



T.C.  
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

*V. cracca L.*' NİN BAZI METABOLİK ENZİMLER  
ÜZERİNE İNHİBİTÖR POTANSİYELİNİN  
BELİRLENMESİ VE BİYOAKTİF BİLEŞİKLERİNİN  
ANALİZİ

Fatma SAVAŞ  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOLOJİ Anabilim Dalı

Haziran-2024  
MUŞ  
Her Hakkı Saklıdır



T.C.  
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

*V. cracca L.*' NİN BAZI METABOLİK ENZİMLER  
ÜZERİNE İNHİBİTÖR POTANSİYELİNİN  
BELİRLENMESİ VE BİYOAKTİF  
BİLEŞİKLERİNİN ANALİZİ

Fatma SAVAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ Anabilim Dalı

Danışman Doç. Dr. Züleyha ALMAZ

Jüri Üyesi: Doç. Dr. Çetin BAYRAK

Jüri Üyesi: Doç. Dr. Ahmet SAVCI

Haziran-2024  
MUŞ  
Her Hakkı Saklıdır

## TEZ KABUL ve ONAYI

Fatma SAVAŞ tarafından hazırlanan “*V. cracca L.*’ nin Bazı Metabolik Enzimler Üzerine İnhibitör Potansiyelinin Belirlenmesi ve Biyoaktif Bileşiklerinin Analizi” adlı tez çalışması 04/06/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

### Jüri Üyeleri

### İmza

#### Başkan

Doç.Dr.Çetin BAYRAK  
Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi,  
Doğubayazıt Ahmed-İ Hani Meslek  
Yüksekokulu, Otel, Lokanta ve İkram  
Hizmetleri Bölümü/Aşçılık Pr.

.....

#### Danışman

Doç.Dr.Züleyha ALMAZ  
Muş Alparslan Üniversitesi, Fen Edebiyat  
Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik

.....

#### Üye

Doç.Dr.Ahmet SAVCI  
Muş Alparslan Üniversitesi, Fen Edebiyat  
Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik

.....

Yukarıdaki sonuç;  
Enstitü Yönetim Kurulu 04/06/2024 Tarih ve ...../..... nolu kararı ile  
onaylanmıştır.

Prof. Dr. Selçuk SAĞIR  
FBE Müdürü

Bu tez çalışması Bilimsel Araştırma Proje Komisyonu (BAP) tarafından BAP-22-  
FEF-4902-07 nolu proje ile desteklenmiştir.

## TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

## DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

Fatma SAVAŞ

Tarih:

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

# *Vicia cracca* L.' NİN BAZI METABOLİK ENZİMLER ÜZERİNE İNİHİTÖR POTANSİYELİNİN BELİRLENMESİ VE BİYOAKTİF BİLEŞİKLERİNİN ANALİZİ

Fatma SAVAŞ

Muş Alparslan Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Züleyha ALMAZ

*V. cracca* L. geleneksel ilaç tedavisinde önemli potansiyele sahip bir bitkidir. Baklagiller ailesinden olan bu bitkinin diğer türleri ile birçok çalışma yapılmış ve veriler literatüre sunulmuş olmasına rağmen *V. cracca* L. bitkisi yeterince araştırılmamıştır. Bu çalışmada, farklı çözücülerle ekstraksiyonları yapılan *V. cracca* L. bitkisinin LC-MS/MS ve QTOF-LC/MS analizleri yapılarak fitokimyasal bileşikleri ve bunun yanında enzim inhibitör etkileri tespit edilmiştir. Bitki ekstraktlarının içerik analiz sonuçları incelendiğinde toplamda en fazla fenoliğin etanol ekstratlarında olduğu anlaşılmıştır. Etanol, aseton ve su ekstraktlarının içeriklerinde sırasıyla en fazla siyanidin-3-o-glikozit, kerasiyanin klorid ve naringin olduğu belirlendi. Ayrıca bitkinin enzim inhibitör özellikleri kolinesterazlar (AChE ve BChE) ve ksantin oksidaz'a (XO) karşı test edildi. Elde edilen sonuçlara göre, özütlerin AChE ve BChE enzimlerine karşı inhibisyon kapasiteleri incelendiğinde bitkinin dal ekstraktlarının sırasıyla 0.346 mg/mL ( $R^2$ : 0.916) ve 0.110 mg/mL ( $R^2$ : 0.924)  $IC_{50}$  değerleri ile en yüksek inhibisyon yeteneğine sahip oldukları belirlendi. *V. cracca* L. ekstraktının XO enzimini inhibe etme kapasitesi incelendiğinde en yüksek aktivitenin sırasıyla; 0.675 mg/mL ( $R^2$ : 0.937) yaprak özütü > 0.745 mg/mL ( $R^2$ : 0.974) dal özütü > 1.397 mg/mL ( $R^2$ : 0.933) tohum özütü olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bulgular *V. cracca* L. bitkisinin farmasötik ve gıda endüstrileri için önemli bir kaynak olduğu ve bu bitki üzerine yapılacak ileri ki çalışmalara yeni ufuklar sağlayabileceği düşünülmektedir.

2024, 94 Sayfa

**Anahtar Kelimeler:** AChE, BChE, XO, *V. cracca* L., LC-MS/MS, QTOF-LC/MS

## ABSTRACT

## MS THESIS

# DETERMINATION OF THE INHIBITOR POTENTIAL OF *V. CRACCA L.* ON SOME METABOLIC ENZYMES AND ANALYSIS OF ITS BIOACTIVE COMPOUNDS

Fatma SAVAŞ

Muş Alparslan University  
Institute of Science and Technology  
Department of Biology

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Züleyha ALMAZ

*V. cracca L.* is a plant with important potential in traditional medicine therapy. Although many studies have been conducted on other species of this plant from the legume family and the data have been presented in the literature, the *V. cracca L.* plant has not been sufficiently researched. In this study, LC-MS/MS and QTOF-LC/MS analyzes of the *V. cracca L.* plant, which was extracted with different solvents, were performed to determine its phytochemical compounds as well as its enzyme inhibitory effects. When the content analysis results of plant extracts were examined, it was understood that the most phenolics in total were in ethanol extracts. It was determined that the highest contents of ethanol, acetone and water extracts were cyanidin-3-o-glucoside, keracyanin chloride and naringin, respectively. Additionally, the enzyme inhibitory properties of the plant were tested against cholinesterases (AChE and BChE) and xanthine oxidase (XO). According to the results obtained, when the inhibition capacities of the extracts against AChE and BChE enzymes were examined, it was determined that the branch extracts of the plant had the highest inhibition ability with IC<sub>50</sub> values of 0.346 mg/mL (R<sup>2</sup>: 0.916) and 0.110 mg/mL (R<sup>2</sup>: 0.924), respectively. When the capacity of *V. cracca L.* extract to inhibit the XO enzyme was examined, the highest activity was respectively; It was determined that 0.675 mg/mL (R<sup>2</sup>: 0.937) in leaf extract, > 0.745 mg/mL (R<sup>2</sup>: 0.974) in branch extract, and > 1.397 mg/mL (R<sup>2</sup>: 0.933) in seed extract. The findings obtained indicate that the *V. cracca L.* plant is an important resource for the pharmaceutical and food industries and may provide new horizons for future studies on this plant.

**2024, 94 Pages**

**Keywords:** AChE, BChE, XO, *V. cracca L.*, LC-MS/MS and QTOF-LC/MS.

## TEŞEKKÜR

Tez konunun belirlenmesinde ve tez çalışmalarımın her aşamasında bilgi ve tecrübeleriyle beni yönlendiren, ilgi, anlayış ve desteğini üzerimden eksik etmeyen, her zaman örnek alacağım değerli hocam Doç. Dr. Züleyha ALMAZ' a çok teşekkür ederim. Yüksek Lisans çalışmalarımın tüm sürecinde beni destekleyen ve yardımını esirgemeyen değerli hocam Doç.Dr. Ahmet SAVCI' ya çok teşekkür ederim.

Tez çalışmamda kullanılan bitki örneklerinin toplanması ve teşhisindeki yardım ve destekleri için Doç. Dr. Züleyha ALMAZ'a çok teşekkür ederim.

Ayrıca Yüksek Lisans sürecimde bana olan desteğini esirgemeyen değerli annem Songül SAVAŞ, babam Abdullmuttalip SAVAŞ ve kardeşlerim Rabia, Burcu, İrem, Tahir ve Azim' e sevgilerimi sunmak isterim.

Fatma SAVAŞ  
MUŞ-2024

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR .....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xii
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ARAŞTIRMASI .....</b>	<b>6</b>
2.1. Alzheimer.....	6
2.1.1. Hastalığın Tarihçesi .....	11
2.1.2. Amiloid- $\beta$ Proteini .....	13
2.1.3. Tau Proteini.....	14
2.1.4. Hastalığın Tanı Kriterleri.....	15
2.1.5. Hastalığın Tedavisi .....	15
2.2. Gut .....	21
2.3. <i>V. cracca L.</i> .....	24
2.4. Enzimler ve Özellikleri .....	26
2.4.1. Enzim Reaksiyonlarının Mekanizması .....	29
2.4.2. Enzimlerin İsimlendirilmesi ve Sınıflandırılması.....	31
2.4.3. Enzim Aktivitesini Etkileyen Faktörler .....	34
2.4.4. Enzim İnhibisyonu .....	36
2.4.4.1. Geri Dönüşümsüz İnhibisyon: .....	36
2.4.4.2. Geri Dönüşümlü İnhibisyon: .....	36
2.4.4.2.1. Kompetitif (Yarışmalı) İnhibisyon: .....	37
2.4.4.2.2. Nonkompetitif (Yarışmasız) İnhibisyon: .....	37
2.4.4.2.3. Unkompetitif (Yarı Yarışmalı) İnhibisyon: .....	37
2.5. Esterazlar .....	37
2.5.1. Kolinesterazlar .....	38
2.5.1.1. Asetilkolinesteraz.....	38
2.5.1.2. Bütirikolinesteraz Enzimi .....	42
2.6. Ksantin Oksidaz (XO) .....	43
2.7. Fenolik Bileşikler.....	44
2.7.1. Fumarik Asit .....	46
2.7.2. Kerasiyanin Klorid.....	47
2.7.3. Siyanidin .....	47
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM .....</b>	<b>50</b>
3.1. Materyal .....	50

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	50
3.1.2. Yararlanılan Alet ve Cihazlar .....	50
3.1.3. Bitki Örneklerinin Hazırlanması .....	51
3.1.4. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması .....	51
3.2. Yöntemler .....	52
3.2.1. LC-MS/MS Analiz (Sıvı Kromatografisi Tandem Kütle /Kütle Spektrometresi) .....	52
3.2.2. Asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine bazı kimyasal maddelerin IC <sub>50</sub> değerlerinin bulunması.....	52
3.2.3. Asetilkolinesteraz (AChE) enzimi aktivite ölçüm metodu .....	53
3.2.4. Bütirilkolinesteraz (BChE) enzimi aktivite ölçüm metodu .....	54
3.2.5. Ksantin oksidaz (XO) enzim aktivite ölçüm metodu.....	55
3.2.6. QTOF- LC/MS yöntemi ile fenolik içerik tayini .....	56
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA .....</b>	<b>57</b>
4.1 Fenolik madde tayini .....	57
4.1.1. Asetilkolinesteraz (AChE) ve Bütirilkolinesteraz (BChE) Enzim Aktiviteleri Üzerine <i>V. cracca L.</i> Etanolik Özütlerinin Etkilerinin Belirlenmesiyle İlgili Yapılan Çalışma Sonuçları .....	60
4.1.2. Ksantin Oksidaz (XO) Enzim Aktivitesi Üzerine <i>V. cracca L.</i> Etanolik Özütlerinin Etkilerinin Belirlenmesiyle İlgili Yapılan Çalışma Sonuçları.....	64
4.1.3 QTOF Quadropole Time Of Flight Sonuçları (Sıvı Kromatografi- Kuadropol Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometre) .....	68
4.3.1. QTOF-LC/MS yöntemi ile fenolik içerik tayini bulguları.....	68
<b>5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....</b>	<b>77</b>
5.1. Sonuçlar .....	77
5.2. Öneriler .....	78
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>80</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>94</b>

## SİMGELER ve KISALTMALAR

### Simgeler

A $\beta$  : Amiloid beta

### Kısaltmalar

AChE	:	Asetilkolinesteraz enzimi
AChI	:	Asetilkolinyodat
BChE	:	Bütirilkolinesteraz enzimi
BChI	:	Bütirilkolinyodat
XO	:	Ksantin oksidaz enzimi
ACh	:	Asetilkolin
APP	:	Amiloid Prekürsör Protein
AH	:	Alzheimer hastalığı
ApoE e4	:	Apolipoprotein E4
DMSO	:	Dimetilsülfoksit
DTNB	:	5,5'' –ditiyobis(2-nitrobenzoik asit)
E	:	Enzim
E.C	:	Enzim kod numarası
I	:	İnhibitör
IC <sub>50</sub>	:	Mevcut konsantrasyonu yarıya düşüren inhibitör konsantrasyonu
PS1	:	Presenilin 1
PS2	:	Presenilin 2
NMDA	:	Glutamat reseptörü
NFT	:	Nörofibriler yumaklar
BT	:	Bilgisayarlı tomografi
TSH	:	Tiroid uyarıcı hormon
Tris	:	Trihidroksimetilamino metan
PET	:	Pozitron emisyon tomografi
SPECT	:	Tek foton emisyon bilgisayarlı tomografi
MRG	:	Manyetik rezonans görüntüleme
AChEI	:	Asetilkolinesteraz enzimi inhibitörü
FDA	:	Gıda ve İlaç İdaresi
MSU	:	Monosodyum urat
NSAID	:	Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar
GalNAc	:	N-asetil-galaktozamine

ES	:	Enzim-substrat
NAD	:	Nikotinamid adenin dinükleotid
NADP	:	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
FMN	:	Flavin mononükleotid
FAD	:	Flavin adenin dinükleotid
AST	:	Aspartat aminotransferaz
ALT	:	Alanin aminotransferaz
VACHT	:	Asetilkolin taşıyıcısı
ChE	:	Kolinesteraz enzimi
CaE	:	Karboksil esterazlar
AChR	:	ACh reseptörleri
EDTA	:	Etilendiamintetraasetik asit

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. 1 Sekonder metabolitlerin genel sınıflandırılması.....	3
Şekil 2. 1 Alzheimer hastalığının risk faktörleri.....	9
Şekil 2. 2 Normal beyin-Alzheimerli beyin .....	10
Şekil 2. 3 Sağlıklı beyin ve alzheimerli beyin yapısı .....	11
Şekil 2. 4 Doktor Alois Alzheimer ve hastası Auguste DETER .....	12
Şekil 2. 5 Amiloid Beta Proteini.....	13
Şekil 2. 6 Mikrotübül ilişkili tau proteini .....	14
Şekil 2. 7 Alzheimer tedavisinde kullanılan ilaçların yapısı .....	18
Şekil 2. 8 Gut hastalığının eklemlerde neden olduğu iltihaplanma .....	23
Şekil 2. 9 Gut hastası birey .....	24
Şekil 2. 10 <i>V. cracca</i> L.nin yeşil ve kurutulmuş hali.....	25
Şekil 2. 11 Enzim-substrat ilişkisi .....	30
Şekil 2. 12 Enzimli ve Enzimsiz Reaksiyonların Aktivasyon Enerjisi Değişimleri.....	31
Şekil 2. 13 Enzim reaksiyonunun hızı üzerine ısı etkisi.....	34
Şekil 2. 14 Enzim reaksiyonunun hızı üzerine pH etkisi.....	35
Şekil 2. 15 Substrat konsantrasyonuna göre reaksiyon hızının değişimi .....	35
Şekil 2. 16 Enzimin konsantrasyonuna göre reaksiyon hızının değişimi .....	36
Şekil 2. 17 Nöronların diğer nöronlarla olan mesaj iletimini sağlayan sinapsların gösterimi .....	39
Şekil 2. 18 Asetilkolinesteraz metabolizması.....	40
Şekil 2. 19 Asetilkolin Sentezi .....	41
Şekil 2. 20 Asetilkolinin hidrolizi.....	41
Şekil 2. 21 Bütirikolin in katalizi .....	42
Şekil 2. 22 Pürin Metabolizması.....	44
Şekil 2. 23 Fumarik Asitin Kimyasal Yapısı.....	46
Şekil 2. 24 Yaygın antosiyaninlerin yapısal formülü. ....	48
Şekil 4. 1 <i>V.cracca</i> 'nın yaprak etanol özütünün AChE enzime karşı IC <sub>50</sub> grafiği.....	60
Şekil 4. 2 <i>V.cracca</i> 'nın dal etanol özütünün AChE enzime karşı IC <sub>50</sub> grafiği.....	60
Şekil 4. 3 <i>V.cracca</i> 'nın tohum etanol özütünün AChE enzime karşı IC <sub>50</sub> grafiği.....	61
Şekil 4. 4 <i>V.cracca</i> 'nın yaprak etanol özütünün BChE enzime karşı IC <sub>50</sub> grafiği. ....	61
Şekil 4. 5 <i>V.cracca</i> 'nın dal etanol özütünün BChE enzime karşı IC <sub>50</sub> grafiği.....	62
Şekil 4. 6 <i>V.cracca</i> 'nın tohum etanol özütünün BChE enzime karşı IC <sub>50</sub> grafiği.....	62
Şekil 4. 7 <i>V.cracca</i> 'nın yaprak etanol özütünün XO enzime karşı IC <sub>50</sub> grafiği. ....	65
Şekil 4. 8 <i>V.cracca</i> 'nın dal etanol özütünün XO enzime karşı IC <sub>50</sub> grafiği.....	65
Şekil 4. 9 <i>V.cracca</i> 'nın tohum etanol özütünün XO enzime karşı IC <sub>50</sub> grafiği. ....	66

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2. 1 Alzheimerda kullanılan inhibitör ilaçlar.....	20
Çizelge 3. 1 Ksantin oksidaz enzimi aktivite ölçümü için kullanılan miktarlar.....	53
Çizelge 3. 2 Bütirilkolinesteraz enzimi aktivite ölçümü için kullanılan miktarlar.....	55
Çizelge 3. 3 Ksantin oksidaz enzimi aktivite ölçümü için kullanılan miktarlar.....	56
Çizelge 3. 4 QTOF-LC/MS cihazı çalışma koşulları .....	56
Çizelge 4. 1 <i>V. cracca</i> L. özütlerinde tespit edilen fenolik bileşikler.....	59
Çizelge 4. 2 <i>V. cracca</i> 'nın (etanol ekstraktı) ve standart bileşiğin (Galantamin) asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirilkolinesteraz (BChE) enzimlere karşı yarı maksimum inhibisyon konsantrasyonu (IC <sub>50</sub> ). .....	63
Çizelge 4. 3 <i>V. cracca</i> 'nın (etanol ekstraktı) ve standart bileşiğin (Allopurinol) ksantin oksidaz (XO) enzimine karşı yarı maksimum inhibisyon konsantrasyonu (IC <sub>50</sub> ). .....	66
Çizelge 4. 4 Yaprak-etanol ekstraktının QTOF-LC/MS sonucu .....	68
Çizelge 4. 5 Yaprak-aseton ekstraktının QTOF-LC/MS sonucu.....	69
Çizelge 4. 6 Yaprak-su ekstraktının QTOF-LC/MS sonucu .....	69
Çizelge 4. 7 Dal-etanol ekstraktının QTOF-LC/MS sonucu .....	70
Çizelge 4. 8 Dal-aseton ekstraktının QTOF-LC/MS sonucu.....	70
Çizelge 4. 9 Dal-su ekstraktının QTOF-LC/MS sonucu .....	71
Çizelge 4. 10 Tohum-etanol ekstraktının QTOF-LC/MS sonucu .....	72
Çizelge 4. 11 Tohum-aseton ekstraktının QTOF-LC/MS sonucu .....	73
Çizelge 4. 12 Tohum-su ekstraktının QTOF-LC/MS sonucu.....	73
Çizelge 4. 13 <i>V. cracca</i> L.'da bulunan fenolik bileşikler .....	74

## 1. GİRİŞ

Eski çağlardan beri insanlar beslenme ve sağlık sorunlarından dolayı bitkisel kaynaklara yönelmişlerdir. İlk zamanlar tıbbi olarak kullanılan bitkilerin miktarı az olsa da zamanla artarak 19. yüzyılda 13.000 civarına ulaşmıştır (Kayacık, 2019).

Eski Mısır metinlerinde yüzyıllar önce çeşitli rahatsızlıkları tedavi etmek için doktorlar tarafından reçete edilen bitkiler ve yiyecekler hakkında çeşitli raporlar yer almaktadır. Bu konu ile ilgili Hipokrat, gıda ve sağlık arasındaki güçlü ilişkiye dikkat çekerek “Yiyecekleriniz ilacınız ve ilaçlarınız yiyecekleriniz olsun” sözüyle hastalıkların beslenme ile ilişkili olduğunu vurgulamıştır (Ak, 2020).

İnsanların önceleri beslenme amacıyla tükettikleri bitkileri daha sonra hayvan davranışlarını gözlemleyerek ve deneyimleri sonucunda iyileştirici etkilerini keşfetmiş ve ilaç olarak tüketmeye başlamışlardır. Bu deneyimler sonucunda geçmişte kullanılan bitkilere bakıldığında günümüzde kullanılan bitkilerle bir farklılık olmadığı görülmektedir (Afife, 2020).

‘Günde bir elma doktoru uzak tutar’ ifadesi hastalıkların bitkilerdeki biyoaktif moleküller yardımıyla önlenebileceğini ifade eder (Olivas-Aguirre ve ark., 2016). Örneğin meyveler sahip oldukları flavonoidler, fenolikler, kumarinler ve tanenler gibi fenolik asit açısından zengin oldukları için güçlü radikal temizleyicilerdir. Meyve ve sebzelerin tüketimi ile kanser, kronik hastalık vakalarının azalması arasında ters bir ilişki bulunmuştur. Bu durumun besinlerin içerisindeki fenolik bileşiklerden kaynaklandığı ve uygun beslenme değişikliklerine yönelik bir strateji izlenirse kanser, kronik rahatsızlıklar ve dejeneratif hastalıkların azaltılabileceği rapor edilmiştir (Malta ve ark., 2013).

Bitkilerin insanlık tarihi boyunca hastalık tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO), bildirisine göre dünya nüfusunun %80'i (yaklaşık 4 milyar insan) hastalıklarını ilk etapta bitkiler ile gidermeye çalışmaktadır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011). Özellikle kırsal kesimde yaşayanların %80'inin tedavi amacıyla sadece bitkisel tıbbi kullandığı gösterilmiştir (Adeleye ve ark., 2011).

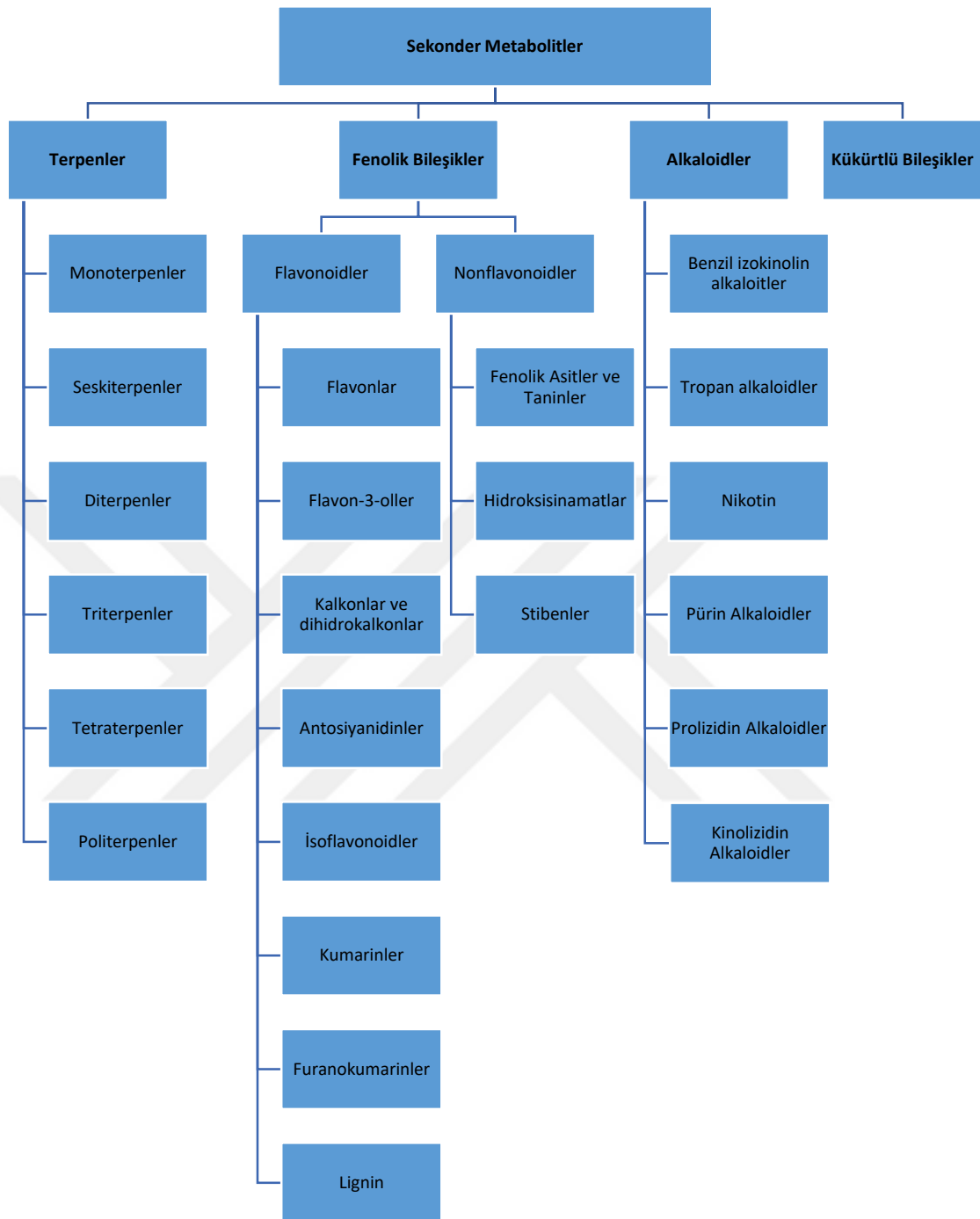
Son yıllarda insanların ucuz ve kolay tedavi elde etmek istemeleri, sentetik ilaçların kullanımında ortaya çıkabilecek yan etkiler, tıbbi bitkilere olan ilginin artması ve alternatif tıbbın yaygınlaşmasının başlıca sebepleri arasındadır (Koçtürk, 2009).

Günümüzde ilaç endüstrisinde yaygın olarak kullanılan ilaçların büyük çoğunluğu ile geleneksel olarak kullanılan bitkiler arasında pozitif korelasyon olduğu görülmektedir. Dünya üzerindeki bitkilerin büyük çoğunluğunun tıbbi değeri olduğu tahmin edilmektedir. Bunların yaprak, gövde, kök gibi kısımlarının tedavi amaçlı kullanıldığı bilinmektedir (Sarkar ve ark., 2015).

Bitkilerin iyileştirici ve tedavi edici yönünün nereden kaynaklı olduğu merak konusu olmuştur. Bilim ilerledikçe bilim insanları bitkinin etkin bileşiklerini araştırmışlardır. Bu konudaki ilk keşif ise 1805 yılında Alman eczacı W. Sertürner tarafından gerçekleştirilmiştir. Kimya biliminin gelişimiyle bileşiklerin kimyasal yapılarının aydınlatılması ve sentezi gerçekleştirilmiştir. Böylece günümüzde kesin ve hızlı tedavi sağlayan ilaçlar ile ilaç endüstrisi oluşmuştur (Afife, 2020). Tıbbi bitkiler, çok sayıda biyoaktif bileşenleri üreten en doğal kaynaklardır. 19. yüzyılın ortalarından bu yana birçok biyoaktif bileşen izole edilip modern ilaç endüstrisinde kullanılmaya başlanmıştır. Karakterize edilip kullanılan bu bileşikler yeni ilaç keşiflerinde öncü bileşik olma niteliği taşımaktadır (Uddin ve ark., 2011). Bitkisel kaynaklardan elde edilen eksratlar ve izole edilmiş bileşikler, enzimler için inhibitör kaynağı olduğundan bitkisel ilaçlara olan talebi arttırmaktadır (Zengin ve ark., 2018). Modern ilaç endüstrisine bakıldığında reçeteli ilaçların yaklaşık %25'inin vimbilastin, rezerpın, kinin, aspirin vb. gibi bitkisel kökenli olduğu bilinmektedir (Faydaoğlu, E., Sürücüoğlu M, S. 2011).

Bitkiler tarafından üretilen sekonder bileşikler araştırıldıkları ilk yıllarda işlevsiz bir madde olduğu gerekçesiyle tartışmalara sebep olmuştur. Sonraki yıllarda bu bileşenlerin organizmanın büyüme, gelişme ve çoğalmasında doğrudan yer alması da bitkinin savunma sisteminde; hastalıklara, zararlılara ve olumsuz çevre koşullarına karşı rol oynadığı sonucuna varılmıştır. Sekonder metabolitlerin günümüzde ilaçlarda, aromalarda, parfümlerde ve Covid-19 ilaçları arasında gösterebileceği bilinmektedir (Tiring ve ark., 2021).

Sekonder metabolitler; terpenler, fenolikler, kükürtlü bileşikler ve alkaloidler olarak dört grupta incelenir. Sekonder metabolitlerin antiinflamatuvar, antioksidan hipoglisemik, hipolipidemik etki göstermesi, kardiyovasküler hastalıklar ve kansere karşı koruyucu olması ve sağlık üzerine farklı birtakım olumlu etkilerin bulunması ilaç yapımında sekonder metabolitlerin kaynağı olarak gösterilen bitkilere olan ilginin her geçen gün artmasına sebep olmaktadır (Ülger ve Ayhan, 2020).



**Şekil 1. 1** Sekonder metabolitlerin genel sınıflandırılması

Birçok *Vicia* türünün sağlığa yararlı olduğu bilinen özelliklere sahip biyoaktif bileşiklere sahip olduğu çalışmalarla kanıtlanmıştır (Yagi ve ark., 2024). Yapılan bir araştırma *Vicia faba*'da dokuz wyeron (Furano-asetilenik türevler) tespit edilmiştir (Bakır, 2020). *Vicia sativa*'nın yapılan HPLC analizi sonucu; ferulic asit, 4-Hidroksi-3-

Metoksibenzoik asit ve p-Kumarik asit olmak üzere üç önemli fenolik bileşik tespit edilmiştir (Zohaib ve ark., 2014). *Vicia* cinsi bitkiler birçok biyoaktif bileşiğin kaynağı olarak büyük ilgi görmektedir. *Vicia* cinsinin antiparkinson, antikolinesteraz, antidepresan, antimikrobiyal, antioksidan, antiinflamatuvar, antidiyabetik gibi aktivitelere sahip olduğu bilinmektedir (Salehi, 2021).

Bitkilerin sahip olduğu antioksidanlar hücreleri singlet oksijen, süperoksit, peroksil, hidroksil ve peroksinitrit radikalleri gibi reaktif oksijen türlerinin oluşturacağı zararlı etkilere karşı koruyabilir. Antioksidanlar ve reaktif oksijen türleri arasındaki dengesizlik oksidatif strese neden olur. Oksidatif stres ise hücrel hasar ile sonuçlanır. Oksidatif stres ile ilişkilendirilen kanser, yaşlanma, inflamatuvar ve Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıklardan korunmada rol oynayabilir. Fabacea familyasından, yenebilir bir bitki olan *Vicia cracca L.*'nin (Orhan, 2009) orta derecede antioksidan kapasiteye sahip olduğu ve güçlü hepatoprotektif özelliği bulgularla gösterilmiştir (Shokrzadeh, 2018).

Asya, Avrupa ve Amerika'nın ılıman bölgelerinde yayılış gösteren *Fabaceae* familyasına (Rousi, 1961; Hanelt ve Mettin, 1989; Salehi, 2021; Jaaska, 2005) ait Kuş fiği olarak bilinen *V. cracca L.* çoğunlukla çayırarda, yol kenarlarında, tarlalarda yetişen, Anadolu'nun bitki örtüsünün doğal üyesidir (Karakurt, 2013).

Çift yapraklı olan bitkinin yaprakları sülüklü ve tırmanıcı özellikte olup boyu 200 cm kadar uzar ve bu bitki toprak altı sürgünleri ile yayılış gösterir. İlbahar aylarında mavimsi-mor çiçeklenen, hasat olgunluğuna Temmuz-Eylül aylarında ulaşan bu baklagil bitkisi hayvan yemi olarak kullanıldığı gibi geçmişte insanların tükettiği bir gıda olarak bilinmektedir (Karakurt, 2013).

Bitkilerde mevcut olan fenolik bileşiklerin serbest radikallerin neden oldukları zararlı etkilerini engelleyerek kanser, diyabet, Alzheimer ve kalp hastalıkları gibi pek çok hastalığın oluşumuna engel olmaktadır (Bacanlı, 2015). Günümüzde Alzheimer hastalığının kesin bir tedavisinin olmaması ve hastalığın çok faktörlü patogenezi göz önünde bulundurulduğunda tek hedefli yaklaşımların yetersiz olduğu görülmektedir. Etkin bir tedavi için hastalığın çok yönlü ve bütün faktörlerin değerlendirilmesi gerekmektedir. Nörodejenerasyona sebep olan etkilerin çoğunun polifenollerin flavonoid grubu içerisinde bulunan antosiyaninler ile yok olduğunu gösteren birçok çalışma mevcuttur. Bu çalışmaların sonuçları antosiyaninlerin oksidatif ve nitrosatif stres, eksitotoksisite, glial inflamasyon, protein agregasyonu ve apoptotik sinyal proteinlerinin indüksiyonu gibi etkilerinin olduğunu göstermektedir (Güçer ve Göktaş, 2023). Polifenollerin demans üzerindeki etkileri yeterince araştırılmamıştır. Mevcut veriler

polifenollerin demansı önleme ve tedavi amacıyla kullanımını için yeterli değildir. Ancak yapılan bir araştırmada 1.329 yaşlı birey 12 yıl boyunca izlenmiş olup, polifenol alımı dūřük olan bireylerde demansın gelişme riskinin polifenol alımı daha yūksək olanlara gōre % 50 daha fazla olduğu gōzlenmiřtir (Alkan ve Rakıcıoğlu, 2020).

Metabolik hastalıklardan biri olan gut hastalıđı anormal ksantin oksidaz (XO) aktivitesi ve yūksək serum ūrik asit konsantrasyonlarına bađlı olarak ortaya çıkan bir hastalıktır. Bitkilerin XO regūlasyonu ve serum ūrik asit konsantrasyonları ūzerinde birçok biyoaktif bileřenin etkisi arařtırılmaktadır. Gut hastalıđının tedavisinde kullanılan allopurinol sentetik bir ksantin oksidaz inhibitōrūdūr. Ancak ilaç maliyetli olmasının yanında yan etkilere de sahiptir. Alternatif bir inhibitōr kaynađı potansiyeline sahip olan *V. faba* 'nın arařtırıldıđı çalıřmada bitkide fenol ve flavonoidlerin mevcut olduđu, ksantin oksidazı inhibe etmesinden dolayı anti-gut özellik sergilediđi bildirilmiřtir (Choudhary ve Mishra, 2019). Dolayısıyla *V. cracca L.* bitkisinin Alzheimer ve gut hastalıđı ūzerinde etkisini inceleyen yeterli çalıřma olmadıđı için bu tez çalıřmasının literatūre çok ūnemli katkıda bulunacađı ve yapılacak olan çalıřmalara veri sađlayarak yōn vereceđi dūřūnūlmektedir.

## 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. Alzheimer

Demans genellikle yaşlı nüfusta farklı sebeplerden dolayı görülen kognitif (bilişsel) yetiler, yargılama, muhakeme (akıl yürütme), iç görü kaybı gibi semptomlar ile ortaya çıkan ciddi bir sağlık sorunudur. Kognitif yetiler dikkat, algı, hafıza, öğrenme, düşünme gibi bilişsel becerilerin geneline verilen isimdir (Taneli, 2017).

Demans; santral sinir sistemi etkileyerek öğrenme, bellek, oryantasyon, konuşma ve mental bozulmalara neden olan dolayısıyla sosyal ve iş hayatını etkileyen nörodejeneratif bir hastalıktır (Cankurtaran, 2004). Demans; otopsi sonrası nörofibriler yumaklar (NFT), sinaps kaybı, granülovaküolar dejenerasyon, nörotik senil amiloid plaklar, Meynert'in bazal nükleusunda kolinerjik hücre kaybı, Hirano cisimciği, kongofilik anjiyopatiler gibi patolojik bulgular Alzheimer hastalığının tanısında belirteç olarak kullanılmaktadır. Ancak demansın özellikle erken döneminde hiçbir radyolojik, nöropsikolojik, veya *in vitro* ortamdaki araştırmalar hasta hakkında bilgi veremez. Hastalık tanısı yalnızca klinik araştırmalar sonucu konulabilir (Karaman, 2002).

Alzheimer hastalığı bütün demansların %50-70 ini oluşturan en yaygın demans türü olarak ele alınmaktadır (Hill ve ark., 2009).

Günümüzde birçok faktöre bağlı olarak hastalıklar küresel anlamda artmıştır. Son yıllarda önemli artış gösteren Alzheimer bu hastalıkların başında gelir. Yapılan araştırmalara göre Amerika'da her 67 saniyede bir kişi Alzheimer' a yakalanmaktayken bu durumun 2050 yılında 33 saniyeye düşmesi beklenmektedir (Uysal ve ark., 2016). Demans hastalarının çoğunun gelişmiş ülkelerde olduğu için artış oranının gelişmiş ülkelerde %100 artması beklenmektedir (Ferri ve ark., 2005). Demansın küresel olarak yayılması her 20 yılda bir ikiye katlanarak, 2020' de 42.3 milyona, 2040'ta ise 81.1 milyon kişiye ulaşacağı tahmin edilmektedir (Hill ve ark., 2009).

2020 verilerine göre Alzheimerdan dolayı hayatını kaybeden kişi sayısı, 2015 yılında 12 bin 59 iken 2019 yılında 13 bin 498'e yükselmiştir (EYİBASHB, Eylül, 2022). Cinsiyete göre yapılan analize göre 2021 yılında Alzheimer hastalığından ölen yaşlı erkeklerin oranı %2,2 iken yaşlı kadınların oranı %3,8 olmuştur (EYİBASHB, Nisan, 2023). Bu durum Alzheimer hastalığının gelecekte en önemli sağlık sorunlarından biri olacağını düşündürmektedir (Öztürk ve Karan, 2009). Tüm durumlar birlikte değerlendirildiğinde bu hastalığın Türkiye içinde çok önemli bir sorun haline geleceği,

gerçek anlamda bir tedavinin tam olarak olmamasından dolayı, hasta ve yakınlarının yaşadıkları maddi ve psikolojik bütün sorunlar hastalığın tedavisinin gerekliliğini ve önemini göstermektedir (Özkay, 2009). Ülkemizde Devlet İstatistik Enstitüsünün verilerine göre yaklaşık olarak 250.000 Alzheimer hastasının olduğu bu durum da tedavi geliştirmenin gerekliliğini vurgulamaktadır (Demir ve Türkan, 2022).

Alzheimer hastalığı 65 yaş ve üstü bireylerde yaygın olarak görülen ve zihinsel birtakım deformasyona sebep olan nörolojik bir hastalıktır (Ak, 2020). Öğrenmedeki ciddi eksiklikler genellikle Alzheimer hastalığının en erken ve en belirgin özelliğidir (Christensen ve Birrell, 1991). Alzheimerin 65 yaş üstünün %10'unu, 85 yaş üstü bireylerin ise %50'sini etkilediği düşünülmektedir (Hartman, 2009). Hastalığın ortaya çıkma riski yaşa bağlı olarak logaritmik biçimde artmaktadır (Öztürk ve Karan, 2009). Yaşın çok önemli bir faktör olduğu Alzheimer hastalığıyla ilgili yapılan çalışmalara göre 65 yaşından 90 yaşına ilerlerken 5-6 yılda bir hastalığın insidansı ikiye katlanmaktadır (Taneli, 2017).

Hastalık için risk faktörü olarak yaşlılık (Farrer ve ark., 1997), kafa travması, genetik faktörler, kadın olmak, düşük eğitim düzeyi, çevresel koşullar, damar hastalığı, (Castellani ve ark., 2010), ailede demans öyküsü (Van Duijn ve Stijnen, 1991; Farrer ve ark., 1997), gen haritasında ApoE e4 alelinin bulunması (Farrer ve ark., 1997), (Messier, 2003), diyabet hastalığı (Messier, 2003) , menopoz (Ganguli ve ark., 2000), depresyon, Down sendromu (Özkay ve ark., 2011) ve uzun süreli alkol ve sigara kullanımı gösterilebilir (Doll ve ark., 2000). Araştırmalar hem diyabet hem de ApoE e4 aleli olan kişilerde Alzheimer hastalığına yakalanma riskinin her iki durumun da olmayan kişilere göre iki kata daha fazla olduğunu gösteriyor. Alzheimer ve diyabet hastalığında benzer patolojik durumlar olamamasına rağmen diyabetin ApoE (apolipoprotein E) genotipli bireylerin nörofibril yumak ve amiloid birikimini önemli ölçüde arttırdığı yapılan araştırmalar göstermektedir (Messier, 2003). Apolipoprotein E4 (E4 aleli) karaciğer, astrosit, dentrosit ve Shwan hücreleri tarafından sentezlenen (Tosun, 2014), kolesterol taşınmasında rol oynayan bir proteindir. Alzheimer hastalarında yüksek oranda olduğu tespit edilmiştir (Strittmatter ve ark., 1993). Proteinin merkezi sinir sistemi üzerindeki lipaz aktivitesini bozarak yaşlanan beyin bölgelerinde kolesterol ve lipit seviyelerinin değişimine neden olmaktadır (Tosun, 2014). Oksidatif strese neden olduğu ve Alzheimer hastalığı için risk faktörü olduğu düşünülmektedir (Choi ve Park, 2001). Sonuç olarak ApoE-e4, bilişsel yaşlanma için risk faktörü olmakta ve daha zayıf işlevsel durumla birlikte düşük bilişsel performans ile ilişkilendirilmiştir (Seeman ve ark., 2005).

Presenilin 1 (PS1), Presenilin 2 (PS2) ve Amyloid Precursor Protein (APP) adlı üç genin alzheimer ile ilişkili olduğu ve nörotoksik A $\beta$  üretimini teşvik ettiği düşünülmektedir (Mesulam, 2004). kromozomlarda gerçekleşen mutasyonlar 21., 14. ve 1. kromozomlarda anormal proteinlerin oluşmasına neden olmaktadır. Gerçekleşen bu mutasyonlar 21. kromozomda anormal APP, 14. kromozomdaki mutasyon anormal PS1 ve 1. kromozomdaki mutasyon ise anormal PS2 genine neden olmaktadır. Genlerin kişide mevcut olması Alzheimer olasılığının çok yüksek olduğunu göstermektedir. Çünkü 21. kromozom üzerinde bulunan APP geni normalde hücre zarında bulunmakta ve sinir hücrelerinin büyüme ve hareketine yardımcı olmaktadır. Presenilin 1 ve 2 genleri ise APP' nin görevini doğru yapması için gerekli proteinleri üretmektedir. Bu genlerden birinin mutasyonu durumunda ise APP hücre dışında amiloid beta proteinlerinin birikimine sonuç olarakta amiloid plakların oluşmasına neden olmaktadır. Amiloid plaklar hastalığın tanı özelliklerinden olup bu durum Amiloid Hipotezi olarak bilinmektedir (Taneli, 2017). Bu hipoteze göre de A $\beta$  proteinlerinin fazla uzaması ve yanlış katlanması sonucu birikim gerçekleşmektedir. Amiloid plak birikimleri veya kısmen toplanmış amiloid beta nörotoksik kademeyi başlatır ve AH' ye yol açan nörodejenerasyona neden olur. Böylece oluşan toksik ve çözünmeyen plaklar birikerek nöronların işlevlerini kaybetmesine neden olmaktadır (Mesulam, 2004; Singh ve ark., 2013 ; Mann, 1989). Beynin özellikle amigdala, hipokampus ve neokorteksinde görülen senil amiloid plaklar ve nörofibril yumakların agrege olması nöron kaybına yol açmaktadır (Budak ve Aydın, 2016 ; Lambracht-Washington ve Rosenberg, 2013; Öztürk ve Karan, 2009). Hastalığın sorumlusu görülen amiloid birikiminin Alzheimer hastalığının teşhisinden çok önce başladığı, tau birikiminin ise birkaç yıl öncesinden oluştuğu bildirilmiştir (Yapıcı ve İzol, 2023).

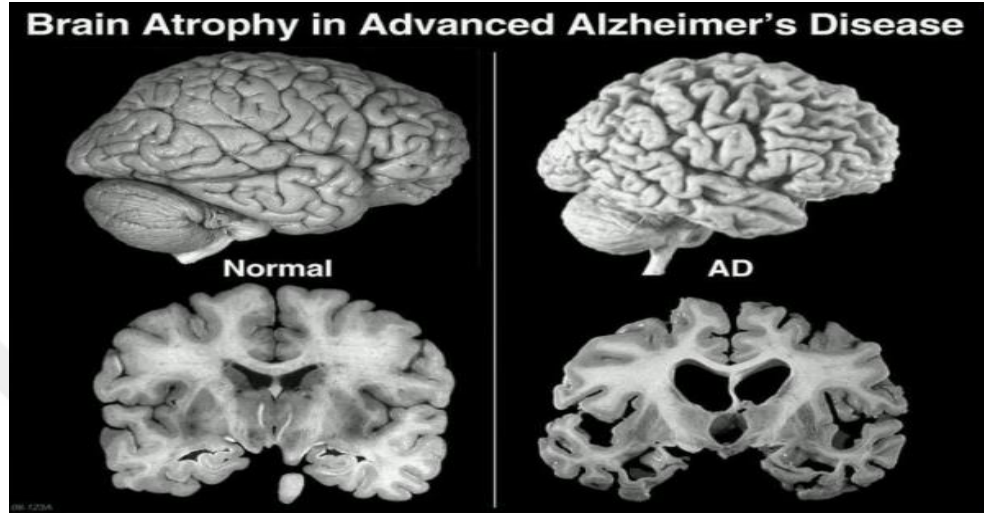
AH'nin patofizyolojisi nörotransmitter maddelerin olduğu kompleks bir süreçtir (Budak ve Aydın, 2016). Enzime bağlı olarak ortaya çıktığı düşünülen bu hastalıkların tedavileri arasında en çok kabul göreni anahtar enzim inhibisyonudur. Hastalığın tedavisinde kullanılan bu strateji hastalığın patolojisinde rol oynayan enzimin inhibe edilerek ortaya çıkan demansın azaltılmasını sağlamaktır. Alzheimer hastalarında fazla aktif olan asetilkolinesteraz adlı enzim sinaptik boşlukta asetil ve kolinin parçalanmasını katalizleyerek bilişsel fonksiyonların bozulmasına neden olur. Ancak asetilkolinesteraz enziminin inhibe edilmesi durumunda hastalıktan kaynaklı semptomların azaltılması sağlanır. Kullanılan bu strateji kolinerjik hipotez olarak adlandırılır (Uysal ve ark., 2016 ; Işık ve ark., 2022).



**Şekil 2. 1** Alzheimer hastalığının risk faktörleri

Alzheimer hastalığının kesin bir nedeni bulunamamakla birlikte kabul edilen en önemli hipotez beyindeki kolinerjik aktivitenin azalmasıdır. Kolinerjik hipotez kolinerjik kavşak ve sinapslarda asetilkolin miktarının azalmasıyla gerçekleşir. (Dickson, 1997). Tedavi yöntemi olarak izlenecek yol ise AChE enzimini inhibe edecek ve asetilkolin miktarını (Yeşilkır Baydar, 2020) ve kognitif fonksiyonları ve nöronların fonksiyonlarını artırmaktır (Brufani ve Filocamo, 1997).

Biyokimyasal çalışmalar asetilkolinesteraz enziminin amiloid plak oluşumunu tetiklediğini, sonrasında ise oldukça toksik AChE-A $\beta$  komplekslerini oluşturduğunu göstermektedir (Inestrosa, 2005). AChE' nin senil plaklarla aynı ortamda bulunması enzimin aslında anormal özelliklerinin olduğunun kanıtıdır. Ayrıca amiloid bileşenlerinin nörotoksitesi asetilkolinesteraz enziminin varlığıyla pozitif korelasyon göstermektedir (Talesa, 2001).



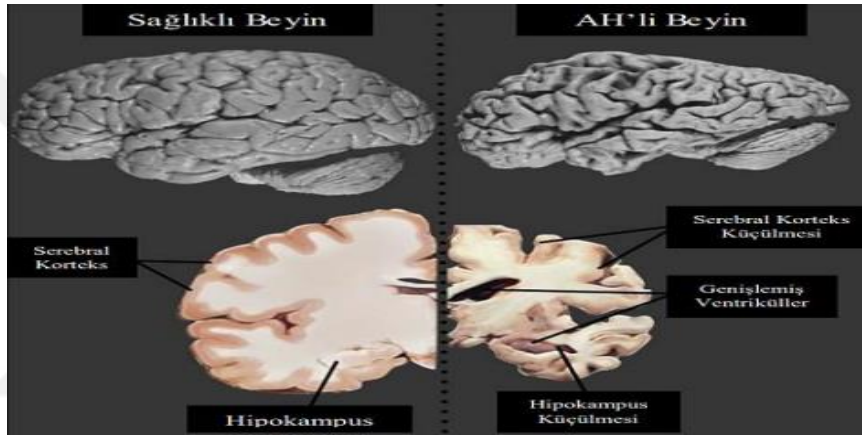
Şekil 2. 2 Normal beyin-Alzheimerli beyin <https://akademiksunum.com>

Alzheimerli beyinlerin ölüm sonrasında incelenmesi sonrasında karakteristik plaklar ve düğümlere ek olarak mitokondriyal fonksiyon bozukluğu, inflamasyon, astrogliosis , mikrogliyal aktivasyon, sinaptik kayıp, nöronal hasar, apoptoz (Hartman, 2009), bozulan kalsiyum homeostazisi, oksidatif stres varlığı da kanıtlanmıştır (Güçer ve Göktaş, 2023). Özellikle oksidatif stresin de nörodejeneratif hastalıklarda önemli bir faktör olduğuna dair bulgular her geçen gün artmaktadır (Kaymak ve Aydın, 2021).

Başından bu yana AChE' nin tek işlevinin kolinerjik nörotransmisyonun sonlandırılması olarak bilinmekteydi. Bu nedenle kolinerjik dengesizliklerin neden olduğu semptomların tedavisi olarak AChEI' nin kullanılması en mantıklı strateji olarak düşünülmekteydi. Ancak AChE' nin daha geniş etkilere sebep olduğu anlaşılmıştır. Amiloid öncü proteinlerinin işlenmesinden sorumlu ve tau fosforilasyonunu azaltan kolinerjik reseptörler aracılığıyla iletimi sağlayan sinyal transdüksiyon yollarında AChE' in A $\beta$  peptidinin toplanmasındaki (Lane, 2004) ve tau fosforilasyonundaki rolü çok önemlidir (Kim ve Lee, 2013). Asetilkolinesteraz enziminin amiloid  $\beta$  plaklar ile tau proteininin fosforilasyonu sonucu oluşan nörofibril yumakların oluşumunda aktif olarak rol alması da etki ettiği ancak mekanizmasının açıklanamadığı bildirilmiştir.

Kullanılacak inhibitörler ile hastalık etkenlerinin önlenebileceği düşünülmektedir (Bourne ve ark., 1999).

ACh'yi parçalayan ve A $\beta$ 'nin birikimini tetikleyen asetilkolinesteraz enzimini inhibe etmeyi hedefleyen galantamin, takrin, donepezil, rivastigmin gibi ilaçlar AH'nin gelişim riskini azaltmak izlenen stratejilerdir. Yapılan çalışmalar fitokimyasal bileşiklerin, antioksidanların AH'nin çeşitli yönlerini etkilediğini gösteren birçok kaynak bulunmaktadır. Gerçekten de mevcut olan farmasötik kökleri geleneksel bitkisel ilaçlara dayanmaktadır. Örneğin galantamin ilacı farmasötik bir maddedir. Ayrıca yapılan bir çalışma ginkgo biloba ekstratlarının donepezil kadar etkili olduğunu göstermiştir (Hartman, 2009).



**Şekil 2.3** Sağlıklı beyin ve alzheimerli beyin yapısı (Sivrikaya, 2022)

AH tüm tedavi ve terapilere rağmen durmaksızın ilerler. AH başlangıçta sinsi bir hafıza bozukluğuyla kendini gösterirken zamanla, kişilik ve muhakeme bozukluğu, öz bakım yapamama, konuşma anormallikleri, oryantasyon bozukluğu gibi belirtilere dönüşür. Hastalarda fonksiyonel görüntüleme teknikleri kullanılarak yapılan incelemelerde hipokampalkorteksin, medial-temporal, parietal ve temporal yapıların etkilendiğini göstermektedir. Bu alanlarda meydana gelen hasarların sözel yetenek, dikkat, bellek gibi işlerin bozulmasına neden olduğu görülmektedir. Daha sonraki dönemde ise Alzheimer hastası son zamanlarını bitkisel hayatta, zatürre olarak, yatağa bağımlı ve sakral dekübit şeklinde geçirirler (Castellani ve ark., 2010).

### 2.1.1. Hastalığın Tarihiçesi

Alois Alzheimer Tübingen, Berlin, Aschaffenburg Üniversite'sinde gördüğü eğitimden sonra ve 1887'de doktor diplomasını alarak Frankfurt'ta psikiyatri ihtisasını yapmıştır. Frankfurt'ta bir kurumda psikiyatri ve nöropatoloji alanında ünlü nörolog

Franz Nissl ile tanınmış bir psikiyatrist olan Emil Sioli adlı bu iki doktorla çalışarak serebral korteksin normal ve patolojik anatomisi hakkında araştırmalar yapmışlardır. Sinir sistemindeki tahribatlar ile ilgili yaptığı araştırmaların sonucunda bir birçok bulguyu tanımlamıştır.

1901 yılında Frankfurt 'ta çalıştığı hastaneye kabul edilen 51 yaşındaki Auguste DETER ile karşılaştı ve yaptığı muayenede kendine bakamayacak durumda olan hastasının bellek bozukluğu, okuma yazma zorluğu gibi bilişsel değişikliklerin olduğunu gözlemlemiştir (Selekler, 2010).

Belirtilerin zamanla arttığı hastanın 1906 yılında vefatından sonra hastasına yaptığı otopside korteksin normalde daha ince olduğunu, hafıza, dil ve düşünmeyi kontrol eden bölgeler ciddi zarar görmüş, plaklar ve nörofibril yumakların olduğunu gözlemlemiştir (Yang ve ark., 2016). Alzheimer kortekste gördüğü lekelenmeleri ve dirençli olağandışı birikintilerin varlığını tanımlamıştır. Böylece Alzheimer 1911 yılında yayınladığı kapsamlı makalesi ile senil demansın yaşlanmayla ilişkili normal bir olaydan ziyade bir hastalık olduğunu ve klinik olarak tedavi edilebileceğinin anlaşılmasını sağlamıştır (Small ve Cappai, 2006).

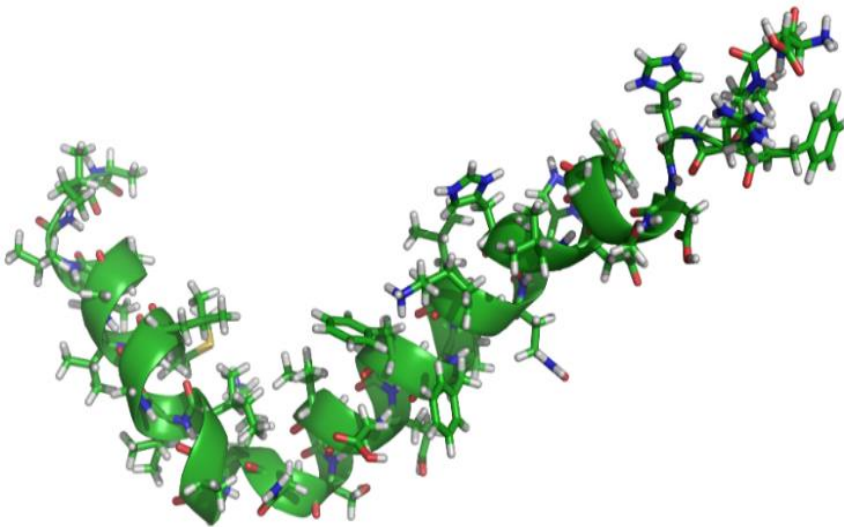


**Şekil 2. 4** Doktor Alois Alzheimer ve hastası Auguste DETER  
[www.argia.eus/en/argia-astekaria/2861/ahanzturaren](http://www.argia.eus/en/argia-astekaria/2861/ahanzturaren)

### 2.1.2. Amiloid- $\beta$ Proteini

Amiloid beta, 21. kromozomda kodlanan (Akalin ve ark., 2004), 40-42 aminoasitten oluşan bir proteindir (Özpak ve ark., 2017). Bellek ve biliş hizmet eden bu proteinin ilerleyici birikimi Alzheimer hastalığının tanımlayıcı özelliklerinden biridir. Demansa sahip olmayan insanlarda beyin yaşlanmasına eşlik ettiği bilinmektedir (Masters ve Selkoe, 2012).

Alzheimer hastalığında amiloid beta proteini seviyesinin artmasına neden olan APP (Amiloid prekürsör protein), PS2 (presenilin 2) ve PS1 (presenilin 1) genlerinde meydana gelen mutasyonlar toksik A $\beta$  üretimini sağlayarak Alzheimer hastalığına neden olmaktadır (Özkay ve ark., 2011). Beyinde A $\beta$  birikimi, 40'lı yaşların ilk yarısında, yani Alzheimer hastalarında bilişsel bozukluğun başlangıcından 15-20 yıl önce başladığı düşünülmektedir (Ishida ve ark., 2017). Alzheimer hastalığının zebra balığı üzerinde araştırıldığı bir çalışmada düzensiz fosforile edilmiş tau proteininin ve çözünmeyen amiloid proteininin nöronal birikiminden kaynaklı olduğu savunulmaktadır (Topal, 2023). Alzheimer hastalığının patogenezi incelendiğinde  $\beta$ -amiloid proteini (A $\beta$ ) birikiminin birinci neden olduğunu gösteren kanıtlar vardır. Ancak Alzheimer hastalığında A $\beta$  birikiminin bilişsel olarak gerilemeye nasıl neden olduğu açıklanamamıştır. A $\beta$  etkileri ve nörotoksisite mekanizması *in vitro* olarak incelenmiş ve birçok biyokimyasal yol ve mekanizma tanımlanmıştır. Ancak bilinen bu yollardan hangisinin hastalığın asıl sebebi olduğunu ve tedavi için geliştirilecek terapötik ajanların geliştirilmesi mümkün görünmemektedir (Small ve ark., 2001).



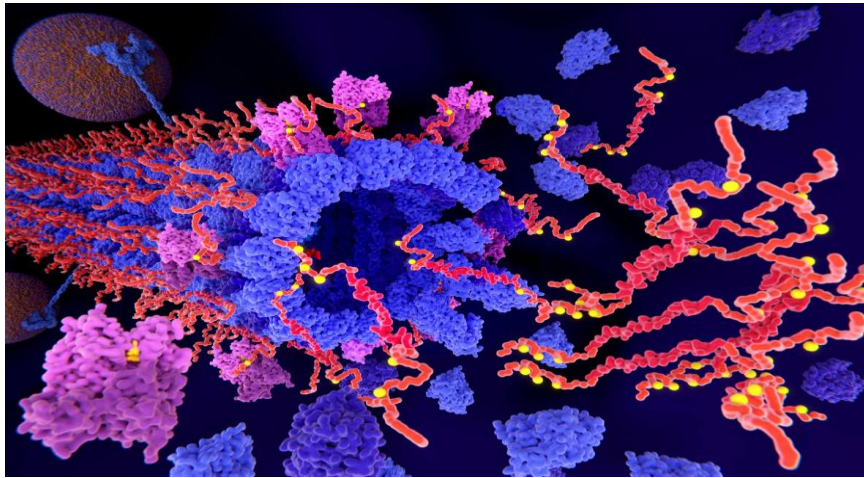
Şekil 2. 5 Amiloid Beta Proteini (www.alzheimer-europe.org)

### 2.1.3. Tau Proteini

Tau, esas olarak aksonlarda bulunan ve ileriye doğru aksonal taşınmada rol oynayan (Ballatore ve ark., 2007) sitozolik bir proteindir (Hernández ve Avila, 2007). Tau proteininin en önemli görevi mikrotübülleri stabilize etmektir. Normal koşullar altında tau mikrotübüllerde dengeyi sağlar ve merkezi bir role sahiptir. Tau proteinin mikrotübüllerden ayrılması sonrasında yanlış katlanmalar ve tau toplanmasının meydana gelmesi tau'ya toksik fonksiyonlar kazandırmakta ve bununda nörofibril yumakların oluşmasına neden olduğu savunulmaktadır. Tau proteininin normal bir şekilde ayrılmamasının nedeni olarak gen mutasyonları, tau kinazlar ve fosfatazlar arasındaki dengesizlik, oksidatif stres doğrudan ya da dolaylı olarak nörodejenerasyonu başlattığı bilinmesine rağmen nöron kaybına yol açan olaylar zincirindeki kesin rolü belirsizliğini korumaktadır (Ballatore ve ark., 2007).

Kromozomda yer alan presenilin 1 geni mutasyonunun (Özkay ve ark., 2011) hücre iskeletinde bulunan mikrotübüllerle bağlantılı olan tau proteininin hiperfosforilasyonuna neden olduğu sonrasında ise nörofibril yumakların oluşumunu tetiklediği bildirilmiştir (Lambracht-Washington ve Rosenberg, 2013). Oluşan nörofibriler yumaklar; nöronların bütünlüğünü, yapısını, transportunu bozarak nöronların kaybına sebep olmaktadır (Poirier ve ark., 1993).

Tau birikimi Alzheimer hastalığı için spesifik değildir. Yaşlılığa bağlı olarak da birikim olabilir. Ancak neokortikal alanda birikimi demans ile ilişkilidir. Kesin tanı için A $\beta$  ile birlikte görüntülenme sağlanması gerekir (Budak ve Aydın, 2016). Tau agregatlarının aksoplazmik akış ve aksonal transportu engellediği bilinmektedir. Bu durumda nöron kaybıyla sonuçlanacağı düşünülmektedir (Adalı, 2020).



Şekil 2. 6 Mikrotübül ilişkili tau proteini (Alzheimers-and-its-helper-protein.aspx )

#### 2.1.4. Hastalığın Tanı Kriterleri

Hastalığın tanısında yapılan *in vitro* testler genellikle hastalığın nedenlerini bulmak için kullanılmaktadır. Rutin değerlendirme olarak bu testler kan şekeri, B<sub>12</sub> vitamini, folat, tiroid fonksiyonu, kan sayımı, elektrolitleri ölçmeyi amaçlamaktadır. Ancak B<sub>12</sub> vitamininin eksikliğinin düşüklüğü bilişsel performans düşüklüğüne neden olurken demansı olmayan kişilerde değerin düşük olması demans gelişimi açısından risk taşımamaktadır. Yine yapılan bu testlerden tiroid testleri ile ilgili yapılan araştırmalar TSH düzeyinin demans riskini arttırdığını göstermektedir. Depresyon ile birlikte bilişsel bozuklukların demansa neden olma ihtimalini arttırmaktadır. Ancak hastaların %5'inde yapılan muayenelerde anlamlı patolojik ve anormal değişiklikler bulunduğu halde hastalığı öngöreceği hiçbir özelliğın olmadığı anlaşılmıştır (Knopman ve ark., 2001).

Dolayısıyla hastalıkta yapılan laboratuvar testleri ile tanı konulamamaktadır. Nöropsikolojik testler demansın tanısını belirlemek, hastalığın gidişatına ve tedaviye yanıtı değerlendirmeye yardımcı olur. Bu testler Alzheimer tanısının konulabilmesi için ve diğer demans nedenlerinin belirlenebilmesinde kullanılabilir (McKhann ve ark., 1984). Alzheimer tipi demansta bellek bozukluğu ve hafif bilişsel bozukluğun değerlendirilmesi hastalığın tanısında önemlidir. Hastalığın tanısında bilinen bir yöntem ya da laboratuvar testi yoktur (Akdemir ve ark., 2007).

Hastalığın erken ve en doğru tanısını belirlemede kullanılan görüntüleme biyomarkırlar ayrıca demans çeşitlerinin patofizyolojisini açıklama, yeni ve daha iyi tedavi yöntemlerini geliştirme açısından da büyük öneme sahiptir. Demansta görüntüleme yöntemleri bilgisayarlı tomografi (BT), manyetik rezonans görüntüleme (MRG), pozitron emisyon tomografi (PET), tek foton emisyon bilgisayarlı tomografi (SPECT) kullanılmaktadır. Ancak pek çok dejeneratif hastalıkta BT ve MRG gibi görüntüleme teknikleri ile net bir bulgu elde edilemezken PET VE SPECT ile patolojiler saptanabilmektedir. PET ile amiloid beta ve tau gibi patolojik proteinlerin birikimini, nörotransmitter maddenin aktivitesi ve nöroinflamasyonun tespiti yapılabilmektedir (Budak ve Aydın, 2016).

#### 2.1.5. Hastalığın Tedavisi

Alzheimer hastalığının patolojisini anlamak ve bunun için tedavi geliştirmek için öncelikle hastalığın mekanizmasını ve patogenezi anlamak, teşhisini yapabilmek ve uygulanan tedavi yöntemleriyle birlikte ilaçları anlamak yeni tedavi stratejileri

geliştirilmesi anlamında fayda sağlayacaktır. Hastalığın tedavisi için birçok çalışma yapılmış olsa da kesin tedavi eden bir yöntem bulunmamaktadır. Yapılan tedaviler genel olarak hastalığın seyrini azaltmak ya da mevcut semptomları yok etmektir (Tiwari ve ark., 2019; Işık ve ark., 2022). Alzheimer hastalarındaki kusur kolinerjik iletimin bozulmasıdır. Bellek için gerekli olan asetilkolin miktarının azalması bu durumu destekleyen bir bulgudur. Üstelik asetilkolini katalizleyen asetilkolinesteraz enziminin ilaçlarla inhibisyonunun asetilkolin miktarının artırılmasının Alzheimer hastalarında bilişsel performansı arttırdığı bildirilmiştir. Alzheimer hastalığının tek sorumlusu kolinerjik iletim değildir. Ancak semptomların tedavisinde etkili olan tek yaklaşımdır (Small, 1998). Alzheimer hastalığına neden olan kolinerjik nörotransmisyonadaki eksikliğin giderilmesi için AChEI'lerinin (Asetilkolinesteraz enziminin inhibitörleri) geliştirilmesi birinci tedavi yöntemi olarak görülmüştür. Ancak bu inhibitörlerin sağladığı faydalar, bilişsel iyileşmeler ve stabilizasyon beklenenden daha az etki etmiştir. Bu şekilde AChE' nin inhibe edilmesi, buna bağlı olarak asetilkolin moleküllerinin miktarını artması, asetilkolinin sinaptik yarıklarda kalma süresini uzatmak kolinerjik nörotransmisyonu ve kognitif fonksiyonları artırır (Lleo ve ark., 2006; Wilkinson ve ark., 2004; Koçancı ve Aslım, 2016). Günümüzde AH'nin semptomatik tedavisinde (Lah, 2020) kullanılan ilaçlar asetilkolinin katalizini engellemeye ve arttırmaya yönelik ilaçlardır (Breijyeh ve Karaman, 2020; Gezici, 2022; Breijyeh ve Karaman, 2020). Bu da sadece hastalığın ilerlemesini yavaşlatır (Lah, 2020).

Demans türlerinin semptomlarının tedavisinde birçok ilaç kullanılmaktadır. AChE' yi kısmen inhibe eden bu ilaçlar kan-beyin bariyerini aşmaktadır. Ancak beyin hasarının daha fazla olduğu durumlarda inhibitörlerin etki yeteneğinin azaldığı bildirilmiştir. Hastalara etki düzeyinin kişiden kişiye değişiklik gösterdiği belirlenmiştir (Almaz ve ark., 2021). Alzheimer hastalığını tedavi amaçlı onaylanmış yalnızca iki sınıf ilaç vardır. İlki kolinesteraz enzimi inhibitörleri ve ikincisi ise *N* -metil *D* -aspartat antagonistleridir. Alzheimer tedavisinde ilaç olarak kullanılan kolinesteraz inhibitörleri galantamin, donepezil, takrin ve rivastigmin ve rekabetçi olmayan NMDA reseptör antagonisti memantindir (Bassil ve Grossberg, 2009; Matsunaga ve ark., 2018). Kapalı formülü  $C_{12}H_{21}N.HCl$  ve IUPAC adlandırması 3,5- dimetiltrisiklo[3.3.1.1<sup>3,7</sup>] dekan-1amin olan memantin etken maddesinin, kapalı formülü  $C_{24}H_{29}NO_3$  olan ve IUPAC adlandırması ise 2 - [(1-benzilpiperidin-4-il) metil] -5,6-dimetoksi-2,3- dihidro-1 H-inden-1-on yapısında olan donepezil etken maddesi (Ertokuş ve Akdumanlı) ile kombine tedavisinin Alzheimer hastalığı için en yararlı tedavi yöntemi olduğu düşünülmektedir.

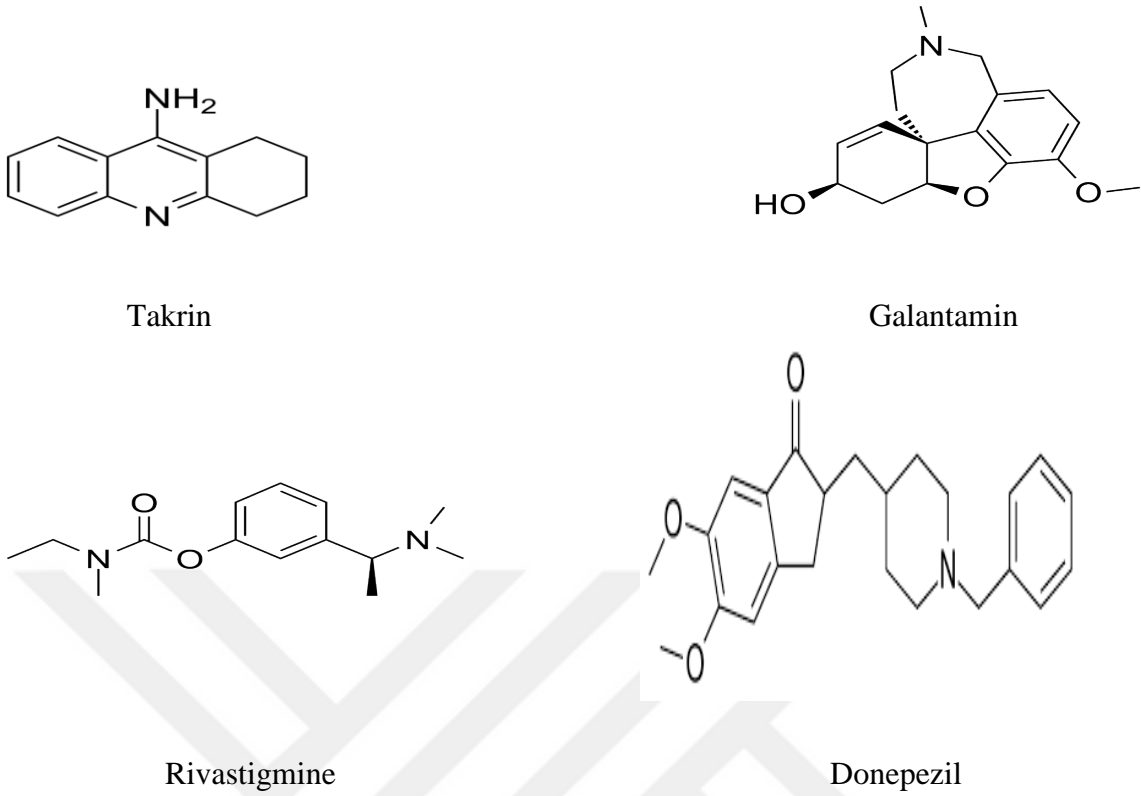
Donepezil, oral rivastigmin ve galantamin monoterapilerinin bazı gastrointestinal semptomlarda dahil yan etkide bulunacağı riskinin var olduğu bilinmektedir (Matsunaga ve ark., 2018).

Takrin 1993 yılında Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından Alzheimer tedavisi için onaylanan ilk ilaçtır (de Souza ve ark., 2016). Takrin, güçlü bir AChE inhibitörüdür. Diğer ilaçlarla birleştirmek, hibrit veya çok hedefli bileşikler tasarlamak için kullanılmıştır (Konakçı ve ark., 2022). Ancak sebep olduğu hepatotoksisiteden (Yüksel, 2001; Yapıcı ve İzol, 2023) dolayı ilacın kullanımına ABD’de son verilmiştir. Daha sonra ki yıllar daha az toksisiteye neden olan donepezil FDA tarafından onaylanan ikinci inhibitör olmuştur. FDA tarafından onaylanan son ilaç ise memantindir. Ancak memantininde sinaptik boşluklarda çok fazla nörotransmitter oluşmasına dolayısıyla toksisiteye neden olduğu bildirilmiştir. Takviye olarak uygun bir diğer madde, antioksidan görevi gören ve sinir korumasını sağlayan  $\alpha$ -tokoferoldür (E vitamini) (de Souza ve ark., 2016).

Alzheimer için kullanılan donepezil inhibitörünün yarı ömrünün uzun olduğu ve besinlerle birlikte tüketilme gerekliliğinin bulunmadığı bilinmektedir (Lleo ve ark., 2006).

Rivastigmin, AChE ve BChE’ni yavaş ve en yaygın kullanılan inhibitördür (Onor ve ark., 2007; Yapıcı ve İzol, 2023). Rivastigmin hem AChE hem de BChE’yi seçici olarak inhibe eder. Hafif ve orta dereceli Alzheimer hastalığında Rivastigmin ile tedavi; bilişi, günlük yaşam aktivitelerini ve genel işlevi iyileştirir. Rivastigminin oral alımından sonra emilim süresi 0.8 ile 167 saat arasında değişkenlik gösterebilmektedir. Eş zamanlı gıda alımının ilacın emilimini ve konsantrasyonunu %30 oranında azalttığı bildirilmiştir (Onor ve ark., 2007).

Galantamin etki olarak zayıf olduğu için genellikle asetilkolin reseptörlerinin allosterik arttırıcısı olarak kullanılır. Sentetik inhibitörlerin ortaya çıkan yan etkilerinden dolayı yan etkisi olmayan, güvenilir ve etkili olan inhibitörlerin geliştirilmesi son yıllarda önem kazanmıştır. Hastalık ile ilgili henüz aydınlatılmamış faktörlerin bulunması tartışmalara neden olmakta ve güncel tedavi yöntemlerinin hastanın rahatlamasına ve kısmi iyileşmesine neden olduğu için kesin tanı ve tedavi yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır (Yapıcı ve İzol, 2023).



**Şekil 2. 7** Alzheimer tedavisinde kullanılan ilaçların yapısı

Geri dönüşümlü bir inhibitör olan takrinin karaciğer toksisitesine neden olduğu bildirildiğinden kullanımı oldukça azaltılmıştır. Galantamin etki olarak zayıf olduğu için genellikle asetilkolin reseptörlerinin allosterik arttırıcısı olarak kullanılır. Sentetik inhibitörlerin ortaya çıkan yan etkilerinden dolayı yan etkisi olmayan, güvenilir ve etkili olan inhibitörlerin geliştirilmesi son yıllarda önem kazanmıştır. Hastalık ile ilgili henüz aydınlatılmamış faktörlerin bulunması tartışmalara neden olmakta ve güncel tedavi yöntemlerinin hastanın rahatlamasına ve kısmi iyileşmesine neden olduğu için kesin tanı ve tedavi yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır (Yapıcı ve İzol, 2023).

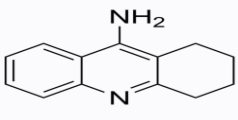
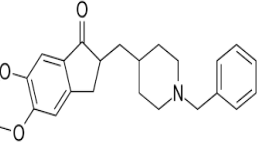
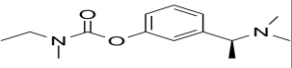
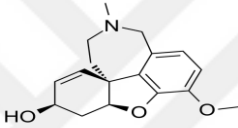
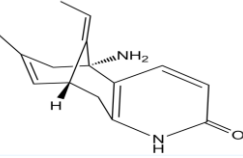
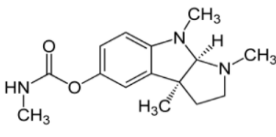
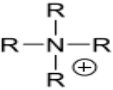
Alzheimer tedavisinde kullanılan ilaçların araştırıldığı bir tez çalışmasında 3 ay boyunca donepezil ve rivastigmin kullanan Alzheimer hastalarında enzim inhibisyonu ile oksidatif stres değişiminin incelenmesi hedeflenmiştir. Bu çalışma bir tıp fakültesinin Nöroloji polikliniğinde Alzheimer tanısı konulan 13 hastaya (8 kadın, 5 erkek), rivastigmin, geri kalan 13 hastaya (8 erkek, 5 kadın) ise donepezil uygulanmaya başlandı. Kontrol grubu ise 17 sağlıklı kişiden (9 erkek, 8 kadın) oluşturulmuştur. Kontrol grubunun ve hasta grubunun tedaviden önce ve sonra alınan örneklerinde asetilkolinesteraz, bütirikolinesteraz, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz aktivitesi ve

malondialdehit durumları ölçülmüş olup, mini mental durum incelemesi yapıp, kognitif demans evrelendirilmesi ve günlük yaşam becerileri belirlenmiştir. Çalışmada rivastigmin ve donepezil tedavisinin Alzheimer tanı gruplarında artmış olarak saptanılan malondialdehit düzeylerini anlamlı düzeyde azalttığı, hastalarda azaldığı saptanılan eritrosit süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitesini anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir. Rivastigmin tedavisinin plazma bütirilkolinesteraz aktivitesini donepezil tedavisinin ise eritrosit asetilkolinesteraz aktivitesini anlamlı düzeyde azalttığı ve Rivastigmin tedavisi uygulanan hastaların günlük yaşam becerilerinde olumlu etkilendiği bildirilmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçlar rivastigmin ve donepezil tedavisinin Alzheimer hastalığının semptomatik tedavisinde asetilkolin seviyesini artırarak kolinerjik iletinin düzenlenmesine yardımcı olabileceğini ve aynı zamanda oksidatif stres üzerindeki olumlu etkileri ile tedavinin etkinliğinin artırılmasında etkili olabileceğini göstermektedir (Temel, 2008).

Donepezil inhibitörü için asetilkolinesteraz enzimi bütirilkolinesteraz enzimine göre 1000 kat daha seçici iken galantamin inhibitörü için asetilkolinesteraz enzimi bütirilkolinesteraz enzimine göre 50 kat daha seçicidir. Rivastigmin inhibitörüne ise her iki enzimde eşdeğer afiniteyle inhibe eder (Lleo ve ark., 2006).

Beyinde bulunan temel nörotransmitterlerden biri de glutamattır. Nöronların %70'inde glutamat reseptörü bulunmaktadır. Memantin, glutamat reseptörü olan N-metil-D-aspartat (NMDA) ile antagonist çalışmaktadır (Danysz, 2012). Alzheimer hastalığında birikmiş olan amiloid- $\beta$ 'nin glutamat salınımını arttırdığı, glutamat reseptörlerinin aktivitelerini etkilediği ve glutamat alımını azalttığı bilinmektedir (Jalbert, 2008). Memantin en sık görülen yan etkisinin baş dönmesi olduğu bilinmektedir. Halüsinasyon ve konfüzyon daha az görülen yan etkilerdir (Castellani ve ark., 2010) Antosiyaninlerin, glutamat sinyallemesinin neden olduğu hücre içinde kalsiyum artışlarını önleyici ve böylelikle nöronları eksitotoksiteden koruyacağına dair çalışmalar mevcuttur. Çünkü antosiyaninlerin kalsiyum konsantrasyonunu azalttığı ve glutamat kaynaklı mitokondriyal depolarizasyonun ve serbest radikal üretiminin baskıladığı bildirilmiştir. Sonuç olarak antosiyanidinlerin nörodejenerasyona neden olan hücre ölümü ile bağlantılı olan impuls iletiminde etkili olduğu gösterilmiştir. Bir çalışmada antosiyanin bakımından zengin olan vişne suyunun verildiği Alzheimer hastalarının kısa ve uzun süreli belleklerinde iyileşmeler olduğu gözlemlenmiştir (Güçer ve Göktaş, 2023). Memantin en sık görülen yan etkisinin baş dönmesi olduğu bilinmektedir. Halüsinasyon ve konfüzyon daha az görülen yan etkilerdir (Castellani ve ark., 2010).

Çizelge 2. 1 Alzheimerda kullanılan inhibitör ilaçlar

İNİHİTÖR AD	MOLEKÜL FORMÜLÜ	ÖZELLİKLERİ
Takrin		İlk onaylanan ilaçtır. (de Souza, Rennó et al. 2016) Hepatotoksisiteye neden olmaktadır. (YÜKSEL 2001) Güçlü AChE inhibitörüdür. (Konakçı, Mısır et al., 2022)
Donapezil		FDA tarafından onaylanan ikinci ilaçtır. (Lah, 2020) Diyet ile birlikte kullanıma zorunluluğu yoktur. (Lleo, Greenberg et al. 2006)
Rivastigmin		Hem AChE hem de BChE'yi seçici olarak inhibe eden yavaş ve geri dönüşümlü bir inhibitördür. Rivastigmin ile tedavi; biliş, günlük yaşam aktivitelerini ve genel işlevi iyileştirir. Hafif ve orta dereceli Alzheimer hastalığında kullanılır. (Onor, Trevisiol et al. 2007)
Galantamine		FDA tarafından onaylanan son ilaçtır. Sinaptik boşluklarda çok fazla asetilkolin birikimine neden olduğundan toksisiteye neden olmaktadır. (Lah, 2020)
Huperzin A		Hücreleri, beta-amiloid protein gibi sitotoksisiteye karşı koruma yeteneği vardır. Rekabetçi ve geri dönüşümlü bir asetilkolinesteraz inhibitörüdür. Sahip olduğu özellikler alzheimer tedavisinde umut verici bir ajan olduğunun göstermektedir. (Li, Wu et al. 2008)
Fizostigmin		Fizostigmin bir kolinesteraz inhibitörüdür. Glokomda kullanılan ilk etkili ilaç (1877'de kullanıldı) ve myasthenia gravis'teki ilk etkili tedavidir. (Liebelt, 2007)
Tetraalkil amonyum iyonları		Anyonik kısma bağlanarak asetilkolin hidrolizini önler. Tersinir bir inhibisyon gerçekleştirir. (Aktay, 2017).

Alzheimer hastalığı ile karakterize olan amiloid beta plakları ve sonrasında başlayan nörofibril yumaklar hastalığın patofizyolojik işaretleridir. Ancak bu işaretlerin mevcut olması durumunda tedavi için çok geç kalındığı yaygın bir inanıştır. Erken müdahalenin etkili olduğu bildirilmiştir (Lambracht-Washington ve Rosenberg, 2013).

Bir Alzheimer hastası teşhisten sonra ortalama 3-10 yıl yaşayabilir (Sertkaya, 2022). Ancak yine de hastalığın seyri semptomların başlamasından itibaren birkaç yıldan 20 yıla kadar değişkenlik gösterebilmektedir (Smith, 1998).

## 2.2. Gut

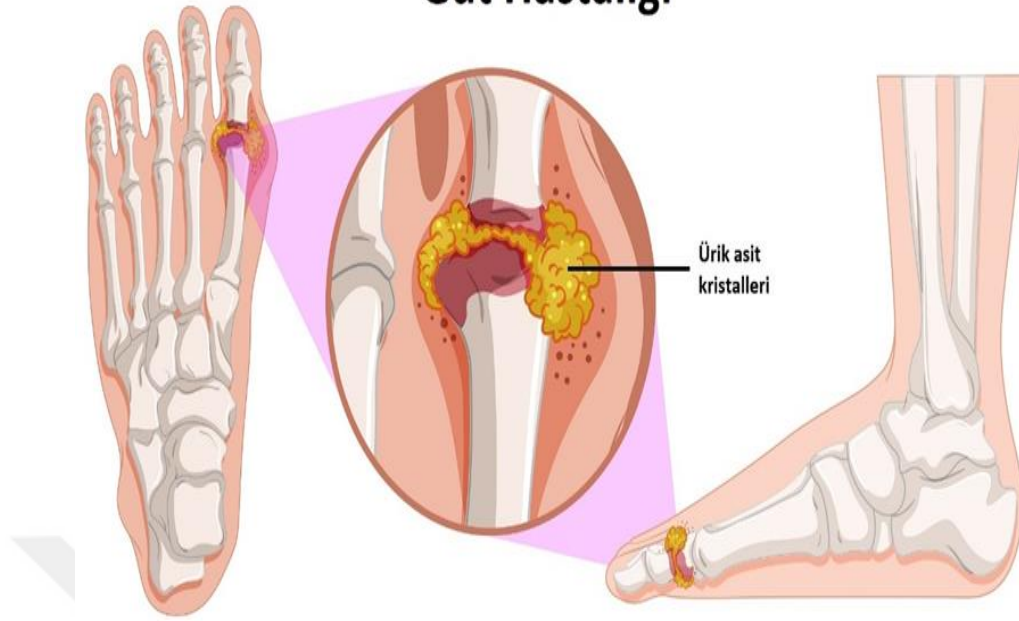
İlk olarak MÖ 2640 yılında Mısırlılar tanımlanan podagra daha sonra M.Ö.5. yüzyılda Hipokrat gut hastalığını ‘yürünemez hastalık’ olarak adlandırmıştır. Gut hastalığının adı Latince gutta (damla) kelimesinden türetilmiştir. Tarih boyunca gut hastalığının zengin beslenme tarzı ve aşırı alkolle bağlantılı olduğu düşünüldüğü için kralların hastalığı olarak anılmıştır. Hatta gutun sosyal ve siyasal anlamda güçlü olan insanlarda sık rastlanması hastanın sosyal daha üst sınıfta ait bir hastalık gibi algılanmasına hatta arzu edilen bir hastalık olmasına neden olmuştur. Sonrasındaki dönemlerde hastalığı yine rahatlık ve aşırılık ile ilişkilendiren Galen hiperürisemi ve ileri dönemde kristalize monosodyum urat birikintisi olan tofusü tanımlamıştır. Hastalığı gut olarak adlandıran ilk kişi ise Dominikli bir keşiş olan Randolphus’ tur. Hastalığın tanımını yapan bir başka kişi de gut hastalığından dolayı sakat kalan İngiliz hekim Thomas Sydenham’dır. Dünya üzerinde pirinç ve sebze tüketimine dayalı beslenme kültürlerinde gut daha seyrek görülmektedir. Gut hastalığı tarihten bu yana bir erkek hastalığı olduğu düşünülse de günümüzde özellikle menopozdan sonra kadınlarda da sık görüldüğü belirtilmektedir (Nuki ve Simkin, 2006). Gut vakalarının çoğunluğunun erkek hastalar olduğu bilinmektedir. Ancak hipertansiyon, diyabet, kalp hastalığı, alkol kullanımı gibi durumlar incelendiğinde cinsiyete bağlı bir farklılık görülmemiştir. Buna rağmen erkeklerde hastalık kadınlara göre 7 yıl daha erken başlar. Kadınlarda tofus birikiminin üst ekstremit eklemlerinde daha sık görüldüğü bildirilmiştir (Demir ve ark., 2007). Kadın cinsiyet hormonlarının idrarla ürik asidin atılımını artırdığı için, menopoz öncesi dönemde gut hastalığının görülmesinin erkeklere oranla daha az olduğu bildirilmiştir. Hastalığın görüldüğü diğer bölgeler tarsal eklemler, ayak bilekleri, dizler ve dirsekler olarak gösterilebilir. Yine urat kristallerinin diğer hastalık durumlarını taklit edebildiği (omur, deri, yumuşak dokular vb.) hatta tofuslerin yumuşak doku tümörleri ile görüldüğü vakaların olduğu da bildirilmiştir (Hainer ve ark., 2014).

Gut hastalığı, hiperürisemi sonrasında bazı doku ve eklem bölgelerinde monosodyum urat (MSU) kristallerinin birikmesine bağlı olarak yaygın olarak görülen inflamatuvar eklem hastalıklarından biridir (Richette, 2014). Hiperürisemi zamanla eklemlere ciddi zarar veren, genellikle deri altında monosodyum urat birikimi ile

(Martillo, 2014) sakat bırakabilen bir hastalığa dönüşebilir (Fu, 2017). Hastalık diğer eklem bölgelerinde etkileyebildiği halde genellikle ayak başparmağındaki eklemlere (metatarsofalangeal eklemlere) yerleşir (Hainer ve ark., 2014). Hastalığın böbrek ve kardiyovasküler hastalıklara neden olmasından dolayı ciddiye alınmalıdır (Richette, 2014). Hastalığı tetikleyen en önemli faktörler olarak obezite, hipertansiyon, cerrahi girişim, kandaki ürik asit oranını yükselten ilaçlar, yüksek yağlı beslenme, kırmızı et, deniz ürünleri, fazla alkol alımı (Tetik ve ark., 2012), kurşuna maruz kalma, genetik ve çevresel koşullar (Kuo ve ark., 2015) hareketsiz yaşam tarzının olması gösterilebilir (Limon, 2022). Yapılan bir araştırmanın sonucuna göre gut hastalığının görüldüğü kişilerin diyetlerine bağlı olarak kilolarının fazla olduğunu ve hastalığın nüksetmesiyle birlikte daha ağrılı, zor gut ataklarının olması hastanın kilosuyla pozitif korelasyon gösterdiği sonucuna varılmıştır (Keçecioglu, 1988). Bazı çalışmaların sonuçları ürik asit seviyesinin oksidatif stresi tetiklemesinden kaynaklı olarak kardiyovasküler hastalıklar için risk faktörü oluşturmaktadır. Ürik asit seviyesini düşüren bir ksantin oksidaz inhibitörü olan allopurinol hastalıklara karşı koruyucu etki göstermektedir (Glantzounis ve ark., 2005).

Ürik asit, 168 Da molekül ağırlığına sahip molekül formülü  $C_5H_4N_4O_3$  olan heterosiklik yapıda bir bileşik olarak insanlarda pürin metabolizmasının son ürünüdür. Hayvansal proteinlerin büyük rol aldığı pürin metabolizmasında, ürik asidin canlıda üretimi karaciğer, bağırsaklar, kaslar, böbrekler ve damar endotelyumundan karşılanmaktadır. Tüm hücreler için büyümek, enerji metabolizmasını ve sinyal iletimini sağlamak, hayatta kalmak için pürine ihtiyaç duyarlar. Pürin metabolizması DNA ve RNA oluşumu açısından çok büyük öneme sahiptir. Ürik asit oluşuncaya kadar gerçekleşen karmaşık aşamalarda hipoksin ve ksantin oluşur. Daha sonra hipoksantin, ksantinoksidaz (XO) ile oksitlenerek ksantin oluşturur. Oluşan ksantin, ksantin oksidaz tarafından tekrar oksitlenir ve son ürün ürik asit oluşmaktadır. Ürik asit vücuttan urat şeklinde atılır. Bu form ürik asidin tuz formudur ve çözünürlüğü düşüktür. Zayıf bir asit olan ürik asidin pKa değeri 5,8 dir. Ürik asidin serum konsantrasyonu aralığı kadınlarda 1,5-6 mg/dL; erkeklerde ise 2,5-7 mg/dL' dir. Ürik asidin serum konsantrasyonu 6,8 mg/dL' den yüksek olduğunda monosodyum urat oluşarak hiperürisemi oluşmaya başlar (Maiuolo ve ark., 2016). Esas olarak karaciğerde sentezlenen ürik asit normal düzeyde iken antioksidan ve proinflamatuvardır (Ayyıldız, 2016).

## Gut Hastalığı



**Şekil 2. 8** Gut hastalığının eklemlerde neden olduğu iltihaplanma  
<https://doktorfizik.com>

Gut hastalığında yaygın olarak hipertrigliserdemi de görülür (Pamukçu ve Duran, 2021). Hipertrigliserdemi gut hastalarının %75-80'nde görülen bir lipit anormallığıdır. Gut hastalığında hipertrigliserdeminin yanısıra hipertansiyon, insülin direnci, hiperürisemi ile de karakterizedir. Hastalığın tedavisinde kullanılan yöntemler sınırlıdır. Dolayısıyla gut ile ilişkili bütün metabolik anormalliklerin birlikte değerlendirildiği tedavi yöntemlerine ihtiyaç vardır (Lee ve ark., 2006).

Hastalığın asemptomatik hiperürisemi, akut gut artriti, ara dönem ve kronik gut artriti olmak üzere dört aşaması vardır. Hastalığın ilk aşaması ürik asit seviyesi 6,8 mg/dl olduğu durumdur. Hastalığın tedavisi bulunmakla birlikte NSAİİ ve kolsişin ilaçları kullanılmaktadır. İlaçların beraberinde ürik asidi düşürücü pürin içerikli diyetlerin tercih edilmesi hastalığın tekrarını önlemek için gereklidir (Limon, 2022).

Sadece Amerika Birleşik Devletleri'nde üç milyondan fazla kişinin sahip olduğu gut hastalığı dünya geneli giderek artmakta ve küresel bir sağlık problemi haline gelmektedir. Rapor edilen vakaların incelenmesi sonucu gut neredeyse vücudun her bölümünü etkileyebileceği bildirilmiştir. Hastalığın normalde eklem bölgelerini etkilediği bilinsede pankreasta, kalp kapakçığında ve bir hastada meme nodülü olarak ortaya çıkmıştır (Ning ve Keenan, 2010).



**Şekil 2. 9** Gut hastası birey <https://www.mecev.org>

Tedavi için kullanılan ilaçlarda izlenen iki farklı strateji vardır. Birincisi ürik asit yapımını azaltan ilaçlardır (Limon, 2022). İkincisi ise ürik asit atılımını arttıran ilaçlardır (Limon, 2022). Günümüzde gut tedavisinde potansiyel bir antikanser ajanı olan allopurinolün ksantin oksidaz inhibitörü olmasından dolayı kullanıldığı bilinmektedir (Borges ve ark., 2002). Hastalığın en etkili tedavisinde kolsişin, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID) ve kortikosteroidler kullanılmaktadır. Hastalığın urat düşürücü tedavi yönteminde ise ürik asit alımını azaltan ksantin oksidaz inhibitörleri ve ürik asit atılımını arttıran ürikozürik ilaçlar yer almaktadır (Atakul ve Demir, 2014).

### **2.3. *V. cracca* L.**

Fabaceae familyası ekonomik önemi olan çiçekli bitki familyalarındandır. Bu familyanın tipik çiçek yapısı, legümen ve lolentum tipte meyvesi ve spitüllü yapraklarıyla tanınır. Fabaceae familyasına ait *Vicia* cinsinin türleri genellikle sarılıcı, bir veya çok yıllık bitkilerdir. Dünya' nın genelinde yaygın olan *Vicia* ve *Vicilla* olmak üzere iki gruba ayrılır (Koç, 2020).

Fabaceae, yaklaşık 750 cinsi ve 19.500 tür çeşitliliği ile dünyanın üç büyük familyasından biridir (Christenhusz ve Byng, 2016). Yaygın olarak baklagil, bezelye veya fasulye ailesi olarak bilinen Fabaceae çiçekli bitkilerin önemli bir kısmını oluşturur. Geniş bir alana yayılan bu familya yapraklarından kolayca tanınan ağaçları, çalılıarı çok yıllık ya da yıllık otsu bitkilerden oluşur (Rahman ve Parvin, 2014). Fabaceae familyasının *Vicia* L. türü insanlar ve hayvanlar için bir protein kaynağı ve maliyetinin düşük olmasından dolayı bazı türlerinin tarımı yapılmaktadır (Tewatia ve Virk, 1996). Fabaceae familyasından olan *Vicia* cinsinden Dünya üzerinde yaklaşık olarak 166 kadar

tür bulunmaktadır (Maxted, 1993). Bu türlerden 59 tanesi Türkiye’ de doğal olarak yetişmektedir (Davis, 1970). *Vicia* genel itibariyle dört ana seksiyonda gruplandırılmıştır. Bunlar; *Cracca*, *Ervum*, *Vicia* ve *Faba*’ dır (Yamamoto, 1973).

*V. cracca* L. zayıf, çok yıllık, dik ve tırmanıcı özelliğe sahiptir. Ülkemizde en fazla yetişen *Vicia* türü tek yıllıktır (Koç, 2020).



**Şekil 2. 10** *V. cracca* L.nin yeşil ve kurutulmuş hali

*Vicia* türlerinin tohumlarının protein açısından zengin olmasından dolayı insan ve hayvanlar tarafından kullanılabilmesi düşünülmektedir. Ancak 20’den fazla türün insanlar tarafından kullanıldığı halde bunlardan sadece *V.faba*’nın insanlar tarafından yaygın olarak tüketildiği bilinmektedir (Bryant ve Hughes, 2010). *V. cracca* L. ise tarımı yapılmayan, Anadolu’da doğal olarak yetişen ve kaba yem olarak kullanılan bir türdür (Karakurt, 2013). Bu cinsin tanımlanmasında morfolojik özelliklerine (örneğin; çiçek salkımı başına çiçek sayısı) (Haider ve ark., 2012), (sapın ve alt yaprağın göreceli uzunluklarına) bakılarak ayırt edilir. *Vicia* cinsinin Dünya üzerinde Avrupa, Asya ve Kuzey Amerika’ dan Güney Amerika ya ve Tropikal Afrika’ ya ılıman bölgelerinde yetiştiği bilinmektedir (Maxted, 1993). Anadolu’ da özellikle *Vicia cracca* cinsinin doğal olarak bulunması, arılar için nektar kaynağı olması ve kurutulduktan sonra kaliteli kaba

yem olarak kullanılması önemini artırmaktadır. Kıtık döneminde bile insanların beslendiği bu bitki tohumu, otuyla iyi bir hayvan gübresi olsa da yeterince faydalanıldığı söylenemez (Tamkoç ve Avcı, 2004).

Birçok *Vicia* türünde aminoasitler, sekonder metabolitler, glikozitler, yağ asitleri, şeker alkolleri, organik ve inorganik bileşikler mevcut olduğu bildirilmiştir (Bell ve Tirimanna, 1965).

Baklagillerde bulunan lektin immün kökenli olmayan ve herhangi bir enzimatik aktiviteye sahip olmayan, karbonhidrat bağlayan proteinler olarak tanımlanır. Baklagillerdeki bu lektinler yapılarına göre tek zincirli ve çift zincirli olarak iki ana gruba ayrılır (Megias ve ark., 2019). Bazı türlerde her iki lektin türü mevcut olabilir. Örneğin; *V. cracca* 'daki lektinlerde her iki zincirde mevcuttur (Megias ve ark., 2019; Baumann ve ark., 1982). Lektinlerin karbonhidratlara olan ilgisi birbirinden farklılık gösterir. Tek zincirli lektinler genel olarak N-asetil-galaktozamine (GalNAc) bağlanırken, çift zincirli lektinlerin ise mannoz ve glikoza bağlandığı bilinmektedir (Megias ve ark., 2019). Yine *V. cracca L.* bitkisinden lektinin saflaştırılması ve karakterizasyonunun yapıldığı bir çalışmada bitkinin tohumunda iki tür lektin içerdiği bildirilmiştir (Baumann ve ark., 1982).

Yapılan araştırmalar genellikle şekere bağlanan lektinlerin immün sistemi uyararak hücre sayısını ve aktivitesini artırdığını ve tümörlü hücrelere tanınırlık sağlayıp daha kolay yok edilebileceği öne sürüldüğü için kanser tedavisinde kullanılabileceği düşünülmektedir (Öztabak, 2005). Bitki savunmasında görevli olan lektin bazı bitki türlerinde karbonhidratlara veya protein içeren karbonhidratlara bağlanan savunma proteinleri olarak bilinmektedir. Lektinlerin mikrobiyal saldırı ve benzer durumlardan sonra sentezlenen ve S metabolitleri bakımından zengin olup, depolanmayan proteinler olduğu bilinmektedir (Bakır, 2020). Alzheimer tipi demansın araştırıldığı bir çalışmada *Vicia Villosa* bitkisinden elde edilen lektinin, memelilerin serebral korteksindeki spesifik nöronları karakterize etmede kullanıldığı bildirilmiştir (Kobayashi ve ark., 1989).

#### **2.4. Enzimler ve Özellikleri**

“Enzimler, canlı organizmadaki kimyasal reaksiyonları hızlandıran ve hiçbir yan ürün olmasına fırsat vermeden %100'lük bir ürün verimi sağlayan biyolojik katalizörlerdir. Katalitik RNA moleküllerinin küçük bir grubu hariç olmak üzere bütün enzimler protein yapısındadır.” (Keha ve Küfrevioğlu, 2020). Yapılarının protein olmasından kaynaklı enzimlere metabolik proteinler de denmektedir. Canlı hücrelerin

bütün fonksiyonları enzimlerle gerçekleştiğinden canlılığa, birbirini izleyen enzimatik tepkimeler bütünü de denebilmektedir. Enzimlerle aynı yapılara sahip olan proteinler ağırlıkça %60 C, %16 N, %8 H içeren moleküllerdir. Proteinlerin alt birimi olan aminoasitler birbirlerine peptid bağlarıyla bağlıdır. Bu bağlarla dallanmış olan aminoasit zincirine polipeptid olarak adlandırılır. Bir enzim çeşidi tek polipeptidten oluşabileceği gibi polipeptid kümesinden de oluşabilir (Saloğlu, 1985).

Enzimler *in vivo* katalizör olmanın yanı sıra endüstride de *in vitro* katalizör olarak kullanılabilir. Şu ana kadar katalize ettikleri reaksiyon türüne göre sınıflandırılmış yaklaşık 5500 enzimin olduğu bilinmektedir. Enzimler etki ettikleri maddeye göre isimlendirilir. Örneğin proteine etki eden enzime proteaz denir. Enzimlerin diğer kimyasallara göre daha basit koşullarda bile reaksiyon vermemeleri ne kadar spesifik olduklarını gösterir (Jegannathan ve Nielsen, 2013). Enzimler aktivasyon enerjisini düşürerek tepkime hızını  $10^5$ - $10^{17}$  büyüklüğünde arttıran katalizörlerdir (Durmaz, 2022). Benzer şartlar oluşturulduğunda enzimin olduğu bir tepkimenin gerçekleşme olasılığı yokluğundaki tepkime oranına göre birkaç milyon kat daha yüksek olabilmektedir (Sevinç, 2010).

Kimyasal reaksiyonlar canlı yaşamı için büyük önem taşır. Ancak reaksiyonlar aktivasyon enerjisinin aşılması durumunda gerçekleşir. Aktivasyon enerjisinin aşılmasını sağlayan katalizörler (Klibanov, 1983), reaksiyon esnasında kullanıldıktan sonra kaybolmamaktadır (Atasağungil, 1965). Canlılık gereği tüm organlar ve organeller aynı zamanda ve bir arada çalışmaktadır. Bu da özgün katalizörlerin varlığıyla gerçekleşebilir (Nelson ve Cox, 2016). Canlıların yaşamlarını devam ettirebilmesi için gerekli olan kimyasal reaksiyonlar kataliz varlığında saniyeler içinde gerçekleşirken, kataliz yokluğunda yıllarca sürebilmektedir. Enzimler benzer substratlar arasında seçim yapabilen, reaksiyon hızını  $10^{17}$  kadar hızlandırabilen özgül biyokimyasal katalizörlerdir. Enzimlerin 5.000 kadar biyokimyasal reaksiyonun hızlanmasını gerçekleştirdiği bilinmektedir (Öztekin, 2016). Örneğin; kan hücrelerimizde bulunan karbonik anhidraz enzimi karbon dioksiti karbonata çevirerek zararsız bir hale getirmektedir. Bu enzim bir molekül 1 saniyede  $10^6$  molekül  $CO_2$  in dönüşümünü sağlar. Yüksek aktiviteli bir diğer enzim olan katalaz ise dokularda oluşan zararlı hidrojen peroksidi suya ve oksijene dönüştürür. Sadece bir molekül katalaz gerçekleştirdiği bu reaksiyonu 1 saniyede  $10^7$  kez tekrarlar (Geçkil, 2012).

Enzimler ortamdaki substrat miktarı, pH, sıcaklık, enzim konsantrasyonu, inhibitör, aktivatör konsantrasyonu, iyonik şiddet ve varsa kofaktör konsantrasyonu gibi

faktörlerden etkilenirler (Keha ve Küfrevioğlu, 2020). Enzimlerin aktivitelerin bağlı olduğu faktörlerden biri olan pH değeri bütün enzimler için aynı değildir. Her enzimin maksimum aktive gösterdiği bir pH noktası bulunur (Kıran ve ark., 2006). Hücrelerde enzimler aracılığı ile gerçekleşen kimyasal olaylar kendiliğinden kolayca reaksiyon vermez. Çünkü biyomoleküller kinetik yönden kararlıdır. Buradan çıkarılabilecek sonuç, biyomoleküllerin kararlılığı hücrede enzimin yokluğu durumunda neredeyse gerçekleşmemektedir (Keha ve Küfrevioğlu, 2020).

Protein yapılı bu katalizörler kimyasal reaksiyonu gerçekleştirirken kendisi değişikliğe uğramaz. Enzimler reaksiyon hızını artırdığı sırada bir molekülü diğerine dönüştürmede kullanılır. Enzimlerin aynı ortamda bulunan ve kimyasal olarak birbirine çok benzeyen substratlardan sadece birini katalize eder. Bu önemli özelliği enzimlere substrat spesifikliğı kazandırmaktadır. Araştırmalara göre enzimlerin substrata karşı spesifik olma özelliğıne sahip olmasının nedeni enzimin protein kısmı kabul görmüştür (Zeren, 2015).

Enzimler, substratlara karşı oldukça spesifiktir. Substratlarının sadece belli bir bölgesini etkileyerek bu bölgeden atom ya da atomları veya fonksiyonel grubu almaktadır. Enzimlerin bir dakikada 36 milyon molekülde değişiklik gerçekleştirmektedir. Asetilkolinesteraz enzimi ise bir dakikalık sürede 1.500.000 molekülü etkilemektedir. Enzimler saniyede 100 ile 1000 arasında molekülü ürüne dönüştürebilir. Birim zamanda bir mol enzimin dönüştürdüğü substratın molekül sayısına “turnover sayısı” denir (Aktay, 2017).

Enzimlerin aktif bölgelerinin oluşmasında protein yapısındaki amino asit sayısı, çeşidi ve dizilişleri rol oynamaktadır. Amino asitlerin oluşturdukları polipeptidlerin fonksiyonel yapı kazanmaları için üç boyutlu bir yapı oluşturmaları gerekmektedir. Bu proteinler yüksek ısıdan, pH dan ve yapısını bozabilen çözücülerden etkilenip bozulabilmektedir. Bu bozulmaya denaturasyon denir. Enzimlerin molekül ağırlıkları 13.000 ile 1.000.000 kDa aralığındadır (Saloğlu, 2001).

Enzimlerin genel özellikleri özetlenirse:

- 1.Canlı hücreler tarafından sentezlenir.
- 2.Etki gösterebilmek için hücre içinde olmak zorunda değildir, *in vitro* ortamda da etki gösterirler.
- 3.Isıya dayanıksızdırlar, yüksek ısı ile denatüre( bozulurlar) olurlar.
- 4.Protein yapısındadırlar ve proteinler gibi primer, sekonder, tersiyer ve kuaterner yapıları vardır.

5. Biyolojik reaksiyon hızlandırıcılarıdır (Güneş, 2013).

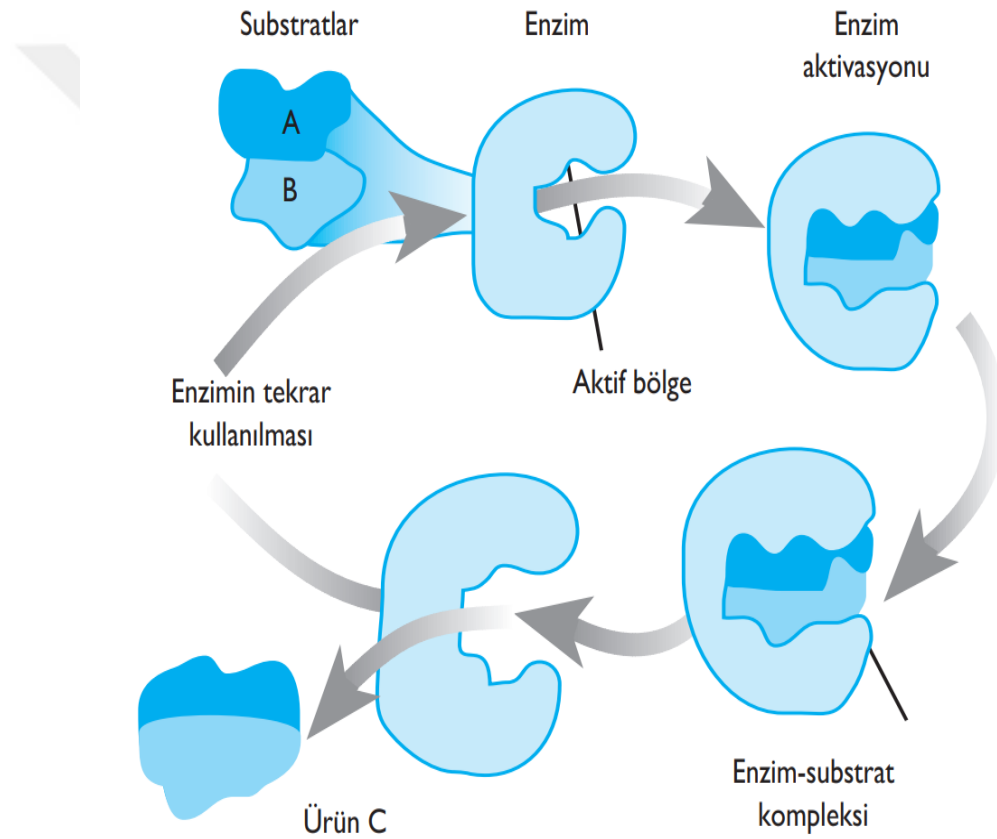
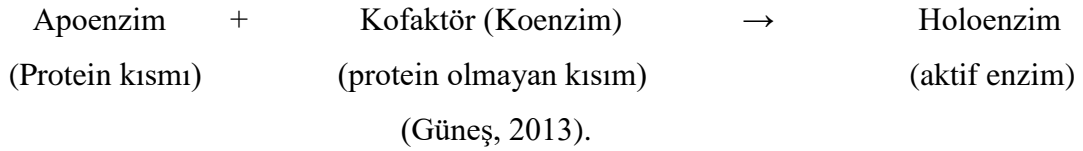
Genetik kusurlar sonucu az veya aşırı enzim aktivitesi sonucu bazı hastalıkların ortaya çıkmasından dolayı canlıyı olumsuz etkilemektedir. Bu nedenle enzim aktivitesinin açıklanması hastalıkların teşhisinde önemli bir biyobelirteç olabilir. Çünkü ilaç molekülleri etkilerini enzimleri inhibe ederek ya da aktive ederek göstermektedir (Nelson ve Cox, 2016). Yapısal olarak enzimler büyük, substratlar ise küçük moleküllerdir. Substrat enzime bağlandığı zaman substratı değiştirerek başka bir bileşiğe dönüşmesini sağlayan bölgeye "aktif bölge" denilmektedir (Keha ve Küfrevioğlu, 2020).

Ligand terimi enzimler ile etkileşime giren bileşikler için kullanılmaktadır. Enzimler DNA, RNA, proteinler, polisakkaritler gibi makromoleküller ve substratlar, inhibitörler, enzimler ile etkileşime girer. Enzim inhibitörleri ligandların büyük kısmını oluşturur (Schomburg ve ark., 2012). Enzimlerin katalizlediği reaksiyonlarda kimyasal enerji kaybolmaz. Enerji ya korunur ya da başka bir yapıya dönüştürülür (Lehninger ve ark., 2005). Protein yapısı ve reaksiyonlardaki seçici özelliklerine sahip olan enzimler reaksiyon hızını artırmaktadır. Bu biyomoleküllerin özellikleri girinti ve yarıktan oluşan, substratın tam oturabildiği, üç boyutlu, karmaşık yapılarından kaynaklanmaktadır (Keha ve Küfrevioğlu, 2020). Var olan bütün enzimler protein yapısındadır. Ancak bütün proteinler enzim değildir. Seçici özelliğinden dolayı her enzim sadece bir reaksiyonu katalizleyebilir. Bütün biyolojik reaksiyonları katalizleyen enzimler reaksiyona özgü olmasından kaynaklı birçok enzim çeşidinin var olduğu söylenebilir. Biyokimyasal bir reaksiyonda enzimin etki ederek katalizlediği ve ürüne dönüştürdüğü maddeye substrat denir. Enzim ile substrat arasındaki kompleks enzim-substrat kompleksi denir. Enzimin substrata etki ederek ürün oluşabilmesi için eşik seviyesi (kararlı yapı) ve geçiş noktası arasındaki enerji farkı olan (Geçkil, 2012) aktivasyon enerjisi adı verilen enerji engelini aşması gerekmektedir. Belirli bir sıcaklıkta 1 mol reaktanın aktifleşmiş durumu kazanmaları için gerekli olan enerji miktarına aktivasyon enerjisi denir (Keha ve Küfrevioğlu, 2020).

#### **2.4.1. Enzim Reaksiyonlarının Mekanizması**

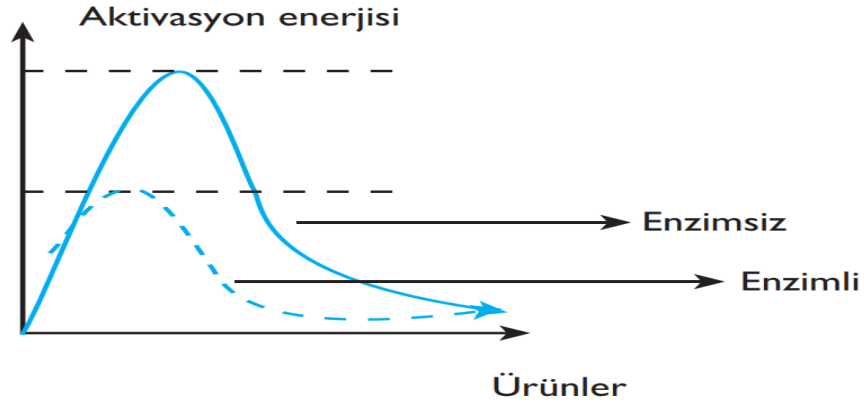
Enzimin olduğu bir reaksiyonda enzimin etki ettiği ve ürüne dönüştürdüğü maddeye substrat adı verilmektedir. Her enzimin spesifik, kendine özel bir substratı bulunmaktadır. Enzim ile substrat arasındaki kompleks yapıya enzim-substrat kompleksi denir. Enzimlerden bazıları aktivite için bazı küçük maddelere gereksinim duyarlar.

Bunlar kofaktör (prostetik grup) olarak adlandırılır. Kofaktörler  $Mg^{+2}$ ,  $Fe^{+2}$  gibi basit inorganik iyonlar veya koenzim adı verilen daha kompleks organik moleküller olabilirler. Koenzimler memeli beslenmesinde önemli rol oynar. Aktivite için gerekli kofaktörü olmayan enzime ise apoenzim denir. Enzim bu şekilde inaktif haldedir. Aktif halde bulunan enzime ise (kofaktör+apoenzim) holoenzim denir (Geçkil, 2012).



**Şekil 2. 11** Enzim-substrat ilişkisi (Güneş, 2013).

Enzim ile katalizlenen bir reaksiyonda sisteme enzim ilave edilmesi, ES (enzim-substrat) bileşiğinin oluşması ve daha düşük enerji gereksinimi ile ürün oluşması sağlanmaktadır. Substratların ürüne dönüşümünden sonra serbest kalan enzimler ortamdaki diğer substratlara bağlanacak, onlarında aktivasyon enerjilerini düşürerek ürüne dönüşümünü hızlandıracaktır. Özet olarak enzimler kimyasal reaksiyonların aktivasyon enerjisini düşürerek reaksiyonların hızını artırmaktadır (Güneş, 2013).



**Şekil 2. 12** Enzimli ve Enzimsiz Reaksiyonların Aktivasyon Enerjisi Değişimleri (Güneş, 2013)

#### 2.4.2. Enzimlerin İsimlendirilmesi ve Sınıflandırılması

Enzimler ilk olarak hangi maddeye etki ediyorsa ya da hangi maddeyi parçalıyorsa o kelimenin sonuna -az eki getirilerek isimlendirilmiştir. Örneğin peptidleri parçalayan enzimlere peptidazlar, lipitleri parçalayanlara lipazlar, üreye etki eden enzime üreaz şeklinde isimlendirilmiştir. Ancak enzim sayısının artması bu pratik isimlendirmenin karışıklıklara neden olmuştur. Daha kapsamlı ve anlaşılır bir isimlendirmeye gereksinim duyulmuştur. Uluslararası Biyokimya Birliğinin kurmuş olduğu enzim komisyonu 1964 yılında sistematik bir isimlendirme yapmıştır. Enzimler altı ana enzim sınıfına ayrılmıştır. Bu isimlendirme enzimin katalize ettiği reaksiyonların özelliklerini belirgin biçimde tanımlayabilmektedir. İsimlendirmede enzimin, kod numaraları noktalarla ayrılmış dört rakamdan oluşacak biçimde oluşturulmuştur. İlk rakam altı ana enzim grubundan hangisine dahil olduğunu, ikinci rakam etki ettiği kimyasal yapıyı ve bağını, üçüncü rakam alıcısı olarak ifade edilen akseptörünü yani ayrılan grubun neye bağlanarak ya da neyin yardımıyla taşındığını, dördüncü rakam ise belli bir sınıfın içerisinde o enzimin sıra numarasını belirtir.

Enzimler katalizledikleri reaksiyonlar tipleri ve bu reaksiyonların fonksiyonlarına göre altı grupta incelenir. Enzimlerin altı ana grubu şöyledir;

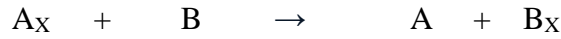
1. Oksidoretüktazlar,
2. Transferazlar,
3. Hidrolazlar,
4. Liyazlar,
5. İzomerazlar,

## 6. Ligazlardır.

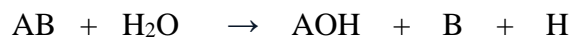
- 1. Oksidoretüktazlar:** Oksidasyon redüksiyon tepkimelerinin oluşumunu sağlayan enzimlerdir. Redoks reaksiyonlarını katalizlemektedir. Örnek olarak laktat dehidrojenaz (LDH) verilebilir.



- a. Dehidrojenazlar: Hidrojen veya elektronların transferi ile substratın dehidrojenasyonunu sağlarlar. Alıcılar, nikotinamid adenin dinükleotid (NAD), nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADP), flavin mononükleotid (FMN) veya flavin adenin dinükleotid (FAD)'dir. Örnek olarak alkol dehidrojenaz verilebilir.
- b. Oksidazlar: Oksijenin yardımı ile substratın oksidasyonunu sağlar. Sitokrom oksidaz örnek verilebilir.
- 2. Transferazlar:** Fonksiyonel grupları taşıma görevi yapan enzim sınıfıdır. Örnek olarak aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) verilebilir.



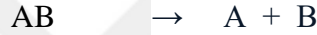
- a. Bir karbonlu grupları transfer edenler, örnek, metil transferaz Aldehit veya keton grubunu transfer edenler. Transketolazlar örnek verilebilir.
- b. Açıl gruplarını transfer edenler, aminoasit asetil transferaz örnek verilebilir.
- c. Şeker gruplarını transfer edenler, sükröz.1.fruktozil transferaz örnek verilebilir.
- d. Diğer grupları transfer edenler, sülfür transferaz örnek olarak verilebilir.
- 3. Hidrolazlar:** Substratın çeşidine göre etkide bulunan enzimlerdir. Ester, eter, peptit gibi bağlar üzerine etki ederek, su ile onları parçalayan enzimlerdir. Örnek olarak amilaz, üreaz, arjinaz verilebilir.



- a. Basit esterazlara örnek olarak karboksilesteraz verilebilir.

- b. Lipazlara, örnek olarak lipoprotein lipaz verilebilir.
- c. Fosfatazlara, örnek olarak fruktoz bisfosfat aldolaz verilebilir.
- d. Kolinesterazlara, örnek olarak asetilkolin esteraz verilebilir.
- e. Peptit hidrolazlara, örnek olarak peptidil glutaminaz verilebilir.
- f. Nükleazlara örnek olarak Basillus subtilis nükleaz verilebilir.
- g. Karbonhidratların hidrolizini sağlayan enzimler, örnek; amilaz, sellülaz
- h. Karbon azot bağıını koparan, amino içeren grupları ayıran enzimlere örnek olarak glutaminaz, üreaz verilebilir.

**4. Liyazlar:** Hidrolizden başka bir mekanizma ile organik moleküllerdeki grupların ayrılmasını sağlayan enzimlerdir. Örnek olarak aspartat liyaz, piruvat dekarboksilaz verilebilir.



- a. Karbon-karbon liyazlara (dekarboksilazlar), örnek olarak piruvat dekarboksilaz verilebilir.
- b. Karbon-oksijen liyazlara örnek olarak treonin dehidrataz
- c. Karbon-nitrojen liyazlara örnek olarak aspartatamonyak liyaz
- d. Karbon-sülfür liyazlara örnek olarak homosistein desülfhidraz
- e. Diğer liyazlara ise örnek olarak ferroşelataz verilebilmektedir.

**5. İzomerazlar:** Substratın izomerizasyonunu katalizlerler. Örnek olarak glukoz fosfat izomeraz verilebilir.



- a. Rasemaz ve epimerazlara örnek olarak treonin rasemaz, metilmalonil. CoA epimeraz verilebilir.
- b. Cis ve trans izomerazlara örnek olarak retinal izomeraz verilebilir.
- c. İntramoleküler (moleküller arası) oksidoredüktazlara örnek olarak riboz.5.fosfat izomeraz verilebilir.
- d. İntramoleküler transferazlara örnek olarak glukoz fosfomutaz verilebilir.
- e. İntramoleküler liyazlara örnek olarak tetrahidroksi pteridin liyaz verilebilir.
- f. Diğer izomerazlara örnek olarak DNA topoizomeraz verilebilir.

**6. Ligazlar:** Daha büyük bir molekülü oluşturmak için iki metabolitin bağlanmasına neden olurlar. C-O, C-N veya C-C bağlarını kurarlar. Örnek olarak pirüvat karboksilaz, glutamin sentezaz, DNA ligaz verilebilir.



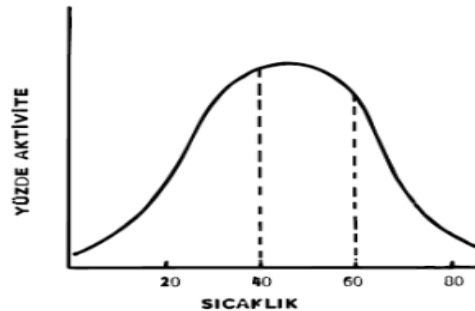
- Karbon- oksijen bağının oluşumuna örnek olarak triptofan. RNA ligaz verilebilir.
- Karbon-sülfür bağının oluşumuna örnek olarak asetat. CoA ligaz verilebilir.
- Karbon-nitrojen bağının oluşumuna örnek olarak aspartat amonyak ligaz verilebilir.
- Karbon-karbon bağının oluşumuna örnek piruvat karboksilaz verilebilir.
- Fosforik ester bağının oluşumuna örnek olarak RNA ligaz verilebilir (Güneş, 2013).

### 2.4.3. Enzim Aktivitesini Etkileyen Faktörler

Enzim aktivitesine sıcaklık, Ph, substrat konsantrasyonu, enzim konsantrasyonu, iyonik şiddet, kofaktör konsantrasyonu, inhibitör ve aktivatör konsantrasyonları gibi faktörler enzim aktivitesini etkiler.

#### a. Sıcaklığın etkisi

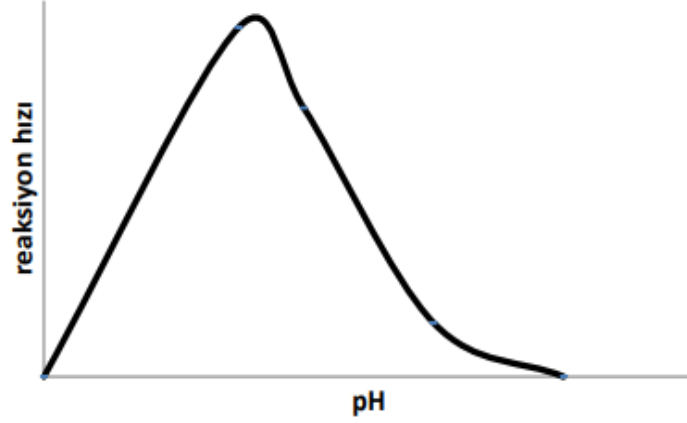
Sıcaklık bütün kimyasal tepkimelerin hızını artırır. Enzimli reaksiyonlarda sıcaklık ile hız doğru orantılıdır. Ancak sıcaklığın 50-60 °C üzerine çıktığı durumda aktivite azalır. Bunun nedeni yüksek sıcaklıkta enzimlerin denatüre (bozulma) olmasından kaynaklanır. Canlılar sıcaklığın nispeten sabit olduğu izotermal sistemlerdir. Bu yüzden sıcaklık canlılarda aktivite düzenleme aracı değildir (Keha ve Küfrevioğlu, 2020).



**Şekil 2. 13** Enzim reaksiyonunun hızı üzerine ısı etkisi (Kaya, 1993).

### b. pH 'nın etkisi

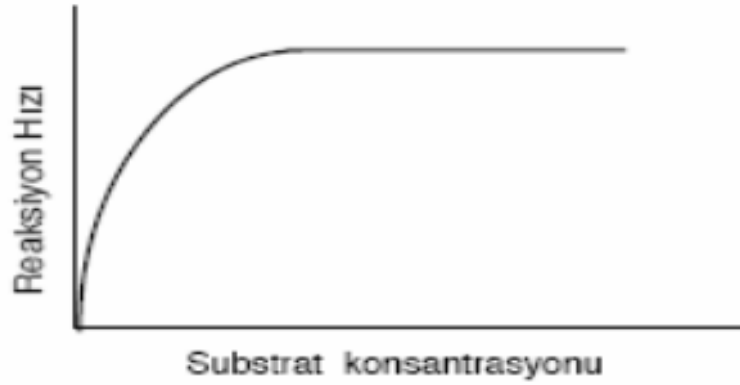
Her enzimin aktivitesinin en fazla olduğu pH değeri vardır. Bu değerlerin altında ve üzerinde olan değerlerde aktivite azalır. Bununla birlikte bütün enzimlerin pH-aktivite eğrileri aynı şekilde farklılık gösterir (Keha ve Küfrevioğlu, 2020).



Şekil 2. 14 Enzim reaksiyonunun hızı üzerine pH etkisi (Kaya, 1993)

### c. Substrat konsantrasyonu

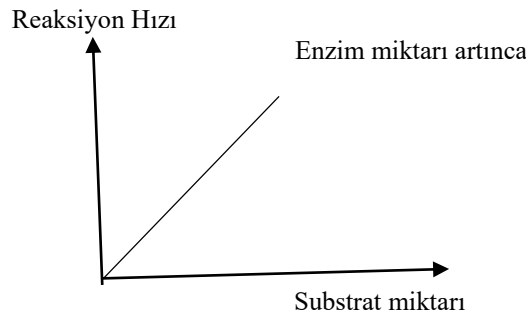
Enzim reaksiyonlarında substrat konsantrasyonu belli bir noktaya kadar reaksiyon hızı arttırmaktadır. Ancak hız maksimum noktaya ulaşıncaya kadar substrat konsantrasyonunun artması ile reaksiyon hızı değişmez (Yıldırım, 2014).



Şekil 2. 15 Substrat konsantrasyonuna göre reaksiyon hızının değişimi

### d. Enzim Konsantrasyonu

Substrat konsantrasyonu sabit tutulursa, enzim konsantrasyonunun artırılırsa reaksiyon hızı artar. Çünkü her enzim ayrı çalışır (Yıldırım, 2014).



**Şekil 2. 16** Enzimin konsantrasyonuna göre reaksiyon hızının değişimi

#### 2.4.4. Enzim İnhibisyonu

Bazı maddeler enzimle uyumlu olup ilişki kurma yeteneğine sahip olduğu halde substrat gibi hareket etmez ve bir ürüne dönüşümü sağlamazlar. Bu türdeki maddelere enzim inhibitörü denir (Bingöl, 1977). Enzim inhibisyonunun gerçekleşmesi için tepkime hızının inhibitör denilen maddeler tarafından engellenmesi veya tamamen durdurulması gerekir. Birçok hastalık enzimin işlevlerini yerine getirememesi veya enzimin doğal olarak işlevini gerçekleştirilmesiyle oluşur. Enzim inhibisyonunda amaç olarak enzimin katalizlediği reaksiyonu bozarak hastalığı tedavi etmektir. Zaten hastalıklara karşı kullanılan ilaçlar enzimleri bu şekilde engelleyerek enzim inhibisyonunu sağlar (Ak, 2020). Enzim inhibitörleri küçük kimyasal moleküllerdir ve enzimin katalitik aktivitesini inhibe ederek düşürebilirler (Çakmak ve ark., 2017).

Enzimatik aktivitenin inhibisyonu, biyolojik sistemlerde tek başına bir kontrol mekanizması oluşturduğu için çok önemlidir. Birçok ilaç ve zehirli bileşiklerin etkileri bu yollarla incelenmektedir. İnhibitörler enzimlerin etki mekanizmasının incelenmesinde çok önemlidir. Enzimlerin hem *in vivo* hem de *in vitro* ortamda aktivitesinin bazı bileşikler tarafından yavaşlatılması ya da tamamen durdurulması olayına inhibisyon denir. İnhibisyona neden olana maddelere de inhibitör adı verilir. İnhibisyon geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz olmak üzere iki grupta incelenir.

##### 2.4.4.1. Geri Dönüşümsüz İnhibisyon:

Enzimlere kovalent bağlanan inhibitör zor ayrılabilen bir yapı oluştururlar.

##### 2.4.4.2. Geri Dönüşümlü İnhibisyon:

İnhibitör ve enzim arasında kovalent olmayan bağlar bulunmaktadır. Geri dönüşümlü inhibisyon çeşitleri; kompetitif (yarışmalı) inhibisyon, nonkompetitif

(yarışmasız) inhibisyon, unkompetitif (yarı yarışmalı) inhibisyondur. (Keha ve Küfrevioğlu,2020)

Bazı ilaçların enzimlere geri dönüşlü veya dönüşsüz bağlanması diğer ilaçların enzime bağlanmasını engelleyebilir. Reaksiyonların devamı için yeni enzim sentezi gerekmektedir.Geri dönüşlü bağlanmada ise enzimin temel substratı ortamda iken inhibisyon olayı gerçekleşmez (Yüksel, 2001).

#### **2.4.4.2.1. Kompetitif (Yarışmalı) İnhibisyon:**

İnhibitörler, enzimin substratı ile enzimin aktif bölgesine bağlanmak için yarış halindedirler. Eğer enzimin aktif bölgesine inhibitör bağlanırsa reaksiyon gerçekleşmez. Kompetitif enzim inhibisyonunda inhibitörden dolayı enzimin substrata ilgisi azalır (Akn, 2012).

#### **2.4.4.2.2. Nonkompetitif (Yarışmasız) İnhibisyon:**

İnhibitör ve substrat, enzimin aktif bölgesine aynı anda enzimin farklı bir bölgesine bağlanabilir. Burada substrat ve inhibitör arasında yarışma söz konusu değildir. Substrat konsantrasyonunu arttırmak inhibisyona engellemez.

#### **2.4.4.2.3. Unkompetitif (Yarı Yarışmalı) İnhibisyon:**

Bu inhibisyon çeşidinde inhibitör serbest enzime değil sadece enzim ve substrat kompleksine bağlanır (Keha ve Küfrevioğlu, 2020).

Enzim inhibisyon teorisi Alzheimer ve diyabet gibi hastalıkların tedavisinde izlenecek stratejiler arasından en fazla tercih edilendir. Farmakolojinin çalışma alanı olan enzim inhibitörleri ilaç olarak kullanılmaktadır. Doğal ürünler enzimleri inhibe ederek aktivitelerini kontrol etmeyi sağlamaktadır (Çakmak ve ark., 2017).

### **2.5. Esterazlar**

Esteraz enzimleri feromen ve hormon metabolizması, sindirim sistemi ve sinir iletimi, üreme davranışı ve insektisitlere direnç gibi birçok mekanizmada görev almaktadır. Esteraz enzimlerinin Asetilesterazlar, Arilesterazlar, Karboksil esterazlar (CaE) ve Kolin esterazlar (ChE) olmak üzere 4 sınıfı bulunmaktadır (Aktay, 2017).

### 2.5.1. Kolinesterazlar

1914 yılında Henry Dale'nin ortaya çıkardığı ve 1930 yılından beri detaylı çalışmaları devam eden serin hidrolaz sınıfının bu enzimlerinin aktif bölgesinin amino asit dizilimi 1959 yılından itibaren belirlenebilmektedir. 1987 yılında Lockridge tarafından insan bütirilkolinesteraz enziminin tüm dizisi belirlenmiştir (Massoulié ve ark., 1993).

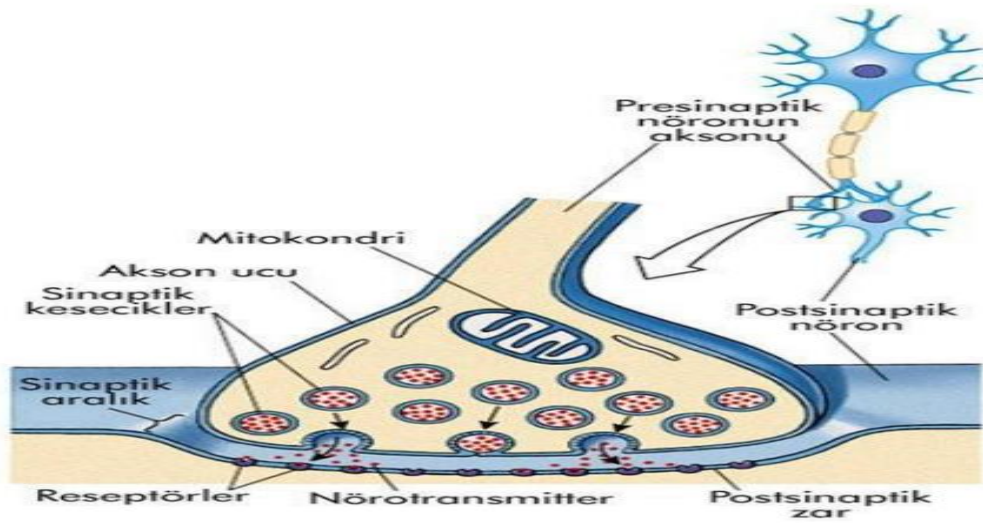
AChE ve BChE insan kromozomunda farklı genlerle kodlanmalarına rağmen aktif bölgeleri, benzer molekül yapıları ve aminoasit dizilimleri %65 homologtur (Gülçin ve ark., 2016). AChE ve BChE yapıları birbirleriyle oldukça benzer oldukları halde substrat özgüllükleri, dokulardaki dağılımları ve inhibitörlere duyarlılıkları bakımından farklılık göstermektedir. Kolin esterleri arasından asetilkolini en hızlı parçalayan AChE' dir. Bütirilkolini ise en hızlı parçalayan enzim BChE'dir (Demir ve Türkan, 2022). Birbirlerine yapısal olarak çok benzeyen bu iki enzim ile yürütülen çalışmalar için zorluk oluşturmaktadır (Yapıcı ve İzol, 2023).

Vücudumuzda iki tip kolinesteraz enzimi vardır. Bunlardan asetilkolinesteraz enzimi AChE beyinde 7. kromozomda kodlanmıştır. 3. kromozomda kodlanan bütirilkolinesteraz enzimi AChE (Darvesh, 1998) ile %65 aynı aminoasit dizilimlerine sahip olmasına rağmen vücuttaki oranları birbirinden farklıdır. Beyinde AChE, BChE'ye göre daha fazla bulunmaktadır (Sussman, 1991). AChE; beyin, sinir ve eritrositlerde bol miktarda bulunan spesifik bir kolin esteraz iken, BChE ise serum, pankreas, karaciğer ve merkezi sinir sistemindeki bir kolin esterazdır (Rao ve ark., 2007).

Hem asetilkolinesterazın hem de bütirilkolinesterazın vücut sıvılarında bulunan ve suda çözünebilen formları vardır. Kolinerjik sistem ile ilişkili olan AChE beyinde bulunur (Chatonnet and Lockridge 1989). 1991 yılından beri yapılan geniş çaplı çalışmalara insan beyinde mevcut olan kolinesteraz enzimlerinden en fazla olan enzimin asetilkolinesteraz enzimi olduğu göstermiştir (de Souza ve ark., 2016).

#### 2.5.1.1. Asetilkolinesteraz

Asetilkolin, merkezi sinir sisteminde kimyasal iletimde görevli olup ilk tanımlanan nörotransmitter maddedir. Asetilkolin 1914 yılında Henry Hallet Dale, 1921'de ise Otto Loewi'nin kurbağa kalbi üzerinde yaptığı çalışmalar ile nörotransmitter olduğu ispatlanmıştır. Asetilkolin ile yaptığı bu çalışmalar Otto Loewi'nin 1936'da Nobel ödülünü kazanmasını sağlamıştır.



**Şekil 2. 17** Nöronların diğer nöronlarla olan mesaj iletimini sağlayan sinapsların gösterimi (Aktay, 2017)

Açık formülü  $\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{NN}^+(\text{CH}_3)_3$  olan asetilkolin bir sinir hücresinden başka bir sinir hücresine impuls iletimini sağlamak, sinir ve kas liflerinde biyoelektriksel akım oluşmasını sağlamaktadır. Aynı zamanda çizgili kaslarda lifin kısılmasını sağlamak ve uyarılan parasempatik sinir sisteminde kalp atışının yavaşlaması, tükürük salgısının artması gibi olayların da gerçekleşmesinde rol oynamaktadır (Çat, 2019). Asetilkolinesteraz (AChE, EC 3.1.1.7), kolinerjik sinapslarda ve nöromusküler kavşaklarda nörotransmitter madde olan asetilkolini hidrolize ederek birçok hayvan türünde kolinerjik sinir sisteminde sinaptik iletimi sonlandırır (Kim ve Lee, 2013). AChE saniyede 250.000 kadar asetilkolin molekülünü parçalayabilen 537 aminoasitten oluşan peptid monomeridir (Tripathi, 2010).

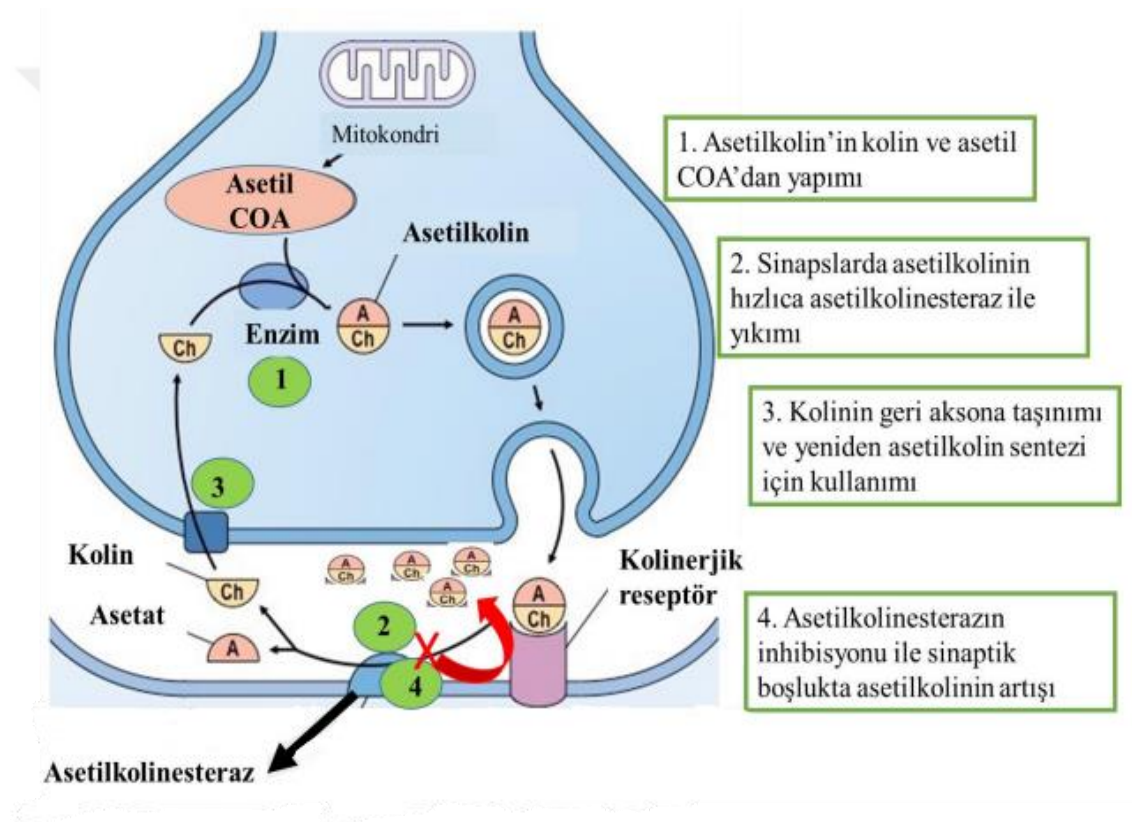
Asetilkolinesteraz enzimi 14 alfa sarmal ile çevrili 12 beta levhadan oluşmaktadır (Sussman ve ark., 1988).

AChE özellikle korteks beyinde nöronlar arası sinir uçları ve sinaptik boşluklarda bulunan asetilkolini “asetat” ve “kolin”e parçalayarak uyarının post-sinaptik nörona geçişini engelleyen bir enzimdir (Singh, 2013; Yapıcı ve İzol, 2023; Tripathi, 2010).

Asetilkolin mitokondrilerde hücresel solunumun ürünü olan koenzim A dan ve lipid metabolizmasında önemli görevleri olan kolinden sentezlenir. Öncelikle ACh için ChAT'a ihtiyaç vardır. ACh, ChAT tarafından sentezlenir ve VAChT (asetilkolin taşıyıcısı) tarafından sinaptik vesiküllerde konsantre edilir. ACh sinaptik vesiküller sayesinde ACh i sinaptik boşluğa saldıktan sonra AChR'e (ACh reseptörleri) bağlanır.

Hedef nörona bağlanan ACh, sinir uyarısının bir nörondan diğerine iletimini tamamladıktan sonra reseptörden ayrılır (Koçancı ve Aslım, 2016).

Asetilkolinesteraz, bütirikolinesteraz enzimleri Alzheimer ve tip-2 diyabet ile karakterizedir. Araştırmalar bu hastalıkların kolinesteraz enzimlerinin plazma ve dokudaki konsantrasyonlarının yükselmesi ile ortaya çıktığını göstermektedir. Asetilkolin esteraz ve bütirikolinesteraz enzimlerinin yüksek konsantrasyonları canlıda inflamasyonu tetikleyerek asetilkolin seviyesinde azalmaya yol açacaktır. Bu durum göz önünde bulundurulduğunda iki enziminde Alzheimer ve tip-2 diyabet hastalıklarının gelişiminde belirteç olarak kullanılabileceği tahmin edilmektedir (Rao ve ark., 2007).

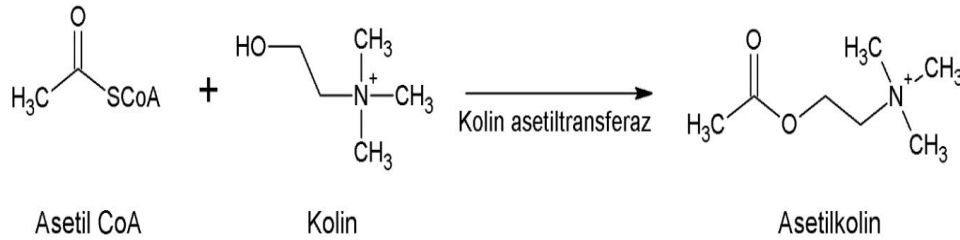


**Şekil 2. 18** Asetilkolinesteraz metabolizması (Kayacık, 2019)

Alzheimerli beyinlerde korteks ve hipokampüste AChE nin aktivitesinin artmasının ACh miktarını ve aktivasyonunu azalttığı tespit edilmiştir. Günümüzde yapılan çalışmalara bağlı olarak Alzheimerin en geçerli tedavisinin asetilkolin inhibitörlerinin kullanımı olduğu bilinmektedir. Yapılan birçok deneysel çalışmanın sonucunda izlenen bu tedavinin en geçerli ancak fayda bakımından minimal olduğu tespit edilmiştir. Son yıllarda hastalık için tedavi edici özelliğin yanında daha az yan etkili ve kesin tedavi edici yeni stratejilerin planlanmasıdır. Bunun için hastalığın genel

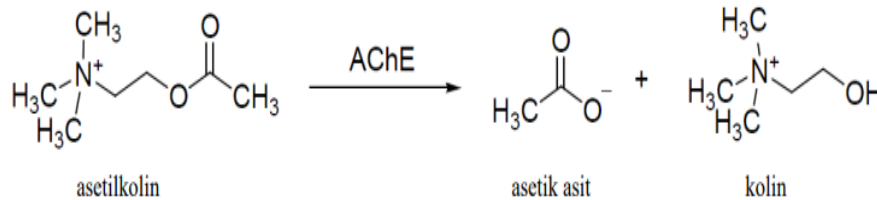
mekanizmasının ve hastalığın en büyük sebeplerinden biri olduğu düşünölen AChE nin yapısı ve fonksiyonlarının ortaya konularak inhibitörler aracılığıyla yetersiz olan tedavi yöntemlerine karşı bitkilerle tedavi oluşturmaktır (Koçancı ve Aslım, 2016). Asetilkolinesterazı inhibe eden ilaçların ilaçların yan etkilerinden dolayı doğal inhibitörler ile ilgili araştırmalar yapılmaktadır (Scozzafava ve ark., 2015).

AH 'de AChE %45 azalırken BChE %90'a kadar artmaktadır. Yani BChE, AChE' nin eksikliğini telafi etmektedir. AChE ile birlikte BChE 'ye etki eden çift hedefli ChE inhibitörlerinin geliştirilmesi gerekmektedir (Almaz, 2021). Günümüzde Alzheimerin tedavisi için enzim inhibisyonu ile asetilkolin seviyesinin artması sonucunda semptomların azaltılması hedeflenmektedir. Bundan dolayı Alzheimerin tedavisi için asetilkolinesteraz enzimi üzerinde durulmuştur (Mohsen ve ark., 2015).



**Şekil 2. 19** Asetilkolin Sentezi

Kolinerjik nöronlarda asetilkolin sentezinde kullanılan kolin hücre membranının yapı taşı olan fosfolipidlerin sentezinde de kullanılır. Sıçanlarla yapılan bir deneyde ortama serbest kolin eklenmediği halde membrandaki fosfolipitler kataliz edilerek asetilkolin sentezinin devam ettiği bildirilmektedir. Buradan membrandaki fosfolipilerin koline katalizi sağlanarak asetilkolin yapıldığı anlaşılmaktadır. Otokannabilizm olarak bilinen bu olay kolinerjik nöronların kaybının olası Alzheimer nedeni olduğu düşünülmektedir (Ulus, 2010).



**Şekil 2. 20** Asetilkolinin hidrolizi (Aktay, 2017)

AChE 'nin önemi Alzheimer gibi hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçların hedefi olmasından kaynaklanmaktadır. Enzimin nöronal olmayan dokularda dikkate

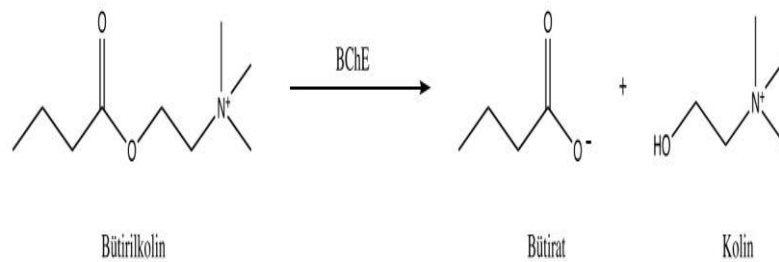
değer varlığı ve dağılımının değişkenlik göstermesi bu enzimin canlıdaki rolünü araştırmak için uygun tema oluşturur (Tripathi, 2010).

### 2.5.1.2. Bütirilkolinesteraz Enzimi

Bütirilkolinesteraz (BChE, E.C.3.1.1.8) karaciğerde sentezlendikten sonra kana karışan (Chatonnet and Lockridge 1989), yaklaşık 342 kDa ağırlığında olan tetramerik bir glikoproteindir (Barta ve ark., 2001). Bütirilkolinesteraz enzimi bütirilkolini bütirat ve koline hidroliz eder. Bunun yanında asetilkolinesteraz enzimine yardımcı olur. AChE ile birlikte kolinerjik sistemi dengede tutmak en önemli görevleridir. Stresi azaltmak ve hücre yenilenmesini sağlamakta da rol oynamaktadır (Yapıcı ve İzol, 2023).

Beyindeki kolinesteraz aktivitesinin küçük bir kısmından sorumlu olan BChE vücutta kan serumu, pankreas, karaciğer ve merkezi sinir sisteminde, kalpte, kaslarda, akciğerde, ince bağırsakta ve yağ dokusunda bulunan bir kolin esterazdır. Sinaptik boşluk dışına yayılan ACh'nin hidrolizini yaparak asetilkolinesteraz enzimi ile aynı işlevi paylaşarak tamamlayıcı olarak görev yapar (Das, 2012; Yapıcı ve İzol, 2023). Ancak Bütirilkolinesteraz enziminin insandaki görevi hala tam olarak anlaşılmamıştır (Leo ve ark., 2006).

BChE'nin amiloid plaklarda ve nörofibril yumaklarda tespit edilmesi AH'nin patogenezinde rol oynadığını düşündürmektedir. BChE beyinde AChE'nin olmadığı bölgelerde yani nöron ve glial hücrelerde bulunabilir (Chatonnet ve Lockridge, 1989). Aynı zamanda beyinde hipokampus, amigdala ve talamustaki nöronlarla ilişkilidir. BChE'nin amiloid plaklarda ve nörofibril yumaklarda tespiti Alzheimer hastalığının patogenezinde rol oynadığını düşündürmektedir. İnsan ve şempanze arasındaki BChE 1 arasındaki tek fark sitozin ve tirozinin yerlerinin birbirinden farklı olmasından kaynaklanır (Jasiecki ve Wasag, 2019).



**Şekil 2. 21** Bütirilkolin in katalizi Kaynak: <https://dergipark.org.tr>

Ancak BChE' nin görevleri arasında AChE ile birlikte sinaptik boşlukta ACh'ı parçalayarak asetat ve kolin oluşturmanın olduğu da düşünülmektedir. BChE' in beyindeki konsantrisi AChE' den daha az bulunmaktadır (de Souza ve ark., 2016). BChE' nin rolünün tam anlamıyla belirsiz olmasının yanında AChE ile katalizlenmemiş ACh' lerin temizlendiği öne sürülmüştür (Chuiko ve ark., 2003).

## 2.6.Ksantin Oksidaz (XO)

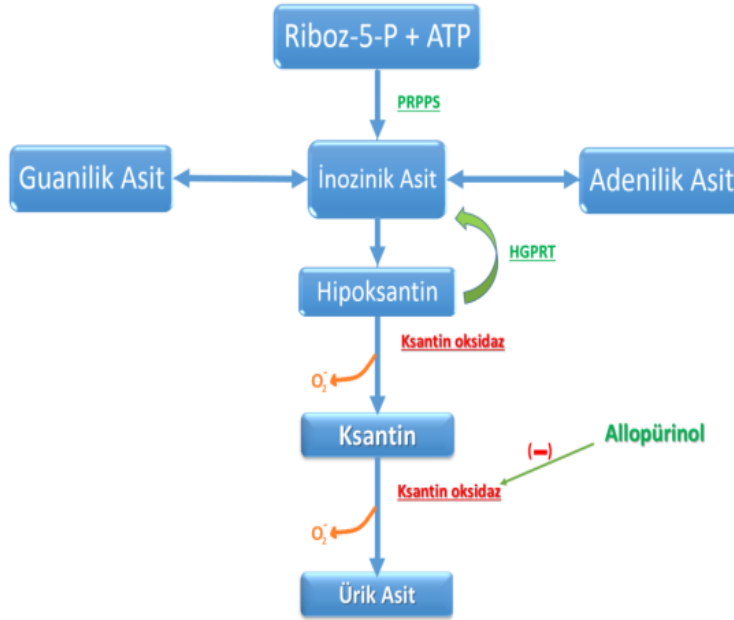
Ksantin oksidoredüktaz (XO) enzimi hipoksantinün ürik aside dönüşmesinde rol oynamaktadır. Böylece insanda ve yüksek primatlarda pürin katabolizmasının son oksidasyon ürünü olan ürik asit oluşturulur. XO'nun ana kaynaklarının karaciğer ve ince bağırsak olduğu bilinmektedir (Iliesiu ve ark., 2010; Pritsos, 2000). Yapılan çalışmalar ksantin oksidazın beyin ödemi, iskemi ve damar geçirgenliğindeki değişiklikler gibi oksidatif hasarlara neden olduğunu göstermektedir (Turan, 2019).

Ksantin oksidaz enzimi hipoksantinün ksantine daha sonra ksantininde ürik aside dönüşmesini sağlayarak pürin katabolizmasında görev alan bir enzimdir. Hidroksilaz enzim sınıfında yer alır. Molibden içeren bu enzim pürin metabolizmasının son iki basamağında kataliz görevinin olması ve hız belirleyici bir enzim olması dolayısıyla önemli bir enzimdir. Substrat spesifikliğı geniş olduğu için katalizlediğı reaksiyon üzerinde oksijeni indirgeyerek süperoksit ve hidrojen peroksit gibi radikallerin oluşmasına neden olabilmektedir (Sarı ve ark., 2017). Pürin metabolizmasının son basamağı olan ksantin oksidaz allopurinol tarafından inhibe edilir (Iliesiu ve ark., 2010).

Hipoksantinün ksantine, ksantinün ise ürik aside dönüşümü sırasında ortaya çıkan hidrojen peroksit ve süperoksit anyonunun oluşumuna neden olan ksantin oksidaz üzerinde çeşitli flavonoidlerin inhibitör etki gösterdiği bulunmuştur (Nagao ve ark., 1999). Örneğin *V. cracca L.* bitkisinin analizi sonucunda yapısında mevcut olan naringinin, ksantin oksidaza orta derecede etki eden bir flavonoid olduğu yapılan bir çalışma ile tespit edilmiştir (Iio ve ark., 1985).

Ksantin oksidaz (EC 1.1.3.22) ve ksantin dehidrojenaz (EC 1.1.1.204) (McCord, 1987) aynı genlerin farklı formlardaki ürünleridir (Pritsos, 2000). Ancak iki formun kinetikleri ve oksidasyon-redüksiyon durumları farklıdır (Hille ve Nishino, 1995). Ksantin dehidrojenazın oksidaz karşılığı ksantin oksidazdır (Pritsos ve Gustafson, 1994). Ksantin oksidaz, ksantin dehidrojenaz ve aldehit oksidazlar birbiriyle yakından ilişkili olan (Bray ve ark., 1996) canlılarda yaygın olarak bulunan çok yönlü bir flavoproteindir (Borges ve ark., 2002).

## Pürin Metabolizması



Şekil 2. 22 Pürin Metabolizması (<https://acikbilim.yok.gov.tr>)

### 2.7. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler bitki büyümesi sırasında patojen, böcek saldırısı, enfeksiyon, yaralanma, UV radyasyonu gibi streslere karşı koruma sağlayarak hücre duvarında önemli rol oynar. Fenoliklerin temel yapısı bir veya daha fazla hidroksil grubu taşıyan aromatik halkalardır. Moleküldeki fenol sayısına bağlı olarak basit fenoller ve polifenoller olarak sınıflandırılır (Khoddami ve ark., 2013).

Bitkilerde büyüme ve gelişmede çok önemli rolü olmayan ve bazı türlerde yüksek konsantrasyonlarda bulunabilen fenolik bileşikler sekonder metabolitler olarak adlandırılır. Günümüzde sayısının 8000'in üzerinde olduğu bildirilmiştir. Flavonoidler ve flavonoid olmayanlar olarak sınıflandırılan fenolik bileşikler yapısında en az bir hidroksil grubu taşıyan ve en az bir aromatik halka içeren fenolik bileşikler yapısal olarak geniş kimyasal bir grup olup; flavonoller, flavonlar, izoflavonlar, flavanonlar, antosiyanidinler, flavon-3-oller, dihidrokalkonlar gibi birçok grubu kapsamaktadır (Del Rio ve ark., 2013).

Bitkilerdeki fenolik bileşikler ilk kez 19.yüzyılda yapı ve fonksiyon olarak incelenmiştir. Böylece bu faydalı bileşikler kullanılmaya başlanmış ve yeni bir

biyoteknoloji alanı oluşmuştur. Bitkisel yağ, boya, plastik, insektisit, pestisit, parfüm, sabun vb. gibi endüstri malzemelerinin üretiminde kullanılması (Oskay ve Oskay, 2009) çeşitli fenolik bileşiklerin, oksidatif hasardan koruma, enzim inhibisyonu, biyokimyasal reaksiyonların inhibisyonu, membranların korunması ve kanser hücrelerine karşı anti-proliferatif aktivite göstermektedir. Serbest radikal temizleme özellikleri, metal şelasyon yeteneği, enzimatik aktiviteleri uyarması (aktivasyon, inhibisyon, düzenlenme), osteoporoz, oksidatif stresin neden olduğu kanserler ve kardiyovasküler hastalıklara olumlu etkilerinden dolayı insan sağlığını desteklediği düşünülmektedir. Kısaca fenolik bileşiklerin antioksidan ,antiinflamatuvar, antikanser ve yaşlanma karşıtı özellikleriyle yaygın olarak bilinmektedir (Bayrambaş ve ark., 2019).

Fenolik maddeleri;

1. Fenoller, fenolik asitler, fenil asetik asitler,
2. Sinnamik asitler, kumarinler, izokumarinler ve kromanlar,
3. Lignanlar,
4. Flavonoidler,
5. Ligninler,
6. Taninler,
7. Benzofenonlar, ksantonlar ve stilbenler,
8. Kuinonlar, betasiyaninler olmak üzere sekiz gruba ayırmak mümkündür (Harborne, 1989).

Birçok bitkide mevcut olan fenolik bileşiklerin hastalıklar üzerinde olumlu etkilere sahip olduğu ve kesin tedavi edebileceği ile ilgili birçok araştırma bulunmaktadır. *Stachys lavandulifolia* adlı bir bitkinin fitokimyasal analizi, antioksidan özelliği ve asetilkolinesteraz enzimi üzerindeki inhibitör etkisini araştıran bir çalışmanın LC-MS/MS analiz sonucuna göre luteolin, fumarik asit, gallik asit, tespit edilmiştir. Flavonoidlerden biri olan luteolinin antikolinesteraz özelliğe sahip olduğu bildirilmiştir. Bitkinin özellikle metanol ekstresinde luteolin, fumarik asit, gallik asit gibi fenoliklerin mevcut olduğu ve AChE üzerinde güçlü inhibisyon gösterdiği bildirilmiştir (Güzel, 2023).

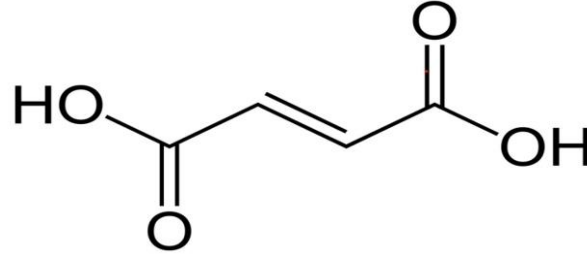
Birçok hastalığın ortaya çıkmasına neden olan oksidatif stresi önlemesi özelliği bitkilerin sahip oldukları fenolik bileşiklere önem kazandırmaktadır. Tez çalışmamızda incelemiş olduğumuz *V. cracca L.* bitkisinde, hastalıklar üzerinde etkili olabileceği düşünülen fenolıklere sahip olduğu yapılan analizler sonucu tespit edilmiştir. Yukarıda

belirtilen araştırma sonucuna göre *Stachys lavandulifolia* bitkisiyle benzer fenoliklere sahip olması *V. cracca L.* hastalıkların tedavisinde kullanılabilirliğini göstermektedir.

### 2.7.1. Fumarik Asit

Adını Fumaria cinsine ait bitkilerden alan fumarik asit (Goldberg ve Rokem, 2009) ‘‘Etilendikarboksilik asit’’ olarak adlandırılır (Çetin ve Kurbal, 2018). Fumarik asit, mitokondride enerji üreten temel bir hücreler süreç olan sitrik asit döngüsündeki ara maddelerden biridir (Balak, 2015). E297 kodlu fumarik asit doymamış dikarboksilli asitlerin en önemlileri olan bu asit (Çetin ve Kurbal, 2018) antibiyotik, antibiyozis ve antitümör gibi etkilere sahip olup (Zheng ve ark., 2003) sebze ve meyvelerin birçoğunda bulunur (Çetin ve Kurbal, 2018). Fumarik asit yağlama yağı, mürekkepler, cilalar stirenbitadien kauçuğu, kişisel bakım ürünleri güncel kullanımları arasındadır. Organik asit üretme yeteneğine sahip olan mantarlar fumarik asit üretimindeki fermantasyon süreçlerinde kullanıldıkları bilinmektedir (Roa Engel, 2008).

Çok yönlü biyoaktiviteye sahip olmakla birlikte nöroprotektif, antioksidan, immünomodülatör ve antiinflamatuvar etkileri vardır (Güzel, 2023).



**Şekil 2. 23** Fumarik Asitin Kimyasal Yapısı

Fumarik asidin sedef hastalığında tedavi amaçlı kullanılmaktadır (Roa Engel, 2008). Fumarik asidin esteri olan dimetil fumaratın nöroinflamasyon, nörodejenerasyon ve toksik oksidatif stresin etkilerine karşı savunma gerçekleştirilmektedir. Aynı zamanda antiinflamatuvar ve sitoprotektif özelliği de deneylerle kanıtlanmıştır (Gold ve ark., 2012). Fumarik asit ilaç endüstrisinde kullanılmaktadır (Goldberg ve Rokem, 2009). Çünkü fumarik asit esterlerinin immünomodülatör, anti-inflamatuvar ve anti-oksidatif etkilere sahip olması sedef hastalığı başta olmak üzere cilt hastalıkları ve Avrupa İlaç Ajansı tarafından multipl skleroz tedavisi olarak onaylanmıştır (Balak, 2015).

### 2.7.2. Kerasiyanin Klorid

Fenolik bir madde olan kerasiyanin klorid (Cn-3-Rut) antosiyanin çeşididir (Yorulmaz ve Tekin, 2009). Yapılan bir çalışmada AChE ile kerasiyanin klorid arasında yüksek bağlanma afinitesinin bulunduğu tespit edilmiştir (Güven ve ark., 2024).

### 2.7.3. Siyanidin

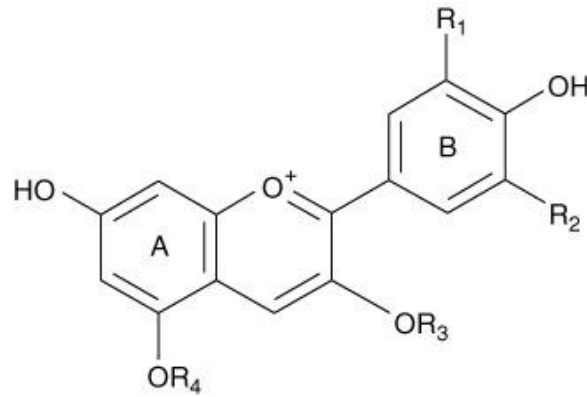
Siyanidin 3-o-galaktosid (Cy3Gal) canlıların daha sağlıklı olmalarını sağlayabilen en yaygın antosiyaninlerden biridir. Antosiyaninler bitkinin kök, gövde, yaprak, çiçek, meyve gibi farklı dokularında bulunur. Antosiyaninler bitki fizyolojisi açısından da önemlidir. Örneğin bitkide aşırı sıcaklığa karşı koruyucu etki sağlamaktadır. Bunu da bitkinin aktif dokuların ışığı absorbe etmesini düzenleyerek yapar. Antosiyaninin tek başına tüketiminin kanser, ateroskleroz, kardiyovasküler hastalıklara ve diyabet gibi hastalık riskinin azaltılmasında endike olduğu, diğer polifenoller ile beraber değerlendirildiğinde antiinflamatuvar, antikanser, antidiyabetik, antitoksiste, kardiyovasküler ve en önemlisi sinir koruyucu kapasiteye sahip olduğu vurgulanmaktadır (Liang ve ark., 2021).

Antosiyaninler bazı bitkilerde bulunan hidrofilik, antioksidatif, inflamatuvar flavonoidlerdir. Tüm antosiyaninler arasından en yüksek biyoaktiviteye sahip olan Siyanidin 3-o-glikozittir (Ercan, 2016).

Antosiyaninler suda çözünebilen pigmentlerdir ve bitkinin mavi, mor ve kırmızı rengini oluşturan sekonder metabolitlerdir. Antosiyaninler ksantin oksidazın (XO) büyük ölçüde inhibisyonunu sağladığı gösterilmiştir. Bu sonuçlar antosiyaninlerin antioksidan özellik gösterdiğini ve serbest radikallerin sebep oldukları hastalıkların tedavisinde umut verici bileşikler olduğunu düşündürmektedir (Acquaviva ve ark., 2003).

Yapılan bir çalışmada nar meyvesinden elde edilen antosiyanidinlerin sıçan beyinde hidrojen peroksidin neden olduğu lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir (Noda ve ark., 2002). Yapılan başka bir araştırma ise kirazdan elde edilen antosiyanin ve siyaninin lipid peroksidasyonunun inhibisyonuna etkisi 2 mM konsantrasyonlarda % 75'lere kadar aktivite gösterdiği hatta aynı konsantrasyonda E vitamininden bile daha üstün performans gösterdiği bildirilmiştir (Wang ve ark., 1999). *Morus Alba* L. (dut)' dan elde edilen Siyanidin 3-rutinosid ve siyanidin 3-o-glukozit ile yapılan başka bir çalışmanın sonucu ise antosiyaninlerin kanser hücrelerinin *in vitro*

ortamda dağılmasını ve zarar verici özelliklerinin azaltabileceğini bunun da kanser tedavisi için çok büyük değer taşıdığını ortaya koymuştur (Chen ve ark., 2006).



**Şekil 2. 24** Yaygın antosiyaninlerin yapısal formülü. Siyanidin: R1 = OH; R2, R3, R4 = H

Diğer flavonoidler gibi antosiyaninlerin güçlü serbest radikal temizleyici özelliği kanıtlanmıştır. Antosiyaninlerin radikal temizleme aktivitesinin tayininde DPPH radikal yöntemi kullanılabilir (Kähkönen ve ark., 2003). Hücre sitoplazmasında glikozit formda bulunan antosiyanidinler şeker ve şeker olmayan (aglikon) kısımlardan meydana gelmiştir. Aglikon kısmı antosiyanidinleri oluşturur. C<sub>6</sub>C<sub>3</sub>C<sub>6</sub> şeklinde temel yapı gösteren antosiyanidinler flavonoidlerin alt grubunda yer almaktadır. Günümüzde 22 tane antosiyanidin ve 275 antosiyanin bilinmektedir. *In vitro* ortamda antioksidan aktivitesi en fazla olan siyanidindir. Antosiyanidinler yapılarındaki elektron eksikliğinden dolayı serbest radikallere karşı çok aktiftir (Koca ve ark., 2006).

Antioksidan aktivite, DPPH, ABTS, DMPD, FRAP, KUPRAK ve Fe<sup>3+</sup> indirgeme testleri dahil olmak üzere çeşitli testler kullanılarak değerlendirilen bir çalışmada elde edilen fenolik bileşiklerden siyanidin-3-o-glukozitin 0.778 µg/mL, kerasiyanin klorid 0.374 µg/mL, kinik asit 11.004 µg/mL, fumarik asit 0.301 µg/mL, gallik asit 0.204 µg/mL konsantrasyonda olduğu belirlenmiştir. Ekstrelerin, antioksidan aktivite ve asetilkolinesteraz enzimi de dahil olmak üzere çeşitli birçok enzim inhibisyonu ve çeşitli biyolojik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Bitkilerin antioksidan aktiviteleri fenolikler, flavonoidler gibi sekonder metabolitler ile ilişkilidir. Antioksidanların, oksidasyon sürecini ve serbest radikalleri oluşumunu engelleme yetenekleri metabolizmayı oksidatif stresin zararlı etkilerinden korumaktadır. Beynin belirli bölgelerinde gerçekleşen oksidatif stres, iltihaplanma ve asetilkolin eksikliği ile karakterize , nörodejeneratif bir hastalık olan AH'da antioksidan bakımından zengin

olan besinler ve tıbbi değeri olan bitkilerin kullanılması hastalığın ilerlemesini yavaşlatabilir (Güven, 2023).

Polifenollerin demans üzerindeki etkisi araştırılan bir çalışmada antosiyaninlerin kan beyin bariyerini geçerek öğrenme ve hafıza ile ilgili kısımlara etki ederek inflamasyon ve bunun sonucunda gerçekleşen nöron ölümlerini engellediği düşünülmektedir (Alkan ve Rakıcıoğlu, 2020).



### 3.MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmamızda sığır sütünden ekstrakte edilmiş olan XO enzimi, at serumundan saflaştırılmış olan BChE ve *Elektrophorus electricus*' tan (elektrikli yılan balığı) elde edilen AChE kullanıldı. Reaksiyonda substrat olarak kullanılmak üzere asetiltiyokolinoyodat, bütirilkolinoyodat, ksantin ve EDTA, Tris-HCl, sodyum fosfat, sodyum sitrat, Ellman reaktifi olarak 5,5' ditiyobis-2-nitrobenzoik asit (DTNB), dimetilsülfoksit (DMSO) kullanıldı.

##### 3.1.2. Yararlanılan Alet ve Cihazlar

Çalışmalar esnasında aşağıda verilen alet ve cihazlar kullanıldı.

Spektrofotometre	: Agilent Cary 60
pH metre	: Hanna Instrument
Karıştırıcı (Shaker)	: Isotex Magnetic stirrer
Karıştırıcı (Vorteks)	: Biosan vortex V-1 plus
Hassas terazi	: Kern ABJ-NM/ABS-N
Otomatik pipet	: Eppendorf
Çalkalayıcı	: Midi Dual 14
Magnetik karıştırıcı	: Wise Stir-MSH-20A
Saf su cihazı	: BarnsteadEasyPure UV/UF
Su Banyosu	: Apex instruments
Kar makinesi	: Scotsman AF-80 (Authomaticicemachines)
Güç kaynağı	: 1-Bio RadPowerPac 3000
Buzdolapları	: Vestel
Derin dondurucu	: Esco Lexicon ULT Freezer (-80°C)
UV-VIS Spektrofotometre:	Thermo Scientific Multiskan Go (Mikrohacim Spektrofotometre, Muş Alparslan Üniversitesi (MERLAB), Muş.
Soxhlet Ekstraksiyon Cihazı	
Zorbax SB-C18 (4.6x100mm; 3.5 Mikron) kolonu ile donatılmış Agilent 6460 Triple Quadrupole LC-MS/MS (Liquid Chromatography-Tandem Mass/Mass Spectrometer,	

Agilent Technologies) : Doğu Anadolu İleri Teknolojiler Araştırma ve Uygulama Merkezi (DAYTAM), Atatürk Üniversitesi, Erzurum.

### 3.1.3. Bitki Örneklerinin Hazırlanması

*V. cracca L.* bitkisinin örnekleri Elâzığ ili Aşağıyabanlı köyünden (38°57'47.0916" N; 38°38' 7.5588" D) 2021 yılında toplanmıştır. Toplanan bitki örnekleri Türkiye florasına göre sınıflandırılması Dr. Murat KÜRŞAT (Bitlis, Türkiye) tarafından yapılmıştır. Bitki örneği herbaryum materyali haline getirilmiştir. Bitki gölgede olacak şekilde dal, yaprak ve tohum olarak kurutulmaya bırakıldı. Kurutulan bitkiler toz haline getirildi. *V. cracca L.* bitkisinin bölümleri Muş Alparslan Üniversitesi merkez laboratuvarında soxhlet ekstraksiyon yöntemiyle her biri 350 mL olacak şekilde su, etanol ve aseton kullanılarak hazırlandı. Daha sonra su, etanol ve aseton buharlaştırılarak elimine edildi. Numuneler su yaprak (V.C.L(H<sub>2</sub>O)), su dal (V.C.L(H<sub>2</sub>O)), su tohum (V.C.L(H<sub>2</sub>O)), etanol yaprak (V.C.L(EtOH)), etanol dal (V.C.L(EtOH)), etanol tohum (V.C.L(EtOH)), aseton yaprak (V.C.L(C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O)), aseton dal (V.C.L(C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O)) ve aseton tohum (V.C.L(C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O)) olmak üzere etiketlendi.

### 3.1.4. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

Biyokimyasal çalışmalarda kullanılacak çözeltiler ve bu çözeltilerin hazırlanışı, kullanılma durumları aşağıda olduğu gibidir.

1. AChE enzim aktivitesi için gerekli olan 60,54 g Tris (trihidroksimetilaminometan) ve 0,74 g EDTA 400 mL saf suda çözdürülerek pH 8'e eşitlenene HCl ile titre edildi. Daha sonra çözeltiliye 500 mL oluncaya kadar saf su eklendi.
2. Enzimin aktivesinin belirlenmesi için kullanılacak olan 100 mL asetiltiyokoliniyodat (10Mm) 0,29 g tartılarak ve saf su eklenerek 100 mL'ye tamamlandı.
3. Günlük olarak hazırlanan ve enzimin aktivite tayini için kullanılacak olan çözeltili için 1 g sodyum sitrat (%1) ve 0,02 g DTNB (0,5mM) tartıldıktan sonra saf su ile 100 mL ye tamamlandı.
4. BChE enzim aktivitesi için 6 g sodyum fosfat (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 50 mM) tartıldıktan sonra 900 mL suda çözüldü. Çözeltili pH'ı 8' e ayarlandıktan sonra toplamda 1 L'ye tamamlamak üzere saf su eklendi.

5. Bütirilkolinyodat çözeltisi için 0,29 g asetilkolinyodat (AChI) tartıldıktan sonra saf su ile 100 mL' ye tamamlandı.
6. Ksantin oksidaz enzim aktivite tamponu için ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 50 mM, pH 7.4): 3 g sodyum fosfat tartıldıktan sonra 450 mL suda çözdürülerek pH 7,6'ya ayarlandıktan sonra toplam hacmi 500 mL'ye saf su ile tamamlandı.
7. Substrat çözeltisi için 1,52 mg ksantin (1mM), 5 mL'de suda çözdürüldükten sonra 1 N NaOH ile 10 mL'ye tamamlamak üzere saf su eklendi.

## 3.2. Yöntemler

### 3.2.1. LC-MS/MS Analiz (Sıvı Kromatografisi Tandem Kütle /Kütle Spektrometresi)

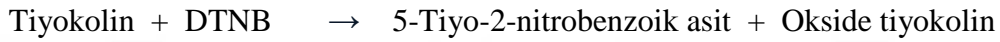
Fenolik bileşiklerin tespiti, Zorbax SB-C18 (4,6x100mm; 3,5 Mikron) kolonu ile donatılmış Agilent 6460 Üçlü Dört Kutuplu LC-MS/MS (Sıvı Kromatografi-Tandem Kütle/Kütle Spektrometresi, Agilent Technologies) ile gerçekleştirildi. Analiz modu çoklu reaksiyon izleme modudur (MRM). Mobil faz 0,45  $\mu\text{m}$  Millipore membran filtre ile filtrelenerek kullanıma hazır hale getirildi. Sonrasında numuneler 5  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  konsantrasyon seviyesinde tutuldu ve ekstrakt bileşenlerinin tanımlanması standartlarla karşılaştırılarak yapıldı. Çalışma süresi 20 dakika olarak alındı ve örnek ekstraktların enjeksiyon hacmi 5  $\mu\text{l}$  olarak belirlendi. Mobil faz A ve mobil faz B, sırasıyla sudaki (çözücü A) %0,1 (h/h) formik asit ve asetonitrildeki (çözücü B) %0,1 formik asitten oluşur. LC-MS/MS analizleri DAYTAM laboratuvarlarında (Doğu Anadolu İleri Teknolojiler Araştırma ve Uygulama Merkezi) yapıldı.

### 3.2.2. Asetilkolinesteraz ve Bütirilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine bazı kimyasal maddelerin $\text{IC}_{50}$ değerlerinin bulunması

AChE'nin asetiltiyokolinyodat (AChEI) substratına ve BChE'nin bütirilkolinyodat (BChI) substratına bağlı kalarak,  $\text{IC}_{50}$  değerlerinin tespit edilmesi amacıyla optimum sıcaklık ve pH'da doymun olmayan asetiltiyokolinyodat ve bütirilkolinyodat konsantrasyonlarında enzim aktivitesine etki eden maddelerin bu etkilerini belirlemek üzere 5 farklı konsantrasyonda özütlerin aktivite değerleri belirlendi. Bu özütlerden % aktivite-[I] grafikleri oluşturuldu ve eğri denkleminde  $\text{IC}_{50}$  değerleri hesaplandı.

### 3.2.3. Asetilkolinesteraz (AChE) enzimi aktivite ölçüm metodu

Kolinesterazlar, asetilkolinin tiyokolin ve asetata ayrılması tepkimesini katalizlemektedirler. AChE enzimi ticari olarak temin edildi. AChE asetiltiyokolinin tiyokoline hidrolizini sağlar. Tiyokolinin oluşum oranı, 5-tiyo-2-nitrobenzoik asitin oluşumundan dolayı sarı rengi ortaya çıkaran ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) (DTNB) ile tiyokolinin tepkimelerinin takibi ile ölçüm yapıldı. Sarı anyonun oluşum oranı 412 nm’ de 5 dk süresince ölçüldü (Ellman, 1961).



AChE’nin DTNB ve asetilkolinyodat olmak üzere iki substratı vardır. Günlük olarak hazırlanan DTNB çözeltisi 0.02 g DTNB ve 1 g sodyum sitrat tartılıp, 100 mL saf suda çözündürüldü. Asetilkolinyodatı hazırlamak için 0,29 g asetilkolin 100 mL saf suda çözündürüldü. Enzimin aktivitesini belirlerken Tris/HCl tamponu kullanılır. Tampon için 60,54 g Tris ve 0,74 g EDTA toplamda 460 mL saf suda çözündürüldü. pH 8 olacak şekilde ayarlandıktan sonra son hacmi 500 mL’ye tamamlandı. 412 nm’de 96 kuyucuklu plakalar kullanılarak yapılan ölçümlerde kullanılan maddelerin miktarları aşağıda verilen çizelgedeki gibi yapıldı.

**Çizelge 3. 1** Ksantin oksidaz enzimi aktivite ölçümü için kullanılan miktarlar

<b>Kullanılan Maddeler</b>	<b>Numune Tüpü (µL)</b>	<b>Kontrol tüpü (µL)</b>
Tris/HCl	20	20
Saf su	155	160
DTNB	10	10
Enzim çözeltisi	5	-
Asetilkolinyodür	10	10
<b>Toplam Hacim</b>	<b>200</b>	<b>200</b>

Çizelge 3.1' deki gibi karışım hazırlandıktan sonra 25°C' de 412 nm'de 1. dakikada spektrofotometrede absorbanans değerleri okundu ve sonrasında 5. dk daki değerlerde belirlendikten sonra aralarındaki fark alındı. Deney her bir özüt için tekrar yapıldı. IC<sub>50</sub> değeri hesaplandı.

$$A = \frac{\Delta OD}{13,6} \times \frac{VC}{VE} \times f$$

A = mL başına enzim ünitesi

$\Delta OD$  = 412 nm'de optik dansitenin dk. başına değişimi

VC = Küvet hacmi

VE = Küvetteki saf enzim çözeltisi hacmi

f = Seyreltme faktörü

13.6 = OD, 412 nm'de ve 37°C'de 3 mM asetiltiyokolinoyodürün indirgenmesi okunan sabit değerdir.

#### 3.2.4. Bütirilkolinesteraz (BChE) enzimi aktivite ölçüm metodu

Hazır olarak temin edilen bütirilkolinesteraz, kolinin tiyokolün ve asetata parçalanmasını katalizler. Oluşan ürün 412 nm'de absorpsiyon göstermektedir. (Ellman 1961) Bütirilkolinesterazın DNTB ve bütirilkolinoyodat olmak üzere iki substratı vardır. Günlük olarak hazırlanan DTNB çözeltisini hazırlamak için 0,0068 g DTNB, 50 mL saf su içerisinde çözdürüldü. Bütirilkolinoyodatı hazırlamak için ise 0,29 g bütirilkolin, 100 mL saf suda çözdürüldü. BChE enziminin aktivite tayin yönteminde kullanılan sodyum fosfat tamponu için 6 g sodyum fosfat (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) (50 mM), yaklaşık 900 mL saf suda çözdürüldü. pH 8 olunca, son hacim saf su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

412 nm'de ve 96 kuyucuklu olan plakalarla yapılan ölçümlerde, karışımın katılım sırası ile birlikte miktarları aşağıdaki çizelgede belirtilmiştir.

**Çizelge 3. 2** Bütirikolinesteraz enzimi aktivite ölçümü için kullanılan miktarlar

<b>Kullanılan Maddeler</b>	<b>Numune Tüpü (µL)</b>	<b>Kontrol tüpü (µL)</b>
Saf su	155	160
Sodyum fosfat (NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	20	20
DTNB	10	10
Enzim çözeltisi	5	-
Bütirikolinilyodür	10	10
<b>Toplam Hacim</b>	<b>200</b>	<b>200</b>

### 3.2.5. Ksantin oksidaz (XO) enzim aktivite ölçüm metodu

Ksantin oksidaz enzim inhibisyonu yöntemi, enzim reaksiyonları gerçekleştiikten sonra oluşan ürik asit absorbansının 295 nm’de taranması sonucu spektrofotometrik olarak ölçüm yapılmasına dayanmaktadır. (Khan ve diğerleri, 2006). Ksantin oksidazın aktivitesinin tayininde substrat olarak 1 mM ksantin kullanılmıştır. 50 mM fosfat tamponu (pH: 7,4), 30 µL ksantin oksidaz enzimi ve farklı miktarlardaki özütler eklenerek karıştırıldı. Karışım 37 °C 10 dakika inkübe edildikten sonra ksantin eklenerek reaksiyon başlatıldı. Bu enzimin inhibisyonu ürik asit miktarı ölçülerek yapıldı. Raksiyon karışımının 1 mL’lik kuvarz küvetler kullanılarak yapılan ölçümü Agilent Cary 60 UV-Vis Spektrometresi aracılığıyla gerçekleştirildi. XO (E.C.1.17.3.2) enzim inhibisyonu için referans olarak standart bileşik olan allopurinol kullanılmıştır. IC<sub>50</sub> değeri ürik asit miktarındaki azalma ölçülerek belirlendi. İnhibisyon değeri aşağıda verilen formül kullanılarak belirlendi.

$$\text{Ksantin oksidaz inhibisyonu \%} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{numune}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$$

**Çizelge 3. 3** Ksantin oksidaz enzimi aktivite ölçümü için kullanılan miktarlar

<b>Kullanılan Maddeler</b>	<b>Numune Tüpü (µL)</b>	<b>Kontrol tüpü (µL)</b>
Tampon	900	930
Substrat	70	70
Enzim	30	-
<b>Toplam Hacim</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>

**3.2.6. QTOF- LC/MS yöntemi ile fenolik içerik tayini**

*V. cracca L.*'da bulunan fenolik bileşikleri belirlemek için QTOF-LC/MS yöntemi kullanıldı. Analizler Atatürk Üniversitesi Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden hizmet alımı ile Agilent 6530 Accurate-Mass Q-TOF-LC/MS sistemi kullanılarak Dual AJS ESI modunda gerçekleştirilmiştir. Kolon sıcaklığı 30 °C ye ve akış oranı 0,2 mL/dk ya ayarlanarak 35 dakika boyunca analizler yapıldı. Cihazın çalışma koşulları **Çizelge 3.4.** te verilmiştir.

**Çizelge 3. 4** QTOF-LC/MS cihazı çalışma koşulları

Kolon	MS Q-TOF
Kolon modeli	G6530B -ESI_EC-C18 (Poroshell 3,0 mm x150 mm x 2.7 µm)
İyon kaynağı	Dual AJS ESI
Kolon sıcaklığı	30.0 °C
Enjeksiyon Hacmi	5.00 µL
Akış hızı	0,2 mL/dk
Çalışma zamanı	35 dk
Mobil faz A	% 0.1 formik asit ile H <sub>2</sub> O
Mobil faz B	% 0.1 formik asit ile asetronitril (ACN)
Gradient	2 dk- % 5.0 B
	7 dk - % 20.0 B
	30 dk - % 90.0 B
	34 dk - % 90.0 B
	35 dk - % 5.0 B
İyon polaritesi	Negatif
Kılcal Voltaj	3500 V
Nozzle Voltaj	500 V
Kurutma gaz sıcaklığı	250 °C
Kurutma gaz akışı	12 L/dk
Nebuliser	40 psig
Gaz sıcaklığı	350 °C
Gaz akışı	12 L/dk

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

### 4.1 Fenolik madde tayini

*V. cracca L.* türünden elde edilen ekstraktların LC-MS/MS ile fitokimyasal profilleri üzerine bu konuda daha önce yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bitkinin fitokimyasal analizi için yüksek seçiciliği ve duyarlılığı nedeniyle LC-MS/MS sistemi seçilmiştir. LC-MS kromatografi ve spektroskopisi sistemlerinin birleştirilmesiyle oluşturulmuştur. LC-MS/MS analizleri Atatürk Üniversitesi Doğu Anadolu İleri Teknolojiler Araştırma ve Uygulama Merkezi (DAYTAM) laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

Bitkide mevcut olan fenolik içeriği ve konsantrasyonları aşağıda verildiği gibi tablo haline getirildi. Yapılan deneyler sonrasında analizler yapılarak analiz sonuçları grafiğe dönüştürüldü. *V. cracca L.* bitkisinin etanol ekstresinde bulunan fenolik madde bileşenlerinin miktarı ng/mL özüt olarak hesaplandı.

Bitki ekstraktlarının LC-MS sonuçları incelendiğinde toplamda en fazla fenoliğin etanol ekstraktlarında olduğu anlaşılmıştır. Etanol-yaprak ekstraktının 8410,159 ng/mL, etanol-dal ekstraktında 11193,5 ng/mL, etanol-tohum ekstraktında 3781,93 ng/mL fenolik bulunurken; aseton-yaprak ekstraktında 8684,44 ng/mL, aseton-dal ekstraktında 9288,57 ng/mL, aseton-tohum ekstraktında 2116,39 ng/mL fenolik; yaprak-su ekstraktında 2412,85 ng/mL, dal-su ekstraktında 2685,54 ng/mL, tohum-su ekstraktında ise 254,702 ng/mL fenolik tespit edilmiştir. Dolayısıyla enzim inhibisyonunda etanol ekstraktları kullanılmıştır. Etanol, aseton ve su ekstraktlarının içerikleri incelendiğinde en fazla fenoliğin sırasıyla siyanidin-3-o-glukozit, kerasiyanin klorid ve naringin olduğu belirlendi. Bu fenoliklerin en yüksek konsantrasyonları sırasıyla etanol-dal ekstraktında 10453,1 ng/mL, etanol-yaprak ekstraktında 622,1407 ng/mL, aseton-yaprak ekstraktında 237,695 ng/mL olduğu belirlendi. Bitkide mevcut olan fenolikler ile yapılmış çalışmalar ve etkileri aşağıda verilen grafiklerle açıklanmıştır.

*V. sativa* 'nın antioksidan, antiinflamatuvar ve antinosiseptif ve mevcut flavonoidlerini tanımlamayı hedefleyen bir çalışmanın sonucunda toprak üstü kısmının etanol ekstraktında dokuz flavonoid izole edilmiştir. Tanımlanan bu fenoliklerin sırasıyla Apigenin 4'-O-β-D-glukopiranozid [1], apigenin 6,8-di-C-β-D- glukopiranozid [2], apigenin 6-C-α-L-arabinopiranozid-8-C-β-D- glukopiranozid [3], kaempferol-3-O-β-L-dirhamnopyranozid (1→2, 1→6)-β-D- glukopiranozid [4], kaempferol 3-O-(4-β-

D-xylopiranozid)- $\alpha$ -L-rhamnopyranozid -7-O-L-rhamnopyranozid [5], kaempferol-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranozid (1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D- glukopyranozid [6], Luteolin-7-O- $\beta$ -D- glukopyranozid [7] , kersetin 3-O- $\beta$ -D- glukopyranozid [8] and kersetin 3,7 di-O- glukopyranozid [9] olduğu bildirilmiştir. Araştırmanın devamında ise bu flavonoidlerin güçlü birer antioksidan aktiviteye sahip olduğunu bildirilmiştir. Enflamasyona bağlı patolojik bozuklukları tedavi etmek için bitkileri kullanılan halk ilaçlarının, muhtemelen bunların inflamatuvar yanıtları engellemede yetenekli olan antioksidan aktiviteleri ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmanın amacının *V. sativa* bitkisinin ekstratlarının ve flavonoid bileşenlerinin, oksidatif stresle ilişkili hastalıkların ve inflamasyona dayalı bozuklukların tedavisinde yardımcı olabilecek antioksidan, antiinflamatuvar ve antinosiseptif ajanların özelliklerini değerlendirmek olduğu bildirilmiştir.(Gamal-Eldeen ve ark., 2004)

*Vicia peregrina*'nın toprak üstü kısımları ve tohumlarının fenolik bileşenlerini tespit etmek için yapılan çalışmada en yüksek toplam fenolik ve flavonoid içeriğinin sırasıyla tohumun metanol ekstratlarında (45,42 mg GAE/g) ve toprak üstü kısımlarında (40,33 mg RE/g) olduğu kaydedildi. Toprak üstü kısımların daha yüksek klorojenik asit (9893,86  $\mu\text{g g}^{-1}$ ), izokersitrin (9400,33  $\mu\text{g g}^{-1}$ ), delphindin 3,5 diglukozit (9113,28  $\mu\text{g g}^{-1}$ ), hiperozit (6337,09  $\mu\text{g g}^{-1}$ ), rutin (3489,83  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) ve kaempferol-3-glukozit (2872,84  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) içerdiği bulunmuştur (Yagi ve ark., 2024).

*V. faba* bitkisinin antioksidan kapasitesi araştırılan bir çalışmada aseton ve metanol çözücü olarak kullanılmıştır. Araştırmaya göre, maksimum fenol içeriğinin  $33.87 \pm 0.70$  gallik asit eşdeğeri/gm dw olduğu maksimum flavanoid içeriğinin ise  $27.93 \pm 0.45$  kersetin eşdeğeri/gm dw olduğu bildirilmiştir. İçeriğindeki 10  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyondaki askorbik asidin 45,63' lük inhibisyon ve 50  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonda %97,36 inhibisyon sergilediği bildirilmiştir. Aseton ve metanol ekstratları da 50  $\mu\text{g/m}^3$  lik konsantrasyonlarda sırasıyla %86,47 ve %74,69 inhibisyon sergilemişlerdir (Choudhary ve Mishra, 2019).

**Çizelge 4.1** *V. cracca L.* özütlerinde tespit edilen fenolik bileşikler

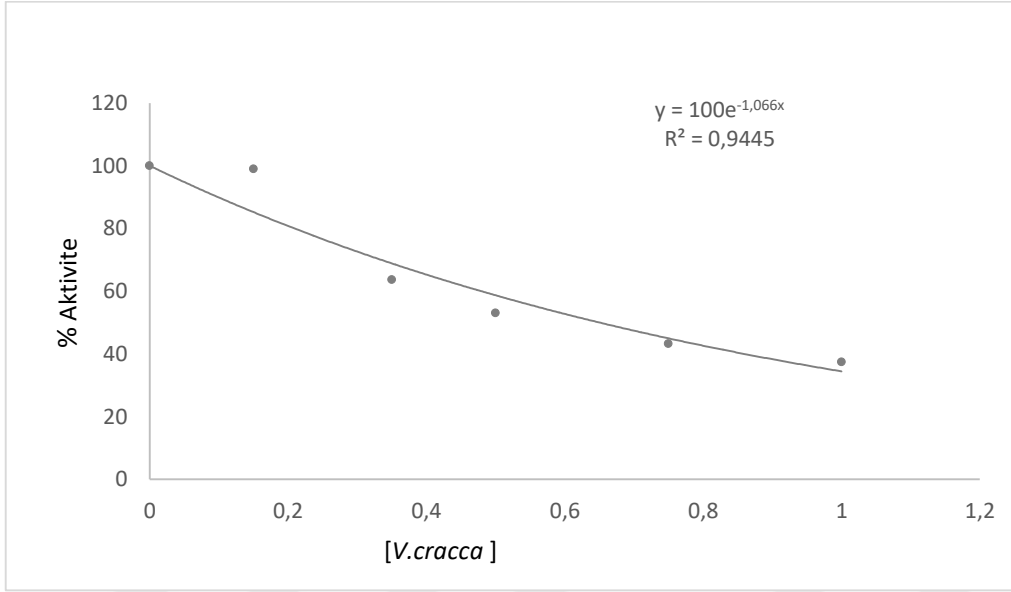
	BİTKİ EKSTRATLARININ FARKLI ÇÖZÜCÜLERDEKİ FENOLİK İÇERİKLERİ								
	ETANOL			ASETON			SU		
	YAPRAK	DAL	TOHUM	YAPRAK	DAL	TOHUM	YAPRAK	DAL	TOHUM
Kinik Asit	3,049446	-	-	-	-	-	-	-	-
Fumarik Asit	53,43126	116,647	112,952	-	3,82983	59,6631	35,531	-	4,396042
Gallik Asit	-	-	-	-	-	-	-	-	50,90041
Pirogalol	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Klorojenik Asit	64,70713	-	-	-	-	-	-	-	-
Kateşin	-	-	-	-	-	26,6643	-	-	-
Epikateşin	-	-	-	-	-	17,4363	-	-	-
Peonidin-3-o-glukozit	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-OH-Benzoik Asit	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kerasiyanin Klorid	622,1407	293,321	117,468	1268,71	407,687	129,831	172,873	117,336	20,89267
Epigallokateşin Gallat	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kafeik Asit	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vanilik Asit	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Viteksin	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Siringik Asit	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Siyanidin-3-o-glukozit	7317,909	10453,1	3493,1	7079,4	8533,68	1855,77	1991,11	2440,62	121,5999
Naringin	212,4878	68,9053	24,57	237,695	93,7078	27,0221	158,443	117,25	-
Hesperidin	45,84876	-	-	55,0726	5,37805	-	-	0,93864	-
Ellagik Asit	-	-	-	-	-	-	-	-	-
p-Kumarik Asit	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sinapik Asit	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rosmarinik Asit	57,29284	38,5236	33,8381	31,8393	28,3695	-	23,1773	-	56,91287
Taksifolin	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ferulik Asit	-	-	-	-	-	-	31,7133	9,39383	-
Vanilin	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mirisetin	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Resveratrol	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Luteolin	33,29201	223,019	-	11,7252	215,914	-	-	-	-
TOPLAM	8410,159	11193,5	3781,93	8684,44	9288,57	2116,39	2412,85	2685,54	254,7018

( - ) Tespit edilmedi.

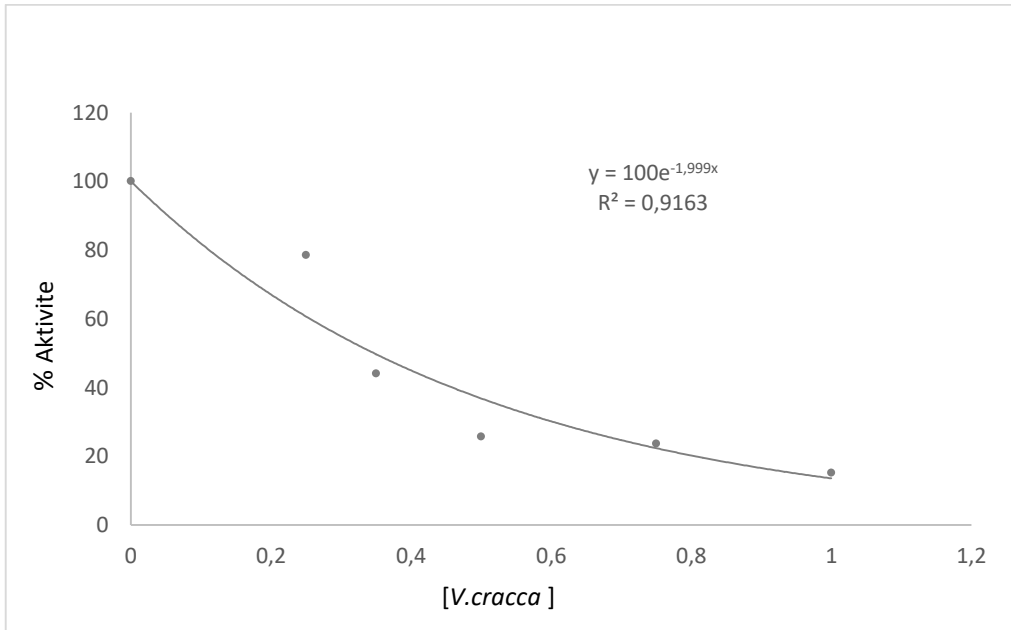
Not: Konsantrasyon ng/mL şeklindedir.

#### 4.1.1. Asetilkolinesteraz (AChE) ve Bütirikolinesteraz (BChE) Enzim Aktiviteleri Üzerine *V. cracca* L. Etanolik Özütlerinin Etkilerinin Belirlenmesiyle İlgili Yapılan Çalışma Sonuçları

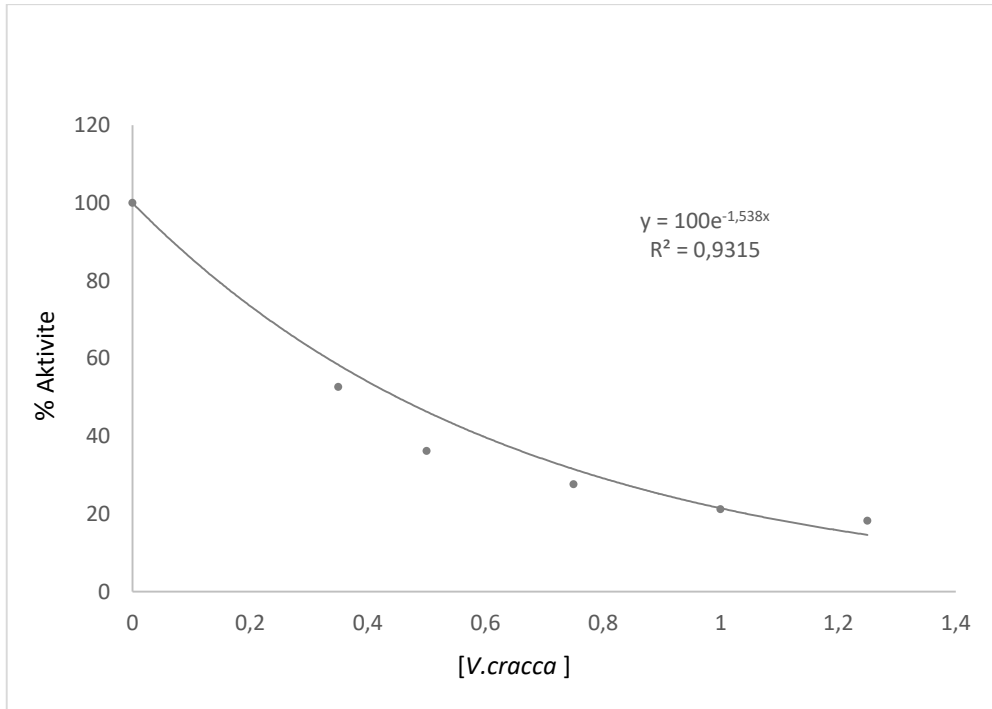
Doygun substrat konsantrasyonunda AChE ve BChE enziminin standart inhibitörü olan Galantamin ile bitki özütlerinin inhibisyon etkisine bakıldı ve her bir özüt için aktivite (%)-[konsantrasyon] grafikleri çizildi ve çizilen grafiklerden IC<sub>50</sub> değerleri hesaplandı.



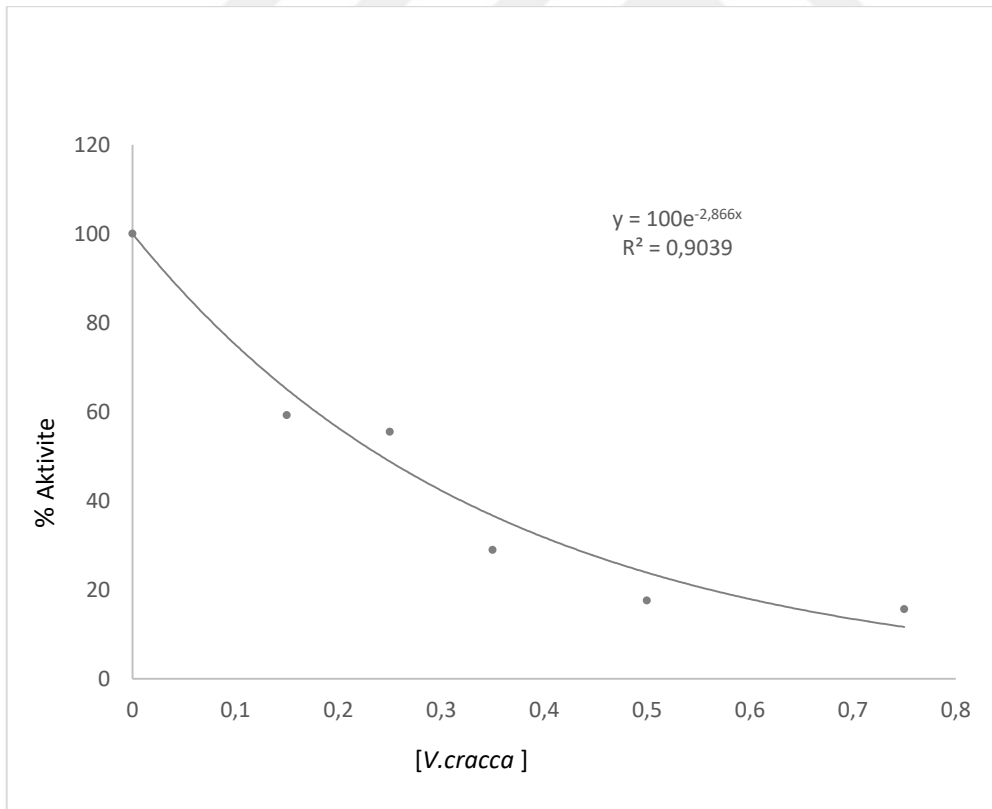
Şekil 4. 1 *V. cracca*'nın yaprak etanol özütünün AChE enzimine karşı IC<sub>50</sub> grafiği.



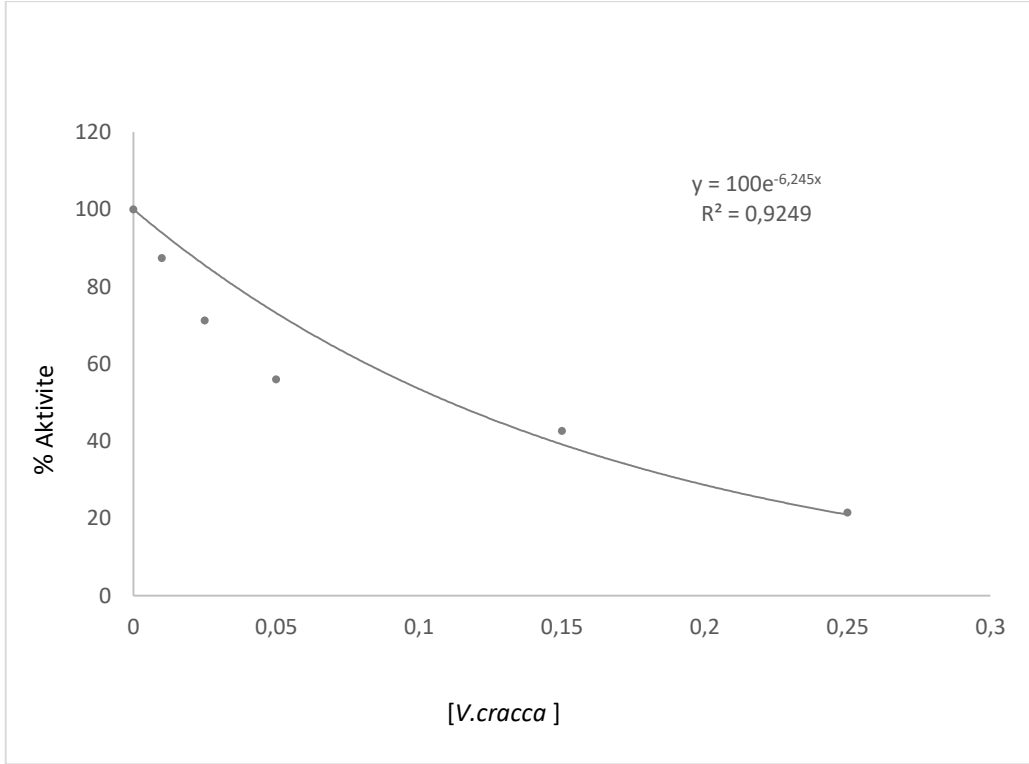
Şekil 4. 2 *V. cracca*'nın dal etanol özütünün AChE enzimine karşı IC<sub>50</sub> grafiği.



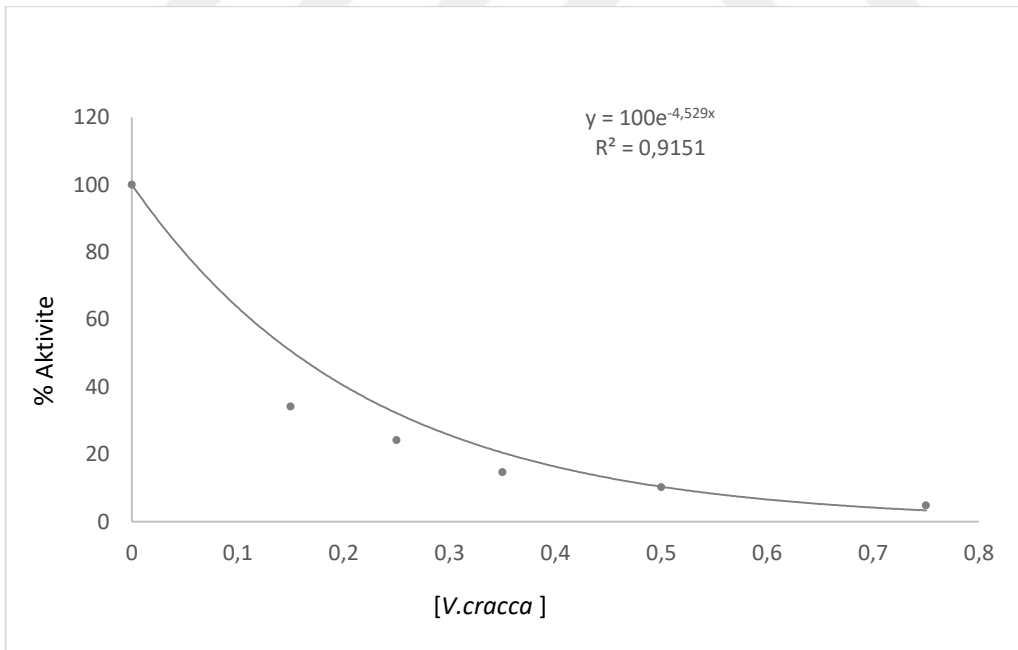
Şekil 4. 3 *V. cracca*'nın tohum etanol özütünün AChE enzimine karşı IC<sub>50</sub> grafiği.



Şekil 4. 4 *V. cracca*'nın yaprak etanol özütünün BChE enzimine karşı IC<sub>50</sub> grafiği.



**Şekil 4. 5** *V. cracca*'nın dal etanol özütünün BChE enzimine karşı IC<sub>50</sub> grafiği.



**Şekil 4. 6** *V. cracca*'nın tohum etanol özütünün BChE enzimine karşı IC<sub>50</sub> grafiği.

Tez çalışması kapsamında kullanılan *V. cracca* yaprak, dal ve tohum etanol özütlerinin AChE, BChE enzimlerine karşı inhibisyon yetenekleri test edilmiş ve sonuçlar **Çizelge 4. 2'**de verilmiştir.

**Çizelge 4. 2** *V. cracca*'nın (etanol ekstraktı) ve standart bileşiğin (Galantamin) asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirilkolinesteraz (BChE) enzimlere karşı yarı maksimum inhibisyon konsantrasyonu (IC<sub>50</sub>).

<i>V. Cracca</i> Ekstraktlar	AChE		BChE	
	IC <sub>50</sub> value	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> value	R <sup>2</sup>
<b>Vc Yaprak</b>	0.650	0.944	0.241	0.903
<b>Vc Dal</b>	0.346	0.916	0.110	0.924
<b>Vc Tohum</b>	0.450	0.931	0.153	0.915
<b>Galantamin</b>	0.198±0.008	0.978	1.734±0.012	0.967

\*Ekstraktların 1 mg/mL konsantrasyondaki inhibitör aktiviteleri asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz enzimlerine karşı test edildi.

\*AChE ve BChE için pozitif kontrol olarak Galantamin kullanıldı ve µM seviyeleri olarak belirlendi.

Tez çalışmasında kullanılan *V. cracca* bitkisinin yaprak, dal ve tohum kısımlarının etanol özütlerinin AChE enzimine karşı AH tedavisinde kullanılan kolinesteraz inhibisyonuna ilişkin testleri yapıldı. Elde edilen sonuçlara göre, özütlerin AChE enzimine karşı inhibisyon kapasiteleri incelendiğinde, bitkinin dal ekstraktının 0.346 mg/mL (R<sup>2</sup>: 0.916) en güçlü aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. Bunu takiben 0.450 mg/mL (R<sup>2</sup>: 0.931) ve 0.650 mg/mL (R<sup>2</sup>: 0.944) değerleri ile tohum ve yaprak özütleri olduğu belirlendi. Her üç özütün de inhibisyon yeteneğine sahip olduğu görülmektedir ancak standart olarak kullanılan galantaminden daha düşük inhibisyon aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. *V. cracca*'nın etanol özütlerinin BChE enzimine karşı inhibisyon sonuçları incelendiğinde, en yüksek inhibisyon yeteneğine sahip olan özütün yine 0.110 mg/mL (R<sup>2</sup>: 0.924) IC<sub>50</sub> değeri ile bitkinin dal kısmının olduğu tespit edilmiştir. Diğer özütler; 0.153 mg/mL (R<sup>2</sup>: 0.915) tohum > 0.241 mg/mL (R<sup>2</sup>: 0.903) yaprak olarak gözlenmiştir.

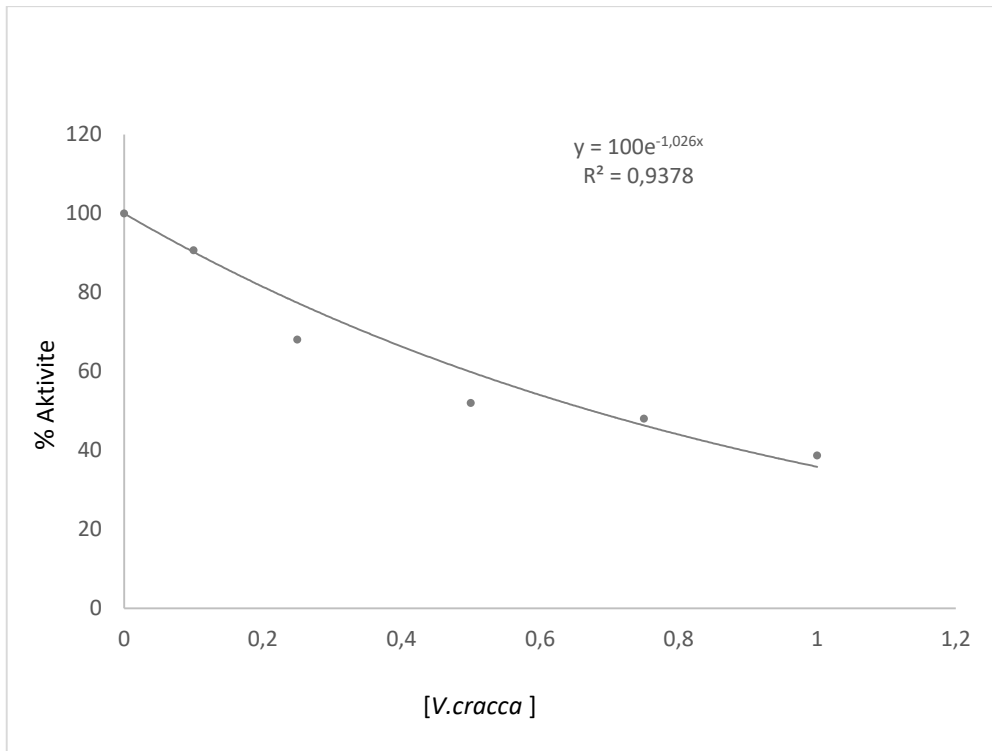
*V. faba* üzerinde yapılan bir çalışmada bitkinin metanol ekstraktının biyoaktivitesinin analizi ve asetilkolinesteraz enzimi üzerindeki inhibe etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bitkide kateşin, kuersitin gibi bileşiklerde izole edilmiştir. Çalışmanın sonucunda metanol ekstraktı için en yüksek aktivite asetilkolinesteraz (IC<sub>50</sub> = 120.11 mg/L) için sergilediği tespit edilmiştir. Dolayısıyla bitkinin antikolinesteraz özellik sergileyebileceğini ve etkili bir antioksidan potansiyel sergileyeceği düşünülmektedir. (Raof ve ark., 2023)

Zengin ve ark. yaptığı bir çalışmada Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanmış olan *Vicia* (Fabaceae) farklı ekstratlarının antioksidan, nöroprotektif, antidiyabetik etkileri araştırılmıştır. Araştırmanın sonucu incelendiğinde *Vicia* türünün sağlığa olumlu etkilerde bulunma potansiyeli taşıyan birçok biyoaktif bileşiğe sahip olduğu kanıtlanmıştır. Enzimin kolinesterazlara karşı inhibitör özelliği araştırılmıştır. En yüksek toplam flavonoid içeriğinin tohumun metanol ekstraktında olduğu tespit edilmiştir. Bitkinin toprak üstü kısımlarının anti-AChE aktivitesi 0,09–2,30 mg GALAE/g aralığındaydı ve aktif olmayan aralıktaki tohum ekstraktları için 2,31 mg GALAE/g aktivite sergilemiştir. Anti-BChE aktivitesinin sonuçlarına bakıldığında ise toprak üstü kısımlar için aktif olmayan 3,25 mg GALAE/g değerinde heksan ekstraktı ve tohum için aktif olmayan 3,83 mg GALAE/g değerinde etil asetat ekstraktı olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlara karşılık toprak üstü kısımlarda etil asetat özütünün aktivitesi 1,99 mg GALAE/g ve tohum metanol özütünün ise 0,82 mg GALAE/g değeri ile daha yüksek aktivite gösterdikleri sunulmuştur. Bitkinin sahip olduğu fenolik içerikten dolayı, bunun sağlığa yönelik uygulamalarda kullanılması önerilmiştir (Yagi ve ark., 2024). Sonuç olarak bu tez çalışmasında yapılmış olan bu çalışmanın sonuçlarıyla benzer sonuçlar elde edilmiştir.

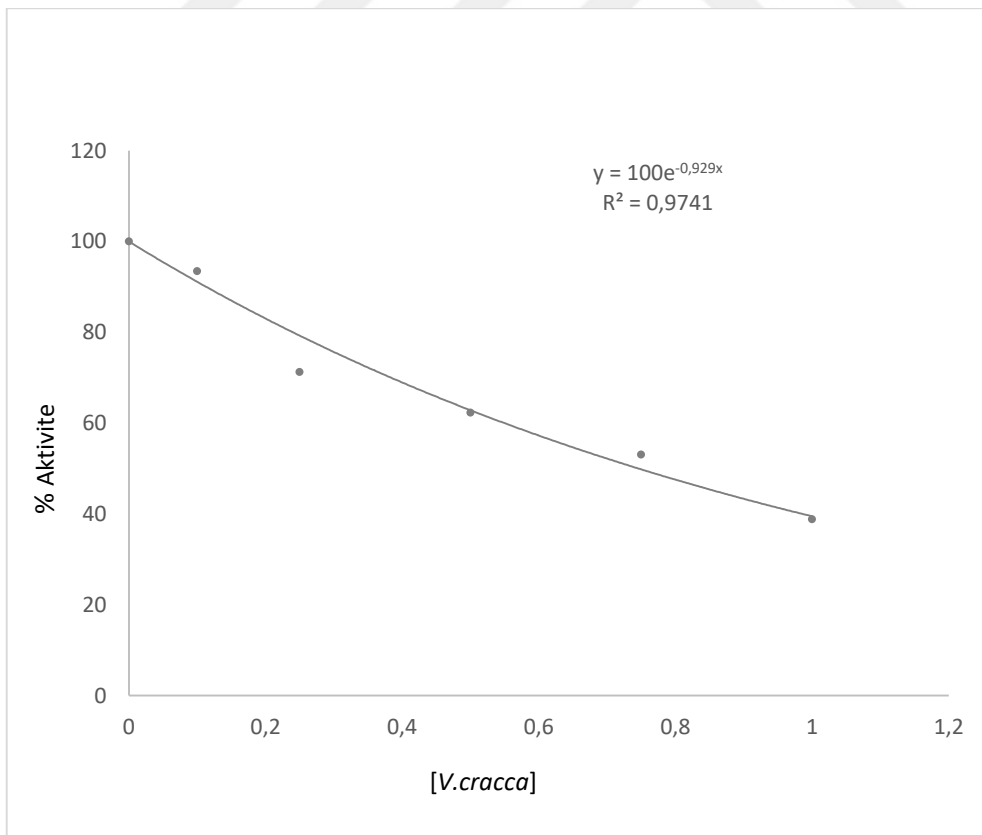
Şifalı olduğu düşünülen bazı bitkilerin asetilkolinesteraz ve bütirikolinesteraz enzimleri üzerindeki inhibitör etkisini inceleyen bir çalışmada Fabaceae familyasına ait *V. faba* ' da analizi yapılan bitkilerden biridir. *V. faba* ' nın metanol ekstratının 1 mg/mL konsantrasyonda AChE ve BChE enzimlerine karşı inhibitör özellik gösterdiği tespit edilmiştir. *V. faba* 1 mg/mL konsantrasyonda AChE için inhibitör aktivitesi  $45.23 \pm 1.03$  değere sahip iken, BChE enzimi için inhibitör aktivitesi  $55.85 \pm 0.48$  olarak tespit edilmiştir (Orhan ve ark., 2004).

#### **4.1.2.Ksantin Oksidaz (XO) Enzim Aktivitesi Üzerine *V. cracca* L. Etanolik Özütlerinin Etkilerinin Belirlenmesiyle İlgili Yapılan Çalışma Sonuçları**

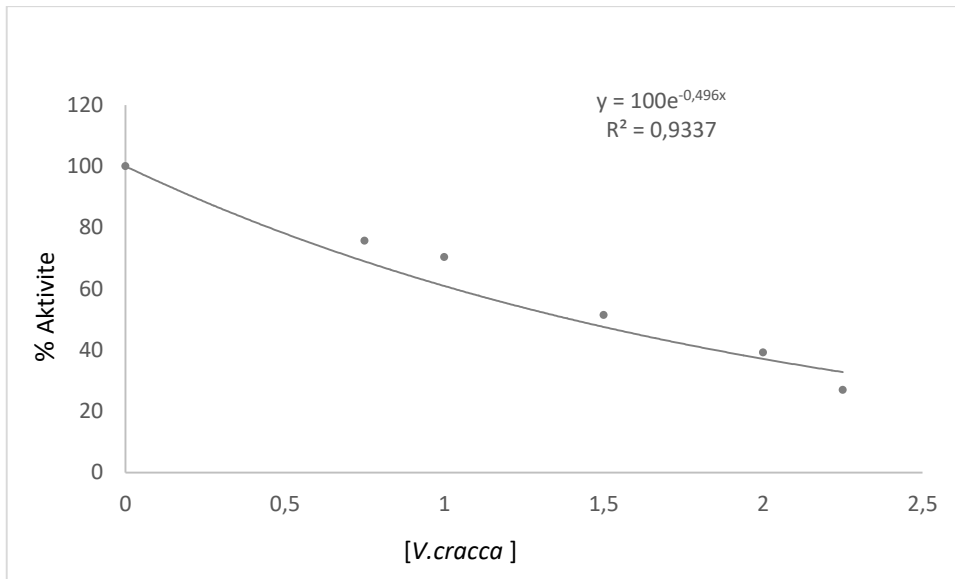
Doygun substrat konsantrasyonunda XO enziminin standart inhibitörü olan Allopurinol ile bitki özütlerinin inhibisyon etkisine bakıldı ve her bir özüt için aktivite (%)-[konsantrasyon] grafikleri çizildi ve çizilen grafiklerden  $IC_{50}$  değerleri hesaplandı.



**Şekil 4. 7** *V. cracca*'nın yaprak etanol özütünün XO enzimine karşı IC<sub>50</sub> grafiği.



**Şekil 4. 8** *V. cracca*'nın dal etanol özütünün XO enzimine karşı IC<sub>50</sub> grafiği.



**Şekil 4. 9** *V. cracca*'nın tohum etanol özütünün XO enzimine karşı IC<sub>50</sub> grafiği.

Tez çalışması kapsamında kullanılan *V. cracca* yaprak, dal ve tohum etanol özütlerinin XO enzimine karşı inhibisyon yetenekleri test edilmiş ve sonuçlar **Çizelge 4.3.**' de verilmiştir.

**Çizelge 4. 3** *V. cracca*'nın (etanol ekstraktı) ve standart bileşiğin (Allopurinol) ksantin oksidaz (XO) enzimine karşı yarı maksimum inhibisyon konsantrasyonu (IC<sub>50</sub>).

<i>V.Cracca</i>	XO	
	IC <sub>50</sub> value	R <sup>2</sup>
<b>Ekstraktlar</b>		
<b>Vc Yaprak</b>	0.675	0.937
<b>Vc Dal</b>	0.745	0.974
<b>Vc Tohum</b>	1.397	0.933
<b>Allopurinol</b>	1.102 ± 0.015	0.978

\*Ekstraktların 1 mg/mL konsantrasyondaki inhibitör aktiviteleri ksantin oksidaz enzimine karşı test edildi.

\*XO için pozitif kontrol olarak Allopurinol kullanıldı ve µM seviyeleri olarak belirlendi.

*V. cracca* L. ekstraktlarının XO enzimini inhibe etme kapasiteleri incelendiğinde en yüksek aktivitenin sırasıyla; 0.675 mg/mL (R<sup>2</sup>: 0.937) yaprak özütü > 0.745 mg/mL (R<sup>2</sup>: 0.974) dal özütü > 1.397 mg/mL (R<sup>2</sup>: 0.933) tohum özütü olduğu belirlenmiştir. Standart bileşik allopurinol 1.102 mg/mL (R<sup>2</sup>: 0.978) ile özütler kıyaslandığında ise yaprak ve dal özütlerinin daha yüksek inhibisyon aktivitesi gösterdiği ancak tohum etanol özütünün allopurinole göre daha düşük aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

*V. faba* bitkisinin tohum ekstraktının ksantin oksidaz enzimi üzerindeki etkisi araştırılan bir çalışmada ksantin oksidaz inhibisyon modunun karışık tipte olduğu (rekabetsiz ve rekabetçi olmayan inhibisyon tipi arasında) belirlendi. Tohum ekstraktı tarafından ksantin oksidazın *in vitro* inhibisyonunun allopurinolden daha az olduğu bulundu (Choudhary ve Mishra, 2019).

Bitkilerin gut hastalığı üzerindeki etkisini inceleyen bir çalışmada luteolin bileşiğinin 14 flavonoid arasında en güçlü XO aktivitesi gösterdiği bildirilmiştir. (Ling ve Bochu, 2014)

Çalışmamızda bitkinin etanol-dal ekstratında 223,019 ng/mL, aseton-dal ekstraktında 215,914 ng/mL, etanol-yaprak ekstraktında 33,29201 ng/mL konsantrasyonlarda luteolin tespit edilmiştir. *V. cracca L.*'nin etanol ekstratında tespit edilen luteolinin diğer ekstratlara göre XO' 1 daha iyi inhibe edeceği düşünülmektedir. Sonuçlar incelendiğinde luteolin konsantrasyonunun daha fazla olduğu yaprakta IC<sub>50</sub> değerinin 0.675 mg/mL (R<sup>2</sup>: 0.937) ve dalda ise IC<sub>50</sub> değerinin 0.745 mg/mL (R<sup>2</sup>: 0.974) olduğu görülmektedir. Bu değerler IC<sub>50</sub> değeri 1.102 ± 0.015 µM olan ksantin oksidaz inhibitörü olan allopurinolden daha düşüktür. Sonuç olarak luteolin bulunan ekstraktların daha düşük konsantrasyonlarda bile allopurinolden daha etkili olabileceğini göstermektedir.

Birçok çalışma polifenol ve flavonoidleri, sahip oldukları fonksiyonel gruplardan dolayı antioksidan, antimikrobiyal ve antitümör gibi özelliklere sahip olması nedeniyle sentetik bileşiklere alternatif olarak görüldüğünü bildirmiştir. (Işık, 2020) Yapılan çalışmalar flavonoidlerin, süperoksit radikal üretiminde önemli rol oynayan ksantin oksidaz üzerinde inhibe özellik gösterdiğini bildirmiştir. (Hanasaki ve ark., 1994) Ksantin oksidaz inhibitörleri ile ksantin oksidaz enziminin etkisiyle üretilen süperoksit radikalının temizleyicileri olarak flavonoidlerin yapı- aktivite ilişkisini araştıran bir çalışmada flavonollerin süperoksit azaltılmasında ksantin oksidaz inhibisyonundan daha düşük IC<sub>50</sub> değerine sahip olduğunu, sonuç olarakta süperoksit temizleme aktivitesine sahip olduğu bildirilmiştir. (Cos ve ark., 1998) Fenolik ve flavonoidlerin antioksidan aktivitesi bu bileşiklerin kimyasal yapısına ve sahip oldukları hidroksil gruplarına bağlı olduğu bildirilmiştir. Çünkü fenolik hidroksil gruplarının sayısı serbest radikal temizlemede önemli bir noktadır. Fenol ve flavonoidlerin enzimler üzerindeki etkisi ve sahip oldukları antioksidan aktivite bunların farmakolojik özelliğe sahip olduğunu gösterir. Sonuç olarak fenolik bileşikler oksidatif strese karşı koruma sağlayarak oksidatif stresin neden olduğu dejeneratif hastalıkların oluşma riskini azaltabilmektedir.(Işık, 2020) *V. cracca L.*

bitkisinin yapılan analizleri incelendiğinde toplam antioksidan aktiviteye katkı sağlayacak fenolikleri içerdiği anlaşılmıştır (Cos ve ark., 1998).

#### 4.1.3 QTOF Quadrupole Time Of Flight Sonuçları (Sıvı Kromatografi-Kuadrupol Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometre)

##### 4.3.1. QTOF-LC/MS yöntemi ile fenolik içerik tayini bulguları

QTOF-LC/MS biyolojik materyallerdeki bileşenlerin niteliksel ve niceliksel olarak belirlenmesi için kullanılan yeni teknolojilerden biridir. Numune ön saflaştırma ve ayırma işleminden sonra iyonlaştırarak, hem kuadrupol hem de uçuş zamanlı dedektörleri ile yüksek hassasiyetle hem µg/L hem de ng/L düzeyde analizini gerçekleştirebilmektedir. Bu çalışmada *V. cracca L.* özütlerinin fenolik içeriklerinin belirlenmesinde üstün doğruluk ve hassasiyet amaçlandı ve tüm özütlere ait sonuçlar çizelge 4.4, çizelge 4.5, çizelge 4.6, çizelge 4.7, çizelge 4.8, çizelge 4.9, çizelge 4.10, çizelge 4.11, çizelge 4.12' de verildi.

**Çizelge 4. 4** Yaprak-etanol ekstraktının QTOF-LC/MS sonucu

	Bileşiğin kapalı formülü ve kütlesi	Bileşiğin kolonda geliş zamanı (dk)	Madde içindeki yoğunluğu	Madde içindeki yüzdesi (%)
1	<b>C<sub>9</sub> H<sub>8</sub> O<sub>3</sub></b> (M+NH <sub>4</sub> ): 182.0812, m-Coumaric acid	3.967-4.200	119314.86	17.09
2	<b>C<sub>11</sub> H<sub>16</sub> O<sub>3</sub></b> (M+NH <sub>4</sub> ): 214.1436, 4-(2-hydroxypropoxy)-3,5-dimethyl-Phenol	15.908-16.088	2394.13	0.34
3	<b>C<sub>42</sub> H<sub>30</sub> O<sub>9</sub></b> (M+H): 679.1949, alpha-Viniferin	18.448-18.702	127956.83	18.33
4	<b>C<sub>18</sub> H<sub>20</sub> F N O<sub>3</sub></b> (M+H): 318.1510,	-----	24840.45	3.55
5	<b>C<sub>40</sub> H<sub>54</sub> N<sub>8</sub> O<sub>8</sub></b> (M+H): 775.4126, Angiotensin IV	21.291-21.518	58488.76	8.38
6	<b>C<sub>11</sub> H<sub>16</sub> O<sub>2</sub></b> (M+H): 181.1216, 3-tert-Butyl-5-methylcatechol	23.748-24.059	296876.13	42.53
7	<b>C<sub>18</sub> H<sub>24</sub> O</b> (M+H): 257.1909, Phenolic steroid	25.462-25.761	29875.06	4.28
8	<b>C<sub>28</sub> H<sub>39</sub> N O<sub>4</sub></b> (M+H): 454.2972, Sambutoxin	30.726-31.018	38142.59	5.46

**Çizelge 4. 5** Yaprak-aseton ekstraktının QTOF-LC/MS sonucu

	Bileşiğin kapalı formülü ve kütlesi	Bileşiğin kolonda geliş zamanı(min)	Madde içindeki yoğunluğu	Madde içindeki yüzdesi
1	<b>C<sub>17</sub> H<sub>16</sub> O<sub>7</sub></b> (M+HCOO): 377.0890, 3,3',5-Trihydroxy-4',7-dimethoxyflavanone	3.210-3.413	20021.17	29.09
2	<b>C<sub>19</sub> H<sub>28</sub> N<sub>4</sub> O<sub>6</sub></b> (M+HCOO): 453.2007, Tyr Ile Asn	14.572-14.708	15643.86	22.73
3	<b>C<sub>37</sub> H<sub>34</sub> N<sub>2</sub> O<sub>6</sub></b> (M+CH <sub>3</sub> COO): 662.2603, Glycobismine A	17.261-17.459	2345.42	3.40
4	<b>C<sub>15</sub> H<sub>10</sub> O<sub>5</sub></b> (M-H): 269.0465, 8-Hydroxydaidzein	20.674-20.851	5057.57	7.35
5	<b>C<sub>16</sub> H<sub>12</sub> O<sub>6</sub></b> (M-H): 299.0574, Kaempferide	21.021-21.211	6272.31	9.11
6	<b>C<sub>16</sub> H<sub>12</sub> O<sub>6</sub></b> (M-H): 299.0573, 5,8,2'-Trihydroxy-7-methoxyflavone	21.191-21.353	5227.65	7.59
7	<b>C<sub>28</sub> H<sub>42</sub> N<sub>4</sub> O<sub>6</sub></b> (M+HCOO): 576.3142, Kukoamine B	23.133-23.293	5197.38	7.55
8	<b>C<sub>37</sub> H<sub>48</sub> N<sub>2</sub> O<sub>8</sub></b> (M-H): 647.3337, Cytotrienin A	28.440-28.664	9041.37	13.18

\*Madde içindeki yüzdesi; sadece madde içerisindeki fenolik bileşikler göz önünde bulundurularak hesaplama yapılmıştır.

**Çizelge 4. 6** Yaprak-su ekstraktının QTOF-LC/MS sonucu

	Bileşiğin kapalı formülü ve kütlesi	Bileşiğin kolonda geliş zamanı(dk)	Madde içindeki yoğunluğu	Madde içindeki yüzdesi (%)
1	<b>C<sub>5</sub> H<sub>4</sub> N<sub>4</sub> O</b> (M-H): 135.0307, Hypoxanthine	3.248-3.431	28011.31	51.98
2	<b>C<sub>7</sub> H<sub>6</sub> N<sub>2</sub> O<sub>3</sub></b> (M-H): 165.0311, 4-Hydroxy-3-nitrosobenzamide	10.354-10.576	9757.68	18.10
3	<b>C<sub>25</sub> H<sub>30</sub> N<sub>2</sub> O<sub>6</sub></b> (M-H): 454.2056, beta-Funaltrexamine	14.578-14.695	5447.29	10,10
4	<b>C<sub>29</sub> H<sub>26</sub> O<sub>8</sub></b> (M-H): 501.1561, Demethoxyisogemichalcone C	15.265-15.397	10669.2	19.82

\*Madde içindeki yüzdesi; sadece madde içerisindeki fenolik bileşikler göz önünde bulundurularak hesaplama yapılmıştır.

**Çizelge 4. 7** Dal-etanol ekstraktının QTOF-LC/MS sonucu

	Bileşimin kapalı formülü ve kütlesi	Bileşimin kolonda geliş zamanı(min)	Madde içindeki yoğunluğu	Madde içindeki yüzdesi
1	<b>C<sub>23</sub>H<sub>26</sub>O<sub>12</sub></b> (M+HCOO): 539.1409, 4'-O-methyl(-)-epicatechin-3'-O-beta-glucuronide	3.173-3.279	7425.78	10.76
2	<b>C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>O<sub>9</sub></b> (M-H): 355.1047, 1-O-Feruloylglucose	12.886-13.041	7676.52	11.12
3	<b>C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>16</sub></b> (M-H): 609.1488, Robinetin 3-rutinoside	13.018-13.244	6189.01	8.97
4	<b>C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>15</sub></b> (M-H): 593.1541, Luteolin 7-rhamnosyl(1-6)galactoside	14.665-14.812	5935.79	8.60
5	<b>C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>8</sub></b> (M-H): 463.0909, Demeclocycline	14.893-15.0	7056.42	10.23
6	<b>C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub></b> (M-H): 285.0412, Scutellarein	18.999-19.219	24969.43	36.20
7	<b>C<sub>37</sub>H<sub>48</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub></b> (M-H): 647.3317, Cytotrienin A	28.460-28.643	9721.26	14.12

\*Madde içindeki yüzdesi; sadece madde içerisindeki fenolik bileşikler göz önünde bulundurularak hesaplama yapılmıştır.

**Çizelge 4. 8** Dal-aseton ekstraktının QTOF-LC/MS sonucu

	Bileşimin kapalı formülü ve kütlesi	Bileşimin kolonda geliş zamanı(dk)	Madde içindeki yoğunluğu	Madde içindeki yüzdesi
1	<b>C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>O<sub>12</sub></b> (M-H): 440.0897, (3,5-Dihydroxyphenyl 1-O-(6-O-galloyl-beta-Dglucopyranoside) türevi	-----	7732.74	4.39
2	<b>C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub></b> (M+CH <sub>3</sub> COO): 388.1191, 7-Hydroxy-6-methyl-8-ribityllumazine	3.226-3.482	3175.14	1.80
3	<b>C<sub>26</sub>H<sub>28</sub>O<sub>15</sub></b> (M-H): 579.1380, Isoorientin 2"-O-arabinside	14.453-14.610	9741.94	5.54
4	<b>C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>15</sub></b> (M-H): 593.1538, Luteolin 7-rhamnosyl(1-6)galactoside	14.686-14.817	6752.08	3.84
5	<b>C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>12</sub></b> (M-H): 463.0903, 5,6,7,3',4'-Pentahydroxy-8-methoxyflavone 7-apioside	14.913-15.0	7139.8	4.06
6	<b>C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>15</sub></b> (M-H): 593.1537, Luteolin 7-rhamnosyl(1->6)galactoside	15.485-15.638	11131.26	6.33
7	<b>C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>14</sub></b> (M-H): 577.1586, Isovitexin 7-O-rhamnoside	15.570-15.714	12001.93	6.82
8	<b>C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>15</sub></b> (M-H): 593.1533, Luteolin 7-rhamnosyl(1->6)galactoside	15.640-15.856	9616.12	5.47
9	<b>C<sub>28</sub>H<sub>32</sub>O<sub>15</sub></b> (M-H): 607.1692, 8-C-Glucosyldiosmetin 4"-Orhamnopyranoside	15.703-15.972	7859.18	4.47
10	<b>C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>O<sub>14</sub></b> (M-H): 533.0961, Orobol 7-O-(6"-malonylglucoside)	15.957-16.230	26009.93	14.79

11	<b>C<sub>21</sub> H<sub>20</sub> O<sub>10</sub></b> (M-H): 431.1001, Isovitexin	16.071-16.248	13753.38	7.82
12	<b>C<sub>22</sub> H<sub>22</sub> O<sub>11</sub></b> (M-H): 461.1105, Tricin 4'-apioside	16.243-16.421	8866.85	5.04
13	<b>C<sub>23</sub> H<sub>24</sub> O<sub>13</sub></b> (M-H): 507.1159, Tomentin 4'-glucoside	16.412-16.552	7873.3	4.47
14	<b>C<sub>23</sub> H<sub>22</sub> O<sub>12</sub></b> (M-H): 489.1058, Scutellarein 6,7-dimethyl ether 4'-glucuronide	17.165-17.332	9936.88	5.65
15	<b>C<sub>15</sub> H<sub>10</sub> O<sub>6</sub></b> (M-H): 285.0408, Isoscutellarein	19.014-19.348	24136.5	13.73
16	<b>C<sub>17</sub> H<sub>26</sub> O<sub>4</sub></b> (M-H): 293.1759, Gingerol	25.428-25.613	8621.74	4.90
17	<b>C<sub>37</sub> H<sub>48</sub> N<sub>2</sub> O<sub>8</sub></b> (M-H): 648.3345, Cytotrienin A	28.452-28.644	4620.23	2.62

\*Madde içindeki yüzdesi; sadece madde içerisindeki fenolik bileşikler göz önünde bulundurularak hesaplama yapılmıştır.

**Çizelge 4. 9** Dal-su ekstraktının QTOF-LC/MS sonucu

	Bileşiğin kapalı formülü ve kütlesi	Bileşiğin kolonda geliş zamanı(min)	Madde içindeki yoğunluğu	Madde içindeki yüzdesi
1	<b>C<sub>11</sub> H<sub>12</sub> O<sub>7</sub></b> (M-H): 255.0513, Piscidic Acid	9.988-10.231	11188.74	5.53
2	<b>C<sub>7</sub> H<sub>6</sub> N<sub>2</sub> O<sub>3</sub></b> (M-H): 165.0305, 4-Hydroxy-3-nitrosobenzamide	10.289-10.533	8488.22	4.19
3	<b>C<sub>13</sub> H<sub>8</sub> N<sub>4</sub> O<sub>3</sub></b> (M+CH <sub>3</sub> COO): 327.0730, AG-183	13.511-13.328	7701.15	3.80
4	<b>C<sub>27</sub> H<sub>30</sub> O<sub>16</sub></b> (M-H): 609.1483, Robinetin 3-rutinoside	13.964-14.132	6152.56	3.04
5	<b>C<sub>11</sub> H<sub>11</sub> N O<sub>5</sub></b> (M-H): 236.0571, Methyl 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-2-oxo-3-indoleacetic acid	14.07-----	72000.46	35.58
6	<b>C<sub>31</sub> H<sub>28</sub> O<sub>16</sub></b> (M+HCOO): 701.1383, Quercetaletin 4'-methyl ether 7-(6-(E)-caffeylglucoside)	14.981-----	11152.89	5.51
7	<b>C<sub>21</sub> H<sub>20</sub> O<sub>11</sub></b> (M-H): 447.0945	14.985-15.188	9857.38	4.87
8	<b>C<sub>29</sub> H<sub>34</sub> O<sub>16</sub></b> (M-H): 637.1793, Ombuin 3-neohesperidoside	15.019-15.156	8860.69	4.37
9	<b>C<sub>22</sub> H<sub>22</sub> N<sub>2</sub> O<sub>8</sub></b> (M+CH <sub>3</sub> COO): 501.1529, Methacycline	15.252-15.406	23552.32	11.64

10	<b>C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>15</sub></b> (M-H): 593.1529, Luteolin 7-rhamnosyl(1->6)galactoside	15.507-15.634	8356.35	4.13
11	<b>C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>14</sub></b> (M-H): 577.1581, Isovitexin 7-O-rhamnoside	15.570-15.718	12688.57	6.27
12	<b>C<sub>28</sub>H<sub>32</sub>O<sub>15</sub></b> (M-H): 607.1682, 8-C-Glucosyldiosmetin 4"-O-rhamnopyranoside	15.720-15.903	5748.84	2.84
13	<b>C<sub>25</sub>H<sub>24</sub>O<sub>14</sub></b> (M-H): 547.1105, Quercetin 3-(3",6"-diacetylgalactoside)	16.285-16.467	5862.18	2.89
14	<b>C<sub>23</sub>H<sub>24</sub>O<sub>13</sub></b> (M-H): 507.1153, Tomentin 4'-glucoside	16.410-16.566	5499.05	2.71
15	<b>C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>O<sub>8</sub></b> (M-H): 359.0772, Veronicafolin	19.171-19.314	5202.19	2.57

\*Madde içindeki yüzdesi; sadece madde içerisindeki fenolik bileşikler göz önünde bulundurularak hesaplama yapılmıştır.

**Çizelge 4. 10** Tohum-etanol ekstraktının QTOF-LC/MS sonucu

	Bileşiğin kapalı formülü ve kütlesi	Bileşiğin kolonda geliş zamanı(min)	Madde içindeki yoğunluğu	Madde içindeki yüzdesi
1	<b>C<sub>29</sub>H<sub>36</sub>O<sub>17</sub></b> (M+HCOO): 701.1936, Hellicoside	3.172-3.274	8013.36	10,10
2	<b>C<sub>23</sub>H<sub>26</sub>O<sub>12</sub></b> (M+HCOO): 539.1399, 4'-O-methyl(-)-epicatechin-3'-O-beta-glucuronide	3.191-3.353	5912.52	7.45
3	<b>C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>O<sub>7</sub></b> (M+HCOO): 317.0874, Arbutin	5.268-5.607	8409.46	10.60
4	<b>C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>N O<sub>6</sub></b> (M-H): 278.066, N-[4'-hydroxy-(E)-cinnamoyl]-L-aspartic acid	12.657-12-828	5567.94	7.02
5	<b>C<sub>20</sub>H<sub>27</sub>N O<sub>12</sub></b> (M-H): 472.1459, Dhurrin 6'-glucoside	13.375-13.543	18670.59	23.54
6	<b>C<sub>32</sub>H<sub>38</sub>O<sub>19</sub></b> (M-H): 725.1933, Kaempferol 3-lathyroside-7- rhamnoside	14.402-14.577	5974.98	7.53
7	<b>C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>11</sub></b> (M-H): 447.0932	14.974-15.255	12624.01	15.92
8	<b>C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>14</sub></b> (M-H): 577.1560, Isovitexin 7-O-rhamnoside	15.565-15.708	5545.06	6.99
9	<b>C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>8</sub>S</b> (M-H): 349.0029, Apigenin 7-sulfate	18.178-18.402	8571.74	10.81

\*Madde içindeki yüzdesi; sadece madde içerisindeki fenolik bileşikler göz önünde bulundurularak hesaplama yapılmıştır.

**Çizelge 4. 11** Tohum-aseton ekstraktının QTOF-LC/MS sonucu

	Bileşiğin kapalı formülü ve kütlesi	Bileşiğin kolonda geliş zamanı(min)	Madde içindeki yoğunluğu	Madde içindeki yüzdesi
1	<b>C<sub>12</sub> H<sub>16</sub> N<sub>4</sub> O<sub>7</sub></b> (M+CH <sub>3</sub> COO): 387.1155, 7-Hydroxy-6-methyl-8-ribityllumazine	3.221-3.446	29015.01	54.49
2	<b>C<sub>13</sub> H<sub>13</sub> N O<sub>6</sub></b> (M-H): 278.0659, N-[4'-hydroxy-(E)-cinnamoyl]-L-aspartic acid	13.026-13.213	5848.85	10.98
3	<b>C<sub>21</sub> H<sub>20</sub> O<sub>11</sub></b> (M-H): 447.0934, 6-Hydroxyluteolin 5-rhamnoside	15.007-15.207	6189.01	11.62
4	<b>C<sub>15</sub> H<sub>10</sub> O<sub>8</sub> S</b> (M-H): 349.0026, Apigenin 7-sulfate	18.189-18.373	10944.61	20.55
5	<b>C<sub>17</sub> H<sub>26</sub> O<sub>4</sub></b> (M+Cl): 329.1531, Gingerol	25.411-25.578	1248.49	2.34

\*Madde içindeki yüzdesi; sadece madde içerisindeki fenolik bileşikler göz önünde bulundurularak hesaplama yapılmıştır.

**Çizelge 4. 12** Tohum-su ekstraktının QTOF-LC/MS sonucu

	Bileşiğin kapalı formülü ve kütlesi	Bileşiğin kolonda geliş zamanı(min)	Madde içindeki yoğunluğu	Madde içindeki yüzdesi
1	<b>C<sub>7</sub> H<sub>6</sub> N<sub>2</sub> O<sub>3</sub></b> (M-H): 165.0300, 4-Hydroxy-3-nitrosobenzamide	10.319-10.507	12320.94	12.0
2	<b>C<sub>13</sub> H<sub>13</sub> N O<sub>7</sub></b> (M-H): 294.0618, Caffeyl aspartic acid	11.695-11.841	8916.82	8.68
3	<b>C<sub>9</sub> H<sub>9</sub> N O<sub>5</sub></b> (M-H): 210.0401, Topaquinone	12.682-12.897	7623.74	7.42
4	<b>C<sub>13</sub> H<sub>13</sub> N O<sub>6</sub></b> (M-H): 278.0663, N-[4'-hydroxy-(E)-cinnamoyl]-L-aspartic acid	12.979-13.194	11419.81	11.12
5	<b>C<sub>11</sub> H<sub>11</sub> N O<sub>5</sub></b> (M-H): 236.0555, Methyl 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-2-oxo-3-indoleacetic acid	13.56-----	13590.69	13.24
6	<b>C<sub>11</sub> H<sub>11</sub> N O<sub>6</sub></b> (M-H): 252.0505, N-Salicyloylaspartic acid	15.127-15.276	6717.33	6.54
7	<b>C<sub>24</sub> H<sub>32</sub> O<sub>15</sub></b> (M+HCOO): 605.1735, 5''-(4-Hydroxy-(E)-cinnamoyl) alpha-Larabinofuranosyl-(1->3)-beta-D-xylopyranosyl-(1->4)-Dxylopyranoside	-----	19014.66	18.52
8	<b>C<sub>9</sub> H<sub>10</sub> O<sub>3</sub></b> (M+Cl): 201.0309, 3-(4-Hydroxyphenyl)propionic acid	15.932-16-137	686.76	0.66
9	<b>C<sub>10</sub> H<sub>15</sub> N O<sub>3</sub></b> (M+HCOO): 42.1024, Metanephrine	16.213-16.404	13205.21	12.86
10	<b>C<sub>16</sub> H<sub>12</sub> O<sub>6</sub></b> (M-H): 299.0552, Isoscutellarein 8-methyl ether	21.550-21.721	9137.63	8.90

\*Madde içindeki yüzdesi; sadece madde içerisindeki fenolik bileşikler göz önünde bulundurularak hesaplama yapılmıştır.

Çalışma kapsamında yapılan QTOF-LC/MS analizi sonucunda tüm *V. cracca L.* özütlelerinde toplam 67 fenolik bileşik tanımlandı. Analizde tespit edilebilen bileşiklerin listesi Çizelge 4.13'da verilmiştir.

**Çizelge 4. 13** *V. cracca L.*'da bulunan fenolik bileşikler

Formülü	Adı
C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	m-Kumarik asit
C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	4-(2-hidroksipropoksi)-3,5-dimetil-fenol
C <sub>42</sub> H <sub>30</sub> O <sub>9</sub>	Alfa-viniferin
C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> FNO <sub>3</sub>	1,2-Benzenediol, 4-[[4-(4- fluorophenyl)-3- piperidiny]methoxy]-, (3S-trans)-
C <sub>40</sub> H <sub>54</sub> N <sub>8</sub> O <sub>8</sub>	Anjiyotensin IV
C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	3-tert-Bütil-5-metilkatekol
C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O	Fenolik steroid
C <sub>28</sub> H <sub>39</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	Sambutoxin
C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> O <sub>7</sub>	3,3',5'-Trihidroksi-4',7'-dimetoksiflavanon
C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub>	Tyr ile Asn
C <sub>37</sub> H <sub>34</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	Glikobismin A
C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	8-Hidroksidaidzein
C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	Kaempferid
C <sub>28</sub> H <sub>42</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub>	Kukoamin B
C <sub>37</sub> H <sub>48</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	Sitotrienin A
C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> N <sub>4</sub> O	Hipoksantin
C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	4-Hidroksi-3-nitrozobenzamid
C <sub>25</sub> H <sub>30</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	Beta-funaltreksamin
C <sub>29</sub> H <sub>26</sub> O <sub>8</sub>	Demetoksiizogemikhalkon C
C <sub>23</sub> H <sub>26</sub> O <sub>12</sub>	4'-O-metil(-)-epikateşin-3'-O-beta-glukuronid
C <sub>16</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>	1-O-Feruloilglikoz
C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	Robinetin 3-rutinosid
C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	Luteolin 7-ramnosil(1-6)galaktoz
C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> Cl N <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	Demeklosiklin
C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	Skutellarein
C <sub>37</sub> H <sub>48</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	Sitotrienin A
C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	(3,5-Dihidroksifenil 1-O-(6-O-galloil-beta-Dglucopiranosid)
C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> O <sub>7</sub>	7-Hidroksi-6-metil-8-ribityllumazin
C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>15</sub>	İzorientin 2"-O-arabinosid
C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	Luteolin 7-ramnosil(1->6)galaktoz
C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	5,6,7,3',4'-Pentahidroksi-8-metoksiflavon 7-apiosid
C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>14</sub>	İzoviteksin 7-O-rhamnosid
C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>15</sub>	8-C-Glukosildiosmetin 4"-Orhamnopiranosid
C <sub>24</sub> H <sub>22</sub> O <sub>14</sub>	Orobol 7-O-(6"-malonilglukozit)
C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	İzoviteksin
C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	Tricin 4'-apiosid
C <sub>23</sub> H <sub>24</sub> O <sub>13</sub>	Tomentin 4'-glukozit
C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub>	Scutellarein 6,7-dimetil ether 4'-glukuronid
C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	İzoskutellarein
C <sub>17</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub>	Gingerol
C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	Pisidik Asit
C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	4-Hidroksi-3-nitrozobenzamid
C <sub>13</sub> H <sub>8</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	AG-183
C <sub>11</sub> H <sub>11</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub>	Metil 2,3-dihidro-3,5-dihidroksi-2-okso-3- indolasetik asit
C <sub>31</sub> H <sub>28</sub> O <sub>16</sub>	Kuersetagetin 4'-metil eter 7-(6-(E)-kafeilglukozit)
C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	6-Hidrokluteolin 5-ramnosid
C <sub>29</sub> H <sub>34</sub> O <sub>16</sub>	Ombuin 3-neohesperidosid
C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	Metasiklin

C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>14</sub>	Kuersetin 3-(3",6"-diasetilgalaktozid)
C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>8</sub>	Veronikafolin
C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>17</sub>	Helikosit
C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>7</sub>	Arbutin
C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> N O <sub>6</sub>	N-[4'-hidroksi-(E)-sinamoil]-L-aspartik asit
C <sub>20</sub> H <sub>27</sub> N O <sub>12</sub>	Dhurrin 6'-glukozit
C <sub>32</sub> H <sub>38</sub> O <sub>19</sub>	Kaempferol 3-latirozit-7- rhamnosid
C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>14</sub>	İzovitexin 7-O-rhamnosid
C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>8</sub> S	Apigenin 7-sülfat
C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> O <sub>7</sub>	7-Hidroksi-6-metil-8-ribityllumazin
C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> N O <sub>7</sub>	Kafeoil aspartik asit
C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> N O <sub>5</sub>	Topakinon
C <sub>11</sub> H <sub>11</sub> N O <sub>6</sub>	N-Salisiloylaspartik asit
C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	3-(4 Hidroksifenil)propionik asit
C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> N O <sub>3</sub>	Metanefrin
C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	İzoscutellarein 8-metil eter
C <sub>24</sub> H <sub>32</sub> O <sub>15</sub>	5"-(4-Hidroksi-(E)-sinamoil) alfa-Larabinofuranosil-(1->3)-beta-D-ksilopiranosil-(1->4)-Diksilopiranosid

Zhu ve arkadaşları *V. faba* bitkisinde fenolik asit ve türevleri olarak Gallik asit, Siringik asit, Prokatekuik asit, Dihidroksibenzoik asit, Hidroksifenillaktik asit, Hidroksibenzoik asit, Ferulik asit, Sinapik asit, Kumarik asit, p-Kumarik asit, flavonoidler olarak Trihidroksiflavon, Kateşin ve Hidroksitirosol, 4-Hidroksikumarin, p-Hidroksibenzaldehit, Hidroksitirosol, Alizarin gibi bileşikler bulunduğunu belirtmişlerdir. (Zhu ve ark., 2020)

Valente ve arkadaşları *V. faba* tohumlarında Gallik asit türevi, Hidroksiökomik asit, 3- O -metilfukiik asit I (3'- O -metil(3',4'-dihidroksibenzil tartarik asit)), 3- O -metilfukiik asit II (3'- O -metil(3',4'-dihidroksibenzil tartarik asit)), Feruloil-heksosid, Benzil alkol heksoz pentoz, Ökomik asit, Metil-hidroksiökomik asit, p -kumarik asit, Dehidroökomik asit gibi fenolik asit ve türevlerini, O -metil(epi)kateşin heksoz deoksiheksoz, Vicenin 2 (apigenin 6,8-di- C -glukozit), Kaempferol-3- O -rhamnoglucoside-7- O -glucoside, Quercetin di-heksoz deoksiheksoz, Quercetin di-heksosid, Quercetin heksoz deoksiheksoz, Kaempferol-3- O -galaktosid-7- O -rhamnosid, Kaempferol-3- O -rhamnagalaktosid-7- O -rhamnosid, Kaempferol-3- O -glukozit-7-rhamnosid, isorhamnetin 3- O -ramnosilheksid, Kaempferol-3- O -rhamnoglucoside-7- O -rhamnoside, Kaempferol-3- O -Rhamnoglukozit, 5,7-Dihidroksiflavon (Chrysin) veya 7,4'-Dihidroksiflavon gibi flavonoidlerin bulunduğunu bildirmişlerdir. (Valente ve ark., 2019)

*Vicia tenuifolia* Roth bitkisi ile yapılan çalışmada Le ve arkadaşları, *V* çiçeklerinden 4 fenolik, 5 alkaloid ve 13 flavonoid glikozidin izolasyonu ve tanımlanmasını gerçekleştirdi. İzolatlar arasında yeni bir bileşik olan *Vicia* D, 6-

metoksikaempferol 3- *O*- soforozit, diosmetin 7- *O*- (2"-apiosil)-glukozit, ferulik asit, *trans* - *p* -kumaroil-D-glikopiranoz, *cis* -*p* - kumaroil-D-glukopiranoz, L-triptofan ve D-triptofan, D-fenilalanin, L-fenilalanin, adenozin, afzelin, ramnositrin 3- *O* –glukozit, kaempferol 7- *O* –glukozit, kaempferol 3- *O*- (2"- *O* -  $\beta$  -D-glukopiranosil)- *a* -L-rhamnopiranosid, kaempferol 3- *O* -rutinosid, kersetin-3- *O* -rhamnosid, rutin, rhamnetin 3- *O* -rutinosid, 6"-acetylapiin, graveobioside A ve diosmetin 7- *O* –rutinoside bileşiklerinin varlığını bildirdiler (Le ve ark., 2023)



## 5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

### 5.1. Sonuçlar

Bitkisel ilaçların çeşitli hastalarda tedavi amaçlı kullanılması tüm dünyada çok eski bir geçmişe sahip olup bu anlamda doğal tedavilere olan ilgi giderek artmaktadır. Doğal ilaç olarak kullanımının yanı sıra, yoksulluk ve kıtlıkla ilişkilendirilen ve bu durumlarda son çare olarak görülen yenilebilir yabani bitkiler artık gelişmiş ülkelerde de popüler hale gelmiştir. Doğal olarak yetiştirilen bitkiler genellikle kültür bitkilerinden daha fazla temel vitamin, mineral ve antioksidan içerdiğinden, bunların fitokimyasal profillerinin ve biyolojik aktivitelerinin araştırılması önemlidir. Öte yandan sadece sözlü olarak aktarılan yabani şifalı bitkilere ilişkin mevcut geleneksel bilgilerin kaybolmaması, biyolojik çeşitliliğin korunmasına katkı sağlanması ve yenilebilir bu bitkilerin öneminin kanıtlanması için geleneksel türler üzerinde bilimsel çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışma kapsamında *V. cracca L.* bitkisinden elde edilen ekstraktların fitokimyasal içerikleri ve belirli hastalıklarla ilişkili enzimler üzerine inhibisyon aktiviteleri incelenmiştir. Bitkinin ekstraksiyonu sırasında farklı bitki kısımlarını ele almak ve farklı çözücülerle çalışmak sekonder metabolitleri elde etmek için önemli bir faktördür. Bu anlamda çalışmamızda kullandığımız *V. cracca L.* türünün yaprak, dal ve tohum kısımlarından üç farklı çözücü kullanılarak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon sonucunda etanol ekstraktının fenolik olarak diğer ekstraktlara göre daha yüksek içeriğe sahip olduğu belirlenmiştir. Bu ekstrakt kullanılarak elde edilen bitki kısımlarının AChE, BChE ve XO enzimlerine karşı inhibisyon etkileri tespit edilmiştir. AChE ve BChE enzimlerine karşı dal etanol ekstraktlarının, XO enzime karşı ise yaprak etanol ekstraktının en yüksek inhibisyon aktivitesi sergilediği tespit edilmiştir. Ekstraktların BChE enzime karşı standart olarak kullanılan Galantaminden daha iyi aktivite gösterdikleri ancak AChE enzime karşı aktivitelerinin standart bileşikten daha düşük olduğu bulunmuştur. Ekstraktlar arasında yaprak ve dal etanol ekstraktlarının XO enzime karşı standart allopurinolden daha iyi aktivitesinin olduğu görülürken, tohum ekstraktının standart bileşikten daha düşük aktivitesi olduğu tespit edilmiştir. Çeşitli literatür taramaları sonucu çalışmada kullanılan *V. cracca L.*'ya ait fitokimyasal ve enzimle ilgili özelliklerine ait yeterli araştırma olmadığı görülmüştür. Aynı zamanda bitkideki birden fazla bileşenin analizine ve miktarının belirlenmesine olanak tanıyan QTOF-LC/MS yöntemimiz, gelecekteki klinik ve etkinlik çalışmalarına önemli ölçüde katkıda bulunabilecek temel verilerin toplanması için değerli bir araçtır. Karmaşık

kimyasal-botanik ilişkileri ortaya çıkarma ve geleneksel şifalı bitkilerin tedavi edici potansiyeline dair derin bilgiler sağlama yeteneği ile karakterize edilen bu ileri analitik yaklaşım, bu araştırmanın ayırt edici bir yönünü de temsil etmektedir. Bu noktada elde edilen sonuçlar ve veriler literatürdeki önemli bir boşluğu doldurmuş olup, bu bitki üzerine yapılacak yeni çalışmalara ışık tutacak niteliktedir.

## 5.2. Öneriler

Günümüzde yapılan biyokimyasal birçok çalışmada enzimler araştırılmaktadır. Çünkü gıda, sağlık, kimya endüstrisi, hastalık tedavisi ve hastalığın tanısında büyük rol oynamaktadır. Bu yüzden enzimler daha fazla araştırılması gereken ve üzerinde durulması gereken bir konudur. Alzheimer, sinsi ve durdurulamayan, kesin bir tanı ve tedavisi olmayan bir hastalık olmakla birlikte 65 yaş grubu ve üzerini etkileyen, yaşın en önemli faktör olduğu bir hastalıktır. Şuan Türkiye’ de 300 binden fazla Alzheimer lı olduğu tahmin edilmektedir. Yapılan araştırma ve istatistikler önümüzdeki yıllarda Alzheimer hastalığının en büyük sorunlarımızdan biri olacağını göstermektedir. Yapılan tedavinin sadece semptomlara yönelik olması ve hastalığın durmaksızın ilerlemesi konunun gerekliliğini ve araştırmayı hak ettiğini göstermektedir. Hastalık yeni bilinen bir hastalık olmazsa da henüz aydınlatılmamıştır. İlk zamanlar hastalığın sadece kolinerjik kayıp nedeniyle oluştuğu düşünülse de zamanla bunun daha karmaşık bir süreç olduğu, beynin diğer bölge kimyasallarında dengenin bozulduğu anlaşılmıştır. Kolinerjik iletimi sağlayan, dikkat ve bellek üzerinde etkili nörotransmitter madde olan asetilkolinin arttırmak, hastalarda kolinerjik iletimi güçlendirmek takrin, donepezil, rivastigmin ve memantin ile amaçlanmıştır. İlaçlar her ne kadar kolinerjik iletimi arttırsa da beklenen etkinin bütün hastalarda olmaması, ilaç kullanımına ara verildikten sonra etkilerin 4-6 hafta sonra yok olması farklı biyokimyasallara ihtiyaç oluşturmuştur. Ayrıca kullanılan bu ilaçların da yan etkilerinin olması sekonder metabolitler ile çalışmayı gerektirmiştir. Bu nedenle günümüzde kabul gören hastalığın tedavi yöntemlerinden inhibisyon yöntemi çalışıldı. İnhibitör olarak ise üzerinde yapılmış çok az çalışma olan ve sahip olduğu düşünülen fenoliklerden dolayı daha fazla araştırılması gereken bir bitki olan *V. cracca L.* seçildi. Diğer *Vicia* türlerinde mevcut birçok çalışma bulunsa da *V. cracca L.* bitkisinin Alzheimer ve gut hastalığı üzerindeki etkisiyle ilgili çalışmalar literatür taramasında bulunamamıştır. Bu yüzden çalışmanın literatüre ve ileride yapılacak olan çalışmalara önemli veriler sunduğu düşünülmektedir. Elde edilen sonuçlara göre bitkiler gıda ve nutrasötik endüstrilerinde kullanıldığında olumlu faydalar sağlayabilmektedir ve

çeşitli farmasötik uygulamalar için de yeni bir biyoaktif fenolik kaynağı olarak düşünülebilir. İçeriklerin ticarileştirilmesi için biyoyararlanım, biyolojik erişilebilirlik ve toksikoloji çalışmaları üzerine daha fazla analiz yapılabilir. Bileşiklerin aktif ekstraktlarının biyoanaliz odaklı fraksiyonlama yoluyla izolasyonu ve karakterizasyonu ve etki mekanizmalarının ana hatlarıyla ilgili gelecekteki çalışmalar garanti edilmektedir. Farklı farmasötik uygulamalardaki potansiyel kullanımlarını doğrulamak için in vivo ve klinik çalışmalar da önerilmektedir.



## KAYNAKLAR

- Acquaviva, R., Russo, A., Galvano, F., Galvano, G., Barcellona, M., Li Volti, G., Vanella, A. 2003. Cyanidin and cyanidin 3-O- $\beta$ -D-glucoside as DNA cleavage protectors and antioxidants, *Cell biology and toxicology*, 19, 243-252.
- Adeleye, I., Omadime, M., Daniels, F. 2011. Antimicrobial activity of essential oil and extracts of *Gongronema latifolium* Decne on bacterial isolates from blood stream of HIV infected patients, *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 6 (3), 312-320.
- Adalı, A., Yirün, A., Koçer-gümüşel, B., & Erkekoğlu, P. (2020). Alzheimer Hastalığının Gelişiminde Biyolojik Ajanların Olası Etkileri. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 44(1), 167-187.
- Afife, M. A. T. (2020). Geçmişten günümüze fitoterapi. Genito-Üriner Hastalıklarda.
- Ak, G. (2020). "Üç scorzonera taksonuna ait ekstraktların antioksidan kapasiteleri ve enzim inhibitör potansiyelleri üzerine bir çalışma"., Yüksek Lisans Tezi, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Akalin, H.Ü., Altındaş, H., Karaman, Y., Demirtaş, H., İmamoğlu, N. 2004. Alzheimer Hastalarının Lenfositlerinde Rna İfadelemesinin Araştırılması, *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13 (1), 43-47.
- Akdemir, A., Cangöz, B., Örsel, S., Selekler, K. 2007. Hafif kognitif bozukluğu olan hastalarla Alzheimer tipi demans hastalarının örtük bellek performansı açısından karşılaştırılması, *Türk Psikiyatri Dergisi*, 18 (2), 118-128.
- Aktay, S.,(2017)., Asetilkolinesteraz ve Bütirilkolinesteraz Enzimleri Üzerine Bazı Sulfanilamid Türevi Moleküllerinin İnhibisyon Etkilerinin İncelenmesi, Yüksek lisans tezi, Kimya Anabilim Dalı, Biyokimya Bilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Atatürk Üniversitesi, Erzurum.
- Akın, M. (2012), "Ceviz (*Juglans regia*) yaprak, iç ve kabuğundan elde edilen ekstraktların tirozinaz enzimi üzerine inhibisyon etkilerinin incelenmesi", Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,
- Alkan, Ş.B., Rakicioğlu, N. 2020. Demans ve Polifenoller, *Sağlık ve Toplum*, 30 (3), 11-20.
- Almaz, Z., Oztekin, A., Tan, A., Ozdemir, H. 2021. Biological evaluation and molecular docking studies of 4-aminobenzohydrazide derivatives as cholinesterase inhibitors, *Journal of Molecular Structure*, 1244, 130918.
- Atakul, N., Demir, H. 2014. Gut tedavisinde kullanılan ilaçlar, *Türkiye Klinikleri Physical Medicine Rehabilitation-Special Topics*, 7 (4), 42-47.
- Atasağungil, M. 1965. Enzimler, Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi.
- Ayyıldız, S.N. 2016. Ürik Asit Yüksekliğinin Analizi, *Journal of Academic Research in Medicine*, 6 (2).
- Bacanli, M., Taner, G., Başaran, A. A., & Başaran, N. (2015). Bitkisel kaynaklı fenolik yapıdaki bileşikler ve sağlığa yararlı etkileri. *Journal of Literature Pharmacy Sciences*, 4(1), 9-16.

- Bakır, Ö. 2020. Sekonder metabolitler ve rolleri, Uluslararası Anadolu Ziraat Mühendisliği Bilimleri Dergisi, 2 (4), 39-45.
- Balak, D. M. (2015). "Fumaric acid esters in the management of psoriasis." *Psoriasis: Targets and Therapy*: 9-23.
- Ballatore, C., Lee, V.M.-Y., Trojanowski, J.Q. 2007. Tau-mediated neurodegeneration in Alzheimer's disease and related disorders, *Nature reviews neuroscience*, 8 (9), 663-672.
- Barta, C., Sasvari-Szekely, M., Devai, A., Kovacs, E., Staub, M., Enyedi, P. 2001. Analysis of mutations in the plasma cholinesterase gene of patients with a history of prolonged neuromuscular block during anesthesia, *Molecular genetics and metabolism*, 74 (4), 484-488.
- Bassil, N., Grossberg, G.T. 2009. Novel regimens and delivery systems in the pharmacological treatment of Alzheimer's disease, *CNS drugs*, 23, 293-307.
- Baumann, C.M., STROSBURG, A.D., Rüdiger, H. 1982. Purification and Characterization of a Mannose/Glucose-Specific Lectin from *Vicia cracca*, *European Journal of Biochemistry*, 122 (1), 105-110.
- Bayrambaş, K., Çakır, B., Gülseren, İ. 2019. Influence of phenolic profile on the RP-HPLC detection and anti-carcinogenic potential of cherry laurel extracts from Black Sea Region-Turkey, *Microchemical Journal*, 149, 103963.
- Bell, E., Tirimanna, A. 1965. Associations of amino acids and related compounds in the seeds of forty-seven species of *Vicia*: their taxonomic and nutritional significance, *Biochemical Journal*, 97 (1), 104-111.
- Bingöl, G. 1977. *Vitaminler ve enzimler*, Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi.
- Borges, F., Fernandes, E., Roleira, F. 2002. Progress towards the discovery of xanthine oxidase inhibitors, *Current medicinal chemistry*, 9 (2), 195-217.
- Bourne, Y., Taylor, P., Bougis, P.E., Marchot, P. 1999. Crystal structure of mouse acetylcholinesterase: a peripheral site-occluding loop in a tetrameric assembly, *Journal of Biological Chemistry*, 274 (5), 2963-2970.
- Bray, R.C., Bennett, B., Burke, J., Chovnick, A., Doyle, W., Howes, B., Lowe, D., Richards, R., Turner, N., Ventom, A. 1996. Recent studies on xanthine oxidase and related enzymes, *Biochemical Society Transactions*, 24 (1), 99-105.
- Breijyeh, Z., Karaman, R. 2020. Comprehensive review on Alzheimer's disease: Causes and treatment, *Molecules*, 25 (24), 5789.
- Brufani, M., Filocamo, L. 1997. New acetylcholinesterase inhibitors, *Drugs of the Future*, 22, 171-177.
- Bryant, J.A., Hughes, S.G. 2010. *Vicia*. in: *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources: Legume Crops and Forages*, Springer, pp. 273-289.
- Cankurtaran, M., (2004). Alzheimer tip ve vasküler tip demansta risk faktörleri araştırılması, Yüksek lisans tezi, Hacettepe Üniversitesi tıp fakültesi, İç hastalıkları anabilim dalı, Geriatri Ünitesi, Ankara.
- Castellani, R.J., Rolston, R.K., Smith, M.A. 2010. Alzheimer disease, *Disease-a-month: DM*, 56 (9), 484.

- Chatonnet, A., Lockridge, O. 1989. Comparison of butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase, *Biochemical Journal*, 260 (3), 625.
- Chen, P.-N., Chu, S.-C., Chiou, H.-L., Kuo, W.-H., Chiang, C.-L., Hsieh, Y.-S. 2006. Mulberry anthocyanins, cyanidin 3-rutinoside and cyanidin 3-glucoside, exhibited an inhibitory effect on the migration and invasion of a human lung cancer cell line, *Cancer letters*, 235 (2), 248-259.
- Choi, S.B., Park, S.M. 2001. The Relationship between Apolipoprotein E Phenotypes, Serum Lipid Metabolism, and Oxidative Stress in Korean Type 2 Diabetic Patients, *Korean Diabetes Journal*, 23 (2), 182-192.
- Choudhary, D.K., Mishra, A. 2019. In vitro and in silico interaction of faba bean (*V. faba* L.) seed extract with xanthine oxidase and evaluation of antioxidant activity as a therapeutic potential, *Natural product research*, 33 (18), 2689-2693.
- Christenhusz, M.J., Byng, J.W. 2016. The number of known plants species in the world and its annual increase, *Phytotaxa*, 261 (3), 201–217-201–217.
- Christensen, H., Birrell, P. 1991. Explicit and implicit memory in dementia and normal ageing, *Psychological research*, 53 (2), 149-161.
- Chuiko, G., Podgornaya, V., Zhelnin, Y. 2003. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activities in brain and plasma of freshwater teleosts: cross-species and cross-family differences, *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 135 (1), 55-61.
- Cos, P., Ying, L., Calomme, M., Hu, J.P., Cimanga, K., Van Poel, B., Pieters, L., Vlietinck, A.J., Berghe, D.V. 1998. Structure– activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers, *Journal of natural products*, 61 (1), 71-76.
- Çakmak, Y.S., Zengin, G., Eskin, B., Yıldırım, K., Topal, M., Aydın, G.H., Unlu, E., Baydemir, M., Erten, K. 2017. *Medicago rigidula* (L.) ALL.'nın antioksidan ve enzim inhibisyon aktiviteleri ve fenolik bileşiminin incelenmesi, *Marmara Pharm. J*, 21 (3), 522-529.
- Çat, M. (2019), "Alzheimer hastalığı tedavisinde kullanılabilecek yeni sentezlenmiş bileşikler ile asetilkolinesteraz enziminin inhibisyonunun incelenmesi", *Fen Bilimleri Enstitüsü*,
- Çetin, H., Kurbal, Ö.F. 2018. Fumarik Asitin Broylerlerde Sinderem Sistemi Gelişimi ve Büyüme Performansı Üzerine Etkileri, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 23 (1), 21-33.
- Danysz, W., & Parsons, C. G. (2012). Alzheimer's disease,  $\beta$ -amyloid, glutamate, NMDA receptors and memantine—searching for the connections. *British journal of pharmacology*, 167(2), 324-352.
- Darvesh S, Grantham DL, Hopkins DA. Distribution of butyrylcholinesterase in the human amygdala and hippocampal formation. *Journal of Comparative Neurology*, 1998, 393: 374-39.
- Das, U.N. 2012. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase as markers of low-grade systemic inflammation, *Annals of hepatology*, 11 (3), 409-411.
- Davis, P.H. 1970. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol. 3, *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol. 3.

- de Souza, L.G., Rennó, M.N., Figueroa-Villar, J.D. 2016. Coumarins as cholinesterase inhibitors: A review, *Chemico-biological interactions*, 254, 11-23.
- Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J.P., Tognolini, M., Borges, G., Crozier, A. 2013. Dietary (poly) phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases, *Antioxidants & redox signaling*, 18 (14), 1818-1892.
- Demir, P., Erdenen, F., USTA, H. 2007. Yaygın tofuslerle seyreden gut hastalığı olgusu, *İstanbul Tıp Dergisi*, 3, 23-26.
- Demir, Z., Türkan, F. 2022. Asetilkolinesteraz ve Bütirilkolinesteraz Enzimlerinin Alzheimer Hastalığı ile İlişkisi, *Journal of the Institute of Science and Technology*, 12 (4), 2386-2395.
- Dickson, D. 1997. Neuropathological diagnosis of Alzheimer's disease: a perspective from longitudinal clinicopathological studies, *Neurobiology of aging*, 18 (4), S21-S26.
- Doll, R., Peto, R., Boreham, J., Sutherland, I. 2000. Smoking and dementia in male British doctors: prospective study, *Bmj*, 320 (7242), 1097-1102.
- Durmaz, L. 2022. İnterferon Beta-1a İlacının Enzim İnhibisyon Etkilerinin İncelenmesi, *Journal of the Institute of Science and Technology*, 12 (4), 2331-2339.
- Ellman GL, Courtney KD, Andres Jr V, Featherstone RM (1961) A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology* 7: 88-95
- Engelli ve Yaşlı İstatistik Bülteni. Engelli ve Yaşlı Hizmetleri Genel Müdürlüğü, T.C. Aile Ve Sosyal Hizmetler Bakanlığı; Eylül 2022. [cited May 2023]. Available from:[https://www.aile.gov.tr/media/eyhgm\\_istatistik\\_bulteni\\_eyul2022.pdf](https://www.aile.gov.tr/media/eyhgm_istatistik_bulteni_eyul2022.pdf).
- Engelli ve Yaşlı İstatistik Bülteni. Engelli ve Yaşlı Hizmetleri Genel Müdürlüğü, T.C. Aile Ve Sosyal Hizmetler Bakanlığı; Nisan 2023.[cited Haziran 2023].Available from:[https://aile.gov.tr/media/135432/eyhgm\\_istatistik\\_bulteni\\_nisan\\_23.pdf](https://aile.gov.tr/media/135432/eyhgm_istatistik_bulteni_nisan_23.pdf)
- Ercan, Z.E. (2016). Oksijen endükte retinopati in vivo fare modelinde intravitreal ve intraperitoneal siyanidin-3-glikozit enjeksiyonunun retinal endotelial hücre proliferasyonu, retina morfolojisi ve apoptotik hücre ölümüne etkisi, *Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı*,Ankara.
- Ertokuş, G.P., Akdumanli, B.H. Alzheimer Hastalığının Tedavisinde Kullanılan Memantin ve Donepezil Etken Maddelerinin Spektrofotometrik Verilerin Değerlendirilmesi ile Kemometrik Tayini, *Rahva Teknik ve Sosyal Araştırmalar Dergisi*, 1 (2), 45-54.
- Farrer, L.A., Cupples, L.A., Haines, J.L., Hyman, B., Kukull, W.A., Mayeux, R., Myers, R.H., Pericak-Vance, M.A., Risch, N., Van Duijn, C.M. 1997. Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease: a meta-analysis, *Jama*, 278 (16), 1349-1356.
- Faydaoğlu, E., Sürücüoğlu, M.S. 2011. Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi, *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty*, 11 (1), 52-67.

- Ferri, C.P., Prince, M., Brayne, C., Brodaty, H., Fratiglioni, L., Ganguli, M., Hall, K., Hasegawa, K., Hendrie, H., Huang, Y. 2005. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study, *The Lancet*, 366 (9503), 2112-2117.
- Gamal-Eldeen, A.M., Kawashty, S., Ibrahim, L., Shabana, M., El-Negoumy, S. 2004. Evaluation of antioxidant, anti-inflammatory, and antinociceptive properties of aerial parts of *V. sativa* and its flavonoids, *Journal of Natural Remedies*, 81-96.
- Ganguli, M., Dodge, H., Chen, P., Belle, S., DeKosky, S. 2000. Ten-year incidence of dementia in a rural elderly US community population: the MoVIES Project, *Neurology*, 54 (5), 1109-1116.
- Gezici, S. ve Şekeroğlu, N. (2022). Alzheimer hastasının Gelişim Sürecinde ve Tedavisinde Potansiyel Öneme Sahip Tıbbi Bitkiler ve Fitokimyasallar. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 42 (2), 121-133.
- Glantzounis, G., Tsimoyiannis, E., Kappas, A., Galaris, D. 2005. Uric acid and oxidative stress, *Current pharmaceutical design*, 11 (32), 4145-4151.
- Gold, R., Kappos, L., Arnold, D.L., Bar-Or, A., Giovannoni, G., Selmaj, K., Tornatore, C., Sweetser, M.T., Yang, M., Sheikh, S.I. 2012. Placebo-controlled phase 3 study of oral BG-12 for relapsing multiple sclerosis, *New England Journal of Medicine*, 367 (12), 1098-1107.
- Goldberg, I., Rokem, J.S. 2009. Organic and fatty acid production, microbial, *Encyclopedia of microbiology*, 421-442.
- Güçer, Y., Göktaş, Z. 2023. Alzheimer hastalığında antosiyaninlerin önemi, *Yüksek İhtisas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 4 (1), 13-16.
- Geçkil, H., Biyokimya I, İnönü Üniversitesi, Malatya, 2012
- Gülçin, İ., Scozzafava, A., Supuran, C.T., Akıncıoğlu, H., Koksal, Z., Turkan, F., Alwasel, S. 2016. The effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on metabolic enzymes including acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, glutathione S-transferase, lactoperoxidase, and carbonic anhydrase isoenzymes I, II, IX, and XII, *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 31 (6), 1095-1101.
- Güven, L. 2023. *Cephalaria tchihatchewii* Boiss. Ekstrelerinin Antioksidan Aktivitesi, Metabolik Enzimler Üzerine Etkisi ve UPLC-MS/MS Analizi ile Kimyasal Karakterizasyonun Belirlenmesi, *Journal of the Institute of Science and Technology*, 13 (4), 2655-2672.
- Güven, L., Can, H., Ertürk, A., Miloğlu, F.D., Koca, M., İnce, F., Gülçin, İ. 2024. Comprehensive metabolic profiling of *Thymus canoviridis* (endemic) and *Thymus pubescens* var. *pubescens* using UPLC-MS/MS and evaluation of their antioxidant activities, enzyme inhibition abilities, and molecular docking studies, *South African Journal of Botany*, 165, 478-493.
- Güzel, A. 2023. Tüylü Çayın (*Stachys lavandulifolia*) Fitokimyasal Analizi ve Antioksidan, Antikolinesteraz ve Antiaterojenik Aktivitesi, *Journal of the Institute of Science and Technology*, 13 (4), 2809-2817.
- Haider, N., Nabulsi, I., Mirali, N. 2012. Identification of species of *Vicia* subgenus *Vicia* (Fabaceae) using chloroplast DNA data, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 36 (3), 297-308.

- Hainer, B.L., Matheson, E., Wilkes, R.T. 2014. Diagnosis, treatment, and prevention of gout, *American family physician*, 90 (12), 831-836.
- Hanasaki, Y., Ogawa, S., Fukui, S. 1994. The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids, *Free Radical biology and medicine*, 16 (6), 845-850.
- Hanelt P, Mettin D.1989. Biosystematics of the genus *Vicia* L. (Leguminosae). *Annual Review of Ecology and Systematics* 20:199–223.
- Harborne, J.B., 1989, *Methods in plant biochemistry*. Volume 1. Plant phenolics, *Academic Press Ltd.*,
- Hartman, R.E. 2009. 16 Actions of Bioactive Phytochemicals in Cell Function and Alzheimer's Disease Pathology, *Micronutrients and brain health*, 226.
- Hernández, F.I., Avila, J. 2007. Tauopathies, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 64, 2219-2233.
- Hill, K.D., LoGiudice, D., Lautenschlager, N.T., Said, C.M., Dodd, K.J., Suttanon, P. 2009. Effectiveness of balance training exercise in people with mild to moderate severity Alzheimer's disease: protocol for a randomised trial, *BMC geriatrics*, 9 (1), 1-9.
- Hille, R., Nishino, T. 1995. Xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase, *The FASEB journal*, 9 (11), 995-1003.
- Iio, M., Moriyama, A., Matsumoto, Y., Takaki, N., Fukumoto, M. 1985. Inhibition of xanthine oxidase by flavonoids, *Agricultural and biological chemistry*, 49 (7), 2173-2176.
- Inestrosa, N. C., Sagal, J. P., & Colombres, M. (2005). Acetylcholinesterase interaction with Alzheimer amyloid  $\beta$ . *Alzheimer's Disease: Cellular and Molecular Aspects of Amyloid  $\beta$* , 299-317.
- Iliesiu, A., Campeanu, A., Dusceac, D. 2010. Serum uric acid and cardiovascular disease, *Maedica*, 5 (3), 186.
- Ishida, N., Ishihara, Y., Ishida, K., Tada, H., Funaki-Kato, Y., Hagiwara, M., Ferdous, T., Abdullah, M., Mitani, A., Michikawa, M. 2017. Periodontitis induced by bacterial infection exacerbates features of Alzheimer's disease in transgenic mice, *NPJ aging and mechanisms of disease*, 3 (1), 15.
- Işık, A., Çevik, U.A., Erçetin, T., Koçak, A. (2022). Yeni Tiyazolil-Hidrazin Türevlerinin Sentezi ve Asetilkolinesteraz (AChE) ve Bütilkolinesteraz (BuChE) Aktivite Çalışmaları, *Bilecik Seyh Edebali University Journal of Science*, 9 (1).
- Işık, M. 2020. *Salvia officinalis* L. Etanol Ekstraktının Antikolinerjik ve Antioksidan Aktivitesi ve LC-MS/MS Analizi, *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 3 (1), 51-61.
- Jaaska, V. (2005). Isozyme variation and phylogenetic relationships in *Vicia* subgenus *Cracca* (Fabaceae). *Annals of Botany*, 96(6), 1085-1096.
- Jalbert, J. J., Daiello, L. A., & Lapane, K. L. (2008). Dementia of the Alzheimer type. *Epidemiologic reviews*, 30(1), 15-34.

- Jasiecki, J., Wasąg, B. 2019. Butyrylcholinesterase protein ends in the pathogenesis of Alzheimer's disease—could BCHE genotyping be helpful in Alzheimer's therapy?, *Biomolecules*, 9 (10), 592.
- Jegannathan, K.R., Nielsen, P.H. 2013. Environmental assessment of enzyme use in industrial production—a literature review, *Journal of cleaner production*, 42, 228-240.
- Kähkönen, M.P., Heinämäki, J., Ollilainen, V., Heinonen, M. 2003. Berry anthocyanins: isolation, identification and antioxidant activities, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83 (14), 1403-1411.
- Karakurt, E. 2013. Determination of Some Plant Characteristics in Naturally Grown Bird Vetch (*V. cracca L.*), *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 22 (1).
- Karaman, Y. 2002. Frontotemporal Demanslar, *Demans Dergisi*, 2, 48-60.
- Kaya, N., "Biyokimya", Atatürk Üniv. Basımevi, 42-58, (1993).
- Kayacık, Ö. 2019. *Pulicaria dysenterica*'dan elde edilen özütlerin antioksidan özellikleri ve enzim inhibitör potansiyellerinin değerlendirilmesi.
- Kaymak, G., Aydın, H. 2021. Nörodejeneratif hastalıklarda oksidatif stresin rolü, *Osmangazi Tıp Dergisi*.
- Keha, E. E., & Küfrevioğlu, Ö. İ. (2020). *Biyokimya* (13. baskı). İstanbul: Aktif Yayın Dağıtım.
- Keçecioglu, S. 1988. Beslenme Alışkanlıklarının Gut Oluşumuna Etkisi, *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 17 (2), 235-246.
- Khoddami, A., Wilkes, M.A., Roberts, T.H. 2013. Techniques for analysis of plant phenolic compounds, *Molecules*, 18 (2), 2328-2375.
- Kim, Y.H., Lee, S.H. 2013. Which acetylcholinesterase functions as the main catalytic enzyme in the Class Insecta?, *Insect biochemistry and molecular biology*, 43 (1), 47-53.
- Kıran, Ö.E., Çömlekçioğlu, U., Dostbil, N. 2006. Bazı mikrobiyal enzimler ve endüstrideki kullanım alanları, *Fen ve Mühendislik Derg*, 9, 12-19.
- Klibanov, A. M. (1983). Immobilized enzymes and cells as practical catalysts. *Science*, 219(4585), 722-727.
- Knopman, D.S., DeKosky, S.T., Cummings, J., Chui, H., Corey-Bloom, J., Relkin, N., Small, G., Miller, B., Stevens, J. 2001. Practice parameter: diagnosis of dementia (an evidence-based review): report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology, *Neurology*, 56 (9), 1143-1153.
- Kobayashi, K., Emson, P., Mountjoy, C. 1989. *Vicia villosa* lectin-positive neurones in human cerebral cortex. Loss in Alzheimer-type dementia, *Brain research*, 498 (1), 170-174.
- Koca, İ., Karadeniz, B., Tural, S. 2006. Antosiyaninlerin antioksidan aktivitesi, *Türkiye*, 9, 24-26.
- Koç, E. (2020), "*Vicia bithynica* ve *V. cracca subsp. cracca*. bitkilerinin uçucu bileşenleri, uçucu yağ ve ekstraktların antimikrobiyal aktiviteleri (Yüksek lisans tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü).

- Koçancı, F.G., Aslım, B. 2016. Structure and functions of acetylcholinesterase and acetylcholinesterase inhibitory activity of plants, *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences*, 6 (1), 19-35.
- Koçtürk, O. M., Kalafatçılar, Ö. A., Özbilgin, N., & Atabay, H. (2009). Türkiye'de bitkisel ilaçlara bakış. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 46(3), 209-214.
- Konakçı, K., Mısır, B.A., Derin, Y., Ökten, S., Tutar, A. Disüstitüe Takrin Türevlerinin Suzuki Kenetleme Yöntemi ile Sentezi ve Karakterizasyonu. ,1-6 Eylül 2022, 34.Ulusal Kimya Kongresi,Yalova.
- Kuo, C.-F., Grainge, M.J., Zhang, W., Doherty, M. 2015. Global epidemiology of gout: prevalence, incidence and risk factors, *Nature reviews rheumatology*, 11 (11), 649-662.
- Lah, V. (2020), "Sinteza 3-vinilpiridinskih in stirenskih zaviralcev ligaz Mur in monoamin oksidaz B", *Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacija*,
- Lane, RM, Kivipelto, M. ve Greig, NH (2004). Asetilkolinesteraz ve Alzheimer hastalığında inhibisyonu. *Klinik nörofarmakoloji* , 27 (3), 141-149.
- Lambracht-Washington, D., Rosenberg, R.N. 2013. Advances in the development of vaccines for Alzheimer's disease, *Discovery medicine*, 15 (84), 319.
- Le, D.D., Yu, S., Dang, T., Lee, M. 2023. Molecular Networking and Bioassay-Guided Preparation and Separation of Active Extract and Constituents from *Vicia tenuifolia* Roth, *Antioxidants*, 12 (10), 1876.
- Lee, Y.-H., Lee, C.-H., Lee, J. 2006. Effect of fenofibrate in combination with urate lowering agents in patients with gout, *The Korean Journal of Internal Medicine*, 21 (2), 89.
- Lehninger, A.L., Nelson, D.L., Cox, M.M., 2005, *Lehninger principles of biochemistry*, *Macmillan*,
- Li, J., Wu, HM, Zhou, RL, Liu, GJ ve Dong, BR (2008). Huperzine A. *Cochrane Database of Systematic Reviews for Alzheimer's disease*, (2).
- Liang, Z., Liang, H., Guo, Y., Yang, D. 2021. Cyanidin 3-O-galactoside: A natural compound with multiple health benefits, *International Journal of Molecular Sciences*, 22 (5), 2261.
- Liebelt, E. L. (2007). Old antidotes, new antidotes, and a 'universal antidote': what should we be using for pediatric poisoning?. *Current opinion in pediatrics*, 19(2), 199-200.
- Limon, M. (2022). Gut Hastalarında Biyokimyasal Parametrelerin ve Komorbiditelerin Önemi. *Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 19(3), 462-465.
- Ling, X., Bochu, W. 2014. A review of phytotherapy of gout: perspective of new pharmacological treatments, *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 69 (4), 243-256.
- Lleo, A., Greenberg, S., Growdon, J. 2006. Current pharmacotherapy for Alzheimer's disease, *Annu. Rev. Med.*, 57, 513-533.
- Maiuolo, J., Oppedisano, F., Gratteri, S., Muscoli, C., Mollace, V. 2016. Regulation of uric acid metabolism and excretion, *International journal of cardiology*, 213, 8-14.

- Malta, L.G., Tessaro, E.P., Eberlin, M., Pastore, G.M., Liu, R.H. 2013. Assessment of antioxidant and antiproliferative activities and the identification of phenolic compounds of exotic Brazilian fruits, *Food Research International*, 53 (1), 417-425.
- Mann, D.M. 1989. The pathogenesis and progression of the pathological changes of Alzheimer's disease, *Annals of Medicine*, 21 (2), 133-136.
- Martillo, M. A., Nazzari, L., & Crittenden, D. B. (2014). The crystallization of monosodium urate. *Current rheumatology reports*, 16, 1-8.
- Massoulié, J., Pezzementi, L., Bon, S., Krejci, E., Vallette, F.-M. 1993. Molecular and cellular biology of cholinesterases, *Progress in neurobiology*, 41 (1), 31-91.
- Masters, C.L., Selkoe, D.J. 2012. Biochemistry of amyloid  $\beta$ -protein and amyloid deposits in Alzheimer disease, *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 2 (6), a006262.
- Matsunaga, S., Kishi, T., Nomura, I., Sakuma, K., Okuya, M., Ikuta, T., Iwata, N. 2018. The efficacy and safety of memantine for the treatment of Alzheimer's disease, *Expert Opinion on Drug Safety*, 17 (10), 1053-1061.
- Maxted, N. 1993. A phenetic investigation of *Vicia* L. subgenus *Vicia* (Leguminosae, Viciae), *Botanical Journal of the Linnean Society*, 111 (2), 155-182.
- McCord, J., 1987, Oxygen-derived radicals: a link between reperfusion injury and inflammation, *Federation proceedings*, 2402-2406.
- McKhann, G., Drachman, D., Folstein, M., Katzman, R., Price, D., Stadlan, E.M. 1984. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDS-ADRDA Work Group\* under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease, *Neurology*, 34 (7), 939-939.
- Megias, C., Cortés-Giraldo, I., Giron-Calle, J., Alaiz, M., Vioque, J. 2019. Purification and partial characterization of seed lectins from *Vicias* belonging to subgenus *Vicilla* section *Cracca*, *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 19, 101121.
- Messier, C. 2003. Diabetes, Alzheimer's disease and apolipoprotein genotype, *Experimental gerontology*, 38 (9), 941-946.
- Mesulam, M. M., & Gürvit, İ. H. (Eds.). (2004). *Davranışsal ve kognitif nörolojinin ilkeleri*. Yelkovan Yayıncılık.
- Mohsen, U.A., Kaymakçioğlu, B.K., Emre, E.E.O., Kaplancıklı, Z.A., Rollas, S. 2015. Asetilkolin esteraz inhibitörü olan hidrazid hidrazonlar üzerinde çalışmalar, *Clinical and Experimental Health Sciences*, 5 (1), 10-14.
- Nagao, A., Seki, M., Kobayashi, H. 1999. Inhibition of xanthine oxidase by flavonoids, *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 63 (10), 1787-1790.
- Nelson, D., Cox, M. 2016. *Biyokimyanın ilkeleri*. 5, Baskı. 1158s. Palme Yayıncılık.
- Ning, T.C., Keenan, R.T. 2010. Unusual clinical presentations of gout, *Current opinion in rheumatology*, 22 (2), 181-187.
- Noda, Y., Kaneyuki, T., Mori, A., Packer, L. 2002. Antioxidant activities of pomegranate fruit extract and its anthocyanidins: delphinidin, cyanidin, and pelargonidin, *Journal of agricultural and food chemistry*, 50 (1), 166-171.

- Nuki, G., Simkin, P.A. 2006. A concise history of gout and hyperuricemia and their treatment, *Arthritis research & therapy*, 8 (1), 1-5.
- Olivas-Aguirre, F.J., Rodrigo-García, J., Martínez-Ruiz, N.d.R., Cárdenas-Robles, A.I., Mendoza-Díaz, S.O., Álvarez-Parrilla, E., González-Aguilar, G.A., De la Rosa, L.A., Ramos-Jiménez, A., Wall-Medrano, A. 2016. Cyanidin-3-O-glucoside: Physical-chemistry, foodomics and health effects, *Molecules*, 21 (9), 1264.
- Onor, M.L., Trevisiol, M., Aguglia, E. 2007. Rivastigmine in the treatment of Alzheimer's disease: an update, *Clinical interventions in aging*, 2 (1), 17-32.
- Orhan, I., Kartal, M., Abu-Asaker, M., Şenol, F. S., Yilmaz, G., & Şener, B. (2009). Free radical scavenging properties and phenolic characterization of some edible plants. *Food Chemistry*, 114(1), 276-281.
- Orhan, I., Şener, B., Choudhary, M., Khalid, A. 2004. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activity of some Turkish medicinal plants, *Journal of ethnopharmacology*, 91 (1), 57-60.
- Oskay, D., Oskay, M. 2009. Biotechnological importance of plant secondary metabolites, *Ecological Life Sciences*, 4 (2), 31-41.
- Özkay, Ü.D. (2009), "Bazı Benzotiyazol Türevi Bileşiklerin Streptozotosin Ile Deneysel Alzheimer Modeli Oluşturulmuş Sıçanlara ait Öğrenme ve Bellek Parametreleri Üzerine Etkileri", Doktora tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji Anabilim Dalı, Anadolu University, Eskişehir, (Turkey),
- Özkay, Ü.D., Öztürk, Y., Can, Ö. 2011. Yaşlanan Dünyanın Hastalığı: Alzheimer Hastalığı, *Sdü Tıp Fakültesi Dergisi*, 18 (1), 35-42.
- Özpak, L., Pazarbaşı, A., Keser, N. 2017. Alzheimer hastalığının genetiği ve epigenetiği, *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 26 (1), 34-49.
- Öztabak, K.Ö. 2005. Lektinler ve *Viscum Album* Aglütinin (VAA)'nın Antikarsinojen Etkileri, *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2 (1), 55-59.
- Öztekin, A. (2016), "4-Amino Benzohidrazid Türevleri Kullanılarak Karaturp Ve Şalgamdan Peroksidaz Enziminin Saflaştırılması", Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Atatürk Üniversitesi, Erzurum,
- Öztürk, G.B., Karan, M.A. 2009. Alzheimer hastalığının fizyopatolojisi, *Klinik gelişim*, 22 (3), 36-45.
- Pamukçu, M., Duran, T.İ. 2021. Gut hastalığı hakkında bilgi kaynağı olarak YouTube: Kesitsel değerlendirme, *Türkiye Klinikleri. Tıp Bilimleri Dergisi*, 41 (4), 461-469.
- Poirier, J., Bertrand, P., Kogan, S., Gauthier, S., Davignon, J., Bouthillier, D. 1993. Apolipoprotein E polymorphism and Alzheimer's disease, *The Lancet*, 342 (8873), 697-699.
- Pritsos, C.A. 2000. Cellular distribution, metabolism and regulation of the xanthine oxidoreductase enzyme system, *Chemico-biological interactions*, 129 (1-2), 195-208.
- Pritsos, C.A., Gustafson, D.L. 1994. Xanthine dehydrogenase and its role in cancer chemotherapy, *Oncology research*, 6 (10-11), 477-481.

- Rahman, A., Parvin, M.I.A. 2014. Study of medicinal uses on Fabaceae family at Rajshahi, Bangladesh, *Research in Plant Sciences*, 2 (1), 6-8.
- Rao, A.A., Sridhar, G.R., Das, U.N. 2007. Elevated butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase may predict the development of type 2 diabetes mellitus and Alzheimer's disease, *Medical Hypotheses*, 69 (6), 1272-1276.
- Raoof, G.F.A., El-Anssary, A.A., Younis, E.A., Aly, H.F. 2023. Metabolomic Analysis and in Vitro Investigation of the Biological Properties of a By-Product Derived from *V. faba*, *Chemistry & Biodiversity*, 20 (12), e202301095.
- Richette, P., Frazier, A., & Bardin, T. (2014). Pharmacokinetics considerations for gout treatments. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 10(7), 949-957.
- Roa Engel, C.A., Straathof, A.J., Zijlmans, T.W., van Gulik, W.M., van der Wielen, L.A. 2008. Fumaric acid production by fermentation, *Applied microbiology and biotechnology*, 78, 379-389.
- Rousi, A. 1961. Cytotaxonomical Studies On *V. Cracca L.* And *V. Tenuifolia* Roth: I. Chromosome Numbers And Karyotype Evolution, *Hereditas*, 47 (1), 81-110.
- Salehi, B., Abu-Reidah, I. M., Sharopov, F., Karazhan, N., Sharifi-Rad, J., Akram, M., ... & Pezzani, R. (2021). Vicia plants—A comprehensive review on chemical composition and phytopharmacology. *Phytotherapy Research*, 35(2), 790-809.
- Saloğlu, D. (1985). Sarımsak filizinden asit fosfatazın kısmi saflaştırılması ve kinetik özelliklerinin incelenmesi., Yüksek lisans tezi, Fen bilimleri enstitüsü, İstanbul teknik üniversitesi.
- Sari, İ., Bakır, S., Çelik, V.K., Erşan, S., Anaklı, D. 2017. Grafen Oksitin Ksantin Oksidaz Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkisinin İncelenmesi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 21 (2), 401-407.
- Sarkar, S., Zaidi, S., Chaturvedi, A.K., Srivastava, R., Dwivedi, P., Shukla, R. 2015. Search for a herbal medicine: Antiasthmatic activity of methanolic extract of *Curcuma longa*, *J Pharmacogn Phytochem*, 3 (4), 59-72.
- Schomburg, I., Chang, A., Placzek, S., Söhngen, C., Rother, M., Lang, M., Munaretto, C., Ulas, S., Stelzer, M., Grote, A. 2012. Brenda in 2013: integrated reactions, kinetic data, enzyme function data, improved disease classification: new options and contents in Brenda, *Nucleic acids research*, 41 (D1), D764-D772.
- Scozzafava, A., Kalın, P., Supuran, C.T., Gülçin, İ., Alwasel, S.H. 2015. The impact of hydroquinone on acetylcholine esterase and certain human carbonic anhydrase isoenzymes (hCA I, II, IX, and XII), *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 30 (6), 941-946.
- Seeman, T.E., Huang, M.-H., Bretsky, P., Crimmins, E., Launer, L., Guralnik, J.M. 2005. Education and APOE-e4 in longitudinal cognitive decline: MacArthur Studies of Successful Aging, *The Journals of Gerontology Series B: Psychological sciences and social sciences*, 60 (2), P74-P83.
- Selekler K. Alois Alzheimer and Alzheimer's Disease. *Türk Geriatri Dergisi*. 2010;13(3)(9-14). Available from: [https://geriatri.dergisi.org/uploads/pdf/pdf\\_TJG\\_508.pdf](https://geriatri.dergisi.org/uploads/pdf/pdf_TJG_508.pdf)
- Sertkaya, M. E., & Ergen, B. (2022). Alzheimer Hastalığının Erken Teşhisinin Çoklu Değişken Kullanarak Tespiti. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (35), 306-314.

- Shokrzadeh, M., Rahimi, F., Ziar, A., & Ebrahimzadeh, M. A. (2018). Antioxidant and hepatoprotective properties of *Vicia cracca* against carbon tetrachloride induced oxidative stress in mice. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*, 27(156), 50-65.
- Sevinç, N. (2010), "Türkiye Topraklarından İzole Edilen *Bacillus* Sp. Suşlarından Proteaz Üretimi, Kısmi Saflaştırılması ve Karakterizasyonu", Bursa Uludag University (Turkey),
- Singh, M., Kaur, M., Kukreja, H., Chugh, R., Silakari, O., Singh, D. 2013. Acetylcholinesterase inhibitors as Alzheimer therapy: from nerve toxins to neuroprotection, *European journal of medicinal chemistry*, 70, 165-188.
- Sivrikaya, E., 2022 , Alzheimer Hastalığının Derin Öğrenme Tekniği İle Pet Görüntüleri Üzerinden Teşhisi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans, Akdeniz Üniversitesi, Antalya
- Small, D.H., Cappai, R. 2006. Alois Alzheimer and Alzheimer's disease: a centennial perspective, *Journal of neurochemistry*, 99 (3), 708-710.
- Small, D.H., Mok, S.S., Bornstein, J.C. 2001. Alzheimer's disease and A $\beta$  toxicity: from top to bottom, *Nature Reviews Neuroscience*, 2 (8), 595-598.
- Small, G.W. 1998. The pathogenesis of Alzheimer's disease, *Journal of Clinical Psychiatry*, 59 (9), 7-14.
- Smith, M.A. 1998. Alzheimer disease, *International review of neurobiology*, 42, 1-54.
- Strittmatter, W.J., Saunders, A.M., Schmechel, D., Pericak-Vance, M., Enghild, J., Salvesen, G.S., Roses, A.D. 1993. Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90 (5), 1977-1981.
- Sussman JL, Harel M, Frolow F, Oefner C, Goldman A, Toker L, Silman I. Atomic structure of acetylcholinesterase from *Torpedo californica*: a prototypic acetylcholine-binding protein. *Science*, 1991, 253: 872-879
- Sürer Budak, E. ve Aydın, F. (2016). Demans/Demansta Nükleer Tıp Yöntemleri'nde Nükleer Tıp Yöntemleri. *Nükleer Tıp Seminerleri*, Galenos Yayınevi Tic. Ltd., 2 (3), 144-153.
- Talesa, V. N. (2001). Acetylcholinesterase in Alzheimer's disease. *Mechanisms of ageing and development*, 122(16), 1961-1969.
- Tamkoç, A., Avcı, M.A. 2004. Doğal vejetasyondan seçilen adi fiğ (*V. sativa* L.) Hatları arasındaki bazı farklılıkların belirlenmesi, *Selcuk Journal Of Agriculture And Food Sciences*, 18 (34), 114-117.
- Taneli, B., (2017)., Geriatrik Psikiatri'de Alzheimer Hastalığı ve Önleme Stratejileri,
- Temel, H.E. 2008. Demanslı hastalarda asetilkolinesteraz aktivitesi ve oksidatif stresin asetilkolinesteraz enzim inhibitörleri ile değişimi., Doktora tezi, Biyokimya Anabilim Dalı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir.
- Tetik, B.K., Artantaş, A.B., Bahar, İ., Yusuf, Ü. 2012. Üçüncü atakta tanı konulan bir gut vakası, *Ankara Medical Journal*, 12 (2), 100-102.

- Tewatia, B., Virk, A. 1996. Nutritional potential of faba bean for improved productivity in ruminants-A Review.
- Tiring, G., Satar, S., Özkaya, O. 2021. Sekonder metabolitler, Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 35 (1), 203-215.
- Tiwari, S., Atluri, V., Kaushik, A., Yndart, A., Nair, M. 2019. Alzheimer's disease: pathogenesis, diagnostics, and therapeutics, International journal of nanomedicine, 5541-5554.
- Topal, a. 2023. Alzheimer hastalığı araştırmalarında model organizma olarak zebra balığı, sağlık bilimleri alanında uluslararası akademik alışmalar, 3.
- Tosun, E. (2014), "Büt-2-Endioik Asit Bis-(Benzil-Fenil-Amit) Türevi Bileşiklerinin Sentezi, Asetilkolinesteraz Ve Butilkolinesteraz Enzimlerine Karşı Aktivitelerinin Araştırılması", Yüksek lisans tezi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Atatürk Üniversitesi, Erzurum.
- Tripathi, A., Srivastava, U. 2010. Acetylcholinesterase: a versatile enzyme of nervous system, Annals of Neurosciences, 15 (4), 106-111.
- Turan, H. (2019), "Hipotermik ve normotermik Kardiyopulmoner bypass' ın ürik asit metabolizması üzerine etkisi/Evaluating the effects of hypotermic and normotermic Cardiopulmonary bypass (cpb) on uric acid metabolism",
- Uddin, G., Rauf, A., Siddiqui, B.S., Shah, S.Q. 2011. Preliminary comparative phytochemical screening of Diospyros lotus Stewart, Middle-East Journal of Scientific Research, 10 (1), 78-81.
- Ulus, İ.H. 2010. Dopamin reseptör agonisti maddelerin sıçan beyni stiatal dilimlerinde kolin ve asetilkolin saliverilmesine, doku kolin, asetilkolin ve fosfolipid düzeylerine etkisi, Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi (3), 145-148.
- Uysal, A., Zengin, G., Durak, Y., Aktumsek, A. 2016. Centaurea pterocaula özütlerinin antioksidan ve antimutajenik özellikleri ile enzim inhibitör potansiyellerinin incelenmesi, Marmara Pharmaceutical Journal, 20 (1), 232-242.
- Ülger, T.G., Ayhan, N.Y. 2020. Bitki sekonder metabolitlerinin sağlık üzerine fonksiyonel etkileri, Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi (3), 384-390.
- Valente, I.M., Cabrita, A.R., Malushi, N., Oliveira, H.M., Papa, L., Rodrigues, J.A., Fonseca, A.J., Maia, M.R. 2019. Unravelling the phytonutrients and antioxidant properties of European *V. faba* L. seeds, Food Research International, 116, 888-896.
- Van Duijn, C., Stijnen, T. 1991. Risk factors for Alzheimer's disease: overview of the Eurodem collaborative re-analysis of case-control studies, International journal of epidemiology, 20 (Supplement\_2), S4-S12.
- Xanthine oxidase inhibiting flavonol glycoside from Amberboa ramosa SB Khan, N Afza, A Malik, Azhar-Ul-Haq, S Perveen, I Ahmad, A Ejaz, M Iqbal Choudhary Natural product research, 2006•Taylor & Francis
- Wang, H., Nair, M.G., Strasburg, G.M., Chang, Y.-C., Booren, A.M., Gray, J.I., DeWitt, D.L. 1999. Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries, Journal of natural products, 62 (2), 294-296.

- Wilkinson, D.G., Francis, P.T., Schwam, E., Payne-Parrish, J. 2004. Cholinesterase inhibitors used in the treatment of Alzheimer's disease: the relationship between pharmacological effects and clinical efficacy, *Drugs & aging*, 21, 453-478.
- Yagi, S., Ulsan, M.D., Sinan, K.I., Caprioli, G., Mustafa, A.M., Angeloni, S., Ahıskalı, M., Zengin, G. 2024. HPLC-MS/MS profiles, antioxidant, neuroprotective, antidiabetic and skin protective effects of different extracts of *Vicia peregrina* L. collected from the eastern region of Turkey, *Chemistry & Biodiversity*, e202400040.
- Yamamoto, K. 1973. Karyotaxonomical studies on *Vicia* I. on the karyotype and character of some annual species of *Vicia*, *The Japanese Journal of Genetics*, 48 (5), 315-327.
- Yang, H.D., Lee, S.B., Young, L.D. 2016. History of Alzheimer's disease, *Dementia and neurocognitive disorders*, 15 (4), 115-121.
- Yapıcı, İ., İzol, L.E. Asetilkolinesteraz Ve Bütirilkolinesteraz Enzimlerinin İnsan Hafızası Üzerine Etkileri, 6.Uluslararası Marmara Bilimsel Araştırma ve İnovasyon Kongresi, Ekim, 2023., İstanbul.
- Yeşilkır Baydar, S. (2020). Alzheimer Hastalığı Tedavisi İçin En Kestirme Yol: İntranazal Yaklaşımlar. *Sağlık Bilimlerinde Multidisipliner Araştırmalar-3*, 575-593.
- Yıldırım, P. (2014), "Yeni tip fenoksi imin türevli monomerlerin horseradish peroksidaz enzimi (HRP) ile oksidatif polimerizasyonu", Niğde Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü,
- Yorulmaz, A.Y., Tekin, A.T.D. (2009), "Türk zeytinyağlarının fenolik, sterol ve trigliserit yapılarının belirlenmesi", Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı,
- Yüksel, N. 2001. Sitokrom p450 enzim sistemi ve ilaç etkileşimleri, *Klinik Psikiyatri*, 1, 5-16.
- Zengin, G., Uysal, A., Diuzheva, A., Gunes, E., Jekó, J., Cziáky, Z., Picot-Allain, C.M.N., Mahomoodally, M.F. 2018. Characterization of phytochemical components of *Ferula halophila* extracts using HPLC-MS/MS and their pharmacological potentials: A multi-functional insight, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 160, 374-382.
- Zeren, B. (2015), "Topraktan İzole Edilen *Bacillus Megaterium* Ebd 9-1 Suşundan Fitaz Geninin *E. Coli*'de Klonlanma Çalışmaları", Bursa Uludağ University (Turkey),
- Zheng, W., Wang, S., Chen, X., & Hu, Z., 2003, Analysis of *Sarcandra glabra* and its medicinal preparations by capillary electrophoresis. *Talanta*, 60(5), 955–960.
- Zhu, L., Li, W., Deng, Z., Li, H., Zhang, B. 2020. The composition and antioxidant activity of bound phenolics in three legumes, and their metabolism and bioaccessibility of gastrointestinal tract, *Foods*, 9 (12), 1816.
- Zohaib, A., Ehsanullah, T.T., Abbas, T., Rasool, T. 2014. Influence of water soluble phenolics of *V. sativa* L. on germination and seedling growth of pulse crops, *Sci Agric*. 2014a, 8, 148-51.

**ÖZGEÇMİŞ****KİŞİSEL BİLGİLER**

**Adı Soyadı** : Fatma SAVAŞ

**EĞİTİM**

<b>Derece</b>	<b>Adı, İlçe, İl</b>	<b>Bitirme Yılı</b>
Lise	: Muş Lisesi/Muş /Merkez	2010
Üniversite	: Muş Alparslan Üniversitesi /Muş	2015
Yüksek Lisans	: Muş Alparslan Üniversitesi /Muş	

**İŞ DENEYİMLERİ**

<b>Yıl</b>	<b>Kurum</b>	<b>Görevi</b>
2019	Karaağaç Ortaokulu	Öğretmen
2022	Dikbiyık Ortaokulu	Müdür Yardımcısı
2023	Yavuz Selim Ortaokulu	Öğretmen