

**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

***ECHINOPS BORAE* VE *ECHINOPS PUNGENS*  
TÜRLERİNİN ANTİENZİM VE ANTİOKSİDAN  
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

**Hazırlayan  
Begüm BİRGÜL**

**Danışmanlar  
Prof. Dr. Cem VURAL  
Dr. Öğr. Üyesi Handan ŞAPCI SELAMOĞLU**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Ocak 2023  
KAYSERİ**



**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

***ECHINOPS BORAE* VE *ECHINOPS PUNGENS*  
TÜRLERİNİN ANTİENZİM VE ANTİOKSİDAN  
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

**(Yüksek Lisans Tezi)**

**Hazırlayan  
Begüm BİRGÜL**

**Danışmanlar  
Prof. Dr. Cem VURAL  
Dr. Öğr. Üyesi Handan ŞAPCI SELAMOĞLU**

**Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi  
tarafından FYL-2021-11067 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Ocak 2023  
KAYSERİ**

## **BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK**

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Begüm BİRGÜL

10/2021

**“*Echinops borae* ve *Echinops pungens* Türlerinin Antienzim ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi.”** adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ ne uygun olarak hazırlanmıştır.

**Hazırlayan**

Begüm BİRGÜL

**Danışman**

Prof. Dr. Cem VURAL

**İkinci Danışman**

Dr. Öğr. Üyesi Handan ŞAPCI SELAMOĞLU

**Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı**

Prof. Dr. Abdurrahman AYVAZ

İmza

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca bilimsel katkılarıyla beni aydınlatan, her türlü fedakârlığı ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Cem VURAL'a teşekkürlerimi sunarım.

Bilgi birikimi ve deneyimleri ile bana destek olan, tezimin tüm aşamalarında her koşulda bana yol gösteren kendime her zaman yakın hissettiğim değerli ikinci danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Handan ŞAPCI SELAMOĞLU'na teşekkür ederim.

Saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Servet ÖZCAN ve Prof. Dr. Coşkun TEZ'e çalışmalarına yaptığı değerli katkılarından dolayı teşekkür ederim. Tez çalışmalarım sürecinde yardımlarını esirgemeyen ve destek olan Dr. Mustafa Burak ACAR'a teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım süresince yanımda olan ve desteğini esirgemeyen arkadaşlarım Eda MERT GÖKDUMAN, Zeynep GÜNAYDIN, Fatih ÖMERLİ, Melis GÜZEL'e ve ekip arkadaşım Şirin KARDAŞ'a teşekkür ederim.

Her koşulda yanımda hissettiğim, varlıklarıyla hayatımı mutlu kılan ve bu günlere gelmemde en büyük destekçim olan babam İsmail BİRGÜL, annem Leman BİRGÜL ve abim Ümit BİRGÜL'e bana olan inançlarını hiç yitirmedikleri için sonsuz teşekkür ederim.

Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne bu tez çalışması için sağladıkları finansal destek için (Proje No: FYL-2021-11067) teşekkür ederim.

Begüm BİRGÜL

Ocak, 2023 KAYSERİ

# ***ECHINOPS BORAE* VE *ECHINOPS PUNGENS* TÜRLERİNİN ANTİENZİM VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

**Begüm BİRGÜL**

**Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü**

**Yüksek Lisans Tezi, Ocak 2023**

**Danışman: Prof. Dr. Cem VURAL, İkinci Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Handan ŞAPCI SELAMOĞLU**

## **ÖZET**

Bu çalışmada, Türkiye’de doğal olarak yayılış gösteren *Echinops pungens* ve endemik olan *Echinops borae* türlerinin antioksidan özellikleri ve antienzim inhibitör etkileri belirlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla, *E. borae* ve *E. pungens* türlerinin toprak altı ve toprak üstü kısımlarının su, metanol, kloroform ve hekzan çözücülerini kullanılarak ekstraksiyonu yapılmıştır. Bitkisel ekstraktların antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde fenolik madde içeriği ve DPPH (2,2-difenil-1-1-pikrilhidrozil) serbest radikali giderme aktivitesini içeren metodlar uygulanmıştır. Enzim inhibitör etkilerinin araştırılması için antielastaz ve antikollajenaz aktiviteleri incelenmiştir. Ayrıca çalıştığımız türlere ait ekstraktların içeriğinde bulunan moleküllerin belirlenmesi için GC-MS analizi de yapılmıştır. Sonuç olarak, *Echinops borae* ve *E. pungens* türlerinin antioksidan ve antienzim aktivitelerinin yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu türlerin antioksidan ve antienzim kaynağı yanında; antifungal, antibakteriyel, antitümör ve antiartritik kaynağı da olabileceği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Asteraceae, Compositae, *Echinops*, Elastaz, Kollajenaz, Antioksidan, GC-MS

**DETERMINATION OF ANTIENZYME AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF  
*ECHINOPS BORAE* AND *ECHINOPS PUNGENS***

**Begüm BİRGÜL**

**Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences**

**Master Thesis, January 2023**

**Advisor: Dr. Cem VURAL, Second Advisor: Dr. Handan ŞAPCI SELAMOĞLU**

**ABSTRACT**

In this study, we have tried to determine the antioxidant properties and antienzyme inhibitory effects of naturally occurring *Echinops pungens* and endemic *Echinops borae* species in Turkey. To this end, the belowground and aboveground parts of *E. borae* and *E. pungens* species were extracted using water, methanol, chloroform and hexane solvents. Methods including phenolic content and DPPH (2,2-diphenyl-1-1-picrylhydroyl) free radical scavenging activity were used to determine the antioxidant capacity of herbal extracts. Antielastase and anticollagenase activities were used to investigate the enzyme inhibitory effects. In addition, GC-MS analysis was performed to determine the molecules contained in the extracts of those species. As a result, the antioxidant and antienzyme activities of *Echinops borae* and *E. pungens* species were found high increased. In addition to the antioxidant and antienzyme source of these species; we concluded that they may also be an antifungal, antibacterial, antitumor and antiarthritic sources.

**Keywords:** Asteraceae, Compositae, *Echinops*, Elastase, Collagenase, Antioxidant, GC-MS

## İÇİNDEKİLER

### ***ECHINOPS BORAE* VE *ECHINOPS PUNGENS* TÜRLERİNİN ANTİENZİM VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

|                              |      |
|------------------------------|------|
| BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK..... | ii   |
| YÖNERGEYE UYGUNLUK.....      | ii   |
| TEŞEKKÜR .....               | v    |
| ÖZET .....                   | vi   |
| ABSTRACT .....               | vii  |
| İÇİNDEKİLER.....             | viii |
| KISALTMALAR ve SİMGELER..... | x    |
| TABLolar LİSTESİ.....        | xii  |
| ŞEKİLLER LİSTESİ .....       | xiii |
| GİRİŞ .....                  | 1    |

## 1. BÖLÜM

### GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

|                                                                                         |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.1. Tıbbi Bitkiler ve Kullanım Alanları .....                                          | 4  |
| 1.2. Asteraceae Familyası Hakkında Genel Bilgiler .....                                 | 5  |
| 1.3. <i>Echinops</i> Cinsinin Genel Özellikleri.....                                    | 5  |
| 1.4. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar.....                                          | 7  |
| 1.4.1. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Türleri .....                              | 7  |
| 1.4.2. Antioksidanlar .....                                                             | 10 |
| 1.5. Fenolik Bileşikler.....                                                            | 14 |
| 1.6. Antioksidan Aktivitesi.....                                                        | 18 |
| 1.6.1. 2,2-difenil-1- pikrilhidrazil (DPPH) Serbest Radikal Süpürme<br>Aktivitesi ..... | 19 |
| 1.6.2. FolinCiocalteu (FCR) Reaktifi ile toplam fenolik madde yöntemi.....              | 20 |
| 1.7. Enzimler .....                                                                     | 21 |
| 1.7.1. Elastaz Enzimi.....                                                              | 23 |
| 1.7.2. Kollajenaz Enzimi.....                                                           | 25 |

## 2. BÖLÜM

### YÖNTEM VE MATERYAL

|                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------|----|
| 2.1. Bitkisel Materyal ve Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması ..... | 26 |
| 2.2. Antioksidan Aktivite Testleri.....                          | 26 |
| 2.2.1. Total Fenolik İçeriğinin Belirlenmesi.....                | 26 |
| 2.2.2. DPPH Radikali Süpürücü Aktivite Tayini.....               | 26 |
| 2.3. Enzim İnhibisyon Testleri.....                              | 27 |
| 2.3.1. Elastaz Enzim İnhibisyon Tayini .....                     | 27 |
| 2.3.2. Kollajenaz Enzim İnhibisyon Tayini.....                   | 27 |
| 2.4. GC-MS Analizi .....                                         | 28 |

## 3. BÖLÜM

### BULGULAR

|                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------|----|
| 3.1. Ekstraksiyon Verimi .....                                   | 29 |
| 3.2. Antioksidan Aktivitesine Ait Bulgular .....                 | 30 |
| 3.2.1. Total Fenolik Bileşik Miktarı Tayin Sonuçları .....       | 30 |
| 3.2.2. DPPH Radikali Süpürücü Aktivitelerinin Belirlenmesi ..... | 35 |
| 3.3. Enzim İnhibisyonTayinlerine Ait Bulgular.....               | 41 |
| 3.3.1. Elastaz İnhibe Edici Aktivite Tayin Sonuçları.....        | 41 |
| 3.3.2. Kollajenaz İnhibe Edici Aktivite Tayin Sonuçları.....     | 46 |
| 3.4. GC-MS Sonuçları .....                                       | 51 |

## 4. BÖLÜM

### TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER

|                                   |    |
|-----------------------------------|----|
| 4.1. Tartışma .....               | 64 |
| 4.1.1. Antioksidan Aktivite ..... | 65 |
| 4.1.2. Enzim Aktivitesi.....      | 67 |
| 4.1.3 GC- MS analizi.....         | 70 |
| 4.2. Sonuç ve Öneriler .....      | 70 |
| KAYNAKÇA.....                     | 73 |
| ÖZGEÇMİŞ .....                    | 86 |

## KISALTMALAR ve SİMGELER

|                                 |                                                 |
|---------------------------------|-------------------------------------------------|
| AST                             | : Aspartatamino transferaz                      |
| ATP                             | : Adenozintrifosfat                             |
| BHA                             | : Bütillenmiş hidroksianisal                    |
| BHT                             | : Bütillenmiş hidroksitoluen                    |
| CoA                             | : Kolinin asetil                                |
| DMSO                            | : Dimetil sülfoksit                             |
| DNA                             | : Deoksiribo nükleik asit                       |
| DPPH                            | : 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil                  |
| EAC                             | : Ehrlichs ascites karsinoma                    |
| EDTA                            | : Etilendiamin tetraasetik asit                 |
| ET                              | : Elektron transferine dayanan yöntemler        |
| FAD                             | : Flavın Adenin Dinükleotit                     |
| FCR                             | : Folin-Ciocalteu                               |
| FRAP                            | : Ferrik iyonu indirgeme antioksidan güç ölçümü |
| GAE                             | : Gallik asit eşdeğeri                          |
| GC-MS                           | : Gaz kromatografisi- Kütle spektrometresi      |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>   | : Hidrojen peroksit                             |
| HAT                             | : Hidrojen transferine dayanan yöntemler        |
| HEPES                           | : hydroxyethyl-piperazineethane-sulfonic acid   |
| HNO <sub>2</sub>                | : Nitrik Asit                                   |
| HNO <sub>2</sub>                | : Nitrik asit                                   |
| HO                              | : Hidroperoksil                                 |
| HOB <sub>r</sub>                | : Hipobromöz asit                               |
| HOCl                            | : Hipokloröz asit                               |
| IUBMB                           | : Uluslararası Biyokimya ve Moleküler biyoloji  |
| LC-MS                           | : Sıvı kromatografisi- kütle spektrometresi     |
| LOO                             | : Lipidperoksil                                 |
| LOOH                            | : Lipit Peroksit                                |
| N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>   | : Dinitrojen trioksit                           |
| Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> | : Sodyum karbonat                               |
| NAD <sup>+</sup>                | : Nikotinamid adenin dinükleotit                |
| NO                              | : Nitrikoksit                                   |

|                    |                                                 |
|--------------------|-------------------------------------------------|
| NO <sub>2</sub>    | : Nitrojen dioksit                              |
| NO <sub>2</sub> Cl | : Nitriklorid                                   |
| O <sub>2</sub>     | : Süperoksit                                    |
| O <sub>3</sub>     | : Ozon                                          |
| OH                 | : Hidroksil                                     |
| ONOO               | : Peroksinitrit                                 |
| ORAC               | : Oksijen radikal absorbans kapasitesi          |
| PG                 | : Propilgollat                                  |
| RNS                | : Reaktif Nitrojen Türleri                      |
| RO                 | : Alkoksil                                      |
| ROO                | : Peroksil                                      |
| ROS                | : Reaktif Oksijen Türleri                       |
| TBHQ               | : Tersiyer Bütilhidrokinan                      |
| TEAC               | : Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite ölçümü  |
| TPP                | : Toplam partikül fosfor                        |
| TRAP               | : Total radikal yakalama antioksidan kapasitesi |

## TABLOLAR LİSTESİ

|                                                                                                                                                          |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 1.1: Reaktif oksijen türleri (ROS).....                                                                                                            | 8  |
| Tablo 1.2. Reaktif nitrojen türleri (RNS).....                                                                                                           | 9  |
| Tablo 1.3. Enzimlerin uluslararası sınıflandırılması.....                                                                                                | 23 |
| Tablo 2.1. <i>Echinop borae</i> ve <i>Echinops pungens</i> türlerine ait örneklerin lokasyonları...                                                      | 26 |
| Tablo 3.1. <i>Echinops borae</i> türüne ait örneğin ekstraksiyon sonuçları.....                                                                          | 29 |
| Tablo 3.2. <i>Echinops pungens</i> türüne ait örneğin ekstraksiyon sonuçları.....                                                                        | 30 |
| Tablo 3.3. <i>Echinops borae</i> türüne ait örneğinin fenolik içerik sonuçları .....                                                                     | 31 |
| Tablo 3.4. <i>Echinops pungens</i> türüne ait örneğinin fenolik içerik sonuçları.....                                                                    | 33 |
| Tablo 3.5. <i>Echinops borae</i> türüne ait örneğinin DPPH süpürme aktivitesi sonucu ve % 50 inhibisyon değerleri (mg/ml).....                           | 36 |
| Tablo 3.6. <i>Echinops pungens</i> türüne ait örneğin DPPH süpürme aktivitesi sonucu ve % 50 inhibisyon değerleri (mg/ml).....                           | 39 |
| Tablo 3.7. <i>Echinops borae</i> türüne ait örneğin elastaz enzimi üzerindeki % elastaz inhibisyonu ve IC50 değerleri (µg/ml) .....                      | 42 |
| Tablo 3.8. <i>Echinops pungens</i> türüne ait örneğinin elastaz enzimi üzerindeki % elastaz inhibisyonu ve IC50 değerleri (µg/ml) .....                  | 44 |
| Tablo 3.9. <i>Echinops borae</i> türüne ait örneğin kollajenaz enzimi üzerindeki % kollajenaz inhibisyonu ve IC50 değerleri (µg/ml) .....                | 47 |
| Tablo 3.10. <i>Echinops pungens</i> türüne ait örneğin kollajenaz enzimi üzerindeki % kollajenaz inhibisyonu ve IC50 değerleri (µg/ml).....              | 49 |
| Tablo 3.11. <i>Echinops borae</i> türüne ait örneğin toprak altı kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ekstraktlerinin GC-MS analiz sonuçları.....   | 51 |
| Tablo 3.12. <i>Echinops borae</i> türüne ait örneğin toprak üstü kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ekstraktlerinin GC-MS analiz sonuçları.....   | 54 |
| Tablo 3.13. <i>Echinops pungens</i> türüne ait örneğin toprak altı kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ekstraktlerinin GC-MS analiz sonuçları..... | 56 |
| Tablo 3.14. <i>Echinops pungens</i> türüne ait örneğin toprak üstü kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ekstraktlerinin GC-MS analiz sonuçları..... | 59 |
| Tablo 3.16. GC-MS sonuçlarına göre elde edilenler arasında literatürde etkisi bilinen bileşikler .....                                                   | 61 |

## ŞEKİLLER LİSTESİ

|                                                                                                          |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1.1. <i>Echinops boraе</i> 'ye ait fotoğraf .....                                                  | 6  |
| Şekil 1.2. <i>Echinops pungenѕ</i> 'e ait fotoğraf .....                                                 | 7  |
| Şekil 1.3. Antioksidanların hücreѕel etki mekanizmasının şematik gösterimi,.....                         | 10 |
| Şekil 1.4. Antioksidanların sınıflandırılması.....                                                       | 11 |
| Şekil 1.5. Sentetik antioksidanların kimyasal yapısı .....                                               | 12 |
| Şekil 1.6. C vitamini (askorbik asit) kimyasal yapısı .....                                              | 12 |
| Şekil 1.7. Tokoferoller ve tokotrienollerin kimyasal yapısı.....                                         | 13 |
| Şekil 1.8. Karotenoidlerin kimyasal yapısı .....                                                         | 14 |
| Şekil 1.9. Fenolik bileşiklerin temel grupları .....                                                     | 15 |
| Şekil 1.10. Benzoik asit ve hidroksisinnamik asit türevleri .....                                        | 15 |
| Şekil 1.11. Stilbenlerin genel yapısı .....                                                              | 16 |
| Şekil 1.12. Lignan yapısı.....                                                                           | 16 |
| Şekil 1.13. Flavonoidlerin sınıflandırılması .....                                                       | 17 |
| Şekil 1.14. Bir antioksidan tarafından DPPH radikalinin indirgenmesi .....                               | 20 |
| Şekil 1.15. Gallik asitin folinciocalteu rekatifi ile reaksiyonu .....                                   | 21 |
| Şekil 1.16. Genel enzim çalışma prensibi .....                                                           | 22 |
| Şekil 1.17. Elastin proteinin yapısı .....                                                               | 24 |
| Şekil 1.18. Domuz pankreatik elastaz enziminin kristal yapısı.....                                       | 25 |
| Şekil 1.19. Kollajenaz enziminin yapısı.....                                                             | 26 |
| Mor renkli alan: enzim, Yeşil renkli alan: aktif bölge, Gri renkli alan: İnhibitör .....                 | 26 |
| Şekil 3.1. Gallik asit standart eğrisi .....                                                             | 30 |
| Şekil 3.2. <i>Echinops boraе</i> türüne ait örneğinin toprak altı kısmının fenolik içerik grafiğı.....   | 32 |
| Şekil 3.3. <i>Echinops boraе</i> türüne ait örneğinin toprak üstü kısmının fenolik içerik grafiğı.....   | 33 |
| Şekil 3.4. <i>Echinops pungenѕ</i> türüne ait örneğinin toprak altı kısmının fenolik içerik grafiğı..... | 34 |

|                                                                                                                                                                                                |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 3.5. <i>Echinops pungens</i> türüne ait örneğinin toprak üstü kısmının fenolik içerik grafiği.....                                                                                       | 35 |
| Şekil 3.6. <i>Echinops boraе</i> türüne ait örneğin toprak altı kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen ekstrelerinin DPPH radikali süpürme aktivite sonuçları.....          | 37 |
| Şekil 3.7. <i>Echinops boraе</i> türüne ait toprak üstü kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen ekstrelerinin DPPH radikali süpürme aktivite sonuçları .....                 | 38 |
| Şekil 3.8. <i>Echinops pungens</i> türüne ait örneğinin toprak altı kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen ekstrelerinin DPPH radikali süpürme aktivite sonuçları .....     | 40 |
| Şekil 3.9. <i>Echinops pungens</i> türüne ait örneğinin toprak üstü kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen ekstrelerinin DPPH radikali süpürme aktivite sonuçları .....     | 41 |
| Şekil 3.10. <i>Echinops boraе</i> türüne ait toprak altı kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen ekstrelerinin konsantrasyon % elastaz inhibisyon grafiği .....              | 43 |
| Şekil 3.11. <i>Echinops boraе</i> türüne ait örneğinin toprak üstü kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen ekstrelerinin konsantrasyon % elastaz inhibisyon grafiği.....     | 44 |
| Şekil 3.12. <i>Echinops pungens</i> türüne ait örneğin toprak altı kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen ekstrelerinin konsantrasyon % elastaz inhibisyon grafiği.....     | 45 |
| Şekil 3.13. <i>Echinops pungens</i> türüne ait örneğin toprak üstü kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen ekstrelerinin konsantrasyon -% elastaz inhibisyon grafiği.....    | 46 |
| Şekil 3.14. <i>Echinops boraе</i> türüne ait örneğin toprak altı kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen ekstrelerinin konsantrasyon -% kollajenaz inhibisyon grafiği.....   | 48 |
| Şekil 3.15. <i>Echinops boraе</i> türüne ait örneğin toprak üstü kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen ekstrelerinin konsantrasyon -% kollajenaz inhibisyon grafiği.....   | 49 |
| Şekil 3.16. <i>Echinops pungens</i> türüne ait toprak altı kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen ekstrelerinin konsantrasyon -% kollajenaz inhibisyon grafiği....          | 50 |
| Şekil 3.17. <i>Echinops pungens</i> türüne ait örneğin toprak üstü kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen ekstrelerinin konsantrasyon -% kollajenaz inhibisyon grafiği..... | 51 |

Şekil 3.18. *Echinops borae* türüne ait örneğin toprak altı kısımlarının GC-MS standart kromatogramı A: Su ekstresi, B: Metanol ekstresi, C: Kloroform ekstresi, D: Hekzan ekstresi ..... 53

Şekil 3.19. *Echinops borae* türüne ait örneğin toprak üstü kısımlarının GC-MS standart kromatogramı A: Su ekstresi, B: Metanol ekstresi, C: Kloroform ekstresi, D: Hekzan ekstresi ..... 55

Şekil 3.20. *Echinops pungens* türüne ait örneğin toprak altı kısımlarının GC-MS standart kromatogramı A: Su ekstresi, B: Metanol ekstresi, C: Kloroform ekstresi, D: Hekzan ekstresi..... 58

Şekil 3.21. *Echinops pungens* türüne ait örneğin toprak üstü kısımlarının GC-MS standart kromatogramı A: Su ekstresi, B: Metanol ekstresi, C: Kloroform ekstresi, D: hekzan ekstresi..... 60

## GİRİŞ

İnsan vücudu, hücre içi reaksiyonları sırasında bir kısım etken maddelerin yardımıyla metabolik ve patolojik olayların bir yan ürünü olarak aktif oksijen yapılarını oluşturmaktadır. Oluşan bu yapılar; DNA, karbonhidrat, lipit ve proteinde yapısal olarak bozulmalara yol açmaktadırlar. Örnek olarak hidroksil radikali DNA ile etkileşim sonucu pürin ve pirimidin bazlarının hasarı sebebiyle DNA iskeletin zararlar meydana gelmektedir. Radikallerin fazla oluşması “oksidatif stres” olarak adlandırılmakta ve kanser, kardiovasküler hastalıklar gibi kronik hastalıklara ve yaşlanmaya sebep olmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1995; Tavman vd., 2009; Zhang vd., 2015; Kaczorova vd., 2021).

Serbest radikallerin oluşumunu ve zararlı etkilerini önlemek için insanlarda büyük öneme sahip maddeler antioksidanlardır (Fang vd., 2002). Antioksidanlar, serbest radikal süpürücü, peroksit parçalayıcı ve enzim inhibitörü olarak görev yapmaktadır (Koca, 2007). Antioksidanlar, serbest radikallerin olumsuz etkilerini ve lipoproteinlerin oksidasyonunu engelleyerek insan sağlığı üzerinde pozitif etki göstermektedirler. Bu sebepten dolayı doğal antioksidanlara olan ilgi giderek artmıştır (Kafkas vd., 2006). Sentetik antioksidanların ise kanserojen ve toksik olabileceği yapılan araştırmalarda ortaya konmuş ve bu araştırmalar sonucunda sentetik antioksidanların kullanımları azalmıştır (Köksal, 2007; Yağcı vd., 2008).

Enzimler proteinlerin en kalabalık sınıfında bulunan ve kendilerine özgü üç boyutlu yapıya sahip moleküllerdir. Enzimler katalizör etkileri nedeniyle hücrede meydana gelen tepkimelerin hızını, yapılarında herhangi bir değişiklik olmadan düzenlemektedirler (Voet ve Voet, 2000). Enzim aktivitesini sonlandıran veya aktivite hızını yavaşlatan maddeler inhibitör olarak adlandırılmaktadır (Güner, 2007). İnhibitörün etkisi sonucu enzim aktivitesinde azalma meydana gelmektedir ve buna inhibisyon denilmektedir. Enzim inhibitörleri ve enzimler; tıpta, gıda endüstrisi,

kozmetik sanayi, tarım sanayi ve pestisit üretiminde kullanılmaktadır (Friedman, 1996). Sağlık için önemli olan antioksidanlar ile oksidan dengesi, fazla oksitativ strese dolaylı olarak bozulmaktadır. Bu bozulma sonucu elastin ve kollajen yıkımı da görülmektedir (Thring vd., 2009).

Elastin, bağ dokuda elastikiyet (esneklik) sağlayan önemli hücre dışı matriks proteindir. Derinin dermis tabakasında elastin liflerini oluşturmaktadır. Elastin liflerinde meydana gelen hasar, cilt esnekliğinde azalmalara neden olmaktadır. Elastaz, elastin proteinini parçalayan serin proteaz enzimidir. Elastaz enzimi elastin dışında kollajen, ve diğer hücrelerarası matriks proteinlerini de parçalayabilmektedir (Thring vd., 2009). Elastin proteini; en fazla akciğer, arter, cilt ve bağ dokuda bulunmaktadır. Bu sebeple elastaz aktivitesinin inhibisyonu, cilt yaşlanmasına karşı koruma sağlamak için bir yöntem olarak kullanılabilmektedir (Kim vd., 2009). Hayati organlar, dokuları esnek olması gereken bitkiler birçok biyoaktif bileşen açısından zengin kaynaklardır. İnsanlar birçok hastalığın tedavisi için bitkileri kullanmakta ve onlara güvenmektedir (Aktümsek vd., 2018). Tıbbi bitkiler olarak da isimlendirilen bu bitkiler arasında Asteraceae/Papatyagiller familyası oldukça önemli bir yer tutmaktadır. Asteraceae familyasının Dünya çapında Akdeniz, Asya ve Doğu Avrupa'da yaklaşık 1535 cins ve 25.000 türü bulunmaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda Asteraceae familyasına ait türlerin analjezik, antidiyabetik, antibakteriyel, antioksidan, antienflamatuvar, antipiretik ve antitümör potansiyellerinin olduğu gösterilmiştir. (Erugur vd., 2019).

*Echinops boraie* ve *E. pungens*, Asteraceae (Compositae/papatyagiller) familyasına ait ülkemizde yayılış gösteren türlerdendir. *Echinops boraie* Türkiye için endemik bir tür iken, *E. pungens* Türkiye'de geniş yayılışa sahiptir. Ülkemizde sırasıyla "oğul topuzu" ve "bongıl" olarak adlandırılmaktadır. Literatürde bu türlere ait antioksidan ve antienzim çalışmalarına rastlanmamıştır.

Bu çalışmada, ülkemizde geniş yayılış gösteren *E. pungens* ve endemik bir tür olan *E. boraie*'nin antioksidan aktivitelerinin ve enzim inhibitör etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda bitkilerin su, metanol, kloroform ve hekzan ekstraktlarının fenolik madde miktarları, antioksidan aktiviteleri, elastaz ve kollajenaz inhibe edici etkileri ölçülerek anti-aging aktiviteleri ve gaz kromatografi-kütle spektrometresi (GS-MS) yöntemi ile kimyasal içerikleri de belirlenmiştir. Yapılan

literatür taramasında bu türlerin aktioksidan aktiviteleri ve enzim inhibitör etkileri ile ilgili bir çalışmaya rastlanmaması; bu çalışmanın önemini daha da artırmıştır. Bu çalışma tıp, eczacılık, gıda ve kozmetik alanlarında kullanılabilecek doğal kaynakların tespitine de katkı sağlayacaktır.



## 1. BÖLÜM

### GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

#### 1.1.Tıbbi Bitkiler ve Kullanım Alanları

İnsanlar geçmişten bugüne kadar beslenmek, ısınmak, barınmak ve hastalıkları tedavi etmek amacıyla bitkilerden faydalanmışlardır. Kök, gövde, yaprak gibi kısımlarından elde edilen özütleri tedavi edici ajan olarak kullanılan bitkiler ‘Tıbbi Bitkiler’ olarak adlandırılmaktadır. Dünyada yaklaşık 450.000 bitki türü bulunmakta ve bu bitkilerin 70.000’e yakını, Türkiye’de ise 12.000’den fazla bitki türünden yaklaşık 600’e yakını tıbbi bitki bilinmektedir (Güner, 2012). Günümüzde birçok alanda hammadde olarak kullanılabilen sekonder metabolitler, çeşitli hastalıkların tedavisi için kullanılarak ilaçların önemli kaynağı haline gelmiştir. Bitkilerin genellikle kök, gövde, yaprak ve çiçek gibi farklı bölgelerinde bulunan, bitkiyi koruma, taşınma, üreme ve çevreyle adaptasyonunu sağlama gibi faaliyetlerden sorumlu olan organik bileşenler sekonder metabolitler olarak adlandırılmaktadır. Sekonder metabolitler, bitkilerin temel yaşamsal işlevleriyle doğrudan ilişkili olmamasına rağmen primer metabolitler kadar önemlidir. Bitkiler, terapötik etkinin yanı sıra ziraat, kozmetik, boya, baharat, gıda, eczacılık ve fitoterapi gibi alanlarda da ham madde olarak sıkça kullanılmaktadır (Hakverdi ve Yiğit, 2017). 2000’li yıllardan sonra özellikle sentetik yollarla üretilen ilaçların yan etkilerinin yüksek olması nedeniyle doğal bitkilere yönelim artmıştır. Günümüzde ise ilaç etken maddelerinin %40’nın bitkisel kaynaklı oldukları bilinmektedir (Dişli ve Yeşilada, 2019). Ayrıca sekonder metabolit olan fenolik bileşiklerin insan sağlığı üzerine olumlu etkilerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar son zamanlarda büyük önem kazanmıştır (Gürel, 2001).

## 1.2. Asteraceae Familyası Hakkında Genel Bilgiler

Çiçekli bitkiler içinde en büyük familyaya sahip olan Asteraceae familya türleri dünyada kozmopolit bir yayılım göstermektedir (Vural ve Dadandı, 2010). Özellikle Akdeniz Bölgesi, Orta Asya, Güneybatı Asya, Meksika, And Dağları ve Avustralya'da yoğun şekilde bulunmaktadır (Pınar, 2016). Dünyada yaklaşık olarak 1000 cins ve 50.000' den fazla türü bulunmaktadır. Ülkemizde ise 138 cins ve 1156'dan fazla türle temsil edilmektedir (Vural, 2012).

Asteraceae familya üyeleri, rizomlu çok yıllık otsu, yeşil çalı ya da yarı çalılardır. Tuberli ya da kazık köklü çok yıllık, iki yıllık ve tek yıllık otsulara da çok sık rastlanmaktadır. Epifitler, sucul ağaçsılar ve büyük ağaçlara nadir bulunmaktadır. Bazıları gerçek tırmanıcı, sarılıcı ya da sukkulenttir. Familyanın adı yıldız şeklinde çiçekleri bulunan *Aster* cinsinden gelmektedir. Familya üyelerinin çiçek durumu kompozit yapıdadır. Yapraklar basit veya bileşik, alternat, rozet, stipulsuz şeklindedir. Çiçekler baş veya kapitulum durumlarındadır. Kapitulumun çevresi 1-çok serili involukrumbrakteler ile örtülmüş, ışmsal veya zigomorf simetricali, erdişi veya tek eşeylidir. Kaliks çoğunlukla papus halini almış veya yoktur. Korolla 2 şekilde tüpsü veya dilsli; tüpsü korolla uçta belirgin 5 dişli, dilsli korolla 3-5 dişli veya diğer dişler belirgin değildir. Petaller 4-5 birleşiktir. Stamenler 5, petallere bağlı, flamenler serbest, anterler birleşiktir. Pistil 1, ovaryum alt durumlu, 2 karpelli, ovül tek, anatrop, tek lokuslu, plasentasyon bazaldır. Meyve aken ve ucunda genellikle bir papus veya kaliks kalıntısı taşımaktadır. (Vural ve Dadandı, 2010).

## 1.3. *Echinops* Cinsinin Genel Özellikleri

Son kayıtlara göre *Echinops* cinsi Türkiye'de 28 takson ile temsil edilmektedir (Vural, 2012). *Echinops* cinsine ait 28 taksonun 9 adedi Türkiye için endemiktir ve cinsin endemizm oranı %32 dır. *Echinops* cinsi dünyada yaklaşık 130 türle temsil edilmektedir. Genellikle kuzey yarım kürede olmak üzere en fazla tropik Afrika'nın yarı nemli alanları, Akdeniz havzası, Kuzey Afrika'nın yarı kurak alanları ve Orta Asya'ya kadar Avrasya'nın ılıman kuşağında yayılım göstermektedir. Bu cinse ait örnekler genellikle tek yıllık veya çok yıllık bitkilerdir (Vural ve Dadandı, 2010). Dik, dikenli ve sağlam gövdelidir. Yapraklar basit ya da 3-pinnatisekt, saplı ya da sapsız olabilmektedir. Çiçek durumu (kapitula) tek çiçekli ve kapitular küçük braketlerle

çevrilidir. İnvolukrum brakteler kiremitsi birkaç dairede dizilmiş ya da arka arkaya dizilmiş pozisyonudur. Beş lopludur. Stigma 2 parçalı, stilusun üst kısmında tüysü yapılar taşıyan bir şişkinlik vardır. *Echinops* cins üyeleri genel olarak yol kenarlarında, kurak taşlık alanlarda, step alanlarında, insanların yaşama ortamlarına yakın bölgelerde ve dağlık alanlarda yayılış göstermektedir (Vural ve Dadandı, 2010).

*Echinops* cinsine ait türlerin geleneksel tıpta migren, hemoroid, kalp rahatsızlıkları ve ishal gibi bazı hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir. Ayrıca bazı Avrupa ülkelerinde peyzaj amaçlı özel olarak da üretildiği belirtilmiştir (Şapcı Selamoğlu ve Vural, 2018).

### ***Echinops borae***

*Echinops borae*, Mersin iline endemik olan bir türdür. 1-20 metre yükseklikte, kuru kalkerli kayalık yamaçlarda genellikle maki bitki örtüsünde yayılış göstermektedir. *Echinops borae* türü, aynı seksiyonda bulunan *E. orientalis*'ten gövde renginin yeşilimsi olması, fillari boyunun 25-30 mm ve fillari sayısının 15-20 adet olması sebebiyle ayrılmaktadır (Vural, 2012).



Şekil 1.1. *Echinops borae*'ye ait fotoğraf (Cem VURAL)

### *Echinops pungens*

*Echinops pungens* türü Doğu ve Orta Anadolu bölgesinde, 1100-2700 metre yükseklikte kalker kayalık alanlar, volkanik yamaçlar gibi alanlarda kozmopolit bir yayılışa sahiptir. *Echinops pungens* türü *Echinop* cinsi tür teşhis anahtarına göre *E. borae*'den en içteki fillarinin tabanda yarısına kadar birleşik olmasıyla kolaylıklar ayrılmaktadır (Vural, 2012).



Şekil 1.2. *Echinops pungens*'e ait fotoğraf (Cem VURAL)

## **1.4. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar**

### **1.4.1. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Türleri**

Oksijen insan yaşamı için çok önemlidir. Oksijen enerji üretimi için metabolik yollarda kullanıldığında vücutta serbest radikaller oluşmasına sebep olmaktadır (Valko vd., 2007). Serbest radikaller, mitokondri tarafından vücudun oksijen kullanımı sırasında sürekli üretilen, dış yörüngesinde bir veya birden fazla çift oluşturmamış elektron içeren sabit olmayan çok aktif moleküllerdir (Asif, 2015). Ayrıca mitokondri dışında endojen ve eksojen kaynaklardan da üretilmektedir (Karabulut ve Gülay, 2016a). Serbest radikal molekülleri, sürekli başka moleküllerle etkileşime girerek onların elektronlarını alıp diğer molekülleri de serbest radikal yapma özelliğine sahiptir. Bu özelliği sebebiyle

serbest radikal zincir reaksiyonunu başlatarak hücrelerin hasar görmesine neden olur. Özellikle hücreler için önemli olan karbonhidrat, lipit ve proteinler gibi organik bileşiklere olumsuz etkileri sonucu zarar verirler. Serbest radikallerin hücre zarından elektron alması zar yapısında bozulmaya sebep olur ve bu nedenle serbest radikallerin zararlarından en çok etkilenen yapı hücre zarıdır (Gökpınar vd., 2006). Vücudun savunma sistemi bu gibi durumlarda radikallere karşı savunmasız olmakta ve bu duruma “oksidatif stres” denilmektedir. Oksidatif stres, insanlarda yaşlanmaya ve ayrıca astım, diyabet, kanser, kalp-damar hastalıkları gibi birçok hastalığa sebep olmaktadır (Mates ve Sanchez-Jimenez 2000). Ayrıca aşırı radikal birikimi oksidatif strese bağlı hücre ölümüne yol açmaktadır (Alam vd. 2013; Altın vd. 2018).

Serbest radikallerden oksijen kaynaklı olanlar reaktif oksijen türleri (ROS) ve nitrojen kaynaklı olanlar reaktif nitrojen türleri (RNS) olarak adlandırılmaktadır (Valko vd., 2007). ROS, Alkoksil (RO), Hidroksil (OH), Peroksil (ROO), Süperoksit (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), Hidroperoksil (HO<sup>•</sup>), Lipidperoksil (LOO), radikalleri ve Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), hipobromöz asit (HOBr), Hipokloröz asit (HOCl), Singlet oksijen (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) ve Ozon (O<sub>3</sub>) nonradikal reaktif türleridir (Tablo 1.1). RNS ise; Nitrojen dioksit (NO<sub>2</sub>) ve nitrikoksit (NO) radikalleri ile Nitrik asit (HNO<sub>2</sub>), Nitriklorid (NO<sub>2</sub>Cl), Peroksinitrit (ONOO), Dinitrojen trioksit (N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) gibi nonradikalleridir (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Fang vd., 2002) (Tablo 1.2).

Tablo 1.1: Reaktif oksijen türleri (ROS)

| Radikaller     | Nonradikaller                                               |
|----------------|-------------------------------------------------------------|
| Alkoksil       | O <sup>2-</sup> Singlet oksijen <sup>1</sup> O <sup>2</sup> |
| Hidroperoksil  | OH Ozon O <sub>3</sub>                                      |
| Hidroksil      | ROO Hipokloröz asit HOCl                                    |
| Lipid peroksil | RO                                                          |
| Peroksil       | HO <sub>2</sub> Hipobromöz asit HOBr                        |
| Süperoksit     | LOO Hidrojen peroksit H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>         |

Tablo 1.2. Reaktif nitrojen türleri (RNS)

| Radikaller       |                     | Nonradikaller        |                        |
|------------------|---------------------|----------------------|------------------------|
| Nitrik oksit     | $\text{NO}^\cdot$   | Nitrik asit          | $\text{HNO}_2$         |
| Nitrojen dioksit | $\text{NO}_2^\cdot$ | Nitrosil katyonu     | $\text{NO}^+$          |
|                  |                     | Nitrosil anyonu      | $\text{NO}^-$          |
|                  |                     | Dinitrojen tetroksid | $\text{N}_2\text{O}_4$ |
|                  |                     | Peroksinitrit        | $\text{ONOO}$          |
|                  |                     | Peroksinitrit asit   | $\text{ONOOH}$         |
|                  |                     | Nitronyum katyonu    | $\text{NO}_2^+$        |
|                  |                     | Nitril klorid        | $\text{NO}_2\text{Cl}$ |

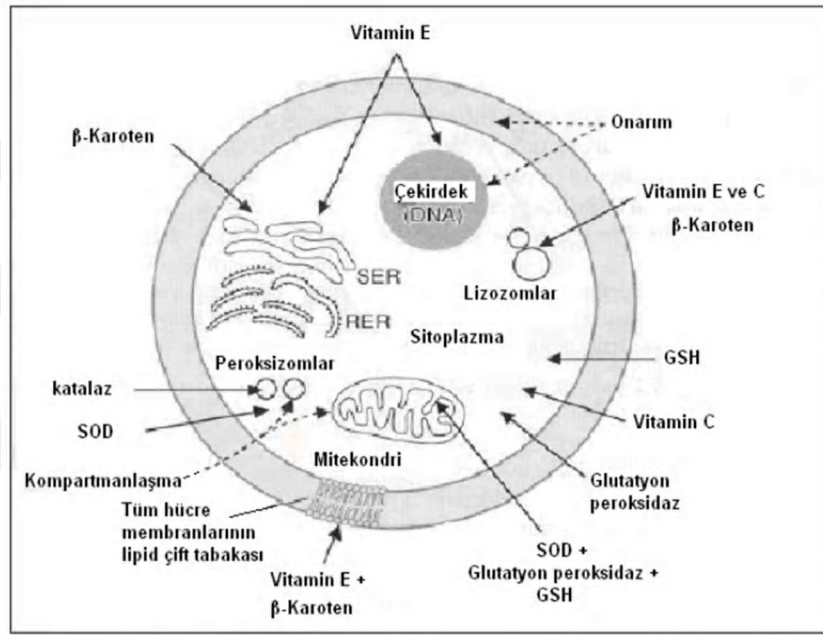
Çoğunlukla oksidan olarak adlandırılan dinitrojenioksit ( $\text{N}_2\text{O}_3$ ), hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), hipokloröz asit ( $\text{HOCl}$ ), lipid peroksit ( $\text{LOOH}$ ), nitrik asit ( $\text{HNO}_2$ ), ozon ( $\text{O}_3$ ) ve singletoksijen ( $\text{O}_2$ ) serbest radikal olarak kabul edilmezler. Bu oksidan türleri fizyolojik ve patolojik durumlar altında canlılar tarafından üretilip yine canlı organizmada kolaylıkla serbest radikal reaksiyonlarına yol açmaktadır (Pham-Huy vd., 2008).

Düşük yoğunlukta ROS ve RNS'ler fagositoz aracılığıyla hücre büyümesi, enfeksiyonlara karşı savunma, kanser hücrelerini öldürme, ATP üretimi, kalsiyum salınımı, tirozinkinaz aktivasyonu, bazı sitokinler ve büyüme faktörü sinyallerinin aktivasyonu gibi hücresel sinyallerde rol almaktadır. Ayrıca ROS, gen transkripsiyonu gibi yaşamsal olaylarda da faaliyet göstermektedir (Schreck ve Baeuerle, 1991; Lander, 1997; Droge, 2002; Fang vd., 2002; ;Devasagayam vd., 2004; Valko vd. 2007).

Sonuç olarak antioksidan ve oksidan sistemler arasında kurulan dengenin korunması, doku ve hücrelerin normal fonksiyonlarını yerine getirmelerinde ve yapısal bütünlüğünün korunmasında büyük etkiye sahiptir (Özgen vd., 2004).

### 1.4.2. Antioksidanlar

Vücutta fazla miktarda serbest radikallerin birikimi hücrelerde zararlara neden olmaktadır. Bu zararı engelleyen ve hücre hasarını durduran maddeler “antioksidan” olarak adlandırılmaktadır. Antioksidanlar vücutta ROS’un gereğinden oluşumunu engelleyerek meydana gelebilecek hasarları önler ve toksinlerden arınmayı sağlayan bir savunma sistemi olarak görev yapar (Şener ve Yeğen, 2009) (Şekil 1.1).

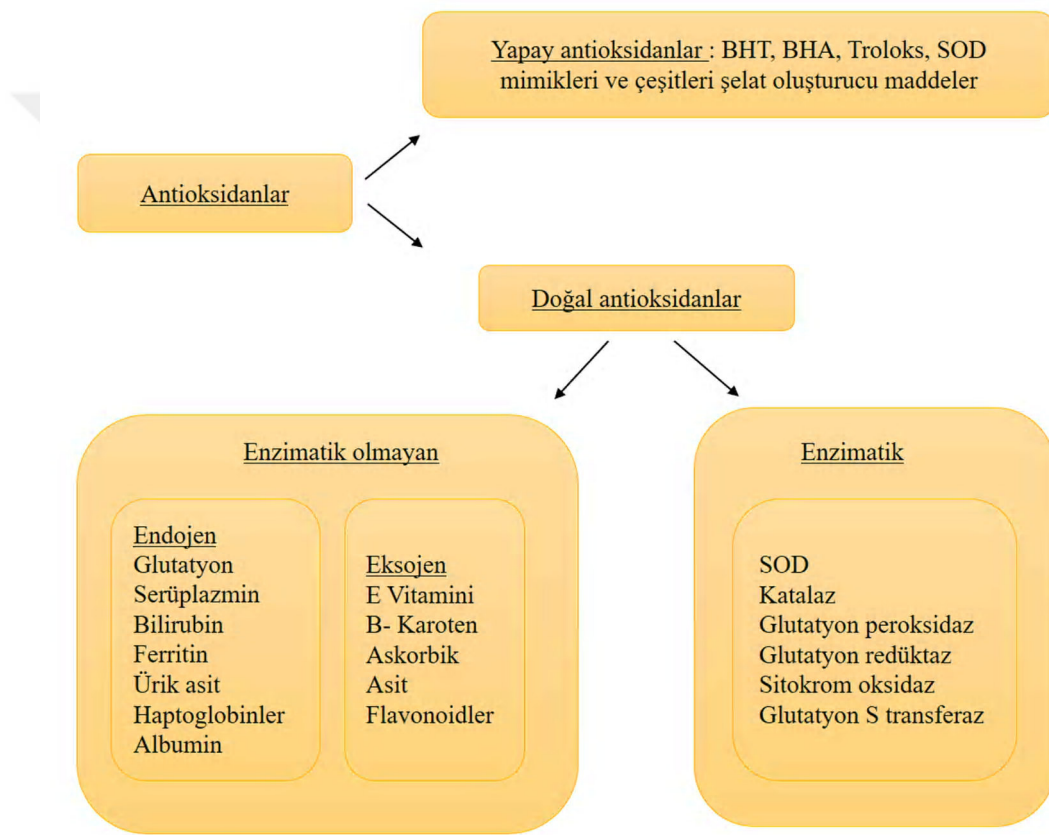


Şekil 1.3. Antioksidanların hücresel etki mekanizmasının şematik gösterimi (Altınışık, 2000)

İnsan vücudunda oluşabilecek oksidatif stresi ortadan kaldırmaya yarayan en önemli etken antioksidanlardır. Antioksidanlar ya vücut tarafından salgılanmakta ya da dışarıdan takviye şeklinde alınmaktadır.

Antioksidanlar ile serbest radikaller arasında bir denge bulunmaktadır. Bu denge bozulduğunda vücuttaki serbest radikal miktarı artmaktadır. Buna bağlı olarak antioksidan sistemi hücreyi koruyamamaktadır. Oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu gibi zararlara neden olmaktadır (Gülçin vd. 2003). Lipit peroksidasyonu bozulma reaksiyonu olduğundan dolayı tıpkı oksidatif stres gibi karsinogenez, mutageniz ve yaşlanma gibi hastalıklarla bağlantılı olduğu düşünülmektedir (Gülçin vd., 2004b).

Antioksidanlar doğal ve yapay olmaları, etki mekanizmaları ve üretildikleri yere göre sınıflandırılabilir. Antioksidanların sınıflandırılması Şekil 1.4’de özetlenmektedir. Antioksidanlar doğal ve yapay antioksidan olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Doğal antioksidanlar etki mekanizmasına göre enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak incelenmektedir. Enzimatik olmayan antioksidanlar ise canlı organizmada sentezlenen antioksidanlar (endojen) ve dışarıdan alınan antioksidanlar (eksojen) olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadır.

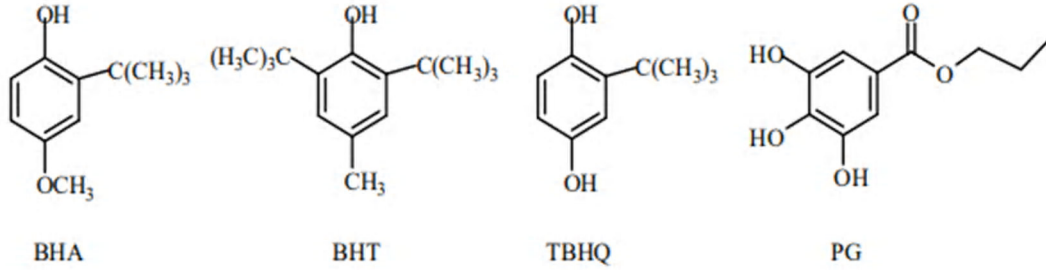


Şekil 1.4. Antioksidanların sınıflandırılması (Birgül, 2022)

Antioksidanlar vücutta sentezlenebildiği gibi diyet yoluyla dışardan da alınabilmektedir. Dışarıdan alınan antioksidanlar da doğal ve sentetik olarak ikiye ayrılmaktadır. Sentetik antioksidanların insan vücuduna zararlı etkilerinden dolayı kullanımı azalmış ve günümüzde doğal antioksidanlara (C vitamini, flavonoid,  $\alpha$ - tokoferol) ilgi artmıştır (Gülçin, 2020).

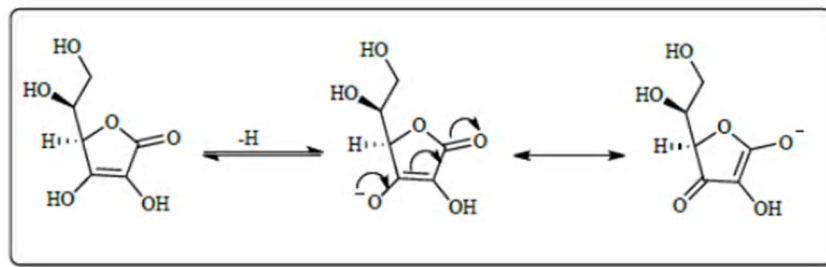
Sentetik antioksidanlar doğal antioksidanlara göre daha ucuz olup daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olmaktadır (Gülçin, 2011). Bütillenmiş hidroksianisol

(BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), propilgallat (PG), tersiyer bütilhidrokinon (TBHQ), etoksikuin ve trolox sentetik antioksidan olarak kullanılmaktadır (Hossain vd., 2008) (Şekil 1.5).



Şekil 1.5. Sentetik antioksidanların kimyasal yapısı (Özler, 2021)

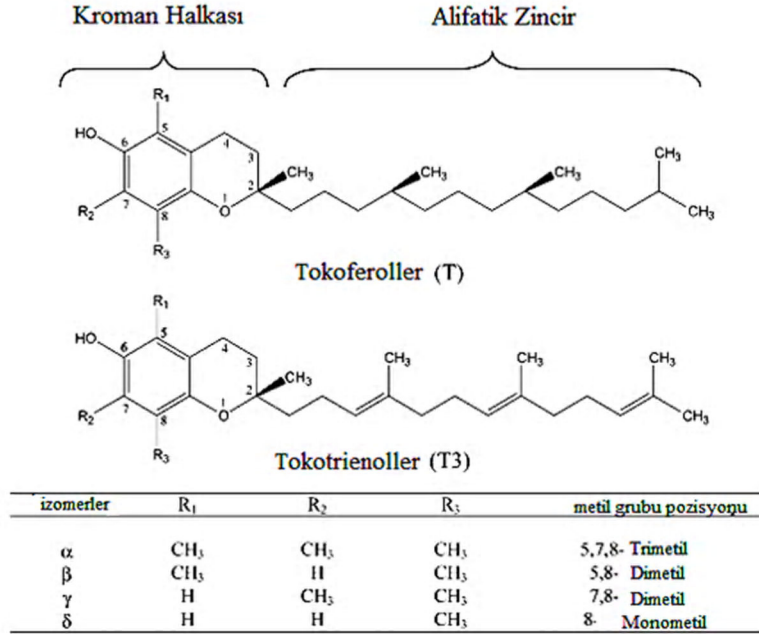
Dışarıdan alınan doğal antioksidanların en önemli olanları C vitamini, fenoller, flavonoidler, karotenler ve tokoferollerdir. Doğal antioksidanların en güçlüsü olan C vitamini (askorbik asit), insan metabolizması tarafından üretilmediği için diyetle alınması gereken ve suda çözünen bir antioksidandır. ROS'lar tarafından oluşturulan hasara karşı koruyucu etkiye sahiptir. C vitamini bitkilerde fazla miktarlarda bulunur ve diyetle yeteri kadar alınmadığından çeşitli hastalıklara neden olmaktadır (Padayatty vd., 2002). Ayrıca C vitamini kollajen üretimini artırarak cildi yenilemekte ve kan damarlarını korumaktadır (Dündar ve Aslan, 1999) (Şekil 1.6).



Şekil 1.6. C vitamini (askorbik asit) kimyasal yapısı (Özler, 2021)

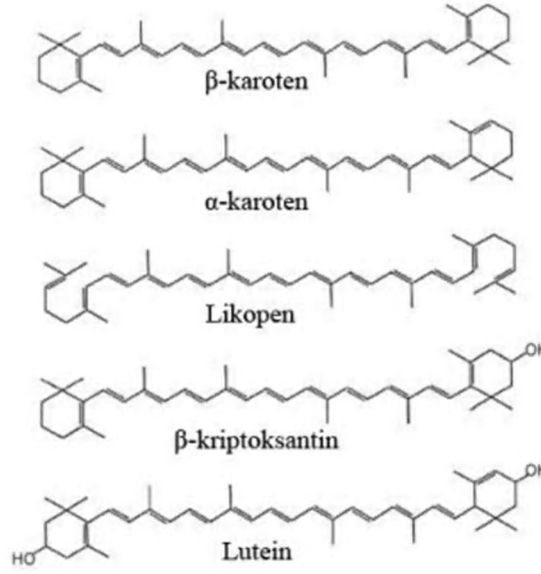
Doğal antioksidanlardan bir diğeri olan tokoferoller, E vitaminin en aktif formudur. Yağda çözünen ve diyetle dışarıdan alınması gereken doğal antioksidanların en önemlisidir. E vitamini, serbest radikallerden kaynaklı lipid peroksidasyonunun korunmasında görevli zincir-kırıcı bir antioksidandır. Tokoferoller, tokoferol ve tokotrienoller olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadır. Her sınıfın alfa, beta, gamma ve

delta ( $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ - $\delta$ ) olmak üzere dört alt formu mevcuttur. Bu formlar içinde antioksidan özelliği en yüksek olan  $\alpha$ -tokoferoldur (Temur,2006) (Şekil 1.7).



Şekil 1.7. Tokoferoller ve tokotrienollerin kimyasal yapısı (Chun, 2006)

Karotenoidler; yağda çözünen, bitki ve hayvansal dokular tarafından sarı-kırmızı renkli doğal pigmentli bileşiklerdir. Karotenoidler  $\beta$ -karoten ve likopen olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Karotenoidlerde tokoferoller gibi membran lipidleri ile etkileşimde bulunan zincir-kırıcı bir antioksidandır. Lipidperoksil radikalini etkisiz hale getirip diğer lipidlerden hidrojen koparılmasını önlemektedir. Bu sayede karotenoidlerin ateroskleroz ve kanser gibi dejeneratif hastalıkların engellenmesinde güçlü potansiyele sahip olduğu düşünülmektedir (Mortensen vd., 2001) (Şekil 1.8).



Şekil 1.8. Karotenoidlerin kimyasal yapısı (Deming vd., 2002)

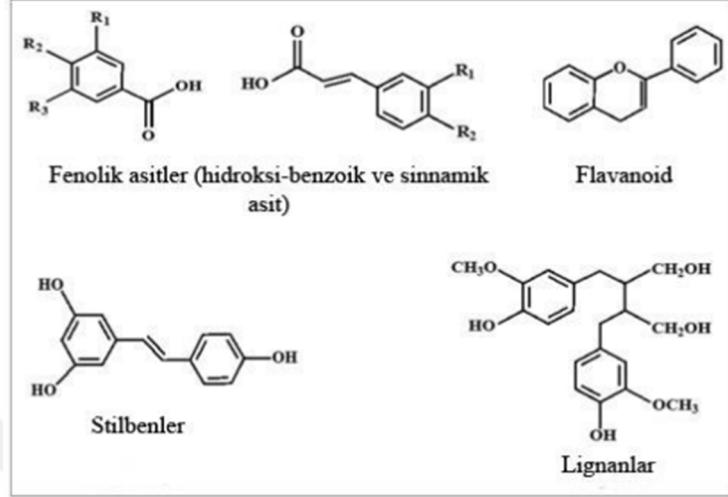
Antioksidanlar, oksidanları dört yolla etkisiz hale getirmektedir;

1. Süpürme etkisi (Scavenging): ROS'ları etkileyerek daha zayıf bir molekül haline getirip etkisizleştirirler. Antioksidan enzimler ve moleküller süpürme etkisine sahip moleküllerdir.
2. Söndürme etkisi (Quenching): ROS'lar etkileşimde bulunup bir hidrojen atomunu aktarıp aktivitelerinde bir azalmaya ya da inaktivasyona yol açarlar. Vitaminler ve flavonoidler söndürme etkisine sahip moleküllerdir.
3. Zincir kırıcı etkisi (ChainBreaking): ROS'ları bağlayıp zincirlerini kırarak fonksiyonlarında inaktivasyona yol açarlar. Hemoglobin, serüloplazmin ve oksidanları kendilerine bağlayıp inaktive eder.
4. Onarma etkisi (Repair): ROS'ların neden olduğu hasarı onarılır (Gökpınar vd., 2006).

### 1.5. Fenolik Bileşikler

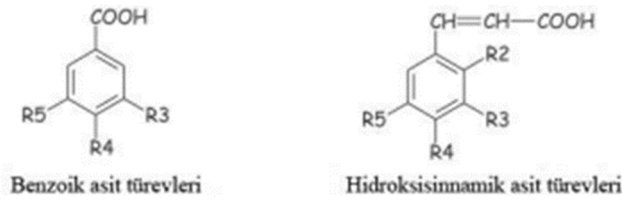
Diyetle alınan ve daha çok polifenol ismiyle kullanılan fenolik bileşikler, benzen halkasına hidroksil grubun bağlanması ile oluşan kimyasal bileşiklerdir. Fenolik bileşikler; meyve, sebze, tahıl, esansiyel yağ ve bunlardan yapılmış yiyecek-içeceklerde bulunan zararlı kimyasal reaksiyonları engelleyici doğal antioksidanlardır. Bitkilerde yaklaşık 8000 farklı fenolik bileşik bulunduğu belirtilmiştir (Robbins, 2003). Fenolik

bileşikler; flavonoidler, fenolik asitler, lignanlar ve stilbenler olmak üzere dört gruba ayrılmaktadır (Spencer vd.,2008) (Şekil 1.9).



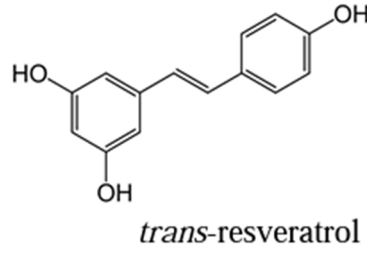
Şekil 1.9. Fenolik bileşiklerin temel grupları (Pandey ve Rizvi, 2009)

Polifenollerin en yaygın grubu fenolik asitlerdir. Karbon iskeletine göre hidroksibenzoik asit ve hidroksisinnamik asit olmak üzere iki alt sınıfa ayrılmaktadır (Robbins, 2003) (Şekil 1.10).



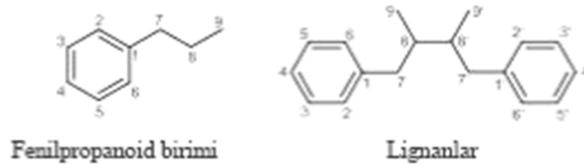
Şekil 1.10. Benzoik asit ve hidroksisinnamik asit türevleri (Leopoldini vd., 2011)

Stilbenler, polifenollerin en küçük grubunu oluşturmaktadır. Stilbenlerin yapısında, aralarında karbon-metilen köprüsü bulunan iki fenil halkası bulunmaktadır. Stilbenlerden en çok bilineni 3,4',5-tri-hidroksi stilbendir (resveratrol) ve üzümde yüksek düzeyde bulunmaktadır (Cassidy vd., 2000) (Şekil 1.11). Resveratrolün yaşlanma karşıtı ve yaşam süresini uzatıcı etkisinin yanında karaciğerden lipoprotein üretimi, lipidsekresyonu baskılayıcı etkileri de bildirilmiştir (Martorana vd., 2013).



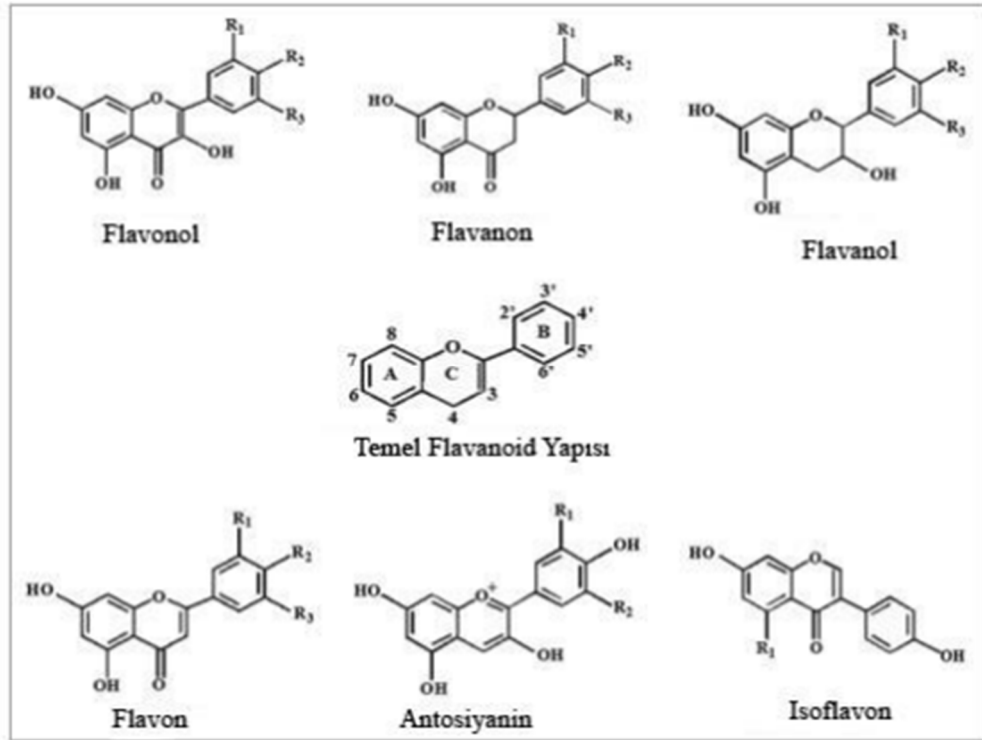
Şekil 1.11. Stilbenlerin genel yapısı (Gökçen vd., 2017)

Lignanlar, iki fenilpropanoid biriminin C<sub>8</sub>-C<sub>8</sub> pozisyonlarından bağlanması ile meydana gelmektedir. Lignanların büyük bir kısmı serbest halde bulunmaktadır. Çok az bir kısmı glikozit türevi şeklindedir. Yaygın lignanlara pinoresinol ve sekoisolarisiresinol örnek olarak verilmektedir (Wilför vd., 2006) (Şekil 1.12).



Şekil 1.12. Lignan yapısı (Gökçen vd., 2017)

Flavonoidler, fenolik bileşiklerin en fazla çalışılan en önemli gruplarındadır. Flavonoidler, iki fenil halkasına üç karbon atomu içeren oksijenlenmiş heterosiklik yapıda propan zincirinin birleşmesiyle oluşup C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> yapısındadır (Pengelly, 2004). Flavonoidler bitkilerin çoğunda bulunmaktadır. Lipid peroksidasyonunu durdurma özelliğine sahiptir. Bunu hidroksil radikallerine karşı savaşılararak gerçekleştirmektedir (Cook ve Samman, 1996). Flavonoidler halka yapılarına göre; antosiyanidinler, izoflavonoidler, kateşinler, flavonlar, flavonoller ve flavanonlar olarak isimlendirilmektedir (Şekil 1.13). Flavonoidler sebze, meyve ve tahıllarda yaygın olarak bulunmaktadır. Bitkilerde bulunan 8000 civarı tanımlanmış polifenol'ün içinden 4000 civarı flavonoiddir (Harborne vd., 1999).



Şekil 1.13. Flavonoidlerin sınıflandırılması (Pandey ve Rivzi, 2009)

Polifenollerin tıbbi, biyokimyasal ve farmakolojik özellikleri bakımından araştırmalar yapılarak antioksidan, antialerjik, antiinflamatuvar, immün sistem baskılayıcı ve antiviral aktivitelere sahip oldukları belirtilmiştir (Leopoldini vd., 2011). Polifenollerin kansere karşı etkili olduğu belirtilmiştir. Bu etki; hücre siklusu, antiproliferasyon, apoptosisin düzenlenmesi, oksidasyonun önlenmesi, detoksifikasyon enzimlerinin düzenlenmesi ve bağışıklık sisteminin düzenlenmesi mekanizmalarına dayanmaktadır (Johnson vd., 1994). Polifenollerin şeker hastalığında da etkin rol oynadığı rapor edilmiştir (Rivzi vd., 2005). Bağırsaklardan glukoz Emilimini inhibe ederek diyabete bağlı böbrek hasarlarına karşı koruyucu görevi olduğu belirtilmiştir (Lee vd., 2009). Fenolik bileşikler, meyve ve sebzelerde bol miktarda bulunup yaşlanma önleyici (anti-aging) bileşik olarak kabul edilmiştir (Joseph vd., 2005). Örneğin çayda bulunan kateşinlerin yaşlanmayı geciktirdiği ve güçlü anti-aging ajan olduğu bildirilmiştir (Maurya vd., 2009). Ayrıca fenolik bileşiklerin alerji, astım, romatoidartrit, Alzheimer, depresyon ve ülserle karşı etkin şekilde kullanılabileceği bildirilmiştir (Tapas vd., 2008; Sandhar vd., 2011).

Bitkiler âleminde ve insan yaşamı için gerekli olan besinlerde önemli düzeyde bulunmalarından dolayı son yıllarda fenolik bileşikler ilgi çekici konular arasında yer almaktadır (Gülçin, 2021).

### 1.6. Aktioksidan Aktivitesi

Oksidasyonu geciktiren, durduran veya engelleyen tüm bileşiklere antioksidan denilmektedir. Doğal bir maddenin yapısından izole edilen, yeni sentezlenen bir ekstraktın antioksidan özelliğine sahip olup olmadığını belirlemek için geliştirilmiş birçok analiz yöntemi bulunmaktadır. Bitkisel ve doğal kaynakların içerdiği sekonder metabolitler yüksek antioksidan özelliğine sahiptir. Bu metabolitlerin belirlenmesi ve yapılarının aydınlatılması antioksidan aktivite tayin yöntemleri ile mümkün olmaktadır. Gaz, likid, ince tabaka ve kolon kromatografisi gibi yöntemler bu antioksidanların varlığı ve yapılarının aydınlatılmasını sağlayan analiz teknikleridir (Barros vd.,2007a).

Son zamanlarda analiz cihazlarının gelişmesi ve yaygınlaşması ile bitkisel ve doğal kaynaklarda mevcut olan sekonder metabolitler kromatografik çalışmalar ile analiz edilebilmektedir. Örneğin, doğal bir kaynağın uçucu bileşenlerini belirlemek amacıyla gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) kullanılmaktadır. GC-MS ile uçucu yağ fazı elde edilmektedir. Uçucu bileşenler kolonda alıkonma sürelerine göre kütüphane taraması yapmak suretiyle belirlenmektedir. Polar ve büyük moleküllerin yapılarının belirlenmesinde ise LC-MS veya LC-MS/MS kromatografi yöntemi kullanılmaktadır. Fakat bu tekniklerin pahalı olması ve çok az laboratuvarında bulunmasından dolayı genellikle ekstraktların önce *in vitro* olarak toplam antioksidan kapasiteleri ve biyolojik aktivite özellikleri belirlenmektedir. Daha sonra yapılarının belirlenmesine yönelik çalışmalar yapılmaktadır.

Antioksidan kapasitesi tayin yöntemleri reaksiyonların gerçekleşme mekanizmalarına göre iki gruba ayrılmaktadır.

1. Hidrojen transferine dayanan yöntemler (HAT)
2. Elektron transferine dayanan yöntemler (ET)

Hidrojen transferine dayanan yöntemler (HAT), antioksidan moleküllerinin hidrojen vererek serbest radikalleri etkisiz hale getirme prensibine dayanmaktadır.

HAT analiz yöntemleri;

- ✓ Crocinbleaching deneyleri
- ✓ Total radikal yakalama antioksidan kapasitesi (TRAP)
- ✓ İndüklenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein otooksidasyonu
- ✓ Oksijen radikal absorban kapasitesi (ORAC)

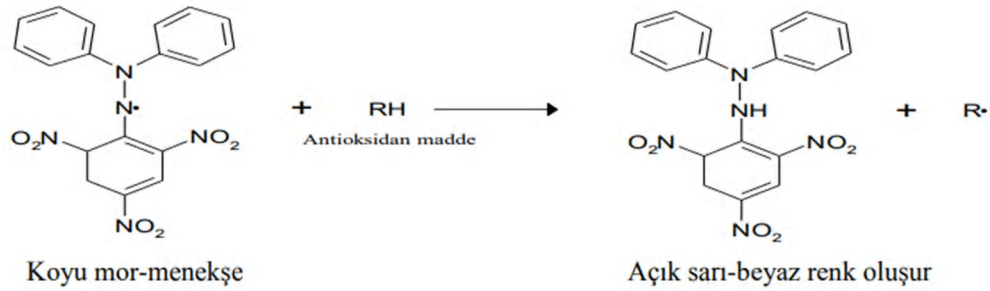
Elektron transferine dayanan yöntemler (ET), antioksidanların serbest radikallere elektron transfer etmesi, hedef moleküllerin indirgemesi prensibine dayanmaktadır. Bu yöntemde renk değişim derecesi örneğin antioksidan derişimi ile ilişkilendirilmektedir.

ET analiz yöntemleri;

- ✓ Cu (II) kompleksinin oksidan olarak ölçümü
- ✓ DPPH radikali kullanarak toplam antioksidan aktivite ölçümü
- ✓ Folin-Ciocalteu (FCR) reaktifi ile toplam fenolik madde analizi
- ✓ Ferrik iyonu indirgeme antioksidan güç (FRAP) ölçümü
- ✓ Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) ölçümü yöntemleri olarak sınıflandırılmaktadır.

#### **1.6.1. 2,2-difenil-1- pikrilhidrazil (DPPH) Serbest Radikal Süpürme Aktivitesi**

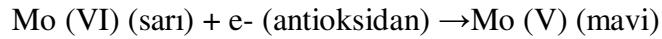
2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) Serbest Radikal Süpürme yöntemi, ucuz, kolay ve hızlı sonuç vermesi bakımından en sık kullanılan antioksidan tayin yöntemidir (Alves vd., 2010). İlk olarak Blois (1985) tarafından açıklanmış ve günümüze kadar birçok modifikasyon geçirmiştir. DPPH radikali koyu menekşe renginde serbest radikal olup 517 nm dalga boyunda maksimum absorban oluşturur (Cuendet vd., 1997). DPPH radikali, antioksidan maddeler ile reaksiyona girdiği zaman indirgenir ve mor-menekşe rengin şiddeti azalarak absorban azalmasına neden olmaktadır (Şekil 1.14). Yöntem sonuçları % inhibisyon ve DPPH konsantrasyonunu yarıya düşüren örnek miktarı ( $\mu\text{g/ml}$ ) cinsinden  $\text{IC}_{50}$  değeri olarak belirlenmektedir (Yıldız vd., 2019).



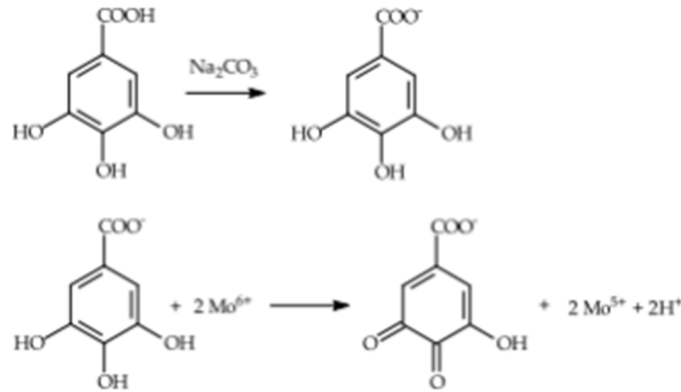
Şekil 1.14. Bir antioksidan tarafından DPPH radikalının indirgenmesi (Gülçin, 2021)

### 1.6.2. FolinCiocalteu (FCR) Reaktifi ile toplam fenolik madde yöntemi

Fenolik bileşikler antioksidan kapasitesi açısından canlılara büyük katkı sağlayan bileşik grubudur. Bu sebeple gıda ve bitkisel özütlerde fenolik madde miktar belirlenmesi antioksidan kapasitesi açısından önemlidir. Yöntem, alkali ortamda fenolik yapıda bileşiklerin folin- ciocalteu reaktifine elektron transferi ile mavi renk kompleksin 765 nm’de spektrofotometrik olarak incelenmesine dayanmaktadır. Folin-ciocalteu reaktifi, fosfomolibdik asit ve fosfootungustik asit çözeltilerin bileşiminden oluşmaktadır (Singleton ve Rossi, 1965).



Yöntem sonuçları genellikle gallik asit eş değeri olarak verilmektedir (Şekil 1.15). Folin-ciocalteu yöntemi basitliği, tekrarlanabilirliği ve güvenilirliğinin yüksek olması sebebiyle en çok kullanılan yöntemlerden biri olmuştur. Fakat yöntemin bazı dezavantajları da mevcuttur. Reaksiyonlar asidik Ph’ta yavaşlar ve folin-ciocalteu reaktifi fenolik bileşiklerde spesifik değildir. Bir diğer dezavantajı da ortamda bulunan askorbik asit (C vitamini) gibi bileşiklerle etkileşime girmesidir (Huang vd., 2005).



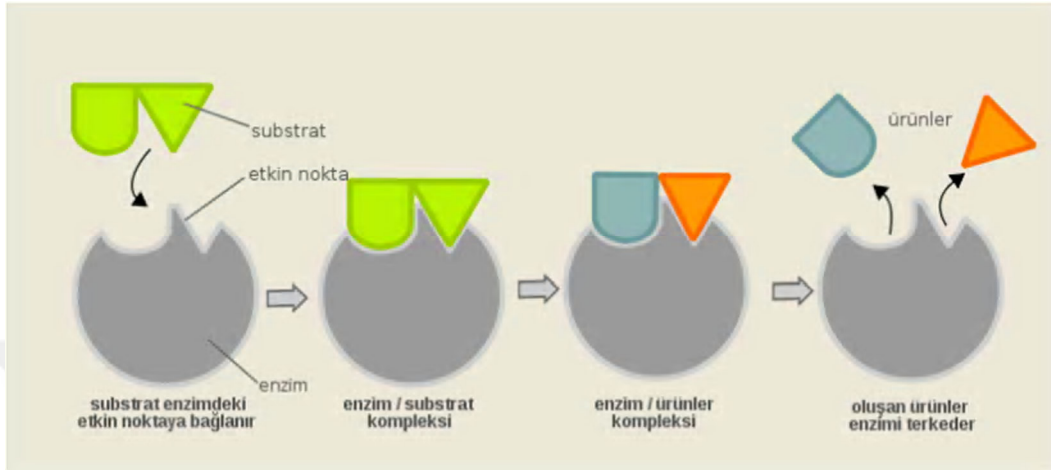
Şekil 1.15. Gallik asitin folinciocalteu rekatifi ile reaksiyonu (Oliveira vd., 2009)

### 1.7. Enzimler

Enzimler protein yapıda olup kimyasal reaksiyonları katalizleyen biyolojik polimerlerdir. Enzimler, 1700'lü yılların sonlarına doğru etin mide salgıları tarafından sindirilmesine dayalı çalışmalar sonucunda ilk defa biyolojik katalizler olarak fark edilmiştir (Nelson vd., 2013). Louis Pasteur, 1860 yılında enzimler için “ferment” terimini kullanmıştır. Daha sonra yapılan çalışmalar sonucunda Wilhelm Kühre tarafından bu moleküllere enzim adı verilmiştir. James Summer tarafından 1926 yılında yapılan üreaz enzim saflaştırılması ve kristallendirilmesi, enzim çalışmaları üzerine ilk başarıdır. Bu çalışma ile enzimlerin protein yapıda olduğu ortaya konmuştur. Enzimlerin protein yapısını oluşturan aminoasitlerin belirli bir diziliş, sayı ve sırada olması enzimlerin substrata karşı özgülüğünü sağlamaktadır (Yıldırımöğlu, 2009). Son yıllarda çeşitli organizmalardan 3000'e yakın enzim saflaştırılıp kristalize edilmiştir (Kalaycıoğlu vd., 2013).

Enzimlerin bazıları protein yapıdan meydana gelirken, bir kısmı ise protein yapıdan farklı “koenzim” ya da “kofaktör” olarak adlandırılan maddeler içermektedir. Kofaktör  $\text{NAD}^+$ ,  $\text{FAD}$ ,  $\text{CoA}$ ,  $\text{TPP}$  gibi bir organik madde olabileceği gibi  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Fe}^{+2}$ ,  $\text{Zn}^{+2}$  gibi metal iyonu da olabilmektedir (Fennema, 1985; Yıldırım, 2009). Substratların enzim üzerinde kimyasal reaksiyona girmek için bağlandığı yerlere aktif bölge denilmektedir (Şekil 1.16). Bu bölge substratın yerleşebileceği bir cep şeklindedir (Yıldırımöğlu, 2009).

Enzimler hücredeki reaksiyonları sonucu yan ürün oluşturmayıp %100 verim gösterirler. Enzimler reaksiyon sonucunda fiziksel olarak değişiklik gösterse de reaksiyon tamamlandığında tekrar kendi özgül hallerine dönmektedir (Murray, 1993).



Şekil 1.16. Genel enzim çalışma prensibi

Kimyasal reaksiyonlarda reaktiflerin ürüne dönüştürülmeden önce aktivasyon enerjisi adı verilen aşılması gereken enerji bariyeri vardır. Enzimler biyolojik reaksiyon hızlarını aktivasyon enerjisini düşürerek artırırlar.

Enzimlerin çalışmasına; enzim konsantrasyonu, substrat konsantrasyonu, sıcaklık, ortam, pH'ı, zaman, reaksiyon ürünleri, ışık ve diğer fiziksel etkenler, hormonlar ve biyokimyasal maddeler etki etmektedir. Enzimlerin in vivo ve in vitro aktivitelerini bazı bileşikler tarafından yok etmesi ve azaltması olayına inhibisyon denilmektedir. İnhibitör adı verilen bu bileşikler, enzim aktivitesini azaltan ya da durduran maddelerdir (Bingöl, 1977).

Enzimler, substrat adı verilen etkili oldukları bileşiklerin sonuna “-az” eki getirilerek adlandırılmaktadır. Enzim sayısında artış olması sebebiyle enzimlerin adlandırılması ve gruplandırılması için uluslararası anlaşmayla bir sistem benimsenmiştir (Tablo 1.3). IUBMB (Uluslararası Biyokimya ve Moleküler biyoloji = International Union of Biochemistry and Molecular Biology)'nin kabul ettiği sistemde enzimler katalizlediği tepkime tipine göre altı temel gruba ayrılmıştır.

Tablo 1.3. Enzimlerin uluslararası sınıflandırılması

| Enzimlerin Uluslararası Sınıflandırılması |                   |                                                                                                    |
|-------------------------------------------|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| No                                        | Sınıf             | Katalizlenen tepkime tipi                                                                          |
| 1                                         | Oksidoredüktazlar | Elektronların transferi (Hibrit iyonları ve H atomları)                                            |
| 2                                         | Transferazlar     | Grup-transfer tepkimeleri                                                                          |
| 3                                         | Hidrolazlar       | Hidroliz tepkimeleri (işlevsel grupların suya transferi)                                           |
| 4                                         | Liyazlar          | Çift bağlara grupların ilavesi ve grupların yer değiştirmesiyle çift bağların oluşması             |
| 5                                         | İzomerazlar       | İzomerik formları oluşturmak üzere moleküller içinde grupların transferi                           |
| 6                                         | Ligazlar          | ATP'nin ayrılmasıyla eşleşmiş kondenzasyon tepkimeleriyle C-C, C-S, C-O ve C-N bağlarının oluşması |

Enzimler tıp, eczacılık, gıda, hayvancılık, çevre, tarım ve tekstil vb. birçok alanda kullanılmaktadır. Tıp alanında bazı hastalıkların tedavisi için ilaç olarak kullanılmaktadır. Örneğin, proenzim sindirim bozuklukları tedavisi için ilaç olarak kullanılırken, karaciğer enzimi olan aspartataminotransferaz (AST) düzeyinde yükseklik karaciğer hücre hasarının göstergesidir (Kalaycıoğlu, 2013). Tekstil endüstrisinde termostabil  $\alpha$ -amilaz enzimi, dokuma kumaştaki nişastanın giderilmesinde kullanılmıştır (Çalışkan, 2011). Enzimler eczacılık alanında ilaç olarak kullanılmaktadır. Yara tedavileri ve doku onarımı gibi durumlarda enzim ve enzim inhibitörleri ilaç olarak kullanılmaktadır (Can ve Akev, 2008).

#### 1.7.1. Elastaz Enzimi

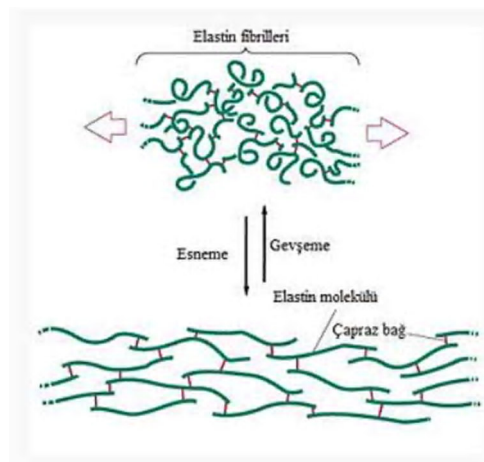
Elastaz, elastin adı verilen bağ dokunun önemli proteinini ayırma özelliğine sahip çoğunlukla damarlarda, akciğerlerde, lenflerde ve deride dağılmış serin proteaz ailesine ait bir enzimdir. Bulundukları dokularda enflamatuar doku hasarının önemli düzenleyicileridir (Tsuji vd., 2001; Nenan vd., 2005).

Bağ dokular, nispeten az sayıda canlı hücrenin ekstrasellülmatriks adı verilen ortam içine dağılmasıyla meydana gelmiş dokulardır. Bağ doku deri, ligament, kıkırdak, kemik ve tendonlarda yaygın olarak bulunur. Bağ dokunun temel görevi; ekstrasellülmatrikste yer alan elastin ve kollajen gibi fibriler proteinler sayesinde dokulara destek olmaktadır. Kollajen, elastin, fibronektin, laminin ve proteoglikanlar bağ dokunun önemli proteinlerindendir. Bağ dokunun temel maddesi, büyük oranda glikozaminoglikan (mukopolisakkarit) içermektedir. Glikozaminoglikanlardan sonra en fazla hiyalüronik asit ve kondroitin sülfat polimerleri bulunmaktadır. Hiyalüronik asit göz sıvısında, göbek kordonunda, sinoviyal sıvıda ve bazı tümörlerde bulunmaktadır (Altınışık, 2009). Kondroitin sülfat ise insanlarda bağ dokusunun ve özellikle kıkırdağın temel yapısını oluşturup proteinlerle beraber olarak bulunmaktadır (Kührevioğlu ve Keha, 2009).

Elastaz, fibroblast hücreler tarafından üretilen yapı proteinidir. Genellikle bağ dokuda hücrelerarası maddesinde yer almaktadır. Elastin, çapraz desmozin bağları ve amorf yapısından dolayı bulunduğu dokulara elastikiyet (esneklik) sağlamaktadır.

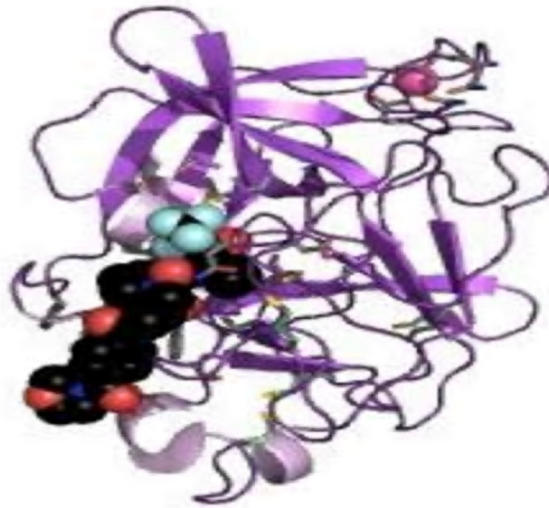
Elastin proteini iki bölümden oluşmaktadır.

- ✓ Hidrofobik Bölüm: Esneklik özelliğinden sorumludur.
- ✓ Alfa- Helikoidal Bölüm: Çapraz bağ oluşumunu sağlayan lizin ve alanin aminoasitlerini içerir (Şekil 1.17).



Şekil 1.17. Elastin proteinin yapısı (<https://www.turkcebilgi.com/elastin>)

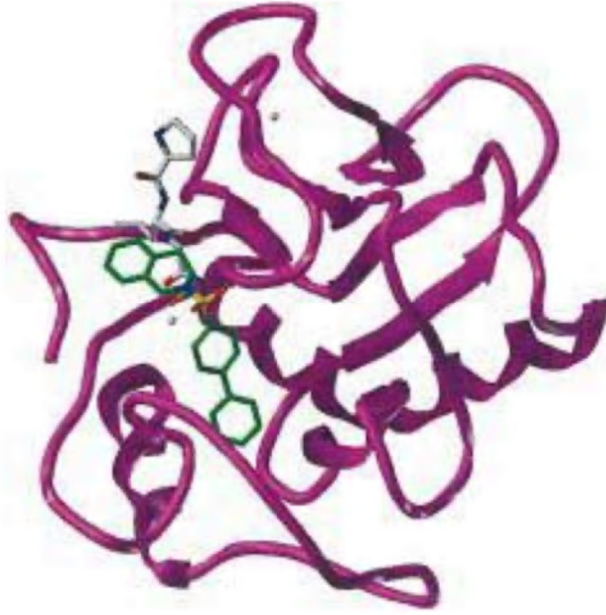
Pankreatik elastaz enzimi, 240 aminoasitin 4 tane disülfid köprüsüyle birbirine bağlandığı polipeptit zinciridir (Şekil 1.18). Pankreatik elastaz geniş substrat özelliğine sahip serin proteaz grubudur. Pankreatik elastaz enzimi pH 4.0 ve 10.5 aralığında 2<sup>0</sup> C'de suda ve 50 mg/ml tuz çözeltilerinde çözülebilmektedir. Yüksek asidik ortamda yapı değişikliği oluşmasıyla geri dönüşümsüz olarak inaktif forma geçtiği bildirilmektedir. Diğer proteinazlarda (tripsin ve kimotripsin) olduğu gibi hidrofobik bir merkeze ve geniş benzerlik dizilerine sahiptir. Pankreatik elastazlar tersiyer yapıda proteinlerdir (Hortley ve Shotton, 1971). Pankreatik elastaz, pankreaslardan pre-proelastaz olarak sentezlenir, proelastaz safhasından sonra zimojen granüllerde depolanıp daha sonra duodenumlarda tripsin etkisiyle aktif elastaz haline dönüştürülmektedir.



Şekil 1.18. Domuz pankreatik elastaz enziminin kristal yapısı (Cregge vd., 1998)

### 1.7.2. Kollajenaz Enzimi

Kollajenaz, bağ dokunun lifli yapıda olan doğal kollajeni parçalayan üçlü heliks yapıda endopeptidazlardır (Şekil 1.19). *Clostridium perfringens* bakteri türünden elde edilen bakteriyal kollajenazlar yüksek substrat seçiciliği göstermektedir (Birkedal-Hansen, 1987). Bakteriyal kollajenaz suda çözünen denatüre kollajeni ve suda çözünmeyen doğal kollajeni parçalayabilmektedir (Wolley vd., 1975).



Şekil 1.19. Kollajenaz enziminin yapısı (Pasternak ve Aspenbeng, 2009)

Mor renkli alan: enzim, Yeşil renkli alan: aktif bölge, Gri renkli alan: İnhibitör

Kollajen göz korneasında, kıkırdakta ve tendonlarda bulunan fibriler skleroproteindir. Hayvanlarda çok yaygın olup tüm vücut proteinlerinin %30'unu oluşturmaktadır. Kollajen dokulara dayanıklılık vererek doku şeklini koruyup dokuya gerilme direnci sağlamaktadır. Kanın pıhtılaşmasında da kan pıhtısı ile etkileşimde bulunup yarayı kapatarak katkı sağlamaktadır. Ayrıca yara iyileşmesinde de büyük rol oynamaktadır. Kollajen cildin dermis tabakasının %97,5'ini oluştururken, %2,5'lik kısım elastinden oluşmaktadır. Kollajen lifleri esneklikten sorumludur. İnsan vücudunda en bol bulunan ve hücre dışı matriksin temel bileşeni olan kollajen canlı hücrelerde birçok işleve sahiptir. Bugüne kadar 29 farklı kollajen çeşidi keşfedilmiş ve yapılarının üçlü sarmal olduğu belirlenmiştir (Beth, 2010).

Kollajenin ana bileşenleri; %35,5 glisin, %12 prolin ve % 10 hidroksiprolindir. Ayrıca az miktarda lizin ve hisroksilizin bulunmaktadır (Matsui vd., 2010).

## 2. BÖLÜM

### YÖNTEM VE MATERYAL

#### 2.1. Bitkisel Materyal ve Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması

Çalışmada kullanılan *Echinops boraе* türü örnekleri Mersin çevresinden, *Echinops pungens* türü örnekleri ise Kayseri Erciyes Dağı'ndan toplanmıştır (Tablo 2.1). Toplanan bitki örnekleri toprak altı ve toprak üstü olmak üzere iki kısma ayrılarak gölgede kurutulmuştur. Kurutulmuş örnekler parçalanarak toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilmiş bitki örneklerinden 10 gr tartılarak 250 ml organik çözücü ile karıştırılmıştır. Çözücü olarak metanol, hekzan, kloroform ve su kullanılmıştır. 6 saat boyunca 250 ml'lik soksalet cihazı (İldam) yardımı ile ekstraksiyon yapıp daha sonra döner evaporasyon cihazı (Heidolph laborata 4000) ile çözümler ayrıştırılıp elde edilen ekstraktlar +4<sup>0</sup> C'de muhafaza edilmiştir.

Tablo 2.1. *Echinops boraе* ve *Echinops pungens* türlerine ait örneklerin lokasyonları

| <i>Echinops</i> Türleri | Herbaryum No | Toplanma Yeri                                                                                                                                                                                                                | Toplanma Zamanı |
|-------------------------|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| <i>Echinops boraе</i>   | CV6016       | <b>Mersin:</b> Erdemli kanlıdivane, maki alanı, 400 m, C.Vural                                                                                                                                                               | 18.08.2021      |
| <i>Echinops pungens</i> | CV6019       | <b>Kayseri:</b> Erciyes dağı, Hacılardan Erciyes'e doğru Hacılar kapıdan Tekir kapıya doğru, <i>Astragalus</i> step alanları, 38 <sup>0</sup> ,36',32,456 K, 35 <sup>0</sup> ,29',40,461 D, C.Vural, H.Ş.Selamoğlu, B.Birgül | 02.09.2021      |

## 2.2. Antioksidan Aktivite Testleri

### 2.2.1. Total Fenolik İçeriğinin Belirlenmesi

Tez çalışmasında kullanılan örnekler için ekstraktların total fenolik içeriği, folin-ciocalteu yöntemi (Marinova, 2005) 96 kuyucuklu plakaya uyarlanarak ölçülmüştür. Standart gallik asit seyreltme serileri 0.1 mg/ml, 0.2 mg/ml, 0.5 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml, 5 mg/ml ve 10 mg/ml konsantrasyonda hazırlanmıştır. Bitki ekstraktları ise 0.1 mg/ml ile 5 mg/ml aralığında farklı konsantrasyonlarda DMSO ile seyreltilmiştir. 96 kuyucuklu plakaya her örnek kendi körüyle beraber iki paralelli olarak yüklenmiştir. 10 µl örnek/ standart/ kör üzerine 90 µl distile su, 10 µl folin-ciocalteu eklenmiş ve çalkalayıcı yardımıyla oda sıcaklığında 5 dakika çalkalandıktan sonra üzerine 100 µl Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (%7'lik) ve 40 µl distile su eklenerek 90 dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edilmiştir. Daha sonra Elisa Readerda 750 nm absorbansta okunmuştur. Absorbans değerleri gallik asit standartlarından elde edilen düzlemsel eğriye oranlanarak örneklerin total fenol içeriği mg Gallik asit eşdeğeri (GAE) cinsinden belirtilmiştir.

### 2.1.2. DPPH Radikali Süpürücü Aktivite Tayini

DPPH (2,2-difenil-1-pikril hidrazil) radikali süpürücü aktivitesi, DPPH metodu modifiye edilerek uygulanmıştır (Sharma ve Bhat, 2009). DPPH çözeltisi 250 µM konsantrasyonda metanol ile taze olarak hazırlanmış ve ışıktan korunmuştur. Ekstre stokları 5 mg/ml konsantrasyonda seyreltilmiştir. Pozitif kontrol olarak askorbat kullanılmış ve 100 µg/ml konsantrasyonda metanol ile hazırlanmıştır. Her örneğin kendi körü kullanılmış olup, örnekler ve pozitif kontrol iki paralelli çalışılmıştır. Deney setinde 96 kuyucuklu plakaya pozitif kontrol/örnekler 30 µl yüklendikten sonra üzerine 170 µl DPPH eklenerek 30 dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edilmiştir. Ardından 520 nm absorbansta okunmuştur. Elde edilen sonuçlar aşağıdaki formülle hesaplanarak DPPH radikali süpürücü aktiviteleri DPPH inhibisyonu cinsinden ölçülmüştür.

$$\text{DPPH inhibisyon (\%)} = [A_k \cdot (A_{\text{ö}} - A_{\text{ök}})] / A_k \times 100$$

$A_k$  = Kontrol absorbansı

$A_{\text{ö}}$  = Örnek absorbansı

$A_{\text{ök}} = \text{Örneğin körü}$

### 2.3. Enzim İnhibisyon Testleri

#### 2.3.1. Elastaz Enzim İnhibisyon Tayini

Anti elastaz aktivitesi Kraunsae ve arkadaşlarının yönteminde minör değişiklikler yapılarak belirlenmiştir. İlk aşamada 96 kuyucuklu plakaların her bir kuyucuğuna 25 µl 0.1 M Hepes buffer (pH 7.5) ardından 25 µl bitki ekstreleri (1 µg/ml, 1.5 µg/ml, 2 µg/ml) ve en son 25 µl elastaz enzimi (1 µg/ml) yüklenmiştir. Kör için 75 µl HEPES buffer, negatif kontrol için 25 µl elastaz enzimi ve 50 µl HEPES buffer olacak şekilde yükleme yapılmıştır. Pozitif kontrol için, örnek yerine N-methoxysuccinyl-Ala-Ala-Pro-Choloro (10 µg/ml) kullanılmıştır. Çözücü kontrol olarak bitki ekstraktı ne ile seyreltilmişse o kullanılmıştır. Daha sonra oda sıcaklığında 20 dakika inkübasyonda bırakılmıştır. Ardından 100 µl substrat (N- methoxysuccinyl-Ala-Ala-Pro-Val-p-nitroanilid) (1mM) ilave edilmiş ve 40 dakika daha 25<sup>o</sup> C’de inkübe edilmiştir. 405 nm absorbansta okutulmuştur. İnhibisyon yüzdesi aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

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

#### 2.3.2. Kollajenaz Enzim İnhibisyon Tayini

Anti kollajenaz aktivitesi Wart ve Steinbrink’in yönteminde değişiklikler yapılarak belirlenmiştir (Barrantes ve Guinea, 2003). İlk olarak 96 kuyucuklu plakanın her bir kuyucuğuna 25 µl elastaz enzimi (0.8 ünite/ml), 50 mM trisin tamponu (pH 7.5) ardından 25 µl bitki ekstraktı (1 µg/ml, 1.5 µg/ml, 2 µg/ml) eklenmiştir. Kontrol olarak DMSO kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak 25 µl elastaz enzimi, 25 µl Trisin buffer ve 25 µl askorbik asit kullanılmıştır. 15 dk inkübasyondan sonra 50 µl subtrat (N-(3-[2-furil]akrilolil)-Leu-Gly-Pro-Ala) eklenmiştir. 340 nm absorbansta okutulmuştur. İnhibisyon yüzdesi aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

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

#### 2.4. GC-MS Analizi

Bu çalışma hizmet alımı şeklinde gerçekleşmiştir. *Echinops bora*e ve *Echinops pungens* türlerine ait bitki ekstrelerinin kimyasal bileşenleri gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (Shumadzu, QP2010 Ultra) kullanılarak belirlenmiştir. Kolon 30 m, 0.25 mm iç çapında ve film kalınlığı 0.25 µm'dir. Taşıyıcı gaz akış hızı 0.90 ml/dk olarak ayarlanmış, kolon sıcaklık programı 60 °C'de 2 dk bekleyip 3 °C/dk hızla 280 °C'ye gidip orada 1 °C/dk bekletildikten sonra analiz tamamlanmıştır. Madde tanımlamaları GC/MS veri kütüphanesi yanında literatür bilgileri de dikkate alınarak değerlendirilmiştir.

### 3. BÖLÜM

#### BULGULAR

##### 3.1. Ekstraksiyon Verimi

Çalışılan *Echinops* (*Echinops bora* ve *Echinops pungens*) örneklerine ait toprak altı ve toprak üstü kısımlarının su, metanol, kloroform ve hekzan ekstraktlerinin % verimleri Tablo 3.1 ve Tablo 3.2 verilmiştir. Genel olarak *Echinops* cinsine ait iki türün örneğinin toprak altı ve toprak üstü kısımlarında sulu ekstre verimlerinin kullanılan diğer çözücülere oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. *Echinops bora* ve *E.pungens* türlerine ait örneklerin sulu ekstre verim sonuçları karşılaştırıldığında ise *Echinops bora* türüne örneğin toprak üstü kısmında su veriminin (%33.9) en yüksek olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.1).

Tablo 3.1. *Echinops bora* türüne ait örneğin ekstraksiyon sonuçları

| <i>Echinops bora</i>  |                            |                                       |                                    |
|-----------------------|----------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|
|                       | Kuru Madde Miktarı<br>(gr) | Elde Edilen Kuru Özüt<br>Miktarı (mg) | Elde Edilen<br>Özüt Yüzdesi<br>(%) |
| Toprak altı-su        | 10                         | 1228.5                                | 12.2                               |
| Toprak altı-metanol   | 10                         | 515.2                                 | 5.1                                |
| Toprak altı-kloroform | 10                         | 112.1                                 | 1.1                                |
| Toprak altı-hekzan    | 10                         | 50.9                                  | 0.5                                |
| Toprak üstü-su        | 10                         | 3397.5                                | 33.9                               |
| Toprak üstü-metanol   | 10                         | 1714.3                                | 17.1                               |
| Toprak üstü-kloroform | 10                         | 716.8                                 | 7.1                                |
| Toprak üstü-hekzan    | 10                         | 505.8                                 | 5.1                                |

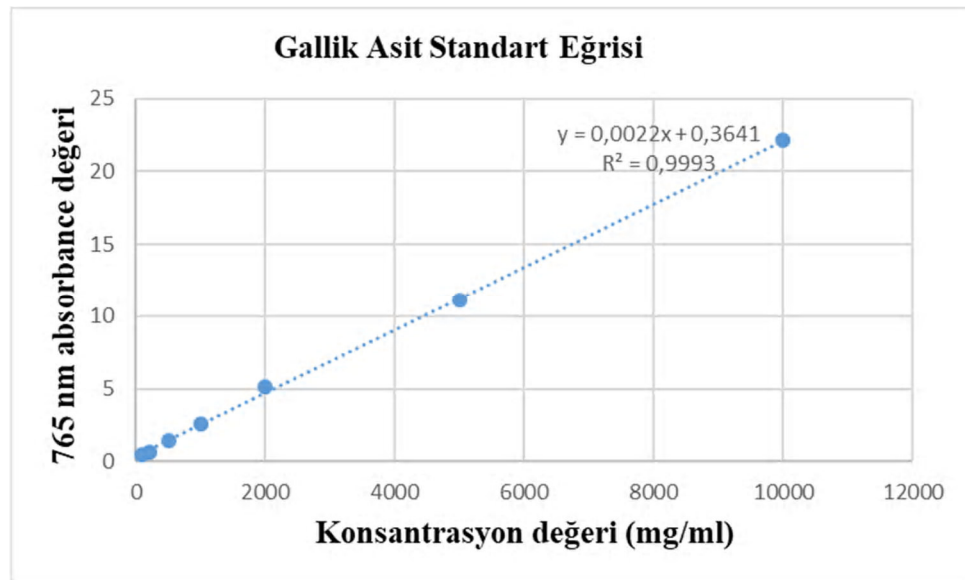
Tablo 3.2. *Echinops pungens* türüne ait örneğin ekstraksiyon sonuçları

| <i>Echinops pungens</i> |                            |                                       |                                    |
|-------------------------|----------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|
|                         | Kuru Madde Miktarı<br>(gr) | Elde Edilen Kuru Özüt<br>Miktarı (mg) | Elde Edilen<br>Özüt Yüzdesi<br>(%) |
| Toprak altı-su          | 10                         | 2737.7                                | 27.3                               |
| Toprak altı-metanol     | 10                         | 626.5                                 | 6.2                                |
| Toprak altı-kloroform   | 10                         | 199.4                                 | 1.9                                |
| Toprak altı-hekzan      | 10                         | 214.2                                 | 2.1                                |
| Toprak üstü-su          | 10                         | 2885,8                                | 28.8                               |
| Toprak üstü-metanol     | 10                         | 962.6                                 | 9.6                                |
| Toprak üstü-kloroform   | 10                         | 427,7                                 | 4.2                                |
| Toprak üstü-hekzan      | 10                         | 212.1                                 | 2.1                                |

### 3.2. Antioksidan Aktivitesine Ait Bulgular

#### 3.2.1. Total Fenolik Bileşik Miktarı Tayin Sonuçları

Toplam fenolik bileşik miktar tayini için Folin- Ciocalteu Reaktifi (FCR) kullanılmıştır. Gallik asit derişimlerine karşı absorbans değerleri ölçölüp bir standart kalibrasyon grafiğı oluşturulmuştur (şekil 3.1). Örneğlerin toplam fenolik bileşik miktar değeri gallik asit standart grafiğı kullanılarak gallik asit eş değeri (mgGAE/g ekstrakt) olarak hesaplanmıştır.



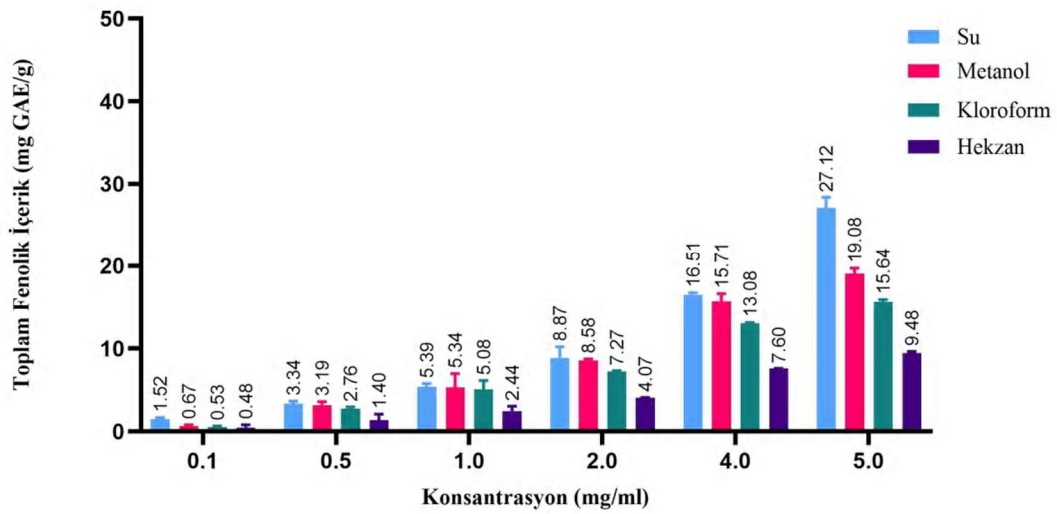
şekil 3.1. Gallik asit standart eğrisi

Tablo 3.3. *Echinops bora* türüne ait örneğinin fenolik içerik sonuçları

| Kısım       | Çözücü    | Konsantrasyon (mg/ml) | Toplam Fenolik İçerik (mg GAE/g) | Standart Sapma |
|-------------|-----------|-----------------------|----------------------------------|----------------|
| Toprak altı | Su        | 0.1                   | 1.52                             | ±0.16          |
|             |           | 0.5                   | 3.34                             | ±0.33          |
|             |           | 1                     | 5.39                             | ±0.39          |
|             |           | 2                     | 8.87                             | ±1.34          |
|             |           | 4                     | 16.51                            | ±0.24          |
|             |           | 5                     | 27.12                            | ±1.27          |
|             | Metanol   | 0.1                   | 0.67                             | ±0.15          |
|             |           | 0.5                   | 3.19                             | ±0.41          |
|             |           | 1                     | 5.34                             | ±1.65          |
|             |           | 2                     | 8.58                             | ±0.17          |
|             |           | 4                     | 15.71                            | ±0.92          |
|             |           | 5                     | 19.08                            | ±0.63          |
|             | Kloroform | 0.1                   | 0.53                             | ±0.14          |
|             |           | 0.5                   | 2.76                             | ±0.21          |
|             |           | 1                     | 5.08                             | ±1.07          |
|             |           | 2                     | 7.27                             | ±0.08          |
|             |           | 4                     | 13.08                            | ±0.08          |
|             |           | 5                     | 15.64                            | ±0.27          |
|             | Hekzan    | 0.1                   | 0.48                             | ±0.34          |
|             |           | 0.5                   | 1.40                             | ±0.70          |
|             |           | 1                     | 2.44                             | ±0.64          |
|             |           | 2                     | 4.07                             | ±0.04          |
|             |           | 4                     | 7.60                             | ±0.02          |
|             |           | 5                     | 9.48                             | ±0.19          |
| Toprak üstü | Su        | 0.1                   | 1.20                             | ±0.60          |
|             |           | 0.5                   | 3.82                             | ±0.65          |
|             |           | 1                     | 6.49                             | ±0.06          |
|             |           | 2                     | 12.44                            | ±0.63          |
|             |           | 4                     | 24.32                            | ±0.09          |
|             |           | 5                     | 30.48                            | ±0.21          |
|             | Metanol   | 0.1                   | 1.38                             | ±0.66          |
|             |           | 0.5                   | 6.85                             | ±0.80          |
|             |           | 1                     | 12.52                            | ±1.54          |
|             |           | 2                     | 20.34                            | ±0.77          |
|             |           | 4                     | 32.37                            | ±0.51          |
|             |           | 5                     | 41.78                            | ±0.18          |
|             | Kloroform | 0.1                   | 1.05                             | ±0.05          |
|             |           | 0.5                   | 2.47                             | ±0.16          |
|             |           | 1                     | 4.71                             | ±0.24          |
|             |           | 2                     | 9.44                             | ±0.49          |
|             |           | 4                     | 17.15                            | ±0.23          |
|             |           | 5                     | 22.23                            | ±0.10          |
|             | Hekzan    | 0.1                   | 0.69                             | ±0.59          |
|             |           | 0.5                   | 2.09                             | ±0.32          |
|             |           | 1                     | 3.93                             | ±0.05          |
|             |           | 2                     | 7.15                             | ±0.24          |
|             |           | 4                     | 11.57                            | ±0.14          |
|             |           | 5                     | 15.75                            | ±0.51          |

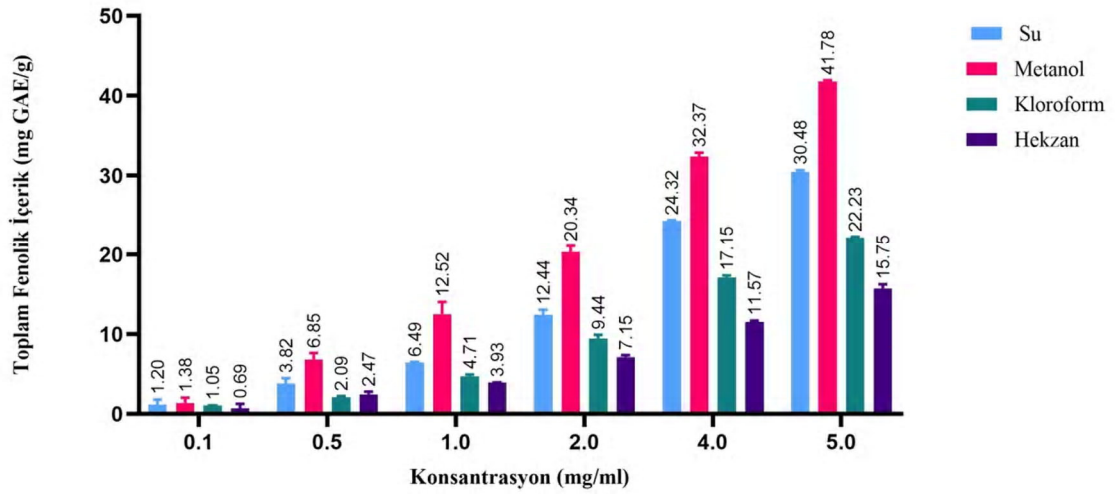
*Echinops bora* türüne ait örneğinin toprak altı kısımlarına ait su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen bitki ekstratlarının farklı konsantrasyonları (0.1 mg/ml- 0.5 mg/ml – 1 mg/ml – 2 mg/ml – 4 mg/ml- 5 mg/ml) fenolik içerik bakımından incelenmiştir.

*Echinops boraе* örneğinin toprak altı kısımlarına ait ekstreler, fenolik içerik bakımından incelendiğinde konsantrasyona bağlı olarak düzenli bir artış sergilediği görülmüştür. (Tablo 3.3). Su ile elde edilen ekstrelerin tüm konsantrasyonlarında en yüksek fenolik madde miktarına (1.52 - 27.12 mgGAE/g) sahip olduğu görülürken, bunu sırayla metanol (0.67 – 19.08 mgGAE/g), kloroform (0.53 – 15.64 mgGAE/g) ve hekzan (0.48 – 9.48 mgGAE/g) ekstrelerinin takip ettiği tespit edilmiştir. (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. *Echinops boraе* türüne ait örneğinin toprak altı kısmının fenolik içerik grafiği

*Echinops boraе* örneğinin toprak üstü kısımlarına ait su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen bitki ekstrelerinin farklı konsantrasyonları (0.1 mg/ml- 0.5 mg/ml – 1 mg/ml – 2 mg/ml – 4 mg/ml- 5 mg/ml) fenolik içerik bakımından incelenmiştir. *Echinops boraе* örneğinin toprak üstü kısımlarına ait ekstreler, fenolik içerik bakımından incelendiğinde konsantrasyon arttıkça türün sahip olduğu fenolik içerik miktarının da arttığı görülmüştür (Tablo 3.3). Metanol ile elde edilen ekstrelerin tüm konsantrasyonlarında en yüksek fenolik madde miktarına (1.38 – 41.78 mgGAE/g) sahip olduğu görülürken, bunu sırayla su (1.20 – 30.48 mgGAE/g), kloroform (1.05 – 22.23 mgGAE/g) ve hekzan (0.69 – 15.75 mgGAE/g) ile elde edilen ekstrelerinin takip ettiği tespit edilmiştir (Şekil 3.3).



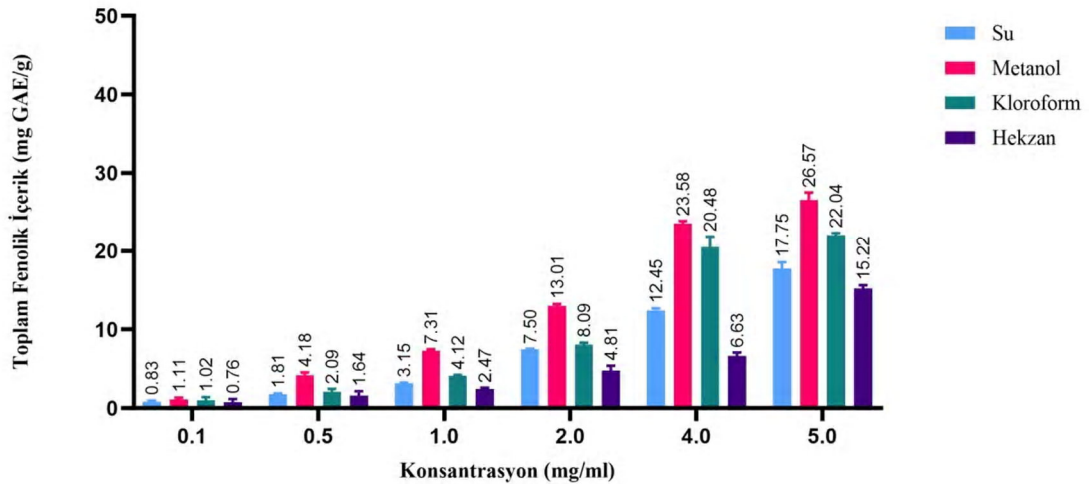
Şekil 3.3. *Echinops borae* türüne ait örneğinin toprak üstü kısmının fenolik içerik grafiği

Tablo 3.4. *Echinops pungens* türüne ait örneğinin fenolik içerik sonuçları

| Kısım       | Çözücü    | Konsantrasyon (mg/ml) | Toplam Fenolik İçerik (mg GAE/g) | Standart Sapma |
|-------------|-----------|-----------------------|----------------------------------|----------------|
| Toprak altı | Su        | 0.1                   | 0.83                             | ±0.18          |
|             |           | 0.5                   | 1.81                             | ±0.09          |
|             |           | 1                     | 3.15                             | ±0.14          |
|             |           | 2                     | 7.50                             | ±0.07          |
|             |           | 4                     | 12.45                            | ±0.27          |
|             |           | 5                     | 17.75                            | ±0.83          |
|             | Metanol   | 0.1                   | 1.11                             | ±0.26          |
|             |           | 0.5                   | 4.18                             | ±0.40          |
|             |           | 1                     | 7.31                             | ±0.18          |
|             |           | 2                     | 13.01                            | ±0.25          |
|             |           | 4                     | 23.58                            | ±0.30          |
|             |           | 5                     | 26.57                            | ±0.96          |
|             | Kloroform | 0.1                   | 1.02                             | ±0.41          |
|             |           | 0.5                   | 2.09                             | ±0.38          |
|             |           | 1                     | 4.12                             | ±0.13          |
|             |           | 2                     | 8.09                             | ±0.26          |
|             |           | 4                     | 20.48                            | ±1.39          |
|             |           | 5                     | 22.04                            | ±0.30          |
|             | Hekzan    | 0.1                   | 0.76                             | ±0.43          |
|             |           | 0.5                   | 1.64                             | ±0.54          |
|             |           | 1                     | 2.47                             | ±0.16          |
|             |           | 2                     | 4.81                             | ±0.59          |
|             |           | 4                     | 6.63                             | ±0.44          |
|             |           | 5                     | 15.22                            | ±0.41          |
| Toprak üstü | Su        | 0.1                   | 1.60                             | ±0.14          |
|             |           | 0.5                   | 6.46                             | ±0.33          |
|             |           | 1                     | 12.51                            | ±1.06          |
|             |           | 2                     | 21.14                            | ±1.43          |
|             |           | 4                     | 31.60                            | ±1.05          |
|             |           | 5                     | 37.21                            | ±1.28          |
|             | Hekzan    | 0.1                   | 2.22                             | ±0.61          |

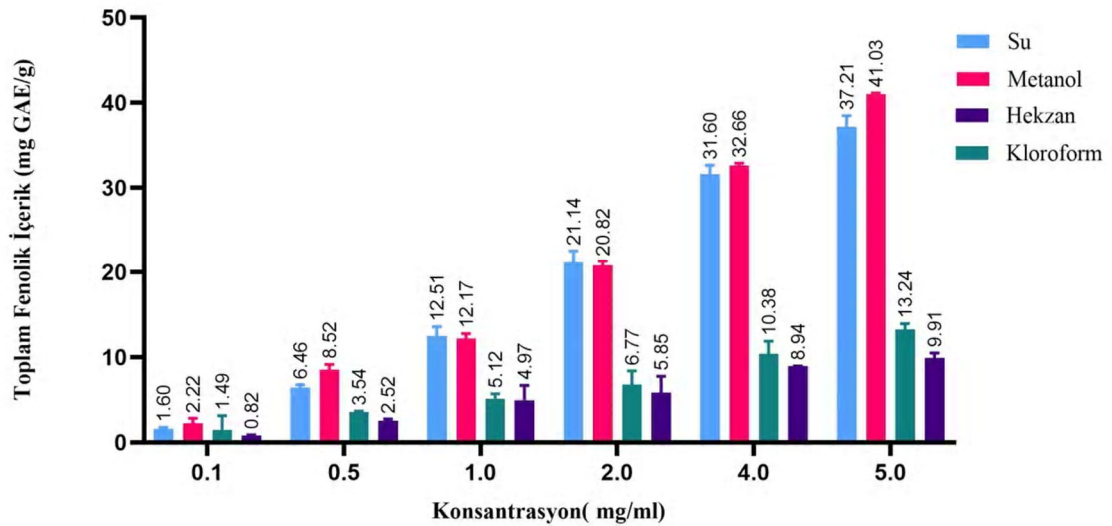
|             |           |     |       |       |
|-------------|-----------|-----|-------|-------|
| Toprak üstü | Metanol   | 0.5 | 8.52  | ±0.64 |
|             |           | 1   | 12.17 | ±0.61 |
|             |           | 2   | 20.82 | ±0.47 |
|             |           | 4   | 32.66 | ±0.24 |
|             |           | 5   | 41.03 | ±0.12 |
|             | Kloroform | 0.1 | 1.49  | ±1.65 |
|             |           | 0.5 | 3.54  | ±0.13 |
|             |           | 1   | 5.12  | ±0.57 |
|             |           | 2   | 6.77  | ±1.63 |
|             |           | 4   | 10.38 | ±1.50 |
|             |           | 5   | 13.24 | ±0.70 |
|             | Hekzan    | 0.1 | 0.82  | ±0.05 |
|             |           | 0.5 | 2.52  | ±0.23 |
|             |           | 1   | 4.97  | ±1.73 |
|             |           | 2   | 5.85  | ±1.91 |
|             |           | 4   | 8.94  | ±0.03 |
|             |           | 5   | 9.91  | ±0.59 |

*Echinops pungens*'e ait örneğin toprak altı kısımlarına ait su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen bitki ekstralarının farklı konsantrasyonları (0.1 mg/ml- 0.5 mg/ml – 1 mg/ml – 2 mg/ml – 4 mg/ml- 5 mg/ml) fenolik içerik bakımından incelenmiştir. *Echinops pungens* örneğinin toprak altı kısımlarına ait ekstratlar, fenolik içerik bakımından incelendiğinde konsantrasyonla doğru orantılı olarak fenolik madde miktarının da arttığı görülmüştür (Tablo 3.4). Tüm konsantrasyonlarda, çözücüler arasında en yüksek fenolik madde miktarı metanol ile elde edilen ekstratlerde (1.11 – 26.57 mgGAE/g) gözlemlenirken, bunu kloroform (1.02 – 22.04 mgGAE/g), su (0.83 – 17.75 mgGAE/g) ve hekzan (0.76 – 15.22 mgGAE/g) ile elde edilen ekstratların takip ettiği tespit edilmiştir (Şekil3.4).



Şekil 3.4. *Echinops pungens* türüne ait örneğin toprak altı kısmının fenolik içerik grafiği

*Echinops pungens* örneğinin toprak üstü kısımlarına ait su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen bitki ekstralarında ise farklı konsantrasyonları (0.1 mg/ml - 0.5 mg/ml - 1 mg/ml - 2 mg/ml - 4 mg/ml - 5 mg/ml) fenolik içerik bakımından incelenmiştir. *Echinops pungens*'in toprak altı ekstralarında da fenolik içerik bakımından incelendiğinde konsantrasyona bağlı olarak arttığı görülmüştür (Tablo 3.4). Metanol ile elde edilen ekstraların tüm konsantrasyonlarında en yüksek fenolik madde miktarına (2,22 – 41.03 mgGAE/g) sahip olduğu bunu sırayla su (1.60 – 37.21 mgGAE/g), kloroform (1.49 – 13.24 mgGAE/g) ve hekzan (0.82 – 9.91 mgGAE/g) ekstralarının takip ettiği tespit edilmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. *Echinops pungens* türüne ait örneğinin toprak üstü kısmının fenolik içerik grafiği

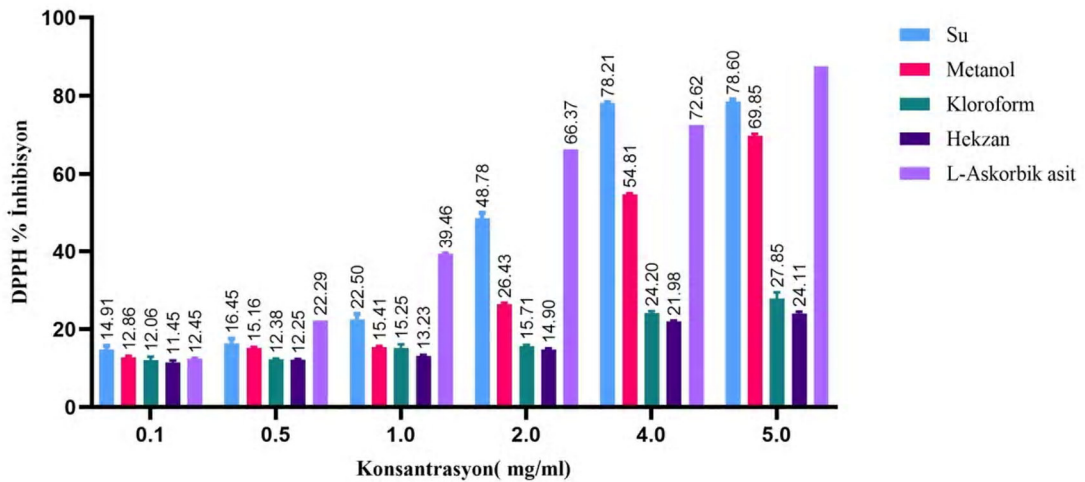
### 3.2.2. DPPH Radikali Süpürücü Aktivitelerinin Belirlenmesi

*Echinops* türlerine ait bitki örneklerinden su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen bitki ekstralarının DPPH radikali indirgenme aktiviteleri Tablo 3.5 ve Tablo 3.6'da yüzde inhibisyon olarak verilmiştir. Bu testte pozitif kontrol olarak askorbik asit kullanılmıştır.

Tablo 3.5. *Echinops bora* türüne ait örneğinin DPPH süpürme aktivitesi sonucu ve % 50 inhibisyon değerleri (mg/ml).

| Kısım           | Çözücü    | Konsantrasyon (mg/ml) | DPPH İnhibisyonu (%) | IC50 Değeri (mg/ml) |
|-----------------|-----------|-----------------------|----------------------|---------------------|
| Toprak altı     | Su        | 0.1                   | 14.91±0.88           | 2.55± 0.01          |
|                 |           | 0.5                   | 16.45±1.16           |                     |
|                 |           | 1                     | 22.5±1.47            |                     |
|                 |           | 2                     | 48.78±1.39           |                     |
|                 |           | 4                     | 78.21±0.20           |                     |
|                 |           | 5                     | 78.60±0.51           |                     |
|                 | Metanol   | 0.1                   | 12.86±0.33           | 3.57 ±0 01          |
|                 |           | 0.5                   | 15.16±0.33           |                     |
|                 |           | 1                     | 15.41±0.31           |                     |
|                 |           | 2                     | 26.43±0.36           |                     |
|                 |           | 4                     | 54.81±0.35           |                     |
|                 |           | 5                     | 69.85±0.50           |                     |
|                 | Kloroform | 0.1                   | 12.06±0.89           | 10.00 ±3.13         |
|                 |           | 0.5                   | 12.38±0.13           |                     |
|                 |           | 1                     | 15.25±0.91           |                     |
|                 |           | 2                     | 15.71±0.32           |                     |
|                 |           | 4                     | 24.20±0.46           |                     |
|                 |           | 5                     | 27.85±1.63           |                     |
|                 | Hekzan    | 0.1                   | 11.45±0.53           | 15.10± 0.38         |
|                 |           | 0.5                   | 12.25±0.12           |                     |
|                 |           | 1                     | 13.23±0.24           |                     |
|                 |           | 2                     | 14.90±0.22           |                     |
|                 |           | 4                     | 21.98±0.27           |                     |
|                 |           | 5                     | 24.11±0.39           |                     |
| Toprak üstü     | Su        | 0.1                   | 7.63±0.98            | 3.55± 0.02          |
|                 |           | 0.5                   | 23.95±0.73           |                     |
|                 |           | 1                     | 39.86±0.55           |                     |
|                 |           | 2                     | 73.56±0.39           |                     |
|                 |           | 4                     | 77.45±0.53           |                     |
|                 |           | 5                     | 78.80±0.15           |                     |
|                 | Metanol   | 0.1                   | 9.58±1.60            | 2.58 ±0.02          |
|                 |           | 0.5                   | 31.36±0.62           |                     |
|                 |           | 1                     | 55.85±0.52           |                     |
|                 |           | 2                     | 80.51±0.04           |                     |
|                 |           | 4                     | 80.40±0.10           |                     |
|                 |           | 5                     | 80.21±0.04           |                     |
|                 | Kloroform | 0.1                   | 4.13±0.45            | 21.19 ±2.76         |
|                 |           | 0.5                   | 8.60±1.31            |                     |
|                 |           | 1                     | 11.96±0.76           |                     |
|                 |           | 2                     | 17.35±1.39           |                     |
|                 |           | 4                     | 31.70±0.33           |                     |
|                 |           | 5                     | 40.36±1.09           |                     |
|                 | Hekzan    | 0.1                   | 2.20±0.32            | 52.45± 6.62         |
|                 |           | 0.5                   | 6.88±0.61            |                     |
|                 |           | 1                     | 10.83±1.13           |                     |
|                 |           | 2                     | 17.43±0.27           |                     |
|                 |           | 4                     | 18.01±2.59           |                     |
|                 |           | 5                     | 19.65±0.60           |                     |
| L-Askorbik Asit |           | 0.1                   | 12.45±0.01           | 2.90±0.31           |
|                 |           | 0.5                   | 22.29±0.00           |                     |
|                 |           | 1                     | 39.46±0.01           |                     |
|                 |           | 2                     | 66.37±0.00           |                     |
|                 |           | 4                     | 72.62±0.00           |                     |
|                 |           | 5                     | 87.58±0.00           |                     |

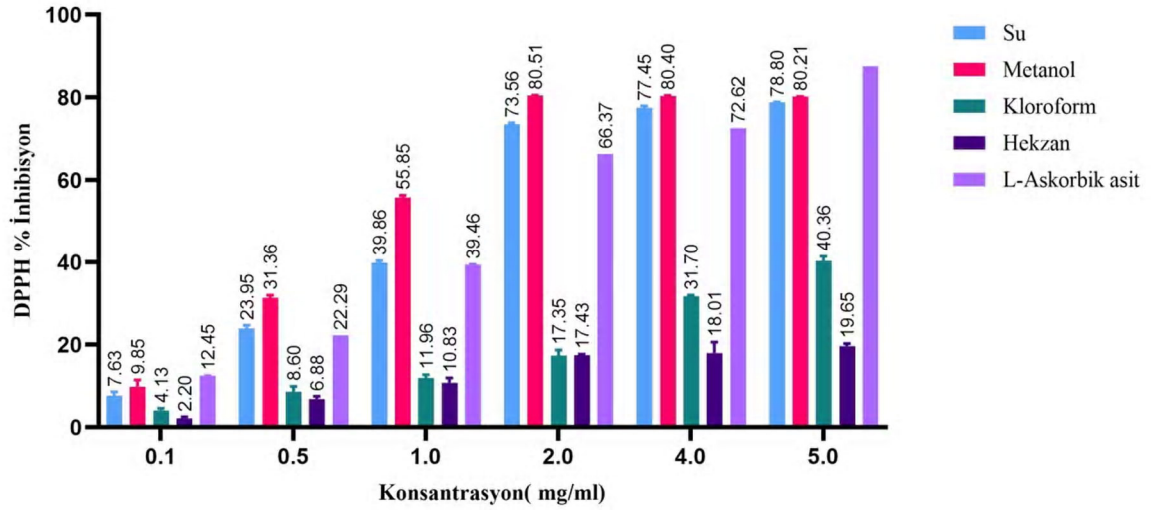
*Echinops boraе* örneğinin toprak altı kısımlarına ait su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen bitki ekstralarının konsantrasyona (0.1 mg/ml- 0.5 mg/ml – 1 mg/ml – 2 mg/ml – 4 mg/ml- 5 mg/ml) bağlı olarak arttığı görülmüştür (Tablo 3.5). Su ile elde edilen ekstraların (%14.91 – %78.90) tüm konsantrasyonlarında en yüksek DPPH radikalini giderici aktiviteye (%) sahip olduğu bunu sırası ile metanol (%12.86 - %69.85), kloroform (%12.06 - %27.85) ve hekzan (%11.45 - %24.11) ekstralarının takip ettiği tespit edilmiştir (Şekil 3.6). Referans antioksidan olarak kullanılan askorbik asit 4 mg/ml konsantrasyonda su ekstresinden daha düşük DPPH radikali giderici aktivite göstermiştir. Ekstreler IC<sub>50</sub> değerleri bakımından su (2.55 mg/ml) > metanol (3.57 mg/ml) > kloroform (10.00 mg/ml) > hekzan (15.10 mg/ml) olarak sıralanmıştır (Tablo 3.5). Düşük IC<sub>50</sub> değeri yüksek aktivitenin göstergesidir.



Şekil 3.6. *Echinops boraе* türüne ait örneğin toprak altı kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen ekstralarının DPPH radikali süpürme aktivite sonuçları

*Echinops boraе* örneğinin toprak üstü kısımlarına ait su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen bitki ekstralarının konsantrasyona (0.1 mg/ml- 0.5 mg/ml – 1 mg/ml – 2 mg/ml – 4 mg/ml- 5 mg/ml) bağlı olarak arttığı görülmüştür (Tablo 3.5). Metanol ile elde edilen ekstraların (%9.58 – %80.21) tüm konsantrasyonlarında en yüksek DPPH radikalini giderici aktiviteye (%) sahip olduğu bunu sırayla su (%7.63 - %78.80), kloroform (%4.13 - %40.36) ve hekzan (%2.20 - %19.65) ekstralarının takip ettiği tespit edilmiştir (Şekil 3.7). Referans antioksidan olarak kullanılan askorbik asit 0.5 mg/ml ve 4 mg/ml konsantrasyonda daha düşük DPPH radikali giderici aktivite göstermiştir. Ekstreler IC<sub>50</sub> değerleri bakımından metanol (2.00 µg/ml) > su (2.05 µg/ml) >

kloroform (6.30 mg/ml) > hekzan (15.01 mg/ml) olarak sıralanmıştır (Tablo 3.5). Düşük  $IC_{50}$  değeri yüksek aktivitenin göstergesidir.

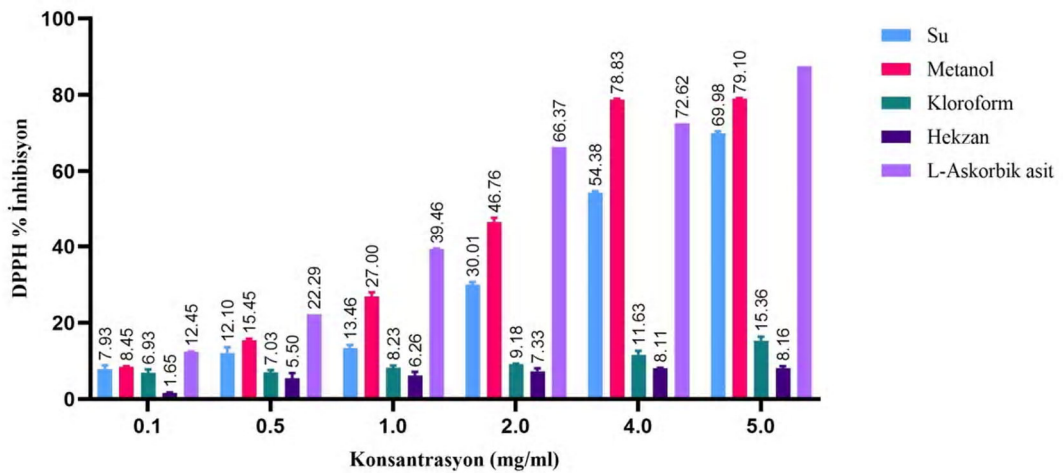


Şekil 3.7. *Echinops boraе* türüne ait toprak üstü kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen ekstratlarının DPPH radikali süpürme aktivite sonuçları

Tablo 3.6. *Echinops pungens* türüne ait örneğin DPPH süpürme aktivitesi sonucu ve % 50 inhibisyon değerleri (mg/ml).

| Kısım           | Çözücü          | Konsantrasyon (mg/ml) | DPPH İnhibisyon (%) | IC50 Değeri (mg/ml) |
|-----------------|-----------------|-----------------------|---------------------|---------------------|
| Toprak altı     | Su              | 0.1                   | 7.93±0.95           | 3.55± 0.02          |
|                 |                 | 0.5                   | 12.10±1.50          |                     |
|                 |                 | 1                     | 13.46±0.74          |                     |
|                 |                 | 2                     | 30.01±0.65          |                     |
|                 |                 | 4                     | 54.38±0.40          |                     |
|                 |                 | 5                     | 69.98±0.52          |                     |
|                 | Metanol         | 0.1                   | 8.45±0.21           | 2.58 ±0.02          |
|                 |                 | 0.5                   | 15.45±0.37          |                     |
|                 |                 | 1                     | 27.00±0.98          |                     |
|                 |                 | 2                     | 46.76±1.04          |                     |
|                 |                 | 4                     | 78.83±0.18          |                     |
|                 |                 | 5                     | 79.10±0.08          |                     |
|                 | Kloroform       | 0.1                   | 7.93±0.86           | 21.19± 2.76         |
|                 |                 | 0.5                   | 7.03±0.62           |                     |
|                 |                 | 1                     | 8.23±0.59           |                     |
|                 |                 | 2                     | 9.18±0.13           |                     |
|                 |                 | 4                     | 11.63±1.06          |                     |
|                 |                 | 5                     | 15.36±0.99          |                     |
| Toprak üstü     | Hekzan          | 0.1                   | 1.65±0.10           | 52.45 ±6.62         |
|                 |                 | 0.5                   | 5.50±1.35           |                     |
|                 |                 | 1                     | 6.26±0.92           |                     |
|                 |                 | 2                     | 7.33±0.76           |                     |
|                 |                 | 4                     | 8.11±0.14           |                     |
|                 |                 | 5                     | 8.16±0.48           |                     |
|                 | Su              | 0.1                   | 13.76±0.39          | 1.13± 0.01          |
|                 |                 | 0.5                   | 45.98±0.27          |                     |
|                 |                 | 1                     | 69.17±0.28          |                     |
|                 |                 | 2                     | 71.66±0.21          |                     |
|                 |                 | 4                     | 74.21±0.20          |                     |
|                 |                 | 5                     | 77.83±0.08          |                     |
|                 | Metanol         | 0.1                   | 12.10±1,65          | 1.42 ±0.02          |
|                 |                 | 0.5                   | 38.25±0,95          |                     |
|                 |                 | 1                     | 68.55±0,25          |                     |
|                 |                 | 2                     | 70.46±0,05          |                     |
|                 |                 | 4                     | 70.60±0,12          |                     |
|                 |                 | 5                     | 72.71±0,07          |                     |
|                 | Kloroform       | 0.1                   | 8.73±1.65           | 23.63± 4.36         |
|                 |                 | 0.5                   | 17.43±0.54          |                     |
|                 |                 | 1                     | 17.58±0.44          |                     |
|                 |                 | 2                     | 17.86±0.57          |                     |
|                 |                 | 4                     | 18.3±0.17           |                     |
|                 |                 | 5                     | 21.43±0.18          |                     |
| L-Askorbik Asit | Hekzan          | 0.1                   | 6.76±0.99           | 23.95± 2.82         |
|                 |                 | 0.5                   | 11.85±0.71          |                     |
|                 |                 | 1                     | 12.73±0.27          |                     |
|                 |                 | 2                     | 14.71±0.33          |                     |
|                 |                 | 4                     | 15.78±1.25          |                     |
|                 |                 | 5                     | 17.68±0.50          |                     |
|                 | L-Askorbik Asit | 0.1                   | 12.45±0.01          | 2.90±0.31           |
|                 |                 | 0.5                   | 22.29±0.00          |                     |
|                 |                 | 1                     | 39.46±0.01          |                     |
|                 |                 | 2                     | 66.37±0.00          |                     |
|                 |                 | 4                     | 72.62±0.00          |                     |
|                 |                 | 5                     | 87.58±0.00          |                     |

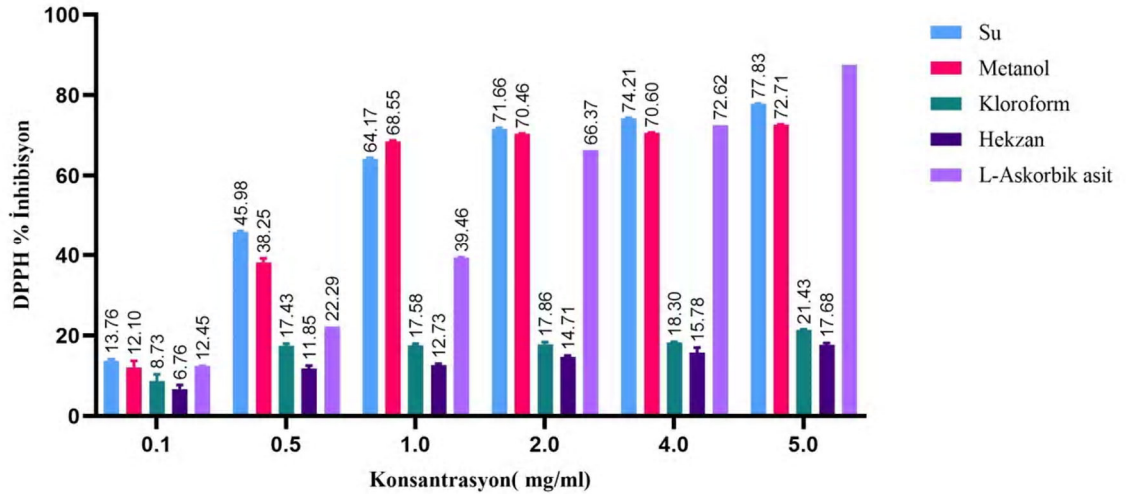
*Echinops pungens* örneğinin toprak altı kısımlarına ait su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen bitki ekstralarının konsantrasyona (0.1 mg/ml- 0.5 mg/ml – 1 mg/ml – 2 mg/ml – 4 mg/ml- 5 mg/ml) bağlı olarak arttığı görülmüştür (Tablo 3.6). Metanol ile elde edilen ekstraların (%8.45 – %79.1) tüm konsantrasyonlarında en yüksek DPPH radikalini giderici aktiviteye (%) sahip olduğu ve bunu sırayla su (%7.93 - %69.98), kloroform (%7.93 - %15.36) ve hekzan (%1.65 - %8.16) ekstralarının takip ettiği tespit edilmiştir (Şekil 3.8). Referans antioksidan olarak kullanılan askorbik asit 4 mg/ml konsantrasyonda daha düşük DPPH radikali giderici aktivite göstermiştir. Ekstreler IC<sub>50</sub> değerleri bakımından metanol (2.58 mg/ml) > su (3.58 mg/ml) > kloroform (21.19 mg/ml) > hekzan (52.45 mg/ml) olarak sıralanmıştır (Tablo 3.6). Düşük IC<sub>50</sub> değeri yüksek aktivitenin göstergesidir.



Şekil 3.8. *Echinops pungens* türüne ait örneğinin toprak altı kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen ekstralarının DPPH radikali süpürme aktivite sonuçları

*Echinops pungens* örneğinin toprak üstü kısımlarına ait su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen bitki ekstralarının konsantrasyona (0.1 mg/ml- 0.5 mg/ml – 1 mg/ml – 2 mg/ml – 4 mg/ml- 5 mg/ml) bağlı olarak arttığı görülmüştür (Tablo 3.6). Su ile elde edilen ekstraların (%13.76 – %77.83) tüm konsantrasyonlarında en yüksek DPPH radikalini giderici aktiviteye (%) sahip olduğu görülmüş ve bunu sırayla metanol (%12.10 - %70.71), kloroform (%8.73 - %21.43) ve hekzan (%6.76 - %17.68) ekstralarının takip ettiği tespit edilmiştir (Şekil 3.9). Referans antioksidan olarak kullanılan askorbik asit 5 mg/ml hariç tüm konsantrasyonlarda daha düşük DPPH

radikali giderici aktivite göstermiştir. Ekstreler  $IC_{50}$  değerleri bakımından su (1.13 mg/ml) > metanol (1.42 mg/ml) > kloroform (23.63 mg/ml) > hekzan (23.95 mg/ml) olarak sıralanmıştır (Tablo.3.6). Düşük  $IC_{50}$  değeri yüksek aktivitenin göstergesidir.



Şekil 3.9. *Echinops pungens* türüne ait örneğin toprak üstü kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen ekstralarının DPPH radikali süpürme aktivite sonuçları

### 3.3. Enzim İnhibisyonTayinlerine Ait Bulgular

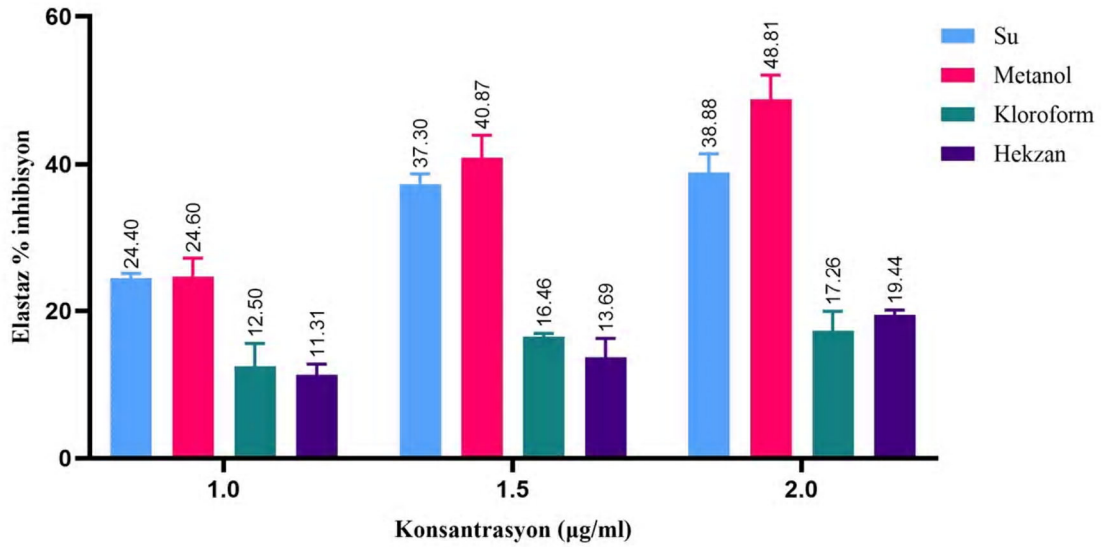
#### 3.3.1. Elastaz İnhibe Edici Aktivite Tayin Sonuçları

*Echinops bora* ve *Echinops pungens* türlerine ait örneklerden su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen bitki ekstralarının farklı konsantrasyonları için hesaplanan elastaz inhibisyon değerleri ve konsantrasyon % elastaz inhibisyon grafikleri yardımı ile belirlenen  $IC_{50}$  değerleri Tablo 3.7 ve Tablo 3.8’de verilmiştir.

Tablo 3.7. *Echinops boraе* türüne ait örneğin elastaz enzimi üzerindeki % elastaz inhibisyonu ve IC<sub>50</sub> değerleri (µg/ml)

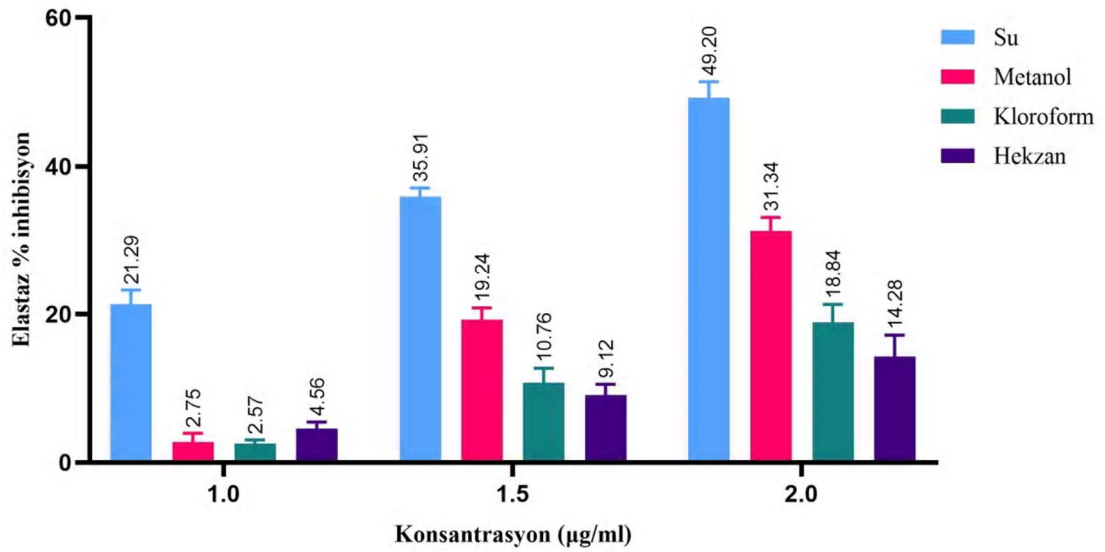
| Kısım                                             | Çözücü    | Konsantrasyon (µg/ml) | % Elastaz İnhibisyonu | IC50 Değeri (µg/ml) |
|---------------------------------------------------|-----------|-----------------------|-----------------------|---------------------|
| Toprak altı                                       | Su        | 1                     | 24.40±0.65            | 2.63±0.76           |
|                                                   |           | 1.5                   | 37.30±1.36            |                     |
|                                                   |           | 2                     | 38.88±2.53            |                     |
|                                                   | Metanol   | 1                     | 24.60±2.67            | 1.99±0.18           |
|                                                   |           | 1.5                   | 40.87±3.07            |                     |
|                                                   |           | 2                     | 48.81±3.28            |                     |
|                                                   | Kloroform | 1                     | 12.5±3.08             | 8.76±1.26           |
|                                                   |           | 1.5                   | 16.46±0.48            |                     |
|                                                   |           | 2                     | 17.26±2.68            |                     |
|                                                   | Hekzan    | 1                     | 11.31±1.45            | 5.82±1.67           |
|                                                   |           | 1.5                   | 13.69±2.58            |                     |
|                                                   |           | 2                     | 19.44±0.67            |                     |
| Toprak üstü                                       | Su        | 1                     | 21.29±1.95            | 2.04±0.49           |
|                                                   |           | 1.5                   | 35.91±1.17            |                     |
|                                                   |           | 2                     | 49.20±2.21            |                     |
|                                                   | Metanol   | 1                     | 5.75±1.17             | 2.72±0.16           |
|                                                   |           | 1.5                   | 19.24±1.58            |                     |
|                                                   |           | 2                     | 31.34±1.79            |                     |
|                                                   | Kloroform | 1                     | 2.57±0.48             | 3.90±0.72           |
|                                                   |           | 1.5                   | 10.76±1.95            |                     |
|                                                   |           | 2                     | 18.84±2.43            |                     |
|                                                   | Hekzan    | 1                     | 4.56±0.89             | 5.98±1.25           |
|                                                   |           | 1.5                   | 9.12±1.44             |                     |
|                                                   |           | 2                     | 14.28±0.75            |                     |
| N- methoxysuccinyl-Ala-Ala-Pro-Choloro (10 µg/ml) |           |                       | 44.64±2.87            |                     |

*Echinops boraе* örneğinin toprak altı kısımlarına ait su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen bitki ekstralarının farklı konsantrasyonları (1 µg/ml – 1.5 µg/ml - 2 µg/ml) elastaz üzerindeki inhibisyon aktiviteleri incelendiğinde konsantrasyona bağlı olarak arttığı görülmüştür (Tablo3.7). Örneklerin, elastaz üzerindeki inhibisyon aktivitelerinin büyükten küçüğe sırasıyla metanol (%24.60 - %48.81), su (%24.40 - %38.88), hekzan (%11.31 - %19.44) ve kloroform (%12.50 - %17.26) ekstraları olarak sıralandığı tespit edilmiştir (Şekil 3.10). *Echinops boraе* örneğinin toprak altı kısımları için IC<sub>50</sub> değerinin en düşük olması nedeniyle en yüksek oranda inhibe eden ektrenin metanol ekstresi (IC<sub>50</sub> 1.99±0.187 µg/ml) olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.7).



Şekil 3.10. *Echinops boraе* türüne ait toprak altı kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen ekstralarının konsantrasyon % elastaz inhibisyon grafiği

*Echinops boraе* örneğinin toprak üstü kısımlarına ait su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen bitki ekstralarının farklı konsantrasyonları (1 µg/ml – 1.5 µg/ml - 2 µg/ml) elastaz üzerindeki inhibisyon aktiviteleri incelendiğinde konsantrasyona bağlı olarak arttığı görülmüştür (Tablo 3.7). Örneklerin, elastaz üzerindeki inhibisyon aktivitelerinin büyükten küçüğe sırasıyla su (%21.29 - %49.20), metanol (%5.75 - %31.34), kloroform (%2.57 - %18.84) ve hekzan (%4.56 - %14.28) ekstraları olarak sıralandığı tespit edilmiştir (Şekil 3.11). *Echinops boraе* örneğinin toprak üstü kısımları için IC<sub>50</sub> değerinin en düşük olması nedeniyle en yüksek oranda inhibe eden ekstrenin metanol ekstresi (IC<sub>50</sub> değeri 2.04 ±0.49 µg/ml) olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.7).

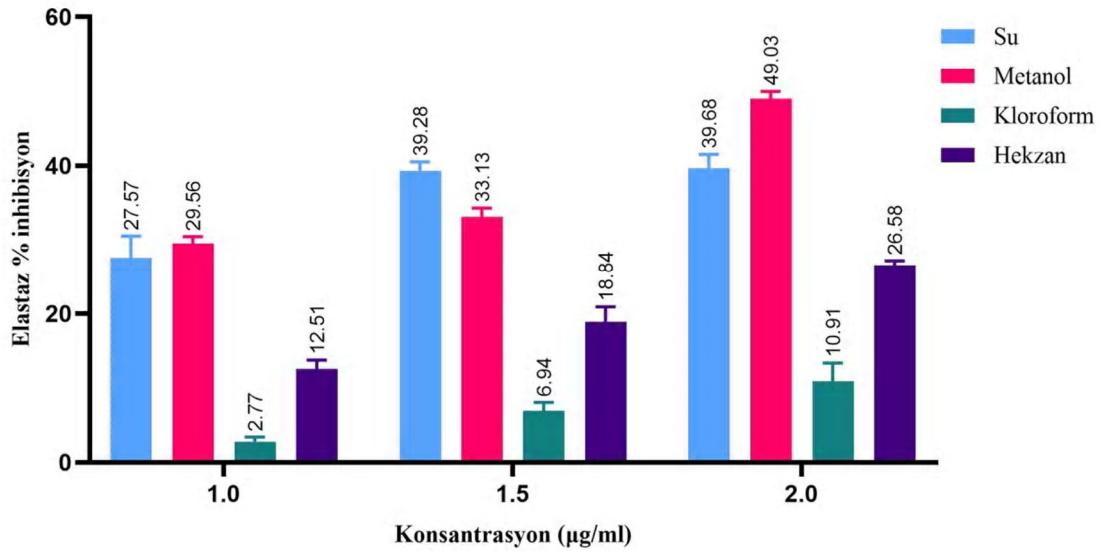


Şekil 3.11. *Echinops borae* türüne ait örneğinin toprak üstü kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen ekstratlarının konsantrasyon % elastaz inhibisyon grafiği

Tablo 3.8. *Echinops pungens* türüne ait örneğinin elastaz enzimi üzerindeki % elastaz inhibisyonu ve IC50 değerleri (µg/ml)

| Kısım                                             | Çözücü    | Konsantrasyon<br>(µg/ml) | % Elastaz<br>İnhibisyonu | IC50 Değeri<br>(µg/ml) |
|---------------------------------------------------|-----------|--------------------------|--------------------------|------------------------|
| Toprak altı                                       | Su        | 1                        | 27.57±2.95               | 2.69±0.56              |
|                                                   |           | 1.5                      | 39.28±1.22               |                        |
|                                                   |           | 2                        | 39.68±1.84               |                        |
|                                                   | Metanol   | 1                        | 29.56±0.89               | 2.15±0.11              |
|                                                   |           | 1.5                      | 33.13±1.17               |                        |
|                                                   |           | 2                        | 49.03±0.97               |                        |
|                                                   | Kloroform | 1                        | 2.77±0.61                | 6.79±0.15              |
|                                                   |           | 1.5                      | 6.94±1.14                |                        |
|                                                   |           | 2                        | 10.91±2.43               |                        |
|                                                   | Hekzan    | 1                        | 12.51±1.24               | 3.68±0.16              |
|                                                   |           | 1.5                      | 18.84±2.05               |                        |
|                                                   |           | 2                        | 26.58±0.61               |                        |
| Toprak üstü                                       | Su        | 1                        | 24.60±3.07               | 2.74±0.06              |
|                                                   |           | 1.5                      | 31.15±2.85               |                        |
|                                                   |           | 2                        | 39.28±1.06               |                        |
|                                                   | Metanol   | 1                        | 30.35±1.92               | 1.92±0.02              |
|                                                   |           | 1.5                      | 49.60±3.50               |                        |
|                                                   |           | 2                        | 61.11±0.61               |                        |
|                                                   | Kloroform | 1                        | 21.23±1.58               | 2.61±0.09              |
|                                                   |           | 1.5                      | 34.32±2.05               |                        |
|                                                   |           | 2                        | 38.09±1.50               |                        |
|                                                   | Hekzan    | 1                        | 16.27±0.61               | 2.94±0.07              |
|                                                   |           | 1.5                      | 24.08±2.85               |                        |
|                                                   |           | 2                        | 33.73±0.97               |                        |
| N- methoxysuccinyl-Ala-Ala-Pro-Choloro (10 µg/ml) |           |                          | 44.64±2.87               |                        |

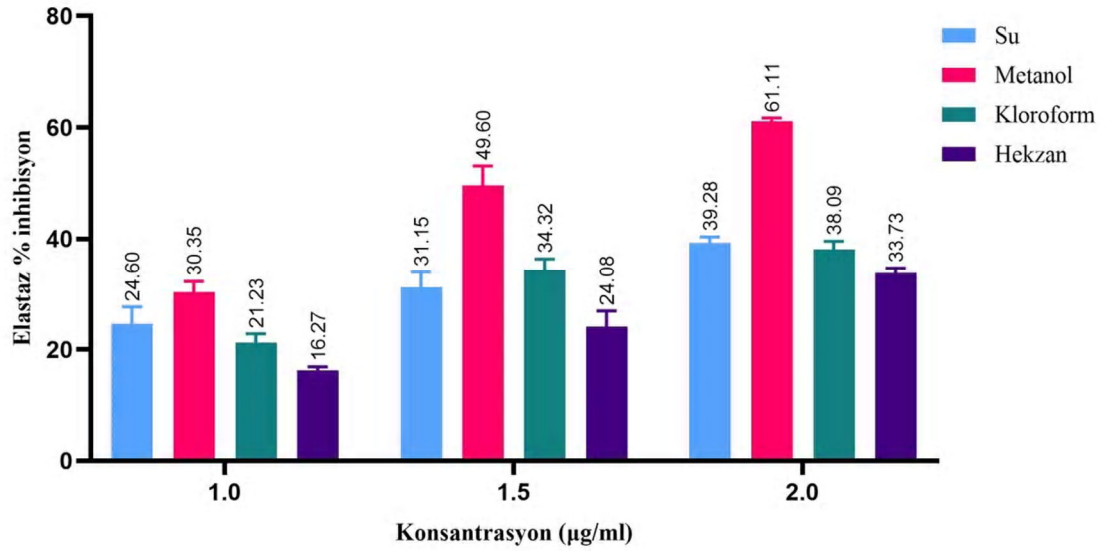
*Echinops pungens* türüne ait örneğin toprak altı kısımlarına ait su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen bitki ekstraktlarının farklı konsantrasyonları (1 µg/ml – 1.5 µg/ml - 2 µg/ml) elastaz üzerindeki inhibisyon aktiviteleri incelendiğinde konsantrasyona bağlı olarak arttığı görülmüştür (Tablo 3.8). Örneklerin, elastaz üzerindeki inhibisyon aktivitelerinin büyükten küçüğe sırasıyla metanol (%29.56 - %49.03), su (%27.57 - %39.68), hekzan (%12.51 - %26.58) ve kloroform (%2.77 - %10.91) ekstraktları olarak sıralandığı tespit edilmiştir (Şekil 3.12). *Echinops pungens* türüne ait örneğin toprak altı kısımları için IC<sub>50</sub> değerinin en düşük olması nedeniyle en yüksek oranda inhibe eden ekstrenin metanol ekstresi (IC<sub>50</sub> değeri 2.15±0.11 µg/ml) olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.8).



Şekil 3.12. *Echinops pungens* türüne ait örneğin toprak altı kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen ekstraktlarının konsantrasyon % elastaz inhibisyon grafiği

*Echinops pungens*'in toprak üstü kısımlarına ait su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen bitki ekstraktlarının farklı konsantrasyonları (1 µg/ml – 1.5 µg/ml - 2 µg/ml) elastaz üzerindeki inhibisyon aktiviteleri incelendiğinde konsantrasyona bağlı olarak arttığı görülmüştür (Tablo 3.8). Örneklerin, elastaz üzerindeki inhibisyon aktivitelerinin büyükten küçüğe sırasıyla metanol (%30.35 - %61.11), su (%24.60 - %39.28), kloroform (%21.23 - %38.09) ve hekzan (%16.27 - %33.73) ekstraktları olarak sıralandığı tespit edilmiştir (Şekil 3.13). *Echinops pungens* örneğinin toprak altı kısımları için IC<sub>50</sub>

değerinin en düşük olması nedeniyle en yüksek oranda inhibe eden ektrenin metanol ekstresi ( $IC_{50}$  değeri  $1.92 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$ ) olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.8).



Şekil 3.13. *Echinops pungens* türüne ait örneğin toprak üstü kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen ekstraktlarının konsantrasyon -% elastaz inhibisyon grafiği

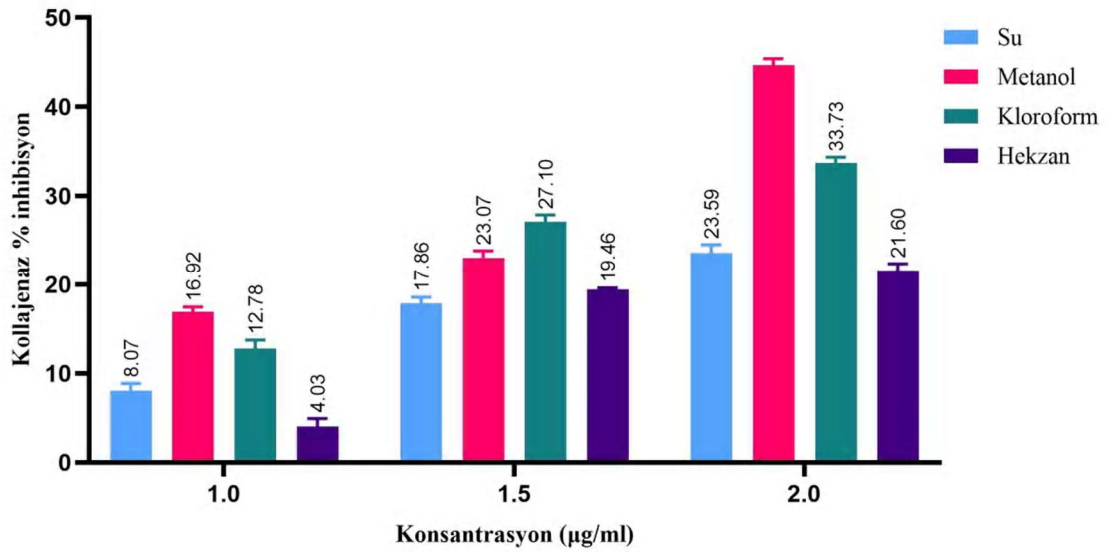
### 3.3.2. Kollajenaz İnhibe Edici Aktivite Tayin Sonuçları

*Echinops boraie* ve *Echinops pungens* türlerine ait örneklerin su, metanol, kloroform ve hekzan ekstraktlarının farklı konsantrasyonları için hesaplanan kollajenaz inhibisyon değerleri ve konsantrasyon % kollajenaz inhibisyon grafikleri yardımı ile belirlenen  $IC_{50}$  değerleri Tablo 3.9 ve Tablo 3.10'da verilmiştir.

Tablo 3.9. *Echinops bora*e türüne ait örneğin kollajenaz enzimi üzerindeki % kollajenaz inhibisyonu ve  $IC_{50}$  değerleri ( $\mu\text{g/ml}$ )

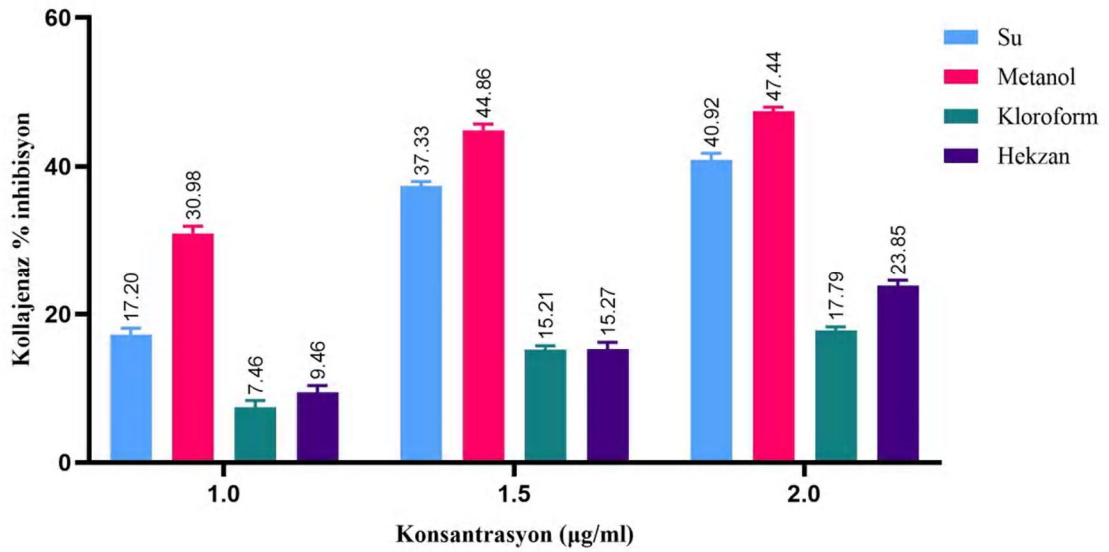
| Kısım           | Çözücü    | Konsantrasyon<br>(µg/ml) | % Kollajenaz<br>İnhibisyonu | IC50 Değeri<br>(µg/ml) |
|-----------------|-----------|--------------------------|-----------------------------|------------------------|
| Toprak altı     | Su        | 1                        | 8.07± 0.81                  | 3.65±0.29              |
|                 |           | 1.5                      | 17.86± 0.72                 |                        |
|                 |           | 2                        | 23.59± 0.94                 |                        |
|                 | Metanol   | 1                        | 16.92± 0.54                 | 2.30±0.23              |
|                 |           | 1.5                      | 23.07± 0.79                 |                        |
|                 |           | 2                        | 44.68± 0.72                 |                        |
|                 | Kloroform | 1                        | 12.78± 0.99                 | 2.71±0.81              |
|                 |           | 1.5                      | 27.10± 0.80                 |                        |
|                 |           | 2                        | 33.73± 0.63                 |                        |
|                 | Hekzan    | 1                        | 4.03± 0.90                  | 3.25±0.76              |
|                 |           | 1.5                      | 19.46± 0.17                 |                        |
|                 |           | 2                        | 21.60± 0.78                 |                        |
| Toprak üstü     | Su        | 1                        | 17.20± 0.90                 | 2.26±0.92              |
|                 |           | 1.5                      | 37.33 ±0.64                 |                        |
|                 |           | 2                        | 40.92± 0.84                 |                        |
|                 | Metanol   | 1                        | 30.98± 0.99                 | 2.03±0.18              |
|                 |           | 1.5                      | 44.86± 0.82                 |                        |
|                 |           | 2                        | 47.44± 0.54                 |                        |
|                 | Kloroform | 1                        | 7.46 ±0.90                  | 2.16±0.65              |
|                 |           | 1.5                      | 15.21± 0.51                 |                        |
|                 |           | 2                        | 17.79± 0.48                 |                        |
|                 | Hekzan    | 1                        | 9.46± 0.90                  | 3.84±0.92              |
|                 |           | 1.5                      | 15.27 ±0.92                 |                        |
|                 |           | 2                        | 23.85± 0.69                 |                        |
| L-Askorbik asit |           | 1.5                      | 62.46 0.37                  |                        |

*Echinops bora*e örneğinin toprak altı kısımlarına ait su, metanol, kloroform ve hekzan ekstralarının farklı konsantrasyonları (1  $\mu\text{g/ml}$  – 1.5  $\mu\text{g/ml}$  - 2  $\mu\text{g/ml}$ ) kollajenaz üzerindeki inhibisyon aktiviteleri incelendiğinde konsantrasyona bağlı olarak arttığı görülmüştür (Tablo 3.9). Örneklerin, kollajenaz üzerindeki inhibisyon aktivitelerinin büyükten küçüğe sırasıyla metanol (% 16.92 - %44.68), kloroform (%12.78 - %33.73), su (%8.07 - %23.59) ve hekzan (%4.03 - %21.60) ekstraları olarak sıralandığı tespit edilmiştir (Şekil 3.14). *Echinops bora*e örneğinin toprak altı kısımları için  $IC_{50}$  değerinin en düşük olması nedeniyle en yüksek oranda inhibe eden ektrenin metanol ekstresi ( $IC_{50}$  değeri 2.30±0.23  $\mu\text{g/ml}$ ) olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.9).



Şekil 3.14. *Echinops boraе* türüne ait örneğin toprak altı kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen ekstralarının konsantrasyon -% kollajenaz inhibisyon grafiği

*Echinops boraе* örneğinin toprak üstü kısımlarına ait su, metanol, kloroform ve hekzan ekstralarının farklı konsantrasyonları (1 µg/ml – 1.5 µg/ml - 2 µg/ml) kollajenaz üzerindeki inhibisyon aktiviteleri incelendiğinde konsantrasyona bağlı olarak arttığı görülmüştür (Tablo 3.9). Örneklerin, kollajenaz üzerindeki inhibisyon aktivitelerinin büyükten küçüğe sırasıyla metanol (% 30.98 - %47.44), su (%17.20 - %40.92), hekzan (%9.46 - %23.85) ve kloroform (%7.46 - %17.79), ve ekstraları olarak sıralandığı tespit edilmiştir (Şekil 3.15). *Echinops boraе* örneğinin toprak üstü kısımları için IC<sub>50</sub> değerinin en düşük olması nedeniyle en yüksek oranda inhibe eden ekstrenin metanol ekstresi (IC<sub>50</sub> değeri 2.03±0.18 µg/ml) olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.9).

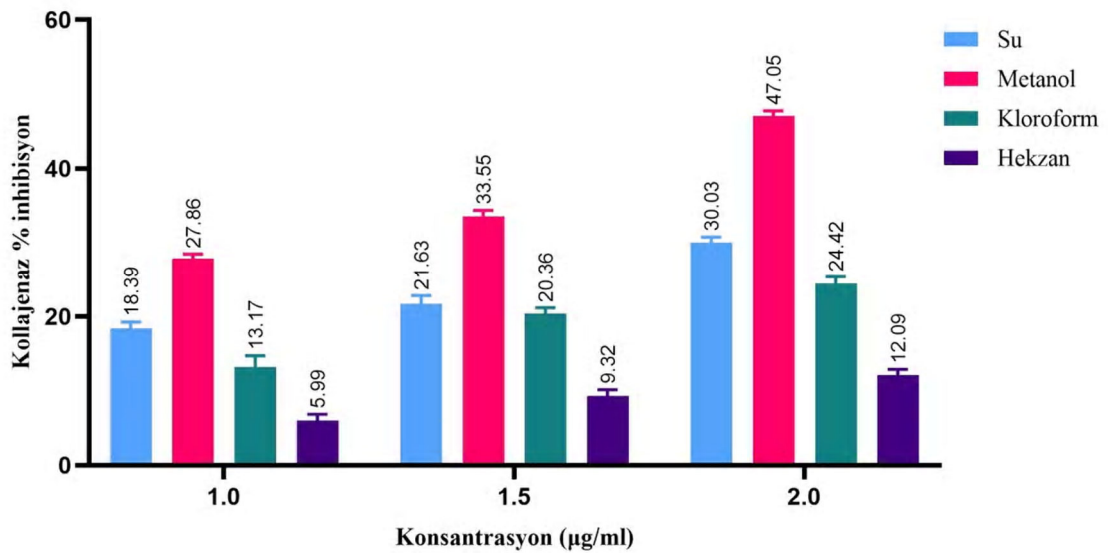


Şekil 3.15. *Echinops borae* türüne ait örneğin toprak üstü kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen ekstratlarının konsantrasyon -% kollajenaz inhibisyon grafiği

Tablo 3.10. *Echinops pungens* türüne ait örneğin kollajenaz enzimi üzerindeki % kollajenaz inhibisyonu ve  $IC_{50}$  değerleri (µg/ml)

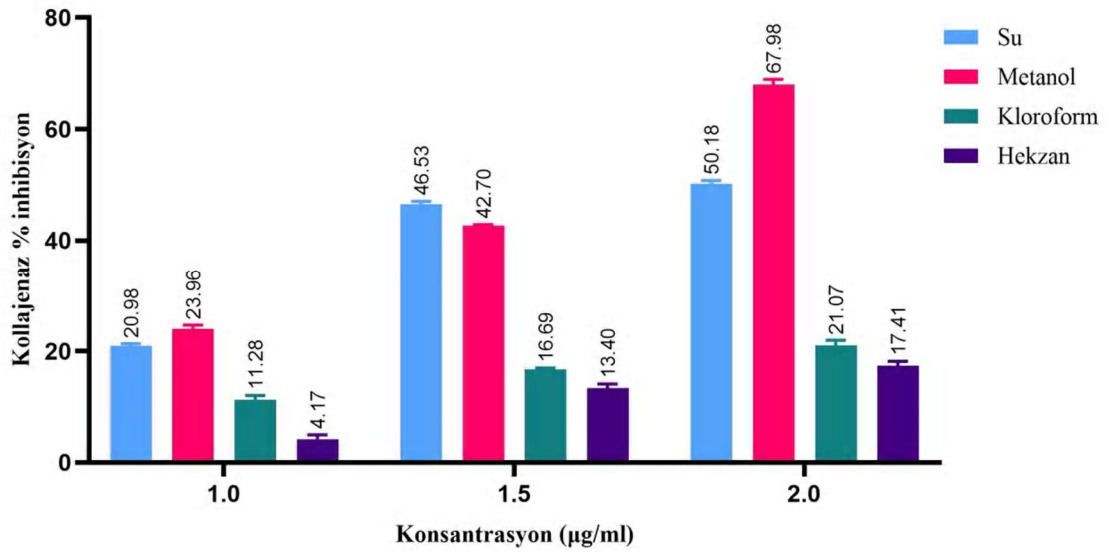
| Kısım           | Çözücü    | Konsantrasyon<br>(µg/ml) | % Kollajenaz<br>İnhibisyonu | IC50 Değeri<br>(µg/ml) |
|-----------------|-----------|--------------------------|-----------------------------|------------------------|
| Toprak altı     | Su        | 1                        | 18.39 ±0.84                 | 3.78±0.77              |
|                 |           | 1.5                      | 21.63± 1.18                 |                        |
|                 |           | 2                        | 30.03± 0.75                 |                        |
|                 | Metanol   | 1                        | 27.86 ±0.62                 | 2.22±0.39              |
|                 |           | 1.5                      | 33.55± 0.80                 |                        |
|                 |           | 2                        | 47.05± 0.72                 |                        |
|                 | Kloroform | 1                        | 13.17 ±1.53                 | 4.22±0.88              |
|                 |           | 1.5                      | 20.36± 0.77                 |                        |
|                 |           | 2                        | 24.42± 0.94                 |                        |
|                 | Hekzan    | 1                        | 5.99± 0.87                  | 8.19±0.97              |
|                 |           | 1.5                      | 9.32 ±0.84                  |                        |
|                 |           | 2                        | 12.09± 0.78                 |                        |
| Toprak üstü     | Su        | 1                        | 20.98± 0.36                 | 1.86±0.27              |
|                 |           | 1.5                      | 46.53± 0.54                 |                        |
|                 |           | 2                        | 50.18± 0.62                 |                        |
|                 | Metanol   | 1                        | 23.96± 0.72                 | 1.61±0.14              |
|                 |           | 1.5                      | 42.7 ±0.18                  |                        |
|                 |           | 2                        | 67.98± 0.99                 |                        |
|                 | Kloroform | 1                        | 11.28± 0.78                 | 4.93±0.59              |
|                 |           | 1.5                      | 16.69± 0.27                 |                        |
|                 |           | 2                        | 21.07 ±0.89                 |                        |
|                 | Hekzan    | 1                        | 4.17 ±0.80                  | 4,39±0.67              |
|                 |           | 1.5                      | 13.40 ±0.71                 |                        |
|                 |           | 2                        | 17.41± 0.76                 |                        |
| L-Askorbik asit |           | 1.5                      | 62.46 0.37                  |                        |

*Echinops pungens* örneğinin toprak altı kısımlarına ait su, metanol, kloroform ve hekzan ekstraktlarının farklı konsantrasyonları (1 µg/ml – 1.5 µg/ml - 2 µg/ml) kollajenaz üzerindeki inhibisyon aktiviteleri incelendiğinde konsantrasyona bağlı olarak arttığı görülmüştür (Tablo 3.10). Örneklerin, kollajenaz üzerindeki inhibisyon aktivitelerinin büyükten küçüğe sırasıyla metanol (%27.86 - %47.05), su (%18.39 - %30.03), kloroform (%13.17 - %24.42) ve hekzan (%5.99 - %12.09) ekstraktları olarak sıralandığı tespit edilmiştir. (Şekil 3.16). *Echinops pungens* örneğinin toprak altı kısımları için IC<sub>50</sub> değerinin en düşük olması nedeniyle en yüksek oranda inhibe eden ekstrenin metanol ekstresi (IC<sub>50</sub> 2.22±0.39 µg/ml) olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.10).



Şekil 3.16. *Echinops pungens* türüne ait toprak altı kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen ekstraktlarının konsantrasyon -% kollajenaz inhibisyon grafiği

*Echinops pungens* örneğinin toprak üstü kısımlarına ait su, metanol, kloroform ve hekzan ekstraktlarının farklı konsantrasyonları (1 µg/ml – 1.5 µg/ml - 2 µg/ml) kollajenaz üzerindeki inhibisyon aktiviteleri incelendiğinde konsantrasyona bağlı olarak arttığı görülmüştür (Tablo 3.10). Örneklerin, kollajenaz üzerindeki inhibisyon aktivitelerinin büyükten küçüğe sırasıyla metanol (%23.96 - %67.98), su (%20.98 - %50.18), kloroform (%11.28 - %21.07) ve hekzan (%4.17 - %17.41) ekstraktları olarak sıralandığı tespit edilmiştir (Şekil 3.17). *Echinops pungens* örneğinin toprak üstü kısımları için IC<sub>50</sub> değerinin en düşük olması nedeniyle en yüksek oranda inhibe eden ekstrenin metanol ekstresi (IC<sub>50</sub> değeri 1.61±0.14 µg/ml) olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.10).



Şekil 3.17. *Echinops pungens* türüne ait örneğin toprak üstü kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen ekstralarının konsantrasyon -% kollajenaz inhibisyon grafiği

### 3.4. GC-MS Sonuçları

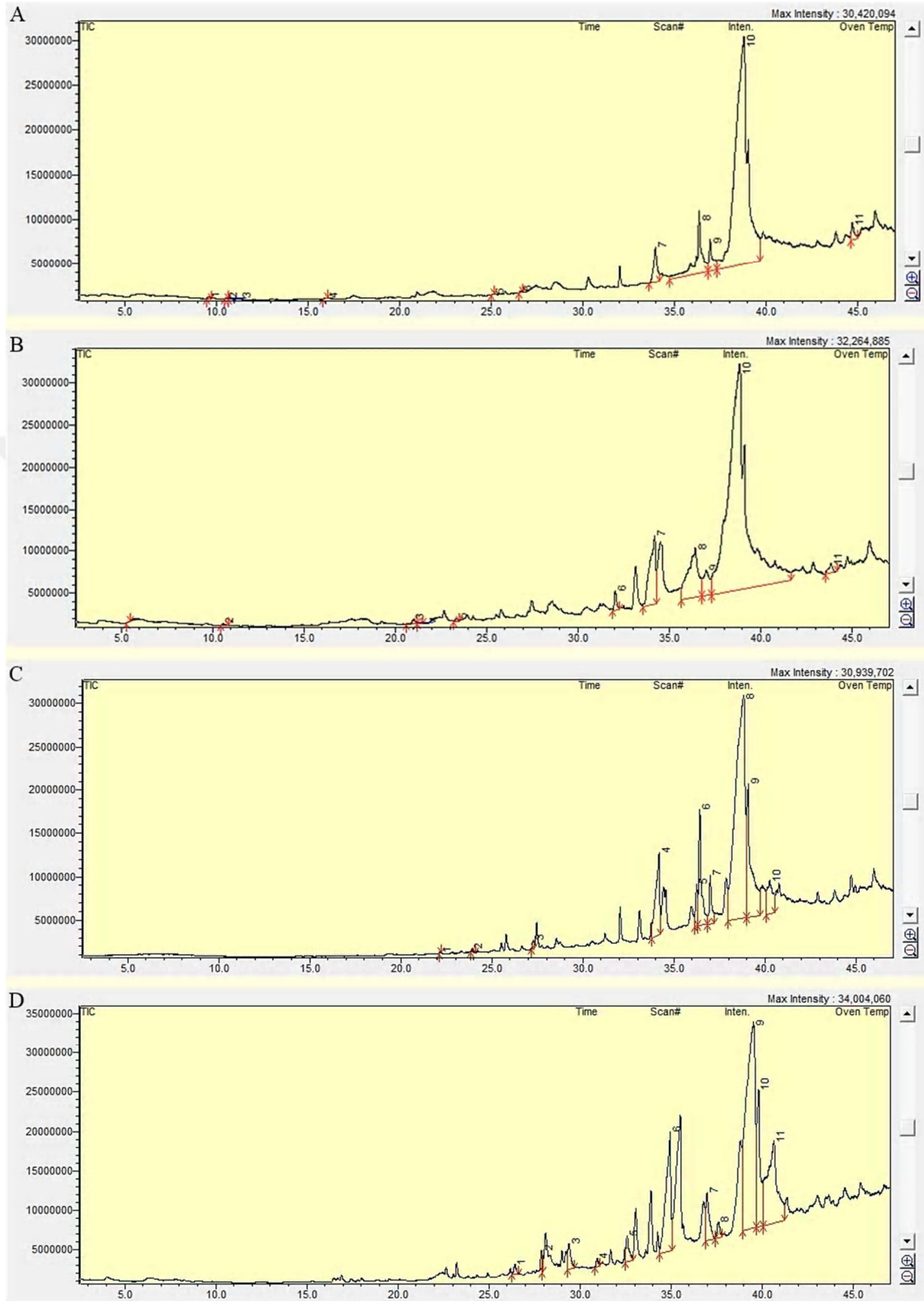
*Echinops* cinsine ait iki türünün örneklerinin toprak altı ve toprak üstü kısımları kullanılarak hazırlanan su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen ekstraların içeriği GC-MS ile tespit edilmiştir (Tablo 3.11- Tablo 3.13).

Tablo 3.11. *Echinops bora* türüne ait örneğin toprak altı kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ekstralarının GC-MS analiz sonuçları

| Bileşenler                                                     | Su (%) | Metanol (%) | Kloroform (%) | Hekzan (%) |
|----------------------------------------------------------------|--------|-------------|---------------|------------|
| 1 1-(Piperidin-2-ylmethyl)piperidine                           | -      | 0.02        | -             | -          |
| 2 Pyrrolidine N-(3-methyl-3-butenyl)-                          | 0.08   | 0.14        | -             | -          |
| 3 Phenol,3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-                           | -      | 0.08        | -             | -          |
| 4 Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS)                        | 3.21   | 0.90        | 3.06          | 1.86       |
| 5 Tetradecanoic asid (CAS)                                     | 3.75   | 7.89        | 8.70          | 13.93      |
| 6 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester                       | 9.68   | 9.47        | 8.15          | -          |
| 7 Methyl stearate                                              | -      | 2.91        | -             | -          |
| 8 9-Octadecenoic acid, 1,2,3-propanetriyl ester, (E,E,E)-      | 1.39   | 77.44       | -             | -          |
| 9 Cis-9-Hexadecenal                                            | 81.58  | 0.69        | 55.59         | -          |
| 10 MENTHONE-D1                                                 | -      | 0.29        | -             | -          |
| 11 1,6,10-Dodecatrien-3-ol,3,7,11-trimethyl-,(E)-              | -      | -           | 0.06          | -          |
| 12 Tricyclo[6.3.0.0(1,5)]undec-2-en-4-one,2,3,5,9-tetramethyl- | -      | -           | 0.16          | -          |
| 13 3-Methyl-2-butenic acid, tridec-2-ynyl ester                | -      | -           | 0.40          | -          |
| 14 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-                            | -      | -           | 2.10          | -          |

|    |                                                                 |      |      |       |       |
|----|-----------------------------------------------------------------|------|------|-------|-------|
| 15 | Octadecanoic acid (CAS)                                         | -    | -    | 16.50 | 10.79 |
| 16 | Tributyl acetylcitrate                                          | -    | -    | 5.28  | -     |
| 17 | 4H-Pyran-4-one,2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-              | 0.15 | -    | -     | -     |
| 18 | Cyclopentanol,2-methyl-(CAS)                                    | 0.01 | -    | -     | -     |
| 19 | Phenol,2,6-dimethoxy-                                           | 0.06 | -    | -     | -     |
| 20 | 1-Tetradecanol(CAS)                                             | 0.03 | -    | -     | -     |
| 21 | Methyl tetradecanoate                                           | 0.06 | -    | -     | -     |
| 22 | (-)-Caryophyllene oxide                                         | -    | -    | --    | 0.54  |
| 23 | 1,2-Benzenediol, o-(6- chlorohexanyl)-o'-(3-methylbut-2-enoyl)- | -    | -    | -     | 0.67  |
| 24 | .alpha.Gurjunene (CAS)                                          | -    | -    | -     | 1.91  |
| 25 | 11-Octadecenoic acid, methyl ester                              | -    | -    | -     | 3.97  |
| 26 | Octadecenoic acid, methyl ester (CAS)                           | -    | -    | -     | 1.12  |
| 27 | Oleyl alcohol, hepta fluorobutyrate                             | -    | -    | -     | 44.76 |
| 28 | 2,2'.5'.2'-Terthiophene                                         | -    | -    | -     | 20.00 |
| 29 | d-Nerolidol                                                     | -    | 0.17 | -     | -     |

*Echinops boraе* örneğinin toprak altı kısımlarına ait su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen bitki ekstralarının GC-MS sonuçları incelendiğinde, suda ve metanol ile elde edilen ekstralar için 11 bileşen, kloroform ve hekzan ile elde edilen ekstralar için 10 bileşen belirlenmiştir (Tablo 3.11). Su ile elde edilen ekstralar için ilk üç bileşen cis-9-hexadecenal (%81.58), 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (%9.68) ve Tetradecanoic asid (%3.75) olduğu, metanol ile elde edilen ekstralar için ilk üç bileşen 9-Octadecenoic acid, 1,2,3-propanetriyl ester, (E,E,E)- (%77.44), 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (%9.47) ve Tetradecanoic asid (%7.89) olduğu, kloroformda çözünen ekstralar için ilk üç bileşen cis-9-hexadecenal (%55.59), 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (%8.15) ve Tetradecanoic asid (%8.70) olduğu, hekzanda çözünen ekstralar için ilk üç bileşen Oleyl alcohol, hepta fluorobutyrate (%44.76), 2,2'.5'.2'-Terthiophene (%20.00) ve Tetradecanoic asid (%13.93) olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.18).

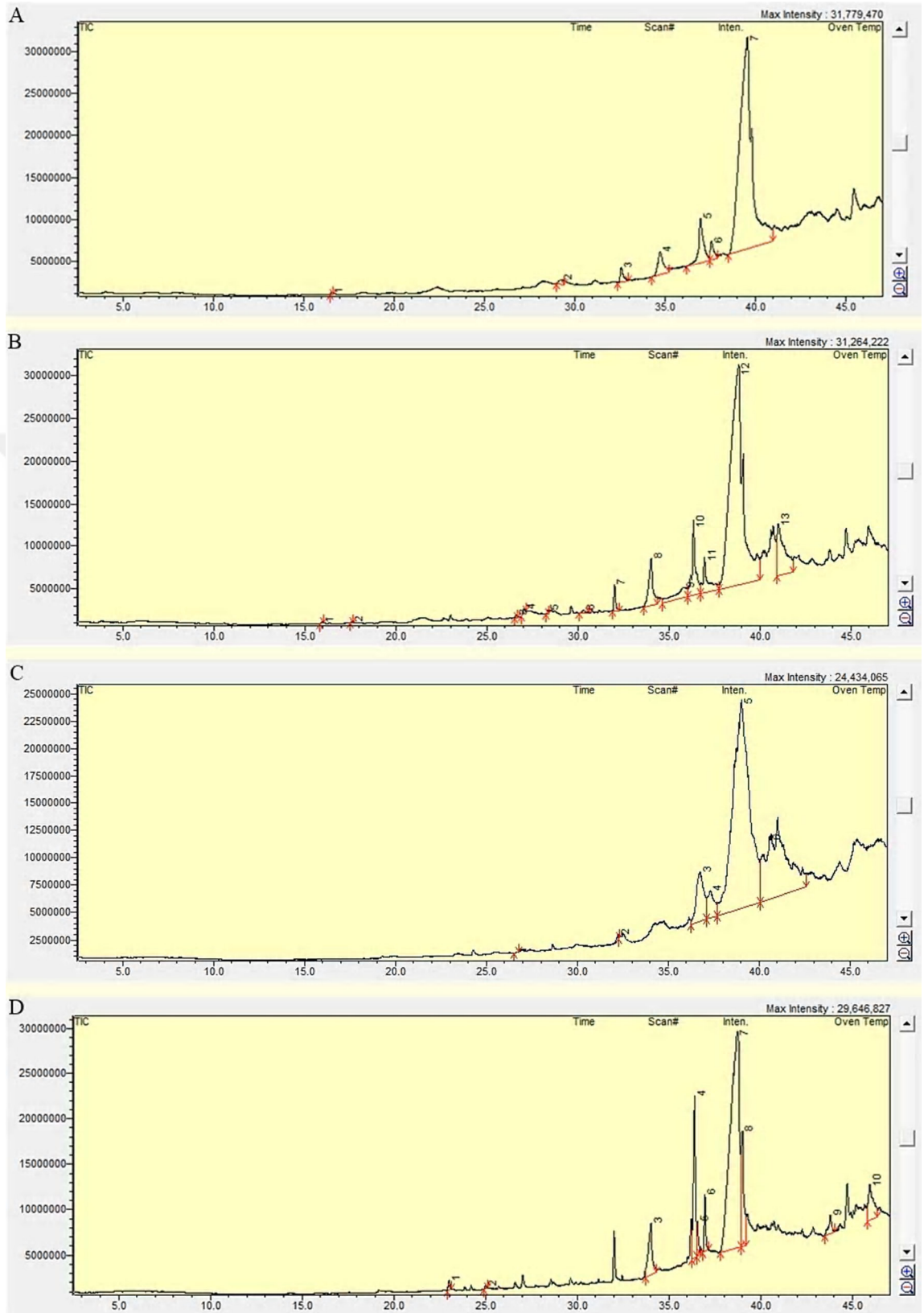


Şekil 3.18. *Echinops borae* türüne ait örneğin toprak altı kısımlarının GC-MS standart kromatogramı A: Su ekstresi, B: Metanol ekstresi, C: Kloroform ekstresi, D: Hekzan ekstresi

Tablo 3.12. *Echinops borae* türüne ait örneğin toprak üstü kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ekstralarının GC-MS analiz sonuçları

| Bileşenler                                                        | Su (%) | Metanol (%) | Kloroform (%) | Hekzan (%) |
|-------------------------------------------------------------------|--------|-------------|---------------|------------|
| 1 6-(p-Tolyl)-2-methyl-2-heptenol, trans-                         | -      | 0.21        | -             | 0.51       |
| 2 2-Naphthalenemetanol,decahydro-,alpha.,alpha.,4a-trimethyl-8-me | -      | -           | -             | 0.12       |
| 3 Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS)                           | 1.46   | 1.17        | 3.29          | -          |
| 4 Tetradecanoic asid (CAS)                                        | 4.27   | 4.90        | -             | 5.95       |
| 5 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (CAS)                    | -      | 6.44        | -             | 10.27      |
| 6 9-Octadecenoic acid, 1,2,3-propanetriyl ester, (E,E,E)-         | -      | -           | 27.88         | 1.94       |
| 7 Cis-9-Hexadecenal                                               | 84.06  | 69.51       | 62.08         | 61.60      |
| 8 9.12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-methyl ester (CAS)              | -      | -           | -             | 1.51       |
| 9 Octadecanoic acid (CAS)                                         | -      | -           | -             | 9.84       |
| 10 Phenol,2,6-dimethoxy-                                          | 0.14   | 0.08        | -             | -          |
| 11 Methyl tetradecanoate                                          | -      | 0.14        | -             | -          |
| 12 Tetradecanoic asid, methyl ester                               | 2.08   | 4.27        | -             | 2.75       |
| 13 (Z)-14-Tricosenyl formate                                      | -      | -           | -             | 5.51       |
| 14 4-Methyleneproline                                             | -      | 0.03        | -             | -          |
| 15 1-Tridecanol (CAS)                                             | -      | 0.10        | -             | -          |
| 16 Oleoyl chloride                                                | -      | 9.65        | -             | -          |
| 17 Myo-Inositol                                                   | -      | 3.21        | -             | -          |
| 18 Hexyl(2-heptyn-1-yl)amine                                      | -      | 0.29        | -             | -          |
| 19 6-t-butyl anhydrocoumarin b                                    | -      | -           | 0.02          | -          |
| 20 Pentadecanoic acid, methyl ester                               | -      | -           | 0.04          | -          |
| 21 6-Octadecenoic acid, methyl ester,(Z)-                         | -      | -           | 6.69          | -          |
| 22 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester                         | 7.31   | -           | -             | --         |
| 23 Hydroquinone, acetate                                          | 0.14   | -           | -             | -          |

*Echinops borae* örneğinin toprak üstü kısımlarına ait su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen bitki ekstralarının GC-MS sonuçları incelendiğinde, su ile elde edilen ekstralarda 7 bileşen, metanol ile elde edilen ekstralar için 13 bileşen, kloroform ile elde edilen ekstralar için 6 bileşen ve hekzan ile elde edilen ekstralar için 10 bileşen belirlenmiştir (Tablo 3.12). Su ile elde edilen ekstralar için ilk üç bileşen cis-9-hexadecenal (%84.06), 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (%7.31) ve Tetradecanoic asid (%4.27) olduğu, metanolde çözünen ekstralar için ilk üç bileşen cis-9-hexadecenal (%69.51), Oleoyl chloride (%9.65) ve 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (%6.44) olduğu, kloroform ile elde edilen ekstralar için ilk üç bileşen cis-9-hexadecenal (%62.08), 9-Octadecenoic acid, 1,2,3-propanetriyl ester, (E,E,E)-(%27.88) ve 6-Octadecenoic acid, methyl ester,(Z)-(%6.69) olduğu, hekzan ile elde edilen ekstralar için ilk üç bileşen cis-9-hexadecenal (%61.60), 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (%10.27) ve Octadecenoic acid (%9.84) olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.19).



Şekil 3.19. *Echinops boraе* türüne ait örneğin toprak üstü kısımlarının GC-MS standart kromatogramı A: Su ekstresi, B: Metanol ekstresi, C: Kloroform ekstresi, D: Hekzan ekstresi

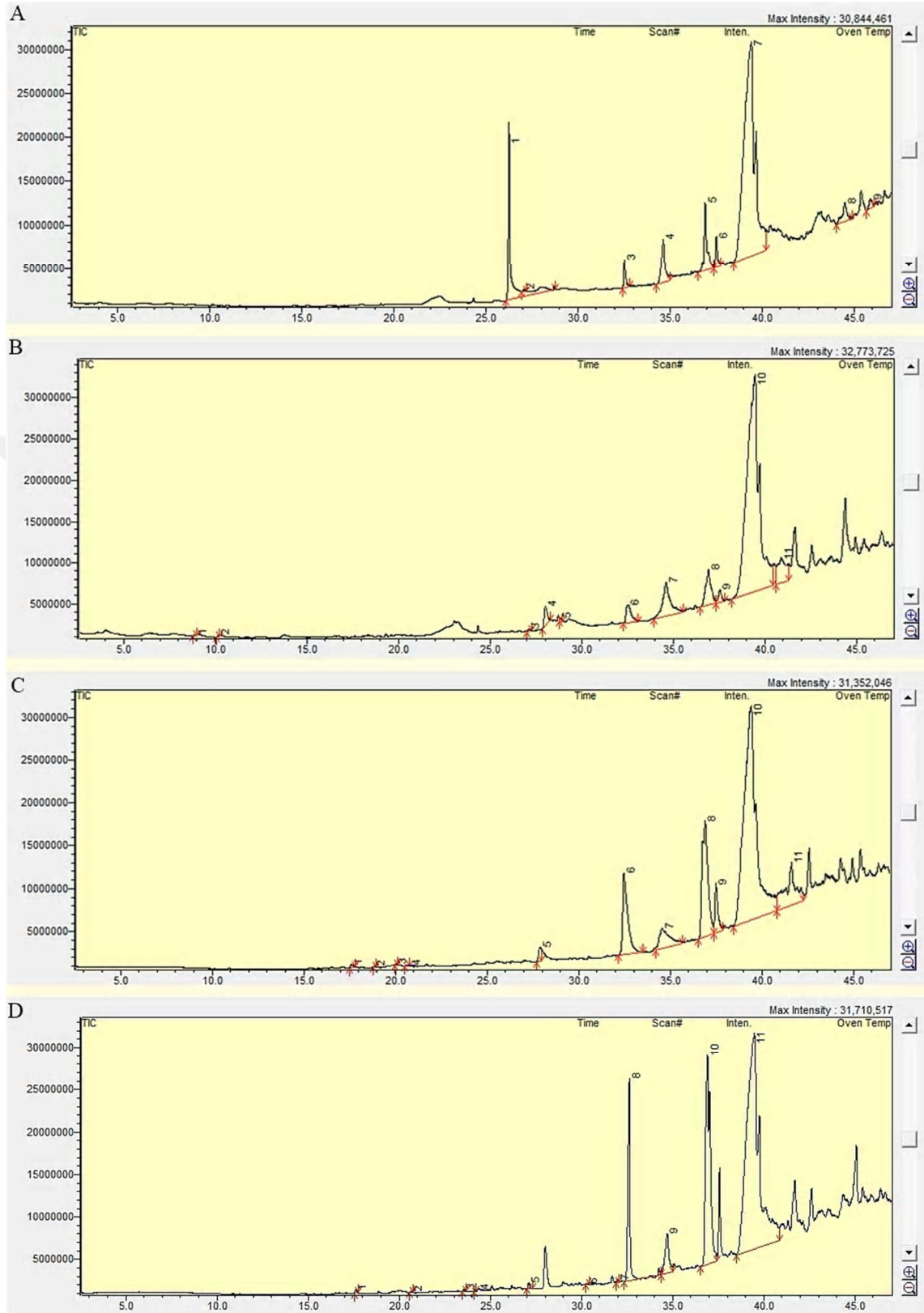
Tablo 3.13. *Echinops pungens* türüne ait örneğin toprak altı kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ekstralarının GC-MS analiz sonuçları

| Bileşenler                                                          | Su (%) | Metanol (%) | Kloroform (%) | Hekzan (%) |
|---------------------------------------------------------------------|--------|-------------|---------------|------------|
| 1 Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS)                             | 1.44   | 1.17        | 9.06          | 9.50       |
| 2 Tetradecanoic asid (CAS)                                          | 4.68   | 7.42        | 4.64          | 3.75       |
| 3 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (CAS)                      | -      | 5.52        | -             | -          |
| 4 9-Octadecenoic acid, 1,2,3-propanetriyl ester, (E,E,E)-           | 2.51   | -           | -             | -          |
| 5 Cis-9-Hexadecenal                                                 | -      | -           | 58.01         | -          |
| 6 4H-Pyran-4-one,2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-                | -      | 0.06        | -             | -          |
| 7 Oleyl alcohol, trifluoroacetate                                   | 69.70  | 75.46       | -             | 63.12      |
| 8 Tetradecanoic asid, methyl ester                                  | 1.81   | 0.14        | -             | -          |
| 9 Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1,3-propanediyl ester (CAS)          | 0.83   | -           | -             | -          |
| 10 d-Nerolidol                                                      | -      | -           | -             | 0.07       |
| 11 Decanal dimethyl acetal                                          | -      | -           | -             | 0.08       |
| 12 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester                           | 5.67   | -           | -             | -          |
| 13 1H-3a-7-Methanoazulene,2,3,4,7,8,8a-hexahydro-3,6,8,8-tetrameth  | -      | -           | 0.16          | -          |
| 14 (E)-beta.-Famesene                                               | -      | -           | 0.03          | -          |
| 15 Naphthalene, decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methylethenyl) | -      | -           | 0.04          | -          |
| 16 1,6,1Dodecatrien-3-ol,3,7,11-trimethyl-[S-(Z)]-                  | -      | -           | 0.05          | -          |
| 17 Hexadecadienoic acid, methyl ester (CAS)                         | -      | -           | 15.14         | -          |
| 18 3-Dibenzofuranamine,2-methoxy                                    | -      | -           | 8.97          | -          |
| 19 (S)-(+)-Curcuphenol                                              | -      | 1.67        | 0.73          | -          |
| 20 Octadecenoic acid, methyl ester                                  | 13.24  | -           | 3.17          | -          |
| 21 Tridecanoic acid, 4,8,12-trimethyl-,methyl ester                 | -      | -           | -             | 0.05       |
| 22 Phenol,4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)-(CAS)                        | --     | -           | -             | 0.07       |
| 23 9-Hexadecanoic acid, methyl ester,(Z)-                           | -      | -           | -             | 0.14       |
| 24 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester (CAS)             | --     | -           | -             | 22.83      |
| 25 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-                                 | --     | 5.67        | -             | -          |
| 26 Tridecanol (CAS)                                                 | -      | 0.17        | -             | -          |
| 27 Tridecanoic acid,methyl ester                                    | -      | 2.62        | -             | -          |
| 28 Maltol                                                           | -      | 0.10        | -             | -          |

*Echinops pungens* örneğinin toprak altı kısımlarına ait su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen bitki ekstralarının GC-MS sonuçları incelendiğinde, su ile elde edilen ekstralarda 8 bileşen, metanol ile elde edilen ekstralar için 11 bileşen, kloroform ile elde edilen ekstralar için 11 bileşen ve hekzan ile elde edilen ekstralar için 9 bileşen belirlenmiştir (Tablo 3.13). Su ile elde edilen ekstralar için ilk üç bileşen Oleyl alcohol, trifluoroacetate (%69.70), Octadecenoic acid, methyl ester (%13.24) ve 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (%5.67) olduğu, metanol ile elde edilen ekstralar için ilk üç

bileşen Oleyl alcohol, trifluoroacetate (%75.46), Tetradecanoic asid (%7.43) ve 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- (%5.67) olduğu, kloroform ile elde edilen ekstreler için ilk üç bileşen cis-9-hexadecenal (%58.01), Hexadecadienoic acid, methyl ester (%15.14) ve Hexadecanoic acid, methyl ester (%9.06) olduğu, hekzan ile elde edilen ekstreler için ilk üç bileşen Oleyl alcohol, trifluoroacetate (%63.12), 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester (%22.83) ve Hexadecanoic acid, methyl ester (%9.50) olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.20).



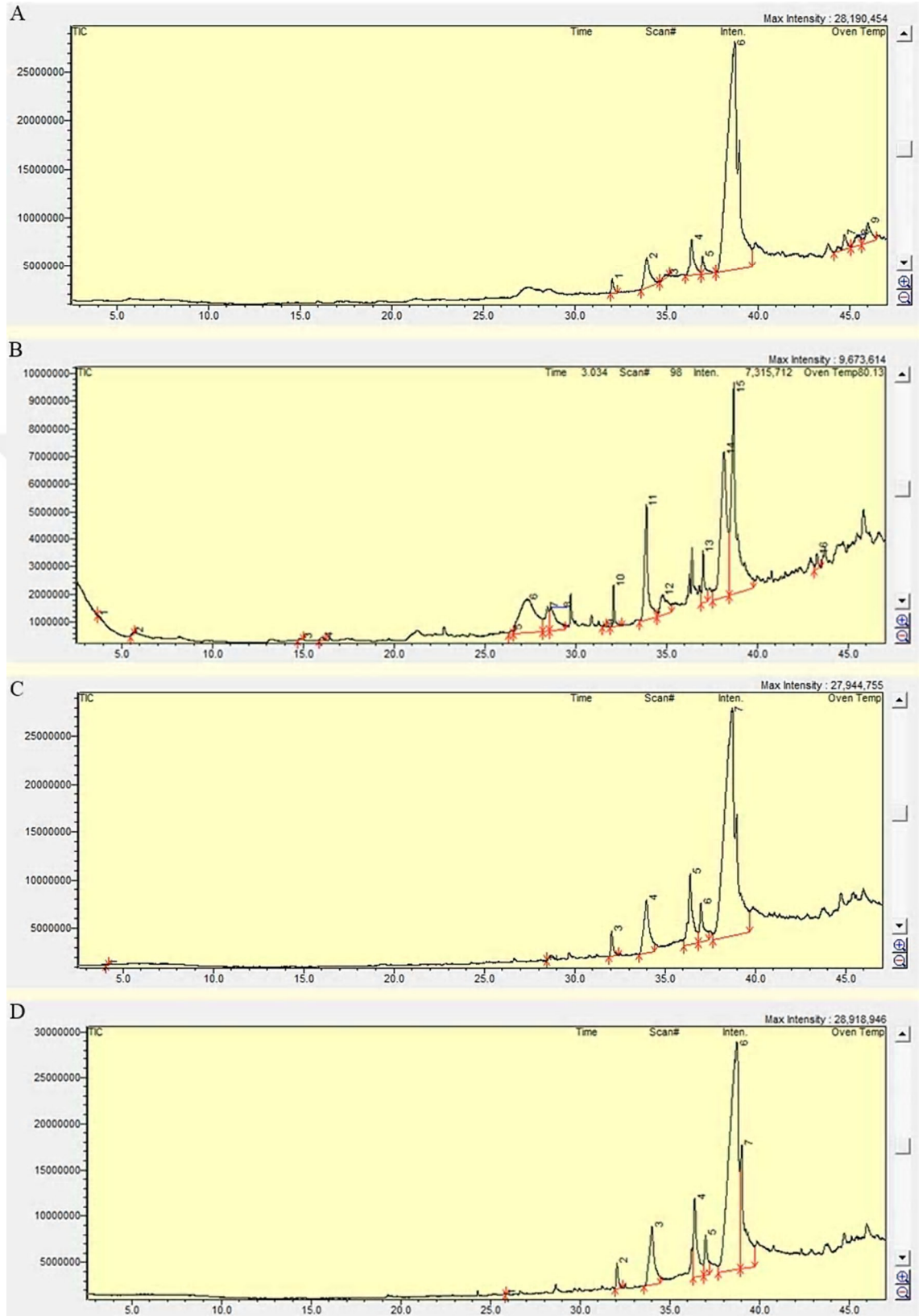


Şekil 3.20. *Echinops pungens* türüne ait örneğin toprak altı kısımlarının GC-MS standart kromatogramı A: Su ekstresi, B: Metanol ekstresi, C: Kloroform ekstresi, D: Hekzan ekstresi

Tablo 3.14. *Echinops pungens* türüne ait örneğin toprak üstü kısmının su, metanol, kloroform ve hekzan ekstralarının GC-MS analiz sonuçları

| Bileşenler                                                | Su (%) | Metanol (%) | Kloroform (%) | Hekzan (%) |
|-----------------------------------------------------------|--------|-------------|---------------|------------|
| 1 Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS)                   | 1.06   | 1.74        | 1.73          | 1.55       |
| 2 Tetradecanoic asid (CAS)                                | 5.38   | 30.08       | 8.52          | 9.03       |
| 3 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (CAS)            | 4.39   | -           | -             | -          |
| 4 Octadecenoic acid, methyl ester (CAS)                   | 1.92   | 3.38        | -             | -          |
| 5 11-Octadecenoic acid, methyl ester                      | -      | -           | -             | 8.43       |
| 6 9-Octadecenoic acid, 1,2,3-propanetriyl ester, (E,E,E)- | 2.10   | -           | -             | -          |
| 7 Cis-9-Hexadecenal                                       | 79.11  | 25.71       | 76.26         | 61.11      |
| 8 Oleyl alcohol, trifluoroacetate                         | -      | 2.85        | -             | -          |
| 9 Tetradecanoic asid, methyl ester                        | -      | -           | 4.30          | 3.38       |
| 10 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester                 | -      | -           | 9.16          | -          |
| 11 Octadecenoic acid (CAS)                                | 10.92  | 4.33        | -             | 16.47      |
| 12 9-Hexadecanoic acid, methyl ester,(Z)-                 | -      | 0.08        | -             | -          |
| 13 4(1H)-Quinolinone, 1-methyl-                           | 0.71   | 4.23        | -             | -          |
| 14 (-)-Lavandulol                                         | 1.88   | -           | -             | -          |
| 15 9-Octadecen-1-ol,(Z)-                                  | 3.45   | -           | -             | -          |
| 16 Cyclopentanol (CAS)                                    | -      | 0.01        | -             | -          |
| 17 1,2,3-Propanetriol (CAS)                               | -      | 0.16        | -             | -          |
| 18 Methoxy-4-vinylphenol                                  | -      | 0.12        | -             | -          |
| 19 Phenol,2,6- dimethoxy-                                 | -      | 0.27        | -             | -          |
| 20 Tridecanal                                             | -      | 0.34        | -             | -          |
| 21 Quinic acid                                            | -      | 14.78       | -             | -          |
| 22 Hexadecanamide                                         | -      | 1.00        | -             | -          |

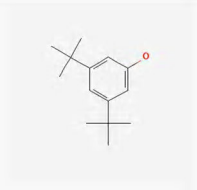
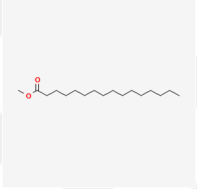
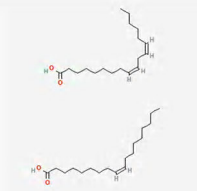
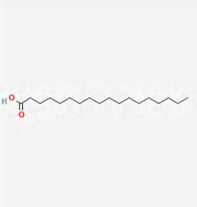
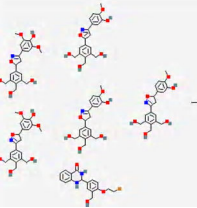
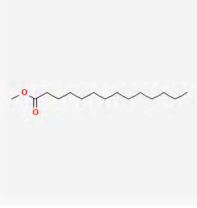
*Echinops pungens* örneğinin toprak üstü kısımlarına ait su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen bitki ekstralarının GC-MS sonuçları incelendiğinde, su ile elde edilen ekstralarda 10 bileşen, metanol ile elde edilen ekstralar için 15 bileşen, kloroform ile elde edilen ekstralar için 5 bileşen ve hekzan ile elde edilen ekstralar için 6 bileşen belirlenmiştir (Tablo 3.14). Su ile elde edilen ekstralar için ilk üç bileşen cis-9-hexadecenal (%79.11), Octadecenoic acid (%10.91) ve Tetradecanoic asid (%5.38) olduğu, metanol ile elde edilen ekstralar için ilk üç bileşen Tetradecanoic asid (%30.08), cis-9-hexadecenal (%25.71) ve Quinic acid (%14.78) olduğu, kloroform ile elde edilen ekstralar için ilk üç bileşen cis-hexadecenal (%76.26), 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (%9.16) ve Tetradecanoic asid (%8.52) olduğu, hekzan ile elde edilen ekstralar için ilk üç bileşen cis-9-hexadecenal (%61.11), Octadecenoic acid (%16.47) ve Tetradecanoic asid (%9.03) olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.21).

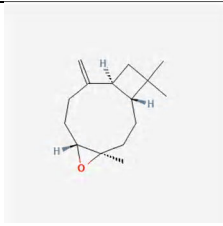
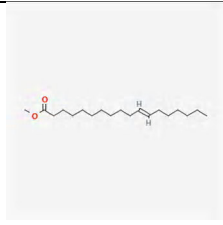
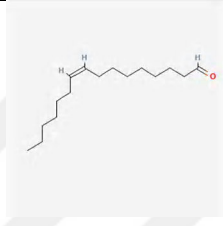
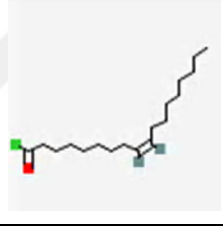
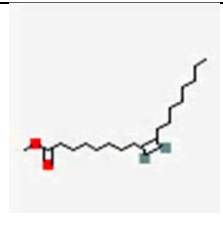
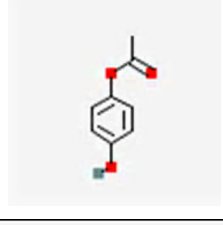
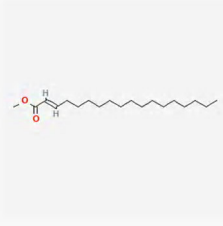


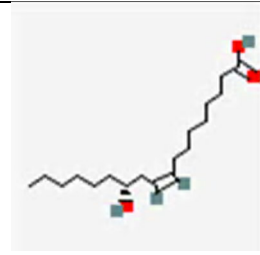
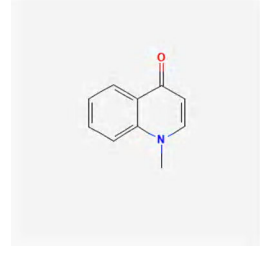
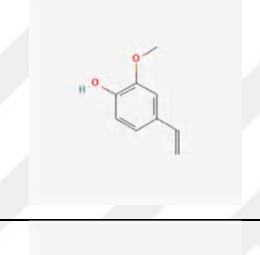
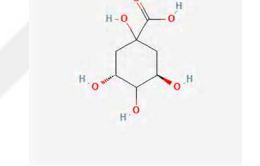
Şekil 3.21. *Echinops pungens* türüne ait örneğin toprak üstü kısımlarının GC-MS standart kromatogramı A: Su ekstresi, B: Metanol ekstresi, C: Kloroform ekstresi, D: hekzan ekstresi

*Echinops boraie* ve *Echinops pungens* türlerine ait örnek ektrelerinin GC-MS sonucuna göre elde edilen ana bileşiklerin literatürde etkisi bilinen aktivitelerine ait bilgiler Tablo 3.15'te verilmiştir.

Tablo 3.16. GC-MS sonuçlarına göre elde edilenler arasında literatürde etkisi bilinen bileşikler

| Bileşik Adı                           | Kimyasal Yapısı                                                                     | Aktivite                                                | Referans                          |
|---------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|-----------------------------------|
| Phenol,3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-    |    | Antioksidan                                             | Monowar vd., 2019                 |
| Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) |   | Antioksidan, Sitotoksik, Anti kanser, Anti enflamatuvar | Atasever Arslan vd., 2015; Aparna |
| 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-      |  | Antioksidan                                             | Dobhal vd., 2022                  |
| Octadecanoic acid (CAS)               |  | Sitotoksik                                              | Shah ve Khan, 2017                |
| Phenol,2,6-dimethoxy-                 |  | Antienzim, Antioksidan                                  | Abdulhafiz vd., 2020              |
| Methyl tetradecanoate                 |  | Anti metanojenik, Antienzim                             | Khusro vd., 2022                  |

|                                        |                                                                                     |                                                                                            |                                                    |
|----------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| (-)-Caryophyllene oxide                |    | Anti<br>enflamatuvar,<br>Antioksidan                                                       | Sain vd., 2014                                     |
| 11-Octadecenoic acid, methyl ester     |    | Antioksidan                                                                                | Mazumder, 2020                                     |
| Cis-9-Hexadecenal                      |    | Anti<br>enflamatuvar,<br>Antioksidan,<br>Antifungal,<br>Anti melanojik,<br>Anti mikrobiyal | Hoda vd., 2020;<br>Alves, 2021;<br>Ammar vd., 2022 |
| Oleoyl chloride                        |  | Anti mikrobiyal                                                                            | Evran, 2010                                        |
| Myo-Inositol                           |                                                                                     | Antienzim                                                                                  | Candiota vd., 2011                                 |
| 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester |  | Antioksidan                                                                                | Zahid vd., 2018                                    |
| Hydroquinone, acetate                  |  | Antioksidan,<br>Anti tümör,<br>Antienzim                                                   | Akasaka vd., 1996;<br>Gopalakrishna vd., 1994      |
| Octadecenoic acid, methyl ester        |  | Anti<br>enflamatuvar,<br>Anti artritlik,<br>İmmünomodulator<br>etki                        | Jiménez-Ferrer vd., 2022                           |

|                              |                                                                                     |                                |                 |
|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|-----------------|
| Octadecenoic acid (CAS)      |    | Obezite                        | Zou vd., 2022   |
| 4(1H)-Quinolinone, 1-methyl- |    | Anti bakteriyal                | Adams vd., 2004 |
| Methoxy-4-vinylphenol        |   | Anti enflamatuvar<br>Antienzim | Jeong vd., 2011 |
| Quinic acid                  |  | Antienzim                      | Dong vd., 2022  |

## 4. BÖLÜM

### TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER

#### 4.1. Tartışma

Bitkilerin halk arasında geleneksel olarak, hastalıkların tedavisinde kullanımları, bilimsel çalışma sonuçlarıyla da desteklenmeye başladığından dolayı, bitkilerle tedavi, gittikçe artan bir öneme sahiptir. Bunun sebebi insanların yıllardır faydalı olduğuna inandıkları için kullandığı bitkilerin gerçekten de faydalı olduklarının, bilimsel olarak ta tespit edilmesi ve kullanılan sentetik ilaçların birçok yan etki oluşturması olarak tanımlanabilir. Tıbbi bitkiler yeni ilaçların geliştirilmesine imkân sağlayacak (terapötik) fitokimyasallar bakımından oldukça zengin kaynaklardır (Alara vd., 2021). Bu kimyasallar içerisinde önemli bir yer tutan fenolik bileşikler, beş grup altında incelenir; fenolik asitler, stilbenler, flavonoidler, tanenler ve lignanlar. Bu bileşikler en bol olarak baklagiller, sebzeler, özellikle üzüm gibi meyvelerde bulunmaktadır.

Fenolik bileşikler gibi bitkilerden elde edilen diğer fitokimyasalların çoğunun insan sağlığı üzerindeki olumlu etkileri bulunmaktadır (Azwanida, 2015). Literatürde *Echinops* cinsi üyelerinin antioksidan ve antienzim aktiviteleri üzerine yapılmış az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu tez çalışmasının materyalini oluşturan *Echinops pungens* ve *E. borae* türleri üzerine herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada kullanılan iki türe ait örneklerin toprak altı ve toprak üstü kısımları kullanılarak elde edilen; su, metanol, kloroform ve hekzan ekstraktlarındaki bileşiklerin tayini “Gaz Kromatografi kütle Spektrofotometri” (GC-MS) cihazıyla gerçekleştirilmiş ve bitkilerden elde edilen; ekstraktlarda (su, metanol, kloroform ve hekzan) antioksidan ve antienzim aktivite araştırılması yapılmıştır.

#### 4.1.1. Antioksidan Aktivite

Günümüzde bitkisel kaynaklı besinlerin insan sağlığı üzerinde olumlu etkileri bu besinlerin içerdiği fenolik bileşiklerden kaynaklı olduğu bilinmektedir. Fenolik bileşikler, serbest radikalleri ortadan kaldırmada etkili hidroksil gruplarının varlığı sayesinde antioksidan olarak önemli rol oynamaktadır (Villaño vd., 2007). Bitkilerin radikal giderme aktiviteleri, yapay radikaller kullanılarak çeşitli *in vitro* yöntemlerle ölçülmektedir.

*Echinops pungens* ve *E. borae* türlerine ait örneklerin ekstre verimleri karşılaştırıldığında dört farklı ekstreden (su, metanol, kloroform, hekzan) en yüksek elde edilen özüt yüzdesine su ekstrelerinde rastlanmıştır.

Çalışmamızda *E. borae* ve *E. pungens* türlerine ait örneklerin toprak altı ve toprak üstü kısımlarının total fenolik içeriği kıyaslandığında; çözücüye göre fenolik madde miktarının değiştiği görülmüştür. En yüksek fenolik içerik miktarı her iki türün örneklerinin toprak üstü kısımlarında metanol ekstrelerde ve yine metanol ekstresi olmak üzere, *E. pungens* örneğinin toprak altı kısmında (41.78 mgGAE/g) belirlenmiştir. *Echinops borae* örneğinin toprak altı kısmında ise en yüksek fenolik içeriğin (27.12 mgGAE/g) su ekstresinde olduğu gözlenmiştir.

Literatürde bazı *Echinops* türlerinin (*E. ritro*, *E. tournefortii*, *E. persicus*, *E. spinosissimus*) fenolik içerikleri belirlenmiş ve su ve metanol ekstrelerinde yüksek fenolik içeriğin olduğu rapor edilmiştir (Taşdelen vd., 2015; Aydın vd., 2016; Mohseni vd., 2017; Nourine vd., 2022). Literatürdeki verilerin çoğu ile bizim sonuçlarımız arasında farklı türler çalışılmış olmasına rağmen fenolik içerik veriminin su ve metanol ekstrelerinde yüksek olması açısından benzerlik bulunmaktadır.

Çalışmamızda *E. borae* ve *E. pungens* türlerine ait örneklerin toprak altı, toprak üstü kısımlarına ait ekstrelerinin DPPH radikali kullanılarak serbest radikal süpürücü etkisi ölçüldüğünde; *E. borae* için en güçlü radikal süpürücü aktiviteye toprak altı kısımda su ekstresinin (%78.60±0.74) sahip olduğu, *E. borae* örneğinin toprak üstü kısmında ise en güçlü radikal süpürücü aktiviteye metanol ekstresinin (%80.21±0.04) sahip olduğu tespit edilmiştir. *Echinops pungens* örneğinin toprak altı kısmında ise en güçlü radikal süpürücü aktiviteye yine metanol ekstresinin (%79.07±0.08) rastlanmıştır. Son olarak *E.*

*pungens* örneğinin toprak üstü kısmında ise en güçlü radikal süpürücü aktiviteye sahip olan su ekstresidir ( $77.83 \pm 0.08$ ). 1.1-difenil-2-pikril-hidrazil (DPPH) süpürücü aktivitenin belirlenmesi çalışmalarında elde edilen sonuçlara göre ortamda DPPH radikalının %50'sini etkisiz hale getiren ekstre miktarı standart grafikler kullanılarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre *E. bora* örneğinin toprak altı kısmında en yüksek  $IC_{50}$  değeri su ekstresinde ( $2.55 \mu\text{g/ml}$ ), toprak üstü kısmında ise en yüksek  $IC_{50}$  değeri metanol ekstresinde ( $2.00 \mu\text{g/ml}$ ) görülmüştür. *Echinops pungens* örneğinin toprak altı kısmında en yüksek  $IC_{50}$  değeri metanol ekstresinde ( $2.58 \mu\text{g/ml}$ ) ve toprak üstü kısmında ise en yüksek  $IC_{50}$  değeri su ekstresinde ( $1.13 \mu\text{g/ml}$ ) görülmüştür. Standart denemesinde kullanılan askorbik asitte  $IC_{50}$  değeri  $20.90 \mu\text{g/ml}$  olarak hesaplanmıştır.

Taşdelen vd. (2015), *E.ritro* örneklerinin antioksidan aktivitelerini farklı çözücü ekstralarında incelemişler çalışmaları sonucunda, DPPH radikali süpürücü etkisi ölçüldüğünde en yüksek aktiviteye metanol ekstresinin (%87.9) sahip olduğu bunu sırasıyla ethanol, su ve kloroform ekstresinin takip ettiğini göstermişlerdir.

Aydın vd. (2016), *E. tournefortii*'nin örneklerinin su, ethanol, metanol ve kloroform ekstralarında fenolik içerik ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi amaçlı çalışmasında DPPH radikali süpürücü etkisi ölçüldüğünde konsantrasyona göre DPPH süpürücü aktivitenin arttığını, en yüksek aktiviteye metanol ekstresinin sahip olduğunu ve bunu sırasıyla ethanol, su ve kloroform ekstresinin takip ettiğini raporlamışlardır.

Benrahou vd. (2022), *E. spinosus* ekstralarının akut toksisitesi, fenol içeriği, antioksidan ve anti-diyabetik aktivitesini belirlemeye yönelik çalışmasında su ve metanol ekstresinde DPPH süpürücü etkisi ölçüldüğünde yüksek aktiviteye metanol ekstresinde sahip olduğunu,  $IC_{50}$  değerini  $4.78 \pm 0.2 \mu\text{g/ml}$  olarak bulmuşlardır.  $IC_{50}$  (inhibisyon konsantrasyonu) değeri, DPPH çözeltisinin absorbansını %50 düşüren konsantrasyon değeridir.

Laos vd. (2022), *Senecio nutans* Sch. Beep. örneklerinin ethanol ekstralarında antioksidan özellikleri ve antimikrobiyal aktivite çalışmasında DPPH süpürücü etkisi ölçüldüğünde aktiviteye sahip olduğunu ve  $IC_{50}$  değerini  $8.28 \pm 0.07 \mu\text{g/ml}$  olarak hesaplandığını bildirmişlerdir.

Sharma vd. (2022), *Acmella ciliata* örneklerinden izole edilen aktif sekonder metabolitlerin değerlendirilmesi amaçlı çalışmalarında bitkinin çiçek, yaprak, gövde ve yaprak kısımlarından elde edilmiş metanol ekstrelerinde en yüksek IC<sub>50</sub> değerini çiçek kısmında 546.25±6.31 µg/ml olarak bulmuşlardır.

Baht vd. (2022), *Jurinea dolomiaea* Boiss (Asteraceae) örneklerine ait kök ve yaprak ekstrelerinin ehrlichs ascites karsinoma (EAC) hücre hattına karşı *in vivo* antikanser aktivitesi adlı çalışmalarında su ekstreleri kullanılmıştır. Su ekstrelerinde en yüksek IC<sub>50</sub> değeri kök kısmında 133.41 µg/ml olarak bildirmişlerdir.

Heidari vd. (2022), *Larinus hedenborgi* (Curculionidae) ve *Echinops cephalotes* (Asteraceae) örneklerinin diyabetik sıçanlarda metabolik etkileri incelemişler ve metanol ekstrelerinde *E. cephalotes*'in IC<sub>50</sub> değerinin (84.14 ppm) daha yüksek olduğunu raporlamışlardır.

Çalışmamızda *E. bora* ve *E. pungens* türlerine ait bitki örneklerine ait ekstrelerin sahip oldukları DPPH radikal süpürücü etkileri, total fenolik içerik miktarı ile uyumludur. En yüksek total fenolik içeriğe sahip metanol ekstresi aynı zamanda en iyi DPPH radikali süpürücü aktivite de göstermiştir. Bitkiler ve standart antioksidan arasında kıyaslamalar yapıldığında metanol ve su ekstrelerinin %50 inhibisyon değerinin askorbik asite yakın olduğu görülmektedir. Bitki ekstreleri ile yapılan diğer çalışmalarda da fenolik madde içeriğinin artması ile serbest radikal süpürücü aktivitesinin de arttığı bildirilmiştir (Benvenuti vd., 2004; Barreto vd., 2009). Sonuç olarak *E. bora* ve *E. pungens* türlerine ait örneklerin metanol ekstreleri, oksidanlara karşı önemli derecede antioksidan sahip oldukları ve dolayısıyla bu türlerin doğal antioksidan olabilecekleri belirlenmiştir.

#### 4.1.2. Enzim Aktivitesi

İnsan derisinin dermis tabakasında bulunan, hücreleri birbirlerine destekleyen ve bağlayan, derinin esneklik ve büyümesinde görevli yapısal bileşenlere “Ekstraselüler matriks” denilmektedir (Bravo vd. 2016). Ekstraselüler matriksin yapısında matriks proteinleri ve proteoglikanlar bulunmaktadır. Elastin ve kollajen bu yapısal matriks proteinlerindendir. Ekstraselüler matrikste en çok kollajen proteini bulunmaktadır. Kollajen, dokuların gelişimi ve derinin gerilim kuvvetinden sorumludur. Diğer bir yapısal protein ise elastindir. Elastin en fazla aortta, akciğerde ve bağ dokuda

bulunmaktadır (Pereira vd., 2013). Metabolik faaliyetler sırasında elastin ve kollajen yıkımı sonucunda, deri yaşlanması ve yara iyileşmesinde gecikme gibi olumsuz durumlar meydana gelmektedir. Bu proteinlerin yıkımından sorumlu enzimler elastaz ve kollajenazdır. Normal şartlarda dokularda dengeli çalışan bu enzimler, dengenin enzimlerden kaynaklı bozulması durumunda kontrolsüz yıkımlara ve deri yaşlanması yanında birçok istenmeyen hastalığa neden olmaktadır. Deri yaşlanması, genetik ve genetik olmayan sebepler olmak üzere iki şekilde gelişmektedir. Genetik olarak gerçekleşen içsel yaşlanma olup kaçınılmaz bir süreçtir. Genetik olmayan (Dışsal) yaşlanma ise, çevresel faktörlere bağlı olarak gelişmektedir. Düzensiz beslenme, güneş ışınlarına fazla maruz kalma, çevre kirliliği ve sigara içme serbest radikallerin gereğinden fazla oluşmasını sağlayarak enflamatuvar etki ile birlikte doğal yaşlanma sürecini etkilemektedir.

Çalışmamızda *E.borae* ve *E. pungens* türlerinin elastaz ve kollajenaz enzimleri üzerindeki inhibitör etkisi *in vitro* olarak değerlendirilmiştir.

*Echinops borae* örneğinin toprak altı kısımlarının kloroform ve hekzan ekstralarında referansa göre, elastaza karşı düşük anti elastaz aktivite gözükürken, metanol ekstresinde ( $IC_{50}$  değeri  $1.99 \pm 0.18 \mu g/ml$ ) daha yüksek anti elastaz aktivite görülmüştür. Elastaza karşı Kloroform ve hekzan ekstelerinde düşük derecede, metanol ve su ekstralarında ise orta derece inhibisyon oluşturmuştur. *Echinops borae* örneğinin toprak üstü kısımlarında ise referansa göre kloroform ve hekzan ekstralarında daha düşük anti elastaz aktivite gözükürken, su ekstresinde ( $IC_{50}$  değeri  $2.04 \pm 0.49 \mu g/ml$ ) daha yüksek anti elastaz aktivite görülmüştür. *Echinops borae* örneğinin toprak üstü kısmında, toprak altı kısmında olduğu gibi kloroform ve hekzan ekstelerinde düşük derecede, metanol ve su ekstralarında ise elastaza karşı orta derecede inhibisyon oluşturmuştur. *Echinops pungens* örneğinin hem toprak altı hem toprak üstü kısımlarında referansa göre kloroform ve hekzan ekstralarında elastaza karşı düşük anti elastaz aktivite gözlenirken, metanol ekstralarında ( $IC_{50}$  değeri  $2.15 \pm 0.11 \mu g/ml$  ve  $1.92 \pm 0.02 \mu g/ml$ ) daha yüksek anti elastaz aktivite görülmüştür. metanol ekstraların elastaza karşı yüksek derece inhibisyon oluşturulmuştur.

*Echinops borae* örneğinin kollajenaz aktiviteleri değerlendirilecek olursa toprak altı ve toprak üstü kısımlarına ait ekstralar (su, metanol, kloroform, hekzan) referansa göre,

kollajenaza karşı düşük anti kollajenaz aktivite görülmüştür. Kollajenaza karşı metanol ekstresinde yüksek derecede inhibisyon oluşmuştur. *Echinops pungens* örneğinin toprak altı kısımlarının metanol ekstresinde referansa göre, kollajenaza karşı düşük anti kollajenaz aktivite görülmüştür. Kollajenaza karşı en yüksek metanol ekstresinde ( $47.05 \pm 0.72$ ) inhibisyon oluşmuştur. *Echinops pungens*'in toprak üstü kısımlarında ise referansa göre metanol ekstresinde ( $IC_{50}$  değeri  $1.61 \mu\text{g/ml}$ ), kollajenaza karşı yüksek anti-kollajenaz aktivite görülmüş ve kollajenaza karşı en yüksek kollajenaz inhibisyon metanol ekstresinde ( $67.98 \pm 0.99$ ) oluşmuştur.

Vallisuta vd. (2014), *Tagetes erecta* L.'nin çiçek ekstrelerinin sitotoksitesi, elastaz ve tirozinaz inhibitör aktiviteleri adlı çalışmalarında iki farklı çözücüde (ethanol ve etil asetat) enzim inhibitör aktivitelerini karşılaştırılmışlar ve metanol ekstrelerinde daha fazla elastaz inhibisyon aktivitesi olduğunu sonucuna ulaşmışlardır.

Acıkara vd. (2019), *Podospermum canum* örneklerinin kollajenaz, elastaz ve hiyalüronidaz enzimlerinin inhibitör aktivitelerini incelemişler ve toprak üstü metanol ile hazırlanan ekstrelerin elastaz ve kollajenaz enzimi üzerinde güçlü inhibitör aktivite gösterdiğini, bunu su ile hazırlanan ekstrelerin takip ettiğini fakat kloroform ile hazırlanan ekstrelerde ise herhangi bir aktivite göstermediğini raporlamışlardır.

Azwanida vd. (2020), *Cosmos caudatus* Kunth. türüne ait örneklerin yaprağından elde edilen sulu ekstrelerinde antioksidan, anti kollajenaz, anti elastaz ve anti tirozinaz aktivitelerini belirlemeye yönelik çalışmasında  $IC_{50}$  değerinin  $758 \mu\text{g/ml}$  olduğu ve elastaz inhibisyon yüzdesinin konsantrasyona (125, 250, 500 ve  $1000 \mu\text{g/ml}$ ) bağlı olarak arttığını (%7, 9, 19, 37, 63.7) bildirmişlerdir.

Deniz vd. (2021), çeşitli bitki özlerinin antioksidan, elastaz, kollajenaz ve tirozinaz etkilerini inceleyerek kozmesötik profillerinin çıkarılmasını amaçlayan çalışmalarında 52 türe ait metanol ekstrelerini incelemişlerdir. En güçlü anti elastaz aktiviteye sahip olan türlerden biri olarak Asteraceae familyasının üyesi olan *Calendula arvensis* türünün metanol ekstresinde ( $666 \mu\text{g/ml}$ )  $IC_{50}$  değerinin  $8.40 \pm 1.30 \mu\text{g/ml}$  olduğunu raporlamışlardır. Literatürde *Echinops* cinsine ait elastaz ve kollajenaz aktiviteleri ile ilgili herhangi bir çalışma bulunamamıştır. Fakat çalışmamızda kullanılan türler ile akraba olan diğer türler kıyaslandığında; benzer şekilde, en güçlü anti elastaz ve anti-kollajenaz aktiviteye metanol ekstrelerinde rastlanmıştır.

#### 4.1.4 GC- MS analizi

Çalışmamızda *E. bora* ve *E. pungens* türlerine ait örneklerin toprak altı ve toprak üstü kısımlarından elde edilen su, metanol, kloroform ve hekzan ekstraktlarının GC-MS analizi ile kimyasal içeriklerinin ilk kez belirlenmiştir. *Echinops bora* ve *Echinops pungens* ait örneklerin toprak altı ve toprak üstü kısımlarının su, metanol, kloroform ve hekzan ile elde edilen ekstraktları beraber değerlendirildiğinde majör bileşikler ve bu bileşiklerin aktiviteleri ait bilgiler Tablo 3.15'te verilmiştir.

*Echinops bora* türüne ait örneklerin toprak altı ve toprak üstü kısımlarından ve *E. pungens* türüne ait örneklerin toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstraktlarda, ana bileşenin cis-9- hexadecenal olduğu görülmüştür. *Echinops pungens* türüne ait örneklerin toprak altı kısımlarından elde edilen ekstraktlarda ise ana bileşen Oleyl alcohol, trifluoroacetate olarak tespit edilmiştir.

*Echinops bora* türüne ait örneklerin toprak altı ve toprak üstü kısımlarından ve *E. pungens* türüne ait örneklerin toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstraktlarda, ana bileşenin cis-9- hexadecenal tespit edilmiştir. *Echinops pungens* türüne ait örneklerin toprak altı kısımlarından elde edilen ekstraktlarda ise ana bileşen Oleyl alcohol, trifluoroacetate olarak tespit edilmiştir. GC/MS analiz sonuçlarına göre iki tür arasında oluşan ana bileşen farkı, *Echinops pungens* türünün karasal iklimde yer almasında ve stres ortamına dayanıklı olmasından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Yürütülen Çalışmada, literatür çalışmaları ile kıyaslandığında içerisinde bulunan fitokimyasal bileşen oranlarının oldukça yüksek olduğu görülmüştür.

#### 4.2. Sonuç ve Öneriler

*Echinops bora* ve *Echinops pungens* türlerine ait örneklerin su, metanol, kloroform ve hekzan ekstraktlarının antioksidan, antienzim aktiviteleri ve fitokimyasal içeriği ulaşabildiğimiz literatür kayıtlarına göre ilk kez bu çalışmayla belirlenmiştir.

*Echinops pungens* ve *E. bora* türlerine ait örneklerin ekstre verimleri değerlendirildiğinde; en yüksek elde edilen özüt yüzdesine su ve metanol ekstraktlarında belirlenmiştir.

Çalışmamızda *E.borae* ve *E. pungens* türlerinin antioksidan aktiviteleri belirlemek için DPPH yöntemi kullanılmıştır. Ayrıca ekstrelerin total fenolik miktarları da belirlenmiştir. *Echinops borae* ve *E.pungens* türlerinde DPPH radikal süpürücü etkisi en fazla metanol ekstrelerinde olduğu; bunu su ekstrelerinin takip ettiği tespit edilmiştir.

*Echinops borae* ve *E. pungens* türlerine ait örneklerin ekstrelerinin sahip oldukları DPPH radikal süpürücü etkileri, total fenolik içerik miktarı ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Metanol ve su ekstrelerinin %50 inhibisyon değerinin pozitif kontrol olarak kullandığımız askorbik asitten daha yüksek olduğu görülmektedir.

*Echinops borae*'de en yüksek anti elastaz enzim aktivitesi metanol ekstrelerinde belirlenirken, *E.pungens*'te ise en yüksek aktivitesi su ekstrelerinde görülmüştür. *Echinops borae* ve *E. pungen* örneklerinin hem toprak altı hem de toprak üstü ekstrelerinde en yüksek anti kollajenaz aktiviteye metanol ekstrelerinde görülmüştür.

Çalıştığımız türlerin antioksidan ve antienzim aktivitelerinin standarda göre yüksek, düzeyde olması sebebiyle; kanser, romatizma, obezite ve enfeksiyon gibi önemli hastalıklar üzerinde olumlu etkileri olabileceği ve fitoterapötik ajan olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızın GC-MS sonuçları literatür ile karşılaştırıldığında özüt içeriklerinde bulunan moleküllerden antioksidan ve antienzim aktivitesine sahip olanların yanında; anti-fungal, immüno modülatör etki, anti bakteriyel, anti melanojik, anti mikrobiyal ve anti artritik etkileri bulunan moleküllerin de yer aldığı görülmüştür. Bu sebeple *E. borae* ve *E. pungens* türleri sadece antioksidan ve antienzim etkili molekül kaynağı olarak değil; aynı zamanda anti fungal, immüno modülatör etki, anti bakteriyel, anti mikrobiyal ve anti-artritik etkili molekül kaynağı olarak da değerlendirilebileceği önerilmektedir.

*Echinops* cinsine ait diğer türlerin de çalışmamıza konu olan türlere benzer potansiyele sahip olabileceği ve detaylı incelenmesi gerektiği düşünülmektedir.

Yüksek oranda antioksidan ve antienzim aktivitelerinden dolayı bu aktivitelerin etkeni olan moleküllerin etkilerinin daha net açıklanabilmesi için *in vivo* olarak ileri düzeyde çalışmalarla desteklenmesine gerek duyulmaktadır.



## KAYNAKÇA

- Abdulhafiz, F., Mohammed, A., Kayat, F., Bhaskar, M., Hamzah, Z., Podapati, S.K., Reddy, L.V., 2020. Xanthine oxidase inhibitory activity, chemical composition, antioxidant properties and GC-MS analysis of keladi candik (*Alocasia longiloba* Miq). **Molecules**, 8;25(11):2658.
- Adams, M., Kunert, O., Haslinger, E., Bauer, R., 2004. Inhibition of leukotriene biosynthesis by quinolone alkaloids from the fruits of *Evodia rutaecarpa*. **Planta medica**, 70(10):904-8.
- Akasaka, R., Teshima, R., Kitajima, S., Momma, J., Inoue, T., Kurokawa, Y., Ikebuchi, H., Sawada, J., 1996. Effects of hydroquinone-type and phenolic antioxidants on calcium signals and degranulation of RBL-2H3 cells. **Biochemical pharmacology**, 14;51(11):1513-9.
- Aktümsek, A., Zengin, G., Guler, G.O., Cakmak, Y.S., Duran, A., 2013. Antioxidant potentials and anticholinesterase activities of methanolic and aqueous extracts of three endemic *Centaurea L.* species. **Food and Chemical Toxicology**, 55, 290-296.
- Alam, M.D.N., Bristi, N.J., Rafiquzzaman, M.D., 2013. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. **Saudi Pharmaceutical Journal**, 21: 143-152.
- Alara, O.R., Abdurahman, N.H., Ukaegbu, C.I., 2021. Extraction of phenolic compounds: a review. **Current Research in Food Fcience**, 4: 200-214.
- Altın, A., Atalay, H., Bilal, T., 2018. Serbest radikaller ve stres ile ilişkisi. **Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi**, 7 (1): 51-55.
- Altınışık, M. 2009. Enzimler. Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi <https://www.mustafaaltinisik.org.uk/89-1-09.pdf> Web adresinden 14 Ocak 2023 tarihinde edinilmiştir.
- Alves, C.Q., David, J.M., David, J.P., Bahia, M.V., Aguiar, R.M., 2010. Methods for determination of in vitro antioxidant activity for extracts and organic compounds. **Quimica Nova**, 33(10): 2202-2210.

- Alves, J., Gaspar, H., Silva, J., Alves, C., Martins, A., Teodoro, F., Susano, P., Pinteus, S., Pedrosa, R., 2021. Unravelling the anti-inflammatory and antioxidant potential of the marine sponge *Cliona celata* from the portuguese coastline. **Marine drugs**, 12;19(11):632.
- Ammar, R.B., Khalifa, A., Alamer, S.A., Hussain, S.G., Hafez, A.M., Rajendran, P., 2022. Investigation of the potential anti-urolithiatic activity of *Alhagi maurorum* (Boiss.) grown wild in Al-Ahsa (Eastern Province), **Saudi Arabia. Brazilian journal of biology = Revista brasleira de biologia**, 27:84:e259100.
- Asif, M., 2015. Chemistry and antioxidant activity of plants containing some phenolic compounds. **Chemistry International** 1(1), 35-52.
- Atasever-Arslan B., Yilancioglu, K., Bekaroglu, M. G., Taskin, E., Altinoz, E., Cetiner, S., 2015. Cytotoxic effect of extract from *Dunaliella salina* against SH-SY5Y neuroblastoma cells. **Gen Physiol Biophys**, 34(2): 201-7.
- Azwanida, N.N.Z., Jonathan, E.O., Melanie-Jaynes, H., 2020. Antioxidant, anti-collagenase, anti-elastase and anti-tyrosinase activities of an aqueous *Cosmos caudatus* Kunth (Asteraceae) leaf extract. **Tropical Journal of Natural Product Research**, 4(12): 1124-1130.
- Barros, L., Baptista, P., & Ferreira, I. C. F. R., (2007a). Effect of *Lactarius piperatus* fruiting body maturity stage on antioxidant activity measured by several biochemical assays. **Food Chemistry Toxicol**, 45, 1731–1737.
- Bhat, M.A., Khan, A.F., Kataria, H.C., 2022. In-vivo anticancer activity of root and leaf extract of *Jurinea dolomiaea* Boiss (Asteraceae) against ehrlichs ascites carcinoma (EAC) cell line. **Journal of Advanced Chemical Sciences**, 8(2): 770-773.
- Bingöl, G. 1977. Vitaminler ve Enzimler. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları Ders Kitabı Serisi, Ankara
- Birkedal-Hansen, H., 1987. Catabolism and turnover of collagens: collagenases. **Methods of Enzymology**, 144: 140-171.

- Blois, M.S., 1958. Antioxidant determinations by use of a stable free radical. **Nature**, 181: 1199-1200.
- Bravo, K., Alzate, F., Osorio, E., 2016. Fruits of selected wild and cultivated andean plants as sources of potential compounds with antioxidant and anti-aging activity. **Industrial Crops and Products**, 85: 341–352.
- Can, A. ve Akev, N., 2008. Eczacılık Fakültesi Öğrencileri İçin Biokimya Dersleri. İstanbul Üniversitesi Basım ve Yayınevi Müdürlüğü, İstanbul.
- Candiota, P., Majós, C., Julià-Sapé, M., Cabañas, J., Acebes, J., Moreno-Torres, A., Griffiths, J.R., Arús, C., 2011. Non-invasive grading of astrocytic tumours from the relative contents of myo-inositol and glycine measured by in vivo MRS. **JBR-BTR: organe de la Societe royale belge de radiologie**, 94(6):319-29.
- Cassidy, AC., Hanley, B., Lamuela-Raventos, R.M., 2000. Isoflavones, lignans and stilbenes-origins, metabolism and potential importance to human health. **Journal of The Science of Food and Agriculture**, 80: 1044-1062.
- Cook, N.C. ve Samman, S., 1996. Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources. **Nutritional Biochemistry**, 7: 66-76.
- Cregge, R. J., Durham, S. L., Farr, R. A., Gallion, S. L., Hare, C. M., Hoffman, R. V., Janusz, M. J., Kim, H. O., Koehl, J. R., Mehdi, S., Metz, W. A., Peet, N. P., Pelton, J. T., Schreuder, H. A., Sunder, S. and Tardif, C., 1998. Inhibition of human neutrophil elastase 4, design, synthesis, x-ray crystallographic analysis and structure-activity relationships for a series of P2-modified, orally active peptidyl pentafluoroethyl ketones. **Journal of Medicinal Chemistry** 41: 2461-2480.
- Cuendet, M., Hostettmann, K., Potterat, O. ve Dyatmiko W., 1997. Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *fagraea blumei*. **Helvetica Chimica Acta**, 80(4): 1144–1152.
- Çiğdem Aydın, Ç., Taşdelen Özcan, G., Turan, M., Mammadov, R., 2016. phenolic contents and antioxidant properties of *Echinops ritro L.* and *E. tournefortii* Jaup. Et. spach extract. **International Journal Secondary Metabolite**, 3(2):74-81.

- Deming, D. M., Boileau, T. W. M., Heintz, K. H., Atkinson, C. A., Erdman Jr, J. W., 2002. Carotenoids: linking chemistry, absorption, and metabolism to potential roles in human health and disease. **In Handbook of Antioxidants** (pp. 189-221).
- Devasagayam, T.P.A., Tilak J.C., Boloor K.K., 2004. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. **J Assoc Physicians India**, 52: 794-804.
- Dişli, M. ve Yeşilada, E., 2019. Türkiye’de bitkisel tıbbi ürünler (Türkiye’de bitkisel ürünlerin standardizasyonu, üretimi ve taşıması). **J Biotechnol and Strategic Health Res.**, 3: 13-21
- Dobhal, P., Agnihotri, S., Ashfaqullah, S., Tamta, S., 2022. Effect of salicylic acid elicitor on antioxidant potential and chemical composition of in vitro raised plants of *Berberis asiatica* Roxb. ex DC. **Natural Product Research**.
- Dong, J., Zheng, H., Zeng, Q., Zhang, X., Du, L., Bais, S., 2022. Protective effect of D-(-)-quinic acid as food supplement in modulating AMP-activated protein kinase signalling pathway activation in HFD induced obesity. **Human & experimental toxicology**, 41:9603271221119804.
- Droge, W., 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiol Review** 82(1): 47-95.
- Dündar, Y., Aslan, R., 1999. Hücre moleküler statüsünün anlaşılması ve fizyolojik önem açısından radikaller -antioksidanlar, **Cerrahi Tıp Bilimleri Dergisi**, 2(2): 134 142.
- Dündar,, Y., Aslan R., 1999. Oksidan-antioksidan denge ve korunmasında vitaminlerin rolü. **Hayvancılık Araştırma Dergisi**, 9(1-2): 32-39.
- Eruygur, N., Koçyiğit, U.M., Taslimi, P., Ataş, M., Tekin, M., Gülçin, İ., 2019. Screening the in vitro antioxidant, antimicrobial, anticholinesterase, antidiabetic activities of endemic *Achillea cucullata* (asteraceae). **South African Journal of Botany**, 120: 141-145.

- Evran, S., Yasa, I., Telefoncu, A., 2010. Modification of lysozyme with oleoyl chloride for broadening the antimicrobial specificity. **Preparative biochemistry & biotechnology**, 40(4):316-25.
- Fang, Y.Z., Yang, S., Wu, G., 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition. **Nutrition**, 18(10): 872-879.
- Fennema, O.R., 1985. Pigment and other colorants. **Food Chemistry**, 545-584.
- Friedman, M., 1996, Food browning and its prevention: an overview. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 44: 631-653.
- Gopalakrishna, R., Chen, Z.H., Gundimeda, U., 1994. Tobacco smoke tumor promoters, catechol and hydroquinone, induce oxidative regulation of protein kinase C and influence invasion and metastasis of lung carcinoma cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 6;91(25):12233-7.
- Gökpınar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., Durmaz, Y., 2006. Algal antioksidanlar. **Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 23: 85-89.
- Gülçin, İ., 2020. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. **Archives of Toxicology**, 94: 651-715
- Gülçin, İ., Küfrevioğlu, Ö.İ., Oktay, M., Büyükokuroğlu, M.E., 2004b. Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). **Journal of Ethnopharmacology**, 90: 205-215.
- Gülçin, İ., Oktay, M., Kireççi, E., Küfrevioğlu, Ö.İ., 2003. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. **Food Chemistry**, 83: 371-382.
- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M. T. (Editörler). 2012. Türkiye bitkileri listesi (damarlı bitkiler). İstanbul: Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği
- Güner, S., 2007. Biyokimya-I. Karadeniz Teknik Üniversitesi Matbaası, Trabzon, 107-141,166.

- Hakverdi, E., Yiğit, N., 2017. Yozgat-Akdağmadeni yöresinde bulunan bazı tıbbi ve aromatik bitkiler. **Bartın Orman Fakültesi Dergisi**,. 19(2) 82-87.
- Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C., 1995. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. **Free Radical Biology and Medicine**, 18: 125– 126.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1999. Free radicals in biology and medicine. **3rd ed. New York: Oxford University Press**, 10:121.
- Harborne, J.B., Baxter, H., Moss, G.P., 1999. A Handbook of Bioactive Compounds From Plants. 2nd Edition. Publisher: **Taylor- Francis**.
- Hartley, B. S., Shotton, D. M., 1971, Pancreatic elastase, In: The Enzymes, **ed. Boyer, P.D., 3rd Edition**, vol. III, 323-373, Academic Press.
- Hedge, I.C., 1975. *Echinops* L. In: Davis PH, editor. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. **Edinburgh, UK: Edinburgh University Press**, 5: 609–622.
- Heidari, H., Azizi, Y., Maleki-Ravasan, N., Tahghighi, A., Khalaj, A., 2022. Nature's gifts to medicine: The metabolic effects of extracts from cocoons of *Larinus hedenborgi* (Coleoptera: Curculionidae) and their host plant *Echinops cephalotes* (Asteraceae) in diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, 284, 114762.
- Hoda, S., Gupta, L., Shankar, J., Gupta, A.K., Vijayaraghavan, P., 2020. cis-9-Hexadecenal, a natural compound targeting cell wall organization, critical growth factor, and virulence of *Aspergillus fumigatus*. **ACS omega**, 21;5(17):10077-10088.
- Hossain, M.B., Brunton, N.P., Baryy-Ryan, C., Martin-Diana, A.B., Wilkinson, M., 2008. Antioxidant activity of spice extracts and phenolics in comparison to synthetic antioxidants. **Rasayan J. Chem**, 1(4): 751-756.
- Huang, D., Ou, B., Prior, R.L., 2005. The Chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53: 1841-1856.
- Jeong, J.B., Hong, S.C., Jeong, H.J., Koo, J.S., 2011. Anti-inflammatory effect of 2-methoxy-4-vinylphenol via the suppression of NF- $\kappa$ B and MAPK activation, and acetylation of histone H3. **Archives of pharmacal research**, 34(12):2109-16.

- Jiménez-Ferrer, E., Vargas-Villa, G., Martínez-Hernández, G.B., González-Cortazar, M., Zamilpa, A., García-Aguilar, M.P., Arenas-Ocampo, M.L., Herrera-Ruiz, 2022. Fatty-Acid-Rich *Agave angustifolia* fraction shows Antiarthritic and immunomodulatory Effect. **Molecules**, 24;27(21):7204.
- Johnson, I.T., Williamson, G., Musk, S.R.R., 1994. Anticarcinogenic factors in plant foods: a new class of nutrients?. **Nutrition Research Reviews**, 7: 175-204.
- Joseph, J.A., Shukitt-Hale, B., Casadesus, G., 2005. Reversing the deleterious effects of aging on neuronal communication and behavior: beneficial properties of fruit polyphenolic compounds. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 81: 313- 316.
- Kaczorová,D., Karalija, E., Dahija, S, Bešta-Gajević, R., Parić, A., Cavar Zeljković, S., 2021. Influence of extraction solvent on the phenolic profile and bioactivity of two *Achillea* Species. **Molecules**, 26.1601.
- Kafkas, E., Bozdoğan, A., Burgut, A., Türemiş, N., Paydaş Kargı, S., Cabaroğlu, T., 2006. Bazı üzüksü meyvelerde toplam fenol ve antosiyanin İçerikleri. **II. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu**, Tokat, 309-312.
- Kalaycıoğlu, L., Serpek, B., Nizamlioğlu, M., Başpınar, N., Tiftik, A.M., 2013. *Biyokimya*. 5. Baskı, Nobel Akademik Yayıncılık, Ankara.
- Karabulut, H., Gülay, M.Ş., 2016a. Serbest radikaller. **Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi**, 4 (1): 50-59.
- Khusro, A., Sahibzada, M.U.K., Khan, S.U., Rajagopal, R., Elghandour, M.M.M.Y., Salem, A. Z.M., Kuppusamy, P., Canto, Y.A., González, D.N.T., 2022. Anti-methanogenic traits of safflower oil compounds against methyl-Coenzyme m reductase receptor in Equines: an in silico docking analysis. **Journal of equine veterinary science**,113:103938.
- Kim, H.K., Byun, J.C., Bandi, A.K.R., Hyun, C.G. ve Lee, N.H., 2009. Compounds with elastase inhibition and free radical scavenging activities from *Callistemon lanceolatus*. **Journal of Medicinal Plants Research**, 3(11): 914-920.

- Koca, İ., 2007. Kızılcık ve Trabzon hurması pekmezlerinin üretim teknikleri. **Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi**, 2(2): 33-37.
- Kubik, J., Waszak, L., Adamczuk, G., Humeniuk, E., Iwan, M., Adamczuk, K., Michalczuk, M., Korga-Plewko, A., Józefczyk, A., 2022. Phytochemical analysis and anti-cancer properties of extracts of *Centaurea castriferrei* Borbás & Waisb Genus of *Centaurea* L.. **Molecules**, 27,7537.
- Kührevioğlu, İ. Ö. ve Keha, E. E. 2009. Biyokimya. Aktif Yayınevi, İstanbul.
- Lander, H.M., 1997. An essential role for free radicals and derived species in signal transduction. **Faseb Journal**, 11(2): 118-124.
- Laos, F.S., Garcia, J.A., Bendezu, M.R., Anchante, L.D., Centeno, J.F.P., Campus, M.V., Jhong, J.J.P., Carlos, P.E.Y., Loja, B., Alvarado, A.T., 2022. In vitro antioxidant properties and antimicrobial activity of the ethanolic extract of *Senecio nutans* Sch. Beep. (Asteraceae). **Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research**, 10(6): 1026-1036.
- Lee, W.C., Wang, C.J., Chen, Y.H., Hsu, J.D., Cheng, S.Y., Chen, H.C., Lee, H.J., 2009. Polyphenol extracts from *Hibiscus sabdariffa* Linnaeus attenuate nephropathy in experimental type 1 diabetes. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 57: 2206-2210.
- Leopoldini, M., Russo, N., Toscano, M., 2011. The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. **Food Chemistry**, 125: 288-306.
- Martorana, M., Arcoraci, T., Rizza, L., Cristani, M., Bonina, F. P., Saija, A., Trombetta, D., Tomaino, A., 2013. In vitro antioxidant and in vivo photoprotective effect of pistachio (*Pistacia vera* L., variety bronte) seed and skin extracts. **Fitoterapia**, 85, 41- 48.
- Mates, J.M., Sanchez-Jimenez, F.M., 2000. Role of oxygen species in apoptosis: implications for cancer therapy. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, 32: 157-170.
- Matsui, Y., Sugiyama, K., Kamei, M., Takahashi, T., Suzuki, T., Katagata, Y., Ito, T., 2010. Extract of passion fruit (*Passiflora edulis*) seed containing high amounts of

- piceatannol inhibits melanogenesis and promotes collagen synthesis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 58(20), 11112-11118.
- Maurya, P.K., Rizvi, S.I., 2009. Protective role of tea catechins on erythrocytes subjected to oxidative stress during human aging. **Natural Product Research**, 12: 1072-1079
- Mazumder, K., Nabila, A., Aktar, A., Farahnaky, A., 2020. Bioactive variability and in vitro and in vivo antioxidant activity of unprocessed and processed flour of nine cultivars of australian lupin species: **A Comprehensive Substantiation. Antioxidants**, 27;9(4):282.
- Mohseni, S., Sani, a.m., Tavakoli, M., Rauofi, A. M., 2017. Effect of extraction conditions on antioxidant activities of *Echinops persicus*. **Taylor&Francis**, 20(6): 1633-1644.
- Monowar, T., . Rahman. Md.S., Bhore, S.J., Raju, G., Sathasivam, 2019. Secondary metabolites profiling of *Acinetobacter baumannii* associated with Chili (*Capsicum annuum* L.) leaves and concentration dependent antioxidant and prooxidant properties. **BioMed Research International**, 6951927.
- Mortensen, A., Skibsted, L.H., Truscott, T.G., 2001. The interaction of dietary carotenoids with radical species. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 385: 13-19
- Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., Ersoz, A., Dikmen, N., Menten, G., Özgünen, T. 1993. Harper'ın Biokimyası. pp. 978-975-953- 311-3, Barış Kitapevi.
- Nelson, D.L., Cox, M.M., 2013. Lehninger Biyokimyanın İlkeleri. 5. Baskıdan Çeviri, Palme Yayıncılık, Ankara, 25, 183-233, 960-961.
- Nenan, S., Boichot, E., Lagente, V., Bertrand, C. P. 2005. Macrophage elastase (MMP-12): a pro inflammatory mediator?. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, 100: 167-72.
- Nourine, S.H.Z., Benhammou, N.B., Haouar, F.E.H.Z., Douahi, O., Chenafi, F., Fetati, H., Sari, S.C., Benmahieddine, A., Zaoui, C., Mekaouche, F.Z.N., Bekkara, F.A., Kambauche, N., Gismondi, A., Toumi, H., 2022. *Echinops spinosissimus* Turra

- Root methanolic extract: characterization of the bioactive components and relative wound healing, antimicrobial and antioxidant properties. **Plants**, 11, 3440.
- Oliveira, A.I., Pinho, C., Fonte, P., Sarmiento, B., Dias, A.C.P., 2018 Development, characterization, antioxidant and hepatoprotective properties of poly( $\epsilon$ -caprolactone) nanoparticles loaded with a neuroprotective fraction of *Hypericum perforatum*. **International Journal of Biological Macromolecules**, 110: 185-196.
- Özgen, U., Mavi, A., Terzi, Z., Coşkun, M., Yıldırım, A., 2004. Antioxidant activities and total phenolic compounds amount of some Asteraceae species. **Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences**, 1(3), 203-216.
- Padayatty, J.S., Daruwala, R., Wang, Y., Eck, K.P., Song, J., Koh, S.W., Levine, M., 2002. Vitamin C:from molecular actions to optimum Intake. **Handbook of Antioxidants**. Packer, L. and Cadenas, E. (eds.), Crc press, California.. 1-732.
- Pandey, K.B., Rizvi, S.I., 2009. Plant polyphenolis as dietary antioxidants in human health and disease. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2: 270-278.
- Pasternak, B., Aspenberg, P., 2009, Metalloproteinases and their inhibitors-diagnostic and therapeutic opportunities in orthopedics, **Acta Orthopaedica**, 80: 693-703.
- Pengelly, A., 2004. The constituents of medicinal plants. 2 nd edition, p.33
- Pereira, P., Bernardo-Gil, M. G., Cebola, M. J., Mauricio, E. Ve Romano, A., 2013. Supercritical fluid extracts with antioxidant and antimicrobial activities from myrtle (*Myrtus communis* L.) leaves. **Response surface optimization. The Journal of Supercritical Fluids**, 83: 57-64
- Pham-Huy, L.A., He, H., Pham-Huyc, C., 2008. Free radicals, antioxidants in disease and health. **International Journal of Biomedical Science**. 4(2): 89-96.
- Pınar, S.M., 2016. *Centaurea sintenisiana* gand. a new record for the family Asteraceae (Compositae) from Turkey. **Int Res J Nat Appl Sci**, 21(2):75-82.
- Rao, A. V., Rao, L. G., 2007. Carotenoids and human health. **Pharmacological research**, 55(3): 207-216.

- Sain, S., Naoghare, P.K., Devi, S.S., Daiwile, A., Krishnamurthi, K., Arrigo, P., Chakrabarti, T., 2014. Beta caryophyllene and caryophyllene oxide, isolated from *Aegle marmelos*, as the potent anti-inflammatory agents against lymphoma and neuroblastoma cells. **Anti-inflammatory & anti-allergy agents in medicinal chemistry**,13(1):45-55.
- Sandhar, H.K., Kumar, B., Prasher, S., Tiwari, P., Salhan, M., Sharma, P., 2011. A review of phytochemistry and pharmacology of flavonoids. **Internationale Pharmaceutica Scientia**, 1: 25-41.
- Schreck, R., Baeuerle, P.A., 1991. A role for oxygen radicals as second messengers. **Trends Cell Biology** 1(2-3): 39-42.
- Shah, H., Khan, A.A., 2017. Phytochemical characterisation of an important medicinal plant, *Chenopodium ambrosioides* Linn. **Natural product research**, 31(19): 2321-2324.
- Sharma, R., Karunambigai, A., Gupta, S., Arumugam, N., 2020. Evaluation of biologically active secondary metabolites isolated from the toothache plant *Acmella ciliata* (Asteraceae). **Advances in Traditional Medicine**, 22:713–722.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, 16: 144-158.
- Spence, J.P.E., Mohsen, M.M.A., Miniñane, A.M., Mathers, J.C., 2008 Biomarkers of the intake of dietary polyphenols: strengths, limitations and application in nutrition research. **Brit J Nutr**, 99: 12-22.
- Spencer, J.P., Abd el Mohsen, M.M., Miniñane, A.M., Mathers, J.C., 2008. Biomarkers of the intake of dietary polyphenols: strengths, limitations and application in nutrition research. **British Journal of Nutrition**, 99: 12-22.
- Şapcı Selamoğlu, H.ve Vural, C., 2018. bioactivity researching on new species of *Echinops* L. (Asteraceae): antimicrobial and antioxidant activity of *Echinops antalyensis*. **Anadolu University Journal of Science and Technology C- Life Sciences and Biotechnology**, vol.7, no.1, pp.68-73.

- Şener, G., Yeğen, B. Ç., 2009. İskemi Reperfüzyon Hasarı. **Klinik Gelişim Dergisi**, 22: 5-13.
- Tapas, A.R., Sakarkar, D.M., Kakde, R.B., 2008. Flavonoids as nutraceuticals: a review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, 7: 1089-109.
- Tavman, Ş., Kumcuoğlu, S., Akkaya, Z., 2009. Bitkisel ürünlerin atıklarından antioksidan maddelerin ultrason destekli ekstraksiyonu. **Gıda Dergisi**, 34(3):175-182.
- Thring, T.S., Hili, P., Naughton, D.P., 2009. Anti-collagenase, anti-elastase and antioxidant activities of extracts from 21 plants. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, 9(27).
- Tsuji, N., Moriwaki, S., Suzuki, Y., Takema, Y. and Imokawa, G., 2001. The role of elastases secreted by fibroblast in wrinkle formation: implication through selective Inhibition of elastase activity. **Photochemistry and Photobiology**, 74: 283-290.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncola, J., 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **Int J Biochem Cell Biology**. 39: 44-84.
- Vallisuta, O., Nukoolkarn, V., Mitrevej, A., Sarısuta, N., Leelapornpisid, P., Phrutivorapongkul, A., Sinchaipanid, N., 2014. In vitro studies on the cytotoxicity, and elastase and tyrosinase inhibitory activities of marigold (*Tagetes erecta* L.) flower extracts. **Experimental and Therapeutic Medicine**, 7: 246-250.
- Villaño, D., Fernández-Pachóna, M.S., Moyáb, M.L., Troncosoa, A.M., García-Parrillaa, M.C., 2007. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. **Talanta**, 71(1), 230-235.
- Voet, D., Voet, J.G., 2000. Biochemistry, (second edition). **New York**, 346-350.
- Vural, C ., 2012. Two new species of *Echinops* sect. *Ritropsis* (Asteraceae) from Turkey. **Annales Botanici Fennici**, 49: 95–98.

- Vural, C., Biter, M.K., Dadandı, M.Y., 2010. A new species of *Echinops* (Asteraceae: Cardueae) from Turkey: *Echinops dumanii*. **Turkish Journal Botany**, 34: 513–519.
- Vural, C., Dadandı, M., Y., 2010. Türkiye *Echinops* L. (Asteraceae) türlerinin taksonomik revizyonu, Tubitak, Proje No: 106T526
- Vural, C., Şapcı, H., 2012. Five new records of the genus *Echinops* (Asteraceae) from Turkey. **Turkish Journal Botany** 36: 151–160.
- Wilför, S.M., Smeds, A.I., Holmbom, B.R., 2006. Chromatographic analysis of lignans. **Journal of Chromatography A**, 1012: 64-77.
- Winslow, L.C., Kroll, D.J., 1998. Herbs as medicines. **Archives of Internal Medicine**. 58: 2192-2199.
- Woolley, D.E., Roberts, D.R., Evanson, J.M., 1975. Inhibition of human collagenase activity by a small molecular weight serum protein. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 66, 747-754.
- Yagi, K., 1987. Lipid peroxides and human disease, **Chemistry and Physics of Lipids**, 45: 337-341.
- Yağcı, C., Toker, M.C., Toker, G., 2008. Bitki doku kültürü yoluyla üretilen flavonoidler. **Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi**, 1 (1): 47-58.
- Yıldırımoglu, F., 2009. Kolesterol tayini İçin Yeni Bir Hazırlanması, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 42-43, 17-19.
- Zahid, M., Arif, M., Rahman, Md.A., Singh, K., Mujahid, M., 2018. Solvent extraction and gas chromatography-mass spectrometry Analysis of *Annona squamosa* L. seeds for determination of bioactives, fatty acid/fatty oil composition, and antioxidant activity. **Journal of dietary supplements**, 3;15(5):613-623.
- Zou, H., Zhang, M., Zhu, X., Zhu, L., Chen, S., Luo, M., Xie, Q., Chen, Y., Zhang, K., Bu, Q., Wei, Y., Ye, T., Li, Q., Yan, X., Zhou, Z., Yang, C., Li, Y., Zhou, H., Zhang, C., You, X., Zheng, G., Zhao, G., 2022. Ginsenoside Rb1 improves metabolic disorder in high-fat diet-induced obese mice associated with modulation of gut microbiota. **Frontiers in microbiology**, 19;13:826487.

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

**Adı Soyadı:** Begüm BİRGÜL  
**Uyruğu:** Türkiye (T.C)

### EĞİTİM

| Derece | Kurum                        | Mezuniyet Tarihi |
|--------|------------------------------|------------------|
| Lisans | Fırat Üniversitesi, Biyoloji | 2008             |
| Lise   | Özel Nene Hatun Koleji       | 2004             |

### YABANCI DİL

İngilizce Yökdil: 62.5

### BİLDİRİLER

1. B. Birgül, H. Şapcı Selamoğlu, C. Vural, Türkiye’ de Yayılış Gösteren *Bolboschoenus* (Palla) Cinsi Taksonların Polen Morfolojisi, Sözlü Sunum, International Eurasian Conference on Biotechnology and Biochemistry (BioTechBioChem 2020), 16 Aralık 2020, 18 Aralık 2020.
2. B. Birgül, H. Şapcı Selamoğlu, C. Vural, Türkiye’ de Yayılış Gösteren *Bolboschoenus* (Palla) Cinsi Taksonların Tohum Morfolojisi, Sözlü Sunum, International Eurasian Conference on Biotechnology and Biochemistry (BioTechBioChem 2020), 16 Aralık 2020, 18 Aralık 2020.
3. B. Birgül, H. Şapcı Selamoğlu, C. Vural, Türkiye’ de Yayılış Gösteren *Fimbristylis* Vahl Cinsi Taksonların Tohum Morfolojisi. Sözlü Sunum, 4th International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2021), 24 Kasım 2021, 26 Kasım 2021.
4. B. Birgül, H. Şapcı Selamoğlu, C. Vural, Türkiye’ de Yayılış Gösteren *Fimbristylis* Vahl Cinsi Taksonların Polen Morfolojisi Sözlü Sunum, 4th International Eurasian

Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2021), 24 Kasım 2021, 26 Kasım 2021.

5. H. Şapcı Selamoğlu, B. Birgül, C. Vural, Türkiye’ de Yayılış Gösteren *Fimbristylis* Vahl Cinsinin Revizyonu, Sözlü Sunum, 4th International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2021). 24 Kasım 2021, 26 Kasım 2021.

6. H. Şapcı Selamoğlu, B. Birgül, C. Vural, Türkiye’ de Yayılış Gösteren *Schoenoplectus* (Rchb.) Palla Cinsi Taksonların Tohum Morfolojisi, Sözlü Sunum, 4th International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2021), 24 Kasım 2021, 26 Kasım 2021.

7. B. Birgül, H. Şapcı Selamoğlu, C. Vural, *Echinops borae* ve *Echinops pungens* Türlerinin Antienzim ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi, 5th International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2022), 23 Kasım 2022, 25 Kasım 2022.

## DESTEKLER

TÜBİTAK 1001 117Z036, Türkiye Cyperaceae Familyası, *Carex* L. Hariç Diğer Tüm Cinslerinin Morfolojik, Moleküler, Sitogenetik ve Palinolojik Revizyonu, KB<sup>^</sup> Kimya Biyoloji Araştırma Destek Grubu, Projeye Katılma/Ayrılma Tarihi 26.04.2018 – 01.08.2021 Proje Başlangıç/Bitiş Tarihleri: 01.02.2018- 01.02.2022.

ERCİYES ÜNİVERSİTESİ GENEL ARAŞTIRMA PROJESİ (NAP) FBA-2021-10990, *Echinops* L. Cinsine ait Bazı Taksonların Antienzim (Anti kollajenaz, Anti elastaz) ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi, Erciyes Üniversitesi Genel Araştırma Projesi, Projeye Katılma/ Ayrılma Tarihi: 03.08.2021- 01.02.2023.