



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**LİPOKSİJENAZ'IN BAZI BİTKİLER TARAFINDAN
İNHİBİSYONU**

Emine YILDIZ

**Kimya Anabilim Dalı
Biyokimya Programı**

Danışman

Doç. Dr. Özlem SAÇAN

İstanbul, 2010

İSTANBUL



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**LİPOKSİJENAZ'IN BAZI BİTKİLER TARAFINDAN
İNHİBİSYONU**

Emine YILDIZ

**Kimya Anabilim Dalı
Biyokimya Programı**

Danışman

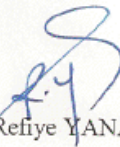
Doç. Dr. Özlem SAÇAN


İstanbul, 2010

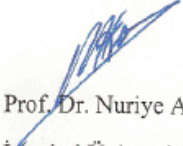
İSTANBUL

Bu çalışma 11/11/2010 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı Biyokimya programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.


Tez Jürisi


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


Prof. Dr. Ayşen YARAT
Marmara Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
Biyokimya Bilim Dalı


Prof. Dr. Nuriye AKEV
İstanbul Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı


Prof. Dr. Ayşe YUSUFOĞLU
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi
Kimya Bölümü
Organik Kimya Anabilim Dalı


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

Bu çalışma **İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin T - 2848** numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimim sırasında, tez çalışmalarımın yürütülmesi ve değerlendirilmesinde yardım ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Özlem SAÇAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım boyunca benden yardımlarını ve desteğini esirgemeyen Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı hocam Sayın Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ'a teşekkür ederim. Ayrıca Yard. Doç. Dr. Sevim TUNALI'ya, Arş. Gör. Bertan Boran BAYRAK'a, Arş. Gör. İ. Burcu TÜRKYILMAZ'a ve diğer çalışma arkadaşlarıma bana gösterdikleri ilgi ve anlayıştan dolayı teşekkür ederim.

Hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen ve bugünlere gelmemi sağlayan sevgili aileme en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Çalışmamın uygulama kısmını destekleyen İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim. Ayrıca Eczacıbaşı İlaç A.Ş. ve İlsan İlaç A.Ş. ilaç etken maddelerini sağladıkları için teşekkür ederim.

İstanbul, 2010

Emine YILDIZ

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	İ
İÇİNDEKİLER	İİ
ŞEKİL LİSTESİ	İİİ
TABLO LİSTESİ	İV
KISALTMALAR	V
ÖZET	VI
SUMMARY	Vİİ
1. GİRİŞ	1
2.GENEL KISIMLAR	3
2.1. ENZİMLER VE GENEL ÖZELLİKLERİ...	3
2.2. ENZİMLERİN YAPISI	5
2.3. ENZİMLERİN ADLANDIRILMASI VE SINIFLANDIRILMASI.....	6
2.4. ENZİMLERİN ÖZELLİKLERİ	7
2.5. ENZİMLERE ETKİ EDEN ETKENLER	8
2.5.1. Enzim Konsantrasyonu	8
2.5.2. Substrat Konsantrasyonu	9
2.5.3. Sıcaklık	9
2.5.4. pH	10
2.5.5. Zaman	10
2.5.6. Reaksiyon Ürünleri	10
2.5.7. Işık ve Diğer Fiziksel Etkenler	11
2.5.8. Hormonlar ve Diğer Biyokimyasal Maddeler	11
2.6. ENZİM İNHİBİSYONU	11

2.6.1. Reversibl İnhibisyon (Geri Dönüşümlü)	11
2.6.1.1. Yarışmalı İnhibisyon	12
2.6.1.2. Sınırlı Yarışmalı (Ankometitif) İnhibisyon	12
2.6.1.3. Yarışmasız İnhibisyon	13
2.6.2. İrreversibl (Geri Dönüşümsüz) İnhibisyon	14
2.7. BİTKİLERDEN YARARLANILARAK YAPILAN TEDAVİLER VE TIP ALANINDA BİTKİLERDEN YARARLANILMASI.....	14
2.8. EİKOZANOİDLER (LİPİT TÜREVİ OTOKOİDLER)	15
2.8.1. Temel Özellikleri	16
2.8.2. Ortak Temel Özellikleri.....	16
2.8.3. Eikozanoidlerin Metabolizması	16
2.9. LÖKOTRİENLER.....	17
2.9.1. Lökotrienlerin Sentezi	18
2.9.2. Lökotrienlerin Yıkımı ve Atılımı	20
2.9.3. Lökotrienlerin Biyolojik Etkileri.....	21
2.9.4. Antilökotrienler	21
2.9.5. Lökotrienler ve İmmunolojik Yanıt	22
2.10. LİPOKSİJENAZ.....	23
2.10.1. Biyokimyasal ve Moleküler Özellikleri	24
2.10.2. Reaksiyon Mekanizması	25
2.10.2.1. Hidrojen Alınımı	25
2.10.2.2. Radikalın Tekrar Düzenlenmesi.....	25
2.10.2.3. Moleküler Oksijenin Eklenmesi ve Hidroperoksi Türevinin Oluşturulması ...	25
2.10.3. Lipoksijenazın Kullanım Alanları.....	26
2.10.4. Lipoksijenaz Ürünleri.....	26
2.11. LÖKOTRİENLER İLE İLGİLİ PATOLOJİK DURUMLAR	28
2.11.1. Astım	29
2.11.2. Kistik Fibrozis	30
2.11.3. Psöriazis (Sedef Hastalığı).....	31
2.11.4. Ülseratif Kolit	32
2.11.5. İnflamatuvar Barsak Hastalıkları	33
2.11.6. Romatoid Artrit ve Gut	33
2.11.7. Miyokard İskemisi	33

2.11.8. Septik Şok	34
2.11.9. Anafilaksi	34
3. MALZEME VE YÖNTEM	36
3.1. DENEYLERDE KULLANILAN ALETLER VE KİMYASAL MADDELER	36
3.2. ENZİM İNHİBİSYONUNDA KULLANILAN BİTKİ MATERYALLERİ	36
3.2.1. Etil Alkollü Ekstrelerin Hazırlanması	39
3.3. ENZİM İNHİBİSYON TAYİNİNDE KULLANILAN İLAÇ ETKEN MADDELERİ	39
3.4. ENZİM İNHİBİSYONU TAYİNİNDE KULLANILAN ORGANİK VE ANORGANİK MADDELER	40
3.5. LİPOKSİJENAZ İNHİBİTÖRÜ ETKİNLİĞİNİN ÖLÇÜLMESİ	41
4. BULGULAR	43
4.1. BİTKİ EKSTRELERİNİN LİPOKSİJENAZ İNHİBİTÖRÜ ETKİSİ	43
4.2. İLAÇ ETKEN MADDELERİNİN LİPOKSİJENAZ İNHİBİTÖRÜ ETKİSİ	48
4.3. ORGANİK VE ANORGANİK MADDELERİN LİPOKSİJENAZ İNHİBİTÖRÜ ETKİSİ	49
4.3.1. Organik Maddeler	49
4.3.2. Anorganik Maddeler	51
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	53
KAYNAKLAR	58
ÖZGEÇMİŞ	65

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1.1.	: Enzim-substrat ilişkisi (Anahtar-kilit modeli)	4
Şekil 2.1.2.	: Enzim-substrat ilişkisi (İndüklenmiş uyum modeli)	5
Şekil 2.5.1.1.	: Enzim miktarının reaksiyon hızına etkisi	9
Şekil 2.5.2.1.	: Substrat miktarının reaksiyon hızına etkisi	9
Şekil 2.6.1.1.1.	: Yarışmalı enzim inhibisyonu	12
Şekil 2.6.1.2.1.	: Sınırlı yarışmalı enzim inhibisyonu	13
Şekil 2.6.1.3.1.	: Yarışmasız enzim inhibisyonu	13
Şekil 2.9.1.1.	: Araşidonik asitten eikozonoit sentezi	19
Şekil 2.9.1.2.	: Araşidonik asit metabolitleri.....	20
Şekil 2.10.1.	: LOX'ın sistematik yapısı	23
Şekil 2.10.4.1.	: LOX'ın etkisiyle araşidonik asitten sentezlenen ürünler	27
Şekil 2.10.4.2.	: LOX ürünlerinin etki yeri	27
Şekil 4.1.1.	: Bazı etil alkollü meyva ekstralarının LOX % inhibisyon değerleri	43
Şekil 4.1.2.	: Bazı etil alkollü sebze ekstralarının LOX % inhibisyon değerleri.....	44
Şekil 4.1.3.	: Bazı etil alkollü baklagil ve kuru yemiş ekstralarının LOX %inhibisyon değerleri ...	44
Şekil 4.1.4.	: Bazı etil alkollü bitki ekstralarının LOX % inhibisyon değerleri	45
Şekil 4.2.1.	: İlaç etken maddelerinin LOX % inhibisyon değerleri	48
Şekil 4.3.1.	: Organik maddelerin LOX % inhibisyon değerleri	49
Şekil 4.3.2.	: Anorganik maddelerin LOX % inhibisyon değerleri	51

TABLO LİSTESİ

Tablo 3.2.1.	: Bitki materyallerinin latince adları	37
Tablo 3.3.1.	: İlaç etken maddelerin sistematik adları	39
Tablo 3.4.1.	: Organik maddeler	40
Tablo 3.4.2.	: Anorganik maddeler	40
Tablo 4.1.1.	: Çeşitli bitkilerden hazırlanan etanollü ekstrelerinLOX üzerindeki IC ₅₀ değerleri	46
Tablo 4.2.1.	: Çeşitli ilaç etken maddelerin LOX üzerindeki IC ₅₀ değerleri	48
Tablo 4.3.1.	: Çeşitli organik maddelerinLOX üzerindeki IC ₅₀ değerleri	50
Tablo 4.3.2.	: Çeşitli anorganik maddelerin LOX üzerindeki IC ₅₀ değerleri	52

KISALTMALAR

AA	: Araşidonik asit
AMP	: Adenozinmonofosfat
ATP	: Adenozintrifosfat
CF	: Kistik fibroz
COX	: Siklooksijenaz
Cyst LT	: Sistein lökotrienler
CytP₄₅₀	: Sitokrom P ₄₅₀
DGLA	: Dihomogamalinoleik asit
FLA₂	: Fosfolipaz A ₂
FLAP	: 5-LOX aktive edici protein
GMP	: Guanozinmonofosfat
GSH	: İndirgenmiş glutatyon
HETE	: Hidroksieikozatetraenoik asit
HPETE	: Hidroksiperoksieikozatetraenoik asit
IC₅₀	: Aktivitenin % 50'sini inhibe eden konsantrasyon değeri
IgE	: İmmünglobulin E
IgM	: İmmünglobulin M
IUB	: Uluslararası Biyokimya Birliği
KAH	: Koroner arter hastalığı
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
5-LOX	: 5-Lipoksijenaz
LOX	: Lipoksijenaz
LTA	: Lökotrien antagonist
LT	: Lökotrien
LXA	: Lipoksin
Mİ	: Miyokard enfarktüs
NO	: Nitrik oksit
NSAID	: Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaç
PG	: Prostaglandinler
PGI₂	: Prostaglandin I ₂
RIA	: Radyoimmunassay
SRS-A	: Anafilaksinin yavaş etkiyen maddesi
TNF- α	: Tümör nekrozis faktör
TxA₂	: Tromboksan A ₂

ÖZET

LİPOKSİJENAZ'IN BAZI BİTKİLER TARAFINDAN İNHİBİSYONU

Bitkiler, binlerce yıldan beri tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Bugün sağlık alanında halk ilaçlarının yerini sentetik ilaçların almasına karşın, dünyanın birçok yöresinde doğal ve bitkisel kaynaklı alternatiflerinin kullanımı günümüzde giderek artış göstermektedir.

Lipoksijenazlar birçok bitki ve bakteride bulunmaktadır. Lipoksijenazlar, ilaç tasarımlarında temel hedef olmakla beraber bronşiyal astım, inflamasyon, kanser ve otoimmün hastalıkların tedavisinde inhibitör etki göstermeleri nedeni ile önem kazanmaktadırlar.

Bu alternatiflerin bilimsel yönden araştırılarak negatif ya da pozitif yönlerinin tespiti, kimyasal ilaçlarla farklılıklarının belirlenmesinde bir ışık tutacaktır. Bu çalışmada çeşitli bitkilerden hazırlanan ekstre ve ilaç etken maddelerinin lökotrienlerin metabolizmasında rol alan lipoksijenaz enzim inhibisyonu üzerine etkileri araştırılmıştır.

Çalışmamızda, bitki ekstrelerinden trabzon hurması, ilaç etken maddelerden atorvastatin, anorganik maddelerden sodyum selenat, organik maddelerden ise askorbik asit, balıkyağı, phloridzin ve salisilik asidin lipoksijenazın aktivitesi üzerine inhibisyon etkisinin en yüksek olduğu tespit edildi.

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlardan, bitki ve kimyasal maddelerin lipoksijenaz üzerine farklı inhibitör etki gösterdikleri saptandı.

SUMMARY

INHIBITION OF LIPOXYGENASE BY SOME PLANTS

Plants have been used for the treatment for many years. Although folk medicine has taken place of synthetic medicine, in many parts of the world, usage of natural and plant sourced alternative shows an increase.

Lipoxygenases exist in many plants and bascterias. Lipoxygenases, as being a basic target in medicine design, become important for showing inhibitory effect in tratments of cronchial asthma, inflammation, cancer and autoimmune diseases.

The indication of negative and positive parts via searching these altenatives as scientifically will shed a light on determination of pharmaceutical active ingredient. In this study, the effects of extracts, prepared from vary plants, and pharmaceutical active ingredients on the enzyme inhibition of lipoxygenase which is participated in leukotriene metabolism were investigated.

In our study, permission, from plant extracts, and atorvastatin, one of the pharmaceutical active ingredients, and sodium selenate, from anorganic substances, and ascorbic acid, fish oil, phloridzin and salisilic acid, from organic substances have been found as showing the highest inhibitory effect on lipoxygenase activity.

According to the results we obtained from our study, plant and chemical substances shows different inhibitory effects on lipoxygenase.

1. GİRİŞ

Canlılığın önemli yapılarından olan çok sayıda ve çeşitli biyokimyasal reaksiyon, enzimler olarak bilinen biyolojik katalizörler yardımıyla gerçekleştirilir. Enzimler, protein yapısında olan, doğal olarak yalnız canlılar tarafından sentezlenebilen biyolojik katalizörlerdir.

Enzimler hücre içerisinde meydana gelen binlerce tepkimenin hızını ve özgülüğünü düzenlerler. Çok defa hücre dışında da etkinliklerini korurlar. Aynı enzim farklı hücre veya doku tiplerinde de katalizör görevi üstlenebilir.

Enzimler, aktivasyon enerjisini düşürerek, zor ve uzun sürede gerçekleşecek olan tepkimeleri çok kısa sürede ve az enerji harcanarak yapmayı sağlarlar.

Hücredeki reaksiyonlar yan ürün oluşturmazlar, reaksiyonlar %100 verimle sonuçlanır. Enzimatik reaksiyonlar fizyolojik pH'da ve canlının vücut sıcaklığında gerçekleşir. Biyokimyasal reaksiyonlar az enerji ve düşük sıcaklıkta gerçekleşir. Normal laboratuvar koşullarında yüksek sıcaklık ve fazla enerji gerektiren pek çok reaksiyon, enzimlerin kullanılmasıyla daha düşük sıcaklıkta ve enerjide gerçekleştirilebilir.

Enzimler spesifik oluşları ve düşük konsantrasyonlarda dahi substrat reaksiyonlarını katalizlemelerinden dolayı sanayide, gıda ve kimya endüstrisinde, tıp, eczacılık, ziraat gibi alanlarda teşhis, tedavi ve biyolojik savaş gibi amaçlarla kullanılmaktadırlar.

Enzimler ve enzim inhibitörleri tıpta ilaç olarak kullanılmaktadır. Farmasötik araştırmalarda enzim inhibisyonu, önemli bir alandır. Bu amaçla yapılan çalışmalar çeşitli hastalıklarda kullanılan ilaçların çeşitliliğine yol açmaktadır.

Lipoksijenazlar, iki veya daha fazla sayıda doymamış bağ içeren yağ asitlerine oksijen katarak onları hidroperoksitlerine dönüştüren, hem yapısında olmayan ve Fe atomu içeren enzimlerdir. Lipoksijenazlar birçok bitki ve bakteride bulunmaktadır. Lipoksijenazlar, ilaç tasarımlarında temel hedef olmakla beraber bronşiyal astım, inflamasyon, kanser ve otoimmün hastalıkların tedavisinde inhibitör etki göstermeleri nedeni ile önem kazanmaktadır.

Bitkilerin tedavi amaçlı kullanımı modern tıbbın kurulmasından çok önceki zamanlara uzanmaktadır. Günümüzde de, özellikle son 20 yılda bu alanda çok sayıda epidemiyolojik ve deneysel çalışmalar yapılmış ve yapılmaya devam etmektedir. Özellikle Amerika Birleşik Devleti ve Avrupa'da bitkisel ve doğal ürünlere artan bir ilgi gözlenmektedir. Yapılan epidemiyolojik ve deneysel çalışmaların ışığında, bitkisel besinlerden zengin beslenmenin astım ve ateroskleroz gibi kronik bir takım hastalıkların gelişimini azaltabileceği söylenmektedir.

Bitkilerin yapısında bulunan kimyasal maddelerin sentetik kimyasal maddelere göre yan etkilerinin daha az olması ve maliyetlerinin düşük olması nedeniyle, bitkilere ve bitki ekstralarına olan ilginin artmasına neden olmuştur. Bu sebeple, bitkilerden ve bitkisel kaynaklı olan birçok bileşikten elde edilen kimyasal maddeler çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bu tür ekstraların kullanımların bilimsel dayanağının olup olmadığının araştırılması önem kazanmaktadır. Enzim inhibitörlerinin çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bilindiğinden, çalışmamızda çeşitli bitki ekstralarının, ilaç etken maddelerinin, anorganik ve organik kimyasal bileşiklerin lipoksijenaz enzimi üzerindeki inhibisyon etkileri incelendi.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. ENZİMLER VE GENEL ÖZELLİKLERİ

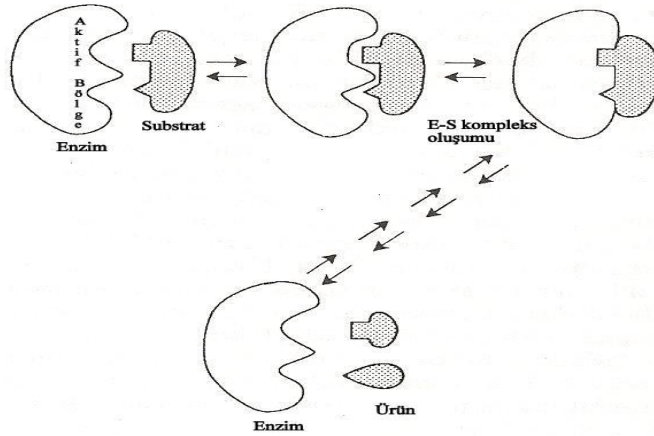
Enzimler, canlı hücrelerde oluşan ve organizmadaki tüm reaksiyonların çok ılıman koşullarda gerçekleşmesini sağlayan protein yapısındaki biyokimyasal katalizörlerdir [1]. Şekerlerden alkolün teşekkülünde, peynir yapılması [2], şarabın sirkeleşmesi ve idrarda amonyak teşekkülü gibi enzimatik olaylar tarihten önceki devirlerden beri bilinmektedir. Hücrelerde organik maddelerin yapılması ve yıkılması, sindirim, kas kasılması, hücre solunumu vb. önemli fizyolojik faaliyetler çeşitli metabolizma reaksiyonlarının sonucudur ve bütün bu reaksiyonlar enzimlerin katalitik etkisiyle mümkün olmaktadır [3]. Bu sebeple yaşam birçok enzim reaksiyonlarının bir araya gelmesinden ibaret bir sistem olarak da tanımlanmıştır [4].

İlk enzim çalışmaları, sindirime ilişkin enzimlerin araştırılmaya başlandığı 1760-1825 yılları arasındadır. İlk kez 1825 yılında Berzelius, nişastanın sindiriminde etkili bitkisel enzimler üzerinde çalışmış, 1860 yıllarında Pasteur fermentasyon enzimleri üzerinde araştırmalar yapmıştır. Fermentasyon ile ilişkilerinden dolayı başlangıçta verilen ferment adı 1878 yılında Kühne tarafından Yunanca'da "maya içinde" anlamına gelen enzim ismi ile değiştirilmiştir [5]. İlk enzim molekülü olan üreaz, Amerikalı biyolog J.B. Sumner tarafından 1926 yılında soya fasulyesi özütünden saf ve kristalize halde izole edilmiştir. Daha sonraki 1930 ve 1936 yılları arasında pepsin, kimotripsin ve tripsin enzimi başarıyla saflaştırılarak kristallerin protein yapısında olduğu kanıtlanmıştır [6].

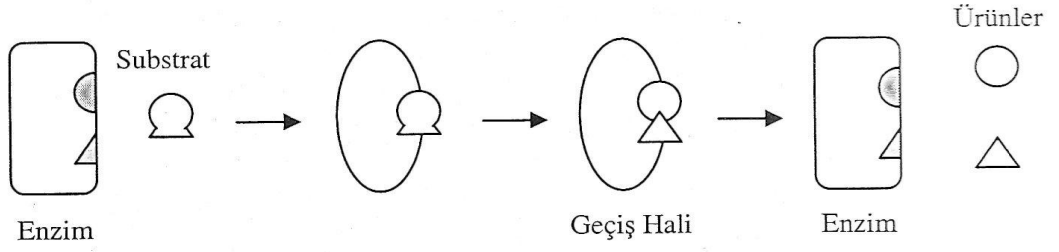
Enzimler çok etkili ve spesifik katalizörlerdir. Enzimler tepkime hızlarında büyük bir artışı da beraberinde getirme yeteneğine sahiptirler [1]. Enzimle katalize edilen reaksiyonlar enzimle katalize edilmeyen reaksiyonlardan 10³–10¹⁷ defa daha hızlı meydana gelirler. Canlı organizmalar için bu büyüklükteki hız artışları, canlı hücrelerde

var olan ılımlı koşullar altında bile, tepkimelere uygun hızlarda gerçekleşmesine fırsat verdikleri için önemlidirler (örneğin yaklaşık olarak nötr pH 'da ve 35°C sıcaklıkta) [7].

Enzimler hangi tepkimeyi katalizledikleri ve bu tepkimeye hangi substratın girdiğine çok büyük bir özgülük gösterirler. 1894'te Emil Fischer bunun nedeninin, enzim ve substratının birbirine tam uyan tamamlayıcı geometrik şekilleri olmasından dolayı olduğunu öne sürmüştür [8]. Bu fikre sıkça "anahtar kilit" modeli olarak değinilir (Şekil 2.1.1.). Bu model enzim özgülüğünü açıklasa da geçiş halinin enzim tarafından stabilizasyonunu açıklamaz. "Anahtar-kilit" modeli artık yetersiz sayılmaktadır, "indüklenmiş uyum" modeli halen en yaygın kabul gören enzim-substrat-koenzim şeklidir. İndüklenmiş uyum modeli 1958 yılında D. Koshland tarafından önerilmiştir. Bu modelde hem enzim hem de substrat bağlanma sonucu şekil değişikliğine uğrar ve substrat geçiş halini alacak bir konformasyona uğramaya zorlanır. Bu şekilde, enzim substratı baskı altında tutarak direkt olarak katalitik olayın oluşmasını sağlar. Bu model için el-eldiven benzetmeside yapılmaktadır (Şekil 2.1.2.).



Şekil 2.1.1. Enzim-substrat ilişkisi (Anahtar-kilit modeli) [8]



Şekil 2.1.2. Enzim-substrat ilişkisi (İndüklenmiş uyum modeli) [8]

Enzimler, birçok gıdanın yapısında az miktarda olmasına rağmen önemli ve çeşitli görevler üstlenirler. Enzimler, gıdaların doğal yapılarını değiştirebilir ve bazı örneklerde bu değişiklikler kabul edilebilir ama birçok örnekte istenmez. Bu nedenle istenmeyen durumlarda enzimler inaktive edilirler. Bitkilerin kararması, istenmeyen değişikliklere örnektir. Bazı enzimler analitik metodlarda indikatör olarak kullanılır. Örneğin, fosfataz enzimi pastörizasyon işlemlerinde kullanılır. Enzimler, gıda imalatında katkı maddesi olarak da kullanılırlar. Örneğin, rennin enzimi peynir üretimi sırasında sütte koagülant olarak kullanılır [7].

2.2. ENZİMLERİN YAPISI

Enzimler tüm proteinler gibi genler tarafından şifrelenir. Bu nedenle amino asit dizilimi kendine özgüdür [9]. Enzimde proteini oluşturan amino asitlerin sayısı, diziliş sırası ve moleküllerin yapısı belirli bir düzen içindedir ve bu düzen enzimin substrat seçiciliğini sağlar [4].

Bazı enzimler sadece proteinden oluşurken, bazıları proteinin yanında protein olmayan bir kısım içerirler. Enzimlerin protein kısmına “*apoenzim*” denir. Bu kısım, enzimin hangi maddeye etki edeceğini saptar. Apoenzim ısı ile kolayca denatüre olur. Yapıları sadece proteinden ibaret olan enzimlere örnek olarak pepsin, tripsin, üreaz ve diğer hidrolaz sınıfı enzimler gösterilebilir. Protein olmayan kısma ise “*kofaktör*” denir. Kofaktörler birçok enzimin katalitik aktivite gösterebilmesi için gerekli olan

maddelerdir. Kofaktörler, esansiyel iyonlar ve koenzimler (organik bileşikler) olarak ikiye ayrılırlar [4].

Enzimde işlev gören ve esas iş yapan kısım olan koenzim, organik ya da inorganik, çok defa fosfattan meydana gelmiş, protein kısmına göre çok daha küçük molekülü olan kısım. Analizlerinde birçok vitamini bünyesinde bulundurduğu (tiyamin, niyasin, riboflavin vs.) görülen koenzim kısmı genellikle protein kısmından ayrılabilir [6].

Koenzimler, apoenzimden kolaylıkla ayrılabilir ancak tek başlarına katalitik etki göstermezler. Koenzim apoenzim kısmına kuvvetlice (kovalent) bağlanmışsa, bu sıkı bağlanan kısma "*prostetik grup*" adı verilir [5].

Apoenzim ve koenzim birlikte "*holoenzim*" olarak adlandırılırlar. Holoenzimin büyük bir kısmını apoenzim oluşturur [9].

Bazı enzimler ortama yalnız belirli iyonlar eklendiğinde aktiftirler. Bazen enzimin iş görebilmesi için bir metal iyonuna gereksinim vardır. Koenzim kısmı metal iyonu ise (Ca^{2+} , K^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+}) buna "*kofaktör*" denir [9].

Enzim molekülünün belirli bir bölgesinde belirli amino asitlerin oluşturduğu bir kısım bulunur. Protein zincirinin bu kısmı enzimin katalitik etkisinden sorumlu olup "*aktif bölge*" olarak tanımlanır. Substrat ve eğer varsa koenzim bu merkeze bağlanır. Enzimin etki ettiği maddeye veya madde karışımına bu enzimin "*substrat*"ı denir. Koenzim veya prostetik grup enzimin etki edeceği kimyasal reaksiyonu, yani etki spesifitesini belirler. Apoenzim ise hangi substrata etki edeceğini diğer bir deyişle enzimin substrat spesifitesini belirler [5].

2.3. ENZİMLERİN ADLANDIRILMASI VE SINIFLANDIRILMASI

Enzimler önceleri üzerinde etki gösterdikleri substratlara "-az" takısı eklenerek adlandırılmışlardır. Örnek olarak nişastayı hidroliz edenlere amilazlar, yağı hidroliz

edenlere lipazlar denilmiştir. Bundan kısa bir süre sonra benzer reaksiyonları katalizleyen enzimlere katalizledikleri kimyasal reaksiyon tipini gösteren isimler verilmiştir. Bunlar, dehidrojenazlar, oksidazlar, dekarboksilazlar, açılazlar vb. diye isimlendirilmişlerdir.

Uluslararası Biyokimya Birliği'nin (IUB) düzenlemesine göre enzimlerin katalizlediği kimyasal reaksiyon tipine ve reaksiyon metabolizmasına dayanılarak adlandırma ve sınıflandırma yapılmaktadır.

Uluslararası Biyokimya Birliği Enzim Komisyonu enzimleri, kataliz ettikleri genel reaksiyon tipinin sonuna 'az' eki getirmek suretiyle [10];

Oksidoredüktazlar: Redüksiyon ve oksidasyon reaksiyonlarını kataliz eden enzimlerdir.

Transferazlar: Bazı grupların bir bileşikten diğerine aktarılmasını kataliz eden enzimlerdir.

Hidrolazlar: Su katılması nedeniyle bağların parçalandığı hidroliz reaksiyonlarını kataliz eden enzimlerdir.

Liyazlar: Bir organik moleküldeki grupların hidrolitik veya oksidatif olmayarak ayrılmasını kataliz eden enzimlerdir.

İzomerazlar: Bir molekül içindeki değişiklikleri katalize eden enzimlerdir.

Ligazlar: Enerjice zengin bir bağın hidrolizi ile iki molekülün birbirine bağlanmasını katalize eden enzimler olmak üzere altı sınıfa ayırmıştır. Her sınıf alt sınıflara ve bunları da alt-alt sınıflara ayırmıştır [5].

2.4. ENZİMLERİN ÖZELLİKLERİ

- Biyolojik reaksiyonların aktivasyon enerjisini düşürürler.
- Enzim daima bir çeşit reaksiyonu gerçekleştirir.
- Enzimler aynı tür reaksiyonu bozulmadan tekrar tekrar yapabilirler.
- Enzimler gerçekleşecek reaksiyonun çabuk dengeye ulaşmasını sağlar.
- Enzimler cansız ortamda da görev yaparlar.

- Enzimler reaksiyonlarını daima etki ettiği maddenin dış yüzeyinden başlatırlar [1].

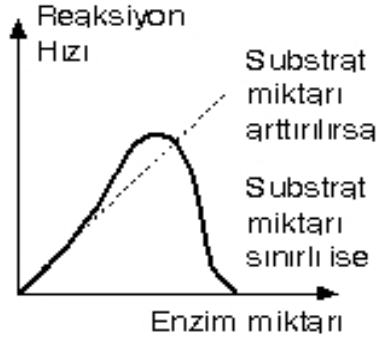
2.5. ENZİMLERE ETKİ EDEN ETKENLER

Enzimlerin doku ve hücrelerdeki konsantrasyonları son derece az olduğundan, miktarlarını ölçmek çok güçtür. Bu nedenle bu proteinin miktarından ziyade biyolojik sistemde gösterdiği aktivite miktarı ölçülür. Bir ünite enzim, standart koşullarda 1 μ mol substratı ürüne çeviren enzim miktarı olarak kabul edilmektedir. Enzim deneylerinde spesifik aktivite terimide kullanılır. Spesifik aktivite 1 miligram enzim proteininin aktivitesidir.

Enzim reaksiyon hızı üzerine enzim ve substrat konsantrasyonlarının, temperaturün, ortam pH'sının, zamanın, reaksiyon ürünlerinin, hormonların, ışık vb. fiziksel faktörlerin etkisi vardır [11].

2.5.1. Enzim Konsantrasyonu

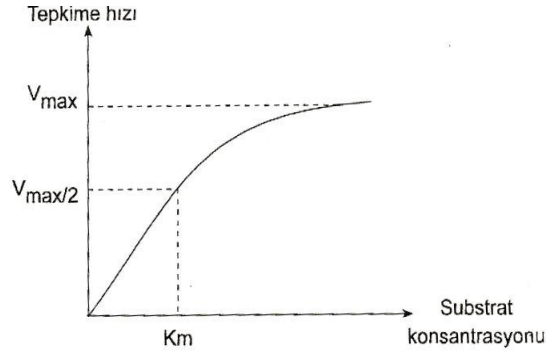
Substratın çok bol olduğu bir ortamda optimal şartlarda enzimatik bir reaksiyonun ölçülen ilk hızı (V_0), enzim konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Belirli bir süre sonra ortamda enzimin reaksiyona girebileceği substrat sınırlı olduğundan hız giderek azalmaya başlar [11] (Şekil 2.5.1.1.).



Şekil 2.5.1.1. Enzim miktarının reaksiyon hızına etkisi [11]

2.5.2. Substrat Konsantrasyonu

Ortamda reaksiyon hızını artırıcı yapılardan biri de enzim ve substrat miktarıdır. Enzim aktivitesi, hücre içinde bulunan ve enzim ile etkileşen substrat miktarı ile önemli derecede etkilenir. Enzimatik reaksiyon arasındaki eğri genellikle hiperboliktir ve düşük substrat konsantrasyonunda enzimatik reaksiyon oldukça hızlı oluşur.



Şekil 2.5.2.1. Substrat miktarının reaksiyon hızına etkisi [11]

2.5.3. Sıcaklık

Enzimler, 0°C civarında genellikle yavaş katalitik işlem yaparlar. Bu sıcaklıkta moleküller oldukça yavaşlar. 10°C nin üstünde ise enzimatik reaksiyonun hızı artar.

Genel olarak sıcaklığın her 10°C artışında enzimatik hız iki katına çıkar ve bu etki optimum sıcaklığa varıncaya kadar artar. Enzim için substratını en fazla değişikliğe uğrattığı belirli bir maksimum sıcaklık vardır. Bu sıcaklığa "*optimum sıcaklık*" denir [1].

2.5.4. pH

Her reaksiyonun gerçekleşebilmesi ortamın pH'ını belirleyen belli oranda $[H^+]$ ve $[OH^-]$ iyonları konsantrasyonu olmasına bağlıdır [1]. Protein olduklarından dolayı enzimler pH'a çok duyarlı özelliklere sahiptir. Enzimlerin çoğu 5-9 arasındaki dar bir pH aralığında aktiftir. Her enzimin maksimum aktivite gösterdiği bir pH alanı vardır ve buna "*optimum pH*" denir.

2.5.5. Zaman

Bir enzim tarafından katalizlenen bir reaksiyonun hızı, zamanla azalır. Bunun sebebi, reaksiyon ürünlerinin kendi aralarında birleşerek aksi yönde bir reaksiyon meydana getirmeleri, enzimin zamanla inaktive olması, reaksiyonu önleyen maddelerin oluşması, substratın tükenmesidir [11].

2.5.6. Reaksiyon Ürünleri

Enzimatik reaksiyon devam ettikçe reaksiyon ürünleri enzimi inhibe ettikleri için enzim reaksiyonunun hızı azalır. Bu inhibisyonun sebebi, reaksiyon ürünlerinin molekül yapısı bakımından substratı andırmaları ve enzime substrattan daha fazla bağlanmalarıdır [5].

2.5.7. Işık ve Diğer Fiziksel Etkenler

Enzimlerin etkisi ışıkla artırılabilir veya azaltılabilir. Enzim çözeltilerin kuvvetli çalkalanması da enzimi denatüre etmektedir [5].

2.5.8. Hormonlar ve Diğer Biyokimyasal Maddeler

Hormonların gerçek etki yeri hücre ve hücredeki metabolizmadır. Bu etkiyi siklik AMP ve siklik GMP vasıtası ile enzimleri aktive etmek veya engellemek sureti ile ve birçok hormonlar özellikle steroid hormonlar hedef organdaki belirli enzimleri veya diğer proteinleri indüklemek sureti ile etkilerini gösterirler.

2.6. ENZİM İNHİBİSYONU

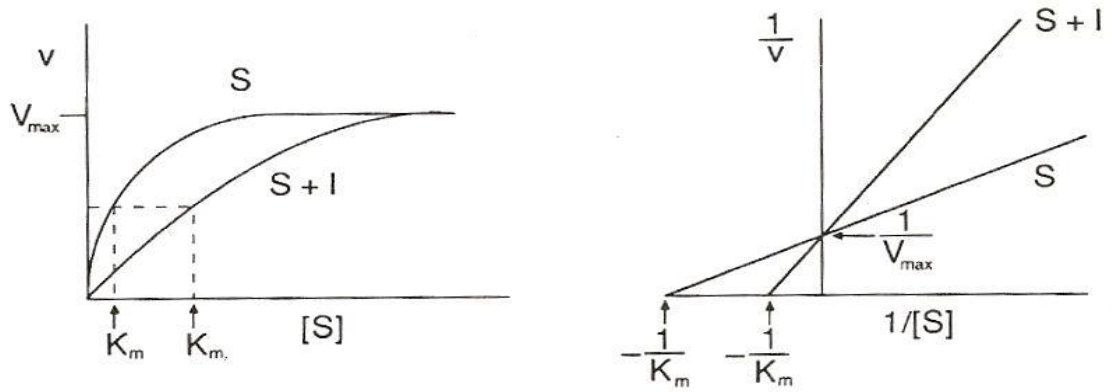
Substratlar dışında çok sayıda madde, enzime substratın bağlanmasını etkileyecek bir yolla bağlanarak enzimin aktivitesinin değişmesine neden olur. Bu bağlanmanın sonucu olarak enzim aktivitesi oldukça yavaşlar, bu türden maddelere inhibitör (önleyici, engelleyici) denir. Enzim aktivitesinin inhibitörlerin etkisi ile azalmasına da inhibisyon (veya engelleme) adı verilir. Enzimlerin inhibisyonu dönüşümsüz (tersinmez) ve dönüşümlü (tersinir) olmak üzere iki şekilde gerçekleşir. Bu etkiyi yapan inhibitörlerde tersinir ve tersinmez inhibitör olarak adlandırılır. Bu etkileşimler sonucu enzim aktivitesi ya kalıcı ya da geçici olarak engellenmiş olur.

2.6.1. Reversibl İnhibisyon (Geri Dönüşümlü)

Dönüşümlü inhibitörler, enzime kovalent olmayan etkileşimler ile bağlanır ve enzim molekülünden uzaklaştırılabilir. Dönüşümlü inhibisyon, enzim aktivitesine etkileri ve reaksiyon kinetiği bakımından farklılıklar gösterir ve esasen üç farklı şekilde gerçekleşebilir.

2.6.1.1. Yarışmalı İnhibisyon

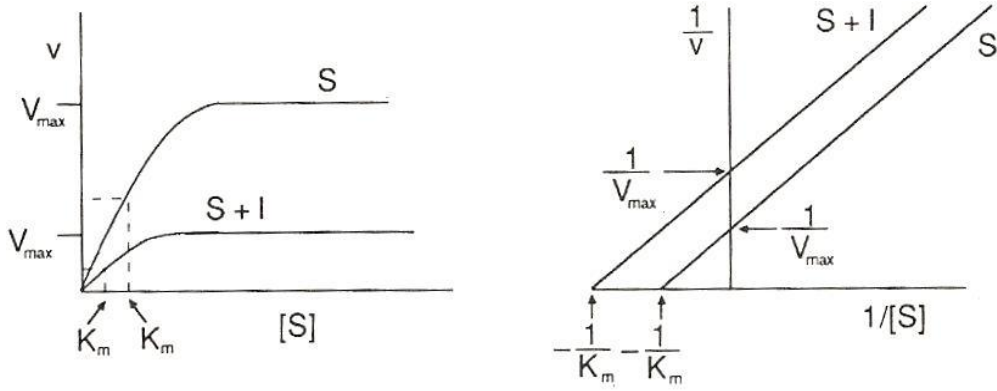
Yarışmalı inhibisyonda, inhibitör enzimin aktif bölgesine bağlanmak için substrat ile yarışır. Enzimin substratına çok benzeyen bu bileşikler, aktif bölgeye kolayca bağlanmakta, ancak ürüne dönüşmemektedir. İnhibitör aktif bölgeyi işgal ettiği için substratın bağlanması engellenmiş olur. Yarışmalı inhibisyonda enzimin substratına olan ilgisini gösteren K_m değerinde artış olur. Yani maksimum hıza erişmek için gereken substrat konsantrasyonu artar. Yeni oluşan K_m enzimin gerçek K_m inden daha büyüktür. Yarışmalı inhibisyon V_{max} 'ı değiştirmez. Bu da ES kompleksinin yıkım hızını etkilemediğini gösterir. Sonuçta K_m artar V_{max} değişmez (Şekil.2.6.1.1.1.).



Şekil 2.6.1.1.1. Yarışmalı enzim inhibisyonu [12]

2.6.1.2. Sınırlı Yarışmalı (Ankompetitif) İnhibisyon

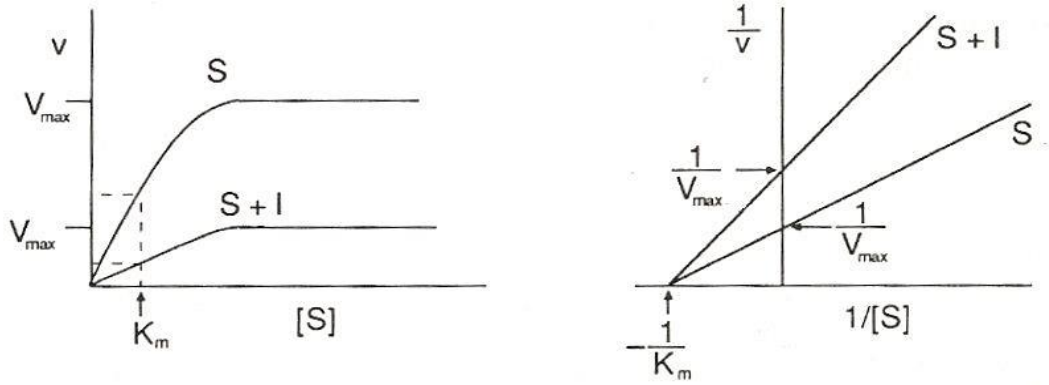
İnhibitörün sadece ES ile etkileştiği sınırlı yarışmalı inhibisyonda, inhibitör ya substratın bağlanması ile yapı değişimine uğrayan enzimde ortaya çıkan bir bölgeye bağlanır veya enzime bağlanmış substrata hiçbir zaman yarışmaz ve substrat konsantrasyonunun artırılması ile inhibisyon ortadan kalkmaz. Ankompetitif inhibisyonda V_{max} ve K_m değerleri değişir. V_{max} değeri azalırken K_m değeri küçülür (Şekil.2.6.1.2.1.).



Şekil 2.6.1.2.1. Sınırlı yarışmalı enzim inhibisyonu [12]

2.6.1.3. Yarışmasız İnhibisyon

Eğer bir inhibitör serbest enzime değil de, enzim substrat kompleksine bağlanarak bir inhibisyona neden oluyorsa bu tip inhibisyona "**yarışmasız inhibisyon**" denir.



Şekil 2.6.1.3.1. Yarışmasız enzim inhibisyonu [13]

Yarışmasız enzim inhibisyonunun substratın konsantrasyonu ile ilişkisi yoktur. Yarışmasız enzim inhibisyonunda hem substrat hem de inhibitör madde aynı zamanda enzime bağlanmaktadır. İnhibitörün enzimin aktif yeri dışında bir yere bağlanması ile o enzimin moleküllerinin substratla reaksiyona girme hızında bir azalma meydana gelmektedir. Halbuki yarışmalı inhibisyonda sadece reaksiyona giren enzim moleküllerinin sayısı azalmaktadır. Yarışmasız inhibisyonun en sık görülen şekli,

inhibitörün enzimin yapısında bulunan fonksiyonel gruplarla, bu grupların yapısını bozmadan reversibl bir şekilde birleşmesi halidir [13]. Km sabit kalırken Vmax değişir.

2.6.2. İrreversibl (Geri Dönüşümsüz) İnhibisyon

Bu tip inhibisyonlarda aktif bölgeye ya da aktif bölgeye yakın bir yere kovalent olarak sıkı bir şekilde bağlanan inhibitör, enzim yapısını bozduğu için geriye dönüşü olmamaktadır.

Geri dönüşümsüz inhibitörler, enzimin protein kısmı ile kovalent bağ meydana getirir. Bu bağlanma sonucunda oluşan inaktivasyon tersinmezdir. Bu tür bileşiklerden olan eflornitin, parazitik hastalık olan uyku hastalığının tedavisinde kullanılır [14]. Penisilin ve aspirin de benzer şekilde etkirler. Bu ilaçlar aktif merkeze bağlanınca enzim bunları etkinleşmiş bir şekle dönüştürür, bu da enzimin bir veya birkaç amino asit kalıntısı ile tersinmez olarak tepkir.

2.7. BİTKİLERDEN YARARLANILARAK YAPILAN TEDAVİLER VE TIP ALANINDA BİTKİLERDEN YARARLANILMASI

Hastalıkların önlenmesi ve tedavisindeki etkinlikleri açısından bugüne kadar çok sayıda bitkisel kaynaklı besin veya besin ögesi incelenmiştir. Bitkilerde bulunan karotenoidler, antioksidan vitaminler, fenolik bileşikler, steroidler birçok hastalığın önlenmesinde rol oynamaktadır.

Sağlık üzerinde olumlu etkileri olan bitkisel kaynaklı biyolojik olarak aktif bileşiklere fitokimyasallar denilmektedir. ‘Fito’ Yunanca’da bitki anlamına gelmektedir, ‘kimyasal’ ise bitkilerde doğal olarak oluşan kimyasal bileşikleri belirtmektedir. Fitokimyasalların kanser [15], koroner kalp hastalığı [16], inflamatuvar [17], ülser [17], viral ve parazitik hastalıkların tedavisine yönelik fito kimyasallar ile yapılan bilimsel araştırmaların sayısı hızla artmaktadır.

Fitokimyasallar sağlık alanında olumlu etkilerini aşağıda belirtilen yollarla sağlamaktadırlar:

- Biyokimyasal reaksiyonlarda substrat olarak,
 - Enzimatik reaksiyonlarda kofaktör olarak,
 - Bazı enzimatik reaksiyonların inhibitörü olarak,
 - Bağırsaklarda zararlı ve istenmeyen maddeleri bağlayıp uzaklaştıran absorban olarak,
 - Hücre membranı ve hücre içinde reseptörleri agonize ve antagonize eden ligandlar olarak,
 - Esansiyel besin öğelerinin absorpsiyon ve stabilitelerini arttırarak,
 - Zararlı mikroorganizmaları özgül olarak inhibe ederek,
- sağlamaktadırlar.

2.8. EİKOZANOİDLER (LİPİT TÜREVİ OTOKOİDLER)

Eikozanoidler 20 karbonlu (20C) doymamış yağ asitleri araşıdonik asitten (AA) türeyen biyolojik etkinlik gösteren otokoidlerdir. Araşıdonattan eikozanoid sentezi için üç yol vardır:

-Siklooksijenaz (COX) yolunda prostaglandinler (PG) ve tromboksanlar oluşur.

-Lipoksijenaz (LOX) yolunda lökotrienler, hidrosieikozatetraenoik asitler (HETE) ve lipoksinler oluşur.

-Sitokrom P₄₅₀ epoksijenaz yolunda epoksitler ve dioller oluşur [18].

Eikozanoidler, araşıdonattan sentezlenirler. Spesifik bir fosfolipaz, eikozanoid sentezi için, hormonal veya diğer uyarılara yanıt olarak membran fosfolipitlerinden araşıdonatı serbestleştirir [14].

COX ürünleri denildiği zaman bu enzimler öncelikle COX enzimleri, prostaglandin (PG) G ve H sentaz enzimleri ile oluşur.

AA'nin bu enzimlerle reaksiyonu sonucunda PG'ler, özellikle PGE₂, PGF₂, PGD₂, PGI₂ (prostasiklin) ve TxA₂ (tromboksan) sentezlenir. Bunlara genel olarak prostanoidler denilir [19].

AA'nin LOX enzimleriyle, yani 5-LOX, 12-LOX, 15-LOX enzimleriyle reaksiyonu sonucunda ise, lökotrienler (LT) oluşur. Yani LTA₄, LTB₄, LTC₄, LTD₄, LTE₄ ve aynı zamanda da hidroperoksi türevleri (HPETE) sentezlenir.

2.8.1. Temel Özellikleri

- PG'ler, vücuttaki tüm hücrelerde sentezlenen eikozanoidlerdir.
- PGI₂ ler (prostasiklin) genel olarak damar endotel hücrelerinde sentezlenip salınan eikozanoidlerdir.
- TxA₂'ler trombositlerde sentezlenip salınan eikozanoidlerdir.
- Lökotrienler ise özellikle lökosit ve mast hücreleri gibi alerjik reaksiyonlarda rol oynayan hücrelerde sentezlenip salınan otokoidlerdir [20].

2.8.2. Ortak Temel Özellikleri

COX ürünleri, LOX ürünleri, Cyt P₄₅₀-MO ürünleri olsun; bu eikozanoidlerin ortak genel özellikleri aşağıdaki gibidir.

- AA veya benzeri doymamış yağ asitlerinden sentezlenirler.
- Otokoit olduklarına göre salınır ve etki gösterirler.
- Güçlü ve kısa etki süreli dirler.
- Hücrelerde depo edilmezler.
- Hücrenin bazal fonksiyonuna genel bir katkıları yoktur.

2.8.3. Eikozanoidlerin Metabolizması

Enflamatuvar etken, ateş gibi durumlarda vücudumuzdaki fosfolipaz-A₂ (FL-A₂) ve diğer açıl hidrolaz enzimleri aktive olurlar. Membran fosfolipitleri, bu FL-A₂ enzimi ile birlikte hidroliz olurlar. Bunun sonucunda 20C'lu bir doymamış yağ asidi olan

araşidonik asit oluşur. Serbest kalan araşidonik asitte 3 tip enzim tarafından, “COX, LOX, Cyt P₄₅₀-MO” değişikliğe uğratılmaktadır.

2 COX üzerinden PG’ler (prostasiklin de dahil) ve TxA₂ oluşur. LOX üzerinden lökotrienler (LT) oluşur. Cyt P₄₅₀-MO üzerinden de epoksitler, yani izoprostonlar oluşur.

Lökotrien yolağına baktığımızda, 5-LOX, 12-LOX ve 15-LOX vardır. Bunların sonucunda da 5-LOX yolağından LTA₄, LTB₄, LTC₄, LTD₄, LTE₄ oluşur. Araşidonik asit maddesinin dönüşüm yolağında yalnız PG ürünleri yok, LT ürünleri de vardır. Bu dönüşüm lökositlerde ve mast hücrelerinde çok yoğun bir şekilde sentezi gerçekleşir.

Prostaglandinler, birçok önemli biyolojik cevabın oluşumunda etkilidirler. Bu cevapların düzenlemeleri arasında; ağrı, ateş ve inflamatuvar tepkilere bağlı semptomları indükleyebilme yeteneklerinin de olduğu söylenebilir [13, 21].

2.9. LÖKOTRIENLER

Alerjik inflamasyonun oluşumunda çok çeşitli araçların etkisi vardır, bunlar arasında güçlü biyolojik etkileri nedeniyle lökotrienler önemli rol oynarlar. Lökotrienlerin fizyolojik etkilerinin anlaşılması yıllar öncesine dayanmasına karşın tam olarak tanımlanmaları uzun bir sürecin sonunda 20 yıl kadar önce gerçekleşmiştir [22].

Sisteinil lökotrienlerin (LTC₄, LTD₄, LTE₄) kombinasyonu, araşidonik asit metabolizması ürünlerindedir. Bunlar, histaminin aksine yavaş başlayan ve uzun süreli düz kas kasılmasına neden olan “anafilaksi’nin yavaş etkiyen maddesi” (slow-reacting substance of anaphylaxis, SRS-A) olarak adlandırılmışlardır. Lökotrienlerin 1979 yılında tanımlanmalarından sonra astım patojenezindeki rolleri araştırılmaya başlanmıştır [23].

Bugün artık lökotrienlerin enflamasyonun oluşumunda önemli rol oynayan ve biyolojik etkileri ile astım patojenezinde önemli etkileri olan araçlar olduklarına dair bir şüphe yoktur [22, 23].

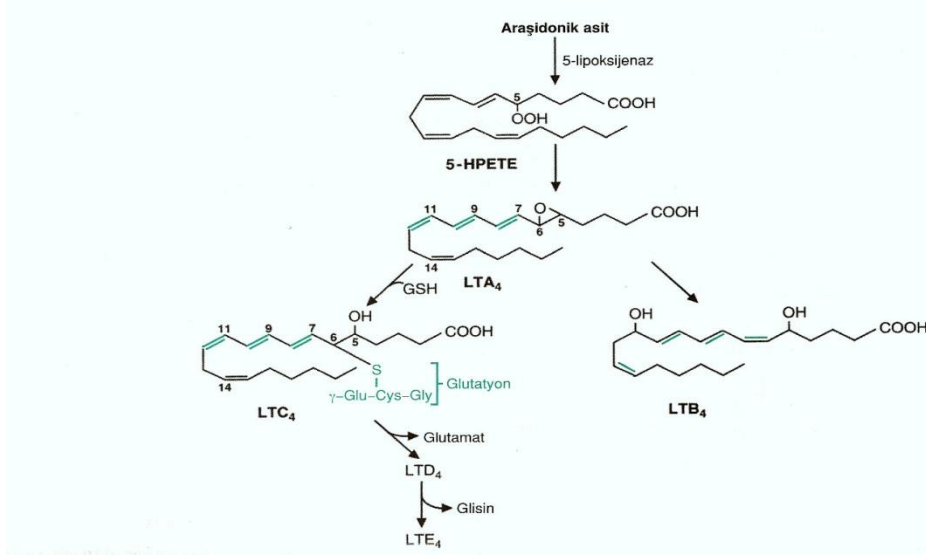
2.9.1. Lökotrienlerin Sentezi

Lökotrienlerin öncül molekülü fosfolipit yapısındaki araşidonik asittir. Araşidonik asit reseptör aktivasyonu, antijen-antikor etkileşimi, mikroorganizmalar ve fiziksel etkiler gibi çeşitli biyolojik sinyallere yanıt olarak FLA₂ lar tarafından fosfolipit tabakadan serbestleştirilir.

Serbestleşen araşidonik asitten iki farklı metabolik yol ve enzimatik aktivite ile genel anlamda eikozanoidler olarak bilinen farklı farmakolojik etkileri bulunan aktif moleküller oluşur.

Eikozanoidler arasında bulunan ve prostanooidler olarak tanımlanan prostaglandinler (PG) ve tromboksan A₂ (TxA₂) sentezi siklooksijenaz (COX) yolu ile oluşurken, lökotrienler, 5-lipoksijenaz (5-LOX) enziminin başlattığı metabolik süreç ile sentezlenir. Lökotrienlerin sentezi sırasında öncelikle 5-LOX'ın Ca²⁺ ve ATP'ye bağımlı süreç ile sitosolden hücre membranına translokasyonu ile bir nükleer membran proteini olan FLAP (5-LOX aktive edici protein) varlığında, aktivasyonu söz konusudur.

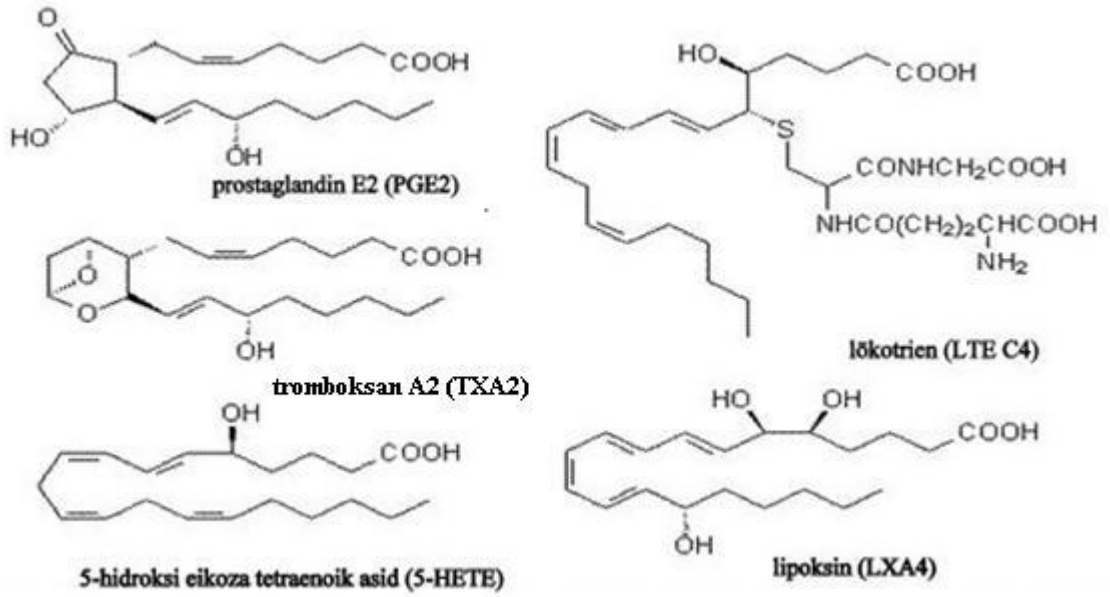
Aktif 5-LOX hücre membranında iki ayrı katalitik aktivite ile araşidonik asitten önce çok kısa yarılanma süresine sahip stabil olmayan bir ara molekül olan 5-HPETE (5-hidroperoksieikozatetraenoik asit) oluşumu ve daha sonra 5-HPETE'nin epoksi lökotrien A₄'e dönüşümünde rol oynar (Şekil 2.9.1.1.).



Şekil 2.9.1.1. Araşidonik asitten eikozanoit sentezi [25]

Lökotrien A₄ bütün lökotrienlerin olan LTC₄ sentetaz aktivitesi altında glutatyon ile konjuge olarak peptidolökotrien LTC₄'e metabolize olur. Oluşan LTC₄ ekstraselüler ortama taşınarak burada γ -glutamil transpeptidaz tarafından sisteinil glisinil türevi LTD₄'e dönüştürülür. LTD₄'ten sentezinde ortak ara basamak olup LTA₄ hidrolaz aracılığı ile LTB₄'e ya da glutatyon-S-transferaz sınıfı bir enzim ise dipeptidaz aktivitesi ile sisteinil türevi olan LTE₄ oluşur. LTC₄ ile birlikte metabolitleri olan LTD₄ ve LTE₄ topluca “sisteinil lökotrienler” ya da “peptidolökotrienler” olarak tanımlanırlar [22, 24, 25].

Lökotrienlerin öncelikle mast hücreleri, bazofiller, eozinofiller ve makrofajlar gibi astım patojenezinde rolleri olan birçok inflamatuvar hücre tarafından sentezlenebildiği bilinmektedir. Ayrıca nötrofiller, trombositler, lenfositler, endotel hücreleri ve eritrositlerin de lökotrienleri sentezleyebildiği gösterilmiştir [26].



Şekil 2.9.1.2. Araşidonik asit metabolitleri [27]

2.9.2. Lökotrienlerin Yıkımı ve Atılımı

LTB_4 ω -oksidasyona uğrayarak 20-OH ve 20-COOH metabolitlerine dönüşerek inaktif olur. Sisteinil lökotrienler ise başlıca üç yolla yıkıma uğrar.

Birincisi LTE_4 'ün ω -hidroksilasyonu ve karboksilasyonudur. Bu süreç sonunda 20-karboksi- LTE_4 , 18-karboksidonör- LTE_4 , 16-karboksitetranör- LTE_3 ile insanda intravenöz LTE_4 uygulaması sonrasında idrarda saptanan başlıca metabolitler olan 16-karboksi- Δ^{13} -tetranör- LTE_3 ve 14-karboksihekzanör- LTE_4 oluşur.

İkinci yol N-asetil- LTE_4 oluşumu olup bu metabolitte ω -hidroksilasyon ve karboksilasyona uğrar.

Sonuncu yıkım yolu hipoklorik asit üretebilen aktive polimorf nüveli lökositlerin varlığında miyelo peroksidasyon olup inflamatuvar ortamda gerçekleşir.

2.9.3. Lökotrienlerin Biyolojik Etkileri

Lökotrienler lokal ya da sistemik etkileri ile genel olarak inflamatuvar yanıtta rol oynayan ve bazı kronik inflamatuvar hastalıkların gelişiminden sorumlu araçlardır. Sisteinil lökotrienlerin astım patojenezinde önemli yeri bulunurken LTB_4 'ün ise diğer inflamatuvar süreçlerde etkili olduğu ileri sürülmüştür [24].

LTC_4 ve LTD_4 , düz kas kasılmasına neden olurlar ve akciğer bronşlarını daraltmada histaminin 1000 katı etki gösterirler. Aynı zamanda küçük kan damarlarından sıvı sızmasını artırır ve koroner arterleri daraltırlar.

2.9.4. Antilökotrienler

Astım tedavisinin hedefleri arasında semptomları kontrol altına almak, atakları ve bununla ilişkili olarak acil servis başvuruları ile hastane yatışlarını önlemek, solunum fonksiyonlarını düzeltmek, hastanın kısıtlama olmaksızın günlük aktivitelerini sürdürebilmesini sağlamak ve bunların yanı sıra tedavide kullanılacak ilaçların iyi tolere edilebilmesi sayılmaktadır. Bu hedefleri sağlamaya yönelik olarak astım tedavisinde kullanılan farmakolojik ajanlar ise “kontrol edici” ve “semptom giderici” olarak tanımlanan iki gruba ayrılmaktadır [28, 29].

Lökotrienlerin astım patojenezinde rol oynayan önemli ve güçlü araçlar olduğu bilinmektedir. Astımdaki hava yolu enflamasyonuna bağlı akut ve kronik değişikliklerin birçoğunun gelişimine lökotrienlerin katkısı konusunda kuşku yoktur [22, 26, 30, 31]. Bu nedenle astım tedavisinde lökotrien aktivitesinin selektif olarak engellenmesi üzerinde durulmuş ve buna yönelik ilaçların geliştirilmesi hedeflenmiştir.

Antilökotrien ilaçların kronik astımın kontrolünde gerek diğer ilaçlarla kombine olarak gerekse tek başına kullanıldığında etkili olduğu değişik yöntemlerle yürütülen çalışmalar sonucu anlaşılmıştır.

Lökotrien reseptör antagonistlerinin bronkodilatatör etkileri çok sayıda çalışmada gösterilmiştir [32, 33]. Bronkodilatatör etki muhtemelen sisteinil lökotrienlerin düz kas spazmı gibi bilinen etkilerinin reseptör düzeyinde inhibe edilmesinin sonucudur.

2.9.5. Lökotrienler ve İmmunolojik Yanıt

Bakteriyel, viral, fungus enfeksiyonları sırasında lökotrien sentezinin arttığı hastalarda, hayvan deneylerinde ve *in vitro* olarak lökositlerde gösterilmiştir. Antimikrobiyal etkileri genellikle fagositler üzerinde çalışılsa da mast hücrelerinde ve eozinofillerde de lökotrien biyosentezinde enfeksiyonlar sırasında artış saptanmıştır [34].

Mikroorganizmaların lökotrien sentezini uyarma gücünün anlaşılabilmesi için mikroorganizma ile lökosit arasındaki ilişkiyi sağlayan yapıların iyi analiz edilmesi gerekir. Mikroorganizmalar lökositlerle opsoninler ya da mikroorganizmanın kendisine ait moleküller için olan hücre yüzey reseptörleri aracılığı ile ilişki kurarlar.

Mikroorganizmaya ait moleküllerin reseptörler aracılığı ile fagositin içine alınması antimikrobiyal savunmaya yardımcı olmak üzere tümör nekrozis faktor α (TNF- α) ve nitrik oksit (NO) gibi proinflamatuvar aracılardan salınmasını sağlar.

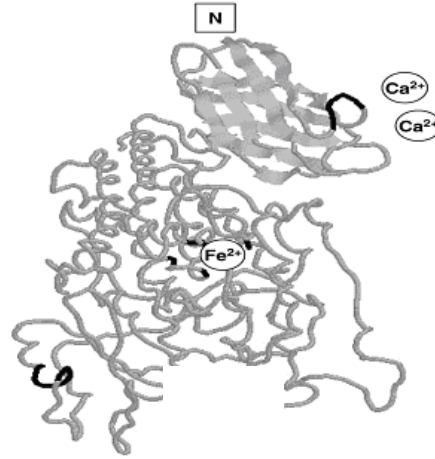
Örneğin, mantar hücre duvarının bir karbohidratı olan zymosan, hücre içi kalsiyum miktarının artmasını tetikler, araşidonik asidin serbestleşmesini ve lökotrien sentezini başlatır [35]. Gram negatif bakterilere ait lipopolisakkaritler hücre içi kalsiyum miktarını artırıcı özellikleri olmadığı için doğrudan lökotrien sentezini etkileyemez. Ancak lökotrien sentezine yol açan bir stimulus varlığında lipopolisakkaritlerle temas lökotrien sentezini artırır [36].

Önemli bir nokta şudur ki lökotrien sentezi hücrelere özgüllük gösterir. Yani cysLT' ler mast hücreleri ve eozinofiller tarafından sentezlenirken, nötrofil ve dentritik hücreler LTB₄ sentezlerler. Makrofajlar ise her iki sınıftan da dengeli olarak üretirler [37].

2.10. LİPOKSİJENAZ

Lipoksijenazlar (EC 1.13.11.12) iki veya daha fazla doymamış bağ içeren yağ asitlerine oksijen katarak onları yağ asidi hidroperoksitlerine dönüştüren hem yapısında olmayan demir içeren dioksijenazlardır [38].

Bu enzimler, moleküler oksijenin bir veya daha fazla [21, 38] pentadien kalıntısı içeren poli doymamış yağ asitlerine ve böylece hidro peroksitlere dönüşümlerini katalizlerler.



Şekil 2.10.1. LOX'ın sistematik yapısı [39]

LOX'lar ilk kez 1928 yılında Bohn ve Haas tarafından karotenlerin oksidatif yıkımını gerçekleştirdiklerinden dolayı 'karoten oksidaz' olarak tanımlanmıştır. Bundan 4 yıl sonra Andre ve Hou soya fasulyesinde bazı doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunu katalizleyen ve lipoksidaz (linoleat oksijen oksidoredüktaz (EC.1.13.11.12) diye adlandırdıkları enzimin varlığını rapor etmişlerdir. Ancak daha sonra Sumner ve arkadaşları her iki enzimin aynı enzim olduklarını bildirmişlerdir. 1947 yılında Theorell ve arkadaşları enzimi kristal formda elde ederek karakterizasyonunu belirlemişlerdir.

LOX ilk kristalize enzimlerden biridir. Literatürde kofaktörü ve prostetik grup içermediği belirtilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalar bitkisel kaynaklı LOX üzerine cis,cis-1,4-pentadien sistemine sahip yağ asitlerine moleküler oksijen katarak onları doymamış yağ asidi hidroperoksi türevlerine dönüştüren ve hem yapısına sahip olmayıp aktif merkezinde demir bulunduran dioksijenazlar olduğu ortaya çıkmıştır [40].

2.10.1. Biyokimyasal ve Moleküler Özellikleri

LOX'lar, bitkilerde ve hayvanlarda yaygın bir biçimde bulunan ve hem'e ait olmayan demiri içeren dioksijenazları da içine alan bir sınıfı oluşturmaktadırlar [41].

LOX'lar memeli hücrelerinde; hidroksieikozatetraenoik asit, lökotrien, lipoksin ve hepoksilinler [42] gibi biyoregülatör bileşiklerin biyosentezinde yer alan anahtar enzimlerdir. Bu LOX ürünlerinin; bronşiyal astım, inflamasyon [43] ve tümör anjiyojenezleri [44] gibi durumlarda önemli rol oynadığı belirtilmiştir. Bundan dolayı LOX'lar ilaç tasarımlarında potansiyel hedef olmakla beraber bronşiyal astım, inflamasyon, kanser ve otoimmün hastalıklarda tedavi esnasında inhibitör mekanizmasıyla da önem kazanmaktadır.

LOX aktivitesi, genel olarak enzimin katalizlediği reaksiyon sonucu oluşan konjuge çift bağların 234 nm'de verdiği absorpsiyon veya oksijen elektrodu kullanılarak ölçülür. Çok sayıda doymamış yağ asidi taşıyan moleküller substrat olarak kullanılmasına rağmen, linoleik asit deneysel çalışmalarda en fazla kullanılan moleküldür.

LOX'ın özellikle çok çeşitli bitki tohumlarında var olduğu bilinmektedir; bezelyeleri kapsayan çeşitli tohumlarda, fasulyelerde, yer fıstığında, turpta ve patatesten bulunmaktadır.

Enzimlerin, bazı yağlı tohumlar, tahıl taneleri ve bitki tohumlarında meydana geldiği bilinmektedir [40].

2.10.2. Reaksiyon Mekanizması

Genel olarak LOX katalizli reaksiyonlar birbirini izleyen üç basamakta gerçekleşir. Reaksiyon stereo ve konuma spesifiktir.

Tüm LOX'ların katalizlediği genel reaksiyon cis,cis-1,4 pentadien sistemine moleküler oksijeni eklemektir. Teorik olarak oksijen pentadien sisteminin sonuna eklenir. Oluşan hidroperoksi ürünü cis, trans konjuge çift bağı içerir. Linoleik asit substrat olarak kullanılırsa oluşacak iki olası ürün 9- ve 13- hidroperoksi cis,transoktadekadienoik asittir.

2.10.2.1. Hidrojen Alınımı

İlk basamak pentadienil radikali oluşturmak üzere bis alilik metilenden hidrojen alınımıdır. Doğal olarak bulunan çoğu poli doymamış yağ asitleri bis alilik metilen içeriğinden hidrojen alınımı için iki durum vardır. LOX'lar çok zincirli doymamış yağ asitlerinden hidrojeni uzaklaştırmak için bis alilik metilenden birini seçer ve seçim sonucu ya pro-S ya da pro-R hidrojeni seçilir.

2.10.2.2. Radikalin Tekrar Düzenlenmesi

İkinci adımda pentadienil radikali tekrar düzenlenir. Tüm reaksiyonun pozisyonel spesifikliğı hidrojen uzaklaştırmanın bölgesel spesifikliğine ve radikal düzenlenmesinin yönüne bağlıdır.

2.10.2.3. Moleküler Oksijenin Eklenmesi ve Hidroperoksi Türevinin Oluşturulması

Teorik olarak oksijen pentadien sisteminin sonuna eklenir. Bu durum LOX spesifikliğine bağlı olarak S veya R konfigürasyonuna sahip yeni kiral merkez

oluşturur. İncelenen tüm LOX'lar için hidrojen alınımı ve oksijen eklenmesi çift bağ düzleminin karşı yüzeyinde oluşur [35].

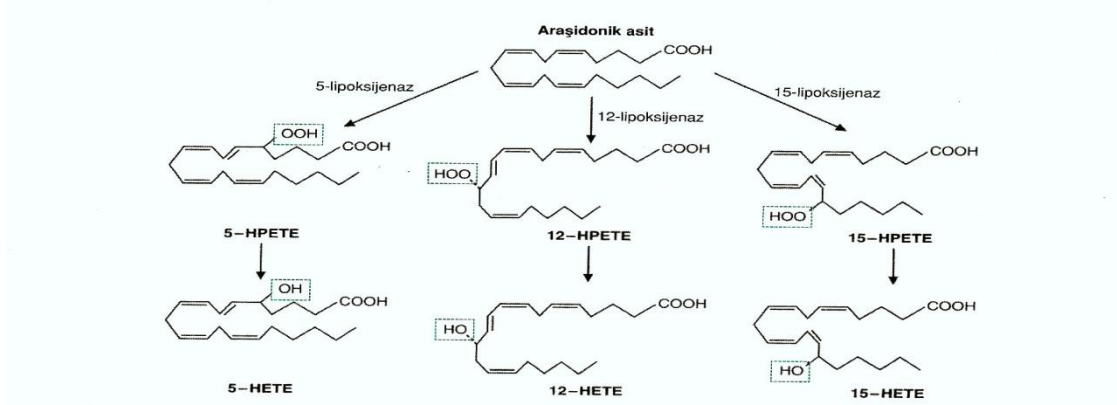
2.10.3 Lipoksijenazın Kullanım Alanları

Araşidonik asit, 5-LOX yoluyla lökotrienlere dönüştürülebilir. Bundan dolayı, COX-2/5-LOX' u inhibe edebilecek dual inhibitörlerin geliştirilmesi ve degranilasyon (2 IgE molekülü bir antijen molekülü ile köprü yaptığında meydana gelir) reaksiyonları; bunların NSAID'ler ile bağlantılı yan etkilerin azaltılmasına ve tekil antiinflamatuvar etkilerinin ilerletilmesine olanak sağlayabilir [45].

LOX gıda sektöründe ekmek yapımında oldukça yaygın kullanılır. Bu yaygın kullanım iki sebepten dolayıdır: Birincisi; LOX karotinoitleri oksitleyerek ekmek içinin daha beyaz olmasını sağladığı için tercih edilen bir beyazlatıcıdır. İkincisi; hamuru iyileştirici yönde etki edip, hamurun yoğrulma toleransını artırır.

2.10.4. Lipoksijenaz Ürünleri

Araşidonik asidin ve benzeri çoklu-doymamış yağ asidlerinin LOX enzimleri (5-12- ve 15- LOX'lar) tarafından metabolize edilmesi sonucu meydana gelen ürünlerdir. LOX'lar tarafından bu ürünlerin meydana getirilmesi esas olarak trombositlerde ve lökositlerde incelenmiştir. Trombositlerde sadece 12-LOX bulunur. Lökositlerde 5-LOX araşidonik asidi 5-HPETE'ye çevirir. 5-LOX mast hücrelerinde de bulunur [36] (Şekil 2.10.4.1).



Şekil 2.10.4.1. LOX'ın etkisiyle araşidonik asitten sentezlenen ürünler [27]

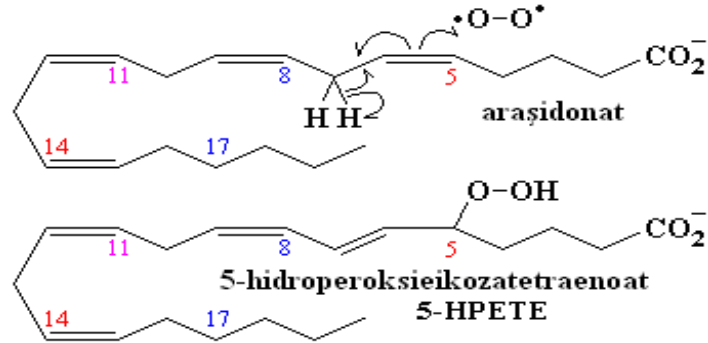
LOX'lar çözünebilir enzimlerdir. Ancak 5-LOX, aktive olunca bir zara tutunur.

5-LOX, nötrofillerde;

12-LOX, trombositlerde;

15-LOX, eozinofillerde bulunur.

LOX'lar, bir karbona bir tek oksijen molekülünün eklenmesini katalizleyerek bir çift bağ oluşturur ve bir hidroperoksi grup yaratırlar.



Şekil 2.10.4.2. LOX ürünlerinin etki yeri [46]

LOX'ların etkisiyle araşidonik asitten sentezlenen hidroperoksieikozatetraenoik asitler (HPETE), çok kısa ömürlüdürler [36].

5-LOaz sitosolik bir enzimdir. Aktif duruma gelebilmesi için Ca^{2+} iyonu gereklidir ve bu iyonun etkisi altında, 5-LOX, perinükleer membranda bulunan bir integral protein olan 5-lipoksijenaz aktive edici protein (FLAP, 5 LAP) ile birleşerek etkinlik kazanır.

Lipoksijenazların prekürsör yağ asidlerinden birinci aşamada oluşturdukları hidroperoksi türevi ara ürünleri (HPETE'ler)'den hidroksi türevi ara ürünler (HETE'ler) ve onlardan da lökotrienler meydana gelir.

LOX'lar, (Z-Z)-1,4-dien kalıntılarını içeren çoklu doymamış yağ asitlerinin ve stereospesifik oksijenasyonunu katalizlerler. Bitkilerde, ana substrat (C18:2) linoleik asit ve (C18:3) linolenik asittir; LOX ürünleri olan 9S ve 13S yağ asidi serbest radikal doğalarından ötürü, yağ asidi hidroperoksidleri kendi başlarına son derece aktif olabilmekte ve membran hasarı üretilip hücre ölümlerini hızlandırma gibi olayları meydana getirebilmektedirler [47].

LOX'lar, plazma LDL oksidasyonunu artırdıkları için aterosklerozun erken evreleri ile ilişkilendirilmişlerdir [47, 49]. Bundan dolayı da LOX inhibitörlerinin üretimi gereklidir [50].

2.11. LÖKOTRIENLER İLE İLGİLİ PATOLOJİK DURUMLAR

Bazı patolojik durumlarda lökotrienlerin sentez ve salınımlarının artmış olması, bu bozukluklarda LT lerin etkilerinin olduğunu düşündürür. Bu patolojik durumlar;

- ✓ Astım, kronik bronşit
- ✓ Kistik fibrozis
- ✓ Psöriazis (Sedef hastalığı)
- ✓ Ülseratif kolit (Kolitit ülserosa)
- ✓ İnflamatuvar barsak hastalıkları
- ✓ Romatoid artrit ve gut
- ✓ Miyokard iskemisi
- ✓ Anafilaksi

2.11.1. Astım

Astım mast hücreleri, eozinofiller, T lenfositler, makrofajlar, nötrofiller ve epitel hücreleri gibi birçok hücrenin ve hücresele elementlerin rol oynadığı, bronşlarının kronik inflamatuvar bozukluğu olarak tanımlanmaktadır. Astımda bronkospazmın kontrolü önemli bir amaç olmakla birlikte, astım tedavisinin en önemli hedefi bronşların inflamasyonunu azaltmaktır.

1860 yılında H. H. Salter ile başlayan astım tedavisi öyküsünde ilk bronkodilatör ilaç, bir antikolinergik prekürsörü olan stramonyumdur. Bu madde, Kuzey Hindistan'dan Avrupa'ya getirilmiş, astım sigarası olarak kullanılmış ve son yüzyılda astım tedavisinin odak noktası olan topikal uygulamaların başlangıcı olmuştur. 1930-1956 yıllarında adrenalin ya da izoprenalin gibi bronkodilatör ilaçlar sıvı sprey şeklinde kullanılmıştır. Basıncı preparatlar ilk kez 1956'da geliştirilmiş ve 1960'lı yıllarda astım ölümleri ile β -agonist aşırı dozları arasında bağlantı kurulana dek yaygın olarak kullanılmıştır. 1950'lere kadar astım tedavisinde hedef sadece bronşları genişletmeye yönelikken, "disease-modifying agents" denen hastalık değiştirici ilaçlarla astıma yaklaşım değişmiştir. Oral kortikosteroidler astımda kullanılmaya başlanmıştır.

Lökotrienlerin keşfi 1930'lara uzanır; Kellaway ve Feldberg kobra zehiriyle temastan sonra akciğerlerden salınan ve gastrointestinal sistemle hava yolu düz kasında uzun süreli, yavaş etkili bir kontraksiyona neden olan bu maddeye "slow reacting substance" (SRS) adını vermişlerdir.

1958'de Brocklehurst daha ayrıntılı olarak incelediği bu maddenin anafilaktik bir etkileşim sonucu salındığını bulmuş ve SRS'ye anafilaksinin A'sını eklemiştir. Kendisi de bir astımlı olan Altounyan, 1956'da, SRS-A antagonisti olarak GR4 adını verdiği bir molekül sentezlemiştir. GR4 bugün SRS-A antagonistleri olarak geliştirilmeye çalışılan asetofenon türevlerinin prekürsürüdür [51].

Astım patojenezini etkilemeye yönelik antiinflamatuvar ilaçlar olsa da, hastalığın tedavisi mümkün değildir [52]. Son 15-20 yıldır astım tedavisi artık inflamasyonun tedavisine

ve önlenmesine yönelmiştir. Kontrol edici ilaçlar olarak belirlenen bu sınıfta da, kortikosteroidler en önemli seçenektir. Bu ilaçlar inflamasyon patojenezinin pek çok evresine etkilidir. Bazı koşullarda steroidlerin LT ve PG sentezini artırdıkları görülmüştür. Patojenizde bazı bölümlerin kortikosteroidlerden çok az etkilendikleri bildirilmektedir [53].

Lökotrienler astımda kilit hücre konumunda olan pek çok hücrede sentezlenip ortama getirilmektedir; sentezleyen hücreler ya mast hücreleri ve makrofajlar gibi akciğerin yapısal hücreleridir ya da eozinofiller gibi ortama kemotaktik infiltrat olarak gelirler. Düz kas ve mikrovasküler ortam gibi hava yolu yapılarına çok yakın lokalize oldukları için de, bu hücreler tarafından sentezlenen lökotrienlerin astımdaki pek çok patofizyolojik olayı yönetmeleri mümkündür. Cyst LT'ler histamin gibi bu hücrelerde önceden sentezlenip depolanmış değildir, spesifik uyaranlarla aktiflenebilecek lökotrien sentez mekanizmasına sahiptirler, bu uyaranlar da IgE, IgG, endotoksin ve sitokin, kemokin gibi fagositik uyaranlardır [54-57].

Araşidonik asit metabolitlerinden olan sistenil lökotrienler (LTC_4 , D_4 , E_4) (CysLT) mast hücreleri ve eozinofiller gibi proinflamatuvar hücrelerden salınırlar, normal ve astımlı kişilerde metakolin veya histaminden 1000 kez daha potent bronkokonstriksiyona neden olurlar. Bu etkilere ek olarak astımda solunum yollarında mukoza ödemi, silier aktivitede azalma, mukus artışı, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, mikrovasküler permeabilite artışı, havayolu düz kas proliferasyonu gibi patofizyolojik olaylardan sorumludurlar [58,59]. Son yıllarda geliştirilmiş olan lökotrien reseptör antagonistleri de astım tedavisinde yerlerini almışlardır.

2.11.2. Kistik Fibrozis

Kistik Fibroz (*Cystic Fibrosis*, *CF*), kalıtsal bir genetik hastalıktır. İnsanlarda kistik fibroz doğuştan vardır; sonradan bu hastalığa yakalanamazlar. Bu hastalık, akciğerlerle sindirim sistemini kalın ve yapışkan bir mukoza salgısıyla tıkayarak etkiler. Bu durum, solunum ve sindirim güçlüklerine neden olur. Kistik fibroz tanısı, her zaman doğum sırasında konulamaz. Semptomlar genellikle yaşamın ilk bir iki yılı içinde ortaya çıkar.

Kistik fibrozlu kişilerin çoğunun günlük tedavi görmeleri gerekir. Bu tedavi, mukoza salgısının akciğerlerden temizlenmesine yardımcı olmak için fizyoterapi ve göğüs enfeksiyonlarıyla mücadele etmek için antibiyotik alımından oluşur. Alınan diğer ilaçlar, gıdaların sindirilmesine yardımcı olur. Yeni tedaviler, kistik fibrozlu kişilerin hem yaşam süresini hem de yaşam kalitesini geliştirmiştir. Günümüzde kistik fibrozluların yaklaşık yarısı en az 30 yaşına kadar yaşama şansına sahiptir. Bununla birlikte, kistik fibrozun henüz kesin bir tedavisi yoktur. Bu ciddi bir hastalıktır; günlük yaşamı büyük ölçüde etkiler ve yaşam beklentisini azaltır.

2.11.3. Psöriazis (Sedef Hastalığı)

Psöriazis çeşitli klinik biçimlerde ortaya çıkabilen, yineleyici, kronik bir deri hastalığıdır. Deri lezyonlarının çok tipik olması nedeniyle tanı koymak oldukça kolaydır. Lezyonlar klasik olarak eritroskuamozdur; bu hem vasküler yapıların (eritem) hem de epidermisin (skuam) etkilendiği gösterir. Morfolojik olarak çok değişik biçimlerde görülür. Psöriazis vulgaris en sık rastlanan tipidir. Psöriazis prevalansı farklı toplumlarda ve coğrafi bölgelerde değişiklik gösterir. Değişik çalışmalar psöriazis sıklığının %1-2 oranında olduğu göstermektedir. Çocuklarda rastlanma sıklığı %1.1 olarak bulunmuştur. Erkek ve kadınlarda eşit sıklıktadır. Tüm yaş gruplarında görülebilmeye karşın başlama yaşı genellikle üçüncü onyıdır. Erken başlangıç (<40 yaş) Tip I psöriazis adını alır ve daha şiddetli hastalığı belirtir. Tip I psöriazisde aile öyküsü varlığı olasılığı daha fazladır. Tip II psöriazisde (40 yaş<) hastalığın seyri ve prognozu daha iyidir. Hastalığın genetik geçişli olduğunu gösterir pek çok çalışma olmasına karşın bu geçişin nasıl olduğu kesin olarak bilinmemektedir. Psöriazis multifaktöriyal bir hastalıktır. Araştırmalara karşın günümüzde henüz nedeni bilinmeyen hastalıklar arasındaki yerini korumaktadır. Hastalık genetik yatkınlığı olan kişilerde çevresel faktörlerin etkisiyle ortaya çıkmaktadır. Psöriazisin oluşumundaki temel patoloji keratinositlerin hiperproliferasyonu ve inflamasyonudur. Normalde 26-28 gün olan epidermal yenilenme süreci kısalmıştır. İmmün sistem hücreleri olan T lenfositler ve keratinositler arasındaki etkileşim psöriazis patojenezinde rol oynamaktadır. Psöriatik lezyonlarda artan CD4T hücreleri, psöriatik lezyonların ortaya

çıkışında ve kalıcılığında rol oynayan sitokinler salarlar. Aktivite T lenfositlerden salınan bu sitokinler keratinosit proliferasyonuna ve endotel hücrelerinden adhezyon moleküllerinin salınımını stimüle eden sitokinlerin sentezine yol açar. Ayrıca keratinositler de değişik sitokinler salgılayarak psöriazis sürecinin sürmesinde rol oynarlar. Epidermisin zedelenmesine yol açan çeşitli mekanik, fiziksel ve kimyasal travmalar, psöriazisi tetikleyerek lezyonsuz deri bölgelerinde psöriatik lezyonların ortaya çıkmasına neden olurlar. Buna "Köbner Fenomeni" denilir. Akut streptokokal enfeksiyonlar, bazı ilaçlar (lityum, beta adrenejik blokörler), emosyonel stresler hastalığı başlatabilir ya da alevlendirebilir. Bunların yanısıra endokrin etkenler, hipokalsemi ve diyalizin, ayrıca hastaların az bir kısmında güneş ışınlarının lezyonlarda artışa yol açtığı bilinmektedir.

2.11.4. Ülseratif Kolit

Ülseratif kolit, bir kalın barsak (kolon) hastalığıdır. Kalın barsak, ince barsaktan sonraki barsak bölümüdür. İnce barsak alınan besinlerin sindirildiği ve emildiği barsak kısmıdır. İnce barsakta emilmeyen posalı gıda, kalın barsakta depolanır. İçindeki suyun büyük bir kısmı burada emilir. Böylece katılaştıran feçes kalın barsağın hareketleri ile barsağın son bölümü olan rektuma gelir ve anüsten (makat) dışarı atılır. Ülseratif kolit, kolonun iç yüzünü döşeyen tabakanın (mukoza) hastalığıdır. Mukoza iltihap ve kanayan yaralar (ülser) yapar. Hastaların hemen hepsinde barsağın son bölümü (rektum) hastadır. Hastalığın yaygınlığı hastadan hastaya değişir. Bazı hastalarda kalın barsağın daha büyük kısmı hastadır. Bazı hastalarda bütün kolon hastadır. Hastaların bir kısmında başlangıç döneminde kabızlık olabilirse de genellikle ishal vardır. Feçes kanlıdır. Kanla birlikte mukus denen parlak, kaygan barsak salgısı ve cerahat de feçes içinde görülür. Ülseratif kolit; kronik, süregen bir hastalıktır. Yıllarca devam eder. Tedavi ile hastanın şikayetleri ve barsaktaki hastalık hali düzelir. Ancak zaman zaman tekrarlamalar gösterir. Hastanın ilaçlarını doktor kontrolünde sürekli kullanması gerekir.

2.11.5. İnflamatuvar Barsak Hastalığı

İnflamatuvar barsak hastalığı (İBH) intestinal epitelin bariyer fonksiyonunun bozulması ve mukozal immün sistemdeki defektlere bağlı olarak oluşan anormal bir cevap sonucu oluşur. İBH'lığı etyolojisinde genetik, çevresel ve konakçı immün cevabı gibi faktörlerin önemli rol oynadığı bir hastalık grubudur.

2.11.6. Romatoid Artrit ve Gut

Romatoid artrit, klinik poliartritis olarak bilinen eklemlerde iltihap şeklinde meydana gelen sık görülen klinik iltihaplı romatizmal bir hastalıktır. Kralların hastalığı olarak bilinen gut ise, ürik asidin kanda artmasına bağlı olarak, bazı eklemlerde ağrı, duyarlılık, kızarıklık, şişlik ve ısı artışı ile ani olarak gelişen şiddetli ataklarla seyreden bir hastalıktır.

2.11.7. Miyokard İskemisi

Miyokardın iskemik nekrozuna miyokard infarktüsü (Mİ) denir. Olguların %90'ında altta yatan ana neden aterosklerozdur. Başka bir deyişle; olguların %90'dan fazlası ilerlemiş aterosklerozlu hastalar olup, rüptüre (bir organ ya da dokunun yırtılması) olmuş veya üzerindeki endotelde fonksiyon bozukluğu gelişmiş aterom (atardamarların duvarlarında oluşan anormal inflamatuvar makrofaj akyuvar birikmesidir) plağına yerleşmiş ve koroner damarda tam tıkanmaya neden olmuş bir trombozis olayının yol açtığı miyokardiyal iskemik nekroz söz konusudur. Koroner arter hastalığı (KAH), miyokard iskemisinin en ağırlıklı sebebidir.

2.11.8. Septik Şok

Sepsis, enfeksiyona sistemik yanıt olarak tarif edilir. Septik şok ise yeterli resüsitasyona rağmen devam eden hipotansiyon ve inotropik veya vazopresör destek gerektiren perfüzyon anomalileri ile birlikte sepsis görülmesidir. Daha önceleri Gram-negatif bakteri enfeksiyonları ile ilişkili olduğu ve hücre duvarından salgılanan endotoksin yoluyla olduğu düşünülse de günümüzde Gram-pozitif bakteriler ve mantarların da septik şoka yol açtığı görülmüştür.

2.11.9. Anafilaksi

Anafilaktik reaksiyonları “anafilaksi” ve “anafilaktoid reaksiyonlar” olmak üzere adlandırılabilir. Anafilaksi, IgE’nin aracılık ettiği, “Gell ve Coombs” sınıflamasına göre erken tipte, akut, sistemik bir aşırı duyarlılık reaksiyonudur. Anafilaktoid reaksiyon (anafilaksiye benzeyen, anafilaksi gibi) veya yalancı alerjik reaksiyon klinik olarak anafilaksiye benzeyen fakat oluşum mekanizması immün temele (bağışıklık mekanizmasına) dayanmayan reaksiyondur. Anafilaktik şok anafilaksinin üzerine hipotansiyonun (şok’un) eklenmesi ile meydana gelen bir durumdur. “Erken tip aşırı duyarlılık sonucu meydana gelen ağır dolaşım bozukluğu” olarak da tarif edilebilir.

Anafilaktik reaksiyonlarda etki mekanizmaları;

1. Anafilaksi (en sık görülen mekanizmadır)
2. Klasik yoldan kompleman aktivasyonu
3. Alternatif yoldan kompleman aktivasyonu
4. Direkt farmakolojik etkiyle mediyatör serbestleşmesi

Anafilaksi (IgE) ve klasik yoldan kompleman aktivasyonu (IgE ve IgM) mekanizmaları immün sistemin etkili olduğu, reaksiyon zincirinde immunglobülinlerin kullanıldığı durumlardır. İmmunglobülinlerin kullanılmadığı alternatif yoldan kompleman aktivasyonu ve direkt farmakolojik etkiyle mediyatör salınımı mekanizmaları non-immun (immün olmayan) yolları ifade etmektedir. Anafilaksi yolu en sık görülen

mekanizmadır, önceden (ilk karşılaşma) IgE'ler yoluyla duyarlılık kazanmış vücudun ikinci kez aynı maddeyle karşılaşması, duyarlı IgE'lerin antijen ile kompleks oluşturmasına ve dolaşımda bulunan bazofiller ve dokularda bulunan mast hücrelerinden mediyatörlerin salgılanmasına neden olur. Bu mediyatörlerin hedef organlardaki etkileri ile klinik tablonun oluşmasına neden olur. Cilt testleri ile derideki mast hücrelerinde; radyoimmunoassay (RIA) testler ile bazofillerdeki IgE bağlanmasının gösterilmesi çok spesifik olup, önceden Anafilaksiden sorumlu ajanı belirlemek mümkün olmaktadır.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. DENEYLERDE KULLANILAN ALETLER VE KİMYASAL MADDELER

Buzdolabı	: Arçelik
Destile Su Cihazı	: Brand MonoDest3000
Derin Dondurucu	: Beko
Etüv	: Nüve FN5000
Evaporatör	: BibbyRotary Vacuum Evaporator
Isıtıcı	: Electromantle
pH Metre	: Beckman
Spektrofotometre	: Shimadzu UV-mini 1240
Terazi	: Mettler 110 Hassas Terazi
Terazi	: Gec Avery
Vorteks	: Fisons Whirlimixer

Çalışmamızdaki deneylerde;

Etil alkol (C₂H₅OH-Merck 100971),

Potasyum sekonder fosfat (KH₂PO₄-Merck 104873),

Disodyum primer fosfat (Na₂HPO₄-Merck 106586),

Lipoksijenaz (Sigma L-7395),

Linoleik asit (Fluka 62240) kimyasalları kullanıldı.

3.2. ENZİM İNHİBİSYONUNDA KULLANILAN BİTKİ MATERYALLERİ

Çalışmamızda, LOX inhibitörü etkilerinin tayinlerinde alıç, ayva, badem, beyaz lahana, bezelye, biberiye, brokoli, brüksel lahanası, ceviz, civanperçemi, devedikeni, elma, enginar, fındık, greyfurt, havuç, kapari, karabaş otu, karnabahar, keçiboynuzu, kekik, kereviz, keten tohumu, kuru bakla, kuru fasulye, kuru soğan, lavanta, limon, melissa, mısır püskülü, nar, nohut, papatya, pırasa, portakal, sarımsak, taze fasulye, taze üzüm,

tere, trabzon hurması, üzüm çekirdeği, yeşil bakla, yeşil çay, yeşil mercimek, zencefil, zerdeçal, zeytin yaprağı bitkileri kullanıldı. Bitki materyallerinin latince adları Tablo 3.2.1 de verilmiştir.

Mısır çarşısındaki aktarlardan ve pazarlardan alınan veya kendimizin yetiştirdiği bitkiler toplandı, yıkandı, distile sudan geçirildi ve gölgede kurutuldu.

Tablo 3.2.1. Bitki materyallerinin Latince adları

	Bitki Materyalinin Türkçe Adı	Latince Adı
1	Alıç	<i>Crataegus oxyacantha</i>
2	Ayva	<i>Cydonia oblonga</i>
3	Badem	<i>Prunus dulcis</i>
4	Beyaz Lahana	<i>Brassica oleracea var. capitata f. alba</i>
5	Biberiye	<i>Rosmarinus officinalis</i>
6	Brokoli	<i>Brassica oleraceaitalica</i>
7	Brüksel Lahanası	<i>Brassica oleracea gemmifera</i>
8	Ceviz	<i>Juglans regio</i>
9	Civanperçemi	<i>Achillea millefolium</i>
10	Devedikeni	<i>Silybum marianum</i>
11	Elma	<i>Malus domestica</i>
12	Enginar	<i>Cynara scolymus</i>
13	Fındık	<i>Corylus avellana</i>
14	Greyfurt	<i>Citrus paradisi</i>
15	Havuç	<i>Daucus carota</i>
16	Kapari	<i>Capparis spinosa</i>
17	Karabaş Otu	<i>Lavandula stoechas</i>
18	Karnabahar	<i>Bassia oleracea var. botrytis</i>
19	Kayısı	<i>Prunus armeniaca</i>
20	Keçiboynuzu	<i>Ceratonia siliqua</i>
21	Kekik	<i>Thymus vulgaris</i>

22	Keten Tohumu	<i>Linum usitatissimum</i>
23	Kuru Bakla	<i>Vicia faba</i>
24	Kuru Fasulye	<i>Phaseolus vulgaris</i>
25	Kuru Soğan	<i>Allium cepa</i>
26	Lavanta	<i>Lavandula angustifolia</i>
27	Limon	<i>Citrus limonum</i>
28	Melissa	<i>Melissa officinalis</i>
29	Mısır Püskülü	<i>Zea mays</i>
30	Nar	<i>Punica granatum</i>
31	Nohut	<i>Cicer arietinum</i>
32	Papatya	<i>Asteraceae</i>
33	Pırasa	<i>Allium ampeloprasum var. porrum</i>
34	Portakal	<i>Citrus sinensis</i>
35	Sarımsak	<i>Allium sativum</i>
36	Taze Fasulye	<i>Phaseolus vulgaris</i>
37	Taze Üzüm	<i>Vitis vinifera</i>
38	Tere	<i>Lepidium sativum</i>
39	Trabzon Hurması	<i>Diospyros kaki</i>
40	Üzüm Çekirdeği	<i>Vitis vinifera</i>
41	Yeşil Bakla	<i>Vicia faba</i>
42	Yeşil Çay	<i>Camellia sinensis</i>
43	Yeşil Mercimek	<i>Lens culinaris</i>
44	Zencefil	<i>Zingiber officinale</i>
45	Zerdeçal	<i>Curcuma longa</i>
46	Zeytin Yaprağı	<i>Olea europaea</i>

Kurutulan bitkilerden etil alkollü ekstreler hazırlandı.

3.2.1. Etil Alkollü Ekstrelerin Hazırlanması

25 g bitki tartıldı. Sokslet cihazının kartuşuna yerleştirildi. Sokslet cihazının balonuna 100 mL % 70'lık etil alkol konuldu. Karışım geri soğutucu altında 4 saat reflüks edildi. Elde edilen karışım soğutuldu ve süzüldü. Süzüntü önceden darası alınan balona konuldu. Balon, rota evaporatöre yerleştirilerek düşük basınç altında etil alkol karışımından uzaklaştırıldı. Elde edilen ekstre miktarları tartılarak kaydedildi.

3.3. ENZİM İNHİBİSYONU TAYİNİNDE KULLANILAN İLAÇ ETKEN MADDELERİ

Çalışmamızda LOX inhibitör etkilerinin tayinlerinde fenofibrat, simvastatin, atorvastatin ilaç etken maddeleri kullanıldı. İlaç etken maddeler aşağıda belirtilen çeşitli firmalardan temin edilerek deneylerde kullanıldı.

Tablo 3.3.1. Enzim inhibisyonu tayininde kullanılan ilaç etken maddelerin sistematik adları

İlaç Etken Madde Adı	Sistemik (IUPAC) Adı
Fenofibrat (İlsan İlaç A.Ş)	Propan-2-yl-2-{4-[(4-klorofenil)karbonil]fenoksi}-2-metilpropanat
Simvastatin (Eczacıbaşı)	(1 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,7 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aR</i>)-8-{2-[(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-4-hidroksi-6-oksooksan-2-il]etil}-3,7-dimetil-1,2,3,7,8,8a-heksahidronaftalen-1-il 2,2-dimetilbutanat
Atorvastatin (Eczacıbaşı)	(3 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-7-[2-(4-florofenil)-3-fenil-4-(fenilkarbamoyl)-5-(propan-2-il)-1 <i>H</i> -pirol-1-il]-3,5-dihidroksiheptanoik asit

3.4. ENZİM İNHİBİSYONU TAYİNİNDE KULLANILAN ORGANİK VE ANORGANİK MADDELER

Çalışmamızda LOX inhibitör etkilerinin tayinlerinde Tablo 3.4.1 de belirtilen organik ve Tablo 3.4.2 de belirtilen anorganik maddeler kullanıldı.

Tablo 3.4.1. Organik maddeler

Askorbik Asit (Merck F572227/028)
B ₃ -Nikotinik Asit (Merck 1193)
Benzoik Asit (Merck 17252)
DL- α -tokoferol (Merck 7446124)
Krom pikolinat (GNC)
Kuarsetin dihidrat (Fluka 83370)
Omega3 (GNC-Fish Body Oil 1000 mg)
Phloridzin (Schering A.G. Berlin 3200)
Salisilik Asit

Tablo 3.4.2. Anorganik maddeler

Krom (III) klorür (Merck 2505219)
Krom (III) sülfat (Fluka 21185)
Mangan(II) sülfat (Merck 226306)
Sodyum selenat (Sigma 13H0429)
Vanadyum sülfat (Sigma-Aldrich 33450-041)

3.5. LİPOKSİJENAZ İNHİBİTÖRÜ ETKİSİNİN ÖLÇÜLMESİ

LOX inhibitörü etkisi Yawer ve ark. [60] metodundan yararlanılarak spektrofotomerik olarak tayin edildi.

Temel prensibi, hazırlanan çözeltilerden belirli spektrumlarda ışık geçirilmesi ve bu ışığın ne kadarının çözelti tarafından absorblandığını bulması esasına dayanır. Çözeltinin içerdiği madde miktarı ne kadar fazla ise daha fazla ışık, çözelti tarafından soğurulur. Spektrofotometre, çözeltinin içinden geçebilen -çözelti tarafından absorblanmayan- ışığın yoğunluğu tespit ederek çözelti içeriğindeki aranan maddenin miktarı hakkında kantitatif bilgi verir. Çalışmamızda seçilen bitkilerin % 70' lik etil alkollü ekstralarının, ilaç etken maddelerinin, organik ve anorganik maddelerin 5 farklı konsantrasyonda olacak şekilde çözeltileri hazırlandı. Bitkilerin etil alkollü ekstraları % 70'lik etil alkolde, ilaç etken maddeler % 70'lik etil alkolde, organik ve anorganik maddeler ise destile suda ve % 70'lik etil alkolde çözüldü. Hazırlanan farklı konsantrasyondaki çözeltilerinden 0.05'er mL ve kontrol çözeltisi için 100 mM fosfat tamponu pH 8'de çözeltisinden 0.05 mL alındı. Üzerine LOX enziminin 3950 U/mL lik çözeltisinden 0.1 mL ilave edildi. Üzerine (pH 8) 100 mM fosfat tamponu çözeltisinden 0.8 mL ilave edildi. Bu karışım 10 dakika 25 °C lik su banyosunda inkübe edildi. İnkübasyon sonrası 20 µM linoleik asit çözeltisinden 0.05 mL ilave edildi. Bu karışım 6 dk oda sıcaklığında inkübe edildi. İnkübasyon sonrası örnek ve kontrol çözeltilerinin spektrofotometrede 234 nm'de köre karşı absorbansı okundu.

Kör olarak 100 mM fosfat tampon (pH 8) çözeltisi kullanıldı.

Yapılan çalışmada 5 farklı konsantrasyonda hazırlanan örneklerin LOX enzimi üzerine inhibisyon değerleri aşağıdaki denkleme göre hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [1 - (B/A)] \times 100$$

A : Kontrol çözeltisinin 234 nm' de köre karşı okunan absorbans değeri

B : Numune çözeltisinin 234 nm' de köre karşı okunan absorbans değeri

Deneyler 4 kez tekrarlandı ve ortalaması alındı. Hazırlanan bitki ekstralarının, ilaç etken maddelerinin, organik ve anorganik maddelerinin LOX enzimi üzerindeki % inhibisyon etkileri hesaplandı.

LOX enziminin IC_{50} konsantrasyonu (Enzimin % 50 inhibisyon etkisi göstermesi için gerekli olan madde miktarı) absise, madde miktarı ordinata konarak % enzim inhibisyon verilerinin konulması ile çizilen eğrinin lineer kısmından elde edilen regresyon denkleminde hesaplandı.

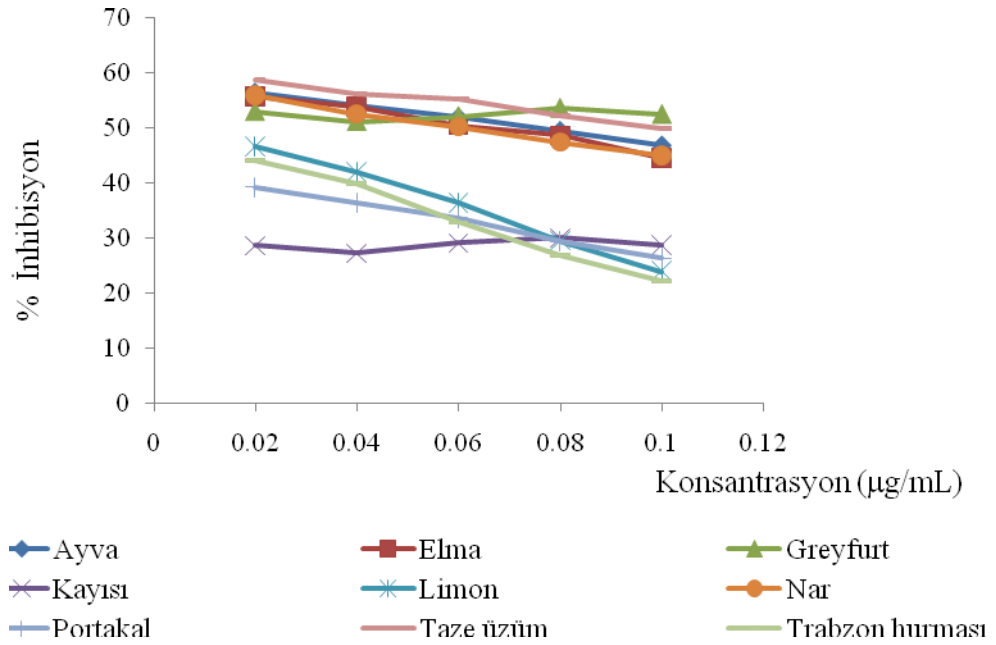
4. BULGULAR

Bu çalışmada çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan bitkilerin, ilaç etken maddelerin, organik ve anorganik maddelerin LOX enzimi üzerindeki inhibisyon etkileri incelendi.

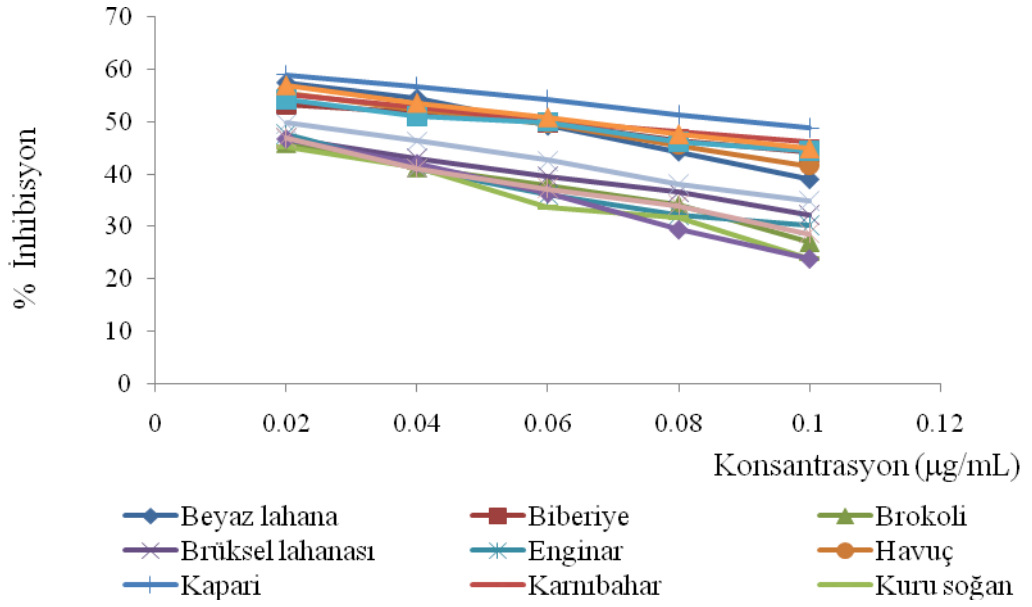
Enzim kaynağı olarak lipoksijenazın saf preparatları kullanıldı.

4.1. BİTKİ EKSTRELERİNİN LİPOKSİJENAZ İNHİBİTÖRÜ ETKİSİ

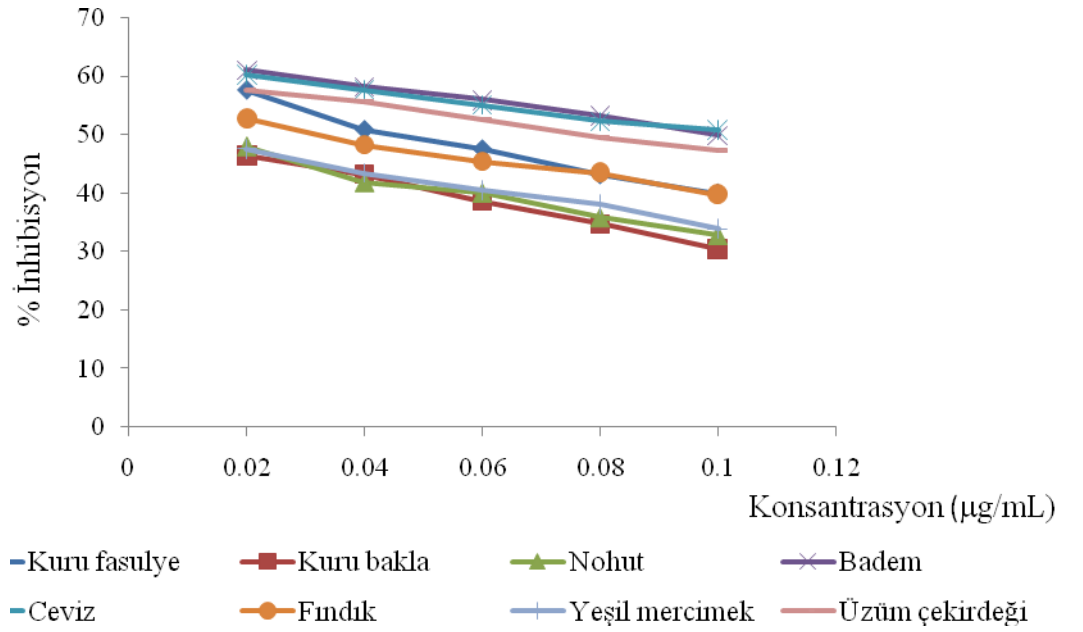
Etanollü bitki ekstralarının farklı konsantrasyonlarda hesaplanan % inhibisyon değerleri Şekil 4.1.1. ve IC₅₀ değerleri Tablo 4.1.1.'de verildi.



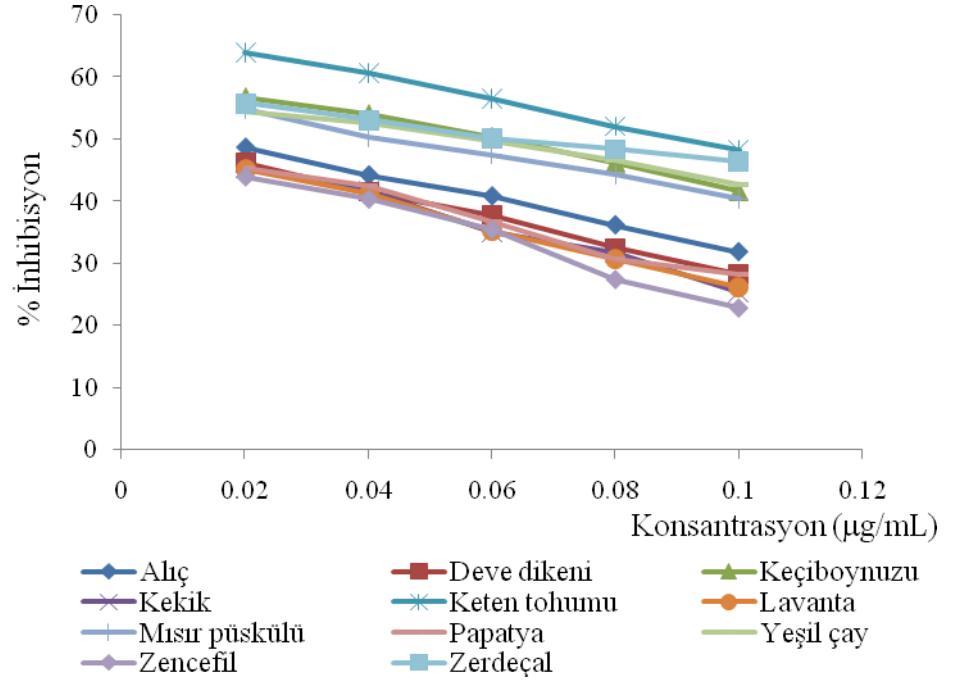
Şekil 4.1.1. Bazı etil alkollü meyva ekstralarının LOX % inhibisyon değerleri



Şekil 4.1.2. Bazı etil alkollü sebze ekstralarının LOX % inhibisyon değerleri



Şekil 4.1.3. Bazı etil alkollü baklagil ve kuru yemiş ekstralarının LOX % inhibisyon değerleri



Şekil 4.1.4. Bazı etil alkollü bitki ekstralarının LOX % inhibisyon değerleri

Tablo 4.1.1. Çeşitli bitkilerden hazırlanan etanollü ekstrelerin LOX üzerindeki IC₅₀ değerleri

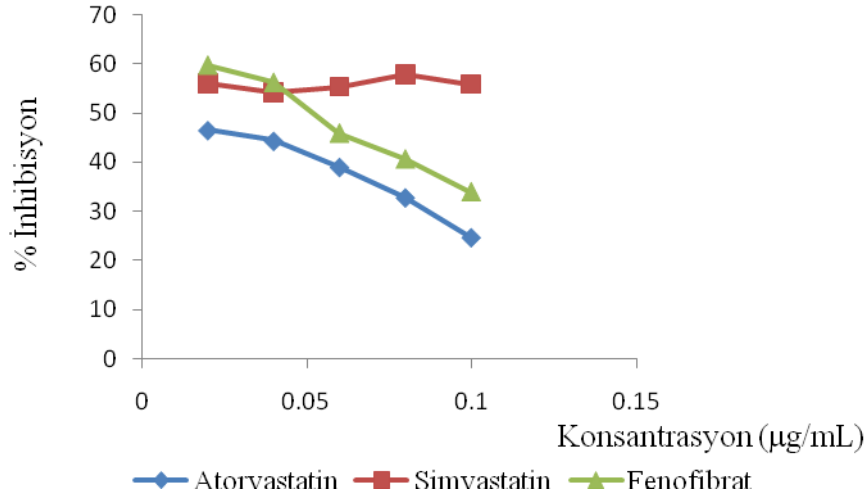
Bitki Adı	IC₅₀ Değeri (µg/mL)
Alıç	0.0137 ± 0.0016
Ayva	0.0742 ± 0.0109
Badem	0.1007 ± 0.0084
Beyaz Lahana	0.0556 ± 0.0029
Biberiye	0.0518 ± 0.0094
Brokoli	0.0032 ± 0.0012
Brüksel Lahanası	0.0026 ± 0.0029
Ceviz	0.1017 ± 0.0089
Devedikeni	0.0037 ± 0.0013
Elma	0.0643 ± 0.0022
Enginar	0.0027 ± 0.0023
Fındık	0.0329 ± 0.0057
Greyfurt	0.0829 ± 0.0026
Havuç	0.0540 ± 0.0031
Kapari	0.0915 ± 0.0096
Karnabahar	0.0642 ± 0.0020
Kayısı	0.0094 ± 0.0008
Keçiboynuzu	0.0594 ± 0.0034
Kekik	0.0033 ± 0.0016
Keten Tohumu	0.0918 ± 0.0067
Kuru Bakla	0.0044 ± 0.0030
Kuru Fasulye	0.0496 ± 0.0176
Kuru Soğan	0.0035 ± 0.0019
Lavanta	0.0015 ± 0.0012
Limon	0.0107 ± 0.0066
Mısır Püskülü	0.0456 ± 0.0093
Nar	0.0614 ± 0.0073
Nohut	0.0034 ± 0.0017
Papatya	0.0027 ± 0.0014
Sarımsak	0.0527 ± 0.0039
Taze Fasulye	0.065 ± 0.0032
Taze Üzüm	0.1020 ± 0.0094
Tere	0.0156 ± 0.0067
Trabzon Hurması	0.0012 ± 0.0007
Üzüm Çekirdeği	0.0780 ± 0.0039

Bitki Adı	IC₅₀ Değeri (µg/mL)
Yeşil Bakla	0.0032 ± 0.0010
Yeşil Çay	0.0552 ± 0.0079
Yeşil Mercimek	0.0022 ± 0.0011
Zencefil	0.0017 ± 0.0010
Zerdeçal	0.0667 ± 0.0034

- a. Bitki ekstrlerinin en yüksek LOX inhibisyonundan başlayarak sırasıyla; Trabzon hurması, lavanta, zencefil, yeşil mercimek, brüksel lahanası, papatya, enginar, yeşil bakla, brokoli, kekik, nohut, sarımsak, kuru soğan, devedikeni, kuru bakla, taze fasulye, kayısı, limon, alıç, tere, fındık, mısır püskülü, kuru fasulye, biberiye, sarımsak, havuç, yeşil çay, beyaz lahana, keçiboynuzu, nar, karnabahar, elma, zerdeçal, ayva, üzüm çekirdeği, greylfurt, kapari, keten tohumu, badem, ceviz, taze üzüm olarak bulunmuştur.
- b. Bitki ekstrleri içinde LOX inhibitör etkisi en yüksek olanın trabzon hurması olduğu bulundu. En yüksek LOX'ı inhibe eden trabzon hurmasının IC₅₀ değerinin 0.0012 ± 0.0007 µg/mL olduğu bulundu (Tablo 4.1.1).
- c. Genel olarak diğer bitki ekstrlerinin sonuçlarına bakıldığında kabul edilebilir bir inhibitör aktivitesine sahip oldukları bulundu.

4.2. İLAÇ ETKEN MADDELERİNİN LİPOKSİJENAZ İNHİBİTÖRÜ ETKİSİ

Kullanılan ilaç etken maddelerinin farklı konsantrasyonlarda hesaplanan % inhibisyon değerleri Şekil 4.2.1’de, IC₅₀ değerleri Tablo 4.2.1’de verilmiştir.



Şekil 4.2.1. İlaç etken maddelerinin LOX % inhibisyon değerleri

Tablo 4.2.1. Çeşitli ilaç etken maddelerin LOX üzerindeki IC₅₀ değerleri

İlaç Etken Madde	IC ₅₀ Değeri (µg/mL)
Atorvastatin	0.0002 ± 0.0001
Simvastatin	0.0007 ± 0.0005
Fenofibrat	0.0043 ± 0.0003

Tablo 4.2.1’e göre

İlaç etken maddelerinin en yüksek LOX inhibisyonundan başlayarak sırasıyla atorvastatin, simvastatin ve fenofibrat olduğu saptanmıştır.

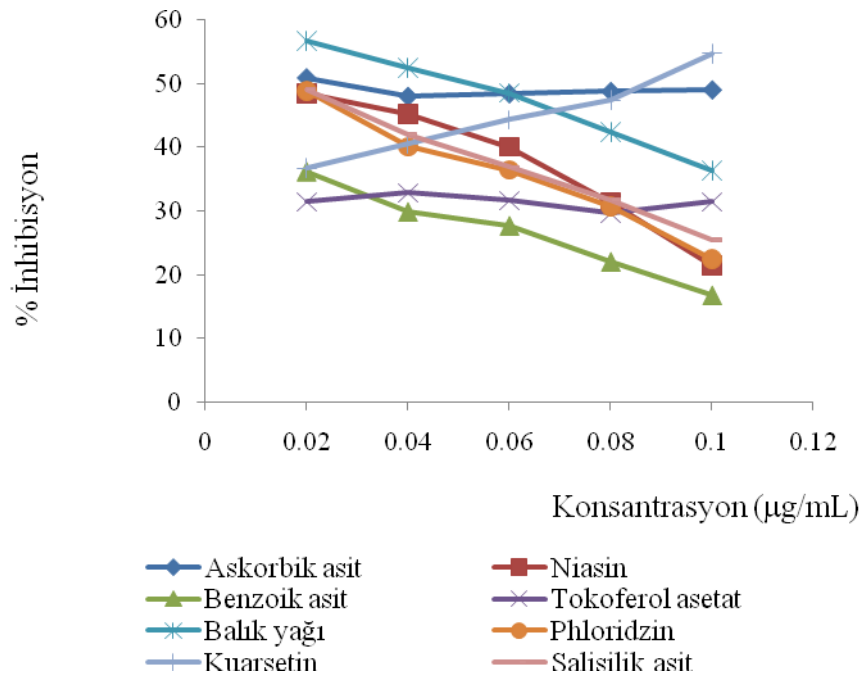
İlaç etken maddeleri içinde LOX inhibitör etkisi en fazla olanın atorvastatin olduğu bulundu. En yüksek oranda LOX'ı inhibe eden atorvastatin ilaç etken maddesinin IC₅₀ değerinin en düşük değerde olduğu bulundu.

Genel olarak sonuçlara bakıldığında diğer ilaç etken maddelerinin de kabul edilebilir etkin bir inhibitör aktivitesine sahip olduğu bulundu.

4.3. ORGANİK VE ANORGANİK MADDELERİN LİPOKSİJENAZ İNHİBİTÖRÜ ETKİSİ

4.3.1. Organik Maddeler

Kullanılan organik maddelerin farklı konsantrasyonlarda hesaplanan % inhibisyon değerleri Şekil 4.3.1'de, IC₅₀ değerleri Tablo 4.3.1'de verilmiştir.



Şekil 4.3.1. Organik maddelerin LOX % inhibisyon değerleri

Tablo 4.3.1. Çeşitli organik maddelerin LOX üzerindeki IC₅₀ değerleri

Organik Maddeler	IC₅₀ Değeri (µg/mL)
Askorbik Asit	0.0002 ± 0.0001
Nikotinic Asit	0.0011 ± 0.0003
Benzoik Asit	0.0094 ± 0.0008
DL-α-tokoferol	0.0018 ± 0.0001
Cr(III)Pikolinat	0.0031 ± 0.0001
Balık yağı	0.0040 ± 0.0013
Phloridzin	0.0002 ± 0.00001
Salisilik Asit	0.0002 ± 0.00001
Kuarsetin	0.0079 ± 0.00045

Tablo 4.3.1'e göre

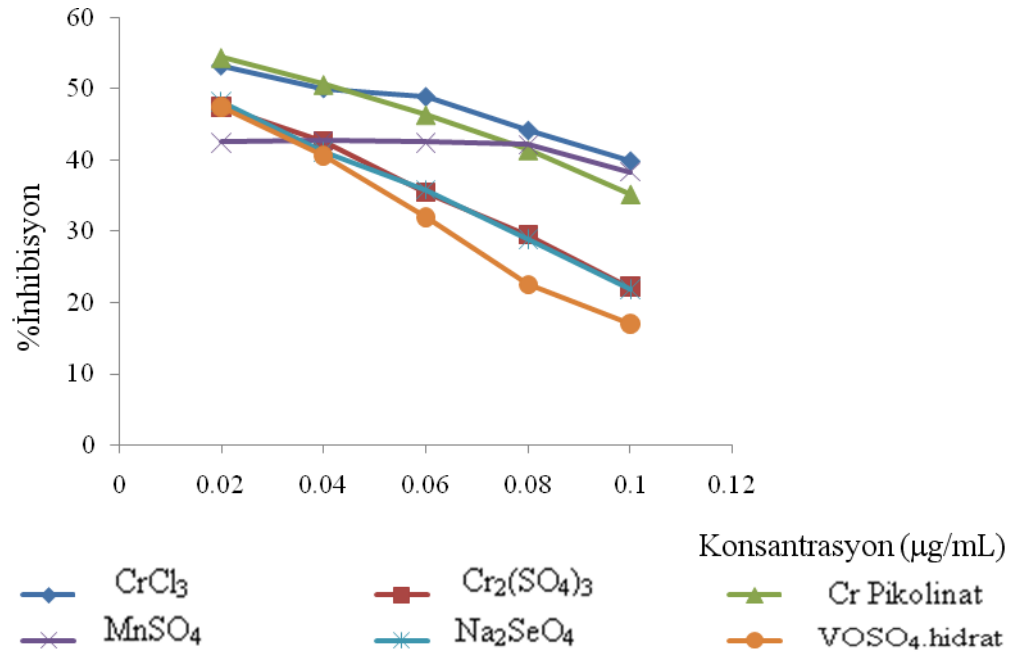
Organik maddelerin en yüksek LOX inhibisyonundan başlayarak sırasıyla salisilik asit, phloridzin, askorbik asit, niasin, E vitamini, krom pikolinat, omega 3, benzoik asit olduğu saptanmıştır.

Organik maddelerin içinde LOX inhibitör etkisi en fazla olanın salisilik asit olduğu bulundu. En yüksek oranda LOXı inhibe eden salisilik asidin IC₅₀ değerinin en düşük değerde olduğu bulundu.

Genel olarak sonuçlara bakıldığında diğer organik maddelerin de kabul edilebilir etkin bir inhibitör aktivitesine sahip olduğu bulundu.

4.3.2. Anorganik Maddeler

Kullanılan anorganik maddelerinin farklı konsantrasyonlarda hesaplanan % inhibisyon değerleri Şekil 4.3.2’de, IC₅₀ değerleri Tablo 4.3.2’de verilmiştir.



Şekil 4.3.2. Anorganik maddelerin LOX % inhibisyon değerleri

Tablo 4.3.2. Çeşitli anorganik maddelerin LOX üzerindeki IC₅₀ değerleri

Anorganik Maddeler	IC₅₀ Değeri (µg/mL)
CrCl ₃	0.0033 ± 0.0003
Cr ₂ (SO ₄) ₃	0.0001 ± 0.0001
MnSO ₄	0.0030 ± 0.0003
Na ₂ SeO ₄	0.0001 ± 0.0001
VOSO ₄ .hidrat	0.0002 ± 0.0001

Tablo 4.3.2'e göre

Anorganik maddelerin en yüksek LOX inhibisyonundan başlayarak sırasıyla sodyum selenat, krom(III)sülfat, vanadyum sülfat, mangan sülfat ve krom(III)klorür olduğu saptanmıştır.

Anorganik maddelerin içinde LOX inhibitör etkisi en fazla olanın selenyum olduğu bulundu. En yüksek oranda LOX inhibe eden selenyum anorganik maddesinin IC₅₀ değerinin en düşük değerde (0.0001 µg/mL) olduğu bulundu.

Genel olarak sonuçlara bakıldığında diğer anorganik maddelerin de kabul edilebilir etkin bir inhibitör aktivitesine sahip olduğu bulundu.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bitkilerin tedavi amaçlı kullanımını modern tıbbın kurulmasından çok önceki zamanlara uzanmaktadır. Günümüzde de, özellikle son 20 yılda bu alanda çok sayıda epidemiyolojik ve deneysel çalışmalar yapılmış ve yapılmaya devam etmektedir. Özellikle ABD ve Avrupa'da bitkisel ve doğal ürünlere artan bir ilgi gözlenmektedir. Yapılan epidemiyolojik ve deneysel çalışmaların ışığında, bitkisel besinlerce zengin beslenmenin kanser ve ateroskleroz gibi kronik bir takım hastalıkların gelişimini azaltabileceği söylenmektedir [61, 62].

LOX'lar (EC 1.13.11.12); non-hem demiri içermeyen dioksijenazları da kapsayan ve hayvan ve bitkilerde yaygın bir şekilde bulunan bir enzim ailesidir [63]. (Z-Z)-1,4-dien kalıntılarını içeren çoklu doymamış yağ asitlerinin regio- ve stereospesifik oksijenasyonunu katalizlerler.

Bitkilerde, ana substrat olan (C18:2) linoleik asid, (C18:3) linolenik asidlerdir; bu substratların LOX ürünleri olan 9S ve 13S yağ asidi hidroperoksidleri; bitkilerde ve hayvanlarda metabolizmayı düzenleyici rol oynar [63]. Aynı zamanda serbest radikal doğalarından ötürü, yağ asidi hidroperoksidleri kendi başlarına son derece aktif olabilmekte ve membran hasarı üretilen hücre ölümlerini hızlandırma gibi olayları meydana getirebilmektedirler [47].

LOX'lar, plazma LDL oksidasyonunu indükledikleri için aterosklerozun erken evreleri ile ilişkilendirilmişlerdir [48, 64]. Özellikle, LOX'lar, linoleik asit gibi 1(Z),4(Z)-pentadien sistemi ve araşidonik asitin 1-hidroperoksi-2(E),4(Z)-pentadien ürünlerini içeren polienoik yağ asitlerinin oksidasyonunu katalizlerler.

Besinlerde bulunan vitamin E, beta karoten, vitamin C, fenoller ve flavonoidler gibi günlük alınan antioksidanlar, serbest radikal üretimini düşürdüğü için düşük yoğunluklu lipoproteinlerin oksidasyonunu inhibe edebilirler. Bu koruyucu etki ateroskleroza yavaşlatır ve sonucunda koroner problemlerin oluşumunu önler [48].

Enginar özütünde bulunan kafeik asit, klorojenik asit, sinarin ve polifenol bileşiği rutin ve hesperidin gibi antioksidan özelliğe sahip olan bileşiklerin LOX'ı inhibe ettiği ve lipit peroksidasyonuna karşı koruyucu özelliğe sahip olduğu belirtilmektedir [65-67]. Antioksidan özellikteki bu bileşikler LOX inhibitör özellikleriyle lipit peroksidasyonuna karşı koruyucu olduğu yer almaktadır. Çalışmamızda da enginarın % 47 oranında LOX'ı inhibe ettiği ve IC₅₀ değerinin 0.0027 µg/ml olduğu bulunmuştur.

Fasulye yapısında anakardik asit ihtiva eden bir bitkidir ve çalışmamızda LOXı yüksek oranda inhibe etmiştir. Literatürde de yer aldığı gibi anakardik asitler yağ asidinin içerdiği 1(Z),4(Z)-pentadien kısmını ve moleküler oksijeni hidroperoksitlerine dönüştürür [68]. Diğer yandan; LOX'lar, yiyeceklerin saklanma ve üretim koşullarında bozulmalarının en büyük sebeplerinden biridirler [69], yiyeceklerin bozulmalarını önlemek için LOX inhibitörünün ortama konulması gereklidir [70].

Sentetik antioksidanların, ateroskleroz ve kanser gibi hastalıklarla ilişkili olabileceği gerçeğinden dolayı, doğal antioksidanlara olan talep artmıştır. Flavonoidler doğal antioksidanların kaynağıdır. Sebzeler, bitkiler, bitkisel ilaçlar ve meyveler hiperkolesterolemi, kanser ve koroner kalp rahatsızlıkları tedavisi için kullanılır [61].

Flavonoidler, polifenol bileşiklerine dağılmış bir halde, bitki familyası içinde yer almaktadır. Bazı flavanoid türevlerinin antiinflamatuvar, immunomodülatör aktivitelerine sahip oldukları, *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda bildirilmiştir [71, 72]. Belirli flavonoidlerin antiinflamatuvar aktivitelerinin, FLA₂, COX ve LOX gibi enzimlerle bağlantılı olarak araşidonik asit yolunda enzim inhibisyonu şeklinde etkileri olduğu belirtilmiştir [73]. Bu flavonoid türevleri arasında C-O-C veya C-C bağı ile bağlanmış ve yapısal olarak benzersiz flavonoid-dimerleri olarak bioflavonoidler bulunmaktadır.

Çalışmamızda da yukarıdaki çalışmayla benzer şekilde alkollü ekstrelerde en düşük IC₅₀ değerine sahip bitkilerin flavonoid açısından zengin olan bitkiler olduğu bulundu. Trabzon hurması, alıç, taze üzümün yapılarında bulunan flavonoidler sayesinde inhibitör etki gösterdikleri ileri sürülebilir.

Kuarsetin (3,3',4',5,6-penta hidroksi flavon), bitkilerde en çok bulunan flavonoidlerdendir. Kuarsetinin ateroskleroz, hiperkolesterolemi, hipertansiyona karşı kullanıldığı ve LOX inhibitörü, anti-anjiyogenez inhibitörü olarak etki gösterdiği belirtilmektedir [74]. Kuarsetin, inflamasyona neden olan lökotrienlerin, prostaglandinlerin ve sitokinlerin üretimine etki ederek anti inflamatuvar etki gösterir. Saman nezlesi, astım, egzama, ürtiker gibi alerjik durumların tedavisinde etki gösterdiği bilinmektedir. Çalışmamızda kuarsetinin IC₅₀ değerinin 0.0079 µg/ml olduğu bulunmuştur. Çalışmamızda kuarsetinin LOX inhibitör etkisi yukarıda çalışmayla paralellik göstermektedir.

Hücre zarları gibi, mitokondriyal ve mikrozomal zarların fosfolipitlerinde doymamış yağ asitlerinin fazla miktarda bulunması sonucunda, lipit peroksidasyonuna daha duyarlı oldukları bilinmektedir. Lipit peroksidasyonu zarın yapı ve görevlerinde bozukluklara neden olur. Lizozomal zarlardaki hasar hidrolitik enzimlerin salınmasına yol açar. Diğer taraftan, kaslarda hasarla birlikte gelişen peroksidasyon olayları da şu mekanizmayla ortaya çıkar; kaslardaki hasarla beraber hücre içi kalsiyum seviyesinde bir artış meydana gelir. Gerek bu artışın gerekse kaslardaki hasarın etkisi sonucunda hücre zarı fosfolipitlerinden FLA₂ salıverilir.

Araşidonik asit miktarının artması LOX yolu üzerinden hidroperoksieikozatetraeniok asidin (HPETE) oluşmasına neden olur; bu olay sonucunda HPETE'nin etkisi ile peroksidasyon ve sonuçta da hücre canlılığının kaybolması gelişir. Bu olay sırasında vitamin E LOX yolu üzerinde engelleyici bir etki gösterir ve sonuçta HPETE'nin oluşması sınırlı hale gelir. Selenyum ise glutatyon peroksidazın (GSH-P_x) yapısına girer ve meydana gelen HPETE'nin hidroksieikozatearaeniok asite (HETE) dönüşmesini sağlar [75, 76].

Çalışmamızda da vitamin E ve selenyumun LOX inhibitör etkisi tayin edildi. Soğanda bulunan kuarsetin ve kaempferol ayrıca anti-kanserojen özellikler gösterir [77]. Özellikle, biyoaktif enzimleri engellemeleriyle [78], detoksifiye edici enzimleri tetiklemeleriyle, apoptosisi tetiklemeleriyle [79] ve antioksidan ve antiinflamatuvar etkinlikleriyle [80] antineoplastik etkilere sahiptirler. Bazı araştırmalarda, muhtemelen yüksek miktarda flavonoid içermesi nedeniyle soğan tüketimi ve akciğer kanseri arasında ters bir ilişki olduğu bulunmuştur [81]. Ayrıca niasin ve kromun da lipit düşürücü özelliğe sahip olduğu literatürde bildirilmektedir [82].

Allisin ve türevleri, sarımsak ve soğanın deney hayvanlarında olduğu kadar insanlarda da antibakteriyel, hipotensif, hipolipitemik, hipokolesterolemik, antiaterosklerotik, antitrombotik ve antiinflamatuvar ilaçlar olarak koruyucu ve tedavi edici olarak kullanıldığı literatürde bildirilmiştir [83]. Çalışmamızda sarımsak ve soğanın LOX enzimini inhibe etmesi de çalışmamızın sonuçlarını doğrulamaktadır.

Limon, portakal, nar, brokoli yapılarında C vitaminini yüksek oranda içerirler [84]. Çalışmamızda da LOX'ı yüksek oranda inhibe etmişlerdir. LOX'ı yüksek oranda inhibe etmelerinin nedeni antioksidan etkinliğiyle açıklanabilir.

Lökotrien antagonistleri (LTA) 20 yılı aşkın zamandır astım tedavisine eklenen ilk etkin ilaçtır. Lökotrienler bronş mukozasında eozinofil, bazofil ve mast hücresi gibi inflamatuvar hücrelerde sentezlenen ve astım patojenezinde önemli rolleri olan araçlardır [54].

Bazı yağ asitleri içerdikleri yüksek oranda γ -linoleik asitler ile güçlü ve etkili antiinflamatuvar, immunomodülatör ve antibronşiyal etki gösteren ajanlardır. Bu yağ asitleri hızlıca aktif şekli olarak dihomogamalinoleik aside dönüştürülür (DGLA) [85]. DGLA, 5-LOX yardımıyla 15-hidroksi DGLA ya dönüştürülür. Bazı çalışmalarda linoleik asidin inflamasyonun LOX yolunu engellediği bildirilmektedir [86]. Çalışmamızda keten tohumunun LOX inhibitör etkisi yukarıda çalışmayla paralellik göstermektedir.

LOX sadece ekmek yapımı ve aroma üretimi [87] gibi besin kaynaklı uygulamalarda yer almamakta, fakat renk, lezzet bozulması ve bitki kökenli yiyeceklerdeki antioksidan durumunun negatif etkilenmesi gibi bazı durumlardan da sorumludur.

Çalışmamızda LOX'ı en yüksek oranda inhibe eden etil alkollü bitki ekstresinin trabzon hurması olduğu bulunmuştur. Bunu sırasıyla, lavanta, zencefil, yeşil mercimek, brüksel lahanası, papatya, enginar, sarımsak, kuru soğan, devediken, keten tohumu, badem, ceviz izlemektedir. Bu bitkilerin inflamasyon, kanser ve otoimmün rahatsızlıklarında bitkisel ilaç olarak kullanıldığı literatürlerde belirtilmiştir [80, 81, 83]. Bu bitkilerin LOX enzimini inhibe etmeleri nedeni ile bronşiyal astım, inflamasyon, kanser ve otoimmün rahatsızlıklarında bitkisel ilaç olarak kullanımının uygun olacağı ileri sürülebilir. Çalışmamızda, LOX enzimini en yüksek oranda inhibe eden bitkilerden etken maddelerin izole edilerek yapı tayinlerinin yapılması ve bu maddelerin enzim inhibisyonlarının *in vivo* deneylerle de kanıtlanması için daha ileri düzeyde çalışmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. TÜZÜN, C., 1997, Biyokimya üçüncü baskı” *Palme Yayınları*, Ankara, s.124-125.
2. PARK, T.G., HOFFMAN, A.S., 1993, Thermal cycling effects on the bioreactor performances of immobilized β -galactosidase in temperature sensitive hydrogel beads, *Enzyme Microbial Technology*, 15, 476-482.
3. RAHMAN K., 2003, Garlic and aging: New insights into an old remedy. *Ageing Research Reviews*, 2, 39-56.
4. TEKMAN, S., ÖNER, N., 1998, *Genel Biokimya Dersleri*, Emek Matbaacılık, İstanbul, 975-404-338-8.
5. ONAT, T., EMERK, K., SÖZMEN, E.Y., 2002, *İnsan Biokimyası*, Palme Yayıncılık, 979-975-862-420-2.
6. GÖGÜŞ, F., FADİLOĞLU, S., 2006, *Food Chemistry*, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 975-591-871-x.
7. SOLOMONS, G.T.W., FRYHLE, C.B., OKAY, G., YILDIRIR, Y., 2002, *Organik Kimya*, Literatür Yayıncılık, 975-8431-87-0.
8. DEMIRSOY, A., 2006, *Enzimlerin yapısı ve işleyişi*, <http://www.genbilim.com/content/view/154/34>, [Ziyaret tarihi: 10 Mayıs 2010].
9. MURRAY, R.K., GRANNER, D.K., MAYES, P.A., ERSOZ, B., DİKMEN, N., MENTES, G., ÖZGÜNEN, T., 1993, *Harper’ın Biokimyası*, Barış Kitapevi, 978-975-953-311-3.
10. CLELAND, W.W., 1963, The kinetics of enzyme-catalyzed reactions with two or more substrates or products, Inhibition: Nomenclature and Theory, *Biochimica et Biophysica Acta*, 67, 173-187.
11. KALAYCIOĞLU, L., SERPEK, B., NIZAMLIOĞLU, M., BAŞPINAR, N., TIFTİK, A.M., 2006, *Biokimya*, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 975-591-131-6.
12. FISCHER E., 1894, Einfluss der configuration auf die wirkung der enzyme. *Berichte Der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 27, 2985–2993.
13. BINGOL, G., 1977, *Vitaminler ve Enzimler*, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları Ders Kitap Serisi, Ankara.
14. ALTINIŞIK, M., 2009, *Enzimler*, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi.

15. JU, M.E., LEE, E.S., HWANG, J.H., KIM, H.J., 2004, Antioxidant and anticancer activity of extract from *Betula platyphylla* var. *japonica*, *Life Sciences*, 74, 1013-1026.
16. NTANIOS, F.Y., VAN DE KOOIJ, A.J., DE DECKERE, E.A., DUCHATEAU, G.S., TRAUTWEIN, E.A., 2003, Effects of various amounts of dietary plant sterol esters on plasma and hepatic sterol concentration and aortic foam cell formation of cholesterol-fed hamsters, *Atherosclerosis*, 169, 41–50.
17. JAYARAJ, A.P., TOVEY, F.I., HOBSLEY, M., 2003, Duodenal ulcer prevalence: research into the nature of possible protective dietary lipids. *Phytotherapy Research*, 17, 391–398.
18. GOODMAN-GILMAN, WILLIAM B. CAMPBELL, Pharmacological Basics of Therapeutics, Chapter 24, p.600.
19. STANLEY, D., MILLER, J., TUNAZ, H., 2009, Eicosanoid actions in insect immunity, *Journal of Innate Immunity*, 1, 282-290.
20. VANCE, D.E., VANCE, J.E. (Eds), 1991, Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes, Elsevier, Amsterdam, 1-32.
21. POULIN, R., LU, L., ACKERMANN, B., BEY, P., PEGG, A.E., 1992, Mechanism of the irreversible inactivation of mouse ornithine decarboxylase by alpha-difluoromethylornithine. Characterization of sequences at the inhibitor and coenzyme binding sites , *The Journal of Biological Chemistry*, 267, 150–158.
22. O'BYME, P.M., 1997, Leukotrienes in the pathogenesis of asthma. *Chest*;111, 27S-34S.
23. MUNGAN, D., 1999, Astım tedavisinde lökotrien sentez inhibitörleri ve reseptör antagonistleri, *Tüberküloz Toraks Dergisi*; 47, 5-15.
24. MAYATEPEK, E., HOFFMANN, E.F., 1995, Leukotrienes: Biosynthesis, metabolism, and pathophysiologic significance. *Pediatric Research*; 37, 1-9.
25. DAHLEN, S.E., 1998, Leukotrienes. In: Holgate St, Busse WW, editors. Inflammatory mechanism in asthma, NewYork, Marcel-Deccer Inc, p. 679-733.
26. HENDERSON, W.R. Jr., 1994, Role of leukotrienes in asthma. *Annals of Allergy*; 72, 272-8.
27. [hptt://cumhuriyet.dundar.dr.tr/Donem3/.../Farmakoloji/.../eikozanoidler.ppt](http://cumhuriyet.dundar.dr.tr/Donem3/.../Farmakoloji/.../eikozanoidler.ppt), [Ziyaret tarihi: 10 Eylül 2010].
28. Toraks Derneği. Ulusal Astım Tanı ve Tedavi Rehberi. Toraks Dergisi 2000; ek 1-4, [http:// www.toraks.org.tr](http://www.toraks.org.tr), [Ziyaret tarihi: 15 Mayıs 2010].

29. OZER, F., YOSUNKAYA, S., 2005, Astım ve lökotrienler, *Genel Tıp Dergisi*, 15, 91-99.
30. CHANARIN, N., JOHNSTON, S.L., 1994, Leukotrienes as a target in asthma therapy. *Drug*, 47, 12-24.
31. CLAEISSON, H.E., DAHLEN, S.E., 1999, Asthma and leukotrienes: antileukotrienes as novel anti-asthmatic drugs. *Journal of Internal Medicine*, 245, 205-227
32. PIZZICHINI, E., LEFF, J.A., REISS, T.F., HENDELES, L., BOULET, L.P., WEI, L.X., et al., 1999, Montelukast reduces airway eosinophilic inflammation in asthma: a randomized controlled trial, *European Respiratory Journal*, 14, 12-18.
33. LIU, M.C., DUBE, L.M., LANCASTER, J., 1996, Acute and chronic effects of a 5-lipoxygenase inhibitor in asthma: A 6-month randomized multicenter trial. Zilueton study group, *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 98, 859-871
34. PETERS-GOLDEN, M., CANETTI, C., MANCUSO, P., COFFEY, M.J., 2005, Leukotrienes: underappreciated mediators of innate immune responses, *The Journal of Immunology*, 174, 589-594.
35. CLAEISSON, H.E., LINDGREN, J.A., GUSTAFSSON, B., 1985, Opsonized bacteria stimulate leukotriene synthesis in human leukocytes, *Biochimica et Biophysica Acta*, 836, 361-367.
36. ADEREM, A.A., COHEN, D.S., WRIGHT, S.D., COHN, Z.A., 1986, Bacterial lipopolysaccharides prime macrophages for enhanced release of arachidonic acid metabolites, *Journal of Experimental Medicine*, 164, 165-179.
37. SINGH, R.K., GUPTA, S., DASTIDAR, S., RAY, A., 2010, Cysteinyl leukotrienes and their receptors: Molecular and functional characteristics, *Pharmacology*, 85, 336-349.
38. ESKIN, N., GROSSMAN, S., PINSKY, A., 1977, Biochemistry of lipoxygenase in relation to food quality, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 9, 1-40.
39. NEEDLEMAN P, TURK J, JAKSCHIK BA, MORRISON AR, LEFKOWITZ JB, 1986, Arachidonic acid metabolism, *Annual Review of Biochemistry*, 55, 69–102.
40. TÜRKER, R. K., KAYAALP, S. O., 2008, Eikozanoidler (Araşidonik Asid Metabolitleri) ve diğer otakoidler, <http://www.tipedu.cumhuriyet.edu.tr>, [Ziyaret tarihi: 01 Haziran 2010]
41. CHOUDHARY, M., AZIZUDDIN JALIL, S., ISRAR, M., RAHMAN, A., 2006, Inhibition of respiratory burst in human neutrophils and lipoxygenase enzyme by compounds from *Haloxylon griffithii*, *Phytotherapy Research*, 20, 840-843.

42. ELENI, P., DIMITRA, H. L., 2003, Review in quantitative structure activity relationships on lipoxygenase inhibitors, *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 3, 487-499.
43. STEINHILBER, D., 1999, 5-Lipoxygenase: A target for anti-inflammatory drugs revisited, *Current Medicinal Chemistry*, 6, 71-85.
44. NIE, D., HONN, K.V., 2002, Cyclooxygenase, lipoxygenase and tumor angiogenesis, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 59, 799-807.
45. The Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischaemic Disease (LIPID) Study Group, 1998, Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. *The New England Journal of Medicine*, 339, 1349-1357.
46. [http:// www.mustafaaltinisik.org.uk/67-1-2-15.ppt](http://www.mustafaaltinisik.org.uk/67-1-2-15.ppt), [Ziyaret tarihi: 10 Eylül 2010]
47. GARDNER, H.W., 1991, Recent investigations into the lipoxygenase pathway of plants, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1084, 221-239.
48. KRIS-ETHERTON, P.M., KEEN, C.L., 2002, Evidence that the antioxidant flavonoids in tea and cocoa are beneficial for cardiovascular health, *Current Opinion in Lipidology*, 13, 41-49.
49. CORNICELLI, J.A., TRIVEDI, B.K., 1999, 15-Lipoxygenase and its inhibition: a novel therapeutic target for vascular disease, *Current Pharmaceutical Design*, 5, 11-20.
50. RICHARD-FORGET, F., GAUILLARD, F., HUGUES, M., JEAN-MARC, T., BOIVIN, P., NICOLAS, J., 1995, Inhibition of horse bean and germinated barley lipoxygenases by some phenolic compounds, *Journal of Food Science*, 60, 1325-1329.
51. O'BYRNE, .P. M., 1997, Leukotrienes in the pathogenesis of asthma, *Chest*, 111, 27S-34S.
52. BARNES, P.J., 1997, Current therapies for asthma. Promise and limitations. *Chest*, 111, 17S-26S.
53. DWORSKI, R., FITZGERALD, G. A., OATES, J. A., SHELLER, J. R., 1994, Effect of oral prednisone on airway inflammatory mediators in atopic asthma, *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 149, 953-959.
54. ANDERSON, GP., 1997, Development of new anti-asthma drugs. In: Barnes, B.J Grunstein, M.M, Leff, A.R, Woolcock, A.J. Asthma. Lippincott Raven Publishers New York, 1707-1729.

55. O'SHAUGHNESSY, K. M., WELLINGS, R., GILLIES, B., FULLER, R. W., 1993, Differential effects of fluticasone propionate on allergen-evoked bronchoconstriction and increased urinary leukotriene E₄ excretion, *American Review of Respiratory Disease*, 147, 1472-1476.
56. LAVIOLETTE, M., MALSTROM, K., LU, S., CHERVINSKY, P., PUJET; J. C., PESZEK, I. 1999, Montelukast added to inhaled beclomethasone in treatment of asthma. Montelukast/Beclomethasone Additivity Group. agonists, *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 160, 1862-1868.
57. PAVORD, I. D., WARD, R., WOLTMANN, G., WARDLAW; A. J., SHELLER, J. R., DWORSKI, R., 1999, Induced sputum eicosanoid concentrations in asthma, *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 160, 1905-1909.
58. CHUNG, K. F., 1995, Leukotriene receptor antagonists and biosynthesis inhibitors: potential breakthrough in asthma, *European Respiratory Journal*, 8, 1203-1213.
59. CHUNG, K. F., HOLGATE, S. T., 1997, Leukotrienes: Why are they important mediators in asthma, *European Respiratory Review*, 7, 259-263.
60. YAWER, M.A., AHMED, E., MALIK A., ASHRAF, M., RASOOL, M.A., AFZA, N., 2007, New lipoxygenase-inhibiting constituents from calligonum polygonoides, *Chemistry & Biodiversity*, 7, 1578-1585.
61. LEHNINGER, A.L, NELSON, D.L, COX, M.M, 1993, Lipid Biosynthesis In: Principles of Biochemistry, second edition. Ch 20. Eds.: Worth Publishers.
62. COPPER, G.M., 1997, The Chemistry of Cells. In: The Cell, A Molecular Approach, Ch 2. ASM press Washington, D.C.
63. HA, T.J., KUBO, I. 2005, Lipoxygenase inhibitory activity of anacardic acids, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4350-4354.
64. FEINMARK, S.J., CORNICELLI, J.A., 1997, Is there a role for 15-lipoxygenase in atherogenesis?, *Biochemical Pharmacology*, 54, 953-959.
65. EBERHARDT, G., 1973, Untersuchungen über die Wirkung von cynarin bei Leberzellverfettung, *Zeitschrift für Gastroenterologie*, 11, 183-186.
66. WILLIAMS, C. A., HARBORNE, J. B., GEIGER, H., HOULT, J. R. S., 1999, The flavonoids of *Taraxacum parthenium* and *T. vulgare* and their anti-inflammatory properties, *Phytochemistry*, 51, 417-423.
67. WOJCICKI, J., 1978, Effect of 1,5-dicaffeoylquinic acid (cynarine) on cholesterol levels in serum and liver of acute ethanol-treated rats, *Drug and Alcohol Dependence*, 3, 143-145.

68. GRECHKIN, A., 1998, Recent developments in biochemistry of the plant lipoxygenase pathway, *Progress in Lipid Research*, 37, 317-352.
69. SHOBHA, S.V., RAMADOSS, C.S., RAVINDRANATH, B., 1994, Inhibition of soybean lipoxygenase-1 by anacardic acids, cardols and cardanols, *Journal of Natural Products*, 57, 1755-1757.
70. BAYSAL, T., DEMIRDOVEN, A., 2007, Lipoxygenase in fruits and vegetables: A review, *Enzyme and Microbial Technology*, 40, 491-496.
71. LEE, S.J., CHOI, J.H., SON, K.H., CHANG, H.W., KANG, S.S., KIM, H.P., 1995, Suppression of mouse lymphocyte proliferation *in vitro* by naturally-occurring biflavonoids, *Life Sciences*, 57, 551-558.
72. KWAK, W.J., HAN, J.K., CHANG, H.W., KANG, S.S., PARK, B.K., KIM, H.P., 2002, Effects of ginkgetin from ginkgo biloba leaves on cyclooxygenases and *in vivo* skin inflammation, *Planta Medicine*, 68, 316-321.
73. HARBORNE J.B., WILLIAMS C.A., 2000, Advances in flavonoids research since 1992, *Phytochemistry*, 55, 481-504.
74. MUROTA, K., TERAOKA, J., 2003, Antioxidative flavonoid quercetin: implication of its intestinal absorption and metabolism, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 417, 12-17.
75. COMPS, G.F. Jr, COMPS, S.B., 1984, The nutritional biochemistry of selenium, *Annual Review of Nutrition*, 4, 257-280.
76. WILLS, E.D., 1987, Evaluation of lipid peroxidation in lipids and biological membranes. In: Snell K, Mullock B (ed). *Biochemical Toxicology. A Practical Approach*. Practical Approach Series, IRL Press, Oxford.
77. GONZALEZ-GALLEGO, J., GARCIA-MEDIAVILLA, M.V., SANCHEZ-CAMPOS, S., TUNON, M.J. 2010, Fruit polyphenols, immunity and inflammation, *British Journal of Nutrition*, 104, S15-S27.
78. LAUTRAITE, S., MUSONDA, A.C., DOEHMER, J., EDWARDS, G.O., CHIPMAN, J.K., 2002, Flavonoids inhibit genetic toxicity produced by carcinogens in cells expressing CYP1A2 and CYP1A1, *Mutagenesis*, 17, 45-53.
79. BRISDELLI, F., COCCIA, C., CINQUE, B., CIFONE, M.G., BOZZI, A., 2007, Induction of apoptosis by quercetin: different response of human chronic myeloid (K562) and acute lymphoblastic (HSB-2) leukemia cells, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 296, 137-149.
80. RASO, G.M., MELI, R., DI CARLO, G., PACILIO, M., DI CARLO, R., 2001, Inhibition of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expression by flavonoids in macrophage J774A.1, *Life Sciences*, 68, 921-931.

81. LE MARCHAND, L., MURPHY, S.P., HANKIN, J.H., WILKENS, L.R., KOLONEL, L.N., 2000, Intake of flavonoids and lung cancer, *Journal of the National Cancer Institute*, 92, 154-160.
82. BOLKENT, S., YANARDAG, R., BOLKENT, S., DÖGER, M.M., 2004, Beneficial effects of combined treatment with niacin and chromium on the liver of hyperlipemic rats, *Biological Trace Element Research*, 101, 219-229.
83. LIU, L., YEH, Y.Y., 2002, S-alk(en)yl cysteines of garlic inhibit cholesterol synthesis by deactivating HMG-CoA reductase in cultured rat hepatocytes, *The Journal of Nutrition*, 132, 1129-1134.
84. OZKAN, M., KIRCA, A., CEMEROGLU, B. 2004, Effects of hydrogen peroxide on the stability of ascorbic acid during storage in various fruit juices, *Food Chemistry*, 88, 591-597.
85. ZIBOH, V.A., 1989, Implications of dietary oils and polyunsaturated fatty acids in the management of cutaneous disorders. *Archives of Dermatology*, 125, 241-245.
86. SINGH, S., MAJUMDAR, D.K., 1999, Evaluation of the gastric antiulcer activity of fixed pil of *Ocimum sanctum* (Holy Basil), *Journal of Ethnopharmacology*, 65, 13-19.
87. WHITEHEAD, I.M., MULLER, B.L., DEAN, C., 1995, Industrial use of soybean lipoxygenase for the production of natural green note flavor compounds, *Cereal Foods World*, 40, 193-197.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Emine YILDIZ

Doğum Tarihi :12.02.1984

Doğum Yeri : Denizli

Öğrenim Durumu

İlk Okul : Gazi İlkokulu 1991-1995

Orta Okul : Denizli Anadolu Lisesi 1996-1999

Lise : Denizli Anadolu Lisesi 2000-2002

Yüksek Öğrenim : İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Kimya Bölümü 2002-2006

Yüksek Lisans : İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Programı 2006-2010

Yüksek Lisans Tezi Konusu: Lipoksijenaz'ın Bazı Bitkiler Tarafından İnhibisyonu

Bildiği Yabancı Dil : İngilizce