



**T.C.**  
**SELÇUK ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



***Alcea fasciculiflora* ÖZÜTLERİNİN  
ANTIÖKSİDAN VE ENZİM İNHİBİSYON  
YETENEKLERİNİN İNCELENMESİ**

**Refiye Beyza ÖZTÜRK**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Biyoloji Anabilim Dalı**

**Mart-2023**  
**KONYA**  
**Her Hakkı Saklıdır**

## TEZ KABUL VE ONAYI

Refiye Beyza ÖZTÜRK tarafından hazırlanan “*Alcea fasciculiflora* özütlerinin antioksidan ve enzim inhibisyon yeteneklerinin incelenmesi” adlı tez çalışması 01/03/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

### Jüri Üyeleri

#### Başkan

Dr. Öğr. Üyesi Fatih ERCİ

#### Danışman

Prof. Dr. Gökhan ZENGİN

#### Üye

Doç. Dr. Burcu YILMAZ ÇITAK

#### Üye

Dr. Öğr. Üyesi Fatih ERCİ

### İmza

.....

.....

.....

.....

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Ömer Faruk YÜKSEL  
FBE Müdürü

Bu tez çalışması BAP tarafından 21201069 nolu proje ile desteklenmiştir.

## **TEZ BİLDİRİMİ**

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

## **DECLARATION PAGE**

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Refiye Beyza ÖZTÜRK

01/03/2023

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

#### *Alcea fasciculiflora* Özütlerinin Antioksidan ve Enzim İnhibisyon Yeteneklerinin İncelenmesi

Refiye Beyza ÖZTÜRK

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Gökhan ZENGİN

2023, 86 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. Gökhan ZENGİN  
Doç. Dr. Burcu Yılmaz ÇITAK  
Dr. Öğr. Üyesi Fatih ERCİ

Bu çalışmada, farklı çözücüler (etil asetat, metanol ve su) ve homojenizator destekli (HAE), maserasyon (MAC), Soxhlet (SOX) ve ultrason- destekli (UAE) dört farklı ekstraksiyon teknikleri ile elde edilen *Alcea fasciculiflora* ekstraktlarının kimyasal profilleri ve biyolojik özellikleri araştırılmıştır. Biyolojik özellikler olarak antioksidan ve enzim inhibitör özellikleri seçildi. Ayrıca ekstraktlardaki toplam fenolik ve flavonoid içerikleri spektrofotometrik yöntemlerle belirlendi. Antioksidan özelliklerinde serbest radikal yakalama (ABTS ve DPPH), indirgeme gücü (CUPRAC ve FRAP), fosfomolibdat ve metal şelatlama yetenekleri test edildi. Antioksidan özellikler kullanılan ekstraksiyon çözücüleri tarafından değiştirildi. Genel olarak, HAE ekstraktları, toplam biyoaktif bileşik seviyeleri açısından diğer ekstraktlardan daha zengindi. Kolinesteraz, tirozinaz, amilaz ve glukozidaza karşı enzim inhibitör özellikleri araştırıldı. Etil asetat ve metanol ekstraktları, su ekstraktlarıyla karşılaştırıldığında daha güçlü anti-enzimatik özellikler sergiledi. Bu anlamda, *A. fasciculiflora* ile fonksiyonel uygulamalar tasarlamak için ekstraksiyon yöntemleri ve çözücü seçimi önemli parametreler olarak kabul edilebilir. Genel olarak, *A. fasciculiflora*, oksidatif strese ve küresel sağlık sorunlarına karşı güçlü uygulamaların hazırlanmasında önemli bir çok yönlü biyoaktif ajan kaynağı olarak kabul edilebilir.

**Anahtar Kelimeler:** *Alcea*, antioksidan, fenolik içerik, enzim inhibisyonu, bioaktif ajanlar

## ABSTRACT

### MS THESIS

#### Screening for Antioxidant and Enzyme Inhibition Abilities of *Alcea fasciculiflora* extracts

Refiye Beyza ÖZTÜRK

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF  
SELÇUK UNIVERSITY  
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE  
IN BIOLOGY

Advisor: Prof. Dr. Gökhan ZENGİN

2023, 86 Pages

Jury

Prof. Dr. Gökhan ZENGİN  
Assoc. Prof. Dr. Burcu Yılmaz ÇITAK  
Assist. Prof. Dr. Fatih ERCİ

The present study was examined the chemical profiles and biological properties of *Alcea fasciculiflora* extracts obtained with different solvents (ethyl acetate, methanolic and water) obtained four extraction techniques including homogenizer-assisted (HAE), maceration (MAC), Soxhlet (SOX) and ultrasound-assisted (UAE). Antioxidant and enzyme inhibitory properties were selected as biological properties. In addition, the total phenolic and flavonoid contents in the extracts were determined by spectrophotometric methods. Free radical scavenging (ABTS and DPPH), reducing power (CUPRAC and FRAP), phosphomolybdenum and metal chelating abilities were tested in the antioxidant properties. Clearly, the antioxidant properties were changed by extraction solvents used. In general, HAE extracts were richer than those of other extracts in terms of the levels of total bioactive compounds. Enzyme inhibitory properties were investigated against cholinesterase, tyrosinase, amylase and glucosidase. The ethyl acetate and methanol extracts exhibited stronger anti-enzymatic properties when compared to water extracts. In this sense, the choice of extraction methods and solvent could be considered as important parameters for designing functional applications with *A. fasciculiflora*. Overall, *A. fasciculiflora* could be considered a significant source of multidirectional bioactive agents in the preparation of potent applications against oxidative stress and global health problems.

**Keywords:** *Alcea*, antioxidant, phenolic content, enzim inhibition, bioactive agents.

## ÖNSÖZ

Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Fizyoloji-Biyokimya Araştırma Laboratuvarında yürütülmüş olan bu yüksek lisans tez çalışmasında Türkiye florasında yer alan *Alcea fasciculiflora* türünün antioksidan ve enzim inhibitör özellikleri araştırılmıştır.

Yüksek lisansa başladığım günden itibaren büyük emekleri olan, tez konumun belirlenmesi ve yürütülmesi süresince desteğini, bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen çok kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Gökhan ZENGİN'e sonsuz teşekkürlerimi borç bilirim. Tez çalışmamın yürütülmesinde laboratuvarında her türlü imkanı sağlayan Prof. Dr. Abdurrahman AKTÜMSEK'e teşekkürlerimi sunarım. *Alcea fasciculiflora* türünün toplanması ve taksonomik olarak teşhisinin yapılmasında desteğini esirgemeyen Munzur Üniversitesi öğretim üyelerinden Doç. Dr. Uğur ÇAKILCIOĞLU'na teşekkür ederim. Laboratuvarda, tez çalışmamda kullandığım numunelerin hazırlanması, ekstraksiyonlarının ve analizlerinin yapılması aşamasında desteklerini esirgemeyen, her zaman yanımda olan çok değerli arkadaşlarım doktora öğrencisi Güneş AK ve Dr. Kouadio Ibrahime SİNAN'a teşekkürü borç bilirim.

Tez çalışmalarım süresince, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, her zaman yanımda olan çok kıymetli aileme sonsuz teşekkür ederim.

Refiye Beyza ÖZTÜRK  
KONYA-2023

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ .....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ARAŞTIRMASI .....</b>	<b>4</b>
2.1. Serbest Radikallerin ve Antioksidanların Biyolojik Rollerini .....	4
2.2. Polifenoller ve Sağlık Etkileri.....	12
2.3. Enzim İnhibisyonu: Mekanizmalar ve Kapsam.....	15
2.4. Ekstraksiyon Metotları.....	23
2.5. Malvaceae Familyası ve <i>Alcea L.</i> Cinsi.....	27
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>	<b>30</b>
3.1. Çalışmada kullanılan <i>Alcea fasciculiflora</i> ve özellikleri .....	30
3.2. Bitki Materyali ve Bitkisel Ekstraktların Hazırlanması.....	30
3.3. Total fenolik ve flavonoid içeriğinin tayini .....	32
3.4. Antioksidan kapasitenin belirlenmesine yönelik testler .....	32
3.6. Enzim inhibisyon potansiyellerinin belirlenmesine yönelik testler .....	33
3.7. İstatistik değerlendirme.....	34
<b>4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....</b>	<b>35</b>
4.1. <i>Alcea fasciculiflora</i> ekstraktlarının toplam fenolik ve flavonoid içerikleri.....	35
4.2. <i>Alcea fasciculiflora</i> ekstraktlarının DPPH ve ABTS radikal süpürme aktivitesinin belirlenmesi.....	40
4.3. <i>Alcea fasciculiflora</i> ekstraktlarının CUPRAC ve FRAP testlerinde indirgeme gücünün belirlenmesi .....	44
4.4. <i>Alcea fasciculiflora</i> ekstraktlarının toplam antioksidan kapasiteleri.....	49
4.5. <i>Alcea fasciculiflora</i> ekstraktlarının metal şelatlama aktivitesi .....	52
4.6. <i>Alcea fasciculiflora</i> ekstraktlarının AChE ve BChE İnhibisyonu .....	55
4.7. <i>Alcea fasciculiflora</i> ekstraktlarının $\alpha$ -amilaz ve $\alpha$ -glukozidaz inhibisyonu .....	59
4.8. <i>Alcea fasciculiflora</i> ekstraktlarının tirozinaz inhibisyonu .....	62
<b>5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....</b>	<b>65</b>
5.1. Sonuçlar .....	65
5.2. Öneriler .....	66
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>67</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>78</b>



## 1. GİRİŞ

İlk çağlardan beri her toplum temel ihtiyaçları için çevrelerinde var olan doğal kaynaklara özellikle bitkilere yönelmişlerdir. Doğa, bu yönüyle her zaman faydalı ve şifalı özellikler barındırmasıyla önemli bir hazine olmuştur. İnsanlar beslenme, barınma, korunma gibi temel ihtiyaçları için bitkilere başvurmuşlardır. Bununla birlikte yaralanma ve hastalıklara karşı sağlığı korumak amacıyla bitkilerin kullanılması tarih öncesi devirlere dayanmaktadır. Dünya genelinde tanımlanan bitkilerden yaklaşık 50 binden fazlasının bu amaçla kullanımı bilinmektedir (Theodoridis ve ark., 2023)

Son yıllarda doğaya dönüş yani sentetiklerden bitkisel kullanıma doğru olan eğilim oldukça hız kazanmıştır (Jain ve ark., 2019). Bu nedenle bitkilerde tıbbi özelliklerinden sorumlu ve doğal olarak bulunan çeşitli metabolitlerin varlığı gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Metabolitler primer ve sekonder metabolitler olmak üzere bitkilerde iki farklı şekilde yer alırlar. Primer metabolitler, bitkinin temel metabolik süreçlerinde yer alan metabolittir. Sekonder metabolitler birçok fizyolojik değişiklikler nedeniyle birincil metabolitlerin türevleri olan çok çeşitli aktif bileşikler olarak bilinirler (Jain ve ark., 2019; Li ve ark., 2020). Sekonder metabolitler, polifenoller, alkaloidler ve terpenler şeklinde üç ana kimyasal gruba ayrılır. Son zamanlarda yapılan deneysel çalışmalar neticesinde sekonder metabolitler içerisinde özellikle polifenollerin küresel sağlık problemleri üzerine oldukça faydalı özellikler sergiledikleri rapor edilmiştir (Wawrosch ve Zotchev, 2021). Bu durum bu bileşiklerin sergiledikleri antimikrobiyal, antikanser, antidiyabetik, antibakteriyel, anti-inflamatuvar yetenekler ile ilişkilendirilmiştir (Twaij ve Hasan, 2022).

Hücrede oksidan ve antioksidan bileşikler hassas bir denge halinde bulunurlar. Bu denge halinin serbest radikaller yönünde bozulmasıyla oksidatif stres meydana gelir. Biyolojik sistemlerde oksidatif stres durumunda serbest radikallerin en önemli grubunu oluşturan reaktif oksijen türlerinin (ROS), proteinler, lipidler, karbohidratlar ve nükleik asitler gibi biyomoleküller ile etkileşime girme potansiyelleri çok yüksektir. Ek olarak oksidatif stres sonucu yapısal bütünlüğü bozulan moleküller çeşitli enzimler de katalitik aktive azalmasına ve metabolik yolların düzenlenişinde hasara ve çeşitli hastalıklara sebep olur (Juan ve ark., 2021). Bu bağlamda hücrede doğal olarak bulunan hücresel antioksidan savunma sistemiyle birlikte diyetle alınan antioksidan bileşiklerin serbest radikallere karşı savunmada rolleri çok önemlidir.

Doğal antioksidanlar dışında sentetik antioksidan bileşikler, gıda endüstrisinde lipid peroksidasyon sürecini geciktirerek gıdaların raf ömrünü uzatması yönüyle yaygın kullanıma sahiptir (Gülcin, 2012). Ancak bütillenmiş hidroksianisol (BHA) ve bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) gibi sentetik antioksidanların toksik ve kanserojen etkilerine karşı olan şüpheler nedeniyle yasal düzenlemelerle kullanımları sınırlandırılmıştır. Sentetik antioksidanların olumsuz etkilerine karşın doğal antioksidan kaynaklarını keşfetme girişimleri bilim dünyasındaki popüler konuların başında gelmektedir (Austistyniak ve ark., 2010).

Bitkilerin sahip oldukları sekonder metabolitler ile ilgili yapılan birçok çalışmanın yanı sıra bitkilerin doğal enzim inhibitörlerinin bir kaynağı olduğu ortaya konulmuş ve günümüzde küresel sağlık problemlerine karşı ilaç geliştirilmesinde temel oluşturmuştur. Değişen yaşam standartları küresel sağlık problemleri olarak adlandırılan birçok hastalığın görülme oranı günden güne artış göstermektedir. Alzheimer hastalığı, obezite ve diyabet temel küresel sağlık problemleri arasında yer almaktadır. Bu hastalıkların artan prevalansı nedeniyle son yıllarda yeni tedavi edici yöntemler geliştirilmiştir. Geliştirilen bu yöntemlerden biri olan anahtar enzimlerin inhibisyonu teorisi oldukça ilgi çekicidir. Bu teoriye göre bazı hastalıkların patolojisinde yer alan enzimlerin inhibe edilmesi, bu hastalıkların etkilerinin hafifletilmesini sağlayabilir. Bu amaçla bazı enzimler hedef olarak belirlenmiş ve bunların inhibe edilmesi ile hastalıkların kontrol altına alınması amaçlanmıştır (Rauf ve Jehan, 2017).

Bu teori kapsamında, Alzheimer hastalığında sinaptik boşluklarda asetilkolin seviyesinin normal bireylere göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu noktadan hareketle asetilkolin seviyesinin artırılması bilinçsel faaliyetlerin gelişimine katkıda bulunabilir. Kolinerjik hipotez olarak bilinen bu olguda asetilkolini hidrolize eden asetilkolinesteraz enziminin geri dönüşümlü inhibisyonu hedef alınmaktadır (Yüksel, 2000). Buna benzer bir durumda diyabetik hastalarda insülin yetersizliğine bağlı olarak yemek sonrası kan şekerinde gözlenen yükselme kontrol edilememektedir. Bu nedenle, karbohidratların sindirilmesinde sorumlu olan amilaz ve glukozidaz enzimleri inhibe edilerek kan şekerinde gözlenen bu yükselmeler önenebilir (Papoutsis ve ark., 2021). Memelilerde, deri, saç ve gözlerin pigmentasyonundan sorumlu olan melaninin biyosentezinden sorumlu tirozinaz, anahtar enzim konumundadır. UV radyasyonuna ve oksidatif strese maruz kalan ciltte melanin, deriyi UV ışınlarından ve reaktif oksijen türlerinden oluşabilecek hasarlara karşı koruma sağlayan önemli foto koruyucudur.

Tirozinaz enziminin inhibisyonu UV radyasyonunun neden olduğu cilt kanserinden ve diğer cilt rahatsızlıklarına karşı koruma sağlamaları sebebiyle önemlidirler (Mukherjee ve ark., 2018).

Ülkemiz florası çeşitli coğrafik faktörler, iklim ve toprak özellikleriyle endemik bitki ve aromatik bitki kaynağı açısından önemlidir. Bu bitkiler içerisinde sayı tam olarak bilinmemekle birlikte yaklaşık 500 civarında bitki tıbbi amaçla kullanılmaktadır.

Tez çalışması kapsamında incelenen *Alcea fasciculiflora* türünün yapılan literatür taramasında halk hekimliğinde geleneksel olarak kullanımına rastlanılırken bu bitki üzerine yeterince bilimsel veri mevcut değildir. Bu amaç doğrultusunda biyolojik aktivitenin belirlenmesine yönelik *A. fasciculiflora* bitkisinden üç farklı çözücü (etil asetat, metanol ve su) ve dört farklı metot (maserasyon, soxhlet, homojenizatör destekli ekstraksiyon ve ultrason destekli ekstraksiyon) kullanılarak elde ekstralarının *in vitro* testler ile antioksidan ve enzim inhibisyon potansiyeli araştırılmıştır.

*A. fasciculiflora* türü Malvaceae familyasının bir üyesi olan *Alcea L.* cinsine aittir. Bu tür bir İran-Turan elementidir ve Türkiye'de ilk kez Güneydoğu bölgesi Siirt ilinde rastlanılmıştır. Etnobotanik olarak *A. fasciculiflora* türü böbrek taşları, apse ve uyuz hastalık tedavilerinde kaynatma ve lapa yöntemleriyle uygulandığı görülmüştür (Altundag ve Ozturk, 2011). Ayrıca yapılan bir başka çalışmayla elde edilen bilgilere göre *A. fasciculiflora*'nın soğuk algınlığı, kusma, öksürük, boğaz ağrısına karşı tedavi amaçlı kullanımı görülmüştür (Mehrnia ve ark., 2021).

## 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. Serbest Radikallerin ve Antioksidanların Biyolojik Rollerini

Dünya tarihinde araştırmacılar, ‘‘Neden evrimsel olarak **oksijen** seçilmiştir?’’ sorusuna cevap aramıştır. Bu bağlamda; oksijenin hazır bulunması, yüksek oksidasyon enerjisi, kolay dağılması ve biyobiyosistemlerde kolay çözünürlüğü ‘‘Neden?’’ sorusunun anlaşılmasını sağlamıştır. Ancak hava (%20 O<sub>2</sub>, 1 atm) yerine saf oksijeni (%100 O<sub>2</sub>, 1 atm) solumak canlılar için zararlı olduğundan çeşitli olumsuz yönleri de vardır. Oksijen, aerobik organizmaların yaşamı için gereklidir. Oksijen kullanma yeteneği, insanların ve hayvanların enerji üretebilmek için yağları, karbohidratları ve proteinleri metabolize etmelerini sağlamıştır. Ancak paradoksal olarak oksijen, girdiği çeşitli reaksiyonlar sonucunda birçok hastalığın da temelini oluşturmaktadır. Serbest radikaller normal hücre metabolizmasının ürünleridir (Flieger ve ark., 2021).

Son yıllarda yapılan çalışmalar incelendiğinde, özellikle serbest radikallerin biyolojik sistemlerdeki rollerine atıfta bulunarak, hastalıkların önlenmesine yönelik artan bir ilgi olduğu görülmektedir. Serbest radikallerin biyolojisi, yaşam kalitesinin geliştirilebilmesi ile doğrudan ilişkili olduğu için bu bağlamda yapılan çalışmalar hızla genişlemektedir. Bir asırdan çok daha öncesinde, organik molekülleri içeren tüm oksidasyon reaksiyonlarında radikallerin etkili olduğu bulunmuştur. Bunlara örnek olarak 1950’lerde hastalıkların sebebi olarak, biyolojik sistemlerdeki serbest radikaller araştırılmıştır (Gerschman ve ark., 1954). 1969’da McCord ve Fridovich, canlı organizmaların kendi içlerinde bir koruyucu sistemlere sahip olduğunu gösteren süperoksit dismutaz (SOD) enzimini keşfetmişlerdir (McCord ve Fridovich, 1969). Bu bulgu, diğer antioksidan enzimlerin ve çeşitli antioksidan protein metabolitlerinin keşfedilmesi ile desteklenmiştir. Bu bağlamda yapılan çeşitli çalışmalarla birlikte, serbest radikallerin zararlı etkilerinin belirli antioksidan sistemler tarafından kontrol edilebileceği anlaşılmıştır. Serbest radikaller üzerine yapılan araştırmaların çoğu, bazı aktif radikal olmayan oksijen formlarıyla, reaktif oksijen türleri (ROS) olarak adlandırılan oksijen radikalleriyle ilgilidir. 1971’de, hücre metabolik solunumunda reaktif oksijen türlerinin üretildiği keşfedildi (Loschen ve ark., 1971); daha sonra, Halliwell ve Gutteridge (Halliwell ve Gutteridge, 1990) , ROS’un serbest radikal ve radikal olmayan oksijen türevlerini içerdiğini bildirdi.

1980'lerde kan damarlarında serbest radikal nitrik oksit ( $\bullet\text{NO}$ ) tanımlanmış ve reaktif nitrojen türlerinin (RNS) biyokimyası üzerine çalışmalara yol açmıştır (Palmer ve ark., 1988). Ancak yakın dönemde yapılan çalışmalarda, serbest radikallerin sadece zararlı değil hücrede belirli miktarlarda bulduklarında olumlu biyolojik rol oynadıkları da belirlenmiştir; ROS ve reaktif nitrojen türleri (RNS), mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyona karşı hücre immün yanıtının bir parçası olarak reaktif halojen türleri ile uyum içinde çalışabilir (Ferrari ve ark., 2011). Bunlara ek olarak, ROS ve RNS' nin sinyal fonksiyonları, serbest radikaller üzerindeki en son büyük biyolojik keşiftir (Stone ve Yang, 2006).

Serbest radikaller, serbest olarak var olabilen moleküler varlıklar veya moleküler parçacıklar olarak tanımlanabilir. Bir dış atomik orbitalde veya moleküler orbitalde (dolayısıyla "radikal") bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron içerirler (Halliwell ve Gutteridge, 2015; Martemucci ve ark., 2022). Dengeli bir reaksiyon sürecinde, elektronların negatif elektrik yükü, pozitronların pozitif nükleer yükü ile dengelenebilir ve bu da nötr bir parçacıkla sonuçlanır; aksi takdirde anyon veya katyon radikalleri oluşur. Oksijen radikallerinde eşleşmemiş elektron ağırlıklı olarak bir oksijen atomu üzerinde bulunur, örn., süperoksit ( $\text{O}_2\bullet^-$ ), hidroksil ( $\bullet\text{OH}$ ), peroksil ( $\text{ROO}\bullet$ ). Bir serbest radikalın tek sayıdaki elektronları onu kararsız, kısa ömürlü ve oldukça reaktif yapar. Bu özellik zincirleme reaksiyonlardan sorumludur. Serbest radikaller, kararlı bir bileşik oluşturmak için diğer moleküller, atomlar ve hatta tek tek elektronlarla bağlanmaya çalışır. Oksitleyici veya indirgeyici ajanlar olarak hareket ederek diğer moleküllerden bir elektron verirler veya kabul ederler (Halliwell ve Gutteridge, 2015; Bala, 2022; Martemucci ve ark., 2022).

Serbest radikaller, nükleik asitler, proteinler ve lipitler gibi makromoleküllere zarar veren, anormal gen ekspresyonuna, reseptör aktivitesinin bozulmasına, hücre proliferasyonuna, immün pertürbasyona, mutageneze, doku hasarına ve çeşitli hastalık koşullarına neden olan antioksidanlar ve oksidanlar arasındaki dengesizlik nedeniyle birikir (Valko ve ark., 2007; Kehrer ve Klotz, 2015). Diabetes mellitus, inflamatuvar hastalıklar (Bashan ve ark., 2009), nörodejeneratif hastalıklar Alzheimer (Li ve ark., 2013), Parkinson, Huntington hastalığı (Sevcsik ve ark., 2011), multipl skleroz (Lee ve ark., 2012), kanser (Jemal ve ark., 2011), kardiyovasküler hastalık (Zhang ve ark., 2010) ve hipertansiyon (WHO, 2013), ve yaşlanma (Krisiko ve Radman, 2019).

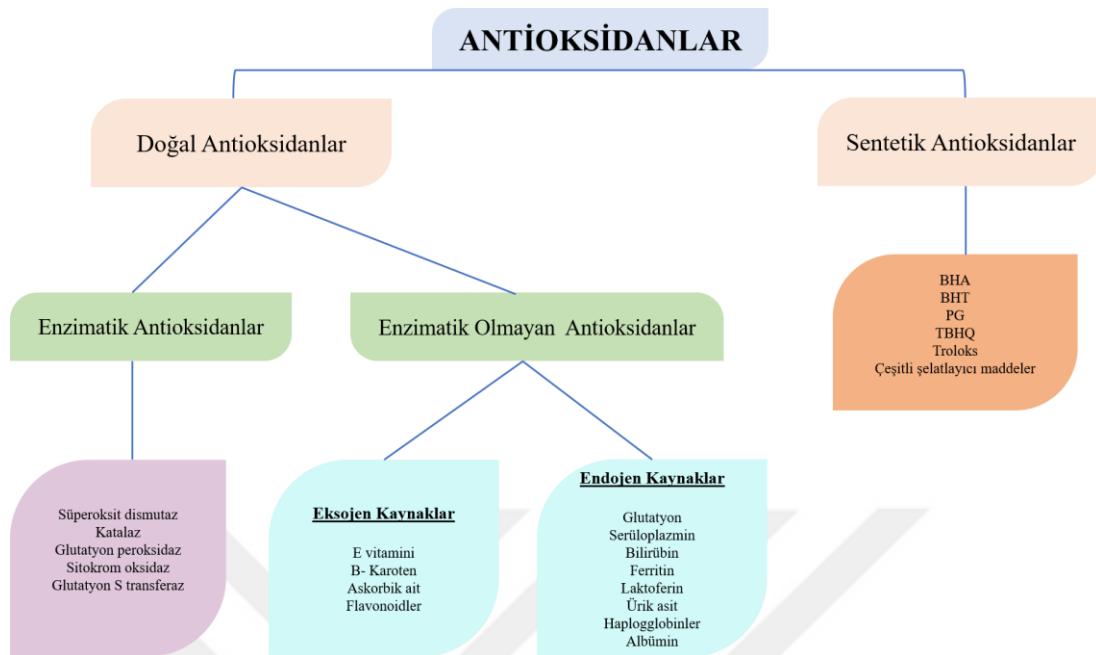
ROS ve RNS türleri, radikal veya radikal olmayan bileşikler olabilir. Reaktif oksijen türleri, oksijenin kısmi indirgenmesinin ürünleri olan Fenton/Haber Weiss yollarının üç kimyasal türünü;  $O_2^{\bullet-}$  süperoksit radikali,  $H_2O_2$  hidrojen peroksit ve  $HO^{\bullet}$  hidroksil radikali içermektedir. Moleküler oksijenin dört elektronla indirgenmesi su oluşumuna yol açarken, bir elektronla indirgenmesi sonucunda süperoksit radikali, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalının oluşumuna yol açar (Glasauer ve Chandel, 2013).  $O_2^{\bullet-}$  ve  $HO^{\bullet}$  dış orbitallerde eşlenmemiş elektronlara sahiptir ve bu nedenle serbest radikaller olarak tanımlanırken,  $H_2O_2$  eşlenmemiş elektronlara sahip değildir ve bu nedenle bir radikal değildir. Radikal olmayan oksijen türevleri arasında hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), ozon ( $O_3$ ) ve tekli oksijen ( $O_2$ ) bulunur. Reaktif nitrojen türleri, Beckman-Radi-Freeman yolunun  $NO^{\bullet}$  nitrik oksit,  $ONOO^{\bullet}$  peroksinitrit ve  $NO_2^{\bullet}$  nitrojen dioksit) üç kimyasal türünü içeren nitrojen bazlı radikallerdir (Kohen ve Nyska, 2002; Halliwell, 2006; Glasauer ve Chandel, 2013). Toplu olarak, radikaller süperoksit ( $O_2^{\bullet-}$ ), oksijen radikali ( $O_2^{\bullet\bullet}$ ), hidroksil ( $^{\bullet}OH$ ), alkoksi radikali ( $RO^{\bullet}$ ), peroksil radikali ( $ROO^{\bullet}$ ), nitrik oksit (veya nitrojen monoksit) ( $NO^{\bullet}$ ) içerir. ) ve nitrojen dioksit ( $NO_2^{\bullet}$ ). Radikal olmayan türler arasında hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), hipokloröz asit ( $HOCl$ ), hipobromöz asit ( $HOBr$ ), ozon ( $O_3$ ), tekli oksijen ( $^1O_2$ ), nitroz asit ( $HNO_2$ ), nitrosil katyon ( $NO^+$ ), nitroksil anyon ( $NO^-$ ) bulunur. ), dinitrojen trioksit ( $N_2O_3$ ), dinitrojen tetroksit ( $N_2O_4$ ), nitronyum (nitrit) katyon ( $NO_2^+$ ), organik peroksitler ( $ROOH$ ), aldehytler ( $HCOR$ ) ve peroksinitrit ( $ONOO^-$ ) (Kohen ve Nyska, 2002). Bu radikal olmayan türler serbest radikal değildirler, ancak canlı organizmalarda kolayca serbest radikal reaksiyonları tetiklerler. Farklı serbest radikal türleri, reaktivitelerinde büyük farklılıklar gösterir; örneğin, ROS'un azalan sırada reaktivitesi şöyledir:  $HO^{\bullet} > O_2^{\bullet-} > H_2O_2$  (Halliwell ve Gutteridge, 2015). Serbest radikallerin kimyasal reaktivitesi, biyolojik moleküllere zarar verme potansiyelleri ile doğrudan ilişkilidir.  $^{\bullet}OH$ , diğer türlerden çok daha reaktiftir ve hemen hemen tüm kimyasal türlerle hızlı reaksiyona girerken,  $H_2O_2$ ,  $NO^{\bullet}$  ve  $O_2^{\bullet-}$  birkaç molekülle hızlı reaksiyona girer. ROS terimi sadece radikalleri değil aynı zamanda radikal olmayan türleri de kapsar. Ancak biyolojik sistemler esas olarak oksijenden üretilen radikaller tarafından zarar görmektedir (Halliwell, 2006; Valko ve ark., 2007; Halliwell ve Gutteridge, 2015; Bala, 2022; Martemucci ve ark., 2022).

### ***Oksidatif Stres ve Antioksidanlar***

Antioksidan maddeler, serbest radikallerin etkilerini ortadan kaldıran savaşı moleküllerdir ve Şekil 2.3'deki gibi birçok farklı şekilde kategorize edilebilirler. Antioksidanlar, radikaller üzerine başlıca üç mekanizma ile etki gösterirler (Mirończuk-Chodakowska ve ark., 2018);

- 1) serbest radikal oluşumunun ve türevlerinin önlenmesi,
- 2) radikal oksidasyon reaksiyonlarını kesintiye uğratarak,
- 3) serbest radikal/radikal türevi reaksiyon ürünlerini etkisiz hale getirerek.

Antioksidan moleküller çeşitli şekillerde sınıflandırılabilir, genel olarak doğal ve sentetik olmak üzere 2 genel başlık altında kategorize edilirler. Çalışmaların çoğu sınıflandırmada, en sık kullanılan iki kriteri, antioksidan etki mekanizmasını (birincil ve ikincil antioksidanlar) ve katalitik konuları (enzimatik ve enzimatik olmayan) dikkate alır (Pokorný, 2007; Flieger ve ark., 2021; Pisoschi ve ark., 2021; Stoia ve Oancea, 2022). Antioksidanları Şekil 2.1'de olduğu gibi sınıflandırabiliriz. Doğal antioksidanlar, mikroorganizmalar, mantarlar, bitkiler ve hayvanlar gibi canlı organizmalar tarafından üretilirler (Pokorný, 2007). Sentetik antioksidanlar, çeşitli endüstrilerdeki uzmanlar tarafından insanlığın yararına üretilmiş çeşitli kimyasal yapıdaki moleküllerdir (Pokorný, 2007). Hem doğal hem de sentetik antioksidanlar belirli bir düzeyde toksisite sergilerler (Stoia ve Oancea, 2022). Genel olarak sentetik antioksidanlar, doğal antioksidanlardan daha aktif, saf ve sergiledikleri antioksidan aktivitelerinde bir süreklilik mevcuttur. Diğer yandan bu moleküller piyasaya sunulmadan önce düzenleyici kurumlar tarafından istenen toksik olmama ve güvenlik kriterlerini geçmek zorundadırlar (Stoia ve Oancea, 2022). Doğala yakın antioksidanlar, tamamen sentetik (ucuz, oldukça aktif, kararlı, tekrarlanabilir) ve doğal antioksidanların sağlıklı avantajlarını birleştirir. Sentetik antioksidanlar, biyoaktif bileşikleri oksidasyona karşı korumak ve böylece ürünlerin raf ömrünü uzatmak için gıda, ilaç ve kozmetikte kullanılmaktadır. En yaygın kullanılan sentetik antioksidanlar, bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve propil gallat (PG) ve tert-Butilhidrokinon (TBHQ) için belgelendiği gibi, en yaygın kullanılan antioksidanların bazılarının sergilediği zararlı etkiler nedeniyle yenilikçi antioksidan maddelerinin sentezi gereklidir (Jjemba, 2018; Mahesh ve ark., 2019).



Şekil 2.1. Doğal ve sentetik antioksidanların sınıflandırılması

Oksidatif stres, reaktif oksijen/nitrojen türlerinin (ROS/RNS) oluşumu ile hücrel antioksidan savunmalar arasındaki dengesizlik olarak tanımlanır (Waterman ve ark., 2002; Valko ve ark., 2007; Kotha ve ark., 2022) . Yani, eğer hücrel antioksidan sistemi zararlı radikaller üzerine yeteri kadar etki etmiyorsa orada oksidatif stres adı verilen çeşitli hastalıkların başlangıcı oluşmaya başlar (Carocho ve Ferreira, 2013; Kotha ve ark., 2022). Oksidatif stresin artmasıyla birlikte, hücrelerde birçok moleküler hasar (nükleik asitler, lipitler, proteinler..) meydana gelir ve bu durum biyolojik sistemlerde ciddi sonuçlara yol açabilir (Kotha ve ark., 2022). Biyomoleküllerin hasar görmesi sonucunda çeşitli hücre ölümleri gerçekleşir. Oksidatif stres, kardiyovasküler hastalıklar, çeşitli kanser türleri, hipertansiyon, diyabet, nörodejeneratif hastalıklar, yaşlanma gibi birçok hastalıkla ilişkili olduğu değerlendirilmiştir (Han ve ark., 2021; Merecz-Sadowska ve ark., 2021; Angwa ve ark., 2022).

Vücut içerisindeki antioksidan savunma sisteminin yeterli kalmadığı durumlarda vücudun, radikallere karşı savunmasını devam ettirebilmesi için dışardan alınan diyet ile mevcut savunma sisteminin desteklenmesi gerekmektedir (Han ve ark., 2021; Angwa ve ark., 2022). Burada çeşitli eksojen antioksidanlar devreye girer. Bunlar; vitaminler, karotenoidler, polifenoller, flavonoidler gibi sıralanabilir (Cömert ve Gökmen, 2018; Kotha ve ark., 2022).

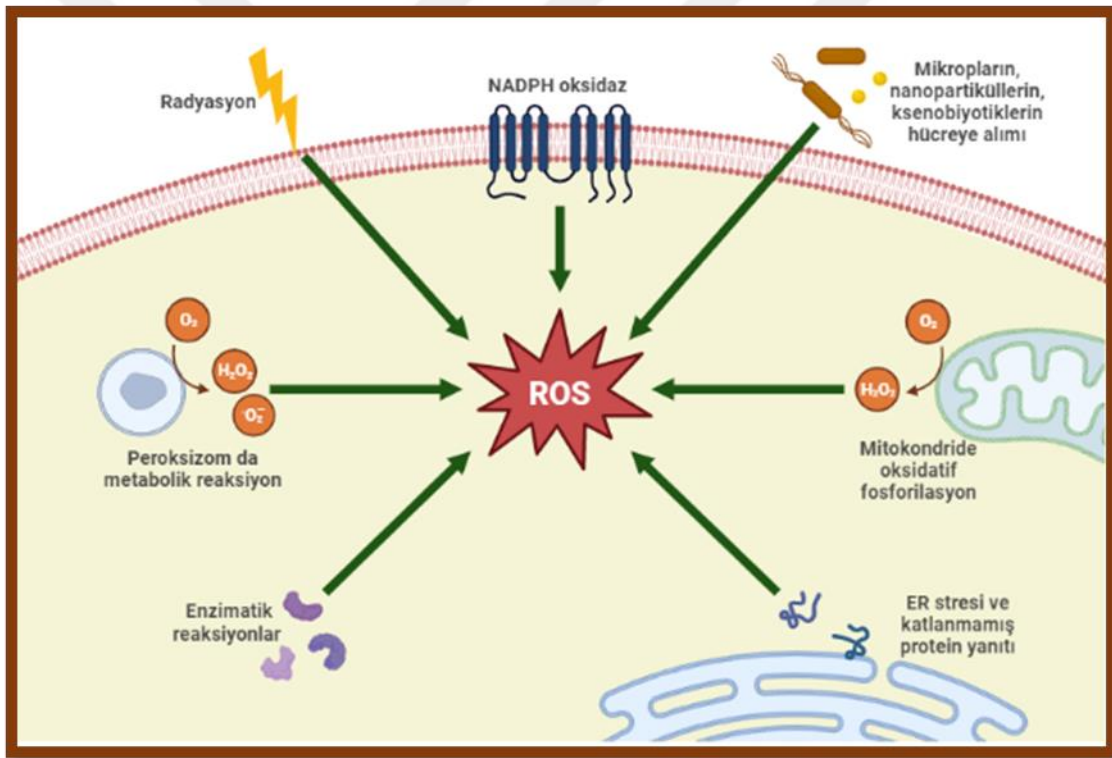
Doğal antioksidan kaynaklarını enzimatik antioksidanlar ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere genel olarak iki başlık altında sınıflandırabiliriz. Vücut, enzimatik antioksidan mekanizmalar kullanarak ROS'a karşı ilk savunma mekanizmasını oluşturur. Endojen antioksidanlara; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon redüktaz (GR) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi enzimatik antioksidanlar örnek olarak verilebilir. Öte yandan, glutatyon ve lipoik asit gibi enzimatik olmayan endojen antioksidanlar vücut metabolizmasının ürünleridir (Fierascu ve ark., 2018; Kotha ve ark., 2022). Enzimatik olan savunma antioksidanları, reaktif bir molekül olan süperoksit ve hidrojen peroksiti su ve oksijene çevirir.

Enzimatik olmayan antioksidanlar, radikalleri ve oksidanları hızla etkisiz hale getirerek reaktif oksijen türlerine karşı bir savunma görevi gösterebilir. Ayrıca enzimatik antioksidanlar, detoksifikasyon ve uzaklaştırmada yer alan bir diğer savunma sisteminde görev almaktadır (Cömert ve Gökmen, 2018; Kotha ve ark., 2022).

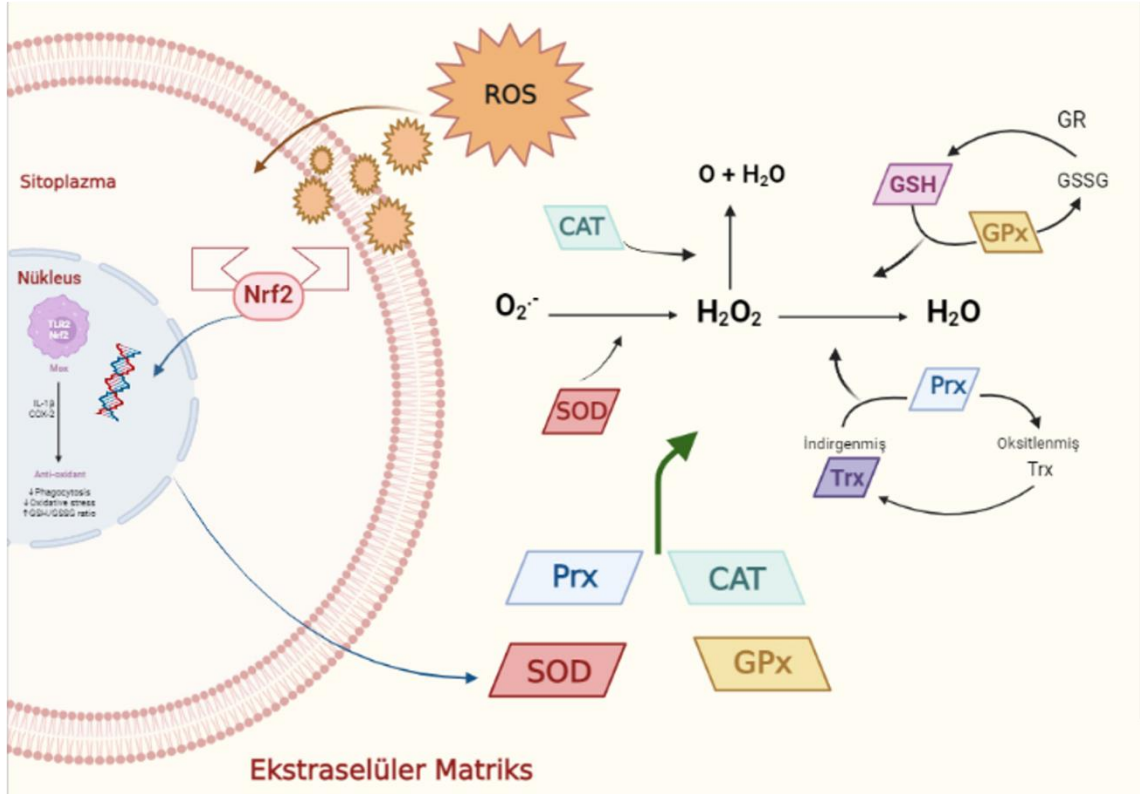
Enzimatik antioksidan savunma mekanizması, vücudun serbest radikallerle ve bunun sonucunda oluşan hasarla mücadelede ilk tepkisi olduğu için önemli bir savunmadır. Antioksidan enzimler, stabilite kazanmaya çalışan reaktif oksijen türleri ile doğrudan etkileşime girebilirler. Bu bağlamda glutatyon peroksidaz peroksitleri ortadan kaldırarak, katalaz hidrojen peroksidi suya ve moleküler oksijene dönüştürerek ve süperoksit dismutaz süperoksit anyonlarını hidrojen perokside dönüştürerek etki gösterirler. Ayrıca glutatyon redüktaz ve glikoz-6-fosfat dehidrojenaz enzimleri serbest radikalleri doğrudan nötralize etmez, ancak diğer endojen antioksidanlar için destekleyici rollere sahiptir (Mota ve ark., 2022).

Enzimatik olmayan eksojen kaynaklar esas olarak vitaminleri (C ve E vitamini), karotenoidler (ksantofiller ve karotenler) ve fenolik bileşikleri (fenolik asitler, flavonoidler, antosiyaninler, lignanlar ve stilbenler) içermektedir (Landete, 2013). C vitamini veya L-askorbik asit, diyetle takviye ve koruyucu olarak yer alan temel bir vitamindir. Canlı organizmalarda temel biyolojik işlevi çeşitli enzimlerin kofaktörü oluşudur, buna ek olarak hücrede serbest radikallerin zararlarına karşı koruma sağlamaktır (Landete, 2013).

E vitamini de C vitamini gibi diğer antioksidanlarla birlikte oksidasyon sürecinin biyolojik moleküllere karşı savunmasında ve bu sayede insan sağlığının korunmasında, kardiyovasküler, nörolojik ve yaşlanma ile ilgili hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde yer alır (Rizvi ve ark., 2014). Ayrıca, E vitamininin gıda endüstrisinde doğal bir katkı maddesi olarak uygulamaları vardır. Gıdaların raf ömrünü ve kalitesini uzatmak için oksidasyonu engeller. E vitamini, serbest radikal süpürme özelliğiyle birlikte bazı kimyasal reaksiyonlarda güçlü bir indirgeyici olarak bulunmaktadır. E vitamini, lipid peroksidasyonuna ve trombosit pıhtılaşmasına karşı önemli bir işlev olan serbest radikalleri temizleme yeteneğine sahip bir antioksidandır (Rizvi ve ark., 2014). Şekil 2.2 ve Şekil 2.3'te yukarıda bahsedilen bilgiler ışığında serbest radikallerin oluşum mekanizmaları ve etkisiz hale getirilmeleri gösterilmektedir.



Şekil 2.2. Serbest radikallerin endojen ve ekzojen kaynaklı oluşumları



Şekil 2.3. Serbest radikallerin oluşum mekanizmaları ve etkisiz hale getirilmeleri

Doğala ve doğaya olan eğilim neticesinde yapılan pek çok araştırmada, bitkilerde bulunan biyoaktif bileşiklerin özellikle polifenollerin çeşitli antioksidan özellikler sergiledikleri belirlenmiştir. Antioksidan özellikleriyle beraber polifenolik bileşiklerin; anti-mikrobiyal, anti-inflammatuvar, anti-kanser, tansiyon düşürücü, antiromatizmal vb. aktivitelerine dair birçok araştırma yapılmıştır.

Araştırmalar, gıda biyoaktif bileşiklerinin insan sağlığı üzerinde olumlu bir biyolojik etkiye sahip olduğuna ve kanser ve kardiyovasküler, metabolik ve nörodejeneratif bozukluklar dahil bulaşıcı olmayan hastalıklara karşı koruyucu etkiler gösterdiğine dair ikna edici kanıtlar sağlamıştır.

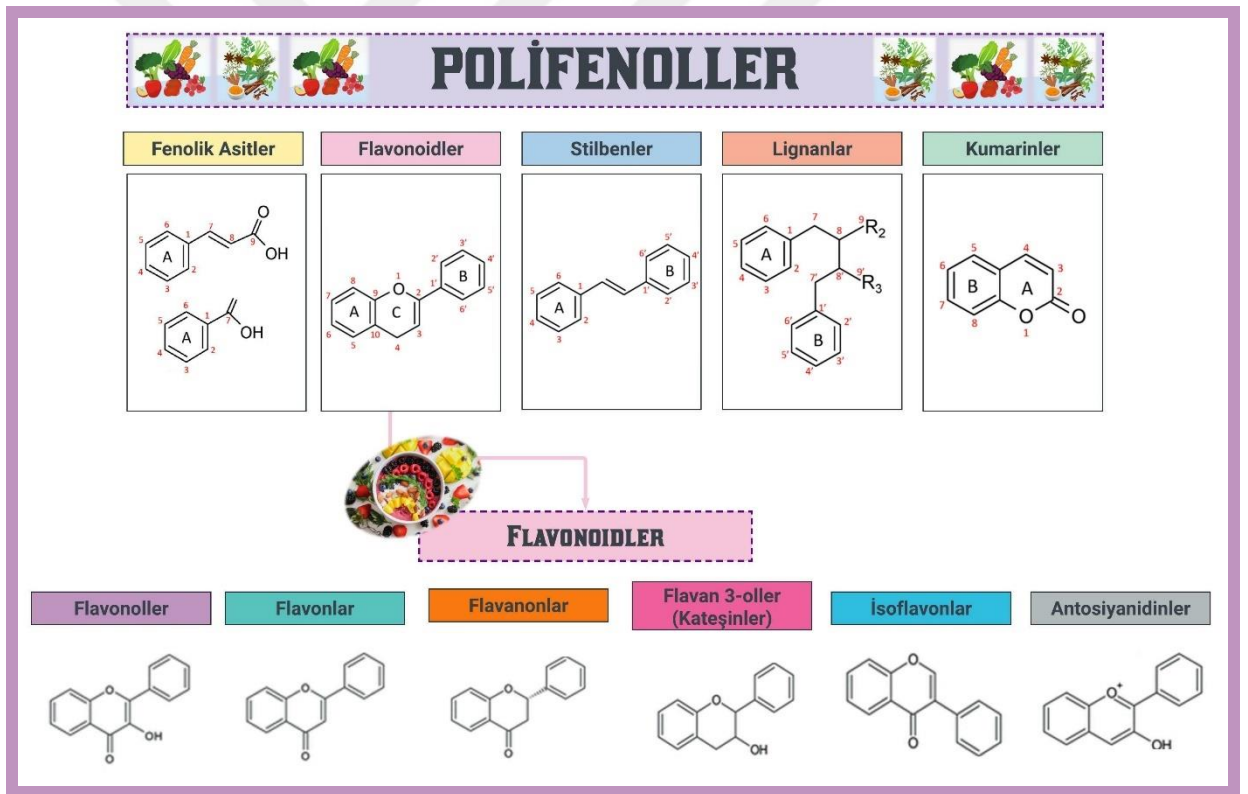
## 2.2. Polifenoller ve Sağlık Etkileri

"Polifenol", terimi flavonoidler, tanenler, fenolik asitler ve bunların kimyasal olarak değiştirilmiş veya polimerize edilmiş çeşitli türevlerini ifade etmek için kullanılır (Williamson, 2017). Polifenolik bileşikler, üzerinde en çok çalışılan fitokimyasallar arasındadır. Günümüze kadar binlerce polifenol tanımlanmıştır (Stagos, 2019). Polifenoller, patojenlere, yırtıcılara, zararlı ışınlarla karşı bitkiler tarafından üretilen ikincil metabolitlerdir (Durazzo ve ark., 2019; Nazzaro ve ark., 2020). Diyet polifenollerinin sağlık için sayısız yararları vardır ve günlük gıda alımında kolayca erişilebilir olmaları, araştırmaların ilgi odağı olmalarına sebep olmuştur (Zhang ve ark., 2021a). Polifenolik bileşiklerin isimlendirilmesi ile ilgili bazı tartışmalar vardır (Quideau ve ark., 2011; Stagos, 2019).

Genellikle, polifenoller en az bir hidroksil grubu içeren ve aromatik bir halkayı barındıran bileşikler olarak tanımlanırlar. Yapıları, basit moleküllerden kompleks moleküler ağırlığa sahip karmaşık polimerlere kadar değişkenlik gösterebilir (El Gharras, 2009; Stagos, 2019).

Polifenoller, temel olarak yapılarındaki elektron veren fenolik gruplar nedeniyle antioksidan görevi görebilirler (Annunziata ve ark., 2018; Kruk ve ark., 2022). Birçok çalışmada, polifenollerin oksidatif strese bağlı hücresel ve hücre dışı hasarı önlenmesi amacıyla antioksidan işlevleri araştırılmıştır (Cory ve ark., 2018; Tatipamula ve Kukavica, 2021; Gasmi ve ark., 2022). Polifenoller, antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, anti-anjiyojenik ve anti-tümör dahil olmak üzere çeşitli işlevler sağlar (Tangney ve Rasmussen, 2013; Yahfoufi ve ark., 2018; Fakhri ve ark., 2022; Gasmi ve ark., 2022). Bu özelliklere paralel olarak, polifenollerin özellikle bağırsak mikrobiyomuna karşı inflamatuvar yanıt için bir kurtarıcı olarak kullanılması, çeşitli hastalıkların önlenmesi açısından oldukça önemlidir (Molinari ve ark., 2022; Rudrapal ve ark., 2022). Bunlara rağmen birçok diyet polifenolünün biyoyararlanımı çok düşüktür ve genellikle bağırsaklara taşındıktan sonra atılım gerçekleşir. atılır (Kawabata ve ark., 2019; Molinari ve ark., 2022) . Polifenoller, kardiyovasküler, nörodejenerasyon ve kanser gibi hastalıkların önlenmesinde geniş spektrumlu uygulanabilirlikleri ile bilinir (Cory ve ark., 2018; Poti ve ark., 2019; Obrenovich ve ark., 2022). Diyet polifenollerinin enzim destekli modifikasyonu, bağırsak mikrobiyotasının rolü ve biyoyararlanım ile ilgili olarak biyoaktivitelerini iyileştirebilir (Rodríguez-Daza ve ark., 2021; Visvanathan ve Williamson, 2022).

Fenolik bileşikler, temelde hücre duvarlarının yapısal bileşenleri olarak bilinirler ve bunların çoğu antioksidan olarak görev yapmaktadır (Zhang ve ark., 2021a). Fenoliklerin bitkilerdeki miktarları çevresel pek çok faktöre ( Toplama zamanı, depolama, kurutma..) bağlı olarak etkilenebilir (Manach ve ark., 2004). Polifenoller antioksidan özelliklerini, serbest radikallerin oluşumunu baskılayarak veya radikal oluşumunu tetikleyen öncülleri etkisiz hale getirerek gösterirler(El Gharras, 2009; Pérez-Chabela ve Hernández-Alcántara, 2018; Zhang ve ark., 2021a). Antioksidan molekül olarak polifenoller, hücre bileşenlerini oksidatif hasara karşı koruyabilir ve bu nedenle oksidatif stresle ilişkili çeşitli dejeneratif hastalıkların riskini önleyebilirler(Zhang ve ark., 2021a). Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması Şekil 4.4.'te verilmiştir.



Şekil 4.4. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması

Fenolik bileşiklerin önemli bir sınıfı fenolik asitlerdir. Fenolik asitleri, benzoik asitler (p-hidroksibenzoik asit (HBA), protokateşik, vanilik, siringik ve gallik asitler) ve sinamik asitlerin (hidroksisinamik asit (HCA), p-kumarik, kafeik, ferulik ve sinamik asitler) türevleri şeklinde iki başlık altında sınıflandırabiliriz. HBA 'lar C6-C1 yapısına sahipken HCA 'lar C6-C3 yapısında aromatik bileşiklerdir. Fenolik asitler tahıllar, yağlı tohumlar, kahve, ahududu, kiraz, şeftali, erik, domates, patates gibi birçok meyve, sebze ve mantar da bulunur. Yapılan çalışmaya göre kullanılan ekstraktların  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyon aktivitesine katkıda bulunabilecekleri kaydedilmiştir (Papoutsis ve ark., 2021).

Stilbenler, insan dietinde küçük miktarlarda bulunan fenolik bileşik sınıfıdır. Stilben bileşiklerinin çekirdek kimyasal yapısı 1,2-difeniletildir. Ana temsili bileşik olan resveratrol ve pterostilben ve 3'-hidroksipterostilben iyi bilinen stilbenlerdir. Bu bileşiklerin , antiinflamasyon, antikanserojenik, antidiyabet aktiviteleri sebebiyle sağlığa yararlı etkilerinden ilgi artmıştır. Bunlara ek olarak resveratrolün, kardiyovasküler sistemde antioksidan etkiler göstermesi de önemlidir. Stilbenler doğal olarak üzüm, çilek, yer fıstığı, kırmızı şarap ve bazı şifalı bitkiler gibi çeşitli kaynaklarda bulunur.

Lignanlar, 2-fenilpropan birimlerinin oksidatif dimerizasyonundan üretilen fenolik bileşiklerin doğal bir grubudur. Doğal besin kaynakları arasında en zengin kaynak olarak keten tohumunda, meyve ve sebzelerde, kuruyemiş, yağlı tohum, zeytinyağı, çay, bira, şarap ve az miktarda kahvede bulunurlar. Biyolojik aktiviteleri üzerine yapılan çalışmalarda antioksidan, antitümör, antiinflamatuvar ve antiviral özelliklerinden dolayı sağlık açısından kullanımları vardır (Alara ve ark., 2021; Zhang ve ark., 2022).

Flavonoidler, bitkiler tarafından sentezlenen ve insan diyetinde önemli bir role sahip fenolik bileşiklerin ana grubunu oluşturur. Flavonoidler, karotenoidler ve klorofillerle birlikte bitkilerde renk oluşumundan sorumludur. Flavonoidler, kimyasal olarak iki aromatik halka (A ve B halkaları) ve merkezi 3 karbonlu bir zincirle bağlı heterosiklik halkadan (C halkası ) oluşan bir yapıdadır. C halkasında varyasyonlara göre doğada en yaygın bulunan flavonoidler, antosiyaninler, flavonlar, flavonoller, flavanonlar, izoflavonlar, flavanonoller şeklinde sıralanabilir. Aralarında ki ayrımı sağlayan, hidroksil gruplarının sayısı ve konumlarıyla birlikte alkilasyon ve glikosilasyon faktörleridir.

Flavonlar, C4'te bir keto grubu, C2 ve C3 arasında bir çift bağ ve C2'ye bağlı bir B halkası bulunduran en temel flavonoid yapılarını oluşturur. Apigenin, luteolin ve bunların glikozitleri, meyve ve sebzelerde en bol bulunan flavonlardır. İzoflavonlar, B halkası C3'e bağlı olan flavonlardır. Baklagillerde bulunan fitoöstrojenik bileşikler yani bir başka deyişle östrojenlere yapısal olarak benzeyen bileşiklerdir ve genistein, daidzein ana üyeleridir. Flavanoller, C3'te hidroksile edilmiş flavonlardır. Flavonlarda bulunan ana bileşikler mirisetin, kuersetin ve kaempferoldür. Kiraz, üzüm, kayısı, kırmızı şarap, çikolata ve çeşitli çay türlerinde flavonoller bol bulunur. Antosiyaninler, sebzelere mavi, mor ve kırmızı renkleri verir ve suda çözünür pigmentlerdir. En yaygın bulunanları siyanidin, delphinidin, malvidin, pelargonidin, petunidin ve peonidindir. Flavanoller, karmaşık bir gruptur. Ana bileşikleri kateşin, epikateşin, gallokatekin, epigallokateşin, bunların 3-O-gallatları, polimerleri ve oligomerleridir. Flavanollerin gıdalarda burukluk, acılık, ekşilik, tükürük viskozitesi, aroma ve renk oluşumunda katkısı vardır. Flavanonlar, turunçgiller de bulunan başlıca flavonoidlerdir ve en küçük alt grubu oluştururlar. Portakalda hesperidin, limonda eriodictyol ve greyfurtta aglikon naringenin olarak bulunurlar. Naringin daha tatlı bir tada sahipken, portakal suyundaki ekşi tattan hesperidin sorumludur (Cosme ve ark., 2020; Zhang ve ark., 2022).

### **2.3. Enzim İnhibisyonu: Mekanizmalar ve Kapsam**

Protein yapısında bir molekül olan enzim, çeşitli enzimatik reaksiyonlarda, katalizör görevi görür. Diğer bir tanımla enzimler, protein yapıda olan biyolojik katalizörlerdir ve girdikleri bir reaksiyondan herhangi bir değişikliğe uğramadan çıkabilen, tekrar tekrar kullanılabilen yaşamın eşsiz moleküllerindedir (Saboury, 2009; Sharma, 2012). Enzim inhibitörleri, madde ve ürün etkileşimi üzerine etki ederler, ürün oluşumunu artırmak veya durdurabilmek için reaksiyonların hızını kontrol ederek, biyolojik sistemlerin yapı taşlarını oluştururlar(Nagar ve ark., 2014). Enzim inhibitörleri organik veya inorganik yapıdaki moleküllerden oluşabilirler. Önemi büyük olan bu moleküller yaşamın ve çeşitli endüstrilerin vazgeçilmez unsurlarıdır. Biyolojik sistemlerde, çeşitli metabolik yolların kontrolünde, hücrel sinyalleşmede, hücrelerin büyümesi, bölünmesi gibi pek çok hayati reaksiyonun devamı için enzimler ve enzimlerin aktivitelerinin düzenlenmesi temeldir (Lu ve Li, 2010). Enzim aktivitesi, enzim inhibisyonu denilen mekanizmalarla düzenlenebilir (Palmer ve Bonner, 2007) .

İnhibisyon mekanizmaları geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz olabilir.

Enzim bazlı inhibisyonların gelişimi esas olarak:

- 1) Substrat-ürün kontrolünü sağlamak,
- 2) Yeni, etkili ve yan etkisi en aza indirilebilecek ilaç keşifleri,
- 3) Hastalıkların teşhis ve tedavisinde kolaylık sağlaması açısından hedef protein tanınması çalışmaları,
- 4) Gıda ve kozmetik endüstrilerinde daha etkili ürün elde edilmesi, gibi çeşitli amaçlar için popüler araştırma konularındandır.

Dolayısıyla, özellikle çeşitli hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için metabolik yollarda yer alan bu kilit moleküllerin mekanizmaları iyi anlaşılmalıdır. Bu sebeple ilaçlarda ana hedef metabolik yolların ve sinyalleşmenin kontrolüdür, bunu da inhibisyon mekanizmalarıyla gerçekleştirirler. Enzimler, özellikle kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar, cilt bozuklukları, çeşitli kanser hastalıkları ve sindirim bozuklukları gibi çok geniş endüstriyel alanlarda kullanım potansiyeline sahip moleküllerdir(Palmer ve Bonner, 2007; Lu ve Li, 2010; Lokapriya ve Kumar, 2020).

Hayvansal dokular, bitkiler ve mikroorganizmalar enzimlerin başlıca kaynaklarıdır. Çok çeşitli olan bu kaynaklar arasında en çok tercih edilen; tutarlılıkları, optimizasyonları ve kolay ekonomik üretimleri nedeniyle mikrobiyal enzimlerdir. Az sayıda mantar, bakteri ve maya suşu terapötik uygulama ile enzim üretimine katkıda bulunur(Sharma, 2012; Lopina, 2017).

Terapötik uygulama için enzimler, yüksek derecede saflık ve özgüllüğe sahip olmalıdır. Sonuç olarak, hastalıkların artmasıyla beraberinde gelen ilaç ihtiyacı doğal inhibe edici ajanlara olan ilgiyi artırmıştır ve bu alandaki çalışmalar giderek önem kazanmaktadır.

### **2.3.1. Kolinesteraz İnhibitörleri ve Alzheimer Hastalığı Üzerine Etkileri**

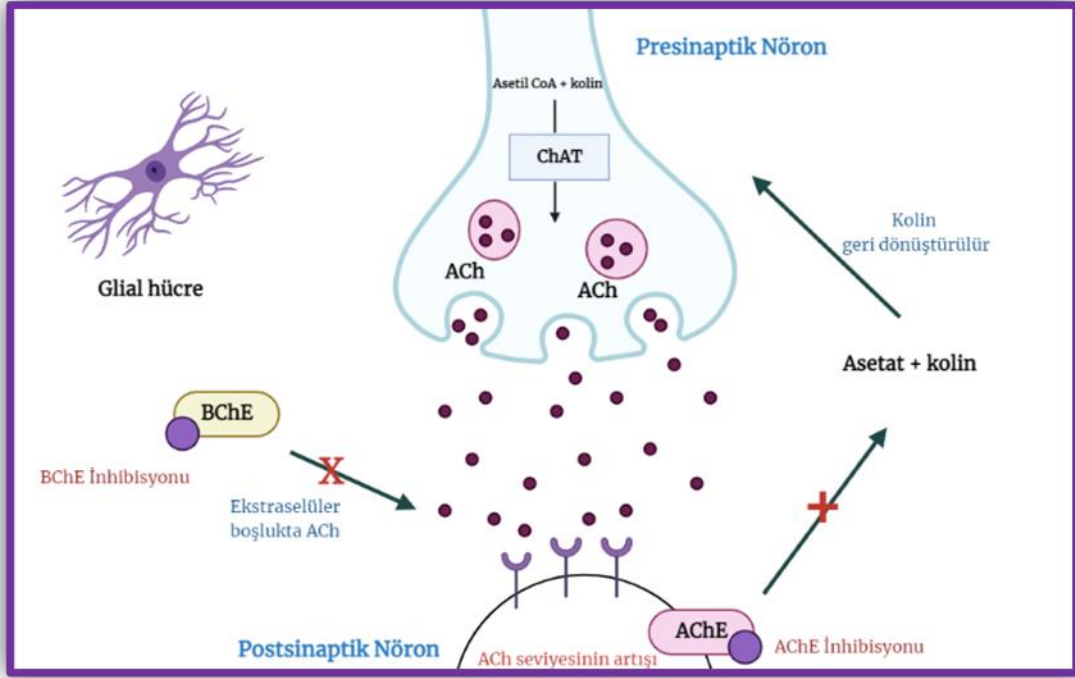
Alzheimer hastalığı (AH), nörolojik bir takım deformasyonlar sonucunda ortaya çıkan ve yaygın olan bir nörodejeneratif rahatsızlıktır (Whitehouse ve ark., 1982). Demans, 65 yaş üzerinde sıklıkla karşımıza çıkan ve öğrenmede, bilişsel pek çok aktivitede zorluk ile kendisini gösteren günümüz toplumu için büyük bir sorun olan, kesin bir tedavisi bulunmayan önemli bir hastalıktır(Hayes ve ark., 2023).

AH'larının zihinlerinde çeşitli patolojik belirteçler bulunur ki bunlar hastalığın temelini oluşturan önemli bulgulardır; Hücre dışında bulunan amiloid plakların varlığı, tau proteinleri, çeşitli sebeplerden kaynaklanabilen oksiatif stres ve en önemli belirteçlerden olan asetilkolin miktarındaki azalma, bu hastalığın ilerlemesindeki temel sebeplerden sayılabilir (Majdi ve ark., 2020).

AH tedavisinde kullanılan beş ana ilaç türü vardır: kolinerjik tedavi, anti-glutamaterjik tedavi, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID'ler), vitaminler, antioksidanlar ve nöropsikiyatrik ilaçlar. Bunlar arasında kolinesteraz inhibitörleri AH tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kolinesterazlar, substratlarına ve inhibitör spesifisitetlerine göre asetilkolinesteraz (AChE, EC 3.1.1.7) ve bütirilkolinesteraz (BChE, EC 3.1.1.18) olmak üzere iki farklı kolinesteraz formlarına ayrılmaktadır. AChE' in öncelikli işlevi merkezi sinir sisteminin ana nörotransmitteri olan asetilkolini (ACh) hidrolize etmektir. BChE' in ana görevi ise bütirilkolin veya benzoilkolin gibi karboksilik asit esterlerini hidrolize etmektir (Mushtaq ve ark., 2014; Majdi ve ark., 2020; Hayes ve ark., 2023).

AH tedavisi için kullanılan bazı ilaçlar, kolinesterazların inhibisyonu yoluyla asetilkolinesteraz konsantrasyonunu artırmayı amaçlayan kolinerjik hipotez teorisine dayanmaktadır (Francis ve ark., 1999; Terry ve Buccafusco, 2003). Hastalığın ilerlemesinde temel olan moleküler mekanizma hala tam olarak belirlenememiştir ve bu nedenle birçok teori ortaya atılmıştır. Bu teorilerden orta dereceli AH tedavisini açıklayabilmek için kolinerjik hipotez önerilmiştir (Trevisan ve ark., 2019).

Kolinerjik sistem ve ACh, hafıza oluşumunda çok önemli bir rol oynar. Ayrıca öğrenme, dikkat ve diğer beyin fonksiyonlarında da önemli bir role sahiptirler (Francis ve ark., 1999; Mushtaq ve ark., 2014; Trevisan ve ark., 2019). Limbik ve neokortikal kolinerjik innervasyonun postsinaptik kaybı yerine ilerleyici presinaptik kaybı, AH beyinde bilişsel gerilemenin önemi ile bağlantılı olan erken bir patojenik olaydır. Araştırmalara göre elde edilen bu bilgiler ışığında, AH için kolinerjik hipotez önerilmiş ve devamında kolinesteraz inhibitör ilaçlarının üretilmesi gerçekleşmiştir (Terry ve Buccafusco, 2003).



Şekil 4.5. Kolinesteraz enziminin çalışma mekanizması ve inhibisyonu

AH tedavisi için klinik olarak takrin, donepezil, rivastigmin, memantin ve galantamin AChE inhibitörleri olarak kullanılmaktadır. Takrin, AH tedavisi için FDA tarafından onaylanan ilk etkili kolinesteraz inhibitörüdür. Ancak ağır yan etkileri nedeniyle kullanımı büyük oranda terk edilmiştir (Qizilbash ve ark., 2000; Grossberg, 2003).

Donepezil, AH tedavisi için en yaygın kullanılan AChE inhibitörüdür. Diğer kolinesteraz inhibitörleri ile karşılaştırıldığında, donepezilin gastrointestinal sistemden emilimi oldukça yavaş ve ilacın emilimi besinlerden etkilenmediği için biyoyararlanımı oldukça yüksektir. Hafif ila orta ve şiddetli AH tedavileri için onaylanan donepezilin daha sonra genişletilerek orta ile şiddetli ve erken evre AH, vasküler demans, Parkinson hastalığı gibi bilişsel semptomlarda etkili olduğu da gösterilmiştir (Knowles, 2006).

Bir diğer etkili inhibitör, *Galanthus woronowii* isimli bitkiden izole edilmiş olan galatamindir. Diğer inhibitörlere kıyasla daha hafif yan etkileri vardır ve vücut tarafından oldukça iyi tolere edilen bir inhibitördür. Araştırmalar sonucunda, hafif ila orta şiddetli seçilmiş AH uygulanan testlerde olumlu bulgular elde edilmiştir (Scott ve Goa, 2000; Olin ve Schneider, 2002; Kumar ve ark., 2023).

Rivastigmin, beyinde hem asetilkolinesteraz hem de butirilkolinesteraz enzimlerini inhibe eden tek kolinesteraz inhibitörüdür. Rivastigmin, hafif ila orta şiddette AH tedavisi için onaylanmış, güçlü, geri dönüşümlü, hızlı emilen bir kolinesteraz inhibitörüdür (Birks ve ark., 2015; de Oliveira, 2023) .

### 2.3.2. $\alpha$ -amilaz ve $\alpha$ -glukozidaz ve Diabetes Mellitus

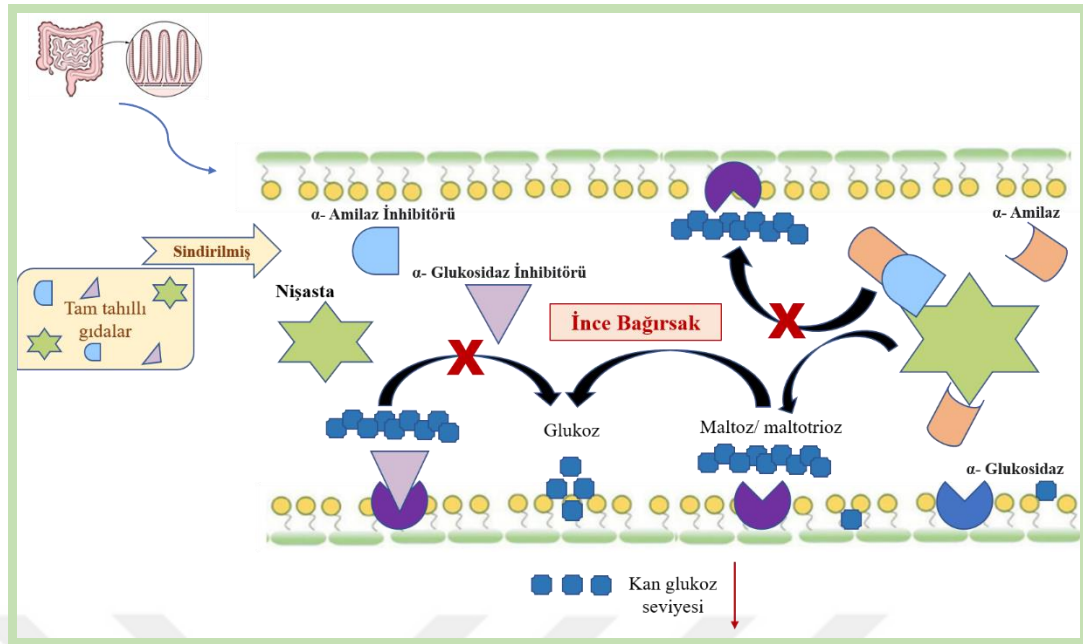
Diabetes mellitus (DM), hastaların yaşam kalitesini önemli derecede etkileyen toplumumuzda sıkça karşılaşılan küresel bir hastalıktır. DM, insülin direncinden, yetersiz insülin salgılanmasından veya aşırı glukagon salgılanmasından kaynaklanan ve hiperglisemi ile karakterize olan bir grup fizyolojik işlev bozukluğu olarak tanımlanmaktadır (Xiao-Ping ve ark., 2010; Kabach ve ark., 2023). Hastalık halk arasında şeker hastalığı olarak bilinmektedir ve özellikle karbohidrat, yağ, protein metabolizmasını etkilemektedir. Diğer pek çok hastalık gibi DM hastalığının da belirli patolojik belirtileri vardır ve bu belirtiler hastalık için temeldir. Patofizyolojik mekanizmalarına göre temelde 2 tip diyabetten söz edilebilir; Tip 1 diyabet (T1D), Tip 2 diyabet(T2D). T1D, pankreasta bulunan beta hücrelerinin yıkımına yol açan otoimmün bir hastalıktır ve T1D, insüline bağımlı diyabet olarak da bilinir (Cnop ve ark., 2005; Dabelea ve ark., 2014). Yeterli insülin üretilemediği durumlarda ortaya çıkar. Bununla birlikte hastaların yaklaşık %5-10'unda gözlenen ve çoğunlukla çocuklarda ve genç erişkinlerde gelişen şeklidir (Eisenbarth, 1986; Riddell ve Peters, 2023).

Çok daha yaygın olan T2D ise, pankreatik beta hücrelerinin işlevini kaybetmesiyle hatalı insülin salınımı sonucu insülin direncinin oluşması temeline dayanır. DM, Amerikan Diyabet Derneği (2014) tarafından “Vücudun kan şekerini enerji için kullanamamasından kaynaklanan hiperglisemi ile karakterize bir durum. Diğer bir tanımla ya pankreas yeterince insülin üretemez, ya da vücut insülini etkili bir şekilde kullanamaz.” şeklinde tanımlanmıştır (DeFronzo ve ark., 2015; Dao ve ark., 2023). Tip 2 diyabet başka bir deyişle insülin-bağımsız diyabet olarak da bilinir. Genellikle yetişkinlerde ve yaşlılarda görülen DM tipidir ve vakaların yaklaşık %90-95'ini oluşturur(Sanders ve ark., 2022) . T2D oluşumunda, sigara ve alkol kullanımı gibi etkenler de hastalığın şiddetinin artmasında etkili rol oynamaktadır.

Hastalığın temeli her ne kadar pankreastaki beta hücrelerinin yeteri kadar insülin üretememesi olsa da, asıl neden vücudun insülini etkili bir şekilde kullanamamasıdır ve bu durum insülin direnci olarak tanımlanır. Görevini yapamayan insülin, karaciğer, kaslar, adipöz dokular gibi çeşitli dokulara glikoz etkili bir şekilde taşıyamaz ve kontrolsüz ilerleyen diyabet körlük, böbrek yetmezliği ve kalp yetmezliği gibi ciddi kronik komplikasyonlara yol açabilir. DM, hastalığın önlem alınamaması ve ilerlemesi halinde beyin ve kalp fonksiyonlarında da ciddi hasarlar oluşabilir ve hastanın hayatı risk altına girebilir (DeFronzo ve ark., 2015; Sanders ve ark., 2022; Dao ve ark., 2023).

Diabetes mellitus hastalarındaki bu durumun ortadan kaldırılabilmesi için çeşitli doğal ve sentetik ilaçlar araştırılmaktadır. Hastalığın fizyolojisi incelendiğinde en etkili mekanizmaların  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaz enzimleri üzerinden ilerlediği belirlenmiştir (Poovitha ve Parani, 2016). Bu bağlamda karbohidrat metabolizmasında kilit rol oynayan bu iki enzim DM hastalığı içinde oldukça önemlidir. Dolayısıyla bu enzimlerin inhibisyonu, doğanın sunduğu sayısız bitkide aranan en temel parametrelerden biri haline gelmiştir. Günümüzde diyabet için kullanılan ilaçlar oldukça başarılı olsa da bu hastalığa sahip hastaların ölüm oranının giderek atması, araştırmacıların yeni doğal ve sentetik ilaç arayışına yönelmelerine sebep olmuştur.

Bu anlamda doğa sayısız seçenekler sunmuş ve eski dönemlerden beri sıklıkla halk tarafından da bu hazine kullanılmıştır. Örneğin *Galega officinalis* (leylak), ekstraktlarının diyabet için kullanılmış ve hastalığın en önemli semptomlarından biri olan sık idrara çıkma gibi semptomları azalttığı görülmüştür. Bitkilerin nasıl bir antihiperglisemik etki gösterdikleri incelendiğinde muhtemel yollarının, insülin sekresyonlarını arttırmak ya da gastrointestinal sistemdeki glikoz emilimini azaltarak etki ettiği anlaşılmıştır. Bu anlamda daha fazla doğal ve yan etkisi olmayan bileşiğin araştırılması diyabet hastalığı için temeldir (Nagalievskaya ve ark., 2018; Burkova ve ark., 2022).



Şekil 4.6. Amilaz ve glukozidaz enzimlerinin inhibisyon mekanizmaları

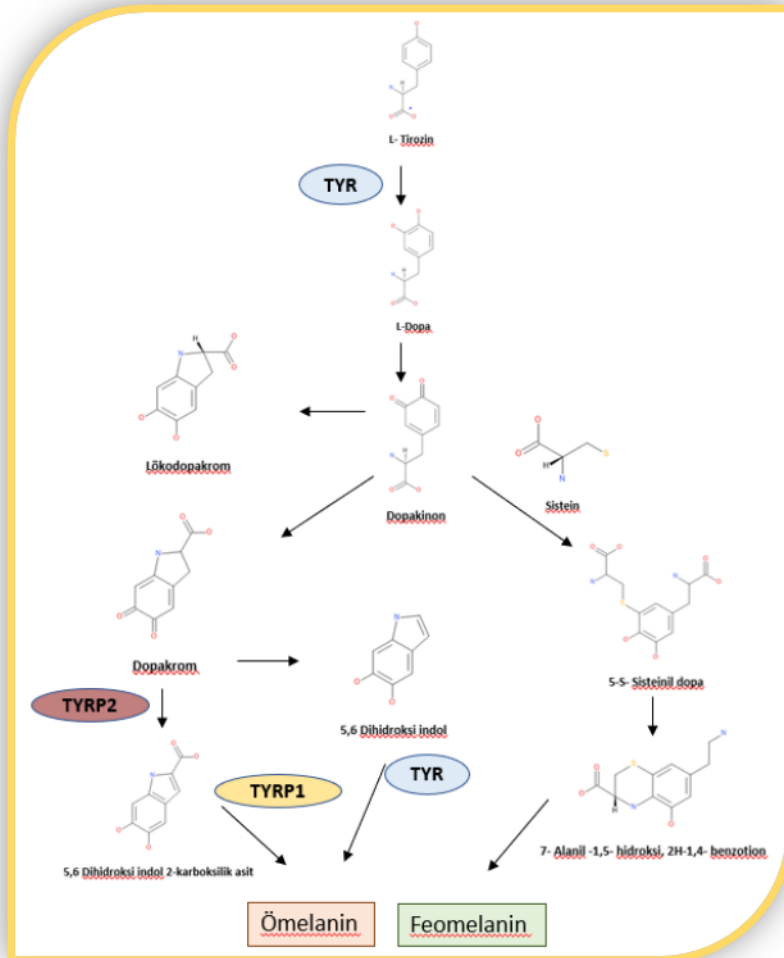
### 2.3.3. Tirozinaz enzimi ve Melanogenez

Melanin, ultraviyole ışığa karşı önemli bir savunma mekanizmasıdır ve güneşten kaynaklanan cilt hasarlarının önlenmesinde kilit rol oynar (Maack ve Pegard, 2016). Melanin pigmenti, melanosit hücrelerinde üretilir. Sadece melanosit hücreleri tarafından üretilen bu enzim memelilerde, omurgasızlarda, bitkilerde ve mikroorganizmalarda bulunur. Memelilerde melanin deri, saç ve gözlerin pigmentasyonundan sorumludur. İnsan derisinde melanin oluşumu, hiperpigmentasyona yol açabilen bir katalizör (tirozinaz enzimi gibi) ve UV ışığı gibi zararlı ışınların varlığında meydana gelir (Chang, 2009).

Vücutta yeteri kadar melanin pigmenti sentezlenmemesi durumunda hipopigmentasyon gibi dermatolojik bozukluklar ortaya çıkarken, melanin sentezinin aşırı üretilmesinden kaynaklanan gibi hiperpigmentasyon oluşumunda tirozinaz enzimi rol oynar. Cilt, ultraviyole A (UVA) ve ultraviyole B (UVB) tarafından cilt hasarını korumak için melanin üretimi için doğal olarak tirozinaz enzimini uyarır (Chang ve Teo, 2016). Monofenol monooksijenaz olarak bilinen tirozinaz enzimi (EC 1.14.18.1), yapısında bakır iyonu barındıran bir enzimdir. Tirozinaz enziminin aktivitesi, moleküler oksijen varlığında, tirozinin hidrosilasyonu ve 3,4-dihidroksifenilalaninin (L-DOPA) o-dopakinona oksidasyonunu katalizlemesiyle gerçekleşir.

Melanogenez, çok sayıda enzimatik ve kimyasal reaksiyonla karakterize olan karmaşık bir süreç olmasına rağmen, tirozinaz ve ilgili proteinler (TYRP1 ve TYRP2) melanin sentezinde kritik bir role sahiptir(Chang, 2009; Maack ve Pegard, 2016).

Bu bağlamda bitkisel özler kullanılarak cilt lekelerinin giderilmesi eski dönemlere dayanmaktadır. Dolayısıyla bitkiler yukarıda anlatıldığı gibi bir pigmentasyon sorununu kontrol etmek için en önemli kaynaklardır(Chang, 2009). Yapılan araştırmalar tirozinaz enziminin sadece bitkilerde değil birçok böceklerin deri değiştirme, yara iyileştirme ve savunma mekanizmalarında da etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, Arbutin ve kojik asit kozmetik ürünlerde cilt beyazlatma için yaygın olarak kullanılan tirozinaz inhibitörleridir(Wang ve ark., 2022). Tirozinaz inhibitörleri ayrıca kozmetik alanında, yaygın olarak kullanılmaktadır. Dolayısıyla bu kadar geniş alanda etkisi bulunan bu enzimin inhibisyonu temeldir.



Şekil 4.7. Melanin biyosentezi

## 2.4. Ekstraksiyon Metotları

Araştırmalar sonucunda geliştirilen ekstraksiyon işlemi, biyoaktif bileşiklerin saflaştırılmasında ilk ve en önemli basamağı teşkil etmektedir (Wen ve ark., 2020). Sokslet (katı-sıvı ekstraksiyon), maserasyon ve hidrodistilasyon gibi geliştirilmiş geleneksel metotlar bulunmaktadır. Bu metotların uygulanmasında çok fazla solvent kullanımı, uzun süreçte gerçekleşmesi, düşük ekstraksiyon seçiciliği, yüksek saflıkta solvent ihtiyaçları sebebiyle dezavantajlara sahiptirler. Buradan yola çıkarak daha verimli, çevre dostu, az solvent kullanımı ile geliştirilmiş ekstraksiyon metotları uygulanmaktadır. Gelişmiş ekstraksiyon metotları arasında ultrasonikasyon destekli, homojenizatör destekli, enzim ve mikrodalga destekli olmak üzere çeşitli metotlar bulunmaktadır. Ekstraksiyon metotlarının sınıflandırılması Şekil 4.7.'de verilmiştir.

Bunların yanı sıra kombinasyonlu ultrason destekli enzimatik ekstraksiyon, mikrodalga destekli enzimatik ekstraksiyon, ultrasonik mikrodalga destekli ekstraksiyon, mikrodalga/ultrasonik destekli enzimatik ekstraksiyon metotları da uygulanmaktadır (Azmir ve ark., 2013; Wen ve ark., 2020). Bahsedilen her birinin ayrı ayrı avantaj ve dezavantajları mevcuttur. Ekstraksiyon için uygulanacak metotta ilk sırada önemli olan bitkideki aktif bileşiklere uygun metodun seçilmesidir. Çünkü ekstraksiyon yönteminde iyi bir verim alınması için Şekil 4.8 görüldüğü gibi çözücünün türü ve konsantrasyonu, katı-çözücü oranı, zaman, sıcaklık, pH, vb. gibi çeşitli faktörler etkilidir (Ćujić ve ark., 2016).



Şekil 4.7. Ekstraksiyon metotlarının sınıflandırılması



Şekil 4.8 Geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinde ekstraksiyon performansını etkileyen faktörler.

### *Maserasyon (MAC)*

Geleneksel ekstraksiyon metotları arasında en yaygın olarak tercih edilen ve popüler, ucuz bir metottur. Maserasyon, bitki biyoaktif bileşiklerinin eldesi için sıklıkla başvurulan bir yöntemdir. Ön hazırlık aşamasında bitki materyalinin çözücü ile etkili bir şekilde muamelesi ve yüzey alanının artırılması için küçük parçacıklar haline gelmesi için öğütme aşamasının yapılması gerekmektedir. Ardından öğütülmüş bitki materyali ve belirlenen çözücüler ile kapalı bir kaptaki bir araya getirilir. Karışım, oda sıcaklığında 1-5 gün arasında çalkalayıcı inkübasyon cihazında ekstrakte edilir. Daha sonra katı bitki parçalarının uzaklaştırılması için süzme işlemi gerçekleştirilir (Azmir ve ark., 2013). Elde edilen süzölmüş sıvı kısım etüvde veya rotary evaporatör yardımıyla uzaklaştırılır ve ekstraksiyon işlemi tamamlanır.

### *İnfüzyon*

İnfüzyon metodu, maserasyona benzer şekilde gerçekleştirilen ancak daha kısa sürede gerçekleşen ekstraksiyon metodudur. Bu yöntemde, kuru ve toz bitki materyali belirli bir su hacminde (örneğin, 1:4, 1:16, 1:20 ) sıcak veya soğuk su ile hazırlanarak 15-30 dakika boyunca ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilir. Ardından süzme işlemi gerçekleştirilir. Demlenmiş çay, çay infüzyonu örneği olarak düşünülebilir. İnfüzyon metodu, ısıya dayanıklı bileşiklerin, kök ve kabuk gibi sert bitki materyallerinin ekstraksiyonu için tercih edilebilir (Azwanida, 2015).

### *Sokslet (SOX)*

Soxhlet metodu, çeşitli doğal kaynaklardan biyoaktif bileşiklerin izole edilmesi için kullanılan en eski geleneksel ekstraksiyon metodlarından birisidir. Bu metotta orta ve düşük uçuculuğa sahip, ısıya karşı duyarlı olmayan bileşiklerin izolasyonu için tercih edilir. Ekstraksiyon sırasında bitki materyalinin içine konduğu yüksük ve her bir sifonda tekrar tekrar çözücüye maruz bırakılması geri kazanım sağlarken uzun ekstraksiyon süresi ile bazı dezavantajlara sahiptir. Bununla birlikte yüksük içine akan yoğunlaştırılmış çözücünün sıcaklığının kaynama noktasından daha düşük olmasından dolayı ekstraksiyon veriminin düşmesi de dezavantajları arasındadır. Son zamanlarda kullanımı artan otomatik sokslet sistemlerinin ekstraksiyon süresi kısalmış, tekrarlanabilirliği artış göstermektedir (Romanik ve ark., 2007).

Ekstraksiyon işlemi için öncelikle öğütülmüş kuru toz bitki materyali bir yüksük içerisine istenilen miktarda tartılarak eklenir. Yüksük daha sonra kullanılacak çözücünün ilave edildiği damıtma şişesine yerleştirilir. Taşma seviyesine ulaştıktan sonra yüksük tutucunun solüsyonu sifon ile aspire edilir. Sifon solüsyonu tekrar damıtma şişesine boşaltır. Bu çözelti, ekstrakte edilmiş çözünenleri ortak bir kabın içerisine taşır. Damıtma kabında çözünen bileşikler kalır ve çözücü bitkinin katı materyalinin içerisine geri döner. İşlem, ekstraksiyon tamamlanana kadar devam eder (Azmir ve ark., 2013).

### *Homojenizatör Destekli Ekstraksiyon (HAE)*

Homojenizatör destekli ekstraksiyon metodunda, bileşiklerin çözücüye kolaylıkla geçmesini sağlayan ısı yada basınç uygulanması gerektirmeden yüksek hızlı mekanik olarak kesme, parçalama ve karıştırma işlemidir. HAE metodunda kuru ve toz bitki materyali üzerine uygun çözücü eklenerek kısa bir süre (5-60 dk) parçalama ve karıştırma yapılarak hücre içeriğindeki aktif bileşenlerin çözücüyü geçişi sağlanır. Diğer ekstraksiyon metodlarıyla karşılaştırıldığında, yüksek kesme hızı nedeniyle HAE'de hedef bileşiklerin ekstraksiyonu için gereken süre son derece kısadır. Geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine ekonomik bir alternatiftir, HAE daha düşük solvent ve zaman tüketimi gerektirir (Pereira ve ark., 2017; Xia ve ark., 2017).

### *Ultrasonikasyon Destekli Ekstraksiyon (UAE)*

Ultrason destekli ekstraksiyon, ultrason dalgaları kullanılarak bitki biyoaktif bileşiklerinin eldesi için kullanılan gelişmekte olan bir metottur (M'hiri ve ark., 2014). Ultrasonlar, insanlar tarafından duyulamayan, 16 kHz ile 1 GHz arasında değişen frekanslara sahip dalgalardır. Ultrasonik titreşimler, bitki matrisinden bazı bileşiklerin salınmasını kolaylaştıran enerji kaynağıdır. Bu bağlamda, bitki hücre duvarlarını bozarak kütle taşınmasını artıran kavitasyonel bir etki yaratılır (Romanik ve ark., 2007).

Bu metotta çözücü ve sıcaklığın uygun seçiminin yanısıra frekans, sonikasyon gücü ve süresi ile ultrasonik dalga dağılımı dahil olmak üzere ultrason uygulama faktörlerinin optimizasyonu ile ekstraksiyon verimi artırılabilir. Ultrasonik gücün artmasıyla fenolik bileşiklerin verimi üzerinde olumlu bir etki gözlenmiştir. Bunun yanısıra artan sıcaklık ekstraksiyon veriminde faydalı olabileceği gibi bitki de elde edilecek bileşiklerin kaybına da sebep olabilir. Bu nedenle ekstraksiyon sırasında ısının fazla artışı metodun dezavantajı olarak bilinmektedir (M'hiri ve ark., 2014).

## 2.5. Malvaceae Familyası ve *Alcea* L. Cinsi

Ebegümecigiller olarak da bilinen Malvaceae familyası otsu bitkiler, çalılar, ağaçlar ve tropikal sarmaşıklardan oluşur. Bu familya 243 cins ve 4.225 tür ile temsil edilmektedir. Tüm dünyada kutuplar ve çok soğuk bölgeler dışında her yerde bulunabilen familya üyelerinin ana yayılışları Güney Amerika'dır (Erarslan ve Koçyiğit, 2019). Familyada yer alan büyük cinsler ve tür sayıları, *Hibiscus* (300), *Sida* (200), *Pavonia* (200), *Abutilon* (100), *Alcea* (60), *Malva* (40), *Lavatera* (25), *Gossypium* (20) ve *Althaea* (12) şeklinde verilmiştir (Rahman ve Gondha, 2014).

Malvaceae familyasının bir üyesi olan *Alcea* L. cinsi, Türkiye'de 20, dünya genelinde 70'e yakın tür içermekte olup Akdeniz ve İran-Turan fitocoğrafik bölgelerinde yayılış alanına sahiptir (Ertas ve ark., 2016). Malvaceae familyası, pamuk (*Gossypium*) ve bamyaya (*Hibiscus*) türleri ve bahçelerde süs bitkisi *Alcea rosea* L. 'yı içermesinden dolayı ekonomik açıdan oldukça önemli konumdadır.

Ekonomik önemlerinin yanısıra familya üyelerinin müsilaj, sabit yağlar ve uçucu yağlar sayesinde tıbbi kullanımları vardır (Erarslan ve Koçyiğit, 2019). Terapötik olarak, müsilaj bağırsak tahrişini, toksin emilimini, öksürüğü, bronşiyal ve idrar spazmını azaltabilir ve balgam söktürmeyi arttırmada faydalıdır (Azadeh ve ark., 2020). Geleneksel halk hekimliğinde ateş düşürücü, iltihap önleyici, idrar söktürücü, artrit, mide-bağırsak rahatsızlıkları, yılan ısırıkları ve astım gibi çok çeşitli hastalık ve yaralanmaların tedavisinde kullanımları mevcuttur (de Oliveira ve ark., 2012). *Alcea* cinsine ait etnobotanik ve etnomedikal kayıtlarda halk hekimliğinde kullanımını kanıtlar niteliktedir ve Tablo 2.1'de verilmiştir.

*Alcea* cinsi üyeleri halk hekimliğinde şifa kaynağı olarak kullanımları dışında süs bitkileri ve fonksiyonel gıdalar veya nutrasötikler olarak da geniş bir uygulama alanına sahiptirler. Son zamanlarda birçok gıda, kozmetik, boya vb. gibi sektörlerde sentetik boyaların yerine doğala yönelim sebebiyle yüksek düzeyde antosiyanin içeren *Alcea* cinsinin mor renkli çiçekleri özellikle Asya'da doğal kaynak olarak önemli bir konuma sahiptir (Azadeh ve ark., 2020)

**Tablo 2.1. *Alcea* taksonlarının halk hekimliğinde kullanımı**

<i>Alcea</i> Taksonları	Halk Hekimliğinde Kullanımları	Referans
<i>Alcea rosea</i>	Bronşit, ishal, kabızlık, iltihaplanma, şiddetli öksürük ve anjina; dizüri ve boğaz ağrısı ve böbrek taşları ; idrar söktürücü	(Ahmadi ve ark., 2012)
<i>Alcea digitata</i>	Boğaz ağrısı, öksürük ve bronşit	(Yeşil ve Inal, 2021)
<i>Alcea setosa</i>	Saç bakımı, cilt bozuklukları; boğaz ağrısı, öksürük ve bronşit	(Yeşil ve Inal, 2021)
	Mide ve bağırsak ağrısı, iltihaplanma ve astım	(Azaizeh ve ark., 2006)
	Balgam söktürücü, idrar söktürücü	(Altundag ve Ozturk, 2011)
<i>Alcea biennis</i> (= <i>Alcea pallida</i> )	Balgam söktürücü; idrar söktürücü ve solunum sistemi tahrişlerinde ,yara iyileştirici	(Erarslan ve Koçyigit, 2019)
	Soğuk algınlıkları ve öksürük	(Uzunhisarcikli, 2009)
<i>Alcea apterocarpa</i>	Üriner sistem rahatsızlıkları, böbrek taşları, akciğer rahatsızlıkları, bağırsak rahatsızlıkları, mide rahatsızlıkları, öksürük; anti- inflamatuvar, cilt bozuklukları	(Altundag ve Ozturk, 2011)
<i>Alcea calvertii</i>	Üriner sistem rahatsızlıkları, böbrek taşları, akciğer rahatsızlıkları, bağırsak rahatsızlıkları, mide rahatsızlıkları, öksürük; anti- inflamatuvar, cilt bozuklukları	(Altundag ve Ozturk, 2011)
<i>Alcea dissecta</i>	Yaralanmalar ve astım	(Altundag ve Ozturk, 2011)
<i>Alcea excubita</i>	Balgam söktürücü, soğuk algınlığı	(Altundag ve Ozturk, 2011)
<i>Alcea flavovirens</i>	Böbrek taşı, apse, uyuz	(Altundag ve Ozturk, 2011)
<i>Alcea striata</i>	Anti-inflamatuvar ; Anemi, öksürük	(Altundag ve Ozturk, 2011)

Tez çalışması kapsamında değerlendirilen *A. fasciculiflora* türü bir İran-Turan elementidir ve ilk kez Türkiye'de Güneydoğu bölgesi Siirt ilinde rastlanılmıştır. Etnobotanik olarak *A. fasciculiflora* türü böbrek taşları, apse ve uyuz hastalık tedavilerinde kaynatma ve lapa yöntemleriyle uygulandığı görülmüştür (Uzunhisarcikli, 2009). Ayrıca yapılan bir başka çalışmayla elde edilen bilgilere göre *A. fasciculiflora*'nın soğuk algınlığı, kusma, öksürük, boğaz ağrısına karşı tedavi amaçlı kullanımı görülmüştür (Mehrnia ve ark., 2021). Bu amaçla farklı *Alcea* türleri ile yapılan çalışmalardan yola çıkılarak halk hekimliğinde kullanımı olan *A. fasciculiflora* bitkisi değerlendirildi.

*A. fasciculiflora*'nın biyolojik aktivitesine yönelik in vitro testler ile antioksidan ve enzim inhibisyon etkileri test edildi. Elde edilen bilgiler doğrultusunda literatürdeki boşluğun doldurulması hedeflendi ve bununla birlikte *A. fasciculiflora*'dan biyolojik aktiviteden sorumlu bileşiklerin izole edilmesi, bitkinin toksik potansiyelinin ve sindirim kanalında elde edilebilirliği (biyoelde edilebilirlik) üzerine yapılacak yeni çalışmaların ihtiyacı üzerine fikir ve katkı sağlayacaktır.



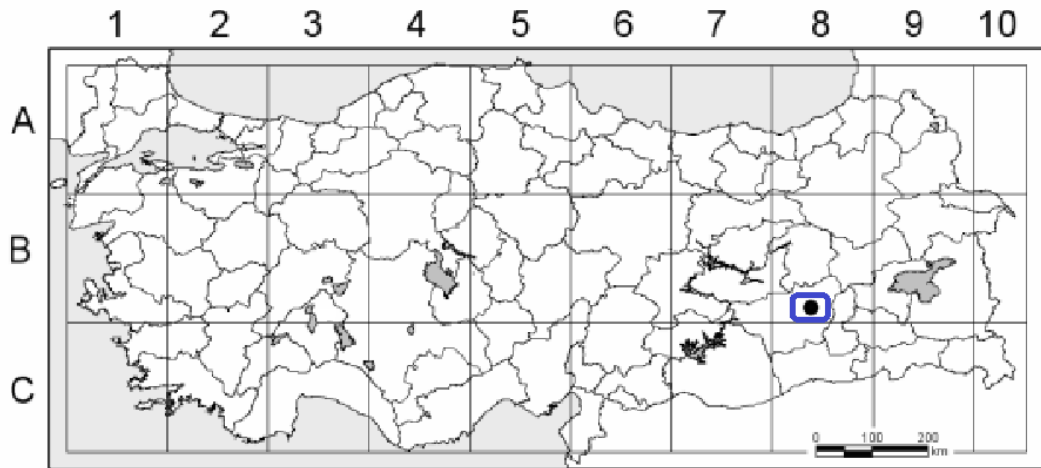
### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Çalışmada kullanılan *Alcea fasciculiflora* ve özellikleri

Çalışmada kullanılan *Alcea fasciculiflora* hakkında genel taksonomik bilgi Tablo 3.1 şeklindedir.

Tablo 3.1. *Alcea fasciculiflora* hakkında genel taksonomik bilgi

<b>Ömür</b>	Çok yıllık
<b>Yapı</b>	Ot
<b>Çiçeklenme</b>	Haziran-Ağustos
<b>Habitat</b>	Aşınmış kayalar, yamaçlar, volkanik tepeler
<b>Yükseklik</b>	600-1500 m
<b>Element</b>	İran-Turan
<b>Türkiye Dağılımı</b>	Doğu ve Kuzey Anadolu
<b>Genel Dağılım</b>	Türkiye



Şekil 3.1 *Alcea fasciculiflora* (●) türünün ülkemizde Siirt ilinde yayılış alanı  
(Uzunhisarcikli ve Vural, 2009)

#### 3.2. Bitki Materyali ve Bitkisel Ekstraktların Hazırlanması

*Alcea fasciculiflora* örnekleri 2021 yılında Diyarbakır'da (Eğil-Dicle arası, 4.5 km, kayalık yamaçlar, 960 m, Toplayıcı No: Batman, AK-2021/022 Toplama tarihi: 16/06/2021) gerçekleştirilen arazi çalışmaları sırasında toplanmıştır. Bitki örneklerinin taksonomik olarak teşhisleri Munzur Üniversitesi öğretim üyelerinden Doç. Dr. Uğur Çakılcıoğlu tarafından Türkiye Florası esas alınarak gerçekleştirildi (Davis, 1977).

Bitki örnekleri araziden toplandıktan sonra toprak üstü kısımları ayrılarak gölgede kurutuldu. Daha sonra öğütücü yardımıyla öğütülerek toz haline getirildi. Ekstraktların elde edilmesi için dört farklı metot ve üç farklı çözücü belirlendi. Bu metotlar maserasyon, soxhlet, homojenizatör destekli ekstraksiyon ve ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon şeklindedir. Bununla birlikte uygulanan bütün ekstraksiyon metotlarında etil asetat (EA), metanol (MeOH), ve su olmak üzere üç farklı çözücü ile ekstraksiyona tabii tutuldu. Uygulanan metotlar Şekil 3.2’de özetlenmiştir.



Şekil 3.2. Tez kapsamında uygulanan ekstraksiyon teknikleri

Tüm ekstraksiyon yöntemlerinde katı ekstrakt ve çözücü oranı 1/20 olacak şekilde hazırlandı. Ekstraksiyon işlemlerinden sonra tüm ekstraktlar Whatman No.1 filtre kâğıdında süzüldü ve çözücüyü uzaklaştırmak için 40 °C’de evapore edildi. Su ekstraktlarında ise -85 °C’de 48 saat liyofilize edilerek suyun uzaklaştırılması sağlandı. Tüm ekstraktlar, analize kadar 4 °C’de saklandı.

*A. fasciculiflora* ekstraktları, konsantrasyonları 2 mg/ml olacak şekilde hazırlandı. Antioksidan kapasite ve enzim inhibisyon testlerinde spektrofotometrik ölçümler Thermo-Multiskan Go cihazı kullanılarak gerçekleştirildi.

### 3.3 Total fenolik ve flavonoid içeriğinin tayini

*A. fasciculiflora* ekstraktlarının total fenolik ve flavonoid içerikleri spektrofotometrik olarak belirlendi. Örneklerin total fenolik içeriği, Folin testi uygulanarak belirlendi. Aynı işlemler eşdeğer olarak kullanılan gallik asit içinde tekrarlandı. Karışımlar oda sıcaklığında ve karanlıkta 2 saat bekletildikten sonra 765 nm’de absorbansları ölçüldü. Sonuçlar gallik asit (mg GAE / ml) olarak verildi (Zengin ve ark., 2014).

Total flavonoid içeriği geleneksel AlCl<sub>3</sub> testi ile belirlendi. Toplam flavonoid madde içeriğinde aynı işlemler standart olarak kullanılan rutin içinde tekrarlandı. Tüp iyice karıştırıldı ve 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi ve absorbanslar 415 nm’de ölçüldü. Sonuçlar rutin eş değeri (mg RE/ml) olarak verildi (Zengin ve ark., 2014).

### 3.4. Antioksidan kapasitenin belirlenmesine yönelik testler

#### 3.4.1. Serbest radikalleri süpürme aktivitesi (ABTS ve DPPH testleri)

*A. fasciculiflora* ekstraktlarının serbest radikalleri süpürme aktiviteleri ABTS ve DPPH radikallerinin yer aldığı test sistemleri kullanılarak belirlendi. DPPH testi için analizler, Zengin ve ark. (2016)’nın uyguladıkları prosedür takip edilerek uygulandı. Aynı işlemler bu test sistemlerinde standart olarak kullanılan trolox içinde tekrar edildi. Karışımlar 30 dk oda sıcaklığında, karanlıkta bekletildi. Absorbansları, 517 nm’de ölçüldü. Sonuçlar troloks (mg TEs/g) eş değeri olarak verildi.

ABTS testinde kullanılan ABTS radikali stabil olmadığı için analizlerde kullanılmak üzere karanlıkta 12-16 saat önce bekletilerek hazırlandı. Analizler Zengin ve ark. (2016)’nın uyguladıkları prosedür takip edilerek uygulandı. Karışımlar oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra, örneklerin absorbans değerleri 734 nm’de ölçüldü ve sonuçlar troloks (mg TEs/g) eş değeri olarak verildi.

#### 3.4.2. İndirgeme gücü testleri (CUPRAC ve FRAP testleri)

Antioksidan kapasitenin belirlenmesinde indirgeme gücü testleri oldukça önemlidir. Bu amaçla bitki ekstraktlarının indirgeme gücü potansiyellerinin belirlenmesi

için CUPRAC ve FRAP test sistemleri uygulandı. CUPRAC testi, bitkisel özütteki antioksidanlar tarafından Cu(II)'nin Cu(I)'e indirgenmesi temeline dayanırken FRAP testinde antioksidan bileşikler tarafından sarı renkli Fe<sup>+3</sup>-TPTZ kompleksinin, koyu mavi renkli Fe<sup>+2</sup>-TPTZ kompleksine indirgenmesi temeline dayanır.

CUPRAC metodunda analizler Grochowski ve ark. (2017)'nin uyguladıkları prosedür takip edilerek uygulandı. Aynı işlemler bu test sistemlerinde standart olarak kullanılan trolox içinde tekrar edildi. Karışımlar oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi ve 450 nm de karışımların absorbansları ölçüldü. Sonuçlar troloks (mg TEs/g) eş değeri olarak verildi.

FRAP metodunda analizler Grochowski ve ark. (2017) 'nin uyguladıkları prosedür takip edilerek uygulandı. Aynı işlemler bu test sistemlerinde standart olarak kullanılan trolox içinde tekrar edildi. Karışımlar oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi ve 593 nm de karışımların absorbansları ölçüldü. Sonuçlar troloks (mg TEs/g) eş değeri olarak verildi.

### 3.4.3. Total antioksidan kapasite testi (Fosfomolibdat testi)

*A. fasciculiflora* bitki ekstraktlarının total antioksidan kapasiteleri, basit, ucuz ve sıklıkla tercih edilen fosfomolibdat testi ile belirlendi. Testin temel prensibi asidik ortamda antioksidan bileşikleri, Mo<sup>+6</sup>'yı Mo<sup>+5</sup>'e indirgemesine dayanır. Fosfomolibdat testi Berk ve ark. (2011)'nin uyguladıkları prosedür takip edilerek analizler yapıldı. Aynı işlemler standart olarak kullanılan trolox içinde uygulandı. Karışımların absorbansları 695 nm de ölçüldü ve sonuçlar troloks (mg TEs/g) eş değeri olarak verildi.

### 3.5. Metal şelatlama aktivitesi

*A. fasciculiflora* ekstraktlarının metal şelatlama aktiviteleri için analizler Uysal ve ark. (2017)'nin uyguladıkları metod takip edilerek uygulandı. Karışımlar 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi ve 562 nm'de absorbansları ölçüldü. Metotta genellikle standart olarak etkin bir demir şelatlayıcı ajanı olan EDTA kullanıldı ve sonuçlar EDTA (mg EDTA/ g) eş değeri olarak verildi.

### 3.6. Enzim inhibisyon potansiyellerinin belirlenmesine yönelik testler

#### 3.6.1. Kolinesteraz inhibisyonu (AChE ve BChE)

*A. fasciculiflora* bitki ekstraktlarının kolinesteraz inhibisyon potansiyelleri, modifiye edilen Ellman deney yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. Bu test sisteminde AChE (asetilkolinesteraz) ve BChE (butirikolinesteraz) olmak üzere kolinesterazlar değerlendirildi. AChE için substrat olarak asetilkolin iyodür (ATCI) ve BChE için butiriltiyokolin iyodür (BTCl) ilave edildi. Karışımlar oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi ve 405 nm de absorbans değerleri ölçüldü. Bitki ekstraktlarının enzim inhibisyon sonuçları, bu enzimlerin inhibisyonunda referans bir madde olan (GALAE) galatamin eşdeğer olarak verildi (Aktumsek ve ark., 2013).

### 3.6.2. Amilaz ve glukozidaz enzimlerinin inhibisyonu

*A. fasciculiflora* bitki ekstraktlarının anti-diyabetik aktivitelerinin belirlenmesi için  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaz enzimlerinin inhibisyon testleri gerçekleştirildi. Amilaz enzimi inhibisyonu için Caraway-Somogyi iyot/potasyum iyodür (IKI) yöntemi kullanıldı. Analizler sonunda karışımların absorbansları 630 nm de ölçüldü. Glukozidaz enzimi inhibisyonu için ise Palanisamy ve ark. (2011) metodu modifiye edilerek kullanıldı. Analizler sonunda karışımların absorbansları 405 nm de ölçüldü. Enzimleri inhibe eden referans bileşik olarak (AKAE) akarboz tercih edildi ve sonuçlar akarboz eşdeğer olarak verildi (Zengin ve ark., 2014)

### 3.6.3. Tirozinaz enziminin inhibisyonu

Bitki ekstraktlarının tirozinaz enzimi inhibisyonu testi substrat olarak L-DOPA 'nın kullanıldığı dopachrome yöntemi ile belirlenmiştir. Analizler Orhan ve ark., (2012) 'nın geliştirdiği metot modifiye edilerek gerçekleştirildi. Karışımlar 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi ve absorbans değerleri 492 nm' de ölçüldü. Referans standart madde olarak kojik asit kullanıldı ve elde edilen sonuçlar (KAE) kojik asit eşdeğer olarak verildi (Zengin ve ark., 2014)

## 3.7. İstatistik değerlendirme

Biyolojik aktivite ölçümleri üç tekrarlı olarak yapılmıştır ve sonuçlar üç tekrarın ortalaması ve standart sapmaları şeklinde verilmiştir. Analiz yapılan ekstraktlar arasında istatistik olarak herhangi bir farkın olup olmadığı ANOVA ve Tukey testi kullanılarak belirlenmiştir. Bu analizler GraphPad Prism 9.0 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

## 4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

### 4.1. *Alcea fasciculiflora* ekstraktlarının toplam fenolik ve flavonoid içerikleri

Bu tez çalışması kapsamında incelenen *A. fasciculiflora* bitkisinden elde edilen ekstraktların fitokimyasal değerlendirmeleri için toplam fenolik ve flavonoid miktarları belirlendi ve sonuçlar Tablo 4.1’ de rapor edildi. Bu bağlamda total fenolik içeriği belirlenmiş olup gallik asit (GAE) eşdeğer olarak verilmiştir. Sonuçlara göre toplam fenolik içeriğin 14.25 – 24.87 mg GAE/g değerleri arasında değiştiği gözlenmiştir. Ekstraksiyon metotları kendi aralarında karşılaştırıldığında maserasyon (MAC) metodunda en yüksek fenolik içerik 20.53 mg GAE/g değeriyle etil asetat ekstraktına, en düşük içeriğin 15.34 mg GAE/g değeriyle metanol ekstraktına ait olduğu gözlenmiştir. Sokslet (SOX) metodu için en yüksek fenolik içerik 24.87 mg GAE/g değeriyle etil asetat ekstraktına, en düşük içeriğin 19.58 mg GAE/g değeriyle metanol ekstraktına ait olduğu gözlenmiştir. Homojenizatör destekli ekstraksiyon (HAE) metodu için en yüksek fenolik içerik 24.66 mg GAE/g değeriyle metanol ekstraktına, en düşük içeriğin 19.86 mg GAE/g değeriyle su ekstraktına ait olduğu gözlenmiştir. ultrasonik destekli ekstraksiyon (UAE) metodu için en yüksek fenolik içerik 20.51 mg GAE/g değeriyle etil asetat ekstraktına, en düşük içeriğin 14.25 mg GAE/g değeriyle metanol ekstraktına ait olduğu gözlenmiştir.

Kullanılan ekstraksiyon metotları kendi içlerinde incelendiğinde genel olarak HAE kullanılarak elde edilen ekstraktların diğerlerine kıyasla daha yüksek seviyelere sahip oldukları söylenebilir. Bu durum homojenizatör etkisi ile bitki hücre duvarının daha etkin bir şekilde ortadan kaldırılıp çözücünün daha etkili bir şekilde bitki hücresi içine nüfuz etmesi ile açıklanabilir (Xia ve ark., 2017).

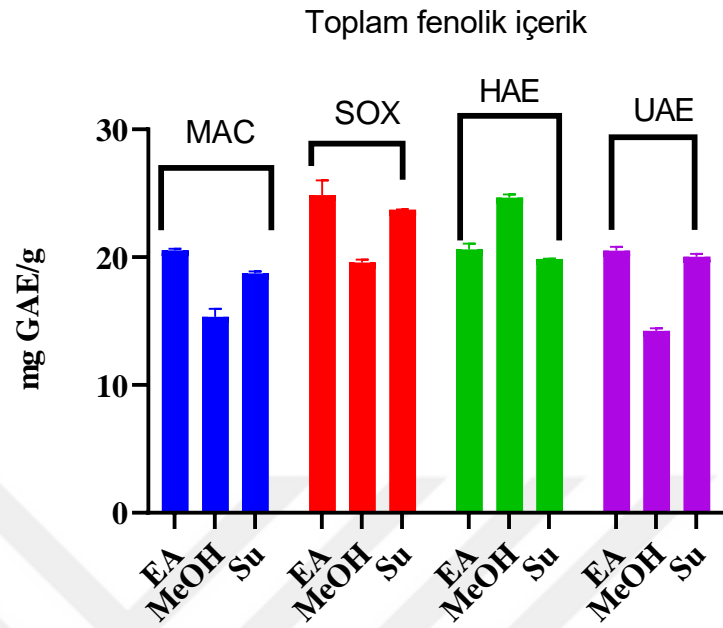
*A. fasciculiflora* bitkisinin total flavonoid içeriği rutin (RE) eşdeğer olarak verilmiştir. Sonuçlara göre toplam flavonoid içeriğin 1.68-25.26 mg RE/g değerleri arasında değiştiği gözlenmiştir. Ekstraksiyon metotları kendi aralarında karşılaştırıldığında MAC metodunda en yüksek flavonoid içerik 4.43 mg RE/g değeriyle su ekstraktına, en düşük içeriğin 1.99 mg RE/g değeriyle etil asetat ekstraktına ait olduğu gözlenmiştir. SOX metodu için en yüksek flavonoid içerik 25.26 mg RE/g değeriyle metanol ekstraktına, en düşük içeriğin 2.13 mg RE/g değeriyle etil asetat ekstraktına ait olduğu gözlenmiştir. HAE metodu için en yüksek flavonoid içerik 20.98 RE/g değeriyle metanol ekstraktına, en düşük içeriğin 1.68 mg RE/g değeriyle etil asetat ekstraktına ait olduğu gözlenmiştir. UAE metodu için en yüksek flavonoid içerik 18.47 mg RE/g değeriyle metanol ekstraktına, en düşük içeriğin 2.44 mg RE/g değeriyle etil asetat ekstraktına ait olduğu gözlenmiştir.

Sonuçlara göre metotlar arasında kullanılan çözücüler karşılaştırıldığında SOX, HAE ve UAE tekniklerinde metanol ekstraktlarının içerik bakımından daha yüksek değerlere sahip oldukları gözlenmiştir. Benzer şekilde yapılan bir çalışmada metanol ekstraktının flavonoidler için yüksek içeriğe sahip olduğu rapor etmiştir (Hapsari ve ark., 2022). Aynı solventler esas alınarak metotlar karşılaştırıldığında SOX, HAE ve UAE metotlarının MAC kıyasla daha yüksek toplam flavonoid içeriğe sahip olduğu belirlendi. Bu bulgular çalışılan bitki örneğinden flavonoid ekstraksiyonu için yüksek enerjiye ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir. Isı, ultrasonik ses dalgaları veya güçlü bir parçalayıcı kullanılarak flavonoid ekstraksiyonu için yüksek seviyelere ulaşılabileceği sonucuna ulaşılabilir. Literatür taraması yapıldığında, bulgularımızı destekler nitelikte, flavonoid ekstraksiyonu için UAE (Vilkhu ve ark., 2008; Oniszcuk ve Podgórski, 2015; Cui ve ark., 2022; Yusoff ve ark., 2022) veya HAE (Sinan ve ark., 2020; de la Luz Cádiz-Gurrea ve ark., 2021) tekniklerinin daha etkili olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir.

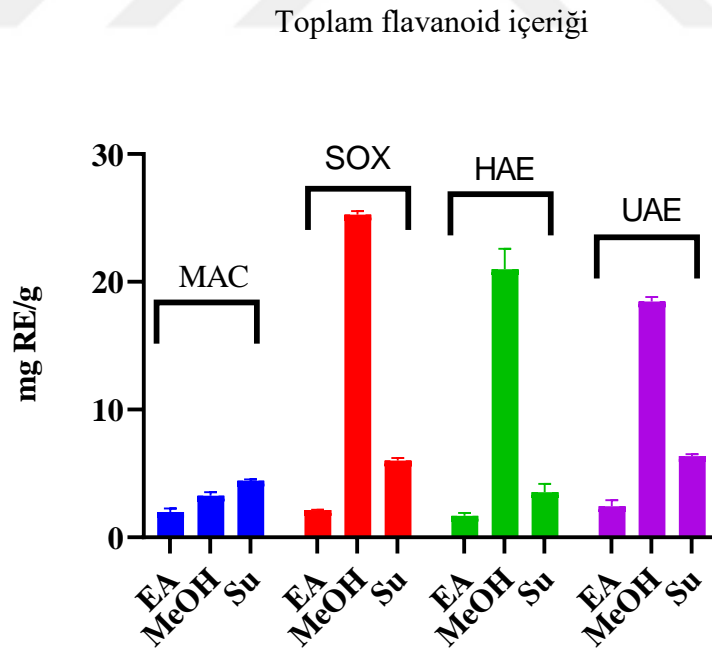
Tablo 4.1. *Alcea fasciculiflora* ekstraktlarının toplam fenolik ve flavonoid içerikleri

Ekstraksiyon Metotları	Çözücü	Toplam Fenolik İçerik (mg GAE/g)	Toplam Flavonoid İçerik (mg RE/g)
MAC	EA	20.53±0.12 <sup>b</sup>	1.99±0.26 <sup>gh</sup>
	MeOH	15.34±0.62 <sup>d</sup>	3.26±0.28 <sup>fgh</sup>
	Su	18.75±0.14 <sup>c</sup>	4.43±0.10 <sup>ef</sup>
SOX	EA	24.87±1.13 <sup>a</sup>	2.13±0.05 <sup>gh</sup>
	MeOH	19.58±0.23 <sup>bc</sup>	25.26±0.28 <sup>a</sup>
	Su	23.70±0.03 <sup>a</sup>	6.02±0.18 <sup>de</sup>
HAE	EA	20.61±0.45 <sup>b</sup>	1.68±0.23 <sup>h</sup>
	MeOH	24.66±0.26 <sup>a</sup>	20.98±1.61 <sup>b</sup>
	Su	19.86±0.02 <sup>bc</sup>	3.55±0.64 <sup>fg</sup>
UAE	EA	20.51±0.29 <sup>b</sup>	2.44±0.48 <sup>gh</sup>
	MeOH	14.25±0.19 <sup>d</sup>	18.47±0.35 <sup>c</sup>
	Su	20.04±0.21 <sup>b</sup>	6.37±0.14 <sup>d</sup>

\* Ortalama±Standart Sapma (n=3). GAE: Gallik asit eşdeğeri; RE: Rutin eşdeğeri; ; MAC: Maserasyon; SOX: Sokslet; HAE: Homojenizatör destekli ekstraksiyon; UAE: Ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon. Aynı sütündeki farklı harfler bitkinin farklı metot ve çözücü kullanılarak elde edilen ekstraktlar arasındaki farkı gösterir.



Şekil 4.1. Çalışılan ekstraktların toplam fenolik içeriklerinin karşılaştırılması



Şekil 4.2. Çalışılan ekstraktların toplam flavanoid içeriklerinin karşılaştırılması

Yapılan literatür taraması sonucunda, *A. fasciculiflora* bitkisinin fenolik ve flavonoid içerikleri hakkında sınırlı bilgi bulunmakla birlikte, farklı *Alcea* cinslerinde biyolojik aktivitenin belirlenmesine yönelik literatürde çalışmalar mevcuttur. Örneğin, Abudayyak ve ark. (2022)'nin *A. calvertii* ile yapmış oldukları çalışmada toplam fenolik içeriği (TPC) metanol, su, etil asetat ve kloroform ekstraktlarında belirlenmiştir. Analizler sonucunda metanol ekstraktı (82.92 mg GAE  $\mu$ g/g ) diğer ekstraktlara göre daha yüksek içeriğe sahipken, etil asetat ekstraktı (62.50 mg GAE  $\mu$ g/g) daha düşük içerik değerine sahiptir. Mevcut çalışmamızda da HAE metoduyla elde edilen ekstraktlardan metanol ekstraktı 24.66 mg GAE/g değeriyle en yüksek toplam fenolik seviyesine sahiptir. Taşkin ve ark. (2022), *A. dissecta*'nın MAC ve SOX metotlarıyla farklı çözücülerden elde edilen ekstraktların toplam fenolik ve flavonoid içeriklerini incelemişlerdir. Aynı solventler esas alınarak değerlendirildiğinde MAC metodunun daha iyi fenolik içeriğe sahip olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda ise, SOX metodu MAC ile elde edilen ekstraktlardan daha yüksek fenolik içeriğe sahiptir. Llorent-Martínez ve ark. (2020) 'nın yaptıkları çalışmada farklı metot ve çözücü kullanarak TPC ve TFC değerleri belirlenmiştir. Elde ettikleri sonuçlara göre total fenolik ve flavonoid içerik için HAE ve SOX ekstraktlarında yüksek içerik değerleri gözlenmiştir. Bununla birlikte HAE ve UAE metotları için her iki test metodunun içeriklerin de metanol ekstraktları, su ekstraktlarına kıyasla daha yüksek içeriğe sahiptir.

#### 4.2 *Alcea fasciculiflora* ekstraktlarının DPPH ve ABTS radikal süpürme aktivitesinin belirlenmesi

Tez çalışması kapsamında incelenen *A. fasciculiflora* bitkisinden elde edilen ekstraktların antioksidan kapasitelerinin değerlendirilmesi için DPPH ve ABTS radikal süpürme aktiviteleri uygulandı ve sonuçlar Tablo 4.2 'de rapor edildi. Elde edilen sonuçlar trolox (TE) eşdeğer olarak verilmiştir. DPPH süpürme aktivitesi 2.63 – 35.33 mg TE/g aralığında dağılım göstermiştir. MAC metodu için en yüksek DPPH aktivitesinin 17.65 mg TE/g değeriyle su ekstraktına, en düşük aktivitenin 4.86 mg TE/g değeriyle etil asetat ekstraktına ait olduğu belirlenmiştir. SOX metodu için ise en etkili DPPH süpürme aktivitesinin 35.33 mg TE/g değeriyle su ekstraktına, en düşük aktivitenin 3.37 mg TE/g değeriyle etil asetat ekstraktında olduğu tespit edilmiştir. HAE metodu için en yüksek DPPH süpürme aktivitesinin 20.54 mg TE/g değeriyle su ekstraktına, etil asetat ekstraktının ise 2.63 mg TE/g değeriyle en zayıf etkinliği sergilediği belirlenmiştir. UAE metodu için en yüksek DPPH süpürme aktivitesinin 26.80 mg TE/g değeriyle su ekstraktına, en düşük aktivitenin ise 2.66 mg TE/g değeriyle etil asetat ekstraktına ait olduğu gözlenmiştir.

*A. fasciculiflora* ekstraktlarının ABTS radikal süpürme aktivitesi 13.46 - 76.27 mg TE/g değer aralığında değişim göstermiştir. Test edilen ekstraksiyon metotlarının tümünde en etkili ekstraktlar olarak su ekstraktları, en zayıf etkinliğin ise etil asetat ekstraktlarında olduğu gözlenmiştir. Su özütleri arasında en yüksek aktivite 76.27 mg TE/g ile HAE'da, en düşük etkinliğin ise 54.18 mg TE/g ile MAC'da olduğu tespit edilmiştir.

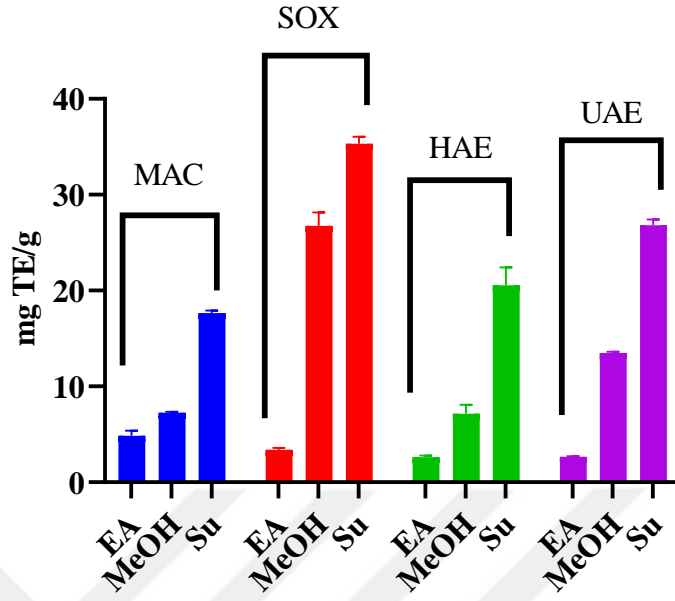
Aynı solventler esas alınarak metotlar karşılaştırıldığında DPPH ve ABTS radikal süpürme aktivitesi için SOX metodu kullanılarak elde edilen ekstraktların sırasıyla UAE, MAC ve HAE teknikleriyle elde edilen ekstraktlardan daha yüksek aktiviteye sahip oldukları belirlendi. Bu sonuçlar DPPH ve ABTS radikal süpürme yetenekleri arasında bir korelasyonun olduğunu göstermektedir.

Tablo 4.2. *Alcea fasciculiflora* ekstraktlarının DPPH ve ABTS radikal süpürme aktivitesi

Ekstraksiyon Metotları	Çözücü	DPPH (mg TE/g)	ABTS (mg TE/g)
MAC	EA	4.86±0.51 <sup>gh</sup>	21.40±1.79 <sup>g</sup>
	MeOH	7.26±0.09 <sup>f</sup>	31.26±0.44 <sup>e</sup>
	Su	17.65±0.28 <sup>d</sup>	54.18±1.03 <sup>d</sup>
SOX	EA	3.37±0.20 <sup>h</sup>	24.84±0.37 <sup>f</sup>
	MeOH	26.75±1.40 <sup>b</sup>	58.19±1.71 <sup>c</sup>
	Su	35.33±0.71 <sup>a</sup>	76.27±1.13 <sup>a</sup>
HAE	EA	2.63±0.16 <sup>h</sup>	14.45±0.76 <sup>h</sup>
	MeOH	7.15±0.92 <sup>fg</sup>	23.21±0.80 <sup>fg</sup>
	Su	20.54±1.87 <sup>c</sup>	64.02±0.85 <sup>b</sup>
UAE	EA	2.66±0.07 <sup>h</sup>	13.46±0.65 <sup>h</sup>
	MeOH	13.49±0.15 <sup>e</sup>	33.15±0.45 <sup>e</sup>
	Su	26.80±0.61 <sup>b</sup>	58.70±1.05 <sup>c</sup>

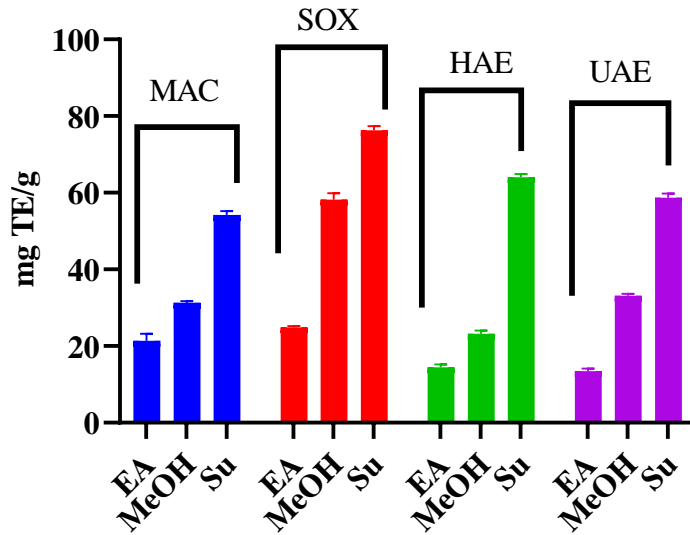
\* Ortalama±Standart Sapma (n=3). TE: Trolox eşdeğeri; MAC: Maserasyon; SOX: Sokslet; HAE: Homojenizatör destekli ekstraksiyon; UAE: Ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon. Aynı sütundaki farklı harfler bitkinin farklı metot ve çözücü kullanılarak elde edilen ekstraktlar arasındaki farkı gösterir.

## DPPH süpürme



Şekil 4.3. Çalışılan ekstraktların DPPH süpürme yeteneklerinin karşılaştırılması

## ABTS süpürme



Şekil 4.4. Çalışılan ekstraktların ABTS süpürme yeteneklerinin karşılaştırılması

Yapılan literatür taraması sonucunda, *A. fasciculiflora* bitkisinin DPPH - ABTS radikal süpürme aktiviteleri hakkında bilgi bulunmamakla birlikte, farklı *Alcea* türlerinin serbest radikal süpürme etkinliği üzerine bazı literatürler mevcuttur. Örneğin Anlas ve ark. (2017), *A. apterocarpa*'yı dört farklı teknik (sokslet, maserasyon, infüzyon ve dekoksasyon) ve iki solvent (ethanol ve hekzan) kullanarak antioksidant kapasitelerini değerlendirmişlerdir. DPPH radikal süpürme aktivitesi değerlendirildiğinde infüzyon ve dekoksasyon şeklinde su ekstraktları ile SOX metodunda etanol ekstraktının yüksek aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda da benzer şekilde su ekstraktlarının güçlü radikal süpürme potansiyellerine sahip oldukları gözlenmiştir. *A. kurdica*'nın su ekstraktı ile yapılan çalışmada DPPH serbest radikal süpürme yeteneği incelendiğinde %69.4 şeklinde belirlenmiştir (Qader ve Awad, 2014). Benzer şekilde Keser ve ark. (2020)'nın *A. calvertii* ile yaptıkları çalışmada çiçeklerden elde edilen su, etanol, metanol ve aseton ekstraktlarının potansiyelleri araştırılmış ve ABTS ile DPPH testlerinde su ekstraktları metanol ekstraktlarına göre daha yüksek aktivite sergilemiştir. Taşkin ve ark. (2022), *A. dissecta* türü ile MAC ve SOX metotları kullanılarak farklı çözücülerden elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitelerini rapor etmişler. Yapılan çalışmada etanol/su özütlelerinin en güçlü DPPH ve ABTS süpürme etkinliğine sahip oldukları belirlemişler ve genel olarak SOX ekstraktlarının MAC'a kıyasla daha yüksek etkinlik sergiledikleri rapor edilmiştir.

### 4.3. *Alcea fasciculiflora* ekstraktlarının CUPRAC ve FRAP testlerinde indirgeme gücünün belirlenmesi

Bu tez çalışması kapsamında incelenen *A. fasciculiflora* ekstraktlarının CUPRAC ve FRAP testleri ile indirme güçleri belirlendi ve sonuçlar Tablo 4.3 'de rapor edildi. Sonuçlara göre CUPRAC testindeki indirgeme gücünün 13.46 - 76.27 mg TE/g arasında değiştiği gözlemlendi. Ekstraksiyon metotları kendi aralarında karşılaştırıldığında, MAC metodu için en yüksek CUPRAC indirgeme gücü aktivitesinin 72.89 mg TE/g değeriyle metanol ekstraktına, en düşük indirgeme gücü aktivitesinin 42.26 mg TE/g değeriyle su ekstraktına ait olduğu gözlemlenmiştir. SOX metodu için ise indirgeme gücü aktivitesi 64.13 mg TE/g değerleriyle etil asetat ve su ekstraktlarında tespit edilmiştir. HAE metodu için en yüksek indirgeme gücü aktivitesinin 78.32 mg TE/g değeriyle metanol ekstraktına, en düşük aktivitenin 49.12 mg TE/g değeriyle su ekstraktına ait olduğu belirlenmiştir. UAE metodu için en güçlü indirgeme gücü aktivitesinin 64.22 mg TE/g değeriyle etil asetat ekstraktına, en düşük 40.38 mg TE/g değeriyle metanol ekstraktına ait olduğu gözlemlenmiştir.

Aynı solventler esas alınarak metotlar karşılaştırıldığında HAE tekniği ile elde edilen ekstraktların sırasıyla MAC, SOX ve UAE tekniklerine kıyasla daha yüksek CUPRAC indirgeme gücü yeteneğine sahip olduğu gözlemlenmiştir. Sonuçlarımızı destekler nitelikte yapılan birçok çalışmada HAE tekniği (Dall'Acqua ve ark., 2020; Zhang ve ark., 2021b) ile elde edilen ekstraktlar diğer tekniklerine kıyasla daha yüksek CUPRAC indirgeme gücü yeteneğine sahip olduğu gözlemlenmiştir. Bu bağlamda en yüksek indirgeme gücü yeteneğinin HAE metanol ekstraktında 78.32 mg TE/g değeriyle gözlemlenmesi, ekstraktların total fenolik içeriği ile uyum göstermiş ve fenolik bileşiklerin belirli seviyelerde elektron verme kapasitelerinden kaynaklandığı gözlemlenmiştir.

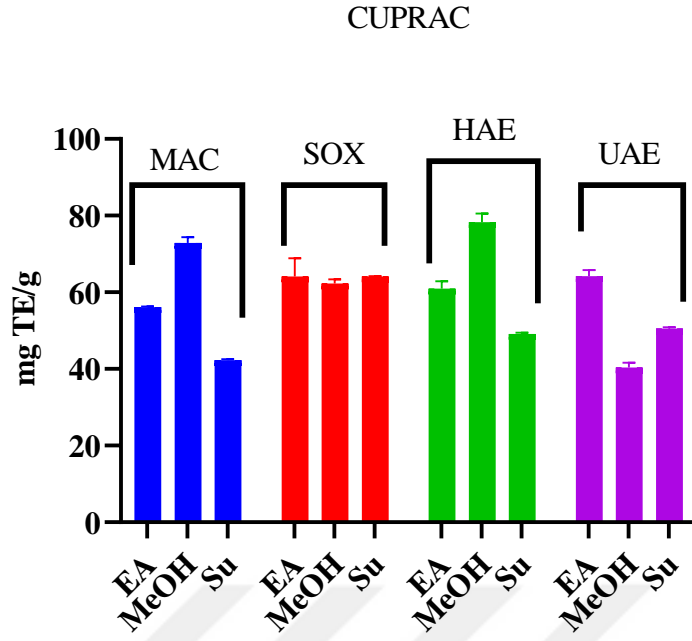
Sonuçlara göre FRAP indirgeme gücünün 19.53-42.58 mg TE/g değer aralığında aktivite sergilediği gözlemlendi. Ekstraksiyon metotları kendi aralarında karşılaştırıldığında MAC metodu için en yüksek FRAP indirgeme gücü aktivitesinin 28.21 mg TE/g değeriyle su ekstraktına, en düşük 19.53 mg TE/g değeriyle etil asetat ekstraktına ait olduğu tespit edilmiştir. SOX metodu için en yüksek FRAP indirgeme gücü aktivitesinin 42.58 mg TE/g değeriyle su ekstraktında, en düşük 23.75 mg TE/g değeriyle etil asetat ekstraktında belirlenmiştir. HAE metodu için en yüksek FRAP indirgeme gücü aktivitesinin 31.52 mg TE/g değeriyle su ekstraktına, en düşük 17.51 mg TE/g değeriyle metanol ekstraktına ait olduğu gözlemlenmiştir. UAE metodu için en yüksek FRAP indirgeme gücü aktivitesinin 35.09 mg TE/g değeriyle su ekstraktına, en düşük 22.77 mg TE/g değeriyle metanol ekstraktına ait olduğu gözlemlenmiştir.

Aynı solventlerin metotlar arasındaki etkisi incelendiğinde SOX ve UAE metotları ile elde edilen ekstraktların MAC ve HAE metotlarına kıyasla daha yüksek FRAP indirme gücüne sahip olduğu gözlemlenmiştir. Sonuçlarımızı destekler nitelikte yapılan bir çalışmada SOX (Zheleva-Dimitrova ve ark., 2020) tekniği ile elde edilen ekstraktların daha yüksek indirme gücüne sahip olduğu gözlemlenmiştir.

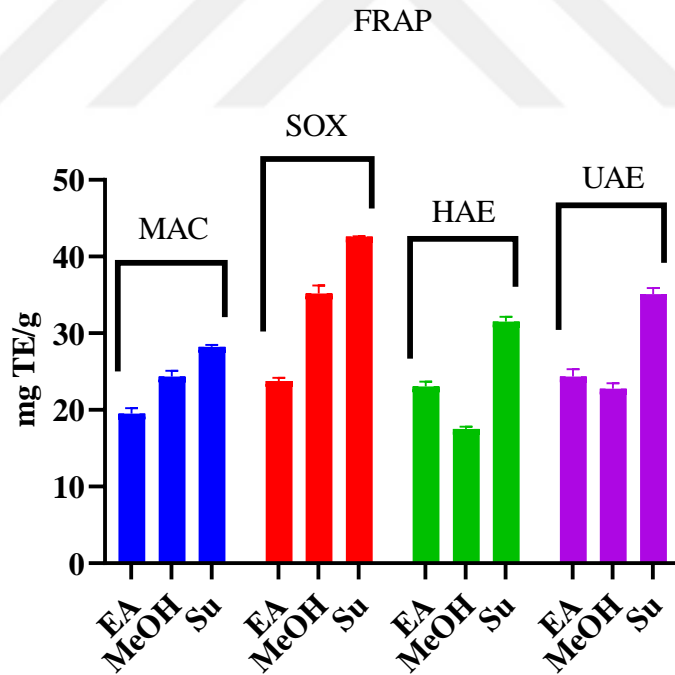
Tablo 4.3. *Alcea fasciculiflora* ekstraktlarının FRAP ve CUPRAC testlerinde indirgeme gücü

Ekstraksiyon Metot	Çözücü	CUPRAC (mg TE/g)	FRAP (mg TE/g)
MAC	EA	56.11±0.21 <sup>d</sup>	19.53±0.70 <sup>f</sup>
	MeOH	72.89±1.50 <sup>b</sup>	24.35±0.77 <sup>e</sup>
	Su	42.26±0.30 <sup>f</sup>	28.21±0.26 <sup>d</sup>
SOX	EA	64.13±4.74 <sup>c</sup>	23.75±0.46 <sup>e</sup>
	MeOH	62.26±1.12 <sup>c</sup>	35.20±1.03 <sup>b</sup>
	Su	64.13±0.10 <sup>c</sup>	42.58±0.07 <sup>a</sup>
HAE	EA	61.00±1.87 <sup>cd</sup>	23.06±0.62 <sup>e</sup>
	MeOH	78.32±2.26 <sup>a</sup>	17.51±0.29 <sup>g</sup>
	Su	49.12±0.33 <sup>e</sup>	31.52±0.63 <sup>c</sup>
UAE	EA	64.22±1.58 <sup>c</sup>	24.37±0.93 <sup>e</sup>
	MeOH	40.38±1.25 <sup>f</sup>	22.77±0.72 <sup>e</sup>
	Su	50.55±0.36 <sup>e</sup>	35.09±0.80 <sup>b</sup>

\* Ortalama±Standart Sapma (n=3). TE: Trolox eşdeğeri; MAC: Maserasyon; SOX: Sokslet; HAE: Homojenizatör destekli ekstraksiyon; UAE: Ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon. Aynı sütundaki farklı harfler bitkinin farklı metot ve çözücü kullanılarak elde edilen ekstraktlar arasındaki farkı gösterir.



Şekil 4.5. Çalışılan ekstraktların CUPRAC testinde bakır indirgeme yeteneklerinin karşılaştırılması



Şekil 4.6. Çalışılan ekstraktların FRAP testinde demir indirgeme yeteneklerinin karşılaştırılması

Kullanılan teknikler ve çözücüler birlikte değerlendirildiğinde en güçlü etkinlik CUPRAC testinde HAE metanol ekstratında belirlenmiştir. Solventlerin metotlar üzerinde etkisi değerlendirildiğinde, MAC ve HAE metotlarında metanol ekstraktları en yüksek indirgeme gücü yeteneğine sahipken su ekstraktlarında ise en düşük indirgeme gücü yeteneğine sahip oldukları gözlenmiştir. SOX metodunda etil asetat, su ve metanol ekstraktlarının benzer indirgeme gücü yetenekleri sergiledikleri tespit edilmiştir. UAE metodunda etil asetat ekstraktı en yüksek indirgeme gücü yeteneğine sahipken metanol ekstraktı düşük indirgeme gücü yeteneğine sahiptir.

FRAP indirgeme gücü yeteneği için en güçlü etkinlik 42.58 mg TE/g değeriyle SOX su ekstraktında belirlenmiştir. Solventlerin metotlar üzerinde etkisi değerlendirildiğinde, MAC ve SOX metotlarında su ekstraktları en yüksek indirgeme gücü yeteneğine sahipken etil asetat ekstraktları en düşük indirgeme gücü yeteneğine sahiptir. HAE metodunda su ekstraktı en güçlü indirgeme gücü yeteneğine sergilerken metanol ekstraktı zayıf indirgeme gücü yeteneği sergilemiştir. Su ekstraktı UAE metodunda en güçlü indirgeme gücü yeteneğine sahipken etil asetat ve metanol ekstraktları zayıf indirgeme gücü yeteneğine sahip oldukları gözlemlendi.

Yapılan literatür taraması sonucunda, *A. fasciculiflora* CUPRAC ve FRAP indirgeme gücü yetenekleri hakkında çalışma bulunmamakla birlikte, farklı *Alcea* türleri ile yapılan CUPRAC ve FRAP radikal indirgeme gücü yetenekleri mevcuttur. Örneğin Abudayyak ve ark. (2022)'nin *A. calvertii* ile yapmış oldukları çalışmada metanol, su, etil asetat ve kloroform özütlerini test etmiştir. Elde edilen sonuçlara göre *A. calvertii*'nin en yüksek CUPRAC ve FRAP indirgeme gücü yeteneği metanol ekstraktlarında rapor edilmiştir.

#### **4.4. *Alcea fasciculiflora* ekstraktlarının toplam antioksidan kapasiteleri**

Tez çalışması kapsamında incelenen *A. fasciculiflora* ekstraktlarının toplam antioksidan kapasiteleri fosfomolibdat testi ile belirlendi ve sonuçlar Tablo 4.4'de rapor edildi. Sonuçlara göre toplam antioksidan kapasitenin 0.90 - 2.12 mmol TE/g değer aralığında değiştiği gözlemlendi. MAC metodu için en yüksek total antioksidan kapasitenin 1.88 mmol TE/g değeriyle etil asetat ekstraktına, en düşük aktivitenin ise 1.07 değeriyle su ekstraktına ait olduğu gözlemlenmiştir. SOX metodu için en yüksek total antioksidan kapasite 1.98 mmol TE/g değeriyle etil asetat ekstraktında, en düşük aktivitenin ise 0.96 mmol TE/g değeriyle su ekstraktında olduğu tespit edilmiştir. HAE metodu için ise en yüksek total antioksidan kapasite 2.07 mmol TE/g ile etil asetat ekstraktında, 0.90 mmol TE/g ile en düşük aktivite etil asetat ekstraktında belirlenmiştir. UAE metodu için ise en yüksek total antioksidan kapasitenin 2.12 mmol TE/g değeriyle etil asetat, en düşük aktivite ise 1.03 mmol TE/g değeriyle su ekstraktında tespit edilmiştir. Bu bağlamda her bir ekstraksiyon metodunda etil asetat ekstraktlarının daha yüksek total antioksidan kapasiteye sahip oldukları gözlemlenmiştir.

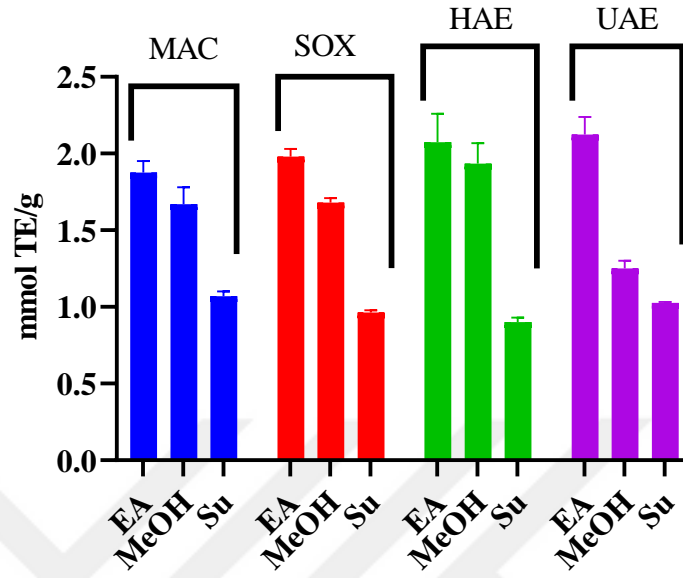
Ekstraksiyon metotları arasında bir değerlendirme yapıldığında, HAE ve UAE metotlarına ait çözücülerin daha yüksek toplam antioksidan kapasiteye sahip olduğu tespit edildi. Fosfomolibdat testi toplam antioksidan kapasite testi olup fenolikler dışında diğer antioksidan bileşiklerde bu test sisteminde etkili olabilir. Bu nedenle literatürde bu test sistemi ile toplam fenolik içerik arasında zayıf korelasyon değerleri gözlemlenebilir (Elfalleh ve ark., 2019).

Tablo 4.4. *Alcea fasciculiflora* ekstraktlarının toplam antioksidan kapasitesi

Ekstraksiyon Metot	Çözücü	Fosfomolibdat (mmol TE/g)
MAC	EA	1.88±0.08 <sup>abc</sup>
	MeOH	1.67±0.11 <sup>c</sup>
	Su	1.07±0.03 <sup>de</sup>
SOX	EA	1.98±0.05 <sup>a</sup>
	MeOH	1.68±0.03 <sup>bc</sup>
	Su	0.96±0.02 <sup>e</sup>
HAE	EA	2.07±0.18 <sup>a</sup>
	MeOH	1.93±0.13 <sup>ab</sup>
	Su	0.90±0.03 <sup>e</sup>
UAE	EA	2.12±0.12 <sup>a</sup>
	MeOH	1.25±0.05 <sup>d</sup>
	Su	1.03±0.01 <sup>de</sup>

\* Ortalama±Standart Sapma (n=3). TE: Trolox eşdeğeri; MAC: Maserasyon; SOX: Sokslet; HAE: Homojenizatör destekli ekstraksiyon; UAE: Ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon. Aynı sütundaki farklı harfler bitkinin farklı metot ve çözücü kullanılarak elde edilen ekstraktlar arasındaki farkı gösterir.

## Fosfomolibdat



Şekil 4.7. Çalışılan ekstraktların fosfomolibdat testinde toplam antioksidan yeteneklerinin karşılaştırılması

Fosfomolibdat testi sonuçlarına göre her bir ekstraksiyon metodunda kullanılan solvente bağlı olarak aktivitenin değiştiği gözlenmiştir. Bu bağlamda kullanılan metotlar ve çözücüler birlikte değerlendirildiğinde 1.98 mmol TE/g değeriyle SOX etil asetat, 2.07 mmol TE/g değeriyle HAE etil asetat ve 2.12 mmol TE/g değeriyle UAE etil asetat ekstraktlarında en yüksek değerler tespit edilmiştir. Tüm metotlarda etil asetat ekstraktlarının en yüksek aktiviteye, su ekstraktlarının ise en düşük aktiviteye sahip oldukları gözlenmiştir.

#### 4.5. *Alcea fasciculiflora* ekstraktlarının metal şelatlama aktivitesi

*A. fasciculiflora*'dan elde edilen ekstraktların metal şelatlama aktivitesi belirlendi ve sonuçlar Tablo 4.5' de rapor edildi. Sonuçlara göre metal şelatlama aktivitesinin 18.28 - 46.71 mg EDTAE/g değer aralığında değiştiği gözlemlendi. MAC metodu için en yüksek metal şelatlama aktivitesinin 33.54 mg EDTAE/g değeriyle su ekstraktına, en düşük aktivitenin 18.28 mg EDTAE/g değeriyle etil asetat ekstraktına ait olduğu gözlemlenmiştir. SOX metodu için ise en yüksek metal şelatlama aktivitesinin 45.67 mg EDTAE/g değeriyle su ekstraktında, en düşük aktivitenin 29.09 mg EDTAE/g değeriyle metanol ekstraktında olduğu belirlenmiştir. HAE metodu için en yüksek metal şelatlama aktivitesinin 46.71 mg EDTAE/g değeriyle su ekstraktında, en düşük aktivitenin 19.97 mg EDTAE/g değeriyle etil asetat ekstraktında olduğu tespit edilmiştir. UAE metodu için en yüksek metal şelatlama aktivitesinin  $40.76 \pm 0.25$  mg EDTAE/g değeriyle su ekstraktına, en düşük aktivitenin  $20.74 \pm 1.25$  mg EDTAE/g değeriyle metanol ekstraktına ait olduğu gözlemlenmiştir.

Aynı solventler esas alınarak karşılaştırma yapıldığında SOX ve HAE metotlarının genel olarak daha yüksek metal şelatlama aktivitesine sahip olduğu gözlemlendi. Sonuçlarımızı destekler nitelikte yapılan birçok çalışmada SOX (Ak ve ark., 2020; Zheleva-Dimitrova ve ark., 2020) tekniği ile elde edilen ekstraktlar daha yüksek metal şelatlama aktivitesine sahipti.

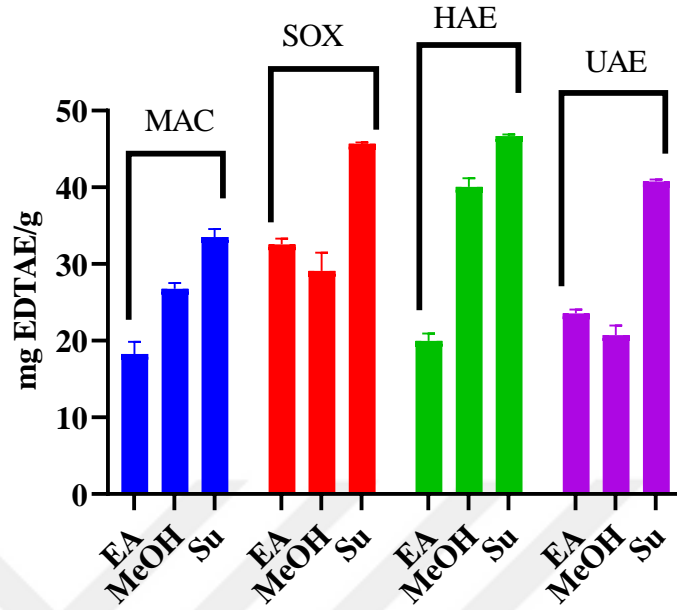
Sonuçlara göre metal şelatlama yeteneği, fenolik bileşiklerden kaynaklanabileceği gibi fenolik olmayan şelatörlerin (peptitler, polisakkaritler) varlığı da ekstraktların şelatlama aktivitelerine katkıda bulunabilir (Grochowski ve ark., 2017; Zengin ve ark., 2019).

**Tablo 4.5.** *Alcea fasciculiflora* ekstraktlarının metal şelatlama aktivitesi

Ekstraksiyon Metot	Çözücü	Metal şelatlama (mg EDTAE/g)
MAC	EA	18.28±1.57 <sup>g</sup>
	MeOH	26.78±0.74 <sup>de</sup>
	Su	33.54±1.04 <sup>c</sup>
SOX	EA	32.54±0.77 <sup>c</sup>
	MeOH	29.09±2.39 <sup>d</sup>
	Su	45.67±0.17 <sup>a</sup>
HAE	EA	19.97±0.97 <sup>g</sup>
	MeOH	40.05±1.12 <sup>b</sup>
	Su	46.71±0.20 <sup>a</sup>
UAE	EA	23.56±0.51 <sup>ef</sup>
	MeOH	20.74±1.25 <sup>fg</sup>
	Su	40.76±0.25 <sup>b</sup>

\* Ortalama±Standart Sapma (n=3). EDTAE: EDTA eşdeğeri; MAC: Maserasyon; SOX: Sokslet; HAE: Homojenizatör destekli ekstraksiyon; UAE: Ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon. Aynı sütundaki farklı harfler bitkinin farklı metot ve çözücü kullanılarak elde edilen ekstraktlar arasındaki farkı gösterir.

## Metal şelatlama



Şekil 4.8. Çalışılan ekstraktların metal şelatlama yeteneklerinin karşılaştırılması

Sonuçlara göre her bir ekstraksiyon metodunda kullanılan solvente bağlı olarak metal şelatlama yeteneğinin değiştiği gözlenmiştir. Bu bağlamda kullanılan metotlar ve çözücüler birlikte değerlendirildiğinde 45.67 mg EDTAE/g değeriyle SOX su ekstraktı ve 46.71 mg EDTAE/g değeriyle HAE su ekstraktında yüksek şelatlama aktivitesi gözlenmiştir.

#### 4.6. *Alcea fasciculiflora* ekstraktlarının AChE ve BChE İnhibisyonu

*A. fasciculiflora*'dan elde edilen ekstraktların fitokimyasal değerlendirmeleri için AChE, BChE enzim inhibisyonları belirlendi ve sonuçlar Tablo 4.6.'da verildi. Sonuçlara göre AChE enzim inhibisyon yeteneği 0.17 - 2.80 mg GALAE/g değer aralığında değiştiği gözlemlendi. Tüm ekstraksiyon tekniklerinde en yüksek AChE inhibisyon yeteneği etil asetat ekstraktlarında belirlenirken en düşük etkinlik su ekstraktlarında belirlenmiştir. Aynı solventler esas alınarak karşılaştırma yapıldığında UAE metodu kullanılarak elde edilen ekstraktların MAC, SOX ve HAE metotlarında elde edilen ekstraktlara kıyasla genel olarak daha yüksek AChE inhibisyon yeteneğine sahip olduğu tespit edildi.

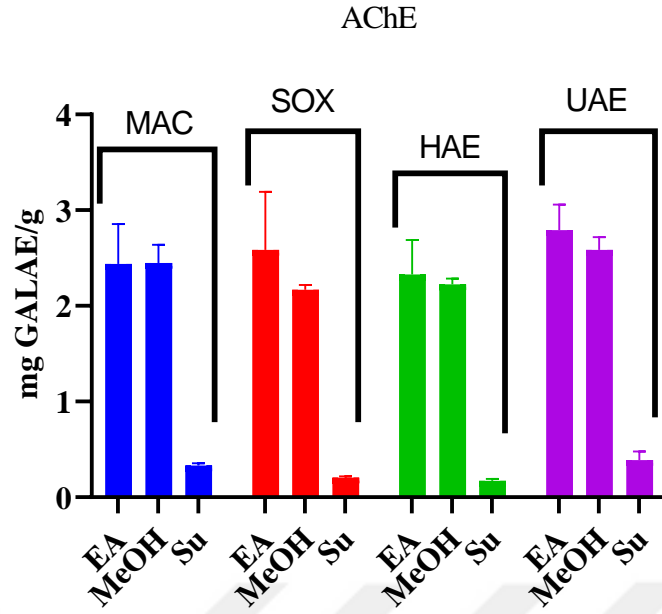
*A. fasciculiflora* bitkisinin BChE enzim inhibisyon yeteneği test edilmiş ve galatamin (GALAE) eşdeğer olarak verilmiştir. Sonuçlara göre BChE enzim inhibisyon yeteneğinin 1.17 - 5.80 mg GALAE/g değer aralığında değiştiği gözlemlendi. En yüksek BChE inhibisyon yetenekleri MAC, HAE ve UAE için metanol, SOX için etil asetat ekstraktlarında belirlenmiştir. Genel olarak su ekstraktlarında düşük BChE inhibisyon yetenekleri gözlemlenmiştir. Aynı solventler esas alınarak karşılaştırıldığında HAE ve MAC metotları ile elde edilen ekstraktların SOX ve UAE metotları ile elde edilen ekstraktlara kıyasla daha iyi enzim inhibisyon etkisine sahip oldukları sonucuna varılmıştır.

AChE, BChE enzim inhibisyon sonuçları ile TPC sonuçları karşılaştırıldığında aralarında çok fazla farklı olduğu görülmektedir. Bunun nedeni ise enzim inhibisyonu ve bu inhibisyonda yer alan fitokimyasalların farklılıklarıyla açıklanabilir ve fitokimyasalların ortaya çıkarılması için kromatografik tekniklere ihtiyaç duyulmaktadır.

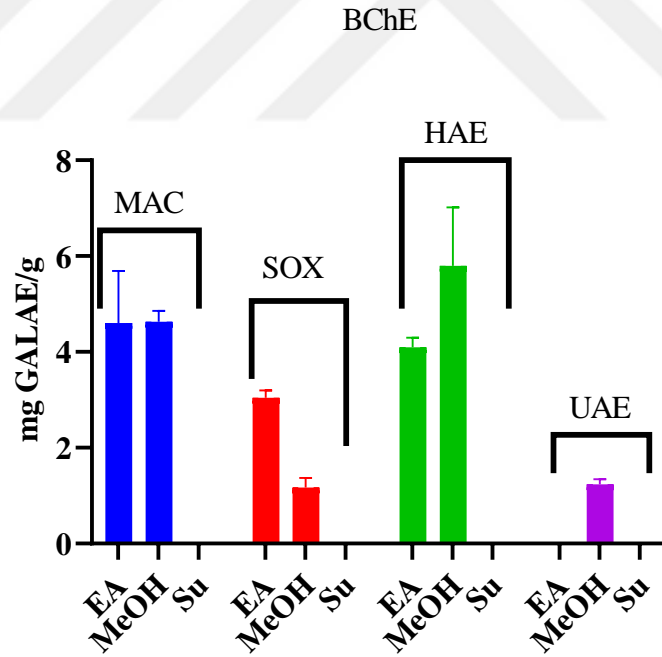
**Tablo 4.6.** *Alcea fasciculiflora* ekstraktlarının AChE ve BChE İnhibisyonu

Ekstraksiyon Metot	Çözücü	AChE (mg GALAE/g)	BChE (mg GALAE/g)
MAC	EA	2.44±0.42 <sup>a</sup>	4.61±1.08 <sup>ab</sup>
	MeOH	2.45±0.19 <sup>a</sup>	4.63±0.23 <sup>ab</sup>
	Su	0.33±0.03 <sup>b</sup>	na
SOX	EA	2.58±0.61 <sup>a</sup>	3.04±0.16 <sup>c</sup>
	MeOH	2.17±0.05 <sup>a</sup>	1.17±0.19 <sup>d</sup>
	Su	0.21±0.01 <sup>b</sup>	na
HAE	EA	2.33±0.36 <sup>a</sup>	4.09±0.20 <sup>bc</sup>
	MeOH	2.23±0.06 <sup>a</sup>	5.80±1.22 <sup>a</sup>
	Su	0.17±0.02 <sup>b</sup>	na
UAE	EA	2.80±0.27 <sup>a</sup>	na
	MeOH	2.58±0.13 <sup>a</sup>	1.23±0.11 <sup>d</sup>
	Su	0.39±0.09 <sup>b</sup>	na

\* Ortalama±Standart Sapma (n=3). GALAE: Galatamine eşdeğeri; MAC: Maserasyon; SOX: Sokslet; HAE: Homojenizatör destekli ekstraksiyon; UAE: Ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon. Aynı sütundaki farklı harfler bitkinin farklı metot ve çözücü kullanılarak elde edilen ekstraktlar arasındaki farkı gösterir.



Şekil 4.9. Çalışılan ekstraktların AChE inhibisyon yeteneklerinin karşılaştırılması



Şekil 4.10. Çalışılan ekstraktların BChE inhibisyon yeteneklerinin karşılaştırılması

Yapılan literatür taraması sonucunda, *A. fasciculiflora* AChE, BChE enzim inhibisyonu üzerine herhangi bir literatür olmamasına rağmen, farklı *Alcea* türleri üzerine yapılan çalışmalar mevcuttur. Örneğin Ertas ve ark. (2016)'nın *A. pallida* ve *A. apterocarpa* ile yaptıkları çalışmada konsantrasyonları farklı solvent ekstraktlarının AChE ve BChE inhibisyon yetenekleri araştırmış ve en yüksek inhibisyon değerlerini aseton ve metanol ekstraktlarında belirlemişlerdir.



#### 4.7. *Alcea fasciculiflora* ekstraktlarının $\alpha$ -amilaz ve $\alpha$ -glukozidaz inhibisyonu

Bu tez çalışması kapsamında incelenen *A. fasciculiflora*'dan elde edilen ekstraktların için  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukosidaz inhibisyon yetenekleri belirlendi ve sonuçlar Tablo 4.7' da rapor edildi. Test edilen ekstraksiyon metotlarında en güçlü amilaz inhibisyonları etil asetat ekstraktlarında belirlenirken su ekstraktları en zayıf aktivitelere sahiptir. Sonuçlara göre  $\alpha$ -glukozidaz inhibisyon yeteneği 0.11-0.76 mmol ACAE/g değer aralığında değiştiği gözlemlendi. Amilaz inhibisyon sonuçlarına benzer şekilde en güçlü glukozidaz inhibisyonları etil asetat ekstraktlarında tespit edildi. Uygulanan tüm ekstraksiyon metotlarında su özütleri zayıf glukozidaz inhibisyon değerlerine sahiptir.

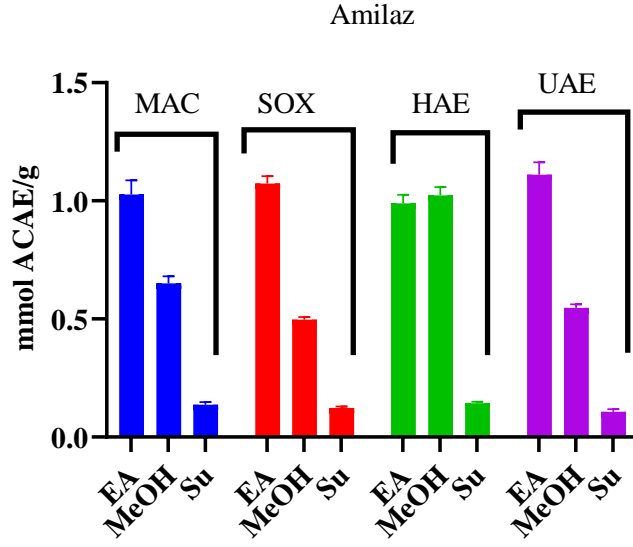
$\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukosidaz, inhibisyonu sonucu elde edilen veriler, antioksidan sonuçlar ile karşılaştırıldığında oldukça farklı olduğu görülmektedir. Bu durum net bir şekilde, antioksidan testlerde rol oynayan fitokimyasallar ile enzim testlerinde etkinlik gösterenlerin farklı olduğunu göstermektedir.

Literatür taraması sonucunda, *Alcea* cinsi üyelerinin  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaz inhibitör etkilerini araştıran daha önce hiçbir araştırma yapılmadığı gözlemlendi. Bu sonuçlar, literatürde ilk bilimsel veri olma özelliği taşıyarak *Alcea* cinsi üyelerinin antidiyabetik formülasyonlar üretme konusunda büyük potansiyele sahip olabileceğine dair kanıt sağlamıştır.

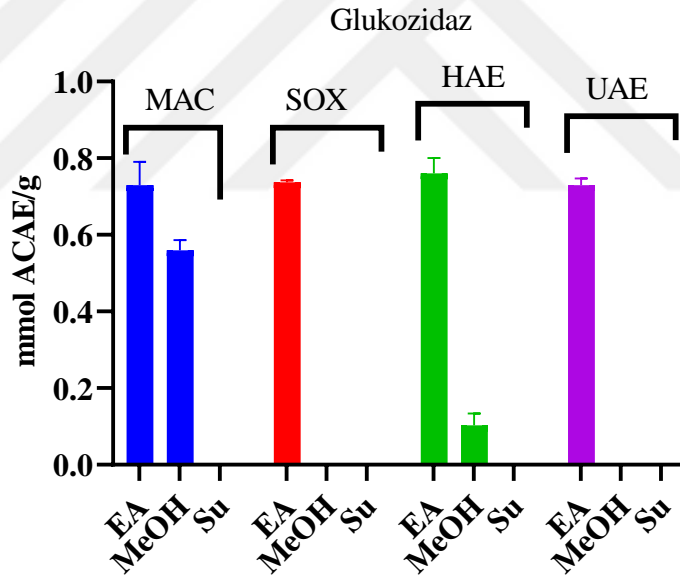
**Tablo 4.7.** *Alcea fasciculiflora* ekstraktlarının  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaz İnhibisyonu

Ekstraksiyon Metot	Çözücü	Amilaz (mmol ACAE/g)	Glukozidaz (mmol ACAE/g)
MAC	EA	1.03±0.06 <sup>ab</sup>	0.73±0.06 <sup>a</sup>
	MeOH	0.65±0.03 <sup>c</sup>	0.56±0.02 <sup>b</sup>
	Su	0.14±0.01 <sup>e</sup>	na
SOX	EA	1.07±0.03 <sup>ab</sup>	0.74±0.01 <sup>a</sup>
	MeOH	0.50±0.01 <sup>d</sup>	na
	Su	0.12±0.01 <sup>e</sup>	na
HAE	EA	0.99±0.03 <sup>b</sup>	0.76±0.04 <sup>a</sup>
	MeOH	1.02±0.04 <sup>ab</sup>	0.11±0.03 <sup>c</sup>
	Su	0.14±0.01 <sup>e</sup>	na
UAE	EA	1.11±0.05 <sup>a</sup>	0.73±0.02 <sup>a</sup>
	MeOH	0.55±0.02 <sup>d</sup>	na
	Su	0.11±0.01 <sup>e</sup>	na

\* Ortalama±Standart Sapma (n=3). ACAE: Akarboz eşdeğeri; MAC: Maserasyon; SOX: Sokslet; HAE: Homojenizatör destekli ekstraksiyon; UAE: Ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon. Aynı sütundaki farklı harfler bitkinin farklı metot ve çözücü kullanılarak elde edilen ekstraktlar arasındaki farkı gösterir.



Şekil 4.11. Çalışılan ekstraktların amilaz inhibisyon yeteneklerinin karşılaştırılması



Şekil 4.12. Çalışılan ekstraktların glukozidaz inhibisyon yeteneklerinin karşılaştırılması

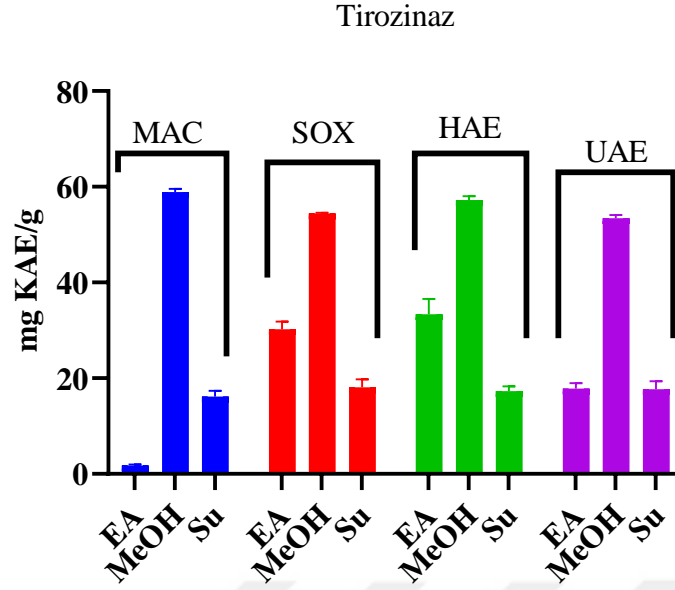
#### **4.8. *Alcea fasciculiflora* ekstraktlarının tirozinaz inhibisyonu**

*A. fasciculiflora* 'dan elde edilen ekstraktların tirozinaz inhibisyonu belirlendi ve sonuçlar Tablo 4.8. da rapor edildi. Sonuçlar kojik asit (KAE) eşdeğer olarak verilmiştir. Sonuçlara göre tirozinaz inhibisyon yeteneği 1.79 - 58.93 mg KAE/g aralığında değiştiği gözlemlendi. MAC dışında diğer ekstraksiyon metodlarında elde edilen özütlemlerin tirozinaz inhibisyon yetenekleri incelendiğinde metanol ve etil asetat ekstraktlarının, su ekstraktlarına kıyasla daha güçlü tirozinaz inhibisyon yeteneklerine sahip oldukları belirlenmiştir. Aynı solventler esas alınarak karşılaştırılma yapıldığında ise HAE metoduyla elde edilen ekstraktların daha etkili tirozinaz inhibisyon yeteneklerine sahip oldukları sonucuna ulaşılmıştır. Bu bağlamda enzim inhibisyon yeteneğinin metanolik ekstraktlarda yüksek aktivite göstermesi TFC sonuçları ile aralarında ki pozitif korelasyondan kaynaklanıyor olabilir.

**Tablo 4.8.** *Alcea fasciculiflora* ekstraktlarının tirozinaz inhibisyonu

Ekstraksiyon Metot	Çözücü	Tirozinaz (mg KAE/g)
MAC	EA	1.79±0.16 <sup>c</sup>
	MeOH	58.93±0.62 <sup>a</sup>
	Su	16.15±1.21 <sup>d</sup>
SOX	EA	30.26±1.59 <sup>c</sup>
	MeOH	54.44±0.15 <sup>b</sup>
	Su	18.12±1.66 <sup>d</sup>
HAE	EA	33.36±3.20 <sup>c</sup>
	MeOH	57.23±0.82 <sup>ab</sup>
	Su	17.28±1.04 <sup>d</sup>
UAE	EA	17.85±1.08 <sup>d</sup>
	MeOH	53.43±0.67 <sup>b</sup>
	Su	17.73±1.65 <sup>d</sup>

\* Ortalama±Standart Sapma (n=3). KAE: Kojik asit eşdeğeri; MAC: Maserasyon; SOX: Sokslet; HAE: Homojenizatör destekli ekstraksiyon; ; UAE: Ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon. Aynı sütundaki farklı harfler bitkinin farklı metot ve çözücü kullanılarak elde edilen ekstraktlar arasındaki farkı gösterir.



Şekil 4.13. Çalışılan ekstraktların tirozinaz inhibisyon yeteneklerinin karşılaştırılması

Literatür taraması sonucunda farklı *Alcea* türleri ile ilgili tirozinaz enzim inhibisyonu üzerine sınırlı veriler bulunmaktadır. Namjoyan ve ark. (2015)'nın yapmış olduğu çalışmada *A. rosea* ekstraktının tirozinaz inhibisyon yeteneği değerlendirilmiş ve  $IC_{50}$ : 0.38 mg/mL olarak bulunmuştur. *A. rosea* çiçeklerinde bu aktivitenin antosiyanin grubu bileşikler kaynaklanabileceği rapor edilmiştir.

## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

### 5.1 Sonuçlar

Bitkiler hem tedavi edici özelliklerinden hem de sentetik tedavi yöntemlerinin olumsuz yan etkilerinden dolayı ilaç endüstrisinde önemlidir. Bunun temel etkeni bitkilerin terapötik aktivitelerinden sorumlu olan biyoaktif bileşiklerin varlığıdır. Biyoaktif bileşikler, biyolojik mekanizmaların düzenlenmesine katkıda bulunan kimyasal bileşenlerdir. Bu bileşikler insan sağlığını iyileştirmede, oksidatif stresin neden olduğu hastalıkların tedavisinde, oksidasyon reaksiyonunu katalize eden enzimlerin aktivitesinin veya metallerle komplekslerin oluşumunun engellenmesi ve metabolik süreçleri modüle etme kapasitesi dahil olmak üzere sağlık üzerine etkili oldukları bilinmektedir. Bu nedenle biyoaktif bileşiklerin eldesi ve buna yönelik çalışmalar gün geçtikçe daha fazla önem kazanmaktadır.

Tez çalışması kapsamında uygulanan antioksidan kapasite ve enzim inhibisyon testlerinin sonuçları açık bir şekilde kullanılan metot ve solvante bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Antioksidan kapasite testlerinde genel olarak metanol ve su ekstraktları yüksek etkinlik gösterirken, enzim inhibisyon testlerinde ise etil asetat ve metanol ekstraktları su ekstraktlarına kıyasla daha etkilidir. Bu noktadan hareketle, *A. fasciculiflora* üzerine yapılacak yeni çalışmalarda solvent ve metot tercihinin önemli bir adımı teşkil ettiği sonucuna varılmıştır.

Literatür taraması sonucu *A. fasciculiflora* 'ya ait fitokimyasal içerik, antioksidan ve enzim inhibisyonlarına dair yeterli veri olmadığı görülmüştür. Bu noktada elde edilen veriler literatürdeki önemli bir boşluğu doldurmuş olup, bu cins üzerine yapılacak yeni çalışmalara ışık tutacak niteliktedir.

## 5.2 Öneriler

Günümüzde insan nüfusundaki artış ve buna bağlı olarak bazı hastalıkların küresel boyuta ulaşan yaygınlıklarından dolayı etkili ve güvenli tedavi stratejilerine olan ihtiyaç her geçen gün artmaktadır. Bu noktada sentetik ilaçlar ilaç endüstrisinde halen ilk sırada olmasına rağmen uzun periyotta bunların kullanımlarında ortaya çıkan yan etkiler kaygılara yol açmaktadır. Bu bağlamda sentetik ilaçların daha etkili ve daha güvenli doğal kaynaklar ile değiştirilmesi son yıllarda bilimsel anlamda en ilgi çekici konuların başında gelmektedir. Bu bilgilerin ışığında Türkiye florasından toplanan *Alcea fasciculiflora*'dan farklı ekstraksiyon metotları ile farklı solventler kullanılarak elde edilen ekstraktların antioksidan kapasiteleri ve global sağlık problemleri ile ilişkili enzimleri inhibe etme kapasiteleri araştırılmıştır. Ayrıca test edilen ekstraktların toplam fenolik ve flavonoid içerikleri de belirlenerek ekstraktların temel fitokimyasal içeriği hakkında bilgi sahibi olunması amaçlanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre antioksidan kapasite ve enzim inhibisyon yeteneklerinin uygulanan ekstraksiyon metodu ve kullanılan metoda göre değiştiği belirlenmiştir. Ele geçen bulgulara göre *A. fasciculiflora*'nın doğal antioksidan ve enzim inhibitörlerinin bir kaynağı olarak gıda ve farmasötik endüstrilerinde bir hammadde olarak değerlendirilebileceği söylenebilir. Bununla birlikte antioksidan ve enzim inhibisyonu özellikleri dışında antimikrobiyal, antiinflammatör ve toksikolojik özelliklerin belirlenmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca bitkinin biyolojik aktiviteden sorumlu bileşiklerin belirlenmesi, yapı- aktivite bağlantısının ve etkili dozların belirlenmesi açısından da ileri kimyasal çalışmaların gerçekleştirilmesi tavsiye edilmektedir.

## KAYNAKLAR

- Abudayyak, M., Kanbolat, Ş., Ergene, R., Batur, S. ve Aliyazicioğlu, R., 2022, Investigation of the Biological Activities of *Alcea calvertii*, *Ksu Tarım ve Doga Dergisi*, 25 (5).
- Ahmadi, M., Rad, A. K., Rajaei, Z., Mohammadian, N. ve Tabasi, N. S., 2012, *Alcea rosea* root extract as a preventive and curative agent in ethylene glycol-induced urolithiasis in rats, *Indian Journal of Pharmacology*, 44 (3), 304.
- Ak, G., Zengin, G., Sinan, K. I., Mahomoodally, M. F., Picot-Allain, M. C. N., Cakır, O., Bensari, S., Yılmaz, M. A., Gallo, M. ve Montesano, D., 2020, A comparative bio-evaluation and chemical profiles of *Calendula officinalis* L. extracts prepared via different extraction techniques, *Applied sciences*, 10 (17), 5920.
- Aktumsek, A., Zengin, G., Guler, G. O., Cakmak, Y. S. ve Duran, A., 2013, Antioxidant potentials and anticholinesterase activities of methanolic and aqueous extracts of three endemic *Centaurea* L. species, *Food and chemical toxicology*, 55, 290-296.
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H. ve Ukaegbu, C. I., 2021, Extraction of phenolic compounds: A review, *Current Research in Food Science*, 4, 200-214.
- Altundag, E. ve Ozturk, M., 2011, Ethnomedicinal studies on the plant resources of east Anatolia, Turkey, *Procedia-Social and Behavioral Sciences*, 19, 756-777.
- Angwa, L. M., Jiang, Y., Pei, J. ve Sun, D., 2022, Antioxidant phytochemicals for the prevention of fluoride-induced oxidative stress and apoptosis: A review, *Biological Trace Element Research*, 200 (3), 1418-1441.
- Anlas, C., Ustuner, O., Alkan, F. U., Bakirel, T., Aydogan, M. N. ve Erel, S. B., 2017, Comparative study on the antioxidant activities and phenolic contents of different extracts of *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* and *Alcea apterocarpa* (Fenzl) Boiss, endemic plants in Turkey, *Fresenius Environ. Bull*, 26, 1423-1430.
- Annunziata, G., Maisto, M., Schisano, C., Ciampaglia, R., Daliu, P., Narciso, V., Tenore, G. C. ve Novellino, E., 2018, Colon bioaccessibility and antioxidant activity of white, green and black tea polyphenols extract after in vitro simulated gastrointestinal digestion, *Nutrients*, 10 (11), 1711.
- Austistyniak, A., Bartosz, G., Cipak, A., Duburs, G., Hoakova, L. ve Lukzaj, W., 2010, Natural and synthetic antioxidants: An updated review, *Free Radical Research*, 44 (10), 1216-1262.
- Azadeh, Z., Saeidi, K., Lorigooini, Z., Kiani, M. ve Maggi, F., 2020, Organ-oriented phytochemical profiling and radical scavenging activity of *Alcea* spp.(Malvaceae) from Iran, *SN Applied Sciences*, 2, 1-9.
- Azaizeh, H., Saad, B., Khalil, K. ve Said, O., 2006, The state of the art of traditional Arab herbal medicine in the Eastern region of the Mediterranean: a review, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 3 (2), 229-235.
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M., Ghafoor, K., Norulaini, N. ve Omar, A., 2013, Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review, *Journal of food engineering*, 117 (4), 426-436.
- Azwanida, N., 2015, A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation, *Med Aromat Plants*, 4 (196), 2167-0412.

- Bala, A., 2022, Free Radical Biology of & Endocrine, Metabolic Immune Disorders, Bentham Science Publishers, p.
- Bashan, N., Kovsan, J., Kachko, I., Ovadia, H. ve Rudich, A., 2009, Positive and negative regulation of insulin signaling by reactive oxygen and nitrogen species, *Physiological reviews*.
- Berk, S., Tepe, B., Arslan, S. ve Sarikurkcu, C., 2011, Screening of the antioxidant, antimicrobial and DNA damage protection potentials of the aqueous extract of *Asplenium ceterach* DC, *African Journal of Biotechnology*, 10 (44), 8902-8908.
- Birks, J. S., Chong, L. Y. ve Grimley Evans, J., 2015, Rivastigmine for Alzheimer's disease, *Cochrane Database Syst Rev*, 9 (9), Cd001191.
- Burkova, V., Sergun, V., Ivanov, A., Samoylova, Y. G. ve Oleinik, O., 2022, Evaluation of the efficiency of use of a biologically active supplement based on the extract of *galega officinalis* in the complex therapy of type 2 diabetes mellitus, *Problems of Biological Medical and Pharmaceutical Chemistry*, 25 (9), 40-46.
- Carocho, M. ve Ferreira, I. C., 2013, A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives, *Food and chemical toxicology*, 51, 15-25.
- Chang, T.-S., 2009, An updated review of tyrosinase inhibitors, *International journal of molecular sciences*, 10 (6), 2440-2475.
- Chang, V. ve Teo, S., 2016, Evaluation of heavy metal, antioxidant and anti-tyrosinase activities of red seaweed (*Eucheuma cottonii*), *International Food Research Journal*, 23 (6), 2370.
- Cnop, M., Welsh, N., Jonas, J.-C., Jorns, A., Lenzen, S. ve Eizirik, D. L., 2005, Mechanisms of pancreatic  $\beta$ -cell death in type 1 and type 2 diabetes: many differences, few similarities, *Diabetes*, 54 (suppl\_2), S97-S107.
- Cory, H., Passarelli, S., Szeto, J., Tamez, M. ve Mattei, J., 2018, The role of polyphenols in human health and food systems: A mini-review, *Frontiers in nutrition*, 5, 87.
- Cosme, P., Rodríguez, A. B., Espino, J. ve Garrido, M., 2020, Plant phenolics: Bioavailability as a key determinant of their potential health-promoting applications, *Antioxidants*, 9 (12), 1263.
- Cömert, E. D. ve Gökmen, V., 2018, Evolution of food antioxidants as a core topic of food science for a century, *Food Research International*, 105, 76-93.
- Cui, L., Ma, Z., Wang, D. ve Niu, Y., 2022, Ultrasound-assisted extraction, optimization, isolation, and antioxidant activity analysis of flavonoids from *Astragalus membranaceus* stems and leaves, *Ultrasonics Sonochemistry*, 90, 106190.
- Ćujić, N., Šavikin, K., Janković, T., Pljevljakušić, D., Zdunić, G. ve Ibrić, S., 2016, Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique, *Food Chemistry*, 194, 135-142.
- Dabelea, D., Mayer-Davis, E. J., Saydah, S., Imperatore, G., Linder, B., Divers, J., Bell, R., Badaru, A., Talton, J. W. ve Crume, T., 2014, Prevalence of type 1 and type 2 diabetes among children and adolescents from 2001 to 2009, *Jama*, 311 (17), 1778-1786.
- Dall'Acqua, S., Kumar, G., Sinan, K. I., Sut, S., Ferrarese, I., Mahomoodally, M. F., Seebaluck-Sandoram, R., Etienne, O. K. ve Zengin, G., 2020, An insight into *Cochlospermum planchonii* extracts obtained by traditional and green extraction methods: Relation between chemical compositions and biological properties by multivariate analysis, *Industrial Crops and Products*, 147, 112226.

- Dao, L., Choi, S. ve Freeby, M., 2023, Type 2 diabetes mellitus and cognitive function: understanding the connections, *Current Opinion in Endocrinology & Diabetes and Obesity*, 30 (1), 7-13.
- Davis, P. H., 1977, Flora of Turkey, *Flora of Turkey.*, 2, 417.
- de la Luz Cádiz-Gurrea, M., Sinan, K. I., Zengin, G., Bene, K., Etienne, O. K., Leyva-Jiménez, F. J., Fernández-Ochoa, A., del Carmen Villegas-Aguilar, M., Mahomoodally, M. F. ve Lobine, D., 2021, Bioactivity assays, chemical characterization, ADMET predictions and network analysis of *Khaya senegalensis* A. Juss (Meliaceae) extracts, *Food Research International*, 139, 109970.
- de Oliveira, A. M. F., Pinheiro, L. S., Pereira, C. K. S., Matias, W. N., Gomes, R. A., Chaves, O. S., de Souza, M. d. F. V., de Almeida, R. N. ve de Assis, T. S., 2012, Total phenolic content and antioxidant activity of some Malvaceae family species, *Antioxidants*, 1 (1), 33-43.
- de Oliveira, A. S., 2023, Treatment of Alzheimer's Disease: Contemporary Perspectives in Medicinal Chemistry, *Current Medicinal Chemistry*, 30 (6), 667-668.
- DeFronzo, R. A., Ferrannini, E., Groop, L., Henry, R. R., Herman, W. H., Holst, J. J., Hu, F. B., Kahn, C. R., Raz, I. ve Shulman, G. I., 2015, Type 2 diabetes mellitus, *Nature reviews Disease primers*, 1 (1), 1-22.
- Durazzo, A., Lucarini, M., Souto, E. B., Cicala, C., Caiazzo, E., Izzo, A. A., Novellino, E. ve Santini, A., 2019, Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health, *Phytotherapy Research*, 33 (9), 2221-2243.
- Eisenbarth, G. S., 1986, Type I diabetes mellitus, *New England journal of medicine*, 314 (21), 1360-1368.
- El Gharras, H., 2009, Polyphenols: food sources, properties and applications—a review, *International journal of food science & technology*, 44 (12), 2512-2518.
- Elfalleh, W., Kirkan, B. ve Sarikurkcu, C., 2019, Antioxidant potential and phenolic composition of extracts from *Stachys tmolea*: An endemic plant from Turkey, *Industrial crops and products*, 127, 212-216.
- Erarslan, Z. B. ve Koçyiğit, M., 2019, The important taxonomic characteristics of the family Malvaceae and the herbarium specimens in ISTE, *Turkish Journal of Bioscience and Collections*, 3 (1), 1-7.
- Ertas, A., Boga, M., Gazioglu, I., Yesil, Y., Hasimi, N., Ozaslan, C., Yilmaz, H. ve Kaplan, M., 2016, Fatty acid, essential oil and phenolic compositions of *Alcea pallida* and *Alcea apterocarpa* with antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activities, *Chiang Mai Journal of Science*, 43 (1), 1143-1153.
- Fakhri, S., Abbaszadeh, F., Moradi, S. Z., Cao, H., Khan, H. ve Xiao, J., 2022, Effects of polyphenols on oxidative stress, inflammation, and interconnected pathways during spinal cord injury, *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2022.
- Ferrari, C. K., Souto, P. C., França, E. L. ve Honorio-França, A. C., 2011, Oxidative and nitrosative stress on phagocytes' function: from effective defense to immunity evasion mechanisms, *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis*, 59, 441-448.
- Fierascu, R. C., Ortan, A., Fierascu, I. C. ve Fierascu, I., 2018, In vitro and in vivo evaluation of antioxidant properties of wild-growing plants. A short review, *Current Opinion in Food Science*, 24, 1-8.
- Flieger, J., Flieger, W., Baj, J. ve Maciejewski, R., 2021, Antioxidants: Classification, natural sources, activity/capacity measurements, and usefulness for the synthesis of nanoparticles, *Materials*, 14 (15), 4135.

- Francis, P. T., Palmer, A. M., Snape, M. ve Wilcock, G. K., 1999, The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress, *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 66 (2), 137-147.
- Gasmi, A., Mujawdiya, P. K., Noor, S., Lysiuk, R., Darmohray, R., Piscopo, S., Lenchyk, L., Antonyak, H., Dehtiarova, K. ve Shanaida, M., 2022, Polyphenols in metabolic diseases, *Molecules*, 27 (19), 6280.
- Gerschman, R., Gilbert, D. L., Nye, S. W., Dwyer, P. ve Fenn, W. O., 1954, Oxygen poisoning and x-irradiation: a mechanism in common, *Science*, 119 (3097), 623-626.
- Glasauer, A. ve Chandel, N. S., 2013, Ros, *Current Biology*, 23 (3), R100-R102.
- Grochowski, D. M., Uysal, S., Aktumsek, A., Granica, S., Zengin, G., Ceylan, R., Locatelli, M. ve Tomczyk, M., 2017, In vitro enzyme inhibitory properties, antioxidant activities, and phytochemical profile of *Potentilla thuringiaca*, *Phytochemistry letters*, 20, 365-372.
- Grossberg, G. T., 2003, Cholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease:: getting on and staying on, *Curr Ther Res Clin Exp*, 64 (4), 216-235.
- Gülcin, I., 2012, Antioxidant activity of food constituents: an overview, *Archives of toxicology*, 86, 345-391.
- Halliwell, B. ve Gutteridge, J. M., 1990, [1] Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview, *Methods in enzymology*, 186, 1-85.
- Halliwell, B., 2006, Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life, *Plant physiology*, 141 (2), 312-322.
- Halliwell, B. ve Gutteridge, J. M., 2015, Free radicals in biology and medicine, Oxford university press, USA, p.
- Han, M., Lee, D., Lee, S. H. ve Kim, T. H., 2021, Oxidative stress and antioxidant pathway in allergic rhinitis, *Antioxidants*, 10 (8), 1266.
- Hapsari, S., Yohed, I., Kristianita, R. A., Jadid, N., Aparamarta, H. W. ve Gunawan, S., 2022, Phenolic and flavonoid compounds extraction from *Calophyllum inophyllum* leaves, *Arabian Journal of Chemistry*, 15 (3), 103666.
- Hayes, J. P., Pierce, M. E., Brown, E., Salat, D., Logue, M. W., Constantinescu, J., Valerio, K., Miller, M. W., Sherva, R. ve Huber, B. R., 2023, Genetic Risk for Alzheimer Disease and Plasma Tau Are Associated With Accelerated Parietal Cortex Thickness Change in Middle-Aged Adults, *Neurology Genetics*, 9 (1).
- Jain, C., Khatana, S. ve Vijayvergia, R., 2019, Bioactivity of secondary metabolites of various plants: a review, *Int. J. Pharm. Sci. Res*, 10 (2), 494-504.
- Jemal, A., Bray, F., Center, M. M., Ferlay, J., Ward, E. ve Forman, D., 2011, Global cancer statistics, *CA: a cancer journal for clinicians*, 61 (2), 69-90.
- Jjemba, P. K., 2018, Pharma-ecology: the occurrence and fate of pharmaceuticals and personal care products in the environment, John Wiley & Sons, p.
- Juan, C. A., Pérez de la Lastra, J. M., Plou, F. J. ve Pérez-Lebeña, E., 2021, The chemistry of reactive oxygen species (ROS) revisited: outlining their role in biological macromolecules (DNA, lipids and proteins) and induced pathologies, *International Journal of Molecular Sciences*, 22 (9), 4642.
- Kabach, I., Bouchmaa, N., Zouaoui, Z., Ennoury, A., El Asri, S., Laabar, A., Oumeslakht, L., Cacciola, F., El Majdoub, Y. O. ve Mondello, L., 2023, Phytochemical profile and antioxidant capacity,  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of *Oxalis pes-caprae* extracts in alloxan-induced diabetic mice, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 160, 114393.

- Kawabata, K., Yoshioka, Y. ve Terao, J., 2019, Role of intestinal microbiota in the bioavailability and physiological functions of dietary polyphenols, *Molecules*, 24 (2), 370.
- Kehrer, J. P. ve Klotz, L.-O., 2015, Free radicals and related reactive species as mediators of tissue injury and disease: implications for health, *Critical reviews in toxicology*, 45 (9), 765-798.
- Keser, S., Keser, F., Tekin, S., Kaygılı, Ö., Turkoglu, I., Demir, E., Karatepe, M., Kirbag, S., Yılmaz, Ö. ve Sandal, S., 2020, In vitro Antiradical, Antimicrobial and Antiproliferative Activities and Phytochemical Compositions of Endemic *Alcea calvertii* (Boiss) Boiss. Flowers, *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 8 (1), 693-701.
- Knowles, J., 2006, Donepezil in Alzheimer's disease: an evidence-based review of its impact on clinical and economic outcomes, *Core Evid*, 1 (3), 195-219.
- Kohen, R. ve Nyska, A., 2002, Invited review: oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification, *Toxicologic pathology*, 30 (6), 620-650.
- Kotha, R. R., Tareq, F. S., Yildiz, E. ve Luthria, D. L., 2022, Oxidative Stress and Antioxidants—A Critical Review on In Vitro Antioxidant Assays, *Antioxidants*, 11 (12), 2388.
- Krisko, A. ve Radman, M., 2019, Protein damage, ageing and age-related diseases. *Open Biol* 9: 180249.
- Kruk, J., Aboul-Enein, B. H., Duchnik, E. ve Marchlewicz, M., 2022, Antioxidative properties of phenolic compounds and their effect on oxidative stress induced by severe physical exercise, *The Journal of Physiological Sciences*, 72 (1), 1-24.
- Kumar, A., Sudevan, S. T., Nair, A. S., Singh, A. K., Kumar, S., Jose, J., Behl, T., Mathew, B. ve Kim, H., 2023, Current and Future Nano-Carrier-Based Approaches in the Treatment of Alzheimer's Disease, *Brain Sciences*, 13 (2), 213.
- Landete, J., 2013, Dietary intake of natural antioxidants: vitamins and polyphenols, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53 (7), 706-721.
- Lee, D.-H., Gold, R. ve Linker, R. A., 2012, Mechanisms of oxidative damage in multiple sclerosis and neurodegenerative diseases: therapeutic modulation via fumaric acid esters, *International journal of molecular sciences*, 13 (9), 11783-11803.
- Li, X., Fang, P., Mai, J., Choi, E. T., Wang, H. ve Yang, X.-f., 2013, Targeting mitochondrial reactive oxygen species as novel therapy for inflammatory diseases and cancers, *Journal of hematology & oncology*, 6 (1), 1-19.
- Li, Y., Kong, D., Fu, Y., Sussman, M. R. ve Wu, H., 2020, The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants, *Plant Physiology and Biochemistry*, 148, 80-89.
- Llorent-Martínez, E. J., Zengin, G., Sinan, K. I., Polat, R., Canlı, D., Picot-Allain, M. C. N. ve Mahomoodally, M. F., 2020, Impact of different extraction solvents and techniques on the biological activities of *Cirsium yildizianum* (Asteraceae: Cynareae), *Industrial crops and products*, 144, 112033.
- Lokapriya, D. ve Kumar, P. P., 2020, Enzyme Inhibition Applications in Treatment of Neurological Disorders, *Enzyme Inhibition-Environmental and Biomedical Applications*, 1, 263-287.
- Lopina, O. D., 2017, Enzyme inhibitors and activators, In: Enzyme inhibitors and activators, Eds: IntechOpen, p.

- Loschen, G., Flohe, L. ve Chance, B., 1971, Respiratory chain linked H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production in pigeon heart mitochondria, *FEBS letters*, 18 (2), 261-264.
- Lu, C. ve Li, A. P., 2010, Enzyme inhibition in drug discovery and development: the good and the bad, John Wiley & Sons, p.
- M'hiri, N., Ioannou, I., Ghoul, M. ve Boudhrioua, N. M., 2014, Extraction methods of citrus peel phenolic compounds, *Food Reviews International*, 30 (4), 265-290.
- Maack, A. ve Pegard, A., 2016, Populus nigra (Salicaceae) absolute rich in phenolic acids, phenylpropanoïds and flavonoids as a new potent tyrosinase inhibitor, *Fitoterapia*, 111, 95-101.
- Mahesh, S. K., Fathima, J. ve Veena, V. G., 2019, Cosmetic potential of natural products: industrial applications, *Natural bio-active compounds: volume 2: chemistry, pharmacology and health care practices*, 215-250.
- Majdi, A., Sadigh-Eteghad, S., Rahigh Aghsan, S., Farajdokht, F., Vatandoust, S. M., Namvaran, A. ve Mahmoudi, J., 2020, Amyloid- $\beta$ , tau, and the cholinergic system in Alzheimer's disease: seeking direction in a tangle of clues, *Rev Neurosci*, 31 (4), 391-413.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C. ve Jiménez, L., 2004, Polyphenols: food sources and bioavailability, *The American journal of clinical nutrition*, 79 (5), 727-747.
- Martemucci, G., Costagliola, C., Mariano, M., D'andrea, L., Napolitano, P. ve D'Alessandro, A. G., 2022, Free radical properties, source and targets, antioxidant consumption and health, *Oxygen*, 2 (2), 48-78.
- McCord, J. M. ve Fridovich, I., 1969, Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocyte hemocuprein, *Journal of Biological chemistry*, 244 (22), 6049-6055.
- Mehrnia, M., Akaberi, M., Amiri, M., Nadaf, M. ve Emami, S., 2021, Ethnopharmacological studies of medicinal plants in central Zagros, Lorestan Province, Iran, *Journal of Ethnopharmacology*, 280, 114080.
- Merecz-Sadowska, A., Sitarek, P., Kucharska, E., Kowalczyk, T., Zajdel, K., Cegliński, T. ve Zajdel, R., 2021, Antioxidant properties of plant-derived phenolic compounds and their effect on skin fibroblast cells, *Antioxidants*, 10 (5), 726.
- Mironczuk-Chodakowska, I., Witkowska, A. M. ve Zujko, M. E., 2018, Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body, *Advances in medical sciences*, 63 (1), 68-78.
- Molinari, R., Merendino, N. ve Costantini, L., 2022, Polyphenols as modulators of pre-established gut microbiota dysbiosis: State-of-the-art, *Biofactors*, 48 (2), 255-273.
- Mota, J. C., Almeida, P. P., Freitas, M. Q., Stockler-Pinto, M. B. ve Guimarães, J. T., 2022, Far from being a simple question: The complexity between in vitro and in vivo responses from nutrients and bioactive compounds with antioxidant potential, *Food Chemistry*, 134351.
- Mukherjee, P. K., Biswas, R., Sharma, A., Banerjee, S., Biswas, S. ve Katiyar, C. K., 2018, Validation of medicinal herbs for anti-tyrosinase potential, *Journal of Herbal Medicine*, 14, 1-16.
- Mushtaq, G., Greig, N. H., Khan, J. A. ve Kamal, M. A., 2014, Status of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in Alzheimer's disease and type 2 diabetes mellitus, *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 13 (8), 1432-1439.
- Nagalievskaya, M., Sabadashka, M., Hachkova, H. ve Sybirna, N., 2018, Galega officinalis extract regulate the diabetes mellitus related violations of

- proliferation, functions and apoptosis of leukocytes, *BMC Complement Altern Med*, 18 (1), 4.
- Nagar, S., Argikar, U. A. ve Tweedie, D. J., 2014, Enzyme kinetics in drug metabolism: fundamentals and applications, Springer, p.
- Namjoyan, F., Jahangiri, A., Azemi, M. E., Arkian, E. ve Mousavi, H., 2015, Inhibitory effects of *Physalis alkekengi* L., *Alcea rosea* L., *Bunium persicum* B. Fedtsch. and *Marrubium vulgare* L. on Mushroom Tyrosinase, *Jundishapur journal of natural pharmaceutical products*, 10 (1).
- Nazzaro, F., Fratianni, F., De Feo, V., Battistelli, A., Da Cruz, A. G. ve Coppola, R., 2020, Polyphenols, the new frontiers of prebiotics, In: *Advances in food and nutrition research*, Eds: Elsevier, p. 35-89.
- Obrenovich, M., Li, Y., Tayahi, M. ve Reddy, V. P., 2022, Polyphenols and small phenolic acids as cellular metabolic regulators, *Current Issues in Molecular Biology*, 44 (9), 4152-4166.
- Olin, J. ve Schneider, L., 2002, Galantamine for Alzheimer's disease, *Cochrane Database Syst Rev* (3), Cd001747.
- Oniszczyk, A. ve Podgórski, R., 2015, Influence of different extraction methods on the quantification of selected flavonoids and phenolic acids from *Tilia cordata* inflorescence, *Industrial crops and products*, 76, 509-514.
- Palmer, R. M., Rees, D. D., Ashton, D. S. ve Moncada, S., 1988, L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation, *Biochemical and biophysical research communications*, 153 (3), 1251-1256.
- Palmer, T. ve Bonner, P. L., 2007, *Enzymes: biochemistry, biotechnology, clinical chemistry*, Elsevier, p.
- Papoutsis, K., Zhang, J., Bowyer, M. C., Brunton, N., Gibney, E. R. ve Lyng, J., 2021, Fruit, vegetables, and mushrooms for the preparation of extracts with  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibition properties: A review, *Food Chemistry*, 338, 128119.
- Pereira, M. G., Hamerski, F., Andrade, E. F., Scheer, A. d. P. ve Corazza, M. L., 2017, Assessment of subcritical propane, ultrasound-assisted and Soxhlet extraction of oil from sweet passion fruit (*Passiflora alata* Curtis) seeds, *The Journal of Supercritical Fluids*, 128, 338-348.
- Pérez-Chabela, M. L. ve Hernández-Alcántara, A. M., 2018, Agroindustrial coproducts as sources of novel functional ingredients, In: *Food processing for increased quality and consumption*, Eds: Elsevier, p. 219-250.
- Pisoschi, A. M., Pop, A., Iordache, F., Stanca, L., Predoi, G. ve Serban, A. I., 2021, Oxidative stress mitigation by antioxidants-an overview on their chemistry and influences on health status, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 209, 112891.
- Pokorný, J., 2007, Are natural antioxidants better—and safer—than synthetic antioxidants?, *European journal of lipid science and technology*, 109 (6), 629-642.
- Poovitha, S. ve Parani, M., 2016, In vitro and in vivo  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibiting activities of the protein extracts from two varieties of bitter gourd (*Momordica charantia* L.), *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16 (1), 185.
- Poti, F., Santi, D., Spaggiari, G., Zimetti, F. ve Zanotti, I., 2019, Polyphenol health effects on cardiovascular and neurodegenerative disorders: a review and meta-analysis, *International journal of molecular sciences*, 20 (2), 351.

- Qader, S. W. ve Awad, H. M., 2014, Evaluation of antioxidant, antimicrobial and cytotoxicity of *Alcea kurdica* Alef, *Jordan Journal of Biological Sciences*, 7 (3), 205-209.
- Qizilbash, N., Birks, J., López-Arrieta, J., Lewington, S. ve Szeto, S., 2000, Tacrine for Alzheimer's disease, *Cochrane Database Syst Rev* (2), Cd000202.
- Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C. ve Pouységu, L., 2011, Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis, *Angewandte Chemie International Edition*, 50 (3), 586-621.
- Rahman, A. ve Gondha, R., 2014, Taxonomy and Traditional Medicine Practices on Malvaceae (Mallow Family) of Rajshahi, Bangladesh, *Open Journal of Botany*, 1 (2), 19-24.
- Rauf, A. ve Jehan, N., 2017, Natural products as a potential enzyme inhibitors from medicinal plants, *Enzyme Inhibitors and Activators*, 165, 177.
- Riddell, M. C. ve Peters, A. L., 2023, Exercise in adults with type 1 diabetes mellitus, *Nature Reviews Endocrinology*, 19 (2), 98-111.
- Rizvi, S., Raza, S. T., Ahmed, F., Ahmad, A., Abbas, S. ve Mahdi, F., 2014, The role of vitamin e in human health and some diseases, *Sultan Qaboos Univ Med J*, 14 (2), e157-165.
- Rodríguez-Daza, M. C., Pulido-Mateos, E. C., Lupien-Meilleur, J., Guyonnet, D., Desjardins, Y. ve Roy, D., 2021, Polyphenol-mediated gut microbiota modulation: Toward prebiotics and further, *Frontiers in nutrition*, 8, 689456.
- Romanik, G., Gilgenast, E., Przyjazny, A. ve Kamiński, M., 2007, Techniques of preparing plant material for chromatographic separation and analysis, *Journal of biochemical and biophysical methods*, 70 (2), 253-261.
- Rudrapal, M., Khairnar, S. J., Khan, J., Dukhyil, A. B., Ansari, M. A., Alomary, M. N., Alshabmi, F. M., Palai, S., Deb, P. K. ve Devi, R., 2022, Dietary polyphenols and their role in oxidative stress-induced human diseases: insights into protective effects, antioxidant potentials and mechanism (s) of action, *Frontiers in pharmacology*, 13, 283.
- Saboury, A., 2009, Enzyme inhibition and activation: a general theory, *Journal of the Iranian Chemical Society*, 6, 219-229.
- Sanders, L. M., Wilcox, M. L. ve Maki, K. C., 2022, Red meat consumption and risk factors for type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials, *European Journal of Clinical Nutrition*, 1-10.
- Scott, L. J. ve Goa, K. L., 2000, Galantamine: a review of its use in Alzheimer's disease, *Drugs*, 60, 1095-1122.
- Sevcsik, E., Trexler, A. J., Dunn, J. M. ve Rhoades, E., 2011, Allosteric in a disordered protein: oxidative modifications to  $\alpha$ -synuclein act distally to regulate membrane binding, *Journal of the American Chemical Society*, 133 (18), 7152-7158.
- Sharma, R., 2012, Enzyme inhibition: mechanisms and scope, *Enzyme inhibition and bioapplications*, 3-36.
- Sinan, K. I., Saftić, L., Peršurić, Ž., Pavelić, S. K., Etienne, O. K., Picot-Allain, M. C. N., Mahomoodally, M. F. ve Zengin, G., 2020, A comparative study of the chemical composition, biological and multivariate analysis of *Crotalaria retusa* L. stem barks, fruits, and flowers obtained via different extraction protocols, *South African journal of botany*, 128, 101-108.
- Stagos, D., 2019, Antioxidant activity of polyphenolic plant extracts, *MDPI*. 9: 19.
- Stoia, M. ve Oancea, S., 2022, Low-molecular-weight synthetic antioxidants: classification, pharmacological profile, effectiveness and trends, *Antioxidants*, 11 (4), 638.

- Stone, J. R. ve Yang, S., 2006, Hydrogen peroxide: a signaling messenger, *Antioxidants & redox signaling*, 8 (3-4), 243-270.
- Tangney, C. C. ve Rasmussen, H. E., 2013, Polyphenols, inflammation, and cardiovascular disease, *Current atherosclerosis reports*, 15, 1-10.
- Taşkin, T., Kahvecioğlu, D., Türkoğlu, E. A., Doğan, A. ve Müslüm, K., 2022, In vitro Biological Activities of Different Extracts from *Alcea dissecta*, *Clinical and Experimental Health Sciences*, 12 (1), 53-60.
- Tatipamula, V. B. ve Kukavica, B., 2021, Phenolic compounds as antidiabetic, anti-inflammatory, and anticancer agents and improvement of their bioavailability by liposomes, *Cell biochemistry and function*, 39 (8), 926-944.
- Terry, A. V., Jr. ve Buccafusco, J. J., 2003, The cholinergic hypothesis of age and Alzheimer's disease-related cognitive deficits: recent challenges and their implications for novel drug development, *J Pharmacol Exp Ther*, 306 (3), 821-827.
- Theodoridis, S., Drakou, E. G., Hickler, T., Thines, M. ve Nogues-Bravo, D., 2023, Evaluating natural medicinal resources and their exposure to global change, *The Lancet Planetary Health*, 7 (2), e155-e163.
- Trevisan, K., Cristina-Pereira, R., Silva-Amaral, D. ve Aversi-Ferreira, T. A., 2019, Theories of Aging and the Prevalence of Alzheimer's Disease, *BioMed research international*, 2019.
- Twaij, B. M. ve Hasan, M. N., 2022, Bioactive secondary metabolites from plant sources: Types, synthesis, and their therapeutic uses, *International Journal of Plant Biology*, 13 (1), 4-14.
- Uysal, S., Zengin, G., Locatelli, M., Bahadori, M. B., Mocan, A., Bellagamba, G., De Luca, E., Mollica, A. ve Aktumsek, A., 2017, Cytotoxic and enzyme inhibitory potential of two *Potentilla* species (*P. speciosa* L. and *P. reptans* Willd.) and their chemical composition, *Frontiers in pharmacology*, 8, 290.
- Uzunhisarcikli, M. E., 2009, Yetersiz veri DD kategorisinde bulunan iki *Alcea* L. Malvaceae türünün yeni IUCN kategorileri ve taksonomisi, *Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma*, 2 (2), 90-95.
- Uzunhisarcikli, M. E. ve Vural, M., 2009, Taxonomy and IUCN categories of two *Alcea* L.(Malvaceae) species cited in the data deficient (DD) category, *Biological Diversity and Conservation*, 2 (2), 90-95.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M. ve Telser, J., 2007, Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39 (1), 44-84.
- Vilkhu, K., Mawson, R., Simons, L. ve Bates, D., 2008, Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry—A review, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9 (2), 161-169.
- Visvanathan, R. ve Williamson, G., 2022, Review of factors affecting citrus polyphenol bioavailability and their importance in designing in vitro, animal, and intervention studies, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21 (6), 4509-4545.
- Wang, W., Gao, Y., Wang, W., Zhang, J., Yin, J., Le, T., Xue, J., Engelhardt, U. H. ve Jiang, H., 2022, Kojic Acid Showed Consistent Inhibitory Activity on Tyrosinase from Mushroom and in Cultured B16F10 Cells Compared with Arbutins, *Antioxidants (Basel)*, 11 (3).
- Waterman, K. C., Adami, R. C., Alsante, K. M., Hong, J., Landis, M. S., Lombardo, F. ve Roberts, C. J., 2002, Stabilization of pharmaceuticals to oxidative degradation, *Pharmaceutical development and technology*, 7 (1), 1-32.

- Wawrosch, C. ve Zotchev, S. B., 2021, Production of bioactive plant secondary metabolites through in vitro technologies-status and outlook, *Appl Microbiol Biotechnol*, 105 (18), 6649-6668.
- Wen, L., Zhang, Z., Sun, D.-W., Sivagnanam, S. P. ve Tiwari, B. K., 2020, Combination of emerging technologies for the extraction of bioactive compounds, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60 (11), 1826-1841.
- Whitehouse, P. J., Price, D. L., Struble, R. G., Clark, A. W., Coyle, J. T. ve DeLong, M. R., 1982, Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurons in the basal forebrain, *Science*, 215 (4537), 1237-1239.
- WHO, W., 2013, A global brief on hypertension: silent killer, global public health crisis.
- Williamson, G., 2017, The role of polyphenols in modern nutrition, *Nutrition bulletin*, 42 (3), 226-235.
- Xia, Y., Wang, Y., Li, W., Ma, C. ve Liu, S., 2017, Homogenization-assisted cavitation hybrid rotation extraction and macroporous resin enrichment of dihydroquercetin from *Larix gmelinii*, *Journal of Chromatography B*, 1070, 62-69.
- Xiao-Ping, Y., Chun-Qing, S., Ping, Y. ve Ren-Gang, M., 2010,  $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -amylase inhibitory activity of common constituents from traditional Chinese medicine used for diabetes mellitus, *Chinese Journal of Natural Medicines*, 8 (5), 349-352.
- Yahfoufi, N., Alsadi, N., Jambi, M. ve Matar, C., 2018, The immunomodulatory and anti-inflammatory role of polyphenols, *Nutrients*, 10 (11), 1618.
- Yeşil, Y. ve Inal, I., 2021, Ethnomedicinal plants of Hasankeyf (Batman-Turkey), *Frontiers in Pharmacology*, 11, 624710.
- Yusoff, I. M., Taher, Z. M., Rahmat, Z. ve Chua, L. S., 2022, A review of ultrasound-assisted extraction for plant bioactive compounds: Phenolics, flavonoids, thymols, saponins and proteins, *Food Research International*, 111268.
- Yüksel, N., 2000, Alzheimer hastalığının ilaçla tedavisi, *Klinik Psikiyatri Dergisi*, 3 (2), 137-141.
- Zengin, G., Sarikurkcu, C., Aktumsek, A., Ceylan, R. ve Ceylan, O., 2014, A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes, *Industrial Crops and Products*, 53, 244-251.
- Zengin, G., Sarikürkçü, C., Aktümsek, A. ve Ceylan, R., 2016, Antioxidant potential and inhibition of key enzymes linked to Alzheimer's diseases and diabetes mellitus by monoterpene-rich essential oil from *Sideritis galatica* Bornm. Endemic to Turkey, *Records of Natural Products*, 10 (2), 195.
- Zengin, G., Cvetanović, A., Gašić, U., Stupar, A., Bulut, G., Senkardes, I., Dogan, A., Seebaluck-Sandoram, R., Rengasamy, K. R. ve Sinan, K. I., 2019, Chemical composition and bio-functional perspectives of *Erica arborea* L. extracts obtained by different extraction techniques: Innovative insights, *Industrial Crops and Products*, 142, 111843.
- Zhang, L., Han, Z. ve Granato, D., 2021a, Polyphenols in foods: Classification, methods of identification, and nutritional aspects in human health, *Advances in food and nutrition research*, 98, 1-33.
- Zhang, L., Zengin, G., Rocchetti, G., Senkardes, I., Sharmeen, J. B., Mahomoodally, M. F., Behl, T., Roupheal, Y. ve Lucini, L., 2021b, Phytochemical constituents and

- biological activities of the unexplored plant *Rhinanthus angustifolius* subsp. *grandiflorus*, *Applied Sciences*, 11 (19), 9162.
- Zhang, N., Andresen, B. T. ve Zhang, C., 2010, Inflammation and reactive oxygen species in cardiovascular disease, *World Journal of Cardiology*, 2 (12), 408.
- Zhang, Y., Cai, P., Cheng, G. ve Zhang, Y., 2022, A brief review of phenolic compounds identified from plants: Their extraction, analysis, and biological activity, *Natural Product Communications*, 17 (1), 1934578X211069721.
- Zheleva-Dimitrova, D., Sinan, K. I., Etienne, O. K., Zengin, G., Gevrenova, R., Mahomoodally, M. F., Lobine, D. ve Mollica, A., 2020, Chemical composition and biological properties of *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn: A comparative investigation of different extraction methods, *Process Biochemistry*, 96, 202-212.



## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

**Adı Soyadı** : Refiye Beyza ÖZTÜRK  
**Uyruğu** : TC  
**Doğum Yeri ve Tarihi** :  
**Telefon** :  
**Faks** :  
**e-mail** :

### EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Mareşal Fevzi Çakmak Anadolu Lisesi, Malatya	2016
Üniversite	: A.Ü. Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara	2020
Yüksek Lisans	: S.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji ABD, Konya	2023
Doktora	:	

### İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
-----	-------	--------

### UZMANLIK ALANI

### YABANCI DİLLER

### BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

### YAYINLAR

Ozturk, R. B., Zengin, G., Sinan, K. I., Montesano, D., Zheleva-Dimitrova, D., Gevrenova, R., Uba, A. I., Çakılcıoğlu, U., Kaplan, A., Jugreet, S., Dall'Acqua, S., & Mahomoodally, M. F. (2022). Which Extraction Solvents and Methods Are More Effective in Terms of Chemical Composition and Biological Activity of *Alcea fasciculiflora* from Turkey?. *Molecules*, 27(15), 5011.

Tousif, M. I., Nazir, M., Saleem, M., Tauseef, S., Uddin, R., Altaf, M., Ak, G., Ozturk, R. B., & Mahomoodally, M. F. (2022). Exploring the industrial importance of a miracle herb *Withania somnifera* (L.) Dunal: Authentication through chemical profiling, in vitro studies and computational analyses. *Process Biochemistry*, 121, 514-528.

Omer, H. A., Caprioli, G., Abouelenein, D., Mustafa, A. M., Uba, A. I., Ak, G., Ozturk, R. B., Zengin, G., & Yagi, S. (2022). Phenolic profile, antioxidant and enzyme inhibitory activities of leaves from two *Cassia* and two *Senna* species. *Molecules*, 27(17), 5590.