



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***PALIURUS SPINA-CHRISTI* P. MILL. TÜRÜNDEN BİYOAKTİVİTE
REHBERLİĞİNDE ANTİDİYABETİK ETKİLİ BİLEŞİKLERİN
ARAŞTIRILMASI**

FATMA DİNÇ SEKMAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
DOÇ. DR. ALİ ŞEN
FARMAKOĞNOZİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

İSTANBUL- 2024



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***PALIURUS SPINA-CHRISTI* P. MILL. TÜRÜNDEN BİYOAKTİVİTE
REHBERLİĞİNDE ANTİDİYABETİK ETKİLİ BİLEŞİKLERİN
ARAŞTIRILMASI**

FATMA DİNÇ SEKMAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
DOÇ. DR. ALİ ŞEN
FARMAKOĞNOZİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

İSTANBUL- 2024

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması ile elde edilmemiş bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Fatma DİNÇ SEKMAN

TEŐEKKÜR

Çalışmamız süresince desteğini eksiltmeyen Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakóltesi Farmakognozi Ana Bilim Dalı Başkanı Sn. Prof. Dr. Leyla BİTİŞ hocama,

Hem laboratuvar çalışmaları sürecinde hem de her konuda bilgisine başvurduğum Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakóltesi Farmakognozi Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Ali ŞEN hocama,

Bitkinin toplanmasında ve teşhisinde yardımcı olan Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakóltesi Farmasötik Botanik Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Sn. Dr. Öğr. Üyesi İsmail ŞENKARDEŞ'e, Yüksek lisans eğitim süresince birlikte çalıştığım arkadaşlarım Songül ÇETİNTAŐ'a, Bařak TANRIVERDİ'ye ve Fatmanur GÜRBÜZKOL'a,

Ben akademik çalışmalarımı yürütürken benim yerime de çalışarak yükümü hafifleten eşim Ahmet SEKMAN'a ve beni her zaman destekleyen biricik aileme,

Teőekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR LİSTESİ	i
TABLO LİSTESİ	iii
ŞEKİL LİSTESİ	iv
1. ÖZET	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ ve AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	7
4.1. Botanik Bilgiler	7
4.1.1. Rhamnaceae	7
4.1.2. <i>Paliurus</i> Miller	7
4.1.3. <i>Paliurus spina-christi</i> P. Mill.	7
4.2. <i>Paliurus spina-christi</i> üzerinde yapılan fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmaları .	8
5. GEREÇ ve YÖNTEM	14
5.1. Bitki Materyalinin Toplanması ve Teşhisi	14
5.2. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması	14
5.3. Total Fenolik Bileşik Miktar Tayini	20
5.4. Toplam Flavonoit Bileşik Miktar Tayini	20
5.5. Toplam Triterpen Bileşik Miktar Tayini	21
5.6. <i>In Vitro</i> Antioksidan Aktivite	22
5.6.1. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite	22
5.6.2. ABTS Radikal Katyonu Süpürücü Aktivite	23
5.7. Antidiyabetik Aktivite	24
5.7.1. α -glukosidaz İnhibitör Aktivite	24
5.8. Biyoaktivite Yönlendirmeli Fraksiyonlama ve İzolasyon	25
5.9. İstatistiksel Analiz	25
6. BULGULAR	26
7. TARTIŞMA ve SONUÇ	41
8. KAYNAKLAR	45
9. ÖZGEÇMİŞ	52
10. BİLİMSEL FAALİYETLER	53

KISALTMALAR LİSTESİ

ABTS	:	2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit
ACAE	:	Akarboz eşdeğeri
BOH	:	Bulaşıcı olmayan hastalık
CUPRAC	:	Bakır(II) iyon indirgeyici antioksidan kapasite
DM	:	Diabetes Mellitus
DMSO	:	Dimetil sülfoksit
DPPH	:	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
EDTAE	:	Etilendiamintetraasetik asit eşdeğeri
FRAP	:	Ferrik iyon indirgeyici antioksidan güç
g	:	Gram
GAE	:	Gallik asit eşdeğeri
GALAE	:	Galantamin eşdeğeri
HPLC	:	High Performance Liquid Chromatography
IC ₅₀	:	% 50 inhibisyon sağlayan örnek konsantrasyonu
KE	:	Kersetin eşdeğeri
KAE	:	Kojik asit eşdeğeri
M	:	Molar
MARE	:	Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu
MCA	:	Metal şelatlama aktivite
mL	:	Mililitre
mM	:	Milimolar
nm	:	Nanometre
OAE	:	Oleanolik asit eşdeğeri
PBD	:	Fosfomolibden testi

pNPG	:	<i>p</i> -nitrofenil- α -D-glukopiranozid
PSCEA	:	<i>Paliurus spina-christi</i> dal etanol ekstresinin etil asetat fraksiyonu
PSCH	:	<i>Paliurus spina-christi</i> dal etanol ekstresinin hekzan fraksiyonu
PSCK	:	<i>Paliurus spina-christi</i> dal etanol ekstresinin kloroform fraksiyonu
PSCS	:	<i>Paliurus spina-christi</i> dal etanol ekstresinin su fraksiyonu
PSDE	:	<i>Paliurus spina-christi</i> dal etanol ekstresi
PSME	:	<i>Paliurus spina-christi</i> meyve etanol ekstresi
PSYE	:	<i>Paliurus spina-christi</i> yaprak etanol ekstresi
RE	:	Rutin eşdeğeri
SD	:	Standart sapma
TE	:	Troloks eşdeğeri
T2DM	:	Tip II Diabetes Mellitus
μ g	:	Mikro gram
μ L	:	Mikro litre

TABLO LİSTESİ

Sayfa Numarası

Tablo 1.	<i>Paliurus spina-christi</i> yaprak, dal ve meyve ekstralarının α -glukosidaz enzimi üzerinde inhibitör aktivitesi	26
Tablo 2.	<i>Paliurus spina-christi</i> türünden elde edilen fraksiyonların antidiyabetik aktiviteleri	27
Tablo 3.	<i>Paliurus spina-christi</i> türünün dalından elde edilen çeşitli fraksiyonların antioksidan aktiviteleri	29
Tablo 4.	<i>Paliurus spina-christi</i> dal etanol ekstresinin fraksiyonlarının toplam fenolik bileşik miktarı	30
Tablo 5.	<i>Paliurus spina-christi</i> dal etanol ekstresinin fraksiyonlarının toplam flavonoid bileşik miktarı	31
Tablo 6.	<i>Paliurus spina-christi</i> dal etanol ekstresinin fraksiyonlarının toplam triterpen bileşik miktarı	32

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa Numarası
Şekil 1.	<i>Paliurus spina-christi</i> türü 8
Şekil 2.	<i>Paliurus spina-christi</i> türünün Türkiye’de yayılışı 8
Şekil 3.	Saflaştırılan bileşikler 1 9
Şekil 4.	Saflaştırılan bileşikler 2 10
Şekil 5.	<i>Paliurus spina-christi</i> türünün yaprak, dal ve meyveleri 14
Şekil 6.	<i>Paliurus spina-christi</i> türünün öğütülmeye hazır dal kısımları 14
Şekil 7.	<i>Paliurus spina-christi</i> türünün dal kısımlarının etanolle maserasyona bırakılması 15
Şekil 8.	<i>Paliurus spina-christi</i> dal kısmı etanol ekstresinin çözücüsünün rotary evaporatörde kuruluğa kadar uçurulması 16
Şekil 9.	<i>Paliurus spina-christi</i> çözücüsü uçurulmuş dal kısmı etanol ekstresi 16
Şekil 10.	<i>Paliurus spina-christi</i> dal kısmı etanol ekstresinin hekzan ile fraksiyonlama işlemi 17
Şekil 11.	<i>Paliurus spina-christi</i> dal kısmı etanol ekstresinin kloroform ile fraksiyonlama işlemi 17
Şekil 12.	<i>Paliurus spina-christi</i> dal kısmı etanol ekstresinin etil asetat ile fraksiyonlama işlemi 18
Şekil 13.	Rotary evaporatörde çözücüleri uçurulmaya hazır fraksiyonlar 18
Şekil 14.	Aktif <i>Paliurus spina-christi</i> dal kısmı etil asetat fraksiyonunun çözücüsü uçurulmuş hali 19
Şekil 15.	Analizler için örneklerin hazırlanması 19
Şekil 16.	Total fenolik bileşik miktar tayinine ait mikrolaka görüntüsü 20
Şekil 17.	Total flavonoit bileşik miktar tayinine ait mikrolaka görüntüsü 21
Şekil 18.	Total triterpen bileşik miktar tayinine ait mikrolaka görüntüsü 22
Şekil 19.	DPPH radikal süpürücü aktivite tayinine ait mikrolaka görüntüsü 23
Şekil 20.	ABTS radikal katyonu süpürücü aktivite tayinine ait mikrolaka görüntüsü 24
Şekil 21.	<i>Paliurus spina-christi</i> meyve, dal ve yaprak estrelerinin α -glukosidaz enzimi üzerine inhibisyon yüzdeleri 26
Şekil 22.	<i>Paliurus spina-christi</i> dal etanol ekstresinin fraksiyonlarının α -glukosidaz enzimi üzerine inhibisyon yüzdeleri 27

Şekil 23.	<i>Paliurus spina-christi</i> dal etanol ekstresinin fraksiyonlarının DPPH radikaline karşı inhibisyon yüzdeleri	28
Şekil 24.	<i>Paliurus spina-christi</i> dal etanol ekstresinin fraksiyonlarının ABTS radikal katyonuna karşı inhibisyon yüzdeleri	29
Şekil 25.	<i>Paliurus spina-christi</i> dal etanol ekstresinin fraksiyonlarının toplam fenolik bileşik miktarı	30
Şekil 26.	<i>Paliurus spina-christi</i> dal etanol ekstresinin fraksiyonlarının toplam flavonoit bileşik miktarı	31
Şekil 27.	<i>Paliurus spina-christi</i> dal etanol ekstresinin fraksiyonlarının toplam triterpen bileşik miktarı	32
Şekil 28.	PSCEA'nın fraksiyonlarının gün ışığı altında İTK plakta görünümü	34
Şekil 29.	PSCEA'nın fraksiyonlarının 254 nm'de İTK plakta görünümü	34
Şekil 30.	PSCEA'nın fraksiyonlarının 366 nm'de İTK plakta görünümü	35
Şekil 31.	PSCEA'nın fraksiyonlarının serik sülfat belirteci püskürtüldükten sonra İTK plakanın yakılmış görünümü	35
Şekil 32.	PSCEA'nın fraksiyonlarının gün ışığı altında İTK plakta görünümü	36
Şekil 33.	PSCEA'nın fraksiyonlarının 254 nm'de İTK plakta görünümü	36
Şekil 34.	PSCEA'nın fraksiyonlarının 366 nm'de İTK plakta görünümü	37
Şekil 35.	PSCEA'nın fraksiyonlarının serik sülfat belirteci püskürtüldükten sonra İTK plakanın yakılmış görünümü	37
Şekil 36.	Sukroz bileşiğinin molekül yapısı	38
Şekil 37.	Sukroz bileşiğine ait ¹ H-NMR spektrumu (400 MHz, D ₂ O)	39
Şekil 38.	Sukroz bileşiğine ait ¹³ C-NMR (APT) spektrumu (100 MHz, D ₂ O)	40
Şekil 39.	Sukroz bileşiğine ait MS spektrumu	40

1. ÖZET

Tezin başlığı : *Paliurus spina-christi* P. Mill. türünden biyoaktivite rehberliğinde antidiyabetik etkili bileşiklerin araştırılması

Öğrencinin Adı Soyadı : Fatma DİNÇ SEKMAN

Danışmanın Adı Soyadı : Doç. Dr. Ali ŞEN

Programın Adı : Farmakognozi Yüksek Lisans Programı

Amaç: Bu çalışmanın amacı *Paliurus spina-christi* bitkisinden biyoaktivite rehberliğinde antidiyabetik etkili bileşiklerin izolasyonudur.

Gereç ve Yöntem: Ekstre/fraksiyonların antidiyabetik aktiviteleri α -glukozidaz yöntemi ile test edilmiştir. Ayrıca, aktif ekstrenin fraksiyonlarının antioksidan etkileri DPPH/ABTS radikal süpürme yöntemi ile test edilmiştir. Toplam fenolik, flavonoit ve triterpen içerikleri sırasıyla $AlCl_3$, Folin Ciocalteu ve vanilin-perklorik asit yöntemleri ile belirlenmiştir. Aktif ekstreden madde kromatografik yöntemlerle izole edilmiş ve yapısı spektroskopik yöntemlerle aydınlatılmıştır.

Bulgular: Ekstreler arasında PSDE ve fraksiyonlar arasında PSCEA, standart akarboz (261.70 $\mu g/mL$) ile karşılaştırıldığında 108.20 ve 97.45 $\mu g/mL$ IC_{50} değerleri ile güçlü bir antidiyabetik etki sergilemiştir. PSCEA'dan biyoaktivite yönlendirmeli fraksiyonlandırma ve izolasyon sonucunda 50.13 $\mu g/mL$ IC_{50} değerine sahip sukroz bileşiği elde edilmiştir. ABTS ve DPPH radikallerine karşı en iyi antioksidan aktivite de sırasıyla 0.82 ve 1.21 $\mu g/mL$ IC_{50} değerleri ile PSCEA'da tespit edilmiştir. En yüksek toplam fenolik, flavonoit ve triterpen içeriği sırasıyla 103,1 mg/g, 98,19 mg/g, ve 736,30 mg/g ile PSCEA'da hesaplanmıştır.

Sonuç: Bu sonuçlar, PSCEA'nın α -glukozidaz inhibitör aktivite ile test edilen antidiyabetik etkisine fraksiyondaki diğer bileşiklerle birlikte önemli ölçüde sukroz bileşiğinin katkı sağladığını göstermektedir. Etkiden sorumlu bileşiğin bir disakkarit şeker olan sukroz bileşiğinin olduğunun bulunması bitkinin dallarının (veya PSDE ile PSCEA'nın) diyabete karşı kullanılmasının önerilmesinin uygun olmayacağını düşündürse de antidiyabetik etkinin kesin olarak ortaya konulabilmesi için *in vivo* çalışmalara ihtiyaç vardır. Ayrıca geleneksel tıpta bitkinin diyabete karşı kullanılan meyvelerin aksine, dallarının daha güçlü antidiyabetik aktiviteye sahip olması da dikkat çekici bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Antidiyabetik aktivite, biyoaktivite yönlendirmeli izolasyon, Diabetes Mellitus, *Paliurus spina-christi*

2. SUMMARY

Title of Thesis: Bioactivity-guided isolation of antidiabetic compounds from *Paliurus spina-christi* P. Mill.

Student Name, Surname: Fatma DİNÇ SEKMAN

Supervisor Name : Assoc Prof. Ali ŞEN, Ph.D.

Program Name : Pharmacognosy Master Program

Objective: The aim of this study was the isolation of antidiabetic compounds from *Paliurus spina-christi* under bioactivity guidance.

Materials and Methods: Antidiabetic activities of extracts/fractions were tested by α -glucosidase method. In addition, antioxidant effects of fractions of active extract were tested by DPPH/ABTS radical scavenging method. Total phenolic, flavonoid and triterpene contents were determined by AlCl₃, Folin Ciocalteu and vanillin-perchloric acid methods, respectively. Compound from active extract was isolated by chromatographic methods and its structure was elucidated by spectroscopic methods.

Results: Among the extracts, PSDE and among the fractions, PSCEA exhibited a strong antidiabetic effect with IC₅₀ values of 108.20 and 97.45 μ g/mL compared to standard acarbose (261.70 μ g/mL). As a result of bioactivity directed fractionation and isolation from PSCEA, sucrose compound with IC₅₀ value of 50.13 μ g/mL was obtained. The best antioxidant activity against ABTS and DPPH radicals was also detected in PSCEA with IC₅₀ values of 0.82 and 1.21 μ g/mL, respectively. The highest total phenolic, flavonoid and triterpene contents were calculated in PSCEA with 103.1 mg/g, 98.19 mg/g, and 736.30 mg/g, respectively.

Conclusion: These results indicate that the antidiabetic effect of PSCEA tested by α -glucosidase inhibitory activity was significantly contributed by sucrose along with other compounds in the fraction. Although the finding that sucrose, a disaccharide sugar, is the compound responsible for the effect suggests that it would not be appropriate to recommend the use of the plant's twigs (or PSDE and PSCEA) against diabetes, *in vivo* studies are needed to conclusively demonstrate the antidiabetic effect. It is also noteworthy that unlike the fruits of the plant used in traditional medicine against diabetes, the twigs have stronger antidiabetic activity.

Keywords: Antidiabetic activity, bioactivity-guided isolation, Diabetes Mellitus, *Paliurus spina-christi*

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Bulaşıcı olmayan hastalıklar (BOH), diğer ismiyle kronik hastalıklar olarak bilinen uzun süreli olmakla birlikte çevresel, , fizyolojik, genetik ve davranışsal faktörlerin bir kombinasyonudur. Diyabet, kanserler, kardiyovasküler hastalıklar (inme ve kalp krizi gibi), kronik solunum yolu hastalıkları (astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı gibi) ve bu grup hastalıklara örnektir (Suthari ve ark., 2021).

Hiperglisemi ile karakterize edilen bir metabolik hastalık olan diyabet, insülin etkisinde, insülin sekresyonunda veya her ikisinde var olan bozuklukları kapsar (Lin & Zhang, 2023). Tüm dünyada yüz milyondan fazla insan Diabetes Mellitus (DM)'tan etkilenmekte ve bu da onu en yaygın endokrin hastalık yapmaktadır. Bu hastalık 2000 yılında, dünya çapında yaklaşık 171 milyon kişiyi etkilerken ve bu sayının 2030 yılına kadar en az 366 milyona çıkacağı tahmin edilmektedir (Mistry ve ark., 2023). Diyabet, otoimmün kökenli veya idiyopatik (Tip I DM) olabileceği gibi insülin direnci veya göreceli insülin eksikliğinden (Tip II DM) de kaynaklanabilir. Tip II DM'li hastalar insanların büyük çoğunluğunu (%90-95) oluştururken geri kalanı, tedavisi yalnızca insülin alımına bağlı olan tip I DM'den muzdariptir.

Oksidatif strese ve uzun süreli hiperglisemiye maruz kalan gözler, böbrekler, kalp gibi hayati organlar diyabet komplikasyonları açısından risk altındadır (American Diabetes Association (2014). Tip 2 diabetes mellitus (T2DM), insülin direnci ve düşük insülin sekresyonu gibi kusurlar içeren en yaygın DM tipidir (Jangid ve ark., 2023). Görülme sıklığı, özellikle genç bireylerde beklenenden önemli ölçüde daha fazla artmıştır. Ayrıca T2DM, toplumsal harcamalar yoluyla yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyen, kardiyovasküler hastalıklar ve böbrek yetmezlikleri dahil olmak üzere çeşitli klinik sonuçlara neden olmaktadır. Standart diyabet tedavisi olarak çok sayıda ilaç sentezlenmekte ve dünya çapında pazara sunulmaktadır. Fakat; bu ilaçları yaşam boyu bir program olarak düşünürsek, advers reaksiyonlar bunların kullanımını ve hasta uyumunu sınırlayabilir. Bu bağlamda, çok eski zamanlardan beri kullanılan tıbbi bitkiler, daha az yan etkiye sahip, uygun maliyetli ve az veya herhangi bir toksik etkiye sahip olmamaları nedeniyle büyük ilgi görmektedir (Mona Mousavi Esfahani ve ark., 2023). Halihazırda tip 2 diyabet tedavisinde kullanılan çok sayıda oral hipoglisemik ajan sınırlı etkinlik ve tolere edilebilirlikle karşılaşırken, antidiyabetik aktiviteye sahip doğal ürünlerin kullanımı önemli ölçüde artmıştır. Bitkisel ilaçlar, etkinlikleri, daha az yan etkileri ve nispeten düşük maliyetleri nedeniyle yaygın olarak reçete edilmektedir (Chukiatsiri ve ark., 2023).

Fitoterapinin önemli bir kaynağı olan tıbbi bitkiler önleyici, iyileştirici, koruyucu amaçlarla kullanılırlar. Tıbbi bitkiler, kanıtlanmış terapötik faydalarının yanı sıra, daha uygun fiyatlı tedavi imkanı sunmaları, daha az yan etkiye sahip olmaları ve nispeten daha düşük maliyetli olmaları nedeniyle tedavide küresel çapta tercih edilebilir olmaktadır. Aynı zamanda bitkisel kökenli ilaçların kullanılması da sentetik ilaçlara kıyasla nispeten daha güvenli görünmektedir (Buddhakala & Talubmook, 2020).

Sağlığın sürdürülmesi, hastalıkların önlenmesi ve teşhisinde yıllarca geleneksel halk ilacı olarak kullanılan tıbbi bitkiler, insanlığın kültürel miraslarından (Wangkheirakpam, 2018). Yeni ilaçların keşfinde de bu mirastan yararlanılması gerekmektedir. Bitkilerin halk tarafından antidiyabetik amaçlarla kullanımından yola çıkılarak yürütülen çok sayıda çalışma literatürde mevcuttur. Osadebe ve ark.'ları ile Alam ve ark.'larının yapmış oldukları derleme çalışmasında diyabete karşı etkili olduğu bilimsel çalışmalarla ortaya konulmuş çok sayıda bitki ve bu bitkilerden izole edilen moleküller rapor edilmiştir. Günümüzde şifalı bitkiler birçok hastalığın yanı sıra diyabetin tedavisinde de ilaç adayları moleküller sunmaktadır. Dünya çapında diyabet tedavisi için 800'den fazla bitkinin kullanıldığı rapor edilmiştir. Doğal ürünlerin etnobotanik araştırmalarının ardından, bilinen aktivitelere kanıt sağlamak amacıyla biyolojik aktivite çalışmalarının yapılması mantıklıdır. Farmakolojik etkilerin ortaya çıkmasında doğal kaynaklı ürünlerin taşıdıkları aktif bileşenler önemli rol oynamaktadır. Doğal ürünler, standardize ekstraktlar veya saf bileşikler, kimyasal çeşitlilikleri nedeniyle yeni ilaç geliştirme açısından önemli bir potansiyele sahiptir. Bu noktadan hareketle, hem α -amilazı hem de α -glukosidazı inhibe eden ajanlar yerine seçici α -glukosidaz inhibitörlerinin keşfedilmesinin, tip II DM için daha güvenilir ve daha az toksik ilaç adaylarının keşfedilmesi açısından büyük önem taşıyabilir (Yuca ve ark., 2018).

Türkiye, barındırdığı bitki türlerinin üçte biri endemik olan zengin bir floraya sahiptir. Tıbbi bitkilerin geleneksel kullanımı yaygın bir uygulamadır ve etnobotanik saha çalışmalarına göre Türkiye'de 1546 tür tıbbi bitki olarak kayıtlıdır. Diğer Avrupa ülkeleriyle karşılaştırıldığında Türkiye'deki bitki türlerinin endemizm oranı nispeten yüksektir. Doğu Anadolu, değişken iklimi ve çok sayıda ekolojik bölgesi nedeniyle zengin bir bitki örtüsüne sahiptir. Bitki örtüsündeki bu çeşitlilik, tıbbi bitkiler açısından zengin bir kaynak sağlar ve bu da bölgedeki dikkat çekici yerel tıbbi bilginin birikimine yol açar (Cakilcioglu ve ark., 2011).

Bu çalışmamızda ülkemizde kan şekerini düşürücü olarak etnobotanik kullanımı olan *Paliurus spina-christi* türü (Tuzlacı, 2016) üzerinde araştırma yürütülmüştür.

Rhamnaceae familyasına ait olan *Paliurus* cinsi dünyada *Paliurus spina-christi*, *P. hirsutus*, *P. ramosissimus*, *P. orientalis* ve *P. hemsleyanus* olmak üzere yaklaşık beş türle temsil edilirken bunlardan yalnızca *P. spina-christi* Mill. Türkiye florasında mevcuttur (Wfo Plant List, 2024; Takım, 2021). Ülkemizde *Paliurus spina-christi* Mill. "karaçalı" veya "çalı dikenli" olarak bilinmektedir. Bitki, Avrupa'nın güneyinde, Türkiye'de, Kırım'da, Kafkasya'da, Suriye'de, İran'da ve Irak'ta doğal olarak yetişir (Davis, 1982 ; Güner ve ark., 2012). Bitki, 2-4 metre yüksekliğe kadar büyüyen dikenli bir çalıdır. Bitkinin meyveleri, Türk geleneksel halk tıbbında antidiyabetik, idrar söktürücü, kabızlık giderici ve taş düşürücü olarak kullanılır. Ayrıca, geçmişte göz hastalıklarına karşı kullanıldığı bilinmektedir (Arituluk, 2012; Baytop, 1999). Bu türün flavonoidler, tanenler, amino asitler, alkaloidler ve sterol içeriği ile antibakteriyel ve antioksidan aktiviteleri önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Baytop, 1999; Brantner & Males, 1999; Güner, 2005; Kırca & Arslan, 2008). *Paliurus spina-christi*, halk arasında antidiyareik, idrar söktürücü olarak ve romatizma tedavisinde kullanılır. Ayrıca, bitkinin kanatlı (samara) tip meyveleri, göğüs enfeksiyonları, böbrek taşları ve göz enfeksiyonlarına karşı antienflamatuvar olarak kullanılır ve kaynamış yapraklar iltihaplara karşı haricen kullanılır. Kastamonu bölgesinde, olgun meyvelerin kaynatılmasıyla elde edilen ürünün solunum yetmezliği tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Meyveler idrar söktürücü ve kabızlık giderici etkiye sahiptir. *Paliurus spina-christi* türü mide ülserinde, gastritte, mide ağrısında, mide bulantısında, karın ağrısında, ishalde, nefes darlığında, bronşitte, öksürükte, grip, hemoroitte, kalp hastalığında, şeker hastalığında, yarada, çibanda, sivilcede, mantar hastalığında, idrar yolu enfeksiyonlarında, böbrek rahatsızlıklarında, böbrek taşı ve kumunda kullanımlarının yanı sıra idrar arttırıcı, gaz söktürücü, balgam söktürücü ve tansiyon düşürücü olarak geleneksel kullanımlara sahiptir (Tuzlacı, 2016).

Kişinin yaşamsal fonksiyonlarının sağlıklı bir şekilde devamının sağlanması için hipergliseminin azaltılmasının yanı sıra antioksidan savunma mekanizmaları da büyük önem taşımaktadır. *Paliurus spina-christi* türünün özellikle fenolik bileşenleri sekonder metabolit olarak içerdiği, antioksidan, antitirozinaz, antidiyabetik ve anti-Alzheimer aktivitelerine sahip olduğu bilimsel çalışmalarda ortaya çıkarılmıştır. Birçok çalışma, bu bitkinin antioksidan [Arslan, 2021; Şen, 2018; Takım & Işık, 2020] ve antidiyabetik (Takım, 2016) özellikleri de dahil olmak üzere biyolojik özelliklerini kanıtlamıştır.

Bir ön çalışma kapsamında diyabete karşı geleneksel kullanımı olan *Paliurus spina-christi* türünün meyvesi ile dal ve yapraklarından elde edilen etanol ekstraktlarının α -glukozidaz enzimine karşı etkisi araştırılmış ve diyabete karşı geleneksel kullanımı olmayan dallarının

meyvesinden (geleneksel kullanımı olan) daha iyi bir antidiyabetik etkiye sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır. Bu nedenle bu çalışmada aktif dal etanol ekstresinden sıvı-sıvı ekstraksiyonla elde edilen fraksiyonların (hekzan, kloroform, etil asetat ve su) *in vitro* antidiyabetik aktiviteleri (a-glukozidaz inhibitör aktivite) ilk kez değerlendirilmiş ve en aktif çıkan fraksiyon üzerinden kromatografik yöntemler kullanılarak biyoaktivite rehberliğinde etkili bileşiğin ilk kez ortaya çıkarılması sağlanmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Botanik Bilgiler

4.1.1. Rhamnaceae

Ağaçlar veya çalılar, dikensiz veya dikenli, tendrilli değil. Yapraklar karşılıklı veya alternan, stipulalı, basit. Çiçekler küçük, aktinomorf, tek eşeyli veya hermafrodit, çoğunlukla nektar diskisi ile kaplı hipantiyumlu. Sepaller 4-5 adet. Petaller 4-5(-0), serbest, Stamenler 4-5, petallerin önünde. Ovaryum üst durumludan alt durumluya kadar değişen şekillerde, 2-4 gözlü. Meyve drupamsı veya kuru ve kanatlı, 2-4 pirenli (Davis ve ark., 1967).

4.1.2. *Paliurus* Miller

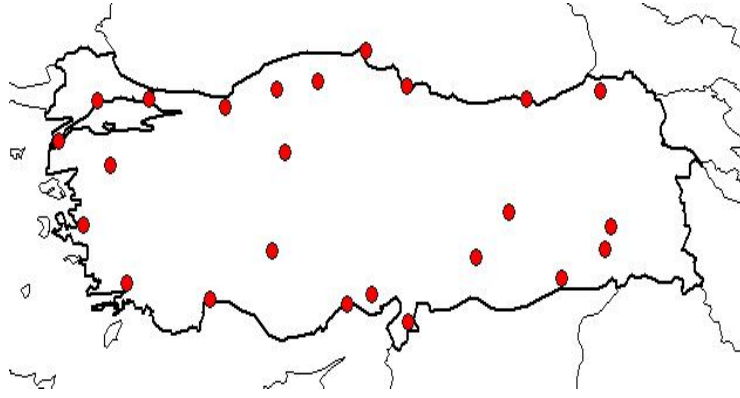
Yaprak dökken çalı. Dalları alternan, demetler halinde değil. Yapraklar alternan, ovat, tabandan itibaren 3-damarlı, belirgince saplı. Stipulalar dikensi, biri düz, diğeri kancalı. Çiçekler 3 parçalı, hermafrodit, sarı, yaprak koltuklarında simozlar halinde. Stilus iki parçalı. Meyve sert ve kuru, basık-küremsi, üst yarısında geniş yatay bir kanatla çevrili (Davis ve ark., 1967).

4.1.3. *Paliurus spina-christi* Miller

2-4 m uzunluğunda dikenli çalılar. Yapraklar ovat, az-çok serrulat, çıplak, otsu, yaprak sapının 2-4 katı uzunluğunda. Simozlar gevşek. Sepaller çıplak. Meyve çoğunlukla undulat, ekvatoryal kanatla birlikte 2-2.5 cm çapında. Çiçeklenme dönemi 5.-7. aylar. Boğazlar, nehir vadileri, açıklıklar ve boş alanlarda, deniz seviyesinden 1400 m ye kadar yükseklikte yetişir (Davis ve ark., 1967).



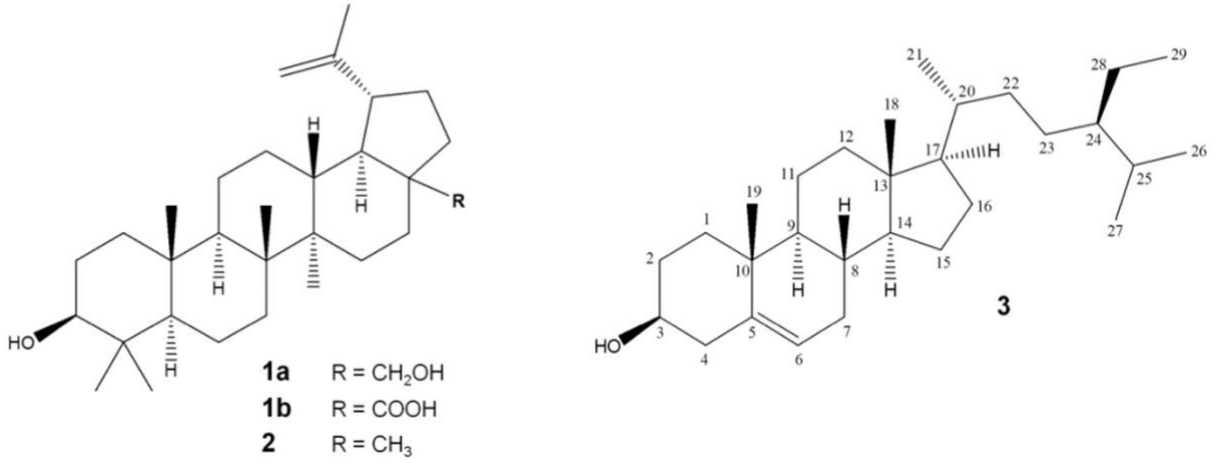
Şekil 1. *Paliurus spina-christi* türü (Kula-Manisa, Ekim 2023, Fotoğraflar: Doç. Dr. Ali ŞEN)



Şekil 2. *Paliurus spina-christi* türünün Türkiye’de yayılışı (TÜBİVES, 2024)

4.2. *Paliurus spina-christi* üzerinde yapılan fitokimyasal ve biyolojik aktivite çalışmaları

Paliurus spina-christi türünün meyveleri üzerinde enzim inhibisyonuna dayalı olarak yapılan bir *in vitro* antidiyabetik aktivite çalışmasında meyvesinin % 70’lik metanol ekstresinin n-hekzan fraksiyonunun α -glukozidaz enzimine karşı 445,70 $\mu\text{g/mL}$ IC_{50} değeriyle akarbozdan ($\text{IC}_{50} = 4212,60 \mu\text{g/mL}$) daha iyi inhibitör aktivite gösterdiği, α -amilaz üzerinde ise inhibitör etkisinin çok düşük olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca aktif hekzan fraksiyonundan bir karışım (betulin, betülinik asit) ve lupeol olmak üzere üç triterpen ve bir sterol (β -sitosterol) izole edilmiş ve izole edilen bu bileşiklerden, özellikle betulin ve betülinik asit karışımının ($\text{IC}_{50} = 248 \mu\text{M}$), akarbozdan ($\text{IC}_{50} = 6561 \mu\text{M}$) daha yüksek α -glukozidaz inhibitör aktivite gösterdiği bulunmuştur (Şekil 3).



Şekil 3. Saflaştırılan bileşikler-1 (1a: betulin, 1b : betülinik asit, 2 : lupeol, 3 : β-sitosterol) (Moleküllerin şekilleri Yuca ve ark. [2022]’larının makalesinden alınmıştır.)

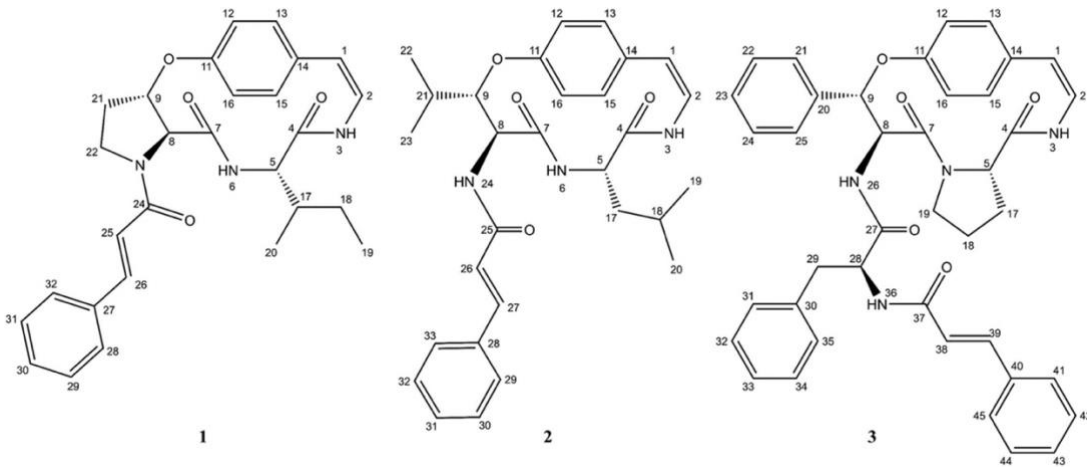
Zengin ve ark. (2023) tarafından yapılan bir çalışmada 2020 yılında Isparta'dan toplanan *Paliurus spina-christi* türünün meyve, yaprak ve dallarından maserasyon yöntemiyle n-hekzan, etil asetat, diklorometan, metanol; infüzyon yöntemiyle ise su ekstraları hazırlanmış ve bu ekstraların fitokimyasal analizleri ile biyolojik aktiviteleri değerlendirilmiştir. Bitkinin dallarından elde edilen metanol ekstresi DPPH (909.88 mg TE/g ekstre), ABTS (3358.33 mg TE/g ekstre), CUPRAC (781.88 mg TE/g ekstre), FRAP (996.70 mg TE/g ekstre) ve PBD (4.96 mmol TE/g ekstre), diklorometan ekstresi ise MCA (28.80 mg EDTAE/g ekstre) metotları kullanılarak gerçekleştirilen antioksidan aktivite deneylerinde en iyi antioksidan aktiviteyi sergilemiştir. En iyi asetilkolinesteraz (AChE) inhibitör etkiyi bitkinin dallarından elde edilen hekzan ekstresi (8.89 mg GALAE/g ekstre) gösterirken bütirikolinesteraz (BChE) enzimine karşı ise en iyi aktiviteyi bitkinin dallarına ait metanol ekstresi (2.50 mg GALAE/g ekstre) göstermiştir. En yüksek tirozinaz inhibisyon aktiviteyi ise yine bitkinin dallarına ait metanol ekstresi (82.93 mg KAE/g ekstre) göstermiştir. α-amilaz ve α-glukozidaz enzimlerine karşı en iyi inhibisyon etkiyi sırasıyla bitkinin meyvesine ait etil asetat (0.63 mg ACAE/g ekstre) ve dallarına ait diklorometan (1.07 mg ACAE/g ekstre) ekstraları göstermiştir. Bitkinin dallarına ait metanol ekstresinin (121.78mg GAE/g ekstre) en yüksek toplam fenolik bileşik miktarına, yapraklarına ait metanol ekstresinin ise (75.36 mg RE/g ekstre) en yüksek toplam flavonoit bileşik miktarına sahip olduğu bulunmuştur. Ayrıca bu türün dal, meyve ve yaprak kısımlarından elde edilen metanol ve su ekstralarının fitokimyasal analizi gerçekleştirilmiş ve dal ekstralarında (metanol ve su) kersetin ve epigallokateşin türevi bileşiklerin, meyve ekstralarında şekerlerin ve kersetin türevi bileşiklerin, yaprak metanol ekstresinde kemferol

türevi bileşiklerin, yaprak su ekstresinde ise kemferol ve kersetin türevi bileşiklerin bol miktarda bulunduğu tespit edilmiştir (Zengin ve ark., 2023).

Grande ve ark. (2024) tarafından yapılan bir çalışmada bitkinin meyvelerinden elde edilen metanol ekstraktlarının antioksidan ve lipaz inhibitör aktiviteleri ile fitokimyasal içerikleri araştırılmıştır. Bitkinin meyvelerinin en iyi antioksidan aktivite (DPPH süpürücü aktivite testi [IC₅₀]: 53.41 µg/mL; β-karoten ağartma testi [IC₅₀]: 30 dakika sonra 11.45 µg/mL, 60 dakika sonra 17.38 µg/mL) ile pankreatik lipaz inhibitör aktiviteye (IC₅₀: 2.19 mg/mL) sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca her iki ekstrede de fenolik asit olarak gallik asit, flavonoit olarak ise rutin, izokersitrin ve kemferol 3-O-glukozit-7-O-rhamnozid bileşiklerinin varlığı HPTLC yardımıyla tayin edilmiştir (Grande ve ark., 2024).

Paliurus spina-christi türünün meyvelerinin streptozotosin ile indüklenen diyabetik sıçanlarda antidiyabetik etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, insülin ve ekstre uygulanan gruplar diyabetik kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, kan şekeri ve glikolize hemoglobin seviyelerinin istatistiksel olarak düştüğü, ekstre uygulanan gruplar insülin uygulanan gruplarla karşılaştırıldığında, kan şekeri seviyelerinde istatistiksel olarak bir düşüş gözlemlendiği ve ekstre konsantrasyonundaki artışın antidiyabetik aktiviteye önemli bir katkıda bulunmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca bitkinin meyvelerinin LC-MS/MS ile analizinde rutin, kateşin, hesperidin, kinik asit ve malik asit sekonder metabolitlerini majör bileşik olarak taşıdıkları, meyvenin ICP-OES ile analizinde sodyum, kalsiyum, magnezyum ve fosfor elementleri makro düzeyde bulunduğu tespit edilmiştir (Takım, 2021).

Paliurus spina-christi türünün meyvesinden elde edilen metanol ekstresinin etil asetat fraksiyonundan siklopeptit alkaloit yapısında, spinakristin A (1), sanyoinenin (2) and oksifillin C (3) izole edilmiştir (Amountzias ve ark., 2024; Şekil 4).



Şekil 4. Saflaştırılan bileşikler-2 [1: Spinakristin A, 2: Anyoinenin, 3: Oksifillin C, Moleküllerin şekilleri Amountzias ve ark. (2024)'larının makalesinden alınmıştır].

Paliurus spina-christi türünün yapraklarından flavonol iskelet yapısına sahip kersetin-3-rutinozit-7-rhamnozit ve kemferol-*O*-triglükozit izole edilmiştir (Brantner ve Maleš, 1990).

Paliurus spina-christi türünün çiçek, kabuk, kök meyve ve yapraklarından hazırlanan % 90 etanolik ekstralarının test edilen tüm Gram-pozitif bakterilere (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis* ve *Micrococcus luteus*) karşı 8.5 ila 14.0 mm çapında net inhibisyon zonları oluşturarak aktivite gösterdiği bulunmuştur. En yüksek aktivitenin (10.0 ile 14.0 mm arasında inhibisyon zonları) kök ekstralarında bulunduğu rapor edilmiştir. Ekstrelerin *Shigella sonnei* suşuna karşı antibakteriyel aktivitesi ise 8.5 ila 10.0 mm çapında ölçülmüştür. Diğer Gram-negatif bakterilere (*Proteus mirabilis* ve *Escherichia coli*) karşı herhangi bir aktivite gözlenmediği ifade edilmiştir (Brantner ve ark., 1996).

Paliurus spina-christi türünün çiçek, meyve ve yapraklarından elde edilen metanol ekstresinin HPLC cihazından standartlarla karşılaştırılarak içeriği analiz edilmiş ve en yüksek flavonoit içeriğinin Haziran ve Temmuz aylarında yapraklarda bulunmuştur. Ayrıca yetiştirme alanının veya hasat yılının flavonoit içeriği üzerinde önemli bir etkisinin gözlenmediği ifade edilmiştir. Kersetin 3-*O*-rhamnoglukoz 7-*O*-rhamnozit ve rutin, incelenen tüm bitki kısımlarında (çiçek, meyve ve yapraklarda) ana flavonoitler olarak bulunmuştur (Brantner ve Males, 1999).

Kastamonu ilçesinden 2014 yılının temmuz ayında toplanan *Paliurus spina-christi* bitkisinin meyvelerinden elde edilen % 70 metanol ekstresinin etil asetat ve n-bütanol fraksiyonlarından (+/-) kateşin, gallokateşin ve rutin bileşikleri izole edilmiş ve meyvelerin metanolik ekstresi tek başına DNA tek iplikçik kırılmalarını indüklemeyen, kateşin, gallokateşin ve rutin bileşiklerinin H₂O₂ kaynaklı DNA hasarını önemli ölçüde azalttığı rapor edilmiştir (Zor ve ark., 2017).

Ekibimizden bir araştırmacı tarafından tarafından yapılan bir çalışmada, *Paliurus spina-christi* türünün meyve, yaprak ve dallarından elde edilen etanol ekstraları ile bunların *n*-hekzan, kloroform, etil asetat ve sulu etanol fraksiyonlarının DPPH ve ABTS metotları ile antioksidan, 5-lipoksijenaz inhibitör aktive metodu ile anti-inflamatuar aktiviteleri ve Folin-Ciocalteu yöntemi ile toplam fenolik içerikleri araştırılmış ve DPPH ve ABTS radikallerine karşı *P. spina-christi* dallarının etil asetat ve etanol ekstralarının sırasıyla 15.54 ve 22.06 µg/ml IC₅₀ değerleri ile en yüksek antioksidan aktiviteyi gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca, en yüksek toplam fenol bileşik içeriğinin *P. spina-christi* dallarının etil asetat özütünde (286.6 mg/g) bulunduğu ifade edilmiştir. Ekstrelerin anti-inflamatuar aktivitelerinin değerlendirildiği 5-lipoksijenaz (LOX) inhibisyon testinde ise, *P. spina-christi* yapraklarının etilasetat ve etanol ekstralarının

66,28 ve 76,75 µg/mL IC₅₀ değerleri ile en iyi anti-enflamatuar aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir (Şen, 2017).

Arslan ve Kaya (2021) tarafından yapılan bir çalışmada Kahramanmaraş ilinden toplanan *Paliurus spina-christi* türünden etanol ve su ekstraheleri elde edilmiş ve bu ekstrahelerin Bakır iyonları indirgeyici antioksidan kapasite (CUPRAC), DPPH radikal süpürücü aktivite, ABTS radikal katyonu süpürücü aktivite metotlarıyla antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiş ve 800 µg/mL konsantrasyonda sırasıyla meyve su ekstresi (0,824 absorbans değeri), yaprak etanol ekstresi (% 80,2 inhibisyon) ve meyve su ekstresi ile meyve etanol ekstresi (ikisi de % 96,2 inhibisyon değeriyle) en yüksek antioksidan aktivite sergiledikleri görülmüştür. Ayrıca yaprak etanol ekstresinin *Escherichia coli*, meyve etanol ekstresinin *Klebsiella pneumoniae* ve her iki ekstrenin *Staphylococcus aureus* suşuna karşı oldukça iyi bir antimikrobiyal aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Arslan ve Kaya, 2021).

Esfahani ve ark. (2023), *Paliurus spina-christi* meyve ekstrahelerinin (total, metanolik ve kloroform ekstresi) yüksek glikoz ve yüksek insülinle indüklenmiş insüline dirençli HepG2 hücrelerinde glikoz tüketimi ve insülin sinyal yollarının bazı temel araçları üzerindeki etkilerini araştırmış ve yüksek konsantrasyonlarda metanolik ve hem düşük hem de yüksek konsantrasyonlarda total ekstrenin insüline dirençli HepG2 hücre hattı modelinde glikoz alımını artırdığını bulmuştur. AKT ve AMPK (AMP ile aktive olan protein kinaz) fosforilasyonunun metanolik ekstrenin yüksek gücü ile önemli ölçüde arttığını, toplam ekstrenin düşük ve yüksek konsantrasyonlarda AMPK aktivasyonunu artırdığını gözlemlemiştir. Ayrıca, GLUT 1 (Glukoz taşıyıcı 1), GLUT 4 (Glukoz taşıyıcı 4) ve INSR (İnsülin reseptör) ekspresyonunun hem metanolik hem de toplam ekstraheler tarafından yükseltildiği gözlemlenmiştir (Esfahani ve ark., 2023).

Paliurus spina-christi yapraklarından kersetin 3-O-glukozit (izokersitrin), kersetin 3-O-ramnoglukozit (rutin), kersetin 3-O-ramnoglukozit 7-O-ramnozid, skoparin 7-O-ramnoglukozit, kemferol 3-O-ramnoglukozit 7-O-ramnozid, kersetin 3-O-ramnoglukozit 4'-O-glukozit flavonol yapısında bileşikler izole edildiği rapor edilmiştir.

Paliurus spina-christi türünün yaprak ve çiçek etanol ekstrahelerinin insan MCF-7 ve MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerindeki olası anti-kanser etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada yaprak ve çiçek ekstrahelerinin MCF-7 hücrelerinde 72 saat muamelesinden sonra önemli sitotoksik etkiler tespit edilmesine rağmen MDA-MB-231 hücrelerinde bu etkinin tespit edilmediği bulunmuştur. Ayrıca *Paliurus spina-christi* türünün hem yaprak hem de çiçek ekstraheleri MCF-7 hücrelerinde apoptotik hücre ölümünü indüklediği rapor edilmiştir. Aynı

Çalışma kapsamında yürütülen fitokimyasal taramada ise, *P. spina-christi* türünün yaprak ekstresinin pirolidin, 2-dekenal, 2-undekanal, fitol, oleik asit, oleamit, skualan, E vitamini ve gamma-sitosterol; iek ekstrelerinin ise pirolidin, 2-dekenal, 2-undekanal, oleik asit, lupeol ve gamma-sitosterol içerdiği gösterilmiştir (Oguz ve ark., 2022).

P. spina-christi türünün kurutulmuş olgun meyvelerinden frangulanin, frangufolin, amfibi C ve amfibi D olarak tanımlanan dört siklopeptit alkaloidinin izole edildiği belirtilmiştir (Velcheva, 1993).

5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1. Bitki materyalinin toplanması ve teşhisi

Paliurus spina-christi bitkisinin yaprak, dal ve meyveleri Manisa ilinin Kula ilçesinden 29 Ekim 2023 tarihinde Doç. Dr. Ali ŞEN ve Dr. Öğr. Üyesi İsmail ŞENKARDEŞ tarafından toplanmış olup bitkinin teşhisi Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Dr. İsmail ŞENKARDEŞ tarafından yapılmıştır. Bitkinin birkaç örneği M.Ü. Eczacılık Fakültesi Herbaryumu (MARE)'nda saklanmaktadır (Mare No: 23194).



Şekil 5. *Paliurus spina-christi* türünün yaprak, dal ve meyveleri

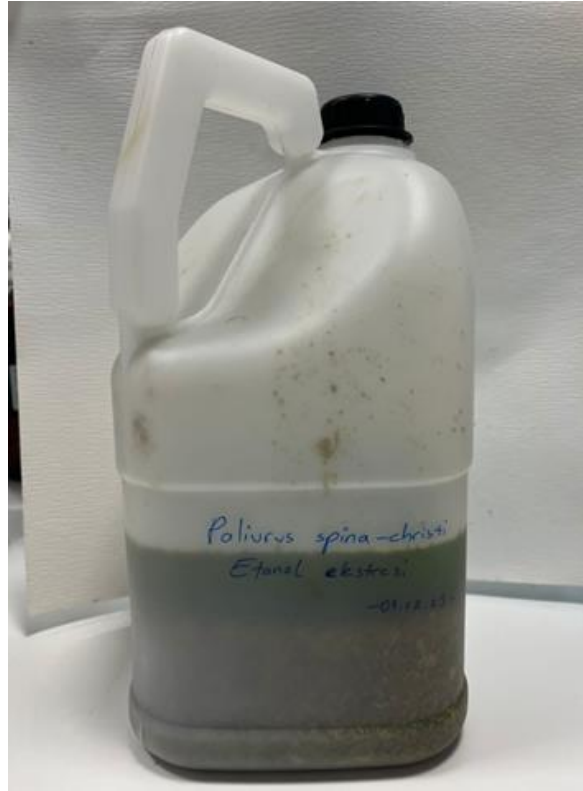


Şekil 6. *Paliurus spina-christi* türünün öğütülmeye hazır dal kısımları

5.2. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması

Paliurus spina-christi türünün meyve, dal ve yaprakları birbirinden ayrılarak, ayrı ayrı oda sıcaklığında ve gölgede kurutulmuştur. Toz haline getirilen ve yaklaşık 10 g tartılan örnekler maserasyon yöntemiyle % 90 etanol kullanılarak 24 saat ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuş, ardından filtre kağıdından süzölmüştür. Bakiyeye tekrar % 90 etanol ilave edilerek bu süreç 3 kez tekrarlanmıştır. Ardından birleştirilen süzöntüler rotary evaporatörde 40°C'yi geçmeyen sıcaklıkta kuruluğa kadar uçurularak etanol ekstreleri elde edilmiştir. Elde edilen kuru ekstrelerin verim hesabı yapıldıktan sonra α -glukozidaz inhibitör testinde aktiviteleri test edilmiş ve en aktif çıkan dal etanol ekstresi, suda süspansiyon halinde hunisine aktarılarak,

önce hekzan ile çalkalanmış ve bu işleme hekzanlı kısımlar renksiz olana kadar devam edilmiştir. Hekzanlı fraksiyonlar birleştirilerek Na₂SO₄ ile suyu alındıktan sonra rotary evaporatörde yoğunlaştırılmıştır. Kalan sulu ekstre ayırma hunisine konularak kloroform ile çalkalanmış ve bu işlem kloroformlu kısımlar renksiz olana kadar tekrarlanmıştır. Kloroformlu fraksiyonlar Na₂SO₄ ile suyundan kurtarıldıktan sonra rotary evaporatörde yoğunlaştırılmıştır. Son olarak, sulu ekstre ayırma hunisinde etil asetat ile çalkalanmış ve bu işlem etil asetatlı kısımlar renksiz olana kadar sürdürülmüş, ardından etil asetatlı fraksiyonlar birleştirilerek Na₂SO₄ ile suyu çekildikten sonra rotary evaporatörde yoğunlaştırılmıştır. Elde edilen 4 adet fraksiyonun (hekzan, kloroform, etil asetat ve su) % verim hesabı yapılarak tüm örnekler analizlere kadar + 4°C’de bekletilmiştir. Fraksiyonlar arasında en iyi antidiyabetik (α -glukosidaz inhibitör) aktivite sergileyen PSCEA’dan madde izolasyonu için daha yüksek miktarda elde edilebilmesi için *Paliurus spina-christi* türünün dal kısımları öğütülmüş, 843.18 g olarak tartılmış ve ekstraksiyona başlanmıştır (Şekil 7).



Şekil 7. *Paliurus spina-christi* türünün dal kısımlarının etanolle maserasyona bırakılması



Şekil 8. *Paliurus spina-christi* dal kısmı etanol ekstresinin çözücüsünün rotary evaporatörde kuruluğa kadar uçurulması



Şekil 9. *Paliurus spina-christi* çözücüsü uçurulmuş dal kısmı etanol ekstresi



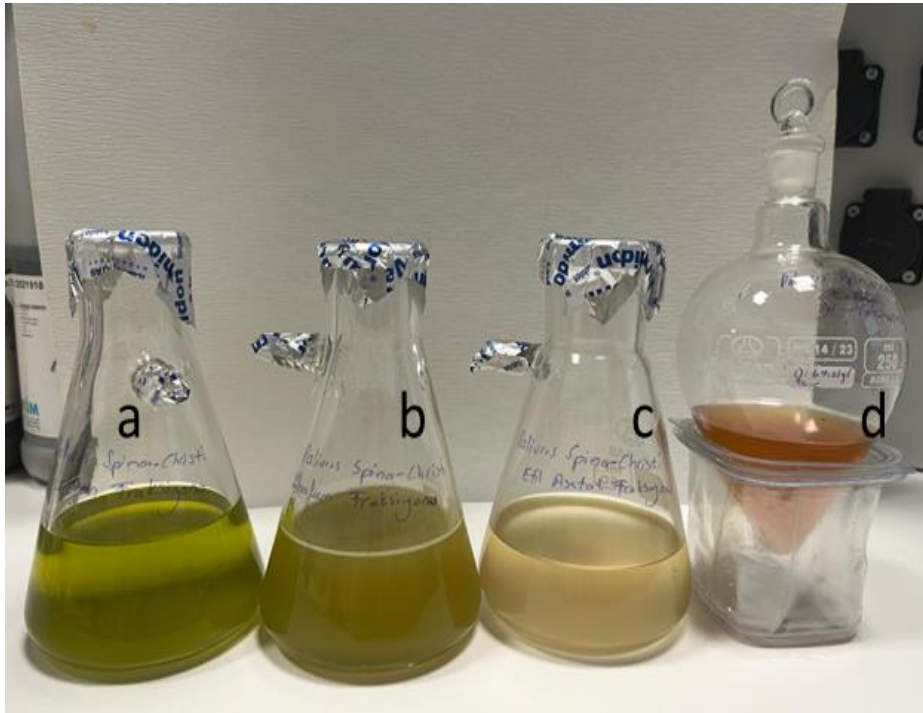
Şekil 10. *Paliurus spina-christi* dal kısmı etanol ekstresinin hekzan ile fraksiyonlama işlemi



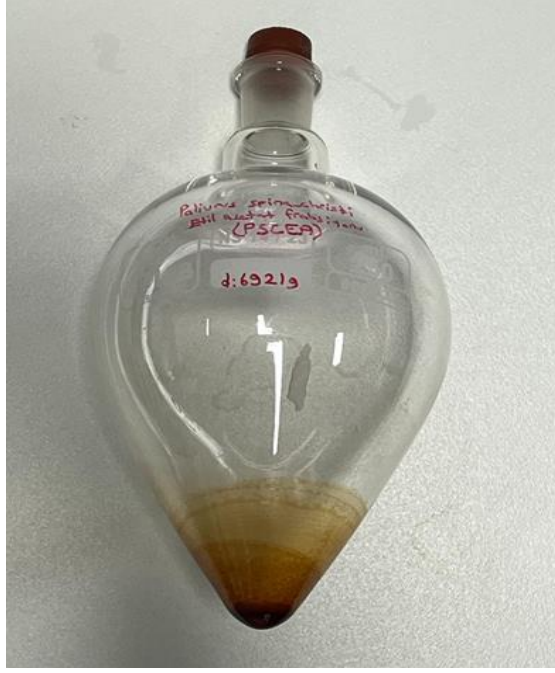
Şekil 11. *Paliurus spina-christi* dal kısmı etanol ekstresinin kloroform ile fraksiyonlama işlemi



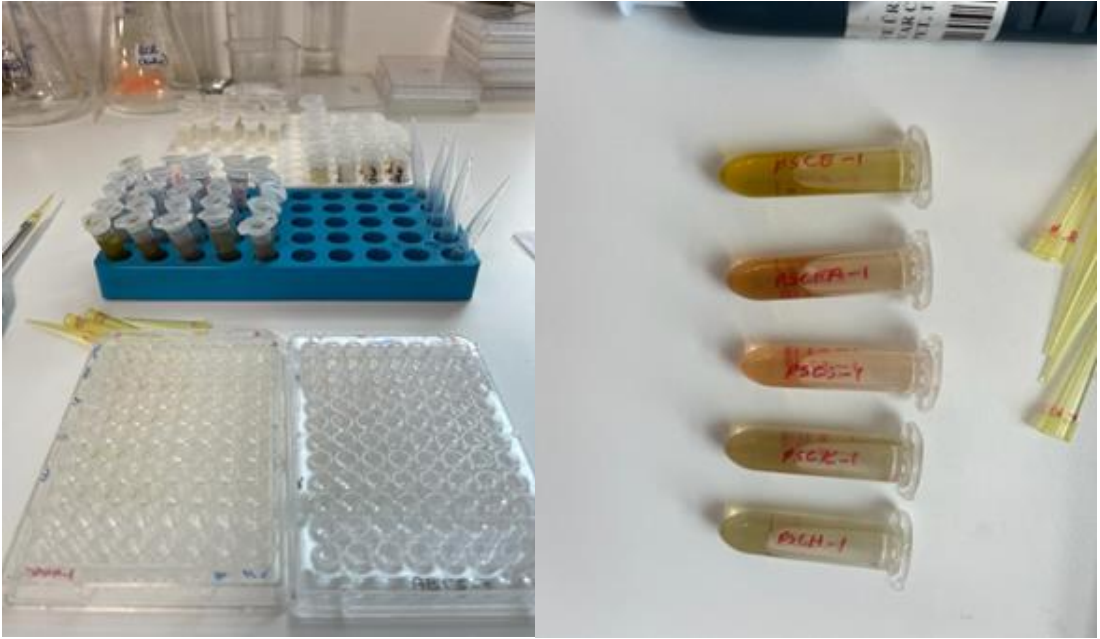
Şekil 12. *Paliurus spina-christi* dal kısmı etanol ekstresinin etil asetat ile fraksiyonlama işlemi



Şekil 13. Rotary evaporatörde çözücüleri uçurulmaya hazır fraksiyonlar (a: Hekzan fraksiyonu; b: Kloroform fraksiyonu; c: Etil asetat fraksiyonu; d: Su fraksiyonu)



Şekil 14. Aktif *Paliurus spina-christi* dal kısmı etil asetat fraksiyonunun çözücüsü uçurulmuş hali



Şekil 15. Analizler için örneklerin hazırlanması

5.3. Toplam Fenolik Bileşik Miktar Tayini

Örneklerin toplam fenolik bileşik miktarı, Folin-Ciocalteu solüsyonu kullanılarak Gao ve ark. (2000) tarafından önerilen metoda göre mikropolağa uyarlanarak yapılmıştır (Yıldırım ve ark., 2019). Örneklerden 5 mg/ mL konsantrasyonda dimetil sülfoksitte (DMSO) hazırlanan stok çözeltilerden 10 µL plakalara alındı ardından sırasıyla 20 µL Folin-Ciocalteu reaktifi (Sigma), 200 µL ultra saf su ve 100 µL %15'lik Na₂CO₃ ilave edildi. Çözeltiler oda sıcaklığında 2 saat inkübasyondan sonra 765 nm absorbansta ölçüldü. Standart eğri grafiği için, gallik asit kullanılarak (500-15.63 µg/mL) her bir konsantrasyona karşılık gelen absorbanlar ölçüldü. Toplam fenolik bileşik miktarı, g ekstrede/fraksiyonda mg gallik asit eşdeğeri (GAE)olarak ifade edildi. Örnek ölçümleri 4 kez, standart eğri grafiği için ölçümler ise 5 kez tekrarlandı.

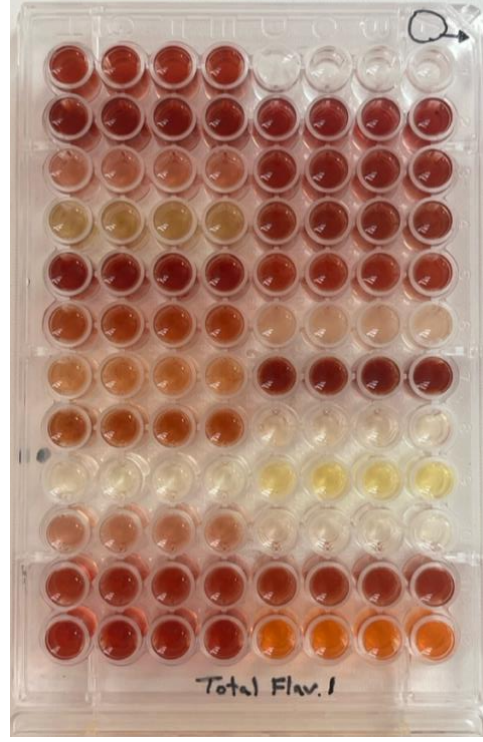


Şekil 16. Total fenolik bileşik miktar tayinine ait mikropolaka görüntüsü

5.4. Toplam Flavonoit Bileşik Miktar Tayini

Örneklerin toplam flavonoit bileşik miktarı, Zhang ve ark. (2013), tarafından önerilen metoda göre mikropolağa uyarlanarak yapılmıştır (Yıldırım ve ark., 2019). Örneklerden 5 mg/mL DMSO'da hazırlanan stok çözeltilerden 25 µL plakalara alındı, üzerine 125 µL ultra saf su ve 7.5 µL %5 NaNO₂ ilave edildi. 6 dakika sonra çözelti üzerine 15 µL %10 AlCl₃.6H₂O eklendi. 5 dakika sonra, 50 µL NaOH (1 M) eklenerek çözeltinin hacmi ultra saf su ile 250 µL'ye tamamlandı. Çözeltiler hemen 510 nm absorbansta diğer bileşenler sabit kalmak şartıyla, sadece örneklerin yerine aynı miktarda DMSO eklenerek oluşturulan köre karşı okundu. Standart eğri

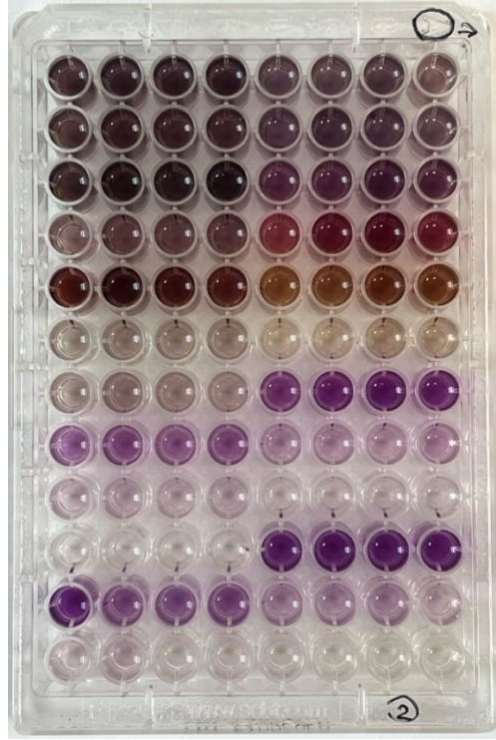
grafiği için, kersetin kullanılarak (500-15.63 $\mu\text{g/mL}$) her bir konsantrasyona karşılık gelen absorbanslar ölçüldü. Örneklerin toplam flavanoit bileşik miktarı hesaplanarak g ekstrede/fraksiyonda mg kersetine eşdeğer olarak ifade edildi. Örnek ölçümleri 4 kez, standart eğri ölçümleri 5 kez tekrarlandı.



Şekil 17. Total flavonoit bileşik miktar tayinine ait mikroparka görüntüsü

5.5. Toplam Triterpen Bileşik Miktar Tayini

Chang ve ark. (2012)'lerinin yöntemi mikroparka uyarlanmıştır. Örneklerden 5 mg/mL metanolde hazırlanan stok çözeltinin 10 μL 'si, 15 μL vanilin-glasiyal asetik asit solüsyonu (%5 w/v) ve 50 μL perklorik asit solüsyonu ile karıştırılmıştır. Plaka, 45 dakika boyunca 60 °C'de ısıtılacak ardından bir buz-su banyosunda oda sıcaklığına kadar soğutulmuştur. 225 μL glasiyal asetik asit eklendikten sonra, çözeltilerin absorbansı, spektrofotometrede 548 nm'de ölçülmüştür. Standart eğri grafiği için, oleanolik asit (stok konsantrasyon aralığı : 1200-37.5 $\mu\text{g/mL}$) kullanılarak her bir konsantrasyona karşılık gelen absorbanslar ölçülmüştür. Ekstre/fraksiyonların toplam triterpen içerikleri, bu grafikten hesaplanarak sonuçlar g ekstrede mg oleanolik asit eşdeğeri olarak ifade edilmiştir. Örneklerin ölçümleri dört defa, standart eğri ölçümleri ise beş defa tekrarlanmıştır (Chang ve ark., 2012).



Şekil 18. Total triterpen bileşik miktar tayinine ait mikroparka görüntüsü

5.6. *In Vitro* Antioksidan Aktivite

5.6.1. DPPH Serbest Radikal Süpürücü Aktivite

Örneklerin DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikal süpürücü aktivitesi Zou ve ark. (2011) tarafından önerilen metoda göre ölçüldü. Farklı konsantrasyonlarda (5000-9.77 µg/mL) DMSO'da hazırlanan stok çözeltilerden 10 µL, 96 kuyucuklu plakaya aktarıldı. Üzerine 190 µL metanolde hazırlanan DPPH (0.1 mM) çözeltisi içine eklendi. Karışım şiddetli bir şekilde çalkalandı ve oda sıcaklığında karanlıkta 30 dakika bekletildi. Absorbans ölçümleri 517 nm'de yapıldı. Örneklerin ve standartın DPPH radikale karşı serbest radikal süpürücü aktivite yüzdesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$\text{DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A_0 : Kontrolün absorbansı: Örnek hariç (onun yerine DMSO) tüm bileşenleri içerir.

A_1 : Ekstrenin/standartın absorbansı: Örnek dahil tüm bileşenleri içerir.

% 50 inhibisyon sağlayan örneklerin konsantrasyonu (IC_{50}), inhibisyon yüzdesinin ekstre konsantrasyonuna karşı grafiğinin çizilmesi ile hesaplandı. Testler üç kez tekrarlandı. Pozitif kontrol olarak askorbik asit kullanılmıştır.



Şekil 19. DPPH radikal süpürücü aktivite tayinine ait mikroplaka görüntüsü

5.6.2. ABTS Radikal Katyon Süpürücü Aktivite

Örneklerin ABTS (2,2-azino-bis-3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) serbest radikal katyonu süpürücü aktivitesi Zou ve ark. (2011) tarafından önerilen metoda göre ölçüldü. ABTS radikal katyonları, ABTS (H₂O'da 7 mM) ve potasyum persülfat (H₂O'da 4,9 mM) eşit hacimlerde karıştırılarak, oda sıcaklığında karanlıkta 12-16 saat reaksiyona sokularak hazırlandı. Daha sonra, ABTS radikal katyon çözeltisi, % 96'lık etanolle 734 nm'de yaklaşık 0,7 absorbansa seyreltilti. Farklı konsantrasyonlarda DMSO hazırlanan stok çözeltinin (5000-9,77 µg/mL) 10 µL'si, 96 kuyucuklu plakada 190 µL ABTS radikal çözeltisine ilave edildi ve oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dakika bekletildi. Absorbans ölçümleri 734 nm'de yapıldı. Örneklerin, ABTS radikal katyonuna karşı serbest radikal temizleme aktivite yüzdesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$\text{ABTS serbest radikal temizleme aktivitesi (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A₀ : Kontrolün absorbansı: Örnek hariç (onun yerine DMSO) tüm bileşenleri içerir.

A₁ : Ekstrenin/standartın absorbansı: Örnek dahil tüm bileşenleri içerir.

% 50 inhibisyon sağlayan örnek konsantrasyonu (IC₅₀), inhibisyon yüzdesinin örnek konsantrasyonuna karşı grafiğinin çizilmesinden hesaplandı. Testler üç kez tekrarlandı. Pozitif kontrol olarak Troloks kullanıldı.



Şekil 20. ABTS radikal katyonu süpürücü aktivite tayinine ait mikrolaka görüntüsü

5.7. Antidiyabetik Aktivite

5.7.1. α -glukozidaz İnhibitör Aktivite

Ramakrishna ve ark. (2017) tarafından önerilen antidiyabetik aktivite yöntemi [32] üzerinde birkaç değişiklik ile gerçekleştirildi (Sen ve ark., 2019). Farklı stok konsantrasyonda (5000-9.77 $\mu\text{g/mL}$) hazırlanan çözeltilerden alınan 10 μL örnek, 40 μL 0.1 M sodyum fosfat tamponu (pH 6.9) ve 100 μL tamponda hazırlanan α -glukozidaz (*Saccharomyces cerevisiae*'den elde edilmiş) enzimiyle karıştırıldı. Karışımlar 10 dk boyunca 25°C'de inkübe edildi. Ardından çözeltilerin üzerine tamponda hazırlanan 50 μL , 5 mM p-nitrofenil- α -D-glukopiranozid (pNPG) eklendi. Karışımlar 5 dk boyunca 25°C'de tekrar inkübe edilerek, absorbansları 405 nm'de inkübasyondan önce ve sonra mikrolaka okuyucuda okunarak kaydedildi. Standart olarak akarboz kullanıldı. Örneklerin, enzim aktivitesini inhibe etme yüzdeleri aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\alpha\text{-glukozidazı inhibe etme yüzdesi (\%)} = (A_{\text{Kontrol}} - A_{\text{Örnek}} / A_{\text{Kontrol}}) \times 100$$

A_{Kontrol} : Örnek hariç (onun yerine DMSO) tüm bileşenleri içerir.

$A_{\text{Örnek}}$: Örnek dahil tüm bileşenleri içerir.

α -glukozidaz enziminin aktivitesinin %50'sini ortadan kaldıran örneklerin inhibisyon konsantrasyonları (IC_{50}) Graphpad Prims5 programı aracılığıyla örneklerin konsantrasyonlarına bağlı inhibisyon grafiği çizilerek hesaplandı. Ölçümler 3 kez tekrarlandı.

5.8. Biyoaktivite yönlendirmeli fraksiyonlama ve izolasyon

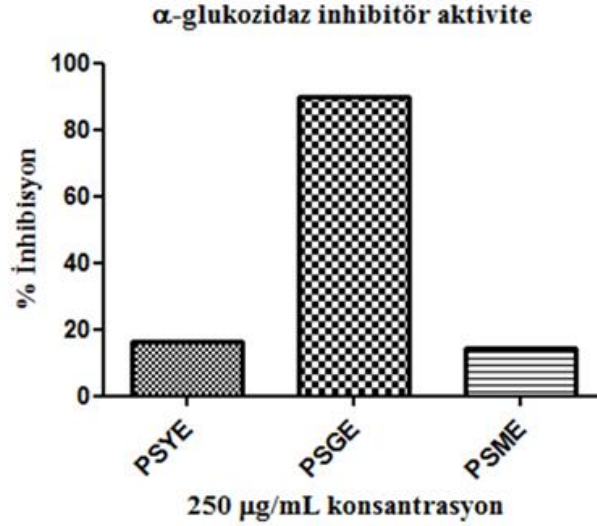
Fraksiyonlar arasında antidiyabetik aktivite açısından en aktif çıkan PSCEA'nın fraksiyonlandırılmasında silikajel (0.063-0.200 mm, 107734, Merck) sabit faz olarak, metanol (Merck), kloroform (Merck) çözücüleri ise hareketli faz olarak kullanılmıştır. Maddelerin izolasyonu için de preparatif İTK (0.5 mm, M105554.0001, Merck) kullanılmış olup çözücü olarak kloroform (Merck), metanol (Merck), distile su çözücüleri kullanılmıştır.

5.9. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler, GraphPad Prims 5.0 programı ile yapıldı. Aktivite sonuçları ortalama \pm standart sapma olarak gösterildi. Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulandıktan sonra gruplar arası farklılıklar Tukey testi ile belirlendi. Anlamlılık derecesi $p < 0.05$ kabul edildi. NMR spektrumlarındaki sinyallerin kimyasal kayma değerlerinin, J değerlerinin ve integrallerinin hesaplanmasının yanı sıra sinyallere ait yarımların daha net görülebilmesi için MestReNova programı kullanıldı.

6. BULGULAR

Paliurus spina-christi bitkisinin dal ekstresi (PSDE), yaprak ekstresi (PSYE) ve meyve ekstresinin (PSME) antidiyabetik aktivite deneyinde α -glukosidaz enzimi üzerindeki inhibitör aktivitesi incelenmiştir. 250 μ g/mL konsantrasyonda PSDE, PSYE ve PSME'nin α -glukosidaz enzimi üzerinde inhibisyon yüzdeleri sırasıyla % 89,80, % 16,17 ve % 14,48 şeklindedir (Şekil 21).



Şekil 21. *Paliurus spina-christi* meyve, dal ve yaprak estrelerinin α -glukosidaz enzimi üzerine inhibisyon yüzdeleri (PSYE, PSDE, PSME: Kısaltmalar sırasıyla *Paliurus spina-christi* türünün yaprak, dal ve meyve etanol ekstrelerini ifade eder.)

Düşük IC_{50} değeri (enzimin aktivitesini %50 oranında durduran konsantrasyon) yüksek aktiviteyi gösterir. IC_{50} değerleri açısından Tablo 1 incelendiğinde, PSDE IC_{50} değeri 108,20 μ g/mL ile en iyi antidiyabetik aktiviteye sahiptir. Ardından 1386,00 μ g/mL değeri ile PSYE, 1481,00 μ g/mL değeri ile PSME gelmektedir. Aynı zamanda PSDE, standart olarak kullanılan akarboz (261,70 μ g/mL) ile kıyaslandığında çok daha güçlü antidiyabetik aktivite sergilemiştir (Tablo 1).

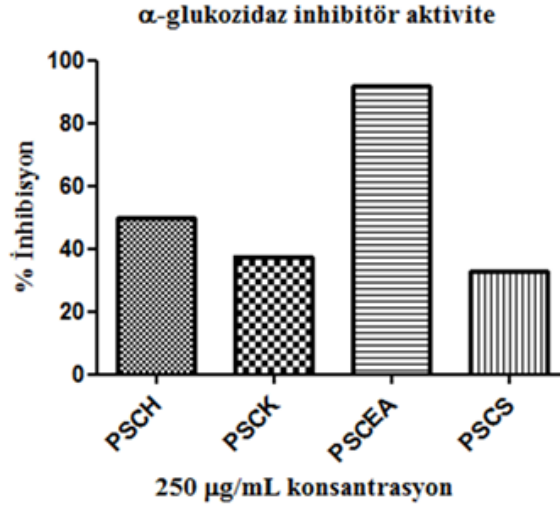
Tablo 1 : *Paliurus spina-christi* yaprak, dal ve meyve ekstrelerinin α -glukosidaz enzimi üzerinde inhibitör aktivitesi

Test	PSYE	PSDE	PSME	Akarboz
α-glukosidaz inhibitor aktivite (IC_{50}, μg/mL)	1386,00 \pm 4,95 ^c	108,20 \pm 0,64 ^a	1481,00 \pm 8,49 ^d	261,70 \pm 1,84 ^b

* PSYE, PSDE, PSME : Kısaltmalar sırasıyla *Paliurus spina-christi* türünün yaprak, dal ve meyve etanol ekstresini ifade eder.

** Tablodaki değerler, ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3). Aynı satırda yer alan değerlerdeki farklı üssü harfler, istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları belirtir ($p < 0.05$).

α -glukosidaz enzimine karşı en iyi aktiviteyi gösteren PSDE'den 4 adet fraksiyon elde edilmiş ve bu fraksiyonların α -glukosidaz enzimine karşı inhibisyon yüzdeleri karşılaştırıldığında 250 μ g/mL konsantrasyonda PSCEA (% 92,01) en yüksek inhibisyon yüzdesine sahip olduğu onu sırasıyla PSCH (% 49,96), PSCK (% 37,58) ve PSCS (%32,65) takip etmiştir (Şekil 22).



Şekil 22. *Paliurus spina-christi* dal etanol ekstresinin fraksiyonlarının α -glukosidaz enzimi üzerine inhibisyon yüzdeleri (PSCH, PSCK, PSCEA, PSCS : Kısaltmalar sırasıyla *Paliurus spina-christi* dallarına ait etanol ekstresinin hekzan, kloroform, etil asetat ve su fraksiyonlarını ifade eder.)

Fraksiyonlar IC_{50} değerleri açısından karşılaştırıldığında, 97,45 μ g/mL IC_{50} değeri ile PSCEA en iyi α -glukosidaz inhibitör aktivite sergilerken onu sırasıyla PSCH (256,80 μ g/mL), PSCK (374,50 μ g/mL) ve PSCS (478,80 μ g/mL) izlemiştir. Aynı zamanda PSCEA, standart olarak kullanılan akarboz (261,70 μ g/mL) ile kıyaslandığında çok daha güçlü antidiyabetik aktivite sergilemiştir (Tablo 2).

Tablo 2. *Paliurus spina-christi* türünden elde edilen fraksiyonların antidiyabetik aktiviteleri

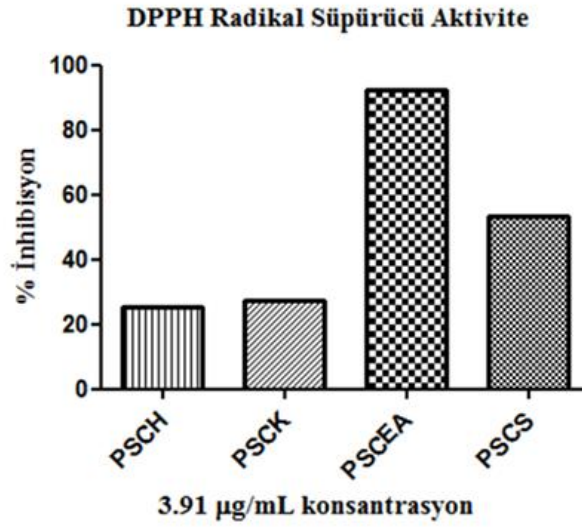
Test	PSCH	PSCK	PSCEA	PSCS	Akarboz
α-glukozidaz					
inhibitor aktivite	256,80 \pm 5,16 ^b	374,50 \pm 8,34 ^d	97,45 \pm 0,07 ^a	478,80 \pm 1,56 ^c	261,70 \pm 1,84 ^c
(IC_{50}, μg/mL)					

* PSCH, PSCK, PSCEA, PSCS : Kısaltmalar sırasıyla *Paliurus spina-christi* dallarına ait etanol ekstresinin hekzan, kloroform, etil asetat ve su fraksiyonlarını ifade eder.

** Tablodaki değerler, ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3). Aynı satırda yer alan değerlerdeki farklı üssü harfler, istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları belirtir (p<0.05).

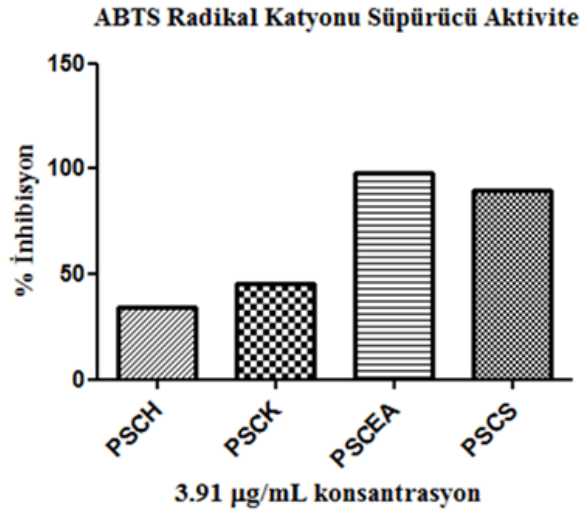
Ayrıca fraksiyonların antioksidan aktiviteleri ile total fenol, flavonoit ve triterpen içerikleri araştırılmıştır. Fraksiyonların antioksidan aktiviteleri ABTS ve DPPH gibi iki farklı *in vitro* yöntemle değerlendirilmiştir.

DPPH radikaline karşı 3,91 µg/mL konsantrasyonda en yüksek inhibisyon değerine PSCEA (% 92,25) sahip olup onu sırasıyla PSCS (% 53,15), PSCK (% 27,25) ve PSCH (25,18) takip etmiştir (Şekil 23).



Şekil 23. *Paliurus spina-christi* dal etanol ekstresinin fraksiyonlarının DPPH radikaline karşı inhibisyon yüzdeleri (PSCH, PSCK, PSCEA, PSCS: Kısaltmalar sırasıyla *Paliurus spina-christi* dallarına ait etanol ekstresinin hekzan, kloroform, etil asetat ve su fraksiyonlarını ifade eder.)

ABTS radikaline karşı ise 3,91 µg/mL konsantrasyonda en yüksek inhibisyon değerine yine PSCEA (% 97,70) sahip olup onu sırasıyla PSCS (% 90,03), PSCK (% 45,61) ve PSCH (34,59) takip etmiştir (Şekil 24).



Şekil 24. *Paliurus spina-christi* dal etanol ekstresinin fraksiyonlarının ABTS radikal katyonuna karşı inhibisyon yüzdeleri (PSCH, PSCK, PSCEA, PSCS : Kısaltmalar sırasıyla *Paliurus spina-christi* dallarına ait etanol ekstresinin hekzan, kloroform, etil asetat ve su fraksiyonlarını ifade eder.)

DPPH ve ABTS radikallerine karşı fraksiyonların aktiviteleri IC₅₀ değerleri üzerinden karşılaştırıldığında, PSCEA'nın sırasıyla 0,82 ve 1,21 µg/mL IC₅₀ değerleri ile ABTS ve DPPH radikallerine karşı en iyi antioksidan aktiviteyi gösterdiği görülmektedir. Aynı zamanda, standartlarla (Askorbik asit: 40,23 µg/mL; Troloks: 4,51 µg/mL) karşılaştırıldığında PSCEA güçlü bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmüştür (Tablo 3).

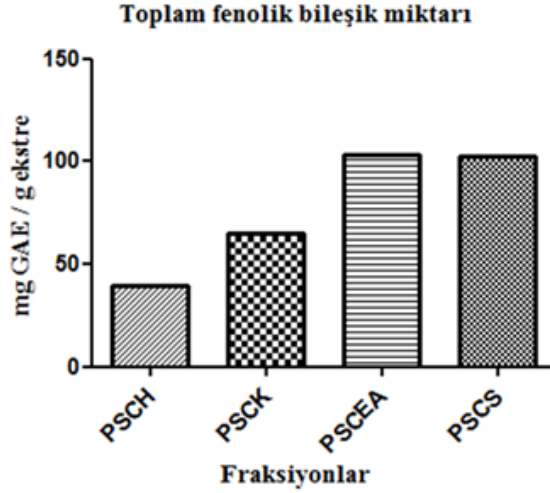
Tablo 3. *Paliurus spina-christi* türünün dalından elde edilen çeşitli fraksiyonların antioksidan aktiviteleri

Testler	PSCH	PSCK	PSCEA	PSCS	Askorbik asit	Troloks
DPPH radikal süpürücü aktivite (IC₅₀, µg/mL)	40,56±2,17 ^d	14,63±0,11 ^c	1,21±0,15 ^a	8,58±0,13 ^b	40,23±2,08 ^d	
ABTS radikal süpürücü aktivite (IC₅₀, µg/mL)	16,93±0,58 ^d	8,71±0,08 ^c	0,82±0,02 ^a	1,03±0,03 ^a		4,51±0,08 ^b

* PSCH, PSCK, PSCEA, PSCS : Kısaltmalar sırasıyla *Paliurus spina-christi* dallarına ait etanol ekstresinin hekzan, kloroform, etil asetat ve su fraksiyonlarını ifade eder.)

** Tablodaki değerler, ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3). Aynı satırda yer alan değerlerdeki farklı üssü harfler, istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları belirtir (p<0.05).

Paliurus spina-christi dal etanol ekstresinin fraksiyonlarının toplam fenolik bileşik miktarı galik asit eşdeğeri (GAE) olarak ifade edilmiştir. En yüksek toplam fenol içeriğine PSCEA (103,10 mg/g) sahip olup onu sırasıyla PSCS (102,20 mg/g), PSCK (65,00 mg/g) ve PSCH (39,76 mg/g) takip etmiştir (Şekil 25, Tablo 4).



Şekil 25. *Paliurus spina-christi* dal etanol ekstresinin fraksiyonlarının toplam fenolik bileşik miktarı (PSCH, PSCK, PSCEA, PSCS : Kısaltmalar sırasıyla *Paliurus spina-christi* dallarına ait etanol ekstresinin hekzan, kloroform, etil asetat ve su fraksiyonlarını ifade eder.)

Tablo 4. *Paliurus spina-christi* dal etanol ekstresinin fraksiyonlarının toplam fenolik bileşik miktarı

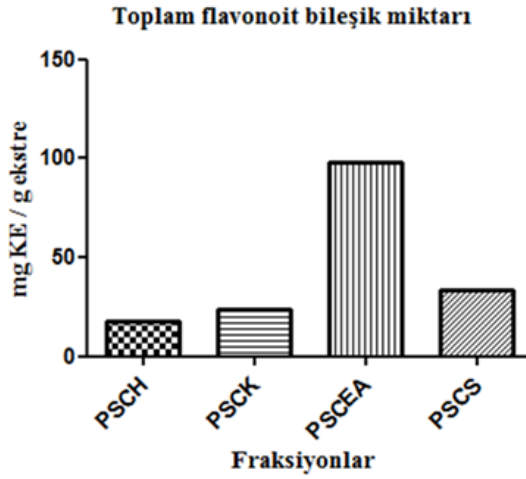
Deney	PSCH	PSCK	PSCEA	PSCS
Toplam fenolik bileşik miktarı (mg GAE/g ekstre)	39,76 ±0,85 ^c	65,00±0,48 ^b	103,10±0,32 ^a	102,20±0,27 ^a

* PSCH, PSCK, PSCEA, PSCS : Kısaltmalar sırasıyla *Paliurus spina-christi* dallarına ait etanol ekstresinin hekzan, kloroform, etil asetat ve su fraksiyonlarını ifade eder.

** Toplam fenolik bileşik içeriği galik asit eşdeğeri (GAE) olarak ifade edilmiştir.

*** Tablodaki değerler, ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3). Aynı satırda yer alan değerlerdeki farklı üssü harfler, istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları belirtir (p<0.05).

Paliurus spina-christi dal etanol ekstresinin fraksiyonlarının toplam flavonoit içerik miktarı kersetin eşdeğeri (KE) olarak ifade edilmiştir. En yüksek toplam flavonoit içeriği PSCEA (98,19 mg/g)'da bulunurken ve onu sırasıyla PSCS (33,73 mg/g), PSCK (24,05 mg/g) ve PSCH (17,84 mg/g) izlemiştir (Şekil 26, Tablo 5).



Şekil 26. *Paliurus spina-christi* dal etanol ekstresinin fraksiyonlarının toplam flavonoit bileşik miktarı (PSCH, PSCK, PSCEA, PSCS : Kısaltmalar sırasıyla *Paliurus spina-christi* dallarına ait etanol ekstresinin hekzan, kloroform, etil asetat ve su fraksiyonlarını ifade eder.)

Tablo 5. *Paliurus spina-christi* dal etanol ekstresinin fraksiyonlarının toplam flavonoit bileşik miktarı

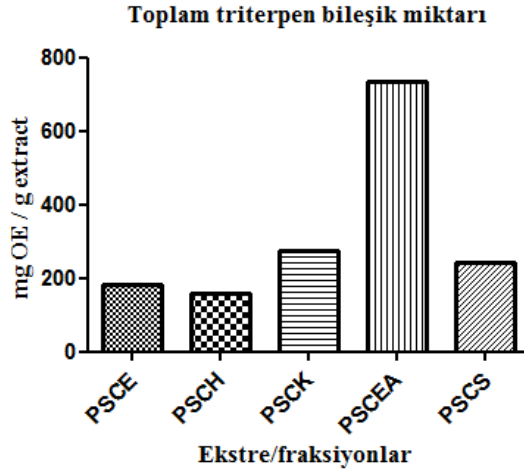
Deney	PSCH	PSCK	PSCEA	PSCS
Toplam flavonoit bileşik miktarı (mg KE/g ekstre)	17,84±0,63 ^d	24,05 ± 0,12 ^c	98,19±0,40 ^a	33,73±0,58 ^c

* PSCH, PSCK, PSCEA, PSCS : Kısaltmalar sırasıyla *Paliurus spina-christi* dallarına ait etanol ekstresinin hekzan, kloroform, etil asetat ve su fraksiyonlarını ifade eder.

** Toplam flavonoit bileşik içeriği kersetin eşdeğeri (KE) olarak ifade edilmiştir.

*** Tablodaki değerler, ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3). Aynı satırda yer alan değerlerdeki farklı üssü harfler, istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları belirtir (p<0.05).

Paliurus spina-christi dal etanol ekstresinin fraksiyonlarının toplam triterpen içerik miktarı oleanolik asit eşdeğeri (OAE) olarak ifade edilmiştir. En yüksek toplam triterpen içeriği PSCEA (736,30 mg/g)'da bulunurken ve onu sırasıyla PSCK (274,00 mg/g), PSCS (244,00 mg/g) ve PSCH (158,70 mg/g) izlemiştir (Şekil 27, Tablo 6).



Şekil 27. *Paliurus spina-christi* dal etanol ekstresinin fraksiyonlarının toplam triterpen bileşik miktarı (PSCH, PSCK, PSCEA, PSCS : Kısaltmalar sırasıyla *Paliurus spina-christi* dallarına ait etanol ekstresinin hekzan, kloroform, etil asetat ve su fraksiyonlarını ifade eder.)

Tablo 6. *Paliurus spina-christi* dal etanol ekstresinin fraksiyonlarının toplam triterpen bileşik miktarı

Deney	PSCH	PSCK	PSCEA	PSCS
Toplam triterpen bileşik miktarı (mg OAE/g ekstre)	158,70±3,09 ^d	274,00±0,71 ^b	736,30±2,10 ^a	244,00±1,39 ^c

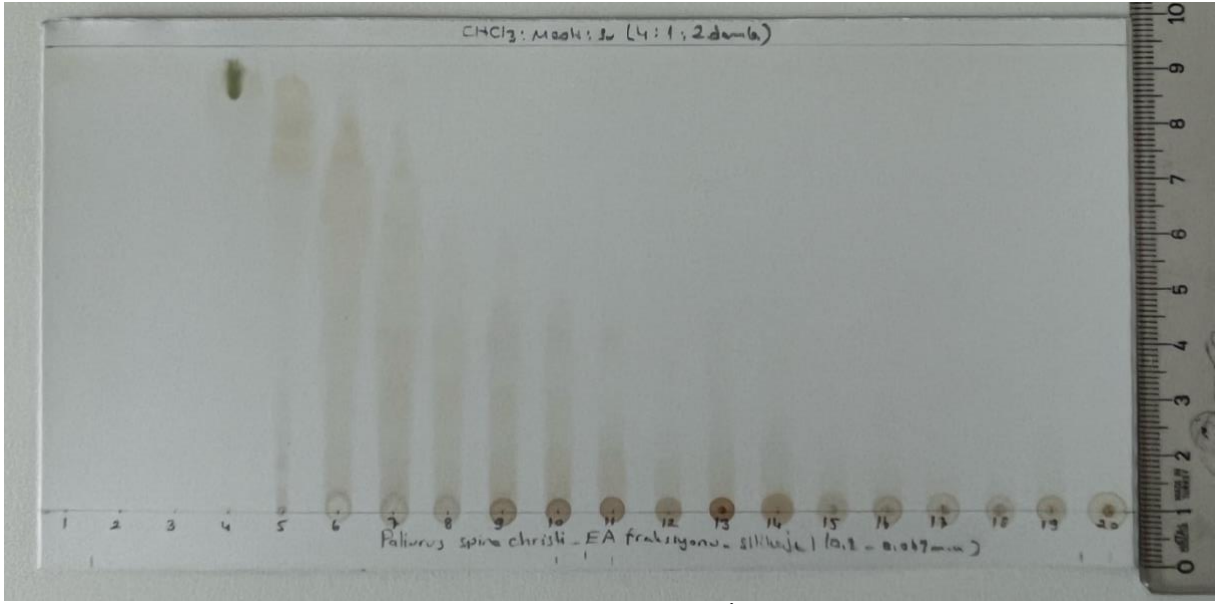
* PSCH, PSCK, PSCEA, PSCS : Kısaltmalar sırasıyla *Paliurus spina-christi* dallarına ait etanol ekstresinin hekzan, kloroform, etil asetat ve su fraksiyonlarını ifade eder.

** Toplam triterpen bileşik içeriği oleanolik eşdeğeri (OAE) olarak ifade edilmiştir.

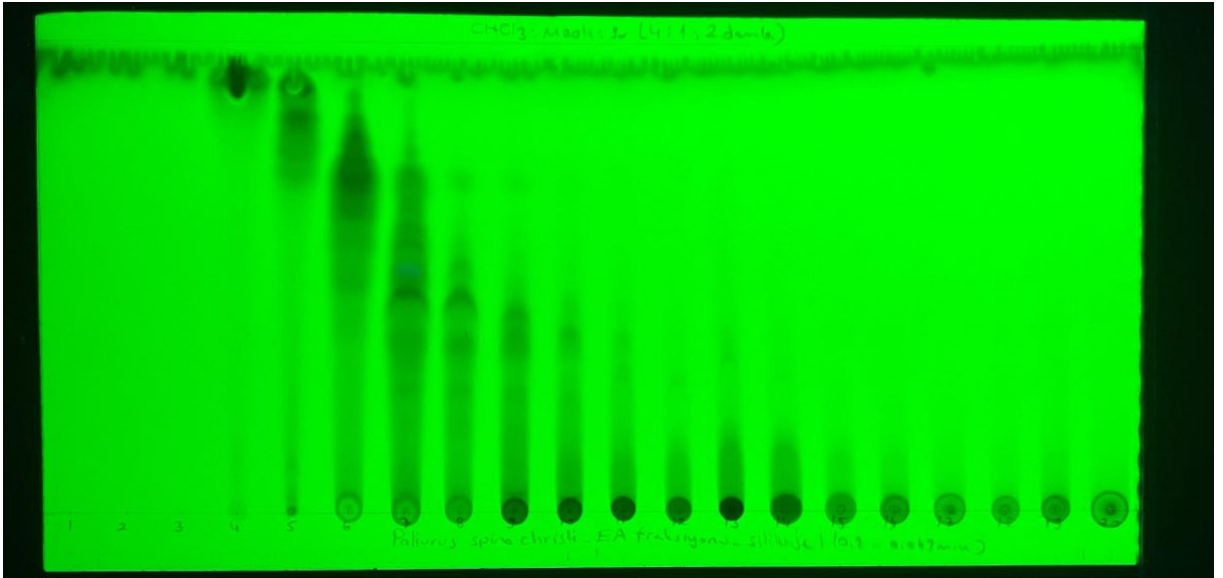
*** Tablodaki değerler, ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3). Aynı satırda yer alan değerlerdeki farklı üssü harfler, istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları belirtir (p<0.05).

Fraksiyonlar arasında en iyi antidiyabetik (α -glukosidaz inhibitör) aktivite sergileyen PSCEA'dan biyoaktivite yönlendirmeli fraksiyonlandırma ve izolasyon metoduyla bileşik izolasyonuna devam edilmiştir. "5.2. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması" başlığında belirtildiği gibi 4,8 g elde edilen PSCEA iki katı kadar (9,6 g) kadar silikajel [Silica gel 60 (0,063-0,200 mm), 70-230 mesh] ile karıştırılıp su banyosunda (50-60 °C) kurularak toz haline getirilmiştir. Kuru usul yöntemle kolon çalışması yürütülmüş olup ekstrenin yaklaşık 40 katı (144 g) kadar silikajel [Silica gel 60 (0,063-0,200 mm), 70-230 mesh] kolona (4 cm çapında, 30 cm uzunluğunda) aktarılmış, üzerine dikkatli bir şekilde silikajelle karıştırılmış toz ekstre ilave edilmiş ve üzeri kolonda yaklaşık 2-3 cm yüksekliğe denk gelecek şekilde deniz kumu (107711-Sea Sand Extra Pure) ile örtülmüştür. Ayrıca çözücü ilavesiyle deniz kumunun da havalanmasını engellemek için üzerine bir miktar cam pamuğu konulmuştur. Kolondaki fraksiyonlandırma sürecini hızlandırmak amacıyla vakum bağlantısı sağlanmış, ardından

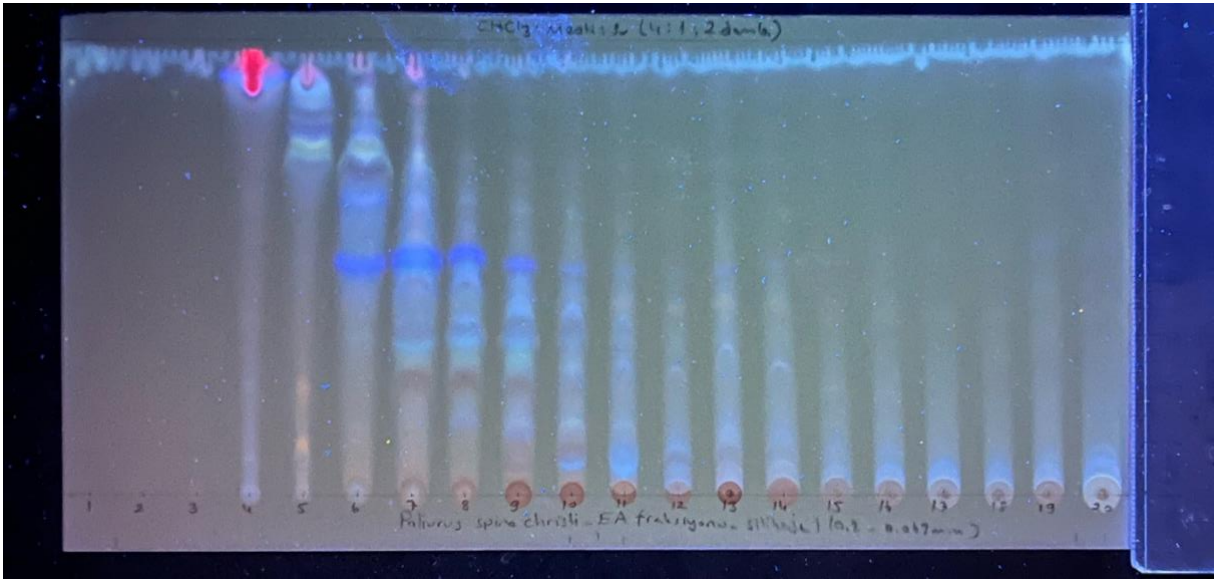
kloroform/metanol (100:0, 100:0, 95:5, 90:10, 85:15, 80:20, 75:25, 70:30, 65:35, 60:40, 55:45, 50:50, 45:55, 40:60, 35:65, 30:70, 25:75, 20:80, 10:90, 0:100) çözücü karışımları (200 mL) hareketli faz olarak bu kolonlardan geçirilmiştir. Toplanan 20 adet fraksiyonun çözücüleri rotary evaporatörde uçurulmuş ve çözünebileceği en az miktarda kendi çözücüsüyle çözülerek beherlere aktarılmış ardından çeker ocak altında kurumaya bırakılmıştır. Fraksiyonlar tartıldıktan sonra az miktarda kendi çözücüleriyle/çözeltileriyle çözülmüş ve kılcal pipet yardımıyla İTK plağa ekimleri yapılmıştır. Ardından CHCl_3 : MeOH : Su (4 : 1 : 2 damla) ve CHCl_3 : MeOH (15 : 1) gibi iki farklı çözücü sisteminde yürütülen plakanın gün ışığı, 254 nm UV lamba altında, 366 nm UV lamba altında ve serik sülfat belirteci püskürtüldükten sonra plakanın yakılmış halinin görüntüsü çekilmiştir (Şekil 28-31).



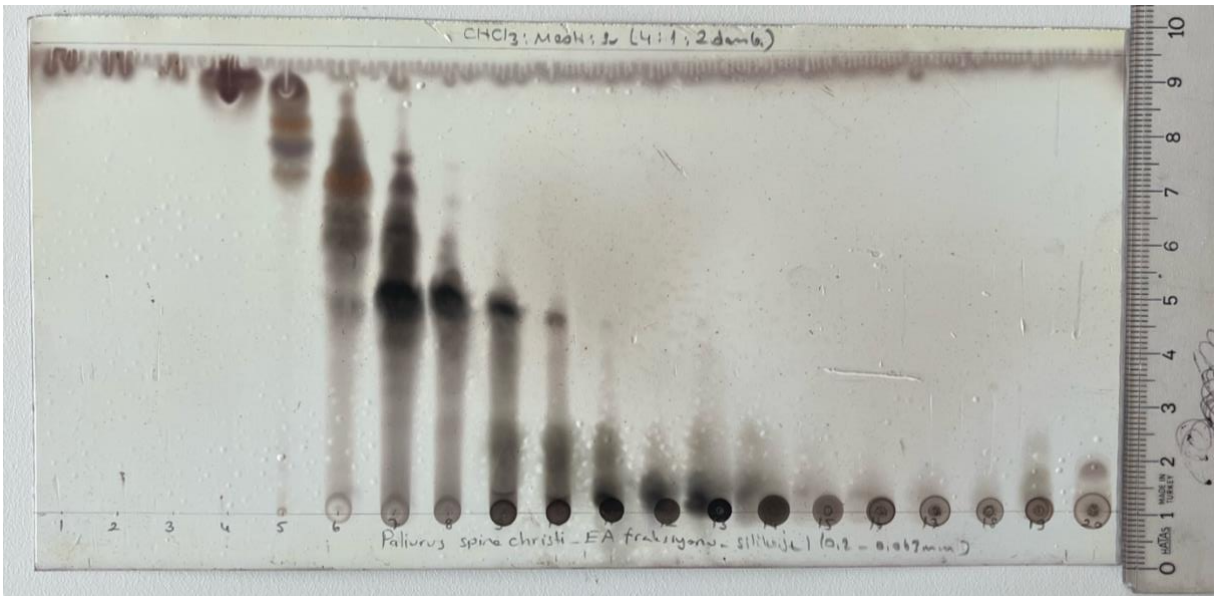
Şekil 28. PSCEA'nın fraksiyonlarının gün ışığı altında İTK plakta görünümü (CHCl₃ : MeOH : Su [4 : 1 : 2 damla])



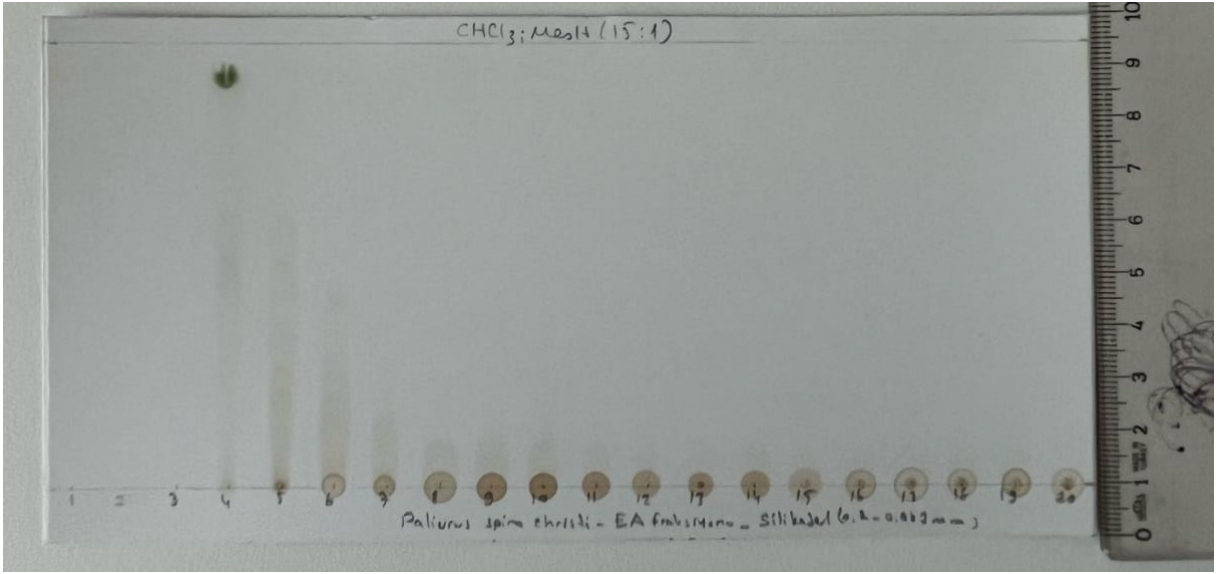
Şekil 29. PSCEA'nın fraksiyonlarının 254 nm'de İTK plakta görünümü (CHCl₃ : MeOH : Su [4 : 1 : 2 damla])



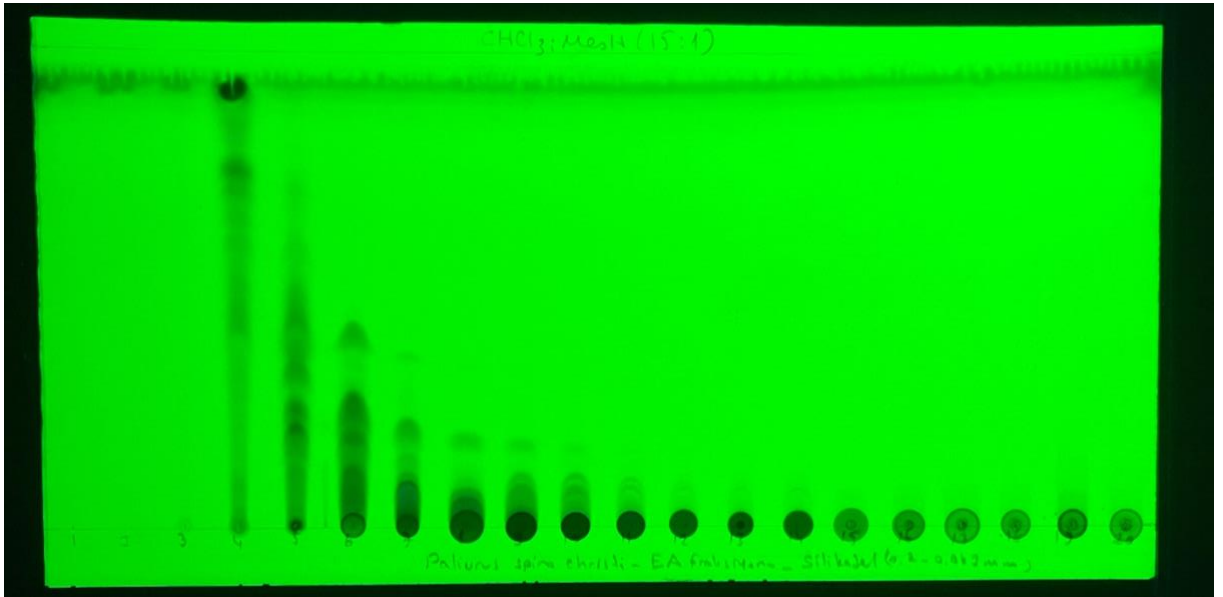
Şekil 30. PSCEA'nın fraksiyonlarının 366 nm'de İTK plakta görünümü (CHCl₃: MeOH : Su [4 : 1 : 2 damla])



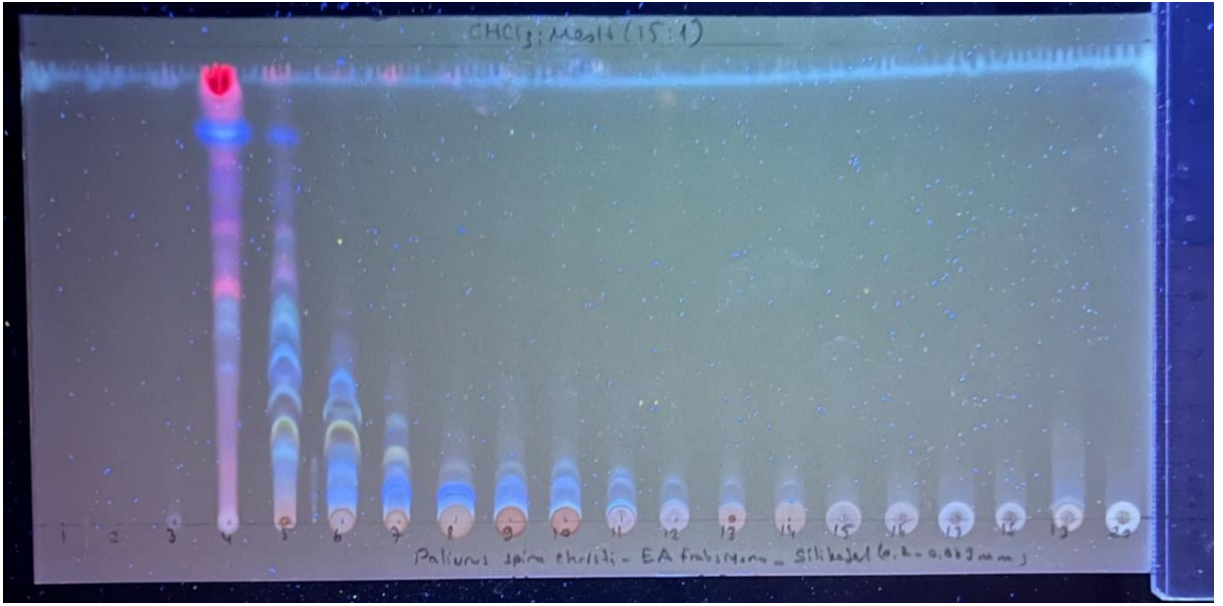
Şekil 31. PSCEA'nın fraksiyonlarının serik sülfat belirteci püskürtüldükten sonra İTK plakanın yakılmış görünümü (CHCl₃: MeOH : Su [4 : 1 : 2 damla])



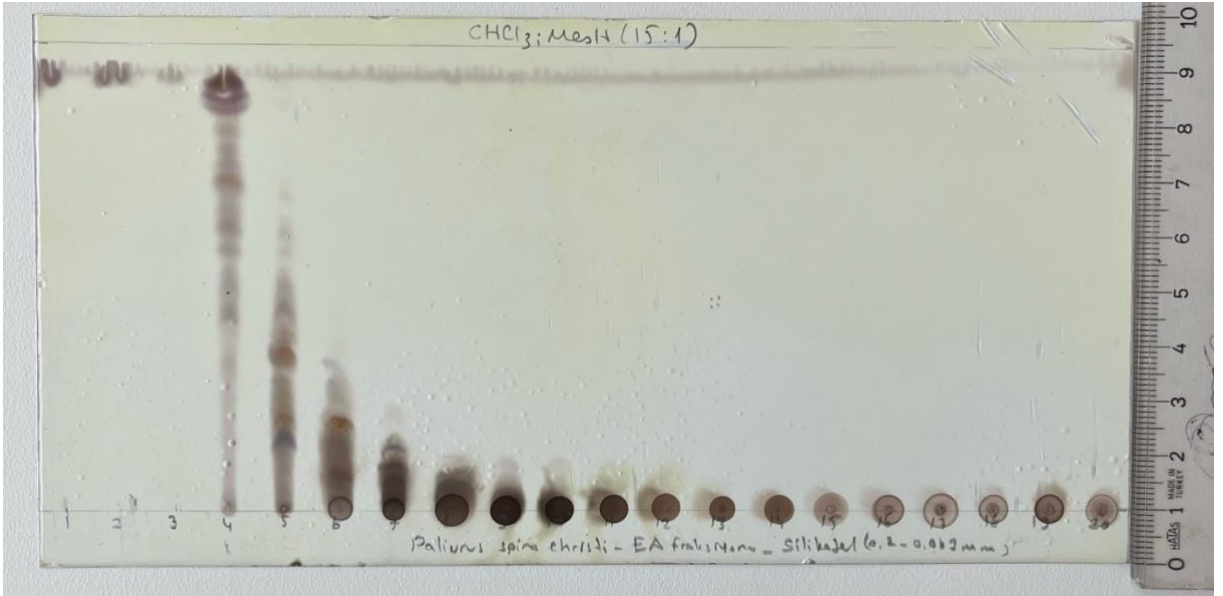
Şekil 32. PSCEA'nın fraksiyonlarının gün ışığı altında İTK plakta görünümü (CHCl_3 : MeOH [15 : 1])



Şekil 33. PSCEA'nın fraksiyonlarının 254 nm'de İTK plakta görünümü (CHCl_3 : MeOH [15 : 1])

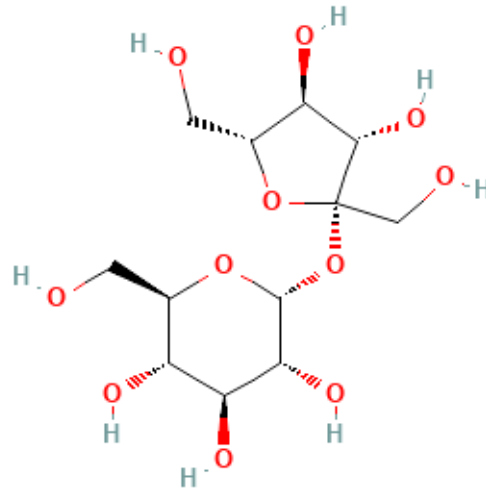


Şekil 34. PSCEA'nın fraksiyonlarının 366 nm'de İTK plakta görünümü (CHCl₃ : MeOH [15 : 1])

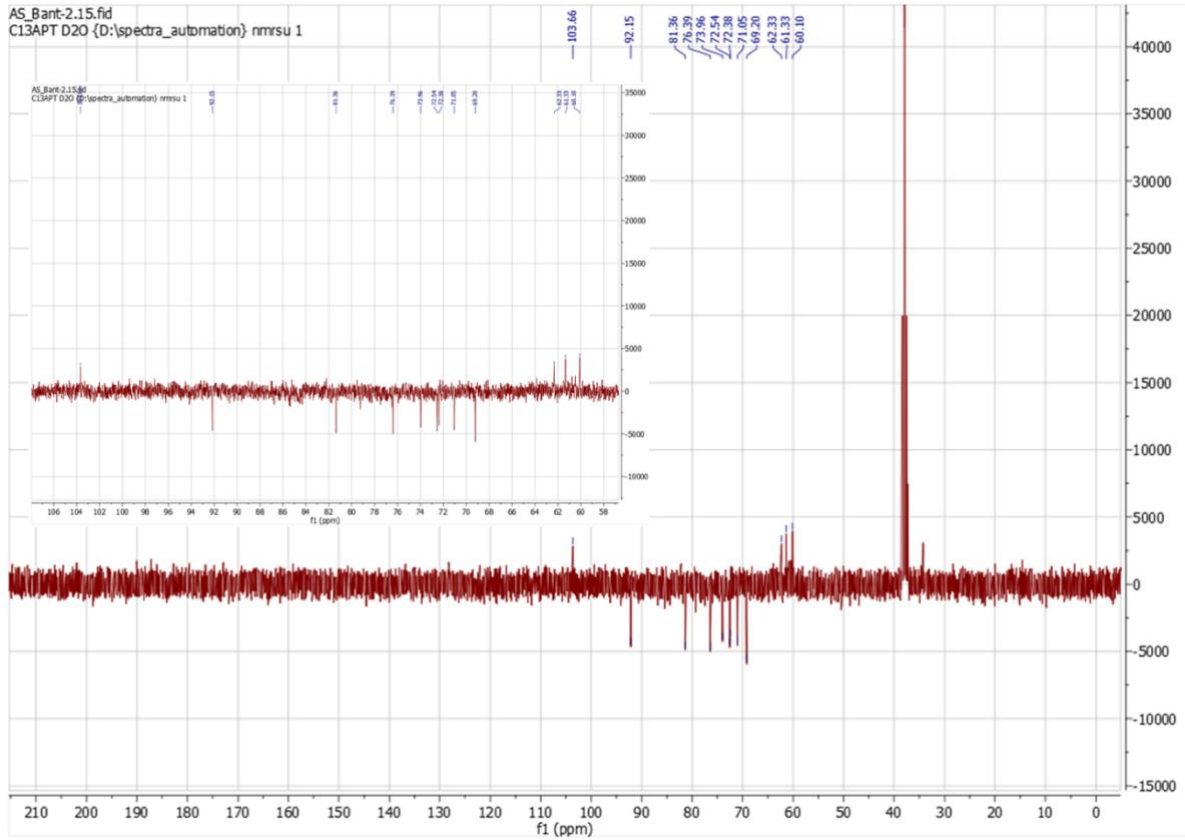


Şekil 35. PSCEA'nın fraksiyonlarının serik sülfat belirteci püskürtüldükten sonra İTK plakının yakılmış görünümü (CHCl₃ : MeOH [15 : 1])

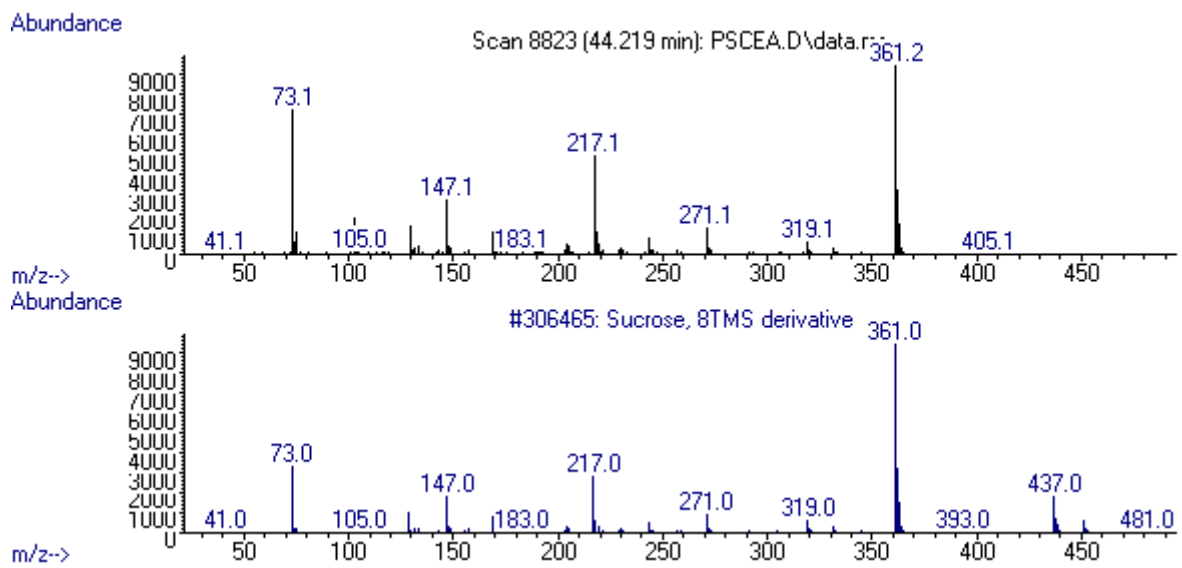
Benzer içeriklere sahip fraksiyonlar çözünebilecekleri en az miktarda kendi çözücüleriyile/çözeltileriyile çözümlenerek birleştirilmiş ve rotary evaporatörde çözücüleriyile uçurularak kurutulmuştur (PSCEA1-3: -, PSCEA4: 0,1168 g, PSCEA5: 0,1295 g, PSCEA6: 0,2285 g, PSCEA7-9: 1,4547 g, PSCEA10-11: 0,8943 g, PSCEA12-14: 1,0467 g, PSCEA15-20: 0,3911 g). Kurutulan fraksiyonların antidiyabetik (α -glukosidaz inhibitör) aktivite testleri yapılmış ve IC_{50} değerlerine (PSCEA4: 160,70 \pm 0,42, PSCEA5: 143,50 \pm 0,92, PSCEA6: 245,10 \pm 1,49, PSCEA7-9: 209,10 \pm 1,49, PSCEA10-11: 153,20 \pm 0,57, PSCEA12-14: 126,70 \pm 0,07, PSCEA15-20: 76,17 \pm 0,09 μ g/mL) göre en aktif fraksiyonun PSCEA15-20 olduğu ortaya çıkarılmıştır. PSCEA15-20 fraksiyonu preparatif İTK'ya uygulanmış, metanol:distile su (10:1) çözücü sisteminde üç kez yürütülmüş ve iki bant elde edilmiştir. Bu iki bant kazınarak erlenlere alınmış, üzerlerine metanol eklenmiş ve bir gece bekletilmiştir. Ardından süzölen çözeltilerin çözücüleriyile rotary evaporatörde uçurularak PSCEA15-20/Bant1 (29,4 mg) ve PSCEA15-20/Bant2 (23,5 mg) elde edilmiştir. Bu örnekler üzerinde de antidiyabetik (α -glukosidaz inhibitör) aktivite testleri yapılmış ve IC_{50} değerlerine (PSCEA15-20/Bant1: 62,68 \pm 1,99 ve PSCEA15-20/Bant2: 50,13 \pm 4,56 μ g/mL) göre en aktif örneğin PSCEA15-20/Bant2 olduğu ve saf olarak elde edildiği görölmüş olup spektroskopik analizler (1H NMR, ^{13}C NMR-APT, MS) ve literatürle karşılaştırma sonucu bileşiğin **Sukroz** (**Sakkaroz**) olduğu açığa çıkarılmıştır (Şekil 36-39).



Şekil 36. Sukroz bileşiğinin moleköl yapısı (PubChem, 2024)



Şekil 38. Sukroz bileşiğine ait ^{13}C -NMR (APT) spektrumu (100 MHz, D_2O)



Şekil 39. Sukroz bileşiğine ait MS spektrumu

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Diyabet, yüksek kan glikozu (veya kan şekeri) seviyeleri ile karakterize, zamanla kalp, kan damarları, gözler, böbrekler ve sinirlerde ciddi hasara yol açan kronik ve metabolik bir hastalıktır. En yaygın olanı, genellikle yetişkinlerde görülen tip 2 diyabettir ve vücut insüline dirençli hale geldiğinde ya da yeterli insülin üretmediğinde ortaya çıkar. Tip 1 diyabet ise bir zamanlar juvenil diyabet veya insüline bağımlı diyabet olarak bilinen, pankreasın kendi kendine çok az insülin ürettiği veya hiç üretmediği kronik bir durumdur. Son 30 yılda tip 2 diyabetin yaygınlığı tüm gelir düzeylerindeki ülkelerde önemli ölçüde artmıştır. Diyabetle yaşayan insanlar için, insülin de dahil olmak üzere uygun fiyatlı tedaviye erişim, hayatta kalmaları açısından kritik önem taşımaktadır. Diyabet ve obezitedeki artışı 2025 yılına kadar durdurmak için küresel olarak kabul edilmiş bir hedef vardır. Dünya genelinde, çoğunluğu düşük ve orta gelirli ülkelerde yaşayan yaklaşık 422 milyon kişi diyabet hastasıdır ve her yıl 1,5 milyon ölüm doğrudan diyabetten kaynaklanmaktadır. Hem vaka sayısı hem de diyabet prevalansı son birkaç on yıldır istikrarlı bir şekilde artmaktadır (WHO, 2024).

Tip 2 diyabette postprandiyal hipergliseminin kontrolüne yönelik önemli bir terapötik yaklaşım, diyetteki karbonhidratların sindiriminin engellenmesidir. Pankreatik α -amilaz, nişasta gibi diyet ile alınan karbonhidratları basit monosakaritlere parçalar, ardından α -glukosidazlar tarafından emilim sağlanır ve kan dolaşımına glikoz katılır. Sonuç olarak, α -amilaz ve α -glukosidazın inhibisyonu, karbonhidrat sindirimini baskılayabilir, glikoz alımını geciktirebilir ve dolayısıyla kan glukoz seviyelerini düşürebilir. Akarboz, vogliboz ve miglitol gibi bazı grup ilaçların α -glukosidaz ve α -amilaz'ı inhibe ettiği bulunsa da pratikte şişkinlik, karın rahatsızlığı, ishal gibi istenmeyen yan etkilere neden olurlar (Alqahtani ve ark., 2019).

Önemli terapötik değere sahip biyoaktif bileşenlerin zengin kaynakları olan geleneksel ilaçlar (özellikle tıbbi bitkiler), birçok hastalığın önlenmesi ve tedavisi için uzun süredir kullanılmaktadır (Haewphet ve ark., 2024). Bu tez çalışmasında da, Türkiye'de diyabetin tedavisinde geleneksel kullanımı olan *Paliurus spina-christi* türünün yaprak (PSYE), dal (PSDE) ve meyve (PSME) etanol ekstraktları ile PSDE'nin hekzan, kloroform, etil asetat ve su fraksiyonlarının antidiyabetik etkileri α -glukosidaz enziminin inhibisyonu yoluyla değerlendirilmiş ve en aktif çıkan PSDE'nin etil asetat fraksiyonunun (PSCEA) etkisinden sorumlu bileşiğin biyoaktivite yönlendirmeli fraksiyonlandırma ve izolasyon yöntemiyle ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. Aynı zamanda bu fraksiyonların DPPH ve ABTS yöntemiyle antioksidan aktiviteleri, toplam fenol, flavonoid ve triterpen içerikleri tahmin edilmiştir.

Sonuç olarak PSDE ile PSCEA'nin en iyi α -glukozidaz inhibitör aktivite sergilediği ve PSCEA'nin etkisinden sorumlu bileşiğin Sukroz olduğu açığa çıkarılmıştır.

Bu türün farklı kısımlarının α -glukozidaz enzimine karşı etkilerinin araştırıldığı çalışmalara literatürde rastlanmıştır ancak bu türün dalları üzerinde biyoaktivite yönlendirmeli fraksiyonlama ile aktif bileşiğinin izolasyon çalışması ilk kez bu çalışmayla yapılmıştır.

Yuca ve arkadaşları *Paliurus spina-christi* meyvelerinden elde edilen %70 metanol ekstresinin α -glukozidaz enzimine karşı IC₅₀ değerinin 529,20 μ g/mL olduğunu ortaya koymuşlardır (Yuca ve ark., 2022). Mevcut çalışmamızda PSFE'den (1481,00 μ g/mL) daha iyi, PSDE'den daha düşük bir inhibitör aktivite göstermiştir. Bu durum (PSFE için) kullanılan farklı çözücülerden kaynaklanıyor olabilir ve inhibitör etkinin artan çözücü polaritesi ile arttığı görülmektedir. PSDE içinse bu durum bitkinin farklı kısımlarının kullanılması nedeniyle içerdikleri farklı türden bileşenlerden veya aynı bileşenlerin farklı konsantrasyonlara sahip olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Bir başka çalışma Zengin ve arkadaşları (2023) tarafından α -glukozidaz enzimine karşı antidiyabetik etkiyi araştırmak için yapılmış ve bu türün yaprakları, meyveleri ve dalları üzerinde yapılan çalışmada, dalların en iyi inhibitör potansiyele sahip olduğu ortaya çıkmıştır. Bu sonuçlar mevcut çalışma ile tutarlıdır.

PSCEA'nin etkisinden sorumlu bileşiğin Sukroz olduğu bu çalışmayla açığa çıkarılmış olup Sukroz bileşiğinin de α -glukozidaz enziminin bir substratı olduğu düşünüldüğünde ortaya çıkan sonuç ilginç bulunmuştur. Bununla birlikte α -glukozidaz inhibitor deneyinin prensibi düşünüldüğünde bu sonucun da açıklanabilir bir tarafı vardır. α -glukozidaz inhibitor aktivite deneyinde reaksiyon, α -glukozidaz enziminin substrat olarak kullanılan 4-nitrofenil- α -D-glukopiranoziti, α -D-glukopiranozit ile 405 nm'de absorbansını ölçtüğümüz sarı renkli bir bileşik olan *p*-nitrofenole parçalamasıyla ilerler (Eertmans ve ark., 2014). Dolayısıyla α -glukozidaz enziminin sukroz bileşiği de substrat olduğundan ve deney sürecinde öncelikle enzim ile örneğin (bu deneyde sukrozun) belli bir süre reaksiyon ortamında kalması sağlandığından enzim sukroz ile reaksiyona girmekte dolayısıyla enzim 4-nitrofenil- α -D-glukopiranoziti yeterli miktarda veya hiç parçalayamadığından ortamda *p*-nitrofenolden kaynaklı sarı renk az oluşmakta veya oluşmamaktadır.

Flavonoidler ve fenolik asitler gibi fenolik kökenli bileşiklerin de önemli antidiyabetik ajanlar olduğu bildirilmiştir (Kumar ve Goel, 2019; Xiao, 2022). Önceki çalışmada PSDE'nin yüksek

fenolik bileşik içeriğine (216.2 mg/g) (Şen, 2018), mevcut çalışmada ise PSCEA'nın en yüksek toplam fenol, flavonoid ve triterpen bileşik içeriğine sahip olduğunu gösterilmiştir.

Sonuç olarak PSCEA'nın α -glukozidaz inhibitör etkisinden önemli derecede sukroz bileşiği sorumlu olmakla birlikte total fenol, flavonoid ve triterpen deney sonuçları da pozitif sonuç verdiği için bu madde grupları da aktiviteye katkı sağlamış olabilir.

Günlük yaşam tarzı ve diyetteki ayarlamalar hala önemli kabul edilse de çalışmalar, antioksidanların diyetle alınmasının artırılmasının, özellikle normal bir diyetle birlikte alındığında kronik hastalıkların önlenmesinde çok önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Çeşitli bulgular fitokimyasalların insanlar üzerindeki olumlu etkisine ışık tutmuştur. Bunların arasında polifenoller en bol bulunan ve besin açısından önemli fitokimyasallardan biridir. Günümüzde bilinen 8000'den fazla fenolik yapıda bileşikler vardır ve bu bileşiklerin 500'den fazlası gıda bitkilerinde bulunur ve diyet polifenollerini olarak kabul edilir (Koch ve ark., 2019). Fenoller ve flavonoidler antioksidan özelliklerden sorumlu en yaygın bileşiklerdir. Bunun da ötesinde fenolik bileşikler, serbest radikal temizleme, hidrojen bağı, tekli oksijen söndürme, metal iyonu şelatlama gibi çeşitli mekanizmalar yoluyla ve ayrıca süperoksit ve hidroksil gibi radikaller için bir substrat görevi görerek etki gösteren iyi bir antioksidan kaynağıdır (Ha ve ark., 2020).

Oksidatif stres, artrit, diyabet, demans, kanser, osteoporoz, kardiyovasküler hastalıklar ve metabolik sendromlar gibi yaşa bağlı hastalıkların gelişiminde önemli bir rol oynar. Reaktif oksijen türleri normalde hücrenin hayatta kalması, stres etkeni tepkileri ve iltihaplanma gibi hücresel aktivitelerin modülasyonu için biyolojik sistem içinde üretilir. Ancak reaktif oksijen türlerinin yüksek düzeyde olması antioksidan ve prooksidan düzeylerinin dengesini bozarak oksidatif strese neden olabilir. Mevcut araştırma kanıtları, antioksidan özelliklere sahip doğal bileşiklerin oksidatif stresi azaltabildiğini ve bağışıklık fonksiyonunu geliştirebildiğini ortaya koymuştur (Tan ve ark., 2018).

Doğal kaynaklı antioksidanların insülin direncini azaltarak ve insülin sekresyonunu iyileştirerek, glikoz metabolizmasını düzenleyerek, vasküler fonksiyonları iyileştirerek ve oksidatif stres belirteçlerini ve HbA1c seviyelerini düzenleyerek diyabetik durumu iyileştirdiği öne sürülmüştür (Fatima ve ark., 2022). *Paliurus spina-christi* türünün yaprak (PSYE), dal (PSDE) ve meyve (PSME) etanol ekstraktlarının DPPH ve ABTS radikallerine karşı inhibitör etkisinin araştırıldığı bir çalışmada 18.32 ve 22.06 $\mu\text{g/mL}$ IC₅₀ değerleriyle en yüksek antioksidan aktiviteyi bitkinin dallarının gösterdiği ortaya çıkarılmıştır (Şen, 2018). Ayrıca şu anki çalışmada bitkinin dal ekstresinin etil asetat fraksiyonu (PSCEA), en yüksek DPPH ve

ABTS radikal süpürücü etkiyi göstermiştir. Bu yüzden PSDE ile PSCEA'nın güçlü antidiyabetik etkilerine güçlü antioksidan aktiviteleri de katkı sağlamış olabilir.

Sonuç olarak, bu çalışmada her ne kadar bir disakkarit şeker olan sukroz bileşiğinin *Paliurus spina-christi* dallarının α -glukozidaz enzimine karşı antidiyabetik etkisinden sorumlu olduğu bulunmuş olsa da (ve bu durum diyabete karşı ilgili türün kullanılmasının uygun olmayabileceğini akla getirirse de) *in vitro* α -glukozidaz enziminin inhibisyonu üzerinden böyle bir yargıya varılması tek başına anlamlı olmayacaktır. Bu nedenle *Paliurus spina-christi* dallarının antidiyabetik etkisinin kesin olarak ortaya konulabilmesi için *in vivo* çalışmalar (streptozotosin, alloxan ile oluşturulan diyabet modeli) gibi daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Ayrıca geleneksel halk tıbbında diyabete karşı kullanımı olan *Paliurus spina-christi* türünün meyvelerine göre dallarının daha yüksek aktiviteye sahip olduğunun bulunmuş olması da dikkat çekici bulunmuştur.

8. KAYNAKLAR

- Alqahtani, A.S., Hidayathulla, S., Rehman, M.T., ElGamal, A.A., Al-Massarani, S., Razmovski-Naumovski, V., Alqahtani, M.S., El Dib, R.A., & AlAjmi, M.F. (2019). Alpha-amylase and alpha-glucosidase enzyme inhibition and antioxidant potential of 3-oxolupenal and katononic acid isolated from *Nuxia oppositifolia*. *Biomolecules*, *10*, 61. <https://doi.org/10.3390/biom10010061>
- American Diabetes Association. (2014). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, *37*(S1), S81–90. <https://doi.org/10.2337/dc14-S081>
- Amountzias, V., Abatis, D., Drakopoulos, A., Zoidis, G., & Aligiannis, N. (2024). Cyclopeptide alkaloids from the Greek shrub *Paliurus spina-christi* and their in silico binding affinity to Dipeptidyl Peptidase IV. *Natural Product Research*, 1–11. <https://doi.org/10.1080/14786419.2024.2340755>
- Arituluk, Z., & Ezer, N. (2012). Halk arasında diyabete karşı kullanılan bitkiler (Türkiye)-II. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, *32*/2, 179–208. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/hujpharm/issue/49831/639072>
- Arslan, L., & Kaya, E. (2021). Investigation of Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Paliurus spina-christi* Mill. in Kahramanmaraş, Turkey. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım Doğa Dergisi*, *24*, 1161–1169. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.835763>
- Baytop T. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi- Geçişte ve Bugün (s.244). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, Türkiye.
- Brantner, A. H., & Males, Z. (1999). Quality assessment of *Paliurus spina-christi* extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, *66*(2), 175–179. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(98\)00180-9](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(98)00180-9)
- Brantner, A., & Maleš, Ž. (1990). Investigations on the flavonoid glycosides of *Paliurus spina-christi*. *Planta Medica*, *56*(06), 582–583.
- Brantner, A., Males, Z., Pepeljnjak, S., & Antolić, A. (1996). Antimicrobial activity of *Paliurus spina-christi* Mill. (Christ's thorn). *Journal of Ethnopharmacology*, *52*(2), 119–122. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(96\)01408-0](https://doi.org/10.1016/0378-8741(96)01408-0)
- Buddhakala, N., & Talubmook, C. (2020). Toxicity and antidiabetic activity of ethanolic extract of *Sphagneticola trilobala* (L.) Pruski flower in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, *262*, 113128. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113128>

- Cakilcioglu, U., Khatun, S., Turkoglu, I., & Hayta, S. (2011). Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Maden (Elazig-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 137, 469–486. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.05.046>
- Ciocârlan V. (2000). *Paliurus* in Flora ilustrată a României, Ed. Ceres, Bucharest.
- Chang, C. L., Lin, C. S., & Lai, G. H. (2012). Phytochemical characteristics, free radical scavenging activities, and neuroprotection of five medicinal plant extracts. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, 984295. <https://doi.org/10.1155/2012/984295>
- Chukiatsiri, S, Wongsrangsap, N., Ratanabunyong, S., & Choowongkamon, K. (2023). *In vitro* evaluation of antidiabetic potential of *Cleistocalyx nervosum* var. *paniala* fruit extract. *Plants*, 12(1), 112. <https://doi.org/10.3390/plants12010112>
- Davis, P. H. (1982). Flora of Turkey and the East Aegean Island (s. 523-524.), UK, Edinburg University Press.
- Davis, P. H., Cullen, J., & Coode, M. J. E. (1967). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 2, Edinburgh University Press, Edinburgh, s. 523
- Eertmans, F., Bogaert, V., Van Poecke, T., Puype, B. 2014. An improved neutral α -glucosidase assay for assessment of epididymal function-validation and comparison to the WHO method. *Diagnostics (Basel)*. 4(1), 1–11. <https://doi.org/10.3390/diagnostics4010001>
- Esfahani, S. M. M., Tarighi, P., Dianat, K., Ashour, T. M., Mottaghi-Dastjerdi, N., Aghsami, M., Sabernavaei, M., & Montazeri, H. (2023). *Paliurus spina-christi* Mill fruit extracts improve glucose uptake and activate the insulin signaling pathways in HepG2 insulin-resistant cells. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 23, 151. <https://doi.org/10.1186/s12906-023-03977-y>
- Fatima, M. T., Bhat, A. A., Nisar, S., Fakhro, K. A., & Al-Shabeeb Akil, A. S. (2022). The role of dietary antioxidants in type 2 diabetes and neurodegenerative disorders: An assessment of the benefit profile. *Heliyon*, 9(1), e12698. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12698>
- Gao, X., Ohlander, M., Jeppsson, N., Björk, L., & Trajkovski, V. (2000). Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) during maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 1485–1490. <https://doi.org/10.1021/jf991072g>
- Grande, F., Marrelli, M., Amodeo, V., Occhiuzzi, M.A., Pinzaru, I., Fucile, M., Dehelean, C.A., Alexa, E., Conforti, F., & Statti, G. (2024). Molecular docking studies and in vitro

- activity of *Paliurus spina-christi* Mill extracts as pancreatic lipase inhibitors. *Antioxidants*, 13, 160. <https://doi.org/10.3390/antiox13020160>
- Güner, N.D. (2005). *Paliurus spina-christi* Mill. Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar, MSc, Hacettepe University Institute of Medical Sciences, Ankara.
- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., & Babaç, M. T. (2012). Türkiye Bitkileri Listesi (s.761), Nezahat Gökyiğit Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını. İstanbul.
- Ha, P. T. T., Tran, N. T. B., Tram, N. T. N., & Kha, V. H. (2020). Total phenolic, total flavonoid contents and antioxidant potential of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Vietnam. *AIMS Agriculture and Food*, 5, 635–648. <https://doi.org/10.3934/agrfood.2020.4.635>
- Haewphet, T., Parhira, S., Chaisupasakul, P., Wangteeraprasert, A., Phoungpetchara, I., Pekthong, D., Kaewkong, W., Jiang, Z. H., Bai, L. P., Somran, J., Srisawang, P. (2024). The dichloromethane fraction from *Calotropis gigantea* (L.) dryand. Stem bark extract prevents liver cancer in SDT rats with insulin-independent diabetes mellitus. *Journal of Ethnopharmacology*, 334, 118516. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2024.118516>
- Hernández-García, E., García, A., Avalos-Alanís, F. G., Rivas-Galindo, V. M., Delgadillo-Puga, C., & del Rayo Camacho-Corona, M. (2019). Nuclear magnetic resonance spectroscopy data of isolated compounds from *Acacia farnesiana* (L) Willd fruits and two esterified derivatives. *Data in Brief*, 22, 255–268. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2018.12.008>
- Jangid, R., Jain, S., Sharma, M. K., & Chatterjee, S. (2023). *In vitro* antioxidant and antidiabetic activity of ethanolic extract of *Prosopis* species growing in Rajasthan, India. *Vegetos*, 36, 62–69. <https://doi.org/10.1007/s42535-022-00487-z>
- Kırca, A., & Arslan, E. (2008). Antioxidant capacity and total phenolic content of selected plants from Turkey. *International Journal of Food Science & Technology*, 43(11), 2038–2046. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2008.01818.x>
- Kumar, N., & Goel, N. (2019). Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports (Amst)*. 24, e00370. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00370>
- Koch, W. (2019). Dietary polyphenols—Important non-nutrients in the prevention of chronic noncommunicable diseases. A systematic review. *Nutrients*, 11, 1039. <https://doi.org/10.3390/nu11051039>

- Lin, L., & Zhang, Y. (2023). Chemical constituents and antidiabetic of dichloromethane extract from *Ficus carica* leaves, *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity*, 16, 979–991. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S405150>
- Malkoç, M., Kaya, Y., Özkök, A., Ertürk, Ö., & Kolaylı, S. (2019). Characteristic properties of Jerusalem Thorn (*Paliurus spina-christi* Mill.) honey. *Uludag Bee Journal*, 19(1), 69–81.
- Medić-Šarić, M., Males, Ž., Šarić, S., & Brantner, A. (1996). Quantitative modeling of flavonoid glycosides isolated from *Paliurus spina-christi* Mill. *Croatica Chemica Acta*, 69(4), 1603–1616.
- Mistry, J., Biswas, M., Sarkar, S., & Ghosh, S. (2023). Antidiabetic activity of mango peel extract and mangiferin in alloxan-induced diabetic rats. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 9(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s43094-023-00472-6>
- Mona Mousavi Esfahani, S., Tarighi, P., Dianat, K., MahdiAshour, T., Mottaghi-Dastjerdi, N., Aghsami, M., Sabernavaei, M., & Montazeri, H. (2023). *Paliurus spina-christi* Mill fruit extracts improve glucose uptake and activate the insulin signaling pathways in HepG2 insulin-resistant cells. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 23(1), 151. <https://doi.org/10.1186/s12906-023-03977-y>
- Oguz, F., Pulat, Ç. Ç., İlhan, S., & Atmaca, H. (2022). GC-MS analysis and potential apoptotic effect of *Paliurus spina-christi* mill. leaf and flower extracts against breast cancer cells. *Sakarya University Journal of Science*, 26(2), 357–364.
- PubChem (2024). <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sucrose> (Erişim Tarihi : 29.05.2024)
- Ramakrishna, R., Sarkar, D., Schwarz, P., & Shetty, K. (2017). Phenolic linked anti-hyperglycemic bioactives of barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars as nutraceuticals targeting type 2 diabetes. *Industrial Crops and Products*, 107, 509–517. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.03.033>
- Schirarend, C., & Olabi, M. N. (1994). Revision of the genus *Paliurus* Tourn. ex Mill. (Rhamnaceae). *Botanische Jahrbücher für Systematik*, 116, 333–359.
- Suthari, S., Kota, S., Kanneboyena, O., Gul, M. Z., & Abbagani, S. (2021). Ethnobotanical perspectives in the treatment of communicable and noncommunicable diseases. In *Phytomedicine* (Chapter 9, 251–289), Bhat, R.A., Hakeem, K.R., & Dervash, M.A., (Eds.), Academic Press: Cambridge, MA, USA. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824109-7.00016-9>

- Şen, A. (2018). Kürkçüoğlu, M., Şenkardeş, İ., Bitiş, L., & Başer, K. H. C. (2019). Chemical Composition, antidiabetic, anti-inflammatory and antioxidant activity of *Inula ensifolia* L. essential oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(4), 1048–1057. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2019.1662333>
- Şen, A. Antioxidant and anti-inflammatory activity of fruit, leaf and branch extracts of *Paliurus spina-christi* P. Mill. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 22, 328–333. <https://doi.org/10.12991/mpj.2018.71>
- Takım, K., & Işık, M. (2020). Phytochemical analysis of *Paliurus spina-christi* fruit and its effects on oxidative stress and antioxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 191, 1353–1368. <https://doi.org/10.1007/s12010-020-03287-w>
- Takım, K. (2016). Antidiabetic effect of karaçalı (*Paliurus spina christi*) extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *International Engineering, Science and Education Conference (INESEC) Science*. INESEG.
- Takım, K. (2021). Bioactive component analysis and investigation of antidiabetic effect of Jerusalem thorn (*Paliurus spina-christi*) fruits in diabetic rats induced by streptozotocin. *Journal of Ethnopharmacology*, 264, 113263. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113263>
- Tan, B. L., Norhaizan, M., Liew, W., & Sulaiman Rahman, H (2018). Antioxidant and oxidative stress: A mutual interplay in age-related diseases. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 1162. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01162>
- Tătăranu D. (1960). Arbori și arbuști forestieri și ornamentali, cultivați în R.P.R. Ed. Agrosilvică, Bucharest.
- Tuzlacı, E. (2016). Türkiye Bitkileri Geleneksel İlaç Rehberi, İstanbul Kitabevleri, İstanbul.
- Tutin T. G., Heywood V. H., Burges N. A., Moore D. M., Valentine D. H., Walters S. M., & Webb D. A. (1980). *Flora Europaea* (vol. 5), Cambridge University Press, Cambridge.
- Tübives. (2024). http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=2344 (Erişim Tarihi : 23.03.2024).
- Velcheva M. P. (1993). Constituents of *P. spina-christi*, *Fitoterapia*, 64, 284–285.
- Wangkheirakpam, S. (2018). Traditional and folk medicine as a target for Drug Discovery. *Natural Products and Drug Discovery*, 29–56. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102081-4.00002-2>

- Wfo Plant List (2024). <https://wfoplantlist.org/taxon/wfo-4000027794-2023-12?page=1> (Erişim Tarihi : 15.04.2024)
- WHO, 2024. https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab_1 (Erişim Tarihi : 15.04.2024)
- Xiao, J. (2022). Recent advances in dietary flavonoids for management of type 2 diabetes. *Current Opinion in Food Science*, 44, 100806. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2022.01.002>
- Yıldırım, A , Şen, A , Doğan, A , & Bitis, L. (2019). Antioxidant and anti-inflammatory activity of capitula, leaf and stem extracts of *Tanacetum cilicicum* (Boiss.) Grierson. *International Journal of Secondary Metabolite*, 6 (2) , 211–222. <https://doi.org/10.21448/ijsm.510316>
- Yuca, H., Aydın, B., Özbek, H., Demirezer, L. Ö., & Güvenalp, Z. (2018). Screening for alpha-glucosidase inhibition activity of *Paliurus spina-christi* Miller, ISOPS 12th International Symposium on Pharmaceutical Sciences, Ankara, Turkey.
- Yuca, H., Özbek, H., Demirezer, L.Ö., & Güvenalp, Z. (2022). Assessment of the α -glucosidase and α -amylase inhibitory potential of *Paliurus spina-christi* Mill. and its terpenic compounds. *Medicinal Chemistry Research*, 31(8), 1393–1399. <https://doi.org/10.1007/s00044-022-02921-y>
- Zengin, G., Fernández-Ochoa, Á., Cádiz-Gurrea, MdLL., Leyva-Jiménez, F. J., Segura-Carretero, A., Elbasan, F., Yildiztugay, E., Malik, S., Khalid, A., Abdalla, A.N., & Fawzi Mahomoodally, M. (2023). Phytochemical profile and biological activities of different extracts of three parts of *Paliurus spina-christi*: A linkage between structure and ability. *Antioxidants*, 12(2), 255. <https://doi.org/10.3390/antiox1202025>
- Zhang, R., Zeng, Q., Deng, Y., Zhang, M., Wei, Z., Zhang, Y., & Tang, X. (2013). Phenolic profiles and antioxidant activity of litchipulp of different cultivars cultivated in Southern China. *Food Chemistry*, 136, 1169–1176. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.085>
- Zor, M., Aydın, S., Güner, N. D., Başaran, N., & Başaran, A. A. (2017). Antigenotoxic properties of *Paliurus spina-christi* Mill fruits and their active compounds. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 17, 229. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1732-1>
- Zou, Y., Chang, S. K. C, Gu, Y., Qian, S. Y. (2011). Antioxidant activity and phenolic compositions of lentil (*Lens culinaris* var. *morton*) extract and its fractions. *Journal of*

Agricultural and Food Chemistry, 59(6), 2268–2276. <https://doi.org/10.1021/jf104640k>

10. BİLİMSEL FAALİYETLER

Makale

1. Dinç Sekman, F., Şenkardeş, İ., & Şen, A. Activity-Directed Fractionation of Different Parts of *Paliurus spina-christi* P. Mill. in the Search for Antidiabetics, İstanbul Pharmacy Journal, 2024 (Makale dergiye gönderildi.)

Bildiri (Sözlü)

1. Dinç Sekman, F., Şen, A. & Şenkardeş, İ., Investigation of the Biological Activities of Various Fractions Obtained From the Branches of *Paliurus Spina-Christi* P. Mill., 15th UTSAK, 23-24 March 2024, Ankara, Türkiye.