



GİRESUN ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GİRESUN YÖRESİNDEKİ BAZI YENİLEBİLİR BİTKİLERİN FARKLI
ÇÖZÜCÜLERDEKİ EKSTRELERİNİN ANTI-ÜREAZ AKTİVİTELERİNİN
İNCELENMESİ

YASEMİN ŞAHİN

OCAK 2013

GİRESUN ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GİRESUN YÖRESİNDEKİ BAZI YENİLEBİLİR BİTKİLERİN FARKLI
ÇÖZÜCÜLERDEKİ EKSTRELERİNİN ANTI-ÜREAZ AKTİVİTELERİNİN
İNCELENMESİ

YASEMİN ŞAHİN

OCAK 2013

Fen Bilimleri Enstitü Müdürünün Onayı.

.../.../...

Doç. Dr. Kültiğın ÇAVUŞOĞLU

Müdür

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak Kimya Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. Murat TAŞ

Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumu ve Yüksek Lisans tezi olarak bütün gerekliliklerini yerine getirdiğini onaylarız.

Doç. Dr. Bahar SÖKMEN

Danışman

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Bahar SÖKMEN

Yrd. Doç. Dr. E. Gülçeri GÜLEÇ PEKER

Yrd. Doç. Dr. Murat YOLCU

ÖZET

GİRESUN YÖRESİNDEKİ BAZI YENİLEBİLİR BİTKİLERİN FARKLI ÇÖZÜCÜLERDEKİ EKSTRELERİNİN ANTI-ÜREAZ AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

ŞAHİN, Yasemin

Giresun Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Bahar SÖKMEN

OCAK 2013, 82 sayfa

Üreaz, ürenin amonyak ve karbondioksit hidrolizini katalizleyen bir enzimdir. Üreaz, hayvan, bitki ve mikroorganizmalarda bulunan azot metabolizmasının önemli enzimlerindenidir. Üreaz inhibitörleri çeşitli hastalıklarda yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bu çalışmada, Giresun yöresinde yetişen bazı yenilebilir bitkilerin farklı çözücülerdeki ekstralarının üreaz enzim aktivitesi üzerine inhibisyon etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla bu bitkilerin sulu, metanollü ve etil asetatlı ekstralarının üreaz aktivitesi üzerine inhibitör etkileri spektrofotometrik ölçümlerle analiz edildi. Elde edilen bitki ekstralarının üreaz üzerine farklı inhibitör etki gösterdikleri belirlendi. Bu bitkiler arasında mendek (*Aegopodium podagraria*) (IC_{50} $0,0003 \pm 0,0001 \mu\text{g/mL}$) sulu ekstresinin, pazı (*Beta vulgaris L. var. Cicla*) (IC_{50} $0,00009 \pm 0,000001 \mu\text{g/mL}$) etil asetatlı ekstresi ve yayla pancarının (*Capsella bursa-pastoris L.*) (IC_{50} $0,003 \pm 0,0021 \mu\text{g/mL}$) metanollü ekstresinin üreaz enzimini en yüksek oranda inhibe ettiği bulundu.

Anahtar Kelimeler: Yenilebilir Bitki, Enzim, Enzim İnhibisyonu, İnhibitör, Üreaz.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ANTI-UREASE ACTIVITIES OF EXTRACTS IN DIFFERENT SOLVENTS OF SOME EDIBLE PLANTS IN THE REGION OF GIRE SUN

SAHIN, Yasemin

University of Giresun

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry, Master Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Bahar SÖKMEN

JANUARY 2013, 82 pages

Urease is an enzyme that catalyzes the hydrolysis of urea to ammonia and carbon dioxide. Urease is an important enzyme of nitrogen metabolism that is found in animals, plants and microorganisms. The urease inhibitors are widely used in various diseases.

In this study, inhibitory effects of extracts of some edible plants growing in the region of Giresun in different solvents on urease activity were investigated. For this purpose, inhibitory effects on urease activity of these plants which were of extracts prepared with water, methyl alcohol and ethyl acetate were analysed by spectrophotometric measurements. As a result of analysis, it was determined that the plant extracts obtained shown different inhibitory effects on urease. Among this plants, the most effective urease inhibitors were water extract of mendek (*Aegopodium podagraria*) ($IC_{50} 0,0003 \pm 0,0001 \mu\text{g/mL}$), ethyl acetat extract of pazi (*Beta vulgaris L. var. Cicla*) ($IC_{50} 0,00009 \pm 0,000001\mu\text{g/mL}$) and methyl alcohol extract of yayla pancarı (*Capsella bursa-pastoris L.*) ($IC_{50} 0,003 \pm 0,0021\mu\text{g/mL}$).

Keywords: Edible Plant, Enzyme, Enzyme Inhibition, Inhibitory, Urease.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans öğrenimim boyunca bilgisi ve tecrübesiyle tüm desteğini, yakın ilgisini eksik etmeyen saygıdeğer danışman hocam Doç. Dr. Bahar SÖKMEN'e tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Literatür taramalarım sırasında verdiği destek, bilgi paylaşımı ve tüm yardımları için Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan Yrd. Doç. Dr. Fırat Zafer MENGELOĞLU'na teşekkür ederim.

Laboratuar çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Yasemin SAĞKAL ve Sibel EŐ'e candan teşekkür ederim.

Yaşamım boyunca ve eğitimimin her aşamasında maddi-manevi destek sağlayan, sabır ve yol gösteren, her zaman hoşgörüsüne sığındığım sevgili aileme sonsuz teşekkür ederim.

Bu proje **Giresun Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinasyon Biriminin FEN-BAP-C-160512-10** numaralı projesi ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
TABLolar DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
RESİMLER DİZİNİ.....	IX
SEMBOLLER DİZİNİ.....	X
1. GİRİŞ.....	1
1.1.Enzimler Hakkında Genel Bilgi	2
1.1.1.Enzimlerin Yapısı	4
1.1.2.Enzimlerin Sınıflandırılması.....	8
1.1.3.Enzim Aktivitesini Etkileyen Faktörler	10
1.1.3.1.Ortam pH'ı	10
1.1.3.2. Sıcaklık.....	11
1.1.3.3. Enzim Konsantrasyonu	11
1.1.3.4. Substrat Konsantrasyonu.....	11
1.1.3.5. Zamanın Etkisi	12
1.1.3.6. İnhibitör	12
1.1.4. Enzim İnhibisyonu.....	13
1.1.4.1. Yarışmalı İnhibisyon (Kompetitif İnhibisyon)	14
1.1.4.2. Yarışmasız İnhibisyon (Nonkompetitif İnhibisyon).....	14
1.1.4.3. Yarı Yarışmalı İnhibisyon (Unkompetitif İnhibisyon)	15
1.1.5.Enzimlerin Biyomedikal Kullanımı.....	17
1.1.6.Enzimlerden Yararlanılarak Yapılan Tedaviler.....	18
1.2. Üreaz	21
1.2.1. Üreaz Enzimi ve Özellikleri	21
1.2.2. Üreaz Enziminin Moleküler Özellikleri	23

1.2.3. Üreaz Enziminin Üç Boyutlu Yapısı	23
1.2.4. Enzimatik Tepkime Mekanizması ve Nikel İyonunun Rolü	26
1.2.5. Patojenlerde Üreaz Enziminin Rolü	27
1.2.6. Bitki Metabolizmasında Üreazların Rolü	28
1.2.7. Üreaz Enzimi İçin İnhibitörler.....	29
1.2.8. Üreaz Enziminin Kullanım Alanları.....	33
1.2.9. Anti-Üreaz aktivitesi ile İlgili Literatür Taraması	36
2. MATERYAL VE METOT.....	38
2.1.Deneylerde Kullanılan Aletler ve Kimyasal Maddeler.....	38
2.2.Enzim İnhibisyonu Tayininde Kullanılan Bitki Materyalleri	38
2.2.1. Kara Lahana.....	39
2.2.2. Sakarca.....	39
2.2.3. Diken Ucu	40
2.2.4. Kuzukulağı.....	40
2.2.5. Çalı Çileği	41
2.2.6. Ezeltire	42
2.2.7. Pazı.....	42
2.2.8. Mendek	43
2.2.9. Gücükdene	44
2.2.10. Yayla Pancarı	44
2.3.Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması.....	45
2.3.1. Sulu Ekstrelerin Hazırlanması	45
2.3.2. Metil Alkol ve Etil Asetat Ekstrelerinin Hazırlanması.....	45
2.4.Anti-Üreaz Aktivitesinin Ölçülmesi	45
3. ARAŞTIRMA BULGULARI	47
3.1.Bitki Ekstrelerinin Anti-Üreaz İnhibisyon Aktivitesi	47
4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	60
KAYNAKLAR	66
ÖZGEÇMİŞ	82

TABLÖLAR DİZİNİ

TABLO

3.1 Bitkilerden hazırlanan sulu ekstrelerin üreaz üzerindeki % inhibisyon ve IC ₅₀ değerleri.....	47
3.2 Bitkilerden hazırlanan etil asetatlı ekstrelerin üreaz üzerindeki % inhibisyon ve IC ₅₀ değerleri.....	51
3.3 Bitkilerden hazırlanan metanollü ekstrelerin üreaz üzerindeki % inhibisyon ve IC ₅₀ değerleri.....	55

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL

1.1 Enzim substrat ilişkisi.	4
1.2 Katalizörlü ve katalizörsüz reaksiyon profili.	7
1.3 Anahtar-kilit (a) ve indüksiyonla oluşmuş uygunluk (b) modellerinin şematik gösterimi.....	8
1.4 Enzimatik reaksiyonun hızı üzerine substrat konsantrasyonunun etkisi.....	12
1.5 Yarışmalı (Kompetitif) inhibitör varlığında reaksiyon şeması ve reaksiyon grafiği.	14
1.6 Yarışmasız (Nonkompetitif) inhibitör varlığında reaksiyon şeması	15
1.7 Yarışmasız (Nonkompetitif) inhibisyon	15
1.8 Yarı yarışmalı inhibitör varlığında reaksiyon şeması	16
1.9 Yarı yarışmalı inhibisyon	16
1.10 Üreazın kataliz reaksiyonu.....	22
1.11 BPU'nun üç boyutlu yapısı (a) üstten görünüm, (b) yandan görünüm	24
1.12 BPU'nun aktif merkezi	24
1.13 <i>Klesbsiella aerogenes</i> üreazının üç boyutlu yapısı	25
1.14 <i>Bacillus pasteuril</i> üreazının üç boyutlu yapısı.....	25
1.15 <i>Helicobacter pylori</i> üreazının üç boyutlu yapısı.....	26
1.16 Üreaz enziminin kataliz reaksiyon mekanizması.....	27
1.17. Üre metabolizması	28
1.18. Hidroksiürenin yapısal formülü.	30
1.19. Klaritromisin yapısı.....	31
1.20. Lansaprazol'ün yapısı.	32
1.21. Omeprazol'ün yapısı.	32
1.22. İndefenol oluşum mekanizması.	34
3.1. Mendek sulu ekstresinin konsantrasyon-% üreaz inhibisyon grafiği.....	49
3.2 Gücükdene sulu ekstresinin konsantrasyon-% üreaz inhibisyon grafiği.....	50
3.3 Sakarca sulu ekstresinin konsantrasyon-% üreaz inhibisyon grafiği	50
3.4 Çalı çileği sulu ekstresinin konsantrasyon-% üreaz inhibisyon grafiği	51

3.5 Pazı etil asetatlı ekstresinin konsantrasyon-% üreaz inhibisyon grafiği	53
3.6 Çalı ileği etil asetatlı ekstresinin konsantrasyon-% üreaz inhibisyon grafiği	54
3.7 Yayla pancarı etil asetatlı ekstresinin konsantrasyon-% üreaz inhibisyon grafiği	54
3.8 Kara lahana etil asetatlı ekstresinin konsantrasyon-% üreaz inhibisyon grafiği..	55
3.9 Yayla pancarı metanollü ekstresinin konsantrasyon-% üreaz inhibisyon grafiği	57
3.10 Kara lahana metanollü ekstresinin konsantrasyon-% üreaz inhibisyon grafiği .	58
3.11 Pazı metanollü ekstresinin konsantrasyon-% üreaz inhibisyon grafiği.....	58
3.12 Mendek metanollü ekstresinin konsantrasyon-% üreaz inhibisyon grafiği	59

RESİMLER DİZİNİ

RESİM

2.1. Kara lahana bitkisi	39
2.2. Sakarca bitkisi	39
2.3. Diken ucu bitkisi	40
2.4. Kuzu kulağı bitkisi	40
2.5. Çalı çileği bitkisi	41
2.6. Ezeltire bitkisi.....	42
2.7. Pazı bitkisi.....	42
2.8. Mendek bitkisi.....	43
2.9. Gücükdene bitkisi.....	44
2.10. Yayla pancarı bitkisi	44

SEMBOLLER DİZİNİ

- akb : Atomik Kütle Birimi
kDa : Kilodalton
Km : Michaelis-Menten Sabiti
Vmax : Maksimum Hız
KAU : *Klebsiella aerogenes* Üreaz
BPU : *Bacillus pasteurii* Üreaz
JBU : Jack Bean Üreaz
HP : *Helicobacter pylori*
PPI : Proton Pompası Inhibitörü
IC₅₀ : Aktivitenin % 50'sini inhibe eden konsantrasyon değeri

1. GİRİŞ

Doğada bulunan bitkilerin hastalıklardan korunmak amacıyla yada hastalıkların tedavisi için kullanılması insanlık tarihi ile başlar (1). İnsanlık var olduğundan beri insanoğlu bitkilerle ilgili sayısız araştırmalar yapmış ve çeşitli hastalıklara çare olarak birçok bitki türü keşfetmişlerdir. Bitkiler, doğal ilaçların önemli kaynaklarıdır. Sayısız bitki çeşidi yüzyıllardır insanlık tarafından hastalıklardan korunmak veya kurtulmak amacıyla kullanılmıştır. Geleneksel tıbbın tarihsel analizi, insanın zaman boyunca rahatsızlığı gidermek amacıyla hastalıkların tedavisi için arayış içinde olduğunu ortaya koymaktadır. Bu nedenle tıbbi bitkiler eski çağlardan beri hastalıkların yok edilmesi ve rahatsızlıkların giderilmesi için kullanılmıştır (2). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) kayıtlarına göre dünya nüfusunun büyük bir bölümü tedavi etmek veya korunmak amacıyla “geleneksel tıp”tan yararlanmaktadır (1).

Enzimler canlı organizmalar için gerçekleşen reaksiyonlarda düzenleyici görev aldıklarından, büyük bir seçicilikle katalizlediklerinden bazen istenmeyen durumlarda organizmaya olumsuz etki ederek bozukluklara sebep olmaktadır. Bu sebeplerin ortadan kaldırılması ancak o enzimleri karakterize ederek onlara uygun inhibitörlerin belirlenmesi ile mümkün olmaktadır. Son zamanlarda *in vitro* çalışmalarda enzimlerden yararlanma çalışmaları hızla artmaktadır (3).

Üreaz enzimi (E.C. 3.5.1.5.), ürenin karbondioksit ve amonyağa hidrolizini katalizleyen çok spesifik bir enzimdir. Üreaz çeşitli bakteri, bitki ve mantarlarda bulunur. Tabiattaki azot döngüsünde önemli bir rol oynar (4).

Üreaz içeren bakterilerin sebep oldukları rahatsızlıkların tedavisi ve üre hidrolizinin zirai açıdan kontrol altına alınabilmesi için üreazın inhibitör çalışmaları da yapılmaktadır (4).

Dünya nüfusunun artması ve endüstrinin gelişmesi sonucu doğal kaynaklı bitkilerden elde edilen etken maddelerin kullanılabilirliği hızla artmış ve dünya ülkelerinin bu ürünlere olan talepleri dikkati çekecek şekilde artış göstermektedir (5).

Son yıllarda yenilebilir bitkilerden izole edilen fitokimyasalların yeni biyolojik özellikleri üzerine odaklanılmaktadır. Çünkü yüzlerce yerli bitki türleri küresel olarak günlük diyetle, sebze, meyve ve baharat olarak kullanılmaktadır. Birçoğu da geleneksel ilaçlar için istihdam edilmektedir (6).

Yenilebilir bitkiler gibi çeşitli biyolojik faaliyetler gösteren örneğin flavonoidler, vitaminler, terpenoidler, alkaloidler, organosülfür bileşik pigmentler ve diğer fenolikler fitokimyasal açıdan zengindirler (6). Yeşil çay ekstraktlarında kateşinler *Helicobacter pylori* (HP) üreazını kuvvetle inhibe ettiği bildirilmektedir (7). Bu nedenle yenilebilir bitkiler üreaz kontrolü için güvenli bir kaynak olabilir.

1.1. Enzimler Hakkında Genel Bilgi

Enzimler, canlı hücrelerde oluşan ve organizmadaki tüm reaksiyonların çok ılıman koşullarda gerçekleşmesini sağlayan protein yapısındaki biyokimyasal katalizörlerdir (8). Bunlar reaksiyon sırasında fiziksel değişiklikler geçirirler de reaksiyon tamamlandığında, tekrar kendi orijinal hallerine geri dönerler. Katalitik ribonükleik asit (RNA) molekülleri (ribozimler) ile katalizlenen birkaç olay bilinmekle beraber enzimlerin hemen hemen tümü protein yapısındaki katalizörlerdir (9).

İlk enzim çalışmaları, sindirime ilişkin enzimlerin araştırılmaya 1760-1825 yılları arasında başlamıştır. İlk kez 1825 yılında Berzelius, nişastanın sindiriminde etkili bitkisel enzimler üzerinde çalışmıştır. 1860 yıllarında Pasteur, fermantasyon enzimleri üzerinde araştırmalar yapmıştır. Fermantasyon ile ilişkilerinden dolayı başlangıçta verilen ferment adı 1878 yılında Kühne tarafından Yunancada “maya içinde” anlamına gelen enzim ismi ile değiştirilmiştir. 1926 yılında Sumner, soya fasulyesi (Jack Bean) özütünden saf ve kristalize üreazı izole etmiştir. 1930 yılında

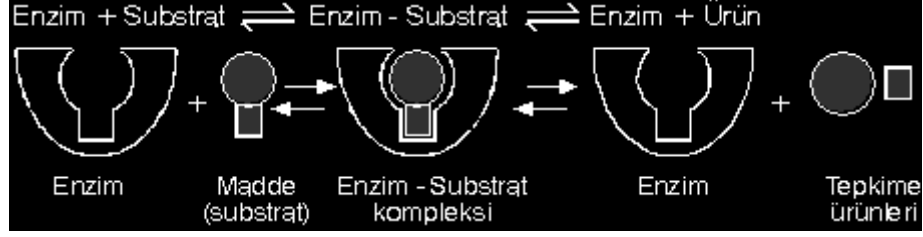
Northop pepsin, tripsin ve kemotripsini elde etmiştir. Saf enzimlerin elde edildiği bu önemli gelişmelerden sonra enzimlerin yapısı ve özelliklerine ilişkin ayrıntılı bilgilere ulaşılmıştır (10). Bugün çeşitli kaynaklardan saflaştırılmış 2000 dolayında enzim bulunmaktadır. Bunlardan en az 200 tanesi kristal haldedir.

Enzimlerle ilgili pek çok konu aydınlatılmış olmakla birlikte, hala yeni enzimlerin saflaştırılması, özelliklerinin ve kataliz mekanizmalarının aydınlatılması için yoğun araştırmalar yapılmaktadır. Enzimlerle ilgili biyokimya dalına “enzimoloji” denir.

Enzimler mol kütlesi 10^4 - 10^6 akb arasında değişen büyük moleküllerdir (11).

Enzimler çok etkili ve spesifik katalizörlerdir. Enzimle katalize edilen reaksiyonlar enzimle katalize edilmeyen reaksiyonlardan 10^3 - 10^{17} defa daha hızlı cereyan eder (12). Canlı organizmalar için bu büyüklükteki hız artışları, canlı hücrelerde var olan ılımlı koşullar altında bile, tepkimelere uygun hızlarda gerçekleşmesine fırsat verdikleri için önemlidir (Örneğin; yaklaşık olarak 35°C sıcaklıkta ve nötral pH'da) (13). Biyokimyasal reaksiyonlarda organizma için gerekli moleküllerin yeterli bir hızla sentezlenmesi enzimlerin bu derece etkin katalizör olması ile mümkündür. Enzimatik reaksiyonlar fizyolojik pH ve canlıların vücut sıcaklığı gibi ılıman koşullarda meydana gelirler. Enzimler etki ettikleri maddeler olan substratları için oldukça spesifiktirler. Bazı enzimler benzer yapıda bir grup substrata etki ederken bazıları da tek bir molekül türü üzerine etki ederler. Birçok enzim stereospesifite gösterir. Enzimler reaksiyon sırasında fiziksel değişiklikler geçirseler de reaksiyon tamamlandığında, tekrar kendi orijinal hallerine geri dönerler (14).

Enzim tarafından değişikliğe uğratılan maddelere “substrat” denir (15).



Şekil 1.1 Enzim substrat ilişkisi

Enzimler, birçok gıdanın yapısında çok az bulunmalarına rağmen gıdalarda önemli görevler üstlenirler. Enzimler, gıdaların doğal yapılarını değiştirebilir ve bazı örneklerde bu değişiklikler kabul edilebilir ama birçok örnekte bu durum istenmez. Bu nedenle istenmeyen durumlarda enzimler inaktive edilirler. Bitkilerin kararması, istenmeyen değişikliklere bir örnektir. Bazı enzimler analitik metodlarda indikatör olarak kullanılır. Örneğin, fosfataz enzimi pastörizasyon işlemlerinde kullanılır. Enzimler, gıda imalatında katkı maddesi olarak da kullanılırlar. Örneğin, rennin enzimi peynir üretimi sırasında sütte koagülan olarak kullanılır (14).

1.1.1. Enzimlerin Yapısı

Enzimde proteini oluşturan amino asitlerin sayısı, diziliş sırası ve moleküllerin yapısı belirli bir düzen içindedir ve bu düzen enzimin substrat seçiciliğini sağlar.

Bazı enzimler sadece proteinden oluşurken, bazıları ise proteinin yanında protein olmayan bir kısım içerirler. Bu tip enzimlerde, enzimin protein kısmına “apoenzim”, protein olmayan kısmına “kofaktör” denir (12). Apoenzim, enzimin hangi maddeye etki edeceğini saptar. Apoenzim ısı ile kolayca denatüre olur. Yapıları sadece proteinden ibaret olan enzimlere örnek olarak pepsin, tripsin, üreaz ve diğer hidrolaz sınıfı enzimler gösterilebilir (16).

Kofaktörler birçok enzimin katalitik aktivite gösterebilmesi için gerekli olan maddelerdir. Esansiyel iyonlar ve koenzimler (Organik bileşikler) olarak ikiye ayrılırlar (16). Koenzim, inorganik ya da organik, çok defa fosfattan meydana gelmiş; protein kısmına göre çok daha küçük moleküllü olan kısım. Enzimde işlev

gören ve esas iş yapan kısım bu kısımdır. Koenzim kısmı genellikle protein kısmından ayrılabilir ve analizlerinde birçok vitamini (tiamin, niasin, riboflavin, vs.) bünyesinde bulundurduğu görülmüştür. Koenzim içeren enzimlere nikotinamid nükleotidli enzimler örnek verilebilir. Bazı koenzimler nükleotid yapısındadırlar. Örneğin, nikotinamid adenin dinükleotid (NAD^+), nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADP^+) ve birleşik nükleotid olan koenzim A (17).

Koenzimler, apoenzimden kolaylıkla ayrılabilir ancak tek başlarına katalitik etki göstermezler (16). Koenzim sıkıca bağlı ise “prostetik grup” adı verilir. Apoenzim ve koenzim birlikte “holoenzim” olarak adlandırılırlar. Holoenzimin büyük bir kısmını apoenzim oluşturur (18).

Bazı enzimler ortama yalnız belirli iyonlar eklendiğinde etkindirler. Örneğin bazı enzim zincirine ancak magnezyum iyonu (Mg^{2+}) eklenince glukozu laktik aside çevirebilir. Tükürükteki amilaz nişastayı yalnız klorür iyonlarının (Cl^-) bulunduğu ortamda parçalayabilir. Canlı bünyesinde bulunan eser elementler, Zn, Mn, Cu, Fe ve diğer elementler bu enzimatik işlevlerde aktivatör olarak kullanılır. Bazen enzimin iş görebilmesi için bir metal iyonuna gereksinim vardır. Koenzim kısmı metal iyonu ise (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Zn^{2+}) buna “kofaktör” denir (18).

Koenzim olarak kullanılan önemli maddelerden birisi de, vitaminler veya bunların türevleridir. Bu amaçla genellikle B vitaminleri kullanılır. Bu maddeler, yer değiştirme tepkimelerinde çok, yükseltgenme-indirgenme tepkimelerinde daha az oranda kullanılırlar. NAD^+ , birçok yükseltgenme indirgenme tepkimesinde yer alan bir koenzimdir. Nikotinamid halkası, adenin halkası ve iki riboz halkasının birleşmesinden oluşmuştur. Yükseltgenme-indirgenme reaksiyonu nikotinamid halkasındaki amid üzerinden yürür. Nikotinik asit, diğer adı B grubu vitaminlerinden birisi olan niasindir. B₆ vitaminleri olan piridoksal, piridoksamin ve piridoksin de bir molekülden diğerine amino gruplarının transferinde görev alırlar (3, 19).

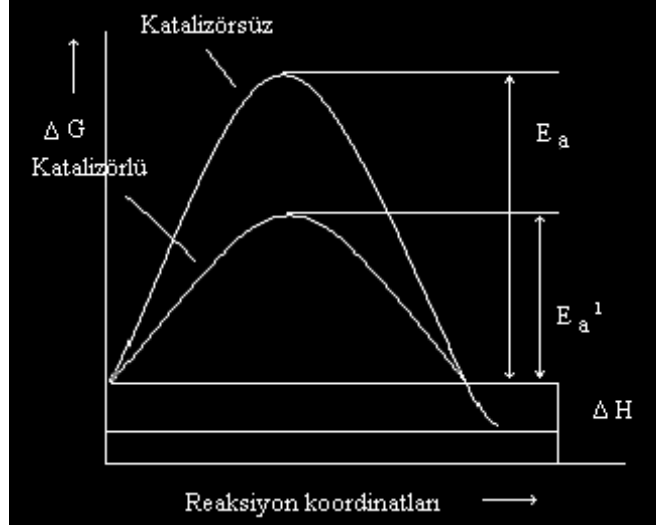
Enzim molekülünün belirli bir bölgesinde belirli amino asitlerin oluşturduğu bir kısım bulunur. Protein zincirinin bu kısmı enzimin katalitik etkisinden sorumlu olup “aktif bölge” olarak tanımlanır. Substrat ve eğer varsa koenzim bu merkeze

bağlanır (12). Çoğunlukla asimetrik bir oyuk veya cep şeklinde olan aktif merkezin geometrik yapısı, içerdiği girinti ve çıkıntılar substrat molekülünün şekline ve onun bu bölgeye bağlanmasına uygundur (20).

Fiziksel yapı uygunluğunun yanı sıra, aktif bölge polarlık ve elektiriksel yük bakımından da substrat molekülünün kolayca bağlanmasını sağlayacak özelliktedir. Substrat molekülündeki yüklü kısımlar aktif merkezdeki zıt yüklü bölgelerle elektrostatik etkileşimler yaparlar. Apolar gruplar arasında hidrofobik etkileşimler -OH, =NH, =N- vb. gibi gruplar arasında ise hidrojen bağları meydana gelir (20).

Enzimlerin katalitik aktiviteleri çeşitli şekillerde düzenlenebilir. Bir enzimatik reaksiyonun hep aynı hızda meydana gelmesi organizmaya ihtiyacı olan esnekliği sağlar. Öncelikle hücredeki enzim miktarı sabit olmayıp ihtiyaca göre artar veya azalır. Bu durum enzimlerin sentez ve yıkım hızlarının ayarlanması ile gerçekleşir. Hücrenin ihtiyacı kalmadığı anda bir enzimin sentezi sonlanabileceği gibi, ihtiyaç olduğunda yeni bir enzim sentezlenmeye başlayabilir.

Enzimler katalizledikleri reaksiyonlarda denge konumunu ve denge sabitini değiştirmez; sadece dengeye daha çabuk erişilmesini sağlarlar. Reaksiyon hızının artması, kimyasal katalizörlerde olduğu gibi, mekanizmanın değişmesi sonucu aktivasyon enerjisinin küçülmesinden ileri gelir. Şekil 1.2'de katalizörlü ve katalizörsüz bir reaksiyon için reaksiyon profili görülmektedir.



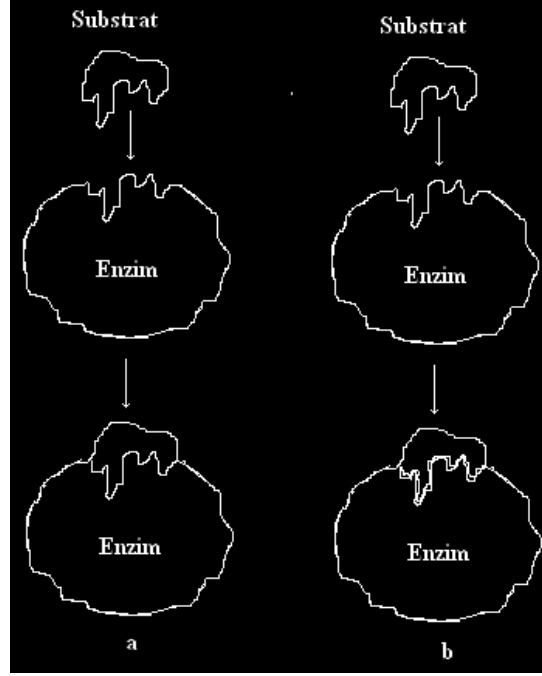
Şekil 1.2 Katalizörlü ve katalizörsüz reaksiyon profili

Reaktif ve ürünü ayıran enerji bariyerinin tepe noktası aktif kompleksi gösterir. Reaktiflerin ürüne dönüşmesi için önce aktif kompleksin oluşması gerekir. Bir mol substrat molekülünü aktif kompleks haline geçirmek için gereken enerjiye aktivasyon enerjisi (E_a) denir. E_a, reaksiyonun oluşması için, aşılması gereken bir enerji bariyeridir. Bu bariyeri aşıp aktif kompleksi oluşturan substrat molekülleri ürüne dönüşebilir. E_a'ne sahip moleküllerin sayısını artırmak yani reaksiyonu hızlandırmak için iki yol vardır. Birincisi sıcaklığı yükseltmek, diğeri katalizör ilave etmektir. Biyokimyasal reaksiyonlarda sıcaklığın yükselmesi mümkün olmadığına göre, reaksiyon hızı ancak enzim katalizörlüğü ile artırılabilir. Şekil 1.2' den görüldüğü gibi katalizörlü bir reaksiyon için E_a daha küçüktür. Dolayısıyla reaksiyon hızlanmış olur.

Substrat, enzim üzerindeki aktif merkeze bağlanır ve böylece aktif komplekse karşı gelen enzim substrat kompleksi oluşur. Bu komplekslerin meydana geldiği; kinetik analizler, X-ışınları kristalografisi ve inhibisyon çalışmaları ile kanıtlanmıştır.

Emil Fischer 1894 yılında enzim substrat ilişkisini “anahtar-kilit” modeli ile açıklamıştır. Daha sonraki çalışmalar bu görüşü biraz değiştirmiştir. Enzim aktif bölgesi substrat bağlanmasına uygun ise de; bağlanma sırasında, hem enzim konformasyonu hem de substratın şekli biraz değişikliğe uğrayarak aktif kompleksi

oluşturur (Şekil 1.3). Bu modele “indüksiyonla oluşmuş uygunluk” (induced fit) modeli denir (21, 22).



Şekil 1.3 Anahtar-kilit (a) ve indüksiyonla oluşmuş uygunluk (b) modellerinin şematik gösterimi

1.1.2. Enzimlerin Sınıflandırılması

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

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

IUB sisteminin temel özellikleri şunlardır:

1- Reaksiyonlar ve onları katalizleyen enzimler 6 sınıfa bölünürler; bunların her birinin 4-13 alt sınıfı vardır.

2- Enzim adının iki kısmı vardır. İlki substrat veya substratların adıdır; “-az” ile sonlanan ikincisi katalize olunan reaksiyon tipini gösterir.

3- Söz konusu reaksiyonun doğasını aydınlatmak için eğer ek bilgi gerekli ise, parantez içinde verilebilir.

4- Her enzimin bir kod numarası (EC-Enzyme Commission) vardır; bu numarada reaksiyon tipini 1. sayı, vericinin etkilediği grubu 2. sayı, alıcı olarak yararlanılan grubu 3. sayı ve adlandırılan enzimi 4. sayı belirlemektedir (14).

Enzimler 6 ana gruba ayrılmıştır ve her enzime 4 rakam ile belirlenen bir kod numarası verilmiştir.

1-Oksidoredüktazlar: İndirgenme ve yükseltgenme olayını katalizleyen enzimlerdir. Oksidoredüktazlar ayrıca dehidrojenazlar ve sitokromlar, oksidazlar, oksijenazlar olmak üzere alt sınıflara ayrılabilirler. Solunum ve fermentasyon olaylarıyla ilgili enzimler oksidoredüktaz sınıfı enzimlerdir. Örneğin; katalaz, laktat dehidrojenaz.

2-Transferazlar: Fonksiyonel grupların bir molekülden diğerine transferinin olduğu reaksiyonları katalizleyen enzimlerdir. Tek karbonlu grupları, aldehit ve keton gruplarını, açıl gruplarını, glikozil gruplarını, fosfat gruplarını, kükürt içeren grupları aktaranlar olmak üzere farklı alt sınıflara ayrılırlar. Örneğin; kreatin kinaz, aspartat transaminaz.

3-Hidrolazlar: Hidroliz reaksiyonlarını, suyun H^+ ve OH^- iyonları yardımıyla moleküllerin yıkılmasını katalizleyen enzimlerdir. Hidrolazlar, ester bağlarına, glikozil bileşiklerine, eter bağlarına, peptit bağlarına, diğer C-N bağlarına, asetanhidrit bağlarına, C-C, C-P, C-halojen, C-S, P-N, S-S bağlarına etki edenler olmak üzere alt sınıflara ayrılırlar. Örneğin; lipaz, üreaz.

4-Liyazlar: Bir organik moleküldeki grupların hidrolitik veya oksidatif olmayarak ayrılmasını kataliz ederler. C-C, C-O, C-N, gibi gruplar arasında çift bağ oluşturarak substrattan bazı grupların ayrılmasını katalizleyen enzimlerdir veya tam tersi bir yolla etkenlik gösterirler. Örneğin; piruvat dekarboksilaz.

5-İzomerazlar: Substratın molekül içi değişikliklerini katalizleme özelliğine sahip enzimlerdir. Rasemazlar ve epimerazlar, cis-trans izomerazlar, intramoleküler oksidoredüktazlar, intermoleküler transferazlar, intramoleküler liyazlar ve diğer liyazlar olmak üzere alt sınıflara ayrılırlar. Örneğin; glukoz-6-fosfat izomeraz.

6-Ligazlar (Sentetazlar): Ligazlar iki molekülün birleşmesini kataliz ederler. Bu birleşme için gerekli enerji adenozin trifosfat (ATP), adenozin difosfat (ADP) gibi yüksek enerjili fosfat bileşiklerinden sağlanır. Örneğin; piruvat karboksilaz, asetil CoA karboksilaz (23).

1.1.3. Enzim Aktivitesini Etkileyen Faktörler

Enzim aktivitesini etkileyen faktörler şunlardır:

- Ortam pH'ı
- Sıcaklık
- Enzim konsantrasyonu
- Substrat konsantrasyonu
- Zaman
- İnhibitör

1.1.3.1. Ortam pH'ı

Enzimler katalitik etki gösterirken ortamın hidrojen iyonu konsantrasyonuna bağlı olarak aktiviteleri değişmektedir. Bazı enzimler düşük pH seviyelerinde (asit ortamda) daha aktif olmakla beraber, bazıları ise yüksek pH'lı ortamlarda (bazik ortamda) aktiftirler. Fakat çoğunlukla enzim aktivitesi nötral ortamlarda en fazla olmaktadır.

Enzimin maksimum aktivite gösterdiği pH'a o enzimin optimum pH'ı adı verilir.

Enzimatik çalışmalarda pH'ı optimumda sabit tutmak veya en azından hidrojen iyonu konsantrasyonunu elverişli durumda tutmak için tampon çözeltiler kullanılır. Optimum pH, kullanılan tampon çözeltinin cinsine, özel substratın yapısına ve enzimin elde edildiği kaynağa bağlıdır.

1.1.3.2. Sıcaklık

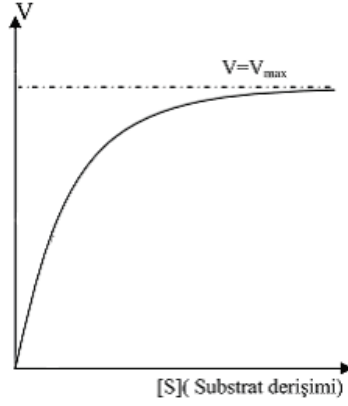
Sıcaklık, enzimatik reaksiyonları da diğer reaksiyonlarda olduğu gibi hızlandırır. Ancak enzimler protein yapılı olduklarından belli bir sıcaklığın üzerinde dayanıklılıklarını kaybederek denatüre olurlar. Enzimin maksimum aktivite gösterdiği sıcaklığa optimum sıcaklık adı verilir.

1.1.3.3. Enzim Konsantrasyonu

Enzimatik reaksiyonun hızı, enzimin substratına doymuş olduğu koşullarda enzim konsantrasyonuna bağlı olarak artmaktadır. Ortamdaki enzim molekülü ne kadar çoksa reaksiyon o kadar hızlı yürür. Enzimin hücrede lokalize olduğu yerde yeterince substrat bulunmadığı için reaksiyon o derece yüksek düzeyde meydana gelmez. Substratın bol olduğu koşullarda enzim konsantrasyonu reaksiyon hızı ile doğru orantılıdır.

1.1.3.4. Substrat Konsantrasyonu

Substrat konsantrasyonu reaksiyon hızını belli bir süre doğrusal olarak arttırmaktadır. Enzim substratına karşı doymuşluğa ulaştığında reaksiyon hızı değişmeden devam eder (Şekil 1.4). Bu durumda enzim maksimum hız ile çalışıyor demektir. Maksimum hız V_{max} ile gösterilir. Enzim maksimum hız ile çalışırken enzim moleküllerinin yarısına bağlı substrat konsantrasyonuna Michaelis-Menten sabiti (K_m) denilmektedir. Enzimin substratına ilgisi ne kadar fazla ise K_m değeri o kadar küçüktür.



Şekil 1.4 Enzimatik reaksiyonun hızı üzerine substrat konsantrasyonunun etkisi

1.1.3.5. Zamanın Etkisi

Bir enzim reaksiyonun hızı belirli bir zamanda üretilen ürünün miktarı ile belirlenmektedir. Bir enzim tarafından katalize edilen bir reaksiyon sürerken reaksiyonun hızı giderek düşer. Bunun nedeni reaksiyon devam ederken oluşan ürünlerin aralarında birleşerek aksi yönde bir reaksiyon oluşturmaları, enzimin zamanla inaktive olması, reaksiyonu önleyen maddelerin teşekkül etmesi ve substratın tükenmesi gibi faktörlerdir. Bu faktörlerin etkilerinin ortadan kaldırılması için enzim çalışmaları çoğunlukla substratın yaklaşık %10'unun sarf edildiği reaksiyonun başlangıç aşamasında gerçekleştirilir.

1.1.3.6. İnhibitör

İnhibitörler, enzimatik tepkimelerin hızını azaltan maddelerdir. İnhibitörler, substratın enzimin aktif merkezine bağlanıp, enzim-substrat kompleksinin oluşumunu önlerler (22).

Diğer kimyasal maddeler ve suyun etkisi: Birçok kimyasal madde enzimleri etkisiz hale getirir. Örneğin; siyanür, solunumda önemli rol oynayan sitokrom oksidaz enzimini etkileyerek inhibe eder, ölüm meydana gelebilir. Florür, glukozu laktik aside çeviren enzim kademelerine etki eder. Hatta enzimin bizzat kendisi zehir etkisi yapabilir; örneğin, 1 mg kristal tripsin, farenin damarına enjekte edilirse ölüm

meydana gelir. Bazı yılan, arı ve akrep zehirleri de enzimatik etki göstererek kan hücrelerini ya da diğer dokuları tahrip ederler (24).

Enzimlerin büyük bir kısmı işlevlerini su içerisinde gösterdiklerinden, suyun miktarı da enzim işlevinde etken bir koşuldur. Genellikle %15'in altında su içeren ortamlarda, enzimler işlev göstermezler. Bu faktör önemlidir. Sulandırılan reçelin, balın ya da pekmezin vs.nin mayalanması ve ekşimesi bu yüzdendir. Hatta tahıl alımlarında su oranının %5'in altında istenmesi de bu nedene dayanır (25).

1.1.4. Enzim İnhibisyonu

Enzimlerin hem *in vivo*, hem de *in vitro* aktivitelerinin bazı bileşikler tarafından azaltılmasına veya tamamen yok edilmesine enzim inhibisyonu denir. Buna sebep olan bileşiklere de inhibitör adı verilir. İnhibitörler genellikle düşük molekül ağırlığına sahip bileşik veya iyonlardır. Enzimatik aktivitenin inhibisyonu biyolojik sistemlerde başlı başına bir kontrol mekanizması oluşturduğundan oldukça önemlidir. İnhibisyon araştırmaları ile enzimatik reaksiyonların mekanizmaları, aktif merkezde rol oynayan fonksiyonel gruplar, aktif merkezin yapısı ve enzimin substrat spesifikliği açıklanabilir. Ayrıca ilaçların ve toksik maddelerin etkisi de bu yolla incelenebilir.

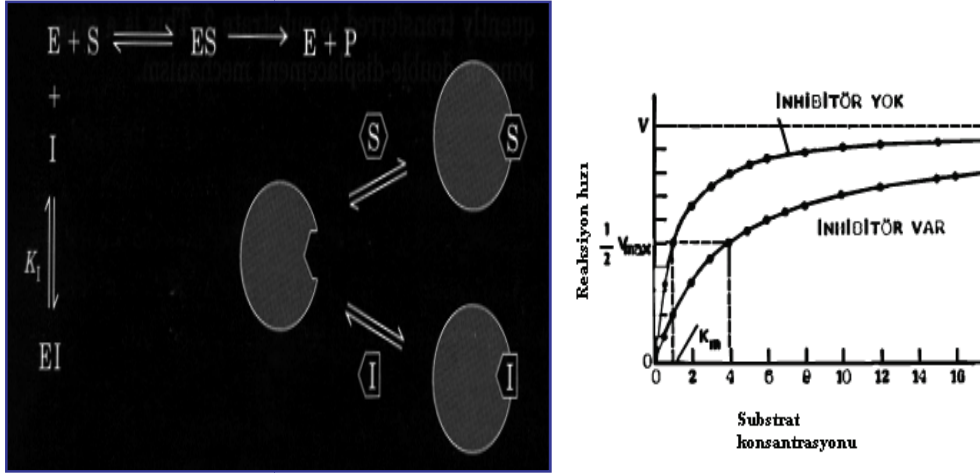
İki tip inhibisyon vardır, birincisi tersinir (geri dönüşlü) inhibisyon, ikincisi tersinmez (geri dönüşsüz) inhibisyondur. Tersinmez inhibisyonda, inhibitör aktif merkeze kovalent olarak bağlanarak enzimi inaktive eder. Tersinmez inhibisyonlara örnek olarak, aktif merkezlerinde serin bulunan enzimlerin di-izopropilflorofosfat (DFP) tarafından inaktivasyonları verilebilir. Tersinir inhibisyonda ise inhibitör enzimle veya enzim substrat kompleksi ile kovalent olmayan şekilde bağlanır. Üç çeşit tersinir inhibisyon türü vardır.

Bunlar;

- Yarışmalı inhibisyon (Kompetitif İnhibisyon)
- Yarışmasız inhibisyon (Nonkompetitif İnhibisyon)
- Yarı yarışmalı inhibisyon (Unkompetitif İnhibisyon)

1.1.4.1. Yarışmalı İnhibisyon (Kompetitif İnhibisyon)

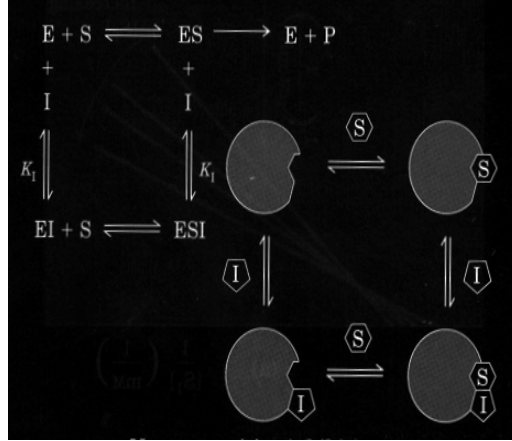
Bu tür inhibisyon, yapı bakımından substrata benzeyen maddeler tarafından yapılır. İnhibitör aktif merkeze bağlanarak enzim-inhibitör kompleksini oluşturur. Bu kompleks ürüne dönüşemeyeceğinden inhibitör bağlanmış olan enzim molekülleri boşa harcanmış olur. Fakat substrat konsantrasyonunu arttırmakla inhibisyon etkisi ortadan kaldırılabılır. Yani enzimin V_{max} değeri değişmezken, K_m değeri artar. Yarışmalı inhibitör varlığında reaksiyon şeması Şekil 1.5’de verilmektedir.



Şekil 1.5 Yarışmalı (Kompetitif) inhibitör varlığında reaksiyon şeması ve reaksiyon grafiği (26)

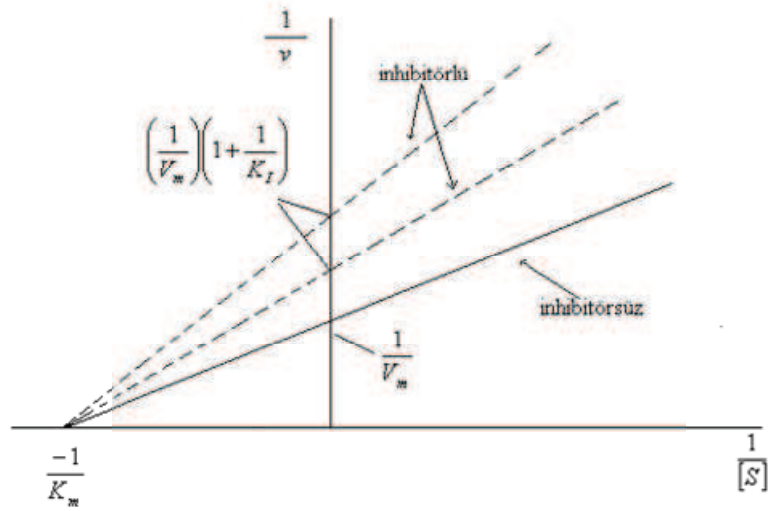
1.1.4.2. Yarışmasız İnhibisyon (Nonkompetitif İnhibisyon)

Yarışmasız inhibisyonda inhibitör ya serbest enzime veya enzim-substrat kompleksine aktif merkez dışındaki bir bölgeden bağlanır ve iki farklı kompleks meydana gelir. İnhibitörün bağlanması enzimi deforme edeceğinden ES oluşması ve ayrışması normal hızlar ile yürümez. Burada substrat ve inhibitör arasında yarışma söz konusu değildir. Substrat konsantrasyonunu arttırmakla inhibisyon kaldırılamaz. Bu tür inhibisyonda substrat ve inhibitör gelişigüzel bir tarzda birbirinden bağımsız ve tersinir olarak aynı anda farklı merkezlere bağlanarak ES ve EI komplekslerini oluştururlar. Ayrıca ES, I ile EI, S ile birleşerek ESI üçlü kompleksini meydana getirir. Yarışmasız inhibitör etkisini, katalitik aktivitesini düşürerek gösterir.



Şekil 1.6 Yarışmasız (Nonkompetitif) inhibitör varlığında reaksiyon şeması (26)

Farklı inhibitör konsantrasyonları için aşağıda çizilen Şekil 1.7’de $1/V-1/[S]$ doğrularının eğimi şekilden de görüldüğü gibi farklıdır, fakat hepsi x eksenini aynı noktada keserler. Bu nedenle K_m değerleri aynıdır. V_{max} ise inhibisyondan dolayı azalmıştır.



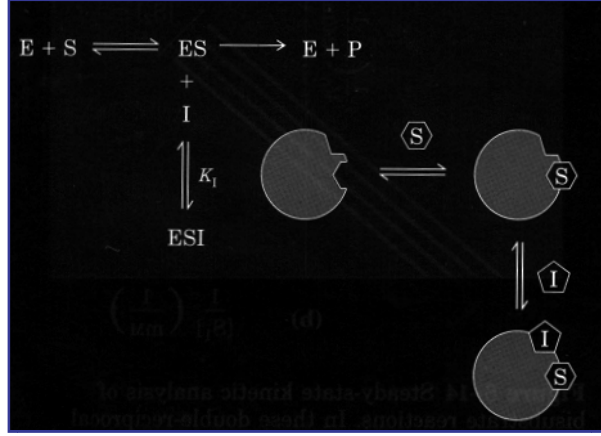
Şekil 1.7 Yarışmasız (Nonkompetitif) inhibisyon (26)

1.1.4.3. Yarı Yarışmalı İnhibisyon (Unkompetitif İnhibisyon)

Yarı yarışmalı inhibisyonda, inhibitör direkt olarak enzime değil enzim-substrat kompleksine bağlanır. Böylece kompleksin yapısı bozulmuş olacağından

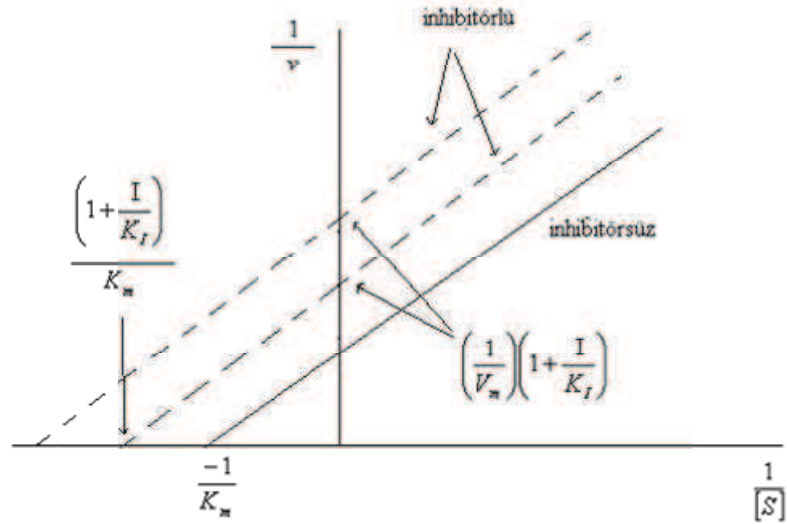
ürün meydana gelmez. Bu inhibisyon çeşidinde inhibitör serbest enzime bağlanamaz. Bunun için tek substratlı sistemlerde yarı yarışmalı inhibisyona daha az rastlanır.

Reaksiyon şeması;



Şekil 1.8 Yarı yarışmalı inhibitör varlığında reaksiyon şeması (26)

ESI kompleksi ortamda sürekli var olacağından yarı yarışmalı inhibitör varlığında V_{max} değeri azalır. ESI kompleksinin oluşumu vasıtasıyla ES kompleksi ortamdaki sürekli çekildiğinden enzim ve substrattan ES kompleksinin oluşum dengesi daha fazla sağa kayar ve K_m değeri küçülür.



Şekil 1.9 Yarı yarışmalı inhibisyon (26)

Farklı inhibitör konsantrasyonlarında $1/V-1/[S]$ grafikleri çizilirse Şekil 1.9'da görüldüğü gibi birbirine paralel doğrular elde edilir. Yarı yarışmalı inhibisyonda hem V_{max} hem de K_m değerleri değişmektedir. Bu tip inhibisyon daha çok iki substratlı reaksiyonlarda gözlenmektedir (27,28).

1.1.5. Enzimlerin Biyomedikal Kullanımı

Yeryüzünde yaşam enzimlerle olasıdır. Bu nedenle enzimler biyomedikal bilim dallarının pek çok alanını etkilerler. Bazı hastalıklar enzimlerin sentezinde genetik yönden saptanmış anormalliklere bağlıdır. Bazı durumlarda örneğin; kan sağlanmasının yetersiz olduğu durumlarda bazı enzimler plazmaya sızar. Plazmada bu tür enzim aktivitelerinin ölçümü tıbbi bozuklukların tanısında önemli bir kısmı oluşturur (9).

Günümüzde klinik biyokimya laboratuvarlarında yapılan analizlerin %10-15 kadarını enzimatik analizler oluşturmaktadır. Kalp, karaciğer, kas, hemotolojik ve kalıtsal hastalıklar enzimlerin kullanıldığı en yaygın tanı alanlarıdır. Bazı hastalıkların tedavisinde de enzim preparatlarından ilaç olarak yararlanılmaktadır.

Enzimlerden alanin aminotransferaz (ALT), karaciğer bozukluğu, laktat dehidrojenaz, kalp ve karaciğer bozuklukları, izositrat dehidrojenaz, karaciğer ve glutamat dehidrojenaz karaciğerde mitokondri bozuklukları hakkında fikir verirler (26).

Kalıtsal olarak enzim yetersizlikleri sonucu ortaya çıkmış bulunan birçok hastalık, bu enzimlerin veya bunların katalize ettikleri reaksiyon ürünlerinin veya substratlarının gösterdikleri azalma veya birikime göre teşhis edilebilirler. Özellikle amino asitlerin metabolizmaları için gerekli enzimlerin bulunmayışı çoğu kez zeka ve gelişim geriliği ile kendini belli eden kalıtsal hastalıkların ortaya çıkmasına neden olur. Aynı şekilde enzim yetersizliği karbohidratlarla ilgili olarak glikojen depolama bozukluklarına neden olabilir. Lipid metabolizması yönünden de enzim yapımındaki yetersizliklerden doğan Gaucher, Niemann-Pick, Tay-Sachs gibi hastalıklardan da söz etmek mümkündür (29).

1.1.6. Enzimlerden Yararlanılarak Yapılan Tedaviler

Enzimlerle tedavide daha çok hücre tarafından salgılanan enzimlerden yararlanılmaktadır. Özellikle midede sindirim bozukluklarında proenzim olan pepsinojeni kapsayan preparatlardan veya ince bağırsakların üst kısmında yine sindirime yardımcı olmak amacıyla pankreas enzimlerini ihtiva eden preparatlardan yararlanılmaktadır (29).

Tıpta enzim yetersizliği sonucu meydana gelen kalıtsal hastalıkların, doğrudan doğruya eksik bulunan enzimi yerine koymak suretiyle tedavisi henüz mümkün değildir. İleride böyle bir tedavi şeklinin mümkün olacağı hiç değilse humoral sıvılarda aktivite gösteren enzimlerin temini ile bazı başarılı sonuçların elde edileceği düşünülebilir. Hücre içi aktif enzimlerin parantral olarak verilmesi suretiyle, molekül büyüklükleri nedeni ile enzimlerin hücre içerisine girmelerine olanak sağlamak bakımından zorluklarla karşılaşılabilir. Ancak hücre içinde yapılan ve orada kalarak görev yapan enzimlerin yapımının uyarılması sonucu, hastalıkların tedavisinde yardımcı olunabilmesi mümkün olabilir. Ayrıca enzim elde eden dokunun hastaya transplantasyon yolu ile enzim yapma veya yeterli enzim yapma yeteneğinde olmayan dokuların takviye edilmesi de mümkündür. Ancak enzimlerin geniş ölçüde tedavide kullanılabilmesi için zamanın henüz erken olduğunu kabul etmek lazımdır (29).

1.1.7. Enzim Aktivitelerinin Tayininde Kullanılan Yöntemler

Enzim aktivite tayininde çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Aktivite tayinlerinde genellikle ya kaybolan substrat miktarı ya da meydana gelen ürün miktarı tayin edilerek enzimlerin aktiviteleri ölçülür. Çoğunlukla hücredeki enzim proteinini tayin etmek çok zordur. Bunun yerine kaybolan substrat veya oluşan ürünü ölçerek enzim hakkında bir fikir sahibi olabiliriz. Enzim aktivite tayininde yöntem seçerken metodun pratik oluşuna ve kısa sürede yapılmasına, ayrıca hassas oluşuna da özen göstermek gerekir.

Ünite: Bir mikromol substratı bir dakikada ve optimal koşullarda ürüne çeviren enzim miktarı bir ünite olarak kabul edilmektedir. Enzim ünitesi UI şeklinde gösterilmektedir.

Spesifik Aktivite: Bir miligram proteinde bulunan enzim ünite sayısı spesifik aktivite olarak kabul edilir. Spesifik aktivite ünite/mg protein olarak kabul edilmektedir.

Buna göre spesifik aktiviteyi aşağıdaki gibi yazabiliriz;

$$\text{Spesifik aktivite} = \frac{\text{Ünite}}{\text{Miligram protein}}$$

Enzim aktivite tayininde kullanılan yöntemleri yedi başlık altında toplayabiliriz.

- Spektrofotometrik yöntem,
- Monometrik yöntem,
- Thunberg yöntemi,
- Elektrot yöntemi,
- Polimerik yöntem,
- Kromatografik yöntem,
- Kimyasal tayin yöntemi.

Spektrofotometrik Yöntem: Pek çok enzim substratı, ürünü veya koenzimi, görünür veya ultraviyole (UV) bölgede bir tepe değeri göstererek, absorbans vermektedir. Bu takdirde ya substratın kaybolması ya da ürünün meydana gelişi gibi koenzimdeki değişiklik spektrofotometreden tayin edilir. Spektrofotometrik yöntem kolaylığı, basitliği ve hassas oluşu nedeniyle diğer yöntemlere göre daha çok tercih edilmektedir. Bu yöntemde optik dansite değişimi, belirli miktardaki enzim ünitesini verir. Birçok enzimin aktivite tayini bu yöntem ile yapılmaktadır.

Monometrik Yöntem: Bir komponenti gaz olan enzimlerin aktivitesini ölçmek için kullanılan yöntemdir.

Thunberg Yöntemi: Çok sayıda dehidrogenaz enziminin aktivitesi bu yöntem kullanılarak ölçülür. Metilen mavisi elektron akseptörüdür. Bu bileşiğin okside durumu renkli, redükte durumu ise renksizdir. Enzim aktivite tayin ortamına belirli miktarda metilen mavisi ilave edilir. Göz ile renk kaybolmasındaki geçen zaman saptanır. Deney havanın oksijeninden korunmak için özel bir tüpte yapılır. Bu özel tüpe "Thunberg Tüpü" denir ve yöntem de adını bu tüpten almıştır.

Elektrot Yöntemi: Cam elektrotlarla oluşan ürünlerin ölçülmesi esasına dayanır.

Polimerik Yöntem: Pek çok enzimin substratı optikçe aktiftir. Eğer üründe optik aktivite değişmesi görülecek olursa bu yöntem kullanılmaktadır. Substratın aktif ve ürünün optikçe aktif olduğu durumlarda yine bu yöntem uygulanmaktadır. Eğer substrat ve ürünün ikisi de optikçe inaktif ise, o zaman bu yöntemin kullanılması uygun değildir.

Kromatografik Yöntem: Diğer yöntemlerle bir ölçme yapılamadığında bu yöntemde başvurulur. Enzim substrat karışımlarından belli zaman aralıklarında örnekler alınır. Kromatografik yöntemde, substrat ve ürün kâğıt veya ince tabaka kromatografisi uygulanarak birbirinden ayırt edilir. Bazı hallerde radyoaktif substrat kullanıldığı için ayırimdan sonra leke, ya ince tabaka kromatografisinde olduğu gibi kazınacak ya da kâğıt kromatografisinde olduğu gibi kesilerek sayım şişelerine koyulacaktır. Radyoaktivite miktarı sayaçta sayılır ve tayini yapılır. Bazı enzim aktivitelerinde ürünün meydana getirdiği lekenin büyümesi ile enzim faaliyeti hakkında bilgi edinilir.

Kimyasal Tayin Yöntemi: Birçok enzim reaksiyon başladıktan sonra belirli zaman aralıklarında karışımdan örnek alıp, substrat ve ürünün kimyasal yöntem ile miktarı tayin edilir. ATP ve ADP'nin karıştığı bazı kinaz ve sentetaz reaksiyonlarında enzim aktivitesi bu yöntem ile tayin edilir (30).

1.2. Üreaz

1.2.1. Üreaz Enzimi ve Özellikleri

Üreaz hidrolaz sınıfı bir enzimdir. 1926 yılında Sumner tarafından soya fasulyesinden (*Canavalia ensiformis*) kristal halde elde edilmiştir. Bu olay enzimoloji tarihinin önemli olaylarından biridir. İlk defa bir enzim saf olarak elde edilmiş ve enzimlerin protein yapısında oldukları kesin olarak anlaşılmıştır.

Enzimin üç boyutlu yapısı X ışınları kristallografisi ile 1930'lu yıllarda bulunmasına rağmen, ancak bilgisayar teknolojisinin gelişmesiyle 1967 yılında mümkün olmuştur (31).

Uluslararası Biyokimya Birliği (I.U.B. International Union Biochemistry) 1961 yılında aldığı karar ve 1972 yılında yaptığı revizyonla üreaz enzimi ni E.C. 3.5.1.5. olarak kodlamıştır.

Bu sıralamaya göre;

3: Tip no: Enzimin bir hidrolaz olduğunu

5: Grup no: Enzimin C-N bağlarına etkili olan amidaz grubuna dahil olduğunu

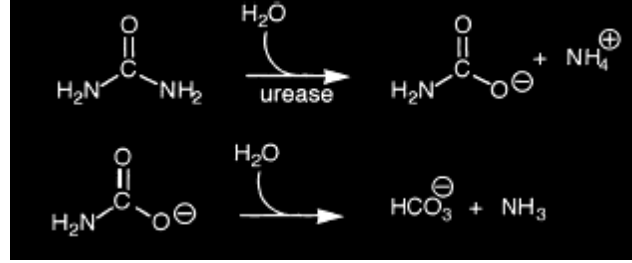
1: Alt grup no: Enzimin bir açilamidaz olduğunu

5: Sistemik ad: Enzimin sistemik adının "üre aminohidrolaz" olduğunu gösterir (32).

Üreaz, ürenin amonyak ve karbondioksit parçalanmasını katalizler. Bunu, katalizörsüz olarak gerçekleştirilen tepkime hızını 10^{14} kat artırmak suretiyle yapar (33).

Normalde üre hidrolizi yavaş gerçekleşen bir işlemdir. Katalizör olmadan gerçekleşen reaksiyonda oluşan ürünler amonyak ve siyanürik asittir.

Katalizör varlığında gerçekleşen reaksiyonda ise ürünler amonyak ve karbonik asittir. Son olarak karbonik asit kendiliğinden parçalanarak karbondioksit ve amonyağa dönüşür (34).



Şekil 1.10 Üreazın kataliz reaksiyonu (35)

Üreaz enzimi en çok bitki, mantar ve bakterilerde bulunur. Üreyi azot ve karbondioksite parçalayarak azot sirkülasyonunda önemli bir rol oynar (4). Ayrıca zirai gübrelemede üreanın hidrolizini hızlandırmada, insan ve hayvanlarda çeşitli hastalıkların oluşmasında da önemli rol oynar.

Araştırılan en yaygın üreaz içeren kaynaklar şunlardır;

1- *Klebsiella aerogenes* (*Enterobacter aerogenes*): Geviş getirenlerin sindirim sisteminde yaşayan ve içerdiği üreaz (*Klebsiella a. Üreazı*, KAU) sayesinde azot metabolizmasında önemli rol oynayan bir bakteridir.

2- *Bacillus pasteurii*: Toprakta, sularda, pis sularda yaşar. Özellikle ziraat için çok önemlidir. İçerdiği üreaz (*Bacillus p. Üreazı*, BPU) sayesinde bitkiler için toprağı azotça zenginleştirir.

3- *Canavalia ensiformis*: Bir tür fasulyedir. Bulunduğı bitkide topraktan azot emiliminin yeterli olmadığı durumlarda azot deposu olarak kullanılan argininin açığa çıkardığı üreyi içerdiği üreaz (*Canavalia ensiformis üreazı*, JBU) sayesinde amonyağa çevirerek azot kaynağı olarak kullanılmasına yardım eder.

4- *Helicobacter pylori* (HP): İnsanlarda mide rahatsızlığına sebep veren bir bakteridir. Midenin asidik yapısını etkileyerek ülser vb. rahatsızlıklara sebep verir (36).

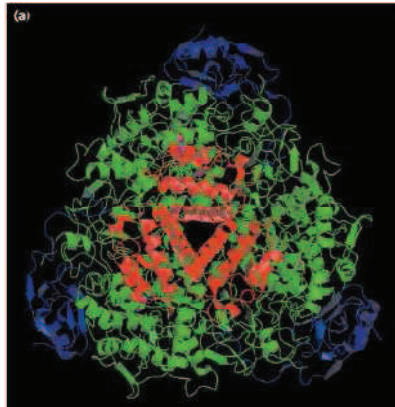
1.2.2. Üreaz Enziminin Moleküler Özellikleri

Üreaz monomer olarak aktiftir ve multimerik yapıda genel olarak trimer ya da heksamer olarak bulunur. Polipeptit zincirinin 840 amino asitten oluşan alt biriminin moleküler ağırlığı 90,777 kDa olarak not edilmiştir. Üreazın yaklaşık molekül ağırlığı 545,365 kDa olarak bulunmuştur (37).

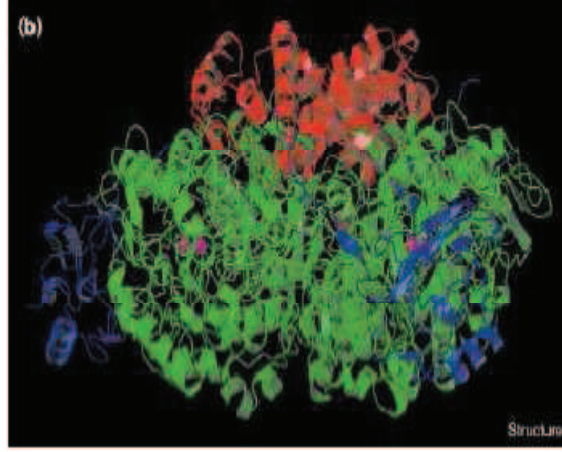
1.2.3. Üreaz Enziminin Üç Boyutlu Yapısı

Canavalia ensiformis kaynaklı üreaz enzimi 1926 yılında Sumner tarafından saf kristal enzim olarak elde edildikten ve bu kristallerin protein yapısında olduğu anlaşıldıktan 50 yıl sonra Dixon tarafından ilk nikel metaloenzim olarak kimlik kazanmıştır (33). Enzim α , β , γ olarak adlandırılan üç alt birimin oluşturduğu bir heteropolimerdir ve aktif merkezler α alt biriminde bulunur. Aktif merkezde iki nikel iyonu vardır ve bunlar enzimin aktivasyonunda çok önemli rol oynamaktadır.

Enzimin üç boyutlu yapısı Şekil 1.11'de gösterilmektedir. Şekildeki yeşil, mavi, kırmızı kısımlar sırasıyla α , β , γ alt birimlerini göstermektedir. Aktif merkezde Ni iyonları ise pembe ile gösterilmiştir.



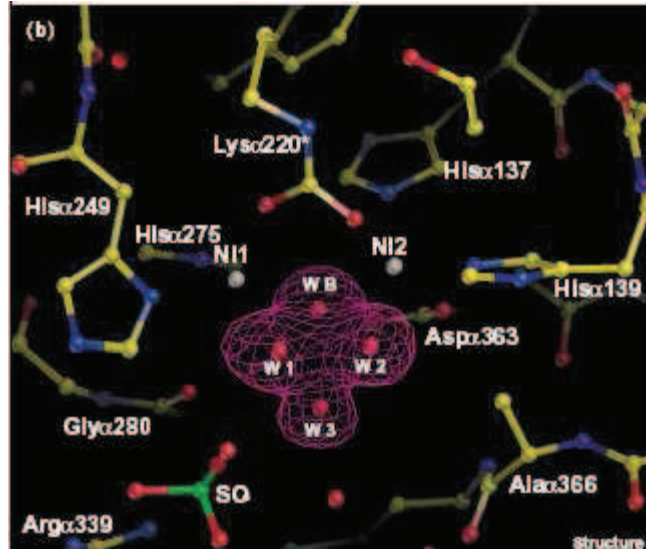
(a)



(b)

Şekil 1.11 BPU'nun üç boyutlu yapısı (a) üstten görünüm, (b) yandan görünüm (38)

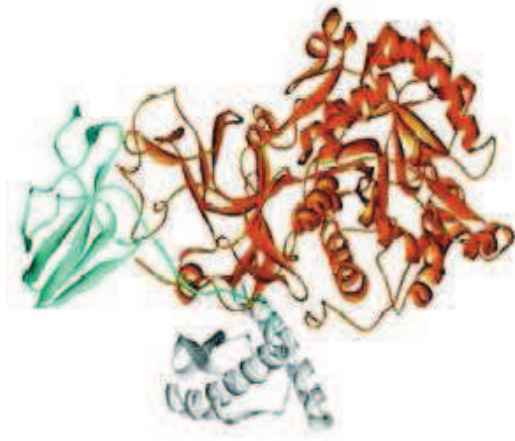
Bilinen kaynaklardan elde edilen üreaz apoenzim değildir ve dolayısıyla aktifleşmek için Ni iyonlarına ihtiyaç duymaz. Aktif merkezde iki Ni iyonu ve bunlara bağlı gruplar bulunur. Araştırmalar sonucunda elde edilen BPU aktif merkez yapısı Şekil 1.12'deki gibidir.



Şekil 1.12 BPU'nun aktif merkezi (38)

Şekil 1.12'de karbon, azot, oksijen, kükürt ve nikel atomları sırasıyla sarı, mavi, kırmızı, yeşil ve gri renkte gösterilmişlerdir.

KAU'nın, aktif bölgesinde iki nikel atomu bulunur (39). KAU'nın üç farklı alt birime sahipken, yüksek ürolitik toprak bakterisi olan BPU'nın üç alt biriminden bir tanesi heteropolimerik olarak KAU ile benzer alt birime sahiptir (40).



γ	β	α	
11.1 kDa	11.7 kDa	60.3 kDa	101/106/567 aa

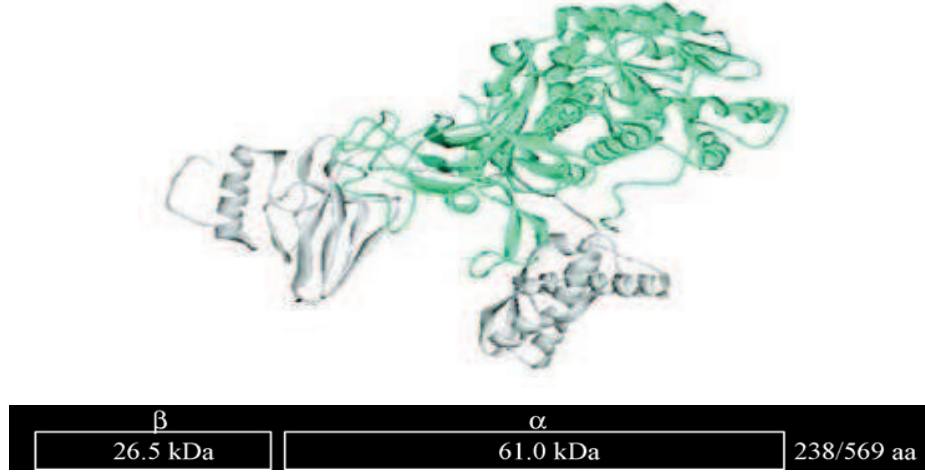
Şekil 1.13 KAU'nın üç boyutlu yapısı (4,41)



γ	β	α	
11.1 kDa	14.0 kDa	61.4 kDa	101/126/570 aa

Şekil 1.14 BPU'nın üç boyutlu yapısı (4,41)

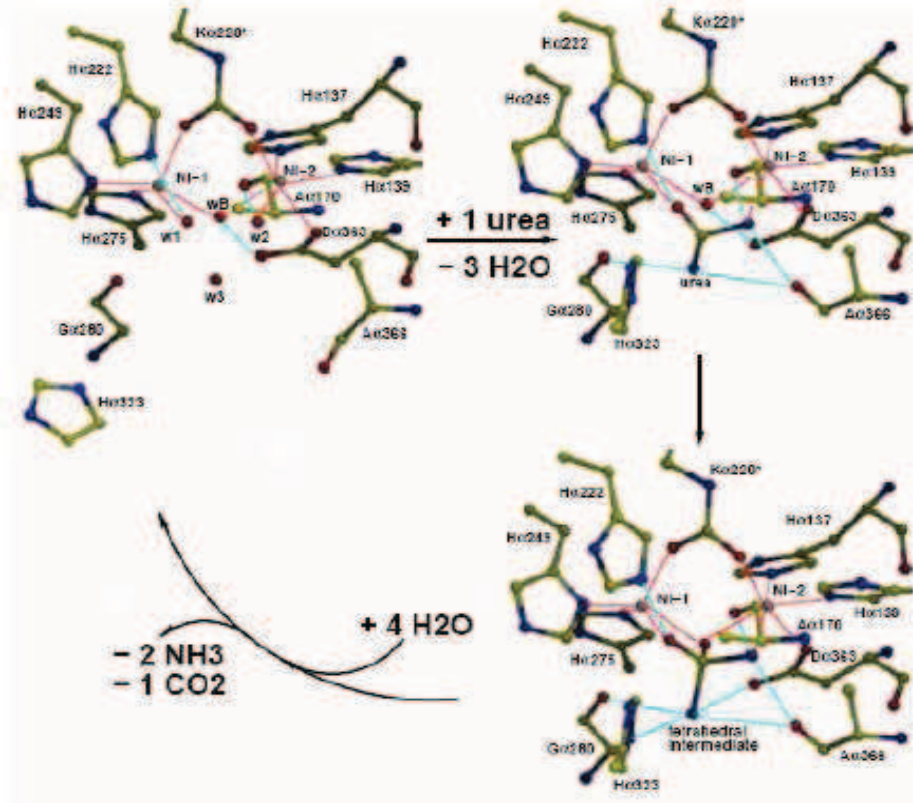
Bir diğerk bakteriyel kaynaklı üreaz HP üreazıdır (HPU) (Şekil 1.15). HPU, 550 kDa ağırlığında nikel içerikli bir enzimdir. Ürenin üreaz enzimi tarafından hidrolizi sonucu oluşan amonyak mide asidini nötralize ederek HP'nin kolonizasyonuna yardımcı olur (42). HPU yapısında iki alt birim içermektedir ve heterodimer yapıdadır (43,44).



Şekil 1.15 HPU'nın üç boyutlu yapısı (4,41)

1.2.4. Enzimatik Tepkime Mekanizması ve Nikel İyonunun Rolü

Reaksiyon ve inhibisyon mekanizması tam netlik kazanmamıştır (36). Araştırmalar sonucu elde edilenlerle enzimin katalizlediği reaksiyonlarda aktif merkezdeki nikel iyonunun çok önemli rol oynadığı, reaksiyonun bu iyonlar üzerinden gerçekleştiği ve bu reaksiyon mekanizmasında iki Ni iyonunun farklı görevleri olduğu düşünülmektedir. Bunlardan biri üreyi bağlar ve aktifleştirir diğeri ise nükleofilik su molekülünü bağlar ve aktifleştirir (38).



Şekil 1.16 Üreaz enziminin kataliz reaksiyon mekanizması (36)

1.2.5. Patojenlerde Üreaz Enziminin Rolü

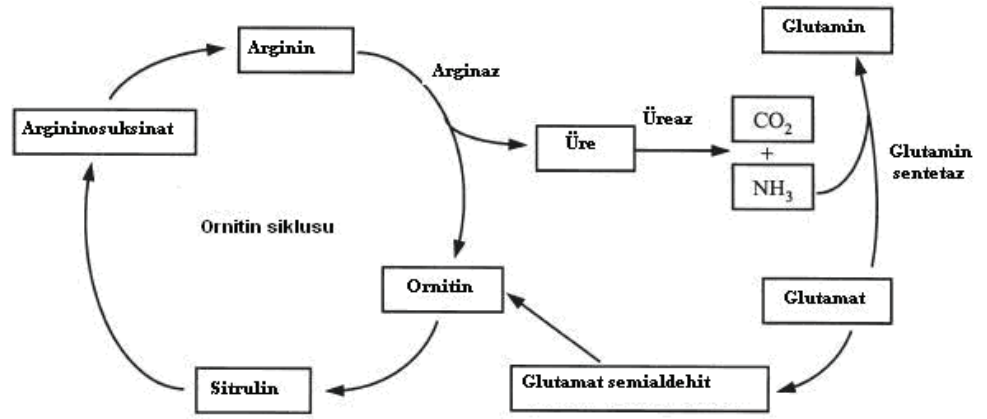
Proteus mirabilis: İnsanlarda en çok taş oluşum sebeplerinden biri de *Proteus mirabilis* adındaki mikroorganizmadır. Salgıladığı üreaz enzimiyle üreyi parçalayarak amonyak oluşumuna ve alkali idrara neden olan *Proteus* en sık saptanan etkindir ve buna bağlı olarak sitrövit (magnezyum amonyum fosfat) ile kalsiyum fosfat taşları oluşur. Yine *Proteus mirabilis* mikroorganizmasının amonyak miktarını arttırmasından dolayı böbreğin akut ve kronik iltihaplanmasına sebep olmaktadır (36).

HP: Ülser; mide veya duodenumun (onikiparmak bağırsağı) mide asidi ve sindirim sıvıları (pepsin gibi) tarafından harabiyeti sonucunda meydana gelen doku kaybıdır. Doku kaybı asit pepsinin etkisiyle daha derinlere inebilir, enflamasyon denilen yara meydana getirir (44).

Birçok ülser HP mikrobuunun varlığı ile meydana gelir. HP mide iç yüzeyine yerleşerek çoğalan bir bakteridir. Duodenal ülserlerde HP'nın varlığı %100'e yakın oranla yüksek bulunmuştur. HP varlığı saptanan, ancak ülser görülmeyen kişilerin varlığından dolayı, HP varlığı yanında başka faktörler de (örneğin kalıtım) olması gerektiğini düşündürmektedir. HP varlığının ülser yapması dışında müzmin gastrit yaptığı kesindir. Mide kanserlerine yol açtığı da iddia edilmektedir (44).

1.2.6. Bitki Metabolizmasında Üreazların Rolü

Bitkilerde, üre metabolizmasında en az üç kilit enzim bulunmaktadır. Bunlar; arginaz, üreaz ve glutamin sentetazdır (Şekil 1.17).



Şekil 1.17. Üre metabolizması (45)

Üreazların temel rolü, azot kaynağı olarak içten ya da dıştan üretilen ürenin organizma tarafından kullanımını sağlamaktır. Bitki, arginin ve purinlerin yıkılmasından oluşan üre aracılığıyla büyümek ve gelişmek için gerekli olan azotun büyük miktarını sağlar. Argininden üre oluşumu, arginaz enzimi katalizi ile gerçekleşmektedir (46).

Üredeki mevcut azot üreaz tarafından hidroliz edilmedikçe bitki tarafından kullanılmaz. Üreaz aktivitesinin ürünü olan amonyak (NH₃), genellikle glutamik asit

ile glutamin sentetaz enzimi tarafından glutamin oluşturmak üzere kullanılır. Glutamin sentetaz aktivitesi, glutamat, glutamin ve onun substratının kullanılabilirliği açısından önemli olduğu gibi, amonyak da azot metabolizmasında ve bitki büyümesinde önemli bir faktördür (45).

Üre yüksek bitkilerde sadece üreaz tarafından asimile edilir ve üreaz bitkilerde yapısında Ni bulunduran metaloenzim olarak bilinir. Bitkilerde üreaz aktivitesinin önemi, üreden mahrum bırakılan pirinç fidelerinde üreaz aktivitesinin azaltılmasıyla biriken ürenin fidelede oluşturduğu gerilemiş büyümenin incelenmesiyle gösterilmiştir (45).

Bitkilerde üre metabolizmasının önemi, ürenin bünyesinde bulunan azot elementinin bitki büyümesinde gösterdiği etki ile açıklanır ve içerden üretilen üreye ek olarak dışardan alınan üre de bitkiler tarafından kullanılır. Üre genellikle düşük maliyetten, kolay kullanımdan ve yüksek azot içeriğinden dolayı gübrelemede kullanılır ve üreaz üreden azotun elde edilmesinde kullanılan tek enzimdir (45).

1.2.7. Üreaz Enzimi İçin İnhibitörler

Üre, zirai uygulamalarda en yaygın kullanılan gübredir. Bunda ucuz, kolay uygulanabilir ve yüksek miktarda azot içermesi önemli rol oynar. Toprakta yüksek üreaz aktivitesi bitkilerin amonyak zehirlenmesi ve pH artışıyla zarar görmesine sebep olduğu için problem oluşturur. Bazık topraklarda ise amonyak atmosfere verilir ve bu da çevre için tehdit oluşturan ve çözülmesi gereken bir sorundur (46). İnsanlarda ve hayvanlarda üreaz içeren patojenlerin sebep olduğu hastalıkların tedavisinde kullanılacak ilaçların geliştirilebilmesi ve çevreye verilen bu olumsuz etkilerin onarılabilmesi için üreaz inhibitör çalışmaları oldukça önemlidir (47,48).

Üreaz aktivitesi tarım endüstrisi yanında tıp ve çevresel olarak da zararlı olabilecek birçok klinik durumların olgularında önemli bir belirteçtir. Üreaz böbrek taşı rahatsızlıklarının oluşumuyla doğrudan ilişkilendirilerek, hepatik koma, peptik ülser, ürolityaz, gastrit ve piyelonefrit gibi birçok hastalıkların gelişiminden sorumlu olan patojenlerde tehlikeli bir faktör oluşturur (49, 50).

İnsanlarda ve hayvanlarda üreaz içeren patojenlerin sebep olduğu hastalıkların tedavisinde kullanılacak ilaçların geliştirilebilmesi ve çevreye verilen bu olumsuz etkilerin onarılabilmesi için üreaz inhibitörü üzerinde çalışmalar yapılması oldukça önemlidir (48,51).

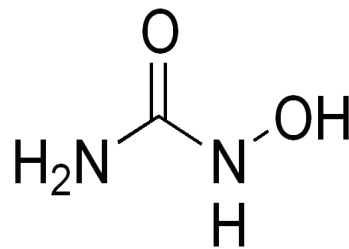
Üreaz inhibitörleri iki alt sınıfa ayrılmaktadır.

İnhibitör olarak davranan substratlar: Hidroksiüre ve hidroksamik asit türevleridir.

İnhibitörler: Fosforodiamidazlar ve proton pompası inhibitörleri (PPI) olan Lansoprazol, Omeprazol, Rabeprazol gibi imidazollerdir (52).

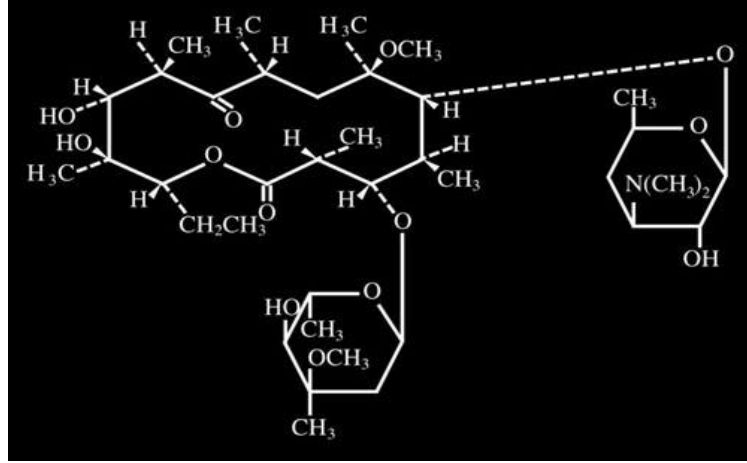
Hidroksamik asit türevleri farklı fonksiyonel gruplar içeren kimyasal bileşikler sınıfıdır. Genel formülü R-CO-NH-OH şeklindedir. Üreaz inhibitörleri arasında önemli bir sınıfı temsil eder ve 1962 yılında Kobashi ve arkadaşları tarafından keşfedildi (41). Hidroksiüre, antitümör, antifungal, antibakteriyel ve antiinflamatuvar gibi birçok biyolojik aktivitelere neden olan demir taşıyan mikrobiyal hücrelerle ilişkilendirilen hidroksamik asitle yapısal olarak bağlantılıdır (53).

Hidroksiüre (Şekil 1.18), HPU'nu içeren çeşitli mikroorganizmaları ve JBU'nu içeren çeşitli bitkileri inhibe etmesiyle bilinir. HPU'ı, insanlarda mide kanseri oluşumunda yüksek risk oluşturmaktadır (54). Hidroksiüre, antimetabolit ailesine ait olan bir antiülser ilaçtır (53).



Şekil 1.18. Hidroksiüre'nin yapısal formülü

HP enfeksiyonunun gastrit, peptik ülser ve gastrik kanser gibi gastroduodenal hastalıklarla olan ilişkisi iyi bilinmektedir. HP enfeksiyonunun tedavisinde öncelikle PPI'leri ve bunlara ek olarak klaritromisin (Şekil 1.19) gibi antibiyotikler kullanılmaktadır (55).



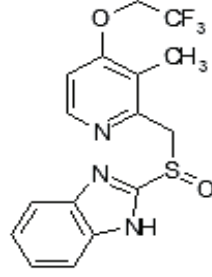
Şekil 1.19. Klaritromisin'in yapısı

Ülser tedavisinde PPI kullanılır ve PPI'leri, mide asit sekresyonunun farmakolojik kontrolünde çok önemli bir kilometre taşı olmuştur. Mide asit sekresyonunu yüksek miktarlarda inhibe etmeleri, en önemli özellikleridir. Ayrıca, PPI'leri; HP'nin gastrik mukoza membranında kolonizasyonunu engeller, bakterinin büyümesini inhibe eder, epitel hücrelerinin adezyonunu ve üreaz aktivitesini inhibe eder (56).

PPI'leri mide asidiyle ilişkili hastalıklar, reflü rahatsızlığı, duodenal ülser ve gastrik ülser tedavisi için seçilen ilaç sınıfıdır. PPI'lerin başında lansoprazol (Şekil 1.20) ve omeprazol (Şekil 1.21) gelir (57).

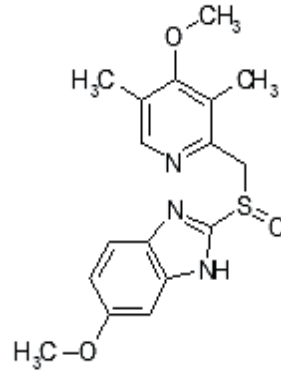
Üreaz ürenin hidroliziyle, tahriş edici amonyak oluşturarak ülserojenik etkinliğe katkıda bulunur. Lansoprazol, HP'nin mide mukozasında çoğalmasını ve HPU'nun etkinliğini azaltır. Lansoprazol'un yan etkileri, diyare, bulantı, baş ağrısı ve astenidir (56). Lansoprazol, mide ve duodenum ülseri, asitle ilişkili dispepsi,

Zolliger-Ellison Sendromu, gastroözofajeal reflü hastalığı ve düşük dozda aspirin kullanımını sonucu oluşan peptik ülserin tedavisinde kullanılır (58, 59).



Şekil 1.20. Lansoprazol'ün yapısı

Omeprazol, tedaviye ilk giren benzoimidazol türevi PPI ilaçtır. Lansoprazol ile benzer tedavilerde kullanılarak, hemen hemen aynı yan tesiri gösterir (58).



Şekil 1.21. Omeprazol'ün yapısı

Üreaz aktivitesini etkilediği bilinen diğer inhibitörler arasında hidroksamik asit türevleri, tioller, borik asit ve boranik asit, bizmut bileşikleri, fosforamidaz ve ağır metal iyonları sayılabilir (38, 60, 61).

Bizmut bileşikleri, uzun zamandan beri tüm dünyada dispepsi, diyare ve peptik ülser hastalıklarında tedavi edici etken olarak kullanılmaktadır (61). Çeşitli çalışmalarda HP'nin oluşturduğu bakteriyel etkilere karşı birçok bizmut bileşiklerinin etkili olduğu gösterilmektedir (61).

1.2.8. Üreaz Enziminin Kullanım Alanları

Üreazın kullanım alanları şu şekilde sıralanabilir;

- Biyolojik sıvılardaki üre miktarının hesaplanmasında,
- Yapay böbrekte kandan ürenin uzaklaştırılmasında,
- Atık sularda ürenin temizlenmesinde,
- Yiyecek endüstrisinde üreyi meyve suyu ve yiyeceklerden uzaklaştırmakta kullanılır (51).

Biyolojik sıvılardaki üre miktarının hesaplanmasında: Üre, vücudumuzda metabolik reaksiyonlar sonucu ortaya çıkan ve böbreklerden idrar yoluyla sürekli atılan en önemli toksik maddelerden biridir (51). Amino asitlerin başlıca α -amino asidinden türeyen amonyak insanlara potansiyel olarak toksik etkilidir. Amonyakın neden olduğu toksik etki mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Vücut bu toksik olan amonyaktan toksik olmayan üreyi meydana getirir. Amonyakın üreye çevrilişi ve üre döngüsündeki metabolik yolun normal işleyişi sağlığın korunması için esastır. Bazı sirozlu bireylerde ve ağır hepatitli hastalarda karaciğer fonksiyonları ciddi bir şekilde etkilendiğinden amonyak kanda birikir ve klinik semptom ve belirtilere yol açar.

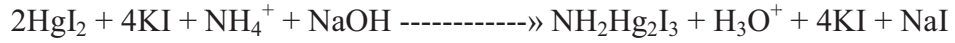
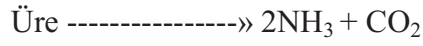
Amonyak zehirlenmesinin semptomları, konuşmanın peltekleşmesi, görme bulanıklığı ağır vakalarda koma ve ölümü kapsar. Tedavi, kan amonyak düzeyini düşürmek üzere tasarlanan tedbirleri kapsar (9).

Tıbbi amaçlı uygulamalar için immobilizasyon sistemlerinin geliştirilmesinde en çok kullanılan enzimlerin başında üreaz gelir. Bu enzimin bağıl olarak ucuzluğu, dayanıklılığı ve kolay izlenebilmesinin yanı sıra kanda ve idrarda ürenin kantitatif tayininde yaygın olarak kullanılması bu seçimde göz önünde bulundurulmaktadır.

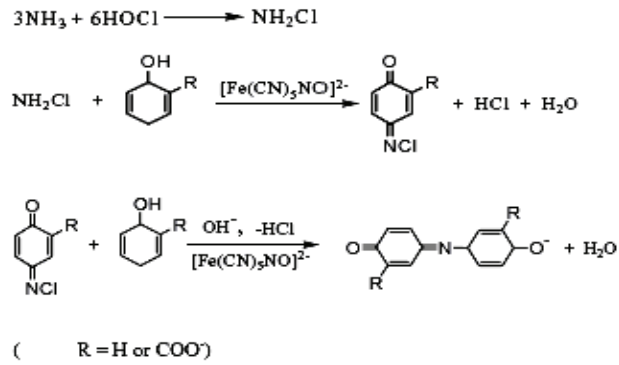
Klinik uygulamalarda üre ölçümü renal ve metabolik hastalıkların teşhisinde kullanılmaktadır (63). Klinik üre tayinlerinde en çok kullanılan yöntem Berthelot Yöntemidir. Ancak başta spektrofotometrik yöntem olmak üzere birçok üre tayin yöntemi vardır. Üre analizinde kullanılan spektrofotometrik yöntemler şunlardır;

Nessler Yöntemi: Üreazın üre ile enzimatik reaksiyonu sonucunda oluşan NH_3 Nessler Belirteci ile açık sarı koyu turuncu arasında renk oluşturmakta, oluşan bu renk spektrofotometrik olarak tayin edilmektedir.

üreaz



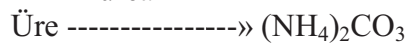
Berthelot Yöntemi: Üreazın üre ile enzimatik reaksiyonu sonucunda oluşan NH_3 sodyum hipokloritli ortamda ve sodyum nitroprosit katalizörü eşliğinde fenol ile tepkimeye girerek mavi renkli indofenolu oluşturur ve rengin şiddeti üre miktarıyla doğru orantılıdır. Oluşan renk spektrofotometrik olarak ölçülür.



Şekil 1.22. İndofenol oluşum mekanizması

Çift Enzim Yöntemi: Hastalık teşhisi için yapılan tetkiklerde en çok kullanılan spektrofotometrik yöntem, çift enzim yöntemidir (63).

üreaz



Glutamat



Dehidrogenaz

Günümüzde, özellikle klinik çalışmalarda basit ve kolay uygulanabilir ölçüm tekniklerine ilgi giderek artmaktadır. Bu nedenle de enzim ve madde kullanımını azaltacak biyosensörlerin geliştirilmesi oldukça önemlidir (64). Üreazın biyokatalizör olarak üre biyosensörlerinde kullanımının geliştirilmesi biyokimya ve klinik analizcilerin ilgisini çekmeye devam etmektedir. Yapılan çalışmalarda genel prensip immobilize üreaz ile membran yüzeyi kaplanarak oluşturulan biyosensörlerde ürenin amonyum ve bikarbonata dönüştürülerek ürün miktarını gözlemektir (65).

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

Geleneksel yapay böbrekler hacimli, ağır, karmaşık ve pahalı, taşınması ve uygulaması zor, hastanın hareketini engelleyicidir. Mikrokapsüllenmiş üreazın kullanımıyla böbrek fonksiyonları zarar görmeden hastanın kanındaki üre seviyesini değiştirmeyi sürdürebilecek daha kullanışlı, taşınabilir ve kolay uygulanabilir böbrek makinesi geliştirme çalışmaları yapılmaktadır (33).

Atık sularda ürenin temizlenmesinde: Üre diyaliz çözeltilinde bulunan bir atıktır. Her kullanımda yaklaşık 100 ile 300 litre diyaliz suyu oluşur. Hem çevrenin korunması hem de bu suyun tekrar kullanılabilmesi için ürenin bu ortamdan uzaklaştırılması gerekir (66).

1.2.9. Anti-Üreaz aktivitesi ile İlgili Literatür Taraması

- Samah Shabana ve arkadaşları (2010) yenilebilir bitkilerde üreaz inhibitörlerinin taranması ve inhibitörlerin kimyasal yapıları isimli makalesinde Japonya'nın Osaka Kentinden toplamış oldukları 125 çeşit bitki ve sebzelerin farklı çözücülerdeki üreaz inhibisyonlarını araştırmışlar ve beş örneğin (maş fasulyesi, ananas, tarçın, avokado kabuğu ve guava) %71-100 aralığında üreaza karşı yüksek aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir (67).
- Tahseen Ghous ve arkadaşları (2010) üreaz inhibitör aktivitesi için seçilen şifalı bitkilerin taranması isimli makalede Pakistan'ın Kaşmir Bölgesi'nde yetişen 11 adet bitkide üreaz inhibisyonunu incelemiştir. Çalışmanın sonucunda *Taraxacum officinale*, *Mentha longifolia* bitkilerinin etanol ekstreleri, *Achillea millefolium* ve *Aristolachia bracteata* bitkilerinin metanol ekstrelerinin üreaz enzimi üzerine inhibisyon etkisi gösterdiğini bildirmişlerdir (68).
- Samah Shabana ve arkadaşları (2009) *Allium cepave* (soğan) *Psidium guajava* (Elma guava) izole edilen kuersetin glikozidlerinin üreaza karşı inhibitör aktivitesini incemiştir. Çalışmanın sonucunda kuersetin-4'-O-β-D-glukozidin %53 ve avicularinin ise %48 oranında üreaza karşı yüksek aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir (69).
- Yasemin Dinç (2009) üreaz enziminin bazı tıbbi bitkiler tarafından inhibisyonu isimli tezinde 18 bitkiden dut yaprağının (IC₅₀ 72.81 ± 15.60), üreaza karşı yüksek aktivite gösterdiğini bildirmiştir (44).
- Farzaneh Nabati ve arkadaşları (2012) İranda üreaz aktivitesine karşı yaygın olarak kullanılan şifalı bitkileri incelemiştir. Çalışmanın sonucunda *Sambucus ebulus* (IC₅₀ 57 µg/mL) ve *Rheum ribes* (IC₅₀ 92 µg/mL) bitki ekstrelerinin üreaz enzimi üzerine inhibisyon etkisi gösterdiğini bildirmişlerdir (70).

Çalışmamızda, sağlık alanında özellikle gastrointestinal sistem rahatsızlıklarında, böbrek ile ilgili şikâyetlerde kullanılmak üzere Giresun yöresinde yabani olarak yetişen çeşitli yenilebilir bitkilerin farklı çözücülerdeki ekstralarının anti-üreaz enzim aktivitesi araştırılacaktır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Deneylerde Kullanılan Aletler ve Kimyasal Maddeler

Buzdolabı	: Arçelik
Destile Su Cihazı	: Nüve-NS-108
Etüv	: Binder
pH Metre	: Butech
UV-VIS Spektrofotometre	: PG Instruments T80+
Terazi	: Shimadzu AUx220
Hassas Terazi	: Sartorius
Su Banyosu	: Memmert
Ultrasonikasyon	: Selecta
Otomatik Pipetler	: Brand Pipetleri
Evaporatör	: Büchi Rotavapor R-200

Bu çalışmada, dimetilsülfoksit (DMSO) ((CH₃)₂SO, Merck), metanol (CH₃OH-Merck), etilasetat (CH₃COOCH₂CH₃-Merck), potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄-Merck), dipotasyum hidrojen fosfat (K₂HPO₄-Merck), üre (NH₂-CO-NH₂-Riedel-de-Haen Marka), üreaz (Merck) ve fenol kırmızısı (Merck) kimyasalları kullanıldı.

2.2. Enzim İnhibisyonu Tayininde Kullanılan Bitki Materyalleri

Çalışmamızda, üreaz inhibitörü aktivite tayininde çalı çileği, kuzukulağı, yayla pancarı, ezeltre, gücükdene, diken ucu, kara lahana, mendek, sakarca ve pazı bitkileri kullanıldı.

Giresun'daki bazı köylerden toplanan veya pazarlardan temin edilen bitki materyalleri yıkandı, destile sudan geçirildi ve gölgede kurutuldu.

2.2.1. Kara Lahana

Yöresel Adı: Pancar

Bilimsel Adı: *Brassica oleracea*



Resim 2.1 Kara lahana bitkisi (72)

Kara lahana (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*), vitamin ve mineraller açısından oldukça zengin bir soğuk iklim sebzesidir. Yeşil klorofil pigmentleri içinde bol miktarda beta-karoten, askorbik asit (C vitamini) ve kalsiyum içerir. Koyu yapraklı olanları daha fazla beta-karoten içerir. Antioksidan ve fotokimyasal özellikleri olan kara lahana bitkisi birçok kanser türünün ve kalp hastalığı riskinin azaltılmasına yardımcı olmaktadır. Kara lahanada çok az miktarda yağ ve sodyum da bulunmaktadır (71).

Yöre Yemekleri: Çorbası, katı kepirlisi, kavurması, sarması ve turşusu yapılır (72).

2.2.2. Sakarca

Yöresel Adı: Çökülce

Bilimsel Adı: *Ornithogalum umbellatum*



Resim 2.2 Sakarca Bitkisi (72)

Genellikle fındık bahçelerinde, yol kenarlarında, çayırılık alanlarda yetişmektedir. Ornithogalum türleri üzerine yapılan fitokimyasal çalışmalarda, kolestan glikozitleri, kolestan bisdesmosidleri, kardenolid glikozitleri ve flavonoid glikozitleri bulunmuştur (73-79).

Yöre Yemeği: Sakarca mıhlaması (72).

2.2.3. Diken Ucu

Yöresel Adları: Merevcen, Melocan, Özdiken, Silcan, Melvocan

Bilimsel Adı: *Smilax excelsa*



Resim 2.3 Diken ucu bitkisi (72)

Diken ucundan elde edilen bir bitkidir. Doğal olarak yetişir. Yaprakların uç sürgünü yenir. Halk hekimliğinde, göğüs kanseri, mide ağrısını iyileştirmede (80) ve hazmı kolaylaştırmada (81) kullanılmaktadır.

Yöresel Yemekleri: Kavurması ve konservesi yapılır (72).

2.2.4. Kuzukulağı

Yöresel Adları: Labada, Ekşimik, Turşuotu

Bilimsel Adı: *Rumex acetosella*



Resim 2.4 Kuzukulağı bitkisi (81)

Bu tür 20-50 cm. yükseklikte, kırmızımtırak gövdeli, çiçekleri pembe renkli, çok yıllık ve otsu bir bitkidir. Yapraklar tüysüz ve ok biçiminde, ekşi lezzetlidir. Anadolu'da yaygın bir bitkidir. Yapraklar potasyum tuzu halinde oksalik asit, kökler ise tanen taşımaktadır (82)

Yöresel Yemekleri: Çorbası yapılır.

2.2.5. Çalı Çileği

Yöresel Adı: Çileklik

Bilimsel Adı: *Vaccinium myrtillus*



Resim 2.5 Çalı çileği bitkisi (84)

Çalı çileği (yaban mersini-likapa) çok farklı amaçlar için kullanılabilir. Yaprak ve kuru meyvelerinden yapılan çay ishal giderici özellik taşımakta, bayanlarda özel günlerin etkisini azaltarak düzene sokmakta ve idrar yolu enfeksiyonlarında antibiyotik etkisi göstermektedir. Kansere karşı vücudu koruyan enzimleri aktive eden likapa anti kanserojen ve antioksidan özelliğe sahiptir. Yağlı bileşiklerin vücuttan atılmasını sağlar, kalp krizi riskini azaltır ve taze olarak yenildiğinde kanı temizler. Besleyici olmasına rağmen kalori ve sodyum içeriği düşüktür. Kan şekerini düşürür, lifli yapısından dolayı bağırsak metabolizmasını düzenler ve kan kolesterolünü düşürür. Gece görüş kabiliyetini artıran likapa, göz yorgunluğunu giderir, miyopluk ve şeker hastalığından kaynaklanan görme bozukluklarını engeller. Gözlerde kamaşma, kılcal damar çatlaması ve gece körlüğünü ortadan kaldırır, damar elastikliği ve gözlerin geçirgenliğini artırır. HIV (Human Immunodeficiency Virus) Virüsü'nün tekrarlanmasını azaltır. Vücutta biyoaktif madde olarak kullanılan polifenoller, aktosiyantinler, flavanoller ve tanenlerce zengin olup kansere karşı savaşan Ellagic-asit içeriği oldukça yüksektir.

Diyetlerin sağlıklı ve çok değerli bir parçasıdır. Kabızlık, bulantı, mide kramplarını ve ülseri önler. Damar sertliği oluşumunu engelleyen likapa varis ve basuru (hemoroit) iyileştirir. Ayrıca sakinleştirici özelliği vardır ve ağız içi yaralarını iyileştir ve iltihaplar için dezenfektan özelliği taşımaktadır (85).

2.2.6. Ezelttere

Yöresel Adları: Anason, Enison, Mesirotu

Bilimsel Adı: *Pimpinella anisum*



Resim 2.6 Ezelttere bitkisi (86)

Anadolu'da yaygın olarak yetişen *Apiaceae* familyasından aromatik bir bitki olup; eskiden beri yaprak ve çiçekleri ile tohumundan tonik, antispazmodik, ekspektoran, antiseptik, antifungal, sedatif, antidepresan ve galaktogog olarak yararlanılmakta; %70-90 *anaethole* içeren ekstreleri de uyarıcı, tonik, aromatik özellikleri ile bilinmektedir. Hepatoprotektif etkisi olduğu da düşünülmektedir (87).

2.2.7. Pazı

Yöresel Adı: Pezik

Bilimsel Adı: *Beta vulgaris* var. *cicla*



Resim 2.7 Pazı bitkisi (81)

Pazı oldukça besleyici bir sebze türüdür. İçeriğinde yüksek miktarda sodyum bulunur. Düşük kalorili olan pazı bitkisi mineraller bakımından fakir bir bitki olmasına karşın askorbik asit içeriği açısından oldukça zengindir (88,89). Yüksek miktarda A vitamini içeren pazı yaprakları buna bağlı olarak sodyum da içermektedir. Sodyumun yanında pazı içerisinde kalsiyum, fosfor, magnezyum, demir ve potasyum da bulunmaktadır. Ayrıca pazı içerisinde palmitik, sitrik, oleik (Omega-9), linoleik asit (Omega-6) gibi uçucu yağ asitleri, folik asit, pektin, askorbik asit, fosfolipit, glikolipit ve polisakkaridler de bulunmaktadır (90).

Yöre Yemekleri: Kavurması, sarması, yoğurtlaması yapılır (72).

2.2.8. Mendek

Yöresel Adı: Baldıran

Bilimsel Adı: *Aegopodium podagraria*



Resim 2.8 Mendek bitkisi (72)

Baldıran özel olarak ekilip yetiştirilen bir bitki değildir. Bir önceki yılın gabalarından dökülen tohumlardan çıkar. Eğer çıktığı arazi sürülüp işlenen bir araziye, daha iyi büyürler ve daha taze olurlar. Dünyada diüretik, sedatif, yara iyileştirici olarak bilinmekte olup gut ve siyatikte kullanılmaktadır (91).

Yöre Yemekleri: Kavurması ve çorbası yapılır (72).

2.2.9. Gücükdene

Yöresel Adları: Kurtpençesi, Çıyancık, Kurttırnağı

Bilimsel Adı: *Polygonum bistorta*



Resim 2.9 Gücükdene bitkisi (92)

Polygonaceae familyasına ait cinsi olup ülkemizde tıbbi amaçla kullanılan ve doğal olarak yayılım gösteren 33 türü bulunmaktadır (93). *Polygonum* cinsinin bazı türleri geleneksel sağaltımda kullanılmakla beraber *Polygonum bistorta*'nın kurutulmuş kök ve rizomlarının antitüsitif ve antimikrobiyal özellikleri olduğu bulunmuştur (94). British Herbal Farmakopede dergisinde ise antidiyareik ve antiinflamatuvar etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (95).

Yöre Yemekleri: Gücükdene çorbası.

2.2.10. Yayla Pancarı

Yöresel Adları: Kuş Pancarı, Çobançantası,

Kuş Ayağı Pancarı

Bilimsel Adı: *Capsella bursa-pastoris* L.



Resim 2.4 Yayla pancarı bitkisi (96)

Halk hekimliğinde kurt düşürücü, kan temizleyici, bağırsak yumuşatıcı, yaraların iyileşmesini hızlandırıcı, egzama ve göz iltihabını iyileştirici (97); kabızlık önleyici ve idrar söktürücü (98) olarak ve diyabette (99) kullanılmaktadır.

2.3. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması

Kurutulan bitkilerin sulu, metil alkollü ve etil asetatlı ekstreleri hazırlandı.

2.3.1. Sulu Ekstrelerin Hazırlanması

Bitkiler kurutulup toz haline getirildikten sonra her bitkiden 10'ar gram tartılıp cam balona konularak 100 mL distile su ilave edildi. Karışım geri soğutucu altında 8 saat reflüks edildi. Elde edilen karışım soğutulduktan sonra mavi bantlı süzgeç kağıdından süzüldü. Süzüntüdeki su rota evaporatöre yerleştirilerek düşük basınç altında tamamen karışımdan uzaklaştırıldı. Elde edilen her bir bitki ekstresi anti-ürez aktivite tayini yapıncaya kadar +4 °C'de muhafaza edildi.

2.3.2. Metil Alkol ve Etil Asetat Ekstrelerinin Hazırlanması

Bitkiler kurutulup toz haline getirildikten sonra her bitkiden 10'ar gram tartılıp Sokslet cihazının kartuşuna yerleştirildi. Kartuş Sokslet cihazına yerleştirildi. Sokslet cihazının balonuna 100 mL metil alkol konuldu. Karışım geri soğutucu altında 8 saat reflüks edildi. Elde edilen karışım soğutuldu ve süzüldü. Süzüntüdeki metanol rota evaporatöre yerleştirilerek düşük basınç altında karışımdan uzaklaştırıldı. Aynı işlem etil asetat için de gerçekleştirildi. Elde edilen her bir bitki ekstresi anti-ürez aktivite tayini yapıncaya kadar +4 °C'de muhafaza edildi.

2.4. Anti-Ürez Aktivitesinin Ölçülmesi

Ürez inhibitörü etkisi Van Slyke ve Archibald (100) metodundan yararlanılarak spektrofotometrik olarak tayin edildi. Çalışmamızda hazırlanan bitkilerin sulu, metil alkollü ve etil asetatlı bitki ekstreleri DMSO'da çözülüp yine DMSO ile farklı konsantrasyonlardaki çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan çözeltilerden

0,5'er mL alındı. Üzerine üreazın 100 mM fosfat tamponunda (pH 6.8) hazırlanan 16 mg/mL'lik çözeltisinden 0,5 mL ilave edildi. Bu karışım 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Kontrol çözeltisi olarak 500 mM üre içeren fosfat tamponu (pH 6.8) çözeltisinden 0,5 mL alındı. Üzerine üreazın 100 mM fosfat tamponunda pH 6.8'de hazırlanan 16 mg/mL'lik çözeltisinden 0,5 mL ilave edildi. Bu karışım 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Örnek ve kontrol çözeltilerinin üzerine 30 dakika inkübasyondan sonra 1 mL'sinde 1 µg fenol kırmızısı bulunan üre fosfat tampon çözeltisinden (pH 6.8) 0,4 mL ilave edildi ve spektrofotometrede 570 nm'de köre karşı absorbanı okundu.

Kör olarak 100 mM fosfat tampon (pH 6.8) çözeltisi kullanıldı.

Yapılan çalışmada farklı konsantrasyonlarda hazırlanan örneklerin anti-üreaz inhibisyon aktivite değerleri aşağıdaki denkleme göre hesaplandı:

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

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

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

Deneyler 3 kez tekrarlandı ve ortalaması alındı. Hazırlanan bitki ekstraktlarının üreaz enzimi üzerindeki % inhibisyon değerleri hesaplandı.

Üreaz enziminin IC₅₀ değeri (Enzimin % 50 inhibisyon etkisi göstermesi için gerekli olan madde miktarı) absise konsantrasyon, ordinata % üreaz inhibisyon değerlerinin uygulanması ile çizilen eğrinin lineer kısmından elde edilen regresyon denkleminde hesaplandı.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada Giresun Yöresi'nde yetişen yenilebilir bitkilerin anti-ürezaz inhibisyon aktiviteleri incelendi.

3.1. Bitki Ekstrelerinin Anti-Ürezaz İnhibisyon Aktivitesi

Kuzu kulağı, gücükdene, kara lahana, sakarca, yayla pancarı, ezeltire, diken ucu, mendek, pazı, çalı çileği bitkilerinin sulu, metil alkollü ve etil asetatlı bitki ekstralarının farklı konsantrasyonları için hesaplanan inhibisyon değerleri ve konsantrasyon-% ürezaz inhibisyon grafikleri yardımı ile belirlenen IC₅₀ değerleri Tablo 3.1 - 3.3'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Bitkilerden Hazırlanan Sulu Ekstrelerin Ürezaz Enzimi Üzerindeki % İnhibisyon ve IC₅₀ Değerleri

Bitki Adı	Konsantrasyon (µg/mL)	% Ürezaz İnhibisyonu	IC ₅₀ Değeri (µg/mL)
Çalı Çileği	0,00001	33,011 ± 0,760	0,0082 ± 0,004
	0,0001	34,193 ± 0,608	
	0,001	35,698 ± 0,912	
Kuzu Kulağı	0,0001	30,176 ± 0,934	1,087 ± 1,056
	0,001	32,048 ± 0,467	
	0,01	32,819 ± 0,311	
Yayla Pancarı	0,0001	34,682 ± 2,660	0,051 ± 0,064
	0,00001	31,768 ± 4,706	
	0,001	33,463 ± 5,028	
Ezeltire	0,0001	34,267 ± 2,531	0,357 ± 0,366
	0,001	29,018 ± 1,748	
	0,1	29,291 ± 2,447	
		29,842 ± 2,136	

Tablo 3.1 (devam)

Gücükdene	0,000001	33,635 ± 2,139	0,0012 ± 0,0001
	0,00001	34,493 ± 2,325	
	0,0001	35,286 ± 1,905	
Diken ucu	0,0005	36,227 ± 7,560	0,042 ± 0,019
	0,001	37,081 ± 5,836	
	0,005	37,909 ± 9,418	
	0,01	39,269 ± 4,503	
Kara Lahana	0,01	36,478 ± 6,464	12,176 ± 0,883
	0,1	40,047 ± 4,746	
	1	42,630 ± 2,515	
	10	42,857 ± 2,868	
Mendek	0,000001	25,441 ± 3,646	0,0003 ± 0,0001
	0,00001	28,372 ± 0,980	
	0,0001	33,097 ± 0,749	
Sakarca	0,00001	39,131 ± 7,050	0,0012 ± 0,0002
	0,0001	41,086 ± 6,365	
	0,001	41,458 ± 8,960	
Pazı	0,01	37,082 ± 3,868	11,695 ± 0,821
	0,1	37,993 ± 2,149	
	1	40,121 ± 0,429	
	10	42,857 ± 3,008	

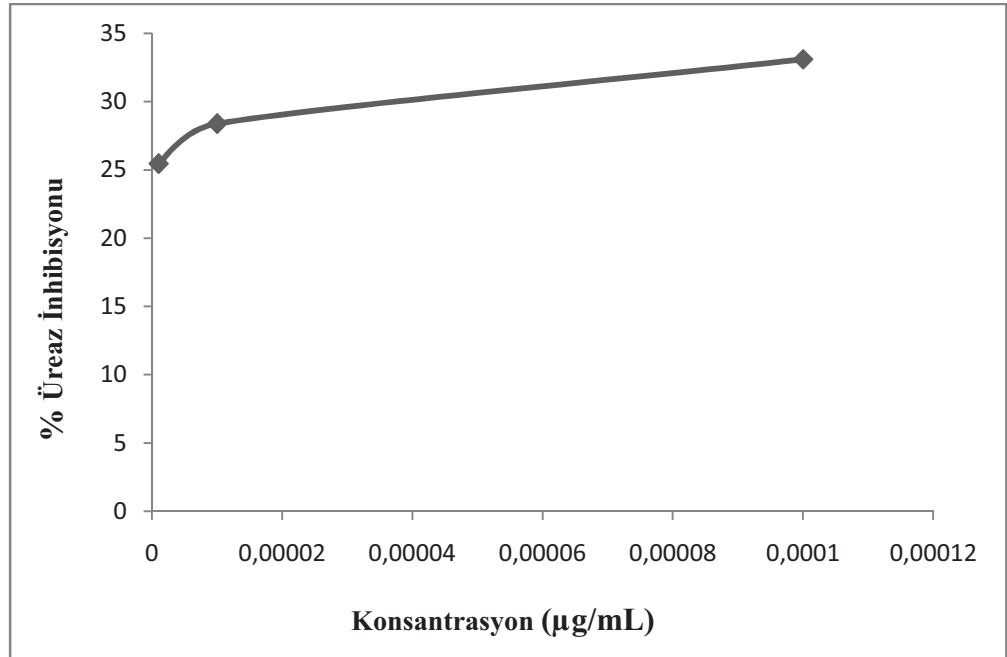
Tablo 3.1 incelendiğinde;

- a. Bitkilerin, üreaz üzerindeki inhibisyon etkilerinin en yüksek üreaz inhibisyonundan başlayarak mendek, gücükdene, sakarca, çalıçileği, diken ucu, yayla pancarı, ezeltre, kuzukulağı, pazı, kara lahana olarak sıralandığı görülmektedir.
- b. Bitkiler içinde IC₅₀ değerinin en düşük olması nedeniyle en yüksek oranda üreazı inhibe eden ekstrenin mendek (IC₅₀ 0,0003 ± 0,0001

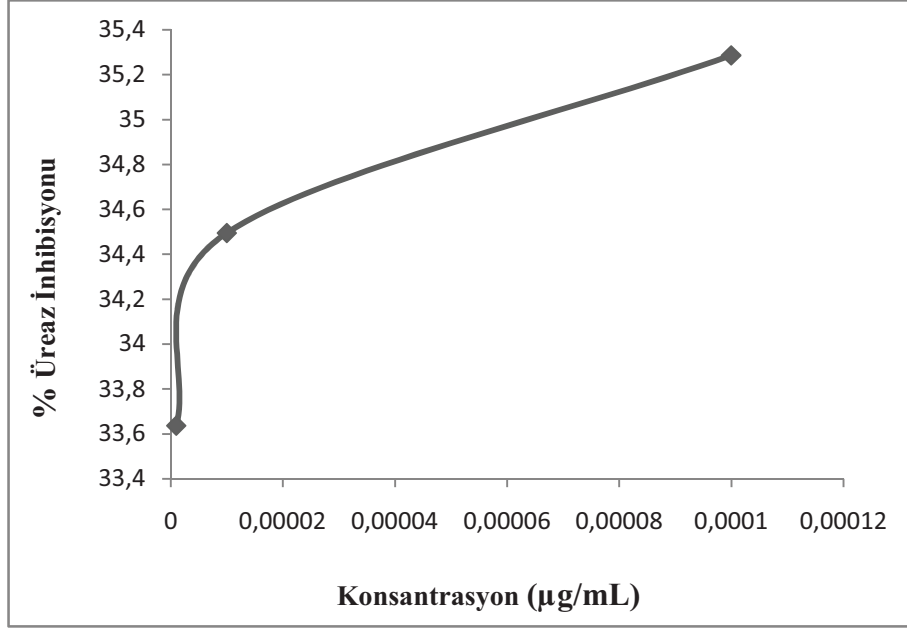
$\mu\text{g/mL}$) sulu ekstresi olduğu gör÷lmektedir. Mendeği takiben g÷c÷kdeneye (IC_{50} $0,0012 \pm 0,0001 \mu\text{g/mL}$), sakarca (IC_{50} $0,0012 \pm 0,0002 \mu\text{g/mL}$) ve çalı ileği (IC_{50} $0,0082 \pm 0,004 \mu\text{g/mL}$) bitkilerinin sulu ekstrelerinin ureazı inhibe ettiği gör÷lmektedir (Tablo 3.1).

- c. Genel olarak sonuçlara bakıldığında diğer bitkilerin de kabul edilebilir etkin bir inhibit÷r aktivitesine sahip olduğu s÷ylenebilir.

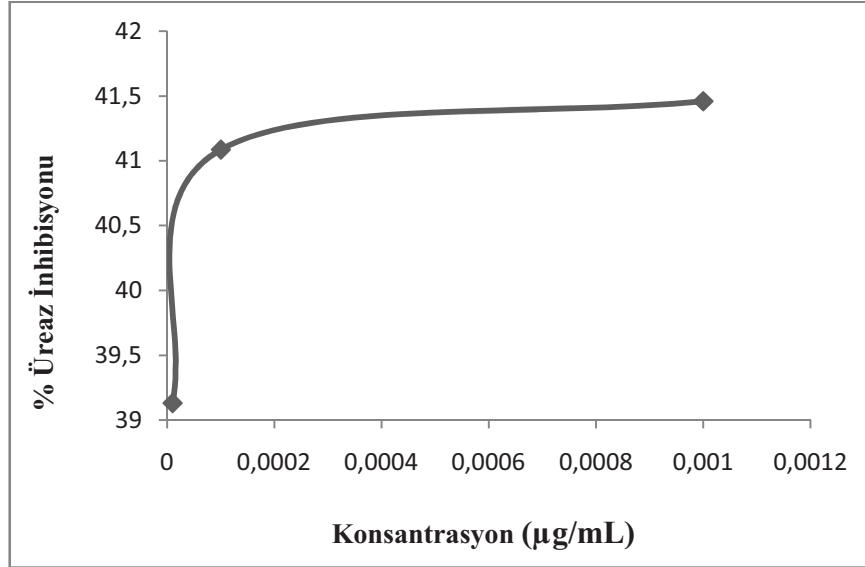
Çalışmamızda, hazırlanan sulu bitki ekstreleri arasında en d÷ř÷k konsantrasyonda en y÷ksek ureaz inhibisyonuna neden olan ve en d÷ř÷k IC_{50} değerine sahip ilk d÷rt bitkinin sulu ekstrelerine ait konsantrasyon - % ureaz inhibisyon grafikleri Şekil 3.1- 3.4' de verilmiştir.



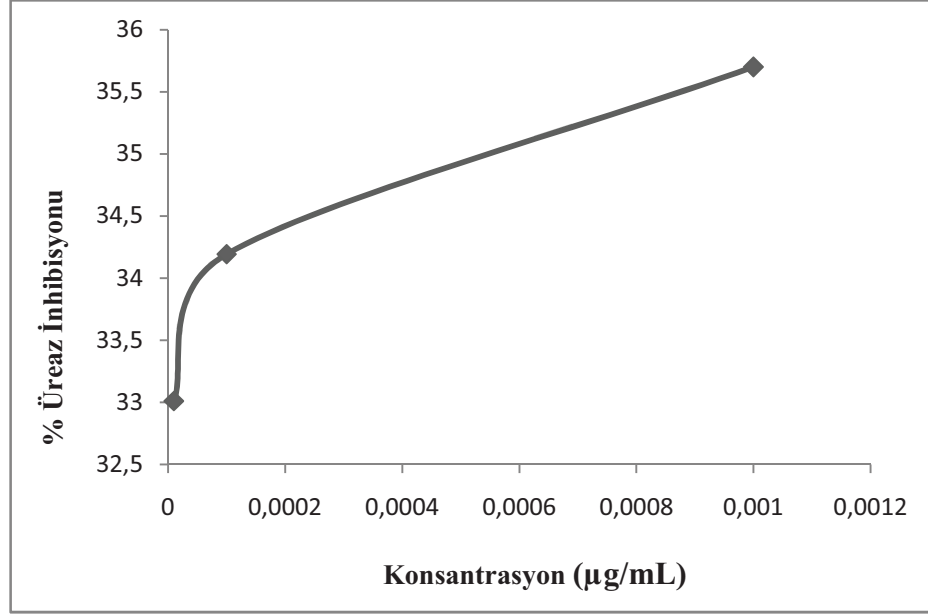
Şekil 3.1 Mendeği sulu ekstresinin konsantrasyon-% ureaz inhibisyon grafiği



Şekil 3.2 Gücükdene sulu ekstresinin konsantrasyon-% üreaz inhibisyon grafiği



Şekil 3.3 Sakarca sulu ekstresinin konsantrasyon-% üreaz inhibisyon grafiği



Şekil 3.4 Çalı çileği sulu ekstresinin konsantrasyon-% üreaz inhibisyon grafiği

Tablo 3.2 Bitkilerden Hazırlanan Etil Asetatlı Ekstrelerin Üreaz Enzimi Üzerindeki % İnhibisyon ve IC₅₀ Değerleri

Bitki Adı	Konsantrasyon (µg/mL)	% Üreaz İnhibisyonu	IC ₅₀ Değeri (µg/mL)
Çalı Çileği	0,000001	33,548 ± 0,912	0,00014 ± 1,28
	0,00001	33,978 ± 1,520	
	0,0001	34,408 ± 0,304	
Kuzu Kulağı	0,01	29,102 ± 0,618	3,766 ± 0,313
	0,1	32,385 ± 1,547	
	1	35,448 ± 2,785	
Yayla Pancarı	0,000001	32,322 ± 2,894	0,0006 ± 0,000
	0,00001	36,146 ± 2,594	
	0,0001	36,538 ± 0,679	
Ezeltere	0,000001	30,579 ± 0,905	0,233 ± 0,274
	0,0001	32,173 ± 3,135	
	0,01	33,188 ± 1,536	

Tablo 3.2 (devam)

Gücükdene	0,001	33,817 ± 1,882	14,401 ± 0,248
	0,1	34,378 ± 3,189	
	1	34,626 ± 3,539	
	10	34,724 ± 0,599	
Diken ucu	0,0001	38,995 ± 5,234	0,0012 ± 0,0001
	0,0005	39,380 ± 7,338	
	0,001	40,843 ± 4,209	
Kara Lahana	0,000001	39,045 ± 1,816	0,0009 ± 0,00002
	0,00001	42,858 ± 4,239	
	0,0001	46,685 ± 1,172	
	0,001	50,552 ± 0,390	
Mendek	0,0001	26,727 ± 0,257	0,076 ± 0,041
	0,001	30,727 ± 0,257	
	0,01	31,636 ± 1,542	
Sakarca	0,0001	39,679 ± 5,756	0,057 ± 0,005
	0,001	40,351 ± 5,326	
	0,01	41,694 ± 4,466	
Pazı	0,000001	34,642 ± 11,111	0,00009 ± 0,000001
	0,00001	40,178 ± 8,333	
	0,0001	50,714 ± 1,010	

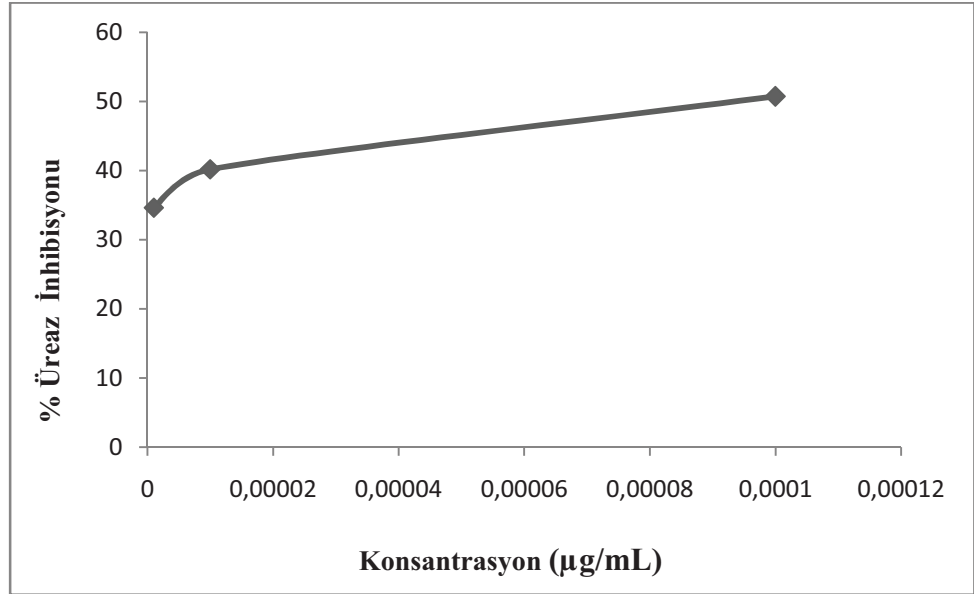
Tablo 3.2 incelendiğinde;

- a. Bitkilerin, üreaz üzerindeki inhibisyon etkilerinin en yüksek üreaz inhibisyonundan başlayarak pazı, çalıçileği, yayla pancarı, kara lahana, diken ucu, sakarca, mendek, ezeltire, kuzu kulağı ve gücükdene olarak sıralandığı görülmektedir.
- b. Çeşitli bitkiler içinde IC₅₀ değerinin en düşük olması nedeniyle en yüksek oranda üreazı inhibe eden ekstrenin pazının (IC₅₀ 0.00009 ± 0.000001µg/mL) etil asetatlı ekstresi olduğu görülmektedir. Pazıyı takiben çalı çileği (IC₅₀

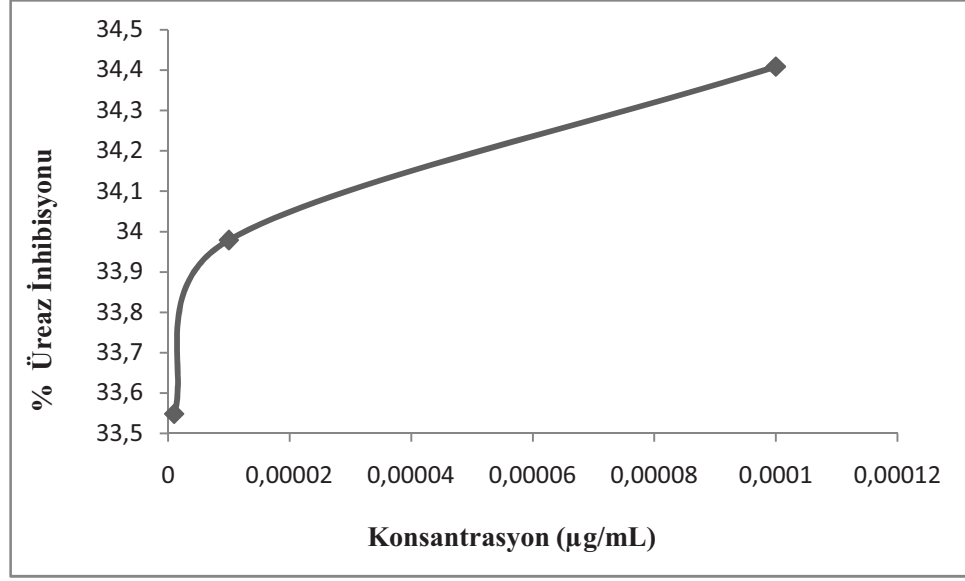
0.00014 ± 1.28 µg/mL), yayla pancarı (IC₅₀ 0.0006 ± 0 µg/mL) ve kara lahana (IC₅₀ 0.0009 ± 0.00002 µg/mL) etil asetatlı ekstralarının üreazı inhibe ettiği görülmektedir (Tablo 3.2).

- c. Genel olarak sonuçlara bakıldığında hazırlanan diğer etil asetatlı bitkilerin de kabul edilebilir etkin bir inhibitör aktivitesine sahip olduğu söylenebilir.

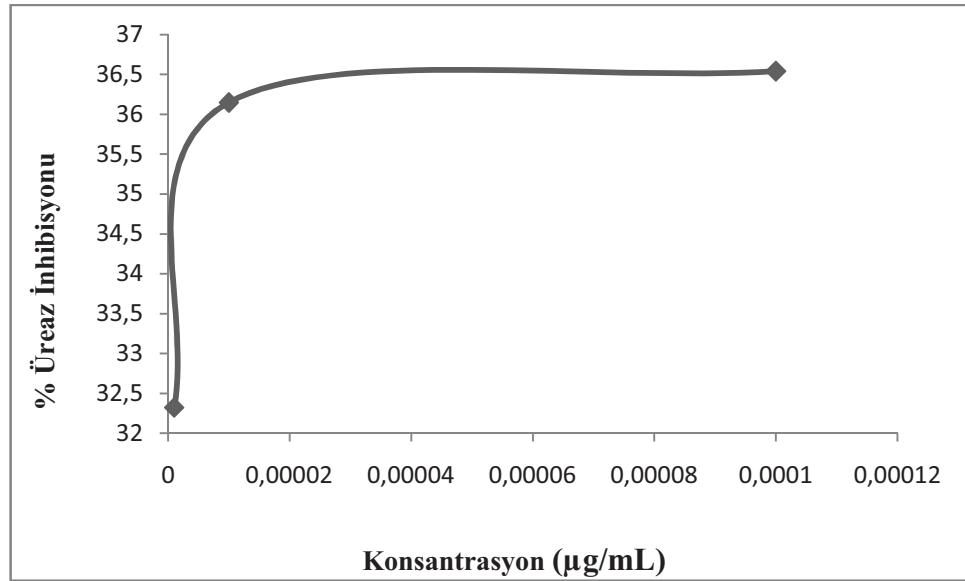
Çalışmamızda, hazırlanan etil asetatlı bitki ekstraları arasında en düşük konsantrasyonda en yüksek üreaz inhibisyonuna neden olan ve en düşük IC₅₀ değerine sahip olan ilk dört bitkinin etil asetatlı ekstralarına ait konsantrasyon - % üreaz inhibisyonu grafikleri Şekil 3.5- 3.8' de verilmiştir.



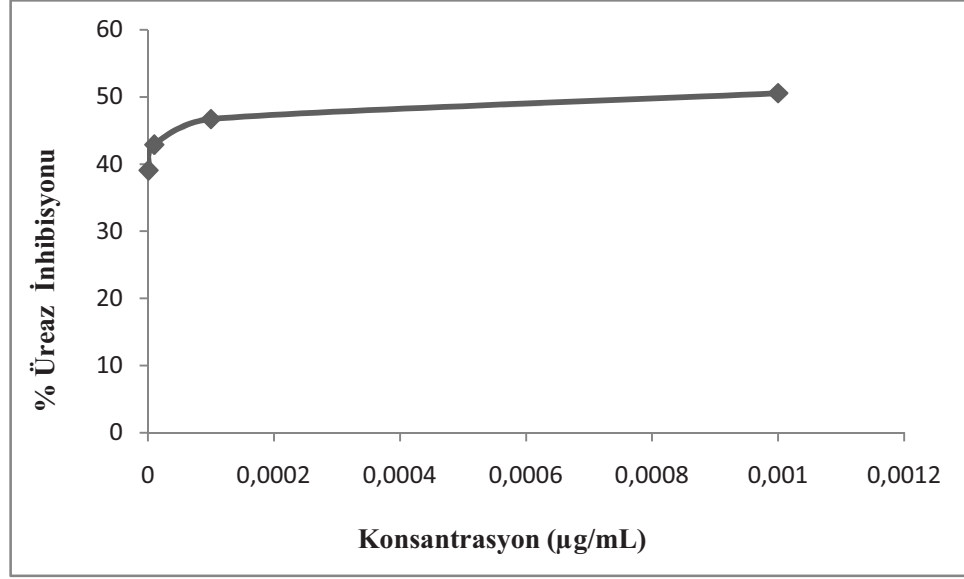
Şekil 3.5 Pazının etil asetatlı ekstresinin konsantrasyon-% üreaz inhibisyon grafiği



Şekil 3.6 Çalı çileğinin etil asetatlı ekstresinin konsantrasyon-% üreaz inhibisyon grafiği



Şekil 3.7 Yaya pancarı etil asetatlı ekstresinin konsantrasyon-% üreaz inhibisyon grafiği



Şekil 3.8 Kara lahana etil asetatlı ekstresinin konsantrasyon-% üreaz inhibisyon grafiği

Tablo 3.3 Bitkilerden Hazırlanan Metanollü Ekstrelerin Üreaz Enzimi Üzerindeki % İnhibisyon ve IC₅₀ Değerleri

Bitki Adı	Konsantrasyon (µg/mL)	% Üreaz İnhibisyon	IC ₅₀ Değeri (µg/mL)
Çalı Çileği	0,0001	32,285 ± 0,309	0,222 ± 0,221
	0,001	32,932 ± 0,464	
	0,01	33,916 ± 1,237	
Kuzu Kulağı	0,0001	31,497 ± 0,934	0,131 ± 0,120
	0,001	32,819 ± 0,934	
	0,01	34,361 ± 1,246	
Yayla Pancarı	0,00001	35,548 ± 10,674	0,003 ± 0,0021
	0,0001	39,440 ± 14,637	
	0,001	40,813 ± 10,921	
Ezeltere	0,0001	27,802 ± 0,304	1,705 ± 0
	0,01	29,095 ± 2,743	
	1	29,310 ± 0,000	

Tablo 3.3 (devam)

Gücükdene	0,000001	34,378 ± 3,189	0,342 ± 0,355
	0,0001	34,724 ± 0,599	
	0,01	35,582 ± 0,785	
Diken ucu	0,005	35,661 ± 5,768	0,094 ± 0,25
	0,01	38,177 ± 5,880	
	0,05	39,720 ± 2,620	
Kara Lahana	0,000001	45,945 ± 1,528	0,0032 ± 0,0038
	0,0001	49,459 ± 4,204	
	0,01	54,594 ± 2,293	
Mendek	0,000001	25,789 ± 0,059	0,0177 ± 0,0014
	0,0001	27,830 ± 0,219	
	0,1	28,191 ± 2,402	
Sakarca	0,001	38,824 ± 5,925	12,783 ± 1,778
	0,1	39,372 ± 4,631	
	10	39,496 ± 5,496	
Pazı	0,001	49,848 ± 0,429	0,0092 ± 3,691
	0,01	53,951 ± 0,214	
	0,1	54,635 ± 2,687	

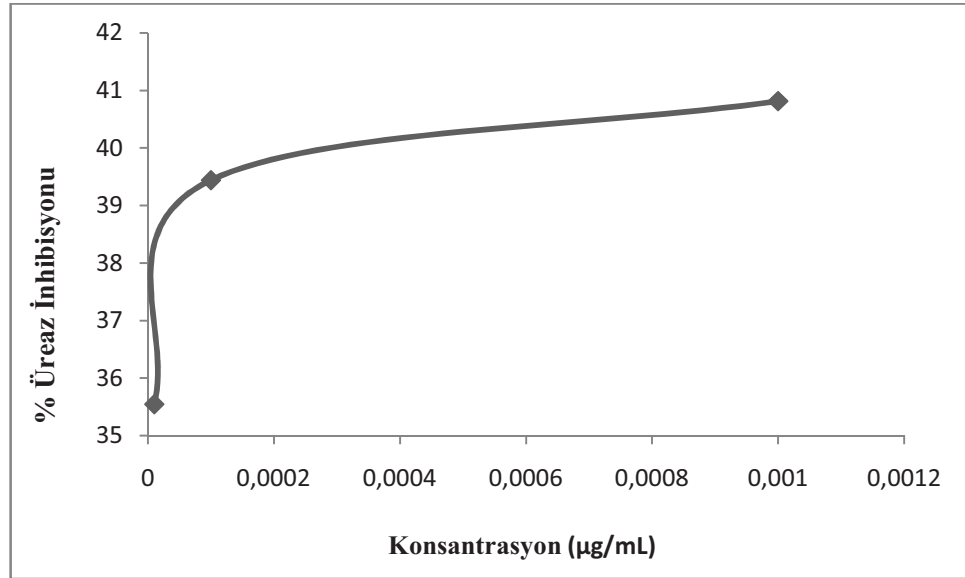
Tablo 3.3 incelendiğinde;

- a. Bitkilerin, üreaz üzerindeki inhibisyon etkilerinin en yüksek üreaz inhibisyonundan başlayarak yayla pancarı, kara lahana, pazı, mendek, diken ucu, kuzu kulağı, çalıçileği, gücükdene, ezeltire ve sakarca olarak sıralandığı görülmektedir (Tablo 3.3).
- b. Çeşitli bitkiler içinde IC₅₀ değerinin en düşük olması nedeniyle en yüksek oranda üreazı inhibe eden ekstrenin yayla pancarının (IC₅₀ 0.003 ± 0.0021µg/mL) metanollü ekstresi olduğu görülmektedir. Yayla pancarını takiben kara lahana (IC₅₀ 0.0032 ± 0.0038 µg/mL), pazı (IC₅₀ 0.0092 ± 3.691

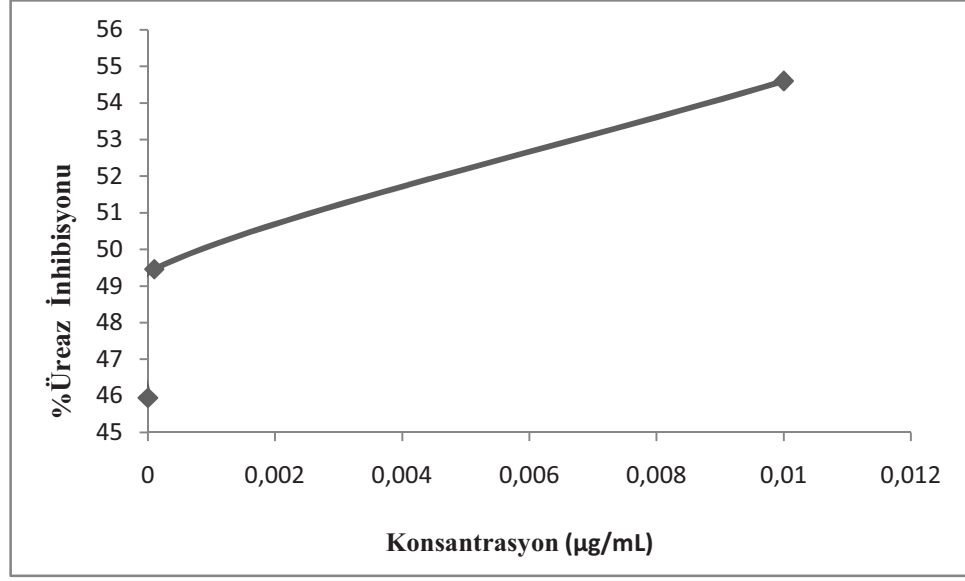
$\mu\text{g/mL}$) ve mendek ($\text{IC}_{50} 0.0177 \pm 0.0014 \mu\text{g/mL}$) metanollü ekstralarının üreazı inhibe ettiği görölmektedir (Tablo 3.3).

- c. Genel olarak sonuçlara bakıldığında hazırlanan diğer metanollü bitkilerin de kabul edilebilir etkin bir inhibitör aktivitesine sahip olduğu söylenebilir.

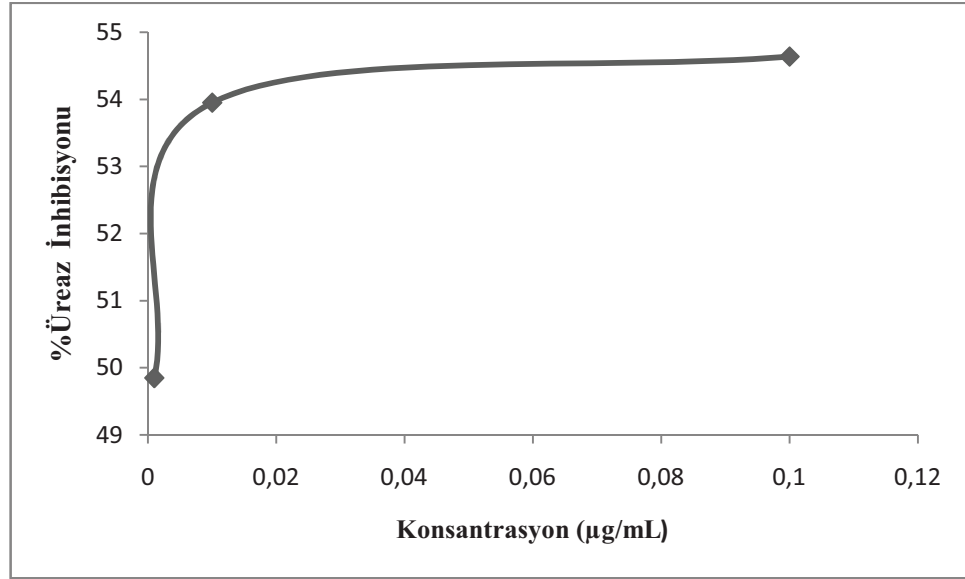
Çalışmamızda, hazırlanan metanollü bitki ekstraları arasında en düşük konsantrasyonda en yüksek üreaz inhibisyonuna neden olan ve en düşük IC_{50} değerine sahip olan ilk dört bitkinin metanollü ekstralarına ait konsantrasyon-% üreaz inhibisyonu grafikleri Şekil 3.9 - 3.12' de verilmiştir.



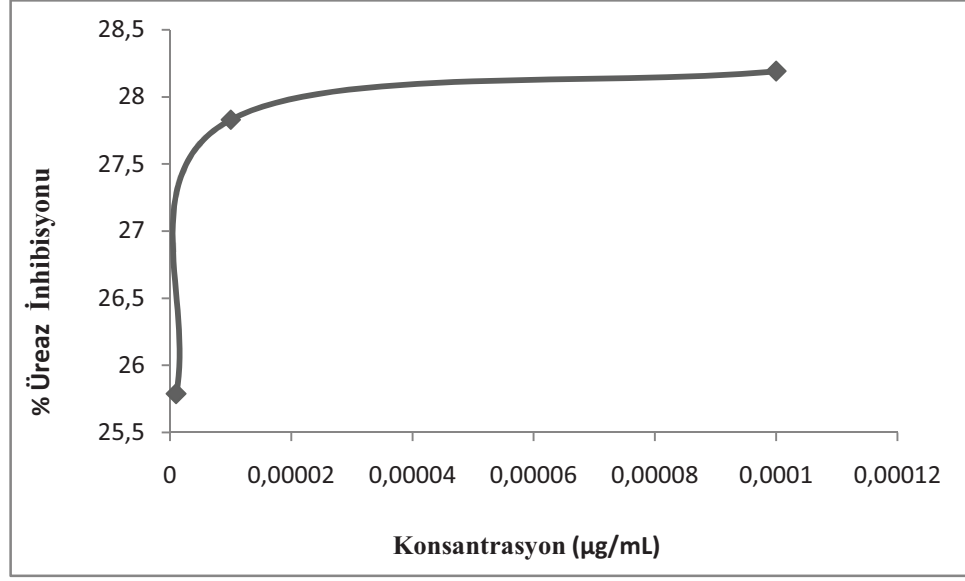
Şekil 3.9 Yavla pancarının metanollü ekstresinin konsantrasyon-% üreaz inhibisyon grafiği



Şekil 3.10 Kara lahana metanollü ekstresinin konsantrasyon-% üreaz inhibisyon grafiği



Şekil 3.11 Pazı metanollü ekstresinin konsantrasyon-% üreaz inhibisyon grafiği



Şekil 3.12 Mendek metanollü ekstresinin konsantrasyon-% üreaz inhibisyon grafiği

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bitkiler eski dönemlerden beri insanlar tarafından yaşayış tarzlarına bağlı olarak farklı amaçlarla değerlendirilmiştir. Bu bitkilerin yararlı ve zararlı özellikleri insanlar tarafından kullanılmaya başlanmasıyla tecrübe edilerek öğrenilmiştir (101).

Türkiye’de insanların çoğunlukla kırsal bölgelerde yaşaması nedeniyle bu yabani bitkilerin büyük bir bölümünü gıda amaçlı, bir kısmını ise baharat, ilaç ve boyar madde olarak kullanmaktadır (101).

Yenilebilir yabani bitkiler gıda amaçlı kullanılmalarının yanı sıra tıbbi amaçla da kullanılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), 1980 yılında tıbbi bitkileri “bir veya daha fazla organıyla tedavi edici veya hastalıkları önleyici olabilen veya herhangi bir kimyasal farmasötik sentezin öncüsü olabilen bitki çeşidi” olarak tanımlamıştır (102). Son yıllarda sağlık konusunda duyarlılığın artması, artan hastalıklara karşı sentetik ilaçların yetersiz kalması ve yan etkilerinin saptanması doğal ürünlerin kullanımına olan eğilimi arttırmıştır (103). Birçok bitki mikrobiyolojik, farmakolojik ve bitki savunma mekanizması bakımından çok yönlü araştırılmaktadır.

Bitkisel kaynaklı gıdalarda bulunan fenolik maddeler, diyet lifi, vitamin ve minerallerin, sağlık üzerine olumlu etkileri bilinmekte olup bu gıdalar fonksiyonel gıda olarak değerlendirilmektedirler. Fonksiyonel gıdalar, temel besin öğeleri gereksinimini karşılamanın yanında, vücutta özel fizyolojik etki sağlayan, hastalıklardan korunma ve tedavide etkinlik gösteren gıdalar olarak tanımlanmaktadır. Son yıllarda, gerek besin değeri gerek içerdikleri kimyasal bileşikler nedeniyle, doğal florada kendiliğinden yetişen bitkilerin sağlıklı beslenmedeki önemi giderek daha çok anlaşılmakta ve buna bağlı olarak da tüketimleri artmaktadır (104). Fonksiyonel gıdaların başta kardiyovasküler hastalıklar olmak üzere kanser ve osteoporoz gibi sağlık sorunlarının ortaya çıkma risklerini önleme ve/veya azaltma, mental performansı geliştirme gibi etkileri bulunmaktadır (105, 106).

Son yıllarda tıbbi bitkiler ve bunlardan elde edilen bitkisel ilaç hammaddeleri üzerinde yapılan çalışmalar büyük önem kazanmıştır. Bunların başlıca nedenleri, tedavide kullanılan sentetik ilaç hammaddelerinin bazılarında tehlikeli yan etkilerin görülmesi, bazı doğal ilaç hammaddelerinin sentetik olarak yapılamaması ve bitkisel hammaddelerin yarı sentez ürünlerde başlangıç maddesi kaynağı olması ile son zamanlarda önemli yeni bazı bitkisel ilaç hammaddelerin bulunması şeklinde sıralanabilir. Bitkisel ilaç hammaddelerin diğer bir üstün yanı da birkaç etkiye birden sahip olmalarıdır. Sentetik bileşikler ise genellikle tek bir etkiye sahiptir (107).

Vücudumuza aldığımız yiyeceklerin geçici bir süre depolandığı yer mide olmakla birlikte, fiziksel ve kimyasal olarak parçalandığı yer de midedir. Mide, salgı yapan bir organdır ve içinde gastrik asit bulunur. Mide, bu salgıdan kendini korumak için mukuslu yapışkan bir sıvı üretir. Gastrik asit fazla üretildiğinde midede yaralar ve ülser oluşumu başlarken, az üretildiğinde ise sindirim problemleri başlar (44).

HP, gastroduodenal inflamasyona neden olan, gastrik ve duodenal ülser ve atrofik gastrite yol açabilen bir bakteriyel patojendir (108). Tüm dünyada en sık görülen enfeksiyonlardan biridir ve dünya nüfusunun yaklaşık yarısı bu mikroorganizmayı taşımaktadır (109). Görülme sıklığı dünyanın değişik bölgelerinde farklılıklar göstermektedir (110).

HP, gastrik epitelinin mukus tabakasında kolonize olur ve gastrit, mide kanseri ve peptik ülser oluşumunun en büyük sebebi (111) olmakla birlikte kişiye ait genetik, immünolojik özellikler, sigara ve alkol alışkanlıkları, çinko ve selenyum eksikliği, A, C ve E vitamin eksiklikleri ve çevreye ait faktörlerin yanı sıra bakteriye ait patojenik özelliklerin rolü olduğu bilimektedir (112).

Üreaz enzimi üreinin amonyak ve karbondioksite hidroliz reaksiyonunu katalizler. Oluşan amonyak mide asidini nötralize ederek bakterinin kolonizasyonuna yardımcı olur (113-119). HP'nin üreyi alıp, amonyağı dışarı verdiği ya da parçalanan HP hücrelerinin üreaz enziminin hayatta kalan HP hücrelerinin etrafını kapladığı düşünülmektedir (114, 120, 121).

HP bakterisinin midede meydana getirdiği enfeksiyonları engellemek amacıyla üreaz inhibitörleri olarak da bilinen proton pompası inhibitörleri (PPI) kullanılmaktadır. Günümüzde kullanılan PPI'leri lansoprazol, omeprazol, ranitidin ve floramid gibi antiülser ilaçlarıdır. Ülser tedavisi sırasında PPI'lerine ek olarak çeşitli antibiyotiklerde kullanılmakla birlikte, bizmut tuzları da antiülserojenik ilaç olarak kullanılmaktadır (55).

Vücudun normal fonksiyonlarının sürdürülmesi için su ve elektrolit dengesinin korunmasında böbreklerin önemi büyüktür (122).

Böbrek hastalıklarından başlıcası olan böbrek yetmezliği, böbreğin fonksiyonlarını yitirmesidir. Böbrek yetmezliğinde, zararlı maddelerin vücuttan idrar yoluyla uzaklaştırılması, fazla suyun uzaklaştırılması ve kan basıncının (tansiyon) kontrol edilmesi gibi fonksiyonlarda aksamalar meydana gelir (122).

Bitkisel droglarla yapılan çalışmalarda halk arasında kullanımı oldukça yaygın ve diüretik aktiviteye sahip olan birçok bitkisel droga rastlanmaktadır (123-125).

Diüretikler başlıca, epilepsi tedavisinde, glokom tedavisinde, oligüride, böbrek yetmezliğinde, ilaç zehirlenmesinde, ödemli hastalarda, kronik kalp yetmezliğinde, hiperkalsemide ve hipertansiyon tedavisinde kullanılır (122).

Bazı araştırmacılar, diüretik etkili bitkilerin sulu ekstralarını ya da farklı çözücülerdeki ekstralarını hazırlayarak diüretik etkiyi incelemek amacı ile bazı araştırmalar yapmışlardır. Diüretik aktivite gösteren bitkilerin kimyasal yapılarına bakıldığında benzer maddeler içerdiği saptanmıştır. Diüretik etkili bitkilerin genel olarak flavonoid, polifenol, alkaloid, steroid ve polisakkarit yapıda oldukları saptanmıştır (126-128).

Mendek, dünyada diüretik, sedatif, yara iyileştirici olarak bilinmekte olup gut ve siyatikte kullanılmaktadır (91). Yapısında furanokumarin ve kuersetin glikozit içermektedir (129). Çalışmamızda mendek bitkisinden hazırlanan sulu ekstranın,

diğer bitkilerin sulu ekstrelerine oranla daha yüksek oranda anti-üreez aktiviteye sahip olduğu (IC₅₀ 0,0003 ± 0,0001) bulundu (Tablo 3.1).

Pazı, içeriğinde yüksek miktarda sodyum barındırır. Düşük kalorili olan pazı bitkisi mineraller bakımından fakir bir bitki olmasına karşın askorbik asit (C Vitamin) içeriği açısından oldukça zengindir (88, 89). Yüksek miktarda A vitamini içeren pazı yaprakları buna bağlı olarak sodyum da içermektedir. Sodyumun yanında pazı içerisinde kalsiyum, fosfor, magnezyum, demir ve potasyum da bulunmaktadır. Ayrıca pazı içerisinde palmitik, sitrik, oleik (Omega-9), linoleik asit (Omega-6) gibi uçucu yağ asitleri, folik asit, pektin, askorbik asit, fosfolipit, glikolipit ve polisakkaridler de bulunmaktadır (90). İdrar söktürür ve idrar yollarında yanma şikayetlerini azaltır. Kansızlığı önler. Hazmı kolaylaştırır (130). Çalışmamızda pazı bitkisinden hazırlanan etil asetatlı ekstrenin, diğer bitkilerin etil asetatlı ekstrelerine oranla daha yüksek oranda anti-üreez aktiviteye sahip olduğu (IC₅₀ 0,00009 ± 0,000001) bulundu (Tablo 3.2).

Yayla pancarı halk hekimliğinde kurt düşürücü, kan temizleyici, bağırsak yumuşatıcı, yaraların iyileşmesini hızlandırıcı, egzama ve göz iltihabını iyileştirici (95), kabızlık önleyici, idrar söktürücü (94) olarak ve diyabette (97) kullanılmaktadır. Çalışmamızda yayla pancarı bitkisinden hazırlanan metanollü ekstrenin, diğer bitkilerin metanollü ekstrelerine oranla daha yüksek oranda anti-üreez aktiviteye sahip olduğu (IC₅₀ 0,003 ± 0,0021) bulundu (Tablo 3.3).

Çalı çileği çok farklı amaçlar için kullanılabilir. Kansere karşı vücudu koruyan enzimleri aktive eden çalı çileği anti kanserojen ve antioksidan özelliğe sahiptir. Yağlı bileşiklerin vücuttan atılmasını sağlar, kalp krizi riskini azaltır ve taze olarak yenildiğinde kanı temizler. Besleyici olmasına rağmen kalori ve sodyum içeriği düşüktür. Kan şekerini düşürür, lifli yapısından dolayı bağırsak metabolizmasını düzenler ve kan kolesterolünü düşürür. Gece görüş kabiliyetini artıran çalı çileği, göz yorgunluğunu giderir, miyopluk ve şeker hastalığından kaynaklanan görme bozukluklarını engeller. Vücutta biyoaktif madde olarak kullanılan polifenoller, aktosiyantinler, flavanoller ve tanenlerce zengin olup kansere karşı savaşan Ellagic-asit içeriği oldukça yüksektir. Diyetlerin sağlıklı ve çok değerli

bir parçasıdır. Kabızlık, bulantı, mide kramplarını ve ülseri önler. Ayrıca sakinleştirici özelliği vardır ve ağız içi yaralarını iyileştir ve iltihaplar için dezenfektan özelliği taşımaktadır (85). Çalışmamızda çalı çileği bitkisinden hazırlanan sulu ve etil asetatlı ekstrenin her ikisinin de yüksek oranda anti-ürez aktiviteye sahip olduğu (IC_{50} 0,0082 ± 0,004 - IC_{50} 0,00014 ± 1,28) bulundu (Tablo 3.1 ve Tablo 3.2).

Kara lahana (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*), vitamin ve mineraller açısından oldukça zengin bir soğuk iklim sebzesidir. Yeşil klorofil pigmentleri içinde bol miktarda beta-karoten, askorbik asit (C vitamini) ve kalsiyum barındırır. Koyu yapraklı olanları daha fazla beta-karoten içerir. Antioksidan ve fotokimyasal özellikleri olan kara lahana bitkisi birçok kanser türünün ve kalp hastalığı riskinin azaltılmasına yardımcı olmaktadır. Kara lahana içinde çok az miktarda yağ ve sodyum da bulunmaktadır (71). Çalışmamızda kara lahana bitkisinden hazırlanan metanollü ve etil asetatlı ekstraktlardan her ikisinde de yüksek oranda anti-ürez aktiviteye sahip olduğu (IC_{50} 0,0009 ± 0,00002 - IC_{50} 0,0032 ± 0,0038) bulundu (Tablo 3.2 ve Tablo 3.3).

Bitkiler farklı etkilere sahip doğal ilaç hammaddelerinin vazgeçilmez kaynaklarıdır. Sağlıklı bir yaşam sürdürmek amacıyla vücudun temel ihtiyacı için gerekli besin maddelerinin sağlanmasının yanı sıra hastalıklara karşı korunmasında da etkinlik gösteren fonksiyonel gıdaları tüketme çabası her geçen gün artmaktadır.

Sonuç olarak, çalışmamızda kullandığımız sulu, etil asetatlı ve metanollü bitki ekstraktlarının tümünde anti-ürez aktivitesi saptandı. Elde edilen bulgular halk arasında günlük tüketimde yenilebilen bitkilerin mide ve böbrek ile ilgili hastalıklarda, geleneksel kullanımı için bilimsel bir temel oluşturmaktadır. Çalışılan diğer bitkiler içerisinde yüksek ürez inhibitör etkisi gösteren pazı, mendek, yayla pancarı, kara lahana ve çalı çileği bitkilerinin sulu, etil asetatlı ve metanollü ekstraktlarının yüksek ürez inhibitör etkisi göstermesi, bu bitkilerin diüretiklerde, böbrek rahatsızlıklarında etki göstermesi ve mide enfeksiyonlarının nedeni olan HP'yi inhibe etmesi için bitkisel ilaç olarak kullanımına uygun olacağı ileri sürülebilir.

Bu çalışmada, Ürezaz enzimini en yüksek oranda inhibe eden bitkilerden etken maddelerin izole edilerek yapı tayinlerinin yapılması ve bu maddelerin enzim inhibisyonlarının *in vivo* deneylerle de kanıtlanması için daha ileri düzeyde çalışmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. Ersöz, T. 2012. Bitkisel İlaçlar ve Gıda Takviyeleri ile İlgili Genel Yaklaşım ve Sorunlar. *Türk Eczacıları Birliği Yayını / Meslek İçi Sürekli Eğitim Dergisi* 9:27-28.
2. Hussain, J. 2004. Isolation, Characterization of Bioactive Natural Products from *Tanacetum artemisioides*, *Euphorbia Deciepiens* and *Ranunculus Laetus*. University of Karachi Internation Center for Chemical Sciences H.E.J. Research Institute of Chemistry, Thesis for Doctor of Philosophy, Pakistan.
3. Zıyan, E. 1998. Polifenol Oksidaz Enziminin Ankara Armudu (*Pyrus Communis*)'ndan İzole Edilmesi, Saflaştırılması ve Kinetik Özelliklerinin İncelenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
4. Krajewska, B., Zaborska, W. and Leszko, M. 2001. Inhibition of Chitosan-İmmobilized Urease by Slow-Binding İnhibitors: Ni^{2+} , F^{-} and Acetohydroxamic Acid. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 14:101-109.
5. Anonim. VI. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Kitabı. 16-19 Mayıs 1996, Ankara.
6. Matsubara, S., Shibata, H., Ishikawa, F., Yokokura, T., Takahashi, M., Sugimura, T. and Wakabayashi, K. 2003. Suppression of *Helicobacter pylori* Induced Gasteritis by Green Tea Extract in Mongolian Gerbils. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 310:715-719.
7. Yang, S. W., Ho, J. N., Lee, Y. H., Sin, D. H., Hong, B. S. and Cho, H. Y. 2004. Isolation and Characterization of *Helicobacter Pylori* Urease İnhibitor

from *Rubus Coreanus*. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition* 33:767-777.

8. Telefoncu, A. 1997. *Enzimoloji*. pp. 193-243-353-383, Tübitak Yayınları, Aydın.
9. Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., Menten, G. ve Ersöz, B. 1993. pp 73-74, 341-349. *Harper'in Biyokimyası*, Barış Kitabevi, İstanbul.
10. Kutay, F., Onat, T., Emerk, K. ve Sözmen, E. Y. 2002. *Enzimler, İnsan Biyokimyası*. pp. 197-220, Palme Yayıncılık, Ankara.
11. Pamuk, F. 2000. *Biyokimya*, Gazi Kitabevi, Ankara.
12. Kalaycıoğlu, L., Serpek, B. ve Nizamlıoğlu, M. 2000. *Biyokimya*. pp. 213-247, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.
13. Solomons, G. T. W., Fryhle, C. B., Okay G. ve Yildirir, Y. 2002. *Organik Kimya*. pp. 975-8431-87-0, Literatür Yayıncılık, İstanbul.
14. Göğüş, F. ve Fadıloğlu, S. 2006 *Food Chemistry*. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara 975-591-871-x.
15. Güngör, K. 2008. Çağla Badem (*Prunus Dulcis*) Bitkisinden Polifenol Oksidaz Enziminin Saflaştırılması ve Karakterizasyonu. pp 4. Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Sakarya.
16. Kalaycıoğlu, L., Serpek, B., Nizamlıoğlu, M., Başpınar, N. ve Tiftik, A.M. 2006. *Biokimya*. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 975-591-131-6.

17. Can, A. ve Akev, N. 2008. *Eczacılık Fakültesi Öğrencileri İçin Biokimya Dersleri*. pp. 978-975-404-820-9, İstanbul Üniversitesi Basım ve Yayınevi Müdürlüğü, İstanbul.
18. Demirsoy, A. 2006. *Enzimlerin Yapısı ve İşleyişi*, <http://www.genbilim.com/content/view/154/34>, Web adresinden 9 Temmuz 2009 tarihinde edinilmiştir.
19. Önez, Z. 2006. Üzümden (*Vitis Vinifera L.*) İzole Edilen Polifenol Oksidaz Enziminin Özelliklerinin Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
20. Yenson, M. 1984. *İnsan biyokimyası*. İstanbul Üniversitesi, Tıp Anabilim dalı, Kırklareli.
21. Pamuk, F. 2000. *Biyokimya*. Gazi Kitapevi, Ankara.
22. Özata, A. ve Kutlu, M. 2000. *Enzimoloji Ders Notları*. T.C. Anadolu Üniversitesi Yayınları, Eskişehir.
23. Tekman, Ş. ve Öner, N. 1981. *Genel Biyokimya üçüncü baskı*. Fatih Yayınevi, İstanbul.
24. Uruç, H. 2007. Katalaz Enziminin (E.C.1.11.1.6) Montmorillonit Analsim Kili Üzerine İmmobilizasyonu ve Kinetiğinin İncelenmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, Van.
25. Erkaya, E., Çaylıkoca, B, A. ve Kalınyaprak, F. 2006. Enzimatik Kataliz, Selçuk Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü, Konya.

26. Bingol, G. 1977. *Vitaminler ve Enzimler*. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları Ders Kitap Serisi , Ankara.
27. Öztan, D. 2007. Tirozinaz Enziminin Ekstraksiyonu, Saflaştırılması ve Fenollerin Giderilmesinde Kullanılması. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
28. Marangoni, A, G. 2003. *Enzyme Kinetics a Modern Approach*. Department of Food Science University of Guelph.
29. Altinişik, M. 2009. *Enzimler*. Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, [http:// www.mustafaaltinisik.org.uk](http://www.mustafaaltinisik.org.uk), Web adresinden 9 Temmuz 2009 tarihinde edinilmiştir.
30. Özata, A. ve Türe, C. 2012. Enzimler ve Enzim Aktivitelerinin Gösterilmesi. Anadolu Üniversitesi, <http://w2.anadolu.edu.tr/aos/kitap/ioltp/2282/unite03.pdf> Web adresinden 29 Ocak 2013 tarihinde edinilmiştir.
31. Hamarat, S.1995. Immobilization of Urease and Research into Its Applications. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir.
32. Boz, B.G. 2001. Üreaz Enziminin Polianilin İmmobilizasyonu ile Üreye Duyarlı Enzim Mikroelektrodunun Hazırlanması. pp. 1-20, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
33. Kayastha, A. M. and Das, N. 1999. A Simple Laboratory Experiment for Teaching Enzyme Immobilization with Urease. *Biochemical Education* 27: 114-117.
34. Blakeleyand, R., L., Zerner, B. 1984. Jack Bean Urease: The First Nickel Enzyme. *Journal of Molecular Catalysis* 23:263-292.

35. Ciurci, S., Benini, S. and Mangana, S. 1999. Structural Properties of Nickel Ions in Urease. *Coordination Chemistry Reviews* 190-192:331-335.
36. Stefano, B. 2000. Structure and Function Relationship of Urease and Cytochrome c-553 from *Bacillus Pasteurii*. The University of York Faculty of Science, A Thesis the Degree of Doctor of Philosophy pp.16-36.
37. Takashima, K., Suga, T. and Mamiya, G. 1988. The Structure of Jack Bean Urease the Complete Amino Acid Sequence Limited Proteolysis and Reactive Cystein Residues. *European Journal of Biochemistry* 175:151-165.
38. Ciurci, S., Benini, S. and Mangana, S. 1999. A New Proposal for Urease Mechanism Based on the Crystal Structures of the Native and Inhibited Enzyme. *Structure* 7:205-216.
39. Carter, E. L., Flugga, N., Boer, J. L., Mulrooney, S. B. and Hausinger, R. P. 2009. Interplay of Metal Ions and Urease. *Metallomics* 1: 207-221.
40. Amtul, Z., Rahman, A., Siddiqui, R. A. and Choudhary, M.I. 2002. Chemistry and Mechanism of Urease Inhibition. *Current Medicinal Chemistry* 9: 1323-1348.
41. Follmer, C. 2008. Review: Insights into the Role and Structure of Plant Ureases. *Phytochemistry* 69:18-28.
42. Dunn, B. E., Campbell, G. P., Perez-Perez, G. L. and Blaser, M. J. 1990. Purification and Characterization of Urease from *Helicobacter pylori*. *The Journal of Biological Chemistry* 265: 9464-9469.
43. Becker-Ritt, A. B., Martinelli, A. H. S., Mitidieri, S., Feder, V., Wassermann, G. E., Santi, L., Vainstein, M. H., Oliveria, J. T. A., Fiuza, L. M., Pasquali, G. and Carlini, C.R. 2007. Antifungal Activity of Plant and Bacterial Ureases. *Toxicon* 50: 971-983.

44. Dinç, Y. 2009. Üreaz Enziminin Bazı Tıbbi Bitkiler Tarafından İnhibisyonu. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
45. Sirko, A. and Brodzik, R. 2000. Review: Plant Ureases: Roles and Regulation. *Acta Biochimica Polonica* 47: 1189-1195.
46. El-Sherif, H., Martelli, P.L., Casadio, R. and Portaccio, M. 2001. Urease Immobilization on Chemically Grafted Nylon Membranes Part1: Isothermal Characterization. *Journal of Molecular Catalysis B:Enzymatic* 14:15-29.
47. Khan, K. M., Iqbal, S., Lodhi, M. A., 2004, Biscoumarin: New Class of Urease Inhibitors; Economical Synthesis and Activity, *Biorganic & Medicinal Chemistry* 12:1963-1968.
48. Amtul, Z., Rasheed, M. and Choudhary, M. I. 2004. Kinetics of Novel Competitive Inhibitors of Urease Enzymes by a Focused Library of Oxadiazoles/Thiadiazoles and Triazoles. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 319:1053- 1063.
49. Ahmad, M., Muhammad, N., Ahmad, M., Lodhi, M. A., Mahjabeen, Jehan, N., Khan, Z., Ranjit, R., Shaheen, F. and Choudhary, M. I. 2008. Urease Inhibitor from *Datisca Cannabia* Linn. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 23: 386-390.
50. Lodhi, M. A., Hussain, J., Abbasi, M. A., Jassbi, A. R., Choudhary, M. I. and Ahmad, V.U. 2005. A New *Bacillus pasterii* Urease Inhibitor from *Euphorbia Decipiens*. *Journal of Enzyme Inhibition and Medical Chemistry* 21: 531-535.
51. Akgöl, S., Yalçınkaya, Y. ve Arıca, Y. 2002. Reversible Immobilization of Urease. *Process Chemistry* 38: 675-683.
52. Tanaka, T., Kawase, M. and Tani, S. 2003. Urease Inhibitory Activity of Simple α,β -Unsaturated Ketones. *Life Sciences* 73: 2985-2990.

53. Saban, N. and Bujak, M. 2009. Hydroxyurea and Hydroxamic Acid Derivatives as Antitumor Drugs. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 64:213-221.
54. Uesato, S., Hashimoto, Y., Nishino, M., Nagaoka, Y. and Kuwajima, H. 2002. N-Substituted Hydroxyureas as Urease Inhibitors. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 50: 1280-1282.
55. Özer, B., Serin, E., Coşar, A., Kayaselçuk, F., Gür, G., Yılmaz, U. ve Boyacıoğlu, S. 2004. *Helicobacter pylori* Eradikasyon Tedavisinde Lansoprazol, Klaritromisin ve Amoksilin ile Ranitidin Bizmut Sitrat, Lansoprazol, Klaritromisin ve Amoksilin Rejimlerinin Etkinliğinin Karşılaştırılması. *Akademik Gastroenteroloji Dergisi* 3: 125-128.
56. Göral, V. 2003. Günümüzde ve Gelecekte Peptik Ülser Tedavisi. *Güncel Gastroenteroloji* 7: 115-119.
57. Horn, J. 2000. The Proton Pump Inhibitors: Similarities and Differences. *Clinical Therapeutics* 22: 266-280.
58. Kayaalp, O. S. 2000. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, pp. 975-8506-27-7, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti., Ankara.
59. Kam Chuen Lai, M. R. C. P., Shiu Kum Lam, M. D., Kent Man Chu, F. R. C. S., Benjamin C. Y., Wong, M. D., Wai Mo Hui, M. D., Wayne H. C., Hu, M. R. C. P., George, K. K., Lau, M. D., Wai Man Wong, M. R. C. P., Man Fung Yuen, M. R. C. P., Annie, O. O., Chan, M. R. C. P., Ching Lung Lai, M. D. and John Wong, F. R. A. C. S. 2002. Lansaprazole for the Prevention of Recurrences of Ulcer Complications from Long-Term Low Dose Aspirin Use. *The New England Journal of Medicine* 26: 2033-2038.

60. Ravi Charan Reddy, K. and Kayastha, M.A. 2006. Boric Acid and Boronic Acids Inhibition of Pigeonpea Urease. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 21: 467-470.
61. Zhang, L., Mulrooney, S. B., Leung, A. F. K., Zeng, Y., Ko, B. B. C., Hausinger, R. P. and Sun, H. 2006. Inhibition of Urease by Bismuth (III) : Implications for the Mechanism of Action of Bismuth Drugs. *Biomedical and Life Sciences* 19: 503-511.
62. Baysal, H. 2000. Üreaz İçeren Enzim Komplekslerinin Hazırlanması ve Kullanım Olanaklarının Araştırılması. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İzmir.
63. Sehitogulları, A. 1996. Preparation of the Potentiometric Immobilized Urease Electrode and Urea Determination. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir.
64. Lakard, B., Herlem, G. and Labachellerie, M. 2004. Miniaturized pH Biosensor Based on Electrochemically Modified Electrodes with Biocompatible Polymers. *Biosensors and Bioelectronics* 19:595-606.
65. Singhal, R., Gambhir, A., Pandey, M. K., Annapoorni, S. and Malhotra, B. D. 2002. Immobilization of Urease on Poly(N-Vinyl Carbazole)/Stearic Acid Langmuir-Blodgett Films for Application to Urea Biosensor. *Biosensors and Bioelectronics* 17:697-703.
66. Chen, J. and Chiu, S. 2000. A Poly(N-isopropylacrylamide-co-Nacryloxysuccinimide-co-2-hydroxyethyl methacrylate) Composite Hydrogel Membrane for Urease Immobilization to Enhance Urea Hydrolysis Rate by Temperature Swing. *Enzyme and Microbial Technology* 26:359-367.

67. Abdel Hamid, S. S. A. S. 2009. Screening of Edible Plants for Urease Inhibitors and Chemical Structures of the Inhibitors. Osaka Prefecture University, Graduate School of Life and Environmental Sciences, Doktora tezi, Japonya.
68. Ghous, T., Akhtar, K., Nasim, F. and Choudhry, M. A. 2010. Screening of Selected Medicinal Plants for Urease Inhibitory Activity. *Biology And Medicine* 2: 64-69.
69. Shabana, S., Kawai, A., Kai, K., Akiyama, K. And Hayashi, H. 2010. Inhibitory Activity Against Urease of Quercetin Glycosides Isolated From *Allium Cepa* And *Psidium Guajava*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 74: 878-880.
70. Nabati, F., Mojab, F., Habibi-Rezaei, M., Bagherzadeh, K., Amanlou, M. and Yousefi, B. 2012. Large Scale Screening of Commonly Used Iranian Traditional Medicinal Plants Against Urease Activity. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences* 20:72.
71. Alibas, I., 2009. Microwave, Vacuum and Air Drying Characteristics of Collard Leaves. *Drying Technology* 27:1266-1273.
72. <http://yukaritepekoyu.tr.gg/Y.oe.remizin-Bitki--Oe-rt.ue.leri.htm>. Web adresinden 02 Aralık 2012 tarihinde edinilmiştir.
73. Kubo S., Mimaki Y., Terao M., Sashida Y., Nikaido T. and Ohmoto T. 1992. Acylated Cholestane Glycosides from the Bulbs of *O. Saundersiae*. *Phytochemistry* 31: 3969-3973.
74. Kubo S., Mimaki Y., Sashida Y., Nikaido T. and Ohmoto T. 1992. New Polyhydroxylated Cholestane Glycosides from the Bulbs of *O. Saundersiae* *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 40: 2469-2472.

75. Kubo S., Mimaki Y. and Sashida Y. 1992. New Cholestane Bisdesmosides from the Bulbs of *Ornithogalum Thyrsoides*. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* 5: 1120-1124.
76. Ferth R., Bauman A., Mayer K. K., Robien W. and Kopp B. 1992. Cardenolide aus *Ornithogalum nutans* (2n=30). *Zeitschrift für Naturforschung* 47b:1459-1468.
77. Ferth R. and Kopp B. 1992. Cardenolide aus *O. umbellatum* L. *Pharmazie* 47:627-629.
78. Demirkıran Ö., Oyman Ü. 1998. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Yayınları, Yüksek Lisans Tezi, Edirne.
79. Azzoui O. and Braemer R. L. 1989. C-glucosyl Flavones in the Genus *Ornithogalum*. *Biochemical Systematics and Ecology* 17: 449-450.
80. Yeşilada, E., Sezik, E., Honda, G., Takaiski, Y., Takeda, Y. and Tanaka, T. 1999. Traditional Medicine in Turkey IX: Folk Medicine in North-West Anatolia. *Journal of Ethnopharmacology* 64: 195–210.
81. Şimşek, I., Aytekin, F., Yeşilada, E. ve Yildirimli, Ş. 2004. An Ethnobotanical Survey of the Beypazarı, Ayaş, and Güdül District Towns of Ankara Province (Turkey), *Economic Botany* 58: 705-720.
82. <http://tr.wikipedia.org/wiki/Kuzukula%C4%9F%C4%B1>. Web adresinden 02 Aralık 2012 tarihinde edinilmiştir.
83. Baytop T. 1999. *Türkiye 'de Bitkilerle Tedavi*. Nobel Yayınları, İstanbul.
84. <http://www.forumpaylas.net/ziraat-tarim-hayvancilik/55096-cali-cilegi-vaccinium-myrtillus-tarimi.html>. Web adresinden 10 Aralık 2012 tarihinde edinilmiştir.

85. Çelik, H. II. Ulusal Uzumsu sempozyumu pp.124-128. 14-16 Eylül 2006, Tokat.
86. http://www.egekoy.com/v1/resim28/goster.asp?klasor=resim/lege_koyu&dosya=ezeltere.jpg&dosya_no=88. Web adresinden 11 Aralık 2012 tarihinde edinilmiştir.
87. Erdoğan, E., Kaya A., Rağbetli, M.,Ç., Özbek, H. ve Cengiz N. 2004. Anason (*Pimpinella anisum*) Ekstresinin Deneysel Akut Karaciğer Hasarında Karaciğer Koruyucu Etkisi Var Mı? *Van Tıp Dergisi* 11:69-74
88. Pokluda, R. and Kuben, J. 2002. Comparison of Selected Swiss Chard (*Beta vulgaris ssp. cicla L.*) Varieties. *Horticultural Science* 29:114-118.
89. Alibas, I., 2000, Characteristics of Chard Leaves during Microwave, Convective and Combined Microwave-Convective Drying. *Drying Technology* 24:1-11.
90. Bolkent, Ş., Yanardağ, R., Tabakoğlu-Oğuz, A. ve Özsoy-Saçan, Ö. 2000. Effects of Chard (*Beta vulgaris L. var. cicla*) Extract on Pancreatic B Cells in Streptozotocin-diabetic Rats; A Morphological and Biochemical Study. *Journal of Ethnopharmacology* 73: 251-259.
91. Stefanovic, O., Comic L., Stanojevic, D. and Solujic-Sukdolak, S. 2009. Antibacterial Activity of *Aegopodium podagraria L.* Extracts and Interaction Between Extracts and Antibiotics. *Turkish Journal of Biology* 33: 145-150.
92. <http://www.gulresmi.info/kurtpencesi-kurttirnagi-ve-faydalari/>. Web adresinden 02 Ocak 2013 tarihinde edinilmiştir.
93. Coode, M. J. E., Cullen, J. and Polygnum, L. 1967. The Flora of Turkey and East Aegean Islands, Edinburgh. *Edinburgh University Press* 2: 269-81.

94. Martindale, W. 1993. Martindale the Extra Pharmacopoeia, 30th ed. The Pharmaceutical Press, London.
95. Duwejua, M., Zeitlin, I. J., Waterman, P. G. and Gray, A. I. 1994. Anti-Inflammatory Activity of Polygonum Bistorta, Guaiacum Officinale and Hamamelis Virginiana in Rats. *Journal of Pharmacy Pharmacology* 46: 286-290.
96. http://www.ulusalpu.com/Bitkiler/Bitkiler_1.htm. Web adresinde 10 Aralık 2012 tarihinde edinilmiştir.
97. Kaya, İ., İncekara, N. ve Nemli, Y. 2004. Ege Bölgesi'nde Sebze Olarak Tüketilen Yabani Kuşkonmaz, Sirken, Yabani Hindiba, Rezene, Gelincik, Çoban Değneği ve Ebegümecinin Bazı Kimyasal Analizleri. *The Journal of Agricultural Science* 14: 1-6.
98. Toksoy, D., Bayramoğlu, M. ve Hacısalihoğlu, S. 2010. Usage and the Economic Potential of the Medicinal Plants in Eastern Black Sea Region of Turkey. *Journal of Environmental Biology* 31: 623-628.
99. Tuzlacı, E. ve Doğan, A. 2010. Turkish Folk Medicinal Plants, IX: Ovacık (Tunceli). *Marmara Pharmaceutical Journal* 14: 136-143.
100. Van Slyke, D. D. and Archibald, R. M. 1944. Manometric, Titrimetric and Colorimetric Methods for Measurements of Urease Activity. *The Journal of Biological Chemistry* 154: 623-642.
101. Baytop, T. 1984. *Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün)*. İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No: 40, İstanbul.
102. Yıldırım, Ş. 2004. *Etnobotanik ve Türk Etnobotaniği*, *Kebikeç* 17: 175-193.

103. Özer, Z., Tursun, N. ve Önen, H. 2004. *Yabancı Otlarla Sağlıklı Yaşam*, Renk Yayın Tanıtım Matbaacılık, Ankara.
104. Dweek, A. C. 2001. Purslane (*Portulaca oleracea*) the Global Panacea. *Personal Care Magazine* 2: 7-15.
105. Anonim. 2004. *Türk Gıda Kodeksi (TGK): Gıdaların Üretimi, Tüketimi ve Denetlenmesine Dair Kanun Hükmünde Kararnamenin Değiştirilerek Kabulü Hakkında Kanun, Kanun No 5179, 05 Haziran 2004 tarih ve 25483 sayılı Resmi Gazete*, Ankara.
106. Sarkar, S. 2007. Functional Foods as Self-Care and Complementary Medicine. *Nutrition and Food Science* 37:160-167.
107. Baydar, H. 2007. Tıbbi, Aromatik ve Keyf Bitkileri Bilimi ve Teknolojisi. Süleyman Demirel Üniversitesi No: 51 Tarla Bitkileri Bölümü. Isparta.
108. Cardenas, V. M., Mulla Z. D., Ortiz M. and Graham D. Y. 2006. Iron Deficiency and *Helicobacter pylori* Infection in the United States. *American Journal of Epidemiology* 163:127-34.
109. Suerbaum, S. and Michetti, P. 2002. *Helicobacter pylori* Infection. *The New England Journal of Medicine* 347: 1175- 86.
110. Malaty, H. M. 2007. Epidemiology of *Helicobacter pylori* Infection. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 21: 205–14.
111. Nakamura, H., Yoshiyama, H., Takeuchi, H., Mizote, T., Okita, K. and Nakazawa, T. 1998. Urease Plays an Important Role in the Chemotactic Motility of *Helicobacter pylori* in a Viscous Environment. *American Society for Microbiology* 46: 4832-4837.

112. Tünger, O. 2008. *Helicobacter pylori* İnfeksiyonları, *Turkish Journal of Infection* 22: 107-115.
113. Fujii, R., Morihara, F., Oku, T., Hifumi, E. and Uda, T. 2004. Epitope Mapping and Features of the Epitope for Monoclonal Antibodies Inhibiting Enzymatic Activity of *Helicobacter pylori* Urease. *Biotechnology and Bioengineering* 86: 434-444.
114. Severo, D. O., Wassermann, G. E. and Carlini, C. R. 2006. Ureases Display Biological Effects Independent of Enzymatic Activity. Is There a Connection to Diseases Caused by Urease-Producing Bacteria? *Brazilian Journal of Medical Biological Research* 39: 851-861.
115. Lamarque, D. and Peek, Jr R. M. 2003. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* Infection. *Helicobacter* 8: 21-30.
116. <http://www.engr.mun.ca/~bkidney/genetics/urease.html> Web adresinden 08 Ocak 2012 tarihinde edinilmiştir.
117. Bauerfeind, P., Garner, R., Dunn, B. E. and Mobley, H. L. T. 1997. Synthesis and Activity of *Helicobacter pylori* Urease and Catalase at Low pH. *Gut* 40: 25-30.
118. Akada, J. K., Shirai, M., Takeuchi, H., Tsuda, M. and Nakazawa, T. 2000. Identification of the Urease Operon in *Helicobacter pylori* and Its Control by mRNA Decay in Response to pH. *Molecular Microbiology* 36: 1071-1084.
119. Van Vliet, A. H. M., Ernst, F. D. and Kusters, J. G. 2004. NikR- Mediated Regulation of *Helicobacter pylori* Acid Adaptation. *Trends in Microbiology* 12: 489-494.
120. Sachs, G., Scott, D., Weeks, D. and Melchers, K. 2001. The Importance of *Helicobacter pylori*: Fact or Fiction? *Trends in Microbiology* 9: 532-534.

121. Salyers, A. A. and Whitt, D. D. 2002. Bacterial Pathogenesis a Molecular Approach. *American Society for Microbiology* 2: 339-351.
122. <http://www.tip.cumhuriyet.edu.tr>. Web adresinden 6 Temmuz 2009 tarihinde edinilmiştir.
123. Zeggwagh, N.A., Moufid, A., Michel J.B. and Eddouks, M. 2009. Hypotensive Effect of *Chamaemelum Nobile* Aqueous Extract in Spontaneously Hypertensive Rats. *Clinical and Experimental Hypertension* 31: 440-450
124. Hooman, N., Mojab, F., Nickavar, B. and Pouryousefi-Kermani, P. 2009. Diuretic Effect of Powdered *Cerasus avium* (cherry) Tails on Healthy Volunteers. *Pakistan Journal of Pharmaceutical* 22: 381-383
125. Clare, B. A., Conroy, R. S. and Spelman, K. 2009. The Diuretic Effect in Human Subjects of an Extract of *Taraxacum Officinale* Folium Over a Single Day. *Journal of Alternative and Complementary Medicine* 15: 929-934
126. Hirayama, C., Sugimura, M., Saito, H. and Nakamura, M. 2000. Purification and Properties of Urease from the Leaf of Mulberry *Morus alba*. *Phytochemistry* 53: 325-330.
127. Asano, N., Yamashita, T., Yasuda, K., Ikeda, K., Kizu, H., Kameda, Y., Kato, A., Nash, J. R., Sam Lee, H. and Sun Ryu, K. 2001. Polyhydroxylated Alkaloids Isolated from Mulberry Trees (*Morus Alba L.*) and Silkworm (*Bombyx mori L.*). *Journal Agriculture and Food Chemistry* 49: 4208-4213.
128. Andreoni, N. 2009. Detection of Flavonoids in Some Mediterranean Plants. *Acta Horticulturea* 818: 253-256.
129. Harborne, B. J. and Baxter, H. 2001. *Chemical Dictionary of Economic Plants*. John Wiles and Sons Ltd., England.

130. Kuroda, K. 1989. Pharmacological and Anticarcinogenic Effects of *Capsella Bursa-Pastoris* Extract. *Chiba Medical* 65: 67-74.

ÖZGEÇMİŞ

1986 Yılında Giresun'a bağlı Keşap İlçe'sinde doğdu. İlköğrenimini Keşap Cumhuriyet İlkokulu'nda; orta öğrenimini ise Keşap Mehmet Akif Ersoy İlköğretim Okulu'nda tamamladı. Lise öğrenimini 2004 yılında Giresun Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi'nde tamamladı. 2005 yılında Niğde Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nde yüksek öğrenimine başladı ve 2006 yılında Giresun Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümüne yatay geçiş yaptı. 2009 yılında aynı bölümden mezun oldu.