



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ELASTAZ ENZİM İNHİBİTÖRLERİ

Kimyager Hüseyin GÖKTAŞ

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Programı

Danışman

Prof.Dr. Refiye YANARDAĞ

İstanbul, 2012

İSTANBUL



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ELASTAZ ENZİM İNHİBİTÖRLERİ

Kimyager Hüseyin GÖKTAŞ

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Programı

Danışman

Prof.Dr. Refiye YANARDAĞ

İstanbul, 2012

İSTANBUL

Bu çalışma 12/01/2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı Biyokimya programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi


Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ (Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi
Kimya Bölümü
Biyokimya Anabilim Dalı


Prof. Dr. Muriye AKEV
İstanbul Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi
Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü
Biyokimya Anabilim Dalı


Prof. Dr. Ayşen YARAT
Marmara Üniversitesi
Dış Hekimliği Fakültesi
Temel Tıp Bilimleri Bölümü
Biyokimya Bilim Dalı


Prof. Dr. Ayşe OGAN
Marmara Üniversitesi
Fen-Edebiyat Fakültesi
Kimya Bölümü
Biyokimya Anabilim Dalı


Doç. Dr. Özlem SAÇAN
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi
Kimya Bölümü
Biyokimya Anabilim Dalı

Bu alışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin T-6416 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimim sırasında ve tez çalışmalarım boyunca gösterdiği her türlü destek ve yardımdan dolayı çok değerli sayın hocam Prof.Dr.Refiye YANARDAĞ'a en içten dileklerle teşekkür ederim.

Bu çalışma boyunca yardımlarını esirgemeyen Doç.Dr. Özlem SAÇAN'a, Yrd. Doç.Dr. Sevim TUNALI' ya, Ar.Gör. Bertan Boran BAYRAK'a , Ar. Gör. İsmet Burcu TÜRKYILMAZ'a, çalışma arkadaşlarıma ve çalışmamın uygulama kısmını destekleyen İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi' ne teşekkürü borç bilirim.

Hayatım boyunca benden maddi, manevi desteklerini esirgemeyen ve her zaman yanımda olan çok sevgili aileme en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Ocak, 2012

Hüseyin GÖKTAŞ

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİL LİSTESİ	iv
TABLO LİSTESİ	v
SEMBOL LİSTESİ	vi
ÖZET	vii
SUMMARY	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL KISIMLAR	3
2.1. ENZİMLER	3
2.1.1. Enzimlerin Genel Özellikleri	3
2.2. ENZİMLERİN ADLANDIRILMASI	4
2.3. ENZİM İNHİBİSYONU	6
2.3.1. Reversibl (Geri Dönüşümlü) Enzim İnhibisyonu	6
2.3.1.1. Yarışmalı (Kompetitif) Enzim İnhibisyonu	6
2.3.1.2. Yarışmasız (Nonkompetitif) Enzim İnhibisyonu	7
2.3.1.3. Yarı Yarışmalı (Ankompetitif) Enzim İnhibisyonu	8
2.3.2. İrreversible (Geri Dönüşümsüz) Enzim İnhibisyonu.....	9
2.4. PROTEAZLAR	10
2.4.1. Proteazların Sınıflandırılması	11
2.4.1.1. Serin Proteazlar.....	12
2.4.1.2. Serin Proteazların Etki Mekanizmaları	15
2.4.1.3. Serin Proteazların Fizyolojik Fonksiyonları	17

2.5. ELASTAZLAR	18
2.5.1. Pankreatik Elastaz (PE)	21
2.5.2. Nötrofil Elastaz (NE)	23
2.6. PANKREATİK VE NÖTROFİL ELASTAZ ENZİM İNHİBİTÖRLERİ..	25
2.7. ELASTAZ ENZİMLERİYLE İLGİLİ KLİNİK ÇALIŞMALAR.....	27
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	32
3.1. DENEYLERDE KULLANILAN ALETLER	32
3.2. DENEYLERDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER	32
3.3. ENZİM İNHİBİSYONU TAYİNLERİNDE KULLANILAN	
BİTKİ MATERYALLERİ	33
3.3.1. Etil Alkollü Ekstrelerin Hazırlanması	34
3.4. ENZİM İNHİBİSYONU TAYİNLERİNDE KULLANILAN	
KİMYASAL MADDELER...	35
3.5.PANKREATİK ELASTAZ ENZİMİNİN İNHİBİTÖR ETKİSİNİN	
ÖLÇÜLMESİ.....	36
4. BULGULAR	38
4.1. BİTKİ EKSTRELERİNİN ELASTAZ ÜZERİNE İNHİBİTÖR	
ETKİLERİ.....	38
4.2. KİMYASAL MADDELERİN ELASTAZ ÜZERİNE İNHİBİTÖR	
ETKİLERİ	51
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	62
6. KAYNAKLAR	73
ÖZGEÇMİŞ	89

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.3.1.1	: Yarışmalı (kompetitif) inhibisyonun reaksiyon şeması	7
Şekil 2.3.1.2	: Yarışmasız (nonkompetitif) inhibisyonun reaksiyon şeması	8
Şekil 2.3.1.3	: Yarıyarışmalı (ankompetitif) inhibisyonun reaksiyon şeması.....	9
Şekil 2.4.1.1	: Serin proteazların aktif merkez şeması	13
Şekil 2.4.1.2	: Serin proteazların genel etki mekanizması	16
Şekil 2.5	: Elastin yapısı	20
Şekil 2.5.1	: Domuz pankreatik elastaz enziminin kristal yapısı	23
Şekil 2.5.2	: İnsan nötrofil elastazının üç boyutlu yapısı.....	24
Şekil 4.1.1	: Gül yaprağı etanollü ekstresinin % inhibisyon grafiği.....	46
Şekil 4.1.2	: Salatalığın etanollü ekstresinin % inhibisyon grafiği	46
Şekil 4.1.3	: Papatyanın etanollü ekstresinin % inhibisyon grafiği	47
Şekil 4.1.4	: Keçiboynuzunun etanollü ekstresinin % inhibisyon grafiği	47
Şekil 4.1.5	: Kayısının etanollü ekstresinin % inhibisyon grafiği	48
Şekil 4.1.6	: Biberiyenin etanollü ekstresinin % inhibisyon grafiği	48
Şekil 4.1.7	: Brokolinin etanollü ekstresinin % inhibisyon grafiği	49
Şekil 4.1.8	: Oğul otu etanollü ekstresinin % inhibisyon grafiği	49
Şekil 4.1.9	: Havuçun etanollü ekstresinin % inhibisyon grafiği	50
Şekil 4.1.10	: Zakkumun etanollü ekstresinin % inhibisyon grafiği.....	50
Şekil 4.1.11	: Domatesin etanollü ekstresinin % inhibisyon grafiği.....	51
Şekil 4.2.1	: Kuarsetin dihidratın % inhibisyon grafiği.....	57
Şekil 4.2.2	: Rutinin % inhibisyon grafiği	57
Şekil 4.2.3	: β -karotenin % inhibisyon grafiği.....	58
Şekil 4.2.4	: Edarovonun % inhibisyon grafiği	58
Şekil 4.2.5	: B ₆ vitamininin % inhibisyon grafiği	59
Şekil 4.2.6	: Vanilinin % inhibisyon grafiği	59
Şekil 4.2.7	: Metioninin % inhibisyon grafiği	60
Şekil 4.2.8	: Laktik asidin % inhibisyon grafiği	60
Şekil 4.2.9	: Gallik asidin % inhibisyon grafiği.....	61

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.5.1	: Kollajen ve elastin arasındaki farklılıklar	19
Tablo 3.1.1	: Enzim inhibisyon tayininde kullanılan bitki materyali	33
Tablo 3.4.1	: Enzim inhibisyonunda kullanılan kimyasal maddeler.....	35
Tablo 3.4.2	: Enzim inhibisyonunda kullanılan amino asitler	35
Tablo 3.4.3	: Enzim inhibisyonunda kullanılan çeşitli asitler.....	36
Tablo 3.4.4	: Enzim inhibisyonunda kullanılan vitaminler	36
Tablo 4.1.1	: Çeşitli bitkilerden hazırlanan etil alkollü ekstraların pankreatik elastaz üzerindeki % inhibisyon ve IC ₅₀ değerleri	39
Tablo 4.2.1	: Çeşitli kimyasal maddelerin elastaz üzerindeki % inhibisyon ve IC ₅₀ değerleri.....	52
Tablo 4.2.2	: Vitaminlerin elastaz üzerindeki % inhibisyon ve IC ₅₀ değerleri.....	53
Tablo 4.2.3	: Çeşitli asitlerin elastaz üzerindeki % inhibisyon ve IC ₅₀ değerleri.....	54
Tablo 4.2.4	: Amino asitlerin ve peptidlerin elastaz üzerindeki % inhibisyon ve IC ₅₀ değerleri.....	55

SEMBOL LİSTESİ

ADP	: Adenozin difosfat
ATP	: Adenozin trifosfat
BPTI	: Sığır pankreatik tripsin inhibitör
3,4-DCI	: 3,4-Dikloroizokumarin
DFP	: Diizopropilflorofosfat
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DIPF	: Diizopropil fosfluoridat
EGCG	: Epigallokateşin gallat
GSH	: İndirgenmiş glutatyon
HLE	: İnsan lökosit elastazı
HUVEC	: İnsan umbilikal veni endotel hücresi
K_m	: Michaelis sabiti
NE	: Nötrofil elastaz
PCMB	: <i>p</i> -Kloromerküribenzoat
PE	: Pankreatik elastaz
PMSF	: Fenilmetilsülfonil florür
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
STANA	: N-Süksinil-Ala-Ala-Ala- <i>p</i> -nitroanilid
TLCK	: Tosil-L-lizin klorometil keton
V_{max}	: En yüksek tepkime hızı
ROS	: Reaktif oksijen türleri

ÖZET

ELASTAZ ENZİM İNHİBİTÖRLERİ

Ülkemizde sağlık alanında yaygın olarak kullanılan geleneksel bitkilerle tedavi yöntemleri tabiata dönüş akımının etkisiyle son yıllarda batı dünyasında da yaygın biçimde kullanılmaya ve incelenmeye başlanmıştır. Bu bitkilerin sağlıklı ve verimli şekilde kullanılması için etkilerinin ve etki etme yollarının araştırılması gereklidir.

Bu çalışmada son yıllarda sağlık ve kozmetik sektöründe önemli bir yer edinen elastaz enzim aktivitesi üzerine, çeşitli bitkilerden hazırlanan etanollü ekstrelerin ve bazı kimyasal maddelerin, inhibitör etkileri incelendi.

Çalışmamızda kullandığımız bitki ekstralarının ve kimyasal maddelerin tümünde elastaz inhibitör etkisi saptandı. Elde edilen sonuçlardan bitki ekstraları ve kimyasal maddelerin elastaz enzimi üzerindeki % inhibisyon değerlerinin konsantrasyon artışı ile arttığı belirlendi.

Yüksek oranda elastaz inhibitör aktivitesi gösteren bitki ekstraları ve kimyasal maddelerin elastaz inhibitörü olarak sağlık alanında ilaç tedavisine ilave olarak kullanımının uygun olabileceği sonucuna varıldı.

SUMMARY

INHIBITORS OF ELASTASE ENZYME

The treatment methods with traditional plants which are mostly used in health area in our country are began to be used and researched also in European countries with the effect of getting back to the nature (alternative medicine). Their effects and ways of effecting have to be researched scientifically to use healthily and efficiently these plants.

In this study, the inhibitory effects of chemical compounds and ethyl alcohol extracts prepared from different plants were investigated on the activity of elastase which has an important value in health and cosmetic area.

It was determined that all the plant extracts and chemical substances used in our study showed elastase inhibitory effect. The results showed that inhibition % values of plant extracts and chemical compounds on the elastase were increased with increasing concentration.

It can be suggested that several plant spices and chemical compounds which are potential sources of elastase inhibitors may be appropriate to be used as an additional support to drug treatment in the field of health.

1. GİRİŞ

Canlı sistemlerde biyokimyasal tepkimelerin çoğu hücrede meydana gelmektedir. Tepkime sırasında açığa çıkan yüksek ısı proteinlerin yapısını bozacağından, canlıya zarar vermektedir. Bu nedenle hücrede kimyasal tepkimelerin gerçekleşebilmesi için aşılması gereken enerji engeli biyolojik katalizörler kullanılarak sağlanmaktadır. Katalizörler, kimyasal tepkimeye girerek tepkimeyi hızlandıran ve tepkime sonunda hiçbir değişikliğe uğramadan çıkan maddelerdir. Canlı sistemlerdeki bu katalizörlere enzim denilmektedir.

Metabolizma, minimum enerji ve maksimum düzensizlik prensibine göre çalışmaktadır. Fakat metabolik yollar düzensiz bir şekilde işleyemez ve çeşitli etkilerle kontrol altına alınmalıdırlar. Enzimler, metabolizma içerisinde yer alan birçok metabolik yolun düzenlenmesinde kontrol görevini üstlenen en önemli faktörlerden biridir. Enzimlerin aktiviteleri bazı bileşikler tarafından artırılarak, azaltılarak ya da yok edilerek metabolik yolun hızı ayarlanmış olur. Enzimlerin aktivitelerini etkileyen bu bileşiklere modülatörler denilmektedir. Modülatörler, aktiviteyi artırıcı yönde olan aktivatörler olabildiği gibi azaltıcı yönde olan inhibitörler de olabilmektedir (Nelson ve Cox, 2005).

Enzimler ve enzim inhibitörleri tıpta, gıda endüstrisinde, pestisitlerde, kozmetik sanayinde ve tarım sanayinde kullanılmaktadır (Friedman, 1996).

Elastazlar, bağ dokusunun önemli proteini olan elastini ayırma özelliğine sahip bir grup serin proteazlardır. Bunlar çoğunlukla akciğerlerde, damarlarda, lenflerde ve deride dağılmış durumdadırlar. Buldukları dokularda enflamatuvar doku hasarının çok önemli mediatörleridirler. Serum immünoreaktif pankreatik elastaz özellikle akut pankreatit ya da pankreas kanseri gibi pankreas hastalıklarının durumlarını yansıtırken serum nötrofil elastaz (NE) çeşitli enflamatuvar hastalık ve durumlarda artmaktadır. Bu

bağlamda elastaz enziminin inhibisyonu klinik ve kozmetik açıdan her geçen gün daha da önem kazanmaktadır (Hayakawa ve diğ., 1995).

Geleneksel halk ilaçları, yıllar boyunca nesilden nesile aktararak varlığını sürdüren ve halkın çeşitli hastalıkların tedavisinde yararlandığı doğal kaynaklı ilaçlardır. Bunların çoğunu bitkisel kökenliler oluşturur. Dünyanın birçok bölgesinde, geleneksel halk ilaçları üzerindeki bilimsel araştırmalar modern ilaç araştırmaları için önemli ve yararlı bir kaynak oluşturmaktadır. İlaç geliştirmenin, çok uzun ve pahalı bir süreç olduğu göz önüne alındığı zaman ilk aşamada halk ilaçlarının değerlendirmeye alınması doğru bir yaklaşım olacaktır. Bu amaçla, halk ilaçlarının etkinlik ve güvenilirliklerinin bugünkü bilimsel yöntemlerle kanıtlanması gerekmektedir.

Bu düşünceden yola çıkılarak yapılan çalışmamızda çeşitli bitkilerden hazırlanan bitki ekstraktlarının ve kimyasal bazı maddelerin elastaz enzim aktivitesi üzerine inhibitör etkileri incelenmiştir.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. ENZİMLER

18'inci yüzyıl sonlarında etin mide salgıları tarafından sindirildiği, tükürük ve bazı bitki özütlerinin nişastayı şekere dönüştürdükleri bilinmesine rağmen bunun hangi mekanizmayla gerçekleştiği bilinmemekteydi (Willams, 2007).

19'uncu yüzyılda Louis Pasteur, maya tarafından şekerin alkole dönüşmesini (fermentasyonu) araştırırken, fermentasyonun maya hücrelerinde bulunan bir canlı güç tarafından meydana geldiği sonucuna varmıştır. Ferment olarak adlandırılan bu etmenlerin sadece canlılarda işlev gördüğü düşünülmüştür (Dubos, 1951). 1878'de Alman fizyolog Wilhelm Kühne, Yunanca'da 'maya içinde' anlamına gelen "enzim" terimini kullanmıştır. Daha sonraları enzim sözcüğü canlı olmayan bileşikler (örneğin pepsin) için kullanılmış, canlılar tarafından üretilen kimyasal aktiviteler için ise "ferment" sözcüğü kullanılmaya başlanmıştır.

2.1.1. Enzimlerin Genel Özellikleri

Canlılığın sürdürülmesi için iki temel koşul, organizmanın kendini kopyalaması ve biyokimyasal reaksiyonları yüksek seçicilik/verimlilik ile biyolojik ortamda kataliz edebilmesidir (Gürdöl ve Ademoğlu, 2006). Enzimler hücrelerdeki biyokimyasal olayların ılımlı koşullarda gerçekleşmesini sağlayan ve protein yapısında olan biyokimyasal katalizörlerdir.

Enzimler, diğer kimyasal katalizörlerden birçok açıdan farklıdırlar. Her şeyden önce katalitik etkinlikleri kimyasal katalizörlerden $10^6 - 10^{16}$ kat daha fazladır. Enzimler son derece spesifiktirler ve sadece bir substrata veya aynı fonksiyonlu grubu olan substrat serisine karşı etkindirler. Hatta aynı maddenin izomerlerinden sadece birisiyle reaksiyon

verebilen çok spesifik enzimler de bulunmaktadır. Bu yüksek seçicilik sayesinde en basit hücrede bile aynı anda pek çok sayıda biyokimyasal reaksiyon meydana gelir. Hücredeki reaksiyonlarda yan ürün oluşturmazlar, reaksiyonlar % 100 verimle sonuçlanır. Enzimatik reaksiyonlar fizyolojik pH'da ve canlının vücut sıcaklığında gerçekleşir. Normal laboratuvar koşullarında yüksek sıcaklık ve fazla enerji gerektiren pek çok reaksiyon enzimlerin kullanılmasıyla daha düşük sıcaklıkta ve enerjide gerçekleştirilebilir (Tüzün, 1997).

Enzimler canlı hücreler tarafından biyolojik şartlarda sentez edilmektedir. Fakat aktivite göstermeleri için hücre içinde bulunmaları şart değildir. Enzimler, oldukça özel yapılar kazanmış ve genellikle büyük proteinlerdir. Proteinlerdeki amino asitlerin primer dizilişi genler tarafından belirlenen sıraya göre olmaktadır. Enzim proteininde bulunan amino asitlerin özel dizilişi, enzimin belirli bir konformasyonu ve kuarterner yapıyı kazanmasında en önemli rolü oynamaktadır. Enzim proteinin yapısı yalnız enzimin biyolojik aktivitesi için değil, aynı zamanda metabolik olayların kontrolünü sağlamak için de önemlidir.

2.2. ENZİMLERİN ADLANDIRILMASI

1970'li yıllara kadar pek çok enzim ile çalışılmış, saf kristal formda elde edilen enzimlerin sayısı artmış ve zamanla adlandırmada karışıklıklar oluşmuştur. Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliği (IUBMB)'ne göre; enzim adlandırılmaları enzimin katalizlediği tepkimenin türü ve mekanizmasına göre yapılmaktadır (Can ve Akev, 2008).

Enzimler altı ana gruba ayrılmıştır ve her enzime 4 rakam ile belirlenen bir kod numarası verilmiştir.

1-Oksidoredüktazlar: İndirgenme ve yükseltgenme olaylarını katalizleyen enzimlerdir. Oksidoredüktazlar ayrıca dehidrojenazlar ve sitokromlar, oksidazlar, oksijenazlar olmak üzere alt sınıflara ayrılabilirler. Solunum ve fermentasyon olaylarıyla ilgili enzimler oksidoredüktaz sınıfı enzimlerdir. Örneğin; katalaz, laktat dehidrojenaz.

2-Transferazlar: Fonksiyonel grupların bir molekülden diğerine transferinin olduğu reaksiyonları katalizleyen enzimlerdir. Tek karbonlu grupları, aldehit ve keton gruplarını, açil gruplarını, glikozil gruplarını, fosfat gruplarını, kükürt içeren grupları aktaranlar olmak üzere farklı alt sınıflara ayrılırlar. Örneğin; kreatin kinaz, aspartat transaminaz.

3-Hidrolazlar: Hidroliz reaksiyonlarını, suyun H^+ ve OH^- iyonları yardımıyla moleküllerin yıkılmasını katalizleyen enzimlerdir. Hidrolazlar, ester bağlarına, glikozil bileşiklerine, eter bağlarına, peptit bağlarına, diğer C-N bağlarına, asetanhidrit bağlarına, C-C, C-P, C-halojen, C-S, P-N, S-S bağlarına etki edenler olmak üzere alt sınıflara ayrılırlar. Örneğin; lipaz, üreaz.

4-Liyazlar (Sentazlar): Bir organik moleküldeki grupların hidrolitik veya oksidatif olmayarak ayrılmasını kataliz ederler. C-C, C-O, C-N gibi gruplar arasında çift bağ oluşturarak substrattan bazı grupların ayrılmasını katalizleyen enzimlerdir veya tam tersi bir yolla etkenlik gösterirler. Örneğin; piruvat dekarboksilaz.

5-İzomerazlar: Substratın molekül içi değişilliklerini katalizleme özelliğine sahip enzimlerdir. Rasemazlar ve epimerazlar, cis-trans izomerazlar, intramoleküler oksidoredüktazlar, intramoleküler taransferazlar, intramoleküler liyazlar ve diğer liyazlar olmak üzere alt sınıflara ayrılırlar. Örneğin; glukoz-6-fosfat izomeraz.

6-Ligazlar (Sentetazlar): Ligazlar iki molekülün birleşmesini kataliz ederler. Bu birleşme için gerekli enerji ATP, ADP gibi yüksek enerjili fosfat bileşiklerinden sağlanır. Örneğin; piruvat karboksilaz, asetil CoA karboksilaz (Tekman ve Öner, 1981).

2.3. ENZİM İNHİBİSYONU

Bazı maddeler enzimlerle ilişki kurma yeteneğinde oldukları halde substrat gibi hareket etmezler. Yani enzimler bunların yeni bir ürüne dönüşümünü sağlamazlar. Ancak bu birleşme nedeniyle enzimin kendisi de katalitik görevini yerine getiremez. Bu çeşit maddelere “enzim inhibitörleri” denir. Enzim inhibitörleri, enzim etkisini azaltan ya da tamamen durduran maddelerdir (Bingöl, 1977).

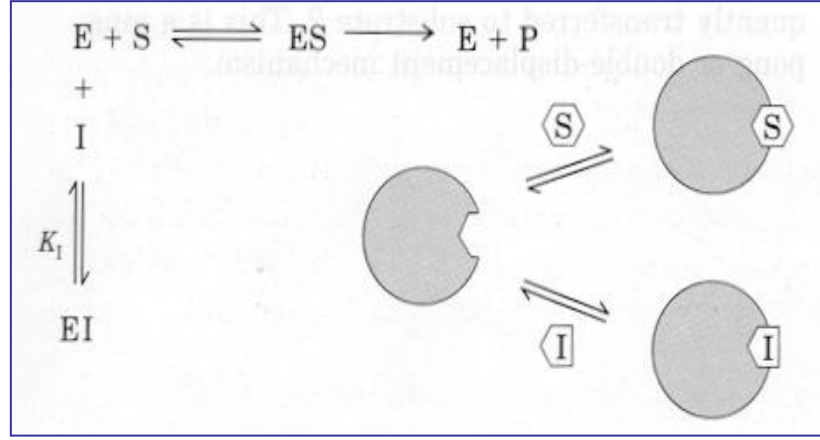
Enzimlerin inhibisyonu başlıca iki şekilde meydana gelir:

2.3.1. Reversible (Geri Dönüşümlü) Enzim İnhibisyonu

2.3.1.1 Yarışmalı (Kompetitif) Enzim İnhibisyonu

Kompetitif inhibisyonda, enzimin etki yaptığı substrata yapı olarak çok benzeyen bir madde, enzimin aktif merkezini işgal ederek, asıl substratı ile ilişki kurmasını önler. Kompetitif inhibisyonda inhibitör madde molekülleri bazı enzim moleküllerini işgal ederek enzimin katalitik etkisini yavaşlatırlar. Buna çok klasik bir örnek olarak “süksinat dehidrojenazın”ın “malonik asit”le inhibisyonunu gösterebiliriz. Süksinik asit sitrik asit siklüsü sırasında süksinat dehidrojenaz enziminin katalitik etkisi ile çok kolaylıkla fumarik asite dönüşebilir. Fakat ortamda malonik asidin bulunması formül yapı benzerliği nedeniyle bu dönüşümü yavaşlatır (Bingöl, 1977). Şekil 2.3.1.1’de yarışmalı enzim inhibisyonunun reaksiyon şeması gösterilmektedir.

Kompetitif inhibisyonda enzimin inhibitör ile bağlanması reversibldir. Substrat konsantrasyonunun çoğalması ile bu ilişki kopabilir (Bingöl, 1977). Kompetitif enzim inhibisyonunda inhibitör madde, enzimin substratına olan ilgisini azaltır; K_m değeri büyür, reaksiyon az çok normal bir V_{max} değeri gösterir (Bingöl, 1977).



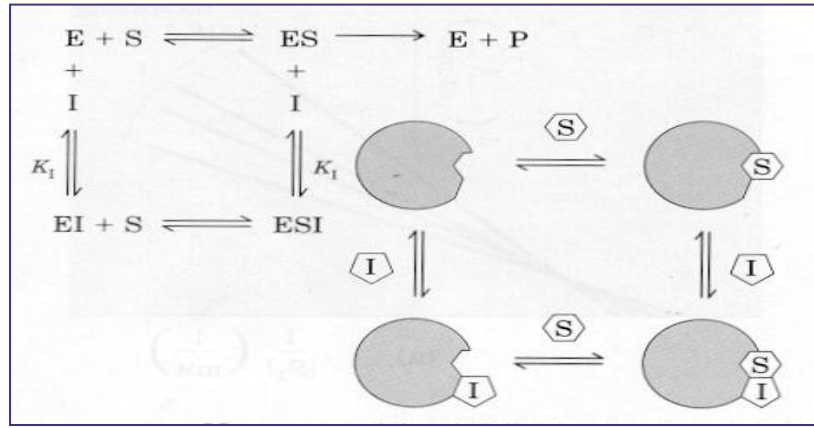
Şekil 2.3.1.1. Yarışmalı (kompetitif) inhibisyonun reaksiyon şeması

2.3.1.2. Yarışmasız (Nonkompetitif) Enzim İnhibisyonu

Yarışmasız enzim inhibisyonunun substratın konsantrasyonu ile ilişkisi yoktur. Yarışmasız enzim inhibisyonunda hem substrat hem de inhibitör madde aynı zamanda enzime bağlanmaktadır. İnhibitörün enzimin aktif yeri dışında bir yere bağlanması ile, o enzimin moleküllerinin substratla reaksiyona girme hızında bir azalma meydana gelmektedir. Halbuki yarışmalı reaksiyonda sadece reaksiyona giren enzim moleküllerin sayısı azalmaktadır. Yarışmasız inhibisyonun en sık görülen şekli, inhibitörün enzimin yapısında bulunan fonksiyonel gruplarla, bu grupların yapısını bozmadan reversible bir şekilde birleşmesi halidir (Bingöl, 1977). Şekil 2.3.1.2’de yarışmasız enzim inhibisyonunun reaksiyon şeması gösterilmektedir.

Bazı enzimler yapılarında fonksiyonları için esas olan $-SH$ grupları taşırlar. Enzimin normal şekilde görev yapabilmesi için $-SH$ grubunun bozulmadan korunmaları gerekir. Bu $-SH$ gruplarının metal iyonları tarafından yarışmasız bir şekilde inhibe edilmesi enzimin normal katalitik etkisini sürdürmesini önler. Bu çeşit ağır metallere örnek olarak Ag^+ , Hg^+ ve Pb^{2+} u göstermek mümkündür (Bingöl, 1977).

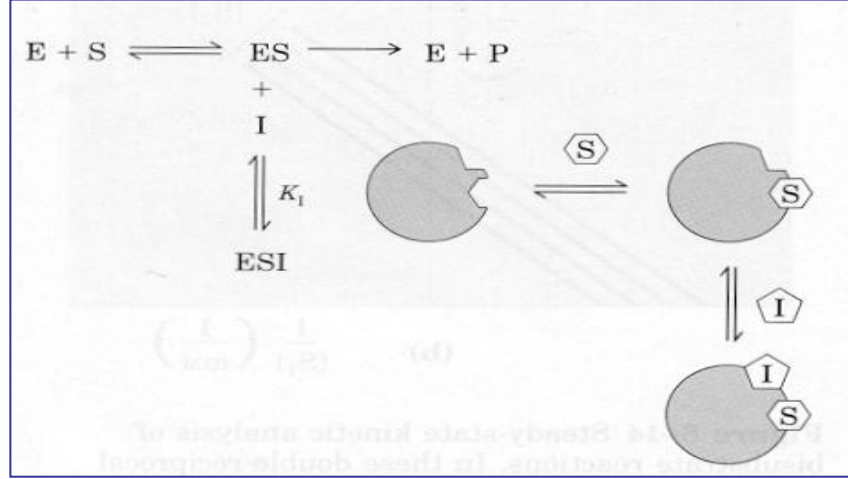
Enzime yarışmasız inhibitörün bağlanması substrat bağlanmasını bloke etmez, substrat bağlanması da yarışmasız inhibitörün bağlanmasını bloke etmez. ESI kompleksi ürün vermek üzere ES kompleksinden daha yavaş parçalandığı için tepkimenin hızı yavaşlamaktadır. Bu tür inhibisyon ile tepkimenin V_{max} değeri azaldığı halde K_m değeri değişmez (Altınışık, 2009).



Şekil 2.3.1.2. Yarışmasız (nonkompetitif) inhibisyonun reaksiyon şeması

2.3.1.3. Yarıyarışmalı (Ankompetitif) Enzim İnhibisyonu

Bu enzim inhibisyonunda inhibitör, nonkompetitif inhibitörde olduğu gibi, enzim üzerinde substratın bağlandığı aktif yerden ayrı bir yere reversible olarak bağlanır; fakat nonkompetitif inhibitör serbest enzime bağlanabildiği halde ankompetitif inhibitör, yalnızca ES kompleksi oluşturduktan sonra enzimin substratın bağlı olduğu aktif yerden başka bir yerine reversible bağlanarak enzimi inaktive eder. Ankompetitif inhibisyon sonucu V_{max} değeri azalırken K_m değeri de azalır (Altınışık, 2009). Şekil 2.3.1.3'de yarıyarışmalı enzim inhibisyonunun reaksiyon şeması gösterilmektedir.



Şekil 2.3.1.3. Yarı yarışmalı (ankompetitif) inhibisyonun reaksiyon şeması

2.3.2. İrreversible (Geri Dönüşümsüz) Enzim İnhibisyonu

İrreversible enzim inhibisyonu, irreversible inhibitörün enzim üzerinde bulunan ve aktivite için esas olan bir fonksiyonel grubu yıkması veya onunla irreversible olarak birleşmesi sonucu meydana gelir. Bu tip inhibisyonlarda aktif bölgeye kovalent olarak bağlanan inhibitör, enzim yapısını bozduğu için geri dönüşüm olamamaktadır (Altınışık, 2009). Örneğin, sinir gazlarından diizopropil fosfofluoridat, asetil kolin isimli nörotransmitörü parçalayan asetil kolin estaraz'ın tersinmez inhibitörüdür.

2.4. PROTEAZLAR

Proteazlar; proteinlerin hidrolizlerini katalizleyen ve peptitlere ya da amino asitlere yıkılmalarını sağlayan, aşamalı olarak bozulan enzimlerdir. Hücresel boyuttan organ ve organizma boyutlarına kadar uzanan çok çeşitli fonksiyonları yürüten hemostazi ve enflamasyon gibi kaskad sistemlerini üretirler. Hücrenin normal fizyolojik gelişiminde ve başkalaşımında, protein katabolizmasında, yer değiştirmesinde, doku düzenlenmesinde ve gelişme sürecindeki morfojenizde kompleks proseslerden sorumludurlar. Genellikle tümör büyümesi ve metastaz gibi çeşitli patolojik proseslerde kritik rol oynarlar. Proteazlar, fizyolojik olarak temel ve bulunması zorunlu moleküller olduklarından, virüsler, prokaryotlar, mantarlar, bitkiler ve hayvanları kapsayan çok çeşitli organizmalarda aynı anda organizmanın birçok kısımlarında meydana gelirler (Gupta ve diğ., 2002; Rao ve diğ., 1998).

Bu çeşitli fizyolojik unsurlar proteazların çok çeşitli spesifiklik göstermelerini zorunlu kılar. Bu spesifiklik yelpazesi hidrofobik veya pozitif olarak yüklenmiş kalıntılardan sonraki bağları kesen sindirim proteazlarından beş-amino asit kalıntısı içeren bir kesim bölgesini veya tek bir proteini bile tanıyan proteazlara kadar uzanır (Hedstrom, 2002).

Bu enzimler yalnızca hücresel metabolik proseslerde rol almazlar; bunun yanında endüstriyel çevrelerde biyoteknolojik uygulamalarından faydalanmak için hatırı sayılır bir ilgi kazanmalarından beri proteolitik enzim çalışmalarında yeni ilgi alanları ortaya çıkmıştır (Fox ve diğ., 1991; Poldermans, 1990).

Ticari alanda dünya çapındaki proteolitik enzim üretim miktarı biyoteknolojide kullanılan herhangi bir diğer enzim miktarından daha fazladır (Niehaus ve diğ., 1999). Bugün çeşitli endüstri sektörlerindeki enzim satışlarının yaklaşık % 40'ını proteazlar oluşturur. 1914 yılında ilk kez deterjan katkı maddesi olarak uygulanmalarından beri, bu enzimler deterjan endüstrisinde geniş bir alanda kullanılmaktadırlar (Gupta ve diğ., 2002).

Proteazlar gıda endüstrisindeki kullanımları açısından uzun bir geçmişe sahiptirler. Deri endüstrisinde ham deriden kıl giderilmesi ve ham derinin samalanması işlemlerinde halen kullanılan toksik kimyasalların yerine kullanılmaları görece yeni bir gelişmedir ve proteazlara ilave biyoteknolojik önem kazandırmaktadır. Diğer bir yandan enzimatik peptit sentezlerinde (dipeptit ve tripeptit vb.) kullanılan proteazlar kimyasal metodlardan farklı bir takım avantajlar sunmaktadır (So ve diğ., 2000). Buna ek olarak hastalık yapan bakterilerin yaşam döngülerindeki ilişkileri, kanser ve AIDS gibi ağır hastalık vakalarına karşı terapötik ajanlar geliştirmek için onların potansiyel bir hedef olmalarına izin verir. Geniş çeşitlilikleri ve özgüllükleri efektif terapötik ajanlar geliştirmede büyük bir avantaj olarak kullanılır (Rao ve diğ., 1998; Kudrya ve Simonenko, 1994; Kim ve diğ., 1996).

Yakın zamanda alkali proteazların besin işleme endüstrisindeki atık üretiminde kullanılmaları, proteazların atık yönetiminde kullanılmalarında yeni bir dönem başlatmıştır (Gupta ve diğ., 2002).

Bir diğer keşfedilen alan ise proteazların ipek kumaş endüstrisinde ipeğin zamklanması için kullanılmasıdır (Gupta ve diğ., 2002).

Ayrıca, endüstri ve tıp uygulamalarından başka proteazlar temel araştırmalarda da önemli bir rol oynarlar. Proteazların seçici peptid bağ kırımları proteinlerin dizilimi ve yapı-fonksiyon ilişkilerini aydınlatmada kullanılır (Ladenstein ve Antranikian, 1998).

2.4.1. Proteazların Sınıflandırılması

Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Komitesinin adlandırma sistemine göre proteazlar dört alt gruba ayrılırlar (Webb, 1992). Bununla birlikte, geniş etki çeşitlilikleri ve yapılarından dolayı proteazlar genel enzim adlandırma sistemine kolayca uymazlar. Mevcut durumda üç ana kriter göz önünde bulundurularak sınıflandırılırlar: (i) reaksiyon katalizleme türü, (ii) etkin bölgelerinin kimyasal yapısı, (iii) yapılarındaki evrimsel yakınlık (Barett, 1994).

Proteazlar kabaca aktif bölgelerine göre ekzopeptidazlar ve endopeptidazlar olmak üzere iki alt gruba ayrılırlar. Ekzopeptidazlar sadece polipeptid zincirinin bitimine yakın etki ederler. Sırası ile aktif bölgelerindeki N ya da C terminallerine bağlı olarak amino ya da karboksipeptidazlar olarak sınıflandırılırlar. Endopeptidazlar ise iç bölgelerinde N ve C terminalinden uzaktaki polipeptid zincirinin peptid bağlarına öncelikli etkilerine göre karakterize edilirler.

Fonksiyonel gruplarındaki aktif bölüme dayanarak proteazlar ayrıca dört belirgin gruba ayrılırlar; serin proteazlar (E.C.3.4.21), sistein proteazlar (E.C.3.4.22), aspartik proteazlar (E.C.3.4.23) ve metaloproteazlar (E.C.3.4.24) (Menon ve Goldberg, 1987).

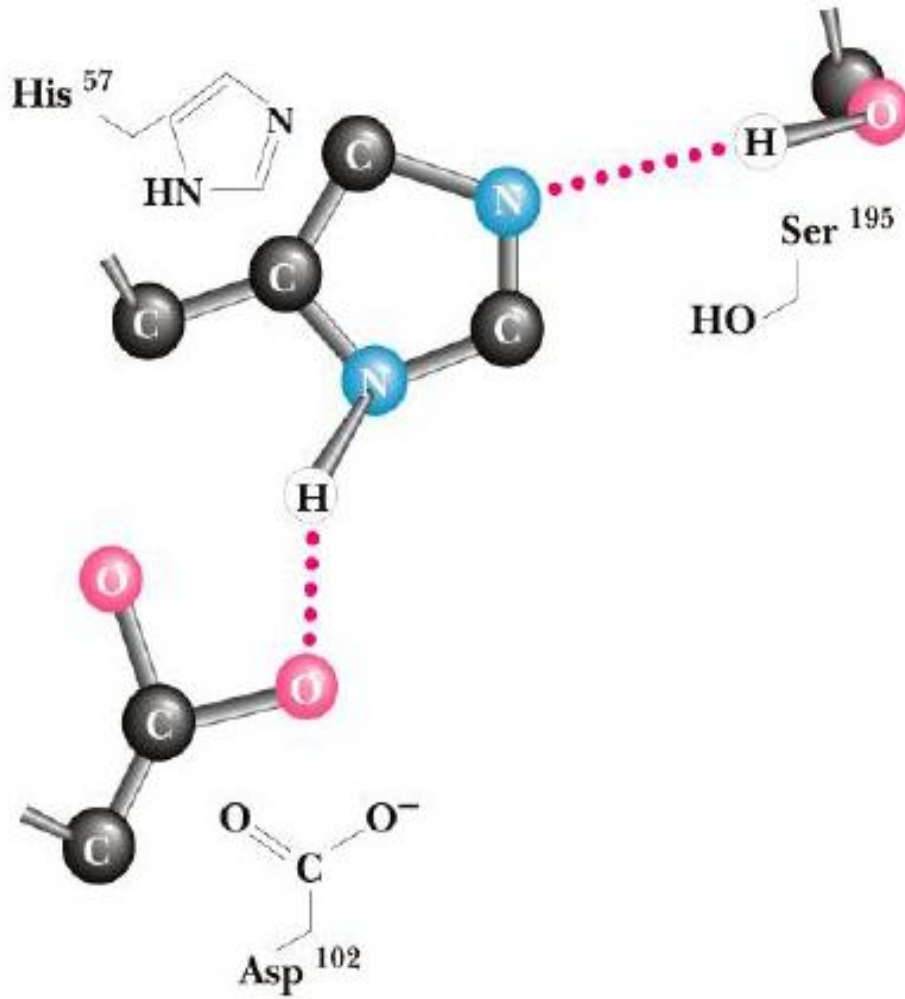
Proteazlar alt bölümlere de ayrılırlar ve katalitik tipi gösteren bir kod harfi, yani S, C, A, M veya U harfi konularak adlandırılırlar. Bu harfleri de gelişigüzel koyulmuş sayılar takip eder (Rawlings ve Barrett, 1993).

2.4.1.1. Serin Proteazlar

Serin proteazlar, substrat bağlama bölgesindeki serin kalıntılarını eşsiz bir biçimde aktive edip onların bir nükleofil gibi peptid bağlarını katalitik olarak hidrolize etmelerini sağlayan bir enzim ailesidir (Schultz ve Liebman, 1997).

Serin proteazların aralarında virüsler, bakteriler ve ökaryotlar gibi organizmaların bulunduğu bir çok canlı türü için yaşamsal oldukları öne sürülür. Serin proteazlar ekzopeptidaz, endopeptidaz, oligopeptidaz ve omega peptidaz gruplarında bulunurlar ve neredeyse tüm proteazların 1/3'ünü oluştururlar (Hedstrom, 2002). Yapısal benzerliklerine dayanarak serin proteazlar yirmi familyaya ayrıca ortak soylarıyla da altı alt gruba ayrılırlar (Barett, 1994). Bu altı alt gruptan dördünün temel yapıları; kemotripsin (SA), subtisilin (SB), karboksipeptidaz C (SC), ve *Escherichia* D-Ala-D-Ala peptidaz A (SE) tamamen alakasızdır. Serin proteazlar için en az dört farklı evrimsel köken olduğu öne sürülür (Demirok, 2006).

Grup SA, SB ve SC aktif merkezinde serin, histidin ve aspartik asid üçlüsü içerirler (Şekil 2.4.1.1). Bu üç amino asidin geometrik şekillenmeleri aynı olsa da protein katlanmaları biraz farklıdır. SE gruplarının katalitik mekanizmaları Ser-His-Asp üçlüsünden yoksun olduklarından açıkça SA, SB ve SE gruplarının mekanizmalarından farklıdır. (Rao ve diğ., 1998). Son yıllarda aktif merkezinde Ser-His-Glu, Ser-Lys/His, His-Ser-His gibi amino asidler olan serin proteazlar bulunmuştur (Dodson ve Wlodawr 1998).



Şekil 2.4.1.1. Serin proteazların aktif merkezi (Demirok, 2006).

Serin proteazlar 3,4-dikloroizokumarin (3,4-DCI), L-3 karboksitrans 2,3-epoksipropil-lösilamido (4-guanidin) bütan (E.64), di-izopropilflorofosfat (DFP), fenilmetilsülfonil florür (PMSF), ve tosil-L-lisin klorometil keton (TLCK) tarafından geri dönüşümsüz olarak inhibisyona uğramalarıyla tanınırlar. Bazı serin proteazlar aktif bölgelerinin yanında sistein kalıntıları bulunmasından dolayı *p*-kloromerküribenzoat (PCMB) gibi bazı tiyol ayıraçları tarafından inhibe edilirler (Rao ve diğ., 1998).

Serin proteazlar genellikle nötral ve alkali pH'larda aktiftir. Optimum pH'ları ise 7 ile 11 arasındadır. Esteraz ve amidaz aktivitelerini içeren geniş bir substrat spesifiteleri vardır. 126 kDa molekül ağırlığına sahip *Blakeslea trispora*'daki serin proteazı hariç molekül kütleleri 18 kDa ile 35 kDa arasındadır. İzoelektrik noktaları genellikle pH 4 ile pH 6 arasında değişir. Yüksek alkali pH'larda aktif olan serin alkali proteazlar serin proteazların en geniş grubunu temsil ederler (Rao ve diğ., 1998).

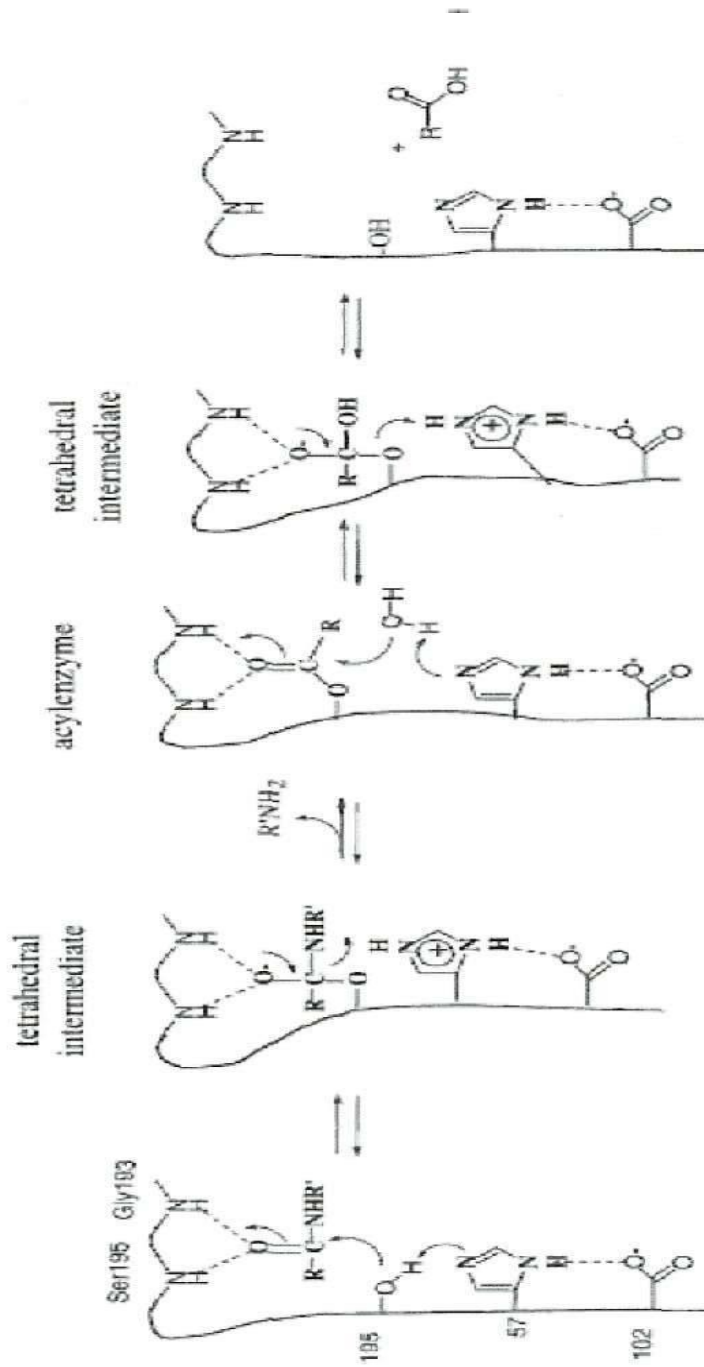
Karboksipeptidazlar asidik pH'da maksimum aktiviteye sahip serin bağımlı enzimlerdir. Bu enzimlerin asidik pH'da optimize olduklarına inanılmasından sorumlu, katalitik uçlarından önce gelen bir glutamat kalıntısına sahip oldukları bilinir.

Serin proteazlar belirli sınıf amino asitlere komşu (bitişik) olan peptit bağlarını hidrolizlemeyi tercih eder. Tripsin-benzeri grupta, proteaz arginin veya lizin gibi bazik amino asitlerden sonraki peptit bağlarını parçalar, çünkü substrat-bağlama merkezinde bu kalıntılarla güçlü bir elektrostatik bağ oluşturabilen bir aspartat (veya glutamat) vardır (Yousef ve diğ., 2003).

Kimotripsin gibi proteazlar non-polar bir substrat bağlama merkezine sahiptir, bu nedenle de bir aromatik ya da triptofan, fenilalanin, tirozin ya da lösün gibi aminoasitlere ihtiyaç duyarlar. Elastaz gibi enzimler ise bağlanma bölgelerinde hacimli amino asitlere (valin ya da treonin) sahiptirler, bu nedenle de alanin gibi küçük hidrofobik kalıntılara ihtiyaç duyarlar (Hedstrom, 2002).

2.4.1.2. Serin Proteazların Etki Mekanizmaları

Bütün proteazların herhangi bir peptid bağımlı hidrolize edebilmeleri için üç engeli aşmaları gerekir: a) Amid azotundan karbonil grubuna elektron aktarımı olduğundan amid bağları çok dayanıklı bağlardır. Proteazlar bir amid bağımlı karbonil oksijenin genel bir asit ile etkileşmesi ile aktif hale getirirler ve peptid bağımlı kırılmasını sağlayarak rezonans stabilizasyonunun bozulmasına yol açabilirler, b) Su zayıf bir nükleofildir; Proteazlar genellikle genel bir baz ile suyu aktifleştirirler ve c) Aminler kolay ayrılan gruplardır; Proteazlar aminler ayrılmadan önce onları protonlarlar. Serin proteazlar bu görevleri, amino asit veya peptid parçası kaybı ile kovalent şekilde bağlanmış bir enzim-peptid ürününün oluştuğu bir hidroliz için iki-adımlı bir reaksiyonu takip ederek etkili biçimde yerine getirir (Şekil 2.4.1.2). Bu açılma basamağını peptidin hidrolizine sebep olan, ara ürüne su tarafından gerçekleştirilen nükleofilik bir saldırının olduğu deaçilasyon prosesi takip eder (Hedstrom, 2002).



Şekil 2.4.1.2. Serin proteazların genel mekanizması (Demirok, 2006).

Substrat bağlandığında, serin 195'in hidroksil grubu bölünebilir peptidin karbonil grubuna nükleofilik olarak saldırır. Hidroksil grubu, hidroksil hidrojenini çeken komşu histidin tarafından daha da nükleofilik hale getirilir. Bu çekme işlemi aspartat 102'nin kutuplayıcı etkisi tarafından kolaylaştırılan bir prostestir. Serin ve substrat arasında bir kovalent bağ oluşur. Böylece tetrahedral araürün olarak bilinen bir kompleks meydana gelir. Reaksiyonun geçiş durumunu andıran tetrahedral araürün iki amid hidrojeni tarafından stabilize edilir. Bu hidrojenler ile anyonik oksijen arasında hidrojen bağı vardır. Bu bölge "oksianyon boşluğu" olarak bilinir çünkü bu bölgede araürünün oksianyon grubu bulunur. Tetrahedral araürün hızlıca bir şekilde planar (düzlemsel) bir karbonil grubuna geri yıkılır. Bu olay iki yolla gerçekleşebilir. Serine olan bağ orijinal başlangıç bileşenlerini yeniden üreterek çözülebilir (bu adım 1'in tersidir), veya azota olan bağ kırılabilir, böylece N-terminal kısma doğru bir ester bağı oluşurken substratın C-terminal kısmı salınır. Bu sonuncu birleşme açıl-enzim araürünü olarak adlandırılır. Geçici olarak histidin tarafından tutulan hidrojen şimdi ayrılan polipeptit parçasına geçirilmiştir. Bundan sonra, açıl-enzim'in ester bağı kırılmalıdır. Bu iş karbonil grubuna yapılan başka bir nükleofilik saldırı ile gerçekleştirilir, bu sefer aktif bölgeye difüze olan bir su görev alır. Su histidine bir hidrojen transfer eder, bunu karbonil grubuna bir kovalent bağlanma yaparak gerçekleştirir. Bunun sonucunda oksianyon deliğindeki amid grupları tarafından stabilize edilen başka bir tetrahedral ara ürün oluşur.

Son aşamada, tetrahedral araürün serin hidroksil grubuna olan bağı kırılmasıyla parçalanır. Histidin tarafından tutulan hidrojen serine transfer olur ve substrat bir karboksilik asit ucu ile salınır. Enzim yeni bir proteinle bağlanmaya hazır olan orijinal durumuna döner (Hedstrom, 2002).

2.4.1.3. Serin Proteazların Fizyolojik Fonksiyonları

Serin proteazlar yüksek organizmaya sahip canlılarda çeşitli bir dizi fizyolojik fonksiyonu yürütürler. Bunların arasında en iyi bilinenler; sindirim, kan pıhtılaşması, fibrinolitik, fertilizasyon ve immün sistemi tamamlayıcı aktivasyonlardır (Yousef ve diğ., 2003).

Serin proteazlar arasında etkileşimler yaygındır ve serin proteazların substratları bazen diğer serin proteazlardır, bunlar inaktif bir prekürsor (öncül molekül, zimojen) tarafından aktive edilir. Serin proteazların metabolik kaskad yollarındaki gereklilikleri iyi şekilde belgelenmiştir. Kan pıhtılaşması kaskadı önemli bir örnektir. Kan pıhtıları bir seri zimojen aktivasyon sayesinde oluşurlar. Bu enzimatik kaskadda bir etmenin aktif hali bir sonraki etmenin aktivasyonunu katalizler. Prosesin katalitik doğasından ötürü kaskadı başlatmak için çok küçük miktarlardaki ön faktörler yeterlidir. Bu çeşitli adımlar geniş bir amplifikasyon (sinyal yükseltimi) sağlar, böylece travmaya karşı *hızlı ve yükseltilmiş* bir yanıt temin edilmiş olur. Benzer bir mekanizma kan pıhtılarının çözünmesinde de vardır. Burada plazminojen aktivatörlerinin aktivasyonu plazminojenin plazmine dönüşümüne neden olur. Plazmin, fibrin pıhtısının çözülmesi için gereklidir. Serin proteazların düzenli etkilerinin bir üçüncü örneği ise intestinal sindirim enzimleridir; düzenli kontrol, bütün pankreatik zimojenlerin (tripsinojen, kimotripsinojen, proelastaz ve prokarboksipeptidaz) yaygın bir aktivatörü olan tripsin etkisiyle sağlanır. Proteazların düzenli etkilerine bir diğer önemli örnek ise apoptoz yoludur. Yakın zamanda kallikrein enziminin kanser ve inflamasyonla ilişkisi için bir kaskad mekanizması varsayılmıştır (Yousef ve diğ., 2003; Bhoola ve diğ., 2001).

Serin proteazların her geçen gün büyüyen rolleri dolayısıyla, insanlarda ve diğer organizmalardaki enzimlerin serin proteaz ailesinden olan tüm üyelerinin tanımlama, yapı ve fonksiyonel karakterizasyonlarıyla ilgili çalışmalar artmaktadır. Bu tarz çalışmalar için insan genom projesinin (Human Genome Project) tamamlanması eşsiz bir fırsat sağlar. Tüm serin proteazların yapısal karakterizasyonları ve lokalizasyonlarının kapsamlı analizleri; onların gen ifadeleri, fizyolojik ve patolojik durumlarla olan ilişkilerini anlamamızda ilk adımlardır.

2.5. ELASTAZLAR

Elastazlar, bağ dokusunun önemli proteini olan elastini ayırma özelliğine sahip bir grup serin proteazlardır. Bunlar çoğunlukla akciğerlerde, damarlarda, lenflerde ve deride dağılmış durumdadırlar. Buldukları dokularda enflamatuvar doku hasarının çok

önemli mediatörleridirler (Bode ve diğ., 1989; Nenan ve diğ., 2005; Tsuji ve diğ., 2001).

Bağ dokusu, nispeten az sayıda canlı hücrenin ekstrasellüler matriks denen bir ortam içine dağılmasıyla oluşmuş dokudur. Bağ dokusu, deri, tendonlar, ligamentler, kıkırdak ve kemikte yaygın olarak bulunur. Bağ dokusunun başlıca görevi, diğer dokulara destek olmaktır ki bu görevini ekstrasellüler matrikste yer alan kollajen ve elastin gibi fibriler proteinlerle yerine getirir. Bağ dokusunun önemli bazı proteinleri, kollajen, elastin, fibronektin, laminin ve proteoglikanlardır.

Kollajen, tendonlarda, kıkırdakta, kemiklerin organik matriksinde ve gözün korneasında önemli miktarlarda bulunan basit, fibriler skleroproteindir. Kollajen, hayvanlar aleminde çok yaygındır; memeli hayvanların vücut ağırlığının % 6'sını, tüm vücut proteinlerinin % 30'unu oluşturur. Kollajen, bulunduğu dokulara dayanıklılık verir, doku şeklini korur ve dokuya gerilme direnci sağlar. Kollajen, kondroitin sülfatla 1:1 oranında birleşerek kıkırdağı, 9:1 oranında elastin olarak tendonları, kendinin 4 katından çok hidrate kalsiyum fosfat olarak kemikleri oluşturur; deride ise kendi kadar dermatan sülfat ve 9:1 oranında elastinle birlikte dir.

Elastin, elastik bağ dokunun en önemli fibriler skleroproteindir. Elastin, birçok yönlerden kollajene benzer, aralarında yapı bakımından birkaç temel fark vardır. Bu farklar Tablo 2.5.1'de gösterilmiştir.

Tablo 2.5.1 Kollajen ve elastin arasındaki farklılıklar

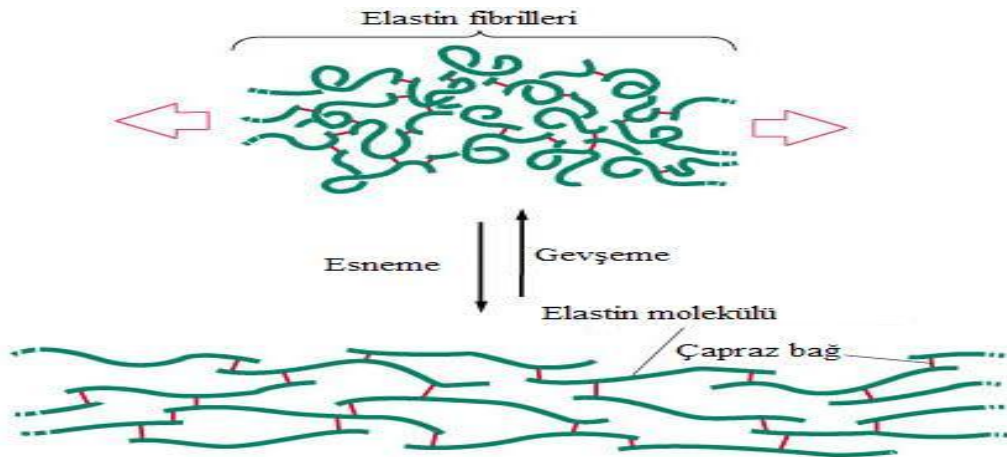
Kollajen	Elastin
Pek çok genetik tip	Tek genetik tip
Üçlü heliks	Uzamaya izin veren dağınık helezon şekilleri
(Gly-X-Y) _n tekrarlayan yapısı	(Gly-X-Y) _n tekrarlayan yapısının olmayışı
Hidroksilizin varlığı	Hidroksilizin yoktur
Karbohidrat taşır	Karbohidrat taşımaz
İntramoleküler aldol çapraz bağlantıları	İntramoleküler desmozin çapraz bağlantıları
Biyosentez sırasında ektensiyon peptitlerin varlığı	Biyosentez sırasında var olmayan uzantı peptidleri

Elastin biyosentezi için önce ribozomlarda proelastin sentezlenir. Proteolitik bir işlemle proelastinin N-terminalinden tropoelastin ayrılır. Tropoelastin, elastin fibrillerinin polipeptit alt ünitesidir, yaklaşık 800 amino asit kalıntısı içerir, glisin ve alanin kalıntıları bakımından zengindir; ancak tropokollajenden farklı olarak çok miktarda lizin az miktarda prolin içerir. Tropoelastin, lizin ve alanin kalıntıları içeren kısa bölgeler vasıtasıyla ayrılmış glisin kalıntılarında zengin heliks parçalarından oluşmuştur. Heliks kısmı, kollajen heliksinden farklıdır; germe kuvveti uygulandığında uzar, germe kuvveti kaldırıldığında orijinal boyuna döner.

Tropoelastinin elastin yapıları haline dönüşmesinde çapraz bağların önemi vardır ki yalnızca elastinde bulunan desmozin kalıntıları elastin yapısındaki çapraz bağlardan büyük ölçüde sorumludur (Altınışık, 2011).

Elastin; atardamarlar, akciğerler, lenfler ve cilt için elastikiyet sağlama açısından hayati öneme sahiptir (Kim ve diğ., 2004; Baylac ve Racine, 2004; Siedle ve diğ., 2002). Elastinin derideki dağılımı kollajenden daha az olsa da deri elastikliğinde etkilidir (Meyer ve diğ., 1981).

Elastinin parçalanması, elastaz vasıtasıyla gerçekleştirilir. Pankreastan salgılanan proelastaz, tripsin ile aktive edilerek elastaza çevrilir. Elastaz, özellikle elastin için proteolitik bir proteazdır; valin ve alanin gibi alifatik yan zincirli amino asitlerin karboksil ucundan molekülü parçalar; desmozin ve izodesmozin içeren çapraz bağlı peptitler oluşturur (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Elastin yapısı

Elastaz enzimi; enzimin aktif bölgesindeki serin kalıntısı tarafından karakterize edilen bir serin proteaz enzim grubu üyesidir. Elastaz; elastini, elastik fiberlerin özel proteinlerini parçalar ve fibrin, hemogloblin, albumin gibi diğer proteinleri de ayırır. Memeli pankreası tarafından bir çok benzer formda salgılanan yapısal olarak birbirleriyle alakalı üç elastaz türü vardır ve bunlar elastaz I, II, III (proteaz E) olarak tanımlanırlar. (MacDonald ve diğ., 1982).

Tarihi olarak, elastini hidroliz eden herhangi bir proteinaza elastaz denir. Fakat, artık bu isim spesifikliklerine göre birbirlerinden ayrılan bir enzimler grubuna verilmektedir. Pankreatik elastaz (EC 3.4.21.36) (*diğer isimleri:* pankreatopeptidaz E, pankreatik elastaz I), elastin dahil proteinlerin hidrolizlerini Ala-|-Xaa segmentinden gerçekleştirir. Pankreatik elastaz II (EC 3.4.21.71) ise lösin, metiyonin ve fenilalaninin karbonil gruplarını seçimli olarak ayırır. Lökosit elastaz (EC 3.4.21.37) (*diğer isimleri:* lizozomal elastaz, nötrofil elastaz, medullasin), elastin dahil proteinlerin hidrolizlerini Val-|-Xaa segmentinden gerçekleştirir. Elastaz III (EC 3.4.21.70) (pankreatik endopeptidaz E) ise Ala-|-Xaa segmentinden proteinleri parçalar fakat elastini hidrolize edemez (ODB, 2011).

Diğer proteinazların aksine elastazlar fibriler elastini ayırabilmektedir. Bu fibriler elastinler akciğerlerde, damarlarda, deride ve bağ dokuda mekanik fonksiyonu olan ve kendine has elastisiteye sahip önemli ekstraselüler matriks proteinleridir. Elastazlar elastine ek olarak, çok önemli biyolojik fonksiyonları olan 1, 2, 3, 4, 8, 9, 11 kollajen tiplerini ve bunun yanında fibronectin, laminin ve kıkırdak proteoglikanlarını da ayırır (Bieth ve diğ., 1998).

2.5.1. Pankreatik Elastaz

Pankreatik elastaz 240 amino asitin 4 tane disülfid köprüsüyle birbirine bağlandığı tek bir yoğun polipeptit zinciridir. Diğer proteinazlar gibi; (tripsin ve kimotripsin) pankreatik elastazlarda hidrofobik bir merkeze ve geniş benzerlik dizilerine sahiptirler. (Hartley ve Shotton, 1971; Geiger, 1984). Pankreatik elastaz tersiyer yapılı bir proteindir (Hartley ve Shotton, 1971). Enzim pankreasta pre-proelastaz olarak sentezlenir (MacDonald ve diğ., 1982). Enzim proelastaz safhasından sonra zimojen

granüllerde depolanır ve dudenumlarda tripsin etkisiyle aktif elastaz haline dönüştürülür (Gertler ve Birk, 1970).

Bu proses tripsinojen ve kimotripsinojenin N terminalinin sonundaki molekülün küçük peptid aktivasyonunun yer değiştirmesiyle sonuçlanan prosese benzer ve enzime kendi doğal yapısını kazandırır. Pankreatik elastazın bu iki formu katalitik özellikleri bakımından farklılık gösterir (Largman ve diğ., 1976).

Pankreatik elastaz herhangi bir prostetik grup ya da metal iyonu içermez ve herhangi bir allosterik aktivatörü ya da inhibitörü de yoktur. Enzimatik aktivitesi sadece 3 boyutlu yapıdaki tek polipeptid zincirinden kaynaklanır. Bu yüzden herhangi bir yapı değişikliğinde ya da denatürasyonda aktivitesini kaybeder (Shotton, 1970).

Pankreatik elastaz geniş substrat spesifitesine sahip bir serin proteazdır. Glisin, valin, lösin ve özellikle alanin gibi küçük hidrofobik zincirlere sahip amino asit kalıntılarının karbonil grubu sonlarındaki peptid bağlarını ayırır. Pankreatik elastazın yüksüz aromatik zincirlere olan geniş spesifitesi, yapısında çok sayıda alifatik zincir bulunduran elastini yegane ayırabilen enzim olmasıyla açıklanır. Elastaz aynı zamanda fibrin, hemoglobin ve kazein gibi proteinleri de ayırır ancak kollajen ve keratini ayıramaz (Shotton, 1970).

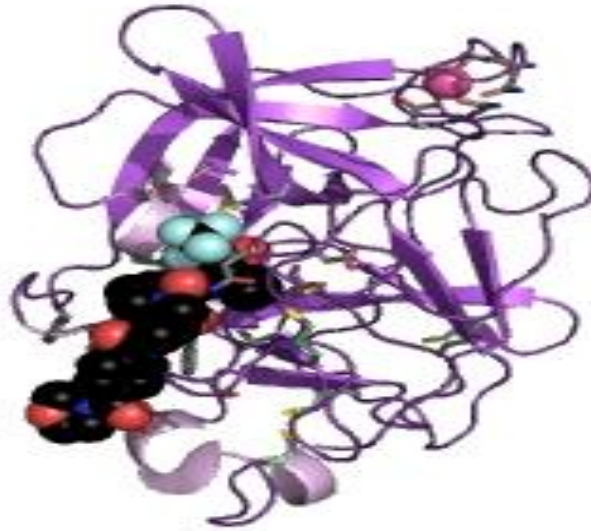
Elastin kendine mahsus çapraz bağlı yapısından dolayı elastaz tarafından parçalanırken ortamda olan peptid salınımının miktarı peptid bağlarının parçalanmasının miktarıyla lineer olarak değişmemektedir (Shotton, 1970).

Pankreatik elastaz herhangi bir spesifik aktivatöre ihtiyaç duymaz. Tris çözeltisi, NaSO_4 ya da SDS varlığında pankreatik elastaz aktivitesinin iyi bir şekilde arttığı gözlemlenmiştir (Hartley ve Shotton, 1971; Banda, 1987).

Aktivite diizopropil ve PMSF gibi sülfonilfloridler tarafından geri dönüşümsüz olarak inhibe edilir (Mandle, 1962). Aynı zamanda elastinal, a1-proteinaz inhibitör ve a2-makroglobülin tarafından inhibe edilir (Barrett ve McDonald, 1980). Elastazın elastolitik aktivitesi bazı tuzlar tarafından etkilenir. 50-70 mM NaCl, KCl, ve 0.01 mM CuSO_4 elastaz aktivitesinde % 50 inhibisyona neden olurlar. Bununla birlikte çinko,

manganez, kobalt ya da kalsiyumun milimolar düzeydeki konsantrasyonlarının inhibisyona herhangi bir etkileri yoktur (Hartley ve Shotton, 1971).

Pankreatik elastaz pH 4.0 ve 10.5 arasında 2°C de 50 mg/mL tuz çözeltilerinde ve suda çözünebilir. Bu tip çözeltiler pH 6.0'nın altında uzun süre kararlı olarak kalmaktadır. Pankreatik elastaz yüksek asidik ortamda yapı değişikliğinden kaynaklanan geri dönüşümsüz olarak inaktif forma geçer. Eğer oda sıcaklığında ve optimum pH'da inkübe edilirse hızlı bir şekilde peptid karışımına parçalanır (Hartley ve Shotton, 1971). Domuz pankreatik elastaz enziminin kristal yapısı Şekil 2.5.1' de görülmektedir.



Şekil 2.5.1. Domuz pankreatik elastaz enziminin kristal yapısı (Cregge , 1998).

2.5.2. Nötrofil Elastaz

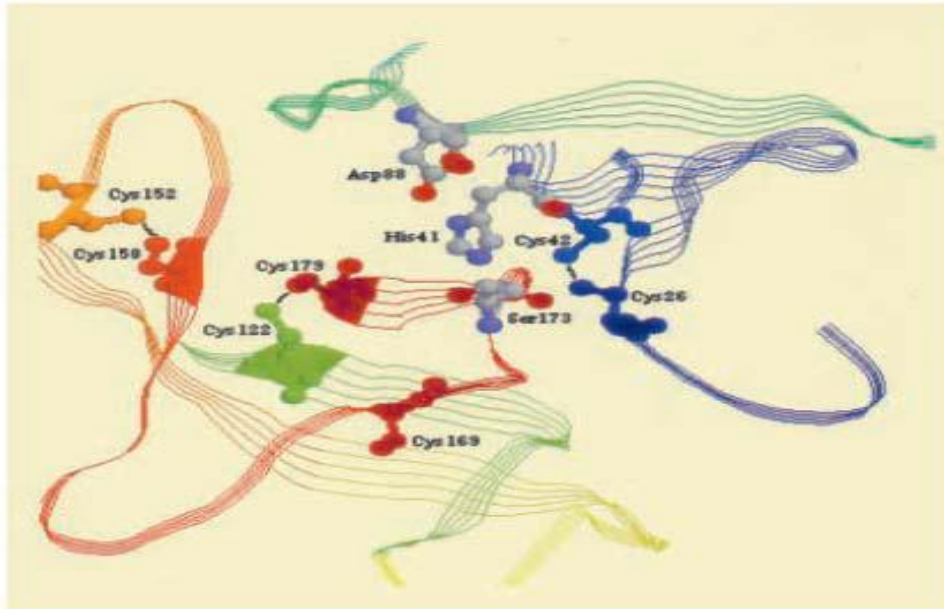
Nötrofil elastaz (NE) (E.C 3.4.21.37); elastin, proteoglikan, fibronektin, kollajen tip 1-4, yüksek rezistan elastin içeren ekstrasellüler matrisiks komponentlerini ve konnektif doku komponentlerini hidrolitik olarak parçalayan proteaz ailesinden asit bağımsız bir granül serin proteazdır (Havemann ve Gramse, 1984). Enflamatuvar doku hasarının çok önemli bir mediatörüdür. Normal şartlar altında matrisiks proteinlerinin dönüşümü ile ilgili bir

enzimdir ve nötrofil sitoplazmasında lokalize olarak bulunmaktadır (Fujike ve diğ., 1999).

NE doğuştan olan konak savunmasındaki fizyolojik rolünün yanı sıra doku yeniden modellenmesine katılır ve sekretagog etkiye sahiptir. Enzim iki asparagin bağlı karbohidrat yan zinciri ve dört disülfid bağı içeren 218 amino asitten oluşmaktadır (Belaouaj ve diğ., 1997).

NE moleküler ağırlığı hakkında çeşitli tanımlamalar yapılmıştır. Ohlsson NE'ı 32-36.000 kDa moleküler ağırlıkta, Taylor 22.000 kDa, Schmidt ve Havemann ise 27.000 kDa olarak bulmuştur (Kim ve Kang, 2000). İnsan nötrofil elastazının üç boyutlu yapısı Şekil 2.5.2'de gösterilmiştir.

İnsan NE'ı primer olarak bir lizozomal enzim olup elektrostatik olarak çok sayıda bulunan arginin kalıntıları yolu ile çözünmeyen sülfatlı polisakkarid matrikse bağlıdır. Her biri farklı miktarlarda karbohidrat içeren izoenzim şeklinde sentez edilmekte, hidrofobik grupların varlığından etkilenmekte ve yağ asitleri ile inaktive olurken yağ alkolleri ile aktive olmaktadır (Sinha ve diğ., 1987).



Şekil 2.5.2. İnsan nötrofil elastazının üç boyutlu yapısı (Kristalografik veri Brookhaven Laboratuvarı protein veri bankasından elde edilmiştir) (Kim ve Kang, 2000).

Nötrofil elastazın en önemli fizyolojik fonksiyonu; polimorfonükleer lökosit tarafından fagozite edilmiş immün kompleksler ve bakterileri ayırmasıdır. Enzim aynı zamanda lökositlerin kandan dokuya taşınmasında ve polimorfonükleer lökositlerin programlı ölümünde rol oynarlar. İnsan nötrofil elastazının farklı inflamatuvar hastalıkların patojenezine dahil oldukları görülür. Bunlara örnek olarak; akciğer amfizemi, sistik fibrozis, akut respiratuvar distres, romatoid artrit ve enfeksiyon hastalıkları gösterilebilir (Bieth ve diğ., 1998).

İnsan nötrofil elastazın bu farklı hastalıklarla olan bağlantısı elastaz inhibitörleri üzerine yapılan terapötik araştırmalarla ortaya çıkarılmıştır. Plazma türevi alfa₁-proteinaz inhibitörü kalıtsal inhibitör eksikliği olan hastalarda kullanılır (Crystal, 1996). Son 20 yılda tıpta elastaz inhibitörü etkili ve aktif sentetik inhibitörler de sentez edilmiştir. (Edwards ve Bernstein, 1994).

Doğal elastaz inhibitörleri ile ilgili çalışma sayısı çok azdır, fakat flovanoidler ve kafeik asit türevlerinin inhibitör etkilerinin olduğu literatürde belirtilmiştir (Melzig ve diğ., 1999; Melzig ve diğ., 2000; Löser ve diğ., 2000).

Nötrofil elastaz enfeksiyonlu kısımlarda ya da diğer zarar görmüş dokularda inflamasyonun erken dönemlerinde bir sonuç emaresi olarak nötrofillerden salgılanır. Bu durumda polimorfonükleer lökositlerdeki konsantrasyonu çok yüksek olur (10^6 hücrede 3 µg enzim) (Liou ve Campbell, 1995).

2.6. PANKREATİK VE NÖTROFİL ELASTAZ ENZİMLERİNİN İNHİBİTÖRLERİ

Çok sayıda protein yapısında proteinaz inhibitörü karakterize edilmiştir ve bunlar hali hazırda kayda değer bir şekilde dikkat çekmektedirler. Bu durum hedef proteinazların aktivitelerini düzenlemelerinden gelir ve aynı zamanda yüksek çözünürlüklü yapı verisinin elde edilmesi onları protein-protein etkileşimleri çalışmalarında uygun hale getirir (Bode ve Huber, 1992; Bode ve Huber, 1994).

Protein proteinaz inhibitörlerinin çoğu serin proteinaz inhibitörleri olarak da bilinir. En az 18 farklı inhibitör ailesi ve bunlardan 12 si için en az 1 tane dördüncül yapı bilinir (Bode ve Huber, 1994). Sığır pankreatik tripsin inhibitör (BPTI)'ü bunlar arasında en çok üzerinde çalışılan proteinaz inhibitörlerindedir (Creighton, 1992).

Bitki veya hayvan kökenli proteolitik enzimlerin protein inhibitörleri, canlılardaki proteinazların aktivitelerini düzenlemede önemli bir rol oynar. Çoğu hastalık (akut pankreatit, peritonit, amfizem, bronşial astım, septisemi vd.) proteolitik süper aktivite ve anormal bağlantisal doku dönüşümleriyle birlikte oluşur (Neuhof ve diğ., 1989; Travis ve Salvensen, 1983). Bir çok çeşit proteinaz inhibitörleri arasında, serin proteinaz inhibitörleri üzerinde en çok çalışılan ve baklagil tohumlarından izole edilen inhibitörlerdir (Olivera ve diğ., 2002). Serin proteinaz inhibitörleri çeşitli böcek enzimlerine karşı etkilidirler ve bu yüzden haşerelere karşı mücadelede alternatif yollar aramak için çalışmalarda kullanılırlar (Reckel ve diğ., 1997).

Klasik elastaz inhibitörleri; Kunitz (sığır pankreatik ve soya fasulyesi tripsin inhibitörleri) tipi inhibitörler, Bowman-Birk tipi inhibitörler, Patetes I ve II tipi inhibitörler ve Kazal (pankreatik sekretuar tripsin inhibitörleri) tipi inhibitörlerdir (Jack, 2008).

Yeşil çaydan (*Camellia sinensis*) izole edilmiş kateşin ve epigallokateşin gibi polifenollerin kollejenazın ve elastazın inhibitörleri oldukları bulunmuştur (Kim ve diğ., 2004). Aselbent reçinesinden izole edilen ve boswellik asit olarak da bilinen triterpenoidler de anti-elastaz aktivitesine sahiptirler (Melzig ve diğ., 2001). Trabzon hurması (*Diospyros kaki*) yaprağından izole edilen polifenoller de anti-elastaz aktivitesi göstermişlerdir (An ve diğ., 2005). Spektrofotometrik analizler kullanılarak bulunmuştur ki biberiye bitkisinde (*Rosmarinus officinalis*) iyi bir anti-elastaz aktivitesine sahiptir (Baylac ve Racine, 2004). Glikozaminoglikan polisülfatların polianyonik polimerlerle elektrostatik etkileşimlerinden dolayı, insan lökosit elastazlarını inhibe edebildikleri bildirilmiştir (Baici ve diğ., 1980). Bu yüzden polinükleotitlerle olası lökosit elastaz inhibisyonunu kontrol etmek ilgi çekici bulunmuştur (Lestienne ve Bieth, 1980).

Elafinin serin elastazlarının güçlü bir inhibitörü olduğu kanıtlanmıştır. Bu inhibisyonda HLE ve domuz pankreatik elastaz enzimleriyle birlikte elafin 1:1 molar kompleksler oluşturmuştur (Oliver ve diğ., 1990).

Son zamanlarda elastaz ve inhibitörleri arasındaki etkileşimler ilgi çekici hale gelmiştir (Bizot-Foulon ve diğ., 1995).

2.7. ELASTAZ ENZİMLERİYLE İLGİLİ KLİNİK ÇALIŞMALAR

Pankreatik elastaz-1, pankreas tarafından üretilen proteolitik bir enzimdir. Bağırsak pasajı sırasında stabildir ve duodonal sıvıdaki konsantrasyonundan daha az miktardaki enzim, dışkıda bulunur. Dışkıda elastaz-1 tayini pankreas ekzokrin fonksiyonunu değerlendirmede kullanılır. Kronik pankreatit, kistik fibroz, diabetes mellitus tip 1, kolelityazis, herediter pankreatit, kronik inflamatuvar bağırsak hastalıkları, pankreas kanseri, otoimmün pankreatit, Schwachman-Diamond sendromu Zollinger–Ellison sendromunun neden olduğu pankreas yetmezliğinde dışkıda elastaz-1 düzeyi azalır. Dışkıda pankreatik elastaz-1 tayininin pankreas yetmezliği tanısındaki duyarlılık ve spesifitesinin % 90'dan fazla olduğu bildirilmiştir (Sistem Laboratuvarı, 2011).

Akciğer amfizeminin patojenezinde elastazın olası rolü ile ilgili olarak son 10 yılda birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar hayvan modellerinde yeni gözlemleri içermektedir. Bu gözlemler elastaz etkisiyle oluşan lezyonların sigara dumanına maruz kalma veya latirojenler nedeniyle büyüdüğünü açığa çıkarmıştır. Genelde, hayvan modeli deneyleri akciğerdeki tamir-proseslerine yoğunlaşmıştır ve bu tip proseslerin başlangıçtaki proteolitik hasarının sonlanmasında büyük bir etkisinin olabileceğini göstermektedir. Nötrofiller veya serumdaki elastaz düzeyleri ile hastalığın gelişimi arasındaki korelasyonları inceleyen insan deneyleri çelişkili veriler sunmaktadır; bununla birlikte, akciğer salgılarındaki enzimlerin ölçülmesi daha başarılı sonuçların alınmasına neden olmuştur. İnsanlardaki akciğer elastaz inhibitörlerinin değerlendirilmesi, alfa-1-proteinaz inhibitörünün aşağı solunum yollarının korunmasındaki önemini desteklemeye devam etmektedir, fakat yerel olarak üretilen, düşük molekül ağırlıklı elastaz inhibitörleri hakkındaki daha yeni bilgiler bunların da

önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Kimyasal ve hücresele düzeylerde sigara tüketimini amfizem gelişmesine bağlamak için girişimlerde bulunulmuştur. Bu çalışmalar şu konulara odaklanmıştır: (1) sigara kullanıcılarının akciğerlerine elastaz-üreten lökositlerin göçü, (2) tütün ürünleri tarafından veya tütünün etkilediği akciğer hücrelerinden salınan metabolitler tarafından akciğer elastaz-inhibitörlerinin inaktivasyonu ve (3) sigara kullanıcılarındaki elastin neosentezi (tamir) ile girişim. Nötrofil ve makrofaj elastazların biyokimyasal özellikleriyle ilgili daha fazla bilgiye ulaşılabilir, fakat sigara kullanımı ile ilgili olan kronik akciğer hasarında bu enzimlerden hangisinin baskın rol oynadığı hala belirsizdir. Belki de amfizem alanında son yıllardaki en büyük ilerleme alfa-1-proteinaz (elastaz) inhibitörünün yapısı ve fonksiyonu ile ilgili yeni keşifler içermektedir. Rekombinant DNA teknolojisi ve genetik mühendisliği uygulamaları, dikkat çekici yeni özellikler taşıyan modifiye inhibitörler dizayn etmeyi mümkün kılmıştır. Bu ajanlar çok uzak olmayan bir gelecekte önemli klinik uygulamalara kavuşabilir (Janoff, 1985).

Nötrofil elastaz (NE) ve kanser hakkında deneysel ve klinik çalışmalar bulunmaktadır. Kompleks olay serilerinin sonucunda neoplazmalar metastaza uğrar. Bu süreç için proteazları da içeren çeşitli yıkıcı enzimler gerekmektedir. NE fizyolojik koşullarda geniş bir substrat spesifikliğine sahiptir ve aşırı NE sadece elastinin değil diğer ekstraselüler matriks proteinlerinin de sindirimi ile sonuçlanır. İnsan göğüs kanserinden insan akciğer kanserine çeşitli hücre çizgileri immünoreaktif NE üretir. Kanser dokusundaki immünoreaktif NE miktarı, göğüs kanserli ve akciğer kanserli hastaların bağımsız prognostik bir indikatördür. Ayrıca, spesifik bir NE inhibitörü, ağır kombine immün yetmezlik sendromu taşıyan farelere transplante edilmiş kanser hücrelerinin gelişimini tamamen baskılamıştır. NE inhibitörünün kullanımı, kanserin istilasını ve metastazını önlemede umut verici bir yol olarak görülebilir (Takashi ve diğ., 2006).

Elastaz aktivitesinin, hem HUVEC'te E-selektin ekspresyonunun (ifadesinin) hem de kanser hücrelerinin onlarla sonuçta oluşan adhesif reaksiyonunun uyarılmasında biyolojik bir fonksiyonu vardır. Elastin aktivitesinin inhibisyonu kanser hücrelerinin metastazının kontrolünde etkili bir stratejidir (Fumiaki ve diğ., 2000).

Akut pankreatit, pankreasta normalde inaktif halde bulunan sindirim enzimlerinin herhangi bir etiyolojik faktörle aktif hale geçerek pankreas dokularını sindirmesi ve buna karşı yaygın bir inflamasyonun gelişmesi ile karakterize olan; organizmada lokal, bölgesel ve sistemik yansımalara, komplikasyonlara yol açan bir klinik tablodur (Amman ve Warshaw, 1985; Glazer, 1988). Elastaz 1, özgün elastolitik aktivitesi olan ve aynı zamanda hemoglobün, kazein, fibrin ve albümini de yıkabilen bir enzimdir. Elastaz 1, akut pankreatitli bütün hastalarda, pankreas kanseri olan hastaların çoğunda ve daha az olmak üzere pankreatitli hastalarda yüksek oranlarda saptanmaktadır. Bu enzimin dikkate değer olmasının nedeni amilaz, lipaz ve tripsine kıyasla daha uzun süre serumda yüksek oranlarda bulunmasıdır (Clavien ve diğ., 1989; Pekmezci ve Sarıbeyoğlu, 2000). Elastaz 1 böbrek yetmezliği durumunda diğer proteazlara göre daha az etkilenmektedir. Plazma elastazının uzun süreli varlığı geç dönemdeki pankreatit hasarını göstermede özel olarak faydalıdır.

Klinik ve labaratuvar değerlendirmesi ile tanının konulmasını takiben, akut pankreatitli hastalarda uygulanacak en önemli tedavi, medikal tedavidir. Medikal tedavide amaç bezin dinlenmeye alınması yani pankreatik salguların inhibe edilmesidir (Sevinç, 2006).

Kronik pankreatit; şiddetli olabilen karın ağrısı, pankreasta kalıcı fonksiyon bozukluğu ve yapısal değişikliklerin gözleendiği pankreasın kronik yani uzayan iltihabi hastalığıdır. İlerleyici bir hastalıktır, çok nadiren geriler. Birçok faktör kronik pankreatit gelişmesine neden olabilir. Bunlar arasında en etkili olanlar; aşırı alkol alımı ve yağlı diyettir. Kronik pankreatitte; karın ağrısı, kilo kaybı, sindirim bozukluğu ve steatore (dışkı ile aşırı yağ kaybı) gibi belirtiler gözlenir. Kronik pankreatit tanısında; fizik muayene, sekretin testi, serumda enzim ölçümü, dışkıda yağ tayini gibi testlere son dönemde fekal elastaz testi olarak adlandırılan yeni bir test eklenmiştir. Bu test pankreas bezinin fonksiyonunu görmede ve pankreas hastalıklarının tayininde kullanılır (Aslan, 2011).

Pankreas yetmezlikleri ve kronik pankreatit tanısında fekal elastaz; i) intestinal geçiş sırasında miktarında herhangi bir değişiklik olmaması, ii) dışkıda pankreatik sıvıdan 5-6 kez daha fazla bulunması, iii) uzun süre stabil kalması, iv) nispeten ucuz ve kolay uygulanabilir olması nedenleriyle çok yararlı bir yöntemdir (Aslan, 2011).

KOAH (*Kronik obstrüktif akciğer hastalığı*) tam olarak reversibl olmayan hava akımı kısıtlaması ile karakterize bir hastalıktır. Hava akımı kısıtlaması genellikle ilerleyicidir, aynı zamanda akciğerlerin zararlı partiküllere ve gazlara karşı anormal inflamatuvar yanıtı ile ilişkilidir (Calverley, 2004).astalıktır, çok nadiren geriler.

KOAH patojenezinde çok önemli rolü olan nötrofil elastaz (NE), amfizemdeki elastolitik aktivitenin başlıca sorumlusudur (Barnes, 2002).

Amfizem, akciğerlerdeki alveol kanallarının, alveol keseciklerinin dilatasyonu ve harabiyeti olarak tanımlanır. Bu harabiyet alveol duvarındaki elastin denilen kompleks protein yapılarının inflamatuvar hücrelerden salınan elastaz enzimi tarafından bozunması ile ortaya çıkar. Hastalık sessiz ilerler ve ancak ileri evrelerde belirti verir. Bu belirtiler; nefes darlığı, solunum güçlüğü ve fiziksel aktiviteye bağlı olarak çabuk yorulmadır.

Bugün kabul gören proteaz-antiproteaz hipotezine göre nötrofil ve makrofaj gibi fagositik hücrelerden salgılanan proteolitik enzimler (elastaz, kollojenaz, tripsin) akciğerin yapısal proteinlerini yıkarlar. Akciğerlerin bağ dokusunun % 20-30'unu elastin oluşturur. Elastin ile elastaz arasındaki reaksiyon sürekli devam eder ancak normalde elastin yeniden sentez edildiği için harabiyet oluşmaz. Doğal olarak proteazlar ile proteaz inhibitörleri arasında bir denge vardır. En önemli proteaz inhibitörlerinden biri alfa-1 antitripsin'dir. Amfizemde ya proteolitik enzim salınımı artmıştır ya da antiproteolitik aktivitede azalma söz konusudur (Özkul ve Erdoğan, 1990).

Yapılan çalışmalarda sigaranın amfizeme yol açma mekanizması patojenetik bir prototip olarak kabul edilmiştir. Sigara dumanının, akciğerlerde başlıca makrofaj ve nötrofillerden zengin bir inflamasyona yol açtığı gösterilmiştir (MacNee ve diğ., 1989).

Sigaranın nötrofillerin proteolitik aktivitesini artırdığını gösteren *in vitro* çalışmalar yapılmıştır (Fera ve diğ., 1986). Ayrıca sigara dumanına maruz kalmanın (aktif ve pasif içicilerde) nötrofil elastaz aktivitesini artırdığını *in vivo* çalışmalarda göstermiştir (Weitz ve diğ., 1987). Artan nötrofil elastaz daha fazla doku yıkımını ifade eder. (Fishman, 1992).

Elastaz enzimi ile ilgili yapılan klinik çalışmalardan bazılarıda kozmetik alanında yapılan çalışmalardır. Deri yaşlanması ve sarkmasını önlemek için yapılan bu çalışmalar son yıllarda oldukça ilgi görmektedir. Deri yaşlanmasının iki önemli nedeni vardır. Birincisi; genetik nedenler, ikincisi ise UV, deterjanlar, fiziksel nedenler vb. gibi çevresel unsurların deri üzerinde yol açtığı kimyasal değişikliklerdir (Kligman ve Larker, 1988).

Yaşlanma ile birlikte, özellikle 40 yaşın üzerindeki insanlarda, elastaz aktivitesi etkisiyle derinin elastikliği azalır ve buda deride sarkmaya sebep olur. Biyolojik olarak elastaz aktivitesi yaşlanma ise birlikte önemli ölçüde artar. Bu artış sonucunda deride ki elastikiyet azalır ve kırıkliklar yada çatlaklar görülmeye başlar (Bissett, 1987).

Elastaz ve inhibitörlerinin incelendiği bir dizi çalışmada; doymamış yağ asitleri, peptitler, flavanoidler ve terpenlerin dahil olduğu bazı yapıların elastaz inhibitörü görevi gördüğu ileri sürülmüştür (Bizot-Faulon ve diğ., 1995). Fakat bu henüz tam anlamıyla kanıtlanamamıştır.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. DENEYLERDE KULLANILAN ALETLER

Buzdolabı	: Arçelik
Destile Su Cihazı	: Brand MonoDest3000
Derin Dondurucu	: Beko
Etüv	: Nüve FN500
Evaporatör	: Bibby Rotari Vakum Evaporatör
pH metre	: Hearus
Sonikatör	: Bandelin Sonarex
Terazi	: Radwag XA 60/220/X hassas terazi
Terazi	: Radwag AS 220/C/2 hassas terazi
Vorteks Cihazı	: Fison Whirlimixer
UV-VIS Spektrofotometre	: Shimadzu UV-mini-1240

3.2. DENEYLERDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Bitki ekstraksiyonlarında organik çözücü olarak etil alkol (Merck 100971) kullanıldı. Tamponun hazırlanması için Tris (Merck 108387) ve hidroklorik asit (Merck 100013) kullanıldı. Deneyleerde substrat olarak N-Succinyl-Ala-Ala-Ala-p-nitroanilid (Sigma S4760), aktivitesi tayin edilecek enzim olarak ise elastaz (Calbiochem 324682) (1000U/ml) kullanıldı.

İnhibisyon aktiviteleri tayin edilmek üzere; kuarsetin dihidrat (Fluka 83370), gallik asit (Fluka 48630), L(+)-askorbik asit (C vitamini) (Merck 70214543), kojik asit (Fluka 60890), β -karoten (provitamin A) (Fluka 45300), DL- α -tokoferol asetat (E vitamini) (Merck 8283), rezorsinol (Merk 107593), rutin hidrat (Sigma R5143), glikolik asit (Fluka 50590), 2-hidro-dodekanoik asit (Fluka 55240), laktik asit (Sigma L-1250), vanilin (aktar), vazelin (Fluka 16856), DL-metionin metilsülfonyum klorür (U vitamini) (Fluka 64382), 3-metil-1-fenil-2-pirazolin-5-on (Edaravon) (Fluka 68740), L-glutasyon

(Fluka 49750), piridoksal-5`-fosfat (B₆ vitamini) (Biochemika 82870), glisil glisinin (Merck 104233), metionin (Hoffman 24228), sitrik asit (Merck 242), tartarik asit (Merck 802), malik asit (Merck 382), melatonin (Merck 814537), kateşin (Sigma 124K1484), glisin (Merck 4201), lösün (Merck 105360), arginin (Merck 101543), DL-fenil alanin (Merck 107257), kafein (Fluka 27600) ve L-prolin (Merck107434) kullanıldı.

3.3. ENZİM İNHİBİSYONU TAYİNİNDE KULLANILAN BİTKİ MATERYALLERİ

Çalışmamızda elastaz enzim inhibitör etkilerinin tayinlerinde çeşitli bitki materyalleri kullanıldı. Aktarlardan veya pazarlardan alınan bitkiler öncelikle yıkandı, distile sudan geçirildi ve gölgede kurutuldu. Kurutulan bitkilerden etil alkollü ekstratlar hazırlandı. Çalışmamızda kullanılan bitki materyallerinin bilinen Latince adları Tablo 3.3.1’de gösterildi.

Tablo 3.3.1. Enzim inhibisyon tayininde kullanılan bitki materyali

Bitki Materyalinin Türkçe Adı	Latince Adı
Ananas	<i>Ananas comasus</i>
Bal kabağı	<i>Cucurbitamoschata</i>
Beyaz çay	<i>Camellia sinensis</i>
Beyaz dut	<i>Morus alba</i>
Biberiye	<i>Rosmarinus officinalis</i>
Brokoli	<i>Brassica oleracea italica</i>
Çilek	<i>Fragaria vecsa</i>
Defne	<i>Laurus nobilis</i>
Defne (Yemişi)	<i>Laurus nobilis</i>
Domates	<i>Lycopersicum esculentum</i>
Elma	<i>Malus domestica</i>
Gelincik	<i>Papaver rhoeas</i>
Gül	<i>Rosa domescana</i>
Hatmi	<i>Althaeae officinalis</i>
Havuç	<i>Daucus carota</i>
Hindistan cevizi	<i>Cocos nucifera</i>
Hurma	<i>Phoenix dactylifera</i>
Isırgan	<i>Urtica dionica</i>
Kabak	<i>Cucurbita pepo</i>

Kapari	<i>Capparis spinosa</i>
Karadut	<i>Morus nigra</i>
Kayısı	<i>Prunus armeniaca</i>
Keçiboynuzu	<i>Ceratonia siliqua</i>
Kereviz	<i>Apium graveolens dulce</i>
Kiraz	<i>Prunus avium</i>
Kivi	<i>Actinidia chinensis</i>
Kudret narı	<i>Momordica charantia</i>
Kuşburnu	<i>Fruktus cynosbati</i>
Lavanta	<i>Lavandula angustifolia</i>
Limon	<i>Citrus x limon</i>
Mandalina	<i>Citrus reticulata</i>
Muz	<i>Musa cavendish</i>
Nar	<i>Punica granatum</i>
Nar çiçeği	<i>Flos punica</i>
Oğul otu	<i>Melissa officinalis</i>
Pancar	<i>Beta vulgaris</i>
Papatya	<i>Matricaria camomilla</i>
Patlıcan	<i>Solanum melongena</i>
Salatalık	<i>Cucumis sativus</i>
Soğan	<i>Allium cepa</i>
Tetra	<i>Cotinus coggyrgria</i>
Trabzon hurması	<i>Diospyros kaki</i>
Yaban mersini	<i>Vaccinium myrtillus</i>
Yasemin	<i>Yasminum officinale</i>
Yeşil çay	<i>Camelia sinensis</i>
Yer elması	<i>Helianthus tuberosus</i>
Yeşil üzüm	<i>Vitis vinifera</i>
Zakkum	<i>Nerium oleander</i>
Zencefil	<i>Zingiber officinale</i>

3.3.1. Etil Alkollü Ekstrelerin Hazırlanması

25 g bitki veya meyva Sokslet cihazının kartuşuna konuldu. Kartuş Sokslet sistemine yerleştirilerek cihazın balonuna 150 mL % 96' lık etil alkol ilave edildi. Karışım geri soğutucu altında 8 saat reflüks edildi. Elde edilen karışım soğutuldu. Süzüntü önceden darası alınan balona konuldu. Balon rota evaporatöre yerleştirilerek düşük basınç altında etil alkol karışımından uzaklaştırıldı. Elde edilen ekstre miktarları tartıldı.

3.4. ENZİM İNHİBİSYON TAYİNLERİNDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Tablo 3.4.1, Tablo 3.4.2, Tablo 3.4.3 ve Tablo 3.4.4'de yer alan çeşitli kimyasal maddelerin, aminoasitlerin, asitlerin ve vitaminlerin enzim inhibisyonu üzerine etkileri incelendi.

Tablo 3.4.1 Enzim inhibisyonunda kullanılan kimyasal maddeler

Madde Adı
Edaravon
Kafein
Kateşin
Kuarsetin dihidrat
Rezorsinol
Vanilin
Vazelin
β - karoten

Tablo 3.4.2 Enzim inhibisyonunda kullanılan amino asitler

Madde Adı
Arginin
Fenil alanin
Glisin
Lösin
Metionin
Prolin
Serin
Glisil glisin
L- Glutatyon

Tablo 3.4.3 Enzim inhibisyonunda kullanılan çeşitli asitler

Madde Adı
Gallik asit
Glikolik asit
Kojik Asit
Laktik asit
Malik asit
Sitrik asit
Tartarik asit
2- hidroksi-dodekanoik asit

Tablo 3.4.4 Enzim inhibisyonunda kullanılan vitaminler

Madde Adı
B ₆ vitamini
E vitamini
Rutin (P Vitamini)
U vitamini
L(+)-Askorbik asit

3.5. PANKREATİK ELASTAZ ENZİMİN İNHİBİTÖR ETKİSİNİN ÖLÇÜLMESİ

Pankreatik elastaz inhibitör etkisi Moon ve arkadaşlarının yöntemine göre spektrofotometrik olarak tayin edildi (Moon ve diğ., 2010). Çalışmamızda seçilen bitkilerin etil alkollü ekstrelerinden çeşitli konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlandı.

0.16 U pankreatik elastaz içeren çözeltiden 50 µL alındı, üzerine hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki bitki ekstreleri ve kimyasal madde çözeltilerinden 50 µL eklendi. Daha sonra 0.2 M pH: 7.8 olan Tris-HCl tampon çözeltisinden 0.9 mL ilave edildi.

Kontrol çözeltisine bitki ekstresinden konulmadı. Kör için ise enzim yerine enzim miktarı kadar bidistile su kullanıldı. Kör, kontrol ve örnek çözeltileri 15 dakika 37°C'de ilk inkübasyona bırakıldı. İlk inkübasyondan sonra bütün çözeltilere 5mM STANA (substrat çözeltisi)'dan 50 µL ilave edildi ve 37°C'de 30 dakika ikinci inkübasyona bırakıldı. Örnek ve kontrol çözeltileri UV spektrofotometrede 410 nm'de köre karşı absorbans değerleri okundu. Deneyle 3 kez tekrarlandı.

Yapılan çalışmada farklı konsantrasyonlarda hazırlanan örneklerin elastaz enzimi üzerine inhibisyon değerleri aşağıdaki denkleme göre hesaplandı.

$$\% \text{ inhibisyon} = [(\Delta A_{410 \text{ kontrol}} - \Delta A_{410 \text{ örnek}}) / \Delta A_{410 \text{ kontrol}}] \times 100$$

$\Delta A_{\text{kontrol}}$: Kontrol çözeltisinin absorbans değeri

$\Delta A_{\text{örnek}}$: Numune çözeltisinin absorbans değeri

Pankreatik elastaz enziminin IC₅₀ değeri (enzimin % 50 inhibisyon etkisi göstermesi için gerekli madde miktarı) absise madde miktarı, ordinata % enzim inhibisyon verilerinin uygulaması ile çizilen eğrinin lineer kesiminden elde edilen regresyon denkleminde hesaplandı.

4. BULGULAR

Bu çalışmada çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan bitkilerin ve çeşitli kimyasal maddelerin pankreatik elastaz enzimi üzerindeki inhibisyon etkileri incelendi.

4.1. BİTKİ EKSTRELERİNİN PANKREATİK ELASTAZ ENZİM İNHİBİTÖRÜ ETKİSİ

Kivi, gül yaprağı, salatalık, yaban mersini, papatya, yer elması, lavanta, hatmi, kudret narı, kabak, zencefil, mandalina, nar, nar çiçeği, ananas, limon, bal kabağı, muz, kiraz, elma, hurma, ısırgan, patlıcan, tetra, yeşil çay, beyaz çay, Trabzon hurması, kuşburnu, çilek, yasemin, gelincik, Hindistan cevizi, keçiboynuzu, melisa, defne yaprağı, soğan, biberiye, brokoli, karanfil, zakkum, kayısı, pancar, kereviz, defne meyvesi, karadut, beyaz dut, yeşil üzüm, domates, havuç ve kapari bitkilerinin üç, dört ve beş farklı konsantrasyonda hazırlanan etil alkollü ekstraları için hesaplanan inhibisyon değerleri kullanılarak çizilen konsantrasyon - % inhibisyon grafiklerinden elde edilen ortalama % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri Tablo 4.1.1’de gösterilmiştir.

Tablo 4.1.1. Çeşitli bitkilerden hazırlanan etil alkollü ekstrelerin pankreatik elastaz üzerindeki % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri

Bitki Adı	Konsantrasyon(µg/mL)	% İnhibisyon	IC ₅₀ Değeri (µg/mL)
Ananas	25	22.63 ± 14.19	137.05 ± 44.73
	50	46.00 ± 8.85	
	100	48.30 ± 5.11	
	200	56.61 ± 6.11	
Bal kabağı	200	43.50 ± 13.52	313.47 ± 175.95
	300	50.50 ± 7.44	
	400	54.85 ± 9.58	
	500	58.25 ± 6.62	
Beyaz çay	1	30.01 ± 9.05	31.13 ± 28.91
	10	43.61 ± 18.03	
	25	55.52 ± 14.14	
	100	75.50 ± 1.41	
Beyaz dut	1	40.65 ± 2.63	94.16 ± 30.42
	10	43.75 ± 4.60	
	50	47.15 ± 2.17	
	100	49.95 ± 2.64	
Biberiye	0.005	49.15 ± 3.88	0.0041 ± 0.001
	0.01	50.50 ± 1.97	
	0.05	58.55 ± 2.33	
	0.1	61.80 ± 0.84	
Brokoli	0.01	69.65 ± 3.18	0.0071 ± 0.0003
	0.05	74.71 ± 2.40	
	1	78.60 ± 1.55	
	5	85.91 ± 2.40	
Çilek	250	53.85 ± 2.19	31.25 ± 5.14
	500	57.00 ± 0.98	
	1000	65.70 ± 3.39	
Defne yaprağı	10	60.42 ± 8.76	8.27 ± 1.21
	50	67.41 ± 3.25	
	75	70.85 ± 2.75	
	100	74.01 ± 3.81	

Bitki Adı	Konsantrasyon(µg/mL)	% İnhibisyon	IC ₅₀ Değeri (µg/mL)
Defne meyvası	5	38.80 ± 8.34	31.12 ± 18.37
	10	46.90 ± 3.53	
	25	50.76 ± 3.94	
	50	58.63 ± 8.83	
	100	62.46 ± 11.49	
Domates	0.1	49.01 ± 0.85	0.63 ± 0.53
	1	50.70 ± 1.63	
	5	57.60 ± 2.57	
Elma	250	30.35 ± 7.56	3268.30 ± 86.97
	500	31.00 ± 2.82	
	1000	38.00± 0.00	
	2000	41.02 ± 3.11	
Gelincik	1	35.00 ± 7.07	8.12 ± 4.92
	5	48.50 ± 4.24	
	10	53.53 ± 7.77	
	15	60.45 ± 12.65	
Gül kuruşu	0.1	41.50 ± 4.16	0.31 ± 0.29
	0.5	49.75 ± 7.57	
	3	65.00 ± 6.50	
Hatmi	0.1	33.20 ± 2.40	34.63 ± 12.24
	1	40.51 ± 2.66	
	10	44.22 ± 3.81	
	50	54.83 ± 4.45	
Havuç	0.001	43.70 ± 2.68	0.49 ± 0.43
	0.01	46.80 ± 4.73	
	0.1	50.90 ± 3.50	
	1	53.00 ± 1.66	
Hindistan cevizi	0.1	43.75 ± 0.00	4.08 ± 2.21
	5	50.00 ± 7.07	
	10	61.00 ± 0.98	
	25	73.40 ± 0.84	
Hurma	250	28.81± 1.7	837.40 ± 169.68
	500	45.51 ± 9.12	
	750	48.61 ± 10.84	
	1000	52.33 ± 1.15	

Bitki Adı	Konsantrasyon(µg/mL)	% İnhibisyon	IC ₅₀ Değeri (µg/mL)
Isırgan otu	0.5	21.50 ± 1.73	10.41 ± 0.27
	1	27.00 ± 3.35	
	5	35.00 ± 6.61	
	10	49.01 ± 1.73	
Kabak	5	45.80 ± 4.20	11.07 ± 2.02
	10	50.00 ± 2.02	
	25	58.33 ± 2.08	
Kapari	1	37.51 ± 1.66	120.38 ± 21.35
	10	42.80 ± 1.69	
	50	45.31 ± 1.69	
	100	47.51 ± 2.45	
Karadut	0.01	41.75 ± 5.30	1.57 ± 1.54
	0.1	48.21 ± 7.35	
	5	62.35 ± 3.04	
Karanfil	0.1	29.71 ± 7.63	9.59 ± 7.32
	1	56.32 ± 7.35	
	10	61.80 ± 3.67	
	100	66.30 ± 6.08	
Kayısı	1	52.70 ± 8.24	0.94 ± 0.21
	5	58.00 ± 2.82	
	25	58.61 ± 3.67	
	50	59.30 ± 1.83	
	100	72.35 ± 5.16	
Keçiboynuzu	1	53.80 ± 5.37	0.92 ± 0.38
	15	58.71 ± 2.33	
	25	59.61 ± 2.68	
	50	61.50 ± 10.88	
Kereviz	0.1	45.41 ± 1.13	6.83 ± 2.48
	1	47.31 ± 3.81	
	10	52.25 ± 3.18	
	50	73.55 ± 5.84	
Kiraz	1000	46.01 ± 1.41	1461.75 ± 438.33
	1500	52.01 ± 1.41	
	3000	57.00 ± 1.41	
	5000	63.30 ± 4.66	

Bitki Adı	Konsantrasyon(µg/mL)	% İnhibisyon	IC ₅₀ Değeri (µg/mL)
Kivi	10	67.00 ± 0.01	7.46 ± 0.15
	20	76.50 ± 2.12	
	40	83.75 ± 5.30	
Kudret narı	0.1	44.01 ± 2.12	1.66 ± 0.32
	1	50.01 ± 15.55	
	5	60.00 ± 5.40	
	10	65.00± 4.43	
Kuşburnu	50	43.30 ± 5.80	80.44 ± 40.86
	100	53.80 ± 10.80	
	250	62.20 ± 2.30	
	500	65.31 ± 1.83	
Lavanta	0.1	36.51 ± 15.02	4.57 ± 2.02
	1	42.75 ± 13.54	
	5	46.25 ± 7.33	
	8	62.50 ± 11.08	
Limon	25	38.31 ± 3.76	268.53 ± 134.42
	50	40.50 ± 5.64	
	100	43.31 ± 19.73	
	200	46.51 ± 9.19	
Mandalina	10	26.66 ± 5.77	74.63 ± 35.52
	25	47.33 ± 19.13	
	100	58.96 ± 4.92	
	200	74.96 ± 8.35	
Muz	100	49.01 ± 0.81	87.01 ± 71.11
	250	55.01 ± 4.55	
	500	56.88 ± 4.83	
Nar	100	15.02 ± 14.14	348.78 ± 136.33
	150	30.75 ± 5.58	
	200	32.52 ± 10.60	
	300	42.25 ± 4.10	
Nar çiçeği	5	38.90± 5.51	14.15 ± 9.38
	10	55.01 ± 0.00	
	25	57.20± 4.52	
	50	61.90 ± 6.64	

Bitki Adı	Konsantrasyon(µg/mL)	% İnhibisyon	IC ₅₀ Değeri (µg/mL)
Oğul otu	0.001	42.01 ± 1.45	0.30 ± 0.16
	0.01	45.40 ± 9.40	
	0.1	47.25 ± 6.76	
	1	62.97 ± 8.77	
Pancar	10	32.50 ± 10.10	51.92 ± 10.64
	25	49.01 ± 4.90	
	50	53.18 ± 8.83	
	100	59.57 ± 5.15	
Papatya	0.1	44.33 ± 5.13	0.48 ± 0.09
	0.5	50.01 ± 3.00	
	1	58.01 ± 7.00	
	3	64.60 ± 20.55	
Patlıcan	10	33.34 ± 0.00	88.25 ± 2.76
	25	35.50 ± 10.25	
	50	40.01 ± 0.00	
	100	53.30 ± 0.00	
Salatalık	0.1	37.51 ± 10.71	0.86 ± 0.61
	0.5	49.75 ± 4.51	
	1	56.75 ± 16.82	
	3	65.25 ± 10.99	
Soğan	0.1	45.85 ± 3.18	1.97 ± 0.86
	1	50.31 ± 1.41	
	10	54.65 ± 0.91	
	25	55.35 ± 5.59	
Tetra	50	56.70 ± 4.54	29.26 ± 20.1
	10	44.00 ± 9.64	
	100	65.63 ± 8.19	
Trabzon hurması	250	49.52 ± 7.77	234.375 ± 213.25
	500	53.53 ± 4.18	
	1000	57.01 ± 5.03	
Yaban mersini	0.1	39.30 ± 10.01	1.10 ± 0.45
	0.5	45.32 ± 10.21	
	3	68.31 ± 5.31	

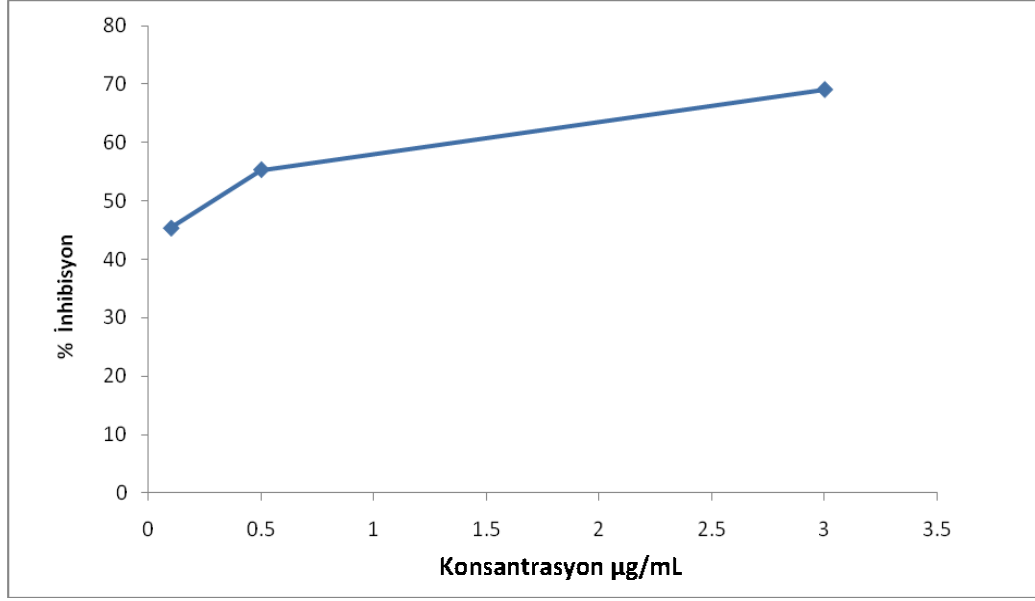
Bitki Adı	Konsantrasyon($\mu\text{g/mL}$)	% İnhibisyon	IC ₅₀ Değeri ($\mu\text{g/mL}$)
Yasemin	1	37.00 \pm 2.16	47.05 \pm 13.37
	5	43.21 \pm 2.75	
	25	47.65 \pm 2.90	
	50	49.32 \pm 1.53	
Yeşil çay	10	47.4 \pm 11.90	21.18 \pm 15.84
	25	50.65 \pm 13.95	
	100	70.3 \pm 10.63	
Yer elması	0.01	27.01 \pm 8.13	2.38 \pm 0.66
	0.1	37.01 \pm 6.76	
	1	52.51 \pm 21.02	
	5	63.25 \pm 9.24	
Yeşil üzüm	1	32.40 \pm 2.10	135.53 \pm 81.15
	10	44.50 \pm 3.47	
	50	51.10 \pm 2.28	
	250	56.30 \pm 7.62	
Zakkum	0.1	52.61 \pm 22.34	0.095 \pm 0.043
	1	74.95 \pm 5.58	
	5	88.10 \pm 1.83	
	10	89.40 \pm 7.42	
Zencefil	1	36.01 \pm 23.58	14.64 \pm 5.94
	5	44.50 \pm 6.40	
	10	46.75 \pm 2.36	
	25	58.02 \pm 5.47	

Tablo 4.1.1'e göre;

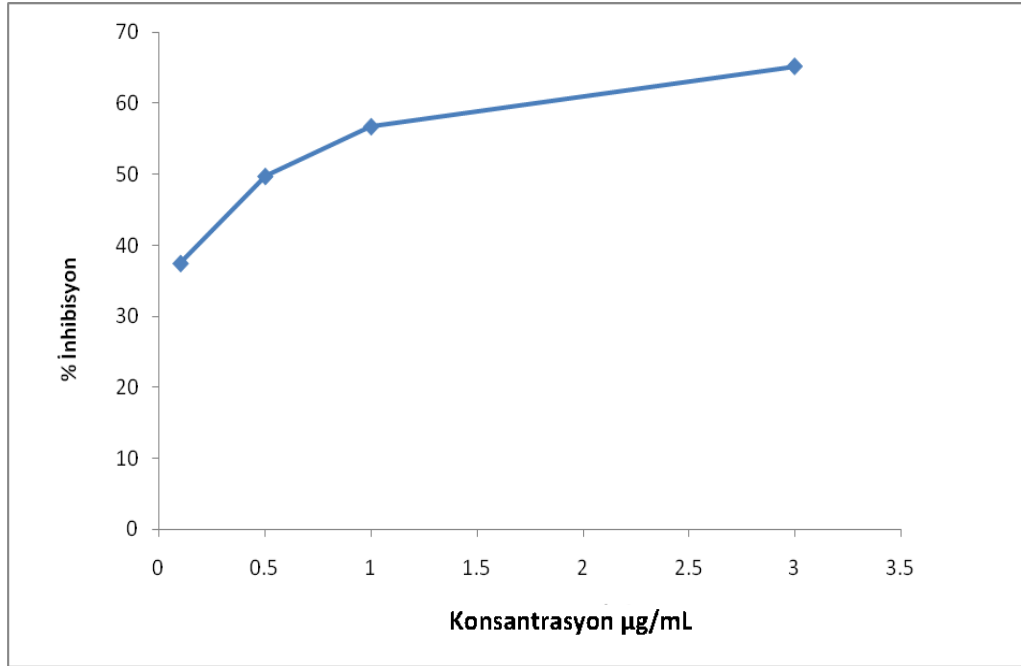
Etil alkollü ekstrelerin elastaz enzimi üzerine % inhibisyon değerleri konsantrasyon artışı ile arttı. Bitki ekstreleri içinde IC_{50} değerinin en düşük olması nedeniyle en yüksek Elastaz inhibisyonunu Biberiyenin gösterdiği (IC_{50} $0.0041 \pm 0.001 \mu\text{g/mL}$) görülmüştür. Biberiyeyi takiben Brokoli (IC_{50} $0.0071 \pm 0.0003 \mu\text{g/mL}$), zakkum (IC_{50} $0.09 \pm 0.04 \mu\text{g/mL}$), oğul otu (IC_{50} $0.30 \pm 0.16 \mu\text{g/mL}$), gül yaprağı (IC_{50} $0.31 \pm 0.29 \mu\text{g/mL}$), papatya (IC_{50} $0.487 \pm 0.09 \mu\text{g/mL}$), havuç (IC_{50} $0.49 \pm 0.43 \mu\text{g/mL}$) etil alkollü ekstrelerinin inhibitör etkileri tespit edilmiştir.

En düşük IC_{50} değerleri gözetilerek, bitkiler arasındaki en güçlü Elastaz inhibitörü olabilme sıralaması şu şekildedir: biberiye, brokoli, zakkum, oğul otu, gül yaprağı, papatya, havuç, domates, salatalık, keçiboynuzu, kayısı. Bu sıralamadaki bitkiler çalışmamızda en yüksek inhibitör değerlerini elde ettiğimiz bitkilerdir.

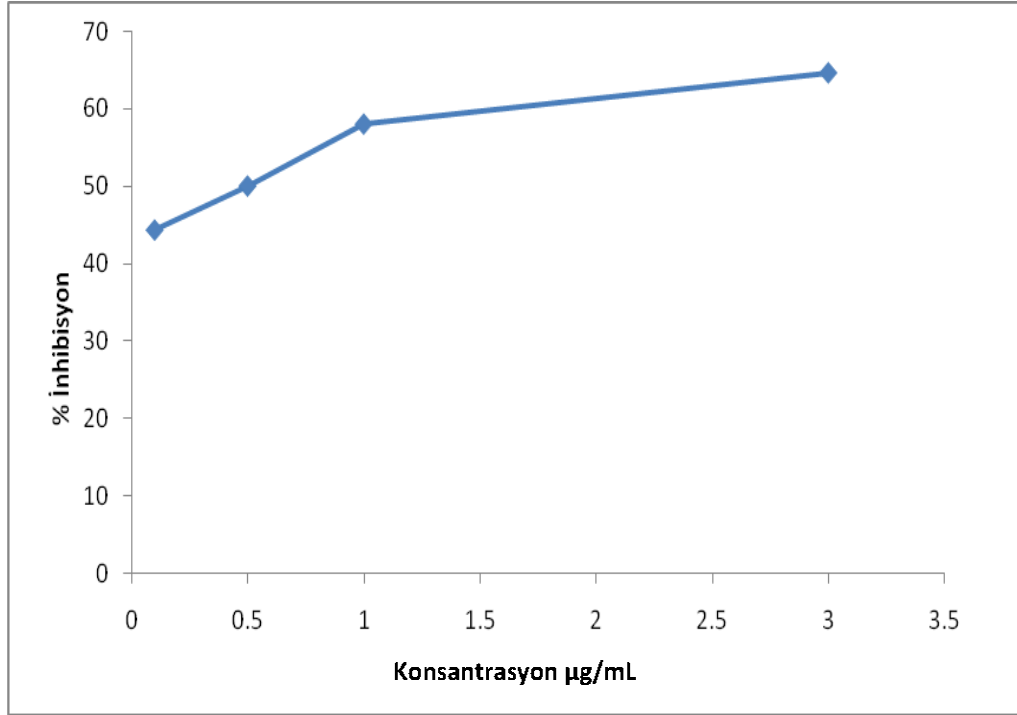
En düşük IC_{50} değerlerine sahip olan bitkilerin % inhibisyon grafikleri Şekil 4.1.1 - 4.1.11'de gösterilmiştir.



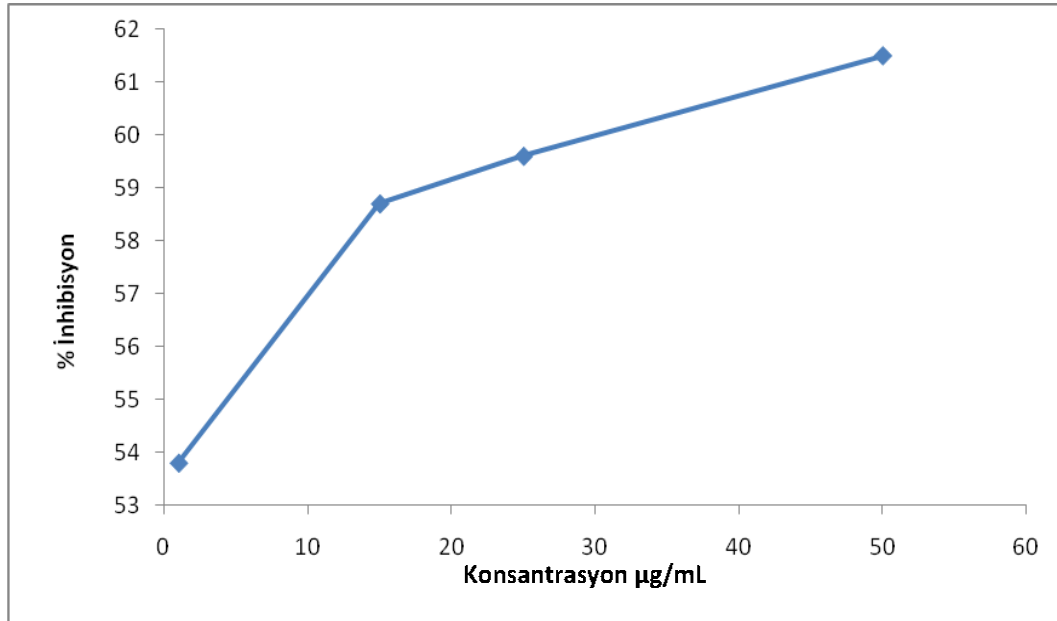
Şekil 4.1.1. Gül yapağının etil alkollü ekstresinin % inhibisyon grafiği



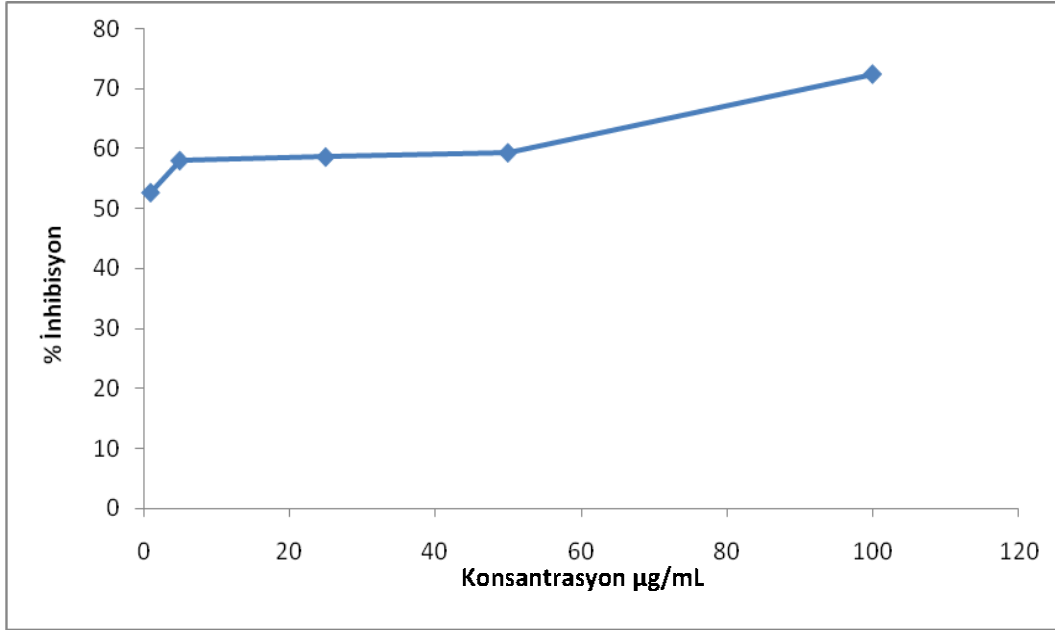
Şekil 4.1.2. Salatalğın etil alkollü ekstresinin % inhibisyon grafiği



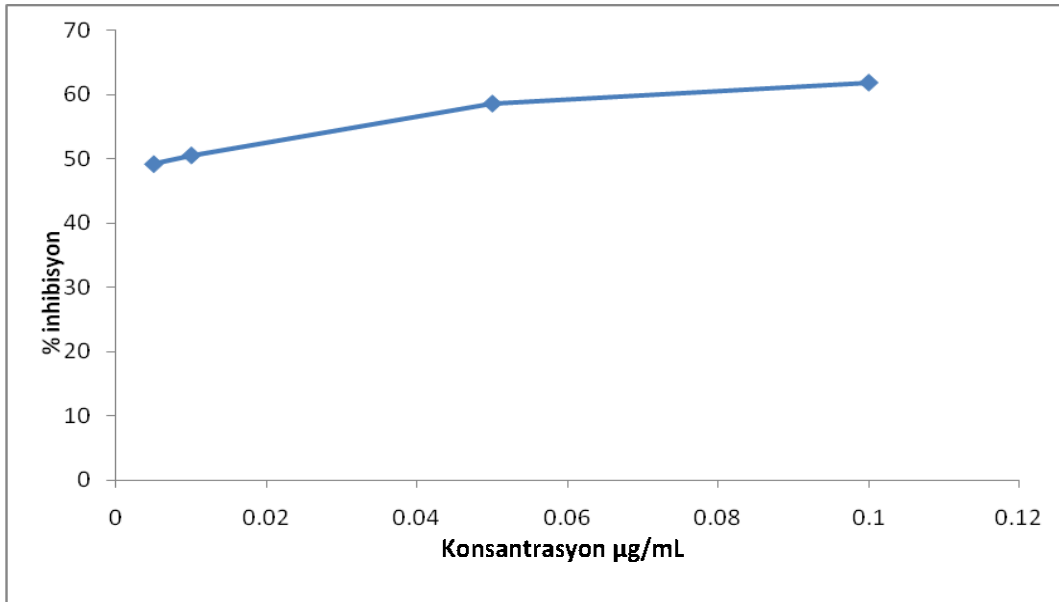
Şekil 4.1.3. Papatyanın etil alkollü ekstresinin % inhibisyon grafiği



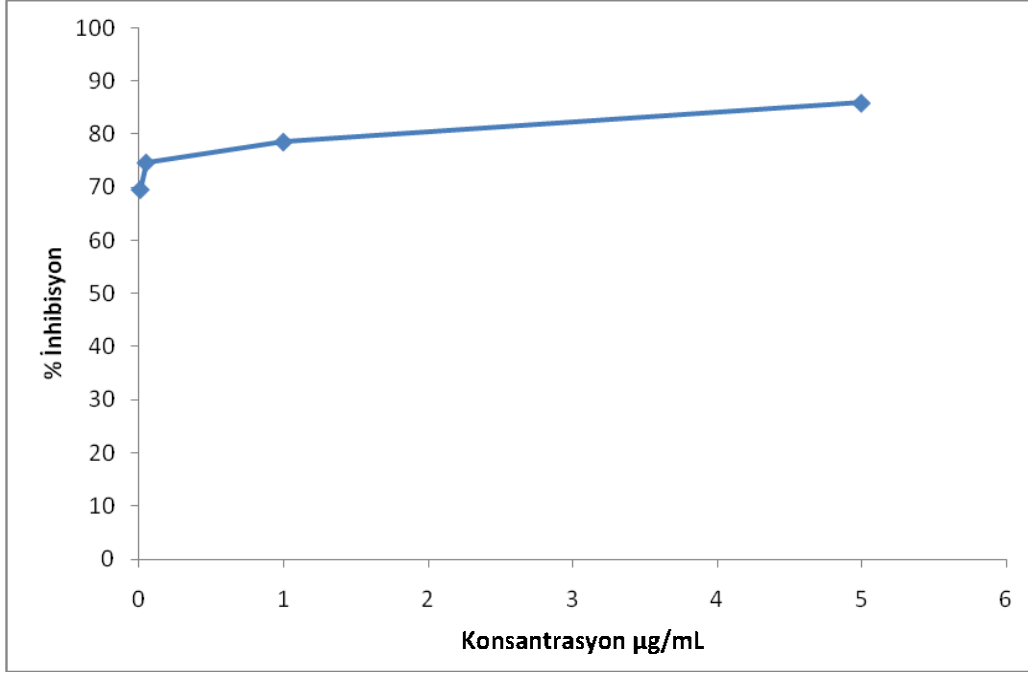
Şekil 4.1.4. Keçiboynuzunun etil alkollü ekstresinin % inhibisyon grafiği



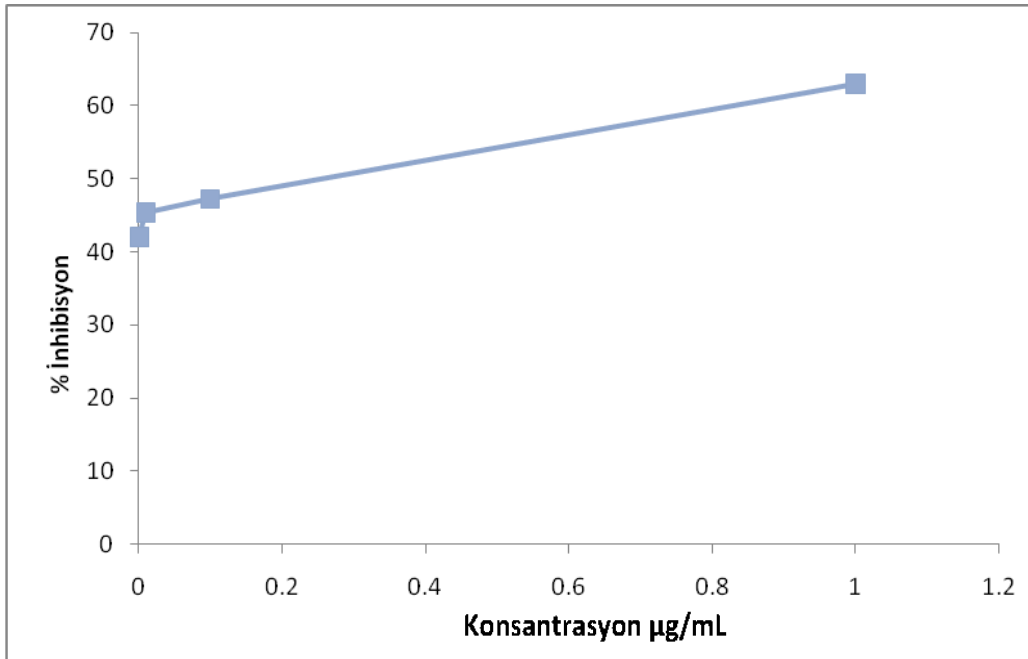
Şekil 4.1.5. Kayısınnın etanollü ekstresinin % inhibisyon grafiği



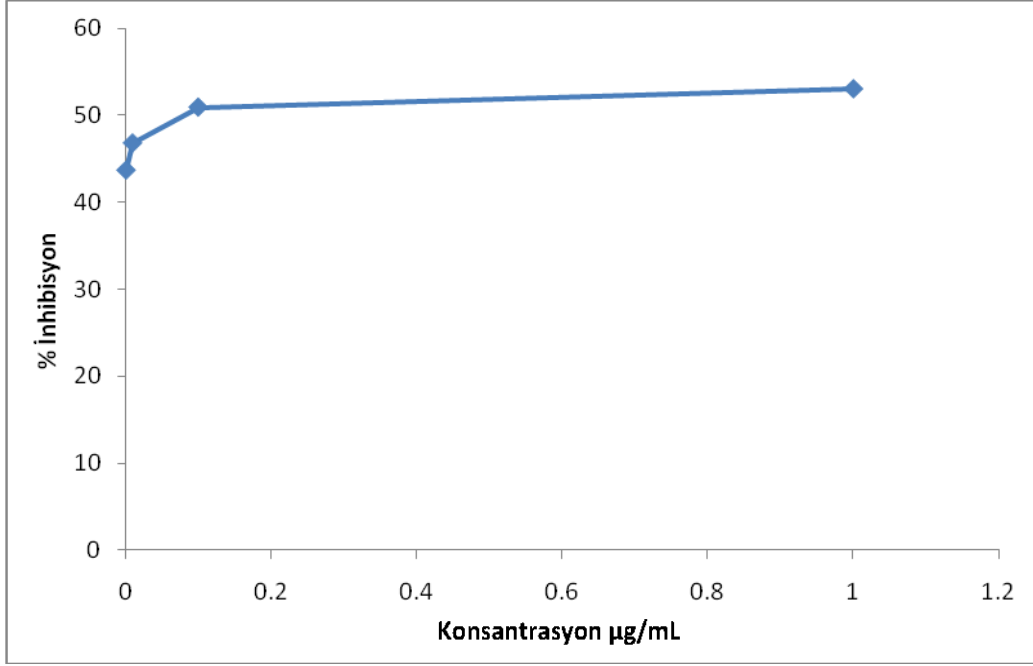
Şekil 4.1.6. Biberiyenin etil alkollü ekstresinin % inhibisyon grafiği



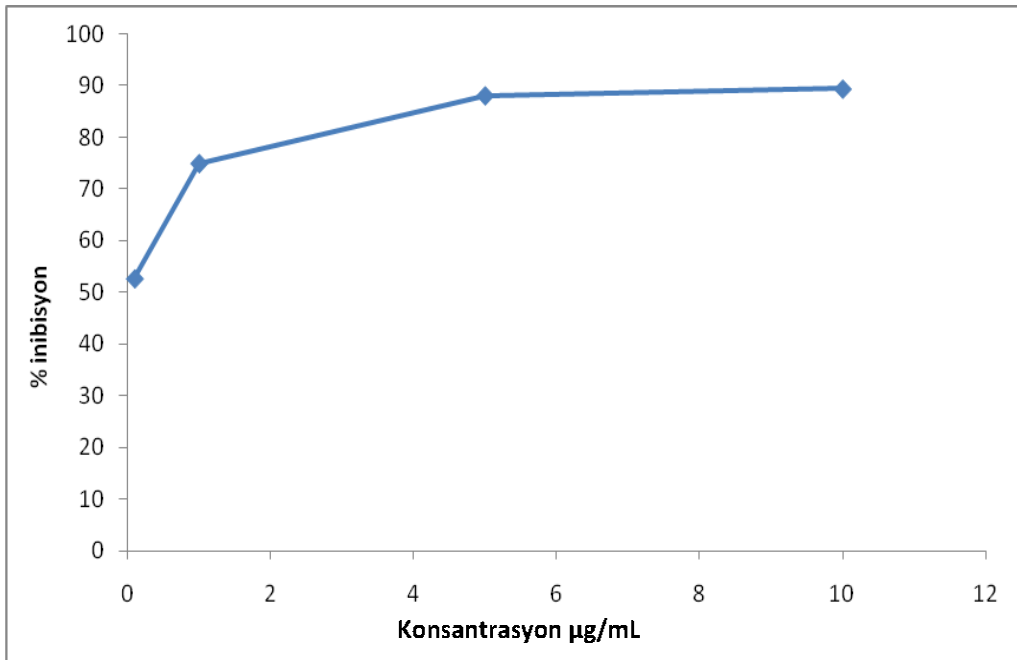
Şekil 4.1.7. Brokolinin etil alkollü ekstresinin % inhibisyon grafiği



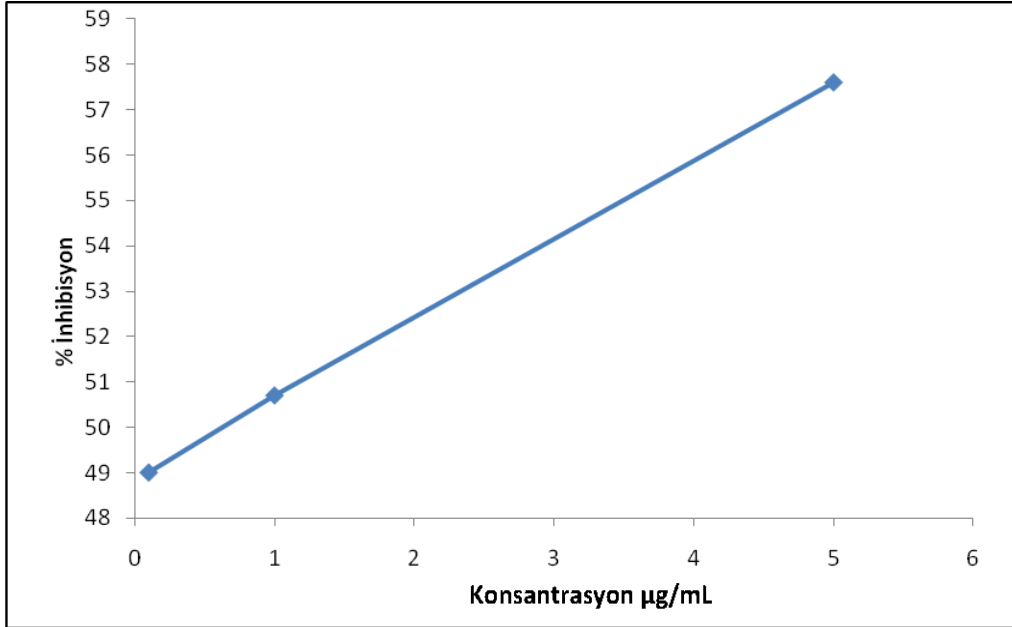
Şekil 4.1.8. Oğul otunun etil alkollü ekstresinin % inhibisyon grafiği



Şekil 4.1.9. Havuçun etil alkollü ekstresinin % inhibisyon grafiği



Şekil 4.1.10. Zakkumun etil alkollü ekstresinin % inhibisyon grafiği



Şekil 4.1.11. Domatesin etil alkollü ekstresinin % inhibisyon grafiği

4.2. KİMYASAL MADDELERİN ELASTAZ ÜZERİNE İNHİBİSYON ETKİLERİ

Çalışmamızda; kuarsetin dihidrat, gallik asit, L(+)-askorbik asit, kojik asit, β -karoten, DL- α -tokoferol asetat (E vitamini), rezorsinol, rutin hidrat, glikolik asit, 2-hidro-dodekanoik asit, laktik asit, vanilin, vazelin, DL-metionin metilsülfonyum klorit (U vitamini), 3-metil-1-fenil-2-pirazolin-5-on (Edaravon), L-glutasyon, piridoksal-5`-fosfat (B₆ vitamini), glisil glisin, metionin, sitrik asit, tartarik asit, malik asit, melatonin, kateşin, Glisin, lösin, arjinin, DL-fenil alanin, kafein, L-prolin gibi kimyasalların elastaz enzimi üzerine inhibitör etkileri incelenmiş ve elde edilen bulgular Tablo 4.2.1, Tablo 4.2.2, Tablo 4.2.3, Tablo 4.2.4 'de verilmiştir.

Tablo 4.2.1. Çeşitli kimyasal maddelerin elastaz üzerindeki % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri

Madde Adı	Konsantrasyon(µg/ml)	% İnhibisyon	IC ₅₀ Değeri (µg/ml)
Edaravon	0.01	46.25 ± 2.82	0.60 ± 0.06
	0.1	47.85 ± 4.68	
	1	52.10 ± 4.93	
Kafein	1	42.63 ± 3.35	45.09 ± 17.25
	10	44.85 ± 1.20	
	50	53.35 ± 3.18	
	100	56.45 ± 2.05	
Kateşin	50	38.70 ± 7.30	346.50 ± 261.81
	100	42.50 ± 8.77	
	200	47.32 ± 6.52	
	400	50.82 ± 7.66	
Kuarsetin dihidrat	0.1	29.75 ± 2.75	2.06 ± 1.04
	0.5	43.01 ± 3.94	
	1	48.00 ± 4.64	
	3	54.25 ± 9.74	
Rezorsinol	10	55.00 ± 0.00	2.61 ± 1.25
	20	58.50 ± 6.08	
	30	66.50 ± 4.94	
Vanilin	1	60.76 ± 1.96	0.82 ± 0.02
	10	65.60 ± 1.55	
	15	68.00 ± 2.97	
	25	72.13 ± 5.47	
Vazelin	50	35.01 ± 3.10	521.62 ± 149.63
	100	40.70 ± 8.06	
	250	44.53 ± 2.66	
	500	48.51 ± 3.78	
β- karoten	0.001	34.00 ± 3.46	0.42 ± 0.04
	0.01	38.70 ± 2.88	
	0.1	49.51 ± 2.27	
	1	63.20 ± 1.73	

Tablo 4.2.2. Vitaminlerin elastaz üzerindeki % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri

Madde Adı	Konsantrasyon(µg/ml)	% İnhibisyon	IC ₅₀ Değeri (µg/ml)
B ₆ Vitamini	0.01	52.70 ± 2.81	0.072 ± 0.001
	0.1	69.22 ± 0.50	
	1	74.30 ± 5.10	
	10	79.93 ± 1.95	
E vitamini	10	9.01 ± 6.33	22 ± 1.93
	25	24.65 ± 22.13	
	30	47.00 ± 4.24	
	50	77.5 ± 2.82	
U vitamini	1	29.50 ± 4.24	76.11 ± 6.29
	5	35.90 ± 4.80	
	10	37.31 ± .43	
	50	43.55 ± 2.47	
Rutin (P Vitamini)	0.001	38.95 ± 0.97	0.21 ± 0.14
	0.01	45.90 ± 2.40	
	0.1	58.60 ± 4.80	
	1	61.34 ± 0.00	
L(+)-Askorbik asit	100	48.71 ± 5.53	79.23 ± 26.38
	250	53.92 ± 5.91	
	500	58.40 ± 4.52	
	750	59.15 ± 7.12	

Tablo 4.2.3. Çeşitli asitlerin elastaz üzerindeki % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri

Madde Adı	Konsantrasyon(µg/ml)	% İnhibisyon	IC ₅₀ Değeri (µg/ml)
Gallik asit	0.1	42.00 ± 7.07	1.20 ± 0.86
	1	52.50 ± 6.45	
	3	58.01 ± 12.05	
Glikolik asit	0.1	24.00 ± 4.24	18.47 ± 3.66
	1	47.00 ± 1.41	
	10	57.60 ± 0.00	
	50	64.52 ± 4.24	
Kojik Asit	25	34.50 ± 6.18	120.72 ± 6.61
	50	40.51 ± 5.10	
	100	50.30 ± 4.95	
	150	52.10 ± 1.40	
Laktik asit	0.1	26.80 ± 9.97	0.37 ± 0.08
	0.25	58.01 ± 9.89	
	0.5	62.21 ± 50.79	
	1	65.12 ± 6.64	
Malik asit	10	42.50 ± 1.00	1422.90 ± 904.81
	100	46.50 ± 3.44	
	1000	48.01 ± 3.34	
	2000	52.41 ± 4.83	
Sitrik asit	100	47.30 ± 4.03	135.56 ± 65.75
	250	56.50 ± 0.60	
	500	63.02 ± 2.49	
Tartarik asit	100	42.41 ± 1.04	556.52 ± 516.58
	250	49.95 ± 7.29	
	500	51.00 ± 7.49	
	1000	53.03 ± 6.78	
2- hidroksi- dodekanoik asit	1	33.01 ± 1.83	21.02 ± 4.08
	10	39.90 ± 6.29	
	25	52.24 ± 4.66	
	50	76.61 ± 1.55	

Tablo 4.2.4. Amino asitlerin ve peptidlerin elastaz üzerindeki % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri

Madde Adı	Konsantrasyon(µg/ml)	% İnhibisyon	IC ₅₀ Değeri (µg/ml)
Arginin	100	39.90 ± 3.67	821.74 ± 207.88
	250	44.91 ± 2.96	
	500	48.85 ± 0.91	
	1000	50.75 ± 2.75	
Fenil alanin	10	50.10 ± 8.27	21.83 ± 15.74
	25	57.25 ± 5.94	
	50	58.35 ± 4.72	
	100	61.13 ± 6.56	
Glisin	100	36.80 ± 5.55	359 ± 302 .99
	150	48.65 ± 11.80	
	250	49.65 ± 12.23	
	500	52.40 ± 13.29	
Lösin	10	46.90 ± 1.87	20.52 ± 13.09
	25	5.40 ± 2.00	
	50	57.25 ± 1.52	
	100	59.01 ± 3.30	
Metionin	0.01	51.10 ± 4.45	0.82 ± 0.02
	0.1	54.41 ± 5.23	
	1	60.70 ± 1.52	
	10	68.53 ± 5.34	
Prolin	10	46.10 ± 6.55	54.20 ± 43.87
	50	50.91 ± 3.61	
	100	52.80 ± 5.50	
Serin	0.1	27.70 ± 1.10	221.72 ± 31.11
	1	29.64 ± 3.49	
	10	36.61 ± 5.75	
	100	39.02 ± 3.38	
Glisil glisin	10	50.20 ± 9.39	45.87 ± 4.60
	50	54.51 ± 5.10	
	100	60.43 ± 6.23	
	200	63.60 ± 7.35	
L- Glutasyon	10	48.45 ± 0.21	7.69 ± 5.81
	50	57.25 ± 2.33	
	250	78.60 ± 6.43	

Tablo 4.2.1, Tablo 4.2.2, Tablo 4.2.3, ve Tablo 4.2.4.'e göre;

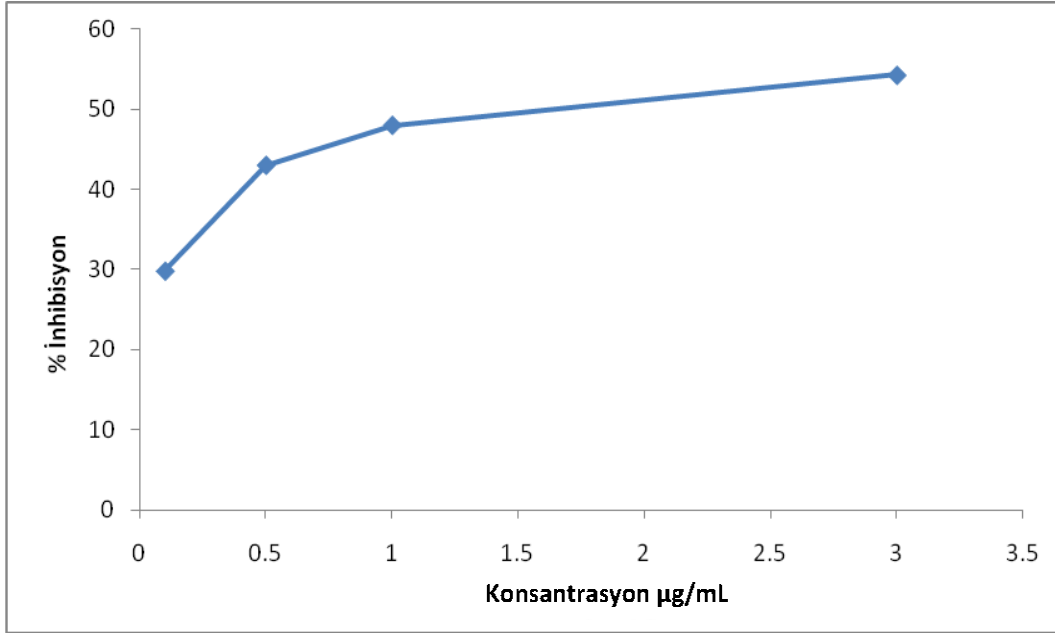
Çalışılan kimyasal maddeler içinde, IC₅₀ değerinin en düşük olması nedeniyle en yüksek elastaz inhibisyonunu β-karoten'in gösterdiği (IC₅₀ 0.42 ± 0.04 µg/mL) görülmüştür. β-karoteni takiben edaravon (IC₅₀ 0.60 ± 0.06 µg/mL), vanilin (IC₅₀ 0.82 ± 0.02 µg/mL) ve kuarsetin dihidrat (IC₅₀ 2.06 ± 1.04 µg/mL) elastaz üzerinde inhibitör etki göstermiştir.

Vitaminlerin elastaz enzimi üzerindeki inhibisyon etkileri sıra ile B₆ vitamini, rutin, E vitamini, U vitamini ve askorbik asit şeklindedir. Vitaminler içinde en yüksek elastaz enzim inhibisyonunu B₆ vitamini göstermiştir (IC₅₀ 0.072 ± 0.001 µg/mL) (Tablo 4.2.2.).

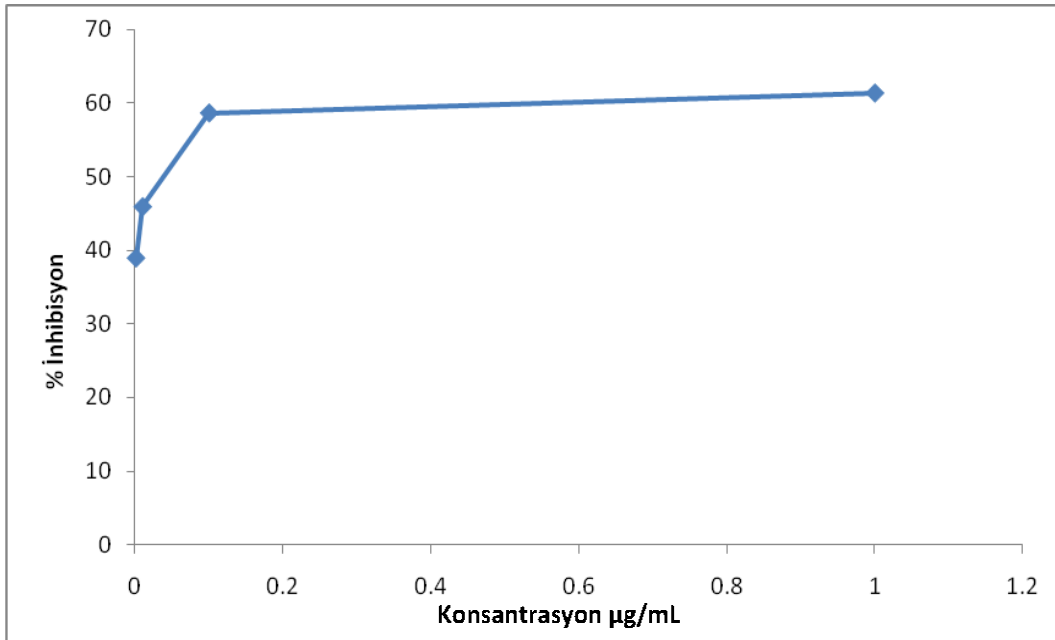
Çeşitli asitlerin elastaz enzimi üzerindeki inhibisyon değerleri laktik asit, gallik asit, glikolik asit şeklinde azalmaktadır. Asitler içinde en yüksek inhibisyon değerini laktik asit göstermiştir (IC₅₀ 0.37 ± 0.08 µg/mL).

Amino asit ve peptidlerin arasında en yüksek elastaz enzim inhibitör aktivitesini metionin göstermiştir (IC₅₀ 0.82 ± 0.02 µg/mL). Metioninden sonra en yüksek enzim inhibitör aktivitesini lösin, fenilalanin ve glutatyon göstermiştir.

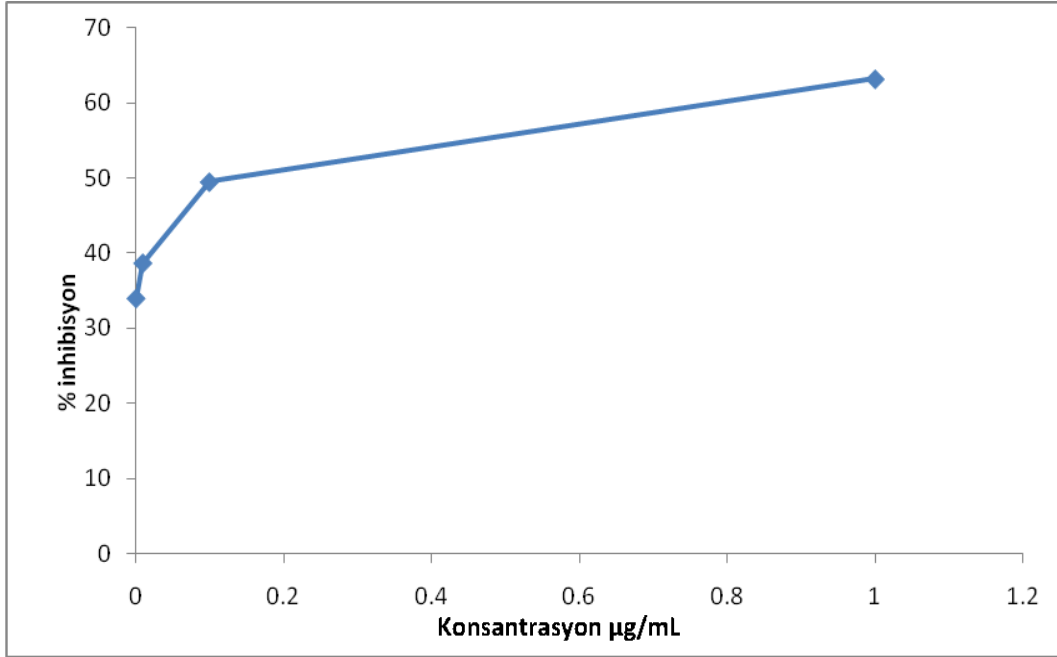
En düşük IC₅₀ değerlerine sahip olan kimyasal maddelerin, vitaminlerin, asitlerin ve amino asitlerin % inhibisyon grafikleri Şekil 4.2.1- Şekil 4.2.9' da gösterilmiştir.



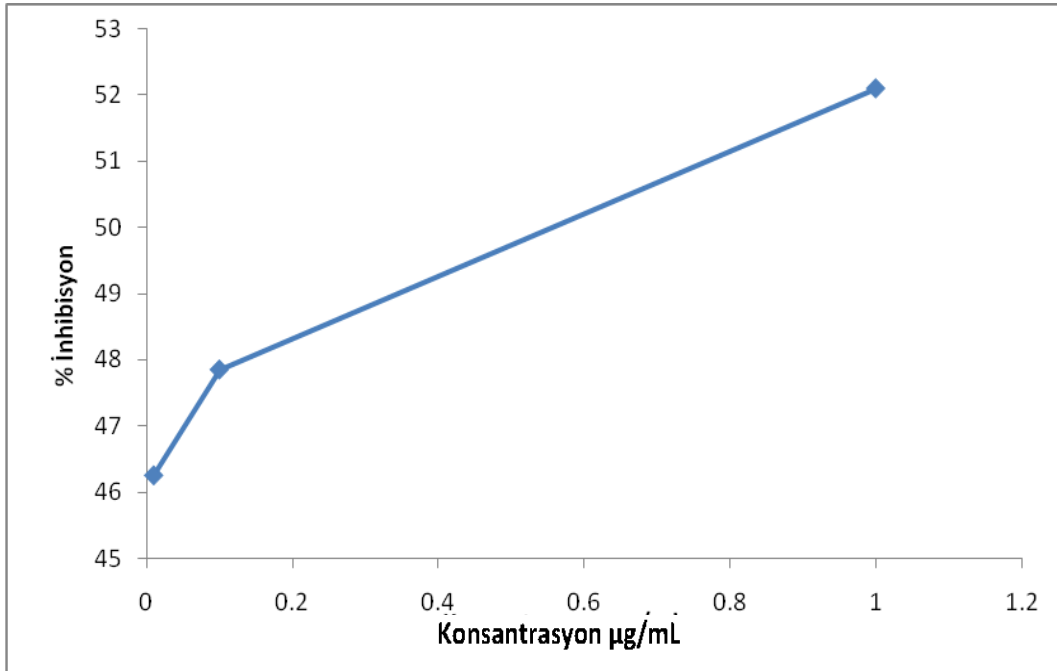
Şekil 4.2.1. Kuarsetin dihidratın % inhibisyon grafiği



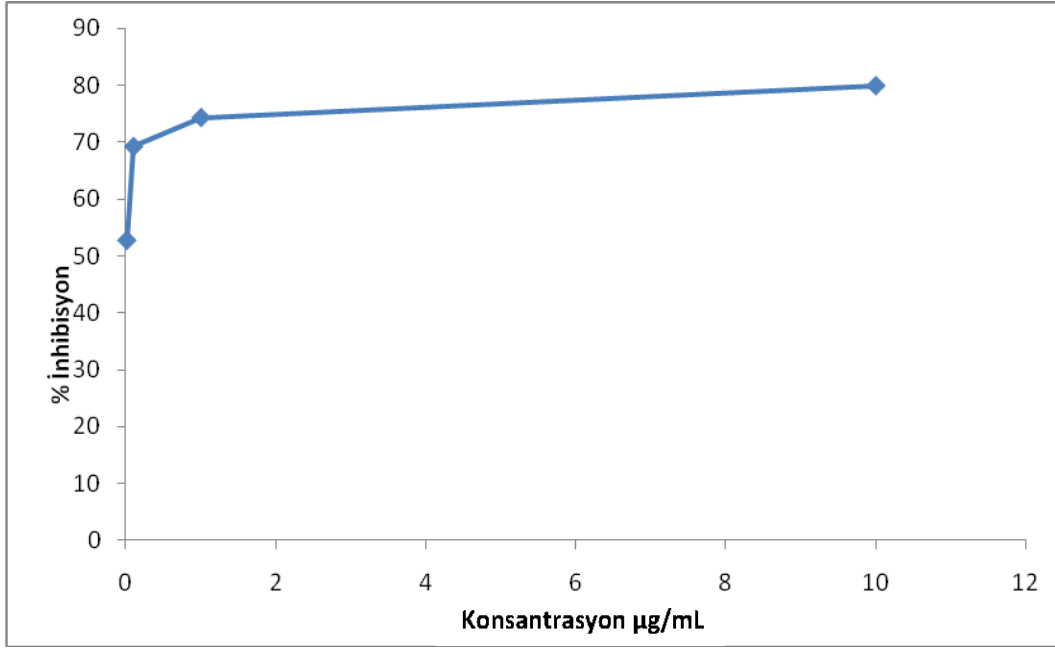
Şekil 4.2.2. Rutinin % inhibisyon grafiği



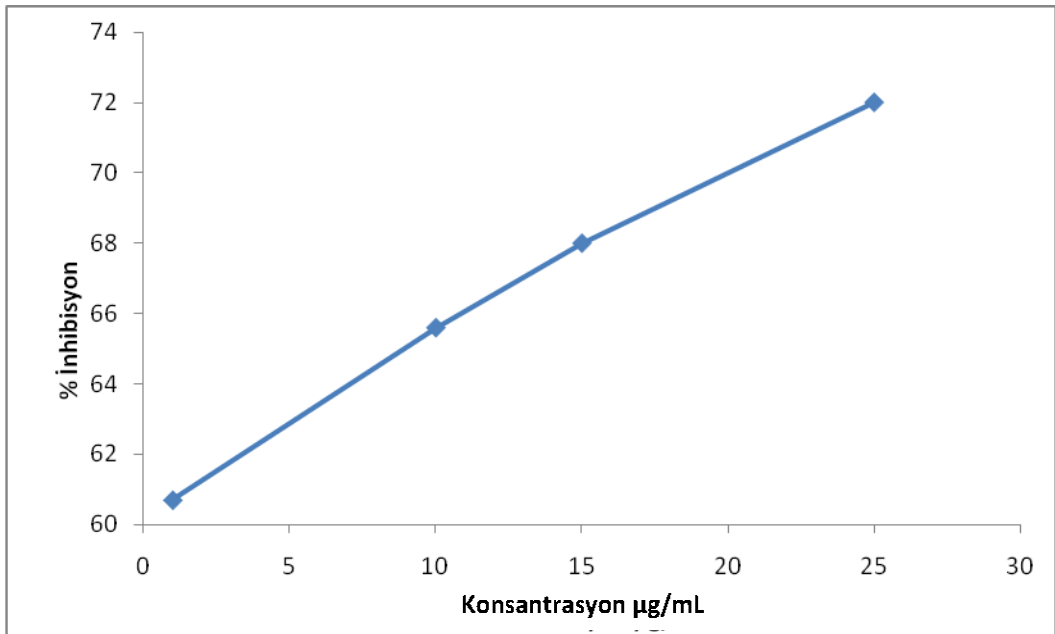
Şekil 4.2.3. β - Karotenin % inhibisyon grafiği



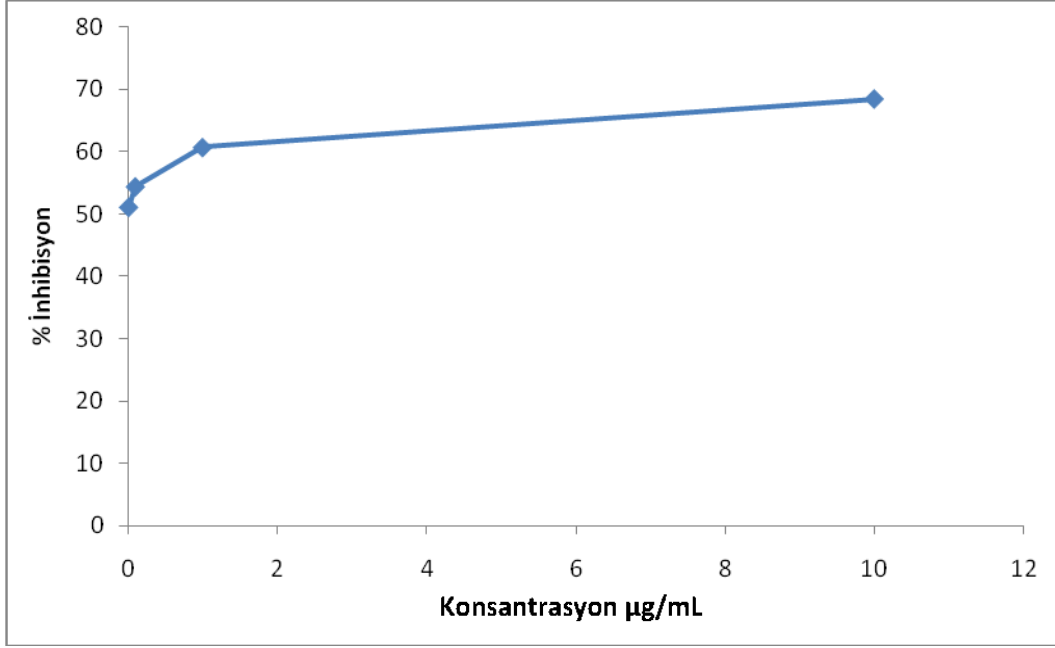
Şekil 4.2.4. Edarovonun % inhibisyon grafiği



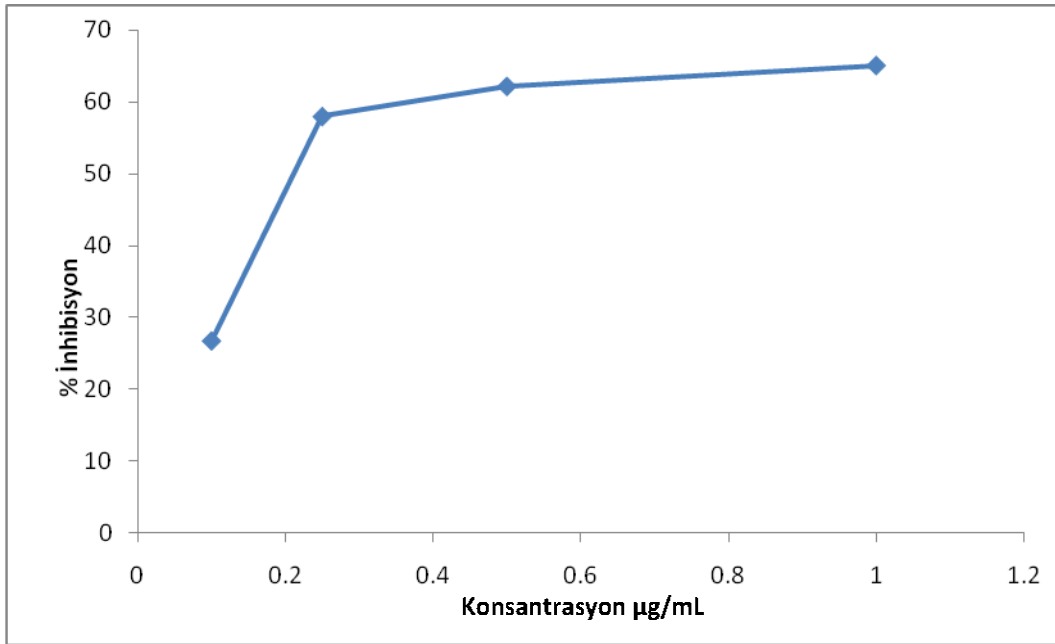
Şekil 4.2.5. B₆ vitamininin % inhibisyon grafiği



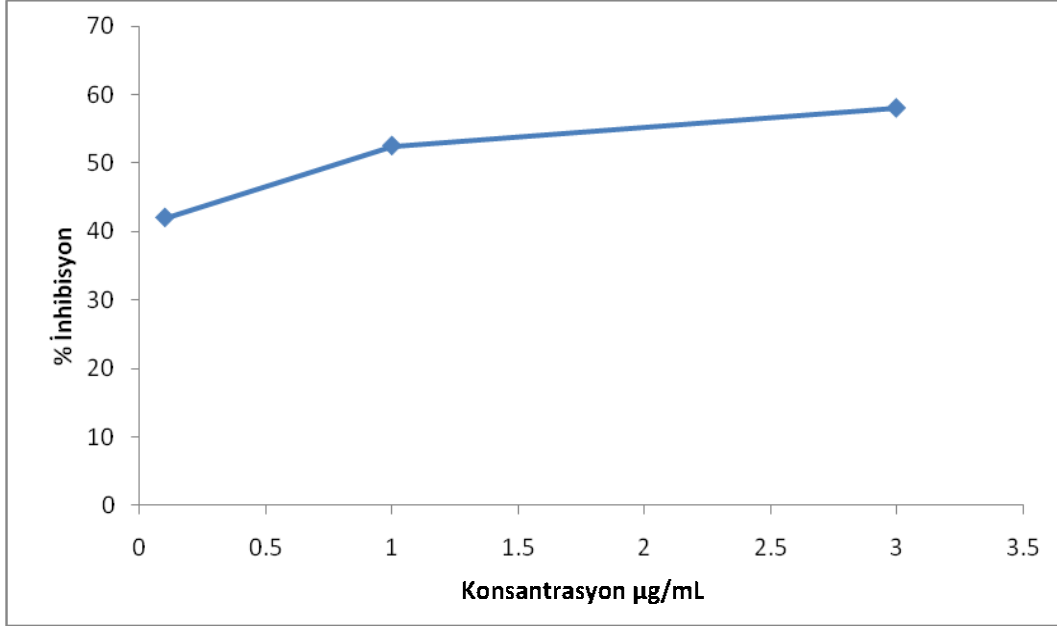
Şekil 4.2.6. Vanilinin % inhibisyon grafiği



Şekil 4.2.7. Metioninin % inhibisyon grafiği



Şekil 4.2.8. Laktik asidin % inhibisyon grafiği



Şekil 4.2.9. Gallik asidin % inhibisyon grafiği

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) araştırmalarına göre tedavi amaçlı kullanılan tıbbi bitkilerin sayısı 20.000 civarındadır (Kalaycıoğlu ve Öner, 1994). Tıbbi bitkilerin çoğu ülkemizde halk arasında çeşitli hastalıkların tedavisi için kullanılmaktadır. Gıda maddesi olarak kullanılan bazı bitkilerinde çeşitli hastalıklara iyi geldiği bilinmektedir. Bazı hastalıkların önlenmesinde toplumların gıda alışkanlıklarının önemli bir rolü olduğu gözlenmiştir. Bu konuda yapılan bilimsel çalışmalar gıda olarak kullanılan bazı ürünlerin sağlık üzerine yararlı etkileri olduğunu doğrulamıştır (Calay, 2010). Bunun sonucu olarak gıda olarak kullanılan bazı ürünlerin bir kısmı besin desteği olarak tıbbi amaçlarla pazarlanmaya başlanmıştır. Küreselleşen dünyada insanların ve toplumların uzayan yaşam süresinin yanı sıra nitelikli yaşam sürme ihtiyacı ön plana çıkmıştır. Dünyada kaliteli yaşam sürmek isteyen kişiler, kimyasal ve sentetik ürünlerin yan etkilerinden kaçınmak için doğal yaşam tarzına ve doğal ürünler kullanmaya başlamıştır (Carlsen ve diğ., 2010).

Yaşın ilerlemesiyle ve yaşlı insanların birçok ilacı fazla miktarda kullanması ile beden daha fazla serbest radikale maruz kalır ve daha fazla serbest radikal üretir. Bununla birlikte vücudun doğal antioksidan üretimi yaşın ilerlemesi ile azalır. Vücutta yaşla birlikte çeşitli hastalıklar ortaya çıkar. Deri yaşlanması yaşlanma ile birlikte görülen geri dönüşümsüz bir süreç olarak kendini göstermektedir. Ancak bazı ilaçlar, kozmetik ürünler ve güneş koruyucuları ile deri yaşlanması geciktirilebilir. Yapılan çalışmalarda vitaminlerin, minerallerin, bitkisel ürünlerin kozmetiklere katılarak yaşlı deride veya hasarlı deride potansiyel bir düzelme yapabileceği gösterilmiştir.

Bağ dokusunun komponentleri olan kollagen ve elastinin harabiyeti ile dokularda inflamasyon görülür. Elastazlar akciğerlerde, lenflerde, deride, pankreasta dağılmış durumdadırlar. Akciğerlerdeki doku hasarına bağlı olarak Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA) dünyada büyük bir sağlık problemidir. Bu nedenle bu tür hastalıkların önlenmesi ile ilgili çalışmaların sayısı gün geçtikçe artmaktadır.

Çalışmamızda kivi, gül kurusu, salatalık, yaban mersini, papatya, yer elması, lavanta, hatmi, kudret narı, kabak, zencefil, mandalina, nar, nar çiçeği, ananas, limon, bal kabağı, muz, kiraz, elma, hurma, ısırgan, patlıcan, tetra, yeşilçay, beyazçay, Trabzon hurması, kuşburnu, çilek, yasemin, gelincik, hindistan cevizi, keçiboynuzu, melisa, defne yaprağı, soğan, biberiye, brokoli, karanfil, zakkum, kayısı, pancar, kereviz, defne yemişi, karadut, beyazdut, yeşil üzüm, domates, havuç ve kapari bitkilerinin etanollü ekstraları hazırlanarak elastaz enzimi üzerindeki inhibisyon etkileri incelenmiştir.

Aromaterapide kullanılan biberiyenin son yıllarda kan dolaşımı hastalıklarına, romatizma ve astım hastalıklarına iyi geldiği, mide ve bağırsak gazlarına karşı kullanıldığı, yemeklerden sonra içildiğinde sindirimi kolaylaştırdığı bilinmektedir. Ayrıca biberiye, bronşit, öksürük, migren, ağrılı adet, düşük tansiyon, ishal ve karaciğer hastalıklarında da kullanılmaktadır. Biberiye gut hastalığı, vücut kireçlenmesinin tedavisinde de kullanılmaktadır. Biberiye yağının deri hastalıklarına, deri yaralarının daha çabuk iyileşmesine ve derinin kendini çok hızlı şekilde onarmasına yardımcı olduğu ileri sürülmektedir. Cerrahi yaraların tedavisinde de biberiye bitkisinden yararlanılmaktadır (Baytop, 1984). Aromaterapide kullanılan biberiyenin, son zamanlarda insan ruhu ve bilişsel fonksiyonları üzerindeki etkisi sıkça araştırılmaktadır. Sağlıklı gönüllüler üzerinde yapılan araştırmalarda, biberiyedeki esansiyel yağların hafıza performansı üzerinde önemli ölçüde artışa sebep olduğu görülmüştür (Moss ve diğ., 2003). Biberiyenin antibakteriyel (Beneddouch ve diğ., 2011), antidiabetik (Ali-Shtayeh ve diğ., 2012), antikanser (Lopez-Jimenez ve diğ., 2011), antiinflamatuvar (Takaki ve diğ., 2008), antiromatizmal, anti epileptik aktiviteye (Grespan ve diğ., 2011) ve dermatitler üzerinde iyileştirici etkiye (Zasshi, 2011) sahip olduğu literatürlerde belirtilmektedir. Biberiyenin yaşlanmayı geciktirici kremlerde de kullanıldığı Cronin ve arkadaşı tarafından öne sürülmektedir (Cronin ve Draleos., 2010). Biberiyenin dermatolojide bakteri ve maya giderici etkiye sahip olduğu (Weckesser ve diğ., 2007), deneysel olarak oluşturulan deri kanserini önlediği ileri sürülmektedir (Sancheti ve Goyal., 2006). Baylac ve arkadaşı biberiyenin elastaz enzim inhibitörü olduğunu ileri sürmüşlerdir (Baylac ve Racine., 2004). Çalışmamızda da elastaz enzim inhibitörü olarak incelediğimiz bitkiler içinde en düşük IC₅₀ değerine biberiyenin sahip olduğu bulunmuştur. Çalışmamız daha önce yapılan çalışmalar ile

uygunluk göstermektedir. Biberiyenin diğer aktivitelerinin yanında elastaz enzim inhibitörü olduğu da kanıtlanmış olmaktadır.

Üzerinde en fazla araştırma yapılan bitkilerden biri olan brokoli C vitamini açısından çok zengin bir bitkidir. Ayrıca yapısında β -karoten ve kuarsetin bulunmaktadır. Brokoli halk arasında prostat, iyi huylu prostat büyümesi, gırtlak kanserini önleyici, hormon dengeleyici, mide ülserine karşı, antioksidan, idrar yolları enfeksiyonu önleyici, meme kanserini önleyici, menapoz döneminde kemik erimesine karşı, göğüsteki fibroksitlere karşı kullanılmaktadır. Brokolinin gastroprotektif etkiye sahip olduğu (Lemos ve diğ., 2011; Carvalho ve diğ., 2011) çeşitli araştırmacılar tarafından belirtilmiştir. Çalışmamızda brokolinin iyi bir antielastaz aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Brokolinin C vitamini kaynağı olmanın yanısıra deri hastalıkları ve inflamasyon ile ilgili durumlarda tedavi amaçlı olarak da kullanılabileceği öne sürülebilir.

Zakkum Ülkemizde sulak yerlerde yabani olarak yetiştiği gibi süs bitkisi olarak da park ve bahçelerde yetiştirilir. Bileşiminde C vitamini, tanen, reçine, oleandrin gibi maddeler bulunan bu bitki halk arasında romatizma, deri kanseri, iltihap kurutucu, idrar arttırıcı, kalp kuvvetlendirici olarak kullanılır (Baytop, 1984). Ancak zehirli bir bitki olduğundan dikkatli ve fazla miktarlarda kullanılmaması gerekmektedir. Bilimsel olarak zakkumdan elde edilen kardiyak glikosit oleandrin olan maddenin nöroprotektif aktivitesinin olduğu Dunn ve arkadaşları tarafından kanıtlanmıştır (Dunn ve diğ., 2011) Ayrıca zakkumun hipolipidemik özelliklere sahip olduğu Gayathri ve arkadaşları tarafından bulunmuştur (Gayathri ve diğ., 2011). Çalışmamızda zakkum çok düşük konsantrasyonlarda elastaz enzimini % 89.4 oranında inhibe etmiştir. Zakkumun antielastaz enzim inhibitör aktivitesi göstermesi ile bu bitkinin deri kanseri ve deri hastalıklarında kullanılması bilimsel olarak doğrulanmış olmaktadır.

Eski çağlardan beri sinirleri yatıştırıcı etkisi olduğu bilinen oğul otu halk arasında karın ve mide ağrılarının tedavisinde kullanılır. Oğul otunun tonik, antispasmodik, antitümör, antibakteriyel, antimikrobiyel (Canadanovic, 2008) ve antihiperlipidemik (Bolkent ve diğ., 2005) aktivitelere sahip olduğu bilinmektedir. Ancak yapılan çalışmalarda bu aktiviteler dışında da oğul otunun kanser hücrelerini inhibe ettiği (Fujita ve diğ., 2011), deride oluşan iritasyonu önlediği (Mencherini ve diğ., 2009), antioksidan (Spiridon ve

diğ., 2011), antikolinesteraz (Obulesu ve Rao., 2011), antimitojenik aktiviteye(Carvolho ve Diğ., 2011) sahip olduğu da belirtilmektedir. Çalışmamızda oğul otunun düşük konsantrasyonlarda yüksek bir inhibisyon aktivitesi gösterdiği görülmüştür. Bunun sonucu olarak da oğul otunun gösterdiği aktiviteler dışında antielastaz aktivitesine de sahip olduğunu söyleyebiliriz.

Çiçeklerin en anlamlısı olarak bilinen gül süs bitkisi olarak kullanılan ayrıca suyundan ve yağından kozmetik ve gıda sanayinde yararlanılan bir bitkidir. Antialerjik, antiseptik, iltihap giderici, cilt rahatsızlıklarında kullanılan bu süs bitkisinin ülkemizde İsparta civarında üretimi yapılmaktadır. Bileşiminde tanen, pektin, gallik asit gibi birçok farklı bileşik içerir (Baytop, 1984). Yurdumuz gül üretimi açısından dünyanın önde gelen ülkelerinden biridir. Gül suyu ve gül yağı kozmetik ve parfümeri sanayinde kullanılır. Antiinflamatuvar aktiviteye sahip olan gülün (Zhang ve diğ., 2008) çalışmamızda antielastaz aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Gülün antielastaz aktiviteye sahip olması nedeni ile bu bitki çeşitli deri hastalıklarında kullanılabilir.

Kökene Doğu Avrupa ve Anadolu olan papatya halk arasında çeşitli hastalıklarda tıbbi bitki olarak kullanılır. Papatya uykusuzluk, romatizma, migren, grip, kansızlık, hazım bozuklukları, baş dönmesi, sinir krizleri ve ruhi çöküntü gibi rahatsızlıklarda çok faydalıdır. Ayrıca iştah açan, sindirimi kolaylaştıran, mide ülserinin iyileşmesine yardımcı olan bir bitkidir. Yaraların iyileştirilmesinde, akıntı halindeki yaraların durdurulmasında, deri döküntülerinde, mukoza iltihaplarında iltihap kurutucu olarak da kullanılır (Baytop, 1984; Saraçoğlu, 2008). Papatyanın antiinflamatuvar, antiseptik (Singh ve diğ., 2011), neuroprotektif olduğu (Ranpariya ve diğ., 2011), mide hasarına iyi geldiği (Cemek ve diğ., 2010), antidiabetik (Cemek ve diğ., 2008) ve yara iyileştirici olduğu (Jarrahi ve diğ., 2010) bilimsel olarak da kanıtlanmıştır. Çalışmamızda papatya düşük konsantrasyonlarda elastaz enzimini inhibe etmiştir. IC₅₀ değerinin çok düşük olması enzimin yüksek oranda inhibe olduğunu bize göstermektedir. Papatyanın bileşiminde uçucu yağlar, fenolik bileşikler, kumarin, terpenik ve seskiterpenik bileşikler bulunmaktadır. Papatyanın elastaz enzimini inhibe etmesinin nedeni yapısında bulunan fenolik bileşikler ve uçucu yağlar nedeniyledir.

İltihabi durumlarda ve deri hastalıklarında papatyanın kullanılmasının nedeni de elastaz enzimini inhibe etmesi nedeni ile olabilir.

Havuç halk arasında erken bunama, Alzheimer, deri ve akciğer kanseri, kalp krizi, migren ve baş ağrısına karşı kullanılan bir sebzedir. Havucun antikanserojen (Zeinap ve diğ., 2011), antimikrobiyel (Moreira ve diğ., 2011), antitrombotik (Yamamoto ve diğ., 2008), antioksidan (Saxena ve diğ., 2007) ve antifungal (Taveres ve diğ., 2008) aktiviteye sahip olduğu literatürlerde belirtilmiştir. Çalışmamızda havucun antielastaz aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Antielastaz aktivitesinin havucun yapısında bulunan fenolik bileşiklerden ve β -karotenden ileri geldiği söylenebilir.

Domates kalp büyümesine ve yağlanmasına karşı halk arasında kullanılmaktadır. Buna ek olarak antioksidan özellik gösterir ve prostat kanserine, kolesterole, yaşlılığa bağlı makula dejenerasyonuna karşı kullanılır (Saraçoğlu, 2008). Makula dejenerasyonunun (görmedeki keskinliğin azalması) oluşmasındaki nedenler sigara, alkol, fazla güneş ışığına maruz kalmak ve hipertansiyondur. Bu hastalığın geri dönüşümü yoktur. Bunun oluşmasını meydana getiren etmenlerin ortadan kaldırılması gerekir. Çalışmamızda domatesin yüksek oranda elastaz enzimini inhibe ettiği bulunmuştur. Bu etkinin domatesin içerdiği likopen ve lutein gibi karotenoidlerden dolayı olabileceği öne sürülebilir.

Halk arasında idrar söktürücü, kan temizleyici, sinirleri yatıştırıcı, yorgunluğu giderici, uykusuzluğu giderici, bağırsak ihtihaplarını giderici, kolesterol düşürücü özelliğe sahip olduğu bilenen salatalık, ayrıca ter bezlerinin sağlıklı çalışmasına yardımcı olan bir sebzedir. Salatalığın cildi yumuşatıcı, besleyici ve ciltteki kırışıklıkları giderici özelliklerinin yanında sivilceleri giderici özelliği de vardır. Salatalığın antimikrobiyal (Tang ve diğ., 2010), antioksidan (İbrahim ve diğ., 2010; Nema ve diğ., 2011) özelliğe sahip olduğu belirtilmektedir. Salatalığın antielastaz ve antihyaluridaz aktiviteye sahip olduğu Nema ve arkadaşları tarafından belirtilmiştir (Nema ve diğ., 2011). Salatalığın antielastaz aktivitesi Nema ve arkadaşları tarafından IC_{50} $6.14 \pm 1.74 \mu\text{g}/\text{mL}$ olarak bulunmuştur. Çalışmamızda ise Nema ve arkadaşlarının değerinden daha düşük bir değer (IC_{50} $0.86 \pm 0.61 \mu\text{g}/\text{mL}$) saptanmıştır.

Keçi boynuzu halk arasında nefes darlığına, akciğer ödemeine iyi gelen bir bitki olarak bilinir. Sinirleri yatıştırır. Mide ve bağırsak hastalıklarında faydalı bir bitkidir. Çocuklarda zeka ve kemik gelişimini destekler (Saraçoğlu, 2008; Baytop, 1984). Yapılan çalışmalarda keçi boynuzunun karaciğer ve böbrek hastalıklarını önlediği (Hsouna ve diğ., 2011), antioksidan aktiviteye sahip olduğu (Custodio ve diğ., 2011), ayrıca antimikrobiyel (Hsouna ve diğ., 2011), antidepresan (Agrawal ve diğ., 2011) etkiye sahip olduğu da görülmektedir.

Çalışmamızda keçi boynuzunun 50 µg/ mL' de % 61.5 oranında elastaz enzimini inhibe ettiği saptanmıştır. Keçi boynuzunun elastaz enzimi üzerine inhibe edici özelliği ile ilgili literatürde çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda keçi boynuzunun diğer aktiviteler ile birlikte antielastaz aktivitede sahip olduğu bulunmuştur. Keçi boynuzunun yapısında gallik asit bulunmaktadır (Balaban, 2004). Gallik asidin çalışmamızda antielastaz aktivitesine sahip olduğu bulunmuştur. Keçi boynuzunun antielastaz aktivitesi yapısındaki gallik asit tarafından ileri gelmektedir diyebiliriz.

Kayısı halk arasında cilt güzelliği için kullanılır. Kayısı yağı cilt kuruluğu, akne, saç dökülmesi gibi birçok cilt problemi için etkili bir üründür. Yapısında bulunan karotenoidler ve mineraller nedeni ile bu özelliğe sahiptir. Kayısının antiamiloid (Katayama ve diğ., 2011), antioksidan (Korekar ve diğ., 2011), antibakteriyel (Lou ve diğ., 2011) özelliklere sahip olduğu literatürlerde belirtilmiştir. Çalışmamızda da kayısının antielastaz aktivitesine sahip olduğu saptanmıştır. Yapısında bulunan karotenoidler nedeni ile bu aktiviteye sahip olabileceği öne sürülebilir.

Çalışmamızda bitki ekstraterinden başka kimyasal maddelerinde elastaz enzimi üzerine inhibisyon etkileri incelenmiştir.

β-karoten A vitamininin ön vitaminidir. Antioksidan özelliğe sahip bir maddedir. Literatürde retinoik asidin elastaz ile oluşturulan akciğer hasarına ve pulmonary amfizeme karşı koruyucu özelliği olduğu Nakajoh ve arkadaşları tarafından ileri sürülmüştür (Nakajoh ve diğ., 2003). Uzun süreli oral β-karoten uygulaması sistik fibrosis hastalarında akciğer ve antioksidan durum ile ilgili değişiklikleri minumuma

indirmiştir (Rust ve diğ., 2000). Çalışmamızda β -karotenin çok düşük konsantrasyonları elastaz enzimini yüksek inhibisyon oranlarında inhibe etmiştir. β -karotenin antioksidan özelliği yanında elastaz enzimlerini de inhibe etmesi bu maddenin deri hastalıklarında, damar hastalıklarında, yaşlanmanın önlenmesinde etkili olabileceğini bize göstermektedir.

Edaravon (3-metil-1-fenil-2-pirazolin-5-on) güçlü bir serbest radikal tutucu olup antioksidan yeteneğe sahiptir (Abe ve diğ., 1988). Edaravon reaktif oksijen türlerinin sebep olduğu doku hasarını iyileştirir. Edaravon embolizasyon ve geçici beyin iskemiği üzerine koruyucu etkilere sahiptir, böylece akut beyin enfarktüsünün iyileştirilmesinde kullanılmıştır (Kawai ve diğ., 1997; Wu ve diğ., 2000; Watanabe ve diğ., 1994). Edaravonun antifibrotik etkisini araştırmak üzere akciğerde hidrokspirolin içeriklerinin ölçme ve histolojik değerlendirilmesinde; edaravonun Bleomisin aşılmasından önce uygulanmasıyla akciğer subpleural bölgesinde fibrozisin önemli ölçüde azaldığı ve total hidrokspirolin içeriklerinin azaldığı gözlenmiştir (Tajima ve diğ., 2008). Edaravon peroksi radikali üzerine inhibitör etki göstererek E ve C vitamini etkilerine benzer etkiler gösterir (Yamamoto ve diğ., 1996). Kas erimesine ilişkin sklerozun iyileşmesi için edaravon kullanımını içeren deneyler yapılmaktadır (Suzuki, 2009). Edaravon oksidatif stres kaynaklı CCl_4 sebepli akut karaciğer hasarında koruyucu etkilere sahip olduğu belirtilmiştir (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Hensley ve diğ., 2000).

Çalışmamızda edaravon düşük dozlarda yüksek bir inhibisyon yüzdesi göstererek elastaz enzimini inhibe etmiştir. Edaravonun elastaz enzimini inhibe etmesi bu maddenin antioksidan özelliği ile birlikte deri, inflamasyon gibi çeşitli hastalıkları da önleyebileceğini bize göstermektedir.

Vanilin tat ve koku verici bir madde olup kanseri önlediği (Makni ve diğ., 2011) ve CCl_4 ile oluşturulan beyin ve karaciğer toksisitesini önleyerek (Makni ve diğ., 2011) antioksidan ve antiinflamatuvar etki gösterdiği bulunmuştur (Makni ve diğ., 2011). Vanilinin tripsin inhibitörü olduğu da Shahwar ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir (Shahwar ve diğ., 2011). Çalışmamızda vanilinin düşük konsantrasyonlarda yüksek bir aktivitede elastaz enzimini inhibe ettiği bulunmuştur.

Kuarsetinin antispazmodial (Ganesh ve diğ., 2012) olduğu, akciğerde oluşan oksidatif strese karşı önleyici aktiviteye (Hayashi ve diğ., 2011) sahip olduğu, antidiabetik (Zhang ve diğ., 2011), antikanserojen (Zheng ve diğ., 2012) özellik gösterdiği, deri inflamasyonunu azalttığı (Kwon ve diğ., 2011) ve antioksidan özelliğe sahip olduğu açıklanmıştır (Kostyuk ve diğ.,2011). Kuarsetinin anti-aging etkiye sahip olduğuda Chondrogianni ve arkadaşları tarafından bulunmuştur (Chondrogianni ve diğ., 2010). Çalışmamızda kullandığımız saf kuarsetinin düşük konsantrasyonlarda enzimi yüksek oranda inhibe ettiği bulunmuştur.

B₆ vitaminin östrojen ve progesteron hormonlarını düzenleyici özelliğe sahip (Zhang ve diğ., 2011) olmanın yanında bu vitaminin eksikliğinin ruhsal problemlerin çıkmasında rol aldığı bilinmektedir. Eksikliğinde cilt bozuklukları ve sinirsel bozukluklar da görülür. B₆ vitamini eksikliğinde ayrıca şizofren, parkinson hastalığı ve epilepsi gibi nörolojik hastalıklar (Di Salvo ve diğ., 2012) ve tip I diabet görülür (Rubi, 2012) . Sıçanlarda B₆ vitamini eksikliğinde kollajen miktarında azalma olduğu saptanmıştır (Tane ve diğ., 1976). B₆ vitamini eksikliğinde anemi de görülmektedir. Çalışmamızda B₆ vitamini 10 µg/ mL konsantrasyonda % 79.93 oranında elastaz enzimini inhibe etmiştir. Bu da B₆ vitaminin ruhsal problemleri önlediği gibi deride meydana gelen yaşlanmaya bağlı sarkma problemlerini ve pankreatit hastalıklarını elastaz enzimini inhibe ederek önleyebileceğini göstermektedir.

Rutin deneyisel olarak oluşturulan hipertansiyonu azaltarak vasküler lezyonları önlediği Orbison ve arkadaşları tarafından ileri sürülmüştür (Orbison ve diğ., 1953). Ayrıca yapılan diğer bir çalışmada, UV ışınlarıyla oluşturulan deri hasarında yapısında rutin de bulunan *Calendula officinalis* bitkisinin koruyucu özelliğinden bahsedilmiştir (Fonseca ve diğ., 2010). Çalışmamızda rutin 1 µg/ mL konsantrasyonda % 61.34 oranında elastaz enzimini inhibe etmiştir. IC₅₀ değerinin diğer vitaminlere göre düşük olması rutin (P vitamini) iyi bir elastaz inhibitörü olduğunu göstermektedir.

S-metil-metionin sülfonyum klorür, mısırdada, lahanada, ıspanakta, sarımsakta ve soya ununda bulunur (Baker, 2006). U vitamini olarak da bilinen bu kimyasal maddenin (

Kopinski ve diğ., 2007), antiülser, antiinflamatuvar, lipid düşürücü ve antidepresan rol oynadığı literatürlerde belirtilmektedir (Baker, 2006; Kim ve diğ., 2010).

Çalışmamızda U vitamininin elastaz enzimini 50 µg/ mL konsantrasyonda % 43.55 oranında inhibe ettiği bulunmuştur. U vitamini askorbik aside göre elastaz enzimini düşük konsantrasyonda inhibe etmiştir. Ayrıca Anabilim dalımızda yapılan diğer bir tez çalışmasında U vitamininin anjiyotensin konverting enzimini düşük konsantrasyonlarda inhibe ettiği de bulunmuş olup (Çepel, 2011) U vitamininin tansiyon düşürücü özelliğinin yanında deri ve inflamasyon ile ilgili çalışmalarda elastaz inhibitörü olduğu saptanmıştır. U vitamininin elastaz inhibisyonu göstermesi yapısındaki SH- grupları nedeni ile olabilir. Ayrıca, Kim ve arkadaşları tarafından U vitamininin dermatolojik bozukluklarda etkili olduğu, deriyi hasarlara karşı koruduğu ve iyileştirdiği öne sürülmüştür (Kim ve diğ., 2010).

Suda çözünen vitaminlerden olan askorbik asidin antioksidan özellikte olduğu (Padayatty ve diğ., 2003), kapiler duvarların geçirgenliğini azalttığı ve hidroksilasyon reaksiyonlarında rolü olduğu bilinmektedir (Can ve Akev, 2008). İskemik kalp hastalığı tedavisinde (Hornig, 2002), hipertansif sıçanlarda kan basıncını düşürücü olarak etki göstermektedir. C vitamini verilmesi ile kan basıncının azaldığı (Vasdev, 1999), DNA hasarının önlediği literatürde belirtilmektedir (Nishi ve diğ., 2010). Ayrıca askorbik asidin Cd ile oluşturulan hipertansiyonu ve vasküler bozukluğu önlediği Donpunha tarafından ileri sürülmüştür (Donpunha ve diğ., 2010). Yapılan araştırmalarda E ve C vitaminlerinin gebelikte oluşan hipertansiyonu da önlediği belirtilmektedir (Lin ve diğ., 2010).

Askorbik asidin deride oluşan yaraları iyileştirdiği, ROS' ları yok edici özellikte olduğu belirtilmektedir (Wermeij ve Backendorf., 2010). Çalışmamızda askorbik asit elastaz enzimini 750 µg/ mL de % 59.15 oranında inhibe etmiştir. Bu oran diğer kullandığımız vitaminlere göre düşük bir değerdir.

Mısırdaki Kleopatra'nın derisini rejenere etmede ekşimiş süt banyolarını kullandığı belirtilmiştir. Ekşimiş sütte laktik asit bulunmaktadır. Laktik asidin ölmüş derilerin rejenere edilmesinde kullanılması antielastaz aktivitesini göstermesi ile ilgili olabilir.

Çalışmamızda asitler içinde enzimi en düşük konsantrasyonda en düşük oranda laktik asit inhibe etmiştir. Buda uzun yıllardan beri deri soyma işlemlerinde kullanılan laktik asid ve hidroksi asitlerin antielastaz enzim aktivitesi göstermesi ile ilişkili olabilir.

Hidroksi asitler günümüzde kozmetik ürünlerde çokça yer almaktadır. Ciltde bulunan inci çizgi ve kırışıklıkların giderilmesinde, cilt gerginliğinin sağlanmasında, porların açılması ve tıkanmaların engellenmesinde, yağlı ve akneli ciltlerde cilt koşullarının iyileştirilmesinde, cilt yüzeyindeki ölü dokuların uzaklaştırılmasında çeşitli hidroksi asitler kullanılmaktadır (Green ve diğ., 2009). Kozmetikte kimyasal olarak deri yenilenmesi işlemi yüzeysel olarak hidroksi asitler ile, orta derinlikte triklorasetik asid ile derinlemesine ise fenol türevi bileşikleri ile yapılmaktadır. Glikolik asit çözeltileri hem derinin üst tabakasını soymakta hemde bir miktar emilerek yeni hücre üretilmesi için ek faydalar sağlamaktadır. Çalışmamızda glikolik asit elastaz enzimini 50 µg/ mL konsantrasyonda % 64.52 oranında inhibe etmiştir. Kozmetik de glikolik asidin deri soyma işlemlerinde kullanılmasının nedeni anti elastaz aktivitesi göstermesi nedeniyledir.

Hidroksi asitlerin antielastaz enzim aktivitesi göstermesi nedeni ile uzun zincirli bir yağ asidi olan 2-hidroksi dodekanoik asid bileşiğinin de elastaz enzimi üzerinde inhibisyon etkilerini de inceledik. 2-hidroksi dodekanoik asit; malik, sitrik ve tartarik aside göre elastaz enzimini 50 µg/ mL konsantrasyonda % 76.61 oranında inhibe etmiştir. Hülya Çelik tarafından sentez edilen 3-13 monohidroksi 20 karbonlu yağ asidlerinde (Sokmen ve diğ., 2012) antielastaz aktiviteye sahip olduğu Yanardağ ve arkadaşları tarafından bulunmuştur.

Gallik asidin birçok türevinin analjezik, antialerjik, antibakteriyel, antikanserojen, antihepatotetik, antioksidan, antiviral ve antiseptik gibi özellikler sahip olduğu belirtilmektedir (Saraçoğlu, 2008; Zhang ve diğ., 2009). Gallik asit ve esterleri gıda sanayinde katkı maddesi olarak da kullanılmaktadır.

Çalışmamızda gallik asidin elastaz enzimini 3 µg/ mL konsantrasyonda % 58 oranında inhibe ettiği saptanmıştır. Gallik asit (IC₅₀ 1.20 µg/ mL) laktik asitten (IC₅₀ 0.37 µg/ mL) sonra enzimi diğer asitlere göre düşük konsantrasyonda inhibe eden asittir. Gallik

asidin elastaz enzimini yüksek oranda inhibe etmesinin nedeni yapısında bulunan hidroksi grupları nedeni ile olabilir.

Kojik asit, besin endüstrisinde bir gıda katkı ve gıda koruyucu madde, kozmetik endüstrisinde bir cilt beyazlatma ajanı (antitirozinaz), bunlarla birlikte bir bitki büyüme düzenleyicisi ve bir kimyasal ara ürün olarak kullanılmaktadır (Cheng ve diğ., 2006). Ayrıca kojik asidin tirozinaz enzim inhibitörü olduğu bilinmektedir (Calay, 2010). Çalışmamızda kojik asit enzimi diğer asitlere göre yüksek konsantrasyonlarda inhibe etmiştir. Bunun nedeni yapısında gallik aside göre hidroksi gruplarının daha az olması olabilir.

Amino asitler insan organizmasında sağlıklı ciltler ve iyi bir yaşam için gereklidir. Cilt bakım ürünlerinden bazılarında amino asitlerin katılması ile kırışıklıkların giderildiği bilinmektedir. Metionin organizmada metil ve sülfidril grubu vericisidir. Metionin eksikliğinde saçta, ciltte ve tırnaklarda bozukluklar oluşur, kolesterol düzeyi artar. Ayrıca metionin lipotropik madde olması nedeni ile karaciğer yağlanmasını önler . Metionin verilmesi ile saç köklerinin etkilendiği ve kırılğan saçların dökülmesinin engellendiği bilinmektedir (Yun ve diğ., 2011).

Çalışmamızda 7 farklı amino asidin elastaz enzimi üzerine inhibitör etkileri incelenmiştir. Bu amino asitlerden metionin, lösin ve fenil alanin enzimi en fazla oranda inhibe etmişlerdir. Metioninin enzimi inhibe etmesinin nedeni yapısında bulunan SH grupları nedeniyledir.

Çalışmamızda kullandığımız etanollü bitki ekstraları ve kimyasal maddelerin tümünün elastaz enzimini inhibe ettiği görülmüştür. Yüksek oranda elastaz inhibitor etkisi gösteren bitki ekstraları ve kimyasal maddelerin elastaz inhibitorü olarak, pankreas ile ilgili bozukluklarda, deri hastalıklarında, nötrofiller ile ilgili bozukluklarda ilaç tedavisine ilave olarak kullanımının uygun olabileceği ileri sürülebilir. Ancak bu bitki ekstraları ve kimyasal maddelerin elastaz enzim inhibisyonlarının *in vivo* deneylerle de kanıtlanması için ileri düzeyde çalışmalara gereksinim bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

ABE, K., YUKI, S., KOGURE, K., 1988, Strong attenuation of ischemic and postischemic brain edema in rats by a novel free radical scavenger, *Stroke*, 19: 480-485.

AGRAWAL, A., MOHAN, M., KASTURE, S., FODDİS, C., FRAU, MA., LOI, MC., MAXIA, A., 2011, Antidepressant activity of *Ceratonia siliqua* L. fruit extract, a source of polyphenols, *Natural Products Resaarch*, 4, 450-456.

ALİ-SHTAYEH, M., JAMOUS, RM., JAMOUS, RM., 2012, Complementary and alternative medicine use amongst Palestinian diabetic patients Complementary therapies in clinical practice, 18, 16-21.

ALTINIŞIK, M., 2009, *Enzimler* [online], Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, www.mustafaaltinisik.org.uk/09-tbl102-0809Enzimler.ppt, <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/89-1-09.pdf> [Ziyaret tarihi: 30.11.2011]

ALTINIŞIK, M., 2011, *Dokular* [online], <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/89-1-23.pdf> [Ziyaret Tarihi: 29.11.2011]

AMMANN, D., WARSHAW, A.L., 1985, Acute pancreatitis: clinical aspects and medical and surgical management, *Bockus Gastroenterology*, 4th ed. Philadelphia: W.B Saunders 3993-3997.

AN, B., KWAK, J., PARK, J., PARK, T., LEE, J., SON, J., JO, C., BYUN, M., 2005, Inhibition of persimmon (*Diospyros kaki*) leaf on human skin, *Dermatologic Surgery*, 31, 848-855.

ASLAN, K., 2011, *Fekal elastaz testi* [online], Burtom Tıbbi Tahlil Laboratuvarları, <http://www.burtom.com.tr/images/image/makale/fekalelastaz.pdf> [Ziyaret Tarihi: 29.11.2011]

BAICI, A., SALGAM, P., FEHR, K., BÖNİ, A., 1980, Inhibition of human elastase from polymorphonuclear leucocytes by a glycosaminoglycan polysulfate (Arteparon®), *Biochemical Pharmacology*, 29, 1723-1727.

BAKER, D.H., 2006, Comparative species utilization and toxicity of sulfur amino acids, *Journal Nutrition*, 136, 1670S-1675S.

BALABAN, M., Identification of the main phenolic compounds in wood of *Ceratonia siliqua* by GC-MS., 2004, *Phytochemical Analysis*, 6, 385-388.

BANDA, M. J., 1987, *Elastin degradation*, In: *Methods in Enzymology* (ed. Cunningham, L.W.), 144, 288-305, Academic Press.

BARNES, P. J., 2002, *Future therapies*, In: *Asthma and COPD*, Barnes, P., Drazen, J., Remard, S., Thomson, N., eds., North Yorkshire, J&L Composition Ltd, 641-656.

BARRETT, A.J., 1994, *Proteolytic enzymes: serine and cysteine peptidases*, In: *Methods in Enzymology*, 244, 1-15.

BARRETT, A. J., McDONALD, J. K., 1980, *Mammalian proteases: a glossary and bibliography*, vol 1. (Endopeptidases), 32-43, New York, Academic Press.

BAYLAC, S., RACINE, P., 2004, Inhibition of human leukocyte elastase by natural fragrant extracts of aromatic plants, *International Journal of Aromatherapy*, 14, 179-182.

BAYTOP, T., 1984, Türkiye’de bitkiler ile tedavi, *İstanbul Üniversitesi Yayınları*, No: 3255.

BELAAOUAJ, A., WALSH, B. C., JENKINS, N. A., COPELAND, N. G., SHAPIRO, S. D., 1997, Characterization of the mouse neutrophil elastase gene and localization to chromosome10, *Mammalian Genome*, 8, 5–8.

BENDEDDOUCHE, M.S., BENHASSAINI, H., HAZEM, Z., ROMANE, A., 2011, Essential oil analysis and antibacterial activity of *Rosmarinus tournefortii* from Algeria, *Natural Products Communications*, 6, 1511-1514.

BHOOLA, K., RAMSAROOP, R., PLENDL, J., CASSIM, B., DLAMAINI, Z., NAICKER, S., 2001, Kallikrein and kinin receptor expression in inflammation and cancer, *Biological Chemistry*, 382, 77-89.

BIETH, J. G., BARRETT, A. J., RAWLINGS, N. D., WOESSNER, F. F., 1998, *Handbook of proteolytic enzymes*, 54, Academic Press, London.

BISSETT, D. L., 1987, An animal model of solar-aged skin: Histological, physical and visible changes in UV-Irritated hairless Mouse skin, *Photochemistry and Photobiology*, 46, 367-378.

BIZOT-FOULON, V., GODEAT, G., HORNEVECK, W., 1995, Inhibition of human neutrophil elastase by wheat ceramides, *International Journal of Cosmetic Science*, 17, 255-264.

BİNGÖL, G., 1977, *Vitaminler ve enzimler*, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ders Kitap Serisi No: 46, Ankara.

BODE, W., HUBER, R., 1992, Natural protein proteinase inhibitors and their interaction with proteinases, *European Journal of Biochemistry*, 204, 433-451.

BODE, W., HUBER, R., 1994, Proteinase-protein inhibitor interactions, *Fibrinolysis*, 8 (Suppl. 1), 161-171.

BODE, W., MEYER, E., POWERS, J. C., 1989, Human leukocyte and porcine pancreatic elastase: X-ray crystal structures, mechanism, substrate specificity, and mechanism-based inhibitors, *Biochemistry*, 28, 1951-63.

BOLKENT, S., YANARDAG, R., KARABULUT-BULAN, O., YESİLYAPRAK, B., 2005, Protective role of *Melisa officinalis* L. extract on liver of hyperlipidemic rats: a morphological and biochemical study, *Journal of Ethnopharmacol*, 99, 391-398.

CALAY, O., 2010, *Tirozinaz Enziminin Bazı Tıbbi Bitkiler Tarafından İnhibisyonu*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı.

CALVERLEY, P. M., 2004, *The GOLD classification has advanced understanding of COPD*, *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 170, 211-212.

CAN, A., AKEV, N., 2008, *Eczacılık Fakültesi Öğrencileri İçin Biyokimya Dersleri*, İstanbul Üniversitesi Yayın No: 4776.

CANADANOVIC-BRUNET J., CETKOVIC, G., DJILAS, S., TUMBAS, V., BOGDANOVIC, G., MANDIC, A., MARKOV, S., CVETKOVIC, D., CANADANOVIC, V., 2008, Radical scavenging, antibacterial and antiproliferative activities of *Melissa officinalis* L. extracts, *Journal Medicinal Food*, 11, 133-143.

CARVALHO, CM., FERNANDES, KM., MATTA, SLP., SILVA, MB., OLIVEIRA, LL., FONSECA, CC., 2011, Evaluation of antiulcerogenic activity of aqueous extract of *Brassica oleracea var.capitata* (Cabbage) on wistar rat gastric ulceration, *Arquivos Gastroenterologia*, 48, 276-282.

CARVALHO, NC., CORREA, MJ., LEFFA, DD., MOREIRA, J., NICOLAU, V., ROSSATTO, AE., DE ANDRADE, VM., 2011, Evaluation of the genotoxic and antigenotoxic potential of *Melissa officinalis* in mice, *Genetics and Molecular Biology*, 34, 290-297.

CARLSEN, M. H., HALVORSEN, B. L., HOLTE, K., BOHN, S. K., DRAGLAND, S., SAMPSON, L., WILLEY, C., SENOO, H., UMEZONO, Y., SANADA, C., BARIKMO, I., BERHE, N., WILLET, WC., PHILIPS, K. M., JACOBS, D. R., BLOMHOFF, R., 2010, The total antioxidant content of more than 3100 foods, beverages, spices, herbs and supplements used worldwide, *Nutrition Journal*, 9, 1-11.

CEMEK, M., KAĞA, S., ŞİMŞEK, N., BÜYÜKOKUROĞLU, ME., KONUK, M., 2008, Antihyperglycemic and antioxidative potential of *Matricaria chamomilla* L. in streptozotocin-induced diabetic rats, *Journal of Natural Medicines*, 62, 284-293.

CEMEK, M., YILMAZ, E., BÜYÜKOKUROĞLU, ME., 2010, Protective effect of *Matricaria chamomilla L.* on ethanol-induced acute gastric mucosal injury in rats, *Pharmaceutical Biology*, 48, 757-763.

CHENG, S.L., LIU, R.H., SHEU, J.N., CHEN, S.T., SINCHAIKUL, S., TSAY, G.J., 2006, Toxicogenomics of kojic acid on gene expression profiling of A375 human malignant melanoma cells, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29, 665-669.

CHONDROGIANNI, N., KAPETA, Ş., CHINOU, I., VASSILATOU, K., PAPASSIDERI, I., GONOS, ES., 2010, Anti-aging and rejuvenating effects of quercetin, *Experimental Gerontology*, 45, 763-771.

CLAVIEN, P. A., BURGAN, S., MOOSSA, A. R., 1989, Serum enzymes and other laboratory tests in acute pancreatitis, *The British Journal of Surgery*, 76, 1234-1243.

CREGGE, R. J., DURHAM, S. L., FARR, R. A., GALLION, S. L., HARE, C. M., HOFFMAN, R. V., JANUSZ, M. J., KIM, H. O., KOEHL, J. R., MEHDI, S., METZ, W. A., PEET, N. P., PELTON, J. T., SCHREUDER, H. A., SUNDER, S., TARDIF, C., 1998, Inhibition of human neutrophil elastase 4, Design, synthesis, X-ray crystallographic analysis and structure-activity relationships for a series of P2-modified, orally active peptidyl pentafluoroethyl ketones, *Journal of Medicinal Chemistry*, 41, 2461-2480.

CREIGHTON, T. E., 1992, The disulfide folding pathway of BPTI, *Science*, 256, 111-112.

CRONIN, H., DRAELOS, Z.D., 2010, Top 10 botanical ingredients in 2010 anti-aging creams, *Journal Cosmeutical Dermatology*, 9, 218-225.

CRYSTAL, R. G., 1996, Alpha1-antitrypsin deficiency, *Biology-Pathogenesis-Clinical Manifestations-Therapy*, Markel Dekker, New York.

CUSTUDIO, L., FERNANDES, E., ESCAPA, AL., FAJARDO, A., ALIGUE, R., ALBERICIO, F., NENG, NR., NOGUERIA, JM., ROMANO, A., 2011, Antioxidant and cytotoxic activities of carob tree fruit pulps are strongly influenced by gender and cultivar, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 59, 7005-7012.

ÇEPEL, S., 2011, *Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim İnhibitörleri*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı.

DEMİROK, B., 2006, Cloning and expression of periplasmic (CLP-like) and membrane-bound serine protease genes of *Thermoplasma volcanium* in *Escherichia coli*, Yüksek Lisans Tezi, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyolojik Bilimler Bölümü.

DI SALVO, M.L., SAFO, MK., CONTESTABILE, R., 2012, Biomeical aspects of pyridoxal 5'-phosphate availability, *Frontiers in Bioscience*, 4, 897-913.

DODSON, G., WLODAWR, A., 1998, Catalytic triads and their relatives, *Trends in Biochemical Science*, 23, 347-352.

DONPUNHA, W., KUKONGVİRİYAPAN, U., SOMPAMĪT, K., PAKDEECHOTE, P., KUKONGVİRİYAPAN, V., PANNANGPETCH, P., 2010, Protective effect of ascorbic acid on cadmium-induced hypertension and vascular dysfunction in mice, *Biometals*, 24, 105-115.

DUBOS, J., 1951, Louis Pasteur: free lance of science, Gollancz, London. Şu yayında alıntılanmıştır: Manchester, K. L., 1995, Louis Pasteur (1822–1895) - chance and the prepared mind, *Trends Biotechnology*, 13, 511–515.

DUNN, DE., HE, DN., YANG, P., JOHANSEN, M., NEWMAN, RA., LO, DC., 2011, In vitro and in vivo neuroprotective activity of the cardiac glycoside oleandrin from Nerium oleander in brain slice-based stroke models, *Journal of Neurochemistry*, 119, 805-814.

EDWARDS, P. D., BERNSTEIN, P. R., 1994, Synthetic inhibitors of elastase, *Medicinal Research Reviews*, 14, 127–194.

FERA, T., ABBOUD, R., RICHTER, A., JOHAL, S., 1986, Acute effect of smoking on elastase-like esterase activity and immunologic neutrophil elastase levels in bronchoalveolar lavage fluid, *The American Review of Respiratory Disease*, 133 (4), 568-573.

FISHMAN, A. P., 1992, *Update-pulmonary diseases and disorders*, 2. Edition, Newyork, Mc Graw-Hill Co., 37-51.

FONSECA, YM., CATINI, CD., NOMIZO, A., GERLACH, RF., 2010, Protective effect of calendula officinalis extract against UVB- induced oxidative stres in skin: Evaluation of reduced glutathione levels and matrix metalloproteinase secretion, *Journal of Ethnopharmacology*, 127, 596-601.

FOX, J.W., SHANNON, J.D., BJARNASON, J. B., 1991, Proteinases and their inhibitors in biotechnology, *Enzymes in biomass conversion*. ACS Symp., 460, 62-79.

FRIEDMAN, M., 1996, Food browning and its prevention: an overview, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 631-653.

FUJIKI, K., SHINGUH, Y., YAMAZAKI, A., HATANAKA, H., OKAMOTO, M., OKUHARA, M., 1999, Inhibition of elastase induced acute inflammation and pulmonary emphysema in hamsters by a novel neutrophil elastase inhibitor FR901277, *Inflammation Research*, 48, 160-167.

FUJITA, H., HONGO, M., MOCHIZUKI, M., YOKOYOMA, K., TANAKA, Y., 2011, Inhibitory effects of 16-hydroxy-9-oxo-10E, 12E, 14E- octadecatrienoic acid (Corchorifatty acid B) isolated from Melissa officinalis Linne on melanogenesis, *Experimental Dermatology*, 20, 420-424.

FUMIAKI, N., MASAİKO, H., AKIHIRO, O., MUNHEYUKI, S., 2000, Elastase activity enhances the adhesion of neutrophil and cancer cells to vascular endothelial cells, *Journal of Surgical Research*, 94, 153-158.

GANESH, D., FUEHRER, HP., STARZENGRUBER, P., SWOBODA, P., KHAN, WA., REISMANN, JA., MUELLER, MS., CHIBA, P., NOEDI, H., 2012, Antiplasmodial activity of flavonol quercetin and its analogues in *Plasmodium falciparum*: evidence from clinical isolated in Bangladesh and standardized parasite clones, *Parasitol Research*, Baskıda.

GAYATHRI, V., ANANTHI, S., CHANDRONITHA, C., SANGEETHA, MK., VASANTHI, HR., 2011, Hypolipidemic potential of flowers of *Nerium oleander* in high fat diet-fed Sprague Dawley rats, *Natural Products Research*, 25, 1110-1114.

GEIGER, R., 1984, *Pancreatic elastase*, In: *Methods of enzymatic analysis*, ed. Bergmeyer, H.U., 3rd edition, vol. V, 170-176, Verlag Chemie, Weinheim.

GERTLER, A., BIRK, Y., 1970, Isolation and characterization of porcine proelastase, *European Journal of Biochemistry*, 12, 170-176.

GLAZER, G., 1988, Contentious issues in acute pancreatitis, In: *Acute pancreatitis. Experimental and clinical aspects of pathogenesis and management*, 1st ed. London: Bailliere Tindall; 1-36.

GREEN, B., YU, RJ., VAN SCOTT, EJ., 2009, Clinical and cosmeceutical uses of hydroxyacids, *Clinics in Dermatology*, 27, 495-501.

GRESPLAN, R., FONSECA, JP., FARINHA, TO., SILVA, EL., ROMERO, AL., 2011, *Rosmarinus officinalis L.* essential oil inhibits in vivo and vitro leukocyte migration, *Journal Medicinal Food*, 14, 944-946.

GUPTA, R., BEG, Q.K., LORENZ, P., 2002, Bacterial alkaline proteases: molecular approaches and industrial applications, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59, 1, 15-32.

GÜRDÖL, F., ADEMOĞLU, E., 2006, *Enzimler*, Biyokimya, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 161.

HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J.M.C., 1999, *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3rd Ed. Oxford: Clarendon Press; 617-783

HARTLEY, B. S., SHOTTON, D. M., 1971, *Pancreatic elastase*, In: *The Enzymes*, ed. Boyer, P.D., 3rd Edition, vol. III, 323-373, Academic Press.

HAVEMANN, G., GRAMSE, M., 1984, Physiology and pathology of neutral proteinases of human granulocytes, *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 164, 1-20.

HAYAKAWA, T., NARUSE, S., KITAGAWA, M., KONDO, T., 1995, Elastase (Abstract), *Nippon Rinsho*, 53, 1192-1197.

HAYASHI, Y., MATSUSHIMA, M., NAKAMURA, T., SHIBASAKI, M., HASHIMOTO, N., IMAIZUMI, K., SHIMOKATA, K., HASEGAWA, Y., KAWABE, T., 2011, Quercetin protects against pulmonary oxidant stress via heme oxygenase-1 induction in lung epithelial cells, *Biochemical Biophysical Research Communication*, (Baskıda).

HENDSTROM, L., 2002, Serine protease mechanism and specificity, *Chemical Reviews*, 102, 4501-4532.

HENSLEY, K., ROBINSON, K.A., GABBITA, S.P., SALSMAN, S., FLOYD, R.A., 2000, Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury, *Free Radical Biology and Medicine*, 28: 1456-1462.

HORNIG, B., 2002, Vitamins, antioxidants and endothelial function in coronary artery disease, *Cardiovascular Drugs and Therapy*, 16, 401-409.

HSOUNA, AB., TRIGUI, M., MANSOUR, RB., JARRAYA, RM., DAMAK, M., JAOUA, S., 2011, Chemical composition, cytotoxicity effect and antimicrobial activity of *Cerotonia siliqua* essential oil with preservative effects against *Listeria* inoculated in minced beef meat, *International Journal of Food Microbiol*, 148, 66-72.

IBRAHIM, TA., EL-HEFNAWY, HM., EL-HELA, AA., 2010, Antioxidant potential and phenolic acid content of certain cucurbitaceous plants cultivated in Egypt, *Natural Products Research*, 16, 1537-1545.

JACK, N. L., 2008, The biochemical and functional food properties of the Bowman-Birk inhibitor, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48, 94-118.

JANOFF, A., 1985, Elastases and emphysema, *Current Assessment of the Protease-Antiprotease Hypothesis*, 132, 417-433.

JARRAHI, M., VAFAEI, AA., TAHERIAN, AA., MILADI, H., RASHIDI, POUR., 2010, Evaluation of topical *matricaria chamomilla* extract activity on linear incisional wound healing in albino rats, *Natural Products Research*, 24, 697-702.

KALAYCIOĞLU, A., ÖNER, C., 1994, Bazı bitki ekstraktlarının antimutajenik etkilerinin amest-salmonella test sistemi ile araştırılması, *The Turkish Journal of Botany*, 18, 117-122.

KATAYAMA, S., OGAWA, H., NAKAMURA, S., 2011, Apricot carotenoids possess potent anti-amyloidogenic activity in vitro, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 59, 12691-12696.

KAWAI, H., NAKAI, H., SUGA, M., YUKI, S., WATANABE, T., SAITO, K., 1997, Effects of a novel free radical scavenger, MCI-186, on ischemic brain damage in the rat distal middle cerebral artery occlusion model, *The Journal Pharmacology Experimental Therapeut*, 281: 921-927.

KIM, W., CHOI, K., KIM, Y., PARK, H., CHOL, J., LEE, Y., OH, H., KWON, I., LEE, S., 1996, Purification and characterization of a fibrinolytic enzyme produced from *Bacillus* sp. strain CK 11-4 screened from Chungkook-Jangs, *Applied Environmental Microbiology*, 62, 2482-2488.

KIM, W. M., KANG, K., 2000, Enzymatic and molecular biochemical characterizations of human neutrophil elastases and a cathepsin G-like enzyme, *Molecules and Cells*, 10, 498-504.

KIM, Y., UYAMA, H., KOBAYASHI, S., 2004, Inhibition effects of (+)-catechin-aldehyde polycondensates on proteinases causing proteolytic degradation of extracellular matrix, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 320, 256-261.

KIM, WS., YANG, YJ., MIN, HG., SONG, MG., LEE, J., PARK, KY., KIM, JJ., SUNG, JH., CHOI, JS., CHA HJ., 2010, Accelerated wound healing by S-methylmethionine sulfonium: Evidence of dermal fibroblast activation via the erk1/2 pathway, *Pharmacology*, 85, 68-76.

KLIGMAN, A.F., LARKER, J., 1988, Cutan aging cosmetical, *Dermatol*, 1, 5-12.

KUDRYA, V.A., SIMONENKO, I.A., 1994, Alkaline serine proteinase and lectin isolation from the culture fluid of *Bacillus subtilis*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 41, 505-509.

KOPINSKI, J. S., FOGARTY, R., McVEIGH, J., 2007, Effect of S-methylmethionine sulphonium chloride on oesophagogastric ulcers in pigs, *Australian Veterinary Journal*, 85, 362-367.

KOREKAR, G., STOB DAN, T., ARORA, R., YADAV, A., SINGH, SB., 2011, Antioxidant capacity and phenolics content of apricot (*Prunus armeniaca* L.) kernel as a function of genotype, *Plant Foods for Human Nutrition*, 66, 376-383.

KOSTYUK, VA., POTAPOVICH, AL., SUHAN, TO., DE LUCA, C., KORKINA, LG., 2011, Antioxidant and signal modulation properties of plant polyphenols in controlling vascular inflammation, *European Journal of Pharmacology*, 658, 248-256.

KWON, OS., CHOI, JS., ISLAM, MN., KIM, YS., KIM, HP., 2011, Inhibition of 5-lipoxygenase and skin inflammation by the aerial parts of *Artemisia capillaries* and its constituents, *Archives Pharmacology Research*, 34, 1561-1569.

LADENSTEIN, R., ANTRANIKIAN, G., 1998, Proteins from hyperthermophiles: stability and enzymatic catalysis close to the boiling point of water, *Advances Biochemistry* 61, 37-85.

LARGMAN, C., BRODRICK, J. W., GEOKAS, M. C., 1976, Purification and characterization of two human pancreatic elastases, *Biochemistry*, 15, 2491- 2500.

LESTIENNE, P., BIETH, J., 1980, *EMBO-FEBS Workshop on tRNA*, Strasbourg 16-21 July (Abstract).

LEMOS, M., SANTIN, JR., JUNIOR, LCK., NIERO, R., DE ANDRADE, SF., 2011, *Journal of Ethnopharmacology*, 138, 503-507.

LIN, J. H., KIM, J. H., PARK, J. S., CHOI, Y. J., LEE, J. S., 2004, Isolation and characterization of a novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide derived from the edible mushroom *Tricholoma giganteum*, *Peptides*, 25,621-627.

LIU, T. G., CAMPBELL, E. J., 1995, Nonisotropic enzyme–inhibitor interactions: a novel nonoxidative mechanism for quantum proteolysis by human neutrophils, *Biochemistry*, 34, 16171-16177.

LOPEZ-JIMENEZ, A., GARCIA-CABALLERO, M., MEDINA, MA., QUESADA, AR., 2011, Anti-angiogenic properties of carnosol and carnosic acid, two major dietary compounds from rosemary, *European Journal of Nutrition*, 10, 394-411.

LOU, MM., ZHU, B., MUHAMMED, I., LI, B., XIE, GL., WANG, YL., LI, HY., SUN, GC., 2011, Antibacterial activity and mechanism of action of chitosan solutions against apricot fruit rot pathogen *Burkholderia seminalis*, *Carbohydrate Research*, 346, 1294-1301.

LÖSER, B., KRUSE, S. O., MELZIG, M. F., NAHRSTEDT, A., 2000, Inhibition of neutrophil elastase activity by cinnamic acid derivatives from *Cimicifuga racemosa*, *Planta Medica*, 66, 751-753.

MACDONALD, R. J., SWIFT, G. H., QUINTO, C., SWAIN, W., PICKET, R. L., NIKOVITS, W., RUTTER, W. J., 1982, Primary structure of two distinct rat pancreatic preproelastases determined by sequence analysis of the complete cloned messenger ribonucleic acid sequences, *Biochemistry*, 21, 1453–1463.

MACNEE, W., WIGGS, B., BLEZBERG, A. S., HOGG, J. C., 1989, The effect of cigarette smoking on neutrophil kinetics in human lungs, *The New England Journal of Medicine*, 321, 924-928.

MAKNI, M., CHTOUROU, Y., FETOUI, H., GARAU, M., BOUDAWARA, T., ZEGHAL, N., 2011, Evaluation of the antioxidant, anti-inflammatory and hepatoprotective properties of vanillin in carbon tetrachloride-treated rats, *European Journal of Pharmacology*, 668,133-139.

MANDLE, I., 1962, *Pancreatic elastase*, In: *Methods in Enzymology*, eds. Colowick, S.P. & Kaplan, N.O., vol. V, 665-673, Academic Press.

MELZIG, M. F., LOSER, B., CIESIELSKIS, S., 2001, Inhibition of neutrophil elastase activity by phenolic compounds from plants, *Pharmazie*, 56, 967-970.

MELZIG, M. F., LÖSER, B., BADER, G., PAPSDORF, G., 2000, Echtes Goldenrutenkraut als entzündungshemmende Droge, *Zeitschrift für Phytotherapie*, 21, 67-70.

MELZIG, M. F., LÖSER, B., LOBITZ, G. O., TAMAYO-CASTILLO, G., MERFORT, I., 1999, Inhibition of granulocyte elastase activity by caffeic acid derivatives, *Pharmazie*, 54, 712.

MENCHERINI, T., PICERNO, P., RUSSO, P., MELONI, M., AQUINO, R., 2009, Composition of the fresh leaves and stems of *Melissa officinalis* and evaluations of skin irritation in a reconstituted human epidermis model, *Journal of Natural Products*, 72, 1512-1515.

MENON, A.S., GOLDBERG, A.L., 1987, Protein substrates activate the ATP-dependent protease La by promoting nucleotide binding and release of bound ADP, *Journal of Biological Chemistry*, 262, 14929-34.

MEYER, W., NEURAND, K., RADKE, B., 1981, Elastic fiber arrangement in the skin of the pig, *Archives of Dermatological Research*, 270, 391-401.

MOON, JY., YIM, EY., SONG, G., LEE, N.H., HYUN, CG., 2010, Screening of elastase and tyrosinase inhibitory activity from Jeju Island plants, *EurAsian Journal of Biosciences*, 4, 41-53.

MOREIRA, M.R., PEREDA, M., MARCOVICH, NE., ROURA, SI., 2011, Antimicrobial effectiveness of bipactive packaging materials from edible chitosan and casein polymers: assessment on carrot, cheese, and salami, *Journal of Food Science*, 76, 54-63.

MOSS, M., COOK, J., WESNES, K., DUCKETT, P., 2003, Aromas of rosemary and lavender essential oils differently affect cognition and mood in healthy adults, *International Journal of Neuroscience*, 113, 15-38.

NAKAJOH, M., FUKUSHIMA, T., SUZUKI, T., YAMAYA, M., NAKAYAMA, K., SEKIZAWA, K., SASAKI, H., 2003, Retinoic acid inhibits elastase-induced injury in human lung epithelial cell lines, *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 28, 296-304.

NELSON, D.L., COX, M.M., 2005, *Lehninger Principles of Biochemistry*, 4th ed., W.H. Freeman and Company, New York.

NEMA, N.K., MAITY, N., SARKAR, B., MUKHERJEE, P.K., 2011, Cucumis sativus fruit-potential antioxidant, anti-hyaluronidase and anti-elastase agent, *Archives of Dermatological Research*, 303, 247-252.

NENAN, S., BOÏCHOT, E., LAGENTE, V., BERTRAND, C. P., 2005, Macrophage elastase (MMP-12): a pro inflammatory mediator?, *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 100, 167-72.

NEUHOF, H., NEUHOF, C., HEPPL, H., FRITZ, H., 1989, *The role of proteinases in pulmonary vascular permeability*, In: *The Kallikrein-Kinin System in Health and Disease*, Munich:Limbach-Verlag Braunschweig, 321-330.

NIEHAUS, F., BERTALDO, C., KAHLER, M., ANTRANIKIAN, G., 1999, Extremophiles as a source of novel enzymes for industrial application, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 51, 711-729.

NISHI, E. E., CAMPOS, R. R., BERGAMASCHI, C. T., DE ALMEIDA, V. R., RIBEIRO, D. A., 2010, Vitamin C prevents DNA damage induced by renovascular hypertension in multiple organs of Wistar rats, *Human & Experimental Toxicology*, 29, 593-599.

OBULESU, M., RAO, DM., Effect of plant extracts on Alzheimer's disease: An insight into therapeutic avenues, 2011, *Journal of Neurosciences in Rural Practice*, 2, 56-61.

ODB, 2011, *Elastase* [online], Oxford Dictionary of Biochemistry, <http://www.answers.com/topic/elastase>, [Ziyaret Tarihi: 28.11.2011]

OLIVER, W., JENS, S., HARRY, G., JENICE, A. Y., ENNO, C., 1990, Elafin: an elastase-specific inhibitor of human skin, *The Journal of Biological Chemistry*., 265, 14791-14795.

OLIVERA, A. S., FRANCO, O., MELO, F., BLOCH, C., SELES, M. P., 2002, Activity toward bruchid pest of a Kunitz-type inhibitor from seeds of the algaroba tree, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 72, 122-132.

ORBISON, J. L., PETERS, E., 1953, Failure of rutin and catechin to affect vascular lesions of experimental hypertension or hypersensitivity, *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 83, 173-175.

ÖZKUL, B. M., ERDOĞAN, Y., 1990, Amfizemin patogenezi, *Solunum Hastalıkları*, 1, 79-86.

PADAYATTY, S. J., KATZ, A, WANG, Y., ECK, P., KWON, O., LEE, J. H., CHEN, S., CORPE, C., DUTTA, A., DUTTA, S. K., LEVINE, M., 2003, Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention, *Journal of the American College Nutrition*, 22, 18-35.

PEKMEZCİ, S., SARIBEYOĞLU, K., 2000, Akut pankreatit: etiyoloji, klinik, tanı komplikasyonu ve medikal tedavi, *Aktüel Tıp Dergisi*, 5, 20-30.

POLDERMANS, B., 1990, *Proteolytic enzymes*, In: Proteolytic enzymes in industry: production and applications, W. Gerhartz (ed.), Publishers, Weinheim, Germany, 108-123.

RANPARIYA, VL., PARMAR, SK., SHETH, NR., CHANDRASHEKHAR, VM., 2011, Neuroprotective activity of *Matricaria recutita* against fluoride-induced stress in rats, *Pharmaceutical Biology*, 49, 696-701.

RAO, M.B., TANKSALE, A.M., GHATGE, M.S., DESHPANDE, V.V., 1998, Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62, 3, 597-635.

RAWLINGS, N. D., BARRETT, A. J., 1993, Evolutionary families of peptidases, *The Biochemical Journal*, 290, 205-218.

RECKEL, G. R. K., KRAMER, K. J., BAKER, J. E., KANOST, M. R., FABRICK, J. A., BENKHE, G. A., 1997, *Proteinase Inhibitors and Resistance of Transgenic Plants to Insect*. *Advances in Insect Control*, pp. 157-183, The Role of Transgenic Plants, London.

RUBI, B., 2012, Pyridoxal 5'-phosphate deficiency might contribute to the onset of type I diabetes, *Medical Hypotheses*, 78, 179-182.

RUST, P., EICHLER, I., RENNER, S., ELMADFA, I., 2000, Long term oral beta-carotene supplementation in patients with cystic fibrosis-effects on antioxidative status and pulmonary function, *Annal of Nutrition and Metabolism*, 44, 30-37.

SANCHETI, G., GOYAL, P.K., 2006, Effect of *Rosmarinus officinalis* in Modulating 7,12-dimethylbenz(a)anthracene induced skin tumorigenesis in mice, *Phytotherapy Research*, 20, 981-986.

SARAÇOĞLU, I. A., 2008, *Bitkisel sağlık rehberi*, Gün Offset Matbaacılık.

SAXENA, R., VENKAIAH, K., ANITHA, P., VENU, L., RAGHUNATH, M., 2007, Antioxidant activity of commonly consumed plant foods of India: contribution of their phenolic content, *International Journal of Food Science Nutrition*, 58, 250-260.

SCHULTZ, R.M., LIEBMAN, M.N., 1997, *Structure-function relationship in protein families*, In: Textbook of biochemistry with clinical correlations, T.M. Devlin (Ed.), Fourth Ed., Wiley-Liss, New York, 112-116.

SEVİNÇ, M. M., 2006, *Akut pankreatit tanısında üriner tripsinojen-2 kalitatif ölçümünün değeri*, Genel Cerrahi Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı, İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Birinci Genel Cerrahi Kliniği, İstanbul, 42-43.

SHAHWAR, D., RAZA, MA., SHAFIG, R., ABBASI, MA., ATTA, R., 2011, An investigation of phenolic compounds from plant sources as trypsin inhibitors, *Natural Products Research*, Baskıda.

SHOTTON, D. M., 1970, *Elastase*, In: Methods in Enzymology, eds. Perlman, G.E. & Lorand, L., vol. XIX, 113-140, Academic Press.

SIEDLE, B., CISIELSKI, S., MURILLO, R., LOSER, B., CASTRO, V., KLAAS, C. A., HUCKE, O., LABAHN, A., MELZING, M. F., MERFORT, I., 2002, Sesquiterpene lactones as inhibitors of human neutrophil elastase, *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 10, 2855-2861.

SINGH, O., KHANAM, Z., MISRA, N., SRIVASTAVA, MK., 2011, Chamomile (*Matricaria chamomilla L.*): An overview, *Pharmacognosy Reviews*, 5, 82-95.

SINHA, S., WATOREK, W., KARR, S., GILES, J., BODE, W., TRAVIS, J., 1987, Primary structure of human neutrophil elastase, *Biochemistry*, 84, 2228- 2232.

SİSTEM LABORATUVARI, 2011, *Elastaz/pankreatik elastaz-1* [online], <http://www.sistemlaboratuvari.com.tr/detay.asp?id=2499> [Ziyaret tarihi: 07.11.2011]

SO, J. E., SHIN, J. S., KIM, B. G., 2000, Protease-catalyzed tripeptide (RGD) synthesis, *Enzyme and Microbial Technology*, 26, 108-114.

SOKMEN, B.B., ONAR, H.C., YUSUFOGLU, A., YANARDAG, R., 2012, Antielastase, antiurease and antioxidant activities of some 3-13 monohydroxy eicosanoic acid isomers, *Journal of Serbian Chemistry*, Baskıda.

SPIRIDON, I., COLCERU, S., ANGHEL, N., TEACA, CA., BODIRLAU, R., ARMATU, A., 2011, Antioxidant capacity and total phenolic contents of oregano (*Origanum vulgare*), lavender (*Lavandula angustifolia*) and lemon balm (*Melissa officinalis*) from Romania, *Natural Products Research*, 25, 1657-1661.

SUZUKI, K., 2009, Anti-oxidants for therapeutic use: Why are only a few drugs in clinical use?, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61: 287-289.

TAJIMA, S., BANDO, M., ISHII, Y., HOSONO, T., YAMASAWA, H., OHNO, S., TAKADA, T., SUZUKI, E., GEJYO, F., SUGIYAMA, Y., 2008, Effects of edaravone, a free-radical scavenger, on bleomycin-induced lung injury in mice, *The European Respiratory Journal*, 32: 1337-1343.

TAKAKI, I., BERSANI-AMADO, L., VENDRUSCOLO, A., SARTORETTO, SM., DINIZ, SP., CUMAN, RK., 2008, Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Rosmarinus officinalis L.* essential oil in experimental animal models, *Journal of Medicinal Food*, 11, 741-746.

TAKASHI, S., SATOSHI, T., TAKAO, M., MICHIKO, H., MIVA, A., MIYUKI, T., TAKASHI, F., JUN-ICHI, Y., 2006, Neutrophil elastase and cancer, *Surgical Oncology*, 15, 217-222.

TANE, N., TAKEDA, T., SHIOJI, T., OHYAMA, H., ITOH, H., 1976, Effect of vitamin B6 deficiency on collagen metabolism in rats, *Journal of Nutrition Science and Vitaminology*, 22, 105-114.

TANG, J., MENG, X., LIU, H., ZHAO, J., ZHOU, L., QIU, M., ZHANG, X., YU, Z., YANG, F., 2010, Antimicrobial activity of sphingolipids isolated from the stems of cucumber (*Cucumis sativus* L.), *Molecules*, 15, 9288-9297.

TAVARES, AC., GONCALVES, MJ., CAVALEIRO, C., CRUZ, MT., LOPES, MC., CANHOTO, J., SALGUEIRO, LR., 2008, Essential oil of *Daucus carota* subsp. *Halophilus*: composition, antifungal activity and cytotoxicity, *Journal of Ethnopharmacology*, 119, 129-134.

TEKMAN, Ş., ÖNER, N., 1981, *Genel Biyokimya üçüncü baskı*, Fatih Yayınevi – İstanbul, 351-367.

TRAVIS, J., SALVENSEN, G., 1983, Human plasma proteinase inhibitors, *Annual Reviews of Biochemistry*, 52, 655-663.

TSCHESCHE, H., 1974, Biochemistry of natural proteinase inhibitors, *Angewandte Chemie (International Ed. Engl)*, 13, 10-28.

TSUJI, N., MORIWAKI, S., SUZUKI, Y., TAKEMA, Y., IMOKAWA, G., 2001, The role of elastases secreted by fibroblast in wrinkle formation: implication through selective inhibition of elastase activity, *Photochemistry and Photobiology*, 74, 283-290.

TÜZÜN, C., 1997, *Biyokimya üçüncü baskı*, Palme Yayınları – Ankara, 124-125.

VASDEV, S., FORD, C. A., PARAI, S., LONGERICH, L., GADAG, V., 1999, Dietary vitamin B6 supplementation attenuates hypertension in spontaneously hypertensive rats, *Molecular Cellular Biochemistry*, 200, 155-162.

WATANABE, T., YUKI, S., EGAWA, M., NISHI, H., 1994, Protective effects of MCI-186 on cerebral ischemia, Possible involvement of free radical scavenging and antioxidant actions. *The Journal of Pharmacology Experimental Therapeutics*, 268: 1597-1604.

WEBB, E. C., 1992, *Enzyme nomenclature 1992: recommendations of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology on the nomenclature and classification of enzymes*. San Diego: Published for the International Union of Biochemistry and Molecular Biology by Academic Press. ISBN 0-12-227164-5. <http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/>.

WECKESSER, S., ENGEL, K., SIMON, B., WITTMER, A., PELZ, K., SCHEMPP, C.M., 2007, Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeasts with dermatological relevance, *Phytomedicine*, 14, 508-516.

- WEITZ, J. I., CROWLEY, K. A., LANDMAN, S. L., LIPMAN, B. I., YU, J., 1987, Increased neutrophil elastase activity in cigarette smokers, *Annals of Internal Medicine*, 107, 680-682.
- WERMEIJ, WP., BACKENDORF, C., 2010, Skin cornification proteins provide global link between ROS detoxification and cell migration during wound healing, *Plos one*, 3, 5-8.
- WILLAMS, H.S., 2007, *Modern development of the chemical and biological sciences A History of Science, in five volumes*, Harper and Brothers, New York.
- WU, T.W., ZENG, L.H., WU, J., FUNG, K.P., 2000, MCI-186 further histochemical and biochemical evidence of neuroprotection, *Life Sciences*, 67: 2387-2392.
- YAMAMOTO, J., NAEMURA, A., LJIN, Y., OGAWA, K., SUZUKI, T., SHIMADA, Y., GIDDINGS, JC., 2008, The antithrombotic effects of carrot filtrates in rats and mice, *Blood Coagulation & Fibrinolysis*, 19, 785-792.
- YAMAMOTO, V., KUWAHARA, T., WATANABE, K., 1996, Antioxidant activity of 3-methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one. *Redox Report*, 2: 333-338.
- YOUSEF, G. M., KOPOLOVIC, A.D., ELLIOTT, M.B., DIAMANDIS, E.P., 2003, Genomic overview of serine proteases, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 305, 28-36.
- YUN, K., RYU, CS., OH, JM., KIM, CH., LEE, KS., LEE, CH., LEE, HS., KIM, BH., KIM, SK., 2011, Plasma homocystein level and hepatic sulfur amino acid metabolism in mice fed a high-fat diet, *European Journal of Nutrition*, 11, 294-300.
- ZASSHI, Y., 2011, Effects of ethanol extracts of herbal medicines on dermatitis in an atopic dermatitis mouse model, *The Pharmaceutical Society of Japan*, 131, 581-586.
- ZEINAP, RA., MROUEH, M., DIAB-ASSAF, M., JURJUS, A., WEX, B., SAKR, A., DAHER, CF., 2011, Chemopreventive effects of wild carrot oil against 7,12-dimethyl benz(a)anthracene-induced squamous cell carcinoma in mice, *Pharmachemical Biology* 49, 955-961.
- ZHANG, C., HO, S.C., CHEN, Y., LIN, F., FU, J., CHENG, S., 2011, Dietary folate, B6 vitamin B12 and methionin intake and the risk of breast cancer by oestrogen and progesterone receptor status, *British Journal of Nutrition*, 106, 936-943.
- ZHANG, J., LI, L., KIM, S. H, HAGERMAN, A. E., LU, J., 2009, Anti-cancer, anti-diabetic and other pharmacologic and biological activities of penta-galloyl-glucose, *Pharmaceutical Research*, 26, 2066-2080.

ZHANG, GQ., HUANG, XD., WANG, H., LEUNG, AK., CHAN, CL., FONG, DW., YU, ZL., 2008, Anti-inflammatory and analgesic effects of the ethanol extract of *Rosa multiflora* Thunb. Hips, *Journal of Ethnopharmacology*, 118, 290-294.

ZHANG, R., YAO, Y., WANG, Y., REN, G., 2011, Antidiabetic activity of isoquarcetin in diabetic KK-Ay mice, *Nutrition Metabolism*, 2, 85.

ZHENG, SY., LI, Y., JIANG, D., ZHAO, J., GE, JF., 2012, Anticancer effect and apoptosis induction by quarcetin in the human lung cancer cell line A-549, *Molecular Medicine Reports*, 5, 822-826.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı	: Hüseyin GÖKTAŞ
Doğum Tarihi	: 02.071984
Doğum Yeri	: İstanbul
Öğrenim Durumu	
İlköğretim	: Yenibosna İlköğretim Okulu
Lise	: Pertevniyal Anadolu Lisesi
Yüksek Öğrenim	: Dumlupınar Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü (2004-2008)
Yüksek Lisans	: İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Biyokimya Programı (2008- 2011)
Yüksek Lisans Tezi Konusu	: Elastaz Enzim İnhibitörleri
Bildiği Yabancı Dil	: İngilizce
Medeni Hali	: Bekar

