

**EBER SARISI BİTKİSİNİN α -AMİLAZ, α -GLUKOZİDAZ,
TİROZİNAZ, ASETİLKOLİN ESTERAZ ENZİMLERİNİ
İNİBE EDİCİ ÖZELLİKLERİ İLE ESANSİYEL YAĞ
ASİDİ İÇERİĞİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mukhriddin SUYUNDİKOV

Danışman

Doç. Dr. Laçine AKSOY

KİMYA ANABİLİM DALI

Haziran 2020

Bu tez çalışması 19. FEN. BİL. 30 numaralı proje ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**EBER SARISI BİTKİSİNİN α -AMİLAZ, α -GLUKOZİDAZ,
TİROZİNAZ, ASETİLKOLİN ESTERAZ ENZİMLERİNİ
İNİBE EDİCİ ÖZELLİKLERİ İLE ESANSİYEL
YAĞ ASİDİ İÇERİĞİNİN BELİRLENMESİ**

Mukhriddin SUYUNDIKOV

Danışman

Doç. Dr. Laçine AKSOY

KİMYA ANABİLİM DALI

Haziran 2020

TEZ ONAY SAYFASI

Mukhriddin SUYUNDIKOV tarafından hazırlanan “Eber Sarısı Bitkisinin α -Amilaz, α -Glukozidaz, Tirozinaz, Asetilkolin Esteraz Enzimlerini İnhibe Edici Özellikleri ile Esansiyel Yağ Asidi İçeriğinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca 29 / 06 / 2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **oy birliği** ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Kimya Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Laçine AKSOY

Başkan : Dr. Öğr. Üyesi Yasemim S. KARAFAKIOĞLU
Uşak Üniversitesi, Eğitim Fakültesi

Üye : Doç. Dr. Laçine AKSOY
Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ahmet BÜYÜKBEN
Afyon Kocatepe Üniversitesi, Çay Meslek Yüksekokulu

Afyon Kocatepe Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun
..... /..... /..... tarih ve
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....
Prof. Dr. İbrahim EROL
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI
Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

29 / 06 / 2020

Mukhriddin SUYUNDIKOV

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

EBER SARISI BİTKİSİNİN α -AMİLAZ, α -GLUKOZİDAZ, TİROZİNAZ, ASETİLKOLİN ESTERAZ ENZİMLERİNİ İNİBE EDİCİ ÖZELLİKLERİ İLE ESANSİYEL YAĞ ASİDİ İÇERİĞİNİN BELİRLENMESİ

Mukhriddin SUYUNDİKOV

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Laçine AKSOY

Bu çalışmada Eber sarısı (*Thermopsis turcica*) endemik bitkisinin α -amilaz, α -glukozidaz, asetilkolin esteraz ve tirozinaz enzimlerini inhibe edici özellikleri ile esansiyel yağ asidi içeriğinin belirlenmiştir. α -amilaz, Caraway-Somoygi iyodür/potasyum iyodür yöntemi ile, α -glukozidaz Palanisamy yöntemi ile, asetilkolin esteraz enzimi Ellman yöntemi ile tirozinaz ise L-DOPA kullanılarak dopachrome yöntemi kullanılarak enzimlerin inhibiyon aktiviteleri belirlenmiştir. Esansiyel yağ asidi miktarı ve bileşenlerinin belirlenmesinde Clevenger cihazı kullanımı ile hidrodestilasyon işlemi (HD) uygulanmış ve GC-MS'de analiz edilmiştir. Bitki yağ asidi içeriğinde en fazla palmitik asit (% 51.8), miristik asit (% 17.5) ve heksahidrofarnesil aseton (% 5.3) bulunmuştur. Türün asetil kolin esteraz ve tirozinaz enzimlerine karşı inhibisyon aktivite göstermediği belirlenmiştir. Türün aseton ve dietil eter ekstresinin α -amilazı inhibe ettiği özellikler dietileter ekstresinin standart madde akarboz kadra inhibisyon aktivite sergilediği bulunmuştur. Bitkinin metanol ve aseton ekstralarının ise α -glukozidaz enzimini inhibe etkisinin yüksek olduğu görülmektedir. Nesli tükenme tehlikesinde olan bu değerli türün antidiyabetik etkilerini üzerine yapılacak çalışmalarla önem arz etmektedir.

2020, x + 67 sayfa

Anahtar Kelimeler: Eber sarısı, Enzim inhibisyonu, α -Amilaz, α -Glukozidaz, Tirozinaz, Asetilkolin esteraz, Esansiyel yağ.

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

DETERMINATION OF α -AMYLASE, α -GLUCOSIDASE, TYROSINASE, ACETYLCHOLINE ESTERASE ENZYME INHIBITORY PROPERTIES AND ESSENTIAL FATTY ACID CONTENT OF THE EBER SARISI PLANT

Mukhriddin SUYUNDIKOV

Afyon Kocatepe University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry

Supervisor: Assoc. Prof. Laçine AKSOY

In this study, the inhibitory properties of α -amylase, α -glucosidase, acetylcholine esterase and tyrosinase enzymes and essential fatty acid content of Eber Sarısı (*Thermopsis turcica*) endemic plant were determined. Inhibition activities of enzymes were determined by using α -amylase, Caraway-Somoygi iodide/potassium iodide method, α -glucosidase Palanisamy method, and acetylcholine esterase enzyme Ellman method and tyrosinase using L-DOPA dopachrome method. In determining the amount of essential fatty acid and its components, hydrodistillation process (HD) was applied with the use of Clevenger device and analyzed in GC-MS. Palmitic acid (51.8%), myristic acid (17.5%) and hexahydropharynyl acetone (5.3%) were the most abundant in plant fatty acid content. It has been determined that the species does not show inhibition activity against acetyl choline esterase and tyrosinase enzymes. Properties of the species that acetone and diethyl ether extract inhibit α -amylase. The diethylether extract has been found to exhibit standard substance acarbose dial inhibition activity. It is seen that the methanol and acetone extracts of the plant have a high effect on inhibiting α -glucosidase enzyme. It is important with the studies on the antidiabetic effects of this valuable species, which is in danger of extinction.

2020, x + 67 pages

Keywords: Eber sarısı, Enzyme inhibition, α -Amylase, α -Glycosidase, Tyrosinase, Acetylcholin esterase, Essential oil.

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim sürecinde, bilimsel çalışma yöntemleri ve disiplini ile örnek olan, Biyokimya ile ilgili bilgi ve tecrübeleri ile beni yönlendiren, bu araştırmanın konusu, tez çalışmamın her aşamasında değerli bilgilerini esirgemeyerek beni hep bir adım öne taşıyan, deneysel çalışmaların yönlendirilmesi, sonuçların değerlendirilmesi ve yazımı aşamasında yapmış olduğu büyük katkılarından dolayı, hem de manevi desteğini her zaman arkamda hissettiğim değerli hocam Sayın Doç. Dr. Laçine AKSOY'a, yüksek lisans öğrenimim boyunca ders aldığım, desteğini gördüğüm Doç. Dr. Ömer HAZMAN'a, bilimsel araştırma yöntemleri dersini aldığım ve tez çalışmam için gerekli kaynakların toplanması için bilgilerini paylaşan Doç. Dr. Sedat YURDAKAL'a, laboratuvar çalışmalarında hep yanımda yardımcı olan ve birlikte analizler yaptığımız Arş. Gör. Dr. Mürüvvet DÜZ'e, her konuda eleştirileriyle ve önerileriyle bana destek olan bölüm başkanıma ve çalışma arkadaşlarıma, yüksek lisans çalışmalarına finansal anlamda 19.FEN. BİL. 30 numaralı proje ile destekleyen Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na teşekkür ederim.

Bu öğrenim süreci boyunca, hayatımın her aşamasında, her şartta sevgi ve anlayışlarıyla, maddi ve manevi desteklerinden dolayı aileme teşekkür ederim.

Mukhriddin SUYUNDİKOV

Afyonkarahisar 2020

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
RESİMLER DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR BİLGİLERİ	5
2.1 Afyonkarahisar İlinde Yetişen Endemik Türler	5
2.2 <i>Fabaceae</i> Familyası.....	6
2.3 <i>Thermopsis</i> Cinsi.....	8
2.4 <i>Thermopsis turcica</i> Kit Tan, Vural & Küçüköyük.....	8
2.5 <i>Thermopsis turcica</i> (Eber sarısı) ile Yapılan Çalışmalar.....	10
2.6 Enzimler ve Fonksiyonları.....	11
2.6.1 Enzim Kaynakları	12
2.7 Enzim İnhibisyonu.....	12
2.7.1 Enzim İnhibisyon Türleri	13
2.7.1.1 Geri Dönüşümlü (Reversible) Enzim İnhibisyonu.....	13
2.7.1.2 Geri Dönüşümsüz (İrreversible) Enzim İnhibisyonu	15
2.8 Bitkisel İnhibitörler	15
2.8.1 α -Amilaz İnhibisyonu	16
2.8.2 α -Glukozidaz İnhibisyonu	19
2.8.3 Asetilkolin Esteraz İnhibisyonu.....	21
2.8.4 Tirozinaz İnhibisyonu	23
3. MATERYAL ve METOT	26
3.1 Materyal.....	26
3.1.1 Bitki Materyali.....	26
3.1.2 Bitki Ekstresinin Hazırlanması	26

3.1.3 Kullanılan Kimyasal Maddeler	27
3.1.4 Kullanılan Alet ve Cihazlar	27
3.2 Metot.....	28
3.2.1 α -Amilaz İnhibisyonunun Belirlenmesi	28
3.2.2 α -Glukozidaz İnhibisyonunun Belirlenmesi.....	29
3.2.3 Asetilkolin Esteraz İnhibisyonunun Belirlenmesi	31
3.2.4 Tirozinaz İnhibisyonunun Belirlenmesi	32
3.2.5 Esansiyel Yağ Asidi Miktarı ve Bileşenlerinin Belirlenmesi.....	32
3.3 İstatistiksel Analiz	33
4. BULGULAR.....	34
4.1 Eber Sarısının Farklı Çözücülerle Hazırlanan Ekstrelerinin α -Amilaz Enzimini İnhibe Edici Özellikleri.....	34
4.2 Eber Sarısının Farklı Çözücülerle Hazırlanan Ekstrelerinin α -Glukozidaz Enzimini İnhibe Edici Özellikleri	36
4.3 Eber Sarısının Farklı Çözücülerle Hazırlanan Ekstrelerinin Asetilkolin Esteraz Enzimini İnhibe Edici Özellikleri	37
4.4 Eber Sarısının Farklı Çözücülerle Hazırlanan Ekstrelerinin Tirozinaz Enzimini İnhibe Edici Özellikleri.....	39
4.5 <i>Thermopsis turcica</i> (Eber Sarısı) Endemik Türünün Uçucu Yağ Asidi İçeriği	42
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	44
6. KAYNAKLAR	54
ÖZGEÇMİŞ.....	67

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
Ag	Gümüş
Cu	Bakır
eV	Voltaj
Fe	Demir
g	Gram
Hg	Civa
M	Molar
Mg	Magnezyum
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
Na ₂ CO ₃	Sodyum karbonat
nm	Nanometre
Pb	Kurşun
U	Ünite

Kısaltmalar

ACh	Asetilkolin
AChE	Asetilkolin esteraz
AKAE	Akorboza eşdeğer
ATChI	Asetiltiyokolin iyodür
AÜBİBAM	Anadolu Üniversitesi, Bitki İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezi
BuChE	Butirilkolin esteraz
ChE	Kolinesteraz
CR	Çok tehlikede (Critically Endangered)
DD	Veri yetersiz (Data deficient)
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DTNB	5,5-ditio-bis-2-nitrobenzoik asit
E	Enzim
EIS	Enzim inhibisyon substratı
EN	Tehlikede (Endangered)
ESA	Eber sarısı aseton
ESDE	Eber sarısı dietil eter
ESEA	Eber sarısı etil asetat
ESH	Eber sarısı hekzan
ESM	Eber sarısı metanol
ESS	Eber sarısı su
GALAE	Galantamine eşdeğer
GC-MS	Gaz kromatografisi/Kütle spektrometresi
GSH	Glutasyon
HD	Hidrodestilasyon
IUCN	Uluslararası doğayı koruma birliği

KAE	Kojik asite eşdeğer
L-DOPA	3,4-dihidroksi-L-fenilalanin
MDA	Malondialdehit
p-NPG	4-Nitrofenil β -D-glukuronid
TNB	5-tiyo-2-nitrobenzoik asit

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1 Yarışmalı (kompetitif) enzim inhibisyonu	13
Şekil 2.2 Yarışmasız (nonkompetitif) enzim inhibisyonu	14
Şekil 2.3 Yarı yarışmalı (unkompetitif) enzim inhibisyonu.....	14
Şekil 3.1 α -Amilaz enzimlerinin substratı nişasta ile etkileşimi	29
Şekil 3.2 α -Glukozidaz enzimlerinin substratı nişasta ile etkileşimi.....	30
Şekil 4.1 Eber sarısının farklı ekstralarının α -amilaz inhibisyon aktiviteleri	35
Şekil 4.2 Eber sarısının farklı ekstralarının % α -amilaz inhibisyon aktiviteleri	35
Şekil 4.3 Eber sarısının farklı ekstralarının α -glukozidaz inhibisyon aktiviteleri.....	36
Şekil 4.4 Eber sarısının farklı ekstralarının % α -glukozidaz inhibisyon aktiviteleri.....	37
Şekil 4.5 Eber sarısının farklı ekstralarının AChE inhibisyon aktiviteleri	38
Şekil 4.6 Eber sarısının farklı ekstralarının % AChE inhibisyon aktiviteleri	39
Şekil 4.7 Eber sarısının farklı ekstralarının tirozinaz inhibisyon aktiviteleri	40
Şekil 4.8 Eber sarısının farklı ekstralarının % tirozinaz inhibisyon aktiviteleri	41

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1 Afyonkarahisar’da yetişen bölgesel endemik türler, yöresel isimleri ve tehlike kategorileri.	6
Çizelge 3.1 Deneysel aşamada kullanılan alet ve cihazlar ile markaları	28
Çizelge 4.1 Farklı çözücülerle hazırlanan ekstrelerin α -amilaz, α -glukozidaz, asetilkolin esteraz, tirozinaz enzimleri üzerine inhibe edici özellikleri	41
Çizelge 4.2 Farklı çözücülerle hazırlanan ekstrelerin α -amilaz, α -glukozidaz, asetilkolin esteraz, tirozinaz enzimleri üzerine % inhibisyon değerleri	42
Çizelge 4.3 Eber sarısı bitkisinin içerdiği uçucu yağ asitleri ile bağıl yüzdeleri	43

RESİMLER DİZİNİ

	Sayfa
Resim 2.1 <i>Thermopsis turcica</i> (Eber sarısı) türünün çiçekli görüntüsü.	9
Resim 2.2 <i>Thermopsis turcica</i> (Eber sarısı) yetiştiği bölgedeki görüntüsü.	10

1. GİRİŞ

Bitkiler, insanlığın var olduğu günden bugüne kadar çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Bitkilerin tedavi amaçlı kullanımı sonucunda oluşan bilgi birikiminin nesilden nesile aktarılmıştır. Aktarılan bilgi ise geleneksel tedavinin ve halk tıbbının zeminini oluşturmuştur. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından yapılan bu tanıma göre; bir ya da daha fazla kısmının tedavi edici ya da hastalıkları önleyici özelliğine sahip ve kimyasal, farmasötik bir sentezin öncüsü olabilen bitkilere tıbbi bitki denilmektedir (Kayıhan 2010, Karaşin 2011).

Halk arasında uzun yıllardır tedavi amaçlı kullanılan bitkilerin yan etkilerinin görülmemektedir. Bazı ilaçların sentetik üretimine nazaran daha ucuz ve kolay ulaşılabilir olması, sentetik ilaçların öncülleri olmaları ve sentetik ilaçlara model oluşturmaları, sentetik ilaçlar genellikle tek yönlü etkiye sahipken, bitkisel ilaçların daha fazla ve sinerjik etkilerinin bulunması gibi önemli özellikleri sebebiyle günümüzde de bitkilerle tedaviye olan eğilim artarak sürmektedir. Bitkilerin tedavi edici özelliği doğal yapılarında bulunan ve sekonder bileşikler olarak adlandırılan kimyasallardan ve bu kimyasalların türevlerinden kaynaklanmaktadır (Kayıhan 2010, Karaşin 2011).

Diabetes mellitus, pankreasın yeterli insülin üretememesi veyavücudun ürettiği insülini etkili bir şekilde kullanamaması sonucu oluşan metabolik bir hastalıktır. Beslenme alışkanlıkları ve değişen yaşam tarzıyla birlikte diyabet hastalığının görülme sıklığındaki artış dikkat çekicidir. Obezite, hareketsizlik yaşam biçimi ve yaş Tip-2 diyabet temel sebeplerindendir. Diyabetin 2 tipi bulunmaktadır. Tip-1 diyabetin tedavisi, insüline bağımlı iken Tip-2 diyabet tedavisinde beslenme tarzının düzenlenmesiyle kan şekeri seviyesi kontrol altına alınabilmektedir. Hipoglisemikler, karbonhidrat inhibitörleri, bağırsaklardan glikoz emilimini geciktiren ajanlar Tip-2 diyabetin tedavisinde kullanılmaktadır. Karbonhidratların sindirimini azaltıcı etkiye sahip olan çeşitli inhibitörlerin kullanımı, diyabet tedavisine kullanılmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar α -amilaz ve α -glukozidaz inhibitörlerince zengin hipoglisemik gıdalar üzerine üzerinedir. Karbonhidratların sindirim enzimlerinin aktivitesini inhibe etmesi yoluyla gıdanın daha az sindirilerek daha az enerji vermesini

sağlayan biyoaktif bileşiklerde değerlendirilmektedir. Bitkilerde bulunan biyoaktif fitokimyasallar, doğal enzim inhibitörü olarak gastrointestinal sistemde nişastanın sindirilebilirliğini ve glisemik indeksi etkilemektedir. Özellikle polifenolik bileşiklerin nişasta sindiriminde görev alan α -amilaz ve α -glikozidaz enzimlerini inhibe ederek besin ögesi emilimini modüle ettiği bilinmektedir (Wolever 1990, Aslan vd. 2010, Gonçaves vd. 2010, Tucci vd. 2010, Yun 2010, Vadivel vd. 2011).

Nörodejeneratif hastalıklar, geri dönüşümsüz, yüksek oranda beyin hasarlarına bağlı ortaya çıkan, ilerleyici ve nörolojik bozukluklardır. Beynin belirli bölgelerindeki seçici nöron kayıpları Alzheimer ve Parkinson hastalığı gibi nörodejeneratif rahatsızlıkların ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Alzheimer, bilişsel işlevlerin kademeli kaybı ile karakterize nörodejeneratif hastalıktır. Beyinde yaşa bağlı ortaya çıkan senil plaklar ve nörofibriler yumaklar gibi çeşitli patolojik oluşumların, sinir hücreleri üzerinde oksidatif-nitrozatif strese neden olmakta, oluşan stres enflamatuvar süreçleri tetiklemekte ve sinir hücrelerinin ölümüne neden olmaktadır. Bu ilerleyici bozukluğun yaygınlığı yaş ile artmaktadır. (Kim vd. 2012, Haass ve Selkoe 2007, Meraz-Rios vd. 2010). Parkinson hastalığı ise beyin hücrelerinde dopamin üretiminde kayba neden olarak motor sistemde bozukluğa yol açmaktadır. Hastalığın etiyolojisi hücre kaybına yol açan fizyopatolojik olayların hem çevresel (bazı toksinler, kuyu suyu tüketimi, tarım ilaçları) hem de genetik faktörlerin Parkinson hastalığına neden olduğu yönündedir (Okun vd. 2010). Alzheimer hastalığının tedavisinde yönelim amiloid β -peptit kaynaklı plak oluşumunun engellenmesi yönünde olmakla birlikte son yıllarda kolinesteraz inhibitörleri de sıklıkla tedavi kullanılmaya başlanmıştır. Kolinesteraz inhibitör kullanımının Alzheimer hastalığı tedavisinde palyatif etkili olduğunu bilinmektedir. Parkinson hastalığının tedavideki yönelim Levodopa ile yapılan ilaç tedavisi şeklindedir. Tedavinin yaklaşık 3-5 yıl kadar etkili olduğu ancak sonrasında ve Parkinson hastalığının semptomlarının geri döndüğü belirtilmektedir (Maltsev vd. 2011).

Tirozinaz temel fonksiyonu melanin sentezi olan bir enzimdir. Melanin, derinin ve saçın rengini sağlayan, polifenol benzeri bir biyopolimerdir. Melaninin görevi deriyi UV ışınlarından ve reaktif oksijen türlerinden korumaktır. Tirozinaz inhibitörleri, dermal

melanin üretimini baskıladıkları için beyazlatıcı veya antihiperpigment ajanları olarak kullanılmaktadırlar. Tirozinaz enzimi aynı zamanda insan beyinde nöromelanin oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır. Nöromelanin oluşumu dopamin nörotoksitesine ve Parkinson hastalığıyla ilişkilendirilen nörodejenerasyona sebep olabilmektedir. Nörodejenerasyon tedavisinde tirozinaz inhibitörleri de yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Kim ve Uyama 2005).

Hastalıklarının tedavisinde kullanılan sentetik ilaçların yan etkilerinin bulunduğu, ilaçların uzun süreli kullanımlarında ilk kullanımlarına oranla etkisinin azaldığı görülmektedir. Bu hastalıklarda görülen bazı belirtilerin güçlü olması nedeniyle ilaç kullanımının yetersiz kalmaktadır. Tedavilerin yoğun ve yorucu olması ve yaş ile birlikte bu hastalıkların görülme oranının giderek artması araştırmacıları alternatif tedavi yöntemleri üzerinde çalışmalar yapmaya yönlendirmiştir. Bunun sonucunda, modern tıpta tamamlayıcı tedavi yöntemleri arasında en çok tercih edilen yöntem olan bitkilerle tedavi popüler bir hale gelmiştir.

Fabaceae familyası Türkiye’de cins bakımından 650 türle 3 büyük familya *Mimosoideae*, *Papilionoideae* ve *Caesalpinioideae* olarak bilinmektedir. Çiçekli bitkilerin 18.000’e kadar türe sahip olan en büyük familyalarından biridir. Baklagil bitkileri havanın azotunu toprağa bağlama bakterileri köklerinde bulunurken zor koşullarda yetişerek insanların gıdaya olan ihtiyaçlarını karşılamasında önemli rol oynamaktadır. Baklagiller tüketilmesinde protein, mineraller, vitaminler açısından önemlidir. Yapısında saponinler, tanenler ve fitokimyasallar bulunur ve insanlarda kalp damar hastalıkları hemde kansere karşı koruyucu etkiye sahiptirler (Velioğlu ve Sarıoğlu 2018).

Baklagiller (*Fabaceae*) ailesinden olan Eber sarısı (*Thermopsis turcica*), çok yıllık, otsu, uzun rizomlu, sarıçiçekli, dik, 30-89 cm’a kadar boylanabilen bir bitkidir. Yaprakları üç yaprakçıklı, çiçekleri uç kısmında olup salkım şeklinde ve 3-10 tohumlu meyveler verir. Eber sarısı 1982 yılında Türk botanikçileri tarafından keşfedilmiştir. Dünya üzerinde sadece Akşehir ve Eber göllerinin güney kıyılarında parçalı

populyasyon şeklinde bulunmaktadır. Eber sarısı türünün en yakın akrabası Orta Asya'da yaşamaktadır (Aksoy ve Suyundikov 2020).

Eber sarısı (*Thermopsis turcica*) *Fabaceae* (Baklagiller) familyasının taksanmik açısından *Thermopsideae* tribusundaki *Thermopsis* cinsinin tek türüdür. IUCN'nın 1994 yılında yayınlanan tehlike kategorisinde CR (Critically Endangered) durumunda yer almaktadır (Ekim vd. 2000). Yapısında termopsin, tursisin, tursin, anagyrin ve alkolitler bulunur. *Thermopsis* türlerinde genel olarak alkaloid, flavanoid, C vitamini, makro ve mikro elementler tespit edilmiştir (Özdemir vd. 2008).

Mayıs ve Ağustos aylarında Afyon ili Eber Gölü'nün güneyinden toplanan *Thermopsis turcica* (Eber sarısı) bitkisine ait α -amilaz, α -glukozidaz, tirozinaz, asetilkolin esterez enzimlerini inhibe edici özellikleri ile esansiyel yağ asidi içeriğinin belirlenmesi amacıyla bu tez çalışması planlanmıştır.

2. LİTERATÜR BİLGİLERİ

2.1 Afyonkarahisar İlinde Yetişen Endemik Türler

Türkiye, jeolojik ve jeomorfolojik özellikleri, zengin su kaynakları bulunması, yükseklik farklılıkları ile doğusu ve batısı arasında da ekolojik farklılıkları olması sebebiyle, biyolojik çeşitlilik açısından zengin bir ülkedir. Türkiye’de yüzölçümü olarak kendisinin 15 katı olan Avrupa kıtası florasında bulunan takson sayısına yakın bitki türü yetişmektedir. Yaklaşık 9000 civarında bitki türü ve 12000 olan takson (tür, alttür ve varyete) bulunmaktadır. Türkiye, sahip olduğu tür çeşitliliği yanında, endemik tür açısından da zengindir. Türkiye’de yaklaşık olarak 4000 kadar yayılış gösterir (Malyer 2011, Yeşilyurt vd. 2008, Akçiçek ve Vural 2007).

Afyonkarahisar, ili dağlık alanlar ve bu alanlar arasındaki geniş alanları kapsayan jeomorfolojik sahiptir. Dağlık alanlar volkanik oluşumludur, dağların arasında tektonizma ve karstik kökenli ovalar bulunmaktadır. Dağlar arasındaki ovalar, yerleşim ve tarıma elverişlidir. Toprakları akarsular tarafından bölünmüş olup, plato şeklindedir. Şehir iklimsel olarak farklı özellikler göstermektedir. Akdeniz iklimi ile karasal iklim arasında bir geçiş bölgesinde bulunmaktadır. Ama karasal iklim daha etkilidir. İl sınırları içerisinde birçok göl vardır. Temel bitki örtüsü bozkırdır. Bozkırın yanında orman toplulukları da bulunmaktadır. Ovalarda step bitki örtüsünün yetişmektedir (Akçiçek ve Vural 2007).

Afyonkarahisar sınırları içerisinde 2000 civarında taksonun yayılış göstermektedir. Bu bitkilerden 330’unun Türkiye endemiği olduğu belirlenmiştir. Afyonkarahisar’da en fazla *Asteraceae* (Papatyagiller), *Fabaceae* (Baklagiller), *Lamiaceae* (Ballıbabagiller), *Caryophyllaceae* (karanfilgiller) bitki familyaları ile *Verbascum* (Sığır kuyruğu) ve *Astragalus* (Geven) türleri yetişmektedir (Kargıoğlu vd. 2007). Bu 330 türün içerisinde de yalnız 6 türün Afyonkarahisar endemiği olduğu bildirilmiştir (Cenkci vd. 2012). Afyonkarahisar’da yetişen bölgesel endemik türler, yöresel isimleri ve tehlike kategorileri Çizelge 2.1 de verilmiştir.

Çizelge 2.1 Afyonkarahisar’da yetişen bölgesel endemik türler, yöresel isimleri ve tehlike kategorileri.

Bitki Türü	Yöresel Adı	Tehlike Kategorisi
<i>Cota fulvida</i> (Grierson) Holub	Sultan Babuçça	DD (Veri yetersiz)
<i>Astragalus</i> × <i>afyonicus</i> (Ponert) Ponert	Afyon Geveni	EN (Tehlikede)
<i>Polygonum afyonicum</i> Leblebici & Gemici	Afyon Madımağı	EN (Tehlikede)
<i>Sideritis akmanii</i> Aytac, Ekici & Donmez	Dağ Çayı, Kuyruk Çayı	VU (Zarar görebilir)
<i>Thermopsis turcica</i> Kit Tan, Vural & Küçüköçük	Eber Sarısı, Sarı Meyan	CR (Çok tehlikede)
<i>Verbascum afyonense</i> Hub.-Mor	Sığırkuyruğu	EN (Tehlikede)

DD: Data deficient, EN: Endangered, VU: Vulnerable, CR: Critically endangered

Thermopsis turcica Kit Tan, Vural & Küçüköçük, *Fabaceae* familyası ve *Thermopsis* genusuna ait bir türdür.

2.2 *Fabaceae* Familyası

Baklagil kelimesi Latince “*Legumen*” kabuklu baklanın hasat edilen tohumları anlamına gelir. Bakliyet ise Latince “*puls*” yulaf lapası, pelte anlamına gelmektedir (Sarıoğlu ve Veliöğlu 2018). Baklagiller (*Fabaceae*) familyası yaklaşık 650 cins, 18.000 kadar türe sahip olan çiçekli bitkilerin en büyük familyalarından biridir. *Mimosoideae*, *Papilionoideae* ve *Caesalpinioideae* olmak üzere üç alt familyaya ayrılır. Baklagiller genellikle otsu bitkileri içerir. Yaşam forumlarına göre nadiren çalılar veya ağaç şeklindedir. Yapraklar nadiren basit, stipullu, çoğu zaman pinnat veya trifoliattır. Köklerinde *Rhizobium* cinsine ait bakteriler bulunur. Bu bakteriler nodül adı verilen şişkinliklerde azot biriktirmeye yarar ve köklerinde birlikte ortak yaşam sürerler. *Rhizobium* cinsine ait bakteriler glusite (sakkarit) ihtiyacını karşılamak için havanın azotunu alır ve albuminoite dönüştürür. Çiçekler çoğunlukla değişkin durumdadır. Çiçek şekilleri şemsiye, başak veya tek çiçekli, çiçek durumu raşem, genellikle hermofroditir. Baklagillerin bazı taksonlarında meyve birer tohumlu kısımlar lomentum

halinde enine bölünür, bazılarında ise meyve açılması. Tohumlar bir veya çok sayıdadır (Arslan vd. 2010).

Baklagiller familyasına ait türler “Dünya Gıda Programı” ve “Gıda Yardım Girişimleri” kapsamında genel gıda sepetlerinin önemli bir parçası ve tüm dünyada çok önemli bitkisel protein kaynağı olarak kullanılmaktadır. Baklagiller değerli mikrobeyinler, antioksidanlar, yüksek konsantrasyonda belirli karbonhidratlar ve lifler içerir. Hemde yağ miktarı ve kalorisi de düşüktür (Sarıoğlu ve Velioğlu 2018).

Baklagil bitkileri pek çok kültür bitkisinin yetişemediği zor koşullarda yetişerek gıda gereksiniminin karşılanmasında ve havanın azotunu toprağa bağlama yeteneğindeki bakterileri köklerinde bulunmaktadır. İnsanlar için önemli olan protein, diyet lif, mineraller (Fe, Cu ve Mg) ve vitaminler açısından binlerce yıldır baklagiller önemli gıdalar olarak tüketilmektedir. Bununla beraber yapısında bulunan fitokimyasallar, tanenler ve saponinler nedeniyle kalp damar hastalıklarında ve kansere karşı koruyucu etkisine sahiptir (Sarıoğlu ve Velioğlu 2018).

Baklagiller; bakla, fasulye, nohut, mercimek, yonca, acı bakla, bezelye, yerfıstığı, soya fasulyesi gibi bitkileri içerir. Dünyada yaygın olan baklagiller maş fasulyesi (*Vigna radiata* L.), börölce (*Vigna unguiculata* L.), nohut (*Cicer arietinum* L.) kuru veya kırık bezelye (*Pisum sativum* L.), bakla (*Vicia faba* L.), beyaz fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) ve birkaç çeşit mercimektir (*Lens culinaris* Medik.). Türkiye’de yetiştirilen başlıca baklagillerin dermason fasulye, koçbaşı nohut, yeşil mercimek ve bezelyedir.

Baklagiller yetiştirme koşullarına, olgunluğuna, bitki türüne ve çeşidine göre yüksek oranda protein içerir (Roy vd. 2010). Baklagiller nisbeten az metionin, sistein ve glutamik asit içerirler. Triptofan, lizin ve aspartik asit gibi aminoasitler bakımından, yemeklik tane baklagiller tahıllarla karşılaştırıldığında oldukça zengindirler (Sharma 1988).

2.3 *Thermopsis* Cinsi

Thermopsis cinsi baklagiller familyasının *Papilionoideae* alt ailesine aittir. *Papilionoideae* ailesi 30 oymak, 455 cins ve 12000 türden oluşmaktadır (Tucker 2003). *Thermopsis* cinsi Kuzey Amerika ve Orta Asya bölgelerinin genel olarak dağlık, nemli bölgelerinde doğal yayılışlı yaklaşık 25 tür ile temsil edilmektedir (Dement ve Mabry 1975, Davis vd. 1988).

Thermopsis cinsi çok yıllık, otsu ve rizomlu bitkilerdir. Ortalama 1 metreye kadar boylanabilirler. Yaprakları trifoliat, petiolat ve serbest stamenli olmakla karakterize edilirler. Çiçekleri genellikle açık sarı veya altın sarısı renkli, çiçek durumu rasemöz durumuna sahiptirler. *Thermopsis* meyve testaları çok sert, 6-10 tohumlu olur (Chen vd. 1994, Wojciechowski 2003).

Thermopsis cins türleri 5,6-dehidrolupanın, lupin, N-metilsitisin, sitisin, anagirin, termopsin ve tursisin, tursin gibi alkaloidleri bakımından zengindir (Ohmiya vd. 1974, Dement ve Mabry 1975, Saito vd. 1988). *Thermopsis* türlerinde alkaloid haricinde, flavanoid ve C vitamini tespit edilmiştir (Özdemir vd. 2008). *Thermopsis* türlerinden süs bitkisi olarak Çin ve Japonya'da kullanılmaktadır (Asilbekova 2004). *Thermopsis* yaprak veya tohumları insan ve hayvanlar tarafından doğrudan tüketilmesi zehirlenmelere sebep olmaktadır ve bazı *Thermopsis* türleri tıbbi amaçlı kullanılmaktadır (Keller ve Baker 1990).

2.4 *Thermopsis turcica* Kit Tan, Vural & Küçüköyük

Thermopsis cinsini temsil eden Türkiye'deki tek tür ve endemik bir bitki, *Thermopsis turcica*'dır. Tür ilk defa 1983'te Kit Tan, Vural & Küçüköyük tarafından tanımlanmıştır (Davis vd. 1988).

Thermopsis turcica Dünya üzerinde sadece Akşehir ve Eber göllerinin güney kıyılarında parçalı populyasyonlar şeklinde yayılış göstermektedir. Bu endemik tür doğada kısa sürede yok olacak olan türler içerisinde ve çok tehlikede (Critically

Endangerd-CR) kategorisinde bulunduğu bilinmektedir. *Thermopsis turcica*'nın yetiştiği yer çevresinde yaşayan insanlari, bu bitkiyi çiçek renklerinden dolayı altın sarısı, altın otu, Eber sarısı veya piyam olarak adlandırmaktadır (Aksoy ve Suyundikov 2020).

Türkiye'de endemik ve en dar yayılışlı bitki türlerinden biri olan *Thermopsis turcica* bakla, fasulye, nohut, mercimek gibi ekonomik değere sahip çok sayıda bitki türüne sahip baklagiller (*Fabaceae*) familyasının bir üyesidir. Eber sarısı, uzun rizomlu (toprak altı gövde), gövdesi dik, 35-89 cm arası boylanabilen, sarı çiçekli, otsu bir bitkidir. Gövde ve yaprakları uzun yumuşak beyaz tüylüdür. Yapraklar alternat, digitat, trifoliat (üç yaprakçıklı). Çanak yapraklar (kaliks) sık beyaz tüylü, taç yapraklar (korolla) sarıdır. Çiçek durumu uç kısımda olup, rasemöz şeklindedir. *Thermopsis turcica*'yı diğer baklagil türlerinden ayıran en önemli özelliği bir çiçekte 3 meyve oluşturmasıdır. Bu özelliğe 18.000 civarında türü bulunan baklagillerden hiçbirinde rastlanmamıştır (Cenkci vd. 2012).



Resim 2.1 *Thermopsis turcica* (Eber sarısı) türünün çiçekli görüntüsü.



Resim 2.2 *Thermopsis turcica* (Eber sarısı) yetiştiği bölgedeki görüntüsü.

2.5 *Thermopsis turcica* (Eber Sarısı) ile Yapılan Çalışmalar

Thermopsis turcica bitkisinde yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile anagirinin ve alkaloid içeriği, kallus oluşumu, bitki rejenerasyonunun incelenmesi klasik ve bitki doku kültürü yöntemleri ile çoğaltımı (Cenkci vd. 2009), morfolojik özellikleri (Davis vd. 1988, Sinan 2002, Özdemir vd. 2008), anatomik (Sinan 2002, Özdemir vd. 2008) ve ekolojik (Sinan 2002) özellikleri üzerine çalışmalar vardır.

Thermopsis turcica bitkisini toplam fenolik içeriği ve serbest radikal süpürücü aktivitesinin in vitro, total antioksidan kapasitesi incelendiği bir çalışmada, aseton ve metanol ekstralarının radikal süpürücü etkisi varlığı görülmüştür. Ekstrelerin total fenolik madde miktarıyla, radikal süpürücü etkisi ilişkili olduğu düşünülmektedir. *Thermopsis turcica*'nın radikal süpürücü etkisini ve yoğun fenolik madde içerdiği aseton ekstresi, metanol ekstresine göre daha iyi etki göstermiştir. Farklı olarak total antioksidan kapasitesi, aseton ekstresine göre metanol ekstresinde daha fazla olduğu belirlenmiştir (Aksoy vd. 2013).

Thermopsis turcica'nın antifungal ve antimikrobiyal aktivitesini değerlendirmek için yapılan bir çalışmada, bitkinin kök, gövde, yaprak kısımlarından dietil eter, etil asetat, metanol ve hekzan ekstraktları hazırlanarak 8 bakteri ve 1 mantar suşlarına karşı, disk difüzyon ve biyootografik deneyleri kullanılmıştır. *Staphylococcus aureus*'a karşı bakteri üremesini yüksek oranda baskılayıcı özelliği, kök ve gövdenin metanol ekstraktının biyootografik deneyinde bulunmuştur (Korcan vd. 2009).

Endemik *Thermopsis turcica* türün tehlike durumu, çoğaltım teknikleri ve araziden toplanan tohumlarının çimlenmesi üzerine üç farklı asit (H_2SO_4 , HCl ve HNO_3) ile 30, 60, 90, ve 120 dakika ön uygulamasının çimlenme üzerine etkileri incelenmiştir. 120 dakika H_2SO_4 ön uygulaması en iyi çimlenmiş olduğu bildirilmiştir (Cenkci vd. 2007).

Etanollü ekstraktlara göre, sulu ekstraktının karaciğer, kan, böbrek doku örneklerinde MDA, GSH üzerine olumlu etkileri, *Thermopsis turcica* bitkisi etanollü ve sulu ekstraktlarının in vivo antioksidan aktivitesinin ilk kez araştırıldığı çalışmada belirlenmiştir. Bitki içeriğinde bulunan fenolik bileşikler bu etkiden sorumlu olabileceği, hemde plazma AOA üzerinde bu etkinin görülmemesine ise bitki içeriğinde bulunan alkaloidler ve glikozitlerin zararlı etkilerinden ve çalışmada kullanılan ekstrakt türünü, antioksidan aktivite üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir (Çelik 2014).

2.6 Enzimler ve Fonksiyonları

Enzimler, hücre içerisinde gerçekleşen reaksiyonların hızını ve özgüllüğünü belirleyen, protein yapısında olan ve bütün canlı organizmalarda bulunan doğal katalizörlerdir. Enzimler, uzun zincirli aminoasit polimerleridirler. Genler tarafından şifrelenen enzimlerin aminoasit dizilimi farklı olması sebebiyle her enzim farklı üç boyutlu bir yapıya sahiptir (Kılıç 2002).

Üç boyutlu yapıdaki aminoasitlerin taşıdıkları yan gruplar, enzimin bu yapısında bir bölgede toplanarak aktif bölge denen bir kısmı oluştururlar. Enzimlerin tepkimeleri kataliz etme ve seçici olmalarının sebebi de bu bölgedir. Bölgenin oluşturduğu alan o kadar özeldir ki, sadece o enzimin katalize edeceği tepkimeye substratı ancak bu alana

girebilir. Enzimle etkileştikten sonra, substratla enzimin bu aktif bölgesinde bulunan gruplar arasında kimyasal etkileşimler meydana gelir. Aktif bölgeye bağlanan substrat ile ara geçiş yapısı adı verilen kararsız bir yapıya oluşur. Bu yapı daha sonra ürünü oluşturur. Enzimin aktif bölgesinde oluşan bağlar, kararsız yapının kararlı hale geçmesini sağlar. Bir kimyasal tepkimenin gerçekleşmesi aktivasyon enerjisinin sağlanması gerekmektedir. Enzimler, aktif bölgelerinin üç boyutlu özel yapıları sayesinde, bu geçiş durumunun oluşumunu kolaylaştırır ve gerekli enerjiyi azaltırlar. Böylece reaksiyonun daha az enerjiyle daha hızlı bir şekilde gerçekleşmesi sağlarlar (Gözükara 1997, Rehm vd. 1987, Gonzalez vd. 2003).

2.6.1 Enzim Kaynakları

Doğada bulunan enzimler, kaynaklarına göre hayvansal enzimler, mikrobiyal enzimler ve bitkisel enzimler 3 grupta toplanabilirler. Hayvansal enzimler, hayvanların atılan veya az değerli olan organlarından elde edilmektedir. Örneğin, süttten kesilmemiş danaların midyesinden elde edilen kimosin, sığır karaciğerinden elde edilen katalaz gibi. Mikrobiyal enzimler, mikrobiyal hücreler sahip olduğu enzim kaynaklarıdır. Mikroorganizmaların büyük miktarda ve kısa sürede pek çok enzim üretimi mümkündür. Bitkiler de birçok bitkisel enzime kaynak olmuştur. Papaya bitkisi papain enzimi üretimi için yetiştirilmektedir. İncir ağacı sütünden fisin enzimi, ananastan bromealin enzimi örnek olarak verilebilir (Telefoncu 1986, Tanyıldızı 2005).

2.7 Enzim İnhibisyonu

Enzimlerin substrat dışında etkileştikleri moleküller de bulunmaktadır. Ancak bu etkileşim sonunda hem ürün oluşmamaktadır hem de enzim katalitik görevini yerine getirememektedir. Enzim inhibitörleri adı verilen bu moleküller enzim etkisini azaltmakta ya da tamamen durdurmaktadırlar (Bingöl 1977).

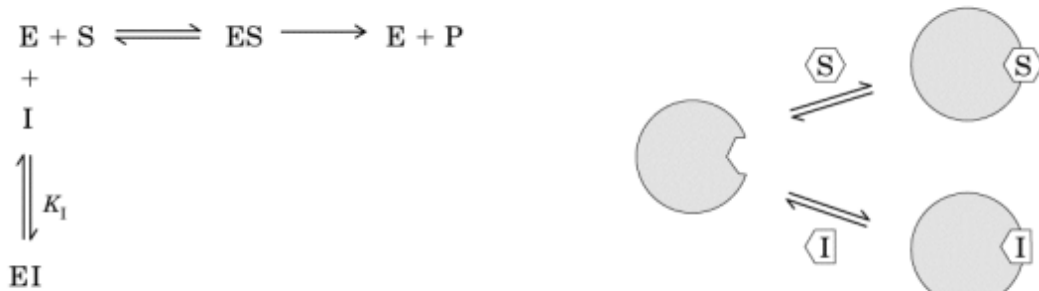
2.7.1 Enzim İnhibisyon Türleri

Enzim inhibisyonu, geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz olmak üzere iki kısımda gerçekleşir.

2.7.1.1 Geri Dönüşümlü (Reversible) Enzim İnhibisyonu

Yarışmalı (kompetitif) enzim inhibisyonu

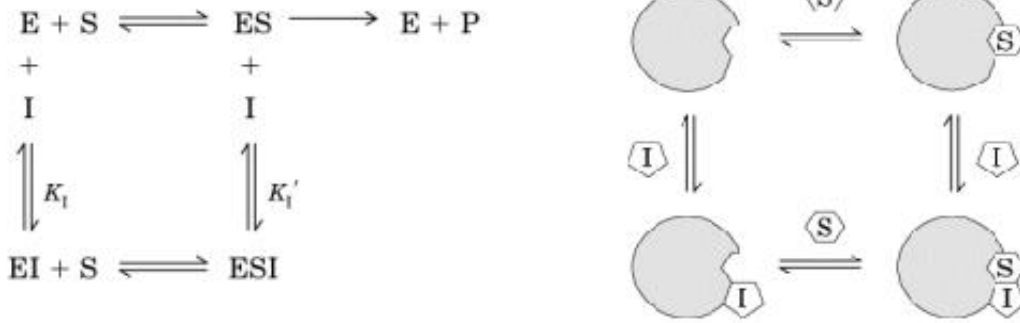
Kompetitif inhibisyon, enzimin aktif kısmını işgal ederek asıl substratı ile bağlanma kurmasını önleyen ve enzim etkilediği substrata yapı olarak benzeyen bir maddedir. Kompetitif inhibisyonda inhibitör madde molekülleri, enzim moleküllerini işgal ederek enzimin katalitik etkisini yavaşlatır (Bingol 1977). Enzimin aktif bölgesine inhibitörün (İ), substratla (S) yarışarak bağlandığı yarışmalı (kompetitif) inhibisyondur.



Şekil 2.1 Yarışmalı (kompetitif) enzim inhibisyonu.

Yarışmasız (nonkompetitif) enzim inhibisyonu

Enzimler yapısında fonksiyonları için esas olan –SH grupları taşırlar. Enzim görevini normal yapabilmesi için –SH grupları bozulmadan korunması gerekmektedir. Fonksiyonel –SH gruplarını bazı (Ag^+ , Hg^+ , Pb^+) metal ionları tarafından nonkompetitif inhibe edilmesi enzimin normal katalitik etkisini sağlamaktadır. Yarışmasız enzim inhibisyonunun substrat konsantrasyonu ile bağlantısı yoktur.

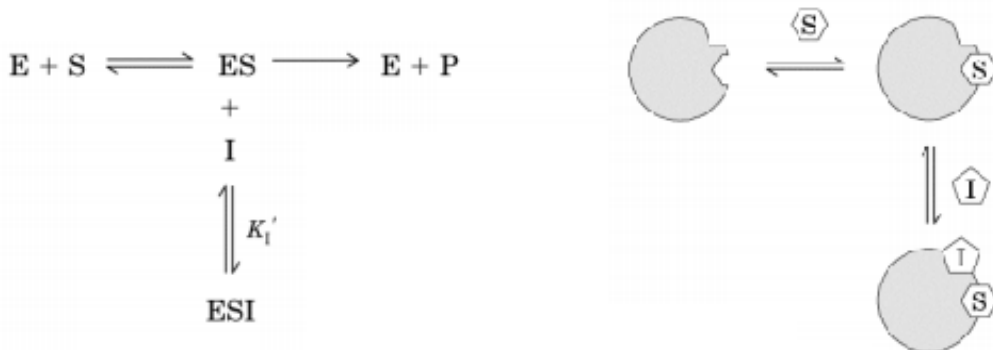


Şekil 2.2 Yarışmasız (nonkompetitif) enzim inhibisyonu.

Bu enzim inhibisyonunda hem inhibitör hem de substrat maddeleri aynı zamanda enzime bağlanmaktadır. Enzim substrat (ES) kompleksine bağlanarak tepkimeyi yavaşlattığı yarışmasız (nonkompetitif) inhibisyonudur (Bingol 1977).

Yarı yarışmalı (unkompetitif) enzim inhibisyonu

Yarı yarışmalı enzim inhibisyonunda nonkompetitif inhibisyonda olduğu gibi, substratın bağlandığı aktif yerden ayrı bir yere inhibitör bağlanır. Fakat nonkompetitif inhibitör serbest enzime veya enzim substrat kompleksine bağlanabildiği halde, unkompetitif inhibitör yalnızca enzim substrat kompleksi oluşuktan sonra enzim substratın bağlı olduğu aktif yerden başka bir yerine bağlanarak enzimi inaktive eder.



Şekil 2.3 Yarı yarışmalı (unkompetitif) enzim inhibisyonu.

İnhibitör sadece enzim-substrat kompleksi oluştuğu zaman ES kompleksine bağlanarak ürün oluşumunu sonlandıran inhibisyon yarışmasız (unkompetitif) inhibisyonudur (Altınışık 2009).

2.7.1.2 Geri Dönüşümsüz (İrreversible) Enzim İnhibisyonu

Geri dönüşümsüz enzim inhibisyonu, inhibitörünün enzim üzerinde bulunan ve aktif fonksiyonel grubun yıkması ile meydana gelir. Aktif bölgeye kovalent olarak bağlanan inhibitör, bu tip inhibisyonlarda enzim yapısını bozduğu için geri dönüşüm olmamaktadır. Geri dönüşümsüz inhibisyon inhibitör ve enzimin aktif merkezi arasında oluşan kovalent bağlanma sonucunda enzim inaktif hale gelmektedir (Altınışık 2009).

2.8 Bitkisel İnhibitörler

Bitkilerden elde edilen inhibitörler; fenoller/polifenoller ve aldehitler/türevleri olarak iki başlık altında olarak sınıflandırılmıştır (Kim ve Uyama 2005). Bitki fenoller/polifenoller, doğada yaygın olarak bulunan, birçok çiçeğe, meyveye rengini veren kimyasal bileşiktir. Genellikle bitkilerin kabuğunda, kökünde ve yapraklarında bulunan kompleks bileşikler halinde iken bazen de taze meyvelerde, sebzelerde ve çayda bulunan basit bileşikler halinde bulunabilirler. Çeşitli bitkilerden kaempferol, kuarsetin gibi enzim inhibitörleri izole edilmiştir (Chen ve Kubo 2002). Yapılan çalışmalarda, bütün flavonoidler enzimlerin aktif bölgesindeki metal ile şelatlaşma yeteneklerinden dolayı enzimi inhibe ettikleri üzerinde durulmaktadır. Ancak bu durum eğer 3-hidroksi grubu serbestse gerçekleşebilir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarla, keto grubu içeren flavonoidlerin güçlü inhibitör aktivitesine sahip olduklarını bulmuştur. Gallik asit ve onun kısa alkil (karbon sayısı 10 dan küçük) zincir esterleri inhibitör etki gösteremezken, uzun alkil (karbon sayısı 10 dan büyük) zincir esterleri enzim inhibe edici olduğu, karbon zincirinin uzunluğunun enzim inhibitör aktivitesi üzerinde etkisi olduğunu göstermektedir (Kubo vd. 2000). Kardol türevleri gibi diğer çeşitli biyoaktif yapılarda hidroksil grubunun katılması inhibitör aktivitesini arttırırken metil grubunun katılması inhibitör aktivitesini azaltmaktadır. Ayrıca doymamış alkil yan zinciri doymuş alkil zincirle karşılaştırıldığında daha güçlü bir inhibisyon gösterdiği

bulunmuştur. Oksiresveratrolün halkadaki hidroksi gruplarının varlığına bağlı olarak güçlü inhibitör aktivitesi gösterdiği belirtilmiştir (Kubo ve Kinst-Hori 1999).

Aldehitler/türevleri, pekçok bitkiden izole edilmişlerdir. Trans-sinamaldehit, 2-hidroksi-4-metoksibenzaldehit, 3,4-dihidroksisinamik asit ve 4-hidroksi-3-metoksisinamik asit gibi aldehit türevi enzim inhibitörleri bulunmaktadır (Hwang ve Lee 2007). Aldehit grubunun sülfidril, amino ve hidroksi grupları gibi biyolojik olarak önemli nükleofilik gruplarla reaksiyona girdiği bilindiğinden enzimin primer amino grupları ile Schiff bazı oluşturarak enzimi inhibe ettiği öne sürülmektedir. Çeşitli aldehitlerin inhibitör aktivitelerinin karşılaştırılması ve sinamik asit, anisik asit, hümik asit ve benzoik asit gibi yakın bileşikler kuminaldehitin güçlü inhibitör olduğunu kanıtlamıştır (Kubo ve Kinst-Hori 1999). Kuminaldehitin para pozisyonundaki elektron verici gruplarının (izopropil ve metoksi) indükleyici etkiyle enzimin aktif bölgesindeki Schiff bazının kararlılığını sağladığını fark edilmiştir (Hwang ve Lee 2007).

2.8.1 α -Amilaz İnhibisyonu

α -amilaz (E.C 3.2.1.1) karbohidrat sindiriminde görev alan önemli enzimlerden biridir. α -amilazlar, glikojen, amilopektin ve amilozdaki α -D-(1 \rightarrow 4) glikozid bağlarını hidrolizlemektedir. α -amilaz (α -1 \rightarrow 6) glikozidik bağlara etkisi yoktur. Karbohidrat sindirimi ağızda başlamaktadır. Tükürükte bulunan α -amilaz nişastayı hidrolizleyerek, kısa polisakkarit parçalarını veya oligosakkaritleri üretmektedir. Midede, tükürük α -amilazı düşük pH'da inaktifleşmekte fakat ince bağırsağa salgılanan pankreatik α -amilazın hidrolize devam etmektedir. Pankreatik α -amilaz, başlıca maltoz, dekstrin oligosakkaritleri ve (α -1 \rightarrow 6) dallanma noktaları içeren amilopektin parçacıklarını açığa çıkarmaktadır (Yoon ve Robyt 2003). Amilaz, hidroliz sonucu açığa çıkan şekerlerin anomerik tiplerine göre, α - ve β -amilazlar olarak sınıflandırılmaktadır. Homopolisakkaridazlar olan amilaz kendi içinde endoamilazlar ve ekzoamilazlar olarak iki alt gruba ayrılmaktadır. Ekzoamilazlar grubunda yer alan β -amilazlar nişasta ve glikojen gibi polisakkaritlere etki etmektedir. Amilozu tamamen parçalarlar. Amilopektin ve glikojen gibi dallı polisakkaritleri ise zincirin sonundan başlayarak dallanma noktalarına kadar parçalar ve reaksiyon sonunda beta-maltoz meydana

getirirler. α -amilazlar nişasta (amiloz ve amilopektin) ve glikojendeki α -D-(1→4) glukozidik bağlarını parçalayarak maltodekstrin, malto-oligosakkaridler ve glukoz oluştururlar (Kadziola vd. 1998, Brzozowski ve Davies 1997, Machius vd. 1996). Bu enzim nişastanın α -(1→4) bağlarını parçalayan fakat α -(1→6) bağlarını parçalayamayan bir endohidrolazdır. α -amilazlar, aktiviteleri için herhangi bir koenzim gereksinimleri olmayan Ca^{+2} iyonu taşıyan metalloenzimdir ve Ca^{+2} yokluğunda aktivitesini kaybetmektedir. Ca^{+2} enzim-substrat kompleksi oluşumuna katılmaz, ancak enzimin dayanıklılık ve yüksek aktivite göstermesi için doğru konformasyonda tutar. Divalent metal iyonları proteinlerin sekonder ve tersiyer yapılarını korur ve dayanıklaştırır. Protein molekülü uygun bir divalent metal iyonu ile bağlı olduğunda proteolitik aktiviteye karşı korunmaktadır. α -amilaz, Ca^{+2} ile birleştiği zaman proteazlara karşı maksimum direnç gösterirken, Ca^{+2} uzaklaştırıldığında proteolitik enzimlere duyarlı hale gelirler. Ca^{+2} nin α -amilazın kofaktörü olmak yanında enzim üzerine de koruyucu etkili olduğu bilinmektedir (Greenwood 1970).

Diabetes Mellitus (DM), pankreastan salgılanan kan şekerinin kullanımını düzenleyen insülin hormonu salgısının tamamen ya da kısmen fonksiyonel yetersizliği veya eksikliği sonucu meydana gelen kronik bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Diyabetin, hastalığın etiyojisine göre 3 sınıf altında incelenir. Bunlar gestasyonel DM, Tip 1 DM, Tip 2 DM' dir. Gestasyonel DM (GDM) gebelik sırasında ortaya çıkan glukoz tolerans bozukluğudur. Tüm gebelerin %7 sinde GDM görülmektedir. GDM tanısı konan hastaların büyük kısmında doğumdan sonra glukoz metabolizmasının düzeldiği gözlemlenmektedir. Fakat hastaların sonraki gebeliklerinde ve hayatlarının ileri dönemlerinde Tip 2 DM görülme riskinin yüksek olduğu bildirilmiştir (Mann vd. 2014). Tip 1 DM, pankreas hücrelerinin total kaybına ya da pankreas hücrelerinin zedelenmesine veya β hücre harabiyetine bağlı olarak gelişen insülin eksikliği ile karakterize DM türüdür. Diyabet vakalarının %10-15'ini kapsar. Genellikle çocukluk ve gençlik yaşlarında görülmektedir. Tip 1 DM de Pankreas'ın β hücreleri harap olduğundan yetersiz insülin salgılanması söz konusudur. Hastalarda ketozis ve ilerleyen zamanlarda ketoasidozis gelişmesi görülebilmektedir. Yüksek kan şekerini dengelemek ve ketoasidozu önlemek için mutlaka dışarıdan insülin verilmesi gerekir.

Bu hastalar insülin üretemediklerinden insüline bağımlı hastalardır. Tip-1 diyabetin tedavisi insülin ve diyetdir. Oral antidiyabetik ajanların bu hastalarda tedavi edici etkisi yoktur (Balcı 2019).

Tip 2 DM en yaygın görülen diyabet türüdür. Tip 2 DM pankreastan salgılanan β hücre fonksiyonunda azalma ve periferik dokularda insülin duyarsızlığı ile ortaya çıkan hiperglisemi, hiperinsülinemi, dislipidemi ve hipertansiyon ile karakterize bir hastalıktır. Yavaş seyreden hastalığın uzun bir prediyabetik dönemi vardır (Balcı 2019). Hipergliseminin kronikleşmesi göz, böbrek, sinir hücrelerinde işlevsel kayıplara neden olmaktadır. β hücrelerinde insülin normal olarak salgılanmakta fakat hormonların hücresele reseptörlerinden yararlanılamamakta ve insüline karşı bir direnç gelişmektedir. Tip 2 DM insülin bağımlıdan çok, insülin gerektiren diyabet olarak tanımlanmaktadır. Bu tip diyabetin tedavisi; hipoglisemikler, şeker sınırlandırıcı diyet (tıbbi beslenme tedavisi), egzersiz ve α -amilaz, α -glukozidaz inhibitörleri ile yapılmaktadır. Diyabetli bireylerin yaptığı egzersiz ile kan glukoz seviyelerini dengede tutmak, insülin direncini azaltmak ve ağırlık kontrolüne katkıda bulunmayı hedeflenmektedir. Ayrıca yüksek riskli kişilerde Tip 2 DM önlenmesini sağlanabilir. Tempolu yürüme, koşma, yüzme ve kas gücünü arttırmaya yönelik direnç egzersizleri gibi diyabetli bireylere önerilmektedir (Mann vd. 2014). Diyabetik hastalara, tıbbi beslenme tedavisi uygulanarak, optimal metabolik sonuçlara ulaşmak, diyabetin kronik komplikasyonlarını önlemek, bireye özgü sağlıklı beslenme ve fiziksel aktivite ile sağlığın iyileştirilmesi, kişisel beslenme gereksinimlerini belirlemeye çalışılmaktadır (Balcı 2019). Beslenme planlaması yapılırken düşük glisemik indeksli karbonhidratların ve posalı besinler tercih edilmesi, insülin ve kan glukozu üzerine olumlu etki göstermektedir (Slavin ve Green 2007). Diyabetli bireyler günlük alınan enerjinin %15-20'sini proteinlerin karşılaması gerekmektedir. Yağ alımının toplam enerjinin %30'unu geçmemesi önerilmektedir (Schwab vd. 2014). Diyabetli bireylerde tıbbi beslenme tedavisi ve egzersize rağmen kontrol altına alınamayan plazma glukoz düzeyleri gözlemlendiğinde, hastalara oral ajan tedavisi başlanır. Tip 2 DM de, hiperglisemi ve HbA1C yi kontrol altına almak için çok sayıda antidiyabetik ajan geliştirilmiştir (Mann vd. 2014).

Tokluk kan şekerinin düşürülmesi için terapötik yaklaşımlardan birisi, sindirim organlarındaki α -amilaz ve α -glukozidaz gibi karbohidrat hidroliz enzimlerinin inhibisyonuyla glukoz emilimini geciktirmektir. Bu nedenle, yeni farmakolojik ajanlar geliştirmek için yapılan çalışmalar, α -amilaz ve α -glukozidaz inhibisyonu üzerinedir (Johnston vd. 2002).

2.8.2 α -Glukozidaz İnhibisyonu

α -glukozidaz (E.C 3.2.1.20), karbohidrat sindiriminde görev alan diğer bir hidrolazdır. Glukozidazlar karbohidratların glukozidik bağlarını hidroliz etmektedirler. α -glukozidazlar (α -D-glukozit glukohidrolaz, ekzo- α -1,4-glukozidaz) nişasta parçalanmasının son aşamasını gerçekleştirilmektedirler. Aynı zamanda α -glukozidazlar, transglukozilasyon aktivitesine sahiptirler. α -glukozidazlar, α -amilazlarla ilişkili olarak çalışırlar. Besinlerle alınan kompleks karbohidratlar; α -amilaz ve α -glukozidaz enzimleri sayesinde glukoz kadar parçalanıp, ince bağırsaktan emilerek kana karışırlar. α -glukozidaz enzimleri ince bağırsağın fırçamsı yüzeyinde bulunurlar. Kompleks karbohidratların parçalanmasından bu enzimler oligo ve disakkaridleri monosakkaridlere yıkarlar. Monosakkaridlerde bağırsak duvarından kolayca emilip kana geçerler. α -glukozidaz enzim inhibitörleri bu enzimleri yarışmalı olarak inhibe ederler. Glukoamilaz, sukraz, maltaz, izomaltaz, laktaz bilinen önemli α -glukozidaz enzimlerdir (Tatar 2007).

Diyabetin tipi ne olursa olsun tedavinin amacı; normal kişilerdeki glisemi düzeyine yaklaşmak, komplikasyonların önüne geçmek veya bunları geciktirmektir. Diyabette kan glukoz seviyesinin kontrol altına alınabilmesi için diyet, kan dolaşımını hızlandırarak insülin emilimini arttırması dolayısıyla egzersiz, insülin ve oral antidiyabetik ajanlar tavsiye edilmektedir. Tip 1 DM tedavisi hastaya insülin vermeye dayanmaktadır. Tip 2 DM hiperglisemi ile karakterizedir ve bozulmuş insülin salınımı ve insülin direncine karşı kullanılacak birçok antidiyabetik ilaç bulunmaktadır. Oral antidiyabetik ilaçlar (ODİ) olarak, pankreası uyaran ve daha fazla insülin üretimini ve salınımını sağlayan, hepatik glukoz üretimini azaltarak periferik glukoz kullanımını arttıran sülfonilüreler, karaciğerde depolanan glukozun salınımını ile amino asit ve

yağlardan glukoz üretimini azaltan ve glukozun vücutta kullanımını arttıran biguanidler, ve ince barsaktaki α -glukozidaz enzimini tersinir olarak inhibe ederek, bağırsaklardan nişasta ve sukroz sindirimini ve emilimini yavaşlatarak kan şekerini düşüren α -amilaz ve α -glukozidaz inhibitörleri kullanılmaktadırlar (Memişoğulları 2005).

Bitkisel materyaller ve bunlardan elde edilen ilaçlar da diyabet tedavisinde önemli bir yer teşkil eder. Bitkiler diyabete etki mekanizmalarına göre, hipoglisemik etkili, insüline hassasiyeti arttıranlar, karbonhidrat absorpsiyonunu engelleyenler/azaltanlar (α -amilaz ve α -glukozidaz enzim inhibitörleri) şeklinde değerlendirilebilir (Günöz vd. 1993, Mai vd. 2007).

Bitkilerdeki fenolik bileşikler, protein bağlama yeteneklerinden dolayı, sindirim enzimlerinin aktivitelerini inhibe etme özelliği gösterirler. Çeşitli in vitro denemeler, birçok bitki polifenolünün karbonhidrat yıkımında görev alan enzimleri inhibe etme özelliğine sahip olduğunu göstermiştir. Yeşil çayda bulunan fenolikler, sukraz ve α -glukozidaz enzimini inhibe ettiği ve dutta bulunan fenolik bileşiklerin ise α -glukozidazı ve α -amilazı inhibe ettiği gösterilmiştir. Bitkilerde bulunan fenolik bileşikler karbonhidratı parçalayan enzimlere karşı gösterdikleri inhibisyon aktiviteleri ile diyabet hastalığında, tokluk kan şekerinin düşürülmesine katkıda bulunmaktadır (Mai vd. 2007). α -glukozidaz enzim inhibitörlerinin enzimler üzerindeki etkileri farklıdır. Enzim inhibisyonunun sonucunda karbonhidratların emilimindeki gecikme oluşmaktadır ve gecikme malabsorpsiyona neden olmamaktadır. α -glukozidaz enzim inhibitörleri karbonhidrat emilimini geciktirmeleri yanında gastrointestinal hormonal yollarda değişiklikler oluşturabilirler. Günümüzde diyabet tedavisinde kullanılan akarboz, miglitol ve vogliboz, α -amilaz ve α -glukozidaz enzim inhibitörü grubunda yer alan ilaçlardır. Türkiye’de yalnızca akarboz bulunmaktadır. Bu ilaçların gastrointestinal sisteme üzerine yan etkileri vardır. İnce bağırsakta sindirilemeyen karbonhidratlar kolonda bakteriler tarafından metabolize edilirler ve sindirilmemiş karbonhidratların fermentasyonu sonucunda şişkinlik, karın ağrısı ve gaz oluşumuna sebep olmaktadır (Günöz vd. 1993, Mai vd. 2007).

2.8.3 Asetilkolin Esteraz İnbisyonu

Asetilkolin esteraz (EC 3.1.1.7.), asetilkolini hidrolizini katalize eden serin hidrolaz sınıfı kolinesterazdır. Kolinesterazlar enzim grubunda asetilkolin esteraz dışında bütirilkolin esteraz (EC 3.1.1.8) da bulunur. Asetilkolin esteraz beyin, kas ve eritrosit membranlarında bulunmaktadır. Bu enzim bilinen en hızlı enzimlerden biridir. Bütirilkolin esteraz, beyin dışında karaciğer, akciğer, böbrek gibi dokularda bulunması nedeniyle esterleşmiş moleküllerin detoksifikasyonundan da görev almaktadır (Massoulie vd. 1993).

Asetilkolin, uyarıların sinir uçlarından iletilmesini sağlayan, kimyasal iletken bir moleküldür. Bu molekül sinir sistemi bir etken tarafından uyarılınca inaktif halden aktif hale geçmekte ve dokular içerisinde yayılmaktadır. Böylece sinir hücre ve tellerinde uyarılar başlamaktadır. Uyarılar, beyin merkezinden perifere ve periferden beyin merkezine doğru asetilkolin yardımı ile iletilmektedir. Asetilkolin ortamda bulunduğu sürece uyarılar devam etmektedir. İşlevini yerine getiren asetilkolinin parçalanması gerekmektedir. Kolinesterazlar, asetilkolinin asetik asit ve koline hidrolizini gerçekleştirmektedir (Legay 2000).

Demans, hatırlama, düşünme ve akıl yürütme becerisinde zamanla artan kayıp olarak ifade edilen nörodejeneratif hastalıktır. Demans zekâ, öğrenme ve bellek, algı, dikkat, yargılama problem çözme, dil ve sosyal yetenekleri etkilenen bilişsel işlevler etkilenmektedir. Alzheimer ve Parkinson hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklar önemli demans tipleridir. Nörodejeneratif hastalıklarda beyinde Hirano, Lewy, Pick cisimcikleri ve nörofibriler yumaklar gibi bir dizi hücre içi birikmekte ve beyinde bazı yapısal değişikliklerin gerçekleşmektedir (Baydemir 2012).

Alzheimer hastalığında, senil plaklar, nörofibriler yumaklar, distrofik nöritler, ve serebral kortekste belirgin yaygın atrofi ve hücre kaybı gözlenmektedir. Beyinde görülen yapısal değişiklikler geri dönüşümsüz olarak meydana gelen nöron ve sinaps kayıplarıdır. Bu kayıplar, limbik sistemde yer alan ve hafıza ile ilişkili yapılardan olan hipokampus ve amigdalada ve beyin serebrum kısmını örten, düşünme, algı ve dil

işlevlerinden sorumlu serebral kortekste de nöron kayıpları mevcuttur (Mu vd. 1999). Günümüzde yapılan çalışmalarla, ortalama yaşam süresi artmakta ve dolayısıyla yaşlı popülasyonun giderek artması Alzheimer hastalığının görülme sıklığı da artmaktadır. Parkinson hastalığında dopamin üreten nöronların kaybı gerçekleşmektedir. Bu nöronlar özellikle beyin sapında yer alan *substantia nigra* bölgesinde bulunmaktadır. Bu bölge motor hareketlerin oluşmasını gerçekleştiren bölgedir. *Substantia nigra*daki hücrelerin zamanından önce ölmektedir. Bazal gangliya yeterli dopaminerjik sinyal gitmediğinden bazal gangliyanın beyin korteksindeki uyarıcı etkisi azalmaktadır. Bunun sonucunda da hareketlerin yavaşlaması, titreme ve denge kayıpları meydana gelmektedir (Sugimoto vd. 2002, Tekin 2007). Alzheimer hastalığındaki temel sorun kolinerjik sistem bozukluğu ve glutamat toksisite artışı sonucunda oluşan nöron kaybıdır. Kolinesteraz inhibitörleri ile kolinerjik etkinliğin arttırılması ve glutamat toksisitesinin azaltılması ile hastalığın ilerlemesinde yavaşlama sağlamakta ancak nöron kaybını geri getirmemektedir. Alzheimer hastalığının tedavisinde, kolinesteraz inhibitörlerinin kullanımı, nöroprotektif yöntemler, nonfarmakolojik tedaviler, psikofarmakolojik ajanların kullanılmaktadır. Dolayısıyla bu durum araştırmacıları Alzheimer hastalığındaki tedavi arayışlarının yönlendirmektedir (Wood ve Cummings 2004). Son yıllarda Alzheimer hastalığı tedavisinde yeni gelişmeler bildirilmiştir. Hastalık patolojisinin oluşmasını önlemeye yönelik α , β , γ sekretaz inhibitörleri, β amiloid plak ile fibril oluşumunun önlenmesi, amiloid agresyon inhibitörleri, anti Tau protein ve apoptozisi önlemeye yönelik ilaçlar üzerine çalışmalar devam etmektedir (Telliöğlü 2011).

Parkinson hastalığında uygulanan tedavilerle hastanın hayat kalitesini ve hastaların fonksiyonelliğini arttırmaya çalışılmaktadır. Semptomları azaltıcı şekilde etki gösteren pek çok ilaç ve cerrahi müdahale yıllardır Parkinson hastalığının tedavisinde kullanılmaktadır (Yağın 2013). Cerrahi komplikasyonlardan dolayı tedavide etkin ilaçlar kullanımına yönelinmiştir. Levodopa, Parkinson hastalığında kullanılmaktadır. Oral olarak alınan ilaç diğer organlarda metabolize olduğundan çok az miktarı kan-beyin bariyerini geçebilmektedir. Levodopa, semptomatik etkisi en güçlü ilaçtır ancak özellikle genç hastalarda motor komplikasyonlar ve istenmeyen etkiler geliştirme riski yüksektir. Bunun haricinde antikolinerjik ilaçlar, amantadin, katekol-O-metiltransferaz

enzimi inhibitörleri ve monoamino-oksidadaz-B enzimi inhibitörleri de kullanılmaktadır (Fahn ve Jankovic 2007).

Alzheimer ve Parkinson hastalığında tedavisinde kolinesteraz inhibitörleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunlarda biri olan galantamin, kardelenden (*Galanthus spp.*) izole edilmiştir. Seçici, kompetitif ve geri dönüşümlü bir AChE inhibitörüdür. Bunun yanı sıra nikotik reseptörlere allosterik olarak bağlanarak, asetilkolin salınımını artırmak üzere nikotik reseptörleri modüle etmektedir. Fizostigmin, bir çeşit fasulyeden (*Physostigma venenosum*) izole edilmiştir (Zhou vd. 2008). Alzheimer hastalığının tedavisinde fizostigmin karbamat analogu olan rivastigmin kullanılır. Rivastigmin, hem asetilkolinesterazı hem de bütirilkolinesterazı inhibe eder. Hafif ve orta derece Alzheimer hastalığı semptomlarının tedavisinde kullanılmaktadır. Enzime esteratik bölgesinden bağlanır ve buradan da çok yavaş ayrılır. Rivastigmin, korteks ve hipokampustaki kolinesterazı, beynin diğer bölgelerine göre daha fazla inhibe etmektedir. Donepezil hidroklorür, piperidin türü yarışmasız bir asetilkolinesteraz inhibitörüdür. Asetilkolinesterazı seçici ve geri dönüşümlü olarak inhibe etmektedir. Huperzin A, *Huperzia serrata*'dan (Thumb.) izole edilen doğal bir bileşiktir, AChE'nin güçlü, geri dönüşümlü ve seçici bir inhibitörüdür. Doğal kumarinlerin ve sentezlenmiş kumarin analogları da güçlü AChE inhibitör aktivite göstermektedir. Kumarin türevleri ayrıca nöronların, oksidatif strese ve serbest radikallere karşı korunmasını da sağlamaktadır (Anand vd. 2012).

2.8.4 Tirozinaz İnhibisyonu

Tirozinaz (EC 1.14.18.1) polifenol oksidaz, monofenol oksidaz, katekolaz ve fenolaz olarak da bilinen oksidoredüktaz bir enzimdir. Enzimin tirozin (monohidroksifenilalanin) ve dihidroksifenilalanine karşı spesifikliğınden dolayı bu şekilde adlandırılmıştır. Tirozin; dopamin, norepinefrin, epinefrin, melanin ve tiroksinin ön maddesi olup fenilalaninden sentezlenir. Proteinlerle vücuda alınır. Tirozinaz doğada çok yaygındır. Daha yaygın olarak bitkilerde bulunmasına karşın, mikroorganizmalarda ve diğer organizmalarda da bulunur. Tirozinaz bitkisel dokularda öncelikle inaktif formlar halinde sentezlenmekte ve zamanla farklı etmenlerle, proteazlar veya solunum

metabolitlerince aktif hale getirilmektedirler. İşte bu nedenlerle bitkisel dokularda çoğu zaman bu enzimin bir kısmı inaktif formda, bir kısmı ise aktif formda bulunmaktadır (Parvez vd. 2007). Tirozinaz, fenolik bileşenlerin kinon türevlerine oksidasyonunu katalizler. Monofenollerin o-difenollere hidroksilasyonu ve o-difenollerin o-kinona oksidasyonu şeklinde reaksiyonlarını katalizlemektedir. Tirozinaz, melanin oluşumunda görevli enzimdir (Ortonne ve Ballotti 2000, Maeda ve Fukuda 1991). Tirozinaz, melanositlerde melaninin biyosentezinin ilk reaksiyonunda tirozinin L-DOPA'ya hidroksilasyonu gerçekleşir. Oluşan L-DOPA daha sonra dopakinon'a okside olmaktadır. Dopakinonun, siklizasyon ve oksidatif polimerizasyon reaksiyonlarını içeren bir seri kompleks reaksiyonla melanin oluşmaktadır. Anormal melanin pigmenti üretimi genellikle orta ve ileri yaşlarda sıkça insanlarda ciddi bir estetik problemi yaratmaktadır. Eksojen sebepler ultraviyole ışığa bazı ilaçlara ve kimyasallara maruz kalmanın yanı sıra belirli hastalıkların varlığı da hiperpigmentasyonla sonuçlanabilir (Sugumaran 1991, Kalka vd. 2000).

Melanin biyosentezi, UV ye maruz kalmanın önlenmesiyle, tirozinazın inhibe edilmesiyle, melanosit metabolizmasının inhibisyonu ve proliferasyonu ile inhibe edilebilir. Cilt rengini açan preparatların etkisi, melanin oluşan hücrelerin (melanositlerin) tahrip olması, melanin biyosentezinin engellenmesi, tirozinaz enziminin inaktive edilmesi, melanin granüllerinin stratum germinativum ve stratum spinosum hücrelerine geçişinin önlenmesi, melanin pigmentinin okside edilerek rengin açılması veya giderilmesi şeklinde olmaktadır. Tirozinaz inhibitörleri hem melanin pigmentasyonu ile ilgili cilt problemlerini tedavi etmek hem de cilt beyazlatma işlemleri için kullanılmaktadır (Maeda ve Fukuda 1991, Seiberg 2000).

Tirozinaz gıda endüstrisinde de önemli bir enzimdir. Tirozina sebze ve meyvelerdeki enzimatik kararmadan sorumludur. Kinon bileşenlerinin proteinlerin amino ve sülfidril gruplarıyla arasındaki geri dönüşümsüz olarak oluşan kahverengileşme reaksiyonları sonucu istenmeyen renk ve lezzetler oluşur. Kinon-protein yapılarının oluşması sindirimini zorlaştıran lizin ve sisteinin de içinde bulunduğu esansiyel amino asitlerin biyoyararlanımını düşürmektedir. Bu bağlamda, kuvvetli tirozinaz inhibitörlerine tarım ve beslenme alanında çok ihtiyaç bulunmaktadır. Tirozinazın inhibisyonu ile enzimatik

kararmanın da önüne geçilmeye çalışılmaktadır. Kararma hem enzimin inaktif olmasıyla hem de reaksiyon için gerekli O₂ veya fenolik bileşiklerin uzaklaştırılmasıyla da önlenabilir. Bu amaçla gıda endüstrisinde, karbon monoksit, sodyum dietil-ditiyokarbamat, askorbik asit, azit ve potasyum metil ksantat gibi metallerle kompleks oluşturan ligandlar kullanılarak tirozinazın prostetik grubunda bulunan bakırın şelat oluşturma sonucu tirozinaz inhibisyona gerçekleştirilmektedir (Mayer 1987, Whittaker 1995, Friedman 1996).

Kozmetik, medikal ve gıda endüstrilerinde tirozinaz inhibitörleri giderek önem kazanmaktadır. Bunun yanında multifonksiyonel bir enzim olan tirozinaz, Parkinson hastalığında tirozin-tirozinaz enzimatik yolağı aracılığıyla beynin dopamince zengin olan *substantia nigra* bölgesinde bulunan nöronların pigmentasyonundan da sorunludur. Bu yolla, 5-S-sisteinil-dopamin gibi katalizlediğı oksidasyon reaksiyonu sonucu bazı nörotoksik metabolitlerin oluşmasını sağladığı için, Parkinson hastalarında dopamin toksisitesine yol açabilmektedir. Bu nedenle, yeni bir tedavi yaklaşımı olarak, Parkinson hastalarında da tirozinaz inhibitörlerinin kullanılması da gündeme gelmiştir (Mendes vd. 2014, Selinheimo vd. 2008).

Tirozinaz inhibitörleri monofenolaz, difenolaz ya da her ikisini de inhibe eden ederek etki göstermektedir. Doğal kaynaklı başlıca tirozinaz inhibitörleri arbutin, aloesin, anakardik asit, anisik asit, agaritin, anisaldehyt, kumik asit, kuminaldehyt, p-kumarik asit, 3,4-dihidroksinamik asit, oksiresveratrol, kaempferol, trans-sinamaldehyt, 4-hidroksi-3-metoksinnamik asit, 9-hidroksi-4-metoksipisoralin, 5-hidroksimetil-2-furfuraldır (Yang vd. 2019).

3. MATERYAL ve METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Bitki Materyali

Araştırma için gerekli materyaller tez çalışması amacı ile 2019 yılı, Mayıs-Ağustos aylarında Afyon ili Eber Gölü'nün güneyinden (31° 14' Doğu ve 38° 36' Kuzey) toplanmıştır. Bitkinin teşhisi için çiçekli ve meyveli dönemlerinde toplanmasına dikkat edilmiştir. Dr. Mustafa Kargıoğlu tarafından teşhis edilmiştir. Yöresel olarak Eber sarısı ismiyle bilinen bitki örneği Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Herbaryumu'nda saklanmaktadır.

3.1.2 Bitki Ekstresinin Hazırlanması

Thermopsis turcica (Eber sarısı) bitkisinin çiçek, yaprak, dal ve gövde gibi kısımlarından oluşan karışımlar kullanılmıştır. Bitkinin bu kısımlarını kurutmak için, küçük parçalara ayrılarak oda sıcaklığında gölgede kurutulmuştur. Ekstreleri hazırlamak için, toz haline getirilmiş *Thermopsis turcica*'dan 20 g alınarak üzerine 400 mL çözücü eklenmiştir. Ekstreleri hazırlamak amacıyla çözücü olarak etil asetat, su, metanol, dietil eter, hekzan ve aseton seçilmiştir. Soxhlet cihazıyla elde edilecek ekstreler süzgeç kâğıdından süzülerek çözücüleri rotary evaporatör ile uzaklaştırma işlemleri yapılmıştır. Hazırlanan ekstreler kapaklı, koyu renkli cam şişelerde +4 °C de saklanmış ve enzim inhibisyonlarının aktiviteleri belirlenmiştir.

Elde edilen ekstreleri enzim inhibisyon analizleri için etanol içerisinde çözülerek hazırlanmıştır. 10 mg (0,01 g) ekstre öncelikle 1 mL etanolde çözülerek 10 mg/mL stok hazırlanmıştır.

3.1.3 Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Acetylthiocholine iodide $\geq 99.0\%$, Sigma
- Galanthamine, Sigma
- Acetylthiocholinesterase from *Electrophorus electricus* (electric eel) Type VI-S, Iyophilized powder, 200-1,000 units/mg protein, Sigma
- 5,5'-Ditiobis (2-nitrobenzoik asit) $\geq 98\%$, Sigma
- Starch, Soluble Extra Pure, İsolab
- Hydrochloric asid 37% ,VWR
- Iodine, VWR
- Potassium İodide, VWR
- α -Amylase from porcine pancreas DFP Treated, Type I-A, saline suspension, ≥ 1000 units/mg protein (E1%/280), Sigma
- α -Glucosidase from *Saccharomyces cerevisiae* Type I, Iyophilized powder, ≥ 10 units/mg protein (using p-nitrophenyl α -D-glucoside as substrate), Sigma
- 4-Nitrophenyl α -D-glucopyranoside, Sigma
- Sodium carbonate anhydrous Ph, Eur, VWR
- Glutasyon, Sigma
- Kojik acid, Sigma:K3125-5G,
- Tyrosinase from mushroom Iyophilized powder, ≥ 1000 units/mg solid, Sigma
- Levodopa (L-DOPA) (3,4-dihidroksi-L fenilalanine), Sigma
- Phosphate buffered saline tablet, Sigma:
- Tris(hydroxymetyl)aminomethane hydrochloride, 1M stock soln, pH 8.0, Alfa Aesar
- Acarbose, Sigma
- DMSO (Dimetilsulfooksit), Sigma

3.1.4 Kullanılan Alet ve Cihazlar

Thermopsis turcica (Eber sarısı) bitkisinin küçük parçalara ayrılması, ekstraksiyon işleminin yapılması, ekstraksiyon sonucu çözücülerin uçurulması, enzim inhibisyon

analizleri ve uçucu yağının çıkarılması ve analiz edilmesi basamaklarında kullanılan temel alet ve cihazlar Çizelge 3.1 de belirtilmiştir.

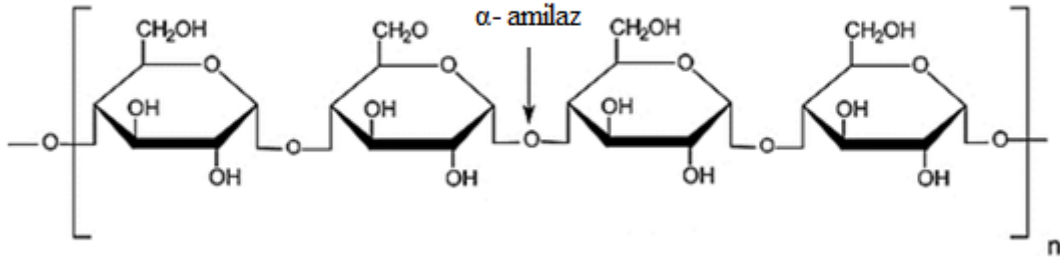
Çizelge 3.1 Deneysel aşamada kullanılan alet ve cihazlar ile markaları.

Kullanılan alet ve cihazlar	Marka
ELISA reader	Epson LX 30-II
Evaporatör	Heidolph GI
UV-VIS Spektrofotometre	Shimadzu UV-1700 Pharmaspec
Otomatik Pipetler	VWR, Ependorf
Saf Su Cihazı	TKA Pacific
Vorteks	MIGVortex Mıxer Elektro Mag
Hassas Terazı	RADWAG- AS220/C/2
Magnetik Karıştırıcı	IKA RH Basic 2
Sonikatör	VWR VDI 12
GC-MS	Agilent

3.2 Metot

3.2.1 α -Amilaz İnhibisyonunun Belirlenmesi

α -amilaz inhibitör aktivitesi Caraway-Somogyi iyodür/potasyum iyodür (IKI) yöntemi ile değerlendirilmiştir (Yang vd. 2012). 1 mg/mL stok ekstrakt çözeltisinden mikroplatt içerisine 25 μ L eklenmiş, üzerine pH: 6.9, 20 mM fosfat tamponunda (6 mM sodyum klorür içeren) hazırlanan 0,5 U/mL'lik α -amilaz çözeltisinden 50 μ L eklenmiştir. Ön inkübasyonda 10 dakika 37 °C'de inkübe edilmiştir. Sonra reaksiyon % 0,05 nişasta çözeltisinden eklenerek başlatılmıştır. Reaksiyon karışımı 1 M HCl'den 25 μ L eklenerek ve 37 °C'de 10 dakika inkübe edilerek reaksiyon durdurulmuştur. Potastum iyodür ve iyot kristallerinden hazırlanan renk ayracından 100 μ L eklenmiş ve absorbanlar 630 nm'de okunmuştur. α -amilaz enzimi, substratı olan nişastanın molekülü'nün α -(1 \rightarrow 4) bağlarını hidrolizleyerek aktivitesini gerçekleştirir. Etki gösterdiği bağlar Şekil 3.1 de gösterilmiştir.



Şekil 3.1 α -Amilaz enzimlerinin substratı nişasta ile etkileşimi.

Standart madde olarak akarboz kullanıldı. Akarbozun farklı konsantrasyondaki (50 $\mu\text{mol/mL}$, 100 $\mu\text{mol/mL}$, 250 $\mu\text{mol/mL}$, 500 $\mu\text{mol/mL}$ ve 1000 $\mu\text{mol/mL}$) çözeltilerine aynı işlemler uygulanarak standart eğri çizilmiştir. α -amilaz inhibitör aktiviteleri akarboza eşdeğer (mmol AKAE/ g ekstre) olarak hesaplanmıştır. Tüm örnekler için okunan absorbans değerleri kullanılarak aşağıdaki formül yardımıyla % amilaz inhibisyonları hesaplandı.

$$\% \text{ inhibisyon} = \left[\frac{(\text{Abskontrol} - \text{Absekrete})}{\text{Abskontrol}} \right] \times 100 \quad (3.1)$$

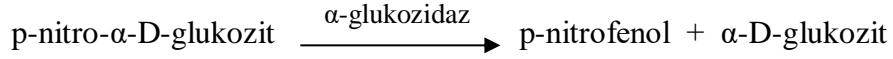
Absekrete: İnhibitör koyulmuş ekstrelerin ve standart madde içeren çözeltilerinin 630 nm'de ölçülen absorbansı.

Abskontrol: İnhibitör ilave edilmeyen, % 100 aktif kabul edilen kontrolün 630 nm'deki absorbansı.

3.2.2 α -Glukozidaz İnhibisyonunun Belirlenmesi

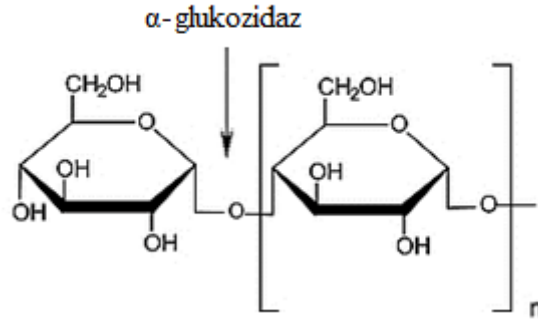
Palanisamy vd. (Palanisamy vd. 2011) nin yöntemine göre α -glukozidaz inhibitor aktivitesi belirlenmiştir. Hazırlanan 1 mg/mL ekstre çözeltilerinden mikroyayıt içerisine 50 μL , hemde sırasıyla 0,1 M (pH:6,8) potasyum tamponunda hazırlanan 2 U/mL, α -glukozidaz çözeltilerinden 50 μL , 2 mg/mL glutatyon çözeltilerinden 50 μL ve 10 mM p-NPG (4-Nitrofenil β -D-glukuronid) çözeltilerinden eklenerek 96'lı mikroyayıt içinde

kariştırılmıştır. Sonra 37 °C’de 15 dakika inkübe edilmiştir. Bu analizde meydana gelen reaksiyon aşağıdaki gibidir:



p-nitrofenil renkli bir bileşik olup 400 nm’de absorbands vermektedir. Aynı şekilde enzim içermeyen kr ve numune yerine çözücü içeren kontrol örnekler hazırlanmıştır. 0,2 M sodyum karbonattan (Na₂CO₃) 50 μL ilave edilerek reaksiyon durdurulmuştur. Absorbanslar 400 nm’de okundu (akmak ve ark.,2017).

α-glukozidaz enzimi enzimatik aktivitesi sırasında substrat molekülünün ucundaki bir glukoz molekülünün α-(1→4) bağını hidroliz ederek serbest kalmasını sağlar, α-glukozidaz enziminin etki ettiği bağ yapısı şekil 3.2’de verildiği gibidir.



şekil 3.2 α- Glukozidaz enzimlerinin substratı nişasta ile etkileşimi.

Standart madde olarak akarboz kullanıldı. Akarbozun farklı konsantrasyondaki (50 μmol/mL, 100 μmol/mL, 250 μmol/mL, 500 μmol/mL ve 1000 μmol/mL) zeltilerine aynı işlemler uygulanarak standart eğri çizilmiştir. α- glukozidaz inhibitör aktiviteleri akarboza eşdeğer (mmol AKAE/ g ekstre) olarak hesaplanmıştır. Tüm rnekler için okunan absorbands değerleri kullanılarak aşağıdaki formül yardımıyla % glukozidaz inhibisyonları hesaplandı.

$$\% \text{ inhibisyon} = \left[\frac{(\text{Abskontrol} - \text{Absekrete})}{\text{Abskontrol}} \right] \times 100 \quad (3.2)$$

Absekre: İnhibitör koyulmuş ekstrelerin ve standart madde içeren çözeltilerinin 400 nm’de ölçülen absorbansı.

Abskontrol: İnhibitör ilave edilmeyen, % 100 aktif kabul edilen kontrolün 400 nm’deki absorbansı.

3.2.3 Asetilkolin Esteraz İnhibisyonun Belirlenmesi

Asetilkolin esteraz (AChE) inhibitör aktivitesi Ellman yöntemi kullanılarak ölçülmüştür. Yöntemin prensibi asetilkolin esterazın asetiltiyokolini hidrolize etmesinden çıkan tiyokolin, DTNB (5,5-ditiyo-bis-2-nitrobenzoik asit) yani Ellman reaktifi ile reaksiyonundan sarı renkli kromofor TNB (5-tiyo-2-nitrobenzoik asit) oluşmasına dayanır. Oluşan TNB 405 nm’de AChE aktivitesi ile doğru orantılıdır. Ekstraktlar 1 mg/mL konsantrasyonda hazırlanan stok çözeltilerinden 50 µL alınmıştır. 125 µL, 0,3 mM DTNB (5,5-ditiyo-bis-2-nitrobenzoik asit) reaktifi ile 20 mM pH:8 Tris HCl tamponundan hazırlanan 0,026 U/mL antikolin esteraz enzim çözeltilerinden 25 µL, mikroyol içinde karıştırılmıştır. 25 °C’de 15 dakika inkübe edilmiştir. 1,5 mM 25 µL asetiltiyokolini iyodür (ATCI) substratının eklenmesiyle reaksiyon başlatılmıştır. Absorbanslar 405 nm’de 25 °C’de 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra okunmuştur (Ellman vd. 1961).

Standart madde olarak galantamin kullanıldı. Galantaminin farklı konsantrasyondaki çözeltilerine aynı işlemler uygulanarak standart eğri çizilmiştir. Asetilkolin esteraz inhibitör aktivitesi galantamin eşdeğer (mg GALAE/g ekstre) olarak hesaplanmıştır. Tüm örnekler için okunan absorbans değerleri kullanılarak aşağıdaki formül yardımıyla % asetilkolin esteraz inhibisyonları hesaplandı.

$$\% \text{ inhibisyon} = \left[\frac{(\text{Abskontrol} - \text{Absekre})}{\text{Abskontrol}} \right] \times 100 \quad (3.3)$$

Absekre: İnhibitör koyulmuş ekstrelerin ve standart madde içeren çözeltilerinin 405 nm’de ölçülen absorbansı.

Abskontrol: İnhibitör ilave edilmeyen, % 100 aktif kabul edilen kontrolün 405 nm’deki absorbansı.

3.2.4 Tirozinaz İnhibisyonunun Belirlenmesi

Tirozinaz inhibitör aktivitesinde substrat olarak L-DOPA kullanılarak dopachrome yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Ekstrelerin 1 mg/mL stok çözeltisi konsantrasyonda %50'lik DMSO içerisinde hazırlanmıştır. Örnek çözeltisinden 40 µL, fosfat tamponundan (20 mM pH:6,8 fosfat tamponu) 120 µL ve 480 U/mL'lik tirozinaz enzim çözeltisinden 20 µL alınarak mikropleyt içerisinde karıştırılmıştır. Sonra 15 dakika 25 °C'de inkübe edilmiş ve 2,5 mM L-DOPA'dan 20 µL eklenmesi ile reaksiyon başlatılmıştır. Absorbanslar 25 °C'de 10 dakika inkübe edildikten sonra 492 nm'de okunmuştur (Orhan vd. 2012, Çakmak vd. 2017).

Standart madde olarak kojik asit kullanıldı. Kojik asitin farklı konsantrasyondaki çözeltilerine aynı işlemler uygulanarak standart eğri çizilmiştir. Tirozinaz inhibitör aktivitesi kojik aside eşdeğer (mg KAE/g ekstre) olarak hesaplanmıştır. Tüm örnekler için okunan absorbans değerleri kullanılarak aşağıdaki formül yardımıyla % tirozinaz inhibisyonları hesaplandı.

$$\% \text{ inhibisyon} = \left[\frac{(\text{Abskontrol} - \text{Absektre})}{\text{Abskontrol}} \right] \times 100 \quad (3.4)$$

Absektre: İnhibitör koyulmuş ekstrelerin ve standart madde içeren çözeltilerinin 492 nm'de ölçülen absorbansı.

Abskontrol: İnhibitör ilave edilmeyen, % 100 aktif kabul edilen kontrolün 492 nm'deki absorbansı.

3.2.5 Esansiyel Yağ Asidi Miktarı ve Bileşenlerinin Belirlenmesi

Bu çalışmada uçucu yağların miktar ve bileşenlerini belirlemek için Clevenger cihazı kullanımı ile hidrodestilasyon işlemi uygulandı. Bitki cam balon içerisine alınmış ve saf su ile geri soğutucu altında uçucu yağların elde edilmesi edildi. Sonrasında basınçlı azot gazı kullanımı ile uçucu yağ miktarları belirlenerek kütle/kütle olarak yüzde verimleri hesaplandı. Daha sonra elde edilen ekstraktlar uygun çözücüler ile GC-MS'de analiz edildi.

GC–MS analizleri, Agilent marka, Agilent hp innowax kolonlu (0,25mm x 60m, 0,25µm film tabakası kalınlığı) cihaz içerisinde gerçekleştirildi. Analizde taşıyıcı gaz olarak helyum (Akış hızı: 0.7 mL) kullanıldı. Kolon sıcaklığı 4 °C/dakika artışla 60 °C'den 220 °C ye çıkacak ve 10 dakika aynı sıcaklıkta bekletildi, sonra tekrar 4 °C/dakika artarak 240 °C'ye çıkacak şekilde programlandı. Enjeksiyon hacmi 1 µL, örnek hacmi 2 mL ve iyonlaşma voltajı 70 eV olarak kullanıldı. Kantitatif tayinler için pik alanları hesaplanarak ayrılmış bileşenler Wiley 9-nist 11 mass spectral database verileri ile kıyaslama metodu ile tanımlandı.

3.3. İstatistiksel Analiz

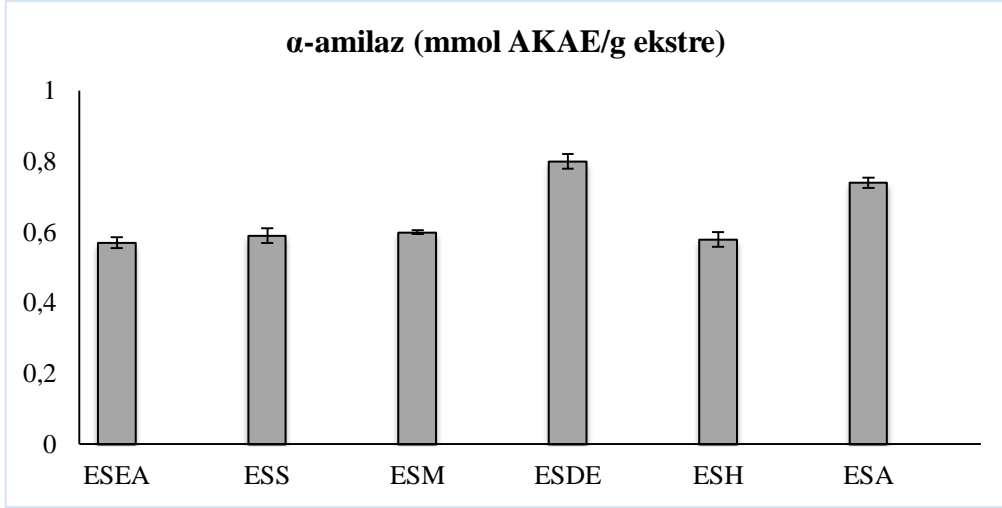
Thermopsis turcica nın antidiyabetik, antitirozinaz ve antiasetilkolin esteraz özelliği belirlemek için ekstrelerden alınan örnekler üç tekrarlı olarak analiz yapıldı ve kaydedildi. Elde edilen sonuçların istatistiksel hesaplamaları SPSS 18 programı kullanılarak gerçekleştirildi. Verilerin analizleri “ortalama ±standart sapma” olarak ifade edilmiştir. Enzim inhibisyonu sonuçları arasındaki istatistiksel farklılıkları belirlemek üzere spektroskopide ölçülen absorbans değerlerine one-way variance analyses (ANOVA) uygulandı. Absorbans verileri arasındaki farklılıklar LSD ve DUNCAN testleri kullanılarak belirlendi ve $p < 0,05$ değerleri istatistiksel olarak farklı kabul edildi.

4. BULGULAR

Yapılan bu çalışmada *Thermopsis turcica* (Eber sarısı) endemik türünün etil asetat, su, metanol, dietil eter, hekzan ve aseton ekstralarının α -amilaz, α -glikozidaz, asetilkolin esteraz ve tirozinaz enzimlerini inhibe edici özellikleri ile uçucu yağ asidi içeriğine ait veriler aşağıda verilmiştir.

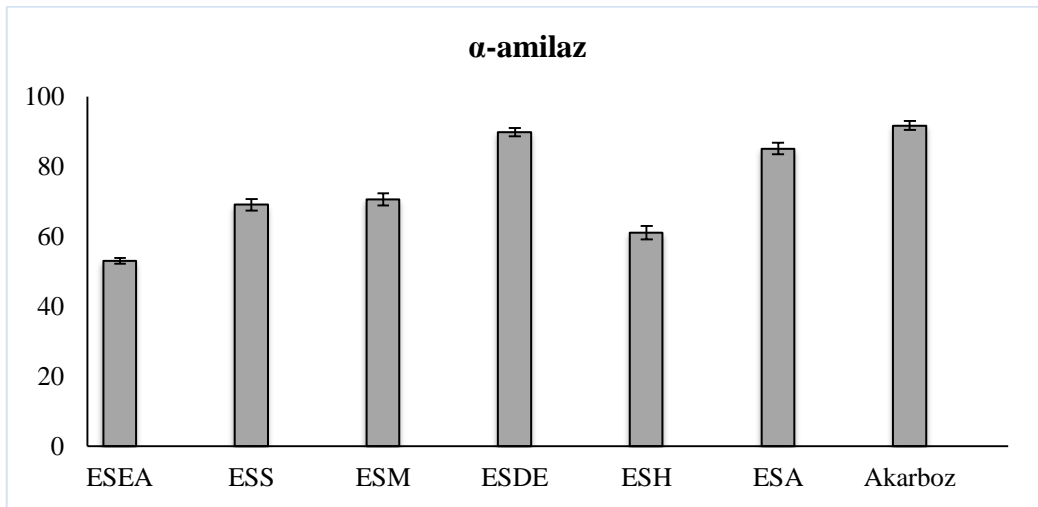
4.1. Eber Sarısının Farklı Çözücülerle Hazırlanan Ekstrelerinin α -Amilaz Enzimini İnhibe Edici Özellikleri

Eber sarısı endemik türünün etil asetat, su, metanol, dietil eter, hekzan ve aseton ekstraları ile standart madde akarbozun farklı konsantrasyonlarının (50 $\mu\text{mol/mL}$, 100 $\mu\text{mol/mL}$, 250 $\mu\text{mol/mL}$, 500 $\mu\text{mol/mL}$ ve 1000 $\mu\text{mol/mL}$) konsantrasyonlarında α -amilaz inhibisyon aktivitelerini belirlemek üzere, Bölüm 3.2.1'de açıklandığı gibi Caraway-Somogyi iyodür/potasyum iyodür (IKI) yöntemi uygulandı. Akarbozun farklı konsantrasyondaki çözeltilerinin absorbans değerlerinde standart eğri çizilmiştir. Bu grafikten α -amilaz inhibisyon aktiviteleri akarboza eşdeğer (mmol AKAE/g ekstre) olarak hesaplanmıştır. ESEA (0,57 \pm 0,015 mmol AKAE/g ekstre); ESS(0,59 \pm 0,021 mmol AKAE/g ekstre); ESM (0,60 \pm 0,006 mmol AKAE/g ekstre); ESDE (0,80 \pm 0,021 mmol AKAE/g ekstre); ESH (0,58 \pm 0,021 mmol AKAE/g ekstre); ESA (0,74 \pm 0,015 mmol AKAE/g ekstre) olarak bulunmuştur. Türün dietil eter ve aseton ekstralarının diğer ekstrelerle göre α -amilaz inhibisyonunun daha yüksek olduğu görülmektedir. Eber sarısı endemik türünün etil asetat, su, metanol, dietil eter, hekzan ve aseton ekstralarının α -amilaz inhibisyon aktiviteleri akarboz eşdeğeri olarak Şekil 4.1 de verilmiştir.



Şekil 4.1 Eber sarısının farklı ekstrelerinin α -amilaz inhibisyon aktiviteleri.

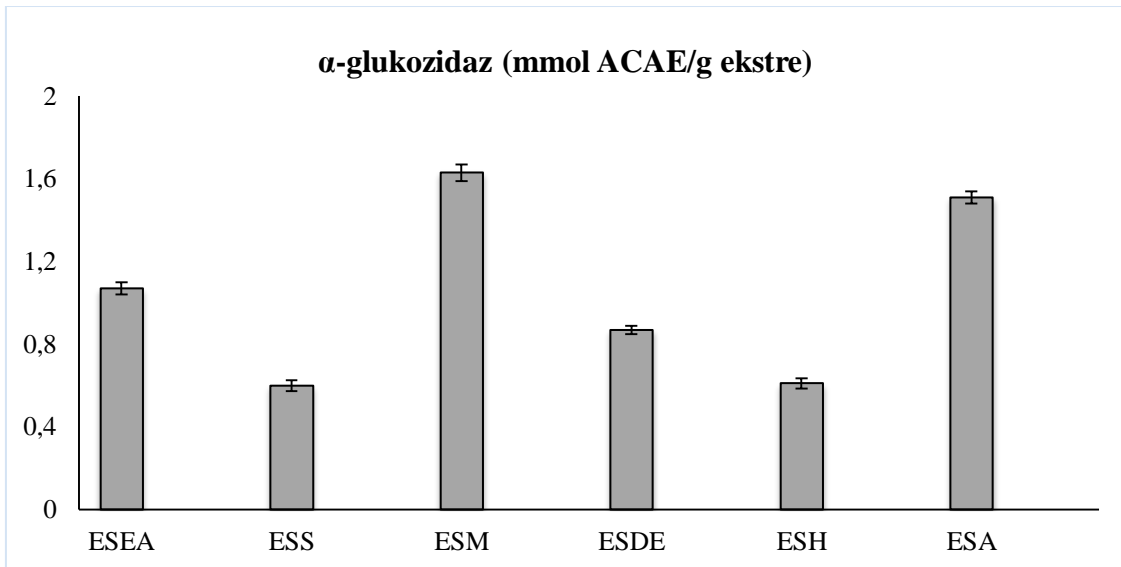
Eber sarısı endemik türünün etil asetat, su, metanol, dietil eter, hekzan ve aseton ekstreleri ile standart madde akarbozun absorpsiyonları ve Denklem 3.1 de verilen formül kullanılarak % α -amilaz inhibisyon aktiviteleri hesaplandı. ESEA (% 53,09±0,781); ESS (% 69,10±1,689); ESM (% 70,63±1,736); ESDE (% 89,87±1,125); ESH (% 61,12±1,953); ESA (% 85,18±1,636) ve Akarboz (% 91,75±1,259) bulundu. Türün dietil eter ve aseton ekstrelerinin diğer ekstrelerle göre % α -amilaz inhibisyonununun daha yüksek olduğu ve özellikle dietil eter ekstresinin standart madde akarbozun % inhibisyonundan istatistiksel olarak farklı olmadığı da ($p>0,05$) görüldü. Ekstrelerin ve akarbozun α -amilaz inhibe edici etkisi % inhibisyon olarak Şekil 4.2 de verilmiştir.



Şekil 4.2 Eber sarısının farklı ekstrelerinin % α -amilaz inhibisyon aktiviteleri.

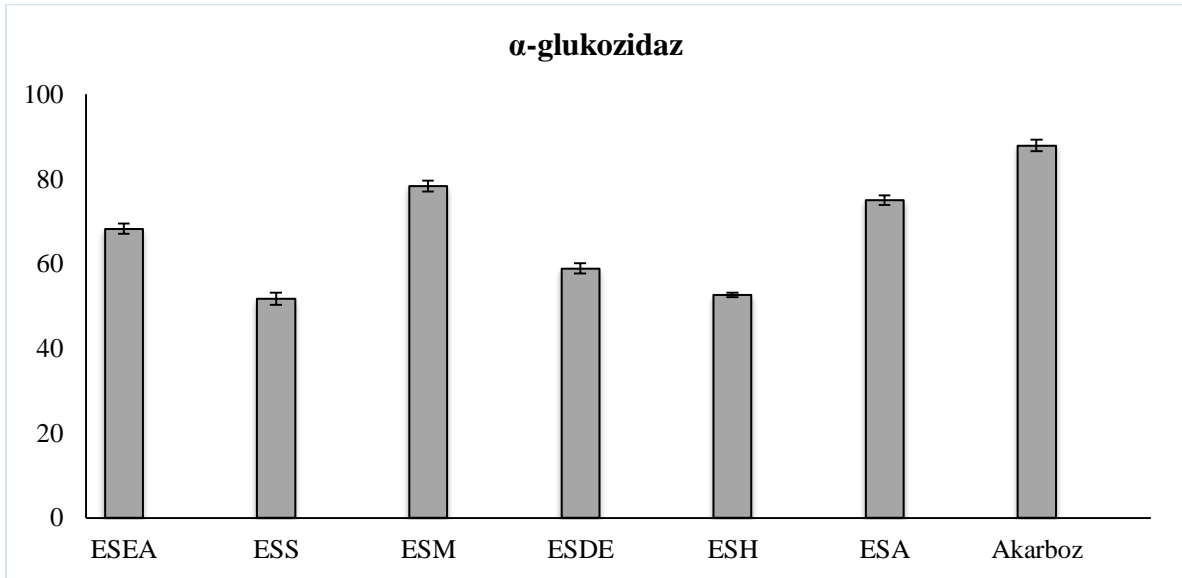
4.2 Eber Sarısının Farklı Çözücülerle Hazırlanan Ekstrelerinin α -Glukozidaz Enzimini İnhibe Edici Özellikleri

Eber sarısı endemik türünün etil asetat, su, metanol, dietil eter, hekzan ve aseton ekstreleri ile standart madde akarbozun farklı konsantrasyonlarının (50 $\mu\text{mol/mL}$, 100 $\mu\text{mol/mL}$, 250 $\mu\text{mol/mL}$, 500 $\mu\text{mol/mL}$ ve 1000 $\mu\text{mol/mL}$) konsantrasyonlarında α -glukozidaz inhibisyon aktivitelerini belirlemek üzere, Bölüm 3.2.2’de açıklanan işlemler uygulandı. Akarbozun farklı konsantrasyondaki çözeltilerinin absorbans değerlerinde standart eğri çizilmiştir. Bu grafikten α -glukozidaz inhibisyon aktiviteleri akarboza eşdeğer (mmol AKAE/g ekstre) olarak hesaplandı. ESEA (1,07 \pm 0,030 mmol AKAE/g ekstre); ESS (0,60 \pm 0,027 mmol AKAE/g ekstre); ESM (1,63 \pm 0,040 mmol AKAE/g ekstre); ESDE (0,87 \pm 0,020 mmol AKAE/g ekstre); ESH (0,61 \pm 0,025 mmol AKAE/g ekstre); ESA (1,51 \pm 0,030 mmol AKAE/g ekstre) olarak bulunmuştur. Su ve hekzan ekstrelerinin α -glukozidaz inhibisyonu diğer tüm ekstrele göre istatistiksel anlamlılıkta ($p<0,05$) düşük görülmektedir. Diğer tüm ekstrelerin α -glukozidaz inhibisyon aktiviteleri birbirinden istatistiksel anlamlılıkta ($p<0,05$) farklıdır. Eber sarısı endemik türünün etil asetat, su, metanol, dietil eter, hekzan ve aseton ekstrelerinin α -glukozidaz inhibe edici etkisi akarboz eşdeğeri olarak Şekil 4.3 de verilmiştir.



Şekil 4.3 Eber sarısının farklı ekstrelerinin α -glukozidaz inhibisyon aktiviteleri.

Eber sarısı endemik türünün etil asetat, su, metanol, dietil eter, hekzan ve aseton ekstreleri ile standart madde akarbozun absorpsanları ve denklem 3.2 de verilen formül kullanılarak % α -glukozidaz inhibisyon aktiviteleri hesaplandı. ESEA (% 68,25 \pm 1,22); ESS (% 51,76 \pm 1,47); ESM (% 78,36 \pm 1,24); ESDE (% 58,91 \pm 1,28); ESH (% 52,62 \pm 0,59); ESA (% 75,04 \pm 1,13) ve Akarboz (% 87,91 \pm 1,34) bulundu. Su ve hekzan ekstrelerinin % α -glukozidaz inhibisyonlarının da diğer tüm ekstrelere göre istatistiksel anlamlılıkta ($p < 0,05$) düşük görülmektedir. Akarboza en yakın % α -glukozidaz inhibisyonu metanol ekstresine aittir. Eber sarısı endemik türünün etil asetat, su, metanol, dietil eter, hekzan ve aseton ekstrelerinin α -glukozidaz inhibe edici etkisi % inhibisyon olarak Şekil 4.4 de verilmiştir.

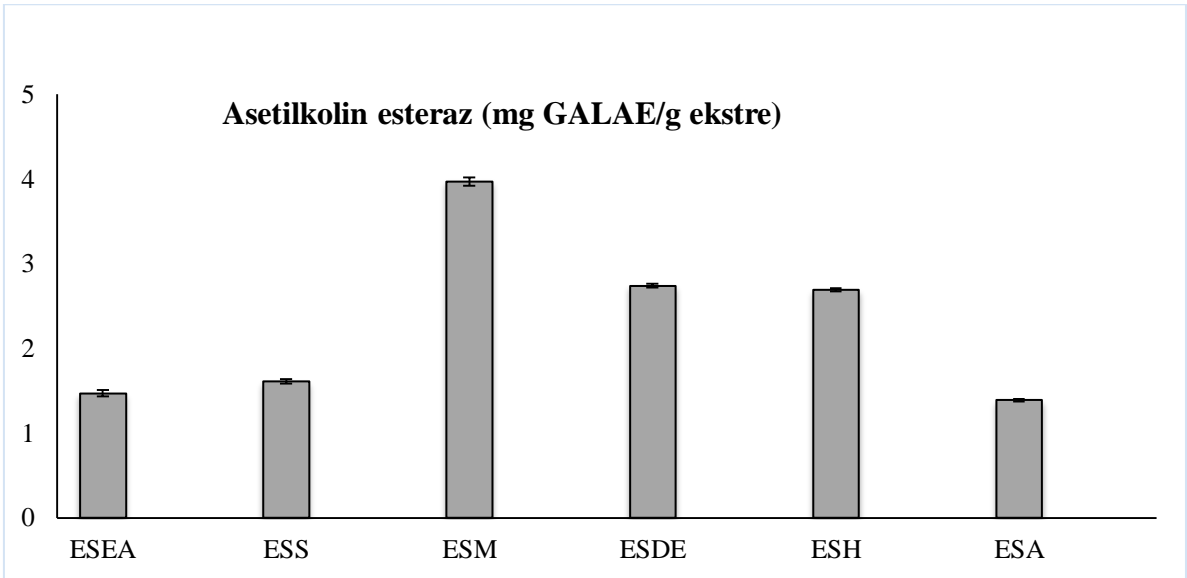


Şekil 4.4 Eber sarısının farklı ekstrelerinin % α -glukozidaz inhibisyon aktiviteleri.

4.3 Eber Sarısının Farklı Çözücülerle Hazırlanan Ekstrelerinin Asetilkolin Esteraz Enzimini İnhibe Edici Özellikleri

Eber Sarısı endemik türünün etil asetat, su, metanol, dietil eter, hekzan ve aseton ekstreleri ile standart madde akarbozun farklı konsantrasyonlarında asetilkolin esteraz inhibisyon aktivitelerini belirlemek üzere, Bölüm 3.2.3'de açıklanan işlemler uygulandı. Galantaminin farklı konsantrasyondaki çözeltilerinin absorpsan değerlerinde standart eğri çizilmiştir. Bu grafikten asetilkolin esteraz inhibisyon aktiviteleri galantamine

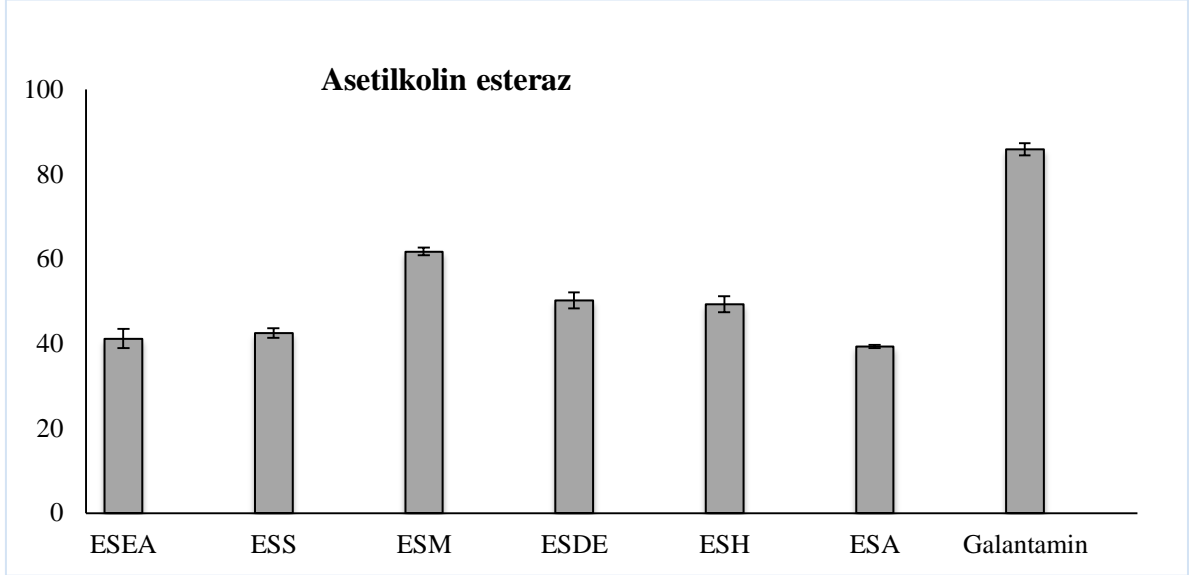
eşdeğer (mg GALAE/g ekstre) olarak hesaplandı. ESEA (1,47±0,036 mg GALAE/g ekstre); ESS (1,61±0,025 mg GALAE/g ekstre); ESM (3,97±0,050 mg GALAE/g ekstre); ESDE (2,74±0,025 mg GALAE/g ekstre); ESH (2,69±0,020 mg GALAE/g ekstre); ESA (1,39±0,015 mg GALAE/g ekstre) olarak bulunmuştur. Su ve etil asetat ve aseton ekstralarının asetilkolin esteraz inhibisyonu diğer tüm ekstralere göre istatistiksel anlamlılıkta ($p<0,05$) düşük görülmektedir. Metanol ekstresinin asetilkolin esteraz inhibisyon aktivitesi diğer ekstralardan istatistiksel anlamlılıkta ($p<0,05$) yüksektir. Eber sarısı endemik türünün etil asetat, su, metanol, dietil eter, hekzan ve aseton ekstralarının asetilkolin esteraz inhibe edici etkisi galantamin eşdeğeri olarak Şekil 4.5 de verilmiştir.



Şekil 4.5 Eber sarısının farklı ekstralarının AChE inhibisyon aktiviteleri.

Eber sarısı endemik türünün etil asetat, su, metanol, dietil eter, hekzan ve aseton ekstraları ile standart madde galantamin absorbanları ve denklem 3.3 de verilen formül kullanılarak % asetilkolin esteraz inhibisyon aktiviteleri hesaplandı. ESEA (%41,20±2,24); ESS (%42,52±1,16); ESM (%61,76±0,86); ESDE (%50,26±1,91); ESH (%49,33±1,87); ESA (%39,30±0,36) ve galantamin (%85,86±1,43) bulundu. Su ve etil asetat ve aseton ekstralarının % asetilkolin esteraz inhibisyonu diğer tüm ekstralere göre istatistiksel anlamlılıkta ($p<0,05$) düşük görülmektedir. Metanol ekstresinin asetilkolin esteraz inhibisyon aktivitesi diğer ekstralardan istatistiksel anlamlılıkta ($p<0,05$) fazla olduğu ama galantamin istatistiksel anlamlılıkta düşük olduğu görülmektedir. Eber

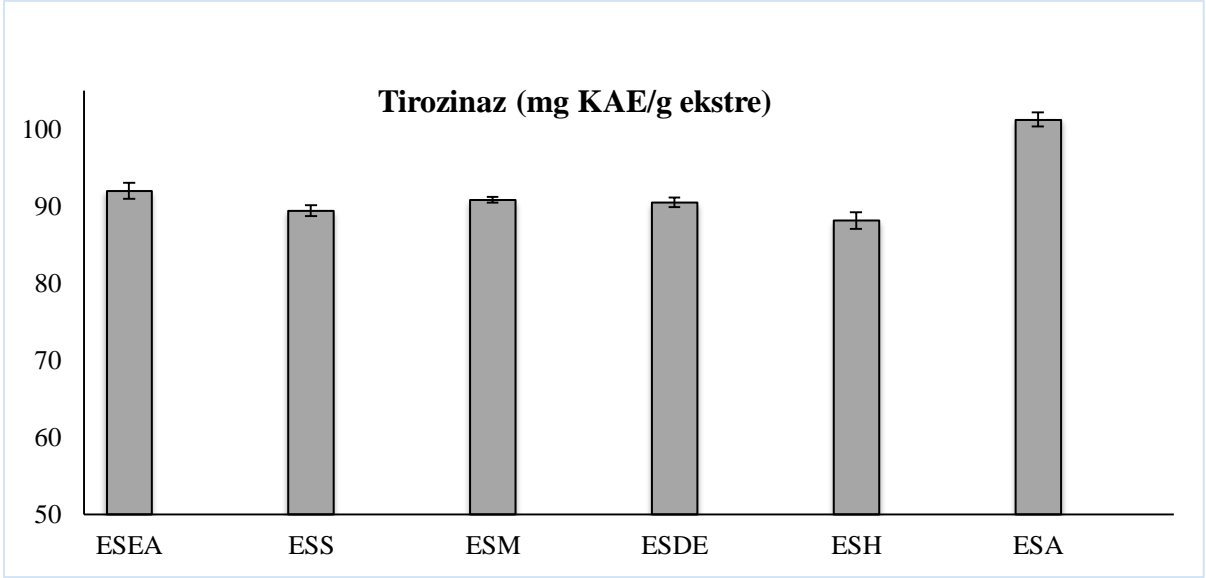
sarısi endemik türünün etil asetat, su, metanol, dietil eter, hekzan ve aseton ekstralarının asetilkolin esteraz inhibe edici etkisi % inhibisyon olarak Şekil 4.6 de verilmiştir.



Şekil 4.6 Eber sarısının farklı ekstralarının % AChE inhibisyon aktiviteleri.

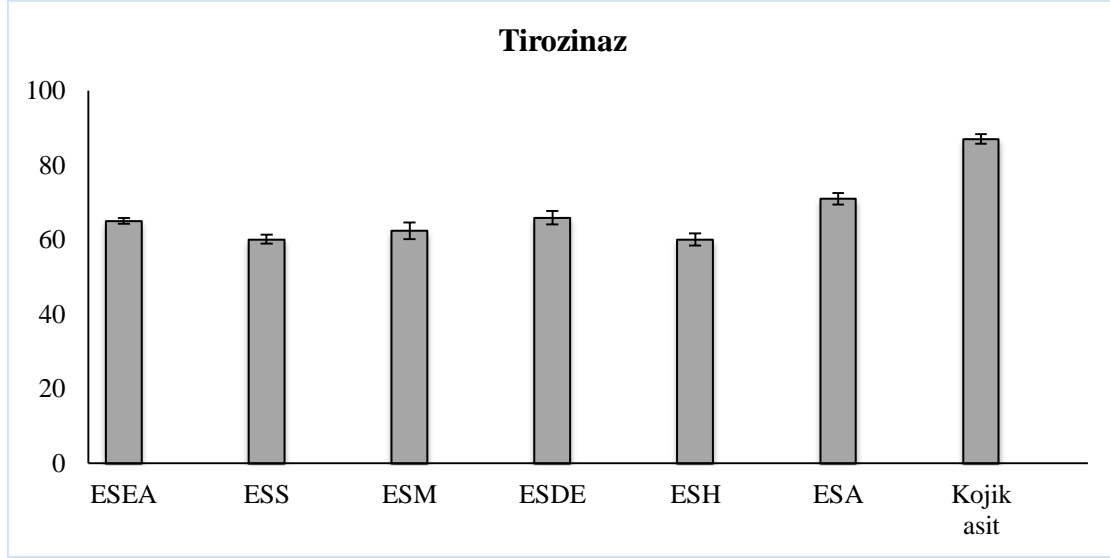
4.4 Eber Sarısının Farklı Çözücülerle Hazırlanan Ekstralarının Tirozinaz Enzimini İnhibe Edici Özellikleri

Eber sarısı endemik türünün etil asetat, su, metanol, dietil eter, hekzan ve aseton ekstraları ile standart madde kojik asit farklı konsantrasyonlarında tirozinaz inhibisyon aktivitelerini belirlemek üzere, Bölüm 3.2.4'de açıklanan işlemler uygulandı. Kojik asidin farklı konsantrasyondaki çözeltilerinin absorbans değerlerinde standart eğri çizilmiştir. Bu grafikten tirozinaz inhibisyon aktiviteleri kojik aside eşdeğer (mg KAE/g ekstre) olarak hesaplandı. ESEA (92,03±1,03 mg KAE/g ekstre); ESS (89,43±0,71 mg KAE/g ekstre); ESM (90,84±0,39 mg KAE/g ekstre); ESDE (90,50±0,64 mg KAE/g ekstre); ESH (88,15±1,06 mg KAE/g ekstre); ESA (101,28±0,95 mg KAE/g ekstre) olarak bulunmuştur. Türün aseton ekstresinin tirozinaz inhibisyon aktivitesi diğer ekstralardan istatistiksel anlamlılıkta ($p<0,05$) yüksek bulunmuştur. Su ve hekzan ekstralarının tirozinaz inhibisyon aktivitesi diğer ekstralardan istatistiksel anlamlılıkta ($p<0,05$) düşük olduğu belirlenmiştir. Eber sarısı endemik türünün etil asetat, su, metanol, dietil eter, hekzan ve aseton ekstralarının tirozinaz inhibe edici etkisi kojik asit eşdeğeri olarak Şekil 4.7 de verilmiştir.



Şekil 4.7 Eber sarısının farklı ekstralarının tirozinaz inhibisyon aktiviteleri.

Eber sarısı endemik türünün etil asetat, su, metanol, dietil eter, hekzan ve aseton ekstraları ile standart madde kojik asit absorbanları ve Denklem 3.4 de verilen formül kullanılarak % tirozinaz inhibisyon aktiviteleri hesaplandı. ESEA (% 65,13±0,79); ESS (% 60,17±1,17); ESM (% 62,48±2,23); ESDE (% 65,91±1,75); ESH (% 60,14±1,63); ESA (% 71,07±1,57) ve kojik asit (% 87,12±1,26) bulundu. Türün aseton ekstresinin % tirozinaz inhibisyon aktivitesi diğer ekstralardan istatistiksel anlamlılıkta ($p<0,05$) yüksek bulunmuştur. Kojik asite en yakın % tirozinaz inhibisyonu aseton ekstresine aittir. Ancak aseton ekstresinin de % tirozinaz inhibisyon aktivitesi kojik asitten istatistiksel anlamlılıkta ($p<0,05$) farklıdır. Eber sarısı endemik türünün etil asetat, su, metanol, dietil eter, hekzan ve aseton ekstralarının tirozinaz inhibe edici etkisi % inhibisyon olarak Şekil 4.8 de verilmiştir.



Şekil 4.8 Eber sarısının farklı ekstrelerinin % tirozinaz inhibisyon aktiviteleri.

Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2 de farklı çözücülerle hazırlanan ekstrelerin α -amilaz, α -glukozidaz, asetilkolin esteraz, tirozinaz enzimleri üzerine inhibe edici özellikleri ile % enzim inhibisyon aktivite değerleri birlikte verilmiştir.

Çizelge 4.1 Farklı çözücülerle hazırlanan ekstrelerin α -amilaz, α -glukozidaz, asetilkolin esteraz, tirozinaz enzimleri üzerine inhibe edici özellikleri.

	α -Amilaz (mmol ACAE/g ekstre)	α -Glukozidaz (mmol ACAE/g ekstre)	Asetilkolin esteraz (mg GALAE/g ekstre)	Tirozinaz (mg KAE/g ekstre)
ESEA	0,57±0,015 ^a	1,07±0,030 ^c	1,47±0,036 ^b	92,03±1,028 ^c
ESS	0,59±0,021 ^{ab}	0,60±0,027 ^a	1,61±0,025 ^c	89,43±0,706 ^a
ESM	0,60±0,006 ^b	1,63±0,040 ^e	3,97±0,050 ^e	90,84±0,385 ^e
ESDE	0,80±0,021 ^d	0,87±0,020 ^b	2,74±0,025 ^d	90,50±0,639 ^b
ESH	0,58±0,021 ^{ab}	0,61±0,025 ^a	2,69±0,020 ^d	88,15±1,062 ^a
ESA	0,74±0,015 ^c	1,51±0,030 ^d	1,39±0,015 ^a	101,28±0,948 ^d

ACAЕ; Akorbaz eşdeğeri, GALAE; Galantamin eşdeğeri, KAE; Kojik asit eşdeğeri olarak kullanılmıştır.

Çizelge 4.2 Farklı çözücülerle hazırlanan ekstraların α -amilaz, α -glukozidaz, asetilkolin esteraz, tirozinaz enzimleri üzerine % inhibisyon değerleri.

	α-Amilaz (% inhibisyon)	α-Glukozidaz (% inhibisyon)	Asetilkolin esteraz (% inhibisyon)	Tirozinaz (% inhibisyon)
ESEA	53,09±0,781 ^a	68,25±1,218 ^c	41,20±2,244 ^{ab}	65,13±0,785 ^{bc}
ESS	69,10±1,689 ^c	51,76±1,473 ^a	42,52±1,155 ^b	60,17±1,172 ^a
ESM	70,63±1,736 ^c	78,36±1,236 ^e	61,76±0,863 ^d	62,48±2,234 ^{ab}
ESDE	89,87±1,125 ^e	58,91±1,280 ^b	50,26±1,913 ^c	65,91±1,753 ^c
ESH	61,12±1,953 ^b	52,62±0,585 ^a	49,33±1,871 ^c	60,14±1,631 ^a
ESA	85,18±1,636 ^d	75,04±1,130 ^d	39,30±0,355 ^a	71,07±1,567 ^d
Standart	91,75±1,259 ^e	87,91±1,335 ^f	85,86±1,434 ^e	87,12±1,260 ^e

Madde

* α -amilaz, α -glukozidaz enzimlerinin inhibisyonu için standart madde akarboz; Asetilkolin esteraz enzim inhibisyonu için standart madde galantamin; Tirozinaz enzimi inhibisyonu için standart madde kojik asit kullanılmıştır.

4.5 *Thermopsis turcica* (Eber Sarısı) Endemik Türünün Uçucu Yağ Asidi İçeriği

Eber sarısı bitkisi GC/MS analizi Anadolu Üniversitesi, Bitki İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezinde (AÜBİBAM) gerçekleştirilmiştir. Numune, merkeze teslim edildiği andan itibaren analiz zamanına kadar uygun koşullarda ve sürede muhafaza edilerek analiz sürecine alınmıştır. Anadolu Üniversitesi, Bitki İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezi (AÜBİBAM)'ne gönderilen kuru Eber sarısı bitkisinden Clevenger aparatında 3 saat su distilasyonu ile uçucu yağ elde edilmiştir. Bitkinin kuru drog yağ verimi % 0,04 olarak bulunmuştur.

Eber sarısı bitki materyalinden elde edilen uçucu yağın bileşenlerin tanımlanması için Gaz kromatografisi/Kütle spektrometresi kullanılmıştır. Bağlı yüzdelere belirlenmesi için ise Gaz kromatografisi yöntemi kullanılmıştır.

Çizelge 4.3 Eber sarısı bitkisinin içerdiği uçucu yağ asitleri ile bağlı yüzdeleri.

	Bileşik	Bağıl yüzde (%)*
1	Hekzahidrofarneşil aseton	5,3
2	Trikosan	1,7
3	Dodekanoik asit (Laurik asit)	1,3
4	Pentakosan	2,9
5	Fitol	2,4
6	Tetradekanoik asit (Miristik asit)	17,5
7	Pentadekanoik asit	2,3
8	Nonakosan	2,9
9	Hekzadekanoik asit (Palmitik asit)	51,8
10	Oktadekaniok asit (Stearik asit)	0,7
11	(Z)-9-Oktadekanoik asit (Oleik asit)	0,6
	Toplam	89,4

* \geq %0.5

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

İnsanlık tarihinin başlangıcından günümüze kadar dünya üzerinde var olan hastalık etkenlerinin ve bu hastalıklara karşı korunma yöntemlerini bulma çalışmaları hep devam etmektedir. Arkeolojik bulgulara göre insanlar, hem besin hem de ilaç kaynağı olarak bitkilerden faydalanmışlardır. Önceleri insanların deneme yanılma olarak kullanmaya devam ettikleri bitkiler, sonrasında tüm dünyanın kabul ettiği ve önemli araştırmaların yapıldığı etnobotanik adı verilen bilim dalını ortaya çıkmasını sağlamıştır. Halen bitkilerle tedavi dünya nüfusunun % 64'ü tarafından kullanılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından 91 ülkenin farmakopları ve tıbbi bitkileri üzerine yapılmış olan bazı yayınlara dayanarak hazırladığı bir araştırmaya göre, tedavi amacıyla kullanılan tıbbi bitkilerin toplam miktarı 20.000 civarında olduğu bildirilmiştir. Bunun yanında gelişmiş ülkelerde reçete ile satılan ilaçların %25'ini bitkisel kaynaklı ya da bitkisel kaynaklı bileşiklerin sentezlenmiş türevleri olduğu bilinmektedir (Koçyiğit 2005, Sökmen ve Gürel 2001).

Teknolojinin gelişmesi insan hayatına birçok alanında kolaylık sağlamaktadır. Ancak artan radyasyon, sanayi ve endüstrinin gelişmesi neticesinde kimyasal ajanlar, çevresel faktörler birçok hastalığa zemin hazırlamaktadır. Bu etkilerden sadece insanlar değil çevre kirliliğinden dolayı doğal ortamında yaşayan tüm canlılar da zarar görmektedir. Yapay olarak elde edilen ilaçların istenmeyen yan etkilerinin olması, insanları tekrar bitkisel kaynaklı ilaçları kullanmaya yönlendirmiştir. Yeni doğal ilaç etken maddelerinin bulunması ve tedavide kullanılması, sentetik ilaçların çevreye verdiği zararlı etkilerini de azaltmada ekonomik ve etkin bir yol olarak değerlendirilebilir. Sentetik kimyadaki gelişmelere paralel olarak daha sonraki dönemlerde doğal ilaçların sentetik türevleri sentezlenmiş ve ilaç etken maddeleri olarak tedavi amaçlı, insanların hizmetine sunulmuştur. Yeni doğal ilaç hammaddeleri bulmak üzere bitkiler üzerinde yapılan bilimsel araştırmalar günümüzde her geçen gün artarak sürmektedir. Son yıllarda tıbbi bitkiler ve bunlardan elde edilen aktif maddeler üzerinde yapılan fitoterapi çalışmaları ve bunlara karşı olan ilgi her geçen gün artmaktadır (Romani vd. 2002, Topcu vd. 2007, Kavak vd. 2010, Rajendiran vd. 2008, Karuncula 2013).

Geleneksel ekstraksiyon teknikleri çok miktarda solvent kullanımı ve ayrıca etkili bir ekstraksiyon için daha uzun zaman alması sebepleriyle alternatif tekniklerine talep artmıştır. Ekstraksiyon, bioaktif bileşiklerin bitkilerden geri kazanılması ve ayrılması için uygulanan bir süreçtir. Günümüzde örnek hazırlarken dünya çapında çeşitli demleme, kaynatma, sindirme, maserasyon ve süzme yöntemler kullanılarak ekstraktlar yapılmaktadır ve bitkiler tedavi edici olarak kullanılmaktadır. Biyoaktif bileşenleri elde etmek için en önemli adımlardan biri ekstraksiyondur. Uygun bir özütleme yönteminin seçilmesi istenilen bileşenlerin çıkarılması için önemlidir (Chaturvedi 2018, Dhanani vd. 2017). Sekonder metabolitler, süzülme, maserasyon, çözücü ve soxhelet özütleme gibi teknikler geleneksel olarak kullanılarak ekstraksiyonları yapılır. Soxhelet ekstraksiyonu kullanılmaya başlanılmış başlıca tekniklerdendir. Ayrıca basınçlı sıvı ekstraksiyon (PLE), mikrodalga destekli ekstraksiyon (MAE), süperkritik sıvı ekstraksiyon (SFE), darbeli elektrik alan destekli ekstraksiyon (PEF), enzim destekli ekstraksiyon (EAE), ultrasonik destekli ekstraksiyon (UAE) kısa zamanlı ekstraksiyon teknikleri olarak kullanılmaktadır. Bu teknikler çözücünün hacmini düşürmesi, ekstraksiyon için daha uzun az zaman ve düşük enerji tüketimi ile basitçe daha yüksek ekstraksiyon verimi elde edilir (Khoddami vd. 2013, Ahmad vd. 2017, Dhanani vd. 2017). Bu çalışmada bitkinin etil asetat, su, metanol, dietil eter, hekzan ve aseton ekstraktları hızlı, az zahmetli ve geleneksel yöntemlere göre ekstraksiyon verimi yüksek olan soxhelet ekstraksiyonu ile elde edilmiştir.

Ekstraksiyon verimini etkileyen önemli parametreler; sıcaklık, ekstraksiyon süresi, kullanılacak ekstraksiyon solventleri ve çözücü/besleme oranıdır. Bununla birlikte, biyoaktiviteler ve ekstraksiyon verimi sadece ekstraksiyon tekniğine değil, kullanılan polariteler ve çözücülere de bağlıdır (Do vd. 2014). Aktif bileşikler biyolojik olarak, genellikle bitkilerde düşük konsantrasyonda bulunur (Dhanani vd. 2017). Bitkilerdeki biyoaktif bileşenler farklı özelliklere ve farklı polaritelere sahip olduklarından ekstraksiyon için ideal çözücüyü belirleme, biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyon veriminin artırılması adına önemlidir. Ekstre içindeki moleküllerin kinetikleri ve morfolojileri çözücünden etkilenebilir. Bu nedenle de, uygun bir çözücü seçimi, bir örnekteki biyoaktif bileşiklerin en iyi şekilde kullanılabilmesi için ilk adımdır. Ayrıca, çözücünün polaritesi bitki içindeki biyoaktif moleküllerin çözünülebilirliğinin artırılması için önemlidir

(Vanni vd. 1990). Yapılan çalışmada farklı polaritelere sahip etil asetat, su, metanol, dietil eter, hekzan ve aseton çözücü olarak seçilmiştir.

Enzimlerin aktivitelerini bazı moleküller tarafından azaltılmakta ya da yok edilebilmektedir. Bu olaya inhibisyon, inhibisyona neden olan yapılara inhibitör denilmektedir. İnhibitörler genellikle küçük molekül kütlesine sahip bileşikler veya iyonlardır.

Diabetes Mellitus toplum sağlığını tehdit eden ciddi metabolik bir hastalıktır. Son bildirilen Dünya Sağlık Örgütü ve Uluslararası Diyabet Federasyonu'nun 2030'lu yıllarda ulaşacağı tahmin edilen prevalansına daha şimdiden ulaşmıştır. Tip 2 diyabetik hastalarda hastalığın ortaya çıkmasına neden olan insülin direnci, insülin düzeyindeki azalma hem açlık hem de tokluk dönemlerinde plazma glukoz değerlerinin yüksek kalmasına yol açmaktadır. Tip 2 diyabet tanısı konulan hastalara başlangıçta tıbbi beslenme tedavisi ve egzersiz programı uygulanmaktadır. Tip 2 diyabette glisemik kontrolü sağlamak üzere antidiyabetik ilaçlar da uygulanmaktadır. İnsülin sekresyonunu arttıranlar (sulfonilüreler, glinidler), insülin duyarlılığını arttıranlar (biguanidler, tiazolidinedionlar), glukoz emilimini inhibe edenler; α -glukozidaz enzim inhibitörleri (akarboz) kullanılan atidiyabetik ajanlardır (Satman vd. 2002). α -amilazlar (1,4- α -D-glukan glukanohidrolaz) nişasta (amiloz ve amilopektin) ve glikojendeki α -D-(1,4)-glukozidik bağlarını hidrolize ederek maltodekstrin, malto-oligosakkaridler ve glukozu parçalayan enzimdir. α -glukozidazlar da karbonhidratların glikozidik bağlarının hidroliz eden enzimlerdir. Maltaz, sükröz, oligo-1,6-glukozidaz, amilo-1,6-glukozidaz başlıca glukozidaz enzimleridir. Nişasta parçalanmasının son aşaması α -glukozidazlar ile gerçekleştirilmektedir. α -amilaz inhibisyonunun, karbohidrat toleransına, tokluk hissi, kilo kaybı ve uzun süreli gastrik boşalmaya neden olduğundan, α -amilaz inhibitörlerinin Tip 2 diyabet tedavisinde etkili olabilecekleri bildirilmiştir (Gerrard vd. 2000, Conforti vd. 2005). Karbohidrat sindiriminde önemli olan bir diğer enzim olan α -glukozidaz ise, ince bağırsak epitelyumunda zar-bağlı enzim olup oligosakkaritler ve disakkaritleri glukoz birimlerine hidrolizlemektedir. α -glukozidaz, karbohidratların sindiriminin son basamağında görev aldığından, bu enzimin inhibitörleri, karbohidratların tamamen sindirilme sürelerini uzatarak, sindirimini geciktirmektedirler (Kim ve Uyama 2005).

Bu nedenle α -glukozidaz inhibitörleri, karbohidratların hidrolizini ve emilimini yavaşlatarak tokluk kan şekeri yüksekliğini baskılayabilmektedirler. α -glukozidaz inhibitörleri, glukoz emilim hızının azalmasına ve artmış olan tokluk kan glukoz oranının düşmesine sebep olduklarından, α -glukozidaz inhibisyonunun, Tip 2 diyabetin düzenlenmesinde önem kazanmaktadır (Hamdan ve Afifi 2004).

Yapılan çalışmada türün α -amilaz enzimini inhibisyon aktivitesi Şekil 4.1 ve Çizelge 4.1 de akarboz eşdeğeri α -amilaz enzimini % inhibisyon aktivitesi Şekil 4.2 ve Çizelge 4.2 gösterilmiştir. Bitkinin dietil eter ve aseton ekstrelerinin diğer ekstrele göre % α -amilaz inhibisyonunun daha yüksek olduğu ve özellikle dietil eter ekstresinin standart madde akarbozun % inhibisyonundan istatistiksel olarak farklı olmadığı da ($p>0,05$) ve akarbozun % inhibisyonuna yakın bir etkiye sahip olduğu görülmektedir. Ekstrelerin % α -amilaz inhibisyonları arasında ESEA<ESH<ESS<ESM<ESA<ESDE şeklinde ilişki bulunmaktadır. Türün α -glukozidaz enzimini inhibisyon aktivitesi Şekil 4.3 ve Çizelge 4.1 de akarboz eşdeğeri α -glukozidaz enzimini % inhibisyon aktivitesi Şekil 4.4 ve Çizelge 4.2 gösterilmiştir. Metanol ekstresinin akarboza en yakın % α -glukozidaz aktivite gösterdiği bulunmuştur. Ekstrelerin % α -glukozidaz enzim inhibisyonları arasında ilişki ESS<ESH<ESDE<ESEA<ESA<ESM şeklindedir. Türün karbonhidrat hidrolizden sorumlu bu enzimleri inhibe edici etkisi görülmektedir. Özellikle α -amilaz enzimi üzerine standart madde akarboz gibi etki göstermiştir. Bitkilerin yapısında bulunan polifenollerin karbonhidrat emiliminin azaltılması, β hücre fonksiyonunun iyileştirilmesi, insülin salgılanmasının uyarılmasına, antioksidan aktivitesine maruz kalan enzimlerin modülasyonuna bağlıdır. Flavonoidler, tanenler ve fenolik asitler gibi fenolik bileşiklerin, karbonhidratların sindirilmesinden sorumlu enzimler olan α -glukozidaz ve α -amilaza karşı önleyici etkisi bilinmektedir. *Thermopsis turcica* nın içerdiği flavonoidler, tanenler ve fenolik asitler dolayısıyla α -glukozidaz ve α -amilaz enzimlerini inhibe edici etki göstermiş olabilir.

Aksoy vd. (2013) *Thermopsis turcica* bitkisinin aseton ve metanol ekstrelerinin radikal süpürücü etkisi varlığı görülmüştür. Ekstrelerin total fenolik madde miktarıyla, radikal süpürücü etkisi ilişkili olduğu belirtmişlerdir. *Thermopsis turcica*'nın aseton ekstresinde

radikal süpürücü etkisinin ve total fenolik madde içerdiği yüksek olduğu göstermişlerdir.

Çelik (2014) tarafından yapılan çalışmada *Thermopsis turcica* etanollü ve sulu ekstraktlarının rat kan ve doku örneklerinde MDA, GSH, SOD, CAT, ve plazma AOA üzerine etkileri incelendi. Bitkinin sulu ekstraktlarının, kan, karaciğer ve böbrek doku örneklerinde MDA değerlerini azaltıcı, GSH üzerine olumlu etkileri olduğu belirlenmiştir. Lipit peroksidasyonuna karşı etkili ve antioksidan sistemi destekleyici bir tür olduğunu belirtmişlerdir.

Diyabette serbest radikal aktivitesinde artış olmaktadır. Ayrıca diyabetik hastalarda hiperglisemi ve hiperlipidemi ile lipit peroksiditlerin seviyesi arasında ilişki bulunmaktadır. Birçok hastalığın ortaya çıkışında lipit peroksidasyonunun önemli rol aldığı ve diyabetin her iki tipinde de lipit peroksidasyonunun artmış olduğu bilinmektedir (Çakatay vd. 2000). Yapılan çalışmalarda deneysel olarak diyabet oluşturulan ratlarda ve diyabetik hastalarda serbest oksijen radikallerinin ve lipit peroksidasyonunun önemli derecede arttığı ve oksidatif stresin diyabet etiolojisinde ve ilerlemede rolü olduğu bildirilmiştir (Pitkanen vd. 1992). Antioksidan özellik gösteren moleküllerin, diyabette bozulan oksidatif stresin, protein glikasyonunun ve glikoz metabolizmasının düzeltilmesinde önemli etkiler oluşturdukları bilinmektedir (Gary vd. 1995). Hem antioksidan sistemi destekleyen, serbest radikal oluşumunu ve lipit peroksidasyonunu engelleyen fitokimyasalları içeren hem de karbonhidrat sindirim enzimlerini özellikle de α -glukozidazı inhibe etmesi sebebiyle Eber sarısı'nın antidiyabetik etkili olabileceği düşünülebilir.

Asetilkolin (ACh), en önemli nörotransmitterlerden biridir. ACh, kolinerjik sinir uçlarında kolinin, asetil CoA ile asetillenmesi sonucu oluşmaktadır. Bu reaksiyonu kolinasetil transferaz enzimi katalizler. Asetil kaynağı olan asetil CoA, sinir ucundaki mitokondrilerde sentezlenirken, kolin ise diyetle alınmakta ya da sinir aralığında asetil kolin yıkımıyla, vücutta fosfolipid (fosfatidil kolin) yıkımıyla oluşmaktadır. Kolinin asetillenmesi ise sitoplazmada gerçekleşmektedir (Kent 2000). Sinir hücrelerindeki aksonlar diğer hücrelere sinyal iletiminden sorumlu iken dendritler ise komşu sinir

hücrelerinden gelen kimyasal uyarıları almaktadır. Kimyasal uyarılar, hücre gövdesinde elektriksel uyarıya dönüştürülmektedir ve elektrokimyasal değişim oluşmaktadır. Sodyum kanalları açılarak Na⁺ iyonları hücre içine girer ve depolarizasyon oluşur. Bu durum, ACh'in salınımına sebep olan reaksiyonları başlatır. Sinaptik boşluğa salınan ACh moleküllerinin bir kısmı reseptörlere hiç bağlanmazken, reseptörlere bağlananlar da işlevlerini yerine getirdikten sonra reseptörden ayrılarak tekrar sinaptik boşluğa geçerler. ACh molekülleri burada bulunan AChE enzimi ile hidroliz edilirler. Reaksiyon sonucu parçalanma ürünleri presinaptik hücre içine girmektedir. Sonrasında ACh tekrar üretilir ve böylece olaylar zinciri devam etmektedir (Kiss ve Vizi 2001). Alzheimer beyinde oluşan ilerleyici ve kronik nörodejeneratif bir hastalıktır. Bu hastalık daha çok ileri yaşlarda görülmektedir. Hastalık, konuşma ve kavrama bozukluğu, hafıza kaybı, davranış anormallikleri ile karakterizedir (Pendlebury ve Solomon 1994, Roberson ve Harrell 1997). Nöropatolojik olarak Alzheimer hastalığı, nörofibriler yumakların ile senil amiloid β -peptit plakların birikimi, bazal ön beyin kolinerjik nöronlarının dejenerasyonu/tahribatı ve sinaps kaybı olarak tarif edilmektedir. Kolinerjik hücrelerin kaybı sonucunda ACh seviyesinde azalma olması, hastalıkla ilgili bilişsel bozukluklarda önemli rol oynamaktadır (Roberson ve Harrell 1997, Bartus vd. 1982). Bu sebeple Alzheimer'in semptomatik tedavisinde, asetil kolinin hidrolizinden sorumlu enzim asetil kolin esterazın inhibisyonuyla asetilkolinin beyindeki sinaptik miktarı arttırmaktır (McGeer ve McGeer 2003). Alzheimer'in semptomatik tedavisinde, takrin, galantamin ve donepezil gibi AChE inhibitörleri kullanılmaktadırlar. Asetilkolin esteraz inhibitörleri asetil kolin esterazın yıkımını inhibe ederek santral ve periferik kolinerjik fonksiyonu arttırmaktadır. Bu, AChE inhibitörlerinin etkisi hafıza ve kavrama fonksiyonlarında belirli düzeyde iyileşme şeklindedir ancak ileri düzeydeki nörodejenerasyonu önleyici ya da yavaşlatıcı etkileri bulunmamaktadır (Brinton ve Yamazaki 1998). Asetilkolin esteraz inhibitörü olarak önceleri fizostigmin (eserin) oral ve intravenöz olarak kullanılmıştır. Fizostigmin, *Physostigma venenosum* L. (Fabaceae) dan izole edilen bir alkaloiddir. *Physostigma venenosum* L. (Fabaceae) bir baklagildir. Galantamin de *Galanthus* spp (kardelen) izole edilen bitkisel kaynaklı, kompetitif ve geri dönüşümlü bir AChE inhibitörüdür. Bu çalışmada kullanılan *Thermopsis turcica* baklagiller (Fabaceae) familyasından bir türdür. Çalışmada standart madde olarak galantamin seçilmiştir. Şekil 4.5 ve Çizelde 4.1 de türün farklı ekstrelerinin galantamin

eşdeğeri asetilkolin esterazın inhibe edici etkisi, Şekil 4.6 ile Çizelge 4.2 de asetilkolin esteraz enzimini inhibe edici etkisi % olarak verilmiştir. Eber sarısının metanol ekstresinin asetilkolin esteraz inhibisyon aktivitesi diğer ekstrelerden istatistiksel anlamlılıkta ($p < 0,05$) fazla olduğu görülmektedir. Ancak metanol ekstresinin (% $61,76 \pm 0,86$) bile galantamin (% $85,86 \pm 1,44$) kadar etkili olmadığı görülmektedir. Kolinesteraz inhibitörleri, enzimin periferik anyonik bölgesine bağlanan inhibitörler, etkilerini hem kolinerjik sistem hem de bu bölge kaynaklı gelişebilen amiloid β -peptid agregasyonunu engelleyen inhibitörler şeklinde iki şekilde etki gösterirler (Morgana vd. 2004). Galantamin ise sıra nikotinik reseptörlere allosterik olarak bağlanarak, asetilkolin salınımını artırmak üzere nikotinik reseptörleri modüle etmektedir (Svoboda vd. 2005).

Tirozinaz, deri ve saç rengini belirleyen bakır içeren bir enzimdir. Melanin biyosentezinde görev alır. Melanin hiperpigmentasyonu ile ilgili deri hastalıklarında tirozinaz enzimi inhibisyonuna yönelik tedaviler tercih edilmektedir. Enzim aynı zamanda kozmetikte cilt rengini açma etkili olarakta kullanılmaktadır. Melanin pigmenti cilt ve saç renklenmesi sorumludur. Melanin üretimi, saç ve deri folikülleri ile retinada bulunan melanositlerde tirozinaz, tirozinaz ilişkili protein 1 ve tirozinaz ilişkili protein 2 ile düzenlenir. Derideki melanin UV absorbe etme yeteneğine sahiptir. Dolayısıyla da derinin UV ışınına karşı savunmasında etkilidir. İnsan vücudunda melaninin aşırı üretimi hiperpigmentasyona sebep olmaktadır (Riley 2003, Archambault vd. 1995, Hengshan vd. 2006, Unver vd. 2006). Melanin üretiminin az olması ise cilt yaşlanmasına ve saçlarda beyazlanmalara sebep olmaktadır. Pigmentasyon süreci deri yüzeyinde keratinositlerin UV ile uyarılmasıyla başlatılır. Histamin, α -MSH ve prostaglandin gibi keratinositlerin habercileri serbest kalır ve haberciler melanosit üzerindeki reseptörlerle bağlanırlar. Melanozomda üretilen melanin, keratinositlere taşınır ve burada birikmektedir. Bunun yanında, saç pigmentasyonu melanositin dışına salınan ve saç matriksinde biriken melanine bağlı olarak gelişir. Melanosit, saçın pigmentasyonunu sağlamak için saç kökünde birikir. Derideki melaninin fazla birikmesi nedeniyle oluşan cilt koyuluklarının tedavisinde beyazlatma ajanları kullanılır. Cilt beyazlatıcı ajan geliştirme çalışmalarında, tirozinaz aktivitesini ve ekspresyonunu inhibe etmek temel amaçtır. Bu sebeple doğal kaynaklardan çok sayıda aktif fitokimyasal izole edilip kullanılmaktadır (Yoshida vd. 2000, Slominski vd. 2005,

Yamauchi ve Mitsunaga 2016). Tirozinaz aktivitesi, oksijen tüketiminin belirlenmesi, o-kuinonları yakalayan ve kromoforik yapılar üreten nükleofilik reaktiflerin kullanılması, askorbik asit gibi indirgeyici yapılar kullanarak kuinonların oksidasyonun belirlenmesi, doğrudan o-kuinonların veya ürünlerinin ölçülmesi gibi yöntemlerle belirlenmektedir (Munoz vd. 2006). Tirozinaz aynı zamanda tirozin-tirozinaz enzimatik yolağı aracılığıyla beynin dopamine zengin olan *substantia nigra* bölgesinde bulunan nöronların pigmentasyonundan da sorumludur. Bu yolla, 5-S-sisteinil-dopamin gibi katalizlediğı oksidasyon reaksiyonu sonucu bazı nörotoksik metabolitlerin oluşmasını sağlamaktadır. Bu durum parkinson hastalarında dopamin toksisitesine yol açabilmektedir. Bu nedenle parkinson hastalarında da tirozinaz inhibitörlerinin kullanılması güncel bir yaklaşımdır (Mendes vd. 2014, Selinheimo 2008). Yapılan çalışmalarla tirozinaza karşı inhibitör aktivite sahip fitokimyasallar belirlenmiştir. Flavonoidlerin (kamferol, kersetin ve morin gibi) tirozinaza karşı inhibitör etkili olduğu görülmüştür (Kim ve Uyama 2005). Tirozinaz enzim aktivitesini inhibe etmek için sıklıkla kullanılan sentetik inhibitörlerden biri kojik asittir. Kojik asit, *Aspergillus* spp ve *Penicillium* spp fungusları tarafından üretilen metabolik bir üründür. Tirozinaz inhibitörü olan kojik asit genel olarak, melanin oluşumunu inhibe ve nöronal hücre ölümünü etkin bir şekilde bloke etmek için kullanılmaktadır. Kojik asit birçok alanda kullanılmaktadır. Et ve taze sebzelerde renk değişikliğini önlemede, katı ve sıvı yağlar için antioksidan olarak, kozmetikte, kojik oleat, kojik stearat ester türevlerinin hazırlanarak cilt beyazlatmada, yapıştırıcılarda ve şelat oluşturucu reçinelerde kullanılmaktadır. Ayrıca bitkisel üretimi arttırmak, meyvelerin erken olgunlaşmasını ve tat gelişimini sağlamak için bir bitki büyüme düzenleyicisi olarak da kullanılmaktadır. Güçlü bir tirozinaz inhibitörü olup, bakır ile şelat oluşturarak etkisini gösterir. Hidrokinona benzer etkide olup daha az yan etki göstermektedir. Glikolik asit ile sinerjistik etkili olduğu düşünülmektedir (Maeda ve Fukuda 1991). Sentetik inhibitörlerin uzun süre kullanımının toksik etkilerinin bulunması, alternatif olarak doğal inhibitörlerin belirlenmesine yönelik çalışmaları hızlandırmıştır. Yapılan çalışmada standart madde olarak kojik asit kullanılmıştır. Şekil 4.7 ve Çizelge 4.1 de türün farklı ekstraktlarının kojik asit eşdeğeri tirozinaz inhibe edici etkisi, Şekil 4.8 ile Çizelge 4.2 de tirozinaz enzimini inhibe edici etkisi % olarak verilmiştir. Eber sarısının aseton ekstresinin tirozinaz inhibisyon aktivitesi diğer ekstraktlardan istatistiksel

anlamlılıkta ($p<0,05$) fazla olduğu görülmektedir. Ancak aseton ekstresinin ($\%71,07\pm 1,567$) de kojik asitten ($\%87,12 \pm 1,26$) istatistiksel anlamlılıkta ($p<0,05$) düşük olduğu bulunmuştur.

Uçucu yağlar birçok bitkide doğal olarak bulunan yapılardır. Bitkisel kaynaklı uçucu yağlar çok kompleks bir yapıya sahiptirler. Suda çok az ya da hiç çözünmeyen, keskin ve genellikle hoş kokulu moleküllerdir. Uçucu yağlar bitkilerin yaprak, çiçek, kök, gövde gibi farklı kısımlarında bulunurlar. Bitkinin özel yağ hücrelerinde depolanırlar. Isı, ışık ve oksijen gibi etkenler uçucu yağların çabuk bozulmalarına sebep olduğundan, elde edildikten uçucu yağların saklanma koşulları önemlidir. Her uçucu yağ taşıyan bitkinin kendine özgü kokusu ve aromaterapik özellikleri, o uçucu yağı oluşturan fitokimyasalların kombinasyonu ve derişimlerine bağlıdır. Bitkilerden elde edilen uçucu yağlar, ilaç, gıda ve kozmetik sektörlerinde kullanılmaktadır. Uçucu yağlar içerdikleri, alkoller, esterler, terpenler, aldehytler, kumarinlerdenden dolayı tıbbi amaçlı kullanılmaktadır (Sangwan vd. 2001, Carrapiso vd. 2002). Eber sarısı bitkisinin kuru drog yağ verimi hidrodistilasyon ile belirlenerek $\%0,04$ olarak bulunmuştur. Türün uçucu yağ asidi içeriği ve bağıl yüzdeleri Çizelge 4.3 de verilmiştir. Uçucu yağ asidi içeriğinin $\%89,4$ nün yapısı tanımlanmıştır. Yapısında palmitik asit ($\%51,8$), miristik asit ($\%17,5$) ve hegzadirofarnesil ($\%5,3$) en çok bulunan yapılardır. Bunların dışında tür yapısında kosanları da içermektedir. Kosanlar, 20-29 karbon sayısına sahip alkanlardır. Birçok uzun zincirli alkanlar bitkilerin doğal bileşenleri olarak bulunmuştur. Karbon zinciri uzadıkça kristal formda katı hale gelir. Uzun zincirli alkanlar suda çözünmez. Kısa zincirli alkanların bazıları hidroksil radikalleri ile reaksiyona girerek havada parçalanırken, uzun zincirli alkanlar, su ve nemli toprak yüzeylerinden havaya uçabilirler ve güneş ışığında parçalanmazlar. Trikosan ($C_{23}H_{48}$) 23 karbon atomu içeren düz zincirli bir alkandır. Bitki metaboliti ve uçucu yağ bileşeni olarak rol oynar. Pentakosan ($C_{25}H_{52}$) 25 karbon atomlu dallanmamış bir zincirden oluşan bir alkandır. Bitki metaboliti olarak rol oynar. Birçok doğal olarak oluşan mum oluşur. Ortam koşullarında renksiz bir katıdır. Nonakosan ($C_{29}H_{60}$) 29 karbon atomundan oluşan düz zincirli bir alkandır. Bitki metaboliti ve uçucu yağ bileşeni olarak rol oynar. Nonakosan elmada, *Brassica oleracea* (Brüksel lahanasında) ve diğer bitkilerin yapraklarının bir bileşenidir.

Thermopsis turcica'nın α -amilaz, α -glukozidaz, asetilkolin esteraz ve tirozinaz enzim inhibisyon aktiviteleri ile uçucu yağ asidi içeriklerinin belirlendiği bu tez çalışmasında bitkinin farklı çözücülerle elde edilen ekstralarının asetilkolin esteraz ve tirozinaz enzimlerine karşı standart maddeye kıyasla inhibe edici özellik göstermedikleri görülmektedir. Türün karbonhidrat sindiriminden sorumlu enzimlere karşı inhibisyon aktivitesi göstermesi dolayısıyla antidiyabetik etkilerinin olabileceği düşünülmektedir. Bunun yanında bazı polifenoller doğrudan mide veya ince bağırsaktan emilir ve alınan polifenollerin çoğunun emilimden önce bağırsak mikrobiyotasında metabolize edildikten sonra kalın bağırsağa ulaşır. Bazı polifenollerin, sindirim kanalındaki bakterilerin aktivitesini, prebiyotik etkiyi uyardığı düşünülmektedir. Mide ve bağırsak emiliminin yanı sıra mikrobiyal transformasyondan gelen polifenoller, enterohepatik dolaşım yoluyla karaciğere ulaşır ve böylece karaciğerde Faz I ve II biyotransformasyonuna uğrarlar. Karaciğer metabolizasyonunda oluşan polifenol metabolitleri, yararlı metabolik etkiler sergilemek için daha sonra periferik dokular yoluyla dağıtılacak olan kana karışırlar. Dolayısıyla kanda ve dokularda bulunan polifenol metabolitlerinin tanımlanması, polifenollerin antidiyabetik etkilerinin anlaşılması ve gelecekte nutrasötikler ve fonksiyonel gıdaların geliştirilmesi için önem taşımaktadır. Yapılacak deney hayvanı çalışmaları ve ile özellik daha da net ortaya konabilir.

6. KAYNAKLAR

- Ahmad T, Ismail A, Ahmad S A, Khalil K A, Kazeem Y K, Adeyemi D, Sazili A Q, 2017, Recent Advances on the Role of Process Variables Affecting Gelatin Yield and Characteristics with Special Reference to Enzymatic Extraction, A review, *Food Hydrocolloids*, 63, 85-96.
- Akçiçek E, Vural M, 2007, Kumalar Dağı (Afyonkarahisar)' nın Endemik ve Nadir Bitkileri, *Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9, 78-86.
- Aksoy L, Kolay E, Ağılönü Y, Aslan Z, Kargıoğlu M, 2013, Free Radical Scavenging Activity, Total Antioxidant Status and Total Oxidant Status of Endemic *Thermopsis turcica*, *Saudi Journal of Biological Science*, 10, 10-16.
- Aksoy L, Suyundikov M, 2020, Afyonkarahisar Florasında Yer Alan Endemik Bitki Taksonlarının Morfolojik ve Fitokimyasal Özellikleri, *Turkish Journal of Bioscience and Collections*, 4, 1, 20-26.
- Altınışık M, 2009, Enzimler, Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, 11.23.2019.
- Anand P, Singh B, Singh N, 2012, A Review on Coumarins as Acetylcholinesterase Inhibitors for Alzheimer's Disease, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 20, 1175-1180.
- Archambault M, Yaar M, Gilchrest B A, 1995, Keratinocytes and Fibroblasts in a Human Skin Equivalent Model Enhance Melanocyte Survival and Melanin Synthesis After Ultraviolet Irradiation, *Journal of Investigative Dermatology*, 104, 859-867.
- Asilbekova D T, 2004, Lipids of *Thermopsis Alterniflora* Bean Seeds and Shells, *Chemistry of Natural Compounds*, 40, 532-534.
- Aslan M, Orhan N, Deliorman-Orhan D, Ergun F, 2010, Hypoglycemic Activity and Antioxidant Potential of Some Medicinal Plants Traditionally Used in Turkey for Diabetes, *Journal of Ethnopharmacology*, 128, 384-389.
- Balcı K, 2019, Diyabet Tanı ve Tedavi Rehberi, İstanbul, Armoni Nüans Baskı Sanatları, 9. Baskı, 192.

- Bartus R T, Dean R L, Beer B, Lippa A S, 1982, The Cholinergic Hypothesis of Geriatric Memory Dysfunction, *Science*, 217, 408-417.
- Baydemir R, 2012, Alzheimer ve Vasküler Demansda Lipid Profili ve Yağda Eriyen Vitaminler, Tıpta Uzmanlık Tezi, Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, 75s, Kayseri.
- Bingol G, 1977, Vitaminler ve Enzimler, Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ders Kitap Serisi 46, Ankara.
- Brinton R D, Yamazaki R S, 1998, Advances and Challenges in the Prevention and Treatment of Alzheimer's Disease, *Pharmaceutical Research*, 15(3), 386-398.
- Brzozowski A M, Davies G J, 1997, Structure of the *Aspergillus Oryzae* alphaamylase Complexed with the Inhibitor Acarbose, at 2 Resolution, *Biochemistry*, 36, 10837-10845.
- Carrapiso I, Jurado Á, María L T, García C, 2002, Odor-Active Compounds of Iberian Hams with Different Aroma Characteristics, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 22, 6453–6458.
- Cenkci S, Temel M, Kargioğlu M, Dayan S, 2009, Propagation of Endangered *Thermopsis turcica* Kit Tan, Vural & Küçüköyük Using Conventional and In Vitro Techniques, *Turkish Journal of Biology*, 33, 327-333.
- Cenkci S, Yıldız M, Terzi H, 2012, Afyonkarahisar Endemiği *Thermopsis Turcica*, Dünü, Bugünü ve Ekonomiye Kazandırılması, *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 12, 23-26.
- Cenkçi S, Kargioğlu M, Dayan S, Konuk M, 2007, Endemik Bitki Türlerinin Tehlike Altındaki Durumu ve Çoğalması, *Thermopsis turcica* (Fabaceae), *Asian Journal of Plant Sciences*, 6, 288-293.
- Chaturvedi, A K, 2018, Extraction of Nutraceuticals from Plants by Microwave Assisted Extraction, *Systematic Reviews in Pharmacy*, 9, 31-35.
- Chen C J, Mendenhall M G, Turner B L, 1994, Taxonomy of *Thermopsis* (Fabaceae) in North America, *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 84, 714-712.

- Chen O, Kubo I, 2002, Kinetics of Mushroom Tyrosinase İnhibition by Quercetin, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4108-4112.
- Conforti F, Statti G, Loizzo M R, Sacchetti G, Poli F, Menichini F, 2005, In Vitro Antioxidant Effect and İnhibition of Alpha-Amylase of Two Varieties of *Amaranthus Caudatus* Seeds, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28, 1098-102.
- Çakatay U, Salman S, Satman İ, Sivas A, Telci A, 2000, Oxidative Protein Damage in Early Stage Type 1 Diabetic Patients, *Diabetes Research and Clinical Practice*, 50, 213-223.
- Çakmak Y S, Gökhan Z, Bülent E, Kevser Y, Müge T, Güzde H A, Emre Ü, Baydemir M, Erten K, 2017, *Medicago Rigidula* (L.) All'nın Antioksidan ve Enzim İnhibisyon Aktiviteleri ve Fenolik Bileşiminin İncelenmesi, *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21, 522-529.
- Çelik Y, 2014, *Ratlarda Thermopsis Turcica* Bitkisinden Elde Edilen Ekstraktların Antioksidan Etkilerinin Araştırılması, *Veteriner Biokimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Türkiye, 82s, Afyonkarahisar.*
- Davis P H, Mill R R, 1988, *Tan, Kıt Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, University of Edinburg Press Edinburg 10, 112.
- Dement W A, Mabry T J, 1975, Biological İmplication of Flavonoid Chemistry in *Baptisia* and *Thermopsis*, *Biochemical Systematics and Ecology*, 3, 91-94.
- Dhanani T, Shah S, Gajbhiye N A, Kumar S, 2017, Effect of Extraction Methods on Yield, Phytochemical Constituents and Antioxidant Activity of *Withania Somnifera*, *Arabian Journal of Chemistry*, 10, 1193-1199.
- Do T X, Lim Y, Yeo H, 2014, Techno-Economic Analysis of Biooil Production Process from Palm Empty Fruit Bunches, *Energy Conversion and Management*, 80, 25-534.
- Ekim T, Koyuncu M, Vural M, Duman H, Aytaç Z, Adıgüzel N, 2000, *Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı, Türkiye Tabiatını Koruma Derneği ve Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Yayını, Ankara.*

- Ellman G L, Courtney K D, Andres V Jr, Feather-Stone R M, 1961, A New and Rapid Colorimetric Essential Oil, Antioxidant, Antidiabetic, Anti-obesity, and Neuroprotective Properties of Prangos Gaubae, Natural Product Communications, 12, 12.
- Ensafi A A, Khoddami E, Rezaei B, 2013, A Combined Liquid three Phase Micro-Extraction and Differential Pulse Voltammetric Method for Preconcentration and Detection of Ultra-trace Amounts of Buprenorphine Using a Modified Pencil Electrode, Talanta, 116, 1113-1120.
- Fahn S, Jankovic J, 2007, Principles and Practice of Movement Disorders, Churchill Livingstone, Elsevier, Philadelphia, 1-42.
- Friedman M, 1996, Food Browning and its Prevention an Overview, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 44, 631-653.
- Gary D B, Yaogand L, Stephen G W, 1995, Protein Science, 4, 1730-1742, USA.
- Gerrard J A, Prince M J, Abell A D, 2000, Kinetic Characterisation of Ene-Diol-Based Inhibitors of Alpha-Amylase, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 10, 1575-1576.
- Gonçalves R, Mateus N, de-Freitas V, 2011, Influence of Carbohydrates on the Interaction of Procyanidin B3 with Trypsin, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59, 11794-11802.
- Gonzalez G V, Torres E F, Aguilar C N, Gomez S J R, Godinez G D, Augur C, 2003, Advantages of Fungal Enzyme Production in Solid State Over Liquid Fermentation Systems, Biochemical Engineering Journal, 13, 157-167.
- Gözükara E M, 1997, Biyokimya, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul.
- Greenwood C T, 1970, Carbohydrates, Chemistry and Biochemistry, Vol II, Second Edition, Academic Press, New York, 471-514.
- Günöz H, Saka N, Darendeliler F, Bundak R, Neyzi O, 1993, Diabetes Mellitus,s In: Endokrin Sistem ve Hastalıkları (Eds. O, Neyzi, T, Ertuğrul), Nobel Tıp Kitapevi, 641-65, İstanbul.

- Haass C, Selkoe D J, 2007, Soluble Protein Oligomers in Neurodegeneration: Lessons from the Alzheimer's Amyloid β -Peptide, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 8, 101-112.
- Hamdan I I, Afifi F U, 2004, Studies on the *In Vitro* and *In Vivo* Hypoglycemic Activities of Some Medicinal Plants Used in Treatment of Diabetes in Jordanian Traditional Medicine, *Journal of Ethnopharmacology*, 93, 117-21.
- Hengshan W, Yingming P, Xujie T, Zhiqing H, 2006, Isolation and Characterization of Melanin from *Osmanthus Fragrans*' seeds, *Lebensmittel Wissenschaft & Technologie*, 39, 496-502.
- Hwang J H, Lee B M, 2007, Inhibitory Effects of Plant Extracts on Tyrosinase L-DOPA Oxidation and Melanin Synthesis, *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 70, 393-407.
- Johnston B D, Ghavami A, Jensen M T, Svensson B, Pinto B M, 2002, Synthesis of Selenium Analogues of the Naturally Occurring Glycosidase Inhibitor Salacinol and their Evaluation as Glycosidase Inhibitors, *Journal of the American Chemical Society*, 124, 8245-50.
- Kadziola A, Sugaard M, Svensson B, Haser R, 1998, Molecular Structure of a Barley α -Amylase Inhibitor Complex: Implications for Starch Binding and Catalysis, *Journal of Molecular Biology*, 278, 205-217.
- Kalka K, Mukhtar H, Turowski-Wanke A, Merk H, 2000, Biomelanin Antioxidants in Cosmetics: Assessment Based on Inhibition of Lipid Peroxidation, *Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology*, 13, 143-149.
- Karaşin N, 2011, Diyarbakır ve Çevresinde Yetişen *Cynara Syriaca* Metanol Ekstraktının Antimikrobiyal, Antioksidan ve Mutajenik Aktivitesinin Belirlenmesi, Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 51s, Diyarbakır.
- Kargioğlu M, Cenççi S, Dayan S, 2007, Endemic Plant Species and their Threatened Categories Vegetated in the Boundary of Afyonkarahisar Province in Turkey, Afyon Kocatepe University, *Journal of Science*, 7, 287-311.

- Karuncula C, 2013, *Leuojum aestivum* L. Bitkisinden Alkaloidlerin İzolasyonu, Yapılarının Aydınlatılması ve Asetilkolinesteraz ve Butirikolinesteraz İnhibisyon Aktivitelerinin (Anti-Alzheimer) İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 8-15s, Edirne.
- Kavak D D, Altıok E, Bayraktar O, Ulku S, 2010, *Pistacia terebinthus* Extract: As a Potential Antioxidant, Antimicrobial and Possible beta-Glucuronidase İnhibitor, *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic*, 64, 167-171.
- Kayhan S, 2012, Farklı Lokalitelerden Toplanan *Gypsophila perfoliata* (L) Var *Perfoliata*'nın Antioksidan ve Antibakteriyel Aktivitesinin Belirlenmesi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 51s, Denizli.
- Keeller R F, Baker D C, 1990, Myopathy in Cattle İnduced by Alkoloid Extracts from *Thermopsis Montana*, *Laburnum Anagyroides* and a *Lupinus* sp, *Journal of Comparative Pathology*, 103, 169-182.
- Kent M, 2000, *Advanced Biology*, Oxford University Press, England.
- Kılıç D, 2002, Mısır Nişastasının Hidrolizinde α -Amilaz Enziminin Aktivitesinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, 2-10s, İstanbul.
- Kim Y J, Uyama H, 2005, Tyrosinase İnhibitors from Natural and Synthetic Sources: Structure, İnhibition Mechanism and Perspective for the Future, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 62, 1707-1723.
- Kim Y S, Kim Y, Hwang O, Kim D J, 2012, Pathology of Neurodegenerative Diseases, *Brain Damage-Bridging Between Basic Research and Clinics*, 5, 99-138.
- Kiss J B, Vizi E S, 2001, Nitric Oxide: A Novel Link Between Synaptic and Nonsynaptic Transmission Trends Neuroscience, *Trends in Neuro Science*, 24, 211-215.
- Koçyiğit M, 2005, Yalova İlinde Etnobotanik Bir Araştırma, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1-15s, İstanbul.

- Korcan S E, Ciğerci İ H, Dilek M, Kargıoğlu M, Cenkçi S, Konuk M, 2009, Antimicrobial Activity of an Endemic Species, *Thermopsis turcica*, Turkey, *Kuwait Journal of Science & Engineering*, 36, 101-112.
- Kubo I, Kinst-Hori I, 1999, Flavonols from Saffron Flower: Tyrosinase Inhibitory Activity and Inhibition Mechanisms, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 4121-4125.
- Kubo I, Kinst-Hori I, Chaudhuri S K, Kubo Y, Sánchez Y, Ogura T, 2000, Flavonols from *Heterotheca Inuloides*: Tyrosinase Inhibitory Activity and Structural Criteria, *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 8, 1749-55.
- Legay C, 2000, Why So Many Forms of Acetylcholinesterase, *Microscopy Research and Technique*, 49, 56-72.
- Machius M, Vertesy L, Huber R, Wiegand G, 1996, Carbohydrate and Proteinbased Inhibitors of Porcine Pancreatic α -Amylase: Structure Analysis and Comparison of their Binding Characteristics, *Journal of Molecular Biology*, 260, 409-421.
- Maeda K, Fukuda M, 1991, In Vitro Effectiveness of Several Whitening Cosmetic Components in Human Melanocytes, *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, 42, 361-368.
- Mai T T, Thu N N, Tien P G, Chuyen N V, 2007, Alpha-Glucosidase Inhibitory and Antioxidant Activities of Vietnamase Edible Plants and Their Relationships with Polyphenol Contents, *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 53, 267-276.
- Maltsev A V, Bystryak S, Galzitskaya O V, 2011, The Role of β -Amyloid Peptide in Neurodegenerative Diseases, *Ageing Research Reviews*, 10, 440- 452.
- Malyer H, 2011, Türkiye Florası ve Polen Alerjisine Neden Olan Önemli Bitkiler, *Türkiye Klinikleri Journal Allergy-Special Topics*, 4, 15-18.
- Mann S, Beedie C, Balducci S, Zanuso S, Allgrove J, Bertiato F, Jimenez A, 2014, Changes in Insulin Sensitivity in Response to Different Modalities of Exercise: a Review of the Evidence, *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 30, 257-268.

- Massoulie J, Pezzement S, Bon S, Krejci E, 1993, Molecular and Cellular Biology of Cholinesterases, Progress in Neurobiology, 41, 31-91.
- Mayer A M, 1987, Polyphenol Oxidases in Plants: Recent Progress, Phytochemistry, 26, 11-20.
- McGeer E G, McGeer P L, 2003, Clinically Tested Drugs for Alzheimer's Disease, Expert Opinion on Investigational Drugs, 12, 1143-1151.
- Memişoğulları R, 2005, Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkileri, Düzce Tıp Fakültesi Dergisi, 3, 30-39.
- Mendes C C, Cecilia S, Emer F, Roberto G, Britto L, Martins-de-Souza D, 2014, Using Mass Spectrometry-Based Peptidomics to Understand the Brain and Disorders Such as Parkinson's Disease and Schizophrenia, Bentham Science Publishers, 14, 369-381.
- Meraz-Rios M A, Lira-De Leon K I, Campos-Pena V, De Anda-Hernandez M A, Mena-Lopez R, 2010, Tauoligomers and Aggregation in Alzheimer's Disease, Journal of Neurochemistry, 112, 1353-1367.
- Morgana C, Colombresa M, Nunez M T, Inestrosa N C, 2004, Structure and Function of Amyloid in Alzheimer's Disease, Progress in Neurobiology, 74, 323-349.
- Mu Q, Xie J, Wena, Z, Wenga Y, Shuyuna Z, 1999, A Quantitative MR Study of the Hippocampal Formation, the Amygdala, and the Temporal Horn of the Lateral Ventricle in Healthy Subjects 40 to 90 Years of Age, American Journal of Neuroradiology, 20, 207-211.
- Munoz J L, Garcia Molina F, Varon R, Rodriguez Lopez J N, Garcia Canovas F, Tudela J, 2006, Calculating Molar Absorptivities for Quinones: Application to the Measurement of Tyrosinase Activity, Analytical Biochemistry, 351, 128-138.
- Ohmiya S, Otomasu H, Murakoshi I, Haginiwa J, 1974, N-Formylcytisine: A new Alkaloid from Thermopsis Chinensis, Phytochemistry, 13, 643-644.
- Okun M S, Fernandez H H, Grosset D G, Grosset K A, 2010, Parkinson's Disease, 9-10.

- Orhan I, Senol F S, Gulpınar A R, Kartal M, Sekeroğlu N, Deveci M, Kan Y, Sener B, 2012, Acetylcholinesterase Inhibitory and Antioxidant Properties of *Cyclotrichium Niveum*, *Thymus Praecox* Subsp *Ccaucasicus* var, *Caucasicus*, *Echinacea Purpurea* and *E Pallida*, *Food and Chemical Toxicology*, 47, 1304-1310.
- Ortonne J P, Ballotti R, 2000, Melanocyte Biology and Melanogenesis: What's new?, *Journal of Dermatological Treatment*, 11, 15–26.
- Özdemir C, Dural H, Ertuğrul K, Küçüködük M, Baran P, Şanda M A, 2008, Morphology and Anatomy of Endemic *Thermopsis Turcica* Kit Tan, Vural & Küçüködük, *Bangladesh Journal of Botany*, 37, 105-114.
- Özdemir C, Dural H, Ertuğrul K, Küçüködük M, Baran P, Şanda M A, 2008, Morphology and Anatomy of Endemic *Thermopsis Turcica* Kit Tan, Vural & Küçüködük, *Bangladesh Journal of Botany*, 37, 105-114.
- Palanisamy U D, Ling L T, Manaharan T, Appleton D, 2011, Rapid Isolation of Geraniin from *Nephelium Lappaceum* Rind Waste and its Hyperglycemic Activity, *Food Chemistry*, 127, 21-27.
- Parvez S, Kang M, Chung H S, Bae H, 2007, Naturally Occurring Tyrosinase Inhibitors: Mechanism and Applications in Skin Health, Cosmetic and Agriculture Industries, *Phytotherapy Research*, 21, 805-816.
- Pendlebury W W, Solomon P R, 1994, Alzheimer's Disease: Therapeutic Strategies for the 1990s, *Neurobiology of Aging*, 15, 287-289.
- Pitkanen O M, Martin J M, Hallman M, Akerblom H K, Sariola H, Andersson S M, 1992, Free Radikal Activity During Development of İnsülin Dependent Diabetes Mellitus in the Rat, *Life Sciences*, 50, 335-339.
- Rajendiran A, Natarajan E, Subramanian P, 2008, Control of *Aeromonas hydrophila* Infection in Spotted Snakehead, *Channa punctatus*, by *Solanum nigrum* L, a Medicinal Plant, *Journal of the World Aquaculture Society*, 39, 375-383.
- Rehm J, Reed G, Kennedy J F, 1987, *Biotechnology*, 7a, 5-100, Vch, New York.

- Riley A P, 2003, Melanogenesis and Malanoma, *Pigment Cell & Melanoma Research*, 16, 548-552.
- Roberson M R, Harrell L E, 1997, Cholinergic Activity and Amyloid Precursor Protein Metabolism, *Brain Research Reviews*, 25, 50-69.
- Romani A, Pinelli P, Galardi C, Mulinacci N, Tattini M, 2002, Identification and Quantification of Galloyl Derivatives, Flavonoid Glycosides and Anthocyanins in Leaves of *Pistacia lentiscus* L, *Phytochemical Analysis*, 13, 79-86.
- Roy F, Boye J I, Simpson B K, 2010, Bioactive Proteins and Peptides in Pulse Crops, Pea Chickpea and Lentil, *Food Research International*, 43, 432-442.
- Saito K, Takamatsu S, Ohmiya S, Otomasu H, Yasuda M, Kano Y, Murakoshi I, 1988, Lupin Alkaloids From the Seeds of *Thermopsis Lupinoides*, *Phytochemistry*, 27, 3715-3716.
- Sangwan R S, Sangwan N S, Farooqi A H A, Shabih F, 2001, Regulation of Essential Oil Production in Plant, *Plant Growth Regulation*, 34, 3–21.
- Sarıoğlu G, Velioğlu Y S, 2018, Baklagillerin bileşimi, *Akademik Gıda*, 16, 483-496.
- Satman I, Engül A, Salman S, Tütüncü Y, Sargın M, Dinçag N, 2002, Türkiye'de Nüfus Temelli Diyabet ve Risk Özellikleri Çalışması, *Türk Diyabet Epidemiyoloji Çalışması sonuçları, Diyabet Bakımı*, 251, 551-1556.
- Schwab U, Lauritzen L, Tholstrup T, Haldorssoni T, Riserus U, Uusitupa M, Becker W, 2014, Effect of the Amount and Type of Dietary Fat on Cardiometabolic Risk Factors and Risk of Developing Type 2 Diabetes, Cardiovascular Diseases and Cancer: a Systematic Review, *Food & Nutrition Research*, 58.
- Seiberg M, Paine Ch, Sharlow E, Eisinger M, Shapiro S S, Andrade-Gordon P, Costanzo M, 2000, Inhibition of Melanosome Transfer Results in Skin Lightening, *Journal of Investigative Dermatology*, 115, 162-167.
- Selinheimo E, Mattinen M L, Lantto R, 2008, Oxidation of Peptides and Proteins by *Trichoderma Reesei* and *Agaricus Bisporus* Tyrosinases, *Journal of Biotechnology*, 133, 395.

- Sharma B, 1988, Lentils and Chickpeas in Human Nutrition Conditions: Present State and Prospects, Herkes İçin Mercimek Sempozyumu, 29-30 Eylül, Marmaris/Muğla, 157-171.
- Sinan B, 2002, Thermopsis Turcica Kit Tan, Vural & Küçüködük (Fabaceae)'nın Morfolojisi, Anatomisi ve Ekolojisi, Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 53s, Konya.
- Slavin J, Green H, 2007, Dietary Fibre and Satiety, Nutrition Bulletin, 32, 32-42.
- Slominski A, Wortsman J, Plonka P M, Schallreuter K U, Paus R, Tobin D J, 2005, Hair Follicle Pigmentation, Journal of Investigative Dermatology, 124, 13-21.
- Sökmen A, Gürel E, 2001, Sekonder Metabolit Üretimi, Bitki Biyoteknolojisi 1, Bitki Doku Kùltürleri (Ed: Babaođlu M, Gürel E, Özcan S), Konya, 211-267.
- Sugimoto H, Ogura H, Arai Y, Limura Y, Yamanishi Y, 2002, Research and Development of Donapezil Hydrochloride, A New Type of Acetylcholinesterase Inhibitor: New Drug and Recent Technique Review, Japanese Journal of Pharmacology, 89, 7-20.
- Sugumaran M, 1988, Molecular Mechanism for Cuticular Sclerotization, Advances in Insect Physiology, 21, 179-231.
- Svoboda Z, Kvetina J, Herink J, Bajgar J, Bartosova L, Palicka V, Zivny P, 2005, Galantamine Antiacetylcholinesterase Activity in Rat Brain Influenced by L Carnitine, Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czech Republic, 149, 335-337.
- Tanyıldızı M Ş, 2005, Çeşitli Bakteri Türleriyle Farklı Ortam ve Çalışma Şartlarında α -Amilaz Üretiminin İncelenmesi, Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, 132s, Elazığ.
- Tatar S, 2007, Termofil Moderately Halofilik Bacillus sp. Suşlarından Amilaz Enzimi Üretimi ve Endüstriyel Kullanım Olanaklarının Araştırılması, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 102s, Adana.
- Tekin A, 2007, Sağlık-Hastalık Olgusu ve Toplumsal Kökenleri (Burdur Örneği), Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, 313s, Isparta.

- Telefoncu A, 1986, Temel ve Uygulamalı Enzimoloji, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 59s, İzmir.
- Tellioglu S B, 2011, Alzheimer Hastalığı, Hafif Kognitif Bozukluk ve Vasküler Demans Seyrinin Klinik ve Nöropsikolojik Açıdan İncelenmesi, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, 88s, Mersin.
- Topcu G, Ay M, Bilici A, Sarıkurkcu C, Ozturk M, Ulubelen A, 2007, A new Flavone From Antioxidant Extracts of Pistacia terebinthus, Food Chemistry, 103, 816-822.
- Tucci S A, Boyland E J, Halford J C G, 2010, The Role of Lipid and Carbohydrate Digestive Enzyme İnhibitors in the Management of Obesity, a Review Current and Emerging Therapeutic Agents, Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy, 3, 125-143.
- Tucker S C, 2003, Floral Development in Legumes, Plant Physiology, 131, 911-926.
- Unver N, Paul F P, Horster S, Wenck H, Stab F, Blatt T, Elsasser H P, 2006, Alterations in the Epidermal Dermal Melanin Axis and Factor XIIIa Melanophages in Senile Lentigo and Ageing Skin, British Journal of Dermatology, 155, 119-128.
- Vadivel V, Nandety A, Biesalski H K, 2011, Antioxidant Potential and Health Relevant Functionality of Traditionally Processed Cassia hirsute L, seeds: An Indian Underutilized food Legume, Plant Foods for Human Nutrition, 66, 245-253.
- Vanni A, Pessione E, Pergola L, Cavaletto M, Giunta C, Trotta A, 1990, Extraction, Purification and Characterization of ADH1 from the Budding Yeast Kluyveromyces Marxianus, The Italian Journal of Biochemistry, 39, 71-82.
- Whitaker J R, 1995, In: Food Enzymes, Structure and Mechanism, Wong D (ed.), Chapman and Hall, New York, 271-307.
- Wojciechowski M F, 2003, Reconstructing the Phylogeny of Legumes (Leguminosae): an Early 21st Century Perspective, In: Klitgaard, B B, and Bruneau A, (Eds.), Advances in Legume Systematics, Part 10, Higher level Systematics, Royal Botanic Gardens, Kew, 5-35.

- Wolever T M S, 1990, Relationship Between Dietary Fiber Content and Composition in Foods and the Glycemic Index, *American Journal of Clinical Nutrition*, 51, 72-75.
- Wood A, Cummings J, 2004, Alzheimer's Disease, *New England Journal of Medicine*, 351, 56-67.
- Yalçın A, 2013, Yaşlı Parkinson Hastalarında Kardiyak Otonomik Fonksiyonların Değerlendirilmesi, *Yan Dal Uzmanlık Tezi*, Ankara Üniversitesi, 84s, Ankara.
- Yamauchi K, Mitsunaga T, 2016, Melanogenesis and Melanosome Transportation Modulators from Plants, *Letters in Drug Design & Discovery*, 13, 472-751.
- Yang X W, Huang M Z, Jin Y S, Sun L N, Song Y, Chen H S, 2012, Phenolics from *Bidens Bipinnata* and their Amylase Inhibitory Properties, *Fitoterapia*, 83, 1169-1175.
- Yang Y, Sun X, Ni H, Du X, Chen F, Jiang Z, Li Q, 2019, Identification and Characterization of the Tyrosinase Inhibitory Activity of Caffeine from *Camellia Pollen*, 67, 12741-12751.
- Yeşilyurt E B, Kurt L, Akaydın G, 2008, Hacıkadın Vadisi Florası Üzerine Bir Araştırma, *Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma, Türkiye*, 1-2, 25-52, Ankara.
- Yoon S H, Robyt J F, 2003, Study of the Inhibition of Four Alpha Amylases by Acarbose and its 4IV-alpha-Maltohexaosyl and 4IV-alpha-Maltododecaosyl Analogues, *Carbohydrate Research*, 338,1969-80.
- Yoshida M, Takashi T, Inoue S, 2000, Histamine Induces Melanogenesis and Morphologic Changes by Protein Kinase A Activation via H2 Receptors in Human Normal Melanocytes, *Journal of Investigative Dermatology*, 114, 335-342.
- Yun J W, 2010, Possible Anti-Obesity Therapeutics from Nature-A Review, *Phytochemistry*, 71, 1625-1641.
- Zhou X, Wang X B, Wang T, Kong L Y, 2008, Design, Synthesis, and Acetylcholinesterase Inhibitory Activity of Novel Coumarin Analogues, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16, 8011-8021.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Mukhriddin SUYUNDİKOV
Doğum Yeri ve Tarihi : Özbekistan, Semerkand 04.09.1992
Yabancı Dil : Rusça
İletişim Bilgileri : 0 539 854 85 65 /
muxriddin.suyundikov.92@inbox.ru,
msuyundikov1@gmail.com

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Kolej : Semerkand Tıp Koleji (2008-2011)
Lisans : Semerkand Devlet Üniversitesi, Kimya Fakültesi, Kimya
Bölümü, (2014-2018)
Yüksek Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimler Enstitüsü,
Kimya Anabilim Dalı, (2018-2020)

Yayımları (SCI ve diğer) :

Aksoy L, Suyundikov M, 2020, Afyonkarahisar Florasında Yer Alan Endemik Bitki Taksonlarının Morfolojik ve Fitokimyasal Özellikleri, Turkish Journal of Bioscience and Collections, 4, 20-26.

Aksoy L, Yaylalı M, Suyundikov M, 2020, Does Sciaena Umbra (Linnaeus 1758) Otolith Protect Tissues Against Nephropathy, Oxidative Stress and Inflammation Induced by Ethylene Glycol, Anais da Academia Brasileira de Ciências, Accepted.