



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOĞAL VE BİTKİSEL ÜRÜNLER, KOZMETİK ÜRÜNLER
ANABİLİM DALI

***LACTUCA BOISSIERI, CICERBITA PETIOLATA
VE LACTUCA BOURGAEI TÜRLERİNİN
BİLEŞENLERİ VE BİYOLOJİK ETKİNLİK
ARAŞTIRMALARI***

Feyza DEMİR

DOKTORA TEZİ

Prof. Dr. Ahmet YAŞAR

TRABZON-2024

BEYAN

Bu tez çalışmasının Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak yapıldığını ve yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kullanılan kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tarih
Feyza DEMİR
(İmza)

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca, bilgi ve tecrübesinden faydalandığım çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Ahmet YAŞAR'a,

Tez çalışmamda desteklerini benden esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Nurettin YAYLI'ya, Prof. Dr. Kamil COŞKUNÇELEBİ'ye, Prof. Dr. Murat KÜÇÜK'e, Prof. Dr. Şengül ALPAY KARAOĞLU'na, Doç. Dr. Can Özgür YALÇIN'a ve Doç. Dr. Emine AKYÜZ TURUMTAY'a,

Eğitim sürecim boyunca emeği geçen öncelikle KTÜ Eczacılık Fakültesi hocalarım başta olmak üzere tüm hocalarıma ve KTÜ Eczacılık Fakültesi tüm personeline,

Hem eğitim sürecimde hem de tez aşamalarımda bana kıymetli zamanlarını ayıran, ilgi ve sevgilerini kalpten hissettiren sevgili arkadaşlarım Gözde BOZDAL'a, Zeynep TÜRKER'e, Yasemin ALTUN ALI'ye, Didem AKKAYA'ya ve Şeyda KANBOLAT'a,

YÖK 100/2000 Öncelikli Alanlar Doktora Burs Programı kapsamında doktora eğitimim süresince desteğinden dolayı Yükseköğretim Kuruluna,

TÜBİTAK-BİDEB 2211A-Yurt içi Doktora Burs Programı kapsamında doktora eğitimim süresince desteğinden dolayı TÜBİTAK'a,

Hayatım boyunca bana güvenerek her zaman yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen ve bana tüm fırsatları sunan annem Emriye DEMİR'e ve ablam Şeyma ER'e

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Feyza DEMİR

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK SAYFASI	
ONAY	
BEYAN	
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
RESİMLER DİZİNİ	xiv
KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ	xv
ÖZET	xviii
ABSTRACT	xix
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1. Asteraceae (Compositae) Familyası	6
2.2. <i>Lactuca</i> Cinsinin Genel Özellikleri	9
2.2.1. <i>Lactuca</i> Cinsinin Morfolojik Özellikleri	9
2.2.2. <i>Lactuca</i> Türlerinin Temel Kimyasal İçeriği	10
2.2.3. <i>Lactuca</i> Türlerinin Geleneksel Kullanımları	11
2.3. <i>Lactuca</i> Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar	13
2.3.1. <i>Lactuca</i> Türlerinde Bulunan Terpenik Bileşikler	13
2.3.2. <i>Lactuca</i> Türlerinde Bulunan Fenolik Bileşikler	16
2.3.3. <i>Lactuca</i> Türlerinde Bulunan Yağ Asitleri ve Uçucu Yağlar	19
2.4. <i>Lactuca</i> Türleri Üzerinde Yapılan Biyolojik Aktivite Çalışmaları	20
2.4.1. Antioksidan Etki	20
2.4.2. Antimikrobiyal Etki	23
2.4.3. Anti-inflamatuar Etki	24
2.4.4. Antidepresan Etki	25
2.4.5. Analjezik ve Sedatif Etki	25
2.4.6. Antidiyabetik Etki	26
2.4.7. Anksiyolitik Etki	27

2.4.8. Hepatoprotektif Etki	28
2.4.9. Nöroprotektif Etki	28
2.4.10. Sitotoksik Etki	29
2.5. Tez Kapsamında Çalışılan Türler Hakkında Genel Bilgiler	31
2.5.1. <i>Lactuca boissieri</i> Rouy.	31
2.5.2. <i>Lactuca bourgaei</i> Boiss.	32
2.5.3. <i>Cicerpita petiolata</i> K. Koch	33
2.6. Sekonder (İkincil) Metabolitler	35
2.6.1. Fenolik Bileşikler	36
2.6.1.1. Fenolik Asitler	37
2.6.1.2. Flavonoidler	39
2.6.2. Alkaloidler	41
2.6.3. Terpenler	42
2.7. Uçucu (Esansiyel) Yağlar	43
2.7.1. Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri	44
2.8. Kromatografi	46
2.8.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi	47
2.8.2. Gaz Kromatografisi	49
2.9. Serbest Radikal Kavramı	51
2.9.1. Serbest Oksijen Radikalleri	52
2.10. Antioksidan Savunma Sistemleri	54
2.10.1. Eksojen Antioksidanlar	57
2.10.1.1. Doğal Antioksidanlar	57
2.11. Antimikrobiyal Aktivite	59
2.12. Enzimler	60
2.12.1. Enzim Kinetiği ve İnhibisyonu	63
2.12.2. Asetilkolinesteraz Enzimi ve Fizyolojik Önemi	65
2.12.2.1. Bitkisel Kaynaklı Asetilkolinesteraz İnhibitörleri	70
2.12.3. Tirozinaz Enzimi ve Fizyolojik Önemi	71
2.12.3.1. Bitkisel Kaynaklı Tirozinaz İnhibitörleri	73
2.12.4. α -Glukozidaz Enzimi ve Fizyolojik Önemi	74
2.12.4.1. Bitkisel Kaynaklı α -Glukozidaz İnhibitörleri	77
2.13. Sitotoksikite ve Değerlendirme Testleri	78

3. GEREÇ ve YÖNTEM	81
3.1. Kullanılan Cihaz, Alet, Malzeme ve Kimyasallar	81
3.1.1. Cihazlar ve Malzemeler	81
3.1.2. Kimyasal Maddeler	82
3.2. Deney Hazırlığı ve Yöntemler	83
3.2.1. Bitkilerin Toplanması ve Ekstraksiyonu	83
3.2.2. Clevenger Yöntemiyle Uçucu Yağ Ekstraksiyonu	83
3.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	83
3.3.1. Antioksidan Aktivite Tayini	84
3.3.1.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini	84
3.3.1.2. Ferrik İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP) Tayini	85
3.3.1.3. Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Tayini	86
3.3.1.4. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini	87
3.3.2. Antimikrobiyal Aktivite Tayini	88
3.3.2.1. Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu	89
3.3.2.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon Testi	90
3.3.3. Enzim İnhibisyon Çalışmaları	90
3.3.3.1. Asetilkolinesteraz Enzim İnhibisyonu Tayini	90
3.3.3.2. Tirozinaz Enzim İnhibisyonu Tayini	91
3.3.3.3. α -Glukozidaz Enzim İnhibisyonu Tayini	92
3.3.4. MTT Testi ile Sitotoksosite Tayini	93
3.3.5. Kullanılan İstatistiksel Yöntemler	95
3.4. Fitokimyasal Çalışmalar	95
3.4.1. Türlerin Uçucu Yağlarının GC-MS ile Belirlenmesi	95
3.4.2. Türlerin Fenolik Bileşiklerinin HPLC ile Belirlenmesi	95
4. BULGULAR	97
4.1. Antioksidan Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular	97
4.1.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini Sonuçları	97
4.1.1.1. <i>Lactuca boissieri</i> Bitkisinin Fenolik Madde Miktarı Tayini Sonuçları	97
4.1.1.2. <i>Lactuca bourgaei</i> Bitkisinin Fenolik Madde Miktarı Tayini Sonuçları	98
4.1.1.3. <i>Cicerbita petiolata</i> Bitkisinin Fenolik Madde Miktarı Tayini Sonuçları	99
4.1.2. Ferrik İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP) Tayini Sonuçları	99
4.1.2.1. <i>Lactuca boissieri</i> Bitkisinin FRAP Tayini Sonuçları	100

4.1.2.2. <i>Lactuca bourgaei</i> Bitkisinin FRAP Tayini Sonuçları	101
4.1.2.3. <i>Cicerbita petiolata</i> Bitkisinin FRAP Tayini Sonuçları	101
4.1.3. Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Tayini Sonuçları	102
4.1.3.1. <i>Lactuca boissieri</i> Bitkisinin CUPRAC Tayini Sonuçları	103
4.1.3.2. <i>Lactuca bourgaei</i> Bitkisinin CUPRAC Tayini Sonuçları	103
4.1.3.3. <i>Cicerbita petiolata</i> Bitkisinin CUPRAC Tayini Sonuçları	104
4.1.4. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini Sonuçları	105
4.1.4.1. <i>Lactuca boissieri</i> Bitkisinin DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Sonuçları	105
4.1.4.2. <i>Lactuca bourgaei</i> Bitkisinin DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Sonuçları	108
4.1.4.3. <i>Cicerbita petiolata</i> Bitkisinin DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Sonuçları	110
4.2. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular	112
4.2.1. Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu Sonuçları	112
4.2.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon Testi Sonuçları	113
4.3. Enzim İnhibisyonu Çalışmalarına Ait Bulgular	115
4.3.1. Asetilkolinesteraz Enzim İnhibisyonu Tayini Sonuçları	115
4.3.2. Tirozinaz Enzim İnhibisyonu Tayini Sonuçları	116
4.3.3. α -Glukozidaz Enzim İnhibisyonu Tayini Sonuçları	121
4.4. MTT Testi ile Sitotoksisite Tayinine Ait Bulgular	122
4.4.1. <i>Lactuca boissieri</i> Bitkisinin MTT Test Sonuçları	122
4.4.2. <i>Lactuca bourgaei</i> Bitkisinin MTT Test Sonuçları	123
4.4.3. <i>Cicerbita petiolata</i> Bitkisinin MTT Test Sonuçları	123
4.5. Türlerin Uçucu Yağlarının GC-MS Analiz Sonuçları	124
4.5.1. <i>Lactuca boissieri</i> Bitkisinin Uçucu Yağ Analiz Sonuçları	124
4.5.2. <i>Lactuca bourgaei</i> Bitkisinin Uçucu Yağ Analiz Sonuçları	131
4.5.3. <i>Cicerbita petiolata</i> Bitkisinin Uçucu Yağ Analiz Sonuçları	139
4.6. Fenolik Bileşiklerin Analizi İçin HPLC-DAD Metodunun Değerlendirilmesi	149
4.6.1. <i>Lactuca boissieri</i> Bitkisinin Fenolik Bileşiklerin HPLC Analiz Sonuçları	152
4.6.2. <i>Lactuca bourgaei</i> Bitkisinin Fenolik Bileşiklerin HPLC Analiz Sonuçları	153
4.6.3. <i>Cicerbita petiolata</i> Bitkisinin Fenolik Bileşiklerin HPLC Analiz Sonuçları	154
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	156
6. KAYNAKLAR	168
ÖZGEÇMİŞ	197

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa
Tablo 1. Flavonoid alt gruplarının örnekleri ve gıda kaynakları	41
Tablo 2. En sık görülen serbest oksijen radikalleri	53
Tablo 3. Enzimlerin sınıflandırılması	61
Tablo 4. Kullanılan cihaz ve malzemeler	81
Tablo 5. Kullanılan kimyasal malzemeler	82
Tablo 6. Test mikroorganizmaları ve standart olarak kullanılan ilaçlar	89
Tablo 7. Türlerle ait ekstre ve uçucu yağların inhibisyon zon çapları	113
Tablo 8. Türlerle ait ekstre ve uçucu yağların MİK değerleri	114
Tablo 9. <i>Lactuca boissieri</i> bitkisinin uçucu yağ bileşenleri	125
Tablo 10. <i>Lactuca boissieri</i> bitkisinin uçucu bileşenlerindeki bileşik sınıfları ve miktarları	130
Tablo 11. <i>Lactuca boissieri</i> bitkisinin terpenik uçucu yağ bileşenleri	131
Tablo 12. <i>Lactuca bourgaei</i> bitkisinin uçucu yağ bileşenleri	132
Tablo 13. <i>Lactuca bourgaei</i> bitkisinin uçucu bileşenlerindeki bileşik sınıfları ve miktarları	138
Tablo 14. <i>Lactuca bourgaei</i> bitkisinin terpenik uçucu yağ bileşenleri	139
Tablo 15. <i>Cicerbita petiolata</i> bitkisinin uçucu yağ bileşenleri	140
Tablo 16. <i>Cicerbita petiolata</i> bitkisinin uçucu bileşenlerindeki bileşik sınıfları ve miktarları	148
Tablo 17. <i>Cicerbita petiolata</i> bitkisinin terpenik uçucu yağ bileşenleri	149
Tablo 18. Luteolin grubu fenolik standartların kalibrasyon ve validasyon parametreleri	151
Tablo 19. Kuersetin grubu fenolik standartların kalibrasyon ve validasyon parametreleri	151
Tablo 20. <i>Lactuca boissieri</i> bitkisinin içerdiği fenolik bileşikler ve miktarları	153
Tablo 21. <i>Lactuca bourgaei</i> bitkisinin içerdiği fenolik bileşikler ve miktarları	154
Tablo 22. <i>Cicerbita petiolata</i> bitkisinin içerdiği fenolik bileşikler ve miktarları	155

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No		Sayfa
Şekil 1.	Fenolik asitlerin sınıflandırılması	38
Şekil 2.	Flavonoidlerin kimyasal yapısı	39
Şekil 3.	Flavonoid alt gruplarının temel kimyasal yapıları	40
Şekil 4.	HPLC sisteminin şematik gösterimi	48
Şekil 5.	Gaz kromatografisi sisteminin şematik gösterimi	50
Şekil 6.	Enerji transferi ile serbest oksijen radikallerinin üretimi	54
Şekil 7.	Antioksidanların sınıflandırılması	56
Şekil 8.	Enzim-substrat bağlanma modelleri	62
Şekil 9.	Dönüşümlü inhibisyon çeşitleri	65
Şekil 10.	AChE katalitik aktivitesi	66
Şekil 11.	AChE bağlanma bölgelerinin şematik gösterimi	67
Şekil 12.	AChE inhibitörlerin sinir hücresindeki etki mekanizması	69
Şekil 13.	Tirozinaz enziminin katalitik aktivitesi	72
Şekil 14.	α -glukozidaz enziminin etki mekanizması	75
Şekil 15.	α -glukozidaz enziminin inhibe edilme mekanizması	77
Şekil 16.	Fenolik madde miktar tayini için kullanılan gallik asit standart grafiği	97
Şekil 17.	<i>Lactuca boissieri</i> bitkisinin su ve metanol ekstrelerine ait toplam fenolik madde miktar tayini sonuçları	98
Şekil 18.	<i>Lactuca bourgaei</i> bitkisinin su ve metanol ekstrelerine ait toplam fenolik madde miktar tayini sonuçları	98
Şekil 19.	<i>Cicerbita petiolata</i> bitkisinin su ve metanol ekstrelerine ait toplam fenolik madde miktar tayini sonuçları	99
Şekil 20.	FRAP tayini için troloks standart grafiği	100
Şekil 21.	<i>Lactuca boissieri</i> bitkisinin FRAP tayini sonuçları	100
Şekil 22.	<i>Lactuca bourgaei</i> bitkisinin FRAP tayini sonuçları	101
Şekil 23.	<i>Cicerbita petiolata</i> bitkisinin FRAP tayini sonuçları	102
Şekil 24.	CUPRAC tayini için kullanılan troloks standart grafiği	102
Şekil 25.	<i>Lactuca boissieri</i> bitkisinin CUPRAC tayini sonuçları	103
Şekil 26.	<i>Lactuca bourgaei</i> bitkisinin CUPRAC tayini sonuçları	104
Şekil 27.	<i>Cicerbita petiolata</i> bitkisinin CUPRAC tayini sonuçları	104

Şekil 28.	BHT standart çalışma grafiği	105
Şekil 29.	<i>Lactuca boissieri</i> bitkisinin DPPH [•] radikali giderme aktivitesi sonuçları	106
Şekil 30.	<i>Lactuca boissieri</i> ekstrelerine ait absorbans-konsantrasyon grafikleri	107
Şekil 31.	<i>Lactuca bourgaei</i> bitkisinin DPPH [•] radikali giderme aktivitesi sonuçları	108
Şekil 32.	<i>Lactuca bourgaei</i> ekstrelerine ait absorbans-konsantrasyon grafikleri	109
Şekil 33.	<i>Cicerbita peitolata</i> bitkisinin DPPH [•] radikali giderme aktivitesi sonuçları	110
Şekil 34.	<i>Cicerbita petiolata</i> ekstrelerine ait absorbans-konsantrasyon grafikleri	111
Şekil 35.	Galatamin için asetilkolinesteraz enzim inhibisyon standart grafiği	116
Şekil 36.	Kojik asit için tirozinaz enzim inhibisyon standart grafiği	117
Şekil 37.	<i>Lactuca boissieri</i> metanol ekstresinin tirozinaz enzim inhibisyonu grafiği	118
Şekil 38.	<i>Lactuca boissieri</i> etil asetat ekstresinin tirozinaz enzim inhibisyonu grafiği	118
Şekil 39.	<i>Lactuca bourgaei</i> metanol ekstresinin tirozinaz enzim inhibisyonu grafiği	119
Şekil 40.	<i>Lactuca bourgaei</i> etil asetat ekstresinin tirozinaz enzim inhibisyonu grafiği	119
Şekil 41.	<i>Cicerbita petiolata</i> etil asetat ekstresinin tirozinaz enzim inhibisyonu grafiği	120
Şekil 42.	<i>Cicerbita petiolata</i> metanol ekstresinin tirozinaz enzim inhibisyonu grafiği	120
Şekil 43.	Akarboz için α -glukozidaz enzim inhibisyon standart grafiği	121
Şekil 44.	<i>Lactuca boissieri</i> bitkisinin metanol ekstresinin MTT sonuçları	122
Şekil 45.	<i>Lactuca bourgaei</i> bitkisinin metanol ekstresinin MTT sonuçları	123
Şekil 46.	<i>Cicerbita petiolata</i> bitkisinin metanol ekstresinin MTT sonuçları	124
Şekil 47.	<i>Lactuca boissieri</i> bitkisinin uçucu bileşenlerinin formülleri	126
Şekil 48.	<i>Lactuca bourgaei</i> bitkisinin uçucu bileşenlerinin formülleri	133
Şekil 49.	<i>Cicerbita petiolata</i> bitkisinin uçucu bileşenlerinin formülleri	141
Şekil 50.	Luteolin grubu fenolik standartlarının HPLC-DAD kromatogramı	150

Şekil 51.	Kuersetin grubu fenolik standartlarının HPLC-DAD kromatogramı	150
Şekil 52.	<i>Lactuca boissieri</i> bitkisinin metanol ekstresine ait HPLC kromatogramı	152
Şekil 53.	<i>Lactuca bourgaei</i> bitkisinin metanol ekstresine ait HPLC kromatogramı	153
Şekil 54.	<i>Cicerbita petiolata</i> bitkisinin metanol ekstresine ait HPLC kromatogramı	155



RESİMLER DİZİNİ

Resim No		Sayfa
Resim 1.	<i>Lactuca boissieri</i> bitkisinin yayılış haritası	31
Resim 2.	<i>Lactuca boissieri</i> bitkisinin genel görünümü	32
Resim 3.	<i>Lactuca bourgaei</i> bitkisinin yayılış haritası	32
Resim 4.	<i>Lactuca bourgaei</i> bitkisinin genel görünümü	33
Resim 5.	<i>Cicerbita petiolata</i> bitkisinin yayılış haritası	34
Resim 6.	<i>Cicerbita petiolata</i> bitkisinin genel görünümü	35
Resim 7.	Uçucu yağ elde etmek için kullanılan Clevenger düzeneği	45



KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

ABTS	2,2'-Azino-bis (3-etilbenztiyazolin-6-sülfonik asit)
AChE	Asetilkolinesteraz
ALKP	Alkalen fosfataz
AMP	Ampisilin
APX	Askorbat peroksidaz
Bc	<i>Bacillus cereus</i>
BDNF	Beyin kaynaklı nörotrofik faktör
BHA	Bütil hidroksi anisol
BHT	Bütil hidroksi tolüen
Ca	<i>Candida albicans</i>
CAT	Katalaz
cm	Santimetre
CUPRAC	Cu (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite
DAD	Diyot dizisi dedektörü
DCM	Diklorometan
DMEM	Dulbecco's modified eagles's medium
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPPH	2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
DTNB	5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoik asit)
Ec	<i>Escherichia coli</i>
Ef	<i>Enterococcus faecalis</i>
FAD	Flavin adenin dinükleotit
FCR	Folin-Ciocalteu reaktifi
FLU	Flukonazol
FRAP	Ferrik indirgeyici antioksidan güç
GAE	Gallik asit eşdeğeri
GC-MS	Gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi
GSH	İndirgenmiş glutatyon
GSH-Px	Glutatyon peroksidaz
GSR	Glutatyon redüktaz

GST	Glutatyon-S- transferaz
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
İTK	İnce tabaka kromatografisi
kg	Kilogram
kPA	kilopascal
L-DOPA	3,4-dihidroksi-L-fenilalanin
LOD	Tespit sınırı
LOQ	Tayin sınırı
L929	Sağlıklı fare fibroblast hücre hattı
mg	Miligram
MHA	Mueller hinton agar
mL	Mililitre
MİK	Minimum inhibisyon konsantrasyon
mm	Milimetre
mM	Milimolar
Ms	<i>Mycobacterium smegmatis</i>
MTT	3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-difenil tetrazolyum bromür
NAD+	Nikotinamid adenin dinükleotit
NBT	Nitro mavi tetrazolyum
nm	Nanometre
ORAC	Oksijen radikal absorbans kapasitesi
Pa	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PET	Petrol eteri
ROS	Reaktif oksijen türleri
Sa	<i>Staphylococcus aureus</i>
Sc	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
SDS	Sodyum dodesil sülfat
SGOT	Serum glutamat oksalat transaminaz
SGPT	Serum glutamat piruvat transaminaz
SOD	Süperoksit dismutaz
STR	Streptomisin
TB	Total bilirubin
TEAC	Troloks eşdeğeri

TPTZ	Tripiridiltriazin
UV	Ultraviyole
YEG	Maya ekstrelı sıvı besiyeri
Yp	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µM	Mikromolar
Simgeler	
&	Ve
α	Alfa
β	Beta
δ	Gama
Formüller	
CCl₄	Karbon tetraklorür
CHCl₃	Kloroform
CH₃OH	Metanol
CO₂	Karbondioksit
CuCl₂.2H₂O	Bakır (II) klorür dihidrat
FeCl₃	Demir (III) klorür
H₂O	Su
H₂O₂	Hidrojen peroksit
H₂SO₄	Sülfürik asit
HCl	Hidroklorik asit
Mo	Molibden
Na₂CO₃	Sodyum karbonat
NaH₂PO₄	Sodyum dihidrojen fosfat
Na₂HPO₄	Disodyum hidrojen fosfat
NaOH	Sodyum hidroksit
NH₄CH₃COO	Amonyum asetat

ÖZET

***Lactuca boissieri*, *Cicerbita petiolata* ve *Lactuca bourgaei* Türlerinin Bileşenleri ve Biyolojik Etkinlik Araştırmaları**

Doğal ürünler, farmakoloji ve tıpta önemli bir rol oynamaktadır. *Lactuca* Asteraceae familyasına ait önemli bir cinstir. Özellikle ılıman ve sıcak bölgelerde yayılış gösteren bu cins Avrupa, Asya, Kuzey Amerika, Avustralya ve Afrika'da yaygın olarak yetişmektedir. Cinse ait bitkiler, hem ekonomik, hem de tıbbi açıdan önemli türleri bünyesinde bulundurmaktadır.

Doktora tez kapsamında *Lactuca boissieri*, *Lactuca bourgaei* ve *Cicerbita petiolata* türlerinin toprak üstü kısımlarından farklı çözücülerle (hekzan, kloroform, etil asetat, metanol ve su) hazırlanan ekstraktlar üzerinde ilk kez biyolojik aktivite (antioksidan, antimikrobiyal, enzim inhibisyonu ve sitotoksik aktivite) ve fitokimyasal çalışmalar gerçekleştirildi. Türlerin antioksidan kapasiteleri, Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini, FRAP Ölçümü, CUPRAC Tayini ve DPPH Radikali Giderme Aktivitesi Tayini ile belirlendi. Biyolojik aktivite çalışmalarının sonucunda, türlerin orta düzeyde antioksidan ve antimikrobiyal kapasiteye sahip olduğu gözlemlendi. Ekstrelerin enzim inhibisyonu çalışmaları asetilkolinesteraz, tirozinaz ve α -glukozidaz enzimleri kullanılarak gerçekleştirildi. Ekstrelerin sadece tirozinaz enzimine karşı iyi inhibisyon gerçekleştirdiği görüldü. Metanol ekstrelerinin MTT testi kullanılarak sağlıklı fare fibroblast hücreleri üzerinde yapılan sitotoksikite çalışması sonucunda ekstrelerin herhangi bir toksik etki göstermediği görüldü. Biyolojik aktivite çalışmaları sonucunda *L. bourgaei* türünün diğerlerine göre daha iyi aktivite sergilediği görüldü.

Türlerin HPLC-DAD ile fenolik içeriğine bakıldığında her üç türde 8 tane fenolik asit (protokatekuik asit, p-OH benzoik asit, klorojenik asit, vanilik asit, kafeik asit ve klorik asit) ve 4 tane flavonoid (luteolin-7-glukozit, apigenin-7-glukozit, luteolin, apigenin) bileşiği ortak olarak bulundu. Ayrıca bitkilerin uçucu yağlarının GC-MS ile kimyasal içeriğine bakıldığında ise her üç bitkide dekanal, (E,E)-2,4-nonadienal, (2E)-dekanal, (E,E)-2,4-dekadienal, tridekanal, tetradekanal, fiton ve heksadekanoik asit ortak olarak bulundu.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal, Antioksidan, Bitki Kimyası, Enzim İnhibisyonu

ABSTRACT

***Components of Lactuca boissieri, Cicerbita petiolata, Lactuca bourgaei* Species and Biological Activity Studies**

Natural products play an important role in pharmacology and medicine. *Lactuca* is an important genus of the Asteraceae family. This genus, which is particularly widespread in temperate and warm regions, is commonly found in Europe, Asia, North America, Australia, and Africa. The plants belonging to this genus include species that are significant both economically and medicinally.

As part of a doctoral thesis, biological activity (antioxidant, antimicrobial, enzyme inhibition, and cytotoxic activity) and phytochemical studies were conducted for the first time on extracts prepared from the aerial parts of *Lactuca boissieri*, *Lactuca bourgaei* and *Cicerbita petiolata* species, using different solvents (hexane, chloroform, ethyl acetate, methanol and water). The antioxidant capacities of the species were determined using Total Phenolic Content Assay, FRAP Measurement, CUPRAC Assay, and DPPH Radical Scavenging Activity Assay. As a result of the biological activity studies, it was observed that the species possess moderate antioxidant and antimicrobial capacities. The enzyme inhibition studies of the extracts were conducted using acetylcholinesterase, tyrosinase, and α -glucosidase enzymes. It was found that the extracts exhibited good inhibition only against the tyrosinase enzyme. As a result of the cytotoxicity study conducted on healthy mouse fibroblast cells using the MTT assay, it was found that the methanol extracts did not exhibit any toxic effects. As a result of the biological activity studies, it was observed that *L. bourgaei* exhibited better activity compared to the others.

When analyzing the phenolic content of the species using HPLC-DAD, a total of 8 phenolic acids (protocatechuic acid, p-OH benzoic acid, chlorogenic acid, vanillic acid, caffeic acid, and chicoric acid) and 4 flavonoids (luteolin-7-glucoside, apigenin-7-glucoside, luteolin, apigenin) were found to be common in all three species. Additionally, the chemical composition of the essential oils of the plants analyzed by GC-MS revealed that all three plants contained common compounds, including decanal, (*E,E*)-2,4-nonadienal, (*2E*)-decanal, (*E,E*)-2,4-decadienal, tridecanal, tetradecanal, phytol and hexadecanoic acid.

Key Words: Antimicrobial, Antioxidant, Enzyme Inhibition, Phytochemistry

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Çağlar boyunca insanlar yiyecek, barınak, giyim, ulaşım ve en önemlisi ilaçlar gibi temel ihtiyaçlarını karşılamak için doğadan faydalanmışlardır. Özellikle bitkiler iyileştirici özelliklerinden dolayı binlerce yıldır var olan ve insanlığa yeni çareler sunmaya devam eden geleneksel tıp sistemlerinin temelini oluşturmuştur (1, 2). Günümüzde gelişmekte olan ülkelerde geleneksel tıp, temel sağlık ihtiyaçlarını karşılamak için hayati bir rol oynamaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre nüfusun %80'i sağlık hizmetleri için çoğunlukla geleneksel tıba güvenmektedir. Bu durum genel olarak bitkisel ilaçların yan etkiler içermemesi, uygun fiyatlı ve yerel olarak kolay bulunabilir olmalarından kaynaklanmaktadır (3). Bitkiler farmakolojik araştırmaların ve ilaç geliştirmenin önemli hammadde kaynakları olmakla beraber aynı zamanda sanayileşmiş ülkelerde de giderek artan bir şekilde destekleyici veya alternatif tıp olarak kullanılmaktadır. Bugün dünya nüfusunun neredeyse %90'ı taze veya işlenmiş tıbbi ve aromatik bitkileri kullanmakta olup kullanılan ilaçların %25'i bitki temelli kaynaklardan elde edilmektedir (4-7).

Bitkilerin tıbbi kullanımı antik çağlara kadar uzanmakta olup tüm kültürlerde taze ya da kurutulmuş bitkilerin meyve, yaprak, gövde, kök ve kabuk gibi farklı kısımlarından hazırlanan droglar (ekstre, merhem, çay) çeşitli hastalıkları tedavi etmek amacıyla kullanılmıştır. Bitkilerin tıbbi kullanımına dair en eski belgelenmiş kayıtlar Mezopotamya'da (M.Ö. 2600) çivi yazısıyla kil tabletler üzerine yazılmıştır. Bu tabletlerde binlerce farklı bitki ile ilgili bilgiler bulunmaktadır. Bunlar arasında yara tedavisinde kullanılan ve sonradan antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu bulunan *Commiphora myrrha* bitkisinden elde edilen reçine, *Cupressus sempervirens* (servi) türlerinin yağları, *Glycyrrhiza glabra* (meyan) bitkisinin kökü ve *Papaver somniferum* (haşhaş) suyu yer almaktadır. Bu bitkiler günümüzde hala öksürük, iltihap ve soğuk algınlığı gibi çeşitli rahatsızlıkların tedavisi için kullanılmaktadır (8, 9, 1). M.Ö 1550'de antik Mısır'ın Ebers Papirüsü'nde içinde kenevir ve sarımsak gibi bitkilerin yer aldığı 800 tıbbi bitki kaydedilmiştir (10). Diğer eski kayıtlar arasında Hint geleneksel tıbbi olan Ayurveda (M.Ö. 1900) bulunur ve bu kayıtlarda yüzlerce farmakolojik etkili bitki ve baharat belgelenmiştir (11). Bir diğer eski kayıt ise yıllardır iyi bir şekilde korunmuş ve belgelenmiş olan antik Geleneksel Çin Tıbbı'dır. Çin toplulukları antibakteriyal etkisi olduğuna inandıkları küflü soya peynirini, cilt enfeksiyonları tedavisi için kullanmışlardır.

Bu kayıtların yanında dünya genelindeki çeşitli kültürler de (Roma, Yunan) ağrı kesici veya çeşitli enfeksiyon hastalıkları için kullandıkları farklı bitkileri belgelemişlerdir (8).

Bugün bitkiler, geleneksel tıp sistemlerinden modern tıpa, besin takviyelerinden halk ilaçlarına, farmasötik ara ürünlerden sentetik ilaçların kimyasal bileşenlerine kadar birçok alanda biyokaynak olarak kullanımları nedeniyle büyük bir öneme sahiptir (12). Dünya genelinde doğal ve yarı sentetik kaynaklardan birçok yeni antibiyotik elde edilmektedir. Bu antibiyotikler, enfeksiyon hastalıklarının tedavisi için etkilidir. Ancak antibiyotiklerle ilişkilendirilen birçok yan etkiye de sebep olmaktadır (13, 14). Son yıllarda modern tıbbın kronik hastalıklara karşı kalıcı bir çözüm sunamaması, hastalıkları tedavi etmek için kullanılan ilaçlara direnç gösteren bakteri ve parazitlerin varlığı ve bazı antibiyotiklerin etkili olmalarına rağmen kullanımları sırasında hipersensitivite, bağışıklık baskılanması ve alerjik reaksiyonlar gibi olumsuz yan etkilerle sahip olması nedeniyle geleneksel tıpta kullanılan bitki ekstrelerine ve bitkilerin biyolojik olarak aktif bileşenlerine büyük ilgi gösterilmektedir (15, 16). Bitkisel ilaçların kolay erişilebilirlik, düşük maliyet ve daha az yan etkiye sahip olma gibi birçok avantajı olduğu bilinmektedir (17). Günümüzde kozmetik ve ilaçlar da dahil olmak üzere biyolojik olarak aktif maddeler içeren birçok farklı tıbbi çay ve bitki ürünü yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (18). Dünya üzerinde 391.000 damarlı bitki türü bulunmaktadır. Ancak bunların içinde yalnızca %6'sının biyolojik aktivitesi incelenmiş ve sadece %15'i fitokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Bu durum çeşitli bitkilerde henüz keşfedilmemiş birçok tedavi edici bileşiğin olabileceğini göstermektedir (19, 20).

Bitkiler biyoaktif doğal bileşiklerin en zengin kaynaklarından biridir. Tohumlarında, kabuklarında, köklerinde, yapraklarında veya meyvelerinde farklı yapılarda birçok kimyasal bileşik üretebilme yeteneğine sahiptir (21). Bu kimyasallar, birincil ve ikincil (sekonder) metabolitler olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Birincil metabolitler hücre sel hayatta kalma ve çoğalma ile ilgiliyken ikincil metabolitler patojenlere ve zararlılara karşı bitkiyi savunmada kritik bir rol oynarlar. Sekonder metabolitler bitkilerde doğal olarak bulunan biyolojik olarak aktif, düşük molekül ağırlığında, farklı yapısal çeşitliliğe sahip kimyasal bileşiklerdir. Bitkilerin kök, gövde, yaprak, çiçek, meyve ve tohum gibi birçok organında birikebilirler. Bitkiler 300.000'den fazla ikincil metabolit sentezler ve bunların sentezini engellemek, bitkilerin biyotik streslere karşı dirençlerini ciddi şekilde azaltmaktadır. Bu metabolitler meyveler, sebzeler, baklagiller, kuruyemişler,

tahıllar ve baharatlar gibi birçok besinin içinde bulunur ve bitkinin rengine, aromasına ve lezzetine katkı sağlarlar. Ayrıca bitkileri kirlilik, stres, kuraklık, UV radyasyon ve patojen gibi çevresel tehlikelerden korurlar. Bazı sekonder metabolitler allelopatik aktiviteler gerçekleştirirken bazıları uçucu özellikleriyle çiçekleri tozlaştırmak ve böcekleri çekmek için sinyal bileşikler olarak görev alırlar. Sekonder metabolitler kimyasal yapılarına göre fenolik bileşikler (flavonoidler, fenolik asitler), terpenoidler ve alkaloidler gibi çeşitli alt gruplara ayrılır. Bitki ekstreleri sahip oldukları bu biyoaktif bileşikler sayesinde çeşitli farmakolojik aktiviteler gösterirler (14, 22-24). Bitkilerin kendilerini korumak için bu kimyasalları ürettikleri iyi bilinmekle birlikte, yapılan araştırmalar antioksidan aktivite, antimikrobiyal etki, detoksifikasyon enzimlerinin modülasyonu, bağışıklık sisteminin uyarılması, trombosit agregasyonunun azaltılması, hormon metabolizmasının modülasyonu ve antikanser gibi biyolojik özelliklerinden dolayı bu bileşiklerin insanları hastalıklara karşı da koruyabileceğini göstermiştir. Bu bitkisel bileşikler kalp hastalıkları, kanser, diyabet, yüksek tansiyon ve yaşa bağlı göz hastalıkları gibi çeşitli hastalıkların tedavisi için önerilmektedir (24).

Dünya üzerindeki tüm aerobik organizmalar için oksijen gereklidir ancak bazı durumlarda oksijen zararlı etkilere neden olabilmektedir. Oksijenin zararlı etkilerinin temel nedeni, serbest oksijen radikallerinin üretimidir. Normal metabolizma sırasında üretilen bu radikaller kararsız ve çok reaktif bileşiklerdir. Biyolojik sistemlerde radikallerin aşırı üretimi ve birikimi oksidatif strese neden olur ve bu durum DNA, lipitler veya proteinler gibi biyomoleküller üzerinde hasara yol açar. Oksidatif stres, aerobik yaşamın kaçınılmaz bir sonucudur ve çeşitli hastalıklara (kardiyovasküler hastalıklar, şeker hastalığı, kanser) yol açar. Serbest radikallerle ilişkili en yaygın hastalıklar arasında, arterioskleroz, artrit, diyabet, kanser, nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklar bulunmaktadır (14, 25-27). Antioksidanlar, serbest radikallerle reaksiyona girebilen ve hücre yapıları zarar görmeden önce zincir reaksiyonunu sonlandırabilen bileşiklerdir (28). İnsan vücudu, serbest radikallere karşı yapısal molekülleri korumak için hem enzimatik hem de enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemlerine sahiptir (29). Bu savunma sistemleri normal fizyolojik koşullar altında serbest radikallerin zararlı etkilerini kontrol ederek sistemi denge durumunda tutma yeteneğine sahiptir. Ancak bazı durumlarda serbest radikallerin çevresel kirlleticiler, radyasyon, kimyasallar nedeniyle aşırı üretimi sonucunda doğuştan gelen savunma sistemleri yetersiz kalabilir. Bu nedenle insan vücudundaki serbest radikal miktarını dengelemek ve yeterli antioksidan seviyesini sürdürebilmek için belirli

miktarlarda dış kaynaklı sentetik veya doğal antioksidanlara sürekli ihtiyaç vardır. Birçok sentetik antioksidan çok etkilidir ancak sentetik antioksidanların yan etkileri nedeniyle doğal antioksidanlar daha çok tercih edilmektedir. Böyle durumlarda gıda antioksidanları, oksidatif stresin etkilerini azaltabilecek takviyelerdir (30, 31). Bitkiler, doğal antioksidanların iyi bir kaynağıdır. Fenolikler ve flavonoidler gibi sekonder bitki metabolitleri çeşitli meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunur. Bu bileşenler vücudun antioksidan potansiyelini artırarak serbest oksijen radikallerinin zararlı etkilerine karşı etkili bir savunma sağlar. Ayrıca epidemiyolojik araştırmalar, antioksidan açısından zengin diyetlerin hastalıkların önlenmesinde faydaları olduğunu göstermiştir (32-34).

Türkiye, geniş floristik çeşitliliği ile tıbbi ve aromatik bitkiler açısından oldukça zengindir. Türkiye florasında 3035'i endemik olan yaklaşık 11707 bitki taksonu bulunmaktadır. Ayrıca Avrupa'nın en zengin florasına sahiptir. Anadolu'da bitkiler tarih boyunca gıda kaynağı, ilaç, hayvan yemi, çita ve bazı araç-gereçlerin kaynağı olarak yaygın bir şekilde kullanılmıştır. Toplumun modernleşmesiyle bitkilerin geleneksel kullanımı azalmasına rağmen bazı kırsal bölgelerde insanlar hala sağlık bakımı için geleneksel tıbbi kullanmaktadır (35-38).

Asteraceae ailesi, dünya genelinde Antarktika dışındaki tüm bölgelerde yetişen çiçekli bitkilerin en zengin bitki ailesidir. Bu aile, marul ve karahindiba gibi iyi bilinen tıbbi bitkileri içermesinin yanında papatya, ayçiçekleri ve hindiba gibi süs bitkilerini de içerir. Asteraceae ailesine air türler uzun yıllardır ilaç olarak kullanılmakta ve insan diyetinin bir parçası olmaktadır. Örneğin, *Carduus* türleri geleneksel tıpta hemoroid ve kardiyotonik tedaviler için, *Onopordum tauricum* türü karaciğer hastalığı tedavisinde, *Onopordum acanthium*'un çiçekleri ve kökleri ateş düşürücü ve idrar söktürücü olarak, *Centaurea solstitialis* bitkisi ise Türk halk tıbbında mide problemleri, karın ağrısı ve soğuk algınlığını tedavi etmek için kullanılmıştır. Ayrıca halk tıbbında ateş böceği olarak da bilinen *Tanacetum parthenium* bitkisinin baş ağrısı, migren, bulantı, kusma, mide ağrısı, romatizma ve diğer iltihapları tedavi etmek için kullanıldığı bilinmektedir. Asteraceae ailesine ait farklı türler, uçucu yağlar, lignanlar, tanenler, flavonoidler, alkaloidler, fenolik asitler ve saponinler de dahil olmak üzere çok miktarda ikincil metabolite sahiptir. Bu metabolitler sayesinde antioksidan, anti-enflamatuar, antimikrobiyal aktivite, diüretik ve yara iyileştirici gibi çeşitli farmakolojik özellikler gösteriler. Bu sayede kalp hastalıkları, hipertansiyon ve diyabet gibi çeşitli hastalıkların tedavisi için kullanılırlar (39, 40).

Günümüz dünyası çeşitli hastalıklarla karşı karşıyadır. Bu hastalıkların tedavisi için bitkilere olan ilginin artmaya başladığı bu dönemde, tez kapsamında biri endemik üç bitki türünün (*Lactuca boissieri*, *Lactuca bourgaei*, *Cicerpita petiolata*) biyolojik aktiviteleri ve fitokimyasal içeriklerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bitkilerin toprak üstü kısımlarından farklı çözücülerde hazırlanan ekstraktlarının (hekzan, kloroform, etil asetat, metanol ve su) toplam polifenol içeriği, enzim inhibisyonu (tirozinaz, asetilkolinesteraz ve α -glukozidaz) antioksidan, antimikrobiyal ve sitotoksitite aktivitesi belirlenerek her üç bitkinin kendi aralarında karşılaştırılmaları yapılmıştır. Ayrıca kromatografik yöntemlerle uçucu yağ ve fenolik içerikleri de belirlenmiştir. Literatürde yapılan taramalar sonucunda bu üç bitki türü ile ilgili herhangi bir biyolojik aktivite ve fitokimyasal çalışmaya rastlanmamıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Asteraceae (Compositae) Familyası

Asteraceae ailesi çiçekli bitkilerin en büyük ailesi olarak kabul edilir ve sinonim olarak “Compositae” adıyla da bilinmektedir. Dünya’da yaklaşık 1600-1700 cins ve 24.000’e yakın tür ile çiçekli bitkilerin en çok tür bulunduran ailesidir (41, 42). Türkiye'nin bitki çeşitliliği açısından en büyük familyalarından biri olan Asteraceae, Türkiye Florası'nda yaklaşık 1300 farklı türle, en fazla türe sahip olan familya olarak öne çıkmaktadır. Bu türlerin 447’si sadece Türkiye’ye özgüdür ve endemizm oranı %37’yi bulmaktadır. Ayrıca, Türkiye Florası içinde bu familyaya ait tam 134 farklı cins bulunmaktadır (35, 43-45).

Asteraceae ailesi, Antarktika dışında dünya genelinde, Akdeniz iklimine sahip olan bölgeler, çöller ve çevrelerindeki alanlar, orman habitatları, açık çayırlar ve bozkırlar gibi çeşitli ekolojik yaşam alanlarında geniş bir şekilde dağılmıştır (41, 42). Ailenin üyeleri, Güneybatı Amerika ve Meksika, Güney Brezilya, And Dağları boyunca, Akdeniz Bölgesi, Güneybatı Asya, Orta Asya, Güney Afrika ve Avustralya gibi bölgelerde yaygın olarak bulunur. Türkiye’de ise Doğu Anadolu, Güney ve İç Anadolu’da yayılış göstermektedir (46-48). Bu ailenin bazı üyeleri yaygın olarak bulunurken birçoğu agresif yabancı otlar olarak kabul edilir. Çoğu tür, belirli bir bölge veya habitatla sınırlıdır. Ayrıca habitat tahribatı ve küresel ısınma gibi faktörler sebebiyle birçok türün nesli tükenme tehlikesi ile karşı karşıyadır (41).

Asteraceae familyası geleneksel olarak Barnadesioideae, Cichorioideae, Asteroideae olmak üzere 3 alt familyaya ait toplam 21 tribus (oymak) ile sınıflandırılmaktadır. Asteraceae çok fazla tür çeşitliliği ile büyük bitki ailelerinden kabul edilir. Bununla birlikte bu çok fazla tür çeşitliliği insanlar için kullanışlı türlerin sayısı ile orantılı değildir. Compositae, en büyük bitki ailelerinden biri olmasına rağmen, ekonomik olarak önemli bitki türlerinin çoğu Anthemideae, Cardueae, Heliantheae ve Lactuceae gibi oymaklarda yoğunlaşmıştır. Bu aile tarafından sağlanan başlıca ürünler sap ve yaprak ürünleri, kök ve yumru ürünleri ve tohum yağlarıdır. Yine de Compositae ailesi lif, ahşap ve ahşap ürünler dışında neredeyse tüm diğer tarım bitkisi kategorilerinde temsil edilmektedir. Yerel düzeyde yüzlerce Asteraceae türü bitkisel ilaçlar, boyalar, süs bitkileri ve aroma verici maddeler olarak kullanılmaktadır (41, 49).

Asteraceae bitkilerinin morfolojisi çeşitlidir. Bazı türler 30 metreyi aşan ağaçlar olarak büyüyebilirler. Bununla birlikte diğerleri çok yıllık veya bir yıllık otsu bitkilerdir ve boyutları bir ila üç metre arasında değişebilir. Yaprakların biçimi değişkenlik gösterir. Çoğu türün yaprakları büyük olsa da küçük ve dikenli olan yapraklar da vardır. Genellikle yapraklar sıralı veya karşılıklı, basit veya farklı şekillerde bölünmüş bileşik yapılıdır. Bazılarında ise yapraklar yoktur ve yeşil sapları vardır. Çoğu yaprak, tüyler ve farklı uzunluk ve renkteki kıllar ile kaplıdır (42, 50). Asteraceae familyasında, tubular, iki dudaklı (biabiat) ve liguat (dils-ipliksi) olmak üzere üç çiçek bulunur ve bu çiçek tipleri bu ailenin sistematğinde önemli rol oynarlar. Çiçek durumu ise çok çiçekli ya da tek çiçekli olabilir. Çiçekler, genç çiçeklerin orta kısımda, yaşlı olanların dışarıda olduğu sarmal şekilde yerleşebildiği gibi kozalak şeklinde de yerleşebilir. Çiçek başı (kapitulum) bir veya birden fazla sıralı braktelerden oluşan involukrum adı verilen bir yapı tarafından çevrelenmiştir. Involukrum, bir seri brakte tarafından oluşturuluyorsa bu yapı bir sıralıdır. Eğer dış serinin içinde başka bir seri brakte bulunuyorsa involukrum iki sıralıdır. Üç veya daha fazla seri brakteden oluşuyorsa involukrum çok sıralıdır. Çok sıralı involukrumlarda, brakteler boyut olarak artar ve üst üste bindirilmiş bir düzen gösterir. Kapitulumda bulunan brakteler iki çeşittir. Birincisi kapitulumun etrafını saran fillari adı verilen dış brakteler, büyüklükleri farklı, sıralı, saydam şeklinedirler. İkinci brakte çeşidi ise çiçekteki braktelerdir. Bu yapılar zarımsı olabilirler. Kapitulumdaki tüm çiçekler aynı eşeyli olabilir ve bu çiçeklerin görevleri ve yapıları aynıdır. Bu tip kapitulum şekline homogam adı verilir. Ovaryum tek bölmeli ve alt durumudur. Stilus iki parçalı ve çeşitlidir. Stigma iç taraftadır. Meyve, üzerinde pappus olan bir akendir ve büyüktür. Akenin üst tarafı çıplak, dikensi veya tüylü olabilir (49, 51).

Asteraceae ailesinin büyük morfolojik ve coğrafi çeşitliliği, terpenoidler, seskiterpen laktonlar, poliasetilenler, flavonoidler, fenolik asitler, benzofuranlar, kumarinler ve pirrolizidin alkaloidleri dahil olmak üzere geniş bir sekonder metabolit sentezleme yeteneğinden kaynaklanmaktadır. Asteraceae ailesinin çok sayıda türü, farklı kimyasal bileşiklere sahip olduğu için, ailenin ikincil kimyası araştırmacılar için her zaman ilgi çeken bir alan olmuştur. Birçok araştırmacı bitki evrimi çalışmalarında bu alana önemli katkılarda bulunmuştur (41). Örneğin, Mabry ve Bohlmann (1977) yaptıkları çalışmada, ailenin her üyesinde flavonoidler bulunduğunu büyük bir çoğunluğun ise uçucu yağlar ve triterpenler içerdiğini açıklamışlardır. Ayrıca aileyi karakterize eden iki benzersiz yapı sınıfının “seskiterpen laktonlar ve asetilenler” olduğunu Pirrolizidin alkaloidleri dışında,

istisnai olarak rapor edilen büyük alkaloid sınıfları olmadığını belirtmişlerdir. Bu bileşiklerin dağılımı ve birikimi, Asteraceae ailesi ile ilgili çalışmalarının erken dönemlerinde tanınmış ve bugün hala kimyasal çalışmalarla desteklenmektedir (52). Bir diğer çalışmada ise Zdero ve Bohlmann 1990 yılında, ailede bulunan kimyasal çeşitliliği anlamamızı sağlayan bir makale yayınlayarak 5000'den fazla türden tespit edilen 7000'den fazla bileşeni özetlemişlerdir. Yazarlar, laktonlaştırılmış seskiterpenlerin ve poliasetilenlerin birikme eğilimine ve çok yüksek oksitlenmiş bileşiklerin bulunmasına dikkat çekerek bu bileşiklerin Asteraceae ailesi üyeleri için imza kimyasallar olduğunu belirtmişlerdir (53).

Flavonoidler Asteraceae familyasında diğer kimyasal sınıflara göre neredeyse iki kat daha fazla yaygın olarak bulunur. Bohm ve Stuessy 2001 yılında yaptıkları çalışmalarda Asteraceae ailesinde bulunan flavonoidlerin tiplerini özetlemişlerdir. Bu sonuçlara göre bu ailede en çok bulunan flavonoidlerin antosiyaninler, flavanonlar, flavonlar ve flavonoller olduğu görülmüştür.

Terpenoidler, Asteraceae ailesi içinde ikinci en yaygın metabolitlerdir. Seskiterpenler (laktonlar dahil) ve monoterpenler, aile içinde eşit derecede yaygındır. Diterpenler, nispeten daha az yaygın bir şekilde bulunur. Triterpenler, en az bulunan kimyasal sınıflardan biridir. Miktarlarının azlığı, biyolojik önemleri ile uyumludur. Çünkü triterpenler, steroid hormonlarıyla aynı biyosentez grubuna aittir ve fizyolojik etkilerini çok düşük dozlarda sergilerler. Saponinler, triterpenlerin glikozitli formlarıdır ve patojenlere karşı savunma bileşikleri olarak görev yapmanın yanı sıra, hücre membranlarının yapısı ve işlevi açısından da önemli roller oynarlar.

Poliasetilenlerin familyadaki dağılımları flavonoidler kadar yaygın olmasa da belirli taksonlarda (Cardueae, Senecioneae, Astereae ve Anthemideae) büyük miktarlarda birikme eğilimindedirler. Poliasetilenler, Asteraceae ailesinde önemli savunma bileşikleri olarak rol oynarlar ve bitkiler bu bileşikleri böcekleri öldürmek için kullanırlar.

Kumarinler Asteraceae ailesinde yaygın olarak bulunsalar da tüm oymaklarda yaygın şekilde bulunmazlar. Ailenin içinde çeşitli biyolojik aktiviteler sergileyen kumarin grubu furanokumarinler olarak bilinir. Poliasetilenler gibi furanokumarinler de patojenlerin ve böceklerin ölmesine veya büyümesini engelleyen güçlü fototoksik özelliklere sahiptir (41).

2.2. *Lactuca* Cinsinin Genel Özellikleri

Halk arasında marul olarak bilinen “*Lactuca*” cins ismi bitkinin süt benzeri beyaz özsuğunu tanımlayan Yunanca “lac” veya Latince “lactuc” kelimelerinden türetilmiştir. *Lactuca* cinsi, Asteraceae ailesi Cichorioideae alt familyası, Lactuceae (Cichorieae) oymağı ve Lactucinae altoymağında sınıflandırılmıştır. Lactuceae oymağı çiçeklerinin dilsil olması ve bol miktarda süt benzeri bir sıvı olan lateks içermesi ile karakterize edilir. Bu oymak 98 cinse ve 1550’den fazla türe ev sahipliği yapar. *Lactuca* cinsine ait türlerin halk arasında kullanılan ortak adı “marul” (lettuce) olarak bilinir. Marul ilk kez tohumlarından yağ üretmek amacıyla antik Mısır’da yetiştirilmiştir. Cinse ait türler, genellikle Kuzey Yarımküre’nin sıcak ve ılıman bölgelerinde (Avrupa, Asya, Endonezya, Kuzey ve Orta Amerika, Afrika) dağılım gösterir. Orta Afrika yağmur ormanlarında bulunan bazı endemik türler hariç bu cinse ait türlerin çoğunluğu kurak iklim koşullarına iyi adapte olmuşlardır.

Ekolojik olarak çeşitli *Lactuca* türleri vardır ve bu türler farklı yaşam alanlarında bulunurlar. Bazı yaygın Avrupa türleri (*L. serriola*, *L. virosa*, *L. saligna*) yol kenarlarında yaygın olarak bulunur. Ancak bazı türler (*L. aurea*, *L. quercina*, *L. biennis*, *L. sibirica*) ormanlık alanlarda yaygındır. Bazı tipik Akdeniz bitkileri (*L. intricata*, *L. tenerrima*, *L. viminea*) genellikle kayalık yamaçlarda yetişirler (54-56).

2.2.1. *Lactuca* Cinsinin Morfolojik Özellikleri

Lactuca cinsine ait bitkiler yıllık, iki yıllık veya çok yıllık olabilirler. Gövdeleri dik, tüylü veya tüysüz, aşağı kısımlarda dikenli ve genellikle içlerinde bol miktarda lateks bulunur. Yapraklar alternat, linear, derin runsinat-pinnatisekt; tüysüz, kıvrık-pubescent veya setulozdur. Yaprak renkleri donuk mavimsi yeşil, tabanda yaprak sapına benzeyen bir sap mevcutken üst kısımları sapsızdır. Kapitulum (çiçek başı) homogam, çiçek sayısı 5-25 arasında ve çiçekler dilsidir. Çiçekler sarı, leylak rengine veya beyazımsıdır. Akenler homomorfik; yassı, gagalı, çok küçük yükselen sert tüylü ya da yükselen pulcuklu, ince gagalı, soluk, düzdür. Sayısız papus, az çok ince, eşit, tüyler pürüzlü, hemen hemen düz, beyaz ya da saman renkli, nadiren dışta çok kısa tüylerin oluşturduğu halka mevcuttur. Özellikle *Lactuca* cinsinin tanımlanmasıyla ilgili olarak, üç belirgin özellik vurgulanmıştır. Bunlar; Bitkinin papus yapılarının dışındaki minik tüylerin varlığı veya yokluğu, akenlerin uçlarında gaganın bulunup bulunmadığı ve kapitulum üzerinde ortalama kaç çiçek olduğudur (54-56).

2.2.2. *Lactuca* Türlerinin Temel Kimyasal İçeriği

Lactuca cinsi ile yapılan fitokimyasal çalışmalar sonucunda bu türlerin, seskiterpen laktonlar, triterpenoidler, fenolik bileşikler, saponinler, kumarinler, lignanlar, fitosteroller ve diğer metabolitler de dahil olmak üzere bir dizi sekonder bitki metabolitini içerdiği belirtilmiştir. Bitkilerde bulunan bu fitokimyasalların çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde etkili olduğu belirtilmiştir. Özellikle seskiterpen laktonlar, yapıları, özellikleri ve fonksiyonları açısından olağanüstü çeşitlilik göstermektedir. *Lactuca* türlerinin en belirgin özelliklerinden biri, bir dizi guaianolid, germakranolid ve eudesmanolid içeren acı seskiterpen laktonları sentezleme yetenekleridir. *Lactuca* türlerini temsil eden seskiterpen laktonlara örnek olarak laktusin, laktukopikrin (guaianolidler), melampolid, germakranolid laktusit A (germakranolidler) bileşikler verilebilir. Seskiterpen laktonlar bitkilerin vasküler dokularıyla yakından ilişkili olan laktiferlerde birikirler. Hasar görmüş laktiferlerden salınan seskiterpen laktonların analjezik, antitusif ve sedatif özellikleri bulunduğu görülmüştür. Laktusin, 8-deoksilaktusin ve laktukopikrin gibi bileşikler aynı zamanda şiddetli bir acılığa sahiptir. *Lactuca sativa* kökenli bir guaianolid seskiterpen lakton olan “lettusenin A”, en toksik fitoaleksinlerden biri olup yüksek derecede antimikrobiyal etkiye sahiptir.

Farklı *Lactuca* türlerinde, hem hidroksibenzoik asit hem de hidroksisinamik asit iskeletine sahip birçok fenolik asit bulunmaktadır. Çoğu *Lactuca* türünde birçok flavonoid bulunmaktadır. Özellikle kuersetin, izokuersetin, luteolin ve apigenin gibi bileşikler yüksek miktarda bulunur. Kaempferol, kuersetin ve bunların glikozillenmiş türevleri cinse ait birçok bitkinin toprak üstü kısımlarında bulunmaktadır.

Yapılan fitokimyasal incelemeler bu bitkilerin çoğunlukla α -amirin, β -amirin, germanikol, lupeol ve taraksasterol gibi geniş çeşitliliğe sahip triterpenoidlerin zengin kaynakları olduğunu göstermiştir. Ayrıca bitki steroidleri bitki aleminde büyüme ve gelişmenin birçok yönünü düzenleyen önemli hormonlardır. *Lactuca* cinsi türler kampesterol, β -sitosterol ve stigmasterol gibi yaygın steroidler içermektedir (54-56).

2.2.3. *Lactuca* Türlerinin Geleneksel Kullanımları

Lactuca cinsine ait bitkilerin sapları kesildiğinde ortaya lateks adı verilen süt benzeri bir sıvı çıkmaktadır. Bu süt benzeri lateks sıvısının kimyasal içeriğini genellikle seskiterpen laktonlar oluşturmaktadır. Bitkilerden lateks sıvısı toplanıp kurutulduğunda, katı bir madde olan laktukaryum elde edilir. Laktukaryum maddesi uykusuzluk, anksiyete, çocuklardaki hiperaktivite, kuru öksürük, romatizmal ağrı, idrar söktürücü gibi çeşitli rahatsızlıkları tedavi etmek için kullanılmaktadır. Laktukaryum maddesinin konsantrasyonu bitki çiçeklendiğinde en yüksek seviyededir ve ticari olarak bitkilerin saplarının kesilmesi ve özünün günde birkaç kez sızdırılması yoluyla toplanır. Bu özsuynun haşhaş bitkisine benzer tedavi edici etkilere sahip olduğu ayrıca sindirim sorunlarına yol açmadığı ve bağımlılık yapmadığı belirtilmiştir (57). *Lactuca virosa* bitkisinden elde edilen laktukaryum drogların, boğmaca nöbetlerini tedavi etmek, astım ve idrar yolu hastalıkları için kullanıldığı belirtilmiştir. Toz halinde veya alkolik ekstresi şeklinde hazırlanan drogun zehirli içeriği nedeniyle tıbbi gözetim altında uygulanması önerilmektedir. Ayrıca bitkinin kendisinin de ağır öksürük ve karaciğer şişliği için kullanıldığı belirtilmiştir (58).

Geleneksel tıpta *Lactuca* cinsi bitkileri çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır. Örneğin *Lactuca sativa* bitkisinin sakinleştirici, anestezik, kan temizleyici, nöbet önleyici, idrar söktürücü ve süt üretimini artırıcı olarak kullanıldığı bildirilmiştir (54). Bitkinin tohumları İran'ın geleneksel tıbbında, iltihap ve kemik ağrısını rahatlatmak için kullanılmaktadır (59). Ayrıca Fas ülkesinin kuzey bölümünde yapılan etnobotanik araştırmalar sonucunda *L. sativa* bitkisinin yerel halk tarafından diyabet hastalığına ve kalp rahatsızlıklarına karşı tedavi amacıyla kullanıldığı belirtilmiştir (60).

Lactuca indica L. Kore genelinde yaygın olarak bulunan yerli bir ottur. Bu yerel bitki yenilebilir bir yabancı sebze olarak tüketilir ve antienflamatuar, antibakteriyel aktiviteleri ile bağırsak bozuklukları tedavisi için geleneksel olarak kullanılmaktadır (61). Vietnam'daki Bach Ma Milli Parkı'nda gerçekleştirilen araştırmada, *L. indica* bitkisinin göz problemleri ve göğüs bölgesindeki ağrılara karşı kaynatılarak kullanıldığı belirtilmiştir (62). *L. indica*, sahip olduğu antienflamatuar ve antibakteriyel özellikleri nedeniyle Asya'nın halk tıbbında da öne çıkmaktadır. Bağırsak bozukluklarına karşı kullanılmak üzere, bitkinin tüm kısımlarının kaynar su çözeltisi hem oral yolla tüketilmiş hem de doğrudan cilde uygulanarak kullanılmıştır (63).

Lactuca orientalis Boiss. bitkisi Ürdün ve komşu ülkelerdeki yerel topluluklar tarafından “Khees” veya “Rabhalah” adıyla bilinir ve hem normal zamanlarda hem de gıda sıkıntısı yaşandığında çiğ olarak tüketilmektedir (64).

Lactuca serriola L. geleneksel tıpta sinirlilik, uykusuzluk, baş ağrısı, ateş, hipertansiyon, çarpıntı, akut soğuk algınlığı, astım, kronik bronşit ve akrep sokmaları gibi birçok rahatsızlığın tedavisi için kullanılmaktadır (54). Türkiye'nin güneyinde yer alan Nizip (Gaziantep) bölgesinde bitkinin yerel ismi “Şiroke” olarak bilinir ve bitkiden hazırlanan dekoksion karaciğer, böbrek ve sindirim rahatsızlıkları için kullanılırken, Uşak ve çevresinde ise bitki yaprakları infüzyon yöntemiyle hazırlanarak hemoroid ve kalp hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (65, 66). Ayrıca Manisa'ya özgü bir çalışmada bitkinin yaprakları infüzyon yöntemiyle hazırlanarak hayvanlarda soğuk algınlığı tedavisi için kullanıldığı belirtilmiştir. Turgutlu (Manisa) ilçesinde bitkinin yerel ismi “karakavuk”, “sakız otu” ve “çekme” olarak bilinmektedir (67).

Lactuca capensis Thunb. Madagaskar, Güney Afrika ve Yemen’de yaygın olarak bulunur. Afrika ülkelerinde, *L. capensis* geleneksel olarak sebze ve bitkisel ilaç olarak kullanılırken, Zimbabve’de *L. capensis* yaprakları hafifçe kaynatılarak tüketilir. Lesotho’da ise çorba yapılarak kullanılır. Zührevi hastalıklar, Kuzey Nijerya’da bitkinin yaprakların infüzyonu veya Kenya’da köklerinin infüzyonu ile tedavi edilmektedir. Kongo’da yara, ülser, cüzzam ve egzama hastalıklarının tedavisinde bitkinin toz haline getirilmiş kökleri kullanılmaktadır (68).

Lactuca scariola L. bitkisi geleneksel tıpta baş ağrısı, uykusuzluk, sinirlilik, yüksek tansiyon, çarpıntı, ateş vb. tedavisi için kullanılmıştır. Yaygın olarak bildirilen farmakolojik etkileri anksiyete giderici, sakinleştirici, ateş düşürücü, diüretik ve ağrı kesici olarak tanımlanmış ve bilimsel çalışmalar tarafından kanıtlanmıştır. Bildirilen farmakolojik etkilerin yanı sıra, *L. scariola* bitkisinin ayrıca antikanser, antibakteriyel, spazmolitik (kasları gevşeten), bronkodilatör (bronşları genişletici) ve damarları rahatlatıcı etkileri olduğu bilinmektedir (69).

Lactuca tatarica (L.) C.A.Mey. bitkisinin tüm kısımları, Çin’de apandisit, cilt kızarıklığı, karın şişliği gibi durumların tedavisi için geleneksel bir çare olarak kullanıldığı bilinmektedir (70).

2.3. *Lactuca* Türleri Üzerinde Yapılan Fitokimyasal Çalışmalar

2.3.1. *Lactuca* Türlerinde Bulunan Terpenik Bileşikler

Lactuca indica L. bitkisinin toprak üstü kısmından hazırlanan metanol ekstresinden kolon kromatografisi yöntemiyle trans-fitol, 3 β -hidroksiglutin-5-en, 5,6-epoksi-3-hidroksi-7-megastigmen-9-on, 11 β ,13-dihidrolaktusin, sikoriosid B, (6S,9S)-roseosit, (+)-taraksafolin-B bileşikleri saflaştırılmıştır (61).

Lactuca virosa L. köklerinden hazırlanan etanol ekstresinden silika jel kolon kromatografisi, ince tabaka kromatografisi (İTK) ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile seskiterpen lakton aglikonları ve glikozitleri izole edilmiştir. Tüm aglikonlar, laktusin veya zaluzanın C'den türetilmiş guaianolidlerdir. Glikozitler ise guaianolid, germakrolid ve melampolid bileşiklerini içeren β -glukopiranozitlerden oluşmaktadır. Çalışma sonucunda 2 tane yeni (11 β ,13-dihidrolaktusin-8-O-metakrilat ve 3 β ,14-dihidroksi-11 β , 13-dihidrokokostunolid-3-O- β -glukopiranozit) olmak üzere toplam 17 bileşik (8-desoksilaktusin, jakkuinelin, 11 β ,13-dihidrolaktusin, laktusit A, krepidiasit B, 11 β ,13-dihidrolaktusopikrin, kikirosit B, 9 β -hidroksizaluzanın C, ikserin F, pikrisit B, 9 α -hidroksi-11 β , 13-dihidrozaluzanın C, 11 β ,13-dihidroglukozaluzanın C, makroklisin A, eugenil- β -glukopiranozit) izole edilmiştir (71).

Lactuca sativa cv. Diana bitkisinden elde edilen lateksin metanol ekstresinin HPLC ile bileşenlerinin kromatografik ayrımı gerçekleştirilmiştir. Analiz sonucunda ekstrenin ana bileşenlerinin, guaianolid seskiterpen laktonlar, laktusin, deoksilaktusin, laktukopikrinin, 15-oksalil ve 8-sülfat konjugeleri olduğu ifade edilmiştir. 15-deoksilaktusin-8-sülfat ve 15-p-hidroksifenilasetillaktusin-8-sülfat bileşikleri bitkilerden rapor edilen ilk seskiterpen sülfatlar olarak belirtilmiştir (56).

Lactuca sibirica L. bitkisinin kurumuş ve toz haline getirilmiş toprak üstü kısımlarından etanol ekstraktı hazırlanmış ve kolon üzerinde kromatografik işleme tabii tutulduktan sonra HPLC kullanılarak laktusin benzeri guaianolidler 8-deoksilaktusin, jakkuinelin, 11 β ,13-dihidrolaktusin ve krepidiasit B bileşikleri spektral verilere dayanarak tanımlanmıştır (72).

Lactuca sativa, *Lactuca serriola*, *Lactuca dregeana*, *Lactuca aculeata*, *Lactuca tenerrima*, *Lactuca perennis*, *Lactuca tatarica*, *Lactuca saligna*, *Lactuca virosa*, *Lactuca indica* ve *Lactuca capensis* bitkilerinin HPLC sonuçlarının karşılaştırmalarına dayanarak

karakteristik seskiterpen laktonların dağılımı analiz edildikten sonra türe özgü birikim eğilimleri belirlenmeye çalışılmıştır. 11 tane *Lactuca* türünün yaprakları ve köklerinden hazırlanan metanol ekstratlarından 8-deoksilaktusin, jakkuinelin, krepidiasit B, laktusin, 11- β ,13-dihidrolaktusin, laktukopikrin bileşikler izole edilmiştir. İzole edilen bileşikler arasında bir veya daha fazlası, *L. tenerrima* bitkisi dışındaki tüm çalışılan taksonlarda bulunmuştur. *L. capensis* bitkisinin diğer türlerden farklı olarak sadece krepidiasit B bileşiği ile karakterize edildiği görülmüştür. Laktusit A bileşiği, *L. tenerrima* türü hariç incelenen bütün türlerin köklerinde bulunmuş ve bazı *Lactuca* türleri için güvenilir bir kemotaksonomik belirteç olarak görülmektedir. *L. tatarica* bitkisinde laktusin bileşiği daha baskın olarak bulunmuştur. *L. capensis*, krepidiasit B bileşiğinin yanı sıra çok fazla fenolik bileşik içermesi ile diğer türlerden taksonomik olarak farklı bulunmuştur (73).

Lactuca tatarica bitkisinin tüm kısımlarından hazırlanan petrol eteri, etil asetat ve n-bütanol fraksiyonlarından izole edilen bileşiklerden bir yeni guaianolid (11 β -hidroksi-11,13-dihidrolaktusin) ve bir yeni eudesmanolid (2 β -hidroksi-11 β ,13-dihidroglukanin) bileşiklerinin yanında daha önce tanımlanan sekiz seskiterpenoid bileşiği (laktusin, 11 β ,13-dihidrolaktusin, laktukopikrin, 11 β ,13-dihidrolaktusin-8-O-p-metoksifenilasetat, sikhoriosid B, deasetilmatrisarin, 2-okso-11 β ,13-dihidrosantamarin, 11 β ,13-dihidrosantamarin) saflaştırılmıştır (70).

Lactuca altaica Fisch. & C.A.Mey. köklerinden etanol ekstresi hazırlanmış ve seskiterpenoidler kolon kromatografisi yöntemiyle laktusin, 11 β ,13-dihidrolaktusin, krepidiasit B, sikoriosid B, laktusopikrin, 11 β ,13-dihidrolaktusopikrin, 9 α -hidroksi-zaluzanin C, makroklisinid A, 11 α ,13-dihidrovernofleksuoizid, laktusit A, 10 β ,14-dihidroksi-10, 11 β -tetrahidro-8,9-didehidro-3-deoksi-zaluzanin-10-O- β -glukopiranozit, 3 β ,14-dihidroksi-11 β ,13-dihidroglukostunolid-3-O- β -glukopiranozit ile sikoriosid B karışımı, metil 3 β -(β -glukopiranoziloksi)-6 α -hidroksieudesma-1,4,11-trien-12-ol bileşiklerin izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Laktusit A bileşiği toplam izole edilen seskiterpen lakton bileşenlerinin %40'ından fazlasını oluşturmuştur (74).

Lactuca aculeata Boiss. & Kotschy toprak üstü etanol ekstresinden daha önce tanımlanan krepidiasit B, 8-deoksilaktusin, jakkuinelin, 9 α -hidroksi-zaluzanin C, 9 α -hidroksi-zaluzanin C, makroklisinid A, ikserin F, vernofleksuoizid, laktusit A bileşiklerinin izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu bileşiklerinin yanında yeni olarak bir de 11 β -hidroksikrepidiasit B bileşiği izole edilmiştir (75).

Lactuca viminea (L.) J. Presl & C. Presl bitkisinin köklerinden hazırlanan etanol ekstresinden 23 tane seskiterpen lakton bileşiği saflaştırılarak tanımlanmıştır. Elde edilen bileşiklerden tauremisin, 1-epikikoraleksin, ikserin H, *Lactuca* türlerinden ilk kez izole edilmiştir. Diğer saflaştırılan bileşikler ise 11 β ,13-dihidrosantamarin, santamarin, 2-okso-11 β ,13-dihidrosantamarin, 1-epidehidroisoerivanin, 1-episoerivanin, 1-epierivanin, 3-deoksizaluzanın C, leukodin, jakkuinelin, 8-deoksilaktusin, krepidiasit B, 9 α -hidroksi-11 β ,13-dihidroزالuzanın C, 9 α -hidroksizaluzanın C, ikserin F, salignosit, 11 β ,13-dihidroglukozالuzanın C, skorzosit, sonkhusit A, pikrisit B, laktusit A olarak belirtilmiştir (76).

Lactuca canadensis L. bitkisinin kurutulmuş köklerinin etanol ile hazırlanan ekstresinden kolon kromatografisi yöntemiyle toplam 19 tane seskiterpen lakton bileşiği izole edilerek tanımlanmıştır. Saflaştırılan bileşiklerden guaianolidler (زالuzanın C, 3-epizالuzanın C, 11 β ,13-dihidro-زالuzanın C) ve eudesmanolidler (armeksifolin, 1-epidehidroizoerivanin, armefolin, 1-episoerivanin, 3 α -hidroksireynosin, 1-epierivanin) ilk kez *Lactuca* cinsi türlerinden izole edilmiştir. 3-epizالuzanın C-3-O- β -glukopiranozit, 11,13-dehidrolaktusit C ise yeni tanımlanan bileşikler olarak bildirilmiştir. Vernofleksuosit, 11 β ,13-dihidro santamarin, 11 β ,13-dihidro vernoflekuosit, makroklinisit A, ikserin F, pikrisit B, santamarin ise bitkiden izole edilen diğer bileşikler olarak belirtilmiştir. *L. canadensis* türünün seskiterpen lakton içeriği eudesmanolidler ve زالuzanın C tipi guaianolidler tarafından oluşmaktadır (77).

Lactuca georgica Grossh. köklerinden hazırlanan etanol ekstresinden kolon kromatografi yöntemiyle, 10 tane laktusin-tipi guaianolid olmak üzere 15 seskiterpen lakton (11 β ,13-dihidroglukozالuzanın C, makroklinisit A, 11 β ,13-dihidrolaktusin, krepidiasit B, sikoriosit B, laktusit A, sonkusit A, 3 β ,14-dihidroksi-11 β ,13-dihidroکستونolit-3-O- β -glukopiranozit) aglikonu ve glikoziti izole edilmiştir. Yeni bileşik olarak laktusin-8-O-metakrilat ve onun 11 β ,13-dihidro türevi karakterize edilmiştir. Ayrıca *Lactuca* türleri içinde hipokoroit B bileşiği ilk kez tanımlanmıştır (78).

Geleneksel Afrika topluluklarında, şifalı bitki ve sebze olarak kullanılan *Lactuca inermis* Forssk. bitkisinin kurutulmuş kökleri ve toprak üstü kısımlarının etanol ekstratları ile yapılan çalışma sonucunda 9 α -hidroksizالuzanın C ve onun 11 β ,13-dihidro türevi, ikserin F, 11 β ,13-dihidroglukozaالuzanın C bileşikleri izole edilmiştir (79).

Lactuca georgica Grossh. bitkisinin kültür ortamında yetiştirilerek kök ve yaprak kısımlarından hazırlanan metanol ekstresinden HPLC yöntemi ile bileşikler izole edilmiştir. Kök içeriğinde 11 β ,13-dihidrolaktusin-8-O-asetat, 11 β ,13-dihidrolaktusin-8-O-metakrilat ve laktusit A yüksek miktarda bulunmuştur. Kikorisit B, laktusin, 11 β ,13-dihidrolaktusin, 11 β ,13-dihidrolaktukopikrin bileşikleri daha düşük miktarlarda elde edilmiştir. Yapraklarda laktusin ve 11 β ,13-dihidrolaktusin baskın olarak bulunmuştur. Kikorisit B, hem yapraklarda hem de köklerde aynı miktarda bulunurken 11 β ,13-dihidrolaktukopikrin bileşiği ise yapraklarda, köklere göre daha az miktarda bulunmuştur. Ayrıca yapraklarda laktusit A bileşiği bulunamamıştır. Köklerdeki seskiterpen lakton toplam miktarı yapraklardakinden önemli ölçüde daha yüksek çıktığı belirtilmiştir (80).

Lactuca dregeana bitkisinin kurutulmuş toprak üstü ve kök kısımlarından ayrı ayrı öğütülerek hazırlanan etanol ekstresinden 11 β ,13-dihidrolaktusin, 11 β ,13-dihidrolaktusopikrin, krepidiasit B, kikorisit B, laktusin, laktusopikrin, laktusit C, 8-deasetilmatrisarin-8-O-sülfat ve laktusit A bileşikleri tanımlanmıştır. Bu bileşiklerden laktusit C bileşiğinin *Lactuca* türlerinde nadiren karşılaşıldığından önemli olduğu belirtilmiştir (81).

Lactuca sativa L. var. *angustana* L.H. Bailey, bitkisinin köklerinden hazırlanan etanol ekstresiyle yapılan çalışma sonucunda 11 β ,13-dihidrolaktusin, 11 β ,13-dihidrolaktusopikrin, krepitiasit B, kikorisit B, laktusin, laktusopikrin, lökodin, 8-deasetilmatrisarin 8-O-sülfat, skorzosit, 11 β ,13-dihidrovernoflekuosit, ikserin F, makroklinisit A, laktusit C, 10 β ,14-dihidroksi-10,11 β -(13)-tetrahidro-8,9-didehidro-3-deoksiyaluzanın C-10-O- β -glikopiranozit, 3 β ,14-dihidroksi-11 β ,13-dihidro kostunolit, sonkusit A, ikserin H, pikrisit B, laktusit A bileşikleri çeşitli kromatografik yöntemlerle izole edilmiştir. Makroklinisit A bileşiği ise yüksek verimle izole edilen seskiterpen lakton olarak belirtilmiştir (82).

2.3.2. *Lactuca* Türlerinde Bulunan Fenolik Bileşikler

Lactuca orientalis bitkisinin kökleri ve toprak üstü kısımlarından hazırlanan etil alkol ekstresinden fenolik bileşikler izole edilmiştir. Çalışma sonucunda köklerde vanilin lökodin, metil-4-hidroksibenzoat, (+) 4-O-metildihidrodehidrodikoniferil alkol, (–) dihidrodehidrodikoniferil alkol, (–) dihidrodehidrodikoniferil alkol 9-O- β -glukopiranozit, (+) 4-O-metildihidrodehidrodikoniferil alkol 9'-O- β -glukopiranozit ve ($\pm$) 4-O-metildihidrodehidrodikoniferil alkol 9-O- β -glukopiranozit bileşikleri bulunmuştur. Toprak

üstü kısmında ise kafeik asit türevleri (kaftarik asit, kikorik asit, klorojenik asit) ve Dihidrodrokoniferin türevleri (dihidrodehidrodikoniferil alkol 9'-O- β -glukozit, dihidrodehidrodikoniferil alkol, 4-O-metildihidrodehidrodikoniferil alkol 9'-O- β -glukozit, 4-O-metildihidrodehidrodikoniferil alkol) kromatografik ve spektroskopik teknikler kullanılarak izole edilmiştir (64).

Lactuca indica bitkisinin toprak üstü kısmından hazırlanan metanol ekstresinden beş fenolik bileşik (2-feniletıl β -D-glukopiranozit, 2-(3'-O- β -D-glukopiranozil-4'-hidroksifenil)-etanol, 1-hidroksilinaloil-6-O- β -D-glukopiranozit, benzil- β -D-glukopiranozit, 3-(β -D-glukopiranoziloksimetil)-2-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-5-(3-hidrokdipropil)-7- metoksi-dihidrobenezofuran) kolon kromatografisi ile izole edildikten sonra bu bileşiklerin yapıları spektroskopik yöntemler kullanılarak belirlenmiştir (61).

Lactuca aculeata kültürünün metanol ekstresinden hazırlanan kloroform, etil asetat ve n-bütanol fraksiyonlarından 6 lignan bileşiğı ((+)-5-metoksi-balanofonin, şiringaresinol, (+)-balanofonin-9-O- β -glukopiranozit, (+) buddlenol A, ($\pm$)-dihidrodehidrodikoniferil alkol-4-O- β -glukopiranozit ve ($\pm$)-dihidrodehidrodikoniferil alkol-9-O- β -glukopiranozit) ve kafeik asit türevleri (kaftarik asit, klorojenik asit, 4,5-dikafeoilkinik asit, kikorik asit, metil kafeat ve 1,5-dikafeoilkinik asit) kolon kromatografisi ve yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile izole edilerek spektroskopik yöntemlerle tanımlanmıştır (83).

Lactuca dregeana bitkisinin kurutulmuş toprak üstü ve kök kısımları ayrı ayrı öğütüldükten sonra hazırlanan etanol ekstresinden luteolin-7-O- β -glukopiranozit, kuersetin-3-O- β -glukopiranozit, dihidrodehidrodikoniferil alkol 9-O- β -glukopiranozit, metil 4-hidroksifenil asetat bileşikleri ince tabaka kromatografisi ve HPLC kullanılarak izole edilmiştir (81).

Lactuca viminea L. bitkisinin toprak üstü kısmından hazırlanan metanol, dietil eter, n-bütanol ve etil asetat ekstrelerinden altı farklı flavonoid (apigenin, luteolin, kuersetin, luteolin-7-O-glukozit, kuersetin-3-O-glukozit ve luteolin-7-O-glukuronit-6-metil ester) ve üç fenolik asit (kafeik asit, ferulik asit ve klorojenik asit) saflaştırılmıştır. Luteolin-7-O-glukuronit-6-metil ester bileşiğinin bu türde ilk defa tanımlandığı belirtilmiştir. Apigenin ve luteolin *Lactuca* cinsinde en sık izole edilen flavonoid aglikonları, luteolin-7-O-glukozit ise en yaygın bulunan flavonoid heterozitlerinden olduğu belirtilmiştir (84).

Lactuca capensis yapraklarından maserasyon yöntemiyle elde edilen metanol ekstraktının izolasyonu sonucunda, sekiz flavonoid bileşiği (kuersetin-3 arabinozid, kaemferol, kateşin, apigenin, kuersetin, rutin, luteolin, siyanidin) ve üç hidroksisinnamik asit bileşiği (sinnamik asit, kafeik asit, rosmarinik asit) izole edilip, spektroskopik yöntemlerle tanımlanmıştır (68).

Lactuca inermis bitkisinin kurutulmuş kökleri ve toprak üstü kısımlarının etanol ekstreleri ile yapılan kolon kromatografisi ve preparatif ince tabaka kromatografisi sonucunda skopolin, fraksetin 7-*O*- β -glukopiranozit, 4-hidroksifenilasetik asit, sirinjik asit bileşiklerin izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu bileşiklerin arasında fraksetin 7-*O*- β -glukopiranozit nadir bulunan bir bileşik olduğu belirtilmiştir (79).

Lactuca tuberosa Jacq. kök yumrularından hazırlanan etanol ekstresinden ilk defa laktuberin A ve laktuberin B adlı furfuran lignan glukozit ve altı tane fenolik bileşik (kafeik asit, metil kafeat, etil kafeat, protokateşik asit ve metil *p*-hidroksifenil asetat, *p*-kumaril alkol) HPLC ile izole edilmiştir. Diğerlerine göre kafeik asit oldukça yüksek miktarda bulunmuştur (85).

Lactuca altaica köklerinden hazırlanan etanol ekstresinden dihidrokoniferil alkol 9-*O*- β -glukopiranozit, vanilaldehit, 2,6-dimetoksibenzokinon, koniferil aldehit, metil 4-hidroksifenil asetat, öjenil-4-*O*- β -glukopiranozit, sirinjaldehit bileşikleri HPLC ile saflaştırılmıştır (74).

Lactuca tenerrima kurutulmuş kökleri ve toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol ekstresinden skopoletin, skopolin, dihidrokoniferin, dihidrosiringin, dihidrodehidrodikoniferil alkol 9-*O*- β -glukopiranozit, adenozin, kaemferol 3-*O*- β -glukopiranozit, kuersetin 3-*O*- β -glukopiranozit, luteolin-7-*O*- β -glukopiranozit bileşikleri kolon kromatografisi yöntemi ile izole edilmiş ve tanımlanmıştır (86).

Lactuca sibirica bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol ekstresinden iki yeni furofuran lignan bileşiği (8 α -hidroksipinoresinol-4 α -*O*- β -(6-*p*-hidroksifenil asetil)-glukopiranozit ve 8 α -hidroksipinoresinol-4 α -*O*- β -(6-*p*-metoksifenilasetil)-glukopiranozit) ve bir tane bilinen furofuran lignan (laktukasit) bileşiklerinin izolasyonu gerçekleştirilmiştir (72).

2.3.3. *Lactuca* Türlerinde Bulunan Yağ Asitleri ve Uçucu Yağlar

Lactuca sativa L. bitkisinin taze ve kuru yapraklarından hidrodistilasyon yöntemiyle uçucu yağları elde edilip Gaz kromatografi-Kütle spektroskopisi (GC-MS) ile analiz edilmiştir. Hem taze hem kuru yaprakların uçucu içeriği çoğunlukla oksijenli mono ve seskiterpen hidrokarbonları ile bunların türevlerinden oluşan bir karışım içerdiği görülmüştür. Toplam yirmi bileşik tanımlanmıştır. Taze marulda bulunan uçucu yağ miktarı, kuru marul uçucu yağ miktarından yüksek olduğu görülmüştür. Taze ve kuru yaprak uçucu yağlarında saptanan başlıca uçucu organik bileşenler sırasıyla α -pinen, *p*-simen, timol, durenol, α -terpinen, timol asetat, karyofilen, linalool, kamfen, limonen olarak belirlenmiştir. Ayrıca çalışmada, taze ve kuru maruldan izole edilen ve tanımlanan β -pinen, α -terpinolen, linalool, 4-terpineol, α -terpineol, o-metiltimol, L-alloaromadendren, viridifloren gibi bazı minör bileşikler bulunduğu da belirtilmiştir (87).

Lactuca sativa ham tohum yağının yağ asidi kompozisyonunu GC-MS yöntemi ile analiz edilmiştir. İncelenen yağın hekzan ekstraktı doymuş ve doymamış yağ asitlerinin metil esterlerinin bir karışımından oluştuğu belirtilmiştir. Doymuş yağ asitleri miristik asit, palmitik asit, stearik asit ve araşidik asit bileşiklerin metil esterlerinden oluşurken, doymamış yağ asitler ise linoleik ve oleik asitlerin metil esterlerinden oluşmuştur. Bitkinin tohum yağı, doymamış yağ asitleri açısından zengin olarak bulunmuştur (88).

Lactuca serriola L. bitkisinin gövde kısımlarından elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimini karakterize edilmiştir. Elde edilen uçucu yağlar GC-MS ile analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda 10 tane seskiterpen bileşiği (α -gurjunene, α -ylangene, β -elemen, cyperene, rotundene, β -ylangene, junipene, α -muurolene, (+)- δ -kadinen, trans-kalamenen), 15 tane seskiterpenoid bileşiği (β -damaskenon, cedr-8(15)-en-9-ol, dehidrosiklolongifolen oksit, (-)-karyofillen oksit, leden oksit-(II), 7-epi-cis-sesquisabinen hidrat, kubedol, epiglobulol, taridin B, hekhahidrofarnesil aseton, aromadendren oksit-2, alloaromadendren oksit-1, izosiyobunon, γ -gurjunen epoksit-(1), (*E*)-nerolido) 3 tane diterpen bileşiği (labda-8(20),12,14-trien, (8 β ,13 β)-13-metil-17-norkaur-15-en, trakhiloban) 1 tane diterpenoid bileşiği (izosembrol), 2 tane hidrokarbon bileşiği (2,6,10-trimetiltetradekan, dotriyakontan), 2 tane oksijenli hidrokarbon bileşiği (falkarinol, (Z,Z)-3,15-oktadekadien-1-ol asetat) tanımlanmıştır. Ana bileşenler izosiyobunon, izosembrol ve alloaromadendren oksit-1 bileşikleridir (89).

Lactuca tatarica (L.) C.A.Mey bitkisinin toprak üstü kısımları ve tohumlarından hazırlanan petrol eteri (PET), diklorometan (DCM) ve metanol (MeOH) ekstraktlarının uçucu yağ bileşimi GC/MS tekniği ile araştırılmıştır. Üç tohum ekstresinde de linoleik asit ve palmitik asit en bol bulunan bileşikler olduğu görülmüştür. MeOH ekstresi ağırlıklı olarak linoleik asit içerirken, PET ekstresi ve DCM ekstresi palmitik asit içermiştir. Ayrıca ekstraktların eser miktarda dodekanoik asit, linoelaidik asit, oleik asit ve tetradekanoik asit içerdiği belirlenmiştir. Petrol eteri toprak üstü ekstresinde hekzahidrofarneasilaseton bileşiğinin yüksek miktarda olduğu görülmüştür. Son olarak linalool, p-menton, sitronellol, cis-geraniol, eudesmol gibi uçucu terpenik bileşikler de tespit edilmiştir (90).

2.4. *Lactuca* Türleri Üzerinde Yapılan Biyolojik Aktivite Çalışmaları

2.4.1. Antioksidan Etki

Lactuca sativa var. *longifolia* bitkisinden hazırlanan metanol ve sulu ekstraktlarının toplam fenolik madde içerik tayini ve DPPH radikal temizleme yöntemi ile antioksidan aktiviteleri test edilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda metanol ekstresinin su ekstresinden daha etkili antioksidan aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca ekstraktların toplam fenolik madde içeriğine bakıldığında yine bitkinin metanol ekstresinin toplam fenolik madde içeriği su ile hazırlanan ekstresinden daha fazla olduğu görülmüştür (92).

Tıbbi özellikleriyle bilinen ve yaygın olarak kullanılan yapraklı sebze *Lactuca sativa* bitkisinin radikal yakalama aktivitesi ve biyomolekül koruma kapasitesi test edilmiştir. *Lactuca sativa* bitkisinin etanol ekstresi, 2,2-difenil-2-pikril hidrazil, süperoksit ve nitrik oksit radikalleri üzerinde güçlü bir antioksidan aktivite sergilemiş ve aynı zamanda DNA ve protein hasarına karşı koruma sağlamıştır. DNA ve protein oksidasyonu doza bağlı olarak önlenmiş ve tek hücre jel elektroforez yöntemi testinde gözlenen DNA kuyruk uzunluğu *L. sativa* etanol ekstresi ile azaltılmıştır. Bu sonuçlar bitkinin serbest radikallere karşı güçlü bir aktiviteye ve oksidatif hasara karşı etkili bir korumaya sahip olduğunu göstermiştir (93).

Lactuca sativa var. *longifolia* bitkisinin etanol ekstraktı, sıçanların üreme sistemi üzerinde karbon tetraklorür (CCl₄) tarafından indüklenen oksidatif strese karşı koruyucu etkisi araştırılmıştır. Sıçanlarda CCl₄ ile indüklenen oksidatif stres, vücut ağırlığının azalmasına ve testis ağırlığının artmasına neden olur. Aynı zamanda testiste tiyobarbitürik asit ve nitrit seviyelerini belirgin bir şekilde artırır ve buna karşılık testiste çeşitli antioksidan enzimlerin (GSH, CAT, POD, SOD ve GSH-Px) seviyesini azaltır. Yedi gruba

ayrılan hayvanlara marul ekstraktının farklı konsantrasyonları 10 hafta boyunca verilmiştir. Deney süresinin sonunda vücut ağırlıkları, testis boyutu, testis ve karaciğerin histopatolojisi, glutatyon peroksidaz aktivitesi (GSH-Px), süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi, peroksidaz (POD) aktivitesi, indirgenmiş glutatyon (GSH), katalaz (CAT) aktivitesi, tiyobarbitürik asit miktarı, nitrit miktarı ve serum hormonlarına bakılmıştır. Marul ekstraktının 10 hafta boyunca takviye edilmesi, tiyobarbitürik asit ve nitritin azalmasına neden olurken, antioksidan enzimlerin artmasını sağlamıştır. Serum testosteron, estradiol, prolaktin, vücut ağırlığı ve testis ağırlığı da marul ekstraktı ile normal seviyelere geri dönmüştür (94).

Lactuca indica bitkisinin yabani ve kültür formlarından hazırlanan yaprak ve kök metanol ekstrelerinin toplam fenolik madde miktarı, toplam flavonoid içerik ve antioksidan aktiviteleri karşılaştırılmıştır. Antioksidan aktivite DPPH ve ABTS (2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) radikal süpürücü aktivite yöntemleri ile değerlendirilmiştir. Yabani *L. indica* bitkisinin, kültür *L. indica* türünden daha yüksek miktarda polifenol ve flavonoid içerdiği bulunmuştur. Yabani formun yaprakları ve köklerinde kafeik asit, klorojenik asit, gallik asit, ferulik asit, vanilik asit, naringin gibi fenolik bileşikler tespit edilirken, kültür formunun köklerinde sadece gallik asit yüksek miktarda bulunmuştur. Ayrıca, yabani formun yaprak ve kök ekstrelerinin DPPH ve ABTS radikal süpürme aktivitesi kültür formunun yaprak ve kök ekstrelerinden daha etkili olduğu görülmüştür (95).

Lactuca indica bitkisinin farklı organlarından (yaprak, gövde, çiçek ve kök) elde edilen metanol ekstrelerinin antioksidan aktivitesine ve toplam fenolik ve flavonoid madde miktarına bakılmıştır. Toplam fenolik madde miktarı en yüksek metanol yaprak ekstrelerinde bulunmuştur ve onu sırasıyla gövde, kök ve çiçek ekstreleri izlemiştir. En yüksek flavonoid içeriği de yaprak ekstrelerinde bulunmuştur. Yaprakların metanol ekstreleri etkili bir DPPH radikal süpürme aktivitesi ve ABTS radikal süpürme aktivitesi göstermiştir (96).

Lactuca perennis L. yapraklarının bazı besin maddesi bileşenleri ve antioksidan kapasitesi analiz edilmiştir. Analiz sonucunda bitki orta düzeyde protein, düşük miktarda lipid, önemli miktarda mineral ve kabul edilebilir lif içeriği ile karakterize edilmiştir. Lipit içeriği olarak en yüksek doymamış yağ asitlerinden oluşmaktadır. Potasyum ve kalsiyum ana mineraller olup, onu fosfor, magnezyum ve sodyum izlemiştir. Fenolik bileşenler

açısından α -tokoferol ve β -karoten yüksek miktarda bulunmuştur. Oksijen radikal absorbands kapasitesi (ORAC) yöntemiyle bakılan antioksidan aktivitesi toplam fenolik madde içeriği ile orantılı bulunmuştur. Sonuç olarak, yabani yenilebilir bitki olan *L. perennis* yaprakları, besin değerini artıran önemli nutrasötik bileşenlere sahip olduğu belirtilmiştir. Bitkinin günlük diyet içinde kullanılması, insan sağlığına yardımcı olabileceği belirtilmiştir (97).

Lactuca sativa var. *maravilla de verano* bitkisinin metanol ekstresinin antioksidan aktivitesi DPPH ve FRAP (Ferrik İndirgeyici Antioksidan Güç) testleri ile belirlenmiştir. Testler sonucunda elde edilen antioksidan aktivitenin bitkinin içeriğinde yüksek miktarda bulunan hidroksisinnamik asitlerin ve 3-O-glukozidik flavonollerden kaynaklandığı belirtilmiştir (98).

Lactuca indica L. halk tıbbında bağırsak rahatsızlıklarının tedavisi için kullanılan bir bitkidir. *L. indica* bitkisinin hazırlanan metanol ekstresinden spektroskopik yöntemlerle sekiz fenolik bileşik (apigenin, luteolin, izokuersitrin, klorojenik asit, protokateşik asit, p-hidroksimetil benzoik asit, transsinnamik asit ve p-kumarik asit) izole edilmiş ve bu bileşiklerin DPPH testi ile antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. En etkili antioksidan etkili bileşik luteolin olduğu belirtilmiştir (99).

Lactuca serriola L. bitkisinde bulunan fenolik ve flavonoid bileşiklerin üretiminin artırılması amaçlanmıştır. Bunun için bitkinin köklerine, *Agrobacterium rhizogenes* adlı bakteri tarafından taşınan rolB adlı genin genetik olarak aktarılması sağlanmışır. Bu genetik aktarımın başarıyla gerçekleştiği ve rolB geninin köklerde bulunduğu “gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu” tekniği kullanılarak doğrulanmıştır. Daha sonra gen aktarımı olan ve olmayan bitkilerin metanol ekstraktları hazırlanarak toplam polifenol, flavonoid içerikleriyle antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Sonuçlara bakıldığında transgenik tüylü köklerin, toplam fenolik madde içeriği %54.8’den %96.7’ye artmış, toplam flavonoid içeriği de %38.1’den %76.2’ye artmıştır. DPPH test sonuçların da ise transgenik tüylü köklerin normal köklere göre antioksidan potansiyeli %31.6’dan %50’ye arttığı görülmüştür (100).

Lactuca orientalis Boiss. bitkisinin hazırlanan sulu ekstresinde bitkinin kimyasal bileşiklerinde, toplam fenol, flavonoid ve tanen içeriğinin yanında DPPH testi ile antioksidan aktivitesine bakılmışır. Bitkide fenoller, taninler, flavonoidler, sabunlar, monosakkaritler, indirgenmiş şekerler, karbonhidratlar, kalp glikozitleri ve steroidler gibi

farmakolojik olarak aktif bileşiklerin varlığı ortaya koyulmuştur. Son olarak ekstrenin antioksidan aktivitesi standart olarak kullanılan troloks ile karşılaştırıldığında çok güçlü antioksidan aktivite sergilemediği görülmüştür (101).

Lactuca sativa bitkisinin su ile hazırlanan yaprak ekstresinin antioksidan aktivitesi, DPPH, süperoksit, hidroksil, hidrojen peroksit, nitrik oksit radikal temizleme aktivitesi yöntemleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda bitkinin sulu ekstresinin, metabolik reaksiyonlar sırasında oluşan zararlı serbest radikalleri, çok düşük konsantrasyonlarda doza bağlı olarak etkili bir şekilde temizlediğini göstermiştir. Görülen bu antioksidan aktivitelerin, *L. sativa* yaprağında bulunan triterpenoidler, saponinler ve fenoller gibi aktif bileşenlerin varlığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir (102).

Lactuca serriola bitkisinin toprak üstü kısımlarının metanol ham ekstresi hazırlanmış ve sonra bu ekstreden eter, dikolorometan, etil asetat ve n-bütanol fraksiyonları elde edilmiştir. Elde edilen bu ekstrelerin ABTS, DPPH radikal yakalama ve FRAP testleri ile antioksidan aktiviteleri ölçülmüştür. Bütün testlerin sonucunda en etkili aktiviteyi etil asetat ekstresi göstermiştir (103).

2.4.2. Antimikrobiyal Etki

Lactuca sativa var. *longifolia* bitkisinin metanol ve su ekstrlerinde antimikrobiyal aktivite test edilmiştir. Her iki ekstre de tüm test edilen suşlara karşı aktivite göstermiştir ama metanol ekstresi, tüm gram negatif bakterilere (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Acinetobacter baumannii*) ve gram pozitif bakterilere (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* ve *Corynebacterium spp.*) karşı en düşük MİK (Minimum İnhibisyon Konsantrasyon) değeri ile en etkili ekstre olarak belirlenmiştir (92).

Lactuca serriola bitkisinin terpenoid, fenolik ve alkaloid bileşiklerini içeren ekstrlerinin dokuz farklı patojen bakteriye (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Klebsilla*, *Serratia*, *Proteus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas*, *Providentia*) karşı antibakteriyel aktiviteleri incelenmiştir. Yapılan testler sonucunda sadece Gram (+) bakterilerlerden *Staphylococcus saprophyticus* bakterisi bütün ekstrlere karşı duyarlıyken, *Staphylococcus epidermidis* Gram (+) bakterisi ise bütün aktif bileşiklere direnç göstermiştir. Ayrıca incelenen tüm gram negatif bakterilerin (*Klebsiella*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas*) aktif bileşiklere karşı dirençli olduğu görülmüştür (104).

Lactuca orientalis bitkisinin hazırlanan sulu ekstresinin, altı farklı bakteri şuşu (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Shigella sonnei*) üzerinde Agar Kuyucuk Difüzyon ve MİK testleri ile antimikrobiyal aktivitesi test edilmiştir. Çalışma sonucunda ekstre en güçlü aktiviteyi *S. aureus* gram pozitif bakterisine karşı göstermiştir (101).

Lactuca indica bitkisinin hazırlanan sulu ekstresinin *Escherichia coli* bakterisinin neden olduğu bilinen idrar yolu enfeksiyonları üzerindeki etkisi incelenmiştir. *L. indica* bitkisinin *E. Coli*'ye karşı doğrudan bir etkisi olmamasına rağmen, bu bitki belirgin bir şekilde mesane epitel hücrelerinin üzerindeki bakteri kolonizasyonunu önemli ölçüde azaltmıştır. Bu azalma *L. indica* ile temas eden hücrelerde fokal adezyon kinaz aktivasyonunun azalmasıyla birlikte görülmüştür. Bu bulgular, *L. indica* bitkisinin diüretik etkilerinin ötesinde, doğrudan epitel hücreleri etkileyerek *E. coli* enfeksiyonuna karşı koruma sağladığını göstermektedir. Bu durum idrar yolu enfeksiyonları tedavisi için alternatif ve değerli bir yaklaşım olarak görülmüştür (105).

2.4.3. Anti-inflamatuar Etki

Lactuca sativa tohumların ham metanol/petrol eteri ekstresinin pati ödemeine karşı olası anti-inflamatuar etkileri in vivo olarak incelenmiştir. Pozitif kontrol olarak Piroksikam ilacı kullanılmıştır. Ekstrakt, doza bağlı bir şekilde pati ödemeini önemli ölçüde inhibe etmiştir. Çalışmada gerçekleştirilen ön kimyasal analizde *L. sativa* tohum ekstraktında triterpenoidler, saponinler ve basit fenoller bulunmuştur. Bu nedenle *L. sativa* tohumunun anti-inflamatuar etkisi tohumda bulunan triterpenoidler ve saponinlere bağlı olabileceği belirtilmiştir (59).

Lactuca indica, Asya'da halk tıbbı olarak kullanılan, anti-inflamatuar özelliklere sahip yenilebilir bir yabani sebzedir. Yapılan çalışmada yabani ve kültür *L. indica* bitkisinin yaprak ve kök metanol ekstrelerinin makrofaj kaynaklı nitrik oksit birikimi üzerindeki anti-inflamatuar aktiviteleri karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda yabani formun yaprak ekstresinin, incelenen tüm konsantrasyonlarda kültür yaprak ekstresinden önemli ölçüde daha büyük bir inhibe edici etki göstermiştir. Bunun yanında kültür kök ekstresi, yabani kök ekstresinden daha fazla miktarda nitrik oksit üretimini inhibe etmiştir. Bunun sebebi olarak kök ekstresinde bulunan saponin seviyesinin daha yüksek olmasından kaynaklandığı belirtilmiştir (95).

Lactuca sativa bitkisinin metanol ekstresinin nitrik oksit sentazı, nitrik oksit salınımını ve siklooksijenaz-2 miktarını azaltarak inflamasyon sürecinde genel bir azalmaya neden olduğu görülmüştür. Bitkinin bol miktarda hidroksisinnamik asit türevleri, kumarinler ve flavon-3-oller içermesi nedeniyle hem beslenme hem de besin takviyeleri açısından değerli olabileceğini belirtilmiştir (98).

Lactuca sativa bitkisinin yaprak ve tohumlarından metanol-kloroform karışımı ve su ekstralarının sıçanlar üzerinde pati ödemeine karşı olası anti-inflamatuar etkileri in vivo olarak incelenmiştir. Yaprakların sulu ekstralarının en yüksek anti-inflamatuar etkiye sahip olduğu görülmüştür. Bitkinin anti-inflamatuar potansiyelinin triterpenoidler ve saponin içeriği ile ilişkilendirilebileceği ifade edilmiştir (106).

2.4.4. Antidepresan Etki

Lactuca sativa bitkisinin yaprak ve tohumlarının metanol:kloroform ve su ekstralarının sıçanlarda antidepresyon etkisi incelenmiştir.. Deneyde sıçanlar su dolu dikey bir silindir içinde yüzmeye zorlanır. Kaçış olmadığı için ortaya çıkan kaygı, sıçanlarda şiddetli yüzme eylemi üretir. Sıçanlar hayatta kalmak için gerekli olanlar dışında tüm aktivitelerini durdurduğunda (başlarını suyun üstünde tutma) bu depresyon olarak adlandırılır. Antidepresan ilaçlar toplam yüzme süresini artırır ve hareketsizlik süresini azaltır. Çalışma sonucunda en kısa hareketsizlik süresi tohumun sulu ekstralarında görülmüştür. Yaprak ekstraları de orta düzeyde antidepresan etki sergilemiştir. Ayrıca test edilen hayvanlarda anormal davranış veya ölümcül sonuç gözlenmemiştir (106).

2.4.5. Analjezik ve Sedatif Etki

Lactuca scariola bitkisinin analjezik (ağrı kesici) etkisini belirlemek için metanol ekstraktı hazırlanmıştır. Yapılan deneyle, farelerin kuyruklarının belirli bir bölümü 51°C’de tutulan bir su banyosuna batırılmış ve kuyruğun sıcak suya batırılmasından sonra, çıkartılma süresi kuyruk sıçraması süresi olarak kaydedilmiştir. Deney sonucunda en yüksek doz olan 1000 mg/kg, aspirine göre daha uzun süreli ve yoğun bir analjezik etki sağlamıştır. Bu bulgular, *L. scariola* bitkisinin metanolik özütünün önemli bir analjezik etkinliğe sahip olduğunu göstermekte olup geleneksel halk tıbbında ağrı kesici olarak kullanımını desteklediği ifade edilmiştir (107).

Lactuca virosa bitkisinden elde edilen laktusin, laktukopikrin ve 11 β ,13-dihidrolaktusin bileşiklerinin fareler üzerinde potansiyel analjezik etkileri incelenmiştir. Test edilen üç bileşik arasında, laktukopikrin en etkili analjezik etkiyi sağlamıştır. Bu gözlemler *L. virosa* bitkisinin bir analjezik bitkisel ilaç olarak kullanımını doğrulamakta olup ve içerdiği laktusin ve laktusin benzeri guaianolidlerin varlığı nedeniyle analjezik özelliklere sahip olabileceğini ifade edilmektedir (108).

Lactuca sativa bitkisi geleneksel olarak hipnotik özelliği nedeniyle kullanılmaktadır. Bitkinin bu bilinen uyku süresini uzatma etkisini araştırmak için farelerde in vivo çalışma gerçekleştirilmiştir. Bitkinin önce alkolik ekstresi daha sonra bu ekstrelerden su, etil asetat ve n-bütanol fraksiyonu hazırlanmıştır. Erkek farelere ekstrelerin farklı konsantrasyonları verilmiştir. Sonuçlara bakıldığında uyku süresini anlamlı bir şekilde uzatan fraksiyonun sadece n-bütanol olduğu görülmüştür. Ne alkolik ekstrenin dozları ne de su ve etil asetat fraksiyonları, uyku gecikmesinde anlamlı bir azalmaya neden olmamıştır (109).

Lactuca sativa bitkisinin yaprak ve tohumlarının metanol-kloroform ve su ekstrelerinin sıçanlar üzerindeki analjezik etkisi incelenmiştir. Alınan sonuçlara göre yaprak ekstresi, tohum ekstresine göre daha yüksek analjezik etki göstermiştir. Ayrıca sulu ekstrelerin daha etkili olduğu görülmüştür (106).

2.4.6. Antidiyabetik Etki

Lactuca indica Asya genelinde yaygın olarak bulunan bir bitkidir. Bitkinin aseton ekstresinden hazırlanan n-bütanol ve su fraksiyonundan dokuz bileşik izole edilmiştir. Bu bileşikler arasında, latukein C ve laktokasit bileşiklerinin diabetik sıçanlarda kan glukoz seviyesini orta derecede düşürdüğü görülmüştür (110).

Lactuca indica bitkisinin hazırlanan metanol ekstresinden izole edilen sekiz fenolik bileşiğin (apigenin, luteolin, izokuersitrin, klorojenik asit, protokateşik asit, p-hidroksimetil benzoik asit, transsinnamik asit ve p-kumarik asit) inhibitör etkileri maya kökenli α -glukozidaz enzimi kullanılarak değerlendirilmiştir. Luteolin ve apigenin bileşikleri yüksek miktarda α -glukozidaz inhibisyon aktivitesi göstermiştir. Diğer bileşikler test edilen konsantrasyon aralığında çok zayıf veya hiç inhibisyon aktivite göstermemiştir (99).

Lactuca scariola Kuzey Karnataka’da yetişen yeşil yapraklı bitkidir ve genellikle bu bölgenin halkı tarafından sahip olduğu antidiyabetik özellikler nedeniyle tüketilir. Nikel gibi ağır metaller, diyabeti tetikleyen önemli endüstriyel tehlikelerden biri olarak kabul edilmektedir. Bu bilgiler ışığında *L. scariola* yapraklarından hazırlanan sulu ekstresinin Nikel (II) ağır metalinin olduğu ve olmadığı durumlarda, diyabetik sıçanlarda antidiyabetik aktivitesi incelenmiştir. Deney sonucunda *L. scariola* ile tedavi edilen diyabetik sıçanlarda nikel (II) gibi ağır metallerin varlığında bile kan glukoz seviyesinin belirgin bir şekilde düştüğü tespit edilmiştir. *L. scariola* bitkisinin antidiyabetik etkisinin yapısında bulunan flavonoidler, sabunlar ve steroidler sayesinde olabileceği belirtilmiştir (111).

Lactuca sativa bitkisinden izole edilen laktuksantin bileşiğinin in vitro ve in vivo ortamlarda α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerini inhibe etme aktivitesi araştırılmıştır. İn vitro yapılan deneyler sonucunda, laktuksantin bileşiğinin enzimlerin aktivitesini sentetik inhibitör olan akarboz kadar olmasa da yine de bastırdığını göstermiştir. İn vivo deneyler sonucunda ise laktuksantin bileşiği enzimlerin bağırsak ve pankreasındaki aktivitesini azaltmış ve kan glukoz seviyesini düşürmüştür. Bu bulgular bileşiğin diyabet tedavisinde tıbbi ve besinsel anlamda önemli bir potansiyele sahip olabileceğini göstermiştir (112).

Lactuca serriola bitkisinin toprak üstü kısımlarından metanol ham ekstresi hazırlanmış ve sonra bu ekstreden eter, dikolorometan, etil asetat ve n-bütanol fraksiyonları elde edilmiştir ve bu fraksiyonların α -glukozidaz enzim inhibisyon aktivitelerine bakılmıştır. Sonuçlar sentetik inhibitör akarboz ile karşılaştırılarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre etil asetat fraksiyonu, akarboz ile karşılaştırıldığında oldukça iyi bir inhibisyon göstermiştir Test edilen fraksiyonlar arasındaki en düşük inhibisyon aktivite n-bütanol fraksiyonunda kaydedildiğini belirtilmiştir. Etil asetat fraksiyonundan izole edilen bileşikler de, α -glukozidaz inhibisyon aktiviteleri için incelenmiş ve kaemferol ve kuersetin bileşiklerin α -glukozidaz enzimine karşı en yüksek inhibisyon aktivite göstermiştir (103).

2.4.7. Anksiyolitik Etki

Lactuca sativa bitkisinin hazırlanan etanol ekstratının yiyecek ve yükseklik tarafından tetiklenen anksiyete davranışı üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Anksiyete, depresyon, panik atak ve travma sonrası stres bozuklukları gibi birçok psikiyatrik hastalıkla ilişkilendirilir ve hücresel düzeyde reaktif oksijen türlerinin seviyelerini artırır. Çalışmada anksiyolitik özellikler erkek fareler üzerinde test edilmiştir. Bitkinin

yapraklarının kurutulmuş etanol ekstresi farelere oral olarak verilmiş ve tedavi süresi boyunca hareket ve anksiyolitik aktiviteler değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda etanol ekstresi ile 30 gün boyunca tedavi edilen farelerde 15 günlük tedavi gören gruplara göre belirgin bir aktivite artışı gözlenmiş ve farelerin yeme davranışlarının arttığı görülmüştür. Ayrıca çalışmada HPLC yöntemi ile ekstraktın fenolik içeriğine bakılmış ve klorojenik asit, vanilin, epikateşin, kafeik asit, sinapik asit, kuersetin-3-ramnozid, p-kumarik asit ve kuersetin gibi çeşitli fenolik bileşikler izole edilmiştir. Bu bileşiklerin farelerin anksiyete davranışı üzerinde etkisi olabileceği belirtilmiştir (93).

2.4.8. Hepatoprotektif Etki

Lactuca runcinata DC. bitkisinin hazırlanan metanol ekstresinin in vivo olarak karaciğer hasarına karşı etkinliği araştırılmıştır. Serum glutamat oksalat transaminaz (SGOT), serum glutamat piruvat transaminaz (SGPT), alkalen fosfataz (ALKP) ve total bilirubin (TB) gibi çeşitli biyokimyasal parametrelerin yüksek seviyeleri sıklıkla karaciğer hasarı dahil olmak üzere karaciğer hastalıklarıyla ilişkilendirilmektedir. Çalışmada albino sıçanlar kullanılmıştır. Karaciğer hasarı CCl₄ tarafından indüklenen hayvanlara bitki ekstresi farklı konsantrasyonlarda oral yolla uygulanmıştır. Bu çalışmanın sonucunda *L. runcinata* metanol ekstresinin SGOT, SGPT, ALP ve TB düzeylerini önemli ölçüde azalttığı görülmüştür. Bu etkinin nedeninin metanol ekstresinde bulunan fenoller ve flavonoidlerin varlığına atfedilmiştir (113).

Lactuca indica Kore genelinde geleneksel olarak iltihap, bakteriyel enfeksiyon ve bağırsak bozukluklarının tedavisi için kullanılan yenilebilir yabani bir sebzedir. Bitkinin n-bütanol ekstresinden izole edilen bileşiklerin hepatit B virüsü üretimini inhibe edip etmemesi in vitro olarak araştırılmıştır. Çalışma sonucunda test edilen bileşikler arasında 3,4-di-O-kafeolkinik asit, 3,5-di-O-kafeol-mukokinik asit, 3,5-di-O-kafeolkinik asit, 4,5-di-O-kafeololkinik asit, 5-O-kaffeololkinik asit, 3-O-kafeolkinik asit, 5-O-(E)-p-kumarolkinik asit gibi kinik asit türev bileşikleri ile luteolin 7-O- β -D-glukuronit, 5,20-dihidroksi-7-O- β -D-glukuronilflavon, kuersetin 3-O- β -D-glikopiranozit gibi flavonoid türevi bileşiklerin hepatit B virüsünü önemli ölçüde inhibe ettiği görülmüştür (114).

2.4.9. Nöroprotektif Etki

Lactuca capensis yapraklarından elde edilen metanol ekstraktın Alzheimer hastalığı ile ilişkilendirilen hafıza kaybı üzerinde nörokoruyucu rolü in vivo olarak değerlendirilmiştir. Deneyde Ab1-42 adı bir madde ile sıçanlarda Alzheimer hastalığı

oluşturulmuştur. Alzheimer hastalığında bilişsel bozulma ile ilişkilendirilen BDNF (Beyin kaynaklı nörotrofik faktör) sayısı azalmaktadır. Sonuç olarak hastalık boyunca sıçanların bilişsel performansı düşmektedir. Deney süresince hasta olan hayvanlara bitki metanol ekstresi yirmi bir gün boyunca uygulanmıştır. Metanol ekstresinin uygulaması hastalığın neden olduğu olumsuz değişiklikleri tersine çevirmiştir. Ekstrenin fareler üzerinde yaptığı değişiklikler, kolinerjik aktiviteyi düzenleme ve BDNF seviyelerini artırma şeklinde olmuştur (68).

Lactuca sativa bitkisinin glukoz/serum eksikliği sonucunda oluşan hücre hasarı karşısında nöronları koruma yeteneğini incelemek amacıyla in vitro bir çalışma yapılmıştır. Glukoz eksikliği beyine yetersiz glukoz/serum gitmesi sonucunda hücre ölümüne neden olmaktadır. Yapılacak çalışma için sıçan feokromositoma hücre hattı (PC12) ve fare neuroblastoma hücre hattı (N2a) seçilmiştir. İki nöron hücresi glukoz/serum eksikliği koşullarında 6 veya 12 saat boyunca kaldıktan sonra, bitkinin hidroalkolik ekstraktı ve bu ekstreden hazırlanan su, etil asetat ve n-bütanol fraksiyonlarının farklı konsantrasyonları ile muamele edilmiştir. Deneylerin sonunda, etil asetat fraksiyonunun her iki hücre hattında da nörokoruma sağladığı ve inme gibi yaygın nörodejeneratif bozukluklar için yeni bir tedavi stratejisi olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğu belirtilmiştir (115).

2.4.10. Sitotoksik Etki

Lactuca sativa var. *anagustata* bitkisinden izole edilen üç seskiterpen lakton (1β -O- β -D-glukopiranozil-4 α -hidroksi-5 α ,6 β ,11 β H-eudesma 12, 1 β -hidroksi-15-O-(p-metoksifenilasetil)-5 α , 6 β , 11 β H-eudesma-3-en-12, 6 α -olid, 4 α -O- β -D-glukopiranozil-15-hidroksi-5 α , 6 β H-guaian-10(14),11(13)-dien-12,6 α -olid) bileşiğinin insan epitel ve insan kolon kanser hücre hatlarına karşı in vitro olarak sitotoksitesite test edilmiştir. Test edilen üç bileşiğin her iki hücre hattına karşı sitotoksik aktivite sergilemediği görülmüştür (116).

Lactuca steriolla bitkisinin toprak üstü kısımlarının metanol ekstresinin ve uçucu yağlarının antikanser aktivitesi araştırılmıştır. Metanol ekstresi insan kolon hücresi, küçük hücreli olmayan akciğer hücresi, insan karaciğer hücresi ve insan meme hücresi, hücre hatlarına karşı in vitro olarak sitotoksitesite açısından incelenmiş ve bu ekstre en iyi meme kanserine karşı yüksek sitotoksik aktivite göstermiştir. Uçucu yağların ise çalışılan hücre hatlarından karaciğer ve akciğer kanserine karşı normal seviyede sitotoksitesite aktivite sergilemiştir (57).

Lactuca serriola bitkisinin metanol ekstraktının karın zarı tümörüne karşı antitümör aktivitesini albino farelerde değerlendirmek için bir çalışma yapılmıştır. Bitki ekstraktının antitümör aktivitesi, ortalama sağkalım süresi kullanılarak değerlendirilmiştir. Ayrıca hayvanların bitki ekstraktının tedavisinden sonra hematolojik parametreleri (hemoglobinin içeriği, kırmızı ve beyaz kan hücreleri sayısı ve farklılaşmış hücre sayımı) iyileşme açısından incelenmiştir. Bitki ekstraktlarının uygulanması sonrasında kanserli hücrelerinin sayısı azalmış, sağkalım süresi artmış ve değişen hematolojik parametreler düzelmiştir. Sonuç olarak, *L. serriola* metanol ekstraktının önemli antitümör aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. *L. serriola* bitkisinin kimyasal içeriğinde triterpenoidler (lupeol, oleanene, lupeol asetat ve germinkol), flavonoidler ve seskiterpen gibi bileşikler bulunduğu bu bileşiklerin güçlü antitümör özelliklere sahip olduğu bilinmektedir. Flavonoidler aynı zamanda kanser hücrelerini öldürebilecek mekanizmaları tetikleyebilir ve tümörün yayılmasını engelleyebilir. *L. serriola* bitkisinin antitümör özellikleri bu bileşiklerden kaynaklanabileceği belirtilmiştir (117).

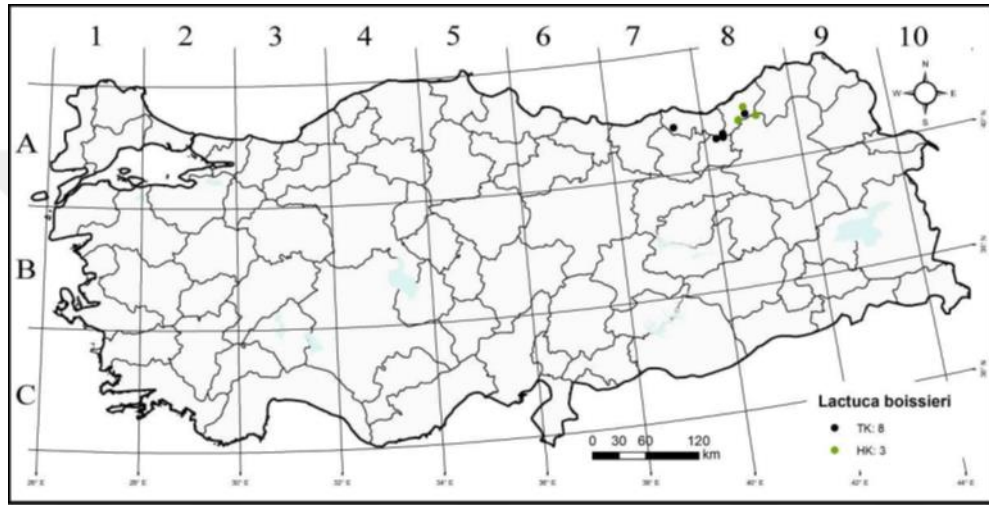
Lactuca indica bitkisinin kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımlarından hazırlanan metanol ekstrelerinin, beş farklı kanser hücre hattı (rahim, akciğer, gırtlak, böbrek, kolorektal) üzerindeki sitotoksitesi değerlendirilmiştir. Hücrelere ekstreler farklı konsantrasyonlarda 48 saat boyunca uygulandığında, kanserli hücrelerin oranı doza bağlı olarak düşmeye başlamıştır. *L. indica* yapraklarını metanol ekstresi, en iyi insan meme kanser hücrelerine karşı umut verici bir sitotoksik aktivite sergilemiştir (96).

Lactuca serriola bitkisinin alkolik ekstresinin kalp kas hücrelerinde dokrorubisin kaynaklı hücre ölümüne karşı koruyucu etkisi araştırılmıştır. Dokrorubisin, çeşitli katı tümörlerin tedavisinde kullanılan ama kullanımı kardiyotoksisiteye neden olan bir ilaçtır. Reaktif oksijen türleri bu patolojik süreçte önemli bir rol oynamaktadır. İlk olarak hücreler, 4 saat boyunca ekstrakt ile inkübe edilmiş ve ardından 24 saat boyunca dokrorubisin varlığında veya yokluğunda işlem görmüştür. Dokrorubisin hücre canlılığını önemli ölçüde azaltmış, bununla birlikte ROS üretiminde ve lipid peroksidasyonunda artışa neden olmuştur. *L. serriola* ile yapılan ön işlem, hücrelerin canlılığını arttırmış ve lipid peroksidasyonunu azaltmıştır. Sonuç olarak, ekstrenin oksidatif stres kaynaklı kalp kası hücre hasarına karşı koruyucu etki gösterdiği görülmüştür (118).

2.5. Tez Kapsamında Çalışılan Türler Hakkında Genel Bilgiler

2.5.1. *Lactuca boissieri* Rouy.

Lactuca boissieri bitkisi halk arasında “koca marul” olarak bilinen, endemik bir türdür. Türkiye’nin Doğu Karadeniz Bölümü’nde 1600-2250 m yükseklikte, dere kenarlarında doğal olarak yetişmektedir (Resim 1). Çiçeklenme zamanı Temmuz-Ağustos aylarıdır (119).



Resim 1. *Lactuca boissieri* bitkisinin yayılış haritası (Güzel’den, 119)

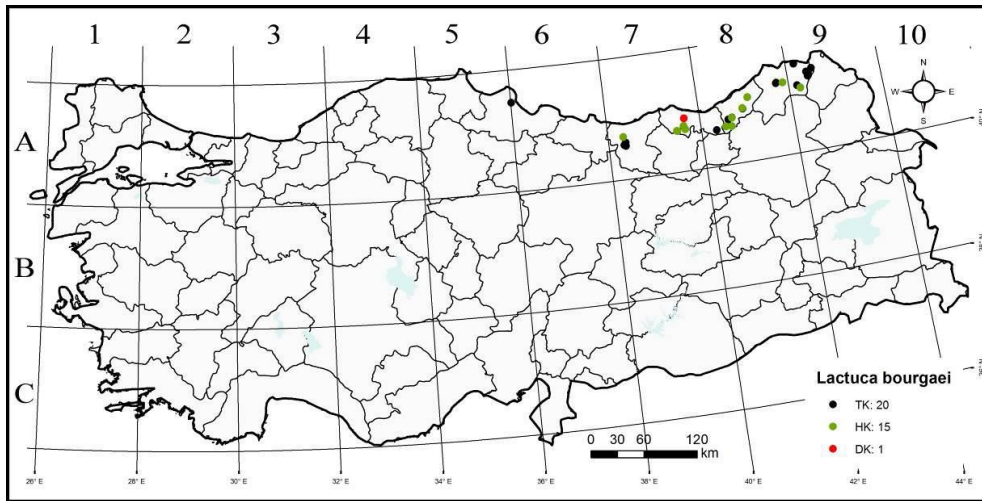
Çok yıllık, otsu ve parçalı rizomlu bir bitkidir (Resim 2). Gövdesi 82-195 cm, dik, çizgili, genellikle dallanmamış veya bazen üstten dallanmış ve tüysüz. Yapraklar damarlar boyunca setoz tüylü. Çiçek kurulu şemsiyemsi veya panikula, başçık (kapitulum) sayısı genelde 50’den fazla, tüysüz, bazen çok seyrek salgı tüylü. Çiçekler sarı, boğaz kısmı tüylü, korolla tüpü 3.2-3.4 mm, dilsel kısım 11.4-14.4×1.7-2.3 mm. Aken gövdesi elipsoid, yassı, 5.5-8×1.4-1.8 mm (gaga dahil), yüzeyi yüksek büyütmeye çıkıntılı, kahverengimsi-siyahımsı, sırt çizgi sayısı her bir yüzeyde 5-7, gaga kısa ve sağlam, 0.8-1.8 mm, uca doğru daralıp rengi açılarak belirgin bir disk ile sonlanır. Papus iki halka halinde, beyaz, içtekiler kırılabilir-düşücü, skabrid, dıştaki kalıcıdır (119).



Resim 2. *Lactuca boissieri* bitkisinin genel görünümü (Güzel'den, 119)

2.5.2. *Lactuca bourgaei* Boiss.

Lactuca bourgaei bitkisi halk arasında “dere marulu” olarak bilinmektedir. Dünya’da Transkafkasya (Abhazya, Acaristan, Gürcistan) Türkiye’de ise Doğu Karadeniz Bölümü’nde 450-2200 m yükseklikte, çalılık içlerinde doğal olarak yetişmektedir (Resim 3). Çiçeklenme zamanı Temmuz-Ağustos-Eylül aylarıdır (119).



Resim 3. *Lactuca bourgaei* bitkisinin yayılış haritası (Güzel'den, 119)

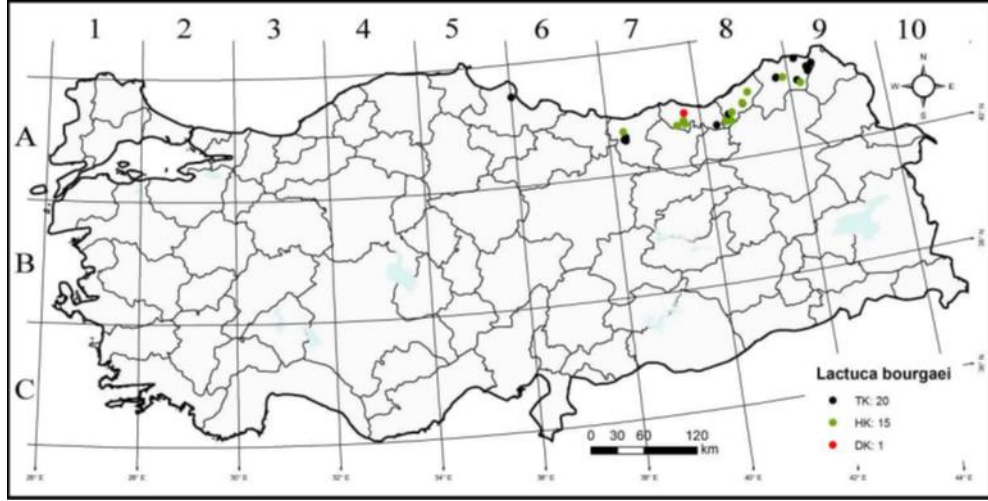
Çok yıllık, otsu, rizomlu, sağlam bir bitki (Resim 4). Gövde 80-300 cm, dik, çizgili, genelde tabandan dallanmış, nadiren dallanmamış, üste doğru azalan yoğun kısa kıvrık tüylü. Yapraklar damarlar boyunca kısa kıvrık (krispit pubescent) tüylü. Çiçek kurulu panikula, başçık (kapitulum) sayısı genelde 50'den fazla, tüysüz veya kısa kıvrık tüylü. Çiçekler mavi-açık mor, boğaz kısmı tüylü, korolla tüpü 4.5 mm, dils kısmı 14-16×2 mm. Aken elipsoid-lanseolat, yassı, az-çok oraksı (falkat), 4-4.7×1-1.2 mm (gaga benzeri yapı dahil), yüzeyi yüksek büyütmede çıkıntılı (murili), diske doğru beyazımsı hispid tüylü, açık-koyu kahverengi, sırt çizgi (rib) sayısı her bir yüzeyde 6-7, uca doğru daralarak belirsiz gaga benzeri bir yapıya (0.4-0.7 mm) sahip ve belirgin bir disk ile sonlanır. Papus iki halka halinde, beyaz, içtekiler kırılabilir-düşücü, skabrid, dıştaki, kalıcıdır (119).



Resim 4. *Lactuca bourgaei* bitkisinin genel görünümü (Güzel'den, 119)

2.5.3. *Cicerbita petiolata* K. Koch

Cicerbita petiolata bitkisi halk arasında “Sütlümoğ” olarak adlandırılmaktadır. Dünya’da Kuzey Kafkasya, Transkafkasya, Türkiye’de ise Orta ve Doğu Karadeniz Bölümü’nde 350-2300 m yükseklikte, nemli çalılık içlerinde doğal olarak yetişmektedir (Resim 5). Çiçeklenme zamanı ise Temmuz-Ağustos-Eylül aylarıdır (119).



Resim 5. *Cicerbita petiolata* bitkisinin yayılış haritası (Güzel'den, 119)

Çok yıllık, otsu, rizomlu, sağlam bitki (Resim 6). Gövde 45-250 cm, dik, çizgili, genelde dallanmamış, bazen üstten dallanmış, alt kısmı tüysüz, üst kısmı (çiçek kurulu dahil) salgı-basit tüylü. Yapraklar genelde tüysüz, bazen orta damar setuloz tüylü. Çiçek kurulu panikula, başçık (kapitulum) sayısı genelde 50'den fazla, yoğun salgı-basit tüylü. Çiçekler mavi-açık mavi, boğaz uzun kısmı tüylü, korolla tüpü 3.3-3.7 mm, dilsel kısım ise 10-14.3×4-2 mm. Aken linear, silindirik, 4.2-4.4×5.8-6 mm, yüzeyi yüksek büyütmede çıkıntılı, sırt çizgileri çok kısa beyazımsı tüylü, açık kahverengi, sırt çizgi (rib) sayısı 5, tabana doğru daralarak sonlanır, ucu kesik. Papus sarımsı, kalıcı-sağlam, kısmen barbellat (119).



Resim 6. *Cicerbita petiolata* bitkisinin genel görünümü (Güzel'den, 119)

2.6. Sekonder (İkincil) Metabolitler

Canlı organizmalardaki metabolizma, enerji üreten, büyüme ve doku gelişimi için gerekli maddeleri sağlayan, organizmanın farklı koşullarda hayatta kalmasına yardımcı olan ve bir dizi enzim tarafından kontrol edilen kimyasal reaksiyonlar olarak tanımlanır. Metabolizmanın ara ve son ürünlerine metabolitler denilir. Bu ürünlerin organizma içerisinde sinyal iletimi, enzimleri uyarma veya inhibe etme, kendi katalitik aktivitelerini sağlama, savunma ve diğer organizmalarla etkileşime girme gibi çeşitli fonksiyonları bulunur. Bitkiler kendi bünyelerinde bir dizi kimyasal bileşiği sentezleme kapasitesine sahiptir. Sentezlenen bileşikler biyosentetik kökenlerine ve biyokimyasal rollerine bağlı olarak birincil ve sekonder (ikincil) metabolitler olarak iki ana gruba ayrılır (120, 121).

Birincil metabolitler, tüm hücrelerde bulunan ve bu hücrelerin metabolizması ve üreme süreçlerinde merkezi bir rol oynayan bileşiklerdir. Bu bileşikler, bitkinin yapısı ve yaşamı için gerekli olan karbonhidratlar, proteinler, nükleik asitler ve yağlar gibi maddeleri içerir. Genellikle polimerik ve kimyasal olarak büyük moleküllerdir. Organizmaların enerji düzenlemesi ve dokuların büyüme ve gelişmesinde yer alırlar. Organizmanın yapı taşlarıdır (121).

Bitki sekonder metabolitleri, birincil metabolitlerin aksine fotosentez ve solunum gibi bitkinin temel metabolik süreçlerine doğrudan katılmayan ancak bitkilerin çevresiyle etkileşimini etkileyerek uzun süre hayatta kalmalarını sağlayan bileşikler ifade eder. Bu nedenle bu bileşiklere ikincil (sekonder) metabolitler denilir (122, 123). İkincil metabolitler bitkinin kabuk, gövde, yaprak, kök, rizom, çiçek, tohum ve meyve gibi kısımlarında doğal olarak üretilir (124). Bitkiler genel olarak bu bileşikler, renk ve uçucu kokularıyla tozlayıcıları çekerek döllemeyi artırmak, salgıladıkları zehirli kimyasallar ile bakteri mantar ve virüs gibi patojenleri uzaklaştırmak, meyvelerdeki kimyasal bozulmayı önlemek, avcılara karşı korunmak ve kuraklık, ağır metaller, UV ışınları gibi çevresel koşullara karşı direnç oluşturmak için üretirler (121). İkincil metabolitlerin biyosentezi, çeşitli çevresel tetikleyiciler tarafından başlatılır. Tetikleyici faktörler genellikle uyarıcılar olarak adlandırılır ve bunlar abiyotik (yüksek veya düşük sıcaklık, basınç, ışık, kuraklık, tuzluluk ve UV-stresi) veya biyotik (mantarlar, mayalar, bakteriler) kökenli olabilir. Çevresel faktörler sürekli değiştiği için sekonder metabolitlerin üretimi stres, mevsimsel değişiklikler ve organizmanın gelişim aşamalarına bağlı olarak artar veya azalabilir (123).

Sekonder metabolitler içerdikleri kimyasal çeşitlilik sayesinde antioksidan aktivite, antimikrobiyal etki, enzimlerinin modülasyonu, bağışıklık sisteminin uyarılması, pıhtı oluşumunu önlemek, hormon metabolizmasının modülasyonu ve antikanser gibi birçok biyolojik özelliklere sahiptir. Bitkilerin kendilerini korumak için bu kimyasalları ürettikleri bilinse de yapılan araştırmalar bu bileşiklerin aynı zamanda insanları çeşitli hastalıklara karşı koruduğunu göstermiştir (125, 126).

Bitki sekonder metabolitleri biyosentetik kökenlerine veya temel kimyasal fonksiyonel gruplarına göre fenolik bileşikler, terpenler ve alkaloidler olarak sınıflandırılmıştır. Bu bileşikler bitki hücrelerinde, dokularında ve organlarında geniş bir şekilde dağılmıştır (127).

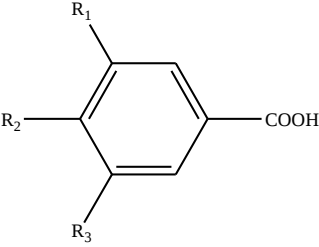
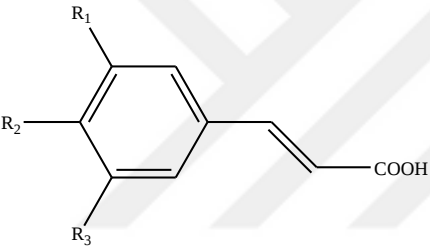
2.6.1. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler diğer adıyla polifenoller, bitkinin yaprak, meyve, kök ve gövde gibi çeşitli organlarında üretilebilen, birçok biyolojik fonksiyona sahip sekonder metabolitlerdir (128). Yapısal olarak en az bir aromatik halka taşıyan ve bir veya daha fazla hidroksil grubu içeren bileşiklerdir. Genellikle serbest halde değil esterler veya glikozitler olarak bulunurlar. Bitkilerdeki fenolik bileşik içeriği, bitkinin yetiştiği çevresel koşullar ve genetik özelliklerine bağlı olarak değişebilir (129, 130).

Fenolik bileşikler bitkilerin üreme ve büyüme süreçlerinde temel fonksiyonları yerine getirmenin yanı sıra patojenlere ve avcılara karşı doğal bir savunma mekanizması olarak görev yaparlar. Bazı bileşikler, ultraviyole koruma ve sinyal iletimi gibi belli görevler için önemlidir. Ayrıca renk ve tat özellikleri olmak üzere bitki kaynaklı gıdaların ve içeceklerin temel organoleptik özelliklerinden sorumludurlar. Bitkilerde oynadıkları birçok rolün yanında fenolik bileşikler insan sağlığını destekleyen çeşitli biyolojik özelliklere sahiptir. Diyetimizdeki meyve, sebze ve tahıllarda bulunan polifenoller, vücudumuzdaki önemli antioksidan, antibakteriyel ve antiviral kaynaklardan biridir. Polifenollerin bu özellikleri kanser, kardiyovasküler hastalıklar, astım, yara iyileşmesi, osteoporoz ve yaşlanma ile ilişkilendirilen dejeneratif hastalıkların hasarını azaltmaya yardımcı olmaktadır. Bitkiler aleminde birçok türde bulunan fenolik bileşikler, karbon atomu sayısına ve karbon zinciri yapısına bağlı olarak genellikle fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki ana sınıfa ayrılır. Fenolik bileşikler arasında, flavonoidler insan diyetindeki fenoliklerin üçte ikisini temsil ederken, kalan üçte birlik kısım fenolik asitlerden oluşmaktadır (131).

2.6.1.1. Fenolik Asitler

Fenolik asitler aynı zamanda hidroksibenzoatlar olarak da bilinir. Bu bileşikler doğada genellikle serbest formda değil ligninler veya hidrolizlenebilir tanenler gibi kompleks yapıların bileşenleri olarak bulunurlar. Yapılarındaki karbonil grubunun varlığı nedeniyle asidik karaktere sahiptirler. Fenolik asitler hidroksibenzoik asitler ve hidroksisinnamik asitler olmak üzere iki gruba ayrılır (Şekil 1). Bu gruplar arasındaki temel fark, aromatik halkalarındaki hidroksil ve metoksil gruplarının konumları ve sayılarıdır (130).

Temel Yapıları	Fenolik asit	R1	R2	R3
	Hidroksibenzoik asit	H	OH	H
	Protokateşik	OH	OH	H
	Vanilik	OCH ₃	OH	H
	Sirinjik	OCH ₃	OH	OCH ₃
	Gallik	OH	OH	OH
	Kafeik	H	OH	H
	Ferulik	OH	OH	H
	Sinamik	OCH ₃	OH	H
	Sinapik	OCH ₃	OH	OCH ₃

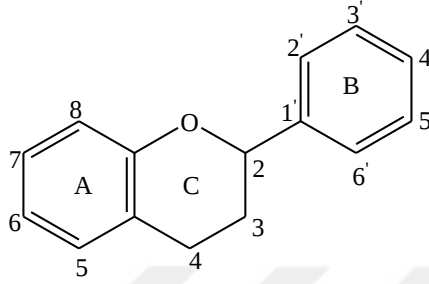
Şekil 1. Fenolik asitlerin sınıflandırılması (Cebeci'den, 130)

Hidroksibenzoik asitler, C₆-C₁ yapısında ve genellikle esterler halinde bulunur. Fenol üzerinde bir karbonil grubunun bulunması, hidroksibenzoik asitlerin temel özelliğidir. Bu sınıftaki gıdalarda bulunan en yaygın fenolik asitler gallik asit (çay ve üzüm çekirdekleri), vanilik asit, p-hidroksibenzoik asit, sirinjik asit, ellajik asit ve protokateşik asitlerdir.

Hidroksisinnamik asitler, C₆-C₃ yapısında genellikle ester, amid veya şekerlerle konjüge olarak bulunur. Çoğunlukla kuinik asit, şikimik asit ve tartarik asitin esterleri olarak bulunurlar. Bu fenolik asitler arasında, kafeik asitler meyvelerdeki toplam hidroksisinnamik asitlerin %75'ini oluşturan büyük bir gruptur. Hidroksisinnamik asit türevlerinin en önemli bileşikleri kuinik asit ve kafeik gibi hidroksisinnamik asitlerin esterleri olan klorojenik asitlerdir (130).

2.6.1.2. Flavonoidler

Flavonoidler ($C_6-C_3-C_6$), İki benzen halkasının (A ve B halkası) oksijen içeren heterosiklik piran halkasıyla (C halkası) birbirine bağlandığı 15 karbon atomu içeren bitki bileşenleridir (Şekil 2) (128, 130).

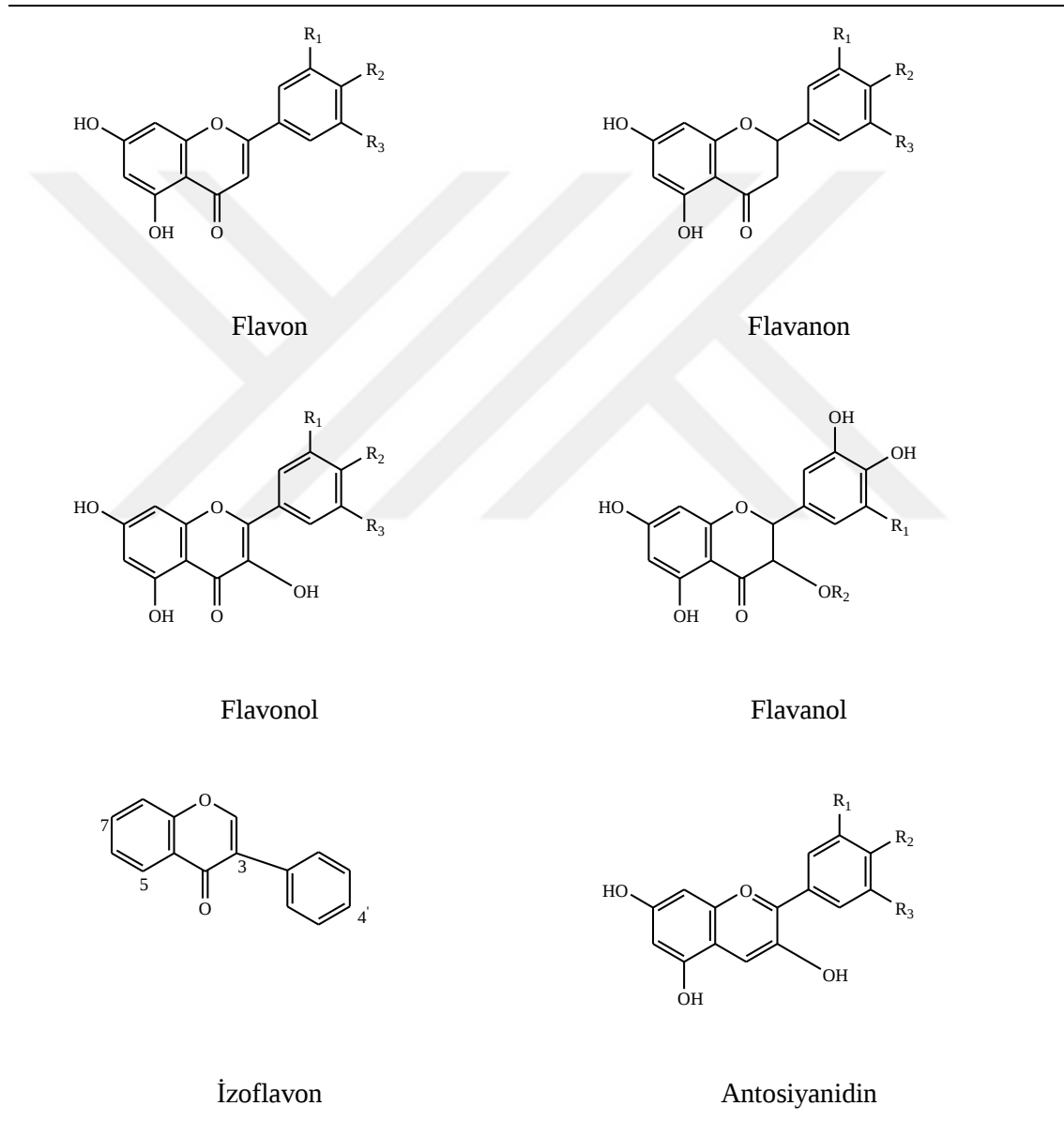


Şekil 2. Flavonoidlerin kimyasal yapısı (Cebeci'den, 130)

Flavonoidler bitkinin kök, gövde, yaprak, çiçek ve meyveler dahil olmak üzere tüm bölümlerinden salgılanan, düşük molekül ağırlıklı biyoaktif polifenollerdir. Doğada çoğunlukla aglikon şeklinde değil glikozitler halinde bulunurlar. Bu bileşikler meyvelere, çiçeklere ve yapraklara farklı renk tonları kazandırarak bitkinin tozlayıcı böcekleri çekmesine yardımcı olurken zararlı böceklerle ve UV ışınlarına karşı da bitkileri korurlar. Ayrıca fotosentez sürecinde katalizör olarak işlev görürler. Bitkilerdeki flavonoid miktarı kuraklık, ışık, ağır metaller, ultraviyole radyasyon, ozon, sıcaklık gibi farklı çevresel koşullara bağlı olarak değişmektedir (132, 133).

Bitkilerdeki fizyolojik rollerinin ötesinde flavonoidler insanlar üzerinde birçok önemli fizyolojik, biyolojik ve biyokimyasal etkiye sahiptir. Flavonoidlerin en iyi bilinen özelliklerinden biri in vitro ortamda serbest radikalleri temizleyen güçlü antioksidan moleküller olmalarıdır. Flavonoidlerin çekirdek yapısındaki fonksiyonel grupların konfigürasyonu ve -OH gruplarının sayısı bu bileşiklerin antioksidan aktivitesini etkilemektedir. Ana antioksidan özelliğinin yanı sıra flavonoidler aynı zamanda anti-inflamatuar, antiülser, antiviral, anti-kanser, anti-diyabetik ve sitotoksik etki olmak üzere birçok farklı biyolojik aktiviteye de sahiptir (128, 132).

Flavonoidler, B halkasının bağlandığı C halkasının karbonuna, C halkasının doymamışlık ve oksidasyon derecesine bağlı olarak farklı alt gruplara ayrılabilir. B halkasının C halkasının 3. konumunda olduğu flavonoidlere izoflavonlar denir. B halkasının C halkasının 2. konumunda olduğu flavonoidler, C halkasının yapısal özelliklerine göre altı alt gruba ayrılır. Bu alt gruplar, flavonlar, flavanonlar, flavonoller, flavanol ve antosiyaninlerdir (Şekil 3) (128).



Şekil 3. Flavonoid alt gruplarının temel kimyasal yapıları (Karak'dan, 128)

Farklı flavonoid sınıflarının örnekleri ve bazı gıda kaynakları Tablo 1’de verilmiştir. Fitokimyasallar olarak flavonoidler insanlar ve hayvanlar tarafından sentezlenemezler. İnsan diyetinde en yüksek miktarda bulunan flavonoidler, soya izoflavonları, flavonoller ve flavonlardır (128).

Tablo 1. Flavonoid alt gruplarının örnekleri ve gıda kaynakları (Karak’dan, 128)

Sınıfı	Örnekleri	Gıda Kaynağı
Flavonlar	Apigenin Luteolin	Kereviz, maydanoz, kırmızı biber
Flavanonlar	Hesperedin Naringenin	Narenciye meyveleri, limon, portakal
Flavonoller	Kuersetin Kaemferol Mirisetin	Elma, Üzüm, Zeytin, soğan, brokoli
Flavanoller	Epikateşin Epigallokateşin	yeşil çay, siyah çay, şeftali,
İsoflavonoidler	Genistein Daidzein	Fasulye, nohut, soya fasülyesi
Antosiyanidinler	Malvidin Delfinidin Siyanisin Peonidin	Portakal, kırmızı lahana, patlıcan, üzüm, erik

2.6.2. Alkaloidler

Alkaloidler, sekonder metabolitlerinin oldukça geniş bir sınıfını oluşturur. Doğada, genellikle bitkilerin tohumlarında ve köklerinde çok miktarda bulunurlar. Alkaloidler basit amino asitlerden sentezlenen, genellikle bir heterosiklik halka içinde bir veya daha fazla azot atomu içeren moleküllerdir. Alkaloidlerin temel özellikleri reaksiyonlarda bazik karakter göstermeleridir. Baziklik derecesi, molekülün yapısına, fonksiyonel grupların çeşidine ve konumuna bağlı olarak önemli ölçüde değişir. Bir alkaloidde bulunan bir veya daha fazla azot atomu 1°, 2° veya 3° amin olarak alkaloidin bazik özelliklerine katkıda

bulunur. Azot atomları asitlerle reaksiyona girerek alkaloidlerin suda çözünür kristal tuzlarını oluştururlar (134, 135).

Alkaloidlerin tadları acıdır ve çok toksiktir. Bu nedenle bitkilerin herbivorlar ve patojenlere karşı kimyasal savunmasında önemli rol oynarlar. Ayrıca bu bileşikler UV radyasyonu tarafından neden olabilecek hasara karşı koruyucu etki gösterirler. Alkaloidler güçlü biyolojik aktivitelerinden dolayı ilaç, uyarıcı ve zehir olarak kullanılırlar. Atropin, konin, morfin, kodein, efedrin gibi birçok alkaloid çok miktarda alındığında zehirlidir ancak daha düşük dozlarda alındığında yararlı ilaçlardır. Kokain, nikotin ve kafein gibi alkaloidler, dünya çapında uyarıcı veya sakinleştirici olarak kullanılmaktadır. Alkaloidlerin antimikrobiyal, antiviral, anti-inflamatuar, antikanser, antimalaryal ve analjezik gibi çeşitli biyolojik aktiviteleri bulunmaktadır (135, 136).

2.6.3. Terpenler

Terpenler, terpenoidler olarak da bilinen ikincil metabolitlerin en büyük sınıfını oluşturur. Bu bileşiklerin karbon iskeletleri izopren (C_5H_8) birimlerinin baş-kuyruk şeklinde art arda bağlanmasıyla oluşur. Terpenler karbon iskeletindeki izopren birimlerinin sayısına göre sınıflandırılır. İki ila altı izopren birimi bir araya gelmesiyle monoterpenler (on karbonlu), seskiterpenler (on beş karbonlu), diterpenler (yirmi karbonlu), sesterterpenler (yirmi beş karbonlu), triterpenler (otuz karbonlu) ve tetraterpenler (kırk karbonlu) oluşur. Terpenlerin alkol, aldehit, ester, eter, keton ve fenol gruplarıyla oksijenlenmiş şekline terpenoidler denilir (134, 137).

Terpenik bileşikler bitkilerin reçine kanallarında, trikomalarda, yaprak yüzeylerindeki özel koku bezlerinde ve uçucu yağlarda sıvı formda bulunurlar. Bu bileşikler içeren bitki örnekleri arasında çam, köknar, nane bitkisi, limon, fesleğen, adaçayı ve mısır bulunmaktadır. Bitkilere aroma ve koku veren lipofilik maddelerdir. Birçok otobur böcek için toksik etki gösterirler. Bu nedenle bitkilerin savunmasında önemli rol oynarlar (134, 137, 138).

Terpen ve terpenoidler insan sağlığı için de önemli bileşiklerdir. İn vitro ve in vivo ortamlarda antikanser, antimikrobiyal, antiinflamatuar, antioksidan, antialerjik, nörokoruyucu, sedatif ve analjezik olarak çeşitli hastalıkların tedavisinde önemli bir rol oynarlar. Bu grup içindeki karotenoid ve tokofenol bileşikler vitaminlerin temel kaynaklarıdır. Terpenik bileşikler farmasötik, gıda ve içecek ürünleri, kozmetik, parfümler,

sentetik kimyasallar, aroma, lastik ürünleri ve biyoyakıt endüstrisinde geniş bir şekilde kullanılmaktadır (137).

Monoterpenler ve seskiterpenler sınıfı bileşikler bitkileri sadece zararlı otçullara ve mikrobiyal enfeksiyonlara karşı korumaz aynı zamanda tozlayıcıları çekmek için sinyal bileşikleri olarak da görev yaparlar. Kasımpatı bitkisinde bulunan monoterpen esterler, insektisidal aktivite gösterirler. Bir triterpen grubu olan limonoidler, otoburlara karşı beslenme engelleyici özellikleri ile bilinir. Terpenlerin büyük çoğunluğu bitkilerin büyüme ve gelişiminde de çeşitli roller üstlenirler. Örneğin, giberellinler (diterpenler) ve brassinosteroidler (triterpenler) büyümeyi düzenleyen önemli bitki hormonlarıdır. Steroller, triterpen türevleri olup fosfolipidlerle etkileşime girerek hücre zarının bütünlüğünü arttıran temel bileşenlerdir. Karotenoidler, tetraterpenler olarak sınıflandırılır ve fotosentezde yardımcı pigmentler olarak görev yaparak fotosentetik dokuları foto-oksidasyona karşı korurlar. Ayrıca bazı bitkilere sarı, kırmızı ve turuncu gibi renkleri veren karotenoidlerdir. Dolikoller, uzun zincirli politerpen alkoller olarak hücre duvarı ve glikoprotein sentezinde şeker taşıyıcıları olarak görev yaparlar. Klorofilin yan zincirleri olan fitoller ise belirli molekülleri zar membranlarına bağlamak için kullanılırlar (138, 139).

2.7. Uçucu (Esansiyel) Yağlar

Uçucu yağlar, esansiyel yağlar olarak da adlandırılan genellikle oda sıcaklığında sıvı formda bulunabilen, kolayca kristalleşebilen, bitkilerden çeşitli yöntemlerle elde edilen, renksiz veya açık sarı renkli yağimsı sıvılardır. Bu yağlar, bitkinin tüm organlarından (çiçek, sap, tohum, meyve, tomurcuk, yaprak vb.) sentezlenir ve salgı hücrelerinde, epidermis hücrelerinde veya bezli tüylerde depolanırlar. İklim faktörleri, bitkinin metabolizma hızı ve bez tüylerinin farklılaşması uçucu yağ sentezi ve salgılanmasını etkileyen önemli faktörlerdendir. Bu bileşenlerin en karakteristik özelliği, bulundukları bitkilere belirgin bir koku, tat vermesi ve oda sıcaklığında uçucu ve aromatik olmalarıdır (140, 141).

Uçucu yağlar kimyasal olarak karmaşık karışımlardır ve bitkinin biyolojik aktivitesinden sorumlu, farklı konsantrasyonlarda, düşük molekül ağırlığında ve karakteristik kokuya sahip çeşitli bileşiklerden oluşurlar. Bu bileşikler iki ana grupta sınıflandırılır. İlk ve ana grup terpenler ve terpenoidlerden oluşurken, ikinci grup fenol, sinnamaldehit, eugenol, elemisin, metoksil türevleri, miristisin, aldehit, asit, alkol, keton,

eter, lakton gibi aromatik ve alifatik bileşenleri içerir. Bu bileşenler arasında terpenler ve terpenoidler uçucu yağlarda çok yüksek konsantrasyonlarda bulunur ve yağın koku ve lezzetine önemli ölçüde katkı sağlarlar. Terpenoidlerin en önemli bileşenleri, monoterpenoid ve seskiterpenoid ailelerine aittir. Oksijenli bileşikler, diğer bileşenlere kıyasla oksitlemeye karşı daha stabil ve seyreltik alkolde daha iyi çözünürdür. Diğer yandan, monoterpenler ve seskiterpenler gibi doymamış bileşiklerin hava ve ışık etkisi altında kolayca oksitlenme veya reçinelenme eğilimi vardır bu durum uygun olmayan saklama koşulları altında bozulma, koku ve tat kaybı ve alkolde çözünürlüğün azalması anlamına gelir. Uçucu yağların kimyasal bileşimi bitki türüne, bitkinin yetiştiği coğrafi alanın yapısına ve iklimine bağlı olarak değişir (141, 142).

Aromatik bitkilerden elde edilen esansiyel yağlar, antibakteriyel, insektisit ve antiviral özelliklere sahip olmalarından dolayı bitki korumasında önemli rol oynayan maddelerdir. Ayrıca otçuları ve tozlaşma yapan hayvanları polen ve tohum dağıtımı için çekme veya uzaklaştırma özellikleri nedeniyle önemlidirler (143).

Bugün uçucu yağlar, deterjanlardan sabunlara, tuvalet ürünlerinden kozmetiklere, ilaçlardan parfümlere, şekerleme ürünlerinden gazlı içeceklerle ve insektisitlere kadar çeşitli tüketici ürünlerinde kullanılmaktadır. En büyük uçucu yağ kullanımının gıda (lezzet vericiler olarak), parfümler (kokuları için) ve ilaç (fonksiyonel özellikleri için) sektörlerinde olduğu belirtilmiştir. Örneğin, limonen ve geranil asetat bileşikler parfümlerde, kremlerde ve sabunlarda kullanılır (141, 143).

2.7.1. Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri

Uçucu yağlar bitkilerin farklı dokularından hidrodistilasyon, çözücü ekstraksiyon ve mekanik yöntem gibi çeşitli yöntemlerle elde edilirler. Kullanılan yöntemlere göre esansiyel yağların verimi, kimyasal bileşenleri ve kompozisyonu önemli ölçüde etkilenir ve bunun sonucunda çıkarılan yağın biyolojik aktivitesi değişebilir (142, 144). Elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşenlerinin analizi, gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) kullanılarak gerçekleştirilir. Bu analitik yöntem, uçucu yağların bileşenlerini hem nitel hem de nicel olarak incelemeyi sağlar. Gaz kromatografisi, bileşikler cihazda tutunma sürelerine göre ayırırken, kütle spektrometrisi bu bileşenlerin kütle ve kimyasal yapılarına dayanarak referans standartlarla karşılaştırır ve bileşikler tanımlar (145).

Hidrodistilasyon, bitkilerden uçucu yağ çıkarmak için kullanılan geleneksel bir yöntemdir. Bu yöntemde bitki materyali doğrudan su içeren bir balona konulur ve hem bitki hem de suyla birlikte kaynatılır. Balonda oluşan buhar karışımı (su+yağ), soğutucuya geçer ve bu sayede su ve yağ yoğunlaşır. Yağın ve suyun yoğunluk farklarından dolayı yağ yüzeye çıkar ve kolayca sudan ayrıştırılıp elde edilir. Clevenger tipi düzenek, esansiyel yağların hidrodistilasyonu için en yaygın kullanılan düzendir. Tez çalışmasında kullanılan Clevenger düzeneği Resim 7’de gösterilmiştir (142, 146).



Resim 7. Uçucu yağ elde etmek için kullanılan Clevenger düzeneği

Çözücü ekstraksiyon, bitkilerin çiçek gibi hassas kısımlarından esansiyel yağ çıkarmak için uygun bir yöntemdir. Çiçekler ilk olarak hidrokarbon çözücülere (hekzan, petrol eteri) maruz bırakılarak çözücülerin çiçeklere nüfuz etmesi sağlanır. Böylece çözücüler aromatik molekülleri ve pigment içeren bitki malzemelerini çözer. Ardından çözücü, düşük sıcaklıklarda vakum altında buharlaştırılarak karışımdan ayrılır. Bu adımdan

sonra geriye esansiyel bileşikleri içeren yağimsı sıvı kalır. Bu yöntemin başlıca dezavantajı, çıkarılan esansiyel yağ tamamen saf olmayabilir çünkü içinde kalıntı çözücüler kalabilmektedir.

Mekanik yöntem, limon, portakal ve greyfurt gibi yüksek yağ içeriğine sahip narenciye meyveleri için yaygın olarak kullanılan yöntemdir. Uçucu yağ, narenciye meyvelerin kabukları bez bir torbaya koyulduktan sonra preslerde sıkılarak elde edilir. Soğuk sıkmanın bazı avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır. Bu yöntem daha çok meyvede bulunan ısıya duyarlı oksijen içeren bileşenlerin elde edilmesi için uygundur. Ancak elde edilen uçucu yağ kolayca okside olma eğilimindedir ve diğer yöntemlerle elde edilen uçucu yağlara kıyasla depolama ömürleri daha kısadır (142).

2.8. Kromatografi

Kromatografi, bir karışımda homojen olarak dağılmış bileşenlerin hareketli bir faz yardımıyla, sabit bir faz üzerinden geçerken, farklı hızlarda sürüklenerek ayrılması ve saflaştırılması yöntemidir. Kromatografi yöntemi, ilk olarak Rus botanikçi Mikhail Tsvett (1903) tarafından geliştirilmiştir. Tsvett bu yöntemi bitki pigmentlerinin renkli bileşenlerini birbirinden ayırmak için kullanmıştır. Kolon içinde renkli bantlar oluştuğu için bu ayırma yöntemine kromatografi adını vermiştir (147).

Kromatografik yöntemleri kullanarak, kimyasal ve fiziksel olarak benzer bileşenlerden oluşan karışımları tamamen ayırmak ve saflaştırmak mümkündür. Ayrım sırasında hareketsiz faza daha yüksek afinitesi olan madde, daha düşük afinitesi olan maddeye göre çok daha yavaş bir hızla hareket eder. Karışımı oluşturan bileşenlerin göç hızları arasındaki fark, bileşenleri ayrı bantlara ayırır ve bu bölgeler nitel ve nicel olarak analiz edilebilir. Sabit faz, katı ya da sıvı olabilir. Eğer sabit faz katı ise ayrım polarite farklılığına göre gerçekleşirken, sabit fazın sıvı olması durumunda ayrım çözünürlük farkına göre gerçekleşir. Hareketli faz (mobil faz) ise sıvı veya gaz olabilir (147, 148).

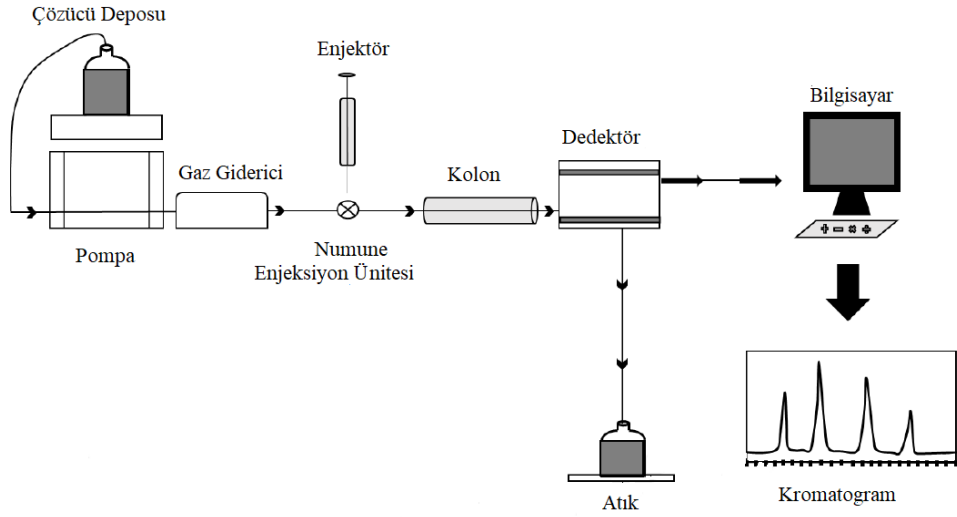
Son yıllarda kromatografik yöntemlerin basitliği, hızlılığı ve etkinliği sayesinde birçok molekül kromatografi teknikleri kullanılarak analiz edilmektedir. Kromatografik yöntemler kullanılarak kalitatif ve kantitatif analizler gerçekleştirilebilir. Analiz edilecek moleküllere bağlı olarak birkaç kromatografik teknik bulunmaktadır. Bunlardan bazıları kağıt kromatografisi, adsorpsiyon kromatografisi, gaz kromatografisi, afinite kromatografisi, iyon değişim kromatografisi ve yüksek performanslı sıvı kromatografisidir (149).

2.8.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

Mobil fazın sıvı olduğu kromatografi yöntemine sıvı kromatografisi denir. Sıvı kromatografisinin en önemli avantajı, uçucu olmayan ve sıcaklığa duyarlı bileşiklerin analiz edilebilmesidir (150).

Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC), sıvı kromatografisinin bir çeşidi olup doğal bileşenlerin ayırması ve analizinde yaygın olarak kullanılan güçlü bir tekniktir. Yöntemin avantajları arasında basitlik, duyarlılık, özgüllük, yüksek çözünürlük, hız, hassasiyet, iyi tekrarlanabilirlik, geri kazanım ve doğruluk bulunmaktadır. HPLC, mobil fazın yerçekimiyle değil kolon boyunca bir pompa aracılığıyla akması esasına dayanmaktadır. Bu nedenle HPLC ile analiz yapabilmek için 42000 kPA'ya kadar basınç üretebilen bir pompa kullanmak gereklidir. Çözücü iletimi için pompaların kullanılması, daha güçlü, daha tutarlı ve ölçülü akışların programlanabileceği ve bunun sonucunda karmaşık karışımların saflaştırmalarının gerçekleştirilebileceği anlamına gelir. Ayrıca HPLC ile yapılan analizler normal sıvı kromatografisine göre çok daha hızlı gerçekleşir. HPLC dahil olmak üzere tüm kromatografi teknikleri temelde aynı prensibe dayanır. Numunede içindeki bileşenlerinin ayrımı, kolon içindeki mobil faz ve sabit fazdaki afinitelerinin farklılığına bağlıdır (151, 152).

Günümüzde kullanılan HPLC cihazları, pompa, enjektör, kolon ve kolondan çıkan maddelerin zamanlamasını ve miktarını kaydeden dedektör olmak üzere birkaç modülden oluşmaktadır. Bu mekanik parçalar tüm süreci kontrol eden özel yazılıma sahip bir bilgisayarla bağlantılıdır (Şekil 4) (153). HPLC analiz sonuçlarını etkileyen birkaç parametre bulunmaktadır. Bunlar arasında pik alanı ve alıkonma zamanı yer almaktadır. Hareketli fazda kullanılan çözücüler, deneyde kullanılan parametreler ve dedektörler alıkonma zamanını ve pik alanını etkileyebilir (149, 154).



Şekil 4. HPLC sisteminin şematik gösterimi (Kardil'den, 153)

HPLC sisteminde performansı etkileyen en önemli unsurlardan biri kolondur. Kullanılan kolon dolgu malzemesinin yapısı, partikül boyutu ve kolonun uzunluğuna bağlı olarak ayrımlar kolondan kolona değişiklik göstermektedir (155).

HPLC kolonları, mobil ve sabit fazın polaritelerine bağlı olarak normal faz ve ters faz olmak üzere 2'ye ayrılır. Normal faz kromatografide sabit faz polar (silika jel), hareketli faz ise apolar (hekzan, kloroform) özelliğindedir. Bu yöntem polar olmayan çözücülerde kolayca çözünen analitlerin daha verimli bir şekilde ayrılması için uygundur. Normal faz silika jel kolonları, nonpolar veya zayıf polar flavonoid aglikonlarının ayrılması için kullanılabilir. Ters fazda ise sabit faz apolar (silika jel üzerine bağlanmış alkil grupları) mobil faz ise polar (metanol, tetrahidrofuran) özelliğindedir. Fenolik bileşikler yapılarındaki hidroksil gruplarından dolayı polar yapıdadır ve ters faz kromatografi tekniğiyle ayrılırlar. Ayrıca aminoasitler, peptitler ve proteinlerde bu yöntemle saflaştırılabilirler (152, 156).

HPLC için kullanılan dedektör tipleri arasında UV-görünür, kırılma indisi, diyet dizisi dedektörü ve floresans dedektörler bulunmaktadır. Her dedektör türü, incelenen bileşiklerin farklı özelliklerini ayırt etme yeteneğine sahiptir. En yaygın kullanılan dedektör UV-görünür dedektörüdür. UV-görünür dedektörler, geniş bir dalga boyu spektrumu boyunca absorpsiyonları izlemek için kullanılır. UV-görünür dedektörler iyi bir duyarlılığa sahiptir ve 10^{-8} g/mL'ye kadar olan konsantrasyonları algılayabilirler. Organik

bileşiklerin çoğunu algılama avantajına sahiptir. Ancak UV bölgesinde emilim yapmayan bir numune bileşenini algılamak için kullanılamazlar (154, 156).

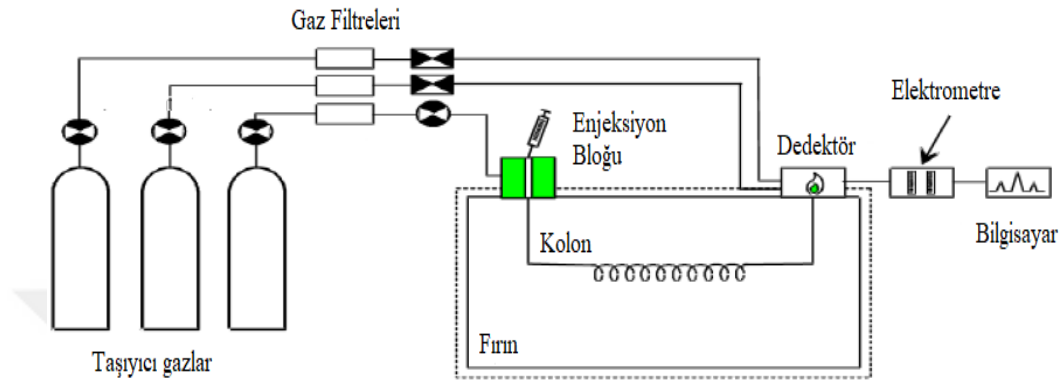
Diyot dizisi dedektöründe (DAD) döteryum veya tungsten lamba gibi geniş spektruma sahip bir ışık kaynağından gelen ışık, yüzlerce diyot içeren bir iyot dizisi üzerine düşer. Herbir diyotun farklı dalga boyundaki absorpsiyonlarının aynı anda ölçülmesi bu dedektörün en önemli avantajıdır. Aynı anda alınan spektrumlar sayesinde elde edilen bileşiklerin doğru olarak analiz edilmesi mümkün hale gelir (157, 158).

2.8.2. Gaz Kromatografisi

Gaz kromatografisi (GC), uçucu bileşenlerin ayrılmasında kullanılan bir kromatografi yöntemi çeşidir. Bir numune örneğinin gaz kromatografi ile analiz edilmesi için, analiz edilecek bileşenlerin molekül yapısı sıcaklık etkisiyle bozulmamalı, yüksek sıcaklıklara dayanıklı olmalı, buharlaşabilir ve molekül ağırlığı 400 atomik kütle biriminden küçük olmalıdır. Ayrıca numune bileşenleri hem taşıyıcı gazlarla hem de diğer maddelerle reaksiyona girmemelidir (159). Taşıyıcı gaz olarak adlandırılan ve sürekli kolon boyunca akan inert bir gaz hareketli fazı oluşturur. Genellikle kullanılan taşıyıcı gazlar helyum, nitrojen, azot ve hidrojen gazlarıdır. Helyum en yaygın olarak kullanılan gazdır. Hidrojen ise patlayıcı doğası nedeniyle daha az sıklıkla tercih edilir. Kullanılacak taşıyıcı gazın seçimi, numune örneklerine, detektöre ve taşıyıcı gazın saflık derecesine bağlıdır. Sabit faz ise katı veya inert bir destek malzemesine emdirilmiş sıvı olabilir (156, 160).

Gaz kromatografisi sistemi, taşıyıcı gaz, enjektör, sıcaklık kontrolü yapılan bir kolon, detektör ve bilgisayardan oluşur. Cihaza uçucu numune karışımı enjekte edildikten sonra numune sıcak enjeksiyon odasında buharlaşır. Ardından inert gaz akışı, buharı sürükleyerek, sabit fazı içeren ısınmış kolona taşır. Kolonda karışım gaz fazı ile sabit faz arasında farklı hızlarda gidip gelerek saf bileşenlerine ayırır. Bu bileşenler dedektör tarafından tespit edilir ve kromatogramı (pik alanı veya pik yüksekliği) kaydetmek için bilgisayara bir elektronik mesaj gönderilir. Numunenin cihaza enjekte edildikten sonra kolondan çıkana kadar geçen süreye tutunma zamanı (retention time) denilmektedir. Gaz kromatografisinde kalitatif analizler tutunma zamanlarına göre yapılırken, kantitatif analizler ise pik yüksekliği veya pik alanlarına göre yapılır. Taşıyıcı gazın istenilen akış hızına sahip olması önemlidir çünkü akış hızı bileşenlerin kolon içindeki hareketini etkiler. Daha hızlı akış hızı tutunma süresini azaltır. Genellikle akış hızı çalışma süresince sabit

tutulur. GC’de ayırımın verimliliği, bileşiklerin kolon içinde farklı hızlarda hareket etmesine bağlıdır. Hız, bileşiklerin uçuculuğuna, polaritesine, kolon sıcaklığına, gaz akış hızına ve kolon uzunluğuna bağlıdır. Şekil 5’de gaz kromatografi sisteminin şematik gösterimi verilmiştir (156, 159).



Şekil 5. Gaz kromatografisi sisteminin şematik gösterimi (Şahin’den, 159)

Ayrırma kolonları GC’nin en önemli parçalarından biridir ve dolgulu ve kapiller olmak üzere 2 tip kolon bulunur. Genellikle bu kolonlar, paslanmaz çelik, borosilikat cam veya alüminyum silikat cam gibi malzemelerden yapılmıştır. Kolonların sıcaklığı önemlidir. Uzun süre yüksek sıcaklığa maruz kalırsa kolonların ömrü azalabilir. Dolgulu kolonlar, genellikle iç çapları 2-4 mm ve uzunlukları 1.5-10 m olan sabit fazı katı (silikajel, alümina) olan kolonlardır. Bu tür kolonlar genellikle gaz analizi için kullanılır. Kapiller kolonlar, kapiller tüpten oluşur ve kolonun duvarları yaklaşık 0.2 μm ile 1 μm arasındaki kalınlıkta sıvı sabit faz ile kaplanmıştır. Bu tür kolonlar genellikle iç çapları 100 μm ile 500 μm arasında ve uzunlukları 10 m ile 100 m arasında değişen kapiller tüplere sahiptir. Kapiller kolonlar yüksek duyarlılık ve kısa analiz süresi ile dolgulu kolonlardan daha iyi ayırım sağlar. Gaz kromatografisinde bileşenler kolondan çıkarken dedektör ile etkileşime girerler. Dedektör tarafından tespit edilen her etkileşim, bir elektronik sinyale dönüştürülür. Bileşenlerin özelliklerini temsil eden bu elektronik sinyaller, veri sistemi adı verilen bir bilgisayar veya kayıt sistemine gönderilir. Burada her bir bileşenle ilgili bilgiler kaydedilir. Sinyalin büyüklüğü zamana karşı grafiksel olarak çizilir. Bu grafik, kromatogram olarak adlandırılır ve analistlere bileşenler hakkında bilgi verir. Bir dedektörün ideal olabilmesi için hedeflenen maddelere karşı yüksek hassasiyet göstermeli,

stabil ve tekrarlanabilir olmalıdır. Analiz edilecek madde konsantrasyonlarına karşı uygun bir lineer aralıkta çalışabilme kapasitesine sahip olmalıdır. Oda sıcaklığından başlayarak 400°C'ye kadar geniş bir sıcaklık aralığında çalışabilmelidir. Ayrıca algı-cevap süresi, akış hızından bağımsız olarak kısa olmalı, farklı madde türleri üzerinde geniş bir hassasiyet gösterebilmeli ve örnekten kaynaklanan olumsuz etkileri en aza indirebilmelidir. Yaygın olarak kullanılan bazı dedektörler arasında kütle spektroskopisi, alev iyonizasyon dedektörü, azot-fosfor dedektörü, elektron yakalama dedektörü ve termal iletkenlik dedektörü bulunmaktadır (156, 159).

Gaz kromatografisinde bileşenlerin tanımlanması, tutunma süreleri kullanılarak yapılır. Bununla birlikte bazı durumlarda iki veya daha fazla analit birbirine çok yakın tutulma sürelerine sahip olabilir. Bu durumda tanımlama daha zor hale gelir ve analitler hakkında daha fazla yapısal bilgi için kütle spektroskopisi kullanılması gerekebilir (160). GC-MS kullanılarak yapılan analizde, kolondan çıkan bileşenler bir iyon kaynağında iyonize edilirler. Bu genellikle elektron iyonizasyonu veya kimyasal iyonizasyon gibi yöntemlerle yapılır. İyonize edilmiş bileşenler, kütle spektroskopisine yönlendirilir. Bu aşamada iyonların kütle-yük oranları (m/e) ölçülerek bir kütle spektrumu elde edilir. Her bileşenin kütle spektrumu birbirinden farklıdır, bu nedenle bileşenlerin tanımlanmasında bu spektrumlardan yararlanılır. Elde edilen kütle spektrumu, bilgisayar programları aracılığıyla analiz edilir. Bu analiz, belirli bileşenlerin tanımlanması, ve karışımdaki oranlarının belirlenmesine yardımcı olur. Gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi (GC-MS) düşük konsantrasyonlardaki bileşenlerinin karakterizasyonu için en yaygın olarak kullanılan sistemdir. İki tekniğin birleştirilmesi, doğal ve sentetik organik karışımdaki bileşiklerin yapı analizi için son derece uygun bir yöntem oluşturmaktadır. Bu sistem yüksek duyarlılığa ve iyi bir seçiciliğe sahiptir (152, 156, 161). GC-MS yöntemi bugün, doğal ürünlerin yapısal aydınlatılmasında, ilaç bileşenlerinin belirlenmesinde, gıda güvenliği ve kalite kontrolünde, organik bileşiklerin yapı tayininde, pestisit analizinde ve klinik toksikolojide kullanılmaktadır (162).

2.9. Serbest Radikal Kavramı

Serbest radikaller tanım olarak dış yörüngelerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içeren atom veya moleküllerdir. Elektron eksikliği nedeniyle yüksek enerjili, son derece reaktif ve kararsızdırlar. Kararlılığı sağlamak için temas ettiği herhangi bir moleküle bir elektron verebilir veya molekülden bir elektron alabilirler. Bu şekilde diğer

moleküllerle elektron alışverişi yapıp, redükten veya oksidan gibi davranarak bir dizi kimyasal reaksiyonu başlatabilirler (163). Radikaller insan vücudunda enerji üretimi, bağışıklık homeostazını destekleme, mikrobiyal enfeksiyonlara karşı koruma ve elektron transferi gibi birçok metabolik sürece olumlu katkıda bulunur. Ancak diğer moleküllerle girdikleri zincir reaksiyonlar kontrolsüz bir şekilde devam ederse hücre fonksiyonlarına ve yapılarına zarar verirler (164).

Serbest radikaller bağışıklık sistemini bakteri ve virüslere karşı korumak amacıyla immün sistem hücrelerinde, kas hücrelerinde, aromatik hidrokarbonların hücredeki metabolizması sırasında, oksijenli solunumda yan ürün olarak endojen kaynaklı üretiltikleri gibi, hava kirliliği, endüstriyel kimyasallar, ilaçlar, sigara dumanı, ısı, UV ve güneş ışığı gibi eksojen (dış) kaynaklı da üretilbilirler (164, 165).

2.9.1. Serbest Oksijen Radikalleri

Oksijen dünya kabuğunda en çok bulunan elementtir. Hava içinde oksijen (O_2) diatomik bir molekül olarak bulunur. Anaerobik organizmalar hariç tüm canlı organizmalar enerji üretimi için oksijene ihtiyaç duyar bu nedenle oksijen yaşam için esastır (166).

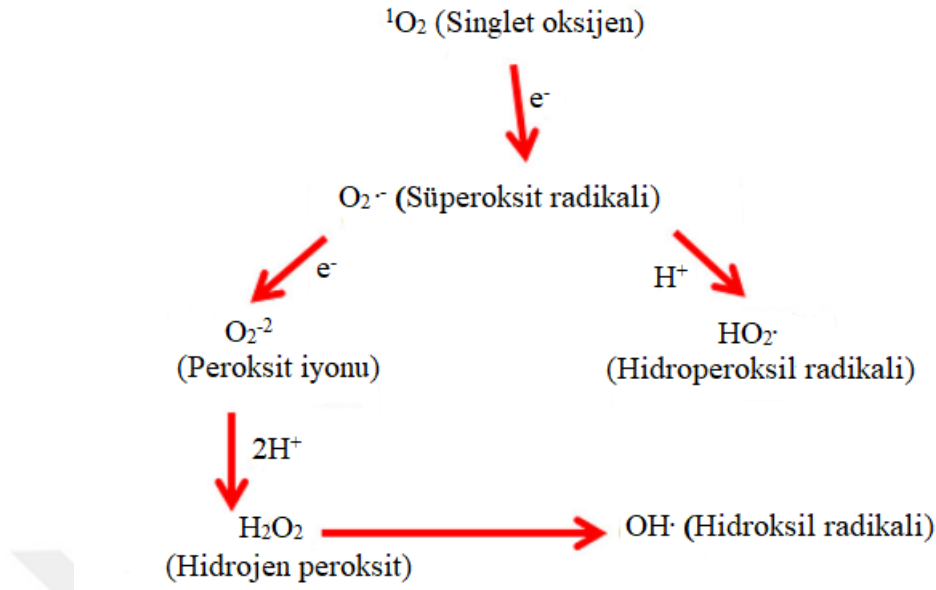
Organizmaların organik maddelerden enerji üretimi elektron kaybı ile gerçekleşir. Anaerobik organizmalarda elektronlar hidrojen tarafından alınırken, aerobik organizmalarda elektron taşınımı Nikotinamid adenin dinükleotit (NAD^+) ve Flavın adenin dinükleotit (FAD) gibi elektron taşıyıcılarının kullanımıyla çok daha verimli bir şekilde gerçekleşir. Bu taşıyıcılar organik moleküllerden elektron alarak indirgenir ve aldıkları elektronları oksidatif fosforilasyon aracılığıyla oksijene vererek kendileri yükseltgenirken oksijeni suya indirgerler. Moleküler oksijenin solunum zincirinde elektron alışverişi yoluyla suya indirgenmesi sırasında çok büyük miktarlarda enerji açığa çıkarken aynı zamanda son derece reaktif olan serbest oksijen radikalleri de oluşur (166, 167). Canlı organizmada metabolik olarak üretilen serbest radikallerin çoğu oksijen radikallerine aittir. Serbest oksijen radikalleri genellikle radikal ve radikal olmayan olmak üzere iki şekilde gruplandırılır. Radikal olmayan türlerin eşleşmemiş elektronları yoktur ama belirli koşullar altında radikal türlerine kolayca dönüşerek canlı organizmalarda oksidatif strese neden olabilirler (Tablo 2) (164, 166, 168).

Tablo 2. En sık görülen serbest oksijen radikalleri (Özden'den, 168)

Radikal Türler	Radikal Olmayan Türler
Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Hidroksil ($OH^{\cdot}$)	Hipokloröz asit ($HOCl$)
Peroksil ($RO_2^{\cdot}$)	Ozon (O_3)
Alkoksil ($RO^{\cdot}$)	Singlet oksijen (1O_2)
Hidroperoksil ($HO_2^{\cdot}$)	Peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$)
Nitrik oksit ($NO^{\cdot}$)	Organik peroksit ($ROOH$)

Normal metabolizma koşullarında serbest oksijen radikallerinin en önemli kaynağı mitokondriyal elektron taşıma zinciridir. Bu zincir, normal metabolizmanın bir parçası olarak birkaç elektronu doğrudan moleküler oksijene vererek onu indirger. Mitokondride indirgenen oksijenin %1 ila %3'ünün süperoksit radikali formunda olduğu tahmin edilmektedir. Serbest oksijen radikal üretimine enzimler de neden olabilir. En iyi bilinen ksantin oksidaz enzimidir. Bu enzim birçok dokunun sitozolünde bulunur ve bir dehidrogenaz olarak işlev görerek elektronları O_2 yerine NAD^+ üzerine aktarır. Ancak vücutta oluşan enfeksiyon durumlarında enzimin aktif bölgesi oksitlenir ve enzim bir oksidaz olarak işlev görerek süperoksit radikalini üretir. Ayrıca bazı enzimler radikalleri normal işlevlerinin bir parçası olarak veya yetersiz substrat olduğunda da üretir. Örneğin sitokrom P450 enzimleri, hedef molekülleri parçalarken bir yan reaksiyon olarak radikalleri üretebilirler. Moleküler oksijenin dış yörüngelerinde iki eşleşmemiş elektron bulunduğu için kendisi de aynı zamanda bir radikaldir. Bu durum oksijene başka molekülleri oksitleyebileceği bir reaktivlik verir. Ancak O_2 üzerindeki iki eşleşmemiş elektron paralel spinlere sahiptir bu da onun yine antiparalel spine sahip bir elektron çiftini alarak başka bir molekülü oksitleyebileceği anlamına gelir. Yani oksijen sadece bu özel durumda reaktif olabilir. Bu nedenle oksijen non-radikal maddelerle yavaş ve daha az etkileşirken, serbest radikallerle hızlı ve kolayca tepkime verir. Bu özelliği sebebiyle moleküler oksijen, oksijenin en kararlı hali olarak kabul edilir (166).

Serbest radikallerin zincir reaksiyonları sonucunda oluşan serbest oksijen radikalleri insanlarda birçok hastalığa (kanser, artrit, diyabet) neden olur (Şekil 6). En reaktif serbest oksijen türleri singlet oksijen ve hidroksil radikali (169, 170).



Şekil 6. Enerji transferi ile serbest oksijen radikallerinin üretimi (Das'dan, 170)

2.10. Antioksidan Savunma Sistemleri

Serbest radikaller aerobik koşullarda yaşamı desteklemek amacıyla üretilir ve fizyolojik koşullar altında üretilen serbest radikal hızı ile bu radikallerin organizmanın koruyucu sistemleri tarafından nötralize edilme hızı arasında bir “oksidatif denge” vardır. Ama bazı patolojik durumlarda bu dengenin radikaller lehine bozulması oksidatif strese neden olur. Oluşan oksidatif stres DNA bazlarının yanlış eşleşmesine, DNA ipliklerinin kopmasına, lipid peroksidasyonuna ve protein hasarına yol açarak hücrelerin yapı ve fonksiyonlarını kaybetmelerine hatta bazen yıkılmalarına yol açar (171-173). Oksidatif stresin hücre yapılarında yaptığı zararlı etkiler, merkezi sinir sistemi bozuklukları (multiple skleroz, demans, parkinson hastalığı), kanser, romatizmal kalp hastalığı, böbrek hastalığı ve metabolik ve hormonal hastalıklar (osteoporoz, kistik fibroz, hipotiroit, obezite ve diyabet) gibi çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasında önemli rol oynamaktadır (166).

Biyolojik sistemler oksidatif stresi azaltmak için antioksidanlar adı verilen savunma sistemleri geliştirmiştir. Antioksidanlar serbest radikal temizleme özellikleri sayesinde hücresel hasarı geciktirir veya engeller (171). Antioksidanlar, serbest radikalleri dört farklı mekanizma aracılığıyla inhibe ederler.

A. Temizleme Etkisi: Doğal antioksidanlar ve küçük moleküllerin serbest radikalleri daha zayıf bir moleküle dönüştürerek miktarlarının azaltılması işlemidir.

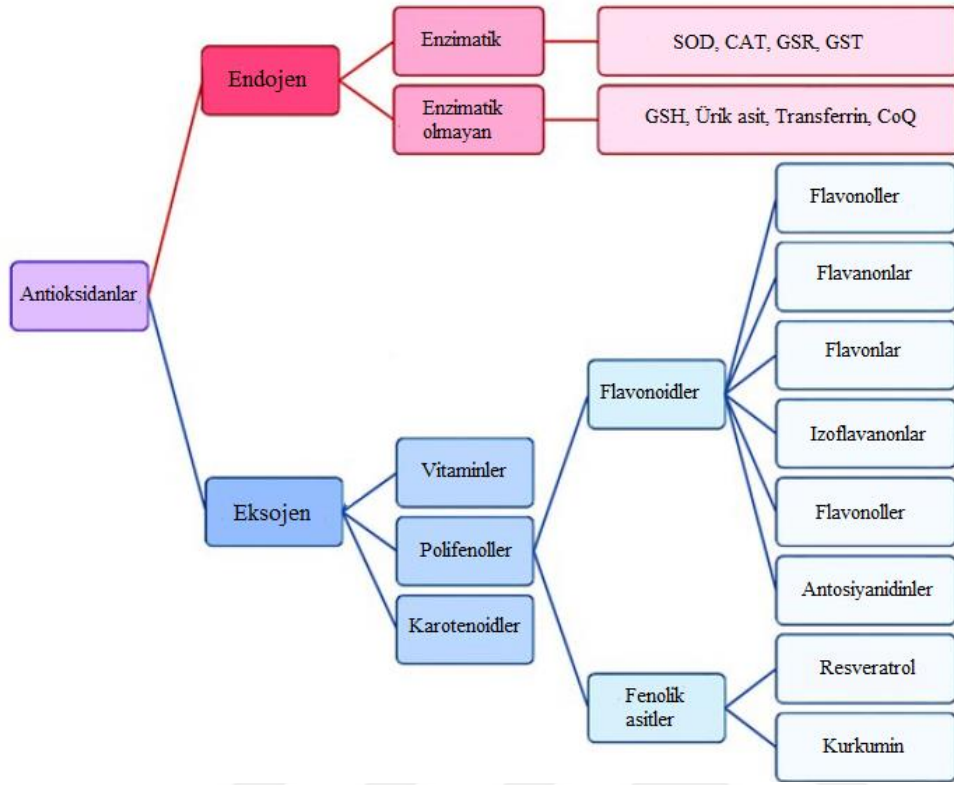
B. Bastırıcı Etki: Vitaminler ve flavonoidler gibi antioksidan bileşiklerin radikallere bir hidrojen atomu aktarması sonucunda radikalleri inaktif hale getirilmesidir.

C. Onarıcı Etki: Radikallerin neden olduğu hücre hasarının onarılmasıdır.

D. Zincir Kırıcı Etki: Hemoglobin, E vitamini ve ağır mineraller radikalleri kendilerine bağlayarak zincirlerini kırarlar. Böylece radikallerin fonksiyonlarını engellerler (174).

İyi bir antioksidan şu özelliklere sahip olmalıdır: **(i)** özellikle serbest radikalleri etkisiz hale getirmek; **(ii)** metal iyonlarını şelatlamak; **(iii)** antioksidan ağının içindeki diğer antioksidanlarla etkileşime girerek onları yeniden oluşturmak; **(iv)** gen ekspresyonu üzerinde olumlu bir etkiye sahip olmak; **(v)** vücut tarafından kolayca emilebilmek; **(vi)** vücut dokularında ve biyolojik sıvılarda optimal bir konsantrasyona sahip olmak; **(vii)** hem sulu hem de membran ortamlarında çalışabilmek (175).

Antioksidan savunma sistemleri kaynaklarına göre endojen antioksidanlar (organizmaya ait olanlar) ve eksojen antioksidanlar (dışarıdan alınanlar) olarak iki gruba ayrılır (Şekil 7) (176).



Şekil 7. Antioksidanların sınıflandırılması (Vona'dan, 176)

Endojen Antioksidanlar radikallerin neden olduğu oksidatif hasara karşı ilk savunma hattını oluştururlar. Hücrelerdeki endojen bileşenler, enzimatik antioksidanlar ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere daha ayrıntılı bir şekilde sınıflandırılır. Vücut hücreleri tarafından üretilen ve radikallerin nötralizasyonunda doğrudan rolleri olan başlıca enzimatik antioksidanlara süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon redüktaz (GSR), glutatyon-S-transferaz (GST) gibi enzimler örnek olarak verilebilir (176). Bu enzimler dokulardaki en zararlı oksidanların konsantrasyonunu azaltmada yardımcı olur. Enzimlerin oluşumu ve aktivitesi için selenyum, bakır, manganez ve çinko gibi çeşitli temel minerallere ihtiyaç duyulmaktadır (177). Enzimatik olmayan antioksidanlara ise lipoid asit, glutatyon, koenzim Q, L-arginin, melatonin, ürik asit, bilirubin ve transferrin verilebilir (178). Glutatyonun antioksidan aktivitesi içerdiği tiyol grubundan kaynaklanır ve bir indirgeyici madde olarak işlev görür. Melatonin hücre membranlarını ve kan-beyin bariyerini kolayca geçebilen güçlü bir antioksidandır. Diğer antioksidanlardan farklı olarak melatonin redoks reaksiyonlarına girmeyen bir bileşiktir (180).

2.10.1. Eksojen Antioksidanlar

Vücut hücreleri tarafından sentezlenemeyen moleküllerdir. Endojen antioksidanlarla beraber fizyolojik redoks homeostasisini sürdürmeye yardımcı olurlar. Ancak aşırı miktarda eksojen antioksidanın alınması (örneğin, takviyeler aracılığıyla) pro-oksidan etkilere veya “antioksidan stresi” olarak adlandırılan duruma neden olabilir. Doğal ve sentetik antioksidanlar olarak sınıflandırılırlar.

Sentetik antioksidanlar kimyasal reaksiyonlar yoluyla sentezlenirler. Yüksek stabilite ve düşük maliyetleri nedeniyle uzun yıllardır gıda ve kozmetik endüstrilerinde sıkça kullanılmaktadır. Sentetik antioksidanlar gıda ürünlerinde serbest radikal oluşumunu bastırmak ve özellikle yağ asidi oksidasyonunun önlenmesi amacıyla gıda korunmasında kullanılabilen maddelerdir. Günümüzde neredeyse tüm işlenmiş gıdalarda sentetik antioksidanlar raf ömrünü artırmak amacıyla bulunmaktadır. İnsanlar üzerindeki zararlı ve yan etkileri nedeniyle sınırlı sayıda sentetik antioksidanın, gıda katkı maddesi olarak kullanımı onaylanmıştır. Bunlar arasında bütil hidroksi anisol (BHA), bütil hidroksi toluen (BHT), propil galat ve tert-butilhidrokinon bulunmaktadır (164, 177, 179).

2.10.1.1. Doğal antioksidanlar

Vücutta üretilenmeyen bu nedenle beslenme yoluyla veya takviyeler aracılığıyla alınabilirler. Antioksidanların enzimatik mekanizmaların başarısız olması veya yetersiz etkinlik göstermesi durumunda serbest radikalleri nötralize etmeleri için antioksidanlar açısından zengin besinlerin tüketilmesi önemlidir (171). Meyve ve sebzeler doğal antioksidanların iyi birer kaynağıdır. Birçok çalışma antioksidanların sebze, meyve, tahıl, yumurta, et, baklagiller ve baharatlarda bulunduğunu belirtmiştir. Vitaminler, karotenoidler ve fenolik bileşikler gıdalarda bulunan başlıca doğal antioksidanlardır (180, 181).

Vitaminler: Vitamin A, Vitamin C ve Vitamin E en güçlü antioksidan özelliğe sahip vitaminlerdir. A vitamini yağda çözünen bir vitamindir. Görme, büyüme ve diğer hücre fonksiyonlarının yanı sıra, çift bağları sayesinde eşleşmemiş elektronları stabilize ederek güçlü antioksidan aktivite gösterir. Bu özelliklerinin yanında kanser ve dermatolojik hastalıklar üzerinde de olumlu etkileri bulunmaktadır. C vitamini askorbik asidin L-enantiyomeridir. Suda çözünebildiği için vücut sıvılarında bol miktarda bulunur. Doku bütünlüğünü koruma, demir emilimi, kollajen biyosentezine katılma gibi hücrelerde çeşitli rolleri bulunur. Aynı zamanda hidroksil ve süperoksit radikallerini temizleyebilir ve E vitamini ile birlikte lipitleri peroksidasyondan koruyarak hücre antioksidan savunma

sisteminin önemli bir parçası olarak rol oynar. Vitamin E, sekiz izoformda bulunur. Özellikle en aktif ve bol bulunan α - tokoferol formu lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonunda üretilen lipid radikalleri ile reaksiyona girerek zincir kırıcı etkisiyle hücre zarlarını oksidasyondan korur. Gıda bozulmalarını önleyebilir veya geciktirebilir. En güçlü lipid çözücü antioksidandır (179-181).

Karotenoidler: Diyetle alınan karotenoidler (β -karoten, α -karoten ve kriptoksantin, lutein, zeaksantin ve likopen) içinde en etkili antioksidan özellik gösteren β -karoten'dir. A vitaminin ön maddesi olan β -karoten, hidrofobik karakteri sayesinde singlet moleküler oksijeni bastırarak zincir kırıcı olarak aktivite gösterir. Düşük oksijen basıncında daha etkili olup lipid peroksidasyonunu engeler. Ancak yüksek konsantrasyonlarda veya yüksek oksijen basıncında pro-oksidan olarak hareket edebilirler. Sağlık açısından kanser ve göz hastalıklarını önleyici etkileri bulunmaktadır (179, 180, 182).

Fenolik Bileşikler: Doğal antioksidanların büyük bir kısmını fenolik bileşikler oluşturur. Bitkilerde doğal olarak bulunan fenolik bileşikler bitkileri mikroorganizmalardan ve zararlı UV ışınlarından korurken, aynı zamanda insan vücudu içinde serbest radikallerle savaşarak çeşitli hastalıkların oluşumunu engellerler (175, 183). Fenolik bileşikler en az bir hidroksil grubunun bağlı olduğu bir veya daha fazla aromatik halkaya sahip olan bileşenlerdir. Bu bileşikler hidroksil gruplarından bir hidrojen atomu vererek serbest radikallerin eşleşmemiş elektronunu stabilize etme yeteneğinden dolayı en etkili antioksidan moleküllerdendir. Fenolik antioksidanların aktivitesi aromatik halkanın orto ve para pozisyonlarındaki foksiyonel gruplara ve bu grupların büyüklüğüne bağlıdır. Birçok fenolik bileşikteki karbonil gruplarının varlığı, metal iyonu yoluyla olan oksidatif bozulmayı inhibe edebilir (169, 177, 179). Ayrıca çeşitli fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteleri birbirleriyle karşılaştırıldığında moleküle bağlı serbest hidroksil gruplarının sayısı arttıkça antioksidan aktivitenin de arttığı görülmüştür.

Fenolik bileşikler arasında flavonoidler doğal kökenleri ve etkili serbest radikal temizleyici olarak çok önemli antioksidan aktiviteye sahiptir (169, 184, 185). Flavonoidler fenil grupları arasında üçlü karbon köprüsü içeren $C_6-C_3-C_6$ difenil propan yapısına sahip bileşiklerdir. Bu yapı iki benzopiran (A ve C halkaları) ve benzen (B halkası) halkası içerir. Flavonoidlerin antioksidan özellikleri halkalı yapıların üzerindeki fonksiyonel grupların spesifik konumlarına bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Yapıdaki değişiklikler antioksidan aktiviteyi artırabilir veya azaltabilir. Bu nedenle flavonoidlerin antioksidan

potansiyeli, moleküler yapılarındaki kimyasal grupların düzenlemesine bağlıdır. Molekölün C halkasındaki C₂-C₃ çift bağı, B halkasındaki orto-hidroksilasyonun varlığı veya 3-hidroksil grubunun olması flavonoidlerin yüksek antioksidan aktivite göstermesi için gereklidir (179, 184, 185). Flavonoidler, yapılarındaki reaktif hidroksil grupları nedeniyle kolayca glikozitlenirler. Ancak aglikonlar (şekerle bağı olmayan flavonoid formu) ve bunların glikozit formları antioksidan etkileri açısından değerlendirildiğinde glikozitlerin genellikle daha az etkili olduğu gözlemlenmiştir. Flavonoidlerin antioksidan aktiviteleri genellikle hidroksil gruplarının sayısına bağı olarak artarken yapıya bağı şekerin türüne ve bağlanma şekline göre azalabilir (186). Bu moleküller antioksidan aktivitelerini, radikallere hidrojen ya da elektronlar verip daha kararlı bileşiklerin oluşmasını sağlayarak, radikal zincir reaksiyonunu bozarak ve lipid oksidasyonunu engelleyerek gösterirler. Bu özelliklerinin yanında metal iyonlarını bağlama, hidroperoksitleri radikal olmayan türlere dönüştürme, UV radyasyonunu absorbe etme ve singlet oksijeni yakalama gibi etkileri de bulunur (169, 187, 188).

Meyve ve sebzelerde doğal antioksidanlar olarak bol miktarda bulunan fenolik bileşikler çeşitli hastalıklara karşı antienflamatuvar, antimikrobiyal, antiviral, antialerjik, antitrombotik ve antipatojenik etkilere sahiptir. Diyetle alınan fenolik bileşikler, karbonhidrat ve lipid metabolizmasını düzenler, insülin salgısını uyarır, adipoz doku metabolizmasını iyileştirir, oksidatif stresi, stres duyarlı sinyal yollarını ve iltihap süreçlerini hafifletir. Aynı zamanda kardiyovasküler hastalıklar, nöropati, nefropati ve uzun süren diyabet komplikasyonlarının gelişimini önleyebilir (189).

2.11. Antimikrobiyal Aktivite

Antifungal, antibiyotik, antiparazit ve antiviral gibi antimikrobiyal maddeler, gelişmiş canlı organizmalarında enfeksiyonlara neden olan bakteri, küf, mantar ve virüsler gibi patojen mikroorganizmaların büyümesini engelleyen, öldüren doğal veya sentetik ilaç molekülleridir (190, 191). Antimikrobiyal bileşiklerin seçici toksisiteye sahip olmaları gerekir. Aksi takdirde, vücuttaki faydalı mikroorganizma florasına zarar verebilir ve dış etkenlere karşı savunma sistemini zayıflatabilirler. Ayrıca kullanılacak antimikrobiyal bileşikler, çok düşük dozlarda bile etkili olmalı, toksik olmamalı ve vücuttan atılabilmelidir. Antimikrobiyal bileşiklerin bu etkilerini ortaya çıkarmak için, hedeflenen patojen mikroorganizmaların kültürleri üzerinde laboratuvar ortamında etkileri araştırılmalıdır (192).

Mantarların, bakterilerin, virüslerin ve parazitlerin zamanla evrimleşmesi sonucunda antimikrobiyal ilaçlara tepki vermemeleri durumuna antimikrobiyal (antibiyotik) direnç denilir. Oluşan bu direnç enfeksiyonların tedavisini zorlaştırarak, enfeksiyonun yayılma riskini arttırır. Böylece ilaçlar enfeksiyonlara karşı etkinliklerini kaybederler ve tedavi süreci zorlaşır (190). Antimikrobiyal dirence neden olan ve sürekli olarak yeni direnç mekanizmaları geliştiren patojen mikroorganizmaların ortaya çıkmasıyla, yaygın enfeksiyonları tedavi etme yeteneğimiz giderek azalmaktadır. Bu nedenle antibiyotik tedavisine artık yanıt vermeyen süper bakterilerin (çok dirençli mikroplar) hızla yayılması küresel bir endişedir. Antimikrobiyal ilaçların aşırı veya yanlış kullanımı, antimikrobiyal direncin hızlı yayılmasının ana nedenlerinden biridir (193, 194). Çoklu ilaç dirençli bakterilerin hızla artması, bakteri direncine karşı savaşmak için yeni antimikrobiyallerin aranmasını ve doğal bitki ürünlerinin antimikrobiyal etkinliğinin değerlendirilmesini zorunlu kılmıştır (191).

Bitkilerin tedavi edici özelliği binlerce yıldır bilinmektedir. Bitkilerin tıbbi kullanımı, dünya genelinde tarih boyunca kuşaklar boyunca aktarılmış ve farklı geleneksel tıp yöntemlerinin gelişimine önemli katkıda bulunmuştur. Şu anda kullanılan birçok ilaç ya doğrudan bitkilerden izole edilmiştir ya da doğal ürünlerin yapay olarak değiştirilmiş versiyonlarıdır. Bitkilerin antimikrobiyal aktiviteye sahip birçok ikincil metabolit ürettiği in vitro deneylerle kanıtlanmıştır. Bu nedenle bitkisel ekstraktlar mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde etkili yeni bileşiklerin keşfi açısından bilim insanları için büyük bir ilgi konusu olmuştur. Bitki ekstraktları antibakteriyel aktivitelerini, bakteri metabolizmasını doğrudan etkileyerek gösterebildiği gibi antibiyotiklerle birlikte kullanılıp, antibiyotiklerin etkinliğini arttırarak dolaylı yoldan da gösterebilirler (195).

2.12. Enzimler

Canlı sistemler tarafından üretilen enzimler, biyokimyasal reaksiyonları hızlandıran protein yapılı biyolojik katalizörlerdir. İnsan vücudunda metabolizma ve büyüme gibi süreçlerin düzenlenmesinde etkin rol oynarlar. Enzimlerle ilgili ilk çalışmalar James Sumner tarafından 1926 yılında üreaz enziminin izole edilmesi ve kristallenmesiyle başlamıştır. 21. yüzyılda binlerce enzim saflaştırılmış, yapıları belirlenmiş ve işleyiş mekanizmaları açıklanmıştır. Yıllarca enzimler üzerinde yapılan çalışmalar sayesinde saf halde elde edilen enzimlerin sayıları artmıştır. Bu durum isimlendirmelerinde karışıklıklara sebep olmuştur. Bu nedenle Uluslararası Enzim Komisyonu enzimleri sınıflandırma ve

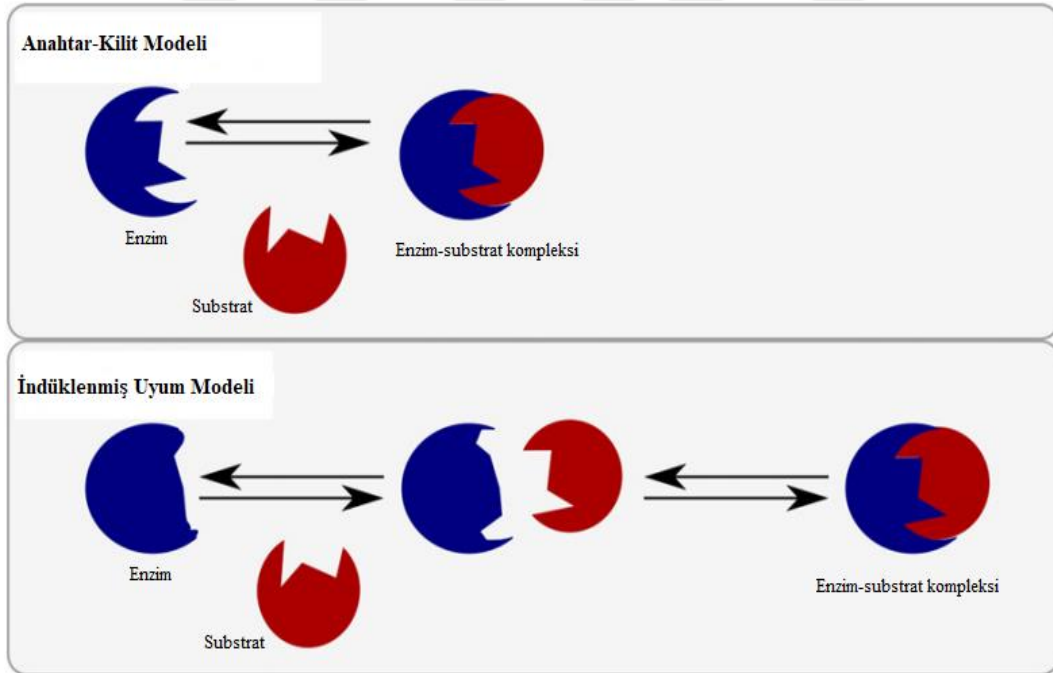
isimlendirmek için katalizledikleri reaksiyon türlerinin sonuna “-az” ekini getirerek altı sınıfa ayırmıştır (Tablo 3) (196-198).

Tablo 3. Enzimlerin sınıflandırılması (Robinson’dan, 198)

Sınıfı	Katalizlediği reaksiyon	Örnekler
Oksidoredüktazlar	Oksidasyon-indirgeme reaksiyonlarını katalize ederler.	Dehidrogenazlar Oksidazlar
Transferazlar	Bir molekülden diğerine fonksiyonel grupların transferi yaparlar.	Glikoziltransferazlar Aminotransferazlar
Hidrolazlar	Su molekülü yardımıyla molekülleri parçalarlar.	Proteazlar Amilazlar
İzomerazlar	Aynı molekül içinde grupları bir konumdan başka bir konuma transfer ederler.	Glukoz izomeraz Rasemazlar
Ligazlar	İki büyük molekülü bir araya getirerek yeni kimyasal bağların oluşumunu katalizlerler.	Glisin ligaz
Liyazlar	Molekülde çift bağların oluşumuyla birlikte fonksiyonel grubu uzaklaştırırlar.	Fumaraz Aldolazlar

Enzimler genellikle 100 ile 2000 arasında değişen amino asit kalıntılarından oluşur. Enzimlerin yapısı proteinlerde olduğu gibi amino asitlerin fonksiyonel gruplarının etkileşimi sonucunda düşük enerjili, stabil ve üç boyutludur. Bu üç boyutlu yapı içinde genellikle gömülü olan ve aktif bölge olarak adlandırılan küçük bir alan bulunur. Bu aktif bölge, enzimin fonksiyonlarını gerçekleştirmesine olanak sağlar. Aktif bölgedeki amino asitlerin yan zincirlerinin yükleri ve kimyasal özelliklerine bağlı olarak yalnızca bir veya birkaç molekül aktif bölgeye bağlanabilir ve ürün haline gelebilir. Aktif bölgeye bağlanan molekül substrat olarak adlandırılır. Emil Fischer tarafından 1894'te öne sürülen “anahtar-kilit modeli”, enzim-substrat ilişkisini açıklamak için önerilen ilk teoridir. Bu teoriye göre substrat enzimin aktif bölgesine bir anahtar gibi tam olarak uyum sağlar ve bu adaptasyon sonucunda katalitik reaksiyon gerçekleşir. İlk başta bu teori enzim davranışını tamamen açıkladığı gibi görünse de, X-ışını kristalografisi gibi daha gelişmiş tekniklerin geliştirilmesiyle, proteinlerin değişmeyen katı yapılar olmadığı, konformasyonlarında

değişikliklerin meydana gelebileceği ve enzim-substrat etkileşimini tam olarak açıklamak için düzeltmelerin gerektiği anlaşılmıştır. 1958’de Daniel Koshland bu yeni gelişmeleri dikkate alarak “indüklenmiş uyum” modelini geliştirdi (Şekil 8). İndüklenmiş uyum teorisine göre, substrat tam olarak enzimin aktif bölgesine uymaz. Bu yerleşimin gerçekleşmesi için hem enzimin aktif bölgesinde hem de substrat yapısında küçük konformasyonel değişiklikler meydana gelmelidir. Enzimin aktif bölgesi, substratın ve diğer moleküllerin bağlanabileceği bağlanma bölgelerini ve reaksiyonun gerçekleştiği, enzim aktivitesi için hayati olan katalitik bölgeyi içerir. Ayrıca enzimin aktif bölgesi dışındaki amino asit kalıntıları, aktif bölgenin yapısını stabilize etmek ve çevresel etkilerden korumak için önemlidir. Bazı enzimler fonksiyonlarını yerine getirmek için amino asit kalıntıları dışında kimyasal gruplara ihtiyaç duymazlar. Bu tür enzimlere basit enzimler denir. Bazı enzimlerin ise aktivite göstermesi için bir metal iyonu veya metal-organik kompleksi gereklidir. Enzimlerin işlevlerini yerine getirebilmek için ihtiyaç duydukları protein yapısında olmayan moleküllere kofaktörler denir (197, 199).



Şekil 8. Enzim-substrat bağlanma modelleri (Laddach'den, 199)

Enzimler hücre içinde gerçekleşen reaksiyonları hızlandıran basit katalizörlerdir. Enzimlerin kimyasal reaksiyonlarda kullanılan inorganik katalizatlara kıyasla çok önemli avantajları olduğu bilinmektedir. Kimyasal reaksiyonlarda kullanılan inorganik

katalizatörler genellikle yüksek sıcaklık, çok düşük veya çok yüksek pH ya da yüksek basınç gibi aşırı derecede zor koşulları gerektirirken enzimler aynı reaksiyonları vücut sıcaklığında, nötr pH değerlerinde ve atmosferik basınç altında gerçekleştirirler. Ayrıca standart katalizatörler birçok farklı molekül üzerinde etki eder ve birçok yan ürün oluştururken enzimler sadece kendi substratları üzerinde etki eder ve tek bir spesifik ürün oluştururlar. Bu avantajları sayesinde enzimler yaşam için vazgeçilmezdir ve hastalıkların tedavisinde en önemli biyolojik hedefleri oluştururlar (197).

2.12.1. Enzim Kinetiği ve İnhibisyonu

Enzim katalizli kimyasal reaksiyonların hızlarının incelenmesine enzim kinetiği denir. Enzim kinetiğinde, reaksiyon hızı ve reaksiyon koşullarının değiştirilmesinin etkileri araştırılır. Bir enzimin kinetiğinin incelenmesi, bu enzimin katalitik mekanizmasını, metabolizmadaki rolünü, aktivitesinin nasıl kontrol edildiğini ve bir ilacın veya bir modifiyerin (inhibitör veya aktivatör) hızı nasıl etkileyebileceğini ortaya çıkarabilir. Enzim kinetiğinin incelenmesi organizmalardaki metabolizma ve biyoteknolojideki potansiyel uygulamaları üzerinde enzimlerin rolleri hakkında daha iyi bilgi edinmemize yardımcı olmaktadır (200).

Enzim aktivitesinin ölçümü, birim zamanda üretilen ürün miktarını veya birim zamanda tüketilen substrat miktarını ölçerek belirlenebilir. Aynı zamanda reaksiyona katılan ve kimyasal yapılarında değişiklik gösteren kofaktörlerin miktarlarının ölçülmesi de bazı enzimlerin reaksiyon hızının belirlenmesi için kullanılabilir. Bu ölçümler ya süresiz yöntemlerle ya da sürekli yöntemlerle yapılabilir. Süresiz yöntemler de reaksiyonlar farklı süreler boyunca çalıştırılır ve ardından bir durdurma ajanı kullanılarak sonlandırılır. Sürekli yöntemlerle ise enzim aktivitesi reaksiyon boyunca sürekli olarak izlenir. Süresiz yöntemler genellikle enzim mekanizmasının tam olarak anlaşılmadığı veya üretilen (veya tüketilen) molekülün ölçmeden önce reaksiyon ortamından izole edilmesi gereken reaksiyonlarda tercih edilir. Sürekli ölçümler ise reaksiyonun ilerlemesi hakkında çok daha detaylı veriler elde etmeyi mümkün kıldığı için tercih edilir. Bu ölçümler için genellikle spektrofotometreler ve spektrofluorometreler kullanılsa da radyometrik ölçümlere dayalı yöntemler de geliştirilmiştir (201, 202).

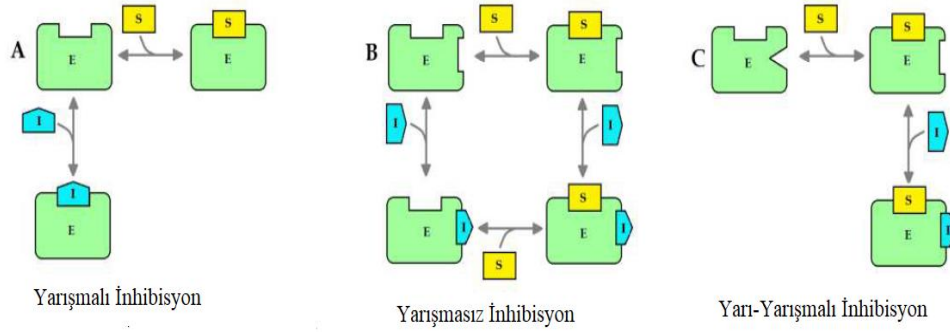
Enzim aktivitesini etkileyen faktörler arasında sıcaklık, pH, ağır metaller, organik çözücüler, enzim ve substrat konsantrasyonu bulunmaktadır. Bu faktörlerin olumsuz etkisi aktif bölgenin konfigürasyonunu bozarak biyolojik aktiviteyi azaltabilir veya yok edebilir.

Enzimler birçok polar amino asit içerir ve bu amino asitler ortamdaki pH'a bağlı olarak protonlanmış veya protonlanmamış olabilir. Enzimlerin aktif bölgelerindeki yük dağılımı, pH değişikliklerinden etkilenebilir. Bu değişiklik aktif bölgenin uygun konformasyonunu bozarak substratların bağlanmasını veya reaksiyonun katalizini engelleyebilir. Sıcaklık hem enzim aktivitesini hem de stabilitesini etkiler. Düşük sıcaklıklarda reaktan moleküllerinin kinetik enerjisinin azalması nedeniyle daha yavaş bir reaksiyon gözlemlenir. Sıcaklığın artması ise kimyasal reaksiyon hızını artırır. Ancak çok yüksek sıcaklıklarda aktif enzim konsantrasyonu azalır. Yüksek pH veya sıcaklık değerlerinde enzim aktivitesi genellikle azalır. Kayma ve yüzey gerilimi gibi mekanik kuvvetler enzim molekülünün şeklini bozabilir ve enzim aktivitesini ciddi şekilde etkileyebilir. Sonuç olarak yüksek enzim verimliliği elde etmek için ortamın pH değeri, sıcaklık, çözücü konsantrasyonu, akış ve karıştırıcı hızları kontrol ve optimize edilmelidir (203, 204).

Bir enzimin aktif bölgesine bağlanan substrat bir aktivite üretir. Eğer bu substratı ilaçlar veya toksinler gibi farklı bileşiklerle değiştirirsek enzimin aktivitesi azalabilir veya durabilir. Bu bileşikler veya ilaçlar inhibitörler olarak adlandırılır. Günümüzde tıbbi kimyada enzimler yeni farmasötik ürünler tasarlamak ve geliştirmek için en çekici ilaç hedefleridir. Genellikle inhibitörler dönüşümlü inhibitörler ve dönüşümsüz inhibitörler olmak üzere iki ana gruba ayrılır (197).

Dönüşümlü inhibitörler kendi arasında yarışmalı inhibitörler, yarışmasız inhibitörler ve yarı yarışmalı inhibitörler olmak üzere üç alt gruba ayrılır (Şekil 9). Yarışmalı inhibitörler, normal substrata yapısal olarak benzerdir ve enzimin aktif bölgesine geri dönüşümlü olarak bağlanır ve enzimlerin aktif bölgesine substratın bağlanmasını engeller. Yarışmasız inhibitörler, enzim-substrat kompleksine, aktif bölgenin dışındaki bir bağlanma bölgesinden bağlanır ve aktif bölgenin konformasyonunu değiştirerek enzim-substrat kompleksinin enzim-ürün kompleksine dönüşüm hızını yavaşlatır. Yarışmalı inhibitörlerin aksine yarışmasız inhibitörler aktif bölgeyle etkileşime girmezler. Bu nedenle genellikle yapıları substrata benzemez ve sonuçta ortaya çıkan inhibisyon, substrat miktarını artırarak ortadan kaldırılamaz. Yarı yarışmalı inhibitörler ise enzimin aktif bölgesine değil sadece enzim-substrat kompleksine bağlanarak aktiviteyi düşürerek etki gösterirler (205, 206).

Dönüşümlü İnhibisyon



Şekil 9. Dönüşümlü inhibisyon çeşitleri (E: enzim, S: substrat, I: İnhibitör)
(Rahmaniyan'dan, 206)

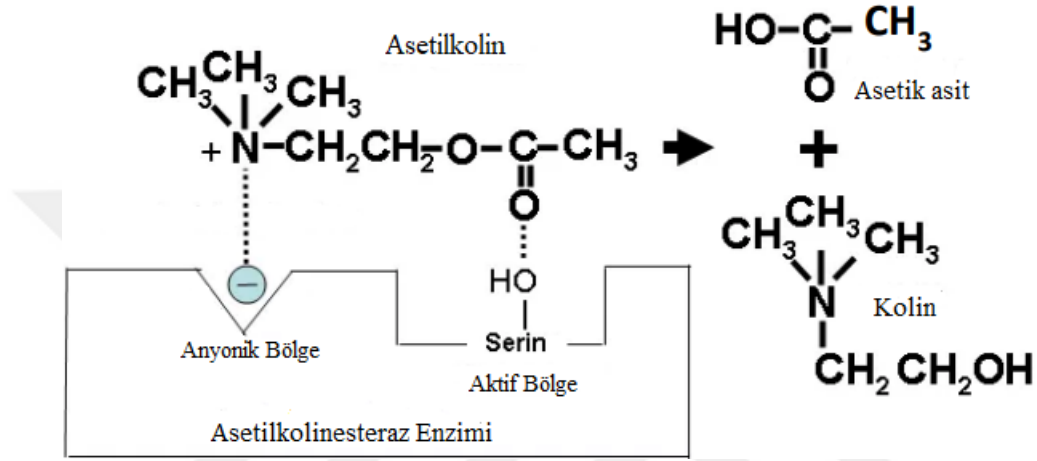
Dönüşümsüz inhibitörler, kovalent bağlar aracılığıyla enzimin aktif bölgesine veya aktif bölgenin dışındaki düzenleyici bölgeye kalıcı olarak bağlanırlar. Bu durum enzimi kalıcı olarak işlev yapamaz duruma getirir ve aktivite ancak hücrede yeni bir enzim üretilerek geri kazanılabilir. Diğer yandan dönüşümlü inhibitörlerde inhibitör bir süre sonra kompleksten ayrılır ve hücre tarafından uzaklaştırılır. Böylece enzim aktivitesini yeniden kazanabilir. Bu nedenle hastalıkların tedavisinde dönüşümlü inhibitörler tercih edilmektedir (207).

Enzim inhibisyon çalışmaları, yeni ilaç araştırmalarının en önemli dallarından birini oluşturur. Enzim inhibitörleri şu anda piyasada bulunan ilaçların yarısından fazlasını oluşturur. Son yıllarda literatürde ilaç geliştirme konulu yayınların önemli bir kısmı, doğal kaynaklardan izole edilen veya sentetik olarak elde edilen bileşiklerin enzim aktivitesi üzerindeki etkilerinin incelenmesini içermektedir (197).

2.12.2. Asetilkolinesteraz Enzimi ve Fizyolojik Önemi

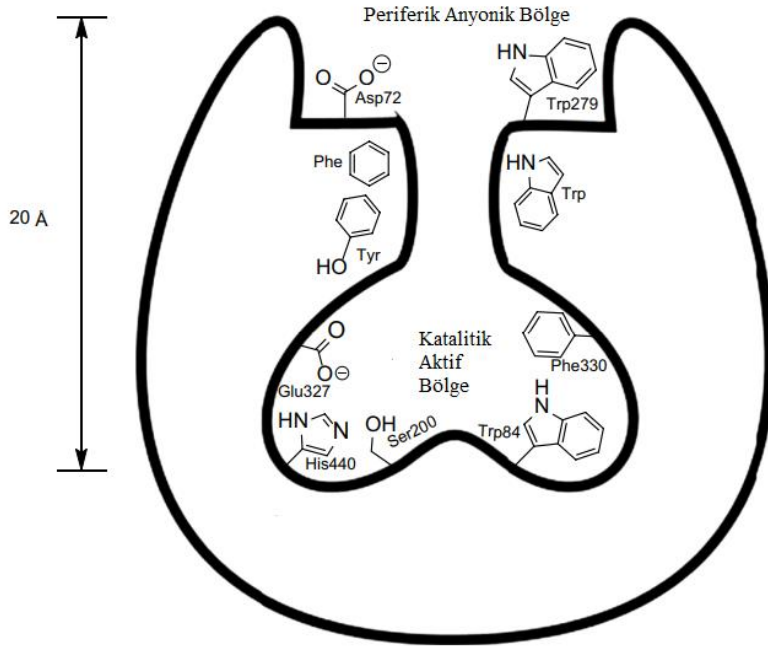
Asetilkolinesteraz enzimi (AChE) periferik sinir sistemi ve merkezi sinir sistemi de dahil olmak üzere kolinerjik sinir sisteminde bulunan bir serin hidrolazdır. Enzimin birincil biyolojik fonksiyonu, sinaptik boşlukta, bir nörotransmitter olan asetilkolin molekülünü hızlı bir şekilde kolin ve asetata parçalayarak kolinerjik sinapslarda oluşan sinir sinyalini sonlandırmaktır. Böylece başka bir sinyalin alınmasını sağlar (Şekil 10). Ayrıca enzim

Alzheimer hastalığıyla ilişkili olan β -amiloid protein birikiminin kontrol edilmesinde, amiloid öncü proteininin aktivasyonunda ve üretiminde, beyindeki kan akışının düzenlenmesinde, hücre yenilenmesinde ve iltihabi süreçlerde de görev alır. AChE beyinde, dalakta, sinir hücrelerinde, akciğerde, kasta ve kırmızı kan hücrelerinde bulunabilir (208-210).



Şekil 10. AChE katalitik aktivitesi (Makani'den, 208)

Asetilkolinesteraz enzimin yapısı ilk kez 1991 yılında J. Sussman tarafından *Torpedo californica* (elektrik balığı) türünden elde edilen örneklerden başarılı bir şekilde aydınlatılmıştır. AChE α/β katlanışına sahip 537 amino asitten oluşan bir peptid monomerdur. Enzim, periferik anyonik bölge ve katalitik aktif bölge olmak üzere iki tane bağlanma bölgesinden oluşur (Şekil 11). Aktif bölge 20 Å derinliğinde yapının en alt kısmına gömülü bir şekilde bulunur. Anyonik bölge, aktif bölgenin giriş kısmında bulunur ve en büyük amino asiti aromatik bir amino asit olan triptofandır. Anyonik bölge asetilkolinin hidrolize edilmeden önce bağlanma alanı olarak kabul edilir ve asetilkolinin kuaterner amin grubuna bağlanır. Ayrıca anyonik bölge enzimin inhibisyon mekanizmalarına aracılık ederek katalitik aktivitenin düzenlenmesinde önemli rol oynar. Katalitik bölge ise serin, glutamat ve histidin amino asitlerinden oluşan bir yapıya sahiptir. Hidroliz reaksiyonu, enzimin katalitik bölgesinde gerçekleşir. Asetilkolin katalitik bölgeye ulaştığında serin amino asiti tarafından karboksil karbonunda nükleofilik bir saldırıya uğrar ve enzimle kovalent bir bağ oluşturur. Aktif bölgedeki su ile ardışık reaksiyonlar sonucunda asetilkolinin hidrolizi gerçekleştirilir (211-214).



Şekil 11. AChE bağlanma bölgelerinin şematik gösterimi (Gorecki'den, 211)

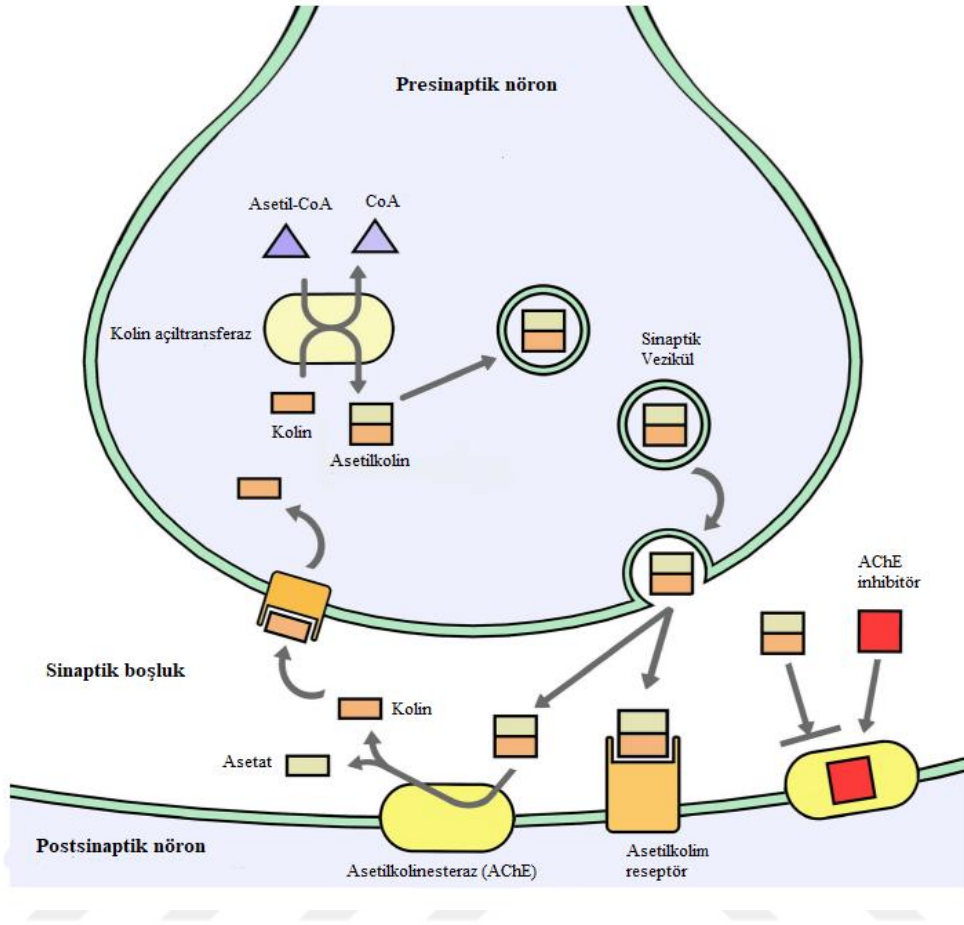
Alzheimer hastalığı, bilişsel yeteneklerde bozulma, hafızada azalma ve kişilik değişimleri gibi semptomları olan geri dönüşü olmayan nörodejeneratif bir rahatsızlıktır. Kolinerjik sinir iletiminin bozulması ve beyinde yüksek oranda β amiloid peptidinin sentezlenmesiyle karakterize edilir (209, 215, 216). Alzheimer hastalığı gelişmekte olan küresel bir sağlık sorunudur ve dünya genelinde yaklaşık 45 milyon insan Alzheimer hastalığından etkilenmekte olup bu rakamın gittikçe daha da artması beklenmektedir (217).

Alman psikiyatrist Alois Alzheimer'ın 1906 yılında ilk kez hastalığı keşfettiği ve tanımladığı zamandan beri Alzheimer hastalığına ilişkin yeni lezyonlar tespit edilememiştir (218). Hastalık genellikle yakın zamandaki olayları hatırlamada zorluklarla kendini gösterir ve zamanla kötüleşir. Alzheimer hastalığının ilerleyişi bazı aşamalardan oluşur. İlk aşama ön klinik olarak adlandırılır ve belirgin semptomlar göstermez. İkinci aşama hafif bilişsel bozukluk olarak adlandırılır ve bu aşamada bireyin bilişsel fonksiyonlarında belirgin bazı sorunlar ortaya çıkar. Hafif bilişsel bozukluk normal yaşa bağlı bilişsel gerileme ile Alzheimer hastalığı gibi daha ciddi durumlar arasında bir ara aşamadır ve hafif, orta ve ileri olmak üzere üç evreye ayrılır. Kişilerin hafiften orta düzeye ve ağır semptomlara geçiş hızları değişebilir. Hafif belirtiler aşamasında kişinin sağlıklı görünmesi mümkün olsa da hafıza kaybı, inisiyatif duygusunun kaybı, günlük rutin işleri tamamlamak

için daha uzun süreye gereksinim duyma gibi sorunların hepsi yaşanabilir. Bu aşama genellikle Alzheimer hastalığının fark edildiği dönemdir. Orta dereceli belirtiler arasında artan hafıza kaybı, mantıklı düşünme konusundaki zorluklar, aile ve arkadaşları tanıma güçlükleri, yeni şeyleri öğrenme zorlukları, dil, okuma, yazma ve sayılarla çalışma konusundaki zorluklar, paranoya ve zaman zaman kas seğirmeleri bulunmaktadır. Bu dönem daha yoğun gözlem ve bakım gerektirir. Hastalığın ağır ve ileri aşamasında ise kişiler çevresiyle iletişim kuramazlar ve temel ihtiyaçlarını karşılamak için tamamen başkalarına bağımlıdırlar. Belirtiler arasında bağırsak ve mesane kontrolünün kaybı, konuşamama, kilo kaybı, nöbetler, cilt hastalıkları, çiğneme zorluğu ve uzun süre uyuyamama bulunmaktadır (209).

Alzheimer hastalığının nedenleri hala tam olarak bilinmese de hastalığın genetik, evre ve yaşam tarzı gibi birçok faktörün kombinasyonu ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Hastalık nedenlerini anlamaya yönelik bilinen en eski hipotez kolinerjik hipotez'dir. Bu hipoteze göre hastalığın nedeni sinir hücreleri ile diğer kas hücreleri arasındaki sinir uyarı iletiminden sorumlu olan asetilkolin adlı nörotransmitterin beyindeki konsantrasyon seviyesinin düşmesidir. Düşük konsantrasyondaki asetilkolin sinir iletimlerinin düzensizleşmesine ve bilgilerin daha zor aktarılmasına neden olur (209, 217, 219).

Alzheimer hastalığının ilk farmakolojik tedavisi, beyindeki kolinerjik sinir iletiminin artırılmasının faydalı olacağını ne süren "kolinerjik hipotez" temel alınarak yapılmıştır. Asetilkolinesteraz enziminin aktivitesini azaltarak asetilkolinin parçalanmasını önlemek şu ana kadar test edilen birçok yöntem arasında sinaptik asetilkolin seviyelerini artırmak için en etkili strateji olarak kanıtlanmıştır (şekil 12) (217, 220).



Şekil 12. AChE inhibitörlerin sinir hücresindeki etki mekanizması (Berkov'dan, 220)

Günümüzde Alzheimer hastalığı tedavisi için onaylanmış ve mevcut olan donepezil, rivastigmin ve doğal kaynaklı galantamin adlı üç ilaç kullanılmaktadır. Bu ilaçlar merkezi sinir sisteminde asetilkolinesteraz enzimini inhibe ederek ortamdaki asetilkolin konsantrasyonunu artırarak etki gösterirler. İlaçlar sadece hastalığın ileri aşamalarında değil aynı zamanda belirgin bilişsel bozulma belirtileri gösteren hastalığın erken aşamalarda da kullanılabilir. Alzheimer hastalarının beyinlerinde plak ve düğümlerin bulunması nedeniyle enzimi inhibe ederek kolinerjik iletimi iyileştirmek mümkün olsa da inhibitörler hastalığın semptomları üzerinde kontrol sağlar ama sinaptik boşluktaki asetilkolini salgılayan kolinerjik hücrelerin sayısını değiştiremez. Bu sebeple hastalığı tam olarak tedavi edemezler (209, 221, 222).

2.12.2.1. Bitkisel Kaynaklı Asetilkolinesteraz İnhibitörleri

Günümüzde Alzheimer hastalığı için mevcut farmakolojik tedaviler belirtileri hafifletmede etkili olsa da hastalığın temel klinik özelliklerini değiştirmez. Ayrıca kullanılan ilaçların mide bulantısı, kusma, iştahsızlık, baş dönmesi ve yorgunluk gibi çeşitli yan etkileri bulunmaktadır. İlaçlar özellikle karaciğer ve sindirim sisteminde yan etkilere sebep olmaktadır. Bu nedenle günümüzde etkili, güvenilir, yenilikçi ve doğal asetilkolinesteraz enzim inhibitörlerinin geliştirilmesi daha da önem kazanmıştır (223-225).

Bulgar bilim insanları Amaryllidaceae familyasına bağlı *Galanthus* spp. adlı bitkiden bir alkaloid çeşidi olan galantamin maddesini yirminci yüzyılın ortalarında keşfettiler. Bu madde in vitro ortamda asetilkolinesteraz enzimini oldukça etkili bir şekilde inhibe etmektedir. Başlangıçta Bulgaristan'da çocuk felci hastalarındaki kasılmaların tedavisinde kullanılmış olmasına rağmen daha sonra Alzheimer hastalığı tedavisindeki potansiyeli ile geniş çaplı ilgi uyandırmıştır. Son zamanlarda galantamin ilacı Alzheimer hastalığını tedavi etmek amacıyla birçok Avrupa ülkesinde onay ve lisans almıştır. Galantaminin merkezi sinir sisteminde nikotinik bir etkisi vardır bu etki onu Alzheimer hastalığı tedavisinde özellikle kullanılmasını sağlar. Ayrıca uzun süreli, rekabetçi, geri dönüşümlü ve seçici bir şekilde asetilkolinesteraz enzimini inhibe edici özelliklere sahiptir (217). Galantamin alkaloidinin bu kendine özgün özellikleri nedeniyle, araştırmacılar daha başka asetilkolinesteraz enzimi inhibitörleri aramak için Amaryllidaceae ailesine yönelmişlerdir. Çalışmalarda daha çok galantamin tipi alkaloidlere odaklanılmıştır. Araştırmalar sonunda assoanine, oksoassoanine ve 1-O asetillikotin gibi diğer önemli AChE inhibitör etkisi gösteren alkaloid sınıfı bileşikler keşfedilmiştir (223, 224).

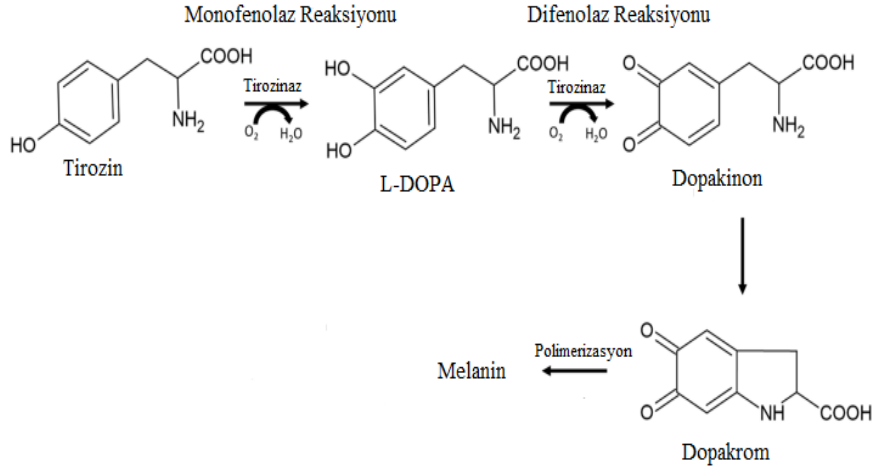
Huperzine A maddesi, *Huperzia serrata* (Lycopodiaceae) grubu likenlerden keşfedilen bir kinolizidin alkaloid çeşidi olup hafıza kaybını tedavi etmek, yüksek ateşi düşürmek, kan dolaşımını artırmak ve iltihabı tedavi etmek için çeşitli Çin doğal tıp formüllerinde kullanılmaktadır. Yapılan çalışmada huperzine A maddesinin, in vitro ve in vivo olarak asetilkolinesteraz enzimini geri dönüşümlü olarak inhibe ettiği görülmüştür. Huperzine B ve sieboldin gibi alkaloidler ise *Lycopodium* cinsindeki diğer *Huperzia* türlerinden keşfedilen diğer asetilkolinesteraz enzim inhibitörleridir (225, 226).

Zizyphi jujube, *Acorus calamus*, *Bupleurum falcatum*, *Acorus gramineus*, *Epimedium koreanum*, *Poria cocos* ve *Dioscorea batatas* türlerinden hazırlanan metanol ekstreleri Kore tıbbında bilişsel ve bellek gerilemesi tedavisinde kullanılmaktadır. Bu bitkilerin AChE inhibitör etkinlikleri araştırılmış ve özellikle *A. calamus* ve *E. koreanum* bitkilerine ait örneklerinin anlamlı sonuçlar verdiği belirtilmiştir (227). Ayrıca *Salvia lavandulaefolia* veya *Salvia officinalis* bitkilerinin yağının veya ekstrelerinin Alzheimer hastalığının erken evrelerindeki bireyler üzerindeki klinik çalışmalarda bilişsel fonksiyonun iyileşmesine yardımcı olduğu görülmüştür (226).

2.12.3. Tirozinaz Enzimi ve Fizyolojik Önemi

Tirozinaz (monofenol oksidaz, oksijen oksidoredüktaz, polifenol oksidaz) bakır içeren bir glikoprotein olup sadece melanosit hücreleri tarafından üretilen bir enzimdir. Yapısında bulunan bakır atomu enzimin hem moleküler oksijen ile hem de organik substratlarla etkileşime girebilmesini sağlar. Tirozinaz enzimi memelilerde, omurgasızlarda, bitkilerde ve mikroorganizmalarda bulunur. Deri pigmentasyonunda, bitkilerin ve mantarların bağışıklık sistemlerinde, meyve ve sebzelerin kahverengileşme tepkimelerinde, eklem bacaklıların savunma sisteminde, mantarlarda üreme organlarının farklılaşması ve spor oluşumunda önemli rol oynar (228, 229).

Tirozinaz enzimi, monofenolaz etkisiyle tirozin amino asitinin 3,4-dihidroksi-L-fenilalanin (L-DOPA) bileşiğine hidroksilasyonu ve difenolaz etkisiyle L-DOPA'nın o-Dopakinon'a oksidasyonunu içeren iki farklı reaksiyonu kataliz eder. Reaksiyon sonunda oluşan o-Dopakinon molekülleri sulu çözeltilerde çok kararsızdır ve hızla enzimatik olmayan bir dizi reaksiyonla polimerizasyona uğrayarak melanin adı verilen koyu renkli makromoleküler pigmentleri oluştururlar (Şekil 13) (230, 231).



Şekil 13. Tirozinaz enziminin katalitik aktivitesi (Agunbiade'den, 231)

Melanogenez, melaninin oluşumuna yol açan tüm süreç olarak tanımlanmıştır. Melanogenez tirozinaz enzimi tarafından tirozinin oksidasyonu ile başlar. Melanin, epiderminin en iç tabakasındaki cilt hücreleri tarafından üretilen koyu bir pigmenttir. Bu pigmentin insan cildini ultraviyole (UV) ışınların zararlı etkilerine, oksidatif strese ve DNA hasarına karşı koruduğu bilinmektedir. Ayrıca cilde, saçta ve gözlemlere doğal renklerini verir. Ancak insan cildinde melaninin genellikle koruyucu bir görevi olsa da, cilt uzun süre UV ışınlarına maruz kaldığında vücutta serbest radikallerin birikmesine yol açar. Vücutta serbest radikal fazlalığı tirozinaz enziminin aktivasyonunu artırarak ciltte aşırı miktarda melanin üretilmesine ve sonunda cilt üzerinde lekelerin oluşmasına neden olur. Bu durum cilt hiperpigmentasyonu olarak adlandırılır. Hiperpigmentasyon sonucunda istenmeyen bronzlaşma, pigmentli lekeler, siyah noktalar, çiller, akne izleri, cilt kanseri gibi çeşitli cilt hastalıkları ortaya çıkabilir (229, 230).

Tirozinaz enzimi meyve ve sebzelerin kesilmesi sonucunda oksijene maruz kalarak fenolik bileşiklerin kinonlara oksidasyonunu katalize ederler. Oksidasyon reaksiyonu meyve ve sebzelerin yüzeylerinde karakteristik kararmalara ve tatlarının değişmesine neden olur. Bu durum taze meyve ve sebzeler için istenmeyen bir olaydır. Çünkü tarımsal ürünlerin enzimatik kararması, bu ürünlerin besinsel kalitesinde azalmaya, raf ömrünün kısılmasına ve ekonomik değerinin düşmesine neden olur (230, 232).

2.12.3.1. Bitkisel Kaynaklı Tirozinaz İnhibitörleri

Ciltteki hiperpigmentasyon ve meyvelerdeki enzimatik kararma istenmeyen durumlar olduğundan kozmetik ve farmasötik sektörlerinde depigmentasyon bileşikler, tarım ve gıda endüstrilerinde antikararma kimyasalları bugüne kadar sentetik inhibitörler olarak geliştirilmiştir (233, 234). Melanin pigmentinin birikimi bazı cilt problemlerine neden olduğu için tirozinaz enziminin aktivitesinin sınırlanması melanin oluşumunu azaltan bir durumdur. Kojik asit, hidrokinon ve arbutin ticari olarak en sık kullanılan cilt beyazlatıcı sentetik tirozinaz inhibitörleridir. Ancak yapılan çalışmalarda bu maddelerin toksik ve kanserojenik yan etkileri olduğu görüldüğünden güvensiz oldukları ortaya çıkmıştır. Bundan dolayı doğal ürünlerden özellikle bitkilerden elde edilen tirozinaz inhibitörler önemli hale gelmiştir. Bitkisel ürünler, sentetik kimyasallara kıyasla kısa çevresel kalıcılıkları ve düşük toksisiteleri nedeniyle özellikle tercih edilmektedir. Bitkilerin yapısal ve kimyasal çeşitliliği bu alandaki araştırma ve geliştirmeye olan ilgiyi giderek arttırmıştır (232, 235).

Artocarpus heterophyllous bitkisi yenilebilir meyveleri için yetiştirilen aynı zamanda anti-tirozinaz aktivitesi de dahil olmak üzere farmakolojik etkileri için de kullanılan bir bitkidir. Yapılan çalışmada bitkinin metanol ekstresinden izole edilen artokaepin E, artokaepin F, norartokarpetin, artokarpanon, likiritigenin, steppogenin, dihidromorin flavonoidlerin tirozinaz enzimi üzerindeki inhibisyonu araştırılmıştır. Çalışma sonucunda bütün bileşiklerin enzimi inhibe ettiği ama en güçlü inhibisyonu artokarpanon bileşiğinin gösterdiği görülmüştür (236).

Campylotropis hirtella bitkisinin metanol ekstresinden izole edilen bileşiklerin tirozinaz enzimi üzerindeki inhibisyonu üzerinde yapılan çalışma sonucunda neorauf flavan bileşiğinin nanomolar konsantrasyonda tirozinaz enzimini inhibe ettiği belirtilmiştir (237).

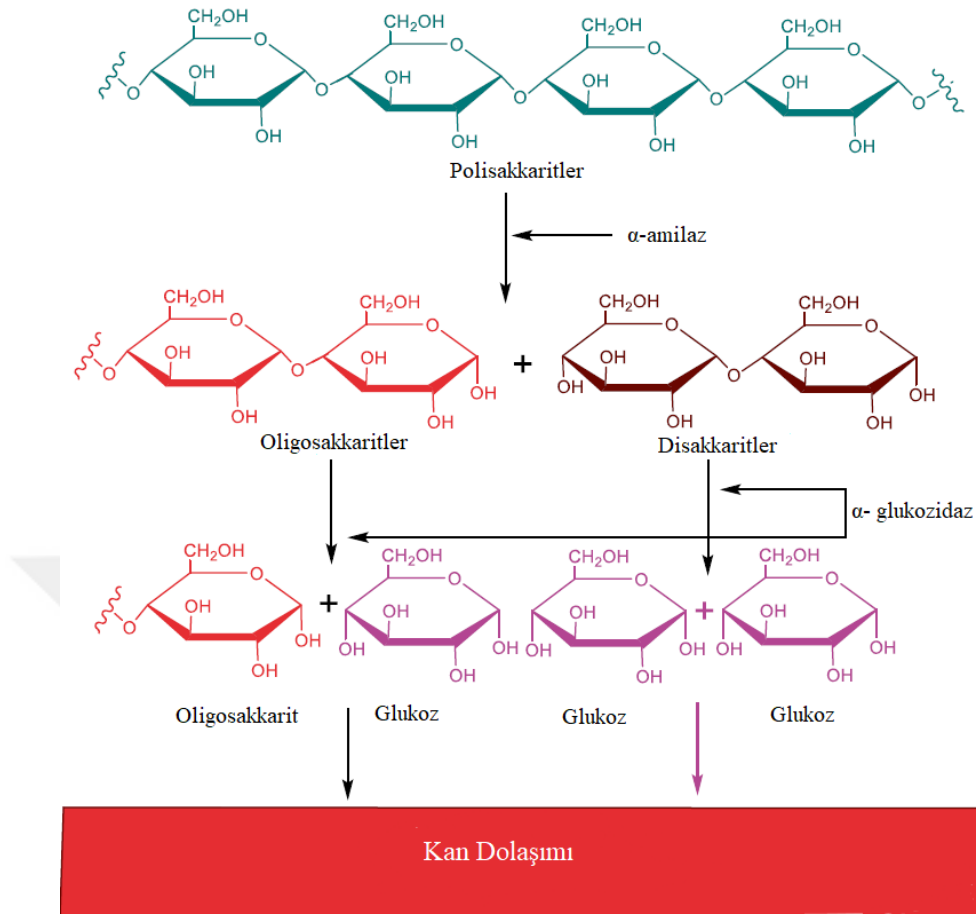
Potansiyel tirozinaz inhibitör özellikleri için 900 bitkiden hazırlanan ekstreler üzerinde araştırma yapılmıştır. Çalışılan bitkilerden *Morus alba* ağacının metanol ekstresinin melanin içeriğini önemli ölçüde azalttığı görülmüştür. Ayrıca yapılan izolasyon çalışmasında 2,4,3'-trihidroksidihidrostilben ve dihidroksi-resveratrol bileşiklerinin kojik asit ile karşılaştırıldığında güçlü bir tirozinaz inhibitör aktivite sergilediği belirlenmiştir (238).

Kondanse tanenler, bitkilerden elde edilen önemli sekonder metabolit sınıfıdır ve antioksidan, antikanser, antimikrobiyal ve anti-kardiyovasküler gibi biyolojik aktivitelere sahip olmaları nedeniyle yeni ilaçların öncüsü olma potansiyeline sahiptirler. Yapılan bir çalışmada *Ficus virens* bitkisinin yapraklarından, meyvelerinden ve gövde kabuğundan elde edilen kondanse tanenlerin yapısında bulunan aromatik halka B'deki hidroksil gruplarının tirozinaz enziminin aktif bölgesindeki bakır iyonlarını şelatlayarak enzimi inhibe ettiği belirlenmiştir (239).

Cinnamomum subavenium bitkisinin sap kısmından hazırlanan ekstreden izole edilen linderanolit B ve subamolit A bileşiklerinin hem mantar hem de insan kaynaklı tirozinaz enzimini inhibe ettiği bulunmuştur (240).

2.12.4. α -Glukozidaz Enzimi ve Fizyolojik Önemi

Alfa-amilaz ve α -glukozidaz, Gastrointestinal Sistem'de bulunan ve karbonhidrat metabolizmasında rol oynayan önemli enzimlerdir. Karbonhidratlar ince bağırsağa girdiğinde pankreas tarafından salgılanan α -amilaz enzimi nişastadaki $\alpha(1,4)$ -glikozidik bağları kırarak polisakkaritleri daha küçük moleküllere (oligosakkaritler, disakkaritler, trisakkaritler) parçalar. Daha sonra ince bağırsağın fırçamsı kenarındaki hücrelerinde bulunan α -glukozidaz enzimi bu molekülleri parçalamasıyla glukoz molekülü serbest kalır. Serbest kalan glukoz molekülü kan dolaşımına girerek, kan glukoz seviyesini artırır (Şekil 14) (241, 242).

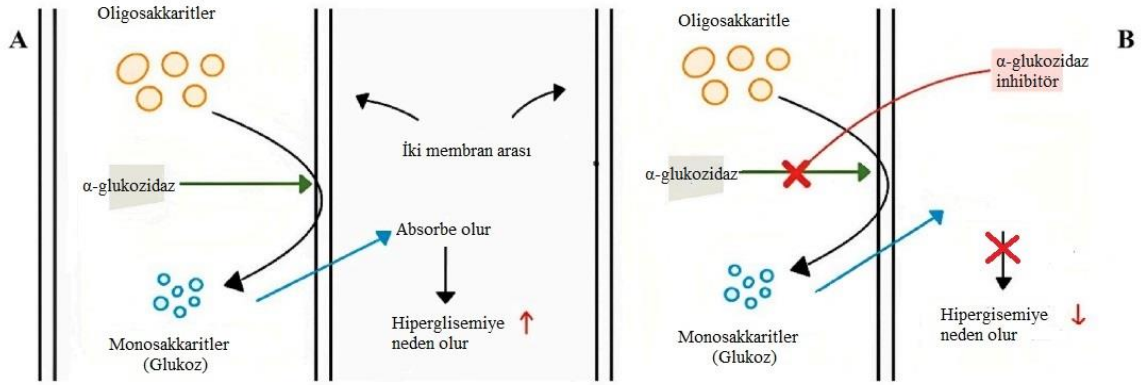


Şekil 14. α -glukozidaz enziminin etki mekanizması (Askarzadeh'den, 241)

Diyabet kan glukoz seviyesinin normalin üzerine çıkmasıyla (hiperglisemi) karakterize edilen kronik bir endokrin ve metabolik bozukluktur. Hiperglisemi, pankreas yeterli miktarda insülin üretmediğinde (tip 1 diyabet) veya vücut üretilen insülini etkili bir şekilde kullanamadığında (tip 2 diyabet) meydana gelir. Sonuç olarak bozulmuş karbonhidrat, lipid ve protein metabolizması ortaya çıkar. Yüksek kan glukoz seviyeleri vücudun sinirlerini ve kan hücrelerini hasara uğratma eğilimindedir. Bu hasarlar zamanla kalp hastalığı, inme, ayaklarda sinir hasarı ile birlikte kan akışının bozulması, körlük, böbrek yetmezliği gibi hastalıklara neden olur ve daha sonra gelişen komplikasyonlar sonucunda diyabeti olmayan yaşlılara göre ölüm riski iki katına çıkabilir (242, 243).

Diyabet hastalığı 21. yüzyılın en büyük sağlık sorunlarından biridir ve küresel ölüm nedenleri arasında ilk 10'da yer almaktadır. Dünya genelinde 415 milyondan fazla diyabet hastası bulunmaktadır ve bu sayının 2040 yılına kadar 642 milyonu aşması beklenmektedir. En fazla diyabet vakasına sahip olan ülkeler arasında Çin, Hindistan, ABD, Pakistan, Brezilya, Meksika, Endonezya, Almanya, Mısır ve Bangladeş bulunmaktadır. Bu durum Orta Doğu, Kuzey Afrika, Kuzey Amerika, Batı Pasifik ve Güneydoğu Asya'nın diyabetin en fazla görüldüğü bölgeler olduğunu göstermiştir. Bu bölgeler, küresel diyabet vakalarının yaklaşık %62'sini oluşturmaktadır. Dünya genelinde, diyabet hastalığı sebebiyle yılda yaklaşık 4 milyon insan hayatını kaybetmektedir (242, 244).

Yemek sonrası hiperglisemi, tüketilen nişasta miktarı ve sindirim hızı ile ilişkili olmakla beraber kan glukoz artışının başlıca kaynağıdır. Karbonhidratın monosakkaritlere kadar parçalanması geciktirilerek glukozun kan dolaşımına giriş hızının azaltılması yemek sonrası hiperglisemi tedavisi için etkili bir yaklaşımdır. Bunun gerçekleşmesi için en temel strateji, sindirim sisteminde karbonhidratları parçalayan enzimlerden biri olan α -glukozidaz enziminin inhibe edilmesidir (Şekil 15) (245, 246). Bu amaçla akarboz, miglitol, vogliboz gibi ilaçlar kan glukoz seviyesini kontrol etmek için klinikte kullanılan α -glukozidaz inhibitörleridir. Bu inhibitörler yapısal olarak oligosakkaritlere benzer ve bu nedenle enzimin aktif bölgesine daha yüksek bir afinite ile bağlanarak α -glukozidaz enzimini inhibe ederler. Enzimin inhibe edilmesi sonucunda karbonhidratların sindirimi yavaşlar, glukozun kan dolaşımına emilim hızı azalır ve böylece kan glukoz seviyesini düşer. Bu ilaçlar yemek sonrası hiperglisemiye etkili bir şekilde azaltmayı başarmış olsalar da ishal, bulantı ve şişkinlik gibi gastrointestinal yan etkilere neden olurlar. Görülen bu yan etkiler genellikle hafif olsa da tedavinin kesilmesinin ana nedenlerinden biri olabilmektedir (242).



Şekil 15. α -glukozidaz enziminin inhibe edilme mekanizması (Benjamin'den, 246)

2.12.4.1. Bitkisel Kaynaklı α -Glukozidaz İnhibitörleri

Sentetik antidiyabetik ilaçların diyabet hastalığını tedavi etmek için hem yetersiz olduğu hem de oluşan yan etkiler nedeniyle tedavi seçenekleri sınırlanmaktadır. Bu ilaçlar başlangıçta yüksek kan glukoz seviyesini azaltmada başarılı olsalar da uzun süre glisemik kontrol sağlamakta yetersiz kalabilirler (247). Bu nedenle antidiyabetik araştırmanın en büyük hedefi, güvenli ve herhangi bir negatif yan etkisi olmayan anti-hiperglisemik ajanların keşfidir. Geleneksel Hint ve Çin tıbbı çok uzun süredir bitki ve bitkisel ekstraktlarını antidiyabetik ilaç olarak kullanması bilim insanlarını diyabet tedavisi için yeni terapötik ilaçları ararken geleneksel tıbbı ve çeşitli kültürlerin gıdalarını araştırmaya yöneltmiştir. Böylece büyük ölçüde istenmeyen yan etkilerden arınmış bitkisel gıdalardan elde edilen α -glukozidaz inhibitörlerini araştırmaya yönelik çabalar artmıştır. Birçok bitkisel gıda, polifenoller gibi benzersiz fitokimyasal bileşiklerin iyi kaynaklarıdır. Yapılan çalışmalar fenolik bileşenler açısından zengin birçok bitkisel gıdanın in vitro olarak bağırsakta bulunan α -glukozidaz'ın enzimatik aktivitesini inhibe etme özelliğine sahip olduğunu göstermiştir (245, 248). Örneğin yeşil çay, siyah çay, beyaz çay gibi çeşitli çaylardaki fenolik bileşiklerin α -glukozidaz enzimini inhibe etme etkisi incelenmiş ve hepsinin enzimi inhibe ettiğini belirtilmiştir (249).

Mısır bitkisinde bulunan fenolik bileşiklerin bağırsak α -glukozidaz enzimine karşı güçlü bir inhibisyon etkisi olduğu görülmüştür (250). Yeni Zelanda'da mavi yaban mersini üzerinde yapılan bir diğer çalışmada meyvenin α -glukozidaz enzimini inhibe etme aktivitesine sahip olduğu görülmüştür (251).

Adhatoda vasica Nees bitkisinin metanolik ekstraktı, sıçan bağırsak α -glukozidaz enzimi üzerinde test edilmiştir. Ekstraktan izole edilen vasisine ve vasisinol bileşiklerinin yüksek inhibitör aktivite göstermiş olduğu görülmüştür (252).

Piper umbellatum bitkisinin dallarından piperumbellactam A, piperumbellactam B ve piperumbellactam C adlı üç alkaloid bileşiği izole edilmiş bu bileşikler orta derecede α -glukozidaz enzim inhibitör aktivitesi göstermiştir (253).

Bergenia cilata bitkisinin sulu metanolik ekstraksiyonundan (-)-3-O-galloepikateşin ve (-)-3-O-gallokateşin gibi iki aktif bileşik izole edilmiştir. Bu izole edilen bileşiklerin sıçan bağırsak α -glukozidaz enzimi karşısında doz bağımlı inhibitör aktiviteler gösterdiği görülmüştür (254).

Syagrus romanzoffiana tohumlarından hazırlanan etanol ekstresinin %55 oranda α -glukozidaz inhibitör aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu ekstreden hazırlanan bütanol fraksiyonunun ise %73 oranında inhibisyon sağladığı görülmüştür. Bütanol fraksiyonundan izole edilen 13-hidroksikompasinol A ve skirpusin C bileşiklerinin α -glukozidaz tip IV'e karşı güçlü inhibitör aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir (255).

Curcuma longa bitkisinden izole edilen doğal kurkumin, demetoksikurkumin ve bisdemetoksikurkumin bileşikleri, UV spektroskopisi kullanılarak in vitro olarak α -glukozidaz inhibitör aktivitesi açısından değerlendirilmiş ve doğal bir kurkuminoid olan bisdemetoksikurkumin bileşiğinin inhibitör etki gösterdiği görülmüştür (256).

Fagara tessmannii bitkisinde izole edilen bir terpenoid bileşiği olan 3 β -Asetoksi-16 β -hidroksibetulinik asit güçlü bir α -glukozidaz inhibitör aktivite göstermiştir (257).

2.13. Sitotoksosite ve Değerlendirme Testleri

Biyoyumluluk, bir maddenin alerjik, kanserojenik ve mutajenik etkiye sebep olmadan yumuşak veya sert dokularla etkileşime girebilme yeteneğini ifade eder. Dokularının biyoyumlu olmayan bileşiklere tepkisine toksisite denilir. Sitotoksosite ise biyoyumlu olmayan bileşiklerin hücrelerde neden oldukları hasar olarak tanımlanır. Bu hasar, hücrelerdeki makromoleküllerin sentez zincirini bozarak hücre fonksiyonu ve yapısına zarar verme olarak ifade edilmektedir (258, 259). Hücreler sitotoksik maddeyle etkileşime girdiğinde hücre zarının hasar görmesi veya zarın geçirgenliğinin artması sonucu hücre içindeki içeriklerin dışarıya sızmasıyla hücrenin kontrolsüz ölümü gerçekleşebilir. Ayrıca hücrenin büyümesi ve bölünmesinin durması veya hücrede

meydana gelen birçok değişiklik sonucunda kontrollü hücre ölümü de meydana gelebilir. Hücrelerin sitotoksiteden ne derece zarar göreceği toksik maddenin konsantrasyonuna ve maruziyet süresine bağlı olarak değişmektedir (260, 261).

Sitotoksiste, kimyasalların hücreler ve dokular üzerindeki etki mekanizmalarını anlamada önemli bir faktördür. Sitotoksitenin, kanser oluşumu ve inflamasyon dahil olmak üzere birçok patolojik süreçte önemli rol oynadığı düşünölmektedir. Ayrıca serbest radikaller ve tahriş ediciler gibi diğer maddelerin aktivitesini de belirlenebilir (262). Bir maddenin hücre için sitotoksik etkisinin olup olmadığını değerlendirmek için in vitro olarak sitotoksiste testleri geliştirilmiştir. Sitotoksiste testleri, hücrelerin yaşamsal süreçlerinde meydana gelen değişiklikleri ve hücre hasarının seviyesini belirlemek için kullanılır. Bu testler hücrenin canlılığı, hücre zarı ve iç organel hasarı, hücre bölünmesi, hücre ölümü, protein veya DNA sentezi gibi hücresel olaylar hakkında bilgi verir. Sitotoksik etkileri değerlendirmek amacıyla dört farklı değerlendirme yöntemi kullanılmaktadır (258, 263).

Canlılık değerlendirme testleri: Bu testlerde toksik etkilerden dolayı költürde kalan canlı hücrelerin yüzdesini belirlemek için kolorimetrik veya floresans ölçümleri kullanılır. Testler farklı boyaların hücre içersine alınmasıyla gerçekleştirilir. Hücre zarının bütönlüğü bozulmuş hücreler için tripan mavisi, eritrosin veya naftalin siyahı gibi boyalar kullanılırken hücre zarı bütönlüğü bozulmamış olan canlı hücreler için diasetil floresan veya nötral kırmızısı kullanılır.

Yaşam değerlendirme testleri: Bu yöntem sadece ölmüş hücreleri değerlendirir. Hücrelerde görölen toksik etkiler uygulamanın ilk günlerinde veya daha sonra ortaya çıkabilir. Hücre yaşamı belirlenirken, tek tip hücre süspansiyonundan saflaştırılan hücrelerin, yeniden koloni oluşturabilme yeteneği değerlendirilir. Bu yöntemle bir toksik madde ile temas eden hücrelerin kısa süre içinde ürettiği sitotoksitenin miktarı ölçölür.

Hücre proliferasyon değerlendirme testleri: Sitotoksik maddenin hücre proliferasyonu üzerindeki etkisi, hücreler üzerinde yapılan testlerden birkaç gün sonra költürdeki hücrelerin sayılmasıyla belirlenir. Proliferasyon değerlendirme yöntemleri arasında 3H-timidin ve 5-bromo-2'-deoksiüridin gibi immünohistokimyasal testler bulunmaktadır.

Metabolik sitotoksisite değerlendirme testleri: Bu yöntemde genellikle daha hassas çalışma gerektiren hücrelerin, çoğalma kapasiteleri bir mikropłaka okuyuculu spektrofotometre ile llr ve değerlendirilir. Bu testler hücre sayısındaki net artışı, toplam protein miktarını veya DNA artışını belirler. Metabolik sitotoksisite değerlendirme testlerine MTT (3-(4,5-Dimetiltiazol–2-il)-difenil tetrazolyum bromür), Alamar Mavisi Testi ve tetrazolyum tuzunun formazon kristallerine dönüştürülmesine dayanan testler örnek olarak gösterilebilir (258).



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Cihaz, Alet, Malzeme ve Kimyasallar

3.1.1. Cihazlar ve Malzemeler

Tez çalışmasında kullanılan cihaz ve malzemeler Tablo 4’de verilmiştir.

Tablo 4. Kullanılan cihaz ve malzemeler

Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler	Marka/Model
Buzdolabı	Arçelik
Çok kanallı pipet	Microlit Rbo
Değirmen	Ic-25B
Derin dondurucu (-20 °C)	Arçelik 2071 MB
Derin dondurucu (-80 °C)	Thermo Scientific 88400V
Etüv	Ecocell
Evaporatör	Heidolph
Hassas elektronik terazi	Ohaus Pioneer
Hemositometre lamı	Mirenfeld Superior
Işık mikroskobu	Zeiss Primo star
İnkübatör	Memmert
Laminar akış kabini	Mikrotest Class II A2
Liyofilizatör	Christ Alpha 1-4 LD plus
Mikroplaka okuyucu	Thermo Scientific Multiskan Go 51119300
Orbital çalkalayıcı	Heidolph Unimax 1010 Incubator 1000
Otoklav	Nüve Steamart OT23VS S Class EN 13060
Pasteur pipet	Nest Biotechnology 318212
pH metre	Hanna Instruments 83141
Saf su cihazı	Thermo Scientific
Sıcak su banyosu	Nüve NB 9
Soğutmalı santrifüj cihazı	Nüve NF 800R
Spektrofotometre cihazı	UV-1800 Shimadzu
Vorteks	Hawksley Neuation i Swix Jr VT

3.1.2. Kimyasal Maddeler

Tez çalışmasında kullanılan kimyasal maddeler Tablo 5’de verilmiştir.

Tablo 5. Kullanılan kimyasal malzemeler

Kullanılan Kimyasallar	Marka
Asetilkolinesteraz	Sigma-Aldrich/C3389
Asetiltiyokolin iyodür (ATCI)	Sigma-Aldrich/A5751
Bütirilkolinesteraz	Sigma-Aldrich/C1057
Bütiriltiyokolin iyodür (BTCl)	Sigma-Aldrich/20820
DPPH	Sigma Aldrich/ D9132
DMEM	Sigma Aldrich/D6421
DMSO	Sigma Aldrich/472301
DTNB	Sigma Aldrich/D8130
Etanol	Smyras/64175
Etil asetat	Sigma-Aldrich/34858
Folin-Coicalteu reaktifi	Sigma-Aldrich/F9252
Fötal Sığır Serumı	ATCC 30-2020
Fosforik asit	Sigma Aldrich/695017
Galantamin	Sigma-Aldrich/G1660
Glasiyel Asetik Asit Çözeltisi	Tekkim/TK2050008
Hekzan	Sigma Aldrich/34859
HCl	Sigma Aldrich/258148
Kloroform	Sigma Aldrich/650498
L-DOPA	Sigma-Aldric/333786
Metanol	Isolab/ 947.046.2500
MTT	Serva/2039502
Penisilin-Streptomisin Çözeltisi	Multicell/420-201-EL
Sodyum dodesil sülfat	Sigma-Aldrich/L3771
Sodyum karbonat (Na ₂ CO ₃)	Sigma Aldrich/ S7795
Tripan Mavisi	Biological Industries/1520049
Tripsin-EDTA Solüsyonu	HyClone/J190001
Trisma baz	Sigma-Aldrich/93362

3.2. Deney Hazırlığı ve Yöntemler

3.2.1. Bitkilerin Toplanması ve Ekstraksiyonu

Lactuca boissieri, *Lactuca bourgaei* ve *Cicerpita petiolata* bitkilerin toprak üstü kısımları 2022 yılı Ağustos ayında Cimil Yaylası'ndan (Rize-1600-2250) toplandı. Bitkilere ait herbaryum örnekleri (Güzel 962&Yaşar, Güzel 979&Demir, Güzel 980&Demir) Karadeniz Teknik Üniversitesi Biyoloji Bölümü Herbaryumu'nda saklanmaktadır.

Bitkiler serin ve gölgeli bir ortamda kurutuldu. Daha sonra değirmende öğütülüp toz haline getirilerek ekstraksiyon işlemi için hazır hale getirildi. Kurutulmuş ve toz haline getirilmiş bitkilerden 10'ar gram tartıldı ve tartılan bitkiler farklı çözücüler (100 mL) ile (hekzan, kloroform, etil asetat, metanol, su) oda sıcaklığında 24 saat süre boyunca çalkalayıcıda ekstre edildi. Ardından ekstreler süzgeç kağıdından süzüldü. Su hariç diğer ekstre çözücülerini evaporatörde 30-40 °C'de tamamen yoğunlaştırıldı. Sulu ekstreler ise önce donduruldu ve daha sonra liyofilizatörde suları uçuruldu. Bu ekstraksiyon işlemi her bir bitki için üç kez tekrar edilerek ekstreler birleştirildi. Bu şekilde hazırlanan stok ekstraktlar biyokimyasal aktivite testleri için buzdolabında +4 °C'de karanlıkta saklandı.

3.2.2. Clevenger Yöntemiyle Uçucu Yağ Ekstraksiyonu

L. boissieri, *L. bourgaei* ve *C. petiolata* bitkilerinden uçucu yağ eldesi Clevenger aparatı kullanılarak su buharı destilasyonu yöntemiyle yapıldı. Kurutulmuş 100 g bitki üzerine 500 mL su eklendikten sonra 4 saat boyunca destilasyon gerçekleştirildi. Destilasyon sonrasında elde edilen uçucu yağlar hekzan çözücüsünde toplandıktan sonra Na₂SO₄ ile kurutularak kahverengi viallere koyularak analiz zamanına kadar -10 °C'de muhafaza edildi. Clevenger yöntemi ile uçucu yağlar sırasıyla %0.2470, %0.0968 ve %0.4015 verimle elde edildi.

3.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Tez çalışmasında kullanılan *L. boissieri*, *L. bourgaei*, *C. peitolata* bitki türlerinden hazırlanan hekzan, kloroform, etil asetat, metanol ve su ekstrelerinin antioksidan, antimikrobiyal, sitotoksik aktiviteleri ile bazı enzimleri inhibe etme (asetilkolinesteraz, tirozinaz ve α -glukozidaz) etkileri çalışıldı.

3.3.1. Antioksidan Aktivite Tayini

Bitkilerin antioksidan aktiviteleri Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini, Ferrik İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP) Tayini, Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) ve DPPH Radikali Giderme Aktivitesi yöntemleri ile test edilmiştir.

3.3.1.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

Singleton ve ark.'ları tarafından geliştirilen bu yöntemde Folin Ciocalteu reaktifi (FCR) kullanılarak antioksidan maddelerin toplam fenolik içeriği belirlenir. FCR aktif merkezi Mo(VI) olan molibdofosfotungstik heteropoliasit bileşiğidir. Bu yöntem suda ve organik çözücülerde çözünen fenolik bileşikler tarafından bazik ortamda Molibdenyum'a elektron verilmesi sonucunda mavi renkli kompleksin oluşmasına dayanır. Elde edilen mavi renkli kompleksin 765 nm'de en yüksek absorbansa sahiptir. Çalışılan yöntem, antioksidan çalışmalarında tekrarlanabilir, basit ve güvenilir olduğu için yaygın olarak kullanılır. Ama testin uzun bir süre gerektirmesi, reaksiyon su içeren ortamlarda gerçekleştiği için yağda çözünen bileşiklerin analizi için uygun olmaması, fenolik bileşenlerin tepkimeye girmesi için alkali ortamın gerekliliği gibi durumlar bu yöntemin kullanımını kısıtlamaktadır (264-266).

Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı

0.5 N Folin-Ciocalteu Reaktifi: 2.5 mL Folin-Ciocalteu reaktifi son hacmi 10 mL olacak şekilde saf suyla seyreltilti.

% 10'luk Na₂CO₃ Çözeltisi: 3 gram Na₂CO₃ tartıldı, 15 mL saf su ile çözülüp son hacmi 30 mL'ye tamamlanarak hazırlandı.

Gallik Asit Çözeltisi (5 mg/mL): 3.9 mg gallik asit tartılarak 780 µL metanol ile çözüldü ve stok çözeltisi hazırlandı.

Denevin Yapılışı

Çalışmada standart madde olarak kullanılan gallik asitin farklı konsantrasyonlarda (0.3125-5 mg/mL) hazırlanmış çözeltileri kullanıldı. Bitki ekstraktlarının kendi çözücülerini kör olarak kullanıldı. Deney tüplerine farklı konsantrasyonlarda (0.3125-5 mg/mL) olacak şekilde 20 µL ekstraktlardan eklenerek gerekli seyreltmeler metanol eklenerek gerçekleştirildi. Ardından her tüpe sırasıyla 680 µL saf su, 400 µL Folin-Coicalteu reaktifi eklendi ve vortekslenerek oda sıcaklığında üç dakika bekletildi. Süre sonunda karışımların

üzerine 400 µL %10'luk Na₂CO₃ ilave edildi. Bu şekilde tüm tüpler karanlıkta 2 saat bekletildikten sonra 96 kuyucuklu plakaya aktarıldı. Numunelerin absorbansları 760 nm dalga boyunda hazırlanan köre karşı okundu. Deney çalışması 3 tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirildi. Gallik asit çözeltilerinin farklı konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değerleri kullanılarak standart için kalibrasyon grafiği çizildi. Grafiğin kalibrasyon eğrisinden faydalanarak her bitki örneği için toplam polifenol miktarı mg GAE/g ekstre cinsinden hesaplandı ve mg/g ekstre ± standart sapma olarak sonuçlar verildi.

3.3.1.2. Ferrik İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP) Tayini

Benzie ve Strain tarafından geliştirilen yöntemde antioksidan maddelerin toplam indirgeme potansiyeli ölçülür. Yöntem düşük pH şartlarında Fe⁺³'ün, tripiridiltiazin (TPTZ) reaktifi ile reaksiyonu sonucu [Fe⁺³-TPTZ] kompleksi oluşturması ve oluşan bu kompleksin [Fe⁺²-TPTZ] formuna antioksidan maddeler tarafından indirgenmesi sonucunda test çözeltisinde koyu mavi bir renk görülmesi esasına dayanır. Oluşan bu koyu mavi renk 595 nm'de en yüksek absorbansı verir. Absorbansın artması indirgenme gücünün artması demektir. Demir asidik koşullarda çözündüğü için yöntem düşük pH' larda (pH: 3.6) gerçekleştirilir. Basit ve ucuz olması yöntemin avantajlarından (264).

Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı

Asetat Tamponu (300 mM, pH 3,6): 2.325 g NaCH₃COO.3H₂O tartıldı, üzerine 12 mL glasiyel asetik asit eklendi ve hacmi 750 mL'ye distile suyla tamamlandı.

FeCl₃ (20 mM) Çözeltisi: 48.6 mg FeCl₃ tartıldı ve 6 mL distile su ile çözündü. Daha sonra üzerine 9 mL metanol eklendi.

TPTZ (10 mM) Çözeltisi: Stok maddeden tartılan 46.8 mg TPTZ üzerine 6 mL HCl (100Mm) ilave edilerek çözündükten sonra üzerine 9 mL metanol eklendi

HCl (100 mM) Çözeltisi: 25 mL distile suyun içine 205 µL HCl (% 37) eklenerek hazırlandı.

FRAP Reaktifi: Asetat tamponu (300 Mm, pH: 3.6): TPTZ (10 mM): FeCl₃ (20mM) (10:1:1) oranında karıştırıldı.

Troloks (0.25 mg/mL): 2.5 mg troloks tartıldı, 10 mL etanol ile çözülerek troloks standartı elde edildi.

Denevin Yapılışı

Standart olarak kullanılan troloks maddesinin etanol çözücüsü ile farklı konsantrasyonlarda (62.5-1000 μ M) hazırlanan çözeltileri kalibrasyon eğrisi için kullanıldı. Bitki ekstraları 10 mg/mL konsantrasyonunda hazırlandı. Taze olarak hazırlanan FRAP reaktifi kullanılacak zamana kadar manyetik karıştırıcıda bekletildi. Bitki ekstralarının kendi çözücülerini kör olarak kullanıldı. Tüplere ekstre ve gallik asitten 50'şer μ L ilave edildikten sonra üzerlerine 1.5 mL FRAP reaktifi eklendi ve vortekslenerek 20 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Yirmi dakikanın ardından numunelerin absorbansları 595 nm'de okunarak Troloks eşdeğeri TEAC (μ M) olarak ifade edildi.

3.3.1.3. Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Tayini

Bu yöntem Apak ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir. Antioksidan maddelerin Cu (II)'yi Cu (I)'e indirgeme yeteneğinden faydalanarak antioksidan kapasite ölçülür. Bu test elektron transfer reaksiyonlarından faydalanır. Yöntemde Neokuproin bileşiği, Cu (II) ile bakır(II)-neokuproin kompleksini oluşturur. Oluşan bu kompleks antioksidanlar tarafından bakır (I) neokuproin şelatına indirgenir ve 450 nm dalga boyunda maksimum absorbans verir. Bu testin diğer yöntemlere göre avantajı hızlı gerçekleşmesi ve pH ayarının kolay yapılabilmesidir (264).

Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı

7.5 mM Neokuproin Çözeltisi: 78 mg Neokuproin tartıldı ve 50 mL metanolde çözüldü.

10 mM pH:7 CuCl₂.2H₂O Çözeltisi: 92.4 mg CuCl₂.2H₂O tartıldı ve 50 mL saf su çözüldü.

1 M pH: 7 NH₄CH₃COO⁻ Çözeltisi: 3.8 g NH₄CH₃COO⁻ tartıldı, 50 mL saf su ile çözüldü.

Troloks (0.25 mg/mL): 25 mg Troloks tartıldı, 100 mL metanol ile çözülerek troloks standardı elde edildi.

Denevin Yapılışı

Standart olarak kullanılan Troloks'un farklı konsantrasyonlarda (62.5, 125, 250, 500, 1000 μ M) metanolle hazırlanan çözeltileri kalibrasyon eğrisi için kullanıldı. Bitki ekstralarının kendi çözücülerini kör olarak kullanıldı. Ekstreler 10 mg/mL konsantrasyonunda

hazırlandı. Hazırlanan stok konsantrasyonlardan ayrı ayrı tüplere 500'şer μL alınarak üzerlerine 1000'er μL $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$ ve $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ eklendi. Daha sonra 1000 μL Neokuproin reaktifi test çözeltilerine eklenirken 1000 μL metanol (reaktif çözücüsü) numune körü için 20 saniye aralıklarla eklendi. Vortekslenen tüpler 30 dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletildi. 30 dakikanın ardından 450 nm dalga boyunda absorpsiyonlar okunarak ekstraların antioksidan kapasitesi Troloks eşdeğeri TEAC (μM) şeklinde ifade edildi.

3.3.1.4. DPPH• Radikal Süpürücü Aktivite Tayini

DPPH• (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikali, kararlı bir bileşiktir. Koyu mor renkte bir çözelti oluşturur ve bu çözelti 517 nm'de maksimum absorpsiyon verir. Yöntemin temel prensibi, antioksidanın DPPH• radikale elektron transferi yaparak veya hidrojen bağışlayarak radikali etkisiz hale getirmesidir. Bu reaksiyon sonucunda, mor renkli DPPH• radikali renksiz formuna dönüşür. Bu renk değişimi, antioksidanın serbest radikalleri etkisiz hale getirme kapasitesini ölçmeye yönelik bir gösterge olarak kullanılır. DPPH metodu genellikle bitki özleri, gıda örnekleri veya doğal ürünlerdeki antioksidan aktivitesini belirlemek için kullanılır. Bu yöntem, antioksidan potansiyelinin karşılaştırılması ve değerlendirilmesi amacıyla sıkça tercih edilen bir laboratuvar tekniğidir. Doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar vermesi, basit, hızlı olması yöntemin avantajlarından. Radikalin sadece organik çözücülerle çözülmesi hidrofilik maddelerin antioksidan kapasitesinin ölçümünün yapılmasında kısıtlayıcı rol oynamaktadır (264, 266, 267).

Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı

DPPH• Reaktifi (100 mM): 3.94 mg DPPH radikali tartıldıktan sonra 90 mL metanol çözücüsü ile çözüldü ve 100 mL'ye tamamlandı.

BHT (0.01 mg/mL): 0.1 mg BHT tartıldı, 10 mL metanol ile çözüldü. Hazırlanan stok çözelti metanol ile yarı yarıya seyreltilti ve 10-5-2.5-1.25-0.625 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonları hazırlandı.

Denevin Yapılışı

Standart olarak BHT'nin 0.01 mg/mL konsantrasyonunda hazırlanmış metanol çözeltisi kullanıldı. DPPH çözeltisi ve bitki ekstraların çözücülerini kör olarak kullanıldı. Deneye başlamadan önce bitki ekstraların hangi konsantrasyonlarda çalışılacağını

belirlemek için ön denemeler yapıldı. Denemeler için tüpe hem bitki ekstresinden hemde DPPH çözeltisinden yarı yarıya pipetlendi ve 40 dakika beklendi. Sürenin sonunda radikalin koyu menekşe renginin kalıcı olması, denenen konsantrasyonun ekstre için uygun olduğu gösterdi. Rengin kalıcı olmayıp kaybolması durumunda ekstrelerin konsantrasyonu seyreltilerek denemelere devam edildi. Ön denemeler sonunda belirlenen konsantrasyon asıl çalışmada kullanılacak olan en konsantre ekstre konsantrasyonudur. Bu konsantrasyondan başlayarak ekstreler kendi çözücülerıyla seyreltilerek farklı konsantrasyonlarda hazırlandı. BTH standart stok çözeltisi de metanolle yarı yarıya seyreltilerek 5 farklı konsantrasyonda (10-5-2.5-1.25-0.625 µg/mL) hazırlandı Tüplere eşit hacimde (750 µL) bitki numuneleri ve DPPH çözeltisi eklendi ve vortekslendi. Daha sonra tüpler karanlıkta, oda sıcaklığında 55 dk boyunca inkübasyona bırakıldı. Süre sona erdikten sonra köre karşı 517 nm’de absorbandslar okundu. Okunan absorbandslara karşılık gelen konsantrasyonlar grafiğe geçirildi ve SC₅₀ değeri hesaplandı.

SC₅₀ Değerinin Bulunması

SC₅₀ değerinin belirlenmesi için antioksidan maddenin farklı konsantrasyonları ile DPPH· radikali karıştırılır ve absorbandsdaki değişim ölçülür. Ölçülen absorbandsların değişimi derişime karşı grafiğe geçirilir. Grafiğe göre ortamda varolan DPPH· radikal miktarını yarıya indiren numune konsantrasyonu belirlenerek SC₅₀ değeri olarak ifade edilir. SC₅₀ mM ya da mg/mL cinsinden verilir (268).

3.3.2. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Çalışılan bitkilerin dokuz tane mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivitesi ilk olarak Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu ile belirlenmiş daha sonra aktivite gösteren örnekler üzerinde Minimum İnhibisyon Konsantrasyon deneyi yapılarak antimikrobiyal aktivite nicel olarak belirtildi. Tablo 6’da çalışılan test mikroorganizmaları ile standart olarak kullanılan antibakteriyal ve antifungal ilaçlar verilmiştir.

Tablo 6. Test mikroorganizmaları ve standart olarak kullanılan ilaçlar

Test Mikroorganizmaları	
Gram negatif enterik basil	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
Gram negatif non fermentatif bakteri	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> ATCC 911
Gram negatif	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 43288
Gram pozitif sporlu basil	<i>Bacillus cereus</i> 702 Roma
Gram pozitif kok	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212
Gram pozitif kok	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
No gram	<i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 607
Maya mantarı	<i>Candida albicans</i> ATCC 60193
Maya mantarı	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> RSKK 251
Standart olarak kullanılan ilaçlar	
Antibakteriyal	Ampisilin
Antibakteriyal	Streptomisin
Antifungal	Flukonazol

3.3.2.1. Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu

Hazırlanan bitki ekstratlarında ve onlardan elde edilen uçucu yağlarda antimikrobiyal aktivite ilk olarak Agar Kuyucuk Difüzyon metodu ile bakıldı. Deneye başlamadan önce ilk olarak bakteri ve mantarlar için agar ve besiyerler hazırlandı. Mantarlar için, Patates Dekstroz Agar (PDA) ve maya ekstreli sıvı besiyeri (YEG) kullanılırken, bakteriler içinse Mueller Hinton agar (MHA) ve sıvı besiyerleri kullanıldı. Bu yöntemde test edilecek bakteriler bir gece bekletilerek çoğaltıldı. Çoğalan bakteri kültürlerinin yaklaşık 10^6 kob/mL (koloni oluşturan birim) oranında dilüsyonları serum fizyolojik içinde hazırlanarak MHA agar besiyeri üzerine ekimleri yapıldı. Ekimler yapıldıktan sonra steril edilmiş cam boru yardımıyla besiyerler üzerine 2 cm aralıklı ve 5 mm çapında kuyucuklar açıldı. Bu kuyucuklara hazırlanan stok bitki ekstraktlarından 50 µL ilave edilerek 36 °C’de 24-48 saat boyunca bekletildi. Süre sonunda inhibisyon zonları cetvel ile ölçülerek deney tamamlandı. Standart olarak Ampisilin (10 µg), flukonazol (5 µg) ve streptomisin (10 µg) kullanıldı (269).

3.3.2.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon Testi

Bu yöntem en az miktarda madde ile gösterilen antimikrobiyal etkinin nicel olarak değerlendirilmesi amacıyla yapılır. Mikro dilüsyon sıvı yöntemi ile MİK değeri mikrogram-mililitre ($\mu\text{g/mL}$) cinsinden hesaplanır. Antifungal ve antimikrobiyal etkiyi belirlemek için sırasıyla Yeast Nitrogen Base (YNB, pH 7.0) (Difco, Detroit, MI), PDA (Difco, Detroit, MI) ve MHA sıvı besiyerleri seçildi. ELISA plakaları kullanılarak yapılan bu testte hazırlanan bitki ekstraktlarından 0.1 mL alınarak sıvı besiyeri ile seri dilüsyon yapıldı. 1×10^8 kob/mL mikroorganizma içeren McFarland 0.5 çözeltisi 1:10 oranında sulandırıldı. Elde edilen sulandırılmış çözeltilerden 0.005 mL mikroorganizma (her kuyucuğun son konsantrasyonu 5×10^4 kob/kuyucuk) alınarak her bir kuyucuğa eklendi. Etüvde 35°C 'de pleytler 24-48 saat inkübe edildi. Sonuçlar verilirken mikroorganizmanın büyümesini durdurmak veya engellemek için gerekli olan en düşük antibiyotik konsantrasyonunu MİK değeri ($\mu\text{g/mL}$) olarak alındı. Standart olarak Ampisilin antibiyotiği (10 μg) bakteri için, flukonazol ilacı (5 μg) ise mayalar için kullanıldı (270).

3.3.3. Enzim İnhibisyon Çalışmaları

3.3.3.1. Asetilkolinesteraz Enzim İnhibisyonu Tayini

Asetilkolinesteraz enzim aktivitesini spektrofotometrik olarak ölçmek için Ellman yöntemi kullanıldı. Yöntemde substrat olarak kullanılan asetiltiyokolin iyodür ile AChE enzimi reaksiyona girmesi sonucunda tiyolin ve asetat bileşiği oluşur. Renksiz tiyolin bileşiği DTNM ile tepkimeye girerek sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoik asiti oluşturur. Oluşan sarı renkli bileşiğin 412 nm'de absorbensli ölçülerek rengin şiddeti belirlenir. Renk şiddeti ile enzim aktivitesi doğru orantılıdır (271).

Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı

Asetiltiyokolin iyodür Çözeltisi: 11.8 mg asetiltiyokolin iyodür tartıldı ve 2.72 mL Tris-HCl Tamponu (pH 8) ile çözüldü.

Asetilkolinesteraz Enzim Çözeltisi: 1 mg enzim tartıldı, 8 mL Tris-HCl Tamponu (pH 8) ile çözüldü. Son hacim 10 mL'ye tamponla tamamlanarak stok çözelti hazırlandı. Daha sonra bu stok çözeltilerden 134.23 μL alındı ve 8 mL Tris-HCl tamponunda çözünerek son hacim 10 mL'ye aynı tamponla tamamlandı.

DTNB çözeltisi: 12 mg DTNB tartıldı ve Tris-HCl tamponunda (pH 8) çözüldü. Son hacim 10 mL'ye aynı tampon ile tamamlandı.

Tris-HCl Tamponu (pH 8): 0.6 g trisma tartılarak saf suda (50 mL) çözüldü. Daha sonra pH 8 olması için seyreltik HCl ile ayarlandıktan sonra son hacmi distile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

Deneyin Yapılışı

Asetilkolinesteraz enzim inhibisyonu tayini için asetiltiyokolin iyodür substrat madde olarak, sarı renkli 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) aktivite ölçümü için, galantamin ise standart olarak kullanıldı. Farklı çözücülerle hazırlanan bitki ekstraktları ve kontrol bileşikleri Tris-HCl tamponu (pH 8.0) ile çözülerek son konsantrasyonları 25, 50, 100 200 µg/mL olacak şekilde seyreltilti. Çalışılan 96 kuyucuklu mikropalakalara Tris-HCl tamponu (pH 8.0) pipetlendikten sonra kör kuyucukları dışındaki diğer kuyucuklara farklı konsantrasyonlarda (25, 12.5, 6.25, 3.125 µL) örnek çözeltileri ilave edildi. Daha sonra tüm kuyucuklara antikolinesteraz çözeltisi (25 µL) eklenerek 15 dakika 25°C'de inkübe edildi. Süre sonunda tüm kuyucuklara DTNB (125 µL) ve asetiltiyokolin iyodür (25 µL) eklenerek reaksiyon başlatıldı. Absorbanslar 412 nm'de okundu. Deneyler üç tekrar olarak çalışıldı.

3.3.3.2. Tirozinaz Enzim İnhibisyonu Tayini

Tirozinaz inhibitör çalışmaları tirozin veya L-DOPA gibi substratların varlığında incelenir ve bu inhibitörlerin etkinliği dopakrom oluşumuna dayalı olarak değerlendirilir. Dopakrom, tirozinaz enzimi tarafından katalizlenen reaksiyon sonucunda ortaya çıkan bir ara üründür. Dolayısıyla tirozinaz inhibitörlerinin etkisi dopakrom oluşumunu azaltması veya inhibe etmesiyle belirlenir (271).

Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı

L- DOPA çözeltisi (3mM): Hassas terazide 1.4 mg L-DOPA tartıldı. 2.368 µL fosfat tamponu (pH 6.8) içerisinde çözüldü. Son hacim fosfat tamponu ile 10 mL'ye tamamlandı.

100 mM Fosfat Tamponu (pH 6.8) Çözeltisi: 0.51 g Na₂HPO₄ ve 0.56 g NaH₂PO₄ tartılıp 40 mL distile su ile çözüldü. pH'ı seyreltik NaOH çözeltisi ile 6.8'e ayarlanarak 50 mL'ye distile su ile tamamlandı.

500 U/mL Tirozinaz Enzim Çözeltisi: 1.4 mg tirozinaz tartıldı. 100 Mm fosfat tamponu (pH 6.8) çözeltisi 8.555 µL ilave ederek çözüldü. 10 mL'ye fosfat tamponu ile tamamlandı. İlaveler sonunda 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

Denevin Yapılışı

Çalışmada kullanılan bitkilerin ilk olarak deneyde kullanılacak konsantrasyonları (25-200 µg/mL) belirlendi. Fosfat tamponu (pH 6.8) 25, 50, 100 ve 200 µg/mL konsantrasyonlarda seyreltildi ve plakalara eklendi. Plakalara daha sonra bitkilerin farklı çözücülerle (hekzan, kloroform, etil asetat, metanol, su) hazırlanmış ekstreleri ilave edildi. Bu eklemeler sonunda plakalarda fosfat tamponu ve bitki numunelerinin miktarı toplamda 120 µL oldu. Daha sonra plakalara 20 µL tirozinaz enzim çözeltisi ilave edildikten sonra 15 dakika beklenildi ve kör ölçümü yapıldı. Ölçüm sonrasında plakalara 20µL substrat çözeltisi eklendi. Tekrar 15 dakika beklendikten sonra 475 nm’de absorbands ölçümü yapıldı. Negatif kontrol olan gruba tirozinaz enzimi, substrat ve fosfat tamponu ilave edildi. L-Dopa substrat olarak, kojik asit ise standart olarak kullanıldı. Deneyler üç kez tekrar edildi.

3.3.3.3. α -Glukozidaz Enzim İnhibisyonu Tayini

α -Glukozidaz enzim aktivitesi kolorimetrik bir analiz ile belirlendi. α -Glukozidaz enzim aktivitesi analizinde substrat olan p-nitrofenil- α -D-glukopiranozit enzim tarafından hidroliz edilmesi sonucunda glukoz ve p-nitrofenolat ürünleri oluşur. Sarı renkli p-nitrofenolat, spektrofotometrik olarak 405 nm’de ölçülebilir. α -Glukozidaz aktivitesinin inhibisyonu, p-nitrofenolat miktarında azalmaya neden olur (240).

Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı

5 mM p-nitro- α -D-Glukopiranozit Çözeltisi (5mM): 7.3 mg p-nitro- α -D-Glukopiranozit tartıldı, fosfat tamponu (pH 6.8) ile çözünüp hacmi 5 mL’ye tamamlandı.

α -Glukozidaz Enzim Çözeltisi (0.5 U/mL): 10 mg α -Glukozidaz enzimi tartıldı, 10 mL fosfat tamponu (pH 6.8) ile çözüldü. Çözeltiden 403.22 µL alındı ve 10 mL’ye fosfat tamponu ile tamamlandı.

Fosfat Tamponu (pH 6.8) Çözeltisi (100 mM): Na₂HPO₄ (0.51 g) ve NaH₂PO₄ (0.56 g) tartıldı, karıştırıldı. Saf su eklenerek 40 mL’ye kadar çözüldü. Daha sonra pH 6.8’e ayarlandıktan sonra hacmi distile suyla 50 mL’ye tamamlandı.

Denevin Yapılışı

α -Glukozidaz enzim İnhibisyonu tayini için substrat olarak p-nitro- α -D-glukopiranozoit, standart olarak akarboz kullanıldı. Akarboz ve bitki ekstraların 25, 50, 100, 200 mg/mL konsantrasyonlarında çözeltileri hazırlandı. 96 kuyucuklu mikrolaka içinde 25 μ L bitki ekstresi, 50 μ L glutasyon, 100 μ L α -glukozidaz enzimi, 25 μ L fosfat tamponu (pH 6.8) ve 50 μ L p-nitro- α -D-glukopiranozit çözeltisi karıştırılarak 25°C’de 15 dakika boyunca inkübe edildi. Bitki ekstralarının ve kör çözeltilerin absorbansları 405 nm’de okundu.

3.3.4. MTT Testi ile Sitotoksisite Tayini

MTT testi, Mossman tarafından geliştirilmiş olup hücre canlılığının belirlenmesi için kullanılan kolorimetrik bir sitotoksisite testidir. Testin temel amacı kalan canlı hücrelerin sayısını tespit etmektir. Bu yöntem bir tetrazolyum tuzu olan MTT [3-(4,5-dimetiltiyazol-2il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür] bileşiğinin indirgenmesi esasına dayanır. Hücrenin mitokondirisine ulaşan sarı renkli ve suda çözünen MTT bileşiği mitokondriyal süksinat dehidrogenaz enzimi tarafından mavi renkli, suda çözünmeyen formazan kristallerine dönüştürülür. Formazan oluşumu sadece aktif mitokondriye sahip canlı hücrelerde görülür. Canlı olmayan hücreler tetrazolyum tuzunu formazan bileşiğine indirgeyemediğinden dolayı renk değişimi meydana gelmez Oluşan formazan kristalleri, dimetil sülfoksit ve izopropanol gibi çözücülerle kolayca çözünür. Çözünen kristaller konsantrasyona bağlı olarak spektrofotometrik yöntemle görünür dalga boylarında ölçülebilir bir absorbans verirler. Hücrelerin metabolik aktiviteleri absorbas değerinin ölçülmesi ile dolaylı olarak belirlenmektedir. Bu ölçümler test sonucunda kalan canlı hücre sayısı ile ilişkilendirilmektedir (272).

Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı

Antibiyotik çözeltisi: 1 mL streptomisin (10 mg/mL) antibiyotiği ve penisilin (10 000 U) karıştırılarak son hacim saf su ile 10 mL’ye tamamlandıktan sonra 0.22 μ m por açıklığına sahip filtreden süzüldü.

DMEM besi yeri (%10’luk besi yeri): Steril şartlarda streptomisin-Penisilin antibiyotik karışımı (0.5 mL) ile Fötal Sığır Serum (5 mL) bir tüpe alındı ve karıştırıldı. Hazırlanan karışıma son hacmi 50 mL olacak şekilde DMEM çözeltisi ilave edildi.

MTT stok çözeltisi (5 mg/mL⁻¹): 5 mg MTT tuzu 1 mL PBS içinde çözündü. Hazırlanan çözelti gerekli hacimde hazırlandı.

MTT çalışma solüsyonu (0,5 mg/mL⁻¹): MTT stok çözeltisi ile DMEM 1:10 oranında karıştırılarak hazırlandı.

Denevin Yapılışı

Deneyde kullanılacak sağlıklı L-929 fare fibroblast hücreleri sıvı azot tankından alındıktan sonra 37 °C'deki sıcak su banyosunda çözöldü. Çözönen hücre süspansiyonu içerisinde 5 mL tam besiyeri bulan santrifüj tüplerine alındı ve 100 rcf'de 3 dakika santrifüj edildi. Santrifüjün ardından tam besiyeri içeren süpernatant uzaklaştırıldı. Kalan hücre pelletinin üzerine tekrar 5 mL tam besiyeri ilave edildikten sonra karıştırıldı. Hazırlanan hücre süspansiyonu daha önceden içerisinde 10 mL tam besiyeri koyulan T-75 flaska alındı. Flask %95 nem ve %5 CO₂ içeren 37 °C'deki inkübatöre koyuldu. Hücrelerin ortam koşullarına uyum sağlaması ve logaritmik büyüme aşamasına ulaşması için art arda 3 gün pasaj yapıldı. 3. günün sonunda T-75 flask inkübatörden alındı ve ters faz mikroskop kullanılarak incelendi. Yaşayan hücreleri ölü hücrelerden ayırmak ve hücrelere yeni bir enerji kaynağı sağlamak amacıyla besiyeri değıştirildi. 2-3 gün sonra hücrelerin tüm flaskın zeminini kaplayacak şekilde çoğaldıkları göröldükten sonra hücreler tripsin ile kaldırılarak sayımları yapıldı. Sayımı yapılan hücreler 96 kuyucuklu plakaların iç kuyucuklarına 10 000/100 µL hücre gelecek şekilde ekildi. Numuneler uygulanmadan önce hücrelerin plaka zeminine yapışmaları için 24 saat bekletildi. Bitki ekstralarının son konsantrasyonunda metanol ile çözöldü. 24 saatlik inkübasyon süresinin ardından, kuyucuklardaki doku költürü besiyeri uzaklaştırıldı ve 0.5, 5, 50, 500 µg/mL konsantrasyonlarında bitki ekstraları içeren taze besiyeri kuyucuklara uygulandı. Bitki ekstralarının uygulandığı plakalar 37 °C'de ve %5 CO₂ 'li inkübatörde 24 saat bekletildi. Sürenin sonunda MTT çalışma solüsyonundan her kuyucuğa 100 µL eklendi ve 37 °C'de 2 saat inkübe edilerek mor renkli formazan kristallerinin oluşması sağlandı. İki saatin sonunda hücrelerin yüzeyinden MTT çalışma solüsyonu uzaklaştırılıp yerine 150 µL DMSO eklendi. Plakalar çalkalayıcıda 10 dakika bekletilip oluşan formazan kristalleri organik çözücü yardımıyla çözöndürölmesi sağlandı. Süre sonunda plakaların absorbans değeri 690 nm dalga boyunda spektrofotometre ile ölçöldü.

3.3.5. Kullanılan İstatistiksel Yöntemler

Sonuçların hesaplanmasında GraphPad Prism 6.0 ve Microsoft Excel Windows 13 programları kullanıldı. Farklı konsantrasyonlardaki bitki örnekleri ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olup olmadığını belirlemek için One-way ANOVA testi kullanıldı. Anova testi sonuçlarına dayanarak Tukey testi pos test olarak yapıldı ve $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

3.4. Fitokimyasal Çalışmalar

3.4.1. Türlerin Uçucu Yağlarının GC-MS ile Belirlenmesi

Her bir bitkinin uçucu yağ bileşenleri Shimadzu QP 2010 Plus GC/MS cihazında analiz edildi. Taşıyıcı gaz olarak kullanılan helyumun akış hızı 1 mL/dk olarak belirlendi. HP-5 kapiler kolon (30m x 0.32 mm i.d., film kalınlığı 0.25 μ m) kullanıldı. Dedektörün iyonizasyon enerjisi 70 eV'dur. HPLC-grade hekzanda çözünmüş uçucu yağlardan 1 μ L alınarak GC/MS cihazına enjekte edildi. Enjeksiyon split modunda 250 °C'de yapıldı. Enjeksiyondan sonra bileşenler kolonda başlangıçta 60 °C'de 2 dakika tutulduktan sonra 3 °C'lik artışlarla 240 °C'ye ayarlanarak 60 dakika boyunca koşturuldu. Her numunedeki uçucu bileşenin alıkonma indekslerini (RI) belirlemek için, n-alkanlar (C₇-C₃₀) standart olarak kullanıldı. Uçucu bileşenlerin kromatografik piklerine ait spektrumlar cihazın kütüphanesi (NIST ve Wiley) ve literatürdeki kaynaklarla karşılaştırılarak tanımlandı (273).

3.4.2. Türlerin Fenolik Bileşiklerinin HPLC ile Belirlenmesi

Tez kapsamında çalışılan bitkilerin içerdiği fenolik bileşikler kurutulmuş ve toz haline getirilmiş toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstratlarından hareketle analiz edildi. Kuru ekstraktlar %50'si su olacak şekilde HPLC saflıktaki metanolde çözüldü ve uygun konsantrasyona (41 mg/mL) seyreltildi. Hazırlanan çözeltiler 14000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Oluşan berrak çözeltiler uygun filtreden geçirilerek HPLC-DAD analizi için hazırlandı. Bitki numunelerin hepsinin yarı yarıya sulu metanol içerisinde 41 mg/mL konsantrasyonda çözeltilerinin hazırlanması mümkün olmadığından örnekler analiz için iki gruba ayrıldı. İlk grup "luteolin grubu" olarak adlandırıldı. İlk grupta yer alan standartlar gallik asit, protokatekuik asit, gentisik asit, vanilik asit, kafeik asit, vanilin, luteolin-7-glukozit, hesperedin, rosmarinik asit, fisetin, luteolin, naringenin, hesperetin ve kaemferol bileşikleridir. İkinci grup "kuersetin grubu" olarak adlandırıldı.

Gallik asit, *p*-OH benzoik asit, klorojenik asit, sirinjik asit, epikateşin, *p*-kumarik asit, kikorik asit, rutin, naringin, apigenin-7-glukozit, eriyodiktiyol, kuersetin ve apigenin ikinci grupta yer alan standart bileşiklerdir.

HPLC çalışmasında 26 fenolik bileşik, analizin kalibrasyonu ve validasyonu için standart olarak kullanıldı. Kalibrasyon eğrisi oluşturmak için standartların metanolle hazırlanan stok çözeltilerinden beş farklı konsantrasyonlarda (0.625-1.25-5-10-20 mg/L) dilisyonları hazırlandı. Standartların tek tek kalibrasyon eğrileri bu beş farklı konsantrasyona karşılık gelen pik alanları kullanılarak elde edildi. Kalibrasyon eğrilerinin güvenilirliğini belirten regresyon katsayıları en düşük 0.999 olarak hesaplandı.

Fenolik bileşiklerin analizinde diyot dizisi dedektörü (DAD) ile bağlı Ultimate 3000 seri analitik yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) sistemi kullanıldı. Analizleri gerçekleştirmek için Thermo acclaim C30 kolonu ve Macherey Nagel (3 mm iç çap) koruma kolonu birlikte kullanıldı. Kromatogramlar 200-400 nm’de çalışan DAD ile 254, 280, 315 ve 370 nm’de kaydedildi. Piklerin tanımlanması, alıkonma süreleri ve UV spektrumlarının standart fenolik bileşiklerinkilerle karşılaştırılması yoluyla gerçekleştirildi.

Fenolik bileşiklerin ayrılması için kullanılan HPLC-DAD koşulları

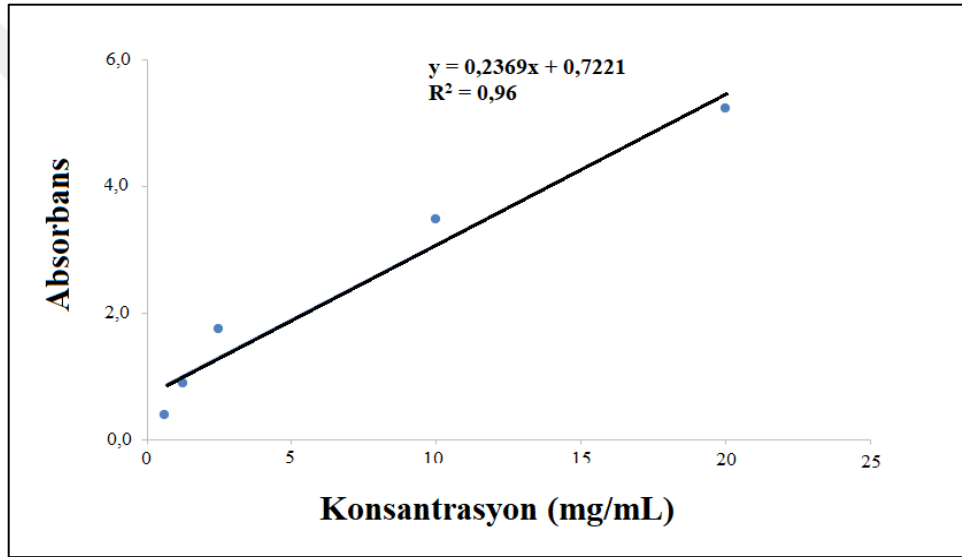
Kolon	: C30 kolon (150 mm×3 mm, 3 µm)
Akış hızı	: 0,37 mL/dak .
Enjeksiyon hacmi	: 10 µL
Kolon sıcaklığı	: 25 °C
Dalga boyu	: 200-400
Dedektör	: Diyot Dizisi dedektörü (DAD)
Yöntem	: Gradient solüsyon
Hareketli faz	: A: Suda %2 asetik asit B: %70 asetonyitril - %30 su

4. BULGULAR

4.1. Antioksidan Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular

4.1.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini Sonuçları

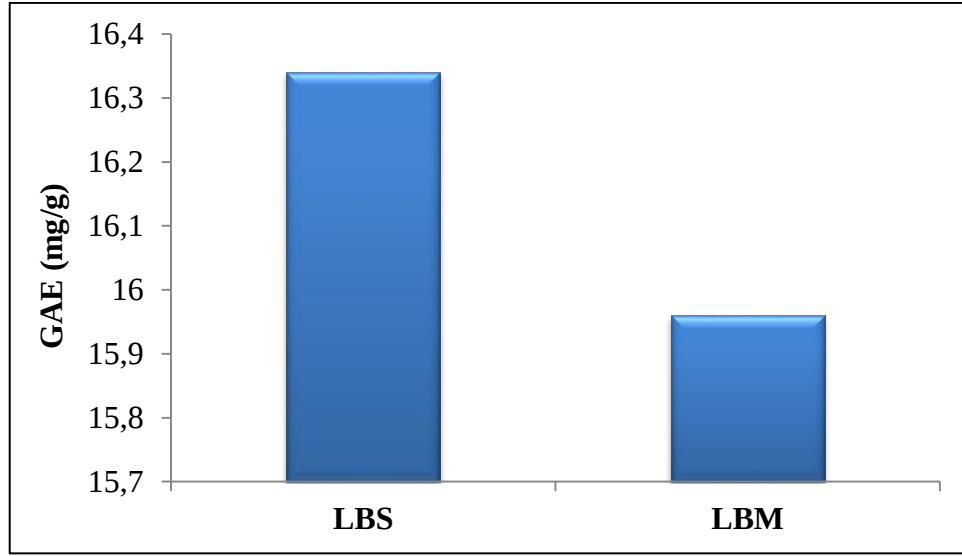
Tez kapsamında çalışılan türlerden elde edilen metanol ve su ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak belirlendi. Sonuçlar standart olarak kullanılan gallik asit için çizilen absorbans-konsantrasyon grafiğinden yararlanılarak mg GAE/g ekstre olarak verildi. Gallik asit için çizilen kalibrasyon eğrisi Şekil 16'da gösterildi.



Şekil 16. Fenolik madde miktar tayini için kullanılan gallik asit standart grafiği

4.1.1.1. *Lactuca boissieri* Bitkisinin Fenolik Madde Miktarı Tayini Sonuçları

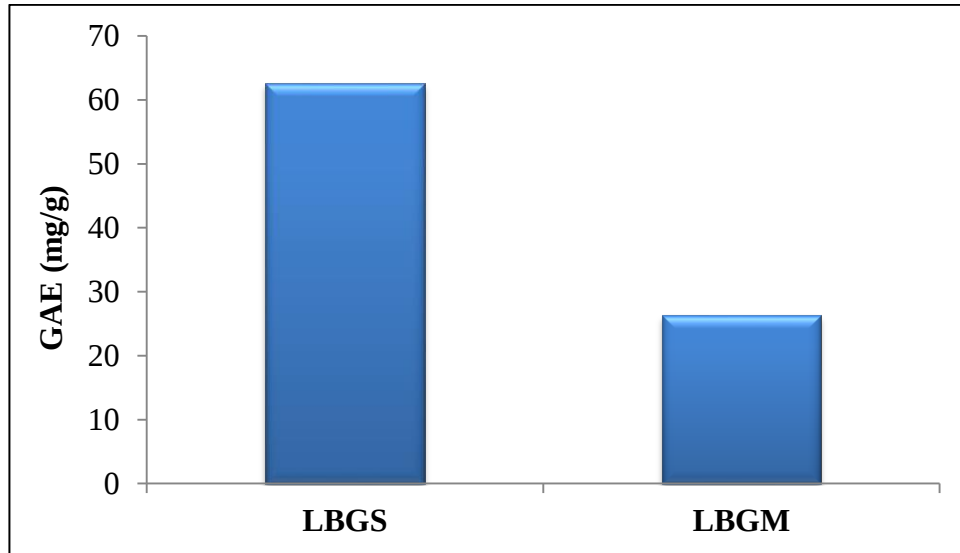
L. boissieri (LB) bitkisinin su (LBS) (16.34 ± 0.058 mg GAE/g ekstre) ekstresindeki toplam fenolik madde miktarı metanol (LBM) (15.96 ± 0.010 mg GAE/g ekstre) ekstresine göre daha fazla bulundu (Şekil 17).



Şekil 17. *Lactuca boissieri* bitkisinin su ve metanol ekstrelerine ait toplam fenolik madde miktar tayini sonuçları

4.1.1.2. *Lactuca bourgaei* Bitkisinin Fenolik Madde Miktarı Tayini Sonuçları

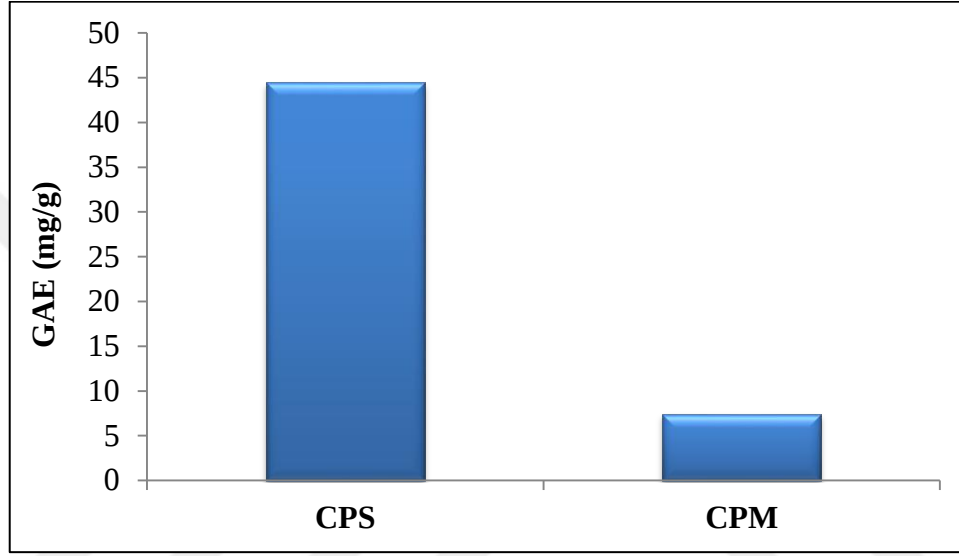
L. bourgaei (LBG) bitkisinin su (LBGS) (62.49 ± 0.025 mg GAE/g ekstre) ekstresindeki toplam fenolik madde miktarı metanol (LBGM) (26.31 ± 0.053 mg GAE/g ekstre) ekstresine göre daha fazla bulundu (Şekil 18).



Şekil 18. *Lactuca bourgaei* bitkisinin su ve metanol ekstrelerine ait toplam fenolik madde miktar tayini sonuçları

4.1.1.3. *Cicerbita petiolata* Bitkisinin Fenolik Madde Miktarı Tayini Sonuçları

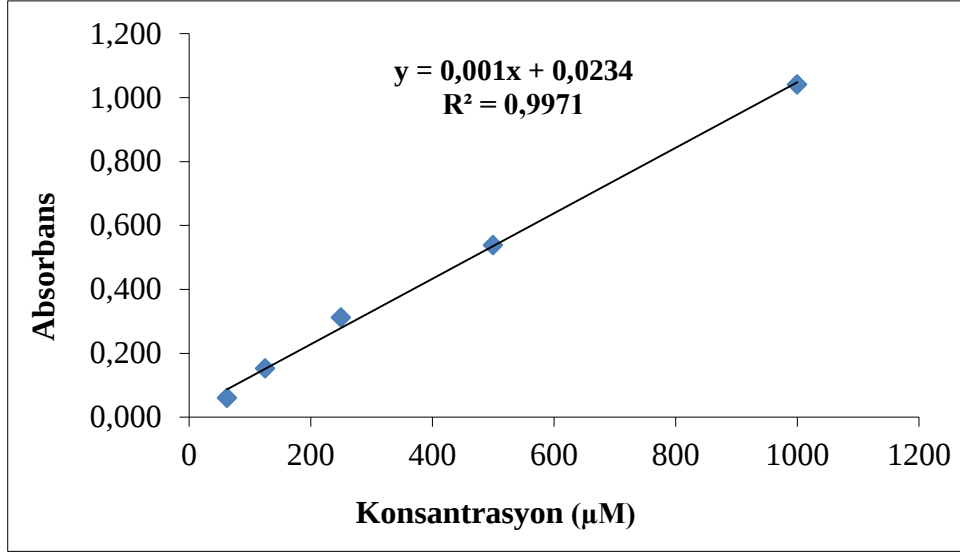
C. petiolata (CP) bitkisinin su (CPS) (44.43 ± 0.015 mg GAE/g ekstre) ekstresindeki toplam fenolik madde miktarı metanol (CPM) (7.41 ± 0.009 mg GAE/g ekstre) ekstresine göre daha fazla bulundu (Şekil 19).



Şekil 19. *Cicerbita petiolata* bitkisinin su ve metanol ekstrelerine ait toplam fenolik madde miktar tayini sonuçları

4.1.2. Ferrik İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP) Tayini Sonuçları

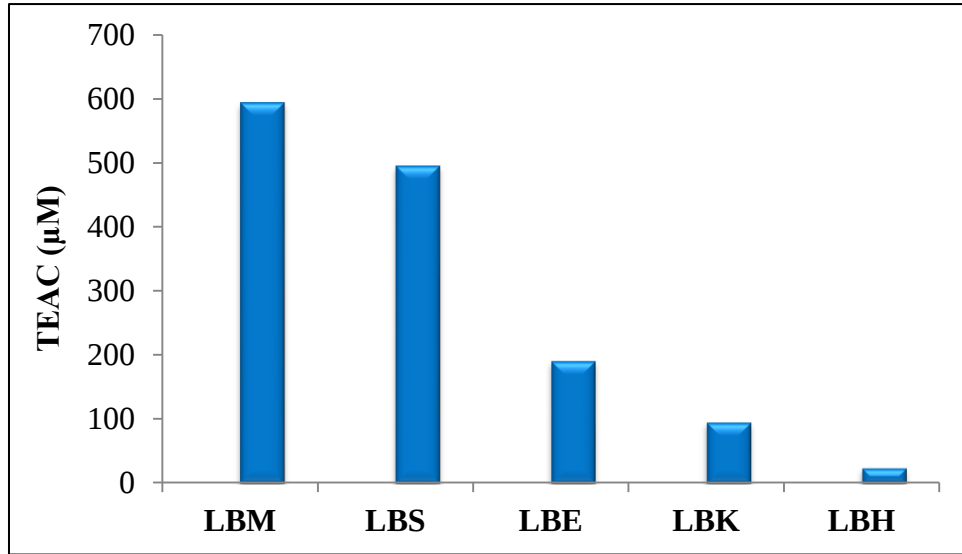
Tez kapsamında çalışılan türlerin beş farklı çözücüyle (hekzan, kloroform, etil asetat, metanol ve su) hazırlanan ekstrelerinin FRAP tayini sonuçları standart olarak kullanılan troloks için çizilen absorbans-konsantrasyon grafiğinden yararlanılarak μM troloks eşdeğeri/gram (μM TEAC/gram) şeklinde verildi. Troloks standardı için çizilen kalibrasyon eğrisi Şekil 20’de gösterildi.



Şekil 20. FRAP tayini için troloks standart grafiği

4.1.2.1. *Lactuca boissieri* Bitkisinin FRAP Tayini Sonuçları

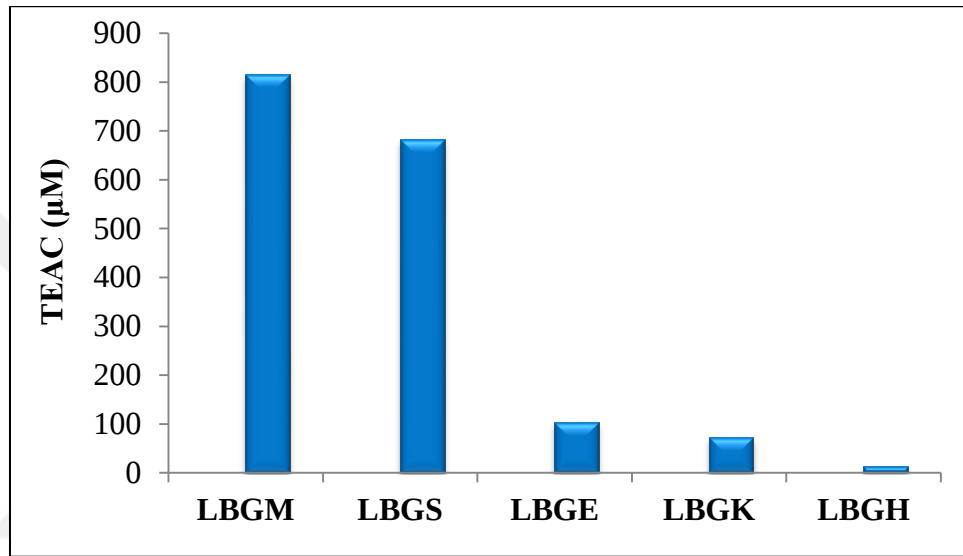
L. boissieri (LB) bitkisinin çalışılan çözücüler arasında en etkili demir indirgeyici gücü metanol (LBM) (594.767 ± 6.570 µM troloks/gram) ekstresinde görüldü. Onu sırasıyla su (LBS) (496.267 ± 4.262 µM troloks/gram), etil asetat (LBE) (191.933 ± 3.894 µM troloks/gram), kloroform (LBK) (95.900 ± 12.872 µM troloks/gram) ve hekzan (LBH) (24.267 ± 3.559 µM troloks/gram) ekstraları takip etti (Şekil 21).



Şekil 21. *Lactuca boissieri* bitkisinin FRAP tayini sonuçları

4.1.2.2. *Lactuca bourgaei* Bitkisinin FRAP Tayini Sonuçları

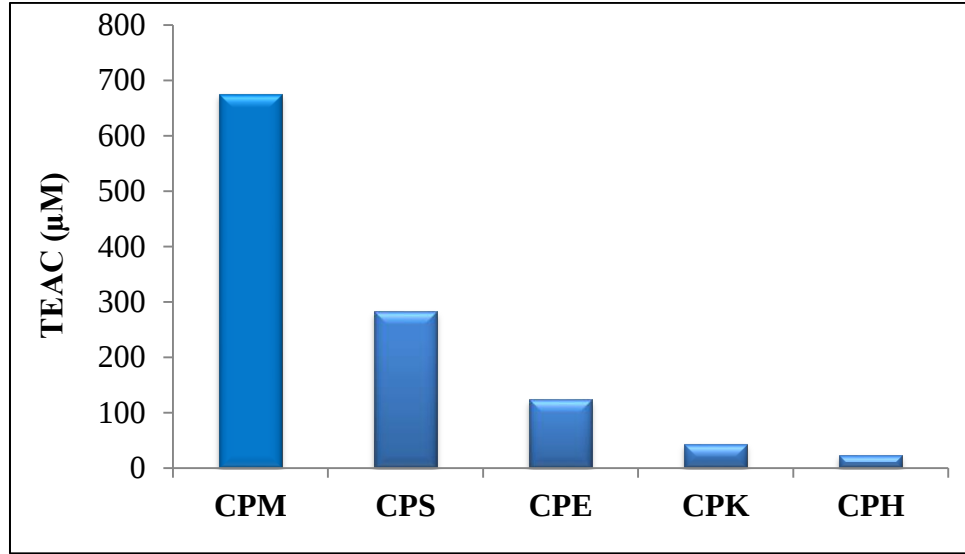
L. bourgaei (LBG) bitkisinin çalışılan çözücüler arasında en etkili demir indirgeyici gücü metanol (LBGM) (815.300 ± 6.319 μM troloks/gram) ekstresinde görüldü. Onu sırasıyla su (LBGS) (683.267 ± 4.708 μM troloks/gram), etil asetat (LBGE) (102.633 ± 1.450 μM troloks/gram), kloroform (LBGK) (72.600 ± 7.382 μM troloks/gram) ve hekzan (LBGH) (14.400 ± 2.112 μM troloks/gram) ekstreleri takip etti (Şekil 22).



Şekil 22. *Lactuca bourgaei* bitkisinin FRAP tayini sonuçları

4.1.2.3. *Cicerbita petiolata* Bitkisinin FRAP Tayini Sonuçları

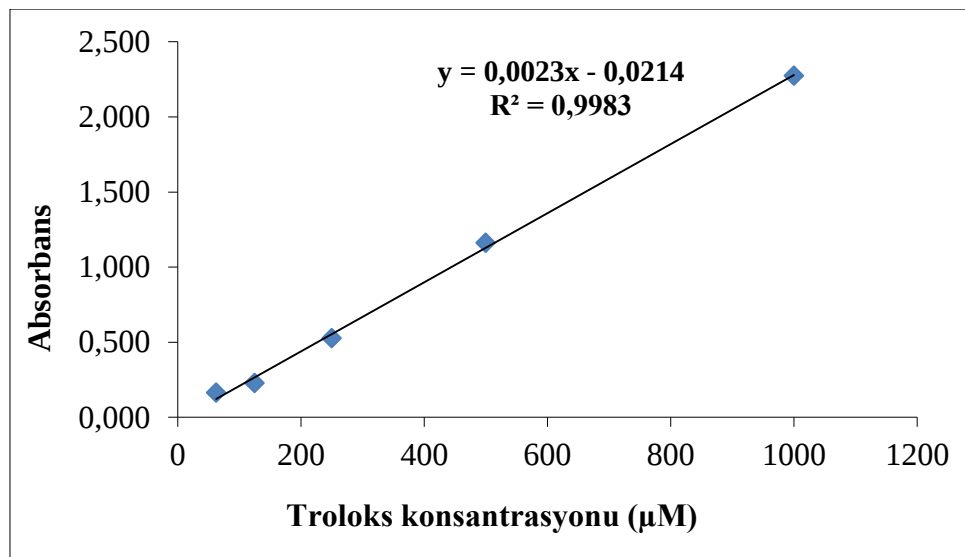
C. petiolata (CP) bitkisinin çalışılan çözücüler arasında en etkili demir indirgeyici gücü metanol (CPM) (675.600 ± 3.937 μM troloks/gram) ekstresinde görüldü. Onu sırasıyla su (CPS) (282.267 ± 6.014 μM troloks/gram), etil asetat (CPE) (123.200 ± 3.262 μM troloks/gram), kloroform (CPK) (43.633 ± 2.122 μM troloks/gram) ve hekzan (CPH) (23.367 ± 0.763 μM troloks/gram) ekstreleri takip etti (Şekil 23).



Şekil 23. *Cicerbita petiolata* bitkisinin FRAP tayini sonuçları

4.1.3. Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Tayini Sonuçları

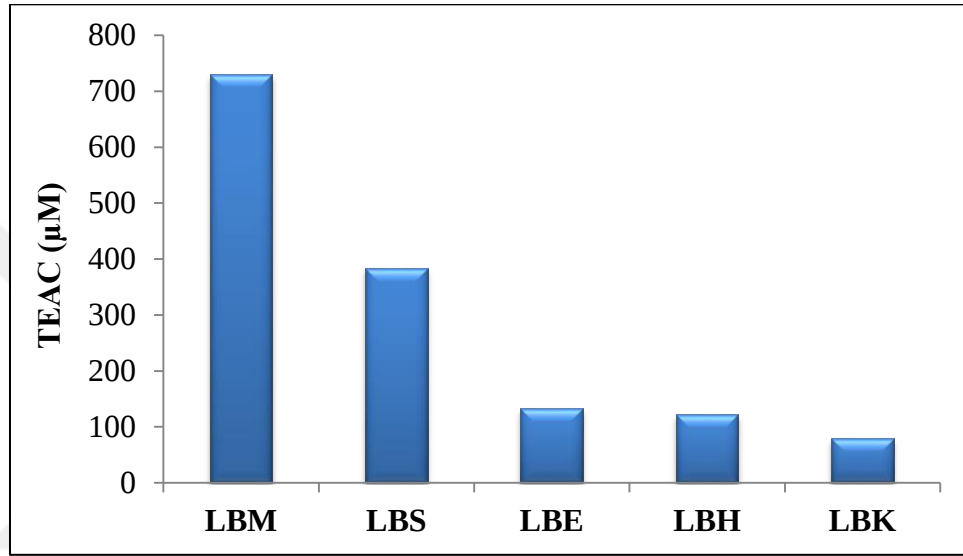
Tez kapsamında çalışılan türlerin beş farklı çözücüyle (hekzan, kloroform, etil asetat, metanol ve su) hazırlanan ekstralarının CUPRAC tayini sonuçları standart olarak kullanılan troloks için çizilen absorbans-konsantrasyon grafiğinden yararlanılarak hesaplandı (Şekil 24). Bitki ekstralarının CUPRAC değerleri troloks standardı ile karşılaştırılarak TEAC (μM) şeklinde verildi.



Şekil 24. CUPRAC tayini için kullanılan troloks standart grafiği

4.1.3.1. *Lactuca boissieri* Bitkisinin CUPRAC Tayini Sonuçları

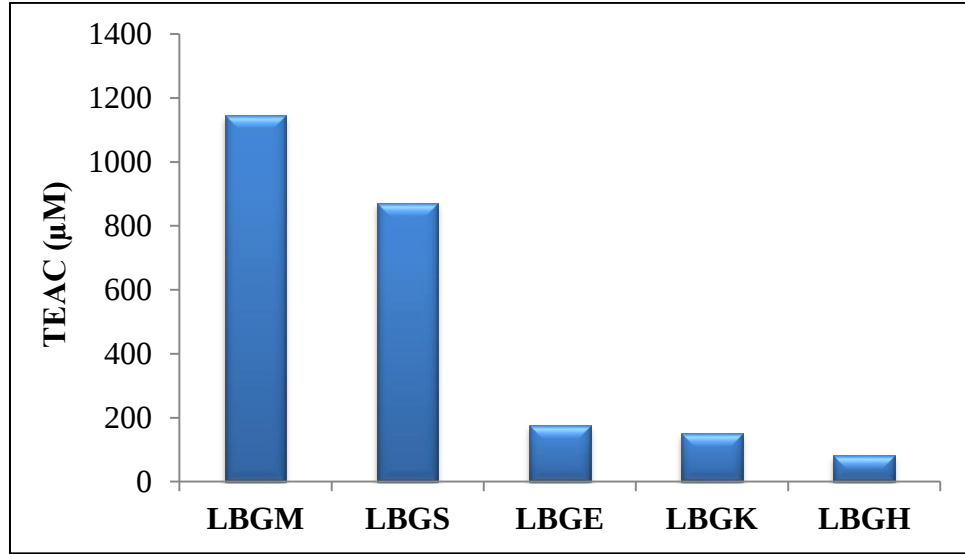
L. boissieri (LB) bitkisinin çalışılan çözücüler arasında en etkili bakır indirgeyici gücü metanol (LBM) (730.029 ± 0.640 μM troloks/gram) ekstresinde görüldü. Onu sırasıyla su (LBS) (384.667 ± 2.328 μM troloks/gram), etil asetat (LBE) (132.928 ± 0.939 μM troloks/gram), hekzan (LBH) (122.203 ± 0.470 μM troloks/gram) ve kloroform (LBK) (80.174 ± 0.813 μM troloks/gram) ekstreleri takip etti (Şekil 25).



Şekil 25. *Lactuca boissieri* bitkisinin CUPRAC tayini sonuçları

4.1.3.2. *Lactuca bourgaei* Bitkisinin CUPRAC Tayini Sonuçları

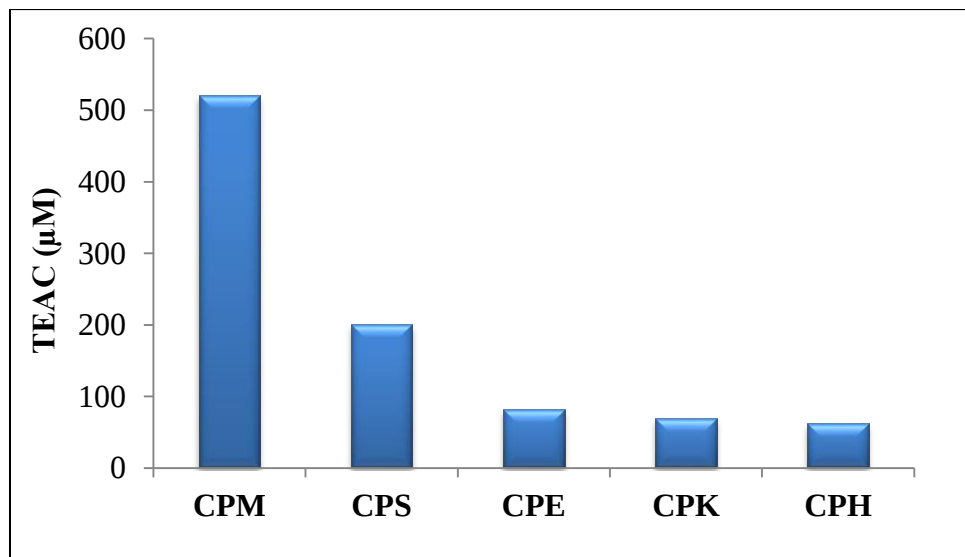
L. bourgaei (LBG) bitkisinin çalışılan çözücüler arasında en etkili bakır indirgeyici gücü metanol (LBGM) (1145.681 ± 1.693 μM troloks/gram) ekstresinde görüldü. Onu sırasıyla su (LBGS) (871.478 ± 1.874 μM troloks/gram), etil asetat (LBGE) (175.971 ± 1.080 μM troloks/gram), kloroform (LBGK) (105.536 ± 1.748 μM troloks/gram) ve hekzan (LBGH) (81.768 ± 0.470 μM troloks/gram) ekstreleri takip etti (Şekil 26).



Şekil 26. *Lactuca bourgaei* bitkisinin CUPRAC tayini sonuçları

4.1.3.3. *Cicerbita petiolata* Bitkisinin CUPRAC Tayini Sonuçları

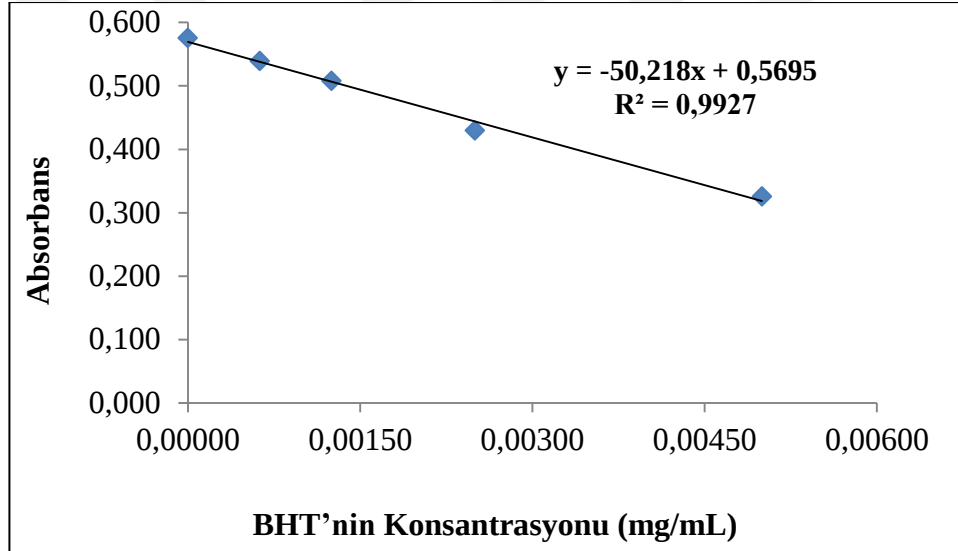
C. petiolata (CP) bitkisinin çalışılan çözücüler arasında en etkili bakır indirgeyici gücü metanol (CPM) (520.464 ± 1.547 μM troloks/gram) ekstresinde görüldü. Onu sırasıyla su (CPS) (200.899 ± 0.939 μM troloks/gram), etil asetat (CPE) (82.203 ± 0.988 μM troloks/gram), kloroform (CPK) (68.870 ± 3.465 μM troloks/gram) ve hekzan (CPH) (62.203 ± 2.328 μM troloks/gram) ekstreleri takip etti (Şekil 27).



Şekil 27. *Cicerbita petiolata* bitkisinin CUPRAC tayini sonuçları

4.1.4. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Tayini Sonuçları

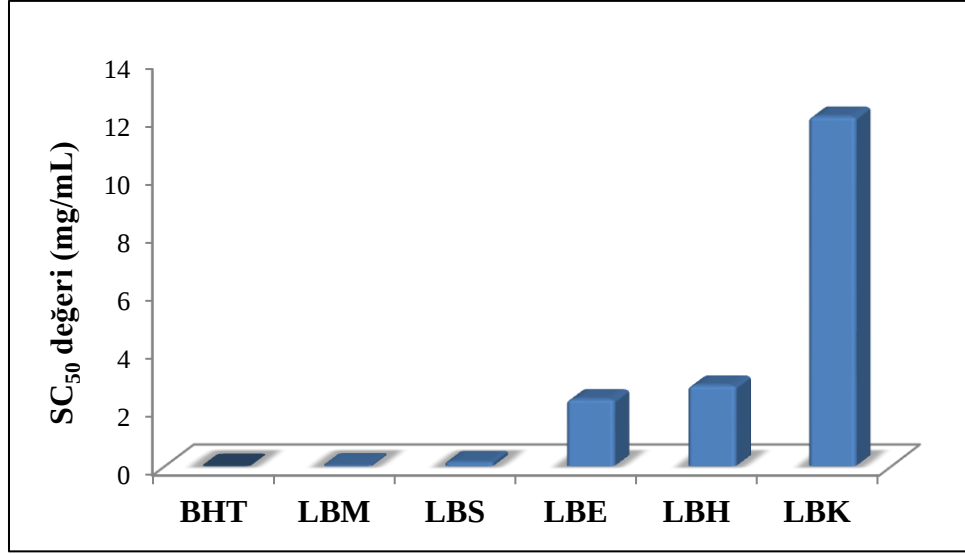
Tez kapsamında çalışılan türlerin beş farklı çözücüyle (hekzan, kloroform, etil asetat, metanol ve su) hazırlanan ekstrelerinin antioksidan kapasiteleri artan numune konsantrasyonlarına karşı 517 nm’de ölçülen absorbanslar grafiğe geçirilerek kantitatif olarak belirlendi. Standart olarak BHT kullanıldı. Tayin sonucunda antioksidan aktivite, ekstrelerinin tek tek SC₅₀ değerleri hesaplanarak, BHT’nin sonucu ile karşılaştırılarak ifade edildi (Şekil 28). SC₅₀ başlangıçtaki DPPH radikalinin konsantrasyonunu yarıya indiren numune konsantrasyonudur. SC₅₀ değerinin düşük olması aktivitenin yüksek olduğunu göstermektedir. Sonuçlar mg/mL olarak verildi. Standart olarak kullanılan BHT’nin SC₅₀ değeri 0.006±0.0004 mg/mL olarak bulundu.



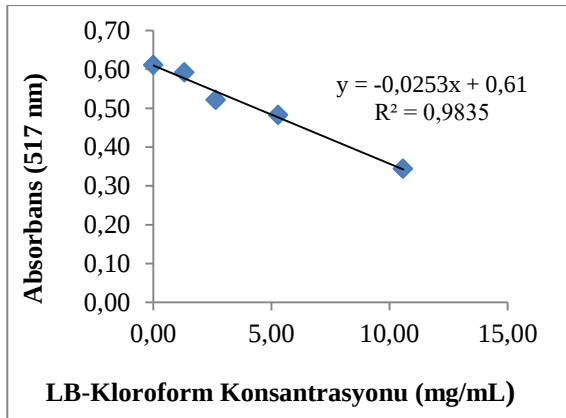
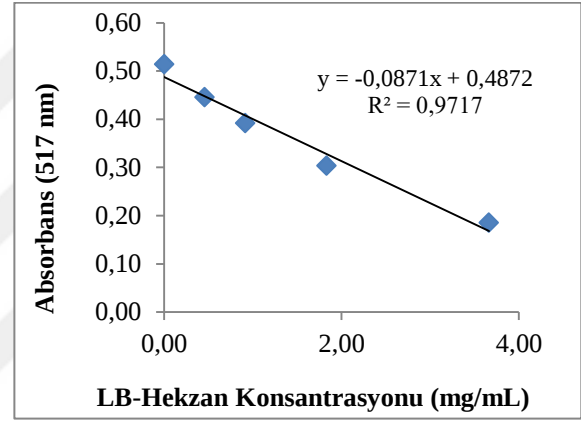
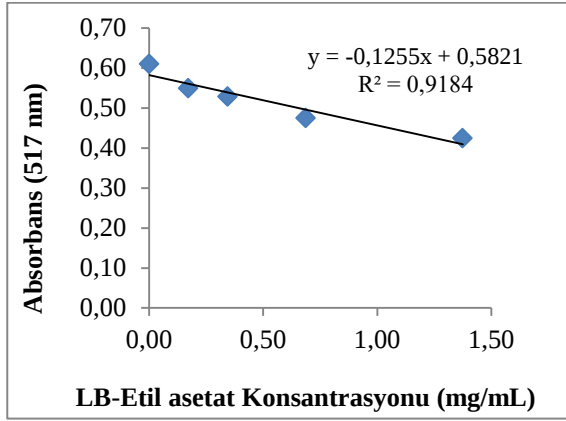
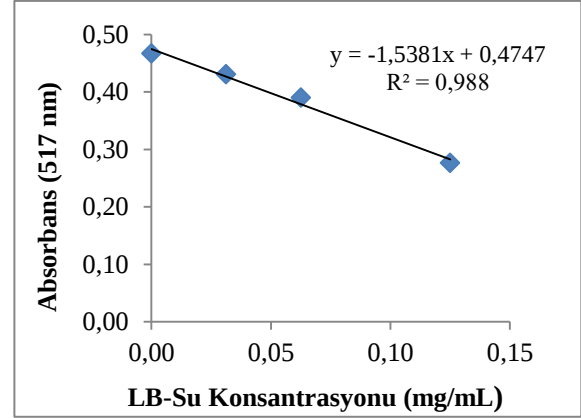
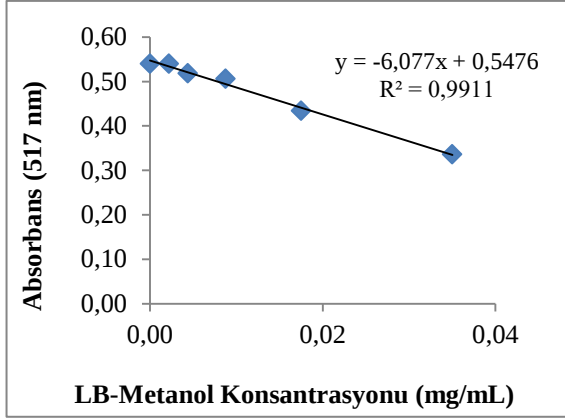
Şekil 28. BHT standart çalışma grafiği

4.1.4.1. *Lactuca boissieri* Bitkisinin DPPH Radikal Süpürücü Aktivite Sonuçları

L. boissieri (LB) bitkisinin çalışılan çözücüler arasında en yüksek DPPH radikali temizleme aktivitesi metanol (LBM) (0.045±0.001 mg/mL) ekstresinde görüldü. Diğer ekstrelerin etkinlikleri ise sırasıyla su (LBS) (0.154±0.002 mg/mL), etil asetat (LBE) (2.319±0.331 mg/mL), hekzan (LBH) (2.797±0.018 mg/mL) ve kloroform (LBK) (12.055±0.961 mg/mL) olarak bulundu (Şekil 29). Bitki ekstrelerine ait absorbans-konsantrasyon grafikleri sırasıyla Şekil 30’da verildi.



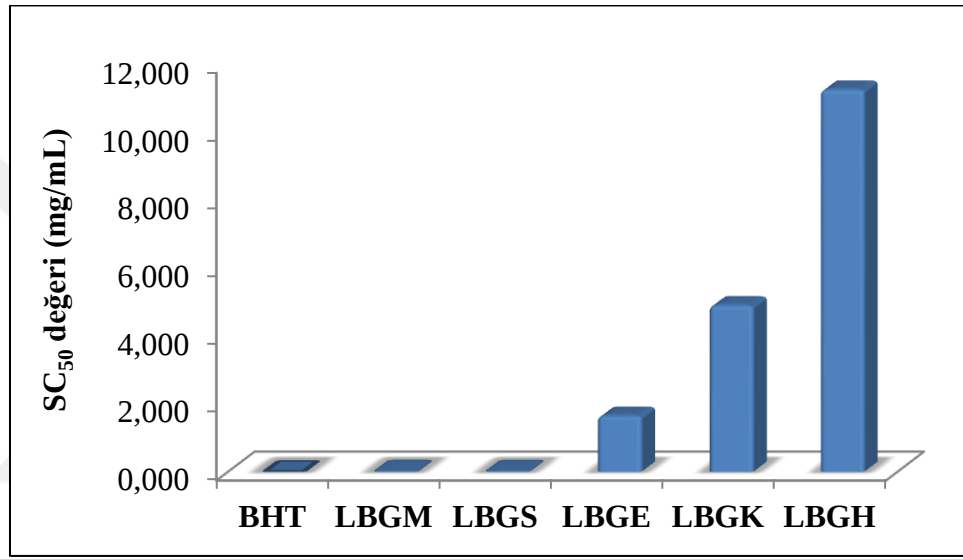
Şekil 29. *Lactuca boissieri* bitkisinin DPPH' radikali giderme aktivitesi sonuçları



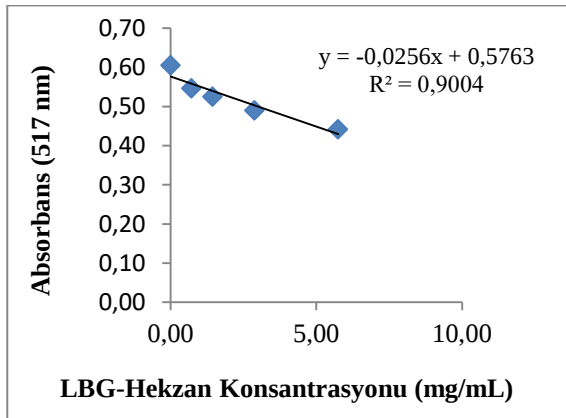
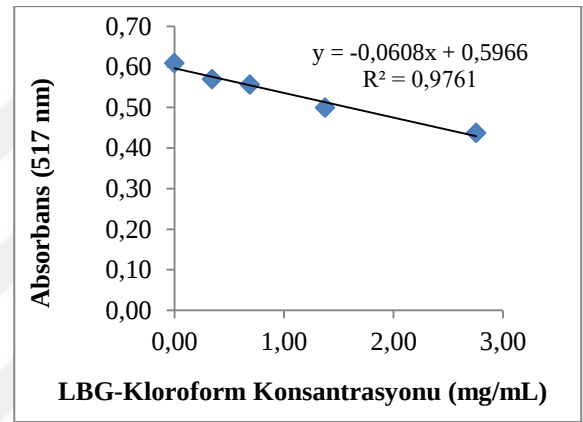
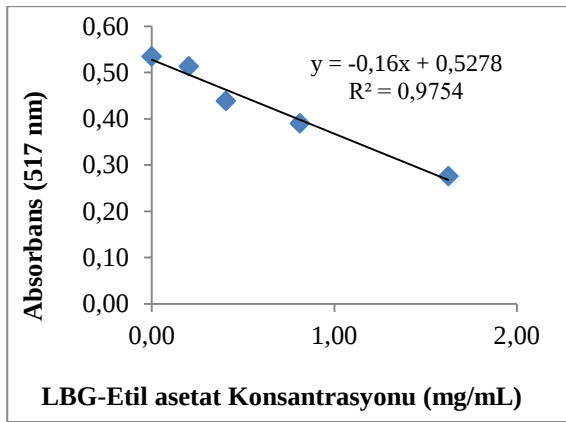
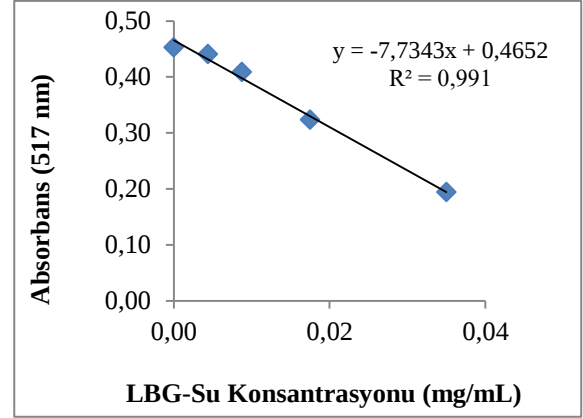
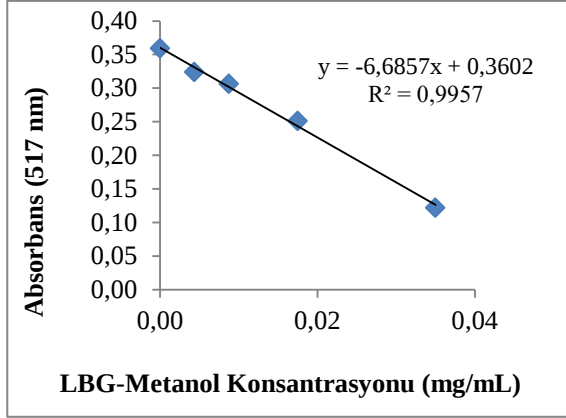
Şekil 30. *Lactuca boissieri* ekstrelerine ait absorbans-konsantrasyon grafikleri

4.1.4.2. *Lactuca bourgaei* Bitkisinin DPPH· Radikal Süpürücü Aktivite Sonuçları

L. bourgaei (LBG) bitkisinin çalışılan çözücüler arasında en yüksek DPPH· radikali temizleme aktivitesi metanol (LBGM) (0.027 ± 0.002 mg/mL) ekstresinde görüldü. Diğer ekstraktların etkinlikleri ise sırasıyla su (LBGS) (0.030 ± 0.001 mg/mL), etil asetat (LBGE) (1.649 ± 0.190 mg/mL), kloroform (LBGK) (4.906 ± 0.234 mg/mL) ve hekzan (LBGH) (11.256 ± 0.072 mg/mL) olarak bulundu (Şekil 31). Bitki ekstraktlarına ait absorbanstansantrasyon grafikleri sırasıyla Şekil 32’de verildi.



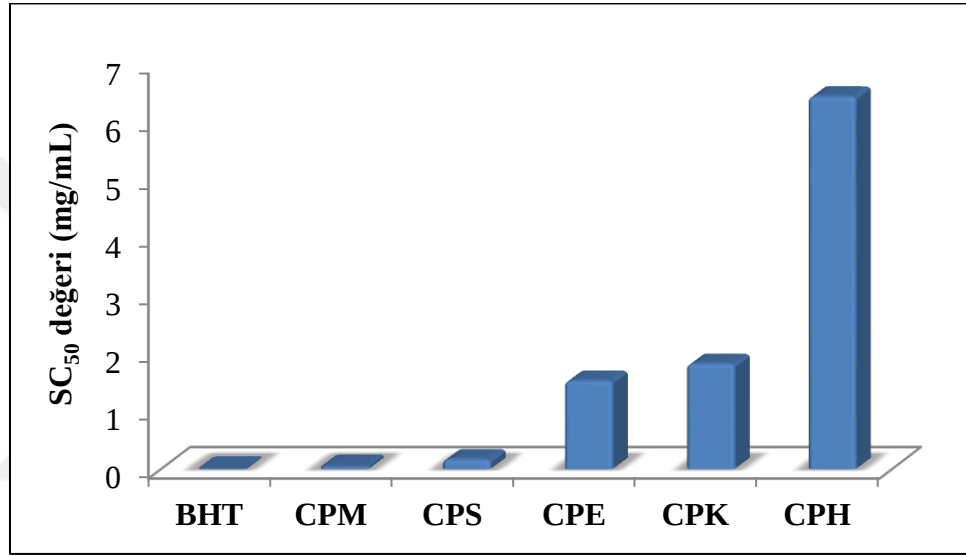
Şekil 31. *Lactuca bourgaei* bitkisinin DPPH· radikali giderme aktivitesi sonuçları



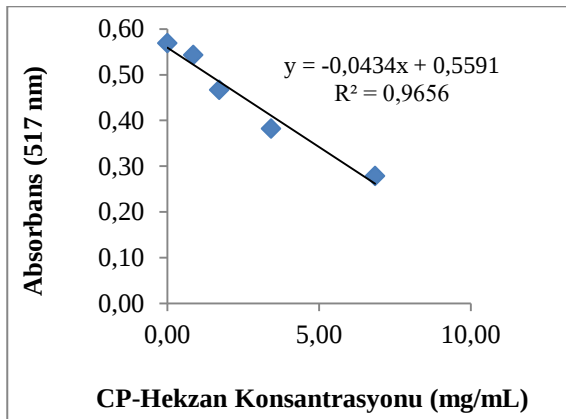
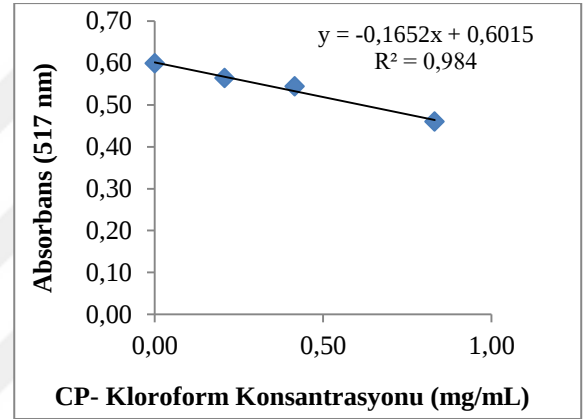
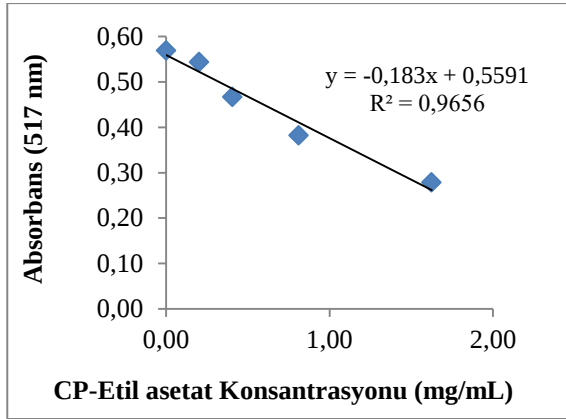
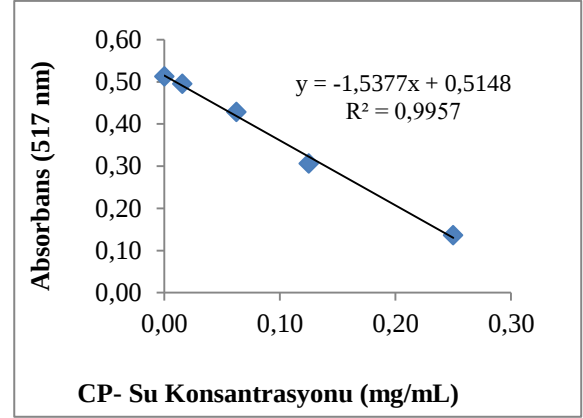
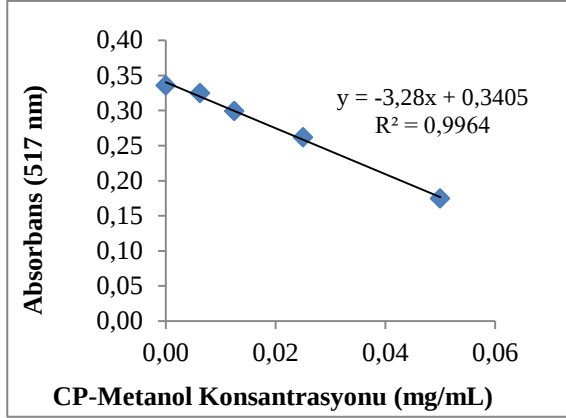
Şekil 32. *Lactuca bourgaei* ekstrelerine ait absorbans-konsantrasyon grafikleri

4.1.4.3. *Cicerbita petiolata* Bitkisinin DPPH[•] Radikal Süpürücü Aktivite Sonuçları

C. peitolata (CP) bitkisinin çalışılan çözücüler arasında en yüksek DPPH[•] radikali temizleme aktivitesi metanol (CPM) (0.052 ± 0.001 mg/mL) ekstresinde görüldü. Diğer ekstrelerin etkinlikleri ise sırasıyla su (CPS) (0.167 ± 0.005 mg/mL), etil asetat (CPE) (1.528 ± 0.036 mg/mL), kloroform (CPK) (1.821 ± 0.123 mg/mL) ve hekzan (CPH) (6.441 ± 0.153 mg/mL) olarak bulundu (Şekil 33). Bitki ekstrelerine ait absorban-konsantrasyon grafikleri sırasıyla Şekil 34’de verildi.



Şekil 33. *Cicerbita peitolata* bitkisinin DPPH[•] radikali giderme aktivitesi sonuçları



Şekil 34. *Cicerbita petiolata* ekstrilerine ait absorbans-konsantrasyon grafikleri

4.2. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmalarına Ait Bulgular

4.2.1. Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu Sonuçları

L. boissieri, *L. bourgaei* ve *C. petiolata* bitkilerinin uçucu yağ ve farklı çözücülerle hazırlanan (hekzan, kloroform, etil asetat, metanol ve su) ekstralarının antimikrobiyal aktiviteleri 3 tip Gram (-) bakteri (*E. coli*, *Y. pseudotuberculosis* ve *P. aeruginosa*), 3 tip Gram (+) bakteri (*S. aureus*, *E. faecalis* ve *B. cereus*), Gram almayan bakteri (*M. smegmatis*) ve 2 farklı maya mantarlarına (*C. albicans*, *S. cerevisiae*) karşı uygun besiyerleri kullanılarak agar kuyucuk metoduyla test edildi. Ekstrelerin inhibisyon zon çapları cetvel ile ölçülerek mm olarak belirlendi. Kontrol olarak ampisilin, flukonazol ve streptomisin ilaçları kullanıldı. Sonuçlar kontrol olarak kullanılan ilaçlar ile karşılaştırılarak verildi (Tablo 7).

Tablo 7. Türlerle ait ekstre ve uçucu yağların inhibisyon zon çapları

Ekstreler	Miktar (µg/mL)	Mikroorganizma ve inhibisyon zon çapları (mm)								
		Ec	Yp	Pa	Sa	Ef	Bc	Ms	Ca	Sc
<i>L. boissieri</i>										
Uçucu Yağ	26500	-	-	-	-	-	-	10	-	-
Hekzan	22500	-	-	-	15	-	-	-	-	-
Kloroform	92800	6	-	-	-	-	-	-	12	-
Etil Asetat	30800	-	-	10	-	-	-	12	-	-
Metanol	39700	-	-	6	-	-	-	12	-	-
Su	32900	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. bourgaei</i>										
Uçucu Yağ	12000	-	-	-	-	-	-	16	-	-
Hekzan	43700	-	-	-	16	-	-	-	-	-
Kloroform	58700	6	-	-	-	-	-	-	12	8
Etil Asetat	30700	-	-	12	-	-	-	12	-	-
Metanol	96900	-	-	10	10	-	-	14	12	7
Su	56800	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. petiolata</i>										
Uçucu Yağ	24 200	-	-	-	-	-	-	10	-	-
Hekzan	46200	-	-	-	15	-	-	-	-	-
Kloroform	39200	6	-	-	-	-	-	-	20	8
Etil Asetat	63200	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Metanol	69600	-	-	12	8	-	-	15	-	-
Su	43700	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Amp.	10	10	18	128	35	10	15			
Strep	10							35		
Flu	5								25	25

Ec: *Escherichia coli* ATCC 25922, **Yp:** *Yersinia pseudotuberculosis* ATCC 911, **Pa:** *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 43288, **Sa:** *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, **Ef:** *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, **Bc:** *Bacillus cereus* 702 Roma, **Ms:** *Mycobacterium smegmatis* ATCC607, **Ca:** *Candida albicans* ATCC 60193, **Sc:** *Saccharomyces cerevisiae* RSKK 251, **Amp:** Ampisilin, **Str:** Streptomisin, **Flu:** Flukonazol, (-): aktivite yok

4.2.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon Testi Sonuçları

Mikroorganizmanın büyümesini durdurmak veya engellemek için gerekli olan en düşük antibiyotik konsantrasyonunu olan MİK değeri (µg/mL) agar kuyucuk difüzyon deneyi sonucunda aktif olan mikroorganizmalar üzerinde kontrol olarak kullanılan ilaçlar ile karşılaştırılarak Tablo 8’de verildi.

Tablo 8. Türlerle ait ekstre ve uçucu yağların MİK değerleri

Ekstreler	Miktar (µg/mL)	Mikroorganizma ve minimum inhibisyon konsantrasyon değeri (MİK, µg/mL)								
		<i>Ec</i>	<i>Yp</i>	<i>Pa</i>	<i>Sa</i>	<i>Ef</i>	<i>Bc</i>	<i>Ms</i>	<i>Ca</i>	<i>Sc</i>
<i>L. boissieri</i>										
Uçucu Yağ	26500	-	-	-	-	-	-	331,25	-	-
Hekzan	22500	-	-	-	2812	-	-	-	-	-
Kloroform	92800	46400	-	-	-	-	-	-	11600	-
Etil Asetat	30800	-	-	7700	-	-	-	3850	-	-
Metanol	39700	-	-	19850	-	-	-	4962	-	-
Su	32900	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. bourgaei</i>										
Uçucu Yağ	12000	-	-	-	-	-	-	75	-	-
Hekzan	43700	-	-	-	5462	-	-	-	-	-
Kloroform	58700	29350	-	-	-	-	-	-	7337	14675
Etil Asetat	30700	-	-	3830	-	-	-	3830	-	-
Metanol	96900	-	-	12112	12112	-	-	3028	6056	48450
Su	56800	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. petiolata</i>										
Uçucu Yağ	47180	-	-	-	-	-	-	302,5	-	-
Hekzan	46200	-	-	-	5775	-	-	-	-	-
Kloroform	39200	19600	-	-	-	-	-	-	2450	9800
Etil Asetat	63200	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Metanol	69600	-	-	8700	17400	-	-	4350	-	-
Su	43700	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Amp.	10	10	32	>128	2	2	2	<1	<8	<8
Strep	10									
Flu	5									

Ec: *Escherichia coli* ATCC 25922, **Yp:** *Yersinia pseudotuberculosis* ATCC 911, **Pa:** *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 43288, **Sa:** *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, **Ef:** *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, **Bc:** *Bacillus cereus* 702 Roma, **Ms:** *Mycobacterium smegmatis* ATCC607, **Ca:** *Candida albicans* ATCC 60193, **Sc:** *Saccharomyces cerevisiae* RSKK 251, **Amp:** Ampisilin, **Str:** Streptomisin, **Flu:** Flukonazol, **(-):** aktivite yok

L. boissieri bitkisinden farklı çözücülerde hazırlanan ekstrelerden en etkili antimikrobiyal aktiviteyi hekzan ekstresi (2812 µg/mL) Gram (+) *S. aureus* bakterisine karşı gösterirken, en az aktiviteyi Gram (-) *E. coli* bakterisine karşı kloroform ekstresi (46400 µg/mL) gösterdi. Bitkinin su ekstresinde aktivite gözlemlenemedi. *L. boissieri* bitkisi genel olarak bakterilere mantarlardan daha iyi bir aktivite sergilediği görüldü.

L. bourgaei bitkisinin en etkili antimikrobiyal aktiviteyi metanol ekstresi (3028 µg/mL) *M. smegmatis* bakterisine gösterirken, en az aktiviteyi *S. cerevisiae* mantarına karşı yine metanol ekstresi (48450 µg/mL) gösterdi. Su ekstresinde aktivite gözlemlenemedi.

C. petiolata bitkisinde en etkili antimikrobiyal aktivite *C. albicans* mantarına karşı kloroform ekstresinde (2450 µg/mL) görülürken, en az aktiviteyi Gram (-) *E. coli* bakterisine karşı kloroform ekstresi (19600 µg/mL) gösterdi. Bitkinin su ve etil asetat ekstresi herhangi bir antimikrobiyal etkinlik göstermedi.

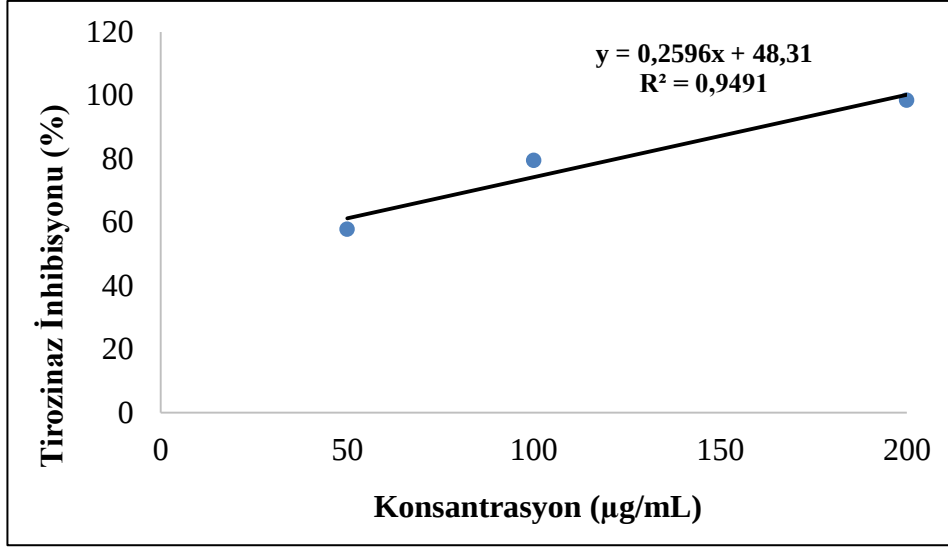
L. boissieri, *L. bourgaei* ve *C. petiolata* bitkilerinin uçucu yağları antimikrobiyal aktiviteyi sadece *M. smegmatis* bakterisine karşı gösterdi ve MİK değerleri sırasıyla 331.25 µg/mL, 75 µg/mL ve 302.5 µg/mL olarak bulundu.

4.3. Enzim İnhibisyonu Çalışmalarına Ait Bulgular

Tez kapsamında çalışılan türlerden elde edilen ekstrelerinin farklı konsantrasyonlardaki (50, 100, 200 µg/mL) çözeltilerinin asetilkolinesteraz, tirozinaz ve α-glukozidaz enzimleri üzerindeki inhibisyon etkileri araştırıldı. Deney sonucunda % inhibisyon değerleri belirlendi. %50 ve üzerinde inhibisyon görülmesi durumunda konsantrasyona karşı % inhibisyon grafikleri çizildi. Grafikteki eğrilerinin denkleminde IC₅₀ değerleri hesaplandı. IC₅₀ değeri başlangıçtaki enzim konsantrasyonunu yüzde elli inhibisyona uğratan numune konsantrasyonu olarak tanımlanmaktadır.

4.3.1. Asetilkolinesteraz Enzim İnhibisyonu Tayini Sonuçları

L. boissieri, *L. bourgaei* ve *C. petiolata* türlerinin asetilkolinesteraz enzimi üzerindeki inhibisyon etkileri tez kapsamında çalışıldı. Deney sonucunda % inhibisyon değerleri belirlendi. Standart olarak galatamin kullanıldı. Galatamin için asetilkolinesteraz enzim inhibisyon standart grafiği Şekil 35’de verildi ve IC₅₀ değeri 1.76±0.03 µg/mL olarak hesaplandı.

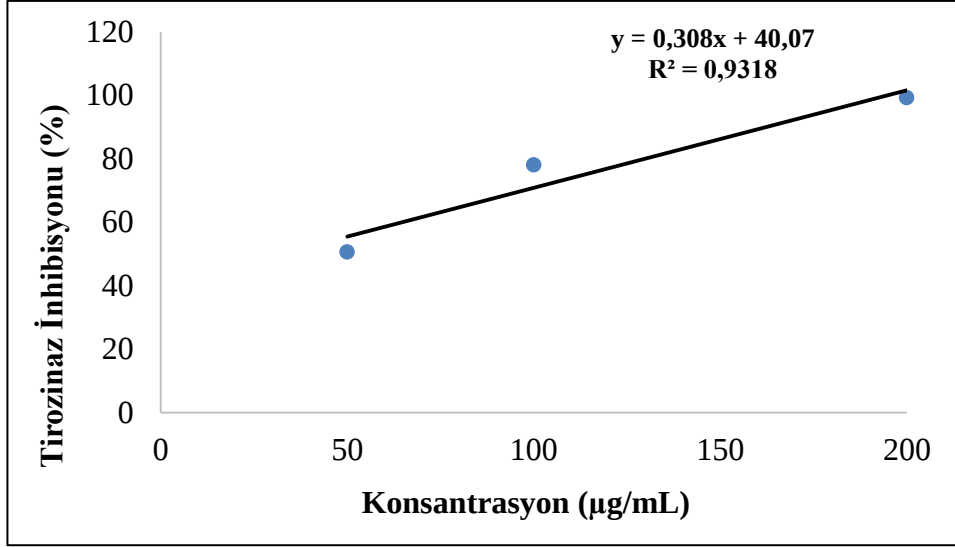


Şekil 35. Galatamin için asetilkolinesteraz enzim inhibisyon standart grafiği

Bitki ekstralarının çalışılan konsantrasyon (50, 100, 200 µg/mL) aralıklarında asetilkolinesteraz enzimini inhibe etme yüzdeleri incelendiğinde, her üç bitkinin de en yüksek konsantrasyon olan 200 µg/mL’de en fazla % inhibisyon gerçekleştirdiği görüldü. *L. boissieri* bitkisinin çalışılan ekstralar içinde sadece etil asetat ekstresinin 200 µg/mL’lik (%10.05±1.81) konsantrasyonda inhibisyon gerçekleştirildiği görüldü. *L. bourgaei* bitkisinin etil asetat ekstresinin 100 µg/mL’lik (%3.09±2.16) ve 200 µg/mL’lik (%19.64±0.68) konsantrasyonları inhibisyon gerçekleştirirken su ekstresi ise her üç konsantrasyonda da (sırasıyla %4.50±0.70, %4.97±1.43 ve %5.68±1.26) inhibisyon gerçekleştirdi. Diğer ekstralarda ise inhibisyon gözlemlenmedi. *C. petiolata* bitkisinin sadece su ekstresinin 100 µg/mL’lik (%2.55±2.01) ve 200 µg/mL’lik (%4.77±3.00) konsantrasyonları inhibisyon gösterdi. Bitki ekstralarının çalışılan konsantrasyonları asetilkolinesteraz enzimini %50 oranında inhibe etmediği için hiçbir bitki örneğinin IC₅₀ değeri hesaplanamadı.

4.3.2. Tirozinaz Enzim İnhibisyonu Tayini Sonuçları

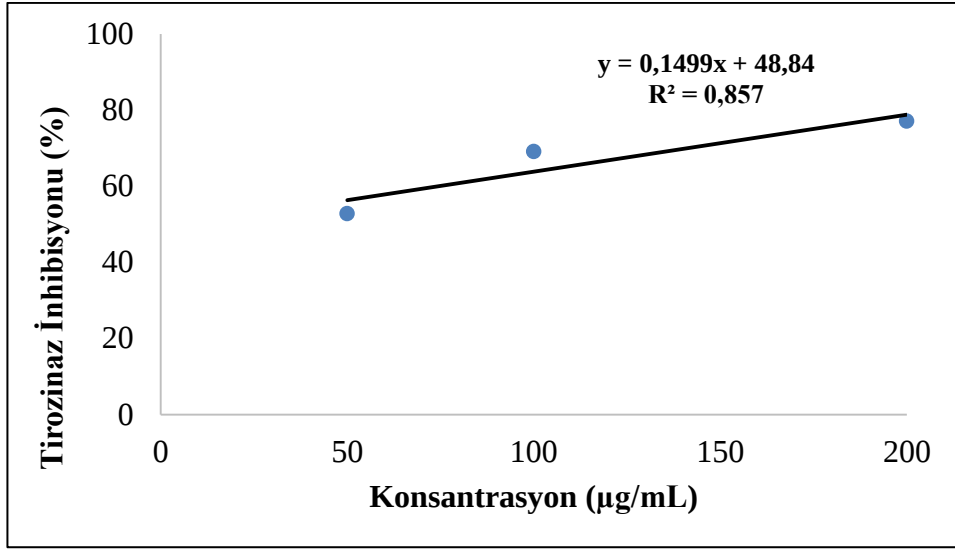
L. boissieri, *L. bourgaei* ve *C. petiolata* türlerinin tirozinaz enzimi üzerindeki inhibisyon etkileri tez kapsamında çalışıldı. Deney sonucunda % inhibisyon değerleri belirlendi. Standart olarak kojik asit kullanıldı. Sonuçlar kojik asit standartının sonucu ile karşılaştırılarak µg/mL olarak verildi. Kojik asit için tirozinaz enzim inhibisyon standart grafiği Şekil 36’da verildi ve IC₅₀ değeri 1.32±0.06 µg/mL olarak hesaplandı.



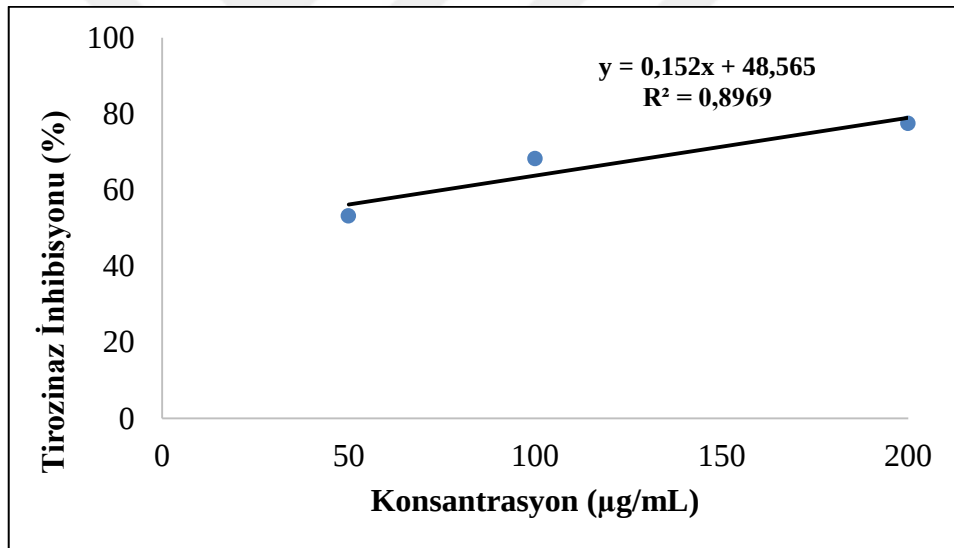
Şekil 36. Kojik asit için tirozinaz enzim inhibisyon standart grafiği

Bitki ekstralarının çalışılan konsantrasyon (50, 100, 200 µg/mL) aralıklarında tirozinaz enzimini inhibe etme yüzdeleri incelendiğinde, her üç bitkinin de en yüksek konsantrasyon olan 200 µg/mL’de en fazla % inhibisyon gerçekleştirdiği görüldü. Ayrıca her türe ait yüzde inhibisyon verilerinden yararlanılarak konsantrasyona karşı % inhibisyon grafikleri çizildi. Grafikteki eğrilerinin denkleminde IC_{50} değerleri hesaplanarak sonuçlar µg/mL olarak verildi.

L. boissieri bitkisinin tirozinaz enzimine karşı en etkili inhibisyonu metanol (IC_{50} : 34.46 ± 3.45 µg/mL) ekstresi gösterdi (Şekil 37). Onu etil asetat (IC_{50} : 39.25 ± 0.23 µg/mL) ekstresi izlerken, diğer ekstralarda ise inhibisyon gözlemlenemedi (Şekil 38).

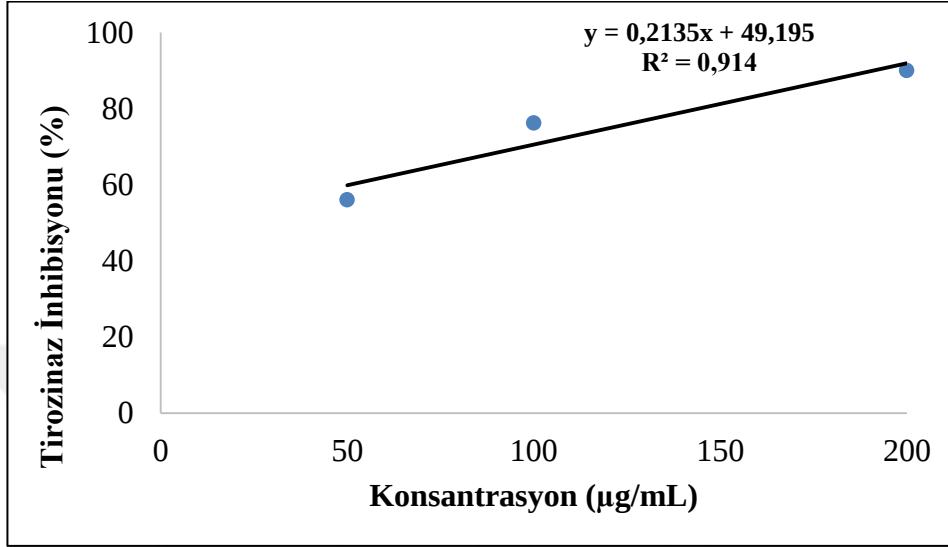


Şekil 37. *Lactuca boissieri* metanol ekstresinin tirozinaz enzim inhibisyonu grafiği

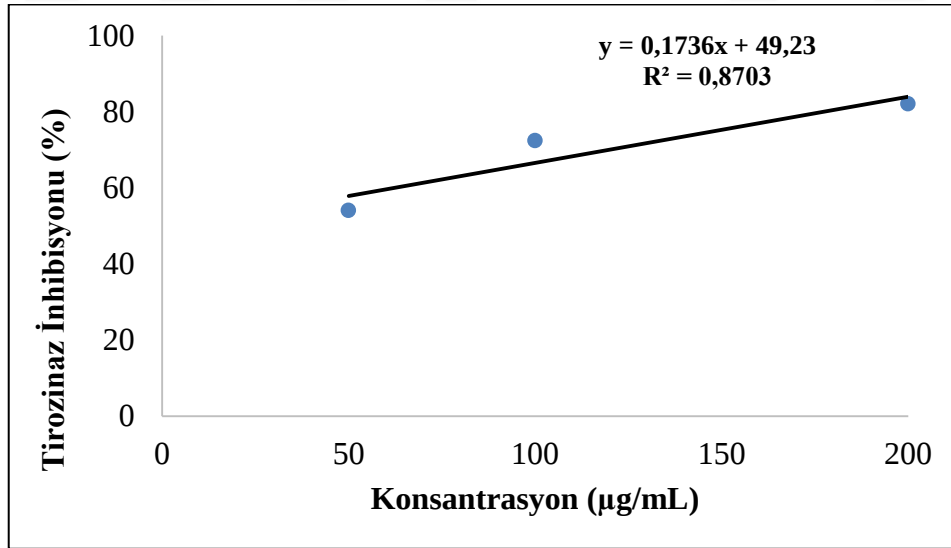


Şekil 38. *Lactuca boissieri* etil asetat ekstresinin tirozinaz enzim inhibisyonu grafiği

L. bourgaei bitkisinin tirozinaz enzimine karşı en etkili inhibisyonu metanol (IC_{50} : $32.13 \pm 2.76 \mu\text{g/mL}$) ekstresi gösterdi (Şekil 39). Onu etil asetat (IC_{50} : $37.71 \pm 3.58 \mu\text{g/mL}$) ekstresi izlerken, diğer ekstrelerde ise inhibisyon gözlemlenemedi (Şekil 40).

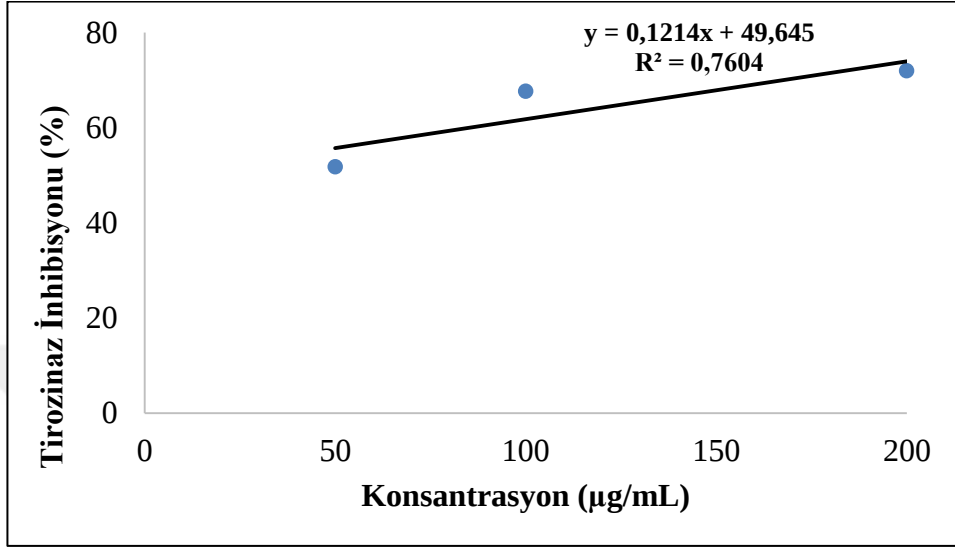


Şekil 39. *Lactuca bourgaei* metanol ekstresinin tirozinaz enzim inhibisyonu grafiği

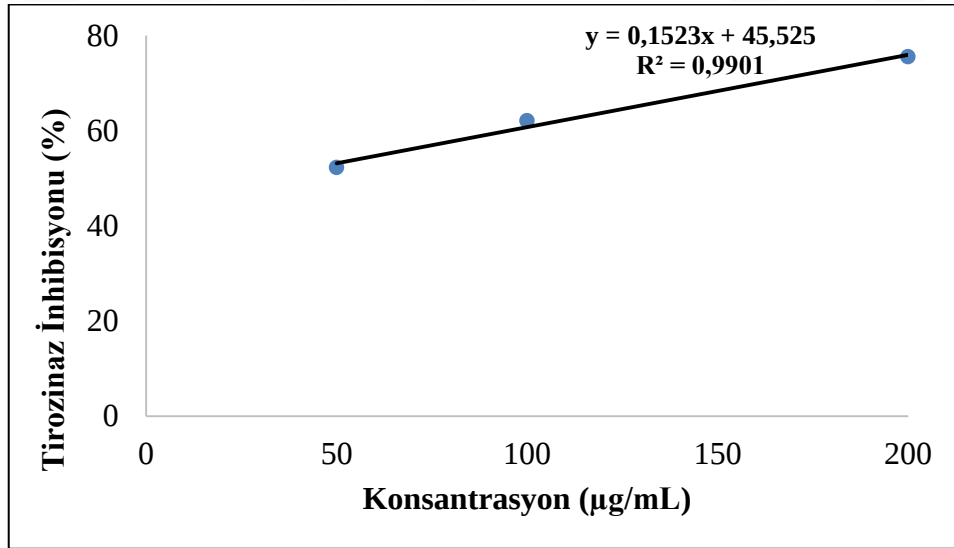


Şekil 40. *Lactuca bourgaei* etil asetat ekstresinin tirozinaz enzim inhibisyonu grafiği

C. petiolata bitkisinin tirozinaz enzimine karşı en etkili inhibisyonu etil asetat (IC_{50} : 38.47 ± 2.02 $\mu\text{g/mL}$) ekstresi gösterdi (Şekil 41). Onu metanol (IC_{50} : 45.15 ± 2.78 $\mu\text{g/mL}$) ekstresi izlerken, diğer ekstrelerde ise inhibisyon gözlemlenemedi (Şekil 42).



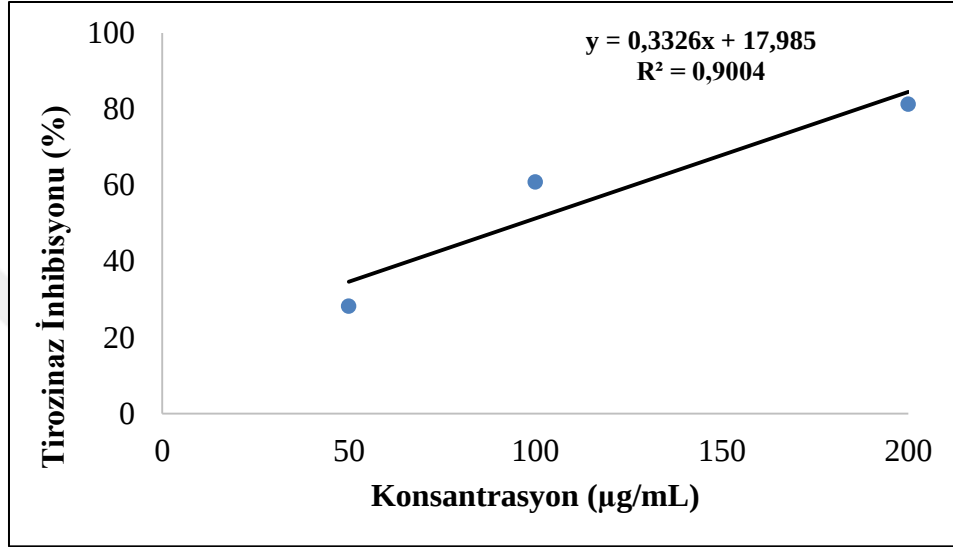
Şekil 41. *Cicerbita petiolata* etil asetat ekstresinin tirozinaz enzim inhibisyonu grafiği



Şekil 42. *Cicerbita petiolata* metanol ekstresinin tirozinaz enzim inhibisyonu grafiği

4.3.3. α -Glukozidaz Enzim İnhibisyonu Tayini Sonuçları

L. boissieri, *L. bourgaei* ve *C. petiolata* türlerinin α -glukozidaz enzimi üzerindeki inhibisyon etkileri tez kapsamında çalışıldı. Deney sonucunda % inhibisyon değerleri belirlendi. Standart olarak akarboz kullanıldı. Akarboz için α -glukozidaz enzim inhibisyon standart grafiği Şekil 43’de verildi ve IC_{50} değeri $4.61 \pm 2.74 \mu\text{g/mL}$ olarak hesaplandı.



Şekil 43. Akarboz için α -glukozidaz enzim inhibisyon standart grafiği

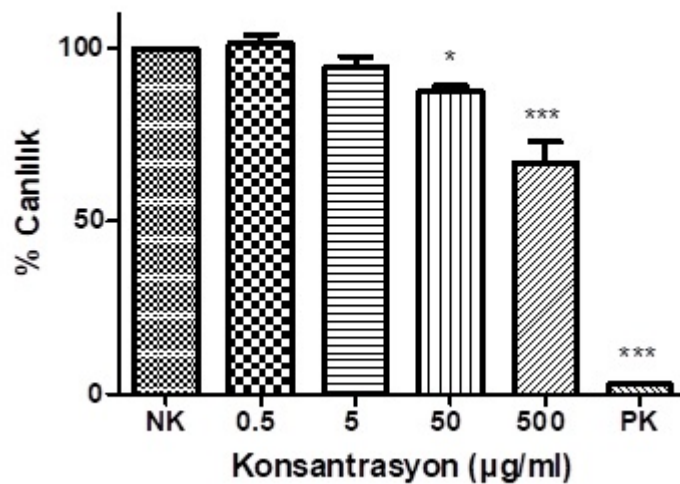
Bitki ekstralarının çalışılan konsantrasyon (50, 100, 200 $\mu\text{g/mL}$) aralıklarında α -glukozidaz enzimini inhibe etme yüzdeleri incelendiğinde, en yüksek konsantrasyon olan 200 $\mu\text{g/mL}$ ’de en fazla % inhibisyon gerçekleştirdiği görüldü. *L. boissieri* bitkisinin su ekstresinin 100 $\mu\text{g/mL}$ ’lik (5.27 ± 3.05) ve 200 $\mu\text{g/mL}$ ’lik (12.13 ± 2.78) konsantrasyonlarının inhibisyon gerçekleştirildiği görüldü. Diğer ekstrelerde ise herhangi bir inhibisyon gözlemlenmedi. *L. bourgaei* bitkisinin su ekstralarının 50 $\mu\text{g/mL}$ ’lik (6.25 ± 4.56), 100 $\mu\text{g/mL}$ ’lik (11.47 ± 1.32) ve 200 $\mu\text{g/mL}$ ’lik (14.85 ± 3.85) konsantrasyonları inhibisyon gerçekleştirdi. Diğer ekstrelerde ise herhangi bir inhibisyon gözlemlenmedi. *C. petiolata* bitkisinin çalışılan hiçbir ekstresinde inhibisyon görülmedi. Bitki ekstralarının çalışılan konsantrasyonları α -glukozidaz enzimini %50 oranında inhibe etmediği için hiçbir bitki örneğinin IC_{50} değeri hesaplanamadı.

4.4. MTT Testi ile Sitotoksosite Tayinine Ait Bulgular

Tez kapsamında çalışılan türlerden elde edilen metanol ekstratlarının sağlıklı L929 fare fibroblast hücre hattı üzerinde gösterdiği sitotoksik etkileri MTT testi kullanılarak değerlendirildi. Negatif kontrol grubu olarak hücrelere sadece % 0.5 metanol içeren DMEM çözeltisi verildi. Pozitif kontrol grubu olarak 0.3 mM Sodyum dodesil sülfat (SDS) kullanıldı. Bitki örneklerinin çalışılan her konsantrasyonu için ölçülen absorbans değeri ile negatif kontrol grubunun absorbans değerine oranı alınarak, bu oran 100 ile çarpıldı. Böylece her bir bitki örneğinin çalışılan konsantrasyonları için hücre canlılığı yüzdesi hesaplandı. Çalışmalar dublike yürütüldü. Deney sonucunda elde edilen sonuçlar her bitki örneği için ortalama % canlılık değeri $\pm$ standart sapma şeklinde verildi.

4.4.1. *Lactuca boissieri* Bitkisinin MTT Test Sonuçları

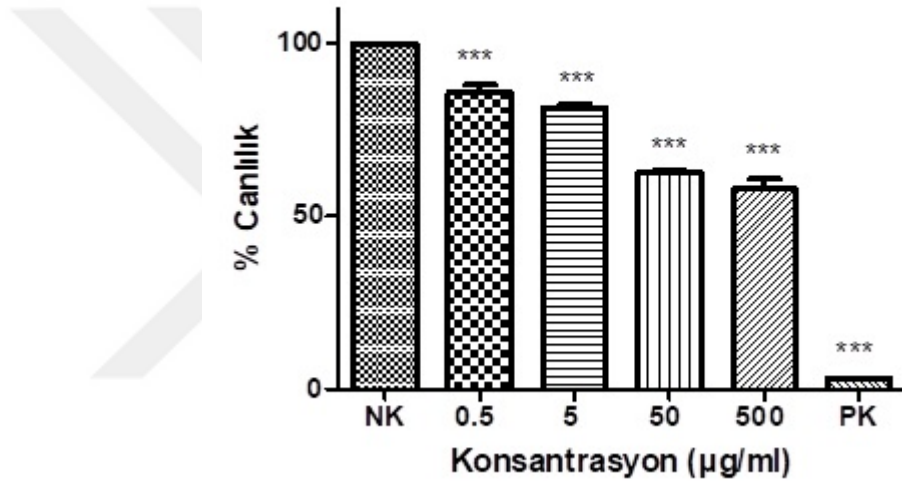
L. boissieri bitkisinin metanol ekstresinin 0.5, 5, 50 ve 500 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarındaki hücre canlılığı test sonuçları Sodyum dodesil sülfat ile karşılaştırılarak Şekil 44’de verildi. MTT deney sonuçlarına göre, *L. boissieri* metanol ekstratının 50 $\mu\text{g/mL}$ ’lik ($\%87.60 \pm 4.1$) ve 500 $\mu\text{g/mL}$ ’lik ($\%66.74 \pm 3.1$) konsantrasyonları hücre canlılığını kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalttığı görüldü ($p < 0.05$ Tukey testi).



Şekil 44. *Lactuca boissieri* bitkisinin metanol ekstresinin MTT sonuçları (NK: negatif kontrol, PK: pozitif kontrol)

4.4.2. *Lactuca bourgaei* Bitkisinin MTT Test Sonuçları

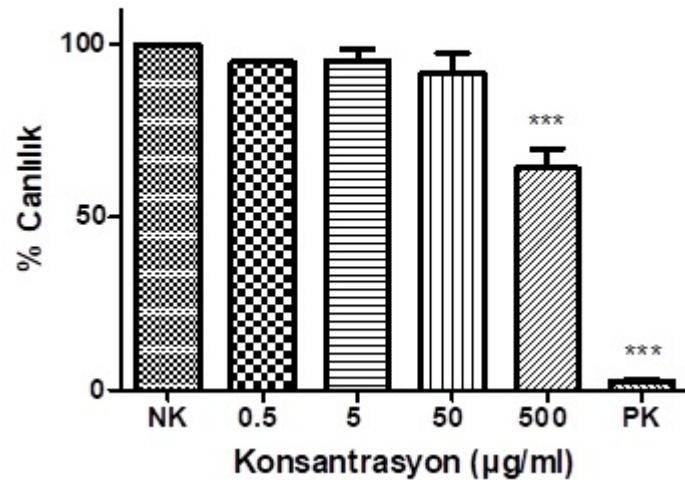
L. bourgaei bitkisinin metanol ekstresinin 0.5, 5, 50 ve 500 µg/mL konsantrasyonlarındaki hücre canlılığı test sonuçları Sodyum dodesil sülfat ile karşılaştırılarak Şekil 45’de verildi. MTT deney sonuçlarına göre, *L. bourgaei* metanol ekstratının 0.5 µg/mL’lik (%85.72±4.4), 5 µg/mL’lik (%81.34±4.3), 50 µg/mL’lik (%62.63±2.2) ve 500 µg/mL’lik (%57.88±2.3) konsantrasyonları hücre canlılığını kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalttığı görüldü (p<0.05 Tukey testi).



Şekil 45. *Lactuca bourgaei* bitkisinin metanol ekstresinin MTT sonuçları (NK: negatif kontrol, PK: pozitif kontrol)

4.4.3. *Cicerbita petiolata* Bitkisinin MTT test Sonuçları

C. petiolata bitkisinin metanol ekstresinin 0.5, 5, 50 ve 500 µg/mL konsantrasyonlarındaki hücre canlılığı test sonuçları Sodyum dodesil sülfat ile karşılaştırılarak Şekil 46’da verildi. MTT deney sonuçlarına göre *C. petiolata* bitkisinin metanol ekstratının sadece 500 µg/mL’lik (%64.13 ± 0.9) konsantrasyonu hücre canlılığını kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalttığı görüldü (p<0.05 Tukey testi).



Şekil 46. *Cicerbita petiolata* bitkisinin metanol ekstresinin MTT sonuçları (NK: negatif kontrol, PK: pozitif kontrol)

4.5. Türlerin Uçucu Yağlarının GC-MS Analiz Sonuçları

Her bir bitkinin uçucu yağ bileşenleri Shimadzu QP 2010 Plus GC/MS cihazında analiz edildi. Her numunedeki uçucu bileşenin alıkonma indekslerini (RI) belirlemek için, n-alkanlar standart olarak kullanıldı. Uçucu bileşenlerin kromatografik piklerine ait spektrumlar cihazın kütüphanesi (NIST ve Wiley) ve literatürdeki kaynaklarla karşılaştırılarak tanımlandı.

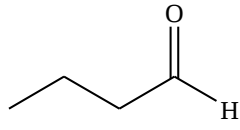
4.5.1. *Lactuca boissieri* Bitkisinin Uçucu Yağ Analiz Sonuçları

L. boissieri bitkisinden Clevenger destilasyonu ile elde edilen uçucu yağın Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi ile analizi sonucunda aydınlatılabilen uçucu bileşikler Tablo 9’da ve teşhis edilen bileşiklerin yapı formülleri Şekil 47’de verildi.

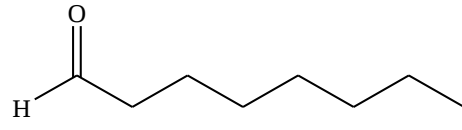
Tablo 9. *Lactuca boissieri* bitkisinin uçucu yağ bileşenleri

Bileşik Sınıfı	Bileşik	RI*	RI	RT	(%) ^a
Aldehit	Pentanal	698	697	8.237	33.01
Aldehit	Oktanal	1001	1009	21.251	7.05
Monoterpenoid	Endo-borneol	1146	1148	24.729	0.76
Aldehit	Dekanal	1206	1206	26.362	1.27
Aldehit	(<i>E,E</i>)-2,4-Nonadienal	1212	1216	26.852	0.43
Aldehit	(<i>E</i>)-2-Dekanal	1264	1264	29.160	0.95
Diğer	Isobornil asetat	1292	1293	30.616	1.44
Diğer	Dihidroedulan I	1300	1305	31.188	3.59
Aldehit	Undekanal	1308	1308	31.341	0.27
Aldehit	(<i>E,E</i>)-2,4-Dekadienal	1318	1319	31.859	1.34
Aldehit	2(<i>E</i>)-Undekanal	1364	1366	34.056	0.83
Seskiterpen	β -Elemen	1391	1381	34.741	0.38
Diğer	(<i>E</i>)- β -Damasenon	1380	1381	35.423	6.70
Seskiterpen	Karyofilen	1428	1436	37.257	0.26
Keton	(<i>E</i>)-Geranil aseton	1455	1456	38.143	0.51
Alkol	Dodekanol	1476	1475	38.977	0.49
Aldehit	Tridekanal	1510	1513	40.636	0.75
Seskiterpenoid	Humulene epoksit II	1608	1604	44.512	0.46
Aldehit	Tetradekanal	1614	1615	44.927	0.66
Alkol	Tetradekanol	1673	1677	47.456	1.34
Diğer	1,2-epoksiheksadekan	1708	1717	49.003	3.84
Keton	Fiton	1838	1448	53.923	20.96
Alkol	Hekzadekanol	1883	1882	55.157	1.55
Keton	(<i>E,E</i>)-Farnesil aseton	1921	1926	56.713	1.40
Yağ asiti	Hekzadekanoik asit	1964	1966	58.104	9.67

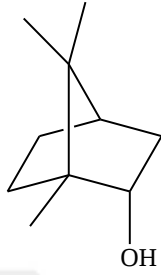
(%)^a: Bileşiğin alanı, RI*: Referans değeri, RT: Alıkonma zamanı



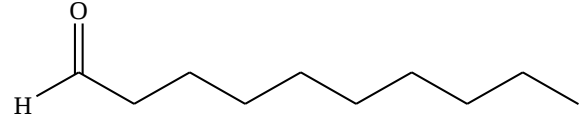
Pentanal



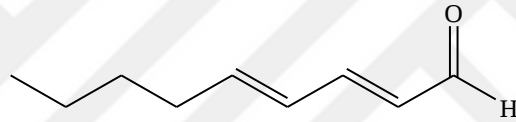
Oktanal



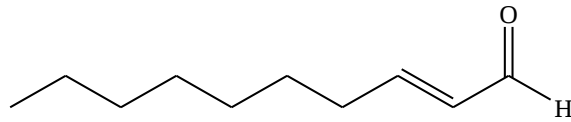
Endo-borneol



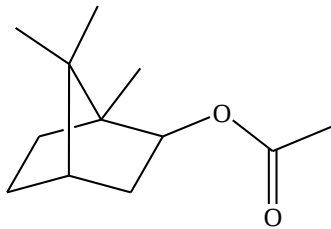
Dekanal



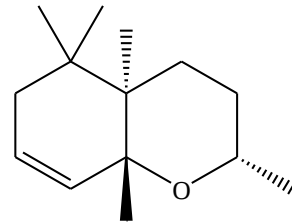
(*E,E*)-2,4-Nonadienal



2(*E*)-Dekenal

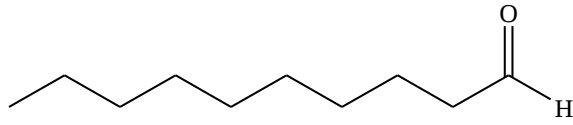


Isobornil asetat

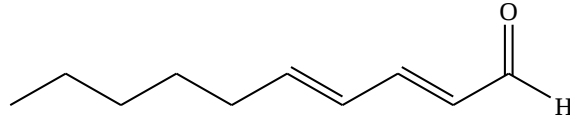


Dihidroedulan I

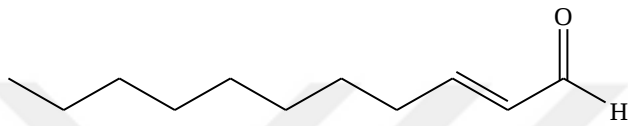
Şekil 47. *Lactuca boissieri* bitkisinin uçucu bileşenlerinin formülleri



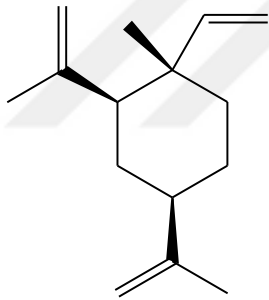
Undekanal



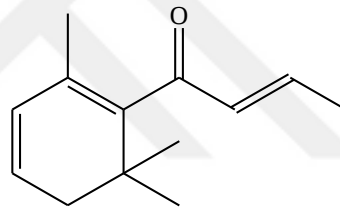
(*E,E*)-2,4-Dekadienal



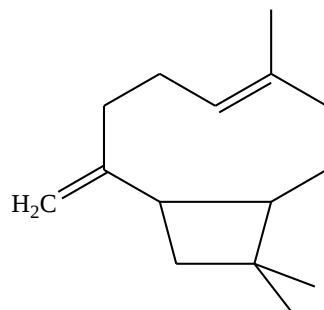
2 (*E*)-Undekanal



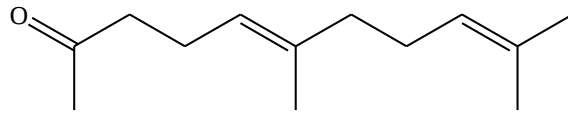
β - Elemen



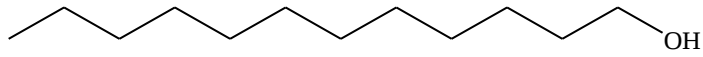
(*E*)- β -Damasenon



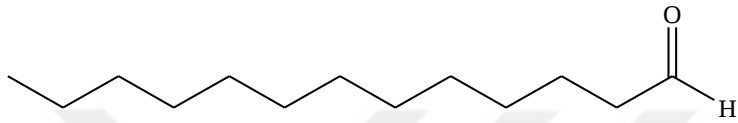
Karyofilen



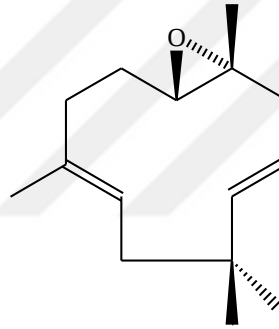
(*E*)-Geranil aseton



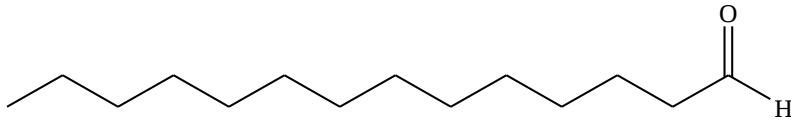
Dodekanol



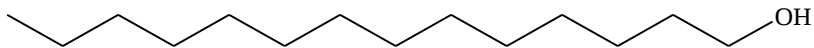
Tridekanal



Humulene epoksit II

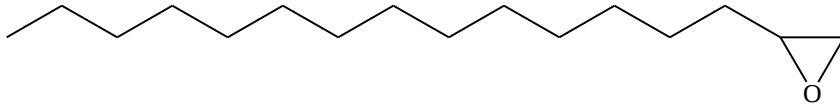


Tetradekanal

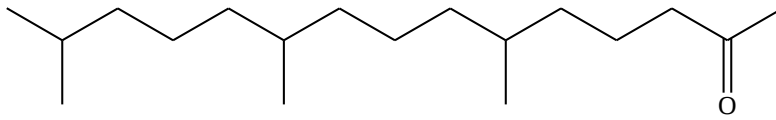


Tetradekanol

Şekil 47. (Devam)



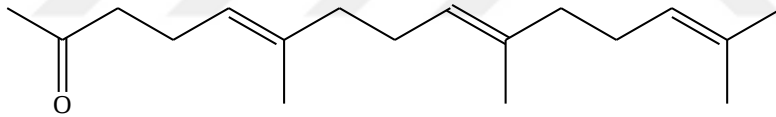
1,2-Epoksihegzadekan



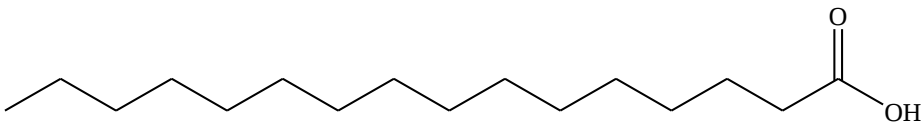
Fiton



Hekzadekanol



(*E,E*)-Farnesil aseton



Hekzadekanoik asit

Şekil 47. (Devam)

Elde edilen uçucu yağda, aydınlatılan 25 adet uçucu bileşen içinde aldehit (10 adet) sınıfı bileşiklerin %46.56 oranla ana bileşikler olduğu tespit edildi (Tablo 10). Aydınlatılan diğer uçucu bileşenler, monoterpenoid, seskiterpen, seskiterpenoid, keton, alkol, yağ asiti ve diğer olarak sınıflandırıldı. Ayrıca uçucu yağda pentanal (%33.01), fiton (%20.96) ve oktanal (%7.05) bileşiklerine diğerlerine göre daha fazla oranda rastlandı.

Tablo 10. *Lactuca boissieri* bitkisinin uçucu bileşenlerindeki bileşik sınıfları ve miktarları

Bileşik Sınıfı	<i>L. boissieri</i>	
	(%) ^a	BS ^b
Monoterpenoid	0.76	1
Seskiterpen	0.64	2
Seskiterpenoid	0.46	1
Aldehit	46.56	10
Keton	22.87	3
Alkol	3.38	3
Yağ asiti	9.67	1
Diğer	15.57	4
Total	99.91	25

(%)^a: Bileşiğin alanı, BS^b: Bileşik sayısı

L. boissieri bitkisinin analizi sonucunda elde edilen 4 adet terpenik bileşen ise Tablo 11’de verilmiştir. Terpenik bileşenler içinde sayı olarak monoterpenoid, seskiterpenoid sınıflarında bir adet ve seskiterpen sınıfında iki adet bileşik bulundu. Miktar olarak bakıldığında ise monoterpen sınıfı bileşik endo-borneol (%0.76) major bileşik olarak bulundu.

Tablo 11. *Lactuca boissieri* bitkisinin terpenik uçucu yağ bileşenleri

Bileşik Sınıfı	Bileşik	RI*	RI	RT	(%) ^a
Monoterpenoid	Endo-borneol	1146	1148	24.729	0.76
Seskiterpen	β -elemen	1391	1381	34.74	0.38
	Karyofilen	1428	1436	37.26	0.26
Seskiterpenoid	Humulene eposit II	1608	1604	44.512	0.46
Toplam					2.16

(%)^a: Bileşiğin alanı, RI*: Referans değeri, RT: Alıkonma zamanı

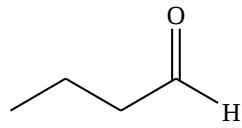
4.5.2. *Lactuca bourgaei* Bitkisinin Uçucu Yağ Analiz Sonuçları

L. bourgaei bitkisinden Clevenger destilasyonu ile elde edilen uçucu yağın Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi ile analizi sonucunda aydınlatılabilen uçucu bileşikler Tablo 12’de ve teşhis edilen bileşiklerin yapı formülleri Şekil 48’de verildi.

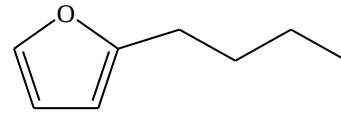
Tablo 12. *Lactuca bourgaei* bitkisinin uçucu yağ bileşenleri

Bileşik Sınıfı	Bileşik	RI*	RI	RT	(%) ^a
Aldehit	Pentanal	706	696	8.19	20.81
Diğer	2-Butil furan	885	892	15.69	9.18
Monoterpen	α -Terpinen	1017	1024	19.14	0.72
Keton	(<i>E,E</i>)-3,5-Oktadien-2-on	1081	1088	20.71	1.75
Aldehit	2(<i>Z</i>)-Nonenal	1149	1142	24.57	1.33
Monoterpenoid	Neomentol	1166	1157	24.93	0.88
Monoterpenoid	Terpinen-4-ol	1170	1168	25.25	1.76
Aldehit	Dekanal	1206	1207	26.37	2.88
Aldehit	(<i>E,E</i>)-2,4-Nonadienal	1215	1216	26.84	2.69
Aldehit	β -Siklositral	1224	1228	27.44	3.59
Monoterpenoid	Geraniol	1254	1256	28.79	0.96
Monoterpenoid	β -Homosiklositral	1261	1260	29.11	0.62
Aldehit	(<i>E</i>)-2-Dekenal	1265	1264	29.16	0.53
Aldehit	(<i>E,E</i>)-2,4-Dekadienal	1318	1320	31.87	7.02
Diğer	(<i>E</i>)- β -Damasenon	1390	1393	35.33	1.87
Aldehit	Dodekanal	1412	1411	36.12	0.58
Diğer	(<i>E</i>)- α -Ionon	1422	1420	36.55	1.09
Diğer	Dihidro- β -Ionon	1424	1423	36.67	5.21
Keton	(<i>Z</i>)-Geranil aseton	1454	1456	38.16	2.47
Diğer	(<i>E</i>)- β -Ionon	1498	1496	39.94	10.14
Aldehit	Tridekanal	1510	1513	40.65	1.02
Aldehit	Tetradekanal	1614	1615	44.94	0.84
Keton	2-Pentadekanon	1698	1701	48.37	1.05
Keton	Fiton	1847	1849	53.97	13.50
Alkan	Nonadekan	1900	1900	55.82	1.23
Yağ asiti	Hekzadekanoik asit	1977	1972	58.33	3.70
Alkan	İkozan	2000	2000	59.29	0.94

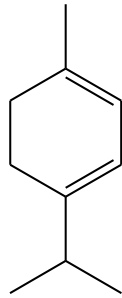
(%)^a: Bileşiğin alanı, RI*: Referans değeri, RT: Alıkonma zamanı



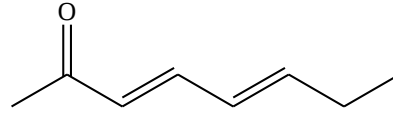
Pentanal



2-Butil furan



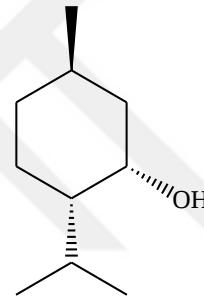
α - Terpinen



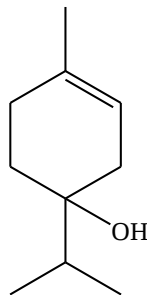
(E,E)-3,5-Oktadien-2-on



2(Z)-Nonenal

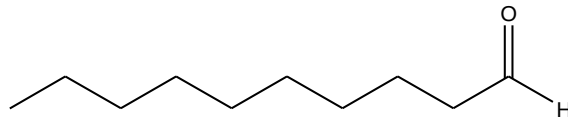


Neomentol

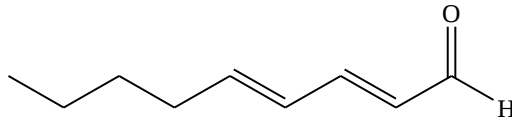


Terpinen-4-ol

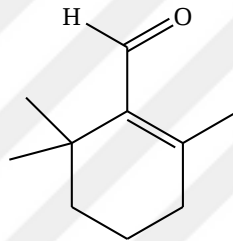
Şekil 48. *Lactuca bourgaei* bitkisinin uçucu bileşenlerinin formülleri



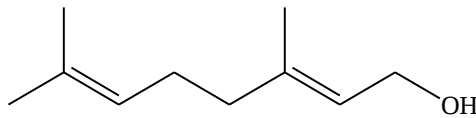
Dekanal



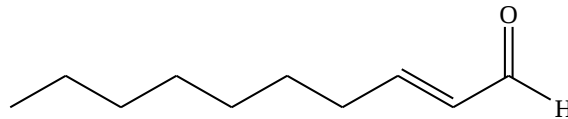
(*E,E*)-2,4-Nonadienal



β -Siklositral

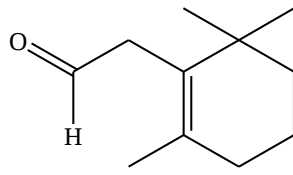


Geraniol

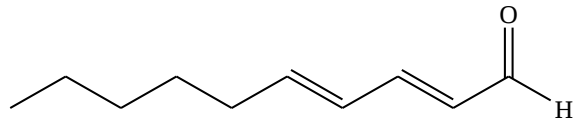


2(*E*)-Dekenal

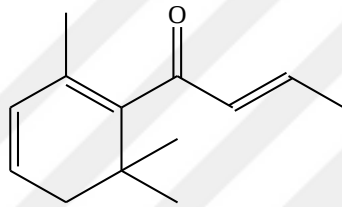
Şekil 48. (Devam)



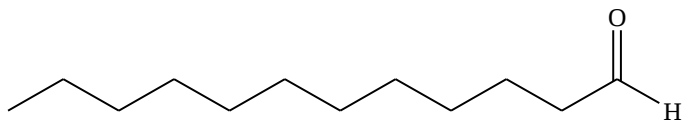
β -Homosiklositral



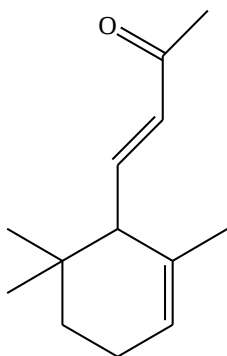
(*E,E*)-2,4-Dekadienal



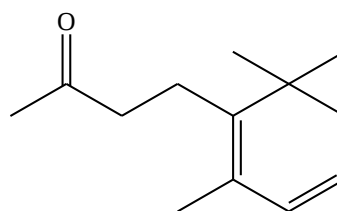
(*E*)- β -Damascenon



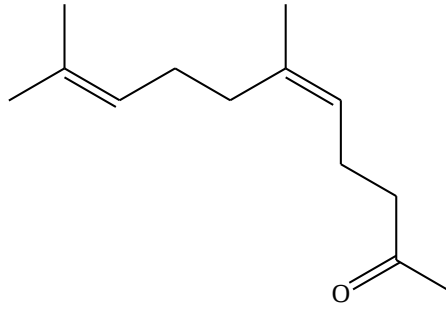
Dodekanal



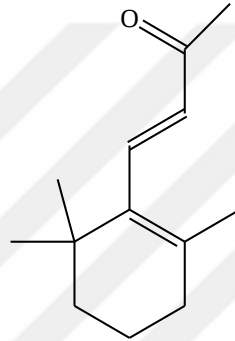
(*E*)- α -Ionon



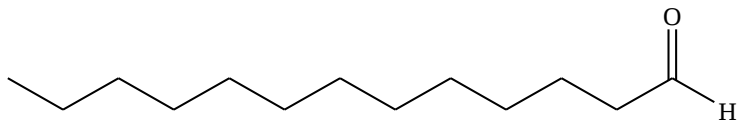
Dihidro- β -Ionon



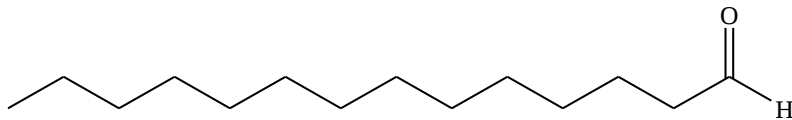
(Z)-Geranil aseton



(E)-β-Ionon

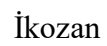


Tridekanal



Tetradekanal

Şekil 48. (Devam)



137

Elde edilen uçucu yağda, aydınlatılan 27 adet uçucu bileşen içinde aldehit (10 adet) sınıfı bileşiklerin %41.29 oranla ana bileşikler olduğu tespit edildi (Tablo 13). Aydınlatılan diğer uçucu bileşenler, monoterpen, monoterpenoid, keton, yağ asiti ve diğer olarak sınıflandırıldı. Ayrıca bitkinin uçucu yağında en fazla pentanal (%20.81), fiton (%13.50) ve (*E*)- β -ionon (%10.14) bileşiklerine rastlandı.

Tablo 13. *Lactuca bourgaei* bitkisinin uçucu bileşenlerindeki bileşik sınıfları ve miktarları

Bileşik Sınıfı	<i>Lactuca bourgaei</i>	
	(%) ^a	BS ^b
Monoterpen	0.72	1
Monoterpenoid	4.22	4
Alkan	2.17	2
Aldehit	41.29	10
Keton	18.77	4
Yağ asiti	3.70	1
Diğer	27.49	5
Total	98.36	27

(%)^a: Bileşiğin alanı, BS^b: Bileşik sayısı

L. bourgaei bitkisinin analizi sonucunda elde edilen 5 adet terpenik bileşen ise Tablo 14’de verildi. Terpenik bileşenler içinde sayı olarak monoterpenoid bileşenler daha fazla görüldü. Miktar olarak bakıldığında ise monoterpenoid sınıfı bileşiklerden geraniol bileşiği (%0.96) yüksek miktarda bulundu.

Tablo 14. *Lactuca bourgaei* bitkisinin terpenik uçucu yağ bileşenleri

Bileşik Sınıfı	Bileşik	RI*	RI	RT	(%) ^a
Monoterpen	α -Terpinen	1077	1024	19.14	0.72
	Neomentol	1166	1157	24.93	0.88
	Terpinen-4-ol	1170	1168	25.25	1.76
Monoterpenoid	Geraniol	1254	1256	28.79	0.96
	β -Homosiklositral	1261	1260	29.11	0.62
Toplam					4.94

(%)^a: Bileşiğin alanı, RI* : Referans değeri, RT: Alıkonma zamanı

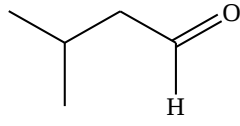
4.5.3. *Cicerbita petiolata* Bitkisinin Uçucu Yağ Analiz Sonuçları

Cicerbita petiolata bitkisinden Clevenger destilasyonu ile elde edilen uçucu yağın Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi ile analizi sonucunda aydınlatılabilen uçucu bileşikler Tablo 15’de ve teşhis edilen bileşiklerin yapı formülleri Şekil 49’da verildi.

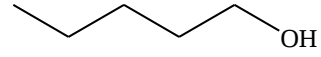
Tablo 15. *Cicerbita petiolata* bitkisinin uçucu yağ bileşenleri

Bileşik Sınıfı	Bileşik	RI*	RI	RT	(%) ^a
Aldehit	3-metil bütanal	657	656	8.19	20.78
Alkol	Pentanol	768	769	10.34	5.75
Aldehit	Hekzanal	800	797	11.54	3.21
Alken	2,4-Dimetil-hepten	842	836	13.22	20.03
Diğer	2-butil furan	885	893	15.75	15.66
Aldehit	Nonanal	1102	1109	21.27	2.88
Aldehit	Dekanal	1206	1206	26.36	0.66
Aldehit	(<i>E,E</i>)-2,4-Nonadienal	1215	1216	26.83	0.32
Aldehit	Okso- β -siklositral	1226	1228	27.43	0.45
Aldehit	(<i>E</i>)-2-Dekenal	1265	1264	29.16	0.50
Yağ asiti	Nonanoik asit	1270	1266	29.27	0.20
Aldehit	(<i>E,E</i>)-2,4-Dekadienal	1318	1319	31.86	2.12
Seskiterpen	7-epi -Silfiperfol-5-ene	1348	1358	33.65	0.32
Diğer	Eugenol	1359	1363	33.93	0.27
Seskiterpen	Silfiperfol-6-ene	1379	1374	34.42	0.34
Seskiterpen	(-)- <i>Z</i> - β -Elemen	1403	1403	35.76	0.34
Diğer	Metil Eugenol	1410	1407	35.94	0.25
Diğer	Dihidro- β -Ionon	1424	1423	36.66	0.48
Keton	(<i>E</i>)-Geranil aseton	1455	1456	38.15	0.75
Alkol	Dodekanol	1478	1475	38.98	0.36
Diğer	(<i>E</i>)- β -Ionon	1498	1496	39.92	2.37
Seskiterpen	α -Bulnesen	1505	1504	40.27	0.27
Aldehit	Tridekanal	1513	1513	40.64	0.51
Yağ asiti	Dodekanoik asit	1565	1563	42.77	0.33
Seskiterpenoid	Humulene epoksit II	1605	1604	44.52	1.67
Aldehit	Tetradekanal	1614	1615	44.94	0.35
Seskiterpen	Aromadendren	1640	1641	45.98	1.59
Seskiterpenoid	epi- α -Bisabolol	1668	1672	47.21	1.03
Seskiterpenoid	Intermedeol	1666	1676	47.41	0.44
Alkol	Tetradekanol	1676	1678	47.48	0.19
Seskiterpenoid	α -Bisabolol	1695	1696	48.21	0.23
Alkol	Pentadekanol	1789	1780	51.41	0.96
Seskiterpenoid	14-Hidroksi- δ -kadinen	1804	1808	52.45	0.26
Keton	Fiton	1838	1848	53.95	10.21
Alkol	Hekzadekanol	1882	1882	55.16	0.40
Keton	(<i>E,E</i>)-Farnesil aseton	1921	1926	56.72	1.06
Diğer	Isofitol	1950	1949	57.59	0.44
Yağ asiti	Hekzadekanoik asit	1984	1985	58.75	2.01

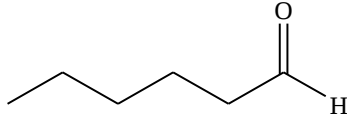
(%)^a: Bileşiğin alanı, RI*: Referans değeri, RT: Alıkonma zamanı



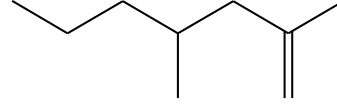
3- metil bütanal



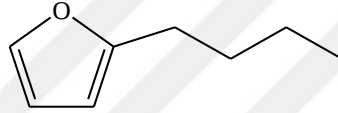
Pentanol



Hekzanal



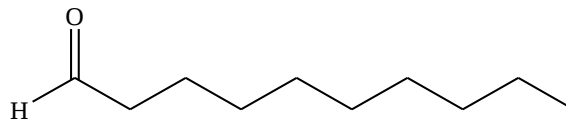
2,4-Dimetil-hepten



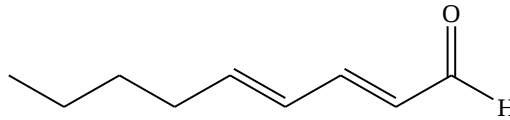
2-Butil furan



Nonanal

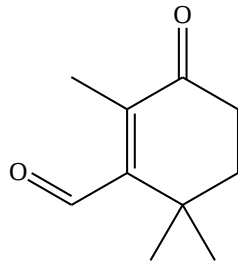


Dekanal

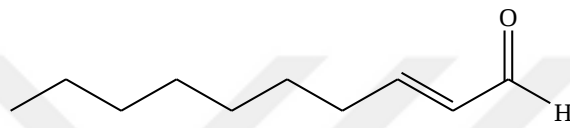


(E,E)-2,4-Nonadienal

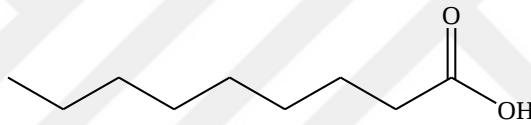
Şekil 49. *Cicerbita petiolata* bitkisinin uçucu bileşenlerinin formülleri



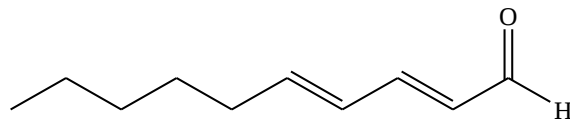
Okso- β -siklositral



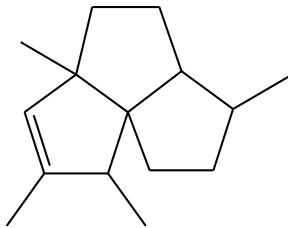
(*E*)-2-Dekenal



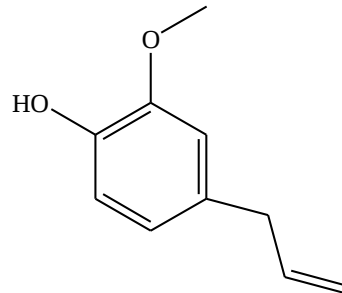
Nonanoik asit



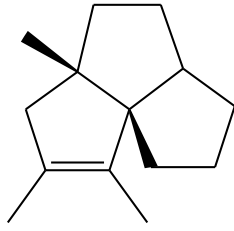
(*E,E*)-2,4-Dekadienal



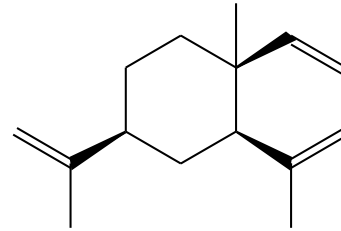
7-epi-Silfiperfol-5-ene



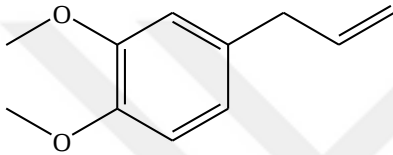
Eugenol



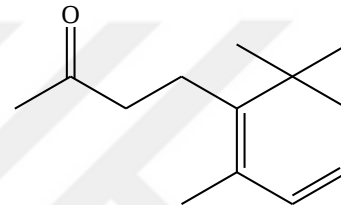
Silfiperfol-6-ene



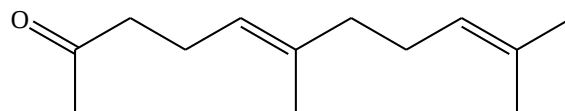
(-)-(Z)-β-Elemen



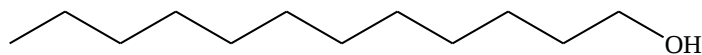
Metil eugenol



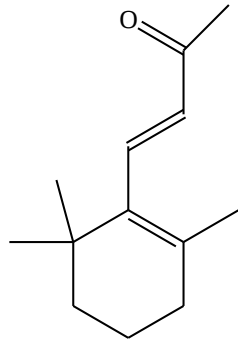
Dihidro-β-ionon



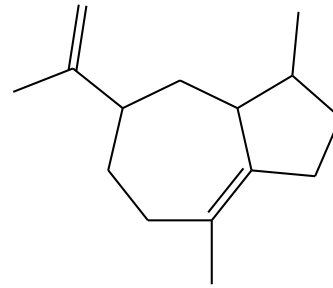
(E)-Geranil aseton



Dodekanol



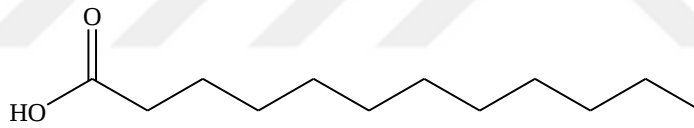
(*E*)- β -Ionon



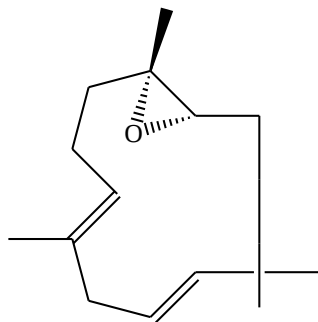
α -Bulnesen



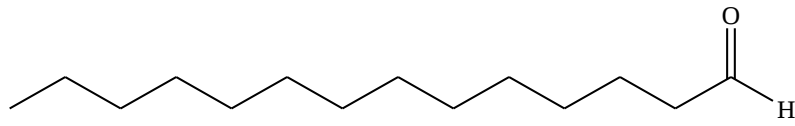
Tridekanal



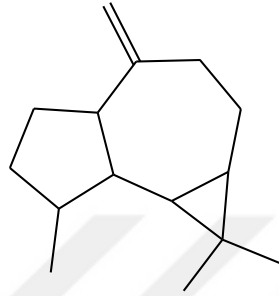
Dodekanoik asit



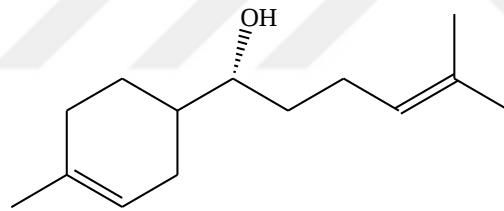
Humulene epoksit II



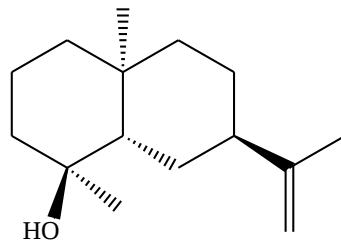
Tetradekanal



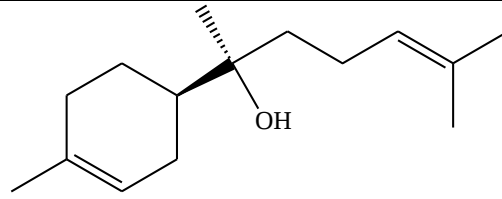
Aromadendren



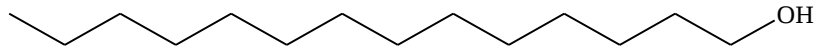
epi- α -Bisabolol



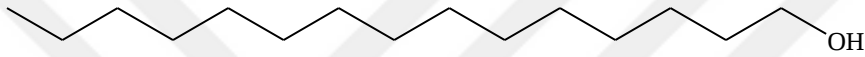
Intermedeol



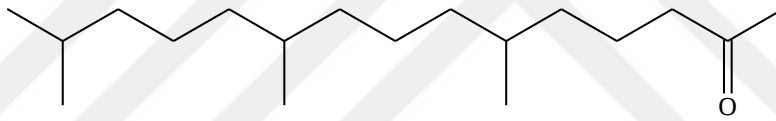
α -Bisabolol



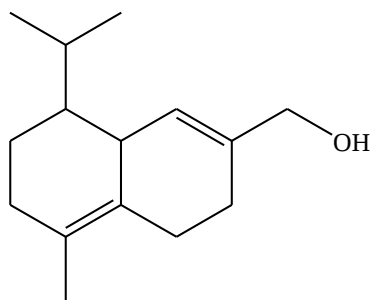
Tetradekanol



Pentadekanol

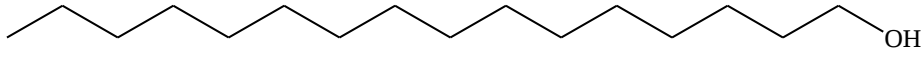


Fiton

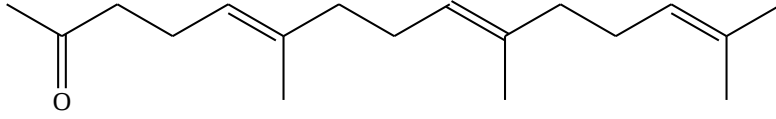


4-Hidroksi- δ -kadinen

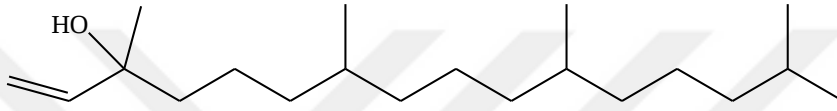
Şekil 49. (Devam)



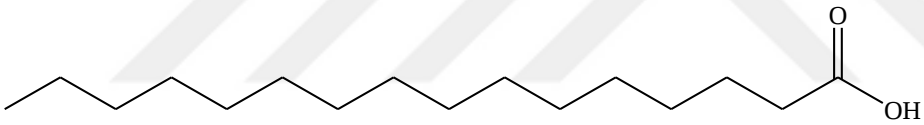
Hekzadekanol



(*E,E*)-Farnesil aseton



Isofitol



Hekzadekanoik asit

Şekil 49. (Devam)

Elde edilen uçucu yağda, aydınlatılan 38 adet uçucu bileşen içinde aldehit (10 adet) sınıfı bileşiklerin %31.78 oranla ana bileşikler olduğu tespit edildi (Tablo 16). Aydınlatılan diğer uçucu bileşenler seskiterpen, seskiterpenoid, alkol, alken, keton, yağ asiti ve diğer olarak sınıflandırıldı. Ayrıca bitkinin uçucu yağında en fazla 3-metil bütanal (%20.78), 2,4 dimetil-hepten (%20.03) ve 2-butil furan (%15.66) bileşiklerine rastlandı.

Tablo 16. *Cicerbita petiolata* bitkisinin uçucu bileşenlerindeki bileşik sınıfları ve miktarları

Bileşik Sınıfı	<i>C. petiolata</i>	
	(%) ^a	BS ^b
Seskiterpen	2.86	5
Seskiterpenoid	3.63	5
Aldehit	31.78	10
Alkol	7.66	5
Alken	20.03	1
Keton	12.02	3
Yağ asiti	2.54	3
Diğer	19.47	6
Total	99.99	38

(%)^a: Bileşiğin alanı, BS^b: Bileşik sayısı

C. petiolata bitkisinin analizi sonucunda elde edilen 10 adet terpenik bileşen ise Tablo 17’de verildi. Terpenik bileşenler içinde sayı olarak seskiterpen ve seskiterpenoid bileşenler eşit sayıda görüldü. Miktar olarak bakıldığında ise seskiterpen sınıfı bileşik olan aromadendren (%1.59) ve seskiterpenoid türü bileşik olan humulene epoksit II (%1.67) major bileşikler olarak bulundu.

Tablo 17. *Cicerbita petiolata* bitkisinin terpenik uçucu yağ bileşenleri

Bileşik Sınıfı	Bileşik	RI*	RI	RT	(%) ^a
Seskiterpen	7-epi -Silfiperfol-5-ene	1348	1358	33.65	0.32
	Silfiperfol-6-ene	1379	1374	34.42	0.34
	(-)-Z- β -Elemen	1403	1403	35.76	0.34
	α -Bulnesen	1505	1504	40.27	0.27
	Aromadendren	1640	1641	45.98	1.59
Toplam					2.86
Seskiterpenoid	Humulene epoksit II	1605	1604	44.52	1.67
	epi- α -Bisabolol	1668	1672	47.21	1.03
	Intermedeol	1666	1676	47.41	0.44
	α -Bisabolol	1695	1696	48.21	0.23
	14-Hidroksi- δ -kadinen	1804	1808	52.45	0.26
Toplam					3.63

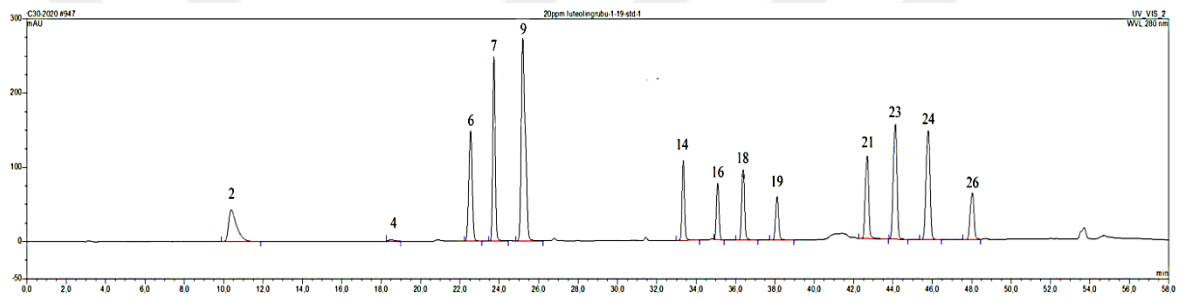
(%)^a: Bileşiğin alanı, RI*: Referans değeri, RT: Alıkonma zamanı

4.6. Fenolik Bileşiklerin Analizi İçin HPLC-DAD Metodunun Değerlendirilmesi

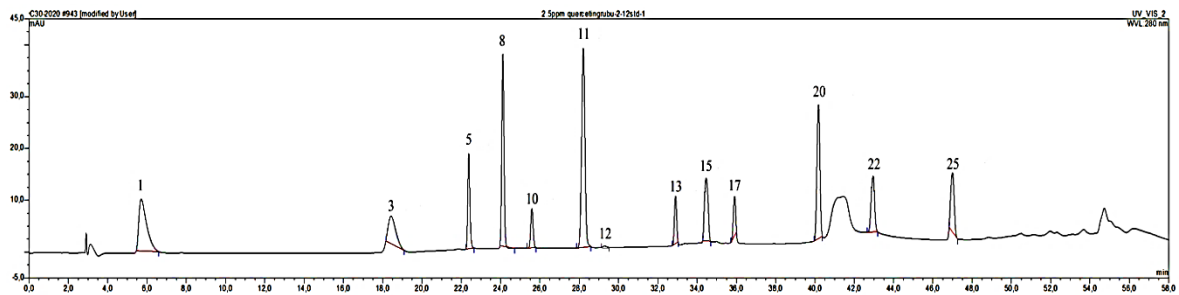
HPLC-DAD yöntemiyle tez kapsamında çalışılan her bitkinin metanol ekstresinin fenolik içeriği, standart olarak kullanılan 26 farklı fenolik bileşiğin UV spektrumları ve alıkonma zamanları ile karşılaştırarak belirlendi. 0.625-25 mg/L derişimindeki standart çözeltisi ile çizilen kalibrasyon eğrisi kullanılarak her bitki türünün içerdiği fenolik bileşiklerin miktarları (mg/g ekstrakt) tayin edildi. Standartlarla uyuşmayan bileşiklerin analizi, spektroskopik olarak en yakın benzerlik gösteren standarda göre belirlendi. Daha sonra bu standardın kalibrasyon verilerinden yararlanılarak bileşiklerin kantitatif analizi yapıldı ve türevi olarak adlandırıldı. Belirlenen alıkonma zamanı ve pik alanlarının yüzde bağıl standart sapmaları tekrarlanabilirlik, standartların derişimine karşı okunan absorbanların doğrusallığı ise R^2 olarak ifade edildi. Analiz sonucunda, ölçülen maddenin varlığını belirlemek için gerekli olan en küçük miktar olan tespit sınırı LOD (< 0.10) ve güvenli kantitatif tayin yapmak için gerekli en küçük miktar olan tayin sınırı LOQ (< 0.26) değerleri bitki ekstraktlarının fenolik bileşiklerini belirlemek için yeterince küçük olduğu

görüldü. Alıkonma zamanı ve pik alanlarının tekrarlanabilirliği kabul edilebilir değerler arasında bulundu.

Optimize edilen HPLC-DAD yöntemi kullanılarak luteon ve kuersetin olmak üzere iki gruba ayrılan 26 farklı standart fenolik bileşiğin ayrımı C30 (150 mm×3 mm id×3 µm pd) kolunu kullanılarak yapıldı. Standartların 254, 280, 315 ve 370 nm’de elde edilen kromatogramları Şekil 50 ve Şekil 51’de gösterildi. Fenolik standart bileşiklerin kalibrasyon eğrilerinin, çalışılan konsantrasyon aralığında (0.625-25 mg/L) doğrusal olduğu görüldü ($R^2 \geq 0,999$). Standartlara ait validasyon ve kalibrasyon değerleri Tablo 18 ve Tablo 19’da verildi.



Şekil 50. Luteolin grubu fenolik standartlarının HPLC-DAD kromatogramı



Şekil 51. Kuersetin grubu fenolik standartlarının HPLC-DAD kromatogramı

Tablo 18. Luteolin grubu fenolik standartların kalibrasyon ve validasyon parametreleri

Sıra	RT	Bileşikler	Eğim	Kesim Noktası	R ²	% BSS (RT)	%BSS (alan)	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)
2	10.42	Protokatekuik Asit	2.84	-1.04	1.00	0.60	3.03	0.02	0.06
4	18.48	Gentisik Asit	0.73	0.01	1.00	0.38	3.57	0.14	0.38
6	22.51	Vanilik Asit	2.55	-0.95	1.00	0.06	3.70	0.01	0.04
7	23.66	Kafeik Asit	2.96	1.05	1.00	0.13	0.19	0.01	0.02
9	25.12	Vanilin	4.27	-1.97	1.00	0.16	2.79	0.04	0.11
14	33.12	Luteolin-7-glikozit	1.88	-0.92	1.00	0.50	0.94	0.03	0.08
16	34.87	Hesperidin	0.86	0.16	1.00	0.45	1.97	0.10	0.28
18	36.16	Rosmarinik Asit	1.51	-0.43	1.00	0.45	2.14	0.07	0.19
19	37.91	Fisetin	3.31	-1.45	1.00	0.42	2.71	0.08	0.23
21	42.52	Luteolin	2.41	-0.09	1.00	0.33	0.49	0.02	0.05
23	43.94	Naringenin	1.68	0.69	1.00	0.34	1.17	0.06	0.15
24	45.60	Hesperetin	1.71	0.74	1.00	0.35	1.37	0.07	0.18
26	47.87	Kaemferol	2.18	0.55	1.00	0.29	2.15	0.10	0.26

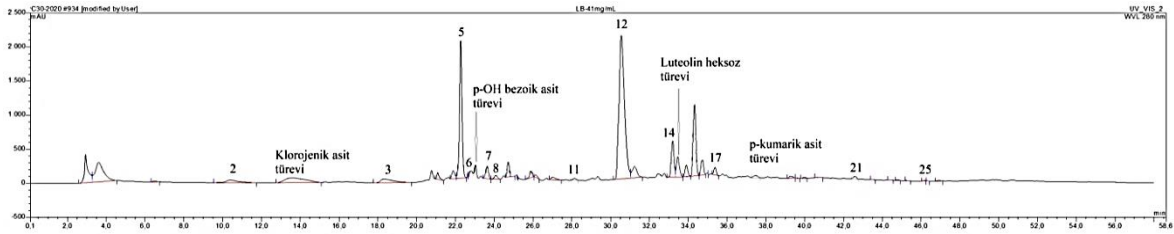
Tablo 19. Kuersetin grubu fenolik standartların kalibrasyon ve validasyon parametreleri

Sıra	RT	Bileşikler	Eğim	Kesim Noktası	R ²	% BSS (RT)	%BSS (alan)	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)
1	5.70	Gallik Asit	2.37	-1.33	1.00	0.20	1.44	0.02	0.04
3	18.40	p-OH Benzoik Asit	5.39	0.19	1.00	0.21	0.54	0.02	0.07
5	22.29	Klorojenik Asit	1.76	-0.11	1.00	0.22	1.25	0.05	0.14
8	24.02	Sirinjik Asit	1.98	-0.06	1.00	0.24	0.88	0.04	0.10
10	25.48	Epikateşin	0.38	0.04	1.00	0.25	1.23	0.05	0.13
11	28.07	p-Kumarik Asit	4.73	0.06	1.00	0.20	0.17	0.01	0.02
12	30.39	Kikorik Asit	4.12	-0.76	1.00	0.44	0.31	0.01	0.03
13	32.77	Rutin	1.28	-0.04	1.00	0.28	0.96	0.04	0.11
15	34.34	Naringin	1.07	-0.11	1.00	0.27	2.10	0.06	0.16
17	35.78	Apigenin-7-glukozit	0.79	-0.07	1.00	0.24	1.92	0.08	0.21
20	40.06	Eriodiktyol	1.86	0.07	1.00	0.19	1.89	0.07	0.20
22	42.86	Kuersetin	2.55	-0.64	1.00	0.15	1.75	0.06	0.18
25	46.89	Apigenin	1.59	-0.04	1.00	0.15	1.92	0.08	0.22

Tablo 18 ve Tablo 19’da görüldüğü gibi standart fenolik bileşiklerin alıkonma zamanlarının (RT) yüzde bağıl standart sapması (%BSS) en yüksek protokatekuik asit (0.60), hesperidin (0.45) ve rosamirik asit (0.45) bileşiklerinde elde edildi. Diğer bileşiklerin %BSS (RT) değerlerinin daha düşük olması, bu standartların tekrarlanabilirliklerinin daha yüksek olduğunu göstermektedir.

4.6.1. *Lactuca boissieri* Bitkisinin Fenolik Bileşiklerin HPLC Analiz Sonuçları

L. boissieri bitkisinin metanol ekstraktının içerdiği fenolik bileşikler optimize edilen HPLC-DAD yöntemi ile belirlendi. Elde edilen kromatogram Şekil 52’de gösterildi.



Şekil 52. *Lactuca boissieri* bitkisinin metanol ekstresine ait HPLC kromatogramı

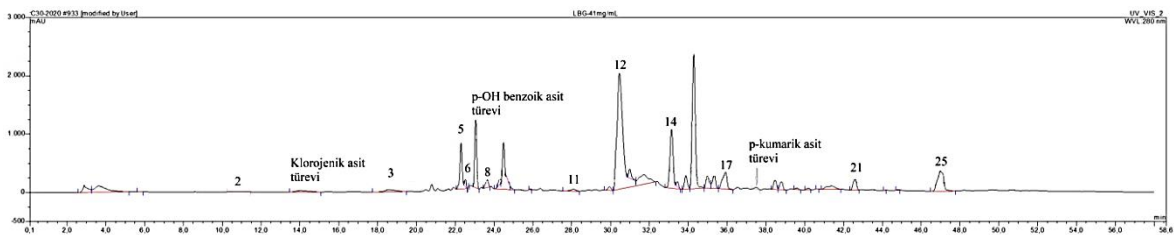
L. boissieri bitkisinin HPLC-DAD sonuçlarına bakıldığında klorojenik asit türevi, p-OH benzoik asit türevi, luteolin-heksoz türevi ve p-kumarik asit türevi gibi standartlarla örtüşmeyen türev bileşiklerle beraber 16 adet fenolik bileşik tespit edildi. Analiz edilen bileşikler içinde klorojenik asit (721.0 mg/g ekstrakt) ve klorik asit (629.9 mg/g ekstrakt) bileşikleri yüksek miktarda bulundu. En düşük miktarda bulunan bileşik ise p-kumarik asit türev (1.0 mg/g ekstrakt) bileşiği olduğu görüldü (Tablo 20).

Tablo 20. *Lactuca boissieri* bitkisinin içerdği fenolik bileşikler ve miktarları

	Fenolik Bileşik	mg/g ekstrakt
1	Protokatekuik asit	50.5
2	Klorojenik asit türevi	115.5
3	p-OH benzoik asit	15.2
4	Klorojenik asit	721.0
5	Vanilik asit	1.2
6	p-OH benzoik asit türevi	9.1
7	Kafeik asit	17.4
8	Sirinjik asit	13.3
9	p-kumarik asit	3.0
10	Kikorik asit	629.9
11	Luteolin-7-glikozit	197.5
12	Luteolin-heksoz türevi	105.5
13	Apigenin-7-glukozit	18.7
14	p-kumarik asit türevi	1.0
15	Luteolin	12.9
16	Apigenin	4.6

4.6.2. *Lactuca bourgaei* Bitkisinin Fenolik Bileşiklerin HPLC Analiz Sonuçları

Lactuca bourgaei bitkisinin metanol ekstraktının içerdği fenolik bileşikler optimize edilen HPLC-DAD yöntemi ile belirlendi. Elde edilen kromatogram Şekil 53’de gösterildi.



Şekil 53. *Lactuca bourgaei* bitkisinin metanol ekstresine ait HPLC kromatogramı

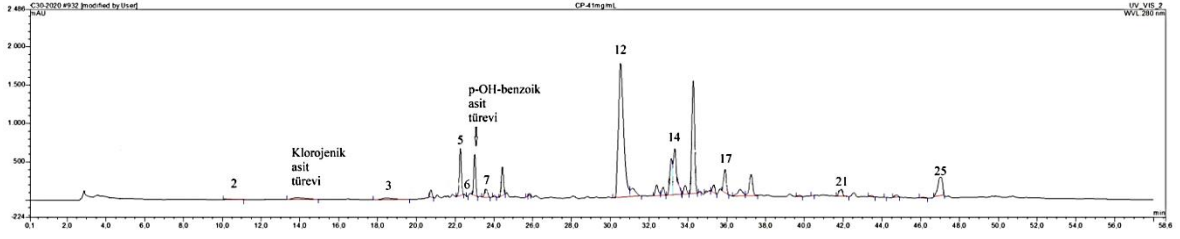
L. bourgaei bitkisinin HPLC-DAD sonuçlarına bakıldığında klorojenik asit türevi, p-OH benzoik asit türevi ve p-kumarik asit türevi gibi standartlarla örtüşmeyen türev bileşiklerle beraber 14 adet fenolik bileşik tespit edildi. Analiz edilen bileşikler içinde kikorik asit (773.2 mg/g ekstrakt) ve luteolin-7-glikozit (426.2 mg/g ekstrakt) bileşikleri yüksek miktarda bulundu. En düşük miktarda bulunan bileşik ise p-kumarik asit türev (0.2 mg/g ekstrakt) bileşiği olduğu görüldü (Tablo 21).

Tablo 21. *Lactuca bourgaei* bitkisinin içerdiği fenolik bileşikler ve miktarları

	Fenolik Bileşik	mg/g ekstrakt
1	Protokatekuik asit	17.9
2	Klorojenik asit türevi	48.8
3	p-OH benzoik asit	11.8
4	Klorojenik asit	257.7
5	Vanilik asit	1.0
6	p-OH benzoik asit türevi	91.3
7	Kafeik asit	38.0
8	p-kumarik asit	0.2
9	Kikorik asit	773.2
10	Luteolin-7-glikozit	426.2
11	Apigenin-7-glukozit	323.4
12	p-kumarik asit türevi	0.4
13	Luteolin	67.6
14	Apigenin	256.7

4.6.3. *Cicerbita petiolata* Bitkisinin Fenolik Bileşiklerin HPLC Analiz Sonuçları

C. petiolata bitkisinin metanol ekstraktının içerdiği fenolik bileşikler optimize edilen HPLC-DAD yöntemi ile belirlendi. Elde edilen kromatogram Şekil 54’de gösterildi.



Şekil 54. *Cicerbita petiolata* bitkisinin metanol ekstresine ait HPLC kromatogramı

C. petiolata bitkisinin HPLC-DAD sonuçlarına bakıldığında klorojenik asit türevi ve p-OH benzoik asit türevi gibi standartlarla örtüşmeyen türev bileşiklerle beraber 12 adet fenolik bileşik tespit edildi. Analiz edilen bileşikler içinde kikorik asit (832.2 mg/g eksrakt) ve apigenin-7-glukozit (274.0 mg/g eksrakt) bileşikleri yüksek miktarda bulundu. En düşük miktarda bulunan bileşik ise vanilik asit (0.2 mg/g eksrakt) bileşiği olduğu görüldü (Tablo 22).

Tablo 22. *Cicerbita petiolata* bitkisinin içerdiği fenolik bileşikler ve miktarları

	Fenolik Bileşik	mg/g ekstrakt
1	Protokatekuik asit	12.6
2	Klorojenik asit türevi	48.4
3	p-OH benzoik asit	5.6
4	Klorojenik asit	209.5
5	Vanilik asit	1.3
6	p-OH benzoik asit türevi	40.5
7	Kafeik asit	12.0
8	Kikorik asit	832.2
9	Luteolin-7-glikozit	181.9
10	Apigenin-7-glukozit	274.0
11	Luteolin	17.4
12	Apigenin	77.0

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bitkiler insanların başlıca besin kaynağı ve kullandıkları ilk ilaçlardır. Günümüzde bitkilerin tedavi amaçla kullanımı sentetik ilaçlarla değiştirilmiş olsa da bitkilere olan talep giderek artmaktadır. Bu durumun temel nedeni, bitkisel ilaçların ucuz ve yerel olarak bulunabilir olmasının yanı sıra herhangi bir yan etkiye sahip olmadığına dair genel inanıştır. Dünya çapında hastalık ve rahatsızlıkları önlemek amacıyla sentetikten bitkisel tedavilere geçiş, “Doğaya Dönüş” olarak adlandırabileceğimiz bir değişimdir. Bitkilerin hangi amaç için kullanılacağı genellikle gösterdikleri biyolojik aktivite ve içerdikleri sekonder metabolitler açısından değerlendirilir. Bu durum bilim insanlarını bitkilerin biyolojik aktivitelerini araştırmaya teşvik etmiştir. Bu amaçla birçok bitki antibakteriyel, antialerjik, antiviral, antioksidan, antiinflamatuvar aktiviteler bakımından farmakolojik olarak birçok yönden araştırılmaktadır (274-277).

Asteraceae familyası, otsu bitkiler, çalılar ve ağaçlar olmak üzere çiçekli bitkilerin en büyük familyasıdır. Bu familyaya ait bitkiler, kozmopolit dağılıma sahiptir ve neredeyse tüm habitatlarda bulunur. *Lactuca* Asteraceae familyasına ait önemli bir cinstir. Antik çağlardan beri *Lactuca* cinsine ait birçok bitki, ekonomik ve tıbbi önemleri nedeniyle yetiştirilmiştir. *Lactuca* bitkileri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar, seskiterpen laktonlar, triterpenoidler, fenolikler, saponinler, kumarinler, lignanlar, fitosteroller ve diğer metabolitler de dahil olmak üzere çeşitli sekonder metabolitler içerdiğini göstermiştir. Bu fitokimyasalların birbirleriyle kombinasyonu, *Lactuca* türlerinin çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmasında etkili olmuştur (57, 278).

Dünya’da bulunan yüzbinlerce bitki türüne rağmen bitkilerin sadece küçük bir yüzdesinin fitokimyası ve biyolojik işlevi ayrıntılı şekilde araştırılmıştır. Günümüzde Asteraceae ailesine ait türlerinin potansiyel biyoaktiviteleri sistematik olarak çalışılmaktadır. Yaptığımız tez çalışmasında *Lactuca boissieri*, *Lactuca bourgaei* ve *Cicerbita petiolata* türlerinin toprak üstü kısımlarından farklı çözücülerle (hekzan, kloroform, etil asetat, metanol ve su) hazırlanan ekstraktların ilk kez biyolojik aktiviteleri (antioksidan, antimikrobiyal, enzim inhibisyonu ve sitotoksik aktivite) ve fitokimyasal içerikleri spektroskopik yöntemlerle araştırılmıştır. Yapılan literatür taramalarında, çalışılan üç bitki üzerinde herhangi bir biyolojik aktivite ve fitokimyasal çalışmaya rastlanmamıştır (94).

Serbest radikaller, vücuttaki metabolik süreçlerin bir sonucu olarak sürekli olarak üretilir ve çevresel uyarıcılardan etkilenirler. Normal fizyolojik koşullarda, vücutta doğal olarak bulunan antioksidan savunma mekanizması, vücudu serbest radikallere karşı korur. Ancak serbest radikallerin üretimi ile insan vücudunun antioksidan savunma sistemi arasındaki dengesizlik oksidatif strese yol açar. Oksidatif stresin insanlarda nükleik asitler, lipitler ve proteinler gibi biyomoleküllere zarar vererek çeşitli hastalıklara neden olduğu bilinmektedir. Yapılan birçok çalışma bitkilerin antioksidan aktiviteleri sayesinde serbest radikalleri temizleyerek oksidatif stresi azalttığı ve böylece metabolik hastalıkları tedavi etme yeteneğine sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca bitkilerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi gelecekte yapılacak kapsamlı çalışmalar için bir başlangıç noktası olarak değerlendirilmektedir (102, 129, 279, 280).

Wang ve ark. *L. indica* bitkisinin sıcak su ham ekstresinden etil asetat ve su fraksiyonları hazırlayarak bunlar üzerinde DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitelerini araştırmıştır. Çalışmada kuersetin ve askorbik asit standart olarak kullanılmıştır. Deney sonucunda kuersetin ve askorbik asitin SC₅₀ değerleri sırasıyla 2.3±0.01 µg/mL ve 1.5±0.01 µg/mL bulunmuş ve etil asetat fraksiyonu (6.1±0.01 µg/mL), en etkili antioksidan aktiviteyi göstermiştir (63).

Kim ve ark. *L. scariola* bitkisinin toprak üstü kısımlarının ana metanol ekstresini hazırlamış. Daha sonra hazırlanan bu ana ekstreden hekzan, etil asetat, n-bütanol, dikolorometan ve su fraksiyonları hazırlayarak DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitelerini araştırmıştır. Pozitif kontrol olarak askorbik asit (SC₅₀: 6.6 µg/mL) kullanılmıştır. Deneysel çalışma sonucunda etil asetat fraksiyonu (SC₅₀: 4.8 µg/mL), metanol ekstresi (SC₅₀: 10.6 µg/mL) ve n-bütanol (SC₅₀: 18.4 µg/mL) fraksiyonunda aktivite gözlemlenirken diğer fraksiyonlarda aktivite gözlemlenmemiştir (91).

Edziri ve ark. *L. sativa* var. *longifolia* bitkisinin metanol ve sulu ekstraktlarının toplam fenolik miktarını ve DPPH yöntemi ile de antioksidan aktivitelerini test etmiştir. Yapılan testler sonucunda toplam fenolik içerik kateşin eşdeğeri olarak verilmiş ve metanol ekstresinin (235.31 mg CE/g) su ekstresinden (95.42 mg CE/g) daha fazla fenolik madde içerdiği bulunmuştur. DPPH testinde ise standart olarak rutin (SC₅₀: 78.43± 0.1 µg/mL) kullanılmıştır. Çalışma sonucunda su ekstresine (SC₅₀: 4.1±0.3 µg/mL) göre yine metanol ekstresi (SC₅₀: 3.5±0.1 µg/mL) daha etkili antioksidan aktivite göstermiştir (92).

Harsha ve ark. *L. sativa* bitkisinin yaprak kısmından hazırlanan etanol ekstraktının toplam fenolik miktar tayini ve DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesini incelemiştir. Ekstraktın toplam polifenol içeriği gallik asit eşdeğeri olarak verilmiş ve 158 mg GAE/g olarak bulunmuştur. DPPH yönteminde standart olarak BHA kullanılmış ve SC₅₀ değeri 55.12 µg/mL bulunurken ekstraktın SC₅₀ değeri ise 259.9 µg/mL olarak bulunmuştur (93).

L. orientalis bitkisinin hazırlanan sulu ekstresinde toplam fenolik madde miktarı ve DPPH testi ile antioksidan aktivitesi çalışılmıştır. Standart olarak troloks (SC₅₀: 1.210±1.96 µg/mL) kullanılmıştır. Ekstrenin toplam fenolik madde miktarı gallik eşdeğeri olarak verilmiş ve 5.2 mg GAE/g olarak bulunmuştur. DPPH testi için standart olarak troloks (SC₅₀: 1.210±1.96 µg/mL) kullanılmış ve su ekstresinin (SC₅₀: 28.94±1.67 µg/mL) etkili antioksidan aktivite sergilemediği görülmüştür (101).

Hussein ve ark. *L. serriola* bitkisinin toprak üstü kısımdan hazırlanan metanol ekstresinden etil asetat, eter, n-bütanol, dikolorometan fraksiyonları elde edilerek DPPH ve FRAP yöntemleri ile antioksidan aktivitelerine bakmıştır. İki çalışmada da troloks standart olarak kullanılmıştır. FRAP testi sonucuna göre etil asetat ekstresinin (1288.6±43.8 µM troloks/mg) en iyi antioksidan aktivite gösterdiği görülmüştür. DPPH testinde ise yine etil asetat (SC₅₀: 26.80±2.43 µg/mL) ekstresinin standartla (SC₅₀: 14.22±0.22 µg/mL) karşılaştırıldığında en iyi aktivite gösterdiği görülmüştür (103).

Tez kapsamında çalışılan türlere ait metanol ve su ekstralarında toplam Fenolik madde miktarı gallik asit standart grafiğinden yararlanılarak belirlendi. Çalışılan bitkilerin metanol ve su ekstralarında toplam fenolik madde miktarı sonuçlarına bakıldığında her üç bitkinin de su ekstralarının metanol ekstralarından daha fazla fenolik içeriğe sahip olduğu görüldü. En fazla fenolik madde miktarı *L. bourgaei* (62.49±0.025 mg GAE/g ekstre) bitkisinde bulundu. İkinci en fazla fenolik madde miktarı *C. petiolata* (44.43±0.015 mg GAE/g ekstre) bitkisinde görülürken en az fenolik madde miktarı ise *L. boissieri* (16.34±0.058 mg GAE/g ekstre) bitkisinde olduğu görüldü.

L. boissieri, *L. bourgaei* ve *C. petiolata* türlerinden beş farklı çözücüyle hazırlanan ekstralarının (hekzan, kloroform, etil asetat, metanol, su) toplam antioksidan kapasiteleri FRAP Tayini, CUPRAC Ölçümü ve DPPH Radikal Giderme Aktivitesi Tayini olmak üzere üç farklı yöntemle belirlendi. FRAP ve CUPRAC tayini sonuçları troloks eşdeğeri olarak ifade edildi. Fe⁺³ iyonlarının indirgenmesine dayanan FRAP tayini sonuçlarına göre her üç bitkinin de metanol ekstresinin en etkili indirgenme aktivite

gösterdiği görüldü. Bitkilerin kendi aralarında etkinlik karşılaştırılması yapıldığında en etkili *L. bourgaei* ($815.300 \pm 6.319 \mu\text{M}$ troloks/gram) bitkisi olurken onu sırasıyla *C. petiolata* ($675.600 \pm 3.937 \mu\text{M}$ troloks/gram) ve *L. boissieri* ($594.767 \pm 6.570 \mu\text{M}$ troloks/gram) bitkileri takip etti.

Cu (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite (CUPRAC) tayini sonuçlarına göre her üç bitkinin de metanol ekstresinin en etkili indirgenme aktivite gösterdiği görüldü. En yüksek antioksidan aktiviteyi *L. bourgaei* ($1145.681 \pm 1.693 \mu\text{M}$ troloks/gram) bitkisi gösterdi. FRAP tayini sonuçlarından farklı olarak ikinci en yüksek aktivite *L. boissieri* ($730.029 \pm 0.640 \mu\text{M}$ troloks/gram) bitkisinde görülürken en az aktiviteyi ise *C. petiolata* ($520.464 \pm 1.547 \mu\text{M}$ troloks/gram) bitkisi gösterdi.

DPPH· radikal temizleme aktivitesi yönteminde sonuçlar standart olarak kullanılan BHT maddesi ile karşılaştırılarak, SC₅₀ değeri olarak verildi. Her üç bitkinin de diğer antioksidan yöntemlerde olduğu gibi metanol ekstreleri daha iyi radikal süpürücü etki gösterdi. Bitkilerin kendi aralarında aktiviteleri karşılaştırıldığında *L. bourgaei* ($0.027 \pm 0.002 \text{ mg/mL}$) bitkisinin en yüksek radikal süpürücü aktivite gösterdiği görüldü. Onu sırasıyla *L. boissieri* ($0.045 \pm 0.001 \text{ mg/mL}$) bitkisi ve *C. petiolata* ($0.052 \pm 0.001 \text{ mg/mL}$) bitkisi takip etti.

L. boissieri, *C. petiolata* ve *L. bourgaei* bitkilerin beş farklı ekstrelerinde yapılan farklı antioksidan kapasite belirleme yöntemleri sonuçları büyük oranda birbirine paralellik gösterdi ve antioksidan kapasite olarak en etkili olan ekstre metanol ekstreleri olduğu görüldü. Antioksidan aktivite bakımından bitkilerin etkinlikleri karşılaştırıldığında en yüksek antioksidan aktivitenin *L. bourgaei* bitkisinde olduğu bulundu. Bulduğumuz sonuçların literatürde yapılan antioksidan çalışmalarla benzerlik gösterdiği görüldü.

Günümüzde kullanılan ve mevcut olan antibiyotiklerin insan vücudu üzerinde aşırı duyarlılık, alerjik reaksiyonlar ve bağışıklık baskılanması gibi birçok zararlı yan etkileri bulunmaktadır. Ayrıca bu antibiyotiklere karşı bakterilerin direnç kazanması önemli bir sorun teşkil etmektedir. Dirençli bakteriler nedeniyle dünya çapında birçok hastalık ve ölüm meydana gelmesi antibakteriyel, antifungal ve antiviral aktivite gösteren bitkilere olan ilgiyi giderek arttırmaktadır (101-104).

Edziri ve ark. *L. sativa* var. *longifolia* bitkisinin metanol ve su ekstralarının antimikrobiyal aktivitesini test etmiştir. Her iki ekstre de tüm test edilen suşlara karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. Metanol ekstresi ise tüm Gram (-) bakterilere (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Acinetobacter baumannii*) ve Gram (+) bakterilere (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* ve *Corynebacterium spp.*) karşı en düşük MİK (2.5 mg/mL) değeri ile en etkili ekstre olarak belirlenmiştir (92).

Jaradat ve ark. *L. orientalis* bitkisinin hazırlanan sulu ekstresinin, altı farklı bakteri suşu (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Shigella sonnei*) üzerinde Agar Kuyucuk Difüzyon ve MİK testleri ile antimikrobiyal aktiviteyi test etmişler. Çalışma sonucunda en güçlü aktiviteyi 6.25 mg/mL MİK değeri ile *S. aureus* Gram (+) bakterisine karşı göstermiştir (101).

Al-Marzoqi ve ark. *L. serriola* bitkisinin terpenoid, fenolik ve alkaloid bileşiklerini içeren ekstralarının dokuz farklı patojen bakterilere (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas*, *Providencia*) karşı antibakteriyel aktivitelerini incelemiştir. Yapılan testler sonucunda sadece Gram (+) bakterilerden *Staphylococcus saprophyticus* bütün ekstrelerle karşı duyarlıyken *Staphylococcus epidermidis* Gram (+) bakterisi ise bütün aktif bileşiklere direnç göstermiştir. Fenolik bileşikler içeren ekstrelerin 35 mm zon çapı ile en etkili aktiviteyi gösterdiği görülmüştür. Ayrıca incelenen tüm Gram (-) bakterilerin (*Klebsiella*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas*) aktif bileşiklere karşı dirençli olduğunu görülmüştür (104).

L. boissieri, *L. bourgaei* ve *C. petiolata* bitkilerinin farklı çözücülerle hazırlanan ekstralarının ve uçucu yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri bir dizi Gram (-) ve Gram (+) bakterilerle beraber *C. albicans* ve *S. cerevisiae* mantarlarına karşı uygun besiyerleri kullanılarak Agar Kuyucuk metoduyla test edildi ve deney sonucunda aktif olan mikroorganizmalar üzerinde MİK değerleri µg/mL cinsinden verildi. Çalışılan bitkilerinin hepsinin hekzan ekstresi *S. aureus* Gram (+) bakterisine karşı aktivite gösterirken en etkili aktiviteyi *L. boissieri* bitkisinin (2812 µg/mL) gösterdiği görüldü. Bütün bitkilerinin kloroform ekstralarının antimikrobiyal aktivite gösterdiği *C. albicans* mantarına karşı en etkili aktiviteyi *C. petiolata* (2450 µg/mL) bitkisi gösterdi. Tüm bitkilerinin metanol

ekstreleri en etkili antimikrobiyal aktiviteyi *M. smegmatis* bakterisine karşı göstermiş olup en iyi aktiviteyi *L. bourgaei* bitkisi (3028 µg/mL) gösterdi. Bitkilerin su ekstraktları ise herhangi bir mikroorganizmaya karşı aktivite göstermedi. Bitkilerden elde edilen uçucu yağlar sadece *M. smegmatis* bakterisine karşı aktivite gösterdi. *L. bourgaei* bitkisinin uçucu yağı (75 µg/mL) en iyi aktiviteyi gösterirken onu sırasıyla *C. petiolata* (302.5 µg/mL) ve *L. boissieri* (331.25 µg/mL) bitkileri takip etti. Yapılan antimikrobiyal çalışmalar sonucunda tüm ekstraktların antimikrobiyal aktivitelerinin orta düzeyde olduğu gözlemlendi. Ekstrelerin gram pozitif bakterilere gram negatif bakterilerden daha fazla aktivite gösterdiği görüldü. Bu durum literatürde yapılan çalışmalarla benzerlik göstermekte olup bunun sebebinin gram negatif bakterilerde bariyer görevi gören dış membranın varlığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Son yıllarda, dünya genelinde çeşitli metabolik hastalıkların önemli ölçüde arttığı gözlemlenmektedir. Bu hastalıklar metabolizmada yer alan çeşitli metabolik enzimlerin işlevlerini tam olarak yerine getirmemesi veya aşırı aktivite göstermesi durumunda ortaya çıkmaktadır. Böyle durumlarda klinik olarak önemli enzimlerin katalitik aktivitesinin inhibe edilmesi, hastalıkların tedavisinde kullanılan önemli bir yöntemdir. Enzim inhibitörleri, belirli enzimlerin aktivitesini engelleyebilen veya azaltabilen moleküllerdir. Günümüzde metabolik yollarda başlıca rol oynayan hedef enzimlere karşı sentetik inhibitörler kullanılmaktadır. Ancak bu inhibitörler bulantı, ishal, baş ağrısı, döküntüler ve alerjik reaksiyonlar da dahil olmak üzere birçok yan etki göstermektedir. Bu nedenle yan etkiler olmadan bu hastalıkları kontrol altına almak için bitkilerden elde edilen yeni, doğal inhibitörlere ihtiyaç giderek artmaktadır (281, 282).

Choi ve ark. *L. indica* bitkisinin potansiyel antidiyabetik kaynaklar açısından α -glukozidaz inhibisyon özelliği değerlendirmiştir. Bu çalışmada, bitkinin hazırlanan metanol ekstresinden spektroskopik yöntemlerle sekiz fenolik bileşik (apigenin, luteolin, izokuersitrin, klorojenik asit, protokateşik asit, p-hidroksimetil benzoik asit, transsinnamik asit ve p-kumarik asit) izole edilmiştir. Tüm izole edilen bileşiklerin farklı konsantrasyonlarda inhibitör etkileri α -glukozidaz enzimi kullanılarak değerlendirilmiştir. Flavonoid çeşidi olan luteolin (IC_{50} : 100.7 µm) ve apigenin (IC_{50} : 96.4 µm) bileşikleri yüksek miktarda α -glukozidaz enzimi inhibisyon aktivitesi göstermiştir. Bu aktiviteler, ticari olarak mevcut α -glukozidaz inhibitörlerinden biri olan akarbozdan (IC_{50} : 310.2 µm) daha yüksek çıktığı görülmüştür (99).

Hussein ve ark *L. serriola* bitkisinin toprak üstü kısmından hazırlanan metanol ekstresinden etil asetat, eter, n-bütanol, dikolorometan fraksiyonları elde edilip farklı konsantrasyonlarda (1.6-100 µg/mL) hazırlayarak α-glukozidaz enzimi üzerindeki inhibisyonunu araştırmışlardır. Deney sonucunda test edilen fraksiyonlar arasında etil asetat fraksiyonu (IC₅₀: 9.16±0.17 µg/mL), standart olarak kullanılan akarboza (IC₅₀: 6.11±0.22 µg/mL) kıyasla önemli bir inhibisyon göstermiştir (103).

Gopal ve ark. *L. sativa* bitkisinden izole edilen laktuksantin bileşiğinin in vitro ve in vivo ortamlarda α-glukozidaz enzimini inhibe etme aktivitesini araştırmıştır. İn vitro yapılan deneyler sonucunda, laktuksantin (IC₅₀: 1840 µg/mL) bileşiğinin enzimin aktivitesini sentetik inhibitör olan akarboz (IC₅₀: 16.19 µg/mL) kadar olmasa da yine de bastırdığını göstermiştir. İn vivo deneyler de ise diyabet hastalığı, deney grubundaki sıçanlara streptozotosin verilerek indüklenmiştir. Deney hayvanlarına iki gruba ayrılmış. Ve bir gruba dört hafta boyunca laktuksantin bileşiği verilmiştir. Deney sonucunda bileşik enzimlerin bağırsak ve pankreasındaki aktivitesini azaltmış ve kan glukoz seviyesini düşürmüştür. Bu bulgular laktuksantin bileşiğin diyabet tedavisinde tıbbi ve besinsel anlamda önemli bir potansiyele sahip olabileceğini göstermiştir (112).

Tez çalışmasında Diyabet (α-glukozidaz), Alzheimer (asetilkolinesteraz) ve Melanogenez (tirozinaz) gibi hastalıklarla ilgili kilit enzimler üzerinde, üç bitkinin farklı çözücülerle hazırlanan ekstrelerinin olası inhibitör etkileri araştırıldı. Yapılan çalışmalar sonucunda ekstrelerin asetilkolinesteraz ve α-glukozidaz enzimleri üzerinde anlamlı bir inhibitör aktivite sergilemediği görüldü. Tirozinaz enzimine karşı ise en yüksek inhibör etkiyi *L. bourgaei* bitkisinin metanol ekstresi gösterirken en az inhibisyonu *C. petiolata* bitkisinin metanol ekstresi gösterdi. Tirozinaz enzimi melanin biyosentezini katalizleyen reaksiyonların gerçekleşmesini sağlayan önemli bir enzimdir. Yüksek melanin konsantrasyonu cilt problemlerine neden olmaktadır. Tez kapsamında çalışılan türlerin standart olarak kullanılan kojik asite oranla orta düzeyde tirozinaz enzimini inhibe etmesi, ilerleyen zamanlarda yapılacak daha kapsamlı çalışmalarla beraber bitkilerin deri hastalıklarına karşı doğal inhibitörler olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Bitkilerin binlerce yıldır tedavi amaçlı kullanılması etkinliklerinin kanıtı olsa da bitki kaynaklı ilaçların sağlık sistemlerinde kabul görmesi için sentetik ilaçlar gibi güvenilirliklerinin kanıtlanması gerekmektedir. Günümüzde güvenlik testleri içinde hızlı sonuç alınması, uygulanmasının kolay olması, maliyetin az olması ve tekrarlanabilirlikleri

nedeniyle in vitro sitotoksiste testleri önem kazanmıştır. İn vitro sitotoksiste testleri, bir kimyasal bileşiğin belirli bir hücre tipi üzerindeki etkilerini hızlı bir şekilde değerlendirmenin bir yoludur. Bu deneylerde bir hücrenin dış faktörlere nasıl yanıt verdiği, hücrelerin sayısı ve çoğalması ölçülerek belirlenir. En sık kullanılan in vitro sitotoksiste testleri arasında MTT testi bulunmaktadır. Bu testte test edilecek maddenin hücrelere uygulanıp belirli bir inkübasyon süresi geçtikten sonra hayatta kalan hücrelerin sayısı ölçülmektedir (96, 283).

Han ve ark. *L. sativa* var. *anagustata* bitkisinden izole edilen üç seskiterpen lakton (1β -O- β -D-glukopiranozil-4 α -hidroksi-5 α ,6 β ,11 β H-eudesma 12, 1β -hidroksi-15-O-(p-metoksifenilasetil)-5 α , 6 β , 11 β H-eudesma-3-en-12, 6 α -olid, 4 α -O- β -D-glukopiranozil-15-hidroksi-5 α , 6 β H-guaian-10(14),11(13)-dien-12,6 α -olid) bileşiğinin insan epitel ve insan kolon kanser hücre hatlarına karşı in vitro olarak sitotoksitesini test etmiştir. Test edilen üç bileşiğin çalışılan hücre hatlarına karşı herhangi bir sitotoksik aktivite sergilemediği görülmüştür (116).

Elsharkawy ve ark. *L. steriolla* bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstresinin ve uçucu yağlarının antikanser aktivitesini araştırılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda (5.0, 12.5, 25, 50, 100 μ g/m) hazırlanan metanol ekstresinin sitotoksiste aktivitesi, insan kolon hücresi, küçük hücreli olmayan akciğer hücresi, insan karaciğer hücresi ve insan meme hücresi, hücre hatlarına karşı in vitro olarak MTT testi ile incelenmiştir. Çalışma sonucunda 100 μ g/m ve 50 μ g/m konsantrasyonlarda aktivite görülmüştür. Metanol ekstresi yüksek sitotoksiteyi meme kanseri hücre hattına (%80.2 $\pm$ 0.2309) karşı göstermiştir. Uçucu yağlar ise akciğer (%20.6 $\pm$ 0.023) ve karaciğer kanser hücre hattına (%15.7 $\pm$ 0.0151) karşı normal sitotoksiste göstermiştir (57).

Park ve ark *L. indica* bitkisinin kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımlarından hazırlanan metanol ekstrlerinin, beş kanser hücre hattı (rahim, akciğer, gırtlak, böbrek, kolorektal) üzerindeki sitotoksitesini MTT testi ile değerlendirmiştir. Hücrelere farklı konsantrasyonlarda (50, 100, 200, 400 ve 800 μ g/mL) 48 saat boyunca ekstrler uygulandığında, kanserli hücrelerin sayısı doza bağlı olarak düşmeye başlamıştır. *L. indica* yapraklarından elde edilen metanol ekstresi, insan meme kanser hücrelerine karşı en yüksek sitotoksiteyi (IC₅₀: 113.84 μ g/mL) göstermiştir (96).

Tez kapsamında çalışılan türlerinin 0.5-500 µg/mL konsantrasyon aralığında hazırlanan metanol ekstrelerinin sağlıklı fare fibroblast (L929) hücre hattı üzerinde gösterdiği sitotoksik etkileri MTT testi kullanılarak incelendi. Deney sonuçlarına göre bitki örneklerinin çalışılan maksimum madde konsantrasyonlarında hücre canlılığı %50'nin altına düşmediğinden hiçbir bitki örneği için IC₅₀ değeri hesaplanamamıştır. Bu sonuç, test edilen bitki ekstraktlarının sitotoksik etkinliklerinin olmadığı ya da düşük olduğunu göstermektedir.

Epidemiyolojik çalışmalar, fenolik bileşikler açısından zengin yiyecek ve içeceklerin tüketiminin hastalıkla ilişkilendirilen serbest radikallerin neden olduğu hasardan insan vücudunu koruduğunu göstermiştir. Meyve ve sebzeler, serbest radikal hasarını önleyen fenolikler, karotenoidler ve flavonoidler gibi doğal antioksidanlar açısından iyi kaynaklardır. Flavonoidler, fenolik asitler ve tanninler gibi çeşitli fenolik bileşikler, günlük diyetin bir parçası olarak tüketildiklerinde kanser, arterioskleroz ve iltihapla ilişkili dejeneratif hastalıkların önlenmesinde önemli rol oynarlar. Bu nedenle gıdalardan ve tıbbi bitkilerden elde edilen yeni potansiyel terapötik bileşiklerin ve polifenol açısından zengin ekstraktların taranması ve karakterizasyonuna büyük ilgi gösterilmektedir. Fenolik bileşiklerin antioksidan özellikleri ve çeşitli enzimlerin aktivitesini modüle etme yetenekleri in vitro çalışmalarla gösterilmiştir (94-95).

Yapılan literatür taramalarında *Lactuca* türlerinin fenolik bileşik içeriğine bakıldığında kafeik asit, klorojenik asit, klorik asit, metil kafeat, kafeolkinik asit, 1,5-dikafeoilkinik asit, 4,5-dikafeoilkinik asit gibi fenolik asitler, dihidrobenzofuran ve türevleri gibi lignanların majör bileşikler olduğu görülmüştür. Ayrıca apigenin ve luteolin bileşiklerinin *Lactuca* cinsinden en sık izole edilen flavonoid aglikonları olduğu ve özellikle luteolin-7-O-glukozit bileşiğinin türlerde en yaygın bulunan flavonoid heterozitlerinden biri olduğu belirtilmiştir (84).

Tez kapsamında çalışılan türlerin bazı fenolik bileşikleri aydınlatılmıştır. Bitkilerin hazırlanan metanol ekstraktları validasyon ve kalibrasyon işlemlerinin sonrasında HPLC-DAD yöntemi ile analiz edilerek sonuçlar mg/g ekstrakt olarak ifade edildi. Sonuçlar değerlendirildiğinde her üç bitkide de fenolik asit içerikleri flavonoid içeriklerine göre daha zengindi. Tanımlanan bileşikler içerisinde 8 adet fenolik asit (protokatekuik asit, klorojenik asit türevi, *p*-OH benzoik asit, klorojenik asit, vanilik asit, *p*-OH benzoik asit türevi, kafeik asit ve klorik asit) ve 4 adet flavonoid bileşiği (luteolin-7-glukozit,

apigenin-7-glukozit, luteolin, apigenin) her üç bitki ekstresinde de ortak olarak bulundu. Kikoric asit bütün bitki türlerinde yüksek miktarda elde edildi. En fazla sayıda fenolik bileşik *L. boissieri* bitkisinde gözlenirken, *C. petiolata* bitkisinde ise en az sayıda fenolik bileşik gözlemlendi. Çalışılan türlerin fenolik bileşik çeşitliliği literatürde çalışılan diğer *Lactuca* türlerindeki bileşiklerle benzerlik göstermiştir. Özellikle *Lactuca* türlerinin karakteristik bileşenleri olan apigenin ve luteolin flavonoidleri çalıştığımız türlerde de görülmüştür.

Uçucu yağlar, bitkilerden iletişim ve savunma amacıyla ikincil metabolitler olarak sentezlenir ve bu bileşikler bitkilerin otçullara ve patojenlere karşı savunmalarında, bitkiler arası iletişimde ve tozlayıcıları çekmede hayati rol oynar. Bu özel uçucu yağlar, terpen hidrokarbonları ile bunların oksijenli türevleri olan çeşitli terpenoidler ve uçucu organik bileşiklerden oluşur. Yapılan çalışmalar uçucu yağların antimikrobiyal, antioksidan, antifungal ve antibakteriyel aktiviteler gibi birçok biyolojik özelliğe sahip olduğunu göstermiştir. Bu özellikler ve uçucu yağların kimyasal çeşitliliği, farklı bitkilerden elde edilen uçucu yağların biyolojik aktivitelerini keşfetmek, tanımlamak, karakterize etmek ve değerlendirmek için bilim insanlarının dikkatini çekmiştir (87, 89).

Al Nomaani ve ark. *L. sativa* bitkisinin taze ve kuru yapraklarından hidrodistilasyon yöntemiyle uçucu yağlarını elde edip GC-MS ile analiz etmiştir. Taze ve kuru yapraklardan elde edilen her iki uçucu yağın kimyasal içeriği çoğunlukla oksijenli mono ve seskiterpen hidrokarbonları ile bunların türevlerinden oluştuğu görülmüştür. Analiz sonucunda toplam yirmi bileşik saflaştırılmıştır. Taze marulda elde edilen uçucu yağ miktarı, kuru maruldan elde edilen uçucu yağından daha yüksek olduğu görülmüştür. Taze ve kuru yaprak yağlarında tanımlanan başlıca uçucu organik bileşenler sırasıyla α -pinen (%5.11 ve %0.6), p-simen (%2.07 ve %1.92), timol (%11.55 ve %10.73), durenol (%52.00 ve %49.97), α -terpinen (%1.34 ve %1.34), timol asetat (%0.99 ve %0.67), karyofilen (%2.11 ve %1.98), linalool (%3.09 ve %2.98), kamfen (%4.11 ve %3.65) ve limonen (%1.28 ve %1.11) olarak belirlenmiştir. Ayrıca çalışmada, taze ve kuru marulun yapraklarından izole edilen ve tanımlanan β -pinen, α -terpinolen, linalool, 4-terpineol, α -terpineol, o-metiltimol, L-alloaromadendrene, viridifloren gibi bazı minör bileşikler de bulunmuştur (87).

Abd-ElGawad ve ark. *L. serriola* bitkisinin gövde kısımlarından elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimini GC-MS ile analiz etmiştir. Çalışma sonucunda 10 tane seskiterpen bileşiği (α -gurjunene (%0.16), α -ylangene (%0.17), β -elemen (%0.38), cyperene (%0.80), rotundene (%0.03), β -ylangene (%0.09), junipene (%0.20), α -muurolene (%0.05), (+)- δ -kadinen (%0.32), trans-kalamenen (%0.18)), 15 tane seskiterpenoid bileşiği (β -damaskenon (%0.09), cedr-8(15)-en-9-ol (%0.26), dehidrosiklolongifolen oksit (%0.18), (-)-karyofillen oksit (%0.38), leden oksit-(II) (%0.04), 7-epi-cis-seskiabinen hidrat (%0.14), kubedol (%0.08), epiglobulol (%0.03), taridin B (%0.08), hekzahidrofarneasil aseton (%1.77), aromadendren oksit-2 (%0.28), alloaromadendren oksit-1 (%7.32), izosiyobunon (%64.22), γ -gurjunen epoksit-(1) (%0.82), (*E*)-nerolido (%0.10)) 3 tane diterpen bileşiği (labda-8(20),12,14-trien (%0.08), (8 β ,13 β)-13-metil-17-norkaur-15-en (%0.23), trakhiloban (%0.12)) 1 tane diterpenoid bileşiği (izosembrol (%17.35)), 2 tane hidrokarbon bileşiği (2,6,10-trimetiltetradekan (%0.08), dotriyakontan (%0.73)) ve 2 tane oksijenli hidrokarbon bileşiği (falkarinol (%0.05), (Z,Z)-3,15-oktadekadien-1-ol asetat (%1.20) tanımlanmıştır (89).

Shukurlu ve ark. *L. tatarica* (L.) C.A. Mey bitkisinin toprak üstü kısımları ve tohumlarından hazırlanan petrol eteri, diklorometan ve metanol ekstratlarının uçucu yağ bileşimi GC/MS tekniği ile incelemişlerdir. Çalışma sonucunda toprak üstü ve tohumlarından petrol eteri ile hazırlanan ekstratlarından hekzahidrofarneasil aseton bileşiği (%8.1), linalool (%0.1), p-menton (%0.1), sitronellol (%0.8), cis-geraniol (%0.2) ve cis-eudesmol (%0.1) gibi terpen ailesine ait bileşikler karakterize edilmiştir. Diklorometan tohum ekstratında %14.9 oranında 2-metil tetrakosan bileşiği, metanol tohum ekstresinde sitronella (%0.4) bileşikler bulunmuştur. Metanol toprak üstü ekstresinde ise %15.4 oranında 2-metoksi-4-vinilfenol bileşiği tespit edilmiştir (90).

Tez kapsamında çalışılan bitkilerin toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyon yöntemi ile elde edilen uçucu yağların GC-MS ile kimyasal analizi yapıldı. Sonuçlara göre en fazla uçucu bileşen içeren tür *C. petiolata* bitkisi olurken en az bileşen içeren tür ise *L. boissieri* olarak bulundu. Üç bitkide de aldehit sınıfı bileşiklerin toplam miktarı en fazla olarak bulundu. Her üç bitkide de 8 tane bileşen (dekanal, (*E,E*)-2,4-nonadienal, (2*E*)-dekanal, (*E,E*)-2,4-dekadienal, tridekanal, tetradekanal, fiton, hekzadekanoik asit) ortak olarak bulundu. Çalışılan üç bitkinin terpenik bileşikler karşılaştırıldığında ise en fazla terpenik bileşik çeşidi *C. petiolata* bitkisinde gözlenirken, en az çeşitlilik ise *L. boissieri*

bitkisinde görüldü. Terpenik bileşikler içinde *L. boissieri* bitkisinde endo-borneol (%0.76), *L. bourgaei* bitkisinde terpinen-4-ol (%1.76), *C. petiolata* bitkisinde ise humulene epoksit II (%1.67) bileşikleri en fazla miktarda bulundu.

Bu tez çalışması ile birlikte, *L. boissieri*, *L. bourgaei* ve *C. petiolata* türlerinin toprak üstü kısımlarından farklı çözücülerle (hekzan, kloroform, etil asetat, metanol ve su) hazırlanmış ekstreleri üzerinde biyolojik aktivite ve fitokimyasal çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Yapılan biyolojik aktivite çalışmalarının sonuçları, türlerin orta düzeyde antioksidan ve antimikrobiyal kapasiteye sahip olduğunu, çalışılan sağlıklı fare hücre hattı üzerinde sitotoksik olmadığı ve AChE ve α -glukozidaz enzimleri üzerinde inhibisyon gerçekleştirilmediği de tirozinaz enzimi üzerinde orta seviyede inhibitör etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Bitkilerin biyolojik aktiviteleri, sahip olduğu sekonder metabolitlerden kaynaklandığı bilinmektedir. Bu amaçla tez kapsamında çalışılan türlerin bazı fenolik bileşikleri ve uçucu yağlarının kimyasal içerikleri karakterize edilmiş ve literatürle benzer bileşikler görüldüğü gibi farklı bileşikler de bulunmuştur. Bu farklılığın nedeni olarak bitkilerin yetiştiği koşulların (iklim, toprak, yağış, güneşlenme süresi, rakım, yetiştirme alanı) farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bitkilerin kimyasal bileşimindeki çeşitlilikler biyolojik aktiviteleri ve farmasötik uygulamaları etkileyebilmektedir.

Tez çalışmamızda elde ettiğimiz veriler, bitkilerin farklı çözücülerle hazırlanan ekstrelerinin antioksidan, antimikrobiyal aktiviteye, enzim inhibisyonuna sahip olduğunu ve toksik olmadığını göstermektedir. Kullanılan çözücülerin farklılığı aktiviteleri etkilediğini göstermiştir. Dolayısıyla, aktif ekstrelerinin ve uçucu yağlarının içindeki benzersiz kimyasal çeşitlilik, bu çalışılan üç türün, ilaç, gıda, kozmetik veya diğer sektörler tarafından hazırlanacak doğal ürünler için potansiyel kaynaklar olabileceğini göstermektedir. Literatüre bakıldığında *Lactuca* türlerine ait yapılan çalışmaların kısıtlı olduğu görülmektedir. Yaptığımız çalışmadan elde edilen verilerin hem bu türlerle ilgili var olan literatür boşluğunun doldurulmasına katkı sağlamasını hem de türlerin farmasötik uygulamalarda kullanılması için yapılacak yeni araştırmalara öncülük etmesi açısından önemli olduğu düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

1. Fakim AG (2006). Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine* 27: 1-93.
2. Abduljalil J, Al-rakhami A, Al-haj M, Al-rimy M, Al-wheabi S (2018). Preliminary phytochemical analysis and antibacterial activity of methanol extracts from *Origanum majorana*, *Rumex nervosus*, and *Withania somnifera*. *International Journal Pharma Research and Health Sciences* 6: 1-7.
3. Gupta A, Maheshwari DK, Khandelwal G (2013). Antibacterial activity of *Glycyrrhiza glabra* roots against certain Gram-positive and Gram-negative bacterial strains. *Journal of Applied and Natural Science* 5(2): 459-464.
4. Kianbakht S, Jahaniani F (2003). Evaluation of antibacterial activity of *Tribulus terrestris* L. growing in Iran. *Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics* 2 (1): 22-24.
5. Mendonça RR (2006). Bioactive phytocompounds: new approaches in the phytosciences. *Modern Phytomedicine* 23: 457-478.
6. Deans SG, Svoboda KP (1990). The antimicrobial properties of marjoram (*Origanum majorana* L.) volatile oil. *Flavour and Fragrance Journal* 5(3): 187-190.
7. Goyal BR, Goyal RK, Mehta AA (2007). Phyto-pharmacology of *Achyranthes aspera*: A Review. *Pharmacognosy Reviews* 1(1): 143-150.
8. Keim C (2022). GC/MS and LC/MS approaches to chemical communication in plants and marine cyanobacteria. Master thesis, The Pacific University Pharmaceutical and Chemical Sciences, Thomas J. Long School of Pharmacy, California.
9. Gökteş Ö, Gıdık B (2019). Tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanım alanları. *Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi* 2(1): 145-151.
10. Borchardt JK (2002). The beginnings of drug therapy: ancient Mesopotamian medicine. In *Drug News & Perspectives* 15(3): 187-192.
11. Aggarwal BB, Sundaram C, Malani N, Ichikawa H (2007). Curcumin: the Indian solid gold. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 595: 1-75.

12. Phillipson JD (2001). Phytochemistry and medicinal plants. *Phytochemistry* 56(3): 237-243.
13. Mothana RA, Lindequist U (2005). Antimicrobial activity of some medicinal plants of the Island Soqatra. *Journal of Ethnopharmacology* 96: 177-181.
14. Wink M (2015). Modes of action of herbal medicines and plant secondary metabolites. *Medicines (Basel)* 8; 2(3): 251-286.
15. World Health Organization (2002). The world health report: reducing risks, promoting healthy life. World Health Organization. Geneva, Pages: 268.
16. Lekganyane MA, Matsebatlela TM, Howard RL, Shai LJ, Masoko P (2012). The phytochemical, antibacterial and antioxidant activity of five medicinal plants against the wound infecting bacteria. *African Journal of Biotechnology* 11(68): 13210-13219.
17. Gonfa YH, Beshah F, Tadesse MG, Bachheti A, Bachheti RK (2021). Phytochemical investigation and potential pharmacologically active compounds of *Rumex nepalensis*: an appraisal. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences* 10(1): 1-11.
18. Fyhrquist P (2007). Traditional medicinal uses and biological activities of some plant extracts of African *Combretum* Loefl., *Terminalia* L. and *Pteleopsis* Engl. species (Combretaceae). Doctoral thesis, The Helsinki University Department of Biological and Environmental Sciences, Division of Plant Biology, Helsinki.
19. Bravo K, Quintero C, Agudelo C, García S, Bríñez A, Osorio E (2020). CosIng database analysis and experimental studies to promote Latin American plant biodiversity for cosmetic use. *Industrial Crops and Products* 144: 112007.
20. Duraipandiyan V, Ayyanar M, Ignacimuthu S (2006). Antimicrobial activity of some ethnomedicinal plants used by Paliyar tribe from Tamil Nadu, India. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 6: 35.
21. Evans WC (2009). Trease and Evans pharmacognosy. 16th Edition. Saunders Ltd. London. Pages: 614.

22. Alqethami A, Aldhebiani AY (2021). Medicinal plants used in Jeddah, Saudi Arabia: Phytochemical screening. *Saudi Journal of Biological Sciences* 28(1): 805-812.
23. Ninkuu V, Zhang L, Yan J, Fu Z, Yang T, Zeng H (2021). Biochemistry of terpenes and recent advances in plant protection. *International Journal of Molecular Sciences* 22(11): 5710.
24. Saxena M, Saxena J, Nema R, Singh D, Gupta A (2013). Phytochemistry of medicinal plants. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 1(6): 168-182.
25. Aydın A, Orhan H, Sayal A, Ozata M, Sahin G, İşimer A (2001). Oxidative stress and nitric oxide related parameters in type II diabetes mellitus: Effects of glycemic control. *Clinical Biochemistry* 34: 65-70.
26. Sun L, Zhang J, Lu X, Zhang L, Zhang Y (2011). Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from *Persimmon (Diospyros kaki L.)* leaves. *Food and Chemical Toxicology* 49: 2689-2696.
27. Pourmorad F, Hosseinimehr SJ, Shahabimajd N (2006). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology* 5(11): 1142-1145.
28. Laitonjam WS (2012). Natural antioxidants of plants acting as scavengers of free radicals. *Natural Products Chemistry* 259-275.
29. Prior RL, Wu X, Schaich K (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolic in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(10): 4290-4302.
30. Serafini M (2006). The role of antioxidants in disease prevention. *Medicine* 34(12): 533-535.
31. Anagnostopoulou MA, Kefalas P, Papageorgiou VP, Assimopoulou AN, Boskou D (2006). Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*). *Food Chemistry* 94 (1): 19-25.
32. Antolovich M, Prenzler P, Robards K, Ryan D (2000). Sample preparation in the analysis of phenolic compounds in fruits. *Analyst* 125: 989-1009.

33. Matkowski A (2006). Plant phenolic metabolites as antioxidants and antimutagens. NATO Life Science Monographs 376: 129-148.
34. Willcox JK, Ash SL, Catignani GL (2004). Antioxidants and prevention of chronic disease. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 44: 275-295.
35. Güner A, Aslan S, Ekim T, Vural M, Babaç MT (2012). Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayınları, İstanbul.
36. Cetin H, Yanikoglu A (2006). A study of the larvicidal activity of *Origanum* (Labiatae) species from southwest Turkey. Journal of Vector Ecology 31(1): 118-122.
37. Satil F, Dirmenci T, Tümen G, Turan Y (2008). Commercial and ethnic uses of *Satureja* (sivri kekik) species in Turkey. Ekoloji 17(67): 1-7.
38. Coskun M, Özkan AMG (2005). Global phytochemistry: The Turkish frame. Phytochemistry 66: 956-960.
39. Mohanta YK, Mishra AK, Nongbet A, Chakrabartty I, Mahanta S, Sarma B, Panda J, Panda SK (2023). Potential use of the Asteraceae family as a cure for diabetes: A review of ethnopharmacology to modern day drug and nutraceuticals developments. Frontiers in Pharmacology 14: 1153600.
40. Rolnik A, Olas B (2021). The plants of the Asteraceae family as agents in the protection of human health. International Journal of Molecular Sciences 22(6): 3009.
41. Funk VA, Susanna A, Stuessy TF, Bayer RJ (2009a). Systematics, evolution, and biogeography of Compositae. International Association for Plant Taxonomy (IAPT) 171-192.
42. Achika JI, Arthur DE, Gerald I, Adedayo A (2014). A review on the phytoconstituents and related medicinal properties of plants in the Asteraceae family. IOSR Journal of Applied Chemistry 7: 1-8.
43. Davis PH, Mill RR, Tan K (1988). Flora of Turkey and The East Aegean Islands. Edinburgh University Press, vol.10, Edinburgh, Page: 590.

44. Doğan M (2007). Türkiye *Jurinea* Cass. (Asteraceae) cinsinin revizyonu. Doktora tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Konya.
45. Özhatay N, Kültür Ş (2006). Check- list of additional taxa to the supplement flora of Turkey III, Turkish Journal of Botany 30: 281-316.
46. Arabacı T (2006). Türkiye’de yetişen *Achillea* L. (Asteraceae) cinsinin revizyonu. Doktora tezi. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Malatya.
47. Bremer K (1994). Asteraceae: Cladistics and Classification. Timber Press, Portl. Oregon, Page: 752.
48. Gierson AJC, Tanacetum L (1975). In: flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburg University Press 5: 256-291.
49. Thorne RF (2000). The classification and geography of the flowering plants: Dicotyledons of the class Angiospermae. The Botanical Review 66: 4 441-647.
50. Saday S (2005). *Jurinea* Cass. (Compositae) üzerinde morfolojik, palinolojik ve anatomik araştırmalar. Yüksek lisans tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.
51. Akman Y, Ketenoğlu O, Kurt L, Güney K, Hamzaoglu E, Tuğ N (2007). Kapalı Tohumlular / Angiospermae. Palme Yayıncılık, Ankara, Sayfa: 810.
52. Mabry TJ, Bohlmann F (1977). The biology and chemistry of the Compositae. Academic Press, London: 1097-1104.
53. Zdero C, Bohlmann F (1990). Systematics and evolution within the Compositae, seen with the eyes of a chemist. Plant Systematics and Evolution 171: 1-14.
54. Abdel Bar F, Fatah N, Amen Y, Halim A, Saad HE (2022). Genus *Lactuca* (Asteraceae): A comprehensive review. Records of Natural Products: 1-32.
55. Lebeda A, Dolezalová I, Feráková V, Astley D (2004). Geographical distribution of wild *Lactuca* species (Asteraceae, Lactuceae). Botanical Review 70: 328-356.

56. Sessa RA, Bennett MH, Lewis MJ, Mansfield JW, Beale MH (2000). Metabolite profiling of sesquiterpene lactones from *Lactuca* species major latex components are novel oxalate and sulfate conjugates of Lactucin and its derivatives. *Journal of Biological Chemistry* 275(35): 26877-26884.
57. Elsharkawy E, Alshathly M (2013). Anticancer activity of *Lactuca steriolla* growing under dry desert condition of Northern Region in Saudi Arabia. *The International Institute for Science, Technology and Education* 3(2): 5-18.
58. Gruenwald J, Brendler T, Jaenicke C (2007). *PDR for Herbal Medicines*. Thomson Reuters: 505.
59. Sayyah M, Hadidi N, Kamalinejad M (2004). Analgesic and antiinflammatory activity of *Lactuca sativa* seed extract in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 92(2-3): 325-329.
60. Jouad H, Haloui M, Rhiauani H, EL Hilaly J, Eddouks M (2001). Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes, cardiac and renal diseases in the North centre region of Morocco (Fez– Boulemane). *Journal of Ethnopharmacology* 77(2-3): 175-182.
61. Kim KH, Lee KH, Choi SU, Kim YH, Lee KR (2008). Terpene and phenolic constituents of *Lactuca indica* L. *Archives of Pharmacal Research* 31(8): 983-988.
62. An TT, Ziegler S (2001). Utilization of medicinal plants in Bach Ma National Park, Vietnam. *Medicinal Plant Conservation* 7: 3-5.
63. Wang SY, Chang HN, Lin KT, Lo CP, Yang NS, Shyur LF (2003). Antioxidant properties and phytochemical characteristics of extracts from *Lactuca indica*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(5): 1506-1512.
64. Stojakowska A, Michalska K, Kłeczek N, Malarz J, Beharav A (2018). Phenolics and terpenoids from a wild edible plant *Lactuca orientalis* (Boiss.) : A preliminary study. *Journal of Food Composition and Analysis* 69: 20-24.
65. Bulut G, Korkmaz A, Tuzlacı E (2017). The ethnobotanical notes from Nizip (Gaziantep-Turkey). *Istanbul Journal of Pharmacy* 47(2): 57-62.

66. Bulut G, Bozkurt MZ, Tuzlacı E (2017). The preliminary ethnobotanical study of medicinal plants in Uşak (Turkey). *Marmara Pharmaceutical Journal* 21(2): 305-310.
67. Bulut G, Tuzlacı E (2013). An ethnobotanical study of medicinal plants in Turgutlu (Manisa-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology* 149(3): 633-647.
68. Postu PA, Noumedem JA, Cioanca O, Hancianu M, Mihasan M, Ciorgac M, Gorgan DL, Petre BA, Hritcu L (2018). *Lactuca capensis* reverses memory deficits in A β 1-42-induced an animal model of Alzheimer's disease. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 22(1): 111-122.
69. Mohammad A (2013). Traditional use of Kahu (*Lactuca scariola* L.)-a review. *Global Journal of Research on Medicinal Plants & Indigenous Medicine* 2: 465-474.
70. Wang XX, Gao X, Jia ZJ (2010). Sesquiterpenoids from *Lactuca tatarica*. *Fitoterapia* 81(1).
71. Kisiel W, Barszcz B (1997). Minor sesquiterpene lactones from *Lactuca virosa*. *Phytochemistry* 46(7): 1241-1243.
72. Kisiel W, Michalska K (2008). Lignans and sesquiterpenoids from *Lactuca sibirica*. *Fitoterapia* 79(4): 241-244.
73. Michalska K, Stojakowska A, Malarz J, Dolez'alo'va' I, Lebeda A, Kisiel W (2009). Systematic implications of sesquiterpene lactones in *Lactuca* species. *Biochemical Systematics and Ecology* 37: 174-179.
74. Michalska K, Szneler E, Kisiel W (2010). *Lactuca altaica* as a rich source of sesquiterpene lactones. *Biochemical systematics and Ecology* 38(6): 1246-1249.
75. Michalska K, Kisiel W (2012). A new guaianolide glucoside from aerial parts of *Lactuca aculeata*. *Phytochemistry Letters* 5(2): 301-303.
76. Michalska K, Kisiel W (2013). Structural diversity of sesquiterpene lactones in roots of *Lactuca viminea*. *Biochemical Systematics and Ecology* 51: 16-18.
77. Michalska K, Szneler E, Kisiel W (2013). Sesquiterpene lactones from *Lactuca canadensis* and their chemotaxonomic significance. *Phytochemistry* 90: 90-94.

78. Michalska K, Beharav A, Kisiel W (2014). Sesquiterpene lactones from roots of *Lactuca georgica*. *Phytochemistry Letters* 10: 10-12.
79. Michalska K, Kisiel W, Malarz J, Stojakowska A (2014). Chemical constituents from *Lactuca inermis*, a wild African species. *Biochemical Systematics and Ecology* 55: 104-106.
80. Beharav A, Stojakowska A, Ben-David R, Malarz J, Michalska K, Kisiel W (2015). Variation of sesquiterpene lactone contents in *Lactuca georgica* natural populations from Armenia. *Genetic Resources and Crop Evolution* 62(3): 431-441.
81. Michalska K, Kisiel W, Stojakowska A (2015). Chemical constituents of *Lactuca dregeana*. *Biochemical systematics and Ecology* (59): 302-304.
82. Michalska K, Michalski O, Stojakowska A (2017). Sesquiterpenoids from roots of *Lactuca sativa* var. *angustana* cv. "Grüner Stern." *Phytochemistry Letters* 20: 425-428.
83. Stojakowska A, Malarz J (2017). Bioactive phenolics from in vitro cultures of *Lactuca aculeata* Boiss. et Kotschy. *Phytochemistry Letters* 19: 7-11.
84. Terencio MC, Sanz MJ, Fonseca ML, Máñez S, Ríos JL (1992). Phenolic compounds from *Lactuca viminea* L. *Zeitschrift für Naturforschung C* 47(1-2): 17-20.
85. Stojakowska A, Michalska K, Malarz J, Beharav A, Kisiel W (2013). Root tubers of *Lactuca tuberosa* as a source of antioxidant phenolic compounds and new furofuran lignans. *Food chemistry* 138(2-3): 1250-1255.
86. Michalska K, Stojakowska A, Kisiel W (2012). Phenolic constituents of *Lactuca tenerrima*. *Biochemical Systematics and Ecology* 42: 32-34.
87. Al Nomaani RS, Hossain MA, Weli AM, Al-Riyami Q, Al-Sabahi JN (2013). Chemical composition of essential oils and in vitro antioxidant activity of fresh and dry leaves crude extracts of medicinal plant of *Lactuca sativa* L. native to Sultanate of Oman. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 3(5): 353-357.
88. Afsharypuor S, Ranjbar M, Mazaheri M, Shakibaei F, Aslani A (2018). Analysis of fatty acid composition of crude seed oil of *Lactuca sativa* L. by GC-MS and GC Methods. *Trends in Pharmaceutical Sciences* 4(2): 95-98.

89. Abd-ElGawad AM, Elshamy AI, El-Nasser El Gendy A, Al-Rowaily SL, Assaeed AM (2019). Preponderance of oxygenated sesquiterpenes and diterpenes in the volatile oil constituents of *Lactuca serriola* L. revealed antioxidant and allelopathic activity. *Chemistry & Biodiversity* 16(8): e1900278.
90. Shukurlu EN, Vitalini S, Iriti M, Garzoli S (2023). Chemical characterization by GC/MS analysis of *Lactuca tatarica* (L.) C.A.Mey. aerial parts and seeds. *Natural Product Research* 37(8): 1377-1381.
91. Kim DK (2001). Antioxidative components from the aerial Parts of *Lactuca scariola* L. *Arch. Pharmaceutical Research* 24: 427-430.
92. Edziri H, Smach M, Ammar S, Mahjoub M, Mighri Z, Aouni M, Mastouri M (2011). Antioxidant, antibacterial, and antiviral effects of *Lactuca sativa* extracts. *Industrial Crops and Products* 34(1): 1182-1185.
93. Harsha SN, Anilakumar KR, Mithila M (2013). Antioxidant properties of *Lactuca sativa* leaf extract involved in the protection of biomolecules. *Biomedicine & Preventive Nutrition* 3: 367-373.
94. Hefnawy HTM, Ramadan MF (2013). Protective effects of *Lactuca sativa* ethanolic extract on carbon tetrachloride induced oxidative damage in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 3(4): 277-285.
95. Kim JM, Yoon KY (2014). Comparison of polyphenol contents, antioxidant, and anti-inflammatory activities of wild and cultivated *Lactuca indica*. *Horticulture, Environment and Biotechnology* 55(3): 248-255.
96. Park JH, Shin JH, Roy SK, Park HY (2014). Evaluation of cytotoxicity, total phenolic content and antioxidant innate reveal efficient medications in native *Lactuca indica*. *Journal of Agricultural Science* 6(10): 135.
97. Maurizi A, De Michele A, Ranfa A, Ricci A, Roscini V, Coli R, Burini G (2015). Bioactive compounds and antioxidant characterization of three edible wild plants traditionally consumed in the Umbria Region (Central Italy): *Bunias erucago* L. (corn rocket), *Lactuca perennis* L. (mountain lettuce) and *Papaver rhoeas* L. (poppy). *Journal of Applied Botany and Food Quality* 88(1): 109-114.

98. Pepe G, Sommella E, Manfra M, De Nisco M, Tenore GC, Scopa A, Sofo A, Marzocco S, Adesso S, Novellino T, Campiglia P (2015). Evaluation of anti-inflammatory activity and fast UHPLC-DAD-IT-TOF profiling of polyphenolic compounds extracted from green lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *Maravilla* de Verano). *Food Chemistry* 15(167): 153-161.
99. Choi CI, Eom HJ, Kim KH (2016). Antioxidant and α -glucosidase inhibitory phenolic constituents of *Lactuca indica* L. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry* 42: 310-315.
100. El-Esawi MA, Elkelish A, Elansary HO, Ali HM, Elshikh M, Witczak J, Ahmad M (2017). Genetic transformation and hairy root induction enhance the antioxidant potential of *Lactuca serriola* L. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2017: 5604746.
101. Jaradat N, AlMasri M, Zaid AN (2017). Pharmacological and phytochemical screening of Palestinian traditional medicinal plants *Erodium laciniatum* and *Lactuca orientalis*. *Journal of Complementary and Integrative Medicine* 15(1).
102. Nallamilli BR, Nataraj KS, Jat RK (2018). Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Lactuca sativa*: An in vitro study. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Research* 11(4).
103. Hussein N, Amen Y, Abdel Bar F, Halim AF, Saad HEA (2020). Antioxidants and α -glucosidase inhibitors from *Lactuca serriola* L. *Records of Natural Products* 14: 410-415.
104. Al-Marzoqi AH, Hussein HJ, Al-Khafaji NMS (2015). Antibacterial activity of the crude phenolic, alkaloid and terpenoid compounds extracts of *Lactuca serriola* L. on human pathogenic bacteria. *Chemistry and Materials Research* 7: 8-10.
105. Lüthje P, Dzung DN, Brauner A (2011). *Lactuca indica* extract interferes with uroepithelial infection by *Escherichia coli*. *Journal of Ethnopharmacology* 135: 672-677.
106. Ismail H, Mirza B (2015). Evaluation of analgesic, anti-inflammatory, anti-depressant and anti-coagulant properties of *Lactuca sativa* (CV. Grand Rapids) plant tissues and cell suspension in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 15: 199.

107. Ahmad F, Khan RA, Rasheed S (1992). Study of analgesic and anti-inflammatory activity from plant extracts of *Lactuca scariola* and *Artemisia absinthium*. Journal of Islamic World Academy of Sciences 5: 111-114.
108. Wesołowska A, Nikiforuk AA, Michalska K, Kisiel W, Chojnacka-Wójcik E (2006). Analgesic and sedative activities of lactucin and some lactucin-like guaianolides in mice. Journal of Ethnopharmacology 107: 254-258.
109. Ghorbanı A, Rakhshandeh H, Sadeghnia HR (2013). Potentiating effects of *Lactuca sativa* on pentobarbital-induced sleep. Iranian Journal of Pharmaceutical Research 12(2): 401.
110. Hou CC, Lin SJ, Cheng JT Hsu FL (2003). Antidiabetic dimeric guianolides and a lignan glycoside from *Lactuca indica*. J. Nat. Prod 66: 625-629.
111. Chadchan KS, Jargar JG, Das SN (2016). Anti-diabetic effects of aqueous prickly lettuce (*Lactuca scariola* Linn.) leaves extract in alloxan-induced male diabetic rats treated with nickel (II). Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology 27: 49-56.
112. Gopal SS, Lakshmi MJ, Sharavana G, Sathaiyah G, Sreerama YN, Baskaran V (2017). Lactucaxanthin—a potential anti-diabetic carotenoid from lettuce (*Lactuca sativa*) inhibits α -amylase and α -glucosidase activity in vitro and in diabetic rats. Food & Function 8(3): 1124-1131.
113. Kanthal LK, Satyavathi K, Bhojaraju P, Kumar MP (2017). Hepatoprotective activity of methanolic extracts of *Lactuca runcinata* DC and *Gyrocarpus asiaticus* Willd. Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences 6: 321-325.
114. Kim KH, Kim YH, Lee KR (2007). Isolation of quinic acid derivatives and flavonoids from the aerial parts of *Lactuca indica* L. and their hepatoprotective activity in vitro. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 17(24): 6739-6743.
115. Sadeghnia HR, Farahm SK, Asadpour E, Rakhsh H, Ghorbanı A (2012). Neuroprotective effect of *Lactuca sativa* on glucose/serum deprivation-induced cell death. African Journal of Pharmacy and Pharmacology 6(33): 2464-2471.

116. Han YF, Cao GX, Gao XJ, Xia M (2010). Isolation and characterisation of the sesquiterpene lactones from *Lactuca sativa* L. var. Anagustata. Food Chemistry 120: 1083-1088.
117. Alshathly M, Elsharkawy E (2014). Inhibition of Ehrlich ascites carcinoma by *Lactuca serriola* in Swiss albino mice. Journal of Chemistry and Chemical Engineering 8: 66.
118. Hosseini A, Mahdian D (2016). Protective effect of *Lactuca serriola* on doxorubicin-induced toxicity in H9c2 cells. Acta Poloniae Pharmaceutica 73(3): 659-66.
119. Güzel ME (2018). Çeşitlilik merkezi GB Asya olan Lactucinae (Asteraceae) alttribusunun Türkiye odaklı biyosistematik revizyonu. Doktora tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Trabzon.
120. Tolonen A (2003). Analysis of secondary metabolites in plant and cell culture tissue of *Hypericum perforatum* L. and *Rhodiola rosea* L. Doctoral thesis, The Oulu University. Department of Chemistry, Oulu.
121. Demain AL (1980). Microbial production of primary metabolites, Naturwissenschaften 67: 582-587.
122. Umereweneza D (2022). Discovery of secondary metabolites from *Rwandese* medicinal plants: Isolation, characterization and biological activity. Doctoral thesis, The Uppsala University Institute of Science and Techonlogy, Department of Chemistry, Uppsala.
123. Hanssen KØ (2014). Isolation and characterisation of bioactive secondary metabolites from arctic, marine organisms. Doctoral thesis, The Arctic University Institute of Biosciences, Fisheries and Economics, Department of Fisher Science, Tromsø.
124. Dhakal D (2021). Phytochemical screening and biological activities of *Berberis Asiatica* from Arghakhanchi District. Doctoral thesis, The Tribhuvan University Institute of Science and Technology, Department of Chemistry, Kathmandu.

125. Altıok E (2010). Recovery of phytochemicals (having antimicrobial and antioxidant characteristics) from local plants. Doctoral thesis, Izmir Institute of Technology, Department of Chemical Engineering, İzmir.
126. Gırlus EV (2016). Protective activity of phytochemicals from natural extracts. Master thesis, The Nova de Lisboa University, Institute of Chemical and Biological Technology, Department of Biochemistry, Lisbon.
127. Kelley Z (2021). Mass spectrometry method development for the discovery and characterization of secondary metabolites. Doctoral thesis, The Kentucky University, College of Arts and Sciences, Department of Chemistry, Kentucky.
128. Karak P (2019). Biological activities of flavonoids: An overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 10(4): 1567-1574.
129. Adelakun OE (2012). Biocatalytic production of new antioxidant compounds and the characterization of their antioxidant effects. Doctoral thesis, The Cape Peninsula University of Technology Institute of Health and Wellness Sciences, Department of the Biomedical Technology, Cape Town.
130. Cebeci F (2012). Investigating the matrix effect of blueberry, oat meal and milk on polyphenols, antioxidant activity and potential bioavailability. Master thesis, Istanbul Technical University Institute of Science and Technology, Department of Food Engineering, İstanbul.
131. Leavens JVB (2007). Effects of high hydrostatic pressure and thermal processing on the antioxidant and sensory characteristics of blueberry juice. Master thesis, North Carolina State University, Food Science, Raleigh.
132. Karar EGM (2015). Phytochemical characterization and antimicrobial activity of Sudanese medicinal plants. Doctoral thesis, Jacobs University Institute of Science and Technology, Department of the Chemistry, Bremen.
133. Mouradov A, Spangenberg G (2014). Flavonoids: a metabolic network mediating plants adaptation to their real estate. *Frontiers in Plant Science* 5: 620.

134. Beyene T (2018). Chemical composition and allelopathic effects of *Striga hermonthica* (Del.) Benth extracts on selected varieties of *Sorghum* (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). Master thesis, Haramaya University Biological Sciences and Biotechnology, Department of Botany, Haramaya.
135. Nandakafle G (2012). Antimicrobial activity, cytotoxicity and phytochemical analyses of *Rhus aromatica*, *Rhus glabra* and *Sanguinaria canadensis* native to South Dakota. Master thesis, South Dakota State University, Biological Science, Brookings.
136. Jimenez-Garcia SN, Vazquez-Cruz MA, Guevara-Gonzalez RG, Torres-Pacheco I, Cruz-Hernandez A, Feregrino-Perez AA (2013). Current approaches for enhanced expression of secondary metabolites as bioactive compounds in plants for agronomic and human health purposes, Polish Journal of Food and Nutrition Sciences 63(2): 67-78.
137. Masyita A, Mustika Sari R, Dwi Astuti A, Yasir B, Rumata RR, Emran TB, Nainu F, Simal-Gandara J (2022). Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives. Food Chemistry: X 13: 100217.
138. Anulika NP, Ignatius EO, Raymond ES, Osasere OI, Abiola AH (2016). The chemistry of natural product: Plant secondary metabolites. International Journal of Technology Enhancements and Emerging Engineering Research 4(8): 1-9.
139. Tholl D (2006). Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism. Current Opinion in Plant Biology 9: 1-8.
140. Grassmann J, Elstner EF (2003). Essential oils/properties and uses. Encyclopaedia of Food Science, Food Technology and Nutrition 2177-2184.
141. Bayramoğlu B (2007). Solvent-free microwave extraction and microwave-assisted hydrodistillation of essential oils from spices. Master thesis, Middle East Technical University Natural And Applied Sciences, Food Engineering, Ankara.
142. Solmaz G (2010). Inhibition of oral biofilms by essential oils extracted from Asian Herbs Institute of Graduate Studies in Science and Engineering. Master thesis, Yeditepe University Institute of Science and Technology, Department of Biotechnology, İstanbul.

143. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M (2008). Biological effects of essential oils--a review. *Food and Chemical Toxicology* 46(2): 446-475.
144. Singh R, Jawaid T (2012). *Cinnamomum camphora* (Kapur) Review. *Pharmacognosy Journal* 4: 1-5.
145. Syamsir DRB (2009). Essential oils and biological activities of three selected wild *Alpinia* species. Master thesis, Malaya University Institute of Biological Sciences, Faculty of Sciences, Kuala Lumpur.
146. Boutekedjiret C, Bentahar F, Belabbes R, Bessiere JM (2003). Extraction of *Rosemary* essential oil by steam distillation and hydrodistillation. *Flavour and Fragrance Journal* 18(6): 481-484.
147. Takforyan A (2021). Anion analysis in mineral water samples by ion chromatography with suppressed conductivity detection. Master thesis, Istanbul Technical University Institute of Science and Technology, Department of Chemistry, Istanbul.
148. Şencan S (2023). Modeling as a predictive tool for performance gains in liquid chromatography. Master thesis, Middle East Technical University Natural And Applied Sciences, Department of Chemical Engineering, Ankara.
149. Başer T (2013). Determination of inbred obese mouse adipose tissue lipid profiles by high performance liquid chromatography. Master thesis. Middle East Technical University Institute of Science and Technology, Department of Biology, Ankara.
150. Erkakan SD (2015). Preparation of reactive-polyacrylate capillary monoliths and their use as stationary media in hydrophilic interaction chromatography. Master thesis, Hacettepe University Institute of Science and Technology, Department of Chemical Engineering, Ankara.
151. Snyder LR, Kirkland JJ, Dolan JW (2011). *Introduction to Modern Liquid Chromatography*. Third edition. John Wiley & Sons Press, Chichester, page: 960.
152. Hurst WJ (2002). *Methods of Analysis for Functional Foods and Nutraceuticals*. 2nd Edition. CRC Press, Boca Raton, page: 416.

153. Kardil U (2016). Bitki özütleri ve doğal ürünlerin tereyağının bozunmasını önleyici olarak kullanılmaları. Yüksek lisans tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Trabzon.
154. Lacey HJ (2022). Hidden underworld: a study of secondary metabolites from soil-derived actinobacteria. Doctoral thesis, Sydney University Faculty of Science, Department of Chemistry, Sydney.
155. Kapçak E (2017). Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi ile kanser tedavisinde kullanılan ilaçların miktar tayini ve ilaç-DNA etkileşimlerinin belirlenmesi. Doktora tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Anabilim Dalı, Ankara.
156. Apawu AK (2009). Reversed-phase HPLC determination of alliin in diverse varieties of fresh garlic and commercial garlic products. Master thesis, East Tennessee State University, Department of Chemistry, Johnson City.
157. Akyüz E (2011). *Digitalis ferruginea* ssp. *schischkinii* ve bazı endemik *Digitalis* türlerinin ekstraktlarında mevcut kardiyak glikozitleri ve fenolik bileşiklerin kromatografik yöntemlerle belirlenmesi. Doktora tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Trabzon.
158. Er H (2017). *Camellia sinensis* (L.) o. kuntze çiçeğinin ekstraktlarındaki biyoaktif bileşiklerin HPLC-DAD ile aydınlatılması ve bakteriyel dna-polimeraz inhibisyonları. Yüksek lisans tezi. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Kimya Anabilim Dalı, Rize.
159. Şahin M (2016). GC/FID cihazı ile kantitatif MDMA analizi metot validasyonu. Yüksek lisans tezi. Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Anabilim Dalı, Tekirdağ.
160. Şenlik D (2014). Evaluation of phthalate esters in pasteurized milk samples and their packages by gas chromatography-mass spectroscopy (GC-MS). Master thesis. Middle East Technical University Institute of Science and Technology, Department of Chemistry, Ankara.

161. Göktaş EF (2019). Yarış atlarının idrar örneklerinde bazı ilaç etkin maddelerinin eşzamanlı Analizleri için Sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi ve/veya Gaz Kromatografisi-kütle Spektrometresi ile metot geliştirilmesi ve analitik metot validasyonu. Doktora tezi, Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Anabilim Dalı, İstanbul.
162. Sahil K, Prashant B, Akanksha M, Premjeet S, Devashish R (2011). Gas chromatography-mass spectrometry: applications. International Journal of Pharmaceutical and Biological Archives 2(6): 1544-1560.
163. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. Pharmacognosy Reviews 4(8): 118-26.
164. Zhu L (2022). The effects of UV-C on the total polyphenol contents and antioxidant activity of New Zealand Grown Green Asparagus. Master thesis, Massey University, Department of Human Nutrition, Manawatu.
165. Karabulut H, Gülay MŞ (2016). Antioksidanlar. Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University 1(1): 65-76.
166. Magder S (2006). Reactive oxygen species: toxic molecules or spark life? Critical Care 10 (1): 1-8.
167. Nakai K, Tsuruta D (2021). What are reactive oxygen species, free radicals, and oxidative stress in skin diseases? International Journal of Molecular Sciences 6;22(19): 10799.
168. Özden S (2006). Bazı pestisidlerin oksidatif stres oluşturma potansiyellerinin ve antioksidan sistemler üzerine etkilerinin sıçanlarda araştırılması. Doktora tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Toksikoloji Anabilim Dalı, İstanbul.
169. Kaçar D (2008). Screening of some plant species for their total antioxidant and antimicrobial activities, Master thesis, Izmir Institute of Technology, Engineering and Sciences, Department of Biotechnology, Izmir.
170. Das K, Roychoudhury A (2014). Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. Frontiers in Environmental Science 2: 53.

171. Ilonga SK (2012). Anticancer, antioxidant and antimicrobial screening of extracts from *Ziziphus mucronata*, *Heliotropium ciliatum* and *Gnidia polycephala* from the Oshikoto region of Namibia. Master thesis, Namibia University, Department of Chemistry and Biochemistry, Windhoek.
172. Barreiros ALBS, David JM, David JP (2006). Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova* 29 (1): 113-123.
173. Barut B (2011). Antioxidant capacities of selected fruits and herbal teas consumed in regular diet and their antimicrobial activities against *Staphylococcus aureus*. Master thesis, Middle East Technical University Natural and Applied Sciences, Department of Biochemistry, Ankara.
174. Şikar Aktürk A (2017). Deride antioksidan mekanizmalar. *Güncel Dermatoloji Dergisi* 2(1): 7-13.
175. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions* 160(1): 1-40.
176. Vona R, Pallotta L, Cappelletti M, Severi C, Matarrese P (2021). The impact of oxidative stress in human pathology: Focus on gastrointestinal disorders. *Antioxidants* 10(2): 201.
177. Alansari W (2016). Antioxidant and angiotensin converting enzyme inhibitory activities from bovine serum albumin. Doctoral thesis, Surrey University, Faculty of Health and Medical Sciences, Division of Nutrition and Food Science, Guildford.
178. Kaya Ö (2011). Investigation of antioxidant and antimicrobial effects of *Plantago* major leaves, Master thesis, Middle East Technical University, Natural and Applied Sciences, Department of Biochemistry, Ankara.
179. Matteo S (2019). Synthesis of novel vanillin derivatives: Study of their antioxidant and potential neuroprotective properties. Doctoral thesis, Robert Gordon University, School of Pharmacy and Life Science, Scotland.

180. Gao Y (2014). Antioxidant activities and phenolic acids in different raw and boiled potatoes and sweet potatoes. Master Thesis, Louisiana State University, Nutrition and Food Sciences, Baton Rouge.
181. Şermet MÖ (2015). Antioxidant, antimicrobial activity and phytochemical analysis of *Pistacia Vera* L. skin. Master thesis, Middle East Technical University, Natural and Applied Sciences, Department of Biochemistry, Ankara.
182. Kitts DD (1997). An evaluation of the multiple effects of the antioxidant vitamins. *Trends in Food Science & Technology* 8(6): 198-203.
183. Williams RJ, Spencer JPE, Rice- Evans C (2004). Flavonoids: antioxidants or signalling molecules? *Free Radical Biology and Medicine* 36(7): 838-849.
184. Cao G, Sofic E, Prior RL (1997). Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine* 22(5): 749-760.
185. Burda S, Oleszek W (2001). Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49(6): 2774-2779.
186. Shahidi F, Wanasundara PKJ (1992). Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 32: 67-103.
187. Merken HM, Beecher GR (2000). Measurement of food flavonoids by high performance liquid chromatography: A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(3): 577-599.
188. Agrawal AD (2011). Pharmacological activities of flavonoids: a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology* 4(2): 1394-1398.
189. Lin D, Xiao M, Zhao J, Li Z, Xing B, Li X, Kong M, Li L, Zhang Q, Liu Y, Chen H, Qin W, Wu H, Chen S (2016). An overview of plant phenolic compounds and their importance in human nutrition and management of Type 2 Diabetes. *Molecules* 21(10): 1374.
190. Singh KS, Anand S, Dholpuria S, Sharma JK, Blankenfeldt W, Shouche Y (2021). Antimicrobial resistance dynamics and the one-health strategy: a review. *Environmental Chemistry Letters* 19(4): 2995-3007.

191. Nghinaunye T (2019). Phytochemical, antimicrobial and cytotoxicity evaluation of rhizome extracts of *Hydnora abyssinica* from *Acacia Nigrenses* host. Master thesis, Namibia Univesity Department of Chemistry and Biochemistry, Windhoek.
192. Akyüz E (2007). *Polygonum bistorta* ssp. *carneum* Bitki ekstraktlarının kromatografik yöntemlerle kimyasal bileşiminin belirlenmesi ve antimikrobiyal aktiviteleri. Yüksek lisans tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Trabzon.
193. Ventola CL (2015). The antibiotic resistance crisis: Part 1: causes and threats. *Pharmacology & Therapeutics* 40(4): 277.
194. Mittal AK, Bhardwaj R, Mishra P, Rajput SK (2020). Antimicrobials misuse/overuse: adverse effect, mechanism, challenges and strategies to combat resistance. *Open Biotechnology Journal* 14(1): 107-112.
195. Bobbaralan V (2012). Antimicrobial Agents. 2nd Edition, InTech, India, page: 2-3.
196. Valipour E (2015). Isolation and characterization of a tyrosinase enzyme from native bacterial strain, cloning of the related gene, characterization of the recombinant enzyme and analysis of its biotechnological applications such as L-dopa and melanin production. Doctoral thesis, Çukurova University Institute of Natural and Applied Sciences, Biotechnology Department, Adana.
197. Shirzad MM (2023). Synthesis and evaluation of biological activity of some novel urea derivaties on vegfr-2 enzyme. Doctoral thesis, Marmara University Institute of Natural and Applied Sciences, Department of Biochemistry, İstanbul.
198. Robinson PK (2015). Enzymes: principles and biotechnological applications. *Essays in Biochemistry* 59: 1-41.
199. Laddach A, Chung SS, Fraternali F (2018). Prediction of protein-protein interactions: Looking through the kaleidoscope. *Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology* 2: 834-848.
200. Johnson KA (2013). A century of enzyme kinetic analysis, 1913 to 2013. *FEBS Letters* 587(17): 2753-2766.

201. Bénard C, Gibon Y (2016). Measurement of enzyme activities and optimization of continuous and discontinuous assays. *Current Protocols in Plant Biology* 1(2): 247-262.
202. Çakıroğlu B (2015). Asetilkolinesteraz (AChE) enziminin poliakrilik asit esaslı nanofiber membran üzerine kovalent immobilizasyonu. Yüksek lisans tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, İstanbul.
203. Polatoğlu İ (2012). Preparation of tyrosinase immobilized chitosan and gelatin films for detection of parathion-Methyl. Doctoral thesis, İzmir Institute of Technology Engineering and Sciences, Department of Chemical Engineering, İzmir.
204. Yoruk R, Marshall MR (2003). Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: a review. *Journal of Food Biochemistry* 27: 361-422.
205. Ring B, Wrighton SA, Mohutsky M (2014). Reversible mechanisms of enzyme inhibition and resulting clinical significance. *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.) 1113: 37-56.
206. Rahmaniyan M, Qudeimat A, Kravaka JM (2012). Neuroblastoma - Present and Future. InTech, Rijeka, pages: 153-184.
207. Ramsay RR, Tipton KF (2017). Assessment of enzyme inhibition: a review with examples from the development of monoamine oxidase and cholinesterase inhibitory drugs. *Molecules* 22(7): 1192.
208. Makani LP (2018). Method development to characterize acetylcholinesterase isoforms of tritonia tetraquetra. Master thesis, California State University Biological Sciences, Los Angeles.
209. Al-Janabi H (2022). Multiscale drug repurposing study for the treatment of the Alzheimer disease: a combined in silico and in vitro study. Doctoral thesis, Yıldız Technical University Natural And Applied Sciences, Department of Chemistry, İstanbul.
210. Neşe Ç (2003). Butyrylcholinesterase: structure and physiological importance. *Turkish Journal of Biochemistry* 28(2): 54-61.

211. Gorecki L, Korabecny J, Musilek K, Malinak D, Nepovimova E, Dolezal R, Kuca K (2016). SAR study to find optimal cholinesterase reactivator against organophosphorous nerve agents and pesticides. *Archives of Toxicology* 90(12): 2831-2859.
212. Mallis RJ, Poland BW, Chatterjee TK, Fisher RA, Darmawan S, Honzatko RB, Thomas JA (2000). Crystal structure of S-glutathiolated carbonic anhydrase III. *FEBS letters* 482(3): 237-241.
213. Sussman JL, Harel M, Frolow F, Oefner C, Goldman A, Toker L, Silman I (1991). Atomic structure of acetylcholinesterase from *Torpedo californica*: a prototypic acetylcholine-binding protein. *Science* 253: 872-879.
214. Koçancı FG, Aslım B (2016). Structure and functions of acetylcholinesterase and acetylcholinesterase inhibitory activity of plants. *Manas Journal of Agriculture and Life Science* 6(1): 19-35.
215. Gonzalez-Naranjo P, Perez-Macias N, Campillo NE, Perez C, Aran VJ, Giron R, Sánchez-Robles E, Martín MI, Gómez-Cañas M, García-Arencia M, Fernández-Ruiz J, Páez JA (2014). Cannabinoid agonists showing BuChE inhibition as potential therapeutic agents for Alzheimer's disease. *The European Journal of Medicinal Chemistry* 73: 56-72.
216. Ofek K, Soreq H (2013). Cholinergic involvement and manipulation approaches in multiple system disorders. *Chemico-Biological Interactions* 203(1): 113-119.
217. Al-Mamoori ASH (2022). The investigation of the inhibitory potentials of some polyphenols for acetylcholinesterase activity. Master thesis, Çankırı Karatekin University, Natural and Applied Sciences, Department of Chemistry, Çankırı.
218. Tagarelli A, Piro A, Tagarelli G, Lagonia P, Quattrone A (2006). Alois Alzheimer: A hundred years after the discovery of the eponymus disorder. *International Journal of Biomedical Science* 196-204.
219. Temel HE (2008). Demanslı hastalarda asetilkolinesteraz aktivitesi ve oksidatif stresin asetilkolinesteraz enzim inhibitörleri ile değişimi. Doktora tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Eskişehir.

220. Berkov S, Atanasova M, Georgiev B, Bastida J, Doytchinova IA (2021). The Amaryllidaceae alkaloids: an untapped source of acetylcholinesterase inhibitors. *Phytochemistry Reviews* 21: 1415-1443.
221. Tiwari S, Atluri V, Kaushik A, Yndart A, Nair M (2019). Alzheimer's disease: pathogenesis, diagnostics, and therapeutics. *International Journal of Nanomedicine* 14: 5541-5554.
222. Girgin M (2023). Alzheimer hastalığının tedavisinde doğal kaynaklı ve FDA onaylı moleküllerin asetilkolinesteraz enziminin inhibasyonu için in siliko ve in vitro tekniklerle araştırılması. Yüksek lisans tezi, Üsküdar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, İstanbul.
223. Thakur A, Kamboj P, Goswami K, Ahuja K (2018). Pathophysiology and management of Alzheimer's disease: An overview. *Journal of Analytical & Pharmaceutical research* 7(1).
224. Göçer H, Akıncıoğlu A, Öztaşkın N, Göksu S, Gülçin Ğ (2013). Synthesis, antioxidant, and antiacetylcholinesterase activities of sulfonamide derivatives of dopamine-related compounds. *Archiv der Pharmazie* 346: 783-792.
225. Elisha IL (2011). Characterization of an acetylcholinesterase inhibitor isolated from *Ammocharis coranica* (Amaryllidaceae). Doctoral thesis, Pretoria University Veterinary Sciences, Department of Paraclinical Sciences, Pretoria.
226. Houghton PJ, Ren Y, Howes MJ (2006). Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi. *Natural Product Reports* 23: 181-199.
227. Oh MH, Houghton PJ, Whang WK, Cho JH (2004). Screening of Korean herbal medicines used to improve cognitive function for anti-cholinesterase activity. *Phytomedicine* 11: 544-548.
228. Agarwal P, Singh M, Singh J, Singh RP (2019). Microbial tyrosinases: A novel enzyme, structural features, and applications. *Applied Microbiology and Bioengineering* 3-19.
229. Pillaiyar T, Manickam M, Namasivayam V (2017). Skin whitening agents: medicinal chemistry perspective of tyrosinase inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 32: 403-425.

230. Saghaie L, Pourfarzam M, Fassihi A, Sartippour B (2013). Synthesis and tyrosinase inhibitory properties of some novel derivatives of kojic acid. *Research in Pharmaceutical Sciences* 8(4): 233-242.
231. Agunbiade M, Le Roes-Hill M (2021). Application of bacterial tyrosinases in organic synthesis. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 38(1): 2.
232. Murray AF (2016). Tyrosinase inhibitors identified from phytochemicals and their mechanism of control. Doctoral thesis, California University, Institute of Environmental Science, Policy and Management, Berkeley.
233. Zolghadri S, Bahrami A, Hassan Khan MT, Munoz-Munoz J, Garcia-Molina F, Garcia-Canovas F, Saboury AA (2019). A comprehensive review on tyrosinase inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 34: 279-309.
234. Kim YJ, Uyama H (2005). Tyrosinase inhibitors from natural and synthtic sources: Structure, inhibition mechanism and perspective for the future. *Cellular & Molecular Life Sciences* 62(15): 1707-1723.
235. Deng Y, Huang L, Zhang C, Xie P, Cheng J, Wang X, Liu L (2020). Skin-care functions of peptides prepared from Chinese quince seed protein: Sequences analysis, tyrosinase inhibition and molecular docking study. *Industrial Crops and Products* 148: 112331.
236. Nguyen HX, Nguyen NT, Nguyen MH, Le TH, Van Do TN, Hung TM, Nguyen MT (2016). Tyrosinase inhibitory activity of flavonoids from *Artocarpus heterophyllous*. *Chemistry Central Journal* 10: 2.
237. Tan X, Song YH, Park C, Lee KW, Kim JY, Kim DW, Kim KD, Lee KW, Curtis-Long MJ, Park KH (2016). Highly potent tyrosinase inhibitor, neorauflavane from *Campylotropis hirtella* and inhibitory mechanism with molecular docking. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 24: 153-159.
238. Chaita E, Lambrinidis G, Cheimonidi C, Agalou A, Beis D, Trougakos I, Mikros E, Skaltsounis AL, Aligiannis N (2017). Anti-melanogenic properties of greek plants. a novel depigmenting agent from *Morus alba* wood. *Molecules* 22: 514.

239. Chen XX, Shi Y, Chai WM, Feng HL, Zhuang JX, Chen QX (2014). Condensed tannins from *Ficus virens* as tyrosinase Inhibitors: structure, inhibitory activity and molecular mechanism. *PloS One* 9(3): e91809.
240. Wang HM, Chen CY, Wen ZH (2011). Identifying melanogenesis inhibitors from *Cinnamomum subavenium* with in vitro and in vivo screening systems by targeting the human tyrosinase. *Experimental Dermatology* 20: 242-8.
241. Askarzadeh M, Azizian H, Adib M, Mohammadi-Khanaposhtani M, Mojtavavi S, Faramarzi MA, Sajjadi-Jazi SM, Larijani B, Hamedifar H, Mahdavi M (2022). Design, synthesis, in vitro α -glucosidase inhibition, docking, and molecular dynamics of new phthalimide-benzenesulfonamide hybrids for targeting type 2 Diabetes. *Scientific Reports* 12: 10569.
242. Tolmie M (2020). In silico and in vitro inhibition of α -glucosidase and α -amylase by compounds from culinary herbs and spices, for possible treatment of type 2 Diabetes. Doctoral thesis, Pretoria University Faculty of Natural and Agricultural Sciences, Department of Biochemistry, Pretoria.
243. Alharbi M (2016). Characterization of extraction methods to recover phenolic-rich extracts from black beans (*Phaseolus vulgaris*) that inhibit α -amylase and α -glucosidase using response surface approaches. Master thesis, Nebraska University Institute of Agriculture and Natural Resources, Department of Nutrition and Health Sciences, Nebraska.
244. Tabák AG, Herder C, Rathmann W, Brunner EJ, Kivimäki M (2012). Prediabetes: a high-risk state for diabetes development. *The Lancet* 379(9833): 2279-2290.
245. Adisakwattana S, Ruengsamran T, Kampa P, Sompong W (2012). In vitro inhibitory effects of plant-based foods and their combinations on intestinal α -glucosidase and pancreatic α -amylase. *BMC Complementary and Alternative Medicine Journal* 12: 110.
246. Benjamin MAZ, Mohd Mokhtar RA, Iqbal M, Abdullah A, Azizah R, Sulistyorini L, Mahfudh N, Zakaria ZA (2024). Medicinal plants of Southeast Asia with anti- α -glucosidase activity as potential source for type-2 Diabetes Mellitus treatment. *Journal of Ethnopharmacology* 330: 118239.

247. Inzucchi SE, Bergenstal RM, Buse JB, Diamant M, Ferrannini E, Nauck M, Peters AL, Tsapas A, Wender R, Matthews DR (2012). Management of hyperglycemia in type 2 Diabetes: a patient-centered approach: position statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the study of diabetes (EASD). *Diabetes Care* 35: 1364-1379.
248. Mccue P, KWON Y, Shetty K (2005). Anti-amylase, anti-glucosidase and anti-angiotensin i-converting enzyme potential of selected foods. *Journal of Food Biochemistry* 29(3): 278-294.
249. Oboh G, Ogunraku OO, Ogidiolu FO, Ademiluyi AO, Adedayo BC, Ademosun AO (2014). Interaction of some commercial teas with some carbohydrate metabolizing enzymes linked with type-2 diabetes: a dietary intervention in the prevention of type-2 Diabetes. *Advances in Preventive Medicine* (534082): 1-7.
250. Nile SH, Park SW (2014). Antioxidant, α -glucosidase and xanthine oxidase inhibitory activity of bioactive compounds from maize (*Zea mays* L.). *Chemical Biology & Drug Design* 83(1): 119-125.
251. Pranprawit A, Heyes JA, Molan AL, Kruger MC (2015). Antioxidant activity and inhibitory potential of blueberry extracts against key enzymes relevant for hyperglycemia. *Journal of Food Biochemistry* 39(1): 109-118.
252. Gao H, Huang YN, Gao B, Li P, Inagaki C, Kawabata J (2008). Inhibitory effect on α -glucosidase by *Adhatoda vasica* Nees. *Food Chemistry* 108: 965-72.
253. Tabopda TK, Ngoupayo J, Liu J, Mitaine-Offer AC, Tanoli SA, Khan SN, Ali MS, Ngadjui BT, Tsamo E, Lacaille-Dubois MA, Luu B (2008). Bioactive aristolactams from *Piper umbellatum*. *Phytochemistry* 69: 1726-1731.
254. Bhandari MR, Anurakkun NJ, Hong G, Kawabata J (2008). α -Glucosidase and α -amylase inhibitory activities of Nepalese medicinal herb Pakhanbhed (*Bergenia ciliata*, Haw.). *Food Chemistry* 106: 247-252.
255. Lam SH, Chen JM, Kang CJ, Chen CH, Lee SS (2008). α -Glucosidase inhibitors from the seeds of *Syagrus romanzoffiana*. *Phytochemistry* 69: 1173-1178.

256. Du ZY, Liu RR, Shao WY, Mao XP, Ma L, Gu LQ, Huang ZS, Chan AS (2006). Alpha-glucosidase inhibition of natural curcuminoids and curcumin analogs. *The European Journal of Medicinal Chemistry* 41(2): 213-218.
257. Mbaze LM, Poumale HM, Wansi JD, Lado JA, Khan SN, Iqbal MC, Ngadjui BT, Laatsch H (2006). Alpha-Glucosidase inhibitory pentacyclic triterpenes from the stem bark of *Fagara tessmannii* (Rutaceae). *Phytochemistry* 68(5): 591-595.
258. Başaran P (2023). Evaluation of the antimicrobial effects and cytotoxicity of various mouthwashes appropriate for the use of children, in vitro. Doctoral thesis, Yeditepe University Institute of Health Sciences, Department Of Pediatric Dentistry, İstanbul.
259. Murray PE, Gercia Godoy C, Garcia Godoy F (2007). How is the biocompatibility of dental biometarials evaluated? *Medicina Oral, Patologia Oral, Cirugia Bucal* 13(3): 258-266.
260. Galluzzi L, Aaronson SA, Abrams J, Alnemri ES, Andrews DW, Baehrecke EH, Bredesen DE (2009). Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring cell death in higher eukaryotes. *Cell death and Differentiation* 16: 1093-1107.
261. Tokur O, Aksoy A (2017). In vitro sitotoksisite testleri. *Harran Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi* 6: 112-118.
262. Bombick BR, Murli H, Avalos JT, Bombick DW, Morgan WT, Putnam KP, Doolittle DJ (1998). Chemical and biological studies of a new cigarette that primarily heats tobacco. Part 2. In vitro toxicology of mainstream smoke condensate. *Food and Chemical Toxicology* 36(3): 183-190.
263. Tuncer S, Demirci M (2011). Dental materyallerde biyouyumluluk değerlendirmeleri. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* 21(2): 141-149.
264. Büyüktuncel E (2014). Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca spektrofotometrik yöntemler. *Marmara Pharmaceutical Journal* 17(2): 93-103.

265. Magalhaes LM, Segundo MA, Reis S, Lima JL (2008). Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica Chimica Acta* 613(1): 1-19.
266. Albayrak S, Sağdıç O, Aksoy A (2010). Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi* 26(4): 401-409.
267. Mot CA, Dumitrescu SR, Sarbu C (2011). Rapid and effective evaluation of the antioxidant capacity of propolis extracts using DPPH bleaching kinetic profiles, FT-IR and UV-VIS spectroscopic data. *Journal of Food Composite and Analysis* 24: 516-522.
268. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technology* 28(1): 25-30.
269. Perez C, Pauli M, Bazerque P (1990). An antimicrobial assay by the agar well diffusion method. *Acta Biologica et Medicine Experimentalis* 15: 113-115.
270. Woods GL, Brown-Elliott BA, Desmond EP, Hall GS, Pfyffer GE, Heifets LV, Ridderhof JC, Wallace RJ, Warren NC, Witebsky FG (2003). Susceptibility testing of mycobacteria, nocardiae and other aerobic actinomycetes. Approved Standard NCCLS Document M24-A 23: 10-18.
271. Ellman GL, Courtney KD, Andres VJR, Feather-Stone RM (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology* 7: 88-95.
272. Masamoto Y, Kubo M (1980). Inhibitory effect of Chinese crude drugs on tyrosinase. *Planta Medica* 40(12): 361-365.
273. Mosmann T (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods* 65(1-2): 55-63.
274. Fabricant DS, Farnsworth NR (2001). The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environmental Health Perspectives* 109: 69-75.
275. Balunas MJ, Kinghorn AD (2005). Drug discovery from medicinal plants. *Life Sciences* 78(5): 431-441.

276. Bharathi V, Shanmuga-priya A, Firdous SJ (2011). Antibacterial activity of stem extracts of *Ocimum basilicum*. Journal of Chemical, Biological and Physical Science 2(1): 298-301.
277. Al-Azzawı SL (2023). Investigation of antibacterial and antioxidant activity of *Equisetum arvense* L. Master thesis. Sakarya University Natural And Applied Sciences, Department of Biology, Sakarya.
278. Bar F, Fatah N, Amen Y, Halim A, Saad HE (2022). Genus *Lactuca* (Asteraceae): A comprehensive review. Records of Natural Products 1-32.
279. Guven H, Arici A, Simsek O (2019). Flavonoids in our foods: A Short Review. Journal of Basic and Clinical Health Sciences 3: 96-106.
280. Kaur C, Kapoor HC (2001). Antioxidants in Fruits and Vegetables. The Millennium's Health. International Journal of Food Science and Technology 36: 703-725.
281. Nile SH, Nile A, Gansukh E, Baskar V, Kai G (2019). Subcritical water extraction of withanosides and withanolides from Ashwagandha (*Indian ginseng*) and their biological activities. Food and Chemical Toxicology 132: 110659.
282. Nile SH, Nile AS, Liu J, Kim DH, Kai G (2019). Exploitation of apple pomace towards extraction of triterpenic acids, antioxidant potential, cytotoxic effects, and inhibition of clinically important enzymes. Food and Chemical Toxicology 131: 110563.
283. Rates SMK (2001). Plants as source of drugs. Toxicon 39(5): 603-613.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Feyza DEMİR
Uyruğu : T.C.
Doğum Tarihi :
E-Posta :

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık	KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doğal ve Bitkisel Ürünler Kozmetik Ürünler Anabilim Dalı	Halen
Yüksek Lisans	KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	2015
Lisans	Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü	2010
Lise	Trabzon Fatih Lisesi	2003

YABANCI DİL

İngilizce

UZMANLIK ALANI

Tıbbi Biyokimya, Doğal ve Bitkisel Ürünler, Kozmetik Ürünler

YAYINLAR

1. Demir F, Aliyazıcıoğlu Y, DEMİR S (2017). Asidifikasyon işleminin *Laurocerasus officinalis* ekstraktlarının antioksidan özellikleri üzerine etkisinin incelenmesi. El-Cezerî Fen ve Mühendislik Dergisi cilt.4, ss.365-373.
2. Demir S, Turan İ, Demir F, Ayazoglu Demir E, Aliyazıcıoğlu Y (2016). Cytotoxic Effect of *Laurocerasus officinalis* Extract on Human Cancer Cell Lines. Marmara Pharmaceutical Journal cilt.21, ss.121-126.

ÖDÜLLER / TEŞVİKLER/ BURSLAR

1. 100/2000 YÖK Doktora Bursu, 2017-2021
2. 2211-A Yurt içi Genel Doktora Bursu, TUBİTAK BİDEB, 2019-2023