T.C.
ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Digitalis lamarckii Ivanina (YÜKSÜK OTU) BİTKİSİNİN ÇEŞİTLİ KISIMLARINDAN ELDE EDİLEN EKSTRELERİN PANKREATİK LİPAZ ENZİMİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

KİMYA ANABİLİM DALI

Reyhan ÖZDEMİR

ÇANKIRI
2019

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Reyhan ÖZDEMİR tarafından hazırlanan **" *Digitalis lamarckii* Ivanina (Yüksük otu) Bitkisinin Çeşitli Kısımlarından Elde Edilen Ekstrelerin Pankreatik Lipaz Enzimi Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması "** adlı tez çalışması .../.../2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Şevki ADEM

Jüri Üyeleri :

Başkan: Doç. Dr. Veysel ÇOMAKLI

Üye: Doç. Dr. Volkan EYÜPOĞLU

Üye: Doç. Dr. Şevki ADEM

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Tamer KEÇELİ

Enstitü Müdürü

.../.../2019

Kontrol edilmiştir.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum "***Digitalis lamarckii* Ivanina (Yüksük Otu) Bitkisinin Çeşitli Kısımlarından Elde Edilen Ekstrelerin Pankreatik Lipaz Enzimi Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması** " konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı"yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim. (...../...../20.....).

Reyhan ÖZDEMİR

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum "***Digitalis lamarckii* Ivanina (Yüksük Otu) Bitkisinin Çeşitli Kısımlarından Elde Edilen Ekstrelerin Pankreatik Lipaz Enzimi Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması** " konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı"yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim. (……/……/20…..).

Reyhan ÖZDEMİR

ÖZET

Y. Lisans Tezi

Digitalis lamarckii Ivanina (YÜKSÜK OTU) BİTKİSİNİN ÇEŞİTLİ KISIMLARINDAN ELDE EDİLEN EKSTRELERİN PANKREATİK LİPAZ ENZİMİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Reyhan ÖZDEMİR

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Şevki ADEM

Yağların hidrolizi ve sentezinde önemli olan enzimler lipazlardır. Günümüz koşullarında değişen beslenme alışkanlıkları obeziteyi kronik hale getirmiştir. Obezite lipaz enziminin inhibisyonu ile kontrol altına alınabilir. Eski çağlardan bu yana bitkiler her zaman tedavi amaçlı kullanılmıştır. Anti-obezite özelliği bulunan bitkisel ve doğal ürünlerin Pankreatik lipaz enzimi inhibisyonu üzerine etkisinin belirlenmesi önem arz etmektedir.

Bu çalışmada *Digitalis lamarckii* Ivanina bitkisinin kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımlarından elde edilen metanol, hekzan, kloroform, aseton ve kaynatma ekstrelerinin Pankreatik lipaz inhibisyonu aktiviteleri incelenmiştir. Ekstreler 64-761 µg/ml IC_{50} değerleri aralığında inhibisyon etkisi göstermiştir. Gövde kaynatma ve hekzan ile elde edilen ekstre 64 ve 101 µg/ml IC_{50} değerleri ile en yüksek inhibisyon etki göstermişlerdir.

Eylül, 2019

Anahtar Kelimeler: Pankreatik lipaz, inhibisyon, *Digitalis lamarckii*, Ekstre, obezite

SUMMARY

Master of Science Thesis

THE INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF EXTRACTS FROM DIFFERENT PARTS OF *Digitalis lamarckii* Ivanina (YÜKSÜK OTU) PLANT ON PANCREATIC LIPASE ENZYME

Reyhan ÖZDEMİR

Çankırı Karatekin University Graduate School of
Natural and Applied Sciences Department of
Chemistry

Supervisor: Doc. Dr. Şevki ADEM

The enzymes that are important in hydrolysis and synthesis of lipids are lipases. Changing dietary habits in today's conditions have made obesity chronic. Obesity can be controlled by inhibition of lipase enzyme. Since ancient times, plants have always been used for therapeutic purposes. It is important to determine the effect of herbal and natural products on anti-obesity on pancreatic lipase enzyme.

In this study, pancreatic lipase inbition activities of methanol, hexane, chloroform, acetone, and boiling extract obtained from root, stem, leaf and flower parts of *Digitalis lamackii Ivanina* plant were analyzed. Extracts showed inhibition effect between IC_{50} values of 64-761 µg/ml. Extract obtained by trunk boiling and hexane showed the highest inhibition effect with values of 64 and 101 µg/ml IC_{50}.

September, 2019

Keywords: Pancreatic lipase, inhibition, Digitalis lamackii, extract, obesity

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca ilgi ve alakasını eksik etmeyen, yol gösteren, desteğini esirgemeyen, sayın danışman hocam Doç. Dr. ŞEVKİ ADEM'e, tezimin laboratuvar çalışmaları sırasında her türlü bilgi birikimini benimle paylaşan Uzman Ali Rıza TÜFEKÇİ'ye, bitkilerimi temin etmede bana yardımcı olan Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Araştırma görevlisi Dr. M. Ümid Bingöl'e, öğrenimim boyunca benimle değerli bilgilerini paylaşan ve bana yol gösteren Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Anabilim Dalı öğretim üyelerine teşekkür ederim.

Ayrıca her aşamada bana destek olan sevgili babam Satılmış ÖZDEMİR'e tüm emeklerinden dolayı çok teşekkür ederim.

Reyhan ÖZDEMİR
Çankırı, Eylül 2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
SUMMARY ..... **ii**
TEŞEKKÜR ..... **iii**
İÇİNDEKİLER ..... **iv**
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ ..... **v**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **vi**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **viii**
1.GİRİŞ **1**
1.2. Enzimler **5**
1.3. Lipaz **7**
2. KAYNAK ÖZETLERİ **11**
3. MATERYAL VE YÖNTEM **16**
3.1 Materyal **16**
3.2 Yöntem **18**
3.2.1 Ekstraksiyon **18**
3.2.2 Enzim Çalışmaları **22**
4. BULGULAR **24**
5. TARTIŞMA VE SONUÇ **36**
KAYNAKLAR **38**
ÖZGEÇMİŞ .....

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
% :	Yüzde
°C :	Santigrat Derece
dk :	Dakika
g :	Gram
kg :	Kilogram
m2 :	Metrekare
mg :	Miligram
mL :	Mililitre
mM :	Milimolar
nm :	Nanometre
µg :	Mikrogram
ng :	Nanogram
µL :	Mikrolitre
µM :	Mikromolar
α :	Alfa
± :	Artı-Eksi
PL:	Pankreatik Lipaz

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. 1. Triaçilgliserollerin sindirimi, taşınması ve kullanımı (Keha ve Küfrevioğlu 2000) 5
Şekil 1. 2. Lipazların hidroliz tepkimesi 8
Şekil 1. 3. Pankreatik lipaz-kolipaz ve inhibitör kompleksi (Mukherjee 2003) 9
Şekil 1. 4. Orlistatın formülü (Clapham ve ark. 2001) 10
Şekil 1. 5. Orlistatın yan etkileri (Sjostrom ve ark. 1998) 10
Şekil 3. 1. Spektrofotometre / multiplate reader 16
Şekil 3. 2. Otomatik pipet 16
Şekil 3. 3. 96 Kuyucuklı plate 17
Şekil 3. 4. *Digitalis lamarckii Ivan.*toplanma bölgesi İst.1, Kızılcahamam-Gerede yolu 28. km Şahinler göleti yakını yolun sağı, 1469m 19
Şekil 3. 5. *Digitalis Lamackii İvan* bitkisinin toplanma bölgesinde çekilmiş fotoğrafı 19
Şekil 3. 6. *Digitalis Lamarckii* Ivan bitkisinin kurutulmuş ve bölümlerine ayrılmış hali 20
Şekil 3. 7. Ekstraksiyon sonrası çözeltiler 21
Şekil 3. 8. Lipaz enziminin reaksiyonu ve oluşan ürün 22
Şekil 4. 1. *D.lamarckii* kök aseton ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi 25
Şekil 4. 2. *D.lamarckii* gövde aseton ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi 26
Şekil 4. 3 *D.lamarckii* yaprak aseton ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi 26
Şekil 4. 4. *D.lamarckii* çiçek aseton ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi 27
Şekil 4. 5. *D.lamarckii* kök metanol ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi 27
Şekil 4. 6. *D.lamarckii* gövde metanol ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi 28
Şekil 4. 7. *D.lamarckii* yaprak metanol ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi 28
Şekil 4. 8. *D.lamarckii* çiçek metanol ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi 29
Şekil 4. 9. *D.lamarckii* kök kloroform ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi 29
Şekil 4. 10. *D.lamarckii* gövde kloroform ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi 30
Şekil 4. 11. *D.lamarckii* yaprak kloroform ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi 30

Şekil 4. 12. *D.lamarckii* çiçek kloroform ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi..... 31
Şekil 4. 13. *D.lamarckii* kök hekzan ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi 31
Şekil 4. 14. *D.lamarckii* gövde hekzan ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi 32
Şekil 4. 15. *D.lamarckii* yaprak hekzan ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi..... 32
Şekil 4. 16. *D.lamarckii* yaprak hekzan ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi..... 33
Şekil 4. 17. *D.lamarckii* kök kaynatma ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi 33
Şekil 4. 18. *D.lamarckii* gövde kaynatma ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkis..... 34
Şekil 4. 19. *D.lamarckii* yaprak kaynatma ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi..... 34
Şekil 4. 20. *D.lamarckii* çiçek kaynatma ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi..... 35

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1. 1. Obezite ile beraber ortaya çıkan bazı hastalıklar (Keha ve Küfrevioğlu 2000) 3
Çizelge 2. 1. Trigliserid Molekülü..... 11
Çizelge 2. 2. *Moricandia Arvensis* bitkisinin MeOH ekstresinin Lipaz inhibisyonu (Marrelli ve ark. 2018)..... 12
Çizelge 2. 3. Pankreatik Lipazın Bazı Bitki Ekstrelerinde İnhibisyonu (Elbashir ve ark. 2018)..... 12
Çizelge 2. 4. Pankreatik Lipazın Bazı Bitki Ekstrelerinde İnhibisyonu (El-shiekh ve ark. 2019)..... 13
Çizelge 2. 5. S. Argel Etanol Ekstratından İzole Edilen Bileşiklerin Lipaz İnhibisyonu (El-shiekh ve ark. 2019) 14
Çizelge 2. 6. Bazı bitkilerin Pankreatik lipazı inhibe etmek için gereken metanolik bitki özütlerinin IC50 değerleri (mg/ml) (Zhou ve ark. 2005, Fang ve ark. 2008, Wang ve ark. 2009, Buchholz ve ark. 2016) 14
Çizelge 3. 1. Ekstraksiyon işlemi sonrası elde edilen ekstrakt miktarları 21
Çizelge 3. 2. Lipaz enzim aktivitesi ölçümünde kullanılan reaktifler ve miktarları 22
Çizelge 4. 1. Bitkinin sulu ekstrelerinin lipaz enzimi üzerinde aktivitesi 24

1.GİRİŞ

Ülkemizin sahip olduğu zengin bitki örtüsü her zaman dikkat çekmektedir. *Digitalis* (Plantaginaceae) cinsi ülkemiz florasında 36 civarı türden oluşur(Güneş ve Özhatay 2000). *Digitalis* türlerinin bazı bölümleri tıbbi tedaviler amacıyla kullanılmaktadır, günümüzde kadar yapılan çalışmalarda *D. Lamarckii* bitkisinin antibakteriyel etkisi de gözlemlenmiştir (Benli ve ark. 2009). *Digitalis* türleri Alzheimer, Tip II diyabet ve cilt hastalıklarında etkili olan enzimlere karşı antioksidan aktiviteleri gösterilmiştir (Zengin ve ark. 2017). *D. Lamarckii* bitkisinin kolinesteraz, a-amilaz ve tirozinaz enzimi ile yapılan çalışmalarda enzim inhibe edici etkisi oldukça düşük olduğu belirtilmiştir (Zengin ve ark. 2017).

Tarih öncesi çağlarda tedavi yöntemleri henüz günümüzdeki kadar gelişmemişken hastalıkların tedavisinde bitkiler şifa kaynağı olarak kullanılmaktaydı (BİLGİN ve KOCABAĞLI 2010). Günümüz koşullarında sağlık alanında geliştirilen tedavi yöntemlerinin yanında bitkiler hala şifa kaynağı olarak kullanılmaktadır (Shu 1998). Modern çağda tıp ilerledikçe geliştirilen yeni yöntemlerin yanında kullanılan şifalı bitkilerin biyolojik etkinliklerine olan ilgi artmıştır (Newman ve Cragg 2007). Teknikler ilerledikçe bitkilerin şifa kaynağı olarak kullanılması kaçınılmazdır.

Yağların hidrolizi ve sentezlenmesinde görev alan anahtar enzimler lipazlardır (triaçilgliserol hidrolazlar, EC 3.1.1.3). Biyokimyasal ve fizyolojik özelliklerinden dolayı birçok araştırmaya konu olmuşlardır. Bununla beraber doğada yaygın olarak bulunmaktadır. Obezite tedavisinde yer alan tedavilerde amaç pankreatik lipazın inhibe edilmesini sağlamaktır. Obezite ve diyabet günümüz koşullarında değişen beslenme alışkanlıkları ve işlenmiş gıdaların tüketiminin artmasıyla kronik hale gelmiştir, tedavisinde ilaçlar genellikle pazarlama amaçlı üretilir ve bununla beraber birtakım yan etkiler sağlığı etkiler. Pankreatik lipazın inhibisyonunda bitkisel kaynakların kullanılması obezite tedavisinde etkinliğinin belirlenmesi tedavi için oldukça önemlidir (Keha ve Küfrevioğlu 2000). Bu sebeple bitkisel kaynaklı malzemelerin bu hastalıkların tedavisinde lipazı inhibe etmesini sağlaması artan bir yöntemdir.

Çağımızın en yaygın hastalıklarından biri olan obezite vücutta yağ dokusu miktarının aşırı olması olarak tanımlanır. Obezite vücut ağırlığının artması olarak düşünülse de aslında yanlış bi düşüncedir. Obezitenin ölçümünde Beden Kitle İndeksi (BKİ) kullanılmaktadır.

Dünya üzerinde 1 milyara yakın insan aşırı kiloludur (Keha ve Küfrevioğlu 2000). Gelişmekte olan ülkelerde özellikle yeme alışkanlıklarının batıya göre değişmesi obezite sıklığını artırmaktadır. Obezitenin sürekli artması ile tıbbi harcamalar ve iş gücü kaybı yıllık 100 milyar doları geçen kayba neden olmaktadır (Keha ve Küfrevioğlu 2000). Geçmişte gerçekleştirilen birçok çalışmada obeziteden muzdarip kişilerde görülen başlıca hastalıklar aşağıda verilmiştir.

Obezite ile mücadele etmek çok zor aynı zamanda yıpratıcı bir süreçtir. Obezite tedavisinde birçok tedavi yöntemi bulunmaktadır. İlaç tedavisi diyetin yeterli olmadığı durumlarda tercih edilmektedir. Günümüzde yine tedavi için ameliyatla midenin küçültülmesi sık tercih edilen bir yöntemdir. Tüm bunlarla beraber obezite için düzenlenen diyetler vücuda alınan besinlerdeki enerji miktarının tüketilen enerji miktarının altına indirmek en etkili olanıdır. Bunun için diyetlerin büyük kısmı besin değeri olmayan yiyeceklerden oluşmaktadır (Keha ve Küfrevioğlu 2000).

Obezite tedavisinde en dikkat çeken yöntem sindirimde absorpsiyon inhibitörlerini geliştirip diğer mekanizmalara zarar vermeden enerji alımını en aza indirmektir bunlarla beraber bitkisel ürünleri obezite önleyici ajanlar olarak kullanmak için Pankreatik lipaz en önemli çalışmalardandır (Keha ve Küfrevioğlu 2000).

Çizelge 1. 1. Obezite ile beraber ortaya çıkan bazı hastalıklar (Keha ve Küfrevioğlu 2000)

Solunum Sistemi	Primer alveolar hipoventilasyon, dispne, obstrüktif uyku apnesi
Kardiyovasküler Sistem	Koroner kalp hastalığı, hipertansiyon, derin ven trombozu
Nörolojik Sistem	Sinir sıkışmaları, siyatalji
Gastrointestinal Sistem	Hiatus hernisi, reflü, non-alkolik yağlı karaciğer, safra taşları, kolorektal kanser, hemoroit
Metabolik- Endokrin Sistem	Tip 2 diyabet, dislipidemi, polikistik over sendromu
Genitoüriner Sistem	Stres inkontinansı, fertilite azalması, cinsel iliĢkide mekanik güçlük, gebelik komplikasyonları, üriner taşlar
Artropatiler	Osteoartrit, düz tabanlık
Psikososyal	Depresyon, anksiyete, iş bulmada güçlük, yüksek hayat sigortası primleri, ameliyat riskinde artış
Meme ile ilgili	Meme kanseri, jinekomasti
Diğer	Horlama, kronik iltihabi reaksiyon (C-reaktif protein (CRP) yükselmesi)

1.1. Lipidler

Doğada ve aynı zamanda karbonhidratlar ve proteinlerle birlikte canlılarda bulunan hayatsal faaliyetler için çok önemli olan organik madde grubudur. Vücuda alınan enerjinin fazlasının depolanmasını gerçekleştirir ve depolanan enerji gerekli oldukça kullanılır.

Lipidlerin organizma için oldukça fazla görevleri vardır. Bunlar;

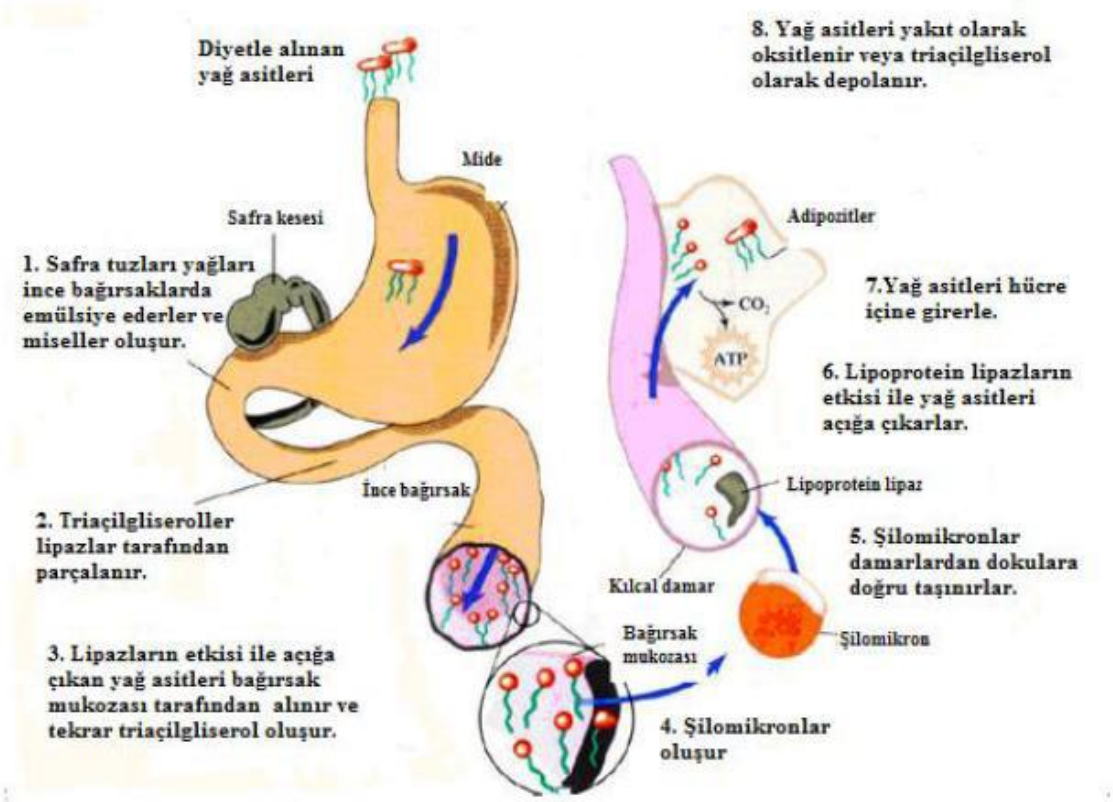
- Hücre zarında yapı taşı olmaları
- Organizmada gerekli olduğunda yakıt olarak depo edilebilmeleri

- Bakterilerin hücre duvarları ve cilt için koruyucu madde olmaları

Ek olarak cilt altı izolasyon maddesi ve iç organlara destek olarak onları korumak gibi görevleri de vardır (Fersht 1985).

Diyetteki lipidlerin büyük oranı triaçilgliserol az oranı ise fosfolipid, kolesterol ve kolesterol esterleridir.

Gliserinin yağ asitleriyle yaptığı esterlere gliserid veya açilgliserol denir. Gliseridlerin temel bileşeni yağ asitleridir. Gliserol üç hidroksili bir alkol olduğundan, üç tür gliserol verebilir. Gliserolün bir alkol grubu bir molekül yağ asidi ile esterleşirse monoaçilgliserol, iki alkol grubu iki molekül yağ asidi ile esterleşirse diaçilgliserol, üç alkol grubu üç molekül yağ asidi ile esterleşirse triaçilgliseroller oluşur. Beslenme yoluyla canlı vücuduna girdiklerinde ağızda herhangi bir sindirime uğramadan ince bağırsağa giderler, ince bağırsak sıvısı içerisinde dağılırlar ve bağırsak hareketleri yoluyla mekanik sindirim gerçekleşir lipidler küçük parçalara ayrılırlar. Pankreatik lipaz triaçilgliserollerin hidrolizini katalize eder. Triaçilgliserollerin yolculuğu Şekil 1.1'de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 1. 1. Triaçilgliserollerin sindirimi, taşınması ve kullanımı (Keha ve Küfrevioğlu 2000)

1.2. Enzimler

Laboratuvar ortamında biyolojik sistemlerde meydana gelen tepkimeleri gerçekleştirmek istediğimizde basınç, yüksek sıcaklık vb. şartlar gereklidir. Bunlarla beraber dahi bazı reaksiyonların gerçekleşmesi oldukça yavaştır. Bu tepkimelerin hızlı ve kolayca gerçekleşmesini sağlayan biyolojik katalizörlere enzim denir. Enzimler belirli maddeler arasındaki reaksiyonları katalizleyen makromoleküllü proteinlerdir. Enzimler kimyasal katalizörlerden farklıdır bunun en önemli sebebi ise spesifik olmalarıdır (Fersht 1985).

Enzim çalışmalarının geçmişi 1878 yılına uzanmaktadır. Sumner isimli bilim adamı ilk kez bir enzimi kristal halde elde ederek buna ’üreaz’ adını vermiştir. Bu keşfi izleyen uzun yıllarda konuyla ilgili araştırmalar artarak enzimoloji adı verilen bilim dalı doğmuştur. Geçmişte enzim aktivitelerinin sadece hücre içerisinde olduğunu

düşünülürken yapılan araştırma ve çalışmalarla hücre dışında aktivitelerinin sağlandığı görülmüş ve endüstriyel koşullarda kullanılabileceği anlaşılmıştır (Keha et al., 2000)

Zaman geçtikçe ortaya çıkan birçok enzim bilim insanlarının onları sınıflandırmasını ve sistematik isimlendirmesini sağlamıştır. Uluslararası enzim komisyonu katalizlediklteri tepkime ve mekanizmalarına göre enzimleri sınıflandırmıştır ayrıca her enzime sistematik bir kod numarası verilmiştir ve bu numara E.C. (Enzyme commission) harflerinin ardından gelen 4 rakamdan oluşur.

Enzimlerin ayrılmış oldukları 6 ana grup aşağıdadır (Fersht 1985).

I. **Oksidoredüktazlar:** İki substrat arasındaki redoks reaksiyonlarını katalizleyen enzimlerdir.
II. **Transferazlar:** İki substrat arasındaki hidrojen dışındaki grupları transferini katalizleyen enzimlerdir.
III. **Hidrolazlar:** Ester, eter, peptid, glikozit, anhidrit, C-halojenür veya P-N bağlarının bir H_2O molekülünün katılmasıyla hidrolizini katalizleyen enzimlerdir.
IV. **Liyazlar:** Hidrolizden farklı bir mekanizmayla substratlardan grupların uzaklaştırılıp, çift bağların oluşturulduğu tepkimeleri katalizleyen enzimlerdir.
V. **İzomerazlar:** Geometrik, optik ya da yapısal izomerlerin birbirine dönüştürülmesini sağlayan tepkimeleri katalizleyen enzimlerdir.
VI. **Ligazlar:** Yüksek enerjili ATP ve GTP gibi fosfat bileşiklerinden fosfat bağının kopmasıyla ortaya çıkan enerji yardımıyla iki molekülün bağlanması tepkimelerini katalizleyen enzimlerdir.

Enzimatik reaksiyonun hızının enzim inhibitörleri yardımıyla azaltılması ya da tamamen durdurulmasıdır. Enzim inhibisyonu geri dönüşümlü ya da geri dönüşümsüz oolabilir. Dönüşümsüz inhibitör ayrılması zor bir yapı oluşturur. Dönüşümlü inhibitör; yarışmalı, yarışmasız ve yarı yarışmalı olarak üçe ayrılır.

Yarışmalı inhibisyon da inhibitör ile substrat enzimin aynı aktif bölgesine bağlanmakta yarışırlar. İnhibisyon etkisi, substrat konsantrasyonu arttıkça azalmaktadır. Yarışmalı inhibisyon da K_M değeri artar Vmax değişmez.

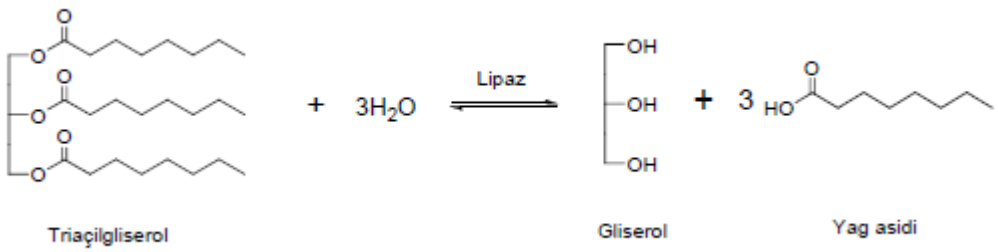
Yarışmasız inhibisyonda, inhibitör ile substrat enzimin farklı bölgelerine bağlandığından genelde inhibisyon etkisi substrat konsantrasyonundan bağımsızdır. Bu inhibisyon da Vmax düşerken K_M değişmez.

Yarı yarışmalı inhibisyonda, inhibitör ES (enzim-substrat) kompleksine bağlanır. Bu inhibisyon da Vmax ve KM azalır. İnhibitör etkilerini genel olarak yarışmalı ve yarışmasız olarak kesin sınırlarla birbirinden ayırmak mümkün değildir. Genel olarak karışık inhibisyon gözlenir(Keha et al., 2000)

1.3. Lipaz

Lipazlar hayvansal, bitkisel yağların hidrolizini katalizleyen enzimlerdir. Lipazlar genel olarak C ve N olarak ayrılan polipeptid zincirinden oluşur. Lipazlar pankreas ve sindirim sisteminde meydana gelen rahatsızlıklarda kullanılan önemli ilaçlardır. Organik çözücülerde özelliklerini kaybetmemeleri sentez potansiyellerinin geniş olmasını sağlamıştır. Mikroorganizmalardan elde edilen lipazlar daha çok ticari olarak kullanılmaktadır (Mukherjee 2003).

Lipazların lipid metabolizmasında önemli görevleri bulunmaktadır. Günlük beslenmede 50-120 g lipid bulunur ve bu lipidlerin %95'inden fazlası trigliseritlerden oluşur. Trigliserit sindiriminde görevli olan enzim lipazlardır. Lipazların etkin görev aldığı hidroliz reaksiyonu şekil 2.2'de gösterilmiştir.



Şekil 1. 2. Lipazların hidroliz tepkimesi

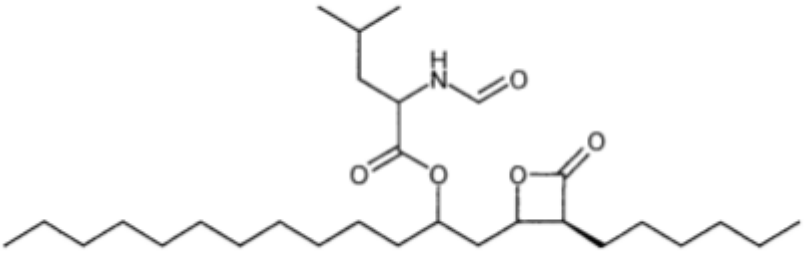
Pankreatik lipaz diyetsel yağın sindiriminde kullanılan pankreas tarafından salgılanan ve diyetsel yağın %50-70'inin sindiriminden sorumlu enzimdir. En yüksek aktivitesini nötr pH' da verir. Safra asitleri ve kolipazı kofaktör olarak kullanır. Kolipaz enzimin dayanıklılığını artırır aynı zamanda enzimin aktif kalmasını sağlar.



Şekil 1. 3. Pankreatik lipaz-kolipaz ve inhibitör kompleksi (Mukherjee 2003)

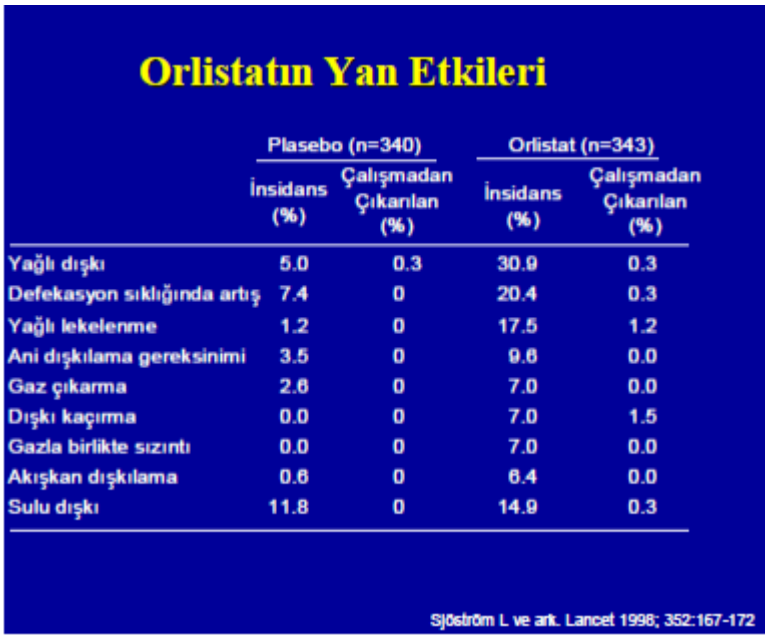
Pankreatik lipazın inhibisyonu obezitenin en önemli hedefi olan yağ emiliminin düşük olmasını sağlar ve enerji alımı bu şekilde azalır (Mukherjee 2003). Dolayısıyla anti-obezite için PL inhibisyonu önemlidir (Mukherjee 2003).

Obezite tedavisinde en yaygın kullanılan standart ilaç orlistatdır. Orlistat Pankreatik lipazı çok kuvvetli bir şekilde inhibe eder.



Şekil 1. 4. Orlistatın formülü (Clapham ve ark. 2001)

Belirli miktar yağın emilmeden gayta ile atılımını sağlayan orlistat kullanımı bazı yan etkilere sebep olabilir.

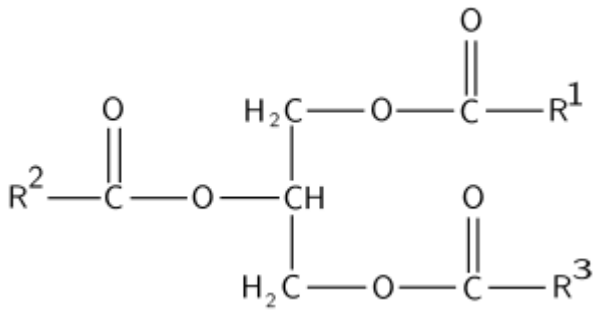


Şekil 1. 5. Orlistatın yan etkileri (Sjostrom ve ark. 1998)

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Yaşadığımız dünyada ki küresel değişimler insanların beslenme alışkanlıklarını da buna paralel olarak değiştirmiştir. İşlenmiş gıdaların tüketimi özellikle hazır besinlerin insan yaşamına girmesiyle çağımızın küresel sorunu olan obezite ortaya çıkmıştır.

Obezitenin tedavisinde ise bazı yöntemlerden bahsedilmektedir. Lipazlar yağ sindirici enzimlerdir (Sosnowska ve ark. 2018). Pankreatik lipaz (EC 3.1.1.3) trigliseritlerin sindiriminde görevli çok önemli bir enzimdir. Trigliserit moleküllerü uzun zincirli yağ asitleridir ve sindirimi gastrik ve Pankreatik lipazlar tarafından gerçekleştirilir. Obezite tedavisinde kullanılan ilaçlar Pankreatik lipaz inhibitörüdür. Trigliseritlerin sindirimine engel olurlar bununla beraber besinsel olarak yağ alımını önlerler.



Çizelge 2. 1. Trigliserid Molekülü

Daha önce yapılan çalışmalarda, narenciye meyvelerden greyfurtun lipazı inhibe ettiği ortaya konulmuştur, IC_{50}=0.007 ± 0.0006 mg/mL, Ananasın IC_{50} değeri 0.23 ± 0.07, turp bitkisinin IC_{50} değeri 0.82 ± 0.01 mg/mL olarak saptanılmıştır (Gondoin ve ark. 2010).

Gondoin ve arkadaşları siyah, yeşil ve beyaz çayın antilipaz aktivitesini test etmiştir ve yapılan çalışmalar sonucunda antilipaz aktivitesi tespit edilmiştir. Beyaz çayın daha etkili olduğu izlenirken IC_{50} değerleri beyaz ve yeşil çay için sırasıyla 22 µg/mL ve 35 µg/mL olarak tespit edilmiştir (Gondoin ve ark. 2010).

Shahu ve arkadaşları yaptıkları çalışmada beyaz ve pembe aster çiçeğinin lipaz inhibisyonu aktivitesine rastlamışlardır. Beyaz aster çiçeği ve pembe aster çiçeğinin IC_{50} değerleri sırasıyla 38 µg/mL ve 72 µg/mL olarak tespit edilmiştir (Shahu ve ark. 2018).

2018 yılında yapılan bir çalışmada Marelli ve arkadaşları *M.Arvensis* bitkisinin Pankreatik lipazı inhibe edici etkisini tespit etmişlerdir.

Çizelge 2. 2. *Moricandia Arvensis* bitkisinin MeOH ekstresinin Lipaz inhibisyonu (Marrelli ve ark. 2018)

Sample	IC_{50} (mg/mL)
MeOH extract	2.06 ± 0.02 [d]
n-Hex	>10
DCM	1.52 ± 0.02 [c]
EtOAc	1.31 ± 0.02 [b]
Orlistat *	0.018 ± 0.001 [a]

Data are expressed as mean ± SEM (n = 3). Different letters indicate statistically significant differences at $p < 0.05$ (Bonferroni post-hoc test).
* Positive control.

Çizelge 2. 3. Pankreatik Lipazın Bazı Bitki Ekstrelerinde İnhibisyonu (Elbashir ve ark. 2018)

Scientific name	IC_{50} (μg/ml)[a] value for pancereatic lipase inhibition	
	70% Ethanol extract	Water extract
A. precatorius	17.55 ± 1.36	27.46 ± 1.58
A. nilotica	1.65 ± 0.02	0.31 ± 0.01
B. linariifolia	16.78 ± 0.31	18.12 ± 0.27
B. papyrifera	4.33 ± 0.07	46.19 ± 1.21
C. ipecacuanha	8.23 ± 0.12	22.1 ± 0.77
C. colocynthis	63.56 ± 1.6	20.66 ± 1.04
C. sinensis	29.82 ± 0.22	4.51 ± 0.08
C. proximus	16.69 ± 0.52	18.43 ± 0.28
C. rotundus.	8.16 ± 0.17	5.38 ± 0.42
G. alata	19.99 ± 0.77	23.76 ± 0.26
M. annua	4.22 ± 0.08	9.28 ± 1.81*
P. glaucum	119.91 ± 2.78	19.58 ± 0.17
R. graveolens	9.37 ± 0.42	48.03 ± 1.38
S. argel	2.12 ± 0.08	33.96 ± 0.29
T. bakis	17.75 ± 0.27	60.38 ± 0.88
T. foenum-graceum	244.15 ± 1.80	51.86 ± 2.67
V. madagascariensis	35.10 ± 5.56	98.66 ± 3.60
Z. spina-christi	1.86 ± 0.07	0.72 ± 0.01
Cetilistat[b]	4.66 ± 0.05	

[a]Each value represents the mean ± SD ($n = 3$)
[b]Cetilistat was used as a positive control of lipase inhibitory activity

Çizelge 2. 4. Pankreatik Lipazın Bazı Bitki Ekstrelerinde İnhibisyonu (El-shiekh ve ark. 2019)

Pancreatic lipase, α-amylase and α-glucosidase inhibitory activity (%) of the tested plant extracts at concentration of 1 mg/mL.

Name of plant	Pancreatic lipase	α-amylase	α-glucosidase
C. quadrangula (ME)	62.56 ± 0.43^{c}	54.31 ± 0.58^{d}	47.11 ± 1.3^{e}
C. quadrangula (AE)	53.82 ± 3.1^{d}	59.71 ± 1.5^{c}	37.29 ± 1.5^{f}
C. tuberculata (ME)	67.83 ± 5.9^{b}	54.86 ± 1.5^{d}	54.17 ± 2.8^{d}
C. tuberculata (AE)	66.16 ± 1.7^{b}	60.35 ± 1.5^{c}	50.95 ± 2.1^{d}
H. shizopetalous (ME)	60.26 ± 3.1^{c}	63.25 ± 2.1^{c}	44.30 ± 4.8^{e}
H. shizopetalous (AE)	54.59 ± 1.5^{d}	59.88 ± 1.5^{c}	53.99 ± 4.6^{d}
H. subdariffa (White variety) (ME)	67.56 ± 3.6^{b}	64.75 ± 1.2^{c}	64.25 ± 1.7^{c}
H. subdariffa (White variety) (AE)	66.81 ± 2.1^{b}	59.32 ± 1.2^{c}	42.32 ± 1.4^{e}
S. argel (ME)	97.02 ± 1.4^{a}	69.32 ± 1.4^{b}	89.08 ± 1.1^{a}
S. argel (AE)	94.62 ± 3.6^{a}	61.32 ± 2.5^{c}	71.10 ± 2.9^{b}
Orlistat	98.79 ± 1.9^{a}	–	–
Acarbose	–	86.32 ± 0.63^{a}	64.66 ± 2.2^{c}

All data are calculated as (Mean ± S.D.).
All methanolic extracts were prepared by ultrasonic assisted extraction.
ME: methanolic extract; AE: aqueous extract.
Different superscript letters for a given value within a column are significantly different from each other (Duncan's significant difference multiple range *post-hoc* test, $P < 0.05$).

Solenostemma Argel bitkisinden izole edilen Stemmoside C lipaz enzimine karşı ticari olarak kullanılan standart anti-obezite ilacı olan orlistattan daha aktif olmuştur.

Çizelge 2. 5. S. Argel Etanol Ekstratından İzole Edilen Bileşiklerin Lipaz İnhibisyonu (El-shiekh ve ark. 2019)

IC_{50} values of *S. argel* ethanolic extract, fractions and isolated compounds against lipase, α-amylase and α-glucosidase enzymes.

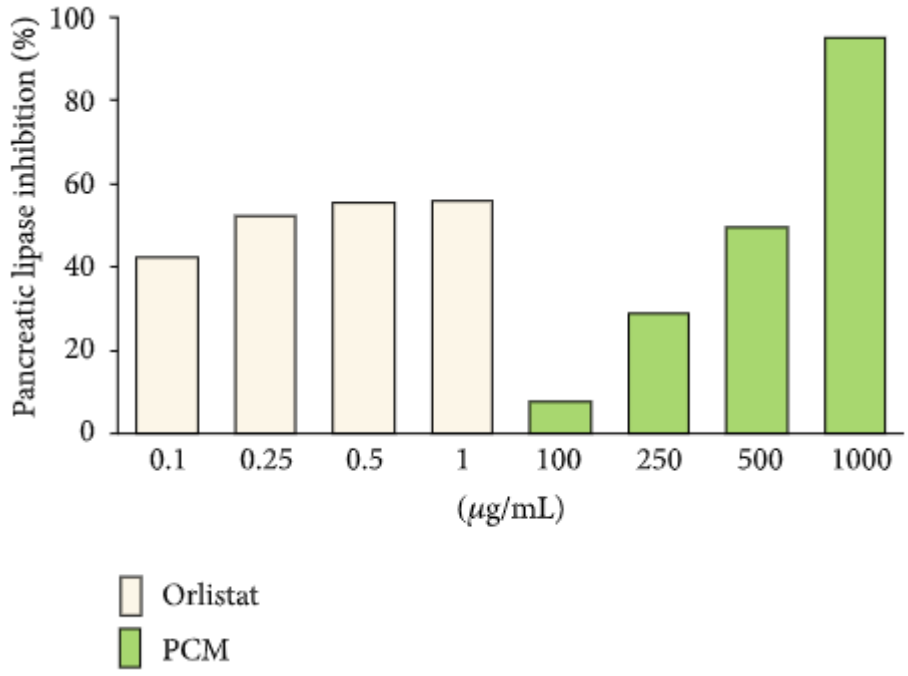
Sample	Pancreatic lipase	α-amylase	α-glucosidase
	μg/ml (μmol)		
Total EtOH (70%, Homogenizer)	25.60 ± 1.18^{b}	89.3 ± 1.5^{f}	138.78 ± 5.80^{h}
Methylene chloride fraction	25.17 ± 0.93^{b}	76.7 ± 0.58^{e}	80.13 ± 0^{e}
n- Butanol fraction	38.21 ± 2.61^{c}	35.5 ± 1.3^{a}	44.74 ± 3.49^{a}
β-Sitosterol (1)	127.34 ± 0^{f} (0.307 ± 0)	190.4 ± 1.3^{h} (0.46 ± 0.003)	127.34 ± 0^{g} (0.31 ± 0)
β-Sitosterol glucoside (2)	141.52 ± 1.29^{g} (0.245 ± 0.002)	123.7 ± 2.1^{g} (0.21 ± 0.003)	458.48 ± 1.29^{k} (0.79 ± 0.002)
Stemmoside C (3)	7.99 ± 2.77^{a} (0.007 ± 0.002)	341.9 ± 3.1^{i} (0.31 ± 0.003)	454.25 ± 2.14^{j} (0.41 ± 0.002)
Kaempferol-3-*O*-neohesperidoside (4)	59.55 ± 2.75^{e} (0.10 ± 0.004)	47.7 ± 1.5^{b} (0.08 ± 0.002)	55.36 ± 3.44^{b} (0.09 ± 0.005)
Kaempferol-3-*O*-glucoside (5)	52.93 ± 0^{d} (0.118 ± 0)	58.9 ± 0.58^{c} (0.13 ± 0.001)	66.21 ± 4.15^{c} (0.15 ± 0.009)
Quercetin-3-*O*-neohesperidoside (6)	53.35 ± 3.33^{d} (0.087 ± 0.005)	59.8 ± 1.5^{c} (0.097 ± 0.002)	76.35 ± 1.12^{d} (0.13 ± 0.001)
Kaempferol (7)	62.15 ± 4.75^{e} (0.217 ± 0.016)	68.7 ± 1.5^{d} (0.24 ± 0.005)	104.54 ± 2.47^{f} (0.36 ± 0.008)
Orlistat	35.34 ± 0.21^{c} (0.071 ± 0.004)	ND	ND
Acarbose	ND	34.71 ± 1.2^{a} (0.053 ± 0.002)	188.34 ± 0.84^{i} (0.29 ± 0.001)

All data are calculated as (Mean ± S.D.).
IC_{50} values in parenthesis are in μmol.
EtOH: ethanolic extract. ND: not determined.
Different superscript letters for a given value within a column are significantly different from each other (Duncan's significant difference multiple range *post-hoc* test, $P < 0.05$).

Çizelge 2. 6. Bazı bitkilerin Pankreatik lipazı inhibe etmek için gereken metanolik bitki özütlerinin IC_{50} değerleri (mg/ml) (Zhou ve ark. 2005, Fang ve ark. 2008, Wang ve ark. 2009, Buchholz ve ark. 2016)

Scientific name	Used part	Main constituents	IC_{50} [mg/mL] Lipase	IC_{50} [mg/mL] ß-Amylase
Lycopus lucidus Turcz. var. *hirtus* Regel	Stem, leaf	Triterpenes (Fang et al. 2008)	0.088 ± 0.004	1.008 ± 0.009
Carthamus tinctorius L.	Corolla	Pigments (carthamin, precarthamin, safflower yellow A and B), safflower oil (Fang et al. 2008)	0.091 ± 0.001	0.849 ± 0.156
Trichosanthes kirilowii Maxim.	Root	Saponins, organic acids, salts, resins, sugars and pigments (Chinese Herbs Healing 2015)	0.100 ± 0.017	0.249 ± 0.067
Phellodendron chinense Schneid.	Bark	Phenolic acids (ferulic and caffeic acid), iso-vanillin, berberin (Wang et al. 2009)	0.136 ± 0.001	1.847 ± 0.074
Cyathula officinalis Kuan	Root	Phenolic acids, isoflavones (daidzin, puerarin) (Zhoub et al. 2005)	0.520 ± 0.001	3.178 ± 0.320
Aucklandia lappa Decne.	Root	Amino acids, inulin, aplotaxene, cotuslactone, sterol (Fang et al. 2008)	0.897 ± 0.109	2.003 ± 0.134

Positive control: IC_{50} (Orlistat): 0.19 ± 0.03 ng/mL; IC_{50} (Acarbose): 1.31 ± 0.12 µg/mL



Şekil 2.5. Pankreatik lipazın Diospyros kaki meyvesi ve Citrus unshiu kabuğu karışımı özü inhibisyonu (Kim ve ark. 2016)

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Cihazlar



Şekil 3. 1. Spektrofotometre / multiplate reader



Şekil 3. 2. Otomatik pipet



Şekil 3. 3. 96 Kuyucuklı plate

Kimyasallar

4-Nitrofenil dekanoat

Tris

NaCl

Etanol

Metanol

HCl

Hekzan

Aseton

Kloroform

Etil Asetat

Çözeltiler

4-Nitrofenil dekanoat: 1 mg pnfd 333 ml asetonitrilde çözülür. 150 ondan 400 metanolden alınıp yavaş yavaş 3,5 ml tamponun içinde çözündürülür. Her ölçümden önce yeteri miktarda taze olarak hazırlandı.

20 mM tris+20 mM NaCl, pH:8,00: 0,242 g Tris tartıldı ve 80 ml saf suda çözündü. 0,12 g NaCl tartılıp aynı çözeltiye eklendi. Çözeltinin hacmi 0,1 M HCl ile pH:8,00 ayarlandı. Hacim saf su ile 100 ml'ye tamamlandı.

Pankreatik lipaz: Enzim 10 mg/ml olacak şekilde 20 mM Tris-HCl, pH:8 tamponunda çözüldü. Çözülen enzim 3000 xg de santrüfüj edildi. Çalışmalarda süpernatant kullanıldı.

3.2 Yöntem

3.2.1 Ekstraksiyon

Tez kapsamında kullanılacak olan bitki materyali (*Digitalis lamarckii Ivan.*) İst.1, Kızılcahamam-Gerede yolu 28. km Şahinler göleti yakını yolun sağı, 1469m doğal yaşam ortamından taze örnekler halinde toplanmıştır ve Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünden Araştırma görevlisi Dr. Mesrur Ümid BİNGÖL tarafından teşhisleri yapılmıştır. Teşhiste işleminde başta "Flora of Turkey" adlı 11 ciltlik eser olmak üzere ilgili literatürlerden yararlanılmıştır.



Şekil 3. 4. *Digitalis lamarckii Ivan.*toplanma bölgesi İst.1, Kızılcahamam-Gerede yolu 28. km Şahinler göleti yakını yolun sağı, 1469m



Şekil 3. 5. *Digitalis lamackii* Ivan bitkisinin toplanma bölgesinde çekilmiş fotoğrafı

Toplanıp laboratuvara getirilen bitkiler kök, yaprak, çiçek ve gövdesi ayrı ayrı ayıklanmış ve daha sonra kurutulmuştur.



Şekil 3. 6. *Digitalis Lamarckii* Ivan bitkisinin kurutulmuş ve bölümlerine ayrılmış hali

Kurutulan kısımlar sıvı azotla parçalandı ve sıra ile hekzan, aseton, metanol, kloroform ve kaynatma ekstreler sıra ile hazırlandı. Öncelikli olarak, numuneler 1250 ml hekzan ile 2 gün muamele edildi. Şekil 3.7.' deki gibi hekzan alınıp evoparatör yardımıyla uzaklaştırıldı ve ekstreler alındı. Bu işlem 3 kez tekrarlandı. Aynı işlem diğer çözücülerle tekrarlandı. Su ile kaynatmadan sonra sulu fazdaki aktif maddelerin etil asetata geçmesi için ayırma işlemi yapıldı. Elde edilen ekstre miktarları Çizelge 3.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 3. 7. Ekstraksiyon sonrası çözeltiler

Çizelge 3. 1. Ekstraksiyon işlemi sonrası elde edilen ekstrakt miktarları

Bitkinin kısmı	Hekzan	Aseton	Metanol	Kloroform	Kaynatma
Kök	0,63 g	1,75	8,00 g	1,38 g	0,52 g
Gövde	0,36 g	2,36 g	10,8 g	1,13 g	0,82 g
Yaprak	1,27 g	4,43 g	10,8 g	4,46 g	2,08 g
Çiçek	1,95 g	4,77 g	18,7 g	3,65 g	1,06 g

3.2.2 Enzim Çalışmaları

Enzim aktivitesi para-nitro dekonatın lipaz enzimi ile parçalanması ürünü ürünü olan p-nitro fenolün 410 nm de spektrofotometrik olarak absorbans vermesi esasına dayanmaktadır. Oluşan renk değişimi aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 3. 8. Lipaz enziminin reaksiyonu ve oluşan ürün

Absorbans ölçümleri multiplate reader da yapıldı. 96 kuyucuklu plateler kullanıldı. Plate içeriğinde kullanılan reaktifler ve kullanılan miktarları çizelge 3.2. ‘de verilmiştir.

Çizelge 3. 2. Lipaz enzim aktivitesi ölçümünde kullanılan reaktifler ve miktarları

Reaktant	Pipetleme miktarı µL
20 mM tris+20 mM NaCl, pH:8,00	50
4-Nitrofenil dekanoat	50
Enzim (10 mg/ml)	50
Saf su	100

Enzim inhibisyon çalışmaları için ekstreler 20 mg olarak tartıldı. 13, 14, 15 ve 16 numuneler 2 ml DMSO da çözüldü. 9 numaralı numune 1 ml DMSO da çözüldü. Diğer tüm numuneler 0,5 ml DMSO da çözüldü. Ekstrelerden 50 µl alınıp 950 µl saf suda

çözündü. 9 numaralı numune çözünme problemi nedeniyle 20 µl alınıp 980 ml saf suda çözündü.

İnhibisyon çalışmalarında inhibitörsüz enzim aktivitesi kontrol kabul edildi. Enzim aktivitesini inhibe eden 5 farklı konsantrasyonda denemler yapıldı. Eklene inhibitör miktarında saf su hacminden azaltıldı. Enzim aktivitesini %50 azaltan değerin altında ve üstünde konsantrasyonlarda ölçümler alındı. Aktivite %- [ekstre miktarı (µg/ml)] grafikleri çizildi. Grafik eğrilerinden enzim aktivitesini %50 inhibe eden değer anlamına gelen IC_{50} değerleri hesaplandı.

4. BULGULAR

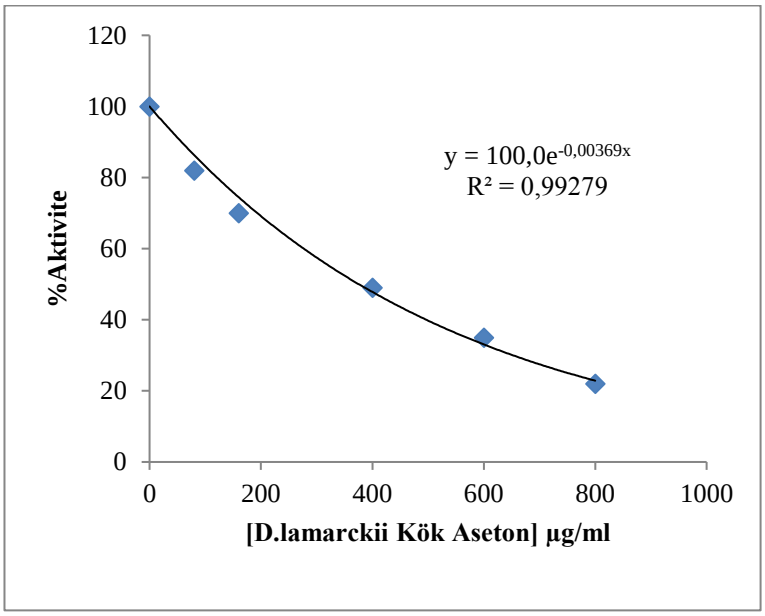
Yapılan çalışmada *Digitalis Lamarckii* Ivanina (yüksük otu) bitkisinin kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımlarının sulu ekstreleri hazırlandı. Bu ekstrelerin lipaz enzimi üzerinde aktivitesine bakıldı. Elde edilen sonuçlar **Çizelge 4.1**' de verildi.

Çizelge 4. 1. Bitkinin sulu ekstrelerinin lipaz enzimi üzerinde aktivitesi

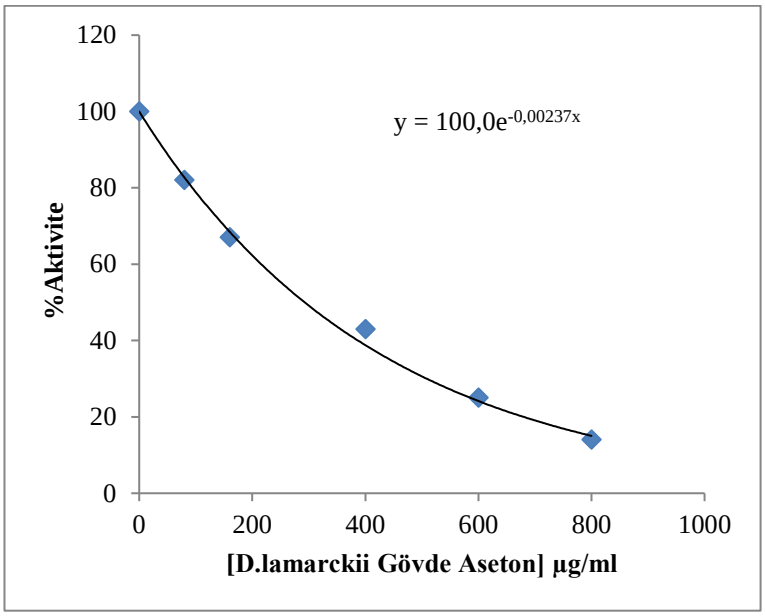
No	Bitkinin kısmı ve ektstre	IC_{50} değeri (µg/ml)
1.	D.lamarckii Kök Aseton	187
2.	D.lamarckii Gövde Aseton	292
3.	D.lamarckii Yaprak Aseton	120
4.	D.lamarckii Çiçek Aseton	374
5.	D.lamarckii Kök Metanol	714
6.	D.lamarckii Gövde Metanol	761
7.	D.lamarckii Yaprak Metanol	228
8.	D.lamarckii Çiçek Metanol	513
9.	D.lamarckii Kök $CHCl_3$	219
10.	D.lamarckii Gövde $CHCl_3$	239
11.	D.lamarckii Yaprak $CHCl_3$	140
12.	D.lamarckii Çiçek $CHCl_3$	210
13.	D.lamarckii Kök Hekzan	220
14.	D.lamarckii Gövde Hekzan	101
15.	D.lamarckii Yaprak Hekzan	203
16.	D.lamarckii Çiçek Hekzan	239
17.	D.lamarckii Kök Kaynatma	199
18.	D.lamarckii Gövde Kaynatma	64
19.	D.lamarckii Yaprak Kaynatma	260
20.	D.lamarckii Çiçek Kaynatma	258

Ekstrelerin hepsi enzim üzerinde inhibisyon etkisi göstermiştir. İnhibisyon etkisi Aktivite %-[Ekstrelerin µg/ml] grafiklerinden elde edilen eğim değerlerinden hesaplanmıştır. Aseton **(Şekil 4.1-4.4)** , metanol (**Şekil 4.5-4.8)** , kloroform **(şekil 4.9-4.12)** , hekzan **(Şekil 4.13-4.16)** ve kaynatma **(Şekil 4.17-4.20)** ekstrelerinin inhibisyon grafikleri sunulmuştur.

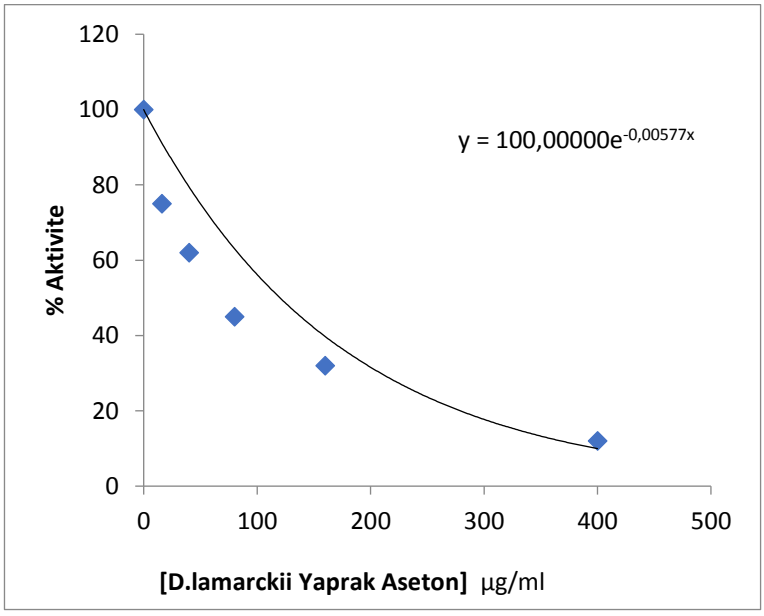
Bütün ekstraktlar enzim aktivitesi üzerinde inhibisyon etkisi gösterdiği tespit edilmiş olup en düşük IC_{50} değeri metanol ile muamele edilen gövde ve kök ekstraktlarında elde edilmiştir. En iyi inhibisyon gövdenin kaynatma ve hekzan ektrelerinde gözlenmiş olup IC_{50} değerleri sırasıyla 64 ve 101 µg/ml olarak tesbit edilmiştir.



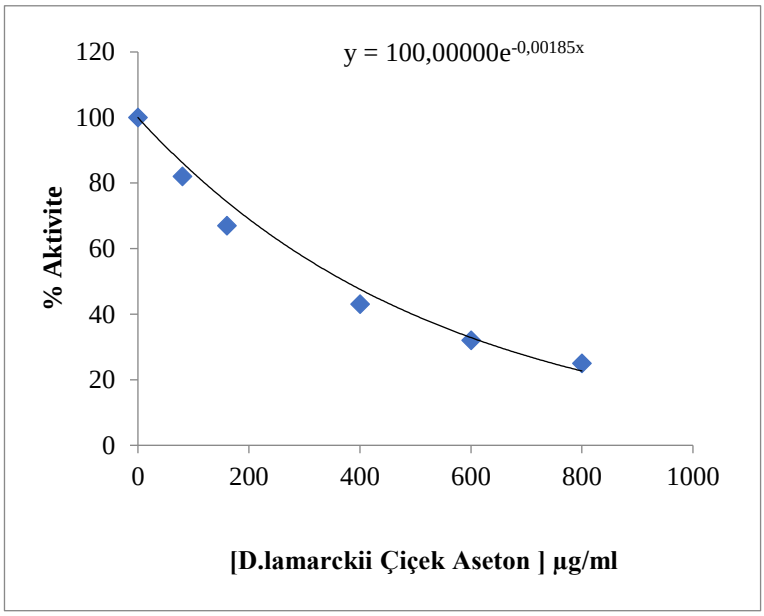
Şekil 4. 1. *D.lamarckii* kök aseton ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi



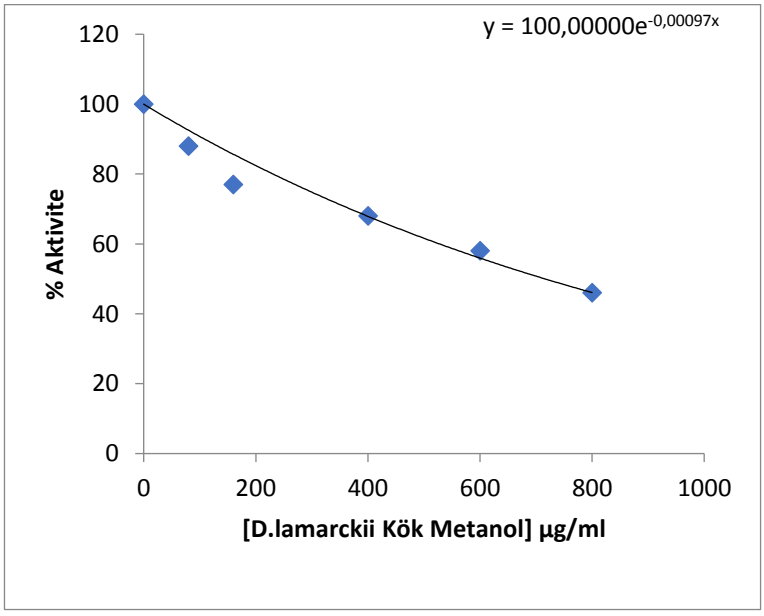
Şekil 4. 2. *D.lamarckii* gövde aseton ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi



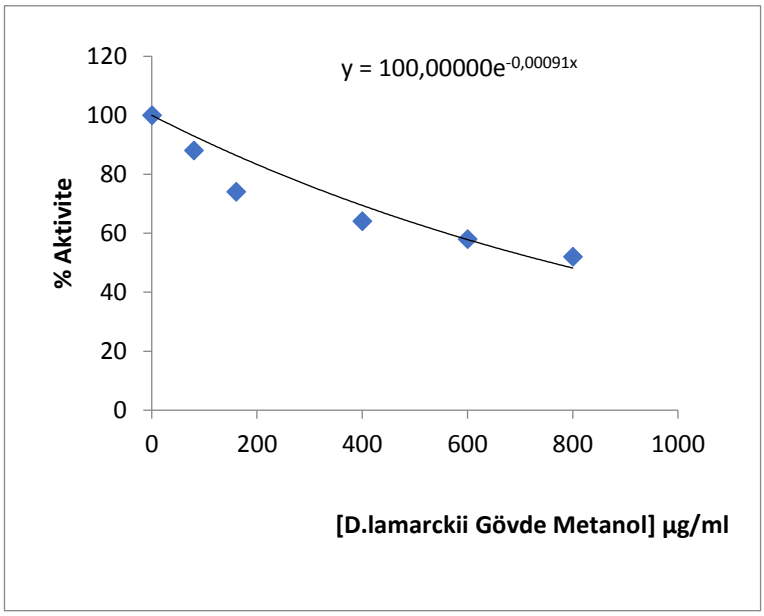
Şekil 4. 3 *D.lamarckii* yaprak aseton ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi



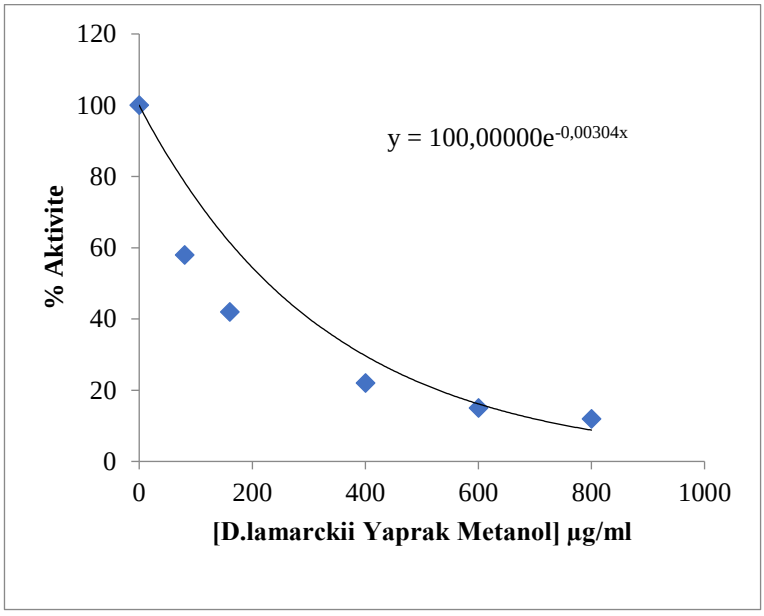
Şekil 4. 4. *D.lamarckii* çiçek aseton ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi



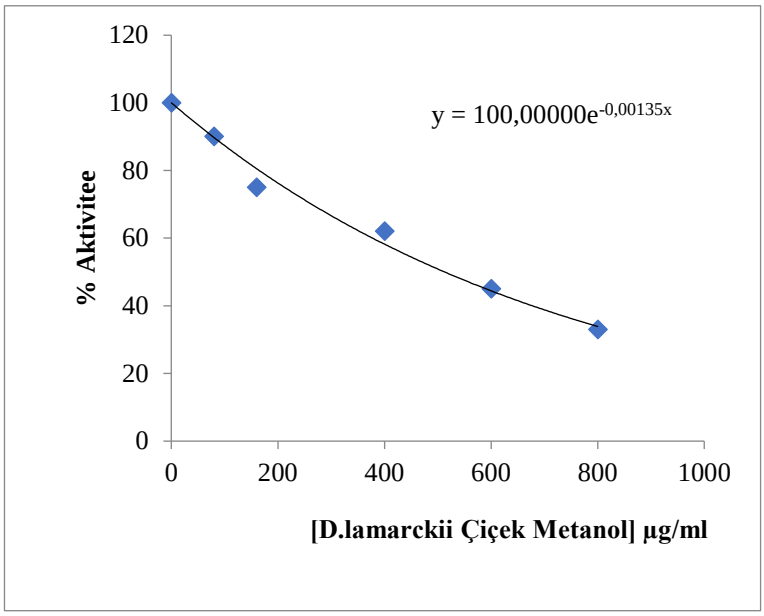
Şekil 4. 5. *D.lamarckii* kök metanol ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi



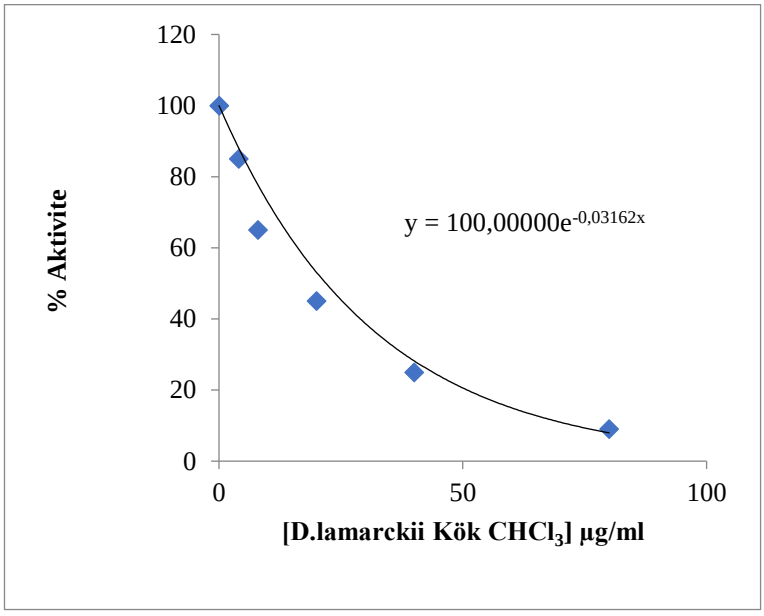
Şekil 4. 6. *D.lamarckii* gövde metanol ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi



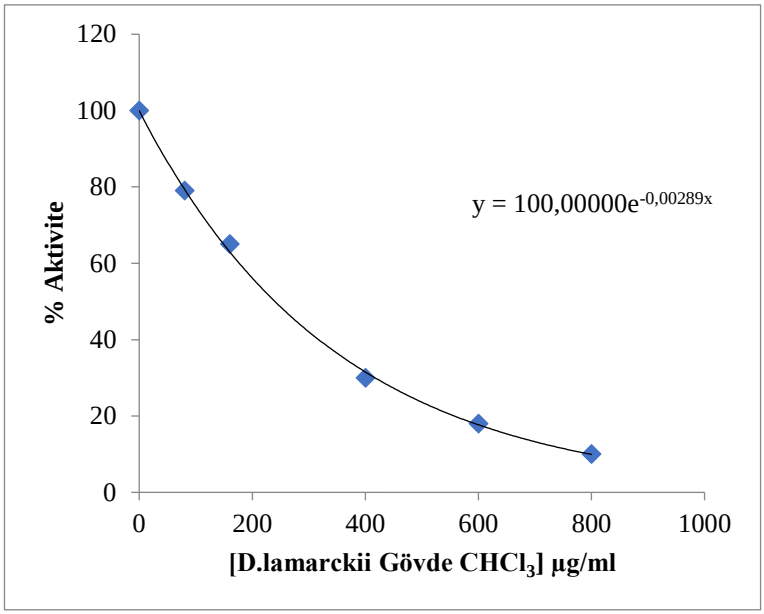
Şekil 4. 7. *D.lamarckii* yaprak metanol ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi



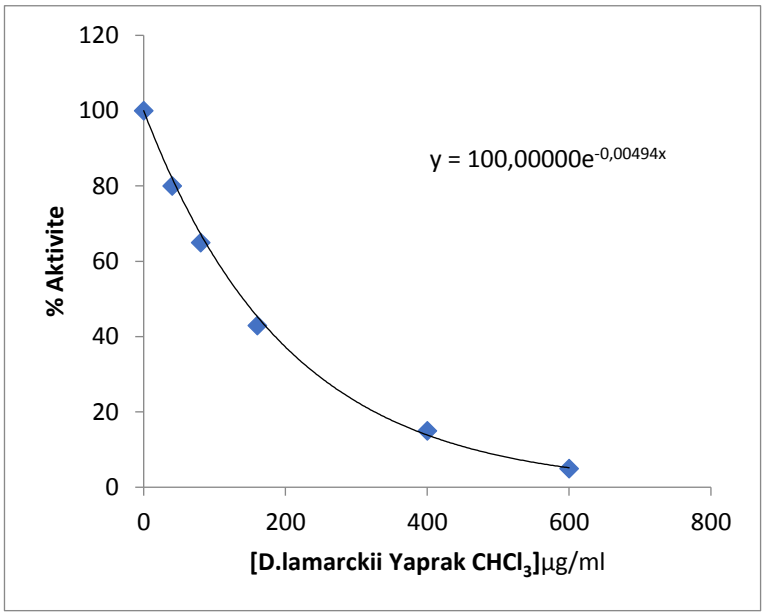
Şekil 4. 8. *D.lamarckii* çiçek metanol ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi



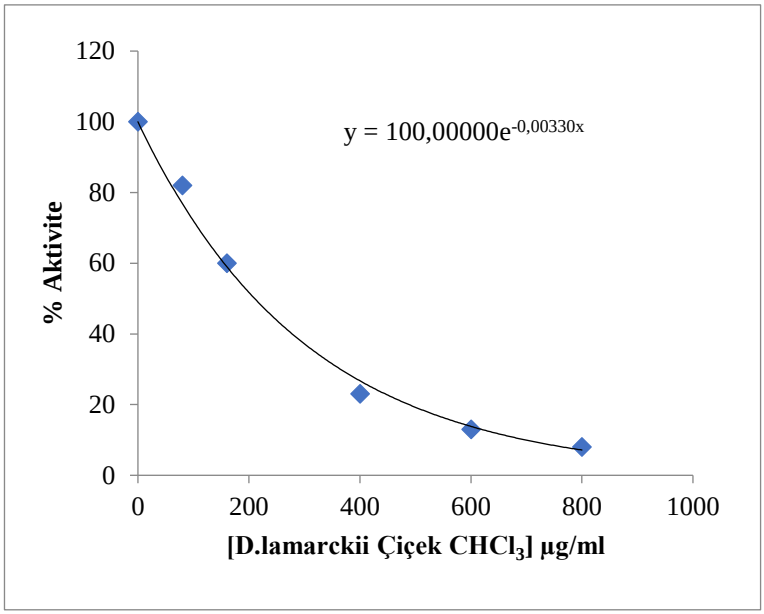
Şekil 4. 9. *D.lamarckii* kök kloroform ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi



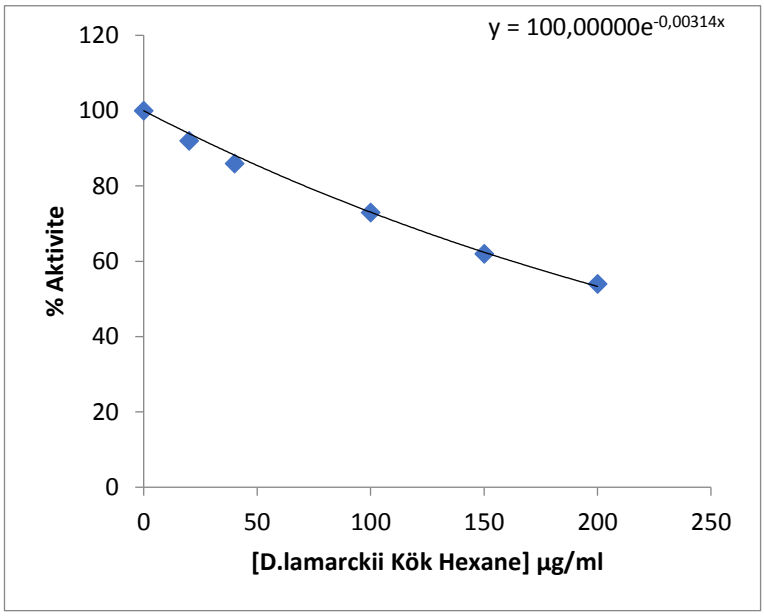
Şekil 4. 10. *D.lamarckii* gövde kloroform ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi



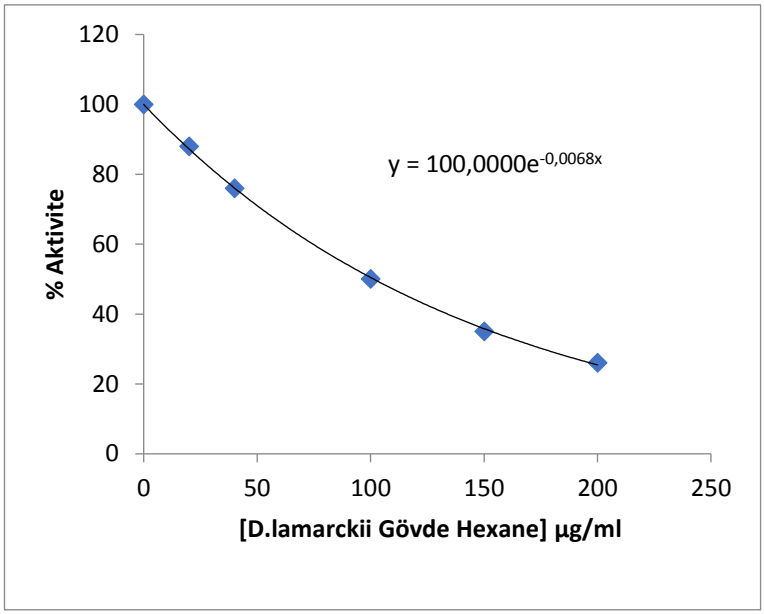
Şekil 4. 11. *D.lamarckii* yaprak kloroform ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi



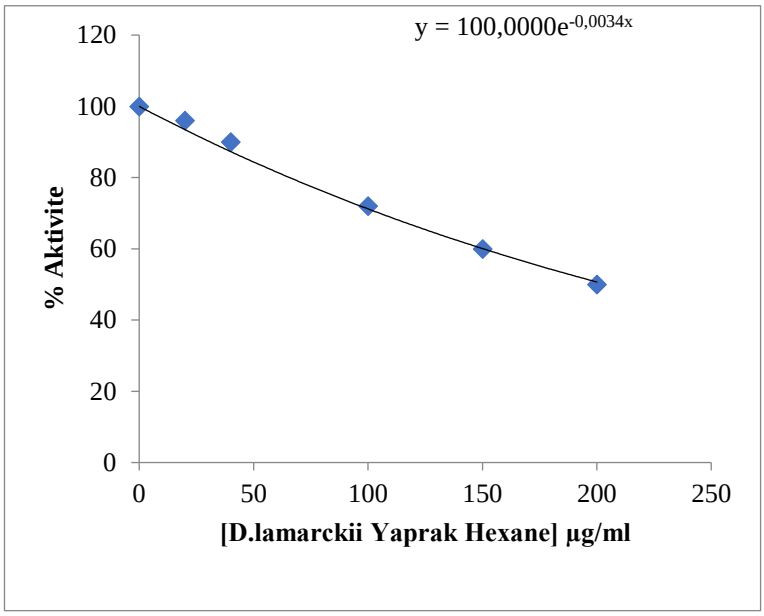
Şekil 4. 12. *D.lamarckii* çiçek kloroform ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi



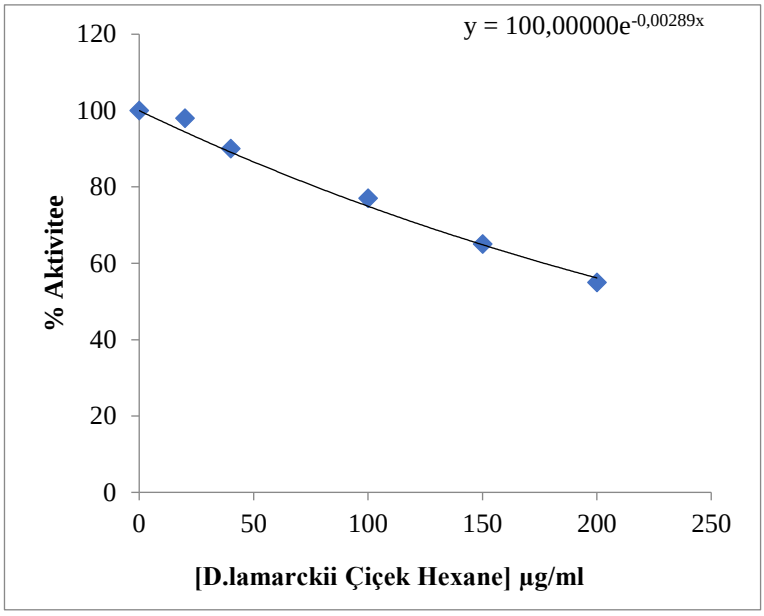
Şekil 4. 13. *D.lamarckii* kök hekzan ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi



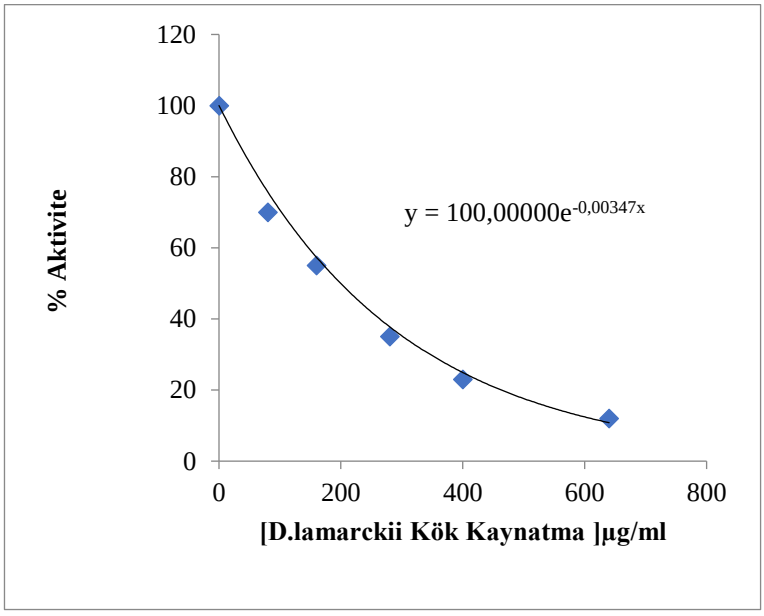
Şekil 4. 14. *D.lamarckii* gövde hekzan ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi



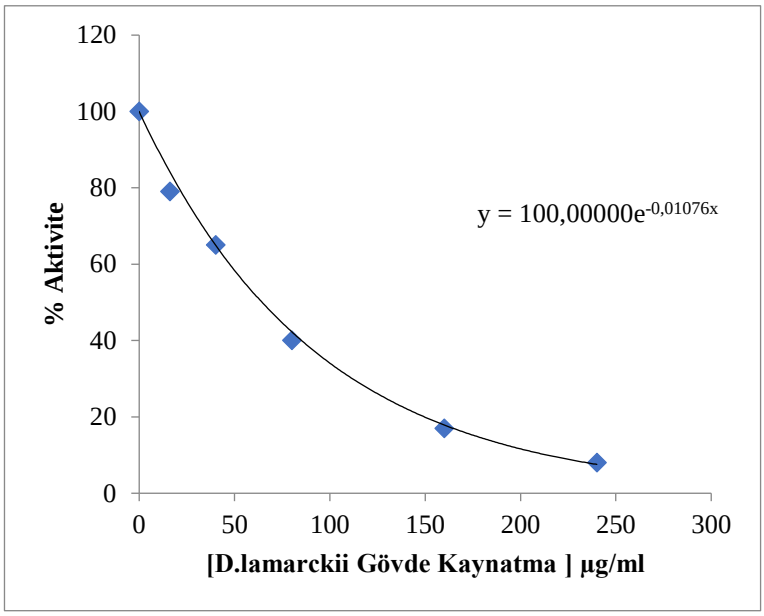
Şekil 4. 15. *D.lamarckii* yaprak hekzan ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi



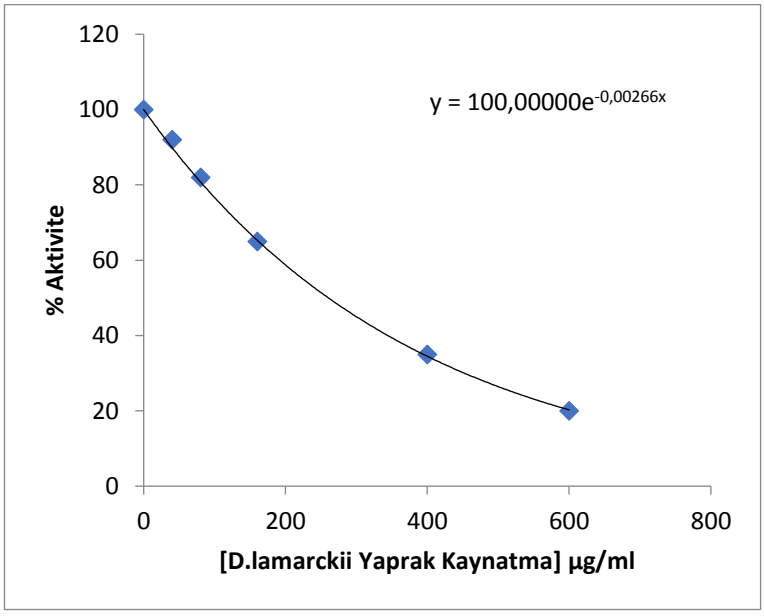
Şekil 4. 16. *D.lamarckii* yaprak hekzan ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi



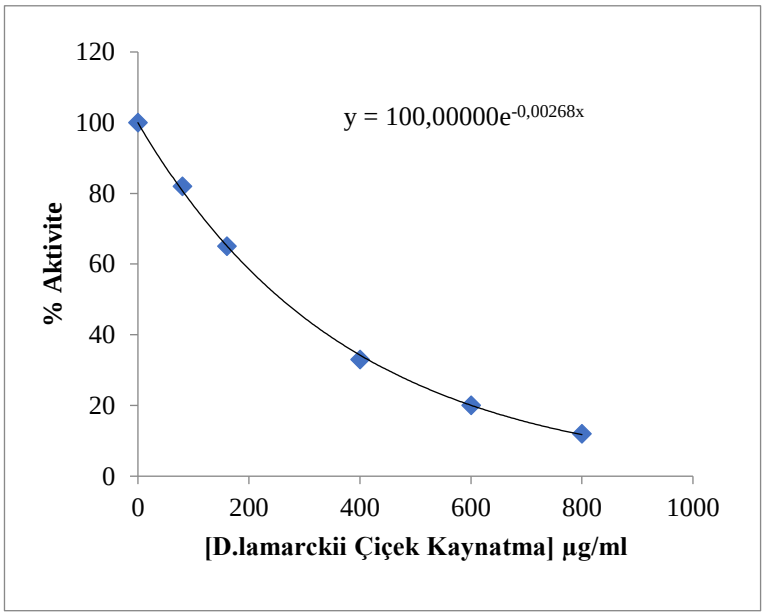
Şekil 4. 17. *D.lamarckii* kök kaynatma ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi



Şekil 4. 18. *D.lamarckii* gövde kaynatma ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkis



Şekil 4. 19. *D.lamarckii* yaprak kaynatma ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi



Şekil 4. 20. *D.lamarckii* çiçek kaynatma ekstresinin pankreatik lipaz enzimi üzerindeki etkisi

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerin birçoğunda önemli bir halk sağlığı sorunu olan obezite her geçen gün artmaktadır (Dawson ve ark. 1998). Sistemleri etkileyerek yaşam kalitesini düşürmektedir. Obezite; hipertansiyon, safra kesesi hastalıkları, kas ve eklem rahatsızlıkları, Tip 2 diyabet gibi hastalıklara sebep olabilen bir hastalık olarak nitelendirilmektedir (Egan ve ark. 2001, Sowers 2003). Obez kişiler genellikle kilo verme ve ağırlığı korumada başarısızdırlar. Bundan dolayı kilo kaybını desteklemek için bitkisel kaynaklı tıbbi tedaviler kullanılmaktadır (Hauptman ve ark. 1992).

Obezite tedavisinde kullanılan en önemli ilaç orlistatdır. Parçalanmış yağların kana karışmasını engelleyerek bağırsakta ilerleyerek dışkı ile atılmasını sağlar (Hill ve ark. 1999). Yapılan çalışmalarda orlistat belli miktar yağın kana geçmeden atılması sebebiyle yağda çözünen vitaminlerin serum miktarlarının azaldığı önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Hollander ve ark. 1998). Ayrıca mide ve böbreklerde yan etkilere sebep olmaktadır (Sharma ve ark. 2005).

Sağlıklı bir yaşam ve tedavi için bitkilerin kullanımı antik çağlara dayanmaktadır. Günümüzde halk arasında bitkiler yine tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Kırsal bölgelerde çevrede yetişen bitkiler kullanılırken, şehirlerde aktarlardan temin edilen bitkiler kullanılmaktadır. Piyasada zayıflatıcı özelliği olduğu savunulan birçok bitki özlü malzeme satılmakta ve oldukça büyük kitlelere hitap etmektedir. Bu tür malzemeler internet ortamında denetimsiz bir şekilde insanların kullanımına sunulmaktadır.

Daha önce yapılan çalışmalar incelendiğinde farklı ülkelere özgü bitki türlerinin anti-lipaz etkileri olduğu görülmüştür. Her bitkinin lipaz enzimine inhibisyonu farklıdır. *Moricandia Arvensis* bitkisi ve Güney Afrikaya özgü bazı bitkilerin metanol ekstrelerinin diğerlerine göre Pankreatik lipazı daha iyi inhibe ettiği görülmüştür (El-shiekh ve ark. 2019). Çin kökenli bazı bitkilerin anti-lipaz etkileri kök ve gövde ekstrelerinde daha iyi anti-lipaz etkisi göstermiştir (Fang ve ark. 2008, Wang ve ark. 2009). Bizim çalışmamızda da metanol gövde ve kök ekstreleri diğer ekstrelere göre daha iyi anti-lipaz etkisi göstermiştir. *Digitalis lamarckii* bitkisi kısımlarının aseton ekstresinde elde edilen IC_{50}

değerleri 120-374 µg/ml arası, kloroform ekstresinde elde edilen edilen IC_{50} değerleri 140-239 µg/ml arası, hekzan ekstresinde elde edilen IC_{50} değerleri 101-239 µg/ml arası, kaynatma ekstresinde elde edilen IC_{50} değerleri 64-260 µg/ml arası, metanol ekstresinde elde edilen IC_{50} değerleri 228-761 µg/ml arası değişmiştir.

Çalışmamızda lipazı en fazla inhibe eden gövde su ve hekzan ekstreleri olmuştur. Özellikle sulu ekstrelerin inhibisyon etkisinin olması önemlidir. Çünkü bu kısımlar bitki çayı gibi kaynatılıp değerlendirilebilir. Gövde kısmının etkili olması ise diğer bir pozitif yönü olarak değerlendirilebilir. Çünkü bu kısım çiçek gibi belirli bir zamanda değil daha uzun süre toplama imkanı olan bitki kısmıdır.

Kullandığımız bitki ekstrelerinin hepsinde Pankreatik lipaz inhibitör etkisi saptanmıştır. Yüksek oranda pankteatik lipaz inhibisyonu etkisi gösteren kısımlar obezite tedavisinde kullanılabilir. Ancak bitkide etken maddelerin izole edilerek yapılarının aydınlatılması ve Pankreatik lipaz enzimi inhibisyonlarının *in vivo* deneylerle de ispatlanabilmesi için daha ileri düzeyde çalışmalar yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

Benli, M., N. Yiğit, F. Geven, K. Güney ve Ü. Bingöl (2009). "Antimicrobial activity of endemic Digitalis lamarckii Ivan from Turkey."

Bilgin, A. ve N. Kocabağlı (2010). "Etlik piliç beslemede esansiyel yağların kullanımı." İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi **36**(1): 75-82.

Buchholz, T., C. Chen, X. Zhang ve M. Melzig (2016). "Pancreatic lipase and α-amylase inhibitory activities of plants used in Traditional Chinese Medicine (TCM)." Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences **71**(7): 420-424.

Clapham, J. C., J. R. Arch ve M. Tadayyon (2001). "Anti-obesity drugs: a critical review of current therapies and future opportunities." Pharmacology & therapeutics **89**(1): 81-121.

Dawson, R., Z. Shen, D. Furest, S. Connor, J. Hsu, M. Kane, R. Stewart, A. Ipri, C. King ve P. Green (1998). "IEDM Tech. Dig."

Egan, B. M., E. L. Greene ve T. L. Goodfriend (2001). "Insulin resistance and cardiovascular disease." American journal of hypertension **14**(S3): 116S-125S.

El-shiekh, R., D. Al-Mahdy, M. Hifnawy ve E. Abdel-Sattar (2019). "In-vitro screening of selected traditional medicinal plants for their anti-obesity and anti-oxidant activities." South African journal of botany **123**: 43-50.

Elbashir, S. M. I., H. P. Devkota, M. Wada, N. Kishimoto, M. Moriuchi, T. Shuto, S. Misumi, H. Kai ve T. Watanabe (2018). "Free radical scavenging, α-glucosidase inhibitory and lipase inhibitory activities of eighteen Sudanese medicinal plants." BMC complementary and alternative medicine **18**(1): 282.

Fang, Y.-C., H.-C. Huang, H.-H. Chen ve H.-F. Juan (2008). "TCMGeneDIT: a database for associated traditional Chinese medicine, gene and disease information using text mining." BMC complementary and alternative medicine **8**(1): 58.

Fersht, A. (1985). Enzyme structure and mechanism.

Gondoin, A., D. Grussu, D. Stewart ve G. J. McDougall (2010). "White and green tea polyphenols inhibit pancreatic lipase in vitro." Food Research International **43**(5): 1537-1544.

Güneş, F. ve N. Özhatay (2000). "Lathyrus L." Flora of Turkey and the East Aegean Islands **11**: 92-94.

Hauptman, J., F. S. Jeunet ve D. Hartmann (1992). Initial studies in humans with the novel gastrointestinal lipase inhibitor Ro 18–0647 (tetrahydrolipstatin), Oxford University Press.

Hill, J. O., J. Hauptman, J. W. Anderson, K. Fujioka, P. M. O'Neil, D. K. Smith, J. H. Zavoral ve L. J. Aronne (1999). "Orlistat, a lipase inhibitor, for weight maintenance after conventional dieting: a 1-y study." The American journal of clinical nutrition **69**(6): 1108-1116.

Hollander, P. A., S. C. Elbein, I. B. Hirsch, D. Kelley, J. McGill, T. Taylor, S. R. Weiss, S. E. Crockett, R. A. Kaplan ve J. Comstock (1998). "Role of orlistat in the treatment of obese patients with type 2 diabetes: a 1-year randomized double-blind study." Diabetes care **21**(8): 1288-1294.

Keha, E. E. ve Ö. İ. Küfrevioğlu (2000). Biyokimya, Aktif Yayınevi.

Kim, G.-N., M.-R. Shin, S. H. Shin, A. R. Lee, J. Y. Lee, B.-I. Seo, M. Y. Kim, T. H. Kim, J. S. Noh ve M. H. Rhee (2016). "Study of antiobesity effect through

inhibition of pancreatic lipase activity of Diospyros kaki fruit and Citrus unshiu peel." BioMed research international **2016**.

Marrelli, M., F. Morrone, M. Argentieri, L. Gambacorta, F. Conforti ve P. Avato (2018). "Phytochemical and Biological Profile of Moricandia arvensis (L.) DC.: An Inhibitor of Pancreatic Lipase." Molecules **23**(11): 2829.

Mukherjee, M. (2003). "Human digestive and metabolic lipases—a brief review." Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic **22**(5-6): 369-376.

Newman, D. J. ve G. M. Cragg (2007). "Natural products as sources of new drugs over the last 25 years." Journal of natural products **70**(3): 461-477.

Shahu, R., P. Rathod, C. Kulkarni, S. Mhatre ve R. Yadav (2018). "Pancreatıc Lıpase Inhıbıtory And Antıoxıdant Actıvıty Of Methanolıc Extract Of Florets Of Aster Specıes." Indian Drug 55(22):60-68

Sharma, N., V. K. Sharma ve S.-Y. Seo (2005). "Screening of some medicinal plants for anti-lipase activity." Journal of ethnopharmacology **97**(3): 453-456.

Shu, Y.-Z. (1998). "Recent natural products based drug development: a pharmaceutical industry perspective." Journal of natural products **61**(8): 1053-1071.

Sjostrom, L., A. Rissanen, T. Andersen, M. Boldrin, A. Golay, H. P. Koppeschaar ve M. Krempf (1998). "Randomised placebo-controlled trial of orlistat for weight loss and prevention of weight regain in obese patients." The Lancet **352**(9123): 167-172.

Sosnowska, D., A. Podsędek, M. Redzynia ve A. Z. Kucharska (2018). "Inhibitory effect of black chokeberry fruit polyphenols on pancreatic lipase–Searching for most active inhibitors." Journal of functional foods **49**: 196-204.

Sowers, J. R. (2003). "Obesity as a cardiovascular risk factor." The American journal of medicine **115**(8): 37-41.

Wang, M., T. Ji, J. Yang ve Y. Su (2009). "Studies on the chemical constituents of Phellodendron chinense." Zhong yao cai= Zhongyaocai= Journal of Chinese medicinal materials **32**(2): 208-210.

Zengin, G., R. Ceylan, J. Katanić, A. Mollica, A. Aktumsek, T. Boroja, S. Matić, V. Mihailović, S. Stanić ve Z. Aumeeruddy-Elalfi (2017). "Combining in vitro, in vivo and in silico approaches to evaluate nutraceutical potentials and chemical fingerprints of Moltkia aurea and Moltkia coerulea." Food and Chemical Toxicology **107**: 540-553.

Zhou, R., B.-G. Li ve G.-L. Zhang (2005). "Chemical study on Cyathula officinalis Kuan." Journal of Asian natural products research **7**(3): 245-252.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Reyhan ÖZDEMİR

Doğum Yeri : Çankırı

Doğum Tarihi : 20/03/1992

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Adres : Abide Mahallesi Erzurum Caddesi 632.sokak No:2 Ağrı / Merkez

Tel : 05548644426

E-posta : ozdemireyhan@gmail.com

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Çankırı Anadolu Lisesi

Lisans : Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Bilgisi Öğretmenliği

Yüksek Lisans : Çankırı Karatekin Üniversitesi Kimya A.B.D. 2016-2019

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

MEB – Fen Bilgisi Öğretmeni