

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI



Cyclotrichium longiflorum' UN ANTİKOLİNERJİK, ANTİDİYABETİK,
ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİ VE FENOLİK İÇERİĞİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

SİBEL ATAY

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Jüri Üyeleri: Prof. Dr. Fatih SATIL (Tez Danışmanı)
Prof. Dr. Serap DOĞAN
Dr. Öğr. Üyesi Ömer Faruk KARASAKAL

BALIKESİR, NİSAN- 2025

ETİK BEYAN

Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak tarafımda hazırlanan “*Cyclotrichium longiflorum*' un Antikolinergik, Antidiyabetik, Antioksidan Aktiviteleri ve Fenolik İçeriğinin Değerlendirilmesi” başlıklı tezde;

- Tüm bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Kullanılan veriler ve sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Tüm bilgi ve sonuçları bilimsel araştırma ve etik ilkelere uygun şekilde sunduğumu,
- Yararlandığım eserlere atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,

beyan eder, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Sibel ATAY

Bu tez çalışması Balıkesir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından (2024/106) nolu proje ile desteklenmiştir.

ÖZET

***Cyclotrichium longiflorum*' UN ANTİKOLİNERJİK, ANTİDİYABETİK,
ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİ VE FENOLİK İÇERİĞİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
SİBEL ATAY
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. FATİH SATIL)
(EŞ DANIŞMAN: DOÇ. DR. MEHMET EMİN DİKEN)
BALIKESİR, NİSAN- 2025**

Bu çalışmada, *Cyclotrichium longiflorum* bitkisinin metanol, etanol, distile sudan (72.5/14.8/12.7, v/v/v) oluşan solvent karışım ile hazırlanan ekstraktında antikolinergik, antidiyabetik, antioksidan, antibakteriyel aktivite ve fenolik içeriği değerlendirilmiştir. Çalışmada, antioksidan aktivite analizleri için 2,2-Difenil-1-pikrihidrazil (DPPH), 2,2-azino-bis-(3- etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit (ABTS) ve Demir indirgeyici antioksidan güç tayini (FRAP) metotları kullanılmıştır. Ayrıca bitkide toplam fenolik ve flavonoid içerik tayini deneyleri de yapılmıştır. Antikolinergik ve antidiyabetik aktiviteler için asetilkolinesteraz (AChE), bütirikolinesteraz (BChE), alfa-amilaz ve alfa-glukozidaz enzim inhibisyon aktivite deneyleri gerçekleştirilmiştir. Antibakteriyel analiz için *Escherichia coli* ve *Stahylococcus aureus* bakterilerine karşı disk difüzyon yöntemi ve Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MİK) araştırılmıştır. Bitkinin fitokimyasal bileşenlerin detaylı analizi için ise LC-MS/MS metodu kullanılmıştır. Yapılan analizler sonucunda *C. longiflorum* bitkisinin antioksidan etkisinin IC₅₀ değerleri hesaplanmış, bitkide yüksek antioksidan etki olduğu üç deney sonucunda da görülmüştür. Antibakteriyel deneylerinden ilki olan disk difüzyon yönteminde bitki her iki bakteri için de iyi zon oluşturmuş, sonuçlar pozitif ve negatif kontroller ile karşılaştırılmıştır. MİK sonuçlarında anlamlı antibakteriyel aktivite görülmüştür. Yapılan enzim inhibisyon deneylerinde AChE ve BChE enzimlerine karşı bitkinin güçlü inhibisyon aktivitesi olduğu belirlenmiş ve bitkinin önemli ölçüde antikolinergik etkisinin olduğu sonucuna ulaşılmıştır. α -amilaz ve α -glukozidaz enziminde beklenen inhibitör etkilerinden ziyade bu enzimlerin aktivitesinde tam tersi bir artış gözlenmiştir. LC-MS analizi sonucunda, ekstraktın önemli ölçüde naringin ve hesperidin gibi flavonoid bileşiklerini içerdiği tespit edilmiştir. Literatürde bu bileşiklerin enzimlerin aktif bölgelerine bağlanarak aktivatör etki gösterdiği çalışmalarda görülmüştür. Bu çalışmada da benzer sonuçlar ile karşılaşılmıştır. LC-MS/MS metodunda *C. longiflorum* bitkisinde naringin, hesperidine ek olarak, rutin hidrat, benzoik asit, eridiktol bulunmuştur.

ANAHTAR KELİMELELER: Antioksidan, antibakteriyel, *Cyclotrichium longiflorum*, enzim inhibisyon, LC-MS/MS

ABSTRACT

ASSESSMENTS OF ANTICHOLINERGIC, ANTIDIABETIC, ANTIOXIDANT ACTIVITIES AND PHENOLIC CONTENT OF *Cyclotrichium longiflorum*

MSC THESIS

SIBEL ATAY

BALIKESIR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

BIOLOGY

(SUPERVISOR: PROF. DR. FATI H SATIL)

(CO-SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. MEHMET EMIN DIKEN)

APRIL - 2025

In this study, anticholinergic, antidiabetic, antioxidant, antibacterial activities and phenolic content of the extract of *Cyclotrichium longiflorum* plant prepared with a solvent mixture consisting of methanol, ethanol, distilled water (72.5/14.8/12.7, v/v/v) were evaluated. In the study, 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) and Iron reducing antioxidant power determination (FRAP) methods were used for antioxidant activity analyses. In addition, total phenolic and flavonoid content determination experiments were performed in the plant. Acetylcholinesterase (AChE), butyrylcholinesterase (BChE), alpha-amylase and alpha-glucosidase enzyme inhibition activity experiments were performed for anticholinergic and antidiabetic activities. Disk diffusion method and Minimum Inhibitory Concentration (MIC) were investigated against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria for antibacterial analysis. LC-MS/MS method was used for detailed analysis of phytochemical components of the plant. As a result of the analyses, IC₅₀ values of antioxidant effect of *C. longiflorum* plant were calculated, and it was determined that the plant had high antioxidant effect as a result of three experiments. It was also seen. In the first of the antibacterial experiments, the disk diffusion method, the plant formed a good zone for both bacteria and the results were compared with positive and negative controls. Significant antibacterial activity was seen in MIC results. In the enzyme inhibition experiments, it was determined that the plant had a strong inhibitory activity against AChE and BChE enzymes and it was concluded that the plant had a significant anticholinergic effect. Rather than the expected inhibitory effects in α -amylase and α -glucosidase enzymes, an opposite increase was observed in the activity of these enzymes. As a result of LC-MS analysis, it was determined that the extract contained significant flavonoid compounds such as naringin and hesperidin. It has been seen in the literature that these compounds bind to the active sites of enzymes and have an activator effect. Similar results were obtained in this study. In addition to naringin and hesperidin, rutin hydrate, benzoic acid and eridictyol were found in *C. longiflorum* plant in the LC-MS/MS method.

KEYWORDS: Antioxidant, antibacterial, *Cyclotrichium longiflorum*, enzyme inhibition, LC-MS/MS

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ	iv
TABLO LİSTESİ.....	v
SEMBOL VE KISALTMA LİSTESİ	vii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
2.1 Sekonder Metabolitler	4
2.1.1 Terpenler	4
2.1.2 Alkaloidler	4
2.1.3 Fenolik bileşikler	5
2.1.3.1 Flavonoidler.....	5
2.1.3.2 Fenolik asitler	6
2.2 Serbest Radikaller.....	6
2.3 Oksidatif Stres	8
2.4 Antioksidanlar	8
2.4.1 Antioksidan Testleri.....	9
2.4.1.1 DPPH (2.2.-Difenil-1-pikrihidrazil)	9
2.4.1.2 ABTS (2.2 azinobis-(3- etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)).....	9
2.4.1.3 FRAP (Demir İndirgeyici Antioksidan Güç Tayini)	9
2.5 Alzheimer ve Kolinjerjik Sistem	10
2.5.1 AChE enzimi.....	10
2.5.2 BChE enzimi	11
2.5.3 Kolinesteraz inhibitörleri	11
2.5.3.1 Bitkisel kolinesteraz inhibitörleri	12
2.6 Diyabet	12
2.6.1 Kan glikoz düzeylerinin düzenlenmesi	13
2.6.2 α -Amilaz enzimi	14
2.6.3 α -Glukozidaz enzimi.....	14
2.6.4 Glikozid hidrolaz inhibitörleri	14
2.6.5 Glikozid hidrolaz aktivatörleri.....	15
2.6.6 Bitkisel glikozid hidrolaz inhibitörleri.....	15
2.7 Antibakteriyel Aktivite	16
2.8 Lamiaceae Familyası	16
2.8.1 <i>Cyclotrichium</i> cinsi hakkında genel bilgi	17
2.8.2 <i>Cyclotrichium longiflorum</i>	17
2.9 Antikolinjerjik, Antidiyabetik, Antioksidan Aktiviteleri ve Fenolik İçeriği Üzerine Yapılan Bazı Çalışmalar	19
3. MATERYAL-METOT.....	24
3.1 Materyal.....	24
3.1.1 Bitki örneklerinin temini.....	24
3.1.2 Deneysel çalışmalarda kullanılan maddeler ve laboratuvar gereçleri.....	24
3.2 Metot.....	25
3.2.1 Bitki ekstraktlarının hazırlanması	25
3.2.2 Bitki ekstraktlarının antioksidan kapasitelerinin araştırılması.....	26

İÇİNDEKİLER (devam)

3.2.2.1 DPPH testi	26
3.2.2.2 ABTS testi	26
3.2.2.3 FRAP testi	26
3.2.3 Bitki inhibisyon aktivitesi tayini	27
3.2.3.1 AChE enzimi inhibisyon aktivitesi tayini.....	27
3.2.3.2 BChE enzimi inhibisyon aktivitesi tayini.....	27
3.2.3.3 α -Amilaz enzimi inhibisyon aktivitesi tayini	28
3.2.3.4 α -Glukozidaz enzimi inhibisyon aktivitesi tayini.....	28
3.2.4 Toplam fenolik ve flavonoid içerik tayini	28
3.2.4.1 Toplam fenolik bileşik tayini.....	28
3.2.4.2 Toplam flavonoid içerik tayini	29
3.2.5 LC-MS/MS	29
3.2.6 Antibakteriyel aktivite analizi.....	29
3.2.6.1 Disk difüzyon yöntemi	29
3.2.6.2 MİK (Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu) yöntemi.....	30
4. BULGULAR	31
4.1 Antioksidan Sonuçları	31
4.1.1 DPPH sonuçları.....	31
4.1.2 ABTS sonuçları.....	32
4.1.3 FRAP sonuçları	32
4.2 Enzim İnhibisyon Sonuçları.....	33
4.2.1 AChE ve BChE enzim aktivitesi sonuçları.....	33
4.2.2 α -Amilaz ve α -Glukozidaz enzimlerinin aktivite sonuçları.....	35
4.3 Toplam Fenolik ve Flavonoid Deney Sonuçları.....	36
4.3.1 Toplam fenolik bileşik tayini sonuçları	36
4.3.2 Flavonoid deney sonuçları	36
4.4 Antibakteriyel sonuçları.....	37
4.5 LC-MS/MS Analizi	39
5. TARTIŞMA.....	40
5.1 Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları.....	40
5.2 Antikolinergik Aktivite Analiz Sonuçları.....	44
5.3 Antidiyabetik Aktivite Analiz Sonuçları	46
5.4 Toplam Fenolik ve Flavonoid İçerik Tayini Analiz Sonuçları	47
5.5 Antibakteriyel Aktivite Analiz Sonuçları	49
5.6 LC-MS/MS Analiz Sonuçları.....	51
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	54
7. KAYNAKLAR.....	56
ÖZGEÇMİŞ	71

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1: Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması.....	5
Şekil 2.2: <i>C. longiflorum</i> Fotoğraf.	18
Şekil 2.3: <i>C. longiflorum</i> 'un Türkiye'deki dağılım haritası.....	18
Şekil 4.1: Ekstraktların artan derişime bağlı % DPPH antioksidan süpürme aktivitesi.....	31
Şekil 4.2: Ekstraktların artan derişime bağlı % ABTS antioksidan süpürme aktivitesi.....	32
Şekil 4.3: Trolox standart eğrisi ve eğim çizgisi denklemi.....	33
Şekil 4.4: Artan bitki konsantrasyonuna göre % AChE aktivitesi.....	34
Şekil 4.5: Artan bitki konsantrasyonuna göre % BChE aktivitesi.	34
Şekil 4.6.: Artan bitki konsantrasyonuna göre % α -amilaz aktivitesi.....	35
Şekil 4.7: Artan bitki konsantrasyonuna göre % α -glukozidaz aktivitesi.....	35
Şekil 4.8: Toplam fenolik bileşik tayini için kullanılan kalibrasyon eğrisi. .	36
Şekil 4.9: Flavonoid bileşik tayini için kullanılan kalibrasyon eğrisi.....	37
Şekil 4.10: <i>S. aureus</i> ve <i>E. coli</i> bakterisine karşı <i>C. longiflorum</i> örneklerinin oluşturduğu zon görüntüleri. (a) <i>S. aureus</i> ,(b) <i>E. coli</i>	37

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1: Reaktif oksijen türlerinin sınıflandırılması.	7
Tablo 2.2: <i>C. longiflorum</i> esansiyel yağının bileşimi, %.	18
Tablo 3.1: Çalışmada kullanılan kimyasal maddelerin adları ve üretici firmalar.....	24
Tablo 3.2: Çalışmada kullanılan malzeme, cihaz ve laboratuvar gereçleri adları ve üretici firmalar.	25
Tablo 4.1: <i>C. longiflorum</i> bitki ekstraktının DPPH antioksidan % süpürme aktivitesi testi ile belirlenen IC ₅₀ değeri..	31
Tablo 4.2: <i>C. longiflorum</i> bitki ekstraktının ABTS antioksidan % süpürme aktivite testi ile belirlenen IC ₅₀ değeri..	32
Tablo 4.3: <i>C. longiflorum</i> bitki ekstraktının trolox antioksidan aktivite testi ile belirlenen trolox eşdeğeri.	33
Tablo 4.4: <i>C. longiflorum</i> bitki ekstraktının AChE ve BChE % inhibisyon aktivite testi ile belirlenen IC ₅₀ değeri.....	33
Tablo 4.5: <i>C. longiflorum</i> bitki ekstraktının toplam fenolik bileşik aktivite testi ile belirlenen IC ₅₀ değeri.....	36
Tablo 4.6: <i>C. longiflorum</i> bitki ekstraktının flavanoid bileşik aktivite testi ile belirlenen IC ₅₀ değeri.....	36
Tablo 4.7: <i>S. aureus</i> ve <i>E. coli</i> bakterilerine karşı <i>C. longiflorum</i> bitkisinin inhibisyon zon çapları..	38
Tablo 4.8: <i>S. aureus</i> ve <i>E. coli</i> bakterilerine karşı <i>C. longiflorum</i> bitkisinin MİK değerleri.	38
Tablo 4.9: LC-MS/MS sonuçları.	39
Tablo 5.1: Çalışmada elde edilen tüm verilerin genel tablosu.....	53

SEMBOL VE KISALTMA LİSTESİ

ABTS	: 2.2 azinobis-(3- etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit))
ACh	: Asetilkolin
AChE	: Asetilkolinesteraz
AlCl₃	: Alüminyum klorür
BChE	: Bütürlkolinesteraz
BHA	: Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	: Bütillenmiş hidroksitoluen
CoA	: Koenzim A
ChAT	: Kolin asetiltransferaz
ChE	: Kolinesteraz
DM	: Diabetes Mellitus
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DNSA	: Dinitro salisilik asit
DPPH	: 2.2.-Difenil-1-pikrihidrazil
DTNB	: 5,5'-Dithiobis-(2-Nitrobenzoik Asit)
EtOH	: Etanol
FDA	: Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
FRAP	: Demir indirgeyici antioksidan güç tayini
GAE	: Gallik Asit
GDM	: Gestasyonel diyabet
HCl	: Hidroklorik Asit
IC₅₀	: %50 inhibitör konsantrasyonu
MeOH	: Metanol
MİK	: Minimum inhibitör konsantrasyonu
NaCl	: Sodyum klorür
NaCO₃	: Sodyum karbonat
NaNO₂	: Sodyum bikarbonat
NaOH	: Sodyum hidroksit
NIST	: Ulusal Standartlar ve Teknoloji Enstitüsü
PNPG	: P-Nitrofenil-A-D-Glikopiranosid
RNS	: Reaktif nitrojen türleri
ROS	: Reaktif oksijen türleri
TBHQ	: Tersiyer-bütillhidrokinon
TE	: Trolox
Tptz	: 2,4,6-Tri-2-Pyridinyl-1,3,5- Triazine

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Anadolu'nun zengin bitki çeşitliliği arasında tıbbi özellikleri ile öne çıkan bir çok bitki bulunmaktadır. Bu zengin tıbbi bitki çeşitliliği içerisinde yer alan *Cylotrichium longiflorum* bitkisi bu tez çalışmamın ana konusunu teşkil etmektedir. Bu çalışmada *C. longiflorum*'un antikolinerjik, antidiyabetik ve antioksidan aktiviteleri değerlendirilerek, fenolik bileşiklerinin biyolojik etkileri ile olan ilişkisi ortaya konmaya çalışılmıştır. Günümüzde oksidatif stresin neden olduğu hastalıklar, diyabet ve nörodejeneratif hastalıklar önemli sağlık sorunları arasında yer almaktadır. Bu doğrultuda, bitkisel kaynaklı doğal bileşiklerin terapötik potansiyellerinin araştırılması büyük önem taşımaktadır. Tez çalışması ile elde edilen bulguların bitki üzerinde farmakolojik potansiyelini artırarak literatüre katkı sağlanacağı düşünülmektedir.

Çalışma boyunca bir çok kişinin desteğini yanımda gördüm. Başta yüksek lisans eğitimim boyunca rehberliği ile bana yol gösteren, bilimsel bilgi ve deneyimlerini cömertçe paylaşan kıymetli danışmanım Prof. Dr. Fatih Satıl'a şükranlarımı sunarım.

Deneylerimin her aşamasında katkı sağlayan, bilgi birikimini ve yardımlarını esirgemeyen eş danışmanım Doç. Dr. Mehmet Emin Diken'e teşekkür ederim.

Kabul sürecimden itibaren her an yanımda olan, bana laboratuvarlarının kapısını açarak tüm desteğini sunan, iyi yürekli hocam Prof. Dr. Serap Doğan'a teşekkür ederim.

Disiplini ve bilgi birikimine hayran olduğum sevgili hocam Dr. Öğr. Üyesi Begümhan Yılmaz Kardeş'a ve tez bitkimi toplayıp teşhis eden, ulaştıran Doç. Dr. Mikail Açar'a teşekkür ederim.

Tezimi 2024/106 nolu proje ile destekleyen Balıkesir Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederim.

Laboratuvar ailem, tez süreci ve dışında hep benimle olan ekip arkadaşlarım Kardelen Sezgin, Sertap Karabaş, Didem Karakuş, Nur Yalçın'a; varlığını yanımda hep hissettiğim İpek Bozdemir'e ve bu yolculukta bana güç veren değerli arkadaşlarım Nihal İnci, Dilara İpek, Esra Toptaş, Havva Yılmaz, Halil Alper Yalçın ve Berkay Yıldız'a kalpten teşekkür ederim.

Hayatım boyunca yanımda olan, beni koşulsuzca doğru ve yanlışlarımla destekleyen, yolumu aydınlatan, başarının ve azmin değerini bana öğreten, zor zamanlarımda sarsılmaz bir dayanak olan canım annem ve babam, Yasemin Atay ve Ahmet Atay'a; her zaman yanımda olan sevgili kardeşlerim Gamze Kocamemiş ve Zehra Atay'a eniştem Tuğrul Kocamemiş'e; biricik yeğenlerim Sahra ve Zümra'ya yürekten teşekkür ediyorum.

Ve şimdi, en zor teşekkürü kendime etmek istiyorum. Çünkü bu yol hiç kolay olmadı. 'Kızlar okumaz' diyenlere inat, inandığım yoldan hiç dönmedim. Yoruldum, umutsuzluğa düştüm ama her seferinde daha güçlü kalkmayı başardım. Bu süreçte kendime ve çevreme şunu kanıtladım: Kadınlar isterse her şeyi başarabilir. Atatürk'ün kadınlar için çizdiği o yolda yürümek benim için bir görev ve onurdu. Kendime, her zorluğa göğüs gerdiğim, umudumu kaybetmediğim ve inandığım için teşekkür ediyorum.

Balıkesir, 2025

Sibel ATAY

1. GİRİŞ

Etnofarmakoloji, bireylerin hastalıklardan korunma ve tedavi amacıyla ilaç geliştirilmesinde önemli bir araç olarak kullanılmaktadır. Bitkisel ürünlerin kolay erişilebilir ve düşük maliyetli olması, ayrıca “doğal olan zararsızdır” düşüncesi, bitkilerin bilinçli ya da bilinçsiz bir şekilde kullanımını artırmaktadır (Bacanlı vd., 2015). Bitkilere olan ilginin artmasıyla birlikte, bilimsel çalışmalarda da tıbbi amaçla kullanılan bitkilere yoğun bir ilgi gösterilmektedir. Bunun başlıca nedeni, toplumda geniş bir kesimin sentetik ilaçların yan etkilerinden endişe duymalarıdır. Tıbbi bitkilere farmasötik potansiyel kazandıran temel bileşenler ise sekonder metabolitlerdir. Bitkiler, doğada zararlı patojenlere karşı savaşmak için sekonder metabolitleri kullanır. Bitki dayanıklılığında, endüstriyel uygulamalarda ve sağlık alanında büyük öneme sahip olan bu bileşikler temel üç grup halinde sınıflandırılmaktadır. Yapılan araştırmalar, sekonder metabolitlerin önemli bir sınıfı olan fenolik bileşiklerin, terapötik etkilere sahip olduğunu kanıtlamıştır (Güzel, 2023a; Tiring vd., 2021).

Bitki yapısında bulunan ve bitkinin savunma sisteminde çok önem arz eden fenolik bileşikler, bitkinin büyüme, gelişme ve döllenme gibi hayati işlevlerinden sorumludur. Fenolik içerik bakımından zengin bitkiler, diyabet, Alzheimer, kalp problemleri, kanser hastalıklarının ek olarak insan hücrelerinde mutasyonun azalması bakımından da önemlidir (Karakaya, 2004). Fenolik bileşiklerin insan sağlığı üzerinde, antioksidan, antikolinerjik antidiyabetik, antienflamatuvar, antialerjik, antibakteriyel, antiviral, antipatojenik gibi birçok etkisi bulunmaktadır (Manach et al., 2004).

Fenolik bileşiklerin antioksidan etkisi, vücutta dejenere etki gösteren oksijen yoğunluğunun azaltmasına, oksidasyonun başlamasını önlemesine veya direkt olarak serbest radikalleri tutarak radikal oksijen türlerinin oluşmasını engellemesine dayanmaktadır (Zhang and Tsao, 2016). Antioksidanlar hücre metabolizmasının toksik yan ürünü olan serbest radikalleri nötralize hale getirir ve bir denge oluşturmak için durmadan çalışırlar ancak oksidatif denge bozulduğunda oksidatif stres meydana gelir. Oksidatif stresin artması, hücre içi lipid ve protein yapıların çift bağ içeren gruplarına ve DNA'daki bazların çift bağlarına zarar verebilir ve bir hidrojen atomu koparır. Artan reaktif oksijen türleri seviyesi ile başlayan ve zincirleme oksidasyon reaksiyonları hasarı ile devam eden bu durum beraberinde birçok hastalığı getirmektedir. Oksidatif hasar, lipidleri, proteinleri ve nükleik asitleri etkileyerek

kanser, diyabet, nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklar gibi pek çok hastalığa neden olabildiği son yıllarda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Lima et al., 2006; Rao et al., 2007). Oksidatif stresin yol açtığı hücrel hasar hem diyabet hem de Alzheimer hastalığının patogeneğinde önemli bir rol oynamaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda ayrıca Alzheimer ve diyabet arasında bir ilişki olduğu görülmektedir. Alzheimer hastalarının çoğunda metabolik düzensizlikler ve hatta insülin direnci olduğu belirlenmiştir. İnsülin direnci ve diyabet beyindeki glikoz metabolizmasını bozabilmekte ve nöronların enerji üretme sistemine zarar verebilmektedir. Diyabetle birlikte oksidatif stres nedeniyle nörodejeneratif süreç hızlanarak Alzheimer hastalığına zemin hazırlamaktadır (Ferreira et al., 2018).

Enzim inhibisyon çalışmaları özellikle diyabet ve Alzheimer gibi hastalıkların tedavisinde büyük önem taşımaktadır. Bu hastalıklarda enzimlerin anormal aktivasyonu patolojik süreçleri tetikleyebilir. Örneğin, Alzheimer hastalığında asetilkolinesteraz (AChE) ve butirikolinesteraz (BChE) gibi enzimlerin inhibisyonu, nörodejenerasyonu yavaşlatma potansiyeline sahiptir. Diyabette ise α -glukozidaz ve α -amilaz enzimlerinin inhibisyonu, karbonhidrat emilimini geciktirerek kan şekeri kontrolüne yardımcı olur. Bu tür enzim hedefli tedaviler, hastalığın ilerleyişini yavaşlatmayı amaçlayan farmasötik stratejilerin önemli bir parçasıdır (Nguyen et al., 2023; Prete and Pagano, 2024).

Bitkilerin sahip oldukları zengin fenolik ve flavonoid bileşenler sayesinde güçlü antioksidan ve enzim inhibe edici özellik gösterdikleri bilinmektedir. Özellikle Lamiaceae ailesine ait bitkiler zengin fitokimyasal bileşenleri ile dikkat çekmektedir. Lamiaceae familyasına ait bitkilerin bu potansiyeli, hastalıkların tedavisinde doğal çözümler sunma açısından büyük ilgi görmektedir (Ekin et al., 2019).

Lamiaceae familyasına ait olan *Cyclotrichium longiflorum* Leblebici türü yetiştikleri yörelerde halk tarafından “Tüylü çekme” ismi ile bilinmekte ve yemeklerde veya şifalı ot olarak kullanılmaktadır (Kaya et al., 2015; Aslan et al., 2007).

Bu çalışmada Lamiaceae familyasına ait *C. longiflorum* türünün antikolinergik, antidiyabetik, antioksidan ve antibakteriyel aktiviteleri araştırılmıştır. Ayrıca bitki ekstraktlarının fenolik bileşenleri LC-MS/MS analizleri ile belirlenmiştir.

C. longiflorum ile ilgili yeterli çalışma olmadığı görülmektedir. Bu tür ile ilgili antikolinergik, antidiyabetik, antioksidan aktiviteleri ve fenolik içeriğinin değerlendirilmesi ile ilgili yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışma sonucunda elde edilecek bulguların farmakoloji alanında yapılacak çalışmalara ve gıda teknolojisine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1 Sekonder Metabolitler

Bitkiler primer ve sekonder metabolitler olarak adlandırılan yapılara sahiplerdir. Primer metabolitler tüm bitkilerde bulunan, beslenmeye ve üremeye katılarak metabolik faaliyetleri yerine getirir. Bitkide bulunan primer metabolitler nükleik asitler, karbonhidratlar, lipitler ve yağlar gibi bitki gelişiminde hayati rolleri olan bileşikleridir. Sekonder metabolitler ise bitkide düşük konsantrasyonlarda bulunan küçük bileşiklerdir. Sekonder metabolitler, farklı organik molekülleri sentezleme kapasitesine sahip, benzersiz karbon iskelet yapıları olan, bitkinin büyüme ve gelişmesi için ihtiyaç duymadığı ancak bitkilerde yan ürün olarak üretilen ve genellikle oluşumu doku, organ ve hücreye özgü olan bileşiklerdir. Bu bileşiklerin miktarı ve çeşitliliği bitkiye bağlıdır. Bitkilerin sekonder metabolitleri üretme amaçları genel olarak savunma amaçlıdır. Bitkilere karşı oluşan biyotik ya da abiyotik streslere karşı bitkileri korumaktadır. Birçok sekonder bileşik, diğer hücrelerin aktivitelerini etkiler ve metabolik faaliyetlerini kontrol ederek bitkinin gelişimini koordine eder bunu da sinyal fonksiyonları ile yapar (Bakır, 2020). Sekonder Metabolitler farklı kimyasal yapılara sahiptirler ve terpenler, alkaloidler ve fenolikler, olarak üç grupta sınıflandırılırlar (Topcu ve Çölgeçen, 2015).

2.1.1 Terpenler

Terpenler en büyük sekonder metabolit grubunu içermektedirler. Terpenler monoterpenler, seskiterpenler, diterpenler, triterpenler ve politerpenler olarak beş gruba ayrılmaktadır (Bakır, 2020). Bitkiler, glandüler trikomal, salgı boşlukları ve glandüler epidermis gibi özelleşmiş yapılarında çeşitli terpenoid bileşikler sentezler. Terpenlerin büyük bir kısmı halka formunda bulunur. Bitki aromalarının yanı sıra parfüm ve gıda sektöründe yaygın olarak kullanılan esansiyel yağların ana bileşenleri monoterpenlerdir (Topcu ve Çölgeçen, 2015).

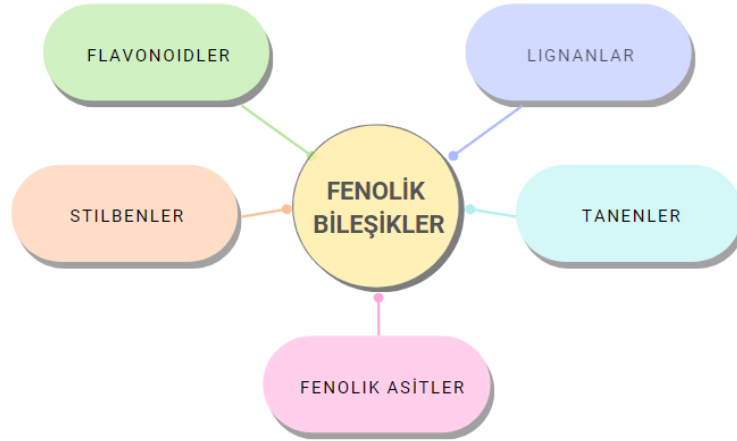
2.1.2 Alkaloidler

Bitkilerden elde edilen, genellikle kuvvetli fizyolojik ve farmakodinamik aktivite gösteren, halka içinde bir veya birden fazla azot taşıyan, bazik karakterli maddelere alkaloid denmektedir (Alaca ve Arslan, 2012). Alkaloidler, temelde amino asitlerden, birçok benzersiz enzim kullanılarak biyosentezlenen azotlu organik moleküller olan sekonder metabolitlerdir (Croteau et al., 2000). En önemli terapötik ajanların çoğu alkaloidlerdir.

İnsanlar yüzyıllardır alkaloidleri ağrı kesici veya tedavi edici yönleri için kullanmışlardır (Bakır, 2020).

2.1.3 Fenolik bileşikler

Fenolik bileşikler, bir veya birden fazla hidroksil grubunun bağlandığı benzen halkası ve fonksiyonel gruplara sahip bileşiklerdir. Doğadaki tüm bitkiler savunma mekanizması olarak birçok fenolik bileşiği farklı nitelikte ve konsantrasyonda üretirler. Bitkiler fenolik bileşikleri yoğun stres altında korunma amacıyla üretmektedir. Aynı zamanda fenolik bileşiklerin meyve sebzelerde tat ve renk verme gibi özellikleri de bulunmaktadır. Fenolik bileşiklerin varlığı gıdaların besinsel değerinde etkili olmakla birlikte aynı zamanda besinlerin kaliteleri üzerinde de etkilidir. Gıdalarda, eser miktarda bulduklarında bile gıdaları oksidatif bozulmalara karşı korumaktadırlar. Fenolik bileşikler kendi içerisinde 5'e ayrılmaktadır. Yapısal faktörlere ve sahip oldukları halka yapısına göre isimlendirilirler. Fenolik bileşiklerin en büyük grubu flavonoidlerdir (Atak vd., 2017).



Şekil 2.1: Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması (Uyarlanmıştır, Atak vd., 2017)

2.1.3.1 Flavonoidler

İnsan diyetinde en yaygın fenolik bileşikler flavonoidlerdir. Bitki gelişmesi ve büyümesiyle ilgili birçok görevi bulunmaktadır. Günümüzde 5000'den fazla farklı flavonoid belirlenmiştir. Flavonoidler, biyolojik etkilerini belirlemede önemli olan bazı ortak yapısal özellikleri ve fizikokimyasal özelliklere sahiptirler. Flavonoidler, genç yapraklarda bulunur ve antioksidan özellik göstermelerinin yanı sıra enzim inhibitörleri ile toksik bileşiklerin öncü maddeleri arasında yer alır. Zararlı UV ışınlarına karşı koruyucu bir bariyer

oluşturabilir ve bitkilerin patojenlere karşı direnç kazanmasına katkı sağlayabilir (Atınç ve Kalkan, 2018). Flavonoidler aminoasitler karbonhidratlar gibi birinci metabolitlerden türerler. Flavonoidlerin en etkin özelliği kardiyovasküler hastalıklarda koruyucu görev almasıdır (Birman, 2012).

2.1.3.2 Fenolik asitler

Fenolik asitler, bitkilerde yaygın olarak bulunan ve organik yapıya sahip bileşiklerdir. Bu bileşikler, bitki büyüme sürecinde serbest, konjuge veya bağlı formlar halinde sentezlenir. Yapısal özelliklerine göre fenolik asitler, hidroksibenzoik ve hidroksisinnamik asitler olarak iki temel gruba ayrılır. Özellikle hidroksisinnamik asitler bitkilerde daha yaygın bulunur. *P*-kumarik, kafeik ve ferulik asitler yaygın serbest hidroksisinnamik asitlere örnek olarak verilebilir. Hidroksibenzoik asitler arasında ise vanilik asit, siringik asit, gallik asit ve *p*-hidroksibenzoik asit öne çıkar (Lang et al., 2024).

Fenolik asitlerin yapısında bulunan aromatik halka üzerindeki hidroksil ve metoksil grupları, bu bileşiklerin biyolojik aktivitesinde belirleyici rol oynar. Fenolik ve flavonoid yapılar, antioksidan özellikleri ile dikkat çeker ve hidrojen atomu vericisi olarak serbest radikalleri etkisiz hale getirebilir. Özellikle naringin, hesperidin, klorojenik asit, verbaskosit, erioditiol, gallik, quersetin, siringik, kafeik asitlerin serbest radikal temizleme etkinliği gösterdiği bilinmektedir (Lang et al., 2024).

2.2 Serbest Radikaller

Serbest radikaller düşük molekül ağırlıklı, son orbitalinde bir veya çoklu eşlenmemiş elektrona sahip olabilen, tutarsız, aynı zamanda da aktif moleküller olarak bilinmektedir. Dış orbitalde var olan eşlenmemiş elektronları sebebi ile başka maddeler ile hızlı ve kolay bir şekilde reaksiyona girebilme durumları vardır (Karabulut ve Gülay, 2016a; Mercan, 2004). Serbest radikaller hücrenin genel metabolizma sürecinde oluşabildiği gibi farklı dış faktörlerde bu radikallerin oluşmasına neden olabilir. Endojen kaynaklar arasında mitokondri, sitokrom P450 metabolizması, peroksizomlar ve iltihaplı hücreler yer almaktayken, ekzojen kaynaklar arasında ise birçok toksin, hava kirliliği, güneş ışını, X-ray ışınları etkisi gibi faktörler yer almakta ve bu faktörler serbest radikalleri oluşturmaktadır (Karabulut ve Gülay, 2016b; Karakan ve Nazlıkul, 2017; Özcan vd., 2015). Serbest radikaller oldukça reaktif moleküller olduğundan birçok farklı molekülle reaksiyona girerek ve çeşitli bileşikler oluşturmaktadır. Oluşan bu bileşikler genel olarak toksik özellikler taşır.

Serbest radikaller proteinlere, nükleik asitlere, DNA'ya ve lipitlere zarar verebilmektedir. Proteinlerin yapısında bulunan peptit bağları, prolin, lizin gibi amino asitler, serbest radikallere karşı aşırı hassas olabilmektedir. Proteinin yapısına göre serbest radikal hasarına karşı hassasiyeti, amino asit birleşimine, proteinin aktivasyonundan veya yapısının düzenlenmesinden görevli olan amino asitin konumuna veya protein hasar gördüyse eğer bu proteinin onarılabilmesine bağlıdır (Trelstad et al., 1981). Serbest radikallerin nükleik asitler ve DNA üzerindeki etkileri özellikle iyonize radyasyona bağlı hücre mutasyonları ve hücre ölümü ile ilişkilendirilir. Bu durum, serbest radikallerin DNA ile reaksiyona girmesi sonucunda ortaya çıkar ve özellikle hidroksil radikali bu süreçte başlıca rol oynar. Nükleik asit baz değişiklikleri ve DNA zincir kırılmaları sitotoksositeye yol açar. Bu durumda ise tamir mekanizmalarında bir sıkıntı ya da yetersizlik oluşursa mutasyon meydana gelebilmektedir (Floyd, 1990; Kanofsky, 1989). Lipit peroksidasyonu ise serbest radikaller tarafından başlatılır. Serbest radikaller membran peroksidasyonuna neden olduğundan hücre zarındaki hasar membran transport sistemlerini bozar ve iyon dengesizliklerine yol açar. Bu durum, hücre içi kalsiyum artışı ve proteaz aktivasyonu ile devam eder. Lipid peroksidasyonu nedeniyle organellerde membran hasarı ve litik enzimlerin salgılanması hasarı artırır (Slater, 1988). Serbest radikaller hem oksijen hem de nitrojen kaynaklı olabilmektedir. Oksijen kaynaklı olanlara reaktif oksijen türleri (ROS) denirken, nitrojen kaynaklı olanlara ise reaktif nitrojen türleri (RNS) denilmektedir. Bu iki grup içinde en önemli olan reaktif oksijen türleri yani oksijen kaynaklı ortaya çıkan serbest radikallerdir (Altın vd., 2018; Karabulut ve Gülay, 2016a). ROS normal oksijen metabolizmasında yan ürün olarak oluşur ve hücre içi dengede önemli bir role sahiptir. Hücrelerde düşük ve sabit seviyelerde bulunması hücrel işleyiş ve denge için önemlidir. ROS bağışıklık sisteminde antijenlerin yok edilmesine yardımcı olur ve fagositoz için önemlidir. Aynı zamanda hücrel haberci olarak veya redoks üzerinden hücrel iletimi sağlayarak faydalı görevleri bulunmaktadır (Hampton et al., 1998). Ancak ROS'ların kontrolsüz artışı beraberinde oksidatif stresi meydana getirir.

Tablo 2.1: Reaktif oksijen türlerinin sınıflandırılması (Bayhan, 2022)

Radikaller	Radikal Olmayanlar	Singlet Oksijen
Süperoksit radikali(O ₂ ⁻) Hidroksil radikali(OH ⁻) Alkoksil radikali(LO ⁻) Peroksil radikali(LOO ⁻)	Hidrojen peroksit(H ₂ O ₂) Lipit hidroperoksit(LOOH) Hipoklorik asit(HCl)	¹ O ₂

2.3 Oksidatif Stres

Belli bir seviyeye kadar fizyolojik fonksiyonları hızlandıran ROS'lar organizma açısından önemli olsa da aşırı artışı tehlikeli bir durumdur (Aslan ve Karahalil, 2019). Metabolizma esnasında oluşan ROS'ların fazla artışı sebebi ile savunma olarak onları azaltıp homeostaziyi sağlamaya çalışan antioksidanların yetersiz oluşu, beraberinde oksidatif dengenin bozulmasını getirmektedir. Bu olaya oksidatif stres denmektedir. Oksidatif stresin artması, hücre içi lipid ve protein yapıların çift bağ içeren gruplarına ve DNA'daki bazların çift bağlarına zarar verebilir ve bir hidrojen atomu koparır. Bunun sonucunda zincirleme oksidasyon reaksiyonları başlar (Özcan vd., 2015). ROS seviyesindeki artış biyomoleküllerde oksidatif hasara neden olarak hastalıkların gelişmesine neden olur (Hybertson et al., 2011).

2.4 Antioksidanlar

Biyolojik sistemlerde serbest radikallerin hatta daha spesifik bir alt grubu olan ROS'un hücrenel yapılara verecek hasarları önlemesi amacıyla bir savunma mekanizması bulunur. Bu savunma sisteminin ismi "antioksidan sistemler" ya da kısaca antioksidanlardır. Antioksidanlar savunma görevini serbest radikallere kolayca elektron hedefi oluşturarak gösterirler. Serbest radikallerin yapıları kararsız olduğundan elektron alma eğilimi göstermektedir. Bu durumda antioksidan son orbitale elektron bağlar ve eşleşmemiş elektron kararlı hale geçer. Antioksidanlar sentetik ve doğal antioksidanlar olarak da ayrılmaktadır. Sentetik antioksidanlar genelde gıda endüstrisinde raf ömrü uzatmak için kullanılmaktadır. Gıdalarda peroksidasyon sürecini uzatmak ve hatta önlemek yalnızca antioksidanlar ile mümkün olmaktadır. Sentetik antioksidan uygulamaları maliyetlidir. Geçmişten bu yana gıda ürünlerinin bozulmalarını önlemek için kullanılan önemli sentetik antioksidan olarak bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), bütillenmiş hidroksianisol (BHA) ve tersiyer-bütillhidrokinon (TBHQ) kullanılmaktadır (Öğüt, 2014). Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar ile içeriğinde fazlasıyla kimyasal barındıran bu antioksidanlar bazı ülkeler tarafından yasaklanmış ve kısıtlama getirilmiştir. Bu durum doğal antioksidanlara karşı bir yönelim meydana getirmektedir (Tozoğlu, 2011; Haigh, 1986).

Doğal antioksidanlar içerisinde kimyasal barındırmaması ve zararsız olması sebebiyle son yıllarda kullanımı daha da artmıştır. Doğal antioksidanlar birçok meyve, sebze ve bitkide bulunmaktadır. Bu besinlerde başlıca antioksidan kaynağı olan fenolik bileşikler vardır. Klinik denemeler ve epidemiyolojik çalışmalar meyve sebze tüketiminin kalp rahatsızlıkları

kanser ve kronik rahatsızlıkların arasında zıt bir ilişki olduğunu ortaya koyarken, bitkiler de doğal antioksidan bileşiklerin başlıca kaynağı olarak görülür ve süper antioksidanlar olarak da adlandırılırlar (Deveci vd., 2016; Davies and Percy, 2000).

2.4.1 Antioksidan testleri

2.4.1.1 DPPH (2.2.-Difenil-1-pikrihidrazil)

DPPH, radikal süpürme reaktifi kullanılarak biyolojik kaynakların antioksidan potansiyelleri değerlendirilmektedir. Bu yöntem hem kolay hem de hızlı sonuç verdiği için yaygın olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda neredeyse tüm maddelerle reaksiyona girebildiği için çok avantajlıdır (Seyhan, 2019). Bu yöntemde antioksidan içeriğe sahip moleküller hidrojen atomlarını, DPPH'da bulunan nitrojen atomuna transfer ederek indirger ve renk değişimlerine neden olur (Bayhan, 2022; Kedare and Singh, 2011). Bir DPPH çözeltisi başlangıçta menekşe rengindedir. Hidrojen atomları indirgendiğinde bu renk kaybolur ve DPPH radikalinin (DPPH-H) indirgenmiş formuyla sonuçlanır (Yapıcı et al., 2021). DPPH antioksidan deneyi UV-vis spektroskopisi ile kolayca kaydedilebilir. 517 nm dalga boyunda absorban vermektir (Gülçin and Alwasel, 2023).

2.4.1.2 ABTS (2.2 azinobis-(3- etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit))

ABTS antioksidan değerlendirmesinde en çok kullanılan metotlardan bir diğeridir. ABTS neredeyse her lipofilik ve hidrofilik antioksidanla hem hızlıca reaksiyona girdiğinden hem de doğru sonuç verdiği için yaygın olarak kullanılmaktadır (Dawidowicz and Olszowy, 2013). Antioksidanların Hidrojen vermesiyle birlikte indirgenir renk değişimi bu esnada gerçekleşir. ABTS antioksidan deneyi UV-vis spektroskopisi ile kolayca kaydedilebilir. 734 nm dalga boyunda absorban vermektir (Alkayarı et al., 2024).

2.4.1.3 FRAP (Demir İndirgeyici Antioksidan Güç Tayini)

FRAP yöntemi, bitki özlerinde yaygın olarak kullanılan metotlardandır. FRAP testi, basit ve tekrarlanabilir olması nedeniyle sıklıkla tercih edilir. FRAP yöntemi, asidik koşullar altında (pH 3.6) yoğun mavi renk oluşturur. $[FeII(TPTZ)]_2^+$ oluşturan ferrik-tripiridiltiazin $[FeIII(TPTZ)]_3^+$ 'nin indirgenmesine dayanır İndirgeme sonucunda koyu mavi bir renk oluşturur (Sadeer et al., 2020). Oluşan rengin yoğunluğu, örneğin antioksidan kapasitesi ile doğru orantılıdır spektrofotometre ile genellikle 593 nm dalga boyunda ölçülür (Mahajan et al., 2024).

2.5 Alzheimer ve Kolinerjik Sistem

Alzheimer hastalığı, hastalarda hafızada kayıp, düşünme ve konuşma zayıflıkları, günlük yaşam aktivitelerini yapmada günden güne zorluk çekme hatta yapamama gibi git gide kötüleşen birçok semptomunun görüldüğü bir hastalıktır (Keleş ve Özalevli, 2018). Hastalığın esasında, sinir hücreleri olan nöronların kaybı ve buna bağlı olarak kolinerjik sistemdeki azalma bulunmaktadır. Nöronlar bölünebilen hücreler değildir bu sebepten hastalık sebebi ile oluşan problemler azaltılamaz yalnızca hastalığın seyri yavaşlatılabilir. Bu da kolinerjik etkiyi arttırarak ve kaliteli yaşam standartlarını sağlayarak mümkün olabilmektedir (Berman et al., 1980). Günümüz şartlarında Alzheimer'a neden olan sebepler tam olarak bilinmemektedir ancak bazı hipotezlerle hastalığın etkenleri açıklanmaya çalışılmıştır. Bunlar kolinerjik hipotez, amiloid hipotezi, tau hipotezi ve oksidatif stres hipotezidir. Alzheimer hastalığını nedenini açıklayan ve günümüzde de kabul edilen tek hipotez, kolinerjik hipotezdir. Kolinerjik aktivitenin azalmasıyla beraber hastalarda bilişsel, fonksiyonel ve davranışsal düzensizlikler görülebilmektedir. Bu durum kolinerjik hipotez olarak adlandırılır. Bu hipoteze göre sinir sisteminde kolinerjik aktiviteyi ve öğrenmeyi arttıran çok önemli bir nörotransmitter olan (ACh) miktarındaki azalma Alzheimer'e neden olmaktadır (Demir ve Türkan, 2022). Kolinesteraz enzimleri olan AChE ve BChE enzimlerinin inhibisyonu, ACh miktarını arttırmakta bu da kolinerjik aktiviteyi arttırmaktadır. Hastalığın seyrini yavaşlatmak için Beyindeki sinapslarda azalan ACh nörotransmitter miktarı artırılmaya çalışılmaktadır. Günümüzde AChE inhibitörleri olarak kullanılan bazı donepezil, rivastigmin ve galantamin gibi bileşikler vardır. Bu inhibitörler günümüzde kullanılan tek Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) onaylı ilaçlardır (Contestabile, 2011).

2.5.1 AChE enzimi

ACh' in hidrolizi kolinerjik sinir iletiminin düzenlenmesinde çok önemlidir ve kolinesteraz (ChE) enzimlerinin etkisiyle hidroliz edilir. Vücutta yaygın olarak bulunan ve konumlarına bağlı olarak çeşitli işlevlere sahip AChE ile BChE adında iki tip ChE vardır (Greig et al., 2002). AChE, 537 amino asit uzunluğunda saniyede 250.000 kadar asetilkolin molekülünü hidrolize eden bir peptid monomeridir (Tripathi and Srivastava, 2010). AChE, Beyindeki ChE aktivitesinin %80' inden sorumludur. Beyin, sinir ve kırmızı kan hücrelerinde yoğun şekilde bulunan spesifik bir esterazdır. Fonksiyonunu, beyinde ve otonom sinir sistemindeki kolinerjik sinapslarda yer alan asetilkolinin hidrolizini katalizleyerek gösterir (Das, 2012). Beyindeki asetilkolinin sinapstaki varlığı AChE enzimine bağlıdır. ACh nöronlarda bulunan

veziküllerde depolanır. Buradan nörona sinir iletişi geldiğinde sinaptik aralığa salınır. Sinaptik aralıkta birçoğu postsinaptikteki reseptörlere bağlanır. Bağlanamayanları ise AChE hidroliz eder. Postsinaptikte sinir iletimini yapan bağlı ACh' ler ayrılır ve AChE tarafından hidroliz edilirler. ACh' in yıkımıyla kolin açığa çıkar bu kolin tekrar kullanılmak üzere yine presinaptik nörona gider (Wilkinson et al., 2004).

En çok bilinen nörotransmitter olan ACh, mitokondrilerde hücre solunumun bir ürünü olan asetil koenzim A (asetil CoA)' dan ve lipit metabolizmasında önemli bir rol oynayan kolden türetilmektedir (Koçancı and Aslım, 2016). Merkezi sinir sisteminde öğrenme ve hafıza süreçlerinde önemli rol oynayan ACh nörotransmitteri, kolin asetiltransferaz (ChAT) enzimi yardımıyla presinaptik nöronlarda kolin ve asetil CoA'nın birleşmesi sonucu sentezlenir. Presinaptik nöronlardan salgılanan ACh, postsinaptik nöronların dentritlerindeki muskarinik ve nikotinik kolinerjik reseptörlere bağlanarak sinirsel iletimi sağlar. ACh, işlevini tamamladıktan sonra sinaptik boşlukta, AChE ve BChE enzimleri tarafından kolin ve asetata parçalanır (Scarpini et al., 2003).

2.5.2 BChE enzimi

BChE; Kolin esterlerinin yanı sıra çeşitli esterleri de hidroliz edebilen, kan serumu, pankreas, karaciğer ve merkezi sinir sisteminde yer alan spesifik olmayan bir kolin esterazdır. Yaklaşık 342.000 Da moleküler ağırlığa sahip tetramerik bir glikoprotein yapısındadır. AChE ile BChE yapıları birbirine oldukça benzerdir. Fakat bazı noktalarda farklılıkları vardır bu farklılardan bazıları substrat özgünlüğü, dokulardaki dağılımı ve inhibitörlere duyarlılıkları gibi sıralanmaktadır (Miller et al., 2006).

BChE enziminin en hızlı parçaladığı kolin esteri butirilkolindir. Bundan dolayı bu enzime bütirilkolinesteraz ismi verilmiştir. BChE merkezi sinir sisteminin sinapslarında pek bulunmadığı için bu sinapslardaki ACh parçalanmasına çok fazla bir etkisi yoktur. BChE bazı durumlarda AChE' nin yedeği olarak iş görür. BChE' ın beyindeki rolü belirsizliğini hala korumaktadır (Imramovsky et al., 2013; Işık vd., 2022).

2.5.3 Kolinesteraz inhibitörleri

FDA, Alzheimer tedavisinde kullanılan üç farklı kolinesteraz inhibitörü olan rivastigmin, galantamin ve donepezili onaylamıştır. Bu inhibitörlerin bilişsel fonksiyonları iyileştirdiği değerlendirilmektedir ve çok tartışılan ve çalışılan bir konu olarak önem arz etmektedir. Bu

ilaçları kullanan Alzheimer hastalarının %50'sinde semptomların geciktirildiği raporlanmıştır. Bu ilaçlar Alzheimer hastalığının çeşitli dönemlerinde kullanılmaktadır. Bu ilaçların temel amacı peliferik bölgeye yarışmalı ve geri dönüşümlü şekilde bağlanarak asetilkolini sinapsa yedekleyip, kolinerjik iletimin iyileşmesine fayda sağlamaktır (Herrmann et al., 2011; Işık vd., 2022). Ancak bu ilaçlar kesin çözüm değildir. Yalnızca semptomları geciktirmek ve hastalığın seyrini yavaşlatmak için kullanılmaktadır.

2.5.3.1 Bitkisel kolinesteraz inhibitörleri

Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılan mevcut ilaçlar, semptomların iyileştirilmesi veya hastalığın ilerlemesinin yavaşlatılmasında yeterli başarıyı sağlayamamaktadır. Ayrıca, bu ilaçların pek çok yan etkisi bulunmakta olup, bu durum hastaları alternatif tedavi yöntemlerine, özellikle bitkisel kaynaklara yönlendirmektedir. Günümüzde tıbbi bitkiler, içeriklerinde bulunan sekonder metabolitler gibi önemli bileşenler sayesinde birçok hastalığın tedavisinde potansiyel bir kaynak olarak değerlendirilmektedir. Bu nedenle, tıbbi bitkiler üzerine artan bir ilgi söz konusudur. Bitkisel ürünler, Alzheimer tedavisinde genellikle AChE ve BChE enzimlerinin inhibisyonu yoluyla ya da oksidatif stresi azaltarak etki göstermeye çalışmaktadır. Bu sayede, bitkisel kaynaklar hem bazı hastalıkların tedavisinde kullanılmakta hem de Alzheimer hastalığının tedavi sürecine katkıda bulunarak hastalığın semptomlarını hafifletebilmekte ve hastaların yaşam kalitesini artırma potansiyeli taşımaktadır. Bitkilerden elde edilen inhibitörler çok önemlidir. Örneğin; Galantamin, nergis, zambak ve ilgili bitkilerin çiçek ve soğanlarının bir ekstrakt olup Alzheimer tedavisinde kullanılan kolinesteraz inhibitörlerinden FDA tarafından son olarak kabul edilen inhibitör olarak dikkat çekmektedir. Galantamin gibi bitkilerden üretilebilecek birçok inhibitörün de olabileceği düşünülmektedir (Kurban ve Şentürk, 2024).

2.6 Diyabet

Diyabet, bir diğer adıyla Diabetes Mellitus (DM) tüm yaş gruplarında ve her popülasyonda görülen çok yaygın kronik bir metabolizma hastalığıdır (Mandrup Poulsen, 1998). DM hastaları insülin seviyesine bağlı olarak oluşacak akut komplikasyonları en aza indirmek amacıyla sürekli olarak tıbbi kontrol altında olmalıdır (Coşansu, 2015).

DM kendi içerisinde 4 gruba ayrılmaktadır. Bunlar tip 1, tip 2, gestasyonel diyabet (GDM) ve diğer spesifik tipler şeklinde sınıflandırılır. Tip 1 diyabette, pankreas β -hücreleri zarar görür ve %80-90 azalması ile insülin sekresyon kapasitesi yetersiz hale geçer bu durum

insülin eksikliğini beraberinde getirir. Hastalar genelde 20 yaş altı gençleri ve çocukları kapsamaktadır ve insülin ile tedavi edilmektedir. Tedavi edilmedikleri takdirde koma ya da ölüm ile sonuçlanmaktadır. Tip 2 diyabet insülin direnci ve insülin sekresyon bozukluğudur. Tip 1 e göre çok daha yaygın ve sık karşılaşılan bir diyabet grubudur. Tüm diyabetlilerin yaklaşık %90-95'ini tip 2 diyabetliler oluşturur. Genelde 30 yaş üstü kişilerde görülse de tüm yaş gruplarında da görülebilir. Gestasyonel diyabet gebelik sırasında ortaya çıkan diyabete denilmektedir. Gebelerde %2-5 oranında görülmektedir. Bu dönemde insülin karşıtı hormonlar artmakta ve insülin direnci oluşmaktadır (Arıtuluk ve Ezer, 2012). Diğer spesifik tipler pankreası etkileyen birçok nedenle ortaya çıkan kan şekeri yüksekliğini tanımlamaktadır. β hücre fonksiyonunun genetik mutasyonları, insüline bağlı genetik bozulmalar, birtakım ilaçların ya da kimyasal maddelerin kullanımı gibi bazı nedenlerle ortaya çıkmaktadır (Tanrıverdi et al., 2013).

2.6.1 Kan glikoz düzeylerinin düzenlenmesi

Kan glikoz seviyesindeki düzenlemeler pankreastan salgılanan insülin ve glukagon hormonlarının arasındaki ilişkiye bağlıdır. İnsülin pankreastaki β hücrelerinden salgılanır böylece kas yağ ve karaciğer hücrelerine glikoz alımını artırır. Kan şekeri buna bağlı olarak düşmeye başlar. Bu durumun üzerine, glukagon pankreasın alfa hücrelerinden salgılanarak karaciğerden glikoz salınımını teşvik eder ve kan şekeri yükselir (Bilaloğlu vd., 2024). Sağlıklı bir kişide kan glikoz düzeyi 70-100 mg/ dL'dir. Yemekten hemen sonraki ilk 1-2 saat içinde kan glikoz düzeyi 160-170 mg/dL'yi çok geçmeden belirli bir seviyeye kadar artarak 2 saat içinde normal sınırlara düşer (Savaş ve Gültekin, 2017). Kana glukoz veren olaylarla kandan glukoz alan olaylar arasındaki denge ile kan glukoz düzeyi ile sağlanır. Bu olaylar karbonhidrat mekanizmasını oluşturmaktadır. Karbonhidrat mekanizmasının temelinde glukoz bulunur. Karbonhidrat mekanizması yani kan glukoz düzeyi insülin gibi hormonlar tarafından düzenlenir ancak bu iki hormonun dengeyi sağlayamaması durumunda kişilerde sorunlar çıkmaktadır (Altınışik, 2010). Karbohidratların sindirim ve emilimlerini azaltıcı etkisi olan birçok inhibitör diyabet tedavisine kullanılmaktadır. Karbonhidrat metabolizmasının α -amilaz ve α -glukosidaz gibi temel enzimleri bulunmaktadır. Bu enzimlerin faaliyeti neticesinde kan glukoz seviyesi yükseltilmektedir. Karbonhidrat yıkımında görevli olan α -amilaz ve α -glukosidaz enzimleriyle yapılan inhibisyon deneyleri antidiyabetik aktivite tayininde kullanılmaktadır. Enzim inhibisyonu deneylerinde hastalığın seyrinde görevli enzimler inhibe edilmeye çalışılır. Böylece hastalık kaynaklı etkiler azaltılabilir.

2.6.2 α -Amilaz enzimi

Gıdalar ile vücuda alınan nişastanın vücutta emilerek monosakkaritlere hidrolizlenmesi α -amilaz ve α -glikosidaz gibi enzimler ile gerçekleşir. Kanda yemek sonrası oluşan glukoz artışının ana sebebi bu enzimlerdir. α -amilaz enzimlerinin inhibitörleri karbonhidratın parçalanmasını geciktirerek DM' li hastalarda yemek sonrası oluşan yüksek kan glukoz seviyesinin azaltılmasını sağlamaktadır (Kwon et al., 2007). Polisakkaritleri oluşturan α -1,4 veya α -1,4 ile α -1,6 bağlarını parçalayan, ticari öneme sahip, mikrobiyal olarak ya da başka kaynaklardan elde edilebilen amilazlar (α -1,4-glukan-4-glukanohidrolaz) tokluk kan şekerinin düşürülmesi için terapötik yaklaşımlardan birisidir (Mccue et al., 2005). Sindirim organlarındaki α -amilaz karbohidrat hidroliz enzimlerinin inhibisyonu ile glukoz emilimini geciktirdiğinden, yeni farmakoloji çalışmaları, α -amilaz gibi glikozid hidrolaz enzimlerinin inhibisyonu üzerinedir.

2.6.3 α -Glukozidaz enzimi

α -glukosidaz enzimleri özellikle amilopektin ve amiloz üzerinde etkili olan diğer enzimler sayesinde oluşmuş kısa zincirli oligosakkaritler üzerindeki α -1,4 bağlanmalarını hidroliz eden enzimlerdir (Özdemir, 2021). Glukozidaz oligosakkaritler ve disakkaritleri glukoz birimlerine hidrolizlemektedir. Bu enzimin inhibitörleri, karbohidratların tamamen sindirilme sürelerini uzatarak, sindirimini geciktirmektedirler. Bunun nedeni α -glukozidaz, karbohidratların sindiriminin son basamağında görev almasıdır. α -glukozidaz inhibitörleri, karbohidratların hidrolizini ve emilimini yavaşlatarak tokluk kan şekeri yüksekliğini baskılayabilmektedirler. Tüm bu özellikleri nedeniyle Tip II diyabetin düzenlenmesinde oldukça önemlidir (Özdemir, 2021).

2.6.4 Glikozid hidrolaz inhibitörleri

α -amilaz ve α -glukozidaz inhibitörleri üzerine çalışmalar, özellikle nişasta sindiriminin kontrolü ve diyabet yönetimi gibi sağlık alanlarında önemli sonuçlar ortaya koymaktadır. Vücuda gıdalar ile alınan karbohidratların emilerek monosakkaritlere parçalanması α -amilaz ve α -glikosidaz enzimleri sayesinde olmaktadır. Bu iki enzimin sindirim sistemindeki inhibisyonu, karbohidratların sindirilmesini engeller ve böylece vücutta glikoz emilimini geciktirir. Yemek sonrası kan plazmasında glikoz seviyesini kontrolünü sağlar. Özellikle Tip-2 Diyabet'in tedavisinde kabul gören yaklaşım, α -glukosidaz enziminin karbohidrat emilimini inhibe ederek hiperglisemiye azaltmasıdır (Dinççağ, 2011). Türkiye'de Tip2 DM tedavisinde kullanılan α -glukosidaz inhibitörü ilacı akarbozdur. Akarboz, yemekten sonra

glikoz seviyesini düşürerek kan glikoz seviyesini dengede tutmaya hedefler (Dinççağ, 2011). Akarboz, *Aktinomyces* bakterisinin kültür edilmesiyle elde edilen güçlü, rekabetçi bir glikozidaz inhibitörüdür (Gümüş, 2014). Akarboza ek olarak miglitol ve vogliboz da kullanılan diğer ilaçlar olup ticari olarak temin edilebilir. Akarboz, α -amilaz ve diğer α -glukozidazlar üzerinde etki ederken, vogliboz ve miglitol ince bağırsak villus α -glukozidazlarına karşı etkilidir ancak nişasta parçalayan α -amilaza karşı etkisizdir. Akarboz, miglitol ve vogliboz çeşitli ulusal ajanslar tarafından kullanım için onaylanmıştır. Monoterapi olarak veya diğer oral hipoglisemik ajanlarla (sülfonilüreler, metformin) ya da insülinle kullanılabilirler (Kalinovskii et al., 2023). Diyabet hastalığını tedavi etmek amacıyla kullanılan bu enzim inhibitörleri gaz, şişkinlik, mide ağrısı, ishal gibi yan etkileri nedeniyle kullanımı zor bir hale gelmiştir sentetik olan ilaçlar ile doğal ürünler kıyaslandığında anti-diyabetik etkiye sahip şifalı bitkilerin önemli bir rolü vardır (Kalinovskii et al., 2023; Mohd Bukhari et al., 2017).

2.6.5 Glikozid hidrolaz aktivatörleri

Bitkisel kaynaklar üzerinde yapılan çalışmalarda α -amilaz ve α -glukozidaz aktivatörleri yerine daha çok bu enzimlerin inhibitör özelliklerini araştırmaya odaklanmıştır. α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerinin aktivatör etkisi, kan şekeri seviyelerini artırma potansiyeline sahip olmaları anlamına gelmektedir. Bu tür çalışmalarda, belirli bileşiklerin bu enzimlerin aktivitelerini artırarak karbonhidratların daha hızlı parçalanmasına ve glukozun daha hızlı salınmasına neden olabileceği söylenebilir. α -amilaz ve α -glukozidaz aktivasyonunun potansiyel hipoglisemi tedavisi açısından faydaları konusunda daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Bu alanda yapılacak daha fazla çalışma, doğal bileşiklerin hipoglisemi durumunda kan şekeri seviyelerini dengelemek için nasıl kullanılabileceğini anlamak için önemlidir (Riyaphan et al., 2018).

2.6.6 Bitkisel glikozid hidrolaz inhibitörleri

Diyabet hastalığını tedavi etmek amacıyla kullanılan sentetik enzim inhibitörlerinin birçok yan etkileri vardır. Bundan dolayı doğal bitkisel enzim inhibitörleri sentetik yan etkileri çok olan ilaçlara göre daha tercih edilmektedir. Doğal ürünlerde bulunan biyoaktif sekonder bileşikler ve bu bileşiklerin aktiviteleri incelenmiş ve birçok ilacın geliştirilmesinde önemli görev almışlardır. Anti-diyabetik tıbbın keşfedilmesi ve geliştirilmesi için doğal bitkisel ilaçlı kaynaklara yoğunlaşmış bu bitkisel kaynaklı ilaçların hipoglisemik etki gösteren birçok bitki ve biyoaktif bileşikler araştırılmıştır (Li et al., 2009). Literatürde hipoglisemik

aktiviteye sahip birçok bitki türü bilinmektedir. Bu bitkilerin çoğu özellikle anti-diyabetik etkiye sahip olduğu düşünülen glikozitler, alkaloidler, terpenoidler, flavonoidler, karotenoidler, peptidoglikanlar, hipoglikanlar, aminoasitler ve guanidin gibi biyoaktif bileşikler içermektedir (Erdem, 2022).

2.7 Antibakteriyel Aktivite

Mikroorganizmaların artmasını engelleyen hatta öldüren hem doğal hem de sentetik yollarla üretilen maddelere antibakteriyel madde denilmektedir (Gül, 2019). Özellikle enfeksiyon hastalıklarının tedavi edilmesinde antibakteriyel maddeler oldukça önemli bir konumdadır (Sevgi, 2010). Bakteriyel enfeksiyonlar, insanlar için önemli ve çoğu zaman tehlikeli enfeksiyonlar olduğundan, çeşitli kaynaklardan antibakteriyel ajanlar geliştirmek için araştırmalar hızla devam etmektedir (Zorofchian Moghadamtousi et al., 2014).

Bitkilerin antibakteriyel madde olduğu ve insan sağlığı için ne kadar önemli olduğu ise 1900'lü yıllarda çalışılmaya başlanmıştır (Gül, 2019). Bitkilerin içerisinde bulunan sekonder metabolitler sayesinde antibakteriyel özellik gösterdiği bilinmektedir. Artan antibiyotik direnci ve antimikrobiyal bileşiklerin az olması dolayısıyla bilim insanları bitkileri potansiyel antibakteriyel madde olarak görmektedir (Baydar, 2005). Yapay koruyucuların sağlık üzerine olan yan etkilerinden dolayı günümüzde tüketicilerin de doğal antibakteriyel maddelere ilgisi artmış olduğundan özellikle son yıllarda bitkisel maddelerin koruyucu etkileri üzerine araştırmalar yoğunlaşmıştır (Akgül, 1993). Bu yüzden bitkilerdeki antibakteriyel aktivite tayinleri çok önemli bir noktadadır (Chassagne et al., 2021).

2.8 Lamiaceae Familyası

Lamiaceae familyası, 240 cinsle dağılmış yaklaşık 7.200 tür ile temsil edilir. Genellikle tıbbi ve aromatik bitkiler içerir. Lamiaceae, Türkiye'de ise 45 cins ve 574 türle en yaygın familyalardandır ve Lamiaceae familyasında, Türkiye'de 40 civarında endemik tür bulunmaktadır. Bu türler genellikle Anadolu'nun farklı coğrafi bölgelerinde yer almaktadır (Kuşaksız, 2019). Türkiye'de endemik tür sayısı en yüksek olan familyadır (Kılıç and Mungan Kılıç, 2021; Maral et al., 2017). Familya üyeleri çoğunlukla ot, nadiren ağaç ve çalı formundadırlar. En belirgin özellikleri; vertisillat (halkasal) dizilimde olan ve uçucu yağ içeren yapraklara sahip olmalarıdır (İpek, 2018). Kozmopolit bir dağılıma sahip olan Lamiaceae familyası çiçekli bitkilerdendir. En büyük cinslerinden bazıları; *Salvia* (900), *Scutellaria* (360), *Stachys* (300), *Plectranthus* (300), *Hyptis* (280), *Thymus* (220) ve

Nepeta'dır (200). Bu bitkilerden pek çoğu baharat ve sebze olarak kullanılır (Çatak ve Atalay, 2022). Yaprakları, çiçekleri ve uçucu yağlarındaki yüksek düzeyde aromatik bileşikler nedeniyle iyi tanınırlar. Mevcut literatür verileri, Lamiaceae'nin bir antioksidan, antimikrobiyal ve antienflamatuar ajan olarak hareket edebileceğini göstermektedir (Patrignani et al., 2021).

2.8.1 *Cyclotrichium* cinsi hakkında genel bilgi

Lamiaceae familyasına ait olan *Cyclotrichium* cinsi çok yıllık alt çalılardır ve altısı Türkiye'de olmak üzere (ikisi endemik) dünyada dokuz türle temsil edilmektedir. Bu cinse ait 9 tür Türkiye, Lübnan, Irak ve İran'da bulunmaktadır. Cinsin Türkiye'deki endemizm oranı %33,3'tür (Kaya et al., 2015). *Cyclotrichium*'un birçok türü yetiştikleri yörelerde halk tarafından "dağ nanesi", "kız otu", "köpek nanesi", "karabaş otu" ve "nane ruhu" adları ile bilinmekte ve yemeklerde ve ya şifalı ot olarak kullanılmaktadır (Kaya et al., 2015; Aslan et al., 2007).

Türkiye'deki *Cyclotrichium* cinsi genellikle kayalık, taşlı kireçtaşı yamaçlarda yetişirler. *Cyclotrichium* cinsi, yüksek uçucu yağ içeriği nedeniyle ekonomik ve tıbbi öneme sahiptir (Satıl et al., 2011). Yapılan literatür çalışmasında *Cyclotrichium* cinsi ile ilgili sınırlı çalışma olduğu görülmüştür. Bu çalışmalardan bazıları *Cyclotrichium* cinsinde antianjiyogenik etkiyi, antioksidan aktivitesini ve sitotoksik etkilerini incelemiş ve rapor etmiştir (Aktepe et al., 2024; Emen et al., 2009; Güzel et al., 2017; Orhan et al., 2009).

2.8.2 *Cyclotrichium longiflorum*

Doğu Anadolu'da yetişen *Cyclotrichium longiflorum* bitkisi çok yıllık bir bitkidir. Yapraklarının şekli neredeyse ovaldır ve üzerlerinde kısa salgı tüyleri bulunur. *C. longiflorum*'un uçucu yağının ana bileşenleri izopinokamfon (%67.66), β -pinen (%9.67), limonen (%4.30) ve spatulenol (%2.81)'dir (Aslan et al., 2007).

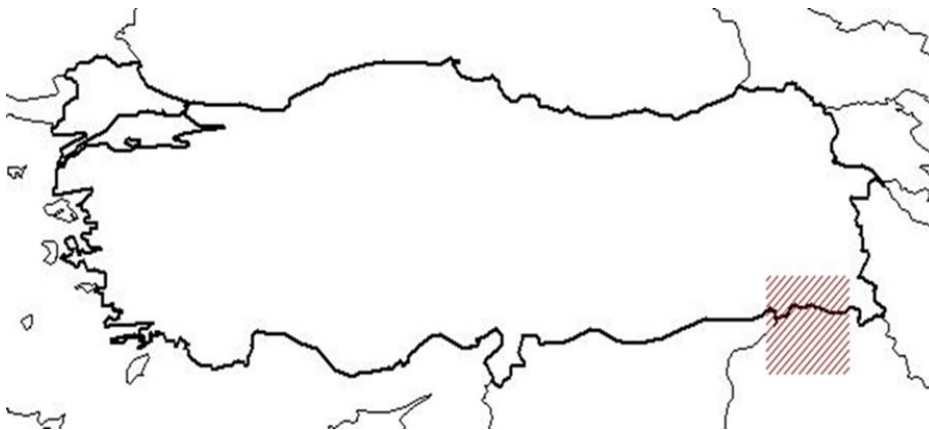
C. longiflorum türü halk arasında beslenme amaçlı çorbalara, salatalara ve yiyeceklere aroma verici olarak kullanılmakta aynı zamanda bitki çayı şeklinde şifalı ot olarak da tüketilmektedir (Aslan et al., 2007).

Tablo 2.2: *C. longiflorum* esansiyel yağının bileşimi, % (Aslan et al., 2007)

Compound	RI ^a	Area, % ^b	Compound	RI ^a	Area, % ^b
α -Pinene	1007	1.89	Isopinocampone	1539	67.66
β -Pinene	1101	9.67	4-Terpineol	1586	0.98
Sabinene	1112	2.19	Myrtenal	1613	0.31
β -Myrcene	1152	0.98	α -Terpineol	1684	0.36
Limonene	1186	4.30	Germacrene D	1691	0.91
1,8-Cineol	1195	0.39	Bicyclogermacrene	1716	1.36
<i>p</i> -Cymene	1256	0.52	Myrtenol	1804	2.44
Pinocampone	1499	1.29	Spathulenol	2115	2.81



Şekil 2.2: *C. longiflorum* (Fotoğraf: Doç. Dr. Mikail AÇAR, 2024)



Şekil 2.3: *C. longiflorum*' un Türkiye'deki dağılım haritası (TÜBİVES, 2024)

2.9 Antikolinerjik, Antidiyabetik, Antioksidan Aktiviteleri ve Fenolik İçeriği Üzerine Yapılan Bazı Çalışmalar

Literatüre bakıldığında *C. longiflorum* ile ilgili çok az çalışma olduğu görülmüştür. Bu tür ile ilgili antikolinerjik, antidiyabetik, antioksidan aktiviteleri ve fenolik içeriğinin değerlendirilmesi ile ilgili yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır ancak *Cyclotrichium* türleri ile yapılmış bazı çalışmalar mevcuttur. Örneğin Göze et al. (2010), *Cyclotrichium niveum* bitkisinden elde edilen uçucu yağın civciv embriyolarının damarlanma sistemleri üzerindeki antianjiyogenik etkisini ve antioksidan aktivitesini araştırmış; *C. niveum*'dan elde edilen uçucu yağların antianjiyogenik etkiye sahip olduğu kanısına varmışlardır. Emen et al. (2009), *C. niveum* bitkisini antioksidan potansiyeli ve DNA hasarını koruma aktivitesi açısından incelemiş ve metanol özütünün $FeCl_2-H_2O_2$ sistemi tarafından indüklenen sıçan beyin homojenatının lipid peroksidasyonuna karşı güçlü inhibitör aktivitesinin olduğunu tespit etmişlerdir. Dirmenci et al. (2010), *Cyclotrichium* cinsini, filogenetik, sitogenetik ve morfolojik açıdan analiz etmişler ve *Cylotrichium nepetoideaede* farklı morfolojik, filogenetik ve sitogenetik özelliklere sahip ayrı bir cins olduğunu önermişlerdir. Nilofar et al. (2024), *Pentapleura subulifera* ve *Cyclotrichium glabrescens* bitkilerinin kimyasal bileşimleri, antioksidan kapasiteleri ve enzim inhibe edici etkileri açısından araştırmış *P. subulifera* ve *C. glabrescens*'ten elde edilen özütlerin kimyasal bileşimi LC-MS/MS, GC-MS analizlerini yapmıştır. Özütlerin antioksidan potansiyellerini ve altı enzime karşı inhibitör aktivitesine bakmıştır. Sonuçta *P. subulifera* ve *C. glabrescens* özütlerinin dikkate değer antioksidan ve enzim inhibitör aktivitesini ortaya koymuştur. Güzel (2023b), *C. niveum* bitkisinin fitokimyasal bileşimi, AChE inhibisyon aktivitesini ve antioksidan aktivitesini incelemiş ve fitokimyasal içeriğini LC-MS/MS ile belirlemiştir. *C. niveum*'un hem su hem de metanol özütleri AChE üzerinde önemli bir inhibisyon gösterdiğini, LC/MS/MS analizlerine göre ise, bitki özütü içerisinde hidroksibenzoik asit, salisilik asit, siringik asit, asetohidroksamik asit ve luteolin olduğunu saptamıştır. Gülçin et al. (2022), *Cyclotrichium leucotrichum* bitkisinin antioksidan ve antidiyabetik özelliklerini araştırmıştır. BChE, AChE, α -glukozidaz ve α -amilaz enzimleri ile inhibisyon deneyleri gerçekleştirmiş ve fenolik içerikleri LC/MS/MS yöntemi ile belirlemiştir. *C. leucotrichum* bitkisinin güçlü bir antioksidan olduğunu çalışılan enzimler üzerinde etkili inhibisyon gösterdiğini raporlamıştır. Aktepe et al. (2023), *C. origanifolium* özütlerinin fenolik içerik analizi, antimikrobiyal etkileri ve sitotoksik etkileri araştırılmıştır. Ayrıca, özütlerin AChE enzim aktivitelerini de ölçmüştür. Antibakteriyel etkiye sahip olduğu bazı hücre hatlarına sitotoksik etki gösterdiği ve AChE aktivitesinin konsantrasyona bağlı bir şekilde azaldığını

bulmuşlardır. Gülçin et al. (2008), *C. niveum* bitkisinin olası antioksidan, antimikrobiyal ve radikal temizleme kapasitesini incelemiştir. Ethanol ve su özütündeki toplam fenolik bileşikler ve toplam flavonoid içerikleri belirlemiştir. Özer (2019), *C. origanifolium* ve *Thymus sipyleus* çaylarının fenolik bileşikleri, antioksidan ve antikolinesteraz aktiviteleri araştırmış ve fenolik içeriklerin kantitatif miktarları LC-MS/MS ile belirlemiştir. Flavonoidler ve türevlerinin *C. origanifolium* ve *T. sipyleus* çaylarının en bol bulunan bileşenleri olduğunu ve antioksidan ve antikolinesteraz aktiviteleri gösterdiğini raporlamıştır. Orhan et al. (2009), farklı çözücülerde *C. niveum* ve *Thymus praecox*, *Echinacea purpurea* ve *E. pallida*'nın sulu özütleri *C. niveum* ve *T. praecox* ile uçucu yağları AChE ve antioksidan aktivitelerini açısından değerlendirmiştir. *C. niveum* özütleri en yüksek AChE inhibisyonunu gösterdiğini ve *T. praecox* özütlerinin ise önemli DPPH süpürücü etki gösterdiğini kayıt altına almışlardır. Güzel (2023a), *Stachys lavandulifolia* bitkisinin fitokimyasal kompozisyonu, AChE inhibisyon ve antioksidan aktivitesini araştırmış ve sekonder metabolit içeriğini LC-MS/MS yöntemi ile belirlemiştir. *S. lavandulifolia*'nın metanol ekstraktında AChE üzerinde ciddi oranda inhibisyon sergilemiş IC₅₀ değerini ise 0.105±0.17 mg/mL olarak hesaplanmıştır. ABTS'de metanol ekstresi %23,42 ile en yüksek değer olarak bulunmuştur. DPPH aktivitesi için metanol ekstraktı %50.07 olarak bulunmuştur. FRAP deneyinde ise su ekstraktı için sonuçlar, 0.233±0.47 olarak hesaplanmıştır. Bitkinin metanol ekstraktında LC-MS/MS analizlerinde luteolin, fumarik asit, kafeik asit, siringik asit, hidroksibenzoik asit, kuersetin, salisilik asit, gallik asit, kateşin hidrat ve asetohidroksamik asit bulunmuştur. Kıvrak et al. (2009), *Salvia potentillifolia*'nın uçucu yağını GC ve GC-MS ile analiz suda ve buharda damıtılmış yağlarda toplam 123 bileşen tespit etmişlerdir. Başlıca bileşikler α - ve β -pinenler olarak rapor etmiştir. Antioksidan aktiviteleri tamamlayıcı testler ile yapmış ve ayrıyeten ise uçucu yağda anlamlı AChE ve BChE inhibisyon aktivite gösterdiğini belirtmiştir. Ndhlala et al. (2024), *Lavandula stoechas* ve *T. sipyleus* bitkisinden elde edilen etanolik özütlerin fenolik bileşimlerinin ve biyoaktivitelerinin karşılaştırmalı analizine bakmıştır. Bitki özütlerindeki fitokimyasalların varlığı LC-MS/MS ile belirlenmişler ve analiz sonucunda, vanilik asidin *L. Stoechas*'taki en bol bulunan fitokimyasal olduğunu ortaya koymuştur. Antioksidan aktivite sonuçlarında *T. sipyleus*'ta *L. stoechas* etanol özütlerine göre daha yüksek antioksidan aktivite görmüştür. Elbouzidi et al. (2024), *Lavandula dentata*, *Rosmarinus officinalis* ve *Myrtus communis*'ten elde edilen ekstraktların hem ayrı ayrı hem de kombinasyon halinde, antioksidan özelliklerini araştırmıştır. Ayrıca GC-MS analizi yapılmıştır bu analiz sonucunda 1,8-sineolün ve pinokarveolün *L. Dentata*'nın birincil

bileşenleri olduğunu ortaya koymuş; *R. Officinalis*'te ise verbenon, kafur ve kamfen bileşenlerini, *M. communis*'in ana bileşeninin ise sineol olduğunu raporlamıştır. Nikolic et al. (2014), *Mentha piperita*, *Mentha pulegium*, *Lavandula angustifolia*, *Satureja montana* ve *Salvia lavandulifolia*'dan elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimleri, antimikrobiyal ve sitotoksik özellikleri açısından biyolojik aktivitesini değerlendirmiş ve kafurun başlıca yağ bileşenleri olduğunu ortaya koymuştur. Tüm uçucu yağların test edilen tüm mikroorganizmalara karşı önemli bir antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirlemiştir. Antil et al. (2020), altı farklı çözücü ile hazırladığı *Leucas aspera* bitki özütlerinin, biyoaktivitelerini çalışmış ve fitokimyasal içeriğini ise GC-MS ile belirlemiştir. *L. aspera* bitkisinin metanol ile hazırlanan özütünün diğer beş farklı çözücüye oranla, antibakteriyel, antioksidan, fitokimyasal aktivite olarak en yüksek aktiviteyi gösterdiğini kayıt altına almıştır. Uysal vd. (2021), *Salvia ceratophylla* 'nin farklı çözücüler ile hazırlanmış ekstraktlarında biyoaktivitelerine bakmıştır. Toplam fenol ve flavonoid içeriğini test etmiş ayrıca enzim inhibisyon deneylerini AChE, BChE, α -amilaz ve α -glukozidaz kullanarak araştırmıştır. Fitokimyasal analiz sonucunda luteolin, gallik asit, rosmarinik asit gibi önemli polifenolik bileşiklerin varlığını saptamıştır. Mokhtar et al. (2023), *Salvia balansae* özütlerinin fitokimyasal bileşimini, antioksidan, antimikrobiyal ve enzim inhibitör aktivitelerini çalışmıştır. Fenol içeriğini GC-MS ile belirlemiş, enzim inhibisyonu deneylerini için AChE, BChE, α -amilaz ve α -glukozidaz enzimleri ile çalışmıştır. *S. balansae*'nin toprak üstü kısımlarının fitokimyasal bileşenler açısından zengin olduğunu, Bitkinin enzim inhibisyon aktivitesinin belirlenemediği, antibakteriyel testler sonucunda *S. balansae* bitkisinin kayda değer antibakteriyel aktivite sergilediğini raporlamışlardır. Ekin et al. (2019), *Lamium purpureum* var. *purpureum*, *Origanum onites*, *Salvia sclarea*, *Salvia virgata* ve *Thymus zygoides* var. *Lycaonius*'un etanol özütlerinin biyoaktivitelerini çalışmıştır. Sonuç olarak, test edilen özütler arasında, *T. zygoides* var. *lycaonius* α -glukozidaza karşı en yüksek inhibitör aktiviteyi gösterdiğini, Tüm özütlerin α -amilaza karşı inhibitör aktiviteleri %50'den düşük olduğunu, *S. sclarea* yaprak özütünün dikkate değer bir BChE inhibisyonu gösterdiğini ancak bitki özlerinin AChE karşı etkisiz olduğunu saptamıştır. *Salvia* türlerinin en yüksek toplam antioksidan aktiviteyi gösterdiğini, *S. sclarea* çiçek ve yaprak özütlerinin FRAP deneyinde yüksek etki gösterdiğini ve son olarak ise *O. onites*, *S. sclarea*, *S. virgata* ve *T. zygoides* var. *lycaonius* özütlerinin değerli inhibitör aktivite gösterdiğini kaydetmiştir. Kunter et al. (2023), *Phlomis cyprica*'nın bitkisel kısmı farklı çözücüler kullanarak ekstrakt hazırlamış ve tüm ekstraktları antioksidan, antikolinesteraz, antibakteriyel ve sitotoksik aktiviteler açısından incelemiştir. Ayrıca

ekstraktların kimyasal bileşimlerini LC-MS/MS yöntemi ile değerlendirmiştir. Bitkinin antioksidan ve sitotoksik aktiviteler gösterdiğini, bitkinin yalnızca diklorometan ile hazırlanan özütünün antikolinesteraz testinde aktivite gösterdiğini ana fenolik bileşik olarak ise Forsitozid B'nin bulunduğunu belirlemiştir. Mocan et al. (2020), *S. transsylvanica* ve *S. glutinosa*'dan elde edilen etanolik özütlerin kimyasal profilini ve potansiyel biyoaktivitelerini *S. officinalis* ile karşılaştırmayı amaçlamıştır. HPLC'de ana bileşikler olarak rutin ve kateşinin varlığını ortaya koymuş, naringinin varlığı yalnızca *S. glutinosa* özütünde vurgulanmıştır. Klorojenik asit, rutin ve kuersetin, *S. transsylvanica* özütlerinde ilk kez tanımlanmış ve miktarları belirlenmiştir. Her bir ekstrenin antioksidan kapasitesi test edilmiştir. *S. officinalis*'in AChE, BChE ve α -glukozidaz inhibitörü olarak en aktif, *S. glutinosa*'nın α -amilaz inhibitörü olarak en aktif olduğunu kaydetmiştir. Chander et al. (2023), *Dracocephalum heterophyllum*'un karşılaştırmalı uçucu yağların bileşimini ve biyolojik aktivitelerini incelemiş ve fitokimyasal analiz için GC/MS kullanmıştır. *D. Heterophyllum*'un tüm örneklerinde β -citronellol'ü ana bileşen olarak belirlemiştir. Antimikrobiyal potansiyeli altı insan patojenik bakteri ve iki fitopatojen mantar suşuna karşı incelemiş ve anti-diyabetik aktivite olarak ise mükemmel α -amilaz aktivitesi ve daha iyi α -glukozidaz enzim inhibitör özellikleri sergilediğini belirtmiştir. Kahkeshani et al. (2014), *Nepeta menthoides*'in uçucu yağını GC-MS ile analiz etmiş ve ayrıca antioksidan, antikolinergik ve sitotoksik aktivitesine bakmıştır. Toplam yağın %92,86'sını temsil eden yirmi bir bileşen tanımlamıştır. Ana bileşenler 4a- α ,7 β ,7a- α -Nepetalakton, 4a- α ,7 α ,7a- α -Nepetalakton, 1,8-sineol ve geranil asetat olarak belirlemiştir. Asetilkolinesteraz inhibitör testinde bitkinin inhibitör olduğunu kaydetmiştir. Ferhat et al. (2017), *Stachys guyoniana* ve *Mentha aquatica* bitkilerinin farklı çözücüler ile hazırlanan özütlerinin antioksidan, antikolinesteraz ve antibakteriyel aktivitelerini araştırmıştır. Antioksidan aktivite iki bitkide de görülmüş, *S. guyoniana*'nın n-Butanol ile hazırlanan özütünün en iyi AChE inhibitörü olduğunu ve *M. aquatica*'nın aseton ile hazırlanan özütünün ise en yüksek BChE inhibitör aktivitesini gösterdiğini belirlemiştir. Ayrıca test edilen tüm ekstraktların iyi bir antibakteriyel aktivite gösterdiğini eklemiştir. Mohammed et al. (2020), *Ocimum basilicum*'dan elde edilen uçucu yağın fenolik içeriği antioksidan, antiproliferatif ve enzim inhibisyon aktiviteleri dahil olmak üzere biyolojik aktiviteleri açısından araştırmış ve uçucu yağın kimyasal bileşimi GC-MS kullanarak belirlemiştir. *O. basilicum* yağının ağırlıklı olarak estragol ve ardından linalool içerdiğini raporlamış ve önemli ölçüde antioksidan aktivite gösterdiğini saptamıştır. Kirkan (2019), *Stachys cretica subsp. vacillans* bitkisinin farklı çözücülerle hazırlanan ekstraktlarının antioksidan, enzim inhibisyon aktiviteleri ve

fenolik profilleri incelemiştir. LC ESI-MS analizi ile metanol ve su ekstraktlarında sırasıyla 24 ve 22 bileşik tespit etmiştir. Her iki ekstrakta da klorojenik asit, vanilik asit, siringik asit, verbaskozid, apigenin 7-glukozid ve apigenin baskın bileşiklerdir ve güçlü antioksidan aktivite göstermiştir. Metanol ve su ekstraktları, α -amilaz ve tirozinaz enzimlerine karşı etkili bulmuş, ancak sulu ekstraktın α -amilaza karşı etkisi gözlememiştir. Enzim inhibisyon aktiviteleri, metanol ekstraktında su ekstraktına kıyasla daha yüksek olduğunu belirtmiştir. Kozłowska et al. (2015), *Thymus vulgaris*, *R. officinalis*, *Origanum vulgare*, *Mentha piperita*, *Salvia officinalis* bitkilerinden elde edilen etanolik ve metanolik özütlerin kimyasal bileşimi ve antibakteriyel aktivitesini karşılaştırmıştır. Etanolik özütlerin, metanolik özütlere kıyasla biraz daha yüksek fenolik seviyeleri içerdiğini kayıt altına almıştır. GC-MS analizinde, *T. vulgaris*, *R. officinalis*, *S. officinalis* metanolik özütlerinin öjenol veya ledol gibi birkaç ek bileşik içerdiğini belirtmiştir. Özçoban ve Gedikoğlu (2024), *S. officinalis* bitkisinden elde edilen uçucu yağın fitokimyasal analizini, antioksidan ve antibakteriyel aktivitesini belirlemiştir. Ek olarak, en yüksek antioksidan aktivitesi uçucu yağ göstermiş olup, IC_{50} değeri 5.507 ± 0.723 mg/ml ve FRAP değeri 2.129 ± 0.136 mM/g olarak bulmuştur. Ramos Da Silva et al. (2021), Lamiaceae türlerinden elde edilen uçucu yağların potansiyel uygulamaları hakkında bir literatür incelemesi yapmış ve antioksidan, anti-inflamatuar ve antimikrobiyal aktivitelerini değerlendirilmiştir. Niksic et al. (2018), *Mentha spicata* yaprağından elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşimini, antibakteriyel ve antioksidatif aktivitesini araştırmıştır. Uçucu yağın %98,9'unu oluşturan otuz üç bileşen belirlenmiştir. Baskın bileşenler karvon (%56,4), limonen (%16,2), 1,8 sineol (%7), β -pinen (2,4) ve α -terpinen (%2,3) olarak bulunmuştur ve antibakteriyel aktivitede *E coli*, *M. spicata* uçucu yağının antibakteriyel aktivitesine en duyarlı mikroorganizma olarak belirlenmiştir. Esansiyel yağların antioksidan potansiyelini değerlendirmek DPPH metodu kullanmış ve esansiyel yağın 41.23 μ g/mL gibi önemli düzeyde IC_{50} değerine sahip olduğunu göstermiştir. Popa et al. (2021), *T. vulgaris*, *Thymus pannonicus*, *L. angustifolia*, *Lavandula x intermedia*, *O. vulgare* ve *O. vulgare var. aureum*'nin uçucu yağın kimyasal bileşimini, antioksidan aktivitesini ve toplam fenolik içeriğini spektrofotometrik analizler yoluyla belirlemiştir. Genel olarak, 161 bileşik tanımlamıştır. Toplam fenolik içerik, yüksek fenolik oksijenli monoterpen içeriği (timol ve karvakrol) nedeniyle *T. vulgaris* en yüksek ($3022 \pm$ mg GAE L⁻¹) ve *L. angustifolia* L. etanol ekstraktı için en küçük (258.31 ± 44.29 mg GAE L⁻¹) iken, DPPH• ve ABTS•+ analizleri ile belirlenen en yüksek antioksidan aktivite *T. vulgaris* de bulmuştur.

3. MATERYAL-METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Bitki örneklerinin temini

C. longiflorum türü Doç. Dr. Mikail AÇAR tarafından Şırnak/Silopi Görümlü beldesinin vadi iç yamaçlarından trafiğe kapalı alanlarda Mayıs ayında toplanılmış ve teşhis edilmiştir. Toplanan bitkiler, karanlıkta, hava akımının olduğu bir yerde ve oda sıcaklığında kurutulduktan sonra mekanik öğütücü yardımıyla toz haline getirilmiştir.

3.1.2 Deneysel çalışmalarda kullanılan maddeler ve laboratuvar gereçleri

Bu tez çalışmasında kullanılan kimyasallar Tablo 3.1’ de, üretici firmaları ve cihazlar, Tablo 3.2’ de gösterilmiştir.

Tablo 3.1: Çalışmada kullanılan kimyasal maddelerin adları ve üretici firmalar

Kullanılan Maddeler	Üretici firma
Etanol	İsolab
Metanol	İsolab
Dimetil sülfoksit	Merck
2,2-Difenil-2-Pikrilhidrazil	Merck
2,2'-Azino-Bis(3-Ethylbenzothiazoline6-Sulfonic Acid) Diammonium Salt	Merck
Amonyum persülfat	İsolab
Gallik asit	Merck
2,4,6-Tri-2-Pyridinyl-1,3,5- Triazine	Merck
Demir Iı Klorür	Merck
Trolox	Merck
Asetik asit	Merck
Hidroklorik Asit	İsolab
Sodyum Hidroksit	İsolab
Sodyum fosfat	İsolab
Sodyum bikarbonat	İsolab
Sodyum klorür	İsolab
Sükroz	Merck
Alpha amylase (α -Amilaz)	Merck
Gentamisin	İbrahim Etem
Muller-Hinton agar	Merck

Tablo 3.1 (devam)

LB broth	Merck
Nişasta	İsolab
Nitrik asit	İsolab
Dinitro salisilik asit	Merck
Alpha glucosidase (α -Glukosidaz)	Merck
P-Nitrofenil-A-D-Glikopiranosid	Merck
5,5'-Dithiobis-(2-Nitrobenzoik Asit)	Merck
Asetilkolin klorür	Merck
Bütirilkolin iyodid	Merck

Tablo 3.2: Çalışmada kullanılan malzeme, cihaz ve laboratuvar gereçleri adları ve üretici firmalar

Kullanılan Malzeme, Cihaz, Laboratuvar Gereçleri	Marka/ Model
Analitik terazi	Denver Instrument
pH metre	Hanna Instruments
Magnetik karıştırıcı	Heidolph
Saf su cihazı	Human Power I
Etüv	Memmert
Su banyosu	Elma Sonic
Mikropipet seti	Eppendorf
Mikroplaka okuyuculu spektrofotometre	Thermo Scientific
Buzdolabı (+4° C)	Regal
Buzdolabı (-20° C)	Altus
Buzdolabı (-80° C)	Glacier
Otoklav	Hirayama
Vortex	Warning
Çalkalamalı İnkübatör	Gerhardt
Mekanik öğütücü	Waring
Vakumlu Etüv	Memmert

3.2 Metot

3.2.1 Bitki ekstraktlarının hazırlanması

Toz haline getirilen bitki örneğinden 10 g alınmış ve üzerine metanol, etanol, distile sudan (72.5/14.8/12.7, v/v/v) oluşan solvent karışımı eklenmiştir. Örnek, bir gece çalkalamalı etüvde 10°C'de bekletilmiştir. Daha sonra etüvden alınan örnek 5000 g'de 10 dakika santrifüjlenmiş ve süpernatant yeni tüplere alınmıştır. Santrifüj tüpünde kalan çökelti tekrar çözücü ile birleştirilip aynı aşama iki kez daha tekrarlanmıştır. Elde edilen süpernatantlar uygun mikrofiltrelerle süzölmüş ve vakum altında evaporasyonla çözücüleri

uzaklaştırılmıştır. Elde edilen çözücüsü uzaklaştırılmış toz ekstraktlar deneysel işlemlerde kullanılabildiği kadar -80°C’ de muhafaza edilmiştir.

3.2.2 Bitki ekstraktlarının antioksidan kapasitelerinin araştırılması

3.2.2.1 DPPH testi

Bitki örneğinden elde edilen ekstraktın antioksidan kapasitesi, 2,2’-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürme aktivitesi kullanılarak belirlenmiştir. DPPH, tartılarak ve bir balon içerisinde MeOH ile çözdürülmüştür. Konsantrasyonu 10 mg/mL olan bitki ekstraktı ve gallik asit çözeltisi farklı oranlarda (0-100 µL) 96-well plate kuyucuklarına yüklenmiş ve her kuyucuğun içerisine 200 µL DPPH reaktifi ilave edilmiştir. Kuyucukların son hacimi 300 µL olacak şekilde MeOH ile tamamlanmıştır. Well plate’ler 30 dakika boyunca ışık görmeyen karanlık bir bölgede oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda UV-Görünür bir spektrofotometrede 517 nm dalga boyunda absorbans ölçümü alınmıştır. Deney üç tekrarlı yapılmış olup, deney verileri Microsoft Office Excel kullanılarak hesaplanmıştır.

3.2.2.2 ABTS testi

Bitki örneğinden elde edilen ekstraktın antioksidan kapasitesi, ABTS radikal temizleme aktivitesi kullanılarak belirlenmiştir. ABTS tuzu ve amonyum persülfat tartılarak bir balon içerisinde MeOH ile çözdürülmüştür. ABTS çözeltisi gece boyunca karanlıkta bekletilmiştir. Bitki ekstraktı ve gallik asit 96-well plate’in kuyucuklarına değişen miktarlarda (0-100 µL) yüklenmiş ve her kuyucuğun üzerine 200 µL ABTS reaktifi eklenmiştir. Kuyucukların son hacimleri MeOH kullanılarak 300 µL’ye tamamlanmıştır. Well plate’ler 30 dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edilmiş, inkübasyon sonunda ölçümler 734 nm’de UV-Görünür bir spektrofotometrede alınmıştır. Deney üç tekrarlı gerçekleştirilmiş ve deney verileri Microsoft Office Excel kullanılarak hesaplanmıştır.

3.2.2.3 FRAP testi

Bitki örneğinden elde edilen ekstraktın antioksidan kapasitesi FRAP kullanılarak belirlenmiştir. FRAP çözeltisi üç farklı çözeltinin birleştirilmesiyle hazırlanmıştır. FRAP çözeltisini hazırlarken; 300 mM, 3.6 pH asetat tamponu, 10 mM TPTZ(2,4,6-Tri-2-Pyridinyl-1,3,5- Triazine) tamponu ve son olarak 20 mM, FeCl₃·6H₂O çözeltisi hazırlanıp birleştirilmiştir. Bitki ekstraktı ve trolox çözeltisi 96- well plate’e farklı oranlarda (0-100 µL) eklenmiş ve son hacim 300 µL olacak şekilde FRAP çözeltisi ile tamamlanmıştır. Well plate

30 dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda örneklerin absorbanansı ile 593 nm’de UV-Görünür bir spektrofotometrede ölçülmüş olup, deney üç tekrarlı gerçekleştirilmiştir. Trolox absorbanları kullanılarak standart eğri oluşturularak bitki ekstraktının trolox eşdeğeri antioksidan aktivitesi, oluşturulan bu eğrinin denklemi kullanılarak Microsoft Office Excel’de hesaplanmıştır.

3.2.3 Bitki inhibisyon aktivitesi tayini

3.2.3.1 AChE enzimi inhibisyon aktivitesi tayini

Asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi Ellman tarafından geliştirilen spektrofotometrik yöntem ile çalışılmıştır (Ellman et al., 1961). Deney, 145 µL sodyum fosfat tamponu (0.1 M, pH:8), 20µL DTNB (0,01 M), enzim inhibisyon etkisine bakılan *C. longiflorum* ekstrakt çözeltisi(10mg/mL), 20 µL enzim çözeltisi ile gerçekleştirilmiştir. Başlangıçta sırasıyla, 145 µL sodyum fosfat tamponu, 20 µL DTNB, inhibisyon grafiği elde etmek için değişen oranlarda bitki ekstraktı (0-25 µL) ve 10 µL asetilkolinesterazın substratı olan asetilkolin iyodür 96 kuyucuklu mikropate’e yüklenmiştir. Ekstrakt miktarlarının değişen oranlarda olmasından kaynaklı olarak kuyucuklar arasında var olan hacim farkını sıfırlamak için tüm kuyucukların hacimi sodyum fosfat tamponu ile total 220 µL olacak şekilde tamamlanmıştır. Mikropate 37 °C’de 5 dk inkübe edilmiş ve inkübasyonun ardından 405 nm dalga boyunda ilk ölçüm alınmıştır. Bu ölçüm kör olarak kabul edilmiştir. Ölçüm alındıktan sonra her bir kuyucuk üzerine 20 µL enzim çözeltisi eklenerek 37°C’de 15 dakika tekrar inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası ölçüm alınarak bitkinin enzim inhibisyon aktivitesinin olup olmadığı belirlenmiştir. Deney 3 tekrarlı yapılmıştır.

3.2.3.2 BChE enzimi inhibisyon aktivitesi tayini

Bütirilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi Ellman tarafından geliştirilen spektrofotometrik yöntem ile çalışılmıştır (Ellman et al., 1961). Deney prosedürü genel olarak AChE enzim inhibisyon tayini ile aynı şekilde ilerlemiştir. Başlangıçta sırasıyla, 145 µL sodyum fosfat tamponu, 20 µL DTNB, inhibisyon grafiği elde etmek için değişen oranlarda bitki ekstraktı (0-25 µL) ve 10 µL bütirilkolin esterazın substratı olan Bütirilkolin klorür 96 kuyucuklu mikropate’e yüklenmiştir. Ekstrakt miktarlarının değişen oranlarda olmasından kaynaklı olarak kuyucuklar arasında var olan hacim farkını sıfırlamak için tüm kuyucukların hacimi sodyum fosfat tamponu ile total 220 µL olacak şekilde tamamlanmıştır. Mikropate 37 °C’de 5 dk inkübe edilmiş ve inkübasyonun ardından 405 nm dalga boyunda ilk ölçüm alınmıştır. Bu ölçüm kör olarak kabul edilmiştir. Ölçüm alındıktan sonra her bir kuyucuk üzerine 20 µL

enzim çözeltisi eklenerek 37°C’de 15 dk tekrar inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası ölçüm alınarak bitkinin enzim inhibisyon aktivitesinin olup olmadığı belirlenmiştir. Deney 3 tekrarlı yapılmıştır.

3.2.3.3 α -Amilaz enzimi inhibisyon aktivitesi tayini

Deney başlangıcında enzim aktivitesi kontrol edilmiştir. 0.02 M sodyum fosfat tamponuna (0.006 M NaCl içeren pH 6.9) 200 μ L 0,5 mg/mL α -amilaz içeren enzim çözeltisinden ilave edilmiş, devamında tüplerin üzerine farklı oranlarda bitki ekstraktları (0-200 μ L) eklenerek 37°C’de 10 dakika inkübe edilmiştir. 10 dakikalık inkübasyonun sonrası her tüpe %1’lik nişasta çözeltisinden 200 μ L eklenmiş ve 37°C’de 5 dakika tekrar inkübe edilmiştir. Tüpteki karışımın üzerine 400 μ L DNSA (dinitro salisilik asit) ilave edilmiş ve karışım su banyosunda yaklaşık 90 °C’de 5 dakika bekletilerek reaksiyon durdurulmuştur. Son olarak reaksiyon karışımı 96 kuyucuklu mikropate’e yüklenmiş ve 540 nm dalga boyunda absorbans alınmıştır. Kör olarak her farklı bitki konsantrasyonunun enzimsiz tekrarları yapılmıştır. Deney 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.3.4 α -Glukozidaz enzimi inhibisyon aktivitesi tayini

35 μ L α -glukozidaz çözeltisi değişen miktarlarda bitki ekstraktlarına (0–70 μ L) eklenmiş ve üzerleri 140 μ L sodyum fosfat tamponuyla tamamlanmıştır. Reaksiyon karışımı 25°C’de 10 dakika inkübe edilmiş. Daha sonra 50 μ L fosfat tamponu (pH 6.9) içindeki 5 mM 18 μ L PNPG (p-nitrofenil- α -D-glikopiranosid) çözeltisi ilave edilmiş ve karışım, 5 dakika boyunca 25°C’de inkübe edilmiştir. Daha sonra reaksiyon karışımlarının 405 nm’de absorbansları ölçülmüştür. Bitki ekstraktı içermeyen karışımlara %100 aktivite değeri verilerek ekstraktların inhibisyon konsantrasyonları hesaplanmıştır. Deneyler üçer tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.4 Toplam fenolik ve flavonoid içerik tayini

3.2.4.1 Toplam fenolik bileşik tayini

C. longiflorum bitki ekstraktının toplam fenolik içerik konsantrasyonu, Folin-Ciocalteu kolorimetrik yöntemi uyarlanarak spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Bitki ekstraktından 250 μ L alınarak totali 3 mL olacak şekilde saf su ile seyreltilmiştir. Üzerine 1 mL folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiştir. 3 dakika sonra 1 mL %20’lik NaCO₃ ilave edilmiş ve vortex yardımıyla 10 saniye karıştırılmıştır. Hazırlanan karışımlar 40 °C’de 40 dakika bekletildikten sonra 96 kuyucuklu mikropate’e yüklenmiş ve 650 nm dalga boyunda

absorbans alınmıştır (Ramful et al., 2011). Absorbans sonuçları gallik asit standardı kullanılarak elde edilen kalibrasyon eğrisi ile mg/mL gallik asit eşdeğerine dönüştürülmüştür.

3.2.4.2 Toplam flavonoid içerik tayini

C. longiflorum bitki ekstraktının toplam flavonoid içerik miktar analizinde Ramful ve arkadaşlarının yaptığı metot uyarlanarak belirlenmiştir. 150 µL %5 sulu NaNO₂ çözeltisi 2,5 mL *C. longiflorum* özütü üzerine eklenerek vortexlenmiştir. Yaklaşık 5 dakika bekleddikten sonra 150 µL %10'luk AlCl₃ ilave edilmiştir. Son aşamada ise 1 M NaOH çözeltisinden 1 mL eklenerek son hacim vortex yardımıyla 10 saniye kadar karıştırılmış ve 96 kuyucuklu mikroplate'e yüklenmiş 510 nm'de absorbansda ölçüm alınmıştır (Ramful et al., 2011). Absorbans sonuçları, kuarsetin standardı kullanılarak elde edilen kalibrasyon eğrisi ile mg/mL kuarsetin eşdeğerine dönüştürülmüştür.

3.2.5 LC-MS/MS

LC-MS/MS cihazı ile fenolik madde tayini için Sifaoui ve arkadaşları ekstraksiyon metodu modifiye edilerek kullanılmıştır. Her örnekten ayrı ayrı 0,25 g alınarak 20 mL çözücü eklenmiştir (%12,7 su, %14,8 etanol ve %72,5 metanol). Daha sonra 55°C'de 1 saat boyunca sabit bir karıştırma hızında (300 rpm) çalkalayıcıda bırakılmıştır: Tüplerin etrafı ekstraksiyon sırasında hafif bozulmayı önlemek için alüminyum folyoya sarılarak +4C'de bir gece bekletilmiştir. Elde edilen ekstraktlar evaporatörde buharlaştırılarak kullanıma hazır hale getirilmiştir (Sifaoui et al., 2016). Bitki ekstraktı yukarıda belirtildiği gibi hazırlandıktan sonra analiz, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Deneysel Fen Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezi tarafından gerçekleştirilmiştir. Yapılan fenolik bileşik analizinde kullanılan kolon bilgileri şu şekildedir; LC (Agilent 1260 Infinity)-MS/MS (Agilent 6420 Triple Quadrupole LC-MS/MS), ayrıca kolon olarak ise C18 ODS kolon (25 × 4.6 mm × 5 µm) kullanılmıştır. Enjeksiyon hacmi; 2 µL ve akış hızı 0.4 mL/dk olarak hesaplanmış olup LC MS/ MS şartı mobil faz %0,1 formik asit içeren su (çözelti A) ve metanol (çözelti B) olarak 2 farklı çözelti ile hazırlanmıştır.

3.2.6 Antibakteriyel aktivite analizi

3.2.6.1 Disk difüzyon yöntemi

Antibakteriyel aktivite analizi için iki farklı metot kullanılmıştır. Bunlardan ilki disk difüzyon yöntemidir. Bu yöntemde, steril diskler bir gece öncesinden *C. longiflorum*

ekstraktı, negatif kontrol grubu olacak bitki çözücüsü ve pozitif kontrol olarak ise gentamisin içerisine eklenmiş ve 24 saat +4 °C’de bekletilmiştir. Hazırlanmış bakteri çözeltileri *S. aureus*, *E. coli*, yayma ekim tekniğiyle muller-hinton besiyerine ekilmiş ve bir gece boyunca bekletilen diskler bakteri ekilmiş besiyerlerine yerleştirilmiştir. Hazır olan besiyerleri 37°C’de inkübatörde bir gece bekletilmiştir. İnkübasyon sonucunda oluşan bitki diskinin, negatif kontrol olan bitki çözücüsü diskinin ve pozitif kontrol olarak kullanılan gentamisin disklerinin zon çapları ölçülerek antibakteriyel etki hesaplanmıştır.

3.2.6.2 MİK (Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu) yöntemi

MİK yöntemi antibakteriyel olduğu düşünülen maddenin katı ya da sıvı besiyerinde seri olarak seyreltilmesi ve her seyreltme ortamına, duyarlılığı belirlenecek bakterinin belirli miktarda hücre içeren süspansiyonundan eşit miktarda ilave edilmesi prensibine dayanır. Bu yönteme göre hazırlanmış *S. aureus* ve *E. coli* bakteri suşları 2.5×10^{-4} CFU/mL oranında seyreltilmiştir. 10 mL’ lik sıvı besiyerlerine 100’er µL eklenmiştir. Pozitif kontrol olarak gentamisin, negatif kontrol olarak ise bitki çözücüsü kullanılmıştır. 96 kuyucuklu mikroplate kuyucuklarına 100’er µL besiyeri eklenmiştir. Daha sonra her kuyucuğa 100 µL bakteri suşundan eklenmiş ve ardından başlangıçtaki kuyucuklara 100’er µL bitki, pozitif ve negatif kontrol eklenerek pipetaj yapılmıştır. Son kuyucuktaki 100 µL atılmıştır. Böylece tüm kuyucukların hacmi eşitlenmiştir. Deney serisi bakteri için uygun üreme sıcaklığı olan 35-37 °C’de 16-20 saat kadar inkübe edilmiştir. Bakteri üremesinin görsel olarak tespit edilip üremeyi baskılayan en düşük madde konsantrasyonu MİK olarak belirlenmiştir.

4. BULGULAR

4.1 Antioksidan Sonuçları

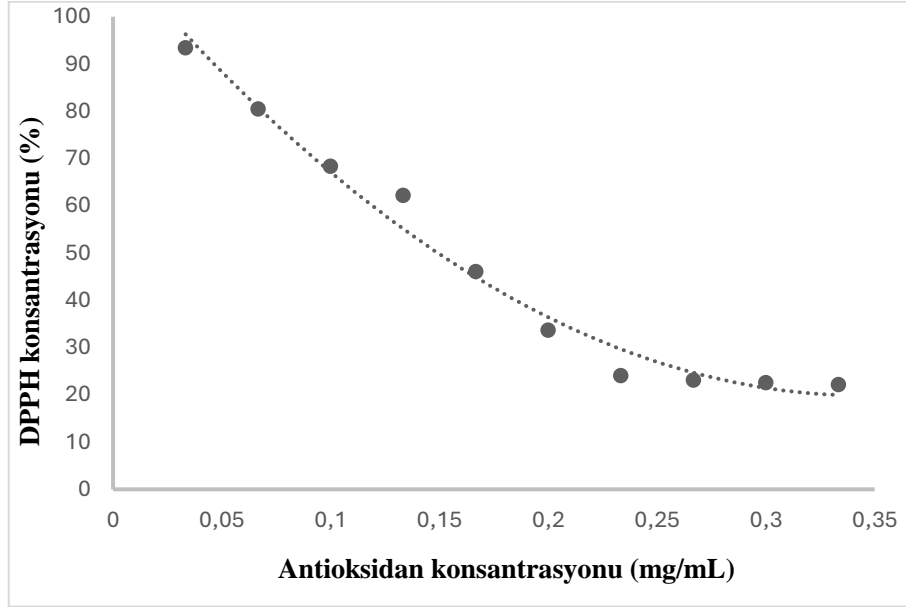
4.1.1 DPPH sonuçları

DPPH testi ile gerçekleştirilen antioksidan aktivite verileri Tablo 4.1’de verilmiştir.

Hesaplamalarda kullanılan standart eğri grafiği ve denklemini Şekil 4.1’de sunulmuştur.

Tablo 4.1: *C. longiflorum* bitki ekstraktının DPPH antioksidan % süpürme aktivitesi testi ile belirlenen IC₅₀ değeri

Örnekler	DPPH IC ₅₀ (mg/mL)
<i>C. longiflorum</i> ekstraktı	0.168±0.026
Gallik Asit	0.003±0.000



Şekil 4.1: Ekstraktların artan derişime bağı % DPPH antioksidan süpürme aktivitesi

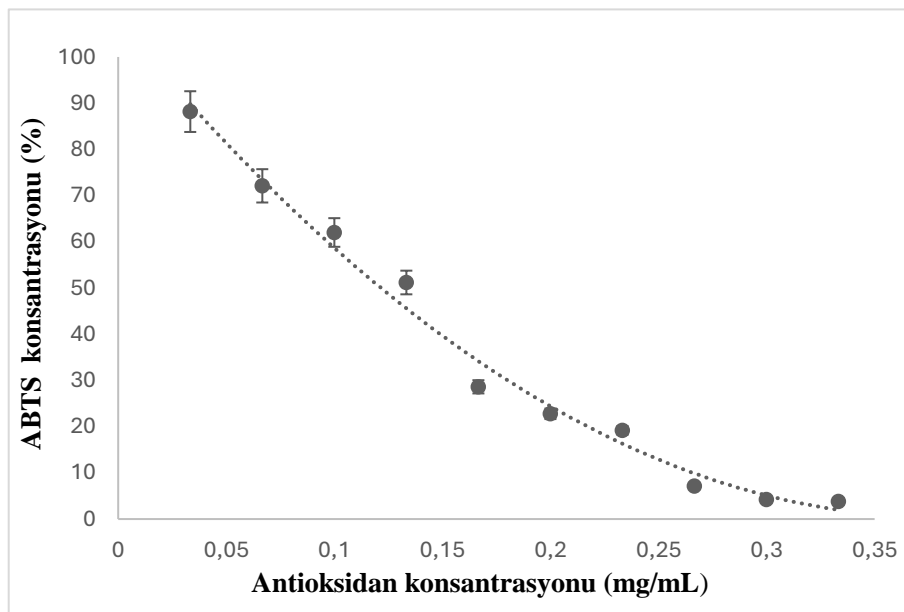
4.1.2 ABTS sonuçları

ABTS testi ile gerçekleştirilen antioksidan aktivite verileri Tablo 4.2’de yer almaktadır.

Hesaplamalarda kullanılan standart eğri grafiği ve denklemini Şekil 4.2’de gösterilmektedir.

Tablo 4.2: *C. longiflorum* bitki ekstraktının ABTS antioksidan % süpürme aktivite testi ile belirlenen IC₅₀ değeri

Örnekler	ABTS IC ₅₀ (mg/mL)
<i>C.longiflorum</i> ekstraktı	0.215±0.134
Gallik Asit	0.001±0.000



Şekil 4.2: Ekstraktların artan derişime bağı % ABTS antioksidan süpürme aktivitesi

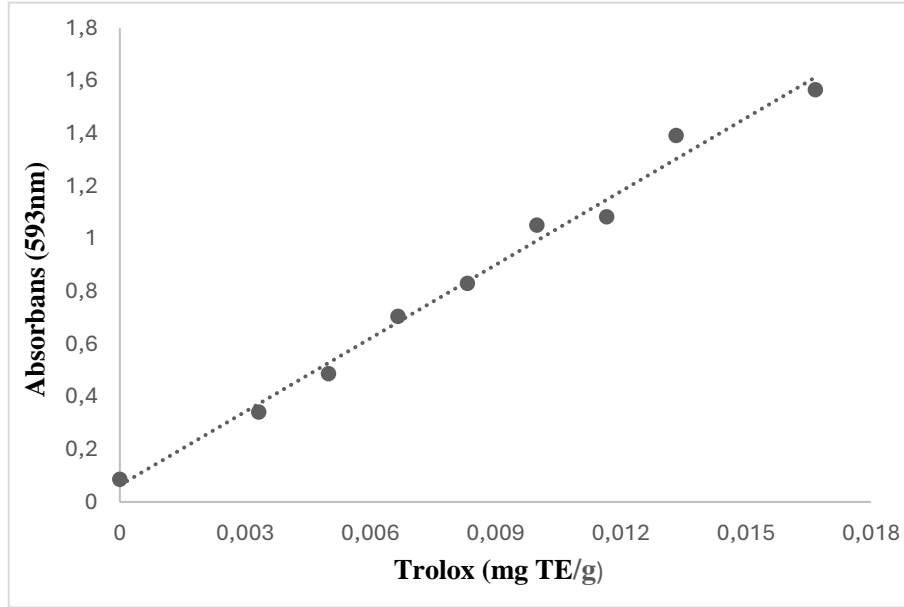
4.1.3 FRAP sonuçları

FRAP testi sonuçlarına göre, trolox eşdeğeri antioksidan aktivitesi Tablo 4.3’te verilmiştir.

Hesaplamalarda kullanılan standart eğri grafiği ve denklemini Şekil 4.3’te görülmektedir.

Tablo 4.3: *C. longiflorum* bitki ekstraktının trolox antioksidan aktivite testi ile belirlenen trolox eşdeğeri

Örnek	Trolox (mg TE/g)
<i>C. longiflorum</i> ekstraktı	33.57±2.60



Şekil 4.3: Trolox standart eğrisi ve eğilim çizgisi denklemini

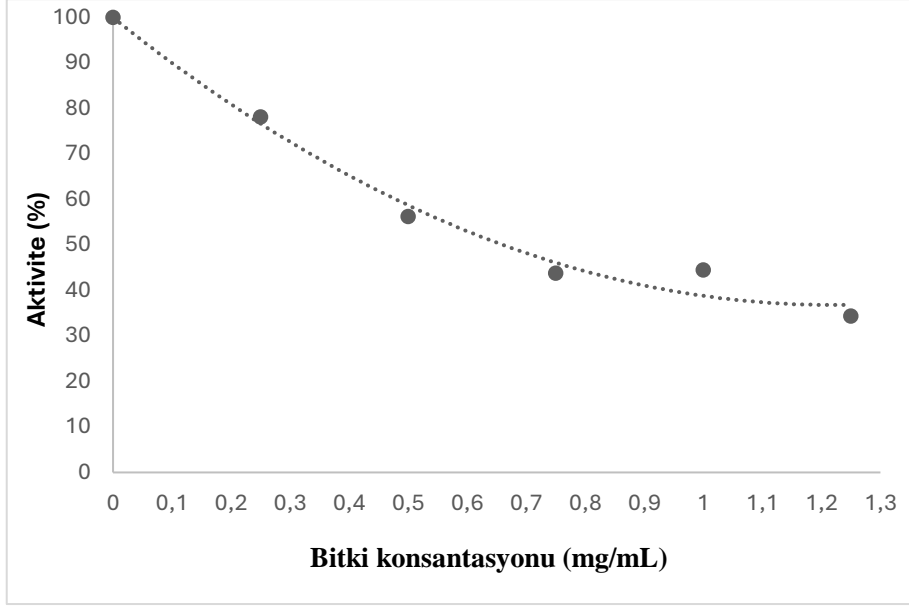
4.2 Enzim İnhibisyon Sonuçları

4.2.1 AChE ve BChE enzim aktivitesi sonuçları

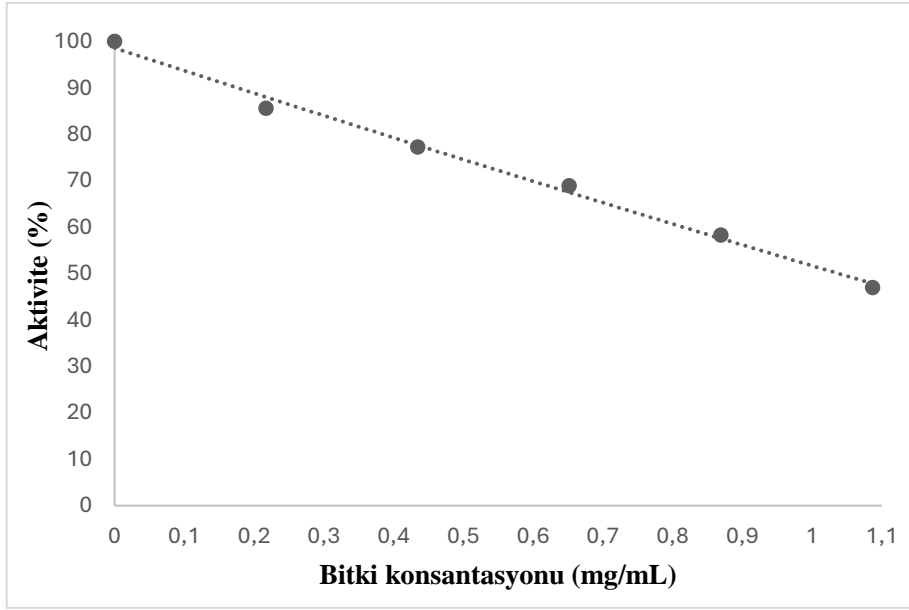
C. longiflorum bitkisinin kolinesteraz enzimleri üzerindeki etkisi spektrofotometrik yöntem ile belirlenmiş olup, İnhibisyon grafikleri Şekil 4.4 ve Şekil 4.5'te sunulmaktadır. Grafikler üzerinden hesaplanan IC₅₀ değerleri, Tablo 4.4'te belirtilmiştir.

Tablo 4.4: *C. longiflorum* bitki ekstraktının AChE ve BChE % inhibisyon aktivite testi ile belirlenen IC₅₀ değeri

Örnek	AChE IC ₅₀ (mg/mL)	BChE IC ₅₀ (mg/mL)
<i>C. longiflorum</i> ekstraktı	0.805±0.185	1.033±0.045
Kontrol Galantamin	0.09±0.00	0.09±0.00



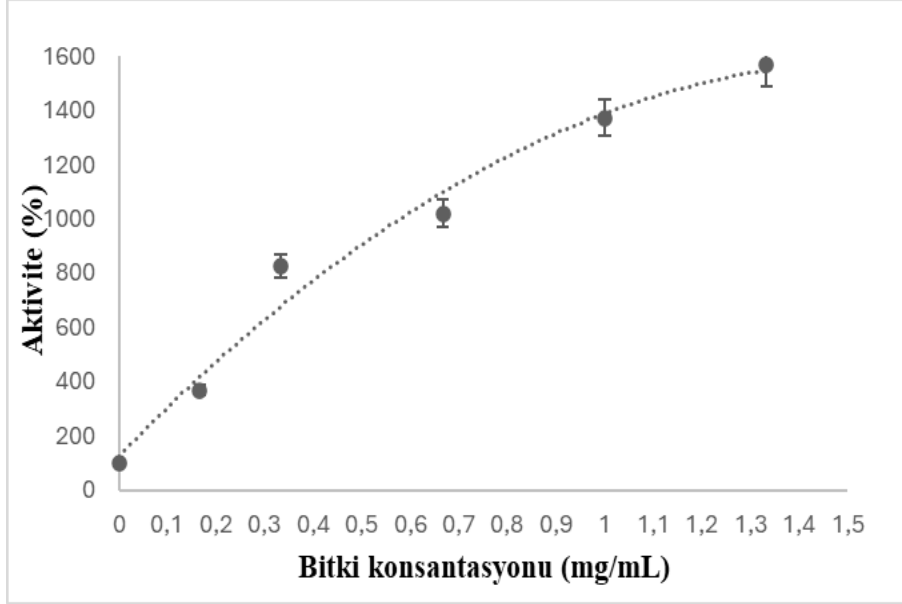
Şekil 4.4: Artan bitki konsantrasyonuna göre % AChE aktivitesi



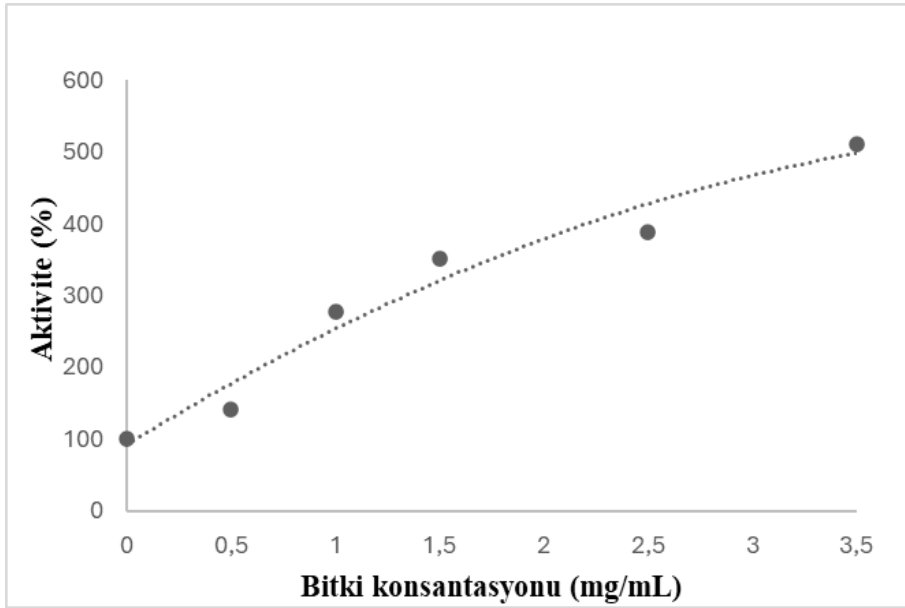
Şekil 4.5: Artan bitki konsantrasyonuna göre % BChE aktivitesi

4.2.2 α -Amilaz ve α -Glukozidaz enzimlerinin aktivite sonuçları

C. longiflorum bitkisinin α -amilaz ve α -glukozidaz enzimleri üzerindeki etkisi spektrofotometrik yöntem ile belirlenmiştir.



Şekil 4.6: Artan bitki konsantrasyonuna göre % α -amilaz aktivitesi



Şekil 4.7: Artan bitki konsantrasyonuna göre % α -glukozidaz aktivitesi

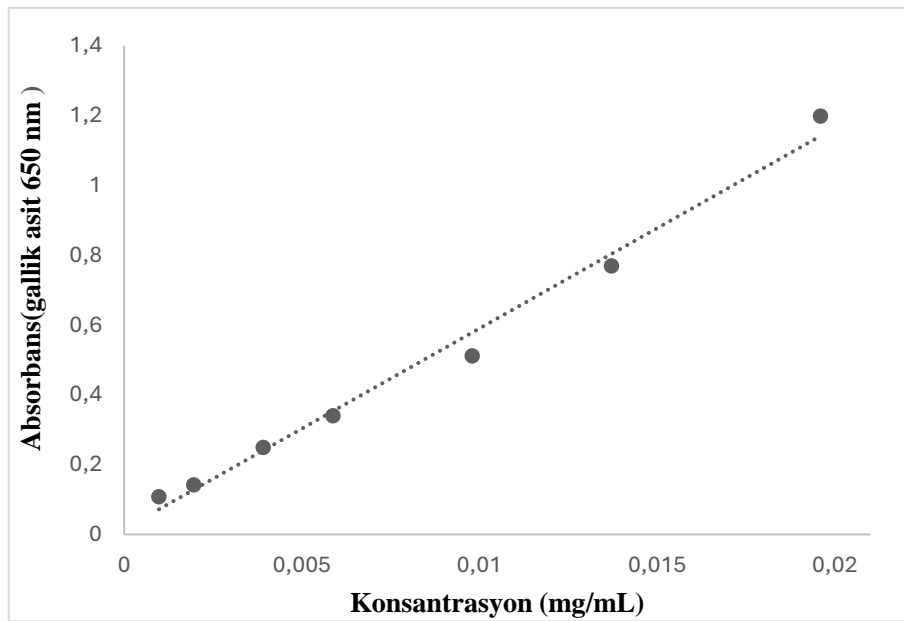
4.3 Toplam Fenolik ve Flavonoid Deneş Sonuçları

4.3.1 Toplam fenolik bileşik tayini sonuçları

Toplam fenolik bileşik tayini testi ile gerçekleştirilen verileri Tablo 4.5’ de ifade edilmiştir. Hesaplamalarda kullanılan standart eğri grafiği ve denklemine şekil 4.8’de yer verilmiştir.

Tablo 4.5: *C. longiflorum* bitki ekstraktının Toplam fenolik bileşik aktivite testi ile belirlenen IC₅₀ değeri

Örnek	Toplam Fenolik Bileşikler IC ₅₀ (mg/mL)
<i>C. longiflorum</i> ekstraktı	10.87±0.234



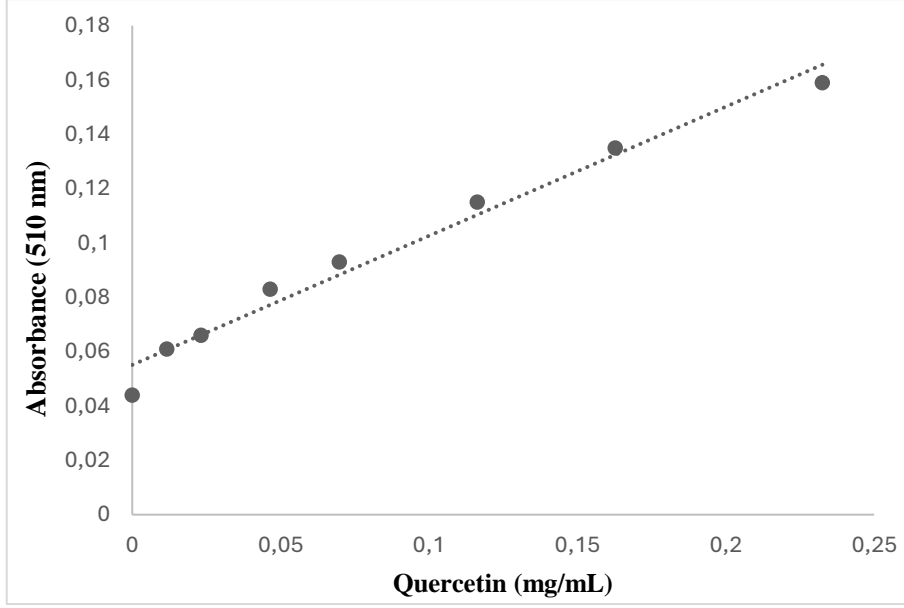
şekil 4.8: Toplam fenolik bileşik tayini için kullanılan kalibrasyon eğri

4.3.2 Flavonoid deneş sonuçları

Toplam flavonoid bileşik tayini testi ile gerçekleştirilen verileri Tablo 4.6’ da açıklanmıştır. Hesaplamalarda kullanılan standart eğri grafiği ve denklemini şekil 4.9’de sunulmaktadır.

Tablo 4.6: *C. longiflorum* bitki ekstraktının flavonoid bileşik aktivite testi ile belirlenen IC₅₀ değeri

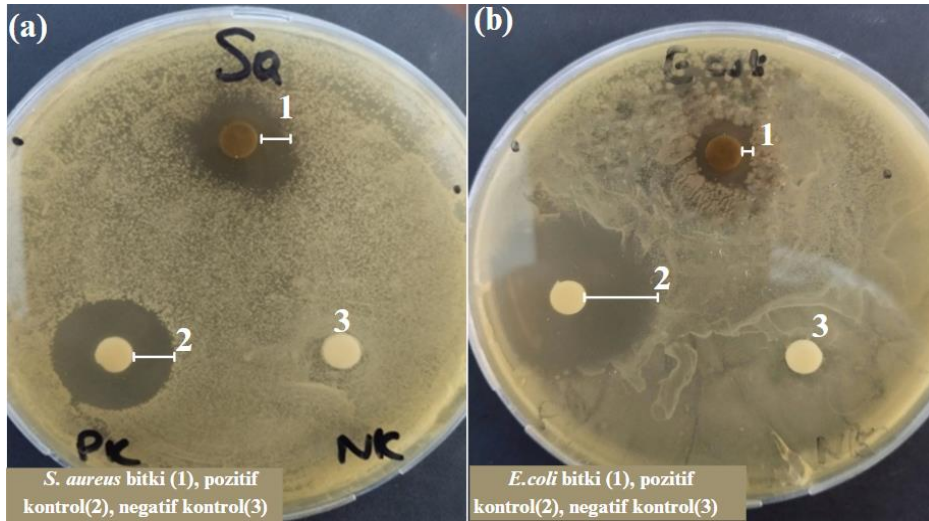
Örnek	Toplam Flavonoid Bileşikler (IC ₅₀ mg/mL)
<i>C. longiflorum</i> ekstraktı	57.82±7.239



Şekil 4.9: Flavonoid bileşik tayini için kullanılan kalibrasyon eğrisi

4.4 Antibakteriyel Sonuçları

C. longiflorum bitki ekstraktlarının gram (+) *S. aureus* bakterisine ve gram (-) *E. coli* bakterisine karşı antibakteriyel etkiye sahip olduğu, disk difüzyon yöntemi ile gösterilmiştir. Antibakteriyel aktiviteler Şekil 4.10'da inhibisyon zon çapları Tablo 4.7'de gösterilmiştir. Ayrıca ekstraktların bakterilere karşı MİK değerleri hesaplanmış ve sonuçlar Tablo 4.8'de gösterilmiştir.



Şekil 4.10: *S. aureus* ve *E. coli* bakterisine karşı *C. longiflorum* örneklerinin oluşturduğu zon görüntüleri. (a) *S. aureus*, (b) *E. coli*, 1) Bitki ekstraktları 2) Pozitif Kontrol 3) Negatif kontrol

Tablo 4.7: *S. aureus* ve *E. coli* bakterilerine karşı *C. longiflorum* bitkisinin inhibisyon zon çapları

Örnek	<i>S. aureus</i> bitki inhibisyon zonu(mm)	<i>E. coli</i> bitki inhibisyon zonu(mm)
<i>C. longiflorum</i> ekstraktı	15.12±1.499	10.68±1.396
Pozitif kontrol (Gentamisin)	19.97±0.587	27.80±0.783
Negatif kontrol (Çözücü)	-	-

Tablo 4.8: *S. aureus* ve *E. coli* bakterilere karşı *C. longiflorum* bitkisinin MİK değerleri

Örnek	<i>S. aureus</i> MİK değeri (mg/mL)	<i>E. coli</i> MİK değeri (mg/mL)
<i>C. longiflorum</i> ekstraktı	3.13±0.00	2.08±0.90
Pozitif kontrol (Gentamisin)	0.39±0.00	0.39±0.00
Negatif kontrol (Çözücü)	-	-

4.5 LC-MS/MS Analizi

LC-MS/MS analizi, örneklerin bileşenlerini detaylı bir şekilde belirlemek amacıyla incelenmiştir. Elde edilen veriler, bileşiklerin kimyasal profillerini ve yoğunluklarını göstermektedir. Çalışmada elde edilen LC-MS/MS sonuçları aşağıdaki tabloda sunulmuştur.

Tablo 4.9: LC-MS/MS sonuçları

Bileşen Adı	Konsantrasyon (µg/g)
Naringin	2792.50
Hesperidin	607.32±27.28
Rutin hidrat	515.22
Benzoik	285.40
Eriodictyol	218.48±15.89
(-)-Epicatechin	-
(+)-Catechin	0.22±0.01
2,5-Dihydroxybenzoic acid	8.99±0.27
2-Hydroxycinnamic acid	-
3,4-Dihydroxyphenylacetic acid	0.04±0.00
3-Hydroxybenzoic acid	7.07±0.06
3-hydroxytyrosol	0.09±0.01
4-Hydroxybenzoic acid	7.05±0.03
Apigenin 7-glucoside	1.36±0.02
Apigenin	4.35±0.09
Caffeic acid	1.99±0.00
Chlorogenic acid	102.45±8.04
Ellagic Acid	1.05±0.00
Ferulic acid	0.43±0.00
Gallic acid	8.02±0.09
Homovanillic acid	-
Hyperoside	64.34±1.77
Kaempferol	6.33±0.34
Luteolin 7-glucoside	1.72±0.02
Luteolin	3.57±0.28
Oleuropein	-
<i>p</i> -Coumaric acid	7.44±0.05
Pinoresinol	0.33±0.02
Protocatechuic acid	8.95±0.11
Pyrocatechol	-
Quercetin	7.82±0.19
Resveratol	-
Rosmarinic acid	7.17±0.14
Sinapic acid	-
Syringic acid	1.57±0.06
Taxifolin	1.23±0.03
Vanillin	0.06±0.00
Verbascoside	14.78±0.11

5. TARTIŞMA

5.1 Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları

Bu çalışmada kullanılan *C. longiflorum* bitkisinin metanol, etanol, distile sudan (72.5/14.8/12.7, v/v/v) oluşan solvent karışımı eklenerek hazırlanmış ekstraktın antioksidan aktivitesi, DPPH, ABTS ve FRAP gibi antioksidan maddelerin analizlerinde yaygın olarak kullanılan yöntemlerle değerlendirilmiştir. DPPH ve ABTS metodu farklı oranlarda bitki kullanılarak belirlenmiş ve deneyler 3 tekrarlı şekilde yapılmıştır. Bitkinin DPPH ve ABTS IC₅₀ (inhibisyon konsantrasyonu 50) değerleri Tablo 4.1 ve Tablo 4.2’de sunulmuştur. IC₅₀ değeri, bitki ekstraktlarının başlangıçtaki DPPH ya da ABTS çözeltisinin %50’sini nötralize edebilmesi için gereken konsantrasyonu ifade etmektedir. Düşük IC₅₀ değeri, ölçülen maddenin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olması demektir (Yıldız et al., 2019). Pozitif kontrol olarak, gallik asit hazırlanmış ve sonuçlar gallik asit ile kıyaslanmıştır. Elde edilen bulgularda *C. longiflorum* türünün DPPH testi sonuçlarına bakıldığında IC₅₀ değeri mg/mL’de 0.168±0.026 çıkmış olup, deneyde pozitif kontrol olarak kullanılan gallik asit IC₅₀ değeri ise, mg/mL’de 0.003±0.000 çıkmıştır. Başka bir antioksidan testi olan ABTS testinde ise Tablo 4.2’de belirtildiği gibi IC₅₀ değeri mg/mL’de 0.215±0.134 olarak kaydedilirken, pozitif kontrol olan gallik asitin IC₅₀ değeri mg/mL’de 0.001±0.000 çıkmıştır. Ayrıca bitkinin serbest radikal süpürme aktivitesine ek olarak metal indirgeme aktivitesini belirlemek amacıyla yaygın olarak kullanılan bir antioksidan testi olan FRAP metodu kullanılarak metal indirgeme aktivitesi hesaplanmıştır. *C. longiflorum* bitkisinin trolox antioksidan aktivite testi ile belirlenen trolox standart eğrisi ve eğilim çizgisi denklemi, Tablo 4.3’te belirtilmiştir ve trolox (mg/TEg) 33.57±2.602 olarak bulunmuştur.

Literatüre bakıldığında DPPH, ABTS ve FRAP testleri ile yapılmış pek çok çalışma mevcuttur. Bu tez çalışmasında incelenen *C. longiflorum* bitkisinin de içinde bulunduğu *Cyclotrichium* türlerinin fenolik bileşenler açısından zengin olduğu ve bu bileşenlerin DPPH, ABTS ve FRAP testlerinde yüksek aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Bu konuda yapılan bazı araştırmalar da tez çalışmasında yapılan deneylerin bulgularını destekler niteliktedir. Önceki çalışmalar incelendiğinde, Emen et al. (2009), tarafından yapılan bir çalışmada *C. niveum* türünün metanol özütünde, 78.15 µg/mL’lik bir IC₅₀ değeri ile DPPH serbest radikalini etkili şekilde indirgemıştır. Bu durum bitkide güçlü şekilde antioksidan etki varlığını göstermektedir Benzer şekilde, Gülçin et al. (2022), tarafından yapılan bir çalışmada, aynı türden olan *C. leucotrichum* türünün, DPPH testinde IC₅₀ değeri 23.74 ve

28.85 µg/mL, ABTS testinde ise IC₅₀ değeri 12.53 ve 14.05 µg/mL olarak rapor edilmiştir. Farklı bir çalışma, Nilofar et al. (2023), tarafından yapılmış olup, *P. subulifera* ve *C. glabrescens* türlerinin metanol, hekzan ve sulu ekstraktlarının antioksidan deneylerini gerçekleştirmiş, iki bitkinin de DPPH, ABTS ve FRAP analizlerini yapmıştır. Yapılan deneylerde her iki bitkinin hekzanlı ekstraktında DPPH ve ABTS radikal süpürücü aktivite gözlemlenmemiştir. Ayrıca iki bitki için IC₅₀ değerini (mg TE/g) olarak belirtmiştir. *P. subulifera* bitkisi için metanol ve sulu ekstraktlarının IC₅₀ değerleri sırasıyla DPPH testinde 131.60±5.03, 238.50±3.44 mg TE/g, ABTS için ise, 127.36±0.86 ve 234.97±3.53 mg TE/g olarak bulunmuştur. FRAP testinde metanollü ekstraktların aktivitesi *P. subulifera* 209.50±0.67 mg TE/g iken *C. glabrescens* 71.90±2.90 mg TE/g olarak kaydedilmiştir. Son olarak hekzanlı ekstraktlarda aynı sırayla 20.25±0.61 ve 13.48±0.19 mg TE/g değeri gözlemlenmiştir. Bunun yanında *C. longiflorum* türünün de içerisinde bulunduğu Lamiaceae familyasında yer alan farklı türler üzerinde de yapılan birçok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalardan bazılarına örnekler verilmiştir. Güzel (2023a), tarafından yapılan çalışmada, *S. lavandulifolia* bitkisinin farklı çözücüler ile hazırlanan özütlerine DPPH, ABTS testleri denenmiş, radikal giderici aktivitesi hesaplamış ve değerleri standart antioksidan olan BHT, BHA ve Trolox ile karşılaştırmıştır. 0,2 mg/mL konsantrasyonda DPPH radikal giderme aktivitesinin yüzdesini (%) metanol, su ve hekzan için sırasıyla 50.07±1.01, 49.95±0.52, 20.36±0.34, ABTS için 23.42±0.14, 15.96±0.25, 6.15±1.12, 0,2 mg/mL olarak kaydetmiştir. FRAP sonuçlarında ise metanol ve su ekstraktları için sırasıyla 0.134±0.58, 0.233±0.47 olarak belirlenmiştir Benzer şekilde, Özçoban ve Gedikoğlu (2024), tarafından yapılan bir çalışmada, *S. officinalis* bitkisinin uçucu yağının DPPH, IC₅₀ değerini 5.507±0.723 mg/mL olarak ve FRAP değerini ise 2.129±0.136 mM/g olarak raporlamıştır. Ayrıca Kirkan (2019), tarafından yapılan bir çalışmada, *S. cretica* subsp. *vacillans* bitkisinin farklı çözücülerle hazırlanan ekstraktlarının antioksidan indirgeme kapasitesini DPPH, ABTS ve FRAP testlerini uygulayarak tamamlamıştır. IC₅₀ değerleri DPPH testinde metanol ve su için sırasıyla 191.47±5.77 ve 149.71±0.61 iken, ABTS testi için metanol ve su ekstraktları 213.93±21.83, 193.22±5.17 olarak belirlemiştir. FRAP testi sonuçları ise metanol ekstraktı için 254.40±8.58, su ekstraktı için 160.01±4.14 mg TE/g olarak kaydetmiştir. Bununla birlikte Ndhlala et al. (2024), tarafından yapılan bir çalışmada, *L. stoechas* ve *T. sipyleus* bitkisinden elde ettikleri etanolik özütleri antioksidan testleri yapmıştır. DPPH, ABTS testinde 0,3mg/mL, FRAP analizlerinde ise 0,2 mg/mL konsantrasyon kullanmış ve standart antioksidanlardan olan BTH, BHA ve trolox ile karşılaştırmıştır. Sonuç olarak *L. stoechas* için DPPH, ABTS ve FRAP IC₅₀ değerleri 15.86±1.30, 18.75±1.60, ve 0.18±0.02 iken, *T.*

sipyleus için DPPH, ABTS ve FRAP IC₅₀ değerleri 38.85±4.02, 34.77±2.88 ve 0.25±0.01 olarak kaydetmişlerdir. Son olarak Niksic et al. (2018), tarafından yapılan farklı bir çalışmada, *Mentha spicata* yaprağından elde ettiği uçucu yağın antioksidan potansiyelini değerlendirmek için DPPH metodu kullanılmış ve esansiyel yağın 41.23 µg/mL gibi önemli düzeyde IC₅₀ değerine sahip olduğunu saptamıştır.

Antioksidan aktivitenin doğru ve kapsamlı bir şekilde değerlendirilmesi için antioksidan kapasiteyi hem daha güvenilir bir şekilde belirlemek hem de farklı mekanizmaları temel alan çoklu analizlerle antioksidan etkiyi tümüyle yansıtabilmek amacıyla DPPH, ABTS ve FRAP olmak üzere üç farklı test uygulanmıştır. Bu testler, serbest radikal giderme kapasitesi ve indirgeme gücü gibi farklı antioksidan mekanizmaları ortaya koyarak, incelenen bitkinin antioksidan potansiyelini çok yönlü bir şekilde değerlendirmemizi sağlamıştır. Bu tez çalışmasında incelenen *C. longiflorum* türünü, literatürde yer alan benzer türler ile karşılaştırdığımızda antioksidan aktivitesinin önemli oranda yüksek olduğu görülmektedir. Bitkinin antioksidan aktivitesinin yüksek oluşu içermiş olduğu yoğun fitokimyasal bileşikler ile ilişkilendirilebilir. *C. longiflorum* ekstraktında LC-MS/MS analizleri sonucunda, 38 farklı bileşene bakılmış olup 31 tanesi tespit edilmiş ancak yedi bileşenin varlığı görülmemiştir. Bunun yanında baskın konsantrasyonda beş farklı bileşen tespit edilmiştir. Bu bileşenlerin tanımlanması, kütle spektrumları ve karşılaştırmalı veri tabanı analizleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bulgular bitkinin kimyasal ve biyolojik aktiviteleri hakkında önemli bilgiler sunmaktadır. Baskın olarak bulunan biyoaktif bileşenler; naringin, hesperidin, rutin hidrat, benzoik asit ve eriodiktiol gibi fenolik ve flavonoid bileşenler olarak belirlenmiştir. Antioksidan aktivite açısından, bitkide baskın konsantrasyonda belirlenen beş bileşenin de kuvvetli antioksidan etki gösterdiği literatürde mevcuttur (Demirtaş, 2023; Yüce, 2006; Choi et al., 2022; Sarıkürkçü, 2020; Salehi et al., 2017; Mehmood et al., 2021; Lima et al., 2006; Rao et al., 2007).

Narenciye flavonoidi olarak bilinen ve özellikle turuncgillerde çok fazla bulunan naringin, pek çok bitkide incelenmiş olup, güçlü antioksidan özellik göstermesi ile bilinmektedir. Naringin flavonoidinin antioksidan etkisi, farklı hayvan türleri ve hücre hatları üzerinde yapılan çalışmalarla doğrulanmıştır. Bu bileşiğin önemli etkileri bulunmaktadır. Naringin, pro-oksidan enzimlerin inhibisyonu, metal iyonlarının şelasyonu ve aynı zamanda serbest radikalleri temizlemesiyle dikkat çekmektedir. Süperoksit ve hidroksil radikallerini etkili şekilde temizleyerek oksidatif stresi azaltmakta ve hatta oksidatif strese karşı kuvvetli bir

koruma kapasitesi sunmaktadır. Bu önemli etkilere ek olarak naringin, antioksidan enzimlerin fizyolojik etkilerini arttırarak oksidatif stresi azaltmaktadır (Demirtaş, 2023).

Bitkide bulunan flavonoidlerden bir diğeri olan hesperidin, yine naringin gibi turunçgillerde yaygın olarak bulunan bir flavonoiddir ve güçlü antioksidan özelliği yapılan çalışmalarla belirlenmiştir (Yüce, 2006). Antioksidan özelliğine ek olarak, anti-inflamatuvar, anti-allerjik, hipolipidemik, damar koruyucu ve anti-karsinojenik gibi pek çok biyolojik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Choi et al., 2022). Hesperidin antioksidan etkisini hem serbest oksijen radikallerini uzaklaştırarak hem de hücrel antioksidan savunma mekanizmasını ERK / NRF 2 sinyal yolağı aracılığıyla arttırarak göstermektedir (Engin, 2015).

Bitkide tespit edilen bir diğeri flavonoid olan rutin hidrat, serbest radikal temizleme özelliği ile bilinen bir flavonoiddir. Güçlü nöroprotektif ve antioksidan özelliklere sahip olan rutin hidratin antioksidan mekanizması, hücrelerin savunma sistemlerini aktive ederek oksidatif stresi azaltma kapasitesine dayanmaktadır. Fenolik bileşiklerin gen ifadesini düzenleyerek antioksidan savunma mekanizmalarını uyardığı bilinmekte olup, özellikle kuersetin'in Nrf2'nin çekirdeğe taşınmasını arttırarak peroksidasyona karşı hücrel yanıtı güçlendirdiği gösterilmiştir. Ayrıca serbest radikalleri temizleme ve hücrel stres yanıtını düzenleme yeteneği, rutin hidratin terapötik potansiyelini arttırmaktadır (Sarıkürkçü, 2020).

Bitkide yoğun konsantrasyonda çıkan önem arz eden bir diğeri fitokimyasal bileşen benzoik asittir. Benzoik asit, fenolik bir bileşik olup iyi antioksidan özellikleriyle bilinmektedir. Bu özelliği serbest radikalleri nötralize etmesine, metal iyonlarını şelatlamasına ve oksidatif stres sebebi ile oluşan hücrel hasarı engellemesine dayanmaktadır. Aynı zamanda lipit peroksidasyonunu inhibe edebildiği belirtilmektedir. Tüm bunlara ek olarak benzoik asit, gıda koruyucu olarak da kullanılan bir bileşendir (Salehi et al., 2017).

Son olarak baskın konsantrasyonda bulunan son fitokimyasal bileşen olan eriodiktiol'ün ise diğeri bileşenler gibi serbest radikal temizleme kapasitesine katkı sunarak antioksidan etki yarattığı yapılan çalışmalar ile doğrulanmıştır (Mehmood et al., 2021).

Bu bağlamda, çalışma kapsamında elde edilen yüksek antioksidan aktivitenin, belirlenen fenolik ve flavonoid bileşenlerden kaynaklandığı ve literatürle uyumlu olduğu görülmektedir. Daha önce de belirtildiği üzere, antioksidanlar hücre metabolizmasının toksik

yan ürünü olan serbest radikalleri azaltarak ya da etkisiz hale getirerek oksidan-antioksidan oranını dengeleyerek oksidatif dengeyi sağlamaktadır. Oksidatif dengenin bozulması durumunda zincirleme oksidasyon reaksiyonları meydana gelebilir ve bu durum da lipitleri, proteinleri ve nükleik asit yapılarını bozarak beraberinde birçok hastalığı getirebilir. Bu hastalıklara örnek olarak kanser, diyabet, nörodejeneratif ve kardiyovasküler rahatsızlıklar verilebilir (Lima et al., 2006; Rao et al., 2007). Sonuç olarak antioksidan etki diğer biyolojik aktivitelerle bağlantılıdır ve beraberinde çeşitli biyolojik süreçlerin aktif olarak sürdüğüne aynı zamanda hücrel işlevlerin korunmasına da katkıda bulunduğu işaret etmektedir.

Gelecekte yapılacak antioksidan çalışmaları için *C. longiflorum* bitkisinin iyi bir kaynak olabileceği ve potansiyel terapötik kullanımlar açısından kayda değer bir aday olabileceği düşünülmüştür.

5.2 Antikolinergik Aktivite Analiz Sonuçları

Alzheimer hastalığı tedavi edilemeyen bir hastalık olması bakımından son dönemlerde çok çalışılan ve araştırılan bir hastalık haline gelmiştir. Birçok bitki için antikolinergik etki merak konusudur. Bu çalışmada *C. longiflorum* bitkisinin antikolinergik aktivitesi, ChE enzimlerinden olan ve ACh nörotransmitterini hidroliz ederek kolinerjik sinir iletiminin düzenlenmesinde önemli bir rol oynayan AChE ve BChE enzimlerinin inhibisyon aktivitesi hesaplanarak bakılmıştır. Elde edilen bulgular IC₅₀ değeri olarak hesaplanmıştır. AChE (%) enzim inhibisyon aktivitesi mg/mL'de 0.805±0.185 raporlanırken, BChE (%) enzim inhibisyon aktivitesi ise mg/mL'de 1.033±0.045 olarak belirlenmiştir.

Literatürde *Cyclotrichium* türleri üzerinde antikolinergik etki çalışmaları bulunmaktadır. Bu çalışmalardan bir tanesi, Nilofar et al. (2024), tarafından gerçekleştirilmiştir. *C. glabrescens* bitkisinin hekzanlı, metanollü ve sulu özütlerini hazırlayıp bu ekstraktlarda antikolinergik etkiyi hem AChE hem de BChE enzimleri ile test etmişlerdir. Yaptıkları deney sonuçlarında *C. glabrescens* bitkisinin hekzanla hazırlanmış özütünde mg/g galantamin eşdeğerinde 2.71±0.25 sonucuna ulaşmış ve yine aynı özütte BChE aktivitesini 2.89±0,18 olarak kaydetmişlerdir. Bulunan bu veriler ışığında çalışmada *C. glabrescens* bitkisinin güçlü bir antikolinergik etkisinin bulunduğunu belirtilmiştir. Yine aynı cinse ait başka bir bitki olan *C. organifolium* bitkisinin antikolinergik etki çalışmaları Özer (2019), tarafından yapılmıştır. *C. organifolium* bitkisini infüzyon ve dekoksasyon ile hazırlayan Özer, AChE ve BChE enzim inhibisyon aktivitesine bakmıştır. İnfüzyon yöntemi ile hazırladığı örneklerin AChE

% inhibisyon aktivitesini 200 µg/mL’ de 58.40±1.12 olarak, BChE aktivitesini ise 35.21±0.99 olarak kayıt altına almıştır. Dekoksiyon yöntemi ile hazırladığında ise AChE için 40.94±2.52, BChE için ise 60.73±4.70 olarak kaydetmiştir. Bu iki enzim içinde % inhibisyon aktivitesi olduğu belirlenmiş fakat IC₅₀ değerleri hesaplanamamıştır. Lamiaceae familyasına genel olarak bakıldığında enzim inhibisyon çalışmalarının fazlaca olduğu görülmektedir. Antikolinergik etkisi incelenen birçok çalışma mevcuttur. Örneğin Kıvrak et al. (2009), *S. potentillifolia* bitkisinin hem % inhibisyon aktivitesine hem de IC₅₀ değerlerini hesaplamış ve bitkide µM’ de genel olarak farklı ekstraktlarda AChE ve BChE enzimlerinde 200 üstü IC₅₀ değeri görmüş dolayısıyla antikolinergik etkisinin olmadığı kanaatine varmışlardır. Bir diğer çalışma *S. ceratophylla* bitkisi üzerinde yapılmıştır. Uysal et al. (2021), yaptığı çalışmada bitkiden elde edilen farklı çözücüler ile hazırlanan özütlerde AChE ve BChE enzimlerinin hem % aktivitesine hem de IC₅₀ değerlerine odaklanmıştır. Sonucunda ise iki enzim için de *S. ceratophylla* bitkisinin iyi bir antikolinergik etkisinin bulunduğunu belirlemişlerdir. En iyi AChE enzimi IC₅₀ sonucu mg/mL⁻¹’de %80 metanol içeren su ve metanol karışık solvent karışımında görülmüştür. Bu değer 0.62±0.04 olarak kaydedilmiştir. BChE enzimi için ise en iyi değer 0.94±0.19 olarak çıkmış ve diklorometan ile hazırlanmış ekstraktta görülmüştür.

Elde edilen bulgular literatür ile kıyaslandığında *C. longiflorum* bitki ekstraktının AChE ve BChE enzimleri üzerindeki güçlü inhibisyon etkisini açıkça ortaya koymaktadır. Çalışmada bulunan IC₅₀ sonuçları her iki enziminde aktivitesini engellediği sonucunu göstermektedir. Verilere göre AChE, BChE enzimine kıyasla daha etkin sonuç verdiği görülmüştür. Bu sonuçlar ışığında *C. longiflorum* bitkisinin fitokimyasal profilinde yüksek konsantrasyonda bulunan bileşenlerin sinir iletimi mekanizmaları üzerinde çeşitli yollarla etki ederek kolinerjik sistemi modüle ettiği düşünülmüştür. Literatürde fenolik ve flavonoid bileşiklerin nöroprotektif etkilerinin antioksidan ve antikolinesteraz özelliklere sahip olduğu bilinmektedir. Merkezi sinir sistemi tarafından yüksek oranda oksijen kullanımı, dokuları oksidatif hasara karşı daha duyarlı hale getirir. Ek olarak, çalışmalar Alzheimer hastalığı olan hastaların beyinlerinde malondialdehit (MDA) ve hidroksinonenal gibi yüksek miktarda lipid peroksidasyon ürünlerinin bulunduğunu göstermiştir. Ademosun et al. (2016), yaptığı çalışma ile rutin hidratin antikolinergik etkisinin varlığını açıkça belirlemiştir. Ayrıca naringin bileşeninin de antikolinergik etkisi görülmüştür. Naringin’in antikolinergik etkisinin mekanizması, AChE inhibisyonuna katkı sağlayarak sinaptik asetilkolin seviyelerini

artırabileceği ile açıklanabilir. Ayrıca, nöronal inflamasyonu azaltarak kolinerjik sistemin korunmasına yardımcı olmaktadır (Demirtaş, 2023).

C. longiflorum bitkisinden elde edilen bu sonuçlar göz önüne alındığında nörolojik hastalıkların tedavisi için umut verici sonuçlar ile karşılaşmıştır. Aynı şekilde, bitki BChE inhibisyonunda görülen etkinliği ile yine dikkat çekmektedir. Sonuçlar *C. longiflorum* bitkisinin Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıklarda, hastalığa bağlı oluşan etkileri azaltabilecek ya da yavaşlatabilecek doğal bir kaynak olabileceğini düşündürmektedir.

5.3 Antidiyabetik Aktivite Analiz Sonuçları

Diyabet çok yaygın, farklı tipleri bulunan, kronik ve tüm yaş gruplarını etkileyen zor bir metabolizma hastalığıdır. İnsan vücudunda kanda glukoz seviyesinde bir denge bulunmaktadır. Bu denge insülin gibi hormonlar ile düzenlenir insülin-glukoz arasındaki dengenin çeşitli sorunlardan dolayı homeostaziyi sağlayamaması durumunda DM meydana gelmektedir (Altınışık, 2010). Karbonhidrat sindirim ve emilim azaltıcı birçok inhibitör tedavi olarak kullanılmaktadır. Yaygın olarak α -amilaz ve α -glukosidaz gibi temel enzimlerin faaliyeti ile kan glukoz seviyesi dengelenmektedir. Karbonhidrat yıkımında görevli olan α -amilaz ve α -glukosidaz enzimleriyle yapılan inhibisyon deneyleri antidiyabetik aktivite tayininde kullanılmaktadır. Enzim inhibisyonu deneylerinde hastalığın seyrinde görevli enzimler inhibe edilmeye çalışılır ve böylece hastalık kaynaklı etkiler azaltılabilir. Hastalığa bağlı oluşan sorunların en aza indirgenmesi ve hastaların hayat kalitesinin artırılması için birçok doğal kaynak üzerinde çalışmalar yapılmaktadır (Kalinovskii et al., 2023; Mohd Bukhari et al., 2017). Bu çalışmada *C. longiflorum* bitkisinin antidiyabetik etkisi araştırılmıştır. Bitkiler üzerinde çok fazla inhibisyon deneyi yapılmıştır. Fakat *C. longiflorum* ekstraktında, α -amilaz ve α -glukosidaz inhibitör etki yerine aktivatör etki göstermiştir. Bu durum yapılan deneylerde farklı bitki konsantrasyonları ile test edilmiş ve bitki konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesi artışı gözlemlenmesi ile açıkça ortaya konmuştur. Diğer yandan, pozitif kontrol olarak kullanılan Akarboz'un α -amilaz enzimi üzerindeki inhibitör etkisine ait IC_{50} değeri hesaplanmış ve $0,881 \pm 0,001$ mg/mL olarak belirlenmiştir. Elde edilen bu değer, çalışmada kullanılan metotların geçerliliğini teyit ederken, Akarboz'un enzime karşı yüksek inhibisyon gücünü de ortaya koymaktadır. Aktivasyon etkisinin ekstraktta sayıca çok bulunan bileşenlerin enzimlerin aktif bölgelerine tutunmasından kaynaklı olabileceği düşünülmüştür. Literatürde bazı bileşenlerin aktivatör etkisi gösterebildiği görülmüştür. Örneğin Menshaz and Altuner

(2020), yaptıkları çalışmada bazı bitkilerde bulunan bileşenlerin DM hastalarındaki α -amilazın inhibisyonu araştırırken naringenin flavonoidinin α -amilaz enzimine karşı iyi bir aktivatör olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Bir diğer çalışmada yine benzer bir sonuçla karşılaşmıştır. Tok (2024), yaptığı çalışmada iyon kanallarını bloke eden maddelerin karbonhidrat metabolizması ve diyabet üzerinde olumsuz etkilerini incelemiş ve bu inceleme sonucunda α -amilaz enzim deneylerinde naringenin enzimin aktivasyonuna neden olduğu, yüksek glukoz ortamında naringenin kas hücrelerinin şeker tüketimini teşvik edici etki gösterdiğini raporlamıştır.

Elde edilen sonuçlara göre, *C. longiflorum* bitkisinin içeriğinde naringin 2792.50 $\mu\text{g/g}$ oranıyla en yüksek bileşen olarak bulunmuştur. Naringin, naringenin glikozit formu olduğundan, biyolojik sistemlerde veya enzimatik ortamda naringenin oluşumu üzerinden etkili olabileceği düşünülmektedir. α -amilaz ve α -glukosidaz enzimlerine karşı gözlemlenen bu aktivite literatüre bakılarak naringenin polifenolün varlığı ile ilişkilendirilmiştir. Bitkide inhibitör etki bulunmadığından dolayı IC_{50} değeri hesaplanamamıştır. Bunun yerine, enzim aktivitesindeki artış miktarını değerlendirmek amacıyla ekstrakt konsantrasyonu ile enzim aktivasyonu arasında bir korelasyon incelenmiştir. Bu sonuç, *C. longiflorum* bitkisinin antidiyabetik etki mekanizmasının farklı bir yolla gerçekleşebileceğini ve inhibitörlerden ziyade enzim aktivatörleri olarak potansiyel bir terapötik etki sağlayabileceğini düşündürmüştür.

5.4 Toplam Fenolik ve Flavonoid İçerik Tayini Analiz Sonuçları

C. longiflorum bitkisinin toplam fenolik ve flavonoid bileşik tayin analizi, Folin-Ciocalteu kolorimetrik yöntemi ve Ramful ve arkadaşlarının yaptığı metot uyarlanarak spektrofotometrik olarak belirlenmiştir (Ramful et al., 2011). Deneyler sonucunda toplam fenolik bileşik tayini sonucu IC_{50} değeri olarak hesaplanmış ve mg/mL de 10.87 ± 0.234 olarak kayıt altına alınmıştır. Hesaplama gallik asit standardı kullanılarak elde edilen kalibrasyon eğrisi kullanılmıştır. Flavonoid içerik analizi sonucu IC_{50} değeri olarak hesaplanmış ve mg/mL de 57.82 ± 7.239 olarak raporlanmıştır. Kuarsetin standardı kullanılarak elde edilen kalibrasyon eğrisi ile mg/mL kuarsetin eşdeğerine dönüştürülerek hesaplamalarda kullanılmıştır.

Literatür taraması ile birçok Lamiaceae familyasına ait bitkide toplam fenolik ve flavonoid içeriğine bakıldığı görülmektedir. Bu durumun başlıca nedenleri bu deneylerin hem hızlı ve

etkili sonuç görülmesi hem de yapılacak diğer deneyler için zemin hazırlayacak olmasıdır. Çünkü bir bitkide fenolik ve flavonoid içerik ne kadar fazlaysa o bitkide terapötik etkilerde vardır şeklinde yorumlanabilir. Bu nedenle toplam fenolik ve flavonoid içeriğinin analiz edilmesi bitkinin biyolojik aktivitesi hakkında bilgi vereceğinden büyük önem arz etmektedir. Fenolik ve flavonoidlerin varlığı bitkilerde antioksidan görevi görerek serbest radikallerin zararlı etkilerini azaltacak ve oksidatif stresi engelleyecektir. Dolayısıyla oksidatif stresin beraberinde gelecek bir dizi rahatsızlığında önüne geçecektir.

Gülçin et al. (2008), *C. niveum* bitkisinin sulu ve etanollü ekstraktlarının toplam fenolik ve flavonoid analizine bakmış ve değerleri toplam fenolik bileşik sonuçlarını $\mu\text{g}/\text{mg}$ konsantrasyonda sulu ekstrakt için 32.21 ± 1.8 bulunurken etanollü özütte 37.21 ± 2.2 bulunmuştur. Flavonoid içerik tayininde ise sulu ekstrakt için 1.98 ± 0.15 , etanollü ekstrakt için ise 3.92 ± 0.17 olarak literatüre sunmuştur. Külcü et al. (2019), ikisi Lamiaceae familyasından olmak üzere 4 bitkinin farklı çözücüler ile hazırlanan ekstraktlarında toplam fenolik ve flavonoid içeriğine bakmış ve deneyler sonucunda *M. piperita*, ve *Thyme serpyllum* bitkisinde en yüksek sonucu veren çözücünün etanol olduğu sonucuna ulaşmıştır. Sonuçlar *M. piperita* için fenolik içerik tayininde $\mu\text{g}/\text{mL}$ de 137.69 ± 1.64 , flavonoidde 146.48 ± 5.42 çıkarken, *T. serpyllum* bitkisi için aynı sıra ile 155.79 ± 0.53 ve 300.06 ± 1.65 çıkmıştır. Selvi (2020), yaptığı bir çalışmada Lamiaceae familyasından 3 bitkinin metanollü ve etanollü özütlerinin toplam fenolik ve flavonoid içeriğine bakmış ve sonuç olarak *Salvia verticillata* bitkisinin hem metanol hem de etanollü ekstraktlarının analiz sonucunu en yüksek değer olarak kaydetmiştir. Bu değerlere göre *S. verticillata* bitkisinin toplam fenolik içeriği metanollü ekstraktı mg/g da 347.04 ± 1.42 çıkarken etanollü ekstraktta 51.90 ± 1.64 çıkmış ve flavonoid içerik analizinde yine metanol ve etanol olarak 116.01 ± 1.04 , 18.52 ± 0.77 değerini görmüştür.

Yukarıda bahsedilen sonuçlar ile elde edilen sonuçlar kıyaslandığında benzer sonuçlar görülmüştür. *C. longiflorum* bitkisi toplam fenolik ve flavonoid içerik analizleri sonucunda elde edilen veriler bitkinin fenol ve flavonoid bileşenler açısından zengin olduğunu göstermektedir. Bulunan sonuçlar yukarıda da bahsedildiği gibi bitkinin serbest radikal temizleme etkisinin kuvvetli olduğunu ve oksidatif stresi engelleyerek hastalıklara karşı koruma sağlayabileceğini göstermektedir. Aynı şekilde flavonoid analiz sonuçları sadece antioksidan etki ile değil aynı zamanda bitkide görülen antibakteriyel etki ile de bağdaşmıştır. Bu durum, *C. longiflorum* bitkisinin toplam fenolik ve flavonoid içerik

sonuçları ile gelecek yıllarda farmakolojik açıdan iyi bir kaynak olabileceğini düşündürmüştür.

5.5 Antibakteriyel Aktivite Analiz Sonuçları

Bu çalışmada, bitki ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesi, disk difüzyon yöntemi ve MİK testleri ile değerlendirilmiştir. *C. longiflorum* bitki ekstraktının, gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı farklı derecelerde antibakteriyel aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. Disk difüzyon testinde, *S. aureus* üzerinde 15.12 ± 1.499 mm, *E. coli* üzerinde 10.68 ± 1.396 mm inhibisyon zonu çapı gözlenmiştir. Pozitif kontrol sonuçları aynı sıralama ile 19.97 ± 0.587 , 27.80 ± 0.783 çıkmıştır. MİK değerleri ise sırasıyla bitki ekstraktlarının en düşük inhibisyon konsantrasyonu *S. aureus*'da 3.13 ± 0.00 mg/mL iken, *E. coli*'de 2.08 ± 0.90 mg/mL olarak belirlenmiştir. Pozitif kontrollerinde her iki bakterinin de MİK değeri mg/mL' de 0.39 ± 0.00 olarak belirlenmiştir. İki deney sonucunda negatif kontrolde herhangi bir aktivite gözlemlenmemiştir.

Çalışmanın net ve doğru sonuçlar sunması, aynı zamanda elde edilen verilerin sağlıklı bir şekilde karşılaştırılması büyük önem taşıdığından, deneysel prosedür titizlikle planlanmış ve uygulanmıştır. *C. longiflorum* bitkisinin antibakteriyel analizlerine ek olarak her bakteri için ekstra kontrol grupları da eklenmiştir. Deney düzeneğinde hem pozitif kontrol olarak kullanılan gentamisin, hem de negatif kontrol olarak kullanılan bitki ekstraktı çözücüsü ile güvenilir sonuçlara ulaşılması sağlanmıştır. Çalışma hedefi, yalnızca bilimsel literatüre katkı sunmak değil aynı zamanda ileride gerçekleştirilecek benzer araştırmalara sağlam bir kaynak oluşturmaktır. Her iki deneyde üç tekrarlı gerçekleştirilmiştir.

Literatür araştırması sonucunda *Cyclotrichium* türlerinin bazılarında antibakteriyel aktivite analizinin yapıldığı görülmektedir. Örneğin; Tepe et al. (2005), *C. organifolium* üzerinde yaptığı bir çalışmada, 14 farklı bakteri üzerinde farklı çözücüler ile hazırlanmış bitki ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesine bakmıştır. Antibakteriyel analiz yöntemi olarak hem disk difüzyon yöntemi ile hem de MİK yöntemine bakılmıştır. *S. aureus* bakterisi için elde edilen zon 11.0 ± 0.0 mm olarak kaydedilmiştir. Aynı zamanda *E. coli* bakterisi için de analiz yapılmış ve bu bakteri için ise 11.5 ± 0.5 mm zon görülmüştür. MİK değerlerine bakıldığında ise *S. aureus* bakterisinin MİK değeri (mg/mL^{-1}) 8.00 çıkarken, *E. coli* bakterisi için ise 4.00 çıkmıştır. Alim et al. (2015), *C. niveum* bitkisinin antibakteriyel etkisine bakmıştır. Buldukları sonuçlarda *S. aureus* bakterisi için disk difüzyon yönteminde

47.00±1.2 çıkarken, bu sonuçları pozitif kontrol olarak kullandıkları gentamisin ile kıyaslamışlardır. Gentamisinin oranını bu bakteri için 23±0.76 mm olarak raporlamışlardır. *E. coli* bakterisi için ise 12.00±0.76 mm zon görmüşlerdir. Aynı çalışmada MİK analizi de yapan Alim ve arkadaşları sonuçları *S. aureus* ve *E. coli* için sırasıyla, 3.12 ve 25.00 µg/mL olarak kaydetmişlerdir. Yıldız et al. (2017), Lamiaceae familyasına ait olan dört farklı bitki üzerinde antibakteriyel aktiviteyi disk difüzyon yöntemi ile çalışmıştır. Buldukları sonuçlar *S. aureus* bakterisi için sırasıyla *L. angustifolia*, *Melissa officinalis*, *O. vulgare* ve *S. officinalis* için 18.525±0.303, 16.875±0.072, 41.025±0.563, 13.500±0.289 çıkarken, *E. coli* bakterisi için ise 10.00±0.00, 13.00±0.00, 29.00±0.00, 8.00±0.00 mm olarak raporlamıştır. (Ramos Da Silva et al., 2021), farklı antibakteriyel testler ile birçok bitkinin antibakteriyel etkisine bakmış ve disk difüzyon yöntemi için *M. spicata* bitkisi için *S.aureus* bakterisinde 8–13 mm, *E. coli* bakterisinde ise 11.8–21 mm arasında bir sonuç kaydetmiştir. Sprea et al. (2022), 6 farklı Lamiaceae familyasına ait türde MİK deneyini yapmış ve *S. aureus* ve *E. coli* bakterisinde değerler 1-2 mg/mL arasında çıkmıştır.

Disk difüzyon deneyinde, *C. longiflorum* ekstraktı pozitif kontrol olarak kullanılan gentamisin ile kıyaslandığında, gram pozitif bakteri olan *S. aureus* bakterisinin inhibisyon zonunun gentamisine göre daha düşük olduğu fakat gram negatif bakteri olan *E. coli* bakterisine karşı daha fazla zonun olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum gram pozitif ve negatif bakterilerin hücre duvarındaki farklılıklarla açıklanabilir. Gram pozitif bakteri grubunun hücre duvar yapısı gram negatif bakterilere göre daha basit yapılıdır bu nedenle hidrofobik moleküllerin hücre içerisine girmesini kolaylaştırır. Bitkilerde bulunan uçucu bileşiklerin hidrofobik yapılı olması sayesinde, bakteriyel hücre zarını ve mitokondri yapılarını bozduğu, zar proteinlerine, stoplazmik membrana zarar verdiği bu sebeple hücre içeriğinin sızmasıyla daha geçirgen hale getirdiği bilinmektedir. *C. longiflorum*'un antibakteriyel etkisinin hidrofilik yapılı fitokimyasal bileşenlerle ve diğer aktiviteler ile bağlantılı olduğu söylenebilir. LC-MS/MS analizinde yüksek konsantrasyonda saptanan naringinin, antibakteriyel etkisi yapılan çoğu çalışmada görülmüştür. Bu çalışmalarını derleyen, Zhao and Liu (2021), naringinin antibakteriyel etkisinin varlığını pek çok çalışma ile doğrulamıştır.

Naringin bakteride oksidatif strese yol açarak bakteri biyofilmine ve bakteriyel membrana zarar vermekte ve bakteri hücre yapılarını bozduğu için antibakteriyel aktivite göstermektedir (Zhao and Liu, 2021; Yang et al., 2020; Sağlam vd., 2022).

MİK yönteminde ise gentamisin her iki bakteri için 0.39 ± 0.00 olarak hesaplanmıştır. Bu pozitif kontrol gentamisin çok düşük bir konsantrasyonda bakterileri durdurduğu anlamına gelmektedir. Bu deney sonucunda disk difüzyon yönteminden farklı olarak *E. coli* bakterisinin bitkiye 2.08 ± 0.90 konsantrasyondaki oranıyla daha duyarlı olduğu görülmektedir. Bu olağan dışı bir durum olarak değerlendirilebilir çünkü normal şartlarda gram pozitif bakterilerin yapıları, bitkilerin içerisinde bulunan fitokimyasallar sayesinde daha geçirgen olur ve bu nedenle daha duyarlıdır. Fakat deney sonucunda *E. coli*, *S. aureus* bakterisine oranla daha duyarlı çıkmıştır. Bunun nedeninin *S. aureus* bakterisinin direnç kazanmış olabileceği düşünülmektedir. Çalışma, *C. longiflorum* bitkisinin antibakteriyel etkisinin güçlü olduğunu ortaya koymuştur. Literatür ile karşılaştırıldığında bitki disk difüzyon yönteminde geniş zon çapları ve pozitif kontrole yakınlığı ile her iki bakteriye karşı etkinlik göstermiş olup, MİK deneyinde ise antibakteriyel etkisinin güçlü olduğunu göstermiştir.

Elde edilen bulgular, bitkinin güçlü antibakteriyel özelliklere sahip olabileceğini ve bu doğrultuda potansiyel bir doğal antimikrobiyal ajan olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir.

5.6 LC-MS/MS Analiz Sonuçları

Bitkinin fitokimyasal analizi için LC-MS/MS yöntemi kullanılmıştır. Analiz için toplam 38 fitokimyasal bileşene bakılmış ve toplam 31 adet fitokimyasalın varlığı saptanmıştır. Yedi bileşene rastlanmamıştır. Elde edilen bulgular Tablo 4.9'da belirtilmiştir. Yapılan analiz sonucunda en çok bulunan fitokimyasallar; naringin, hesperidin, rutin hidrat, benzoik, eriodiktiol olmuştur. Teşhis edilemeyenler bileşenler, 2-Hidroksisinamik asit, homovanilik asit, oleuropein, pirokatekol, resveratrol, sinapik asit olarak raporlanmıştır.

C. longiflorum bitkisinde en çok çıkan bileşen naringin olmuştur. Bitki özütünde $2792.5 \mu\text{g/g}$ çıkmıştır. Naringin turunçgillerdeki ana biyoaktif polifenollerdir. Literatürde naringin ile ilgili kapsamlı bir araştırma tarafından yapılmıştır. Naringin ile ilgili yapılan analizleri özetleyen, Chen et al. (2016), naringin flavonoidinin antioksidan, antienflamatuvar, anti-apoptotik, ülser önleyici, osteoporoz önleyici ve kanser önleyici özelliklere sahip olduğunu belirten çalışmalardan bahsetmiştir. Yine benzer özelliklerden bahseden Zhao and Liu (2021), naringin flavonoidinin biyoaktivite ve ilgili mekanizma açısından incelemiş ve esas

olarak antioksidan ve anti-inflamatuar etkilere sahip olduğunu ve kalp, obezite, metabolik hastalıklar gibi birçok rahatsızlığın tedavisinde kullanılabilecek potansiyel bir kaynak olduğundan bahsetmiştir. Bir başka çalışmada Ahmed et al. (2019), naringinin nörolojik hastalıklarla ilgisi olup olmadığını araştırılmış ve antikolinergik aktivite görülmüştür bu durum sonucu naringinin daha fazla araştırılması gereken bir flavonoid olduğunu belirtmiştir. Bitkide en çok çıkan flavonoidden bir diğeri hesperidin olarak ölçülmüştür. Hesperidin naringin gibi genel olarak turunçgillerde çok bulunan bir bileşendir. Hesperidin birçok fitokimyasal gibi dikkat çekmekte ve üzerinde yapılmış çok fazla biyoaktivite çalışmaları bulunmaktadır. Bu çalışmalardan bazılarını ele alan Ganeshpurkar and Saluja, (2019), hesperidin karaciğer, böbrek, kalp ve yaşa bağlı hafıza kaybı üzerinde önemli koruyucu etkisini göstermiş çalışmaların varlığından bahsetmiştir. Biyoaktivite olarak özellikle antimikrobiyal, antikanser, antihipertansif ve antiülser etkiler raporlanmıştır. Hesperidin üzerinde çeşitli antioksidan testler yapan Wilmsen et al. (2005), çalışmada kuvvetli bir antioksidan etki gösterdiğini belirtmiştir. Ayrıca Mas Capdevila et al. (2020), hesperidin oksidatif stresi azaltarak kan basıncı üzerinde önemli etkilere sahip olduğu, antihipertansif olduğu ve tansiyon rahatsızlıklarında kullanılabilecek bir flavonoid olduğu bildirilmiştir.

En fazla çıkan bir diğeri rutin hidrat olarak kaydedilmiştir. Rutin hidratın en temel bilinen terapötik özelliği antioksidan etkisinin bulunmasıdır. Serbest hidroksil gruplarının varlığı nedeniyle rutin hidrat reaktif oksijen türlerini nötralize etme yeteneğine sahiptir ve böylece oksidatif dengeyi antioksidan özelliği ile sağlamaktadır. Ayriyeten kardiyovasküler etkilerinin olduğunu belirtilmiştir (Mostafa et al., 2019). Ayrıca rutin hidratın antibakteriyel etkisi olduğu da bilinmektedir (Miklasinska Majdanik et al., 2023).

Yüksek oranda çıkan diğeri bileşenler benzoik asit ve eriodiktioldür. Doğal maddelerde benzoik asit türevleri ve sinamik asit türevleri vardır. Benzoik asit türevlerinin antioksidan ve antibakteriyel etkilerinin olduğunu Kalinowska et al. (2021), raporlanmıştır. Eriodiktiol, bir flavonoiddir. Çeşitli tıbbi bitkilerde, turunçgillerde ve sebzelerde bol miktarda bulunur. Eriodiktiol flavonoidinin önemli tıbbi özelliklere sahip olduğu görülmüştür. İslam et al. (2020), eriodiktiolün özellikle antioksidan, anti-inflamatuar, antikanser, nöroprotektif, kardiyoprotektif, anti-diyabetik, anti-obezite, hepatoprotektif etkilerine değinmiştir. Sonuç olarak, LC-MS/MS analizi *C. longiflorum* bitkisinin içerdiği bileşiklerin kapsamlı bir

profilini sunarak, antikolinergik, antidiyabetik ve antioksidan aktivitelerinin potansiyel biyolojik etkileri hakkında değerli bilgiler sağlamıştır.

Çalışmada yer alan *C. longiflorum* bitkisine yönelik gerçekleştirilen çeşitli biyolojik ve kimyasal analizlerin genel sonuçları Tablo 5.1' de bütüncül olarak sunulmuştur; elde edilen verilere göre örneğin antibakteriyel ve antioksidan aktivite gösterdiği, antikolinergik enzimleri inhibe ettiği, antidiyabetik enzimler üzerinde ise aktivatör etki oluşturduğu, fenolik ve flavonoid içeriğinin yüksek olduğu ve LC-MS/MS analizlerinde naringin, hesperidin, rutin, benzoik asit ve eriodiktiol gibi öne çıkan beş fitokimyasalın yüksek oranda tespit edildiği belirlenmiştir.

Tablo 5.1: Çalışmada elde edilen tüm verilerin genel tablosu

Deneyler	Sonuçları
Antioksidan deney sonuçları (IC₅₀ Değerleri)	
DPPH	0.168±0.026
ABTS	0.215±0.134
FRAP	33.57±2.60
AChE ve BChE enzim aktivitesi sonuçları (IC₅₀ Değerleri)	
AChE	0.805±0.185
BChE	1.033±0.045
α-amilaz ve α-glukosidaz enzim aktivitesi sonuçları (IC₅₀ Değerleri)	
α-amilaz	-
α-glukosidaz	-
Akarboz	0,881±0,001
Toplam Fenolik ve Flavonoid İçerik Tayini Analiz Sonuçları (IC₅₀ Değerleri)	
Fenolik Analiz	10.87±0.234
Flavonoid Analiz	57.82±7.239
Antibakteriyel analiz disk difüzyon metodu(mm)	
<i>S. aureus</i> bakterisine karşı <i>C. longiflorum</i>	15.12±1.499
<i>S. aureus</i> bakterisine karşı Gentamisin	19.97±0.587
<i>E. coli</i> bakterisine karşı <i>C. longiflorum</i>	10.68±1.396
<i>E. coli</i> bakterisine karşı Gentamisin	27.80±0.783
Antibakteriyel analiz MİK (mg/mL)	
<i>S. aureus</i> MİK değeri <i>C. longiflorum</i>	3.13±0.00
<i>S. aureus</i> MİK değeri Gentamisin	0.39±0.00
<i>E. coli</i> MİK değeri <i>C. longiflorum</i>	2.08±0.90
<i>E. coli</i> MİK değeri Gentamisin	0.39±0.00
LC-MS/MS Analizi Sonuçları(µg/g)	
Naringin	2792.50
Hesperidin	607.32±27.28
Rutin hidrat	515.22
Benzoik	285.40
Eriodictyol	218.48±15.89

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında *C. longiflorum* bitkisinin metanol etanol ve su ile oluşturulmuş solvent karışımının antioksidan analizleri DPPH, ABTS ve FRAP Metotları ile incelenmiş ve yapılan üç deney sonucunda da bitkinin yüksek seviyede antioksidan aktivite etkisinin olduğu görülmüştür. Antioksidan etki ile ilişkili olacağı düşünülen toplam fenolik içerik tayini ve toplam flavonoid içeriği tayini yapılmış her iki deneyde de iyi fenolik ve flavonoid oranı görülmüştür. Bitkide antioksidana ek olarak antikolinerjik ve antidiyabetik etkisinin olup olmadığını araştırmak için enzim inhibisyon çalışmalarında dört önemli enzim kullanılmıştır. Antikolinerjik aktivite analizini incelemek için AChE ve BChE enzim inhibisyon deneyleri gerçekleştirilmiş ve bitkinin her iki enzimi de iyi şekilde inhibe ettiği gözlemlenmiştir. Antidiyabetik etki için α -amilaz ve α -glukozidaz enzimi kullanılmıştır. Bitkinin bu iki enzimi de inhibe edeceği düşünülmüştür ancak tam tersi önemli boyutta aktive ettiği görülmüştür. Yapılan deneylerin sonuçlarının fitokimyasal bileşenler ile ilişkili olacağı düşünüldüğünden fitokimyasal bileşen analizi LC-MS/MS yöntemi ile belirlenmiş sonuç olarak bitkide yüksek miktarlarda naringin, hesperidin, rutin hidrat, benzoik, eriodiktiol asit gibi bileşenler dikkat çekmiştir. Tüm bu bileşenler *C. longiflorum* bitkisinde görülen biyolojik aktiviteleri destekler niteliktedir. Son olarak antibakteriyel etki için disk difüzyon ve MİK yöntemi denenmiş ve özellikle disk difüzyon metodunda bitkinin *S. aureus* bakterisine karşı önemli boyutta zon oluşturduğu dikkat çekmiştir.

C. longiflorum bitkisi üzerinde yapılan çalışmaların sınırlı oluşu, bitkide bakılması planlanan biyolojik aktivitelerinin önemini vurgulamaktadır. Bu sayede *C. longiflorum* bitkisi için geniş bir biyolojik aktivite yelpazesi incelenebilir. Örneğin bitkinin antienflamatuvar, sitotoksik, antiviral ve daha pek çok biyolojik aktivitesine bakılabilir.

Bitkinin hangi çözücüde daha iyi biyolojik aktivite göstereceğini belirlemek için farklı çözücüler ile ekstraktlar hazırlanıp bu ekstraktlar karşılaştırmalı olarak analiz edilebilir.

Bu bitkinin bileşik profili ve aktif bileşenlerinin belirlenmesi amacıyla GC-MS (Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi) yöntemi kullanılabilir. Bu analiz, uçucu bileşiklerin ve diğer organik bileşiklerin ayrılmasını sağladığı için kullanılabilir.

Bitkide antidiyabetik aktivite için bakılan enzim inhibisyon deneylerinde literatürde çok karşılaşılmayan ancak bazı fenolik ve flavonoid bileşiklerin fazla olması ile olabilecek aktivatör etki görülmüştür. Yapılan deneydeki bitki konsantrasyonları azaltılarak tekrar antidiyabetik aktivite çalışmaları yapılabilir.

Bitkide farklı antioksidan deneyleri ve farklı enzim deneyleri çalışılabilir.

Sonuç olarak tez çalışmasında yer alan deneylerden elde edilecek bulguların farmakoloji alanında yapılacak çalışmalara ve gıda teknolojisine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

- Ademosun, A.O., Oboh, G., Bello, F., and Ayeni, P.O.,** (2016). Antioxidative properties and effect of quercetin and its glycosylated form (Rutin) on acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activities. *Journal of Evidence-based Complementary & Alternative Medicine*, 21(4):11-17 p.
- Ahmed, S., Khan, H., Aschner, M., Hasan, M.M., and Hassan, S.T.,** (2019). Therapeutic potential of naringin in neurological disorders. *Food and Chemical Toxicology*, 132:110646.
- Akgül, A.,** (1993). Baharat bilimi ve teknolojisi. *Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları*, 15:111-113 s.
- Aktepe, N., Baran, A., Atalar, M. N., Baran, M.F., Keskin, C., Taşkin, A., Yavuz, Ö., Demirtaş, İ., Oğuz, E., and Jahan, I.,** (2023). Analysis of bioactive compounds using LC–ESI–MS/MS, cytotoxic, antimicrobial effects, and enzyme activities from *Cyclotrichium origanifolium*. *Chemical Biology & Drug Design*, 101(3):740-748 p.
- Alaca, F. ve Arslan, N.,** (2012). Sekonder metabolitlerin bitkiler açısından önemi. *Ziraat Mühendisliği*, (358):48-55 p.
- Alim, A., Goze, I., Çetin, A., Ataş, A.D., Vural, N., and Donmez, E.,** (2009). Antimicrobial activity of the essential oil of *Cyclotrichium niveum* (Boiss.) Manden. Et Scheng. *African Journal of Microbiology Research*, 3(8):422-425 p.
- Alkayarı, R., Şahin, Z., Sonmez, F., and Küçükislamoğlu, M.,** (2024). *Beta vulgaris* L. extract: pH effect on total phenolic content and antioxidant properties. *Sakarya University Journal of Science*, 28(3): 589-593 p.
- Altın, A., Atalay, H., ve Bilal, T.,** (2018). Serbest radikaller ve stres ile ilişkisi. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 7(1):51-55 s.
- Altınışık, M.,** (2010). Karbonhidrat metabolizması bozukluklarına biyokimyasal yaklaşım. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 11(1):51-59 s.
- Antil, R., Singh, L., Gahlawat, D.K., and Dahiya, P.,** (2020). Antimicrobial, phytochemical and antioxidant potential of Lamiaceae family plant: *L.aspera* (Willd.)Linn. *Plant Archives*, 20(1):616-630 p.
- Arıtuluk, Z.C. ve Ezer, N.,** (2012). Halk arasında diyabete karşı kullanılan bitkiler Türkiye-II. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, (2):179-208 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Aslan, S.N. ve Karahalil, B.,** (2019). Oksidatif stres ve parkinson hastalığı. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 43(1):94-116 s.
- Aslan, S., Fırat, M., and Konuklugil, B.,** (2007). Essential oil of *Cyclotrichium longiflorum* leblebici. *Chemistry of Natural Compounds*, 43(6):724-725 p.
- Atak, E., Yıldız, E., ve Uslu, M.E.,** (2017). Fenolik bileşiklerin enkapsülasyonu. *Soma Meslek Yüksekokulu Teknik Bilimler Dergisi*, 2(24):82-92 s.
- Atınc, M. ve Kalkan, İ.,** (2018). Flavonoidler ve sağlık üzerine etkileri. *Aydın Gastronomy*, 2(1):31-38 s.
- Bacanlı, M., Taner, G., Başaran, A.A., ve Başaran, N.,** (2015). Bitkisel kaynaklı fenolik yapıdaki bileşikler ve sağlığa yararlı etkileri. *Journal of Literature Pharmacy Sciences*, 4(1):9-16 s.
- Bakır, Ö.,** (2020). Sekonder metabolitler ve rolleri. *Uluslararası Anadolu Ziraat Mühendisliği Bilimleri Dergisi*, 2(4):39-45 s.
- Baydar, H.,** (2005). Tıbbi aromatik ve keyf bitkileri bilim ve teknolojisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Yayınları*, (51):216 s.
- Bayhan, H.,** (2022). Bazı Endemik *Cirsium* Türlerinin Hidrojen Peroksit (H₂O₂) ile İndüklenmiş Olan İnsan Lenfosit Hücrelerindeki Sitotoksik ve Genotoksik Etkilerinin Giderilmesindeki Potansiyelinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 134s.
- Berman, H.A., Yguerabide, J., and Taylor, P.,** (1980). Fluorescence energy transfer on acetylcholinesterase: spatial relationship between peripheral site and active center. *Biochemistry*, 19(10):2226-2235 p.
- Bibi Sadeer, N., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., and Mahomoodally, M.F.,** (2020). The versatility of antioxidant assays in food science and safety—Chemistry, applications, strengths, and limitations. *Antioxidants*, 9(8):709 p.
- Bilaloğlu, M., Ergün, A., ve Ateş, E.G.,** (2024). Glisemik indeksi yüksek ve düşük diyetle beslenen başkent üniversitesi öğrencilerinde akut plazma glikoz düzeyinin incelenmesi. *TOGÜ Sağlık Bilimleri Dergisi*, 4(3):270-282 s.
- Birman, H.,** (2012). Bioactivities of plant flavonoids and the possible action mechanisms. *Journal Of İstanbul Faculty of Medicine- İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi*, 75(3):46-47 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Chander, R., Maurya, A.K., Kumar, K., Kumari, S., Kumar, R., and Agnihotri, V.K.,** (2023). In vitro antidiabetic and antimicrobial activity of *Dracocephalum heterophyllum* Benth. essential oil from different sites of North-western Himalayas India. *Natural Product Research*, 37(6):1002-1005 p.
- Chassagne, F., Samarakoon, T., Porras, G., Lyles, J.T., Dettweiler, M., Marquez, L., Salam, A.M., Shabih, S., Farrokhi D.R., and Quave, C.L.,** (2021). A systematic review of plants with antibacterial activities: A taxonomic and phylogenetic perspective. *Frontiers in Pharmacology*, 11:586548.
- Chen, R., Qi, Q. L., Wang, M. T., and Li, Q.Y.,** (2016). Therapeutic potential of naringin: an overview. *Pharmaceutical Biology*, 54(12): 3203-3210 p.
- Choi, S.S., Lee, S.H., and Lee, K.A.,** (2022). A comparative study of hesperetin, hesperidin and hesperidin glucoside: Antioxidant, anti-inflammatory, and antibacterial activities in vitro. *Antioxidants*, 11(8):1618 p.
- Contestabile, A.,** (2011). The history of the cholinergic hypothesis. *Behavioural brain research*, 221(2):334-340 p.
- Coşansu, G.,** (2015). Diyabet: Küresel bir salgın hastalık. *Okmeydanı Tıp Dergisi*, 31:1-6 s.
- Croteau, R., Kutchan, T.M., and Lewis, N.G.,** (2000). Natural products (secondary metabolites). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, 24:1250-1319 p.
- Çatak, E. ve Atalay, A.,** (2022). Lamiaceae (Labiataea)(Ballıbabagiller) familyası'nın ekonomik ve tıbbi değerleri. *Euroasia Journal of Mathematics, Engineering, Natural & Medical Sciences*, 9(20):150-157 s.
- Das, U.N.,** (2012). Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase as markers of low-grade systemic inflammation. *Annals of Hepatology*, 11(3):409-411 p.
- Davies, K.J.,** (2000). Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. *IUBMB Life*, 50(4-5):279-289 p.
- Dawidowicz, A.L. and Olszowy, M.,** (2013). The importance of solvent type in estimating antioxidant properties of phenolic compounds by ABTS assay. *European Food Research and Technology*, 236:1099-1105 p.
- Demir, Z. ve Türkan, F.,** (2022). Asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz enzimlerinin Alzheimer hastalığı ile ilişkisi. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 12(4):2386-2395 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Demirtaş, E.**, (2023). Naringenin Nedir?. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 49(2):18-28 s.
- Deveci, H. A., Nur, G., Kırpık, M.A., Harmankaya, A., ve Yıldız, Y.**, (2016). Fenolik bileşik içeren bitkisel antioksidanlar. *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(1):26-32 s.
- Dinççağ, N.**, (2011). Diabetes mellitus tanı ve tedavisinde güncel durum. *İç Hastalıkları Dergisi*, 18(4):181-223 s.
- Dirmenci, T., DüNDAR, E., Deniz, G., Arabacı, T., Martin, E., and Jamzad, Z.**, (2010). Morphological, karyological and phylogenetic evaluation of *Cyclotrichium*: a piece in the tribe *Mentheae* puzzle. *Turkish Journal of Botany*, 34(3):159-170 p.
- Engin, C.**, (2015). Beyin Glioblastoma Hücre Hattı Üzerinde Hesperidinin Antikarsinojenik Etkisinin İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 52s.
- Ekin, H. N., Deliorman Orhan, D., Erdoğan Orhan, İ., Orhan, N., and Aslan, M.**, (2019). Evaluation of enzyme inhibitory and antioxidant activity of some Lamiaceae plants. *Journal of Research in Pharmacy*, 23(4):749-758 p.
- Elbouzidi, A., Taibi, M., El Hachlafi, N., Haddou, M., Jeddi, M., Baraich, A., Aouraghe, A., Bellaouchi, R., Mothana, R. A., Hawwal, M. F., Mesnard, F., Hano, C., Asehraou, A., Chaabane, K., El Guerrouj, B., and Addi, M.**, (2024). Formulation of a three-component essential oil mixture from *Lavandula dentata*, *Rosmarinus officinalis*, and *Myrtus communis* for improved antioxidant activity. *Pharmaceuticals*, 17(8):1071 p.
- Ellman, G. L., Courtney, K.D., Andres Jr, V., and Featherstone, R.M.**, (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2):88-95 p.
- Emen, S., Çeken, B., Kızıl, G., and Kızıl, M.**, (2009). DNA damage protecting activity and in vitro antioxidant potential of the methanol extract of *Cyclotrichium niveum*. *Pharmaceutical Biology*, 47(3):219-229 p.
- Erdem, C.**, (2022). *Sarcopoterium spinosum* (abdestbozan) Bitkisinin Toprak Üstü Kısmının Antidiyabetik Aktivitesinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 147s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ferhat, M., Erol, E., Beladjila, K. A., Çetintaş, Y., Duru, M. E., Öztürk, M., ... and Kabouche, Z.,** (2017). Antioxidant, anticholinesterase and antibacterial activities of *Stachys guyoniana* and *Mentha aquatica*. *Pharmaceutical Biology*, 55(1): 324-329 p.
- Ferreira, L. S., Fernandes, C. S., Vieira, M. N., and De Felice, F. G.,** (2018). Insulin resistance in Alzheimer's disease. *Frontiers in Neuroscience*, 12:830 p.
- Floyd, R.A.,** (1990). Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia. *The FASEB Journal*, 4(9):2587-2597 p.
- Ganeshpurkar, A., and Saluja, A.,** (2019). The pharmacological potential of hesperidin. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, 56(4): 287-300 p.
- Göze, I., Cetin, A., and Goze, A.,** (2010). Investigation of effects of essential oils of *Origanum minutiflorum* O Schwarz PH Davis and *Cyclotrichium niveum* (Labiatae) plants on angiogenesis in shell-less chick embryo culture. *African Journal of Biotechnology*, 9(14):2156-2160 p.
- Greig, N.H., Lahiri, D.K., and Sambamurti, K.,** (2002). Butyrylcholinesterase: an important new target in Alzheimer's disease therapy. *International Psychogeriatrics*, 14(S1):77-91 p.
- Gülçin, I., Tel, A.Z., and Kirecci, E.,** (2008). Antioxidant, antimicrobial, antifungal, and antiradical activities of *Cyclotrichium niveum* (Boiss.) Manden and Scheng. *International Journal of Food Properties*, 11(2):450-471 p.
- Gülçin, İ. and Alwasel, S.H.,** (2023). DPPH radical scavenging assay. *Processes*, 11(8):2248 p.
- Gülçin, İ., Bingöl, Z., Taslimi, P., Gören, A. C., Alwasel, S. H., and Tel, A.Z.,** (2022). Polyphenol contents, potential antioxidant, anticholinergic and antidiabetic properties of mountain mint (*Cyclotrichium leucotrichum*). *Chemistry & Biodiversity*, 19(3): e202100775.
- Guzel, A., Aksit, H., Elmastas, M., and Erenler, R.,** (2017). Bioassay-guided isolation and identification of antioxidant flavonoids from *Cyclotrichium origanifolium* (Labill.) Manden and Scheng. *Pharmacognosy Magazine*, 13(50):316 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Gül, Ç.**, (2019). Mersin Bölgesinde Yetişen *Hypericum perforatum* L.(kantaron), *Urtica dioica* L. (ısırgan otu) ve *Lavandula officinalis* (lavanta) Bitkilerinden Süperkritik Ekstraksiyon Yöntemiyle Elde Edilen Özütlerin Antioksidan ve Antimikrobiyal Etkilerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 79s.
- Gümüş, H.**, (2014). Akarbozun asidozis üzerine etkisi. *Mehmet Akif Ersoy University Journal of Health Sciences Institute*, 2(1):42-49 s.
- Güzel, A.**, (2023a). Tüylü çayın (*Stachys lavandulifolia*) fitokimyasal analizi ve antioksidan, antikolinesteraz ve antiaterojenik aktivitesi. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 13(4):2809-2817 s.
- Güzel, A.**, (2023b). Relationship between phenolic content determined by LC/MS/MS and antioxidant capacity and enzyme inhibition of *Cyclotrichium niveum* L. *Chemistry & Biodiversity*, 20(4):e202300027.
- Haight, R.**, (1986). Safety and necessity of antioxidants: EEC approach. *Food and Chemical Toxicology*, 24(10-11):1031-1034 p.
- Hampton, M.B., Kettle, A.J., and Winterbourn, C.C.**, (1998). Inside the neutrophil phagosome: oxidants, myeloperoxidase, and bacterial killing, Blood. *The Journal of the American Society of Hematology*, 92(9):3007-3017 p.
- Herrmann, N., Chau, S.A., Kircanski, I., and Lanctot, K.L.**, (2011). Current and emerging drug treatment options for Alzheimer's disease: a systematic review. *Drugs*, 71: 2031-2065 p.
- Hybertson, B. M., Gao, B., Bose, S.K., and McCord, J.M.**, (2011). Oxidative stress in health and disease: the therapeutic potential of Nrf2 activation. *Molecular Aspects of Medicine*, 32(4-6):234-246 p.
- Imramovsky, A., Pejchal, V., Stepankova, S., Vorcakova, K., Jampilek, J., Vanco, J., ... and Trejtnar, F.**, (2013). Synthesis and in vitro evaluation of new derivatives of 2-substituted-6-fluorobenzo [d] thiazoles as cholinesterase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 21(7):1735-1748 p.
- Islam, A., Islam, M.S., Rahman, M.K., Uddin, M.N., and Akanda, M.R.**, (2020). The pharmacological and biological roles of eriodictyol. *Archives of Pharmacal Research*, 43:582-592 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Işık, A., Çevik, U.A., Erçetin, T., ve Koçak, A.,** (2022). Yeni tiyazolil-hidrazin türevlerinin sentezi ve asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirikolinesteraz (BuChE) aktivite çalışmaları. *Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 9(1):277-285 s.
- İpek, H.O.,** (2018). Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryum'undaki (ANK) *Salvia* (Lamiaceae) Cinsinin Revizyonu. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi.
- Kalinowska, M., Golebiewska, E., Swiderski, G., Meczynska-Wielgosz, S., Lewandowska, H., Pietryczuk, A., ... and Lewandowski, W.,** (2021). Plant-derived and dietary hydroxybenzoic acids a comprehensive study of structural, anti-pro-oxidant, lipophilic, antimicrobial, and cytotoxic activity in MDA-MB-231 and MCF-7 cell lines. *Nutrients*, 13(9):3107 p.
- Kalinovskii, A.P., Sintsova, O.V., Gladkikh, I.N., and Leychenko, E.V.,** (2023). Natural inhibitors of mammalian α -Amylases as promising drugs for the treatment of metabolic diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(22):16514 p.
- Kanofsky, J.R.,** (1989). Singlet oxygen production by biological systems. *Chemico-biological Interactions*, 70(1-2):1-28 p.
- Karabulut, H. ve Gülay, M.Ş.,** (2016a). Antioksidanlar. *Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University*, 1(1):65-76 s.
- Karabulut, H. ve Gülay, M.Ş.,** (2016b). Serbest radikaller. *Mehmet Akif Ersoy University Journal of Health Sciences Institute*, 4(1):50-52 s.
- Karakan, M. ve Nazlıkul, H.,** (2017). Oksidatif stres ve serbest radikallerin vücut üzerindeki etkisi. *Bilimsel Tamamlayıcı Tıp Regülasyon ve Nöral Terapi Dergisi*, 11(2):7-11s.
- Karakaya, S.,** (2004). Bioavailability of phenolic compounds. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(6):453-464 p.
- Kaya, A., Dirmenci, T., and Satıl, F.,** (2015). Morphological studies on the nutlet of Turkish *cyclotrichium* manden. & scheng.(Lamiaceae). *Plant Biosystems An International Journal Dealing with All Aspects of Plant Biology*, 149(6):984-989 p.
- Kedare, S.B. and Singh, R.P.,** (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, 48:412-422 p.
- Keleş, E. ve Özalevli, S.,** (2018). Alzheimer hastalığı ve tedavi yaklaşımları. *İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*, 3(2): 39-42 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kılıç, M. and Mungan Kılıç, F.,** (2021). Nutlet micromorphology of Mardin in Turkey *Salvia* L. (Lamiaceae) and its systematic implacations. *Nordic Journal of Botany*, 39(7).
- Kirkan, B.,** (2019). Antioxidant potential, enzyme inhibition activity, and phenolic profile of extracts from *Stachys cretica* subsp. *Vacillans*. *Industrial Crops and Products*, 140:111639.
- Kıvrak, İ., Duru, M.E., Öztürk, M., Mercan, N., Harmandar, M., and Topçu, G.,** (2009). Antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial constituents from the essential oil and ethanol extract of *Salvia potentillifolia*. *Food Chemistry*, 116(2):470-479 p.
- Koçancı, F.G. and Aslım, B.,** (2016). Structure and functions of acetylcholinesterase and acetylcholinesterase inhibitory activity of plants. *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences*, 6(1):19-35 p.
- Kozłowska, M., Laudy, A. E., Przybyl, J., Ziarno, M., and Majewska, E.,** (2015). Chemical composition and antibacterial activity of some medicinal plants from Lamiaceae family. *Acta Pol Pharm*, 72(4):757-767 p.
- Kunter, İ., Tarabishi, M., Zabib, N., Erçetin, T., Ilktac, M., Goger, F., and Koşar, M.,** (2023). New data for endemic *Phlomis cypria* post from north cyprus: biological activities and LC MS/MS analysis. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 57(2).
- Kurban, M.G. ve Şentürk, M.,** (2024). Kolinesteraz inhibitörlerinin Alzheimer hastalığı tedavisindeki rolü. *Ağrı Tıp Fakültesi Dergisi*, 2(1):42-45 s.
- Kuşaksız, G.,** (2019). Rare and endemic taxa of Lamiaceae in Turkey and their threat categories. *Journal of Scientific Perspectives*, 3(1): 69-84 s.
- Külcü, D.B., Gökışık, C.D., and Aydın, S.,** (2019). An investigation of antibacterial and antioxidant activity of nettle (*Urtica dioica* L.), mint (*Mentha piperita*), thyme (*Thyme serpyllum*) and *Chenopodium album* L. plants from Yaylacık Plateau, Giresun, Turkey. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 7(1):73-80 p.
- Kwon, Y.I., Apostolidis, E., and Shetty, K.,** (2007). Evaluation of pepper (*Capsicum annum*) for management of diabetes and hypertension. *Journal of Food Biochemistry*, 31(3):370-385 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lang, Y., Gao, N., Zang, Z., Meng, X., Lin, Y., Yang, S., ... and Li, B.,** (2024). Classification and antioxidant assays of polyphenols: A review. *Journal of Future Foods*, 4(3):193-204 p.
- Li, Y.Q., Zhou, F. C., Gao, F., Bian, J. S., and Shan, F.,** (2009). Comparative evaluation of quercetin, isoquercetin and rutin as inhibitors of α -glucosidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(24):11463-11468 p.
- Lima, C. F., Fernandes-Ferreira, M., and Pereira Wilson, C.,** (2006). Phenolic compounds protect HepG2 cells from oxidative damage: relevance of glutathione levels. *Life Sciences*, 79(21):2056-2068 p.
- Mahajan, A., Sharma, P., Goudar, G., Gogoi, P., Ananthan, R., Kalpuri, S., and Longvah, T.,** (2024). Evaluating the bioaccessibility and antioxidant activity of polyphenols extracted from vegetables by-product. *Food Bioengineering*, 3(2):250-265 p.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., and Jimenez, L.,** (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5):727-747 p.
- Mandrup Poulsen, T.,** (1998). Diabetes. *BMJ: British Medical Journal*, 316:1221 p.
- Maral, H., Türk, M., Çalışkan, T., and Kırıcı, S.,** (2017). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of six Lamiaceae plants growing in Southern Turkey. *Natural Volatiles and Essential Oils*, 4(4):62-68 p.
- Mas-Capdevila, A., Teichenne, J., Domenech-Coca, C., Caimari, A., Del Bas, J.M., Escote, X., and Crescenti, A.,** (2020). Effect of hesperidin on cardiovascular disease risk factors: the role of intestinal microbiota on hesperidin bioavailability. *Nutrients*, 12(5):1488 p.
- McCue, P., Kwon, Y. I., and Shetty, K.,** (2005). Anti-diabetic and anti-hypertensive potential of sprouted and solid-state bioprocessed soybean. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 14(2):145 p.
- Mehmood, T., Anwar, F., and Tabassam, Q.,** (2021). Eriodictyol. *In A Centum of Valuable Plant Bioactives*, 467-489 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Menshaz, A. and Altuner, E.M.,** (2020). The potential of some plant-derived compounds in inhibition of α -amylase, which is important for diabetic patients. *Fresenius Environmental Bulletin*, 29:8642-8646 p.
- Mercan, U.,** (2004). Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(1):91-96 s.
- Miklasinska Majdanik, M., Kepa, M., Wasik, T. J., Zapletal-Pudelko, K., Klim, M., and Wojtyczka, R.D.,** (2023). The direction of the antibacterial effect of rutin hydrate and amikacin. *Antibiotics*, 12(9):1469 p.
- Miller, L.M., Wang, Q., Telivala, T.P., Smith, R.J., Lanzirotti, A., and Miklossy, J.,** (2006). Synchrotron-based infrared and X-ray imaging shows focalized accumulation of Cu and Zn co-localized with β -amyloid deposits in Alzheimer's disease. *Journal of Structural Biology*, 155(1):30-37 p.
- Mocan, A., Babota, M., Pop, A., Fizesan, I., Diuzheva, A., Locatelli, M., ... and Crisan, G.,** (2020). Chemical constituents and biologic activities of sage species: A comparison between *Salvia officinalis* L., *S. glutinosa* L. and *S. transsylvanica* (schur ex griseb. & schenk) schur. *Antioxidants*, 9(6):480 p.
- Mohammed, A.B., Yagi, S., Tzanova, T., Schohn, H., Abdelgadir, H., Stefanucci, A., ... and Zengin, G.,** (2020). Chemical profile, antiproliferative, antioxidant and enzyme inhibition activities of *Ocimum basilicum* L. and *Pulicaria undulata* (L.) CA Mey. grown in Sudan. *South African Journal of Botany*, 132:403-409 p.
- Mohd Bukhari, D. A., Siddiqui, M. J., Binti Shamsudin, S. H., Rahman, M. M., and Mat So'ad, S. Z.,** (2017). α -Glucosidase inhibitory activity of selected Malaysian plants. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 9(3):164-170 p.
- Mokhtar, A., Souhila, T., Nacera, B., Amina, B., Alghonaim, M. I., Öztürk, M., ... and Bendif, H.,** (2023). In vitro antibacterial, antioxidant, anticholinesterase, and antidiabetic activities and chemical composition of *Salvia balansae*. *Molecules*, 28(23):7801 p.
- Mostafa, D.G., Khaleel, E.F., Badi, R.M., Abdel Aleem, G.A., and Abdeen, H.M.,** (2019). Rutin hydrate inhibits apoptosis in the brains of cadmium chloride-treated rats via preserving the mitochondrial integrity and inhibiting endoplasmic reticulum stress. *Neurological Research*, 41(7):594-608 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ndhlala, A. R., Işık, M., Kavaz Yüksel, A., and Dikici, E.,** (2024). Phenolic content analysis of two species belonging to the lamiaceae family: antioxidant, anticholinergic, and antibacterial activities, *Molecules*, 29(2):480 p.
- Nguyen, T.H., Wang, S.L., and Nguyen, V.B.,** (2023). Microorganism-derived molecules as enzyme inhibitors to target Alzheimer's diseases pathways. *Pharmaceuticals*, 16(4): 580 p.
- Nikolic, M., Jovanovic, K.K., Markovic, T., Markovic, D., Gligorijevic, N., Radulovic, S., and Sokovic, M.,** (2014). Chemical composition, antimicrobial, and cytotoxic properties of five Lamiaceae essential oils. *Industrial Crops and Products*, 61:225-232 p.
- Niksic, H.A., Duric, K., Omeragic, E., Niksic, H.E., Muratovic, S., and Becic, F.,** (2018). Chemical characterization, antimicrobial and antioxidant properties of *Mentha spicata* L.(Lamiaceae) essential oil. *Bulletin of the Chemists & Technologists of Bosnia & Herzegovina/Glasnik Hemičara i Tehnologa Bosne i Hercegovine*, (50).
- Nilofar, N., Zengin, G., Acar, M., Bouyayha, A., Youssra, A., Eldahshan, O., ... and Fahmy, N.,** (2024). Assessing the chemical composition, antioxidant and enzyme inhibitory effects of pentapleura subulifera and *Cyclotrichium glabrescens* extracts. *Chemistry & Biodiversity*, 21(2).
- Orhan, I., Şenol, F.S., Gülpınar, A.R., Kartal, M., Şekeroglu, N., Deveci, M., Kan, Y., and Şener, B.,** (2009). Acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant properties of *Cyclotrichium niveum*, *Thymus praecox* subsp. caucasicus var. caucasicus, *Echinacea purpurea* and *E. pallida*. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 47(6):1304-1310 p.
- Öğüt, S.,** (2014). Doğal antioksidanların önemi. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 11(1):25-30 s.
- Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G., ve Yönden, Z.,** (2015). Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6(3):331-336 s.
- Özçoban, A. ve Gedikoğlu, A.,** (2024). *Salvia officinalis* L. esansiyel yağının antimikrobiyal ve antioksidan aktivite potansiyelinin değerlendirilmesi. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21(1):89-94 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Özdemir, B.**, (2021). *Rhododendron luteum* ve *Rhododendron caucasicum* Bitki Ekstraktlarının Antidiyabetik ve Antioksidan Aktivitelerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 82s.
- Özer, Z.**, (2019). The phenolic compounds, antioxidant and anticholinesterase activities of *Cyclotrichium organifolium* (Labill.) Manden & Scheng and *Thymus sipyleus* Boiss teas from Turkey. *Studia Universitatis Babeş-Bolyai Chemia*,64(3):217-228 s.
- Patrignani, F., Prasad, S., Novakovic, M., Marin, P.D., and Bukvicki, D.**, (2021). Lamiaceae in the treatment of cardiovascular diseases. *Frontiers in Bioscience*, 26(4):612-643 p.
- Popa, C.L., Lupitu, A., Mot, M.D., Copolovici, L., Moisa, C., and Copolovici, D.M.**, (2021). Chemical and biochemical characterization of essential oils and their corresponding hydrolats from six species of the Lamiaceae family. *Plants*, 10(11):2489 p.
- Prete, S.D. and Pagano, M.**, (2024). Enzyme inhibitors as multifaceted tools in medicine and agriculture. *Molecules* 2024, 29(18):4314 p.
- Ramful, D., Tarnus, E., Aruoma, O.I., Bourdon, E., and Bahorun, T.**, (2011). Polyphenol composition, vitamin C content and antioxidant capacity of Mauritian citrus fruit pulps. *Food Research International*, 44(7):2088-2099 p.
- Ramos da Silva, L.R., Ferreira, O.O., Cruz, J.N., de Jesus Pereira Franco, C., Oliveira dos Anjos, T., Cascaes, M.M., ... and Santana de Oliveira, M.**, (2021). Lamiaceae essential oils, phytochemical profile, antioxidant, and biological activities. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021(1):6748052.
- Rao, Y.K., Geethangili, M., Fang, S.H., and Tzeng, Y.M.**, (2007). Antioxidant and cytotoxic activities of naturally occurring phenolic and related compounds: A comparative study. *Food and Chemical Toxicology*, 45(9):1770-1776 p.
- Riyaphan, J., Jhong, C.H., Lin, S.R., Chang, C.H., Tsai, M.J., Lee, D.N., ... and Weng, C.F.**, (2018). Hypoglycemic efficacy of docking selected natural compounds against α -glucosidase and α -amylase. *Molecules*, 23(9):2260 p.
- Sağlam, A., Çağlar, N., Alçay, A.Ü., ve Bostan, K.**, (2022). Baharat ve yenibilir bitkilerin probiyotik bakteriler üzerine antimikrobiyal etkileri. *Türk Mikrobiyol Cemiy Derg*, 52(1):1-29 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Salehi, S., Khodadadi, I., Akbari-Adergani, B., Shekarchi, M., and Karami, Z.,** (2017). Surveillance of sodium benzoate and potassium sorbate preservatives in dairy products produced in Hamedan province, north west of Iran. *International Food Research Journal*, 24(3):1056 p.
- Satıl, F., Kaya, A., and Dirmenci, T.,** (2011). The taxonomic value of leaf anatomy and trichome morphology of the genus *Cyclotrichium* (Lamiaceae) in Turkey. *Nordic Journal of Botany*, 29(1):38-48 p.
- Savaş, H.B. ve Gültekin, F.,** (2017). İnsülin direnci ve klinik önemi. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 24(3):116-125 s.
- Scarpini, E., Scheltens, P., and Feldman, H.,** (2003). Treatment of Alzheimer's disease: current status and new perspectives. *Lancet Neurology*, 2(9):539-547 p.
- Selvi, E.K.,** (2020). Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid contents of *Salvia verticillata* L., *Salvia tomentosa* Mill., and *Phlomis lychnitis* L. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 5(2):25-130 s.
- Sevgi, F.,** (2010). İndollerin Bazı Dioksim Türevlerinin Sentezi, Mikroalga ile Furazanlara Dönüştürülmesi ve Antimikrobiyal Etkilerinin İncelenmesi. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 226s.
- Seyhan, S.A.,** (2019). DPPH antioksidan analizinin yeniden değerlendirilmesi. *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, 9(2):125-135 s.
- Sifaoui, I., Mecha, E., Silva, A., Chammem, N., Mejri, M., Abderabba, M., and Bronze, M.R.,** (2016). Optimized extraction of antioxidants from olive leaves using augmented simplex centroid design. *Analytical Letters*, 49(9):1323-1333 p.
- Slater, T.F.,** (1988). Free radical mechanisms in tissue injury. *Cell Function and Disease*, 209-218 p.
- Sprea, R.M., Caleja, C., Pinela, J., Finimundy, T.C., Calhelha, R.C., Kostic, M., ... and Barros, L.,** (2022). Comparative study on the phenolic composition and in vitro bioactivity of medicinal and aromatic plants from the Lamiaceae family. *Food Research International*, 161:111875.
- Tanrıverdi, M.H., Çelepkolu, T., and Aslanhan, H.,** (2013). Diabetes mellitus and primary healthcare. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 4(4):562-567 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Tepe, B., Sokmen, M., Sokmen, A., Daferera, D., and Polissiou, M.,** (2005). Antimicrobial and antioxidative activity of the essential oil and various extracts of *Cyclotrichium organifolium* (Labill.) Manden. & Scheng. *Journal of Food Engineering*, 69(3):335-342 p.
- Tiring, G., Satar, S., ve Özkaya, O.,** (2021). Sekonder metabolitler. *Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 35(1):203-215 s.
- Tok, N.,** (2024). İyon Kanalları Blokerlerinin Karbonhidrat Metabolizması ve Diyabet Üzerine Olumlu Olumsuz Etkileri. Doktora Tezi, Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 76s.
- Topcu, Ş. ve Çölgeçen, H.,** (2015). Bitki sekonder metabolitlerinin biyoreaktörlerde üretilmesi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, (2):9-29 s.
- Tozoğlu, F.,** (2011). Erzincan Kirazı (*Cerasus erzincanica*; Ş. Yıldırım) Sap ve Tohum Kısımlarının Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 63s.
- Trelstad, R. L., Lawley, K. R., and Holmes, L. B.,** (1981). Nonenzymatic hydroxylations of proline and lysine by reduced oxygen derivatives. *Nature*, 289(5795):310-312 p.
- Tripathi, A. and Srivastava, U.C.,** (2010). Acetylcholinesterase: a versatile enzyme of nervous system. *Annals of Neurosciences*, 15(4):106-111 p.
- Türkiye Bitkileri Veri Servisi (TÜBİVES),** “Türkiye bitkileri veri servisi” <http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php> (Erişim tarihi: 20 Haziran 2024)
- Uysal, S., Zengin, G., Sinan, K.I., Ak, G., Ceylan, R., Mahomoodally, M.F., ... and Custodio, L.,** (2021). Chemical characterization, cytotoxic, antioxidant, antimicrobial, and enzyme inhibitory effects of different extracts from one sage (*Salvia ceratophylla* L.) from Turkey: Open a new window on industrial purposes. *RSC Advances*, 11(10):5295-5310 p.
- Yang, Y., Tao, B., Gong, Y., Chen, R., Yang, W., Lin, C., ... and Cai, K.,** (2020). Functionalization of Ti substrate with pH-responsive naringin-ZnO nanoparticles for the reconstruction of large bony after osteosarcoma resection. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 108(11):2190-2205 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Yapıcı, İ., Altay, A., Öztürk Sarıkaya, B., Korkmaz, M., Atila, A., Gülçin, İ., and Köksal, E.,** (2021). In vitro antioxidant and cytotoxic activities of extracts of endemic *Tanacetum erzincanense* together with phenolic content by LC-ESI-QTOF-MS. *Chemistry & Biodiversity*, 18(3):e2000812.
- Yıldız, G., Aktürk, C., Özerkan, M., and Yılmaz, Ö.,** (2019). Free radical scavenging activity and antioxidant contents of *Linum arboreum* L. (Linaceae). *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi-KSU Journal of Agriculture and Nature*, 22(1):16-23 p.
- Yüce, B.,** (2006). Hesperidin, Rutin ve 7, 8-dihidroksi-3-(4-metilfenil) Kumarin Bileşiklerinin Lipit Düşürücü ve Antioksidan Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 76s.
- Wilmsen, P. K., Spada, D. S., and Salvador, M.,** (2005). Antioxidant activity of the flavonoid hesperidin in chemical and biological systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(12):4757-4761 p.
- Zhang, H. and Tsao, R.,** (2016). Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Current Opinion in Food Science*, 8:33-42 p.
- Zhao, Y. and Liu, S.,** (2021). Bioactivity of naringin and related mechanisms. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 76(8):359-363 p.
- Zorofchian Moghadamtousi, S., Abdul Kadir, H., Hassandarvish, P., Tajik, H., Abubakar, S., and Zandi, K.,** (2014). A review on antibacterial, antiviral, and antifungal activity of curcumin. *BioMed Research International*, 2014(1):186864.
- Wilkinson, D.G., Francis, P.T., Schwam, E., and Payne-Parrish, J.,** (2004). Cholinesterase inhibitors used in the treatment of Alzheimer's disease: the relationship between pharmacological effects and clinical efficacy. *Drugs & Aging*, 21, 453-478 p.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı :

Doğum tarihi ve yeri :

e-posta :

Öğrenim Bilgileri

Derece	Okul/Program	Yıl
Y. Lisans		
Lisans		
Lise		