



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ECZACILIKTA BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

***Echinophora chrysantha* BİTKİSİNİN
ANTİOKSİDAN, ENZİM VE
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN
ARAŞTIRILARAK FARMASÖTİK ALANDA
KULLANILABİLİRLİĞİNİN İRDELENMESİ**

Osman ŞAHİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Atila Taner KALAYCIOĞLU

TRABZON-2020

BEYAN

Bu tez çalışmasının Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak hazırlanarak 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 aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

20/07/2020

Osman ŞAHİN

TEŞEKKÜR

Çalışmamın planlanması ve yürütülmesinde desteğini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Atila Taner KALAYCIOĞLU'na;

Örneklerimin toplanması için her türlü desteği sağlayan Erzincan Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Ali KANDEMİR'e;

Tez çalışmam boyunca bilgilerini ve desteklerini benden esirgemeyen Prof. Dr. Rezzan ALİYAZICIOĞLU, araştırma görevlileri Şeyda KANBOLAT'a ve Ayşegül ATEŞ'e;

Tez çalışmam boyunca maddi desteği için Karadeniz Teknik Üniversitesi BAP Birimine (TYL-2018-7809);

Tüm eğitim hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen her zaman yanımda olan sevgili aileme teşekkür ederim.

Osman ŞAHİN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY	
BEYAN	
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
RESİMLER DİZİNİ	xi
KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ	xii
ÖZET	xiv
ABSTRACT	xv
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Apiaceae familyası Hakkında Bilgi	3
2.2. <i>Echinophora</i> Cinsi Hakkında Bilgi	3
2.3. <i>E. chrysantha</i> Türü Hakkında Bilgi	5
2.4. Serbest Radikal	7
2.4.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROS)	8
2.5. Fenolik Bileşikler	8
2.6. Flavonoidler	8
2.6.1. Flavonoidlerin Farmakolojik Etkileri	9
2.7. Antioksidanlar	9
2.8. Antimikrobiyaller ve Antibiyotiklere Direnç	11
2.9. Tirozinaz	12
2.10. Kolinesterazlar	15
3. GEREÇ ve YÖNTEM	17
3.1. Kullanılan Cihazlar	17
3.2. Kimyasal Madde ve Malzemeler	17
3.3. <i>E. chrysantha</i> 'nın Temin Edilmesi ve Teşhisi	18
3.4. <i>E. chrysantha</i> Ekstrelerinin Hazırlanması	18
3.4.1. Tayinlerde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı	19

3.5. Antioksidan Aktiviteler	20
3.5.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı	20
3.5.2. Toplam Flavonoid Madde Tayini	21
3.5.3. FRAP Yöntemi	21
3.5.4. CUPRAC Yöntemi	22
3.5.5. DPPH• Radikal Temizleme Aktivitesi	23
3.6. Antimikrobiyal Aktivite Tayini	24
3.6.1. Test Mikroorganizmaları	24
3.6.2. Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu	25
3.6.3. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) Tayini	25
3.7. Tirozinaz Enzim İnhibitör Aktivite Tayini	26
3.8. AChE Enzim İnhibisyon Aktivitesi Yöntemi	26
3.9. BChE Enzim İnhibisyon Aktivitesi Yöntemi	27
4. BULGULAR	28
4.1. TFM Miktarı Tayini Sonuçları	28
4.2. TFLM Miktarı Tayini	29
4.3. FRAP Tayin Sonuçları	29
4.4. CUPRAC Tayin Sonuçları	30
4.5. DPPH• Radikali Temizleme Aktivitesi Tayini Sonuçları	31
4.5.1. SC ₅₀ Değerinin Sonucu	34
4.6. Antimikrobiyal Aktivite Tayini Sonuçları	35
4.7. Tirozinaz İnhibitör Aktivite Sonuçları	36
4.8. AChE İnhibitör Aktivite Sonuçları	38
4.9. BChE İnhibitör Aktivite Sonuçları	41
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	44
6. ÖNERİLER	52
7. KAYNAKLAR	53
ÖZGEÇMİŞ	65

TABLÖLER DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 1. Apiaceae familyasının Türkiye bölgelerinde dağılımı	3
Tablo 2. <i>Echinophora</i> cinsinin Türkiye’de geleneksel tıpta kullanım alanları	5
Tablo 3. <i>E. chrysantha</i> türünün taksonomisi	6
Tablo 4. <i>E. chrysantha</i> ’nın esansiyel yağ içeriği	6
Tablo 5. Antioksidanların sınıflandırılması	10
Tablo 6. Doğal ve sentetik antioksidanlar arasındaki farklar	10
Tablo 7. Deneylerde kullandığımız cihazlar	17
Tablo 8. Çalışmamızda kullandığımız kimyasallar ve satın alındığı firmalar	18
Tablo 9. Ekstraksiyonda kullanılan çözücülerin polarite indeksi	19
Tablo 10. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları	20
Tablo 11. <i>E. chrysantha</i> ekstrelerinin agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile oluşturduğu inhibisyon çapları	35
Tablo 12. <i>E. chrysantha</i> ekstrelerinin <i>B. subtilis</i> ’e karşı minimum inhibisyon konsantrasyonları	35
Tablo 13. <i>E. chrysantha</i> ekstrelerinin ve kojik asitin IC ₅₀ değerleri	36
Tablo 14. AChE enzim aktivitesi % inhibisyon ve IC ₅₀ değerleri	38
Tablo 15. BChE enzim aktivitesi % inhibisyon ve IC ₅₀ değerleri	41

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1. Alfa-felandrenin kimyasal yapısı	7
Şekil 2. Flavonoidler için genel yapı ve numaralandırma modeli	9
Şekil 3. Tirozin-DOPA ve melanin ilişkisi	13
Şekil 4. Tirozinden melanin oluşumu	14
Şekil 5. FRAP reaksiyonu	22
Şekil 6. CUPRAC reaksiyonu	23
Şekil 7. DPPH reaksiyonu	24
Şekil 8. Gallik asit standardı kullanılarak hazırlanmış standart çalışma grafiği	28
Şekil 9. <i>E. chrysantha</i> ekstrelerinin toplam fenolik madde miktarı değerleri	28
Şekil 10. Kersetin standardı ile hazırlanmış olan standart çalışmagrafiği	29
Şekil 11. <i>E. chrysantha</i> ekstrelerinin toplam flavonoid madde miktarı değerleri	29
Şekil 12. Troloks standardı kullanılarak hazırlanmış olan standart çalışma grafiği	30
Şekil 13. <i>E. chrysantha</i> ekstrelerinin FRAP değeri	30
Şekil 14. Troloks standardı ile elde edilmiş standart çalışma grafiği	31
Şekil 15. <i>E. chrysantha</i> ekstrelerinin CUPRAC değerleri	31
Şekil 16. <i>E. chrysantha</i> H ₂ O ekstresinin absorbands/konstrasyon grafiği	32
Şekil 17. <i>E. chrysantha</i> MeOH ekstresinin absorbands/konstrasyon grafiği	32
Şekil 18. <i>E. chrysantha</i> EtAc ekstresinin absorbands/konstrasyon grafiği	33
Şekil 19. <i>E. chrysantha</i> CHCl ₃ ekstresinin absorbands/konstrasyon grafiği	33
Şekil 20. BHT standardının absorbands/konstrasyon grafiği	34
Şekil 21. <i>E. chrysantha</i> ekstrelerinin ve BHT'nin SC ₅₀ değerleri	34
Şekil 22. Kojik asit standardının % tirozinaz inhibisyonu	36
Şekil 23. <i>E. chrysantha</i> H ₂ O ekstresinin % tirozinaz inhibisyonu	36
Şekil 24. <i>E. chrysantha</i> MeOH ekstresinin % tirozinaz inhibisyonu	37
Şekil 25. <i>E. chrysantha</i> EtAc ekstresinin % tirozinaz inhibisyonu	37
Şekil 26. <i>E. chrysantha</i> CHCl ₃ ekstresinin % tirozinaz inhibisyonu	37
Şekil 27. <i>E. chrysantha</i> ekstrelerinin ve kojik asit standardının IC ₅₀ değerleri	38
Şekil 28. Galantamin standardının % AChE inhibisyonu	39
Şekil 29. <i>E. chrysantha</i> H ₂ O ekstresinin % AChE inhibisyonu	39
Şekil 30. <i>E. chrysantha</i> MeOH ekstresinin % AChE inhibisyonu	39
Şekil 31. <i>E. chrysantha</i> EtAc ekstresinin % AChE inhibisyonu	40

Şekil 32. <i>E. chrysanth</i> a CHCl ₃ ekstresinin % AChE inhibisyonu	40
Şekil 33. <i>E. chrysanth</i> a ekstrlerinin ve galantamin standardının IC ₅₀ değeri	41
Şekil 34. Galantamin standardının % BChE inhibisyonu	42
Şekil 35. <i>E. chrysanth</i> a H ₂ O ekstresinin % BChE inhibisyonu	42
Şekil 36. <i>E. chrysanth</i> a MeOH ekstresinin % BChE inhibisyonu	42
Şekil 37. <i>E. chrysanth</i> a EtAc ekstresinin % BChE inhibisyonu	43
Şekil 38. <i>E. chrysanth</i> a CHCl ₃ ekstresinin % BChE inhibisyonu	43
Şekil 39. <i>E. chrysanth</i> a ekstrlerinin ve galantamin standardının IC ₅₀ değeri	43



RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa
Resim 1. <i>Echinophora</i> cinsinin dünyada dağılımı	4
Resim 2. <i>Echinophora</i> cinsinin Türkiye’de dağılımı	4
Resim 3. <i>E. chrysantha</i> ’nın görünümü	6



KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

AChE	Asetilkolinesteraz
ATCC	Amerikan tipi kültür koleksiyonu
BChE	Bütirilkolinesteraz
BHA	Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	Bütillenmiş hidroksitoluen
CUPRAC	Bakır (II) indirgeme/antioksidan kapasite
DMSO	Dimetilsülfoksit
DPPH'	2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil
DTNB	5,5 '-ditiyobis-(2-nitrobenzoikasit)
ELISA	Enzyme-linked immuno sorbent assay
EtAc	Etil asetat
EUCAST	Avrupa antimikrobiyal duyarlılık testi komitesi
FRAP	Demir (III) indirgeme antioksidan kapasitesi
GAE	Gallik asit eşdeğeri
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
IC₅₀	Yarı maksimum inhibitör konsantrasyonu
L-DOPA	Levodopa
LH	Luteinleştirici hormon
M	Molar
MHA	Mueller-Hinton agar
MHB	Mueller-Hinton sıvı besiyeri
MİK	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
mL	Mililitre
mM	Milimolar
nm	Nanometre
pH	Hidrojen iyonu konsantrasyonunun eksi logaritma değeri
QE	Kersetin eşdeğeri
RNS	Reaktif azot türleri
ROS	Reaktif oksijen türleri
SDA	Sabora agar
SP	Kalibrasyon eğrisinin en düşük seviyesindeki standart sapma

TBHQ	t-bütil hidrokinon
TEAC	Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite
TFC	Total flavonoid content
TFIM	Toplam flavonoid madde
TFM	Toplam fenolik madde
TPC	Total phenolic content
TPTZ	2,4,6 Tripidil-S-Triazin
Troloks	6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit
UV	Ultraviyole

Simgeler

AlCl₃	Aliminyum klorür
CHCl₃	Kloroform
CuCl₂.2H₂O	Bakır(II) klorür dihidrat
FeCl₃	Demir(III) klorür
HCl	Hidroklorik asit
K₃(Fe)CN₆	Potasyum ferrisiyanür
m-	Meta
MeOH	Metanol
Na₂CO₃	Sodyum karbonat
NaNO₂	Sodyum nitrit
NaOH	Sodyum hidroksit
NH₄CH₃COO⁻	Amonyum asetat
o-	Orto
p-	Para
α	Alfa
β	Beta
μg	Mikrogram
μL	Mikrolitre
μM	Mikromolar

ÖZET

***Echinophora chrysantha* Bitkisinin Antioksidan, Enzim ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılarak Farmasötik Alanda Kullanılabilirliğinin İrdelenmesi**

Endemik bir tür olan *E. chrysantha* ekstrelerinin antioksidan, antimikrobiyal aktiviteleri ile tirozinaz, asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirilkolinesteraz (BChE) inhibitör aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

E. chrysantha ekstrelerinde, antioksidan testlerden demir indirgeyici antioksidan güç (FRAP), radikal temizleme aktivitesi (DPPH) ve bakır indirgeyici antioksidan güç (CUPRAC) spektrofotometrik olarak çalışılmıştır. Antimikrobiyal aktivite, agar kuyucuk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon metodlarına göre test edilmiştir. Toplam fenolik madde (TFM), toplam flavonoid madde (TFIM) ve enzim inhibitör aktiviteleri (tirozinaz, AChE ve BChE enzim inhibitör aktivitesi) spektrofotometrik olarak çalışılmıştır.

E. chrysantha'nın metanol (MeOH) ekstresinde TFM, TFIM, FRAP ve CUPRAC değerleri sırasıyla 325 µg GAE/g numune, 472 mg QE/g numune, 610 µM Troloks/g numune, 1115 µM Troloks/g numune olarak tespit edilmiştir. *E. chrysantha*'nın MeOH ekstresinin (0.1177 ± 0.027 mg/mL) standart olarak kullanılan BHT'ye (0.0317 ± 0.013 mg/mL) yakın radikal temizleme aktivitesine sahip olduğu bulunmuştur. AChE ve BChE inhibisyonu tayininde, galantamin standardına en yakın IC₅₀ değeri özellikle MeOH ekstresinde gözlenmiştir. İlave olarak, CHCl₃ ekstresinin agar kuyucuk ve sıvı mikrodilüsyon yönteminde *Bacillis subtilis* üzerinde antimikrobiyal etki oluşturduğu belirlenmiştir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar ışığında *E. chrysantha*'nın hiperpigmentasyon ve nörodejeneratif hastalıklar gibi tıp alanında değerlendirilme potansiyelinin yanında, kozmetikte, farmakolojide ve besin endüstrisinde de değerlendirilebilecek değere sahip olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Apiaceae, Bitki, Fitoterapi, Kolinesteraz, Tirozinaz

ABSTRACT

Investigation of Antioxidant, Enzyme and Antimicrobial Activities of *Echnophora chrysantha* for Determining Its Potential in the Pharmaceutical Field

The aim of this study was to determine antioxidant, antimicrobial activities, tyrosinase, AChE and BChE inhibitory activities of the extracts derived from an endemic species of *E. chrysantha*.

Antioxidant tests for *E. chrysantha* extracts including, FRAP, DPPH and CUPRAC were studied spectrophotometrically. Antimicrobial activity was tested by agar well diffusion and broth microdilution methods. Total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC) and enzyme inhibitory activities (tyrosinase, AChE and BChE enzyme inhibitor activity) were studied spectrophotometrically.

It was found that TPC, TFC, FRAP and CUPRAC values of *E. chrysantha* in MeOH extract were 325 µg GAE/g sample, 472 mg QE/g sample, 610 µM Trolox/g sample, 1115 µM Trolox/g sample. It should be noted that *E. chrysantha*'s MeOH extract (0.1177 ± 0.027 mg/mL) was found near radical cleansing activity to BHT (0.0317 ± 0.013 mg/mL) which is using as a standart. The determination of AChE and BChE inhibition revealed that the closest IC₅₀ value to the galantamine standard was observed, particularly in the MeOH extract. In addition, it was determined that CHCl₃ extract showed an antimicrobial effect on *B. subtilis* in agar well diffusion and broth microdilution methods.

According to results of our study, *E. chrysantha* can be exploited as potential plant for designing the treatment options for hyperpigmentation problems and neurodegenerative diseases in medicine as well as for applicability in pharmacology, cosmetics and food industry.

Keywords: Apiaceae, Cholinesterase, Plant, Phytotherapy, Tyrosinase

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kimyasal ilaçların yan etkilerinin gün yüzüne çıkması ve antibiyotiklere karşı direnç gelişimi ile ilgili sorunlar, daha etkili yeni ilaçlara olan ihtiyacı arttırmıştır. Bu durum, bilim insanlarını bitkisel kaynaklardan ilaç geliştirilmesi konusuna yoğunlaştırmıştır. Bitkiler, yüzyıllardır insanlar tarafından tedavi amaçlı kullanılmış ve günümüzde de kullanılan ilaçların yaklaşık yarısı bitkisel kaynaklardan elde edilmektedir.

Antibiyotikler, günümüzde de bakteriler tarafından oluşturulan hastalıklara karşı tedavide kullanılan ilaçların en önemli sınıfını oluşturmaktadır. Antibiyotikler, doğal yolla mikroorganizmalardan elde edilebildikleri gibi, yarı sentetik ve sentetik olarak da üretilmektedirler. Kullanımda olan hemen her antibiyotiğe karşı zaman içerisinde direnç gelişimi kaçınılmaz olup, bu durum tedavide büyük sorunlara yol açmaktadır. Günümüzde kullanımda olan antibiyotik ve antiseptiklere karşı mikrobiyal direncin yaygınlaşmasından dolayı; yeni, alternatif, doğal antimikrobiyal etkili bileşenlerin geliştirilip kullanıma sunulması; bilim insanlarının ilgisini çekmekte ve çalışmalarını bu yönde yoğunlaştırmalarını sağlamaktadır (1-3).

Fitokimyasalların içerdiği terpenoidler, flavonoidler, fenolik bileşikler ve kükürt içeren bileşikler antienflamatuar aktiviteye yarar sağlarlar (4). Bitkilerin; kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve iltihaplı hastalıklar gibi kronik hastalıklarla mücadelede kullanımı; son zamanlarda önemli bir araştırma konusu olmuştur. Doğal ürünlerden elde edilen ilaçlar ve ilaç potansiyeline sahip bitkisel ürünler, yeni ilaçların geliştirilmesi çalışmalarına önemli katkılar sağlamaktadır (5).

Bitki kaynaklı ürünlere olan ilginin bir diğer sebebi, bu ürünlerin antioksidan potansiyele sahip olabilmeleridir. Doğal ve sentetik antioksidanlar serbest radikallerin inhibisyonunda önemli rol üstlenerek dokuların ve membranların oksidatif hasarını önleyici etkiler yaparlar (6). Sentetik antioksidanların yan etkiler gösterebilme potansiyelleri, doğal antioksidan kaynaklarına ilgiyi artırmaktadır. Bu açıdan endemik bitki türlerinin yapılarındaki bileşiklerin antioksidan potansiyelleri yönünden değerlendirilmeleri önem taşımaktadır (7). Meyvelerde, sebzelerde ve tıbbi bitkilerde bulunan doğal antioksidanlar, hücrelerde hidrojen peroksitin zararlı etkilerini önleyebilir ve koroner kalp hastalığı riskini azaltıcı etkiler gösterebilir.

Bu nedenle, yeni ve etkili kaynaklar bulmak için, fonksiyonel bileşikler içeren tıbbi bitkilerin antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerine göre taranması ile ilgili çalışmalar önem taşımaktadır (8, 9). Lermi'nin yaptığı tez çalışmasında (2018), *Isatis cappadocica*'nın antioksidan, antimikrobiyal, tirozinaz inhibitör aktiviteleri incelenmiştir (10). Atik'in yaptığı tez çalışmasında (2020), *Eryngium billardieri* bitki ekstraktlarının biyolojik aktiviteleri incelenmiştir (11).

Dünya genelinde, özellikle gelişmiş ülkelerde; hastalıkların tedavisi için bitkiler kullanılmaktadır (7). Günümüzde, ABD'de mevcut tıbbi ürünlerin yaklaşık %30 ila %50'si bitkisel kökenlidir (3). Almanya'da piyasada yaklaşık 9000 bitkisel kökenli müstahzar yer almaktadır. Mikrobiyoloji alanında da bitkisel ürünlerin veya bitki ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması ve antimikrobiyal aktivite gösteren bitkilerin enfeksiyonların tedavisinde kullanım potansiyeli, güncel araştırma alanlarından (12). Günümüzde, farklı bitkilerden türetilmiş ikincil metabolitler, çeşitli iltihaplı durumlara doğrudan veya dolaylı olarak müdahale etme kapasiteleriyle değerlendirilmektedir (13).

Yapılan araştırmalar sonucu; *Echinophora* cinsine ait bitki türlerinin esansiyel yağlar yönünden zengin içerikleri, antiseptik, antimikrobiyal etki potansiyelleri ve sekonder metabolitler bakımından da zengin olmaları ülkemizde endemik bir tür olan *E. chrysantha* bitkisine ilginizi artırmıştır (7, 14, 15). Özellikle *E. chrysantha* biyolojik aktivitesi konusunda literatürde yeterli araştırmanın olmaması; ülkemizde endemik bir tür olan bu bitkinin biyolojik aktivitesini ve fitoterapik olarak kullanılabilirliğini irdelemeye sevk etmiştir. Bu çalışmada, Türkiye'nin Erzincan-Refahiye bölgesinde endemik olarak yetişen *E. chrysantha* bitkisinin antimikrobiyal, antioksidan, enzim inhibitör aktivite (tirozinaz, AChE ve BChE) potansiyeli özellikleri çalışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Apiaceae Familyası Hakkında Bilgi

Apiaceae familyası dünyada yaklaşık olarak 446 cins ve 3540 türden oluşmaktadır (16). Tablo 1’de gösterildiği üzere; Türkiye’nin Kuzey, Orta, Batı, Güneybatı ve Doğu Anadolu bölgelerinde Apiaceae familyasına ait 380 cins ve 1031 tür olduğu gözlenmiştir (17).

Tablo 1. Apiaceae familyasının Türkiye bölgelerinde dağılımı (Çelik’ten, (17))

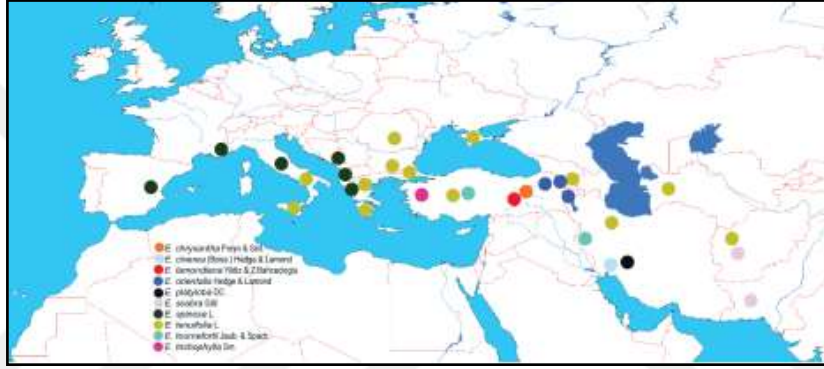
Bölge	Cins Sayısı	Tür Sayısı
Kuzey Anadolu	74	185
Orta Anadolu	80	221
Batı Anadolu	82	251
Güneybatı Anadolu	82	251
Doğu Anadolu	80	242

Apiaceae familyasına ait bitkiler yıllık veya çok yıllık bitkilerdir. Apiaceae familyasına, özellikle kereviz, havuç, rezene, kimyon ve dereotu gibi çok tüketilen bitkileri içerdiği için; gıda, tıbbi ve kimyevi alanlar tarafından özel ilgi gösterilmektedir. Kumarinler, poliasetilenler, flavonoidler, seskiterpenler ve fitalitler, biyolojik olarak aktif esansiyel yağları ile birlikte bu ailenin önemli kimyasal bileşenleri arasındadır. Bunların çoğu günlük olarak yiyecek olarak tüketilir veya geleneksel tıpta kullanılır (18). Apiaceae familyası üyeleri dünyada ekonomik öneme sahip bitki gruplarındandır. Özellikle besin kaynağı olarak, sebze ve hayvan yemi olarak da kullanılırlar. Park ve bahçelerde süs bitkisi olarak kullanılan ve yemeklere tat veren baharat olarak kullanılan türleri de mevcuttur. İçerdikleri alkaloidler ve reçineler nedeniyle tıpta (özellikle bağırsak rahatsızlıkları) ve kozmetikte yaygın kullanım alanlarına sahiptirler (19).

2.2. *Echinophora* Cinsi Hakkında Bilgi

Echinophora cinsi, Akdeniz ve Orta Doğu bölgelerinde dağılım gösteren yaklaşık 10 türden oluşur (20). İki tür *Echinophora spinosa* L. ve *Echinophora tenuifolia* L. Resim 1’de gösterildiği üzere Avrupa’da bulunur ve Avrupa’nın doğusundan Girit ve Kırım’a kadar dağılır. *E. tenuifolia* L.’nin iki farklı alt türü bilinmektedir (subsp. *tenuifolia* & subsp. *sibthorpiana*) (21). Türkiye’de *Echinophora* cinsi Resim 2’de gösterildiği üzere üçü

endemik olmak üzere toplam altı türden oluşmaktadır (22). *E. tenuifolia* L. subsp. *sibthorpiana*, yerel olarak 'çörtük', 'çördük', 'tarhana otu' ve 'turşu' olarak adlandırılır (23). Latince adından (echino-diken, phora-yaprak) bilindiği gibi, bu şifalı bitkiler dikenli yapraklar ve sarı yapraklar ile karakterize edilir ve tercih edilen habitatları kumlu kıyı bölgeleridir. Tablo 2’de gösterildiği üzere, hoş aromatik tadı nedeniyle, bazı *Echinophora* cinslerinin yemeklerde baharat olarak veya çorba, et ve süt ürünlerinde tatlandırıcı olarak kullanıldığı bilinmektedir (24). Geleneksel tıpta; taze veya kurutulmuş şifalı otlar, sadece antimikrobiyal ve antifungal aktiviteler için değil, özellikle mide ülserlerini tedavi etmek için de kullanılır (7, 18).



Resim 1. *Echinophora* cinsinin dünyada dağılımı (İlker Genç ve Gülay Ecevit-Genç’ten, (25))



Resim 2. *Echinophora* cinsinin Türkiye’de dağılımı (İlker Genç ve Gülay Ecevit-Genç’ten, (25))

Echinophora platyloba, batı ve orta İran’da gıdalarda baharat ve yenilebilir bir sebze olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Yöre halkı tarafından bitki turşu ve domates salçalarına, antifungal ve antimikrobiyal özelliği sebebiyle koruyucu olarak

eklenir (26). *E. platyloba* bitkisinin yaprakları ve uçucu yağları ayrıca gıda kalitesini korumak için küf önleyici olarak ve çeşitli hastalıklarda antispazmodik, diüretik ve antimikrobiyal olarak kullanılır (27, 28). Antifungal ve antibakteriyel aktivitesi dikkate alındığında, *E. platyloba* DC MeOH ekstresi, sitotoksik ve büyüme önleyici olma potansiyeline sahiptir (18, 29). *E. platyloba*'nın ana bileşenleri arasında, myren, okimen, monoterpenler, saponinler, flavonoidler ve alkaloidler kastedilmektedir (30). Ek olarak, *Echinophora* özünde tanımlanan en önemli terpen bileşiklerinden biri trans- β -osimendir (31). Flavonoidler, luteinize edici hormonun salgılanmasının artmasına yol açan hipofiz bezine doğrudan etkisi olan, ardından kadınlarda progesteron salgılanmasının artmasına neden olan *E. platyloba*'nın ana bileşenleri arasındadır (32). *E. platyloba* ayrıca geleneksel olarak dismenorede antispazmodik olarak kullanılır ve etkinliği klinik çalışmalarda kanıtlanmıştır (33).

Tablo 2. *Echinophora* cinsinin Türkiye’de geleneksel tıpta kullanım alanları (İlker Genç ve Gülay Ecevit-Genç’ten, (25))

Türler	Yerel İsimleri	Kullanılan Kısımlar	Kullanım Alanı
<i>E. tenuifolia</i> subsp. <i>sibthorpiana</i>	Çörtük, tarhana otu, Çördük, mellik, bılbal, dereotu, meylemok, çortik	Hava alan kısımlar, çiçeklenmeden önceki hava alan kısımlar	Antispazmodik, gastrik ülser (yara iyileştirme), anne sütü artırıcı, turşularda tatlandırıcı-koruyucu olarak, tarhanada, otlu peynirde baharat olarak, pekmezde tatlandırıcı olarak
<i>Echinophora orientalis</i>	Çörtük	Çiçeklenmeden önceki hava alan kısımlar	Otlu peynirde baharat olarak
<i>E. tournefortii</i>	Çörtük, tarhana otu	Hava alan kısımlar	Gastrik ülser (yara iyileştirme)

2.3. *E. chrysantha* Türü Hakkında Bilgi

E. chrysantha, Apiaceae familyasının Chrysophora DC cinsi içerisinde sınıflandırılan ve ülkemizde yetişen endemik bir türüdür (25). İran-Turan bölgesinde özellikle Erzincan-Malatya bölgesinin 1100-1700 rakımında yetişen ve Türkçe’ye 'yıldız çördüğü' ismiyle geçmiş otsu bir bitkidir (7). *E. chrysantha*'nın Prof. Dr. Ali Kandemir tarafından çekilen fotoğrafı Resim 3’te gösterilmiştir. *E. chrysantha*'nın taksonomisi Tablo 3’te gösterilmiştir. *E. chrysantha*'nın esansiyel yağ içeriği Tablo 4’te gösterilmiştir. Özellikle yüksek oranda alfa-felandren içeriği parfüm ve gıda endüstrisinde tatlandırıcı, koku olarak ve aynı zamanda sivrisineklere karşı pestisit olarak kullanılabileceği

potansiyelini göstermektedir (34, 35). Alfa-felandrenin kimyasal yapısı Şekil 1’de gösterilmiştir.



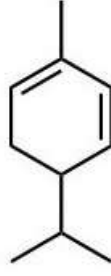
Resim 3. *E. chrysantha*’nın görünümü

Tablo 3. *E. chrysantha* türünün taksonomisi

Bölüm	Spermatophyta
Alt Bölüm	Magnoliophyta
Sınıf	Magnoliidae
Takım	Apiales
Familya	Apiaceae
Alt Familya	Apioideae
Cins	<i>Echinophora</i>
Tür	<i>Echinophora chrysantha</i>

Tablo 4. *E. chrysantha*’nın esansiyel yağ içeriği (Başer ve arkadaşlarından, (34))

Alfa-Pinen (3.04%)	Para-Simen (6.76%)
Beta-Pinen (2.86%)	Terpinolen (3.69%)
Sabinen (0.26%)	1,3,8-p-Mentatrien (0.19%)
Delta-3-Karen (7.17%)	Nonanal (0.3%)
Alfa-Felandren (61.06%)	Alfa-p-Dimetilstiren (0.09%)
Alfa-Terpinen (0.04%)	Para-Menta-1(7),5-dien-2-ol (0.73%)
Limonen (2.07%)	Timol (0.16%)
Beta-Felandren (7.17%)	Karvakrol (0.23%)
Gama-Terpinen (0.07%)	Miristisin (0.31%)



Şekil 1. Alfa-felandrenin kimyasal yapısı

2.4. Serbest Radikal

Canlılarda serbest radikallere karşı, organizmayı oksidatif strese korumak amacıyla antioksidan savunma sistemi devreye girer. Birinci savunma hattını serbest radikallerin oluşmasını engelleyici antioksidanlar oluşturur. İkinci savunma hattını ise vitamin E ve vitamin C gibi antioksidanların zincir oksidasyonunun başlamasını önlemesi ve zincirleme reaksiyonların yayılımını engellemesi oluşturur. Üçüncü savunma hattını ise oluşan hasarı onarma ve eski haline getirmeye çalışan onarıcı ve yeniden yapılandırıcı özellikte olan proteazlar, lipazlar, transferazlar ve deoksiribonükleik asit (DNA) onarıcı enzimler gibi antioksidanlar oluştururlar.

Azot ve oksijen serbest radikalleri, reaktif azot türleri (RNS) ve reaktif oksijen türleri (ROS), vücuttaki hücrel metabolizmanın ürünleridir (36). Düşük/orta konsantrasyonlarda, enfeksiyöz ajanlardan korunmaya karşı hücrel tepkilerde işlev görmek gibi birçok yararlı fizyolojik rolleri vardır. Bunun yanında yüksek serbest radikal konsantrasyonları bazı zararlı etkilere neden olabilir. Örneğin, karbon radikalleri oluşturarak membran lipitlerine saldırabilirler. Karbon radikalleri, yeni karbon radikalleri üretmek üzere membran lipitlerinin yağ asitleriyle birleşebilen peroksil radikalleri oluşturmak için oksijenle reaksiyona girebilir. Bu zincir reaksiyon mekanizması, lipit peroksidasyonu olarak bilinir. Lipit peroksidasyonu ROS/RNS aşırı üretimi gerçekleştiğinde meydana gelir. Bu durum bir serbest radikalin bile, lipit oksidasyon zinciri reaksiyonunu başlatarak birçok molekülü etkileyebileceğini ve ilgilenilen enzimlerin veya antioksidanların eksikliği olduğunda, oto-oksidasyon reaksiyonlarının arttığını gösterir. Bu nedenle vücut, süperoksit dismutaz ve katalaz enzimleri veya H_2O_2 'da çözünür ve lipitte çözünür moleküler antioksidanlar gibi serbest radikallerin potansiyel zarar verici doğasına karşı bazı savunma mekanizmalarına sahiptir (37).

2.4.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROS)

ROS, oksijen ve serbest radikal partikülleri içeren bir terimdir. ROS çeşitleri, hidroksil radikalini, süperoksit anyon radikalini, hidrojen peroksit, tekli oksijeni, nitrik oksit radikalini, hipoklorit radikalini ve farklı lipit peroksitlerini içerir. ROS hücre katmanlarına zarar veren lipit katmanları, nükleik asitler, enzimler, kimyasallar ve diğer küçük parçacıklarla cevap vermeye uygundur. Hücreler tarafından verilen oksidanların çoğu, normal aerobik metabolizmanın bir sonucu olarak mitokondriyal elektron taşıma sistemi tarafından tüketilir. Hücre tarafından kullanılan oksijenin yaklaşık %90'ı bu şekilde ve toksik maddelerin detoksifikasyonu ile tüketilir. ROS doymamış yağlar, enzimler, nükleik asitler ve şekerler gibi vazgeçilmez hücre bileşenlerine de saldırabilir. Bu tepkiler; partikül taşınımı, katalizör hareketinin kaybı, enzim karışımı, DNA hasarı ve hücre geçişini de beraberinde getirir (38).

2.5. Fenolik Bileşikler

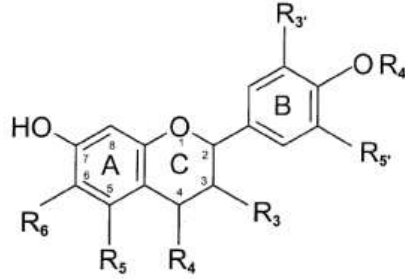
Fenolik bileşikler, aromatik halkanın hidroksil grubu içermesi ile oluşan bileşikler olup, en büyük ve en yaygın bitki metaloitleri grubundandır. Organik çözücülerde (alkol, MeOH, eter vs.) iyi çözünürler. Fenolik bileşikler, bitkiyi fotosentetik stres, ROS, yaralar ve otoburlardan korumak için oluşturulurlar. İnsan beslenmesinin de önemli bir parçasıdır. Sekonder metabolit olarak bilinen fenolik bileşikler bitkinin çoğalmasına, gelişmesine ve patojenlere karşı savunmasına yardımcı olurlar ve ultraviyole'ye (UV) karşı da bitkiyi korurlar (39). Yapılan çalışmalarda birçok fenolik bileşik, antitumör, antiviral, antikanser, antiinflamatuvar, antimikrobiyal potansiyel gösterilmiştir (40). 21. yüzyıla kadar 8000 civarında fenolik bileşik türü tanımlanmıştır. Fenolik bileşiklerin en dikkat çekici grubu flavonoidlerdir (41).

2.6. Flavonoidler

Flavonoidler, doğal olarak oluşan polifenolik bileşiklerin bir alt sınıfıdır. Sebze, fındık, meyve, kahve, çay ve kırmızı şarap gibi içeceklerde en yaygın sınıflardan birini temsil eder (42). İnsanların günde yaklaşık 1 g karışık flavonoid tükettiği tahmin edilmektedir (43).

Flavonoidler, her biri en az bir aromatik hidroksil taşıyan ve bir karbon köprüsüne bağlı iki veya daha fazla aromatik halka içermesi ile karakterize edilir. Bu köprü, bir oksijen ile birleşen üç karbondan ve üçüncü 6 üyeli bir halka (C halkası) oluşturmak üzere

aromatik halkalardan (A halkası) birinin iki karbonundan oluşur. Flavonoidlerin genel yapı ve numaralandırma modeli Şekil 2’de gösterilmiştir.



Şekil 2. Flavonoidler için genel yapı ve numaralandırma modeli

Flavonoidler ayrıca B halkasının C halkasına bağlanmasına, C halkasının yükseltgenme durumuna ve fonksiyonel gruplarına bağlı olarak alt sınıflara ayrılır. 1990 yılına kadar 5000'den fazla flavonoid alt sınıfı tanımlanmıştır. Bu araştırma, en yaygın fenolik bileşikler/flavonoidleri, yani; kersetin, resveratrol, rutin, naringenin ve hesperidini içerir (44).

2.6.1. Flavonoidlerin Farmakolojik Etkileri

Birçok epidemiyolojik çalışma, yüksek fenolik içeriği olan bazı bitkisel gıda maddelerinin tüketiminin, bazı hastalıkların önlenmesiyle ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu bileşiklerin antioksidanlar, antimutajen ajanlar, antitrombotik ajanlar, antikanser ajanları, antienflamatuar ajanlar, anti-HIV-1 ile benzer özelliklere sahip olabileceğini göstermiştir (45-47).

Flavonoidlerin kansere karşı koruyucu etkileri; serbest radikal temizleme, kanserojenleri aktive eden veya detoksifiye eden enzimleri modifiye eden ve tümör promotörleri tarafından transkripsiyon faktörü aktivatör protein-1 aktivitesinin indüklenmesini inhibe eden çeşitli mekanizmalara atfedilmiştir (48, 49).

2.7. Antioksidanlar

DNA, karbonhidrat, lipit ve protein gibi biyomoleküllerin yükseltgenmesini engelleyebilen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar denir (50). Antioksidanca zengin sebze ve meyvelerin tüketilmesi, hücre ve dokuları radikaller tarafından oluşturulacak hasarlara karşı koruyabilmektedir (51). Sentetik antioksidanlar, gıdalarda

bozulmayı önleyici özelliklerinden dolayı işlenmiş gıdalarda koruyucu olarak kullanılırlar. Tablo 5’te gösterildiği gibi bütillenmiş hidroksitolüen (BHT), propilgallat, bütillenmiş hidroksianisol (BHA) ve t-bütillhidrokinon (TBHQ) özellikle gıda endüstrisinde en çok tercih edilen sentetik antioksidanlardır. Bu yararlı etkilerinin yanında sentetik antioksidanlar ve oluşumuna sebep oldukları ikincil ürünlerin, bazı kanser türlerinin oluşmasına sebep oldukları gözlenmiştir (52).

Tablo 5. Antioksidanların sınıflandırılması (Durmaz’dan, (53))

Vücutta Bulunan Antioksidanlar		Dış Kaynaklı oksidanlar	
Küçük Moleküller	Enzimler	Sentetik Antioksidanlar	Doğal Antioksidanlar
Metal Şelatlayıcılar (Ferritin, Seruloplazmin, Hemoglobin, Miyogloblin)	Süperoksit Dismutaz	BHA	Askorbik Asit
	Katalaz	BHT	Tokoferoller
	Peroksidazlar	Propil gallat	Flavonoidler
Askorbik asit	Glutasyon peroksidaz	Troloks	Likopen
Melatonin	Glutasyon redüktaz	TBHQ	Karotenler
Glutasyon	Proteazlar		Fenolik asitler
Serotonin	G6FD		

Sentetik antioksidanların yerine kullanılabilecek doğal antioksidanların tespit edilmesi için bitkisel ürünler üzerine yapılan araştırmalar önem kazanmıştır. Özellikle askorbik asit, tokoferoller, fenolik bileşikler, amino asitler, karotenoitler, flavonoidler ve enzimatik antioksidanlar (süperoksitdismutaz, glukozoksidaz, katalaz) önemli doğal antioksidan özelliğinde maddelerdir (54). Doğal ve sentetik antioksidanlar arasındaki temel farklar Tablo 6’da belirtilmiştir.

Tablo 6. Doğal ve sentetik antioksidanlar arasındaki farklar (Gülçin’dan, (55))

Sentetik Antioksidanlar	Doğal Antioksidanlar
Bazıları adipoz dokuda depolanır.	Tamamı metabolize olur.
Güvenirliliği giderek azalmaktadır.	Zararsız ve güvenilirdir.
Geniş uygulama alanına sahiptir.	Kullanım, uygulama alanı artmıştır.
Çözünürlükleri düşüktür.	Çözünürlükleri yüksektir.
Bazılarının kullanımı yasaklanmıştır.	Bazılarının kullanımı sınırlıdır.
İlgi azalmaktadır.	İlgi artmaktadır.
Ucuzdurlar.	Pahalıdırlar.

2.8. Antimikrobiyaller ve Antibiyotiklere Direnç

Bulaşıcı hastalıklar başlıca; bakteriler, virüsler ve parazitler tarafından oluşturulmakta ve geçmişten günümüze insan yaşamını tehdit eden durumlar yaratmaktadır. Aşı ile korunma yöntemlerinin geliştirilmesinden daha önceki dönemlerde; organik, inorganik ve boya özelliğindeki maddeler kullanılarak tedavi yöntemleri geliştirilmeye çalışılmıştır (56). Mikrobiyal hastalıkların tedavisi ile ilgili yaklaşımların antik Mısır, Yunan ve Çin’de kullanıldığı bilinmektedir. Bilimsel ve modern anlamda antibiyotiklerin hayatımıza girişi ile başlayan süreç Sir Alexander Fleming’in 1928 yılında *Penicillium notatum* kolonilerinin antimikrobiyal etkisini laboratuvarında gözlemleyip, keşfetmesi ile başlamıştır. Antibiyotiklerin 1940’lı yılların başından itibaren kullanıma sunulması ile sağlık alanında devrim niteliğinde en önemli kazanımlardan biri elde edilmiş ve günümüze kadar gelen süreçte birçok bakteriyel hastalığın tedavisi sağlanarak, milyonlarca hayat kurtarılmıştır (57, 58).

Penisilinin keşfedilip, kullanıma girmesini takiben streptomisin ve tetrasiklinler 1940’lı ve 1950’li yıllarda geliştirilmiş ve takip eden süreçte de diğer aminoglikozitler, yarı sentetik penisilinler, sefalosporinler, kinolonlar ve günümüze kadar birçok diğer antibiyotikler geliştirilmiştir. Bu süreç antibiyotiklerin altın çağı olarak da değerlendirilmektedir ve bu süreçte geliştirilen çeşitli antibiyotikler sayesinde birçok enfeksiyöz hastalık tedavi edilebilmiş veya önlenebilmiştir. Günümüzde antibiyotikler insan sağlığı alanında olduğu kadar hayvan sağlığı ve yetiştiriciliğinde, gıda sektörü gibi yaşamımızın birçok alanında kullandığımız vazgeçilmez kaynaklardır (59).

Antibiyotikler güncel olarak, mikroorganizmalar tarafından kısmen veya tamamen kimyasal olarak da elde edilebilen ve düşük konsantrasyonlarda kullanıldıklarında bile duyarlı bakterilerin gelişimini durduran maddeler olarak tanımlanmaktadır (53). Antimikrobiyaller, antibiyotikler, kemoterapötikler, antibiyotik olmayan maddeler, dezenfektan, antiseptik, koruyucu ve immünolojik ürünler de dahil olmak üzere daha geniş perspektifte ürünleri kapsamaktadır (60).

Antibiyotikler, bakteriler üzerine direkt öldürücü olarak ‘bakterisit’ veya üremelerini durdurucu ‘bakteriyostatik’ olarak etki ederler. Bakterisit etkiye sahip antibiyotiklere betalaktamlar (penisilin, sefalosporin), aminoglikozitler, polimiksinler ve kinolonlar örnek olarak verilebilir. Bakteriyostatik etkili antibiyotiklere tetrasiklinler, makrolidler ve linkozamidler örnek olarak verilebilir. Antibiyotikler, duyarlı bakterilerin

üreme ve gelişme sürecindeki etki mekanizmalarına göre; bakterinin hücre duvarı sentezini engelleyenler (sefalosporinler ve penisilinler), ribozomlardaki protein sentezini inhibe edenler (aminoglikozidler, makrolidler), hücre zarı bütünlüğü ve geçirgenliğini bozanlar (polimiksinler), nükleik asit sentezini bloke edenler (florokinolonlar) ve metabolik yollar üzerinde antagonist etki yapanlar (sülfonamidler) olmak üzere beş grupta sınıflandırılırlar (59, 60).

Antibiyotik keşfi ve takip eden süreçte geliştirilen antibiyotiklerin insan ve hayvan sağlığı açısından yarattığı muhteşem etkilerin yanında daha penisilinlerin kullanıma girmesini takip eden ilk yıllardan itibaren antibiyotik direnci sorunu başlamıştır. Direnç gelişimi kullanımda olan antibiyotikleri daha önceden etkili oldukları bakterilere karşı etkisiz hale sokmakta ve bu durum hastalık sürecini uzatarak hayati tehdit oluşturmaktadır. Özellikle hastane enfeksiyonlarına yol açan dirençli bakteri suşları yoğun bakım ünitesi gibi alanlarda hayati tehdit oluşturan ciddi enfeksiyonlara sebep olmaktadır. Hali hazırda kullanılan hemen bütün antibiyotiklere karşı olduğu gibi, yeni kullanıma sunulan antibiyotiklere karşı da direnç gelişimi zaman içinde gelişecek kaçınılmaz bir durumdur. Bu sebeple insanlık, belki yakın bir gelecekte antibiyotik öncesi dönemleri yaşayacak duruma gelecektir (56, 61, 62).

Antibiyotik direnci sorununun çözümü için yeni ve daha etkili antibiyotiklerin geliştirilmesinin kritik önemi, bilim insanlarının antibiyotik geliştirme çalışmalarına ilgisini yeni ve alternatif kaynaklara yöneltmiştir. Bu kaynakların başlıca örnekleri bitkiler ve çeşitli kimyasal bileşiklerdir. Özellikle, bitkilerden elde edilen fitokimyasal maddeler ile yapılan çalışmalarda ümit verici sonuçlar alınmaktadır. Bitkisel kaynaklı antimikrobiyallerin çeşitli bakteri ve mantarlara karşı etkilerini direkt olarak ve mevcut antibiyotiklerle kombine edildiklerinde sinerjik olarak gösterebildikleri gözlenmiştir. Bu açıdan bitkisel kaynaklar, yeni antimikrobiyal ve antibiyotik özellikli maddelerin keşfedilmesi açısından bilimsel ilgiyi güçlü bir şekilde çekmektedir ve bu alanda birçok araştırma yapılmaktadır (12, 63, 64).

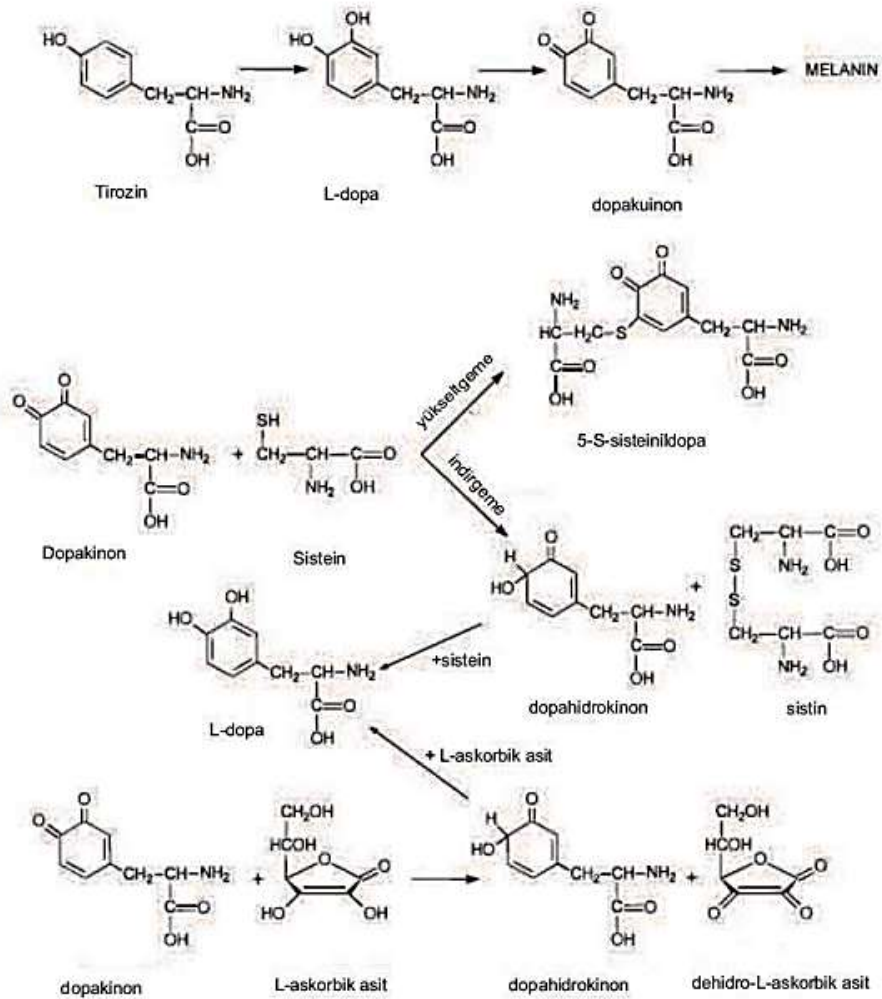
2.9. Tirozinaz

Tirozinaz, polifenoloksidaz, monofenoloksidaz, fenolaz veya katekolaz olarak da bilinir. Tirozinaz ismi substrat olarak enzimin tirozin (monohidroksifenilalanin) ve dihidroksifenilalanine karşı spesifikliği nedeniyle verilmiştir (65). Tirozin; epinefrin, dopamin, melanin, norepinefrin ve tiroksinin ön maddesidir. Fenilalaninden sentezlenir,

proteinler vasıtasıyla vücuda alınır. Tirozinaz doğada çok yaygındır (66). Yaygın olarak bitkilerde bulunmasına rağmen, mikroorganizmalarda, mantarlarda ve bazı hayvan organlarında da bulunur (67).

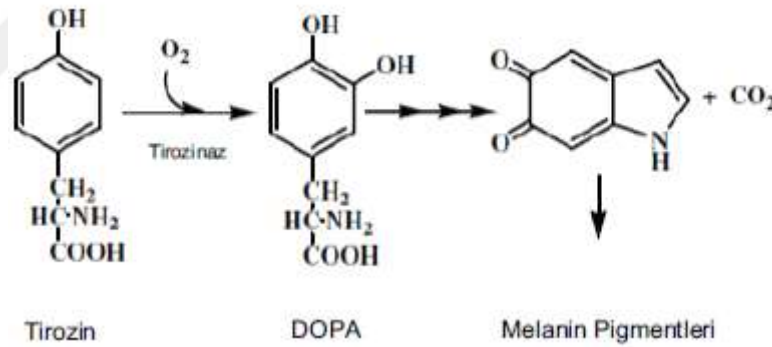
Tirozinaz, melanositlerdeki melanini biyosentetik yolunda Şekil 3-4'te gösterildiği üzere üç farklı reaksiyonla kataliz eder:

- Birinci yol; tirozinin levodopa'ya (L-DOPA) hidroksilasyonu.
- İkinci yol; L-DOPA'nın dopakinona oksidasyonu.
- Üçüncü yol ise; insanlarda dopakinonun, siklizasyon ve oksidatif polimerizasyonunu da içeren bir seri kompleks reaksiyonla melaninine dönüşmesidir.



Şekil 3. Tirozin-DOPA ve melanin ilişkisi (Özge Calay'dan, (68))

Yapılan araştırmalar tirozinazın; özellikle mantar, yumru patates, şeftali, elma, muz, avokado, çay yaprakları, kahve tohumları ve tütün yapraklarında diğerkaynaklara oranla daha yüksek konsantrasyonlarda olduğunu göstermiştir (69). Ayrıca kayısı, yabani gl, enginar, yabani pirinç, ısıpanak, yonca, buğday, yulaf, bezelye, şekerkamışı yaprağı, bakla yaprakları, fasulye, domates, mısır yaprakları, zm, armut, zeytin gibi meyve ve sebzelerde de tirozinazın olduğu tespit edilmiştir (70). Bu doğrultuda tirozinaz enziminin muhtemelen bütün bitkilerde bulunduğu şeklinde bir genellemeye gidilmiştir. Bitki hücrelerinde enzimin miktarı ve dağılımı, meyve veya bitkilerin türüne, yaşına ve olgunluğuna bağlıdır (71). Tirozinaz insanlarda dahil olmak üzere, hayvansal organizmaların özellikle de deri, sa ve göz pigmentlerinde bulunur (69). Onslow (1923) siyah ırk tavşanların derilerinde, Bhagvat ve Richter (1938) eklem bacaklıların kanında tirozinaz enziminin var olduğunu bildirmişlerdir (72, 73). Arnow (1937), derinin güneş işığı ile bronzlaşmasının tirozinaz etkisiyle olduğunu bildirmiştir (74). Tirozinaz bceklerdeki dış iskelet oluşumunda da önemlidir (75).



şekil 4. Tirozinden melanin oluşumu (zge Calay’dan, (68))

Tirozinaz enzimi, hayvansal organizmalarda melanin sentezinde görev almaktadır. Melanin, canlıları güneşin zararlı UV işınlarından korumaktadır ve bu özelliğinden dolayı kozmetik ve sağlık sektöründe öneme sahiptir. Tirozinazın kullanıldığı diğerknemli alanlardan biri de kanser araştırmalarıdır. Bazı kanser türlerinde, hücrede tirozinaz aktivitesinin arttığı gözlenmiştir (76).

Anormal melanin pigmenti üretimi insanlarda ciddi bir estetik problemidir. Genellikle orta ve ileriki yaşlarda sıkça rastlanır (77). Anormal melanin pigmenti üretimi, yumuşak derinin sağlıklı olduğunun işareti olarak değerlendirildiği düşünüldüğünde,

güzelliğe oldukça önem veren kültürlerde hem görünüşü hem de hayat kalitesini düşürmektedir (78). Eksojen sebepler (UV'ye maruz kalma, melasma, solar lentignes ve çil gibi) pigmentel anormalliklerin yaygın sebebidir (79). Bazı ilaçlara ve kimyasallara maruz kalmanın yanı sıra, belirli hastalıkların varlığı da hiperpigmentasyonla sonuçlanabilir. Depigmente edici ajanlar, genellikle hiperpigmentasyon bozukluklarının iyileştirilmesi için reçetelenmektedir (80).

2.10. Kolinesterazlar

Kolinesterazlar, özellikle bütirilkolin ve asetilkoline olan substrat ilgisi nedeniyle ikiye ayrılır. AChE dokularda serbest halde veya fosfolipitlerle bileşik halde bulunan, asetilkolini hidrolizleyen non-spesifik bir enzimdir. AChE gerçek kolinesteraz; BChE serum kolinesterazı, nonspesifik kolinesteraz veya psödokolinesteraz olarak isimlendirilir. Yüksek substrat yoğunluğunda; BChE aktive, AChE ise inhibe olur. BChE seçici olarak tetraizopropilpirofosforamid ve 10-(2-dietilaminopropil)-fenotiyazid ile inhibe olurken, AChE ise 1,5-bis(4-allildimetilaminopropilpentan-3-on-dibromür) ile inhibe olur. İki enzim aminoasit dizilimlerinde %65 benzerlik gösterirler. BChE üçüncü, AChE ise yedinci kromozomlarda kodlanırlar (81). AChE, asetilkolini hidroliz eden enzimdir. Asetilkolin maddesi ise, sinapslar arasındaki iletişimi oluşturur. AChE genellikle beyin ve kas sinir sinapslarında bulunur. AChE'nin yapısı JL Sussman (1991) tarafından X-ışını ile belirlenmiştir (82).

BChE karaciğerde sentezlenmektedir. Ameliyatlarda lokal anestetik olarak kullanılan süksinilkolin, BChE tarafından hidroliz edilmektedir. BChE süksinilkolini organizmada parçalayabilen tek enzimdir. BChE, süksinilkolinin %90'ını kısa süre içerisinde parçalar ve sinir uçlarının depolarizasyonunun önüne geçer. Atipik BChE hikayesine sahip hastalarda süksinilkolin hızlı bir biçimde hidrolize edilemediğinden dolayı apne oluşmaktadır. Koma ve ölümle sonuçlanan vakalarda meydana geldiğinden dolayı anestezi öncesi kolinesteraz tayınları yapılmaktadır (83, 84).

AChE ve BChE enzimleri Alzheimer'da da önemli rol oynarlar. Genetik yatkınlık dışında Alzheimer hastalığının en önemli sebeplerinden biri beyindeki kolinerjik kayıptır. Kolinerjik kavşak ve sinapslardan salınan AChE düzeyinin Alzheimer hastalarında azaldığı saptanmıştır (85). Son yıllarda yapılan analizlerde; Alzheimer hastalığından muzdarip insanların beyinlerindeki BChE miktarı, sağlıklı insanların beyinlerine göre daha fazla olduğu görülmüştür (86). Alzheimer hastalığının fizyopatolojisini açıklamak üzere yapılan

bazı çalışmalarda; glutaminerjik sistemin kronik olarak uyarılması sonucu glutamat miktarının artması ile artan intraselüler kalsiyum konsantrasyonunun, hücre ölümüne neden olduğu bildirilmiştir (87). Son yıllarda, Alzheimer hastalarının tedavisinde başarının elde edildiği tek ilaç grubu AChE inhibitörleridir. AChE inhibitörleri, AChE'yi inhibe ederek, hastanın davranış bozukluklarında önemli bir düzelme sağlamaktadır (88, 89).



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Cihazlar

Yapılan analizlerde kullanılan cihazlar marka/model olarak Tablo 7’de gösterilmiştir.

Tablo 7. Deneylerde kullandığımız cihazlar

Cihaz Adı	Marka/Model
Etüv	NÜVE EN 400, Ankara, Türkiye
Karbondioksitli inkübatör	Thermo Scientific (Heracell 150i)
Karıştırıcılı H ₂ O banyosu	NÜVEST 402
Laminar akımlı kabin (biyogüvenlik seviyesi 2)	Tezsan
Hassas terazi	Presica LX 320 A, Dietikon, İsviçre
Manyetik karıştırıcı	Heidolph MR HEI-Standard, Schwabach, Almanya
Mikroplaka okuyuculu spektrofotometre	Bioteck (Epoch)
Orbital çalkalayıcı	Stuart (SSM1)
Otoklav	Hirayama (HV-50L)
pH metre	Mettler Toledo, Schwerzenbach, İsviçre
Rotary evaporatör	IKA®-Werke, RV 05 Basic, Staufen, Almanya
Saf H ₂ O cihazı	Human, Zeneer Navi UP, Song Pa-Ku, Seul, Güney Kore
Spektrofotometre	Spectro UV-Vis Double Beam PC LaboMed Inc., LA, Amerika
Vorteks karıştırıcı	Labnet VX100, MO BIO Laboratories, Inc., NJ, Amerika
Vakum pompası	Buchi Vacuum Pump V-700, Flawil, İsviçre
Yarı otomatik pipet	Eppendorf Research® Plus Hamburg, Almanya

3.2. Kimyasal Madde ve Malzemeler

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve satın alındığı firmalar Tablo 8’de gösterilmiştir.

Tablo 8. Çalışmamızda kullandığımız kimyasallar ve satın alındığı firmalar

Kullanılan Kimyasal	Satın Alındığı Firma
Etanol	Sigma-Aldrich Chemie, Münih, Almanya
Folin-Ciocalteu's phenol reaktifi	Sigma-Aldrich Chemie, Münih, Almanya
Gallik asit	Sigma-Aldrich Chemie, Münih, Almanya
MeOH-LC saflıkta	Sigma-Aldrich Chemie, Münih, Almanya
L-DOPA	Sigma-Aldrich Chemie, Münih, Almanya
TPTZ	Sigma-Aldrich Chemie, Münih, Almanya
Troloks	Sigma-Aldrich Chemie, Münih, Almanya
Na ₂ CO ₃	Sigma-Aldrich Chemie, Münih, Almanya
CuCl ₂ .2H ₂ O	Sigma-Aldrich Chemie, Münih, Almanya
NH ₄ CH ₃ COO ⁻	Sigma-Aldrich Chemie, Münih, Almanya
Neokuproin	Sigma-Aldrich Chemie, Münih, Almanya
DTNB	Sigma-Aldrich Chemie, Münih, Almanya
Asetilkolin iyodür	Sigma-Aldrich Chemie, Münih, Almanya
Bütirilkolin iyodür	Sigma-Aldrich Chemie, Münih, Almanya
Asetik asit	Merck, Darmstadt, Almanya
Tirozinaz	Sigma-Aldrich Chemie, Münih, Almanya
Kojik asit	Sigma-Aldrich Chemie, Münih, Almanya

3.3. *E. chrysantha*'nın Temin Edilmesi ve Teşhisi

Çalışmada kullanılacak *E. chrysantha* bitkisi, 2017 yılı ağustos ayında Erzincan ili, Refahiye yolu ve Ağılözü mezarası yol seviyesinden yaklaşık 1400 m yükseklikten toplandı. Bitkinin teşhisi Erzincan Üniversitesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Ali Kandemir tarafından gerçekleştirildi ve herbaryum numarası 10960 olarak verildi. Bitki numuneleri laboratuvarımıza ulaştırıldı. Bitkinin toprak üstü kısımları kurutulması sonrasında değirmende toz haline getirildi ve 25°C'de muhafaza altına alındı.

3.4. *E. chrysantha* Ekstrelerinin Hazırlanması

E. chrysantha bitkisi oda sıcaklığında gölgelinde kurutulduktan sonra bitkiden 200 g tartılarak alındı. Kurutulan bitkiler blendırdan geçirilerek toz haline getirildi. Toz haline getirilen *E. chrysantha* su (H₂O), MeOH, etil asetat (EtAc) ve CHCl₃ (2000 mL) ile bir gün boyunca ısıtıcılı karıştırıcılarla ekstrakte edildi. Çözeltiler 4 °C'de muhafaza edildi.

Ekstraksiyonda kullanılan çözücülerin polaritesi ekstraksiyon verimliliğini etkiler. Apolar yapıdaki maddeler apolar çözücülerde, polar yapıdaki maddeler ise polar çözücülerde daha iyi çözünürler. Çözücülerin polaritelerinin farklı olması sebebiyle 4 farklı çözücü seçildi. Polardan apolara değişen çözücüler tercih edildi. Tezimizde kullandığımız çözücülerin polarite indeksi Tablo 9’da gösterilmiştir.

Tablo 9. Ekstraksiyonda kullanılan çözücülerin polarite indeksi(Synder’dan, (90))

Çözücüler	Çözücü Polarite İndeksi
H ₂ O	10.2
MeOH	5.1
EtAc	4.4
CHCl ₃	4.1

Çalışma için uygun aktivite gösterecek konsantrasyonlar ön denemeler ile belirlendi. En iyi aktivite gösteren konsantrasyonlar deney yöntemlerine göre seçildi. Ayrıca, ekstraktların miktarları literatür taramasından faydalanılarak belirlendi.

3.4.1. Tayinlerde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı

Çalışmada kullanılan kimyasal çözeltiler ve hazırlanması Tablo 10’da gösterilmiştir.

Tablo 10. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları

Çözelti	Hazırlanışı
0,2 N Folin-Ciocalteu	2 N Folin 1:10 oranında saf H ₂ O ile seyreltilir.
%7,5'luk Na ₂ CO ₃	7.5 g Na ₂ CO ₃ 90 mL H ₂ O içerisinde çözüldükten sonra, distile H ₂ O eklenerek 100 mL'ye tamamlandı.
Gallik asit çözeltisi	31.25, 62.5, 125, 250, 500, 1000 µg/mL konsantrasyonlarda 1000 µg/mL stok çözeltiden hareketle MeOH ile seyreltilerek hazırlandı.
%10'luk AlCl ₃ çözeltisi	5 g AlCl ₃ 50mL distile H ₂ O ile çözülerek hazırlandı.
%5'lik NaNO ₂ çözeltisi	2.5 g NaNO ₂ 50mL distile H ₂ O ile çözülerek hazırlandı.
%4.3'lük NaOH çözeltisi	2.15 g NaOH distile H ₂ O ile 50 mL'ye tamamlandı.
Kersetin çözeltisi	31.25, 62.5, 125, 250, 500, 1000 µg/mL konsantrasyonlarda 1000 µg/mL stok çözeltiden hareketle MeOH ile seyreltilerek hazırlandı.
40 mM HCl	340 µL %37'lik HCl saf H ₂ O'nun bir kısmıyla çözdürüldükten sonra yine saf H ₂ O ile 100 mL'ye tamamlandı.
10 mM TPTZ	75 mL 40 mM'lık HCl içerisinde 234.249 mg TPTZ çözüldü.
20 mM FeCl ₃	324.4 mg FeCl ₃ distile H ₂ O ile 100 mL'ye tamamlandı.
Asetat tamponu (300 mM, pH 3.6)	2.5 mL asetik asit H ₂ O ile 40 mL'ye tamamlandıktan sonra 90 ml MeOH ilave edildi, daha sonra 0.5 M NaOH ile pH 3.6'ya ayarlandıktan sonra 150 mL'ye H ₂ O ile tamamlandı.
FRAP reaktifi	10:1:1 oranında yukarıda belirtilen asetat tamponu, TPTZ, FeCl ₃ çözeltileri karıştırılarak hazırlandı.
Troloks çözeltisi	Troloks'un 1000, 500, 250, 125, 62.5 µM konsantrasyonları etanolle uygun oranda seyreltilerek hazırlandı.
10 mM CuCl ₂ .2H ₂ O	92.4 mg CuCl ₂ .2H ₂ O distile H ₂ O ile 50 mL'ye tamamlandı (pH 7'ye NaOH'la ayarlandı).
1M NH ₄ CH ₃ COO ⁻	3.8 g NH ₄ CH ₃ COO ⁻ distile H ₂ O ile 50 mL'ye tamamlandı (pH 7'ye NaOH ile ayarlandı).
7,5 mM neokuproin çözeltisi	78 mg neokuproin 50 mL'ye MeOH ile tamamlandı.
DPPH• reaktifi	3.94 mg DPPH• 90 mL MeOH ile çözüldükten sonra, 100 mL'ye tamamlandı.
BHT çözeltisi	0.01 mg/mL stok çözeltiden hareketle 0.005, 0.025, 0.0125, 0.00625 mg/mL konsantrasyonlarda MeOH ile seyreltilerek hazırlandı.
L- DOPA çözeltisi (2.5 mM)	0.004925g L-DOPA fosfat tampon çözeltisiyle (pH: 6.8) 10 mL'ye tamamlandı.
Kojik asit standardı (25, 50, 100, 500 µg/mL)	2.5 mg kojik asit alınıp tampon çözelti ile 5 mL ye tamamlandı. Hazırlanan 500 µg/mL kojik asit çözeltisi tampon çözelti ile istenilen derişimlere seyreltilerek kullanıldı.

3.5. Antioksidan Aktiviteler

3.5.1. Toplam Fenolik Madde (TFM) Tayini

TFM ölçümü için Singleton ve Slinkard (1977) tarafından geliştirilen ve yaygın olarak kullanılan Folin metodu kullanıldı. Bu metod numunedeki toplam çözülebilir

fenolik madde ile Folin-Ciocalteu reaktifinin alkali ortamda fenolik yapıya sahip bileşikler ile renkli kompleks oluşturması ve oluşan absorbans değerinin 765 nm'de okunması prensibine dayanmaktadır (91). Folin metodu ile diğer elektron transferine dayanan metotlar arasında mükemmel doğrusal korelasyon olduğu belirlenmiştir. Bu durum, deneylerde antioksidan kapasitenin değerlendirilmesi için, Folin metodunun yararlılığını doğrulamaktadır. Folin metodu ile toplam fenolik madde tayini; güvenilir, basit ve tekrarlanabilir (92).

Farklı derişimlerdeki (31.25, 62.5, 125, 250, 500, 1000 µg/mL) gallik asit standartın absorbans ölçümü yapıldı. Absorbanslara göre grafik oluşturuldu. Grafikten *E. chrysantha* ekstrelerinin TFM miktarları belirlendi. Sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g numune olarak verildi. Tüplere, 50 µL'lik her bir standart/numune çözeltisi sırasıyla pipetlendi. Reaktif körü 50 µL çözücülerle pipetlendi. Sonrasında, her tüpe 2.5 mL distile H₂O ilave edildi ve 250 µL Folin-Ciocalteu reaktifi eklendi. Standart ve numune tüplerine 250 µL distile H₂O eklendi. Vortekslendi, oda sıcaklığında üç dakika (dk) inkübe edildi. Ardından, tüm tüplere 750 µL (%7.5'luk) Na₂CO₃ eklenerek tekrar vortekslendi ve oda sıcaklığında iki saat inkübe edildi. Sonra 765 nm'de absorbanslar spektrofotometre cihazı yardımıyla okundu. TFM miktarı sonuçları µg GAE/g numune olarak verildi.

3.5.2. Toplam Flavonoid Madde (TFM) Tayini

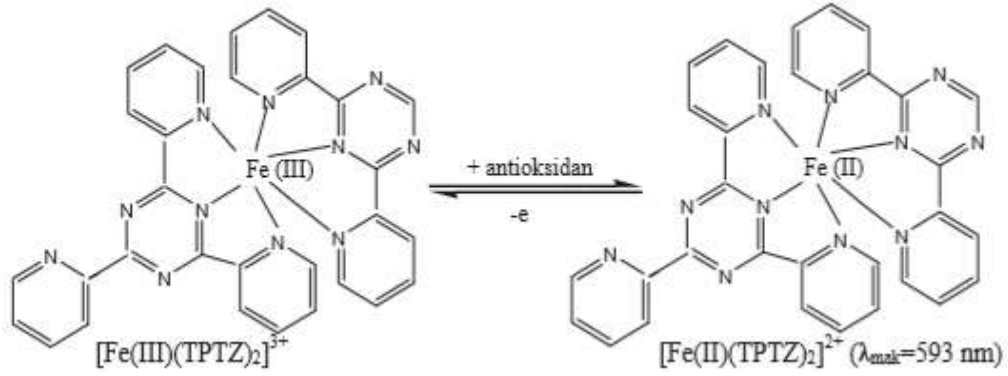
TFM miktarı Arvout-Grand ve arkadaşları (1994) tarafından kullanılan yöntemle göre spektrofotometrik olarak belirlendi (93). Alüminyum klorür'ün (AlCl₃), flavonoller ve flavonların; C-3 veya C-5 hidroksil grupları ve C-4 keto grubu ile kararlı kompleksler oluşturması metodun prensibini oluşturur. TFM, AlCl₃'ün kalorimetrik olarak ölçülmesi esasına dayanır.

2 mg/mL *E. chrysantha* ekstrelerine 1 mL AlCl₃ (%2) eklendi ve karıştırıldı. Kör örneğine 1 mL ekstre ve 1 mL MeOH eklendi. Standart olarak kullanılan kersetin farklı derişimlerde (0.625, 1.25, 2.5, 5 ve 10 mg/mL) hazırlandı. Numuneler 25°C'de 10 dk bekletildi. 415 nm'de absorbans değerleri köre karşı belirlendi. Ekstrelerin flavonoid içerikleri kersetin eşdeğeri (QE) olarak belirlendi. Sonuçlar mg QE/g birimiyle gösterildi.

3.5.3. FRAP Yöntemi

Demir (III) (Fe⁺³)-TPTZ (2,4,6 Tripridil-S-Triazin) bileşiğinin, antioksidanlar eşliğinde mavi renkli olarak Fe(II)-TPTZ'ye redüklenmesi ve Fe(II)-TPTZ'nin 593 nm'de

maksimum absorbans vermesi FRAP metodunun temelini oluşturur (94). Reaksiyon Şekil 5'te gösterilmiştir. FRAP yönteminin en önemli avantajı, basitliği, hızı, ucuzluğu ve sağlamlığıdır. Özel bir ekipman gerektirmez (92).



Şekil 5. FRAP reaksiyonu (Büyüktuncel'den, (92))

E. chrysantha ekstreleri 10 mg/mL derişiminde hazırlandı. Standart troloksun derişimleri (1000, 500, 250, 125, 62.5 µM) olarak hazırlandı. FRAP reaktifi hazırlandı, kullanılmaya başlayıncaya kadar yavaşça karıştırıldı.

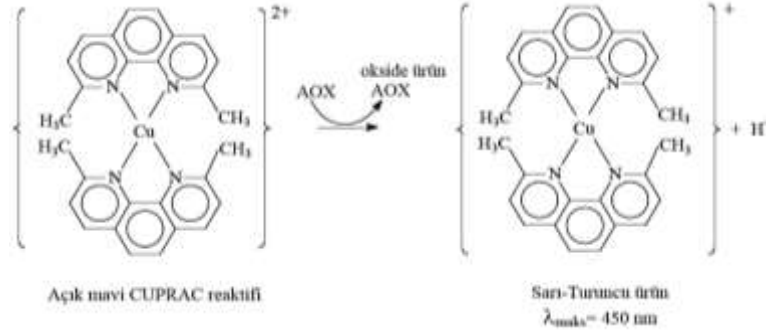
Sonra askorbik asit seyreltilerek 5 farklı konsantrasyon (62.5, 125, 250, 500, 1000 µM) elde edildi. Test ve numune körü sıralarına 50 µL numune çözücüsü, standart tüpüne ise 50 µL troloks çözeltisi, reaktif körüne ise numune/standart çözücülerden 50 µL pipetlendi. Test ve reaktif tüplerine 1.5 mL FRAP reaktifi, numune ve standart tüplerine ise 1.5 mL numune/standart çözücüsü pipetlendi. Vortekslendi. 25°C'de 20 dk bekletildi. 20 dk'sı dolan tüpler alınıp, plastik küvete aktarıldı ve absorbans 595 nm'de okundu. Absorbans 595 nm trolokse karşı grafiğe geçildi. FRAP değeri aşağıdaki gibi hesaplandı (Eşitlik 1):

$$\text{FRAP değeri} = [\text{Numune absorbansının karşılık geldiği (troloks)} \times 2] \mu\text{M} \text{ (Eşitlik 1)}$$

3.5.4. CUPRAC Yöntemi

Bakır (II) iyonu (Cu^{+2}) indirgeme antioksidan kapasitesi Apak ve arkadaşlarının metoduna göre belirlenecektir. Bu metotta, 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin'in Cu(II) ile oluşturduğu Cu(II) -neokuproin bileşiğinin, antioksidanlarla 450 nm'de Cu(I) -neokuproin

kelatine redüklenme özelliğinden faydalanılmıştır. Etkili, hızlı, ucuz ve kolay bir yöntem olduğu için çok tercih edilen bir metottur (95). Reaksiyon Şekil 6’da gösterilmiştir.

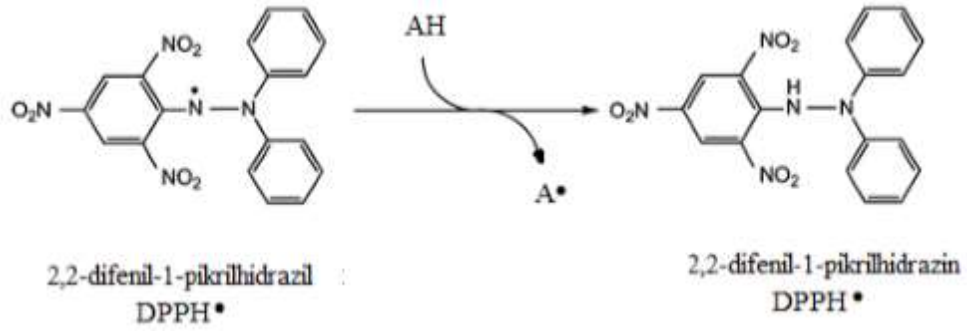


Şekil 6. CUPRAC reaksiyonu (Burnaz Arslan’dan, (96))

E. chrysantha ekstreleri 10 mg/mL hazırlandı. Troloks farklı derişimlerde (62.5, 125, 250, 500, 1000 μM) hazırlandı. Konsantrasyon/absorbans eğrileri oluşturuldu. CUPRAC değeri g numune başına μM olarak belirlendi. Reaktifler ve test çözeltileri hazırlandı. Test ve numune körü sıralarına 500 μL numune çözücüsü, standart körünestandard çözücüsü pipetlendi. Tüm tüplere 1000 μL $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}^-$ ve 1000 μL $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ pipetlendi. Test ve reaktif körüne 1000 μL neokuproin reaktifi, numune/standart körlerine 1000 μL MeOH 20 sn arayla pipetlendi ve vortekslendi. Karanlıkta, 25°C’de 30 dk bekletildi. 30 dk’sı dolan tüp alınıp, plastik küvete aktarıldı ve absorbans 450 nm’de okundu.

3.5.5. DPPH• Radikal Temizleme Aktivitesi

DPPH• bileşiğı lipit peroksidasyonuna sebep olur ve sentetik olarak üretilir. 517 nm’de maksimum absorbans gösteren DPPH• koyu menekşe rengindedir. Bu metot, antioksidanlarla absorbans düşüşüne bağılı maddelerin tespitine dayanır (97). DPPH yöntemi basit ve hızlıdır. Doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar verir. Çok sayıda örnek analizi mikroparka kullanılarak yapılabilir (98). Reaksiyon Şekil 7’de gösterilmiştir.



Şekil 7. DPPH Reaksiyonu (Nacak'tan, (98))

Standart olarak güçlü bir sentetik antioksidan olan BHT, MeOH ile seyreltilerek farklı derişimlerde (0.000625, 0.00125, 0.0025, 0.005, 0.01 mg/mL) hazırlandı. Standart tüpüne 750 µL BHT, test, numune ve reaktif körüne 750 µL numune çözücüsü pipetlendi. Standart, test ve reaktif tüplerine 750 µL DPPH• standart ve numune körüne 750 µL MeOH pipet yardımıyla eklendi. 25°C'de 50 dk bekletildikten sonra 517 nm'de absorbanslar okundu. Sonuçlar grafiğe geçirilip DPPH• miktarını süpüren madde miktarı (SC₅₀) değerleri (mg/mL) hesaplandı.

SC₅₀ değeri çözeltideki radikal miktarını yarıya düşüren numune konsantrasyonudur. 5 farklı derişimdeki (0.000625, 0.00125, 0.0025, 0.005, 0.01 mg/mL) numunenin ölçümleri yapılarak konsantrasyon/absorbans grafikleri oluşturuldu.

Antioksidan kapasitenin belirlenmesinde bu yöntemleri seçmemizin temelini; yaptığımız literatür taramalarında bu yöntemlerin sıkça kullanılıyor olması, fakültemizde daha önce yapılan çalışmalarda başarılı sonuçlar vermiş olmaları, eşdeğer yöntemlere nazaran basit, ucuz ve doğru sonuç veren yöntemler olmaları oluşturmaktadır (99).

3.6. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

3.6.1. Test Mikroorganizmaları

Antimikrobiyal aktivite testleri KTÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı araştırma laboratuvarında yapılmıştır. Bu çalışmada genel olarak bitki ekstratlarının ve sentezlenen kimyasal bileşiklerin antimikrobiyal aktivite tayinlerinde kullanılan ve laboratuvarında -80 °C'de muhafaza edilen standart bakteri ve maya mantarı suşları kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite gram negatif (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853,

Acinetobacter haemolyticus ATCC 19002, *Salmonella thphimurium* ATCC 14028), gram pozitif (*B. subtilis* ATCC 6633, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) ve maya mantarı (*Candida albicans* ATCC 10231) üzerinde incelenmiştir.

E. chrysantha'nın toprak üstü yaprak ve gövde kısımlarının MeOH, H₂O, EtAc ve CHCl₃ ile ekstrakte edilmesi sonucunda elde edilen bitki ekstratları, dimetilsülfoksit'te (DMSO) çözülerek 10 mg/mL'lik stok çözeltiler hazırlandı. Bu ekstratların antimikrobiyal aktiviteleri yukarıda belirtilen referans bakteri şuşları kullanılarak agar kuyucuk ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleri (MİK) kullanılarak test edildi.

3.6.2. Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu

Ekstrelerimizin antimikrobiyal aktiviteleri ilk olarak agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile test edilmiştir (10). Bu yöntemde bakteriler için Mueller Hinton agar (MHA) ile sıvı besiyerleri (MHB), mantarlar için Sabora agar (SDA) kullanıldı. Test edilecek bakterilerin bir gecelik kültürlerinden sıvı besiyeri içinde yaklaşık olarak 10⁶ kob/mL (koloni oluşturan birim) şeklinde dilüsyonları hazırlanmış ve katı besiyerlerine yaygın ekimleri yapılmıştır. Daha sonra besi yerleri üzerinde steril cam boru yardımıyla 2 cm aralıklarla 5 mm çapında kuyucuklar açılmış ve her bir kuyucuğa test edilecek örneklerin 1 mL'de hazırlanmış stok çözeltilisinden 50 µL eklenmiştir. Bakteri ihtiva eden petriler 24 saat, maya ihtiva eden petriler 48 saat 37°C'de etüvde inkübe edildi. İnkübasyon işlemi sonrasında bir cetvel yardımıyla inhibisyon zonları ölçülmüştür. Pozitif kontrol olarak gram negatif bakterilerin tümü ve gram pozitif mikroorganizmalardan *B. subtilis* için gentamisin, *E. faecalis* için siprofiloksasin, *S. aureus* için ampisilin ve *C. albicans* için nistatin; negatif kontrol olarak DMSO kullanılmıştır.

3.6.3. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) Tayini

Agar kuyucuk difüzyon testi sonucunda bitki ekstraktlarının yaklaşık 10 mm ve üzeri zon çapı oluşturan antimikrobiyal etkinlikleri, kantitatif olarak sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile µg/mL olarak test edildi. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi'nin (EUCAST) önerdiği şekilde standartlar temel alınarak uygulandı (100). Bu amaçla bakteriler için MHA ve MHB, maya mantarları için SDA besiyerleri kullanılmıştır.

Sıvı mikrodilüsyon yöntemi için 96 kuyucuklu ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) kitleri kullanılmıştır. Ekstrelerin 0,1 mL'si sıvı besiyerleri kullanılarak seri sulandırılmaları yapılmıştır. İnkübe edilecek mikroorganizmaların bir gecelik kültürlerinden McFarland 0,5 bulanıklığında (10^8 kob/mL) hazırlanıp bu konsantrasyon 1:100 sulandırıldı ve her bir kuyucuğa 0.005 mL mikroorganizma (son test konsantrasyonu 5×10^4 kob/kuyucuk) ilave edildi. Kitler 37°C'de 24 saat süre ile aerobik koşullarda etüvde inkübe edildi. Mikrodilüsyon kuyucuklarındaki mikroorganizmanın üremesi tamamen engellendi ve çıplak gözle belirlenebilen en düşük antimikrobiyal madde konsantrasyonu olarak MİK değeri belirlendi. Minimal bakterisit konsantrasyonunu belirlemek için üreme olmayan kuyucuklardaki dilüsyon alınıp agar plakalara ekildi ve 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Pozitif kontrol olarak *B. subtilis* için gentamisin, negatif kontrol olarak DMSO kullanıldı.

3.7. Tirozinaz Enzim İnhibitör Aktivite Tayini

L-DOPA substratı ve dopakrom yardımıyla örneklerin tirozinaz enzim inhibitör aktivitesi belirlendi (101). Bu amaçla mikro plakadaki kuyucuklara 25 µL örnek çözelti ve 100 µL fosfat tamponu (pH 6.8) eklendi. Bu karışım 15 dk 25°C'de inkübe edildi, sonrasında 40 µL L-DOPA ilave edildi. Aynı şekilde hazırlanmış tepkime reaktiflerine örnek çözelti eklenerek kör hazırlandı. Körlerin ve örneklerin absorbansları 10 dakika 25°C'de inkübe edilmesinden sonra 492 nm'de okundu. Körlerin absorbansları örneklerin absorbanslarından çıkarılarak gerçek absorbanslar elde edildi ve bu değerlerin yarısı, yarı maksimum inhibitör konsantrasyonu (IC_{50}) değerlerini oluşturuldu.

3.8. AChE Enzim İnhibisyon Aktivitesi Yöntemi

Ellman metodu; Asetilkolinin AChE tarafından tiyokoline parçalanması sonrası, tiyokolinin 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) ile reaksiyon vermesi sonucunda, sarı renkli 5- tiyo-2-nitrobenzoat anyonunu oluşturduğu kolorimetrik bir yöntemdir. Deneyimiz, 96 kuyucuklu mikropalakalar kullanılarak yapıldı (102).

AChE enzim inhibisyon aktivitesini belirlemek için, asetilkolin iyodür substrat olarak, AChE enzim olarak, galantamin standart olarak kullanıldı. Mikropalaka kuyucuklarına; MeOH ile 0.5 mM konsantrasyonda hazırlanan örnek çözeltilerinden 10 µL, 130 µL fosfat tamponu (pH 8) ve enzim çözeltisinden 20 µL eklendi. Bu solüsyon 10 dk boyunca 25°C'de inkübe edildi. Sonrasında 20 µL substrat ve 20 µL DTNB reaktifi her kuyucuğa eklendi. Mikropalaka okuyucuya yerleştirilerek 412 nm dalga boyunda absorbans

okundu. Tüm bileşiklerin 25 µg/mL'den 200 µg/mL'ye kadar seyreltilmiş çözeltileri hazırlandı. IC₅₀ değerleri de hesaplandı.

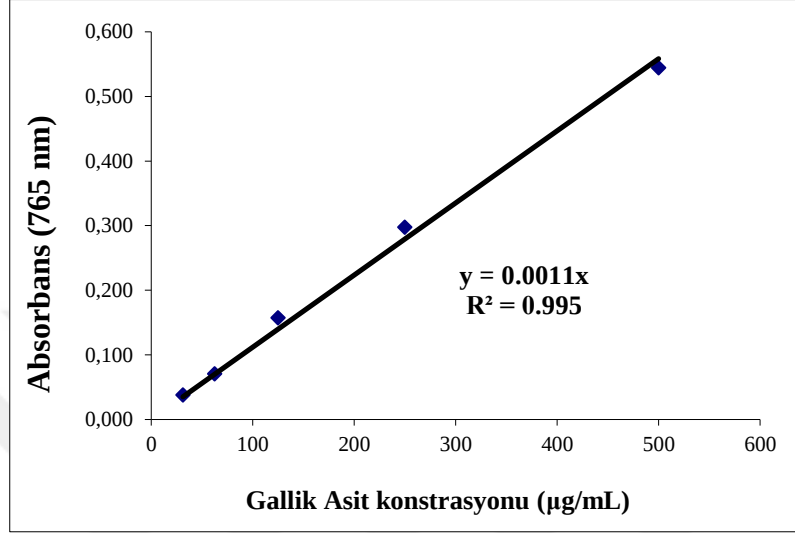
3.9. BChE Enzim Aktivitesi Yöntemi

BChE enzim inhibisyon aktivitesini belirlemek için, bütirilkolin iyodür substrat olarak, BChE enzim olarak, galantamin standart olarak kullanıldı. Mikroplaka kuyucuklarına; MeOH ile 0.5 mM konsantrasyonda hazırlanan örnek çözeltilerinden 10 µL, 130 µL fosfat tamponu (pH 8) ve enzim çözeltisinden 20 µL eklendi. Bu solüsyon 10 dk boyunca 25°C'de inkübe edildi. Sonrasında 20 µL substrat ve 20 µL DTNB reaktifi her kuyucuğa eklendi. Mikroplaka okuyucuya yerleştirilerek 412 nm dalga boyunda absorbanslar belirlendi. Tüm bileşiklerin 25 µg/mL'den 200 µg/mL'ye kadar seyreltilmiş çözeltileri hazırlandı. IC₅₀ değerleri de hesaplandı.

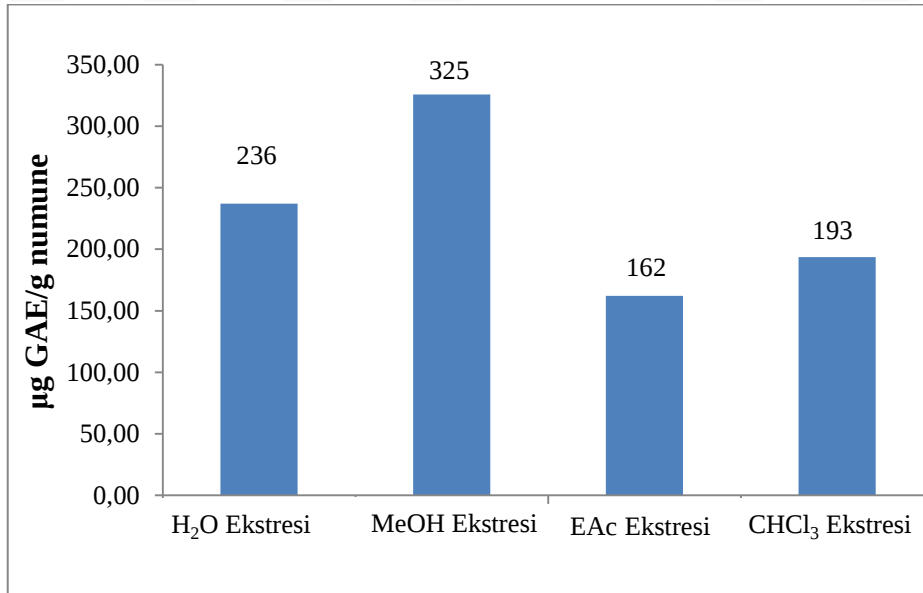
4. BULGULAR

4.1. TFM Miktarı Tayini Sonuçları

Yaptığımız çalışmada TFM miktarı tayini sonuçları Şekil 8-9'da gösterilmiştir.



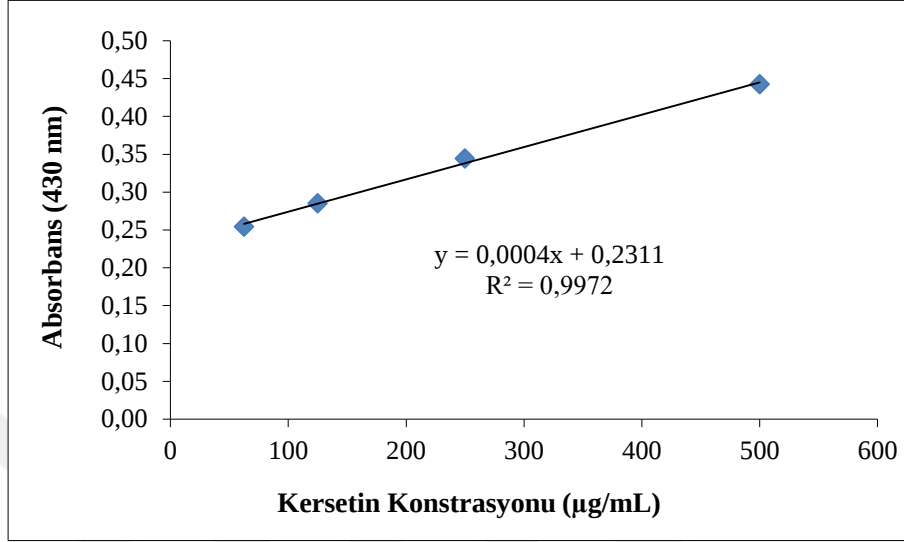
Şekil 8. Gallik asit standardı kullanılarak hazırlanmış standart çalışma grafiği



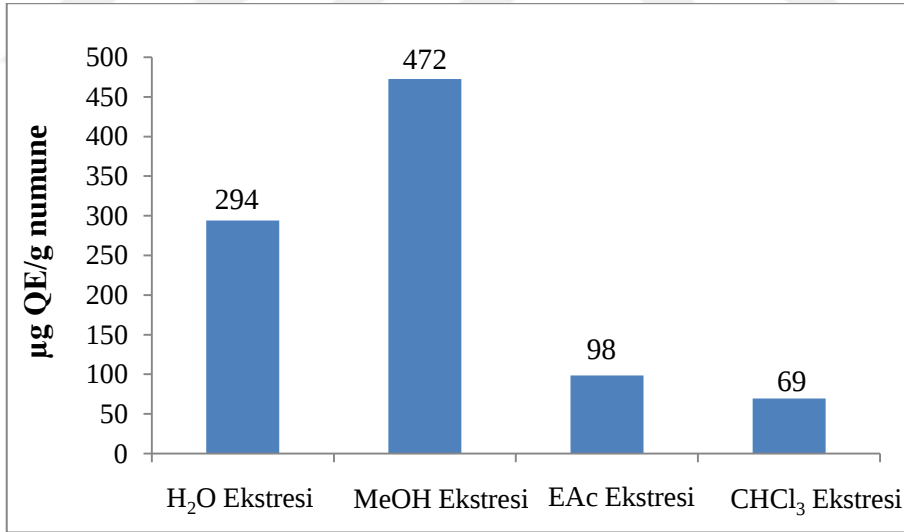
Şekil 9. *E. chrysantha* ekstraktlarının TFM miktarı değerleri

4.2. TFİM Miktarı Tayini

Yaptığımız çalışmada TFİM miktarı tayini değeri Şekil 10-11’de gösterilmiştir.



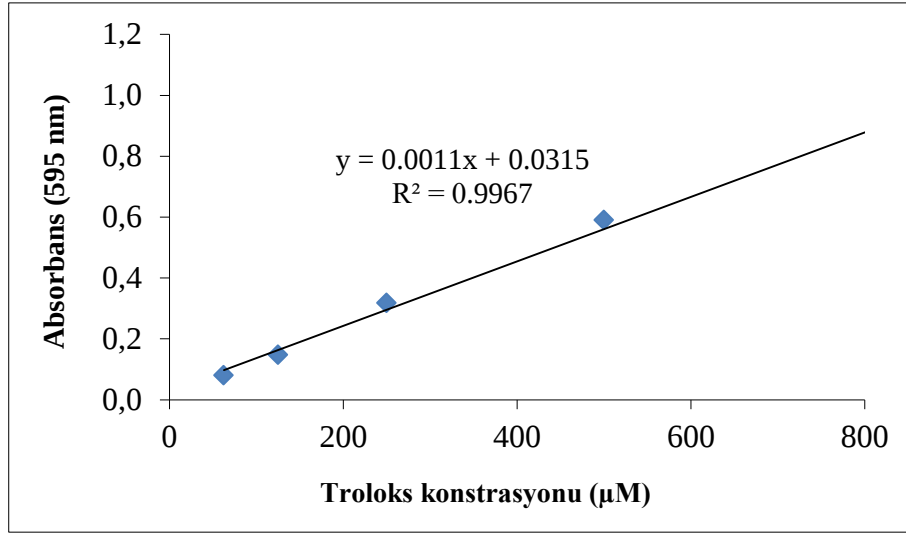
Şekil 10. Kersetin standardı ile hazırlanmış olan standart çalışma grafiği



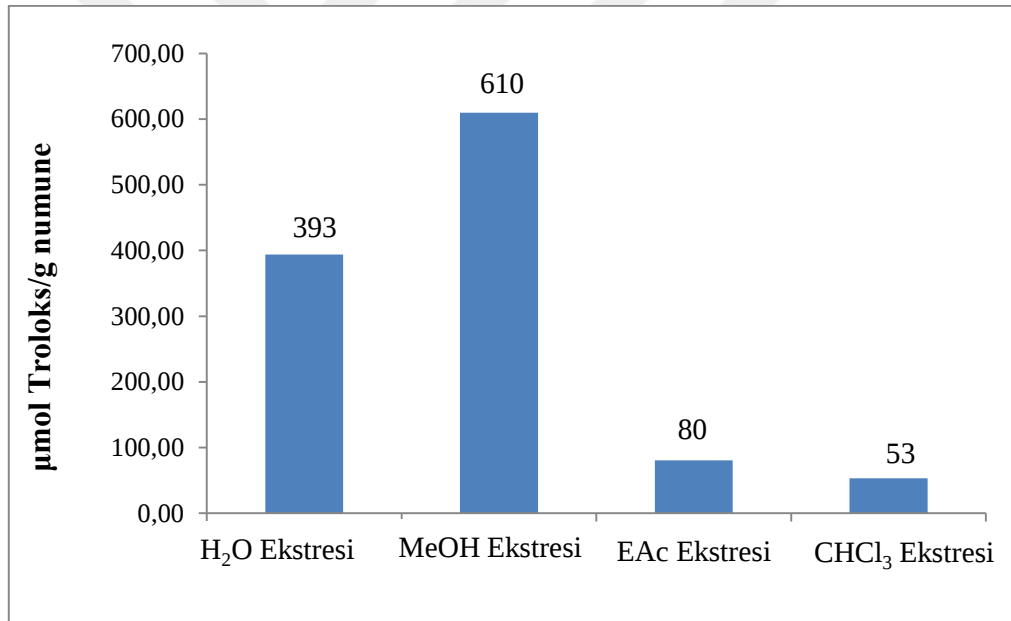
Şekil 11. *E. chrysantha* ekstraktlarının TFİM miktarı değerleri

4.3. FRAP Tayin Sonuçları

Yaptığımız çalışmada FRAP değeri Şekil 12-13’te gösterilmiştir.



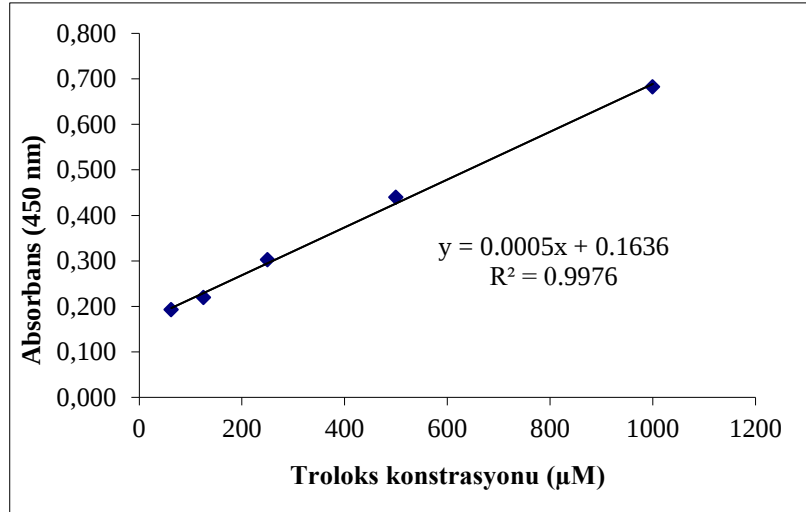
Şekil 12. Trolox standardı kullanılarak hazırlanmış olan standart çalışma grafiği



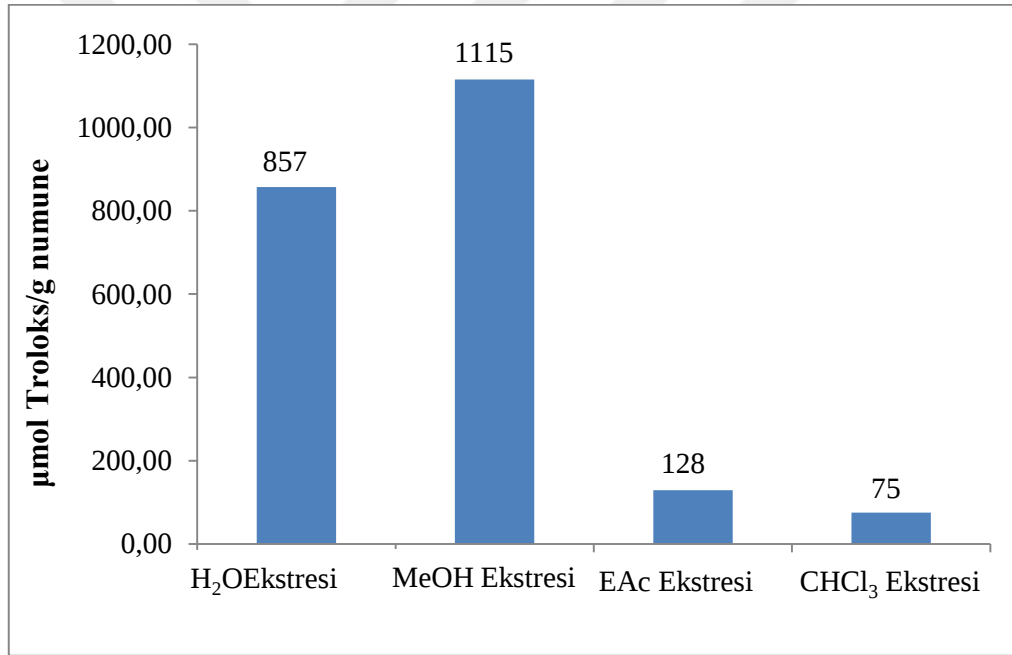
Şekil 13. *E. chrysantha* ekstrelerinin FRAP değeri

4.4. CUPRAC Tayin Sonuçları

Yaptığımız çalışmada CUPRAC değeri Şekil 14-15'te gösterilmiştir.



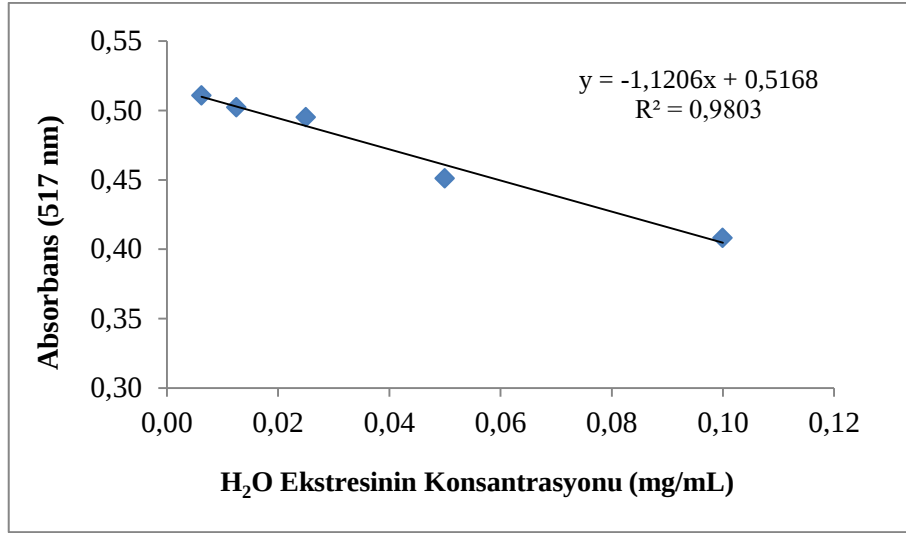
Şekil 14. Troloks standardı ile elde edilmiş standart çalışma grafiği



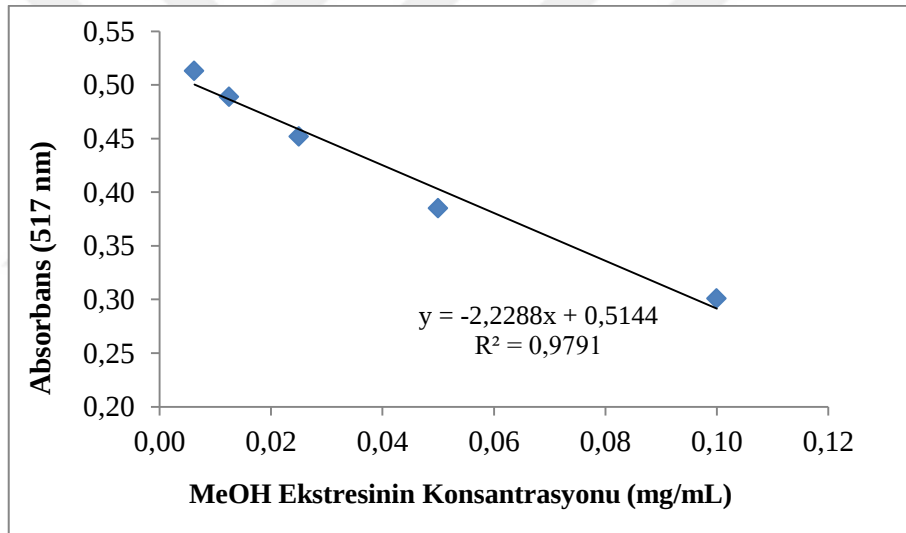
Şekil 15. *E. chrysantha* ekstraktlarının CUPRAC değerleri

4.5. DPPH• Radikali Temizleme Aktivitesi Tayini Sonuçları

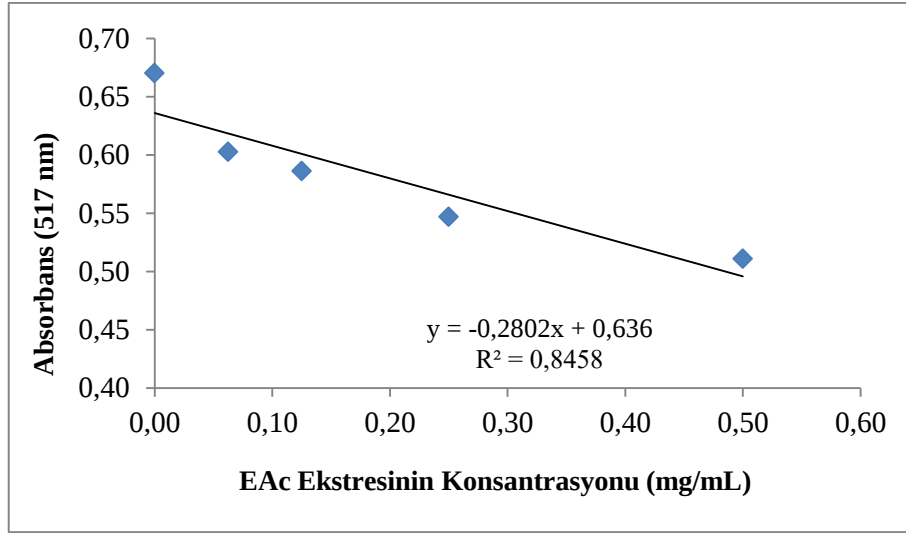
DPPH• Radikali Temizleme Aktivitesi Tayini sonucu olarak 4 ekstrenin absorbans/konsantrasyon grafikleri Şekil 16-19'da; standart olarak kullanılan BHT'nin absorbans/konsantrasyon grafiği Şekil 20'de verilmiştir.



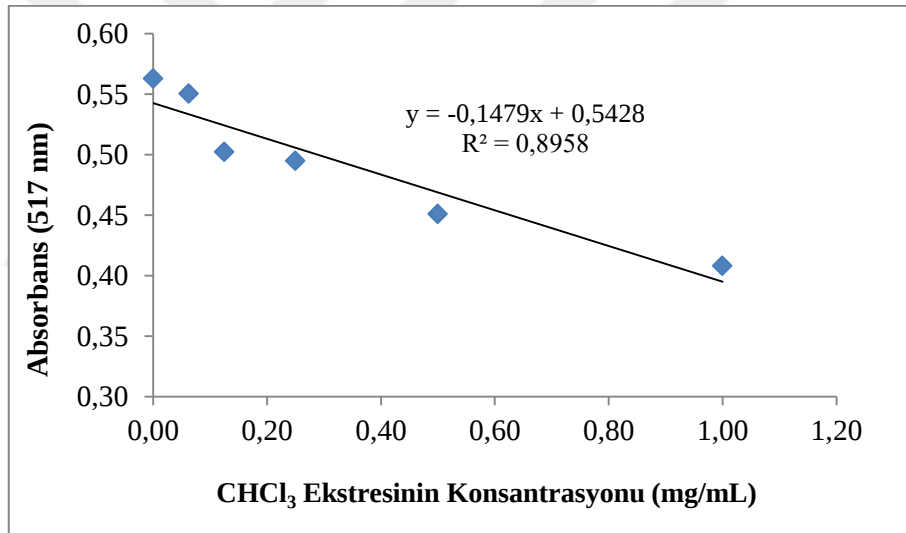
Şekil 16. *E. chrysantha* H₂O ekstresinin absorbans/konstrasyon grafiği



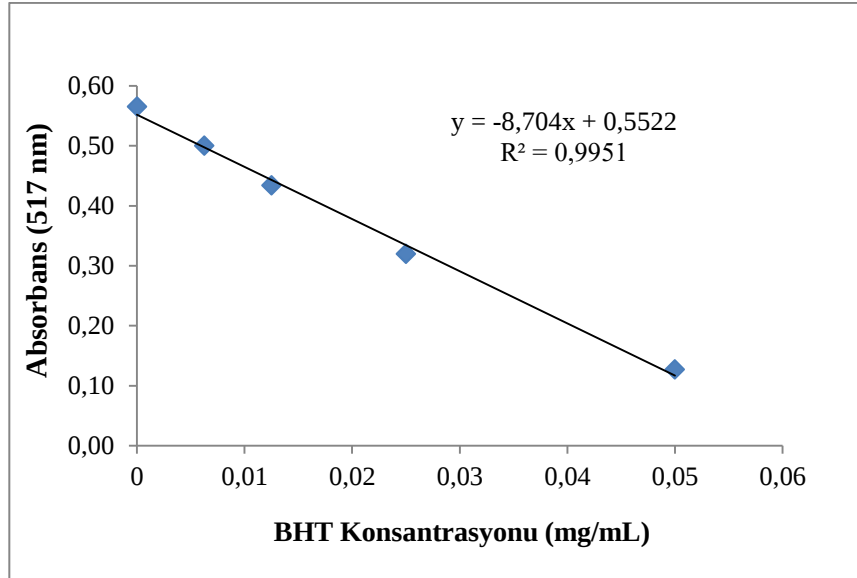
Şekil 17. *E. chrysantha* MeOH ekstresinin absorbans/konstrasyon grafiği



Şekil 18. *E. chrysantha* EtAc ekstresinin absorbans/konstrasyon grafiği



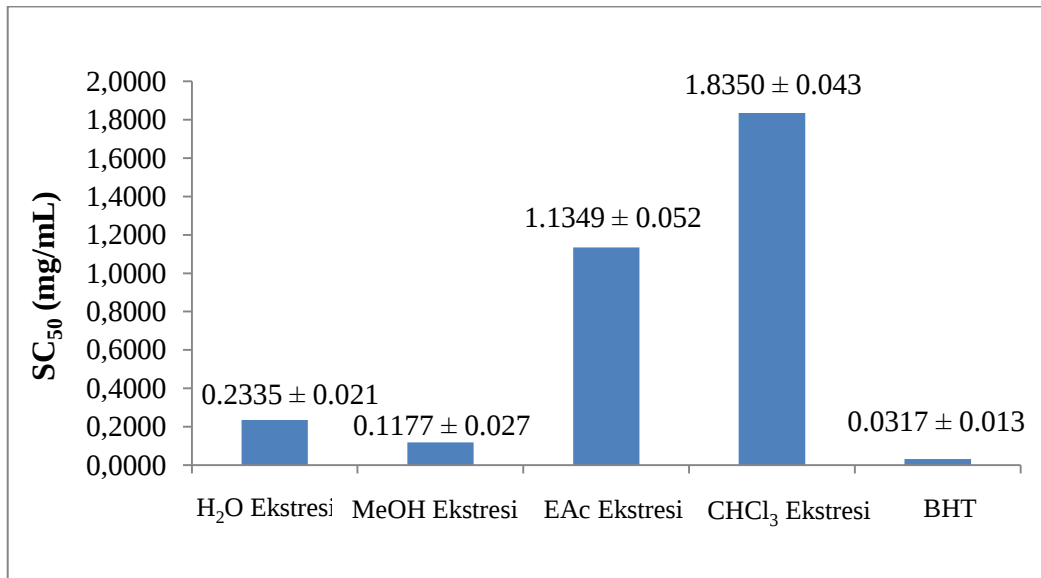
Şekil 19. *E. chrysantha* CHCl₃ ekstresinin absorbans/konstrasyon grafiği



Şekil 20. BHT standardının absorpsiyon/konsantrasyon grafiği

4.5.1. SC₅₀ Değerinin Sonucu

DPPH• yöntemine göre *E. chrysantha* ekstralarının ve BHT'nin SC₅₀ değerleri Şekil 21'de verilmiştir.



Şekil 21. *E. chrysantha* ekstralarının ve BHT'nin SC₅₀ değerleri

4.6. Antimikrobiyal Aktivite Tayini Sonuçları

*E. chrysanth*a ekstralarının ve kullanılan standart antibiyotiklerin antimikrobiyal aktivite sonuçları Tablo 11’de, sonuç veren mikroorganizmanın sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile oluşturduğu MİK konsantrasyonu Tablo 12’de verilmiştir.

Tablo 11. *E. chrysanth*a ekstralarının agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile oluşturduğu inhibisyon çapları

Ekstreler	Mikroorganizmalar ve Zon Çapları (mm)								
	Gram pozitif				Gram negatif				Mantar
	Bs	Ef	Sa	Ec	Pa	Kp	Ah	St	Ca
H ₂ O ekstresi	7	7	7	7	7	7	7	7	7
MeOH ekstresi	11	7	7	7	7	7	7	7	7
EtAc ekstresi	12	7	7	7	7	7	7	7	7
CHCl ₃ ekstresi	12	7	7	7	7	7	7	7	7
PK									
Gentamisin	24	7	7	18	17	19	16	15	7
Siprofloksasin	7	23	7	7	7	7	7	7	7
Ampisilin	7	7	24	7	7	7	7	7	7
Nistatin	7	7	7	7	7	7	7	7	16
NK	7	7	7	7	7	7	7	7	7

Ah: *A. haemolyticus*, Ca: *C. albicans*, Bs: *B. subtilis*, Ef: *E. faecalis*, Ec: *E. coli*, Kp: *K. pneumoniae*, Pa: *P. aeruginosa*, St: *S. thymophilum*, Sa: *S. aureus*, PK: Pozitif kontrol, NK: Negatif kontrol

Tablo 12. *E. chrysanth*a ekstralarının *B. subtilis*’e karşı minimum inhibisyon konsantrasyonları

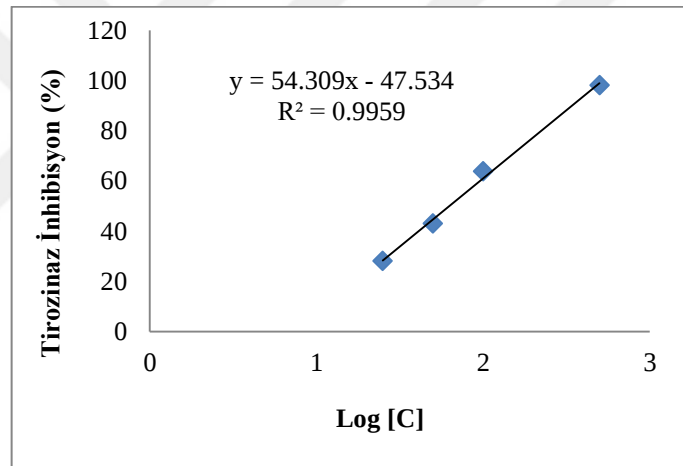
Ekstreler	Mikroorganizma ve MİK Değeri (µg/mL)
H ₂ O ekstresi	-
MeOH ekstresi	>2500
EtAc ekstresi	>2500
CHCl ₃ ekstresi	1250
Pozitif kontrol	
Gentamisin	2
Siprofloksasin	-
Ampisilin	-
Nistatin	-
Negatif kontrol	>2500

4.7. Tirozinaz İnhibitör Aktivite Sonuçları

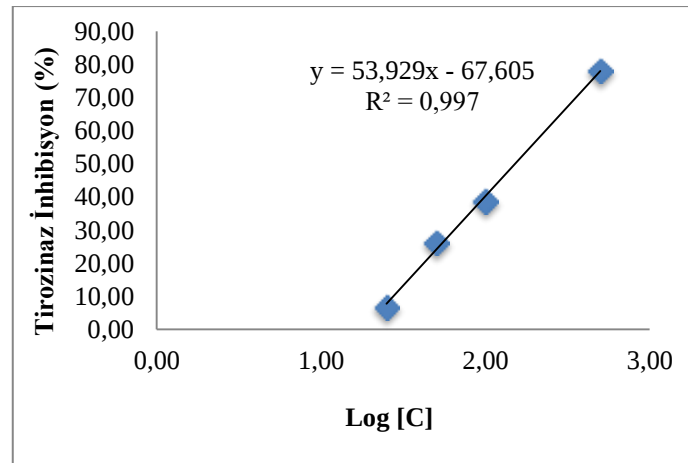
E. chrysantha ekstrelerinin tirozinaz inhibitör aktivite sonuçları Tablo 13 ve Şekil 22-27’de verilmiştir.

Tablo 13. *E. chrysantha* ekstrelerinin ve kojik asitin IC₅₀ değerleri

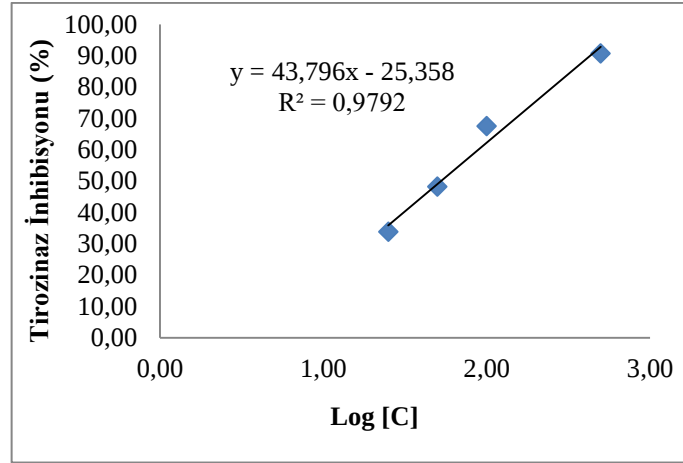
Numuneler	IC ₅₀ (µg/mL)
Kojik asit	61
H ₂ O ekstresi	151
MeOH ekstresi	52
EtAc ekstresi	>1000 (1288.25)
CHCl ₃ ekstresi	>1000 (1548.82)



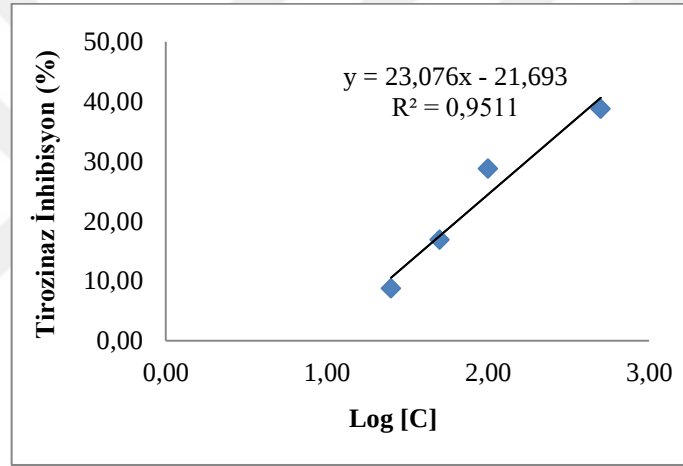
Şekil 22. Kojik asit standardının % tirozinaz inhibisyonu



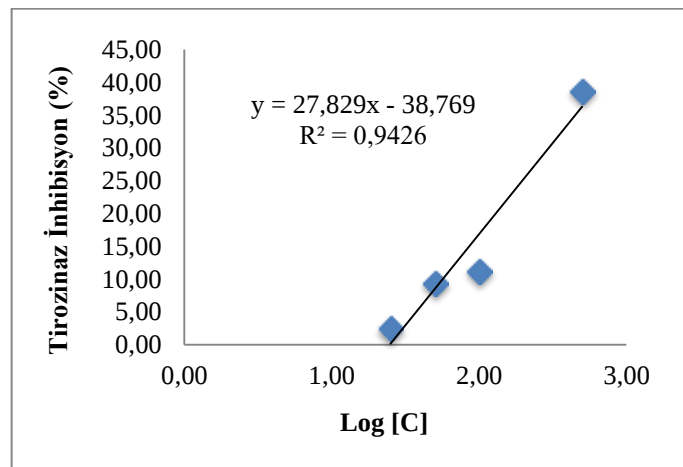
Şekil 23. *E. chrysantha* H₂O ekstresinin % tirozinaz inhibisyonu



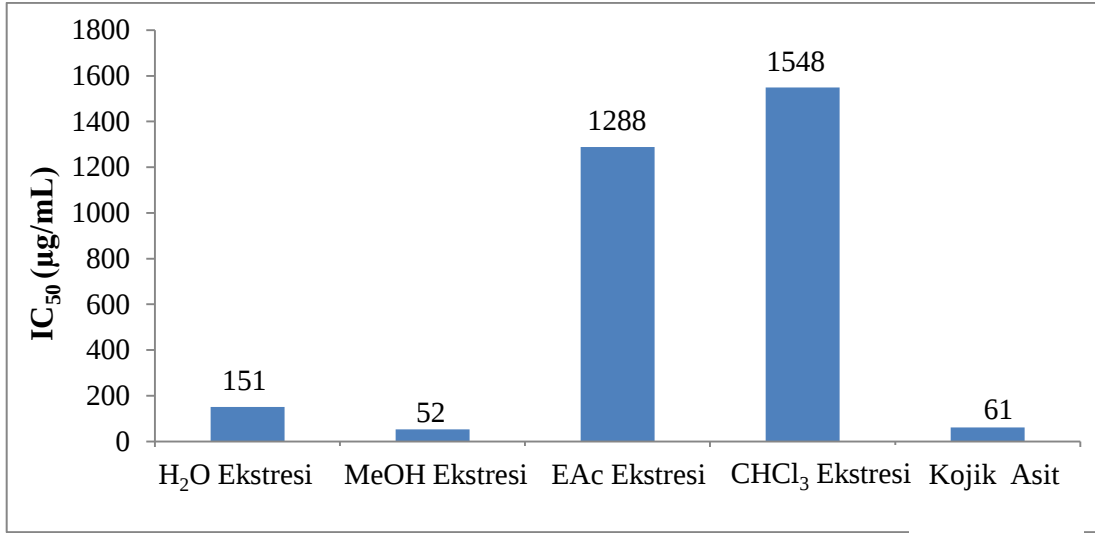
Şekil 24. *E. chrysantha* MeOH ekstresinin % tirozinaz inhibisyonu



Şekil 25. *E. chrysantha* EtAc ekstresinin % tirozinaz inhibisyonu



Şekil 26. *E. chrysantha* CHCl_3 ekstresinin % tirozinaz inhibisyonu



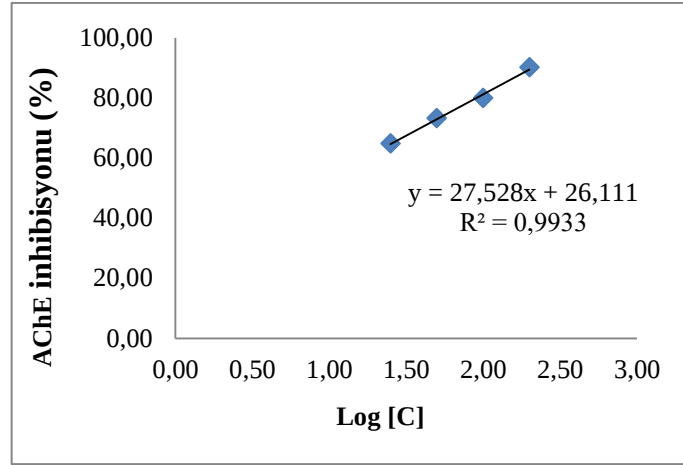
Şekil 27. *E. chrysantha* ekstrelerinin ve kojik asit standardının IC₅₀ değerleri

4.8. AChE İnhibitör Aktivite Sonuçları

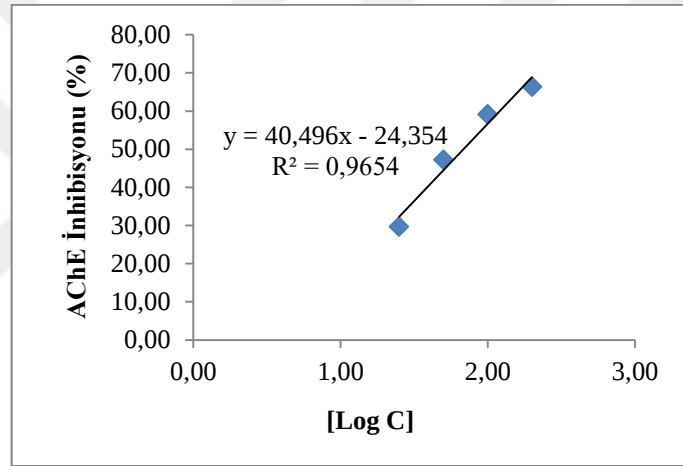
AChE tayininde bulunan enzim aktivitesi % inhibisyon sonuçları Tablo 14, Şekil 28-33' te verilmiştir.

Tablo 14. AChE enzim aktivitesi % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri

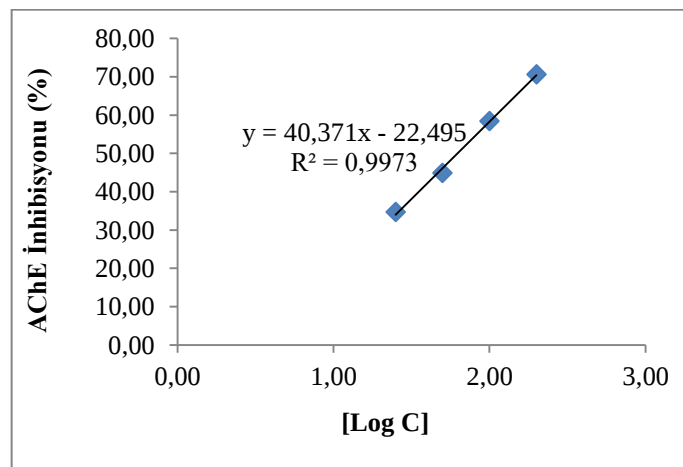
Numuneler	Konsantrasyon (µg/mL)	% İnhibisyon	IC ₅₀ (µg/mL)
H ₂ O ekstresi	25	29.638 ± 3.025	69
	50	47.147 ± 0.590	
	100	59.096 ± 2.572	
	200	66.290 ± 2.123	
MeOH ekstresi	25	34.661 ± 3.018	61
	50	44.923 ± 0.870	
	100	58.432 ± 1.038	
	200	70.667 ± 2.347	
EtAc ekstresi	25	22.139 ± 2.039	537
	50	29.709 ± 1.287	
	100	34.464 ± 2.334	
	200	41.191 ± 3.712	
CHCl ₃ ekstresi	25	17.241 ± 2.312	602
	50	25.027 ± 1.261	
	100	30.875 ± 2.473	
	200	38.931 ± 3.565	
Galantamin	25	64.783 ± 1.379	7
	50	73.233 ± 3.212	
	100	79.889 ± 1.781	
	200	90.187 ± 2.423	



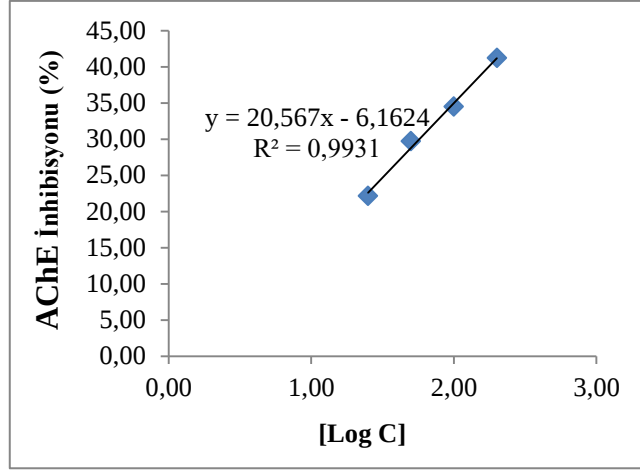
Şekil 28. Galantamin standardının % AChE inhibisyonu



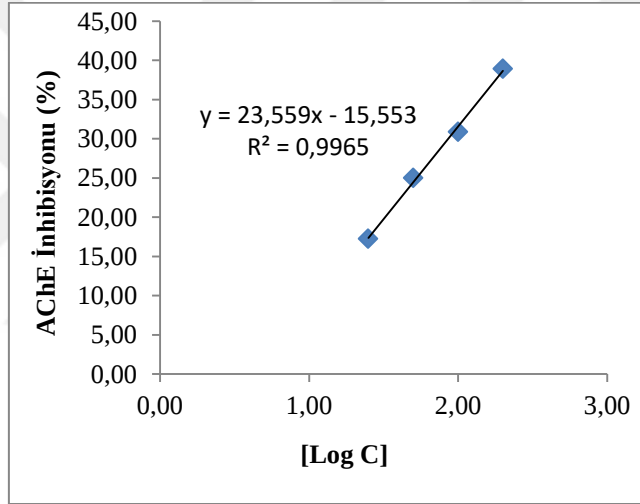
Şekil 29. *E. chrysantha* H₂O ekstresinin % AChE inhibisyonu



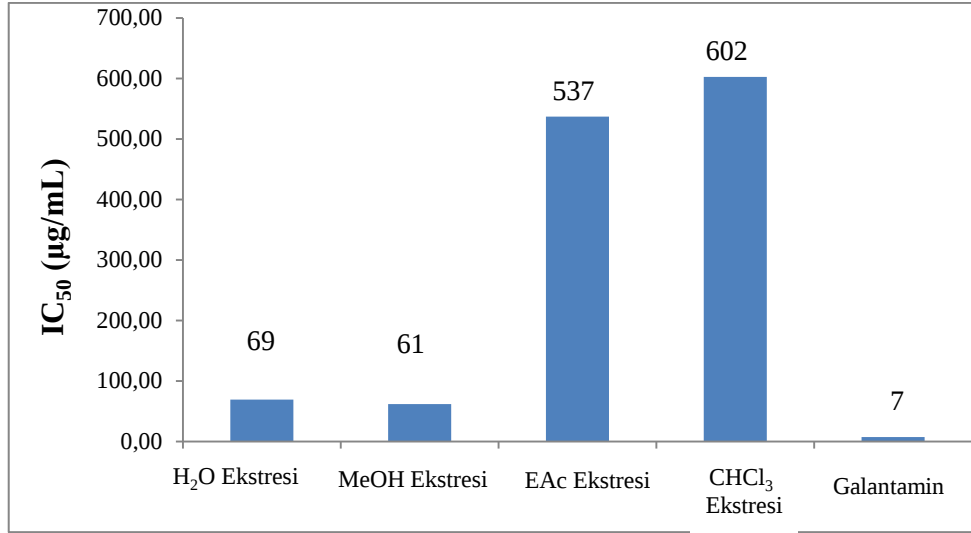
Şekil 30. *E. chrysantha* MeOH ekstresinin % AChE inhibisyonu



Şekil 31. *E. chrysantha* EtAc ekstresinin % AChE inhibisyonu



Şekil 32. *E. chrysantha* CHCl₃ ekstresinin % AChE inhibisyonu



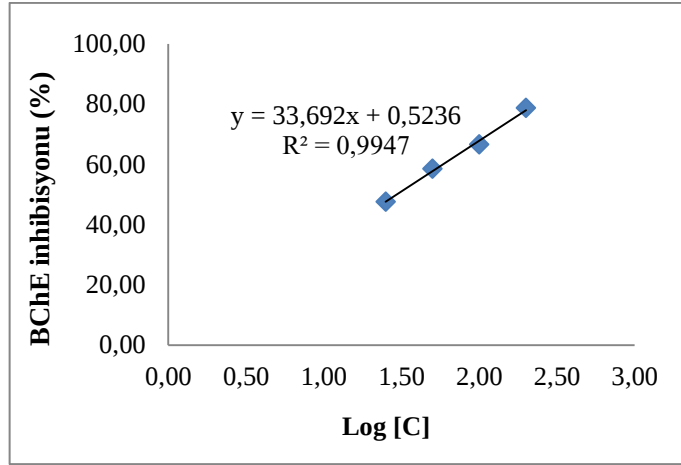
Şekil 33. *E. chrysantha* ekstralarının ve galantamin standardının IC₅₀ değeri

4.9. BChE İnhibitör Aktivite Sonuçları

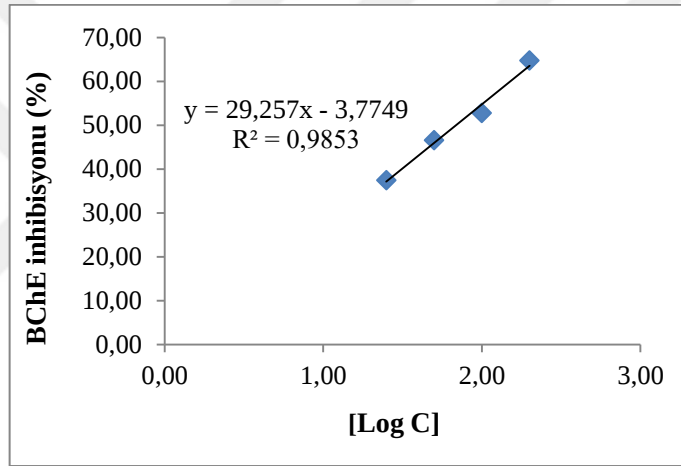
BChE tayininde bulunan enzim aktivitesi % inhibisyon değeri Tablo 15, Şekil 34-39’da verilmiştir.

Tablo 15. BChE enzim aktivitesi % inhibisyon ve IC₅₀ değeri

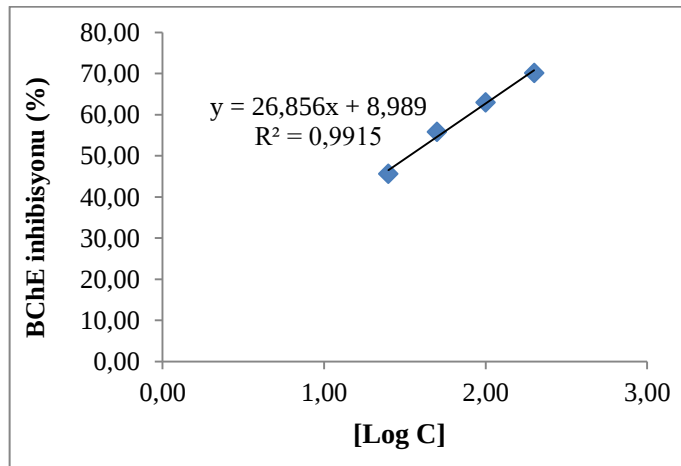
Numuneler	Konsantrasyon (µg/mL)	% İnhibisyon	IC ₅₀ (µg/mL)
H ₂ O ekstresi	25	37.401 ± 1.419	67
	50	46.524 ± 2.367	
	100	52.725 ± 1.429	
	200	64.692 ± 1.372	
MeOH ekstresi	25	45.616 ± 1.243	33
	50	55.845 ± 1.289	
	100	62.994 ± 1.709	
	200	70.182 ± 1.038	
EtAc ekstresi	25	27.765 ± 2.369	147
	50	35.434 ± 1.326	
	100	44.984 ± 2.347	
	200	53.752 ± 3.546	
CHCl ₃ ekstresi	25	27.212 ± 2.364	229
	50	35.269 ± 3.258	
	100	39.731 ± 3.249	
	200	49.250 ± 2.369	
Galantamin	25	47.551 ± 2.314	29
	50	58.531 ± 1.987	
	100	66.588 ± 1.963	
	200	78.673 ± 2.351	



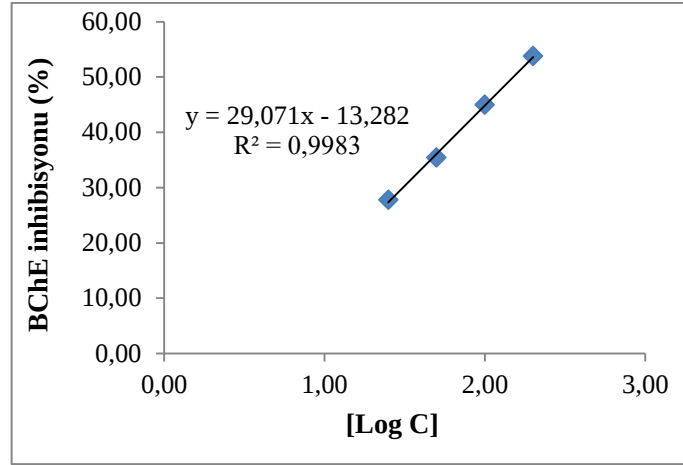
Şekil 34. Galantamin standardının % BChE inhibisyonu



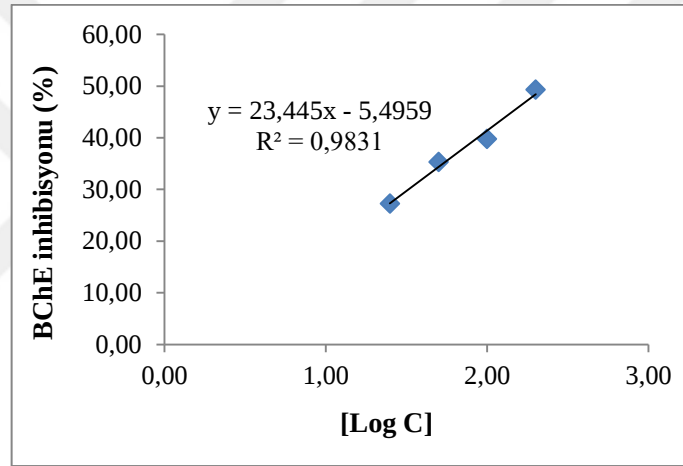
Şekil 35. *E. chrysantha* H₂O ekstresinin % BChE inhibisyonu



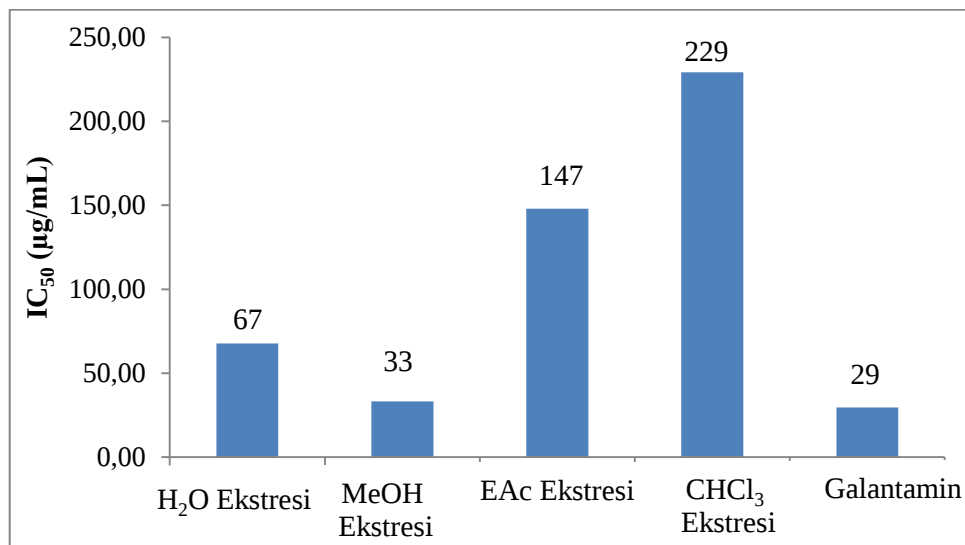
Şekil 36. *E. chrysantha* MeOH ekstresinin % BChE inhibisyonu



Şekil 37. *E. chrysantha* EtAc ekstresinin % BChE inhibisyonu



Şekil 38. *E. chrysantha* CHCl₃ ekstresinin % BChE inhibisyonu



Şekil 39. *E. chrysantha* ekstrlerinin ve galantamin standardının IC₅₀ değerleri

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Ülkemiz bitkisel açıdan ve özellikle endemik bitkiler açısından zengin bir floraya sahip ülkelerden biridir. Bitki türünün bu denli zengin olması, hastalıkların tedavisinde kullanılabilecek bitkilerin araştırılmasına yönelik bilimsel çalışmaların önemini artırmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalara göre, bitkilerden elde edilen biyoaktif moleküllerin insan sağlığı üzerinde yararlı etkileri oldukça fazladır. Bu konu ile ilgili geniş çapta araştırmalar yapılmaktadır. Özellikle sentetik antioksidanların yerini alabilecek doğal antioksidanların bulunması amacıyla tıbbi bitkiler, sebze ve meyveler üzerinde çok sayıda araştırmalar yürütülmektedir. Kanser, dejeneratif hastalıklar ve kardiyovasküler hastalıklar gibi çeşitli hastalıklara karşı doğal antioksidanların serbest radikallerle mücadele edip metabolizmayı koruduğu bilinmektedir (103).

Bitkilerde sekonder metabolit olarak bilinen bileşiklerden fenolik bileşikler, bitkilerin çeşitli kısımlarında bulunurlar (104). Günümüze kadar yaklaşık 4000'i aşkın bitkisel fenolik bileşiğin yapısı incelenip aydınlatılmış olmasına rağmen bu fenolik bileşiklere sürekli olarak yenileri ilave olmaktadır (105).

E. chrysantha ekstrelerinde TFM miktarı, TFIM miktarı, FRAP, CUPRAC, DPPH' ve antimikrobiyal aktivite ile fenolik yapısının belirlenmesine ait literatürde çok az sayıda çalışmaya rastlanmıştır (106). Bu sebepten dolayı tartışmamızda farklı *Echinophora* türleriyle yapılan araştırmalara yer verilmiştir. Çalışmamızda TFM ve TFIM miktarları sırasıyla MeOH ekstresi > H₂O ekstresi > CHCl₃ ekstresi > EtAc ekstresi şeklinde bulunmuştur. Özellikle *E. chrysantha* MeOH ekstresinde TFM ve TFIM miktarları sırasıyla 325 µg GAE/g numune 472 µg QE/g numune olarak bulunmuştur. Mileski ve arkadaşları (2014) *E. sibthorpiana* bitkisinden hazırlanan MeOH, etanol ve H₂O ekstrelerinde TFM ve TFIM miktarlarının sırasıyla 38-60 mg GA/g, 3.15-19 mg QE/g aralığında bulunduğunu belirtmişlerdir (107). Pirbalouti ve arkadaşları (2013) *E. platyloba* MeOH ekstresinin TFM ve TFIM miktarlarını sırasıyla 74 TAN/g ekstrakt, 14 mg rutin/g ekstrakt olarak bulmuşlardır (108). Çalışmalarda gözlenen bu farklı sonuçlar bitkinin yetiştirildiği bölgeye, bitkinin içerdiği bileşenlerin farklı olmasına, hasat zamanına ve değişik ekstrelerin kullanılmasına bağlı olduğu düşünülebilir.

Doğal antioksidanların aktiviteleri ile onların biyofonksiyonları yakından ilişkilidir. Kronik hastalıkların, mutasyonların, patojenik bakteriyel gelişiminin inhibisyonu, DNA

hasarlarının ve karsinogenezin azaltılması, biyolojik sistemlerdeki serbest radikal gelişiminin azaltılması ve sonlandırılması ile yakından ilişkili olduğu bilinmektedir.

Bu çalışmanın temel amacı *E. chrysanth* bitkisinin farmasotik değerinin ön plana çıkarılması, antioksidan, antimikrobiyal ve enzim inhibitör aktivitelerinin belirlenerek terapötik potansiyelinin açığa çıkarılması ile doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılabilirliğinin araştırılması amaçlanmaktadır.

Son yıllarda antioksidan aktivite gösteren tıbbi bitkilerin beslenme ve gıda alanlarındaki kullanımları hakkında çok sayıda çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar halen oldukça yoğun bir tempoda devam etmektedir. Bunun sebepleri arasında bitkilerin birer antioksidan olarak bilinen karotenoit, fenolik ve flavonoid bileşik içeriği açısından zengin olmaları ile bu bileşiklerin ortaya çıkarabileceği herhangi bir yan etkiye sahip olmamaları sayılabilir (109).

Tıbbi bitkilerin ya da onlardan izole edilen etken maddelerin biyolojik aktivite kapasitelerinin açığa kavuşturulması oldukça önem taşımaktadır. Antioksidan aktivite belirlenmesi için kullanılan metotlardan, toplam indirgeme kapasitesinin belirlenmesi, serbest ya da iyonik radikallerin giderilmesi ve metal şelatlama aktivitesi gibi metotlar oldukça sık kullanılmaktadır (110).

Yiyeceklerin antioksidan bileşenlerinin ve antioksidan kapasitelerinin bilinmesi beslenme ve tıp uzmanlarını ilgilendirdiği kadar besin ve sağlık alanındaki araştırmacıların da ilgi konusu olmuştur. Besinler çok sayıda bileşen içererek kompleksliği nedeniyle yapısındaki antioksidan bileşiklerin tek tek izole edilmesi ve tayin edilmesi hem zaman alıcı hem de pahalıdır. Bir karışımda bulunan antioksidan bileşiklerin gösterebileceği muhtemel sinerjik ilişkileri göz önünde bulundurulduğunda total antioksidan kapasiteyi ölçebilecek yöntemler oldukça önem kazanmaktadır.

İnsan sağlığı üzerine serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek için gıda, eczacılık ve tıp alanında antioksidan maddelerin kullanımı gittikçe yaygınlaşmaktadır. Antioksidan özellik gösteren maddelerin serbest radikalleri giderici aktiviteleri çok yüksektir. Birçok eksojen ve endojen sebeplerden dolayı serbest radikaller ortaya çıkmaktadır. Özellikle gıda sektöründe ürünlerde lipid peroksidasyonun meydana gelmesi ürünün sağlık kalitesini azaltmaktadır.

Son yıllarda yeni doğal antioksidan kaynaklarını keşfetmek ve serbest radikallerin ortadan kaldırılmasını ölçmek için çok sayıda antioksidan yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemlerden; metal iyonları indirgeme kapasitesi (CUPRAC ve FRAP), tiyosiyanat yöntemi, ABTS•+ katyon radikali giderme aktivitesi, DPPH• serbest radikal giderme aktivitesi, PMS-NADH-NBT sistemi, DMPD•+ giderme aktivitesi, süperoksit anyon radikalleri giderme aktivitesi gibi metodlar en sık kullanılan metotlardır. Bu antioksidan metotların uygulamalarının kolay olması, analizlerin kısa sürede uygulanabilirliği ve hassas olmaları gibi avantajlarından dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır (111).

Antioksidan aktivite tayin metotları, bitkiler ve bitkilerden izole edilen etken maddelerin biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi açısından yaygın olarak kullanılmaktadır (112).

Çalışmamızda antioksidan aktivite tayin metotlarından FRAP metoduna göre ferrik iyonlarını indirgeme kapasitesi, CUPRAC metoduna göre kuprik iyonlarını indirgeme kapasitesi ve DPPH• serbest radikal giderme aktivitesi düzeylerine bakılmıştır.

FRAP metodu, antioksidan özellik gösteren maddelerin elektron transferi yapması ve indirgeyici özellikler göstermesi prensibine dayanmaktadır. İndirgeyici antioksidanlar, oksidan maddeleri indirgeyerek onların oluşturabilecekleri zararlı etkileri azaltırlar. Araştırma sonuçlarımızın MeOH ekstresi > H₂O ekstresi > EtAc ekstresi > CHCl₃ ekstresi şeklinde Fe⁺³ indirgeyici kapasitesine sahip olduğunu ve bu sebepten elektron verebilme özelliği taşıdığını görmekteyiz. Buna göre özellikle MeOH ekstremizin aktif serbest radikalleri inaktif ederek, serbest radikal zincirini sonlandırabileceği düşünülebilir. Pirbalouti ve arkadaşları (2013) *E. platyloba*'nın MeOH ekstresinde FRAP değerini 1.15 ± 0.078 mg/mL olarak bulmuşlardır (108).

CUPRAC metoduna göre araştırma sonuçlarımızın MeOH ekstresi > H₂O ekstresi > EtAc ekstresi > CHCl₃ ekstresi şeklinde Cu⁺² indirgeyici kapasitesine sahip olduğunu ve bu sebepten elektron verebilme özelliği taşıdığını görmekteyiz.

DPPH• metodunda kullanılan organik yapıli serbest radikal olan DPPH• bileşigi 517 nm'de maksimum absorbands oluşturan bir maddedir. Bu serbest radikal ile antioksidan maddeler kimyasal tepkimeye girdiklerinde radikal özellik göstermeyen DPPH-H molekülüne dönüşmektedir. DPPH• serbest radikalleri giderek ortamdan azaldıkları için

absorbans miktarında da azalmalar meydana gelmekte ve bu durumdan yararlanarak antioksidan aktivite hesaplanabilmektedir.

DPPH sonuçlarımıza göre SC₅₀ değerleri sırasıyla CHCl₃ ekstresi > EtAc ekstresi > H₂O ekstresi > MeOH ekstresi > BHT şeklinde olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlara bakıldığında SC₅₀ değeri en düşük olan MeOH ekstresinin radikal giderme aktivitesinin iyi olduğu ve BHT'ye yakın olduğu gözlenmiştir. Ekstrelerde gözlenen sonuçların farklılıklarının, çözücülerin polaritelerinin farklı olmasından ve dolayısıyla ekstreye geçebilen aktif bileşenlerin miktarı ve cinsi ile ilgili olabileceğini düşündürmektedir. *E. sibthorpiana*'nın topraküstü kısımlarının MeOH, etanol, H₂O ekstresinin ve BHT'nin DPPH• radikal temizleme aktivitesinin IC₅₀ değerleri sırasıyla 1.73 mg/mL, 2.89 mg/mL, 1.67 mg/mL, 0.13 mg/mL bulunmuştur (107).

E. tournefortii'nin MeOH, aseton, H₂O ekstresinin ve BHT'nin DPPH• radikal temizleme aktivitesinin IC₅₀ değerleri sırasıyla 124 µg/mL, 222 µg/mL, 175 µg/mL, 31 µg/mL olarak verilmiştir (106).

Khazai ve arkadaşları (2011) *E. platyloba*'nın MeOH ekstresinin (EC₅₀: 30) H₂O ekstresine göre (EC₅₀: 73) daha yüksek radikal temizleme aktivitesine sahip olduğunu bulmuştur (113).

Antibiyotikler, ilk kullanıma girdikleri dönemden itibaren özellikle yaşamı tehdit eden enfeksiyonlar ile savaşta en güçlü silahlarımız olmuştur. Bu sayede insan yaşamı ve yaşam kalitesi dramatik düzeyde artmıştır. Antibiyotiklerin kullanıma girmesinden hemen sonra başlayan direnç sorunu, günümüzde bu çok etkili silahlarımızın bakteriler ile savaşta gücünü tehdit eder boyuta ulaşmıştır (56). Özellikle son yıllarda yeni antibiyotiklerin kullanıma sunulmasındaki güçlükler bilim insanlarının ilgi ve araştırmalarını antibiyotik ve antimikrobiyal özelliği taşıyan bitkisel ve kimyasal kaynaklı maddelere yöneltmiştir. Bitkiler, yapılarında bulunan taninler, terpenoidler, flavonoidler ve esansiyel yağlar gibi antimikrobiyal aktivite gösteren metabolitler yönünden zengin kaynaklardır (10, 12, 114).

Çalışmamızda, ülkemizde endemik bir tür olarak bulunan *E. chrysanth*'nın muhtemel antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Bitkiden elde edilen CHCl₃ ekstresinin test edilen bakteri suşlarından gram pozitif *B. subtilis* üzerinde antimikrobiyal etkisi agar difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleri ile doğrulanmıştır. *B. subtilis*, doğada toprakta, hayvan ve insanların gastrointestinal sistemlerinde yaygın olarak bulunan, doğal koşullara

uyum sağlamak için endospor oluşturabilen aerobik ve fakültatif anaerobik şartlarda yaşayabilen bir bakteridir (115).

Çalışmamızda antimikrobiyal aktivite testinde elde ettiğimiz sonuçlar diğer *Echinophora* türleri ile yapılan çalışmalarla karşılaştırılmıştır. Törün ve arkadaşları (2014) tarafından yapılan çalışmada *E. tenuifolia*'dan elde edilen MeOH ekstresinin agar kuyucuk difüzyon yönteminde *Mycobacterium smegmatis*, *Corynebacterium xerosis* ve maya mantarlarından *C. utilis* üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Bu çalışmada antimikrobiyal aktivite çalışmamızın aksine sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile doğrulanmamıştır (114).

Gökbulut ve arkadaşları (2013) tarafından yapılan çalışmada *E. tenuifolia*'dan elde edilen esansiyal yağ içeriğinin MİK yöntemi ile yapılan antimikrobiyal aktivite testinde, aktivitenin ağırlıklı olarak test edilen gram pozitif bakteriler üzerinde gözlemlendiği bildirilmiştir. Bu çalışmada en güçlü antimikrobiyal aktiviteninde *Bacillus cereus* üzerinde gerçekleştiği gözlenmiştir (7). Bazvandi ve arkadaşları (2017) tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise, *E. platyloba*'dan elde edilen hekzan, diklorometan, aseton ve etanol ekstraktlarının gram pozitif (*S. aureus*, *E. faecalis*) ve gram negatif (*E. coli*, *Shigella flexneri*, *Acinetobacter baumannii*) bakteriler ile sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak yapılan antimikrobiyal aktivite çalışması yapılmıştır. Bu çalışmada, etanol ekstre örneğinin *S. aureus*'a karşı daha belirgin olmak üzere, test edilen bakteri suşları üzerine antimikrobiyal etkisi belirlenmiştir (116).

Referans olarak verilen ve farklı *Echinophora* türleri ile yapılan çalışmalarda antimikrobiyal aktivitenin daha çok gram pozitif bakterilere karşı gözlemlendiği sonucu görülmektedir. Bir çalışmada en belirgin antimikrobiyal aktivitenin de *Bacillus* cinsine ait bir diğer bakteri olan *B. cereus*'a karşı gözlemlendiği belirlenmiştir (7). Çalışmamızın, bu sonuç ile uyumlu olduğu gözlenmiştir. Farklı *Echinophora* türleri ile yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar ekstraksiyonda kullanılan maddeler ile ilişkili olabileceği gibi kullanılan referans bakteri suşlarının çeşitliliği, elde edilen ekstraktlerdeki antimikrobiyal aktiviteden sorumlu bileşenlerin konsantrasyonları ile de ilişkili olabilmektedir.

E. crysantha bitkisine ait ekstre örneklerinin seçili referans bakteri suşları ile antimikrobiyal aktivite testi ilk kez sunduğumuz çalışmada test edilmiştir. CHCl₃ ekstresi ile gram pozitif ve kapsüllü *B. subtilis*'e karşı agar kuyucuk yöntemi ile tespit edilen ve sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile doğrulanan antimikrobiyal aktivite sonucu bitkinin

antimikrobiyal potansiyeli açısından ümit verici olarak değerlendirilebilir. Yapılacak daha ileri ve farklı çalışmalar ile çalışmamızda test edilemeyen bakteriler kullanılarak, bitkiden gerektiğinde farklı hasat dönemlerinde elde edilecek örneklerden elde edilecek farklı ekstraksiyon ürünleri ile antimikrobiyal aktivite testlerinin yapılması tavsiye edilebilir.

Günümüzde değişen hayat koşulları ile birlikte birçok faktöre bağlı olarak meydana gelen hastalıklar evrensel boyuta ulaşmıştır. Diyabet ve Alzheimer gibi hastalıkların görülme sıklığı son zamanlarda artmaya başlamıştır. Örneğin Amerika Birleşik Devletleri'nde her 67 sn'de bir Alzheimer'a yakalanan kişi sayısının 2050 yılına geldiği zaman hastalığa yakalanma sıklığının 33 sn'ye düşmesinin beklendiği belirtilmektedir (117). Ayrıca günümüzde yaklaşık 366 milyon kişinin diyabet hastası olduğu, 2050 yılına gelince bu rakamın 552 milyona çıkacağı tahmin edilmektedir (118).

Yeni ilgilere doğan ihtiyaçlar hastalıkların tedavi süreçlerinde çok önemli stratejiler oluşturmaktadır. Bu stratejiler arasında anahtar enzimlerin inhibisyonu en fazla araştırılan konulardandır. Anahtar enzimler inhibe edilerek hastalığın patogenezi iyileştirilmeye çalışılır. Bilişsel işlevlerde asetilkolin önemli rol oynar. Asetilkolin, kolin ve asetil-CoA'dan AChE enzimi tarafından sentezlenir. Asetilkolin, sinaptik boşluğa salınır ve görevini bitirdikten sonra AChE enzimi yardımı ile asetat ve koline çevrilerek yıkılır. BChE ve AChE, merkezi sinirde sisteminde bulunurlar, nörotransmitter olarak görev yapan asetilkolini hidroliz edebilirler. Alzheimer hastalığı'nda AChE'nin hızlı kaybı söz konusudur. Hastalığın ilk safhasında aktiviteyle beraber, hastalığın daha ileri safhasında AChE oranı artmaktadır (119, 120).

Asetilkolinin hidrolizi, beyinde asetilkolin düzeylerinin artışına neden olarak, Alzheimer hastalığının tedavisinde oldukça başarılı bir klinik etkinlik sağlar (121).

BChE inhibisyonunun, farelerde öğrenme performansını artırdığı vebeta-amiloid protein düzeylerini düşürdüğü bildirilmiştir (122).

Çalışmamızda AChE ve BChE inhibisyonu tayininde, galantamin standardına en yakın IC₅₀ değeri özellikle MeOH ekstresinde gözlenmiştir. Bu nedenle *E. chrysantha* bitkisinin MeOH ekstresi AChE ve BChE enzimlerini iyi derecede inhibe etmektedir.

Tirozinaz, melanin sentezinde oldukça önem arz etmektedir. Tirozinazın engellenmesi cilt hastalıklarının tedavi protokolünde önem taşımaktadır (123).

Bu amaç doğrultusunda tirozinaz tayini için kojik asit ve kolinesteraz tayini için galantamin gibi inhibitör maddeler yapay olarak üretilmiştir. Yapay inhibitörler çeşitli yan etkilere neden olabilmektedirler. Örneğin bazı sindirim sistemi rahatsızlıkları meydana getirmesi ve hepatotoksik etkilerinin olması bakımından kullanımlarında bazı sakıncalar ortaya çıkmıştır (124-126).

Sentetik inhibitörlerin istenmeyen yan etkiler oluşturmaları nedeniyle bitkisel doğal inhibitörlere her geçen gün ilgi artmıştır. Metabolizmada melanin sentezinin çok ya da az olması durumunda ortaya çıkacak hiperpigmentasyon/hipopigmentasyon problemlerinde tirozinaz enzimi ilgi odağı haline gelmiştir. Tirozinaz enzimini aktive eden bileşikler hipopigmentasyon tedavisinde, engelleyen bileşikler ise hiperpigmentasyon tedavisinde kullanılmaktadır (127).

Bu amaçla tirozinaz inhibitör/aktivatör aktivite çalışmalarında bitkilerin standart madde olarak kullanılabilirliğinin araştırılması pigmentasyon problemlerinin tedavisinde yeni stratejilerin geliştirilmesine ışık tutacaktır. *E. chrysantha* MeOH ekstresinin tirozinaz inhibitör etkisi 52 µg/mL ve standart olarak kullanılan kojik asitin tirozinaz inhibitör etkisi de 61 µg/mL olarak bulunmuştur. Çalıştığımız tüm ekstraktlar içinden özellikle MeOH ekstresinin kojik asitten daha yüksek tirozinaz inhibitör aktivite değerine sahip olduğu bulunmuştur. Bu sonuca göre *E. chrysantha* MeOH ekstresinin hiperpigmentasyon tedavisi için kullanılabilirliğinin irdelenmesi oldukça faydalı olacaktır. Ayrıca *E. chrysantha* H₂O ekstresinin tirozinaz inhibitör etkisi 151 µg/mL kojik asitten az daha yüksek bulunmasına rağmen orta düzeyde inhibitör etkiye sahip olduğu düşünülebilir.

Sürekli değişen hayat koşulları ve beslenme alışkanlıklarına bağlı olarak günümüzde birçok hastalığa yakalanma riski artmaktadır. Bu durumun giderek azaltılması bilim dünyasının tartıştığı, ele aldığı konular arasındadır. Bitkilerin biyolojik aktiviteleri, yeni ilaç ve gıda formülasyonlarının geliştirilmesinde önemli olmuştur. Sonuç olarak şimdiye kadar az sayıda çalışma bulunan *E. chrysantha* bitkisinin antioksidan, antimikrobiyal aktiviteleri ile BChE, AChE ve tirozinaz inhibitör aktivitelerinin ılımlı olduğu yaptığımız bu çalışma ile tespit edilmiştir. *E. chrysantha* bitkisinin içeriğindeki bileşenlerden dolayı, serbest radikallerle mücadele ederek yararlı katkı oluşturacağı açıktır. Günümüzde yapay antioksidanların yerine kullanılabilecek doğal antioksidanların keşfine yönelik çalışmaların sayısı her geçen gün artmaktadır. Yüksek antioksidan aktivite tespit

edilen özellikle MeOH ekstremizin gıda sanayisinde gıda katkı maddesi ve gıda koruyucusu şeklinde kullanılabilirliğine yönelik daha ileri çalışmalar yapılabilir.

Bitkimiz, antikolinesteraz etki göstermesinden dolayı nörodejeneratif hastalıkların tedavinde ve antitirozinaz etki göstermesinden dolayı da hiperpigmentasyon tedavisinde kullanılabilirliği açısından bir ön çalışma niteliği taşımaktadır. Bulduğumuz sonuçların daha ileri ve detaylı klinik araştırmalarla desteklenmesi yararlı olacaktır. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular ışığında *E. chrysantha*'nın doğal ajanların geliştirilmesine önemli bir kaynak oluşturabileceği düşünülebilir. Bu nedenle *E. chrysantha*'nın fitoterapik amaçlı kullanılabilirliğine yönelik araştırmaların ileriklinik çalışmalarla desteklenmesinin yararlı olacağı inancındayız.



6. ÖNERİLER

1. Çalışmamızda antioksidan testlerden DPPH•, CUPRAC ve FRAP metodları kullanılmıştır. Literatürde sık tercih edilen diğer antioksidan metodlarda (Süperoksit Radikali Giderme Aktivitesinin Tayini, Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesinin Tayini, ABTS Radikali Giderme Aktivitesinin Tayini gibi) çalışılabilir.
2. *E. chrysantha* bitkisinin ekstrelerinin yanında izolasyonu yapılarak biyolojik aktif bileşikleri belirlenebilirdi. Elde edilen etken maddeler üzerinde aynı deneyler yapılarak bir karşılaştırma çalışması yararlı olurdu.
3. *E. chrysantha* bitkisinden izolasyonla elde edilen etken maddelerin *in vitro* etkinliği deney hayvanları üzerinde yapılacak çalışmalarla *in vivo* olarak araştırılabilirdi.
4. Antimikrobiyal aktivite çalışmaları farklı ekstraksiyon örnekleri ile daha çok çeşit referans bakteri suşu kullanılarak yapılabilirdi. Bu durum sonraki çalışmalar açısından önerilmektedir.
5. Çalışmamızda *E. chrysantha* MeOH ekstresinin tirozinaz enzimini güçlü bir şekilde inhibe ettiği bulunmuştur. Ekstremizin etkinliği deneysel modelde cilt lekesi oluşturulmuş deney hayvanlarının pigmentasyon tedavisi için araştırılabilir.
6. Tez kapsamında *E. chrysantha* MeOH ekstresinin standart olarak kullandığımız kojik asitten tirozinazı çok daha güçlü bir şekilde inhibe ettiği tespit edilmiştir. *E. chrysantha* MeOH ekstresinin kojik asit yerine gıda endüstrisinde ve farmakolojide doğal inhibitör olarak kullanılabileceğine yönelik çalışmalar yapılabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Palmeira-de-Oliveira A, Gaspar C, Palmeira-de-Oliveira R, Silva-Dias A, Salgueiro L, Cavaleiro C (2012). The anti-candida activity of *Thymbra capitata* essential oil: effect upon pre-formed biofilm. *Journal of Ethnopharmacology* 140(2): 379-383.
2. Aliyazıcıoğlu R, Akkaya Ş, Korkmaz N, Şener SÖ, Badem M, Özgen U, Karaoğlu ŞA (2017). *Onobrychis oxyodonta*'nın topraküstü kısmında antioksidan, antimikrobiyal ve tirozinaz aktivitesi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi* 31(1): 25-31.
3. Clark AM (1996). Natural products as a resource from new drugs. *Pharmaceutical Research* 13: 1133-44.
4. British Nutrition Foundation (2003). Golberg G ed. plants: Diet and health. The report of a British Nutrition Foundation Task Force, Page 368.
5. Puni V, Saint-Dic D, Daghfal S, Kanwar JR (2004). Microbialbased therapy of cancer: A new twist to age old practice. *Cancer Biology & Therapy* 3: 708-714.
6. Zin ZM, Abdul-Hamid A, Osman A (2006). Antioksidative activities of chromatographic fractions obtained from root, fruit and leaf of Mengkudu (*Morindacitrifolia* L.). *Food Chemistry* 94: 169-178.
7. Gokbulut I, Bilenler T, Karabulut I (2013). Determination of chemical composition, total phenolic, antimicrobial and antioxidant activities of *Echinophora tenuifolia* essential oil. *International Journal of Food Properties* 16: 1442-1451.
8. Katsube T, Imawaka N, Kawano Y, Yamazaki Y, Shiwaku K, Yamane Y (2006). Antioxidant flavanol glycosides in mulberry (*Morus alba* L.) leaves isolated based on LDL antioxidant activity. *Food Chemistry* 97: 25-31.
9. Hassimotto NMA, Genovese MI, Lajolo FM (2005). Antioxidant activity of dietary fruits vegetables and commercial frozen fruit pulps. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 2928-2935.
10. Lermi M (2018). *Isatis cappadocica*'nın antioksidan, antimikrobiyal, tirozinaz inhibitör ve sitotoksik etkilerinin incelenmesi. Yüksek lisans tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılıkta Biyokimya Anabilim Dalı, Trabzon.

11. Atik G (2020). *Eryngium billardieri* bitki ekstraktlarının biyolojik aktivitelerinin incelenmesi. Yüksek lisans tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılıkta Biyokimya Anabilim Dalı, Trabzon.
12. MM Cowan (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12(4): 564.
13. Calixto JB, Otuki MF, Santos AR (2003). Anti-inflammatory compounds of plant origin. Part I: Action on arachidonic acid pathway, nitric oxide and nuclear factor k B (NF-kB). *Planta Medica* 69(11): 973-983.
14. Yılmaz G, Pınar M, Koyuncu M (2009). Türkiyede yetişen heptaptera Marg. & Reuter (Umbelliferae) türlerinin polen ve tohum morfolojileri. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi* 38(2): 103-116.
15. Farzanehnia E, Ghajarbeygi P, Mahmoudi R, Mardani K (2016). Phytochemical and antibacterial properties of *Echinophora orientalis* essential oil against *Staphylococcus aureus* in soup. *Journal of Biology and Today's World* 5(8): 150-156.
16. Simpson MG (2006). *Plant systematics*. Elsevier Academic, Page 322.
17. Mustafa Çelik (2016). *Laserpitium* L. (Apiaceae) cinsinin taksonomik revizyonu. Yüksek lisans tezi, T.C. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Konya.
18. SM Mirghazanfari, L Hosseinzadeh, Y Shokoohinia, M Aslany, M Kamali-Nejad (2012). Acute and subchronic toxicological evaluation of *Echinophora platyloba* DC (Apiaceae) total extract in wistar rats.
19. E Doğan Güner (2006). Türkiye'deki seseli L. (Umbelliferae) cinsinin revizyonu. Doktora tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
20. Georgiou C, Koutsaviti A, Bazos I, Tzakou O (2010). Chemical composition of *Echinophora tenuifolia* subsp. *sibthorpiana* essential oil from Greece. *Records of Natural Products* 4: 167-170.
21. Mileski K, Dzamic A, Ciric A, Grujic S, Ristic M, Matevski V (2014). Radical scavenging and antimicrobial activity of essential oil and extracts of *Echinophora sibthorpiana* Guss. from Macedonia. *Archives of Biological Sciences* 66: 401-413.

22. Telci I, Hisil Y (2008). Essential oil composition of the spice plant *Echinophora tenuifolia* L. subsp. *sibthorpiana* Tutin from Turkey. Chemistry of Natural Compounds 44: 534-536.
23. Ozcan M, Akgül A (2003). Essential oil composition of Turkish pickling herb (*Echinophora tenuifolia* L. subsp. *sibthorpiana* (Guss.) Tutin). Acta Botanica Hungarica 45: 163-167.
24. Hosseini Z, Lorigooini Z, Rafieian-Kopaei M, Shirmardi HA, Solati K (2017). A review of botany and pharmacological effect and chemical composition of *Echinophora* species growing in Iran. Pharmacognosy Research 9: 305-312.
25. İ Genç, G Genç, E Genç (2014). The synopsis of the genus *Echinophora* L. (Apiaceae) in Turkey. İstanbul Eczacılık Fakültesi Dergisi 44(2): 233-240.
26. Saei-Dehkordi SS, Fallah AA, Saei-Dehkordi SS, Kousha S (2012). Chemical composition and antioxidative activity of *Echinophora platyloba* DC. essential oil and its interaction with natural antimicrobials against food-borne pathogens and spoilage organisms. Journal of Food Science 77: M631-7.
27. Moghaddam M, Taheri P, Pirbalouti AG, Mehdizadeh L (2015). Chemical composition and antifungal activity of essential oil from the seed of *Echinophora platyloba* DC against phytopathogens fungi by two different screening methods. Lebensmittel-Wissenschaft&Technologie-Food Science and Technology 61: 536-542.
28. Shahneh FZ, Baradaran B, Majidi J, Babaloo Z (2014). *Echinophora platyloba* DC (Apiaceae) crude extract induces apoptosis in human prostate adenocarcinoma cells (PC 3). Biomedical Journal 37: 298-304.
29. Entezari M, Hashemi M, Ashki M, Ebrahimian S, Bayat M, Azizi Saraji AR (2009). Studying the effect *Echinophora platyloba* extract on bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*) and fungi (*Candida albicans*, *Aspergillus flavus* and *Aspergillus niger*) in vitro. World Journal of Medical Sciences 4: 89-92.
30. Delaram M, Haeri A (2011). The effect of *Echinophora platyloba* on the pre-menstrual syndrome. Research in Medicine 34: 219-224.
31. Sadrai H, Asghari G, Yaghobi K (2002). Evaluation of ethanolic extract and essential oil of *Echinophora platyloba* on isolated ileum of rat. Research in Medicine 7: 150-5.

32. Shobeiri F, Zeraati F, Mansouri Z, Araghchian M, Nazari M (2012). The comparative effect of herbal extract of vitagnus and mefenamic acid on primary dysmenorrhea. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences* 14: 30-33.
33. Delaram M, Sadeghiyan Z (2010). The effect of *Echinophora platyloba* extract on primary dysmenorrhea. *Journal of Arak University of Medical Sciences* 13(3): 61-7.
34. Baser KHC, Özek T, Demirçakmak B, Bıçakçı A, Malyer H (1996). Essential oil of *Echinophora Chrysantha* Freyn et Sint. *Journal of Essential Oil Research* 8(4): 433–434.
35. E Evergetis, A Michaelakis, SA Haroutounian (2013). Exploitation of Apiaceae family essential oils as potent biopesticides and rich source of phellandrenes. *Industrial Crops and Products Journal* 41: 365- 370.
36. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J (2006). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 45-78.
37. Croft KD (1998). The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. *Annals of the New York Academy of Sciences* 854: 435-442.
38. Bandyopadhyay U, Das D, Banerjee RK (1999). Reactive oxygen species: oxidative damage and pathogenesis. *Current Science-Bangalore* 77: 658-666.
39. Shirley BW (1996). Flavonoid biosynthesis: ‘new’ fuctions for an ‘old’ pathway. *Trends in Plant Science* 1(11): 377-382.
40. Alasalvar C, Shahidi F, Liyana Pathirana CM, Ohshima T (2003). Turkish tombul hazelnut (*Corylus avellana* L.) 1. compositional characteristics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(13): 3790-3796.
41. Havsteen BH (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics* 96(2-3): 167-202.
42. Hollman PC and Katan MB (1997). Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 51: 305-310.
43. Middleton EJ (1984). The flavonoids. *Trends in Pharmacological Sciences* 5: 335-338.

44. Harborne JB (1993). The flavonoids: advances in research since 1986. *Phytochemical Analysis*, Volume 6, Page 676.
45. Artico M, Di Santo R, Costi R, Novellino E (1998). Geometrically and conformationally restrained cinnamoyl compounds as inhibitors of HIV-1 integrase: synthesis, biological evaluation and molecular modeling. *Journal of Medicinal Chemistry* 41: 3948-3960.
46. Son S, Lewis BA (2002). Free radical scavenging and antioxidative activity of caffeic acid amide and ester analogues: structure activity relationship. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 50: 468-472.
47. Montpied P, de Bock F, Rondouin G, Niel G (2003). Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) prevents inflammatory stress in organotypic hippocampal slice cultures. *Molecular Brain Research* 115: 111-120.
48. Canivenc-Lavier MC, Vernevaut MF, Totis M, Siess MH, Magdalou J, Suschetet M (1996). Comparative effects of flavonoids and model inducers on drugmetabolizing enzymes in rat liver. *Toxicology* 114: 19-27.
49. Shih H, Pickwell GV, Quattrochi LC (2000). Differential effects of flavonoid compounds on tumor promoter-induced activation of the human CYP1A2 enhancer. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 373: 287-294.
50. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T (1997). Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* 3-4: 92-95.
51. Rang RY, Tsou SCS, Lee TC, Wu WJ, Hanson PM, Kuo G, Engle LM and Lai PY (2006). Distribution of 127 edible plant species for antioxidant activities by two assays. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86: 2395-2403.
52. Öztürk M, Öztürk FA, Duru ME, Topçu G (2007). Antioxidant activity of stem and root extracts of rhubarb (*rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food Chemistry* 103: 623-630.
53. L Durmaz (2015). Bazı kumarin türevleri: antioksidan kapasiteleri, insan karbonik anhidraz izoenzimleri (HCA I VE II) ile asetilkolinesteraz enzimi üzerine etkileri. Doktora tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Erzurum.

54. Reische DW, Lillard DA, Eitenmiller RR, Akoh CC and Min DB (2002). Food lipids chemistry. Nutrition and Biotechnology, New York 489-516.
55. Gülçin İ (2002). Determination of antioxidant activity, characterization of oxidative enzymes and investigation of some in vivo properties of nettle (*Urtica dioica*). Doktora tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Erzurum.
56. A Çiftci, A Aksoy (2015). Antibiyotiklere karşı oluşan direnç mekanizmaları. Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences 1(2): 1-10.
57. Gould IM, Bal AM (2013). New antibiotic agents in the pipeline and how they can help overcome microbial resistance. Virulence 4(2): 185-91.
58. S Sengupta, MK Chattopadhyay, HP Grossart (2013). The multifaceted roles of antibiotics and antibiotic resistance in nature. Front Microbiology 4: 47.
59. M Topal, GU Şenel, EIA Topal, E Öbek (2015). Antibiyotikler ve kullanım alanları. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 31(3): 121-127.
60. Ufuk Abbasoğlu, Fatma Kaynak Onurdağ (2015). Antimikrobiyal ajanlar. Farmasötik Mikrobiyoloji 84-135.
61. CL Ventola (2015). MS the antibiotic resistance crisis part 1: Causes and threats. Pharmacy and Therapeutics 40(4): 277-283.
62. P Collignon (2015). Antibiotic resistance: Are we all doomed? Internal Medicine Journal 1109-1115.
63. B Khameneh, M Iranshahy, V Soheili, BSF Bazzaz (2019). Review on plant antimicrobials: A mechanistic viewpoint. Antimicrobial Resistance & Infection Control 8: 118.
64. Ciocan ID, Bara II (2007). Plant products as antimicrobial agents. Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară 151-156.
65. Whitaker JR (1994). Principles of enzymology for the food sciences. Second edition. CRC Press, New York; Page: 517-520.

66. Cooksey CJ, Garratt PJ, Land EJ, Pavel S, Ramsden, CA, Riley PA (1997). Evidence of the indirect formation of the catecholic intermediate substrate responsible for the autoactivation kinetics of tyrosinase. *Journal of Biological Chemistry* 272: 26226-26235.
67. Parvez S, Kang M, Chung H-S, Bae H (2007). Naturally occurring tyrosinase inhibitors: mechanism and applications in skin health, cosmetic and agriculture industries. *Phytotherapy Research* 21: 805-816.
68. Ö Calay (2010). Tirozinaz enziminin bazı tıbbi bitkiler tarafından inhibisyonu. Yüksek lisans tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, İstanbul.
69. Witkop GJ (1985). Inherited disorders of pigmentation. *American Journal of Clinical Dermatology* 3: 70-13.
70. Vamos-Vıgyazo L (1981). Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 15: 49-127.
71. Tolbert NE (1973). Activation of polyphenol oxidase of chloroplasts. *Plant Phatology* 51-234.
72. Onslow MW (1923). Oxidising enzymes. *Biochemical Journal* 17: 216-219.
73. Bhagvat K, Richter D (1938). Animal phenolases and adrenaline. *Biochemical Journal* 32: 1397-1406.
74. Arnow LE (1937). The formation of the dopa by the exposure of tyrosine solutions to ultraviolet radiation. *Journal of Biological Chemistry* 120-151.
75. Nelson JM and Dawson CR (1944). Tyrosinase. *Advances in Enzymology & Related Areas of Molecular Biology*. Volume 4. Interscience Publishers; Pages: 99-152.
76. Chang TS (2009). An updated review of tyrosinase inhibitors. *International Journal of Molecular Sciences* 10(6): 2440-2475.
77. Kalka K, Mukhtar H, Turowski-Wanke A, Merk H (2000). Biomelanin antioxidants in cosmetics: Assessment based on inhibition of lipid peroxidation. *Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology* 13: 143-149.

78. Mantle D, Gok MA, Lennard TW (2001). Adverse and beneficial effects of plant extracts on skin and skin disorders. *Adverse Drug Reaction Toxicology Review* 20: 89-103.
79. Maeda K, Fukuda M (1991). In vitro effectiveness of several whitening cosmetic components in human melanocytes. *Journal of the Society of Cosmetic Chemists* 42: 361-368.
80. Kubo I, Yokokawa Y (1992). Two tyrosinase inhibiting flavonol glycosides from *Buddleia coriacea*. *Phytochemistry* 31: 1075-1077.
81. Çokuğraş AN (2003). Butyrylcholinesterase: Structure and physiological importance. *Turkish Journal of Biochemistry* 28(2): 54-61.
82. Sussman JL, Harel M, Frolov F, Oefner C, Goldman A, Toker L (1991). Atomic structure of acetylcholinesterase from *Torpedo californica*: A prototypic acetylcholine-binding protein. *Science* 253 (5022): 872-879.
83. Brown SS, Kallow W, Pilz W, Whittaker M, Woronick CL (1981). The plasma cholinesterases: A new perspective. *Advanced Clinical Chemistry* 22: 1-123.
84. Jokanović M, Maksimović M (1997). Abnormal cholinesterase activity: Understanding and interpretation. *European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry* 35(1): 11-16
85. Pohanka M (2012). Acetylcholinesterase inhibitors: A patent review (2008 - present). *Expert Opinion on Therapeutic Patents* 22: 871-886.
86. Schneider JS, Giardiniere M, Morain P (2001). Effects of the prolyl endopeptidase inhibitor s on cognitive deficits in chronic low dose MPTP-treated monkeys. *Neuropsychopharmacology* 26(2): 176-82.
87. Hynd MR, Scott HL, Dodd PR (2004). Glutamate-mediated excitotoxicity and neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Neurochemistry International* 45: 583-95.
88. Forette F, Boller F (2000). Alzheimer hastalığında ilaç geliştirilmesi: Tarihçesine bakış ve geleceğine ilişkin öngörüler. *Alzheimer Hastalığının Farmakoterapisi*, Yelkovan Yayıncılık, İstanbul; Sayfa: 1-15.

89. Türkseven Ç (2014). Alzheimer hastalarının beyin ve iskelet kas hücrelerinde amiloid beta toksisitesi üzerine Huperzin-A'nın etkileri. Yüksek lisans tezi, Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyofizik Anabilim Dalı, Mersin.
90. Snyder LR (1974). Classification of the solvent properties of common liquids. *Journal of Chromatography A* 92: 223-230.
91. Slinkard K, Singleton VL (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture* 28: 49-55.
92. E Büyüktuncel (2013). Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca spektrofotometrik yöntemler. *Marmara Pharmaceutical Journal* 17: 93-103.
93. Arvouet-Grand A, Vennat B, Pourrat A, Legret P (1994). Standardization of a propolis extract and identification of the main constituents. *Journal de pharmacie de Belgique* 49: 462-468.
94. Benzie IF, Strain JJ (1999). Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology* 299: 15-27.
95. Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir SE (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 7970-7981.
96. Arslan NB (2013). On-line HPLC-FRAP antioksidan aktivite tayin yönteminin geliştirilmesi ve bazı doğal ürünlere uygulanması. Doktora tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Trabzon.
97. Blois MS (1958). Antioxidant determinations by the use of stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
98. FM Nacak (2014). Elektrokimyasal yöntemlerle antioksidan kapasite tayini ve klasik yöntemlerle karşılaştırılması. Yüksek lisans tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Aydın.

99. İskefiyeli Z (2014). Damlatma ile yeni DPPH ve FRAP antioksidan tayin yöntemlerinin geliştirilmesi ve uygulanması.
100. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi (2014). Cilt II, TC Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Başkanlığı, Ankara.
101. Masuda T, Yamashita D, Takeda Y, Yonemori S (2005). Screening for tyrosinase inhibitors among extracts of seashore plants and identification of potent inhibitors from *Garcinia subelliptica*. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry 69: 197-201.
102. George L, Ellman K, Diane Country, Valentino Andres JR (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochemical Pharmacology Volume 7: 88-9.
103. Yakoub AR, Abdehedic O, Jridi M, Elfalleh W, Nasri M, Ferchichi A (2018). Flavonoids, phenols, antioxidant and antimicrobial activities in various extracts from Tossa jute leave (*Corchorus olitorus* L.) Industrial Crops & Products 118: 206-213.
104. Balasundram N, Sundram K, Saman S (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence and potential uses. Food Chemistry 99(1): 191-203.
105. Harborne JB, Williams CA (2000). Advances in flavonoid research since 1992. Phytochemistry 55(6): 481-504.
106. Kaska A, Mammadov R (2019). Antioxidant properties, proximate content and cytotoxic activity of *Echinophora tournefortii* Jaub. & Spach. Food Science and Technology 39(4): 875-880.
107. Mileski K, Džamić A, Ćirić A, Grujić S, Ristić M, Matevski V, Marin PD (2014). Radical scavenging and antimicrobial activity of essential oil and extracts of *Echinophora sibthorpiana* Guss. from Macedonia. Archives of Biological Science Belgrade, 66(1): 401-413.
108. Pirbalouti AG, Setayesh M, Siahpoosh A, Mashayekhi H (2013). Antioxidant activity, total phenolic and flavonoids contents of three herbs used as condiments and additives in pickles products. Kerba Polonica 59(3): 51-62.

109. Gülçin İ, Topal F, Öztürk Sarıkaya SB, Bursal E, Bilsel G, Gören AC (2011). Polyphenol contents and antioxidant properties of medlar (*Mespilus germanica* L.). Records of Natural Products 5(3): 158-175.
110. Gülçin İ (2007). Comparison of in vitro antioxidant and antiradical activities of ltyrosine and L-Dopa. Amino Acids 32: 431-438.
111. Bursal E (2009). Kivi meyvesinin (*Actinidia deliciosa*) antioksidan ve antiradikal aktivitelerinin belirlenmesi, karbonik anhidraz enziminin saflaştırılması ve karakterizasyonu. Doktora tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Erzurum.
112. Bursal E, Köksal E (2011). Evaluation of reducing power and radical scavenging activities of water and ethanol extracts from sumac (*Rhus coriaria* L.). Food Research International 44(7): 2217-2221.
113. Khazai V, Piri K H, Nazeri S, Karamian R, & Zamani N (2011). Free radical scavenging activity and phenolic and flavonoid contents of *Echinophora platyloba* DC. Asian Journal of Medical and Pharmaceutical Researches 1(1): 09-11.
114. B Törün, E Poyrazoğlu Çoban, H Bıyık, E Barışık (2017). Antimicrobial activitiy of *Echinophora tenuifolia* H. And *Raphanus sativus* L. extracts. Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research 51: 373-376.
115. Asslee ME, R Losick, R Kolter (2008). Ecology and genomics of *Bacillus subtilis*. Trends Microbiology 16(6): 269.
116. L Bazvandi, Y Shokoohinia, N Ghiasvand, P Mohajeri, B Ashrafi, I Salimikia (2017). The antimicrobial activity of different extracts from *Echinophora platyloba* DC. Herbal Medicine Journal. Volume 2; Page 4:153-157.
117. Alzheimer Association (2014). Alzheimer's disease facts and figures. Alzheimer's & Dementia 10: 47-92.
118. Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J (2011). Diabetes atlas: Global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. Diabetes Research and Clinical Practice 94(3): 311-321.
119. Darvesh S, Hopkins DA, Geula C (2003). Neurobiology of butyrylcholinesterase. Nature Reviews Neuroscience 4: 131-138.

120. Massoud F, Le'ger G (2011). Pharmacological treatment of Alzheimer disease. *Canadian Journal of Psychiatry* 56: 579-588.
121. Basiri A, Murugaiyaha V, Osman H (2013). An expedient, ionic liquid mediated multi-component synthesis of novel piperidone grafted cholinesterase enzymes inhibitors and their molecular modeling study. *European Journal of Medicinal Chemistry* 67: 221-229.
122. Greig NH, Utsuki T, Ingram DK, Wang Y, Pepeu G, Scali C, Yu QS, Mamczarz J, Holloway HW, Giordano T, Chen D, Furukawa K, Sambamurti K, Brossi A, Lahiri DK (2005). Selective butyrylcholinesterase inhibition elevates brain acetylcholine, augments learning and lowers Alzheimer beta-amyloid peptide in rodent. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102(47): 17213-17218.
123. Kim YJ, Uyama H (2005). Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: Structure, inhibition mechanism and perspective for the future. *Cellular and Molecular Life Sciences* 62(15): 1707-1723.
124. Bhat M, Zinjarde SS, Bhargava SY, Kumar AR, Joshi BN (2011). Antidiabetic Indian plants: A good source of potent amylase inhibitors. *Evid-Based Complementary and Alternative Medicine* 1-6.
125. Gulacti T, Kusman T (2014). Lamiaceae family plants as a potential anticholinesterase source in the treatment of Alzheimer's disease. *Bezmialem Science* 1: 1-25.
126. Kamagaju L, Morandini R, Bizuru E, Nyetera P, Nduwayezu JB, Stevigny C (2013). Tyrosinase modulation by five Rwandese herbal medicines traditionally used for skin treatment. *Jornal of Ethnopharmacology* 146(3): 824-834.
127. Gholamhoseinian A, Razmi Z (2012). Screening the methanolic extracts of some plants for tyrosinase inhibitory activity. *Toxicology & Environment Chemistry* 94(2): 310-318.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Soyadı, Adı : ŞAHİN, Osman
Uyruğu : TC
Doğum Tarihi ve Yeri : 09.11.1990 Trabzon
Telefon (İş) : 0462 3221140/1156
E-Posta : osmnsahn@outlook.com.tr , Osman.sahin5@saglik.gov.tr
ORCID ID : 0000-0002-5381-4580
Yazışma Adresi (İş) : Boztepe Mah. İran Cad. Yavuz Selim Kemik Hastalıkları ve Rehabilitasyon Hast. Eczane Birimi Ortahisar/TRABZON

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Lisans	Yakın Doğu Üniv. Ecz. Fakültesi- Eczacılık	2014
Lise	Trabzon Kanuni Anadolu Lisesi	2007

AKADEMİK/MESLEKİ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl -Yıl)
1. Eczacı Teğmen	MSB İlaç Fab. Komutanlığı	2015-2016
2. Eczacı	Trabzon İl Sağlık Müdürlüğü	2016-2018
3. Eczacı	Yavuz Selim Kemik Hast. ve Rehab. Hastanesi	2018-

YABANCI DİL

İngilizce, Almanca

HOBİLER

Film-dizi izlemek

Basketbol-futbol oynamak