

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÇAY OLARAK TÜKETİLEN BAZI BİTKİLERİN SİNDİRİM ENZİMLERİ
ÜZERİNDE IN VITRO İNHİBİTÖR ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

PELİN ÇALLIOĞULLARI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: PROF. DR. HÜLYA YAĞAR

EDİRNE-2016

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü onayı



Prof. Dr. Mustafa ÖZCAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığımı onaylarım.



Prof. Dr. Mesut KAÇAN
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Hülya YAĞAR
Tez Danışmanı

Bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Kimya Anabilim Dalında bir Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Prof. Dr. Hülya YAĞAR



Doç. Dr. Temine ŞABUDAK



Doç. Dr. Şebnem SELEN İŞBİLİR



Tarih: 04/03/2016

T.Ü.FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
DOĞRULUK BEYANI

İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını beyan ederim.

04 / 03 / 2016

Pelin ÇALLIOĞULLARI



Yüksek Lisans Tezi

Çay olarak Tüketilen Bazı Bitkilerin Sindirim Enzimleri Üzerinde *In vitro* İnhibitör Etkilerinin Araştırılması

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

ÖZET

Bu tez kapsamında, bitki zayıflama çayı olarak veya zayıflama çay karışımlarının bileşiminde sıklıkla kullanılan yeşilçay, mate, sinameki, barut ağacı, funda, zahter, sinirli ot, biberiye ve çoban çökerten bitkileri Edirne’de bir aktardan kurutulmuş olarak satın alındı ve bitkilerin metanol, etanol ve su ekstraktları hazırlandı. Bu ekstraktların bazı sindirim enzimleri (lipaz, α -amilaz, α -glukozidaz ve tripsin) ve monoaminoksidaz enzimi üzerinde *in vitro* inhibisyon etkisi araştırıldı. Enzim inhibisyon aktiviteleri spektrofotometrik yöntemlerle belirlendi. % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri hesaplandı.

Funda bitkisinin su ve etanol ekstraktları 750 μ g/mL konsantrasyonlarında yaklaşık % 94 inhibisyon aktivitesiyle pozitif kontrol akarbozdan daha yüksek α -glukozidaz inhibisyon aktivitesi gösterdi. 1000 μ g/mL konsantrasyonunda, biberiye bitkisi etanol ekstraktı % 95, metanol ekstraktı % 66 α -glukozidaz inhibisyon aktivitesine sahipken, su ekstraktı hiç aktivite göstermedi. Aynı konsantrasyonda yeşilçay su, etanol ve metanol ekstraktları ise sırasıyla % 90, % 82 ve % 94 α -glukozidaz inhibisyonu gösterdi. Zahter ve sinirli ot bazı ekstraktlarında % 50’nin altında α -glukozidaz inhibisyonu gözlenirken, bazılarında inhibisyon görülmedi. Mate, sinameki, çoban çökerten bitkilerinin hiçbir ekstratında α -glukozidaz inhibisyonuna rastlanmadı.

Funda metanol ekstraktı 1000 μ g/mL konsantrasyonunda yaklaşık % 90 α -amilaz inhibisyonu gösterirken, 750 μ g/mL konsantrasyonundaki su ve etanol ekstraktları ise yaklaşık % 65 α -amilaz inhibisyonu gösterdi. 750 μ g/mL konsantrasyonundaki biberiye su ekstraktı % 95, metanol ekstraktı % 51 α -amilaz inhibisyonu gösterirken etanol ekstraktında inhibisyon görülmedi. Yeşilçay bitkisinin su ve metanol ekstraktı yaklaşık % 51-53 oranlarında α -amilaz inhibisyonuna sahipken

etanol ekstraktında hiç inhibisyon belirlenmedi. Zahter bitkisinin 1000 µg/mL konsantrasyonundaki su ekstraktında % 75 α-amilaz inhibisyonu gözlenirken, etanol ve metanol ekstraktlarında % 50'nin altında inhibisyon gözlendi. Mate, sinirli ot, sinameki, çoban çökerten, barut bitkilerinin su, etanol, metanol ekstraktlarında α-amilaz inhibisyonu gözlenmedi.

Çoban çökerten bitkisinin 1000 µg/mL konsantrasyonundaki su ekstaktı yaklaşık % 75'lik tripsin inhibisyonu gösterirken, etanol ve metanol ekstraktlarında % 50'nin altında inhibisyon gösterdi. Diğer bitkilerde tripsin inhibisyonu gözlenmedi. Çalışılan hiçbir bitkide lipaz inhibisyon aktivitesi belirlenmedi.

Yıl : 2016

Sayfa Sayısı : 79

Anahtar kelimeler : Bitkisel zayıflama çayı, yeşilçay, funda, zahter, biberiye, obezite, sindirim enzimleri inhibisyonu

Master Thesis

Investigation of *In vitro* Inhibitor Effects of Some Plants Whose Leaves Used as Tea on Digestive Enzymes

Trakya University Institute of Natural Sciences

Chemistry

ABSTRACT

In this thesis, plants of green tea, mate, senna, alder dog wood, shrub, wild thyme, ripple grass, rosemary and milk thistle which are widely used as slimming tea or in the combination of herbal slimming teas were purchased as dried from an herbalist in Edirne. Methanol, ethanol and water extracts from these plants were prepared. These extracts were investigated in regard to the *in vitro* inhibition activities on some digestion enzymes (lipase, α -amylase, α -glycosidase and trypsin) and monoamine oxidase. The enzyme inhibition activities were determined in the microplate reader by spectrophotometric methods, and inhibition activity (%) and IC₅₀ values were estimated.

The water and ethanol extracts of shrub showed that their α -glycosidase inhibition activities (about 94 %) were higher than that of positive control acarbose at 750 μ g/mL concentration. Rosemary ethanol and methanol extracts had inhibition activities of about 95 and 66 %, respectively, while rosemary water extract didn't show activity at 1000 μ g/mL concentration. At the same concentration, the water, ethanol and methanol extracts of green tea showed α -glycosidase inhibition activities of 90, 82 and 94 %, respectively. These activities of some extracts of wild thyme and ripple grass were determined to be below 50 % while no inhibition was determined in others. All extracts of mate, senna and mild thistle weren't showed α -glycosidase inhibition activities.

Methanol extract of shrub showed α -amylase inhibition activity of 90 % at 1000 μ g/mL concentration while their water and extracts showed the activity of 65 % at 750 μ g/mL concentration. At 750 μ g/mL concentration, these activities were determined to be 95 and 51 % for rosemary water and methanol extracts, respectively. Any α -amylase inhibition activity wasn't observed in the rosemary ethanol extract.

The water and methanol extracts of green tea showed α -amylase inhibition activities of about 51-53 %, ethanol extract didn't. The water extract of wild thyme

showed the activity of 75 % while their another extracts showed activity below 50% at the 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ concentration. No α -amylase inhibition activities observed in all extracts of mate, milk thistle, senna, alder dogwood and milk thistle.

Trypsin inhibition activity was only determined as 75 % in the water extract of milk thistle at the 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ concentration. Trypsin inhibition activity was observed to be below 50 % in the another extracts.

Any lipase activity weren't determined in all plants and extracts.

Year : 2016

Number of Pages : 79

Keywords : Herbal slimming tea, green tea, shrub, wild thyme, rosemary, obesity, digestion enzyme inhibition, lipase inhibition

TEŐEKKÖR

Yüksek lisans eğitimin süresince engin bilgilerinden yararlandığım, tezimin her aşamasında hiçbir yardım ve desteğini benden esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Hülya YAĞAR'a,

Tez de kullanılan bitkilerin su ekstratlarının liyofilizasyon işlemini gerçekleştiren Trakya Üniversitesi Teknoloji, Araştırma, Geliştirme ve Uygulama Merkezi'ne,

Eğitim hayatım boyunca maddi manevi hiçbir yardım ve desteğini esirgemeyen annem ve kardeşime teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması, TÜBAP 2013/145 nolu proje kapsamında gerçekleştirilmiştir.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜRLER.....	v
SİMGELER DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
TABLolar DİZİNİ.....	x
BÖLÜM 1.....	1
GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2.....	3
KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	3
2.1. OBEZİTE.....	3
2.3. Tez Çalışmasında Kullanılan Bitkiler.....	6
2.3.1. YeşilÇay (<i>Camellia sinensis</i>).....	6
2.3.2. Mate (<i>Ilex paraguariensis</i>).....	7
2.3.3. Funda (<i>Calluna vulgaris</i>).....	7
2.3.4. Biberiye (<i>Rosmarinus officinalis</i>).....	8
2.3.5. Sinameki (<i>Cassia angustifolia L.</i>).....	8
2.3.6. Zahter (<i>Thymbra spicata L. var. spicata</i>).....	9
2.3.7. Barut Ağacı (<i>Rhamnus frangula Linn</i>).....	9
2.3.8. Çoban Çökerten (<i>Centaurea solstitialis</i>).....	9
2.3.9. Sınırlı Ot (<i>Plantago lanceolata</i>).....	10
2.4. Tez Kapsamında Çalışılan Enzimler.....	10
2.4.1. Lipaz.....	10
2.4.2. α -Amilaz ve α -Glukozidaz.....	12
2.4.3. Tripsin.....	13
2.4.4. Monoamonoksidaz Enzimi.....	14
BÖLÜM 3.....	16
MATERYAL VE YÖNTEM.....	16
3.1. Materyaller.....	16
3.1.1. Kimyasal Maddeler.....	16
3.1.2. Kullanılan Cihazlar.....	17
3.1.3. Hazırlanan Çözeltiler.....	17

3.2. Metotlar	20
3.2.1. Bitkilerinden Ekstrakt Hazırlanması.....	20
3.2.2. Lipaz İnhibisyonunun Belirlenmesi.....	21
3.2.3. α -Glukozidaz İnhibisyonunun Belirlenmesi	23
3.2.4. α -Amilaz İnhibisyonunun Belirlenmesi.....	24
3.2.5. Tripsin İnhibisyonunun Belirlenmesi	26
3.2.6. Monoamin Oksidaz İnhibisyonunun Belirlenmesi	28
BÖLÜM 4	30
SONUÇLAR	30
4.1. Elde Edilen Ekstraktların Lipaz İnhibisyon Aktiviteleri	30
4.2. Elde Edilen Ekstraktların α -Glukozidaz İnhibisyonu Aktiviteleri	31
4.3. Elde Edilen Ekstraktların Amilaz İnhibisyonu.....	38
4.4. Elde Edilen Ekstraktların Tripsin İnhibisyonu	44
4.5. Elde Edilen Ekstraktların Monoamin Oksidaz-A İnhibisyonu.....	46
BÖLÜM 5	50
TARTIŞMA	50
KAYNAKLAR	56
ÖZGEÇMİŞ	65

SİMGELER DİZİNİ

BAPNA	: N- α -benzoil <i>p</i> -nitro anilit
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DNS	: Dinitro Salisilik Asit
DPL	: Domuz Pankreatik Lipazı
EtOH	: Etanol
FDA	: Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi (Food Drug Administration)
IC ₅₀	: % 50 inhibisyon sağlayan inhibitör konsantrasyonu
MAO-A	: Monoamin Oksidaz-A
MetOH	: Metanol
PL	: Pankreatik Lipaz
PMSF	: Fenilmetilsülfonilflorür
PNP	: <i>p</i> -nitro palmitat
SD	: Standart Sapma
VKİ	: Vücut Kitle İndeksi
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)
PPG	: Fenil propanoid glikozid

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 3.1. Lipaz enziminin p-nitro palmitat substratı ile kimyasal reaksiyonu.....	21
Şekil 3.2. α -glukozidaz enziminin substratı nişasta ile etkileşimi.....	22
Şekil 3.3. α -amilaz enzimlerinin substratı nişasta ile etkileşimi.....	25
Şekil 3.4. Tripsinin substratı N α -benzoil-L-arginin p-nitroanilit ile etkileşimi.....	26
Şekil 3.5 MAO-A enziminin substratı triamin ile reaksiyonu.....	28
Şekil 4.1. Farklı konsantrasyonlardaki funda su ve etanol ekstraktları ve pozitif kontrol Akarboz'un % α -glukozidaz inhibisyon aktiviteleri.....	30
Şekil 4.2. Biberiye etanol ve metanol ekstraktları ile pozitif kontrol Akarboz'un % α -glukozidaz inhibisyon aktiviteleri.....	32
Şekil 4.3. Yeşilçay su, etanol ve metanol ekstraktlarının pozitif kontrol Akarboz'un α -glukozidaz % inhibisyon aktiviteleri.....	33
Şekil 4.4. Farklı konsantrasyonlardaki Barut Ağacı etanol ekstraktı ve pozitif kontrol Akarboz'un α -glukozidaz % inhibisyon etkisi.....	36
Şekil 4.5. Farklı konsantrasyonlardaki Funda etanol, metanol ve su ekstraktları ve pozitif kontrol Akarboz'un % α -amilaz inhibisyon etkisi.....	38
Şekil 4.6. Farklı konsantrasyonlardaki Biberiye su, metanol ekstraktları ve pozitif kontrol Akarboz'un % α -amilaz inhibisyon etkisi.....	39
Şekil 4.7. Farklı konsantrasyonlardaki Yeşilçay su, metanol ekstraktları ve pozitif kontrol Akarboz'un % α -amilaz inhibisyon etkisi.....	40
Şekil 4.8. Farklı konsantrasyonlardaki Zahter su ekstraktı ve pozitif kontrol Akarboz'un % α -amilaz inhibisyon etkisi.....	42
Şekil 4.9. Farklı konsantrasyonlardaki Çoban Çökerten su ekstraktı ve pozitif kontrol PMSF'nin% tripsin inhibisyon etkisi.....	44
Şekil 4.10. Farklı konsantrasyonlardaki Funda su, etanol, metanol ekstraktları ve pozitif kontrol Klorjin'in % inhibisyon etkisi.....	46
Şekil 4.11. Farklı konsantrasyonlardaki Biberiye su, etanol, metanol ekstraktları ve pozitif kontrol Klorjin'in % inhibisyon etkisi.....	47
Şekil 4.12. Farklı konsantrasyonlardaki Yeşilçay su, etanol, metanol ekstraktları	48

ve pozitif kontrol Klorjin'in % inhibisyon etkisi.....

TABLolar DİZİNİ

Sayfa
No

Tablo 2.1. Yetişkinlerde VKİ'ye göre obezite sınıflandırılması.....	4
Tablo 2.2. Yetişkinlerde cinsiyete bağlı olarak bel çevresi ölçümüne göre obezite hastalığı oluşma riski.....	4
Tablo 4.1. Funda su, etanol ekstraktları ve pozitif kontrol Akarboz enzimi için α -glukozidaz IC ₅₀ (μ g/mL) değerleri.....	31
Tablo 4.2. Biberiye etanol ve metanol ekstraktlarının ve pozitif kontrol akarbozun α -glukozidaz IC ₅₀ (μ g/mL) değerleri verilmiştir.....	32
Tablo 4.3. Yeşilçay su, etanol, metanol ekstraktlarının ve pozitif kontrol akarbozun α -glukozidaz inhibisyonu IC ₅₀ (μ g/mL) değerleri	34
Tablo 4.4. Zahter su ve etanol ekstraktlarının α -glukozidaz İnhibisyonu.....	35
Tablo 4.5. Sinirli ot etanol ekstraktı ve Akarbozun α -glukozidaz İnhibisyon yüzdeleri	35
Tablo 4.6. Barut Ağacı etanol ekstraktı ve pozitif kontrol akarbozun IC ₅₀ (μ g/mL) değerleri	37
Tablo 4.7. Funda bitksinin su, etanol, metanol ekstraktları ve pozitif kontrol akarbozun IC ₅₀ (μ g/mL) değerleri.....	38
Tablo 4.8. Biberiye su, metanol ekstraktları ve pozitif kontrol akarbozun α -amilaz IC ₅₀ (μ g/mL) değerleri.....	40
Tablo 4.9. Yeşilçay su, metanol ekstraktları ve pozitif kontrol akarbozun α -amilaz inhibisyonu IC ₅₀ (μ g/mL) değerleri.....	41
Tablo 4.10. Zahter su ekstraktı ve pozitif kontrol akarbozun α -amilaz inhibisyonu IC ₅₀ (μ g/mL) değerleri.....	42
Tablo 4.11. Çoban Çökerten su ekstraktı ve pozitif kontrol PMSF'nin tripsin inhibisyonu IC ₅₀ (μ g/mL)değerleri.....	44
Tablo 4.12. Funda su , etanol, metanol ekstratları ve pozitif kontrol Klorjin'in MAO inhibisyonu IC ₅₀ (μ g/mL) değerleri.....	46
Tablo 4.13. Biberiye su, etanol, metanol ekstraktları ve pozitif kontrol Klorjin'in MAO inhibisyonu IC ₅₀ (μ g/mL) değerleri.....	47
Tablo 4.14. Yeşilçay su , etanol, metanol ekstraktları ve pozitif kontrol	48

Klorjin'in MAO inhibisyonu IC₅₀ (µg/mL) değerleri.....

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Obezite enerji alımı ile enerji harcanması arasındaki dengesizliğin neden olduğu kronik, metabolik bir hastalıktır. Fazla kilo ve obezite aynı zamanda vücutta anormal veya aşırı yağ birikmesi olarak tanımlanır ki bu da sağlık için bir risk faktörü oluşturmaktadır [1].

Günümüzde hemen hemen tüm dünyada görülen obezite, çevresel ve genetik faktörlerin etkilediği multifaktöriyel bir hastalıktır [2]. Bu hastalık genetik, metabolik, hormonal, hipotalamik, sosyo-ekonomik, beslenme ve fiziksel aktivite gibi birçok etmen nedeniyle ortaya çıkmaktadır. Obezite hastalığına sosyal statü kadar, beslenme, vücut metabolizması, fiziksel aktivite, bağırsak florası, bazı genlerin biçimi gibi genetik, sosyal ve çevresel faktörler katkıda bulunmaktadır [3].

Obezitenin sıklığı giderek artmakta ve son yıllarda çağın hastalığı halini almaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde 2009-2010 epidemiyolojik verilerine göre; erkeklerin % 35.2'den fazlası ve kadınların % 35.8'den fazlası obeziteden muzdariptir [4].

Obezite dünyada en önemli önlenebilir ölüm sebeplerinden biri olmakla birlikte, tip 2 diyabet, hipertansiyon, metabolik sendrom ve kalp hastalıkları gibi bir dizi metabolik hastalıkların yanı sıra osteoartrit, kanser, inme, iltihaplanma ve uyku apnesi gibi bir dizi kronik hastalıklarla da ilişkilidir ve bu hastalıkların oluşumunu arttırmaktadır [5-7].

Bu nedenle, obezitenin artışını ve yaygınlığını önlemek için bireylerin sık sık obezite ölçümlerinin yapılarak obez olup olmadıklarını belirlenmesi gerekmektedir.

Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre bireyin obez olup olmadığının belirlenmesinde iki hesaplama yöntemi vardır. Bu yöntemlerden birinci; bel kalça oranı, ikincisi ise; vücut kütle indeksinin (VKİ) hesaplanmasıdır [8].

Obezite tedavisinde egzersiz ve düşük kalorili diyetlerin yeterli olmadığı durumlarda ilaçlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Obezite tedavileri arasında en umut verici stratejilerden biri; enerji alımını merkezi mekanizmaları değiştirmeden gastrointestinal sistemde besin sindirim ve emilim inhibitörleri mekanizmalarının geliştirilmesidir [9].

Piyasada obezite tedavisinde kullanılan; akarboz, orlistat ve subitramin gibi ilaçlar yer almaktadır. Ancak, piyasada yer alan bu ilaçların; kan basıncı artırıcı, ağız kuruluğu, kabızlık, baş ağrısı ve uykusuzluk gibi yan etkileri vardır. Orlistat, akarboz, subitramin gibi varolan bu ilaçların yüksek maliyetleri ve ciddi yan etkileri, bazı doğal ürünlerin bunların yerine gelecekte anti-obezite ilacı üretmek için alternatif birer kaynak olabileceğini düşündürmektedir [10].

Obezite etkilerinin ve mekanizmalarının iyi bir şekilde bilinmesi de ilaç keşfine giden yolda çok önemlidir [11].

Doğada obezite tedavisi için kullanışlı olabileceği düşünülen pek çok sayıdaki doğal ürün polifenoller, apigenin, genistein, flavanoid, kafein ve kateşin gibi aktif bileşenleri içermektedir. Bitkisel kaynaklar içerdikleri bu bileşenler sayesinde sindirim sistemi enzimlerini inhibe etmektedirler [12].

Bu tez kapsamında; halk arasında kilo verme amacıyla yaygın olarak zayıflama çayı olarak kullanılan veya zayıflama çaylarının bileşiminde bulunan yeşilçay, biberiye, mate, zahter, sinirli ot, çoban çökerten, sinameki, barut ağacı ve funda bitkilerinin obezite tedavisindeki potansiyellerini araştırmak üzere metanol, etanol ve su ekstraktları hazırlandı ve bu ekstraktların sindirim enzimlerinden lipaz, α -amilaz, α -glikozidaz ve tripsin ve ayrıca monoamin oksidaz enzimi üzerinde *in vitro* inhibisyon aktiviteleri araştırıldı.

BÖLÜM 2

KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. OBEZİTE

Obezite, tıbbi olarak anormal veya aşırı vücut yağındaki birikim olarak karakterize edilmekle birlikte insan sağlığı üzerine zararlı etkileri olan bir durum olarak tanımlanmaktadır [8]. Tüm dünyada obezite'nin yaygınlığı giderek artmaktadır [12].

Obezite sosyal, biyolojik ve psikososyal faktörleri içeren kompleks bir durumdur. Hareketsiz yaşam stili ve yüksek kalorili diyetin obezitenin gelişiminde en önemli faktörler olduğu görülmektedir [12].

Obezitenin yaygınlığı, ciddi morbidite ve mortalite ve yaşam kalitesinin düşmesi ile sonuçlanan hastalıklarla ağırlıklı olarak ilişkili olması nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunudur [13].

Obeziteyi belirlemek için Dünya Sağlık Örgütü'nün obezite sınıflandırması kullanılmaktadır. Bunlar; vücut kitle indeksi (VKİ) ve bel kalça oranıdır.

VKİ, bireyin vücut ağırlığının (kg), boy uzunluğunun (m) karesine ($VKİ = \frac{kg}{m^2}$) bölünmesiyle elde edilen bir değerdir [14]. VKİ'ye göre bireylerin zayıf, normal kilolu, fazla kilolu ve obez sınıflandırılması yapılmaktadır. Bu sınıflandırma Tablo 2.1'de gösterilmektedir.

Tablo 2.1. Yetişkinlerde VKİ'ye göre obezite sınıflandırılması

Sınıflama	VKİ Değerleri
Zayıf	< 18.5
Normal	18.5-24.9
Fazla Kilolu	25.0-29.9
Şişman	>30
1. Derece Obez	30.0-34.9
2. Derece Obez	35.0-39.9
3. Derece Obez	>40

İkinci ölçüt olan bel çevresinde WHO'ya göre kadınlarda bel çevresinin kalça çevresine oranı 0.85'ten ve erkeklerde ise 1'den fazla olan bireyler obez olarak kabul edilmektedir [15]. Yetişkin bireylerde bel çevresi ölçümüne göre obez olma riski Tablo 2.2'de verilmiştir.

Tablo 2.2. Yetişkinlerde cinsiyete bağlı olarak bel çevresi ölçümüne göre obezite hastalığı oluşma riski

Cinsiyet Risk (VKİ>25)	Yüksek Risk (VKİ>30)
Erkek >94	>102
Kadın >80	>88

Bu anlamda, bel ölçüsü de abdominal yağ dağılımı ve sağlık problemlerinin bir göstergesi olarak pratikte obezitenin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Yağların bireylerin bel veya kalça çevresinde toplanmasına bağlı olarak bireyler; armut tipi veya elma tipi şişman olarak sınıflandırılmaktadır.

Armut tipi şişmanlık, yani ginoid obezite yağların bedenin alt bölümlerinde, basen ve kalça çevresinde toplanmasıdır. Elma tipi şişmanlık diye bilinen android obezitede yağlar bel çevresinde toplanmaktadır. Elma tipi şişmanlık, daha çok erkeklerde görülürken, armut tipi şişmanlık ise daha çok kadınlarda görülmektedir.

Yağların özellikle karında ve iç organlarda biriktiği elma tipi şişmanlık, hastalık risklerini arttırdığı için sağlık açısından daha tehlikelidir [15].

Fazla kilolu olma ve obezite özellikle tip 2 diyabet açısından bir risk faktörüdür. Dünyada 346 milyon insanın pankreatik beta hücrelerinin fonksiyonel bozukluğu ve/veya glukoz toleransı ile eşleşen artan insüline direnç nedeniyle tip 2 diyabetten muzdarip olduğu düşünülmektedir [16].

Şeker hastalığı veya diyabet (*Diabets mellitus*), kronik hiperglisemi veya insülin eksikliği salınımdan kaynaklanan karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında bozukluklar ile yüksek kan şekerleri düzeyleri ile karakterize metabolik bir hastalıktır. Obezite tip 2 diyabetin önemli ölçüde etkileyen komplikasyonlara sahiptir ve giderek yaygınlaşmaktadır. [17].

Diyabet kronik bir hastalıktır ve koroner damar hastalıkları ve dislipidemi dahil olmak üzere birçok tıbbi komplikasyon geliştirmek için önemli bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir [18]. Diyabet tedavisinde terapötik yaklaşımlardan biri glukoz emiliminin geciktirilmesiyle postprandiyal hiperglisemiyi azaltmaktır. α -amilaz gibi karbonhidratları hidroliz eden enzimlerin inhibisyonu bu akışı kesmek için bir yol olarak kabul edilmektedir [19]. Çünkü bu enzimler karbonhidratların sindiriminde önemli bir rol oynamaktadır [20].

Obezitenin yaygınlığı önemli bir halk sorunudur. Morbidite ve mortalite gibi kilo ile ilişkili hastalıklar önemli ölçüde yaşam kalitesinin düşmesine neden olmaktadır [21]. Obezitenin giderek artan sıklığı salgın olarak büyümeye devam edeceğini göstermektedir [22]. Adipoz dokulardaki düşük dereceli iltihabik süreç, tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar gibi obezite ile ilişkili hastalıkların geliştirilmesinde anahtar olarak tanımlanmıştır [23].

Dünyada obezitenin gelişimini yavaşlatmak için anti obezite stratejiler için diyet ve yaşam tarzı değişiklikleri üzerine odaklanılmıştır [24]. Son zamanlarda obezite ile mücadele için beslenme alanında yapılan araştırmalarda, doğal ürünlerin obezite ile mücadelede potansiyel olabileceği konusu ilgi uyandırmaktadır [25]. Bu yüzden obezite tedavisinde doğal ürünler araştırma altındadır. Çünkü varolan ilaçlar yüksek maliyetlidir

ve tehlikeli yan etkileri vardır. Doğal ürünler gelecekte alternatif obezite ilacı üretmek için alternatif bir strateji olabilir [26].

2.3. Tez Çalışmasında Kullanılan Bitkiler

Bu tez çalışmasında kullanılan bitkiler piyasadaki zayıflama çaylarının içeriğini oluşturan veya tek başına zayıflama çayı olarak da kullanılan yeşilçay, mate, biberiye, çoban çökerten, funda, zahter, sinirli ot, sinameki ve barut ağacıdır.

2.3.1. Yeşil Çay (*Camellia sinensis*)

Dünya nüfusunun üçte ikisi suyun yanında en çok çayı tüketmektedir. En büyük çay üreticileri arasında, Çin Halk Cumhuriyeti, Hindistan, Kenya, Srilanka ve Türkiye vardır. Küresel olarak Hindistan Çin'den sonra çay üretiminde 2. sıradadır. Dünyada içecek olarak kullanılan çay, tüketicilerin tercihlerine göre farklı fermentasyon, tat ve renk derecelerine sahiptir [27].

Yeşilçay *Camellia sinensis* bitkisinin yapraklarından M.Ö 3000 yılında ya da daha önce Çin'de keşfedilmiştir. Bugün önemli tıbbi etkilerinin olduğu bilinmektedir [29].

1000 yıl önce Budist rahipler tarafında Çin'den Japonya'ya getirilmiştir. Japon Zen rahip Esoni "Mutfak-Yajoki" adında yayınladığı kitabında çay yapraklarının hasadını, üretim süreçlerini ve farmakolojik etkilerini tanımlamıştır [28].

Günümüzde bilimsel kanıtlar yeşilçayın sağlık için çok yararlı olduğunu ve özelliklede sağlığa yararlı birçok çay bileşenini içerdiğini göstermektedir. Yeşilçay sağlığa yararlı çay kateşinlerini özellikle de epigallokateşingallat içermektedir. Epigallokateşingallat sadece yeşilçayda bulunmaktadır [28,29].

Yeşilçayın sağlığa yararlı olmasının yanında; anti-kanser, antiobezite, antiaterosklerotik, antidiabetik, antibakteriyel, antiviral gibi etkileri de vardır. Aynı

zamanda yeşilçay, içeriğinde bulunan kafein nedeniyle uyarıcı, uyanıklık, yorgunluk hissi azaltıcı ve idrar söktürücü etkiye sahiptir. Çayda bulunan tanenler ve aminoasitler de beyin ve sinir fonksiyonlarının düzenlenmesini de sağlamaktadır [30].

2.3.2. Mate (*Ilex paraguariensis*)

Yerba mate çayı, (*Ilex paraguariensis*)St.Hill yapraklarından hazırlanarak bitkisel çay olarak tüketilmektedir.Brezilya, Arjantin, Paraguay,Uruguay'da yaygın olarak tüketilmektedir ve son yıllarda dünya çapında popüler hale gelmiştir[31].

Yerba mate çayları diyeteye ilave bir katkı maddesi olarak konsantre halde çeşitli çay poşetleri halinde piyasada yer almaktadır [32,33]. Mate çayında çok sayıda aktif fitokimyasal tespit edilmiştir. Polifenoller (klorojenik asit), ksantinler (kafein ve teobramin), pürin alkaloidler (kafeik asit), 3,4-dikaffeoilkuinik asit, 3,5-dikaffeoilkuinik asit, saponinler, flavonoidler (kersetin, kamferol ve rutin), aminoasitler, vitaminler (C, B1 ve B2) ve mineraller (P, F ve Ca) içerir [34,35]. Mate çayı önemli farmakolojik özelliklere sahiptir. Bunlar; antioksidan, antiinflamatuvar, antiobezite ve hipoglisemik aktivitelerdir. Mate çayının inasanlarda ve hayvanlarda; kandaki lipit seviyesini de ayarlayabileceği rapor edilmiştir. Ancak; lipit düşürücü mekanizması ve endotel fonksiyonu üzerindeki etkisi belirsizdir [36,37].

2.3.3. Funda (*Calluna vulgaris*)

Funda (*Calluna vulgaris*) Ericacea ailesinden Calluna cinsinin tek türüdür [38]. Bataklık bitki örtüsü ve asidik çam ve meşe ormanlarında, Avrupa fundalık ve kırlarında baskın, küçük, yıllık bir bitki türüdür [39].

Funda çiçekleri enflamasyon hastalıklarının tedavisinde yüzyıllardır bitkisel materyal olarak kullanılmaktadır. Farmakolojik çalışmalar bitki ekstraktlarının; antioksidan, antiinflamatuvar ve antiproliferatif etkileri olduğunu göstermektedir. Bu etkileri, çeşitli polifenoller, triterpenoidler ve ursolik asitlerden kaynaklanmaktadır.

Triterpenoidler; fitokimyasallar grubunun önemli bir bileşenidir ve çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğundan çeşitli farmakolojik etkiler gösterdiği bilinmektedir [40].

2.3.4. Biberiye (*Rosmarinus officinalis*)

Rosmarinus officinalis L. (Lamiaceae) biberiye olarak bilinmektedir. Avrupa, Asya ve Afrika ve Akdeniz havzasında yaygın olarak dağılmış bir bitki türüdür.

Biberiye, başta mutfakta gıdaların lezzetini arttırmak için kullanılmasının yanısıra halk hekimliğinde tıbbi açıdan şifalı bir bitki olarak da kullanılır [41]. Günümüzde, doğal aktif bileşenler içermesi nedeniyle fonksiyonel gıda sektöründe özel ilgi alanı içerisindedir. Aslında bu bitki hepatoprotaktif, antibakteriyal, antitrombotik, antiülserojenik, diüretik, antidiyabetik, antinosiseptif, antiinflamatuvar, antitümör ve antioksidan gibi farmakolojik aktivitelere sahiptir [42].

2.3.5. Sinameki (*Cassia angustifolia* L.)

Cassia angustifolia L. sinameki adıyla bilinmektedir [43]. Güney Hindistan'da yetiştirilen değişik dallandırılmış bir çalıdır. *Cassia angustifolia* L. Caesalpiniaceae ailesinden olup kısa, küçük boylu çalı olarak bilinmektedir. Bitki; Arabistan ve Somali'de yaprakları ve meyvesi için yetiştirilmektedir.

Bu bitkinin hemen hemen her bölümü tıbbi ve farmasotik uygulamalarda yaygın olarak kullanılabilir özelliktedir.

Yaprakları kabızlık için faydalıdır. Damar büzülmesi, müshil, kan tazeleyici, kurt ilacı, balgam söktürücü ve ateş düşürücü olarak kullanılmaktadır.

Sinamekinin müshil özelliği yapısındaki antrokinon türevlerinden kaynaklanmaktadır. Bitki içerisinde serbest ve bileşik formunda p-sitosterol (% 0.33), sennozid A, B, C, D ve aloe amin içerir [44].

2.3.6. Zahter (*Thymbra spicata* L. var. *spicata*)

Zahter veya karabaş kekik olarak bilinmektedir. Zahter ekonomik olarak önemli bir bitkidir. Çoğunlukla kurak veya yarı kurak, sıcak ve dağlık bölgelerde yetişen iki çenekli kısa çalılardır [45].

Thymbraspicata neredeyse tüm Doğu Akdeniz bölgelerine kadar uzanan çok geniş bir dağılım alanına sahiptir. Türkiye’de de Akdeniz bölgesinde yarı kurak iklim koşullarında 121 m’den 1248 m’ye kadar yükseklikte kalkerli yamaçlarda, açık ve güneşli yerlerde yetişir [45].

T. spicata uçucu yağ bileşikleri içerir. Uçucu yağ bileşiklerinin türü büyüdüğü alana, büyüme aşamasına ve yağ çıkarma işlemine bağlı olarak değişiklik gösterir. % 60-80 oranında esansiyel yağ içerir [46].

T. spicata’nın yaprakları ve uçucu yağlar gıdalarda, tıpta antiseptik ve antimikrobiyal ajan olarak, endüstriyel alanda gıda ürünlerinde, likör üretiminde, parfümlerde, bitkisel çay ve baharat çeşidi olarak kullanılmaktadır [47].

2.3.7. Barut Ağacı (*Rhamnus frangula* Linn)

Rhamnus frangula Rhamnaceae ailesinden olup Avrupa İlaç Ajansı tarafından tıbbi bitkisel ürünler içinde geleneksel bir bitki olarak kabul edilir. Yüzyıllardır meyvesi ve ağaç kabuğu ilaç olarak kullanılmaktadır. Bu bitkilerin kabuğu antrokinon karışımı, flavanoidler, tanen ve peptid alkaloidler içerir. Bu bitkiler müshil, pürsatif bağışıklık sistemi, metabolik süreçler, antiinflamatuvar, antimikrobiyal olarak halk arasında kullanılmaktadır [48].

2.3.8. Çoban Çökerten (*Centaurea solstitialis*)

Çoban çökerten bitkisine demir diken, çakır diken, deve çökerten, çarık diken de denir. *Centaurea* cinsi Batı Asya ve Akdeniz çevresinde dağılmış yaklaşık 500 tür içermektedir. Türkiyede bu cins 114 endemik bitki, 187 takson ile temsil edilmektedir

[49]. Cetaurea türlerinin bir kaçının toprak üstündeki kısımları; ishal giderici, antipiretik, diüretik, kloretik, antiinflamatuvar ve antibakteriyal olarak halk hekimliğinde kullanılmaktadır [50]. Örneğin; *Centaurea pulchella*, *Centaurea drabifolia* ve *Centaurea solstitialisin* Türk halk ilacı olarak, apseler, hemoroid, peptik ülser ve soğuk algınlığı tedavisinde kullanıldığı rapor edilmiştir [51].

2.3.9. Sibirli Ot (*Plantago lanceolata*)

Plantago türleri Avrupa ve Amerika'da yaygındağıtılan Plantaginaceae ailesinden çok yıllık otlardır ve 256'nın üzerinde türü vardır. Bazı türlerin çoğunlukla toprak üstü kısımları ve yapraklarının polar ekstraktları halk arasında hastalıkların tedavisinde ve fitoterapi hekimliğinde kullanılır. Bu kısımlar sindirim sistemi ve solunum organları, deri ve enfeksiyon hastalıkları, ağrı ve kanser ile ilgili sorunların tedavisinde kullanılır [52].

Fransa, İtalya ve Güney Afrika başta olmak üzere salatalarda diyetin bir parçası olarak ya da çocuk mamalarında kullanılır [53,54]. Bu bitki türünün kullanımı insan kullanımı için yararlı olmakla birlikte, aynı zamanda hayvan beslenmesi açısından da önemlidir. Hayvanlar için tıbbi değeri olan bir bitkidir, hayvanların tıbbi olarak fizyolojik olarak büyümesini sağlamaktadır. *Plantago* türleri flavonoidler, fenolik bileşikler, fenilpropanoid glikosidler içermektedir. Etkileri içerdiği bileşiklerden kaynaklanmaktadır [55].

2.4. Tez Kapsamında Çalışılan Enzimler

2.4.1. Lipaz

Lipazlar hayvan, bitki, fungus ve bakterilerde bulunan önemli enzimlerdir. İnsan ve yüksek hayvanlarda, pankreatik ve gastrik lipazlar etkin yağ sindirimi için gerekli enzimlerdir [56].

Lipazlar; triaçilgliserol ve fosfolipid içeren yağların sindirilmesinden sorumlu enzimlerdir. İnsanlardaki lipazlar; pre-duodonal (lingual ve gastrik lipaz) ve ekstra duodenum (pankreatik, karaciğer), lipoprotein lipaz ve endotelyal lipaz olarak sayılabilir.

Beslenmeyle alınan yağ, doğrudan bağırsak tarafından emilmez, pankreatik lipaz aktivitesine maruziyet süresince emilir. Pankreatik lipaz besinlerdeki triaçilgliserolleri; monoaçilgliserol ve yağ asitlerine hidrolizleyen emilimde önemli bir enzimdir.

Pankreas tarafından sentezlenen ve salgılanan lipolitik enzim trigliseridlerin sindiriminde etkili rol oynamaktadır. Pankreatik lipaz; 1,3-spesifiye lipaz olup beslenmeyle alınan trigliseridlerin α ve α' -pozisyonundaki yağ asitlerini uzaklaştırır ve sonuçta ürün olarak β -monogliseridler (2-monoaçilgliseroller), uzun zincirli doymuş ve çoklu doymamış yağ asitleri oluşur. Pankreatik lipazlar diyet yağlarının % 50-70 oranında hidrolizinden sorumludur. Besinsel triaçilgliserollerin bu enzimler tarafından monoaçilgliserollere ve serbest yağ asitlerine hidrolizi yağ emilimi için gerekli bir adımdır [56].

Streptomyces toxytricini tarafından üretilen tetrahidrolipstatin (orlistat), doğal lipaz inhibitör türevidir. Pankreatik lipaz inhibitörü olarak orlistat piyasada Xenical, Thincal, Orlistat, Alli vb. ticari adlarla bulunmaktadır. Orlistat emilim öncesi besin parçalanması üzerine etki eden bir ilaçtır ve tehlikeli boyuttaki obeziteyi tedavi etmek için kullanılan bir pankreatik lipaz inhibitörüdür.

Orlistat, lipaz inhibisyon mekanizması yoluyla lipazın katalitik triad olarak adlandırılan katalizdeki en aktif bölgesi olan serin aminoasidine kovalent bağla bağlanarak etki eder. Bir serin hidrolaz olan lipazın dönüşümsüz inhibisyonuna neden olur. Mide bağırsak sisteminde triaçilgliserollerin hidrolizini geciktirmesiyle yemek sonrası plazmadaki lipid seviyesini düşürür ve böylece bağırsak lümeninde yağ asitlerinin emilimini geciktirmiş olur [57].

Pankreatik lipaz inhibitörleri klinik olarak onaylanmasına rağmen orlistatin bazı gastrointestinal etkileri ve kan basıncı artırıcı, ağız kuruluğu, kabızlık, baş ağrısı ve uykusuzluk gibi yan etkileri vardır.

Lipaz inhibitörleri bugün öngörülen antiobezite ilaçlarıdır. Fakat bu moleküllerinin yapılarındaki karmaşıklık nedeniyle yeni moleküllerin geliştirilmesi zordur. Potansiyel ve spesifik lipaz inhibitörlerini dizayn etmek ve sentezlemek antiobezite ajanlarını geliştirmek dahil çeşitli uygulamalar için ve lipaz mekanizmasını anlamak için temel değere sahiptir [58].

2.4.2. α -Amilaz ve α -Glukozidaz

α -Amilaz bakteri, mantar, bitki ve hayvan gibi farklı organizma türlerinden elde edilir. Ancak, amilaz inhibitörleri çoğunlukla bitki veya mikrobiyal kaynaklardan elde edilir. 1200'den fazla bitki türünün yemek sonrası glukoz seviyesini düşürdüğü kaydedilmesine rağmen, amilaz inhibitörleri büyük ölçüde mikrobiyal kaynaklardan elde edilmektedir. Çünkü bitkilerin ekimi için büyük alanlara gereksinim vardır ve ekstraksiyon prosedürlerinin zorluğu sözkonusudur.

α -Amilaz küçük karbonhidrat moleküllerini endo parçalayarak, gıdalarla alınan nişasta üzerinde etkili sindirim enzimidir. Enzim vücutta tükürük bezlerinde ve pankreas hücrelerinde olmak üzere iki yerde sentezlenir. Ağızda parçalanmaya başlanan nişasta molekülleri ince bağırsakta da pankreatik amilazlar tarafından parçalanır [59]. Tükürük ve pankreatik α -amilazların α -1,4 glikozidik bağları hidrolizlemesiyle maltoz ve diğer oligosakkaritleri üretmek için nişastayı hidrolizlerler [60].

Nişastanın hidrolizi α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerinin nişastayı hidrolizlemesi kandaki postprandial glukoz artışının ana sebebidir. Akarboz gibi ilaçlar α -amilaz ve α -glukozidazları inhibe ederek tip 2 diyabetin yönetiminde kullanılır ve rol oynar [61].

Akarboz, tip 2 diyabet tedavisi için ve özellikle de yüksek glukoz düzeyleri tedavisinde kullanılan reçeteli bir ilaçtır [62]. Akarboz, özellikle α -glukozidaz olmak üzere α -amilazı da kapsayan glikozid hidrolazları inhibe eder. Akarboz psödotetrasakkarit olup ticari olarak gelişmiş *Actinoplanes* suşları ve *Streptomyces glaucescens*'den üretilir. *Streptomyces* türleri terapötik uygulamalar için yeni

metabolitlerin üretilmesi ve birkaç türde iyi amilaz inhibitörleri üretilmesi için spesifiktir.

Akarboz, bağırsaklardaki α -glukozidaz enzimi mekanizmasını tersine çevirir ve monosakkarid oluşumunu önler. Böylece monosakkaritlerin kana geçişi geciktirilmiş olur ve postprandial glukoz ve insülin düzeyleri azalır. Piyasada bulunan mevcut ticari amilaz inhibitörlerinin (Glucobay, Precose, Prandas) yan etkileri de sözkonusudur. Mide bağırsak sistemi tarafında salgılanan amilazların inhibe edilmesi ve gıdalardaki karbonhidratların sindirilememesi nedeniyle sindirilemeyen karbonhidratlar emilim bozukluğu ve ishale yol açacaktır. Buna ek olarak amilaz inhibitörleri mide bağırsak sistemindeki bakteriyal fermantasyonu etkileyerek bağırsaktaki bakterilerin dengesini bozacaktır. Bu da şişkinlik, gaz, karın ağrısı, kusma, ishal, gaz ve bulantı gibi yan etkilere sebep olmaktadır [62]. Akarbozun diğer yan etkileri ise, şiddetli deri alerjileri, karaciğer yetmezliği, sistoiller ve enfeksiyon intoleransıdır. Bu nedenle yan etkisi olmayan veya daha az yan etkileri olan amilaz inhibitörlerine ihtiyaç vardır. Polifenoller gibi moleküllerin akarboz benzeri etkilere sahip olabileceği ve α -amilazı inhibe edebileceği düşünülerek bu komponentleri içermek üzere fonksiyonel gıdalar geliştirilmiştir [61].

2.4.3. Tripsin

Tripsin (EC.3.4.21.4) bir serin proteaz olup çoğu omurgalının sindirim sisteminde bulunur ve burada proteinleri hidrolizler [63].

Pankreasta tripsinojen formunda üretilen tripsin, ince bağırsağa bu proenzim formunda gelir ve burada aktive edilir. Tripsin; peptid ve proteinleri karboksi terminal tarafından lizin ve arjinin aminoasitlerinden parçalar. Tripsin pek çok biyoteknolojik süreçte kullanılır. Bu süreçler genellikle tripsin proteolizi veya tripsinizasyon olarak adlandırılır ve tripsinle sindirilen veya muamele edilmiş olan proteinler de tripsinlenmiş olarak tanımlanır.

Tripsin oniki parmak bağırsağında peptit bağlarının hidrolizini katalizler ve proteinleri daha küçük peptitlere ayırır, sonrasında peptit ürünleri diğer proteazlar yardımıyla daha ileri parçalamaya ile aminoasitlerine hidrolizlenir. Böylece kan dolaşımına emilim için uygun hale getirilir. Genellikle çok büyük yapıları olan proteinlerin ince bağırsak boyunca adsorbe edilebilmesi için, protein emiliminde triptik sindirim zorunlu adımdır [64].

Tripsin, pankreasta yüksek miktarda mevcuttur ve oldukça kolay saflaştırılabilir. Bu nedenle çeşitli biyoteknolojik proseslerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Doku kültürü çalışmalarında, süttten kazeini ayırmada, proteomikte kütle spektrometresi analizi için jeldeki proteinleri peptitlere parçalamada, gıda endüstrisinde süt, peynir, et, balık ürünleri, lezzet bileşikleri, alerjen proteinleri uzaklaştırılmış hipoalerjenik gıdalar elde etmede kullanımı örnek olarak verilebilir [65].

2.4.4. Monoamonoksidaz

Monoaminoksidaz (MAO), nöral ve nöral olmayan hücre mitokondri dışı membranında bulunan bir enzimdir. MAO enziminin MAO-A ve MAO-B olmak üzere iki farklı formu yaygındır. MAO-A ve MAO-B endojen ve ksenobiyotik aminlerin oksidatif deaminasyonundan sorumlu enzimlerdir. Onların farklı substrat seçiciliği, doku dağılımı ve inhibitör seçiciliği vardır [66].

MAO-A tercihen serotonin, nöradrenalin ve adrenalini deamine eder. İnsan beyni yaklaşık % 75 MAO-B sentezler [67]. MAO-B ise β -feniletilamin ve benzamin moleküllerini deamine eder. Sinir terminallerinde monoaminergic artış, depolanan MAO inhibitörlerinde bir artışa neden olur. MAO-A inhibisyonu depresyonda ve anksiyete bozukluklarında önemli olduğu düşünülen nörotransmitterleri etkiler. MAO-B inhibitörleri dopamin seviyelerine bağlı olarak artar. Selegilin tek geri dönüşümsüz MAO-B inhibitörüdür ve pekçok ülkede ilaç pazarında onaylı olarak yer almaktadır [68]. Son zamanlarda MAO-B inhibitörleri anksiyete bozukluklarının tedavisinde ve Alzheimer hastalıklarının tedavisinde de kullanılmaktadır [69].

MAO-B enzimi ayrıca nöron koruyucu etkiye sahiptir. MAO-B ile oksitleme aşamasında reaktif oksijen türleri elde edilir. Amin ve peroksit reaksiyonunda yan ürün olarak hidrojen peroksit ve diğer reaktif oksijen türleri oluşur. Bunlar da nöral fonksiyonların bozulmasına veya sonunda nöral hücrelerdeölüme neden olur [70]. MAO'nun farmasötik potansiyeli, özellikle MAO-B inhibitörleri için aktif yeni bileşiklerin araştırılmasına yol açmıştır.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyaller

3.1.1. Kimyasal Maddeler

Deneyleerde kullanılan reaktifler aşağıda belirtilen firmalardan satın alınmıştır:

Pankreatik α -amilaz, dinitrosalisilik asit, akarboz, *Sacchromyces cerevisia* kaynaklı α -glukozidaz, 4-nitrofenil- α -D-glukopiranoz, domuz pankreatik lipazı, N- α -benzoil-D,L-arginin p-nitroanilit, tripsin, orlistat, fenilmetilsülfoksit, monoaminoksidaz A, 4-aminotipirin, klorjilin, Horse radish peroksidaz, vanilik asit, Triton X-100 Sigma Aldrich firmasından satın alındı.

Nışasta, Tris, dimetilsülfoksit, etanol, sodyum karbonat, metilen klorür, sodyum hidroksit, metanol, sodyum potasyum tartarat, asetik asit, monosodyumdihidrojen fosfat, asetonitril Merck firmasından sağlandı.

Hidroklorik asit, disodyumfosfat, Sodyum klorür Riedel-de Haen firmasından satın alındı.

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

- Blender (Waring)
- Çalkalamalı su banyosu (Wisebath Daihan)
- Orbital alkalayıcı (Wiseshake Daihan SHO- 1D)
- Su Banyosu (Clifton)
- Rotaevaporatör (Buchi)
- Derin dondurucu(-80 °C) (Wise Cyro Daihan)
- Buzdolabı (Arçelik)
- Ultrasonik su banyosu (Wiseclean Daihan)
- pH Metre (Jenco 6173)
- Terazı (Presica XB 220A)
- Spektrofotometre ve mikroplaka okuyucu (Thermo Scientific)
- Mikro pipetler (Eppendorf)
- Santrifüj (Hettich-Rotina 38R)
- Vorteks (Whirli mixer)
- Liyofilizatör (Wirtis Sp Scientific Sentry 2.0)
- Isıtıcı ve manyetik karıştırıcı (IKA RH basic-2)

3.1.3. Hazırlanan özeltiler

α -Amilaz enzim inhibisyonu için hazırlanan özeltiler

- 1 U/mLamilaz çözeltisi (w/v) (domuz pankreatik)
- 10 mg/mL dinitro salisilik asit özeltisi
- 2 N sodyum hidroksit çözeltisi
- % 1'lik nişasta özeltisi
- 0.02 M sodyum fosfat tamponu (pH6.9)
- 50, 100, 200, 250, 500, 1000 μ g/mL konsantrasyonlarında bitki ekstraktları
- 50, 100, 200, 250, 500, 1000 μ g/mL konsantrasyonlarında akarboz çözeltileri

α - Glukozidaz enzim inhibisyonu için hazırlanan çözeltiler

- 50 mM sodyum asetat tamponu (pH 5.2)
- 20 $\mu\text{g/mL}$ α - glukozidaz çözeltisi (*Sacchromyces cerevisia*)
- 0.1 M Na_2CO_3 çözeltisi
- 0.1 M fosfat tamponu (pH 6.8)
- 5 mM 4-nitrofenil- α -D-glukopiranoz çözeltisi
- 50, 100, 250, 500, 750, 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarda DMSO'da hazırlanmış bitki ekstraktları
- 50, 100, 250, 500, 750, 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarda DMSO'da hazırlanmış akarboz çözeltileri

Lipaz enzim inhibisyonu için hazırlanan çözeltiler

- Potasyum fosfat tamponu (pH 6.0)
- % 0.001'lik Triton X-100
- 0.1 M KH_2PO_4
- 0.1 M K_2HPO_4
- 1 mg/mL Domuz pankreatik lipaz çözeltisi (Tris-HCl tamponunda)
- 250 mM p-nitropalmitat çözeltisi (metilen klorürde)
- 150 mM NaCl
- 0.02 M Tris-HCl (pH 8.0)
- 50, 100, 250, 500, 750, 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarda bitki ekstraktları
- 50, 100, 250, 500, 750, 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarda orlistat çözeltileri

Tripsin enzim inhibisyonu için hazırlanan çözeltiler

- 0.1 M Tris- HCl tamponu (pH 7.5)
- 0.25 mg/mL tripsin çözeltisi
- 0.001N HCl çözeltisi
- 20 mg/mL N- α -benzoil-D,L-arginin p-nitroanilit çözeltisi (DMSO'da)
- 50, 100, 250, 500, 750, 1000 μ g/mL konsantrasyonlarda bitki ekstraktları
- 50, 100, 250, 500, 750, 1000 μ g/mL konsantrasyonlardafenil metil sülfoksit çözeltileri

Monoaminooksidaz-A enzim inhibisyonu için hazırlanan çözeltiler

- 2.5 mM tiramin çözeltisi
- 4 U/mL peroksidaz (horse radish)
- 0.1 M KH_2PO_4
- 0.1 M K_2HPO_4
- 1 mg/mL monoamino oksidaz çözeltisi (DMSO'da)
- 1 mM vanilik asit
- 0.5 mM 4-amino tipirin
- 0.2 M potasyum fosfat tamponu (pH 7.6)
- 100, 250, 500, 750, 1000 μ g/mL konsantrasyonlarında bitki ekstraktları
- 100, 250, 500, 750, 1000 μ g/mL konsantrasyonlarında klorjilin çözeltileri

3.2. Metotlar

3.2.1. Bitkilerinden Ekstrakt Hazırlanması

3.2.1.1. Metanol ve Etanol Ekstratlarının Hazırlanması

Kilo verme amacıyla sıklıkla bitkisel zayıflama çayı olarak kullanılan veya zayıflama çay karışımlarının bileşiminde bulunan Yeşilçay, Mate, Sinameki, Barut ağacı, Funda, Zahter, Sınırlı ot, Biberiye, Çoban Çökerten bitkileri Edirne’de bir aktardan kurutulmuş olarak satın alındı.

Ekstrakt hazırlamak için bu bitkiler Waring blendırdan geçirilerek toz haline getirildi. Toz haline getirilen bitkilerin herbirinden iki ayrı erlene 20’şer g tartıldı. Bu erlenlerden ilkinde 400 mL metanol, ikincisine 400 mL etanol ilave edildi ve çalkalayıcıda 25° C, 125 rpm’de 24 saat boyunca çalkalandı. 24 saatin sonunda, süzgeç kağıdından süzöldü ve süzöntöler ayrı balonlarda toplandı [71].

İşlem yeniden tekrar edilerek bitki kalıntılarının özerine 400’er mL taze metanol ve etanol ilave edildi ve aynı süre çalkalandı. 24 saatin sonunda süzöldü ve süzöntöler ilk ekstraktların olduğu balonlarda toplandı ve çözücöleri rotaevoparatörde uzaklaştırıldı.

Balondaki ekstrat kalıntısı az miktar etanol ile çözülerak petri kaplarına alındı. Oda koşullarında çözücöleri uçuncaya kadar bekletilen petri kaplarındaki bitki ekstraktları enzim inhibisyon deneylerinde kullanılmıncaya kadar -20 °C’de saklandı.

3.2.1.2. Su Ekstratlarının Hazırlanması

Su ekstraksiyonları infüzyon yöntemiyle hazırlandı. Bu amaçla Waring blendırda toz haline getirilen bitkilerden erlenlere 20’şer g tartılarak özerlerine 400’er mL kaynatılmış destile su konuldu. Sonra bu karışım daha önceden ısıtılmış ısıtıcı tabla özerinde homojenatların kaynamalarına izin verilmeksizin 30 dakika bekletilerek infüzyon işlemleri gerçekleştirildi [72]. Erlen içerikleri süzöldü ve süzöntöler ayrı

balonlarda toplandı. -20 °C’de dondurulduktan sonra Trakya Üniversitesi Teknoloji, Araştırma, Geliştirme ve Uygulama Merkezi (TÜTAGEM)’nde liyofilize edildi. Elde edilen bu bitki ekstratları deneylerde kullanılıncaya kadar -20 ° C’de depolandı.

Etanol, metanol ve su çözücüleri kullanılarak hazırlanan bitki ekstratlarından 1 mg/mL konsantrasyonlarında stok çözeltiler hazırlandı. Bu stok çözeltiler 50, 100, 250, 500, 750 ve 1000 µg/mL konsantrasyonlarında seyretilerek enzim inhibisyon çalışmalarında kullanıldı.

3.2.2. Lipaz İnhibisyonunun Belirlenmesi

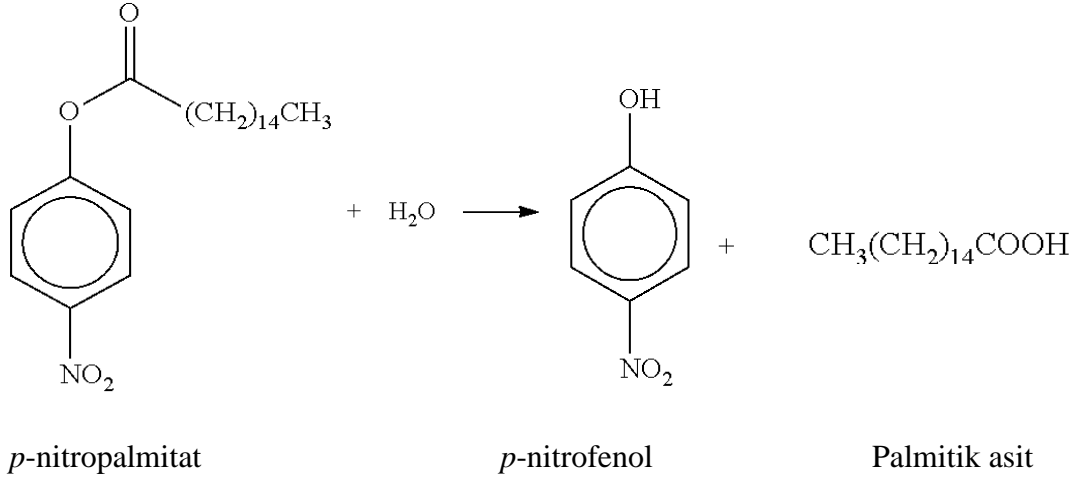
Lipaz inhibisyon çalışmaları Souza ve arkadaşlarının metoduna göre yapıldı [73]. Domuz pankreatik lipaz çözeltisi 10 mg/mL konsantrasyonunda olacak şekilde 0.02 M Tris-HCl tamponunda (pH 8.0) hazırlandı. Hazırlanan enzim çözeltisi santrüflenerek çalışmalarda süpernatant kısmı kullanıldı. Lipaz inhibisyon çalışmalarında substrat olarak metilen klorürde hazırlanmış 250 mM *p*-nitrofenol palmitat çözeltisi kullanıldı.

Mikroplakadaki kuyucuklara konsantrasyon yukarıdan aşağıya doğru artacak şekilde 50, 100, 250, 500 750 ve 1000 µg/mL konsantrasyonlarındaki bitki ekstratlarından 20 µL koyuldu ve üzerine 20 µL pankreatik lipaz çözeltisi koyularak 10 dakika inhibisyon işlemi için bekletildi. Sürenin sonunda 200 µL substrat *p*-nitrofenol palmitat ilave edilerek 15 dakika enzimatik reaksiyonun gerçekleşmesi için bekletildi. 15 dk’nın sonunda UV-Spektrofotometrede 405 nm’de absorbans ölçümü yapıldı.

Çalışmalarda pozitif kontrol olarak orlistat kullanıldı. Orlistat çözeltileri de bitki ekstratları ile aynı konsantrasyonlarda hazırlanarak bitki ekstratları yerine pozitif kontrol olarak orlistat çözeltileri kullanılarak lipaz inhibisyon deneyleri yukarıda belirtildiği gibi gerçekleştirildi ve absorbansları belirlendi.

Bütün bitki ekstratları ve pozitif kontrol çözeltilerinin inhibisyon denemeleri, diğer kontrol ve kör denemeleri en az üçlü tekrarlar halinde yürütüldü.

Lipaz enzimi ile substrat *p*-nitrofenil palmitat arasındaki kimyasal reaksiyonu Şekil 3.1’de verilmiştir



Şekil 3.1. Lipaz enziminin *p*-nitro palmitat substratı ile kimyasal reaksiyonu [74]

Tüm ekstraktların ve pozitif kontrol orlistatin lipaz enzimi % İnhibisyon aktiviteleri aşağıdaki formül yardımıyla belirlendi.

$$\% \text{ İnhibisyon} = \left[100 - \left(\frac{\text{Abs ekstrakt}}{\text{Abs enzim}} \right) \right] * 100$$

Ab_{Ekstrakt}: İnhibitör koyulmuş (bitki ekstraktı veya orlistat) kuyucukların sonunda 405 nm’de ölçülen absorbansı

Ab_{Enzim}: İnhibitör ilave edilmeyen, % 100 aktif kabul edilen kontrol örneğin 405 nm’deki absorbansı

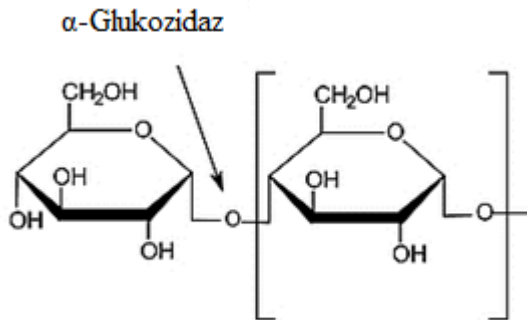
% İnhibisyon değerleri belirlendikten sonra % İnhibisyon-Konsantrasyon grafikleri yardımıyla IC₅₀ değerleri belirlendi. IC₅₀, maksimum inhibitör konsantrasyonunun yarısı olup, spesifik biyolojik veya biyokimyasal bir fonksiyonu inhibe etmede kullanılan inhibitörün etkinliğinin ölçüsüdür. Birimi, konsantrasyonbirimi cinsindedir. IC₅₀ değeri ne kadar küçükse o maddenin etkinliği o kadar yüksek kabul edilir [77] .

3.2.3. α -Glukozidaz İnhibisyonun Belirlenmesi

Kwon ve arkadaşlarının modifiye edilmiş metoduna göre gerçekleştirilen α -glukozidaz inhibisyon çalışmasında [76] bitki ekstraktlarının α -glukozidaz inhibisyon aktivitesini belirlemek üzere, 20 $\mu\text{g/mL}$ α -glukozidaz çözeltisi 0.1 M fosfat tamponunda (pH 6.8) hazırlandı. Substrat olarak 5 mM 4-nitrofenol- α -D-glukopiranoz çözeltisi kullanıldı. Bitki ekstraktlarının 1 mg/mL konsantrasyonda stok çözeltileri DMSO'da hazırlandı. Hazırlanan bu stok çözeltiden seyreltmeler yapılarak 50, 100, 250, 500, 750 ve 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarda bitki ekstrakt çözeltileri hazırlandı.

Mikroplaka okuyucuya yukarıdan aşağıya doğru artan konsantrasyonlarda olacak şekilde 20 μL bitki ekstraktı konuldu. Bitki ekstraktlarının üzerlerine 20 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda hazırlanmış α -glukozidaz çözeltisinden 20 μL ilave edilerek inhibisyon işlemini gerçekleştirmek amacıyla 37 °C'de, 10 dakika bekletildi. 10 dakikanın sonunda 100 μL substrat ilave edilerek 37°C de 10 dakika daha inkübasyon işlemi gerçekleştirildi. 0.1 M Na_2CO_3 çözeltisinden 80 μL ilave edilerek reaksiyon durduruldu ve UV Spektrofotometrede 37°C 405 nm'de absorbans ölçümleri gerçekleştirildi.

α -glukozidaz enzimi enzimatik aktivitesi sırasında substrat molekülünün ucundaki bir glukoz molekülünün α -1,4 bağımlı hidroliz ederek serbest kalmasını sağlar, reaksiyonu Şekil 3.2'de verildiği gibidir.



Şekil 3.2. α -glukozidaz enziminin substratı nişasta ile etkileşimi [75]

Enzim inhibisyon çalışmalarında pozitif kontrol olarak akarboz kullanıldı. Bitki ekstraktları ile aynı konsantrasyonlarda hazırlanan akarboz çözeltileri için de yukarıda belirtildiği gibi α -glukozidaz inhibisyon denemeleri gerçekleştirildi.

Ayrıca bitki ekstraktı ve akarboz kullanılmadan kontrol denemeleri, enzim yerine tampon içeren kör denemeleri de yapıldı.

Okunan absorbanlardan kör deneme sonuçları çıkarıldı ve aşağıdaki formül yardımıyla ekstraktların ve pozitif kontrolün % α -glukozidaz inhibisyon aktiviteleri belirlendi.

$$\% \text{ İnhibisyon} = \left[100 - \left(\frac{\text{Abs ekstrakt}}{\text{Abs enzim}} \right) \right] * 100$$

Ab_{Ekstrakt}: İnhibitör (ekstrakt çözeltisi veya akarboz) koyulmuş kuyucukların sonunda 405 nmde ölçülen absorbası

Ab_{Enzim}: İnhibitör (ekstrakt çözeltisi) ilave edilmeyen, % 100 aktif kabul edilen kontrol örneğin 405 nm'deki absorbası

Bütün bitki ekstraktları ve pozitif kontrol çözeltilerinin inhibisyon denemeleri, diğer kontrol ve kör denemeleri en az üçlü tekrarlar halinde yürütüldü.

Çalışmaların sonunda konsantrasyona ($\mu\text{g/mL}$) karşı % İnhibisyon grafikleri çizildi ve bu grafikler yardımıyla inhibisyon gözlenen bitki ekstraktlarının IC₅₀ değerleri belirlendi.

3.2.3. α -Amilaz İnhibisyonunun Belirlenmesi

α -amilaz enzimi inhibisyon çalışmaları Puteri ve arkadaşlarının metoduna göre yürütüldü [75].

Pankreatik α -amilaz enzim çözeltisi 0.02 M sodyum fosfat tamponunda (pH 6.9) 1 U/mL konsantrasyonda hazırlandı. Aynı tamponda hazırlanmış % 1'lik nişasta çözeltisi enzim inhibisyon çalışmalarında substrat olarak kullanıldı.

Çalışmalarda kullanılmak üzere 1 g DNS 50 mL destile suda çözüldü ve üzerine 30 g sodyum potasyum tartarat eklendi. Bu karışım 20 mL 2 N sodyum hidroksit ile karıştırılarak 100 mL'lik balon jöjeye alındı ve su ile 100 mL'ye tamamlandı.

α -amilaz inhibisyon deneylerinde kaynatma işlemi olduğu deneysel prosedür cam parmak tüplerde, absorbans okumaları ise mikropilaka okuyucuda yapıldı.

Deney tüplerine 50, 100, 250, 500, 750 ve 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarındaki bitki ekstratlarından koyuldu. Üzerlerine 50 μL α -amilaz çözeltisi ilave edildi ve oda koşullarında 10 dk inhibisyon işlemi için bekletildi. 10 dk'nın sonunda substrat olarak hazırlanmış 50 μL % 1'lik nişasta çözeltisi ilave edilerek enzimatik aktivite için 10 dk daha bekletildi. Bekleme süresinin ardından 100 μL DNS çözeltisi ilave edilerek tüpler 5 dakika sıcak su banyosunda kaynatıldı. Tüpler oda sıcaklığına getirilerek üzerlerine 1 mL destile su eklendi. Bu karışımlardan 200 μL mikropilaka kuyucuklarına pipetlendi ve UV-Spektrofotometrede 540 nm'de absorbans ölçümleri yapıldı. Her numune için kontrol tüpleri (inhibitör yerine tampon) ve numune körleri (enzim yerine tampon) hazırlandı.

Pozitif kontrol olarak akarboz kullanıldı ve aynı işlemler aynı konsantrasyonlarda hazırlanan akarboz çözeltileri ile de gerçekleştirildi.

Tüm örnekler için okunan absorbans değerlerinden ilgili körlerin absorbans değerleri çıkarılarak aşağıdaki formül yardımıyla % amilaz inhibisyonları hesaplandı.

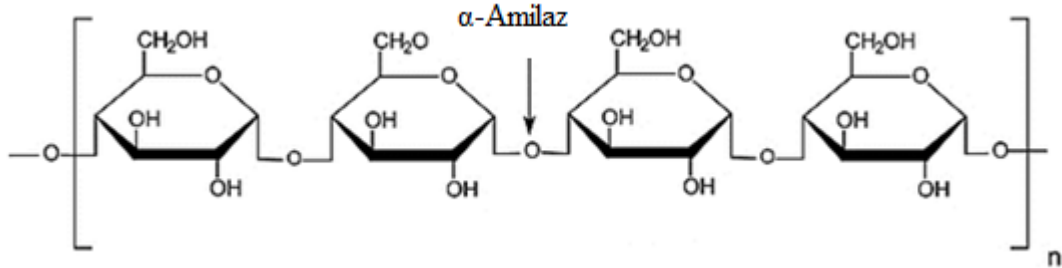
$$\% \text{ Inhibisyon} = \left[100 - \left(\frac{\text{Abs ekstrakt}}{\text{Abs enzim}} \right) \right] * 100$$

$\text{Abs}_{\text{Ekstrakt}}$: İnhibitör koyulmuş örneklerin ve akarboz çözeltilerinin 540 nm'de ölçülen absorbansı

$\text{Abs}_{\text{Enzim}}$: İnhibitör ilave edilmeyen, % 100 aktif kabul edilen kontrol örneğin 540 nm'deki absorbansı

% İnhibisyon değerleri belirlendikten sonra % İnhibisyon-Konsantrasyon grafikleri yardımıyla IC_{50} değerleri belirlendi.

α -amilaz enzimi substratı olan nişasta molekülü'nün α -(1→4) bağlarını hidrolizleyerek aktivitesini gerçekleştirir ve hidroliz reaksiyonu Şekil 3.3'deki gibidir.



Şekil 3.3. α -amilaz enzimlerinin substratı nişasta ile etkileşimi [75]

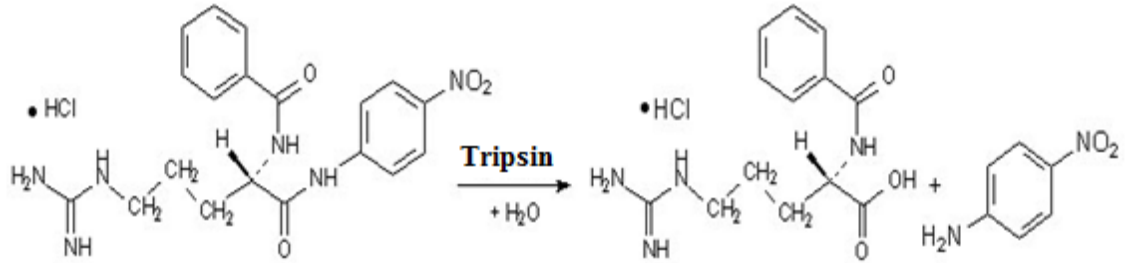
3.2.4. Tripsin İnhibisyonunun Belirlenmesi

Tripsin enzim inhibisyonu Shahwar ve arkadaşlarının metodu modifiye edilerek çalışıldı [78]. Tripsin enzimi 0.5 mg/L konsantrasyonunda 0.001 N HCl çözeltisinde hazırlandı. Substrat olarak N- α -benzoil *p*-nitro anilit (BAPNA) kullanıldı. BAPNA 20 mg/mL konsantrasyonunda DMSO'da hazırlandı.

Mikroplakadaki kuyucuklara yukarıdan aşağıya doğru artan konsantrasyonlarda olacak şekilde 50, 100, 250, 500, 750 ve 1000 μ g/mL konsantrasyonlarındaki bitki ekstraktlarından 30 μ L pipetlendi. Üzerine 10 μ L tripsin çözeltisi ve 170 μ L 0.1 M Tris-HCl tamponu (pH 7.5) tampon çözeltisi ilave edilerek 37°C de 15 dakika inhibisyonun gerçekleşmesi için bekletildi. 15 dk'nın sonunda mikro plakadaki kuyucuklara 20 μ L substrat BAPNA ilave edilerek UV spektrofotometrede 405 nm'de absorbans ölçümleri yapıldı.

Tripsin enzim inhibisyonu çalışmalarında pozitif kontrol olarak 0.0055 g/L konsantrasyonunda etanolde hazırlanmış stok PMSF çözeltisi (Fenilmetilsülfonilflorür) kullanıldı. Bu stok çözeltiden, bitki ekstraktları ile aynı konsantrasyonlarda hazırlanan PMSF çözeltileri ile tripsin inhibisyon denemeleri yukarıda belirtildiği gibi gerçekleştirildi.

Tripsin enziminin yapay substratı N α -benzoil p-nitroanilit ile enzim reaksiyonu Şekil 3.4'te gösterildiği gibidir.



N α - benzoil-L-arginin p-nitro anilit

N α - benzoil-L-arginin

p-nitro anilin

Şekil 3.4. Tripsin enziminin substratı N α -benzoil-L-arginin p-nitroanilit ile etkileşimi [79]

Tüm ekstraktlar ve pozitif kontrol PMSF çözeltileri için okunan absorbands değerlerinden ilgili körlerin absorbands değerleri çıkarıldı. Bitki ekstraktlarının tripsin inhibisyon aktiviteleri kontrol örneğin enzim aktivitesi % 100 kabul edilerek aşağıda verilen formülle hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = \left[100 - \left(\frac{\text{Abs ekstrakt}}{\text{Abs enzim}} \right) \right] * 100$$

Ab_{Ekstrakt}: İnhibitör koyulmuş (bitki ekstraktı veya PMSF) kuyucukların 405 nm'de ölçülen absorbandsı

Ab_{Enzim}: İnhibitör ilave edilmeyen, %100 aktif kabul edilen kontrol örneğin 405 nm'deki absorbandsı

% İnhibisyon-Konsantrasyon grafikleri yardımıyla IC₅₀ değerleri belirlendi.

3.2.5. Monoamin Oksidaz İnhibisyonunun Belirlenmesi

Funda, Biberiye, Mate, Yeşilçay, Zahter, Sınırlı Ot, Sınameki, Çoban Çökerten, Barut Ağacı bitkilerinden elde edilen ekstraktların monoamin oksidaz-A inhibisyon aktiviteleri Jager ve arkadaşlarının metodu kullanılarak gerçekleştirildi [70]. Bu inhibisyon çalışmasında; enzim olarak monoamino oksidaz-A (MAO-A), substrat olarak tiramin kullanıldı. Deneylede pozitif kontrol olarak klorjilin seçildi.

MAO-A enzim çözeltisi ve pozitif kontrol olarak kullanılacak olan klorjilin, derişimleri 1 mg/mL olacak şekilde DMSO'da hazırlandı. Substrat olarak tiramin kullanıldı ve 2.5 mM konsantrasyonda olacak şekilde, 0.2 M potasyumfosfat tamponunda (pH 7.6) hazırlandı. Bu çalışmada gerekli olan diğer çözelti "kromojenik çözelti" olup, bu çözeltiyi hazırlamak için 1 mM vanilik asit, 0.5 mM 4-amino tipirin, potasyum fosfat tamponunda hazırlanmış 4 U/mL peroksidaz çözeltileri kullanıldı.

Bitkilerin metanol, etanol ve su ekstraktları 1 mg/mL konsantrasyonda DMSO'da hazırlandı. 100, 250, 500, 750 ve 1000 µg/mL konsantrasyondaki bitki ekstraktları fosfat tamponunda (pH 7.6) seyreltilerek hazırlandı.

Pozitif kontrol için klorjilin, bitki ekstraktları ile aynı konsantrasyonlarda (100, 250, 500, 750, 1000 µg/mL) hazırlandı.

Mikroplaka kuyucuklarına artan konsantrasyonlarda 100, 250, 500, 750 ve 1000 µg/mL konsantrasyonlarında hazırlanan bitki ekstraktlarından 20 µL koyuldu. Üzerlerine 20 µL MAO-A çözeltisi koyularak inhibisyonun gerçekleşmesi için 10 dakika inkübe edildi. Sürenin sonunda mikroplaka kuyucuklarına çok kanallı pipet yardımıyla 60 µL substrat tiramin çözeltisi ve 20 µL kromojenik çözelti ilave edildi. Kör kuyucukları 40 µL tampon, kontrol kuyucukları ise 20 µL tampon ve 20 µL enzim olacak şekilde hazırlandı. Bitki ekstraktları yerine klorjilin çözeltileri koyularak MAO-A inhibisyon denemesi pozitif kontrol klorjilin çözeltileri ile de gerçekleştirildi.

40 dakika boyunca 5 dakika aralıklarla 490 nm'de, 37°C'de absorbans ölçümleri yapıldı. Tüm ekstraktlar ve pozitif kontrol klorjilin çözeltileri için okunan absorbans değerlerinden ilgili körlerin absorbans değerleri çıkarılarak tez kapsamında seçilen

bitkileri ekstraktlarının MAO-A inhibisyon aktiviteleri kontrol örneğinin enzim aktivitesi % 100 kabul edilerek aşağıda verilen formülle hesaplandı.

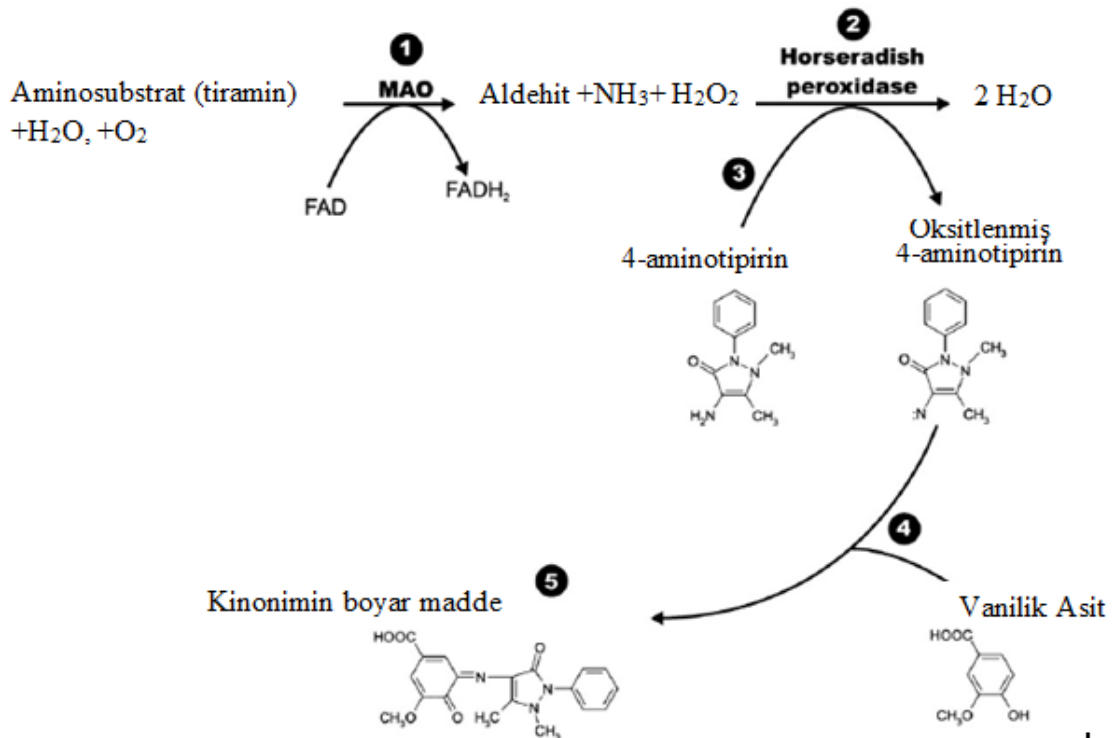
$$\% \text{ İnhibisyon} = \left[100 - \left(\frac{\text{Abs ekstrakt}}{\text{Abs enzim}} \right) \right] * 100$$

Ab_{Sekstrakt}: İnhibitör koyulmuş (bitki ekstraktı veya klorjilin) kuyucukların 405 nm’de ölçülen absorbansı

Ab_{enzim}: İnhibitör ilave edilmeyen,%100 aktif kabul edilen kontrol örneğinin 405 nm’deki absorbansı

% İnhibisyon-Konsantrasyon grafikleri yardımıyla IC₅₀ değerleri belirlendi.

Seçilen bitki ekstraktlarının MAO-A inhibisyon aktivitelerini belirlemek üzere yukarıda kullanılan deneysel yöntemin kimyasal reaksiyonları Şekil 3.5’te verilmiştir



Şekil 3.5. MAO-A enziminin substratı tiramin ile reaksiyonu [70]

BÖLÜM 4

SONUÇLAR

4.1. Elde Edilen Ekstraktların Lipaz İnhibisyon Aktiviteleri

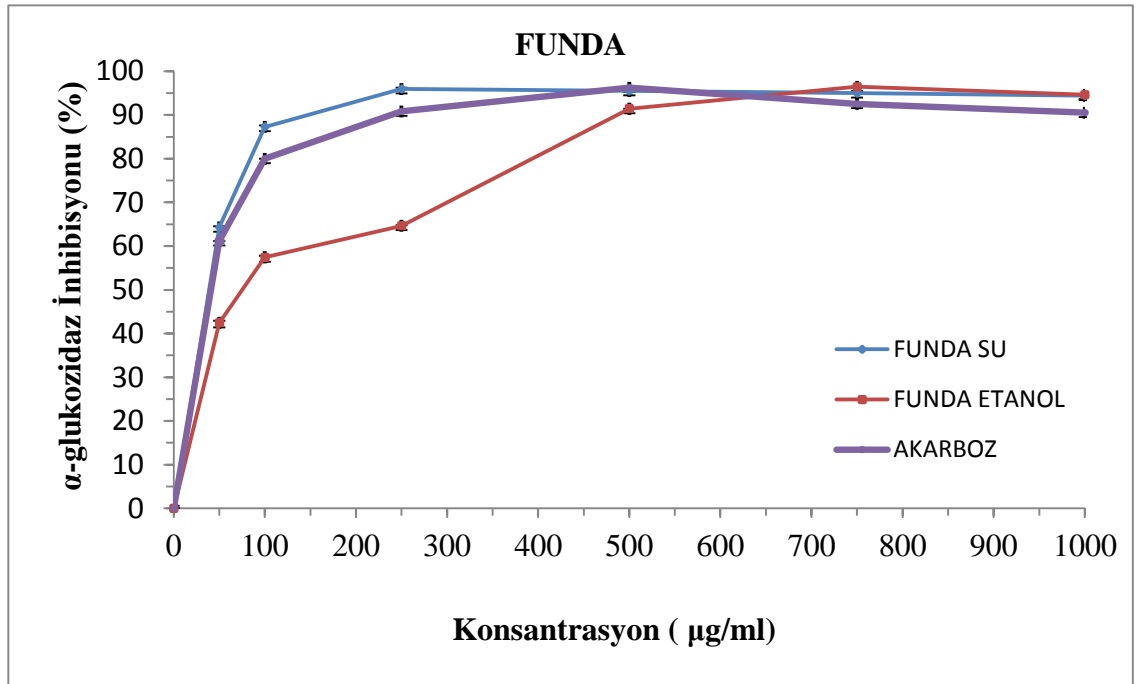
Edirne Mısır çarşısındaki bir aktardan kurutulmuş olarak satın alınan Funda, Biberiye, Mate, Yeşilçay, Zahter, Sınırlı Ot, Sınameki, Çoban Çökerten ve Barut ağacı bitkilerinin metanol, etanol ve su ekstraktlarının hazırlanması Bölüm 3.2.1'de belirtildiği gibi gerçekleştirildi. Elde edilen ekstraktlar inhibitör olarak kullanılmak üzere önceden belirlenmiş 6 farklı konsantrasyonda (50, 100, 250, 500, 750, 1000 µg/ml) literatürdeki deneysel prosedürlere uygun çözücülerinde hazırlandı.

Lipaz inhibisyonu Bölüm 3.2.2'de belirtildiği gibi Souza ve arkadaşlarının metodu modifiye edilerek optimize edilen koşullarda çalışıldı. Pozitif kontrol olarak Orlistat kullanıldı. Belirlenen absorbans değerlerinden herbir ekstraktın % İnhibisyon aktiviteleri hesaplandı. Hesaplamalar sonucunda; Funda, Biberiye, Mate, Yeşilçay, Zahter, Sınırlı Ot, Sınameki, Çoban Çökerten ve Barut ağacı bitkilerinden elde edilen hiçbir bitki ekstrakt için anlamlı lipaz inhibisyon aktivite verisi elde edilemedi. Artan veya azalan konsantrasyona bağlı bir değişim gözlenmeksizin yüksek ekstrakt konsantrasyonlarında bile lipaz inhibisyon aktivitesi belirlenmedi.

4.2. Elde Edilen Ekstraktların α -Glukozidaz İnhibisyonu Aktiviteleri

Funda, Biberiye, Mate, Yeşilçay, Zahter, Sınırlı Ot, Sınameki, Çoban Çökerten ve Barut ağacı bitkilerinin su, etanol ve metanol ekstraktları ve pozitif kontrol akarboz çözeltileri için 50, 100, 250, 500, 750 ve 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarında α -glukozidaz inhibisyon aktivitelerini belirlemek üzere, Bölüm 3.2.3'de belirtildiği gibi Zhang ve arkadaşlarının kullandıkları yöntem modifiye edilerek uygulandı. Okunan absorbanslardan Bölüm 3.2.3'de verilen % inhibisyon formülüyle tüm ekstraktların ve akarboz çözeltilerinin α -glukozidaz inhibisyon aktiviteleri hesaplandı.

Funda bitkisininin ekstraktlarından su ve etanol ekstraktları için % inhibisyona karşı konsantrasyon grafiği oluşturuldu (Şekil 4.1). Funda metanol ekstraktı için α -glukozidaz inhibisyon aktivitesi belirlenmediği için metanol ekstraktı grafikte yer almadı.



Şekil 4.1. Farklı konsantrasyonlardaki Funda su ve etanol ekstraktları ve pozitif kontrol Akarboz çözeltilerinin % α -glukozidaz inhibisyon aktiviteleri

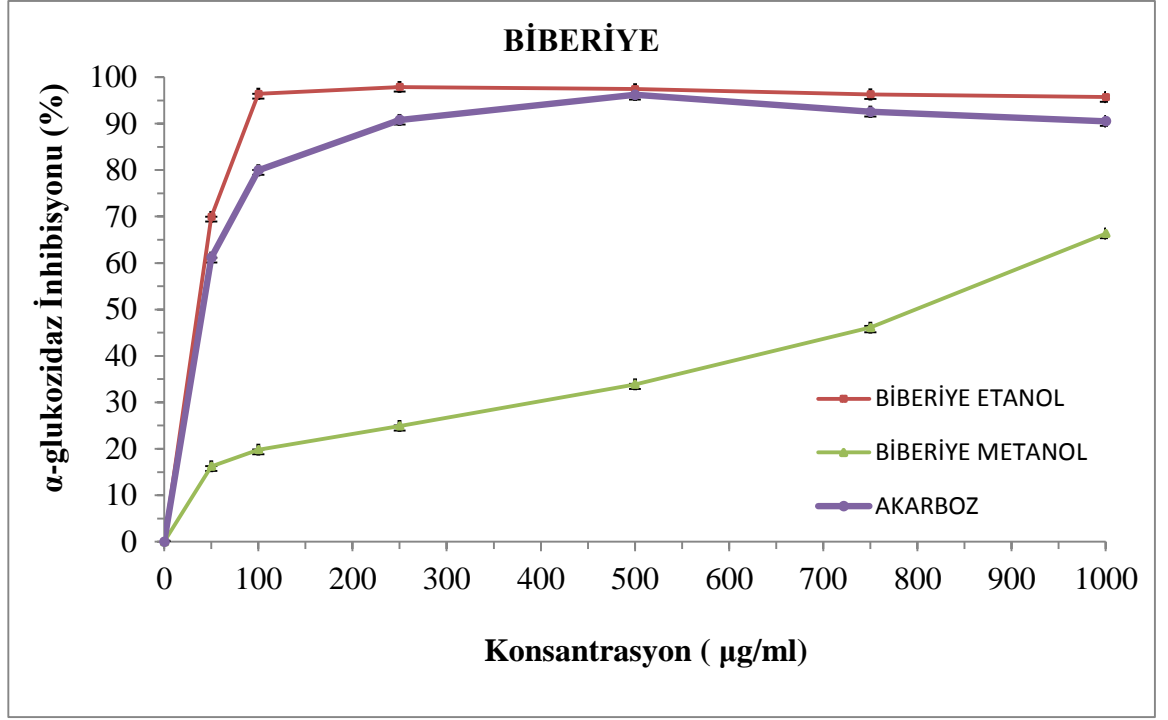
Şekil 4.1’de verilmiş olan % inhibisyona karşı konsantrasyon grafiğinde % 50 inhibisyona karşılık gelen bitki ekstrakt konsantrasyonu yani IC₅₀ değerleri belirlendi ve Tablo 4.1’de verildi.

Funda bitkisinin su ekstraktı IC₅₀ değeri 39.3 µg/mL, etanol ekstratı için ise 80.6 µg/mL olarak belirlendi. Akarbozun IC₅₀ değeri 40.1 µg/mL olup funda su ekstraktının pozitif kontrol kadar yüksek IC₅₀ değerine sahip olduğu görüldü.

Tablo 4.1. Funda su, etanol ekstratları ve pozitif kontrol Akarboz için % α-glukozidaz İnhibisyon-Konsantrasyon grafiğinden elde edilen IC₅₀değerleri

İnhibitör	IC₅₀ (µg/mL)
Funda Su Ekstraktı	39.3
Funda Etanol Ekstraktı	80.6
Akarboz	40.1

Biberiye bitki ekstratları için Bölüm 3.2.3’de verilen % İnhibisyon formülüyle α-glukozidaz inhibisyon aktiviteleri belirlendi. Biberiye metanol ve etanol ekstratları için % İnhibisyon-Konsantrasyon grafiği oluşturuldu, su ekstraktı için α-glukozidaz inhibisyon aktivitesi belirlenmediği için bu ekstrakta ait inhibisyon verisi grafikte yer almadı (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Biberiye etanol ve metanol ekstraktları ile pozitif kontrol Akarboz çözeltilerinin % α -glukozidaz inhibisyon aktiviteleri

Şekil 4.2’de verilen % α -glukozidaz inhibisyon-Konsantrasyon grafiğinde % 50 inhibisyona karşılık gelen biberiye etanol veya metanol ekstraktları IC_{50} değerleri belirlendi ve Tablo 4.2’de verildi.

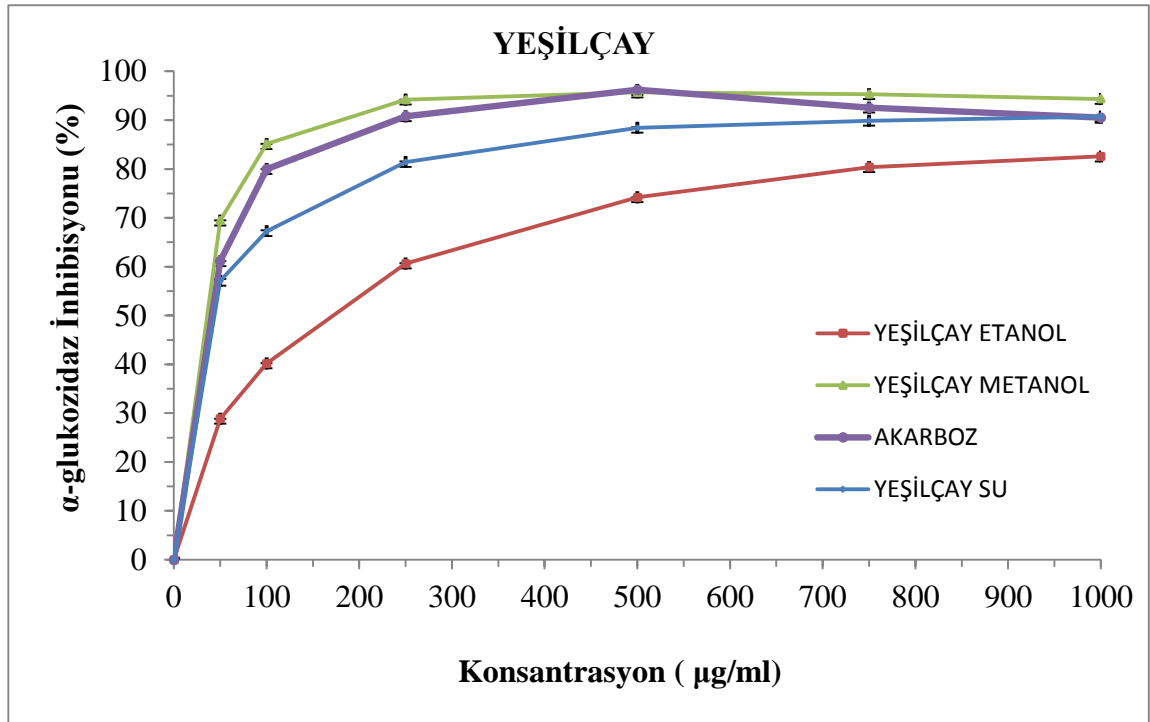
Tablo 4.2. Biberiye etanol ve metanol ekstraktlarının ile pozitif kontrol akarbozun α -glukozidaz inhibisyonu IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) değerleri verilmiştir.

İnhibitör	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Biberiye Etanol Ekstraktı	39.6
Biberiye Metanol Ekstraktı	800.4
Akarboz	40.5

Tablo 4.2’de görüldüğü gibi biberiye etanol ekstraktının IC₅₀ değeri 39.6 µg/mL olup pozitif kontrol akarbozun IC₅₀ değeri (40.5 µg/mL) kadar yüksek α-glukozidaz inhibisyon aktivitesine sahip olduğu belirlendi. Biberiye metanol ekstraktının IC₅₀ değeri 800.4 µg/mL olup düşük α-glukozidaz inhibisyon aktivitesine sahip olduğu görüldü.

Biberiye etanol ekstraktının 1000 µg/mL konsantrasyonunda % α-glukozidaz inhibisyon aktivitesi % 95.705±0.006 olup aynı konsantrasyondaki akarboz inhibitör aktivitesinden (% 90.497±0,002) daha yüksek olduğu belirlendi.

Yeşilçay bitki ekstratları için α-glukozidaz inhibitör aktiviteleri Bölüm 3.2.3’de verilen formül yardımıyla hesaplandı. Yeşilçay su, metanol ve etanol ekstratları için % inhibisyon-Konsantrasyon grafiği oluşturuldu (Şekil 4.3).



Şekil 4.3.Farklı konsantrasyonlardaki Yeşilçay su, etanol ve metanol ekstratları ile pozitif kontrol Akarboz’un % α-glukozidaz inhibisyon aktiviteleri

Yeşilçay bitkisinin su, etanol ve metanol ekstraktlarında konsantrasyona bağlı olarak α -glukozidaz inhibisyonunda artış olduğu belirlendi. Şekil 4.3'te verilen % α -glukozidaz inhibisyon aktivitesi ve konsantrasyon arasında oluşturulan grafikten su, etanol ve metanol ekstraktlarının IC₅₀ değerleri belirlendi (Tablo 4.3).

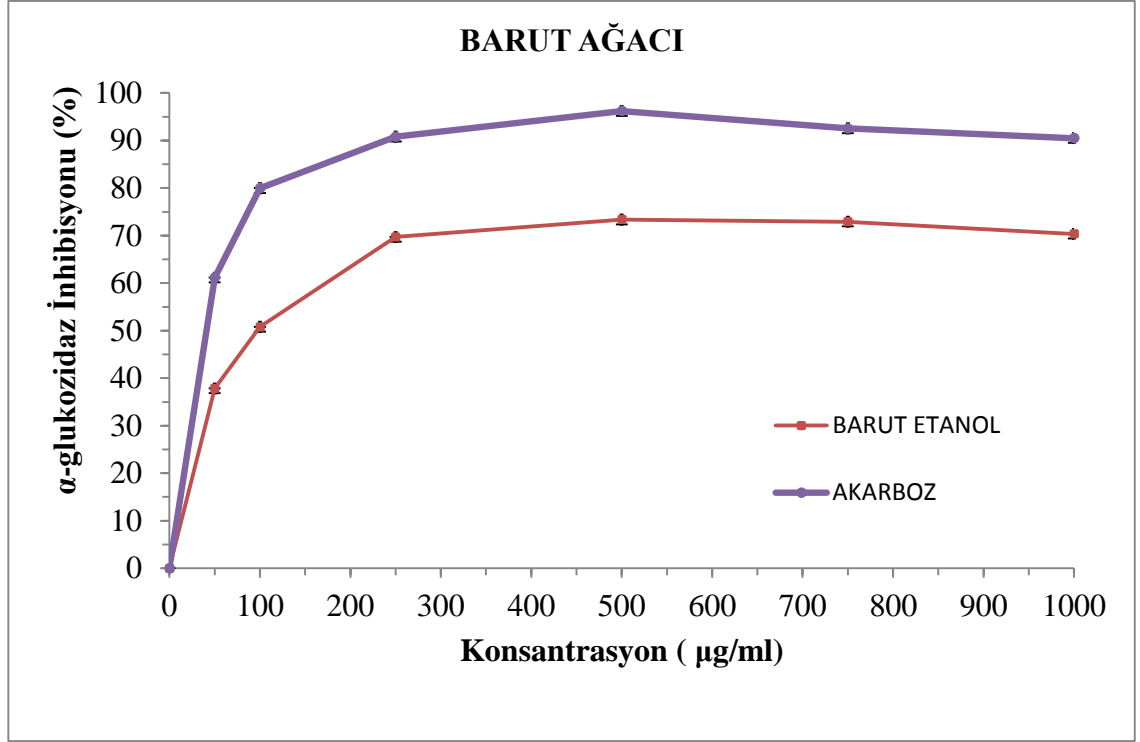
Tablo 4.3. Yeşilçay su, etanol ve metanol ekstraktlarının ve pozitif kontrol akarbozun α -glukozidaz inhibisyonu IC₅₀ ($\mu\text{g}/\text{mL}$) değerleri

İnhibitör	IC₅₀ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
Yeşilçay Su Ekstraktı	41.3
Yeşilçay Etanol Ekstraktı	160.8
Yeşilçay Metanol Ekstraktı	39.4
Akarboz	40.0

Şekil 4.3 ve Tablo 4.3'te de görüldüğü gibi yeşilçay bitkisinin su, etanol ve metanol ekstraktları konsantrasyona bağlı olarak artan α -glukozidaz inhibisyonu gösterdi. Elde edilen IC₅₀ değerleri karşılaştırıldığında; yeşilçay bitkisinin su ve metanol ekstraktlarının akarboz kadar düşük IC₅₀ değerlerine dolayısıyla yüksek α -glukozidaz inhibisyon aktivitesine sahip olduğu belirlendi.

Yeşilçay bitkisinin IC₅₀ değerleri temel alınarak yeşil çay su, etanol ve metanol ekstraktlarının α -glukozidaz inhibisyon aktivitelerinin karşılaştırılacak olursa; MetOH>Su>EtOH şeklinde ekstraktların sıralandığı görüldü.

Barut ağacı bitkisinin üç farklı ekstraktında α -glukozidaz inhibisyonu deneyleri gerçekleştirildi ve su ekstraktında α -glukozidaz inhibisyonu gözlenmezken, metanol ekstraktında % 50'nin altında α -glukozidaz inhibisyonu gözlemlendi. Barut ağacı etanol ekstraktı için % İnhibisyon-Konsantrasyon grafiği oluşturuldu (Şekil 4.4). Barut ağacı etanol ekstraktı için en yüksek inhibisyon aktivitesi 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ konsantrasyonunda % 70.358 \pm 0.023 olarak gözlemlendi



Şekil 4.4. Farklı konsantrasyonlardaki Barut Ağacı etanol ekstraktı ve pozitif kontrol Akarboz'un % α -glukozidaz inhibisyon etkisi

Şekil 4.4'te görüldüğü gibi barut ağacı bitkisinin etanol ekstraktının 500 ($\mu\text{g/mL}$) üzerindeki konsantrasyonlarda, konsantrasyona bağlı olarak inhibisyon aktivitelerini değişmediği görüldü. Grafik yardımıyla barut ağacı etanol ekstraktı ve pozitif kontrol akarbozun IC_{50} değerleri belirlendi ve Tabloda 4.6'da verildi.

Tablo 4.6. Barut Ağacı etanol ekstraktı ve pozitif kontrol akarbozun IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) değerleri

İnhibitör	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Barut Etanol Ekstraktı	100.0
Akarboz	40.5

Zahter bitki ekstraktları ile α -glukozidaz inhibisyon deneyleri gerçekleştirildi. Bu ekstratlar için α -glukozidaz inhibitör aktiviteleri Bölüm 3.2.3’de verilen formül yardımıyla hesaplandı. Zahter su ve etanol ekstraktlarında inhibisyon aktiviteleri belirlendi ancak % 50’nin altında inhibisyon gösterdikleri için grafik oluşturulmadı. Elde edilen inhibisyon değerleri Tablo 4.4’te verildi. Zahter metanol ekstaktının ise α -glukozidaz inhibisyon aktivitesi göstermediği belirlendi. Sonuçlar incelendiğinde, 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda en yüksek α -glukozidaz inhibisyonunu % 43.157 ± 0.051 ile zahter etanol ekstraktının gösterdiği belirlendi.

Tablo 4.4. Zahter su ve etanol ekstraktları ile Akarboz çözülelerinin α -glukozidaz inhibisyon aktiviteleri

Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	% İnhibisyon* ($\pm\text{SD}$)		
	Su	EtOH	AKARBOZ
50	8.785 ± 0.011	21.252 ± 0.039	61.140 ± 0.003
100	8.664 ± 0.066	23.755 ± 0.098	79.963 ± 0.002
250	15.787 ± 0.039	36.375 ± 0.060	90.795 ± 0.030
500	18.876 ± 0.013	40.308 ± 0.022	96.210 ± 0.010
750	20.797 ± 0.003	40.224 ± 0.021	92.546 ± 0.002
1000	24.873 ± 0.017	43.157 ± 0.051	90.497 ± 0.002

*Üç deneme değerinin ortalaması, \pm standart sapması (EtOH: Etanol)

Sinirli ot bitkisinin su ve metanol ekstratlarında α -glukozidaz inhibisyon aktivitesi gözlenmezken, etanol ekstraktında % 50’nin altında inhibisyon değerleri gözlemlendi. Sinirli ot etanol ekstraktlarına ve pozitif kontrol akarboza ait α -glukozidaz inhibisyonu deney sonuçları Tablo 4.5’te verilmiştir. Sinirli ot bitkisi etanol ekstraktının inhibisyon aktivitelerinin artan konsantrasyonlarda anlamlı olmayan değişimler gösterdiği gözlemlendi.

Tablo 4.5. Sinirli ot etanol ekstraktları ile Akarbozun α -glukozidaz inhibisyon yüzdeleri

Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	% İnhibisyon* ($\pm\text{SD}$)	
	EtOH	AKARBOZ
50	40.785 \pm 0.038	61.140 \pm 0.003
100	29.622 \pm 0.069	79.963 \pm 0.002
250	28.628 \pm 0.039	90.795 \pm 0.030
500	25.818 \pm 0.024	96.210 \pm 0.010
750	15.980 \pm 0.030	92.546 \pm 0.002
1000	40.785 \pm 0.038	90.497 \pm 0.002

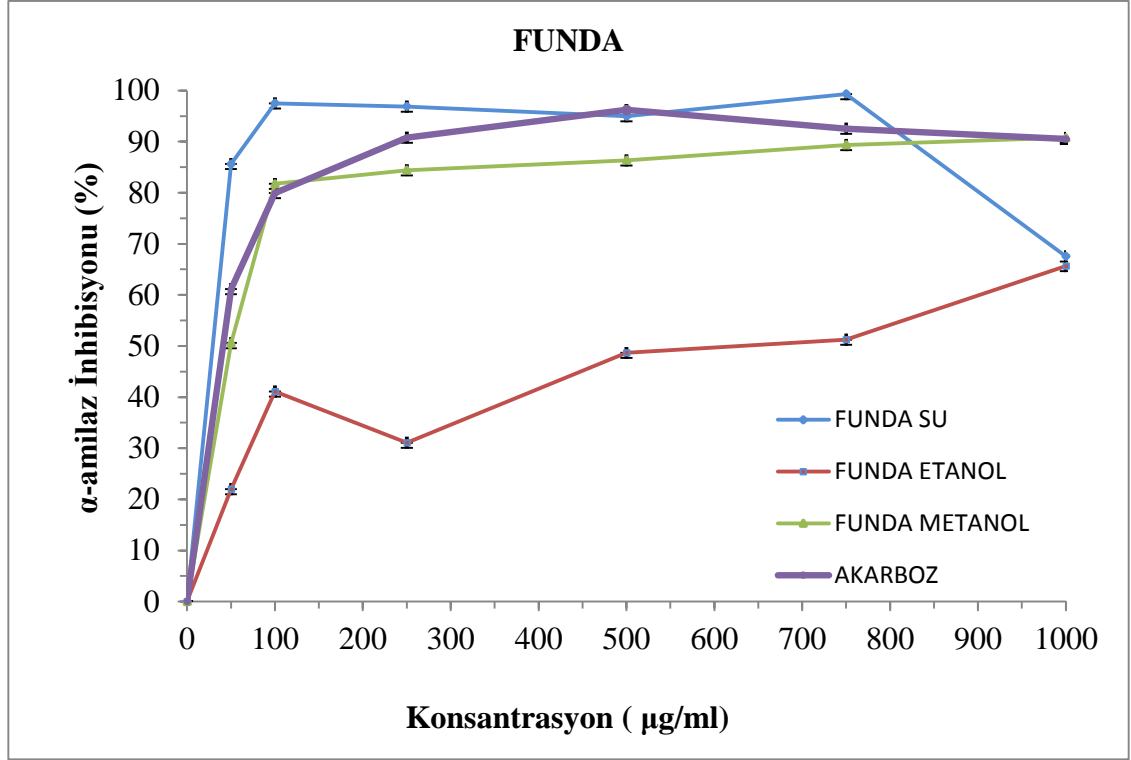
*Üç deneme değerinin ortalaması, \pm standart sapması (EtOH: Etanol)

Sinameki ve Çoban çökerten bitkilerinin su, metanol ve etanol ekstraktlarında ise α -glukozidaz inhibisyonu gözlenmedi.

4.3. Elde Edilen Ekstraktların α -Amilaz İnhibisyonu

Tez kapsamında amilaz inhibisyon çalışmaları, Puteri (2011) ve arkadaşlarının metodu modifiye edilerek çalışıldı. Kontrolün aktivitesiyle kıyaslanarak ekstraktların DPA (domuz pankreatik amilaz) üzerine etkileri belirlendi. Funda, Biberiye, Mate, Yeşilçay, Zahter, Sinirli Ot, Sinameki, Çoban Çökerten ve Barut ağacı bitkilerinin su, etanol ve metanol ekstraktlarının α -amilaz enzimi üzerindeki inhibitör etkileri Bölüm 3.2.3'de verilen formül yardımıyla % İnhibisyon olarak tespit edildi. Pozitif kontrol olarak akarboz kullanıldı. Ekstraktlarla aynı konsantrasyonlarda hazırlanan akarboz çözeltileri için de % α -amilaz İnhibisyon değerleri belirlendi.

Belirlenen % İnhibisyon aktiviteleri ile ekstrakt konsantrasyonu arasında grafik oluşturuldu (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Farklı konsantrasyonlardaki Funda etanol, metanol, su ekstraktlarının ve pozitif kontrol Akarboz çözeltilerinin % α -amilaz inhibisyon aktiviteleri

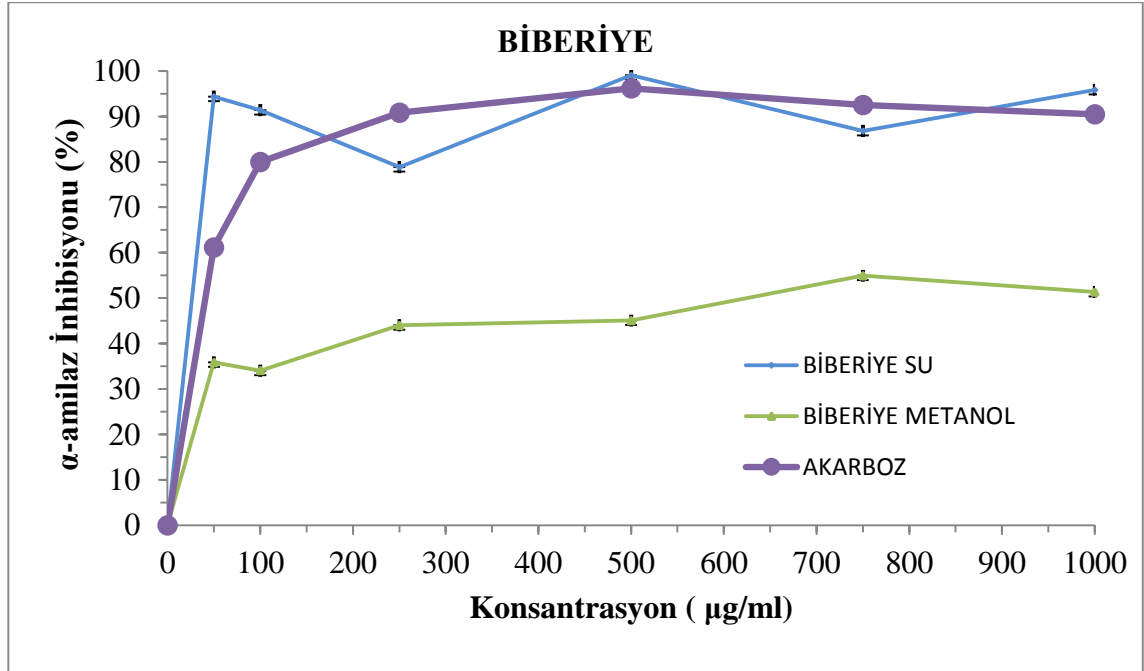
Funda bitkisinin su, etanol ve metanol ekstraktlarının tümünde % 50'nin üzerinde α -amilaz enzim inhibisyonu belirlendi. Funda bitkisinin metanol ve su ekstraktları ile pozitif kontrol akarbozun yaklaşık aynı oranlarda % inhibisyon aktiviteleri gösterdiği Şekil 4.5'te verilen grafikte de görülmektedir.

Funda bitkisi ekstraktlarının α -amilaz inhibisyon aktivitelerinin Su >MetOH> EtOH ekstraktı şeklinde azaldığı görülmektedir. Funda bitkisinin su, etanol ve metanol ekstraktlarının IC_{50} değerleri bu grafik yardımıyla % 50 inhibisyona karşılık gelen konsantrasyon IC_{50} değeri olarak belirlendi ve Tablo 4.7'de verildi.

Tablo 4.7. Funda bitksinin su, etanol, metanol ekstratları ve pozitif kontrol akarbozun IC₅₀ (µg/mL) değeri

İnhibitör	IC ₅₀ (µg/mL)
Funda Su Ekstraktı	30.3
Funda Etanol Ekstraktı	600.5
Funda Metanol Ekstraktı	50.0
Akarboz	40.5

Bölüm 3.2.2’de verilen % İnhibisyon formülü yardımıyla Biberiye bitksininin ekstratlarının ve pozitif kontrol akarbozçözeltilerinin % α-amilaz inhibisyon değeri hesaplandı. Bu değeri kullanarak % inhibisyona karşı konsantrasyon grafikleri oluşturuldu (Şekil 4.6)



Şekil 4.6. Farklı konsantrasyonlardaki Biberiye su, metanol ekstratları ve pozitif kontrol Akarboz’un % α-amilaz inhibisyon aktiviteleri

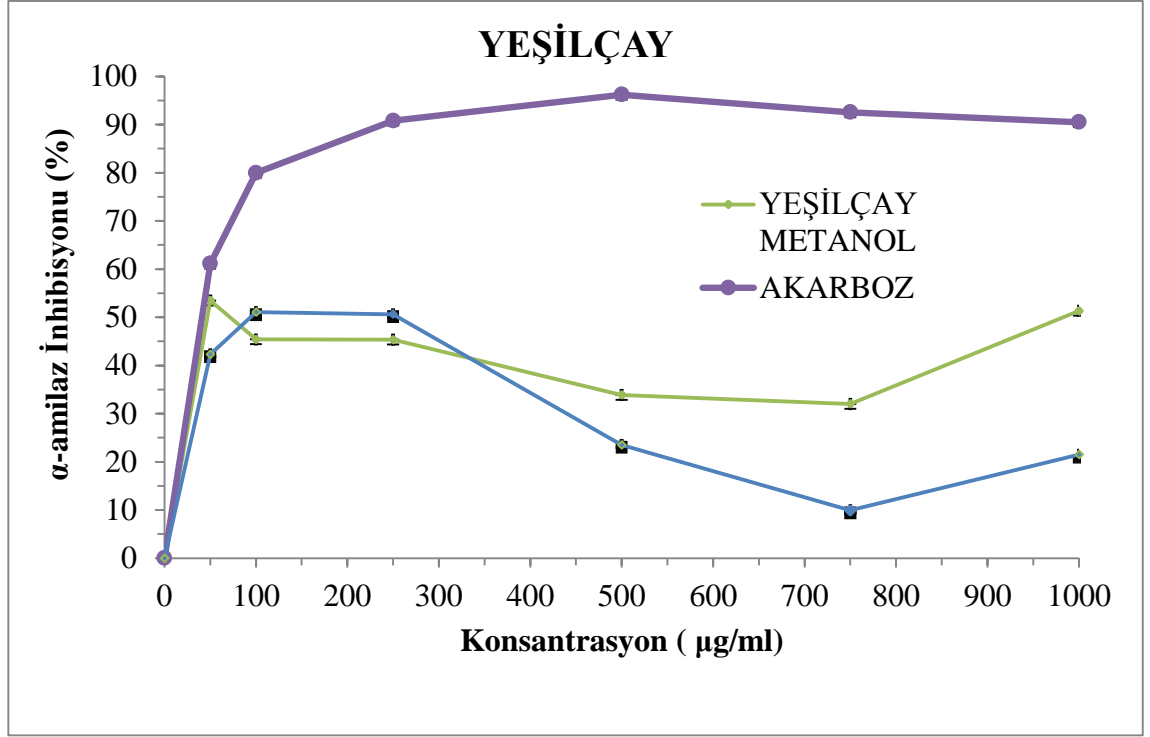
Biberiye bitkisinin su ve metanol ekstratlarında % 50 ve üzerinde α -amilaz inhibisyonu gözlenirken, etanol ekstraktında % 50'nin altında α -amilaz inhibisyonu gözlemlendi. İnhibisyon aktiviteleri kıyaslandığında 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda su ekstraktı % 95 inhibisyon gösterirken, aynı konsantrasyonda hazırlanan akarboz çözeltisinin de % 90 inhibisyon gösterdiği belirlendi. % 50'nin üzerinde inhibisyon gösteren ekstraktlar için grafik yardımıyla IC_{50} değerleri hesaplandı ve Tablo 4.8 olarak aşağıda verildi.

Tablo 4.8. Biberiye su, metanol ekstraktları ve pozitif kontrol akarbozun α -amilaz IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) değerleri

İnhibitör	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Biberiye Su Ekstraktı	40.2
Biberiye Metanol Ekstraktı	610.8
Akarboz	50

Mate bitkisinin su, metanol ve etanol ekstraktlarının α -amilaz inhibisyonu deney sonuçlarında inhibisyon gözlenmedi.

Yeşilçay bitkisi ekstraktlarının ve pozitif kontrol akarbozun % inhibisyon değerleri hesaplandı. Bu değerlerden faydalanılarak % inhibisyona karşı konsantrasyon grafikleri oluşturuldu (Şekil 4.7).



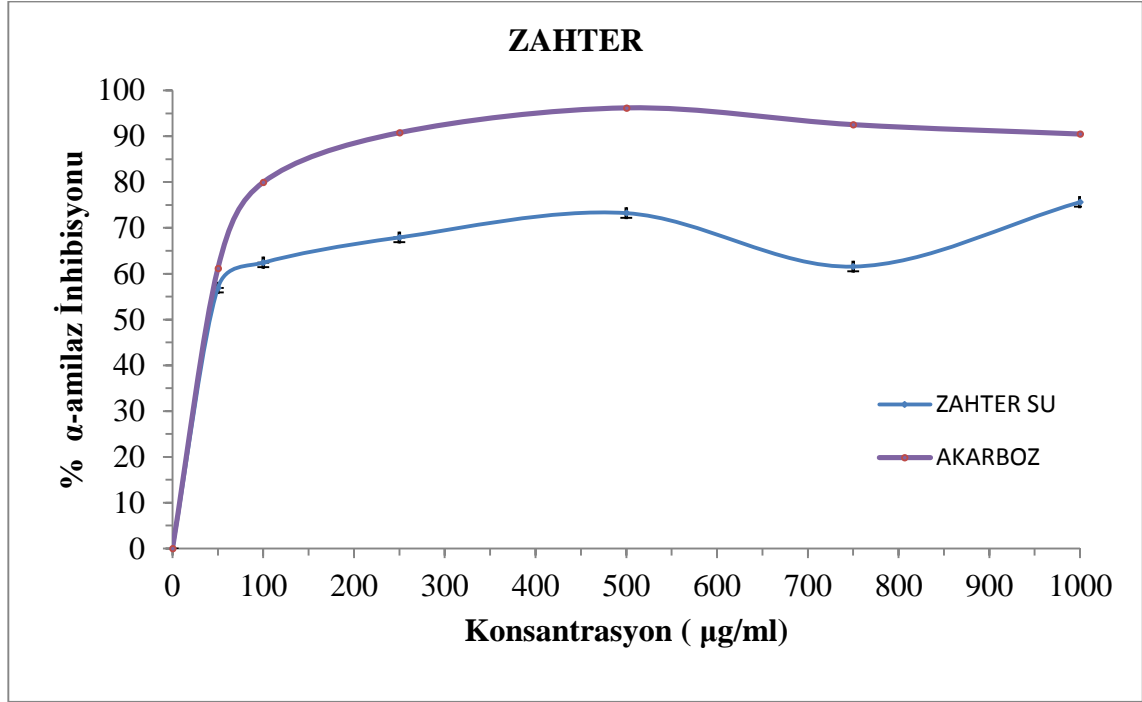
Şekil 4.7. Farklı konsantrasyonlardaki Yeşilçay su, metanol ekstraktları ve pozitif kontrol Akarboz'un % α -amilaz inhibisyon atkviteleri

Yeşilçay bitkisinin su ve metanol ekstraktlarında % 50'ler civarında α -amilaz inhibisyonu gözlenirken, etanol ekstraktında α -amilaz inhibisyonu gözlenmedi. Yeşilçay bitkisinin su ve metanol ekstratları ve akarboz için Şekil 4.7'de verilen grafik yardımıyla IC_{50} değerleri belirlendi ve Tablo 4.9'da verildi.

Tablo 4.9. Yeşilçay su, metanol ekstraktları ve pozitif kontrol akarbozun α -amilaz inhibisyonu IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) değerleri

İnhibitör	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Yeşilçay Su Ekstraktı	100.0
Yeşilçay Metanol Ekstraktı	51.2
Akarboz	50.0

Bölüm 3.2.2'deki formül yardımıyla Zahter ekstraktlarının ve pozitif kontrol akarboz çözeltilerinin % inhibisyon değerleri hesaplandı. Bu değerlerden faydalanılarak % inhibisyona karşı konsantrasyon grafikleri oluşturuldu (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Farklı konsantrasyonlardaki Zahter su ekstraktı ve pozitif kontrol Akarboz'un % α -amilaz üzerinde inhibitör etkisi

Zahter bitkisinin su ekstraktı 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda % 75.633 ± 0.004 ile en yüksek amilaz inhibisyonu gösterdi. IC_{50} değerleri grafik yardımıyla hesaplanarak Tablo 4.10'da verildi. Etanol ve metanol ekstratları ise %50'nin altında inhibisyon gösterdiğinden IC_{50} değerleri hesaplanmadı.

Tablo 4.10. Zahter su ekstraktı ve pozitif kontrol akarbozun α -amilaz IC_{50} değerleri

İnhibitör	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Zahter Su Ekstraktı	40.0
Akarboz	40.0

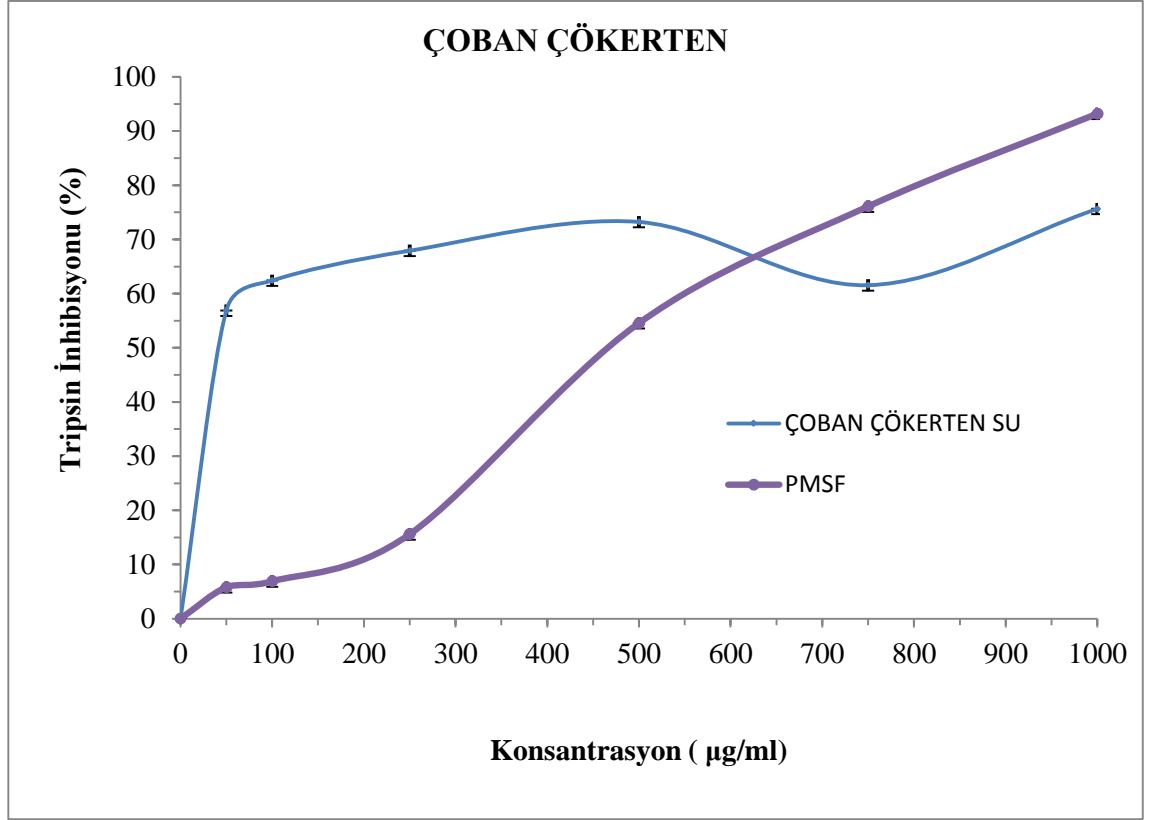
Sinirli ot, sinameki, çoban çökerten, barut, mate bitkilerinin su, metanol ve etanol ekstraktlarında α -amilaz inhibisyonu gözlenmedi.

4.4. Elde Edilen Ekstraktların Tripsin İnhibisyonu

Tripsin inhibisyon çalışmaları Shahwar ve ark.nın metodu modifiye edilerek Bölüm 3.2.5'te belirtildiği gibi yürütüldü. Funda, Biberiye, Mate, Yeşilçay, Zahter, Sinirli Ot, Sinameki, Çoban Çökerten ve Barut ağacı bitki ekstraktlarının 50, 100, 250, 500, 750 ve 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarıyla çalışıldı. Pozitif kontrol olarak PMSF kullanıldı. PMSF çözeltileri de ekstraktlarla aynı konsantrasyonlarda hazırlandı. 405 nm'de okunan absorbans değerleri Bölüm 3.2.3'deki formül yardımıyla % İnhibisyon aktiviteleri belirlendi.

Tez kapsamında seçilen bitkilerden sadece çoban çökerten bitki ekstraktlarının tripsin inhibisyon aktivitesi gösterdiği belirlendi. Yeşilçay, mate, sinameki, barut ağacı, funda, zahter, sinirli ot, biberiye bitkileri için anlamlı tripsin inhibisyon verisi elde edilemedi. Ekstraktların artan veya azalan konsantrasyona bağlı olarak enzim inhibisyonunun değişmediği gözlemlendi.

Çoban Çökerten bitkisininin ekstraktlarının ve pozitif kontrol PMSF'nin hesaplanan % inhibisyon değerleri ile konsantrasyon arasında grafik oluşturuldu (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Farklı konsantrasyonlardaki Çoban Çökerten su ekstraktı ve pozitif kontrol PMSF'nin % tripsin inhibisyon etkisi

Çoban Çökerten bitksinin su, etanol ve metanol ekstraktlarına ait sonuçlar incelediğinde; su ekstratında 1000 µg/mL konsantrasyonunda % 75.633 ± 0,004 bir inhibisyon görüldü. IC₅₀ değeri 48.0 µg/mL olarak belirlendi. Pozitif kontrol olan PMSF' ye göre daha düşük bir IC₅₀ değeri 470.6 µg/mL gösterdiği tespit edildi. Çoban çökerten bitksinin etanol ve metanol ekstratlarında ise % 50'nin altında bir inhibisyon gözlemlendi. IC₅₀ değerleri Tablo 4.11' de yer almaktadır.

Tablo 4.11. Çoban Çökerten su ekstraktı ve pozitif kontrol PMSF'nin tripsin inhibisyonu IC₅₀ (µg/mL) değerleri

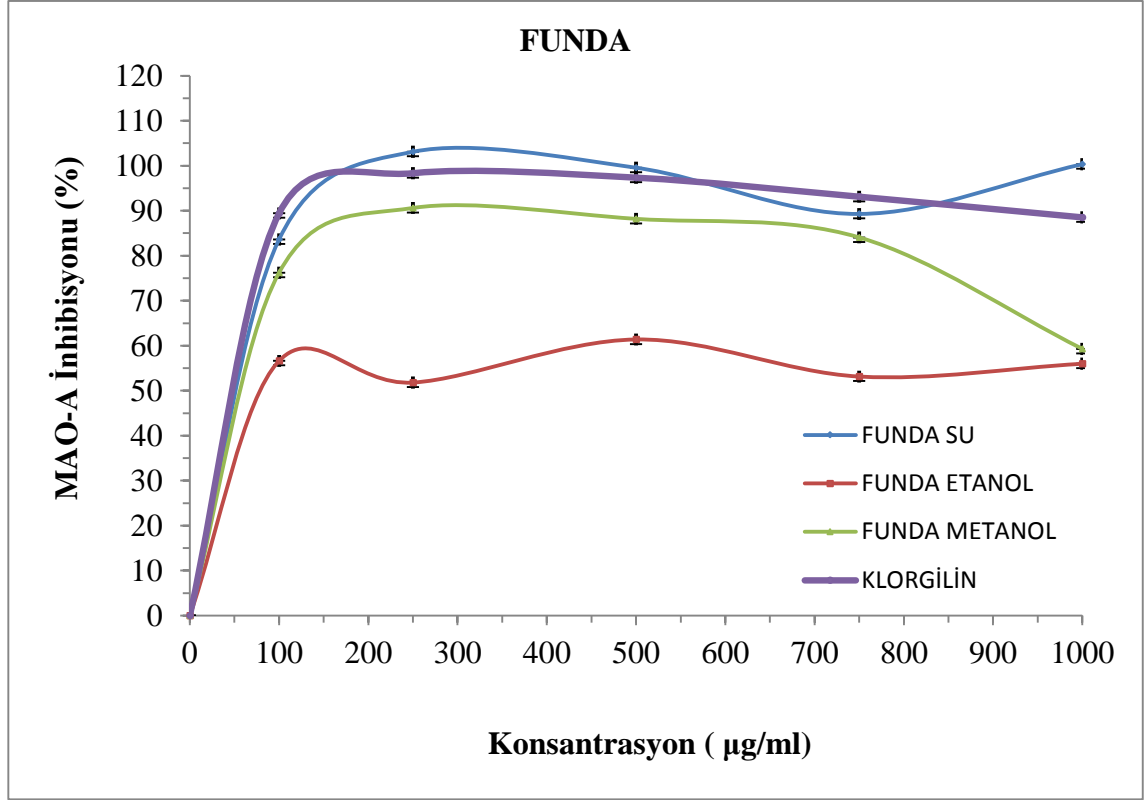
İnhibitör	IC ₅₀ (µg/mL)
Çoban Çökerten Su Ekstarktı	48.0
PMSF	470.6

4.5. Elde Edilen Ekstraktların Monoamin Oksidaz-A İnhibisyonu

Edirne Mısır çarşısındaki bir aktardan kurutulmuş olarak satın alınan yeşilçay, mate, sinameki, barut ağacı, funda, zahter, sinirli ot, biberiye, çoban çökerten bitkilerinin metanol, etanol ve su ekstraktları Bölüm 3.2.6'da belirtildiği gibi hazırlandı. Elde edilen ekstraktlar enzim inhibisyonu aktivite tayininde kullanıldı.

Monoamin oksidaz enzimi inhibisyon çalışması Jager ve arkadaşlarının metodu modifiye edilerek optimize edilen koşullarda çalışıldı. 5 dakikada bir alınan sonuçlarda en iyi aktivitenin 1000 µg/ml konsantrasyonunda ve 40. dakikada olduğu belirlendi. Belirlenen absorbans değerlerinden her bir ekstraktın % İnhibisyon aktiviteleri hesaplandı. Bitki ekstraktlarının su, etanol, metanol ekstraktları için elde edilen % inhibisyon değerleri kaydedildi (Tablo 4.12).

Bölüm 3.2.6'daki formül yardımıyla Funda bitkisininin ekstraktlarının ve pozitif kontrol klorjin % inhibisyon değerleri hesaplandı. Bu değerlerden faydalanılarak % inhibisyona karşı konsantrasyon grafikleri oluşturuldu (Şekil 4.10).



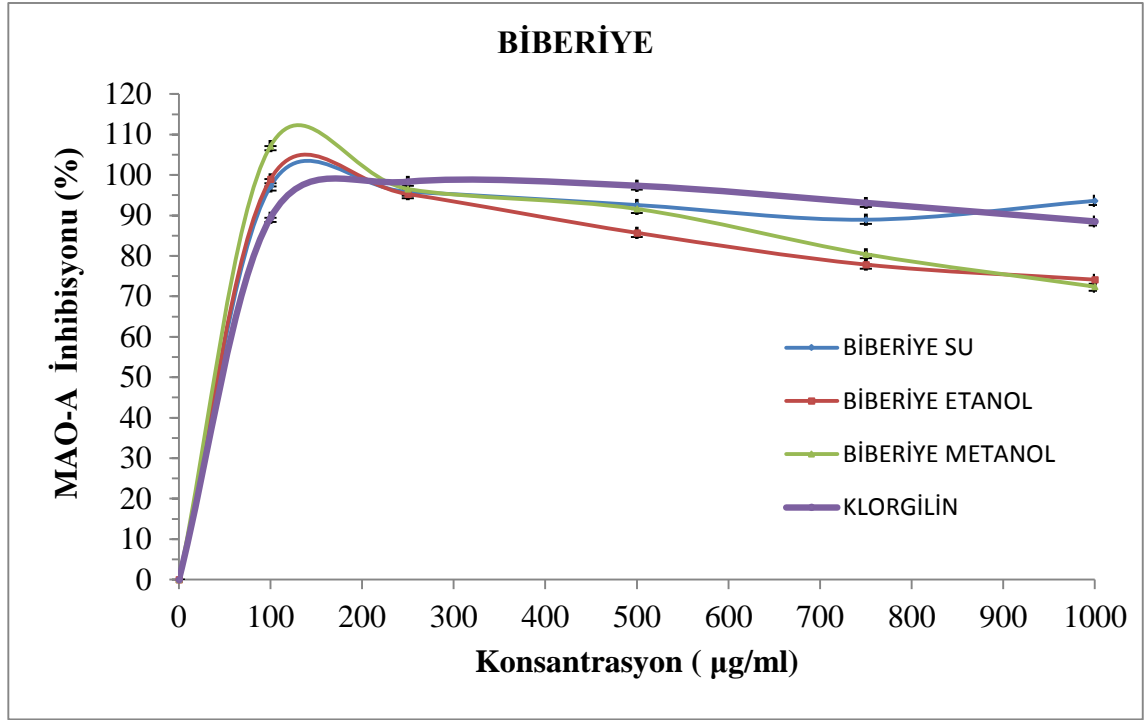
Şekil 4.10. Funda su, etanol, metanol ekstraktları ve pozitif kontrol Klorjilin % MAO-A inhibisyon etkisi

Funda bitkisinin MAO-A inhibisyon sonuçları incelendiğinde su ve metanol ekstraktları ile pozitif kontrol klorjilin çözeltileri IC_{50} değerlerinin birbirine yakın olduğu görüldü.

Tablo 4.12. Funda su, etanol, metanol ekstraktları ve pozitif kontrol Klorjilin MAO-A inhibisyonu IC_{50} (µg/mL) değerleri

İnhibitör	IC_{50} (µg/mL)
Funda Su Ekstraktı	50.5
Funda Etanol Ekstraktı	80.0
Funda Metanol Ekstraktı	51.2
Klorjin	50.0

Bölüm 3.2.6'daki formül yardımıyla Biberiye bitkisininin ekstraktlarının ve pozitif kontrol klorjilin % MAO-A inhibisyon aktiviteleri hesaplandı. Bu değerlerden faydalanılarak % inhibisyona karşı konsantrasyon grafikleri oluşturuldu. (Şekil 4.11).



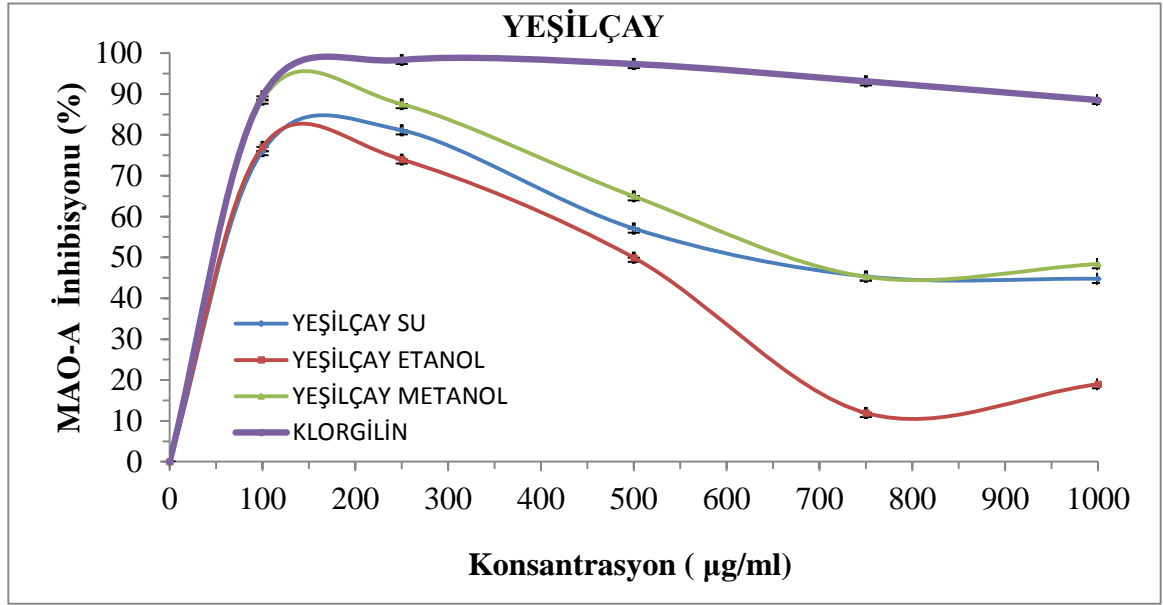
Şekil 4.11. Farklı konsantrasyonlardaki Biberiye su, etanol, metanol ekstraktları ve pozitif kontrol Klorjilin çözeltilerinin % MAO-A inhibisyon aktiviteleri

Şekil 4.11'deki grafik yardımıyla biberiye bitki ekstraktları IC_{50} değerleri hesaplandı ve Tablo 4.13 olarak aşağıda verildi.

Tablo 4.13. Biberiye bitkisinin su, etanol, metanol ekstratları ve pozitif kontrol Klorjilin IC_{50} (µg/mL) değerleri

İnhibitör	IC_{50} (µg/mL)
Biberiye Su Ekstraktı	49.2
Biberiye Etanol Ekstraktı	48.5
Biberiye Metanol Ekstraktı	48.1
Klorjin	50.0

Funda bitkisinin ekstratlarının ve pozitif kontrol klorjilin % inhibisyon değerleri hesaplandı. Bu değerlerden faydalanılarak % inhibisyona karşı konsantrasyon grafikleri oluşturuldu (Şekil 4.13).



Şekil 4.12. Farklı konsantrasyonlardaki Yeşilçay bitkisinin su, etanol, metanol ekstratları ve pozitif kontrol Klorjilin % MAO-A inhibisyon aktiviteleri

Şekil 4.12'deki grafik yardımıyla yeşilçay bitki ekstratları IC_{50} değerleri hesaplandı ve Tablo 4.14'te verildi.

Tablo 4.14. Yeşilçay bitkisinin su, etanol, metanol ekstratları ve pozitif kontrol Klorjilin IC_{50} (µg/mL) değerleri

İnhibitör	IC_{50} (µg/mL)
Yeşilçay Su Ekstraktı	51.1
Yeşilçay Etanol Ekstraktı	51.0
Yeşilçay Metanol Ekstraktı	50.5
Klorjin	50.0

Zahter, mate, sinamkei, sinirli ot, barut ağacı ve çoban çöketen bitkilerin su, etanol ve metanol ekstratlarının hiçbirinde MAO-A enzim inhibisyonu gözlenmedi.

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Obezite enerji alımı ile enerji harcanması arasındaki dengesizliğin neden olduğu kronik bir hastalıktır. Fazla kilo ve obezite anormal veya aşırı yağ birikmesi olarak tanımlanır ki sağlık için bir risk oluşturmaktadır. Yağ sindirim ve emilimini azaltmak üzere trigliserid sentezinin moleküler düzenlenmesinde orlistat benzeri ilaç yaklaşımı, yeni antiobezite molekülleri için heyecan verici fırsatlar sunan bitkilerden fitokimyasal bileşik arayışına olan ilgiyi arttırmıştır. Antiobezite ilaçlarının keşfi için bitki ekstraktlarındaki sindirim enzimleri inhibitörlerini tarama stratejileri araştırılmaktadır. Bitkiler pek çok hastalığın iyileşmesi için geleneksel olarak doğal ilaç olarak kullanılmaktadır [80].

Diyabet; insülin salgılanması veya eksikliği sonucu oluşan kronik hiperglisemi ile karakterize metabolik bir hastalıktır. Diyabet tedavisi için; α -glukozidaz ve α -amilaz gibi karbonhidrat hidrolizinden sorumlu enzimlerin inhibisyonu yemek sonrası hiperglisemiyi azaltmak üzere terapötik bir yaklaşım olabilir.

Pankreatik lipaz diyet trigliseritlerinin sindirimi için anahtar bir enzimdir. Lipaz aktivitesinin inhibisyonu yağ emilimini geciktirir ve bu nedenle obezite tedavisinde kullanılabilir [81].

Zayıflama çayları halk arasında zayıflamaya yardımcı olarak yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Bu tez kapsamında incelediğimiz Funda, Biberiye, Barut Ağacı, Çoban Çökerten, Yeşilçay, Zahter, Mate, Sınırlı ot, Sınameki bitkileri piyasada bulunan zayıflama çaylarının içeriğini oluşturmakta veya tek başına da zayıflama çayı olarak

kullanılmaktadır. Bu çalışmada bu bitkilerden hazırlanan ekstraktların sindirim enzimleri üzerine inhibisyon etkilerinin olup olmadığı incelendi.

Bu tez kapsamında Bölüm 3.2.1’de anlatıldığı gibi dokuz bitkiden elde edilen su, etanol ve metanol ekstraktları ile çalışıldı.

Amilaz enzim inhibisyonu, Puteri ve arkadaşlarının metodunda bazı değişiklikler yapılarak çalışıldı [73]. Funda bitkisinin su, etanol ve metanol ekstraktlarının tümünde % 50’nin üzerinde α -amilaz enzim inhibisyonu gözlemlendi. Funda bitkisinin su ekstraktının IC_{50} değeri 30.3 $\mu\text{g/mL}$, etanol ekstraktının IC_{50} değeri 600.5 $\mu\text{g/mL}$, metanol ekstraktının IC_{50} değeri ise 50.0 $\mu\text{g/mL}$ olarak belirlendi. Pozitif kontrol akarbozun ise IC_{50} değeri 40.5 $\mu\text{g/mL}$ olarak bulundu.

Biberiye bitkisinin su ve metanol ekstraktlarında da % 50’nin üzerinde amilaz inhibisyonu gözlenirken, etanol ekstraktında % 50’nin altında amilaz inhibisyonu gözlenmiştir. Biberiye bitkisinin su ekstraktı için IC_{50} değeri 40.2 $\mu\text{g/mL}$ olarak, metanol ekstraktı için ise IC_{50} değeri 610.8 $\mu\text{g/mL}$ olarak belirlendi ve biberiye bitkisinin metanol ekstraktlarında konsantrasyona bağlı olarak inhibisyon artarken, su ekstraktında inhibisyonun konsantrasyondan bağımsız olduğu görüldü.

Yeşilçay bitkisinin su ve metanol ekstraktlarında % 50 civarında amilaz inhibisyonu gözlenirken, etanol ekstraktında amilaz inhibisyonu gözlenmedi. Su ve metanol ekstraktlarının grafik yardımıyla IC_{50} değerleri sırasıyla; 100.0 $\mu\text{g/mL}$ ve 51.2 $\mu\text{g/mL}$ olarak belirlendi.

Zahter bitkisinin su ekstraktı 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda % 75.633 \pm 0.004 ile en yüksek α -amilaz inhibisyonu gösterdi, etanol ve metanol ekstraktlarında ise inhibisyon gözlenmedi. Zahter bitkisinin 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyondaki pozitif kontrol akarboz ile aynı IC_{50} değerine sahip olduğu (40 $\mu\text{g/mL}$) bulundu.

Sinirli ot, sinameki, çoban çökerten, barut, mate bitkisinin su, metanol ve etanol ekstraktlarında α -amilaz inhibisyonu gözlenmedi.

Literatür incelendiğinde; çemen otunun (*Trigonellafoneum graceum*) α -amilaz ve α -glukozidaz inhibitör aktivitesini belirlemek üzere hazırlanan etil asetat ekstraktının

en yüksek α -amilaz inhibisyon aktivitesinin 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ konsantrasyonda % 54.55 olarak belirlendiği bildirilmektedir. Etil asetat ekstraktlarının α -amilaz inhibisyon aktivitesi % 13.65 ile % 54.55 arasında değiştiği bulunmuştur. *T. Foneum graceum*'un su ekstraktlarının α -amilaz aktivitesinin % 9.23-% 43.95 arasında değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. Etil asetat ekstraktlarının α -glukozidaz inhibisyonları % 10.63 ile %52.56 arasında, su ekstraktlarının ise %7.23 ile % 33.64 arasında değiştiği rapor edilmiştir [82].

Ming Miao ve arkadaşları yeşilçay ekstresinin insandaki pankreatik α -amilaz aktivitesi üzerine etkisini ve moleküler bileşimini incelemiştir. Yeşilçay ekstresinin moleküler bileşimi % 59.2 epikateşin, % 14.6 epigallakateşin ve % 26.2 epikateşingallat'dan oluştuğunu HPLC analizi ile belirlemiştir. Enzim aktivitesi ölçümleri yeşilçay ekstraktlarının (% 10'luk nişasta için) % 63.5 ± 3.8 'lik bir inhibisyon gösterdiği ve IC_{50} değerinin ise 2.07 ± 0.19 (mg/ml) olduğu belirlenmiştir. Yeşilçay ekstresinin α -amilaza karşı yarışmasız bir inhibitör olduğu rapor edilmiştir [83].

Tez kapsamında α -glukozidaz inhibisyon aktivitesinin belirlenmesi için Kwon ve arkadaşlarının metodu kullanıldı [75]. Bu çalışmada enzim olarak *Sacchromyces cerevisia* kaynaklı α -glukozidaz, substrat 4-nitrofenil- α -D-glukopiranoz ve pozitif kontrol olarak da akarboz seçilmiştir.

Funda bitkisinin metanol ekstaktında inhibisyon gözlenmezken, etanol ve su ekstraktlarında değişen oranlarda inhibisyon gözlenmiştir. Funda bitkisinin su ekstratı için IC_{50} değeri 39.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$, etanol ekstraktı için ise 80.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ olarak belirlendi. Akarbozun IC_{50} değeri 40.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ olup funda su ekstraktının pozitif kontrol kadar yüksek IC_{50} değerine sahip olduğu görüldü.

Biberiye bitkisinin etanol ve metanol ekstraktlarında % 50'nin üzerinde inhibisyon gözlendi. Biberiye bitkisinin etanol ekstraktı için IC_{50} değeri 39.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ olup pozitif kontrol akarbozun IC_{50} değerine (40.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) yakındır. Biberiye metanol ekstraktının IC_{50} değeri'nin 800.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ olduğu görüldü. Biberiye etanol ekstraktının 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ konsantrasyonunda % α -glukozidaz inhibisyon aktivitesi % 95.705 ± 0.006 olup aynı konsantrasyondaki akarboz inhibisyon aktivitesinden (% 90.497 ± 0.002) bile daha yüksek olduğu belirlendi.

Yeşilçay 1000 µg/mL konsantrasyonundaki su, etanol ve 750 µg/mL konsantrasyonundaki metanol ekstraktları sırasıyla % 90, % 82 ve % 94 α-glukozidaz inhibisyonu gösterdi. Yeşilçay bitkisi su, etanol ve metanol ekstraktları konsantrasyona bağlı olarak artan bir şekilde inhibisyon gösterdi. Grafik yardımıyla su ekstraktı için IC₅₀ değeri 41.3 µg/mL, etanol ekstraktı için IC₅₀ değeri 160.8 µg/mL, metanol ekstraktı için IC₅₀ değeri 394 µg/mL olarak belirlendi.

Zahter bitkisinin su ve metanol ekstartlarında % 50'nin altında α-glukozidaz inhibisyonu gözlemlendi. Bu nedenle; su ve metanol ekstraktları için IC₅₀ değeri belirlenemedi. Zahter bitkisinin etanol ekstatında 1000 µg/mL konsantrasyonunda en yüksek α-glukozidaz inhibisyonunun % 43.157±0.051 oranı ile zahter etanol ekstraktının gösterdiği belirlendi.

Sinirli ot bitkisinin su ve metanol ekstratlarında α-glukozidaz inhibisyon aktivitesi gözlenmezken, etanol ekstraktında % 50'nin altında inhibisyon değerleri gözlemlendi ve bu nedenle IC₅₀ değerleri belirlenemedi.

Barut Ağacı bitkisinin su ekstraktında α-glukozidaz inhibisyonu gözlenmezken metanol ekstraktında ise % 50'nin altında bir inhibisyon gözlemlendiği için IC₅₀ değeri belirlenemedi. En yüksek inhibisyon barut etanol ekstraktında 1000 µg/mL konsantrasyonunda % 70.358±0.023 olarak gözlemlendi. Etanol ekstraktı için IC₅₀ değeri 100.0 µg/mL olarak belirlendi.

Sinameki, Çoban çökerten bitkisinin su, metanol ve etanol ekstraktlarının α-glukozidaz inhibisyonu deney sonuçlarında inhibisyon gözlenmedi.

Literatürde, Luyen ve arkadaşları kasımpatı (*Chrysanthemum morifolium*) metanol ekstraktlarının α-glukozidaz ve lipaz enzimine karşı güçlü inhibitör etki gösterdiği bildirilmiştir. α-glukozidaz için IC₅₀ değeri 229.3 µg/mL, lipaz enzimi için 161.0 µg/mL olarak bulmuşlardır [81].

Yue Feng ve arkadaşları *Ligustrum purpurascens* bitkisinin yapraklarının fenilpropanoid glikozitlerce (PPG) zengin olduğunu belirleyerek bu PPG'lerin doza bağımlı olarak güçlü α-glukozidaz ve α-amilaz inhibisyonu gösterdiğini bildirmişlerdir. α-amilaz için IC₅₀ değerini 1.02 µg/mL, α-glukozidaz için ise 0.73 µg/mL belirlemişlerdir [74].

Çin’de Shan Yao Chinese Yam köklerinden dört tane bileşik izole etmiş ve saflaştırmıştır. Bu bileşiklerin diyabet tedavisi için α -glukozidaz inhibisyon aktivitesi araştırıldığında; 1. Bileşik *trans*-N-p-kumaroiltiramin için $IC_{50}= 0.40$ mM, 2. Bileşik 1,7-bis(4-hidroksifenil)heptan-3,5-diol için $IC_{50}= 0.38$ mM, 3. Bileşik 6-hidroksi-2,4,7-trimetoksifenantren için $IC_{50}= 0.77$ mM olarak bulunmuştur.. 4. Bileşik N-p-kumaroiltiramin olup 1. ve 4. bileşik birbirinin izomeridir. 4. bileşik α -glukozidaz inhibisyon aktivitesi göstermemiştir. Diğer bileşikler α -glukozidaz inhibisyon aktivitesi göstermiş ve IC_{50} değerleri yukarıda belirtildiği gibidir [80].

Tez kapsamında lipaz inhibisyonu çalışması Souza ve arkadaşlarının metodu kullanılarak yürütüldü [76]. Bu çalışmada lipaz inhibisyonu için enzim olarak DPL, substrat PNP ve pozitif kontrol olarak da orlistat seçildi. Lipaz inhibisyon çalışmalarının sonucunda tüm bitkilerin su, etanol ve metanol ekstraktları için lipaz inhibisyonu göstermediği belirlendi.

Tripsin inhibisyon deneyi Shahwar ve ark. metodu modifiye edilerek gerçekleştirildi [77]. İnhibisyon çalışmaları yapılan funda, biberiye, mate, zahter, sinameki, sinirli ot, barut ağacı, yeşilçay bitkilerinde tripsin inhibisyonu gözlenmezken sadece çoban çökerten bitkisinin su ekstraktında gözlendi. Çoban çökerten bitkisinin su ekstraktında $1000 \mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda $\% 75.633 \pm 0,004$ bir inhibisyon görüldü. IC_{50} değeri $48.0 \mu\text{g/mL}$ olarak belirlendi. Çoban çökerten bitkisinin de etanol ve metanol ekstraktlarında inhibisyon gözlenmedi.

Shahwar ve arkadaşları [74] *Cinnamomum zeylanicum* ile tripsin inhibitörleri belirlemek için yaptıkları çalışmada sinnamik asit, gallik asit, *Impatient bicolor*’dan ferülik asit izole etmişlerdir. Bileşiklerin IC_{50} değerleri sırasıyla 0.35 ± 0.002 mM, 0.96 ± 0.005 mM, 1.22 ± 0.006 mM olarak bulunmuşlardır.

MAO-A enzimi inhibisyon çalışması Jager ve arkadaşlarının metodu modifiye edilerek optimize edilen koşullarda çalışıldı [80]. Funda bitkisinin su, etanol ve metanol ekstraktları $\% 50$ ’nin üzerinde MAO-A enzimi inhibisyon aktivitesi gösterdi. Funda bitkisinin su, etanol ve metanol ekstraktlarının IC_{50} değerleri sırasıyla $50.4 \mu\text{g/mL}$, $80.0 \mu\text{g/mL}$ ve $51.2 \mu\text{g/mL}$ olarak belirlendi.

Biberiye bitkisinin su, etanol ve metanol ekstratları % 50'nin üzerinde MAO-A enzim inhibisyonu gösterdi. Grafik yardımıyla ekstraktların IC₅₀ değerleri 49.2 µg/mL, 48.5 µg/mL, 48.1 µg/mL olarak belirlendi.

Yeşilçay bitkisinin su, etanol ve metanol ekstraktlarında MAO-A enzim inhibisyonu gözlemlendi. Yeşilçay bitkisinin bütün ekstraktları'nın ve pozitif kontrol klorjinin IC₅₀ değerleri birbirine yakın olarak gözlemlendi. Yeşilçay bitkisinin su ekstraktı için IC₅₀ değeri; 51.1 µg/mL, etanol ekstraktı için IC₅₀ değeri; 51.0 µg/mL, metanol ekstraktı için IC₅₀ değeri; 50.5 µg/mL olarak belirlendi. Pozitif kontrol klorjinin ise IC₅₀ değeri; 50.0 µg/mL olarak belirlendi.

Zahter, mate, sinameki, sinirli ot, barut ağacı ve çoban çökerten bitkilerin su, etanol ve metanol ekstraktlarında MAO-A enzim inhibisyonu gözlenmedi.

Stafford ve arkadaşları [70] fare karaciğerinden izole edilen MAO enziminin inhibisyonunu belirlemek için yirmi farklı bitki ile çalışmış ve fotometrik yöntem kullanmışlardır. *Ruta graveolens*'in en iyi MAO inhibitör aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. Yaprak etil asetat ekstraktı için IC₅₀ 5.0±1.0 µg/ml ve petrol eteri ekstraktı için ise 3.0 ±1.0 µg/ml olarak kaydedilmiştir.

Bu tez kapsamında piyasadaki zayıflama çayı olarak kullanılan veya zayıflama çay karışımlarının bileşiminde bulunan bitkilerden 9 tanesi incelendi. Bu bitkilerin sindirim enzimleri (α -amilaz, α -glukozidaz, tripsin, lipaz) ve monoamin oksidaz enzimi üzerine etkilerinin olup olmadığı araştırıldı, % inhibisyon değerleri hesaplandı. % 50'nin üzerinde inhibisyon aktivitesi gösteren bitki ekstraktları için % İnhibisyon-Konsantrasyon grafikleri oluşturuldu ve bu grafikler yardımıyla IC₅₀ değerleri hesaplandı.

Bu dokuz bitkiden yeşilçay, biberiye ve zahter bitkilerinin sulu formunun obezite tedavisinde destek olarak kullanılabilirliği görüldü. α - Amilaz enzim inhibisyonu için biberiye > zahter > funda bitkilerinin su ekstraktları kullanılabilir. α -Glukozidaz enzim inhibisyonu için Funda ve Yeşilçay bitkilerinin su ekstraktları, MAO enzim inhibisyonu için de funda su ve biberiye su ekstraktlarının kullanılması ile bu enzimlerin çalışmasının inhibe edileceği ve böylece obezite tedavisine yardımcı olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] S.F. Nabavi, G.L. Russo, M.Daglia, S.M. Nabavi, *Role of quercetin as an alternative for obesity treatment: You are what you eat*, Food Chemistry, 179, 305–310, (2015).
- [2] A. Commuzzie, D.B. Allison, *The search for human obesity genes*, Science, 280, 1374-1377, (1998).
- [3] G. Akbulut, M. Özmen, T. Besler, *Çağın Hastalığı Obezite*, TÜBİTAK Bilim ve Teknik Dergisi Eki Mart Sayısı, 2-15, (2007).
- [4] K.M. Flegal, M.D Carroll, B.K. Kit, C.L. Ogden, *Prevalence of obesity and trends in the distribution of body mass index among US adults*, Journal of the American Medical Association, 307(5), 491–497, (2012).
- [5] B.M. Popkin, *Does global obesity represent a global public health challenge*, The American Journal of Clinical Nutrition, 93(2), 232–233, (2011).
- [6] F. Berenbaum, F.Eymard, X. Houard, *Osteoarthritis, inflammation and obesity*. Current Opinion in Rheumatology, 25(1), 114–118, (2013).
- [7] J.B. Dixon, *The effect of obesity on health outcomes*, Molecular and Cellular Endocrinology, 316(2), 104–108, (2010).
- [8] P.G. Kopelman, *Obesity as a medical problem*. Nature, 404(6778), 635–643, (2000).
- [9] G.Bondioli, S.R Bareggi, N.G Frega, S. Strabioli, U. Cornelli, *Activity of two different polyglucosamines, L112 and FF45, on body weight in male rats*, European Journal of Pharmacology 567(1-2), 155–158, (2007).
- [10] W.Y. Jong, *Possible anti-obesity therapeutics from nature*, Phytochemistry, 7, 1625-164, (2010).

- [11] H.S. Hwang, H.A Kim, S.H Lee, J.W Yun, *Anti-obesity and anti-diabetic effects of deep sea water on ob/ob mice*, Marine Biotechnology, (NY) 11(4), 531–539, (2009).
- [12] A. Gambero, M.L. Ribeiro, **The Positive Effects of Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) in Obesity**. Nutrients,7(2), 730-750, (2015).
- [13] A.H. Berg, P.E. Scherer, *Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease*, Circulation Research, 96(9), 939-949, (2005).
- [14] WHO, *Obesity: Preventing and managing the global epidemic*, Technical Report, 894, (2000).
- [15] S. Şahin, *Obez Hastalarında Leptin Geni (LEP) G-2548 A ve Leptin Reseptör Geni (Lepr) 668a|>G (Q223r) Polimorfizmlerin Araştırılması*, Tokat (Yüksek Lisans Tezi), (2011).
- [16] G. Danaei, M. Lu, Y.Finucane, G.Singh, M.Cowan, C. Paciorek, G. Stevens, *Global burden of metabolic risk factors of chronic diseases collaborating group (blood glucose) national, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: Systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants*. Lancet, 378(9785), 31-40, (2011).
- [17] H. Nyambe-Silavwe, J.A. Villa-Rodriguez, I. Ifie, M. Holmes, E. Aydin, J. Møller Jensen, G.Williams, *Inhibition of human α -amylase by dietary polyphenols*, Journal of Functional Foods, 19, 723–732, (2015).
- [18] A.A. Leena, P.C. Jill, *Type 2 Diabetes Prevention: A Review*. Clinical Diabetes. 28(2), 53–59, (2010).
- [19]S.Shobana, Y.N. Sreerama, N.G. Malleshi *Composition and enzyme inhibitory properties of finger millet (Eleusine coracana L.) seed coat phenolics: mode of inhibition of α -glucosidase and pancreatic amylase*, Food Chemistry, 115:1268-1273, (2009.)

- [20] B.A. Manel, M. Kais, F. Abdelfattah, D. Mohamed, A. Nouredine, *In vitro Antidiabetic, anti-obesity and antioxidant proprieties of Rosemary extracts*, Journal of Advances in Chemistry, 10(2), 2305-2316, (2014).
- [21] D.W. Haslam, W.P. James, *Obesity*. Lancet, 366(9492), 1197–1209, (2005).
- [22] C. Vaisse, J.L Halaas, C.M. Horvath, J.E.Jr. Darnell, M. Stoffel. J.M Friedman, *Leptin activation of Stat3 in the hypothalamus of wild-type and ob/ob mice but not db/db mice*. Natura Genetics, 14(1), 95–97, (1996).
- [23] <http://faostat.fao.org/DesktopDefault.aspx?PageID=567&lang=en#ancor> (erişim tarihi 25.07.2012).
- [24] G.F Ferrazzano, L. Roberto, I. Amato, T.Cantile, G. Sangianantoni, A.Ingenito, *Antimicrobial properties of green tea extract against cariogenic microflora:an in vivo study*, Journal of Medicinal Food, 14(9), 907–911, (2011).
- [25] A. Scalbert, C. Manach, C. Morand, C. Remesy, *Dietary polyphenols and theprevention of diseases*, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 45, 287–306, (2005).
- [26] M. vonStaszewski, A.M.R.Pilosof, R.J. Jagus, *Antioxidant and antimicrobialperformance of different argentinean green tea varieties as affected by whey proteins*. Food Chemistry, 125(1), 186–192, (2011).
- [27] S. Bansal, S. Chodhray, M. Sharma, S.S. Kumar, S. Lohan, V. Bhardwaj, N. Syan, S. Jyoti, *Tea: A native source of antimicrobial agents*, Food Research International, 53(2), 568–584, (2013).
- [28] Y. Kuroda, Y. Hara, *Antimutagenic andanticarcinogenic activity of tea polyphenols*, Mutation Research, 436, 69–97, (1999).
- [29] C.S. Yang, H. Wang, *Mechanistic issues concerning cancer prevention by tea catechins*, Molecular Nutrition & Food Research, 55(6), 819–831, (2011).
- [30] Y. Suzuki, N.Miyoshi, M. Isemura, *Health-promoting effects of green tea*. Proceedings of the Japon Academy Series. B, Physical and Biological Sciences, 88(3),88-101, (2012).

- [31] H. Gao, Z. Liu, X. Qu, Y. Zhao, *Effects of Yerba Mate tea (Ilex paraguariensis) on vascular endothelial function and liver lipoprotein receptor gene expression in hyperlipidemic rats*. *Fitoterapia*, 84, 264–272, (2013).
- [32] Small E, P.M.Catling, *Blossoming treasures of biodiversity: 3. Mate (Ilexparaguariensis)-better than Viagra, marijuana, and coffee?* *Biodiversity*, 2, 26-27, (2011).
- [33] G. Grigioni, F. Carduza, M. Irurueta, N. Pensel, *Flavour characteristics of Ilex paraguariensis infusion, a typical Argentine product, assessed by sensory evaluation and electronic nose*, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(5), 427–32, (2004).
- [34] A.B. Pomilio, S.Trajtemberg, A.A. Vitale, *High-performance capillary electrophoresis analysis of mate infusions prepared from stems and leaves of Ilex paraguariensis using automated micellar electrokinetic capillary chromatography*. *Phytochemical Analysis*, 13(4), 235–41, (2002).
- [35] C.I. Heck, E.G. de Mejia *Yerba Mate tea (Ilex paraguariensis), a comprehensive review on chemistry, health implications, and technological consideration*,. *Journal of Food Science*, 72(9), 138–51, (2007).
- [36] E.C de Morais, A.Stefanuto, G.A. Klein, B.C. Boaventura, F. De Andrade, E.Wazlawik, P.F. Di Pietro, M. Maraschin, E.L.da Silva, *Consumption of yerba mate (Ilex paraguariensis) improves serum lipid parameters in healthy dyslipidemic subjects and provides an additional LDL-cholesterol reduction in individuals on statin therapy*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(18), 8316–24,(2009).
- [37] F.L.Paganini Stein, B. Schmidt, E.B. Furlong, L.A. Souza-Soares, M.C. Soares, M.R.Vaz,A.L. Muccillo Baisch,*Vascular responses to extractable fractions of Ilex paraguariensis in rats fed standard and high-cholesterol diets*. *Biological Research For Nursing*, 7, 146–56, (2005).
- [38] M.I. Bakker, W.J. Baas, D.T.H.M. Sijm, C. Kolloffel, *Leaf wax of Lactuca sativa and Plantago major*. *Phytochemistry*, 47(8), 1489–1493, (1998).

- [39] D.Coelho, G. Marques, A.Gutierrez, A.J.D. Silvestre, J.C. del Rio, ***Chemical characterization of the lipophilic fraction of giant reed (Arundo donax) fibres used for pulp and paper manufacturing.*** International Crops and Products, 26, 229–236, (2007).
- [40] A. Szakiel, B. Niżyński, C. Pączkowski, ***Triterpenoid profile of flower and leaf cuticular waxes of heather Calluna vulgaris,*** Natural Product Research, 27(15), 1404–1407, (2013).
- [41] L.I. Borrás, D.Arreaz-Roman, M.Herrero, E. Ibanez, A.Segura-Carretero, A. Fernandez-Gutierrez, ***Comparison of different extraction procedures for the comprehensive characterization of bioactive phenolic compounds in Rosmarinus officinalis by reversed-phase high-performance liquid chromatography with diode array detection coupled to electrospray time-of-flight mass spectrometry,*** Journal of Chromatography, 1218, 7682–90, (2011).
- [42] Y. Zhang, T.A. Adedokun, L. Qu, X. Li, J.Li, L. Han, T.Wang, ***New terpenoid glycosides obtained from Rosmarinus officinalis L. aerial parts,*** Fitoterapia, 99, 78–85, (2014).
- [43] M. Srivastava, S. Srivastava, S. Khatoon, A.K.S. Rawat, S. Mehrotra, P.Pushpangadan, ***Pharmacognostical Evaluation of Cassia angustifolia Seeds,*** Pharmaceutical Biology, 44(3), 202–207, (2006).
- [44] N.A. Khan, A. Srivastava, ***Antifungal activity of bioactive triterpenoid saponin from the seeds of Cassia angustifolia,*** Natural Product Research, 23(12), 1128–1133, (2009).
- [45] S. Kizil, ***Determination of essential oil variations of Thymbra spicata var. spicata L. naturally growing in the wild flora of East Mediterranean and Southeastern Anatolia regions of Turkey.*** Industrial Crops and Products 32(3), 593–600, (2010).
- [46] S. Kokkini, D. Vokou, ***Carvacrol-rich plants in Greece.*** Flavour and Fragrance Journal, 4(1), 1–7, (1989).
- [47] S. Kızıl, O. Toncer, E. Diraz, S. Karaman, ***Variation of Agronomical Characteristics and Essential Oil Components of Zahter (Thymbra Spicata L. Var.***

Spicata) Populations in Semi-Arid Climatic Conditions, Turkish Journal of Field Crops, 20(2), 242-25,(2015).

[48] N.T. Manojlovic, S. Solujic, S. Sukdolak, M. Milosev, *Antifungal activity of Rubia tinctorum, Rhamnus frangula and Caloplaca cerina*, Fitoterapia 76(2), 244–246, (2005)

[49] P.H. Davis, R.R.Mill, K. Tan, *Flora of Turkey and the EastAegean Islands (Supplement)*, Edinburgh: Edinburgh University Press, 10, 489–501, (1988).

[50] M. Kargoglu, S. Cenkci, A. Serteser, M. Konuk, G. Vural, *Traditional uses of wild plants in the middle Aegean region of Turkey*. Human Ecology, 38(3), 429–450, (2010).

[51] G. Zengin, A. Aktumsek, G.O. Guler, Y.S. Cakmak, Y. Kan, *Composition of essential oil and antioxidant capacity of Centaurea drabifolia Sm. subsp. detonsa (Bornm.) Wagenitz, endemic to Turkey*, Natural Product Research, 26(1), 1-10, (2012).

[52] A.B. Samuelsen, *The traditional uses, chemical constituents and biological activities of Plantago major*, Jounarly of Ethnopharmacology, 71(1-2), 1-21, (2000).

[53]D. Ribera-Nunez, O. de Castro, C. Laguia, INCAFO de las plantas utiles y Venenosas de la Peninsula Iberica y Baleares, INCAFO: Madrid, Spain, 897-901, (1991).

[54] A.Pieroni, S.Nebel, C. Quave, H.Munz, H. M. Heinrich, *Ethnopharmacology of liakra: traditional weedy vegetables of the Arbe`reshe` of the Vulture area in southern Italy*, Jounarly of Ethnopharmacology, 81(2), 165-185, (2002).

[55]M. Galvez, C. Martin-Cordero, P.J. Houghton, M.J. Ayuso, *Antioxidant Activity of Methanol Extracts Obtained from Plantago Species*, J. Agric.Food Chem. 53(6), 1927-1933, (2005).

[56] V. Delorme, R. Dhouib, S. Canaan, F. Fotiadu, F. Carriere & J.F. Cavalier, *Effects of Surfactants on Lipase Structure, Activity, and Inhibition*, Pharmaceutical Research, 28(8), 1831–1842, (2011).

- [57] D.R. Lewis, D.J. Liu, *Direct Measurement of Lipase Inhibition by Orlistat Using a Dissolution Linked In Vitro Assay*, Clinical Pharmacology and Biopharmaceutics, 1(3), 1-3, (2012).
- [58] G. Kokotos, *Inhibition of digestive lipases by 2-oxo amide triacylglycerol analogues*, Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 22(5), 255–269 (2003).
- [59] <http://www.iyibircerrah.com/obezite/1-bakalim-obez-miyiz> (erişim tarihi 12.02.2016).
- [60] S. Tatar, *Termofil Moderately Halofilik Bacillus sp. Suşlarından Amilaz Enzimi Üretimi ve Endüstriyel Kullanım Olanaklarının Araştırılması*, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2007.
- [61] P.J. Butterworth, F.J. Warren, P.R. Ellis, *Human α -amylase and starch digestion: An interesting marriage*, Starch, 63(7), 395–405, (2011).
- [62] <http://www.drugs.com/sfx/acarbose-side-effects.html> (erişim tarihi 12.02.2016)
- [63] H.K. Leiros, B.O. Brandsdal, O.A. Andersen, V. Os, I. Leiros, R. Helland, J. Otlewski, N.P. Willassen, A.O. Smalas, *Trypsin specificity as elucidated by LIE calculations, X-ray structures, and association constant measurements*. Protein Science, 13(4), 1056–70 (2004).
- [64] N.D. Rawlings, A.J. Barrett, *Families of serine peptidases*, Methods in Enzymology, 244, 19–61 (1994).
- [65] <https://en.wikipedia.org/wiki/Trypsin> (erişim tarihi 08.02.2016)
- [66] M. Yamada, H. Yasuhara, *Clinical pharmacology of MAO inhibitors: safety and future*. Neurotoxicology 25, 215–221, (2004).
- [67] J.Saura Marti, R.Kettler, M.Da Prada, J.G.Richards, *Molecular neuroanatomy of MAO-A and MAO-B*. Journal of Neural Transmission. Supplementum 32, 49-53, (1990).
- [68] J.A. Bodkin, J.D. Amsterdam, *Transdermal selegiline in major depression: a double-blind, placebo-controlled, parallel-group study in outpatients*, American Journal of Psychiatry, 159, 1869–1875, (2002).

- [69] V. Butterweck, A. Nahrstedt, J. Evans, S. Hufeisen, L. Rauser, J. Savage, B. Popadak, P. Ernsberger, B.L. Roth, *In vitro receptor screening of pure constituents of St. John's Wort reveals novel interactions with a number of GPCRs*, Psychopharmacology Bulletin 162, 193–202, (2002).
- [70] G.I. Stafford, P.D. Pedersen, A.K. Jäger, J. Van Staden, *Monoamine oxidase inhibition by southern African traditional medicinal plants*, South African Journal of Botany 73, 384–390, (2007).
- [71] P.M.de Sales, P.M.deSouza, L.A.Simeoni, P.D.O. Magalhaes, D. Silveira, *α -Amylase inhibitors: a review of raw material and isolated compounds from plant source*, Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 15(1), 141–183, (2012).
- [72] M.D.P.T. Gunawan-Puteri, E. Kato, J. Kawabata, *α -amylase inhibitors from an Indonesian medical herb, Phyllanthus urinaria*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 92(3), 606-609, (2011).
- [73] S.P. de Souza, L.L.S. Pereira, C.D. dos Santos, A.A. Souza, *Inhibition of pancreatic lipase by extracts of Baccharis trimera DC ,Asteraceae:evaluation of antinutrients and effect on glucosidases*, Revista Brasileira Farmacognosia, 21(3), 450-455, (2010).
- [74] <http://www.google.com/patents/US8211848> (erişim tarihi 08.01.2016).
- [75] <http://www.sigmaaldrich.com/life-science/biochemicals/biochemical.products.html>, Table Page=108659037 (erişim tarihi 12.02.2016).
- [76] Y. Kwon, E. Apostolidis, K. Shetty, *Inhibitory potential of wine and tea against α -amylase and α -glucosidase for management of hyperglycemia linked to type 2 diabetes*, Journal of Biomedicine and Biotechnology 32(1), 15-31, (2006).
- [77] L. Zhang, B. Bai, X. Liu, Y. Wang, M. Li, D. Zhao, *α -Glucosidase inhibitors from Chinese Yam (Dioscorea opposita Thunb.)*, Food Chemistry, 126, 203-206, (2011).
- [78] D. Shahwar, M.A. Raza, S.U. Rehman, M.A. Abbasi, A. Rahman, *An investigation of phenolic compounds from plant sources as tyrosinase inhibitors*, Natural Product Research, 26(12), 1087-1093, (2012).

- [79] <http://www.sigmaaldrich.com/life-science/metabolomics/enzyme-explorer/analytical-enzymes/tryptase.html> (erişim tarihi 12.02.2016).
- [80] C. Roh, U. Jung, *Screening of Crude Plant Extracts with Anti-Obesity Activity*, International Journal of Molecular Sciences, 13, 1710-1719,(2012).
- [81] N.T. Luyen, L.H. Tram, T.T.H. Hanh, P.T. Binh, N.H. Dang, C.V. Minh, N.T. Dat, *Inhibitors of α -glucosidase, α -amylase and lipase from Chrysanthemum morifolium*. Phytochemistry Letters, 6(3), 322–325, (2013).
- [82] Y.Feng, F.Lu, X.Wu, Y.Li, Y.Shen, L.Fan, Z. He, K. Gao, *Inhibitory potential of phenylpropanoid glycosides from Ligustrum purpurascens Kudingcha against α -glucosidase and α -amylase in vitro*, Food Science and Technology, 50, 2280–2289, (2015).
- [83] M.Miao, B.Jiang, H. Jiang, T. Zhang, X. Li, *Interaction mechanism between green tea extract and human α -amylase for reducing starch digestion*. Food Chemistry, 186 20–25, (2015).

ÖZGEÇMİŞ

14 Ocak 1990 tarihinde Lüleburgaz'da doğdum. İlk ve ortaokulu Lüleburgaz Atatürk İlköğretim Okulu'nda okudum. 2003 yılında Lüleburgaz Atatürk Lisesi'nde lise eğitimimi tamamlayarak 2006 yılında mezun oldum.

2007 yılında Anadolu Üniversitesi İşletme Fakültesinde İşletme Bölümün'de İşletme eğitime başladım.

2008 yılında Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü'ne başladım. 2012 yılında derece ile mezun oldum. Lisans eğitimim sırasında Organik Kimya Anabilim Dalında "2,2'-Bipiridin Bileşiklerinin İncelenmesi" adlı bitirme tezini yaptım.

2012 yılında Trakya Üniversitesi Eğitim Fakültesi Pedagojik Formasyon Eğitimi aldım.2012 yılında Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Programı'nda Yüksek Lisans yapmaya hak kazandım.

2013 yılında Anadolu Üniversitesi İşletme Fakültesi İşletme Bölümü'nden mezun oldum.

15.09.2013-30.07.2014 tarihleri arasında Çerkezköy Argon Kimya firmasında AR-GE Uzmanı olarak çalıştım. 04.08.2014 tarihinden bu yana Lüleburgaz Zentiva Sağlık Ürünleri Firmasında Analist olarak çalışmaya devam etmekteyim.

Pelin ÇALLIOĞULLARI