T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÜÇ *SCORZONERA* TAKSONUNA AİT EKTSTRAKLARIN ANTİOKSİDAN KAPASİTELERİ VE ENZİM İNHİBİTÖR POTANSİYELLERİ ÜZERİNE BİR ÇALIŞMA

GÜNEŞ AK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Haziran-2020
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÜÇ *SCORZONERA* TAKSONUNA AİT EKTSTRAKLARIN ANTİOKSİDAN KAPASİTELERİ VE ENZİM İNHİBİTÖR POTANSİYELLERİ ÜZERİNE BİR ÇALIŞMA

GÜNEŞ AK

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Gökhan ZENGİN

2020, 141 Sayfa

Jüri
Doç. Dr. Gökhan ZENGİN
Prof. Dr. Mustafa KÜÇÜKÖDÜK
Prof. Dr. Gökalp Özmen GÜLER

Bu çalışmada, üç *Scorzonera* taksonunun (*S. hieraciifolia, S. hispanica, S. tomentosa*) toprak üstü ve kök kısımlarından elde edilen hekzan, etil asetat, diklorometan, metanol ve su özütlerinin kimyasal komposizyon, antioksidan etkinlikleri ve enzim inhibitör etkileri araştırıldı. Özütlerin kimyasal komposizyonları toplam fenolik ve flavanoid içerikleri ile gösterildi. Antioksidan özelikler serbet radikal süpürme (DPPH ve ABTS), indirgeme gücü (CUPRAC ve FRAP), fosfomolibdat ve metal şelatlama testlerini içeren farklı kimyasal metotlar ile test edildi. Ekstrakların enzim inhibitör özellikleri kolinesterazlar (AChE ve BChE), tirozinaz, amilaz ve glukozidaza karşı test edildi. Özütlerin kimyasal profilleri ve biyolojik özellikleri kullanılan çözücü ve bitki kısmına bağlı olarak değişiklik göstermiştir. Genel olarak, toprak üstü kısımlarından elde edilen metanol ve su özütleri diğer özütler ile karşılaştırıldığında daha yüksek antioksidan yetenekler sergilemiştir. Bununla birlikte, enzim inhibitör özelliklerde farklı sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca, *Scorzonera* taksonları kimyasal komposizyonlara ek olarak farklı biyolojik özellikler sergilemişlerdir. Özetle, elde edilen sonuçlar *Scorzonera* taksonlarınının farmasötik ve gıda endüstrileri için biyoaktif bileşiklerin önemli bir kaynağı olarak düşünebileceğini önermektedir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan kapasite, Enzim İnhibisyonu, Fenoik bileşikler, *Scorzonera*

ABSTRACT

MS THESIS

A STUDY ON ANTIOXIDANT CAPACITIES AND ENYZME INHIBITOR POTENTIALS OF EXTRACTS OF THREE *SCORZONERA* TAXA

Güneş AK

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN BIOTECHNOLOGY
Advisor: Assoc. Doç. Dr. Gokhan ZENGIN
2020, 141 Pages

Jury
Assoc. Prof. Dr. Gökhan ZENGİN
Prof. Dr. Mustafa KÜÇÜKÖDÜK
Prof. Dr. Gökalp Özmen GÜLER

In this study, chemical composition, antioxidant abilites, and enzyme inhibitory effects of hexan, ethyl acetate, dicholoromethane, methanol and water extracts obtained from three *Scorzonera* taxa (*S. hieraciifolia, S. hispanica* and *S. tomentosa*) aerial parts and roots were investigated. Chemical compositions of these extracts were displayed by total phenolic and flavonoid content. Antioxidant properties was assayed by different chemical methods including free radical (DPPH and ABTS), reducing power (CUPRAC and FRAP), phosphomolybdenum and metal chelating. Enzyme inhibitory effects of the tested extracts were examined against cholinesterases (AChE and BChE), tyrosinase, amylase and glucosidase. The chemical profiles and biological properties of the tested extracts were affected by extraction solvent and plant parts used. Generally, the methanol and water extracts from aerial parts exhibited stronger antioxidant abilities when compared other extracts. However, different results were obtained for enzyme inhibitory properties. Likewise, we observed that the tested *Scorzonera* taxa possessed different biological properties as well as chemical composition. To sum up, the obtained results suggested that the *Scorzonera* taxa could be considered as promising sources of bioactive compounds in pharmaceutical and food industries.

Keywords: Antioxidant capacity, Enzyme inhibitory, Phenolic compounds, *Scorzonera*

ÖNSÖZ

Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Fizyoloji-Biyokimya Araştırma Labaratuvarında yürütülmüş olan bu yüksek lisans tez çalışmasında Türkiye florasında yer alan üç *Scorzonera* türünün (*S. hieraciifolia, S. hispanica, S. tomentosa*) antioksidan ve enzim inhibitör özellikleri araştırılmıştır.

Bu tez çalışmasının oluşması ve tez konumun belirlenmesi sürecinde bilgilerinden ve tecrübelerinden yararlandığım, çalışmamın her aşamasında desteğini ve samimiyetini esirgemeyen, bu çalışma süreci içerisinde göstermiş olduğu hoşgörü ve sabır için çok kıymetli danışman hocam Doç. Dr. Gökhan ZENGİN'e, yüksek lisansa başlamama vesile olan ve beni bu alana yönlendiren değerli hocam Fen Fakültesi Dekanı Prof. Dr. Mustafa KÜÇÜKÖDÜK'e, tez çalışmamın yürütülmesinde labaratuvarında her türlü imkanı sağlayan hocam Prof. Dr. Abdurrahman AKTÜMSEK'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. *Scorzonera* taksonlarının toplanması ve teşhisi konusunda desteğini ve yardımlarını esirgemeyen, Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoteknoloji Bölümü öğretim üyelerinden Prof. Dr. Evren YILDIZTUGAY'a ve değerli arkadaşım doktora öğrencisi Fevzi ELBASAN'a teşekkür ederim. Labaratuvarda, çalışmamda kullandığım numunelerin hazırlanması, ekstraksiyonlarının ve analizlerinin yapılması aşamasında desteklerini esirgemeyen, her zaman yanımda olan çok değerli arkadaşlarım doktora öğrencisi Ramazan CEYLAN, doktora öğrencisi SINAN Ibrahime Kouadio ve yüksek lisans öğrencisi Rabia Betül AYGÜN'e teşekkürü borç bilirim. Çalışmalarım süresince, maddi manevi destekleriyle yanımda olan aileme ve rahmetle andığım babama en içten teşekkürlerimi sunarım.

Güneş AK
KONYA-2020

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **vi**

ABSTRACT ..... **vii**

ÖNSÖZ ..... **viii**

İÇİNDEKİLER ..... **ix**

1. GİRİŞ **1**

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **6**

2.1. Biyolojik Sistemlerde Oksidatif Stres ve Serbest Radikal Mekanizmaları 6
2.2. Antioksidanlar ve Prooksidanlar 12
2.2.1. Fitokimyasallar ve Fenolik Bileşikler (Polifenoller) 17
2.3. Enzim İnhibisyon Mekanizmaları 20
2.3.1. Alzheimer Hastalığı ve Kolinesterazlar 21
2.3.2. Diabetes Mellitus ve a-amilaz, a-glukosidaz 27
2.4. Asteraceae Familyası ve *Scorzonera* Cinsi 32

3. MATERYAL VE YÖNTEM **34**

3.1. Bitki Materyali ve Bitkisel Ekstrakların Hazırlanması 34
3.2. Tez Çalışmasında Kullanılan Scorzonera Taksonları ve Özellikleri 35
3.3. Toplam Fenolik Madde Tayini 38
3.4. Toplam Flavonoid Madde Tayini 38
3.5. Serbest Radikal Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi 38
3.5.1. DPPH radikal süpürme aktivitesinin belirlenmesi 39
3.5.2. ABTS radikal süpürme aktivitesinin belirlenmesi 39
3.6. İndirgenme Gücünün Belirlenmesine Yönelik Testler 39
3.6.1. FRAP testi 40
3.6.2. CUPRAC testi 40
3.7. Toplam Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi 41
3.7.1. Fosfomolibdat Testi 41
3.7.2. Metal şelatlama aktivitesi 41
3.8. Enzim İnhibisyonuna Yönelik Testler 42
3.8.1. Kolinesteraz inhibisyon aktivitesi (AChE ve BChE) 42
3.8.2. Amilaz İnhibisyon Aktivitesi 42
3.8.3. Glukosidaz İnhibisyon Aktivitesi 43
3.8.4. Tirozinaz İnhibisyon Aktivitesi 43

3.9. İstatistiksel Değerlendirme **43**

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA 44

4.1. Tez Çalışmasında Kullanılan *Scorzonera* Ekstraklarının Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoid İçerikleri 44
4.2. *Scorzonera* Özütlerinin DPPH ve ABTS Radikal Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi 55
4.3. *Scorzonera* Özütlerinin FRAP, CUPRAC İndirgeme Gücü 66
4. 4. *Scorzonera* Özütlerinin Toplam Antioksidan Kapasite Testleri 77
4.5. *Scorzonera* Özütlerinin Metal Şelatlama Aktivitesi 84
4.6. *Scorzonera* Özütlerinin AChE, BChE İnhibisyonu 91
4.7. *Scorzonera* Özütlerinin α-Amilaz ve α-Glukosidaz İnhibisyonu 101
4. 8. *Scorzonera* Özütlerinin Tirozinaz İnhibisyonu 112

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 119

5.1 SONUÇLAR 119
5.2. Öneriler 120

KAYNAKLAR 121

1. GİRİŞ

İnsanlığın var oluşundan itibaren, doğanın eşsiz ürünleri kullanılmış ve zamanla etnomedikal bitkilerin kullanımı hakkında önemli bir bilgi tabanı inşa edilmiştir. Bu bilgiler kuşaklar boyunca, başlangıçta sözlü iletişim yoluyla, daha sonra yazılı olarak, kil tablet, papirüs, parşömen gibi formlarda aktarılmış ve ele geçen bilgilerden birçoğu günümüzde bilimsel literatürde yerini almıştır (Petrovska, 2012) . Doğal kaynaklar, ilkel insanlar tarafından fiziksel ve zihinsel yetenekleri geliştirmek, yaygın rahatsızlıkları (ateş, zehirlenme, hayvan ısırıkları veya parazit kaynaklı enfeksiyon) tedavi etmek ve daha sonra tarımın gelişmesiyle birlikte, gıda ürünlerini korumak amacıyla kullanılmıştır. (Carocho ve Ferreira, 2013a) Arkeolojik bulgular farklı medeniyetler tarafından, koka (*Erythroxylum coca*), kenevir (*Cannabis sativa*) ve haşhaş (*Papaver somniferum*) gibi insan zihni üzerine oldukça güçlü etkileri olan bitkileri kullandıklarını belgelemiştir (Leicach ve Chludil, 2014).

Eski Mısır metinleri, yüzyıllar önce çeşitli rahatsızlıkları tedavi etmek için doktorlar tarafından reçete edilen bitkiler ve yiyecekler hakkında çeşitli raporlar içerir. Özellikle Hipokrat, gıda ve sağlık arasındaki güçlü ilişkiye dikkat çekerek "Yiyecekleriniz ilacınız ve ilaçlarınız yiyecekleriniz olsun" sözüyle hastalıklardaki farklılığın beslenmeye bağlı olduğunu vurgulamıştır.

Tıbbi bitkilerdeki biyolojik etkileri, belirli dozlarda uygulayarak aktif bileşenlerin varlığını öneren ilk doktor Paracelsus'tur (1493-1541). Alkaloidler, emetin (1817), atropin (1819), kinin (1820), kafein (1820) ve kardiyak glikosid digitoksin (1841) gibi diğer biyoaktif saf bileşikler, takip eden yıllarda elde edilmiştir (Petersen ve Amstutz, 2008) .

1990'larda, doğal ürünler hakkındaki araştırmalar, izolasyon ve yüksek verimli tarama teknolojilerindeki ilerlemelerle büyük ölçüde genişlemiştir (David et all 2015) Tıbbi amaçlı bitkileri araştıran ilk Avrupalı Yunan doktor olan Hipokrat'ı (MÖ 5.yy), Dioscorides (MS 1.yy) ve Galen (MS 2.yy) takip etmiştir. 19.yy başlarında yapılan araştırma çalışması sonucu Serturner tarafından Opium lateksinden morfin izole edilmiştir.

Gelişen teknoloji ve birçok sentetik ilacın varlığına rağmen geleneksel tıp, hala birçok toplum tarafından tercih edilen birinci sınıf sağlık sistemi olarak kabul edilmektedir. Dünya nüfusunun %60' ından fazlası ve gelişmekte olan ülkelerin yaklaşık %80'i tıbbi amaçlarda kullanmak üzere bitkilere bağımlıdır (Shrestha ve Dhillion, 2003).

Son yıllarda tıbbi bitkilerden elde edilen aktif maddeler üzerindeki çalışmalar ve bunlara karşı olan ilgi artmıştır. Bunun başlıca sebepleri olarak; ülkelerin sahip oldukları bitkilerden yararlanarak kolay ve ucuz bir tedavi elde etmeyi istemeleri, tedavi için kullanılan sentetik bileşiklerin bazılarında görülen yan etkiler ve sentetik bileşiklerin genellikle bir tek etkiye sahipken bitkisel drogların bunlardan üstün olarak birden fazla etkiye sahip olmaları gibi birçok sebep sayılabilir. Bitkilerin çeşitli hastalıkları tedavi etmek için özellikle, yaprakları, sapları, kabuk ve kökleri gibi çeşitli kısımları, semptomları önlemek, hafifletmek ya da tamamen tedavi etmek amacıyla kullanılmıştır. Günümüzde modern tıpta, etkinliği belirlenmiş bitkilerden izole edilmiş aktif bileşikler kullanmaktadır ve bu aktif bileşenlerin yaklaşık % 80'i, modern terapötik kullanımları ile geleneksel kullanımlar arasında pozitif bir ilişki olduğunu göstermektedir (Sarkar ve ark., 2015).

Fitokimyasallar bitkilerden elde edilen yararlı kimyasallar olarak bilinir ve birincil metabolitler ve ikincil metabolitler olarak iki sınıfa ayrılır. Birincil metabolitler, tüm bitkilerde meydana gelen, aynı metabolik fonksiyonlara sahip olan ve bitkinin canlılığını devam ettirebilmesi için gerekli olan katabolik ve anabolik yolların ara maddelerini içerir. Bu döngülerde üretilen bileşikler arasında amino asitler, şekerler ve yağ asitleri bulunur. Bu küçük moleküler ağırlıktaki bileşikler, proteinlerin, karbonhidratların, lipitlerin ve nükleik asitlerin makromoleküllerini oluşturmak için uzun zincirlere bağlanır. İkincil metabolitler, fotosentez, Calvin döngüsü, sitrik asit döngüsü (diğer bir deyişle trikarboksilik asit döngüsü veya Krebs döngüsü), glikoliz ve pentoz fosfat yolu dahil olmak üzere birincil metabolik yollardan üretilir (Schmidt ve Cheng, 2017).

Bitki sekonder metabolitlerinin, başlangıçta bitkilerdeki işlevleri bilinmediği için atık ürünler olduğu düşünülmüştür. Bununla birlikte, birçok fitokimyasalın bitkilerin zararlı böceklere karşı savunmasında çok önemli rol oynadığı ve bitkilerde hastalıkların yanı sıra biyolojik ve çevresel streslere karşı da direç gösterdiği çeşitli araştırmalar sonucu ortaya çıkmıştır.

Sekonder bileşikler veya doğal ürünler olarak da adlandırılan bitki sekonder metabolitleri, birincil metabolitlerin evrensel oluşumdaki temel rollerinin aksine, genellikle sadece belirli bitki familyalarında görülür veya belirli bitki dokularında bulunur. Bu nedenle, bir bitki ekstraktının anti-mikrobiyal, anti-enflamatuar ve anti-kanser etkileri gibi birçok işlevi, birincil metabolitler yerine bitki sekonder metabolitlerine atfedilir (Schmidt ve Cheng, 2017).

İnsan vücudunda meydana gelen çok sayıda fizyolojik ve biyokimyasal süreç sonucunda yan ürünler olarak, oksijen merkezli serbest radikaller ve diğer reaktif oksijen türleri (ROS) üretilebilir. Bu tür serbest radikallerin aşırı üretimi, biyomoleküllerde (lipitler, proteinler, DNA..vb.) oksidatif hasara neden olabilir (Halliwell, 2012). Son yıllarda yapılan araştırmalara göre, özellikle reaktif oksijen ve nitrojen kaynaklı oksidatif stresin kanser, diyabet, katarak, AH gibi çeşitli dejeneratif hastalıklarda önemli rol aldığı gözlenmiştir. Bu nedenle, çeşitli hastalıkların tedavisinde araştırılabilecek minimum veya önemli bir yan etkisi olmayan yeni antioksidan kaynaklar bulmak zorunlu hale gelmiştir (Pehlivan ve Sevindik, 2018). Bu bağlamda, hem biyolojik materyallerde hem de diyetle alınan besinlerdeki, antioksidan etkili bileşenlerin miktar ve aktivite özelliklerinin değerlendirilmesi oldukça önemlidir (Prior ve Cao, 1999). Antioksidanlar, vücutta veya diyetle alınan besinlerde, düşük yoğunlukta bulunurlar (Halliwell, 1999). Bitkiler, fenolik bileşikler (fenolik asitler, flavanoidler, kinonlar, kumarinler, lignanlar, stilbenler, tanenler), alkoloidler gibi çok çeşitli serbest radikal süpürücü moleküller içerebilir. Epidemiyolojik çalışmalar, bu antioksidan bileşiklerin çoğunun belirli ölçülerde, antiinflamatuar, antiaterosklerotik, antitümör, antimutajenik, antikarsinojenik, antibakteriyal veya antiviral aktivitelere sahip olduğunu göstermiştir (Cai ve ark., 2004). Doğal antioksidanların alımı, kanser, kardiyovasküler hastalık, diyabet ve yaşlanma ile ilişkili diğer hastalık risklerinin azalması ile ilişkilendirilmiştir ve bu nedenle, hem aldığımız besinlerdeki hem de biyolojik sistemlerdeki doğal olarak oluşan moleküllerin, antioksidan aktivitelerine artan bir ilgi vardır (Willcox ve ark., 2004).

Birbirinden farklı antioksidanlar ve oksidanlar arasında gerçekleşen reaksiyonlar, farklı hızlara sahiptirler, bu nedenle bitkissel bir ekstraktın antioksidan kapasitesi kullanılan farklı oksidanlara göre değişkenlik gösterir (Ghiselli ve ark., 2000). . Bitkisel kaynaklarda bulunan antioksidanlar, cilt problemleri, diyabet, farklı kanser türleri, Parkinson, Alzheimer hastalığı (AH) gibi çeşitli hastalıklardan korunmada hayati bir rol oynar (Li ve ark., 2017).

Bitkisel kaynaklardan elde edilen ekstraktlar ve izole edilmiş bileşikler, farklı klinik koşullarda yer alan çeşitli enzimler için bir inhibitör kaynağı olarak da fazla ilgi görmektedir (Zengin ve ark., 2018). Yaşlanmayla ilişkilendirilebilen AH hastalığı vakaları 2040 yılında neredeyse 81,1 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir (Dhouafli ve ark., 2018). AH'nın başlamasından, beyinde azalan asetilkolin seviyesi gibi, çeşitli faktörler sorumludur. Hem asetilkolinesteraz (AChE) hem de bütirilkolinesteraz (BChE), kolinerjik nörotransmisyondan sorumludur ve AH hastalığını tedavi etmek için kilit hedeftir (Li ve ark., 2017).

Bunun dışında, diğer çalışmalar tip II diyabetinde AH'nın gelişme riskini artırabildiğini göstermiştir (Li ve ark., 2018). Kan şekeri seviyesindeki artışla karakterize edilen Tip II diyabet, günümüzde küresel bir problem olarak kabul edilmektedir. Karbonhidratların emilimini gerçekleştiren α-amilaz ve α-glukosidaz enzimlerinin inhibe edilmesi hipergliseminin tedavisi için önemli bir stratejidir (Mendes ve ark., 2017).

Tirosinaz veya polifenol oksidaz, bitkilerde ve hayvanlarda yaygın olan ve Cu (bakır) içeren bir enzimdir. Melanosit içindeki melanogenez sürecini, büyük ölçüde etkileyen önemli düzenleyici bir enzimdir. Farklı biyopolimerlerin bir karışımı olan melanin, cilt ve saç rengini belirler aynı zamanda zararlı UV radyasyonundan da koruma sağlar. Tirosinaz, melanin pigmentinin sentezi için anahtar enzim konumundadır. Böylece, ciltte melanin pigmentlerinin aşırı üretimi ve birikmesi, güneş lentigo, melazma, enflamatuar sonrası hiperpigmentasyon (PIH) ve linea nigra gibi dermatolojik "hiperpigmentasyon" gelişimine yol açar. Hiperpigmentasyon, Cushing hastalığı, Addison hastalığı ve Nelson sendromunda olduğu gibi vücuttaki hormonal dengesizlik nedeniyle de ortaya çıkabilir. Arbutin ve kojik asit, kozmetik ürünlerde cilt beyazlatma için yaygın olarak kullanılan tirozinaz inhibitörleridir.

Klinik olarak, bu depigmentasyon ajanları hiperpigmentasyon tedavisi olarak uygulanır. Bununla birlikte, Kojik asit, terapötik konsantrasyonda dermal duyarlılaşmaya neden olurken, arbutin potansiyel sitotoksisiteye sahiptir (Mukherjee, 2019).

Bitkilerden elde edilen ilaçların ve besin takviyelerinin aranması ve kullanımı son yıllarda artmıştır. Farmakologlar, botanikçiler, mikrobiyologlar, çeşitli hastalıkların tedavisi için ilaçlara dönüştürülebilecek fitokimyasalların aranması adına dünyadaki çeşitli bitkiler üzerine araştırmalar yapmaktadır (Mintah ve ark., 2019).

Scorzonera L. cinsi, sayısız biyoaktif doğal bileşik sınıfının bilinen bir kaynağıdır (Acıkara ve ark., 2013b) *Scozronera* cinsi, dünyanın dört bir yanında yaklaşık 160 tür ile temsil edilen Asteraceae familyasının bir üyesidir. Çok sayıda tür, Avrasya ve Kuzey Afrika'nın kurak bölgeleri boyunca yaygın olarak dağılmıştır. Türkiye'de 31'i endemik olmak üzere yaklaşık 54 cins için bir çeşitlilik merkezi olarak kabul edilmektedir (Sarı ve ark., 2019).

Scorzonera türleri, geleneksel olarak Türkiye, Moğolistan, Çin ve Avrupa dahil olmak üzere birçok ülkede, arterioskleroz, böbrek hastalıkları, hipertansiyon, diyabet, romatizma, ishal, akciğer hastalıkları, mide ülseri, gut, infertilite, ve yılan ısırıklarının tedavisinde kullanıldığı belgelenmiştir. *Scorzonera* üyelerinin yara iyileştirici özelliklerinin Türk geleneksel tıbbında da kullanımı rapor edilmiştir (Acikara ve ark., 2013).

Bu tez çalışmasında *Scorzonera* L. cinsinde yer alan üç takson (*S. hieracifolia*, *S. hispanica* ve *S. tomentosa*)'nunun toprak üstü ve kök kısımlarından farklı çözücüler (hekzan, diklorometan, etil asetat, metanol ve su) kullanılarak elde edilen ekstrakların kimyasal içerikleri, antioksidan özellikleri ve enzim inhibitör potansiyellerinin *in vitro* test sistemleri kullanılarak belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu şekilde belirtilen taksonların biyokimyasal özellikleri üzerine gerçekleştirilen bu çalışma, bu taksonlar üzerine yapılacak diğer çalışmalara bilimsel bir başlangıç noktası oluşturacak ve elde edilen veriler doğrultusunda yeni ham madde kaynaklarınının tespitine imkan sağlayacaktır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

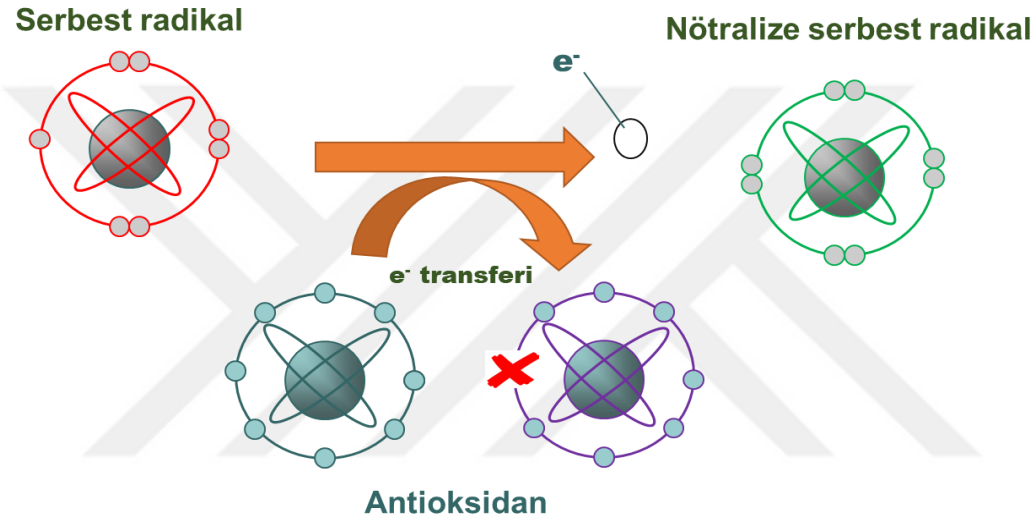
2.1. Biyolojik Sistemlerde Oksidatif Stres ve Serbest Radikal Mekanizmaları

Oksidatif stresin oluşması, dünyadaki yaşamın evrimi olarak tanımlanmaktadır ve anaerobik bir ortamın aerobik bir ortamı takip etmesi temeline dayanır. Bu nedenle oksijen açısından zengin bir atmosferde yaşamak, özellikle oksidasyon veya serbest radikallerin üretimi açısından bazı olumsuz sonuçlara yol açabilir. Aerobik sisteme sahip canlı organizmalar metabolizmaları için ihtiyaç duydukları ATP'yi, elektronların, elektron taşıma sistemindeki (ETS) yollardan geçip, son elektron alıcısı olan oksijene ulaşmasıyla elde ederler. Sonrasında, moleküler oksijen (O_2) sırasıyla suya (H_2O) indirgenir ve reaktif oksijen türleri üretilir (Novo ve Parola, 2008; Davies ve ark., 2017). Bu nedenle, oksijenin aerobik yaşam için kesinlikle gerekli olduğu şüphesizdir, ancak ROS'un aşırı üretilmesi durumunda çok zararlı olabilir. Bu olgu "oksijen paradoksu" olarak bilinir (Puddu ve ark., 2008; Davies, 2016).

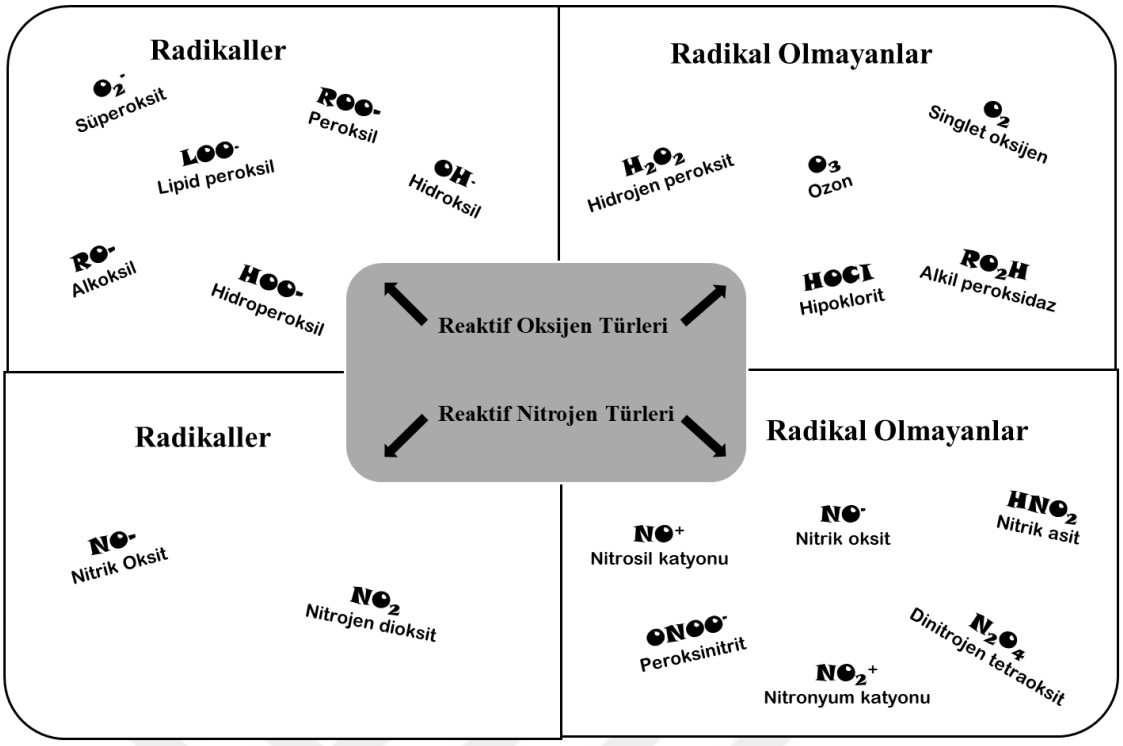
Serbest radikaller dış orbitallerinde eşlenmemiş elektron taşıyan, yüksek atomlar, moleküller veya iyonlardır (Halliwell ve Gutteridge, 1985). Eşlenmemiş elektronu bulunmayan atomlar veya moleküller, kararlı bir yapıya sahip oldukları için, reaksiyona girme eğilimleri serbest radikaller kadar yüksek değildir (Valco ve ark., 2007). Serbest radikaller, üç elementten türetilirler, bunlar: oksijen, azot ve kükürt. Bu elementler, reaktif oksijen türleri (ROS), reaktif azot türleri (RNS) ve reaktif kükürt türleri (RSS) oluşturulur. İnsan fizyolojisindeki serbest radikal türleri, genel olarak reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot türlerine (RNS) karşılık gelir. Şekil 2.2'de ROS ve RNS için radikal ve radikal olmayan türler gruplandırılmıştır.

Kimyasal olarak, serbest radikallerin oluşumu, kovalent bağ ayrılması, bir elektron transfer reaksiyonu (Fe, Cu, Mn, vb.) veya lipit peroksidasyonunun bir sonucu olarak ortaya çıkabilir. Serbest radikallerin oluşum aşamaları Şekil.2.3.' de verilmiştir. Vücudun normal oksijen kullanımı sırasında da serbest radikaller, mitokondri tarafından sürekli üretilmektedir. ETS'ye ek olarak, bir başka önemli endojen ROS kaynağı oksidaz ve oksijenaz enzimleridir (Uttara ve ark., 2009). Bu enerji üretimi sonucunda oluşan serbest radikaller, lipitlerin, proteinlerin ve nükleik asitlerin yapısında birtakım değişiklikler meydana getirebilir (Mahmoud ve ark., 2008).

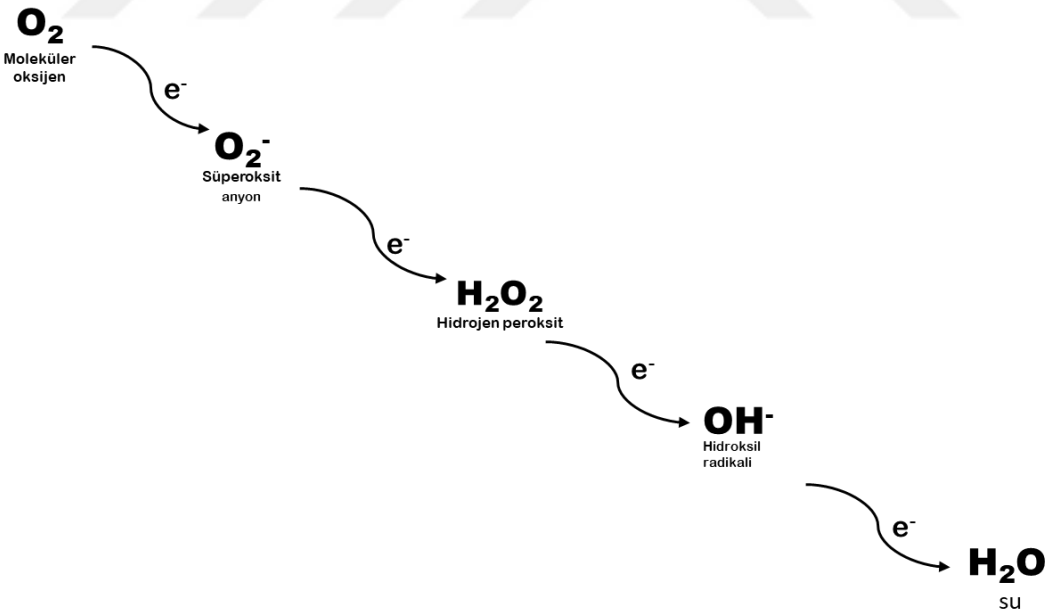
Serbest radikal hasarının, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, Alzheimer, Parkinson, bağışıklık sistemi hastalıkları da dahil olmak üzere bir dizi hastalığa sebep olduğu bilinmektedir. Dokulardaki serbest radikal hasarının eksojen olarak başlıca sebepleri, sigara, çevre kirleticiler, radyasyon, böcek ilaçları, endüstriyel çözücüler, ultraviyole (UV) radyasyona, ozona, dumana ve bazı ilaçlara maruz kalmaktır (Lobo ve ark., 2010).



Şekil.2.1. Serbest radikal ve normal molekül yapıları (Alkadi, 2020)



Şekil.2.2. Vücutta üretilen yaygın radikal ve radikal olmayan ROS ve RNS türleri.

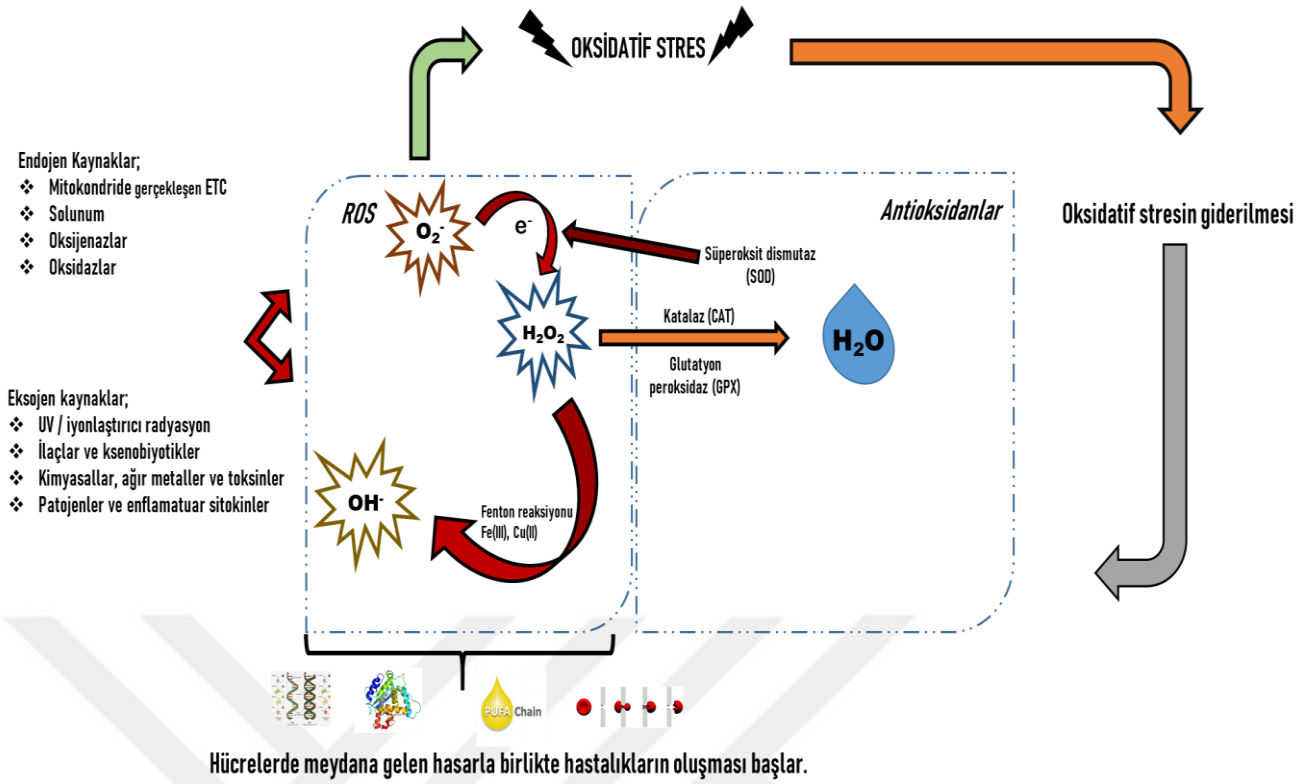


Şekil.2.3. Kademeli olarak O_2'nin H_2O'ya indirgenmesi (dört elektronun sıralı olarak eklenmesi) (Alkadi, 2020).

Oksidatif Stres ve Hastalıklarla İlişkisi

Oksidatif stres, vücutta üretilen oksidanların miktarı ve antioksidan içeriği arasındaki dengesizlik durumu olarak tanımlanır ve bunun sonucu olarak da, çeşitli hastalıkların gelişimi artmaktadır. Oksidatif stres, nörodejeneratif rahatsızlıklar, kardiyovasküler hastalıklar ve çeşitli kanser türleri gibi bir dizi hastalık ile ilişkilidir ve hastalıkların oluşumuna öncülük ettiği klinik olarak da kanıtlanmıştır (Uttara ve ark., 2009; Maurya ve Chandra, 2017).

Oksidatif stres terimi ilk olarak 1985 yılında Helmut Sies tarafından tanımlanmıştır (Sies ve Sies, 1985). ROS esas olarak bir aerobik metabolizmada üretilir ve hücrelerde birçok biyomoleküle zarar veren, güçlü bir oksitleyici özelliğe sahiptir (Halliwell, 2007). Bu nedenle, bazı kaynaklar oksidatif stresi, metabolizmamızda oksijen kullanımı için ödemek zorunda olduğumuz bedel olarak tanımlamaktadır (Thannickal, 2009). Bununla birlikte, vücudumuzda oksidatif stres kaynaklı hastalıkların oluşmasını önlemek için serbest radikalleri temizlemek, oksidatif hasarı ortadan kaldırmak ve okside lezyonları gidermek için antioksidan savunma sistemi vardır.

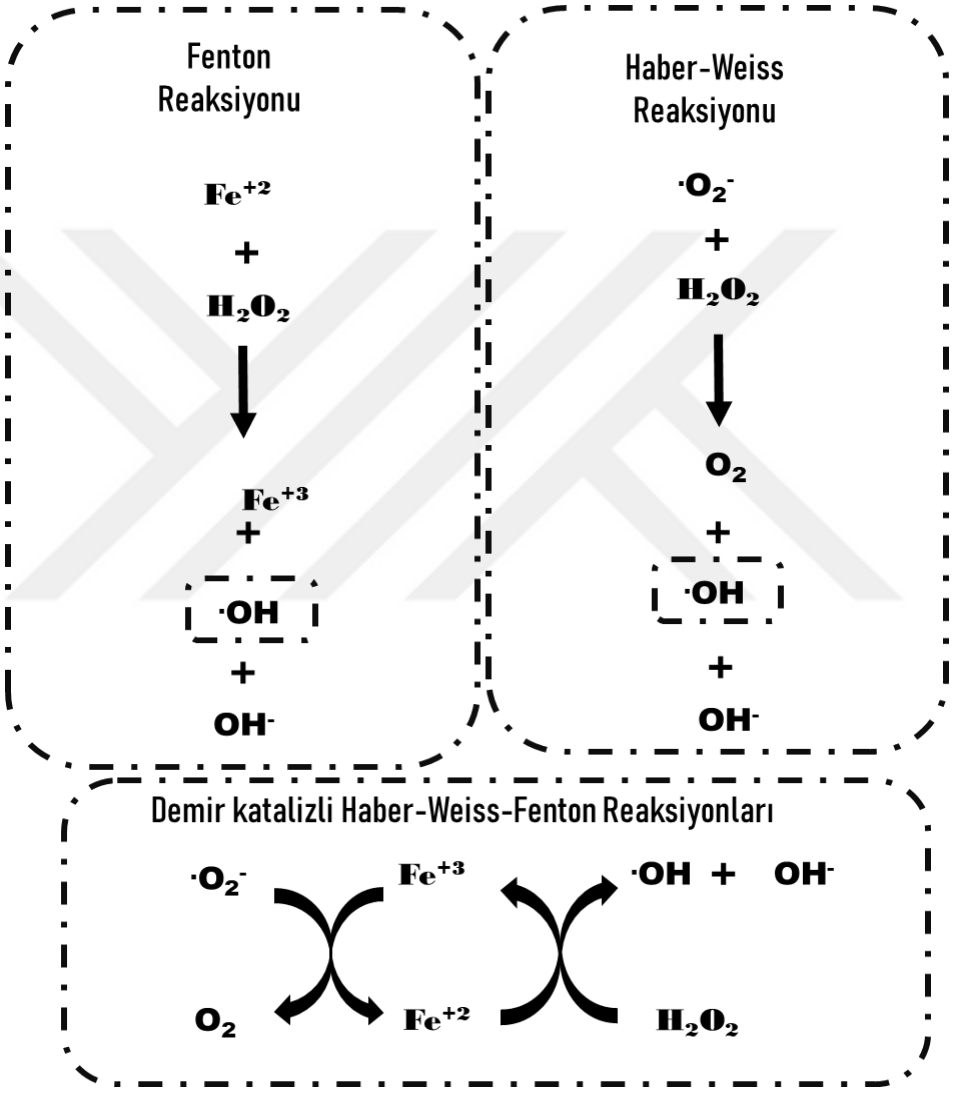


Şekil. 2.4. Şekilde ROS üretimi, antioksidan savunma sistemi, oksidatif stres ve sonuçları açıklanmıştır. Artan ROS üretimine bağlı olarak oksidatif hasar ortaya çıkar. Antioksidan savunma sistemi, oksidatif hasarı önlemek için etkinleştirilir (Milkovic ve ark., 2019).

Demir iyonlarının bulunduğu vücutta, hidroksil radikali esas olarak demir katalizli Haber-Weiss / Fenton reaksiyonu ile üretilir. Bu radikalin DNA molekülünün tüm bileşenleri ile reaksiyona girdiği bilinmektedir (Decker ve van Holde, 2011).

Hidroksil radikalinin oluşumu için Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonları Şekil 2.5' de verilmiştir. Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonlarının oluşmasında temel faktör aşırı demir birikmesidir. Bu reaksiyonda hücre normal reaksiyonlarına devam ederken, reaksiyon sonucu oluşan hidrojen peroksit, demir ile reaksiyona girer ve Fe^{+2} değerlikli forma bulunan demir, Fe^{+3} değerlikli hale gelir ve sonrasında serbest hidroksil radikalini ($OH\cdot$) oluşturur. Meydana gelen bu ürünler demirin indirgeyici özelliği sebebiyle, proteinlerin oksidasyonuna, hücre zarı, lizozom ve mitokondri gibi diğer organellerdeki lipidlerinin peroksidasyonuna, nükleik asitlerin modifikasyonuna neden olur ve hücresel hasarın oluşmasını tetikler (Liang ve ark., 2013).

Fazla miktarlarda demirin hücrede bulunması, transferrin, ferritin ve demir bağlayıcı birçok proteinin yapısında bozulmalara neden olur. Demirden kaynaklanan toksisiteye, organlar hassas olduğu için, fazla demir birikimi çeşitli kalp-damar hastalıklarına, siroz gibi karaciğer rahatsızlıklarına ve endokrin sistem anomalilerine sebep olabilir (Yang ve ark., 2018).



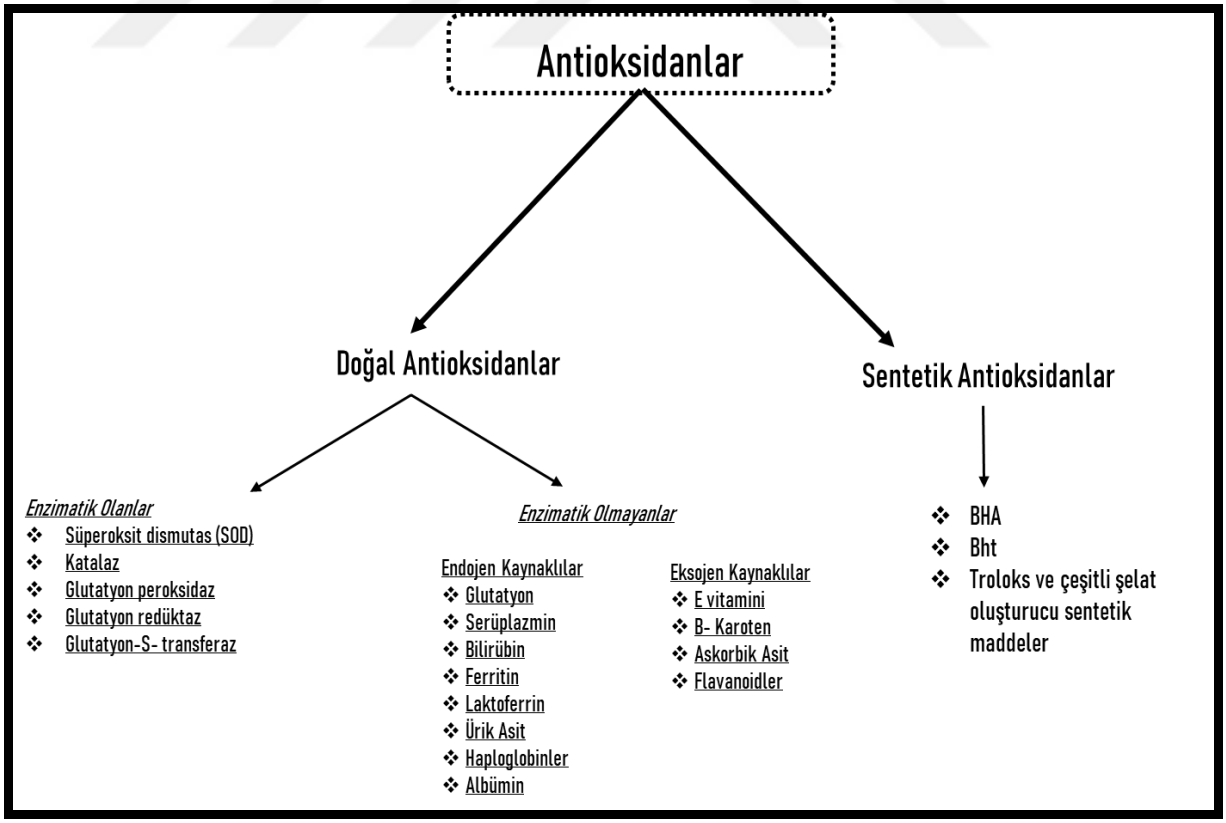
Şekil.2.5. Hidroksil radikalinin oluşumu için Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonları

2.2. Antioksidanlar ve Prooksidanlar

Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu bir şekilde durduran veya hücrede bulunan radikalleri süpürerek zarar görmesini engelleyen moleküller olarak tanımlanmaktadır (Kahkönen ve ark., 1999). İnsan sağlığında antioksidanların önemini, kimyasal yapıları, yapı-aktivite ilişkileri ve doğal kaynaklardan elde edilebilirlikleri gibi önemli faktörler belirlemektedir (Kaur ve Kapoor, 2001). Antioksidanlar hem vücut hücreleri tarafından üretilebilir hemde diyetle alınabilir. Gıdalarda bulunan başlıca doğal antioksidanlar, esas olarak vitaminler (C, E ve A vitaminleri), flavonoidler, karotenoidler ve polifenollerdir. Antioksidanlar arasında en önemli bileşikler polifenoller ve bunların türevleridir.

Bir antioksidanın aktivitesi; geçiş metallerini şelatlama potansiyeli; farklı antioksidanlarla etkileşim yeteneği; hidrojen veya elektron bağlayıcı olarak gösterdiği reaktivite gibi faktörler ile belirlenir (Rice-Evans ve ark., 1997).

Vücudun normal fizyolojik koşullarında hücreler, gelişebilecek bir oksidatif hasara karşı antioksidan savunma sistemleri tarafından korunur (Rice-Evans ve ark., 1997). Bu antioksidan sistemleri Şekil.2.6' daki gibi sınıflandırabiliriz.



Şekil.2.6. Antioksidanların sınıflandırılması

Doğal Antioksidanlar

Doğal antioksidanlar çeşitli gıdalar ve tıbbi bitkilerde yaygın olarak bulunur. Bu doğal antioksidanlardan özellikle, polifenoller ve karotenoidler, anti-enflamatuar, yaşlanma karşıtı, anti-ateroskleroz ve antikanser dahil olmak üzere çok çeşitli biyolojik etkiler sergiler. Khlebnikov ve ark. (2007) antioksidanları ‘’ROS' u doğrudan temizleyen veya ROS üretimini engelleyen bir madde” olarak tanımlamıştır. Bir bileşiğin bir antioksidan olarak düşünülmesi için gereken bir başka özellik, radikali temizledikten sonra, daha fazla oksidasyonla moleküller arası hidrojen bağıyla stabil olan yeni bir radikal oluşturma yeteneğidir (Halliwell ve Gutteridge, 1990). İnsan evrimi sırasında, serbest radikaller ve oksidatif stres arasında bir denge sağlamak için endojen birtakım savunma sistemleri gelişmiştir. Antioksidan aktivite çeşitli yollarla etkili olabilir: serbest lipit radikallerinin oluşumunu engelleyerek, serbest radikal oksidasyon reaksiyonlarının (önleyici oksidanlar) inhibitörleri olarak; otoksidasyon zincir reaksiyonunun keserek (zincir kırıcı antioksidanlar); hidroperoksidleri kararlı bileşiklere dönüştüren indirgeyici ajanlar olarak; metal prooksidanları (demir ve bakır türevleri) kararlı ürünlere dönüştüren metal şelatörler olarak; ve son olarak prooksidatif enzimlerin (lipooksijenaz) inhibitörleri olarak etkilerini gösterebilirler (Carocho ve Ferreira, 2013).

İnsan antioksidan sistemi, enzimatik antioksidanlar ve enzimatik olmayan oksidanlar olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Enzimatik antioksidanlar ile ilgili olarak, birincil ve ikincil enzimatik savunma sistemleri mevcuttur. Birincil savunma ile ilgili, serbest radikallerin oluşumunu önleyen veya nötralize eden üç önemli enzimden oluşur: örneğin, Fenton reaksiyonu için potansiyel substrat olarak peroksitleri ortadan kaldıran glutatyon peroksidaz; hidrojen peroksidi suya ve moleküler oksijene dönüştüren katalaz ve son olarak, süperoksit anyonlarını hidrojen perokside dönüştürür süperoksit dismutaz (Abd, 2007). İkincil enzimatik savunma sistemi glutatyon redüktaz ve glikoz-6-fosfat dehidrojenaz içerir. Glutatiyon redüktaz, glutatyonu (antioksidan) indirgeyerek daha fazla serbest radikali nötralize etmek için geri dönüştürür. Glikoz-6-fosfat dehidrogenaz, NADPH'yi (nikotinamid adenin dinükleotid fosfat - anabolik reaksiyonlarda kullanılan koenzim) indirgeyici bir ortam oluşturur (Carocho ve Ferreira, 2013). Bu iki enzim serbest radikalleri doğrudan nötralize etmez, ancak diğer endojen antioksidanlar için destekleyici rollere sahiptir.

Enzimatik olmayan endojen antioksidanlar olarak: vitaminler (A), enzim kofaktörleri (Q10), azot bileşikleri (ürik asit) ve peptitler (glutatyon) örnek verilebilir. A vitamini veya retinol, karaciğerde üretilen bir karotenoiddir ve β-karotenin parçalanmasıyla oluşur. İzole edilebilen birçok A vitamini formu vardır. Çeşitli çalışmalar sonucunda, cilt, gözler ve iç organlar üzerinde faydalı etkisi olduğu bilinmektedir (Carocho ve Ferreira, 2013). Koenzim Q10 tüm hücrelerde ve zarlarda bulunur; solunum zincirinde ve diğer hücresel metabolizmada önemli bir rol oynar. Koenzim Q10, lipit peroksil radikallerinin oluşumunu engelleyerek etki eder, ancak bu koenzimin oluşumlarından sonra bile bu radikalleri nötralize edebileceği bildirilmiştir.

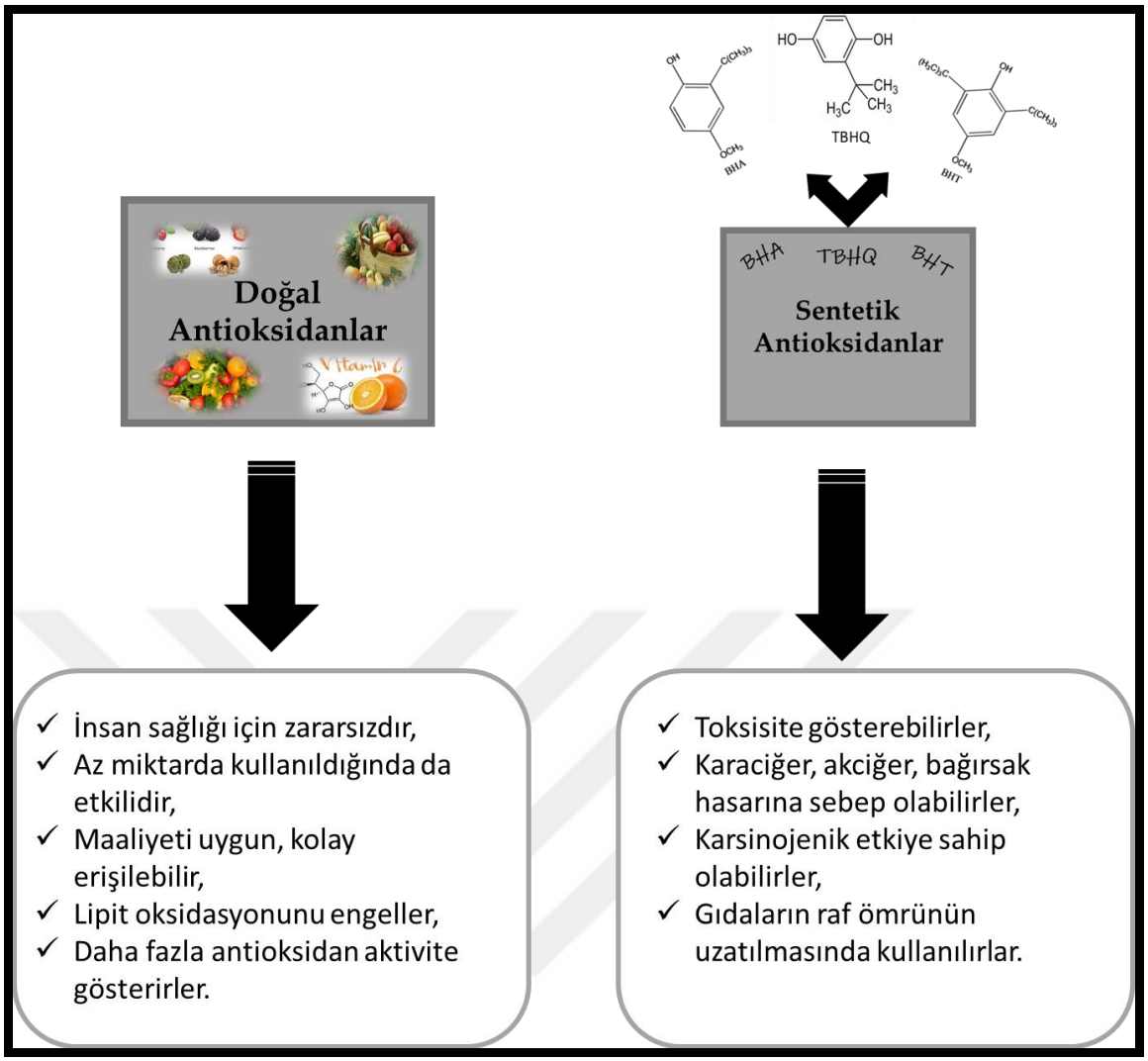
C ve E vitaminleri askorbik asit ve tokoferollerin diğer isimleridir. C vitamini suda çözünebilen önemli bir antioksidan olup insan vücudunda sentezlenemez, dolayısıyla bu vitaminin dışardan diyetle alınması gerekir (Diplock ve ark., 1998). Askorbik asit, antioksidan aktiviteye sahip iki bileşik içerir: L-askorbik asit ve L-dehidroaskorbik asit, her ikisi de gastrointestinal sistem yoluyla emilir ve enzimatik olarak değiştirilebilir. Askorbik asit, süperoksit radikal anyonu, hidrojen peroksit, hidroksil radikali, singlet oksijen ve reaktif azot oksidin atılmasında etkilidir (Mariutti ve ark., 2011). C vitamini esansiyel bir besin olmasının yanında, bağışıklık sisteminin geliştirilmesinde, kollogen doku sentezinde, metal iyonlarının metabolizması, kalp-damar hastalıkları ve çeşitli dejeneratif hastalıkların riskini azalatmak gibi birçok önemli işlevi de vardır. E vitamini, dört tokoferol (a-tokoferol, b-tokoferol, c-tokoferol ve d-tokoferol) ve dört tokotrienol (a-tokotrienol, b-tokotrienol, c-tokotrienol) ile sekiz izoformdan oluşur. E vitamini, plazma, alyuvarlar ve dokularda bulunan ve lipit yapılarının, özellikle membranların bütünlüğünü korumasını sağlayan, lipitte çözünebilen tek ana antioksidandır (Burton ve Traber, 1990).

Sentetik Antioksidanlar

Biyomolekülleri oksidatif hasara karşı koruyan antioksidanlara olan ilgi, giderek artmaktadır. Birçok araştırmacı, antioksidan aktivitesi yüksek ve zararı minimum olan sentetik bileşiklerin arayışı içindedir. Oksidasyonu önlemek amacıyla, yağlarında oksidasyon mekanizmalarının anlaşılmasıyla birlikte antioksidanların üretimi kapsamında birçok çalışma yapılmaktadır. 1940'lı yıllardan günümüze kadar birçok sentetik antioksidan madde elde edilmesine rağmen bunların bir kısmı aktif olarak kullanılmaktadır (Bennun ve ark., 2007).

Sentetik antioksidanlar, doğal antioksidanların farklı formlarını oluşturular ve doğal antioksidanların en etkili formunu taklit edecek şekilde sentezlenirler. Bu duruma örnek olarak E vitamini verilebilir. E vitamininin α, β, γ ve δ olmak üzere doğada 4 adet analoğu bulunmaktadır. Bu izomerlerin hepsi birlikte bulunursa E vitamininin çözünürlüğü artacaktır ve daha fazla antioksidan etkinlik gösterecektir.

Günümüzde, neredeyse tüm işlenmiş gıdalar, güvenli olduğu bildirilen sentetik antioksidanlara sahiptir, ancak bazı çalışmalar bu durumun sakıncalara sahip olduğunu göstermiştir. BHT (butillenmiş hidroksitoluen) ve BHA (butillenmiş hidroksianisol) en yaygın kullanılan kimyasal sentetik antioksidanlardır. 2011 ve 2012 arasında, Avrupa gıda güvenliği (EFSA), temelde çelişkili veriler de dahil olmak üzere, bu iki antioksidan hakkında mevcut tüm bilgileri yeniden değerlendirmiştir. EFSA, BHT için kabul edilebilir günlük alım miktarları olarak 0.25 mg / kg / gün ve BHA için 1.0 mg / kg / gün değerlerini oluşturmuştur ve hem yetişkinlerin hem de çocukların bu oranları aşmadığı sürece bir yan etki olmayacağını belirtmiştir (Committee, 2012). TBHQ (tert-Butilhidrokinon), hayvansal gıda ürünlerinin tazeliğini, besleyici değerini, lezzetini ve rengini stabilize eder ve korur. 2004 yılında EFSA, bu antioksidanın insan sağlığı üzerindeki etkisini gözden geçiren bir bilimsel görüş yayınlanmış ve önceki çelişkili verilere rağmen kanserojenliğinin bilimsel bir kanıtı olmadığını belirtmiştir.



Şekil.2.7. Doğal ve sentetik antioksidanların karşılaştırılması

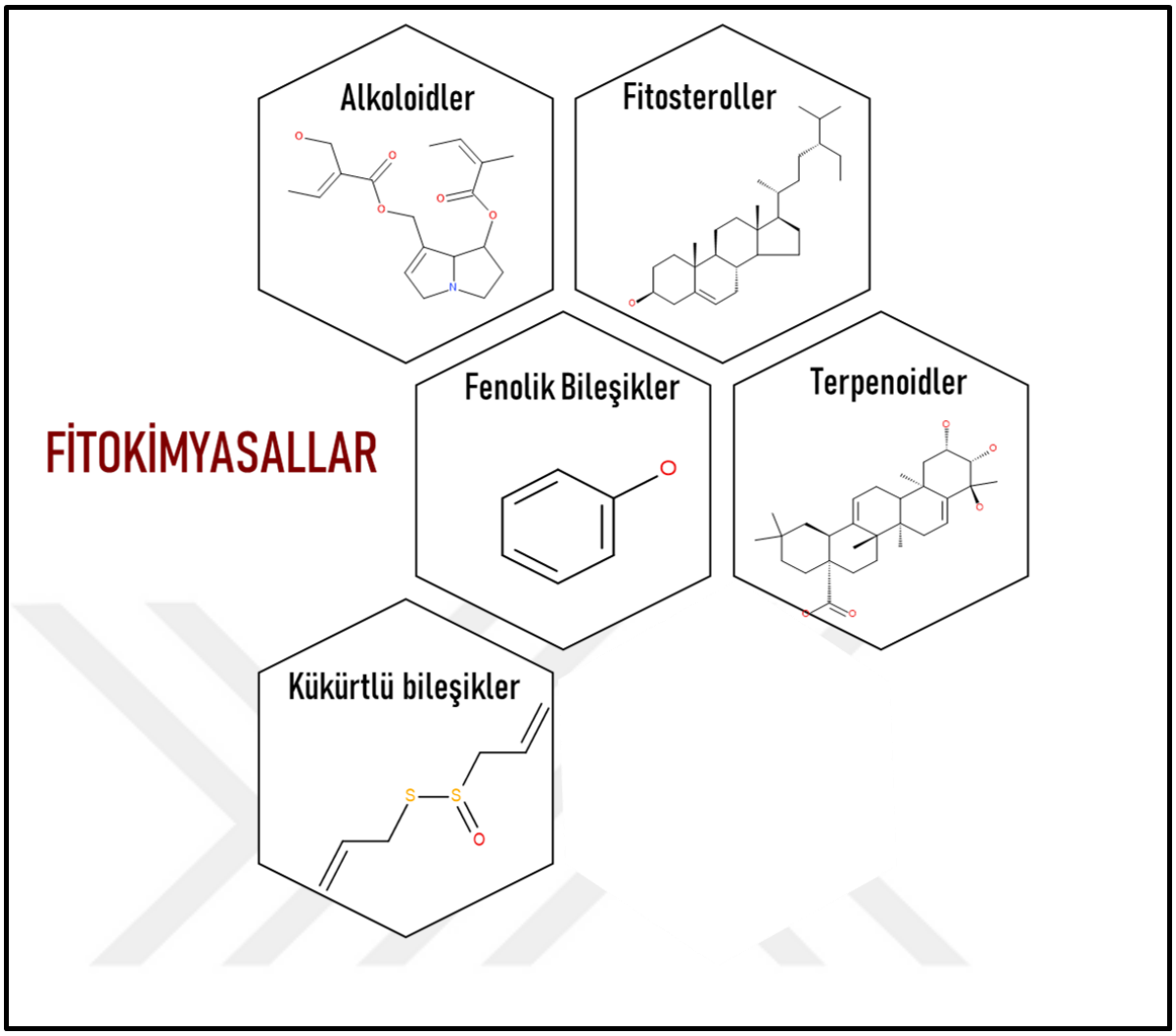
Prooksidanlar

Singh ve ark. (2010) antioksidanları, "Mucize Moleküller" den "' Muhteşem Moleküller "e ve son olarak" 'Fizyolojik Moleküller" e kadar farklı şekilde isimlendirilebileceğini savunmuştur. Kuşkusuz bu moleküller metabolik yollarda hayati bir rol oynar ve hücreleri korur, ancak son zamanlarda yapılan çalışmalar sonucu antioksidanların ve proksidanların rolünü anlamak için araştırmacılar daha ayrıntılı araştırmalar yapmaya başlamıştır. Serbest radikaller proksidan olarak kabul edilir, ancak ilginç bir şekilde antioksidanlar da proksidan davranışına sahip olabilir. C vitamini birçok fizyolojik reaksiyonda güçlü bir antioksidan olarak kabul edilir ve aynı zamanda bir proksidan olabilir.

Örneğin, α-Tokoferol'ün yararlı ve güçlü bir antioksidan olduğu da bilinir, ancak yüksek konsantrasyonlarda bir proksidan haline gelebilir. Bu durumda, α-Tokoferol serbest bir radikal ile reaksiyona girdiğinde, radikalin kendisi haline gelebilir ve bunun için yeterli askorbik asit yoksa oldukça reaktif durumda kalacaktır ve linoleik asidin oto-oksidasyonunu teşvik edecektir (Baştürk ve Cavıdoğlu, 2017). Yordi ve ark. (2012) on dört fenolik asit listesi yayınlamıştır ve bu fenolik asitler normalde antioksidan olarak kabul edilir ancak belirli koşullar altında prooksidan görevi de yapar.

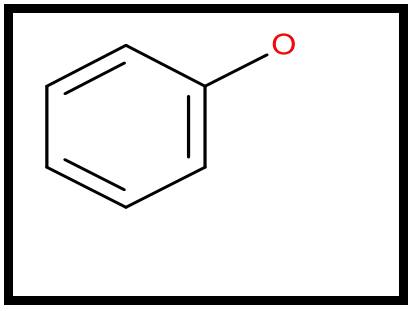
2.2.1. Fitokimyasallar ve Fenolik Bileşikler (Polifenoller)

'Fito' ön eki, Yunanca'da bitki anlamına gelir. Fitokimyasallar, bitkiler tarafından üretilen yararlı kimyasallardır. Biyolojik olarak aktif kimyasal bileşikler olan fitokimyasallar, bitkilerde doğal bir savunma sistemi olarak görev yapar ayrıca bitkiye renk, aroma ve tat veren maddelerde fitokimyasallardır. Bugüne kadar 4 binden fazla fitokimyasal çeşidinin varlığı bilinmektedir. Fitokimyasalların, DNA repkikasyonunun düzenlenmesi, enzim stimülasyonu, endokrin sistemin düzenlenmesi, antioksidan, antibakteriyel, antiinflamatuar ve kanser önleyici gibi artırılabilir daha birçok sağlık etkileri vardır. Fitokimyasallar Şekil 2.8'de gösterildiği gibi sınıflandırılabilir (Bueno ve ark., 2012).



Şekil.2.8. Fitokimyasalların sınıflandırılması

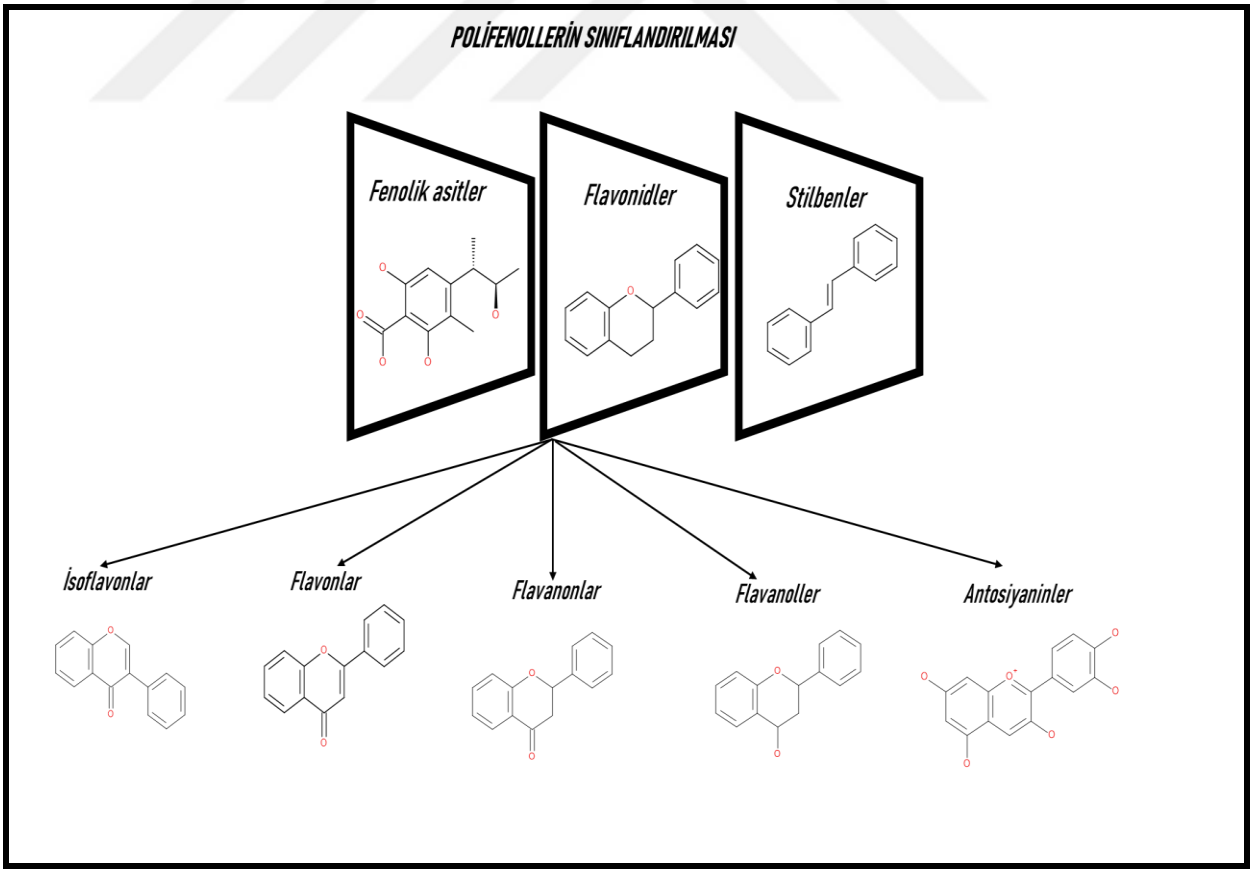
Değerli gıda bileşenlerinden olan fenolik maddeler, bitkilerdeki sekonder metabolitlerdendir. Şekil.2.9'da fenolik bileşiklerin halkasal yapısı (Balasundram ve ark., 2006) gösterilmiştir. Kimyasal yapıları bir veya birden fazla hidroksil grup içeren aromatik halkalardan oluşmaktadır. Basit fenolik molekülden kompleks polimerlere kadar değişen geniş bir aralığı kapsayan bu gruplar, polifenoller olarak da bilinir.



Şekil.2.9 Fenolik bileşiklerin halkasal yapısı

Polifenollerin farklı sınıflandırmaları olmasına rağmen, temelde fenolik bileşikler, fenolik asitler, flavonoidler ve stilbenler olmak üzere üçe ayrılır. Fenolik asitler kendi arasında hidroksisinnamikasitler ve hidroksibenzoikasitler olmak üzere ikiye ayrılır. Hidroksisinnamik asitlerin en yaygın bulunan örnekleri, kumarik asit, kafeik asit, ferulik ve sinapik asitlerdir. Hidroksibenzoik asitlerin başlıcaları; salisilik asit, p-hidroksibenzoik asit, gallik asit, vanilik asittir (Pokorný, 1991). Bu fenolik asitler, bitkilerde genellikle serbest formda ve düşük miktarda bulunmaktadır (Ekşi ve Karadeniz, 2002).

Polifenollerin en geniş grubunu oluşturan flavanoidler doğada 4000'den fazla tanımlanmıştır. Fenolik bileşikler, yüksek derecede antioksidan aktiveye ve metallerle şelat oluşturma özelliğine sahip ikincil bitki fenolikleridir. Bitkilerin çeşitli kısımlarında bulunan flavanoidler, serbest radikaller tarafından oluşan, kanser , kardiyovasküler hastalıklar, gibi birçok hastalığı önlemek amacıyla kullanılmıştır (Kaliora ve Dedoussis, 2007). Polifenollerin sınıflandırılması Şekil.2.10'da verilmiştir.



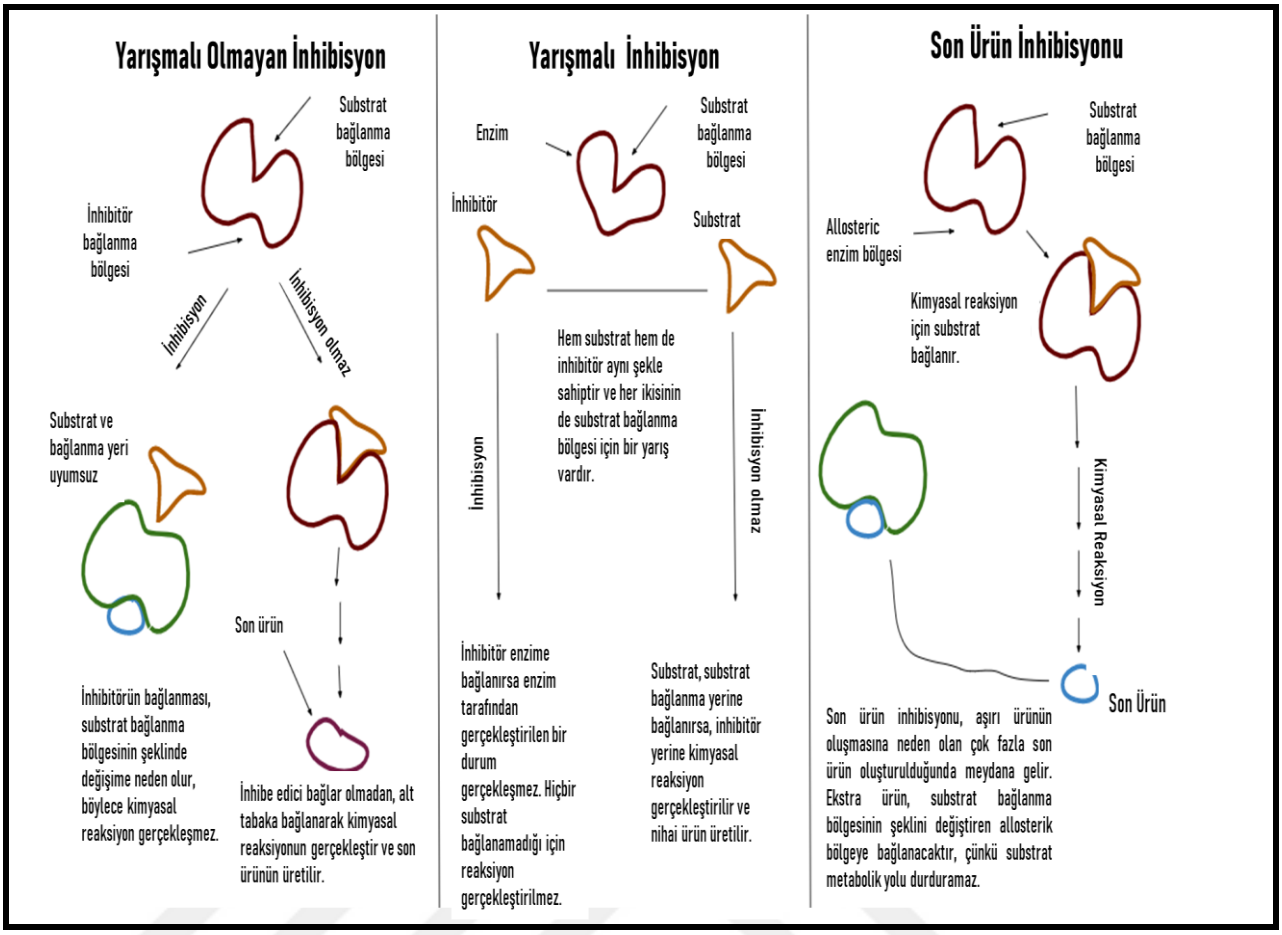
Şekil.2.10. Polifenollerin sınıflandırılması

2.3. Enzim İnhibisyon Mekanizmaları

Enzimler tüm biyolojik sistemlerde hemen hemen tüm metabolik reaksiyonları katalize eden bir grup biyolojik olarak aktif polimer olarak tanımlanmaktadır. Diğer bir deyişle enzimler, biyokimyasal olayların vücutta uyumlu bir şekilde gerçekleşmesini sağlayan kimyasal ajanlardır. Enzimler kimyasal reaksiyonları, ayrı adımlara ayırarak hızlandırabilir. Enzimatik bir reaksiyonun her aşaması, aynı kimyasal reaksiyon için aktivasyon enerjisi değerinden daha düşük bir aktivasyon enerjisine sahip olduğundan enzimler yaklaşık 106-1010 kat kadar bir reaksiyonun hızını artırabilir. Mevcut hipotez, enzimlerin yüksek konformasyonel hareketliliği, aktif bölgelerini reaksiyonların substratlarına ve ara maddelerine en iyi şekilde adapte etmelerine izin vermelerine dayanır (Yang ve Bahar, 2005).

Bir reaksiyonda enzim inhibisyonundan bahsedebilmek için, enzimatik bir tepkimenin hızının, adına inhibitör denilen bazı maddeler tarafından engellenmesi veya tamamen durdurulması gerekir. Birçok hastalık, enzimlerin işlevlerini yerine getirememesi sonucu oluşmaktadır. Bununla birlikte, bazı hastalıklar ise enzimlerin olağan şekilde görevlerini yerine getirmesiyle oluşur. Bu enzimlerden kaynaklı hastalıkların tedavisinde amaçlanan, enzimin katalizlediği kimyasal reaksiyonu bozmak, yani hastalığı enzim inhibisyonuyla tedavi etmektir.

Çeşitli hastalıklara karşı kullanılan birçok ilaçta hedef, enzim ihnhibisyonuna yöneliktir. Dolayısıyla enzimleri inhibe etme amacıyla kullanılan bu kimyasal maddeler, enzim inhibitörleri olarak isimlendirilir ve enzimlerin katalitik etkilerine engel olarak işlev görürler. Enzim inhibisyon mekanizmaları (Elmore, 2002) Şekil.2.11’ de gösterilmiştir.



Şekil.2.11. Enzim inhibisyon mekanizmaları

2.3.1. Alzheimer Hastalığı ve Kolinesterazlar

Alzheimer hastalığı, zihinsel birtakım deformasyona neden olan, çok yaygın nörolojik bir hastalıktır (Whitehouse ve ark., 1982). Bu hastalık 65 yaş ve üstü gruplarda en yaygın görülen demans türüdür. Dünya genelinde yaklaşık 50 milyon insan AH dan etkilenmektedir ve bu rakamların 2050 yılına kadar 150 milyona çıkacağı tahmin edilmektedir. Bu nedenle AH bilim dünyası için büyük, ekonomik ve toplumsal bir sorundur.

Bu hastalık Alman psikiyatrist ve nöropatolojist olan Dr. Alois Alzheimer tarafından isimlendirilmiştir. Alois ilk olarak, 1901 yılında, akıl hastanesinde yatmakta olan Auguste Deter adındaki bir hastayı gözlemlemiş ve hastada kısa süreli hafıza kaybı, davranışlarında çeşitli tuhaflıklar olduğunu tespit etmiştir.

1906’ da ölen hastanın beyin dokusu Alois Alzheimer tarafından Münih’te bulunan labaratuvara götürülmüş ve çeşitli boyama yöntemleri kullanarak beyin dokusundaki, amiloid plakları ve nörofibriler yumakları tanımlamıştır (Hippius ve Neundörfer, 2003).

Bu hastalıkla enfekte olan kişiler 30-60 yaş grupları arasındaki kişilerin dahil olduğu erken başlangıç tipi ve 60 yaş ortaları ve sonrasında ortaya çıkan geç başlangıçlı tip olmak üzere iki grupla kategorize edilebilir (Forsyth ve Ritzline, 1998). AH hastalığının ilerlemesi 3 temel aşamada sınıflandırılabilir;

1- Klinik öncesi (semptom veya belirti olmayan dönem)
2- Hafif bilişsel bozukluk
3- Demans (Bunama dönemi)

AH, kişinin günlük yaşamındaki aktivitelerini aksatacak şekilde, hafıza kaybı, sorunların planlanması ve çözülmesinde karşılaşılan zorluklar, konuşma ve yazma ile ilgili sorunlar, ruh hali ve kişiliklerindeki anormal değişiklikler ve sosyal aktivitelerden kendini geri çekme gibi başlıca semptomlarla kendini belli eder (Gold ve Budson, 2008).

AD hastalarının beyninde bulunan patalojik belirteçler (Labrou, 2020) ;

1- Hücre dışı amiloid plaklar**,**
2- Tau proteini ve hücre içi nörofibriller,
3- Oksidatif stres,
4- Asetilkolin (ACh)seviyesinde azalma

Ayrıca enzimlerden:

1- glikojen sentaz kinaz-3 (GSK3)
2- lipooksijenazlar
3- sekretazlar
4- kolinesterazların Alzheimer hastalığının ilerlemesinde rol oynadığı görülmüştür.

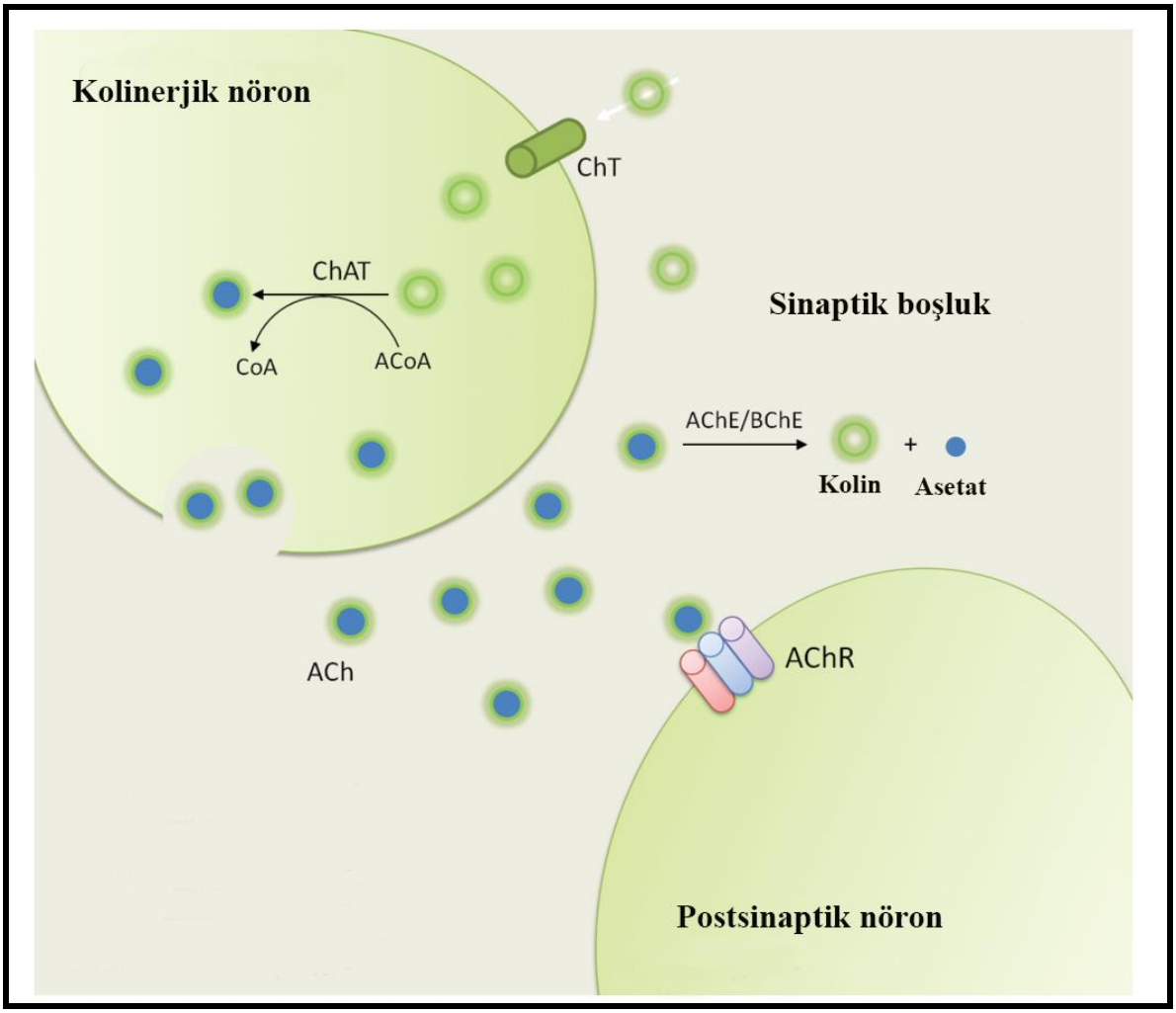
Bilimsel olarak sürekli yeni tedavi yöntemleri bulunmasına rağmen AD hastalığının ilerlemesini tamamen önleyecek hiçbir tedavi yoktur. Mevcut terapötik yöntemler sadece semptomatik tedavi sağlar (Rosini ve ark., 2014). Aslında AH kesin olarak nedeni hala bilinmemekle beraber asetilkolinesterazın aşırı üretimi ve amiloid plakların hücre dışı birikiminin bu hastalığın ana ayırt edici özelliği olduğunu gösterilmiştir (Rosini ve ark., 2008).

Mevcut farmakoterapi, bilişsel gelişim açısından yavaştır ve faydaları genellikle marjinaldir. Bilişsel eğitim ve egzersiz gibi farmakolojik olmayan tedavi de hastalarda bilişsel işlevlerin geliştirilmesine yardımcı olur (Hogan, 2007). Bu nedenle tedavisi bu kadar zor olan bu hastalık için yeni bir tedavi yöntemi geliştirmek ve yeni ilaçlar üretmek amacıyla daha geniş kapsamlı araştırmalara ihtiyaç vardır.

2.3.1.1. Kolinerjik Hipotez

Alzheimer hastalığının ilerlemesinde rol oynayan moleküler mekanizma, hastalığın karmaşıklığı nedeniyle hala belirsizdir. Birçok teori; kolinerjik hipotez, Ap, tau, oksidatif stres, apolipoprotein E (ApoE), GSK-3 ve CREB gibi sinyal yollarını içeren hipotezler AH patojenezinin anlaşılması için ortaya atılmıştır (Sharma ve ark., 2019).

Kolinejik hipotez hafif ile orta dereceli AH tedavisi ve AH etiyolojisini açıklamak için önerilmiştir. Ayrıca sonraki keşiflerde, kolinasatiltransferazın (CAT) azalan aktivitesi rapor edilmiştir (Francis ve ark., 1999).CAT, hafıza, öğrenme ve diğer bilişsel işlevlerin nöromodülasyonunda önemli bir role sahip olan beyindeki asetilkolin (ACh)'nin sentezinden sorumludur (Thompson ve ark., 2011) ACh sentezinde yer alan spesifik yol (Dias ve Rauter, 2015) Şekil.2.12'de gösterilmiştir.



Şekil.2.12. ACh sentezinde yer alan spesifik yol (ChAT;asetilkolintransferaz,ACh; Asetilkolin, AChR; Asetilkolin reseptörü, ChT; Kolin taşıyıcı, AChE: asetilkolinesteraz, BChE; bütirilkolinesteraz)

İlk olarak glikoliz reaksiyonuyla başlayıp, mitokondride üretilen Asetil CoA, ACh sentezi için ChAT enzimi varlığında asetil grubunu koline (Ch) aktarır. Biyosentezlenen ACh, VAChT (veziküler ACh taşıyıcı) tarafından taşınır ve sinaptik veziküllere depolanmasını kolaylaştırır. Akson uçlarındaki, Ca^{+2} konsantrasyonundaki artış, dentritin postsinaptik zarındaki kolinerjik reseptörlere bağlanan sinaptik boşluğa ACh ın salınmasından sağlar. Kolinesteraz enzimi AChE'i, ACh'nin kolin ve asetata hidrolitik parçalanmasını katalize eder (Hebb, 1972).

Yıllardır kolinerjik hipotez, demans ve nörolojik bozukluklardaki rolü için geniş çapta onaylanmıştır. Bu hipotez AH sırasında kolinerjik nöronların hastanın bazal ön beyninin ciddi şekilde etkilendiğini ve nöronların kaybı sonucu histopatolojik olarak ACh sentezi ve degredasyonunda yer alan markör enzimlerin eksikliği ile nörokimyasal olarak tespit edilebildiğini belirtmektedir (Bartus, 2000).

AChE ve BChE Yapısal Farklılıkları

Kolinesterazlar, substratlarına ve inhibitör spesifisitelerine göre AChE (EC 3.1.1.7) ve BChE (EC 3.1.1.8) olmak üzere iki alt aileye ayrılan enzim sınıfıdır (Taylor, 1998). Bu iki kolinesteraz arasındaki fark, hidrolize ettikleri substrat için tercihlerinden kaynaklanmaktadır. AChE, ACh'yi hidrolize ederken BChE, butirilkolini hidrolize eder. AChE, küçük substrat ACh'nin asetik asit ve kolin içine hidrolizini destekler. Oysa BChE, katalizör ayrışmaları için benzoil- veya butirilkolin gibi daha büyük substratları uyarlar (Pezzementi ve ark., 2011).

Ayrıca, bu enzimlerin her ikisinin de hücre farklılaşması ve gelişim aktivitelerinde rol oynadığı bulunmuştur (Behra ve ark., 2002). Amiloid plak oluşumunu arttıran AD hastalarında BChE düzeyinin arttığı görülmüştür (Darvesh ve ark., 2012).

Çeşitli Kolinesteraz İnhibitörleri

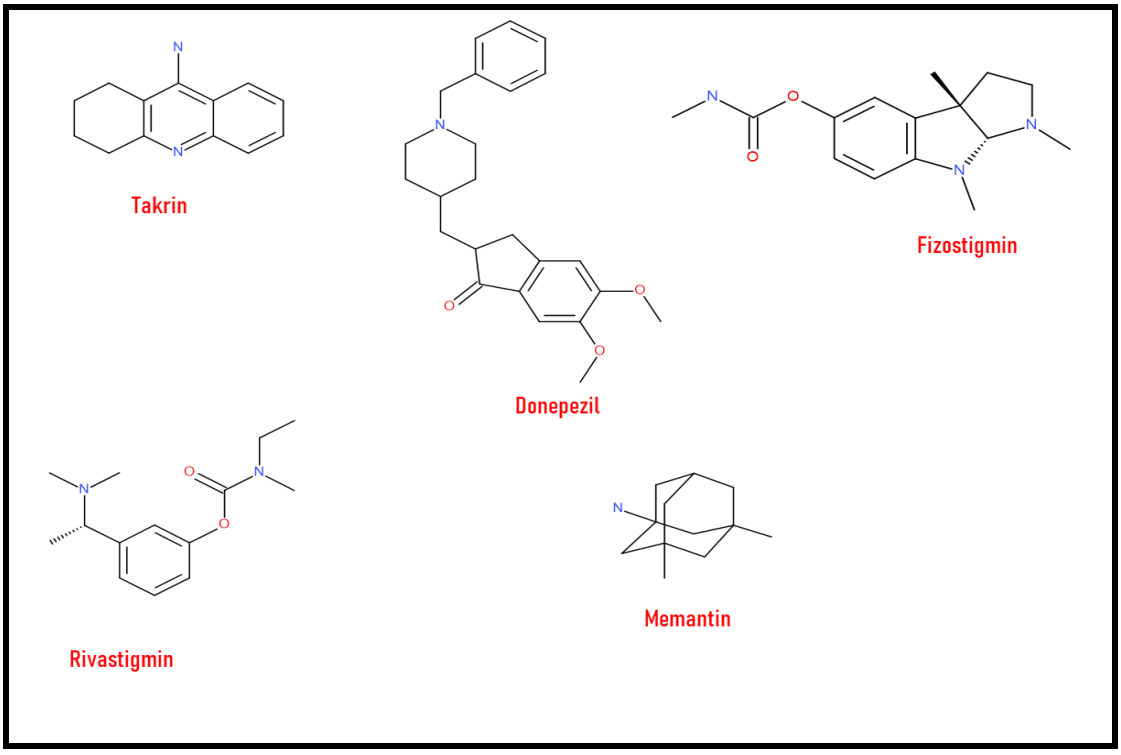
Alzheimer hastalığının tedavisi kapsamında birçok inhibitör ilaç vardır. Bunlardan Donepezil, bir kolinesteraz inhibitörüdür ve hafif ile orta derecede AH tedavisi için en yaygın olarak kullanılan reçetesiz ilaçlardan biridir. Ancak diğer USFDA onaylı ilaçlar gibi, donepezil de sadece semptomatik rahatlama sağlar ve AH 'nin ilerlemesini durdurmada birebir etkili değildir (Whitehead ve ark., 2004; Tripathi ve ark., 2019). Şekil.2.13'de çeşitli kolinesteraz inhibitörlerinin kimyasal yapıları gösterilmiştir.

Bu patofizyolojik mekanizmaların bir dereceye kadar AH hastalığının ilerlemesini önlemede yararlı olduğu görülmüştür. Donepezil ayrıca yalnızca S-formunu değil, özellikle AChE'nin R-formunu da inhibe ettiği için nöroprotektif olarak kabul edilmiştir (Kryger ve ark., 1999). Mevcut diğer terapötiklerden nispeten daha az yan etkiye sahiptir ve ayrıca doza bağlı hepatotoksisite göstermediği için AH tedavisinde kullanılan en başarılı AChE inhibitörü olarak değerlendirilmiştir (Tiseo ve ark., 1998).

Bir diğer inhibitör olarak galantamin, Amaryllidaceae familyasına ait, kardelen (*Galanthus woronowii*) adlı bir bitkiden doğal bir alkaloid olarak izole edilmiştir (Heinrich, 2004). Sadece birkaç gastrik yan etkisi olan vücut tarafından, iyi tolere edilen bir ilaçtır (Farlow, 2003).

Rivastigmin, 2000'den beri orta ila şiddetli AH'nin semptomatik tedavisi için kullanılan geri dönüşümlü bir kolinesteraz inhibitörüdür (Polinsky, 1998). Rivastigmin'in en yaygın yan etkileri, daha az gastrotoksik reaksiyonu olan donepezil ve galantamine benzerdir. Rivastigmin, hızlı bir şekilde ve tamamen emilir (Pohanka, 2011). Çeşitli rivastigmin formları geliştirilmeye devam etmektedir.

Takrin, onaylanmış ilk geri dönüşümlü kolinesteraz inhibitörüdür (Crismon, 1994). Takrin, kolinesterazın α-anyonik bölgesine bağlanır ve aynı zamanda AChE'ye göre BChE'ye daha fazla seçiciliği olan, ilk bildirilen çift kolinesteraz inhibitörüdür (Rahman ve Choudhary, 2015). Takrin kullanımı şiddetli hepatotoksisite ve bulantı, kusma, baş dönmesi, ishal, nöbetler ve senkop gibi diğer yan etkiler nedeniyle büyük ölçüde terk edilmiştir (Alfirevic ve ark., 2007). Takrin ayrıca ROS üretimini ve karaciğer hücrelerinde glutatyon seviyelerinin tükenmesini arttırır ve bu hepatotoksisitenin nedeni olabilir (Brogi ve ark., 2014; Maheshwari ve Ranka, 2018).



Şekil.2.13. Kolinesteraz inhibitörleri

2.3.2. Diabetes Mellitus ve a-amilaz, a-glukosidaz

Diabetes mellitus (DM), sağlık komplikasyonlarının önde gelen nedenlerinden biridir ve önemli bir toplum sağlığı problemi olarak kabul edilir, bu da hastaların yaşam kalitesini etkiler ve sağlık sistemlerine önemli miktarda ekonomik yük getirir (Huang ve ark., 2007). Diabetes mellitus olarak bilinen şeker hastalığı, karbonhidrat, protein, yağ metabolizmasını etkileyen kronik bir hastalıktır.

DM, patofizyolojik mekanizmalarına göre, Tip1 ve Tip2 olarak sınıflandırılabilir (Huang ve ark., 2007). Tip1 diyabet, insülin üreten pankreas β hücrelerinin yıkımı ile karakterize edilir ve giderek insülin eksikliğine sebep olur bu da, yaşam boyu kronik glikoz homeostazisi bozukluğu olarak tanımlanır (Gregory ve ark., 2013). Diğer yandan Tip 2 DM, hatalı insülin sekresyonu ve insülin duyarlılığı ile karakterize edilir (Nyenwe ve ark., 2011).

DM, vücuttaki hemen hemen her organ sistemini etkiler (Lankatillake ve ark., 2019). DM hem mikrovasküler (kılcal damarlar gibi küçük damarlar dahil) hem de makrovasküler (büyük damarlar; arterler ve damarlar dahil) komplikasyonlarla ilişkilidir (Meetoo, 2014).

Mikrovasküler hastalık örnekleri arasında nefropati, retinopati ve nöropati bulunurken, makrovasküler hastalıklarda kalp hastalıkları, periferik vasküler hastalık ve serebrovasküler hastalık sayılabilir (Cade, 2008).

DM'nin önlenmesi ve tedavisinde bitkisel ilaç kullanımı çok eski dönemlere dayanır ve dünya çapında çeşitli topluluklar arasında hala yaygın şekilde kullanılmaktadır (Ziegler ve ark., 1995; Missoun ve ark., 2018). Doğal kaynaklardan, özellikle tıbbi bitkilerden elde edilen antidiyabetik ajanların, DM'nin tedavisinde etkili olduğu ve daha az yan etkileri olduğu için yaygın olarak kullanıldığı belirlenmiştir (Akinci ve ark., 2010; Parim ve ark., 2019).

Enzim inhibisyonu, insülin salgılatıcı etkisinin yanı sıra insülin duyarlılaştırıcı aktivite ve bitkilerden antidiyabetik ajanların taranmasında kullanılan en çok kullanılan yaklaşımdır. Özellikle, diyabet tedavisiyle ilgili araştırmalar için bir dizi enzim hedeflenmiştir. Bunlar a-amilaz, a-glukosidaz, glikoz-6-fosfataz, protein tirozin fosfataz-1B ve dipeptidil peptidaz-4'tür. Bu enzimler, kan şekeri seviyelerini normale göre kontrol edebilen çeşitli substratlara sahiptir. Buna göre, bu enzimlerin inhibisyonuyla, antidiyabetik tedavide ana hedef olan kan şekerinde bir azalmaya neden olabileceği öngörülmüştür (Mohamed ve ark., 2020).

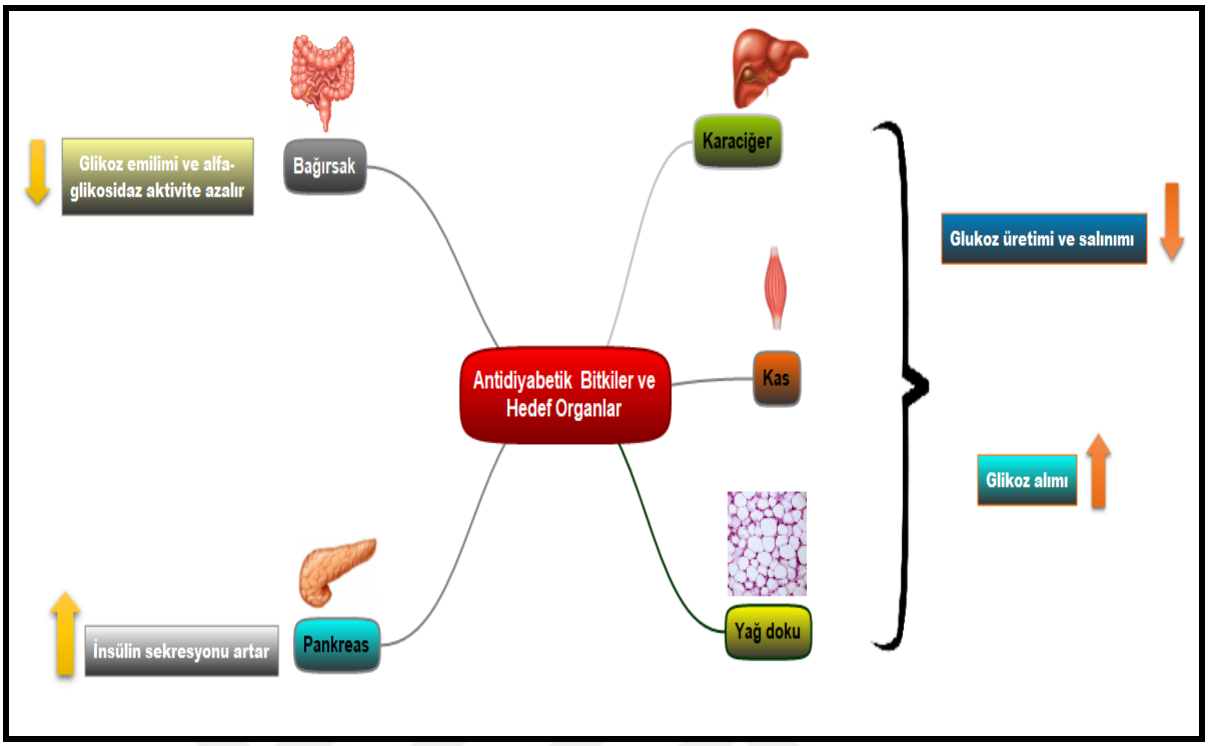
α-amilaz ve α-glukosidaz enzimleri diyabetin kontrolünde çok önemli role sahiptir (Aoki ve ark., 2019). α-amilaz ve α-glukosidaz enzimlerinin inhibisyonu, çok sayıda tıbbi bitkide aranan en kilit parametrelerden olmuştur. Diyet karbonhidratlarının glikozun ana kaynağı olduğu göz önüne alındığında, α-amilaz ve α-glukozidaz enzimlerinin inhibisyonu, postprandiyal kan glikoz artışının, kronik hipergliseminin ve dolayısıyla diyabetik komplikasyonların önlenmesine yardımcı olabilir. Ek olarak, bu enzimlerin inhibitörleri (a-amilaz ve a-glukozidaz) karbonhidratların sindirimini geciktirebilir, bağırsaktan glikoz emilim oranını azaltabilir ve sonunda kan glukoz seviyesindeki postprandiyal artışı düşürebilir (Heo ve ark., 2009).

Diyabet Tedavisinde Doğal Çözümler

Modern tedavideki ilerlemelere rağmen, diyabet tedavisi hala büyük bir sorundur. Diyabet tedavisi için kullanılan mevcut ilaçlar, hiperglisemiye aracılık eden çeşitli mekanizmaları ve zararlı etkilerini hedefler. Bununla birlikte, mevcut ilaçların başarısı göz ardı edilemez. Çünkü diyabet ile ilişkili hastalıklardan muzdarip insanların ölüm oranı sürekli artmaktadır. Bu sessiz salgından kurtulmak için araştırmacılar, farklı moleküler hedefler üzerindeki doğal ve sentetik türevleri değerlendirerek diyabeti tedavi etmek için etkili, daha güvenli ve uygun maliyetli bir yöntem arayışı içindedirler (Kshirsagar ve ark., 2020).

Bitkisel özler, eski dönemlerde yaşayan insanlar tarafından yüzlerce yıl önce büyük yan etkilerinin olmaması nedeniyle kullanılmıştır. Tedavide kullanılan metformin dahil antidiyabetik guanidin ilaçlarının kullanımı eskiden kullanıldığı bilinen bir bitkiden kaynaklanmaktadır. Guanidin, Fransız leylak *Galega officinalis* 'nin ekstraktlarının, diyabetin belirgin bir özelliği olan sık idrara çıkma gibi semptomları baskıladığı gözlenmiştir (Turner ve ark., 2016).

Bitkilerle yapılan tedaviden kaynaklanan antihiperglisemik etkiler, ya insülin sekresyonlarını arttırarak ya da gastrointestinal sistemdeki glikoz emilimini azaltarak ele alınan pankreatik dokunun işlevini modüle etme yetenekleri ile ilişkilidir. Çalışmalar, tetrasiklik triterpenoidlerin diyabet ve komplikasyonlarını tedavi etmek için kullanılan çok çeşitli tıbbi bitkilerde mevcut olduğunu ve geleneksel ilaçlardan izole edilen bileşiklerin terapötik potansiyelini vurguladığını göstermiştir (Turner ve ark., 2016). Şekil.2.14'de antidiyabetik bitkiler ve etkileri şematize edilmiştir (Yatoo ve ark., 2017).



Şekil.2.14. Bitkilerin antidiyabetik etkileri

a-Glukozidaz ve a-amilaz inhibitörleri

Diyabet tedavisine en yaygın yaklaşımlardan biri, sindirim sistemindeki a-amilaz ve a-glukosidaz gibi anahtar enzimlerinin inhibisyonudur. Pankreatik α-amilaz, sadece kalsiyum varlığında işlev gören bir enzimdir. Bu enzim, nişasta, amilaz, amilopektin, glikojen ve çok sayıda maltodekstrinlerin α-1,4 glikozidik bağlarının hidrolizini katalize eder ve nişasta sindiriminden sorumludur (Etxeberria ve ark., 2012; Agarwal ve Gupta, 2016).

Bağırsak epitelinden salgılanan α-glukozidaz enzimi, α-1,4 bağlarına etki eden karbonhidratların parçalanmasından sorumludur (Tiwari ve ark., 2014). Bu enzimin inhibitörleri, karbonhidrat sindirimini geciktirir ve bu da glikoz emilim oranında bir azalmaya neden olur ve sonuç olarak bu anahtar enzimlerin aktivitesini rekabetçi bir şekilde bloke ederek plazmada glikoz artışını azaltır.

Miglitol (1-deoksinojirimisin türevi), akarboz (BAY g 5421) ve vogliloz, gıda alımından sonra kan şekeri seviyesini etkili bir şekilde kontrol etmek için klinik olarak kullanılan onaylanmış inhibitör ilaçlarıdır (van de Laar, 2008; Tiwari ve ark., 2014).

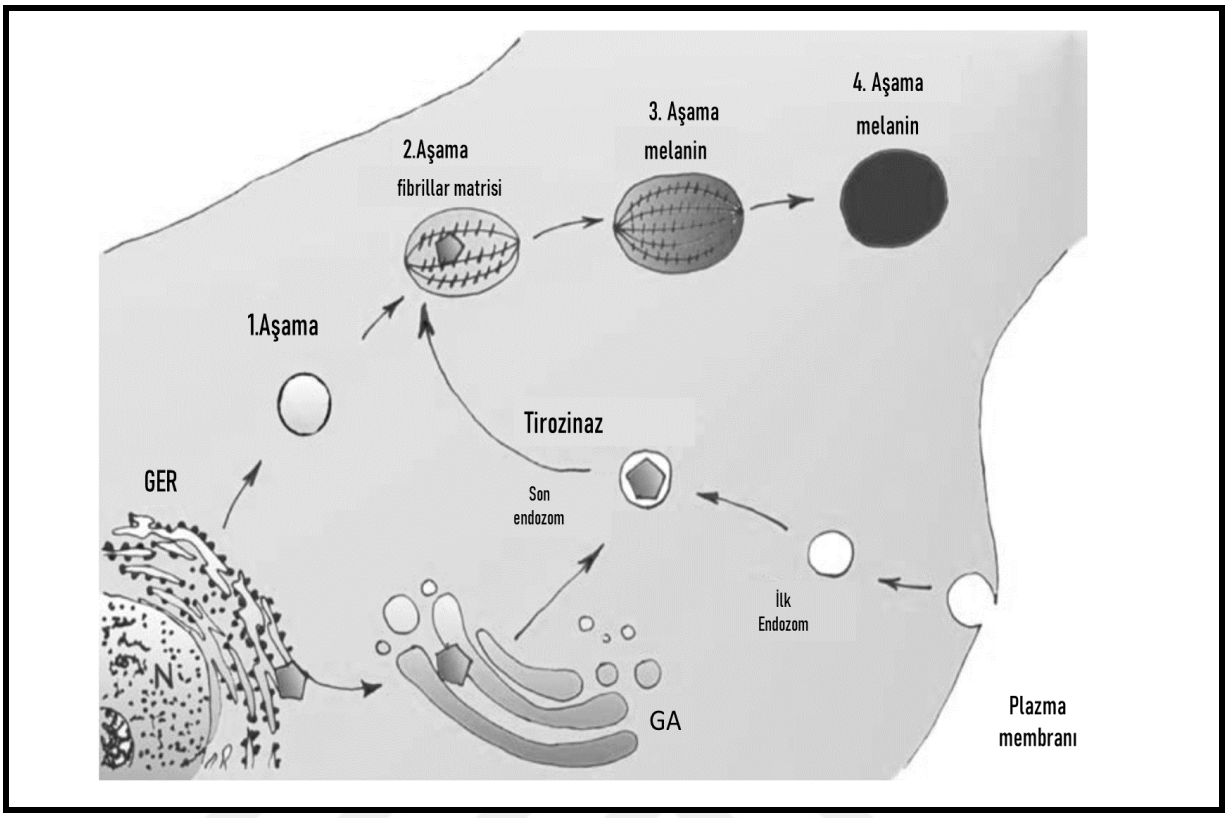
2.3.2.Tirozinaz inhibitör aktivitesi ve deri hastalıkları

Tirosinaz veya polifenol oksidaz, bitkilerde, mantarlarda ve hayvanlarda yaygın olan çok işlevli bakır içeren bir enzimdir. Melanosit içindeki melanogenez sürecini büyük ölçüde etkileyen önemli bir düzenleyici enzimdir. Farklı biyopolimerlerin bir karışımı olan Melanin, cildin ve saçın rengini belirler ve zararlı UV radyasyonundan koruma sağlar. Deride melanin pigmentinin aşırı üretimi ve birikmesi, lentigo, melazma, inflamatuar sonrası hiperpigmentasyon (PIH) ve linea nigra gibi klinik koşullarda ortaya çıkan dermatolojik 'hiperpigmentasyon' gelişimine yol açar. Vücuttaki hormonal dengesizlik, yani Cushing hastalığı, Addison hastalığı ve Nelson sendromu nedeniyle de ortaya çıkabilir. Arbutin ve kojik asit kozmetik ürünlerde cilt beyazlatma için yaygın olarak kullanılan tirozinaz inhibitörleridir. Tirozinaz inhibitörleri ayrıca kozmetik alanında, yaygın olarak kullanılmaktadır (Zolghadri ve ark., 2019).

Bitki özütleri ve bunların türetilmiş bileşenlerinin, hiperpigmentasyonu kontrol etmek için en önemli kaynaklardır (Sharififar ve ark., 2012). Tirosinaz sadece bitkilerde değil böceklerin savunma mekanizmasında da önemli rolü olan bir enzimdir. Yaraların iyileşmesi, deri değiştirme ve kapsülleme dahil olmak üzere böceklerde çok çeşitli fonksiyonlara sahiptir. Bu nedenle, tirozinaz aktivitesinin inaktivasyonunu hedefleyen bazı insektisitler geliştirilmiştir (Kim ve Uyama, 2005).

Tirozinaz ayrıca meyve ve sebzelerde enzimatik esmerleşme reaksiyonlarından da sorumludur. Esmerleşme genellikle bitki kaynaklı gıda ürünlerinin rengine zarar verir, bu da gıda kalitesinin bozulmasını gösterebilir. Bu gıdalardaki tirozinaz aktivitesi, tirozinaz inhibitörleri kullanılarak önlenebilir. Ek olarak, tirozinaz inhibitörleri, reaktif oksijen türlerini (ROS) inhibe etmek ve UV radyasyonunun neden olduğu cilt kanserinden korumak için de kullanılır (Scotti ve ark., 2007; of the International ve ark., 2013).

Kimyasal olarak melaninler değişken yapılara sahiptir, ancak ana yapısı fenolik öncüllerin oksidasyonundan yani tirozinden türetilir. Melaninin birincil biyosentez yoluna Raper Mason yolu denir. L-tirozin ve L-dopa'nın oksidasyonu, tirozinaz tarafından katalize edilen melanogenezin ilk adımıdır. Bu ilk adım melanin sentezindeki hız sınırlayıcı adımdır (Chang, 2009). Böylece, tirozinaz inhibitörleri melanin sentezinin inhibitörleri olarak ortaya çıkmış ve böylelikle melanogenezi inhibe etmiştir. Şekil.2.15’de, bir melanosit tarafından melanin üretimi sırasında melanozom oluşumu ve olgunlaşması aşamaları (Mukherjee ve ark., 2018) gösterilmiştir.



Şekil.2.15. Bir melanosit tarafından melanin üretimi sırasında melanozom oluşumu ve olgunlaşması. Melanojenez, melanozom adı verilen özel bir organellerde gerçekleşir. İlk olarak, glikoproteinler tarafından oluşturulan bir fibrillar matrisinin içinde oluşan ve tirozinaz ve diğer melanogenez enzimlerini (Aşama II) alan bir vezikül (Aşama I) geliştirir. Melanozom, iç fibrilleri polimerize eden ve yerleşen melanin üretir (Aşama III). Son Aşama IV'te melanozom melanini yerine getirir. Her melanin tipi, ayrılmış bir melanozomlarda sentezlenir.

2.4. Asteraceae Familyası ve *Scorzonera* Cinsi

Asteraceae adı, yıldız anlamında eski Yunancada kullanılan, aster kelimesinden gelir ve çiçeklenmenin yıldız benzeri formda olduğunu ifade eder (Stevens, 2001). Asteraceae familyasında, tek yıllık, çok yıllık ve çalı olmak üzere birçok formda üye bulunmaktadır. Asteraceae (Compositae) familyası, 1.900'den fazla cins ve içerdiği yaklaşık 32,000'den fazla tür ile en büyük çiçekli bitki ailesi olarak bilinmektedir. (Maddi ve ark., 2017). Türlerin, en geniş dağılımı subtropikal ve düşük ılıman enlemlerin kurak ve yarı kurak bölgelerinde görülür (Baldwin ve ark., 2012). Asteraceae familyası, yemeklerde kullanılan yağlar, yapraklı birçok sebze, tatlandırıcılar ve bitkisel çaylar gibi birçok ürün sunan ekonomik açıdan çok önemli bir familyadır. Birçok türü süs bitkisi olarak da kullanılan Asteraceae familyası peyzaj açısından oldukça önemli bir konumdadır ve ayrıca tıbbi olarak kullanımı oldukça yaygın olan bir familyadır (Alam ve ark., 2009).

Scorzonera cinsi, sayısız biyoaktif bileşeni bünyesinde bulunduran Asteraceae familyasının bir üyesidir (Sarı ve ark., 2007). *Scorzonera* cinsi, dünya genelinde 160 tür ile temsil edilir. Çok sayıda tür, Avrasya ve Kuzey Afrika'nın kurak bölgeleri boyunca yaygın olarak dağılmıştır. Bu cins ülkemizde 31'i endemik 54 tür ile temsil edilmekte ve ülkemiz bu cins için önemli bir gen merkezi olarak kabul edilmektedir**.** *Scorzonera* türleri, başlıca sebze ve tıbbi bitki olarak, hem Avrupa'da hem Türkiye'de kullanılmaktadır (Sarı ve ark., 2019; Zolghadri ve ark., 2019). Türlerin geleneksel olarak Türkiye, Moğolistan, Çin ve Avrupa dahil olmak üzere birçok ülkede, arterioskleroz, böbrek hastalıkları, hipertansiyon, diyabet, romatizma, ishal, akciğer hastalıkları, mide ülseri, gut, infertilite ve yılan ısırıklarının tedavisinde kullanıldığı belgelenmiştir.. *Scorzonera* üyelerinin yara iyileştirici özelliklerinin Türk geleneksel tıbbında da kullanımı belgelenmiştir (Sarı ve ark., 2019).

Scorzonera cinsine ait bitkiler, tek yıllık, çok yıllık, otsu, yarı çalımsı ya da gerçek gövdeye sahip bitkilerdir. Bu cinse ait bitkilerin kök kısımları, silindirik, yumru veya gerçek gövde gibi farklı formlarda bulunabilir. Cinsin yaprak özellikleri incelendiğinde, bazal veya gövdede, basit, mızraksı, şerit, şerit-mızraksı, eliptik, yumurta şeklinde, saplı veya sapsız formlarda bulunur. Çiçek kısımları genellikle, beyaz, sarı, krem, mor veya menekşe renklidir (Chamberlain, 1975).

Scorzonera cinsine ait türlerinden bazıları, baharat olarak tüketildiği gibi, Asya ve Avrupa'da sebze olarak tüketimleri de oldukça yaygındır. Türkiye'de cinse ait bitkilerin kullanımları da genellikle sebze olarak tüketimleri şeklindedir. Asteraceae familyası ve *Scorzonera* cinsi karakteristik olarak, güzel kokulu bitkiler içerdiği için genellikle yemeklere tat ve aroma vermeleri açısından kullanımları oldukça yaygındır. Bazı türlerin sürgünleri ve kökleri, taze veya pişmiş şekilde tüketilir. Anadolu'da *Scorzonera* cinsine ait bitkiler, yakı otu, yemlik, teke sakalı, iskorçina, kara iskorçina, yara sakızı otu, yılan kökü, kara salsifiye, sakız otu gibi farklı isimlerle bilinmektedir. Bazı türleri geleneksel tıpta, antiromatik, ishal, mide ülseri, mide kanseri, gut, hipertansiyon, astım, akciğer ödemi, yılan ısırıkları, hepatit B, ateriyoskleroz diyabet, gibi birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (Erden ve ark., 2013; Sarı ve ark., 2019; Zolghadri ve ark., 2019).

Asteraceae familyasının karakteristik bir bileşiği olan seskiterpen lakton, antimikrobiyal, antitümöral, sitotoksik, antiinflamatuar gibi etkilere sahiptir ve birçok merkezi sinir sistemi ve kalp-damar hastalıkları üzerine de etkileri kanıtlanmıştır. Tez kapsamında çalışılan bitkilerden de bu bileşiğe benzer şekilde;

Scorzonera hieraciifolia cinsi üzerindeki fitokimyasal çalışmalar sonucunda, dihidroizokumarinler, flavonoidler, fenolik asit türevleri, bibenzil türevleri, benzil ftalatlar, lignans, neolignans, kavalaktonlar, triterpenler ve seskiterpen dahil olmak üzere çok sayıda biyoaktif bileşik sınıfının veya alt sınıfının varlığını ortaya koymuştur.

Scorzonera hispanica cinsi üzerine yapılan çalışmalar sonucunda; bir seskiterpen glikozit izole edilip yapısı 6, 9 – dihidroksi – 4, 10, 14, 15 – tetradihidrogayan - 6, 12 - olit 9 – 10 – β – D-lukopiranozit (skorzonerozit) olarak tanımlanmıştır.

Ayrıca, *S. hispanica*'dan skorzonerozit, bisabolan türevi puligluton, skorzonerozitin 11,13 dehidro türevi olan ikserizozit D ve 3-O-anjeloil-11β, 13-dihidrodesasil siyanaropikrin-8β-D-glukozit elde edilmiştir (Bryanskii ve ark., 1992; Zidorn ve ark., 2000).

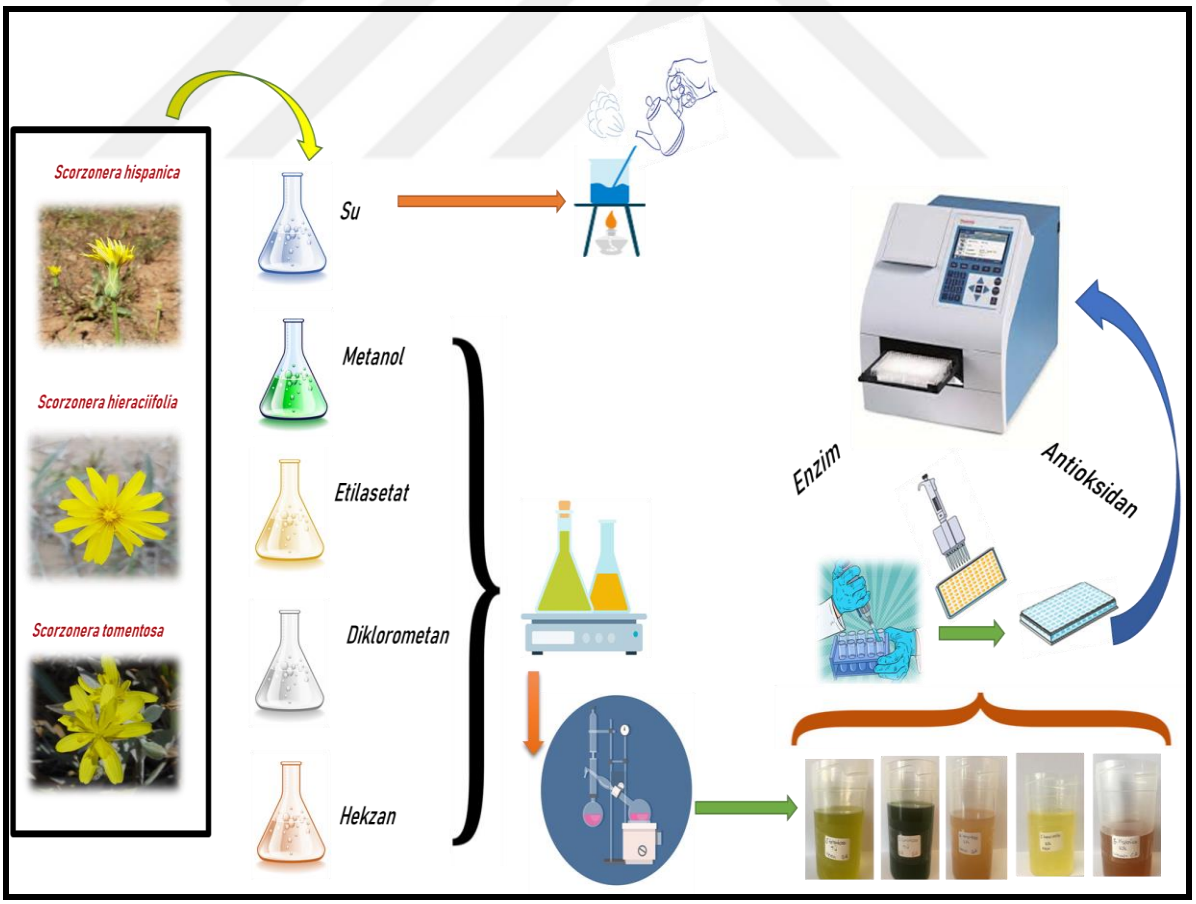
Scorzonera tomentosa cinsi üzerine çok sayıda çalışma yapılmış olup, toprak üstü kısımlarından triterpen yapısında lupeol, lupeol asetat ve α-amirin elde edilmiştir (Öksüz ve ark., 1990).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali ve Bitkisel Ekstrakların Hazırlanması

Tez kapsamında kullanılan *Scorzonera* cinsine ait örnekler, 2019 yılında Konya' da gerçekleştirilen arazi çalışması sırasında toplanmıştır. Bitki örneklerinin taksonomik olarak tanımlanması, Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoteknoloji Bölümü öğretim üyelerinden Prof. Dr. Evren YILDIZTUGAY tarafından yapılmıştır. (Herbaryum no: EY-3003 (*S. hieraciifolia*), EY-3019 (*S. tomentosa*), EY-3031 (*S.hispanica*)).

Bitki örnekleri, toprak üstü ve kök kısımları ayrılarak gölgede kurutulduktan sonra örnekler değirmende toz haline getirildi. Her bir kısmın, metanol, etilasetat, diklorometan, hekzan ve su özütleri maserasyon tekniği kullanılarak çıkarıldı. Bu amaçla, bitki materyalleri (5 g), oda sıcaklığında (yaklaşık 25 ° C) 24 saat boyunca 100 ml bu çözücüler ile ekstrakte edildi. Daha sonra çözücüler rotary evaporatör kullanılarak buharlaştırıldı. Su özütleri, infüzyon tekniği ile hazırlandı ve bitki materyalleri (5 g) kaynamış suda (100 ml) bekletildi. Daha sonra özütler süzüldü ve liyofilize edildi. Tüm ekstraktlar analize kadar +4 ° C'de saklandı.

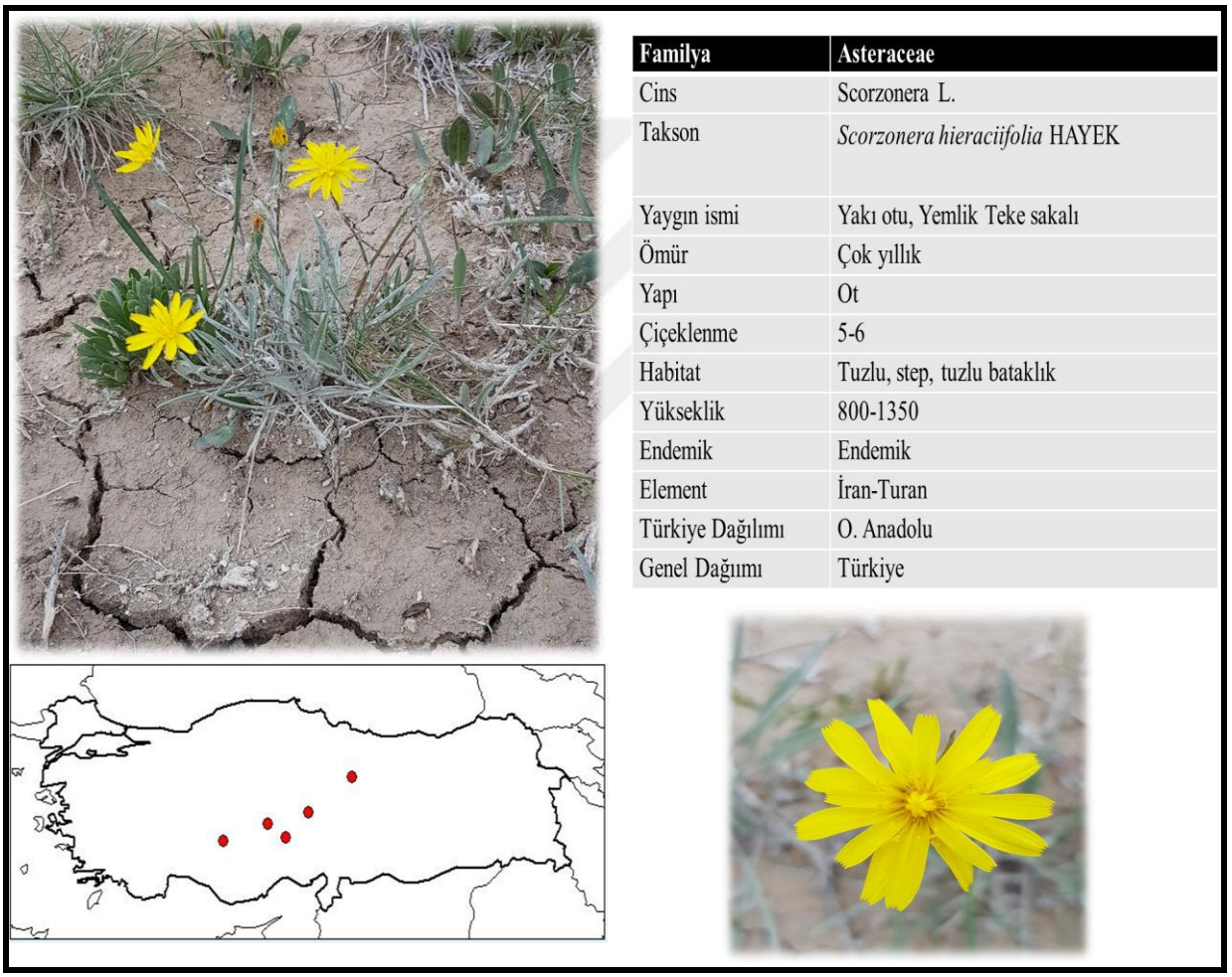


Şekil.3.1. Çalışma kapsamında kullanılan bitkilerin ekstraksiyon ve analiz aşamaları

3.2. Tez Çalışmasında Kullanılan Scorzonera Taksonları ve Özellikleri

***Scorzonera hieraciifolia* Hayek**

Bu tür Orta Anadolu'da yayılış gösterip Türkiye'ye ait endemik bir bitkidir. Halk arasında en çok yemlik, yakı otu veya yılan kökü olarak bilinir. *S. hieraciifolia* türüne ait sadece bir çalışma yapılmıştır ve çalışma sonucunda bitkinin doğal bir antioksidan kaynağı olarak kullanılabileceği vurgulanmıştır (Sarı ve ark., 2019).

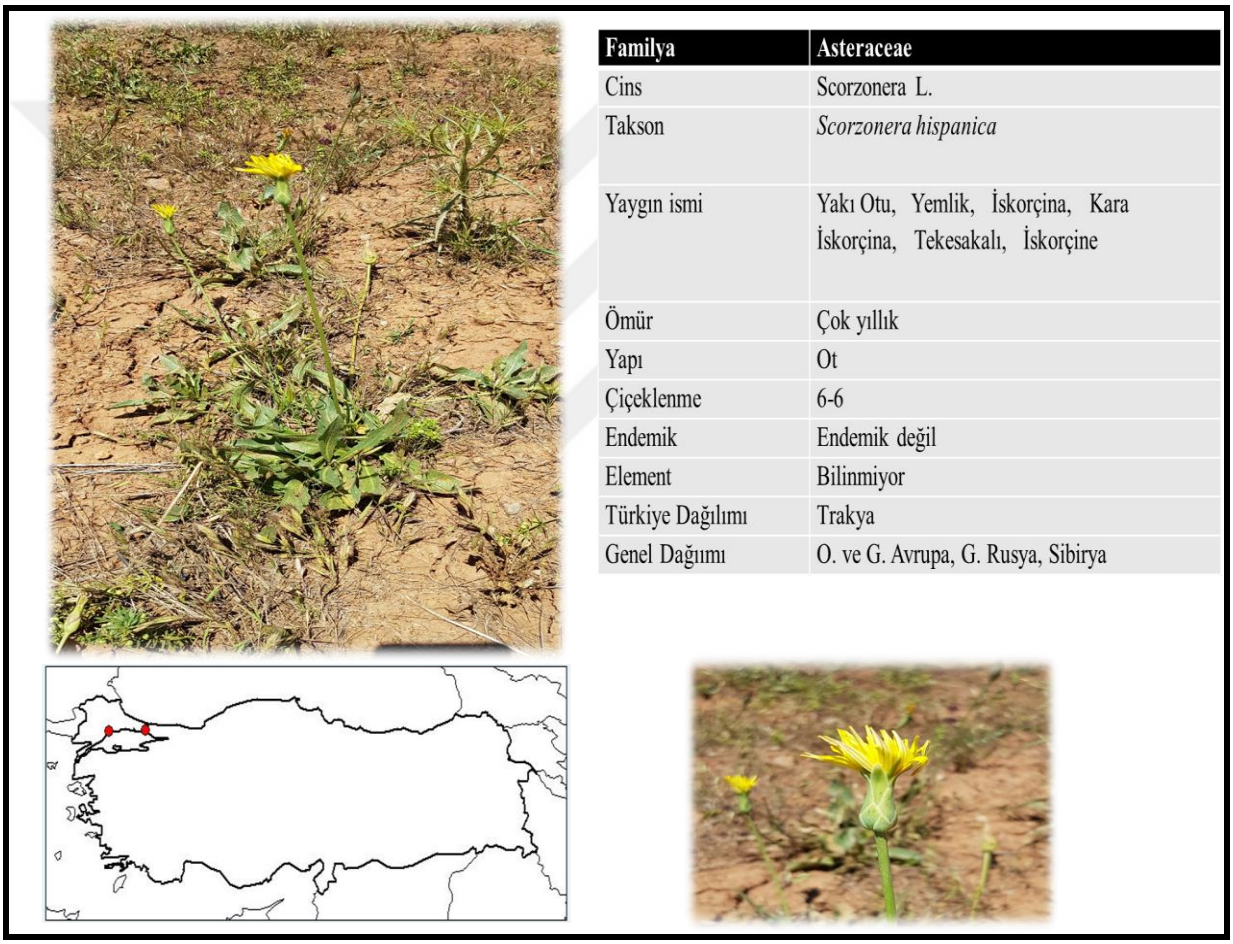


Familya	Asteraceae
Cins	Scorzonera L.
Takson	*Scorzonera hieraciifolia* HAYEK
Yaygın ismi	Yakı otu, Yemlik Teke sakalı
Ömür	Çok yıllık
Yapı	Ot
Çiçeklenme	5-6
Habitat	Tuzlu, step, tuzlu bataklık
Yükseklik	800-1350
Endemik	Endemik
Element	İran-Turan
Türkiye Dağılımı	O. Anadolu
Genel Dağılımı	Türkiye

Şekil.3.2. *Scorzonera hieraciifolia* bitkisinin genel özellikleri.

Scorzonera hispanica

Avrupa'da doğal ve yaygın olarak büyüyen *S. hispanica* 17.yy'dan beri cinse ait bir gıda türü olarak yetiştirilmektedir. Bitkinin kökleri Orta ve Güney Avrupa'da sebze olarak, pişirildikten sonra kullanılır ve genç yaprakları salatalara tat vermek için yaygın şekilde kullanılır. Halk arasında genellikle kara salsifiye veya sakız otu isimleriyle bilinmektedir (Granica ve ark., 2015). Çeşitli çalışmalar *S. hispanica* türünün çeşitli kanser türlerine karşı sitotoksisitelerini incelemiş ve etkin olabileceği belirtilmiştir.



Familya	Asteraceae
Cins	Scorzonera L.
Takson	*Scorzonera hispanica*
Yaygın ismi	Yakı Otu, Yemlik, İskorçina, Kara İskorçina, Tekesakalı, İskorçine
Ömür	Çok yıllık
Yapı	Ot
Çiçeklenme	6-6
Endemik	Endemik değil
Element	Bilinmiyor
Türkiye Dağılımı	Trakya
Genel Dağılımı	O. ve G. Avrupa, G. Rusya, Sibirya

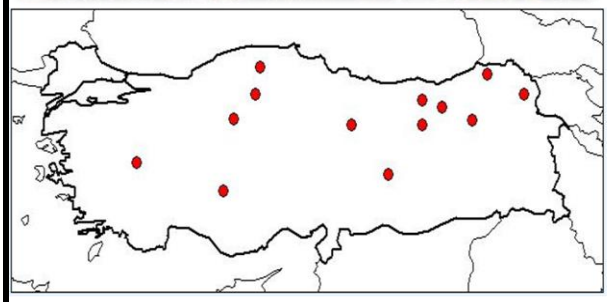
Şekil.3.3. *Scorzonera hispanica* bitkisinin genel özellikleri.

Scorzonera tomentosa

Bu tür, halk arasında genellikle yemlik olarak bilinir ve kökleri ve yeşil tomurcukları taze veya pişirildikten sonra yenir. Ayrıca geleneksel tıpta böbrek hastalıkları, hipertansiyon, yaraların iyileşmesi için kullanımları oldukça yaygındır. *S. tomentosa* türü Türkiye için endemikdir. *S. tomentosa* türünün kökleri lateks içerir ve bu da yaraların iyileştirilmesi için kullanılan etken maddedir (Acikara ve ark., 2013c).



Familya	Asteraceae
Cins	Scorzonera L.
Takson	*Scorzonera tomentosa* L.
Yaygın ismi	Yakı otu, Yemlik Teke sakalı
Ömür	Çok yıllık
Yapı	Ot
Çiçeklenme	6-8
Habitat	Step, kayalık, yamaç, uçurum
Yükseklik	800-2600
Endemik	Endemik
Element	İran-Turan
Türkiye Dağılımı	Karasal, KD. Anadolu
Genel Dağılımı	Türkiye





Şekil.3.4. *Scorzonera tomentosa* bitkisinin genel özellikleri.

3.3. Toplam Fenolik Madde Tayini

Bitkisel özütler konsantrasyonları, 2 mg/ml olacak şekilde hazırlandı. Hazırlanan özütlerden her bir deney tüpüne, 50 µl alındı. Daha sonra her bir tüpe, Folin Coicalteu Reaktifi (1:9 oranında seyreltilmiş) eklendi. Ardından tüplere 75 µl, %1'lik Na_2CO_3 ilave edildi. Karışımlar oda sıcaklığında ve karanlıkta 2 saat bekletildikten sonra 765 nm' de absorbansları ölçüldü. Bütün antioksidan kapasite tayin testlerinde spektrofotometrik ölçümler Thermo-Multiskan Go cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Toplam fenolik madde içeriğinde aynı işlemler eşdeğer olarak kullanılan gallik asit (mg GAE / ml) içinde tekrarlandı (Kuru ve ark., 2017).

3.4. Toplam Flavonoid Madde Tayini

Toplam flavanoid içerik için %2'lik $AlCl_3$ 'ün metanolik çözeltisinden 100 µl alınarak, içerisinde 2 mg/ml konsantrasyonundaki 200 µl bitki ekstraktı bulunan tüpte karıştırıldı. 10 dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra 415 nm'de karışımın köre karşı absorbansı ölçüldü. Toplam flavonoid madde içeriğinin belirlenmesinde, aynı işlemler standart flavonoid olarak kullanılan rutin içinde tekrarlandı ve sonuçlar rutin eş değeri (mg RE/ml) olarak verildi (Quettier-Deleu ve ark., 2000).

3.5. Serbest Radikal Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi

ABTS ve DPPH radikalleri, biyoaktivite çalışmalarında en sık kullanılan radikallerdir. DPPH ve ABTS metotları, antioksidan bileşikler tarafından ABTS radikalinin rengini kaybetmesi ve DPPH radikalinin yine antioksidan bileşikler tarafından süpürülmesi temeline dayanır. Her iki testte de moleküllerin serbest radikali süpürme yetenekleri, vitamin E nin suda çözünen bir analoğu olan Troloks eş değeri ile karşılaştırılmıştır (Krishnaiah ve ark., 2013). ABTS radikali stabil bir radikal olmadığı için, analizde kullanılmadan önce hazırlanmalıdır. ABTS radikali: oda sıcaklığında 12-16 bekletilip koyu mavi renkli bir çözelti elde edilir ve antioksidan aktivitesi ölçülecek moleküller radikalin renginde açılmalar meydana getirir ardından 734 nm dalga boyunda sprktrofotometrik olarak ölçülür. DPPH radikali stabil bir radikal olup, ABTS radikali gibi analizden önce hazırlanması zorunlu değildir.

DPPH radikali koyu menekşe rengindedir ve bitkisel özütteki antioksidanlar tarafından indirgenerek renginde açılmalar gözlenir ve absorbanstaki azalma 517 nm' de sprektrofotometrik olarak ölçülür. DPPH çözeltisindeki renk ne kadar açılırsa, antioksidan bileşiklerin etkinliğinden söz edilir (Krishnaiah ve ark., 2013).

3.5.1. DPPH radikal süpürme aktivitesinin belirlenmesi

DPPH testinde ilk olarak, metanolik DPPH çözeltisi, yoğunluğu %0.004 olacak şekilde hazırlandı. Daha sonra özütlerin, 50 µl (2 mg/ml)'si ile hazırlanan DPPH (%0.004, metanolik) çözeltisinin 150 µl'si karıştırıldı. Bu karışım 30 dk oda sıcaklığında, karanlıkta bekletildi. Aynı işlemler bu testte standart olarak kullanılan troloks (mg TEs/g) içinde yapıldı (Krishnaiah ve ark, 2011). Absorbansları, 517 nm' de ölçüldü.

3.5.2. ABTS radikal süpürme aktivitesinin belirlenmesi

Bu testte ilk olarak ABTS radikal katyonu: 7,4 Mm ABTS solüsyonu ile 2,45 mM $K_2S_2O_8$ (potasyum persülfat) karıştırılarak hazırlandı. Karanlıkta ve oda sıcaklığında 12-16 saat bekletildi ve radikalin oluşması sağlandı. Deneyden önce ABTS solüsyonunun 734 nm'deki absorbansı 0.700 ± 0.02 olacak şekilde seyreltildi. Daha sonra özütlerden 25 µl (2 mg/ml), hazırlanan ABTS solüsyonundan 200 µl, alınarak karıştırıldı. Karışım oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra, örneklerin absorbans değerleri 734 nm'de ölçüldü. Aynı işlemler, testte standart olarak kullanılan troloks (mg TE /g) içinde yapıldı (Re ve ark., 1999).

3.6. İndirgenme Gücünün Belirlenmesine Yönelik Testler

Antioksidan bileşiklerin indirgeme gücü, elektron verme kabiliyetlerini yansıtması bakımından önemli bir antioksidan parametredir. Bu bağlamda çalışmada indirgeme gücünü belirlemek amacıyla CUPRAC ve FRAP testleri uygulanmıştır. Bu testlerden CUPRAC testi, bitkisel özütteki antioksidanlar tarafından Cu(II)' nin Cu(I)' e indirgenmesi temeline dayanır. Apak ve arkadaşları tarafından geliştirilen bu metotdun temeli neokuproin gibi ajanlarla Cu^{+2}' nin bir kompleks oluşturarak mevcut antioksidan bileşiklerin bu oluşan kompleksi indirgemesine ve oluşan ürünlerin 450 nm' de spektrofotometrik olarak ölçülmesine dayanır. CUPRAC metodunda reaktifin seçici olması, basitliği, tiyol tipi antioksidanları okside edebilmeleri, fizyolojik pH' ya yakın ortamlarda gerçekleşmesi dolayısıyla en sık kullanılan metotlardan biri haline gelmiştir.

CUPRAC reaktifi, ABTS, DPPH gibi kromojenik radikal reaktiflerden daha kararlıdır ve reaksiyon hava, güneş ışığı, nem, pH gibi parametrelerden etkilenmez (Apak ve ark., 2004). CUPRAC metodu, askorbik asit, ürik asit, gallik asit ve kersetin için birkaç dakikada tamamlanabilir ancak daha kompleks moleküller için yaklaşık 30-60 dakika içinde reaksiyon tamamlanır (Huang ve ark., 2005).

FRAP metodunun en büyük avantajı, elektron-transfer reaksiyonu olmasıdır. Metodun temeli antioksidan bileşikler tarafından sarı renkli Fe^{+3}- TPTZ kompleksinin, koyu mavi renkli Fe^{+2}-TPTZ kompleksine indirgenmesi ve oluşan ürünün 595 nm' de spektrofotometrik olarak ölçülmesine dayanır (Benzie ve Devaki, 2017) Bu metodun bir diğer avantajı olarak, hem hidrofilik hem lipoflik antioksidanların tayini için kullanılabilir olmasıdır (Pulido ve ark., 2000).

3.6.1. FRAP testi

Testin uygulanmasında öncelikle FRAP reaktifi hazırlandı. FRAP reaktifi: 0,3 M, pH 3.6 asetat tamponu ve 10 mM TPTZ , 20 mM $FeCl_3$ ' ün 10:1:1 oranında karıştırılması ile hazırlandı. Her bir tüpe özütlerin 25 µl (2 mg/ ml)'si ile 200 µl hazırlanan FRAP reaktifi eklendi ve karıştırıldı. Karışım oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi ve 593 nm de karışımların absorbansları ölçüldü. Aynı işlemler standart olarak kullanılan troloks içinde yapıldı. Özütlerin FRAP aktiviteleri, troloks eş değer (mgTE /g) olarak değerlendirildi (Benzie ve Strain, 1996).

3.6.2. CUPRAC testi

Test için ilk olarak CUPRAC reaktifi hazırlandı. CUPRAC reaktifi: 1 ml $CuCl_2$.$2H_2O$, 1 ml $C_2H_7NO_2$ (amonyum asetat) ile 1 ml neokuproin eklenerek hazırlandı. Her bir tüp için, bitkisel ekstraktlardan 25 µl (2 mg/ml) alındı ve CUPRAC reaktifi ilave edildi. Elde edilen karışım oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Daha sonra özütlerin absorbansları 450 nm de ölçüldü ve sonuçlar troloks eş değer (mgTE /g) olarak değerlendirildi (Apak ve ark., 2006).

3.7. Toplam Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi

Toplam antioksidan kapasite testi, Prieto ve ark. (1999) tarafından geliştirilen fosfomolibdat metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Fosfomolibdat metodunun temeli, asidik ortamda antioksidan bileşikleri, Mo^{+6}'yı Mo^{+5}'e indirgemesine ve oluşan mavi-yeşil renkli ürünlerin 695 nm' de ölçülmesine dayanır. Bu testin toplam antioksidan kapasite testi olarak değerlendirilmesinin nedeni, testte tüm antioksidan bileşiklerinin rol oynayabileceğinin düşünülmesidir. Çalışmamızda testin sonuçları, troloks eş değeri olarak verilmiştir (Aliyu ve ark., 2013; Sethiya ve ark., 2014).

3.7.1. Fosfomolibdat Testi

Fosfomolibdat testi için ilk olarak reaktif çözeltisi hazırlandı. Fosfomolibdat reaktifi: 0.6 M H_2SO_4, 28 mM $Na_2HPO_4.12H_2O$ ve 4 mM $(NH_4)_6Mo_7O_{24}$(amonyum molibdat) çözeltilerinin karıştırılmasıyla hazırlandı. Tüplere eklenen, 2 mg/ml konsantrasyonundaki bitkisel özütlerin 100 µl'si ve hazırlanan reaktifin 2 ml si karıştırıldı ve 95 ^oC ' de 90 dakika bekltildi. Daha sonra tüpler soğutuldu ve 695 nm' de absorbans değerleri ölçüldü. Aynı işlemler toroloks içinde yapıldı ve sonuçlar troloks eş değeri (mmol TE/g) olarak değerlendirildi (Prieto ve ark., 1999).

3.7.2. Metal şelatlama aktivitesi

Metal şelat aktivitesi, Dinis ve ark.,tarafından geliştirilen metota göre yapıldı. Fe^{+2} iyonları, en tehlikeli radikal olarak bilinen hidroksil radikalinin oluşumunda etkin rol oynar bunun nedeni geçiş metallerinin özellikle Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları ile bu OH radikalinin oluşmasına yol açmasıdır. Literatürde, farklı metotlar kullanılmasına rağmen en yaygını ferrozin metodudur. Bu bağlamda, metodun temeli, şelatlayıcı ajanların varlığında ferrozin ile Fe^{+2} kompleks oluşumunun inhibe olması ve bunun sonucu olarak kompleksin kırmızı renginde bir düşüş meydana gelmesi ve oluşan ürünün 562 nm' de spektrofotometrik olarak ölçülmesine dayanır. Metotda genellikle etkili bir demir şelatlama ajanı olan EDTA kullanılmaktadır.

Bitkisel ekstraktların Fe^{2+} iyonlarını şelatlama kapasiteleri, Dinis ve ark. (1994) yöntemine göre belirlendi. Her bir tüpe 100 µl (2 mg/ml) bitkisel özüt ve 50 µl FeCl2 çözeltisi eklendi. Tüplere 100 µl ferrozin eklenmesiyle tepkime başladı. Tüpler karıştırıldı ve 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi sonrasında 562 nm'de absorbansları ölçüldü. Bu testte şelatlayıcı ajan olarak kullanılan EDTA içinde aynı işlemler yapıldı ve sonuçlar EDTA eş değer (mg EDTA/ g) olarak değerlendirildi.

3.8. Enzim İnhibisyonuna Yönelik Testler

3.8.1. Kolinesteraz inhibisyon aktivitesi (AChE ve BChE)

Bitkisel ekstrakların kolinesteraz inhibisyon aktiviteleri Ellman's yöntemi kullanılarak 96 kuyucuklu mikroplakalarda gerçekleştirilmiştir (Shetab-Boushehri, 2018). Her bir kuyucuğa 2 mg/ml konsantrasyonundaki 100 µl bitki özütü, 100 µl DNTP (5,5-Dithio-bis(2-nitrobenzoic) acid), pH 8.0 Tris-HCl tamponunda hazırlanan 25 µl AChE veya BChE enzim çözeltisi eklendi. Bu karışım oda sıcaklığında 15 dakika bekletildi ve daha sonra substrat çözeltilerinden 25 µl asetilkolin iyodür (ATCI) veya butiriltiyokolin iyodür (BTCI) ilave edildi. Hazırlanan karışımlar, oda sıcaklığında 10 dakika bekletildikten sonra 405 nm de absorbans değerleri ölçüldü. Bu testte standart inhibitör olarak galantamin kullanıldı ve sonuçlar galatamine eşdeğer (mg GALAE/g) olarak değerlendirildi.

3.8.2. Amilaz İnhibisyon Aktivitesi

Bitkisel özütlerin amilaz inhibisyon kapasitelerinin değerlendirilmesinde Caraway-Somogyi iyot/potasyum iyodür (IKI) yöntemi kullanılmıştır. Test mikroplakalarda gerçekleştirildi. Her bir kuyucuğa, 50 µl bitkisel özüt ve pH 6.9 fosfat tamponunda hazırlanmış 50 µl amilaz enzim çözeltisi eklendi. Karışım, 37 ^{o}C de 10 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonunda kuyucuklara % 0.05 'lik 100 µl nişasta çözeltisi eklendi ve 37 ^{o}C de 10 dakika bekletildi. Süre sonunda kuyucuklara (1M, 25 µl) HCl ilave edildi ve reaksiyon durduruldu. Daha sonra renk ayracı olarak iyot-potasyum iyodür (100 µl) eklendi ve absorbanslar 630 nm'de okundu. Standard olarak akarboz kullanıldı ve sonuçlar akarboza eşdeğer (mmol AKAE/g) olarak değerlendirildi.

3.8.3. Glukosidaz İnhibisyon Aktivitesi

Mikroplakalardaki herbir kuyucuk için, 50 µl bitkisel özüt, pH 6.9 fosfat tamponunda hazırlanmış 50 µl α- glukosidaz çözeltisi ve substrat çözeltisi olarak 50 µl PNPG (4-p-nitrofenil-α-D-glukopiranozid) eklenerek karıştırıldı ve 37 ^{o}C de 10 dakika inkübe edildi. Süre sonunda karışıma 0,2 M , 50 µl Na_2CO_3 eklenerek reaksiyon tamamlandı. Absorbans değerleri 405 nm'de kaydedildi. Standard inhibitör olarak akarboz kullanıldı ve aktiviteler akarboza eşdeğer (mmolAKAE/g) olarak değerlendirildi.

3.8.4. Tirozinaz İnhibisyon Aktivitesi

Tirozinaz, tıp ve kozmetikte önemli bir role sahip olan bir oksidoredüktaz enzimidir. Aşırı melanin üretimi hiperpigmentasyona neden olur ve bu enzimin inhibisyonu genellikle hiperpigmentasyona ve ilişkili bozukluklara karşı terapötik faydalara yol açar. Çok sayıda tıbbi bitki, potansiyel tirozinaz önleyici aktiviteye sahip birkaç biyoaktif bileşen içerir.

Tirozinaz inhibisyon yeteneği, substrat olarak L-DOPA 'nın kullanıldığı dopachrome yöntemi ile ölçülmüştür. Her bir kuyucuk için, 50 µl bitkisel özüt, pH 6.8, fosfat tamponunda hazırlanmış 150 µl tirozinaz çözeltisi karıştırıldı ve oda sıcaklığında 15 dakika bekletildi. . Bu süre sonunda 50 µL L-DOPA konuldu ve 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Absorbans değerleri 492 nm' de kaydedildi. Standard inhibitör olarak kojik asit kullanıldı ve tirozinaz inhibisyon aktiviteleri kojik asite eşdeğer (mg KAE/g) olarak hesaplandı (Deliorman Orhan ve ark., 2014).

3.9. İstatistiksel Değerlendirme

Aktivite ölçümleri üç tekrarlı olarak yapılmıştır ve sonuçlar üç tekrarın ortalaması ve standard sapmaları şeklinde verilmiştir. Örnekler arasında istatistik olarak herhangi bir farkın olup olmadığı Tukey testi kullanılarak belirlenmiştir. Bu analizler GraphPad 8.0 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Bitki materyallerinden, yeni biyoaktif bileşiklerin elde edilmesinde, çözücü seçimi bitkide bulunan fitokimyasalların eldesinde bir sonraki aşama olan ekstraksiyon için çok önemlidir. Farklı polaritelere sahip çözücülerin kullanılması, çeşitli biyoaktif bileşik türlerinin ekstrakte olmasını sağlamıştır ve ekstrakların biyolojik aktivitelerinde faklılıklar göstermiştir (Bhat ve Riar, 2017). Ekstraksiyonda kullanılan çözücünün farklılığı kadar, ekstraksiyonun süresi, sıcaklığı, çözücü/madde oranı gibi parametreler de verimi önemli derecede etkiler (Mojzer ve ark., 2016).

Bu çalışmada kullanılan *Scorzonera* türlerinin (*S. hieraciifolia, S.hispanica, S. tomentosa*) toprak üstü ve kökleri, diklorometan, etilasetat, hekzan, metanol, su olmak üzere 5 farklı çözücü ile maserasyon yöntemi kullanılarak ekstraksiyonu yapılmıştır. Elde edilen ekstrakların toplam fenolik, flavonoid içerikleri, serbest radikal süpürme aktiviteleri, indirgeme güçlerinin belirlenmesine yönelik testler, toplam antioksidan içerikleri ve enzim inbisyon yetenekleri üzerine çeşitli testler yapılmıştır.

4.1. Tez Çalışmasında Kullanılan *Scorzonera* Ekstraklarının Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoid İçerikleri

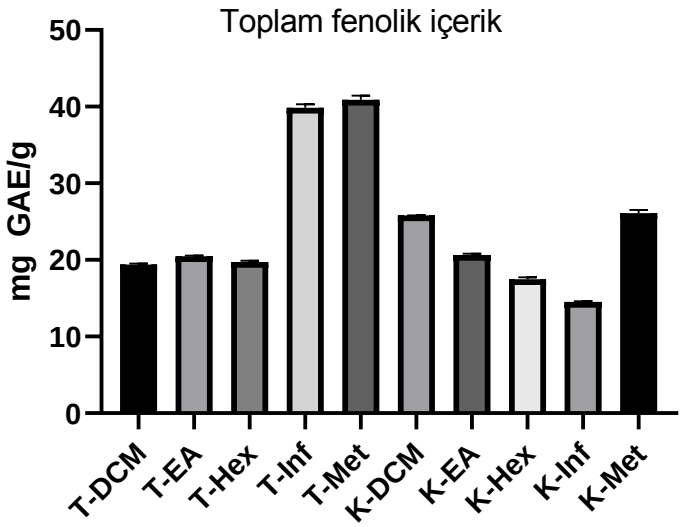
Scorzonera hieraciifolia ekstraklarının toplam fenolik ve toplam flavonoid içerikleri araştırılmış ve sonuçlar Tablo 4.1' de verilmiştir. Sonuçlara göre, kullanılan çözücülere bağlı olarak önemli ölçüde farklılık görülmüştür. Bitkinin toprak üstü kısımları için en yüksek toplam fenolik içerik değeri 40.88±0.56 mg GAE/g - metanol özütünden ve bunu takiben 39.87±0.43 mg GAE/g - infüzyon ve en düşük içerik 19.40±0.11- mg GAE/g diklorometan özütünde elde edilmiştir. Diğer ekstrakların içerikleri ise; 20.49±0.06 mg GAE/g etilsaetat > 19.73±0.15 mg GAE/g hekzan olarak gözlenmiştir. Toprak üstü kısımlarının toplam flavonoid içerikleri; 52.91±0.28 mg RE/g - methanol > 23.98±0.22 mg mg RE/g - diklorometan > 22.91±0.85 mg RE/g etilasetat > 11.43±0.72 mg RE/g - infüzyon > 6.60±0.17 mg RE/g - hekzan, şeklinde elde edilmiş ve en yüksek değer metanol özütünde, en düşük içerik ise, hekzan özütü şeklinde sıralanmıştır.

Aynı işlemler kök için de yapılmış ve toplam fenolik içerik için değerler; 26.11±0.42 mg GAE/g - metanol > 25.81±0.02 mg GAE/g - diklorometan > 20.64±0.15 mg GAE/g - etil asetat > 17.50±0.24 mg GAE/g - hekzan > 14.53±0.09 mg GAE/g - infüzyon olarak elde edilmiş ve en yüksek fenolik içerik değeri metanol, en düşük içeriğin ise infüzyon özütü, olduğu gözlenmiştir. Kök için toplam flavonoid değerlerinde en yüksek flavonid içeriğin, 3.42±0.10 mg RE/g metanol özütü ile en düşük içeriğin ise, 0.03±0.01mg RE/g ile etilasetat özütünde olduğu görülmüştür. Diğer ekstraklar; 1.24±0.06 - mg RE/g diklorometan > 0.84±0.08 - mg RE/g infüzyon > 0.78±0.06 - mg RE/g hekzan olarak değerlendirilmiştir.

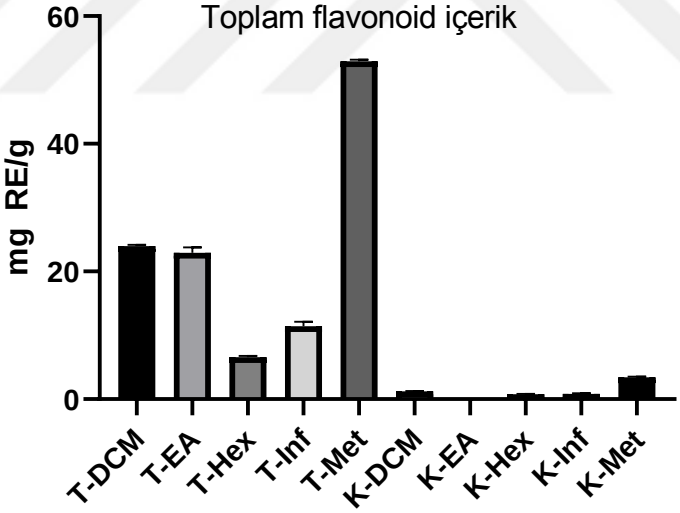
Tablo.4.1. *S. hieraciifolia* toprak üstü ve köklerinin toplam fenolik ve flavonoid içerik sonuçları

Kısım	Çözücüler	Toplam fenolik içerik (mg GAE/g özüt)	Toplam flavanoid içerik (mg RE/g özüt)
Toprak üstü	Diklorometan	19.40 ± 0.11^{f}	23.98 ± 0.22^{b}
	Etilasetat	20.49 ± 0.06^{de}	22.91 ± 0.85^{b}
	Hekzan	19.73 ± 0.15^{ef}	6.60 ± 0.17^{d}
	İnfüzyon	39.87 ± 0.43^{b}	11.43 ± 0.72^{c}
	Metanol	40.88 ± 0.56^{a}	52.91 ± 0.28^{a}
Kök	Diklorometan	25.81 ± 0.02^{c}	1.24 ± 0.06^{f}
	Etilasetat	20.64 ± 0.15^{d}	0.03 ± 0.01^{g}
	Hekzan	17.50 ± 0.24^{g}	0.78 ± 0.06^{fg}
	İnfüzyon	14.53 ± 0.09^{h}	0.84 ± 0.08^{fg}
	Metanol	26.11 ± 0.42^{c}	3.42 ± 0.10^{e}

* Ortalama±Standart Sapma (n=3). GAE: Gallik asit eşdeğeri; RE: Rutin eşdeğeri; Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı ifade eder ($p< 0.05$).



Şekil.4.1. *S. hieraciifolia* ekstraklarının toplam fenolik içeriklerinin karşılaştırılması (GAE: Gallik asit eşdeğeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)



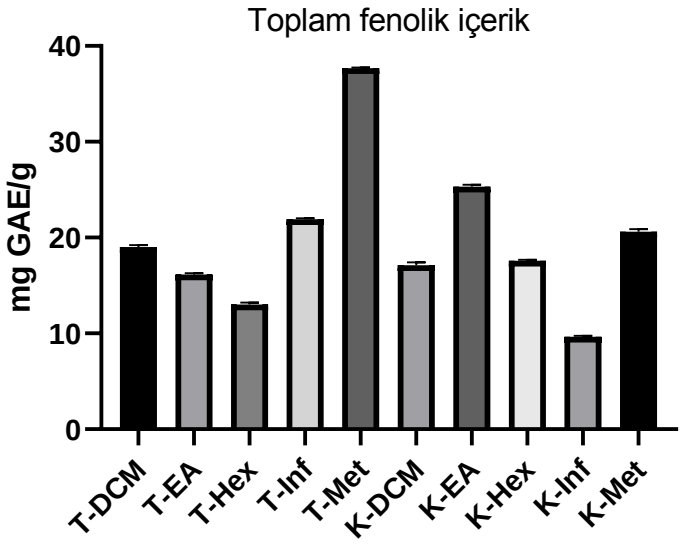
Şekil.4.2. *S. hieraciifolia* ekstraklarının toplam flavanoid içeriklerinin karşılaştırılması (RE: Rutin eşdeğeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)

S. hispanica bitkisinden, 5 farklı çözücü kullanılarak çıkarılan özütlerin toplam fenolik ve flavanoid sonuçları Tablo 4.2' de verilmiştir. Çalışmada kullanılan *S. hispanica* toprak üstü ekstraklarının toplam fenolik içerikleri incelendiğinde, en yüksek içeriğin 37.68±0.07 - mg GAE/g değeri ile metanol özütünde, bunu takiben 21.91±0.10 - mg GAE/g değeri ile infüzyon ve en düşük değerinin de 13.02±0.21 - mg GAE/g değeri ile hekzan özütünde olduğu gözlemlenmiştir. Diğer ekstraklar; 19.02±0.19 - mg GAE/g diklorometan > 16.14±0.15 mg GAE/g etilasetat şeklinde sıralanmıştır. Yine toprak üstü kısımlarının toplam flavonoid içerikleri incelendiğinde en yüksek değerin 34.60±.40 mg RE/g değeri ile metanolde bunu takiben 15.49±0.49 mg RE/g değeri ile etilasetat ve en düşük aktivitenin 1.69±0.09 mg RE/g hekzan olduğu ve diğer ekstraklar; 10.83±0.43 mg RE/g – diklorometan > 3.06±0.03 mg RE/g – infüzyon olarak sıralanmıştır. Aynı şekilde *S. hispanica* kök ekstraklarının toplam fenolik içerikleri incelendiğinde en yüksek içeriğin 25.31±0.21 - mg GAE/g değeri ile etilasetatta sonrasında 20.61±0.27 mg GAE /g değeri ile metanolde ve en düşük içeriğin ise 9.65±0.09 mg GAE /g değeri ile infüzyon özütünde olduğu gözlemlenmiştir. Kök ekstraklarının toplam flavonoid içerikleri incelendiğinde en yüksek içeriğin 3.30±0.09 - mg RE/g değeriyle yine etilasetat özütünde ve bunu takiben 3.01±0.10 -mg RE/g değeriyle metanolde olduğu, en düşük değerinin ise 0.53±0.06 mg RE/g -infüzyon özütünde olduğu gözlemlenmiştir.

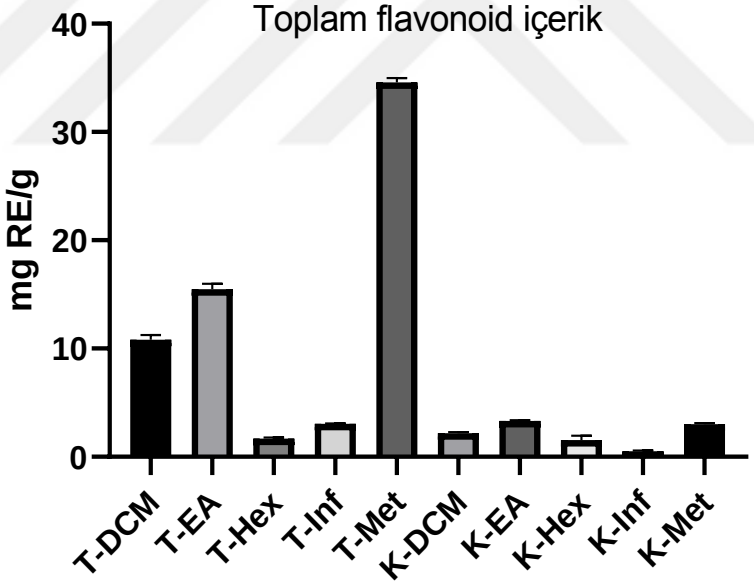
Tablo.4.2. *S. hispanica* toprak üstü ve köklerinin toplam fenolik ve flavanoid içerik sonuçları

Kısım	Çözücüler	Toplam fenolik içerik (mg GAE/g özüt)	Toplam flavanoid içerik (mg RE/g özüt)
Toprak üstü	Diklorometan	19.02±0.19^{e*}	10.83±0.43^{c}
	Etilasetat	16.14±0.15^{g}	15.49±0.49^{b}
	Hekzan	13.02±0.21^{h}	1.69±0.09^{e}
	İnfüzyon	21.91±0.10^{c}	3.06±0.03^{d}
	Metanol	37.68±0.07^{a}	34.60±.40^{a}
Kök	Diklorometan	17.11±0.31^{f}	2.17±0.10^{e}
	Etilasetat	25.31±0.21^{b}	3.30±0.09^{d}
	Hekzan	17.57±0.12^{f}	1.55±0.40^{e}
	İnfüzyon	9.65±0.09^{i}	0.53±0.06^{f}
	Metanol	20.61±0.27^{d}	3.01±0.10^{d}

* Ortalama±Standart Sapma (n=3). GAE: Gallik asit eşdeğeri; RE: Rutin eşdeğeri; Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı ifade eder ($p< 0.05$).



Şekil.4.3. *S. hispanica* ekstraklarının toplam fenolik içeriklerinin karşılaştırılması (GAE: Gallik asit eşdeğeri,, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)



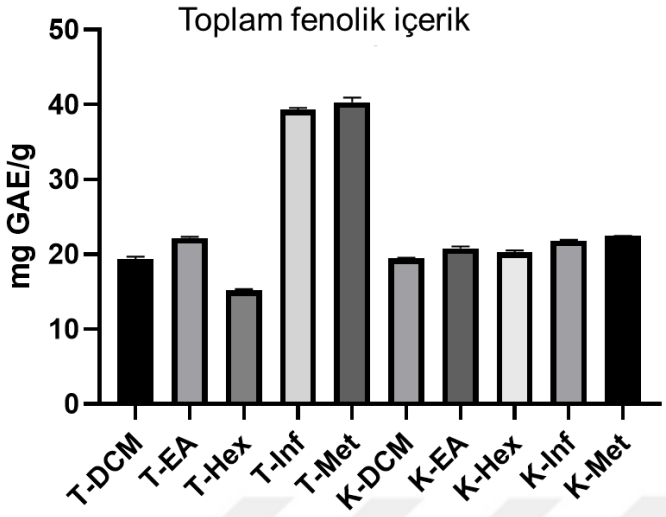
Şekil.4.4. *S. hispanica* ekstraklarının toplam flavanoid içeriklerinin karşılaştırılması (RE: Rutin eşdeğeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)

S. tomentosa ekstraklarının toplam fenolik ve toplam flavonoid içerikleri araştırılmış ve sonuçlar Tablo 4.3' de verilmiştir. Bitkinin toprak üstü kısımları için en yüksek toplam fenolik içerik değeri 40.33±0.61 mg GAE/g - metanol özütünden ve bunu takiben 39.30±0.25 mg GAE/g - infüzyon ve en düşük içeriğin, 15.17±0.20 mg GAE/g – hekzan özütünden elde edilmiştir. Diğer özütlerin içerikleri sırasıyla; 22.18±0.16 mg GAE/g etilasetat > 19.39±0.31 mg GAE/g diklorometan olarak elde edilmiştir. Toprak üstü kısımlarının toplam flavonoid içerikleri incelendiğinde; 34.93±0.64 mg RE/g methanol > 19.14±0.28 mg RE/g diklorometan > 17.05±0.04 mg RE/g etilasetat > 7.14±0.08 mg RE/g infüzyon > 2.96±0.05 hekzan mg RE/g, şeklinde elde edilmiş ve en yüksek değer metanol özütünde, en düşük içerik ise hekzan özütünde görülmüştür. Aynı işlemler kök için de yapılmış ve toplam fenolik içerik için değerler; 22.42±0.07 mg GAE/g metanol > 21.84±0.10 mg GAE/g infüzyon > 20.82±0.26 mg GAE/g etil asetat > 20.28±0.23 mg GAE/g hekzan > 19.50±0.05 diklorometan olarak elde edilmiş ve en yüksek fenolik içerik değeri metanol özütünden ve en düşük fenolik içerik diklorometan özütünde gözlenmiştir. Kök için toplam flavonoid değerlerinde en yüksek flavonid içerik, 2.65±0.08 mg RE/g metanol ve en düşük içerik, 0.40±0.02 mg RE/g diklorometan özütünden elde edilmiştir. Diğer ekstraklar sırasyla; 1.29±0.18 mg RE/g metanol > 0.53±0.03 mg RE/g etilasetat > 0.52±0.10 mg RE/g hekzan olarak sıralanmıştır.

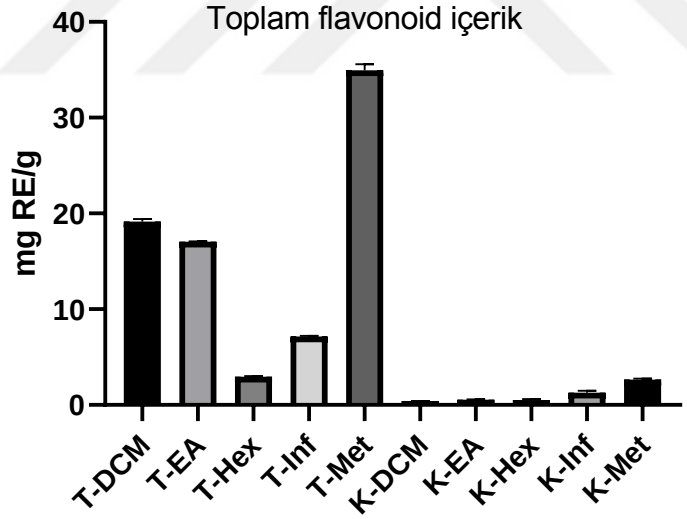
Tablo.4.3. *S. tomentosa* toprak üstü ve köklerinin toplam fenolik ve toplam flavonoid içerik sonuçları

Kısım	Çözücüler	Toplam fenolik içerik (mg GAE/g özüt)	Toplam flavanoid içerik (mg RE/g özüt)
Toprak üstü	Diklorometan	19.39±0.31^{e}	19.14±0.28^{b}
	Etilasetat	22.18±0.16^{c}	17.05±0.04^{c}
	Hekzan	15.17±0.20^{f}	2.96±0.05^{e}
	İnfüzyon	39.30±0.25^{b}	7.14±0.08^{d}
	Metanol	40.33±0.61^{a}	34.93±0.64^{a}
Kök	Diklorometan	19.50±0.05^{e}	0.40±0.02^{g}
	Etilasetat	20.82±0.26^{d}	0.53±0.03^{g}
	Hekzan	20.28±0.23^{d}	0.52±0.10^{g}
	İnfüzyon	21.84±0.10^{c}	1.29±0.18^{f}
	Metanol	22.42±0.07^{c}	2.65±0.08^{e}

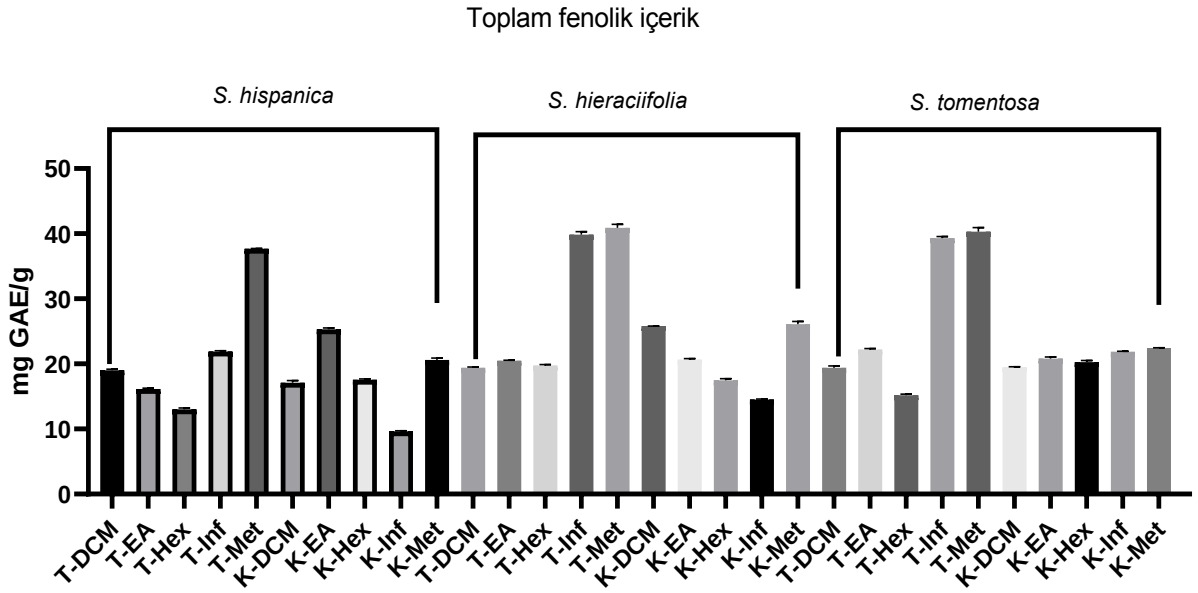
* Ortalama±Standart Sapma (n=3). GAE: Gallik asit eşdeğeri; RE: Rutin eşdeğeri; Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı ifade eder ($p< 0.05$).



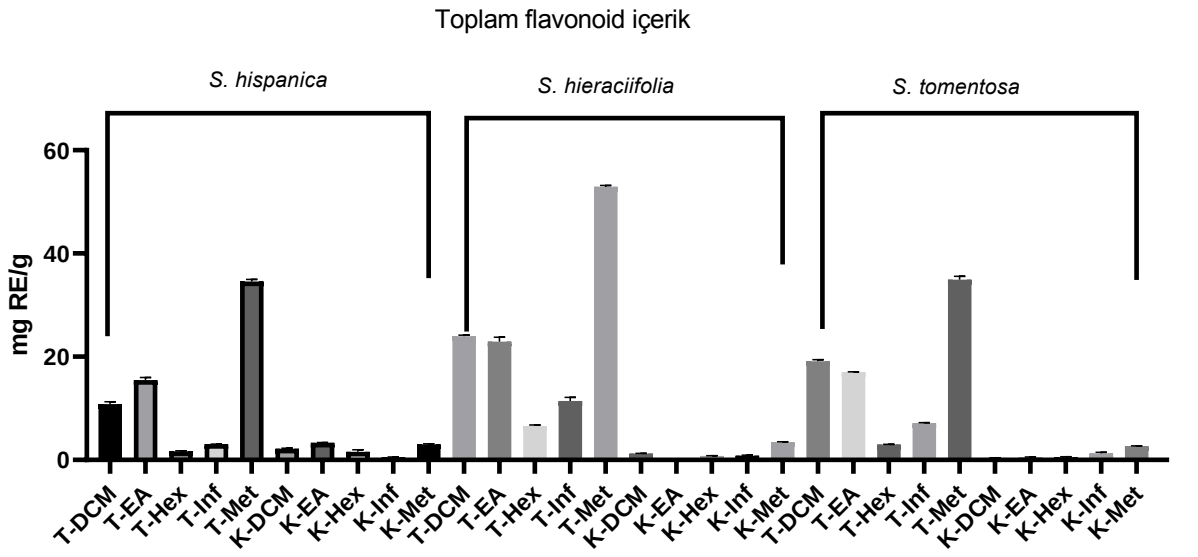
Şekil.4.5. *S. tomentosa* ekstraklarının toplam fenolik içeriklerinin karşılaştırılması (GAE: Gallik asit eşdeğeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)



Şekil.4.6. *S. tomentosa* ekstraklarının toplam flavanoid içeriklerinin karşılaştırılması (RE: Rutin eşdeğeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)



Şekil 4.7. Tez çalışmasında kullanılan *Scorzonera* özütlerinin toplam fenolik içeriklerinin karşılaştırılması.



Şekil 4.8. Tez çalışmasında kullanılan *Scorzonera* özütlerinin toplam flavonoid içeriklerinin karşılaştırılması.

Şekil 4.7 ‘de çalışma kapsamında kullanılan, *Scorzonera* türlerinin toplam fenolik içerikleri karşılaştırılmış olup bitkilerin toprak üstü ve kök ekstraklarında genel olarak en yüksek içeriğin metanol özütlerinde ve en düşük içeriğin ise hekzan özütlerinde olduğu görülmüştür. Yapılan literatür taraması sonucunda, *Scorzonera hieraciifolia* bitkisinin fenolik ve flavanoid içerik, hakkında fazla bilgi bulunmamakla birlikte, yapılan bir çalışmada *S. hieraciifolia* bitkisinin etilasetat fraksiyonunun toplam fenolik içeriğinin ve antioksidan aktivitesinin yüksek miktarda olduğu görülmüştür. (Sarı ve ark., 2019)

Şekil.4.8.’de ekstrakların, toplam flavanoid içerikleri karşılaştırılmış ve tüm bitkilerin toprak üstü kısımlarında en yüksek içeriğin metanol özütünde olduğu görülmüştür. Bütün özütlerde, en düşük içeriğin ise hekzan özütünde geldiği görülmektedir. Bitkilerin kök ekstrakları karşılaştırıldığında, toprak üstü kısımlarında olduğu gibi, en yüksek içerik metanol özütünde, en düşük içerik ise hekzan ve diklorometan özütleri arasında değiştiği görülmüştür.

Fitokimyasal tarama testleri, fenollerin, flavonoidlerin, alkaloidlerin, tanenlerin, terpenoidlerin, steroidlerin ve saponinlerin, tohumların ve tüm meyvelerinin özlerinden biri veya her ikisi (sulu ve etanolik) dahil olmak üzere birçok fitokimyasalın varlığını ortaya çıkarmıştır (Adusei ve ark., 2019). Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde metanolün *Scorzonera* taksonları üzerine yapılacak çalışmalarda en uygun çözücü olabileceği önerilebilmektedir. Bununla birlikte sonuçlarda spektrofotometrik yöntemlerle elde edilen sonuçlar tam bir kesinlik göstermemektedir. Özellikle Folin-Ciolccolteu reaktifinin bitkisel ekstraklardaki başta proteinler olmak üzere çeşitli bileşikler tarafından indirgenmesi bu testi ve dolayısıyla sonuçların şüpheli hale getirmiştir (Sánchez-Rangel ve ark., 2013). Bu nedenle spektrofotometrik ölçüm sonuçlarının en az bir ileri kromotografik teknik ile doğrulanması gerekmektedir.

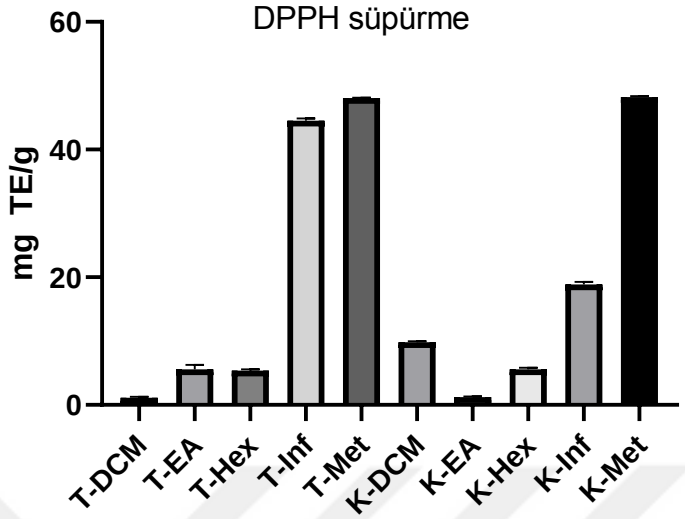
4.2. *Scorzonera* Özütlerinin DPPH ve ABTS Radikal Süpürme Aktivitesinin Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan *S. hieraciifolia* ekstraklarının *in vitro* antioksidan aktivitelerinin sonuçları Tablo 4.4' de verilmiştir. toprak üstü ekstraklarının DPPH süpürme kabiliyetleri incelendiğinde, en yüksek aktivitenin 48.07±0.05 mg TE/g değeri ile metanol bunu takiben 44.51±0.37 mg TE/g değeri ile infüzyon ve en düşük değerinin de 1.13±0.14 mg TE/g değeri ile diklorometan ve diğer özütler ise; 5.58±0.70 mg TE/g etilasetat > 5.39±0.18 mg TE/g hekzan olarak gözlemlenmiştir. Yine toprak üstü kısımlarının ABTS radikalini süpürme kapasiteleri incelendiğinde en yüksek aktivitenin 85.52±0.62 mg TE/g değeri ile infüzyon bunu takiben 85.11±2.20 mg TE/g değeri ile metanol ve en düşük etkinliğin 4.07±0.30 mg TE/g diklorometan ve diğerleri sırasıyla; 10.11±0.54 mg TE/g etilasetat > 9.88±0.85 mg TE/g hekzan olarak gözlemlenmiştir. *S. hieraciifolia* kök ekstraklarının DPPH radikali süpürme yetenekleri incelendiğinde en yüksek aktivitenin 48.25±0.15 mg TE/g değeri ile metanolde, sonrasında 18.87±0.38 mg TE/g değeri ile infüzyonda, en düşük aktivitenin ise 1.20±0.10 mg TE/g değeri ile etilasetat ve diğerleri; 9.84±0.15 mg TE/g diklorometan > 5.56±0.27 mg TE/g hekzan olarak değerlendirilmiştir. Ekstrakların ABTS radikali süpürme kapasiteleri incelendiğinde en yüksek aktivitenin 66.55±1.52 mg TE/g değeriyle yine metanolde ve bunu takiben 43.38±0.88 mg TE/g değeriyle infüzyonda olduğu, en düşük değerinin ise 1.41±0.25 mg TE/g değeriyle etilasetat ve diğer ekstraklar ise; 13.09±0.84 mg TE/g diklorometan > 4.94±0.68 mg TE/g hekzan olduğu görülmüştür. Sonuçlara bakıldığında *S. hieraciifolia* ekstraklarının topraküstü kısımlarının metanol ve infüzyonları arasında ve köklerinin metanol ve ınfuzyonları arasında bir korelasyon olduğu ve çalışılan özütlerdeki, fenolik bileşiklerin radikal süpürmede etkili oldukları görülmüştür.

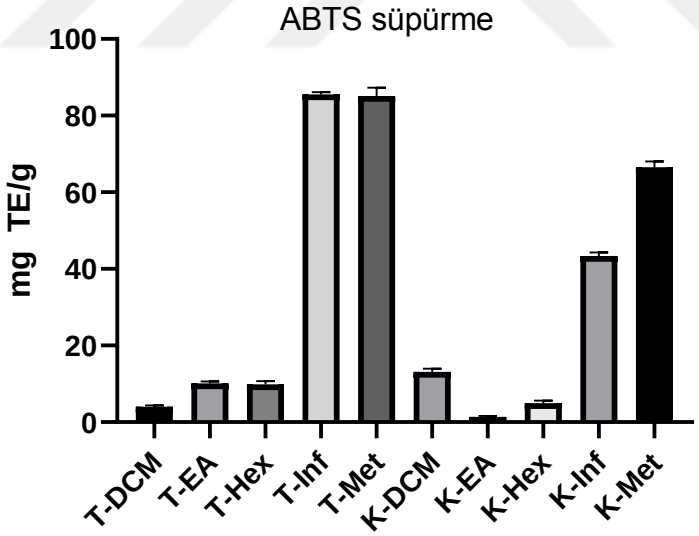
Tablo.4.4. *S. hieraciifolia* toprak üstü ve köklerinin DPPH, ABTS radikali süpürme içerik sonuçları.

Kısım	Çözücüler	DPPH (mg TE/g özüt)	ABTS (mg TE/g özüt)
Toprak üstü	Diklorometan	1.13±0.14^{f}	4.07±0.30^{fg}
	Etilasetat	5.58±0.70^{e}	10.11±0.54^{de}
	Hekzan	5.39±0.18^{e}	9.88±0.85^{e}
	İnfüzyon	44.51±0.37^{b}	85.52±0.62^{a}
	Metanol	48.07±0.05^{a}	85.11±2.20^{a}
Kök	Diklorometan	9.84±0.15^{d}	13.09±0.84^{d}
	Etilasetat	1.20±0.10^{f}	1.41±0.25^{g}
	Hekzan	5.56±0.27^{e}	4.94±0.68^{f}
	İnfüzyon	18.87±0.38^{c}	43.38±0.88^{c}
	Metanol	48.25±0.15^{a}	66.55±1.52^{b}

* Ortalama±Standart Sapma (n=3). TE: Troloks eşdeğeri. Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı ifade eder ($p< 0.05$).



Şekil.4.9. *S.hieraciifolia* ekstraklarının DPPH radikali süpürme yeteneklerinin karşılaştırılması (TE: Troloks eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)



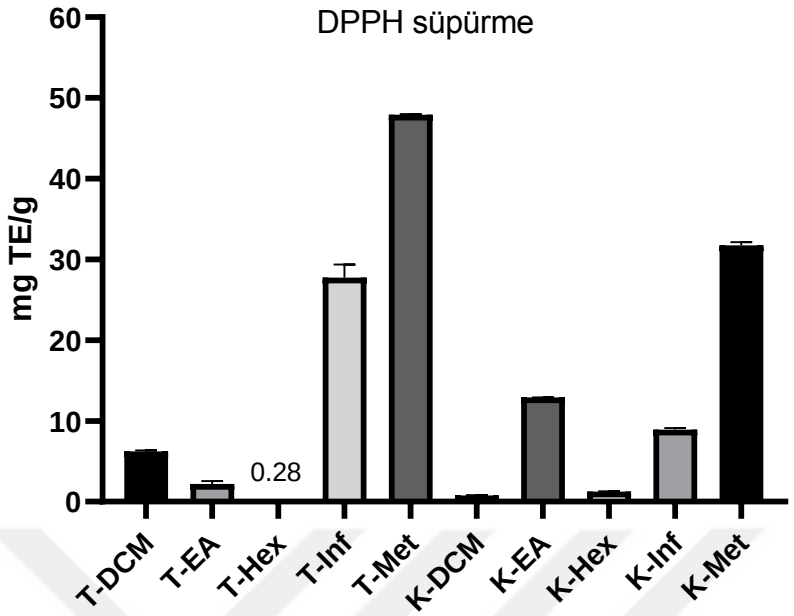
Şekil.4.10. *S.hieraciifolia* ekstraklarının ABTS radikali süpürme kapasitelerinin karşılaştırılması (TE: Troloks eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)

Çalışmamızda kullanılan *S. hispanica* özütlerinin DPPH ve ABTS radikal süpürme aktivite sonuçları Tablo.4.5' de verilmiştir. Bitkinin toprak üstü kısmından elde edilen özütlerin, DPPH radikali süpürme aktiviteleri bakımından elde edilen sonuçları incelendiğinde, en yüksek etkinliğin 47.92±0.07 mg TE/g değeriyle metanolde ve diğerleri sırasıyla; 27.74±1.64 mg TE/g infüzyon > 6.25±0.10 mg TE/g diklorometan > 2.19±0.36 mg TE/g etilasetat > 0.28±0.01 mg TE/g hekzan olarak elde edilmiştir. Yine bitkisel özütlerin ABTS radikali üzerine etkileri incelendiğinde, en yüksek aktivitenin 71.69±0.03 mg TE/g değeriyle metanol özütünde ve diğerler özütler; 49.60±0.87 mg TE/g infüzyon > 8.63±0.37 mg TE/g diklorometan > 7.78±0.23 mg TE/g etilasetat > 2.75±0.31mg TE/g hekzan olduğu görülmüştür. Bitkinin kök ekstraklarının DPPH radikali üzerine etkileri incelendiğinde en yüksek aktivitenin 31.76±0.37 mg TE/g değeriyle metanolde ve diğer ekstrakların etkinlikleri; 12.90±0.02 mg TE/g etilasetat > 8.91±0.22 mg TE/g infüzyon > 1.24±0.04 mg TE/g hekzan > 0.79±0.01 mg TE/g diklorometan olarak elde edilmiştir. Kökten elde edilen ekstrakların ABTS radikali süpürme yetenekleri incelendiğinde, en güçlü etkinliğin, 40.02±0.48 mg TE/g değeriyle metanolde ve diğer özütlerin aktivitelerinin sırasıyla; 21.55±0.57 mg TE/g etilasetat > 10.31±0.26 mg TE/g infüzyon > 2.92±0.35 mg TE/g diklorometan> 1.40±0.12 mg TE/g hekzan olduğu görülmüştür.

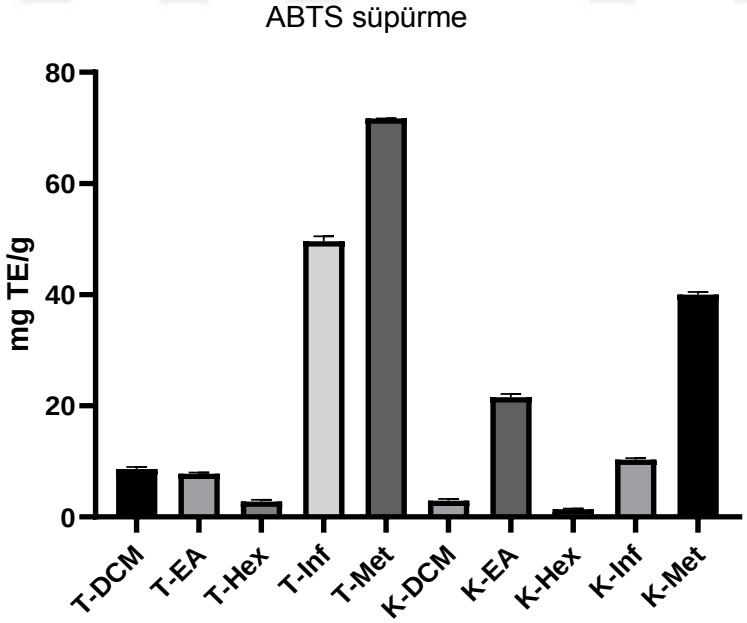
Tablo.4.5. *S. hispanica* toprak üstü ve köklerinin DPPH ve ABTS radikali süpürme sonuçları.

Kısım	Çözücüler	DPPH (mg TE/g özüt)	ABTS (mg TE/g özüt)
Toprak üstü	Diklorometan	6.25±0.10^{f}	8.63±0.37^{f}
	Etilasetat	2.19±0.36^{g}	7.78±0.23^{f}
	Hekzan	0.28±0.01^{h}	2.75±0.31^{g}
	İnfüzyon	27.74±1.64^{c}	49.60±0.87^{b}
	Metanol	47.92±0.07^{a}	71.69±0.03^{a}
Kök	Diklorometan	0.79±0.01^{gh}	2.92±0.35^{g}
	Etilasetat	12.90±0.02^{d}	21.55±0.57^{d}
	Hekzan	1.24±0.04^{gh}	1.40±0.12^{h}
	İnfüzyon	8.91±0.22^{e}	10.31±0.26^{e}
	Metanol	31.76±0.37^{b}	40.02±0.48^{c}

* Ortalama±Standart Sapma (n=3). TE: Troloks eşdeğeri. Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı ifade eder (p< 0.05).



Şekil.4.11. *S.hispanica* ekstraklarının DPPH radikali süpürme yeteneklerinin karşılaştırılması (TE: Troloks eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)



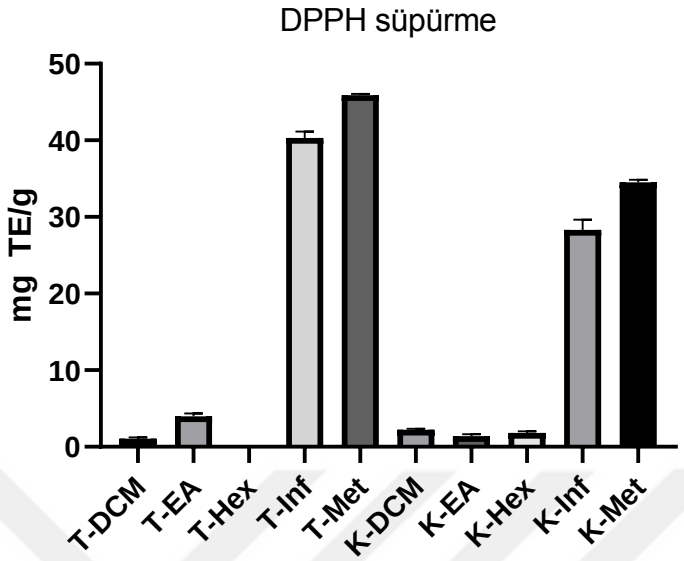
Şekil.4.12. *S.hispanica* ekstraklarının ABTS radikali süpürme yeteneklerinin karşılaştırılması (TE: Troloks eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)

Tez kapsamında çalışılan *S. tomentosa* bitkisinin, toprak üstü ve kök ekstraklarının DPPH ve ABTS radikali süpürme yetenekleri test edilmiş ve sonuçları Tablo.4.6' da verilmiştir. Elde edilen verilere göre toprak üstü özütlerinin DPPH radikali süpürme kapasiteleri incelendiğinde en etkili özütün 45.89±0.17 mg TE/g – metanol özütü olduğu ve bu değerlere yakın olarak 40.31±0.84 mg TE/g – infüzyon özütünün takip ettiği görülmüştür. Diğer özütlerin etkinlikleri incelendiğinde sırasıyla; 3.98±0.39 mg TE/g etilasetat > 1.05±0.20 mg TE/g diklorometan > hekzan olarak elde edilmiştir. Toprak üstünden elde edilen özütlerin, ABTS radikali süpürme yetenekleri arasında en etkili özütün 82.94±1.27 mg TE/g – infüzyon ve sonrasında 75.90±0.64 mg TE/g – metanol en düşük etkili özütün ise, 2.40±0.20 mg TE/g – hekzan özütü olduğu görülmüştür. Diğer özütlerin etkinlikleri; 7.11±0.91 mg TE/g etilasetat > 4.47±0.39 mg TE/g diklorometan olarak gözlenmiştir. Bitkinin kök ekstrakları arasında DPPH radikali süpürme etkileri karşılaştırılığında en etkili özütün 34.51±0.34 mg TE/g – metanol ve bunu takiben 28.32±1.31 mg TE/g – infüzyon, en düşük etkiye sahip özütün ise 1.40±0.24 mg TE/g – etilasetat özütü ve diğerleri; 2.22±0.15 mg TE/g diklorometan > 1.80±0.23 mg TE/g hekzan olarak sıralanmıştır. Köklerden elde edilen ekstrakların ABTS radikali üzerine etkileri incelendiğinde en etkili özütün 46.71±0.65 mg TE/g – metanol ve bu değeri takiben 41.06±0.03 mg TE/g – infüzyon özütü olduğu görülmüş, en düşük aktiviteye sahip özüt 1.82±0.03 mg TE/g – hekzan olarak değerlendirilmiştir. Diğer ekstrakların etkinlikleri ncelendiğinde; 3.94±0.51 mg TE/g etilasetat > 3.45±0.43 mg TE/g diklorometan olduğu gözlenmiştir.

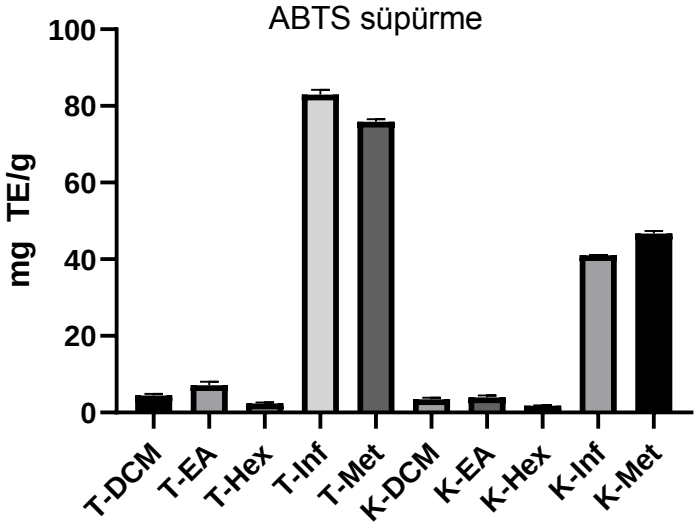
Tablo.4.6. *S. tomentosa* toprak üstü ve köklerinin DPPH ve ABTS radikal süpürme aktivitesinin belirlenmesi

Kısım	Çözücüler	DPPH (mg TE/g özüt)	ABTS (mg TE/g özüt)
Toprak üstü	Diklorometan	1.05±0.20^{fg}	4.47±0.39^{fg}
	Etilasetat	3.98±0.39^{e}	7.11±0.91^{e}
	Hekzan	-	2.40±0.20^{g}
	İnfüzyon	40.31±0.84^{b}	82.94±1.27^{a}
	Metanol	45.89±0.17^{a}	75.90±0.64^{b}
Kök	Diklorometan	2.22±0.15^{f}	3.45±0.43^{fgh}
	Etilasetat	1.40±0.24$_{fg}$	3.94±0.51^{fg}
	Hekzan	1.80±0.23^{f}	1.82±0.03^{h}
	İnfüzyon	28.32±1.31^{d}	41.06±0.03^{d}
	Metanol	34.51±0.34^{c}	46.71±0.65^{c}

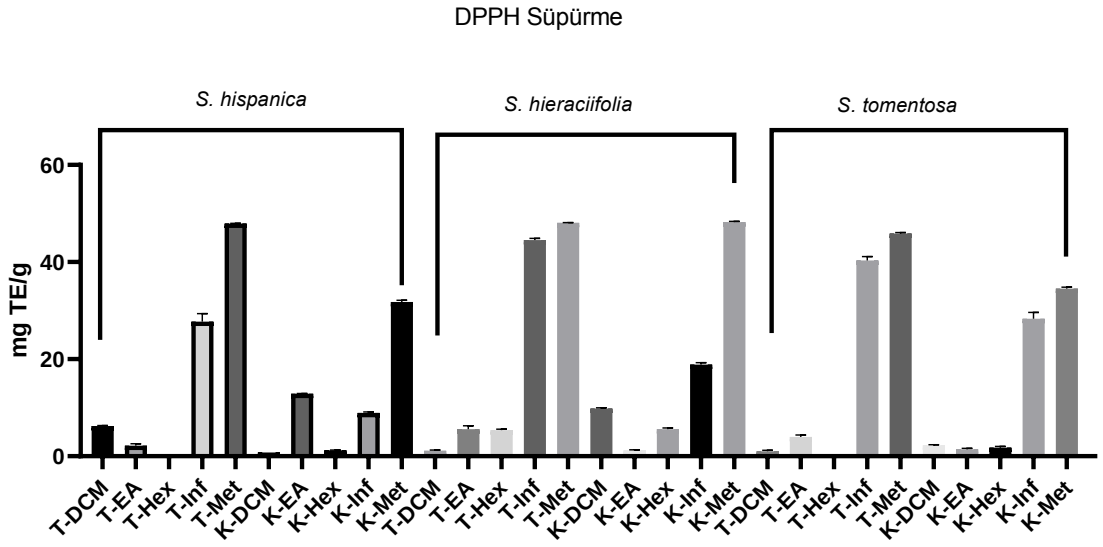
* Ortalama±Standart Sapma (n=3). TE: Troloks eşdeğeri. Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı ifade eder ($p< 0.05$). -; etkinlik gözlenmedi.



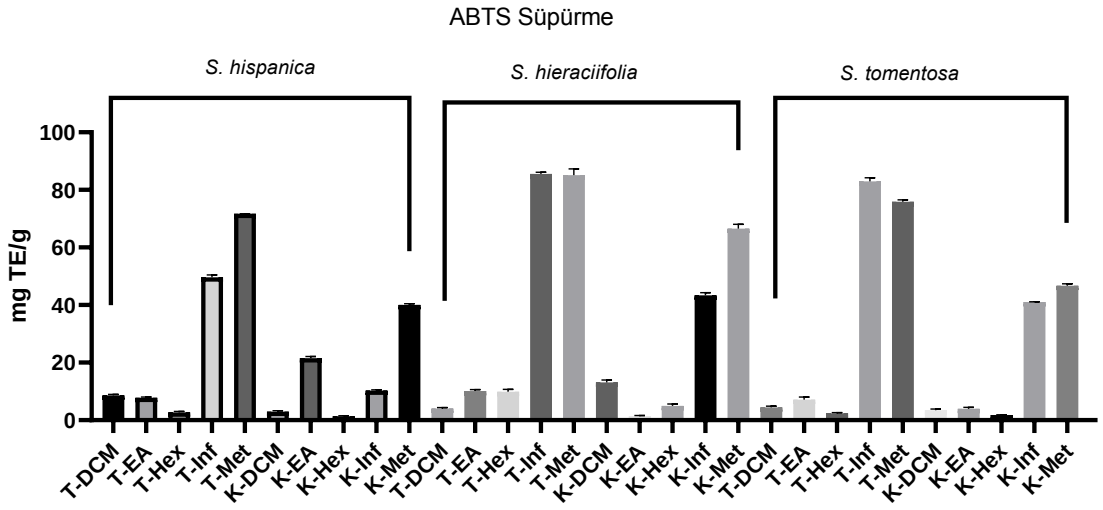
Şekil.4.13. *S.tomentosa* ekstraklarının DPPH radikali süpürme yeteneklerinin karşılaştırılması (TE: Troloks eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)



Şekil.4.14. *S.tomentosa* ekstraklarının ABTS radikali süpürme yeteneklerinin karşılaştırılması (TE: Troloks eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)



Şekil.4.15. Çalışmada kullanılan *Scorzonera*. özütlerinin DPPH radikali süpürme yeteneklerinin karşılaştırılması



Şekil.4.16. Çalışmada kullanılan *Scorzonera* özütlerinin ABTS radikali süpürme yeteneklerinin karşılaştırılması

Tez çalışması kapsamında kullanılan *Scorzonera* türlerinin ABTS, DPPH radikali süpürme kapasiteleri incelenmiş ve Şekil.4.15, Şekil.4.16' da verilmiştir. Sonuçlara göre, üç bitkininde, toprak üstü kısımlarından elde edilen metanol ve infüzyon özütlerinin ABTS, DPPH radikali üzerine güçlü etkinliğe sahip oldukları görülmüştür. En düşük etkinliklerin ise, hekzan ve diklorometan özüteri arasında değiştiği görülmüştür. Bu sonuçlar kapsamında, özütlerin toprak üstü kısmlarının toplam fenolik ve flavonoid içerikleri ile ABTS, DPPH radikallerini süpürme aktivitelerinin arasında bir korelasyon olduğu görülmüştür. Kök ekstrakları incelendiğinde en yüksek etkinliğin methanol ve infüzyon özütleri arasında değiştiği görülmüş ve en düşük etkinliğin hekzan, diklorometan ve etilasetat arasında farklılık gösterdiği gözlenmiş ve bu sonuçlara göre özütlerin radikal süpürme yeteneklerinin toplam fenolik ve flavonoid içerikleri ile benzerlik gösterdiği sonucu elde edilmiştir.

Elde edilen bu sonuçlar, *Scorzonera* taksonları üzerine yapılan diğer çalışmaların sonuçları ile doğrulanmıştır (Athmouni ve ark., 2015). Birçok çalışmada çalışmamızın sonuçlarını destekler nitelikte, serbest radikal süpürme etkinlikleri ile toplam fenolik/flavonoid içerikleriarasında pozitif bir korelasyon bulunmuş ve fenolik bileşiklerin doğrudan serbest radikal süpürme aktiviteleri rapor edilmiştir (sarı ve ark., 2017). Bu sonuçları, değerlendirirken spektrofotometrik testlerin sınırlarını unutmamak ve bazı durumlarda biyolojik aktiviteler ile fenolik içerik arasında herhangi bir korelasyonun bulunmayacağını unutmamak gerekir.

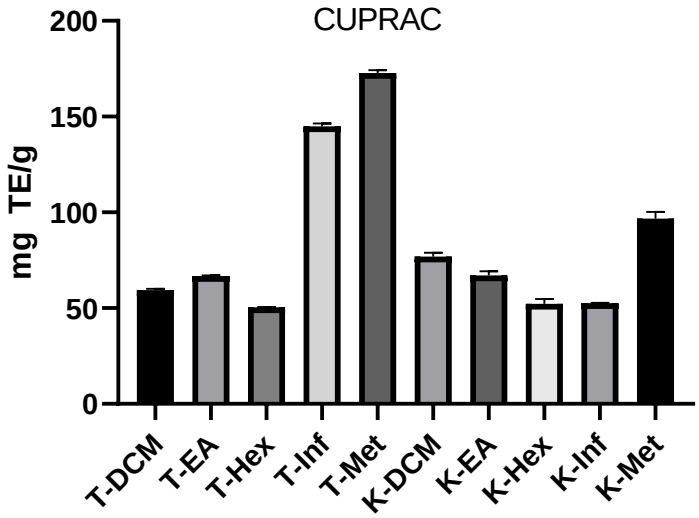
4.3. *Scorzonera* Özütlerinin FRAP, CUPRAC İndirgeme Gücü

Çalışmada kullanılan *S. hieraciifolia* ekstraklarının FRAP, CUPRAC indirgeme gücü sonuçları Tablo.4.7' de gösterilmektedir. Toprak üstü ekstraklarının CUPRAC indirgeme yetenekleri incelendiğinde, en yüksek etkinliğin 172.82±1.45 mg TE/g değeri ile metanol bunu takiben 144.92±1.44 mg TE/g değeri ile infüzyon ve sırasıyla (66.70±0.34 mg TE/g) etilasetat > (59.34±0.78 mg TE/g) diklorometan > (50.42±0.16 mg TE/g) hekzan olduğu ölçülmüştür. En düşük değerinin, 50.42±0.16 mg TE/g değeri ile hekzan özütünde olduğu gözlemlenmiştir. Yine toprak üstü kısımlarının demir indirgeme kapasiteleri incelendiğinde en yüksek aktivitenin 78.55±1.00 mg TE/g değeri ile infuzyon bunu takiben 76.10±0.91 mg TE/g değeri ile metanol olduğu ve en düşük etkinliğin 18.46±0.37 mg TE/g diklorometan özütü olduğu gözlemlenmiştir. Diğer özütlerin sahip oldukları etkinlikler.; 24.27±0.26 mg TE/g etilasetat > 19.36±0.61 mg TE/g hekzan şeklinde sıralanabilir. *S. hieraciifolia* kök ekstraklarının bakır indirgeme yetenekleri incelendiğinde en yüksek aktivitenin 96.72±3.49 mg TE/g değeri ile metanolde sonrasında 76.90±2.06 mg TE/g değeri ile diklorometan ve sırasıyla (67.05±2.18 mg TE/g) etilasetat > (52.53±0.19 mg TE/g) infüzyon > (52.27±2.48 mg TE/g) hekzan olarak ölçülmüştür. En düşük aktivitenin 52.27±2.48 mg TE/g değeri ile hekzanda olduğu gözlemlenmiştir. Kök özütlerinin, demir indirgeme kapasiteleri incelendiğinde en yüksek aktivitenin 47.76±1.70 mg TE/g değeriyle yine metanolde ve bunu takiben 32.84±1.30 mg TE/g değeriyle diklorometanda olduğu, en düşük değerinin ise 21.25±0.86 mg TE/g değeriyle hekzanda olduğu gözlemlenmiştir. Diğer ekstrakların etkinlikleri; 26.63±0.25 mg TE/g infüzyon > 25.60±0.20 mg TE/g etilasetat şeklindedir.

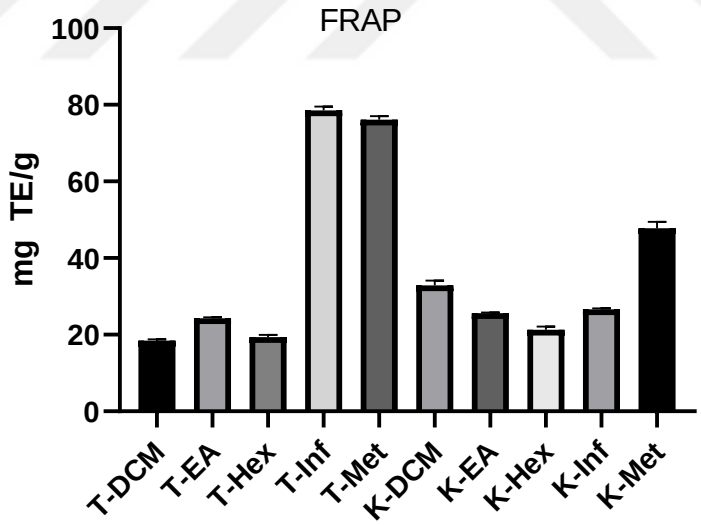
Tablo.4.7. *S. hieraciifolia* toprak üstü ve köklerinin CUPRAC, FRAP sonuçları

Kısım	Çözücüler	CUPRAC (mg TE/g özüt)	FRAP (mg TE/g özüt)
Toprak üstü	Diklorometan	59.34±0.78^{f}	18.46±0.37^{f}
	Etilasetat	66.70±0.34^{e}	24.27±0.26^{d}
	Hekzan	50.42±0.16^{g}	19.36±0.61^{ef}
	İnfüzyon	144.92±1.44^{b}	78.55±1.00^{a}
	Metanol	172.82±1.45^{a}	76.10±0.91^{a}
Kök	Diklorometan	76.90±2.06^{d}	32.84±1.30^{c}
	Etilasetat	67.05±2.18^{e}	25.60±0.20^{d}
	Hekzan	52.27±2.48^{g}	21.25±0.86^{e}
	İnfüzyon	52.53±0.19^{g}	26.63±0.25^{d}
	Metanol	96.72±3.49^{c}	47.76±1.70^{b}

* Ortalama±Standart Sapma (n=3). TE: Troloks eşdeğeri. Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı ifade eder ($p< 0.05$).



Şekil.4.17. *S. hieraciifolia* ekstraklarının CUPRAC aktivitelerinin karşılaştırılması (TE: Troloks eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)



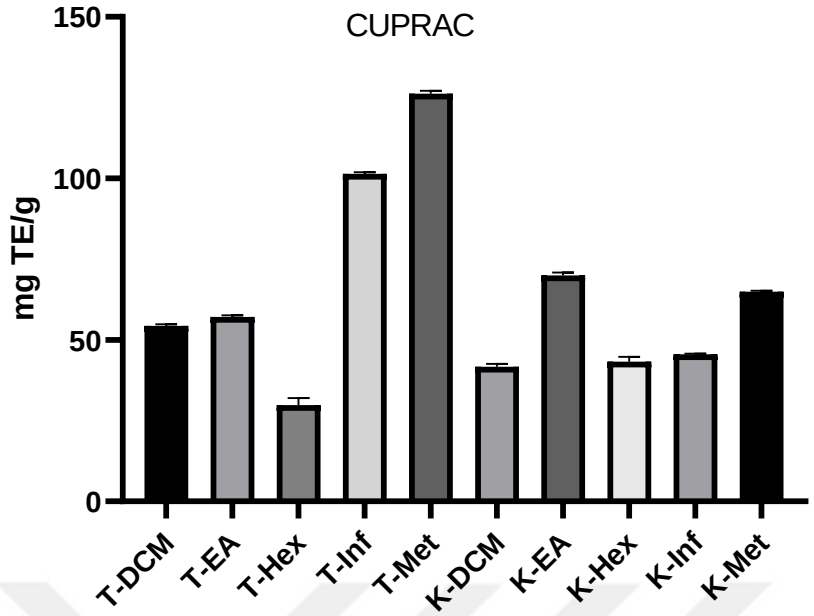
Şekil 4.18. *S. hieraciifolia* ekstraklarının FRAP aktivitelerinin karşılaştırılması (TE: Troloks eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)

Çalışmada kullanılan *S. hispanica* bitkisinden elde edilen özütlerin indirgeme güçlerinin belirlenmesi için yapılan FRAP, CUPRAC testlerinin sonuçları Tablo 4.8 ‘ de verilmiştir. Sonuçlara göre bitkinin toprak üstünden elde edilen özütlerin arasında CUPRAC etkinliği en yüksek olan ekstraktın, 126.18±0.94 mg TE/g değeriyle metanolde bunu takiben 101.40±0.47 mg TE/g değeriyle infüzyon özütünde ve en düşük etkinliğin ise, 29.79±2.24 mg TE/g değeriyle hekzan özütünde olduğu görülmüştür. Diğer özütlerin etkinlikleri ise; 57.15±0.40 mg TE/g etilassetat > 54.30±0.53 mg TE/g diklorometan şeklindedir. Ekstrakların FRAP aktivitesi incelendiğinde en yüksek etkinliğin yine 58.41±1.55 mg TE/g değeriyle metanolde sonrasında ise 53.81±0.25 mg TE/g değeri ile infüzyon özütünde ve en düşük etkinliğin ise 12.77±0.43 mg TE/g değeri ile hekzanda olduğu görülmüştür. Diğer ekstraklar kendi arsında; 20.95±0.25 mg TE/g etilasetat > 17.93±1.89 mg TE/g diklorometan olarak değerlendirilmiştir. Bitkinin köklerinden elde edilen özütlerin CUPRAC etkinliği incelendiğinde en yüksek aktivitenin 69.99±0.89 mg TE/g değeriyle etilasetat ardından 64.89±0.29 mg TE/g değeriyle metanol en düşük etkinliğin ise 41.71±0.81 mg TE/g değeriyle diklorometan olarak görülmektedir. Diğer ekstraklar incelendiğinde; 45.56±0.14 mg TE/g infüzyon > 43.23±1.50 mg TE/g hekzan olarak değerlendirilmiştir. Aynı şekilde kök ekstraklarının FRAP aktiviteleri incelendiğinde en etkili özütün, 35.51±1.00 mg TE/g değeriyle metanol sonrasında 28.67±0.75 mg TE/g değeriyle etilasetat ve en düşük etkinliğin 17.80±0.40 mg TE/g değeriyle hekzan özütü olduğu görülmüştür. Diğer özütlerin etkinlikleri ; 22.29±0.23 mg TE/g infüzyon > 17.83±0.61 mg TE/g diklorometan şeklindedir.

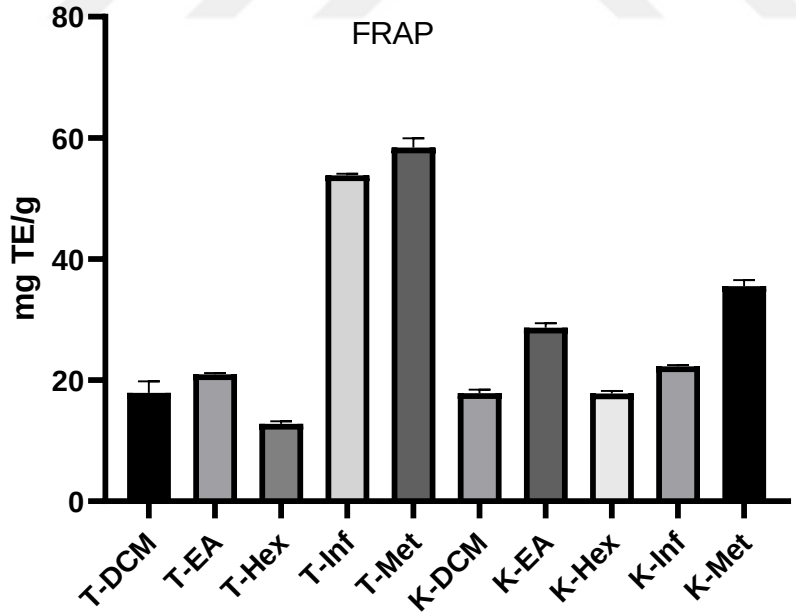
Tablo.4.8. *S. hispanica* toprak üstü ve köklerinin CUPRAC ve FRAP indirgeme gücü

Kısım	Çözücüler	CUPRAC (mg TE/g özüt)	FRAP (mg TE/g özüt)
Toprak üstü	Diklorometan	54.30±0.53^{e}	17.93±1.89^{f}
	Etilasetat	57.15±0.40^{e}	20.95±0.25^{e}
	Hekzan	29.79±2.24^{h}	12.77±0.43^{g}
	İnfüzyon	101.40±0.47^{b}	53.81±0.25^{b}
	Metanol	126.18±0.94^{a}	58.41±1.55^{a}
Kök	Diklorometan	41.71±0.81^{g}	17.83±0.61^{f}
	Etilasetat	69.99±0.89^{c}	28.67±0.75^{d}
	Hekzan	43.23±1.50^{fg}	17.80±0.40^{f}
	İnfüzyon	45.56±0.14^{f}	22.29±0.23^{e}
	Metanol	64.89±0.29^{d}	35.51±1.00^{c}

* Ortalama±Standart Sapma (n=3). TE: Troloks eşdeğeri. Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı ifade eder ($p< 0.05$).



Şekil.4.19. *S. hispanica* ekstraklarının CUPRAC aktivitelerinin karşılaştırılması (TE: Troloks eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)



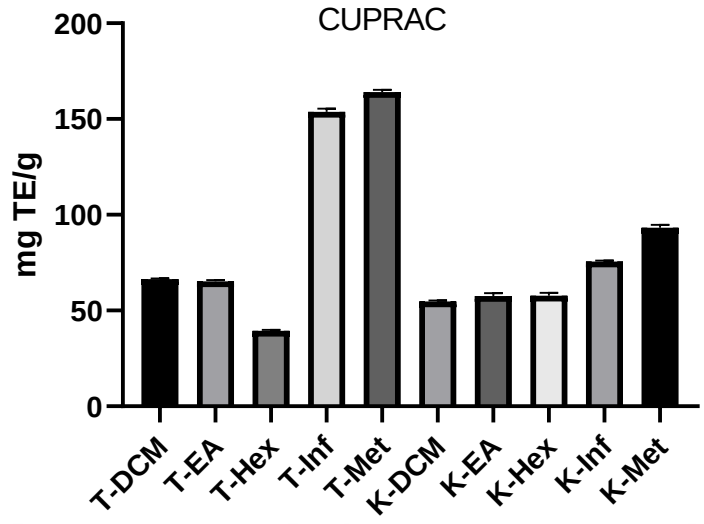
Şekil.4.20. *S. hispanica* ekstraklarının FRAP aktivitelerinin karşılaştırılması (TE: Troloks eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)

S. tomentosa toprak üstü ve kök kısımlarından elde edilen özütlerinin FRAP, CUPRAC indirgeme gücü testleri yapılmış ve sonuçlar Tablo 4.9.' de verilmiştir. Test sonucu elde edilen veriler incelendiğinde, tüm özütlerin belirli miktarda indirgeme gücüne sahip oldukları olduğu görülmüştür. Çalışmada kullanılan bitkinin toprak üstü kısımlarının CUPRAC testi sonucu elde edilen verilere göre en yüksek etkinlik gösteren özütün 164.06±1.26 mg TE/g – metanol olduğu ve sonrasında 153.82±1.66 mg TE/g değeriyle infüzyon özütünün takip ettiği görülmüştür. En düşük etkinliğin 39.40±0.55 mg TE/g hekzan özütünde olduğu görülmüştür. Diğer ekstraklar kendi arasında; 66.47±0.32 mg TE/g diklorometan > 65.18±0.72 mg TE/g etilasetat şeklinde sıralanmıştır. Toprak üstü kısımlarının FRAP testi sonucunda en etkili indirgeme gücüne sahip ekstraktın 79.78±0.27 mg TE/g - infüzyon ve ardından 60.53±1.64 mg TE/g – metanol özütü olduğu gözlenmiştir. En düşük etkili özütün ise, 15.54±0.44 mg TE/g – hekzan özütü olduğu görülmektedir. Diğer ekstraklar kendi arasında; 21.74±0.81 mg TE/g diklorometan > 19.28±0.60 mg TE/g etilasetat şeklindedir. Kök kısımlarından elde edilen özütlerin CUPRAC indirgeme güçleri incelendiğinde, en etkili ekstraktın 93.18±1.58 mg TE/g – metanol, 75.62±0.45 58 mg TE/g – infüzyon şeklinde olduğu ve en düşük etkiye sahip özüt olarak 54.78±0.41 mg TE/g – diklorometan olduğu gözlenmiştir. Diğer özütler ise; 57.67±1.61 mg TE/g hekzan > 57.54±1.51 mg TE/g etilasetat olarak belirlenmiştir. Kök ekstraklarının FRAP indirgeme güçleri incelendiğinde en etkili indirgeme gücünün, 41.36±0.10 mg TE/g – metanol özütünde olduğu görülmüş ve en düşük etkili özüt 22.54±0.56 mg TE/g – diklorometan olarak tespit edilmiştir.

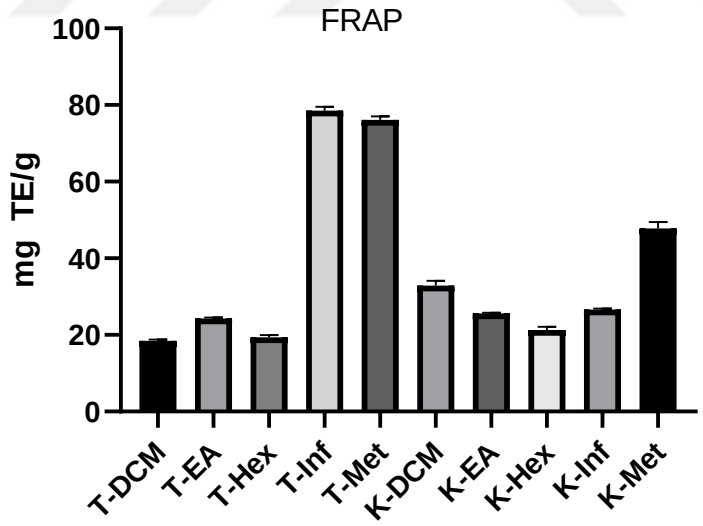
Tablo.4.9. *S. tomentosa* toprak üstü ve köklerinin CUPRAC ve FRAP Radikal Süpürme Aktivitesi

Kısım	Çözücüler	CUPRAC (mg TE/g özüt)	FRAP (mg TE/g özüt)
Toprak üstü	Diklorometan	66.47±0.32^{e}	21.74±0.81^{e}
	Etilasetat	65.18±0.72^{e}	19.28±0.60^{f}
	Hekzan	39.40±0.55^{g}	15.54±0.44^{g}
	İnfüzyon	153.82±1.66^{b}	79.78±0.27^{a}
	Metanol	164.06±1.26^{a}	60.53±1.64^{b}
Kök	Diklorometan	54.78±0.41^{f}	22.54±0.56^{e}
	Etilasetat	57.54±1.51^{f}	23.04±0.79^{e}
	Hekzan	57.67±1.61^{f}	23.15±0.51^{e}
	İnfüzyon	75.62±0.45^{d}	38.78±0.53^{d}
	Metanol	93.18±1.58^{c}	41.36±0.10^{c}

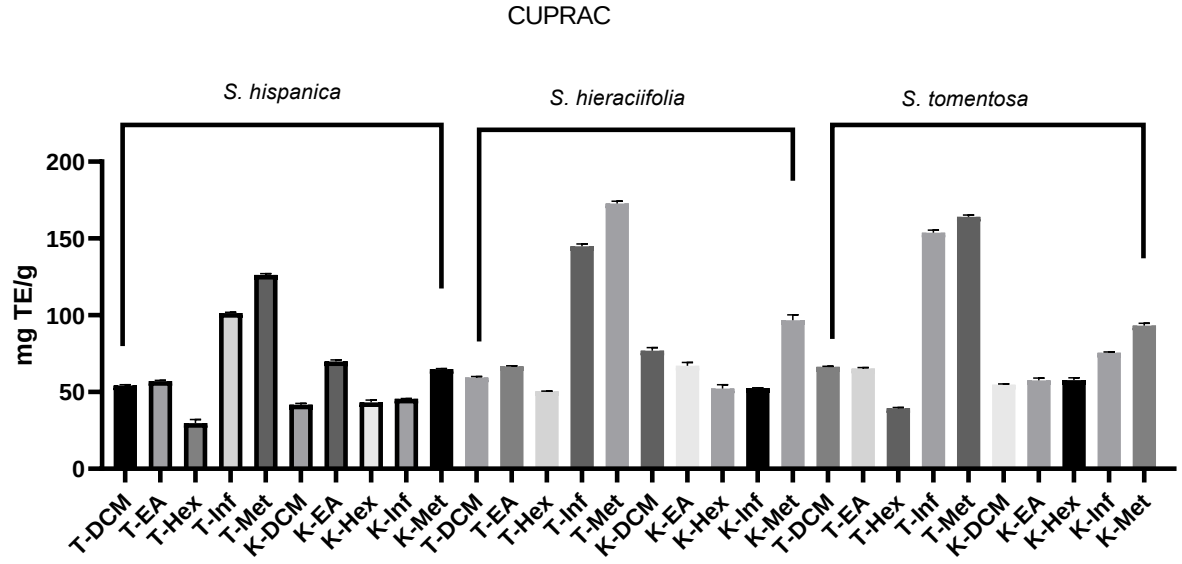
* Ortalama±Standart Sapma (n=3). TE: Troloks eşdeğeri. Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı ifade eder ($p< 0.05$).



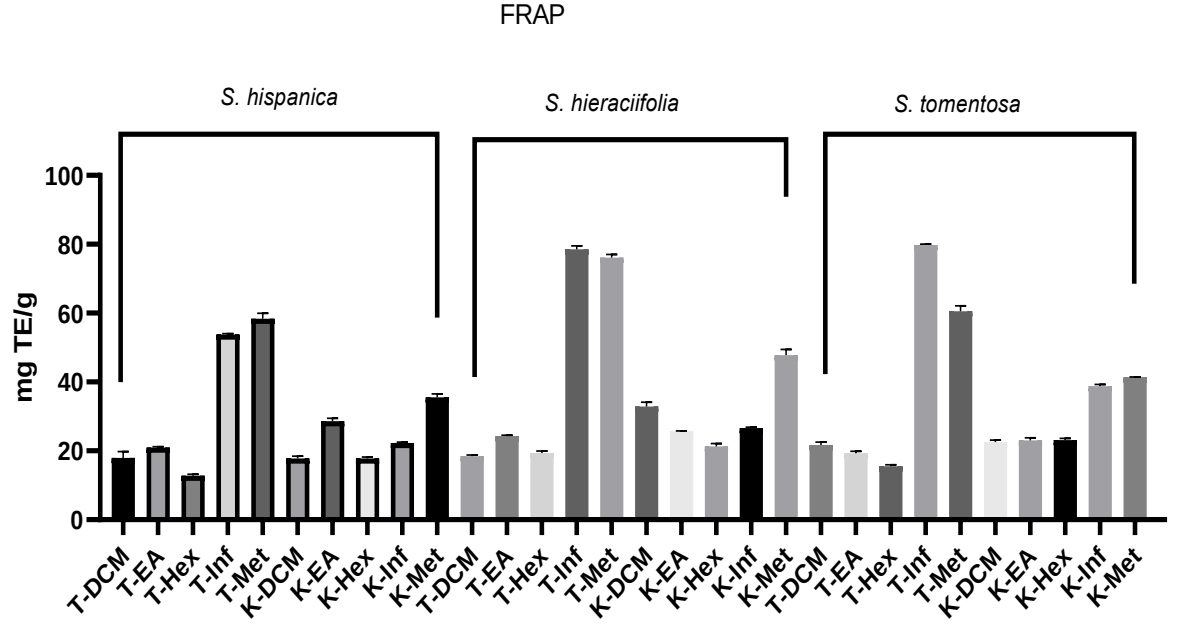
Şekil.4.21. *S. tomentosa* ekstraklarının CUPRAC aktivitelerinin karşılaştırılması **(**TE: Troloks eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)



Şekil.4.22. *S. tomentosa* ekstraklarının FRAP aktivitelerinin karşılaştırılması **(**TE: Troloks eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)



Şekil.4.23. Çalışmada kullanılan *Scorzonera* özütlerinin CUPRAC indirgeme güçlerinin karşılaştırılması



Şekil.4.24. Çalışmada kullanılan *Scorzonera* özütlerinin FRAP indirgeme güçlerinin karşılaştırılması

Çalışma kapsamında kullanılan *Scorzonera* türlerinin CUPRAC, FRAP indirgeme güçleri test edilmiş ve sonuçlar Şekil.4.24 ve Şekil.4.25' de karşılaştırılmıştır. Buradan sonuç olarak, özütlerdeki fenolik bileşiklerin, belirli seviyelerde elektron verme kapasitelerinin etkili olduğu görülmüştür. *Scorzonera* ekstraklarının topraküstü kısımları arasında en yüksek etkinliğin, metanol ve infüzyon özütleri olduğu en düşük etkinliğin ise, genelde hekzan özütünde olduğu görülmüştür. Bitkilerin kök ekstrakları değerlendirildiğinde yine en yüksek etkinliğe sahip özütlerin genellikle metanol ve infüzyon özütleri arasında değişkenlik gösterdiği ve en düşük etkinliğe sahip ekstrakların ise toprak üstüne eş değer şekilde hekzan özütleri olduğu görülmüştür. Çalışılan özütlerdeki, elde edilen sonuçlar bağlamında özütlerdeki fenolik bileşiklerin indirgeme potansiyelleri üzerine doğrudan katkı sağladıkları sonucuna ulaşılabilir.

Bu bağlamda literatür taramaları sonucunda, birçok çalışmada fenolik içerik ile özütlerin indirgeme güçleri arasında pozitif bir korelasyonun varlığı rapor edilmiştir (Apak ve ark., 2007). Fenolik bileşiklerin kimyasal yapılarının da elektron verme yetenekleri üzerine doğrudan etkili oldukları yine çeşitli çalışmalarla rapor edilmiştir (Al-Rimawi ve ark., 2016). Özellikle aromatik halka üzerinde hidroksil grubu sayısı ve pozisyonu fenolik bileşiklerin indirgeme gücü yeteneklerini doğrudan etkilememektedir.

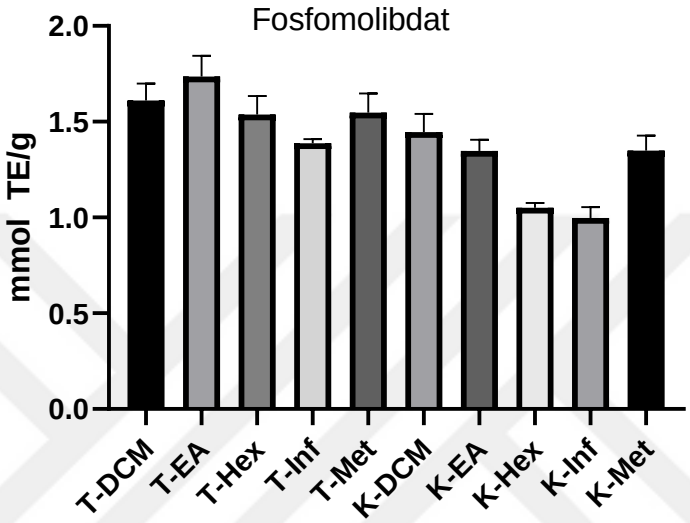
4. 4. *Scorzonera* Özütlerinin Toplam Antioksidan Kapasite Testleri

S. hieraciifolia özütlerinin fosfomolibdat testindeki aktivite sonuçları, Tablo 4.10'de verilmiştir. Bitkinin toprak üstü kısımları için en yüksek etkinlik 1.74±0.11 mmol TE/g etilasetat özütünde ve bunu takiben 1.61±0.09 mmol TE/g diklorometan özütünden elde edilmiştir ve diğer özütler sırasıyla; 1.55±0.10 mmol TE/g methanol > 1.54±0.10 mmol TE/g hekzan > 22.91±0.85 mmol TE/g etilasetat >1.39±0.02 mmol TE/g infüzyon, şeklinde elde edilmiş ve en düşük değer infüzyon özütünde görülmüştür. Aynı işlemler kök için de yapılmış ve toplam antioksidan etkinlik için en yüksek aktivite; 1.45±0.09 mmol TE/g değeri ile diklorometan ardından 1.35±0.08 mmol TE/g ile metanol ve en düşük etkinlik ise 1.00±0.06 mmol TE/g infüzyon olarak gözlenmiştir. Diğer ekstraklar kendi arasında; 1.34±0.06 mmol TE/g etilasetat > 1.05±0.03 mmol TE/g hekzan olarak sıralanabilir.

Tablo.4.10. *S. hieraciifolia* toprak üstü ve köklerinin Fosfomolibdat testi sonuçları

Kısım	Çözücüler	Fosfomolibdat (mmol TE/g özüt)
Toprak üstü	Diklorometan	1.61 ± 0.09^{ab}
	Etilasetat	1.74 ± 0.11^{a}
	Hekzan	1.54 ± 0.10^{abc}
	İnfüzyon	1.39 ± 0.02^{bc}
	Metanol	1.55 ± 0.10^{abc}
Kök	Diklorometan	1.45 ± 0.09^{bc}
	Etilasetat	1.34 ± 0.06^{c}
	Hekzan	1.05 ± 0.03^{d}
	İnfüzyon	1.00 ± 0.06^{d}
	Metanol	1.35 ± 0.08^{c}

*Ortalama±Standart Sapma (n=3). TE: Troloks eşdeğeri.. Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı ifade eder ($p< 0.05$).



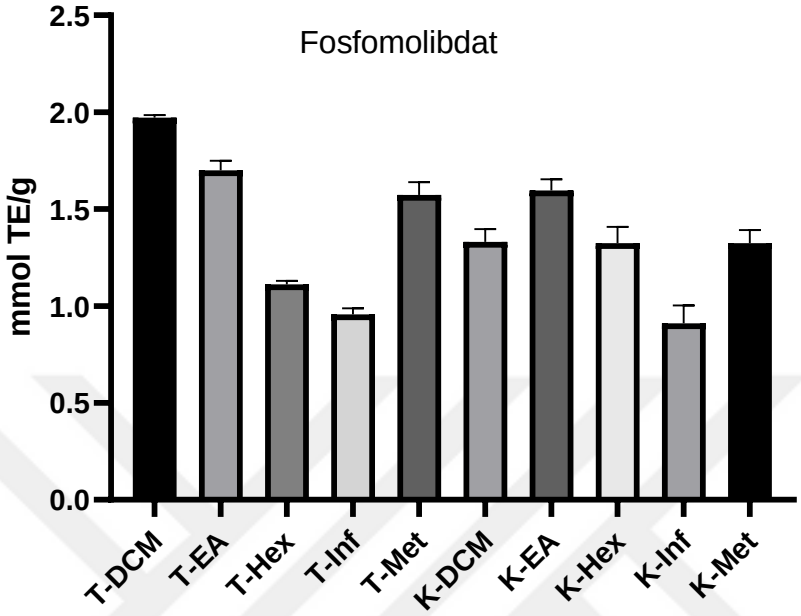
Şekil.4.25. *S. hieraciifolia* ekstraklarının toplam antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması **(**TE: Troloks eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)

S. hispanica bitkisinin toprak üstü ve kök kısımlarından elde edilen özütlerin toplam antioksidan kapasite testi (fosfomolibdat testi) sonuçları Tablo 4.11' de verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde toprak üstü kısımlarından en yüksek etkinliğin sırasıyla; 1.97±0.01 mmol TE/g diklorometan > 1.70±0.05 mmol TE/g etilasetat > 1.57±0.07 mmol TE/g metanol > 1.11±0.02 mmol TE/g hekzan > 0.96±0.03 mmol TE/g infüzyon olarak verilmiştir. Bitkinin kök ekstraklarının toplam antioksidan aktivitesi incelendiğinde sırasıyla, 1.60±0.06 mmol TE/g etilasetat > 1.33±0.07 mmol TE/g diklorometan > 1.32±0.09 mmol TE/g hekzan > 1.32±0.07 mmol TE/g metanol > 0.91±0.09 mmol TE/g infüzyon olarak belirlenmiştir.

Tablo.4.11. *S. hispanica* toprak üstü ve köklerinin Toplam Antioksidan Aktivitesi

Kısım	**Çözücüler**	**Fosfomolibdat (mmol TE/g özüt)**
Toprak üstü	Diklorometan	1.97±0.01[a]
	Etilasetat	1.70±0.05[b]
	Hekzan	1.11±0.02[d]
	İnfüzyon	0.96±0.03[de]
	Metanol	1.57±0.07[b]
Kök	Diklorometan	1.33±0.07[c]
	Etilasetat	1.60±0.06[b]
	Hekzan	1.32±0.09[c]
	İnfüzyon	0.91±0.09[e]
	Metanol	1.32±0.07[c]

[*] Ortalama±Standart Sapma (n=3). TE: Troloks eşdeğeri. Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı ifade eder ($p < 0.05$).



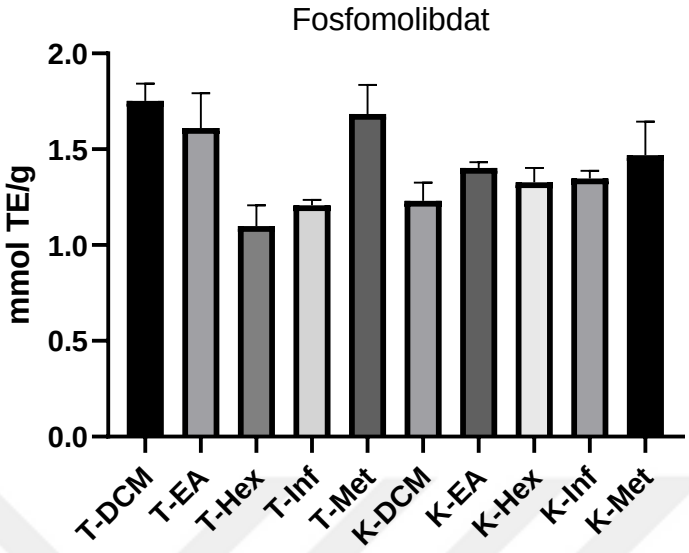
Şekil.4.26. *S. hispanica* ekstraklarının toplam antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması **(**TE: Troloks eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)

Çalışmada *S. tomentosa* bitkisinin toprak üstü ve kök kısımlarından elde edilen özütlerin toplam antioksidan testi (fosfomolibdat testi) aktivite sonuçları Tablo 4.12' de verilmiştir. Testin sonuçları incelendiğinde en yüksek etkinlik 1.75±0.09 mmol TE/g – diklorometan olarak belirlenmiştir. En düşük etkinliğin ise 1.10±0.11 mmol TE/g – hekzanda olduğu görülmüştür. Diğer özütler incelendiğinde; 1.68±0.15 mmol TE/g methanol > 1.61±0.18 mmol TE/g etilasetat > 1.21±0.03 mmol TE/g infüzyon şeklinde tespit edilmiştir. Bitkinin kök ekstraklarından elde edilen veriler incelendiğinde en yüksek etikinliğin 1.47±0.17 mmol TE/g – metanol ve en düşük verimin 1.23±0.09 mmol TE/g – diklorometan olduğu görülmüştür. Diğer ekstrakların etkinlikleri; 1.40±0.03 mmol TE/g etilasetat > 1.35±0.04 mmol TE/g infüzyon > 1.33±0.08 mmol TE/g hekzan olarak belirlenmiştir.

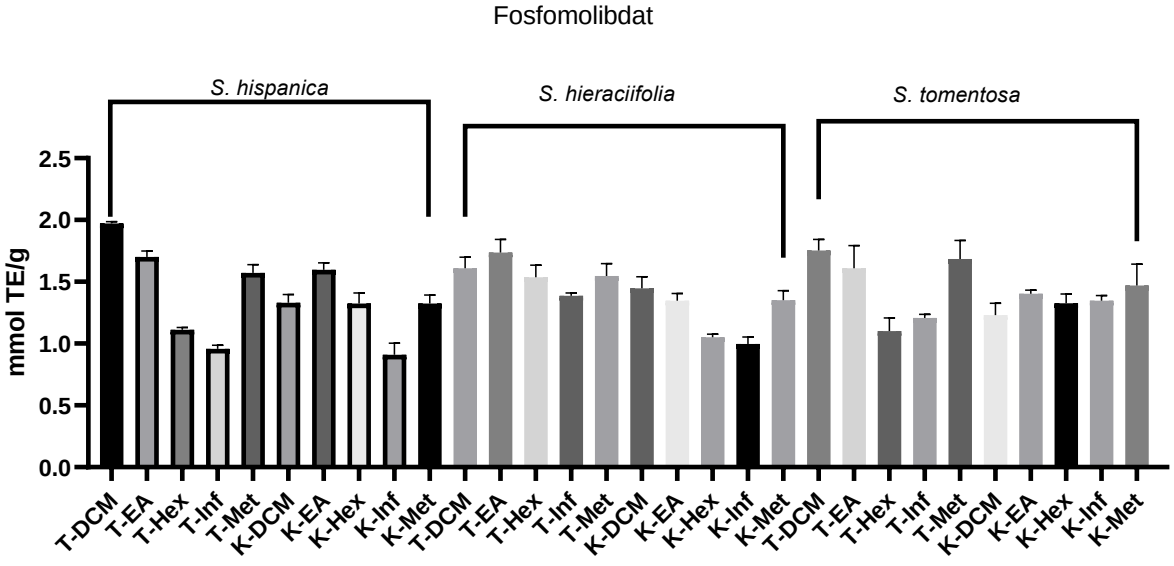
Tablo.4.12. *S. tomentosa* toprak üstü ve köklerinin toplam antioksidan kapasite aktivitesinin belirlenmesi

Kısım	**Çözücüler**	**Fosfomolibdat (mmol TE/g özüt)**
Toprak üstü	Diklorometan	1.75 ± 0.09^{a}
	Etilasetat	1.61 ± 0.18^{abc}
	Hekzan	1.10 ± 0.11^{e}
	İnfüzyon	1.21 ± 0.03^{de}
	Metanol	1.68 ± 0.15^{ab}
Kök	Diklorometan	1.23 ± 0.09^{de}
	Etilasetat	1.40 ± 0.03^{bcde}
	Hekzan	1.33 ± 0.08^{cde}
	İnfüzyon	1.35 ± 0.04^{cde}
	Metanol	1.47 ± 0.17^{abcd}

*Ortalama±Standart Sapma (n=3). TE: Troloks eşdeğeri. Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı ifade eder ($p< 0.05$).



Şekil 4.27. *S. tomentosa* ekstraklarının toplam antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması **(**TE: Troloks eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)



Şekil 4.28. *Scorzonera* özütlerinin toplam antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması

Çalışma kapsamında kullanılan *Scorzonera* türlerinin toplam antioksidan kapasiteleri test edilmiş olup birbirleri arasında karşılaştırılmaları Şekil.4.28' de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, bitkilerin toprak üstü ve kök kısımlarından elde edilen ekstraklar arasında en yüksek etkinliğin etilasetat, diklorometan ve metanol özütleri arasında değişkenlik gösterdiği görülmüştür. En düşük etkinliğin ise, hem toprak üstünde hem köklerinde genellikle infüzyon özütü olmasıyla beraber hekzan ve diklorometanda da en düşük etkinlik gözlenmiştir.

Fosfomolibdat testi bir toplam antioksidan kapasite testidir. Test sistemi, reaktiflerin ucuz olması ve herhangi bir spesifik cihaza gereksinim duymaması sebebi ile son yıllarda oldukça popülerdir (Antoniolli ve ark., 2015). Bununla birlikte, test sisteminde sadece fenolik bileşikler değil diğer antioksidan moleküllerin örneğin; askorbik asit, tokoferoller, etkinlik sergilemesi, testin sonuçlarının toplam fenolik içerik ile herhangi bir korelasyona sahip olmamasına yol açar(Yogamaya ve ark., 2014). Bu yaklaşım bizim çalışmamızda da gözlenmiştir. Literatür taramasında da benzer şekilde bu test için farklı sonuçlar elde edilmiştir.

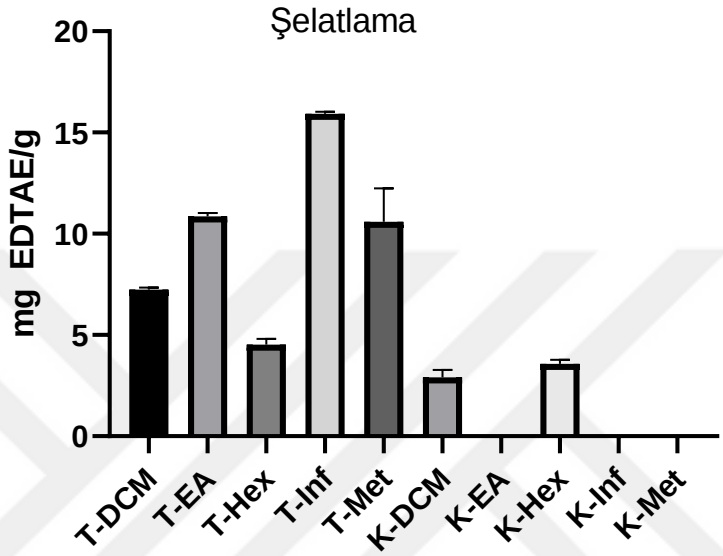
4.5. *Scorzonera* Özütlerinin Metal Şelatlama Aktivitesi

Çalışmada kullanılan *S. hieraciifolia* toprak üstü ekstraklarının metal şelatlama aktiviteleri incelenmiş ve sonuçlar Tablo.4.13' de verilmiştir. Sonuçlara göre, en yüksek etkinliğin 15.93±0.10 mg EDTAE/g değeri ile infüzyon özütünde, bunu takiben 10.85±0.17 mg EDTAE/g etilasetat özütünde ve diğer eskstraklar sırasıyla (10.58±1.66 mg EDTAE/g) metanol > (7.25±0.09 mg EDTAE/g) diklorometan > (4.53±0.29 mg EDTAE/g) hekzan olarak ölçülmüştür. En düşük etkinliğin, 4.53±0.29 mg EDTAE/g değeri ile hekzan özütünde olduğu gözlemlenmiştir. Aynı şekilde *S. hieraciifolia* kök ekstraklarının metal şelatlama etkinlikleri incelendiğinde en yüksek aktivitenin 3.58±0.19 mg EDTAE/g hekzan özütü, olarak ölçülmüştür.

Tablo.4.13. *S. hieraciifolia* toprak üstü ve köklerinin metal şelatlama aktivite sonuçları

Kısım	Çözücüler	Metal şelatlama (mg EDTAE/g özüt)
Toprak üstü	Diklorometan	7.25 ± 0.09^{c}
	Etilasetat	10.85 ± 0.17^{b}
	Hekzan	4.53 ± 0.29^{d}
	İnfüzyon	15.93 ± 0.10^{a}
	Metanol	10.58 ± 1.66^{b}
Kök	Diklorometan	2.91 ± 0.36^{e}
	Etilasetat	-
	Hekzan	3.58 ± 0.19^{de}
	İnfüzyon	-
	Metanol	-

* Ortalama±Standart Sapma (n=3). EDTAE: EDTA eşdeğeri. Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı ifade eder ($p< 0.05$). - etkinlik gözlenmedi



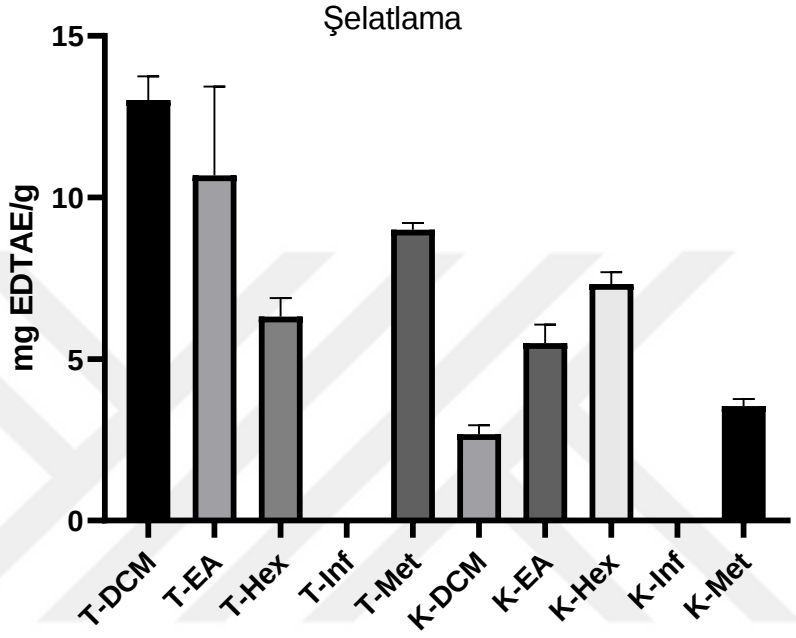
Şekil.4.29. *S. hieraciifolia* ekstraklarının metal şelatlama yeteneklerinin karşılaştırılması **(**EDTA: EDTA eş değeri T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)

S. hispanica ekstraklarının metal şelatlama aktiviteleri Tablo 4.14' de verilmiştir. Sonuçlara göre bitkinin toprak üstünden elde edilen ekstrakların şelatlama aktivitelerinde en yüksek etkinliğe sahip olan özütün 13.02±0.73 mg EDTAE/g değeriyle diklorometan takiben 10.69±2.75 mg EDTAE/g değeriyle etilasetat özütü olduğu ve infüzyon özütünün şelatlama etkinliği olmadığı görülmüştür. Diğer ekstraklar kendi arasında; 9.01±0.20 mg EDTAE/g metanol > 6.31±0.58 mg EDTAE/g hekzan olarak sıralanmıştır. Bitkinin kök ekstraktından elde edilen sonuçlara göre en yüksek etkinliğin 7.32±0.36 mg EDTAE/g değeriyle hekzan özütünde sonrasında 5.50±0.57 mg EDTAE/g değeriyle etilasetat özütünde olduğu ve infüzyon özütünde şelatlama etkinliğinin olmadığı tespit edilmiştir.

Tablo.4.14. *S. hispanica* toprak üstü ve köklerinin metal şelatlama aktivitesi

Kısım	Çözücüler	Metal şelatlama (mg EDTAE/g özüt)
Toprak üstü	Diklorometan	13.02 ± 0.73^{a}
	Etilasetat	10.69 ± 2.75^{ab}
	Hekzan	6.31 ± 0.58^{cd}
	İnfüzyon	-
	Metanol	9.01 ± 0.20^{bc}
Kök	Diklorometan	2.68 ± 0.27^{fg}
	Etilasetat	5.50 ± 0.57^{de}
	Hekzan	7.32 ± 0.36^{cd}
	İnfüzyon	-
	Metanol	3.55 ± 0.22^{ef}

*Ortalama±Standart Sapma (n=3). EDTAE: EDTA eşdeğeri. Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı ifade eder ($p< 0.05$). - etkinlik gözlenmedi



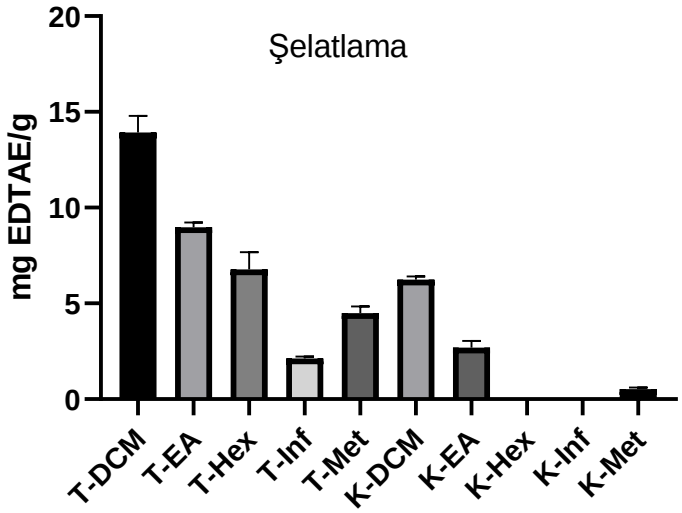
Şekil.4.30. *S. hispanica* ekstraklarının metal şelatlama yeteneklerinin karşılaştırılması **(**EDTA: EDTA eş değeri T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)

*S. tomentosa'*dan elde edilen özütlerin, metal şelatlama testi sonuçları, Tablo.4.15'de verilmiştir. Test sonuçları değerlendirildiğinde, toprak üstü özütlerinden şelatlama yeteneği en etkili olan 13.92±0.86 mg EDTAE/g – diklorometan olduğu ve en düşük etkiye sahip özütün, 2.13±0.10 mg EDTAE/g – infüzyon olduğu gözlenmiştir. Diğer ekstraklar kendi arasında; 8.97±0.26 mg EDTAE/g etilasetat > 6.77±0.90 mg EDTAE/g hekzan > 4.49±0.35 mg EDTAE/g metanol Kök kısımlarına ait sonuçlar incelendiğinde şelatlama en etkili yeteneğe sahip olan özütün 6.24±0.17 mg EDTAE/g – diklorometan olduğu görülmüştür.

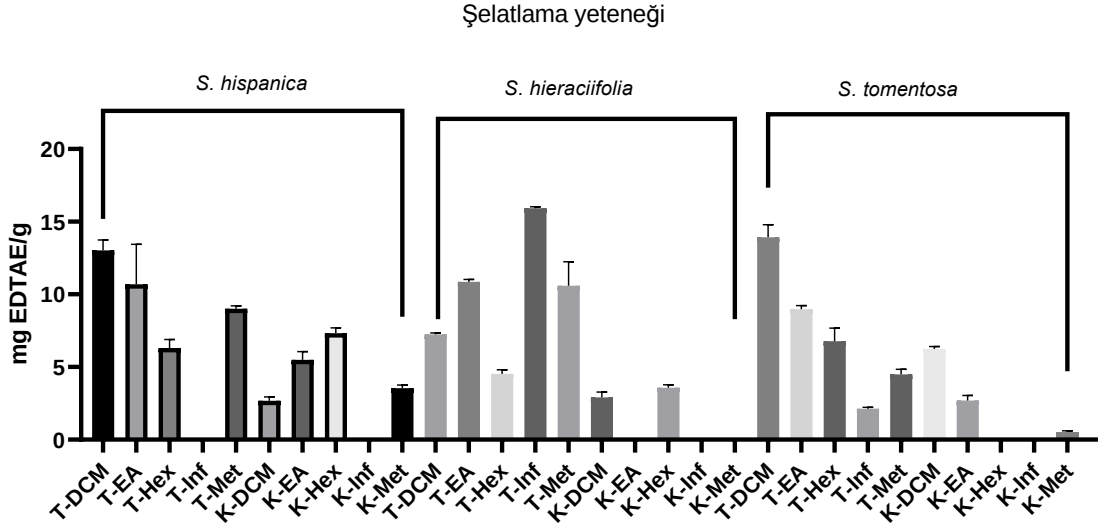
Tablo.4.15. *S. tomentosa* toprak üstü ve köklerinin metal şelatlama aktivitesinin belirlenmesi

Kısım	**Çözücüler**	**Metal şelatlama (mg EDTAE/g özüt)**
Toprak üstü	Diklorometan	13.92±0.86[a]
	Etilasetat	8.97±0.26[b]
	Hekzan	6.77±0.90[c]
	İnfüzyon	2.13±0.10[e]
	Metanol	4.49±0.35[d]
Kök	Diklorometan	6.24±0.17[c]
	Etilasetat	2.69±0.35[e]
	Hekzan	-
	İnfüzyon	-
	Metanol	0.53±0.07[f]

[*] Ortalama±Standart Sapma (n=3). EDTAE: EDTA eşdeğeri. Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı ifade eder ($p < 0.05$). - etkinlik gözlenmedi



Şekil.4.31. *S. tomentosa* ekstraklarının metal şelatlama yeteneklerinin karşılaştırılması **(**EDTA: EDTA eş değeri T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)



Şekil.4.32. *Scorzonera* özütlerinin metal şelatlama yeteneklerinin karşılaştırılması

Tez kapsamında çalışılan *Scorzonera* türlerinin metal şelatlama kapasiteleri test edilmiş ve sonuçların karşılaştırılması Şekil.4.32'de verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, toprak üstü özütleri arasında en yüksek şelatlama yeteneğinin, etilasetat ve diklorometan özütleri arasında olduğu görülmüştür. Köklerden elde edilen özütler karşılaştırıldığında en etkili özütün genellikle diklorometan olduğu ve infüzyon özütlerinde etkinliğin olmadığı gözlenmiştir.

Metal şelatlama yeteneği, fenolik bileşiklerin antioksidan özellikleri arasında minör bir yol olarak kabul edilir. Fenolik bileşiklerin yapısal özellikleri bu durumun ortaya çıkmasının temel sebebidir. Bu nedenle bitkisel özütlerin toplam fenolik içerikleri ve metal şelatlama yetenekleri arasında pozitif veya negetif korelasyonlar elde edilebilir (habiba ve ark., 2020). Literatür taraması yapıldığında bu durum gözlenebilir. Ayrıca bitkisel ekstrakların kompleks kimyasal yapısı ve fenolik olmayan şelatlayıcı ajanları bünyelerinde bulundurmaları korelasyonun pozitif veya negatif olmasının temel sebebidir (Karamian ve Asadbegy, 2016). Benzer şekilde çalışmamızda, etilasetat ve diklorometan özütleri diğer testlerden farklı olarak, güçlü şelatlayıcı özellikler sergilemişlerdir.

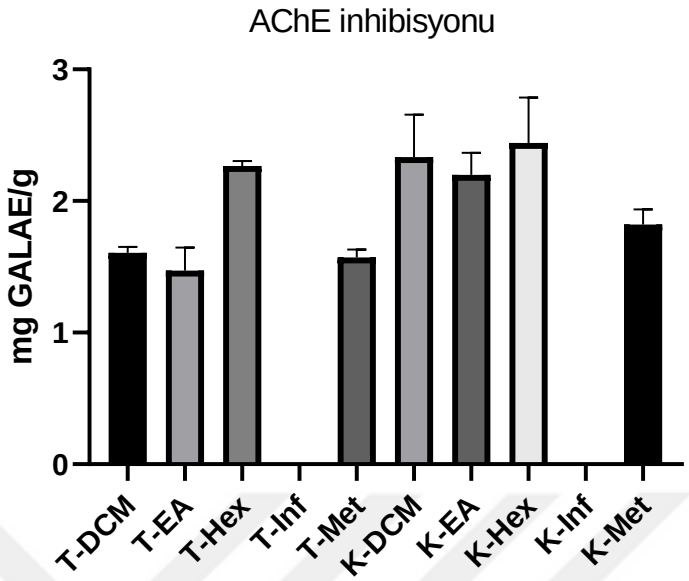
4.6. *Scorzonera* Özütlerinin AChE, BChE İnhibisyonu

Tez çalışmasında kullanılan *S.hieraciifolia* bitkisinin farklı ekstraklarının, AChE ve BChE enzimlerine karşı AH tedavisinde kullanılan kolinesteraz inhibisyonuna ilişkin, testleri yapıldı. Sonuçlar, Tablo 4.16' da verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, özütlerin AChE enzimine karşı inibisyon kapasiteleri incelendiğinde, bitkinin toprak üstü ekstraklarından en güçlü aktiviteye sahip özütün 2.27±0.04 mg GALAE/g değeriyle hekzan, bunu takiben 1.61±0.05 mg GALAE/g değeriyle diklorometan olduğu görülmektedir. Diğer özütlerin etkinlikleri incelendiğinde; 1.57±0.06 mg GALAE/g metanol > 1.47±0.18 mg GALAE/g etilasetat olarak belirlenmiştir. Toplam 5 farklı çözücü kullanılarak elde edilen özütlerden, infuzyon haricinde hepsinin inhibisyon yeteneğine sahip olduğu görülmektedir. Toprak üstünden elde edilen özütlerin, BChE enzimine karşı inhibisyon sonuçları incelendiğinde, en yüksek inhibisyon yeteneğine sahip olan özütün 5.75±0.48 mg GALAE/g değeriyle hekzan olduğu görülmektedir. Diğer özütler; 1.42±0.15 mg GALAE/g etilasetat > 0.31±0.01 mg GALAE/g diklorometan olarak gözlenmiştir. BChE enzimi için de 5 farklı özütün 3'ünün belirli seviyede inhibisyon yeteneğine sahip olduğu gözlemlenmiştir. Bitkinin kök ekstraklarının AChE enzimini inhibe etme kapasiteleri incelendiğinde en yüksek aktivitenin sırasıyla, 2.44±0.35 mg GALAE/g hekzan > 2.33±0.32 mg GALAE/g diklorometan > 2.20±0.16 mg GALAE/g etilasetat > 1.82±0.12 mg GALAE/g metanol olduğu gözlenmiştir ve infüzyon özütünde etkinlik olmadığı görülmüştür. Kök ekstraklarının BChE enzimini inhibe etme kapasiteleri incelendiğinde en yüksek aktivitenin sırasıyla; 3.17±0.22 mg GALAE/g hekzan > 2.59±0.11 mg GALAE/g diklorometan > 2.20±0.16 mg GALAE/g etilasetat >1.82±0.12 mg GALAE/g metanol şeklinde sıralanmıştır. Bu bağlamda yapılan analiz sonucuna göre kolinesteraz inhibisyon aktivitesi ile özütlerin fenolik içerikleri arasında doğru orantılı bir ilişki olmadığı gözlenmiştir.

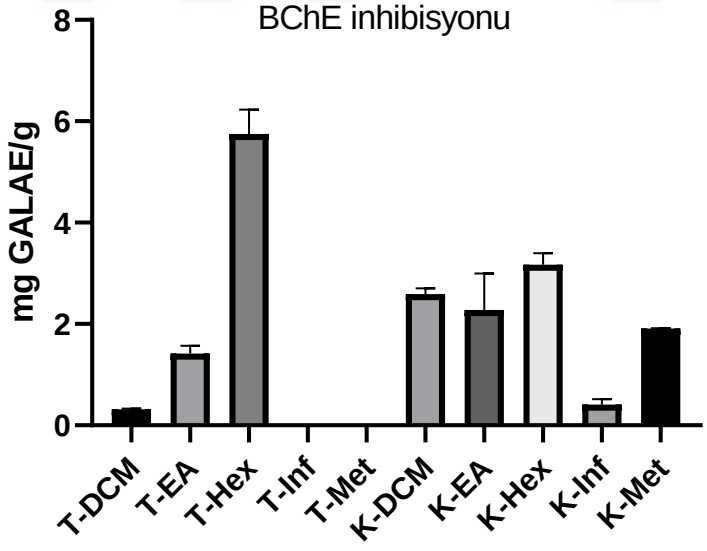
Tablo.4.16. *S. hieraciifolia* ekstraklarının AChE, BChE enzimlerine karşı inhibisiyon kapasite sonuçları

Kısım	Çözücüler	AChE inhibisyonu (mg GALAE/g)	BChE inhibisyonu (mg GALAE/g)
Toprak üstü	Diklorometan	1.61±0.05^{c}	0.31±0.01^{e}
	Etilasetat	1.47±0.18^{c}	1.42±0.15^{d}
	Hekzan	2.27±0.04^{ab}	5.75±0.48^{a}
	İnfüzyon	-	-
	Metanol	1.57±0.06^{c}	-
Kök	Diklorometan	2.33±0.32^{a}	2.59±0.11^{bc}
	Etilasetat	2.20±0.16^{ab}	2.28±0.72^{c}
	Hekzan	2.44±0.35^{a}	3.17±0.22^{b}
	İnfüzyon	-	0.41±0.10^{e}
	Metanol	1.82±0.12^{bc}	1.91±0.01^{cd}

*Ortalama±Standart Sapma (n=3). GALAE: Galatamine eşdeğeri; - inhibisyon gözlenmedi. Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı ifade eder ($p< 0.05$).



Şekil.4.33. *S. hieraciifolia* ekstraklarının AChE enzimine karşı inhibisyon yetenekleri karşılaştırılması **(** GALAE: Galantamin eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)



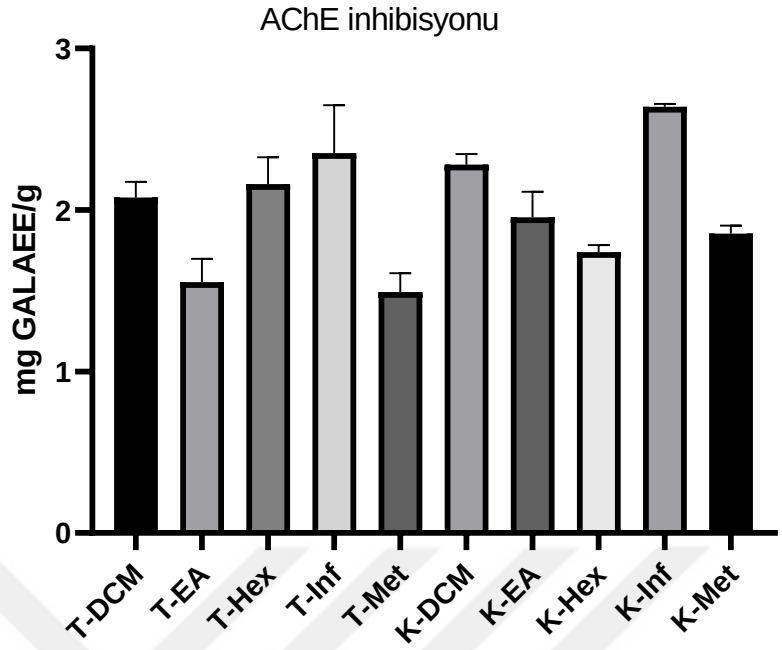
Şekil.4.34. *S. hieraciifolia* ekstraklarının BChE enzimine karşı inhibisyon yeteneklerinin karşılaştırılması **(** GALAE: Galantamin eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)

Çalışmada kullanılan *S. hispanica* özütlerinin kolinesteraz inhibisyon kapasiteleri test edilmiş ve sonuşları Tablo.4.17'de verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, çalışılan özütlerin toprak üstü ve köklerinin hepsi AChE enzimine karşı inhibisyon yeteneğine sahip olduğu, BChE enzimine karışı toprak üstünde infüzyon ve metanol, köklerinin özütlerinde inhibisyon yeteneği gözlenmemiştir. Elde edilen sonuçlara göre bitkinin toprak üstü kısımlarında AChE enzimlerine karşı en etkili özütün 2.35±0.30 mg GALAE/g değeriyle ınfüzyon ardından 2.16±0.17 mg GALAE/g değeriyle hekzan ve en düşün etkinliğin, 2.08±0.10 mg GALAE/g değeriyle diklorometan özütünde olduğu görülmüştür. Diğer ekstrakların etkinlikleri değerlendirildiğinde; 1.55±0.15 etilasetat > 1.49±0.12 metanol şeklinde olduğu görülmüştür. Ekstrakların BChE enzimine karşı etkinlikleri incelendiğinde, en yüksek aktivitenin 4.63±0.39 mg GALAE/g değeriyle diklorometan özütünde ve 4.40±0.72 mg GALAE/g değeriyle etilasetat özütünün takip ettiği görülmüştür. İnfüzyon ve metanol özütlerinde bir etkinlik gözlenmemiştir. *S. hispanica* bitkisinin kök ekstraklarının AChE enzimine karşı inhibisyon etkinliğinde sırasıyla; 2.64±0.02 mg GALAE/g infüzyon > 2.28±0.06 mg GALAE/g diklorometan > 1.95±0.16 mg GALAE/g etilasetat > 1.85±0.05 metanol > 1.74±0.04 hekzan olarak belirlenmiştir. Ekstrakların BChE enzimine karşı inhibisyon yetenekleri sırasıyla; 5.36±0.45 mg GALAE/g diklorometan > 4.21±0.20 mg GALAE/g hekzan > 3.37±0.59 mg GALAE/g etilasetat > 1.91±0.36 mg GALAE/g metanol olarak değerlendirilmiştir. Köklerden infüzyon özütünde etkinlik gözlenmemiştir.

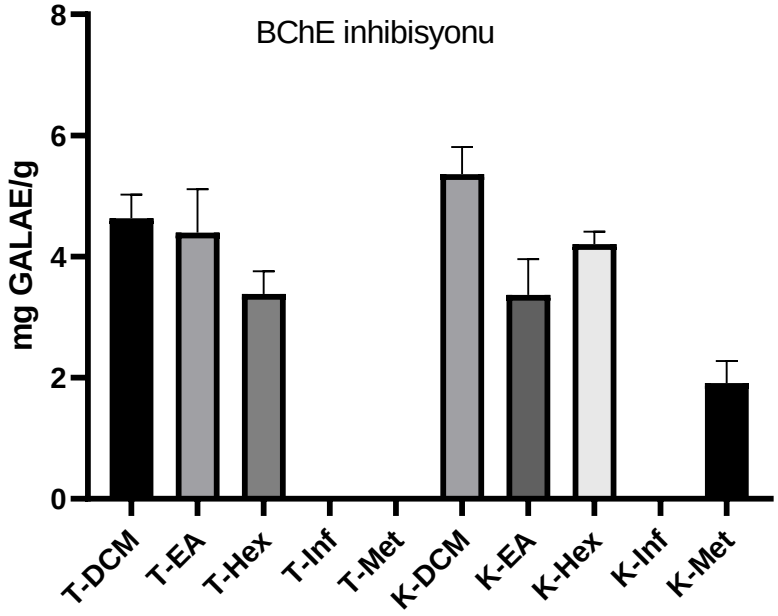
Tablo.4.17. *S. hispanica* toprak üstü ve köklerinin AChE ve BChE enzimlerine karşı inhibisiyon kapasite sonuçları

Kısım	Çözücüler	AChE inhibisyonu (mg GALAE/g)	BChE inhibisyonu (mg GALAE/g)
Toprak üstü	Diklorometan	2.08 ± 0.10^{bcd}	4.63 ± 0.39^{ab}
	Etilasetat	1.55 ± 0.15^{ef}	4.40 ± 0.72^{abc}
	Hekzan	2.16 ± 0.17^{bc}	3.38 ± 0.38^{c}
	İnfüzyon	2.35 ± 0.30^{ab}	-
	Metanol	1.49 ± 0.12^{f}	-
Kök	Diklorometan	2.28 ± 0.06^{ab}	5.36 ± 0.45^{a}
	Etilasetat	1.95 ± 0.16^{bcde}	3.37 ± 0.59^{bc}
	Hekzan	1.74 ± 0.04^{def}	4.21 ± 0.20^{bc}
	İnfüzyon	2.64 ± 0.02^{a}	-
	Metanol	1.85 ± 0.05^{cdf}	1.91 ± 0.36^{d}

*Ortalama±Standart Sapma (n=3). GALAE: Galatamine eşdeğeri; - inhibisyon gözlenmedi. Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı ifade eder ($p< 0.05$).



Şekil.4.35. *S. hispanica* ekstraklarının AChE enzimine karşı inhibisyon yeteneklerinin karşılaştırılması **(** GALAE: Galantamin eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)



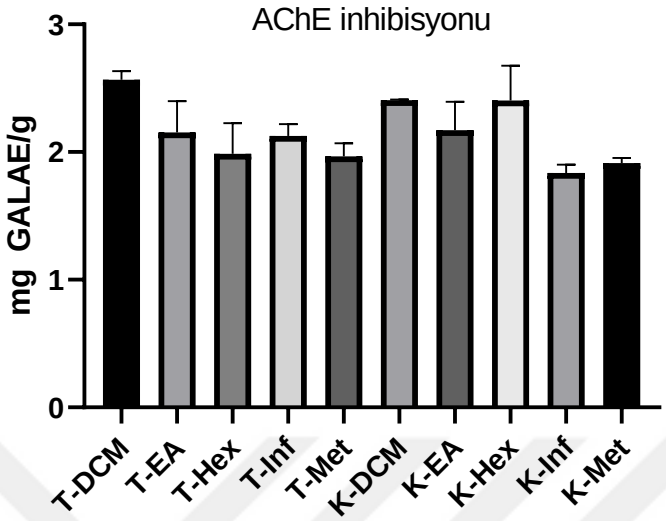
Şekil.4.36. *S. hispanica* ekstraklarının BChE enzimine karşı inhibisyon yeteneklerinin karşılaştırılması **(** GALAE: Galantamin eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hexan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)

Tez çalışması kapsamında kullanılan *S. tomentosa* toprak üstü ve kök özütlerinin AChE ve BChE enzimlerine karşı inhibisyon yetenekleri test edilmiş ve sonuçlar Tablo 4.18.' de verilmiştir. Elde edilen veriler değerlendiğinde, toprak üstü özütlerinden AChE etkinliği hepsinde gözlenirken BChE etkinliği gözlenmemiştir. Toprak üstü özütlerinin en etkili inhibisyon yeteneğine sahip örneği 2.57±0.07 mg GALAE/g – diklorometan ve en düşük etkinliğe sahip örneğin 1.96±0.10 mg GALAE/g – metanol özütü olduğu gözlenmiştir. Diğer özütlerin etkinliği kendi arasında; 2.15±0.24 mg GALAE/g etilasetat > 2.13±0.09 mg GALAE/g infüzyon > 1.96±0.10 mg GALAE/g metanol olarak tespit edilmiştir. Kök ekstraklarının AChE enzimi üzerine etkileri incelendiğinde en etkili özütün, 2.41±0.01 mg GALAE/g – diklorometan olduğu ve en düşük etkili olanın 1.83±0.06 mg GALAE/g – infüzyon olduğu belirtilmiştir. Kök ekstraklarının BChE enzimi üzerine inhibisyon yetenekleri incelendiğinde en yüksek etkinliğin 4.78±0.23 mg GALAE/g metanol, bunu takiben 3.96±0.57 mg GALAE/g hekzan özütü olduğu görülmüştür. İnfüzyon özütünde ise etkinlik görülmemiştir.

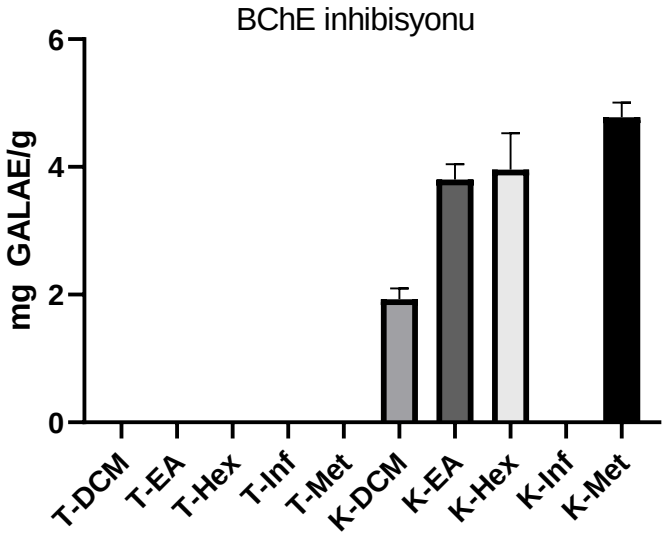
Tablo.4.18. *S. tomentosa* toprak üstü ve köklerinin AChE ve BChE enzimlerine karşı inhibisyon yetenekleri

Kısım	Çözücüler	AChE inhibisyon (mg GALAE/g)	BChE inhibisyon (mg GALAE/g)
Toprak üstü	Diklorometan	2.57±0.07^{a}	-
	Etilasetat	2.15±0.24^{abc}	-
	Hekzan	1.98±0.24^{bc}	-
	İnfüzyon	2.13±0.09^{abc}	-
	Metanol	1.96±0.10^{bc}	-
Kök	Diklorometan	2.41±0.01^{ab}	1.92±0.17^{c}
	Etilasetat	2.17±0.23^{abc}	3.80±0.24^{b}
	Hekzan	2.40±0.27^{ab}	3.96±0.57^{b}
	İnfüzyon	1.83±0.06^{c}	-
	Metanol	1.91±0.04^{c}	4.78±0.23^{a}

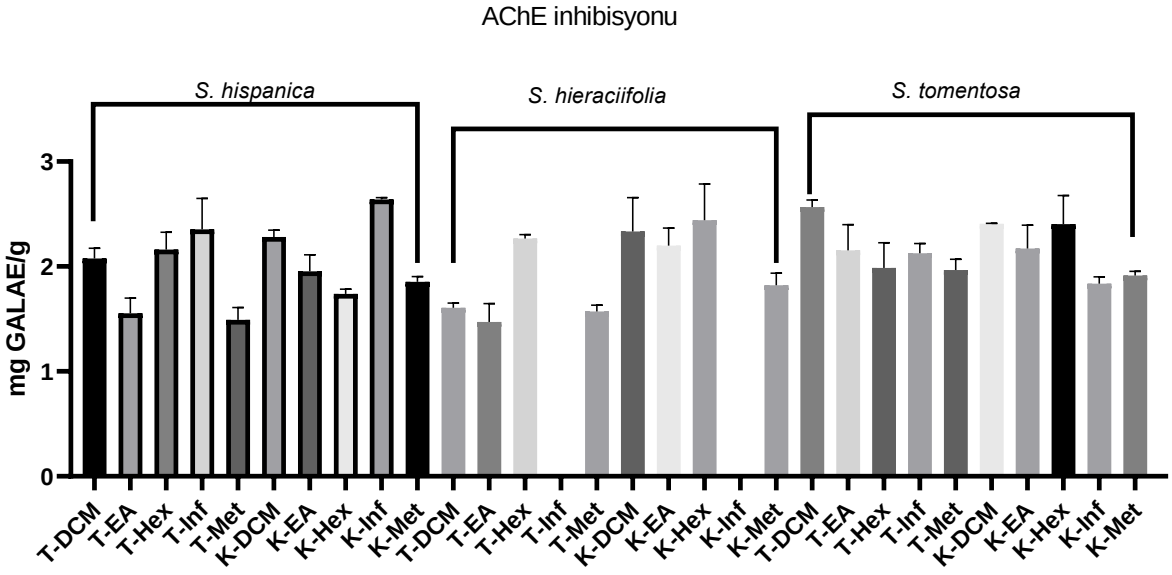
*Ortalama±Standart Sapma (n=3). GALAE: Galatamine eşdeğeri; - inhibisyon gözlenmedi. Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı ifade eder (p< 0.05).



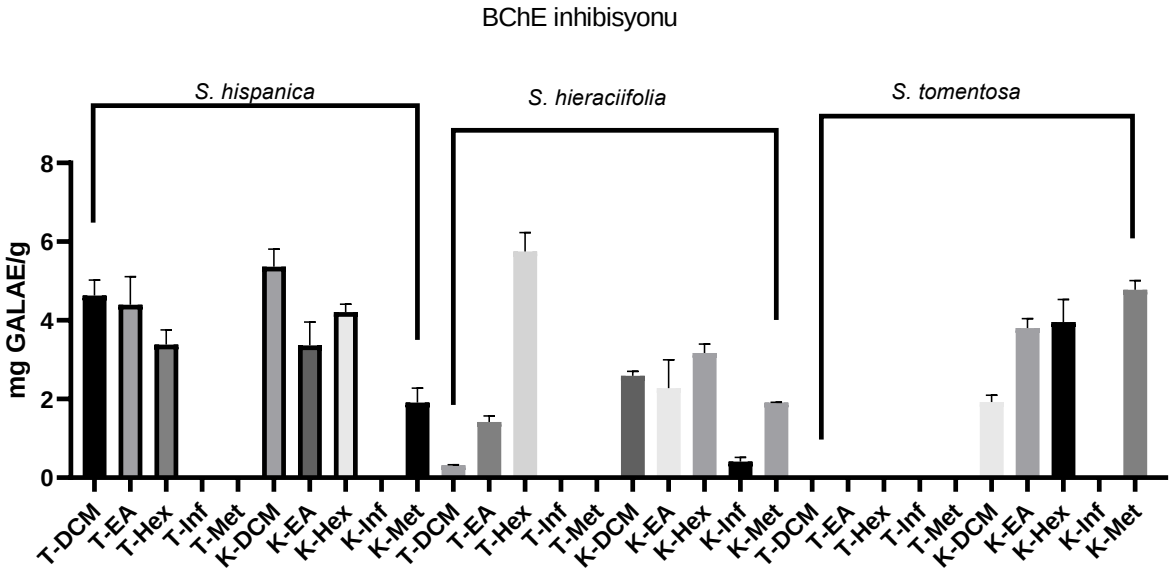
Şekil 4.37. *S. tomentosa* ekstraklarının AChE enzimine karşı inhibisyon yeteneklerinin karşılaştırılması **(**GALAE: Galantamin eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)



Şekil 4.38. *S. tomentosa* ekstraklarının BChE enzimine karşı inhibisyon yeteneklerinin karşılaştırılması **(** GALAE: Galantamin eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)



Şekil.4.39. Çalışmada kullanılan *Scorzonera* özütlerinin AChE enzimine karşı inhibisyon yeteneklerinin karşılaştırılması.



Şekil.4.40. Çalışmada kullanılan *Scorzonera özütlerinin* BChE enzimine karşı inhibisyon yeteneklerinin karşılaştırılması.

Çalışma kapsamında kullanılan *Scorzonera* türlerinin AChE, BChE enzimlerine karşı inhibisyon yetenekleri incelenmiş ve karşılaştırılmış sonuçları Şekil.4.42 ve Şekil.4.43' de verilmiştir. Toprak üstünden elde edilen özütlerin AChE enzimi üzerine etkilerinin, genellikle diklorometan ve hekzan özütlerinde etkili olduğu görülürmüştür. BChE enzimi üzerine inhibisyon kapasiteleri incelendiğinde genellikle hekzan özütünde etkili olduğu görülmüştür. Sonuçlar incelendiğinde özütlerin toplam fenolik ve flavonoid içerikleri ile AChE, BChE enzimine karşı gösterdikleri inhibisyon yetenekleri arasında bir korelasyon gözlenmemiştir.

Fitokimyasalların kompleks doğası ve birbirleriyle etkileşimleri (sinerjik veya antogoniistik), enzim inhibisyon çalışmaları ile toplam fenolik bileşikler arasında herhangibir korelasyonun gözlenmemesine sebep olur. Bu nedenle enzim inhibisyonu ve bu inhibisyona katkı sağlayan fitokimyasalların ortaya çıkarılması için, kromotografik teknikler ile bitkisel özütlerin kimyasal parmak izlerinin belirlenmesi oldukça önemli bir basamaktır. Literatür taraması yapıldığında *Scorzonera* gibi Asteraceae familyasına ait bazı taksonların kolinesteraz inhibisyonıu bakımından oldukça önemli bir konumda oldukları gözlenmiştir (Gupta ve Gupta, 1997; Orhan ve ark., 2010; Mekinić ve ark., 2013; Aghraz ve ark., 2018).

4.7. *Scorzonera* Özütlerinin α-Amilaz ve α-Glukosidaz İnhibisyonu

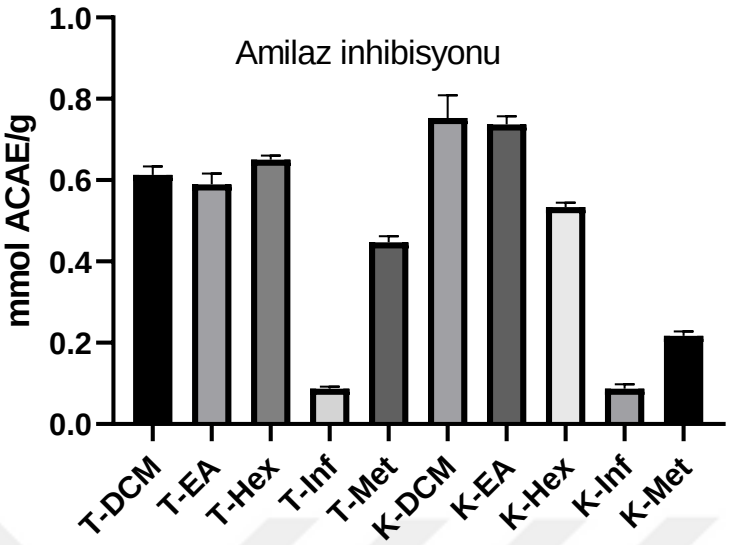
Tez çalışmasında kullanılan *S.hieraciifolia* bitkisinin farklı ekstraklarının, α-amilaz ve α-glukosizdaz enzimlerine karşı inhibisyonuna ilişkin, testleri yapıldı. Sonuçlar, Tablo 4.19' da verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, özütlerin α-amilaz ve α-glukosizdaz enzimlerine karşı inibisyon kapasiteleri incelendiğinde, bitkinin toprak üstü ekstraklarından α-amilaz etkinliği en güçlü aktiviteye sahip özütün 0.65 ± 0.01^{b} mmol ACAE/g değeriyle hekzan, bunu takiben 0.61 ± 0.02^{b} mmol ACAE/g değeriyle diklorometan ve en düşük etkinliğe sahip ekstraktın, infüzyon özütü olduğu görülmektedir. Diğer özütlerin etkinlikleri incelendiğinde; 0.59 ± 0.02^{bc} mmol ACAE/g etilasetat > 0.45±0.01 mmol ACAE/g metanol olarak değerlendirilmiştir. Toprak üstünden elde edilen ekstrakların α-glukosizdaz enzimine karşı inibisyon yetenekleri değerlendirildiğinde, en yüksek aktiviteye sahip özütün 0.71±0.01 mmol ACAE/g diklorometan ve bunu takiben yakın değerde en etkili aktiviteye sahip ekstrakların 0.70±0.01 mmol ACAE/g etilasetat ve 0.70±0.01 mmol ACAE/g hekzan özütleri olduğu, en düşük etkinlik ise 0.16±0.01 mmol ACAE/g değeriyle infüzyon özütü olarak tespit edilmiştir.

Bitkinin kök ekstrakları incelendiğinde, α-amilaz inhibisyon yeteneği, en yüksek aktiviteye sahip özütün 0.76±0.05 mmol ACAE/g diklorometan, bunu takiben 0.74±0.02 mmol ACAE/g değeriyle etilasetat ve en düşük etkinlikli özütün ise, 0.09±0.02 mmol ACAE/g infüzyon özütü olduğu görülmüştür. Ekstrakların α-glukosizdaz enzimine karşı inibisyon yetenekleri incelendiğinde, en yüksek aktiviteye sahip özütün, 0.73±0.01 mmol ACAE/g hekzan bunu takiben 0.70±0.01 mmol ACAE/g etilasetat ve en düşük etkinliğe sahip özütün 0.01±0.01 mmol ACAE/g infüzyon olduğu görülmüştür.

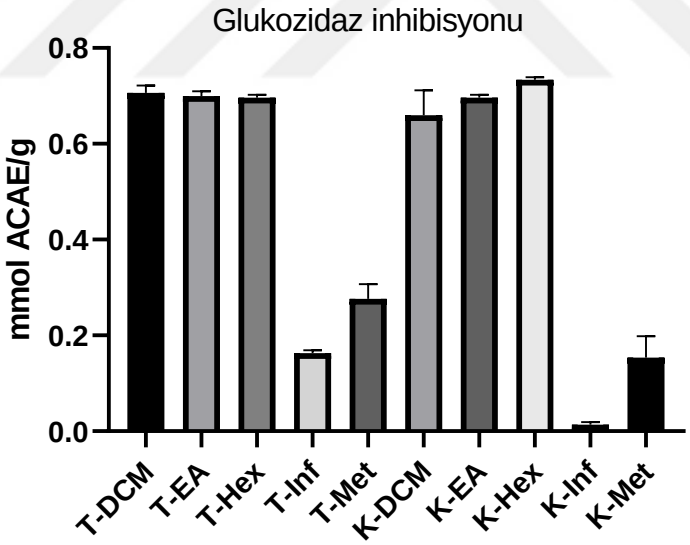
Tablo 4.19. *S.hieraciifolia* ekstraklarının α-amilaz ve α-glukosizdaz enzimlerine karşı inhibisyon sonuçları

Kısım	Çözücüler	Amilaz inhibisyonu (mmol ACAE/g)	Glukosidaz inhibisyonu (mmol ACAE/g)
Toprak üstü	Diklorometan	0.61 ± 0.02^{b}	0.71 ± 0.01^{ab}
	Etilasetat	0.59 ± 0.02^{bc}	0.70 ± 0.01^{ab}
	Hekzan	0.65 ± 0.01^{b}	0.70 ± 0.01^{ab}
	İnfüzyon	0.08 ± 0.01^{f}	0.16 ± 0.01^{d}
	Metanol	0.45 ± 0.01^{d}	0.28 ± 0.03^{c}
Kök	Diklorometan	0.76 ± 0.05^{a}	0.66 ± 0.05^{b}
	Etilasetat	0.74 ± 0.02^{a}	0.70 ± 0.01^{ab}
	Hekzan	0.53 ± 0.01^{c}	0.73 ± 0.01^{a}
	İnfüzyon	0.09 ± 0.02^{f}	0.01 ± 0.01^{e}
	Metanol	0.21 ± 0.01^{e}	0.15 ± 0.05^{d}

* Ortalama±Standart Sapma (n=3). ACAE: Akarboz eşdeğeri. Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı ifade eder ($p< 0.05$).



Şekil 4.41. *S. hieraciifolia e*kstraklarının α-amilaz enzimine karşı inhibisyon yeteneklerinin karşılaştırılması **(** ACAE: Akarboz eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hexan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)



Şekil 4.42. *S. hieraciifolia e*kstraklarının α-glukosidaz enzimine karşı inhibisyon yeteneklerinin karşılaştırılması. **(** ACAE: Akarboz eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hexan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)

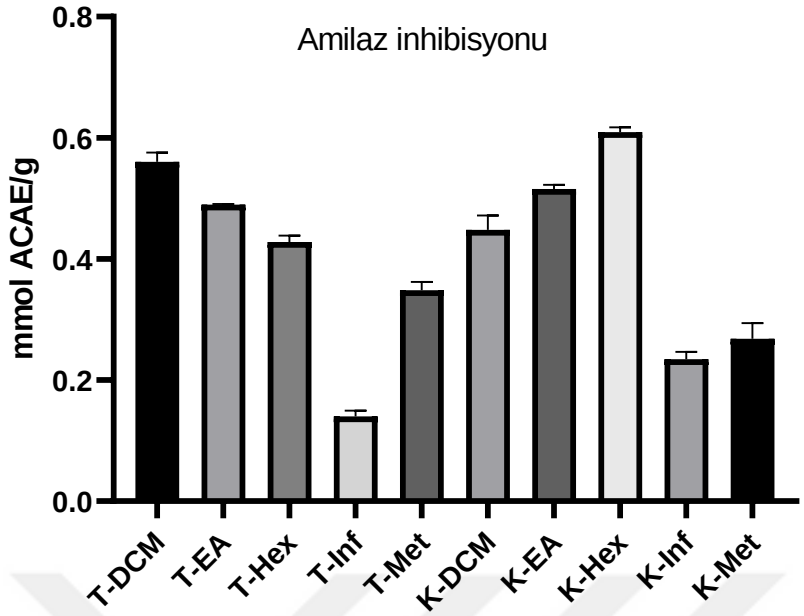
Tez çalışmasında kullanılan *S.hispanica* bitkisinin farklı ekstraklarının, α-amilaz ve α-glukosidaz enzimlerine karşı inhibisyonu araştırıldı ve sonuçlar, Tablo.4.20' da verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, özütlerin α-amilaz ve α-glukosizdaz enzimlerine karşı inibisyon kapasiteleri incelendiğinde, bitkinin toprak üstü ekstraklarından α-amilaz etkinliği en güçlü aktiviteye sahip özütün 0.56±0.02 mmol ACAE/g değeriyle diklorometan, bunu takiben 0.49±0.01 mmol ACAE/g değeriyle etilasetat ve en düşük etkinliğe sahip ekstraktın, 0.14±0.01 mmol ACAE/g infüzyon özütü olduğu görülmektedir. Diğer özütlerin etkinlikleri incelendiğinde; 0.43±0.01 mmol ACAE/g hekzan > 0.35±0.01 mmol ACAE/g metanol olarak değerlendirilmiştir. Toprak üstünden elde edilen ekstrakların α-glukosizdaz enzimine karşı inibisyon yetenekleri değerlendirildiğinde, en yüksek aktiviteye sahip özütün 0.74±0.01 mmol ACAE/g hekzan ve bunu takiben 0.63±0.04 mmol ACAE/g etilasetat olduğu, en düşük etkinliğin ise 0.10±0.01 mmol ACAE/g değerleriyle infüzyon ve metanol özütleri olduğu görülmüştür.

Bitkinin kök ekstrakları incelendiğinde, α-amilaz etkinliği, en yüksek aktiviteye sahip özütün 0.61±0.01 mmol ACAE/g hekzan, bunu takiben 0.52±0.01 mmol ACAE/g değeriyle etilasetat ve en düşük etkinlikli özütün ise, 0.23±0.01 mmol ACAE/g infüzyon özütü olduğu görülmüştür. Ekstrakların α-glukosizdaz enzimine karşı inibisyon yetenekleri incelendiğinde, en yüksek aktiviteye sahip özütün, 0.82±0.01 mmol ACAE/g etilasetat bunu takiben 0.70±0.01 mmol ACAE/g hekzan ve en düşük etkinliğe sahip özütün 0.11±0.05 mmol ACAE/g metanol olduğu görülmüştür.

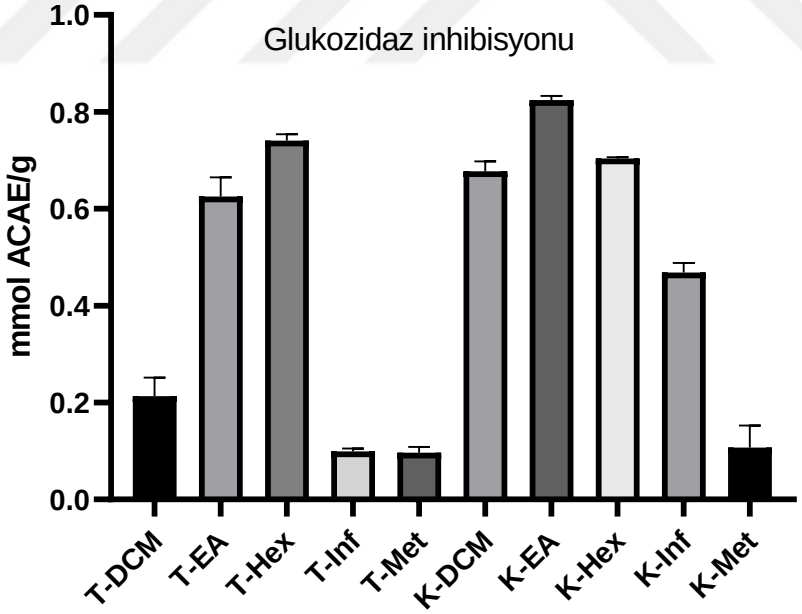
Tablo 4.20. *S.hispanica* ekstraklarının α-amilaz ve α-glukosizdaz enzimlerine karşı inhibisyon sonuçları

Kısım	Çözücüler	Amilaz inhibisyonu (mmol ACAE/g)	Glukosidaz inhibisyonu (mmol ACAE/g)
Toprak üstü	Diklorometan	0.56 ± 0.02^{b}	0.21 ± 0.04^{e}
	Etilasetat	0.49 ± 0.01^{cd}	0.63 ± 0.04^{c}
	Hekzan	0.43 ± 0.01^{e}	0.74 ± 0.01^{b}
	İnfüzyon	0.14 ± 0.01^{h}	0.10 ± 0.01^{f}
	Metanol	0.35 ± 0.01^{f}	0.10 ± 0.01^{f}
Kök	Diklorometan	0.45 ± 0.02^{de}	0.68 ± 0.02^{bc}
	Etilasetat	0.52 ± 0.01^{c}	0.82 ± 0.01^{a}
	Hekzan	0.61 ± 0.01^{a}	0.70 ± 0.01^{b}
	İnfüzyon	0.23 ± 0.01^{g}	0.47 ± 0.02^{d}
	Metanol	0.27 ± 0.03^{g}	0.11 ± 0.05^{f}

* Ortalama±Standart Sapma (n=3). eşdeğeri; ACAE: Akarboz eşdeğeri; - inhibisyon gözlenmedi. Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı ifade eder ($p< 0.05$).



Şekil 4.43. *S. hispanica e*kstraklarının α-amilaz enzimine karşı inhibisyon yeteneklerinin karşılaştırılması. **(** ACAE: Akarboz eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)



Şekil 4.44. *S. hispanica e*kstraklarının α-glukosidaz enzimine karşı inhibisyon yeteneklerinin karşılaştırılması. **(** ACAE: Akarboz eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)

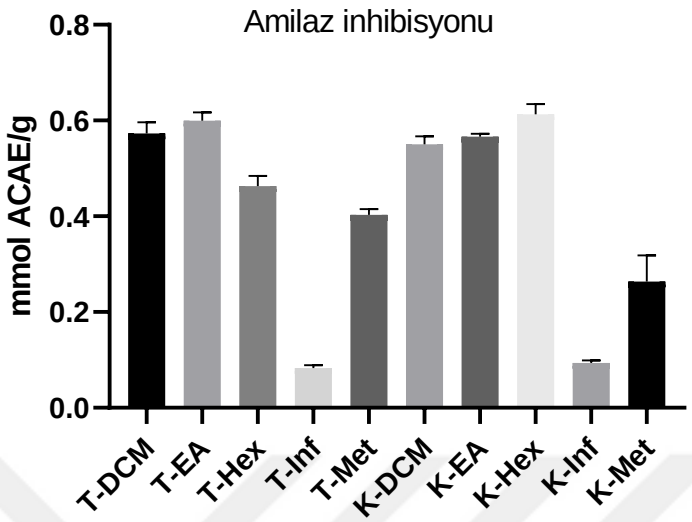
Çalışma kapsamında kullanılan *S.tomentosa'*nın farklı ekstraklarının, α-amilaz ve α-glukosidaz enzimlerine karşı inhibisyonuna ilişkin, testleri yapıldı ve sonuçlar, Tablo.4.21' da verilmiştir. Özütlerin α-amilaz ve α-glukosidaz enzimlerine karşı inibisyon kapasiteleri incelendiğinde, bitkinin toprak üstü ekstraklarından α-amilaz etkinliği en güçlü aktiviteye sahip özütün 0.60±0.02 mmol ACAE/g değeriyle etilasetat, bunu takiben 0.57±0.02 mmol ACAE/g değeriyle diklorometan ve en düşük etkinliğe sahip ekstraktın, 0.08±0.01 mmol ACAE/g infüzyon özütü olduğu görülmektedir. Diğer özütlerin etkinlikleri incelendiğinde; 0.46±0.02 mmol ACAE/g hekzan > 0.40±0.01 mmol ACAE/g metanol olarak sıralanmıştır. Toprak üstünden elde edilen ekstrakların α-glukosizdaz enzimine karşı inibisyon yetenekleri değerlendirildiğinde, en yüksek aktiviteye sahip özütün 0.75±0.01 mmol ACAE/g hekzan ve bunu takiben 0.70±0.02 mmol ACAE/g etilasetat olduğu, en düşük etkinliğin ise 0.14±0.01 mmol ACAE/g değerleriyle metanol özütü görülmüştür.

Bitkinin kök ekstrakları incelendiğinde, α-amilaz etkinliği, en yüksek aktiviteye sahip özütün 0.61±0.02 mmol ACAE/g hekzan , bunu takiben 0.57±0.01 mmol ACAE/g değeriyle etilasetat ve en düşük etkinlikli özütün ise, 0.09±0.01 mmol ACAE/g infüzyon özütü olduğu görülmüştür. Ekstrakların α-glukosidaz enzimine karşı inibisyon yetenekleri incelendiğinde, en yüksek aktiviteye sahip özütün, 0.83±0.01 mmol ACAE/g hekzan bunu takiben 0.67±0.07 mmol ACAE/g metanol ve en düşük etkinliğe sahip özütün 0.09±0.01 mmol ACAE/g infüzyon olduğu görülmüştür.

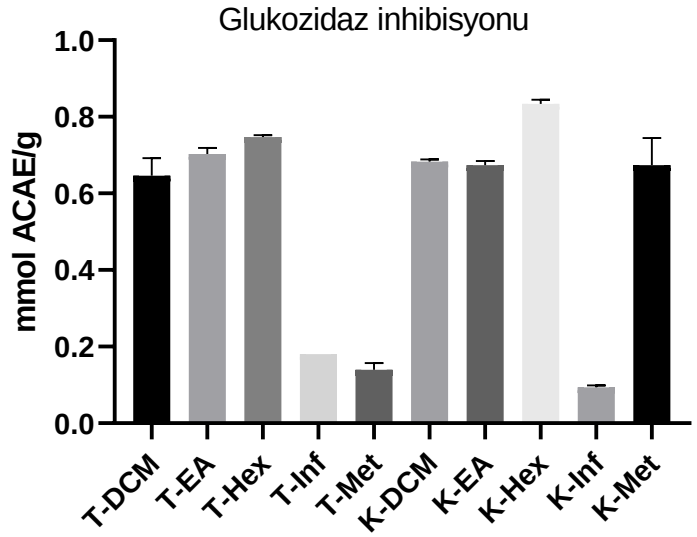
Tablo.4.21. *S.tomentosa* ekstraklarının α-amilaz ve α-glukosidaz enzimlerine karşı inhibisyon sonuçları

Kısım	Çözücüler	Amilaz inhibisyon (mmol ACAE/g)	Glukosidaz inhibisyon (mmol ACAE/g)
Toprak üstü	Diklorometan	0.57 ± 0.02^{ab}	0.65 ± 0.04^{c}
	Etilasetat	0.60 ± 0.02^{ab}	0.70 ± 0.02^{bc}
	Hekzan	0.46 ± 0.02^{c}	0.75 ± 0.01^{b}
	İnfüzyon	0.08 ± 0.01^{e}	0.18 ± 0.01^{d}
	Metanol	0.40 ± 0.01^{c}	0.14 ± 0.01^{de}
Kök	Diklorometan	0.55 ± 0.02^{b}	0.68 ± 0.01^{bc}
	Etilasetat	0.57 ± 0.01^{ab}	0.67 ± 0.01^{bc}
	Hekzan	0.61 ± 0.02^{a}	0.83 ± 0.01^{a}
	İnfüzyon	0.09 ± 0.01^{e}	0.09 ± 0.01^{e}
	Metanol	0.26 ± 0.05^{d}	0.67 ± 0.07^{bc}

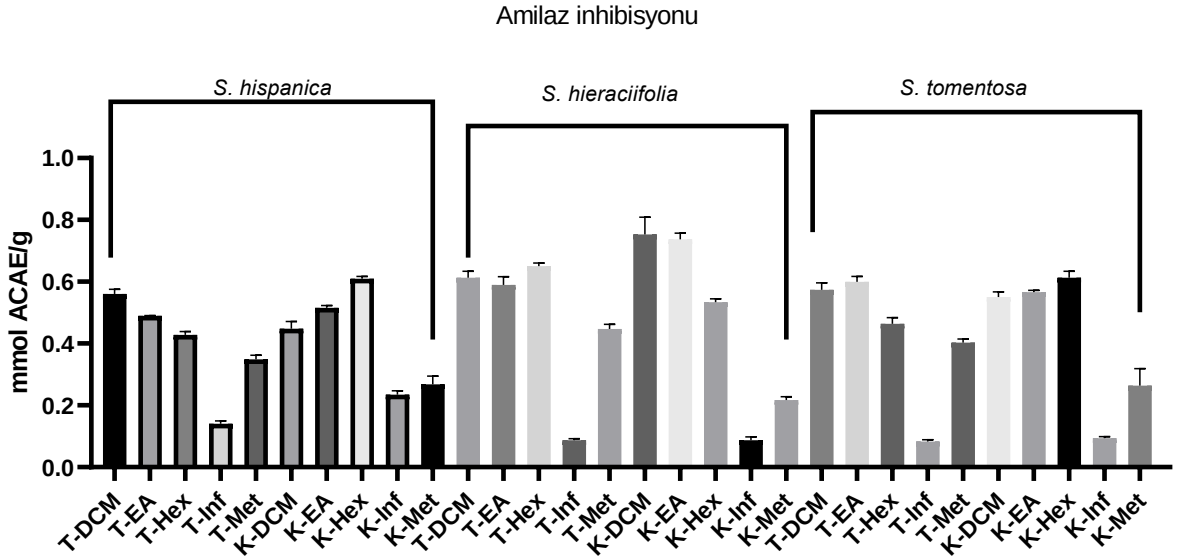
* Ortalama±Standart Sapma (n=3). eşdeğeri; ACAE: Akarboz eşdeğeri;. Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı ifade eder ($p< 0.05$).



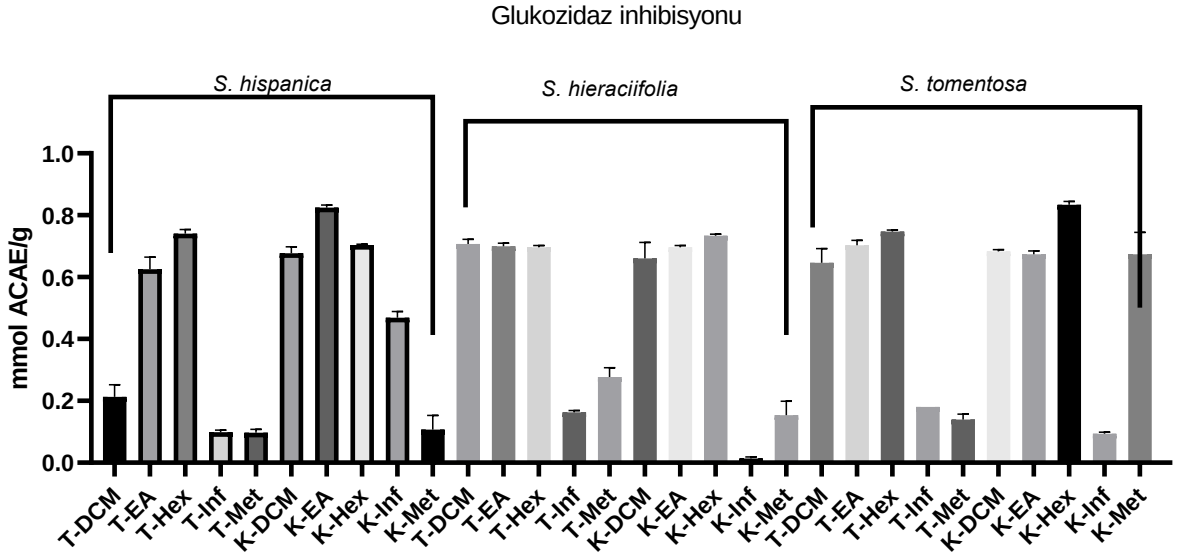
Şekil 4.45. *S. tomentosa e*kstraklarının α-amilaz enzimine karşı inhibisyon yeteneklerinin karşılaştırılması **(** ACAE: Akarboz eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)



Şekil 4.46. *S. tomentosa e*kstraklarının α-glukosidaz enzimine karşı inhibisyon yeteneklerinin karşılaştırılması **(** ACAE: Akarboz eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)



Şekil.4.47. *Scorzonera* özütlerinin α-amilaz enzimine karşı inhibisyon yeteneklerinin karşılaştırılması



Şekil.4.48. *Scorzonera* özütlerinin α-gluksidaz enzimine karşı inhibisyon yeteneklerinin karşılaştırılması

Çalışmada kullanılan *Scorzonera* türlerine ait ekstrakların α-amilaz ve α-glukosidaz enzimleri üzerine inhibisyon kapasiteleri, test edilmiş ve türler arası karşılaştırmaları Şekil.4.47 ve Şekil.4.48 'de verilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde, üç bitkininde toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstrakların, α-amilaz enzimi üzerine inhibisyon yeteneklerinde, en yüksek aktivite gösterdiği özütler genellikle hekzan ve diklorometan arasında değişkenlik göstermiştir. En düşük etkinlik ise tüm ekstraklar içinde infüzyon özütünden elde edilmiştir. Bitkinin kök kısımlarının α-amilaz enzimi üzerine etkileri incelendiğinde en yüksek aktivitenin hekzan ve diklorometan özütleri arasında değiştiği ve en düşük aktivitenin toprak üstü kısımlarına paralel şekilde infüzyon özütü olduğu görülmüştür. Bitkisel ekstrakların, toprak üstü kısımlarının, α-glukosidaz enzimi üzerine inhibisyon yetenekleri karşılaştırıldığında en yüksek aktivitenin genellikle hekzan ve diklorometan özütleri arasında değişkenlik gösterdiği ve en düşük etkinliğin ise infüzyon ve metanol öztüleri arasında değişkenlik gösterdiği görülmüştür. Kök kısımlarının α-glukosidaz enzimi üzerine inhibisyon yetenekleri incelendiğinde, en yüksek etkinliğin genellikle, hekzan ve etilasetat özütleri arasında değiştiği ve en düşük etkinliğin metanol ve infüzyon özütleri arasında değiştiği görülmüştür.

α-amilaz, α-glukosidaz, inhibisyonu sonucu elde edilen veriler, antioksidan sonuçlar ile karşılaştırıldığında oldukça farklı olduğu görülmektedir. Bu durum net bir şekilde, antioksidan testlerde rol oynayan fitokimyasallar ile enzim testlerinde etkinlik gösterenlerin farklı olduğunu göstermektedir. Enzimatik testler, antioksidan test sistemi ile karşılaştırıldığında daha kompleks olup, testin sonuçları bitkisel ekstrakların kimyasal bileşimlerinin yanı sıra birçok kimyasal parametreden etkilendiği görülmüştür. Çeşitli literatür taramaları sonucunda α-amilaz ve α-glukosidaz için farklı sonuçlar gözlenmiştir. Antidiyabetik parametreler ile toplam fenolik içerik arasında, hem negatif hem de pozitif korelasyonlar önceki çalışmalarda belirlenmiştir (Zaharudin ve ark., 2018; Zaidi ve ark., 2019; Mahdi ve ark., 2020; Nina ve ark., 2020).

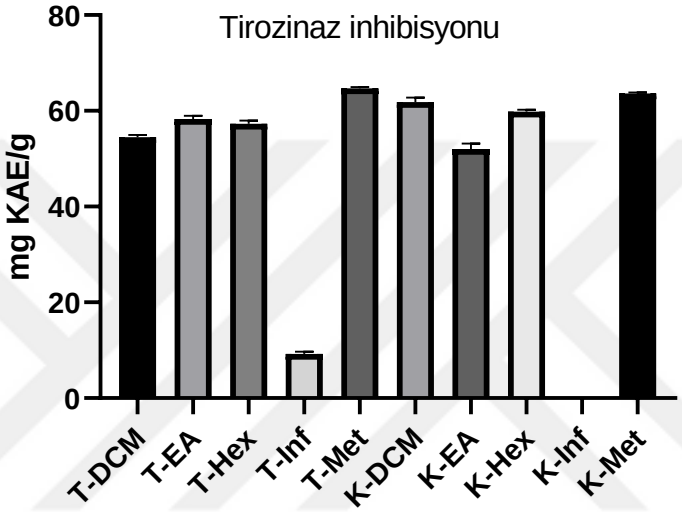
4. 8. *Scorzonera* Özütlerinin Tirozinaz İnhibisyonu

Tez çalışmasında kullanılan *S. hieraciiifolia* özütlerinin tirozinaz enzimini inhibe etme yetenekleri Tablo 4.22' de verilmiştir. Bitkinin toprak üstü kısmından elde edilen özütlerin, tirozinaz inhibisyonu bakımından elde edilen sonuçları incelendiğinde, en yüksek etkinliğin 64.70±0.26 mg KAE/g değeriyle metanolde, diğerleri sırasıyla; 58.29±0.71 mg KAE/g etilasetat > 57.27±0.68 mg KAE/g hekzan > 54.53±0.42 mg KAE/g diklorometan > 9.20±0.51 mg KAE/g infüzyon olarak elde edilmiştir. Bitkinin kök ekstrakları incelendiğinde, en yüksek etkinlik 63.63±0.20 metanol özütünden, bunu takiben 61.86±0.88 diklorometan özütünden elde edilmiştir. İnfüzyon özütünde inhibisyon gözlenmemiştir.

Tablo.4.22. *S. hieraciifolia* toprak üstü ve köklerinin tirozinaz inhibisyon sonuçları

Kısım	Çözücüler	Tirozinaz inhibisyon (mg KAE/g)
Toprak üstü	Diklorometan	54.53 ± 0.42^{e}
	Etilasetat	58.29 ± 0.71^{cd}
	Hekzan	57.27 ± 0.68^{d}
	İnfüzyon	9.20 ± 0.51^{g}
	Metanol	64.70 ± 0.26^{a}
Kök	Diklorometan	61.86 ± 0.88^{b}
	Etilasetat	52.03 ± 1.10^{f}
	Hekzan	59.82 ± 0.43^{c}
	İnfüzyon	-
	Metanol	63.63 ± 0.20^{a}

*Ortalama±Standart Sapma (n=3). KAE: Kojik asit eşdeğeri;- inhibisyon gözlenmedi. Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı ifade eder ($p< 0.05$).



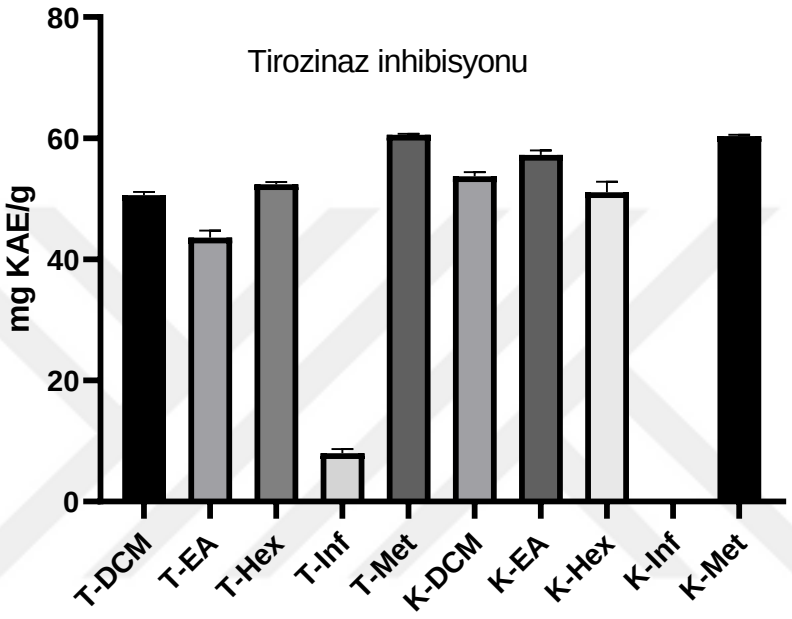
Şekil.4.49. *S.hieraciifolia* ekstraklarının tirozinaz enzimi üzerine inhibisyon kapasitelerinin karşılaştırılması **(** KAE: Kojik asit eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)

S. hispanica ekstraklarının tirozinaz enzimine karşı inhibisyon etkinlikleri Tablo 4.23' de verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, bitkinin toprak üstü ve kök özütlerinde, kök infüzyon özütü dışında tüm özütlerin inhibisyon yeteneğine sahip olduğu görülmektedir. Toprak üstü kısımları içinde en etkili inhibisyon yeteneğine sahip özütün, 60.58±0.15 mg KAE/g değeriyle metanol ve takiben 52.39±0.3915 mg KAE/g değeriyle hekzan özütünde olduğu görülmektedir. En düşük aktivitenin 8.00±0.68 mg KAE/g değeriyle infüzyon özütünde olduğu gözlenmiştir. Bitkinin köklerinden elde edilen ekstraklarda ise en yüksek etkinlik, 60.36±0.23 mg KAE/g değeriyle metanolde ve ardından 57.25±0.72 mg KAE/g değeriyle etilasetatta olduğu görülmüştür.

Tablo.4.23. *S. hispanica* toprak üstü ve köklerinin tirozinaz inhibisyon aktivitesi

Kısım	Çözücüler	Tirozinaz inhibisyon (mg KAE/g)
Toprak üstü	Diklorometan	50.61 ± 0.52^{d}
	Etilasetat	43.58 ± 1.16^{e}
	Hekzan	52.39 ± 0.39^{cd}
	İnfüzyon	8.00 ± 0.68^{f}
	Metanol	60.58 ± 0.15^{a}
Kök	Diklorometan	53.69 ± 0.68^{c}
	Etilasetat	57.25 ± 0.72^{b}
	Hekzan	51.10 ± 1.72^{d}
	İnfüzyon	-
	Metanol	60.36 ± 0.23^{a}

* Ortalama±Standart Sapma (n=3). KAE: Kojik asit eşdeğeri; - inhibisyon gözlenmedi. Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı ifade eder ($p< 0.05$).



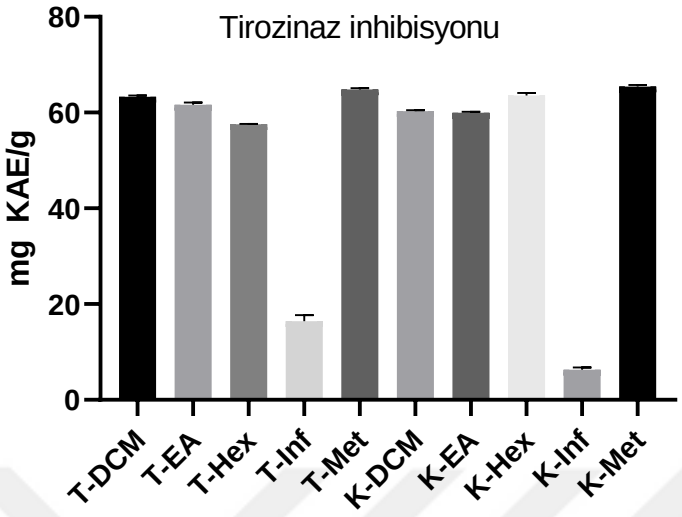
Şekil.4.50. *S.hispanica* ekstraklarının tirozinaz enzimi üzerine inhibisyon kapasitelerinin karşılaştırılması **(** KAE: Kojik asit eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)

S. tomentosa özütlerinin tirozinaz enzimi üzerine inhibisyon yetenekleri test edilmiş ve sonuçlar Tablo.4.24' de verilmiştir. Veriler incelendiğinde toprak üstü ekstraklardan inhibisyon yeteneği en iyi olan özütün 64.83±0.28 mg KAE/g – metanol olduğu bunu takiben, birbirine yakın değerlere sahip 63.32±0.22 mg KAE/g – diklorometan ve 61.65±0.45 mg KAE/g – etilasetatat özütü olduğu görülmektedir. En düşük etkinlik 16.40±1.30 mg KAE/g - infüzyon olarak değerlendirilmiştir. Bitkin kök ekstrakları kendi arasında değerlendirildiğinde verimi en yüksek özütün 65.46±0.31 mg KAE/g – metanol, ardından birbirine yakın değerlere sahip 63.54±0.56 mg KAE/g – hekzan ve 60.28±0.23 mg KAE/g – diklorometan özütü olduğu tespit edilmiştir.

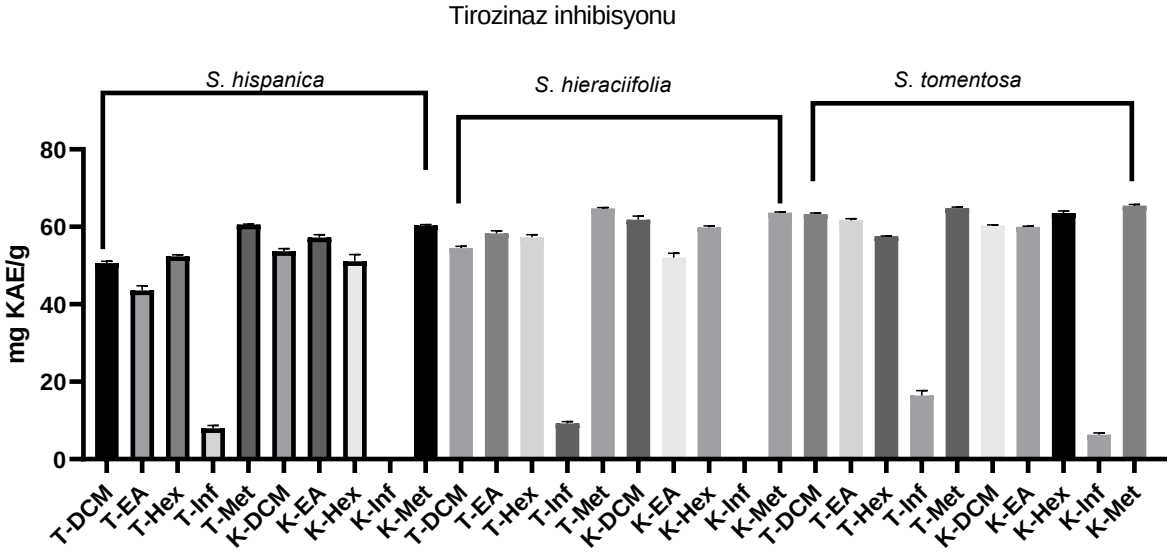
Tablo.4.24. *S. tomentosa* toprak üstü ve köklerinin tirozinaz enzimine karşı inhibisyon yetenekleri

Kısım	**Çözücüler**	**Tirozinaz inhibisyon (mg KAE/g)**
Toprak üstü	Diklorometan	63.32 ± 0.22^{b}
	Etilasetat	61.65 ± 0.45^{c}
	Hekzan	57.54 ± 0.12^{e}
	İnfüzyon	16.40 ± 1.30^{f}
	Metanol	64.83 ± 0.28^{ab}
Kök	Diklorometan	60.28 ± 0.23^{cd}
	Etilasetat	59.99 ± 0.19^{d}
	Hekzan	63.54 ± 0.56^{b}
	İnfüzyon	6.29 ± 0.50^{g}
	Metanol	65.46 ± 0.31^{a}

*Ortalama±Standart Sapma (n=3). KAE: Kojik asit eşdeğeri. Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel farkı ifade eder ($p< 0.05$).



Şekil.4.51. *S. tomentosa* ekstraklarının tirozinaz enzimi üzerine inhibisyon kapasitelerinin karşılaştırılması **(** KAE: Kojik asit eş değeri, T: Toprak üstü, K: Kök, DCM: Diklorometan, EA: Etilasetat, Hex: Hekzan, Inf: İnfüzyon, Met: Metanol)



Şekil.4.52. *S. tomentosa* ekstraklarının tirozinaz enzimi üzerine inhibisyon kapasitelerinin karşılaştırılması

Çalışmada kullanılan *Scorzonera* cinsine ait ekstrakların tirozinaz enzimi üzerine inhibisyon mekanizmaları test edilmiş ve türler arası karşılaştırmaları Şekil.4.50 ‘de verilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde, üç bitkininde toprak üstü kısımlarından ve köklerinden elde edilen ekstrakların, metanolik ve hekzan özütlerinde en yüksek aktivite görülmüştür. En düşük etkinliğin ise, hem toprak üstü hem kök kısımlarında infüzyon özütü olduğu görülmüştür.

Çeşitli çalışmalar sonucunda, tirozinaz enziminin beyinde nöromelanin gelişiminde önemli bir rol oynadığı ve çok fazla dopaquinone oluşumu nedeniyle nöronal hasara ve hücre ölümüne yol açtığına sonrasında enzimin Parkinson ve Huntington hastalıkları da dahil olmak üzere nörodejeneratif bozukluklarla ilişkili olduğu kanıtlanmıştır. Ayrıca, tirosinaz, bitkilerde hasat sonrası işleme ve işleme sırasında kalite kaybını önleme, meyve ve sebzelerin besin değerinin bozulmasına yol açan polifenol bileşikleri oksidasyonuna bağlı olarak meyve ve sebzelerin enzimatik kararmasından sorumlu olan önemli bir enzimdir (Dehghani ve ark., 2019). Bu bağlamda çalışmamızın sonuçları, yeni tirozinaz inhibitör kaynaklarının tespitine imkan sağlamaktadır. Çalışmamız sonucunda özellikle organik çözücülerin (metanol, hekzan, etilasetat, diklorometan), su özütlerine kıyasla daha yüksek etkinlik sergiledikleri belirlenmiştir. Benzer sonuçlar çeşitli araştırmacılar tarafından da rapor edilmiştir (Wu ve ark., 2018; Sarikurkcu ve ark., 2020; Sut ve ark., 2020). Çalışmamız kapsamında, Özütlerin toplam fenolik içerikleri ile tirozinaz inhibisyonları arasında çok düşük bir korelasyon vardır. Bu nedenle, çalışılan özütlerde tirozinaz inhibisyonuna katkı sağlayan molekülleri tanımlamak için ileri kromotografik teknikler ile özütlerin karakterizasyonu önerilmektedir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1 SONUÇLAR

Hastalıkların tedavisinde, sentetik ilaçların yanı sıra, doğal ürünlerden elde edilen biyoaktif bileşiklerin, hastalıkların gelişim sürecini önemli ölçüde etkilediği görülmüştür. Ayrıca etnobotanik, epidemiyolojik, etnofarmakolojik alanlarda yapılan çalışmalarla, bu fitokimyasal ajanların tüketimi ile çeşitli hastalıkların görülme sıklığının azalması arasındaki ilişki doğrulanmıştır. Bu gözlemler sonucunda, özellikle bitkilerin, kimyasal bileşiminde bulunan maddelerin özelliklerini incelemeye olan ilgi giderek artmıştır. Bu bağlamda, diyet antioksidanlarının hastalıklardaki etkileri olarak öncelikle gıdaların doğal antioksidanlarına ve vücut üzerindeki koruyucu etkilerini değerlendirmenin sentetik yoluna dikkat ederek çalışmalar devam etmek önemlidir

Bu tez çalışması kapsamında, *Scorzonera* taksonuna ait üç bitkiden (*S.hieraciifolia, S. hispanica, S.tomentosa*) elde edilen ekstraktların fitokimyasal içerikleri, antioksidan özellikleri ve belirli hastalıklarla ilişkili enzimler üzerine inhibisyon etkinlikleri araştırılmıştır. Ekstraksiyonda farklı çözücülerin seçimi, sekonder metabolitlerin elde edilmesi için önemli bir faktördür, ancak farklı bitki kısmı da elde edilen bileşiklerin farklılığı konusunda önemli bir rol oynar. Bu bağlamda, çalışmamız da kullanılan *Scorzonera* taksonlarının toprak üstü kısımları ve köklerinden beş farklı çözücü kullanılarak ekstraksiyon yapılmıştır. Çalışmamızın sonucunda biyolojik etkinliğin kullanılan bitki kısmı ve çözücüye bağlı olarak değiştiği belirlenmiş ve genel olarak toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstrakların kök ekstraklarına kıyasla daha yüksek etkinliğe sahip olduğu gözlenmiştir. Ayrıca metanol ve su ekstrakları diğer ekstraklara kıyasla daha güçlü etkinlik sergilemiştir.

Çeşitli literatür taramaları sonucu çalışmada kullanılan *Scorzonera* taksonlarına ait fitokimyasal, antioksidan ve enzim içeriklerine dair yeterli araştırma olmadığı görülmüştür. Bu noktada elde edilen veriler literatürdeki önemli bir boşluğu doldurmuş olup, bu cins üzerine yapılacak yeni çalışmalara ışık tutacak niteliktedir.

5.2. Öneriler

Günümüzde değişen yaşam standardları ve beslenme alışkanlıklarına bağlı olarak çeşitli hastalıkların küresel boyutta gözlenenen yaygınlıkları günden güne artış göstermektedir. Bu bağlamda hastalıkların yaygınlığını önleme ve bunları tedavi etmek için gerçekleştirilen eylemlerin temeli bireysellikten öte küresel bir boyut kazanmıştır. Küresel boyutta birçok hastalığı tedavi etmek için sentetik çözümler halen en başta gelen yaklaşımlardır. Bu durumun temelinde sentetik çözümlerin maliyetlerinin düşük olması ve fazla miktarda elde edilebilmeleri gelmektedir. Fakat, bir çok çalışmada sentetiklerin sergiledikleri yan etkiler bunların uzun süreli kullanımlarını şüpheli hale getirmiştir. Bu noktadan hareketle, sentetiklerin yan etkileri daha az ve daha güçlü biyolojik etkinliklere sahip olan doğal ürünler ile değiştirilmesi toplum sağlığı açısından en önemli konu başlıkları arasındadır. Bu nedenle özellikle biyolojik özellikleri araştırılmamış doğal kaynakların ve bunların potansiyellerinin değerlendirimesi yeni ham madde kaynaklarının tespiti açısından önemlidir.

Yukarıda belirtilen bilgiler ışında, mevcut tez çalışmasında *Scorzonera* cinsine ait üç taksonun biyolojik özellikleri antioksidan ve enzim inhibisyonları temelinde incelenmiştir. Ayrıca biyolojik özelliklere en fazla katkı sağlayan fenolik ve flavonoid bileşiklerin toplam içerikleri de çalışılan her bir ekstrakt için belirlenmiştir. Bu noktada çalışılan ekstrakların (özellikle metanol ve su) önemli seviyede bioaktif bileşenleri bünyelerinde bulundurduğu ve kayda değer biyolojik etkinlikler sergiledikleri belirlenmiştir. Çalışmamız sonucunda *Scorzonera* taksonlarının toprak üstü kısımlarından metanol ve su gibi polar çözücüler ile elde edilen ekstrakların daha güçlü bioaktif özellikler sergiledikleri belirlenmiştir. Bu açıdan, bu taksonlar üzerine yapılacak bilimsel ve farmasötik endüstrisi anlamındaki uygulamalarda bu belirtilen ekstraklara öncelik verilebileceği önerilebilir. Bununla birlikte, tez kapsamında çalışılan antioksidan ve enzim inhibisyonu özellikleri dışında antimikrobiyal, antiinflammator ve toksikolojik özelliklerin belirlenmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca bu bitkilerdeki biyolojik aktiviteden sorumlu bileşiklerin belirlenmesi, yapı-aktivite bağlantısının ve etkili dozların belirlemesi açısından da ileri kimyasal çalışmaların gerçekleştirilmesi tavsiye edilmektedir.

KAYNAKLAR

Abd, M. R., 2007, Rahman. 2007, *Wind Tunnel Test on UTM-X1 Rocket Body*.

Acikara, O., Çitoğlu, G. ve Çoban, T., 2013, Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Selected Scorzonera Species, *Turk J Pharm Sci*, 10 (3), 453-462.

Acikara, Ö., Çitoğlu, G., Mine, A. ve Gençler Ozkan, A., 2013c, Qualitative and quantitative analysis of phenolic acids in scorzonera tomentosa L, *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10, 1-8.

Adusei, S., Otchere, J., Oteng, P., Mensah, R. ve Tei-Mensah, E., 2019, Phytochemical analysis, antioxidant and metal chelating capacity of Tetrapleura tetraptera, *Heliyon*, 5, e02762.

Agarwal, P. ve Gupta, R., 2016, Alpha-amylase inhibition can treat diabetes mellitus, *Res. Rev. J. Med. Health Sci*, 5, 1-8.

Aghraz, A., Gonçalves, S., Rodríguez-Solana, R., Dra, L. A., Di Stefano, V., Dugo, G., Cicero, N., Larhsini, M., Markouk, M. ve Romano, A., 2018, Antioxidant activity and enzymes inhibitory properties of several extracts from two Moroccan Asteraceae species, *South African Journal of Botany*, 118, 58-64.

Akinci, B., Yener, S., Bayraktar, F. ve Yesil, S., 2010, Allergic reactions to human insulin: a review of current knowledge and treatment options, *Endocrine*, 37 (1), 33-39.

Al-Rimawi, F., Rishmawi, S., Ariqat, S., Khalid, M., Warad, I. ve Salah, Z., 2016, Anticancer Activity, Antioxidant Activity, and Phenolic and Flavonoids Content of Wild Tragopogon porrifolius Plant Extracts, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016, 1-7.

Alam, M. A., Subhan, N., Awal, M. A., Alam, M. S., Sarder, M., Nahar, L. ve Sarker, S. D., 2009, Antinociceptive and anti-inflammatory properties of Ruellia tuberosa, *Pharmaceutical biology*, 47 (3), 209-214.

Alfirevic, A., Mills, T., Carr, D., Barratt, B. J., Jawaid, A., Sherwood, J., Smith, J. C., Tugwood, J., Hartkoorn, R., Owen, A., Park, K. B. ve Pirmohamed, M., 2007, Tacrine-induced liver damage: an analysis of 19 candidate genes, *Pharmacogenet Genomics*, 17 (12), 1091-1100.

Aliyu, A., Ibrahim, M. A., Musa, A., Musa, A., Kiplimo, J. ve Oyewale, A., 2013, Free radical scavenging and total antioxidant capacity of root extracts of Anchomanes Difformis ENGL. (ARACEAE), *Acta poloniae pharmaceutica*, 70, 115-121.

Alkadi, H., 2020, A review on free radicals and antioxidants, *Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)*, 20 (1), 16-26.

Antoniolli, A., Fontana, A. R., Piccoli, P. ve Bottini, R., 2015, Characterization of polyphenols and evaluation of antioxidant capacity in grape pomace of the cv. Malbec, *Food Chem*, 178, 172-178.

Aoki, K., Sato, H. ve Terauchi, Y., 2019, Usefulness of antidiabetic alpha-glucosidase inhibitors: a review on the timing of administration and effects on gut hormones, *Endocr J*, 66 (5), 395-401.

Apak, R., Güçlü, K., Ozyürek, M. ve Karademir, S. E., 2004, Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method, *J Agric Food Chem*, 52 (26), 7970-7981.

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir Çelik, S. ve Erçağ, E., 2006, The cupric ion reducing antioxidant capacity (CUPRAC) and polyphenolic content of some herbal teas, *International journal of food sciences and nutrition*, 57, 292-304.

Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Ozyürek, M., Celik, S. E., Bektaşoğlu, B., Berker, K. I. ve Ozyurt, D., 2007, Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay, *Molecules*, 12 (7), 1496-1547.

Athmouni, K., Belghith, T., Bellassouad, K., Feki, A. E. ve Ayadi, H., 2015, Effect of extraction solvents on the biomolecules and antioxidant properties of Scorzonera undulata (Asteraceae): Application of factorial design optimization phenolic extraction, *Acta Sci Pol Technol Aliment*, 14 (4), 313-330.

Balasundram, N., Sundram, K. ve Samman, S., 2006, Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses, *Food chemistry*, 99 (1), 191-203.

Baldwin, B. G., Goldman, D. H., Keil, D. J., Patterson, R., Rosatti, T. J. ve Vorobik, L. A., 2012, The Jepson manual: vascular plants of California, Univ of California Press, p.

Bartus, R. T., 2000, On neurodegenerative diseases, models, and treatment strategies: lessons learned and lessons forgotten a generation following the cholinergic hypothesis, *Exp Neurol*, 163 (2), 495-529.

Baştürk, A. ve Cavıdoğlu, İ., 2017, Evaluation of the effects of different factors on oxidation of soybean oil by response surface methodology, *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 27, 236-247.

Behra, M., Cousin, X., Bertrand, C., Vonesch, J. L., Biellmann, D., Chatonnet, A. ve Strähle, U., 2002, Acetylcholinesterase is required for neuronal and muscular development in the zebrafish embryo, *Nat Neurosci*, 5 (2), 111-118.

Bennun, L., Bakarr, M., Eken, G. ve Da Fonseca, G. A., 2007, Clarifying the key biodiversity areas approach, *BioScience*, 57 (8), 645-645.

Benzie, I. ve Devaki, M., 2017, The ferric reducing/antioxidant power (FRAP) assay for non-enzymatic antioxidant capacity: concepts, procedures, limitations and applications: Recent Trends and Applications, In, Eds, p. 77-106.

Benzie, I. F. ve Strain, J. J., 1996, The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay, *Analytical biochemistry*, 239 (1), 70-76.

Bhat, F. ve Riar, C., 2017, Extraction, identification and assessment of antioxidative compounds of bran extracts of traditional rice cultivars: An analytical approach, *Food chemistry*, 237.

Brogi, S., Butini, S., Maramai, S., Colombo, R., Verga, L., Lanni, C., De Lorenzi, E., Lamponi, S., Andreassi, M., Bartolini, M., Andrisano, V., Novellino, E., Campiani, G., Brindisi, M. ve Gemma, S., 2014, Disease-modifying anti-Alzheimer's drugs: inhibitors of human cholinesterases interfering with β-amyloid aggregation, *CNS neuroscience & therapeutics*, 20 (7), 624-632.

Bryanskii, O., Tolstikhina, V. ve Semenov, A., 1992, A glycoside of syringaresinol from a tissue culture of Scorsonera hispanica, *Chemistry of Natural Compounds*, 28 (5), 519-520.

Bueno, J., Ramos-Escudero, F., Sáez-Plaza, P., Muñoz, A., Navas, M. ve Garcia Asuero, A., 2012, Analysis and Antioxidant Capacity of Anthocyanin Pigments. Part I: General Considerations Concerning Polyphenols and Flavonoids, *Critical Reviews in Analytical Chemistry - CRIT REV ANAL CHEM*, 42, 102-125.

Burton, G. W. ve Traber, M. G., 1990, Vitamin E: antioxidant activity, biokinetics, and bioavailability, *Annual review of nutrition*, 10 (1), 357-382.

Cade, W. T., 2008, Diabetes-related microvascular and macrovascular diseases in the physical therapy setting, *Phys Ther*, 88 (11), 1322-1335.

Cai, Y., Luo, Q., Sun, M. ve Corke, H., 2004, Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer, *Life sciences*, 74 (17), 2157-2184.

Carocho, M. ve Ferreira, I. C., 2013, A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives, *Food and chemical toxicology*, 51, 15-25.

Chamberlain, R., 1975, British Births 1970: Chamberlain, R. The first week of life, John Wiley & Sons, p.

Committee, E. S., 2012, Guidance on selected default values to be used by the EFSA Scientific Committee, Scientific Panels and Units in the absence of actual measured data, *EFSA journal*, 10 (3), 2579.

Crismon, M. L., 1994, Tacrine: first drug approved for Alzheimer's disease, *Ann Pharmacother*, 28 (6), 744-751.

Darvesh, S., Cash, M. K., Reid, G. A., Martin, E., Mitnitski, A. ve Geula, C., 2012, Butyrylcholinesterase is associated with β-amyloid plaques in the transgenic APPSWE/PSEN1dE9 mouse model of Alzheimer disease, *J Neuropathol Exp Neurol*, 71 (1), 2-14.

Davies, J. M. S., Cillard, J., Friguet, B., Cadenas, E., Cadet, J., Cayce, R., Fishmann, A., Liao, D., Bulteau, A. L., Derbré, F., Rébillard, A., Burstein, S., Hirsch, E., Kloner, R. A., Jakowec, M., Petzinger, G., Sauce, D., Sennlaub, F., Limon, I., Ursini, F., Maiorino, M., Economides, C., Pike, C. J., Cohen, P., Salvayre, A. N., Halliday, M. R., Lundquist, A. J., Jakowec, N. A., Mechta-Grigoriou, F., Mericskay, M., Mariani, J., Li, Z., Huang, D., Grant, E., Forman, H. J., Finch, C. E., Sun, P. Y., Pomatto, L. C. D., Agbulut, O., Warburton, D., Neri, C., Rouis, M., Cillard, P., Capeau, J., Rosenbaum, J. ve Davies, K. J. A., 2017, The Oxygen Paradox, the French Paradox, and age-related diseases, *GeroScience*, 39 (5-6), 499-550.

Davies, K. J., 2016, The oxygen paradox, oxidative stress, and ageing, *Archives of biochemistry and biophysics*, 595, 28-32.

Decker, H. ve van Holde, K. E., 2011, Coping with Oxygen, In: Oxygen and the Evolution of Life, Eds: Springer, p. 43-59.

Dehghani, Z., Khoshneviszadeh, M., Khoshneviszadeh, M. ve Ranjbar, S., 2019, Veratric acid derivatives containing benzylidene-hydrazine moieties as promising tyrosinase inhibitors and free radical scavengers, *Bioorganic & medicinal chemistry*, 27 (12), 2644-2651.

Deliorman Orhan, D., Senol, F., Hosbas Coskun, S. ve Erdogan Orhan, I., 2014, Assessment of cholinesterase and tyrosinase inhibitory and antioxidant properties of Viscum album L. samples collected from different host plants and its two principal substances, *Industrial crops and products*, 62, 341–349.

Dhouafli, Z., Rigacci, S., Leri, M., Bucciantini, M., Mahjoub, B., Tounsi, M. S., Wannes, W. A., Stefani, M. ve Hayouni, E. A., 2018, Screening for amyloid-β aggregation inhibitor and neuronal toxicity of eight Tunisian medicinal plants, *Industrial crops and products*, 111, 823-833.

Dias, C. ve Rauter, A., 2015, Carbohydrates and glycomimetics in Alzheimer's disease therapeutics and diagnosis, *RSC Drug Discovery Series*, 2015, 180-208.

Diplock, A., Charuleux, J.-L., Crozier-Willi, G., Kok, F., Rice-Evans, C., Roberfroid, M., Stahl, W. ve Vina-Ribes, J., 1998, Functional food science and defence against reactive oxidative species, *British journal of nutrition*, 80 (S1), S77-S112.

Ekşi, A. ve Karadeniz, F., 2002, Fenoliklerin gıda bileşeni olarak önemi, *Dünya Gıda*, 4, 64-70.

Elmore, B. O., 2002, Characterization of recombinant human kidney diamine oxidase and equine plasma amine oxidase, *Montana State University-Bozeman, College of Letters & Science*.

Erden, Y., Kırbağ, S. ve Yılmaz, Ö., 2013, Phytochemical composition and antioxidant activity of some Scorzonera species, *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 83 (2), 271-276.

Etxeberria, U., de la Garza, A. L., Campión, J., Martinez, J. A. ve Milagro, F. I., 2012, Antidiabetic effects of natural plant extracts via inhibition of carbohydrate hydrolysis enzymes with emphasis on pancreatic alpha amylase, *Expert opinion on therapeutic targets*, 16 (3), 269-297.

Farlow, M. R., 2003, Clinical pharmacokinetics of galantamine, *Clin Pharmacokinet*, 42 (15), 1383-1392.

Forsyth, E. ve Ritzline, P. D., 1998, An overview of the etiology, diagnosis, and treatment of Alzheimer disease, *Phys Ther*, 78 (12), 1325-1331.

Francis, P. T., Palmer, A. M., Snape, M. ve Wilcock, G. K., 1999, The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress, *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 66 (2), 137-147.

Ghiselli, A., Serafini, M., Natella, F. ve Scaccini, C., 2000, Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data, *Free Radical Biology and Medicine*, 29 (11), 1106-1114.

Gold, C. A. ve Budson, A. E., 2008, Memory loss in Alzheimer's disease: implications for development of therapeutics, *Expert Rev Neurother*, 8 (12), 1879-1891.

Granica, S., Lohwasser, U., Jöhrer, K. ve Zidorn, C., 2015, Qualitative and quantitative analyses of secondary metabolites in aerial and subaerial of Scorzonera hispanica L. (black salsify), *Food Chem*, 173, 321-331.

Gregory, J. M., Moore, D. J. ve Simmons, J. H., 2013, Type 1 diabetes mellitus, *Pediatr Rev*, 34 (5), 203-215.

Gupta, A. ve Gupta, R., 1997, A survey of plants for presence of cholinesterase activity, *Phytochemistry*, 46 (5), 827-831.

habiba, d., Khennouf, S. ve Bouaziz, A., 2020, Antioxidant activity and phenolic content of commonly consumed fruits and vegetables in Algeria, *Progress in Nutrition*, 20, 224-235.

Halliwell, B. ve Gutteridge, J. M., 1985, The importance of free radicals and catalytic metal ions in human diseases, *Mol Aspects Med*, 8 (2), 89-193.

Halliwell, B. ve Gutteridge, J. M., 1990, [1] Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview, In: Methods in enzymology, Eds: Elsevier, p. 1-85.

Halliwell, B., 1999, Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning), *Free radical research*, 31 (4), 261-272.

Halliwell, B., 2007, Oxidative stress and cancer: have we moved forward?, *Biochemical Journal*, 401 (1), 1-11.

Halliwell, B., 2012, Free radicals and antioxidants: updating a personal view, *Nutrition reviews*, 70 (5), 257-265.

Hebb, C., 1972, Biosynthesis of acetylcholine in nervous tissue, *Physiol Rev*, 52 (4), 918-957.

Heinrich, M., 2004, Galanthamine from snowdrop?the development of a modern drug against Alzheimer?s disease from local Caucasian knowledge, *Journal of ethnopharmacology*, 92, 147-162.

Heo, S. J., Hwang, J. Y., Choi, J. I., Han, J. S., Kim, H. J. ve Jeon, Y. J., 2009, Diphlorethohydroxycarmalol isolated from Ishige okamurae, a brown algae, a potent alpha-glucosidase and alpha-amylase inhibitor, alleviates postprandial hyperglycemia in diabetic mice, *Eur J Pharmacol*, 615 (1-3), 252-256.

Hippius, H. ve Neundörfer, G., 2003, The discovery of Alzheimer's disease, *Dialogues Clin Neurosci*, 5 (1), 101-108.

Hogan, D. B., 2007, Progress update: Pharmacological treatment of Alzheimer's disease, *Neuropsychiatr Dis Treat*, 3 (5), 569-578.

Huang, D., Ou, B. ve Prior, R. L., 2005, The chemistry behind antioxidant capacity assays, *J Agric Food Chem*, 53 (6), 1841-1856.

Huang, E. S., Brown, S. E., Ewigman, B. G., Foley, E. C. ve Meltzer, D. O., 2007, Patient perceptions of quality of life with diabetes-related complications and treatments, *Diabetes Care*, 30 (10), 2478-2483.

Kahkönen, P., Hakanpaa, P. ve Tuorılla, H., 1999, The effect of information related to fat content and taste on consumer responses to a reduced- fat frankfurter and a reduced- fat chocolate bar, *Journal of sensory studies*, 14 (1), 35-46.

Kaliora, A. C. ve Dedoussis, G. V., 2007, Natural antioxidant compounds in risk factors for CVD, *Pharmacological Research*, 56 (2), 99-109.

Karamian, R. ve Asadbegy, M., 2016, Antioxidant Activity, Total Phenolic and Flavonoid Contents of Three Onobrychis Species from Iran, *Pharmaceutical Sciences*, 22.

Kaur, C. ve Kapoor, H. C., 2001, Antioxidants in fruits and vegetables–the millennium's health, *International journal of food science & technology*, 36 (7), 703-725.

Kim, Y.-J. ve Uyama, H., 2005, Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: structure, inhibition mechanism and perspective for the future, *Cellular and molecular life sciences CMLS*, 62 (15), 1707-1723.

Krishnaiah, D., Bono, A., Sarbatly, R. ve Anisuzzaman, S. M., 2013, Antioxidant activity and total phenolic content of an isolated Morinda citrifolia L. Methanolic extract from Poly-ethersulphone (PES) membrane separator, *Journal of King Saud University - Engineering Sciences*, 27.

Kryger, G., Silman, I. ve Sussman, J. L., 1999, Structure of acetylcholinesterase complexed with E2020 (Aricept): implications for the design of new anti-Alzheimer drugs, *Structure*, 7 (3), 297-307.

Kshirsagar, R., Kulkarni, A., Chouthe, R., Pathan, S., Une, H., Reddy, G., Diwan, P., Ansari, S. a. ve Sangshetti, J., 2020, SGLT inhibitors as antidiabetic agents: A comprehensive review, *RSC Advances*, 10, 1733-1756.

Kuru, İ., Orcan, P., Akbaş, F., Işıkalan, Ç. ve Namli, S., 2017, The Evaluation of Total Phenolic, Flavonoid, Sugar Contents and Antioxidant Activity of Tayfi Grape in Turkey.

Labrou, N., 2020, Targeting Enzymes for Pharmaceutical Development Methods and Protocols: Methods and Protocols, p.

Lankatillake, C., Huynh, T. ve Dias, D. A., 2019, Understanding glycaemic control and current approaches for screening antidiabetic natural products from evidence-based medicinal plants, *Plant Methods*, 15, 105.

Leicach, S. R. ve Chludil, H. D., 2014, Plant secondary metabolites: Structure–activity relationships in human health prevention and treatment of common diseases, In: Studies in natural products chemistry, Eds: Elsevier, p. 267-304.

Li, Q., Tu, Y., Zhu, C., Luo, W., Huang, W., Liu, W. ve Li, Y., 2017, Cholinesterase, β-amyloid aggregation inhibitory and antioxidant capacities of Chinese medicinal plants, *Industrial crops and products*, 108, 512-519.

Li, W., Risacher, S. L., Gao, S., Boehm, S. L., Elmendorf, J. S., Saykin, A. J. ve Initiative, A. s. D. N., 2018, Type 2 diabetes mellitus and cerebrospinal fluid Alzheimer's disease biomarker amyloid β1- 42 in Alzheimer's disease neuroimaging initiative participants, *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*, 10 (C), 94-98.

Liang, S.-S., Shiue, Y.-L., Kuo, C. J., Guo, S.-E., Liao, W.-T. ve Tsai, E., 2013, Online Monitoring Oxidative Products and Metabolites of Nicotine by Free Radicals Generation with Fenton Reaction in Tandem Mass Spectrometry, *TheScientificWorldJournal*, 2013, 189162.

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. ve Chandra, N., 2010, Free radicals, antioxidants and functional foods: impact on human health. Pharmacogn Rev 4:118-126, *Pharmacognosy reviews*, 4, 118-126.

Maddi, R., Devilal, K., Babu, S. ve Harika, P., 2017, In-vitro MABA anti-tuberculosis assay of Eclipta Alba (L.) Hassk whole plant, *The Pharma Innovation*, 6 (5, Part B), 103.

Mahdi, S., Azzi, R. ve Lahfa, F. B., 2020, Evaluation of in vitro α-amylase and α-glucosidase inhibitory potential and hemolytic effect of phenolic enriched fractions of the aerial part of Salvia officinalis L, *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 14 (4), 689-694.

Maheshwari, A. ve Ranka, S., 2018, Drug-Induced Liver Disease, In, Eds, p. 1524-1532.

Mahmoud, B. H., Hexsel, C. L., Hamzavi, I. H. ve Lim, H. W., 2008, Effects of visible light on the skin, *Photochem Photobiol*, 84 (2), 450-462.

Mariutti, L. R. B., Nogueira, G. C. ve Bragagnolo, N., 2011, Lipid and cholesterol oxidation in chicken meat are inhibited by sage but not by garlic, *Journal of food science*, 76 (6), C909-C915.

Maurya, P. K. ve Chandra, P., 2017, Oxidative stress: diagnostic methods and applications in medical science, Springer, p.

Meetoo, D., 2014, Diabetes Complications and the economic burden, *British Journal of Healthcare Management*, 20.

Mekinić, I. G., Burcul, F., Blazević, I., Skroza, D., Kerum, D. ve Katalinić, V., 2013, Antioxidative/acetylcholinesterase inhibitory activity of some Asteraceae plants, *Nat Prod Commun*, 8 (4), 471-474.

Mendes, A. L., Miot, H. A. ve Haddad Junior, V., 2017, Diabetes mellitus and the skin, *Anais brasileiros de dermatologia*, 92 (1), 8-20.

Milkovic, L., Cipak Gasparovic, A., Cindric, M., Mouthuy, P.-A. ve Zarkovic, N., 2019, Short overview of ROS as cell function regulators and their implications in therapy concepts, *Cells*, 8 (8), 793.

Mintah, S. O., Asafo-Agyei, T., Archer, M.-A., Junior, P. A.-A., Boamah, D., Kumadoh, D., Appiah, A., Ocloo, A., Boakye, Y. D. ve Agyare, C., 2019, Medicinal plants for treatment of prevalent diseases, In: Pharmacognosy-Medicinal Plants, Eds: IntechOpen, p.

Missoun, F., Fatma, B., nesrine ouda, A. ve Djebli, N., 2018, Antidiabetic bioactive compounds from plants.

Mohamed, M. A. E., Abdel-Rahman, R. F., Mahmoud, S. S., Khattab, M. M. ve Safar, M. M., 2020, Metformin and trimetazidine ameliorate diabetes-induced

cognitive impediment in status epileptic rats, *Epilepsy Behav*, 104 (Pt A), 106893.

Mojzer, E., Knez hrncic, M., Škerget, M., Knez, Ž. ve Bren, U., 2016, Polyphenols: Extraction Methods, Antioxidative Action, Bioavailability and Anticarcinogenic Effects, *Molecules*, 21, 901.

Mukherjee, P., Biswas, R., Sharma, A., Banerjee, S., Biswas, S. ve Katiyar, C., 2018, Validation of Medicinal Herbs for Anti-tyrosinase Potential, *Journal of Herbal Medicine*.

Mukherjee, P., 2019, Quality Control and Evaluation of Herbal Drugs, Elsevier https://www.elsevier.com/books/quality-control-and-evaluation-of-herbal-drugs/mukherjee/978-0-12-813374-3, p.

Nina, N., Theoduloz, C., Giménez, A. ve Schmeda-Hirschmann, G., 2020, Phenolics from the Bolivian highlands food plant Ombrophytum subterraneum (Aspl.) B. Hansen (Balanophoraceae): Antioxidant and α-glucosidase inhibitory activity, *Food Research International*, 137, 109382.

Novo, E. ve Parola, M., 2008, Redox mechanisms in hepatic chronic wound healing and fibrogenesis, *Fibrogenesis Tissue Repair*, 1 (1), 5.

Nyenwe, E. A., Jerkins, T. W., Umpierrez, G. E. ve Kitabchi, A. E., 2011, Management of type 2 diabetes: evolving strategies for the treatment of patients with type 2 diabetes, *Metabolism*, 60 (1), 1-23.

of the International, I. P. T., Maitra, A., Biswas, N. K., Amin, K., Kowtal, P., Kumar, S., Das, S., Sarin, R., Majumder, P. P. ve Bagchi, I., 2013, Mutational landscape of gingivo-buccal oral squamous cell carcinoma reveals new recurrently-mutated genes and molecular subgroups, *Nature communications*, 4, 2873.

Orhan, I. E., Belhattab, R., Şenol, F. S., Gülpinar, A. R., Hoşbaş, S. ve Kartal, M., 2010, Profiling of cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of Artemisia absinthium, A. herba-alba, A. fragrans, Marrubium vulgare, M. astranicum, Origanum vulgare subsp. glandulossum and essential oil analysis of two Artemisia species, *Industrial crops and products*, 32 (3), 566-571.

Öksüz, S., Gören, N. ve Ulubelen, A., 1990, Terpenoids from Scorzonera tomentosa, *Fitoterapia*, 61 (1), 92-93.

Parim, B., Sathibabu Uddandrao, V. V. ve Saravanan, G., 2019, Diabetic cardiomyopathy: molecular mechanisms, detrimental effects of conventional treatment, and beneficial effects of natural therapy, *Heart Fail Rev*, 24 (2), 279-299.

Pehlivan, M. ve Sevindik, M., 2018, Antioxidant and antimicrobial activities of Salvia multicaulis, *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 6 (5), 628-631.

Petersen, F. ve Amstutz, R., 2008, Natural compounds as drugs, Springer Science & Business Media, p.

Petrovska, B. B., 2012, Historical review of medicinal plants' usage, *Pharmacognosy reviews*, 6 (11), 1.

Pezzementi, L., Nachon, F. ve Chatonnet, A., 2011, Evolution of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in the vertebrates: an atypical butyrylcholinesterase from the Medaka Oryzias latipes, *PLoS One*, 6 (2), e17396.

Pohanka, M., 2011, Cholinesterases, a target of pharmacology and toxicology, *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 155 (3), 219-229.

Pokorný, J., 1991, Natural antioxidants for food use, *Trends in Food Science & Technology*, 2, 223-227.

Polinsky, R. J., 1998, Clinical pharmacology of rivastigmine: a new-generation acetylcholinesterase inhibitor for the treatment of Alzheimer's disease, *Clin Ther*, 20 (4), 634-647.

Prior, R. ve Cao, G., 1999, Assessing antioxidant capacity in plant foods, *Free Radical Biology and Medicine*, S11-S11.

Puddu, P., Puddu, G. M., Cravero, E., Rosati, M. ve Muscari, A., 2008, The molecular sources of reactive oxygen species in hypertension, *Blood Pressure*, 17 (2), 70-77.

Pulido, R., Bravo, L. ve Saura-Calixto, F., 2000, Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay, *Journal of agricultural and food chemistry*, 48 (8), 3396-3402.

Quettier-Deleu, C., Gressier, B., Vasseur, J., Dine, T., Brunet, C., Luyckx, M., Cazin, M., Cazin, J. C., Bailleul, F. ve Trotin, F., 2000, Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench) hulls and four, *Journal of ethnopharmacology*, 72, 35-42.

Rahman, A.-u. ve Choudhary, M. I., 2015, Drug Design and Discovery in Alzheimer's Disease, p.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. ve Rice-Evans, C., 1999, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radic Biol Med*, 26 (9-10), 1231-1237.

Rice-Evans, C., Miller, N. ve Paganga, G., 1997, Antioxidant properties of phenolic compounds, *Trends in plant science*, 2 (4), 152-159.

Rosini, M., Simoni, E., Bartolini, M., Cavalli, A., Ceccarini, L., Pascu, N., McClymont, D. W., Tarozzi, A., Bolognesi, M. L., Minarini, A., Tumiatti, V., Andrisano, V., Mellor, I. R. ve Melchiorre, C., 2008, Inhibition of acetylcholinesterase, beta-amyloid aggregation, and NMDA receptors in Alzheimer's disease: a promising direction for the multi-target-directed ligands gold rush, *J Med Chem*, 51 (15), 4381-4384.

Rosini, M., Simoni, E., Minarini, A. ve Melchiorre, C., 2014, Multi-target design strategies in the context of Alzheimer's disease: acetylcholinesterase inhibition and NMDA receptor antagonism as the driving forces, *Neurochem Res*, 39 (10), 1914-1923.

Sánchez-Rangel, J. C., Benavides, J., Heredia, J. B., Cisneros-Zevallos, L. ve Jacobo-Velázquez, D. A., 2013, The Folin–Ciocalteu assay revisited: improvement of its specificity for total phenolic content determination, *Analytical Methods*, 5 (21), 5990-5999.

Sarı, A., Zidorn, C., Ellmerer, E. P., Özgökçe, F., Ongania, K. H. ve Stuppner, H., 2007, Phenolic compounds from Scorzonera tomentosa L, *Helvetica Chimica Acta*, 90 (2), 311-317.

sarı, A., Şahin, H. ve Özsoy, N., 2017, Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Scorzonera pygmaea Sibth.& Sm. Subaerial Parts. GA-2017, Planta Medica International Open. 4.

Sarı, A., Şahin, H., Özsoy, N. ve Çelik, B. Ö., 2019, Phenolic compounds and in vitro antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial activities of Scorzonera hieraciifolia Hayek roots, *South African Journal of Botany*, 125, 116-119.

Sarikurkcu, C., Andrade, J. C., Ozer, M. S., de Lima Silva, J. M. F., Ceylan, O., de Sousa, E. O. ve Coutinho, H. D. M., 2020, LC-MS/MS profiles and interrelationships between the enzyme inhibition activity, total phenolic content and antioxidant potential of Micromeria nervosa extracts, *Food chemistry*, 328, 126930.

Sarkar, S., Zaidi, S., Chaturvedi, A., Srivastava, R., Dwivedi, P. ve Shukla, R., 2015, Search for a herbal medicine: anti-asthmatic activity of methanolic extract of curcuma longa, *J Pharmacogn Phytochem*, 3, 59-72.

Schmidt, B. M. ve Cheng, D. M. K., 2017, Ethnobotany: A Phytochemical Perspective, John Wiley & Sons, p.

Scotti, L., Scotti, M. T., Ishiki, H. M., Ferreira, M. J., Emerenciano, V. P., Menezes, C. M. d. S. ve Ferreira, E. I., 2007, Quantitative elucidation of the structure–bitterness relationship of cynaropicrin and grosheimin derivatives, *Food chemistry*, 105 (1), 77-83.

Sethiya, N., Trivedi, A. ve Mishra, S., 2014, The total antioxidant content and radical scavenging investigation on 17 phytochemical from dietary plant sources used globally as functional food, *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 4, 439-444.

Sharififar, F., Moshafi, M., Shafazand, E. ve Koohpayeh, A., 2012, Acetyl cholinesterase inhibitory, antioxidant and cytotoxic activity of three dietary medicinal plants, *Food chemistry*, 130, 20–23.

Sharma, P., Srivastava, P., Seth, A., Tripathi, P. N., Banerjee, A. G. ve Shrivastava, S. K., 2019, Comprehensive review of mechanisms of pathogenesis involved in Alzheimer's disease and potential therapeutic strategies, *Prog Neurobiol*, 174, 53-89.

Shetab-Boushehri, S., 2018, Ellman's method is still an appropriate method for measurement of cholinesterases activities, *EXCLI Journal*, 17, 798-799.

Shrestha, P. M. ve Dhillion, S. S., 2003, Medicinal plant diversity and use in the highlands of Dolakha district, Nepal, *Journal of ethnopharmacology*, 86 (1), 81-96.

Sies, H. ve Sies, H., 1985, Oxidative stress: introductory remarks Oxidative Stress, *New York Academic Journal*, 5, 1-8.

Stevens, P. F., 2001, onwards. Angiosperm Phylogeny Website. Version 9, *http://www. mobot. org/MOBOT/research/APweb/*.

Sut, S., Dall'Acqua, S., Ibrahime Sinan, K., Bene, K., Kumar, G., Fawzi Mahomoodally, M., Picot-Allain, C. ve Zengin, G., 2020, Cola caricifolia (G.Don) K. Schum and Crotalaria retusa L. from Ivory Coast as sources of bioactive constituents, *Industrial crops and products*, 147, 112246.

Taylor, P., 1998, Development of acetylcholinesterase inhibitors in the therapy of Alzheimer's disease, *Neurology*, 51 (1 Suppl 1), S30-35; discussion S65-37.

Thannickal, V. J., 2009, Oxygen in the evolution of complex life and the price we pay, American Thoracic Society.

Thompson, P., Wright, D., Counsell, C. ve Zajicek, J., 2011, Statistical analysis, trial design and duration in Alzheimer's disease clinical trials: A review, *International psychogeriatrics / IPA*, 24, 689-697.

Tiseo, P. J., Rogers, S. L. ve Friedhoff, L. T., 1998, Pharmacokinetic and pharmacodynamic profile of donepezil HCl following evening administration, *Br J Clin Pharmacol*, 46 Suppl 1 (Suppl 1), 13-18.

Tiwari, N., Thakur, A. K., Kumar, V., Dey, A. ve Kumar, V., 2014, Therapeutic targets for diabetes mellitus: an update, *Clinical Pharmacology & Biopharmaceutics*, 3 (1), 1-10.

Tripathi, A., Choubey, P. K., Sharma, P., Seth, A., Tripathi, P. N., Tripathi, M. K., Prajapati, S. K., Krishnamurthy, S. ve Shrivastava, S. K., 2019, Design and development of molecular hybrids of 2-pyridylpiperazine and 5-phenyl-1,3,4-oxadiazoles as potential multifunctional agents to treat Alzheimer's disease, *Eur J Med Chem*, 183, 111707.

Turner, N., Zeng, X.-Y., Osborne, B., Rogers, S. ve Ye, J.-M., 2016, Repurposing drugs to target the diabetes epidemic, *Trends in pharmacological sciences*, 37 (5), 379-389.

Uttara, B., Singh, A. V., Zamboni, P. ve Mahajan, R., 2009, Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options, *Current neuropharmacology*, 7 (1), 65-74.

Valco, M., Leibfritz, D., Cronin, M. T. D. ve Mazur, M. J., 2007, Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, *Int J Biochem Cell Biol*, 39, 44-84.

van de Laar, F. A., 2008, Alpha-glucosidase inhibitors in the early treatment of type 2 diabetes, *Vascular health and risk management*, 4 (6), 1189.

Whitehead, A., Perdomo, C., Pratt, R. D., Birks, J., Wilcock, G. K. ve Evans, J. G., 2004, Donepezil for the symptomatic treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a meta-analysis of individual patient data from randomised controlled trials, *Int J Geriatr Psychiatry*, 19 (7), 624-633.

Whitehouse, P. J., Price, D. L., Struble, R. G., Clark, A. W., Coyle, J. T. ve Delon, M. R., 1982, Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurons in the basal forebrain, *Science*, 215 (4537), 1237-1239.

Willcox, J. K., Ash, S. L. ve Catignani, G. L., 2004, Antioxidants and prevention of chronic disease, *Critical reviews in food science and nutrition*, 44 (4), 275-295.

Wu, L., Chen, C., Cheng, C., Dai, H., Ai, Y., Lin, C. ve Chung, Y., 2018, Evaluation of Tyrosinase Inhibitory, Antioxidant, Antimicrobial, and Antiaging Activities of Magnolia officinalis Extracts after Aspergillus niger Fermentation, *BioMed Research International*, 2018, 5201786.

Yang, J., Zhang, G., Dong, D. ve Shang, P., 2018, Effects of Iron Overload and Oxidative Damage on the Musculoskeletal System in the Space Environment: Data from Spaceflights and Ground-Based Simulation Models, *Int J Mol Sci*, 19 (9).

Yang, L.-W. ve Bahar, I., 2005, Coupling between catalytic site and collective dynamics: a requirement for mechanochemical activity of enzymes, *Structure*, 13 (6), 893-904.

Yatoo, M. I., Saxena, A., Gopalakrishnan, A., Alagawany, M. ve Dhama, K., 2017, Promising antidiabetic drugs, medicinal plants and herbs: An update, *International Journal of Pharmacology*, 13 (7), 732-745.

Yogamaya, D., Deo, B. ve Sahu, R., 2014, Correlation between antioxidant activity and phenolic content of Curcuma angustifolia Roxb, *Research Journal of Biotechnology*, 9, 55-59.

Zaharudin, N., Salmeán, A. A. ve Dragsted, L. O., 2018, Inhibitory effects of edible seaweeds, polyphenolics and alginates on the activities of porcine pancreatic α-amylase, *Food chemistry*, 245, 1196-1203.

Zaidi, H., Ouchemoukh, S., Amessis-Ouchemoukh, N., Debbache, N., Pacheco, R., Serralheiro, M. L. ve Araujo, M. E., 2019, Biological properties of phenolic compound extracts in selected Algerian honeys—The inhibition of acetylcholinesterase and α-glucosidase activities, *European Journal of Integrative Medicine*, 25, 77-84.

Zengin, G., Uysal, A., Diuzheva, A., Gunes, E., Jekő, J., Cziáky, Z., Picot-Allain, C. M. N. ve Mahomoodally, M. F., 2018, Characterization of phytochemical components of Ferula halophila extracts using HPLC-MS/MS and their pharmacological potentials: A multi-functional insight, *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 160, 374-382.

Zidorn, C., Ellmerer-Müller, E. ve Stuppner, H., 2000, Sesquiterpenoids from Scorzonera hispanica L, *Pharmazie*, 55 (7), 550-551.

Ziegler, D., Hanefeld, M., Ruhnau, K. J., Meissner, H. P., Lobisch, M., Schütte, K. ve Gries, F. A., 1995, Treatment of symptomatic diabetic peripheral neuropathy with the anti-oxidant alpha-lipoic acid. A 3-week multicentre randomized controlled trial (ALADIN Study), *Diabetologia*, 38 (12), 1425-1433.

Zolghadri, S., Bahrami, A., Khan, M. T. H., Muñoz, J., Garcia-Molina, F., Canovas, G. ve Saboury, A., 2019, A comprehensive review on tyrosinase inhibitors, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 34, 279-309.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Güneş AK
Uyruğu : T.C
Doğum Yeri ve Tarihi : Erzurum 13.10.1995
Telefon : 05388230689
Faks :
e-mail : akguneselcuk@gmail.com

EĞİTİM

Derece		Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	:	Hasan Basri Anadolu İmam-Hatip Lisesi, Yakutiye, Erzurum	2014
Üniversite	:	Selçuk Üniversitesi, Selçuklu, Konya	2018
Yüksek Lisans	:	Selçuk Üniversitesi, Selçuklu, Konya	2020
Doktora	:		

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi

UZMANLIK ALANI

YABANCI DİLLER: İngilizce

YAYINLAR

1. Carradori, S., Cairone, F., Garzoli, S., Fabrizi, G., Iazzetti, A., Giusti, A. M., Menghini, L., Uysal, S., **Ak, G.**, Zengin, G., & Cesa, S. (2020). Phytocomplex Characterization and Biological Evaluation of Powdered Fruits and Leaves from *Elaeagnus angustifolia*. *Molecules*, *25*(9), 2021

2. Senizza, B., Rocchetti, G., Okur, M. A., Zengin, G., Yıldıztugay, E., **Ak, G**., Montesano, D., & Lucini, L. (2020). Phytochemical Profile and Biological Properties of *Colchicum triphyllum* (Meadow Saffron). *Foods*, *9*(4), 457.

3. Della Valle, A., Dimmito, M. P., Zengin, G., Pieretti, S., Mollica, A., Locatelli, M., Cichelli, A., Novellino, E., **Ak, G**., Yerlikaya, S., Baloglu, M. C., Altunoglu, Y. C., & Baloglu, M. C. (2020). Exploring the Nutraceutical Potential of Dried Pepper *Capsicum annuum* L. on Market from Altino in Abruzzo Region. *Antioxidants*, *9*(5), 400.

4. Giacomo, V. D., Chiavaroli, A., Recinella, L., Orlando, G., Cataldi, A., Rapino, M., Valerio, V. D., Ronci, M., Leone, S., Brunetti, L., Menghini, L., Zengin, G., **Ak, G**., Abdallah, H. H., & Ferrante, C., (2020). Antioxidant and Neuroprotective Effects Induced by Cannabidiol and Cannabigerol in Rat CTX-TNA2 Astrocytes and Isolated Cortexes. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(10), 3575.

5. Orlando, G., Recinella, L., Chiavaroli, A., Brunetti, L., Leone, S., Carradori, S., Simone, S. D., Ciferri, M. C., Zengin, G., **Ak, G**., Cordisco, E., Sortino, M., Stevaz, L., Politi, M., Angelini, P., Covino, S., Venaanzoni, R., Cesa, S., Menghini, L., Clouido, F., & Abdullah, H. H. (2020). Water Extract from Inflorescences of Industrial Hemp Futura 75 Variety as a Source of Anti-Inflammatory, Anti-Proliferative and Antimycotic Agents: Results from In Silico, *In Vitro* and Ex Vivo Studies. *Antioxidants*, *9*(5), 437.

6. Mahomoodally, M. F., Picot-Allain, M. C. N., Zengin, G., Llorent-Martínez, E. J., Abdullah, H. H., **Ak, G**., Senkardes, I., Chiavaroli, A., Menghini, L., Recinella, L., Leone, S., Orlando, G., Ferrante, C., & Brunetti, L. (2020). Phytochemical Analysis, Network Pharmacology and in Silico Investigations on *Anacamptis pyramidalis* Tuber Extracts. *Molecules*, *25*(10), 2422.

7. Zhang, L., Rochetti, G., Zengin, **G., Ak**, G., Yildiztugay, E., Mahommoodally, F. M., Picot, C., & Luicini, L., Profiling of polyphenols and sesquiterpenoids using different extraction methods in *Muscari turcicum*, an endemic plant from Turkey. (2020) *Industrial Crops and Products…*

8. Zengin, G., Sinan, K. I., **Ak, G**., Mahomoodally, M. F., Paksoy, M. Y., Picot-Allain, C. & Rodrigues, M. J. (2020). Chemical profile, antioxidant, antimicrobial, enzyme inhibitory, and cytotoxicity of seven Apiaceae species from Turkey: A comparative study. Industrial Crops and Products, 153, 112572.

9. Dall'Acqua, S., **Ak, G.,** Sut, S., Zengin, G., Yıldıztugay, E., Mahomoodally, M. F & Lobine, D. (2020). Comprehensive bioactivity and chemical characterization of the endemic plant *Scorzonera hieraciifolia* Hayek extracts: A promising source of bioactive compounds. Food Research International, 109371.

10. Stefanucci, A., Zengin, G., Martınez, E.J.L., Dimmito, M.P., Valle, A.D., Pieretti, S., **Ak, G.,** Ibrahime, S.K., Mollica, A. (2020). *Viscum album* L. homogenizer-assisted and ultrasound-assisted extracts as potential sources of bioactive compounds. Journal of Food Biochemistry. (In press)