim İnhibisyon Tayinleri	30
3.6.1. Tirozinaz İnhibitör Aktivitesi Tayini	30
3.6.2. Asetilkolinesteraz/Bütirikolinesteraz İnhibitör Aktivite Tayin Tayinleri	30
3.6.3. α-Amilaz İnhibitör Aktivite Tayini	30
3.6.4. α-Glukozidaz İnhibitör Aktivite Tayini	31
4. BULGULAR	32
4.1. Toplam Fenolik Madde Tayin Sonuçları	32
4.2. Toplam Flavonoid Madde Miktarı Tayin Sonuçları	33
4.3. FRAP Tayini Sonuçları	34
4.4. CUPRAC Tayini Sonuçları	35
4.5. DPPH' Radikali Temizleme Aktivitesi Tayin Sonuçları	36
4.5.1. SC ₅₀ Değerinin Sonucu	37
4.6. Antimikrobiyal Aktivite Tayin Sonuçları	38

4.7. Tirozinaz İnhibitör Aktivite Sonuçları	39
4.8. Asetilkolinesteraz İnhibitör Aktivite Sonuçları	41
4.9. Bütirikolinesteraz İnhibitör Aktivite Sonuçları	43
4.10. α -Amilaz İnhibitör Aktivite Sonuçları	46
4.11. α -Glukozidaz İnhibitör Aktivite Sonuçları	49
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	52
6. ÖNERİLER	58
7. KAYNAKLAR	60
8. ÖZGEÇMİŞ	73

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 1. Reaktif azot ve oksijen türleri	6
Tablo 2. Oksidan etmenler ve antioksidan savunma elemanları	8
Tablo 3. Antioksidan sistemlerin sınıflandırılması	9
Tablo 4. Antibiyotiklerin etki mekanizmaları	23
Tablo 5. Çalışmada kullanılan kimyasal çözeltiler ve hazırlanışları	24
Tablo 6. Çalışmada kullanılan test mikroorganizmaları	29
Tablo 7. <i>E. billardieri</i> bitkisinin sulu ve metanollü ekstralarında bulunan toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktivite değerleri	38
Tablo 8. <i>E. billardieri</i> ekstralarının agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile oluşturduğu inhibisyon çapları	38
Tablo 9. <i>E. billardieri</i> ekstralarının ve kojik asitin IC ₅₀ değerleri	39
Tablo 10. Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi %inhibisyon ve IC ₅₀ değerleri	41
Tablo 11. Bütirikolinesteraz enzim aktivitesi %inhibisyon ve IC ₅₀ değerleri	44
Tablo 12. <i>E. billardieri</i> ekstralarının ve akarboz standardının IC ₅₀ değerleri	46
Tablo 13. <i>E. billardieri</i> ekstralarının ve standardın IC ₅₀ değerleri	49

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil		Sayfa
Şekil 1.	Reaktif oksijen türleri oluşumu	7
Şekil 2.	E vitamininin kimyasal yapısı	12
Şekil 3.	β -Karotenin yapısı	13
Şekil 4.	C vitamininin kimyasal yapısı	14
Şekil 5.	Folik asit vitamininin kimyasal yapısı	15
Şekil 6.	Bitki sekonder metabolitlerin insan sağlığı için olumlu biyolojik aktiviteleri	17
Şekil 7.	Bazı önemli fenolik asit bileşikleri	18
Şekil 8.	Flavonoid iskelet yapısı	19
Şekil 9.	Tirozinden dopakinon sentezi	20
Şekil 10.	Alzheimer hastalığında kullanılan inhibitör ilaçlar	21
Şekil 11.	Toplam fenolik madde tayini için gallik asit standardı kullanılarak hazırlanmış olan standart çalışma grafiği	32
Şekil 12.	<i>E. billardieri</i> ekstrelerinin toplam fenolik madde miktarı değerleri	32
Şekil 13.	Toplam flavonoid madde miktarı tayini için kuersetin standardı kullanılarak hazırlanmış standart çalışma grafiği	33
Şekil 14.	<i>E. billardieri</i> ekstrelerinin toplam flavonoid madde miktarı değerleri	33
Şekil 15.	FRAP tayini için troloks standardı kullanılarak hazırlanmış standart çalışma grafiği	34
Şekil 16.	<i>E. billardieri</i> ekstrelerinin FRAP değerleri	34
Şekil 17.	CUPRAC testi için troloks standardı kullanılarak elde edilen standart çalışma grafiği	35
Şekil 18.	<i>E. billardieri</i> ekstrelerinin CUPRAC değerleri	35
Şekil 19.	<i>E. billardieri</i> bitkisinin metanollü ekstresinin absorbans konstrasyon grafiği	36

Şekil 20.	<i>E. billardieri</i> bitkisinin sulu ekstresinin absorbands konstrasyon grafiği	36
Şekil 21.	BHT standardının absorbands konstrasyon grafiği	37
Şekil 22.	DPPH yöntemine göre <i>E. billardieri</i> ekstrelerinin ve BHT'nin SC ₅₀ değerleri	37
Şekil 23.	Kojik asit standardının % tirozinaz inhibisyonu	39
Şekil 24.	<i>E. billardieri</i> sulu ekstresinin % tirozinaz inhibisyonu	40
Şekil 25.	<i>E. billardieri</i> metanol ekstresinin % tirozinaz inhibisyonu	40
Şekil 26.	<i>E. billardieri</i> ekstrelerinin ve kojik asit standardının IC ₅₀ değerleri	41
Şekil 27.	Galantamin standardının %asetilkolinesteraz inhibisyonu	42
Şekil 28.	<i>E. billardieri</i> sulu ekstresinin %asetilkolinesteraz inhibisyonu	42
Şekil 29.	<i>E. billardieri</i> metanol ekstresinin %asetilkolinesteraz inhibisyonu	43
Şekil 30.	<i>E. billardieri</i> ekstrelerinin ve galantamin standardının IC ₅₀ değerleri	43
Şekil 31.	Galantamin standardının %bütirilkolinesteraz inhibisyonu	44
Şekil 32.	<i>E. billardieri</i> sulu ekstresinin %bütirilkolinesteraz inhibisyonu	45
Şekil 33.	<i>E. billardieri</i> metanol ekstresinin %bütirilkolinesteraz inhibisyonu	45
Şekil 34.	<i>E. billardieri</i> ekstrelerinin ve galantaminin IC ₅₀ değerleri	46
Şekil 35.	Akarboz standardının % α -amilaz inhibisyonu	47
Şekil 36.	<i>E. billardieri</i> su ekstresinin % α -amilaz inhibisyonu	47
Şekil 37.	<i>E. billardieri</i> metanol ekstresinin % α -amilaz inhibisyonu	48
Şekil 38.	<i>E. billardieri</i> ekstrelerinin ve akarbozun α -amilaz IC ₅₀ değerleri	48
Şekil 39.	Akarboz standardının % α -glukozidaz inhibisyonu	49
Şekil 40.	<i>E. billardieri</i> su ekstresinin % α -glukozidaz inhibisyonu	50
Şekil 41.	<i>E. billardieri</i> metanol ekstresinin % α -glukozidaz inhibisyonu	50
Şekil 42.	<i>E. billardieri</i> ekstrelerinin ve akarbozun IC ₅₀ değerleri	51

RESİMLER DİZİNİ

Resim

Sayfa

Resim 1. *Eryngium billardieri* genel görünümü

4



KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

AMM	Antimikrobiyal maddeler
BHA	Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	Bütillenmiş hidroksitoluen
°C	Santigrat derece
CAT	Katalaz
CUPRAC	Bakır (II) indirgeme/antioksidan kapasite
dk	Dakika
DM	Diabetes mellitus
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPPH	2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil
DTNB	5,5-ditiyobis-(2-nitrobenzoikasit)
e⁻	Elektron
<i>E. billardieri</i>	<i>Eryngium billardieri</i>
EI	Enzim-inhibisyon
ES	Enzim-substrat
FAD	Flavin adenin dinükleotid
FRAP	Demir (III) indirgeme antioksidan kapasitesi
g	Gram
GAE	Gallik asit eşdeğer
GPx	Glutasyon peroksidaz
GR	Glutasyon redüktaz
GSH	Glutasyon
GSSG	Okside glutasyon
IKI	İyodur/potasyum iyodur
kob/mL	Koloni oluşturan birim= colony forming unit
m	Metre
M	Molar
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre

mM	Milimolar
N	Normal
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit
NCCLS	National Committe For Clinical Laboratory Standard
nm	Nanometre
pH	Hidrojen iyonu konsantrasyonunun eksi logaritma değeri
RKT	Reaktif klorid türleri
RNA	Ribonükleik asit
RNT	Reaktif azot türleri
ROB	Reaktif oksijen bileşikleri
ROT	Reaktif oksijen türleri
RST	Reaktif sülfür türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
TÜBİTAK	Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu
TP	Toplam polifenolik madde
TPTZ	Tripridiltriazin
Troloks	6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit
UV	Ultraviyole
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µM	Mikromolar
Simgeler	
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
δ	Delta
%	Yüzde
Formüller	
AlCl₃	Alüminyum klorür
CH₃COONa.3H₂O	Sodyum asetat trihidrat
CH₃COONH₄	Amonyum asetat
Cl[•]	Klorin atomu
Cu^{2,3+}	Bakır II, III iyonu

CuCl₂·2H₂O	Bakır (II) klorür dihidrat
Cu(I)-Nc	Bakır(I)-neokuproin kompleksi
Cu(II)-Nc	Bakır(II)-neokuproin kompleksi
DSSO	Disülfid-S-oksit
Fe^{2,3+}	Demir II, III iyonu
FeCl₃	Demir(III) klorür
H[·]	Hidrojen radikali
HCl	Hidroklorik asit
HCO₃⁻	Bikarbonat iyonu
H₂O	Di hidrojen oksit
H₂O₂	Hidrojen peroksit
HOCl	Hipoklorik asit
HO₂[·]	Perhidroksil radikali
K₃(Fe)CN₆	Potasyum heksasiyanoferrat (III)
NaOH	Sodyum hidroksit
Neokuproin-Nc	2,9- dimetil-1,10-fenantrolin
NH₂	Amin
HNO₂	Nitröz asit
Na₂CO₃	Sodyum karbonat
NO⁺	Nitronyum iyonu (katyonu)
NO₂⁺	Nitril iyonu (katyonu)
NO⁻	Nitroksil iyonu (anyonu)
NO[·]	Azot monoksit radikali
NO₂[·]	Nitrojen dioksit radikali
NO²⁻	Nitrit
NO³⁻	Nitrat
NO₂Cl	Nitronyum klorid
₁O²	Singlet oksijen
O₂^{-·}	Süperoksit radikali
O₂	Oksit
O₃	Ozon
OH[·]	Hidroksil radikali
ONOO⁻	Peroksinitrit

ONOOH	Peroksinitröz asit
RS'	Tiyil radikali
RSOH	Sülfenik asit
SO₃²⁻	Sülfit

Mikroorganizmalar

Bc	<i>Bacillus cereus</i> 702 ROMA
Ca	<i>Candida albicans</i> ATCC 60193
Ct	<i>Candida tropicalis</i> ATCC 13803
Ec	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
Ef	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212
Ms	<i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC607
Pa	<i>Pseudomonasa eruginosa</i> ATCC 27853
Sa	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
Sc	<i>Saccharomycescerevisiae</i> RSKK 251
Yp	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> ATCC 911
Kp	<i>Klepsiella pneumonia</i> ATCC18883

ÖZET

***Eryngium billardieri* Bitki Ekstrelerinin Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi**

Bu çalışmanın amacı *Eryngium billardieri*'nin sulu ve metanollü ekstrelerinin antioksidan, antimikrobiyal aktiviteleri ile tirozinaz, bütirilkolinesteraz, asetilkolinesteraz, α -glukozidaz ve α -amilaz inhibitör aktivitelerini belirlemektir.

E. billardieri'nin sulu ve metanollü ekstrelerinde demir indirgeyici antioksidan güç (FRAP), radikal temizleme aktivitesi (DPPH) ve bakır indirgeyici antioksidan güç (CUPRAC) testleri spektrofotometrik olarak çalışılmıştır. Antimikrobiyal aktivite, agar kuyucuk difüzyon yöntemiyle test edilmiştir. Enzim inhibisyonları, toplam fenolik ve flavanoid madde miktarları spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir.

E. billardieri su ekstresinin toplam fenolik ve flavanoid madde miktarları sırasıyla 157.02±0.51 mg GAE/g numune, 18.08±3.45 mg QE/g numune olarak bulunmuştur. Metanollü ekstresi ise 338.11±0.932 mg GAE/g numune, 24.07±2.58 mg QE/g numune olarak tespit edilmiştir. FRAP sonuçları bitkinin sulu ekstresinde 358.67±0.91 μ mol troloks/g numune, metanollü ekstresinde ise 687.67±1.98 μ mol troloks/g numune bulunmuştur. CUPRAC sonuçları sulu ekstrede 748.67±1.67 μ M troloks/g numune, metanollü ekstrede ise 938.67±2.39 μ M troloks/g numune olarak tespit edilmiştir. *E. billardieri*'nin metanollü ekstresinin (SC₅₀: 0.1162±0.028 mg/mL), sulu ekstreya (SC₅₀: 0.2677±0.020 mg/mL) göre daha yüksek radikal temizleme aktivitesine sahip olduğu bulunmuştur. Bitkinin sulu ekstresi standartlarla karşılaştırıldığında antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. Ancak metanollü ekstresinin *E. coli*, *Y. pseudotuberculosis*, *K. pneumonia*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *C. tropicalis*, *E. faecalis*, *B. cereus*, *S. cerevisiae*, *M. Smegmatis* ve *C. albicans*'a karşı orta derecede antimikrobiyal aktivite göstermiştir. *E. billardieri* sulu ve metanolik ekstrelerinin tirozinaz inhibitör aktiviteleri 125.89±2.45 μ g/mL ve 15.14±2.14 μ g/mL olarak bulunmuştur. *E. billardieri* sulu ve metanolik ekstrelerinin asetilkolinesteraz inhibisyonu IC₅₀ değerleri sırasıyla 81.28±2.51 ve 20.42±1.21 μ g/mL bulunmuştur. Bütirilkolinesteraz inhibisyonu IC₅₀ değerleri ise sırasıyla 75.86±2.37 ve 117.49±2.42 μ g/mL olarak bulunmuştur. *E. billardieri* sulu ve metanolik ekstrelerinin α -amilaz inhibisyonu IC₅₀ değerleri sırasıyla 173.78±3.75 ve 107.15±3.07 μ g/mL olarak tespit edilmiştir. α -Glukozidaz inhibisyonu IC₅₀ değerleri ise sırasıyla 269.15±2.54 ve 147.91±1.97 μ g/mL olarak bulunmuştur.

E. billardieri'nin farmakolojik, kozmetik ve gıda endüstrilerinde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, Antimikrobiyal Aktivite, *Eryngium billardieri*, Flavonoid



ABSTRACT

Investigation of the Biological Activities of *Eryngium billardieri* Plant Extracts

The aim of this study was to determine the antioxidant, antimicrobial activities of aqueous and methanol extracts of *Eryngium billardieri* and tyrosinase, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, α -amylase and α -glucosidase inhibitory activities.

Ferric ion reducing antioxidant power (FRAP), radical cleaning activity (DPPH) and copper ion reducing antioxidant power (CUPRAC) tests were studied spectrophotometrically in aqueous and methanol extracts of *E. billardieri*. Antimicrobial activity was tested by agar well diffusion method. Enzyme inhibitions, total phenolic and flavanoid substance amounts were determined spectrophotometrically.

Total amounts of phenolic and flavanoid substance amounts of aqueous extract of *E. billardieri* were found to be 157.02 ± 0.51 mg GAE/g sample, 18.08 ± 3.45 mg QE/g sample, respectively. Methanol extract were determined as 338.11 ± 0.93 mg GAE/g sample, 24.07 ± 2.58 mg QE/g sample, respectively. FRAP results were found as 358.67 ± 0.91 μ mol trolox/g sample in aqueous extract and 687.67 ± 1.98 μ mol trolox/g sample in methanol extract. CUPRAC results were determined as 748.67 ± 1.67 μ M trolox/g sample in aqueous extract and 938.67 ± 2.39 μ M trolox/g sample in methanol extract. *E. billardieri*'s methanol extract (SC_{50} : 0.1162 ± 0.028 mg/mL) was found to have higher radical scavenging activity than aqueous extract (SC_{50} : 0.2677 ± 0.020 mg/mL). The aqueous extract of the plant showed no antimicrobial activity compared to the standards. However, the methanol extract was showed moderately antimicrobial activity against *E. coli*, *Y. pseudotuberculosis*, *K. pneumonia*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *B. cereus*, *M. smegmatis*, *C. albicans*, *C. tropicalis* and *S. cerevisiae*. The tyrosinase inhibitory activities of aqueous and methanolic extract of *E. billardieri* were found to be 125.89 ± 2.45 μ g/mL and 15.14 ± 2.14 μ g/mL. The acetylcholinesterase inhibition IC_{50} values of aqueous and methanolic extract of *E. billardieri* were found to be 81.28 ± 2.51 and 20.42 ± 1.21 μ g/mL. Butyrcholineesterase inhibition IC_{50} values were 75.86 ± 2.37 and 117.49 ± 2.42 μ g/mL, respectively. α -Amylase inhibition IC_{50} values of aqueous and methanolic extract of *E. billardieri* were determined as 173.78 ± 3.75 and 107.15 ± 3.07 μ g/mL, respectively.

α -Glucosidase inhibition IC₅₀ values were found to be 269.15±2.54 and 147.91±1.97 μ g/mL, respectively.

It was concluded that *E. billardieri* can be used in pharmacological, cosmetic and food industries.

Keywords: Antioxidant, Antimicrobial Activity, *Eryngium billardieri*, Flavonoid



1. GİRİŞ ve AMAÇ

İnsanlık tarihi boyunca bitkiler tıbbi amaçlar için kullanılmıştır. Bu durum bize bitkilerin ne kadar önemli ilaç kaynakları olduğunu bir kanıttır. Sentetik ilaçların yerine bitkisel ilaçların tercih edilmesinin ilk sebebi bitkisel ürünleri tedarik etmenin, sentetik ilaçları tedarik etmekten daha ucuz ve daha kolay olmasıdır. İkinci tercih sebepleri ise insanların yüzyıllardır tedavi amaçla kullandığı bitkilerin sentetik ilaçlara göre daha az yan etkilerinin olmasıdır.

Ülkemizin, Güneybatı Asya ve Güney Avrupa florası arasında bağlantısının olması sebebiyle bitkisel zenginliğin güzel bir örneğini oluşturmaktadır (1). Bitki türü ve çeşitliliği bakımından zengin bir flora sahip olan ülkemizde tıbbi bitkiler üzerine yapılan araştırmalar oldukça büyük önem kazanmıştır. Bitkisel gıdaların birçoğu, güçlü antioksidan aktiviteye sahip fenolik fitokimyasalları içermekte ve oksidatif hasarlara karşı metabolizmayı savunmaktadır. Fenolik fitokimyasallar gıdaların bozulmasını önlerler. Ayrıca tüketilmeleri durumunda vücudumuza antioksidan bileşikler almış oluruz. Bitkisel gıdalarda bulunan fenolik bileşikler; flavonoidler, fenolik asitler, lignanlar ve stilbenler gibi alt sınıflara ayrılırlar. Antioksidan açıdan önemli olanlar arasında fenolik asitler ve flavonoidler bulunur. Flavonoidler antioksidan olması sebebiyle diyetdeki en önemli antikarsinojenlerden birisi olarak bilinir (2). Günümüzde bitkisel ürünler, çoğu hastalığın tedavisinde önemli ölçüde katkı sağlayarak yeni tedavi edici ajanların geliştirilmesine olanak sağlamaktadır.

Tirozinaz enzimi, vücutta melanin sentezinin aşırı şekilde olması sonucu ortaya çıkan cilt lekesi gibi hiperpigmentasyon sorunlarının yanısıra; melanin sentezinin az olmasından kaynaklanan hipopigmentasyon sorunlarında önem taşıyan bir enzimdir. Tirozinaz enzimini inhibe ya da aktive eden maddeler, hiperpigmentasyon veya hipopigmentasyon tedavisinde kullanılabilir (3). Kojik asit standardı, gıda endüstrisi alanında enzimatik kararmayı önleyici gıda katkı maddesi ve kozmetik alanında cilt beyazlatıcı olarak kullanılmaktadır. Birçok bitkinin yaprak, tohum, çiçek ve kabuklarında yaygın olarak buldukları için tirozinaz enzim aktivitesinin incelenmesi oldukça önemlidir (4).

Beta amiloidlerin yavaşça birikmesi sonucunda, oksidatif stresle birlikte nöronlarda yapısal bozukluğa yol açmaktadır. Bu süreç; işlevsel bozukluklara, kavrama, hareket bozukluklarına ve hatta ölüme bile yol açmaktadır. Beyindeki beta amiloid birikimi

Alzheimer riskini arttırmaktadır. Alzheimer hastalarının beyinlerinde bütirilkolin ve asetilkolin olarak isimlendirilen nöromediyatör düzeylerinde bazı eksiklikler görülmüştür. Sırasıyla bütirilkolini ve asetilkolini hidroliz eden başlıca enzimler olan bütirilkolinesteraz ve asetilkolinesteraz inhibisyonu Alzheimer'a karşı önemli bir tedavi seçeneği olmuştur. Bu sebeple, Alzheimer patogeneğinde yer alan anahtar enzimler olan bütirilkolinesteraz ve asetilkolinesteraz inhibitör aktiviteleri için araştırmalar yapılmaktadır (5). Nişastalı besinler ağıza alınıp çiğnenmeye başlandığında tükürük bezlerinden salgılanan α -amilaz, maltoz ve küçük glukoz polimerleri olan maltotrioz ve α -limit dekstrinler gibi bileşiklere hidroliz eder. Bu enzimlerin inhibe edilmesi sonucu karışık karbonhidrat içeren bir diyetin ardından yemek sonrası kan glukoz seviyesindeki artışta önemli ölçüde azalma meydana geleceğine inanılmaktadır. Bu nedenle, bu yaklaşım tip (II) diyabetle bağlantılı hipergliseminin tedavisinde önemli bir strateji olabilir. Bitkiler, kaynakları sınırlı olan ve gelişmekte olan ülkelerde birçok hastalığın tedavisinde önemli bir rol almaya devam etmektedir. Bitkisel kaynaklı ürünler fitoöstroeller, vitaminler, sülfür bileşikleri, hormonlar ve karotenoidler gibi çok sayı da vücuda yarar sağlayan bileşikler içermektedirler (6).

Bu tez kapsamında, *E. billardieri* bitkisinin antioksidan (toplam fenolik ve flavonoid madde tayini, FRAP, CUPRAC ve DPPH tayini), antimikrobiyal (agar kuyucuk difüzyon metodu) ve enzim inhibitör aktiviteleri gibi biyolojik aktiviteleri incelenecek, bu aktiviteler arasındaki ilişkiler değerlendirilecektir. Sonuç olarak, bu türün fitoterapik amaçlar için kullanılabilirliğinin irdelenmesi yolu açılmış olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Eryngium billardieri* Bitkisinin Taksonomik ve Biyolojik Özellikleri

E. billardieri cinsi, Apiaceae (Umbelliferae: Maydonozgiller) Dünya'daki en büyük bitki ailelerinden birisidir. Apiacea üyeleri birçok biyolojik aktiviteye sahip çeşitli bileşikler içerir. Lübnan, Kuzey, Kuzeybatı ve Batı İran, Kuzey Irak, Afganistan, Batı Pakistan, Keşmir ve İran-Turan bölgelerinde yer alan bir bitkidir. Bu familyanın önemli bir cinsi olan *E. billardieri* Dünya'da 250'den fazla, Türkiye'de ise 23 türü bulunur; bu bitkilerin 10'u endemik özelliğe sahiptir. *Eryngium* türleri, ülkemizde halk arasında deve diken, göz diken, boğadiken, tengel diken ve eşek diken adlarıyla bilinirler (7). Ülkemizde yetişmekte olan *Eryngium* türlerinden *E. billardieri* bitkisi reçinemsiz bir tada sahip, Doğu Anadolu'da yetişen, gövdesi ve kabuğu soyularak yenilen bir bitkidir (8, 9). Dünya'da ekonomik öneme sahip önemli bitki gruplarından *Eryngium* türleri, Türkiye'de genel olarak halk tıbbında bu bitkinin farklı kısımları kullanılarak hemoroid, ödem söktürücü, sinüzit, iltihaplar, deri hastalıkları ve tümörlerde, yara iyileşmelerinde, yılan ve akrep sokmaları gibi hastalıkların tedavisinde kullanılırken aynı zamanda taze iken yiyecek olarak da kullanılmaktadır (9). Bitkinin hem kökünden hem de toprak üstü kısımlarından bitkisel tedavilerde yararlanır. Kök kısımları Erzurum'da toplum arasında hemoroid tedavisinde kullanılmakla birlikte mukoz membranlarının lokal enflamasyonunda ve soğuk algınlığı tedavisinde, toprak üstü kısımlarından ise yara tedavisinde geçmişten günümüze kadar yaygın kullanıldığı bilinmektedir (10). *E. billardieri* bitkisinin genel görünümü Resim 1'de gösterilmiştir.



Resim 1. *Eryngium billardieri* genel görünümü (11)

2.2. Bitkilerin Tedavi Amaçlı Kullanılması

Bitkilerle tedavi en eski iyileştirme metotlarından biridir. Son zamanlarda tıbbi bitkilerden elde edilen aktif maddelerle ilgili olan çalışmalar, tıbbi bitkilere olan ilgiyi giderek artırmıştır. Bunun temel sebepleri arasında; bitkilerin maliyeti düşük ve kolay tedavi imkanı sağlaması ve sentetik kaynaklı ilaçların bitkisel ilaçlara göre yan etkilerinin daha fazla olması sayılabilir. Dünya’da asırlardan beri çeşitli hastalıkların tedavisinde tıbbi amaçlar için bitkiler kullanılmıştır. Bitkilerin tedavi amaçlı kullanılmaları insanlık tarihi gibi eski olmasıyla beraber, antik kentlerin ve kalıntılarının incelenmesiyle bazı ipuçlarına ulaşılmıştır (12, 13). Dünya Sağlık Örgütü’ne göre, Dünya nüfusunun neredeyse %80’i belli başlı sağlık gereksinimleri için bitkisel kaynaklı ilaçlara ve bitkisel ürünlere bağımlıdır. Bitkiler, besin kaynağı olmalarının yanı sıra ilaç, tekstil, yakıt ve kimyasal bileşenlerin üretimi için insanlık tarihi boyunca kullanılmıştır. Dünya’daki farklı geleneksel tedavi sistemlerinde kullanılan tıbbi bitkilerin farmakolojik özellikleri ve kimyasal yapıları insanlık yararı için kullanılmak üzere araştırılmaktadır. Son yıllarda, tedavi amaçlı kullanılan bitkilerin geleneksel kullanımları Türkiye’de de araştırmacıların dikkatini çekmiştir (14). Türkiye geniş bir halk tıbbi bilgisine ve zengin bir floraya sahip bir ülkedir. Bu nedenle ilgili çalışmalar için potansiyel bir kaynak sunmaktadır. Bitkilerle yapılan çalışmalar iyi değerlendirildiklerinde ülkeler için büyük bir ekonomik güç sağlayacak potansiyel kaynaklardır.

Günümüzde bitkisel kaynaklı ürünler, çeşitli enfeksiyon hastalıklarıyla mücadelede önemli bir kaynak olarak bilinirken, bu bitkilerin çoğunluğu yeni terapötik ajanların keşfi için çeşitli araştırmalara olanak sağlamaktadır. Araştırmacılar, bitkilerden birçok maddeyi izole ederek yapılarını aydınlatma çalışmaları yapmaktadırlar. Böylelikle çoğu ilacın geliştirilmesi için olanak sağladılar. Önemli etkilere sahip olan birçok bitkisel ürün, yapılan çeşitli çalışmalar sonucunda; tedavide, tat ve koku endüstrisinde, gıda sanayinde, ilaç endüstrisinde, parfümeri ve kozmetik sanayi dallarında tercih edilmektedirler (15).

2.3. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar

Oksijen canlı yaşamı için vazgeçilmez bir element olup biyoelementlerle çeşitli organik molekülleri oluştururlar. Metabolizmada oksijenin eksik indirgenmeleri sonucunda serbest radikaller oluşabilmektedir. Serbest radikaller dış yörüngelerinde sahip oldukları ortaklanmamış elektron ya da elektronlar sayesinde kuvvetli reaktif özellik gösterirler. Canlı vücudu yaşamsal olaylar için enerji üretirken sürekli olarak serbest radikal oluşmasına sebep olur. Bu bileşikler organizmada dış etkenlerin etkisiyle oluşabilirken normal metabolik yolların işleyişi esnasında da oluşabilmektedirler. Çevrenin kirletici etkisi, güneşin zararlı ışınları, kimyasal ürünler, endüstriyel atıklar, toksik ilaçlar, sigara, alkol, stres, sanayi atıkları, kirli su ve hava gibi pek çok etken vücudumuzdaki serbest radikallerin sayısını sürekli olarak artırır (16, 17). Aşırı yapılan spor aktiviteleri, şeker ve yağ oranı yüksek olan gıdalar oksijen miktarında artışa sebep olacağı için buna bağlı olarak serbest radikallerinde artmasına neden olmaktadır. Serbest radikallerin artması sonucunda vücuttaki hücreler hasara uğrayıp, bağışıklık sistemimizin zayıflamasına yol açarlar. Bunun sonucunda moleküler varyasyonlar ve gen mutasyonları meydana gelerek hücresel hasar, doku yıkımı ve yaşlanma gibi çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasına neden olurlar (18, 19). Günümüzde serbest radikaller birçok hastalığın ortaya çıkmasından sorumlu ajanlar olarak bilinirler.

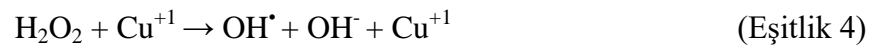
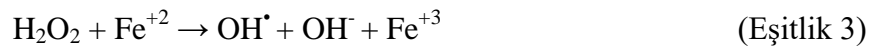
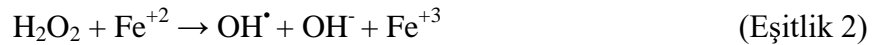
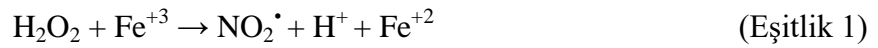
Serbest radikallerin oksijen ile meydana gelenlerine reaktif oksijen türleri (ROT) denilmektedir ve oluşumları Şekil 1'de gösterilmiştir (20). Reaktif türler, merkezindeki atomuna göre 4 ana kategoriye ayrılmakta ve Tablo 1'de gösterilmiştir (21).

Tablo 1. Reaktif azot ve oksijen türleri (Halliwell ve Gutteridge'den, 21)

Reaktif Oksijen Türleri (ROT)	Reaktif Azot Türleri (RNT)	Reaktif Klorid Türleri (RKT)	Reaktif Sülfür Türleri (RST)
Süperoksit Radikali, O ₂ ⁻	Nitrik oksit radikali, NO [•]	Klorin atomu, Cl [•]	Sülfite, SO ₃ ²⁻
Hidroksil Radikali, OH [•]	Nitrojen dioksit radikali, NO ₂	Hipoklorik asit, HOCl	Disülfite-S-oksit, DSSO
Hidroperoksil, HO ₂	Nitroksil iyonu (anyon), NO ⁻	Nitronyum klorid, NO ₂ Cl	Sülfenik asit, RSOH
Hidrojen peroksit, H ₂ O ₂	Nitronyum iyonu (katyonu), NO ⁺		Sülfenil radikali, RS [•]
Singlet Oksijen, ¹ O ₂	Nitril iyonu (katyonu), NO ₂ ⁺		
Ozon, O ₃	Nitröz asit, HNO ₂		
	Peroksinitrit, ONOO ⁻		
	Peroksinitröz asit, ONOOH		

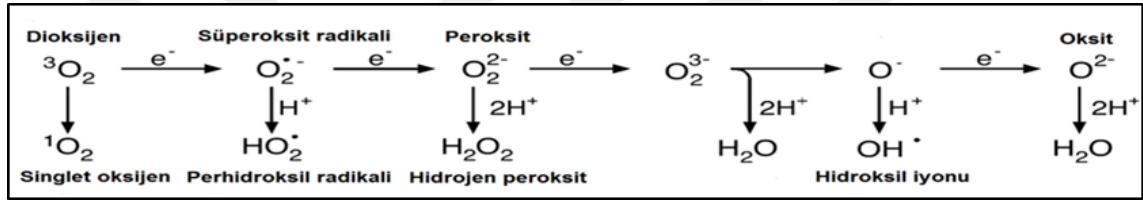
Süperoksit radikali, zayıf bir oksidan olduğundan sadece kendi hücre tahribatına sebep olamaz. Ancak Haber-Weiss reaksiyonları gibi birbirini takip eden reaksiyonlar sonucunda oksidatif hasara yol açar bunun beraberinde de DNA hasarı gibi önemli hasarlara neden olabilmektedir (22, 23).

Fenton reaksiyonunun sahip olduğu OH[•] radikalleri DNA'ya hücum ederek hücreye zarar verir. O₂⁻ ve H₂O₂'de dolaylı olarak DNA'ya hasar verir. OH[•] radikalinin reaktivitesi çok yüksek olduğundan hücre içine çekirdeğe geçme olasılığı düşüktür. H₂O₂ çekirdekte Fe⁺³ ve Cu⁺² iyonları ile tepkimeye sokularak (Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonları) OH[•] radikallerini meydana getirmektedirler (24).



Eşitlik 1 ve Eşitlik 2 adlı reaksiyonlar Fenton reaksiyonları, Eşitlik 3 ve Eşitlik 4 adlı reaksiyonlar ise Fe^{+3}/Cu^{+2} ile katalizlenen Haber-Weiss reaksiyonlarıdır (24).

Biyolojik mekanizmalarda en güçlü radikal OH^{\bullet} 'dir. H_2O_2 'nin Cu^{+2} ya da Fe^{+3} iyonlarıyla tepkimeye girmesiyle meydana gelir. Başta RNA ve DNA olmak üzere genel olarak bütün hücresel makromoleküllerle reaksiyona kolaylıkla girebilir. DNA'da OH^{\bullet} 'in yaptığı tahribatlar göz önüne alındığında pirimidin ve pürin bazlarına eklenerek katım ürünleri meydana gelmesi, zincir kırıklarına yol açması, şeker ve baz yapılarında ciddi hasarlara ve bunlara bağlı olarak da mutasyonlara ve hücre ölümüne sebep olması sayılabilir (22, 25).



Şekil 1. Reaktif oksijen türleri oluşumu (Yanık'dan, 20)

Oksidatif stres; oksidanlar ile antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar yönüne kayması olarak tanımlanır. Oksidatif stres; karbonhidratlar, proteinler, nükleik asitler, lipidler gibi biyolojik moleküllere zarar verirken; kalp hastalıkları, kanser, yaşlanma gibi fizyolojik tablonun patogenezin oluşmasına sebep olmaktadır. Serbest radikaller tarafından oluşturulan oksidatif stres antioksidanlar tarafından berteraf edilir. Antioksidanlar, dolaylı ya da doğrudan olarak karsinojenlerin, ksenobiyotiklerin, toksik radikal reaksiyonların ve ilaçların olmasını istemediğimiz etkilerine karşı hücre zararını engelleyen maddelerdir (26-28). Antioksidanlar, reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerini ortadan kaldırmaktadır. Oksidan etmenler ve antioksidan savunma elemanları Tablo 2 ile gösterilmektedir.

Tablo 2. Oksidan etmenler ve antioksidan savunma elemanları (Koca ve Karadeniz'den, 19)

Oksidan	Antioksidan Savunma
Radyasyon	Ubikinon
Karsinojenler	Glutasyon peroksidaz
Ateşli hastalıklar	Süperoksit dismutaz
Çevre kirleticiler	Selenyum
Sigara dumanı	Ürik asit
Egzersiz	C vitamini
Çoklu doymamış yağ asitleri ile zengin bir diyet	E vitamini
İskemi	Katalaz
	Glutasyon
	β-karoten ve diğer karotenoidler

Antioksidanlar, serbest radikalleri ortadan kaldırabilen ve hücre zararını önleyen maddelerdir. İnsan vücudunun sahip olduğu antioksidanlar, vücut tarafından üretilirken dışarıdan ek olarak da alınabilirler. Vücudumuza doğal olarak aldığımız antioksidanlar savunma sistemimizin etkisini artırarak hastalık riskini en aza indirirler (29). Antioksidanlar, gıdaların içerisinde yüksek miktarlarda bulunmaktadır. Gıdaların içerisinde bulunan başlıca antioksidan bileşikler fenoliklerdir. Fenolik bileşikler, tükettiğimiz meyve ve sebzelerin içerisinde bol miktarlarda bulunur ve güçlü antioksidan özellik gösterirler. Yapılan bazı laboratuvar çalışmaları, meyve ve sebzelerin bol miktarda tüketimi ile çeşitli kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve diğer bazı kronik hastalıkların oluşumunun azaldığını göstermektedir. Meyve ve sebzelerde bulunan bazı antioksidanlar, bazı vitaminler (C ve E) ve karotenoidler, antioksidan savunma mekanizmasını güçlendirmekte ve organizmayı hastalıklardan korumada etkili olduğunu göstermektedir (30, 31). Antioksidanlar endojen ve eksojen antioksidanlar olarak başlıca iki gruba ayrılır. Tablo 3'de antioksidan sistemlerin sınıflandırılması verilmiştir.

Tablo 3. Antioksidan sistemlerin sınıflandırılması (Sen'den, 32; Valko'dan, 33; Karabulut ve Gülay'dan, 34)

ENDOJEN ANTIÖKSİDANLAR	
ENZİMATİK ANTIÖKSİDANLAR	NONENZİMATİK ANTIÖKSİDANLAR
Glutasyon peroksidaz (GPx)	Glutasyon, Selenyum
Glutasyon redüktaz (GR)	Transferrin , α -lipoik asit
Katalaz(CAT)	Seruplazmin , Albümin
Süperoksit dismutaz (SOD)	Melatonin , Ürik Asit
	Koenzim Q ₁₀ , Bilirubin
EKSOJEN ANTIÖKSİDANLAR	
İLAÇ AMAÇLI KULLANILAN EKSOJEN ANTIÖKSİDANLAR	VİTAMİN EKSOJEN ANTIÖKSİDANLAR
Rekombinant süperoksit dismutaz	Folik asit (Vitamin B ₉)
Sitokinler (TNF ve IL-1)	Askorbik asit (Vitamin C)
Trolox-C (vitamin E analogu)	β - Karoten (Vitamin A)
Barbitüratlar ve demir şelatörleri	α -Tokoferol (Vitamin E)
Nötrofil adezyon inhibitörleri	
Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferoksamin)	
Enzimatik olmayan serbest radikal toplayıcıları (mannitol, albümin) endojen antioksidan aktiviteyi artırıcılar (Ebselen ve asetilsistein)	
NADPH oksidaz inhibitörleri (lokal anestetikler, adenozin, nonsteroid antiinflamatuar ilaçlar, kalsiyum kanal blokleri)	
Ksatin oksidaz inhibitörleri (okspürinol, pterin aldehit, tungsten, allopürinol)	

Antioksidanların, meydana gelen serbest radikalleri giderme etkisi dört şekilde olur:

1. Toplayıcı etki
2. Bastırıcı etki
3. Onarıcı etki
4. Zincir kırıcı etki şeklindedir.

Toplayıcı etki; antioksidanların serbest oksijen radikallerini daha yeni ve zayıf bir moleküle çevirmesi ya da tutma işlemidir. Çeşitli antioksidan enzimler, trakeobronşial, mukus ve küçük moleküller işlevlerini toplayıcı etki ile sürdürürler. Antioksidanların serbest oksijen radikalleriyle etkileşip aktivitelerini azaltarak inaktif şekle dönüştürme olayı olarak adlandırdığımız “bastırıcı etki” ile etkilerini gösterirler. Flavanoidler;

vitaminler, trimetazidin ve antosiyanoidler bastırıcı etkiye sahiptirler. Zincir kırıcı etki; serbest oksijen radikallerini bağlayıp zincirlerini kırarak işlevlerini önleme etkisidir. Zincir kırıcı etkiye sahip hemoglobin, seruloplazmin ve mineralleri örnek verebiliriz. Zincir kırıcı antioksidan aktivitenin değerlendirilmesinde önemli olan, molekül başına verebildiği elektron veya giderebildiği serbest radikal sayısıdır. Antioksidanlar tarafından serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu hasarın onarılması olayına da “onarıcı etki” adı verilir (35, 36).

Son yıllarda gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan sentetik antioksidanların (BHT, BHA) zararlı etkileri ve kanserojen etkisi tamamen kabul edilmektedir (37). Dolayısıyla tüm dünyada gıda ve tıp alanında doğal antioksidanlara olan eğilim giderek artmaktadır (38). Yapılan bilimsel çalışmalar, doğal antioksidanların sentetik antioksidanlara kıyasla daha güvenilir olması ve yan etkilerinin daha az olması nedeni ile sentetik antioksidanlara göre daha fazla tercih edildiğini göstermiştir (39, 40).

Doğal antioksidanlar, bitkisel ve hayvansal dokularda bulunan veya gıdaların işlenmesi aşamasında açığa çıkan yararlı bileşenlerdir. Başlıca bilinen doğal antioksidanlara; fenolik asitler, tokoferoller, flavonoidler, karotenoidler, selenyum ve polifenoller örnek verilebilir (41, 42).

2.3.1. Endojen Antioksidanlar

Endojen antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar şeklinde 2 sınıfa ayrılırlar (37, 43, 44).

2.3.1.1. Enzimatik Antioksidanlar

Hücre içinde farklı düzeneklerle meydana gelen radikaller birtakım enzimler tarafından yok edilebilir. Enzimlerin çoğu doğrudan ya da dolaylı olarak serbest radikalleri giderme sistemine sahiptir. Glutasyon peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz ve glutasyon redüktaz enzimatik savunma hattını meydana getiren enzimsel antioksidanlardır (38, 43-45).

Süperoksit Dismutaz (SOD) (E.C.1.15.1.1): ROT'a karşı enzimatik savunma sistemini oluşturmaktadır (2, 6). SOD, süperoksit radikalini hidrojen peroksit ve moleküler oksijene katalizler. Hidrojen peroksit, CAT veya GPx ile ortamdan uzaklaştırılmaktadır (46).



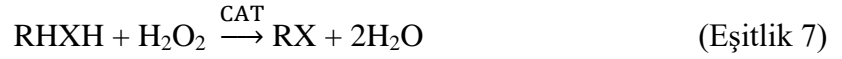
Sitozolde insan hücrelerinde bulunan özellikle çinko ve bakır iyonu içeren SOD ile manganez iyonu içeren mitokondrial Mn-SOD olmak üzere SOD'un iki izoenzimi bulunur. Sitozolik Cu-Zn-SOD, canlı hücrelerde daha bol bulunan izoenzimdir.

Katalaz (H_2O_2 : H_2O_2 oksidoredüktaz, EC 1.11.1.6): Yapısında dört protein alt birimi içeren hem grubu bulunduran bir hemoproteindir. Her bir alt birim, bir NADPH molekülü ve bir hem grubu içerir (45, 47). Katalaz, hidrojen peroksidin su ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler (48).

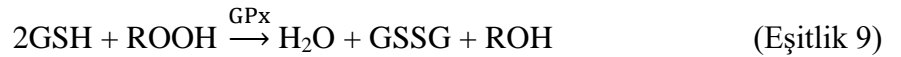
Katalaz enzimi çoğu aerobik hücrede bulunur. Eritrositler, çizgili kaslar, miyokard, karaciğer ve böbrek katalazın en aktif olduğu yerlerdir. Katalaz enzimi sırasıyla, %20 oranında sitozolde ve %80 oranında peroksizomlarda bulunur (49).



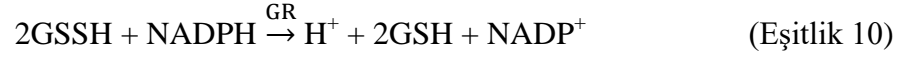
Peroksidaz olarak etkisi, askorbat ve fenol gibi indirgeyici bileşikleri kullanarak düşük hidrojen peroksit konsantasyonunda bulunmasından kaynaklanmaktadır.



Glutatyon peroksidaz (Glutatyon: H_2O_2 oksidoredüktaz, EC 1.11.1.9): H_2O_2 varlığında hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimatik bir antioksidandır. Hücrelerin sitoplazmasında bulunan glutatyon peroksidazın görevi H_2O_2 'in metabolizmada reaksiyonu sonucu meydana gelen oksidatif harabiyete karşı hücreleri korumaktır. Böylelikle H_2O_2 'den kaynaklı OH^{\cdot} 'nin oluşumunu önler. Sitozolde bulunan glutatyon peroksidaz, dört protein alt birime sahiptir ve tetramerik yapıdadır. Sahip olduğu alt birimlerin her birisi selenyum atomu bulundurur. Bu reaksiyonda glutatyon (GSH) ise okside glutatyon (GSSG) yükseltgenirken, organik hidroperoksitler alkole ve hidrojen peroksit suya indirgenmektedir (50).



Glutasyon redüktaz (E.C.1.8.1.7): Hidroperoksitlerin indirgenmesi ile ortaya çıkan yükseltgenmiş glutasyonun (GSSG) indirgenmiş glutatyona (GSH) dönüşümünü katalizleyen antioksidan bir enzimdir (51). Flavoprotein enzim özelliği Flavin adenin dinükleotid (FAD) içermesinden kaynaklanmaktadır.



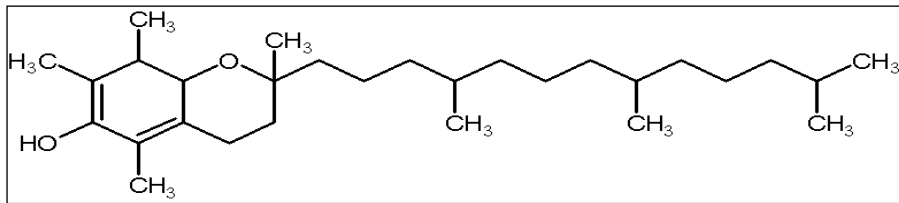
2.3.1.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

α -Lipoik asit, glutasyon, bilirubin, transferrin, albümin, seruloplazmin, selenyum, ürik asit, koenzim Q₁ ve melatonin enzimatik olmayan antioksidanlardır (52).

2.3.2. Bitkiler Tarafından Üretilen Bazı Antioksidanlar (E vitamini, Karatenoidler, C vitamini)

Vitamin E, A, C ve folik asit dışarıdan alınan vitaminlerdir (44, 53, 54).

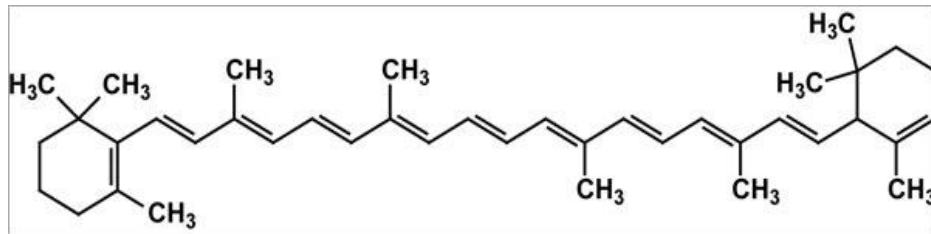
α -Tokoferol (Vitamin E): Yağda çözünen E vitamini yüksek antioksidan özelliğine sahip bir vitamindir. Dokularda bulunan eksojen kaynaklı en önemli lipofilik antioksidan olmakla birlikte tokoferoller olarak adlandırılırlar. Doğada genel olarak tokoferol (α , β , γ , δ) ve tokotrienoller (α , β , γ , δ) olmak üzere 8 tip vitamin E bulunur. Biyolojik olarak genellikle en aktif olanı α -tokoferoldür (55). Hücre membranlarını serbest radikallerin hasarlarından korumakla görevli olan α -tokoferoldür. Genel olarak vitamin E, radikallerin ortadan kaldırılması, zincirin kırılması ve bozulan yapıların tamiri gibi antioksidan görevini tam anlamıyla yerine getirdiğinden antioksidan kapasitesi çok yüksek özelliğe sahiptir. E vitaminin kimyasal yapısı Şekil 2’de gösterilmektedir.



Şekil 2. E vitamininin kimyasal yapısı (56)

Bu nedenle, birtakım hastalıkların tedavisinde E vitamininin fayda sağladığı bulunmuştur. Örneğin; tokotrienol türevine sahip olan E vitaminin, kandaki kolesterolü indirgeyici yönde hareket etmesi ve göğüs kanserinin ilerlemesini önlediği bununla birlikte hastalık riski azaltıcı etki gösterdiği saptanmıştır (57). Aynı zamanda oksitleyici ajanların oluşturduğu kemikteki kalsiyum kaybını önlerken, lipid peroksidasyonuna engel olarak vücuttaki biyolojik sistemi korumasını sağlamaktadır. Radyasyon, ultraviyole, gibi serbest radikal üreten etkenlere karşı cilt korumasını sağlar (58). Yapılan çoğu araştırma ile E vitamininin kalp hastalığı oluşturma riskini azalttığı bilinmektedir (59).

β -Karoten (Vitamin A): Karotenler yağda çözünebilen; meyve ve sebzelerin koku, tat ve renklerini verebilen bileşiklerdir. Bu bileşikler fotosentezde görev yapmakla kalmayarak aynı zamanda fotosentez sırasında oluşan sayısız serbest radikallere karşı da canlıyı koruma özelliğine sahiptirler. Günümüze kadar 600'den fazla karotenoid bilinmektedir. β -Karoten, provitamin A aktivitesi göstermektedir. A vitamini tek başına antioksidan özellik göstermezken β -karoten kendiliğinden antioksidan aktivite özelliği gösterir (60). Ayrıca karotenoidler hidroksil ve peroksil radikalleri ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu etki gösterirler. Karotenoidler membran lipidleri ile etkileşime girip zincir kırıcı antioksidan olarak görev almaktadırlar. Böylelikle, lipid peroksil radikalini etkisiz hale getirirler ve diğer lipidlerden hidrojen koparılmasını önlerler. β -Karotenin yapısı Şekil 3'te gösterilmektedir.

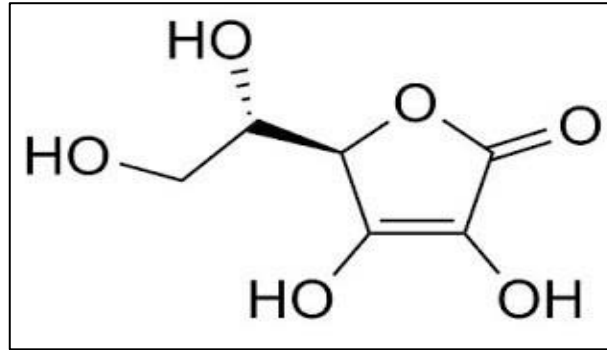


Şekil 3. β -Karotenin yapısı (61)

Karotenoidler kanser ve ateroskleroza içeren dejeneratif hastalıkların engellenmesinde güçlü bir potansiyele sahiptirler (62). β -Karoten; havuç, balkabağı, kavun, tatlı patates, kayısı, salata, ıspanak ve lahana gibi bazı yeşil yapraklı sebzelerde bulunurken turuncu-yeşil renkli bitkisel besinlerde de bulunmaktadır. Bu bitkilerin hepsi

ayrıca karotence zengin bitkilerdir. A vitamininin yeterli miktarda alınması görme, üreme, büyüme ve epitel hücre kuvvetliliğinde önemli rol oynamaktadır (63). A vitamini, dışarıdan alınması gereken bir vitamindir. Erkek ve kadınların günde “700-900 miligram A vitamini” ihtiyacı vardır.

Askorbik Asit (Vitamin C): Meyve ve sebzelerde bolca bulunur. Suda çözünebilir ve serbest radikallerin doğrudan reaktivitesini düşürebilen kuvvetli bir antioksidan vitamindir (64). Portakal, kivi, limon, çilek, domates, yeşilbiber, ıspanak, maydanoz ve turunçgiller iyi birer C vitamini kaynağıdır (59). İdrarla atıldığı için vücutta depolanamamaktadırlar. C vitamini, insan vücudunda sentezlenmediği için her gün dışarıdan alınması gereken bir vitamindir (65). Diyetle alınan askorbik asit kalp hastalıklarından dolayı ortaya çıkan ölüm risklerini azaltmaktadır. Suda çözünebildiği için özellikle detoksifikasyon sonrası meydana gelen reaktif oksijen türlerinin toksik etkilerini ortadan kaldıran indirgeyici bir ajandır. Askorbik asidin kuvvetli indirgen özelliği süperoksit ve hidroksil radikalleri ile kolayca ve etkin bir şekilde reaksiyona girerek iyi bir antioksidan olarak görev yapma kapasitesini sağlar (66, 67). C vitamininin kimyasal yapısı Şekil 4’de gösterilmektedir.

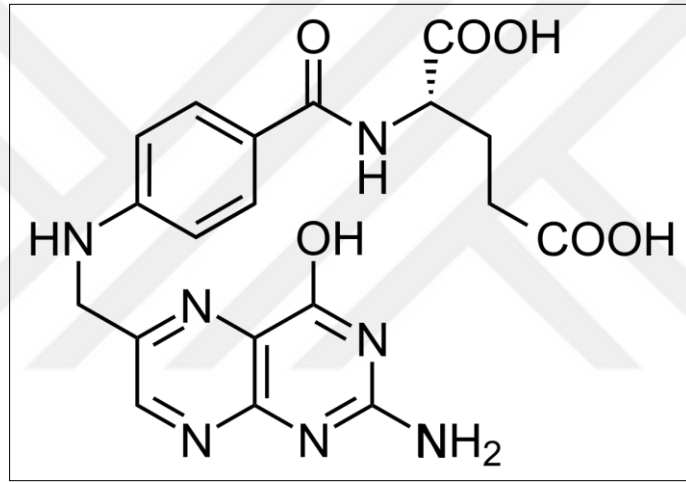


Şekil 4. C vitamininin kimyasal yapısı (68)

Metal iyonları metabolizmasında, kollajen doku sentezinde ve bağışıklık sisteminin geliştirilmesinde C vitamini gereklidir. Bunlara ek olarak sinirsel rahatsızlıklar, çeşitli kanser ve kalp damar hastalıkları gibi dejeneratif hastalıkların riskini düşürmede, katarakt gelişimine yol açan oksidanları ortadan kaldırmada ve serbest radikallerin indüklediği

DNA yıkımını önlemede önemli bir görevi üstlenmektedir. Bağışıklık sistemini uyardığı ve N-nitrozo bileşiklerin oluşumunu inhibe ederek kanseri önlediği ileri sürülmektedir (69).

Folik Asit (Vitamin B₉): Folik asit bağışıklık sisteminin gelişmesinde büyük bir öneme sahiptir. Ispanak yapraklarında ve yeşil sebzelerde fazla miktarda bulunur. Vitamin ismi (Folium= yaprak) yaprakta bulunan asit anlamına gelir. B kompleksi vitaminlerde olduğu gibi folik asit mayada da bol miktarda bulunur. Folik asit; aminoasitler ve glutamik asitle doğada konjuge formda bulunmaktadır. Folik asit vitamininin kimyasal yapısı Şekil 5'de gösterilmektedir.



Şekil 5. Folik asit vitamininin kimyasal yapısı (70)

Folik asit; yeni hücre üretimi, deri hücresi, kan hücresinin ve özellikle sinir sistemi dokularının oluşum ve gelişiminde önemli bir rol üstlenir. Vücudun tüm biyolojik olaylarında yer alan hücre büyümesi ve yenilenmesi, DNA ve kan hücrelerinden alyuvar oluşumu aminoasit metabolizması, kas yapımı için dışarıdan mutlaka vücuda alınması gereken çok önemli bir vitamindir. Ayrıca, çocukluk ve gebelik esnasında folik asit ihtiyacı daha da artmaktadır. Kırmızı kan hücrelerinin yapımı için gerekli olduğundan eksikliğinde kansızlık (anemi) oluşmaktadır. Damar sertliği yapan homosistein seviyesini azalttığından inme, felç, kalp krizi, bunama (demans) gibi rahatsızlıkları önleyici yönde rol almaktadır. Bitkisel ve hayvansal besinlerde bol miktarlarda bulunmaktadır. Karaciğer, kırmızı et, yumurta, yoğurt, süt, yeşil yapraklı sebzeler, narenciye ve brokoli gibi gıdaları tüketmemiz

gerekmektedir. Folik asitin kadınlar için; 400 mg/gün, erkekler için; 400 mg/gün ve hamilelikler içinse; 600-800 mg/gün alınması önerilmektedir (71).

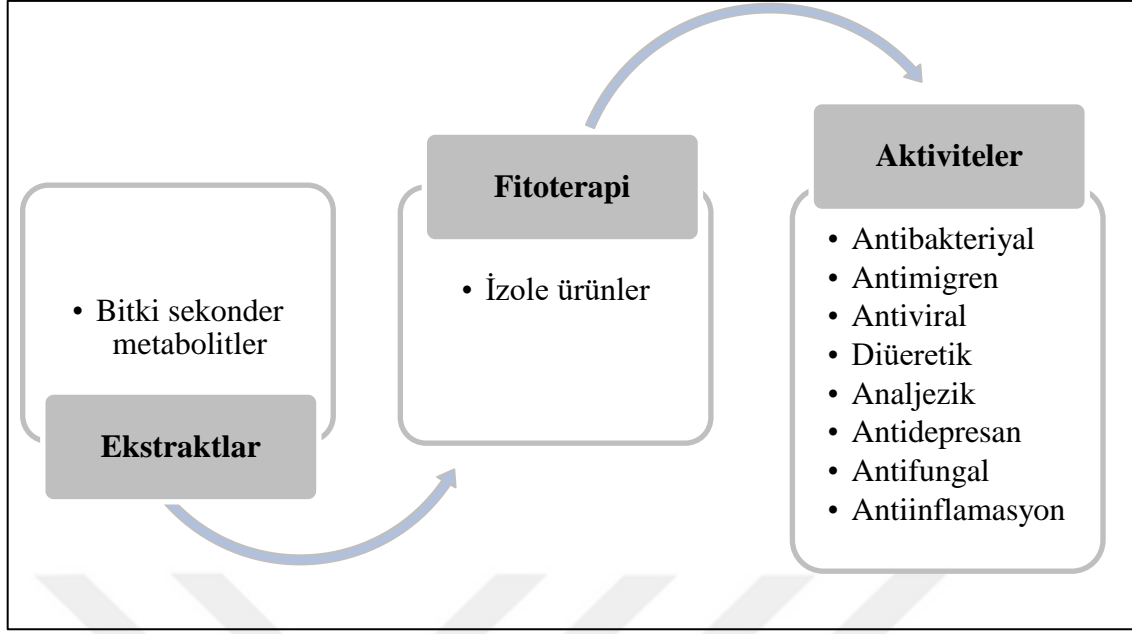
2.4. Bitkisel Biyoaktif Bileşikler

Biyoaktif bileşenler, hüresel ve fizyolojik aktivitelere etki ederek sağlığımız üzerinde oldukça yararlı etkiler meydana getiren ikincil metabolitler olarak bilinirler. Birincil metabolitler diye adlandırdığımız protein, karbonhidrat ve yağ canlının büyüüp gelişmesi için temel besin kaynaklarıdır ancak biyoaktif bileşenler değildirler (72). Biyoaktif bileşenler gıdalarda az miktarda bulunmalarına rağmen, sağlık üzerinde olumlu şekilde çok önemli etkiler yaparlar (73, 74). Biyoaktif bileşenlerin; kanser, yangılar, diyabet, obezite, nörolojik bozukluklar, kalp-damar hastalıkları, osteoporoz ve bağışıklık sisteminin düzenini sağladığı bildirilmektedir. Genellikle biyoaktif bileşenler bitkisel kaynaklı gıdalarda bol miktarda bulunurlar. Fitokimyasallar olarak da bilinen bitkisel kaynaklı biyoaktif bileşenler terpen ve terpenoidler, alkaloidler ve fenolik bileşenler olarak sınıflandırılabilir (75, 76).

2.4.1. Fenolik Bileşikler

Minimum bir aromatik halka ile bir ya da daha fazla hidroksil (OH) grubu içeren oksijenli aromatik bileşiklere fenolik bileşikler denir. Suda orta derecede çözünürken alkol ve eter gibi organik çözücülerde iyi çözünürler. Fenolik bileşikler bitkilerde doğal olarak en fazla bulunan ve antioksidan özelliğine sahip çok önemli sekonder metabolitlerdir.

Bitkilerin antioksidan aktivitesi, yapısında bulunan sekonder metabolitlerin miktarıyla doğrudan ilişkilidir. Tıbbi bitkilerde esas olarak bulunan flavonoidler, kumarinler, tanenler, fenolik asitler, kinonlar, ligninler, stilbenler ve kurkuminoitler onların tıbbi özelliklerini ortaya çıkaran bileşiklerdir ve sekonder metabolitler olarak bilinirler. Bitkilerin içerdiği sekonder metabolitler; antibakteriyel, antifungal, antiviral, antikanser ve antioksidan aktiviteler gibi biyolojik aktivitelerden sorumludurlar (Şekil 6). Sekonder metabolitlerin farmakolojik öneminin ve insan sağlığına olumlu etkilerinin artışı yeni ilaçların geliştirilmesine öncülük edecektir (77).

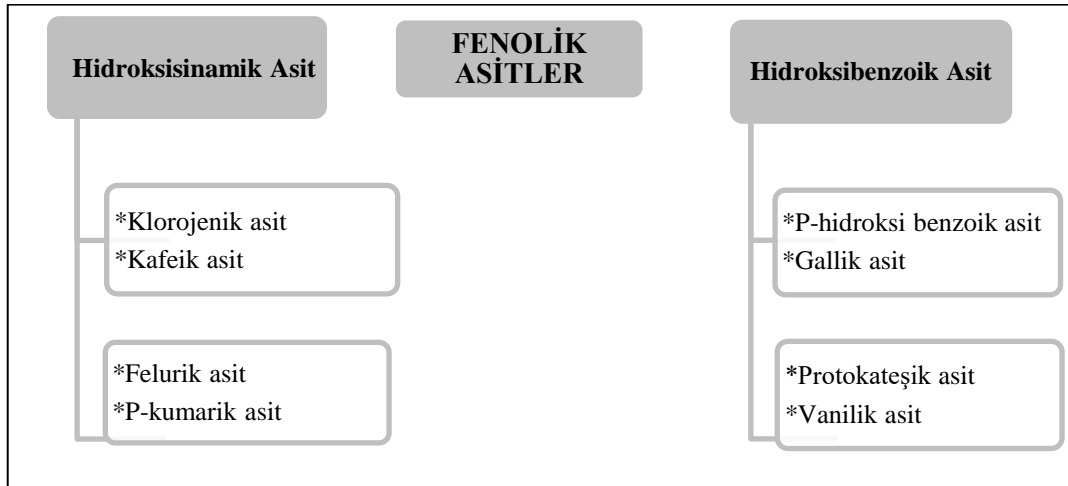


Şekil 6. Bitki sekonder metabolitlerin insan sağlığı için olumlu biyolojik aktiviteleri (Yılmaz'dan, 78)

Fenolik bileşiklerin çoğu potansiyel olarak antikarsinojenik, antioksidan, antibakteriyel, antimutajenik, antiinflamatuvar ve antiviral özelliğe sahip olduğu yapılan araştırmalarla ortaya konmuştur (79). Majör fenolik bileşikler olan flavonoidler ve fenolik asitler, sulu ve lipolitik ortamlardaki yapıları ile antioksidan ilişkileri üzerine birçok araştırma yapılmıştır. Bitkisel fenolik maddeler insan sağlığı ve bitkiler için çok önemlidirler. Fenolik bileşikler ve flavonoidlerin romatoid artrit, ateroskleroz, malarya ve diyabet gibi hastalıklara karşı faydalı olabileceği, antibakteriyel, antimutajenik, antitümoral, antiülser, antifungal, antikarsinojenik, antihipertansif, antimetastatik, antiviral, antitrombik ve antiaging etkilerini gösteren laboratuvar çalışmaları bulunmaktadır (78). Genellikle bitkilerin meyve, tohum, çiçek, yaprak, kök ve gövde kısımlarından doğal olarak sentezlenerek oluşmaktadırlar. Oksijenli aromatik bileşikler olan fenoller, bir veya daha fazla aromatik halkaya bağlanmayla oluşurlar. Meyve ve sebzelere tat ve renk özelliklerini veren fenolik maddelerdir (80, 81). Aynı zamanda bitkinin büyümesine ve çoğalmasına yardımcı olurken, patojenlere karşı savunmada etkilidirler. Ultraviyole (UV) ışınları absorplama özelliğine sahip olduğundan bitkileri UV radyasyonundan korumaktadırlar (82). Fenolik bileşikler, yapılarındaki çeşitliliğe göre polifenoller olarak da isimlendirilir ve flavonoidlerin çıkış maddesi olarak bitkilerin çoğunda bulunan fenolik

maddeler, biyolojik aktivitelerinden dolayı insan yaşamında gerekli olan önemli bileşiklerdir (83). Polifenolik antioksidanlar yaygın olarak meyvelerin, sebzelerin ve bitkisel çayların doğal yapılarında bulunur. Bunlar; basit fenoller, asetofenonlar, flavonoidler, benzokinonlar, fenilprofenler, naftakinonlar, ligninler, hidroksisinnamik asitler, fenolik asitler, tanenler, kumarinler ve stilbenlerdir (84). Fenolik bileşikler, antimikrobiyal, antipatojenik, antiviral, antiallerjik, antienflamatuar, antidiyabetik ve antitrombotik özelliklerini gösterirken kardiyovasküler hastalıklar, yaşlanma, kanser, nörodejeneratif, osteoporoz ve diabetes mellitus gibi hastalıklarda da faydalı etkilerini göstermektedir (85, 86). Fenolik asitler, fenolik bileşiklerin başlıca sınıfıdır. Antioksidan özellikleri kimyasal yapıları ile ilgilidir. Hidroksil gruplarının sayısının artmasıyla bitkilerin antioksidan özelliklerinin arttığı gözlemlenmiştir (87). Fenolik asitler, taninler, kinonlar, stilbenler, flavonoidler, ligninler ve kurkuminoidler bitkilerin olabilecek tüm zararlı etki ve serbest radikallere karşı korunmasını sağlayan bileşiklerdir.

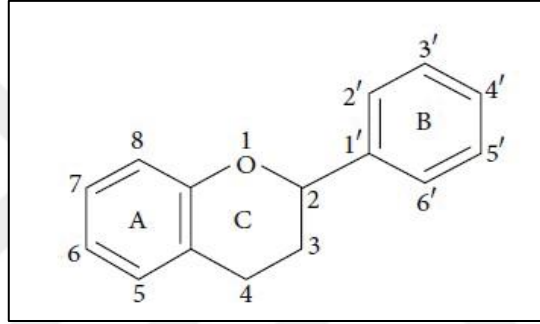
Fenolik asitler kendi içinde, hidroksisinnamik asit ve hidroksibenzoik asit olarak 2 sınıfa ayrılırlar (Şekil 7). Hidroksibenzoik asit türevleri gıdalarda yaygın olarak bulunmaktadır (81).



Şekil 7. Bazı önemli fenolik asit bileşikleri (Balasundram'dan, 81)

Günümüze kadar bitkiler âleminde 8000'den fazla fenolik bileşiklerin türevi tanınmıştır. Flavonoidler, fenolik bileşiklerin en önemli ve üzerinde en fazla araştırma

yapılan gruplarındandır. ‘Flavus’ sözcüğünden türetilmiş olan ‘Flavonoid’ ismi, latince ‘sarı’ anlamına gelmektedir. Temel yapısı iki benzen halkasının bir oksijen içeren piren halkası tarafından bağlanmasıyla oluşmaktadır. Flavonoidlerin 4000’den farklı tipi bulunmuş ve genel olarak flavonoidler; izoflavonlar, flavanoller, flavonoller, flavanonlar, antosiyaninler ile flavonlar olmak üzere altı alt sınıfa ayrılırlar. Bitkilerde büyüme ve UV ışınlarından korunma gibi görevlere sahip sekonder metabolitlerdir (88, 89). Bitkisel gıdalarda bolca bulunurlar. İnsan vücudu tarafından üretilmediği için günlük alınan gıdalardan sağlanmalıdırlar. Şekil 8’de flavonoidlerin kimyasal yapısı gösterilmektedir.



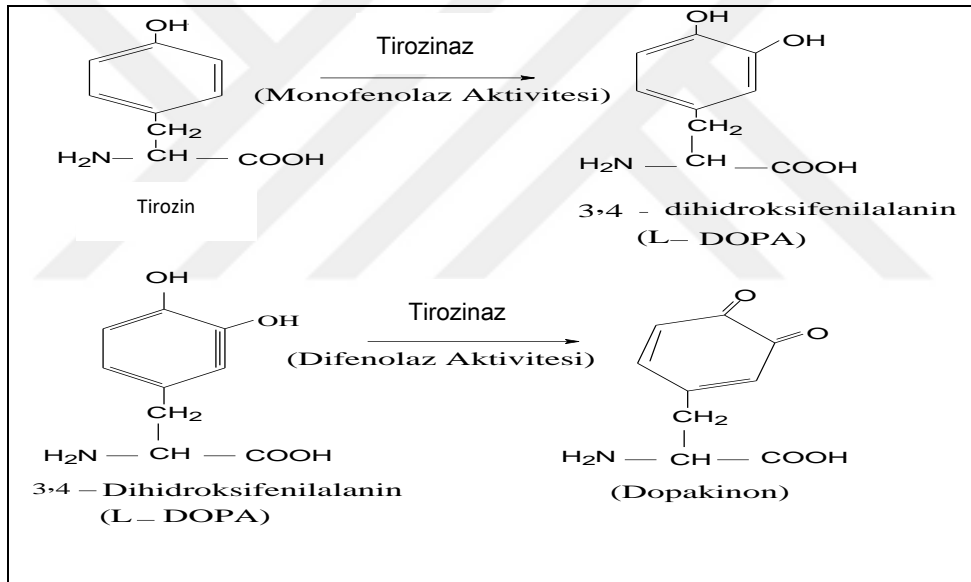
Şekil 8. Flavonoid iskelet yapısı (90)

Çok sayıda bitkisel ekstraktın fitokimyasal bileşik içermesi sebebiyle güçlü antioksidan ve antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmektedir (2). Fenolik bileşiklerin ve flavonoidlerin, insan sağlığı için güçlü antioksidan potansiyele, antibakteriyel ve antiviral aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir (91).

2.5. Enzim İnhibisyonları ve Mekanizmaları

Enzim inhibisyonu, enzimatik bir tepkimenin hızının inhibitörler tarafından yavaşlatılması hatta yok edilmesi olayıdır. Çoğu ilaçlar, enzim inhibisyonu neden olabilir. (92). Tirozinaz enzimi melanin sentezinin önemli enzimlerindenidir. Cildimize ve saçımıza melanin pigmenti renk verir. Melanin üretimi, melanositlerde melanojenik enzimler (tirozinaz, tirozinaz ilişkili protein) tarafından düzenlenir (93). Melanin ışığa karşı duyarlıdır (94). Melanin sentezinin fazla üretimi, epidermiste hiperpigmentasyona neden olmaktadır (95). Buna karşılık, melanin sentezinin az olması cilt yaşlanması ve saçların beyazlamasına neden olmaktadır. Cilt beyazlatma ajanları, insan cildindeki melanin

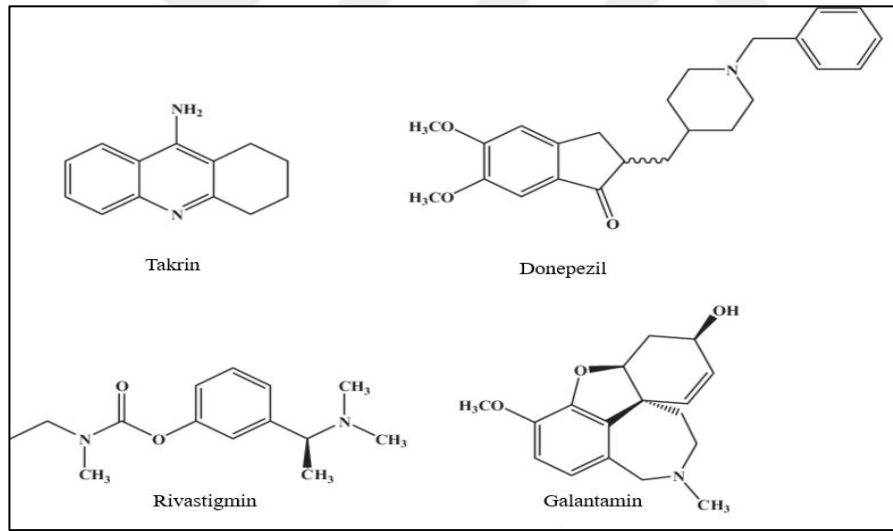
sentezinin aşırı üretimi sonucu meydana gelen deri hastalıklarının tedavisinde kullanılır. Tirozinaz aktivitesinin ve ekspresyonunun inhibe edilmesi çalışmaları, yeni cilt beyazlatıcı ajanların geliştirilmesine olanak sağlamıştır. Günümüze kadar doğal kaynaklardan izole edilen çok sayıda aktif beyazlatıcı ajan bulunmaktadır. Melanin biyosentezi inhibitörlerinden, kozmetik alanında beyazlatıcı ajanlar olarak bilinen kojik asit, hidrokinon, arbutin ve azelaik asit yaygın olarak kullanılmaktadır (96). Bu inhibitörlerin yanı sıra son yıllarda özellikle polifenol içeriği zengin bitki kökenli inhibitörlerin kullanımı yaygınlaşmaktadır. Bu amaçla bitki üzerinde yapılacak tirozinaz inhibitör aktivite çalışmaları, pigmentasyon problemlerinin tedavisi çalışmalarına öncülük yapacaktır (4). Şekil 9’da tirozinden dopakinon sentezi gösterilmektedir (97).



Şekil 9. Tirozinden dopakinon sentezi (97)

Alzheimer hastalığı; öğrenme, bellek, dil ve iletişim becerileri, okuma ve yazma, çevre ve etkileşim gibi birçok alandaki kapasitenin giderek bozulmasıyla seyreden nörodejeneratif bir hastalıktır. Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıklar için mevcut ve yeni tedavi edici stratejilerin ortaya konularak tartışılması oldukça önemlidir. Anahtar enzimlerin inhibisyonu stratejiler arasında en çok kabul görenidir. Hastalıkların patolojisinde bulunan anahtar enzimler inhibe edilerek hastalıktan ortaya çıkabilecek semptomlar azaltılır. Vücudumuzda asetilkolinesteraz ve bütirikolinesteraz olarak bilinen

2 tip kolinesteraz bulunmaktadır. Asetilkolinesteraz özellikle kanda ve sinir sinapslarında bulunurken bütirikolinesteraz ise karaciğerde bulunmaktadır. Asetilkolinesteraz, sinaptik boşlukta kolin ve asetilin parçalanmasını katalize ederken bütirikolinesteraz ise bütirikolini hidrolize etmektedir. Asetilkolinesterazın direk olarak amiloid beta proteinleriyle etkileşimi yüzünden yeni doğal asetilkolinesteraz inhibitörlerinin keşfi ve alzheimer hastalarında bilinçsel işlevlerin yükseltilmesi büyük önem kazanmıştır (98). Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılan ilaçların büyük çoğunluğunu asetilkolinesteraz inhibitörü olarak nitelendirilen ve beyindeki sinapslarda asetilkolin miktarının artırılmasını hedefleyen ilaçlar oluşturmaktadır. Genellikle bu ilaçlar, hafif-orta derecedeki alzheimer hastalarında erken teşhis amaçlı kullanılmaktadır (99). Şekil 10'da Alzheimer hastalığında kullanılan kolinesteraz inhibitörü ilaçlardan takrin, donepezil, rivastigmin ve galantaminin kimyasal formülleri verilmiştir (100).



Şekil 10. Alzheimer hastalığında kullanılan inhibitör ilaçlar (Castro'dan, 100)

Diabetes Mellitus (DM), kandaki glukoz miktarının artması ile karakterize en yaygın görülen endokrin hastalıklardan birisidir. Bu hastalığın görülme sıklığı hızla artmakla beraber mikrovasküler (retinopati, nöropati ve nefropati) ve makrovasküler (kalp krizi, inme ve periferik vasküler hastalık) komplikasyonlara yol açmaktadır. α -Amilaz ve α -glukozidaz, nişastanın parçalanması ve bağırsaktan emiliminde önem taşımaktadır. α -Amilaz ve α -glukozidazın inhibe edilmesi ile karışık karbonhidrat içerikli bir diyetin

ardından yemek sonrası kandaki glikoz seviyesinin artışında belirgin bir azalma meydana gelebileceği bildirilmiştir (101).

Glukoamilaz, sukraz, maltaz, izomaltaz, laktaz olarak bilinen α -glukozidaz enzimleri ince bağırsağın fırçamsı yüzeyinde bulunurlar. Kompleks karbonhidratların parçalanmasından sorumlu olan bu enzimler oligo ve disakkaridleri monosakkaridlere yıkarlar. Son yıkım ürünü olan monosakkaridler, bağırsak duvarından kolayca emilip kana geçerler. α -Glukozidaz enzim inhibitörleri, bu enzimleri yarışmalı olarak inhibe ederek karbonhidrat emilimini geciktirirler. Diyabet hastalığında tokluk kan şekerinin düşürülmesi için bitkilerdeki fenolik bileşiklerin karbonhidrat yıkım enzimlerine karşı gösterdikleri inhibisyon aktiviteleri ile katkıda bulunurlar (102).

Günümüzde diyabet tedavisinde kullanımı olan ilaçların gastrointestinal sistem üzerindeki yan etkileri önem taşımaktadır. Yan etki gözlenmesi halinde ince bağırsakta sindirilemeyen karbonhidratlar bağırsak bakterileri tarafından metabolize olurlar. Karında şişkinlik ve ağrıya neden olabilirler. Bu sebepten günümüzde diyabetin önlenmesi ve tedavisinde bitkisel olan ilaçlara ve fonksiyonel gıdalara olan ilgi her geçen gün artmaktadır (103).

2.6. Antimikrobiyal Maddeler

Domogk'un sulfamidleri tedavide kullanmasıyla antimikrobiyal tedavi 1935 yılında gelişme safhasına adımını atmıştır. 1940 yılında ise bilim adamlarının keşfiyle antibiyotikler tedavide yer almaya başlamıştır.

Antimikrobiyal maddeler, enfeksiyon hastalıklarını tedavi etmek için kullanılan kimyasal maddeler olarak adlandırılmaktadırlar. Bu tarife göre; antiseptikler, dezenfektanlar, antibiyotikler ve inhibitör etkili diğer bazı maddeleri de kapsamaktadır. Antimikrobiyal maddeler, dezenfeksiyon ve antisepsi amacıyla, enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde ilaç olarak ya da gıdalarda koruyucu katkı maddesi olarak yararlanılmaktadır. Kemoterapötik ajanlar, antibiyotiklerle aynı tesiri gösteren sentetik olarak sentezlenen kimyasal bileşiklerdir. Antibiyotiklerin etki mekanizmaları Tablo 4'te gösterilmiştir (104).

Tablo 4. Antibiyotiklerin etki mekanizmaları (Temiz'den, 104)

Antibiyotiklerin Etki Mekanizmaları
Hücre çeperi sentezini inhibe edenler (β -laktam antibiyotikleri; penisilinler, sefalosporinler, karbapenemler, monobaktamlar, glikopeptitler; Vankomisin, telikoplanin)
Sitoplazma zarının yapı ve fonksiyonunun bozulmasına neden olanlar (Polimiksinler, amfpterisin b, gremisidin, nistatin)
Protein sentezi inhibisyonuna sebep olanlar (Aminoglikozidler, tetrasiklinler, linezolid, fusidik asit, kloramfenikol, makrolidler)
Nükleik asit sentez ve fonksiyonlarını bozanlar (Kinolonlar, rifampisin, metronidazol, ornidazol, mitomisin, nitrofurantoin)
Kimyasal yapılarındaki benzer olması nedeniyle metabolizmanın bozulmasına sebep olanlar (sülfonamidler, trimetoprim)



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasal Madde ve Malzemeler

Çalışmada kullanılan gallik asit, tirozinaz, kojik asit, NaH_2PO_4 , Na_2HPO_4 , L-DOPA, TPTZ, troloks, Na_2CO_3 , $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$, neokuproin, DDPH, metanol, folin-ciocalteu reaktifi, etanol, galantamin, α -amilaz, α -glukozidaz, DTNB, asetiltiyokolin iyodür, bütiriltiyokolin iyodür, glutatyon, 4-nitrofenil β -D-glukuronid Sigma-Aldrich (Munich, Almanya)'den temin edilmiştir. Asetonitril ve asetik asit Merck (Darmstadt, Almanya)'dan satın alınmıştır.

3.2. Kullanılan Çözeltiler

Çalışmada kullanılan kimyasal çözeltiler ve hazırlanışları Tablo 5'de verilmiştir.

Tablo 5. Çalışmada kullanılan kimyasal çözeltiler ve hazırlanışları

Çözelti	Hazırlanışı
0,2 N Folin-Ciocalteu:	2 N Folin 1:10 oranında saf su ile seyreltme işlemi yapılarak hazırlandı.
%7,5'lük Na_2CO_3:	90 mL su içerisinde 7.5 g Na_2CO_3 çözüldü, saf suyla 100 mL'ye tamamlandı.
Gallik Asit Çözeltisi:	31,25-62.5-125-250-500-1000 $\mu\text{g/mL}$ derişimlerde 1000 ppm stok çözeltiden yola çıkılarak metanol ile seyreltilerek hazırlandı.
HCl (40 mM):	Yaklaşık 20 mL saf su üzerine %37'lik HCl'den 340 μL ilave edildi ve saf suyla 100 mL'ye tamamlandı.
TPTZ (10 mM):	234.249 mg TPTZ stok maddeden tartıldı, 75 mL 40 mM'lık HCl içinde çözüldü.
FeCl_3 (20 mM):	324.4 mg FeCl_3 saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.
Asetat Tamponu (300 mM, pH 3.6):	2.325 g $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ üzerine 12 mL glasiyel asetik asit ilave edildi ve hacmi 750 mL'ye saf suyla tamamlandı.
FRAP Reaktifi:	300 mM pH 3.6 asetat tamponu: 10 mM TPTZ: 20 mM FeCl_3 (10:1:1) oranında karıştırılarak taze hazırlandı.
Troloks (0.02 mg/mL):	10 mg troloks bir miktar metanolde çözüldü ve hacmi 10 mL'ye tamamlanarak stok çözeltisi hazırlandı. 0.02 mg/mL'lik ara stok çözelti metanolle seyreltilerek kullanıldı.
10 mM $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$:	92.4 mg $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ bir miktar saf su ile çözüldü ve hacmi 50 mL'ye tamamlandı (pH:7'ye NaOH ile ayarlandı).
1M $\text{CH}_3\text{COONH}_4$:	3.8 g $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ bir miktar saf su ile çözüldü ve hacmi 50 mL'ye tamamlandı (pH:7'ye NaOH ile ayarlandı).
7.5 mM Neokuproin Çözeltisi:	78 mg neokuproin bir miktar metanolde çözüldü ve hacmi 50 mL'ye tamamlandı.
DPPH Reaktifi (0.1 mM):	100 mL'si için; 3.94 mg DPPH tartıldı, bir miktar metanolde çözümlenerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı.
L-DOPA çözeltisi (2.5 mM):	0.004925g L-DOPA fosfat tampon çözeltisiyle (pH: 6.8) 10 mL'ye tamamlandı.
Kojik asit standardı (500, 100, 50, 25 $\mu\text{g/mL}$):	2.5 mg kojik asit alınıp tampon çözelti ile 5 mL'ye tamamlandı. Hazırlanan 500 mg/mL kojik asit çözeltisi tampon çözelti ile istenilen derişimlere seyreltilerek kullanıldı.

3.3. Bitkinin Toplanması ve Ekstrelerin Hazırlanması

E. billardieri, Erzincan Merkez Yalnızbağ'dan Kelkit yönüne 3 km, 1400 m yükseklikteki yamaçlardan 2016 yılının haziran ayında toplandı. Erzincan Üniversitesi'nden Prof. Dr. Ali Kandemir tarafından bitkinin teşhisi yapıldı. Herbaryum numarası 10956'dır. *E. billardieri*'nin topraküstü kısımları alınarak gölgede kurutuldu ve öğütücü ile toz haline getirildi. 400 g toz edilen bitkiden alınıp 4000 mL çözücü (metanol/ultra saf su) ile 24 saat boyunca ısıtıcılı çalkalayıcıda ekstre edilerek süzgeç kâğıdından süzüldü. Süzüntüler evaporatörde kuruluğa kadar uçuruldu. Bu işlem 3 kez tekrarlandı. Analiz zamanına kadar +4 °C'de muhafaza edildi.

3.4. Antioksidan Aktivite Yöntemleri

3.4.1. Toplam Fenolik Madde Tayini

Folin metodu, folin ciocalteu reaktifiyle alkali ortamda fenolik yapıya sahip olan bileşiklerin renkli kompleks oluşturmaları ve absorbanların 765 nm'de okunmasına dayanan bir metottur (105). Standart olarak gallik asidin farklı derişimlerdeki (31.25-62.5-125-250-500-1000 µg/mL) absorbanları ölçüldü. Bulunan absorban sonuçları baz alınarak bir standart çalışma grafiği çizildi. Çizmiş olduğumuz grafikten bitki ekstralarının (10 mg/mL) toplam fenolik madde miktarı saptandı ve sonuçlar mg GAE (Gallik Asit Eşdeğeri)/g numune olarak kaydedildi.

Sırasıyla işlemler:

- ✓ Test için çözeltiler hazırlandı (3 paralel olarak çalışıldı).
- ✓ Test 1, test 2, test 3 ve numune körü tüplerine 50 µL numune çözeltisi, standart körüne ve standart tüplerine 50 µL gallik asit çözeltileri alınarak pipetleme işlemi yapıldı.
- ✓ Reaktif körüne 50 µL numune ve standardın çözücüleri pipetlenerek eklendi.
- ✓ Tüm tüplere 2.5 mL saf su eklendi.
- ✓ Test 1, test 2, test 3, reaktif körü ve standart körü tüplerine 250 µL folin-ciocalteu reaktifi pipetlendi. (20 s arayla bu işlem yapıldı.)
- ✓ Standart körü ve numune körü tüplerine 250 µL saf su pipetlenerek eklendi. (20 s arayla bu işlem yapılmıştır.)

- ✓ 3 dk oda sıcaklığında (25 °C) beklendi.
- ✓ Tüm tüplere 750 µL %7.5'lik Na₂CO₃ çözeltisi pipetleme işlemi ile vortekslendi.
- ✓ Oda sıcaklığında (25 °C) 2 saat bekletildi.
- ✓ Spektrofotometrede 765 nm'de 20 saniye arayla absorbans değerleri okundu.

3.4.2. Toplam Flavonoid Madde Miktarı Tayini

Toplam flavonoid madde miktarı Arvout-Grand ve ark.'larının yapmış olduğu çalışmada spektrofotometrik olarak tespit edilmiştir (106). Yöntemde, 1 mL ekstre (2 mg/mL) ve 1 mL %2'lik AlCl₃ ile karıştırılıp, tüm numuneler için hazırlanan kör örneğinde 1 mL ekstre ve 1 mL metanol ilave edildi. Standart olarak kullanılan kuersetin'in 0.625-1.25-2.5-5.0-10.0 mg/mL derişimlerinde hazırlandı. Numuneler oda sıcaklığında 10 dakika bırakıldı. Köre karşı absorbans değerleri 415 nm'de tespit edilmiştir. Standartın absorbans konsantrasyon grafiğinden bulunan denklem sayesinde örneklerin flavonoid içerikleri kuersetin eşdeğeri olarak bulundu. Sonuçlar mg QE/g olarak verildi.

3.4.3. FRAP Tayini

Fe(III)-TPTZ (2,4,6-tris(2-pyridlyl)-S-triazin) kompleksi antioksidanlar eşliğinde indirgenerek mavi renkli Fe(II)-TPTZ kompleksi meydana gelmesiyle 595 nm'de en yüksek absorbans değeri vermesine dayalı bir metottur (107).

Bitki ekstrelerindeki antioksidan kapasitesinin ölçülmesinde FRAP (Fe (III) indirgeme gücü) metodu oldukça sık kullanılmaktadır. Oyaizu (1986) tarafından geliştirilen metoda göre indirgeme kuvveti, örneklerin toplam indirgeme potansiyelini göstermekte olup Fe⁺³ → Fe⁺² indirgenmesiyle oluşan Fe⁺², 595 nm'de absorbans değeri veren K₃(Fe)CN₆ renkli kompleksini oluşturur. Bu yöntem için önce ekstreler 10 mg/mL derişiminde hazırlandı. Derişimler 1000-500-250-125-62.5 µM olacak şekilde troloks standardı hazırlandı. Aşağıda verilen prosedüre uygun olarak deney yapıldı.

Sırasıyla işlemler:

- ✓ FRAP reaktifi taze hazırlandı, kullanılma süreci başlayana dek düşük hızda karıştırıldı.
- ✓ Test çözeltileri hazırlandı (3 paralel şekilde çalışıldı).
- ✓ Spektrofotometre çalıştırılarak, dalga boyu 595 nm'ye ayarlandı.
- ✓ Test 1, test 2 ve test 3 ve numune körü tüplerine 50 µL numune çözeltileri, standart körü ve standart tüplerine ise 50 µL troloks çözeltisi pipetlendi.

- ✓ Reaktif körü tüplerine numunenin ve standardın çözücülerinden 50 µL alınarak pipetlendi.
- ✓ Test 1, test 2 ve test 3 reaktif körü tüplerine 1.5 mL FRAP reaktifi pipetleme işlemi yapıldı (20 s arayla).
- ✓ Numune körü ve standart körü tüplerine ise 1.5 mL numune ve standartların çözücüleri pipetlenerek vortekslendi (20 s arayla).
- ✓ Oda sıcaklığında (25 °C) 20 dk bekletildi.
- ✓ Absorbans değerleri 595 nm`de okundu.

Standart çalışma grafiğini oluşturmak için standartın konsantrasyonuna karşı bulunan absorbans değerleri ile bir grafik çizildi. FRAP değerleri bu grafikten yararlanılarak g numune başına µM olarak hesaplandı.

3.4.4. CUPRAC Tayini

Apak ve ark.'larının geliştirdiği metotta 2,9- dimetil-1,10-fenantrolin (Neokuproin-Nc)'in Cu(II) ile oluşturduğu bakır(II)-neokuproin kompleksinin, antioksidan maddelerle 450 nm`de maksimum absorbans değeri veren bakır(I)-neokuproin kelatına indirgenme özelliğinden faydalanarak çalışılmıştır (108). Bu yöntem kolay kullanılan, hızlı, etkili ve ucuz bir yöntem olup karmaşık ve yüksek maliyetli cihazlara gerek kalmadan kısa sürede kolaylıkla doğru sonuç alınmaktadır. Bu yöntem için ilk olarak ekstreler 10 mg/mL derişimde hazırlandı. Sonra troloks 5 farklı derişimde (1000-500-250-125-62.5 µM) hazırlanarak konsantrasyona karşılık 450 nm'deki absorbans değerleri ile bir çalışma eğrisi oluşturuldu. CUPRAC değerleri bu grafikten faydalanılarak g numune başına µM olarak saptandı.

Sırasıyla işlemler:

- ✓ Test çözeltileri ve reaktifler hazırlandı (3 paralel çalışıldı).
- ✓ Test 1, test 2 ve test 3 ve numune körü tüplerine 500 µL numune çözeltileri,
- ✓ Standart ve standart körü tüplerine ise 500 µL standart çözeltisi pipetleme işlemi yapıldı.
- ✓ Reaktif körüne 500 µL numune ve standart çözücüleri pipetlenerek eklendi.
- ✓ Spektrofotometre cihazı çalıştırılmış, dalga boyu 450 nm`ye ayarlandı.
- ✓ Tüm tüplere 1000 µL CH₃COONH₄ ve 1000 µL CuCl₂.2H₂O pipetlenerek eklendi.

- ✓ Test 1, test 2, test 3, standart ve reaktif körü tüplerine 1000 µL neokuproin reaktifi pipetlenirken numune körü ve standart körü tüplerine 1000 µL reaktif çözücüsü (metanol) 20 saniye arayla pipetlenerek vortekslendi.
- ✓ Karanlıkta, oda sıcaklığında (25 °C) 30 dk bekletildi.
- ✓ Absorbans değerleri 450 nm'de okundu.

3.4.5. DPPH• Radikali Temizleme Aktivitesi Tayini

Serbest radikal temizleme aktivitesi tayinlerinde genel olarak kullanılan bu yöntem kolay, ucuz ve oldukça kısa sürede sonuç vermektedir. DPPH• radikali (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) 517 nm'de en yüksek absorbansı okunan ve koyu menekşe rengine sahip serbest bir radikal ortaya çıkmaktadır. Bu yöntem antioksidan madde eşliğinde bu absorbans miktarındaki düşüşten yararlanarak maddelerin tespit edilmesi koşuluna dayanmaktadır (109).

Çalışmada DPPH• radikalinin 100 µM'lık metanollü çözeltisi kullanılmıştır. DPPH aktivitesini kontrol için 100 µM DPPH çözeltisi ile deneme yapılmış, belirli konsantrasyondaki numuneden ve DPPH çözeltisinden eşit miktarda alınarak renk değişimi gözlemlendi. Rengin çok açık pembe olması aktivitenin yüksek olduğu anlamına gelir. Standart olarak bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) 5 farklı derişimde (0.000625-0.00125-0.0025-0.005-0.01 mg/mL) metanol ile seyreltilerek hazır hale getirildi.

Sırasıyla işlemler:

- ✓ Standart tüplerine ve standart körü tüplerine 750 µL BHT, reaktif körüne 750 µL BHT çözücüsü pipetlenerek eklendi.
- ✓ Test 1, test 2, test 3 ve numune körü tüplerine 750 µL numune çözeltileri ve reaktif körüne 750 µL numunenin çözücüsü pipetlenerek eklendi.
- ✓ Standart tüplerine ve reaktif körü tüplerine 750 µL DPPH ve standart körüne DPPH çözücüsü olarak 750 µL metanol pipetlenerek eklendi.
- ✓ Test 1, test 2, test 3 ve reaktif körü tüplerine 750 µL DPPH ve numune körüne DPPH çözücüsü olarak 750 µL metanol pipetlenerek eklendi.
- ✓ Spektrofotometre çalıştırılarak dalga boyu 517 nm'ye ayarlanıp sabitlendi.
- ✓ Tüpler 50 dk bekletildikten sonra 20 sn arayla absorbans değerleri okundu.
- ✓ Sonuçlar grafiğe aktarılıp SC₅₀ değerleri hesaplanmıştır ve mg/mL olarak ifade edildi.

3.4.5.1. SC₅₀ Değerinin Tayini

SC₅₀ değerinin bulunması için 5 farklı (0.000625-0.00125-0.0025-0.005-0.01 mg/mL) konsantrasyondaki numunede ölçüm yapılmıştır. Okunan absorbanlar ile konsantrasyonlar arasında grafik çizilmiştir. SC₅₀ değeri, maksimum absorban değerinin yarısına karşılık gelen konsantrasyon miktarını vermektedir. Sonuçlar mg/mL birimiyle ifade edilmiştir.

3.5. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Çalışmada kullanılan test mikroorganizmaları Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6. Çalışmada kullanılan test mikroorganizmaları

Gram pozitif koklar:	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923, <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212
Gram pozitif sporlu basiller:	<i>Bacillus cereus</i> 702 ROMA
Gram almayan asido resistant bakteri:	<i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC607
Gram negatif enterik bakteriler (basiller):	<i>Klebsiella pneumonia</i> ATCC 18883, <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> ATCC 911 ve <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
Gram negatif non fermentatif bakteri:	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
Maya mantarları:	<i>Candida albicans</i> ATCC 60193 ve <i>Saccharomyces cerevisiae</i> RSKK 251, <i>Candida tropicalis</i> ATCC 13803

3.5.1. Agar Kuyucuk Difüzyonu Metodu

Bitkilerin toprak üstü kısımlarının metanol ve su ekstralarında antimikrobiyal aktivitelerinin olup olmadığının tespit edilmesinde agar kuyucuk difüzyon metodu kullanıldı. Bir gece bekletilen kültürlerden kullanım için hazır hale getirilecek bakteriler sıvı besiyeri içinde yaklaşık olarak 10⁶ kob/mL (koloni oluşturan birim= colony forming unit) dilüsyonları hazırlanmış ve katı besiyerlerine geniş çaplı ekimleri yapıldı. Ardından besiyerleri üzerinde 2 cm aralıklarla 5 mm çapında kuyucuklar steril cam boru yardımıyla açıldı. Ekstrenin 1 mL'sinden hazırlanmış stok çözeltilerden 50 mikrolitre her bir kuyucuğa eklendi. Bakteriler 24 saat, mayalar 48 saat inkübasyona bırakıldı ve işlem 36 °C'de petrielerde yapıldı. İnhibisyon çapları bir cetvel kullanılarak ölçüldü (110).

3.6. Enzim İnhibisyon Tayinleri

3.6.1. Tirozinaz İnhibitör Aktivitesi Tayini

Tirozinaz inhibitör aktivitesi, substrat olarak L-DOPA'nın kullanıldığı dopakrom yöntemine göre yapılmıştır (111). Numune çözeltisi (25 µL), tirozinaz çözeltisi (40 µL) ve fosfat tamponu (100 µL, pH6.8) ile 96 kuyucuklu mikrolaka içerisinde karıştırılıp, 25 °C'de 15 dakika inkübasyona bırakıldı. L-DOPA (40 µL) eklenmesiyle reaksiyon başlatıldı. Hazırlanan kör çözeltisi enzim içermemektedir. 25 °C'de 10 dakika inkübasyondan sonra örnek ve körün 492 nm'de absorban değerleri bulundu. Kojik asite eşdeğer olarak tirozinaz inhibitör aktivitesi sonuçları verildi.

3.6.2. Asetilkolinesteraz/Bütirilkolinesteraz Aktivite Tayin Tayinleri

Asetilkolinesteraz yöntemi 5,5-dithio-bis-(2-nitrobenzoik asit) kromojenik reaktifi ile ortaya çıkan tiyokolinin sarı renkli ürün vermesi temeline dayanmaktadır (112). Asetilkolinesteraz inhibitör aktivite tayininde asetilkolinesteraz enzimi ve substrat olarak asetiltiyokolin iyodür kullanılırken bütirilkolinesteraz inhibisyon aktivite yönteminde ise bütirilkolinesteraz enzimi ve substrat olarak ise bütiriltiyokolin iyodür kullanıldı. Antikolinesteraz çalışmalarında standart olarak galantamin kullanıldı.

Mikroplakadaki kuyucuklara 130 µL fosfat tamponu (pH 8), bileşiklerin metanolda 0,5 mM konsantrasyonda bulunan örneklerden 10 µL ve enzim çözeltisinden 20 µL ilave edildi. Bu çözelti karışımı 25 °C'de 10 dakika inkübe edildi. Bu işlemde sonra 20 µL DTNB reaktifi ve substrat (20 µL) her bir kuyucuğa eklendi. Mikrolaka okuyucuya yerleştirilerek dalga boyun 412 nm'ye ayarlandı ve absorbanlar okundu. Aktivite gösteren bileşiklerin seri halinde, 25 µg/mL dan 200 µg/mL'a kadar seyreltilmiş çözeltileri hazırlanarak IC₅₀ değerleri de aynı işlemler tekrarlanarak hesaplandı.

3.6.3. α-Amilaz İnhibisyon Yöntemi

Caraway-somogyi iyodür/potasyum iyodür (IKI) yöntemine göre α-amilaz inhibisyonu çalışılmıştır (113). 96 kuyucuklu mikrolakalar içine örnekler (25 µL), α-amilaz çözeltisi, (50 µL) fosfat tamponu (pH 6.9, 6 mM sodyum klorür) eklendi. 37 °C'de 10 dakika boyunca karışım inkübe edildi. Daha sonra nişasta çözeltisi (50 µL, %0.05) ilave edildiğinde reaksiyon başladı. Kör çözeltisinde enzim bulunmamaktadır. 37 °C'de 10 dakika boyunca inkübe işleminin ardından reaksiyon karışımına, HCl (25 µL, 1 M)

eklendi. Karışıma iyodin-potasyum iyodid çözeltisi (100 µL) eklendi. 630 nm’de örnek ve körün absorbansları okunarak test sonuçları akarboz eşdeğeri olarak hesaplandı.

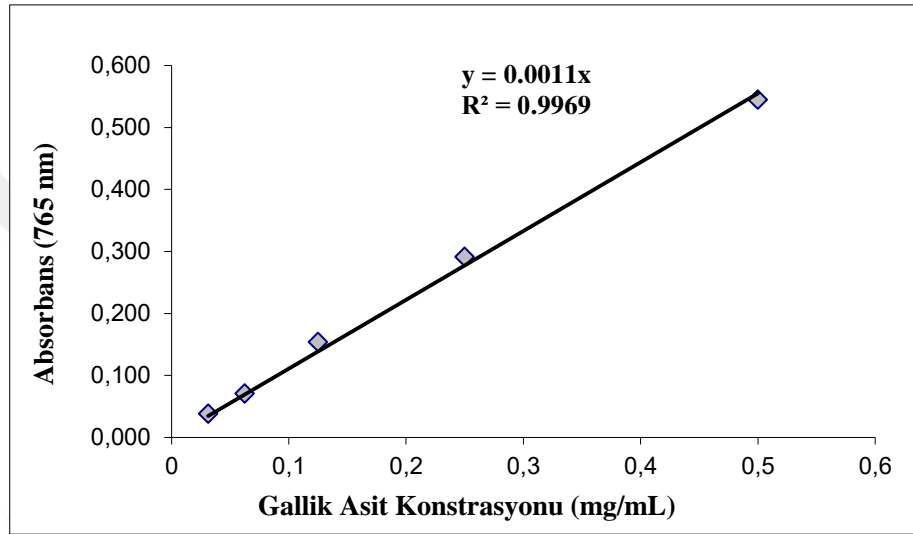
3.6.4. α -Glukozidaz İnhibisyon Yöntemi

Palanisamy ve ark.’larının araştırmasına göre α -glukozidaz inhibisyonu çalışılmıştır (114). α -Glukozidaz çözeltisi (50 µL), örnek çözeltisi (50 µL), fosfat tamponu (pH 6.8), glutatyon (50 µL) ve PNPG (4-Nitrofenil β -D-glukuronid) (50 µL) çözeltisi ilave edilerek 96 kuyucuklu mikrolaka içinde 15 dakika 37 °C’de inkübe edildi. Kör çözeltisi enzim içermemektedir. Sodyum karbonat (50 µL, 0.2 M) ilave edildiğinde reaksiyon durduruldu. 400 nm’de örnek ve körün absorbans değerleri okundu. α -Glukozidaz inhibitör aktivite sonuçları akarboz eşdeğeri olarak hesaplandı.

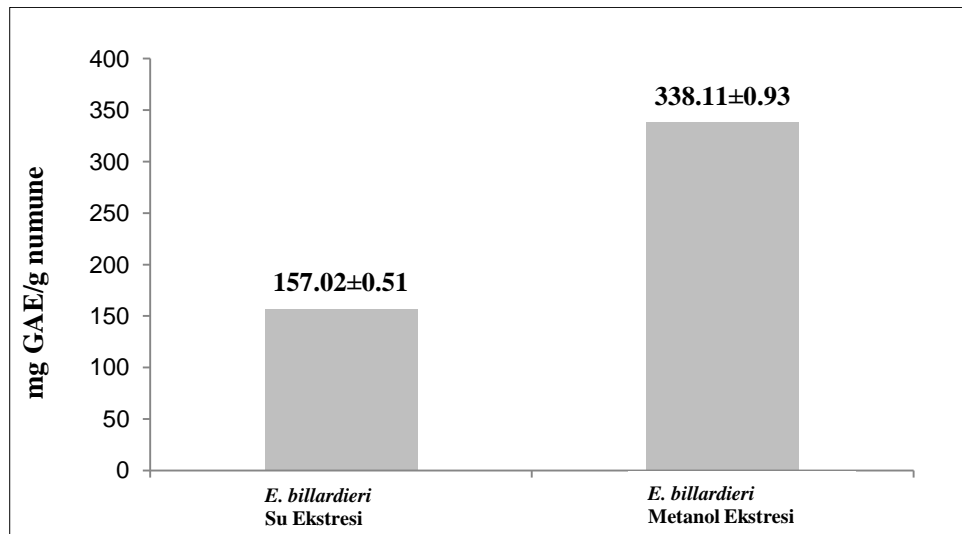
4. BULGULAR

4.1. Toplam Fenolik Madde Tayin Sonuçları

Toplam fenolik madde tayini için gallik asit standardı kullanılarak hazırlanmış olan standart çalışma grafiği Şekil 11’de, *E. billardieri* ekstrelerinin toplam fenolik madde miktarı değerleri ise mg GAE/g numune olarak Şekil 12’de verilmiştir.



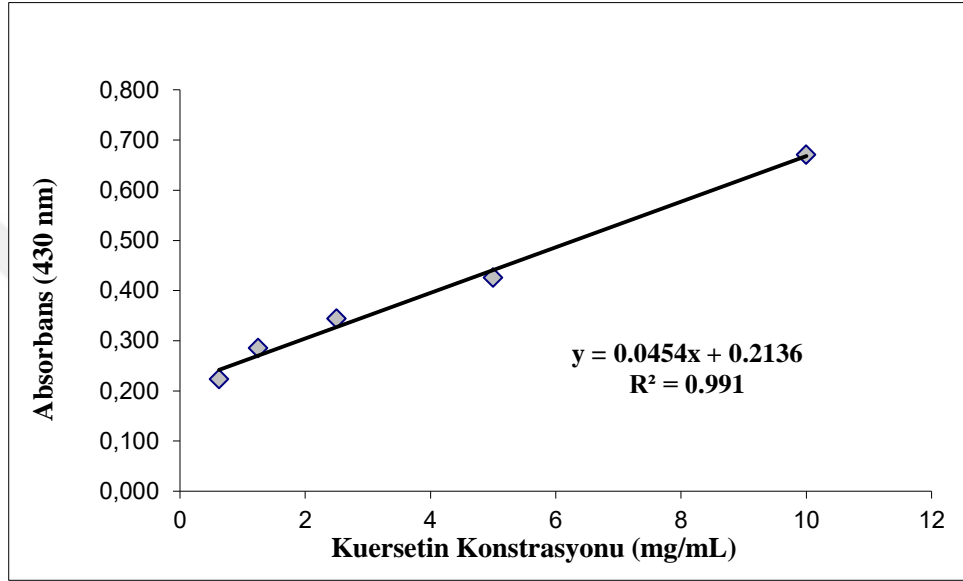
Şekil 11. Toplam fenolik madde tayini için gallik asit standardı kullanılarak hazırlanmış olan standart çalışma grafiği



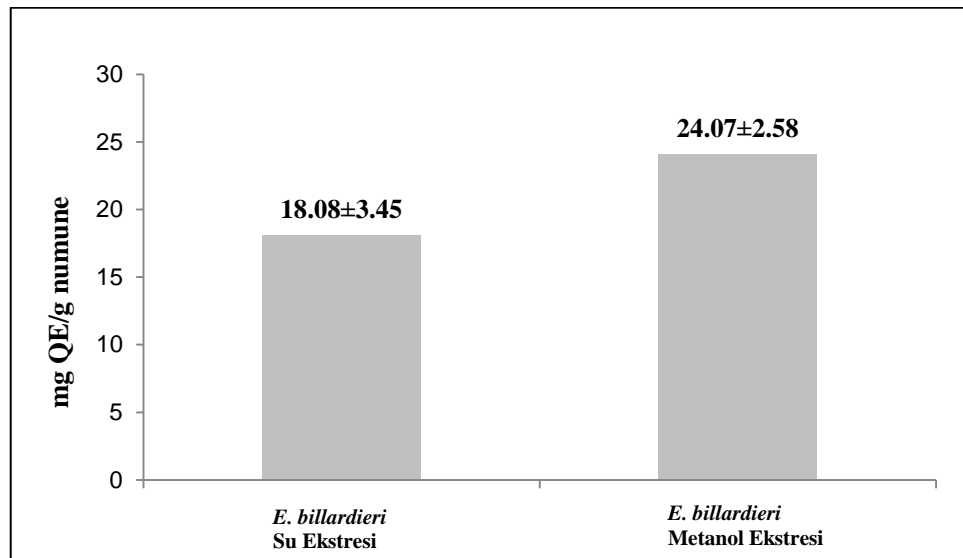
Şekil 12. *E. billardieri* ekstrelerinin toplam fenolik madde miktarı değerleri

4.2. Toplam Flavonoid Madde Miktarı Tayin Sonuçları

Toplam flavonoid madde miktarı tayini için kuersetin standardı kullanılarak hazırlanmış standart çalışma grafiği Şekil 13'te, *E. billardieri* ekstrelerinin toplam flavonoid madde miktarı değerleri mg QE/g numune olarak Şekil 14'te verilmiştir.



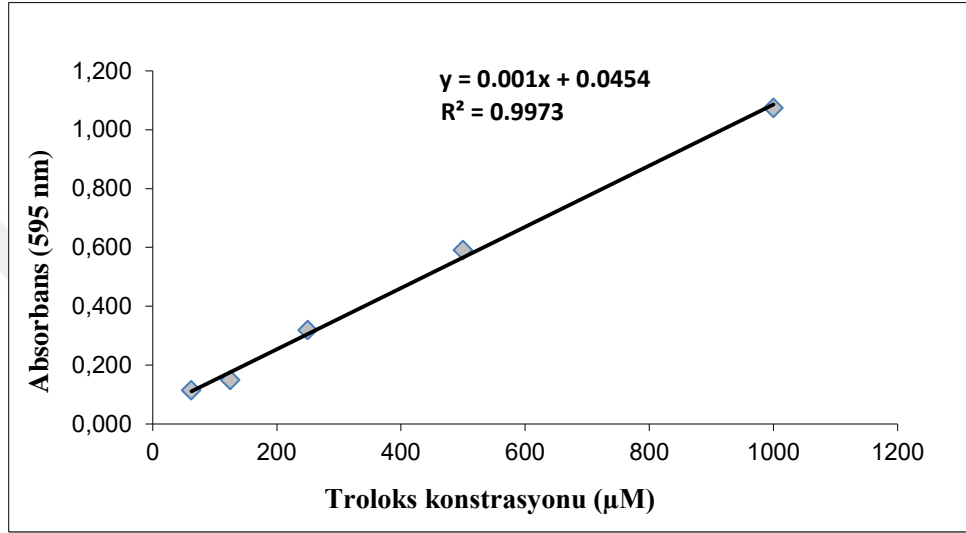
Şekil 13. Toplam flavonoid madde miktarı tayini için kuersetin standardı kullanılarak hazırlanmış standart çalışma grafiği



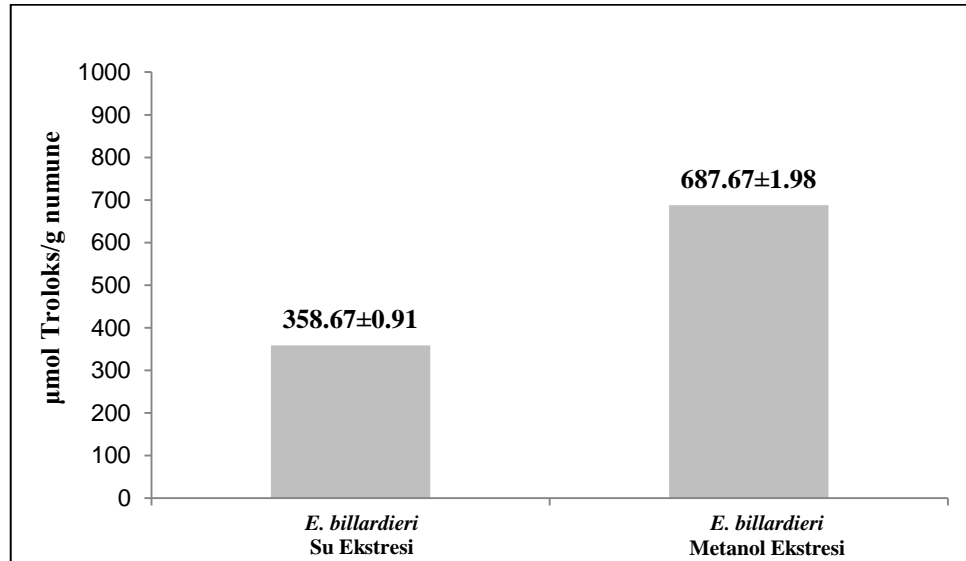
Şekil 14. *E. billardieri* ekstrelerinin toplam flavonoid madde miktarı değerleri

4.3. FRAP Tayini Sonuçları

FRAP tayini için troloks standardı kullanılarak hazırlanmış standart çalışma grafiği Şekil 15’de, *E. billardieri* ekstrelerinin FRAP değerleri μmol troloks/g numune olarak Şekil 16’da verilmiştir.



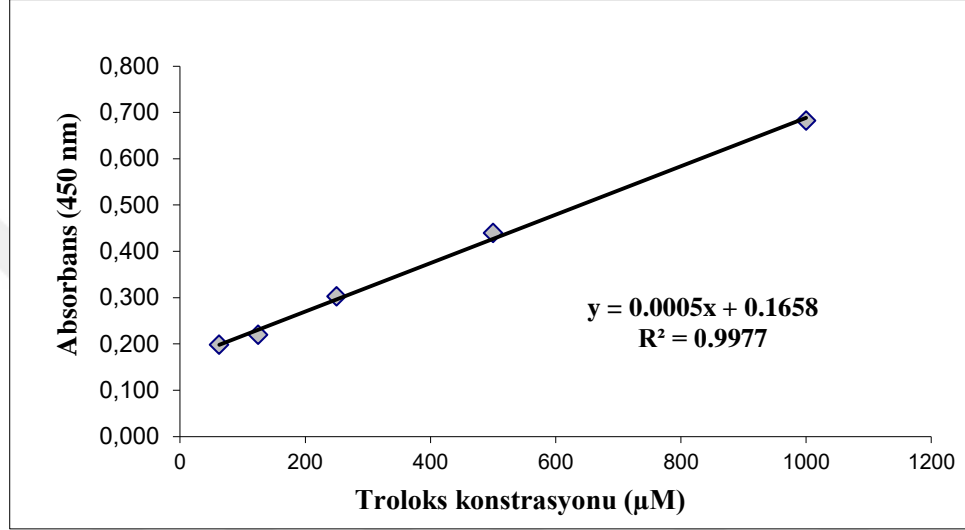
Şekil 15. FRAP tayini için troloks standardı kullanılarak hazırlanmış standart çalışma grafiği



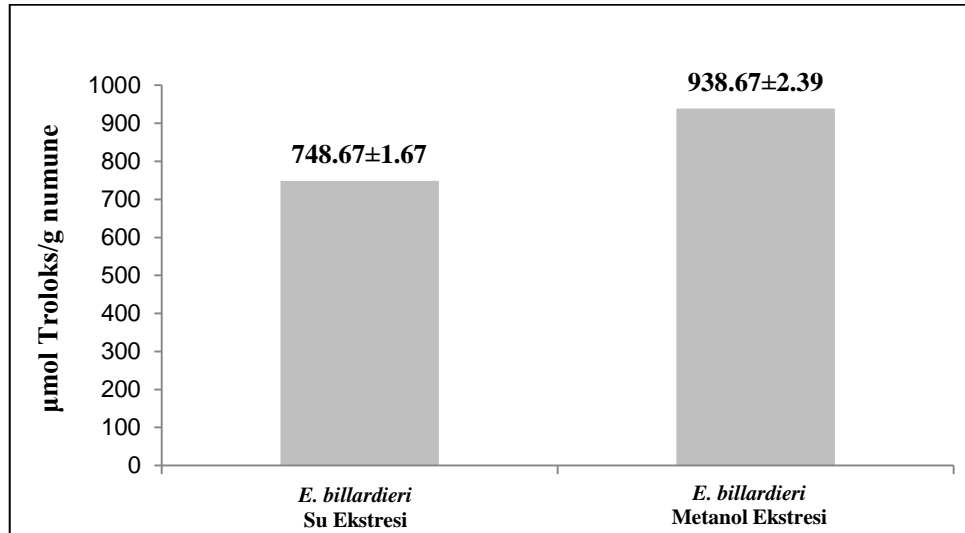
Şekil 16. *E. billardieri* ekstrelerinin FRAP değerleri

4.4. CUPRAC Tayini Sonuçları

CUPRAC testi için troloks standardı kullanılarak elde edilen standart çalışma grafiği Şekil 17’de, *E. billardieri* ekstralarının CUPRAC değerleri μmol troloks/g numune olarak Şekil 18’de verilmiştir.



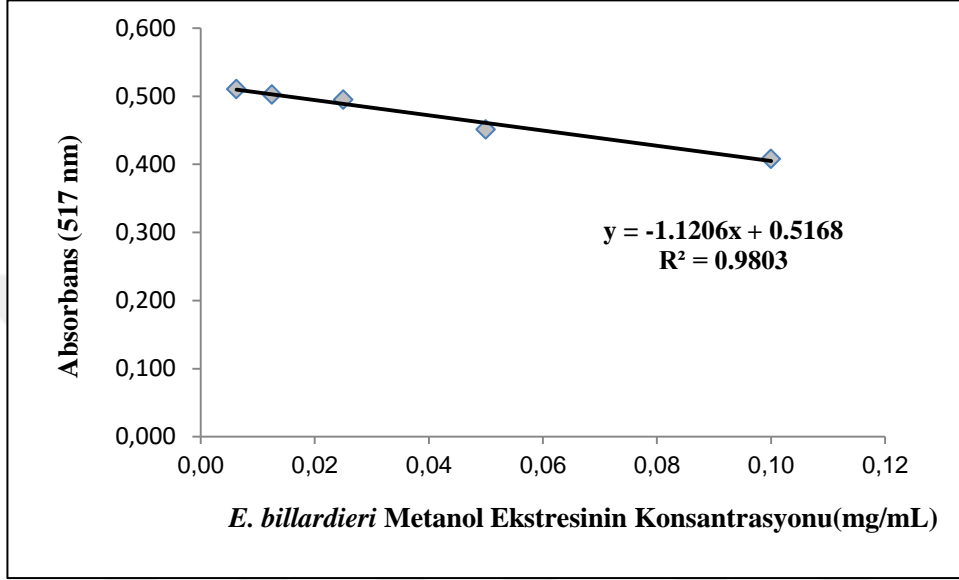
Şekil 17. CUPRAC testi için troloks standardı kullanılarak elde edilen standart çalışma grafiği



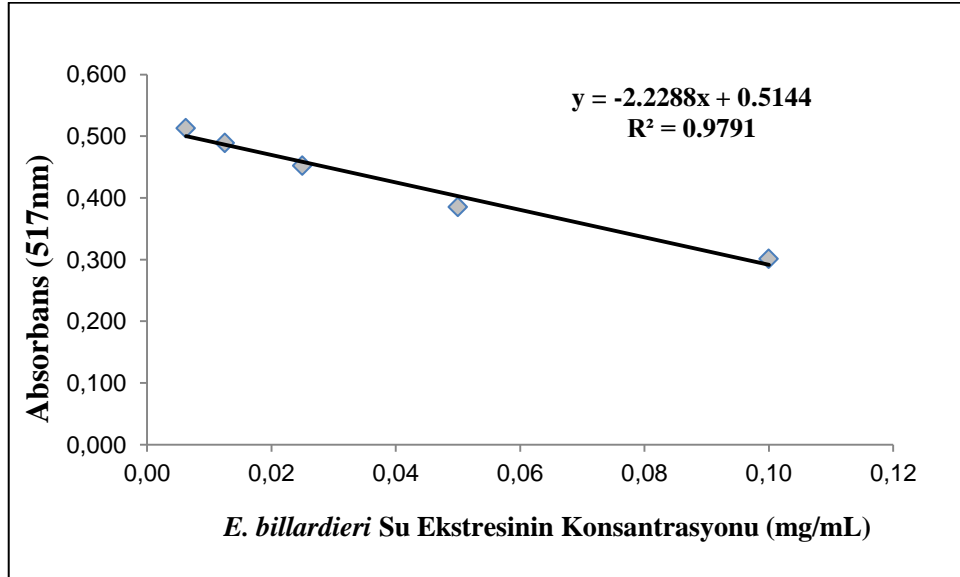
Şekil 18. *E. billardieri* ekstralarının CUPRAC değerleri

4.5. DPPH Radikali Temizleme Aktivitesi Tayin Sonuçları

E. billardieri bitkisinin metanollü ve sulu ekstralarının absorbanz konstrasyon grafikleri Şekil 19 ve Şekil 20’de verilmiştir.



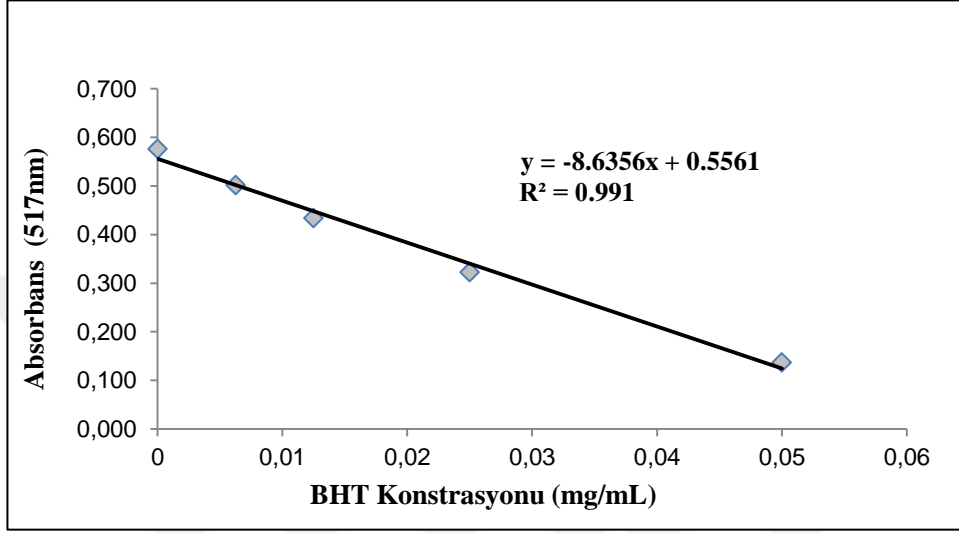
Şekil 19. *E. billardieri* bitkisinin metanollü ekstresinin absorbanz konstrasyon grafiği



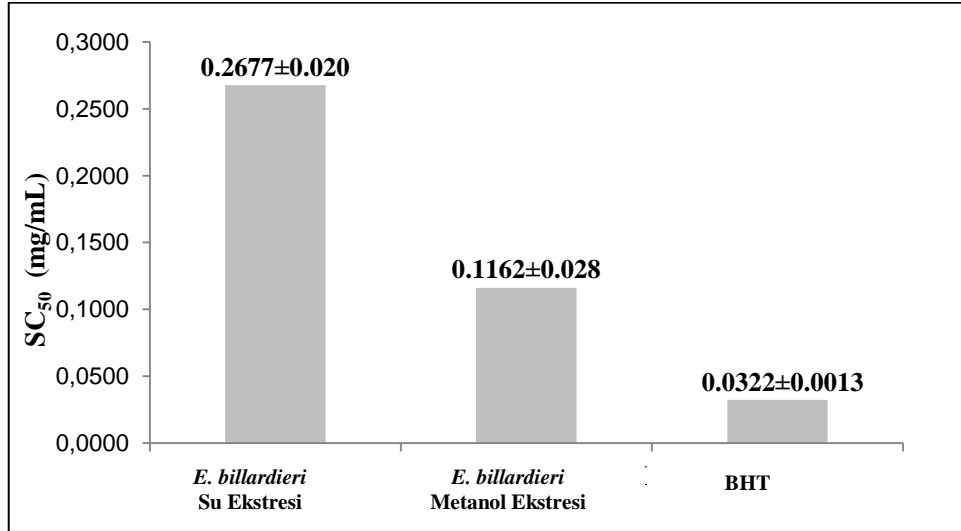
Şekil 20. *E. billardieri* bitkisinin sulu ekstresinin absorbanz konstrasyon grafiği

4.5.1. SC₅₀ Değerinin Sonucu

BHT standardının absorbans konsantrasyon grafiği Şekil 21’de, DPPH yöntemine göre *E. billardieri* ekstrelerinin ve BHT’nin SC₅₀ değerleri Şekil 22’de verilmiştir.



Şekil 21. BHT standardının absorbans konsantrasyon grafiği



Şekil 22. DPPH yöntemine göre *E. billardieri* ekstrelerinin ve BHT’nin SC₅₀ değerleri

E. billardieri bitkisinin sulu ve metanollü ekstralarında bulunan toplam fenolik, flavanoid madde miktarları ve antioksidan aktivite değerleri Tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 7. *E. billardieri* bitkisinin sulu ve metanollü ekstralarında bulunan toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktivite değerleri (Ort±SP)

Test Bileşikleri	TPC ^a	TFC ^b	FRAP ^c	CUPRAC ^d	DPPH ^e
Su Ekstresi	157.02±0.51	18.08±3.45	358.67±0.91	748.67±1.67	0.2677±0.020
Metanol Ekstresi	338.11±0.93	24.07±2.58	687.67±1.98	938.67±2.39	0.1162±0.028
BHT					0.0322±0.0013

^aTPC değeri total fenolik içeriğini (mg gallik asit eşdeğeri/gram), ^bTFC değeri toplam flavanoid içeriğini (mg kuersetin eşdeğeri/gram), ^cFRAP değeri demir indirgeyici antioksidan gücünü (µM trolox eşdeğeri/gram), ^dCUPRAC değeri bakır indirgeyici antioksidan gücünü (µM trolox eşdeğeri/gram), ^eDPPH değeri 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal süpürme kapasitesini (mg/mL), BHT değeri bütillenmiş hidroksi tolueni ifade eder.

4.6. Antimikrobiyal Aktivite Tayin Sonuçları

E. billardieri ekstralarının agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile oluşturduğu inhibisyon çapları mm olarak Tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8. *E. billardieri* ekstralarının agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile oluşturduğu inhibisyon çapları (mm)

Örnekler	Miktar (µg/mL)	Mikroorganizmalar ve İnhibisyon Çapları (mm)											
		Gram negatif				Gram pozitif				Gram almayan	Maya mantarı		
		Ec	Yp	Kp	Pa	Sa	Ef	Bc	Ms	Ca	Ct	Sc	
Su Ekstresi	10 000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Metanol Ekstresi	10 000	8	16	8	6	6	6	6	10	8	10	10	
Amp.	10	10	10	10	18	35	10	15	35				
Flu.	10									25	25	25	

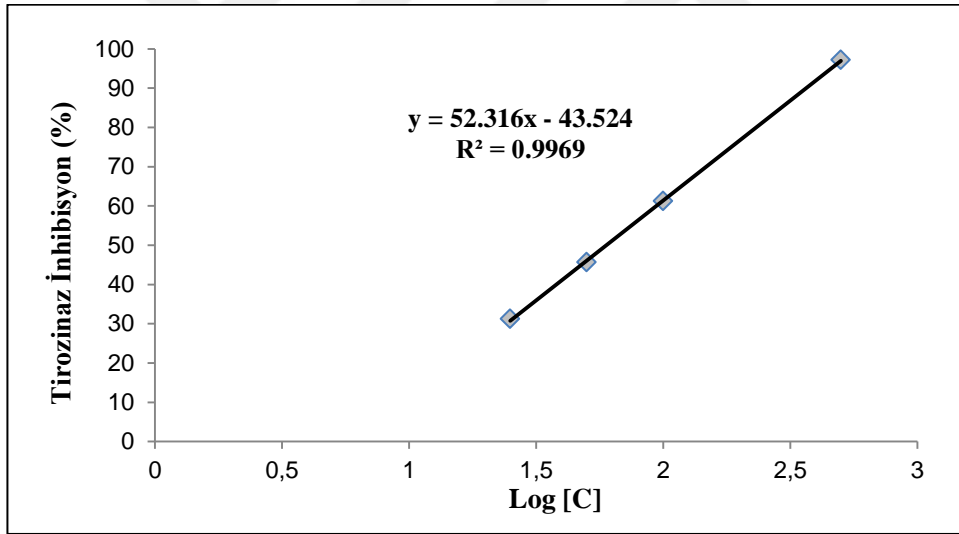
Ec: *Escherichia coli* ATCC 25922, Yp: *Yersinia pseudotuberculosis* ATCC 911, Kp: *Klebsiella pneumonia* ATCC18883, Pa: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, Sa: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Ef: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, Bc: *Bacillus cereus* 702 Roma, Ms: *Mycobacterium smegmatis* ATCC607, Ca: *Candida albicans* ATCC 60193, Ct: *Candida tropicalis* ATCC 13803, Sc: *Saccharomyces cerevisiae* RSKK 251, Amp.: Ampicillin, Flu.: Fluconazole, (—): aktivite yok.

4.7. Tirozinaz İnhibitör Aktivite Sonuçları

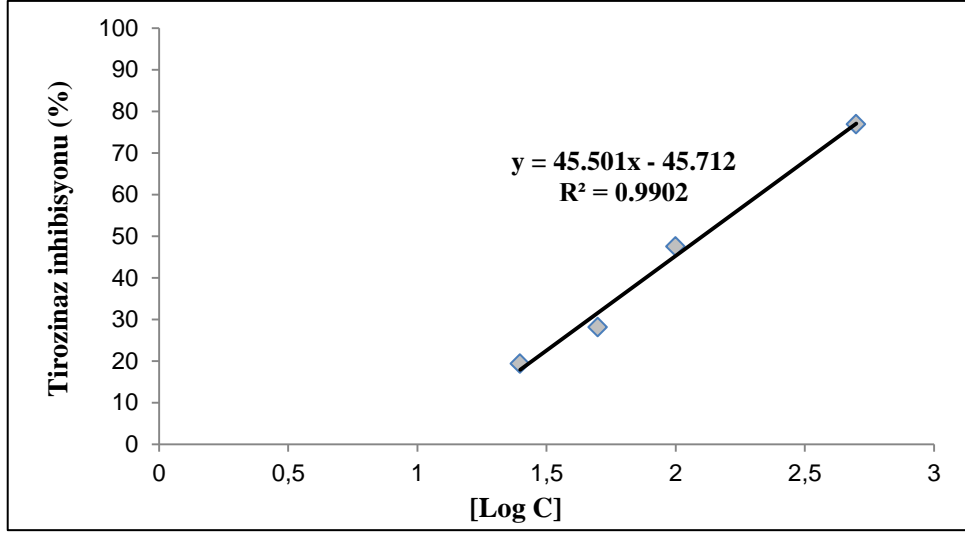
E. billardieri ekstrelerinin ve kojik asitin IC₅₀ değerleri Tablo 9’da, Kojik asit standardının, *E. billardieri* sulu ve metanollü ekstrelerinin %tirozinaz inhibisyon grafikleri Şekil 23-25’de, *E. billardieri* ekstrelerinin ve kojik asit standardının IC₅₀ değerleri µg/mL olarak Şekil 26’da verilmiştir.

Tablo 9. *E. billardieri* ekstrelerinin ve kojik asitin IC₅₀ değerleri

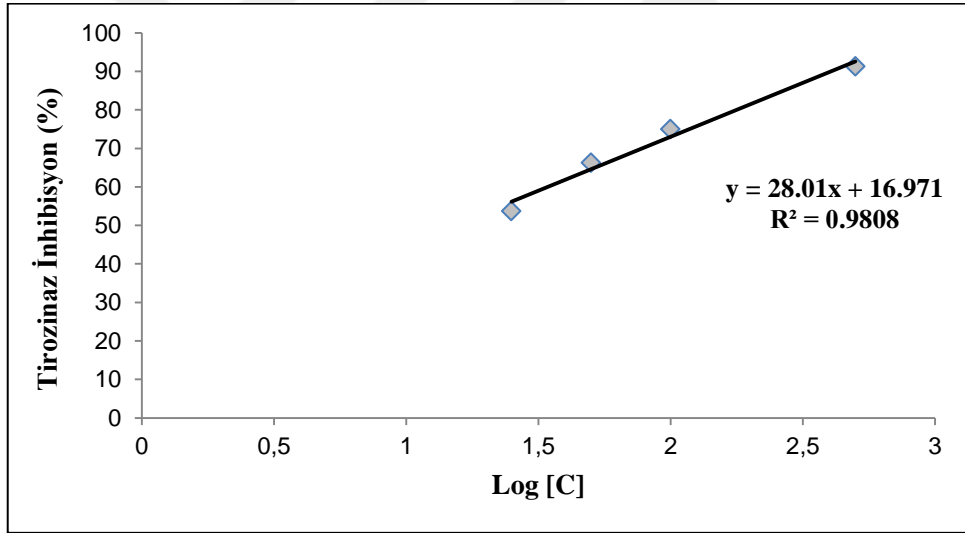
Kullanılan Ekstreler	IC ₅₀ (µg/mL)
Kojik Asit	61.23±1.36
<i>E. billardieri</i> (Su ekstresi)	125.89±2.45
<i>E. billardieri</i> (Metanol ekstresi)	15.14±2.14



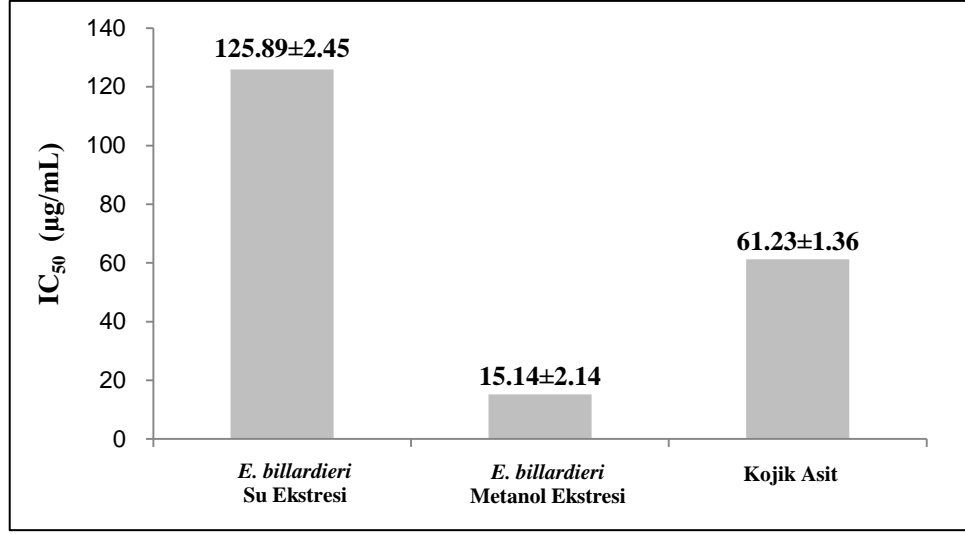
Şekil 23. Kojik asit standardının %tirozinaz inhibisyonu



Şekil 24. *E. billardieri* sulu ekstresinin % tirozinaz inhibisyonu



Şekil 25. *E. billardieri* metanol ekstresinin % tirozinaz inhibisyonu



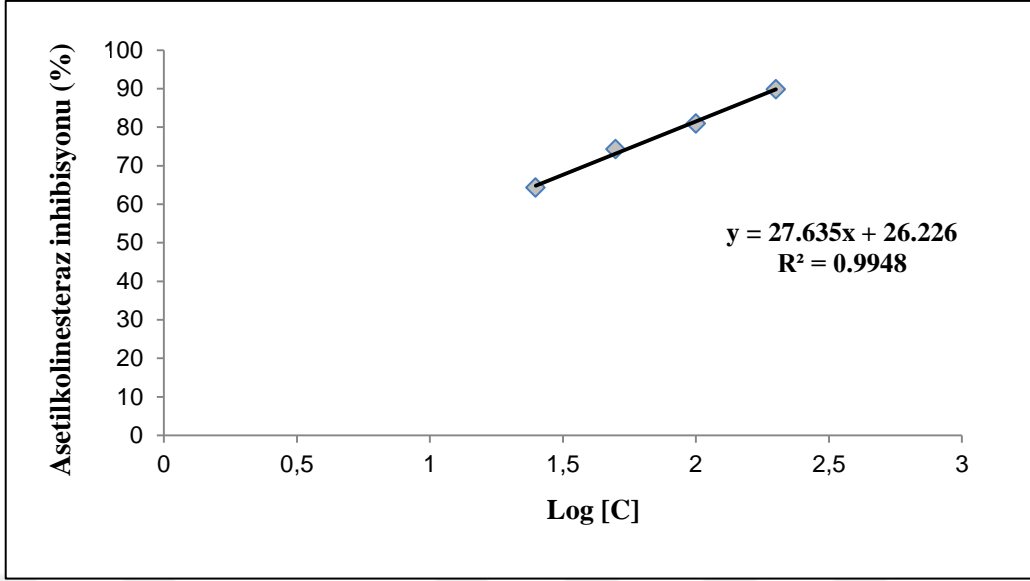
Şekil 26. *E. billardieri* ekstralarının ve kojik asit standardının IC₅₀ değerleri

4.8. Asetilkolinesteraz İnhibitör Aktivite Sonuçları

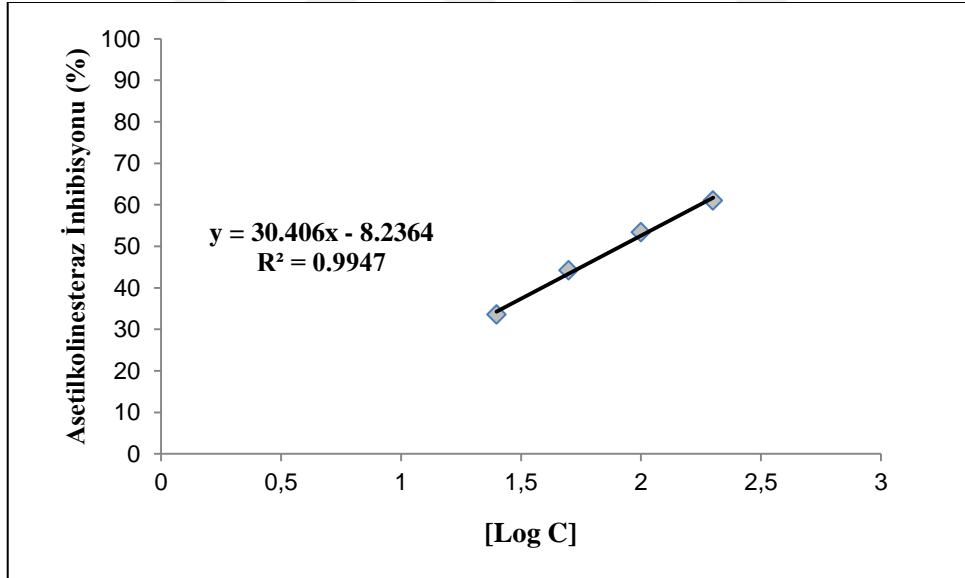
Asetilkolinesteraz tayininde bulunan enzim aktivitesi %inhibisyon ve IC₅₀ değerleri Tablo 10, galantamin standardının, *E. billardieri* sulu ve metanol ekstralarının %asetilkolinesteraz inhibisyon grafikleri Şekil 27-29'da, *E. billardieri* ekstralarının ve galantamin standardının IC₅₀ değerleri µg/mL olarak Şekil 30'da verilmiştir

Tablo 10. Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi %inhibisyon ve IC₅₀ değerleri

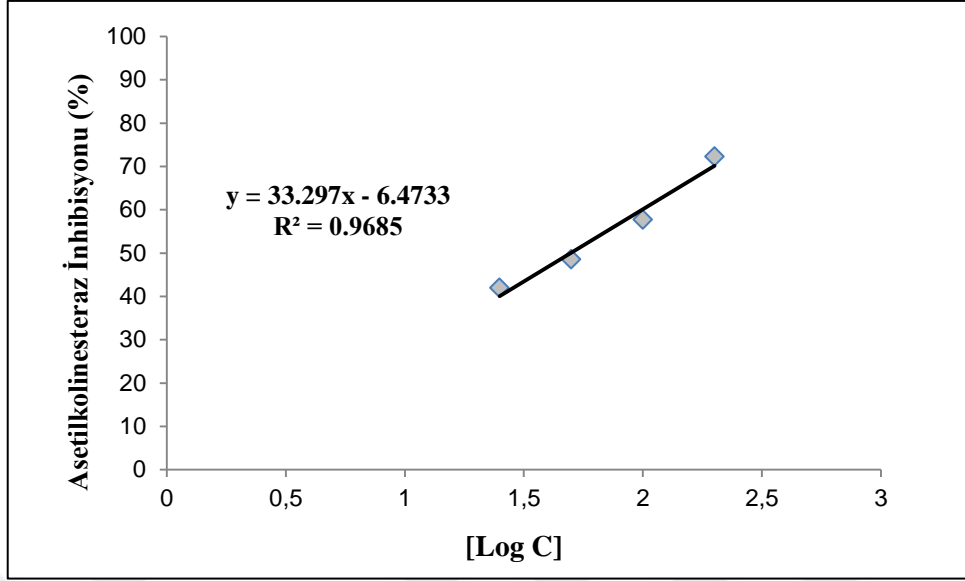
Numuneler	Konsantrasyon µg/mL	%İnhibisyon	IC ₅₀ µg/mL
<i>E. billardieri</i> (Su ekstresi)	25	33.531±3.21	81.28±2.51
	50	44.151±2.53	
	100	53.337±1.69	
	200	60.980±1.78	
<i>E. billardieri</i> (Metanol ekstresi)	25	41.927±2.02	20.42±1.21
	50	48.529±1.95	
	100	57.696±3.05	
	200	72.282±2.66	
Galantamin	25	64.316±3.29	7.24±0.09
	50	74.273±1.23	
	100	80.929±1.57	
	200	89.828±2.36	



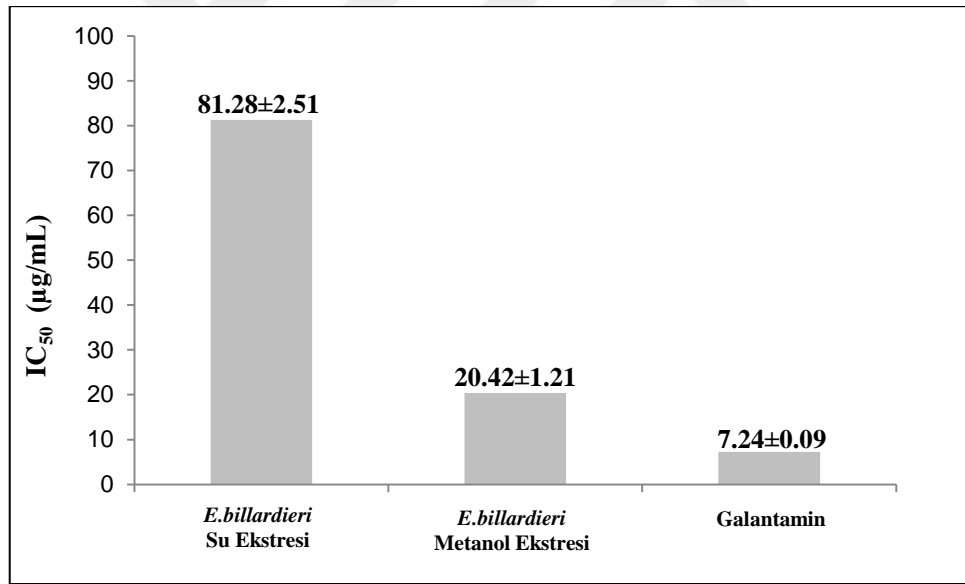
Şekil 27. Galantamin standardının %asetilkolinesteraz inhibisyonu



Şekil 28. *E. billardieri* sulu ekstresinin %asetilkolinesteraz inhibisyonu



Şekil 29. *E. billardieri* metanol ekstresinin %asetilkolinesteraz inhibisyonu



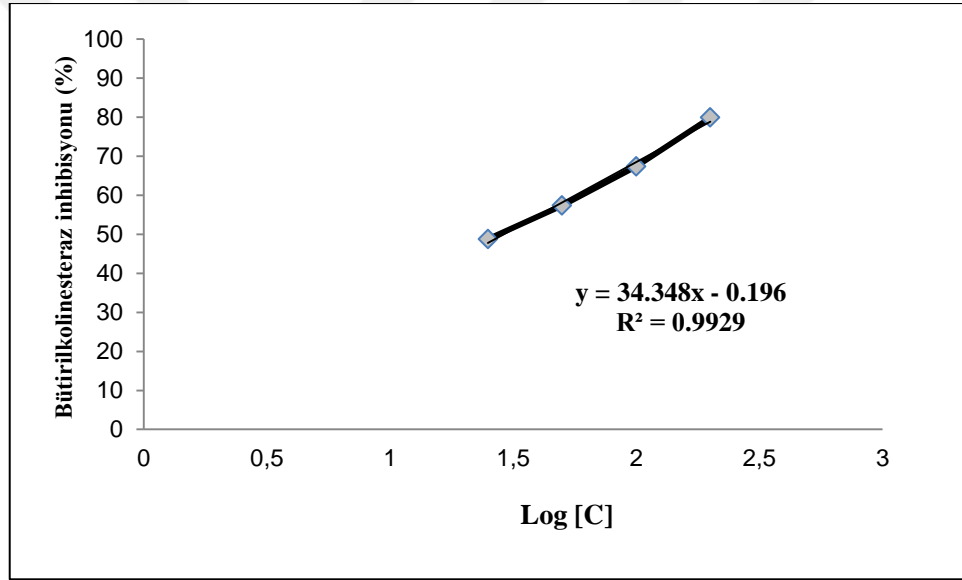
Şekil 30. *E. billardieri* ekstrlerinin ve galantamin standardının IC₅₀ değerleri

4.9. Bütirilkolinesteraz İnhibitör Aktivite Sonuçları

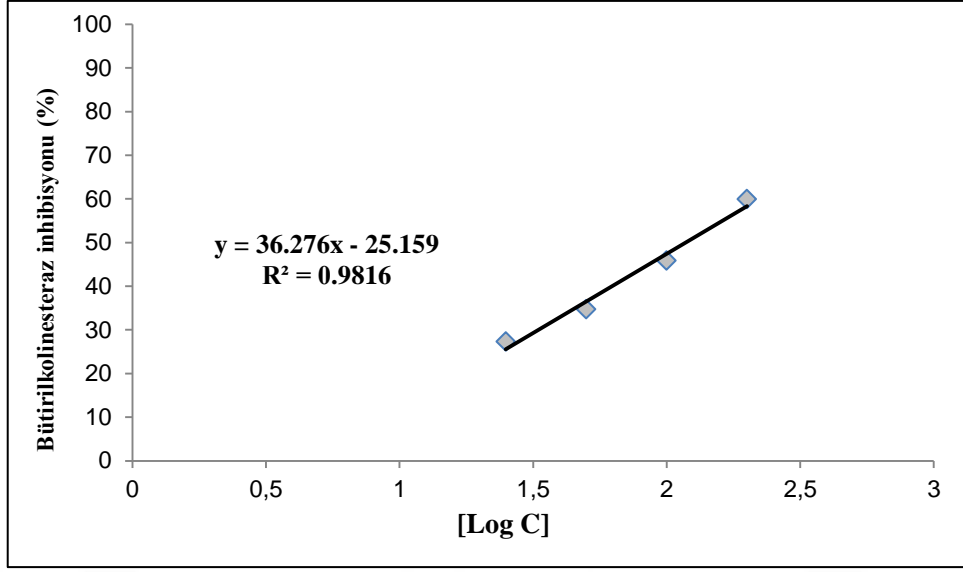
Bütirilkolinesteraz tayininde bulunan enzim aktivitesi %inhibisyon ve IC₅₀ değerleri Tablo 11, galantamin standardının, *E. billardieri* sulu ve metanol ekstrlerinin %bütirilkolinesteraz inhibisyon grafikleri Şekil 31-33'te, *E. billardieri* ekstrlerinin ve galantaminin IC₅₀ değerleri µg/mL olarak Şekil 34'te verilmiştir.

Tablo 11. Bütirilkolinesteraz enzim aktivitesi %inhibisyon ve IC₅₀ değerleri

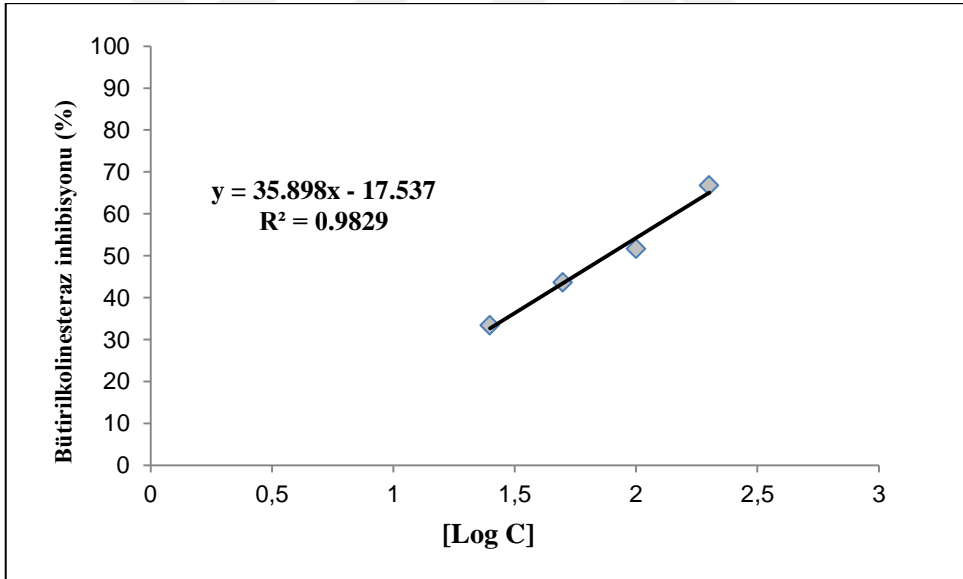
Numuneler	Konsantrasyon µg/mL	%İnhibisyon	IC ₅₀ (µg/mL)
<i>E. billardieri</i> (Su ekstresi)	25	27.251±1.34	75.86±2.37
	50	34.716±2.36	
	100	45.814±1.53	
	200	59.953±1.67	
<i>E. billardieri</i> (Metanol ekstresi)	25	33.412±1.27	117.49±2.42
	50	43.602±1.25	
	100	51.667±1.61	
	200	66.746±1.07	
Galantamin	25	48.736±1.36	28.84±1.17
	50	57.346±1.23	
	100	67.378±2.73	
	200	79.858±2.11	



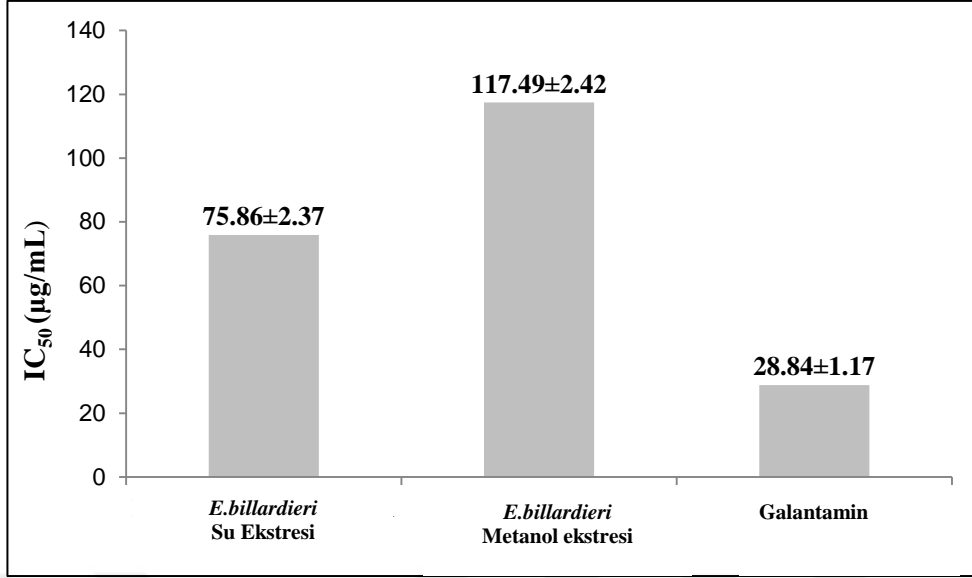
Şekil 31. Galantamin standardının %bütirilkolinesteraz inhibisyonu



Şekil 32. *E. billardieri* sulu ekstresinin %bütirilkolinesteraz inhibisyonu



Şekil 33. *E. billardieri* metanol ekstresinin %bütirilkolinesteraz inhibisyonu



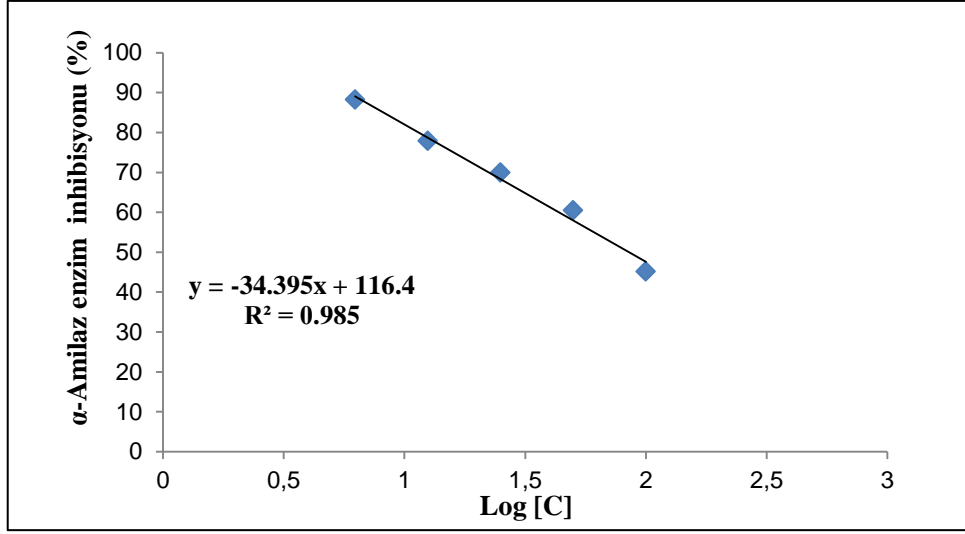
Şekil 34. *E. billardieri* ekstrelerinin ve galantaminin IC₅₀ değerleri

4.10. α-Amilaz İnhibitör Aktivite Sonuçları

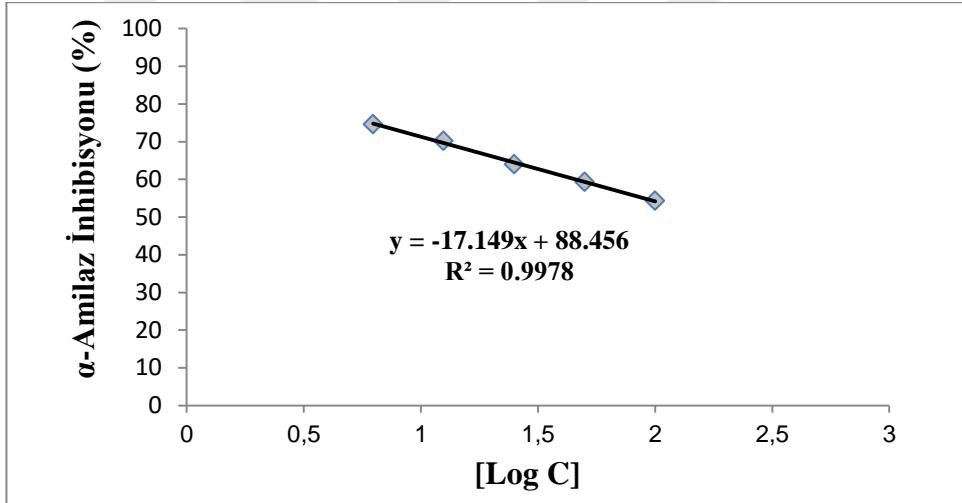
E. billardieri ekstrelerinin ve akarboz standardının IC₅₀ değerleri Tablo 12, akarboz standardının, *E. billardieri* su ve metanol ekstrelerinin %α-amilaz inhibisyon grafikleri Şekil 35-37'de, *E. billardieri* ekstrelerinin ve akarbozun α-amilaz IC₅₀ değerleri µg/mL olarak Şekil 38'de verilmiştir.

Tablo 12. *E. billardieri* ekstrelerinin ve akarboz standardının IC₅₀ değerleri

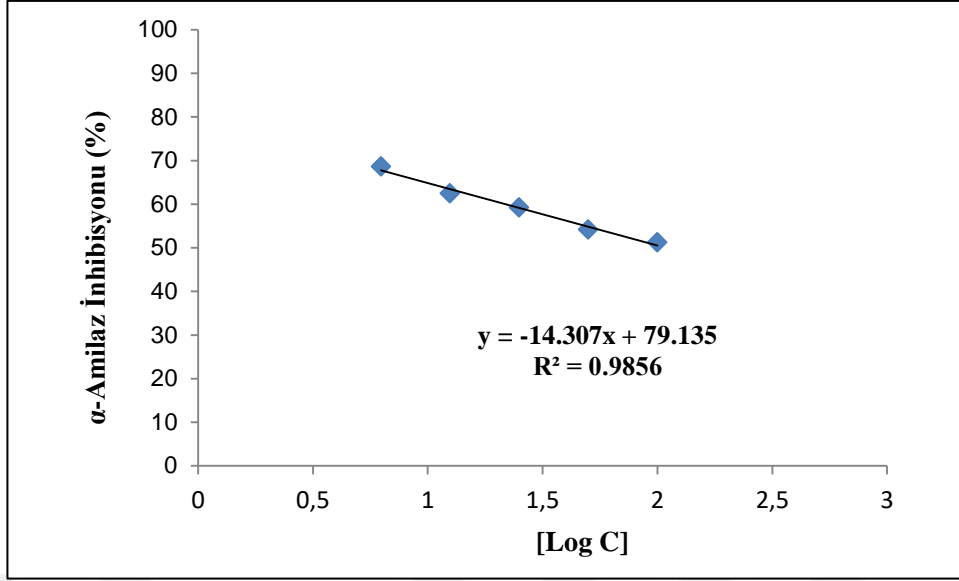
α-Amilaz İnhibisyonu	
Numuneler	IC ₅₀ (µg/mL)
Akarboz	87.70±2.23
<i>E. billardieri</i> (Su ekstresi)	173.78±3.75
<i>E. billardieri</i> (Metanol ekstresi)	107.15±3.07



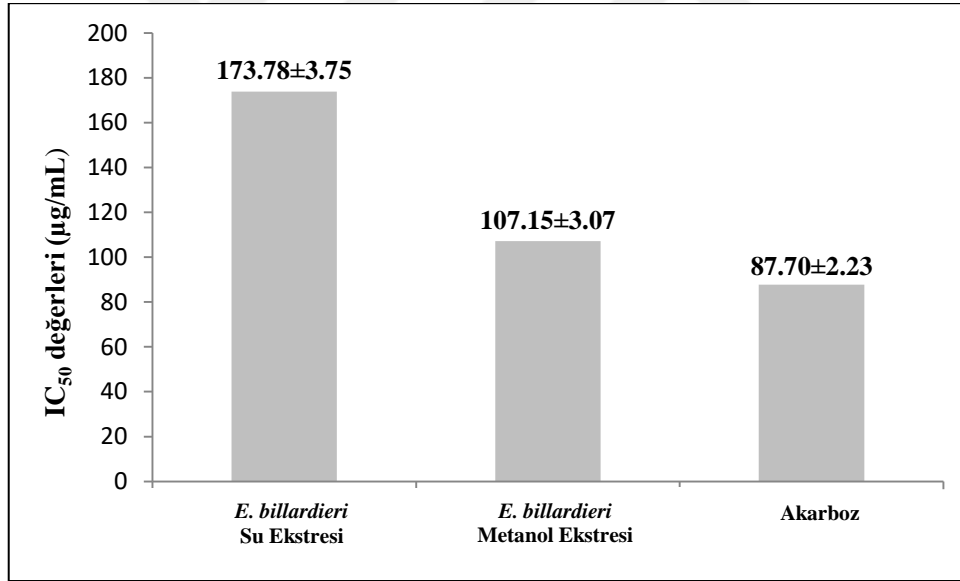
Şekil 35. Akarboz standardının % α -amilaz inhibisyonu



Şekil 36. *E. billardieri* su ekstrelerinin % α -amilaz inhibisyonu



Şekil 37. *E. billardieri* metanol ekstresinin % α -amilaz inhibisyonu



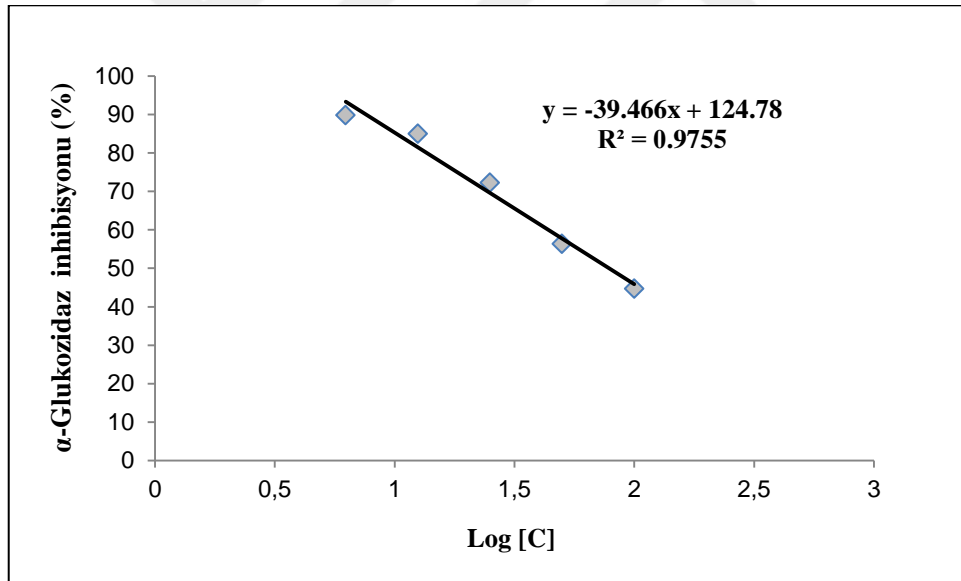
Şekil 38. *E. billardieri* ekstrelerinin ve akarbozun α -amilaz IC₅₀ değerleri

4.11. α -Glukozidaz İnhibitör Aktivite Sonuçları

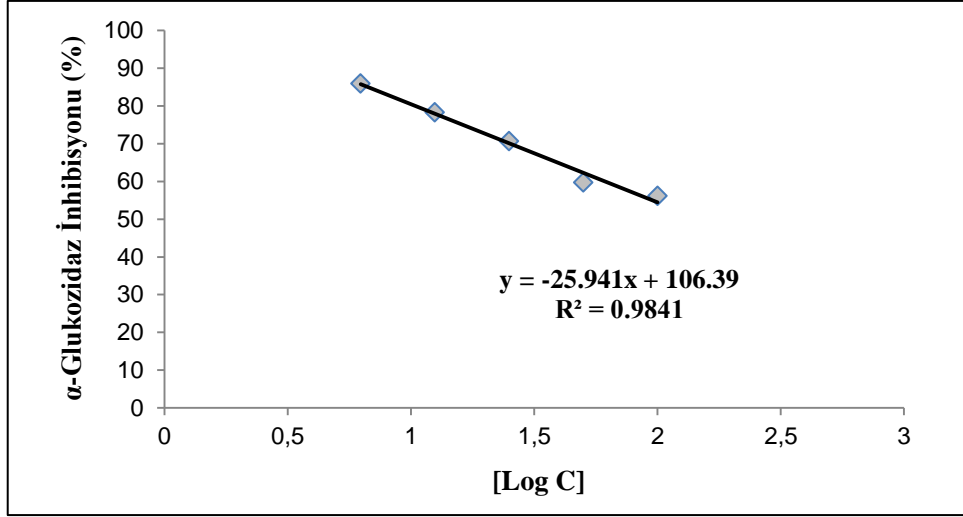
E. billardieri ekstrelerinin ve standardın IC_{50} değerleri Tablo 13’de, akarboz standardının, *E. billardieri* su ve metanol ekstrelerinin % α -glukozidaz inhibisyon grafikleri Şekil 39-41’de, *E. billardieri* ekstrelerinin ve akarbozun IC_{50} değerleri $\mu\text{g/mL}$ olarak Şekil 42’de verilmiştir.

Tablo 13. *E. billardieri* ekstrelerinin ve standardın IC_{50} değerleri

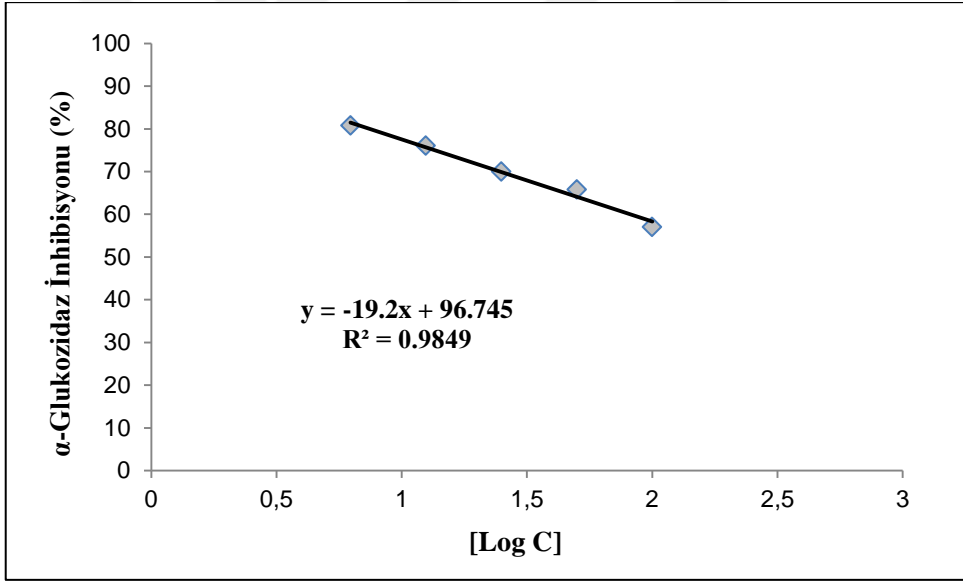
α -Glukozidaz İnhibisyonu	
Numuneler	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Akarboz	77.62 ± 1.82
<i>E. billardieri</i> (Su ekstresi)	269.15 ± 2.54
<i>E. billardieri</i> (Metanol ekstresi)	147.91 ± 1.97



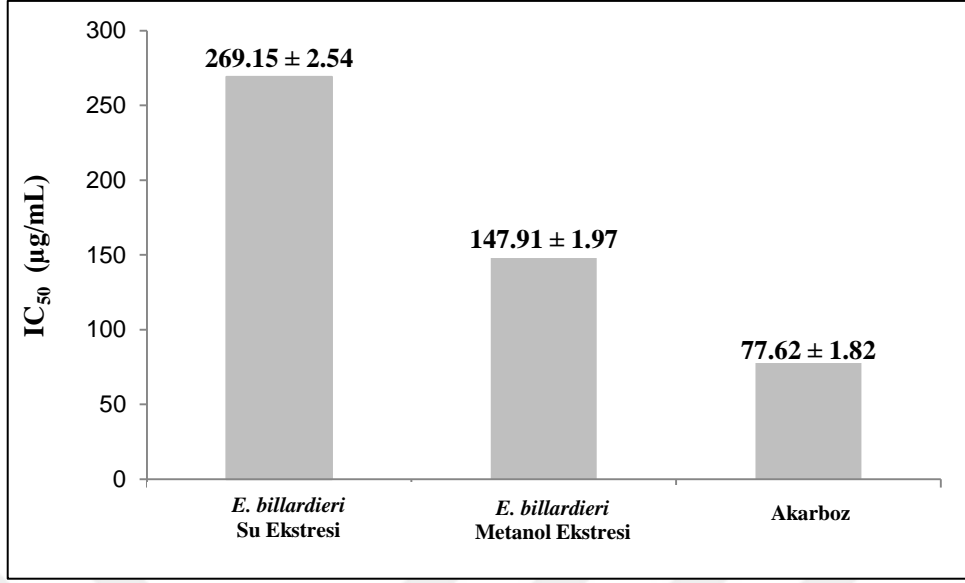
Şekil 39. Akarboz standardının % α -glukozidaz inhibisyonu



Şekil 40. *E. billardieri* su ekstresinin %α-glukozidaz inhibisyonu



Şekil 41. *E. billardieri* metanol ekstresinin %α-glukozidaz inhibisyonu



Şekil 42. *E. billardieri* ekstrelerinin ve akarbozun IC₅₀ değerleri

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Ülkemiz bitkisel zenginliğin en güzel örneklerine sahip ülkelerden birisidir. Bitki türündeki bu çeşitliliğin oldukça fazla olması, hastalıkların tedavisinde tıbbi bitkilerin kullanılmasına yönelik çalışmaların önemini artırmaktadır. Son yıllarda, bitkilerden elde edilen ve sekonder metabolitler olarak tanımlanan biyoaktif moleküllerin insan sağlığına olumlu etkileri oldukça fazladır. Bu konuda geniş çapta araştırmalar bulunmaktadır. Özellikle tıbbi bitkilerin, sebze ve meyvelerin antioksidan aktivite göstermesi sebebiyle sentetik antioksidanların yerini alması için çok sayıda araştırmalar yürütülmektedir. Bu doğal antioksidanlar serbest radikallerle mücadele ederek dejeneratif hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar, kanser gibi çeşitli hastalıklara karşı metabolizmayı korumaktadır (115). Fenolik bileşikler, bitkilerin çeşitli kısımlarında bulunan ve bitkilerde sekonder metabolit olarak bilinen bileşiklerdir (83, 116). Şimdiye kadar yaklaşık 4000 bitkisel fenolik bileşiğin yapısı aydınlatılmış olmasına rağmen bu fenolik bileşiklere yeni tanımlanan fenolik bileşikler ilave olmaktadır (116).

Çalışmamızda toplam fenolik madde miktarı *E. billardieri*'nin sulu ekstresinde 157.02 ± 0.51 mg GAE/g numune, metanol ekstresinde ise 338.11 ± 0.93 mg GAE/g numune olarak tayin edilmiştir. Çalışmamızda *E. billardieri* su ekstresinin toplam flavonoid madde miktarı 18.08 ± 3.45 mg QE/g iken metanol ekstresi 24.07 ± 2.58 mg QE/g bulunmuştur. Paşayeva ve ark.'larının yaptığı çalışmada *E. billardieri* %70 metanol ekstresinin toplam fenol ve flavonoid miktarları sırasıyla 70.651 ± 7.273 mg GAE/g_{ekstre}, 30.324 ± 0.580 mg kateşin/g_{ekstre} bulunurken su fraksiyonunun 32.290 ± 0.931 mg GAE/g_{ekstre}, 15.680 ± 0.195 mg kateşin/g_{ekstre} olarak bulunmuştur (117). Rjeibi ve ark.'larının yaptığı çalışmada *E. maritimum* ekstrelerinde toplam fenolik madde miktarı 8.09 ± 1.69 mg GAE/g kuru ağırlık olarak bulunmuştur. Toplam fenolik madde miktarı en fazla yaprak en az gövde kısmında tespit edilmiştir. En yüksek flavonoid içeriği yaprak kısmında (1.03 mg QE/g kuru ağırlık), en düşük flavonoid içeriği ise gövde kısmında (0.23 mg QE/g kuru ağırlık) bulunmuştur (118). Güneş ve ark.'nın çalışmasında *E. campestre*'nin çiçek ve yaprak bölümlerinden elde edilen metanol ekstresinde toplam flavonoid içeriği ve fenolik madde sırasıyla 109.62 mg GAE/L, 116.69 mg GAE/L bulunmuştur. *E. campestre*'nin çiçek bölümlerinde metanol ekstrelerinin flavonoid ve fenolik içeriklerinin, yapraklarından hazırlanan ekstrelerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (119). Paun ve ark.'larının yaptığı çalışmada *E. planum* ekstrelerinde toplam fenolik madde ve flavonoid madde içerikleri sırasıyla

0.749±0.062 mg GAE/mL, 0.176±0.014 mg QE/mL olarak bulunmuştur (120). Nabavi ve ark.'larının yapmış olduğu çalışmada *E. caucasicum* yapraklarının toplam fenolik ve toplam flavonoid içeriği sırasıyla 62.3±0.21 mg ve GAE/g 25.3±0.19 mg QE/g olarak bulunmuştur (121). *E. planum* bitkisinin sulu ekstresinin toplam flavonoid ve toplam fenolik içerikleri 57.6±2.4 mg RE/L, 342.5±16.2 mg GAE/L olarak tespit edilmiştir (122). Kholkhal ve ark.'larının yapmış olduğu çalışmada *E. maritimum* köklerinden elde edilen metanol ekstresinden elde edilen total fenolik ve total flavonoid değerleri 46.72±4.69 mg PE/g dw, 1.138±0.016 mg RE/g dw olarak belirlenmiştir (123). Riekandeh ve ark.'larının yaptığı çalışmada *E. caucasicum* inflorescence'in fenol ve flavonoid içerikleri sırasıyla 58.8±1.5 GAE mg/g, 18.2±0.7 QE mg/g olarak tespit edilmiştir (124). Sonuçlarda gözlenen bu farklılıklar bitkinin yetiştirildiği bölgeye, hasat zamanına, bitkinin içerdiği bileşenlerin çeşitliliğine ve farklı ekstrelerde çalışılmasına bağlı olduğu düşünülebilir.

Bitkilerin antioksidan kapasitelerinin değerlendirilmesi üzerine birçok tayin yöntemi bulunmasına rağmen antioksidan kapasiteyi tam anlamıyla yansıtan bir metot henüz geliştirilememiştir. Bu sebeple değişik testlerle antioksidan kapasitenin yorumlanmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu noktadan hareketle çalışmamızda FRAP, CUPRAC ve DPPH tayin yöntemi gibi farklı antioksidan testler kullanılmıştır. Yaptığımız çalışmada *E. billardieri* bitkisinin sulu ve metanollü ekstrelerinde antioksidan kapasite, $Fe^{+3} \rightarrow Fe^{+2}$ indirgenmesi temeline dayanan FRAP yöntemine göre trolox eşdeğeri cinsinden g numune başına μM olarak hesaplanıp belirlenmiştir. *E. billardieri* bitkisinin sulu ekstresinde FRAP değeri 358.67±0.91 μM trolox eşdeğeri/gram, metanollü ekstresinde 687.67±1.98 μM trolox eşdeğeri/gram arasında değişim göstermektedir. Bitki ekstrelerinin indirgeyici gücüyle antioksidan aktiviteleri arasında bir ilişki vardır (107). Bitki ekstrelerinin Fe^{+3} indirgeyici kapasiteleri FRAP değeri ne kadar yüksekse antioksidan özelliği o kadar yüksektir. Araştırmamızda özellikle metanol ekstreminin iyi derecede Fe^{+3} indirgeyici kapasitesine sahip olduğu ve bu sebeple elektron verebilme özelliği olduğu gözlenmiştir. Buna göre ekstreminin reaktif serbest radikal türlerini daha kararlı radikal olmayan türlere dönüştürerek, serbest radikal zincirini sonlandırabileceği düşünülebilir. Hajimehdipoor ve ark.'larının çalışmasında *E. billardieri* metanol ekstresinde FRAP değerini 40.0±1.1 mmol $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ / 100 g bulunmuştur (125). Başka bir çalışmada *E. palmatum*'un topraküstü kısmının metanol ekstresinde 0.2±0.0 mmol $Fe^{2+} g^{-1}$ bulunurken köklerinin metanol ekstresinde 0.1±0.0 mmol $Fe^{2+} g^{-1}$ bulunmuştur (126).

CUPRAC testi, Neokuproin-Nc'in Cu(II) ile meydana getirdiği (Cu(II)-Nc) kompleksine indirgenerek 450 nm'de maksimum absorbansı ölçülen [Cu(I)-Nc] kelatina indirgenme özelliğinden faydalanılarak antioksidan kapasitesiyi belirlemede kullanılan diğer bir yöntemdir (107). *E. billardieri* bitkisinin sulu ekstresinde 748.67±1.67 µM trolox eşdeğeri/gram, metanollü ekstresinde ise 938.67±2.39 µM trolox eşdeğeri/gram olarak bulunmuştur.

Serbest radikal temizleme aktivitesi tayinlerinde genel olarak kullanılan DPPH' radikali, koyu menekşe rengine sahip 517 nm seviyesinde maksimum absorbans değeri oluşturarak antioksidan madde eşliğinde bu absorbans miktarındaki azalıştan yararlanarak tayin edilen bir yöntemdir (109). Yüksek seviyedeki SC₅₀ değeri radikal temizleme aktivitesinin düşük olduğunu, düşük seviyedeki SC₅₀ değeri radikal temizleme aktivitesinin yüksek olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda *E. billardieri* bitkisinin sulu ekstresi (SC₅₀: 0.2677±0.020 mg/mL), metanollü ekstresine (SC₅₀: 0.1162±0.028 mg/mL) göre daha düşük radikal temizleme aktivitesine sahip bulunmuştur. BHT değeri de 0.0322±0.0013 mg/mL olarak tespit edilmiştir. Bitkinin metanollü ekstresinin DPPH' radikali üzerine kuvvetli süpürücü etki göstermesine rağmen su ekstresi üzerine çok zayıf süpürücü etki göstermesi, metanollü ekstreye geçen aktif bileşenlerinin yapısında hidrojen donörü polifenolik bileşiklerin bulunmasından kaynaklanabildiğini düşündürmektedir. Ekstreler arasındaki sonuç farklılıklarının, çözücülerin polaritelerinin farklı olması ve dolayısıyla ekstreye geçen aktif bileşenlerin cinsi ve miktarı ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Hajimehdipoor ve ark.'larının çalışmasında *E. billardieri* metanol ekstresinin DPPH SC₅₀ değeri 86.5±6.4 µg/mL olarak bulunmuştur (125). Paun ve ark.'larının yaptığı çalışmada *E. planum* ekstrelerinde DPPH SC₅₀ değeri 0.316±0.034 mg/mL olarak bulunmuştur (122). Nabavi ve ark.'larının yapmış olduğu çalışmada *E. caucasicum* yapraklarının DPPH radikal temizleme aktivitesinin SC₅₀ değeri 0.27±0.02 mg/mL olarak bulunmuştur (121). Kholkhal ve ark.'larının yapmış olduğu çalışmada *Eryngium maritimum* köklerinden elde edilen metanol ekstresinin DPPH radikal temizleme aktivitesinin IC₅₀ değeri 0.2350±0.0056 mg/mL olarak bulunmuştur (123). Riekandeh ve ark.'larının yaptığı çalışmada *E. caucasicum* inflorescence ve BHA'nın DPPH radikal temizleme aktivitesinin IC₅₀ değeri sırasıyla 188.7±7.2 µg/mL ve 53.8±3.7 µg/mL olarak bulunmuştur (124).

Son zamanlarda kuvvetli antibiyotik direncine sahip olan mikroorganizma sayılarının artışı ile bu mikropların sebebiyet verdiği enfeksiyonun tedavisi zor bir hal almıştır. Bitkilerin tedavi edici özellikleri yalnız bir etken maddeye istinaden birçok birleşimin sinerjik etkisinden kaynaklandığı ve buna bağlı olarak bitkisel bileşimlerin sadece bir antibiyotikle yok edilmesi zor olan mikroorganizmaların dayanıklılığına engel olarak daha etkin bir tedavi şeklidir (127, 128). Bitki ekstrelerinden oluşturulan doğal antimikrobiyal maddelerin inhibitör etkiye sahip bileşimleri araştırma konusu olmuştur (129). Bitkisel ekstreler; taninler, polifenolik bileşikler, flavonoid, ve terpenler gibi birçok fitokimyasal maddeyi içerir. Fitokimyasal bileşikler, mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktiviteden sorumlu bileşiklerdir (130). Bitkilerden temin ettiğimiz su ekstrelerinin, n-hegzan, etanol ve metanol gibi çözücülerden oluşturulan ekstrelere göre daha az antimikrobiyal aktivitede olduğu rapor edilmektedir (128). Çalışmamızda, metanol tercih edilme sebebi bitkilerin içerdiği antimikrobiyal maddeleri daha iyi çözebilmesidir. Çeşitli ailelere mensup olan bitki çeşitlerinden elde edilen ekstrelerin farklı patojenlere karşı antimikrobiyal aktiviteleri içeren fazla sayıda araştırma vardır (131-133). Çalışmamızda *E. billardieri* bitkisinin sulu ekstresi teste tabii tutulan maya ve bakterilere karşı herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. Metanol ekstresiyle yapılmış olan deneyde gram negatif bakterilerden *K. Pneumonia*, *P. aeruginosa*, *Y. pseudotuberculosis* ve *E. coli*; gram pozitif bakterilerden *E. faecalis*, *B. cereus* ve *S. aureus*; gram almayan bakteriden *M. smegmatis*; maya mantarlarından *S. cerevisiae*, *C. albicans* ve *C. tropicalis* standartlarla karşılaştırıldığında orta derecede antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur. Alipour ve Khanmohammadi'nin yaptığı çalışmada *Eryngium bungei boiss* ve *Eryngium caucaseum* Trautv bitkilerinden hazırlanan ekstrelerin *Streptococcus sanguis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* ve *Streptococcus pyogene*'e karşı antibakteriyel aktivite gösterdikleri bulunmuştur (134). *E. billardieri*'nin antimikrobiyal aktivitesini tespit etmek amacıyla yaptığımız çalışmada hazırlanan ekstrelerin test edilen mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etkisi farklı çözücülerle elde edilip ve benzer olmayan karakterdeki bitki bileşenlerinin farklı etkileşiminden kaynaklanmaktadır.

Günümüzde değişen hayat koşullarıyla birlikte çoğu etkene bağlı olarak ortaya çıkan hastalıklar evrensel boyuta ulaşmıştır. Diyabet hastalığı ve alzheimer hastalığının görülme oranında son zamanlarda önemli artış göstermeye başlamıştır. Örnek verecek olursak, 67 saniyede bir Amerika'da alzheimer olan kişi sayısının 2050 yılına gelindiğinde

bu durumun 33 saniyeye kadar düşmesi beklendiği bildirilmektedir (135). Bunun yanısıra, şu an 366 milyon kişi diabetten etkilendiğini 2050'ye gelindiğinde bu sayının 552 milyona çıkacağı öngörülmektedir (136). Yeni süreçlerin ortaya çıkması hastalıkların tedavi süreçlerinde önemli stratejiler oluşturmaktadır. Stratejiler arasında en çok çalışılan konulardan birisi de anahtar enzimlerin inhibisyonudur. Hastalıkların patolojisinde hedef olan anahtar enzimler inhibe edilerek hastalıktan ortaya çıkacak bulguların düşürülmesi sağlanır. Asetilkolin bilişsel işlevlerde rol oynar. Asetilkolinesteraz sinaptik boşlukta kolin ve asetil oluşumunu katalize eder. Asetilkolinesteraz inhibitörleri, asetilkolinin hidrolizini önleyerek beyindeki seviyesini artırır. Bütirilkolinesteraz, beyinde sinirsel iletimde görev yapan kolinesteraz enzimlerindedir. Alzheimer hastalığının geç evresinde bütirilkolinesteraz aktivitesinin %40-90 arasında arttığı belirtilmiştir (137). Aynı zamanda senil plak oluşumunun ilk evresinde beta-amiloid agregasyonunda bütirilkolinesteraz aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (138). Bütirilkolinesteraz inhibisyonu, beta-amiloid protein seviyelerini düşürdüğü ve farelerde öğrenme performansını artırdığı rapor edilmiştir (139). Asetilkolinesteraz tayininde metanol ekstresiyle yapılan deneyde $\mu\text{g/mL}$ olarak konsantrasyonları sırasıyla 25, 50, 100, 200 verilirken, konsantrasyonlarının %inhibisyon değerleri sırasıyla 41.927 ± 2.02 , 48.529 ± 1.95 , 57.696 ± 3.05 , 72.282 ± 2.66 ve IC_{50} değeri $20.42 \pm 1.21 \mu\text{g/mL}$ bulunurken bütirilkolinesteraz tayininde ise $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyon değerleri sırasıyla 25, 50, 100, 200 verilirken, konsantrasyonlarının %inhibisyon değerleri sırasıyla 33.412 ± 1.27 , 43.602 ± 1.25 , 51.667 ± 1.61 , 66.746 ± 1.07 ve IC_{50} değeri $117.49 \pm 2.42 \mu\text{g/mL}$ bulunmuştur. Hajimehdipoor ve ark.'larının yaptığı çalışmada *E. billardieri* topraküstü kısmının metanol ekstresinin asetilkolinesteraz %inhibisyonu $8.0 \pm 2.1 \mu\text{g/mL}$ bulunmuştur (125).

Tirozinaz, melanin sentezinin önemli enzimi olup enzimin yok edilmesi deri hastalıklarının kontrolünde önem taşır (140). Bu amaçla glukozidaz ve amilaz için akarboz, kolinesteraz için galantamin, tirozinaz için kojik asit gibi inhibitörler yapay olarak üretilmiştir. Yapay inhibitörlerin yan etkileri olabilmektedir. Örneğin sindirim sistemi rahatsızlıklarına yol açması ve hepatotoksik özelliklerinin olması bunların kullanımlarında sakıncalar ortaya çıkarmıştır (141-143). Sentetik inhibitörlerin kullanım sakıncalarının olması nedeniyle bitkisel kökenli doğal inhibitörler ilgi odağı olmuştur. Vücudumuzda melanin sentezinin aşırı ya da az olmasıyla meydana gelen hiperpigmentasyon/hipopigmentasyon problemlerinde tirozinaz önemli bir enzim olarak bilinmektedir. Hiperpigmentasyon tedavisinde enzimi inhibe eden bileşikler, hipopigmentasyon

tedavisinde aktive eden bileşikler kullanılabilir (144). Bu amaçla bitki üzerinde yapılacak tirozinaz inhibitör aktivite çalışmaları, pigmentasyon problemlerinin tedavisinde stratejik öneme sahip olacaktır. *E. billardieri* su ekstresinin tirozinaz inhibitör etkisi 125.89 ± 2.45 $\mu\text{g}/\text{mL}$ iken metanol ekstresi 15.14 ± 2.14 $\mu\text{g}/\text{mL}$ buna ek olarak kojik asit standartının tirozinaz enzim inhibisyon değeri de 61.23 ± 1.36 $\mu\text{g}/\text{mL}$ olarak bulunmuştur. Metanol ekstresinin standart olarak kullanılan kojik asitten daha güçlü tirozinaz inhibitör aktiviteye sahip olduğu gözlenmektedir. Bu sonuca göre *E. billardieri* metanol ekstresinin hiperpigmentasyon tedavisinde kullanılabilirliğinin irdelenmesi yararlı olacaktır.

α -Amilaz ile α -glukozidaz enzimleri karbohidrat metabolizmasının önemli enzimleridir. α -amilaz ve α -glukozidaz'ın inhibe edilmesi diyabet hastalığında kan glukoz seviyesinin denetiminde önemli bir yer teşkil etmektedir (145). Diyabet kronik hiperglisemi ile karakterize ve tüm dünyada önemli bir sağlık problemi olan bir hastalıktır. Kanda sürekli yüksek glukoz seviyesi, kardiyovasküler hastalıklara, nöropatiye, retinopatiye, nefropatiye yol açar. Günümüzde kullanılan hipoglisemik ilaçlar, serum glikoz seviyesini normale getirebilmekte ancak gastrointestinal rahatsızlıklara neden olmaktadır. Bu nedenle, α -amilaz ve α -glukozidaz'ı inhibe eden ve yan etkisi olmayan etkili terapötik ajanların bulunması önem teşkil etmektedir (146). *E. billardieri* su ve metanol ekstrelerinin ve standart olarak kullanılan akarbozun α -amilaz IC_{50} değerleri sırasıyla 173.78 ± 3.75 , 107.15 ± 3.07 , 87.70 ± 2.23 $\mu\text{g}/\text{mL}$ olarak bulunmuştur. α -glukozidaz IC_{50} değerleri ise sırasıyla 269.15 ± 2.54 , 147.91 ± 1.97 , 77.62 ± 1.82 olarak bulunmuştur. Paun ve ark.'larının yaptığı çalışmada *E. planum* ekstrelerinde α -amilaz ve α -glukozidaz IC_{50} değerleri sırasıyla 10.72 ± 0.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ve 24.99 ± 1.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ olarak tespit edilmiştir (120).

Değişen hayat şartları ve beslenme alışkanlıklarına göre günümüzde hastalıklara yakalanma riski giderek artmaktadır. Bu durumun minimize edilmesi bilim dünyasının ilgilendiği konular arasındadır. Bitkilerin biyolojik aktiviteleri, yeni gıda ve ilaç formülasyonlarının gelişmesini sağlamada önemli görülmektedir. Sonuç olarak *E. billardieri* bitkisinin antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri ile asetilkolinesteraz, bütirilkolinesteraz, tirozinaz, α -amilaz ve α -glukozidaz inhibitör aktivitelerinin yüksek olduğu yapılan bu çalışmada gözlenmektedir. İçerdiği bileşenlerden dolayı, serbest radikallerle mücadelesinde olumlu etki sağlayacağı açıktır. Günümüzde yapay antioksidanların yerini alabilecek doğal antioksidanlarla yapılan çalışmaların sayısı gün

geçtikçe artış sağlamaktadır. Buna benzer araştırmalarla yüksek antioksidan aktiviteye sahip ekstreler tespit edilerek gıda sanayisinde antioksidan özelliklerinin araştırılmasıyla endüstriyel uygulamaya yönelik devamlılığı sağlanabilir. Bitkimiz antibakteriyel aktiviteye sahip olduğundan enfeksiyon tedavisinde, tirozinaz enzimini inhibe ettiğinden hiperpigmentasyon tedavisinde, antikolinesteraz etkisinden dolayı nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde, α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerini inhibe ettiğinden diyabet hastalığının tedavisinde çalışmamız bir ön çalışma niteliğindedir. Bu sonuçların daha ileri klinik çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir. Güvenli olabilecek ve etkin kullanılabilen ajanların bulunmasının günümüzde önemli hale gelmiştir. *E. billardieri* doğal ajanların önemli bir kaynağı olarak düşünülebilir. Bu nedenle *E. billardieri*'nin fitoterapik amaçlar için kullanımının daha ileri klinik araştırmalarla desteklenmesi önem taşımaktadır.

6. ÖNERİLER

1. Çalışmamızda *E. billardieri* bitkisinin sulu ve metanollü ekstraları kullanılmış, farklı polaritelere sahip farklı çözücüler kullanılarak da bu çalışma zenginleştirilebilir.
2. Çalışmamızda 3 farklı antioksidan test (FRAP, CUPRAC, DPPH) kullanılmıştır. Literatürde sık kullanılan diğer antioksidan yöntemler (ABTS Radikali Giderme Aktivitesinin Tayini, Süperoksit Radikali Giderme Aktivitesinin Tayini, H₂O₂ Giderme Aktivitesinin Tayini gibi) de çalışılıyorsa daha kapsamlı bir çalışma olurdu.
3. Çalışmanın devamı niteliğinde biyolojik aktif bileşiklerin belirlenmesi amacıyla izolasyon çalışmaları ve ardından belirlenen aktif bileşiklerin etkinliği deney hayvanları üzerinde *in vivo* olarak araştırılabilir.
4. *E. billardieri* bitkisinin metanol ekstresinin tirozinazı güçlü inhibe etmesi sonucumuzdan yola çıkarak deneysel olarak cilt lekeleri oluşturulmuş hayvanların pigmentasyon tedavisinde ekstremizin etkinliği incelenebilir.
5. Tez kapsamında *E. billardieri* bitkisinin metanol ekstresi, standart olarak kullanılan kojik asitten tirozinazı daha güçlü inhibe ettiği bulunmuştur. Kojik asit yerine doğal inhibitör olarak *E. billardieri* bitkisinin metanol ekstresinin farmakolojide ve gıda endüstrisinde kullanılabileceği çalışmalar yapılabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Baydar H (2009). Tıbbi ve aromatik bitkiler bilimi ve teknolojisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 51: 122-123.
2. Güleşçi N, Aygül İ (2016). Beslenmede yer alan antioksidan ve fenolik madde içerikli çerezler. Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 5(1): 109-129.
3. Chang TM (2012). Tyrosinase and tyrosinase inhibitors. Journal of Biocatalysis & Biotransformation 1: 2.
4. Chen JS, Wei C, Marshall MR (1991). Inhibition mechanism of kojic acid on polyphenol oxidase. Journal of Agricultural and Food Chemistry 39: 1897-1901.
5. Şentürk E, Şentürk M (2018). Gül ekstresinin kolinesteraz inhibisyon potansiyelinin belirlenmesi. Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi 33: 237-240.
6. Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A, Remesy C (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. The American Journal of Clinical Nutrition 81(1): 230-242.
7. Baytop T (1999). Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi Geçmişte ve Bugün. İkinci baskı. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul; Sayfa: 169.
8. Aslan Erdem S (2009). Türkiye’de yetişen bazı *Eryngium* türlerinde farmakognozik araştırmalar. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozi Anabilim Dalı, Ankara
9. Rammal H, Farhan H, Hawraa M, Hijazi A, Kobeissy A, Badran DB (2013). Antioxidant, cytotoxic properties and phytochemical screening of two Lebanese medicinal plants. International Research Journal of Pharmacy 4(5): 132-136.
10. Sezik E, Yeşilada E, Tabata M, Honda G, Tasaishi Y, Fujita Tanaka T, Takeda Y (1997). Traditional Medicine in Turkey VIII. Folk Medicine in East Anatolia; Erzurum, Erzincan, Ağrı, Kars, Iğdir Provinces. Economic Botany 51(3): 195-211.
11. *Eryngium billardieri* [Online]. Available from: <https://www.projectnoah.org/spotting/147255159/fullscreen> [Accessed 20 December 2019].
12. Keykubat B (2016). Tıbbi aromatik bitkiler ve iyi yaşam. Süreli Yaygın Yayın, İzmir Ticaret Borsası Dergisi 97: 33-39.
13. Kendir G, Güvenç, A (2010). Etnobotanik ve Türkiye’de yapılmış etnobotanik çalışmalara genel bir bakış. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi 30(1): 49-80.

14. Polat R, Cakilcioglu U, Satil F (2013). Traditional use of medicinal plants in Solhan (Bingöl-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology* 148: 951-963.
15. Sarer E, Solakel Pancalı S (1998). Composition of the essential oil from *Calamintha nepeta* (L.) Savi Subsp. *glandulosa* (Req.) P.W. Ball. *Flavour and Fragrance Journal* 13(1): 31-32.
16. Sies H (1991). Oxidants and antioxidants *Pathophysiology* 91(3): 31-38.
17. Sies H (1991). Oxidative stress, from basic research to clinical application. *The American Journal of Medicine* 91(3): 31-37.
18. Sayan H, Çetin E, Yarım İ, Gönül B (2000). Yüksek irtifada antrenman yapan kayakçılarda C vitamini eritrosit süperoksit dismutaz enzim aktivitesi ve lipid peroksidasyonu düzeyleri üzerine etkisi. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi* 20: 5-10.
19. Kolaylı S, Kucuk M, Duran C, Candan F, Dinçer B (2003). Chemical and antioxidant properties of *Laurocerasus officinalis* Roemer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 7489-7494.
20. Yanık F, Çetinbaş A, Vardar F (2018). Bitkilerde programlı hücre ölümü. *Marmara Fen Bilimleri Dergisi* 1: 221-230.
21. Halliwell B, Gutteridge JMC (2007). *Free radicals in biology and medicine*. Fourth edition. Oxford University Press. New York
22. Brent JA, Rumack BH (1993). Role of free radicals in toxic hepatic injury I. Free radical biochemistry. *Clinical Toxicology* 31(1): 139-171.
23. Dizdaroglu, M (1999). Mechanisms of oxidative DNA damage; lesions and their measurement. *Advances in DNA Damage and Repair* 302: 67-87.
24. Halliwell B, Gutteridge JMC (1989). *Free radicals in biology and medicine*. Second edition. Clarendon Press, Oxford; Pages: 22-85.
25. Dizdaroglu M (1991). Chemical determination of free radical-induced damage to DNA. *Free Radical Biology and Medicine* 10(3): 225-242.
26. Bayır Y (2008). Sıçanlarda isoprotrenol ile oluşturulan miyokard infarktüsü modelinde DNA hasarı ve oksidatif stres üzerine lasidipin, ramipril ve valsartan'ın etkilerinin incelenmesi. Doktora tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Erzurum
27. Mercan U (2004). Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi* 15: 91-96.

28. Şener G, Yeğen Berrak Ç (2009). İskemi reperfüzyon hasarı. Marmara Üniversitesi Klinik Gelişim Dergisi 22: 5-13.
29. Shinde A, Ganu J, Naik P (2012). Effect of free radicals & antioxidants on oxidative stress: a review. Journal of Dental & Allied Sciences 1(2): 63- 66.
30. Davies KJA (2000). Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. International Union of Biochemistry and Molecular Biology Life 50: 279-289.
31. Hasler CM (2000). Plants as medicine: The role of phytochemicals in optimal health. In Phytochemicals and Phytopharmaceuticals, edited by F. Shahidi and C.-T. Ho, pp. 1-12. Champaign, Illinois: AOAC Press.
32. Sen S (2011). Chakraborty R. The role of antioxidants in human health. American Chemical Society, Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy. Chapter 1: 1-37.
33. Valko M, Leibfritz D, Moncola J, Cronin MTD, Mazura M, Telser J (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 39: 44-84.
34. Karabulut H, Gülay MŞ (2016). Antioksidanlar. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 1: 65-76.
35. Venkat Ratnam D, Ankola DD, Bhardwaj V, Sahana DK, Ravi Kumar MNV (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: a pharmaceutical perspective. Journal of Controlled Release 113(3): 189–207.
36. Rice-Evans C, Miller N, Paganga G (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends in Plant Science 2(4): 152-159.
37. Gülçin İ, Topal F, Öztürk Sarıkaya SB, Bursal E, Bilsel G, Gören AC (2011). Polyphenol contents and antioxidant properties of medlar (*Mespilus germanica* L.). Records of Natural Products 5(3): 158-175.
38. Madhavi DL, Deshpande SS, Salunkhe DK (1996). Food antioxidants: Technological, toxicological and health perspectives. Marcel Dekker, New York.
39. Pellegrini N, Miglio C, Del Rio D (2009). Effect of domestic cooking methods on the total antioxidant capacity of vegetables. International Journal of Food Sciences and Nutrition 60(Suppl 2): 12-22.
40. Ögüt S (2014). Doğal antioksidanların önemi. Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 11(1): 25-30.

41. Doğmuş D, Durucasu İ (2013). Keten tohumu çeşitlerinin n-bütanol fraksiyonlarının fenolik bileşenlerinin antioksidan aktivitesi. Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi 9(1): 47-56.
42. Sen S, Chakraborty R, Sridhar C, Reddy YSR, De B (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research 3(1): 91-100.
43. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. International Journal of Biomedical Science 4(2): 89-96.
44. Aydemir B, Karadağ Sarı E (2009). Antioksidanlar ve büyüme faktörleri ile ilişkisi. Kocatepe Veterinary Journal 2(2): 56-60.
45. Young IS, Woodside JV (2001). Antioxidants in health and disease. Journal of Clinical Pathology 54(3): 176-186.
46. Çaylak E (2011). Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. Tıp Araştırmaları Dergisi 9(1): 73-83.
47. Kirkman HN, Galiano S, Gaetani GF (1987). The function of catalase-bound NADPH. Journal of Biological Chemistry 262(2): 660-666.
48. Limon-Pacheco J, Gonsbatt ME (2009). The role of antioxidants and antioxidantrelated enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis 674(1-2): 137-147.
49. Özkan A, Gündüz G, Çıplak B, Fıskın K (2000). Kimyasal mücadele uygulanmış *Dociostaurus maroccanus* epidemik popülasyonundan alınan örneklerde antioksidan enzim aktiviteleri. Turkish Journal of Biology 24: 141-149.
50. Chaudiere J, Ferrari-Iliou R (1999). Intracellular antioxidants: From chemical to biochemical mechanisms. Food and Chemical Toxicology 37: 949-962.
51. Pektaş İ (2009). Bitki gelişim düzenleyicilerinin antioksidan enzimler üzerindeki etkisinin araştırılması. Yüksek lisans tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir
52. Görünmezoğlu Ö (2008). Kayısı ve incir meyvelerinin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması. Yüksek lisans tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya (Biyokimya) Anabilim Dalı, Aydın
53. Şener G, Yeğen Berrak Ç (2009). İskemi reperfüzyon hasarı. Klinik Gelişim Dergisi 22: 5-13.

54. Dündar Y, Aslan R (1999). Hücre moleküler statüsünün anlaşılması ve fizyolojik önem açısından radikaller, antioksidanlar. *İnsizyon Cerrahi Tıp Bilim Dergisi* 2(2): 134-142.
55. Shahidi F (2000). Antioxidants in food and food antioxidants. *Nahrung* 44(3): 158-163.
56. E vitaminin kimyasal yapısı [Online]. Available from: <https://www.turkcerrahi.com/tip-sozlugu/e-vitamini/e-vitamini-2/>. [Accessed 16 November 2019].
57. Al-Attar AM (2011). Antioxidant effect of vitamin E treatment on some heavy metals-induced renal and testicular injuries in male mice. *Saudi Journal of Biological Sciences* 18(1): 63–72.
58. Di Mambroa V, Azzolini A, Valim Y, Fonseca M (2003). Comparison of antioxidant activities of tocopherols alone and in pharmaceutical formulations. *International Journal of Pharmaceutics* 262(1-2): 93–99.
59. Ahmet A(2007). *Anemone narcisissiflora* bitkisinin karakterizasyonu ve biyolojik aktivitesinin incelenmesi. Yüksek lisans tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya (Biyokimya) Anabilim Dalı, Trabzon
60. Keskin H, Erkmén G (1987). *Besin kimyası*. Beşinci basım. Güryay Matbaacılık, İstanbul
61. Karoten nedir? Nerelerde karoten bulunur? [Online]. Available from: <http://www.bilgibaba.org/yazi/karoten-nedir-nelerde-karoten-bulunur> [Accessed 4 November 2019].
62. Mortensen A, Skibsted LH, Truscott TG (2001). The interaction of dietary carotenoids with radical species. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 385(1): 13-19.
63. Keha EE, Küfrevioğlu Öİ (2011). *Biyokimya, Aktif Yayınevi, İstanbul*; Sayfa: 632.
64. Naidu KA (2003). Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview, *Nutrition Journal* 21: 2-7.
65. Güçlü K, Sözgen K, Tütem E, Ozyürek M, Apak R (2005). Spectrophotometric determination of ascorbic acid using copper(II)-neocuproine reagent in beverages and pharmaceutical. *Talanta Journal* 65(5): 1226-1232
66. Buettner GR (1993). The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alpha-tocopherol and ascorbate. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 300(2): 535–543.

67. Halliwell B, Gutteridge JMC (1999). Free radicals in biology and medicine. Third edition, Oxford University Press, New York, USA; Pages: 10-121.
68. Temel beslenme teorisi II: Vitaminler hindistan cevizi suyu çalkalama, şeftali, kırmızı meyveler ve spirulina [Online]. Available from: <https://www.esfacilsi.sabescómo.com/teoria-nutricion-basica-ii-vitaminas-batido-agua-coco-melocoton-frutos-rojos-espirulina/>. [Accessed 24 November 2019].
69. Koca N, Karadeniz F (2005). Gıdalardaki doğal antioksidan bileşikler. *Gıda* 30(4): 229-236.
70. Folik asit eksikliği [Online]. Available from: <http://diyetyapmakistiyorum.com/folik-asit-eksikligi/>. [Accessed 27 November 2019].
71. B9 vitamini (Folik asit/ Folat) [Online]. Available from: <http://bagisiklik.com/bagisiklik/b9-vitamini-folik-asit-folat/>. [Accessed 7 November 2018].
72. Harborne JB (1982). Introduction to ecological biochemistry. Academic Press Inc. London; 278: 388-91.
73. Kris-Etherton PM, Hecker KD, Bonanome A, Coval SM, Binkoski AE, Hilpert KF, Griel AE, Etherton TD (2002). Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *The American Journal of Medicine* 113: 71-88.
74. Patil BS, Ayaprakasha GKJ, Chidambara Murthy K, Vikram A (2009). Bioactive compounds: Historical perspectives, opportunities, and challenges. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 8142-8160.
75. Neilson A, Ferruzzi M, Coulston A, Boushey C (2017). Bioavailability and metabolism of bioactive compounds from foods. *Academic Press. Nutrition in the Prevention and Treatment of Disease* 4: 407-423.
76. Croteau R, Kutchan TM, Lewis NG (2000). Natural products (secondary metabolites). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants* 24: 1250-1319.
77. Wink M (1999). Functions of plant secondary metabolites and their exploitation in biotechnology, *Annual plants reviews*, Sheffield Academic Press, Germany 3: 1-14
78. Yılmaz İ (2010). Antioksidan içeren bazı gıdalar ve oksidatif stres. İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi Dergisi 17(2): 143-153.
79. Alasalvar C, Shahidi F, Liyana Pathirana CM, Ohshima T (2003). Turkish tumbul hazelnut (*Corylus avellana L.*) 1. compositional characteristics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(13): 3790-3796.

80. Wollgast J, Anklam E (2000). Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: Changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International* 33(6): 423-347.
81. Alasavar C, Grigor JM, Zhang D, Quantick PC, Shahidi F (2001). Comparison of volatiles, phenolics, sugars, antioxidant vitamins, and sensory quality of different colored carrot varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49(3): 1410-1416.
82. Shirley BW (1996). Flavonoid biosynthesis: 'new' functions for an 'old' pathway. *Trends in Plant Science* 1(11): 377-382.
83. Balasundram N, Sundram K. and Saman S (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence and potential uses. *Food Chemistry* 99(1): 191-203.
84. Fresco P, Borger F, Diniz C, Marques MPM (2006). New insights on the anticancer properties of dietary polyphenols. *Medicinal Research Reviews* 26(6): 747-766.
85. Kolaç T, Gürbüz P, Yetiş G (2017). Doğal ürünlerin fenolik içeriği ve antioksidan. *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Dergisi* 5(1): 26-42.
86. Scalbert A, Manach C, Morand C, Remesy C, Jimenez L (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 45(4): 287-306.
87. Peyrat-Maillard MN, Bonnely S, Berset C (2000). Determination of the antioxidant activity of phenolic constituents of *Cytisus multiflorus*. *Food Chemistry* 131: 652-659.
88. Havsteen BH (2002). The Biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics* 96(2-3): 167-202.
89. Erulund I (2004). Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and narindgenin, Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutrition Research* 24(10): 851-874.
90. Fenolik bileşikler ve *Capsicum annum* [Online]. Available from: <https://slideplayer.biz.tr/slide/11997860/>. [Accessed 2 December 2019].
91. Owen RW, Giacosa A, Hull WE, Haubner R, Spiegelhalder B (2000). The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. *European Journal of Cancer* 36(10): 1235-1247.

92. Keha EE, Küfrevioğlu Öİ (2004). *Biyokimya*. Aktif Yayınevi, Erzurum; Sayfa 642.
93. Costin GE, Hearing VJ (2007). Human skin pigmentation: Melanocytes modulate skin color in response to stress. *The FASEB Journal* 21: 976-994.
94. Riley PA (2003). Melanogenesis and melanoma. *Pigment Cell Research* 16(5): 548-552.
95. Ahn SJ, Koketsu M, Ishihara H, Lee SM, Ha SK, Lee KH, Kang TH, Kima SY (2006). Regulation of melanin synthesis by selenium-containing carbohydrates. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 54: 281-286.
96. Mora PC, Baraldi PG (2000). Dermocosmetic applications of polymeric biomaterials. In: dumitrus, second edition, polymeric biomaterials. Marcel Dekker New York and Basel; Pages: 459-490.
97. Lermi M (2018). *Isatis cappadocica*'nın antioksidan, antimikrobiyal, tirozinaz inhibitör ve sitotoksik etkilerinin incelenmesi. Yüksek lisans tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılıkta Biyokimya Anabilim Dalı, Trabzon
98. Muray AP, Faraoni MB, Castro MJ, Alza NP, Cavallaro V (2013). Natural AChE inhibitors from plants and their contribution to Alzheimer's disease therapy. *Current Neuropharmacology* 11(4): 388-413.
99. Gualteri F (2000). Cholinergic receptors and neurodegenerative diseases. *Pharmachemistry Library* 31: 85-89.
100. Castro AA, Soares FV, Pereira AF, Polisel DA, Caetano MS, Leal DHS, Cunha EFF, Nepovimova E, Kuca K, Ramalho TC (2019). Non-conventional compounds with potential therapeutic effects against Alzheimer's disease. *Expert Review of Neurotherapeutics* 19(5): 375-395.
101. Puls W, Keup U, Krause HP, Thomas G, Hoffmeister F (1977). Glucosidase inhibition a new approach to the treatment of diabetes, obesity and hyperlipoproteinaemia. *Naturwissenschaften* 64: 536.
102. MAI TT, THU NN, TIEN PG, CHUYEN NV, (2007). Alpha-glucosidase inhibitory and antioxidant activities of vietnamese edible plants and their relationships with polyphenol contents. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* 53: 267-276.
103. Umar A, Ahmed QU, Muhammad BY, Dogarai BB, Soad SZ (2010). Anti-hyperglycemic activity of the leaves of *Tetracera scandens* Linn. Merr.

- (Dilleniaceae) in alloxan induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 131(1): 140-145.
104. Temiz A (2000), *Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri*, 3. Baskı, Hatiboğlu Yayınevi, Ankara.
 105. Slinkard K, Singleton VL (1977). Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods. *American Journal Enology Viticulture* 28: 49-55.
 106. Arvouet-Grand A, Vennat B, Pourrat A, Legret P (1994). Standardization of a propolis extract and identification of principal constituents. *Journal of Pharmacy* 49(6): 462-468.
 107. Benzie IF, Strain JJ (1999). Ferricreducing/ antioxidantpowerassay: Directmeasure of total antioxidantactivity of biological fluid sand modified version forsimultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acidconcentration. *Methods in Enzymology* 299: 15-27.
 108. Apak R, Güclü K, Ozyürek M, Karademir SE, Ercag E (2006). The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbalteas. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 57(5-6): 292-304.
 109. Blois MS (1958). Antioxidant determinations by the use of stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
 110. Perez C, Pauli M, Bazerque P (1990). “An antibiotic assay by the well agar method”. *Acta Biologia et Medicine Experimentalis* 15: 113-115.
 111. Masuda T, Yamashita D, Takeda Y, Yonemori S (2005). Screening for Tyrosinase Inhibitors among Extracts of Seashore Plants and Identification of Potent Inhibitors from *Garcinia subelliptica*. *Bioscience, Biotechnolog and Biochemistry* 69(1): 197-201.
 112. Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology* 7: 88-95.
 113. Yang XW, Huang MZ, Jin YS, Sun LN, Song Y, Chen HS (2012). Phenolics from *bidens bipinnata* and their amylase inhibitory properties. *Fitoterapia* 83(7): 1169-1175.
 114. Palanisamy UD, Ling LT, Manaharan T, Appleton D (2011). Rapid isolation of geranin from *Nephelium lappaceum* rind waste and its anti-hyperglycemic activity. *Food Chemistry* 127(1): 21-27.

115. Yakoub AR, Abdehedic O, Jridi M, Elfalleh W, Nasri M, Ferchichi A (2018). Flavonoids, phenols, antioxidant and antimicrobial activities in various extracts from Tossa jute leave (*Corchorus olitorus L.*) Industrial Crops & Products 118: 206–213.
116. Harborne JB, Williams CA (2000). Advances in flavonoid research since 1992. Phytochemistry 55(6): 481-504.
117. Paşayeva L, Köngül E, Karatoprak GŞ, Tugay O (2017). *Eryngium billardieri Delar.* Ekstrelerinin Toplam Fenolik ve Flavonoid Madde Kompozisyonlarının ve Antioksidan Etkilerinin Belirlenmesi. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 26(1): 18-23.
118. Rjeibi I, Saad AB, Ncib S, Souid S (2017). Phenolic composition and antioxidant properties of *Eryngium maritimum* (sea holly). Journal of Coastal Life Medicine 5(5): 212-215.
119. Güneş MG, İşgör BS, İşgör YG, Shomalı Moghaddam N, Geven F, Yıldırım O (2014). The effects of *Eryngium campestre* extracts on glutathione-s-transferase, glutathione peroxidase and catalase enzyme activities. Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences 11(3): 339-346.
120. Paun G, Neagu E, Moroceanu V, Albu C, Savin S, Radu GL (2019). Chemical and bioactivity evaluation of *Eryngium planum* and *Cnicus benedictus* polyphenolic-rich extracts. Biomedical Research International 4: 1-10
121. Nabavi SM, Ebrahimzadeh MA, Nabavi SF, Jafari M (2008). Free radical scavenging activity and antioxidant capacity of *Eryngium caucasicum trautv* and *Froripia subpinnata*. Pharmacologyonline 3: 19-25.
122. Paun G, Neagu E, Albu C, Radu GL (2015). Inhibitory potential of some Romanian medicinal plants against enzymes linked to neurodegenerative diseases and their antioxidant activity. Pharmacognosy Magazine 11(1): 110–116.
123. Kholkhal Willias F, Bekhechi C, Atik Bekkara F (2012). *Eryngium maritimum*: A rich medicinal plant of polyphenols and flavonoids compounds with antioxidant, antibacterial and antifungal activities. Current Research Journal of Biological Sciences 4(4): 437-443.
124. Riekandeh SM, Mazandarani M, Ebrahimzadeh MA, Zargarı MB (2016). Antioxidant activities of *Eryngium caucasicum* inflorescence. European Review for Medical and Pharmacological Sciences 20: 946-949.

125. Hajimehdipoor H, Ara L, Moazzeni H, Esmaili S (2016). Evaluating the antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activities of some plants from Kohgiluyeh va Boyerahmad province, Iran. *Research Journal of Pharmacognosy* 3(4): 1-7.
126. Marcetic MD, Petrovic SD, Milenkovic MT, Niketic MS (2014). Composition, antimicrobial and antioxidant activity of the extracts of *Eryngium palmatum* Pania double dagger and Vis. (Apiaceae). *Central European Journal of Biology* 9(2): 149-155.
127. Shanthi Sree KS, Yasodamma N, Paramageetham CH (2010). Phytochemical screening and *in vitro* antibacterial activity of the methanolic leaf extract: *Sebastiania chamaelea* Müell. Arg. *The Bioscan* 5(1): 173-175.
128. Mohd NA, Ahmat N, Adnan A, Mohamad SA, Ruzaina SA (2011). *In vitro* antibacterial and radical scavenging activities of Malaysian table salad. *African Journal of Biotechnology* 10: 5728-5735.
129. Dash BK, Sultana S, Sultana N (2011). antibacterial activities of methanol and acetone extracts of Fenugreek (*Trigonella foenum*) and Coriander (*Coriandrum sativum*). *Life Science and Medicine Research* 27: 1-8.
130. Mojab F, Poursaeed M, Mehrgan H, Pakdaman S (2008). Antibacterial activity of *Thymus daenensis* methanolic extract. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Science* 21(3): 210-213.
131. Benli M, Güney, K, Bingöl Ü, Geven F, Yiğit N (2007). Antimicrobial activity of some endemic plant species from Turkey. *African Journal of Biotechnology* 6: 1774-1778.
132. Berber İ, Özgökçe F, Şeker A (2009). Van yöresinde yetişen bazı bitkilerin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi* 14: 117-121.
133. Maregesi, SM, Pieters L, Ngassapa OD, Apers S, Vingerhoets R, Cos P, Berghe DA, Vlietinck AJ (2008). Screening of some Tanzanian medicinal plants from bunda district for antibacterial, antifungal and antiviral activities. *Jornal of Ethnopharmacology* 119(1): 58-66.
134. Alipour M, Khanmohammadi O (2011). Antibacterial activity of plant extracts against oral and skin pathogens. *African Journal of Microbiology Research* 5(19): 2909-2911.

135. Alzheimer Association (2014). Alzheimer's disease facts and figures Alzheimer's & dementia 2014; 10: e 47- e 92 [Online]. [Available from: https://www.alz.org/downloads/facts_figures_2014.pdf]. [Accessed 3 May 2016].
136. Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J (2011). Diabetes atlas: Global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Research and Clinical Practice* 94(3): 311-321.
137. Darvesh S. (2016). Butyrylcholinesterase as a diagnostic and therapeutic target for Alzheimer's disease. *Current Alzheimer Research* 13(10): 1173-1177.
138. Reid GA. Darvesh S (2015). Butyrylcholinesterase-knockout reduces brain deposition of fibrillar beta-amyloid in an Alzheimer mouse model. *Neuroscience* 298: 424-435.
139. Greig NH, Utsuki T, Ingram DK, Wang Y, Pepeu G, Scali C, Yu QS, Mamczarz J, Holloway HW, Giordano T, Chen D, Furukawa K, Sambamurti K, Brossi A, Lahiri DK. (2005). Selective butyrylcholinesterase inhibition elevates brain acetylcholine, augments learning and lowers Alzheimer beta-amyloid peptide in rodent. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102(47): 17213-17218.
140. Kim YJ, Uyama H (2005). Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: Structure, inhibition mechanism and perspective for the future. *Cellular and Molecular Life Sciences* 62(15): 1707-1723.
141. Bhat M, Zinjarde SS, Bhargava SY, Kumar AR, Joshi BN (2011). Antidiabetic Indian plants: A good source of potent amylase inhibitors. *Evid-Based Complementary and Alternative Medicine* Volume 2011:1-6
142. Gulacti T, Kusman T (2014). Lamiaceae family plants as a potential anticholinesterase source in the treatment of Alzheimer's disease. *Bezmialem Science* 1: 1-25
143. Kamagaju L, Morandini R, Bizuru E, Nyetera P, Nduwayezu JB, Stevigny C, et al (2013). Tyrosinase modulation by five Rwandese herbal medicines traditionally used for skin treatment. *Jornal of Ethnopharmacology* 146(3): 824-834.
144. Gholamhoseinian A, Razmi Z (2012). Screening the methanolic extracts of some plants for tyrosinase inhibitory activity. *Toxicology & Environment Chemistry* 94(2): 310-318.

145. Etxeberria U, de la Garza AL, Campion J, Martinez JA, Milagro FI (2012). Antidiabetic effects of natural plant extracts via inhibition of carbohydrate hydrolysis enzymes with emphasis on pancreatic alpha amylase. *Expert Opinion Therapeutic Targets* 16(3): 269-97.
146. Liu S, Ai Z, Qu F, Chen Y, Ni D. (2017). Effect of steeping temperature on antioxidant and inhibitory activities of green tea extracts against alpha-amylase, alpha-glucosidase and intestinal glucose uptake. *Food Chemistry* 234: 168-173.



8. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Soyadı, Adı : ATİK Gülizar
Uyruğu : T.C
Doğum Tarihi ve Yeri : 3/7/1993, Lüleburgaz
Telefon : Bekar
E-Posta : gulizaratik59@gmail.com
Yazışma Adresi (İş) : Sanayi, Devlet Sahilyolu Cad. Forum Trabzon No:101 D:53,
61200 Trabzon Merkez/Trabzon

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	3.52/4 Karadeniz Teknik Üniversitesi SABE Eczacılık Fak. Biyokimya AbD.	2020
Lisans	2.97/4 Karadeniz Teknik Üniv. Fen Fak. Kimya Bölümü	2016
	2.97/4 Karadeniz Teknik Üniv. Eğitim Fak. Pedagojik Formasyon Kimya Öğretmenliği	2016
Lise	78.64/100 Hayrabolu Hüseyin Korkmaz Lisesi	2011

AKADEMİK/MESLEKİ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl -Yıl)
--------	-------	-----------------

YABANCI DİL

İngilizce, Bulgarca, Arapça

HOBİLER

1. Seyahat yapmak
2. Spor yapmak