T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI *BRASSICACEAE* SEBZELERİNİN SİNDİRİM ENZİMLERİ ÜZERİNDE *IN VİTRO* İNHİBİTÖR ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

TUĞÇE KARABAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: PROF. DR. HÜLYA YAĞAR

EDİRNE-2016

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Prof. Dr. Mustafa ÖZCAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

Prof. Dr. Mesut KAÇAN
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımca okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Hülya YAĞAR
Tez Danışmanı

Bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Kimya Anabilim Dalında bir Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	İmza
Prof. Dr. Hülya YAĞAR	
Doç. Dr. Temine ŞABUDAK	
Doç. Dr. Şebnem SELEN İŞBİLİR	

Tarih: 04/03/2016

T.Ü. FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

DOĞRULUK BEYANI

İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını beyan ederim.

04 / 03 / 2016

Tuğçe KARABAŞ

Yüksek Lisans Tezi

Bazı *Brassicaceae* Sebzelerinin Sindirim Enzimleri Üzerinde *In vitro* İnhibitör Etkilerinin Araştırılması

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

ÖZET

Brassicaceae sebzeleri kilo verdirici olarak halk arasında yaygın şekilde kullanılmaktadır. Bu çalışmada *Brassicaceae* sebzelerinden lahana, brokoli, brüksel lahanası, karnabahar ve alabaştan elde edilen ekstraktların lipaz, *α*-amilaz, *α*-glukozidaz ve tripsin sindirim enzimleri ve monoamin oksidaz enzimi üzerinde *in vitro* inhibisyon aktiviteleri araştırıldı. Ekstraktlar taze sebzelerden çözücü olarak metanol, etanol ve su kullanılarak hazırlandı ve enzim inhibisyon aktiviteleri spektrofotometrik metotlarla belirlendi. % inhibisyon ve IC_{50} değerleri hesaplandı.

Lipaz inhibisyon aktivitesi için; *p*-nitrofenilpalmitat substratı ve pozitif kontrol olarak orlistat kullanıldı. *α*-glukozidaz inhibisyon aktivitesinde; *p*-nitrofenil-*α*-D-glukopiranosid substratı ve pozitif kontrol olarak akarbozla çalışıldı. *α*-amilaz inhibisyon aktivite ölçümü nişasta substratıyla gerçekleştirildi, pozitif kontrol olarak akarbozla çalışıldı. Tripsin inhibisyon aktivitesinde, N*α*-benzoil-D-L-arginin-*p*-nitroanilit substratı ve pozitif kontrol olarak fenilmetilsülfoksit kullanıldı. Monoamin oksidaz inhibisyon aktivitesinde ise; tiramin substratı ve pozitif kontrol olarak klorgilinle çalışıldı.

Brokoli ekstraktlarının tümünün düşük konsantrasyonlarında bile lipaz inhibisyon aktivitesinin (yaklaşık % 85) orlistattan (yaklaşık % 60) daha yüksek olduğu görüldü. *α*-glukozidaz inhibisyon aktivitelerinin tüm *Brassicaceae* sebzeleri için % 50'den düşük olduğu belirlendi. *α*-amilaz inhibisyonu için anlamlı veri elde edilemezken, alabaş sebzesi için tripsin inhibisyon aktivitelerinin metanol>su>etanol sıralamasında azaldığı gözlendi. Monoamin oksidaz inhibisyonu çalışmasında

ekstraktlar için inhibisyon görülmezken, pozitif kontrol olan klorgilin için IC_{50} değeri 67.1 μg/mL olarak belirlendi.

Yıl : 2016

Sayfa Sayısı : 93

Anahtar kelimeler : *Brassicaceae* sebzeleri, obezite, sindirim enzimleri inhibisyonu, lipaz inhibisyonu, brokoli

Master Thesis

Investigation of *In vitro* Inhibitor Effects of Some *Brassicaceae* Vegetables on Digestive Enzymes

Trakya University Institute of Natural Sciences

Chemistry

ABSTRACT

Brassicaceae vegetables are widely used as folk remedy to reduce weight. In this study, the extracts obtained some *Brassicaceae* vegetables including cabbage, broccoli, brussels sprouts, cauliflower and kohlrabi were investigated in terms of the inhibition activities on lipase, *α*-amylase, *α*-glucosidase and trypsin digestion enzymes and monoamine oxidase. Plant extracts were prepared from fresh vegetables by using methanol, ethanol and water as solvent. The enzyme inhibition activities were determined by spectrophotometric methods, and inhibition activity (%) and IC_{50} values were estimated.

In lipase inhibition activity assay, *p*-nitrophenylpalmitate and orlistat were used as substrate and positive control, respectively. In *α*-glycosidase inhibition activity assay, *p*-nitrophenyl-*α*-D-glucopyranoside and acarbose were used. The assays of amylase inhibition activity were carried out with starch and positive control acarbose. Trypsin inhibition assays of extracts were performed by using N*α*-Benzoyl-*D*-*L*-arginine-*p*-nitroanilide and phenylmethylsulfoxide, respectively. In monoamine oxidase activity assay, tyramine and chlorgiline were used.

The broccoli extracts showed high lipase inhibition activities (85 %) at low concentrations, and these activities were better than that of positive control acarbose (60 %). α-glucosidase inhibition activities were determined to be lower than 50 % for all *Brassicaceae* vegetables. The significant data couldn't obtain for α-amylase inhibition activities. Trypsin inhibition activities decreased in the range of methanol>water>ethanol for kohlrabi. In monoamine oxidase inhibition assay, any inhibition activity wasn't seen for all extracts, while IC_{50} value for chlorgyline, positive control, was determined to be 67.1 μg/mL.

Year : 2016

Number of Pages : 93

Keywords : *Brassicaceae* vegetables, obesity, digestion enzyme inhibition, lipase inhibition, broccoli

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgisi ve tecrübesinden yararlandığım, tez çalışmam boyunca önerive yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Hülya YAĞAR'a,

Çalışmamın her aşamasında yardımlarını ve katkılarını esirgemeyen bölüm hocalarım ve arkadaşlarıma,

Tez çalışmamda yer alan su ekstraktlarının liyofilizasyon işlemlerini gerçekleştiren Trakya Üniversitesi Teknoloji, Araştırma, Geliştirme ve Uygulama Merkezi'ne,

Bugünlere gelmemi sağlayan maddi-manevi her zaman yanımda olan aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma TÜBAP 2013/153 no'lu proje kapsamında gerçekleştirilmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa no
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
SİMGELER DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLOLAR DİZİNİ	x
BÖLÜM 1	1
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2	4
GENEL BİLGİLER	4
2.1. Dünya Sorunu Obezite	4
2.1.1. Obezite Prevalansı	6
2.1.2. Obezite Tedavisinde Kullanılan İlaçlar ve Farmokinetiği	8
2.2. Enzim ve İnhibitörler	11
2.3. Tez Kapsamında Çalışılan *Brassicaceae* Bitkileri	12
2.4. Tez Kapsamında Çalışılan Enzimler	15
2.4.1. Lipazlar	15
2.4.2. Lipazların Orlistatla İlişkisi	16
2.4.3. α-Amilaz ve α-Glukozidazlar	17
2.4.4. α-Amilaz ve α-Glukozidazların Akarbozla İlişkisi	18
2.4.5.Tripsinler	20
2.4.6. Tripsinlerin PMSF ile İlişkisi	20
2.4.7. Monoamin Oksidazlar	21
2.4.8. Tezde Çalışılan Enzimlerle İnhibisyon Çalışmalarına Bakış	22
BÖLÜM 3	30
MATERYAL VE METOTLAR	30
3.1. Materyaller	30
3.1.1. Kimyasal Maddeler	30

3.1.2. Kullanılan Cihazlar..... 31
3.1.3. Hazırlanan Çözeltiler..... 31
3.2. Metotlar..... 33
3.2.1. Tez Kapsamında Seçilen *Brassicaceae* Sebzelerinden Etanol, Metanol ve Su Ekstraktlarının Hazırlanması..... 33
3.2.2. *Brassicaceae* Sebzelerinin Metanol, Etanol ve Su Ekstraktlarının Lipaz İnhibisyon Aktivitelerinin Belirlenmesi..... 34
3.2.3. *Brassicaceae* Sebzelerinin Metanol, Etanol ve Su Ekstraktlarının α-Amilaz İnhibisyonunun Belirlenmesi..... 36
3.2.4. *Brassicaceae* Sebzelerinin Metanol, Etanol ve Su Ekstraktlarının α-Glukozidaz Enzimi İnhibisyonunun Belirlenmesi..... 38
3.2.5. *Brassicaceae* Sebzelerinin Metanol, Etanol ve Su Ekstraktlarının Tripsin Enzimi İnhibisyonunun Belirlenmesi..... 40
3.2.6. *Brassicaceae* Sebzelerinin Metanol, Etanol ve Su Ekstraktlarının Monoamin Oksidaz Enzimi İnhibisyonunun Belirlenmesi..... 41
3.2.7. İstatiksel Analiz 43
BÖLÜM 4..... 44
DENEY SONUÇLARI VE BULGULAR..... 44
4.1. Elde Edilen Ekstraktların Lipaz İnhibisyonu..... 44
4.2. Elde Edilen Ekstraktların *α*-Amilaz İnhibisyonu..... 50
4.3. Elde Edilen Ekstraktların *α*-Glukozidaz İnhibisyonu..... 51
4.4. Elde Edilen Ekstraktların Tripsin İnhibisyonu..... 53
4.5. Elde Edilen Ekstraktların Monoamin Oksidaz-A İnhibisyonu..... 54
BÖLÜM 5..... 56
TARTIŞMA..... 56
KAYNAKLAR..... 62
ÖZGEÇMİŞ..... 80

SİMGELER DİZİNİ

ATP III **:** Adult Treatment Panel III (Yetişkin Tedavi Paneli III)

AVG **:** Aleo Vera Jel

BApNA **:** N-α-benzoil *p*-nitro anilit

BKİ **:** Beden Kitle İndeksi

DMSO **:** Dimetilsülfoksit

DNS **:** Dinitro Salisilik Asit

DPL **:** Domuz Pankreatik Lipazı

EGIR **:** The Europen Group For the Study of Insulin Resistance (İnsülin direnç çalışmasnın Avrupa grubu)

EtOH **:** Etanol

FDA **:** Food and Drug Administration (Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi)

GİS **:** Gastro-İntestinal Sistem

IC_{50} **:** % 50 inhibisyon sağlayan numune konsantrasyonu

IDF **:** International Diabetes Federation (Uluslararası Diyabet Kurumu)

MAO-A **:** Monoamin Oksidaz-A

MetOH **:** Metanol

NIH **:** National Institute of Health (Ulusal Sağlık Enstitüsü)

***E*a veya ΔG** **:** Aktivasyon enerjisi

PL **:** Pankreatik Lipaz

PMSF **:** Fenilmetilsülfonilflorür (Phenyl Methyl Sulfonyl Fluoride)

PNP **:** *p*-nitro palmitat

SD **:** Standart Sapma

WHO **:** World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Tezde kullanılan *Brassicaceae* sebzeleri..... 13
Şekil 2.2. Lipaz enziminin inhibitörü Orlistat molekülü..... 17
Şekil 2.3. *α*-amilaz ve *α*-glukozidaz enzimlerinin inhibitörü Akarboz molekülü.. 19
Şekil 2.4. Tripsin enziminin inhibitörü PMSF molekülü..... 20
Şekil 3.1. Lipaz enziminin *p*-nitro palmitat substratı ile kimyasal reaksiyonu….. 35
Şekil 3.2. α- amilaz enziminin substratı akarboz ile etkileşimi..... 37
Şekil 3.3. *α*-glukozidaz enziminin substratı akarboz ile etkileşimi..... 39
Şekil 3.4. Tripsin enziminin substratı Nα- benzoil-L-arginin p-nitroanilit ile etkileşimi…… 41
Şekil 3.5. MAO-A enziminin substratı tiramin ile reaksiyonu..... 43
Şekil 4.1. Farklı konsantrasyonlardaki Karnabahar'ın su, etanol, metanol ekstraktları ve Orlistatın DPL üzerine % inhibisyon aktiviteleri..... 45
Şekil 4.2. Farklı konsantrasyonlardaki Brokoli'nin su, etanol, metanol ekstraktları ve Orlistatın DPL üzerine % inhibisyon aktiviteleri..... 46
Şekil 4.3. Farklı konsantrasyonlardaki Brüksel Lahanası'nın su, etanol, metanol ekstraktları ve Orlistatın DPL üzerine % inhibisyon aktiviteleri..... 47
Şekil 4.4. Farklı konsantrasyonlardaki Alabaş'ın su, etanol, metanol ekstraktları ve Orlistatın DPL üzerine % inhibisyon aktiviteleri..... 48
Şekil 4.5. Farklı konsantrasyonlardaki Lahana'nın su, etanol, metanol ekstraktları ve Orlistatın DPL üzerine % inhibisyon aktiviteleri..... 49
Şekil 4.6. Pozitif kontrol klorgilin'in MAO-A enzimi üzerine 40. dakikadaki konsantrasyona bağlı % inhibisyon grafiği..... 55

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 2.1. WHO'nun obezite sınıflandırması..... 5
Tablo 2.2. Erkek ve kadınlarda riskli bel çevresi ölçüleri..... 6
Tablo 2.3. 2004 yılı Obezite konusunda Türkiye'nin dünyadaki yeri..... 7
Tablo 2.4. 2008 ve 2015 yılları arasındaki şişmanlık verileri..... 7
Tablo 2.5. Bölgesel dağılıma göre obezite sıklığı sayısal verileri (%)..... 8
Tablo 2.6. İlgili enzime karşı AVG'nin yüzde inhibisyonu..... 23
Tablo 2.7. Arı ürünlerinin sulu çözeltilerinin toplam monoamin oksidaz üzerine inhibitör etkileri..... 27
Tablo 4.1. Karnabahar su, etanol, metanol ekstraktları ve pozitif kontrol Orlistatın DPL enzimi için IC_{50} değerleri..... 45
Tablo 4.2. Brokoli su, etanol, metanol ekstraktları ve pozitif kontrol Orlistatın DPL enzimi için IC50 değerleri..... 46
Tablo 4.3. Brüksel lahana su, etanol, metanol ekstraktları ve pozitif kontrol Orlistatın DPL enzimi için IC_{50} değerleri..... 48
Tablo 4.4. Alabaş su, etanol, metanol ekstraktları ve pozitif kontrol Orlistatın DPL enzimi için IC_{50} değerleri..... 49
Tablo 4.5. Lahana su, etanol, metanol ekstraktları ve pozitif kontrol Orlistatın DPL enzimi için IC_{50} değerleri..... 50
Tablo 4.6. Artan konsantrasyonlardaki Alabaş'ın su, etanol, metanol ekstraktları ve akarbozun α-glukozidaz üzerine % inhibisyon aktiviteleri..... 51
Tablo 4.7. Artan konsantrasyonlardaki Brokoli'nin su, etanol, metanol ekstraktları ve akarbozun α-glukozidaz üzerine % inhibisyon aktiviteleri..... 52
Tablo 4.8. Artan konsantrasyonlardaki Alabaş'ın su, etanol, metanol ekstraktları ve PMSF'nin tripsin üzerine % inhibisyon aktiviteleri etkisi..... 53
Tablo 4.9. 1000 µg/ml konsantrasyonundaki bitki ekstraktlarının 40. dakikadaki % inhibisyon değerleri..... 54

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Obezite, vücuttaki yağ dokusu kitlesinin normalden fazla olması ile tanımlanan ve neden olduğu sonuçlan ile morbidite ve mortaliteyi belirgin olarak artıran kronik ve metabolik bir hastalıktır. Günümüzde gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerin karşı karşıya bulunduğu yüzyılımızın en ciddi halk sağlığı sorunlarından biridir [1].

Obezite, önlenebilir erken ölümlerin en önemli nedenlerinden biridir. Obezite, çok sayıda kronik semptoma yol açmakta; tip 2 *diabetes mellitus*, hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar, iskemik kalp hastalığı, safra kesesi taşları, solunum fonksiyon bozuklukları ve kanser gibi hastalıklara uygun ortam yaratmaktadır. Tüm dünyada sıklığı gittikçe artan obezite, günümüzün en önemli sağlık sorunlarından biridir. Obezitenin epidemi boyutuna ulaşmış bir hastalık gibi düşünülmesi gerekmektedir. Obezite, Amerika Birleşik Devletleri'nde önlenebilir ölüm nedenleri arasında, sigaradan sonra ikinci sırayı almaktadır [2]. Amerika Birleşik Devletleri'nde 1976-80 döneminde obezite sıklığı, erkeklerde % 12.3 oranından 1988-1994 döneminde % 20'ye; kadınlarda aynı dönemlerde % 16.5'dan % 24.9 oranına yükselmiştir [3]. Benzer şekilde yüzde veriler değerlendirildiğinde Türkiye'nin obezite konusunda dünyadaki yeri 2. sıradır [4,21].

Yapılan araştırmalara göre halk sağlığı girişimleri ve toplumların "diyet uygulama" konusundaki titizliğine rağmen obezitenin toplumdaki sıklığı son 20 yılda bütün dünyada süratle artmakla ve salgın bir hastalık gibi yayılmaktadır. Obezite beden kitle indeksi (BKİ) ile tanımlanır. BKİ; vücut ağırlığının (kilogram), boyun (metre)

karesine bölünmesiyle elde edilen değerdir. Hemşire Sağlık çalışmasında 16 yıl süreyle takip edilen 115.000 kadından beden kitle indeksi 29-32 kg/m^2 arasında olanlarda BKİ'si 25-27 arasında olanlara göre, ölüm riski % 60-70 oranda daha fazla bulunmuştur. Bunun matematiksel karşılığı ortalama her 13 kg fazlalık için yılda 1 milyon kadından 1260'ının hayatını kaybetmesidir [5].

Obezite, gelişmiş ülkelerin orta ve az gelirli kesimlerinde, gelişmekte olan ülkelerin ise orta ve yüksek gelir düzeyli kesimlerinde daha çok görülür. Bu artışın yetkili sağlık birimlerinde meydana getirdiği kaygı, birçok ülkenin acilen önlemler alınması konusunda ortak deklerasyon yayınlamalarına neden olmuştur. Genel olarak kabul edilen bir görüşe göre bir toplumun % 25'i Obez, % 25'i fazla kilolu, % 25'i normal kilolu ancak genetik olarak obeziteye eğilimlidir. Kalan % 25'i ise normal olup obeziteye genetik bir yatkınlık da belirlenmemiştir [4].

Diyet ve hayat tarzı değişiklikleri gibi klasik obezite tedavilerinin yanısıra günümüzde obezitenin farmakolojik yöntemlerle tedavisi önem kazanmıştır. İlaçlı tedavi stratejilerinden biri sindirim sistemi enzimlerinin inhibe edilmesi olup; en sık rastlanan inhibitör orlistat'tır. Orlistat, sistematik olmayan, potansiyel bir gastrik ve pankreatik lipaz inhibitörüdür [6]. Mide ve ince bağırsaklarda yağ yıkımının olduğu bölgelerde spesifik ve direkt etki gösteren antiobezite ilaçları grubundandır [7]. Bunun dışında benzer stratejilerle sibutramin, akarboz içerikli ilaçların obezite veya ilişkili hastalıkların tedavisinde kullanımı da sözkonusudur.

Kimyasal ilaçların yanında bitkisel çözümler de bilinmektedir. Literatür incelendiğinde *Brassicaceae* sebzelerinin metabolizma üzerinde detoks etkisi yarattığı, zayıflama amaçlı diyetlerde kullanıldıkları görülmektedir. Bu nedenle son zamanlarda bu sebzelerin zayıflama amacıyla haşlama sularının içildiği, kürlerinin hazırlandığı, salata, çorba olarak yaygın olarak tüketildiğine rastlanmaktadır. Genetik ve çevresel faktörlerle de ilişkilendirilen kanser ve kalp damar hastalıklarını önlemede obeziteyle mücadele yakın gelecekte öne çıkacaktır. Gerekli toplum sağlığı önlemleri itina ile alınmadığı takdirde, obezite önümüzdeki yıllarda ölüm nedenleri içinde birinci sıraya oturacak bir tehlike sinyali olarak tanımlanmaktadır. Bu nedenlerden dolayı; bu tezin amacı *Brassicaceae* sebzelerinin; obezite tedavisi stratejilerinden biri olan sindirim enzim inhibisyon aktivitelerinin olup olmadığının araştırılmasıdır.

Brassicaceae sebzelerinden lahana, brokoli, brüksel lahanası, karnabahar ve alabaştan elde edilen metanol, etanol ve su ekstraktlarının lipaz, *α*-amilaz, *α*-glukozidaz ve tripsin sindirim enzimleri ve monoamin oksidaz enzimi üzerinde *in vitro* inhibisyon aktiviteleri araştırıldı. Tez kapsamında kullanılan lipaz, *α*-glukozidaz, *α*-amilaz, tripsin, monoamino oksidaz enzimleri ticari firmalardan, *Brassicaceae* sebzeleri taze olarak kullanılmak üzere Edirne-Karaağaç bölgesindeki yerel üreticilerden sağlandı. Elde edilen ekstraktların bu enzimler üzerinde % inhibisyon aktiviteleri belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar pozitif kontrol olarak kabul edilen kimyasal maddelerin inhibisyon aktiviteleri ve IC_{50} değerleri ile karşılaştırılmıştır.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1. Dünya Sorunu Obezite

Obezite günümüzde gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerin en önemli sağlık sorunları arasında yer almaktadır. Obezite genel olarak bedenin yağ kütlesinin yağsız kütleye oranının aşırı artması sonucu boy uzunluğuna göre vücut ağırlığının arzu edilen düzeyin üstüne çıkmasıdır [1,4].

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından da obezite, sağlığı bozacak ölçüde vücutta aşırı yağ birikmesi olarak tanımlanan ve neden olduğu sonuçlar ile morbidite ve mortaliteyi belirgin olarak artıran, kronik ve metabolik bir hastalıktır. Bilindiği üzere beslenme; anne karnında başlayarak yaşamın sonlandığı ana kadar devam eden yaşamın vazgeçilmez bir ihtiyacıdır. Beslenme, insanın büyümesi, gelişmesi, sağlıklı ve üretken olarak uzun süre yaşaması için gerekli olan besin öğelerini yeterli ve dengeli miktarda alıp vücutta kullanabilmesidir [8].

Günlük yaşamda bireylerin (gebe, emzikli, bebek, okul çocuğu, genç, yaşlı, işçi, sporcu,) yaşa, cinsiyete, yaptığı işe, genetik ve fizyolojik özelliklerine ve hastalık durumuna göre değişen günlük enerjiye ihtiyacı vardır [9]. Sağlıklı bir yaşam sürdürmek için, alınan enerji ile harcanan enerjinin dengede tutulması gerekmektedir.

Yetişkin erkeklerde vücut ağırlığının % 15-18'i, kadınlarda ise % 20-25'ini yağ dokusu oluşturmaktadır. Bu oranın erkeklerde % 25, kadınlarda ise % 30'un üstüne çıkması obeziteyi oluşturmaktadır [10].

Obezite beden kitle indeksi (BKİ) ile tanımlanır. BKİ; vücut ağırlığının (kilogram), boyun (metre) karesine bölünmesiyle elde edilen değerdir. Vücut yağ dokusu ile güçlü bir korelasyon gösterir. Pratik olması ve vücut yağ oranıyla iyi korelasyon göstermesi nedeniyle obezitenin tanımlanmasında ve takibinde beden kitle indeksi yaygın olarak kullanılır. Kısa bir zaman ve deneyimi gerektirmesi yanında, doğruluğunun yüksek ve hata payının minimal olması da bunda etkili olmuştur [11]. BKİ; bireyleri derecelendirip ayırabilse de ödem, kas artışı, anatomik nedenli (kifoz gibi) boy farklılıkları nedeniyle dikkatle yorumlanmalıdır. Ayrıca çocuklarda, pubertede, zayıf yaşlılarda, gebe ve emzirenlerde, vücut geliştiren sporcularda BKİ derecelendirmesi uygulanmaz [12,13]

WHO'nun sınıflandırmasına göre, BKİ esas alınarak yapılan obezite sınıflandırması beş ana grupta toplanmaktadır (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. WHO'nun obezite sınıflandırması [8]

BKİ	**Tanımı**	**Derecesi**
< 18.5	Zayıf	-
18.5-24.9	Normal	0
25.0-29.9	Fazla Kilolu	1
30-39.9	Obez	2
> 40	Morbid Obez	3

BKİ, vücut yağ miktarının genel bir göstergesidir ve yağ dağılımı hakkında bilgi vermez. Yağın gövdede toplandığı obezite tipine erkek tipi (android veya elma tipi), kalça, baldır, kollar ve bacaklarda toplandığı obezite tipine de kadın tipi (jinoid veya armut tipi) obezite adı verilmektedir. Yapılan araştırmalarda yağın gövdede, yani karın bölgesinde ve iç organlarda toplanmasının ateroskleroz ve *Diyabetes mellitus* gibi

hastalıklar için yüksek risk teşkil ettiği gösterilmiştir. Bu sebeple riskin belirlenmesinde karın yağ dağılımını ölçen yöntemler (bel çevresi, kalça çevresi ve bel kalça oranı) daha değerlidir (Tablo 2.2) [14,15,16].

Tablo 2.2. Erkek ve kadınlarda riskli bel çevresi ölçüleri [20]

	ATP III ve IDF*	**EGIR***
Kadınlarda	>88 cm	>80 cm
Erkeklerde	>102 cm	>94 cm

*(ATP III: Yetişkin Tedavi Paneli III, IDF: Uluslararası Diyabet Federasyonu, EGIR: İnsülin direnci çalışması Avrupa grubu)

2.1.1. Obezite Prevalansı

Günlük alınan enerjinin harcanan enerjiden fazla olması durumunda, harcanamayan enerji vücutta yağ olarak depolanmakta ve obezite oluşumuna neden olmaktadır.

WHO tarafından Asya, Afrika ve Avrupa'nın 6 ayrı bölgesinde yapılan ve 12 yıl süren çalışmada 10 yılda obezite prevalansında % 10-30 arasında bir artış saptandığı bildirilmiştir.

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde yaşam şekli değişiklikleri nedeni ile bir salgın haline gelen şişmanlık, beraberinde lipid ve şeker metabolizması bozukluklarını getirerek, sonunda ateroskleroza bağlı kalp damar hastalıklarında artışa yol açmaktadır [15,17,18]. Kilo fazlalığı ve bel çevresi kalınlığı fazla olan kişilerde görülen metabolik sendrom; kalp hastalığı, yüksek tansiyon ve şeker hastalığı gibi hastalıkların habercisidir [19]. Obez hastalarda, kan damarlarındaki sertleşmeler ve tıkanmalar, inme ve kalp krizi riskini yükseltmektedir [20].

Tablo 2.3. 2004 yılı Obezite konusunda Türkiye'nin dünyadaki yeri [21]

Ülkeler	Erkek (%)	Kadın (%)	Toplam (%)
ABD	36.9	55.1	46.0
Türkiye	17.2	54.8	36.2
İspanya	30.5	37.8	34.7
İtalya	24.0	37.0	31.5
İngiltere	29.0	26.0	27.5
Fransa	-	-	26.3
Hollanda	14.8	21.1	18.2
Almanya	20.0	20.5	20.3

Obezite küresel boyutta önemli bir halk sağlığı sorunudur. Genellikle hareketsiz çalışan bireyleri tehdit eden obezitenin sıklığı tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de artış göstermektedir (Tablo 2.3) [22].

Tablo 2.4. Türkiye'de 2008 ve 2015 yılları arasındaki şişmanlık verileri [23]

Yıl / Durum	2008	2015
Obezite	400 milyon	700 milyon
Fazla Kilolu	1.4 milyar	2.3 milyar

Ülkemizde de diğer dünya ülkelerinde olduğu gibi obezite görülme sıklığı gün geçtikçe artmaktadır. Sağlık Bakanlığı tarafından yapılan "Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması-2010" ön çalışma raporunda Türkiye'de obezite sıklığı erkeklerde % 20.5, kadınlarda ise % 41.0 olarak bulunmuştur. Rapora göre ülkemizde toplamda fazla kilolu olanların oranı % 34.6, fazla kilolu ve şişman olanlar % 64.9, çok şişman olanların oranı % 2.9 olarak bulunmuştur. Bu verilerden anlaşıldığı gibi obezite günümüzde gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerin karşı karşıya bulunduğu en ciddi sağlık sorunlarından biridir.

Yapılan araştırmalara göre halk sağlığı girişimleri ve toplumların “diyet uygulama" konusundaki titizliğine rağmen obezitenin toplumdaki sıklığı son 20 yılda bütün dünyada süratle artmakla ve salgın bir hastalık gibi yayılmaktadır [20].

Ülkemizde bölgesel dağılımlar göz önüne alındığında obezite sıklığı Tablo 2.5’te verildiği gibidir.

Tablo 2.5. Bölgesel dağılıma göre obezite sıklığı sayısal verileri (%) [24]

Bölgeler	**%’lik Dilimler**
Doğu Karadeniz	33.1
İstanbul	33.0
Batı Anadolu	33.0
OrtaAnadolu	32.9
Batı Karadeniz	31.3
Batı Marmara	30.7
Doğu Marmara	30.6
Akdeniz	30.1
Ege	28.0
Kuzeydoğu Anadolu	23.5
Güneydoğu Anadolu	22.9
Ortadoğu Anadolu	20.5

2.1.2. Obezite Tedavisinde Kullanılan İlaçlar ve Farmokinetiği

Obeziteyle mücadele, genetik ve çevresel faktörlerin birlikte rol oynadığı sorunlar ile hem kanseri hem de kalp damar hastalıklarını önlemede yakın gelecekte öne çıkacaktır.

Ülkemizde 1999 yılından itibaren obezite ilaçları yaygın olarak kullanılmaktadır [24].

Obezite ilaçları aşağıda verildiği şekilde sınıflandırılabilir [25,26].

- Yağ depolanmasını engelleyenler
- İştahı azaltanlar
  - Katekolaminerjik: Fentermin, Fendimetrazin, Mazindol
  - Serotoninerjik**:** Fenfluramine, Deksfennuramin, Fluokselin
  - Serotoninerjik ve Katekolaminerjik**:** Sibutramin
- Yağ emilimini azaltanlar: Orlistat
- Yağ asidi sentezini engelleyenler
- Yağ kullanımını uyaranlar
- Termogenezi artıranlar: Efedrin, Kafein.
- Lipolizi artıranlar: beta-3 reseptör agonistleri

Bu ilaçlardan en yaygın olarak kullanılan sibutramin ve orlistat hakkında bilgi vermek yararlı olacaktır [27,28,29].

Sibutramin (Reductil): 1997'de ABD'de kullanımı kabul edilen ilaç monoamin (güçlü olarak serotonin ve norepinefrin, zayıf olarak dopamin) gen alanını inhibe ederek iştahı baskılamaktadır. Serotonin salınımını uyarmamaktadır. Doza bağlı olarak etkisi artar. 10-15-20 mg sibutramin ile 12 hafta süreyle yapılan çalışmalarda, plaseboya oranla istatiksel olarak anlamlı kilo kaybı sağlanmış, bu etki tedavi bitiminden 2 hafta sonrasına kadar devam etmiştir. Bir başka çalışmada değişik dozlarda sibutramin ile anlamlı etki 4 haftada başlamış ve 24 hafta sürmüştür. Plasebo kontrollü diğer bir çalışmada (12 aylık sürede) 10-15 mg/gün sibutramin ile başlangıç ağırlığın % 10'undan fazlasını kaybedenlerin oranı % 8 iken tedavi grubunda bu oran çeşitli dozlarda % 30-39 arasında olmuştur. Tedavi sonrası aynı kiloda kalım süresi plasebo grubunda 2 ay iken, sibutramin alan grupta 5-6 ay olmuştur. Başka bir çalışmada ise sibutramin 10 mg/gün dozunda 12 aylık tedaviden sonra plaseboya göre 3-5 kg daha fazla bir kilo kaybına yol açmıştır. Obez diyabetik olgularda sibutramin ile yapılan çalışmalarda plaseboya göre anlamlı bir kilo kaybı saptanamamıştır.

Sibutramin dahil iştahı azaltan tüm ilaçların bağımlılık veya yoksunluk, tolerans gelişimi, depresyon, nörotoksik etkiler, primer pulmoner hipertansiyon ve kalp kapak hastalığı gibi ciddi yan etkileri görülebilir. Yan etki olarak hipertansiyon (<%5) ve

taşikardi oluşabilir. İlaç, kontrolsüz hipertansiyon, şiddetli böbrek yetersizliği ve karaciğer fonksiyon bozukluğu, koroner arter hastalığı, aritmi, felç ve dar açılı glokomda kontrendikedir.

Sibutramin; beslenme sonrasında tokluk hissini hızlandırır ve gıda alımını azaltır, iştah azalması gözlenir ayrıca, enerji tüketimini arttırır. MAO inhibitörüyle etkileşimi tespit edilmiştir. Bu nedenle kullanılmaya başlanmadan önce dikkatli olunmalı, ilgili inhibitör kullanımına 14 gün ara verilmelidir [1].

Orlistat (Xenical): Bu ilaç barsak lümeninde gastrik ve pankreatik lipaz aktivitesini inhibe ederek etkisini gösterir. Trigliseridlerin parçalanması engellenir. Oral yoldan alınan yağların yaklaşık % 30'u emilmeden feçes ile atılır. Bu da günde yaklaşık 200 kcal'lik bir enerji açığı demektir. İlacın % 96.4 ü emilmeden gayta ile atılır Minimal oranda emilen kısmı ise idrarla atılır. Orlistatın 3-12 aylık dönemlerde yapılan çalışmalarda plaseboya oranla % 10-60 daha fazla kilo kaybına neden olduğu gösterilmiştir Ayrıca total kolesterol, LDL-kolesterol, tokluk hipertrigliseridemi, apoAl ve B ile diyabetik hastalarda HbAlc düzeylerinde anlamlı düşmeler sağlandığı bildirilmiştir. Başka bir çalışmada orlistat 2 yıl süreli randomize çalışmalarda plaseboya oranla 2-4 kg daha fazla kilo kaybına neden olmuştur [1].

Optimum terapötik doz günde 3 kez 120 mg'dır. Yemekle beraber ya da yemekten sonra 1 saat içinde alınır. İlacın kullanımı sırasında yan etki olarak yağda eriyen vitaminlerin emilmesinde azalma saptanmıştır. Ayrıca beta-karotenin 1/3'ü emilmeden atılmıştır. Defekasyon sıklığında ve miktarında artma, sulu gayta, karın ağrısı ve gaz oluşumu diğer yan etkileri arasında sayılabilir [30,31].

İlaç, sekonder obezite, malabsorbsiyon sendromları ve gastrointestinal (GİS) malinitelerinde kontrendikedir. Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi (FDA)'nın sibutramin ve orlistat tedavisini onaylamasına ve Ulusal Sağlık Enstitüsü (NIH)'nün bu ilaçların kullanımını desteklemesine rağmen adı geçen ilaçların uzun süreli klinik yararları gösterilememiştir. İlaçlar 1-2 yıllık klinik çalışmaların sonunda bir miktar kilo kayıplarına yol açmalarına ve bazı çalışmalarda obezite-ilişkili metabolik parametrelerde düzelme sağlanmasına rağmen, bu ilaçların obezitenin komplikasyonları üzerine olan etkisi bilinmemekte ve uzun dönemde oluşabilecek ciddi yan etkiler

belirsizliğini korunmaktadır. Ayrıca çocuklar ve genç erişkinlerde antiobezite ilaçları ile literatürde bilimsel olarak yapılmış yeterli sayıda klinik çalışma mevcut olmadığından bu grup hastalarda ilaç tedavisine şimdilik başlanmamalıdır [1,4,9].

Orlistat; gastrik ve pankreatik lipaz inhibitörüdür. Diyetle alınan trigliseridlerin % 30'a varan oranda sindirimini bloke edip, feçes ile atılımını sağlar. Digoksin, warfarin, nifedipin, atenolol, kaptopril, furosemid ve gliburidin farmakokinetiğini etkilemediği bildirilmiştir [32,33].

Obezite tedavisinde araştırılmakta olan yeni ilaçların etki mekanizmaları ise aşağıdaki gibidir [34].

1. Gıda alımının periferik kontrolü
2. Gıda alımının santral kontrolü
3. Yağ emiliminin inhibisyonu
4. Termojenezin arttırılışı
5. Yağ metabolizmasının etkilenişi

2.2. Enzim ve İnhibitörler

Enzimler, kataliz yapan yani kimyasal tepkimelerin hızını artıran biyolojik moleküllerdir [35]. Neredeyse tüm enzimler protein yapılıdır. Enzim tepkimelerinde, bu sürece giren moleküllere substrat denir ve enzim bunları farklı moleküllere, ürünlere dönüştürür. Bir canlı hücredeki tepkimelerin çoğu yeterince hızlı olabilmek için enzimlere gerek duyar. Enzimler substratları için son derece seçici olmaları ve pek çok olası tepkimeden sadece birkaçını hızlandırmaları nedeniyle, bir hücredeki enzimler kümesi, o hücrede hangi metabolik yolakların bulunduğunu belirler.

Tüm katalizörler gibi enzimler de bir tepkimenin aktivasyon enerjisini (*E*a veya ΔG) azaltarak çalışır ve böylece tepkime hızını çarpıcı şekilde artırır. Çoğu enzim tepkimesi, ona karşılık gelen ve katalizlenmeyen tepkimeden milyonlarca kere daha hızlıdır. Diğer katalizörler gibi enzimler de katalizledikleri tepkime sonucunda tükenmez ve bu tepkimelerin dengesini değiştirmez. Ancak, diğer çoğu katalizörden

farklı olarak enzimler çok daha özgüldür. Enzimlerin 4000'den fazla biyokimyasal tepkimeyi katalizlediği bilinmektedir [36].

Enzimlerin etkinliği başka moleküller tarafından etkilenebilir. İnhibitörler enzim aktivitesini azaltan moleküllerdir, aktivatörler ise enzim aktivitesi artıran moleküllerdir. Enzimlerin aktivitesi ayrıca sıcaklık, kimyasal ortam (örneğin pH) ve substrat konsantrasyonu tarafından etkilenir. Bu tez çalışmasında *Brassicaceae* sebzelerinden elde edilen ekstraktların lipaz, amilaz, glukozidaz ve tripsin sindirim enzimleri ve monoamin oksidaz enzimi için inhibitör etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır.

2.3. Tez Kapsamında Çalışılan *Brassicaceae* Bitkileri

Brassicaceae familyasına ait bitkiler turpgiller ya da lahanagiller olarak bilinirler. Turpgiller familyası daha çok kuzey yarımkürede, nadiren tropiklerde yayılmış 330 cins ve 3700 türle temsil edilir. Türkiye'de 85 cins ve 515 türü bulunmaktadır [37].

Son yıllarda beslenmenin insan sağlığı üzerindeki rolüne dikkat çekilmektedir. Birkaç epidemiyolojik çalışmada, ateroskleroz ve kanser gibi kronik hastalık riskinin azalmasının tüketilen bitki miktarlarıyla ilişkilendirildiği gösterilmiştir [38-42].

Brassicaceae sebzeleri; karnabahar, alabaş, brokoli, brüksel lahanası ve lahana turpgiller ailesinin farklı genlerini içermektedir. Bu sebzeler antioksidan ve antikanserojen özelliklere sahiptir [43-46] ve bunlar vitamin, karotenoid, polifenoller gibi fotokimyasallar için iyi bir kaynaktır [47]. Aynı zamanda sağlıklı beslenme ve zayıflamak adına bu sebzeler farklı salata çeşitleri oluşturularak pişirmeden de tüketilmektedir. Ayrıca *Brassicaceae* sebzeleri insan diyetindeki glukozinolatların tek kaynağıdır [48-51].

Bu tez çalışması için zayıflama kürlerinde yer alan lahana brokoli, karnabahar, alabaş ve brüksel lahana olmak üzere beş *Brassicaceae* sebzesi seçilmiştir (Şekil 2.1).



1



2



3



4



5

Şekil 2.1. Tezde kullanılan *Brassicaceae* sebzeleri (**1:**Lahana, **2:**Karnabahar, **3:**Brokoli, **4:**Alabaş, **5:**Brüksel Lahana)

Lahana (*Brassica oleracea L. var. capitata*) dünyada yetiştirilen en önemli sebzelerden birisidir. Lahana pişirilerek yenilebildiği gibi, pişirilmeden salatası ya da turşusu yapılarak da tüketilir. Kalori bakımından pek zengin değildir fakat vitamince zengindir. Birkaç epidemiyolojik çalışmada kardiyovasküler hastalıklar, nörolojik hastalıklar ve kanser gibi kronik hastalıklara karşı bu bitkinin tüketimi ve üretimi arasında ilişki olduğu rapor edilmiştir [52-54].

Beyaz Lahana (*Brassica oleracea* L. *var. capitata alba*), turpgillerin en önemli üyelerinden birisidir ve farklı biyoaktif bileşenleri (antioksidan ve antikanserojen) içeren ekonomik, önemli bir besin kaynağıdır [54-57]. Yetiştirilme şekline göre renk, boyut, şekil farklılıkları göstermektedir [55]. Lahana; A, C, K vitamini, B6 ve B3 vitaminleri, flavanoidler, karotenoitler gibi bazı kimyasal bileşenlere sahiptir [53,54,55,57].

Brokoli (*Brassica oleracea* Italica)'nin arteroskleroz, insülin direncine bağlı diyabet, iskemik kalp hastalıkları ve beyin felci gibi hastalıkları engellediği ileri sürülmektedir. Antimutajenik ve antikanserojenik özelliklere sahip olan ve etkili maddeler arasında bulunan bitkide antioksidan aktivitesi de belirlenmiştir [58,59].

Sebze, bitki ve baharatlardaki antioksidan potansiyellerinin çoğu flavanoid ve fenolik asitler gibi fenolik bileşenlerin indirgenmesinden kaynaklanmaktadır [60,61].

Alabaş (*Brassica oleracea*), brokoli, lahana, karnabahar gibi sebzelerin farklı morfolojilerinin ürünüdür. Alabaş, iki yıllık bitki türüdür ve şişkince bir gövdeye sahiptir [62]. Yağ oranının çok düşük olmasıyla birlikte iyi bir vitamin, mineral ve lif kaynağı olarak tüketilir. Bu ailedeki diğer birçok sebze gibi alabaşın da antioksidan özelliği vardır. Birçok kanser türüne karşı koruyucu kalkan olduğu bilinmektedir. Son on yılda Avrupa'da özellikle kuzey ülkelerinde alabaş sebzesinin gövde ve yaprak tüketiminin yanısıra üretimine de talep artmıştır [63,64].

Brüksel lahanası (*Brassica oleracea* Gemmifera), minyatür lahanalara benzetilen bir yıllık otsu bitkidir. Brokoli gibi kansere yakalanma riskini azalttığı düşünülen yaygın olarak tüketilen sebzelerden birisidir. Turpgillerin bazı sebzeleri, koyu yeşil sebzeler gibi klorofil ve folat içeriği açısından zengindir. Glukozinatlar ve kükürtlü bileşenler açısından da zengindir ve bunlar sebzeye keskin aroma ve baharat tadı verir [65]. Diğer yandan büyük miktarlarda antioksidan bileşikleri (karotenoid, flavanoid, sinnamik asit, benzoik asit, folik asit, askorbik asit, tokoferol) içerirler [66-68]. Bunlar bitkilerin oksitlenmeye meyilli bölgelerinde daha yoğundur. Örneğin, bitkinin kloroplastlarında 50 mM üzerindeki konsantrasyonlarda askorbik asitin olduğu bulunmuştur. Buradan yola çıkarak bazı çalışmalar göstermiştir ki sözü geçen sebzeler beslenmenin temel kaynağını oluşturup kanser ve kardiyovasküler hastalıklara engel oluşturur [66,69].

Karnabahar (*Brassica oleracea* Botryti), besin değeri yüksek, popüler ve 2 yıllık otsu bir bitkidir. Fosfor ve vitamin bakımından çok zengindir.

Karnabahar sebzesinin bileşenleri, lipit peroksidayonuyla ilişkilendirirlir. Metabolizma hızını artırdığı ileri sürülmektedir. Lipit otooksidasyonu antioksidanlar tarafından yavaşlatılır. Antioksidanca zengin sebzelerle beslenme seçimi sağlıklı beslenme konusunda anahtar rol oynamaktadır [70,71].

Alternatif tıpta turpgiller zayıflamak adına bitkisel çözüm olarak kullanılmaktadır. Araştırmalarda bu bitkilerin kürleri, çorbaları, detoks suları, salataları

yapılarak tüketildiği ve olumlu sonuç alındığı görülmüştür. Ancak literatürde bu konuda hangi bitkinin etkin olduğu ya da sindirim sistemi enzimlerinin inhibisyonuna dair bilgiye rastlanmamıştır.

2.4. Tez Kapsamında Çalışılan Enzimler

2.4.1. Lipazlar

Lipazlar (trigliserol açilhidrolazlar; EC.3.1.1.3), yağ sindiriminde görevli fosfolipid ve triaçilgliserollerin ester bağlarının hidrolizleyen enzimlerdir [72]. Lipazlar esterazların bir alt sınıfıdır, çoğu canlıda gıdasal lipitlerin (trigliseritlerin) sindirimi, taşınması ve işlenmesinde önemli rol oynarlar. Lipazlar gıdasal trigliseritlerin rutin metabolizmasından, sinyal transdüksiyonu ve inflamasyona kadar çok çeşitli biyolojik süreçlerde yer alırlar. Bazı virüslerde dahi lipaz genleri bulunur.

İnsan sindirim sisteminin en önemli lipazları mide tarafından salgılanan gastrik lipaz ve pankreas tarafından salgılanan pankreatik lipaz ve pankreatik lipazla ilişkili protein 2 (PLRP2)'dır. Pankreatik lipazlar (PL), triaçilhidrolaz sınıfındandır ve trigliseridlerin sindiriminde kilit noktasıdır. Lipazlar, bir lipit substratın gliserol omurgasının belli konumlarında etkir. Bu enzim yağ asitlerini α and α' pozisyonlarından monogliseridlerine parçalar [73,74]. PL, total yağ moleküllerinin % 50-70'inin hidrolizinden sorumludur.

Lipaz, nötr pH'de en iyi çalışır. Bu enzim, tripsin gibi önce inaktif bir biçimde (tripsinojen gibi) salgılanmaz, salgılandığı haliyle aktiftir. Pankreas tarafından salgılanan enzim, aktivitesi için kolipaz adlı başka bir proteine gerek duyar [75].

Pankreatik lipaz, hücre dışına salgılanır ve orada besinsel lipitleri vücut tarafından daha kolay emilebilmeleri ve vücut içinde daha kolay taşınabilmeleri için daha basit moleküllere dönüştürür [76,77]. Trigliseridlerin % 10-30'u midede sindirilir, kalanı pankreatik lipaz tarafından sindirilir. Kofaktör olarak kolipaz ve safra asitleri kullanır. Karaciğerden üretilen safra asitleri, safra kesesesi aracılığıyla duodenuma

salındıktan sonra mideden gelen besinlerdeki büyük yağ damlalarını kaplarlar ve onları daha küçük damlalara (misellere) emülsifiye ederler. Böylece toplam yüzey artar, bu da pankreatik lipazın bu yağları daha kolay sindirmesini sağlar. Hidroliz reaksiyonu sonucu monoaçilgliserol ve yağ asitleri oluşur. Meydana gelen monogliseritler ve yağ asitleri ince bağırsaktaki villuslar tarafından emilirler ve bağırsak epitel hücrelerinin içinde tekrar trigliseridlere dönüştürülürler. Daha sonra vücuda dağıtılmak üzere, şilomikronlar içinde lenf sistemine salgılanırlar [78].

İnsandan izole edilen pankreatik lipaz homolojisinin, domuz pankreatik lipazı (DPL) ile % 86 benzerlik gösterdiği belirlenmiştir [79]. Bu yüzden deneysel çalışmalarda daha çok domuz pankreatik lipazına rastlanmaktadır.

2.4.2. Lipazın Orlistatla İlişkisi

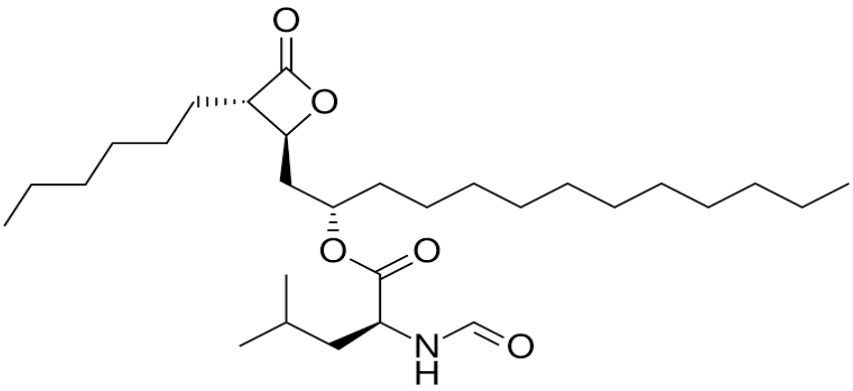
Diyet ve hayat tarzı değişiklikleri gibi klasik yöntemlerle verilen kiloların uzun vadede korunması amaçlanmaktadır. Ancak son yıllarda yağ absorpsiyonunu azaltmak ve sindirim enzimi olan lipazı inhibe etmek için obezite tedavisinde yeni farmakolojik yaklaşımlar popüler hale gelmiştir [80-82].

Obezite gelişiminde yağların oynadığı santral rol dikkate alınarak, vücutta yağların metabolize edilmesinin önüne geçmek gerekmektedir. Doğal anti-obezite ajanlarının potansiyelini belirleyebilmek için çalışılan mekanizmalardan birisi de pankreatik lipaz inhibisyonudur.

Obezite tedavisi için kabul edilen iki ilaçtan biri Orlistat'tır (Şekil 2.2). Trigliseritlerin sindirimine engel olarak vücuda besinsel yağ alımını durdurur [83]. Dünyada en çok satan ilaçlardan birisi olmasına rağmen, gaz ağrısı, yağlı dışkı ve yağ bezeleri gibi mide ve bağırsaklarla ilgili yan etkileriyle de karşılaşılmaktadır [84].

Orlistat, *Streptomyces toxytricini* tarafından üretilen doğal bir lipaz inhibitörü olan "lipstatin"in hidrojene edilmiş bir türevidir [83]. Bu ilaç, gastrointestinal lümende gastrik ve pankreatik lipazların serin kalıntılarına kovalent bağlarla bağlanarak etkisini gösterir. Sonuçta monoaçilgliserollerin ve serbest yağ asitlerinin oluşumunu önleyerek,

diyetteki yağın emilimini indirekt olarak bloke eder, gastrointestinal lipazları inhibe ederek bağırsakta yağ emilimini % 30 azaltmaktadır. Yalnızca kilo kaybını sağlamakla kalmayıp, verilen kiloların korunmasında da etkili rol oynamaktadır [85,86].



Şekil 2.2. Lipaz enziminin inhibitörü Orlistat molekülü [87]

Lipazı inhibe etmek için sinir sistemi merkezli iştah kesen fenfluramin, rimonabant ve sibutramin gibi ilaçlar kullanılırken sindirim sistemi merkezli, ilgili moleküllerin parçalanmadan atılmasını sağlayan lipaz inhibitörü Orlistat (tetrahidrolipstatin, THL) molekülü, kilo kaybının yanında obeziteyle ilişkili diyabet ve kardiyovasküler hastalıkların oluşturduğu risk faktörlerini de azaltmaktadır [88]. Lipaz inhibitörler olan orlistat, yağ asidi sentezini inhibe etmesi ve anti-tümöral etkilerin gözlenmesi sebebiyle [89] tip 2 diyabet [90,91], ateroskleroz [92], tüberküloz [93-95] ve kanser gibi ilaçlı tedaviye ihtiyaç duyulan durumlarda da kullanılmaktadır.

2.4.3. *α*-Amilaz ve *α*-Glukozidazlar

Amilaz, bitkilerde bulunan nişastayı bir disakkarit olan maltoza hidrolizleyen enzimdir. Sınıfı proteaz olup, çalışmalarda en sık kullanılan ikinci enzim çeşidini amilazlar oluşturur. Kandaki glukozun ana kaynaklarından olan nişastanın hidrolizi *α*-amilaz (E.C.3.2.1.1) ve *α*-glukozidaz (EC.3.2.1.20) enzimlerinin yardımıyla

gerçekleştirilir. Pankreatik α-amilazın nişastayı hidrolizi α-(1,4) glikozid bağlarını kırarak maltoz ve diğer oligosakkaritlere parçalamasıyla oluşur [96,97].

İnsanlarda tükürük bezleri ve pankreastan salgılanır. Amilazlar, patates, spagetti, krema ve çikolata gibi nişasta esaslı yiyecek kalıntılarının çıkarılmasında kullanılır. Enzimatik deterjan formülasyonlarında kullanılan ilk enzim olarak bilinirler. Amilaz sadece çamaşır deterjanlarında değil, bulaşık deterjanlarında da kullanılmaktadır [98].

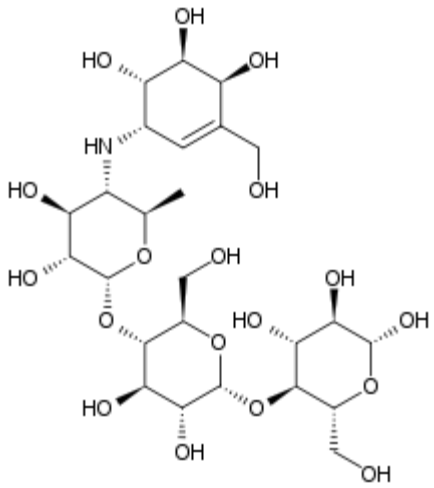
α-Glukozidazlar, karbonhidrat sindiriminin son basamağını katalizlerler. α-Glukozidaz inhibitörleri diyabet tedavisinde kullanıldığı gibi obezite tedavisinde de kullanılmaktadırlar. Bu enzimin inhibitörleri, sindirim enzimlerini inhibe ederek glukoz absorpsiyonunu yavaşlatırlar [99,100].

2.4.4. α-Amilaz ve α-Glukozidazların Akarbozla İlişkisi

İnsülin direnci ya da pankreatik β-hücrelerinin fonksiyonunu kaybetmesinden dolayı ortaya çıkan tip 2 diyabetin dünyada yaklaşık 150 milyon kişide olduğu tahmin edilmektedir [101]. Diyabet, bir karbonhidrat metabolizması hastalığıdır ve uzun süre tedavi edilmezse nöropati, retinopati ve kardiyovasküler hastalık riskini arttırarak komplikasyonlara neden olmaktadır [102,103]. Gelecekteki 20 yıl içinde dünyadaki tip 2 diyabetli hastaların sayısının yaklaşık olarak 346 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir [104,105]. Tip 2 diyabet tedavisi için kullanılan terapötik yöntemlerin birisi, polisakkarit, oligosakkarit ve disakkaritlerin glukoza parçalanmasını durdurmaktır [106]. Bu da mide ve bağırsak bölgesinde amilaz enziminin inhibe edilmesiyle yapılabilir [107,108]. Bu yönüyle amilaz inhibitörleri obezite yönetiminde yardımcıdırlar [109,110]. Bu inhibitörler, karbonhidratların sindirimini geciktirir ve glukoz absorpsiyon hızını yavaşlatır. Bu durum kan hücrelerindeki glukoz seviyesini düşürür [102].

Hedef olan amilazın yapısal farklılıklarından dolayı inhibitörleri de spesifiktir. Amilaz inhibitörlerin yapısı baz alınarak sınıflandırıldığında üç grup oluşmaktadır; amino şekerler, oligostatinler ve proteinaz inhibitörler. Amino şekerlerden olan akarboz, pankreatik α-amilaz için çok iyi bir inhibitör, anti-diyabetik bir ilaçtır (Şekil 2.3).

Akarboz, karbonhidratların sindirilmesi için gerekli olan glikozithidrolaz enzimlerini inhibe eder. Özellikle ince bağırsakların iç yüzeyinde bulunan fırça kenar enzimlerini ve pankreastan salgılanan alfa-amilaz enzimlerini inhibe eder. İnhibitör enzimin aktif bölgesine bağlı su molekülleri aracılığıyla ya da direkt hidrojen bağlarıyla bağlanır [111]. Bu enzimlerin inhibe edilmeleri karmaşık karbohidratların sindirimlerini büyük ölçüde azaltır. Bu sayede dolaşıma giden glukoz miktarı azalır, çünkü besinlerle alınan karbonhidratlar glukoz moleküllerine yıkılamazlar.



Şekil 2.3. α-amilaz ve α-glukozidaz enzimlerinin inhibitörü Akarboz molekülü [112]

İnhibitörlerin bazıları substrata benzeyen maddelerle de etkileşir. Akarboz, izoakarboz, hibiskus asidi ve siklodekstrin gibi proteinaz olmayan inhibitörlerin amilaza karşı aktivitesi, amilaz substratına benzeyen siklik yapılarından kaynaklanmaktadır. Akarbozun valinamin halkası, amilaz inhibisyonu için çok önemli görevdedir [113].

Son 2 yıldır akarboz miglitol, vogliboz gibi yapay α-glukozidaz inhibitörleri geliştirilmeye çalışılmıştır. Ancak bu sentetik α-glukozidaz inhibitörlerinin midede gaz sıkışması, karın ağrısı, karaciğer hastalıkları gibi yan etkilerin gözlenmesi nedeniyle bu doğal kaynaklardan sağlanması ve bitkilerden izolasyonuna odaklanılarak çalışmalar yapılmıştır [100,114,115].

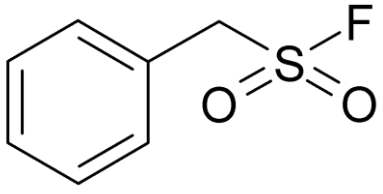
2.4.5. Tripsinler

Proteazlar, protein moleküllerini spesifik oldukları amino asitlerinden tam verimle hidrolizlerler, geniş bir aktivite spektrumuna sahiptir. En önemli proteazlardan birisi tripsindir. Tripsin (EC.3.4.21.4) bir serin proteaz olup bakterilerden memelilere kadar yaşayan tüm organizmalarda belirlenmiştir. Tripsin, pankreas sıvısında bulunan ve bağırsaklarda proteinleri peptonlara ve polipeptitlere parçalayan sindirim enzimidir. Tripsin; peptid ve proteinleri karboksi terminal tarafından lizin ve arjinin aminoasitlerinden parçalar. Pankreasta, tripsinojen halinde etkin olmayan bir durumda bulunur ve onikiparmak bağırsağından salgılanan enterokinazın etkisiyle tripsin haline dönüşür [116].

Tripsin, pankreasta yüksek miktarda mevcuttur ve oldukça kolay saflaştırılabilir. Bu enzim pek çok biyoteknolojik işlemde kullanılmaktadır. Bu işlemler genellikle tripsin proteolizi veya tripsinizasyon olarak adlandırılır ve tripsinle sindirilen veya muamele edilmiş olan proteinler de tripsinlenmiş olarak tanımlanır [117]. Doku kültürü çalışmalarında, sütten kazeini ayırmada, proteomikte kütle spektrometresi analizi için jeldeki proteinleri peptitlere parçalamada, gıda endüstrisinde süt, peynir, et, balık ürünleri, lezzet bileşikleri, alerjen proteinleri uzaklaştırılmış hipoalerjenik gıdalar elde etmede kullanımı örnek olarak verilebilir [118].

2.4.6. Tripsinlerin PMSF ile İlişkisi

Biyokimyada fenilmetilsülfonilflorür (PMSF) bir serin proteaz inhibitörüdür. PMSF, toz halinde bulunan sitotoksik bir kimyasaldır (Şekil 2.5).



Şekil 2.4. Tripsin enziminin inhibitörü PMSF molekülü [119]

PMSF, bütün proteazları inhibe etmez. Hızlıca suda çözünür ama standart çözeltiler genellikle etanol, izopropanol veya DMSO (dimetil sülfoksit)'da hazırlanır. 0.1-1 mM konsantrasyon aralığındaki PMSF inhibitör olarak kullanılır. Sulu çözeltilerinde yarılanma ömrü de kısadır (pH 7.55 de 110 dakika, pH 8.00 de 35 dakika; 25°C).

Proteaz inhibisyonu birçok hastalığın kontrol altına almasına yardımcı olur [120]. Proteini parçalayıcı etkisinden kandaki pıhtıları eritmede yararlanılır. Son zamanlarda proteaz inhibitörleri antiviral, antibakteriyel amaçlı ve kanser tedavilerinde, hücre parçalanmasından sonra sindirim enzimlerinin bloke edilmesi amacıyla da PMSF yaygın olarak kullanılır [116,121,122].

Bitki proteaz inhibitörleri, önemli işlemlerde görev alan genellikle küçük proteinlerdir. Proteaz inhibitörleri proteolitik enzimlerle kompleks formlara has bir özellik gösterir ve katalitik bölge için enzim substratıyla yarışarak enzimin aktif bölgelerini inhibe ederler [123].

2.4.7. Monoamin Oksidazlar

Monoamin oksidaz (MAO), nöral ve nöral olmayan hücre membranlarının dış mitokondrisinde bulunan bir enzimdir [124]. Monoamin oksidaz (MAO, EC 1.4.3.4), bir koenzim olan flavinadenin dinükleotide kovalent bağlıdır ve noradrenalin, dopamin ve seratonin gibi nörotransmitterlerin oksidatif deaminasyonundan sorumludur. Egzojenaz ve endojenaz aminler (tiramin ve benzilamin) aldehitlerle reaksiyon verme konusunda nörotransmitterler kadar iyi moleküllerdir [125].

MAO enzimleri, MAO-A ve MAO-B olmak üzere iki formda bulunurlar. Merkezi ve çevresel sinir sistemi kimyasal madde miktarlarının azaltılmasına yardımcı olurlar, ayrıca sinir hücrelerini aboptozise karşı korudukları da iddia edilmektedir [126]. MAO enzimleri substrat ve inhibitörlerine karşı seçici ve özgüldür. MAO-A enzimleri ruh hastalıklarına neden olan ve beyinde bulunan biyogenik amin (dopamin, seratonin, norepinefrin) seviyesini düzenlerler. Psikoterapi ilaçları olarak kullanılan antidepresanların MAO enzim inhibitörü olarak kullanıldığı da bildirilmiştir. MAO-A

klinik olarak depresyon tedavisinde kullanılmaktadır. İnsan beyni yaklaşık % 75 MAO-B sentezler [127]. MAO-B ise β-feniletilaminve benzamin'i deamine eder. Sinir terminallerinde monoaminerjik artış, depolanan MAO inhibitörlerinde bir artışa neden olur. MAO-A inhibitisyonu depresyonda ve anksiyete bozukluklarında önemli olduğu düşünülen nörotransmiterleri etkiler. MAO-B inhibitörleri dopamin seviyelerine bağlı olarak artar. Selegilin tek geri dönüşümsüz MAO-B inhibitörüdür ve pekçok ülkede ilaç pazarında onaylı olarak yer almaktadır [128]. MAO-B aktivitesi ise insanlarda yaş ile doğru orantılı olarak azalır ve Parkinson hastalığı gibi nörodejaneratif hastalıklar meydana çıkmaya başlar [125]. Son zamanlarda MAO-B inhibitörleri ankisiyete bozukluklarının tedavisinde ve Alzheimer hastalıklarının tedavisinde de kullanılmaktadır [129].

MAO-B enzimi ayrıca nöron koruyucu etkiye sahiptir. MAO-B ile oksitleme aşamasında reaktif hidrojen elde edilir. Amin ve peroksit reaksiyonunda yan ürün olarak hidrojen peroksit ve diğer reaktif oksijen türleri oluşur. Bunlar da nöral fonksiyonların bozulmasına veya sonunda nöral ölüme neden olur [130]. MAO'nun farmasötik potansiyeli, özellikle MAO-B inhibitörleri için aktif yeni bileşiklerin araştırılmasına yol açmıştır.

2.4.8. Tezde Çalışılan Enzimlerin Literatürdeki İnhibisyon Çalışmalarına Bakış

Bu tez kapsamında obeziteyi ilgilendiren sindirim enzimlerinin inhibisyonu ile ilgili çalışmalar yürütülmüştür. Bu çalışmada 5 *Brassicaceae* sebzesinden elde edilen etanol, metanol ve su ekstraktlarının sindirim enzimleri ve MAO-A enzimi üzerinde inhibitör potansiyellerinin olup olmadığı araştırılmıştır. Tez kapsamında seçilen *Brassicaceae* sebzelerinin bu enzimler üzerinde inhibisyon etkilerinin olup olmadığı ilk kez çalışılmıştır. Literatürde bu sebzelerin enzim inhibisyonu ile ilgili sindirim enzimleri inhibisyon çalışmalarına rastlanmamıştır. Bu nedenle ilgili enzimler üzerinde başka bitki ektraktlarının inhibisyon çalışmalarına ait veriler aşağıda sunulmuştur.

Aloe vera jel (AVG); diyabet, obezite ve enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır [131]. Urmeela Taukoorah ve M. Fawzi Mahomoodally'nin [132] yürüttüğü inhibisyon çalışmasında alfa-amilaz, alfa-glukozidaz ve pankreatik lipaz'a karşı AVG'in inhibitör etkisi *in vitro* incelenmiştir. Vacoas şehrinden alınan taze aloe vera bitkileri yıkanarak blender'da parçalanmış ve jel haline getirilen bitki tüm analizlerde kullanılmıştır. Alfa-amilaz inhibisyonu Mao ve Kinsella'nın [133] metodu baz alınarak yapılmış ve spektrofotometrik yöntem ile 565 nm'de absorbansı ölçülmüştür. Alfa-glukozidaz inhibisyon aktivite ölçümü Pistia-Brueggeman ve Hollingsworth [134] metoduna göre uyarlanmış, pozitif kontrol olarak akarboz kullanılmış ve yine spektrofotometrik yöntemle 405 nm'de absorbansı ölçülmüştür. Pankreatik lipaz aktivitesi için ise Zheng ve grubu [135] ve Bustanji ve grubu [136]'nun metodu modifiye edilmiş, absorbans 405 nm'de ölçülmüştür. Michaelis-Menten (Km) and Lineweaver-Burk grafikleri çizilmiştir.

Tablo 2.6. İlgili enzime karşı AVG'nin yüzde inhibisyonu [132]

Örnek	**% İnhibisyon**		
	α-amilaz	**α-glukozidaz**	**Pankreatik lipaz**
Akarboz	96.64 ± 0.10	62.70 ± 0.15	70.58 ± 0.50
Aloe vera	−4.88 ± 0.09	−0.81 ± 0.33	85.56 ± 0.91

Tablo 2.6'da görüldüğü gibi pozitif kontrol (akarboz; 400 µg/mL) ile karşılaştırıldığında Aloe vera'nın α-amilaz ve α-glukozidaz inhibisyonu belirlenmemiştir. Ancak bizim çalışmamıza benzer şekilde, çalışan bitki ekstraktında pozitif kontrol orlistattan daha yüksek pankreatik lipaz inhibisyonu belirlenmiştir.

Dünyada obezite artışından dolayı bu tür inhibisyon çalışmalarının sayısı her geçen gün artmaktadır. Buradan yola çıkılarak Malezya'da çok tüketilen bitkilerden kudret narı (*Momardica charantia*, MCE), hint dutu (*Morinda citrifolla*meyvesi, MCFE), tropik bölgelerde ve bataklıklarda yetişen antibiyotik olarak da kullanılan

Centella asiatica bitki ekstraktlarının (CAE) pankreatik lipaz üzerine *in vitro* inhibisyon etkileri araştırılmıştır. MCE, MCFE, CAE ekstraktların PL'ın aktivitesini durdurucu etkisi olduğu saptanmıştır. % inhibisyon değerleri sırasıyla 21.0 ±1.3, 25.8 ±0.1 ve 25.3 ±0.4 olarak belirlenmiştir [137].

Puteri ve grubu diyabet ve ilişkili hastalıkların dünya çapında artan bir problem olduğu vurgusuyla, Asya bölgesinde yetişen *Phyllanthus urinaria*'nın yapraklarından % 50'lik su:etanol çözücü karışımı ile silika jel kolonunda saflaştırma yapmış, ve kolondan gallik asit, korilajin, makatannin-B izole etmişlerdir. Domuz pankreatik amilaza karşı bu bileşiklerin inhibisyon aktiviteleri ölçüldüğünde; bileşiklerin 1 mmol/L konsantrasyonlarında sırasıyla % 23, % 21, % 33 inhibisyon aktiviteleri elde edilmiştir [138].

Sindirim enzimlerinin inhibisyonunun obezite tedavisindeki potansiyelleri göz önüne alınarak gerçekleştirilen ve doğal ürünlerin hipolipidemik ve hipoglisemik ajan olarak etki potansiyelini belirleme çalışmalarından birinde; Mallere ve arkadaşları [139] İtalya'nın Calabria kentinden tedarik ettikleri İtalyan devedikeni (*Carduus pycnocephalus* L.), yaşlı adamsakalı ya da yaban asması olarak bilinen *Clematis vitalba* L., tere (*Lepidium sativum* L.), büyük ebegümeci (*Malva sylvestris* L.) ve papatya ailesinin bir üyesi olan *Picris hieracioides* L. bitkilerinin *in vitro* α-amilaz ve lipaz enzim inhibisyonunu çalışmışlardır. Bu çalışmada bitkiler açık havada kurutulup etanol, metanol ve hekzan ekstraksiyonları yapılmış ve spektrofotometrik yöntemlerle α-amilaz (412 nm) ve lipaz (540 nm) enzim aktiviteleri belirlenmiştir. *Clematis vitalba* L., pankreatik lipaz ve α-amilaz üzerine güçlü bir inhibisyon etkisi göstermiş, sırasıyla IC_{50}: 0.99 mg/mL, IC_{50}: 31.52 μg/mL değerleri elde edilmiştir.

Lee ve grubu [140] obeziteyi engellemek üzere anti-lipaz aktivitelerini belirlemek ve doğal ürünlerden yeni pankreatik lipaz inhibitör potansiyellerini keşfedebilmek için Kore'de yetişen ve obeziteyle ilişkilendirilebilecek 61 bitki ile çalışma yapmıştır. Bitkiler kurutulmuş ve etanol ekstraktları hazırlanmıştır. Lipaz aktivitesi *p*-nitrofenil bütiratın hidrolizi ölçülerek belirlenmiştir. Test edilen ekstraktlardan gül ailesine ait olan *Sorbus commixta* (gövde, yaprak) ve ökse otu olarak bilinen *Viscumalbum* (tüm kısımları) bitkilerine ait ekstraktlar, anti-lipaz aktivitesi göstermiş ve sırasıyla IC_{50} değerleri 29.6 μg/mL and 33.3 μg/mL olarak belirlenmiştir.

Kim ve Kang [141] ise; obeziteyle ilişkilendirilen 19 Kore bitkisinin su ve etanol ekstraktlarını hazırlamış ve *in vitro* lipaz inhibisyonlarını çalışmışlardır. Gerçekleştirilen bu çalışmada substrat olarak tribütirin, lipaz aktivite tayin yöntemi olarak titrimetrik yöntem kullanarak sadece iki bitkinin ardıç kozalağı kabuğu (*Juniperus communis)* ve japon yıldızı ağacının odunsu kısmında (*Illicium religiosum*) lipaz inhibisyonu aktivitesi belirlenmiştir. Bu bitkiler için IC_{50} değerleri sırasıyla 20.4 ve 21.9 μg/mL'dir.

İtalya'nın Calabria bölgesinden toplanan 18 bitki türünde Conforti ve arkadaşları [142] *in vitro* pankreatik lipaz inhibisyon aktivitelerini araştırmışlardır. *p*-nitro fenolün açığa çıkmasıyla oluşan sarı kromojen renk oluşumunun 412 nm'de absorbansı ölçülerek takip edilen yöntem ile semiz otu (*Portulaca oleracea,* yapraklar) ve karanfil türü olan gıvışgan otunun (*Silene vulgaris*, yapraklar) su ve etanol ekstraktlarında inhibitör etkisi belirlenmiştir. IC_{50} değerleri sırasıyla 5.48 mg/mL ve 6.02 mg/mL olarak tespit edilmiştir.

Pom Phra, Chulachomklao, Mangrove Ormanlarından toplanan ve medikal özelliği olan 5 Thai bitkisi ile yürütülen lipaz inhibisyon çalışmasının ekstraksiyon işlemi, üzerinde küçük değişiklikler yapılarak Tietz ve grubunun [143] metodu ile gerçekleştirilmiştir. Pankreatik lipaz inhibisyonu için Kim ve Kang'ın çalışması referans alınmıştır [144]. Sonuç olarak yalnızca *C. fenestratum* etanol ekstraktında (IC_{50}: 160 ± 0.02 μg/mL) aktivite görülmüştür. Ancak pozitif kontrol olan Orlistat'a göre (IC_{50}: 9.25 ±1.25 μg/mL) inhibisyon etkisi çok zayıf bulunmuştur [141].

Hsieh ve arkadaşları [145] Tayvan'da bulunan baklagil ailesinin ağaçsı bitkilerinden dört *Flemingia* türünün su ekstraktlarında Matsui'nin [146] metoduna göre antidiyabetik ve antioksidan etkilerini incelemeyi hedeflemişlerdir. Antidiyabetik analiz *p*-nitrofenil-*α*-D-glukopiranosid substratı ile 0.1 M N-N'-bis (2-etansülfonik asit) tamponunda yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak genistein (bitkisel östrojen) kullanılmıştır. 153.92-1468.60 μg/mL arasında IC_{50} değerleri elde edilmiştir. En iyi potansiyeli ise IC_{50}: 153.92 ±0.20 μg/mL değeriyle *Flemingia macrophylla* bitkisinin su ekstraktı göstermiştir.

Souza ve ark. geleneksel kullanımı incelendiğinde kilo kaybına neden olduğu belirlenen *Baccharis trimera* bitkisinin lipaz, *α*-glukozidaz ve *α*-amilaz enzimi

üzerindeki inhibitör aktivitesinin belirlenmesi üzerine bir çalışma yapmışlardır. Sulu ekstraktlar infüzyon yöntemiyle hazırlanmış ve lipaz inhibitör aktivitesi belirlenmemiştir. Etanol ekstraktı % 16, metanol ekstraktı % 78 lipaz inhibitör etkisi göstermiştir. Hiçbir ekstrakt amilaz enzimini inhibe edememiştir. Her iki ekstrakt da aynı α-glukozidaz inhibisyonunu (% 46.9 ±0.1) göstermiş, β-glukozidaz ise % 73 inhibe edilmiştir [147].

Japonya'ya özgü bir söğüt türünden (*Salix gracilistyla*) izole edilen flavanoid bileşiği olan Luteolin-7-*O*-glukozid'in α-glukozidaz ve α-amilaza karşı inhibitör aktivitesi Kim tarafından test edilmiştir. Güçlü inhibitör olarak belirlenen luteolin'in 0.5 mg/mL konsantrasyonundaki akarbozdan daha güçlü etki gösterdiği ve % 36 inhibisyon yaptığı belirlenmiştir. Ayrıca α-amilazı da etkili bir şekilde inhibe ettiği bildirilmiştir [148].

α-glukozidaz inhibisyonunu diyabet tedavisiyle ilişkilendirmeyi amaçlayan Zhang ve grubu [149] Çin'de yetişen *Huai Shan Yao* olarak da bilinen yer elmasıyla (*Dioscorea opposita* Thunb.) çalışmışlardır. α-glukozidaz inhibisyon aktivite metodu birkaç metodun kombine edilerek modifikasyonu şeklinde çalışılmıştır [150-152]. Bu bitkiden dört bileşik izole edilmiştir: trans-N-*p*-kumaroiltiramin (1) (IC_{50}: 0.40 mM), 1,7-bis (4-hidroksifenil) heptan-3,5-diol (2) (IC_{50}: 0.38 mM), 6-hidroksi-2,4,7-trimetoksipentantrien (3) (IC_{50}: 0.77 mM), cis-N-*p*-kumaroiltiramin (4) (izomer olmasına rağmen inhibisyon gözlenmemiştir). Ayrıca bu çalışmayla 1, 2 ve 4 bileşiklerinin ilk kez izole edildiği ve *Dioscoreaceae* ailesinde olduğu belirlenmiştir.

Kim ve arkadaşları [153] diyabet hasta sayısını düşürmeyi amaçlayan çalışmalarında Kore'de yetişen bir soğan türünün (*Allium cepa* L.) ve fare bağırsağı kaynaklı α-glukozidaz'ın inhibisyon etkilerini *in vitro* ve *in vivo* araştırmışlardır. Soğanın etanol ekstraktındaki kersetin miktarını 100 gram soğan için 6.04 g olarak ve soğan etanol ekstraktının IC_{50} değeri 0.40 mg/ml iken pozitif kontrol kersetin çözeltisinin IC_{50} değerini 0.11 mg/ml olarak belirlemişlerdir. *İn vitro* çalışmalarında yarı yarıya inhibisyon gözlenirken *in vivo* çalışmalarında bu değerlerin birbirlerine yakın olduğu rapor edilmiştir.

Christhudas ve çalışma arkadaşları, Kuzey Pasifik Adaları, Asya ve tropikal bölgelerde yetişen *Hedyotis biflora* L. (Rubiaceae) bitkisini Güney Hindistan'dan toplamış ve α-glukozidaz inhibisyon çalışması için Dahlqvist'in metodu ile gerçekleştirmek üzere [154] hekzan, etil asetat ve metanol ekstraktları hazırlamışlardır. Diğer ekstraktlara göre metanol ekstraktının iyi etki gösterdiği, pozitif kontrol akarbozun IC_{50} değeri 260.32 ±1.23 μg/mL, metanol ekstraktının IC_{50} değerinin 480.20 ± 2.37 μg/mL olduğu belirlenmiştir [155].

Katekhaye ve grubu [156] tarafından yapılan *α*-amilaz ve *α*-glukozidaz inhibitör aktivite çalışmasında, bezelye familyasından çiçekli bir bitki olan *Pithecellobium dulce'*nin gövde ve yapraklarından 4 mg/mL konsantrasyondaki aseton ekstraktı için sırasıyla % 74.78 ve % 62,43; metanol ekstraktı için sırasıyla % 72.23 ve % 68.32 *α*-glukozidaz inhibisyon aktivitesi belirlenmiştir. Ayrıca bu çalışmada aseton ekstraktlarının maltazı sukrazdan daha iyi inhibe ettiği de belirlenmiştir.

Menichini ve arkadaşları tarafından İtalya'da bir çiftlikten satın alınan *Capsicum chinense* Jacq. cv Habanero meyvelerinin α-amilaz [157] ve α-glukozidaz [158] inhibisyon denemelerini sırasıyla Tundis vd. ve Kapustka vd.'nin metotlarını modifiye ederek gerçekleştirmişler, türün olgun biberlerinin α-amilaz için IC_{50} değerini 130.67 μg/ml, olgun olmayan biberlerde α-glukozidaz için en iyi IC_{50} değerini ise 150 μg/ml olarak bulmuşlardır [159].

Shahwar ve ark. ise yeni tripsin inhibitörleri belirlemek için yaptıkları çalışmada tarçından (*Cinnamomum zeylanicum)* sinnamik asit, gallik asit, bir sinek türünden (*Impatient bicolor*) ferülik asit izole etmişlerdir. Bileşiklerin tripsin için IC_{50} değerleri sırasıyla 0.35 ±0.02 mM, 0.96 ±0.005 mM, 1.22 ±0.006 mM olarak bulunmuştur [160].

Shahwar ve grubu portakal kabuğu (*Citrus sinensis*) ve yeşil çay (*Camellia sinensis*) yapraklarıyla tripsin inhibisyon aktivitesi çalışmıştır. Çalışmada portakal kabuğundan hesperetin, rutin ve hesperidin; yeşil çaydan kateşin molekülleri izole edilmiş ve bu maddelerin IC_{50} değerlerini aşağıda verildiği gibi belirlenmiştir: Rutin- IC_{50}: 16 ±2 μmol/L (% 75.4 ±0.9 tripsin inhibisyonu), kateşin- IC_{50}: 83 ±9 μmol/L (% 65.3 ±1.4);), hesperetin; IC_{50}: 104 ±12 μmol/L (% 62.1 ±1.3), hesperidin IC_{50}: 127 ±14 μmol/L (% 59.7 ±1.1) [161].

Stafford ve arkadaşları fare karaciğeri kaynaklı MAO enziminin inhibisyonunu belirlemek için yirmi farklı Güney Afrika bitkisiyle MAO inhibisyonu çalışmış ve fotometrik yöntem kullanmışlardır. Sedef otu (*Ruta graveolens*)'nun en iyi MAO inhibitör aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. Yaprak etil asetat yaprak ekstraktının IC_{50} değeri 5 ±1 μg/mL, petrol eteri ekstraktının 3 ±1 μg/mL olarak kaydedilmiştir [130].

Olsen ve ark. tarafından su nanesi (*Mentha aquatica L.*) bitkisinin 6 farklı polaritedeki ekstraktlarına ait monoamin oksidaz (MAO) denemesinde fotometrik yöntem kullanılmıştır. % 70 etanol ekstraktı en yüksek MAO inhibitör etkisi göstermiştir. S-narigenin etanol ekstraktından ince tabaka kromatografisi ile izole edilmiştir. Bileşenlerin yapısı ^{1}H, ^{13}C, ^{13}C-DEPT NMR ile belirlenmiştir. Naringenin'in MAO-A inhibisyonu için IC_{50} değeri 955 ±129 μM olarak bildirilmiştir [162].

Jager ve arkadaşları [163] Danimarka'ya ait 17 farklı bitki ekstraktı ile çalışma yapmış ve iki tanesinin MAO-A üzerinde önemli inhibitör etki oluşturduğunu bildirmiştir. İnhibisyon mekanizması için farklı bir yöntem kullanmış [163] ve her iki bitkinin çalışması da alkoloidler, fenoller, flavanoidler, kumarinler gibi MAO inhibisyonuna neden olabilecek biyoaktif bileşenleri yüksek miktarda içerdiğini göstermiştir.

Yıldız ve grubu [164] kestane balı, polen ve propolislerdeki monoamin oksidaz inhibisyon aktivitesi çalışmış ve IC_{50} hesaplamışlardır. Karadeniz bölgesindeki arıcılardan alınan bal, polen ve propolis'in farklı konsantrasyonlarda (5-0.00005 mg/mL) sulu çözeltileri hazırlanmıştır ve Holt vd. [165] ve Schmidt vd. [166]'nin MAO aktivite metodunda ufak değişiklikler yapılarak inhibisyon ölçümü yapılmıştır. 42 dakikalık periyotlarla 3 kez ölçüm alınarak elde edilen verilere göre IC_{50} değerleri hesaplanmış ve Tablo 2.7'de verilmiştir.

Tablo 2.7. Arı ürünlerinin sulu çözeltilerinin toplam monoamin oksidaz üzerine inhibitör etkileri [164]

Örnekler	**IC_{50} (mg/mL)**
Kestane balı	41.60 ±6.05
Polen	30.56 ±4.02
Propolis	24.95 ±3.75

Singh ve arkadaşları dünyada yaygın olarak kullanılan ve Hawaii, Porto Riko ve Amerika'nın güney kıyı kesiminde yetişen su bitkisinden (*Bacopa monniera*) izole edilmiş 6 molekül satın alarak MAO-A ve MAO-B inhibisyon aktivitesi çalışmışlar ve bunun için MAO-Glo^{TM} deney kiti (Promega Corporation, USA) kullanmışlardır. Bu bileşiklerden Bacopaside I'in MAO-A enzimini inhibe ettiği bildirilmiştir. IC_{50} (17.08± 1.64 μg/mL) ve K_i değerleri (42.5± 3.53 μg/mL) hesaplanmıştır [167].

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOTLAR

3.1. Materyaller

3.1.1. Kimyasal Maddeler

Kullanılan kimyasallar parantez içinde verilen firmalardan temin edilmiştir.

Domuz pankreatik lipazı (Sigma), *Sacchromyces cerevisia* kaynaklı *α*-glukozidaz (Sigma), pankreatik *α*-amilaz (Sigma), tripsin (Sigma), monoamin oksidaz (Sigma), *p*-nitrofenilpalmitat (Sigma), nişasta (Merck), 4-nitrofenil-*α*-D-glukopiranoz (Sigma), N-*α*-benzoil-D,L-arginin *p*-nitroanilit (Sigma), tiramin (Sigma), orlistat (Sigma), akarboz (Sigma), fenil metil sülfoksit (Sigma), klorgilin (Sigma),Triton X-100 (Sigma), dinitro salisilik asit (Sigma), Tris (Merck), disodyumfosfat (Riedel-de Haen), monosodyumdihidrojen fosfat (Merck), sodyum potasyum tartarat (Merck), peroksidaz (Sigma), 4-aminotipirin (Sigma), vanilik asit (Sigma), asetik asit (Merk), sodyum karbonat (Merck), sodyum klorür (Riedel-de Haen), sodyum hidroksit (Merck), etanol (Merck), asetonitril (Merck), metilen klorür (Merck), dimetilsülfoksit (Merck), metanol (Merck), hidroklorik asit (Tekkim).

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

- ❖ pH Metre (Jenco 6173)
- ❖ Blender (Waring)
- ❖ Orbital çalkalayıcı (Wiseshake Daihan SHO- 1D)
- ❖ Su Banyosu (Clifton)
- ❖ Çalkalamalı su banyosu (Wisebath Daihan)
- ❖ Santrifüj (Hettich Zentrifugen Rotina 38R)
- ❖ Derin dondurucu(-80 °C) (Wise Cyro Daihan)
- ❖ Buzdolabı (Arçelik)
- ❖ Ultrasonik su banyosu (Wiseclean Daihan)
- ❖ Terazi (Presica XB 220A)
- ❖ Spektrofotometre ve mikroplaka okuyucu (Thermo Scientific)
- ❖ Isıtıcı ve manyetik karıştırıcı (IKA RH basic-2)
- ❖ Mikro pipetler (Eppendorf)
- ❖ Vorteks (Whirlimixer)
- ❖ Rotaevaporatör (Buchi)
- ❖ Liyofilizatör (Wirtis Sp Scientific Sentry 2.0)

3.1.3. Hazırlanan Çözeltiler

Lipaz tayini için gerekli çözeltiler:

- ❖ Potasyum fosfat tamponu (pH 6.0)
- ❖ 0.02 M Tris-HCl (pH 8.0)
- ❖ 0.1 M KH_2PO_4
- ❖ 0.1 M K_2HPO_4
- ❖ 1 mg/mL Domuz pankreatik lipaz çözeltisi (Tris-HCl tamponunda)
- ❖ 250 mM *p*-nitropalmitat çözeltisi (metilen klorürde)
- ❖ 150 mM NaCl
- ❖ % 0.001'lik Triton X-100
- ❖ 50, 100, 250, 500, 750, 1000 µg/mL konsantrasyonlarda bitki ekstraktları
- ❖ 50, 100, 250, 500, 750, 1000 µg/mL konsantrasyonlarda orlistat çözeltileri

α-Glukozidaz tayini için gerekli çözeltiler:

- 50 mM sodyum asetat tamponu (pH 5.2)
- 0.1 M fosfat tamponu (pH 6.8)
- 20 µg/mL α- glukozidaz çözeltisi (*Sacchromyches cerevisia* kaynaklı)
- 5 mM 4-nitrofenil-α-D-glukopiranoz çözeltisi
- 0.1 M Na_2CO_3 çözeltisi
- 50, 100, 250, 500, 750, 1000 µg/mL ve 5 mg/mL, 10 mg/mL konsantrasyonlarda bitki ekstraktları (DMSO'da)
- 50, 100, 250, 500, 750, 1000 µg/mL ve 5 mg/mL, 10 mg/mL konsantrasyonlarda akarboz çözeltileri

α-Amilaz tayini için gerekli çözeltiler:

- 0.02 M sodyum fosfat tamponu (pH 6.9)
- 1U/mL'dan amilaz çözeltisi (w/v) (domuz pankreatik amilaz)
- %1'lik nişasta çözeltisi
- 10 mg/mL dinitro salisilik asit çözeltisi
- 2 N sodyum hidroksit çözeltisi
- 50, 100, 200, 250, 500, 1000 µg/mL ve 5 mg/mL, 10 mg/mL konsantrasyonlarında bitki ekstraktları
- 50, 100, 200, 250, 500, 1000 µg/mL ve 5 mg/mL, 10 mg/mL konsantrasyonlarında akarboz çözeltileri

Tripsin tayini için gerekli çözeltiler:

- 0.1 M Tris- HCl tamponu (pH 7.5)
- 0.001N HCl çözeltisi
- 0.25 mg/mL tripsin çözeltisi
- 20 mg/mL N-α-benzoil-*D*-*L*-arginin *p*-nitroanilit çözeltisi (DMSO'da)
- 50, 100, 250, 500, 750, 1000 µg/mL konsantrasyonlarda bitki ekstraktları
- 50, 100, 250, 500, 750, 1000 µg/mL konsantrasyonlarda fenilmetilsülfoksit çözeltileri

Monoamin oksidaz-A tayini için gerekli çözeltiler:

- 0.2 M potasyum fosfat tamponu (pH 7.6)
- 0.1 M KH_2PO_4
- 0.1 M K_2HPO_4
- 1 mg/mL mono amino oksidaz çözeltisi (DMSO'da)
- 2.5 mM tiramin çözeltisi
- 1mM vanilik asit
- 0.5 mM 4-amino tipirin
- 4 U/mL peroksidaz (horseradish)
- 100, 250, 500, 750, 1000 µg/mL konsantrasyonlarında bitki ekstraktları
- 100, 250, 500, 750, 1000 µg/mL konsantrasyonlarında klorgilin çözeltileri

3.2. Metotlar

3.2.1. Tez Kapsamında Seçilen *Brassicaceae* Sebzelerinden Etanol, Metanol ve Su Ekstraktlarının Hazırlanması

Brassicaceae ailesi üyelerinden lahana, karnabahar, brokoli, brüksel lahanası ve alabaşlar Edirne'de yerel bir pazardan satın alındı ve taze olarak kullanıldı. Lahana, karnabahar, brokoli, brüksel lahanası ve alabaşlar destile su ile yıkanıp kağıt peçete ile kurulandıktan sonra çelik bıçakla küçük parçalar haline getirildi. 1:10 (w/v) oranında etanol ile karıştırılarak Waring blender'da 30 saniye yavaş, 30 saniye hızlı seviyede olmak üzere 1 dakika homojenize edildi. Elde edilen homojenat erlenlere alındı ve su banyosu olan çalkalayıcıda 120 rpm'de, 25°C'de, 4 saat süreyle ekstraksiyon gerçekleştirildi. Süzgeç kağıdı ile süzüldükten sonra süzüntü "ilk ekstrakt" olarak başka bir erlene alınarak, kalan bitki örneklerinin üzerine ise ilk ekstraksiyonda kullanılan miktarda taze etanol çözeltisi eklendi [103]. Su banyolu çalkalayıcıda 25°C'de tüm gece boyunca 120 rpm'de çalkalandı. Süzgeç kağıdından süzüldü ve süzüntü ilk ekstrakt ile birleştirildi ve rotaevaporatörde çözücüleri uçuruldu. Bitki ekstraktları petri kaplarına alınarak kullanılıncaya kadar -20°C'de saklandı.

Brassicaceae ailesi üyelerinden lahana, karnabahar, brokoli, brüksel lahanası ve alabaşların metanol ekstraklarının hazırlanmasında da yukarıda belirtilen prosedür aynen uygulandı ve metanol evaporatörde uzaklaştırıldıktan sonra elde edilen ekstraktlar kullanılıncaya kadar -20°C'de saklandı.

Bitki örneklerinden su ekstraktlarının hazırlanması, infüzyon yöntemi uygulanarak farklı bir prosedürle gerçekleştirildi [68]. Yıkanıp küçük parçalar haline getirilmiş taze lahana, karnabahar, brokoli, brüksel lahanası ve alabaşların üzerine 1:10 (w/v) oranında kaynatılmış destile su koyuldu ve yarım saat kaynamalarına izin verilmeksizin ısıtıcı üzerinde demlenmesi sağlandı. Soğutulan karışımlar -20°C'de dondurularak Trakya Üniversitesi Teknoloji, Araştırma, Geliştirme ve Uygulama Merkezi'nde liyofilize edildi. Liyofilize edilmiş bitki ekstraktları kullanılıncaya kadar -20°C'de saklandı.

3.2.2. *Brassicaceae* Sebzelerinin Metanol, Etanol ve Su Ekstraktlarının Lipaz İnhibisyon Aktivitelerinin Belirlenmesi

Taze lahana, karnabahar, brokoli, brüksel lahanası ve alabaşlardan elde edilen ekstraktların lipaz inhibisyonu Souza ve arkadaşlarının metodu modifiye edilerek çalışıldı [147]. Bu inhibisyon çalışmasında; enzim olarak domuz pankreatik lipazı (DPL), substrat olarak *p*-nitrofenilpalmitat (PNP) kullanıldı. Deneylerde pozitif kontrol olarak orlistat seçildi.

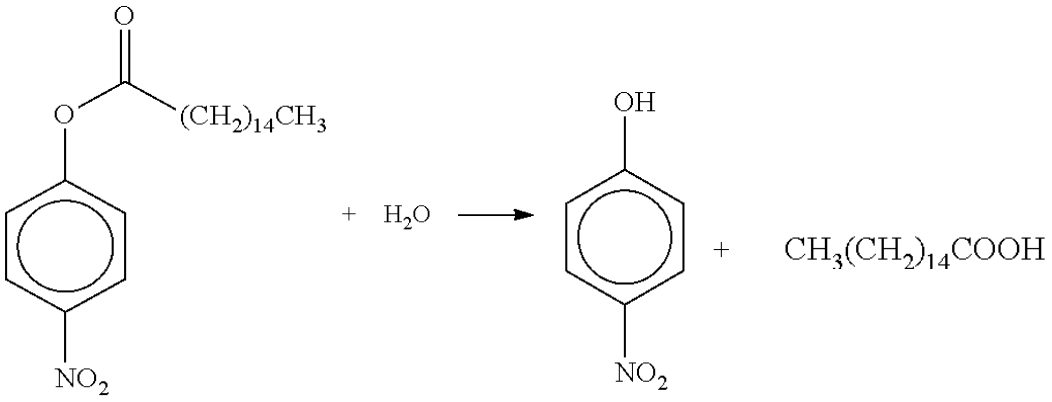
Domuz pankreatik lipazı Tris-HCl tamponunda (pH 8.0) 10 mg/mL konsantrasyonda hazırlandı. Hazırlanan enzim çözeltisi santrifüjlenerek çalışmalarda süpernatant kısmı kullanıldı. Substrat çözeltisi PNP'ye ilaveten NaCl ve Triton X-100 içerecek şekilde hazırlandı. Bu amaçla; 250 mM PNP 100 mL hacimde metilenklorürde hazırlandı. Toplam çözelti hacme 150 mM NaCl eklenerek 0.02 M Tris-HCl (pH 8.0) tamponunun100 mL'si ile karıştırıldı, üzerine 10 µL % 0.001'lik Triton X-100 eklendi.

Mikroplakadaki kuyucuklara artan konsantrasyonlarda 50, 100, 250, 500, 750 ve 1000 µg/mL olacak şekilde 20'şer µL lahana, karnabahar, brokoli, brüksel lahanası ve alabaş metanol, etanol ve su ekstraktları koyuldu. Kör ve kontrol çözeltilerinin

bulunduğu kuyucuklar hariç üzerlerine 20 µL lipaz enzimi (DPL çözeltisi) eklenerek inhibisyonun gerçekleşmesi için 15 dakika bekletildi. Sürenin sonunda mikroplaka kuyucuklarına çok kanallı dağıtıcı mikro pipet yardımıyla 200 µL substrat çözeltisi ilave edildikten sonra lipaz aktivitesinin belirlenmesi için 15 dakika bekletildi. Kör kuyucukları 200 µL substrat ve 20 µL tampon, kontrol kuyucukları ise 200 µL tampon ve 20 µL enzim olacak şekilde hazırlandı.

Pozitif kontrol için orlistat kullanıldı. 1 mg/mL hazırlanan orlistat çözeltisi eppendorf tüplerde 50, 100, 250, 500, 750, 1000 µg/mL'ye etanol ile seyreltildi. İnhibitör yerine orlistat koyularak yukarıda belirtilen lipaz inhibisyon denemesi orlistat çözeltileri ile de gerçekleştirildi.

Lipaz enzimi ile substrat *p*-nitrofenil palmitat arasındaki kimyasal reaksiyon aşağıdaki Şekil 3.1'de görüldüğü gibidir.



p-nitropalmitat *p*-nitrofenol Palmitik asit

Şekil 3.1. Lipaz enziminin *p*-nitro palmitat substratı ile kimyasal reaksiyonu [168]

Absorbans ölçümleri 405 nm'de 37°C'de yapıldı. Tüm örnekler için okunan absorbans değerlerinden ilgili körlerin absorbans değerleri çıkarıldı. *Brassicaceae* sebze ekstraktlarının lipaz inhibisyonları kontrol örneğin enzim aktivitesi % 100 kabul edilerek aşağıdaki formülle hesaplandı [169].

$$\%\ İnhibisyon = \left[100 - \left(\frac{Abs\ ekstrakt}{Abs\ enzim}\right)\right] * 100$$

$Abs_{ekstrakt}$: İnhibitör (ekstrakt çözeltisi) koyulmuş kuyucukların 15 dk sonunda 405 nm'de ölçülen absorbası

Abs_{enzim}: İnhibitör (ekstrakt çözeltisi) ilave edilmeyen, % 100 aktif kabul edilen kontrol örneğin 405 nm'deki absorbansı

Bütün bitki ekstraktları ve orlistat çözeltileri için lipaz inihibisyon denemeleri en az üçlü tekrar şeklinde gerçekleştirildi.

% İnhibisyon-Konsantrasyon arasında oluşturulan grafikler yardımıyla IC_{50} değerleri belirlendi. IC_{50}; maksimum inhibitör konsantrasyonunun yarısı olup, spesifik biyolojik veya biyokimyasal bir fonksiyonu inhibe etmede kullanılan inhibitörün etkinliğinin ölçüsüdür. Birimi, konsantrasyon birimi cinsindendir. IC_{50} değeri ne kadar küçükse o maddenin inhibitör etkinliği o kadar yüksek kabul edilir [149].

3.2.3. *Brassicaceae* Sebzelerinin Metanol, Etanol ve Su Ekstraktlarının α-Amilaz Enzimi İnhibisyonunun Belirlenmesi

Lahana, karnabahar, brokoli, brüksel lahanası ve alabaşlardan elde edilen metanol, etanol ve su ekstraktlarının α-amilaz enzimi inhibisyon aktivitelerini belirlemek amacıyla Puteri ve arkadaşlarının metodu (üzerinde küçük değişiklikler yapılarak) uygulandı [138].

1 U/mL aktivitesine sahip amilaz çözeltisi 0.02 M sodyum fosfat tamponunda (pH 6.9) hazırlandı. Substrat olarak bu tamponda seyreltilmiş % 1'lik nişasta çözeltisi kullanıldı.

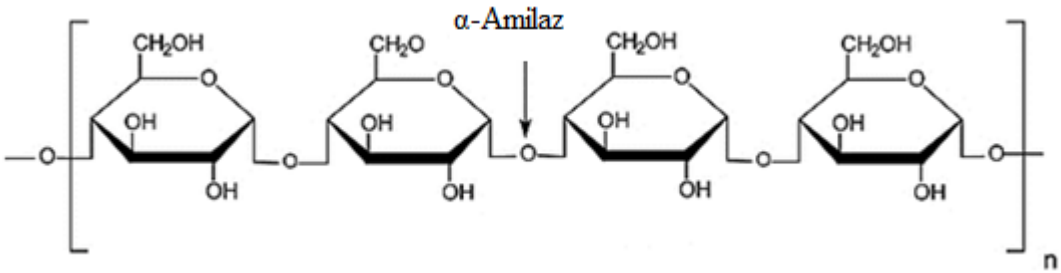
Amilaz hidroliz aktivitesiyle açığa çıkan indirgen şeker moleküllerini belirleyecek olan DNS (dinitro salisilik asit) çözeltisi hazırlandı. 1 g DNS 50 mL destile

suda çözüldü. 30 g sodyum potasyum tartarat ve 20 mL 2 N sodyum hidroksit eklendi. Su ile 100 mL'ye tamamlanarak homojen hale getirildi.

Lahana, karnabahar, brokoli, brüksel lahanası ve alabaşların tüm ekstraktları 10 mg/mL konsantrasyonunda hazırlandı ve 50, 100, 200, 250, 500, 1000 µg/mL ve 5 mg/mL derişimlerine su ile seyreltildi.

Pozitif kontrol olarak akarboz kullanıldı. Akarboz çözeltileri ekstrakt konsantrasyonları ile benzer olacak 50, 100, 200, 250, 500, 1000 µg/mL ve 5 mg/mL, 10 mg/mL konsantrasyonlarında hazırlandı.

Amilaz inhibisyon denemeleri küçük cam tüplerde gerçekleştirildi. Tüm tüplere artan konsantrasyonlarda 50'şer µL bitki ekstraktları koyuldu. Kör ve kontrol çözeltilerinin bulunduğu tüpler hariç, tüm tüplerdeki çözeltilerin üzerine 50 µL amilaz enzimi koyularak 37°C'de 15 dakika inkübe edildi. Sürenin sonunda 50 µL substrat ilave edilerek 25°C'de amilaz aktivitesi için 10 dakika daha inkübe edildi. Toplam 20 dakika bekleme süresinin sonunda 100 µL DNS çözeltisi eklenerek 5 dakika boyunca sıcak su banyosunda kaynatıldı. Tüpler soğutulup oda sıcaklığında getirilerek üzerlerine 1'er mL destile su eklendi. Son olarak bu karışımlardan 200 µL'lik hacimler pipet yardımıyla çekilerek mikro plaka kuyucuklarına aktarıldı. Mikroplaka okuyucuda 540 nm'de absorbansları ölçüldü. Endo-enzim olan α-amilaz nişasta substratını *α*-(1,4) bağlarını hidrolizleyerek aktivitesini gerçekleştirir ve reaksiyonu Şekil 3.2'de görülmektedir.



Şekil 3.2. *α*-amilaz enziminin substratı nişasta ile etkileşimi [170]

Her numune için kontrol tüpleri (inhibitör yerine tampon) ve numune körleri (enzim yerine tampon) oluşturuldu. Tüm örnekler için okunan absorbans değerlerinden ilgili körlerin absorbans değerleri çıkarılarak bitki ekstraktlarının inhibisyon aktiviteleri aşağıdaki formülle hesaplandı.

$$\%\ İnhibisyon = \left[100 - \left(\frac{Abs\ ekstrakt}{Abs\ enzim}\right)\right] * 100$$

$Abs_{ekstrakt}$: İnhibitör (ekstrakt çözeltisi) koyulmuş kuyucukların 15 dk sonunda 405 nm'de ölçülen absorbası

Abs_{enzim}: İnhibitör (ekstrakt çözeltisi) ilave edilmeyen, % 100 aktif kabul edilen kontrol örneğin 405 nm'deki absorbansı

Tüm bitki ekstraktları ve akarboz çözeltileri için amilaz inihibisyon denemeleri en az üçlü tekrar şeklinde gerçekleştirildi. % İnhibisyon değerleri belirlendi.

3.2.4. *Brassicaceae* Sebzelerinin Metanol, Etanol ve Su Ekstraktlarının *α*-Glukozidaz İnhibisyonun Belirlenmesi

Lahana, karnabahar, brokoli, brüksel lahanası ve alabaşlardan elde edilen metanol, etanol ve su ekstraktlarının α-glukozidaz enzimi inhibisyonu için Kwon ve arkadaşlarının modifiye edilmiş metodu uygulandı [171].

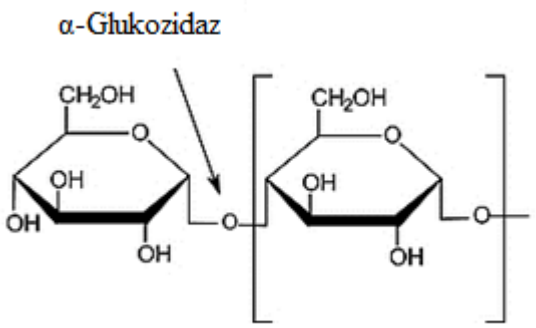
Aktivitelerini belirlemek amacıyla 1 mg/mL konsantrasyonunda enzim çözeltisi hazırlandı. İnhibisyon denemeleri esnasında kullanılmak üzere 0.1 M fosfat tamponu (pH 6.8) ile 20 µg/mL oranında seyreltilen α-glukozidaz çözeltisi de hazırlandı.

Substrat olarak, 0.1 M fosfat tamponunda (pH 6.8) 5 mM olarak hazırlanan 4-nitrofenil-*α*-D-glukopiranoz çözeltisi kullanıldı.

Bitki ekstraktları 10 mg/mL konsantrasyonunda olacak biçimde DMSO (dimetilsülfoksit)'da çözüldü. 50, 100, 250, 500, 750, 1000 µg/mL ve 5 mg/mL konsantrasyonlarında su ile seyreltilerek hazırlandı.

Mikroplakadaki tüm kuyucuklara artan konsantrasyonda 20 µL bitki ekstraktları koyuldu. Kör ve kontrol çözeltilerinin bulunduğu kuyucuklar hariç üzerlerine 20 µL α-glukozidaz enzimi koyularak 37°C de 10 dakika inkübe edildi. Sürenin sonunda 100 µL substrat ile muamele edildi ve enzim aktivitesi için 10 dakika inkübe edildi. Bu sürenin sonunda tüm kuyucuklara 0.1 M Na_2CO_3 çözeltisinden 80 µL ilave edilerek reaksiyon sonlandırıldı. Kontrol çözeltileri de hazırlandı.

Pozitif kontrol için akarboz kullanıldı. 10 mg/mL hazırlanan akarboz çözeltisi ependorf tüplerde 50, 100, 250, 500, 750, 1000 µg/mL ve 5 mg/mL konsantrasyonlarına su ile seyreltildi. Bitki ekstraktları yerine bu akarboz çözeltileri koyularak *α*- glukozidaz inhibisyon denemeleri gerçekleştirildi. Absorbans ölçümü 405 nm'de yapıldı. Bölüm 3.2.2'de bahsedilen formülle % inhibisyon değerleri hesaplandı. *α*-glukozidaz enzimi enzimatik aktivitesi sırasında substrat molekülünün ucundaki bir glukoz molekülünün *α*-(1,4) bağını hidroliz ederek serbest kalmasını sağlar, reaksiyonu Şekil 3.3'de görüldüğü gibidir.



Şekil 3.3. *α*-glukozidaz enziminin substratı nişasta ile etkileşimi [172]

Bütün bitki ekstraktları ve akarboz çözeltileri için glukozidaz inihibisyon denemeleri en az üçlü tekrar şeklinde gerçekleştirildi. % İnhibisyon ve IC_{50} değerleri belirlendi.

3.2.5. *Brassicaceae* Sebzelerinin Metanol, Etanol ve Su Ekstraktlarının Tripsin Enzimi İnhibisyonunun Belirlenmesi

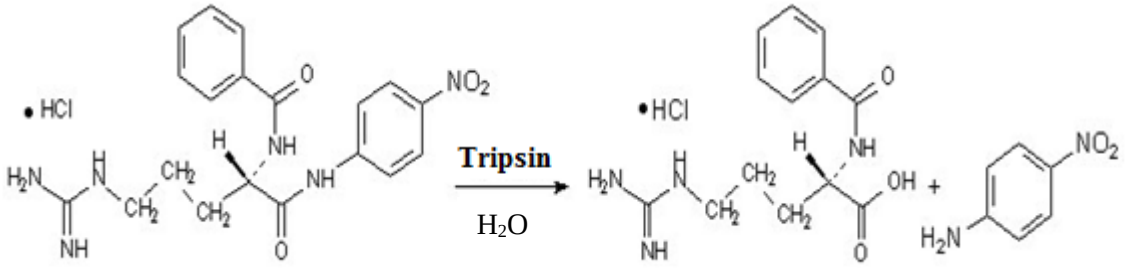
Lahana, karnabahar, brokoli, brüksel lahanası ve alabaş ekstraktlarının tripsin enzimi üzerine inhibisyon etkilerinin belirlemesinde Shahwar ve arkadaşlarının metodu modifiye edilerek uygulandı [160].

Enzim 0.001 N HCl'de çözülerek 0.25 mg/mL konsantrasyonda kullanıldı. Substrat olarak BApNA (Nα-benzoil *p*-nitroanilit) kullanıldı, 20 mg/mL konsantrasyonda DMSO'da hazırlandı. Bitki ekstraktları 50, 100, 250, 500, 750 ve 1000 µg/mL konsantrasyonlarında hazırlandı.

Mikroplakadaki tüm kuyucuklara artan konsantrasyonlarda 30'ar µL bitki ekstraktları koyuldu. Kontrol çözeltilerinin bulunduğu kuyucuklar hariç üzerlerine 5 µL tripsin enzimi ve 170 µL 0.1 M Tris- HCl tamponu (pH 7.5) koyularak 37°C'de 15 dakika bekletildi. Sürenin sonunda 20 µL substrat ile muamele edildi. Mikroplaka okuyucuda 405 nm'de absorbans ölçümleri yapıldı.

Kontrol kuyucuğu, enzim ve substrat körü hazırlandı.

Pozitif kontrol olarak ise PMSF kullanıldı. 50, 100, 250, 500, 750, 1000 µg/mL konsantrasyonlarında etanolde hazırlanan PMSF çözeltileri bitki ekstraktlarının yerine kuyucuklara koyularak yukarıda belirtildiği gibi tripsin inhibisyon aktivitelerini belirlemek üzere analiz edildi. Tripsin enziminin yapay substratı Nα-benzoil *p*-nitroanilit ile enzim reaksiyonu Şekil 3.4'te gösterildiği gibidir.



Nα- benzoil-L-arginin *p*-nitro anilit Nα- benzoil-L-arginin *p*-nitro anilin

Şekil 3.4. Tripsin enziminin substratı Nα-benzoil-L-arginin *p*-nitroanilit ile etkileşimi [173]

Tüm bitki ekstraktları ve akarboz çözeltileri için tripsin inihibisyon denemeleri en az üçlü tekrar şeklinde gerçekleştirildi. Bölüm 3.2.2'de bahsedilen formülle % inhibisyon değerleri hesaplandı ve grafik yardımıyla IC_{50} değerleri belirlendi.

3.2.6. *Brassicaceae* Sebzelerinin Metanol, Etanol ve Su Ekstraktlarının Monoamin Oksidaz Enzimi İnhibisyonunun Belirlenmesi

Taze lahana, karnabahar, brokoli, brüksel lahanası ve alabaşlardan elde edilen ekstraktların lipaz inhibisyonu Jager ve arkadaşlarının metodu üzerinde değişiklikler yapılarak uygulandı [130]. Bu inhibisyon çalışmasında; enzim olarak monoamin oksidaz-A (MAO-A), substrat olarak tiramin kullanıldı. Deneylerde pozitif kontrol olarak klorgilin seçildi.

MAO-A enzim çözeltisi ve pozitif kontrol olarak kullanılacak olan klorgilin, derişimleri 1 mg/mL olacak şekilde DMSO'da hazırlandı. Substrat olan tiramin ise, 0.2 M potasyum fosfat tamponuyla (pH 7.6) 2.5 mM konsantrasyonunda hazırlandı. Bu çalışmada gerekli olan diğer çözelti kromojenik çözeltidir. Bu çözeltinin içeriği 1 mM vanilik asit, 0.5 mM 4-amino tipirin, potasyum fosfat tamponunda hazırlanmış 4 U/mL peroksidaz'dan oluşmaktadır.

Lahana, karnabahar, brokoli, brüksel lahanası ve alabaş bitkilerinin metanol, etanol ve su ekstraktları 1 mg/mL konsantrasyonunda DMSO'da hazırlandı. 100, 250,

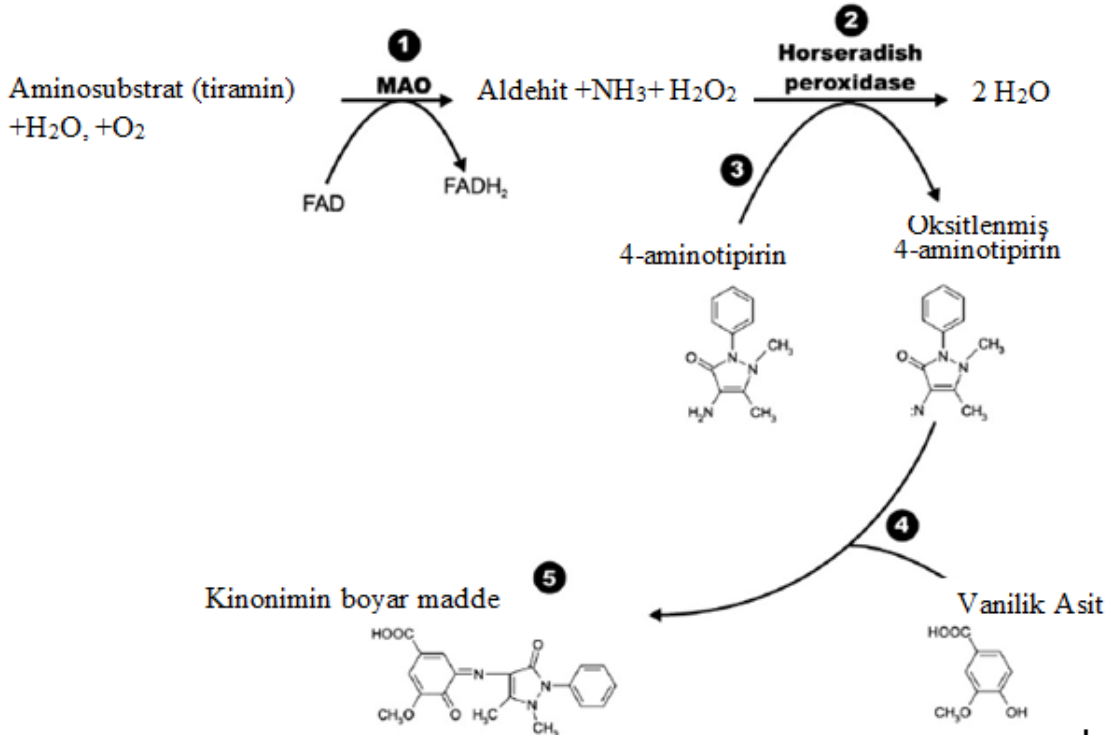
500, 750 ve 1000 µg/mL konsantrasyonlarına ise potasyum fosfat tamponuyla seyreltildi.

Pozitif kontrol için klorgilin kullanıldı. 100, 250, 500, 750, 1000 µg/mL konsantrasyonlarında hazırlandı. İnhibitör yerine klorgilin koyularak yukarıda belirtilen MAO-A inhibisyon denemesi bu klorgilin çözeltileri ile de gerçekleştirildi.

İnhibitör olarak mikroplakada kuyucuklarına artan konsantrasyonlarda 50, 100, 250, 500, 750 ve 1000 µg/mL olacak şekilde 20'şer µL lahana, karnabahar, brokoli, brüksel lahanası ve alabaş metanol, etanol ve su ekstraktları koyuldu. Kör ve kontrol çözeltilerinin bulunduğu kuyucuklar hariç üzerlerine 20 µL MAO-A enzim çözeltisi koyularak inhibisyonun gerçekleşmesi için 10 dakika inkübe edildi. Sürenin sonunda mikroplaka kuyucuklarına çok kanallı dağıtıcı mikro pipet yardımıyla 60 µL substrat ve 20 µL kromojenik çözelti ilave edildi. Kör kuyucukları 40 µL tampon, kontrol kuyucukları ise 20 µL tampon ve 20 µL enzim olacak şekilde hazırlandı. Enzim substrat reaksiyonu Şekil 3.5'de görüldüğü gibidir.

Absorbans ölçümleri 37°C'de, 40 dakika boyunca 5 dakika aralıklarla ölçüm alınarak 490 nm'de yapıldı. Tüm örnekler için okunan absorbans değerlerinden ilgili körlerin absorbans değerleri çıkarıldı. Tez kapsamında seçilen *Brassicaceae* sebze ekstraktlarının MAO-A inhibisyonları kontrol örneğin enzim aktivitesi % 100 kabul edilerek ekstraktların inhibitör etkileri Bölüm 3.2.2'de verilen formülle hesaplandı.

Bütün bitki ekstraktları ve klorgilin çözeltileri için monoamin oksidaz inihibisyon denemeleri en az üçlü tekrar şeklinde gerçekleştirildi. % İnhibisyon ve IC_{50} değerleri belirlendi.



Şekil 3.5. MAO-A enziminin substratı tiramin ile reaksiyonu [130]

3.2.7. İstatistiksel Analiz

Tüm denemeler üçlü örneklerle ve en az üçer kez tekrarlanarak yapılmıştır. Tüm sonuçların aritmetik ortalamaları ve standart sapma değerleri (± SD) Microsoft Office, Excel programı kullanılarak belirlenmiştir.

BÖLÜM 4

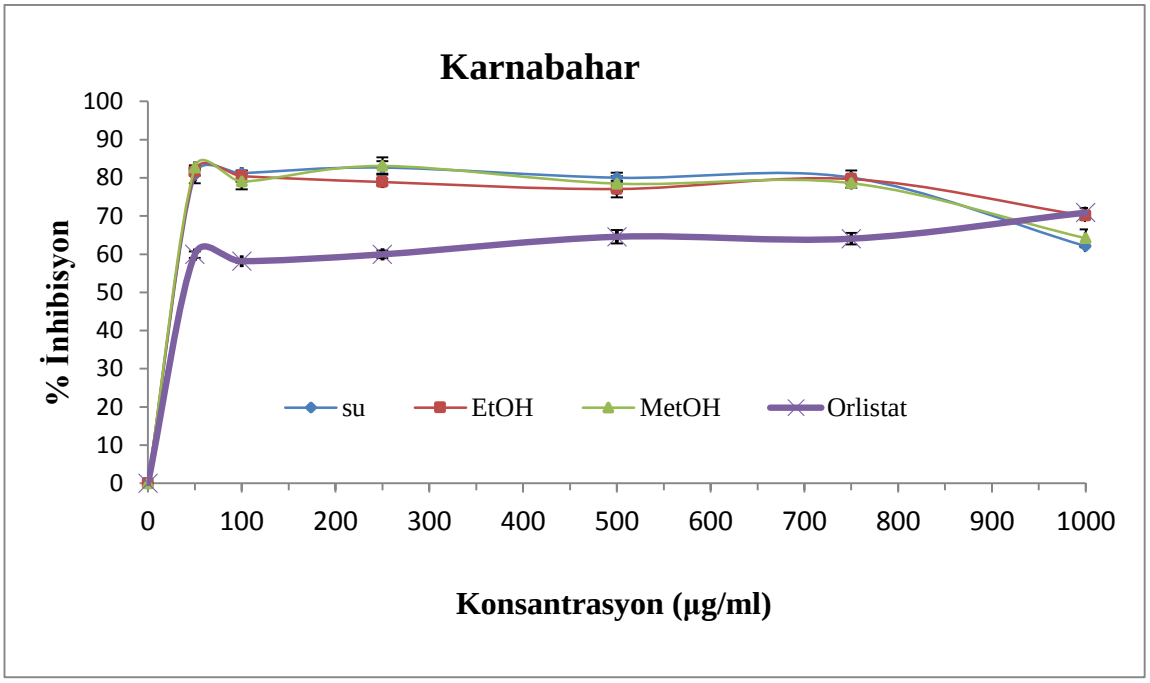
DENEY SONUÇLARI VE BULGULAR

4.1. Elde Edilen Ekstraktların Lipaz İnhibisyonu

Edirne Karaağaç bölgesinden temin edilen *Brassicaceae* sebzelerinin (brüksel lahanası, brokoli, karnabahar, alabaş ve lahana) metanol, etanol ve su ekstraktlarının hazırlanması Bölüm 3.2.1'de belirtildiği gibi gerçekleştirildi. Elde edilen ekstraktlar inhibitör olarak kullanılmak üzere önceden belirlenmiş farklı konsantrasyonlarda (50, 100, 250, 500, 750, 1000, μg/mL; glukozidaz ve amilaz için ayrıca 5 ve 10 mg/mL) hazırlandı.

Lipaz inhibisyonu Bölüm 3.2.1'de belirtildiği gibi Souza ve arkadaşlarının metodu modifiye edilerek optimize edilen koşullarda çalışıldı. Pozitif kontrol olarak Orlistat kullanıldı. Belirlenen absorbans değerlerinden her bir ekstraktın % İnhibisyon aktiviteleri hesaplandı. % İnhibisyon-Konsantrasyon (μg/mL) grafikleri oluşturuldu (Şekil 4.1-4.5). Grafikler yardımıyla IC_{50} değerleri belirlendi (Tablo 4.1-4.5).

Karnabahar sebzesinin su, etanol ve metanol ekstraktlarının pankreatik lipaz inhibisyon aktivitelerinin 50 μg/mL konsantrasyonda bile oldukça yüksek (yaklaşık % 82) ve birbirine yakın değerlerde olduğu görüldü. Ekstraktların lipaz inhibisyon aktivitelerinin pozitif kontrol orlistatın inhibisyon aktivitesinden (% 60) 50 μg/mL konsantrasyonda bile daha yüksek olduğu gözlendi.



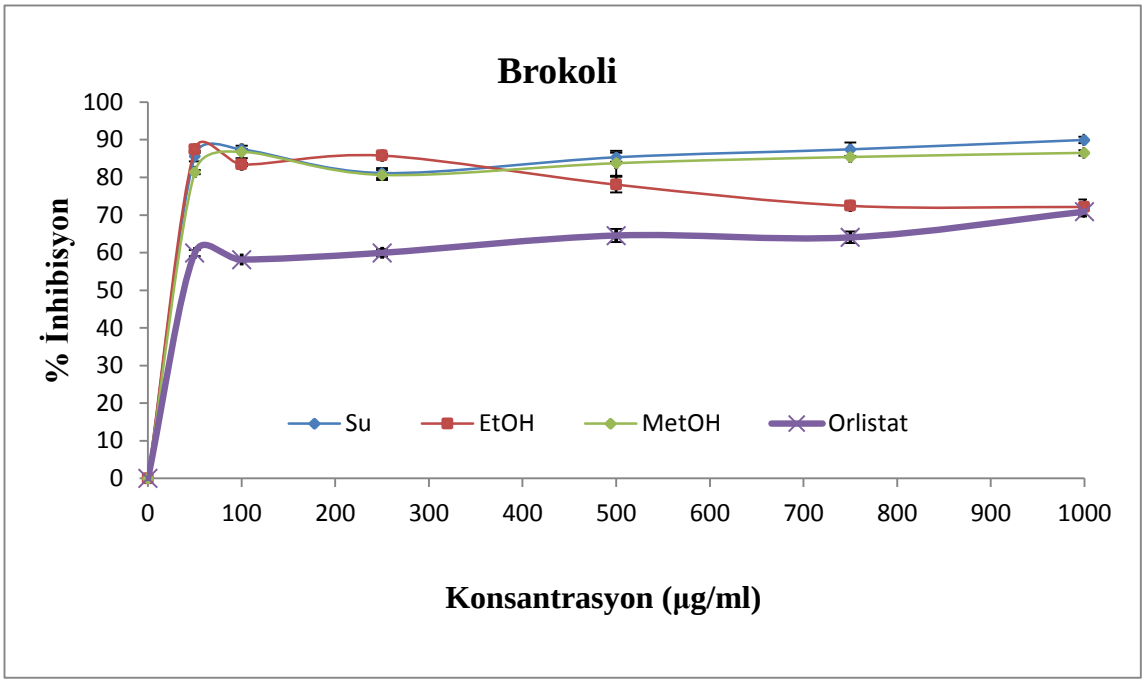
Şekil 4.1. Farklı konsantrasyonlardaki Karnabahar'ın su, etanol, metanol ekstraktları ve Orlistatın DPL üzerine % inhibisyon aktiviteleri

Tablo 4.1. Karnabahar su, etanol, metanol ekstraktları ve pozitif kontrol Orlistatın DPL enzimi için IC_{50} değerleri

İnhibitör	**IC_{50} (µg/mL)**
Karnabahar Metanol ekstraktı	26.9
Karnabahar Etanol ekstraktı	27.2
Karnabahar Su ekstraktı	27.6
Orlistat	38.2

Karnabahar su, etanol ve metanol ekstraktlarının pankreatik lipaz inhibisyon aktivite çalışmasından hesaplanan IC_{50} değerleri Tablo 4.1'de verildi. Tablodan görüldüğü gibi karnabahar ekstraktlarının tümünün IC_{50} değerleri karşılaştırıldığında pozitif kontrol orlistatınkinden daha iyi olduğu görüldü. Ekstraktlar içerisinde en iyisinin 26.9 µg/mL IC_{50} değeri ile metanol ekstraktı olduğu belirlendi.

Bölüm 3.2.2'deki formül yardımıyla Brokoli sebzesinin % inhibisyon değerleri hesaplandı. Bu değerlerden faydalanarak İnhibitör konsantrasyonu ve % İnhibisyon arasında grafik çizildi (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Farklı konsantrasyonlardaki Brokoli'nin su, etanol, metanol ekstraktları ve Orlistatın DPL üzerine % inhibisyon aktiviteleri

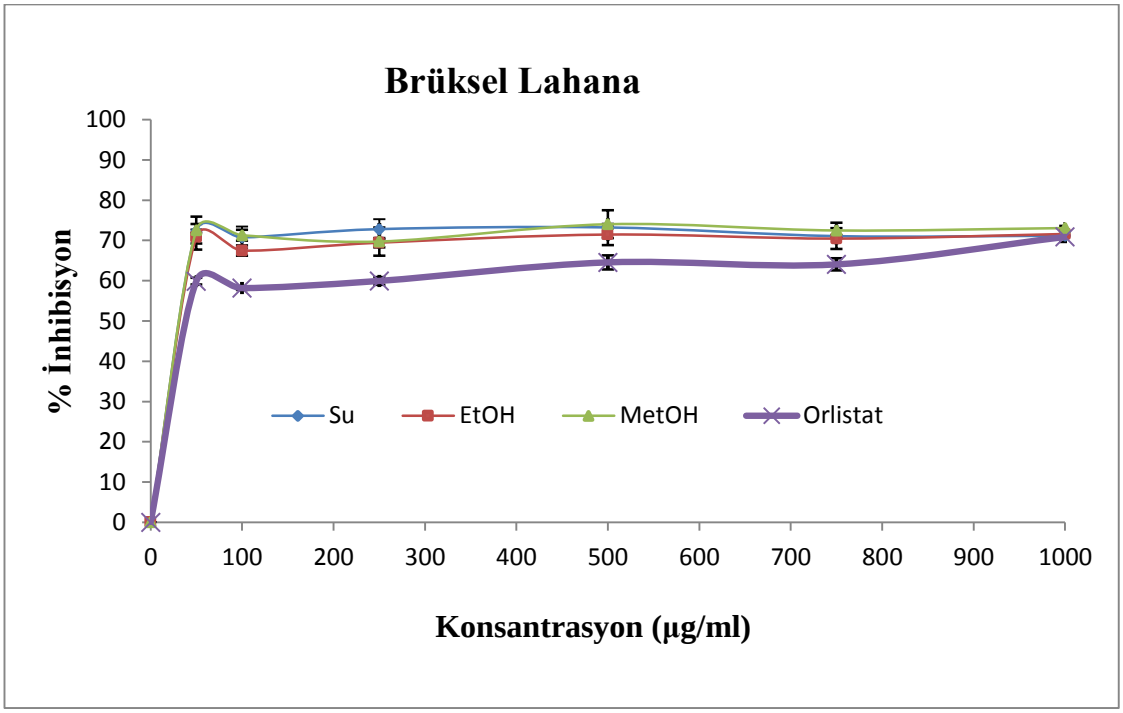
Tablo 4.2. Brokoli su, etanol, metanol ekstraktları ve pozitif kontrol Orlistatın DPL enzimi için IC_{50} değerleri

İnhibitör	**IC_{50} (µg/mL)**
Brokoli Metanol ekstraktı	27.5
Brokoli Etanol ekstraktı	25.2
Brokoli Su ekstraktı	26.1
Orlistat	38.2

Sonuçlara göre elde edilen değerler incelendiğinde 250-1000 µg/mL aralığında konsantrasyon artışına bağlı olarak inhibisyon oranının değişmediği görüldü. Kıyaslandığında en yüksek lipaz inhibisyon aktivitesinin Brokoli sebzesinin etanol

ekstraktında olduğu tespit edildi. Brokoli su, etanol ve metanol ekstraktlarının pankreatik lipaz inhibisyon aktivite çalışmasından hesaplanan IC_{50} değerleri Tablo 4.2'de verildi.

Bölüm 3.2.2'deki formül yardımıyla Brüksel Lahana sebzesinin % lipaz inhibisyon aktivite değerleri hesaplandı. Bu değerlerden faydalanarak konsantrasyon- % inhibisyon grafiği çizildi (Şekil 4.3).



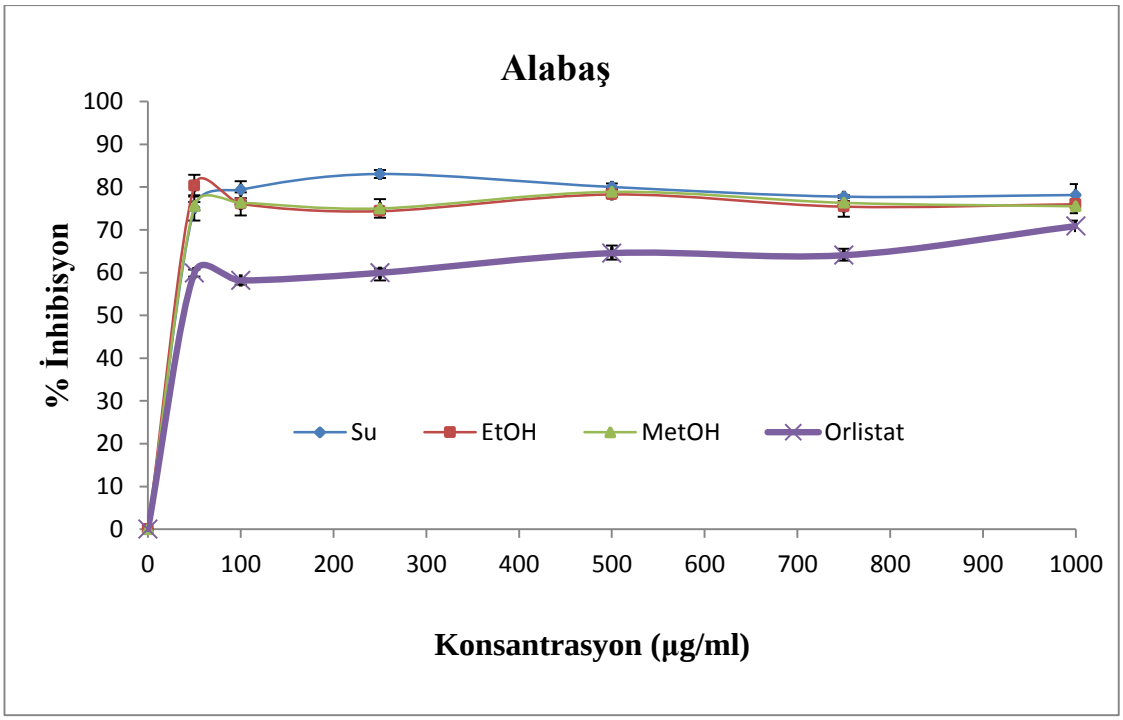
Şekil 4.3. Farklı konsantrasyonlardaki Brüksel Lahanası'nın su, etanol, metanol ekstraktları ve Orlistatın DPL üzerine % inhibisyon aktiviteleri

Sonuçlarda konsantrasyona bağlı bir etki gözlenmedi. Brüksel Lahanası'nın su, etanol ve metanol ekstraktlarının inhibisyon değerlerinin birbirine yakın olduğu görüldü. Belirlenen IC_{50} değerleri Tablo 4.3'de verildi. Grafikten (Şekil 4.3) ve tablodan (Tablo 4.3) görüldüğü gibi brüksel lahanası, pozitif kontrol orlistattan daha güçlü enzim inhibisyonu göstermiştir.

Tablo 4.3. Brüksel lahana su, etanol, metanol ekstraktları ve pozitif kontrol Orlistatın DPL enzimi için IC_{50} değerleri

İnhibitör	IC_{50} (µg/mL)
Brüksel Lahanası Metanol ekstraktı	30.8
Brüksel Lahanası Etanol ekstraktı	31.5
Brüksel Lahanası Su ekstraktı	30.9
Orlistat	38.2

Bölüm 3.2.2'deki formül yardımıyla Alabaş sebzesinin % inhibisyon değerleri hesaplandı. Bu değerlerden faydalanarak İnhibitör konsantrasyonu-% Lipaz inhibisyon aktiviteleri arasında grafik çizildi (Şekil 4.4).



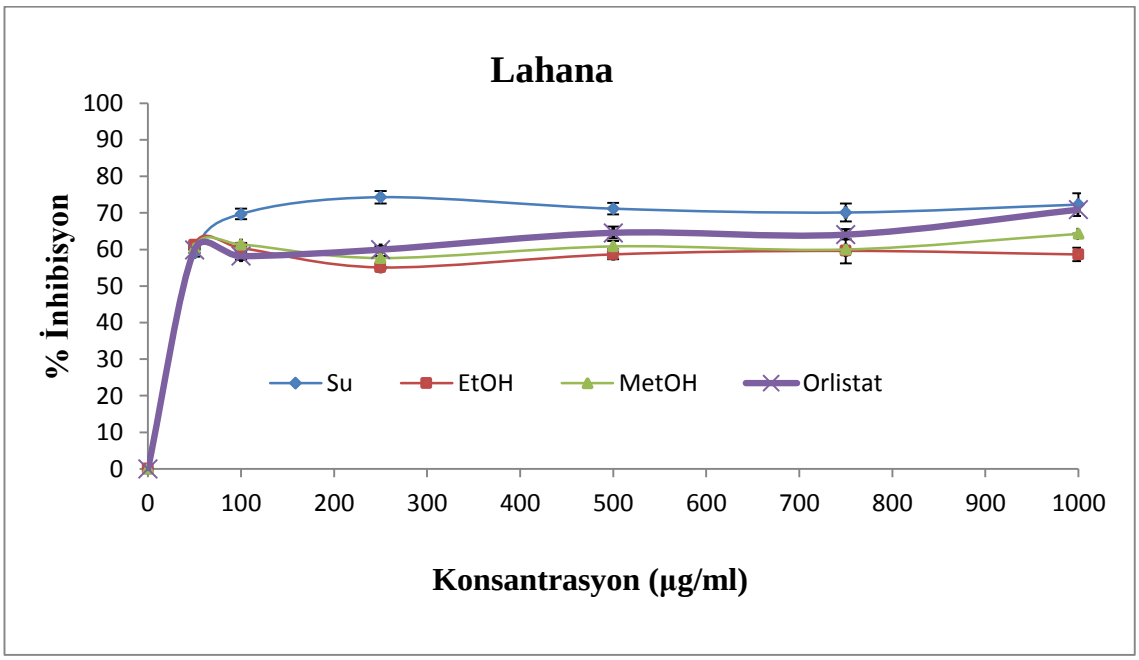
Şekil 4.4. Farklı konsantrasyonlardaki Alabaş'ın su, etanol, metanol ekstraktları ve Orlistatın DPL üzerine % inhibisyon aktiviteleri

Sonuçlarda konsantrasyona bağlı bir değişim gözlenmedi. Alabaş'ın su, etanol ve metanol ekstraktlarının lipaz inhibisyon aktivitelerinin birbirine yakın olduğu görüldü. Alabaş su, etanol, metanol ekstraktları ve pozitif kontrol Orlistat için belirlenen IC_{50} değerleri Tablo 4.4'de verildi.

Tablo 4.4. Alabaş su, etanol, metanol ekstraktları ve pozitif kontrol Orlistatın DPL enzimi için IC_{50} değerleri

İnhibitör	**IC_{50} (µg/mL)**
Alabaş Metanol ekstraktı	29.7
Alabaş Etanol ekstraktı	27.8
Alabaş Su ekstraktı	30.0
Orlistat	38.2

Bölüm 3.2.2'deki formül yardımıyla Lahana sebzesinin % Lipaz inhibisyon değerleri hesaplandı. Bu değerlerden faydalanarak İnhibitör konsantrasyonu ve % Lipaz inhibisyonu aktiviteleri arasında grafik çizildi (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Farklı konsantrasyonlardaki Lahana'nın su, etanol, metanol ekstraktları ve Orlistatın DPL üzerine % inhibisyon aktiviteleri

Elde edilen değerler incelendiğinde konsantrasyona bağlı bir değişim gözlenmedi. Lahana'nın su, etanol ve metanol ekstraktlarının inhibisyon değerlerinin birbirine yakın olduğu görüldü. IC_{50} değerleri Tablo 4.5'de verildi. Kıyaslandığında pankreatik lipaz için en iyi inhibitörün lahana etanol ekstraktı olduğu tespit edildi.

Tablo 4.5. Lahana su, etanol, metanol ekstraktları ve pozitif kontrol Orlistatın DPL enzimi için IC_{50} değerleri

İnhibitör	**IC_{50} (µg/mL)**
Lahana Metanol ekstraktı	38.1
Lahana Etanol ekstraktı	37.3
Lahana Su ekstraktı	39.7
Orlistat	38.2

4.2. Elde Edilen Ekstraktların *α*-Amilaz İnhibisyonu

Amilaz inhibisyonu, Puteri (2011) ve arkadaşlarının metodu modifiye edilerek çalışıldı. Kontrolün aktivitesiyle kıyaslanarak ekstraktların DPA (domuz pankreatik amilazı) üzerine etkileri belirlendi. *Brassicaceae* sebzelerinin (Brüksel lahanası, brokoli, karnabahar, alabaş ve lahana) su, etanol ve metanol ekstraklarının 50, 100, 200, 250, 500, 1000 µg/mL ve 5 mg/mL, 10 mg/mL konsantrasyonlarına Bölüm 3.2.4'de anlatılan metot uygulandı ve α- amilaz enzimi üzerindeki inhibitör etkileri tespit edildi. Pozitif kontrol olarak akarboz kullanıldı.

Kontrol örneğin enzim aktivitesi % 100 kabul edilmiştir. Spektrofotometrede 540 nm'de absorbans okumaları yapıldı. Absorbans değerleri Şekil 3.2.2'deki formülle % inhibisyon değerlerine dönüştürüldü. Ancak çalışmanın sonunda anlamlı veriler elde edilemedi. Ekstraktların artan veya azalan konsantrasyona bağlı bir değişim izlemediği belirlendi.

4.3. Elde Edilen Ekstraktların *α*-Glukozidaz İnhibisyonu

Brüksel lahanası, brokoli, karnabahar, alabaş ve lahana sebzelerinin su, etanol ve metanol ekstrakları ve pozitif kontrol akarboz için 50, 100, 250, 500, 750, 1000 µg/mL ve 5 mg/mL, 10 mg/mL konsantrasyonlarında *α*-Glukozidaz inhibisyon aktiviteleri Bölüm 3.2.3'de belirtildiği gibi Kwon ve ark. (2010) kullandığı yöntemin modifiye edilmiş şekliyle uygulandı. Ancak çalışılan bu konsantrasyonlarda düşük inhibisyon aktiviteleri belirlendi. Bu nedenle ekstrakt ve pozitif kontrol akarbozun 5 mg/mL ve 10 mg/mL konsantrasyonlarındaki çözeltileri hazırlandı ve *α*-glukozidaz inhibisyon çalışmaları yürütüldü. Okunan absorbanslardan % *α*-glukozidaz inhibisyonları hesaplandı. Ekstraktlar için elde edilen inhibisyon aktiviteleri % 50'den düşük olduğu için grafikleri çizilmedi ve IC_{50} değerleri hesaplanamadı. Ekstrakt ve akarboz çözeltilerinin değişen konsantrasyonlarında elde edilen % inhibisyon sonuçları Tablo 4.6'da verildi.

Tablo 4.6. Artan konsantrasyonlardaki Alabaş'ın su, etanol, metanol ekstraktları ve akarbozun *α*-glukozidaz üzerine % inhibisyon aktiviteleri

Konsantrasyon (µg/mL)	**% İnhibisyon (±SD)***			
	Su	**EtOH**	**MetOH**	**AKARBOZ**
50	5.184 ±0.664	6.103 ±0.354	5.736 ±0.280	6.200 ±0.435
100	4.141 ±0.467	5.569 ±0.636	4.508 ±1.008	7.215 ±0.489
250	3.771 ±0.216	6.181 ±1.387	5.706 ±0.565	8.160 ±1.445
500	4.133 ±0.498	5.467 ±0.047	5.584 ±1.157	10.830 ±2.132
750	4.692 ±0.576	4.926 ±0.680	5.343 ±1.714	14.901 ±2.069
1000	3.090 ±0.604	3.998 ±1.217	4.983 ±0.878	17.512 ±1.622
5000	2.494 ±1.192	3.920 ±0.606	6.119 ±0.817	43.498 ±2.272
10000	2.387 ±0.601	3.574 ±0.393	4.184 ±0.912	53.498 ±1.310

*3 deney değerinin ortalaması ±standart sapması; EtOH: Etanol, MetOH: Metanol

Tablo 4.6'da görüldüğü üzere tez kapsamında seçilen *Brassicaceae* sebzelerinin etanol, metanol ve su ekstraktları yok denecek kadar az inhibisyon göstermiştir. % α-glukozidaz inhibisyon aktivitelerinin ekstrakt konsantrasyon artışı ile değişmediği tespit edildi. Pozitif kontrol akarbozun *α*-glukozidaz enzim aktivitesi üzerine inhibisyon etkisinin 10 mg/mL konsantrasyonda ancak % 53.498 ±1.310 değerine ulaştığı görüldü (Tablo 4.6).

Brokoli sebzesinin ekstratklarının *α*- glukozidaz enzimini inhibe etme yeteneğini belirlemek üzere yapılan çalışmalarda sonuçları Tablo 4.7'de görülmektedir. Ekstraktların en yüksek inhibisyon değeri % 7.839 ±0.351 olarak belirlendi.

Tablo 4.7. Artan konsantrasyonlardaki Brokoli'nin su, etanol, metanol ekstraktları ve akarbozun *α*- glukozidaz üzerine % inhibisyon aktiviteleri

Konsantrasyon (µg/mL)	**% İnhibisyon (±SD)**			
	Su	**EtOH**	**MetOH**	**AKARBOZ**
50	4.846 ±0.901	6.124 ±0.759	7.686 ±1.627	6.200 ±0.435
100	3.388 ±0.898	4.620 ±0.506	4.380 ±1.839	7.215 ±0.489
250	5.294 ±2.739	5.230 ±1.002	5.666 ±0.846	8.160 ±1.445
500	3.334 ±1.062	5.749 ±0.729	5.554 ±0.704	10.830 ±2.132
750	4.300 ±1.391	5.296 ±0.439	4.622 ±0.606	14.901 ±2.069
1000	3.711 ±1.428	4.380 ±0.203	3.730 ±0.986	17.512 ±1.622
5000	4.136 ±1.308	7.044 ±0.618	4.132 ±0.733	43.498 ±2.272
10000	4.885 ±1.507	7.839 ±0.351	5.533 ±1.875	53.498 ±1.310

*üç deneme değerinin ortalaması ±standart sapması; EtOH: Etanol, MetOH: Metanol

Çalışılan diğer sebzelerde (lahana, karnabahar, brüksel lahanası) anlamlı bir sonuç gözlenmedi. Tüm ekstraktların % inhibisyon değerleri çok küçük olduğu için kaydadeğer olmadıkları belirlendi.

4.4. Elde Edilen Ekstraktların Tripsin İnhibisyonu

Tripsin inhibisyon denemeleri Bölüm 3.2.1 ve Bölüm 3.2.5'de anlatıldığı gibi Shahwar ve ark. metodunda modifikasyon yapılarak yapılmıştır.

Bu çalışmada tüm sebze ekstraktlarının 50, 100, 250, 500, 750, 1000 µg/mL konsantrasyonlarıyla çalışılmıştır. PMSF çözeltisinin de aynı konsantrasyonlarda örnekleri hazırlanmış ve tripsin inhibisyonunda pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. 405 nm'de okunan değerler Bölüm 3.2.2'deki formülden yararlanarak % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır. PMSF ve Alabaş sebzesinin su, etanol, metanol ekstraktlarının % inhibisyonları belirlenmiştir (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. Artan konsantrasyonlardaki Alabaş'ın su, etanol, metanol ekstraktları ve PMSF'nin tripsin üzerine % inhibisyon aktiviteleri

Konsantrasyon (µg/mL)	**% İnhibisyon(±SD)***			
	Su	**EtOH**	**MetOH**	**PMSF**
50	20.042 ±1.214	15.246 ±1.493	24.406 ±2.523	29.473 ±0.450
100	19.038 ±2.777	16.166 ±0.320	23.567 ±2.562	32.687 ±1.710
250	11.627 ±2.432	15.165 ±0.404	29.752 ±2.569	40.730 ±1.137
500	19.047 ±2.897	14.882 ±0.049	32.495 ±1.260	55.126 ±1.980
750	25.100 ±2.213	16.034 ±0.133	29.230 ±1.281	75.081 ±0.822
1000	20.558 ±2.159	27.699 ±0.745	25.842 ±0.512	81.358 ±2.065

*üç deneme değerinin ortalaması ±standart sapması; EtOH: Etanol, MetOH: Metanol

Tablo 4.8'de görüldüğü gibi en iyi tripsin inhibisyon aktivitisi Alabaş sebzesinin metanol ekstraktının 500 µg/ml konsantrasyonundaki % 32.495 ±1.260 olarak belirlendi. Sonuçlar incelendiğinde veriler % 50'nin altında olmasına rağmen tripsini inhibe etme konusundaki başarı Metanol > Su > Etanol sıralaması şeklinde olduğu görüldü.

Brüksel lahanası, brokoli, karnabahar ve lahana sebzelerinde ise *in vitro* tripsin inhibisyonuna ait anlamlı hiçbir veri kaydedilmedi.

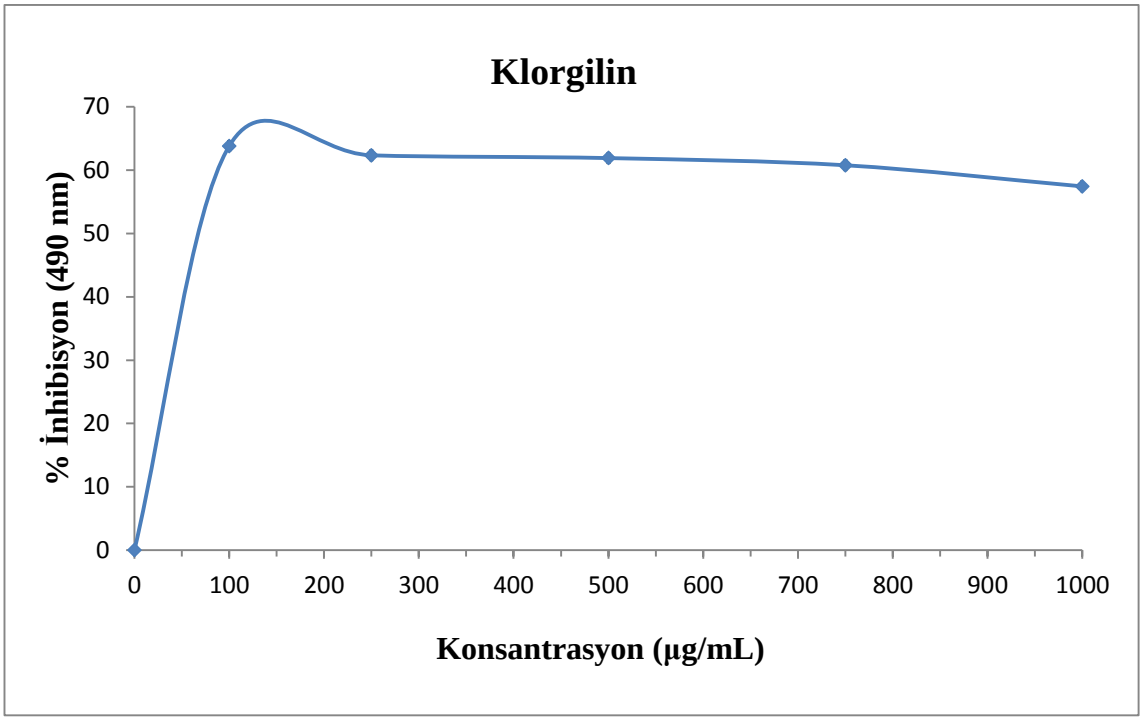
4.5. Elde Edilen Ekstraktların Monoamin Oksidaz-A İnhibisyonu

Brüksel lahanası, brokoli, karnabahar, alabaş ve lahana sebzelerinden hazırlanan metanol, etanol ve su ekstraktları için MAO-A inhibisyon aktivitesi Bölüm 3.2.6'da belirtildiği gibi Jager ve arkadaşlarının metodu modifiye edilerek optimize edilen koşullarda çalışıldı. 5 dakikada bir alınan sonuçlarda en iyi aktivitenin 40. dakikada olduğu belirlendi. Belirlenen absorbans değerlerinden her bir ekstraktın % İnhibisyon aktiviteleri hesaplandı. Bu inhibisyon aktiviteleri incelendiğinde 1000 µg/ml konsantrasyonundaki bitki ekstraktlarının 40. dakikadaki % inhibisyon değerlerinin bile % 50'nin altında MAO inhibisyon aktivitesi gösterdikleri belirlendi ve bu konsantrasyonlardaki aktiviteler Tablo 4.9'da verildi.

Tablo 4.9. 1000 µg/mL konsantrasyonundaki bitki ekstraktlarının 40. dakikadaki % inhibisyon değerleri

Bitki Adı	**Su Ekstraktı (%)**	**Metanol Ekstraktı (%)**	**Etanol Ekstraktı (%)**
Karnabahar	34.776	34.706	35.893
Brokoli	43.043	45.586	42.372
Brüksel lahanası	45.531	42.615	46.911
Alabaş	48.188	40.535	46.190
Lahana	22.045	36.776	37.047

Pozitif kontrol olarak kullanılan klorgilin için önceden belirlenmiş 5 farklı konsantrasyonda (100, 250, 500, 750, 1000 µg/mL) çözeltileri hazırlandı. % İnhibisyon-Konsantrasyon (µg/mL) grafiği oluşturuldu (Şekil 4.6). Grafik yardımıyla MAO-A enziminin pozitif kontrolü klorgilin için IC_{50} değeri belirlendi.



Şekil 4.6. Pozitif kontrol klorgilin'in MAO-A enzimi üzerine 40. dakikadaki konsantrasyona bağlı % inhibisyon grafiği

Grafiğe göre klorgilin için MAO-A % inhibisyon aktvite değerlerinin birbirine yakın olduğu ve % 57'nin altında değer elde edilmediği belirlendi. 40. dakikada IC_{50} değeri 67.1 µg/ml olarak kaydedildi.

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Obezite küresel boyutta önemli bir halk sağlığı sorunudur, özellikle gelişmiş batı toplumlarında sağlık şikayetlerinin başında gelmektedir.

Obezite yetişkinlerde, gençlerde, çocuklarda sağlık hasarına neden olan vücutta yağ birikimi ile sonuçlanan sadece yaşam kalitesinde değil yaşam süresinde de belli kayıplara neden olan gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde sıklıkla görülen kronik bir hastalıktır. Kardiyovasküler hastalıklara, diyabete, hipertansiyona ve bazı kanser tiplerine de neden olur [12]. Genellikle hareketsiz çalışan bireyleri tehdit eden hastalık, tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de artış göstermektedir ve modern toplumda büyük bir sağlık problemi olmaktadır. Dünyanın yaklaşık olarak 1.4 milyar aşırı kilolu, bunun 400 milyonu obezdir, hastalık global epidemi statüsünde liderlik etmektedir [20].

Kilo verme stratejileri ve obezite tedavileri genellikle besinsel değişikliklerin kombinasyonu, fiziksel aktivitenin arttırılması, davranışsal terapi, farmakoterapi ve ciddi durumlarda cerrahi tedaviyi kapsar. Yaygın olarak kullanılan diğer bir seçenek ise son yıllarda tüketimlerinde kayda değer bir artışa sahip olan doğal ürünlerdir. İnsanların çoğunda bu doğal ürünlerin sağlığa zarar oluşturmadığına ve düşük maliyetli ilaçlar olduğuna dair bir inanç mevcuttur.

Terapötik alternatifler üzerine araştırmalar, temelde ilaç özelliği taşıyan bitkilerle farmasötik endüstrisine yer ve önem kazandırmaya devam etmektedir. Yeni fitomedisinler ve fitoterapilerin keşfi; hala çalışılmamış bitki türlerinin sayısının yüksek olması ve keşfedilecek bileşikilerin uçsuz bucaksız bir alan sunması nedeniyle oldukça umut vericidir.

Obezitenin tedavisi için metabolizmaya faydalı olacak doğal ürünlerde var olan moleküller enzimatik inhibisyon mekanizması temelinde araştırılmaktadır. Anti-obezite ilaçlarının etkin gelişimi için mükemmel bir alternatif olan, α-amilaz ve α-glukozidazlar karbonhidratların hidrolizinden emiliminden sorumludurlar. Bu enzimlerin bitkilerde inhibitörleri obezite, tip 2 diyabetle birlikte seyreden hiperglisemi, hipertansiyon tedavisine yardım etmek üzere bağırsakta nişasta parçalanmasını ve glukoz emilimini azaltarak ümit vaat edici stratejiler sunmaktadır. Bunların yanında lipid metabolizmasından sorumlu lipazlar, inhibe edilmesi gereken en önemli enzimler olarak görülmektedir. Çünkü lipaz inhibisyonu, trigliserit emilimininde azalmalara, kalori kullanımının azalmasına ve kilo kayıplarına neden olur. Diğer taraftan tripsin inhibisyonu protein sindiriminde görev yapan diğer inhibitörlerin aksine zararlı etkilere sahip olarak karakterize edilirler, çünkü organizmanın temel ihtiyacı olan ve gıdalarda bulunan amino asitlerin tam olarak emilimine engel olur.

Yapılan çalışmalar, obezite ve neden olduğu hastalıkların tedavisinde bu enzim ve inhibitörlerinin potansiyel etkinliğini ve önemini göstermiştir. Amilaz, glukozidaz, lipaz, tripsin gibi enzimlere uygun inhibitörler için yeni kaynakların araştırılma ihtiyacını güçlendirmiştir.

Literatür incelendiğinde, lahana, alabaş, brokoli, karnabahar ve brüksel lahana sebzelerinin antiobezite özellikleri ile ilişkilendirilen sindirim enzimleri inhibisyonuna ait herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bitkilerin ekstraktlarından elde edilen enzimatik inhibitörler ile ilgili çalışmalar çok fazla değildir. Bu çalışmanın amacı; lahana, alabaş, brokoli, karnabahar ve brüksel lahana bitkilerinden elde edilen ekstraktların sindirim enzimlerini inhibisyon denemelerini yürütmektir.

Tez kapsamında, Edirne, Karaağaç bölgesinde yetiştirilen sebzeler (lahana, alabaş, brokoli, karnabahar ve brüksel lahana) Edirne yerel pazarından temin edildi. Bu sebzelerin lipaz, α-glukozidaz, α-amilaz, tripsin gibi sindirim enzimleri ve monoamin oksidaz enzimi üzerine inhibitör etkileri incelendi.

Bu tez kapsamında, Souza vd. [147] metoduna göre yürütülen lipaz inhibisyon aktivitelerinin belirlenmesi çalışmasında karnabahar ekstraktlarının 50 µg/mL konsantrasyonda bile oldukça yüksek (yaklaşık % 82) ve birbirine yakın aktivitelerde

lipazı inhibe etme yeteneğine sahip olduğu görüldü. Bu konsantrasyondaki pozitif kontrol orlistatın lipaz inhibisyon aktivitesi % 60 olarak belirlendi. Orlistatın IC_{50} değeri 38.2 µg/mL iken brokoli sebzesi için en iyi inhibisyon aktivitesi su ekstraktınında elde edildi ve IC_{50} değeri 26.1 µg/mL olarak belirlendi. Brüksel lahanası ve alabaş'ın tüm ekstraktları için % inhibisyon değerlerinin birbirine yakın olduğu ve IC_{50} değerinin yaklaşık 30 µg/mL olduğu görülmesine rağmen orlistattan daha iyi oldukları gözlendi. Lahana ekstraktlarının inhibisyon aktivitesinin pozitif kontrolle yaklaşık aynı olduğu görülmüştür. Tüm ekstraktların inhibisyon aktivitelerinde tez kapsamında çalışılan konsantrasyona bağlı bir değişim tespit edilmedi.

Lipaz inhibisyon çalışmalarında Souza ve arkadaşları Güney Amerika'ya özgü bir bitkinin (*Baccharis trimera*) etanol ekstraktından % 16, metanol ekstraktı ise % 78 inhibisyon aktivitesi elde etmişlerdir [147]. Lee ve arkadaşları ise bitkilerin su ekstraksiyonunu hazırlarken infüzyon işlemini 60 dakikada gerçekleştirmişlerdir. Su ve etanol ekstraktlarından elde ettikleri inhibisyon sonuçları sırasıyla % 0.96 ve % 15.86 olarak kaydedilmiştir [66]. Yara otu (*Prunella vulgaris* L.) ve kuzukulağı sınıfına ait olan ravent olarak da bilinen bitkinin (*Rheum palmatum* L.) 200 µg/mL konsantrasyonlarında metanol ekstraktlarıyla çalışan Zheng vd. [135], substrat olarak 2,4-dinitrofenil bütirat kullanmış ve sırasıyla % 74.7, % 53.8 inhibisyon aktivitelerini elde etmişlerdir.

Tez kapsamında α-glukozidaz inhibisyon aktivitesi için Kwon vd. [171] metodu kullanıldı. Yürütülen çalışmalarda okunan absorbanslardan % inhibisyonları hesaplandı. Ekstraktlar için elde edilen inhibisyon aktiviteleri % 50'den düşük olduğu için grafikleri çizilmedi ve IC_{50} değerleri hesaplanamadı. Ekstrakt ve akarboz çözeltilerinin değişen konsantrasyonlarından elde edilen % inhibisyon sonuçları Bölüm 4.2'de Tablo 4.6-4.7'de verildi. Akarbozdan elde edilen en yüksek inhibisyon değeri % 53.498 ±1.310 olurken, alabaş için en yüksek % 6.181 ± 1.387, brokoli için % 7.839 ±0.351 değerine ulaşıldı.

Acasetin-7-O-β-D-glucopyranoside substratı ile çalışan ve α-glukozidaz enzimini kasımpatı bitkisinden (*Chrysanthemum morifolium*) izole ettikleri bileşenlerle çalışan Luyen ve arkadaşları [174] IC_{50} değeri olarak 229.3 µg/mL elde etmiş ve α-amilaz enzimine karşı bir etki görmemişlerdir. Kim [175] tarafından hayvansal çalışma

da gerçekleştirilmiş; akrepten (*Buthus martens*i Karsch) *α*-glukozidaz inhibitörü olabilecek bileşik izole edilmiş ve bu bileşenin *α*-glukozidaz'a karşı inhibitör aktivitesi potansiyeline sahip olduğu görülmüştür. Bu çalışmada IC_{50} değeri 24 µM olarak belirlenmiştir.

α-amilaz inhibisyon aktivitesi için Bölüm 3.2.4'de anlatıldığı gibi Puteri vd. [138] metodu kullanıldı. DPA, nişasta substratı ve pozitif kontrol olarak akarboz ile yürütülülen çalışmanın sonunda anlamlı veri elde edilemedi. Ekstrakların artan veya azalan konsantrasyona bağlı inhibisyon aktivitelerinde farklanmalar belirlenmemiştir.

Japonya'ya özgü bir söğüt türünden (*Salix gracilistyla*) izole edilen aynı zamanda bir flavanoid olan Luteolin-7-*O*-glukozid'in *α*-glukozidaz ve *α*-amilaza karşı inhibitör aktivitesi Kim tarafından test edilmiştir. Güçlü inhibitör olarak belirlenen luteolin'in 0.5 mg/mL konsantrasyonundaki akarbozdan daha güçlü etki gösterdiği ve % 36 inhibisyon yaptığı belirlenmiştir. Ayrıca *α*-amilazı da etkili bir şekilde inhibe ettiği bildirilmiştir [148].

Tripsin inhibisyon aktivitesi için Shahwar ve arkadaşlarının [160] metodu kullanıldı. Bu çalışma Bölüm 3.2.5'de anlatıldığı gibi tripsin enzimi, BApNA substratı ve pozitif kontrol olarak PMSF ile yürütüldü. Yalnızca Alabaş sebzesinde tripsin inhibisyon aktivitesi görüldü. Alabaş ekstraktlarının enzimi bloke etme konusundaki başarısı Metanol > Su > Etanol sıralamasında olduğu gibidir. Sonuçlar Tablo 4.8'de verilmiştir.

Shahwar [160] yeni tripsin inhibitörleri belirlemek için yaptığı çalışmada tarçından (*Cinnamomum zeylanicum)* sinnamik asit, gallik asit bir sinek türü olan *Impatient bicolor'*dan ferülik asit izole etmiştir. Bileşiklerin IC_{50} değerleri sırasıyla 0.35 ±0.002 mM, 0.96 ±0.005 mM, 1.22 ±0.006 mM olarak bulunmuştur.

MAO-A enzimi inhibisyon aktivitesi Bölüm 3.2.6'da belirtildiği gibi Jager ve arkadaşlarının metodu modifiye edilerek optimize edilen koşullarda çalışıldı. 5 dakikada bir okunan absorbanslardan etkin MAO inhibisyon aktivitesi gözlenmedi. En iyi MAO inhibisyon aktivitesinin 1000 µg/mL konsantrasyonunda ve 40. dakikada olduğu belirlendi. Belirlenen absorbans değerlerinden her bir ekstraktın % inhibisyon

aktiviteleri hesaplandı. Bitki ekstraktlarının su, etanol, metanol çözeltileri için elde edilen % inhibisyon değerleri kaydedildi (Tablo 4.9). Şekil 4.6'da verilen grafik incelendiğinde % inhibisyon değerlerinin birbirine yakın olduğu ve % 57'nin altına düşmediği belirlendi. 40. dakikada 1000 μg/ml konsantrasyonu için IC_{50} değeri 67.1 μg/ml olarak kaydedildi.

Stafford ve arkadaşları [130] fare karaciğerinden izole edilen MAO enziminin inhibisyonunu belirlemek için yirmi farklı bitki ile çalışmış ve fotometrik yöntem kullanmışlardır. Sedef otunun (*Ruta graveolens)* en iyi MAO inhibitör aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. Sonuçlar, yaprak etil asetat ekstraktı için IC_{50} 5.0 ±1.0 μg/mL, petrol eteri ekstraktı için ise 3.0 ±1.0 μg/mL olarak kaydedilmiştir.

Olsen ve arkadaşları [162] su nanesi olarak da bilinen *Mentha aquatica* L.'nin 6 farklı polaritedeki ekstraktları Monoamin oksidaz-A enzim inhibisyon denemesinde fotometrik yöntemle test edilmiştir. % 70 etanol ekstraktı en yüksek inhibitör etkisi göstermiştir. İzole edilen S-Narigenin'in MAO-A inhibisyon denemesinde IC_{50} değeri 955 ±129 μM'dır.

Bu tez kapsamında obeziteyi ilgilendiren sindirim enzimlerinin inhibisyonu ile ilgili çalışma yürütülmüştür. *Brassicaceae* sebzelerinden ilgili enzimlerin (lipaz, *α*-glukozidaz, *α*-amilaz, tripsin, monoamino oksidaz) izolasyonu ve aktiviteleri çeşitli bilimsel araştırmalarda bildirilmiştir. Bu çalışmada ise bu bitkiler enzim kaynağı olarak değil sindirim enzimleri ve MAO-A üzerinde inhibitör potansiyellerinin olup olmadığı araştırılmak üzere kullanılmışlardır. Elde edilen sonuçlardan bu sebzelerin yüksek lipaz inhibisyonu aktivitesine sahip oldukları, ancak diğer sindirim enzimlerini ve MAO-A'yı inhibe etme potansiyellerinin ya çok düşük olduğu veya olmadığı belirlenmiştir. Literatür incelendiğinde tez kapsamında çalışılan sebzelerle daha önce inhibisyon denemesi yapılmadığını belirlenmiş ve bu tez çalışması bu hususta bir ilk niteliği taşımaktadır.

Tez kapsamında çalışılan *Brassicaceae* sebzelerinin içeriğindeki doğal bileşiklerden hangilerinin yüksek lipaz inhibisyonu aktivitesi gösterdiklerini belirlemek amacıyla bu sebzelerden doğal bileşik izolasyonu ve yapı aydınlatılması çalışmaları yürütülerek bu sebzelerin içeriğinde *in vitro* lipaz inhibisyonuna neden olan yeni lipaz

inhibitörü moleküller belirlenebilir. Bu moleküllerin ilaç potansiyeli *in vitro* ve *in vivo* lipaz inhibisyonu çalışmaları ile netleştirilebilir. Obezite konusunda insanlara ciddi boyutta yardımcı olabilecek maddelerin yani ilaç moleküllerinin tespiti için bu alanda daha uzun vadeli çalışmaların yapılması kaçınılmazdır.

KAYNAKLAR

[1] A. Telefoncu, O. Değer, A. Kılınç, A. Çolak, ***Metabolik Sendrom,*** Metabolizmanın Regülasyonu ve Metabolik Bozukluklar, Ege Üniversitesi Basımevi, (2008)

[2] J.M. McGinnis, W.H. Foege, ***Actual causes of death in the United States***, Journal of The American Medical Association 270**,** 2207-2212, (1993)

[3] K.M. Flegal, M.D. Carroll, R.J. Kuzmarzcki, C.L. Johnson, ***Overweight and obesity in the United States***, Prevalence and trends, 1960-1994,22**,** 39-47, (1998)

[4**]** C. Erem, C. Arslan, A. Hacıhasanoğlu, O.Değer, M.Topbaş, K. Ukine, H.Ö. Ersöz, M. Telatar, ***Prevalence of Obesity and Associated Risk Factors in a Turkish Population*** (Trabzon City, Turkey), Obesity Research, 12(7), 1117-1127, (2004)

[5] J.E. Manson, W.C. Willett, M.J. Stampfer, ***Body weight and mortality among women***, The New England Journal of Medicine, 333**,** 677-685, (1995)

[6] G.M. Keating, B. Jarvis, ***Orlistat in the prevention and treatment of type 2 diabetes mellitus***, *Drugs,* 61**,** 2107-2119, (2001)

[7] D.R. Foxcroft, R. Milne, ***Orlistat for the treatment of obesity***, rapid review and cost-effectiveness model (*Obes Rev),* 1, 1-8, (2000)

[8] J.M. Amatruda, ***Obesity in: Endocrinology & Metabolism***, Endocrinology and metabolism (4rd edition), 945-991, (2001)

[9] Ulusal Obezite *Rehberi**, Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma derneği***, Obezite ve Lipid metabolizması Çalışma Grubu, (1999)

[10] M. Denke, C.T. Sempos, S.M. Grundy, ***Excess body weight, An underrecognized contributor to dyslipidemia in white American women,*** Archive of Internal Medicine, 154,

401-410, (1994)

[11] I. Janssen, P.T. Katzmarzyk, R. Ross , ***Body mass index, waist circumference, and healt risk: evidence in support of current,*** Archive of Internal Medicine, 14, 2074- 2079, (2002)

[12] N. Reyna-Villasmil, V. Bermúdez-Pirela, E. Mengual-Moreno, N. Arias, C. Cano-Ponce, E. Leal-Gonzalez, ***Oat-derived betaglucan significantly improves HDLC and diminishes LDLC and non-HDL Cholesterol in overweight individuals with mild hypercholesterolemia***, American Journal of Therapeutics, 14, 203-212, (2007)

[13] M. Bethesda, ***The particle guide: identification, evaluation and treatment of overweight and obesity in adults, National Heart Lung and Blood ınstitute***, North American for the study of Obesity, (2000)

[14] M.R. Law, N.J. Wald, S.G. Thompson, ***By how much and how quickly does reduction in serum cholesterol concentration lower risk of ischaemic heart disease,*** British Medical Journal, 308, 367- 373, (1994)

[15] C. Erem, A. Hacıhasanoğlu, O. Değer, M. Topbas, H.Ö. Ersöz, G. Hoşver, ***Prevalence of Metabolic Syndrome and Associated Risk Factors Among Turkish Adults,*** Trabzon MetS Study Endocrine, 33, 9-20, (2008)

[16] A. Hacıhasanoğlu, ***Trabzon İlinde Metabolik Sendrom Prevalansı ve Prevalansı Etkileyen Risk faktörleri***, KTÜ Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, (2006)

[17] G.M. Reaven, ***Role of Insulin Resistance in Human Disease Diabets,*** Banting Lecture, 37, 1595-1607, (1998)

[18] M. Hanefeld, W. Leonardt, ***Das Metabolische Syndrom,*** 36, 545-551, (1981)

[19] N. Kaplan, ***The Deadly Quartet, Upper-body Obesity, Glucose Intolerance, Hypertriglyceridemia and Hypertension,*** Archive Internal Medical, 149, 1514, (1989)

[20] Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, ***Evaluation and Treatmentof High Blood***

Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III), 106, 3143-3421, (2002)

[21] ***Türkiye Metabolik Sendrom Araştırması (METSAR),*** (2004)

[22] A.K. Özşahin, A. Gökcel, N. Sezgin, M. Akbaba, N. Güvener, O. Işık, B.M. *Karademir, **Prevalence of the Metabolic Syndrome in a Türkish Adult Population***, Diabetes, Nutrition and Metabolism, 17, 230.234, (2004)

[23] http://beslenme.gov.tr/index.php?lang=tr&page=39 (10.01.2016)

[24] www.sağlıkbakanlığı.com (08.01.2016)

[25] N.N. Mehta, M.P. Reilly, ***Mechanisms of the Metabolic Syndrome. Drug DiscoveryToday,*** Disease Mechanism, 1(2), 187-193, 2004.

[26] National Instuties of Health. Clinical Guidelines On The İdentification, ***Evaluation And Treatment of Owerweight and Obesity in Adults,*** Nıh Publication, 98, 4083 September (1998)

[27] K. Alberti, P. Zimmet, ***Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications (Part I: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, Provisional Report of a WHO Consultation Diabetic Medicine),*** For The WHO Consltation Definition, 15, 539-553, (1998)

[28] S. Kumanyika, R. Jeffrey, A. Morabia, C. Ritenbaugh, V. Antipatis, **Public Health Approaches to the Prevention of Obesity (PHAPO)**, Working Group of the International Obesity Task Force (IOTF), 26, 425-436, (2002)

[29] B. Balkau, M. Charles, ***Comments on Provisional Report From the WHO Consultation Europen Group for the Study of Insulin Resistance,*** Diabetic Medicine, 16, 442-443, (1999)

[30] A. Uysal, ***Diabetes Mellitusun komplikasyonları,*** Klinik Endokrinoloji (ANTIP A.Ş. Yayınları), 287-323, (2003)

[31] G. Reaven, ***Metabolic Syndrome Pathology and Implications for Management of Cardiovasculer Disease Circulation,*** Women's Vascular Health, 106, 286-288, (2002)

[32] F. Giorgino, L. Laviola, A. Leonardini***, Pathophysiology of type2 diabetes rationale for different oral antidiabetic treatment strategies,*** *Diabetes Research* and *Clinical Practice*, 279-288, (2003)

[33] H. Lebovitz, M. Banerji, ***Treatment of Insulin resistance in diabetes mellitus,*** International Journal Clinical of Practice, 135-146, (2004)

[34] N.N. Mehta, M.P. Reilly, ***Mechanisms of the Metabolic Syndrome. Drug DiscoveryToday***, Disease Mechanism, 1(2), 187-193, (2004)

[35] A.D. Smith *et al.*, ***Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology,*** Oxford University Press, ISBN 0198547684, (1997)

[36] A. Bairoch, ***"The ENZYME database in 2000"*** (http://www.expasy.org/NAR/enz00.pdf), ***Nucleic Acids Res,*** 28, 304–305, DOI:10.1093/nar/28.1.304 (http://dx.doi.org/10.1093%2Fnar%2F28.1.304). PMID 10592255 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10592255), (2000)

[37] M.G. Simson, ***Plant Systematics,*** Elsevier Academic Press (California), (2006)

[38] A. Gosslau, K.Y. Chen, ***Nutraceuticals, apoptosis, and disease prevention,*** Nutrition, 20, 95–102, (2004)

[39] J. Olsen, J. Gundgaard, J.N. Nielsen, J. Sorensen, ***Increased intake of fruit and vegetables: Estimation of impact in terms of life expectancy and healthcare costs.*** Public Health Nutrition, 6, 25–30, (2003).

[40] K. Hashimoto, S. Kawamata, N. Usui, A. Tanaka, Y. Uda, ***In vitro induction of the anticarcinogenic marker enzyme, quinone reduktase, in human hepatoma cells by food extracts,*** Cancer Letters, 180, 1–5, (2002).

[41] P.M. Kris-Etherton, T.D. Etherton, J. Carlson, C. Gardner, ***Recent discoveries in inclusive food-based approaches and dietary patterns for reduction in risk for cardiovascular disease,*** Current Opinion in Lipidology, 13, 397–407, (2002)

[42] M.R. Law, J.K. Morris, ***By how much does fruit and vegetable consumption reduce***

the risk of ischemic heart disease, European Journal of Clinical Nutrition, 52, 549–556, (1998)

[43] J. Cohen, R. Kristal, J. Stanford, ***Fruit and vegetable intakes and prostate cancer,*** Journal of the National Cancer Institute, 9, 61–68, (2000)

[44] Y.H. Chu, C.L. Chang, H.F. Hsu, ***Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity,*** Journal of the Scienceof Food and Agriculture, 80, 561–566, (2000)

[45] D.T. Verhoeven, H. Verhagen, R.A. Goldbohm, P.A. Brandt, G. Poppel, ***A review of mechanisms underlying anticarcinogenecity by brassica vegetables,*** Chemico-Biological Interactions, 103, 79–129, (2000)

[46] R. Verkerk, M. Schreiner, A. Krumbein, E. Ciska, B. Holst, I. Rowland, R. De Schrijver, M. Hansen, C. Gerhauser, R. Mithen, M. Dekker, ***Glucosinolates in Brassica vegetables: the influence of the food supply chain on intake, bioavailability and human health***, Molecular Nutrition Food Results, 53, 219–265, (2009)

[47] A. Podsedek, ***Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: a review,*** Swiss Society of Food Science and Technology, 40, 1–11, (2007)

[48] V. Rungapamestry, A.J. Duncan, Z. Fuller, B. Ratcliffe, ***Infuence of blanching and freezing broccoli (Brassica oleracea var. italica) prior to storage and cooking on glucosinolate concentrations and myrosinase activity,*** European Food Results Technology, 227, 37–44, (2008)

[49] L. Song, P. Thornalley, ***Effect of storage, processing and cooking on glucosinolate content of Brassica vegetable,*** Food Chemical Toxicology, 45, 216–224, (2007)

[50] E. Cieslik, T. Leszczynska,A. Filipiak-Florkiewicz, E. Sikora, P.M. Pisulewski, ***Effects of some technological processes on glucosinolate contents in cruciferous vegetables***, Food Chemical, 105, 976–981, (2007)

[51] N. Pellegrini, ***Effect of Different Cooking Methods on Color; Phytochemical Concentration, and Antioxidant Capacity of Raw and Frozen Brassica Vegetables,*** Journal of agricultural and food chemistry, 58, 4310–4321, (2010)

[52] H.Ü. Erdem, ***Purification and Biochemical Characterization of Peroxidase Isolated from White Cabbage (Brassica Oleracea var. capitata f. alba)***, International Journal of Food Properties, 18 (10), 2099-2109, (2015)

[53] D.T. Verhoeven, R.A. Goldbohm, G. Poppel, H. Verhagen, P.A. Brandt, ***Epidemiological studies on brassica vegetables and cancer risk,*** Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention, *5*, 733–748, (1996)

[54] M. Nosek, E. Surowka, S. Cebula, A. Libik, S. Goraj, A.K.Z. Miszalski, ***Distribution pattern of antioxidants in White cabbage heads (Brassica oleracea L. var. capitata f. alba)***, Acta Physiologiae Plantarum, 33, 2125–2134, (2011)

[55] J. Singh, A.K. Upadhyay, A. Bahadur, B. Singh, K. P. Singh, M. Rai, ***Antioxidant phytochemicals in cabbage (Brassica oleracea L. var. capitata),*** Scientia Horticulturae, *108*, 233–237, (2006)

[56] J. Singh, A.K. Upadhyay, K. Prasad, A. Bahadur, M. Rai, ***Variability of carotenes, vitamin C, E, and phenolics in Brassica vegetables,*** Journal of Food Composition and Analysis, *20*, 106–112, (2007)

[57] D. Samec, M. Bogovic, D. Vincek, J. Martincic, B. Salopek-Sondi, ***Assessing the authenticity of the white cabbage (Brassica oleracea var. capitata f. alba) cv. Varazdinski by molecular and phytochemical markers***, Food Research International, *60*, 266–272, (2014)

[58] M. P. Kahkonen, A. T. Hopia, H. J. Vuorela, J.P. Rauha, K. Pihlaja, T.S. Kujala, ***Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds***, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47, 3954–3962, (1999)

[59] Y.S. Velioglu, G. Mazza, L. Gao, B.D. Oomach, ***Antioxidative activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products,*** Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46, 4113–4117, (1998)

[60] C. A. Rice-Evans, N.J. Miller, G. Paganga, ***Antioxidant properties of phenolic compounds,***. Trends in Plant Science, 2(4), 152–159, (1997)

[61] P.D. Weiqun-Wang, T. Marc, P.D. Goodman, ***Antioxidant property of dietary phenolic agents in a human LDL-oxidation ex vivo model: Interaction of protein binding activity***, Nutrition Research, 19(2), 191–202, (1999)

[62] C. Cuesta, A. Rodriguez, M.L. Centeno, R.J. Ordas, B. Fernandez, ***Caulogenic induction in cotyledons of tone pine (Pinus pinea): relationship between organogenic response and benzyladenine trends in elected families,*** Journal of Plant Physiology, 166:1162–1171, (2009)

[63] ***National Food Composition Database,*** Fineli, Finland, (2011).

[64] V.H. Escalona, E. Aguayo, E. Artes, ***Extending the shelf life of kohlrabi stems by modified atmosphere packaging***, Journal Food Science, 72, 308–313, (2007)

[65] J. Higdon, ***Cruciferous vegetables and cancer risk,*** Linus Pauling Institute Research Newsletter, <http://lpi.oregonstate. edu/ss06/vegetables.html> Accessed 15.03.07, Spring (2006)

[66] I. F. F. Benzie, ***Evolution of dietary antioxidants,*** Comparative Biochemistry and Physiology Part A, 136, 113–126, (2003)

[67] P. C. H. Hollman, ***Evidence for health effect of plant phenols: local or systemic effects,*** Journal of the Science of Food and Agriculture, 81,842–852, (2001)

[68] J.J. Strain, I. F. F. Benzie, J. Sadler, J. J. Strain, B. Caballero, ***Diet and antioxidant defence,*** Encyclopedia of humannutrition London, Academic Press., (1999)

[69] K. Jung, J. Richter, K. Kabrodt, I. M. Lucke, I. Schellenberg, T. Herrling, ***The antioxidative power AP: a new quantitative time dependent (2D) parameter for the determination of the antioxidant capacity and reactivity of different plants***, Spectrochimica ActaPart A, 63, 846–850, (2006)

[70] H. Zhuang, D. F. Hildebrand, M. M. Barth, ***Senscence of broccoli buds as related to changes in lipid peroxidation.*** Journal of Agricultural and Food Chemistry, 43(10), 2589–2591, (1995)

[71] H. Zhuang, D.F. Hildebrand, M.M. Barth, ***Temperature influenced lipid peroxidation and deterioration in broccoli buds during post-harvest storage***, Postharvest Biology and Technology, 10, 49–58, (1997)

[72] M. Mukherjee, ***Human digestive and metabolic lipases- a brief review***. Journal Molecular Catalysis B: Enzymatic, 22, 369–376, (2003)

[73] Y. Shi, P. Burn, ***Lipid metabolic enzymes: Emerging drug targets for the treatment of obesity,*** Nature Review Drug Discovery, 3, 695–710, (2004)

[74] A.B.R. Thomson, ***Inhibition of lipid absorption as an approach to the treatment of obesity***, In Methods in Enzymology (Rubin, B. and Dennis, E.A., eds), pp. 3–41, Academic Press, (1997)

[75**]** M.E. Lowe, ***The triglyceride lipases of the pancreas***, *J Lipid Res*,43 (12), (2007–2016), DOI: 10.1194/jlr.R200012-JLR200. PMID12454260, (2002)

[76] I. Crenon, E. Foglizzo, B. Kerfelec, A. Verine, D. Pignol, J. Hermoso, J.Bonicel, C. Chapus, ***Pancreatic lipase-related protein type I, a specialized lipase or an inactive enzym,*** *Protein Engineer*, 11 (2), 135–42, DOI:10.1093/protein/11.2.135. PMID 9605548, (1998)

[77**]** J. De Caro, F. Carriere, P. Barboni, T. Giller, R. Verger, A. De CarO, ***Pancreatic lipase-related protein 1 (PLRP1) is present in the pancreatic juice of several species***, *Biochimica* et *Biophysica Acta* 1387, (1-2), 331–341, (1998)

[78] J.M. Berg, J.L. Tymoczko, L. Stryer, ***Biochemistry,*** W.H. Freeman and Company, (2008)

[79] F.K. Winkler, ***Structure of human pancreatic lipase,*** Nature 343, 771–774, (1990)

[80] F. Carrière, C. Renou, S. Ransac, V. Lopez, J. De Caro, F. Ferrato, ***Inhibition of gastrointestinal lipolysis by Orlistat during digestion of test meals in healthy volunteers,*** Am J Physiol Gastrointest Liver, 281, (2001)

[81] A. Tiss, H. Lengsfeld, R. Verger, ***A comparative kinetic study on human pancreatic and Thermomyces lanuginosa lipases: inhibitory effects of tetrahydrolipstatin in the***

presence of lipid substrates, Journal Molecular Catalysis B Enzymatic; 62:19–26, (2010)

[82] H. Lengsfeld, G. Beaumier-Gallon, H. Chahinian, A. De Caro, R. Verger, R. Laugier, ***Physiology of gastrointestinal lipolysis and therapeutical use of lipases and digestive lipase inhibitors, In: Müller G, Petry S, editors. Lipases and phospholipases in drug development***, Weinheim: Wiley-VCH; (2004), 195–223. Physiology, 281(1):G16–28, (2001)

[83] Thomson PDR., ***Physicians' Desk Reference (PDR),*** (ISBN1-56363-527-5), (2006)

[84] B.R. Birari, K. Bhutani, ***Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: unexplored potential,*** Elsevier, 12,878-890, (2007)

[85] Y. Orhan, N. Özbey, ***Obezitede Diyet Tedavisi,*** Obezite ve tedavisi kitabı, 141-176, (2002)

[86] M. Bethesda, ***Treatment of overweight and obesity and adults***, (2000)

[87] www.google.com.tr/search?q=orlistat+acik+formulu%source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUkeWJFKQdHRTtkaHAUIBw#mhpiv=0 (15.01.2016)

[88] A. Ballinger, S. Peikin, ***Orlistat: its current status as an anti-obesity drug,*** European Journal Pharmacology, 440(2–3), 109–17, (2002)

[89] S. Dowling, J. Cox, R.J. Cenedella***, Inhibition of fatty acid synthase by Orlistat accelerates gastric tumor cell apoptosis in culture and increases survival rates in gastric tumor bearing mice in vivo,*** Lipids, 44(6), 489–98, (2009)

[90] Y. Ali, H. Chahinian, S. Petry, G. Muller, R. Lebrun, R. Verger, ***Use of an inhibitor to identify members of the hormonesensitive lipase family,*** Biochemistry, 45(47):14183–91, (2006)

[91] S. Petry, K.H. Baringhaus, K. Schoenafinger, C. Jung, H. Kleine, G. Müller, ***High-throughput screening of hormone-sensitive lipase and subsequent. In:MüllerG, Petry S, editors. Lipases and phospholipases in drug development,*** Weinheim: Wiley-VCH, p. 121–37, (2004)

[92] W. Jin, J.S. Millar, U. Broedl, J.M. Glick, D.J. Rader, ***Inhibition of endothelial***

lipase causes increased HDL cholesterol levels in vivo. The Journal of Clinical Investigation, 111(3), 357–62, (2003)

[93] K. Cotes, J.C. Bakala N'goma, R. Dhouib, I. Douchet, D. Maurin, F.Carriere, ***Lipolytic enzymes in Mycobacterium tuberculosis***, Application Microbiology Biotechnology, 78(5), 741–9, (2008)

[94] K.C. Mishra, C. de Chastellier, Y. Narayana, P. Bifani, A.K. Brown, G.S. Besra, ***Functional role of the PE domain and immunogenicity of the Mycobacterium tuberculosis triacylglycerol hydrolase,*** LipY Infect Immunology,76 (1), 127–140, (2008)

[95] G. Seibert, L. Toti, J. Wink, inventors; ***Sanofi-Aventis, assignee. Use of cyclipostin derivatives for the treatment of mycobacterial infectious diseases,*** United States patent US 20090233884, 17, (2009)

[96] K. Hanhineva, R. Torronen, L. Bondia-Pons, J. Pekkinen, M. Kolehmainen, H. Mykkanan, K. Poutanen, ***Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism***, International Journal of Molecular Sciences, 11(4), 1365–1402, doi:10.3390/ijms11041365, (2010)

[97] G. Williamson, ***Possible effects of dietary polyphenols on sugar absorption and digestion,*** Molecular Nutrition & Food Research, 57(1), 48–57. doi:10.1002/mnfr.201200511, (2013)

[98] M. Chaplin, C. Bucke, ***Enzyme Technology***, Cambridge University Press, 280, (1990).

[99] J.R. Sowers, M. Epstein, E.D. Frohlich, ***Hypertension and cardiovascular disease: an update,*** Hypertension, 37**,** 1053-1105, (2001)

[100] M. Toeller, ***α-Glucosidase inhibitors in diabetes: efficacy in NIDDM subjects,*** European Journal Clinical Investigation, 24, 3l-35, (1994)

[101] G. Danaei, M. Finucane, Y. Lu, G. Singh, M. Cowan, C. Paciorek, G. Stevens, ***Global burden of metabolic risk factors of chronic diseases collaborating group (blood glucose) national, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes***

prevalence since 1980, Systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants. *Lancet*, *378*(9785), (2011)

[102] A.Y.Y. Cheng, I.G. Fantus, ***Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes mellitus***, Canadian Medical Association Journal, 172, 213–226, (2005)

[103] P.M. deSales, P.M. deSouza, L.A. Simeoni, P.D.O. Magalhaes, D. Silveira, ***a-Amylase inhibitors: a review of raw material and isolated compounds from plant source,*** Journal Pharmaceutical Science, 15, 141–183, (2012)

[104] P. Cohen, M. Goedert, ***GSK3 inhibitors: Development and therapeutic Potential,*** Nature Reviews Drug Discovery, 3(6), 479–487, (2004)

[105] M. Cohen, V. W. Leong, E. Salmon, F.I. Martin, ***Role of guar and dietary fibre in the management of diabetes mellitus,*** The Medical Journal of Australia, 1(2), 59–61, (1980).

[106] I. Funke, M.F. Melzing, ***Traditionally used plants in diabetes therapy-phytotherapeutics as inhibitors of a-amylase activity,*** *Revista* Brasileira de Farmacognosia, 16, 1–5, (2006)

[107] B. Goke, C. Herrmann-Rinke, ***The evolving role of alphaglucosidase inhibitors***, Diabetes Metabolism Research, 14, 31– 38. (1998)

[108] R. Chakrabarti, R. Rajagopalan, ***Diabetes and insülin resistance associated disorders: disease and the therapy,*** Current Science, 83, 1533–1538, (2002)

[109] S.A. Tucci, E.J. Boyland, J.C.G. Halford, ***The role of lipid and carbohydrate digestive enzyme inhibitors in the management of obesity: a review of current and emerging therapeutic agents,*** Diabetes Metabolic Syndrome Obesity Targets Therapy, 3, 125–143, (2010)

[110] M.L. Barrett, J.K. Udani, ***A proprietary alpha-amylase inhibitor from white bean (Phaseolus vulgaris):*** a review of clinical studies on weight loss and glycemic control, Nutrition Journal, 10, 24, (2011)

[111] B. Svensson, K. Fukuda, P.K. Nielsen, B.C. Bonsager, ***Proteinaceous a-amylase inhibitors***, Biochemica et Biophysica Acta, 1696, 145–156, (2004)

[112] https://tr.wikipedia.org/wiki/Dosya:Acarbose.svg (15.01.2016)

[113] R. Koukiekolo, V. Le Berre-Anton, V. Desseaux, Y. Moreau, ***Mechanism of porcine pancreatic a-amylase Inhibition of amylose andmaltopentaose hydrolysis by kidney bean (Phaseolus vulgaris) inhibitor and comparison with that by acarbose***, European Journal Biochemical, 265, 20–26, (1999)

[114] H. Bischoff, ***Pharmacology of alpha-glucosidase inhibition,*** European Journal of Clinical Investigation, 24(Suppl. 3), 3–10. (1994).

[115] P. Hollander, ***Safety profile of acarbose, an alpha-glucosidase inhibitor,*** Drugs, 44(Suppl. 3), 47–53, (1992)

[116] P.B. Armstrong, ***The contribution of proteinase inhibitors to immune defense,*** Trends Immunol., 22, 47–52, (2001)

[117] N.D. Rawlings, A.J. Barrett, ***Families of serine peptidases,*** Meth. Enzymol. Methods in Enzymology, 244, 19–61 (1994).

[118] https://en.wikipedia.org/wiki/Trypsin (erişim tarihi 08.02.2016)

[119] http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/roche/pmsfro?lang=en&region=US&gclid=Cj0KEQjw5Z63BRCLqqLtpc6dk7gBEiQA0OuhsHxPij0a2tLZEiXOxNpEE_EARbH69CYXZsA3xvvtYMcaAmNH8P8HAQ (05.01.2016)

[120] C.T. Supuran, A. Scozzafava, B.W. Clare, ***Bacterial protease inhibitors,*** Medical Result and Review, 22(4):3, (2002)

[121] Q.K. Huynh, J.R. Borgmeyer, J.F. Zobel, ***Isolation and characterization of a 22 kDa protein with antifungal properties from maize seeds***, Biochemica et Biophysica Result Communication, 182(1), 1-5, (1992)

[122] M.L.V. Oliva, M.U. Sampaio, ***Action of plant proteinase inhibitors on enzymes of physiopathological importance,*** Anais da Academia Brasileira de Ciências, 81(3), 615-621,

29-372, (2009)

[123] M.J. Richardson, ***Seed storage proteins; The enzyme inhibitors, In Methods in Plant***, Biochemistry, Edited by M.J. Richardson New York: Academic Press, 259-305, (1991)

[124] M. Yamada, H. Yasuhara, ***Clinical pharmacology of MAO inhibitors: safety and future,*** Neurotoxicology, 25, 215–221, (2004).

[125] R. Singh, R. Ramakrishna, M. Bhateria, R.S. Bhatta, ***InVitro Evaluation of Bacopa monniera Extract and Individual Constituents on Human Recombinant Monoamine Oxidase Enzymes***, Phytotherapy Research, 28, 1419-1422, (2014)

[126] X. Hua Han, S.S. Hong, J.S. Hwang, M. Lee, B.Y. Hwang, J.S. Ro***, Monoamine Oxidase Inhibitory Components from Cayratia Japonica,*** Archibes of Pharmacal Research, *30, 13-17, (2007)*

[127] J. Saura Marti, R. Kettler, M. Da Prada, J.G. Richards, ***Molecular neuroanatomy of MAO-A and MAO-B.*** Journal of Neural Transmission Supplementum, 32, 49-53, (1990).

[128] J.A. Bodkin, J.D. Amsterdam, ***Transdermal selegiline in major depression: a double-blind, placebo-controlled, parallel-group study in outpatients,*** American Journal of Psychiatry, 159, 1869–1875, (2002).

[129] V. Butterweck, A. Nahrstedt, J. Evans, S. Hufeisen, L. Rauser, J. Savage, B. Popadak, P. Ernsberger, B.L. Roth, ***In vitro receptor screening of pure constituents of St. John'sWort reveals novel interactions with a number of GPCRs,*** Psychopharmacology Bulletin, 162, 193–202, (2002)

[130] A.K. Jager, G.I. Stafford, P.D. Pedersen, J. Van Staden, ***Monoamine oxidase inhibition by southern African traditional medicinal plants,*** South African Journal of Botany, 73, 384–390, (2007).

[131] F. Mahomoodally, ***Let food be thy medicine: exotic fruits and vegetables as therapeutic components for obesity and other metabolic syndromes, in Novel Plant Bioresources: Applicationsin Food, Medicine and Cosmetics***, Wiley-Blackwell, 1st edition,

350–351, (2014)

[132] U. Taukoorah, M. F. Mahomoodally, ***Crude Aloe vera Gel Shows Antioxidant Propensities and Inhibits Pancreatic Lipase and Glucose Movement In Vitro***, Hindawi Publishing CorporationAdvances in Pharmacological Sciences, 9, (2015)

[133] W.W. Mao and J.E. Kinsella, ***Amylase activity in banana fruit: properties and changes in activity with ripening***, Journal of Food Science, 46, 5, 1400–1403, (1981)

[134] G. Pistia-Brueggeman, R.I. Hollingsworth, ***A preparation and screening strategy for glycosidase inhibitors,*** Tetrahedron, 57, 42, 8773–8778, (2001)

[135] C.D. Zheng, Y.Q. Duan, J.M. Gao, Z.G. Ruan, ***Screening for Anti-lipase Properties of 37 Traditional ChineseMedicinal Herbs***, Journal of the Chinese Medical Association, 73, 6, 319–324, (2010)

[136] Y. Bustanji, A. Issa, M. Mohammad, ***Inhibition of hormone sensitive lipase and pancreatic lipase by Rosmarinusofficinalis extract and selected phenolic constituents***, Journal of Medicinal Plants Research, 4, 21, 2235–2242, (2010)

[137] N.G. Sahib, ***Anti-Pancreatic Lipase And Antıoxıdant Actıvıty Of Selected Tropıcal Herbs,*** International Journal of Food Properties, 15, 569–578, (2012)

[138] M. DPT Gunawan-Puteri, E. Kato, J. Kawabata ***α-amylase inhibitors from an Indonesian medical herb, Phyllanthus urinaria***, Society of Chemical Industry (J. SCI Food Agric), 92, 606-609, (2011)

[139] M. Marrelli, M.R. Loizzo, M.N. Nicoletti, F.Menichini, F. Conforti, ***Inhibition of Key Enzymes Linked to Obesity by Preparations From Mediterranean Dietary Plants: Effects on α-Amylase and Pancreatic Lipase Activities***, Plant Foods for Human Nutrition, 68, 340-346, (2013)

[140] Y. Lee, Y.S. Kim, J. Kim, H. Sun, J.H. Kim, J.S. Kim, ***Inhibitory Activities of Pancreatic Lipase and Phosphodiesterase from Korean Medicinal Plant Extracts,*** Phytotherapy Research, 26, 778-782, (2012)

[141] Y. Kim, M. Kang, ***Screening of Korean Medicinal Plants for Lipase Inhibitory Activity***, Wiley International Science, 19, 359-361, (2005)

[142] F. Conforti, V. Perri, F. Menichini, M. Marrelli, D. Uzunov, G.A. Statti, F. Menichini, ***Wild Mediterranean Dietary Plants as Inhibitors of Pancreatic Lipase***, Wiley Online Library, 26, 600-604, (2012)

[143] N.W. Tietz, J.R. Astles, D.F. Shuey, ***Lipase activity measured in serum by a continuous-monitoring pH-Stat technique, an update,*** Clinical Chemical, 35, 1688–1693, (1989)

[144] C. Kaewpiboon, K. Lirdrapamongkol, C. Srisomsap, P. Winayanuwattikun, T. Yongvanich, P. Puwaprisirisan4, J. Svasti, W. Assavalapsakul, ***Studies of the in vitro cytotoxic, antioxidant, lipase inhibitory and antimicrobial activities of selected Thai medicinal plants,*** BMC Complementary and Alternative Medicine, 12, 212-217, (2012)

[145] P.C. Hsieh, G.J. Huang, .L. Ho, Y.H. Lin, S.S. Huang, Y.C. Chıang, M.C. Tseng, Y.S. Chang, ***Activities of antioxidants, α-Glucosidase inhibitors and aldose reductase inhibitors of the aqueous extracts of four Flemingia species in Taiwan,*** 51, 293-302, (2010)

[146] T. Matsui, T. Ueda, K. Sugita, N. Terahara, ve K. Matsumoto, ***Alpha-glucosidase inhibitors action of natural acylated anthocyanins. Survey of natural pigments with potent inhibitory activity,*** Journal Agriculture Food Chemical, 49, 1948-1951, (2001)

[147] S.P. de Souza, L. S. Pereira, A. Souza, C.D. dos Santos***, Inhibition of pancreatic lipase by extracts of Baccharis trimera: evaluation of antinutrients and effect on glycosidases,*** Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy, 21(3), 450-455, (2011)

[148] J.S. Kim, ***İnhibition of Alpha-glucosidase and Amylase by Luteolin a flavanoid***, Bioscience Biotechnology Biochemical, 64, 2458-2461, (2000)

[149] L. Zhang, B. Bai, X. Liu, Y.Wang, M. Li, D. Zhao, ***a-Glucosidase inhibitors from Chinese Yam (Dioscorea opposita Thunb.),*** Food Chemistry, 126, 203-206, (2011)

[150] N. Akissoe, C. Mestres, J. Hounhouigan, M. Nago, ***Biochemical origin ofbrowning during the processing of fresh yam (Dioscorea spp.) into dried product***, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 2552–2557, (2005)

[151] C.M. Ma, M. Hattori, M. Daneshtalab, L. Wang, ***Chlorogenic acid derivatives with alkyl chains of different lengths and orientations: Potent aglucosidase inhibitors,*** Journal of Medicinal Chemistry, 51, 6188–6194, (2008)

[152] C.M. Ma, N. Sato, X. Li, X. Yu, N. Nakamura, M. Hattori, ***Flavan-3-ol contents, anti-oxidative and a-glucosidase inhibitory activities of Cynomorium songaricum,*** Food Chemistry, 118, 116–119, (2010)

[153] S. Kim, S. Jo, Y. Kwon, J. Hwan, ***Effects of Onion (Allium cepa L.) Extract Administration on Intestinal α-Glucosidases Activities and Spikes in Postprandial Blood Glucose Levels in SD Rats Model***, International Journal of Molecular Sciences, 12, 3757-3769, (2011)

[154] A. Dahlqvist, ***Method for assay of intestinal disaccharidases,*** Analytical Biochemistry, 7, 18–25, (1964)

[155] N. Christhudas, P. Kumar, C. Sunil, S. Vajravijayan, R.L. Sundaram, S.J. Siril, P. Agastian, ***In vitro studies on a-glucosidase inhibition, antioxidant and free radical scavenging activities of Hedyotis biflora L.***, Food Chemistry, 138, 1689-1695, (2013)

[156] S. Katekhaye, M. Nagmoti, ***α-Glucosidase and α-amylase inhibitory activities of Pithecellobium dulce bark and leaves***, Phytopharmacology, 4, 123-130, (2013)

[157] R. Tundis, M.R. Loizzo, G.A. Statti, F. Menichini, ***Inhibitory effects on the digestive enzyme a-amylase of three Salsola species (Chenopodiaceae) in vitro***. Pharmazie, 62, 473–475, (2007).

[158] L.A. Kapustka, A. E. Annala, W.C. Swanson, ***The peroxidase–glucose oxidase system: A new method to determine glucose liberated by carbohydrate degradino soil enzymes***, Plant and Soil, 63, 487–490, (1981)

[159] F. Menichini, R. Tundise. M. Bonesi, M.R. Loizzo, F. Conforti, G. Statti, B.D. Cindio, P.J. Houghton, F. Menichini, ***The influence of fruit ripening on the phytochemical content and biological activity of Capsicum chinense Jacq. cv Habanero,*** Food Chemistry, 114, 553-560, (2009)

[160] D. Shahwar, M.A. Raza, S.U. Rehman, M.A. Abbasi, A.U. Rahman, ***An investigation of phenolic compounds from plant sources as tyripsin inhibitors***, Natural Product Research, 26, 1087-1093, (2012)

[161] D. Shahwar, M.A. Raza, A.U. Rahman, ***Identification of flavonoids with trypsin inhibitory activity extracted from orange peel and green tea leaves,*** Science Citation Index, 93, 1420-1426, (2013)

[162] H.T. Olsen, G.I. Stafford, J.V. Staden, S.B. Christensen, A.K. Jager, ***Isolation of the MAO inhibitor naringenin from Mentha aquatica L.***, Elseiver (Journal of Ethnopharmacology), 117, 500-502, (2008)

[163] A.K. Jager, B. Gauguin, J. Andersen, ***Screening of plants used in Danish folk medicine to treat depression and anxiety for affinity to the serotonin transporter and inhibition of MAO-A,*** Journal Ethnopharmacol, 145, 822-825, (2013)

[164] O. Yıldız, F. Karahalil, Z. Can, H. Sahin, S. Kolayli, ***Total monoamine oxidase (MAO) inhibition by chestnut honey, pollen and propolis,*** Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 29, 690-94, (2014)

[165] A. Holt, DS. Sharman, GB. Baker, MM. Palcic, ***A continuous spectrophotometric assay for monoamine oxidase and related enzymes in tissue homogenates,*** Analitic Biochemical, 244, 384-92, (1997)

[166] K. Schmidt, Z. Li, B. Schubert, ***Screening of entomopathogenic Deuteromycetes for activities on targets involved in degenerative diseases of the central nervous system,*** Journal Ethnopharmacol, 89, 251-60, (2003)

[167] R. Singh, R. Ramakrishna, M. Bhateria, R.S. Bhatta, ***InVitro Evaluation of Bacopa monniera Extract and Individual Constituents on Human Recombinant Monoamine***

Oxidase Enzymes, Phytotherapy Research, 28, 1419-1422, (2014)

[168] http://www.google.com/patents/US8211848 (08.01.2016)

[169] P. Mccue, Y. Kwon, K. Shetty, **Anti-Amylase, Anti-Glucosidase And Anti-Angiotensin I converting Enzyme Potential of Selected Foods,** Journal Food Biochemical, 29, 278-294, (2005)

[170] http://www.sigmaaldrich.com/life-science/biochemicals/biochemical-roducts.html?TablePage=108659037 (27.12.2015)

[171] Y.I. Kwon, E. Apostolidis, K. Shetty, ***Inhibitory potential of wine and tea aganist α-amylase and α-glucosidase for management of hyperglycemia linked to type 2 diabetes,*** Journal Food Biochemical, 32, 15-31, (2006)

[172] http://www.sigmaaldrich.com/life-science/biochemicals/biochemical.roducts.html,TablePage=108659037 (27.12.2015)

[173] http://www.sigmaaldrich.com/life-science/metabolomics/enzyme-explorer/analytical-enzymes/tryptase.html (27.12.2015)

[174] N. Luyen, L. Tram, T.T. Hong, P.T. Binh, N.H. Dang, C.V. Minh, N.T. Dat, **Inhibitors of a-glucosidase, a-amylase and lipase from Chrysanthemum Morifolium,** Phytochemistry Letters, 6, 322–325, (2013)

[175] S.D. KIM, ***α-Glucosidase inhibitor from Buthus martensi Karsch***, Food Chemistry, 136, 297-300, (2012)

ÖZGEÇMİŞ

11 Aralık 1989 tarihinde Edirne'de doğdum. İlköğrenimimi Edirne'de Kadripaşa İlkokulu ve İnönü İlköğretim Okulu'nda birincilikle bitirdim. Edirne İlhami Ertem Lisesi'nde (YDA-Süper Lise) orta öğrenimimi de dereceyle sonlandırdıktan sonra 2008 yılında Trakya Üniversitesi, Fen Fakültesi Kimya Bölümü'nde lisans öğrenimime başarı bursu kazanarak başladım. 2012 yılında % 10'luk dilime girerek lisans eğitimimi tamamladım. Hemen akabinde Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Biyokimya Dalı'nda yüksek lisansa başladım, aynı zamanda 2012-2015 yılları arasında özel bir kurumda Fen Bilimleri ve Kimya öğretmenliği de yaptım. Şu an yüksek lisans eğitimimi sürdürmekteyim.