



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA
TEZİ**

**BİTKİSEL KAYNAKLI YENİ KSANTİN
OKSİDAZ İNHİBİTÖRLERİNİN BELİRLENMESİ
ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

ELİF BAKİ KEKİLLİ

FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI

EYLÜL 2019



**BİTKİSEL KAYNAKLI YENİ KSANTİN OKSİDAZ İNHİBİTÖRLERİNİN
BELİRLENMESİ ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

Elif BAKİ KEKİLLİ

**DOKTORA TEZİ
FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

EYLÜL 2019

Elif BAKİ KEKİLLİ tarafından hazırlanan “BİTKİSEL KAYNAKLI YENİ KSANTİN OKSİDAZ İNHİBİTÖRLERİNİN BELİRLENMESİ ÜZERİNDE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / ~~OY ÇOKLUĞU~~ ile Gazi Üniversitesi Farmakognozi Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman (Başkan): Prof. Dr. İlkay ERDOĞAN ORHAN

Farmakognozi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Prof. Dr. İlhan GÜRBÜZ

Farmakognozi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

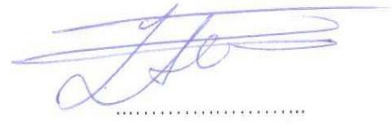
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Prof. Dr. Mehmet Levent ALTUN

Farmakognozi Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Prof. Dr. Mustafa ARK

Farmakoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Doç. Dr. Alper GÖKBULUT

Farmakognozi Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Tez Savunma Tarihi: 19/09/2019

Jüri üyeleri tarafından DOKTORA tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

.....
Prof. Dr. Mustafa ASLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.



Elif BAKİ KEKİLLİ

19/09/2019

BİTKİSEL KAYNAKLI YENİ KSANTİN OKSİDAZ İNHİBİTÖRLERİNİN BELİRLENMESİ ÜZERİNDE FARMAKOĞNOZİK ARAŞTIRMALAR

(Doktora Tezi)

Elif BAKİ KEKİLLİ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Eylül 2019

ÖZET

Bu tez çalışmasında, Türkiye’de yetişen *Erodium* L’Her. ex Aiton ve *Geranium* L. cinsine ait takson örneklerinin etanollü ekstraktları *in vitro* ksantin oksidaz (KO) inhibitör aktiviteleri yönünden incelenmiştir. En yüksek KO inhibitör etki gösterenlerden biri olan *E. birandianum* İlarslan & Yurdakulol (EB) ekstresi önce kolon kromatografisi ile fraksiyonlanmış, elde edilen 7 fraksiyon tekrar KO’ya karşı test edilmiş ve 3 fraksiyon (EB-2, EB-3 ve EB-4) % 90’ın üzerinde (allopurinole yakın) inhibisyon göstermiştir. EB etanol ekstresi ve 3 aktif fraksiyon fitokimyasal olarak, etkiden sorumlu bileşikler tespit etmek amacıyla, LC-MS-MS (LC-Q-TOF-MS) ile analiz edilmiştir. Ekstrede ve aktif fraksiyonlarda gallik asit, kafeik asit, kinik asit, sirinjik asit, 3,4-dihidroksibenzoik asit, kateşin, epikateşin, rutin, luteolin, apigenin ve kersetin tespit edilmiştir. Aktif fraksiyonlarda ayrıca molekül ağırlıkları 850’den fazla olan ve LC-MS-MS kütüphanesi ve literatür verileri ile de karşılaştırılarak, prosiyanidin grubu olduğu sonucuna varılmıştır. Temin edebildiğimiz bileşiklerden kateşin, kafeik asit, rutin ve kersetin tekrar KO’ya karşı 500 µg/mL konsantrasyonda test edilmiş ve en yüksek inhibisyona kersetinin (% 98,03 ± 2,34) yol açtığı görülmüştür. Kateşin ve rutin inaktif bulunurken, kafeik asit enzimi % 21,58 ± 2,77 oranında inhibe edebilmiştir. Diğer yandan gallik asit, kafeik asit, kateşin, epikateşin, luteolin, apigenin ve kersetinin KO inhibitör etkileri moleküler doklama deneyleri ile *in silico* olarak da incelenmiş ve protein-ligant etkileşimi moleküler düzeyde tespit edilmiştir. Ayrıca PASS ve Swiss Target Prediction *in silico* tarama programları ile bu bileşiklerin KO inhibitör etki gösterme olasılıkları da incelenmiştir. Bileşiklerin muhtemel toksisiteyi, VEGA QSAR Mutajenite (Ames test) CONSENSUS modeli, ToxTREE SAR model *in vitro* mutajenite (Ames; ISS) modeli ve VEGA hepatotoksisite modeli (IRFMN) programları ile *in silico* düzeyde değerlendirilmiştir. Sonuç olarak; EB ekstresi ile aktif fraksiyonların yüksek KO inhibitör etkisinin, ana ekstre ve fraksiyonlardan daha yüksek inhibisyon gösteren kersetin başta olmak üzere, luteolin ve apigenin ile gallik asitten kaynaklanabileceği, ana ekstreye göre aktif fraksiyonlarda daha belirgin olan prosiyanidin türevlerinin de etkiye katkıda bulunabileceği sonucuna varılmıştır. Bu tez çalışması, ülkemizde yetişen *Erodium* ve *Geranium* türlerini KO inhibitör etki yönünden ilk defa inceleyen ve akabinde daha önce hiç çalışılmamış, endemik bir tür olan *Erodium birandium* üzerinde yapılmış ilk fitokimyasal ve biyoaktivite çalışmasıdır.

Bilim Kodu : 1017
Anahtar Kelimeler : Ksantin Oksidaz, Enzim İnhibisyonu, Bitki, Tarama, *In Vitro*, *In Silico*, İnhibitör, Gut Hastalığı
Sayfa Adedi : 131
Danışman : Prof. Dr. İlkey ERDOĞAN ORHAN

PHARMACOGNOSTIC RESEARCHES ON ESTABLISHING NEW XANTHINE
OXIDASE INHIBITORS OF HERBAL ORIGIN

(Ph. D. Thesis)

Elif BAKİ KEKİLLİ

GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

September 2019

ABSTRACT

In this thesis, the ethanol extracts of the taxon samples of *Erodium* L'Her. ex Aiton and *Geranium* L. genus growing in Turkey were investigated for their *in vitro* xanthine oxidase (XO) inhibitory activities. First of all, the extract of *E. birandianum* İlarslan & Yurdakulol (EB), one of the species with the highest XO inhibitory activity, was fractionated using column chromatography. The 7 fractions obtained were tested again towards XO, which afforded 3 active fractions showing inhibition over 90 % (closer to allopurinol). EB ethanol extract as well as 3 active fractions were phytochemically analyzed using LC-MS-MS (LC-Q-TOF-MS) in order to establish the compounds responsible for the effect. Gallic acid, caffeic acid, quinic acid, syringic acid, 3,4-dihydroxybenzoic acid, catechin, epicatechin, rutin, luteolin, apigenin, and quercetin were detected in the extract and active fractions. In the active fractions, presence of procyanidin derivatives having molecular weight over 850 were concluded through comparison of LC-MS-MS library along with literature data. Catechin, caffeic acid, rutin, and quercetin that we were able to procure were again tested against XO at concentration of 500 µg/mL, among which the highest inhibition was caused by quercetin (% 98,03 ± 2,34). While catechin and rutin were inactive, caffeic acid could inhibit the enzyme at % 21,58 ± 2,77. On the other hand, XO inhibitory effect of gallic acid, caffeic acid, catechin, epicatechin, luteolin, apigenin, and quercetin was investigated *in silico* by molecular simulation (docking) experiments and their protein-ligand interaction was searched at molecular level. Besides, possibility of XO inhibitory effect by these compounds were examined using PASS and Swiss Target Prediction *in silico* screening programs. Possible toxicity of the compounds was evaluated by VEGA QSAR Mutagenity (Ames test) CONSENSUS model, ToxTREE SAR model *in vitro* mutagenity (Ames; ISS) model, and VEGA hepatotoxicity model (IRFMN) programs at *in silico* level. As conclusion, quercetin in the first place, which showed a higher inhibition than those of the main extract and fractions, as well as luteolin, apigenin, and gallic acid were deduced to be most likely responsible for the marked XO inhibitory effect of EB extract and active fractions, where procyanidin derivatives more clearly existed in the active fractions than the main extract, also contributed to the inhibitory effect. The current thesis is the first phytochemical and bioactivity work on *Erodium birandium*, which is an endemic species not searched up to date, and first investigation of *Erodium* and *Geranium* species growing in our country.

Science Code : 1017

Key Words : Xanthine Oxidase, Enzyme Inhibition, Plant, Screening, *In Vitro*, *In Silico*, Inhibitor, Gout Disease

Page Number : 131

Advisor : Prof. Dr. İlkey ERDOĞAN ORHAN

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimine başlamam konusunda beni teşvik eden, tez konumun belirlenmesinde ve tez çalışmalarımın her aşamasında bilgi ve tecrübeleriyle beni yönlendiren, ilgi, anlayış ve desteğini üzerimden eksik etmeyen, her zaman örnek aldığım değerli hocam Prof. Dr. İlkey ERDOĞAN ORHAN'a tüm emekleri için çok teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım sırasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyen tez izleme komitesi üyesi hocalarım Prof. Dr. Bilge ŞENER ve Prof. Dr. Mustafa ARK ile Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Didem DELİORMAN ORHAN'a teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım sırasındaki yardımları ve destekleri için Doç. Dr. Fatma Sezer ŞENOL DENİZ'e, Farmakognozi Anabilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma ve araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkür ederim.

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

Fitokimyasal ve *in silico* analiz çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Gökçen EREN'e, Doç. Dr. Esra EMERCE'ye ve Öğr. Gör. İbrahim Ayhan AYSAL'a teşekkürü borç bilirim.

Hayatımın her döneminde olduğu gibi bu süreçte de desteklerini esirgemeyip her zaman yanımda olan annem Solmaz BAKİ'ye, babam Ahmet BAKİ'ye, kardeşim Levent BAKİ'ye ve eşim Ayhan KEKİLLİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xii
RESİMLERİN LİSTESİ	xvi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Botanik Bölüm	5
2.1.1. Geraniaceae familyası	5
2.1.2. <i>Geranium</i> L. cinsi	6
2.1.3. <i>Erodium</i> L'Hér. ex Aiton cinsi	10
2.1.4. <i>Erodium birandianum</i> İlarslan & Yurdakulol.....	16
2.2. Fitokimyasal Bölüm	18
2.2.1. <i>Erodium</i> L'Hér. ex Aiton türleri üzerindeki fitokimyasal çalışmalar.....	18
2.3. Biyolojik Aktivite Bölümü.....	25
2.3.1. <i>Erodium</i> L'Hér. ex Aiton türleri üzerindeki biyolojik aktivite çalışmalarını	25
2.4. Ksantin Oksidaz Enzimi.....	34
2.5. Hiperürisemi/gut Hastalığı	37
2.6. Bitkisel Kaynaklı KO İnhibitörleri.....	39
2.7. KO İnhibitörü Fenolik Bileşiklerde Yapı-Etki İlişkisine Örnekler.....	45
2.8. KO İnhibitörü Etkiye Sahip Bitkisel Ekstreler.....	48

	Sayfa
2.9. KO İnhibitörü Etkiye Sahip Diğer Doğal Kaynaklar	50
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	53
3.1. Gereç.....	53
3.2. Yöntemler	56
3.2.1. Ekstrelerin hazırlanması	56
3.2.2. KO enzim inhibisyonu tayini.....	56
3.2.3. Fitokimyasal analizler.....	57
3.2.4. EB etanol ekstresi ve EB-3 fraksiyonunun LC-MS-MS analizi.....	60
3.2.5. Moleküler doklama deneyleri	62
3.2.6. <i>In silico</i> biyolojik aktivite analizleri.....	63
3.2.7. <i>In silico</i> toksisite analizi	63
4. BULGULAR.....	65
4.1. Ekstre ve Fraksiyonların Verimine Ait Bulgular.....	65
4.1.1. Ön taramada kullanılan ekstrelerin verimine ait bulgular	65
4.1.2. EB etanol ekstresine ait fraksiyonların verimine ait bulgular	66
4.2. Ksantin Oksidaz (KO) Enzim İnhibisyonuna Ait Bulgular.....	67
4.2.1. Ekstrelerin KO enzim inhibisyonuna ait bulgular	67
4.2.2. EB etanol ekstresine ait fraksiyonların KO inhibisyonuna ait bulgular ...	69
4.2.3. Toplam fenol ve flavonoit miktar tayinine ait bulgular.....	69
4.3. EB Etanol Ekstresi ve Aktif Fraksiyonların LC-MS-MS Analizine Ait Bulgular	70
4.4. Moleküler Doklama Deneylerine Ait Bulgular	79
4.4.1. Kersetine ait bulgular.....	80
4.4.2. Kateşine ait bulgular	81
4.4.3. Epikateşine ait bulgular	82
4.4.4. Kafeik asite ait bulgular.....	82

	Sayfa
4.4.5. Luteoline ait bulgular	83
4.4.6. Apigenine ait bulgular	84
4.4.7. Gallik asite ait bulgular	84
4.5. <i>In Silico</i> Biyolojik Aktivite Analizleri Bulguları	85
4.6. <i>In Silico</i> Toksisite Analiz Bulguları	93
5. TARTIŞMA.....	95
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	103
KAYNAKLAR.....	105
ÖZGEÇMİŞ	131

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. <i>Erodium</i> L'Hér. ex Aiton türlerinin etnobotanik kullanımları	15
Çizelge 2.2. <i>Erodium</i> türlerinden izole edilen flavonoit türevleri.....	19
Çizelge 2.3. <i>Erodium</i> türlerinden izole edilen tanen türevleri	21
Çizelge 2.4. <i>Erodium</i> türlerinden izole edilen fenolik asit türevleri	23
Çizelge 2.5. <i>Erodium</i> türlerinde bulunan uçucu yağ bileşenleri	24
Çizelge 2.6. Tunus'ta yetişen <i>E. glaucophyllum</i> kök ekstraktlarına ait antioksidan aktivite sonuçları.....	28
Çizelge 2.7. <i>E. glaucophyllum</i> çiçek ve yapraklarının antibakteriyel etkisine ait inhibisyon zon çapları.....	30
Çizelge 2.8. <i>E. glaucophyllum</i> çiçek ve yapraklarının antifungal etkisine ait inhibisyon zon çapları.....	30
Çizelge 2.9. <i>E. glaucophyllum</i> çiçek ve yapraklarının antibakteriyel ve antifungal etkisine dair MİK, MBK ve MFK değerleri	31
Çizelge 2.10. Tunus'ta yetişen <i>E. glaucophyllum</i> kök ekstraktlarına ait antibakteriyel aktivite sonuçları	32
Çizelge 2.11. Bitkisel kökenli bazı bileşiklerin KO'ya karşı IC ₅₀ değerleri	39
Çizelge 2.12. Bitkisel kökenli KO inhibitörleri ve IC ₅₀ değerleri.....	40
Çizelge 2.13. KO inhibitörü etki gösteren çeşitli bitkisel ekstraktlar.....	48
Çizelge 2.14. KO inhibitörü etkiye sahip diğer organizmalar.....	51
Çizelge 3.1. Tez çalışmamız için toplanan <i>Erodium</i> taksonları	54
Çizelge 3.2. Tez çalışmamız için toplanan <i>Geranium</i> taksonları.....	55
Çizelge 3.3. LC-MS-MS analizinde kullanılan gradient solvan sistemi	61
Çizelge 4.1. <i>Erodium</i> türlerinden elde edilen ekstraktların % verimleri.....	65
Çizelge 4.2. <i>Geranium</i> türlerinden elde edilen ekstraktların % verimleri.....	65
Çizelge 4.3. EB etanol ekstraktından elde edilen alt fraksiyon miktarları ve % verimleri.....	66
Çizelge 4.4. <i>Erodium</i> türlerinden hazırlanan etanol ekstraktlarının KO inhibisyonları....	68

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.5. <i>Geranium</i> türlerinden hazırlanan etanol ekstralarının KO inhibisyonları ..	68
Çizelge 4.6. EB etanol ekstresine ait fraksiyonların ve tespit edilen bazı bileşiklerin KO inhibisyonları	69
Çizelge 4.7. <i>Erodium</i> türlerinde toplam fenol ve flavonoid miktarları	69
Çizelge 4.8. <i>Geranium</i> türlerinde toplam fenol ve flavonoid miktarları	70
Çizelge 4.9. EB etanol ekstresi ile aktif fraksiyonlarda LC-MS-MS (Q-TOF) analizi sonucu bulunan bileşikler	79
Çizelge 4.10. KO inhibisyonu için PASS programına göre aktivite olasılık sonuçları ..	93
Çizelge 4.11. KD inhibisyonu için PASS programına göre aktivite olasılık sonuçları ..	93
Çizelge 4.12. EB etanol ekstresi ve fraksiyonlarında bulunan bileşiklere ait <i>in silico</i> toksisite analiz bulguları	94
Çizelge 5.1. Doğal kökenli bileşiklerin aktivite taraması için kullanılan kütüphaneler	95

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. <i>Erodium birandianum</i> a) sepaller b) petaller c) yapraklar d) meyve	18
Şekil 2.2. <i>Erodium</i> türlerinde bulunan bazı flavonoit türevleri.....	20
Şekil 2.3. <i>Erodium</i> türlerinde bulunan bazı tanen türevleri	22
Şekil 2.4. <i>Erodium</i> türlerinde bulunan bazı fenolik asitler.....	23
Şekil 2.5. KO-aracılıklı pürin metabolizması.....	35
Şekil 2.6. KO aracılığı ile ksantinin ürik asite transformasyonu	36
Şekil 2.7. 5,7-Dihidroksiflavon yapısında KO inhibisyonu için önemli pozisyonlar	46
Şekil 2.8. Ksanton türevlerinden KO inhibisyonu için önemli hidrofilik grupların pozisyonu	46
Şekil 2.9. KO enzimin değişik aktif bölgeleri ile kersetinin etkileşimi	48
Şekil 4.1. EB etanol ekstresinin fraksiyonlanması	67
Şekil 4.2. LC-Q-ToF cihazında EB etanol ekstresine ait ekstrakte iyon kromatogramı ile MS spektrumu analizi için yapılan kütüphane ön taraması	71
Şekil 4.3. EB etanol ekstresine ait ekstrakte iyon kromatogramı.....	71
Şekil 4.4. EB etanol ekstresine ait MS spektrumu	71
Şekil 4.5. EB etanol ekstresine ait UV (254 nm) spektrumu ile birlikte ekstrakte iyon kromatogramı	72
Şekil 4.6. EB etanol ekstresine ait UV (254 nm) sinyalleri	72
Şekil 4.7. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan gallik asit (üstteki) ve gallik asit standartına (alttaki) ait ekstrakte iyon kromatogramları	72
Şekil 4.8. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan gallik asite ait MS spektrumu.....	73
Şekil 4.9. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan gallik asit (üstteki) ve gallik asit standartına (alttaki) ait karşılaştırmalı MS spektrumları.....	73
Şekil 4.10. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan kafeik asit (üstteki) ve kafeik asit standartına (alttaki) ait karşılaştırmalı ekstrakte iyon kromatogramları	73

Şekil	Sayfa
Şekil 4.11. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan ($\pm$)-kateşin ve epikateşin (üstteki) ile ($\pm$)-kateşin ve epikateşin standartlarına (alttaki) ait karşılaştırmalı ekstrakte iyon kromatogramları	74
Şekil 4.12. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan 3,4-dihidroksi benzoik asite ait ekstrakte iyon kromatogramı.....	74
Şekil 4.13. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan 3,4-dihidroksi benzoik asite ait MS spektrumu	74
Şekil 4.14. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan ($\pm$)-kateşine ait ekstrakte iyon kromatogramı	74
Şekil 4.15. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan ($\pm$)-kateşine ait MS spektrumu	75
Şekil 4.16. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan kafeik asite ait ekstrakte iyon kromatogramı	75
Şekil 4.17. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan kafeik asite ait MS spektrumu	75
Şekil 4.18. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan epikateşine ait ekstrakte iyon kromatogramı	75
Şekil 4.19. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan epikateşine ait MS spektrumu	75
Şekil 4.20. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan sirinjik asite ait ekstrakte iyon kromatogramı	76
Şekil 4.21. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan sirinjik asite ait MS spektrumu	76
Şekil 4.22. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan rutine ait ekstrakte iyon kromatogramı	76
Şekil 4.23. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan rutine ait MS spektrumu	76
Şekil 4.24. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan kersetine ait ekstrakte iyon kromatogramı	77
Şekil 4.25. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan kersetine ait MS spektrumu	77
Şekil 4.26. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan apigenine ait ekstrakte iyon kromatogramı	77

Şekil	Sayfa
Şekil 4.27. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan apigenine ait MS spektrumu.....	77
Şekil 4.28. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan kinik asite ait ekstrakte iyon kromatogramı.....	78
Şekil 4.29. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan kinik asite ait MS spektrumu.....	78
Şekil 4.30. EB aktif fraksiyonlarında (2-4) bulunan bileşiklere ait ekstrakte iyon kromatogramı.....	78
Şekil 4.31. EB aktif fraksiyonlarında (2-4) bulunan bileşiklere ait MS spektrumları....	79
Şekil 4.32. Bileşiklerin kofaktör olan Mo ile etkileşimi	80
Şekil 4.33. Kersetin için protein-ligant etkileşimi.....	81
Şekil 4.34. Kateşin için protein-ligant etkileşimi	81
Şekil 4.35. Epikateşin için protein-ligant etkileşimi	82
Şekil 4.36. Kafeik asit için protein-ligant etkileşimi.....	83
Şekil 4.37. Luteolin için protein-ligant etkileşimi.....	83
Şekil 4.38. Apigenin için protein-ligant etkileşimi	84
Şekil 4.39. Gallik asit için protein-ligant etkileşimi.....	85
Şekil 4.40. Swiss Target Prediction programı ile kersetine ait <i>in silico</i> biyolojik aktivite taraması (1)	86
Şekil 4.41. Swiss Target Prediction programı ile kersetine ait <i>in silico</i> biyolojik aktivite taraması (2)	87
Şekil 4.42. Swiss Target Prediction programı ile apigenine ait <i>in silico</i> biyolojik aktivite taraması (1)	88
Şekil 4.43. Swiss Target Prediction programı ile apigenine ait <i>in silico</i> biyolojik aktivite taraması (2)	88
Şekil 4.44. Swiss Target Prediction programı ile luteoline ait <i>in silico</i> biyolojik aktivite taraması (1)	89
Şekil 4.45. Swiss Target Prediction programı ile luteoline ait <i>in silico</i> biyolojik aktivite taraması (2)	90
Şekil 4.46. Swiss Target Prediction programı ile rutine ait <i>in silico</i> biyolojik aktivite taraması	90

Şekil	Sayfa
Şekil 4.47. Pass programında luteolin için olasılık verilerinin özet halinde listesi	91
Şekil 4.48. Pass programında kersetin için olasılık verilerinin özet halinde listesi	92
Şekil 5.1. EB ekstresi ve fraksiyonları üzerinde yapılan çalışmalar	97



RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. <i>Geranium lazicum</i> (Woronow) Aedo.	6
Resim 2.2. <i>Geranium molle</i> L.	10
Resim 2.3. <i>Erodium ciconium</i> 'a ait merikarp yüzeyinin SEM görüntüleri, a) Merikarp gövdesinden bir bölüm b) Merikarp çukuru	11
Resim 2.4. <i>Erodium malacoides</i> (L.) L'Hér. ex Aiton	14
Resim 2.5. <i>Erodium pelargoniiiflorum</i> Boiss & Heldr.	14
Resim 2.6. <i>Erodium birandianum</i> İlarslan & Yurdakulol.....	17
Resim 2.7. KO enziminin üç boyutlu yapısı	36
Resim 2.8. Gut hastalığında uzuvlarda görülen bozukluklar	38
Resim 2.9. KO inhibitörü etkili bazı böcek türleri	50
Resim 3.1. Bazı <i>Erodium</i> ve <i>Geranium</i> türleri.....	53
Resim 3.2. EB etanol ekstresine ait kolon kromatografisi	59
Resim 3.3. EB etanol ekstresine ait kolon kromatografisi fraksiyonlarının (1-18) İTK profili	59
Resim 3.4. EB etanol ekstresine ait alt fraksiyonların (EB-1 – EB-7) a) gün ışığında b) UV 254 nm'de İTK profili.....	60
Resim 3.5. Fakültemizde bulunan Agilent 6550 iFunnel Q-TOF cihazı.....	60

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
°C	Santigrad derece
Å	Angström
a/a	Ağırlık/ağırlık
cm	Santimetre
dk	Dakika
dL	Desilitre
eV	Elektron-volt
g	Gram
kDa	Kilodalton
kg	Kilogram
kcal	Kilokalori
L	Litre
m	Metre
M	Molar
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
ppm	Parts <i>per</i> million (milyonda bir birim)
V	Volt
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µM	Mikromolar

Kısaltmalar	Açıklamalar
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ABTS	2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)
Ar-Ge	Araştırma-Geliştirme
ATCC	American Type Culture Collection (Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu)
AYF	Aktivite-Yönlendirmeli Fraksiyonlama
BHT	Bütilhidroksitoluen
DETBA	1,3-Dietil-2-tiyobarbitürik asit
DKM	Diklorometan
DMSO	Dimetilsülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DPPH	2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
EB	<i>Erodium birandianum</i>
EC₅₀	Half-Maximal Effective Concentration (% 50 Etki Gözlenen Konsantrasyon)
EC	Enzyme Commission Number (Enzim Komisyon Numarası)
EIC	Extracted Ion Chromatogram (Ekstrakte İyon Kromatogramı)
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FAD	Flavin Adenin Dinükleotit
Fr.	Fraksiyon
FRAP	Ferric-Reducing Antioxidant Power (Demir-İndirgeme Antioksidan Gücü)
GE	Gallik Asit Eşdeğeri
GK-KS	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
GSK	Gaz-Sıvı Kromatografisi
HepG-2	Hepatoselüler Karsinoma Hücresi
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi)
IC₅₀	Half-Maximal Inhibitory Concentration (% 50 İnhibisyon Gözlenen Konsantrasyon)
ICH	International Conference on Harmonisation (Uluslararası Harmonizasyon Topluluğu)
IL-1	İnterlökin-1

Kısaltmalar	Açıklamalar
MEP	2C-Metil-D-erythritol 4-phosphate synthetase (2C-Metil-D-eritritol 4-fosfat sentetaz)
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
KD	Ksantin Dehidrogenaz
KK	Kolon Kromatografisi
KO	Ksantin Oksidaz
KOR	Ksantin Oksido Redüktaz
LC-MS-MS	Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (Sıvı Kromatografisi-Kütle-Kütle Spektrometresi)
MBK	Minimum Bakterisidal Konsantrasyon
MCF-7	Michigan Cancer Foundation-7
MDBK	The Madin-Darby Bovine Kidney (Madin-Darby Sığır Böbrek Hücresi)
MeOH	Metanol
MFK	Minimum Fungisidal Konsantrasyon
MİK	Minimum İnhibitör Konsantrasyon
Mo	Molibden
MS	Mass Spectrum (Kütle Spektrumu)
MTT	3-(4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
NAD	Nikotinamit Adenin Dinükleotit
NO	Nitrik Oksit
NSAİİ	Non-Steroidial Anti-İnflamatuar İlaçlar
O₂⁻	Süperoksit Anyonu
OPLS	Optimized Potential for Liquid Simulations (Sıvılardaki Simülasyonlar İçin Optimize Edilmiş Potansiyeller)
P_a	Probability To Be Active (Aktif Olma Olasılığı)
PASS	Prediction of Activity Spectra for Substances
PDB	Protein Data Bank
P_i	Probability To Be Inactive (İnaktif Olma Olasılığı)
PRAP	Phosphomolibden-Reducing Antioxidant Power (Fosfomolibden-İndirgeme Antioksidan Gücü)

Kısaltmalar	Açıklamalar
QSAR	Quantitative Structure-Activity Relationship (Kantitatif Yapı-Aktivite İlişkisi)
Q-TOF-MS	Quadrupole Time of Flight Mass Spectrometry (Kuadropol-Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi)
RMSD	Root-Mean-Square Deviation
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
R_t	Retention Time (Alıkonma/Retansiyon zamanı)
SAR	Structure-Activity Relationship (Yapı-Aktivite İlişkisi)
SO	Süperoksit
SOD	Süperoksit Dismutaz
SS	Standart Sapma
TBARS	Thiobarbituric Acid Reactive Substance (Tiyobarbitürik Asit Reaktif Madde)
TE	Trolox Eşdeğeri
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite)
TÜBİVES	Türkiye Bitkileri Veri Servisi
URAT-1	Ürat Taşıyıcı Protein-1
USDA	United States Department of Agriculture
UV	Ultraviyole
WEHI-164	Fibrosarkoma Hücresi

1. GİRİŞ

Bitkiler insanoğlunun binlerce yıldan bu yana besin, şifa, barınak, giyinme, vs gibi diğer yaşamsal ihtiyaçlarını gidermek için kullanageldikleri çok önemli doğal kaynaklardır. Bitkilerde bulunan kloroplastlar, taşıdıkları “klorofil” adı verilen tanecikler sayesinde, dünyadaki karbon döngüsünün en önemli basamağı olan, canlılar için gerekli organik maddelerin ve oksijenin üretildiği fotosentez reaksiyonunu gerçekleştirirler. Fotosentez reaksiyonu, su ve karbondioksitin (CO_2) hammadde olarak kullanılarak, güneş ışığı ile etkileşim sonucunda glikoz ve oksijen ürünlerinin sentezlendiği fotokimyasal bir olay olarak tanımlanmaktadır. Kök ve gövdeleri ile aldıkları ve yapraklara kadar gelen su molekülündeki hidrojeni parçalamak için güneş enerjisini kaynak olarak kullanan bitkiler, klorofil yardımı ile bir dizi kimyasal reaksiyon sonucunda şeker türevi organik bileşikler üretir (Gardiner ve Miller, 2008). “Primer metabolit” denilen bu bileşiklerin yanı sıra, bitkiler daha kompleks bileşikler olan sekonder metabolitleri de üretirler. Genel olarak canlılık için esas olan, canlılığın oluşması ve sürmesi için şart olan bileşiklere “primer metabolit” adı verilirken, eksikliği halinde de canlılığın sürebileceği, bu nedenle de tüm canlılarda bulunmayan, daha karmaşık yapıları diğer bileşikler ise “sekonder metabolitler” olarak adlandırılır. Bitki biyokimyasında sekonder metabolitler; özellikle büyüme ve gelişme işlevinden ziyade, bitkinin savunma, korunma, ortama uyum sağlama, tozlaşma ve hayatta kalma amacıyla ürettiği bileşikler arasında yer alan ve bitkilerin de belli taksonlarında bulunup, diğerlerinde görülmeyebilen, bu nedenle de bitki türüne özgü ve özel bir metabolizmanın ürünü olarak belli oranlarda depolanabilen maddeler olarak da tanımlanır. Sekonder metabolitlerin eczacılık açısından önemi ise; özellikle 1800’lü yıllardan itibaren bitkisel kaynaklı sekonder metabolitlerin yapı ve biyolojik fonksiyonlarının keşfedilmesine bağlı olarak, doğrudan ilaç etkin maddesi olarak tedaviye girmesi ve model veya öncü (lead) bileşikler olarak işlev görmesidir. Bu bileşikler sadece ilaç endüstrisi için önemli olmakla kalmayıp, kozmetik endüstrisi (sabun, parfüm, vs üretimi) ile kimya endüstrisinde de boya, yapıştırıcı, doğal plastik, pestisit ve insektisitlerin üretiminde de hammadde ve etkin madde olarak kullanılmaktadır (Oskay ve Oskay, 2009). İlaç etkin maddesi veya türevi olarak tedaviye giren sekonder metabolitlere örnek olarak ise, kinin, aspirin, atropin, tübokürarin, morfin, fizostigmin, taksol, podofilotoksin ve galantamin en çarpıcı klasik örnekler olarak verilebilir (Rungsung, Ratha, Dutta, Dixit ve Hazra, 2015; Erdoğan-Orhan, 2017; Kuruppu, Paranagama ve De Silva, 2019; Gatadi, Gour ve Nanduri, 2019; Habtemariam, 2019).

Ksantin oksidaz (KO), canlı sistemde reaktif oksijen türleri (ROT) oluşturan başlıca enzimatik kaynaklardan biridir. Pürin katabolizmasında bir ara bileşik olan hipoksantini önce ksantine, daha sonra da ürik aside okside ederken nikotinamit adenin dinükleotite (NAD⁺) elektron transferini gerçekleştiren bir dehidrogenaz enzimi olmasına karşın, dokuda belli stres koşulları altında tiyol gruplarını okside eden oksidan bir enzime dönüşür. Hipoksantin ürik asite dönüştüğü son metabolik adım, KO enzimi tarafından katalizlenir. Ancak bu işlemin bir parçası olarak ROT meydana gelmektedir (Valko ve diğerleri, 2007; Sen, Chakraborty, Sridhar, Reddy ve De, 2010; Karabulut ve Gülay, 2016). Ürik asit insanda pürin katabolizmasının son oksidasyon ürünüdür. Bir atık ürün olarak da kabul edilen ürik asit, yüksek yoğunluklarda bulunduğu zaman kristalize olma özelliğine sahip olduğundan, böbrek taşları ve gut tipi artrite sebep olabilir. Dolayısıyla KO inhibitörleri, hiperüriseminin neden olduğu eklem ve çevresinde ürat kristali depolanmasına neden olan bir pürin metabolizması hastalığı olan gut hastalığının tedavisinde kullanılan ilaç gruplarından biridir (Atakul ve Demir, 2014). Ürat düşürücü tedavi; ürik asit üretimini azaltan KO inhibitörleri ve ürat atılımını artıran ürikozürik ilaçları içermektedir (Narang ve Dalbeth, 2018). Şu anda bu grupta allopurinol, febüksostat ve ürikaz gibi ürik asit sentezini inhibe eden ilaçlar ile probenesit, sülfipirazon ve benzbromaron gibi ürikozürik ilaçlar bulunmasına rağmen, bazılarının yan etkileri, güvenlik ve tolere edilebilirlik sorunları halen mevcut olduğundan, hastalığın tedavisine yönelik doğal veya sentetik kökenli yeni, etkili ve daha güvenli KO inhibitörleri arayışı üzerinde yoğun araştırmalar devam etmektedir (Paschart ve Richette, 2017; Abhishek, 2018; Bardin ve Richette, 2018; Liu ve diğerleri, 2019; Strilchuk, Fogacci ve Cicero, 2019; Perez-Ruiz ve Dalbeth, 2019). Bu alanda yapılan araştırmalar göz önüne alındığında, tıbbi bitki türleri dikkate değer potansiyel bir kaynak olarak karşımıza çıkmaktadır.

Yeni KO inhibitörlerine duyulan ihtiyaç göz önüne alınarak planlanan “Bitkisel Kaynaklı Yeni Ksantin Oksidaz İnhibitörlerinin Belirlenmesi Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar” başlıklı mevcut doktora tezimiz kapsamında, Geraniaceae familyasından *Erodium* L'Hér. ex Aiton cinsine ait 15 takson (17 örnek) ile *Geranium* L. cinsine ait 21 taksondan (36 örnek) hareketle hazırlanan etanollü ekstraktların KO inhibitörü etkileri öncelikle ön taramamızda *in vitro* olarak incelenmiştir. Anabilim Dalımızda 2017 yılında tamamlanan “Bitkisel Kaynaklı Yeni Tirozinaz İnhibitörlerinin Belirlenmesi Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar” (Ecz. Övgü ÇELİKLER, Danışman: Prof. Dr. İlkey ERDOĞAN ORHAN) adlı doktora tezinde de Geraniaceae familyasından aynı *Erodium*

L'Hér. ex Aiton ile *Geranium* L. cinsine ait taksonlardan hareketle hazırlanan etanol ekstrelerinin tirozinaz enzimine karşı inhibitör etkisi belirlenmiş ve bunların arasından en etkili ekstre olarak seçilen *Geranium glaberrimum* L. türü üzerinden ileri analizlerle etkili bileşikler tespit edilmiştir. Aynı taksonların farklı bir enzime (KO) karşı inhibitör potansiyellerinin incelenmesini esas alarak; biyoaktivite anlamında taranması şeklindeki araştırmamızın devamı niteliğindeki mevcut doktora tez çalışmamızda ise KO inhibisyonu açısından en etkili oldukları saptanan *Erodium* ve *Geranium* taksonlarının taranmıştır. Bunların arasından, KO'ya karşı yüksek inhibitör etki göstermesi, üzerinde şu ana kadar herhangi bir fitokimyasal veya biyolojik aktivite çalışması yapılmamış olması ve endemik bir tür olması nedeniyle tez kapsamında *Erodium birandianum* İlarslan & Yurdakulol (EB) daha ileri araştırmalarımız için seçilmiştir. Bitkinin etanol ekstresinde, etkili bileşik ve/veya bileşik gruplarını saptamak amacıyla çeşitli kromatografik ve spektrometrik analizler yapılarak fitokimyasal içeriğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Özellikle ana ekstre ve aktif fraksiyonlarda LC-MS-MS (LC-Q-ToF-MS) tekniği ile belirlenen bileşiklerden temin edebildiklerimizden bazılarının KO inhibitör etkisi de tayin edilmiştir. Daha sonra ana ekstre ve aktif fraksiyonlarda tespit edilen bileşiklerin *in silico* ortamda moleküler doklama deneyleri ile protein-ligant ilişkisi incelenerek moleküler düzeyde saptanmış ve aynı bileşikler üzerinde *in silico* biyolojik aktivite analizi ve *in silico* toksisite analizleri de gerçekleştirilmiştir.

Bitkisel kaynaklı KO inhibitörleri üzerinde dünyada pek çok çalışma olmasına rağmen, Türkiye'de yetişen bitkiler üzerinde yapılmış henüz sadece bir çalışma mevcuttur. Ülkemizde yetişen *Erodium* ve *Geranium* taksonlarının taranması ve endemik bir tür olan *E. birandianum*'un ana ekstre ve aktif fraksiyonlarındaki bileşiklerin tespiti göz önüne alındığında; doktora tezimiz Türkiye'de yetişen bitki türlerinin KO inhibitör etkilerinin değerlendirilmesi anlamında kapsamlı ilk çalışmayı teşkil etmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bölüm

2.1.1. Geraniaceae familyası

Geraniaceae familyası ılıman ve subtropikal bölgelerde yetişen, iç salgı taşımayan, tek veya çok yıllık otsu, bazen yarı-çalimsı bitkilerin bulunduğu bir familyadır (Davis, 1966)¹. Çiçekler hipogin, aktinomorf veya zigomorftur. Çiçek durumu simoz, umbella veya tek çiçeklidir. Yapraklar stipulalı, loblu veya parçalıdır. Kaliks ve korolla 5'er parçalı, sepal ve petaller serbest olup, stamenler *Erodium* genusunda 5, *Geranium*'da ise 10 adettir. Ovaryum üst durumlu olup, 3-5 karpelden meydana gelmiştir. Meyve şizokarp, olgunlukta 5 tane, tek tohumlu merikarplara ayrılır, genellikle stilusun uzunlamasına ayrılması ile oluşmuş kılçıklarla birleşmiş halde bulunur. Uzun olan stilus orta eksene bağlı kalırken, merikarpın tohum taşıyan alt ucu, yay (*Geranium*) veya spiral (*Erodium*) şeklinde kıvrılarak yukarı kalkar ve eksenden ayrılır (Davis, 1966; Tanker, Koyuncu ve Coşkun, 2004). Ülkemizde yetişen Geraniaceae familyasına ait cinslerin tayin anahtarı aşağıdaki şekildedir (Davis, 1966):

1. Çiçek durumu rasemoz; meyve karpelleri gagalaşmamış; çiçeklenme zamanında yapraklar gövdede, 3-pennatisekt 1. *Biebersteinia*
1. Çiçek durumu umbella, simoz veya tek çiçekli; meyve karpelleri gagalaşmış; taban yaprakları genellikle mevcut
 2. Arka sepal nektarlı mahmuzla beraber pedisele yapışmış; korolla kesinlikle zigomorf; fertil stamenler 7, deklinat 4. *Pelargonium*
 2. Sepaller mahmuzlu değil; korolla zayıf zigomorf veya zigomorf değil; fertil stamenler 5 veya 10, deklinat değil
 3. Yaprakların boyu eninden uzun değil, palmat damarlı; fertil stamenler genellikle 10 2. *Geranium*
 3. Yaprakların boyu eninden uzun, pennat damarlı; fertil stamenler 5, 5 pul benzeri staminotlarla alternan 3. *Erodium*

¹ Tezin Botanik Bölümü, tez gereçleri olarak aynı iki genusa ait (*Geranium* ve *Erodium*) taksonların kullanılması nedeniyle, 2017 yılında Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozi Doktora Programında tamamlanan "Bitkisel Kaynaklı Yeni Tirozinaz İnhibitörleri Belirlenmesi Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar" (Danışman: Prof.Dr. İlkey ERDOĞAN ORHAN) adlı tezdeki Botanik Bölüm ile benzerdir.

2.1.2. *Geranium* L. cinsi

Çok yıllık, iki yıllık veya tek yıllık otsu bitkilerdir. Yapraklar genellikle tabanda ve gövdede, hiçbir zaman boyu eninden uzun değil, palmat loblu veya derin parçalıdır. Çiçekler aktinomorf, pedunkuller 1-2 çiçeklidir. Stamenler genellikle 10 adet (nadiren 5, 5 staminotla beraber) olup, dıştakiler sepallerle karşılıklıdır (Resim 2.1 ve 2.2.). Nektaryum 5 tanedir. Ovaryum 5 loblu ve uzun subterminal stilusludur. Meyve uzun gagalı, stilusun dış kısmı genellikle tabandan yukarı kıvrılan ve asla tabandan aşağı spiral şeklinde bükülmeyen 5 uzun kılçığa ayrılmıştır. Merikarplar sıklıkla tohumları bırakır, bazen apikal çukurlar (foveoller) olmaksızın belirgin çizgilidir (Davis, 1966).

Geranium L. cinsinin sistematikteki yeri şu şekildedir (USDA Plant Database):

Alem	: Plantae
Alt Alem	: Tracheobionta
Üst Bölüm	: Spermatophyta
Bölüm	: Magnoliophyta
Sınıf	: Magnoliopsida
Alt Sınıf	: Rosidae
Takım	: Geraniales
Familya	: Geraniaceae
Cins	: <i>Geranium</i> L.



Resim 2.1. *Geranium lazicum* (Woronow) Aedo. (Fotoğraf: Doç. Dr. Ahmet Kahraman)

Türkiye’de yetişen *Geranium* türleri için tayin anahtarı aşağıdaki şekilde olup, çalışmamızda kullanılan türler altı çizili olarak belirtilmiştir (Davis, 1966) :

- | | |
|---|--------|
| 1. Petaller uzun pençeli, tam; sepaller çiçek veya meyvede birbirine yaklaşmış | Grup A |
| 1. Petaller çok kısa pençeli, tam veya çentikli; sepaller daima dik veya yaygın | |
| 2. Bir yıllık, ince uzun köklü | Grup B |
| 2. Çok yıllık, rizomlu (bazen tuberli) veya kalın kazık köklü | |
| 3. Yapraklar tabana kadar bölünmüş; rizom genellikle tuberli | Grup C |
| 3. Yapraklar tabana kadar bölünmemiş; rizom (eğer mevcutsa) tuberli değil | |
| 4. Petaller tam veya retus | Grup D |
| 4. Petaller belirgin biçimde emarginat veya iki loblu | Grup E |

Grup A

- | | |
|--|-----------------------|
| 1. Çok yıllık, dallanmış odunlanmış gövdeli | |
| 2. Bitki çok donuk mavimsi yeşil | <u>1. glaberrimum</u> |
| 2. Bitki kısaca, ince uzun yumuşak tüylü | <u>2. lasiopus</u> |
| 1. Tek yıllık, ince uzun köklü | |
| 3. Yapraklar yarıçapın 1/2-2/3’üne bölünmüş; sepaller omurgalı | <u>3. lucidum</u> |
| 3. Yapraklar tabana kadar parçalı, sepaller omurgalı değil | |
| 4. Yaprak segmentleri 2-3 loblu ve obtus oymalı-dişli | 6. <i>eginense</i> |
| 4. Yaprak segmentleri derince pennatifit, obtus loplara ayrılmış | |
| 5. Petaller 5-10 mm, aya eninden yaklaşık 2 kat uzun; merikarplar üstünde 3-4 içiçe geçmiş, belirgin çizgili | <u>4. purpureum</u> |
| 5. Petaller 9-13 mm, aya yaklaşık eni kadar uzun, merikarplar daha az sayıda, daha az belirgin çizgili | <u>5. robertianum</u> |

Grup B

- | | |
|---|------------------------|
| 1. Merikarplar yaklaşık 5 mm, siyah, kısa sert tüylü; sepaller meyve içinde 9-10 mm’ye kadar büyümüş, yapışkan ve ince uzun yumuşak tüylü | |
| 2. Tohumlar benekli; petaller 8-11 mm | 13. <i>bohemicum</i> |
| 2. Tohumlar tekdüze koyu kahverengi; petaller daha küçük | 14. <i>lanuginosum</i> |
| 1. Merikarplar daha küçük, siyah ve kısa sert tüylü değil; sepaller meyve içinde genellikle yok denecek kadar az büyümüş, 3-9 mm, yapışkan, ince, uzun, yumuşak tüylü değil | |
| 3. Yapraklar yarıçapın 1/2-2/3’üne kadar palmatifit | |

4. Petaller bütün; merikarplar dik, ince ve kısa tüylerle kaplı; üst yapraklar karşılıklı *7. rotundifolium*
4. Petaller emerjinat; merikarplar çıplak veya yatık-ince ve kısa tüylü; en üst yapraklar alternat
5. Pediseller uzun yumuşak tüyler ve kısa salgı tüyleri taşır; merikarplar çıplak, kırışık *8. molle*
5. Pediseller kısa yumuşak seyrek salgı tüylü; merikarplar yatık-ince ve kısa tüylü, kırışık değil *9. pusillum*
3. Yapraklar fazla derince bölünmüş
6. Gövde yatık-ince ve kısa tüylü; yaprak segmentleri pennatifit veya derin çentikli; tohumlar foveolat
7. Pediseller 2-5 cm, yatık- ince ve kısa tüylü, salgı tüyü yok; petaller 7-9 mm *11. columbinum*
7. Pediseller 6-12 mm, ince ve kısa salgı tüylü; petaller 4-6 mm *12. dissectum*
6. Gövde uzun tüyler ve kısa salgı tüyleri taşır; yaprak segmentleri yuvarlakça ve kısaca pennatifit veya loblu; tohumlar düz yüzeyli *10. divaricatum*

Grup C

1. Meyve gagası çok kısa (0,2-0,5 mm) bir stilus şeklinde kısalmış; gövdenin ilk çatallı altındaki kısım daima yapraksız *15. tuberosum*
1. Meyve gagası, çıplaklaşan bir stilus (1,5-4 mm) şeklinde kısalmış; gövdenin ilk çatallı altındaki kısım genellikle bir çift yaprak taşır.
2. Pediseller ince ve kısa salgı tüylü *18. macrostylum*
2. Pediseller ince ve kısa tüylü
3. Rizom küremsi tuberli; yaprak segmentleri basitçe çentikli veya dikey dişli *16. stepporum*
3. Rizom uzamış ve yumrulu; yaprak segmentleri 2-pennatifit *17. libanoticum*

Grup D

1. Rizom kısa ve eğri, kalın etli kökler taşır
2. Tohumlar foveolat; pedunkuller 1-6 (-10) cm, sepallerin dikenleri 1-1,5 mm; kökler dar içsi *24. aspholoides*

2. Tohumlar düz yüzeyli; pedunkuller 4-15 cm, sepallerin dikenleri 2-3 mm; kökler silindirik
3. Sepallerin alt yüzeylerinin tümü tüylü (ve bazen salgı tüylü) 20. collinum
3. Sepaller sadece alt yüzeydeki damarların üzerinde yapışık-tüylü 21. palustre
1. Rizom yatay, uzamış, kökler ince
4. Petaller siyahımsı tabanlı, parlak mor-kızıl, 15-23 cm 19. psilostemon
4. Petaller eflatun-mavi, pembe veya beyaz, siyahımsı tabanlı değil, 7-18 mm
5. Pediseller çiçek açtıktan sonra dik kalır; en uzun brakteler 4-6 mm 22. sylvaticum
5. Pediseller çiçek açtıktan sonra aşağı bükülmüş, olgun meyvelerde dik; en uzun brakteler 10-12 mm 23. pratense subsp. finitimum

Grup E

1. Çiçekler 2-brakteli pedunkullerde tek; yapraklar çoğunlukla gövdede 25. sanguineum
1. Çiçekler genellikle 4-brakteli pedunkullerde 2 tane; yapraklar tabanda ve genellikle gövdededir.
2. Kazık köklü bitkiler
3. Yapraklar çoğunlukla tabanda; sepaller 4,5-5 mm; petaller 13-18 mm 29. cinereum subsp. subcaulescens
3. Gövdedeki yapraklar çok sayıda; sepaller 6-12 mm; petaller 8-11 mm 28. pyreniacum
2. Bitkiler yatay rizomlu
4. Pediseller yalnızca örtü tüyü taşır
5. Yapraklar üst yüzeyde tüysüz 26. kurdicum
5. Yapraklar her iki yüzeyde de tüylü
6. Yaprakların alt ve üst yüzeyi farklı renkli, alt kısım mavimsi yeşil; sepaller kısmen yatık, yumuşak tüylü 27. libani
6. Yapraklar yaklaşık olarak tek renkte; her iki yüz de yeşil; sepaller uzun yaygın tüylü ve 1,5-3 mm'ye kadardır.
7. Pediseller hem uzun salgı tüyü hem de kısa kıvrık tüyler taşır; yaprak segmentleri derin çentikli veya oymalı-dişli 3 loblu 32. ibericum
7. Pediseller kıvrık, ince, kısa tüylü; yaprak segmentleri mızraklı parçalara ayrılmış, derince, 1-2-pennatifit 33. gymnocaulon
4. Pediseller kısa salgı tüyü (ve sıklıkla uzun örtü tüyü) taşır

8. Petaller kırmızı damarlı ve pembe, darca kama şeklinde; pediseller sadece kısa salgı tüylü 30. *gracile*
8. Petaller mavi veya mor-mavi, genişçe ters oval; pediseller uzun yaygın tüyler taşır.
9. Yapraklar yarıçapın 3/4-4/5'ine bölünmüş; en uzun brakteler 3-7 mm; sepal kılıcı 1,5-2,5 mm 32. *ibericum*
9. Yapraklar yarıçapın 1/2-2/3'üne bölünmüş; en uzun brakteler 6-10 mm; sepal kılıcı 3-4 mm 31. *platypetalum*

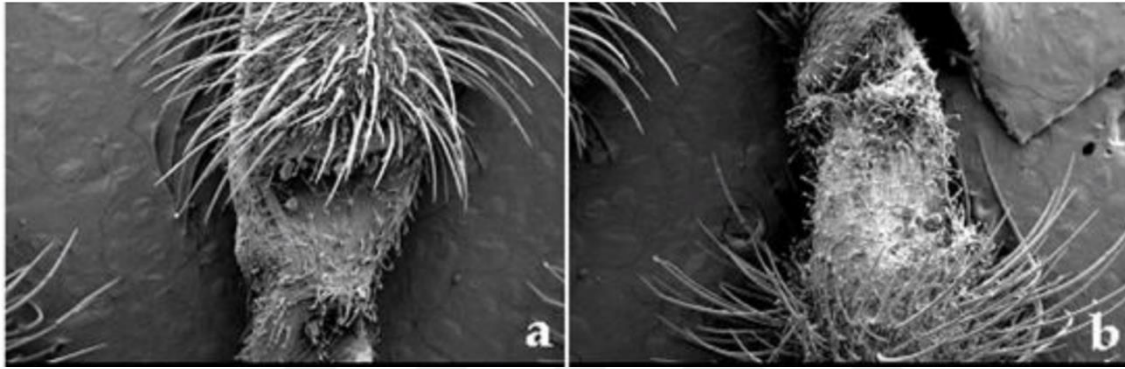


Resim 2.2. *Geranium molle* L. (Fotoğraf: Doç. Dr. Ahmet Kahraman)

2.1.3. *Erodium* L'Hér. ex Aiton cinsi

Erodium genusuna ait taksonlar çok yıllık, iki yıllık veya tek yıllık otsu bitkilerden meydana gelir. Yapraklar tabanda ve gövdede (eğer mevcutsa), boyu eninden uzun, pinnat loblu veya derin parçalıdır (Davis, 1966). Çiçekler aktinomorf veya zigomorf korollalı olup, brakteli umbellerden çıkar (bazen 1-2 çiçeğe indirgenmiştir) (Resim 2.4. ve 2.5.). Stamenler 5 adet ve sepallerle karşılıklı pozisyonda; staminotlar ve nektaryumlar 5'er adettir. Ovaryum 5 loblu ve uzun subterminal stilusludur. Meyve uzun gagalı, stilusun dış kısmı genellikle merikarplara bağlı kalan ve aşağı doğru spiral şeklinde bükülen 5 uzun kılıcıya ayrılmış olup, kılıçıklar nadiren dökülür. Özellikle güzel petalleri ve nektarı nedeniyle böcek türlerini çekmektedir (Aldasoro, Aedo ve Navarro, 2002).

Merikarplar taban kısmında bir veya daha fazla kanalcık ihtiva eden “foveol” adı verilen 2 apikal çukura sahiptir (Davis, 1966). Merikarpın tüylü ve tüylü olmadığı taksonları mevcuttur (Oskay ve Eş, 2015). Örneğin; *E. hoefftianum* C.A. Meyer, *E. botrys* (Cav.) Bertol, *E. ciconium* (L.) L’Hérit, *E. malacoides* (L.) L’Hérit, *E. cicutarium* (L.) L’Hérit subsp. *cicutarium* ve *E. moschatum* (L.) L’Hérit taksonlarının merikarp mikromorfolojisi incelendiğinde; *E. ciconium*’un merikarp yüzeyinde dik ve uzun tüyler bulunurken, diğer 5 taksonun merikarp yüzeyindeki tüylerin yatık durumda olduğu tespit edilmiştir (Resim 2.3).



Resim 2.3. *Erodium ciconium*’a ait merikarp yüzeyinin SEM görüntüleri, a) Merikarp gövdesinden bir bölüm b) Merikarp çukuru (Oskay ve Eş, 2015)

Erodium L’Hér. ex Aiton cinsinin sistematikteki yeri şu şekildedir (USDA Plant Database):

Alem	: Plantae
Alt Alem	: Tracheobionta
Üst Bölüm	: Spermatophyta
Bölüm	: Magnoliophyta
Sınıf	: Magnoliopsida
Alt Sınıf	: Rosidae
Takım	: Geraniales
Familya	: Geraniaceae
Cins	: <i>Erodium</i> L’Hér. ex Aiton

Türkiye’de yetişen *Erodium* L’Hér. ex Aiton türleri için tayin anahtarları aşağıdaki gibi olup, çalışmamızda kullanılan türler altı çizili olarak belirtilmiştir (Davis, 1966):

1. Tüm yapraklar ± loblu veya bölünmemiş veya sadece bazıları pennatifit, pennatisekt veya trisekt

2. Çok yıllık

3. Gövde odunsu, dallanmış, kayalıklardan çıkar; yapraklar kısaca loblu, yeşil, yumuşak salgı tüylü 2. pelargoniiflorum

3. Gövde kısa, toprak altında; yapraklar loblu, lirat trisekt veya pennatisekt, beyazımsı 3. gaillardotii

2. Tek yıllık veya bazen iki yıllık

4. Brakteler 2 adet, küremsi; kumlu kıyılarda 8. laciniatum

4. Brakteler birkaç adet, dar, genellikle kumlu kıyılarda bulunmaz.

5. Tüm yapraklar kısaca loblu; meyve gagası 2-4 cm

6. Alt kısımdaki yapraklar ovat; meyve gagası 25 mm'ye kadar, merikarplardaki salgı tüylü foveollerin altında kanalcık bulunur. 9. malacoides

6. Alt kısımdaki yapraklar dairemsi; meyve gagası en az 30 mm, merikarptaki örtü tüylü foveollerin altında kanalcık bulunmaz. 10. chium

5. Gövde yaprakları pennatifit, pennatisekt ya da trisekt; meyve gagası 4,5-10 cm

7. Sepaller çiçekte 4-6 mm, meyvede 8 mm'ye kadar; merikarplar 6-7,5 mm, foveollerin altında kanalcıklar yoktur.

8. Meyve gagası 6-7 cm, kalıcı, içerisinde kılçıklar yatık-kılımsı; sepal kılçığı 0,8-2 mm 4. hoefftianum

8. Meyve gagası 8-9,5 cm, meyvede dökülür, içerisinde kılçıklar yumuşak uzun tüylü; sepal kılçığı 0,3 mm 1. oxyrrhynchum

7. Sepaller çiçekte 6-10 mm, meyvede 9-14 mm; merikarplar 8-15 mm, her foveolün altında 1-2 kanalcık bulunur.

9. Sepaller akut, salgı tüylü, kılçık 0,5-1 mm; merikarplar 8-10 mm, foveoller pürüzsüz 6. botrys

9. Sepaller obtus, örtü tüylü, kılçık 2-7 mm; foveoller derince çukurlu

5. gruinum

1. Tüm yapraklar pinnat, pennatisekt veya derince pennatifit

10. Ayı yaprakçıklar arasında eksen bütün halde

11. Çok yıllık, gövdesiz (pedunkuller gövde tabanından doğar)

21. acaule

11. Tek yıllık, gövde mevcut (dayanıklı gövde, bazen çok kısa)

12. Gövdedeki yaprakçıklar derince 1-2 pennatifit; merikarplarda örtü tüylü foveoller mevcut 19. cicutarium

12. Gövdedeki yaprakçıklar yarıdan azına kadar bölünmüş; merikarplar salgı tüylü foveoller taşır. 20. moschatum

10. Eksen ana yaprakçıklar veya segmentler arasında kanatlı, dişli veya loblu

13. Tek yıllık; meyve gagası 4,5-10 cm; çiçekler hermafrodit

7. ciconium

13. Çok yıllık; meyve gagası 2,5-7 cm; çiçekler genellikle hermafrodit, bitkiler dioik

14. Bitki gövdesiz, pedunkuller doğrudan gövde tabanından doğar. 18. *trichomanifolium*

14. Bitki gövdesi mevcut, pedunkuller gövdeden doğar (*E. absinthoides* grubu)

15. Yaprak kenarı linear-filiform, genişliği 1 mm'den az, genellikle belirgin biçimde salgı tüylü; petaller beyaz, sepallerin 1,5-2 katı 12. *leucanthum*

15. Yaprak kenarı (ya da dişleri) genişçe; petaller lavanta rengi, pembe veya beyaz

16. Yaprak segmentlerinin tüylerinin tamamı belirgin; yaprak ayası ovat, sıkışık, kısaca oblong, obtus kenarlı 17. *amanum*

16. Yaprak segmentlerinin tüyleri (en azından örtü tüyleri) bitişik; yaprak laminası yukarıdaki gibi değil

17. Gövde aşağıya doğru eğilmiş sert tüylü; petaller kama şeklinde, beyaz, sepaller kadar uzun; sepal kılçığı 1-3,5 mm 15. *micropetalum*

17. Gövde aşağıya doğru eğilmeyen sert tüylü; petaller genişçe, beyaz veya renkli, sepallerin 1-2,5 katı; sepal kılçığı 0,1-2,8 mm

18. Meyve gagası yaklaşık 2,5 cm; sepaller çiçekte 3-4 mm, kılçık 0,1-0,3 mm 16. *hakkiaricum*

18. Meyve gagası 3,5-7 cm; sepaller çiçekte 4-7 mm, kılçık 0,2-2,8 mm

19. Birçok bazal rozetten oluşan sert yastıksı bitkiler; taban yaprakları (petioller dahil) 1,2-4 cm; sepal kılçığı 0,2-0,5 mm 13. *sibthorpium*

19. Birkaç gevşek rozetten meydana gelen bitkiler; taban yaprakları (petioller dahil) 3-20 cm; sepal kılçığı 0,2-2,8 mm

20. Gövde ve yapraklar bariz şekilde salgı tüylü; çiçekler parlak pembe; gövde çoğunlukla genişçe dallanmış, yaygın 14. cedrorum

20. Gövde ve yapraklar bariz şekilde salgı tüylü değil; çiçekler beyaz, pembe veya lavanta-mavi; gövde seyrek dallanmış ya da basit 11. absinthoides



Resim 2.4. *Erodium malacoides* (L.) L'Hér. ex Aiton (Fotoğraf: Doç. Dr. Ahmet Kahraman)



Resim 2.5. *Erodium pelargoniiiflorum* Boiss & Heldr. (Fotoğraf: Doç. Dr. Ahmet Kahraman)

Erodium L'Hér. ex Aiton türleriyle ilgili etnobotanik bilgiler

Tez çalışmamızın ön tarama kısmında, *Erodium* L'Hér. ex Aiton ile *Geranium* L. genuslarına bağlı taksonlar çalışılmış ve sonrasında hedef bitki türü olarak *E. birandianum* İlarıslan & Yurdakulol ile devam edildiği için; bu kısımda tür bazında sadece *Erodium*'a ait bilgilere yer verilmiştir. *Erodium* L'Hér. ex Aiton türleri ülkemizde yerel olarak “dönbaba” ve “iğnelik” olarak bilinmekte olup, bazı bölgelerde “innelik otu, çobaniğnesi, tarak otu” olarak da isimlendirilmektedir (Baytop, 1994; Çelikler, 2017). *E. cedrorum* ve *E. laciniatum* Mersin’de, *E. cicutarium* ise Afyonkarahisar, Ankara, Aksaray ve Denizli’de sebze olarak tüketilmekte ve börek yapımında kullanılmaktadır (Akaydın, Şimşek, Arıtuluk ve Yeşilada, 2013; Ertuğ, 2000; Kargıoğlu ve diğerleri, 2008; Kargıoğlu, Cenkci, Serteser, Konuk ve Vural, 2010; Sargın, Selvi ve Büyükcengiz, 2015; Şimşek, Aytekin, Yeşilada ve Yıldırım, 2004). *E. cedrorum*’dan elde edilen lateks, Mersin’in Aydıncık ilçesinde yoğurt ve peynir mayası olarak kullanılmaktadır (Sargın ve diğerleri, 2015). *Erodium* L'Hér. ex Aiton türlerinin çeşitli etnofarmakolojik kullanımlarına ilişkin bilgiler Çizelge 2.1’de sunulmaktadır.

Çizelge 2.1. *Erodium* L'Hér. ex Aiton türlerinin etnobotanik kullanımları

Tür adı	Kullanıldığı bölge	Kullanış	Kaynak
<i>E. cicutarium</i> (L.) L'Herit.	Irak	Metroraji, ödem	(Al-Douri, 2000)
	Bolivya (Bustillo)	Hepatit, nefrit, yara kanamaları	(Fernandez, Sandi ve Kokoska, 2003)
	Ankara (Beypazarı, Gündül, Ayaş)	Analjezik	(Şimşek ve diğerleri, 2004)
	Peru (Canta, Lima)	İdrar yolu enfeksiyonu	(De-la-Cruz, Vilcapoma ve Zevallos, 2007)
	Romanya (Güneybatı bölgesi)	Diüretik, antienflamatuvar, hemostatik, üriner ve genital rahatsızlıklar	(Tita, Mogosanu ve Tita, 2009)
	Elazığ (Sivrice)	Konstipasyon	(Çakılcıoğlu ve Türkoğlu, 2010)
	Elazığ (Maden)	Konstipasyon	(Çakılcıoğlu, Khatun, Türkoğlu ve Hayta, 2011)
	Erzurum (İlica)	Hemoroit	(Özgen, Kaya ve Houghton, 2012)
	Malatya	Tonik	(Tetik, Civelek ve Çakılcıoğlu, 2013)
	Sırbistan (Doğu bölgesi)	Hemostatik	(Zlatkovic ve Bogosavljević, 2014)
	İran	Pıhtılaşma, konstipasyon	(Rajaei ve Mohamadi, 2012)
		Viral enfeksiyonlar	(Asadi-Samani, Moradi, Bahmani ve Shahrani, 2016)
		Diş ağrısı	(Safa ve diğerleri, 2012)
	Kuzey Amerika	Sebze (taze yapraklar)	(Elias ve Dykeman, 1987)

Çizelge 2.1. (devam) *Erodium* L'Hér. ex Aiton türlerinin etnobotanik kullanımları

Tür adı	Kullanıldığı bölge	Kullanış	Kaynak
	Şili (Mapuche)	Dermatolojik hastalıklar	(Molares ve Ladio, 2009)
	Ekvador (Loja ve Zamora-Chinchipe)	Mide ağrısı, kalp problemleri, zatürre	(Tene ve diğerleri, 2007)
	Bolivya (Bustillo)	Hepatit, nefrit ve kanamalara karşı	(Fernandez, Sandi ve Kokoska, 2003)
	Bolivya (La Paz ve El Alto)	Diüretik ve prostat problemleri	(Macia, Garcia ve Vidaurre, 2005)
	Güney Afrika	Abortif	(Lis-Balchin ve Hart, 1994)
<i>E. cicutarium</i> (L.) L'Herit.	İtalya (Güneydoğu bölgesi)	Sebze olarak (taze yapraklar) ve antihemorajik	(Pieroni ve Cattero, 2019)
	Adana (Karaisalı)	Yılan ısırmasına karşı	(Güneş, Savran, Paksoy, Koşar ve Çakılcıoğlu, 2017)
	Pakistan	Dizanteri	(Kayani ve diğerleri, 2015)
<i>E. glaucophyllum</i> (L.) L'Herit.	Cezayir (Oued Righ)	İshal, soğuk algınlığı, grip ve solunum sistemi problemleri	(Lakhdari ve Dehliz, 2016)
<i>E. gruinum</i> (L.) L'Herit.	Mersin (Aydıncık)	Diyabet, karminatif	(Sargın ve diğerleri, 2015)
<i>E. laciniatum</i> (Cav.) Willd.	Filistin	İltihaplar	(Jaradat, Al Masri, Zaid ve Othman, 2017)
	İspanya (Güneydoğu bölgesi)	Yara ve zedelenmeler	(Bremner ve diğerleri, 2009)
<i>E. malacoides</i> (L.) L'Herit.	Pakistan (Chonthra Karak)	Dolaşım sistemi hastalıkları, cilt hastalıkları, saç dökülmesi ve yanıklar	(Rehman, Khan, Ullah ve Chaudhary, 2015)
	Yemen	Diyare	(Al-Fatimi, 2019)
	Manisa (Turgutlu)	Egzema	(Bulut ve Tuzlacı, 2013)
<i>E. moschatum</i> (L.) L'Herit.	Bolivya (Bustillo)	Hepatit, nefrit, ateş	(Fernandez, Sandi ve Kokoska, 2003)
	Ekvador (Loja ve Zamora-Chinchipe)	Menstruasyon ağrısı, influenza, zatürre ve öksürüğe karşı	(Tene ve diğerleri, 2007)
<i>E. oxyrhynchum</i> M. Bieb.	İran (Tahran)	Antimikrobiyal	(Esmacili ve diğerleri, 2009)
<i>E. petraeum</i> (Gouan) Willd.	İspanya	Karminatif, stimülan, katarakta karşı, kan basıncının düşürülmesi	(de Santayana, Blanco ve Morales, 2005)
Bazı <i>Erodium</i> türleri	Çeşitli Avrupa ülkeleri ve Türkiye	Sebze olarak	(Pardo-de Santayana, Pieroni ve Puri, 2010; Gonzalez, Garcia-Barriuso ve Amich, 2011; Doğan, 2012)
		Mide iltihabına karşı antiseptik ve astrenjan (çay halinde)	Klocke, Van Wagenent ve Balandrin, 1985

2.1.4. *Erodium birandianum* İlarslan & Yurdakulol

Çok yıllık ve dioik bir bitkidir (İlarslan ve Yurdakulol, 1994). Yapraklar rozet şeklinde dizilmiş ve sarkıktır. Taban yaprakları bipinnatifit, ovat veya oblong, 13-14 cm uzunluğunda, 2 veya 2,5 katı genişliğinde, yoğun şekilde glandular ve seyrek şekilde pilozdur. Yaprak loblarının herbiri lanseolattan ovata değişebilen şekilde olup, derin şekilde pinnatifittir (Şekil 2.1.). Gövde seyrek şekilde dallanmış, yere dönük veya yukarı bakan şekilde, net bir şekilde glandular ve salgı bezi taşıyan tüylerle kaplıdır.

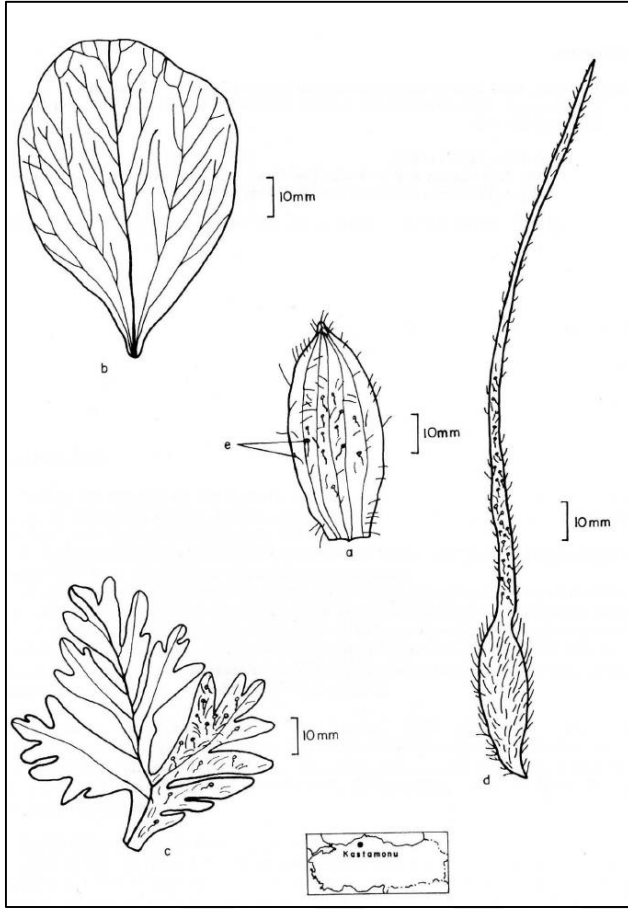
Sepaller 4-4,5 mm uzunluğunda, geriye kıvrımlı; yoğun şekilde glandular ve tüylüdür (Resim 2.6.). Kılçık kısmı 0,3-0,5 mm'dir. Petaller obovat, sepallerden 1,5-2 kat daha uzun, beyaz veya soluk leylak renklidir. Meyvanın gaga kısmı 3-3,5 cm uzunluğundadır.

E. birandianum, morfolojik olarak *E. absinthoides* subsp. *armenum*'a çok yakın bir tür olup, tür ismi ünlü botanikçi Prof. Dr. Hikmet Birand'a ithafen verilmiştir.

E. birandianum'un Türkiye'deki yayılışı şu şekildedir (Demircioğlu, 2009): A5 Kastamonu Devrekâni; Yaralıgöz Dağı; sub-alpin katı; kalker anakaya 1900 m; 09.07.1991; E. Yurdakulol; 3552 67 Kastamonu Devrekâni; Yaralıgöz Dağı; sub-alpin katı; kalker anakaya 1900-2000 m; 09.07.1990; E. Yurdakulol; 3462 Kastamonu Devrekâni; Yaralıgöz Dağı; sub-alpin katı; kalker anakaya 1900-2000 m; 09.07.1990; E. Yurdakulol; 3462 Kastamonu Devrekâni; Yaralıgöz Dağı; sub-alpin katı; kalker anakaya 1900-2000 m; 09.07.1990; E. Yurdakulol; 3462 Kastamonu Devrekâni; Yaralıgöz Dağı; sub-alpin katı; kalker anakaya 1900 m; 09.07.1991; 3549 1850 m; 3550 m.



Resim 2.6. *Erodium birandianum* İlarslan & Yurdakulol (Fotoğraf: Doç. Dr. Ahmet Kahraman)



Şekil 2.1. *Erodium birandianum* a) sepaller b) petaller c) yapraklar d) meyve (İlarslan ve Yurdakulol, 1994)

2.2. Fitokimyasal Bölüm

2.2.1. *Erodium* L'Hér. ex Aiton türleri üzerindeki fitokimyasal çalışmalar

Tez çalışmamızda daha ileri deneylerimizde çalışılmak üzere hedef bitki olarak *E. birandianum*'un seçilmesi nedeniyle, literatür taraması *Erodium* türleri esas alınarak yapılmıştır. Şu ana kadar yapılan çalışmalar, bu genus üzerinde fitokimyasal çalışma sayısının az olduğuna işaret etmekte ve aynı zamanda *Erodium* genusunun polifenolik bileşiklerce zengin olduğunu da göstermektedir. Bu polifenolik bileşikler arasında özellikle flavonoidlerin ve tanenlerin başı çektiği görülmektedir.

Erodium türlerinden izole edilen sekonder metabolit gruplarına ait bileşikler Çizelge 2.2a, 2.3 ve 2.4 ile Şekil 2.2, 2.3 ve 2.4'te verilmektedir.

Flavonoitler

Bitkilerde bulunan sekonder metabolit grupları arasında, günümüze kadar sayısının 8000'in üzerinde olduğu bildirilmesi sebebiyle, sayısal olarak en fazla miktarda olan grup “fenolik bileşikler” olarak kabul edilmektedir (Crozier, Jaganath ve Clifford, 2009; Alu'datt ve diğerleri, 2017). Yapısında en az bir tane hidroksil grubu taşıyan ve bir ya da daha fazla benzen halkası içeren sekonder metabolitler olarak tanımlanan fenolik bileşikler; bitkilerde bulunan en önemli ve geniş kimyasal gruplardan biri olup, basit fenolikler, fenolik asitler, polifenoller, flavonoitler, feniletanoitler, kumarinler, vs gibi birçok alt sekonder metabolit grubunu kapsamaktadır (Del Rio ve diğerleri, 2013; Zagklis ve Paraskeva, 2015). Şu ana kadar bilinen sayılarının 4000'in üzerinde olduğu bildirilen ve fenilpropanoit yolağından (şikimik asit yolağı) sentezlenen flavonoitler ise benzo- γ -piron türevi olup, bitkilerin özellikle sarı renginden sorumlu pigmentlerdir (Nijveldt ve diğerleri, 2001; Kumar ve Pandey, 2013; Perez-Vizcaino ve Fraga, 2018).

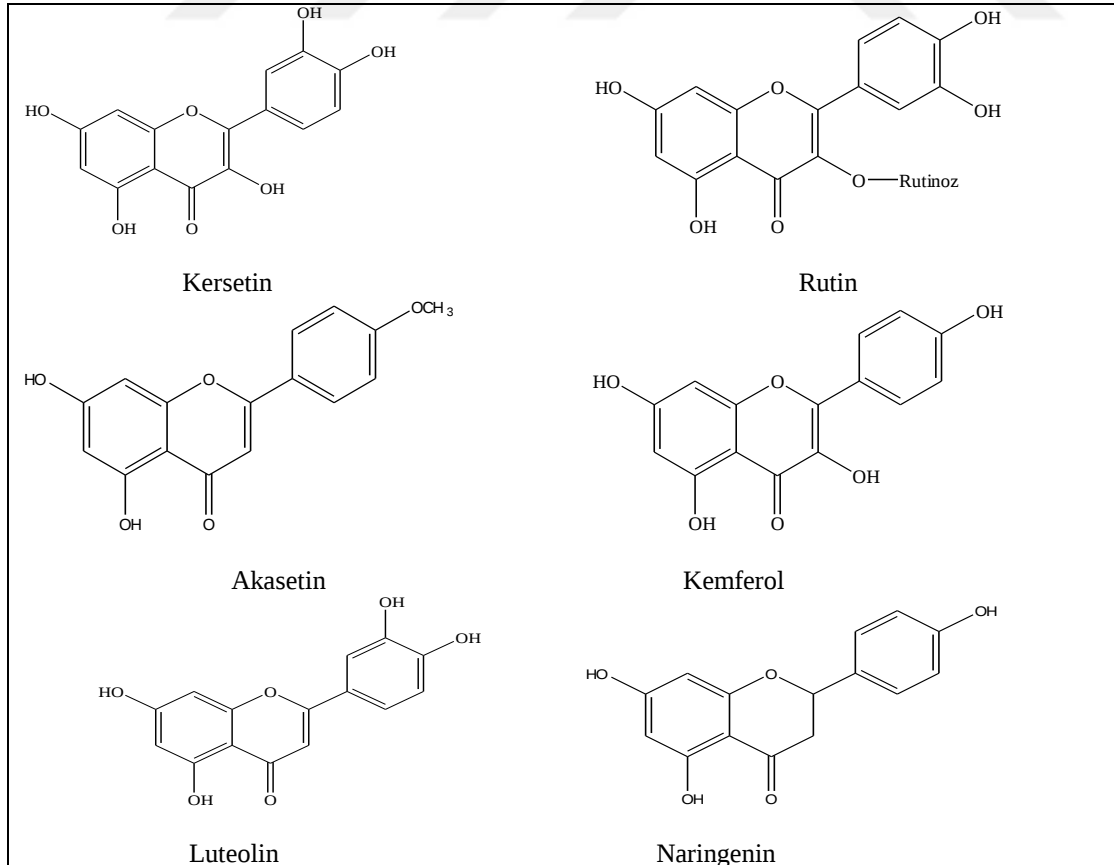
Yapılan çalışmalar, *Erodium* türlerinden bir çok flavonoit türevinin izole edildiğini göstermektedir (Şekil 2.2). İzole edilen flavonoitler Çizelge 2.2'de verilmektedir:

Çizelge 2.2. *Erodium* türlerinden izole edilen flavonoit türevleri

Tür adı	Flavonoit türevleri	Kaynaklar
<i>E. arborescens</i>	Kersetin-3-glukozit, kersetin-3-rutinozit, kersetin-4'-glukozit, mirisetin-3-glukozit	(Saleh, El-karemy, Mansour ve Fayed, 1983)
<i>E. chium</i>	Kemferol-3-rutinozit-4'glukozit, kersetin-3-glukozit, kersetin-3-rutinozit, kersetin-7-glukozit, kersetin-4'-glukozit, kersetin-3-rutinozit-4'glukozit	(Saleh ve diğerleri, 1983)
<i>E. ciconium</i>	Kersetin-3-glukozit, luteolin-7-glukozit	(Saleh ve diğerleri, 1983)
<i>E. cicutarium</i>	Rutin, hiperin, kersetin 3-O-(6'-O-galloil)- β -D-galaktopiranozit (hiperin 6'-gallat), izokersetin, kateşin, kersetin-3-glukozit, kersetin-3-rutinozit	(Fecka ve Cisowski, 2005; Saleh ve diğerleri, 1983; Sroka, Bodalska ve Mažol, 1994)
<i>E. crassifolium</i> ve <i>E. glaucophyllum</i>	Kersetin-3-glukozit, kersetin-3-rutinozit, kersetin-4-glukozit, mirisetin-3-glukozit	(Saleh ve diğerleri, 1983)
<i>E. glaucophyllum</i>	Kersetin, rutin, hiperozit, naringin, naringenin, apigenin-7-O-glukozit, luteolin, akasetin	(Bakari ve diğerleri, 2018)
<i>E. gruinum</i>	Kersetin-3-glukozit, luteolin-7-glukozit	(Saleh ve diğerleri, 1983)
<i>E. laciniatum</i>	Kemferol-3-rutinozit-4'glukozit, kersetin-3-glukozit, kersetin-3-rutinozit, kersetin-7-glukozit, kersetin-4'-glukozit, kersetin-3-rutinozit-4'glukozit	(Saleh ve diğerleri, 1983)

Çizelge 2.2. (devam) *Erodium* türlerinden izole edilen flavonoit türevleri

Tür adı	Flavonoit türevleri	Kaynaklar
<i>E. malacoides</i>	Kemferol-3-rutinozit-4'glukozit, kersetin-3-glukozit, kersetin-3-rutinozit, kersetin-7-glukozit, kersetin-4'-glukozit, kersetin-3-rutinozit-4'glukozit, kemferol-3,7-diglukozit	(Saleh ve diğerleri, 1983; Frontera, Tomás, Badajoz, Tombesi ve Ponce, 1999)
<i>E. manescavi</i>	Kersetin-3-O- α -ksiloz-O- α -galaktozit	(Stobiecki, Olechnowicz-Stępień, Rządowska-Bodalska, Cisowski ve Budko, 1988)
<i>E. moschatum</i>	Kersetin-3-glukozit, kersetin-3-rutinozit, kemferol, kersetin	(J. H. Lin ve Lin, 1997; Saleh ve diğerleri, 1983)
<i>E. neuradifolium</i>	Kemferol-3-rutinozit-4'glukozit, kersetin-3-glukozit, kersetin-3-rutinozit, kersetin-7-glukozit, kersetin-4'-glukozit, kersetin-3-rutinozit-4'glukozit	(Saleh ve diğerleri, 1983)
<i>E. oxyrrhynchum</i>	Kersetin-3-glukozit, kersetin-3-rutinozit, kersetin-4'-glukozit, mirisetin-3-glukozit	(Saleh ve diğerleri, 1983)
<i>E. pulverulentum</i>	Kemferol-3-rutinozit-4'glukozit, kersetin-3-glukozit, kersetin-3-rutinozit, kersetin-7-glukozit, kersetin-4'-glukozit, kersetin-3-rutinozit-4'glukozit	(Saleh ve diğerleri, 1983)
<i>E. touchyanum</i>	Kersetin-3-glukozit, kersetin-3-rutinozit	(Saleh ve diğerleri, 1983)

Şekil 2.2. *Erodium* türlerinde bulunan bazı flavonoit türevleri

Tanenler

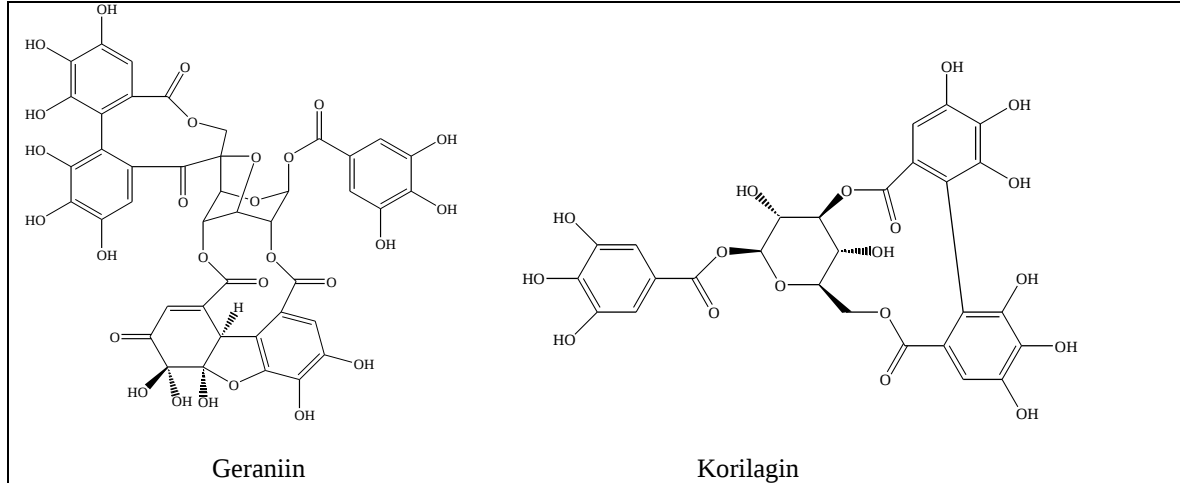
Tanenler genellikle yüksek bitkilerde doğal olarak bulunan, (bazıları hariç) suda çözünebilen, azot taşımayan, buruk lezzetli ve büyük molekül ağırlıklı polifenollerdir. Ligninden sonra, doğada ikinci en çok bulunan bitkisel fenoliklerin tanenler olduğu bildirilmiştir (Albertse, 2002). Tanenler kimyasal yapı olarak; elajitanenler, gallotanenler, kompleks tanenler ve kondense tanenler olmak üzere dört alt grupta sınıflandırılır. Çok sayıda hidroksil grubu ve fonksiyonel grup içeren tanenlerin molekül ağırlıkları 500-20000 Dalton arasında değişmekte olup, ayrıca protein ve diğer makromoleküllerle birlikte çapraz bağlar oluşturabilme özelliğine sahiptir (Ergezer ve Çam, 2008; Khanbabaee ve Ree, 2001).

Bitkinin kendini patojen mikroorganizmalara ve virüslere karşı savunmak için ürettiği fenolik bileşikler olduğu düşünülen tanenlerin bitkilerin temel metabolizma faaliyetlerinde herhangi bir fonksiyonu bulunmamakla beraber (Aktaş ve Akkan, 2011; Ünver, Ağma Okur, Tahtabiçen, Kara, ve Şamlı, 2014), bitki dokularının gelişimine yardımcı oldukları da öne sürülmektedir (Aydın ve Üstün, 2007). Gallik asit ile esterleşen hidrolize olabilen gallotanenler, elajik asitle esterleşen elajitanenlere göre genellikle daha basit yapıdadırlar. Elajitanenler ise gallotanenler ile mukayese edildiğinde daha zor hidroliz olabilen C-C bağlarına sahip olan tanen grubudur (Albertse, 2002; Mingshu, Kai, Qiang ve Dongying, 2006). Elajitanenlerin hidrolizleri sonucunda elajitanendeki heksahidroksidifenolik asit kısmı ile glukoz arasındaki ester bağları kırılarak, heksahidroksidifenolik asit elajik aside dönüşmektedir (Shi, He, Yao, Huang ve Qing, 2005).

Hamza ve diğerleri (2018) *E. hirtum*, *E. guttatum* ve *E. glaucophyllum*'daki tanen miktarlarını (kuru ağırlık olarak) sırasıyla $42 \pm 1,3$; $20 \pm 0,5$ ve $31,87 \pm 0,38$ g olarak saptamıştır. *Erodium* türlerindeki tanenler Çizelge 2.3.'te verilmektedir (Şekil 2.3.):

Çizelge 2.3. *Erodium* türlerinden izole edilen tanen türevleri

Tür adı	Bileşikler	Kaynak
<i>E. cicutarium</i>	Geraniin, dehidrogeraniin, korilagin	(Fecka ve Cisowski, 2005)
<i>E. glaucophyllum</i>	Geraniin	(Gohar, Lahloub ve Niwa, 2003)
<i>E. moschatum</i>	Korilagin, furosin, geraniin, asetonilgeraniin A	(J. H. Lin ve Lin, 1997)
<i>E. stephanianum</i>	Korilagin, şebulajik asit	(Berry, MacKenzie, Shultis, Chan ve Hecht, 1992)

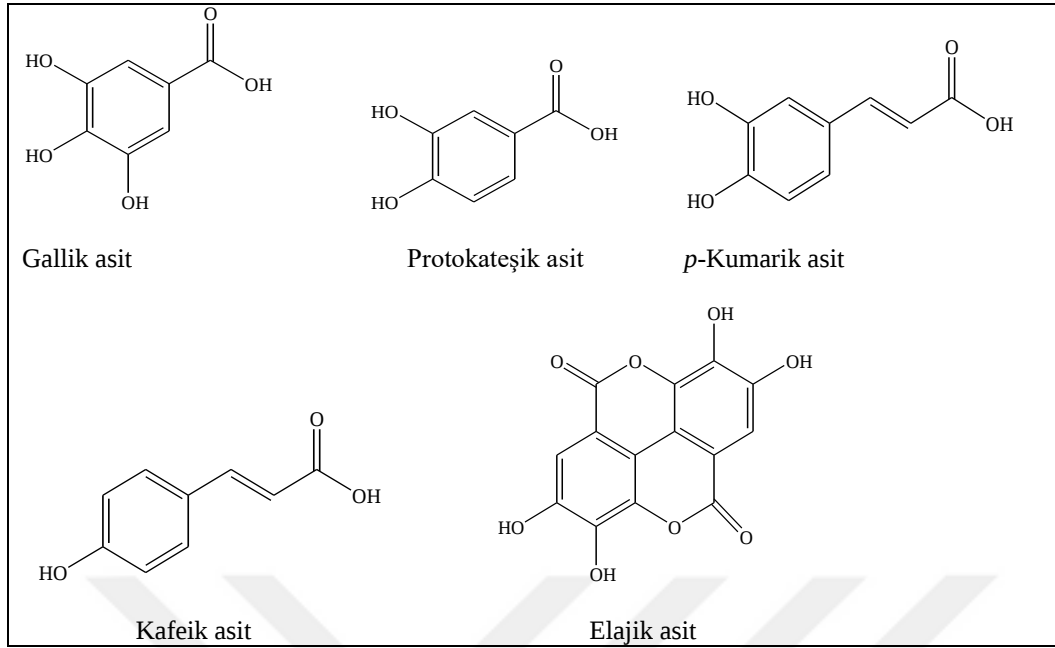


Şekil 2.3. *Erodium* türlerinde bulunan bazı tanen türevleri

Fenolik asitler

Yapısında en az bir aromatik halka ve halka üzerinde bir/daha fazla hidroksil bulunduran organik bileşiklerin tümüne “fenolik bileşikler/polifenoller” denilmektedir. En basit fenolik maddenin bir tane hidroksil grubu içeren benzen yani fenol olduğu ve diğer fenolik maddelerin bundan türediği bilinmektedir. Basit fenoliklerin yanı sıra, bitkilerde aromatik halkaya bağlı hidroksil(ler)e ilaveten karboksil grubu taşıyan fenoliklere ise “fenolik asitler” adı verilmektedir. Canlı bitki dokularında genelde serbest halde bulunmayıp, bitkilerin işlenmesi sırasında hidrolize şekilde ortaya çıkan fenolik asitler; hidroksisinamik asitler ve hidroksibenzoik asitler olarak 2 grupta sınıflandırılmaktadır.

Yapılan çalışmalar, *Erodium* türlerinin fenolik asitlerce zengin olduğuna işaret etmektedir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. *Erodium* türlerinde bulunan bazı fenolik asitler

Çizelge 2.4. *Erodium* türlerinden izole edilen fenolik asit türevleri

Tür adı	Bileşikler	Kaynak
<i>E. botrys</i>	Gallik asit, metil gallat, brevifolin, elajik asit	(Fecka, Kowalczyk ve Cisowski, 2001)
<i>E. chium</i>	Gallik asit, protokateşik asit, metil gallat, brevifolin, elajik asit	(Fecka ve diğerleri, 2001)
<i>E. ciconium</i>	Gallik asit, protokateşik asit, brevifolin, elajik asit	(Fecka ve diğerleri, 2001)
<i>E. cicutarium</i>	Erodiol, (-) 3-O-galloilşikimik asit, metil gallat 3-O-β-D-glukopiranozit, gallik asit, elajik asit, protokateşik asit, metil gallat, brevifolin	(Fecka ve Cisowski, 2005; Fecka ve diğerleri, 2001; Klocke, Van Wagenent ve Balandrin, 1985; Sroka ve diğerleri, 1994)
<i>E. glaucophyllum</i>	Gallik asit	(Gohar ve diğerleri, 2003)
<i>E. glutinosum</i>	Gallik asit, protokateşik asit, metil gallat, brevifolin, elajik asit	(Fecka ve diğerleri, 2001)
<i>E. gruinum</i>	Gallik asit, protokateşik asit, brevifolin, elajik asit	(Fecka ve diğerleri, 2001)
<i>E. manescavi</i>	Gallik asit, protokateşik asit, metil gallat, brevifolin, elajik asit	(Fecka ve diğerleri, 2001)
<i>E. pelargoniflorum</i>	Gallik asit, protokateşik asit, elajik asit	(Fecka ve diğerleri, 2001)
<i>E. petraeum</i>	Gallik asit, protokateşik asit, metil gallat, elajik asit	(Fecka ve diğerleri, 2001)
<i>E. stephanianum</i>	Gallik asit, protokateşik asit, elajik asit	(Zhao ve Yin, 2011)

Uçucu yağ bileşenleri

Bitkilerden veya bitkisel droglardan, su veya su buharı distilasyonu ile elde edilen, oda sıcaklığında sıvı halde olan, uçucu özellikte, kuvvetli aromatik kokulu ve yağimsı karışımlardır. Oda sıcaklığında bile buharlaşabildiklerinden "uçucu yağ", eter gibi uçtuklarından "eterik yağ", güzel kokulu olmaları ve parfümeride kullanılmaları nedeniyle "esans" gibi isimlerle de bilinmektedirler. Geraniaceae familyası bitkilerinin başta *Geranium* türleri olmak üzere; uçucu yağ açısından zengin olduğunu gösteren çalışmalar

mevcuttur (Guerrini ve diğerkleri, 2011; Boukhris, Simmonds, Sayadi ve Bouaziz Zeljković, 2013; Kobayashi ve diğerkleri, 2016; Zeljković; Tan, Siljak-Yakovlev ve Maksimović, 2017).

Erodium türlerinden elde edilen uçucu yağların analizi sonucunda tespit edilen başlıca bileşikler Çizelge 2.5’te verilmektedir:

Çizelge 2.5. *Erodium* türlerinde bulunan uçucu yağ bileşenleri

Tür adı	Bitki kısmı	Başlıca Bileşikler (%)	Kaynak
<i>E. absinthoides</i>	Tüm bitki	Germakren B (% 8,9) Karyofilen oksit (% 8,4) Hekzahidrofarnesil aseton (% 8,3) β -Karyofilen (% 7,5)	(Stojanović-Radić ve diğerkleri, 2010)
<i>E. ciconium</i>	Tüm bitki	Hekzahidrofarnesil aseton (% 9,9) Karyofilen oksit (% 9,6) Hekzadekanoik asit (% 8,7) Neofitadin (izomer II) (% 8,5)	(Stojanović-Radić ve diğerkleri, 2010)
<i>E. cicutarium</i>	Tüm bitki (2 lokasyon örneği)	Hekzadekanoik asit (% 22,8 – 35,9) Hekzahidrofarnesil aseton (% 10,8 – 11,6)	(Radulović, Dekić, Stojanović-Radić ve Palić, 2009)
	Tüm bitki	Hekzadekanoik asit (% 38,8) Hekzahidrofarnesil aseton (% 15,5)	(Stojanović-Radić ve diğerkleri, 2010)

Diğerk yandan, Carpino, Mallia, Licitra, Van Soest ve Acree (2004) tarafından bazı bitkilerde yapılan olfaktometrik analizde, *E. moschatum*’da bulunan kokuların karakterleri tanımlanmış ve kimyasal bileşen olarak karşılıkları şu şekilde verilmiştir: plastik (toluen), yeşil (hekzanal), etsi (2-metil-3-furantiyol), patates (metiyonal), taze (2-asetilfuran), yanık (2-furfuriltiyol), mantar (1-okten-3-on), portakal (etil hekzanoat), papatya (fenilasetilaldehit), yanık/findıksı (2-metil-3-etil pirazin), kızartma/findıksı (2,6-dimetil-3-etil pirazin), sabunsu (nonanal), samansı [(Z)-2-nonenal], otsu (L-karvon), gül (sitronellol), findıksı (feniletilasetat), balsamik (α -terpineol), vanilya (vanilin) ve şeftali (δ -dekalakton).

Diğerk bileşikler

E. cicutarium’dan hareketle hazırlanan ekstrelerde, ozlar (glukoz, galaktoz, fruktoz), amino asitler (glisin, alanin, prolin, histidin, triptofan, tirozin, glutamik asit) ile K ve C vitaminleri tespit edilmiştir (Sroka ve diğerkleri, 1994). *E. pelargoniflorum* yaprak, gövde ve kalikslerinden elde edilen salgı tüyü eksüdasından iki dodesil dioz türevi izole edilmiş ve “pelargozit A1 ve B1” olarak isimlendirilmiştir (Sakai, Tanemura, Itoh ve Fujimoto, 2013). Arjantin’de yetişen *E. malacoides*’in toprak üstü kısımlarından hazırlanan petrol eteri ekstresinde yağ asitleri, hidrokarbonlar ve steroller olduğu belirlenmiştir (Frontera,

Tomás, Badajoz, Tombesi ve Ponce, 1999). Çeşitli *Erodium* türleri (*E. pelargonium*, *E. manescavi*, *E. absinthioides*, *E. cicutarium*, *E. acaule*, *E. tordylioides*, *E. galucophyllum* ve *E. malacoides*) üzerinde yapılan bazı çalışmalarda ise alkaloidlerin varlığı tespit edilmiştir (Medina, Rendina ve Cousslo, 1977; Mossa, Al-Yahya, Al-Meshal ve Tariq, 1983; Lis-Balchin ve Guittonneau, 1993 ve 1995). Ancak ince tabaka kromatografisi (İTK) ile varlığı gösterilen bu alkaloidlerin kimyasal yapıları günümüze kadar aydınlatılmamıştır.

2.3. Biyolojik Aktivite Bölümü

2.3.1. *Erodium* L'Hér. ex Aiton türleri üzerindeki biyolojik aktivite çalışmaları

Antioksidan aktivite

Flavonoid, fenolik asit ve tanen gibi fenolik bileşiklerce zengin olduğu bilinen bazı *Erodium* türlerinin antioksidan etkisi çeşitli mekanizmalar üzerinden belirlenmiştir. Örneğin, 1993 yılında yapılan bir çalışmada, Fransa'da yetişen ve % 23,1 tanen içeriği ile % 13,6 geraniin içerdiği belirlenen *E. foetidum*'un 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) yöntemi ile dikkate değer oranda serbest radikal süpürücü etkisi olduğu bildirilmiştir (Lamaison, Petitjean-Freytet ve Carnat, 1993).

İran'ın çeşitli bölgelerinden toplanan 60 bitki türünün antioksidan aktiviteleri, 1,3-dietil-2-tiyobarbitürik asidin (DETBA) reajan olarak kullanıldığı linoleik asit peroksidasyon testi ile tayin edilmiştir (Souri, Amin, Dehmobed-Sharifabadi, Nazifi ve Farsam, 2004). *E. oxyrrhynchum*'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstresi, referans olarak kullanılan α - tokoferol ($IC_{50} = 0,60 \mu g/mL$) ile aynı çalışmada taranan birçok ekstreden daha düşük peroksidasyon inhibitör aktivite göstermiştir ($IC_{50} = 6,57 \pm 1,04 \mu g/mL$).

Ürdün'de yetişen 96 bitki türünün antioksidan aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada, *E. bryoniifolium*'un su ve metanol ekstrelerinin 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) radikal soldurma yöntemi ile troloks eşdeğeri antioksidan kapasiteleri (TEAC) ölçülmüştür (su ekstresi: $45,3 \mu mol$ troloks eşdeğeri (TE)/g kuru ağırlık, metanol ekstresi: $25,4 \mu mol$ TE/g kuru ağırlık) (Alali ve diğerleri, 2007). Aynı çalışmada, ekstrelerin Folin-Ciocalteu yöntemine göre toplam fenolik bileşik miktarı da spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir (su ekstresi: $15,1 \mu mol$ gallik asit eşdeğeri (GE)/g kuru ağırlık, metanol ekstresi: $10,8 \mu mol$ GE/g kuru ağırlık). Su ekstresinin antioksidan

aktivitesi ve toplam fenolik bileşik miktarı metanol ekstresine göre daha yüksek bulunmuştur. Ancak *E. bryoniifolium* ekstreleri, araştırılan diğer ekstreler ve referans olarak kullanılan *Ginkgo biloba* ekstresi ile mukayese edildiğinde daha düşük antioksidan aktivite göstermiştir.

Tunus'un güneyinden toplanan 25 bitki türünün antioksidan aktivitelerinin incelendiği bir çalışma kapsamında, *E. glaucophyllum*'un toprak üstü kısımlarından etil asetat ve metanol ekstreleri hazırlanmıştır (Bouaziz, Dhouib, Loukil, Boukhris ve Sayadi, 2009). Ekstrelerin 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) radikal soldurma yöntemi ile TEAC değerleri (etil asetat ekstresi: $0,60 \pm 0,04$ mM TE, metanol ekstresi: $3,14 \pm 0,32$ mM TE) ve DPPH yöntemi ile serbest radikal süpürücü etkileri ölçülmüştür (etil asetat ekstresi: $IC_{50} = 1,76 \pm 0,30$ µg/mL, metanol ekstresi: $IC_{50} = 0,44 \pm 0,08$ µg/mL). Ekstrelerin Folin-Ciocalteu yöntemine göre toplam fenolik bileşik miktarı spektrofotometrik olarak pirogallol eşdeğeri şeklinde tayin edilmiştir (etil asetat ekstresi: 422 ± 51 mg/100 g kuru ağırlık, metanol ekstresi: 2225 ± 267 mg/100 g kuru ağırlık). Yine spektrofotometrik olarak toplam flavonoit miktarı da rutin eşdeğeri olarak hesaplanmıştır (etil asetat ekstresi: 14 ± 1 mg/100 g kuru ağırlık, metanol ekstresi: 203 ± 20 mg/100 g kuru ağırlık). Toplam flavonol miktarı sonuçları ise kersetin eşdeğeri olarak verilmiştir (etil asetat ekstresi: 11 ± 1 mg/100 g kuru ağırlık, metanol ekstresi: 40 ± 4 mg/100 g kuru ağırlık). Toplam fenol, flavonoit ve flavonol miktarları etil asetat ekstresine göre oldukça yüksek olan metanol ekstresinin fenolik içeriği ile antioksidan aktivitesi birbiriyle tutarlı bulunmuştur. İncelenen tüm ekstreler arasında DPPH radikal süpürücü etki ile en yüksek toplam fenol ve flavonoit içeriğine *E. glaucophyllum* metanol ekstresinin sahip olduğu belirlenmiştir.

Yine Tunus'ta yetişen *E. glaucophyllum*'un çiçek ve yaprak örneğinden hazırlanan metanol (% 80) ekstresinin DPPH serbest radikal süpürücü etkisi, ABTS radikal soldurma yöntemi ve demir indirgeme antioksidan gücü (ferric-reducing antioxidant power, FRAP) yöntemleriyle antioksidan etkisi araştırılmıştır (Bakari ve diğerleri, 2018). DPPH yönteminde, referans olarak kullanılan C vitaminine ($IC_{50} = 114,5 \pm 0,7$ µg/mL) karşı çiçek ve yaprak ekstrelerinin IC_{50} değerleri sırasıyla, $38,8 \pm 0,2$ ve $79,2 \pm 0,6$ µg/mL; ABTS yönteminde ise referans olarak kullanılan troloksa ($IC_{50} = 430,0 \pm 0,1$ µg/mL) karşı $925,0 \pm 0,7$ ve $1054,0 \pm 0,0$ µg/mL olarak bulunmuştur. Etkili konsantrasyon (EC_{50}) değerinin hesaplandığı FRAP yönteminde referans olarak kullanılan C vitaminine ($EC_{50} = 114,5 \pm 0,7$ µg/mL) karşı çiçek ve yaprak ekstrelerinin EC_{50} değerleri sırasıyla, $89,0 \pm 1,0$ ve $79,2 \pm$

0,6 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Her üç yöntemde de çiçek ekstresinin antioksidan etkisi, yaprak ekstresinden yüksek olmasına rağmen, çiçek ekstresinin sadece toplam flavonoit (kersetin eşdeğeri) ($34,0 \pm 1,0$ mg/g) ile toplam karoten miktarı (β -karoten eşdeğeri) ($221,8 \pm 0,0$ mg/g) yaprak ekstresinden ($27,0 \pm 1,0$ mg/g ve $203,2 \pm 0,2$ mg/g) daha fazla olup, çiçek ekstresinin toplam fenol ve kondanse tanen miktarlarının yaprak ekstresine göre daha düşük olduğu saptanmıştır. Ancak her iki ekstrenin de özellikle DPPH ve FRAP yöntemlerinde referanslardan daha iyi antioksidan etki göstermesinin toplam fenolik içerikleri ile bağlantılı olduğuna işaret edilmiştir.

Tunus'ta Jebel Orbata Milli Parkı'nda yetişen *E. glaucophyllum*, *E. hirtum* ve *E. guttatum* bitkilerinin tuberlerinden hazırlanan su:metanol (50:50) ekstreleri üzerinde yapılan benzer bir çalışmada ise; DPPH radikal süpürücü etki, FRAP ve linoleik asit peroksidasyon yöntemleri ile antioksidan etkileri belirlenmiş ve C vitamininin ($IC_{50} = 5,18 \pm 1,98$ µg/mL) referans olarak kullanıldığı DPPH yönteminde, *E. glaucophyllum*, *E. hirtum* ve *E. guttatum* ekstrelerinin IC_{50} değerleri sırasıyla, $20,29 \pm 2,64$; $49,1 \pm 3,60$ ve $56,90 \pm 3,30$ µg/mL olarak tespit edilmiştir (Hamza ve diğerleri, 2018). Yine referans olarak C vitamininin ($IC_{50} = 13,15 \pm 1,65$ µg/mL) kullanıldığı FRAP yönteminde ekstrelerin sırasıyla, $14,98 \pm 1,26$; $16,30 \pm 2,0$ ve $28,1 \pm 1,8$ µg/mL IC_{50} değerlerine sahip olduğu saptanmıştır. Linoleik asit peroksidasyon yönteminde ise, AG (açık adı makalede verilmemiştir) kodlu referansa ($IC_{50} = 13,18 \pm 1,21$ µg/mL) karşı, ekstrelerin IC_{50} değerleri sırasıyla, $37,22 \pm 2,36$; $42,50 \pm 4,20$ ve $71,03 \pm 9,3$ µg/mL olarak belirlenmiştir. Her üç yöntemde de en yüksek antioksidan etkiyi *E. glaucophyllum*'un gösterdiği, bunun diğerlerinden daha yüksek olan toplam fenol, flavonoit ve kondanse tanen içeriğiyle pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir.

Tunus'un Boughrara bölgesinden 2014 yılında Nisan ve Ekim ayları olmak üzere iki farklı periyotta toplanan *E. glaucophyllum* örneklerinin köklerinden hareketle % 30, 50, 70 ve 100 konsantrasyonlarda olmak üzere kloroform ve etil asetat ekstreleri hazırlanmış ve ekstrelerin antioksidan potansiyeli DPPH radikal süpürücü etki, demir-bağlama kapasitesi ile fosfomolibden üzerinden toplam antioksidan aktivite tayini yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır (Radhia, Hanen, Abdelkarim ve Mohamed, 2018). Herhangi bir referans maddenin kullanılmadığı ve toplam polifenol içeriği ile antioksidan aktivitenin korele olduğuna dair yorum yapılan çalışmada, ekstrelere ait sonuçlar Çizelge 2.6'da verilmektedir:

Çizelge 2.6. Tunus'ta yetişen *E. glaucophyllum* kök ekstrelerine ait antioksidan aktivite sonuçları (IC₅₀ – µg/mL) (Radhia, Hanen, Abdelkarim ve Mohamed, 2018)

Ekstreler		DPPH radikal süpürücü etki	Demir-bağlama kapasitesi	Toplam antioksidan aktivite
Kloroform	% 100	5,0 ± 0,134	17,0 ± 0,122	118,57 ± 0,1
	% 70	5,0 ± 0,128	16,87 ± 0,182	112,762 ± 0,059
	% 50	18,5 ± 0,531	20,0 ± 0,063	107,033 ± 0,435
	% 30	6,12 ± 0,088	15,5 ± 0,32	96,958 ± 0,255
Etil asetat	% 100	12,03 ± 0,102	17,0 ± 0,425	115,825 ± 0,815
	% 70	10,5 ± 0,978	16,5 ± 0,693	91,959 ± 0,561
	% 50	6,0 ± 0,312	10,0 ± 0,364	73,649 ± 0,953
	% 30	9,0 ± 0,16	10,0 ± 0,832	14,63 ± 0,003

Bulgaristan'ın çeşitli bölgelerinden toplanmış, Geraniaceae familyasına ait 9 bitki türünün (8 adet *Geranium* sp. ve 1 adet *Erodium* sp.) toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanollü ekstrelerin antioksidan aktivitesi DPPH radikal süpürme yöntemi ile incelenmiştir. Tüm ekstreler güçlü antioksidan etki göstermiş olup, *E. cicutarium* ekstresinin serbest radikal süpürücü etkisi (IC₅₀ < 30 µg/mL), aynı çalışmada taranan 4 *Geranium* türünden daha yüksek bulunmuştur (Nikolova, Tsvetkova ve Ivancheva, 2010).

Mısır'da yetişen 110 bitki türünün antioksidan aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada, *E. bryoniifolium*'un su ve metanol ekstrelerinin DPPH radikal süpürücü etkileri belirlenmiştir (su ekstresi: % 20,10 ± 1,83, metanol ekstresi: % 11,90 ± 1,79). Su ekstresinin antioksidan aktivitesi, metanol ekstresine göre daha yüksek bulunmuştur. Ancak *E. bryoniifolium* ekstreleri, araştırılan diğer ekstrelelere göre ve referans olarak kullanılan kersetin ve bütihidroksitoluene (BHT) göre oldukça düşük antioksidan aktivite göstermiştir (El-Hela, Abdel-Hady, Dawoud, Hamed ve Morsy, 2013).

Filistin'in Kudüs bölgesinden toplanan *E. laciniatum*'dan hazırlanan *n*-hekzan:etanol (50:50) ile ekstraksiyona tabi tutulduktan sonra hazırlanan su ekstresinin DPPH radikal süpürücü etkisi incelenmiş, referans olarak kullanılan troloksa (IC₅₀= 1,21 ± 1,96 µg/mL) karşı IC₅₀ değeri 28,94 ± 1,67 µg/mL olarak tespit edilmiş ve etkisinin düşük olduğu gözlenmiştir (Jaradat, Al Masri, Zaid ve Othman, 2017).

Antimikrobiyal aktivite

E. cicutarium'dan elde edilen ekstreler antiviral ve interferon-indükleyici özellikleri açısından incelenmiş, su ve metanol ekstreleri ile bunların fraksiyonlarının *Myxovirus*, *Herpes virus* tip-1, veziküler stomatit ve *Vaccinia* virüslerine karşı antiviral etkinlik

gösterdiği saptanmıştır (Zielińska-Jencylik, Sypuła, Budko ve Rzakowska-Bodalska, 1987). Ancak aynı grup tarafından yapılan çalışmanın devamında ekstreler insan lökositlerinde interferon-indükleyici etki göstermemiş, fakat bitkinin metanol ekstresi hücre kültüründe Newcastle hastalık virüsü ile üretilen interferon sentezinin stimülasyonuna yol açmıştır (Zielińska-Jencylik, Sypuła, Budko ve Rzakowska-Bodalska, 1988).

Girit'te yetişen 65 bitki türünün *Plasmodium falciparum*'a karşı antimalaryal, *Leishmania donovani*'ye karşı ise antileşmaniyal aktivitesi incelenmiştir (Fokialakis ve diğerleri, 2007). *E. moschatum*'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan diklorometan ekstresinde antimalaryal aktivite gözlenmemiştir. Amfoterisin (IC₅₀= 0,17 µg/mL) referans olarak kullanıldığı çalışmada, ekstrenin düşük antileşmaniyal aktivite gösterdiği (IC₅₀= 40 µg/mL) tespit edilmiştir.

Rusya'da yetişen Geraniaceae ve Rosaceae familyalarına ait 7 bitki türünün Gram-pozitif (*Bacillus* sp.) ve Gram-negatif (*Azotobacter* sp. ve *Pseudomonas* sp.) olmak üzere toplam 32 bakteri suşuna karşı bakteriyostatik etkileri incelenmiştir (Nikitina, Kuz'mina, Melent'ev ve Shendel, 2007). *E. cicutarium*'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan su ekstresi etanol ekstresine göre daha yüksek bakteriyostatik etki göstermiştir. Her iki ekstre de Gram-negatif bakterilere karşı, Gram-pozitif bakterilere göre daha yüksek bakteriyostatik etki göstermiş olup, 1000 µg/mL konsantrasyondaki etkisi Gram-negatif bakteriler için % 92 olarak tespit edilmiştir. Referans olarak kullanılan furasilinin 15,6 µg/mL konsantrasyondaki etkisi ise Gram-negatif bakteriler için % 25'tir.

İtalya'da yetişen 104 bitki türünden hazırlanan 168 ekstrenin metisiline-dirençli *Staphylococcus aureus* suşuna karşı antimikrobiyal aktiviteleri mikrodilüsyon yöntemi ile incelenmiş; aynı zamanda ekstrelerin biyofilm oluşumu üzerine etkileri de araştırılmıştır (Quave, Plano, Pantuso ve Bennett, 2008). Bu kapsamda, *E. ciconium* ve *E. malacoides*'in toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol ekstreleri de test edilmesine rağmen, her iki ekstre de biyofilm oluşumunu inhibe etmemiştir. *E. ciconium* ekstresi metisiline-dirençli *S. aureus*'a karşı etki göstermemiş, ancak *E. malacoides* ekstresinde aktivite gözlenmiştir [Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK)= 128 µg/mL].

Tunus'ta yetişen 25 bitki türünün antimikrobiyal aktivitelerinin incelendiği bir çalışmada, *E. glaucophyllum*'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan etil asetat ve metanol

ekstrelerinin antimikrobiyal etkisi disk difüzyon yöntemi uygulanarak, *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* ve *Aspergillus niger* suşlarına karşı araştırılmıştır (Bouaziz ve diğerleri, 2009). Bitkinin metanol ekstresinde antimikrobiyal aktivite gözlenmemiş, ancak etil asetat ekstresi *C. albicans* haricindeki diğer suşlara karşı etkili bulunmuştur. Benzer bir başka çalışmada, Tunus'ta yetişen *E. glaucophyllum* çiçek ve yapraklarının metanol (% 80) ekstresinin antimikrobiyal etkisi, *Bacillus cereus* JN 934390, *B. subtilis* JN 934392, *S. aureus* ATCC 6538, *Micrococcus luteus*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella enteritidis* ATCC43972, *E. coli* ATCC 25922 ve *Klebsiella pneumoniae* ile *Penicillium* sp., *Fusarium* sp. JX391934 ve *F. oxysporum* AB586994'e karşı inhibisyon zon çapı, MİK, minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) ve minimum fungisidal konsantrasyon (MFK) parametreleri üzerinden test edilmiştir (Bakari ve diğerleri, 2018). Bitkinin inhibisyon zon çapı üzerinden sonuçları Çizelge 2.7 ve 2.8'de verilmektedir:

Çizelge 2.7. *E. glaucophyllum* çiçek ve yapraklarının antibakteriyel etkisine ait inhibisyon zon çapları (mm) (Bakari ve diğerleri, 2018)

Suşlar	İnhibisyon zon çapı (mm)		
	Çiçekler	Yapraklar	Kloramfenikol (Ref.)
<i>Bacillus cereus</i>	20,2 ± 0,2	17,5 ± 0,7	26,0 ± 1,0
<i>Bacillus subtilis</i>	15,2 ± 0,2	17,0 ± 2,0	24,0 ± 0,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	17,0 ± 2,0	21,0 ± 1,0	16,5 ± 0,5
<i>Micrococcus luteus</i>	16,0 ± 0,0	15,2 ± 0,3	20,0 ± 2,0
<i>Enterococcus faecalis</i>	20,5 ± 0,5	19,5 ± 0,7	12,0 ± 1,0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	25,5 ± 0,5	25,0 ± 1,0	22,0 ± 1,0
<i>Salmonella enteritidis</i>	32,2 ± 0,2	28,2 ± 0,3	16,0 ± 0,0
<i>Escherichia coli</i>	20,0 ± 2,0	20,5 ± 0,7	23,5 ± 0,5

Çizelge 2.8. *E. glaucophyllum* çiçek ve yapraklarının antifungal etkisine ait inhibisyon zon çapları (mm) (Bakari ve diğerleri, 2018)

Mantar suşları	İnhibisyon zon çapı (mm)		
	Çiçekler	Yapraklar	Siklodekstrin (Ref.)
<i>Penicillium</i> sp.	11,2 ± 0,3	13,0 ± 1,0	14,0 ± 1,0
<i>Fusarium oxysporum</i>	24,0 ± 2,0	19,0 ± 1,0	20,0 ± 2,0
<i>Fusarium</i> sp.	9,7 ± 0,3	10,7 ± 0,3	18,0 ± 2,0

Bitkinin MİK, MBK ve MFK parametreleri üzerinden antibakteriyel ve antifungal aktivite sonuçları ise Çizelge 2.9'da verilmektedir:

Çizelge 2.9. *E. glaucophyllum* çiçek ve yapraklarının antibakteriyel ve antifungal etkisine dair MİK, MBK ve MFK değerleri (Bakari ve diğerleri, 2018)

Suşlar	Çiçekler		Yapraklar	
	MİK ¹	MBK ²	MİK	MBK
Gram pozitif bakteriler				
<i>Bacillus cereus</i>	3,1	6,2	6,2	12,5
<i>Bacillus subtilis</i>	6,2	12,5	6,2	25,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	3,1	12,5	12,5	25,0
<i>Micrococcus luteus</i>	3,1	12,5	6,2	12,5
<i>Enterococcus faecalis</i>	12,5	25,0	6,2	50,0
Gram negatif bakteriler				
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3,1	6,2	6,2	12,5
<i>Salmonella enteritidis</i>	1,5	3,1	3,1	6,2
<i>Escherichia coli</i>	6,2	12,5	3,1	6,2
Mantarlar				
<i>Penicillium</i> sp.	MİK	MFK ³	MİK	MFK
<i>Fusarium oxysporum</i>	6,2	25,0	6,2	12,5
<i>Fusarium</i> sp.	1,5	3,12	3,1	6,2
<i>Fusarium</i> sp.	6,2	12,5	12,5	25,0

¹MİK: Minimum inhibitör konsantrasyon, ²MBK: Minimum bakterisidal konsantrasyon,

³MFK: Minimum fungisidal konsantrasyon

İsrail’de yetişen 41 bitki türünden elde edilen metanol:su (1:1) ekstralarının antileşmaniyal etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, ekstraların *Leishmania major*’a karşı aktiviteleri *in vitro* ortamda incelenmiş, sadece 9 tanesinde inhibitör aktivite (> % 15) saptanmıştır (El-On ve diğerleri, 2009). Referans olarak kullanılan paromomisin sülfatın % 100 aktivite gösterdiği deneyde, taramada yer alan *E. gruinum* ve *E. malacoides* ekstralarında sadece % 10 ve % 22 oranında antileşmaniyal etki tespit edilmiştir.

Makedonya’da toplanan *E. absinthioides* ile Sırbistan’da toplanan *E. cicutarium* ve *E. ciconium*’dan su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal aktivitesi mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılmıştır (Stojanović-Radić ve diğerleri, 2010). Çalışmada çeşitli Gram-pozitif bakteri (*S. aureus*, *Clostridium perfringens*, *B. subtilis*), Gram-negatif bakteri (*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa*) ve mantar (*C. albicans*, *Aspergillus restrictus*, *A. chrysogenum* ve *A. fumigatus*) suşları kullanılmıştır. Uçucu yağların tümü, referans antibiyotik olan amoksisiline (MİK= 1,75-5 µg/mL) oranla daha düşük antimikrobiyal aktivite göstermiştir (MİK= 0,156-5 mg/mL). Antifungal aktiviteleri ise antibakteriyel aktivitelerine göre daha yüksek bulunmasına karşın, referans olarak kullanılan nistatine (MİK= 0,039-2,5 µg/mL) göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir (MİK= 0,039-0,325 µg/mL).

Tunus’ta Jebel Orbata Milli Parkı’nda yetişen *E. glaucophyllum*, *E. hirtum* ve *E. guttatum* bitkilerinin tuberlerinden su:metanol (50:50) ile hazırlanan ekstraları *E. coli* (ATCC 2592 ve 8739 suşları), *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Serratia marcescens* ve *Enterococcus faecalis*’e

karşı referans olarak streptomisin kullanılarak disk difüzyon yöntemiyle test edilmiş ve inhibisyon zon çapları karşılaştırıldığında, referanstan düşük olmakla birlikte en yüksek zon çapına *E. glaucophyllum* ekstresinin yol açtığı gözlenmiştir (Hamza ve diğerleri, 2018). Çalışmada, *E. glaucophyllum* ekstresi referansa ($28,2 \pm 4$ mm) en yakın inhibisyon zon çapını ($16,4 \pm 2$ mm) *E. coli* ATCC 2592 suşuna karşı göstermiştir. Tunus'un Boughrara bölgesinden 2014 yılında toplanan *E. glaucophyllum* örneklerinin köklerinden hareketle % 30, 50, 70 ve 100 konsantrasyonlarda olmak üzere hazırlanan kloroform ve etil asetat ekstrelerinin antibakteriyel etkisi *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *B. cereus* ve *S. typhimurium* adlı bakteri suşlarına karşı disk difüzyon yöntemi ile test edilmiştir (Radhia, Hanen, Abdelkarim ve Mohamed, 2018). Herhangi bir referans antibiyotiğin kullanılmadığı çalışmada, ekstreler inhibisyon çapları esas alınarak kendi arasında mukayese edildiğinde, % 100 konsantrasyonda olan etil asetat ekstrelerinin, test edilen suşlara karşı aynı konsantrasyondaki kloroform ekstrelerinden biraz daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 2.10. Tunus'ta yetişen *E. glaucophyllum* kök ekstrelerine ait antibakteriyel aktivite sonuçları (inhibisyon zon çapı - mm) (Radhia, Hanen, Abdelkarim ve Mohamed, 2018)

Suşlar	Kloroform ekstreleri				Etil asetat ekstreleri			
	% 100	% 70	% 50	% 30	% 100	% 70	% 50	% 30
<i>Escherichia coli</i>	11	9	11	9	13	7	- ¹	8
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	10	13	9	14,5	10	9	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13	10	12	9	14	7	7	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	11	10	12,5	9	15	9	10	8
<i>Bacillus cereus</i>	12	11	12,5	8	14	-	8	9
<i>Salmonella typhimurium</i>	12	10	14	-	12,5	10,5	10	9

¹ İnhibisyon gözlenmedi

Filistin'in Kudüs bölgesinden toplanan *E. laciniatum*'un su ve etanol ekstresinin antibakteriyel etkisi, *S. aureus* (ATCC 25923), *E. coli* (ATCC 25922), *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *S. aureus* (metisilin-dirençli *S. aureus*, MRSA-pozitif), *Enterococcus faecium* (ATCC 700221), *Shigella sonnei* (ATCC 25931), *Enterobacter cloacae* ve *K. Pneumoniae*'nin klinik izolatları; antifungal etkisi ise *C. albicans* (ATCC 90028) ve *Epidermophyton floccosum*'a karşı (ATCC 52066) agar difüzyon (disk ve kuyucuk) ve mikrodilüsyon yöntemleri ile test edilmiştir (Jaradat, Al Masri, Zaid ve Othman, 2017). Sonuçlara göre; su ekstresi test edilen hiçbir suşa karşı inhibisyon göstermezken, etanol ekstresi sadece *E. coli* ve *E. faecium*'a karşı, sırasıyla 7 ve 10 mm'lik inhibisyon zon çapına yol açmıştır.

Sitotoksik aktivite

Bolivya halk tıbbında kullanılan 26 bitki türünün Caco-2 insan kolon kanseri hücrelerinin proliferasyonu üzerinde olası etkilerinin incelendiği bir çalışmada, *E. cicutarium* yapraklarından hazırlanan etanol ekstresi 100 µg/mL konsantrasyonda % 10 antiproliferatif aktivite göstermiştir. Referans olarak kullanılan ursolik asit (40 µM) ise hücre proliferasyonunu % 34,4 oranında inhibe etmiştir (Rodrigo, Almanza, Akesson ve Duan, 2010).

Peru'da halk arasında kullanılan 341 bitki türünün su ve etanol ekstreleri hazırlanmış; tuzlu su karidesi yöntemiyle toksisite belirlenmiştir. Çalışmada *E. cicutarium*'un da toksisitesi araştırılmış olup, bitkinin su ve etanol ekstrelerinde yüksek toksisite gözlenmiştir (Sırasıyla, LC₅₀= 4,8 ve 0,06 µg/mL) (Bussmann ve diğerleri, 2011).

İran'da yetişen 16 bitki türünün sitotoksik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, *E. oxyrrhynchum*'un MCF-7 (meme kanseri), WEHI-164 (fibrosarkoma), HepG-2 (hepatoselüler karsinoma) ve MDBK (Madin-Darby sığır böbrek hücresi) hücre hatlarına karşı sitotoksik aktivitesi 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) hücre proliferasyon testi ile araştırılmıştır. Fakat *E. oxyrrhynchum*'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstresi çalışma kapsamındaki hücre hatlarına karşı etki göstermemiştir (Esmaili ve diğerleri, 2009; Ghafari, Naghibi, Esmaeili, Sahranavard ve Mosaddegh, 2015).

Enzim inhibitör aktivite

Erodium türlerinin enzim inhibitör etkileri üzerine oldukça kısıtlı sayıda çalışma yayınlanmıştır. Bunlardan ilkinde, ABD'de yetişen *E. stephanianum*'un metanol ekstresinin memeli DNA topoizomerazı inhibe ettiği ve etkiden sorumlu bileşiğin şebulajik asit olduğu bildirilmiştir (Berry, MacKenzie, Shultis, Chan ve Hecht, 1992).

Fransa'da yetişen *E. foetidum* tirozinaz enzimine karşı test edilmiş, ancak inhibitör etki göstermemiştir (Lamaison, Petitjean-Freytet ve Carnat, 1993).

Filistin'in Gazze bölgesinde yetişen 12 bitkinin antimalaryal ilaç keşfinde hedef enzimlerden biri olan 2C-metil-D-eritritol 4-fosfat sentaza (IspC) karşı tarandığı bir

çalışmada, *E. gruinum*'un % 50 metanol ekstresinin % 63 oranında inhibisyona yol açtığı saptanmıştır (Kaiser ve diğerleri, 2007).

Filistin'de yetişen 42 bitki türünden hareketle hazırlanan 92 ekstrenin Alzheimer hastalığının patolojisinde yer alan asetilkolinesteraz enzimine karşı inhibitör aktiviteleri Ellman yöntemiyle araştırılmıştır. Çalışmada referans ilaç olarak kullanılan galantamin % $93,44 \pm 2,21$ oranında inhibisyon gösterirken, *E. malacoides* yapraklarından hazırlanan etanol ekstresi % $33,69 \pm 0,98$ oranıyla düşük inhibisyona neden olmuştur (Ali-Shtayeh, Jamous, Zaitoun ve Qasem, 2014).

Diğer biyolojik aktiviteleri

E. cicutarium'un % 70 etanol ekstresinin anti-enflamatuvar etkisi karagen-nedenli pençe ödemi yöntemi ve analjezik etkisi ise sıcak/soğuk plaka ve Randall & Selitto test (analjezimetre) modeli kullanılarak incelenmiştir (Penkov ve diğerleri, 2014). Ekstrenin 1 ve 2 g/kg (vücut ağırlığı) dozda istatistiksel olarak anlamlı bir anti-enflamatuvar göstermediği belirlenmiştir. Ancak 2 g/kg (vücut ağırlığı) dozda dikkate değer bir analjezik etki göstermiştir.

E. cicutarium'dan hazırlanan çeşitli ekstreler arasında hekzan ekstresi 0,15 mg/ml konsantrasyonda kobay ileumunda tonüsü artırmış ve kasılma direncini azaltmıştır. Metanol ekstresi 1.3 mg/ml konsantrasyonda pasif haldeki uterusu düzenli monofazik kasılmalar üretirken, tüm ekstreler seğirme direncini etkilemeden izole diyafram kasında gerilmeyi artırmıştır. Tavşan izole kalbinden elde edilen Krebs çözeltisine ekstrenin ilave edilmesiyle, negatif iyonotropik etki gözlenmiştir. Böylece bitkinin özellikle hekzan ve metanol ekstrelerinin spazmojenik etkiye sahip olduğu ifade edilmiştir (Lis-Balchin ve Hart, 1994; Lis-Balchin ve Guittonneau, 1995).

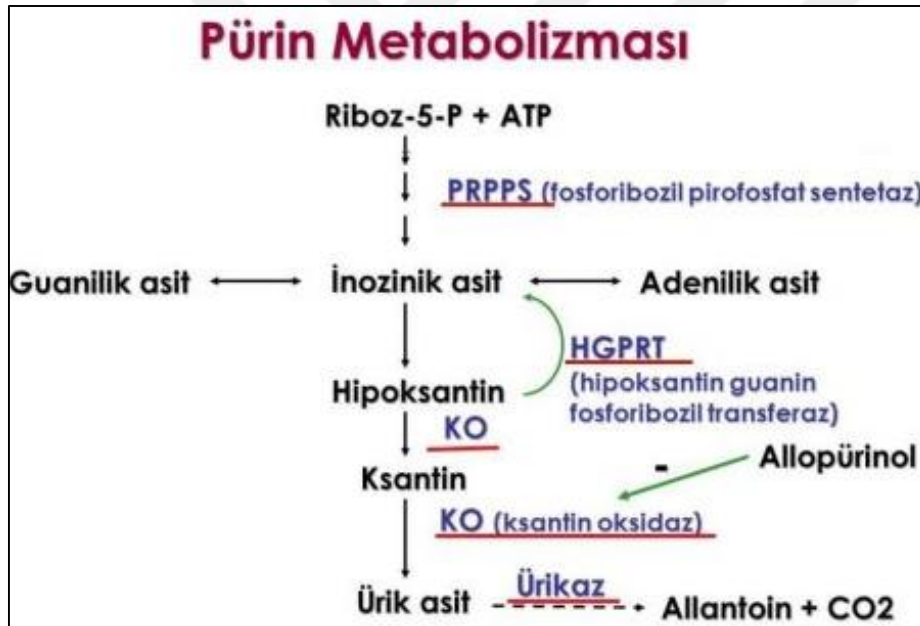
2.4. Ksantin Oksidaz Enzimi

Ksantin oksido redüktaz (KOR) molibden içeren bir flavoenzim olup, ksantin dehidrogenaz (KD) ve ksantin oksidaz (KO) (EC 1.17.3.2) olmak üzere iki formu mevcuttur (Dağdemir ve Özdemir, 2008). KOR genellikle ilk önce KD olarak sentezlenmesine rağmen, sülfidril gruplarının oksidasyonu veya proteoliz ile kolaylıkla KO formuna dönüşebilmektedir (Koca ve Karadeniz, 2014). KO canlı sistemlerde bulunan ve

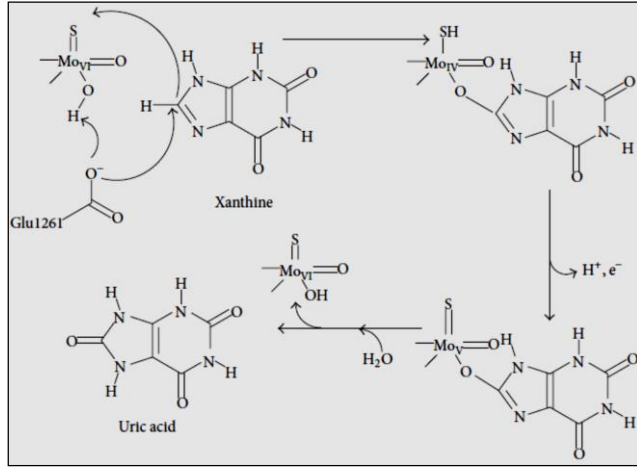
serbest radikal türleri üreten, dehidrogenaz tipi önemli enzim kaynaklarından biridir. KO, pürin metabolizmasında birinci basamakta bir ara bileşik olan hipoksantini önce ksantine, ikinci basamakta ise ürik asit üzerinden oksitler ve hücrelerde bulunan bir ko-enzim olan NAD^+ 'ye elektron transferini gerçekleştirir (Şekil 2.5 ve 2.6) (Kostic ve diğerleri, 2015).

- $\text{hipoksantin} + \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2 \longrightarrow \text{ksantin} + \text{H}_2\text{O}_2$
- $\text{ksantin} + \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2 \longrightarrow \text{ürik asit} + \text{H}_2\text{O}_2$

Ancak akabinde dokuda mevcut stres koşulları altında tiyol gruplarını okside eden ve proteolizise neden olan bir oksidaz enzimine dönüşür. Böylece süperoksit anyonu (O_2^-) ve hidroperoksit radikalleri meydana gelmektedir. Vücutta hipoksantin ve KO aracılığıyla sürekli olarak süperoksitler oluşmaktadır.



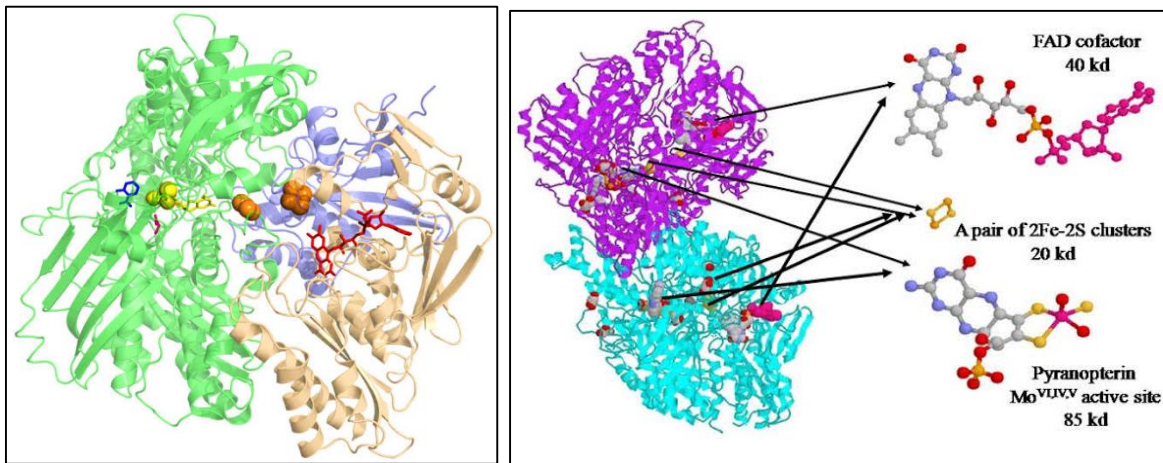
Şekil 2.5. KO-aracılıklı pürin metabolizması (<https://www.doktorix.com/urik-asit-ve-gut-nedir-yuksekligi-ve-dusuklugu-nedenleri/>)



Şekil 2.6. KO aracılığı ile ksantinin ürik asite transformasyonu (Kostic ve diğerleri, 2015)

KO, aslında ilk kez Schardinger tarafından 1902 yılında sütte keşfedilmesi nedeniyle, yaygın şekilde “Schardinger enzimi” olarak da bilinir (Schardinger, 1902). 1922 yılında ise Morgan, Stewart ve Hopkins (1922) sütte bulunan bir enzimin ksantin ve hipoksantini okside edebildiğini bulmuş ve bu enzimi KO olarak adlandırmıştır. 1938’de Schardinger enziminin aslında KO olduğunu ise Booth kanıtlamıştır (Booth, 1938).

KO, moleküler ağırlığı 290 KDa olan homodimer bir enzim olup, bir molibden taşıyan, bağımsız alt ünitelerinden biri flavin adenin dinükleotitlerden (FAD), diğeri ise ferrodoksin tipi iki demir-sülfür merkezi taşıyan molibden-protein ailesinden bir enzimdir (Resim 2.7.). Böylece enzim iki ayrı substrat-bağlanma bölgesi içermektedir.



Resim 2.7. KO enziminin üç boyutlu yapısı

Pürin metabolizması üzerinden KO ile sürekli üretilen O_2^- anyonları, başka bir enzim olan süperoksit dismutazın (SOD) kontrolü altında, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijene dönüşmektedir. Yine KO aracılığı ile pürin metabolizması sonucunda oluşan ürik asit,

normal şartlar altında insanda daha ileri reaksiyona girmez. Moleküler mekanizması tam olarak henüz anlaşılamasa bile, 2/3'si böbreklerde metabolize olarak glomerüllerden serbestçe filtrata geçerek idrar yoluyla, 1/3'i ise bağırsaklar aracılığı ile vücuttan atılır (Dawson ve Walters, 2006).

2.5. Hiperürisemi/gut Hastalığı

Ürik asit, karaciğerde sentezlenen diyet ve endojen pürin metabolizmasının son ürünüdür. Toksik düzeyde birikiminin engellenmesi için ürik asitin sürekli atılması gerekmektedir. Erkeklerde serum ürik asit düzeyinin 7,0 mg/dL, kadınlarda 6,0 mg/dL'nin üzerinde olması "hiperürisemi" olarak tanımlanmaktadır. Fruktozdan zengin endüstriyel yiyecekler, kabuklu deniz ürünleri, kırmızı et tüketimi ve alkol (özellikle bira) tüketimi ürisemiye etkilemektedir. Hastaların büyük çoğunluğunda hiperüriseminin nedeni, böbrekten ürik asit eliminasyonundaki sorun nedeni ile ortaya çıkmaktadır. Metabolik asidoz genellikle hiperürisemiye eşlik etmektedir. Ürik asit antioksidan özelliğe de sahip olduğu için oksidatif stresin arttığı durumlarda (örneğin kardiyovasküler hastalıklar), artmış plazma ürik asit seviyeleri kompanzasyon mekanizması olarak değerlendirilmektedir (Nieto, Iribarren, Gross, Comstock ve Cutler, 2000). Parkinson hastalığı, multiple sklerozis, Alzheimer hastalığı olan hastalarda yüksek ürik asit seviyesinin protektif olduğu gösterilmiştir (Ascherio ve diğerleri, 2009). Ekstraselüler alanda antioksidan olan ürik asit, adipozit ve vasküler düz kas hücreleri içerisine girerek zararlı etkilerde bulunmaktadır (Corry ve diğerleri, 2008). Ayrıca nitrik oksit (NO) üretimini inhibe etmekte, platelet agregasyonunu ve pro-enflamatuvar aktiviteyi tetiklemektedir (Nakagawa ve diğerleri, 2006). Ürik asitin antioksidan etkileri olmasına rağmen hiperürisemi ile birlikte; böbrek hastalıkları, metabolik sendrom, diyabet, hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıkları tetiklemektedir. Akut ürik asit nefropatisi, ürik asit kristallerinin tübüllerde birikimi ve depolanması ile ortaya çıkan akut böbrek hasarıdır (Ejaz ve diğerleri, 2007). Genellikle serum ürik asit düzeylerinin 10-15 mg/dL'yi geçtiği durumlarda ortaya çıkar. Kronik hiperürisemi ile birlikte görülen kronik interstisiyel nefrit "gut nefropatisi" olarak bilinmekte ve gut hastalarında görülen hipertansiyona, vasküler hastalıklara ve yaşlanmaya bağlı böbrek hasarına eşlik eden böbrek hastalığı olarak tanımlanmaktadır. Gut terimi ise Latince "*gutta*" (damla) kelimesinden türetilmiş olup, ilk olarak 13. yüzyılda kullanılmıştır (Öksüz ve Samancı, 2003). Gut, monosodyum urat kristallerinin eklemlerde birikimi ve enflamasyona neden olması ile karakterize bir artrit tablosudur (Resim 2.8). Gut

hastalarında; enflamatuar selülit, ürat nefropatisi ve böbrek taşları ortaya çıkan diğer klinik tablolarıdır.



Resim 2.8. Gut hastalığında uzuvlarda görülen bozukluklar

Halk arasında “kralların veya zenginlerin hastalığı” olarak da bilinen gut hastalığı tedavisi; hiperürisemi kontrolü, akut gut artriti tedavisi ve kronik dönem tedavisi şeklinde sınıflandırılmakta ve akut gut artritinin tedavisinde en etkili ilaçlar kolşisin, non-steroidal anti-inflamatuar ilaçlar (NSAİİ) ile kortikosteroidler olarak bilinmektedir. Ürik asit üretimini düşüren KO inhibitörleri ve ürat atılımını artıran ürikozürük ilaçlar ürat düşürücü tedavide kullanılmaktadır (Atakul ve Demir, 2014). Ürik asit sentezini inhibe eden ilaçlar; allopurinol ile non-pürin yapısında olan febüksostat ve ürikazdır. Ürikozürük ilaçlar ise; probenesit, sülfipirazon ve benzbromarondur. RDEA594, ürat taşıyıcı protein-1 (URAT-1) inhibitörü olan yeni bir ürikozürük ilaçtır. Anakinra, rilonasept ve kanakinumab gibi interlökin-1 (IL-1) inhibitörleri de gut tedavisi için keşfedilen nispeten yeni ilaçlar arasındadır. Diğer yandan, peglotikaz yeni geliştirilen bir rekombinant memeli ürikaz (yani insanda bulunmayan ve ürik asiti allantoina çeviren bir enzim olan ürat oksidaz) analogudur. En önemli yan etkisi antipeglotikaz antikor gelişimine bağlı alerjik reaksiyon ve anafilaksi gelişimidir (Guttmann, Krasnokutsky, Pillinger ve Berhanu, 2017). Diğer önemli yan etkileri arasında nötrofili, atralji, anemi, ödem, üst solunum yolu ve üriner sistem enfeksiyonları gözlenmiştir. Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz eksikliğinde hemolitik anemiye yol açtığı için kontrendikedir.

Sürekli devam eden hiperürisemi ve tekrarlayan gut atakları söz konusu olduğunda, tedaviye KO inhibitörleri (allopurinol) veya ürikozürük ajanlarla (probenesit, sülfipirazon) devam edilmelidir (Bayraktar, 2010). KO inhibitörleri; genellikle ürik asit üretimi fazla olanlarda, nefrolitiazis öyküsü olanlarda, ürikozürük ilaçlarla istenen serum düzeyi sağlayamayan hastalar veya tolere edemeyenlerde tercih edilmektedir. 1956 yılında 6-merkaptourinin etkinliğini artırmak için adjuvan olarak geliştirilen bir ilaç olan allopurinol, hastanın serum ürat düzeyine göre önce düşük dozda başlanıp, böbrek fonksiyon derecesine göre dozu ayarlanarak tedaviye devam edilir (Lam, Yeung ve Cheung, 2013;

Day ve diğerleri, 2017). Allopurinol ve probenesitin en yaygın gözlenen yan etkileri ise, kaşıntılı döküntüler, gastrointestinal şikayetler ve hipersensitivitedir (Stamp ve Barclay, 2018). Hipersensitiviteyi önlemek için evre 4 hastalarda, allopurinol 50 mg/gün dozda önerilmektedir. Dikkat edilmesi gereken bir diğer husus ise; allopurinol ve ürikozürükler, hastanın uzun zamandır hiperürisemik olması sebebiyle akut atak tedavisinde kullanılmamasıdır. Diğer yandan, hiperürisemik bireylerde allopurinol ile 4 ay süreli tedavinin, sistolik kan basıncını azalttığı, proteinüriyi azalttığı ve endotel fonksiyonlarını düzelttiği ilaç kullanmadan önceki dönem ile mukayese edilerek gösterilmiştir (Kanbay ve diğerleri, 2011; Cicero ve diğerleri, 2018). Sülfipirazon ise fenilbutazon türevi çok güçlü bir ürikozürük ilaç olup, hızlı emildiği ve çok etkili olduğu için nefrolitiazis komplikasyonu probenesitten daha erken ortaya çıkabilir (Conaghan ve Day, 1994; Strilchuk, Fogacci ve Cicero, 2019).

2.6. Bitkisel Kaynaklı KO İnhibitörleri

Gut tedavisinde kullanılan yukarıda örnekleri verilenler ve diğerleri de olmak üzere, ciddi yan etkileri nedeniyle, halen yeni KO inhibitörlerinin keşfine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla bitkiler yeni inhibitörlerin bulunmasında en önemli doğal kaynaklardan biridir (Ojha ve diğerleri, 2017). Zira şu ana kadar yapılan çalışmalarda, pek çok bitkisel kökenli molekülün KO enzimine karşı güçlü inhibisyon gösterdiği bildirilmiştir.

Bu bileşiklere bazı örnekler Çizelge 2.11’de verilmektedir (Kostic ve diğerleri, 2015):

Çizelge 2.11. Bitkisel kökenli bazı bileşiklerin KO’a karşı IC₅₀ değerleri (Kostic ve diğerleri, 2015)

Bileşikler	KO enzimine karşı IC ₅₀ (µM ± S.S. ¹) değerleri
4'-Hidroksiflavon	> 30
Naringenin	> 50
7-Hidroksiflavon	38,0 ± 7,0
Morin	10,1 ± 0,70
Apigenin	0,70 ± 0,23
Luteolin	0,55 ± 0,04
Baikalein	2,79 ± 0,01
Galangin	1,80 ± 0,07
Kemferol	1,06 ± 0,03
Kersetin	2,62 ± 0,13
Fisetin	4,33 ± 0,19
Krisin	0,84 ± 0,13
Mirisetin	2,38 ± 0,13
Allopurinol (referans)	0,24 ± 0,01

¹ Standart sapma

Web of Science, Scopus ve Google Scholar gibi veri tabanları üzerinden “xanthine oxidase inhibitors from plants” anahtar sözcüklerini kullanarak yaptığımız literatür taramalarımıza göre, bitkisel kökenli KO inhibitörü bileşikler kimyasal yapıları da belirtilerek çizelge halinde özetlenmiş ve Çizelge 2.12’de liste halinde verilmiştir.

Çizelge 2.12. Bitkisel kökenli KO inhibitörleri ve IC₅₀ değerleri

Bitki türü	Yetiştigi ülke	Kimyasal grubu	Bileşik(ler) ve IC ₅₀ değerleri	Referans ilaç ve IC ₅₀ değeri	Kaynaklar
<i>Hyptis rhomboides</i> Mart. & Gal.	Tayvan	Neolignan	Hiprombin C (IC ₅₀ = 0,6 ± 0,3 µM) Epihiprombin (IC ₅₀ = 2,0 ± 0,1 µM) Hiprombin B (IC ₅₀ = 5,2 ± 0,5 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 5,3 ± 0,6 µM)	(Tsai ve Lee, 2014)
<i>Garcinia esculenta</i> Y.H. Li	Çin	Ksanton	1,3,6,7-Tetrahidroksiksanton (IC ₅₀ = 1,2 µM) Griffipaviksanton (IC ₅₀ = 6,3 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 5,3 µM)	(Zhu ve diğerleri, 2014)
<i>Vitis vinifera</i> L.	İtalya	Polifenol	Prosiyanidinler (IC ₅₀ = 4.24 mmol/L)	- ¹	(Maffei Facino ve diğerleri, 1994)
<i>Populus davidiana</i> Dode	Kore	Flavonoit	Eriodiktiyol, aromadendrin, kemferol, neosakuranin	-	(Zhang ve diğerleri, 2006)
<i>Thonningia sanguinea</i> Vahl.	Gana	Elajitanen	Tonningianin A (% 18 inhibisyon) (IC ₅₀ = 30 µM)	Allopurinol (10 µM’da % 74 inhibisyon)	(Gyamfi ve Aniya, 2002)
<i>Alpinia galanga</i> (L.) Sw.	Tayland	Asetilenik ve fenolik	<i>p</i> -Kumaril diasetat (IC ₅₀ = 3,5 µM), koniferil diasetat (IC ₅₀ = 6,1 µM), 1’-asetoksikavikol asetat (IC ₅₀ = 10,7 µM), 1’-asetoksiöjenol asetat (IC ₅₀ = 9,8 µM), 4-hidroksibenzaldehit (IC ₅₀ = 19,6 µM)	-	(Noro ve diğerleri, 1988)
<i>Vaccinium vitis-idaea</i> L.	Japonya		Proantosiyantin A-1 (IC ₅₀ = 416,5 µM), prosiyanidin B-1 (IC ₅₀ = 461,0 µM), prosiyanidin B-3 (IC ₅₀ = 630,0 µM), sinnamtannin B1 (IC ₅₀ = 450,5 µM), epikateşin-(4β → 8)-epikateşin-(4β → 8, 2β → 7)-kateşin (IC ₅₀ = 428,5 µM), Epikateşin-(4β → 6)-epikateşin-(4β → 8, 2β → 7)-kateşin (IC ₅₀ = 308,0 µM)	- ¹	(Ho ve diğerleri, 1999)
<i>Scrophularia ningpoensis</i> Hemsl.	Çin	Fenil-propanoit	Akteozit	-	(Huang ve diğerleri, 2008)
<i>Cistanche deserticola</i> Y.C. Ma	Japonya	Feniletanoit	İzoakteozit ve tubuloz B	-	(Xiong, Kadota, Tani ve Namba, 1996)
<i>Dichrostachys cinerea</i> (L.) Wight & Arn.	Hindistan	Fenolik	3-O-Açıl-mezkitol türevleri (IC ₅₀ = 94,7 – 155,75 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 34,91 µM)	(Jagadeeshwar Rao ve diğerleri, 2003)
¹ <i>Cynara scolymus</i> L.	Almanya	Kafeik asit türevleri	Kafeik asit, sinarin, klorojenik asit (IC ₅₀ = > 100 µM), dihidrokafeik asit (IC ₅₀ = > 100 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 3,38-3,72 µM)	(Sarawek, Feistel, Pischel ve Butterweck, 2008)
		Flavonoit	Luteolin (IC ₅₀ = 1,49 µM), luteolin 7-O-glukozit (IC ₅₀ = 19,90 µM), luteolin 7-O-glukuronit (IC ₅₀ = 20,24 µM)		
<i>Diospyros kaki</i> L.	Kore	Polifenol	PF-I ve PF-II (% 40’ün üzerinde inhibisyon)	- ¹	(An ve diğerleri, 2005)
<i>Malus doumeri</i> A. Chev. var. <i>formosana</i> Kawak. & Koidz.)	Tayvan	Flavonoit	(+)-Kateşin (IC ₅₀ = 41,6 µM), 3-hidroksifloridzin (IC ₅₀ = 25,0 µM), 3-hidroksiflorelin (IC ₅₀ = 19,6 µM)	Kersetin (IC ₅₀ = 42,6 µM)	(Leu ve diğerleri, 2006)

Çizelge 2.12. (devam) Bitkisel kökenli KO inhibitörleri ve IC₅₀ değerleri

Bitki türü	Yetiştigi ülke	Kimyasal grubu	Bileşik(ler) ve IC ₅₀ değerleri	Referans ilaç ve IC ₅₀ değeri	Kaynaklar
<i>Helichrysum picardii</i> Boiss. & Reuter	İspanya	Flavonoit	Gnafalin (IC ₅₀ = 40 µM)	-	(de la Puerta, Forder ve Hoult, 1999)
<i>Salvia miltiorrhiza</i> Bunge	Çin	Fenolik	Magnezyum litospermat B (IC ₅₀ = 4,06 µg/mL)	Allopurinol (IC ₅₀ verilmemiş)	(Liu, Chen, Shang, Jiao ve Huang, 2009)
<i>Pyrenacantha staudtii</i> (Engl.) Engl.	Pakistan	Flavonoit	Kemferol 3-O-β-rampiranozil (1 → 6)-β-D-glukopiranozit, 4-β-glukopiranozil-(2-furil)-5-metil-1,2-glukopiranozit fenilmetanon, 3-piridin-karboksilik asit (IC ₅₀ verilmemiş)	Allopurinol (IC ₅₀ verilmemiş)	(Falodun, Qadir ve Chouldary, 2009)
<i>Boswellia papyrifera</i> (Del.) Hochst	Pakistan	Stilben	<i>Trans</i> -4,5-dihidroksi-3-metoksistilben türevi I (IC ₅₀ = 178 ± 4,62 µM) ve II (IC ₅₀ = 129 ± 3 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 7,45 ± 0,17 µM)	(Atta-ur-Rahman ve diğerleri, 2005)
<i>Leonurus cardiaca</i> L.	Pakistan	Triterpen	İlelatifol D (IC ₅₀ = 776,25 ± 12,53 µM), korozolik asit (IC ₅₀ = 549,26 ± 18,94 µM), özkafik asit (IC ₅₀ = 787,32 ± 12,03 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 7,45 ± 0,17 µM)	(Ali, Ibrahim, Jalil ve Choudhary MI, 2007)
<i>Amyema scandens</i> (Tiegh.) Danser	İtalya	Polifenol	Oligomerik prosiyanidinler (IC ₅₀ verilmemiş)	1	(Gariboldi, Mascetti, Galli, Caballion ve Bosisio, 1998)
<i>Picrorhiza kurroa</i> Royle ex Benth.	Hindistan	İridoit	Pikroliv, pikrozit I, kutkozit (IC ₅₀ verilmemiş)	1	(Chander, Kapoor ve Dhawan, 1992)
<i>Phyllostachys edulis</i> (Carriere) J. Houzeau	Kore	Fenolik asit	3-O-(3'-Metilkafeoil)kinik acid (IC ₅₀ = 6,7 ± 0,06 µM), 5-O-kafeoil-4-metilkinik asit (IC ₅₀ = 28,3 ± 0,32 µM), 3-O-kafeoil-1-metilkinik asit (IC ₅₀ = 26,2 ± 0,14 µM), klorojenik asit (IC ₅₀ = 20,1 ± 0,51 µM), kafeik asit (IC ₅₀ = 25,0 ± 0,53 µM), ferulik asit (IC ₅₀ = > 50 µM)	Epigallokateşin (IC ₅₀ = > 100 µM)	(Kweon, Hwang ve Sung, 2001)
<i>Cunonia macrophylla</i> Brongn. & Gris	Yeni Kaledonya	Tanen ve diğer polifenol-ler	Korilagin (IC ₅₀ = > 100 µM), mallotkinik asit (IC ₅₀ = > 100 µM), mallorepanin (IC ₅₀ = > 100 µM), şebulajik asit (IC ₅₀ = 48 µM), elajik asit (IC ₅₀ = 9,3 µM), elajik asit-4-O-β-D-ksilopiranozit (IC ₅₀ = 4,7 µM), gallik asit (IC ₅₀ = 41,7 µM)	Kersetin (IC ₅₀ = 10 µM)	(Fogliani, Raharivelo-manana, Bianchini, Bour aima-Madjebi ve Hnawia, 2005)
<i>Gracilaria changii</i> (B.M.Xia & I.A.Abbott) I.A.Abbott, J.Zhang & B.M.Xia	Malezya	Fenolik keton	1-(4'-Metoksifenil)-3-(2'',4'',6''-trihidroksifenil)-3-hidroksipropanon	1	(Andriani ve diğerleri, 2006)
<i>Potentilla recta</i> L.	Polonya	Elajitanen	Agrimoniin (IC ₅₀ = 5 µM)	Askorbik asit (IC ₅₀ = 50 µM)	(Bazylko, Piwowarski, Filipek, Bonarewicz ve Tomczyk, 2013)
<i>Acacia salicina</i> Lindl.	Tunus	Flavonoit	İzoramnetin 3-O-neohesperidozit (IC ₅₀ = 48,75 µg/mL)	-	(Bouhrel ve diğerleri, 2010)
<i>Garcinia subelliptica</i> Merr. (Fukugi)	Kore	Floroglusinol	Garsiniellipton HA (IC ₅₀ = 31,7 ± 0,4 µM), HC (IC ₅₀ = 16,6 ± 0,2 µM), HD (IC ₅₀ = 172,6 ± 8,9 µM), HE (IC ₅₀ = 104,3 ± 1,9 µM), garsiniellipton C (IC ₅₀ = 59,9 ± 1,1 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 2,0 ± 0,7 µM)	(Lin ve diğerleri, 2009)

Çizelge 2.12. (devam) Bitkisel kökenli KO inhibitörleri ve IC₅₀ değerleri

Bitki türü	Yetiştigi ülke	Kimyasal grubu	Bileşik(ler) ve IC ₅₀ değerleri	Referans ilaç ve IC ₅₀ değeri	Kaynaklar
<i>Glycyrrhiza</i> L. sp.	Çin	Flavonoit	Likokalkon B, glisirizoflavon, likokumaron, likokalkon A (IC ₅₀ = 1,3 - 5,6 µM)	-	(Hatano ve diğerleri, 1989)
<i>Terminthia paniculata</i> (Wall. ex G. Don)	Çin	Kalkon-flavon dimerleri	Termipanikulatol A (IC ₅₀ = 55,6 ± 1,7 µM, E (IC ₅₀ = 89,5 ± 2,4 µM)	Allopurinol	(Yang ve diğerleri, 2019)
<i>Erycibe obtusifolia</i> Benth	Çin	Kumarin	Skopoletin (50, 100 ve 200 mg/kg dozda <i>in vivo</i> olarak güçlü KO inhibisyonu)	Allopurinol	(Ding, Dai ve Wang, 2005)
Saf bileşik taraması		Flavonoit	Hesperetin (IC ₅₀ = 39 µM), teaflavin-3,3'-digallat (IC ₅₀ = 49 µM)	1	(Dew, Day ve Morgan, 2005)
<i>Caesalpinia sappan</i> L.	Vietnam	Polifenol ve kalkonlar	Neoprotosappanin (IC ₅₀ = 33,3 µM), protosappanin E-2 (IC ₅₀ = 18,9 µM), protosappanin A dimetil asetat (IC ₅₀ = 50,7 µM), neosappanin A (IC ₅₀ = 29,7 µM), protosappanin A (IC ₅₀ = 55,6 µM), sappanol (IC ₅₀ = 93,2 µM), sappanon B (IC ₅₀ = 34,2 µM), 3-deoksi-sappanon B (IC ₅₀ = 36,8 µM), sappankalkon (IC ₅₀ = 3,90 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 2,5 µM)	(Nguyen, Awale, Tezuka, Tran ve Kadota, 2005)
<i>Anacardium occidentale</i> L.	Brezilya	Alkil fenol	Anakardik asit-1 (IC ₅₀ = 0,30 mM)	-	(Trevisan ve diğerleri, 2006)
<i>Carallia brachiata</i> (Lour.) Merr.	Tayland	Proantosiyanidin	Karallidin (IC ₅₀ = 12,9 µM), mahuannin A (IC ₅₀ = 16,0 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 4,4 µM)	(Phuwapraisiris an, Sowanthip, Miles ve Tip-Pyang, 2006)
<i>Chrysanthemum sinense</i> Sabine ex Sweet	Japonya	Flavonoit	Diosmetin (IC ₅₀ = 0,13 µM), akasetin (IC ₅₀ = 0,16 µM), selgin (IC ₅₀ = 0,22 µM), öpafolin (IC ₅₀ = 0,51 µM), 4,5-di-kafeoilkinik asit metil ester (IC ₅₀ = 2,31 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 2,5 µM)	(Nyugen ve diğerleri, 2006)
<i>Amberboa ramosa</i> (Roxb.) Jafri	Pakistan	Flavonoit	5,7,4'-Trihidroksi-3,8-dimetoksiflavon 5-O-β-D-glukopiranozit, 6,4'-dihidroksi-3,5,7-trimetoksiflavon, 5,7-dihidroksi-4'-metoksiflavon	1	(Khan ve diğerleri, 2006)
<i>Palhinhaea cernua</i> (L.) Franco & Carv.	Çin	Flavonoit	Apigenin-4'-O-(2''-O-p-kumaril)-β-D-glukopiranozit (IC ₅₀ = 23,95 ± 0,43 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 9,82 ± 0,18 µM)	(Jiao, Ge, Shi da ve Tan, 2006)
<i>Triticum vulgare</i> Vill.	Çin	Pürin türevi	6-Aminopürin (IC ₅₀ = 10,89 ± 0,13 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 7,82 ± 0,12 µM)	(Hsieh, Wu, Yang, Choong ve Chen, 2007)
<i>Hypericum geminiflorum</i> Hemsley	Çin	Spirofloroglu sinol	Hiperiellipton HB (IC ₅₀ = 42,1 ± 5,8 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 2,0 ± 0,7 µM)	(Wu, Yen, Yang ve Lin, 2008)
<i>Juglans mandshurica</i> Maxim.	Kore	Galloil-glukopiranozitler	1,2,6-Trigalloilglukoz (IC ₅₀ = 3,7 ± 0,3 µM), 1,2,3,6-tetragalloilglukoz (IC ₅₀ = 2,5 ± 0,2 µM)	Gallik asit (IC ₅₀ = 6,7 ± 0,5 µM)	(Ngoc ve diğerleri, 2008)
<i>Broussonetia papyrifera</i> K. Koch	Çin	Diterpen	Broussoneton A (IC ₅₀ = 107,70 µM), B (IC ₅₀ = 53,90 µM), C (IC ₅₀ = 43,89 µM)	1	(Ko, Chang ve Lu, 2008)
<i>Lonicera hypoglauca</i> Miquel	Tayvan	Flavonoit	Loniserflavon (IC ₅₀ = 0,85 µg/mL)	Allopurinol (IC ₅₀ = 0,6 µg/mL)	(Chien ve diğerleri, 2009)
<i>Piper betle</i> L.	Japonya	Basit fenol	Hidroksikavikol (IC ₅₀ = 16,7 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 30,7 µg/mL)	(Murata ve diğerleri, 2009)
<i>Artemisia minör</i> Jacquemont ex Besser	Çin	Kumarin ve flavonoit	Arteminin C (IC ₅₀ = 7,71 µM), luteolin (IC ₅₀ = 11,54 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 0,18 µM)	(He ve diğerleri, 2009)

Çizelge 2.12. (devam) Bitkisel kökenli KO inhibitörleri ve IC₅₀ değerleri

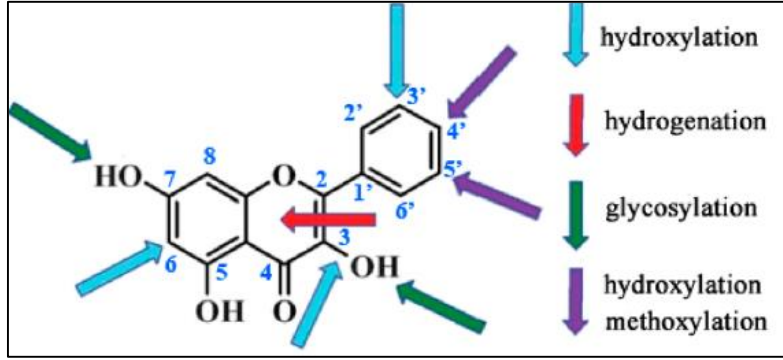
Bitki türü	Yetiştigi ülke	Kimyasal grubu	Bileşik(ler) ve IC ₅₀ değerleri	Referans ilaç ve IC ₅₀ değeri	Kaynaklar
<i>Barleria acanthoides</i> Vahl.	Pakistan	Fenolik glikozit	Barlerizit A (IC ₅₀ = 419,0 ± 3,2 µM) ve B (IC ₅₀ = 426,7 ± 1,9 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 10,2 ± 2,7 µM)	(Karim, Noor, Malik, Oadir ve Choudhary, 2009)
<i>Stereospermum personatum</i> (Hassk.) Chatterjee	Hindistan	İridoit ve lignan	6-Feruloilkatalpol (IC ₅₀ = 150,4 µM), Spesiozit (IC ₅₀ = 79,88 µM), seko-izolarisirezanol (IC ₅₀ = 213 µM), sikloolivil (IC ₅₀ = 101,38 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 34,91 µM)	(Kumar ve diğerleri, 2005)
<i>Cinnamomum osmophloeum</i> Kaneh.	Tayvan	Sinamik asit türevi	Yaprak ucucu yağı (IC ₅₀ = 16,3 µg/mL), sinamaldehit (IC ₅₀ = 8,4 µg/mL)	Allopurinol (IC ₅₀ = 0,6 µg/mL)	(Wang ve diğerleri, 2008)
<i>Bougainvillea spectabilis</i> Wild	Tayvan	Flavonoit	Baykalein (IC ₅₀ = 9,44 µM), vogonin (IC ₅₀ = 52,46 µM)	Kersetin (IC ₅₀ = 7,23 µM)	(Chang, Lee, Lu ve Chiang, 2013)
<i>Centaurium erythraea</i> Rafin.	Portekiz	Fenolik asit ve flavonoit	<i>p</i> -Kumarik asit (IC ₅₀ = 144,9 ± 4,98 µM), ferulik asit (IC ₅₀ = > 50 µM), sinapik asit (IC ₅₀ = 147,4 ± 12,10 µM), kemferol (IC ₅₀ = 8,6 ± 3,63 µM)	1	(Valentao ve diğerleri, 2001)
<i>Acacia confusa</i> Merr.	Tayvan	Kalkon	Okanin (IC ₅₀ = 0,076 µM), melanoksetin (IC ₅₀ = 0,274 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 4,784 µg/mL)	(Tung ve Chang, 2010)
<i>Bougainvillea spectabilis</i> Wild	Tayvan	Kumarin ve fenolik asit	Eskuletin (IC ₅₀ = 28,4 µM), kafeik asit (IC ₅₀ = 39,21 µM)	Kersetin (IC ₅₀ = 7,23 µM)	(Chang, Chang, Lu ve Chiang, 1994)
<i>Paeonia lactiflora</i> 'Sarah Bernhardi'	Çin	Monoter-pen glikozitler	Paeniflorin (IC ₅₀ = 99,36 ± 0,08 µM), albiflorin (IC ₅₀ = 110,96 ± 0,06 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 81,03 ± 0,11 µM)	(Wang ve diğerleri, 2017)
<i>Mangifera indica</i> L.	Çin	Ksanton	Noratriyol (IC ₅₀ = 44,6 ± 10,0 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 6,03 ± 1,8 µM)	(Niu ve diğerleri, 2016)
<i>Blumea balsamifera</i> L.	Vietnam	Flavonoit	(2R,3S)-(-)-4'-O-Metildihidrokersetin (IC ₅₀ = 0,23 ± 0,01 µM), (2R,3S)-(-)-4'-O-metildihidrokersetin (IC ₅₀ = 3,04 ± 0,12 µM), kersetin (IC ₅₀ = 1,91 ± 0,02 µM), kersetin-3,3',4'-trimetil eter (IC ₅₀ = 2,50 ± 0,01 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 2,50 ± 0,01 µM)	(Nguven ve Nguyen, 2012)
¹ <i>Panax japonicus</i> C. A. Mev. var. <i>major</i> (Burk.)	Çin	Triterpen	24 (R)-Majorozit R1 (IC ₅₀ = 2,08 ± 0,18 mg/mL), kikusetusaponin IVa (IC ₅₀ = 5,03 ± 0,36 mg/mL), oleanolik asit-28-O-β-D-glukopiranozit (IC ₅₀ = 3,52 ± 0,21 mg/mL), notoginsenosit Fe (IC ₅₀ = 4,20 ± 0,26 mg/mL), ginsenosit Rb2 (IC ₅₀ = 2,71 ± 0,17 mg/mL), ginsenosit Rd (IC ₅₀ = 1,86 ± 0,15 mg/mL)	Allopurinol (IC ₅₀ = 1,0 mg/mL)	(Li ve diğerleri, 2015)
<i>Gnetum parvifolium</i> (Warb.) W.C. Cheng	Çin	Stilben	Piseatannol (IC ₅₀ = 6,44 µM), raponitisin (IC ₅₀ = 5,97 µM), resveratrol (IC ₅₀ = 3,88 µM), izorapontigenin (IC ₅₀ = 46,75 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ verilmemiş)	(Tang, Tang, Ma ve Liu, 2019)
<i>Conyza bonariensis</i> (L.) Cronquist.	Çin	Fenolik asit ve flavonoit	Sirinjik asit (IC ₅₀ = 500 µM), takakin 8-O-glukuronit (IC ₅₀ = 170 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 10 µM)	(Kong ve diğerleri, 2001)
<i>Brandisia hancei</i> J. D. Hooker	Çin	Flavonoit ve feniletanoit	Luteolin (IC ₅₀ = 7,83 µM), izoakteozit (IC ₅₀ = 45,48 µM)	1	(Kong, Wolfender, Cheng, Hostettmann ve Tan, 1999)
<i>Zea mays</i> L.	Güney Kore	Fenolik asit ve flavonoit	Protokatesüik asit, vanilik asit (IC ₅₀ = 5,8 ± 0,4 µM), 2,4,6-trihidroksibenzoik asit (IC ₅₀ = 8,5 ± 0,3 µM), <i>p</i> -hidroksisinnamik asit (IC ₅₀ = 6,5 ± 0,5 µM), ferulik asit (IC ₅₀ = 6,8 ± 0,2 µM), hirsutrin (IC ₅₀ = 8,2 ± 0,3 µM), 3'-metoksihirsutrin (IC ₅₀ = 5,5 ± 0,4 µM), siyanidin-3-glukozit (IC ₅₀ = 8,6 ± 0,2 µM), pelargonidin-3-glukozit (IC ₅₀ = 7,2 ± 0,1 µM), peonidin-3-glukozit (IC ₅₀ = 8,7 ± 0,1 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 7,5 ± 0,2 µM)	(Nile ve Park, 2014)

Çizelge 2.12. (devam) Bitkisel kökenli KO inhibitörleri ve IC₅₀ değerleri

Bitki türü	Yetiştigi ülke	Kimyasal grubu	Bileşik(ler) ve IC ₅₀ değerleri	Referans ilaç ve IC ₅₀ değeri	Kaynaklar
<i>Aspalathus linearis</i> (Brum.f) Dahlg.	Japonya	Flavonoit	Aspalatin (IC ₅₀ = 20,4 µg/mL)	- ¹	(Kondo ve diğerleri, 2013)
<i>Homonoia riparia</i> Lour	Çin	Triterpen saponin	Riparsaponin (IC ₅₀ = 11,16 nmol/mL)	Allopurinol (IC ₅₀ = 11,84 nmol/mL)	(Xu, Zhao, Yang, Wang ve Zhao, 2014)
<i>Melilotus albus</i> Medic.	Çin	Flavonoit	Trisin (IC ₅₀ = 4,13 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ verilmemiş)	(Liu ve diğerleri, 2018)
<i>Tribulus arabicus</i> Hosni	Dubai	Triterpen	Ursolik asit (IC ₅₀ = 10,3 ± 3,5 µg/mL)	Allopurinol (IC ₅₀ = 6,5 ± 2,6 µg/mL)	(Abu-Gharbieh, Shehab, Almasri ve Bustanji, 2018)
<i>Perilla frutescens</i> (L.) Britt.	Çin	Fenolik asit ve flavonoit	Kafeik asit (IC ₅₀ = 121,22 µM), vinil kafeat (IC ₅₀ = 31,26 µM), rozmarinik asit (IC ₅₀ = 91,72 µM), metil rozmarinat (IC ₅₀ = 26,59 µM), apigenin (IC ₅₀ = 0,44 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 2,07 µM)	(Huo ve diğerleri, 2015)
<i>Chrysanthemum morifolium</i> Ramar	Çin	Flavonoit	Luteolin-7-O-glukozit (IC ₅₀ = 23,61 µM), apigenin-7-O-glukozit (IC ₅₀ = 38,80 µM), luteolin (IC ₅₀ = 1,54 µM), apigenin (IC ₅₀ = 1,96 µM)	- ¹	(Song ve diğerleri, 2014)
<i>Lagerstroemia speciosa</i> (L.) Pers.	Japonya	Polifenolik lakton	Valoneik asit dilakton (IC ₅₀ = 2,5 µM), elajik asit (IC ₅₀ = 71,5 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 10,4 µM)	(Unno, Sugimoto ve Kakuda, 2004)
<i>Phellodendron chinense</i> Schneid.	Çin	Alkaloit	Palmatin (IC ₅₀ = 4,76 µg/mL), berberin (IC ₅₀ = 3,82 µg/mL)	-	(Li ve diğerleri, 2014)
<i>Toona sinensis</i> (Juss.) M. Roem	Kore	Flavonoit	Kersetin-3-O-β-d-glukopiranozit, 1,2,3,4,6-penta-O-galloil-β-D-glukopiranoz (IC ₅₀ = 2,8 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 2,3 µM)	(Yuk, Lee, Ryu, Kim ve Kim, 2018)
<i>Zanthoxylum armatum</i> D.C.	Hindistan	Fenolik asit ve flavonoit	Asetilfenil asetat, prudomestin, tambulin (IC ₅₀ = ≈ 6 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 3,38 µM)	(Ranjana ve diğerleri, 2019)
<i>Syzygium aqueum</i> Burm.f . Alston	Endonezya	Flavonoit	Demetoksi-matteusinol (% 25,15 KO inh.)	Allopurinol (% 97,14 KO inh.)	(Insanu, Ramadhania, Halim, Hartati ve Wirasutisna, 2018)
<i>Angelica keiskei</i> (Miq.) Koidz.	Kore	Kalkon	4-Hidroksiderisin (IC ₅₀ = 54,3 ± 2,3 µM), izobavakalkon (IC ₅₀ = 27,1 ± 1,4 µM), ksantoangelol F (IC ₅₀ = 34,6 ± 1,6 µM), ksantoangelol C (IC ₅₀ = 8,1 ± 1,1 µM), ksantoangelol B (IC ₅₀ = 20,3 ± 1,2 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 1,3 ± 0,5 µM)	(Kim ve diğerleri, 2014)
<i>Rhodiola crenulata</i> (Hook. f. & Thomson) H. Ohba	Tayvan	Fenolik	4'-Hidroksiasetofenon (IC ₅₀ = 15,62 ± 1,19 µM), epikateşin-(4β,8)-epikateşin gallat (IC ₅₀ = 24,24 ± 1,80 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 12,21 ± 0,27 µM)	(Chu, Chen, Wu ve Hsieh, 2014)
<i>Citrus aurantium</i> L.	Çin	Flavonoit	Hesperetin (IC ₅₀ = 16,48 µM), nobiletin (IC ₅₀ = 107,53 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 2,07 µM)	(Liu ve diğerleri, 2016)
<i>Ranunculus muricatus</i> L.	Pakistan	Glikoz türevi	Ranunkozit (IC ₅₀ = 43,3 ± 0,22 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 7,45 ± 0,17 µM)	(Raziq ve diğerleri 2017)
<i>Salvia plebeia</i> R. Br.	Kore	Flavonoit	Nepetin (IC ₅₀ = 2,35 µM), skutellarein (IC ₅₀ = 1,74 µM), luteolin (IC ₅₀ = 1,90 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 0,41 µM)	(Kim ve diğerleri, 2017)

2.7. KO İnhibitörü Fenolik Bileşiklerde Yapı-Etki İlişkisine Örnekler

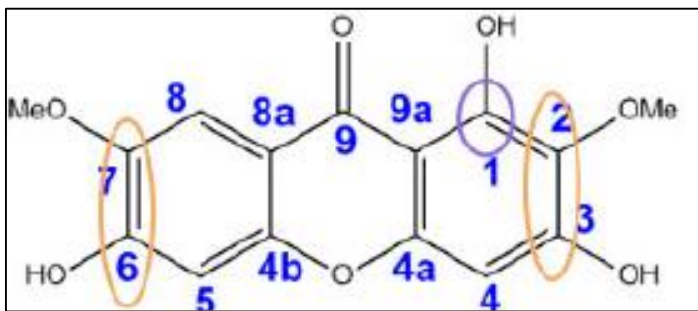
Sadece hiperürisemi ve gut hastalığında değil, aynı zamanda metabolik hastalıklar, enflamasyon, karsinogenezis, hücrel yaşlanma, reperfüzyon hasarı, ateroskleroz ve hipertansiyon gibi patolojik şartların oluşmasında da rol oynayan KO enziminin inhibisyonu ilaç araştırma-geliştirme (Ar-Ge) açısından oldukça önemli bir hedeftir (Meneshian ve Bulkley, 2002; Dawson ve Walters, 2006; Pacher, Nivorozhkin ve Szabo, 2006). Dolayısıyla ilaç tasarımı bu enzime yönelik öncü moleküllerin keşfi için yapı-aktivite ilişkisi (SAR) de kritik role sahiptir. KO inhibitörü etkiye sahip bitkisel kökenli bazı bileşiklerin yapı-etki ilişkisine bakıldığında; polimetoksiflavonlarda 5,7-dihidroksi A halkasının KO inhibisyonu için gerekli olduğu, ancak B halkasında küçük bir sterik engel varsa, 5,7-dihidroksi 6-metoksi A halkasının güçlü inhibisyon için önemli olduğu bildirilmiştir (Santi ve diğerleri, 2018). Moleküler doklama çalışmalarına göre; flavonoidlerde hidrojen bağı, molekülün KO aktif bölgesine bağlanmada en önemli bağ tipi değildir (Lin, Zhang, Liao, Pan ve Gong, 2015). Aslında flavonoidlerin lipofilisitesi/hidrofobisitesi enzim (KO)-ligant bağlanmasında daha önemli bir husus olarak görülmektedir. Dimerik bir enzim olan KO'nın her bir monomeri aktif bölgeye sahiptir ve merkezdeki molibden atomu, Glu802, Glu1261 ve Arg880 gibi amino asit birimleri ile çevrilidir. Aktif bölgede bulunan Leu648, Phe649, Phe914, Phe1009, Val1011, Phe1013 ve Leu1014 gibi amino asit birimleri de substrat veya inhibitörler gibi küçük moleküllerin kaviteye girişini modüle etmektedir. Dolayısıyla flavonoidler ve diğer küçük moleküllerin KO enzimini inhibe edebilmesi için bu amino asitlerle etkileşmesi gerekmektedir. Bu açıdan kromon halkasına sahip flavonoller, flavonlar ve izoflavonlar da afinitelerinin daha fazla olması nedeniyle, örneğin flavononlara göre daha avantajlı görünmektedir. Flavonoidlerde C2=C3 arasındaki çift bağın hidrojenasyonunun, KO'ya karşı hem bağlanma yeteneği, hem de bağlanma afinitesinde azalmaya yol açtığı belirlenmiştir (Şekil 2.7.). C2=C3 arasındaki çift bağın 4-okso grubu ile konjugasyonu da inhibitör etkiye daha fazla katkı yapmaktadır.



Şekil 2.7. 5,7-Dihidroksiflavon yapısında KO inhibisyonu için önemli pozisyonlar (Lin, Zhang, Liao, Pan ve Gong, 2015)

Flavonlarda A halkasındaki 6. karbonun hidroksilasyonunun inhibitör etkiyi azalttığı gözlenmiştir (Lin, Zhang, Liao, Pan ve Gong, 2015). Genel olarak flavonoidlerde B halkasındaki hidroksil gruplarının ve metilasyonun KO inhibisyonunda etkili olduğu bulunmuştur. Çünkü bu hidroksil grupları KO enziminin aktif bölgesindeki hidrofobik kısmı stabilize etmektedir. Ancak flavonlarda özellikle 3 no'lu konumdaki hidroksil grubunun da inhibisyonunda artışa neden olduğu saptanmıştır. Sterik engel ve hidrofilisite de, molekülün enzime karşı afinitesini azaltmaktadır.

Ksanton tipi bileşiklerde, 2,3,6 ve 7 no'lu pozisyonlarda hidrofilik grup olmasının ve 8 no'lu pozisyonda sübstituent bulunmamasının KO inhibitörü etkiyi güçlendirdiği ifade edilmiştir (Şekil 2.8.) (Zhou ve diğerleri, 2018).



Şekil 2.8. Ksanton türevlerinden KO inhibisyonu için önemli hidrofilik grupların pozisyonu (Zhou ve diğerleri, 2018)

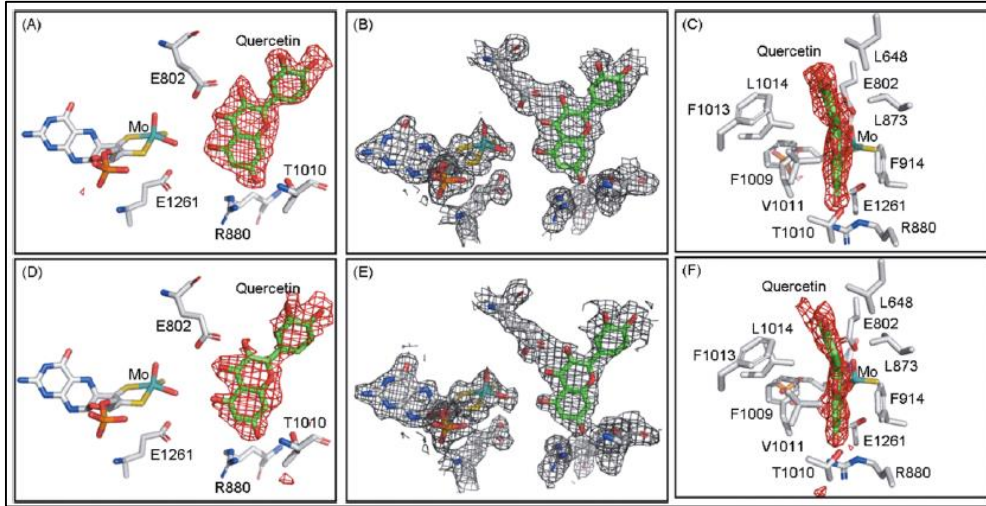
Stilbenlerde serbest fenolik grubun varlığı bu enzimin inhibisyonu için elzem görülürken, halkaya glikoz eklenmesi inhibitör etkiyi düşürmektedir (Zhou ve diğerleri, 2001). Diğer yandan, fenolik asitlerde kateşol grubunun KO inhibisyonuna bir katkısı olmadığı, ancak hidroksisinnamik asit türevlerinde metoksi grubunun rolünün önemli olduğu gösterilmiştir (Lin, Yang, Zhao ve Zhao, 2018). Basit fenollerde ise özellikle 3 ve 4 no'lu pozisyonlarda

en az 2 hidroksil grubunun varlığının KO inhibisyonu için zorunlu olduğuna işaret edilmiştir (Nishiwaki ve diğerleri, 2018).

Auron tipi bileşiklerde 6 no'lu konumdaki karboksimetoksi grubunun KO inhibisyonu için önemli olduğu gösterilmiştir (Muzychka, Kobzar, Popova, Frasinuk ve Vovk, 2017). Bu grubun yerini metil ester veya 1-karboksietoksi grubunun alması ile inhibitör aktivitede çok önemli bir düşüş saptanmıştır. Moleküler doklama çalışmalarında karboksilat grubunun, enzimin aktif bölgesinde bulunan Arg880, Thr1010 ve Glu1261 amino asit birimleriyle hidrojen bağı etkileşmesi suretiyle inhibisyon yaptığı belirlenmiştir. Moleküldeki benzofuran kısmı özellikle Ser876 ile hidrojen bağı yaparak inhibisyon yapmaktadır.

Örneğin salvianolik asit gibi dikkate değer KO inhibisyonu yapan 2-arilbenzofuran türevi doğal moleküllerde de fenolik hidroksi grupları inhibisyonda önemli rol oynamaktadır (Tang ve diğerleri, 2018). Bu yapı enzimin aktif bölgesindeki hidrofobik kısımda gerilmeye neden olmaktadır. Bu esasa göre tasarlanan arilbenzofuran tipi bileşiklerde amit bağının eklenmesi KO inhibitör etkiyi oldukça potansiye ederken, piperidin/piperazin gibi alisiklik gruplar ve aromatik halkadaki metoksi ile metil grupların varlığı etkiyi düşürmüştür. Moleküler doklama çalışmalarına göre; enzimin aktif bölgesindeki hidrofobik kısmı oluşturan önemli amino asitler olan Ser876, Phe914, Phe1009, Val1011, Pro1076 ve Ala1078 ile etkileşme ve *E*-tipi izomeriye sahip çifte bağı varlığı da KO inhibisyonuna katkı sağlamaktadır.

Diğer yandan bitkilerde çok yaygın olan ve bazı çalışmalarda referans KO inhibitörü bileşik olarak da kullanılan kersetin ve yapısal analogları, KO enziminin hem merkezindeki molibden atomu hem de aktif bölgesi ile kompetitif şekilde etkileşmektedir (Cao, Paufl ve Hille, 2014). Kersetin ve luteolin gibi flavonoidler, sahip oldukları benzopiran halkası aracılığı ile enzimin aktif bölgesinde yer alan fenil alanin birimleri olan Phe914 ve Phe1009 ile, ayrıca ekzosiklik karbonil grupları üzerinden de Arg880 ile etkileşebilmektedir (Şekil 2.9.). Kersetindeki 4 no'lu pozisyondaki karbonil ile 5 no'lu pozisyondaki hidroksil grupları, Glu802'nin yan zincirindeki karboksil grubu ve Arg880'de bulunan guanidinyum grubu ile hidrojen bağı yapabilmektedir.



Şekil 2.9. KO enzimin değişik aktif bölgeleri ile kersetinin etkileşimi (A, B, C – asimetik bölgeler; D, E, F – diğer bölgeler) (Cao, Pauff ve Hille, 2014)

Yine kersetinde 7 no'lu hidroksil grubu, Arg880'de bulunan guanidinyum grubu, hem de Thr1010'nun yan zincirinde bulunan hidroksil grubu ile hidrojen bağı yapabilmektedir.

2.8. KO İnhibitörü Etkiye Sahip Bitkisel Ekstreler

Potansiyel doğal kaynaklar olmaları bakımından bir çok bitki türü de KO enzim inhibisyonu etkileri açısından incelenmiştir. Bu bitkilere örnekler, liste halinde Çizelge 2.13'de verilmektedir:

Çizelge 2.13. KO inhibitörü etki gösteren çeşitli bitkisel ekstreler

Bitki türü	Yetiştigi ülke	KO inhibitör etki	Referans ilaç ve IC ₅₀ değeri	Kaynaklar
<i>Atractylodes macrocephala</i> Koidz.	Çin	Kök ekstresi <i>in vivo</i> sıçan modelinde 200-500 mg/kg dozda KO aktivitesini azaltmıştır.	Allopurinol	(Sakurai, Sugawara, Saito ve Kano, 1994)
<i>Sclerocarya birrea</i> (A.Rich.) Hochst.	Burkina Faso	% 30'un üzerinde inhibisyon	- ¹	(Bangou ve diğerleri, 2011)
<i>Amaranthus viridis</i> L.	Malezya	Yaprak ekstresi (% 80; IC ₅₀ = 101.62 µg/mL), tohum ekstresi (% 58), gövde ekstresi (% 43) (500 µg/mL)	Kersetin (IC ₅₀ = 68,67 µg/mL)	(Salvamani ve diğerleri, 2016)
Ekstra virjin zeytin yağı örnekleri	İtalya	% 17,09 ± 1,9 ile % 28,0 ± 4,2 arasında KO inhibisyonu	-	(Lavelli, 2002)
<i>Stereospermum colais</i> (Buch.-Ham. ex Dillw.) Mabblerley	Hindistan	Aseton ekstresi (IC ₅₀ = 3,22 µg/mL), metanol ekstresi (IC ₅₀ = 22,19 µg/mL)	Allopurinol (IC ₅₀ = 8,3 µg/mL)	(Rani ve Padmakumari, 2012)
<i>Aristolochia chilensis</i> (Mol.) Stuntz	Şili	İnfüzyonu (% 52,9 ± 1,4), hekzan ekstresi (% 28,6 ± 4,5), kloroform ekstresi (% 8,0 ± 1,0), metanol ekstresi (% 62,7 ± 4,4) (50 µg/mL)	Allopurinol (IC ₅₀ = 0,035 µg/mL)	(Munoz ve diğerleri, 2011)
<i>Graphis guimarana</i> Vainio, <i>G. nakanishiana</i> Kulk. et Patw., <i>G. schizograpta</i> Müll. Arg. (doku kültürü)	Hindistan	<i>G. nakanishiana</i> ekstresi (En yüksek inhibisyon, % 78,8)	- ¹	(Behera, Adawadkar ve Makhija, 2006)
<i>Saraca ashoka</i> (Roxb.) De Wildde	Hindistan	Çiçek etil asetat fr. (güçlü KO inhibisyonu)	-	(Prathapan, Liio Cherian, Nampoothiri, Mini ve Raghu, 2011)

Çizelge 2.13. (devam) KO inhibitörü etki gösteren çeşitli bitkisel ekstraktlar

Bitki türü	Yetiştirildiği ülke	KO inhibitör etki	Referans ilaç ve IC ₅₀ değeri	Kaynaklar
<i>Balanites aegyptiaca</i> (L.) Del.	Burkina Faso	Yaprak ve mazı ekstresi (orta derecede KO inhibisyonu)	-	(Meda ve diğerleri, 2010)
<i>Ampelopsis humilifolia</i> var. <i>heterophylla</i> (Thunb.) Momiv. ve <i>A. sinica</i> (Miq.) W.T. Wang	Çin	Ekstreler (güçlü KO inhibisyonu)	-	(Chen, Ye, Plumb ve Bao, 2004)
<i>Morinda citrifolia</i> L.	Tahiti	Meyve suyu (IC ₅₀ = 3,8 µg/mL)	Allopurinol (IC ₅₀ = 2,4 µg/mL)	(Palu, Deng, West ve Jensen, 2009)
<i>Lychnophora</i> Mart. türleri	Brezilya	<i>Lychnophora trichocarpa</i> (IC ₅₀ = 6,16 µg/mL), <i>L. ericoides</i> (IC ₅₀ = 8,28 µg/mL), <i>L. staavioides</i> (IC ₅₀ = 33,97 µg/mL)	1	(Filha, Vitolo, Fietto, Lombardi ve Saúde-Guimarães, 2006)
<i>Coccinia arandis</i> (L.) Voigt, <i>Datura metel</i> L., <i>Strvchnos nux-vomica</i> Linn., <i>Vitex negundo</i> Linn.	Hindistan	Metanol ekstraktları (% 50'nin üzerinde KO inhibisyonu)	Allopurinol (% 100 KO inhibisyonu)	(Umamaheswari ve diğerleri, 2007)
<i>Paederia scandens</i> (Lour.) Merrill	Çin	Ekstresi (% 18 KO inh.)	Allopurinol (% 100 KO inh.)	(Yan, Ma, Liu ve Zhou, 2008)
<i>Tamus communis</i> L.	Cezayir	Kök etil asetat ekstresi (insan KO, IC ₅₀ = 90 µg/mL), (koyun KO, IC ₅₀ = 40 µg/mL), (büyükbaş KO, IC ₅₀ = 150 µg/mL)	-	(Boumerfeg, Baghiani, Messaoudi, Khennouf ve Arrar, 2009)
<i>Phyllanthus niruri</i> L.	Malezya	<i>n</i> -Hekzan fr. (IC ₅₀ = 42,87 ± 3,51 µg/mL), kloroform fr. (IC ₅₀ = 26,70 ± 2,03 µg/mL), <i>n</i> -butanol fr. (IC ₅₀ = 12,30 ± 0,99 µg/mL)	Allopurinol (IC ₅₀ = 0,022 ± 0,001 µg/mL)	(Murugaiah ve Chan, 2009)
<i>Erythrina stricta</i> Roxb.	Hindistan	Kloroform fr. (IC ₅₀ = 21,2 ± 1,6 µg/mL), petrol eteri fr. (IC ₅₀ = 30,2 ± 2,2 µg/mL), etil asetat fr. (IC ₅₀ = 44,9 ± 1,4 µg/mL), kalan kısım (IC ₅₀ = 100,0 ± 3,3 µg/mL)	Allopurinol (IC ₅₀ = 6,1 ± 0,3 µg/mL)	(Umamaheswari ve diğerleri, 2009)
<i>Euaenia punicifolia</i> (Kunth.) D.C.	Brezilya	Su ekstresi (IC ₅₀ = 23,5 ± 2,6 µg/mL)	Allopurinol (IC ₅₀ = 0,4 ± 0,01 µg/mL)	(Lopes Galeno ve diğerleri, 2014)
<i>Euphorbia characias</i> L.	İtalya	Yaprak (IC ₅₀ = 68,9 ± 6,6 µg/mL) ve çiçek (IC ₅₀ = 85,5 ± 6,4 µg/mL) etanol ekstresi	Allopurinol (IC ₅₀ = 0,012 ± 0,002 µg/mL)	(Fais ve diğerleri, 2018)
<i>Rhamnus frangula</i> L.	Tunus	Yaprak metanol ekstresi (IC ₅₀ = 27 ± 1,71 µg/mL)	1	(Ben Bacha, Jemel, Bhat ve Onizi, 2018)
<i>Larix laricina</i> (DuRoi) K. Koch	Kanada	Metanol ekstresi (% 86,33 ± 0,45 KO inh.)	<i>Morus alba</i> ekstresi (% 99,68 ± 1,09 KO inh.)	(Owens ve Johns, 1999)
<i>Archidendron clypearia</i> (Jack) I.C. Nielsen, <i>Smilax poilanei</i> Gagné., <i>Linociera ramiflora</i> (Roxb.) Wall. ex G. Don, <i>Passiflora foetida</i> L.	Vietnam	Metanol ekstraktları (IC ₅₀ < 30 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ verilmemiş)	(Duong ve diğerleri, 2017)
Bazı Polygonaceae türleri	Macaristan	<i>Fallopia bohemica</i> (Chrtek et Chrtková) J. P. Bailey (IC ₅₀ = 91,29 ± 1,28 µg/mL), <i>F. sachalinensis</i> Ronse Decr. (IC ₅₀ = 55,71 ± 6,98 µg/mL), <i>Persicaria maculosa</i> Gray (IC ₅₀ = 68,83 ± 5,75 µg/mL), <i>Polygonum bistorta</i> L. (IC ₅₀ = 33,40 ± 0,87 µg/mL), <i>P. hidropiper</i> L. (IC ₅₀ = 16,41 ± 3,36 µg/mL), <i>P. viviparum</i> L. (IC ₅₀ = 42,33 ± 2,42 µg/mL), <i>Rumex alpinus</i> L. (IC ₅₀ = 23,40 ± 3,04 µg/mL),	Allopurinol (IC ₅₀ = 1,019 ± 0,04 µg/mL)	(Orbán-Gvapai, Laiter, Hohmann, Jakab ve Vasas, 2015)
<i>Phytolacca dioica</i> L.	İtalya	Tohum etanol ekstresi (% 50,5 ± 0,99 KO inh.), etil asetat ekstresi (% 99,93 ± 1,94 KO inh.)	Allopurinol (% 99,96 ± 0,003 KO inh.)	(Di Petrillo ve diğerleri, 2019)
<i>Asperula involucreta</i> Wahlenb.	Türkiye	Metanol ekstresi (IC ₅₀ = 186,9 ± 47,4 µM), su ekstresi (IC ₅₀ = 137,3 ± 32,7 µM), kloroform ekstresi (IC ₅₀ = 365,5 ± 37,1 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 7,5 ± 0,1 µM)	(Kırmızıbekmez ve diğerleri, 2017)

Çizelge 2.13. (devam) KO inhibitörü etki gösteren çeşitli bitkisel ekstratler

Bitki türü	Yetiştiiği ülke	KO inhibitör etki	Referans ilaç ve IC ₅₀ değeri	Kaynaklar
<i>Cinnamomum yabunikkei</i> H. Ohba	Kore	Yaprak hekzan ekstresi (% 19,93 KO inh., 1 mg/mL)	Allopurinol (% 94,54 KO inh., 50 µg/mL)	(Song, Song, Bae ve Cho, 2018)
<i>Salvia elegans</i> Vahl., <i>S. greggii</i> A. Gray, <i>S. officinalis</i> L.	Portekiz	Dekoksivonları (EC ₅₀ = 55,1–71,8 µg/mL)	Allopurinol (EC ₅₀ = 0,09 ± 0,01 µg/mL)	(Pereira, Catarino, Afonso, Silva ve Cardoso, 2018)
<i>Betula pendula</i> Roth., <i>Populus nigra</i> L.	Çek Cumh.	Diklorometan ve metanol ekstratleri (sırasıyla, IC ₅₀ = 25,9 ve 8,3 µg/mL)	Allopurinol (IC ₅₀ = 3,8 µg/mL)	(Havlik ve diğerleri, 2010)
<i>Urginea maritima</i> L.	Cezayir	Metanol ekstresi (IC ₅₀ = 0,67 ± 0,01 mg/ml)	- ¹	(Bel Haddad ve diğerleri, 2017)
Tıbbi bitki taraması	Avustralya	<i>Clerodendrum floribundum</i> R. Br. (IC ₅₀ = 6,0 µg/mL), <i>Eremophila maculata</i> (Ker Gawler) F. Muell. (IC ₅₀ = 30,9 µg/mL), <i>Stemodia grossa</i> Benth. (IC ₅₀ = 37,4 µg/mL),	Allopurinol (IC ₅₀ = 0,16 µg/mL)	(Sweeney, Wyllie, Shalliker ve Markham, 2001)
<i>Rhamnus alaternus</i> L.	Tunus	Petrol eteri ekstresi (% 38,0 ± 3), kloroform ekstresi (% 55,4 ± 6), su ekstresi (% 61,9 ± 7), kloroform fr. (% 37,7 ± 2), etil asetat fr. (% 74,7 ± 4), butanol fr. (% 47,3 ± 5) (300 µg/mL)	- ¹	(Ammar ve diğerleri, 2008b)
		Kök ekstresi (IC ₅₀ = 83,33 µg/mL), yaprak ekstresi (IC ₅₀ = 103,9 µg/mL)	-	(Ammar ve diğerleri, 2008a)
<i>Aloe saponaria</i> Haw.	Kore	Etanol ekstresi (IC ₅₀ = 85 µg/mL)	-	(Yoo ve diğerleri, 2008)
<i>Cinnamomum cassia</i> Blume	Çin	Uçucu yağı (hiperürisemik hayvanlarda 600 mg/kg dozda % 40,77 KO inh.)	Allopurinol (hiperürisemik hayvanlarda 10 mg/kg dozda % 52,21 KO inh.)	(Zhao, Zhu, Mo, Pan ve Kong, 2006)
<i>Psidium guava</i> L.	Nijerya	Yaprak ekstresi (IC ₅₀ = 38,24 ± 2,32 µg/mL)	Allopurinol (IC ₅₀ = 5,78 ± 0,25 µg/mL)	(Ironi ve diğerleri, 2016)
<i>Leucas zeylanica</i> (L.) W.T. Aiton	Sri Lanka	Diklorometan ekstresi (IC ₅₀ = 47,5 µg/mL)	Allopurinol (IC ₅₀ = 16,8 µg/mL)	(Napagoda ve diğerleri, 2008)

¹ Referans kullanılmamış veya makalenin tam metnine ulaşılamadı.

2.9. KO İnhibitörü Etkiye Sahip Diğer Doğal Kaynaklar

İlaç adayı moleküllerin keşfinde doğal kaynaklar olarak sadece bitkiler değil, mantarlar, böcekler veya mikroorganizmalar gibi diğer canlı grupları da hedef organizmalar olarak araştırmalarda kullanılmaktadır (Resim 2.9). KO enzim inhibitörü etkiye sahip olan bitkiler haricindeki diğer canlı gruplarına örnekler Çizelge 2.14’te verilmektedir:



Resim 2.9. KO inhibitörü etkili bazı böcek türleri [*Polytrichis vicina* (en solda), *Bombyx mori* (ortada), *Pieris brassicae* (en sağda)]

Çizelge 2.14. KO inhibitörü etkiye sahip diğer organizmalar

Latince adı	Canlı türü	KO inhibitör etkiden sorumlu bileşik(ler) ve IC ₅₀ değeri	Referans ilaç ve IC ₅₀ değeri	Kaynaklar
<i>Tyromyces fissilis</i> (Berk. & M.A. Curtis) Donk	Makrofungus	Salisilik asit türevleri (IC ₅₀ = 3,4 - 63,4 µM arasında)	Allopurinol (IC ₅₀ = 98,3 ± 0,6 µM)	(Mitomo, Hirota ve Fujita, 2019)
<i>Ganoderma tsugae</i> Murrill	Makrofungus	Lanostanoitler (IC ₅₀ = 90,2 ± 24,2; 116,1 ± 3,0; 181,9 ± 5,8 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 10,7 ± 4,2 µM)	(Lin ve diğerleri, 2013)
<i>Muscodora strobilii</i> , <i>M. darjeelingensis</i> , <i>M. tigerii</i> , <i>M. kashayum</i> , <i>M. ghoomensis</i> , <i>M. indica</i> , <i>M. camphora</i>	Endofitik mikrofungus	Kloroform ekstraktları (IC ₅₀ = % 18,2 ± 1,9 – 59,4 ± 1,0 arasında)	Febuksostat (IC ₅₀ = % 59,4 ± 1,0)	(Kappor ve Saxena, 2016)
<i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i>	Endofitik mikrofungus	Lasdiplakton (IC ₅₀ = 2,81 ± 0,71 µg/mL), lasdiplaktonik asit (IC ₅₀ = 0,41 ± 0,10 µg/mL)	Allopurinol (IC ₅₀ = 0,18 ± 0,02 µg/mL)	(Kumar ve diğerleri, 2019)
<i>Fusarium</i> sp. (IFB-121)	Endofitik mikrofungus	Serebroziti (IC ₅₀ = 55,5 ± 1,8 µM), fusaruziti (IC ₅₀ = 43,6 ± 3,6 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 9,8 ± 1,2 µM)	(Shu, Wang, Yang, Liu ve Tan, 2004)
<i>Bombyx mori</i> L.	İpek böceği	Su ekstresi KO inhibisyonu yapmış ve farelerde ürik asit seviyesini düşürmüştür. ¹	- ²	(Tanaka, Miyata, Minakuchi, Murakami ve Sakazaki, 2015)
<i>Usnea diffracta</i> Vainio	Liken	Fitin türevleri (IC ₅₀ = 46,9 ± 3,8; 75,9 ± 7,4; 42,1 ± 1,7 µg/mL)	-	(Xu ve diğerleri, 2018)
<i>Daedalea quercina</i> (L.) Pers.	Makrofungus	Kuersinol (IC ₅₀ = 21 µmol/L)	Allopurinol (IC ₅₀ = 2,2 µmol/L)	(Gebhardt ve diğerleri, 2007)
<i>Aerobacterium aurantiacum</i> (N-81106)	Deniz bakterisi	Hidroksiakalon (IC ₅₀ = 4,6 µM), akalon (IC ₅₀ = 16,9 µM)	Allopurinol (IC ₅₀ = 4,0 µM)	(Izumida, Adachi, Mihara, Yasuzawa ve Sano, 1997)
<i>Malbranchea cinnamomea</i> (HKI 0286)	Mikrofungus	7-Metoksi-2,3 dimetilbenzofuran-5-ol (IC ₅₀ = 9,8 µM)	- ¹	(Schlegel, Härtl, Gollmick ve Gräfe, 2003)
<i>Polyrhachis vicina</i> Roger	Karıncı	Ekstresi sıçanlarda KO inhibisyonu yaparak ürik asit seviyesini düşürmüştür.	Allopurinol	(Su ve diğerleri, 2018)
<i>Pieris brassicae</i> L.	Kelebek	Ekstresi (IC ₅₀ = 251 µg/mL)	-	(Souza ve diğerleri, 2009)

¹ Referans kullanılmamış veya makalenin tam metnine ulaşılamadı.

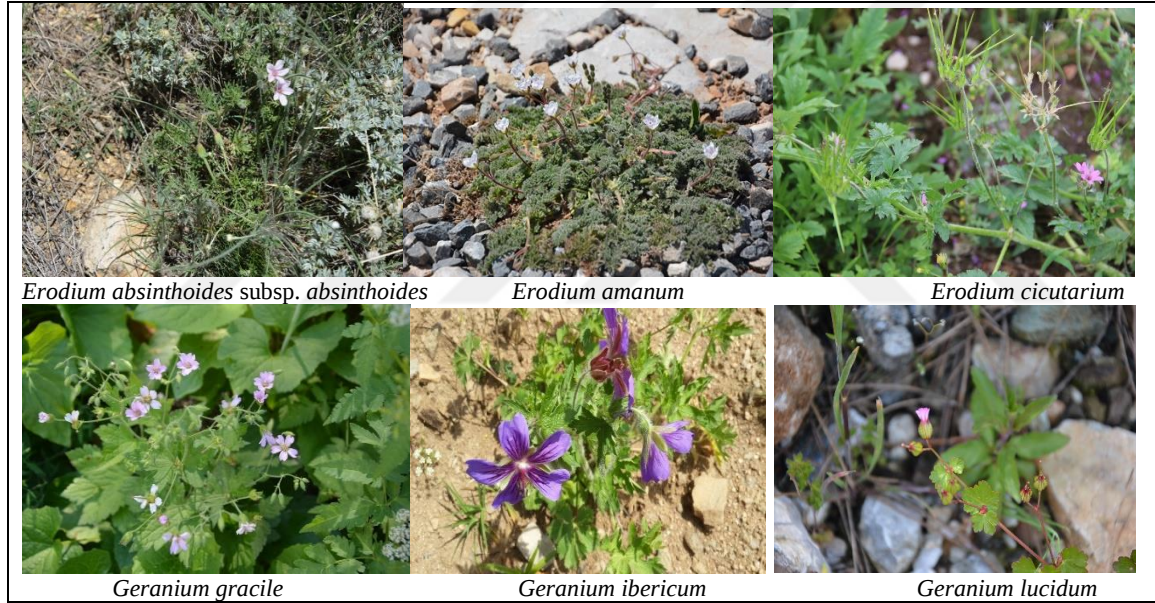


3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Tez çalışmamızda, Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden toplanıp teşhisleri yapılan 10'u endemik olmak üzere; toplam 17 *Erodium* taksonu ile 4'ü endemik özellikte olan toplam 36 *Geranium* taksonuna ait bitki örnekleri kullanılması amaçlanmıştır¹ (Resim 3.1).

Tez çalışmalarında kullanılmak üzere gereçlerimizi oluşturan türlerin Latince adları, endemizm özelliği, toplanma yerleri, rakımı, toplanma tarihleri ve örnek numaraları Çizelge 3.1 ve 3.2'de sunulmuştur.



Resim 3.1. Bazı *Erodium* ve *Geranium* türleri (Fotoğraf: Doç. Dr. Ahmet Kahraman)

¹ *Erodium* ve *Geranium* taksonlarına ait bitki örnekleri Uşak Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Doç.Dr. Ahmet Kahraman tarafından TÜBİTAK tarafından desteklenen 113Z099 no'lu ve "Türkiye'de Yayılış Gösteren Geraniaceae Familyasının Sistematik Revizyonu" başlıklı proje kapsamında toplanmış ve teşhis edilmiştir. Tezimizde incelenen bitkilerin herbaryum örnekleri Uşak Üniversitesi, Bitki Sistematigi ve Filogenetigi Laboratuvarı'nda muhafaza edilmektedir.

Çizelge 3.1. Tez çalışmamız için toplanan *Erodium* taksonları

No	Tür adları	Endemizm özelliği	Toplanma yeri, rakımı ve toplanma tarihi	Örnek numaraları
1	<i>Erodium absinthoides</i> Willd. subsp. <i>absinthoides</i>	Endemik	Ankara: Ayaş, Ayaş Dağı, 1303 m, 13.06.2014	A. Kahraman 1824
2	<i>Erodium absinthoides</i> Willd. subsp. <i>armenum</i> (Trautv.) Davis	-	Erzincan: Sipikör Dağı, Sipikör Geçidi, 2520 m, 15.07.2014	A. Kahraman 1874
3	<i>Erodium absinthoides</i> Willd. subsp. <i>armenum</i> (Trautv.) Davis	-	Erzincan: Sipikör Dağı'nın kuzeyi, 2472 m, 15.07.2014	A. Kahraman 1872
4	<i>Erodium absinthoides</i> Willd. subsp. <i>armenum</i> (Trautv.) Davis	-	Erzincan: Sipikör Dağı, Sipikör Geçidi, 2520 m, 15.07.2014	A. Kahraman 1873
5	<i>Erodium absinthoides</i> Willd. subsp. <i>haradjianii</i> (Davis) Davis	Endemik	Osmaniye: Düziçi, Dülül Dağı, 01.09.2014	T. Dirmenci 4321
6	<i>Erodium amanum</i> Boiss. & Kotschy	Endemik	Hatay: Belen, Çobandere, 1662 m, 28.06.2014	A. Kahraman 1854
7	<i>Erodium birandianum</i> İlarslan & Yurdakulol	Endemik	Kastamonu: Devrekani, Yaralığöz Dağı, 1830 m, 12.07.2014	A. Kahraman 1859
8	<i>Erodium cedrorum</i> Schott & Kotschy subsp. <i>cedrorum</i>	Endemik	Adana: Aladağ, Kıcak köyü, Tahtalı yaylası, 1750 m, 29.06.2014	A. Kahraman 1855
9	<i>Erodium ciconium</i> (L.) L'Herit.	-	Isparta: Isparta'dan Antalya'ya, Elsazi'ya 10 km, 362 m, 11.05.2014	A. Kahraman 1768
10	<i>Erodium cicutarium</i> (L.) L'Herit.	-	Kütahya: Gediz'den Kütahya'ya 15 km, 1116 m, 22.05.2014	A. Kahraman 1810
11	<i>Erodium gruinum</i> (L.) L'Herit.	-	Antalya: Akseki'den Manavgat'a, Murtiçi, 695 m, 13.05.2014	A. Kahraman 1786
12	<i>Erodium hendrikii</i> Alpınar	Endemik	Gümüşhane: Yağmurdere, 1690 m, 18.07.2014	A. Kahraman 1893
13	<i>Erodium leucanthum</i> Boiss.	Endemik	Denizli: Babadağ, Saçmagediği'nin yukarısı, 1695 m, 24.05.2014	A. Kahraman 1815
14	<i>Erodium malacoides</i> (L.) L'Herit.	-	Antalya: Akseki'den Manavgat'a, Murtiçi, 695 m, 13.05.2014	A. Kahraman 1783
15	<i>Erodium pelargoniflorum</i> Boiss. & Heldr.	Endemik	Isparta: Sütçüler, Kuzca köyü, Tota'ya 1 km, 1460 m, 16.06.2014	A. Kahraman 1825
16	<i>Erodium siphthorpianum</i> Boiss.	Endemik	Bursa: Uludağ, 2434 m, 30.08.2014	A. Kahraman 1948
17	<i>Erodium somanum</i> H. Peşmen	Endemik	Manisa: Soma, Kızılören köyünün yukarısı, Şifa Dağı, 879 m, 18.05.2014	A. Kahraman 1798

Çizelge 3.2. Tez çalışmamız için toplanan *Geranium* taksonları

No	Tür adları	Endemizm özelliği	Toplanma yeri, rakımı ve toplanma tarihi	Örnek numaraları
1	<i>Geranium asphodeloides</i> Burm.	-	Kastamonu: Ilgaz Dağı Milli Parkı, Kozançal tepesi, 2012 m, 12.07.2014	A. Kahraman 1858
2	<i>Geranium collinum</i> Steph. ex Willd.	-	Ardahan: Hasköy yakınları, 1955 m, 24.07.2014	A. Kahraman 1942
3	<i>Geranium dissectum</i> L.	-	Kütahya: Gediz'den Kütahya'ya 15 km, 1116 m, 22.05.2014	A. Kahraman 1811
4	<i>Geranium dissectum</i> L.	-	Antalya: Akseki'den İbradı'ya, 955 m, 11.05.2014	A. Kahraman 1774
5	<i>Geranium glaberrimum</i> Boiss. & Heldr.	Endemik	Antalya: Akseki, Sadıklar köyü, 1324 m, 12.05.2014	A. Kahraman 1781
6	<i>Geranium gracile</i> Ledeb. ex Nordm.	-	Gümüşhane: Zigana, 1696 m, 17.07.2014	A. Kahraman 1879
7	<i>Geranium gymnocaulon</i> DC.	-	Artvin: Papat, 2291 m, 23.07.2014	A. Kahraman 1938
8	<i>Geranium ibericum</i> Cav.	-	Gümüşhane: Artabel köyünün yukarısı, 2266 m, 16.07.2014	A. Kahraman 1875
9	<i>Geranium ibericum</i> Cav.	-	Rize: İkizdere'den İspir'e, Ovit Dağı Geçidi yakınları, 2380 m, 20.05.2014	A. Kahraman 1901
10	<i>Geranium ibericum</i> Cav.	-	Rize: Anzer, 2931 m, 20.07.2014	A. Kahraman 1913
11	<i>Geranium lasiopus</i> Boiss. & Heldr.	Endemik	Antalya: Akseki, Güzelsu, 1190 m, 14.05.2014	A. Kahraman 1791
12	<i>Geranium lazicum</i> (Woronow) Aedo	Endemik	Rize: Çamlıhemşin, Kaçkar Dağları, 2650 m, 22.07.2014	A. Kahraman 1926
13	<i>Geranium lucidum</i> L.	-	Antalya: Akseki, Sadıklar köyü, 1324 m, 12.05.2014	A. Kahraman 1782
14	<i>Geranium macrostylum</i> Boiss.	-	Antalya: Elmalı, Uzuneriş tepesi yakınları, 2116 m, 20.06.2014	A. Kahraman 1837
15	<i>Geranium molle</i> L.	-	Antalya, Akseki'den Gündoğmuş'a, Gündoğmuş'a 14 km, 930 m, 13.05.2014	A. Kahraman 1787
16	<i>Geranium molle</i> L.	-	Antalya: Akseki'den Beyşehir'e, 1257 m, 12.05.2014	A. Kahraman 1776
17	<i>Geranium platypetalum</i> Fisch. & Mey.	-	Sivas: Şerefiye, Çamlıkale, 1700-1800 m, 14.07.2014	A. Kahraman 1868
18	<i>Geranium platypetalum</i> Fisch. & Mey.	-	Sivas: Ekinözü, 1800 m, 14.07.2014	A. Kahraman 1867
19	<i>Geranium platypetalum</i> Fisch. & Mey.	-	Rize: İkizdere'den İspir'e, Ovit Dağı, Sivrikaya yakınları, 1990 m, 20.07.2014	A. Kahraman 1907
20	<i>Geranium ponticum</i> (P.H. Davis & J. Roberts) Aedo	Endemik	Gümüşhane: Zigana Dağı, Alas yaylası, 2322 m, 17.07.2014	A. Kahraman 1886
21	<i>Geranium ponticum</i> (P.H. Davis & J. Roberts) Aedo	Endemik	Rize: Anzer, 2931 m, 20.07.2014	A. Kahraman 1914
22	<i>Geranium purpureum</i> Vill.	-	Manisa: Soma, Kızılören köyünün yukarısı, Şifa Dağı, 879 m, 18.05.2014	A. Kahraman 1800
23	<i>Geranium purpureum</i> Vill.	-	Antalya: Manavgat'tan Akseki'ye, Akseki'ye 42 km, 303 m, 11.05.2014	A. Kahraman 1771
24	<i>Geranium pyrenaicum</i> Burm.	-	Afyon: İscehisar'dan Bayat'a, Köroğlubeli yakınları, 1310 m, 20.05.2014	A. Kahraman 1807
25	<i>Geranium pyrenaicum</i> Burm.	-	Isparta: Aksu, Çayır yaylası, 1910 m, 17.06.2014	A. Kahraman 1833
26	<i>Geranium pyrenaicum</i> Burm.	-	Manisa: Karakuzu Dağı, 480 m, 17.05.2014	A. Kahraman 1796
27	<i>Geranium pyrenaicum</i> Burm.	-	Kütahya: Gediz'den Kütahya'ya 15 km, 1116 m, 22.05.2014	A. Kahraman 1813
28	<i>Geranium robertianum</i> L.	-	Antalya: Akseki, Güzelsu, 1190 m, 14.05.2014	A. Kahraman 1790
29	<i>Geranium sanguineum</i> L.	-	Gümüşhane: Zigana köyünün yukarısı, 1412 m, 17.07.2014	A. Kahraman 1877
30	<i>Geranium subcaulescens</i> L'Herit. ex DC.	-	Konya: Kuruova, Suludere, 1900 m, 24.06.2014	A. Kahraman 1846
31	<i>Geranium subcaulescens</i> L'Herit. ex DC.	-	Isparta: Aksu, Melikler yaylası, 1815 m, 17.06.2014	A. Kahraman 1831
32	<i>Geranium subcaulescens</i> L'Herit. ex DC.	-	Denizli: Babadağ, Saçmagediği'nin yukarısı, 1695-1765 m, 24.05.2014	A. Kahraman 1818
33	<i>Geranium sylvaticum</i> L.	-	Rize: Anzer, 2675 m, 20.07.2014	A. Kahraman 1916
34	<i>Geranium tuberosum</i> L.	-	Uşak: Banaz'dan Afyon'a, 1368 m, 20.05.2014	A. Kahraman 1805
35	<i>Geranium tuberosum</i> L.	-	Antalya: Akseki'den Beyşehir'e, Beyşehir'e 54 km, 1421 m, 12.05.2014	A. Kahraman 1777
36	<i>Geranium tuberosum</i> L.	-	Antalya: Elmalı, Uzuneriş tepesi yakınları, 2138 m, 20.06.2014	A. Kahraman 1838

3.2. Yöntemler

3.2.1. Ekstrelerin hazırlanması

Öncelikle tez gereçlerimizi oluşturan *Erodium* ve *Geranium* taksonlarına ait bitki materyalleri gölgede kurutulmuş ve kuruyan örnekler toz edilmiştir. Daha sonra her bir örnek dijital terazide (Shimadzu, Japonya) tartılmış ve herbirinin üzerine etanol (% 80) ilave edilerek oda sıcaklığında birer hafta süreyle maserasyona bırakılmıştır. Süre sonunda filtre kağıdından süzülen etanollü kısımlar, alçak basınç altında 45 °C su banyosu kullanılarak evaporatörde (Büchi, İsviçre) kuruluğa kadar yoğunlaştırılmıştır. Elde edilen ekstreler tartılarak verimleri (a/a) hesaplanmış ve deneysel kısmın daha sonraki aşamalarında kullanılmak üzere +4 °C'de muhafaza edilmiştir. Örneklerle ait % ekstre verimleri Çizelge 4.1 ve 4.2'de verilmektedir.

3.2.2. KO enzim inhibisyonu tayini

KO inhibisyonu yöntemi, enzim reaksiyonu sonucunda oluşan ürik asitin absorbansının 295 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanmaktadır (Khan ve diğerleri, 2006). 0,1 M fosfat tamponu (pH 7,5), 10 µL dimetilsülfoksit (DMSO) veya ekstre ve 20 µL enzim (0,003 ünite/kuyucuk) 96 kuyucuklu mikropalak kuyucuğunda karıştırılmıştır. 10 dk ön-inkübasyondan sonra substrat olarak 20 µL ksantin (0,1 mM) eklenerek reaksiyon başlatılmış ve absorbans değişimi 10 dk boyunca ELISA mikropalak okuyucuda (Spectramax tunable microplate reader, ABD) 295 nm'de ölçülmüştür. Referans olarak allopurinol, kontrol olarak ise DMSO kullanılmıştır.

Örneklerin % KO inhibisyonları aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır. Her örnek 3 paralel olarak çalışılmış ve sonuçlar 3 deneyden elde edilen % inhibisyonların ortalaması ± standart sapma (S.S.) olarak verilmiştir.

$$\% \text{ İnhibisyon} = 100 - [(A_1 / A_2) \times 100]$$

A₁= Örnek çözeltilerinin 492 nm dalga boyundaki absorbansı

A₂= Kontrol çözeltilerinin 492 nm dalga boyundaki ortalama absorbansı

3.2.3. Fitokimyasal analizler

Toplam fenol miktar tayini

Toplam fenol miktarını tayin etmek için Singleton ve Rossi'nin modifiye edilmiş Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılmıştır (Singleton ve Rossi, 1965). Bitki ekstraları uygun miktarda tartılıp, konsantrasyon 5 mg/mL olacak şekilde etanolde (% 75) çözülmüştür. Daha sonra her örnekten 10 µL alınıp, üzerine sırasıyla, 30 µL Folin-Ciocalteu reaktifi (Sigma, Almanya, suda seyreltilmiş $\times 2$) ve 150 µL % 3,5'lik sodyum karbonat (Na_2CO_3) çözeltisi eklenmiştir. Diğer taraftan kalibrasyon eğrisi için 0,0312 mg/mL, 0,0625 mg/mL, 0,125 mg/mL, 0,25 mg/mL, 0,5 mg/mL konsantrasyonlarda gallik asit dilüsyonları hazırlanmış ve örnekler yerine gallik asit dilüsyonları konularak diğer çözeltiler aynen ilave edilmiştir. Mikroplak 40 °C'de 30 dk inkübasyona bırakılmış, süre sonunda absorbanslar 765 nm dalga boyunda ELISA mikroplak okuyucuda (Spectramax tunable microplate reader, ABD) okunmuştur. Her örnek 3 paralel olarak çalışılmıştır. Örneğin ortalama absorbansından, gallik asit kalibrasyon çözeltileri yardımıyla hazırlanan kalibrasyon eğrisine göre, toplam fenol konsantrasyonu gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanmış ve ekstraların toplam fenol miktarı mg/g ekstre $\pm$ standart sapma (S.S.) olarak verilmiştir.

Toplam flavonoit miktar tayini

Toplam flavonoit miktarını tayin etmek için Woisky ve Salatino'nun geliştirdiği alüminyum klorür (AlCl_3) kolorimetrik yöntemi uygulanmıştır (Woisky ve Salatino, 1998). Bitki ekstraları tartılıp, konsantrasyonu 5 mg/mL olacak şekilde etanolde (% 75) çözülmüştür. Daha sonra örnekten 96 kuyucuklu mikroplak kuyucuğuna 25 µL konulmuştur. Üzerine sırasıyla 75 µL etanol (% 75), 5 µL % 10'luk alüminyum klorür (AlCl_3), 5 µL 1 M sodyum asetat ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$) çözeltisi ve 100 µL distile su eklenmiştir. Kalibrasyon eğrisi için 0,0312 mg/mL, 0,0625 mg/mL, 0,125 mg/mL, 0,25 mg/mL, 0,5 mg/mL konsantrasyonlarda kersetin kalibrasyon çözeltileri hazırlanmış ve örnekler yerine kersetin dilüsyonları konularak diğer çözeltiler aynen ilave edilmiştir. Karışımlar 30 dk oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmış, süre sonunda absorbanslar 415 nm dalga boyunda ELISA mikroplak okuyucuda (Spectramax tunable microplate reader, ABD) okunmuştur. Her örnek 3 paralel olarak çalışılmıştır. Örneğin ortalama absorbansından, kersetin

kalibrasyon çözeltileri yardımıyla hazırlanan kalibrasyon eğrisine göre, toplam flavonoit konsantrasyonu kersetin eşdeğeri olarak hesaplanmış ve ekstrelerin toplam flavonoit miktarı mg/g ekstre $\pm$ standart sapma (S.S.) olarak verilmiştir.

Kolon kromatografisi ile fraksiyonlama

Kolon kromatografisi (KK) ile fraksiyonlama işleminde KO enzim inhibisyon deneylerinde, ön taramamızda en yüksek inhibitör aktiviteye sahip olan türlerden biri olması ve endemik özelliği nedeniyle, 2 no'lu *Erodium birandianum* (EB) türünden hareketle hazırlanan etanol ekstresi tezde ilerleyen çalışmalarımız için seçilmiştir.

Bu amaçla KK'nde adsorban olarak silika jel kullanılmıştır. Bu amaçla 165 g tartılan silika jel diklorometan (DKM):metanol (MeOH) (90:10) karışımında süspande edilerek cam kolona doldurulmuştur. EB ekstresinden 5 g tartılmış ve MeOH'de çözülerek kolona tatbik edilmiştir (Resim. 3.2.). Elüsyon, gradient sistem uygulanarak gerçekleştirilmiş ve toplama hacmi her fr. için 100 mL olarak belirlenmiştir. Kolona tatbik edilen EB ekstresi sırasıyla % 100 DKM (1 $\times$ 100 mL), 95:5 DKM:MeOH (1 $\times$ 100 mL), 90:10 DKM: MeOH (4 $\times$ 100 mL), 85:15 DKM:MeOH (2 $\times$ 100 mL), 80:20 DKM:MeOH (4 $\times$ 100 mL), 78:22 DKM:MeOH (4 $\times$ 100 mL), 75:25 DKM:MeOH (4 $\times$ 100 mL), 73:27 DKM:MeOH (2 $\times$ 100 mL), 70:30 DKM:MeOH (3 $\times$ 100 mL), 67:33 DKM:MeOH (4 $\times$ 100 mL), 65:35 DKM:MeOH (4 $\times$ 100 mL), 63:37 DKM:MeOH (2 $\times$ 100 mL), 60:40 DKM:MeOH (4 $\times$ 100 mL), 57:43 DKM:MeOH (4 $\times$ 100 mL), 55:45 DKM:MeOH (4 $\times$ 100 mL), 53:47 DKM:MeOH (4 $\times$ 100 mL), 50:50 DKM:MeOH (4 $\times$ 100 mL), 47:53 DKM:MeOH (2 $\times$ 100 mL), 45:55 DKM:MeOH (2 $\times$ 100 mL), 43:57 DKM:MeOH (2 $\times$ 100 mL), 40:60 DKM:MeOH (4 $\times$ 100 mL) ve %100 distile su (6 $\times$ 100 mL) ile elüe edilmiştir. KK sonucu elde edilen 40 adet fraksiyon ince tabaka kromatografisi (İTK) ile değerlendirilmiş, benzer bileşikleri içeren fraksiyonlar birleştirilmiş ve toplam 7 fraksiyon elde edilmiştir. Fraksiyonlar (fr.) şu şekilde birleştirilerek elde edilmiştir:

- EB-1: Fr. 1-6
- EB-2: Fr. 7-12
- EB-3: Fr. 13
- EB-4: Fr. 14-16
- EB-5: Fr. 17-21
- EB-6: Fr. 22-37
- EB-7: Fr. 38-40

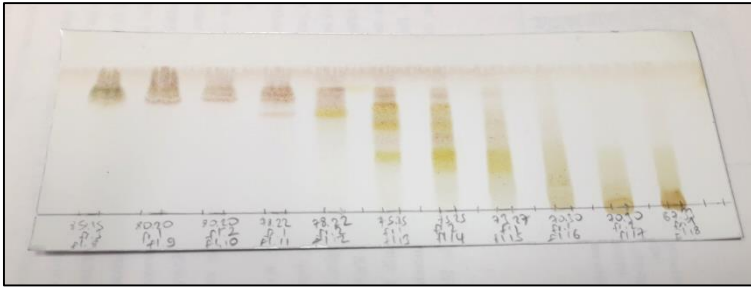
Aktivite-yönlendirmeli fraksiyonlama (AYF) metoduna uygun olarak, daha sonra enzim inhibisyon testleri uygulanan alt fraksiyonlardan en yüksek inhibisyon gösterdiği saptanan EB-3 fraksiyonu daha ileri analizler için seçilmiştir.



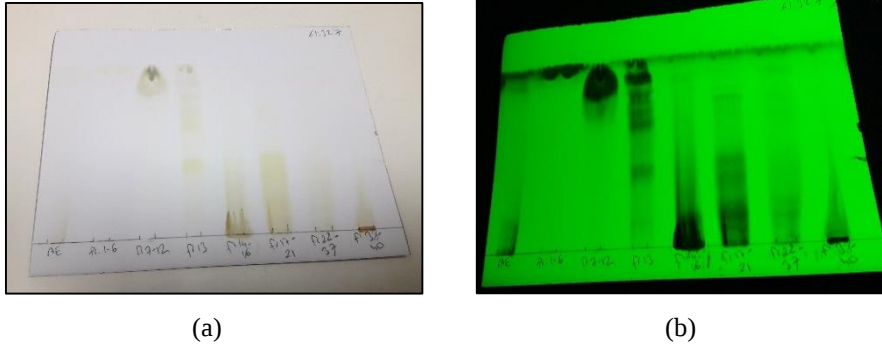
Resim 3.2. EB etanol ekstresine ait kolon kromatografisi

İnce tabaka kromatografisi (İTK)

KK sonucu elde edilen fraksiyonların takip edilmesinde, normal faz silika jel kaplı alüminyum plaklar (Merck, Silica gel 60 F₂₅₄) kullanılarak İTK yöntemi uygulanmıştır (Resim. 3.3). Hareketli faz olarak koroform:MeOH:su (61:32:7), revelatör olarak ise vanilin / sülfürik asit kullanılmıştır. Plaklar sürüklendikten sonra kurutulmuş, UV 254 ve UV 366 nm’de incelenmiş, reaktif püskürtüldükten sonra 110 °C’de yaklaşık 10 dk ısıtılarak lekeler belirlenmiştir (Resim 3.4).



Resim 3.3. EB etanol ekstresine ait kolon kromatografisi fraksiyonlarının (1-18) İTK profili



Resim 3.4. EB etanol ekstresine ait alt fraksiyonların (EB-1 – EB-7) a) gün ışığında b) UV 254 nm’de İTK profili

3.2.4. EB etanol ekstresi ve EB-3 fraksiyonunun LC-MS-MS analizi

EB etanol ekstresi ve aktif fraksiyonlardaki (EB-2, EB-3 ve EB-4) bileşikleri tespit etmek amacıyla, LC-MS-MS analizi yapılmıştır. Analiz, Fakültemiz Merkez Laboratuvarında bulunan Agilent 1260 HPLC sistemine bağlı Agilent 6550 iFunnel Q-TOF cihazı ile gerçekleştirilmiştir (Resim 3.5). Elde edilen veriler Agilent MassHunter yazılımı kullanılarak değerlendirilmiştir.



Resim 3.5. Fakültemizde bulunan Agilent 6550 iFunnel Q-TOF cihazı

Analizde uygulanan kromatografik şartlar aşağıda verilmiştir:

Kolon : Agilent Poroshell 120 SB-C18 (4,6 mm × 150 mm × 2,7 µm)
 Kolon sıcaklığı : 40 °C
 Enjeksiyon hacmi : 1 µL
 Akış hızı : 0,6 mL/dk
 Analiz süresi : 32,0 dk
 Mobil Faz : A ve B fazları Çizelge 3.3.'de belirtilen zaman ve oranlarda gradient olarak uygulanmıştır.
 Faz A : Su + % 0,1 Formik asit
 Faz B : MeOH

Çizelge 3.3. LC-MS-MS analizinde kullanılan gradient solvan sistemi

Zaman (dk)	Faz A (%)	Faz B (%)
0	95	5
2	95	5
5	80	20
15	50	50
17	50	50
22	5	95
26	5	95
26,1	95	5

İyonizasyon modu : Jet stream teknoloji, negatif ve pozitif elektrospray iyonizasyon modu
 Kurutucu gaz sıcaklığı : 290 °C
 Kurutucu gaz akışı : 14 L/dk
 Nebulizör basıncı : 30 psig
 Nebulizör yardımcı gaz sıcaklığı : 350 °C
 Nebulizör yardımcı gaz akışı : 11 L/dk
 Nebulizör yardımcı voltajı : 500 V
 Kapiler voltajı : 3500 V
 Parçalama voltajı : 400 V
 Çarpışma (collision) enerjisi : 20 eV (değişken mod)

Kütle analizleri örneklerin MeOH içindeki çözeltileri kullanılarak yapılmıştır. Ekstrenin ve aktif fraksiyonların parçalanma ürünlerinin belirlenmesi, kuadropol-uçuş zamanlı kütle spektrometresi (quadropole-time of flight, Q-TOF-MS) ile cihazın “Auto MS-MS”

modunda gerçekleştirilmiştir. Kütle spektrumu (MS) eşleşmeleri ile bulunan kapalı formüller kütüphanede (Metlin Metabolite) taranarak eşleşen bileşikler tespit edilmiştir.

EB-2, EB-3 ve EB-4 fraksiyonlarının analizinde kütüphane taraması sonucu MS-MS verisi eşleşen bileşik bulunamadığında, sinyal şiddeti yüksek olan iyonlar için yazılımdan kapalı formüller üretilmiştir. Elde edilen kapalı formüller, olası açık kimyasal yapı bilgisi için ChemSpider’da taranmıştır. Bu tarama sonucunda taranan bileşiklerin MS-MS verilerinin uyumlu olup olmadığı gözlenmiştir. EB etanol ekstresi, EB-2, EB-3 ve EB-4 fraksiyonları ile tespit edilen bileşikler ($\geq$ % 98, ChemFaces) için tekrar MS analizi yapılarak, ekstre ve aktif fraksiyonlarda bu bileşiklerin varlığı kesin olarak doğrulanmıştır.

3.2.5. Moleküler doklama deneyleri

Moleküler doklama çalışmaları, Schrödinger Small-Molecule Drug Discovery Suite 2018-1 (Schrödinger, LLC, New York, NY, 2019) kullanılarak, EB ana ekstresi ve aktif fraksiyonlarında bulunduğu tespit edilen bileşikler üzerinde gerçekleştirilmiştir. Oksipurinol bağlı bovin ksantin dehidrogenaz (XDH; PDB kodu: 3BDJ) yapısı RCSB Protein Data Bank (PDB) veri tabanından indirilmiş, Schrödinger programının Protein Preparation Wizard modülü kullanılarak hazırlanmıştır (Okamoto, Eger, Nishino, Pai ve Nishino, 2008). Hazırlık aşamasında aktif bölgedeki kristal su molekülleri silinmiş, hidrojen atomları eklenmiş, eksik veya yanlış atom tipleri düzeltilmiştir. OPLS-3 (Optimized Potential for Liquid Simulations) kuvvet alanı uygulanarak RMSD (root-mean-square deviation) değeri en fazla 0,3 Å olacak şekilde enerji minimizasyonu yapılmıştır. Enzim X-ışını kristal yapısına bağlı inhibitör molekül seçilerek, inhibitörün çevresinde aktif bölgeyi koordinatlarıyla tanımlayan 20 Å’luk bir kutu (grid), “receptor grid generation” paneli ile oluşturulmuştur. Bu aşamada kuvvet alanı olarak yine OPLS-3 kullanılmış, Van der Waals ölçeklendirme faktörü 1,00 ve yük parçalı kesme noktası 0,25 olarak tanımlanmıştır. Elde edilen reseptör grid dosyaları moleküler doklama çalışmasında kullanılmak üzere kaydedilmiştir. Moleküler doklama çalışması için seçilen bileşikler, Schrödinger programının Maestro arayüzünde çizilmiş ve LigPrep (Schrödinger Release 2018-1: LigPrep, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2018) modülü ile varsayılan değerler kullanılarak üç boyutlu yapıları hazırlanmıştır. Moleküller önceden kaydedilen grid dosyası üzerinden Schrödinger programının Glide modülü ile enzim aktif bölgesine Extra Precision (XP) algoritması kullanılarak yerleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar GlideScore değerleri temel alınarak incelenip, moleküllere ait uygun bağlantı modları belirlenmiştir (Friesner ve diğerleri, 2006).

3.2.6. *In silico* biyolojik aktivite analizleri

LC-MS-MS analizi sonucunda EB etanol ekstresi ve aktif fraksiyonlarında tespit edilen bileşikler için KO inhibitör aktivitenin ne kadar örtüştüğünü *in silico* ortamda incelemek suretiyle biyolojik aktivite analizi çalışması yapılmıştır. Bu amaçla “bileşiklerin biyolojik aktivite spektrumunu tahmin etme” olarak tanımlanan yaklaşık 3600 çeşit biyolojik aktiviteyi kimyasal yapı-etki ilişkisi açısından inceleyecek kapasitede “Prediction of Activity Spectra for Substances” (PASS) ve “Swiss Target Prediction” adlı *in silico* tarama programları kullanılmıştır.

Çalışmada incelenen bileşiklerin bilgisayar-destekli biyolojik aktivite değerlendirmeleri PASS programı (versiyon 2.0) kullanılarak analiz edilmiştir (Borodina, Filimonov ve Porokov, 1996). Analizlerde ilgili etkide aktif olma olasılığı (P_a) söz konusu etkiye yönelik inaktif olma olasılığından (P_i) büyük olan değerler göz önünde tutulmuştur. $P_a - P_i$ tahmin sonuçlarına göre, bileşiklerin KO inhibitörü aktivitesi ile KD inhibitörü aktivitesi gösterme olasılıklarının karşılaştırılması yapılmıştır. Ayrıca incelenen maddelerin İsviçre Biyoinformatik Enstitüsü tarafından geliştirilen Swiss Target Prediction yazılımı kullanılarak ilgili biyoaktivite tahminleri yapılmıştır (Gfeller, Michielin ve Zoete, 2013).

3.2.7. *In silico* toksisite analizi

Tez çalışmasında incelenen bileşiklerin mutajenik etkilerinin olup olmadığı, istatistiksel tabanlı ve bilgi tabanlı yaklaşımlarla analiz sağlayan iki yöntemin kombine edilmesi ile incelenmiştir (International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH), ICH Harmonized Guideline M7(R1), 2017). Bu amaçla “VEGA QSAR Mutajenite (Ames test) CONSENSUS modeli” (versiyon 1.0.3) ve “ToxTREE SAR model *in vitro* mutajenite (Ames; ISS) modeli” (versiyon 3.1.0) kullanılmış ve uzman analizi ile nihai karara varılmıştır. Bileşiklerin hepatotoksisite potansiyelleri ise, “VEGA hepatotoksisite modeli (IRFMN)” (versiyon 1.0.0) ile değerlendirilmiştir. Ayrıca maddelerin bilgisayar-destekli genel toksisite değerlendirmeleri PASS programı (versiyon 2.0) kullanılarak analiz edilmiştir. Analizlerde $P_a > P_i$ değerleri göz önünde tutulmuş ve $P_a > 0.7$ alınarak toksik etki gösterme olasılığı yüksek olan tahminler sunulmuştur.



4. BULGULAR

4.1. Ekstre ve Fraksiyonların Verimine Ait Bulgular

4.1.1. Ön taramada kullanılan ekstrelerin verimine ait bulgular

Ön tarama çalışmalarımızda kullandığımız *Erodium* türlerinden hazırlanan etanol ekstrelerinin % verimleri (a/a) Çizelge 4.1’de, *Geranium* türlerinden hazırlanan etanol ekstrelerinin % verimleri (a/a) ise Çizelge 4.2’de sunulmuştur.

Çizelge 4.1. *Erodium* türlerinden elde edilen ekstrelerin % verimleri (a/a)

No.	Tür adı	% Verim (a/a)
1	<i>Erodium absinthoides</i> subsp. <i>absinthoides</i>	4,80
2	<i>Erodium absinthoides</i> subsp. <i>armenum-1</i>	5,08
3	<i>Erodium absinthoides</i> subsp. <i>armenum-2</i>	1,21
4	<i>Erodium absinthoides</i> subsp. <i>armenum-3</i>	4,10
5	<i>Erodium absinthoides</i> subsp. <i>haradjianii</i>	3,55
6	<i>Erodium amanum</i>	6,25
7	<i>Erodium birandianum-2</i>	6,54
8	<i>Erodium cedrorum</i> subsp. <i>cedrorum</i>	7,57
9	<i>Erodium ciconium</i>	4,53
10	<i>Erodium cicutarium</i>	2,89
11	<i>Erodium gruinum</i>	2,58
12	<i>Erodium hendrikii</i>	6,64
13	<i>Erodium leucanthum</i>	7,12
14	<i>Erodium malacoides</i>	4,70
15	<i>Erodium pelargoniiiflorum</i>	14,38
16	<i>Erodium siphorpiatum</i>	3,00
17	<i>Erodium somanum</i>	3,36

Çizelge 4.2. *Geranium* türlerinden elde edilen ekstrelerin % verimleri (a/a)

No.	Tür adları	% Verim (a/a)
1	<i>Geranium asphodeloides</i>	2,15
2	<i>Geranium collinum</i>	9,31
3	<i>Geranium dissectum-1</i>	5,62
4	<i>Geranium dissectum-2</i>	2,15
5	<i>Geranium dissectum-3</i>	4,12
6	<i>Geranium glaberrimum-2</i>	6,84
7	<i>Geranium gracile</i>	4,24
8	<i>Geranium gymnocaulon</i>	6,04
9	<i>Geranium ibericum-1</i>	7,98
10	<i>Geranium ibericum-2</i>	6,23
11	<i>Geranium ibericum-3</i>	4,59
12	<i>Geranium lasiopus-2</i>	4,21
13	<i>Geranium lazicum</i>	10,95
14	<i>Geranium lucidum</i>	6,36
15	<i>Geranium macrostylum</i>	14,75
16	<i>Geranium molle</i>	2,80
17	<i>Geranium platypetalum-1</i>	4,68

Çizelge 4.2. (devam) *Geranium* türlerinden elde edilen ekstrelerin % verimleri (a/a)

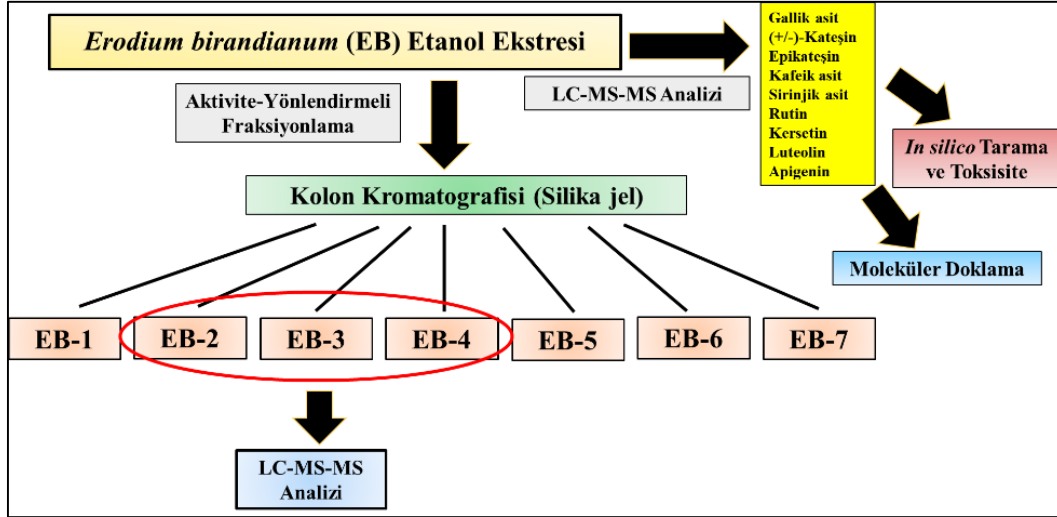
No.	Tür adları	% Verim (a/a)
18	<i>Geranium platypetalum-2</i>	13,57
19	<i>Geranium ponticum-1</i>	10,45
20	<i>Geranium ponticum-2</i>	5,94
21	<i>Geranium purpureum-1</i>	5,53
22	<i>Geranium pyrenaicum-1</i>	7,22
23	<i>Geranium pyrenaicum-2</i>	11,11
24	<i>Geranium pyrenaicum-3</i>	8,90
25	<i>Geranium sanguineum-1</i>	6,28
25	<i>Geranium sanguineum-2</i>	6,99
26	<i>Geranium subcaulescens-1</i>	23,49
27	<i>Geranium subcaulescens-2</i>	13,21
28	<i>Geranium subcaulescens-3</i>	8,07
29	<i>Geranium sylvaticum</i>	12,77
30	<i>Geranium tuberosum-1</i>	3,08
31	<i>Geranium tuberosum-2</i>	4,77
32	<i>Geranium tuberosum-3</i>	5,82

4.1.2. EB etanol ekstresine ait fraksiyonların verimine ait bulgular

Fraksiyonlama işleminde kullanılan EB etanol ekstresi % 6,54 (a/a) verimle elde edilmiştir. Bu ekstreden hareketle KK ile elde edilen fraksiyonların miktarı ve % verimleri (a/a) Çizelge 4.3'te, fraksiyonlama ve diğer deneylere ait şema Şekil 4.1'de verilmektedir.

Çizelge 4.3. EB etanol ekstresinden elde edilen alt fraksiyon miktarları ve % verimleri (a/a)

Fraksiyon kodu	Miktar (mg)	% Verim (a/a)
EB-1	118,26	2,49
EB-2	268,77	5,67
EB-3	22,32	0,47
EB-4	304,91	6,43
EB-5	129,86	2,74
EB-6	1016,35	21,45
EB-7	2876,53	60,72



Şekil 4.1. EB etanol ekstresinin fraksiyonlanması

4.2. Ksantin Oksidaz (KO) Enzim İnhibisyonuna Ait Bulgular

4.2.1. Ekstrelerin KO enzim inhibisyonuna ait bulgular

Toplanan 22 adet *Erodium* ve 34 adet *Geranium* taksonundan, bazılarının miktarlarının oldukça az olması nedeniyle; 17 adet *Erodium* ile 32 adet *Geranium* taksonu olmak üzere toplam 49 ekstrenin KO inhibitör aktivitesi test edilmiştir. *Erodium* ekstrelerinin 10, *Geranium* ekstrelerinin ise 24 tanesi KO'a karşı % 50'nin üzerinde inhibisyon göstermiştir. Bunlardan 3 adet *Erodium* türü ile 6 adet *Geranium* türünün, referans ilaç olan allopurinole (% 99,76 ± 3,51) yakın (% 80 ve üzerinde) inhibisyon gösterdiği tespit edilmiştir. *Erodium* ekstrelerinin içinde en iyi inhibisyona *E. gruinum* (% 88,27 ± 1,44) yol açmıştır. Tüm *Geranium* ekstrelerine bakıldığında ise; en yüksek inhibisyona *G. ibericum-2*'nin (% 96,24 ± 0,30) yol açtığı belirlenmiştir.

Ön taramamızda yer alan tüm *Erodium* ve *Geranium* ekstrelerine ait KO inhibitör etki sonuçları Çizelge 4.4 ve 4.5'te verilmektedir:

Çizelge 4.4. *Erodium* türlerinden hazırlanan etanol ekstralarının KO inhibisyonları

Tür Adı	Ksantin Oksidaz İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S. ¹) (100 μ g/ml)
<i>Erodium absinthoides</i> subsp. <i>absinthoides</i>	30,19 $\pm$ 2,93
<i>Erodium absinthoides</i> subsp. <i>armenum-1</i>	46,68 $\pm$ 2,26
<i>Erodium absinthoides</i> subsp. <i>armenum-2</i>	52,40 $\pm$ 0,07
<i>Erodium absinthoides</i> subsp. <i>armenum-3</i>	61,76 $\pm$ 1,99
<i>Erodium absinthoides</i> subsp. <i>haradjianii</i>	46,33 $\pm$ 1,67
<i>Erodium amanum</i>	71,74 $\pm$ 7,42
<i>Erodium birandianum-2</i>	82,26 $\pm$ 0,10
<i>Erodium cedrorum</i> subsp. <i>cedrorum</i>	24,82 $\pm$ 2,14
<i>Erodium ciconium-2</i>	59,02 $\pm$ 2,47
<i>Erodium cicutarium</i>	60,19 $\pm$ 2,10
<i>Erodium grunium</i>	88,27 $\pm$ 1,44
<i>Erodium hendrikii</i>	67,58 $\pm$ 3,69
<i>Erodium leucanthum-1</i>	87,20 $\pm$ 2,08
<i>Erodium malacoides</i>	27,62 $\pm$ 3,58
<i>Erodium pelargoniflorum-2</i>	75,94 $\pm$ 4,39
<i>Erodium sithorpium</i>	46,12 $\pm$ 3,88
<i>Erodium somanum-1</i>	48,42 $\pm$ 5,06
Allopurinol (referans)	99,76 $\pm$ 3,51

¹ Standart sapma (n=3)Çizelge 4.5. *Geranium* türlerinden hazırlanan etanol ekstralarının KO inhibisyonları

Tür Adı	Ksantin Oksidaz İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S. ¹) (100 μ g/ml)
<i>Geranium asphodeloides</i>	69,10 $\pm$ 3,91
<i>Geranium collinum</i>	72,16 $\pm$ 5,12
<i>Geranium dissectum-1</i>	46,95 $\pm$ 0,63
<i>Geranium dissectum-1</i>	56,03 $\pm$ 0,93
<i>Geranium dissectum-3</i>	19,59 $\pm$ 1,17
<i>Geranium glaberrimum-2</i>	83,81 $\pm$ 0,19
<i>Geranium gracile</i>	57,84 $\pm$ 0,59
<i>Geranium gymnocaulon</i>	45,79 $\pm$ 5,26
<i>Geranium ibericum-1</i>	75,96 $\pm$ 7,52
<i>Geranium ibericum-2</i>	96,24 $\pm$ 0,30
<i>Geranium ibericum-3</i>	78,69 $\pm$ 0,78
<i>Geranium lasiopus-2</i>	79,11 $\pm$ 8,98
<i>Geranium lazicum</i>	48,31 $\pm$ 0,57
<i>Geranium lucidum</i>	88,93 $\pm$ 2,21
<i>Geranium macrostylum</i>	84,70 $\pm$ 1,54
<i>Geranium molle</i>	40,68 $\pm$ 2,73
<i>Geranium platypetalum-1</i>	42,73 $\pm$ 0,04
<i>Geranium ponticum-1</i>	67,80 $\pm$ 5,98
<i>Geranium ponticum-2</i>	55,63 $\pm$ 1,09
<i>Geranium purpureum-1</i>	90,46 $\pm$ 1,34
<i>Geranium pyrenaicum-1</i>	56,32 $\pm$ 2,35
<i>Geranium pyrenaicum-2</i>	57,70 $\pm$ 2,22
<i>Geranium pyrenaicum-3</i>	55,07 $\pm$ 5,85
<i>Geranium sanguineum-1</i>	37,07 $\pm$ 1,63
<i>Geranium sanguineum-2</i>	62,29 $\pm$ 1,49
<i>Geranium subcaulescens-1</i>	70,61 $\pm$ 0,91
<i>Geranium subcaulescens-2</i>	55,23 $\pm$ 1,63
<i>Geranium subcaulescens-3</i>	40,67 $\pm$ 1,21
<i>Geranium sylvaticum</i>	51,02 $\pm$ 4,88
<i>Geranium tuberosum-1</i>	78,62 $\pm$ 4,59
<i>Geranium tuberosum-2</i>	66,76 $\pm$ 3,08
<i>Geranium tuberosum-3</i>	84,05 $\pm$ 3,61
Allopurinol (referans)	99,76 $\pm$ 3,51

¹ Standart sapma (n=3)

4.2.2. EB etanol ekstresine ait fraksiyonların KO inhibisyonuna ait bulgular

Ön taramamızda incelenen toplam 49 adet ekstre içinde en yüksek KO inhibitör etki gösterenlerden biri olan EB etanol ekstresi, KK ile fraksiyonlanarak 7 fraksiyon elde edilmiştir. Fraksiyonlar (EB-1 – EB-7) da aynı şekilde KO enzimine karşı taranmış ve en yüksek inhibitör etkiye EB-2, EB-3 ve EB-4 fraksiyonları yol açmıştır (Çizelge 4.6.). Temin edebildiğimiz bazı bileşiklerin KO inhibitör etkileri de aynı çizelgede sunulmaktadır.

Çizelge 4.6. EB etanol ekstresine ait fraksiyonların ve tespit edilen bazı bileşiklerin KO inhibisyonları

Alt Fraksiyonlar	Ksantin Oksidaz İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S. ¹) (100 μ g/mL)	Bileşikler	Ksantin Oksidaz İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S.) (25 μ g/mL)
EB-1	13,97 $\pm$ 3,66	Kateşin	- ²
EB-2	94,19 $\pm$ 4,93	Kafeik asit	21,58 $\pm$ 2,77
EB-3	98,88 $\pm$ 2,84	Rutin	-
EB-4	97,74 $\pm$ 3,29	Kersetin	98,03 $\pm$ 2,34
EB-5	-		
EB-6	77,18 $\pm$ 3,22		
EB-7	-		
Allopurinol (referans)	99,76 $\pm$ 3,51		

¹ Standart sapma (n=3) ² İnhibisyon gözlenmedi

4.2.3. Toplam fenol ve flavonoit miktar tayinine ait bulgular

Ön taramamızda yer alan *Erodium* ve *Geranium* taksonlarına ait etanol ekstralarında spektrofotometrik yöntemle tayin edilen toplam fenol ve flavonoit miktarlarına ait bulgular Çizelge 4.7 ve 4.8’de verilmektedir:

Çizelge 4.7. *Erodium* türlerinde toplam fenol ve flavonoit miktarları

Tür Adı	Toplam Fenol Miktar Tayini ¹	Toplam Flavonoit Miktar Tayini ²
<i>Erodium absinthoides</i> subsp. <i>armenum-1</i>	179,28 $\pm$ 8,27	84,11 $\pm$ 1,22
<i>Erodium absinthoides</i> subsp. <i>armenum-2</i>	86,29 $\pm$ 3,53	81,50 $\pm$ 1,56
<i>Erodium absinthoides</i> subsp. <i>armenum-3</i>	98,61 $\pm$ 5,23	71,58 $\pm$ 3,77
<i>Erodium absinthoides</i> subsp. <i>haradjianii</i>	114,12 $\pm$ 4,02	43,71 $\pm$ 3,76
<i>Erodium absinthoides</i> subsp. <i>absinthoides</i>	102,36 $\pm$ 4,57	59,45 $\pm$ 6,20
<i>Erodium amanum</i>	138,69 $\pm$ 8,28	35,59 $\pm$ 7,18
<i>Erodium birandianum-2</i>	156,01 $\pm$ 5,48	61,05 $\pm$ 5,95
<i>Erodium cedrorum</i> subsp. <i>cedrorum</i>	45,95 $\pm$ 3,16	57,64 $\pm$ 6,27
<i>Erodium ciconium -2</i>	111,37 $\pm$ 11,89	54,58 $\pm$ 0,21
<i>Erodium cicutarium</i>	255,98 $\pm$ 7,17	92,03 $\pm$ 5,10
<i>Erodium grunium</i>	346,91 $\pm$ 3,72	93,53 $\pm$ 5,13
<i>Erodium hendrikii</i>	401,81 $\pm$ 1,82	114,58 $\pm$ 7,23
<i>Erodium malacoides</i>	90,86 $\pm$ 6,94	49,12 $\pm$ 4,38
<i>Erodium leucanthum-1</i>	161,27 $\pm$ 9,60	59,45 $\pm$ 6,20
<i>Erodium pelargoniflorum-2</i>	123,78 $\pm$ 8,52	53,03 $\pm$ 2,13
<i>Erodium sithorpiatum</i>	290,59 $\pm$ 3,84	71,38 $\pm$ 8,22
<i>Erodium somanum-1</i>	161,27 $\pm$ 9,60	117,29 $\pm$ 8,51

¹ Gallik asit eşdeğeri mg / g ekstre $\pm$ S.S.), ² Kersetin eşdeğeri mg / g ekstre $\pm$ S.S. (n=3)

Çizelge 4.8. *Geranium* türlerinde toplam fenol ve flavonoit miktarları

Tür Adı	Toplam Fenol Miktar Tayini ¹	Toplam Flavonoit Miktar Tayini ²
<i>Geranium asphodeloides</i>	98,35 ± 2,99	49,14 ± 3,10
<i>Geranium collinum</i>	129,38 ± 3,16	51,13 ± 1,28
<i>Geranium dissectum-1</i>	135,76 ± 8,89	54,43 ± 5,95
<i>Geranium dissectum-2</i>	109,01 ± 6,12	58,44 ± 7,05
<i>Geranium dissectum-3</i>	135,76 ± 8,89	60,43 ± 5,91
<i>Geranium glaberrimum-1</i>	200,48 ± 11,27	52,18 ± 1,91
<i>Geranium glaberrimum-2</i>	250,72 ± 11,48	56,54 ± 6,01
<i>Geranium gracile</i>	494,28 ± 10,47	36,29 ± 1,51
<i>Geranium gymnocalon</i>	374,98 ± 8,40	76,09 ± 1,77
<i>Geranium ibericum-1</i>	289,08 ± 3,75	90,82 ± 3,83
<i>Geranium ibericum-2</i>	204,79 ± 6,42	52,33 ± 8,08
<i>Geranium ibericum-3</i>	140,50 ± 9,51	90,22 ± 2,46
<i>Geranium lasiopus-2</i>	210,22 ± 7,25	78,49 ± 4,34
<i>Geranium lazicum</i>	291,88 ± 6,76	35,89 ± 3,93
<i>Geranium lucidum</i>	135,76 ± 8,89	141,15 ± 1,42
<i>Geranium macrostylum</i>	125,33 ± 5,69	171,18 ± 1,54
<i>Geranium molle</i>	205,01 ± 4,99	121,85 ± 4,42
<i>Geranium platypetalum-1</i>	73,92 ± 2,74	65,71 ± 2,76
<i>Geranium ponticum-1</i>	245,08 ± 10,06	73,18 ± 8,51
<i>Geranium ponticum-2</i>	215,09 ± 9,36	83,29 ± 7,01
<i>Geranium purpureum-1</i>	250,90 ± 9,42	98,24 ± 5,56
<i>Geranium pyrenaicum-1</i>	209,68 ± 5,42	70,82 ± 3,40
<i>Geranium pyrenaicum-2</i>	255,68 ± 8,23	93,73 ± 0,92
<i>Geranium pyrenaicum-3</i>	213,54 ± 8,88	97,18 ± 1,96
<i>Geranium sanguineum-1</i>	376,17 ± 7,84	154,98 ± 9,15
<i>Geranium subcaulescens-1</i>	321,87 ± 1,65	88,12 ± 1,28
<i>Geranium subcaulescens-2</i>	267,62 ± 12,75	50,68 ± 0,21
<i>Geranium sylvaticum</i>	85,51 ± 2,40	57,34 ± 5,80
<i>Geranium tuberosum-1</i>	243,92 ± 6,40	122,10 ± 1,70
<i>Geranium tuberosum-2</i>	457,61 ± 4,94	51,93 ± 1,48
<i>Geranium tuberosum-3</i>	161,78 ± 6,75	35,09 ± 2,79
<i>Geranium tuberosum-4</i>	335,96 ± 5,85	91,53 ± 8,12

¹ Gallik asit eşdeğeri mg / g ekstre ± S.S.), ² Kersetin eşdeğeri mg / g ekstre ± S.S. (n=3)

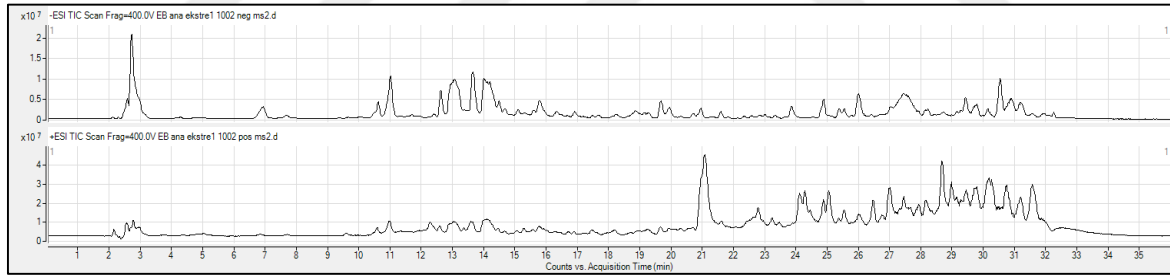
4.3. EB Etanol Ekstresi ve Aktif Fraksiyonların LC-MS-MS Analizine Ait Bulgular

EB etanol ekstresi ile 2, 3 ve 4 no'lu aktif fraksiyonlarında yapılan LC-MS-MS analizi sonucu varlığı doğrulanan bileşikler için EB etanol ekstresi, aktif fraksiyonlar ve standart maddelere ait karşılaştırmalı ekstrakte iyon kromatogramları (extracted ion chromatogram, EIC) ve bulunan bileşiklere ait MS ve MS-MS spektrumları Şekil 4.3. - 4.7.'de verilmiştir.

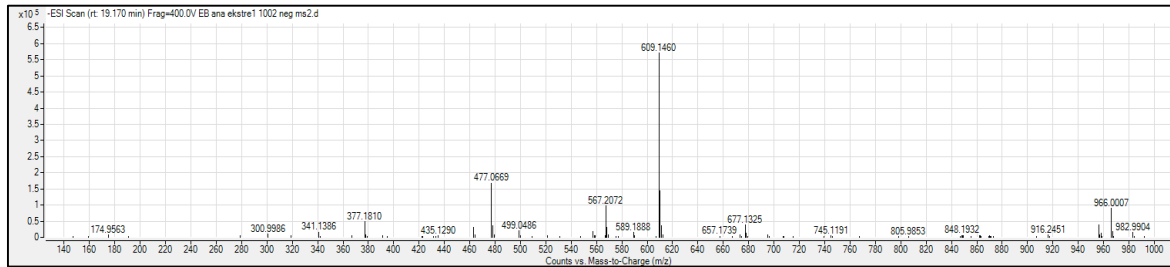
Kütüphanede MS-MS verisi bulunmasına rağmen, daha önce EB etanol ekstresindeki varlığı ve miktarı saptanan bileşikler için standart madde enjeksiyonu yapılarak doğrulama yapılmıştır (Şekil 4.2).



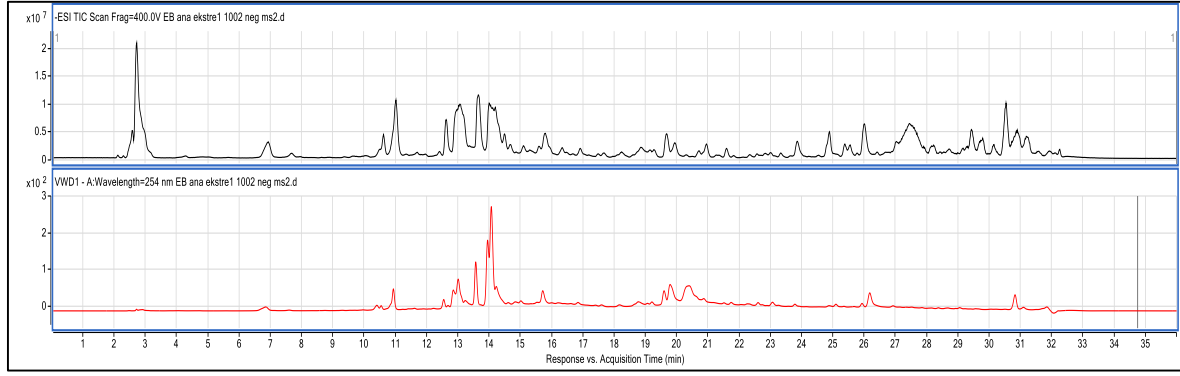
Şekil 4.2. LC-Q-ToF cihazında EB etanol ekstresine ait ekstrakte iyon kromatogramı ile MS spektrumu analizi için yapılan kütüphane ön taraması



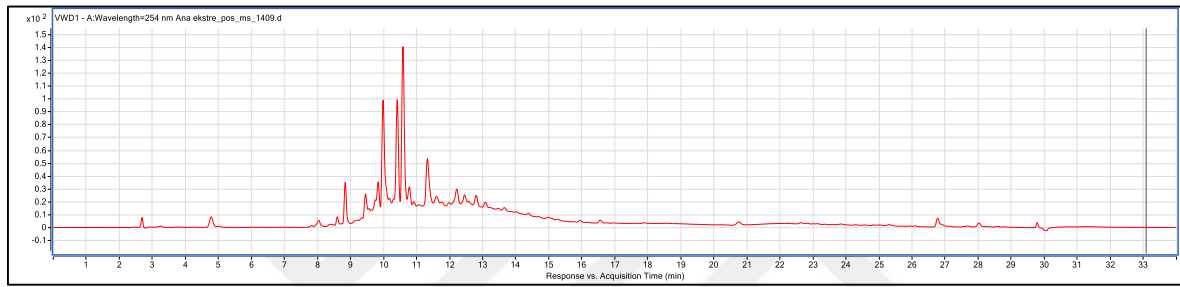
Şekil 4.3. EB etanol ekstresine ait ekstrakte iyon kromatogramı (EIC)



Şekil 4.4. EB etanol ekstresine ait MS spektrumu

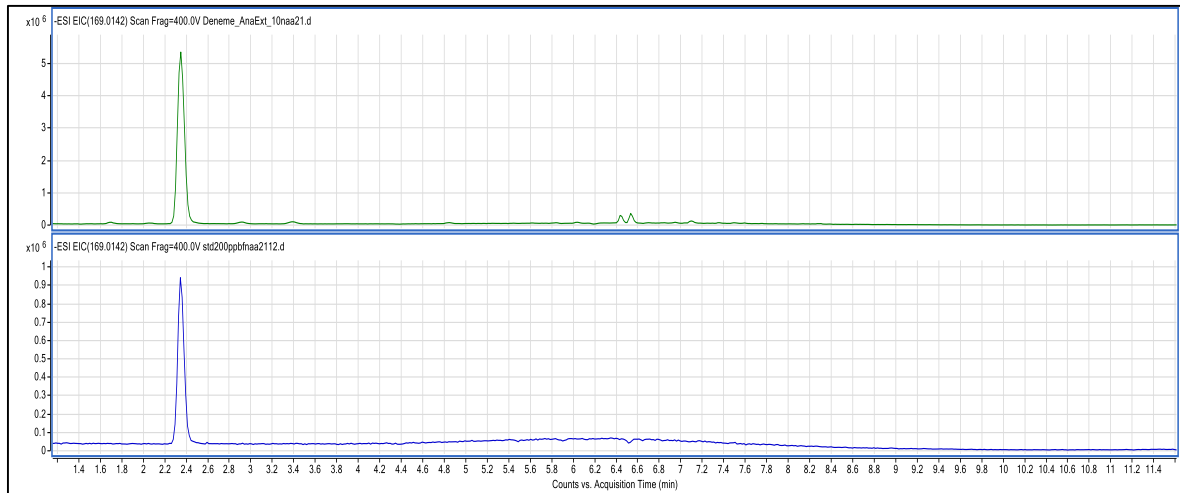


Şekil 4.5. EB etanol ekstresine ait UV (254 nm) spektrumu ile birlikte ekstrakte iyon kromatogramı

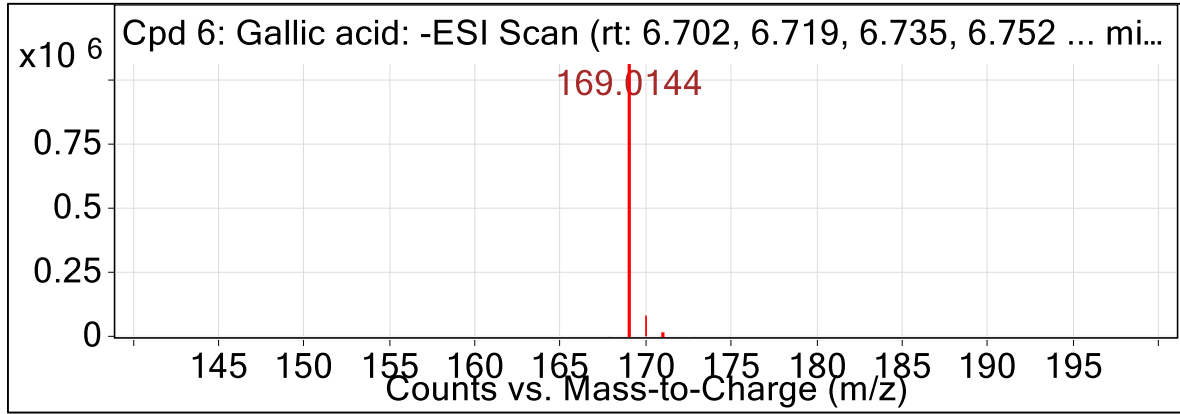


Şekil 4.6. EB etanol ekstresine ait UV (254 nm) sinyalleri

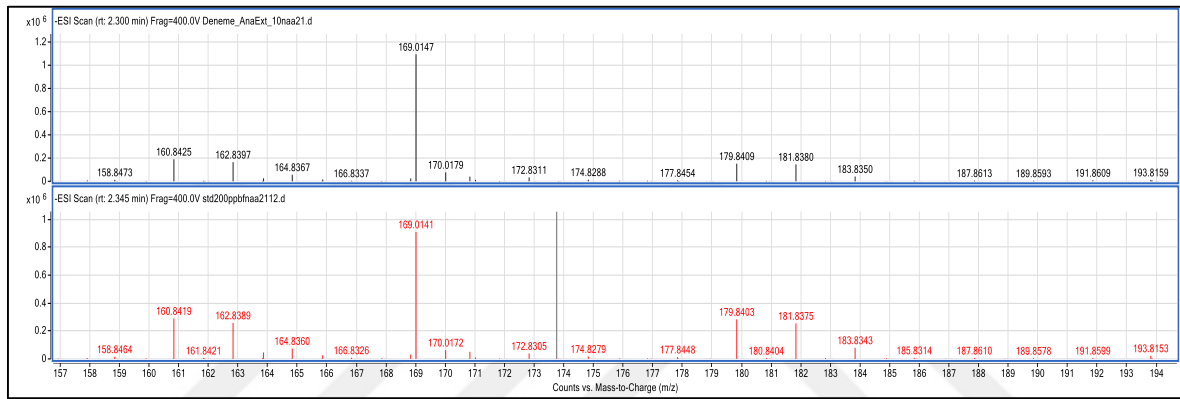
EB etanol ekstresinde, kütüphane taraması ve standart doğrulaması ile tespit edilen bileşikler olan gallik asit, kafeik asit, kinik asit, 3,4-dihidroksi benzoik asit, ($\pm$)-kateşin, epikateşin, sirinjik asit, rutin, kersetin, luteolin ve apigenin için ekstrakte iyon kromatogramları Şekil 4.7 – Şekil 4.29’da verilmektedir. Bu maddeler için, EB etanol ekstresinde bulunan kütleyle ait MS-MS spektrumu ile kütüphanedeki standart maddeye ait MS-MS spektrumları karşılaştırılmıştır.



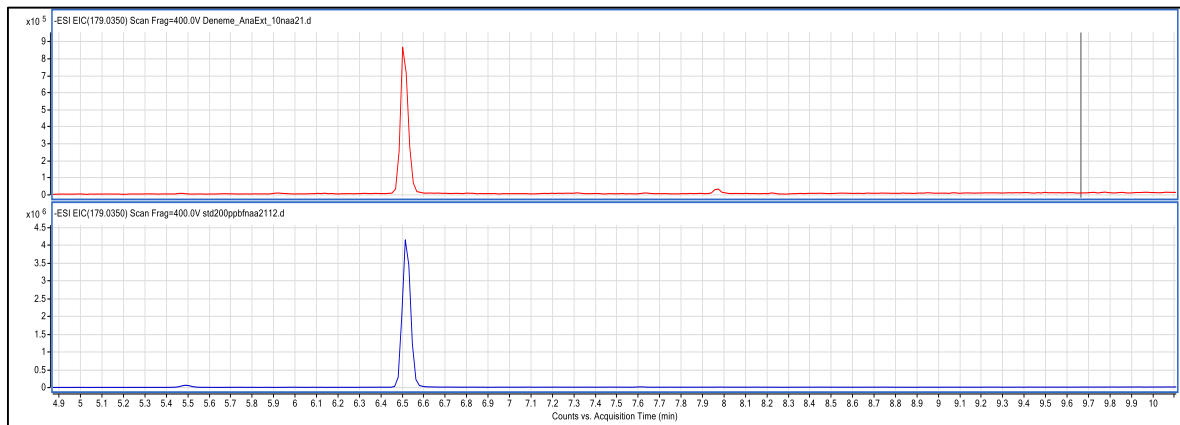
Şekil 4.7. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan gallik asit (üstteki) ve gallik asit standartına (alttaki) ait ekstrakte iyon kromatogramları



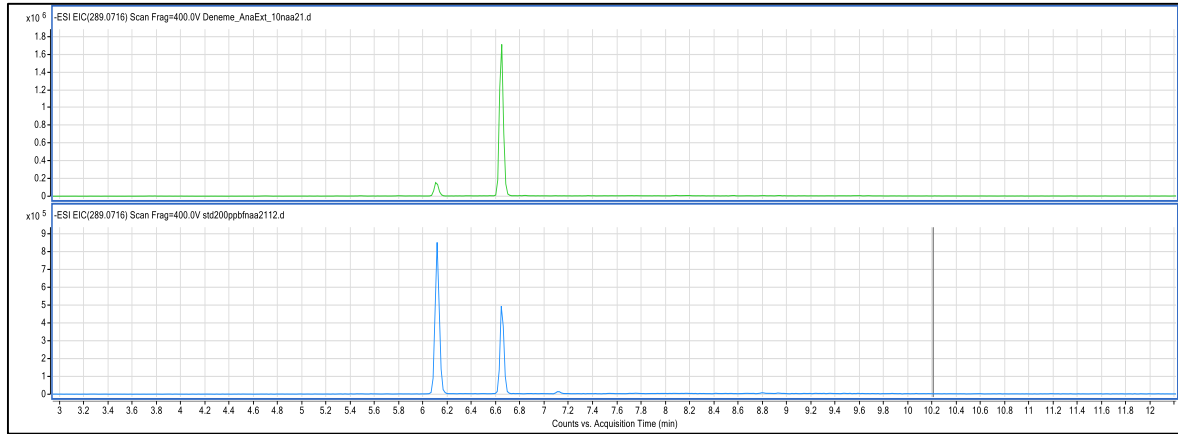
Şekil 4.8. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan gallik asite ait MS spektrumu



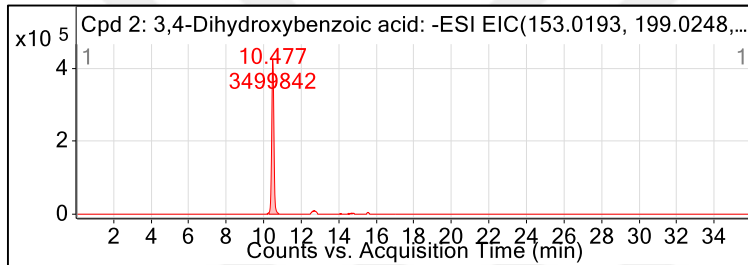
Şekil 4.9. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan gallik asit (üstteki) ve gallik asit standartına (alttaki) ait karşılaştırmalı MS spektrumları



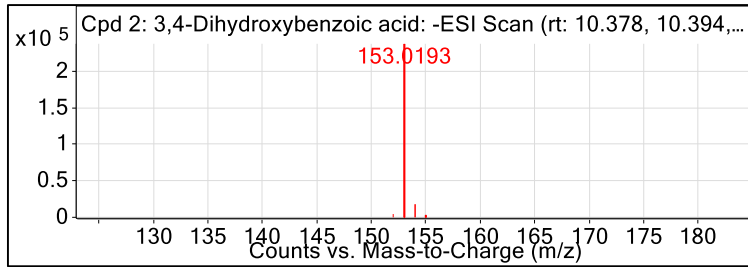
Şekil 4.10. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan kafeik asit (üstteki) ve kafeik asit standartına (alttaki) ait karşılaştırmalı ekstrakte iyon kromatogramları



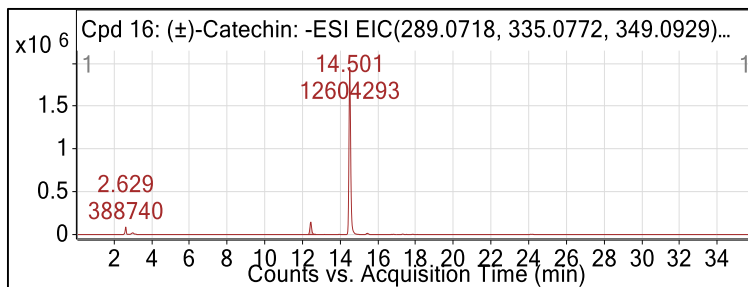
Şekil 4.11. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan ($\pm$)-kateşin ve epikateşin (üstteki) ile ($\pm$)-kateşin ve epikateşin standartlarına (alttaki) ait karşılaştırmalı ekstrakte iyon kromatogramları



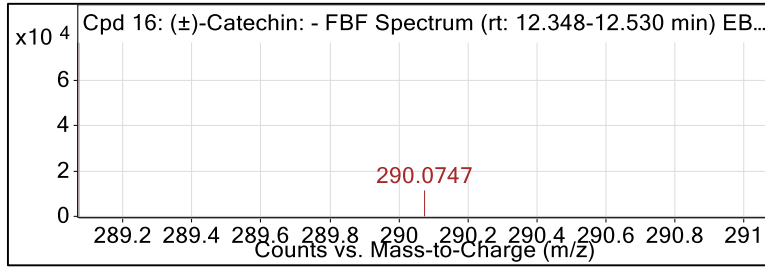
Şekil 4.12. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan 3,4-dihidroksi benzoik asite ait ekstrakte iyon kromatogramı



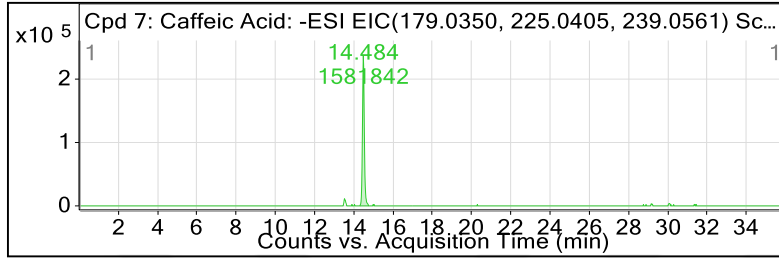
Şekil 4.13. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan 3,4-dihidroksi benzoik asite ait MS spektrumu



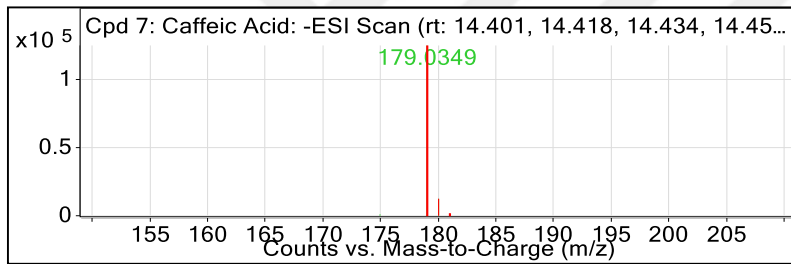
Şekil 4.14. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan ($\pm$)-kateşine ait ekstrakte iyon kromatogramı



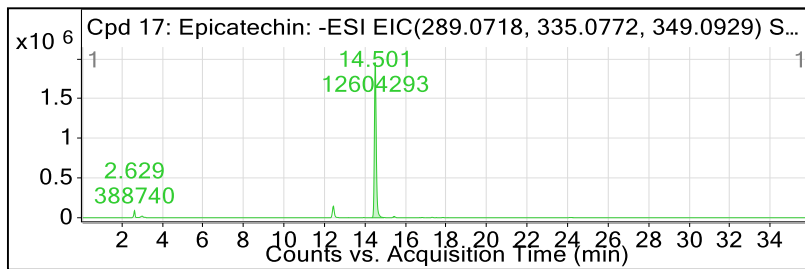
Şekil 4.15. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan (±)-kateşine ait MS spektrumu



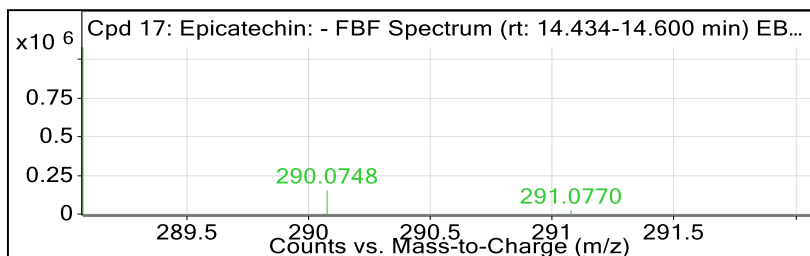
Şekil 4.16. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan kafeik asite ait ekstrakte iyon kromatogramı



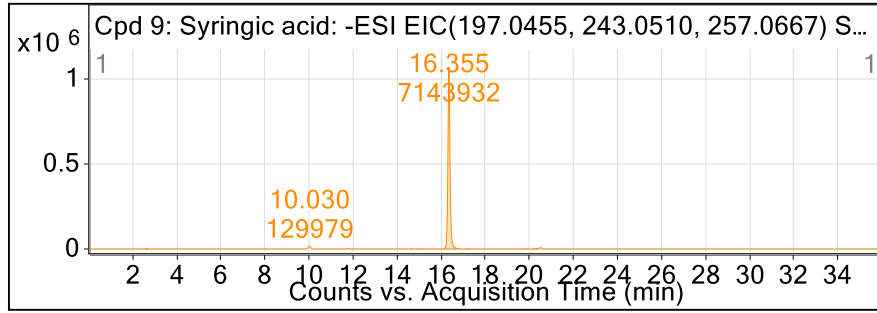
Şekil 4.17. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan kafeik asite ait MS spektrumu



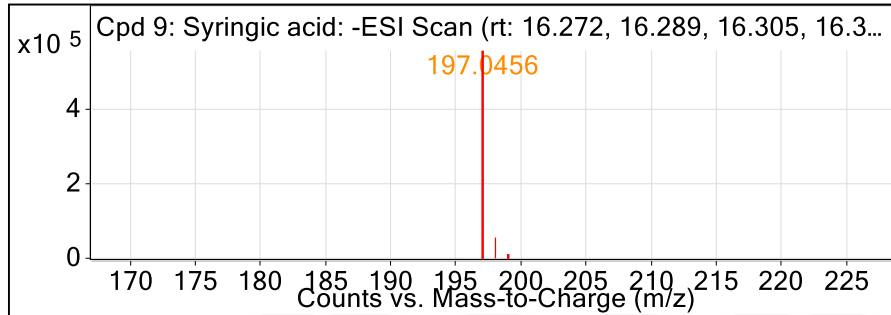
Şekil 4.18. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan epikateşine ait ekstrakte iyon kromatogramı



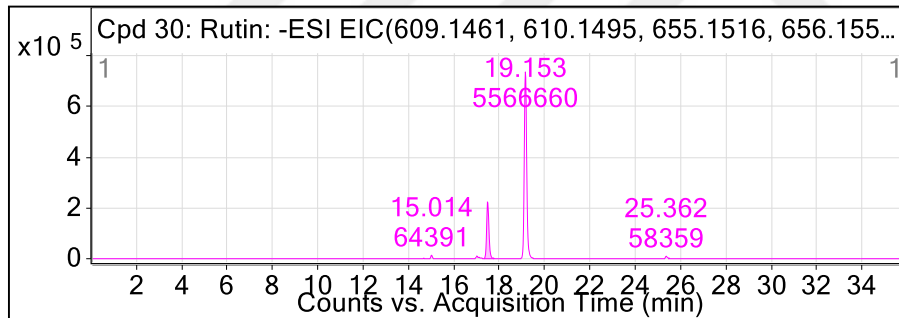
Şekil 4.19. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan epikateşine ait MS spektrumu



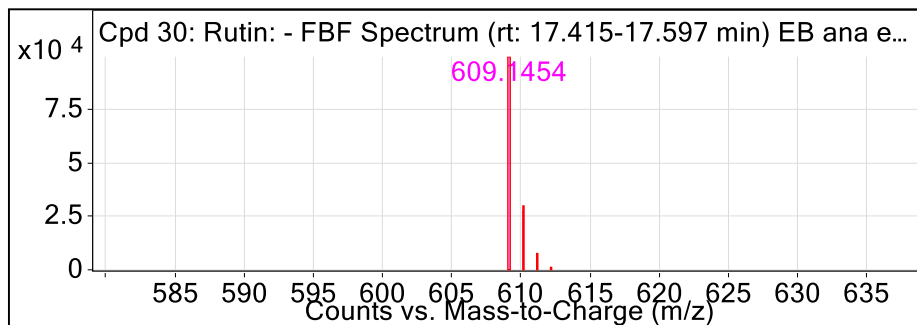
Şekil 4.20. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan sirinjik asite ait ekstrakte iyon kromatogramı



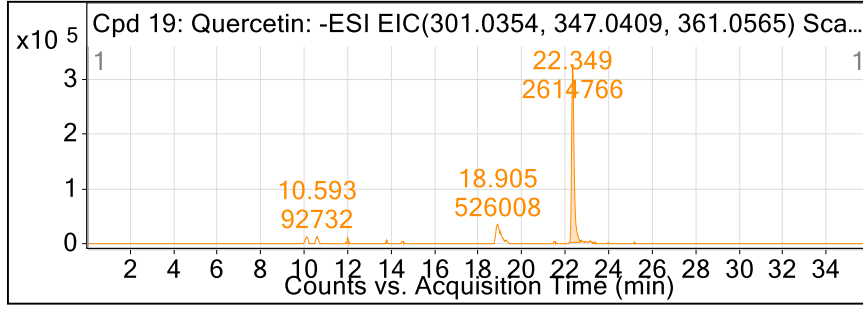
Şekil 4.21. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan sirinjik asite ait MS spektrumu



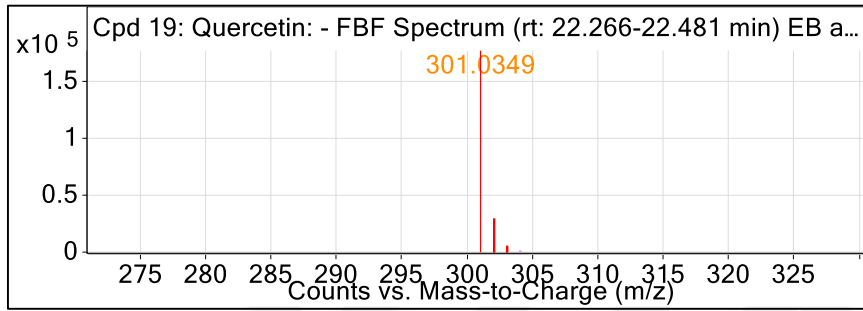
Şekil 4.22. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan rutine ait ekstrakte iyon kromatogramı



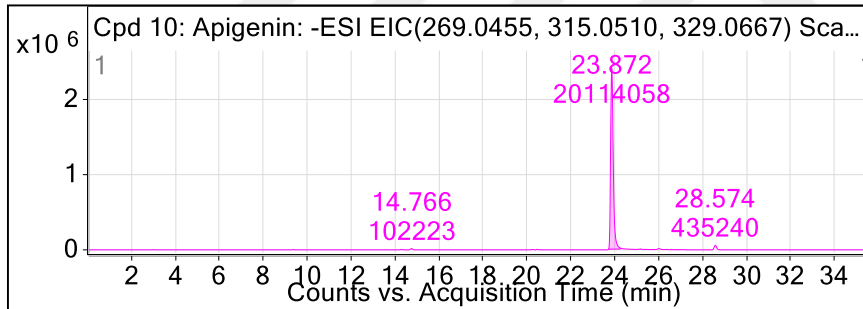
Şekil 4.23. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan rutine ait MS spektrumu



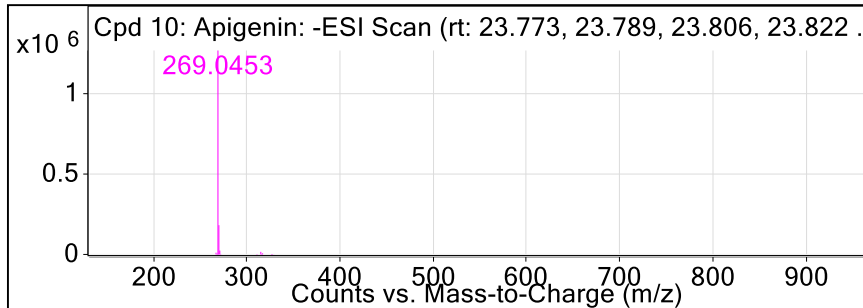
Şekil 4.24. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan kersetine ait ekstrakte iyon kromatogramı



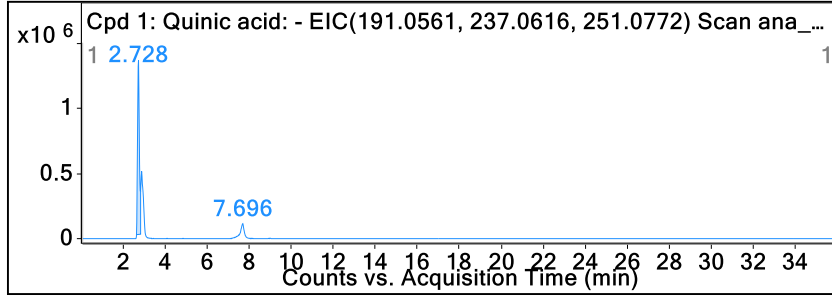
Şekil 4.25. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan kersetine ait MS spektrumu



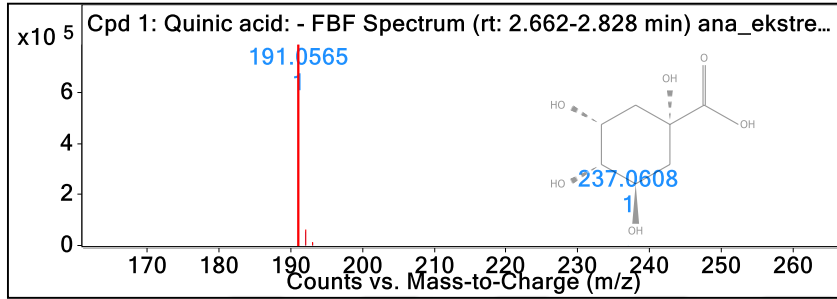
Şekil 4.26. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan apigenine ait ekstrakte iyon kromatogramı



Şekil 4.27. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan apigenine ait MS spektrumu

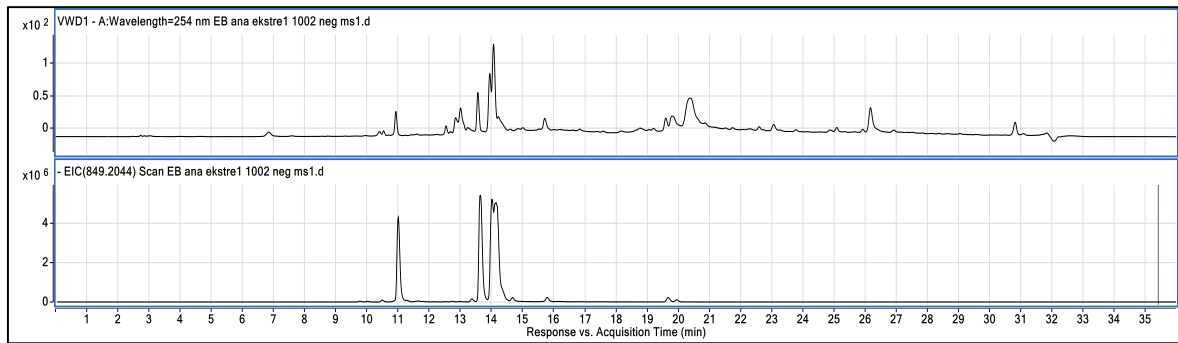


Şekil 4.28. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan kinik asite ait ekstrakte iyon kromatogramı

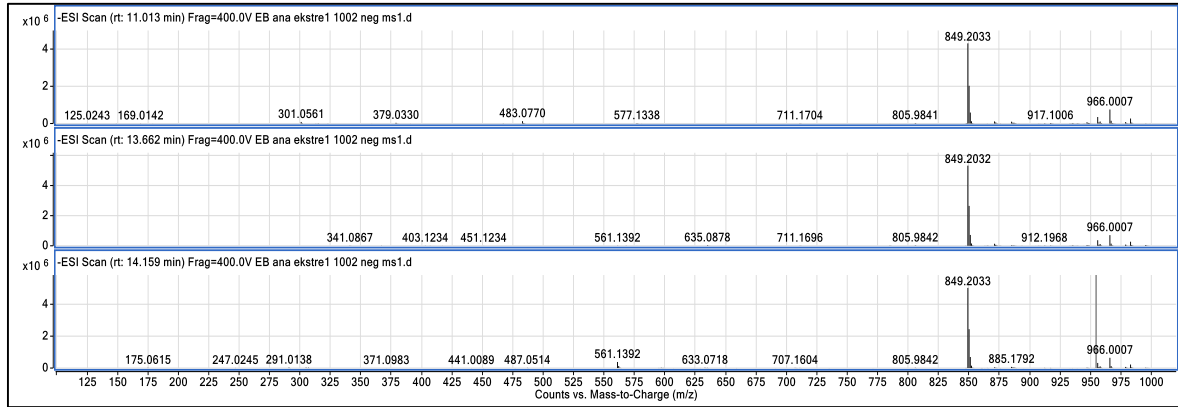


Şekil 4.29. EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda bulunan kinik asite ait MS spektrumu

EB etanol ekstresinden KK ile elde edilen aktif fraksiyonlar olan EB-2, EB-3 ve EB-4 üzerinde yaptığımız LC-MS-MS analizleri, bu fraksiyonların ana ekstre ile benzer bileşikleri içerdiğini göstermiş, ancak bahsi geçen fraksiyonlarda ana ekstreye göre daha belirgin olduğu gözlenen bir bileşik grubu daha bulunduğunu göstermiştir (Şekil 4.30 ve 4.31). MS spektrumuna göre bu aralıktaki bileşiklerin molekül ağırlıklarının 850'den fazla olması ve cihazın kütüphanesi ile literatürdeki MS verilerinin karşılaştırılması; bunların yüksek ihtimalle prosiyanidin türevi bileşikler olabileceğine işaret etmiştir (Lin, Sun, Chen, Monagas ve Harnly, 2014; Chen ve diğerleri, 2018).



Şekil 4.30. EB aktif fraksiyonlarında (2-4) bulunan bileşiklere ait ekstrakte iyon kromatogramı



Şekil 4.31. EB aktif fraksiyonlarında (2-4) bulunan bileşiklere ait MS spektrumları

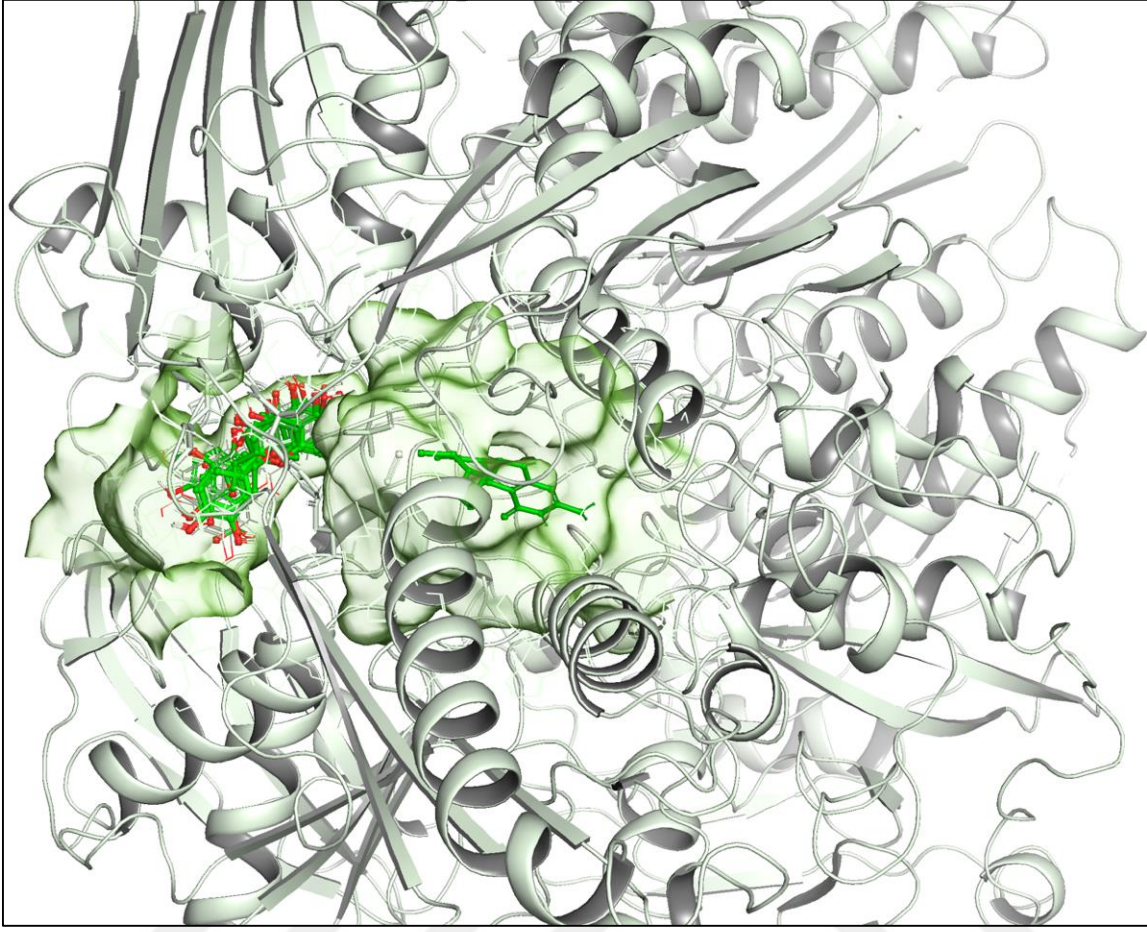
Sonuç olarak EB etanol ekstresi ile aktif fraksiyonlarda LC-MS-MS (Q-TOF) analizi sonucu bulunduğu tespit edilen bileşikler toplu halde Çizelge 4.9.'da verilmektedir.

Çizelge 4.9. EB etanol ekstresi ile aktif fraksiyonlarda LC-MS-MS (Q-TOF) analizi sonucu bulunan bileşikler

Bileşik	R _t (dk)	Kapalı formül	Hesaplanan kütle (M-H) ⁺	Bulunan kütle
Kinik asit	2,7	C ₇ H ₁₂ O ₆	191,0561	191,0565
Gallik asit	6,9	C ₇ H ₆ O ₅	169,0142	169,0144
3,4-Dihidroksi benzoik asit	10,4	C ₇ H ₆ O ₄	153,0193	153,0193
Kateşin	12,4	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289,0717	289,0715
Kafeik asit	14,5	C ₉ H ₈ O ₄	179,0498	179,0349
Epikateşin	14,5	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289,0717	289,0717
Sirinjik asit	16,4	C ₉ H ₁₀ O ₅	197,0455	197,0456
Rutin	19,1	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609,1461	609,1454
Kersetin	22,3	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	301,0354	301,0349
Luteolin	22,8	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	285,0404	285,04
Apigenin	23,8	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	269,0455	269,0453

4.4. Moleküler Doklama Deneylerine Ait Bulgular

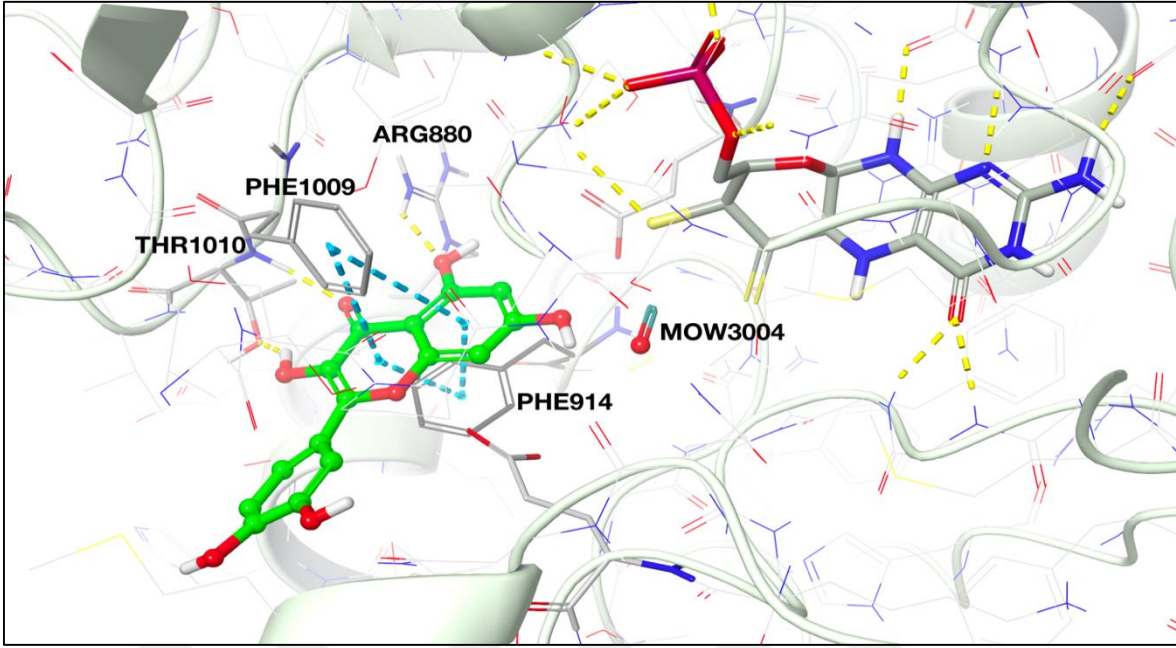
Bileşiklerin KO proteini ile etkileşimlerinin moleküler seviyede incelenmesi amacıyla moleküler doklama çalışmaları gerçekleştirilmiştir. *In vitro* KO inhibisyon çalışmaları bovin (büyükbaş hayvan) sütü kaynaklı KO ile yapıldığından, reseptör olarak oksipurinol bağlı yine aynı kaynaklı KD (XDH; PDB kodu: 3BDJ) seçilmiştir. Protein çözülünmüş X-ışını kristal yapısında molibden ve kofaktör olarak molibdopterin (Mo) içermektedir. Moleküler doklama deneylerimizin sonuçlarına göre test edilen tüm bileşikler, substratın aktif bölgeye girişine olanak veren dar kanal boyunca yer almakta, aktif bölge etkileşimleri için gerekli olduğu bildirilen etkileşimleri sağlamalarına rağmen, oksipurinolden farklı olarak; kofaktör olan Mo ile doğrudan etkileşim göstermemişlerdir (Şekil 4.32).



Şekil 4.32. Bileşiklerin kofaktör olan Mo ile etkileşimi

4.4.1. Kersetine ait bulgular

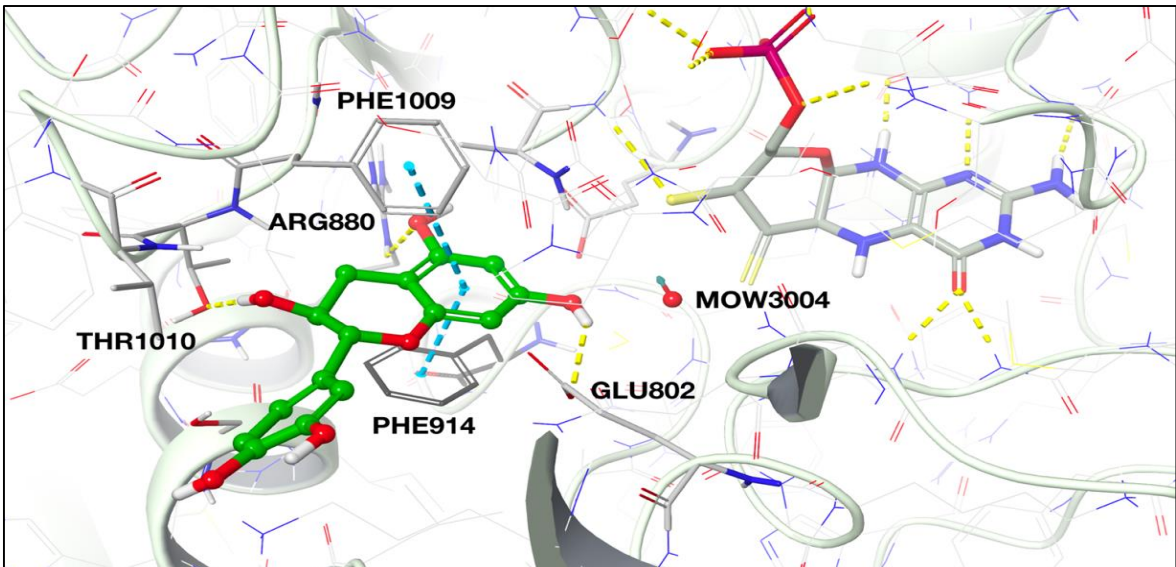
Kersetin için elde edilen bağlanma moduna göre, X-ışını ko-ligandı oksipurinol ile benzerlik göstererek, Mo kofaktörünün yer aldığı ve hidrofobik etkileşimlerin önemli olduğu bölgeye yerleştiği görülmektedir. Bileşik, kromon halkası ile Phe914 ve Phe1009 amino asitleri arasında π - π etkileşimleri yaparken, kromon halkasının 5. konumundaki hidroksil grubu ile Arg880 amino asiti arasında bir hidrojen bağı oluşturmaktadır (Şekil 4.33). Bunun yanında, yine kromon halkasının 3. konumundaki hidroksil grubu ve 4. konumdaki karbonil oksijen atomu, Thr1010 amino asiti ile hidrojen bağları üzerinden etkileşerek protein:inhibitör kompleksini stabilize etmektedir. Kersetin için bağlanma enerjisi -11.814 kkal/mol olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.33. Kersetin için protein-ligant etkileşimi

4.4.2. Kateşine ait bulgular

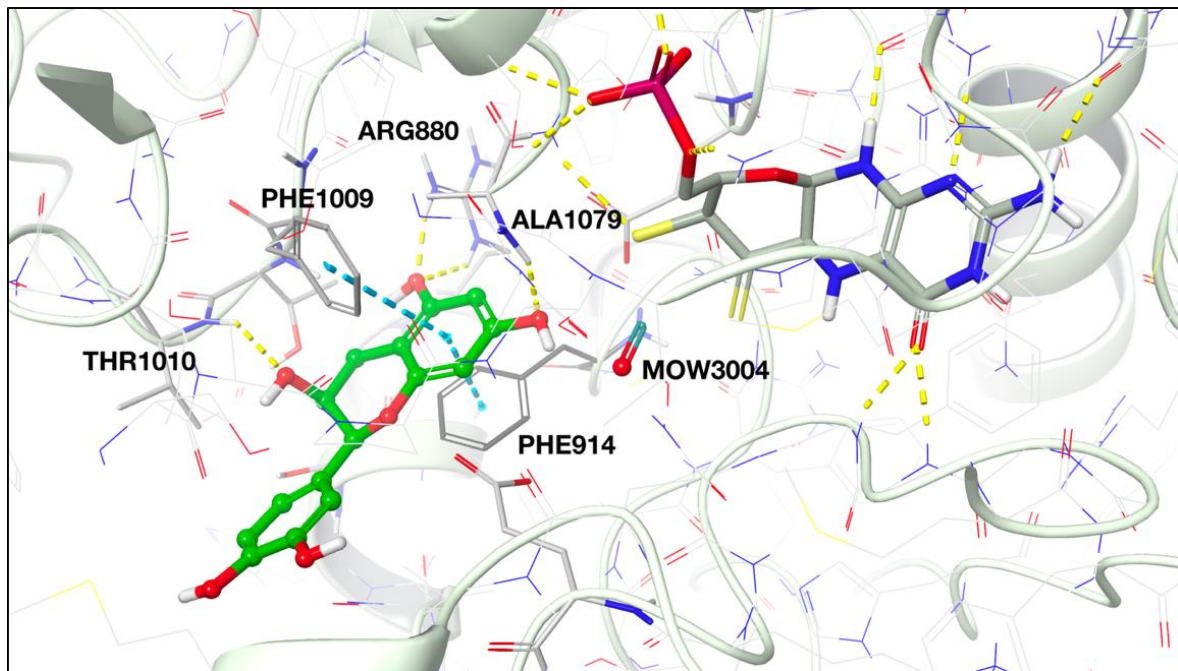
Kateşin için elde edilen bağlanma moduna göre, kromen halkası ile Phe914 ve Phe1009 amino asitleri arasında π - π etkileşimleri yapmaktadır (Şekil 4.34). Aromatik etkileşimlerin yanında, kromen halkasının 5. konumundaki hidroksil grubu ile Arg880 amino asiti, 7. konumda yer alan hidroksil grubu ile Glu802 amino asiti ve 3. konumundaki hidroksil grubu ile Thr1010 amino asiti arasında hidrojen bağları üzerinden etkileşmektedir. Kateşin için bağlanma enerjisi -9.461 kkal/mol olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.34. Kateşin için protein-ligant etkileşimi

4.4.3. Epikateşine ait bulgular

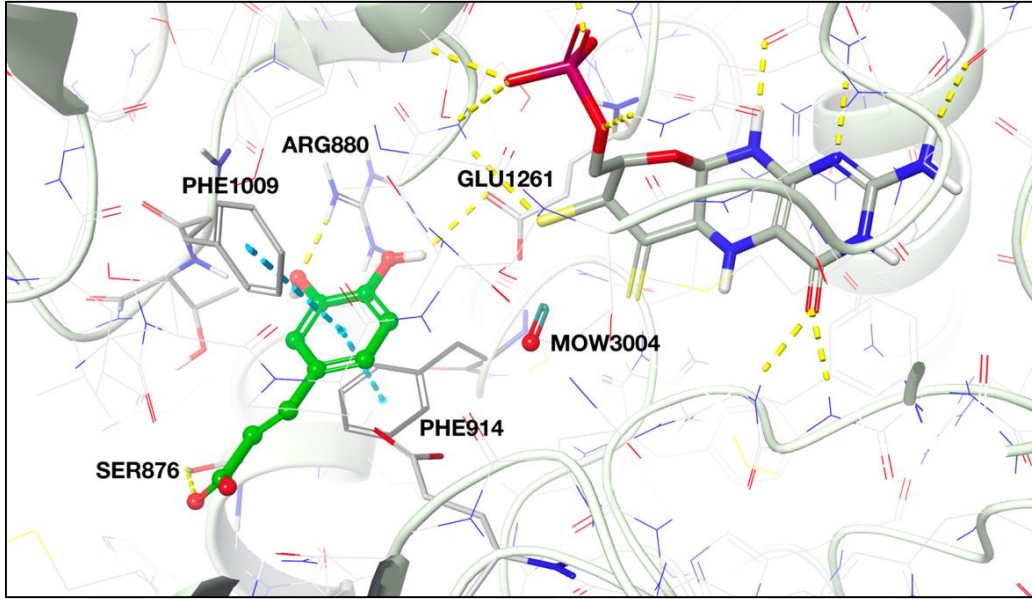
Epikateşin için elde edilen bağlanma moduna göre, kromen halkası ile Phe914 ve Phe1009 amino asitleri arasında π - π etkileşimleri yapmaktadır (Şekil 4.35). Aromatik etkileşimlerin yanında, kromen halkasının 5. konumundaki hidroksil grubu ile Arg880 amino asiti, 7. konumda yer alan hidroksil grubu ile Ala1079 amino asiti ve 3. konumundaki hidroksil grubu ile Thr1010 amino asiti arasında hidrojen bağları üzerinden etkileşmektedir. Epikateşin için bağlanma enerjisi -10.150 kkal/mol olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.35. Epikateşin için protein-ligant etkileşimi

4.4.4. Kafeik asite ait bulgular

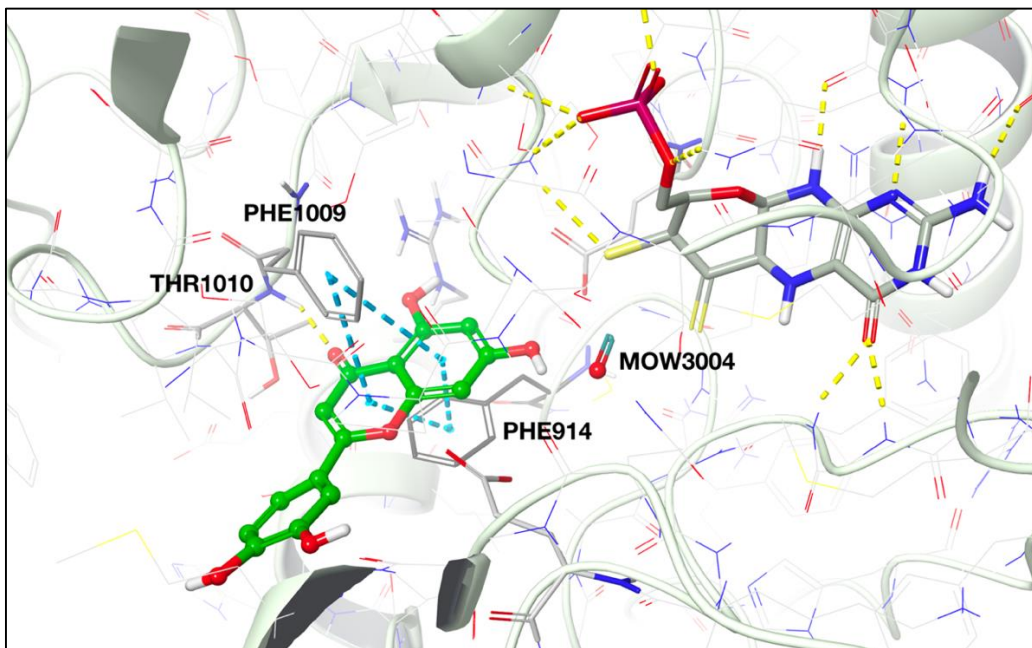
Kafeik asit için elde edilen bağlanma moduna göre, fenil halkası ile Phe914 ve Phe1009 amino asitleri arasında yaptığı π - π etkileşimlerine ek olarak fenil halkasının 3. konumundaki hidroksil grubu ile Arg880 amino asiti, 4. konumda yer alan hidroksil grubu ile Glu1261 amino asiti arasında hidrojen bağları üzerinden etkileştiği gözlenmiştir (Şekil 4.36). Fenil halkasına bağlı propenoik asit kalıntısı ile de Ser876 amino asiti arasında meydana gelen hidrojen bağı, bileşiğin kanal girişi tutunmasına olanak vermiştir. Kateşin için bağlanma enerjisi -6.497 kkal/mol olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.36. Kafeik asit için protein-ligant etkileşimi

4.4.5. Luteoline ait bulgular

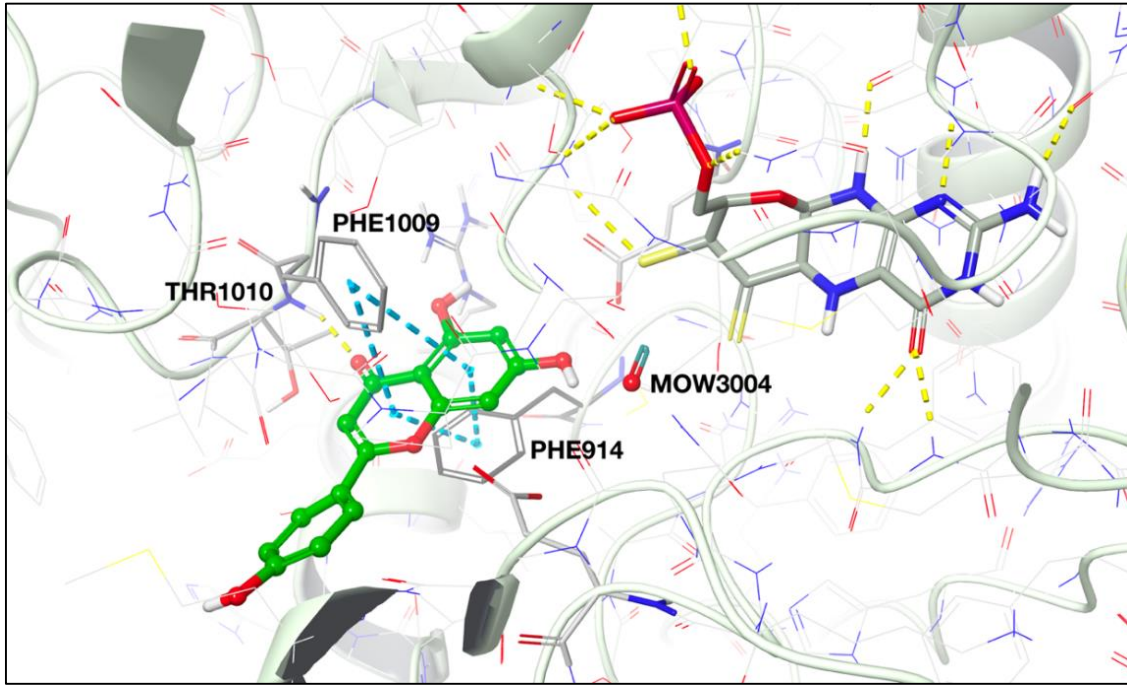
Luteolin için elde edilen bağlanma moduna göre, kromon halkası ile Phe914 ve Phe1009 amino asitleri arasında yaptığı π - π etkileşimlerine ek olarak kromon halkasının 4. konumunda yer alan karbonil oksijeni ile Thr1010 amino asiti arasında hidrojen bağı üzerinden etkileşim gözlenmiştir (Şekil 4.37). Luteolin için bağlanma enerjisi -11.223 kkal/mol olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.37. Luteolin için protein-ligant etkileşimi

4.4.6. Apigenine ait bulgular

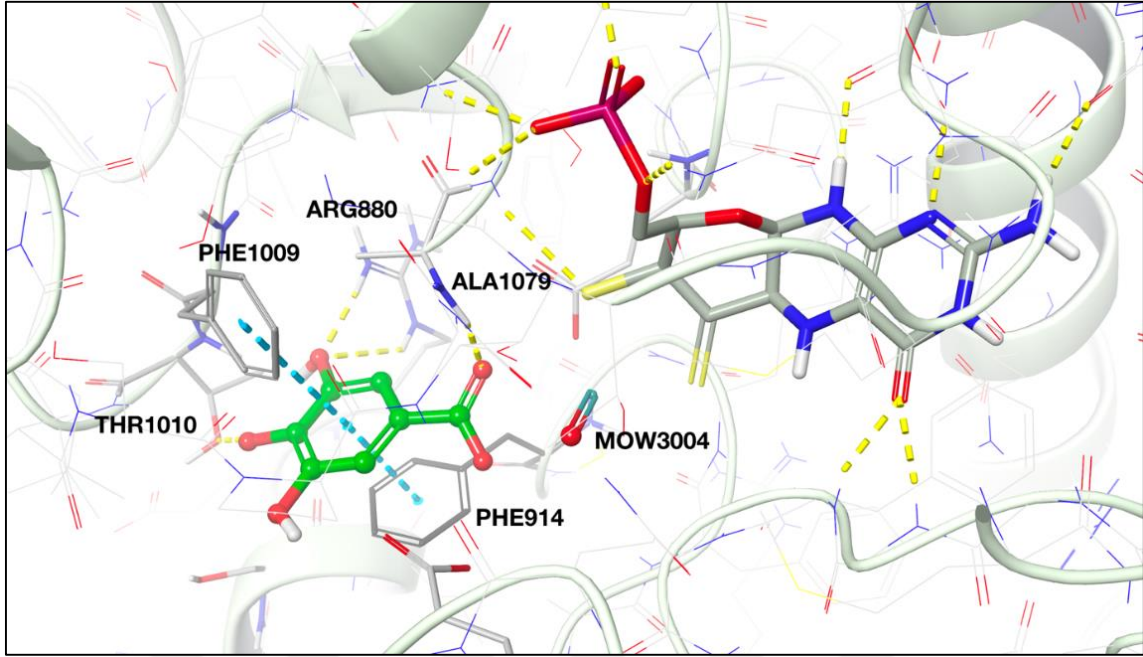
Apigenin için elde edilen bağlanma moduna göre, kromon halkası ile Phe914 ve Phe1009 amino asitleri arasında yaptığı π - π etkileşimlerine ek olarak kromon halkasının 4. konumunda yer alan karbonil oksijeni ile Thr1010 amino asiti arasında hidrojen bağı üzerinden etkileşim gözlenmiştir (Şekil 4.38). Apigenin için bağlanma enerjisi -9.081 kkal/mol olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.38. Apigenin için protein-ligant etkileşimi

4.4.7. Gallik asite ait bulgular

Gallik asit için elde edilen bağlanma moduna göre, fenil halkası, Phe914 ve Phe1009 amino asitleri ile π - π etkileşimleri meydana getirirken 4. konumunda yer alan hidroksil oksijeni ile Thr1010 amino asidi arasında ve 1. konumda yer alan karbonil oksijeni ile Ala1079 amino asidi arasında iki hidrojen bağı elde edilmiştir (Şekil 4.39). Gallik asit için bağlanma enerjisi -8.776 kkal/mol olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.39. Gallik asit için protein-ligant etkileşimi

4.5. *In Silico* Biyolojik Aktivite Analizleri Bulguları

PASS programında olasılıklar P_a (probability to be active) ve P_i (probability to be inactive) değerleri üzerinden verilmektedir. Değerlerin “ $P_a > P_i$ ” şeklinde olması ve iki değer arasındaki farkın fazla olması, sözkonusu biyolojik aktivite için olasılığı artırmaktadır. Swiss Target Prediction programında ise sözkonusu biyolojik aktivite için olasılıklar doğrudan % cinsinden verilmektedir.

Swiss Target Prediction programı ile biyolojik aktivite değerlendirmeleri yapıldığında, program kateşin ve epikateşin için hedef tahmini yapamamıştır. Diğer tüm bileşikler için ise, doğrudan KO’a yönelik bir hedef tahmini saptanamamıştır. Bununla birlikte, KD’nın KO’a dönüştüğü bilindiği için, KD inhibisyonu göz önüne alınmıştır. Swiss Target Prediction programı apigenin, luteolin ve kersetinin KD’ı hedef alabileceğini %100 olasılıkla tahmin ederken, rutin için bu hedef %13 olarak bulunmuştur (Şekil 4.40 – Şekil 4.46).

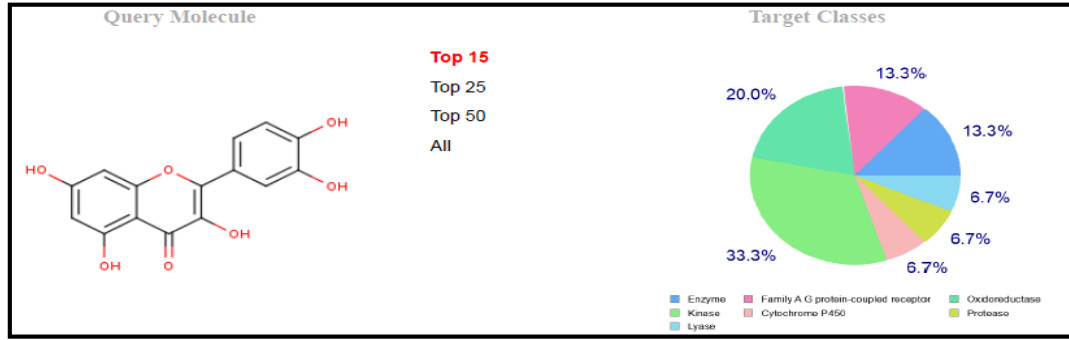
İncelenen bileşiklerin PASS programından elde edilen KO inhibitör aktivite olasılıkları karşılaştırıldığında, kersetinin en yüksek olasılığı (% 79), kafeik asidin ise en düşük olasılığı (%36) taşıdığı belirlenmiştir. İncelenen tüm bileşikler için KO inhibitör aktivite gösterme tahmin olasılığı; kersetin (% 79,4) > rutin (% 66,8) > luteolin (% 65,7) >

apigenin (% 60,1) > gallik asit (% 48,1) > sirinjik asit (% 38,9) > kateşin (% 38,6) = epikateşin (% 38,6) > kafeik asit (% 35,9) olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar, bahsi geçen bileşikler için *in vitro* enzim inhibisyonu deney sonuçlarımız ile de tutarlılık göstermektedir.

Aynı programda KD inhibitör aktivite olasılıkları değerlendirilmiş, rutin en yüksek olasılığı (% 97), kafeik asidin en düşük olasılığı (% 12) taşıdığı belirlenmiştir. İncelenen tüm bileşikler için KD inhibitör aktivite gösterme tahmin olasılığı; rutin (% 97,4) > kersetin (% 77,3) > luteolin (% 61,1) > apigenin (% 49,6) > kateşin (% 48,4) = epikateşin (% 48,4) > gallik asit (% 30,8) > sirinjik asit (% 27,7) > kafeik asit (% 12,1) olarak bulunmuştur.

SwissTargetPrediction						
Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability*	Known actives (3D/2D)
NADPH oxidase 4	NOX4	Q9NPH5	CHEMBL1250375	Enzyme	1.0	7 / 8
Vasopressin V2 receptor	AVPR2	P30518	CHEMBL1790	Family A G protein-coupled receptor	1.0	1 / 1
Aldose reductase	AKR1B1	P15121	CHEMBL1900	Enzyme	1.0	17 / 72
Xanthine dehydrogenase	XDH	P47989	CHEMBL1929	Oxidoreductase	1.0	12 / 20
Monoamine oxidase A	MAOA	P21397	CHEMBL1951	Oxidoreductase	1.0	4 / 14
Insulin-like growth factor I receptor	IGF1R	P08069	CHEMBL1957	Kinase	1.0	3 / 3
Tyrosine-protein kinase receptor FLT3	FLT3	P36888	CHEMBL1974	Kinase	1.0	5 / 7
Cytochrome P450 19A1	CYP19A1	P11511	CHEMBL1978	Cytochrome P450	1.0	5 / 18
Epidermal growth factor receptor erbB1	EGFR	P00533	CHEMBL203	Kinase	1.0	5 / 28
Thrombin	F2	P00734	CHEMBL204	Protease	1.0	11 / 3
Carbonic anhydrase II	CA2	P00918	CHEMBL205	Lyase	1.0	6 / 15
Serine/threonine-protein kinase PIM1	PIM1	P11309	CHEMBL2147	Kinase	1.0	7 / 7
Arachidonate 5-lipoxygenase	ALOX5	P09917	CHEMBL215	Oxidoreductase	1.0	5 / 46
Serine/threonine-protein kinase Aurora-B	AURKB	Q96GD4	CHEMBL2185	Kinase	1.0	3 / 4
Dopamine D4 receptor	DRD4	P21917	CHEMBL219	Family A G protein-coupled receptor	1.0	1 / 1

Şekil 4.40. Swiss Target Prediction programı ile kersetine ait *in silico* biyolojik aktivite taraması (1)

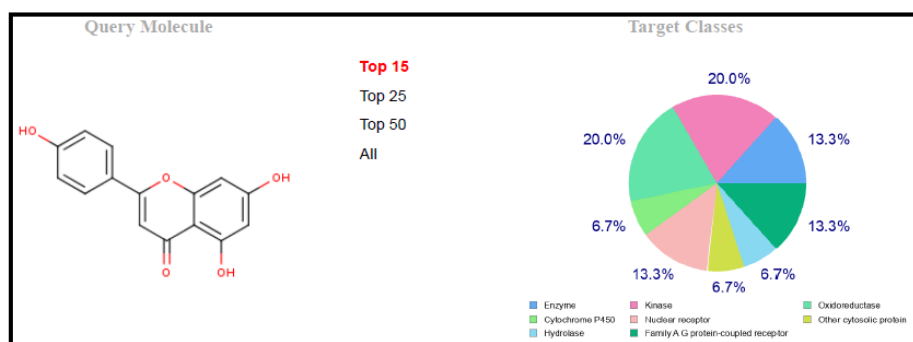


Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability*	Known actives (3D/2D)
NADPH oxidase 4	NOX4	Q9NPH5	ChEMBL1250375	Enzyme		2 / 8
Vasopressin V2 receptor	AVPR2	P30518	ChEMBL1790	Family A G protein-coupled receptor		1 / 1
Aldose reductase	AKR1B1	P15121	ChEMBL1900	Enzyme		17 / 72
Xanthine dehydrogenase	XDH	P47989	ChEMBL1929	Oxidoreductase		12 / 20
Monoamine oxidase A	MAOA	P21397	ChEMBL1951	Oxidoreductase		4 / 14
Insulin-like growth factor I receptor	IGF1R	P08069	ChEMBL1957	Kinase		3 / 3
Tyrosine-protein kinase receptor FLT3	FLT3	P36888	ChEMBL1974	Kinase		5 / 7
Cytochrome P450 19A1	CYP19A1	P11511	ChEMBL1978	Cytochrome P450		5 / 18
Epidermal growth factor receptor erbB1	EGFR	P00533	ChEMBL203	Kinase		5 / 28
Thrombin	F2	P00734	ChEMBL204	Protease		11 / 3
Carbonic anhydrase II	CA2	P00918	ChEMBL205	Lyase		6 / 15
Serine/threonine-protein kinase PIM1	PIM1	P11309	ChEMBL2147	Kinase		2 / 7
Arachidonate 5-lipoxygenase	ALOX5	P09917	ChEMBL215	Oxidoreductase		5 / 46

Şekil 4.41. Swiss Target Prediction programı ile kersetine ait *in silico* biyolojik aktivite taraması (2)

Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability*	Known actives (3D/2D)
NADPH oxidase 4	NOX4	Q9NPH5	CHEMBL1250375	Enzyme	1.0	6 / 8
Aldose reductase (by homology)	AKR1B1	P15121	CHEMBL1900	Enzyme	1.0	17 / 70
Cyclin-dependent kinase 5/CDK5	CDK5R1 CDK5	Q15078 Q00535	CHEMBL1907600	Kinase	1.0	6 / 18
Xanthine dehydrogenase	XDH	P47989	CHEMBL1929	Oxidoreductase	1.0	12 / 20
Monoamine oxidase A	MAOA	P21397	CHEMBL1951	Oxidoreductase	1.0	6 / 26
Tyrosine-protein kinase receptor FLT3	FLT3	P36888	CHEMBL1974	Kinase	1.0	6 / 7
Cytochrome P450 19A1	CYP19A1	P11511	CHEMBL1978	Cytochrome P450	1.0	6 / 19
Estrogen receptor alpha	ESR1	P03372	CHEMBL206	Nuclear receptor	1.0	76 / 49
Cyclin-dependent kinase 1/cyclin B	CCNB3 CDK1 CCNB1 CCNB2	Q8WWL7 P06493 P14635 O95067	CHEMBL2094127	Other cytosolic protein	1.0	4 / 12
Acetylcholinesterase	ACHE	P22303	CHEMBL220	Hydrolase	1.0	4 / 26
Adenosine A1 receptor (by homology)	ADORA1	P30542	CHEMBL226	Family A G protein-coupled receptor	1.0	6 / 23
Cyclooxygenase-2	PTGS2	P35354	CHEMBL230	Oxidoreductase	1.0	2 / 11
Estrogen receptor beta	ESR2	Q92731	CHEMBL242	Nuclear receptor	1.0	96 / 52
Cyclin-dependent kinase 6	CDK6	Q00534	CHEMBL2508	Kinase	1.0	3 / 4

Şekil 4.42. Swiss Target Prediction programı ile apigenine ait *in silico* biyolojik aktivite taraması (1)

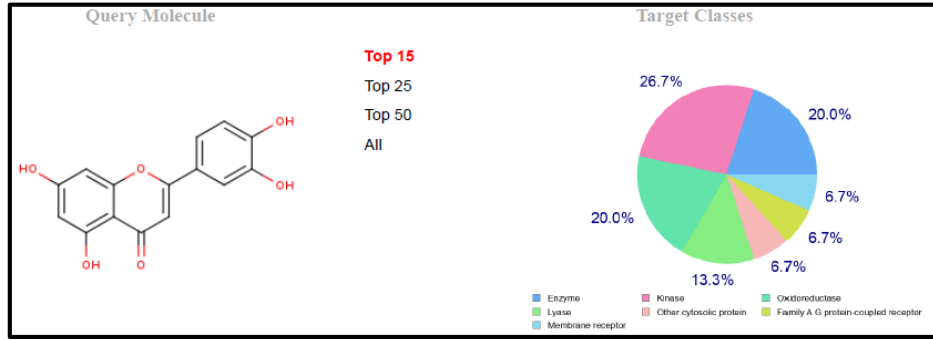


Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability*	Known actives (3D/2D)
NADPH oxidase 4	NOX4	Q9NPH5	CHEMBL1250375	Enzyme		6 / 8
Aldose reductase (by homology)	AKR1B1	P15121	CHEMBL1900	Enzyme		17 / 70
Cyclin-dependent kinase 5/CDK5 activator 1	CDK5R1 CDK5	Q15078 Q00535	CHEMBL1907600	Kinase		6 / 18
Xanthine dehydrogenase	XDH	P47989	CHEMBL1929	Oxidoreductase		12 / 20
Monoamine oxidase A	MAOA	P21397	CHEMBL1951	Oxidoreductase		6 / 26
Tyrosine-protein kinase receptor FLT3	FLT3	P36888	CHEMBL1974	Kinase		6 / 7
Cytochrome P450 19A1	CYP19A1	P11511	CHEMBL1978	Cytochrome P450		6 / 19
Estrogen receptor alpha	ESR1	P03372	CHEMBL206	Nuclear receptor		76 / 49
Cyclin-dependent kinase 1/cyclin B	CCNB3 CDK1 CCNB1 CCNB2	Q8WWL7 P06493 P14635 O95067	CHEMBL2094127	Other cytosolic protein		4 / 12
Acetylcholinesterase	ACHE	P22303	CHEMBL220	Hydrolase		4 / 26

Şekil 4.43. Swiss Target Prediction programı ile apigenine ait *in silico* biyolojik aktivite taraması (2)

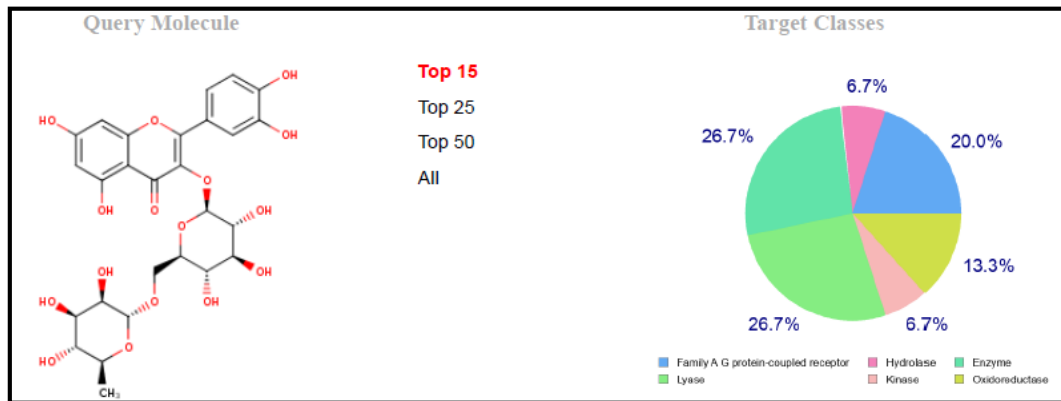
SwissTargetPrediction						
Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability*	Known actives (3D/2D)
NADPH oxidase 4	NOX4	Q9NPH5	CHEMBL1250375	Enzyme	1.0	7 / 8
Aldose reductase	AKR1B1	P15121	CHEMBL1900	Enzyme	1.0	17 / 71
Cyclin-dependent kinase 5/CDK5 activator 1	CDK5R1 CDK5	Q15078 Q00535	CHEMBL1907600	Kinase	1.0	6 / 18
Xanthine dehydrogenase	XDH	P47989	CHEMBL1929	Oxidoreductase	1.0	12 / 20
Monoamine oxidase A	MAOA	P21397	CHEMBL1951	Oxidoreductase	1.0	5 / 18
Tyrosine-protein kinase receptor FLT3	FLT3	P36888	CHEMBL1974	Kinase	1.0	5 / 7
Carbonic anhydrase II	CA2	P00918	CHEMBL205	Lyase	1.0	8 / 14
Cyclin-dependent kinase 1/cyclin B	CCNB3 CDK1 CCNB1 CCNB2	Q8WWL7 P06493 P14635 O95067	CHEMBL2094127	Other cytosolic protein	1.0	4 / 11
Arachidonate 5-lipoxygenase	ALOX5	P09917	CHEMBL215	Oxidoreductase	1.0	5 / 47
Adenosine A1 receptor (by homology)	ADORA1	P30542	CHEMBL226	Family A G protein-coupled receptor	1.0	6 / 23
Carbonic anhydrase VII	CA7	P43166	CHEMBL2326	Lyase	1.0	8 / 11
Glyoxalase I	GLO1	Q04760	CHEMBL2424	Enzyme	1.0	3 / 4
Beta amyloid A4 protein	APP	P05067	CHEMBL2487	Membrane receptor	1.0	2 / 12
Tyrosine-protein kinase SYK	SYK	P43405	CHEMBL2599	Kinase	1.0	3 / 3

Şekil 4.44. Swiss Target Prediction programı ile luteoline ait *in silico* biyolojik aktivite taraması (1)



Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability*	Known actives (3D/2D)
NADPH oxidase 4	NOX4	Q8NPH5	CHEMBL1250375	Enzyme		2 / 8
Aldose reductase	AKR1B1	P15121	CHEMBL1900	Enzyme		17 / 71
Cyclin-dependent kinase 5/CDK5 activator 1	CDK5R1 CDK5	Q15078 Q00535	CHEMBL1907600	Kinase		6 / 18
Xanthine dehydrogenase	XDH	P47989	CHEMBL1929	Oxidoreductase		12 / 20
Monoamine oxidase A	MAOA	P21397	CHEMBL1951	Oxidoreductase		5 / 18
Tyrosine-protein kinase receptor FLT3	FLT3	P36888	CHEMBL1974	Kinase		5 / 7
Carbonic anhydrase II	CA2	P00918	CHEMBL205	Lyase		8 / 14
Cyclin-dependent kinase 1/cyclin B	CCNB3 CDK1 CCNB1 CCNB2	Q8WWL7 P06493 P14635 Q95067	CHEMBL2094127	Other cytosolic protein		4 / 11
Arachidonate 5-lipoxygenase	ALOX5	P09917	CHEMBL215	Oxidoreductase		5 / 47
Adenosine A1 receptor (<i>by homology</i>)	ADORA1	P30542	CHEMBL226	Family A G protein-coupled receptor		6 / 23

Şekil 4.45. Swiss Target Prediction programı ile luteoline ait *in silico* biyolojik aktivite taraması (2)



Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability*	Known actives (3D/2D)
Quinone reductase 2	NQO2	P16083	CHEMBL3959	Enzyme		1 / 1
Ribosomal protein S6 kinase alpha 3	RPS6KA3	P51812	CHEMBL2345	Kinase		7 / 19
Xanthine dehydrogenase	XDH	P47989	CHEMBL1929	Oxidoreductase		2 / 16
Lymphocyte differentiation antigen CD38	CD38	P28907	CHEMBL4660	Enzyme		0 / 2
Cyclooxygenase-2	PTGS2	P35354	CHEMBL230	Oxidoreductase		1 / 4

Şekil 4.46. Swiss Target Prediction programı ile rutine ait *in silico* biyolojik aktivite taraması

PASS programında EB etanol ekstresinde tespit edilen bileşikler için Swiss Target Prediction ve Pass program taramaları yapılmış olmasına rağmen, burada örnek olarak sadece kersetin ve luteolin için sonuç verilmektedir. Kersetin için toplam 11 sayfa olasılık verisi elde edilmiş olup, özet olarak olasılık verisi Şekil 4.47’de verilmektedir:

0,973	0,002	Membrane integrity agonist
0,969	0,002	HIF1A expression inhibitor
0,957	0,002	HMOX1 expression enhancer
0,924	0,007	CYP2C12 substrate
0,909	0,001	CYP1A1 inhibitor
0,900	0,005	Ubiquinol-cytochrome-c reductase inhibitor
0,895	0,002	Histidine kinase inhibitor
0,857	0,004	UDP-glucuronosyltransferase substrate
0,853	0,001	Testosterone 17beta-dehydrogenase inhibitor
0,850	0,002	NOS2 expression inhibitor
0,844	0,008	TP53 expression enhancer
0,831	0,005	CYP3A4 inducer
0,824	0,004	Vasoprotector
0,815	0,002	UGT1A8 substrate
0,797	0,002	SULT1A3 substrate
0,794	0,002	Xanthine oxidase inhibitor
0,792	0,003	Monophenol monooxygenase inhibitor
0,794	0,006	CYP3A inducer
0,789	0,004	Sulfotransferase substrate
0,788	0,004	Lipid peroxidase inhibitor
0,787	0,009	JAK2 expression inhibitor
0,775	0,002	UGT2B15 substrate
0,776	0,004	APOA1 expression enhancer
0,775	0,004	Alcohol dehydrogenase (NADP+) inhibitor
0,773	0,001	Xanthine dehydrogenase inhibitor
0,770	0,001	3-Oxoacyl-[acyl-carrier-protein] synthase

Şekil 4.47. Pass programında luteolin için olasılık verilerinin özet halinde listesi

PASS programında luteolin için toplam 14 sayfa olasılık verisi elde edilmiş olup, özet olarak liste halinde olasılık verisi Şekil 4.48’de verilmektedir:

0,672	0,010	Antiprotozoal (Leishmania)
0,662	0,002	RELA expression inhibitor
0,682	0,023	Feruloyl esterase inhibitor
0,672	0,016	CYP2B6 substrate
0,662	0,006	5 Hydroxytryptamine release inhibitor
0,659	0,004	Mediator release inhibitor
0,657	0,002	Xanthine oxidase inhibitor
0,662	0,010	CYP2A2 substrate
0,657	0,005	Malate dehydrogenase inhibitor
0,666	0,014	Trans-acenaphthene-1,2-diol dehydrogenase inhibitor
0,663	0,013	CYP2B substrate
0,658	0,009	Hepatoprotectant
0,652	0,002	Astringent
0,672	0,023	Glucan endo-1,6-beta-glucosidase inhibitor
0,645	0,003	NF-E2-related factor 2 stimulant
0,642	0,001	Creatine kinase inhibitor
0,648	0,008	Chemopreventive
0,661	0,021	Antiinflammatory
0,652	0,014	NAD(P) ⁺ -arginine ADP-ribosyltransferase inhibitor
0,639	0,002	GABA C receptor antagonist
0,645	0,011	CYP2C11 substrate
0,635	0,002	DOPA decarboxylase inhibitor
0,633	0,004	Chemoprotective
0,636	0,009	CYP2A11 substrate
0,635	0,010	TNF expression inhibitor
0,632	0,009	Radiosensitizer
0,628	0,006	Platelet adhesion inhibitor
0,623	0,001	Hydroxysteroid dehydrogenase inhibitor
0,643	0,021	Nitrate reductase (cytochrome) inhibitor
0,641	0,020	Thioredoxin inhibitor
0,623	0,002	3-Methylbutanal reductase inhibitor
0,644	0,024	Kidney function stimulant
0,634	0,014	CYP2A6 substrate
0,660	0,041	Taurine dehydrogenase inhibitor
0,632	0,015	Caspase 3 stimulant
0,626	0,010	Reductant
0,639	0,023	CYP2C substrate
0,643	0,029	Complement factor D inhibitor
0,618	0,005	Trans-1,2-dihydrobenzene-1,2-diol dehydrogenase inhibitor
0,611	0,002	Xanthine dehydrogenase inhibitor
0,608	0,004	CYP2A5 substrate
0,610	0,006	2,3-Dihydroxyindole 2,3-dioxygenase inhibitor
0,609	0,008	Plastoquinol-plastocyanin reductase inhibitor
0,600	0,003	CTGF expression inhibitor
0,599	0,003	Skin whitener
0,640	0,046	Sugar-phosphatase inhibitor
0,610	0,018	CYP2A substrate
0,591	0,014	Neurotransmitter antagonist
0,591	0,015	CYP2F1 substrate
0,575	0,003	DNA ligase (ATP) inhibitor
0,573	0,001	3-Oxoacyl-[acyl-carrier-protein] synthase inhibitor
0,578	0,007	GST M substrate
0,579	0,009	5 Hydroxytryptamine uptake stimulant
0,570	0,002	Breast cancer-resistant protein inhibitor
0,597	0,030	CYP3A2 substrate

Şekil 4.48. Pass programında kersetin için olasılık verilerinin özet halinde listesi

EB etanol ekstresinde ve fraksiyonlarda tespit edilen bileşikler için Pass programı tarama sonuçları özet halinde Çizelge 4.10 ve 4.11’de verilmektedir:

Çizelge 4.10. KO inhibisyonu için PASS programına göre aktivite olasılık sonuçları

Bileşik	Pa ¹	Pi ²
Kersetin	0,794	0,002
Rutin	0,668	0,002
Luteolin	0,657	0,002
Apigenin	0,601	0,002
Gallik asit	0,481	0,003
Sirinjik asit	0,389	0,004
Kateşin	0,386	0,004
Epikateşin	0,386	0,004
Kafeik asit	0,359	0,005

^aProbability to be active ^bProbability to be inactive

Çizelge 4.11. KD inhibisyonu için PASS programına göre aktivite olasılık sonuçları

Bileşik	Pa ¹	Pi ²
Rutin	0,974	0,001
Kersetin	0,773	0,001
Luteolin	0,611	0,002
Apigenin	0,496	0,002
Kateşin	0,484	0,002
Epikateşin	0,484	0,002
Gallik asit	0,308	0,004
Sirinjik asit	0,277	0,005
Kafeik asit	0,121	0,035

^aProbability to be active ^bProbability to be inactive

4.6. *In Silico* Toksisite Analiz Bulguları

Mutajenite değerlendirme

Araştırılan bileşiklerin mutajenik etki potansiyellerinin tahmini SAR ve QSAR analizleri ile belirlenmiş uzman analizi ile sonuca ulaşılmıştır. Yapılan analizlerde, kersetinin mutajenik olduğu, diğer bileşiklerin mutajenik olmadığı tahmin edilmiştir.

Hepatotoksisite değerlendirme

Kateşin ve epikateşinin hepatotoksik etki gösterebileceği yüksek güvenilirlikle belirlenmiştir. Bununla birlikte, apigenin, luteolin, kersetin ve rutinin de hepatotoksisite gösterebileceği tahmin edilse dahi sonuçların güvenilirlikleri düşük bulunmuştur. Program kafeik asit, gallik asit ve sirinjik asit için ise tahmin oluşturamamıştır.

Genel toksisite deęerlendirmesi

PASS programında elde edilen sonuçlarda en yüksek olasılıkla tahmin edilen ilk üç toksik etki Çizelge 4.12’de özetlenmiştir.

Çizelge 4.12. EB etanol ekstresi ve fraksiyonlarında bulunan bileşiklere ait *in silico* toksisite analiz bulguları

Bileşik	Toksik etki (% olasılık)
Apigenin	Damarlarda toksisite (% 83), titreme (% 83), üreme bozukluğu (% 81)
Kafeik asit	İdrarda renk değişikliği (% 90), hematemezis (% 89), aft (% 88)
Kateşin, Epikateşin	Enflamasyon (% 81), damarlarda toksisite (% 79), hipertansif (% 79)
Gallik asit	Hematemezis (% 94), aft (%93), gastrointestinal kanama (% 89)
Luteolin	Genotoksisite (% 82), üreme bozukluğu (%82), titreme (% 82)
Kersetin	Damarlarda toksisite (%80), titreme (% 77), endokrin bozucu etkiler (% 71)
Rutin	Enflamasyon (%95), sersemlik (% 89), nörotoksisite (% 88)
Sirinjik asit	Gastrointestinal kanama (% 91), hematemezis (% 90), aft (% 89)

5. TARTIŞMA

Yapılan ilaç araştırmaları ile dünyada yeni ilaç adayı moleküllerin keşfinde ve geliştirilmesinde en önemli doğal kaynaklardan olan bitkilerden elde edilen sekonder metabolitler, şu anda klinikte çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan pek çok molekülün öncü maddesi, yarısentetik ve sentetik türevi veya doğrudan kendisi klinik kullanıma kazandırılmıştır (Li ve Vederas, 2009; Yao, Liu, Xu, Zhu ve Xu, 2017). İlaç araştırmalarında doğal kaynak olarak sadece bitkiler değil, hayvanlar, mikroorganizmalar ve deniz canlıları da diğer önemli kaynaklar olarak yoğun bir şekilde kullanılmaktadır (Wright, 2014 ve 2017; Rodrigues, Reker, Schneider, and Schneider, 2016; Ikeda, 2017; Altmann, 2017). Örneğin 1981-2014 yılları arasında bulunan küçük molekül yapısına sahip antibakteriyellerin % 73'ü doğal bileşiklerden veya bunların türevlerinden elde edilmiştir (Newman ve Cragg, 2016). Çünkü doğal kaynaklarda bulunan sekonder metabolitlerin yapısal çeşitliliği, hedef proteinlerin ve metabolit sayısının inanılmaz çokluğu yeni biyoaktif moleküllerin bulunmasına imkan vermektedir. Diğer yandan, doğal kaynaklı ilaç araştırmalarında, bilgisayar-destekli (computer-aided) yöntemlerin uygulamaları da yaygınlaşmaktadır (Stratton, Newman ve Tan, 2015; Prachayasittikul ve diğerleri, 2015; Olğaç, Orhan ve Banoglu, 2017). *In silico* teknikler olarak da adlandırılan bu uygulamalar ile geniş hacimli bileşik kütüphaneleri sanal veya fiziksel olarak robotik (high-throughput screening, HTS) şekilde taranarak, yeni ilaç adayı moleküller tasarlanmaktadır (Sukuru ve diğerleri, 2009; Gu ve diğerleri, 2013; Chen, de Bruyn ve Kirchmair, 2017). Doğal kökenli bileşiklerin taraması için kullanılan kütüphanelerden bazıları orijinal isimleri ve içerdikleri molekül sayıları ile birlikte Çizelge 5.1'de verilmektedir (Chen, de Bruyn ve Kirchmair, 2017).

Çizelge 5.1. Doğal kökenli bileşiklerin aktivite taraması için kullanılan kütüphaneler

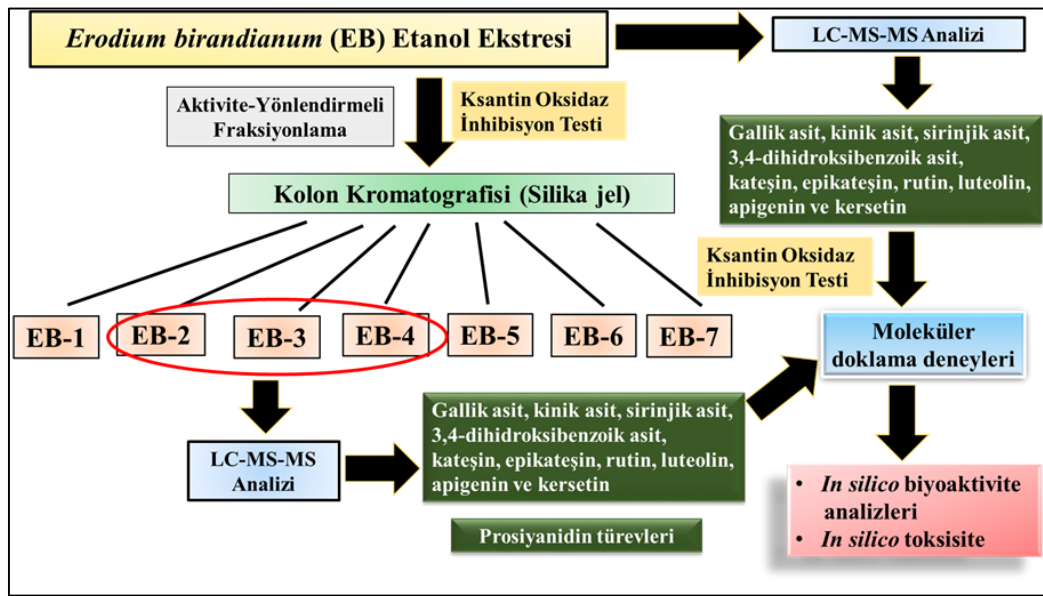
Kütüphane	Molekül sayısı
Dictionary of Natural Products (DNP)	>230.000
Reaxys	>220.000
Super Natural II	>325.000
UNPD	>229.000
TCM database@Taiwan	~50.000
TCMID	>13.000
HIT	>700
AfroDb	~900
AfroCancer	~400
AfroMalariaDB	>250
SANCDDB	>600
NANPDB	>4400
NPACT	~1500
NPCARE	>6500
TIPdb	~9000
Natural Products in PubChem Substance Database	~3000

Çizelge 5.1. (devam) Doğal kökenli bileşiklerin aktivite taraması için kullanılan kütüphaneler

Kütüphane	Molekül sayısı
StreptomeDB	~4000
UEFS Natural Products	~500
NuBBE database	>1800
Carotenoids Database	>1100
AntiBase	>40.000
DMNP	>55.000
MarinLit	>29.000
Chem-TCM	>12.000

Tezimizin araştırma konusu olan KO inhibisyonu da, inhibitörü olan ilaçlar aracılığıyla başlıca gut hastalığı (hiperürisemi) tedavisinde kullanılmasına rağmen, hipertansiyon ve kronik böbrek yetmezliği ile bazı enflamatuvar hastalıkların tedavisinde de başarı vaat etmektedir (Kohagura ve diğerleri, 2016; Bove, Cicero ve Borghi, 2017). Şu ana kadar yapılan araştırmalara bakıldığında ise, başta polifenoller olmak üzere doğal kaynaklı bileşikler, yeni KO inhibitörlerinin bulunmasında oldukça önemli bir rol oynamaktadır (Rathee ve diğerleri, 2009; Yahfoufi, Alsadi, Jambi ve Matar, 2018). Tezimizde ilk önce gereç kısmını oluşturan, Geraniaceae familyasından Türkiye’de yetişen *Erodium* ve *Geranium* taksonlarının (farklı lokasyonlardan toplanan aynı taksona ait örnekler de dahil) etanollü ekstreleri ön taramamıza dahil edilerek KO’ya karşı enzim inhibitör etkileri *in vitro* yöntemle incelenmiştir. Toplam ekstre sayısına bakıldığında yaklaşık % 69’u KO’ya karşı % 50’nin üzerinde inhibisyon göstermiştir ki; bu da yine bitki ekstrelerinden hareketle ilaç adayı moleküllerin keşfinin ne kadar değerli olduğunun altını bir kez daha çizmektedir. Ön tarama sonuçlarımızdan hareketle daha ileri deneyler için bir takson üzerinde yoğunlaşılmasına karar verilmiştir. Bu taksonun da; üzerinde daha önce hiçbir fitokimyasal ve biyolojik aktivite yapılmamış olması, endemik bir tür olması ve KO’ya karşı % 80’in üzerinde inhibisyon göstermesi nedeniyle, *E. birandianum* İlarslan & Yurdakulol (EB) olmasına karar verilmiştir. EB etanol ekstresi KK ile fraksiyonlanmış ve elde edilen 7 fraksiyonun da aynı enzime karşı inhibitör etkisi tayin edilmiştir (Şekil 4.48.). Buna göre, referans ilaç olarak kullanılan allopurinole (% 99,76 ± 3,51) yakın olmak üzere; EB-2 (% 94,19 ± 4,93), EB-3 (% 98,88 ± 2,84) ve EB-4 (% 97,74 ± 3,29) kodlu fraksiyonların % 90’ın üzerinde KO inhibisyonu gösterdiği belirlenmiştir. Daha sonra EB etanol ekstresi ve aktif olan 3 fraksiyonun fitokimyasal içeriğini belirlemek üzere LC-MS-MS analizleri gerçekleştirilmiştir. Analizler sonucunda, ekstre ve 3 fraksiyonda da ortak olmak üzere; kinik asit, gallik asit, kafeik asit, 3,4-dihidroksi benzoik asit, kateşin, epikateşin, sirinjik asit, rutin, kersetin, luteolin ve apigenin bulunduğu belirlenmiştir. Fraksiyonların daha ayrıntılı Q-ToF-MS ile analizi, fraksiyonlarda ana ekstreten daha belirgin bir bileşik

grubunun varlığına da işaret etmiştir ki; cihazın kütüphanesi, kütle spektrumu verileri ve ilgili literatürün detaylıca incelenerek mukayese edilmesi ile elde ettiğimiz sonuçlar bu bileşik grubunun prosiyanidin türevleri olduğuna dikkat çekmektedir. Ana ekstrede ve aktif fraksiyonlarda ortak olarak bulunan bileşiklerden, temin edebildiklerimizin [kateşin, kafeik asit, rutin ve kersetin] KO'a karşı inhibitör etkileri *in vitro* olarak tekrar aynı şekilde test edilmiş ve aralarında en aktif olanın kersetin ($\% 98,03 \pm 2,34$) olduğu ortaya çıkmıştır. Diğerlerinde inhibisyon hiç gözlenmemiş, sadece kafeik asit $\% 21,58 \pm 2,77$ oranında olmak üzere düşük inhibisyona yol açmıştır.



Şekil 5.1. EB ekstresi ve fraksiyonları üzerinde yapılan çalışmalar

Kersetinin ekstreden daha yüksek, ancak aktif fraksiyonlarla neredeyse aynı oranda inhibisyon göstermesi, ilk etapta bize inhibitör aktiviteden sorumlu başlıca bileşik olduğu sonucuna götürmüştür. Bizim sonucumuzla da tutarlı olarak, bitkilerde en yaygın bulunan flavonoidlerden biri olan kersetinin güçlü KO inhibisyonu yaptığını, bu inhibisyonun geri dönüşlü ve karma-tip (mixed-type) inhibisyon olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar mevcuttur (Bindoli, Valente ve Cavallini, 1985; Nagao, Seki ve Kobayashi, 1999; Selloum, Reichl, Müller, Sebihi ve Arnhold, 2001; Paufl ve Hille, 2009; Abbey ve Rankin, 2011; Zhang, Wang, Zhang ve Gong, 2018; Mohos ve diğerleri, 2019). Yine bu sonuç *in silico* moleküler doklama bulgularımızla aynı doğrultuda olup, kersetinin enzimin aktif bölgesine bağlanarak inhibe etmesinde hidrojen bağının çok önemli olduğuna da işaret edilmektedir (Zhang, Wang, Zhang ve Gong, 2018). *In silico* biyolojik aktivite analizlerimiz de kersetinin KO'ın inhibitörü olduğunu destekler niteliktedir.

EB ana ekstresinde ve aktif fraksiyonlarda bulunduğunu tespit ettiğimiz bir diğer flavonoit ise luteolin olup, *in vitro* olarak test edememize rağmen, moleküler doklama analizlerimizde KO'ı inhibe edebilme yeteneği olduğu belirlenmiştir. Başka araştırmacılar tarafından da, luteolinin KO'ı konsantrasyona bağlı olarak farklı oranlarda inhibe ettiği bildirilmiştir (Pauff ve Hille, 2009; Özyürek, Bektaşoğlu, Güçlü ve Apak, 2009; Flemmig, Kuchta, Arnhold ve Rauwald, 2011; Yan, Zhang, Hu ve Ma, 2013; Li ve diğerleri, 2013; Nile, Keum, Nile, Jalde ve Patel, 2018). Moleküler doklama çalışmalarımızda luteolinin kromon halkasının 4. konumunda yer alan karbonil oksijeni ile Thr1010 amino asiti arasında hidrojen bağı üzerinden etkileşim, aynı şekilde Yan, Zhang, Hu ve Ma (2013) tarafından da gösterilmiş olup, *in silico* bulgumuzu desteklemektedir. Luteolin için yaptığımız *in silico* biyolojik aktivite analizlerinde de bu flavonoit için KO'nın inhibitörü olduğu saptanmıştır.

Apigenin, ana ekstre ve aktif fraksiyonlarda varlığını tespit ettiğimiz bir diğer flavonoit türevi olup, yine *in vitro* olarak test edememize rağmen, moleküler doklama analizlerimizde KO'nın aktif bölgesini inhibe edebildiği görülmektedir. Apigeninin KO'nın güçlü bir inhibitörü olduğu daha önce kanıtlanmıştır (Flemmig, Kuchta, Arnhold ve Rauwald, 2011; Nile, Keum, Nile, Jalde ve Patel, 2018). Hatta Çin'de yetişen *Gnaphalium affine* D. Don. ekstresinin KO inhibitör etkisinden sorumlu bileşiklerin luteolin ile birlikte apigenin olduğu bulunmuştur (Lin, Xie, Wu, Yang ve Wang, 2014). *Olea europea* L. bitkisinin standardize ekstresinde bulunan flavonoitler içinde, en yüksek KO inhibitör etkiyi apigenin ve yanı sıra luteolinin gösterdiği bildirilmiştir (Flemmig, Kuchta, Arnhold ve Rauwald, 2011). *In silico* analizlerimizde de, apigenin enzimin aktif kısmına yüksek bağlanma afinitesi göstererek, aynı bileşik üzerindeki *in silico* bulgularımızı doğrulamıştır (Lin, Chen, Chen, Liang ve Lin, 2002). Bulgularımızla aynı doğrultuda, Beyer ve Melzig (2003) apigenin ve kersetinin güçlü KO inhibitörleri olmasına rağmen, kateşinin inhibitör etkisinin çok zayıf olduğunu bildirmiştir. Ren ve diğerleri (2019) de hem *in vitro*, hem de *in silico* yöntemleri kullanarak apigenin, luteolin ve kersetinin KO'ı inhibe ettiğini göstermiştir. Bununla paralel olarak, Hofmann ve diğerleri (2016) tarafından gerçekleştirilen moleküler doklama deneyi sonuçlarına göre; fenoliklerde KO inhibisyonu için en az 3 hidroksil grubunun gerekli olduğu sonucuna varılmıştır.

EB etanol ekstresi ve aktif fraksiyonlarda bulunduğu belirlenen kateşin ve epikateşine baktığımızda, temin edebildiğimiz kateşin *in vitro* olarak test edilmiş, ancak epikateşin test edilememiş, kateşin ise test edilen konsantrasyonda inaktif bulunmuştur. Moleküler doklama analizimizde, kateşin ve epikateşin için enzimin aktif bölgesinde bazı etkileşimler gözlenirse de,

zayıf niteliklidir. *In silico* biyolojik aktivite analizimizde de her iki bileşik için KO inhibisyonuna dair ihtimallerin değeri oldukça düşük bulunmuştur. Diğer yandan kateşin türevlerine bakıldığında, birkaç çalışmada epigallokateşin gallatın zayıf şekilde KO'ı inhibe edebildiği bildirilmiştir (Peluso ve Serafini, 2017). Kongo'da yetişen *Anisophyllea dichostyla* R. Br. bitkisinin fraksiyonları arasında, epikateşin trimerlerince zengin ve 3'-O-metil elajik asit 4'-O-β-D-ksilopiranozit, (+)-kateşin-3-O-β-D-glukopiranozit, epikateşin-(4β-->8)-kateşin prosiyanidin B(1) ve (-)-epikateşin 3-O-gallat taşıyan fraksiyonu, en yüksek KO inhibisyonuna yol açmıştır (Khallouki ve diğerleri, 2007). Yeşil çayda yapılan bir çalışmada, monomer haldeki kateşinin KO'a karşı çok düşük etki gösterdiği, diğer yandan kateşin polimerlerinin KO'ı inhibe etmede daha etkili olduğu tespit edilmiştir ki; bu, bizim kateşinle ilgili bulgumuzla da tutarlıdır (Kurisawa, Chung, Kim, Uyama ve Kobayashi, 2003). Siyah çayda daha yoğun bulunan, flavan-3-ol yapısındaki kateşin polimerleri olan teaflavinlerin de KO'ı inhibe ettikleri bildirilmiştir (Butt ve diğerleri, 2014). Yine bulgularımızla benzer bir şekilde, *Acacia confusa* Merr. bitkisinde bulunan kateşin, kateşin-3-O-ramnopiranozit ve epikateşin gibi kateşin türevlerinin KO inhibitör etkisinin olmadığı, ancak luteolinin aynı enzimi kuvvetli biçimde inhibe ettiği belirlenmiştir (Hsieh ve Chang, 2010).

Aktif fraksiyonlarımızın içinde, LC-MS-MS analizleri ile ana ekstreden daha belirgin pikler veren ve molekül ağırlıkları 850'den fazla olan prosiyanidin türevi bir bileşik grubu bulunduğu tespit edilmiş olduğundan, bu sonuç flavonoitlerin yanısıra prosiyanidinlerin de EB ekstresinin ve fraksiyonlarının KO inhibitör özelliğine katkısı olabileceğine işaret etmiştir. Prosiyanidinlerin KO etkisini inceleyen birkaç çalışma bulunmaktadır. Örneğin trimerik prosiyanidin C1'in, dimerik prosiyanidinler olan B2 ve B5'ten daha güçlü inhibisyona neden olduğu saptanmıştır (Bräunlich ve diğerleri, 2013). Yine ülkemizde "sahil çamı" olarak bilinen *Pinus maritima* Lam. adlı çam türünün gövdesinden elde edilen pknogenol ekstresi, polifenollerce (özellikle prosiyanidinlerce) çok zengin olup, KO'a güçlü bir şekilde bağlanarak inhibe etmiştir (Moini, Guo ve Packer, 2000).

Ekstre ve aktif fraksiyonlarda bulunduğunu teşhis ettiğimiz bir diğer flavonoit türevi olan rutin, *in vitro* deneylerimizde KO'ya karşı inhibitör etki göstermemiştir. Ancak rutin KO'ı inhibe edebilme özelliğini bildiren birkaç çalışma mevcuttur (Song ve diğerleri, 2018; Malik, Dhiman ve Khatkar, 2019). Fakat bu çalışmalarda rutin bizimkine göre oldukça yüksek konsantrasyonda test edilmiştir. Rutinin *in silico* ilaç tasarımı uygulayarak hidrazinlerle hibritlenmesi ile hazırlanan çeşitli türevlerinin rutinden daha aktif inhibitörler olduğu da

gözlenmiştir (Malik, Dhiman ve Khatkar, 2019). Bir başka çalışmada, rutin KO inhibitör etkisi kemferolden çok daha zayıf bulunmuştur (Song ve diğerleri, 2018). de Araujo ve diğerleri (2013) tarafından yapılan bir çalışmada, flavon glikozitlerinin enzimatik hidrolizi yoluyla glikozun kopması ile biyoyararlanımlarının ve biyolojik aktivitelerinin artacağı düşünüldüğü; rutin, α -L-ramnozidaz ile hidroliz edilmiş, ancak bileşiğin KO inhibitör etkisinde herhangi bir değişiklik olmamıştır.

EB etanol ekstresinde ve aktif fraksiyonlarında ortak olduğunu tespit ettiğimiz bileşiklerden bir diğeri olan gallik asitin KO'ı inhibe ettiğine dair çalışmalar mevcuttur (Lespade ve Bercion, 2010; Nile, Keum, Nile, Jalde ve Patel, 2018; Choudhary ve Mishra, 2019). Nile, Keum, Nile, Jalde ve Patel (2018) tarafından çeşitli fenolik bileşikler taranmış ve gallik asitin ($IC_{50} = 0,50 \pm 0,03 \mu M$), referans ilaç olan allopurinolden ($IC_{50} = 4,25 \pm 0,012 \mu M$) daha iyi KO inhibitör etki gösterdiği saptanmıştır. Choudhary ve Mishra (2019), gallik asit, elajik asit, kateşin ve epikateşinin KO'ın katalitik birimlerine, özellikle Glu1261 amino asidine daha fazla afinitesi olduğunu da göstermiştir. Yine EB etanol ekstresi ve fraksiyonlarında bulunan kafeik asitin de KO inhibitör etkisi bildirilmiştir (Chang, Chang, Lu ve Chiang, 1994; Chan, Wen ve Chiang, 1995; Beyer ve Melzig, 2003; Huo ve diğerleri, 2015). Ancak Beyer ve Melzig'in (2003) çalışmasında kafeik asitin KO inhibitör etkisi kersetine göre yaklaşık 30 kat daha zayıf bulunmuştur ki; bu da bizim bulgumuzu desteklemektedir. Ayrıca moleküler doklama deneylerimiz ve *in silico* biyolojik aktivite analizlerimiz, gallik asitin güçlü, kafeik asitin ise zayıf KO inhibitörü olduğuna işaret etmiş ve *in vitro* sonuçlarımızı doğrulamıştır.

EB etanol ekstresinde ve yine aktif fraksiyonlarda da tespit edilen kinik asitin doğrudan kendisinin KO inhibisyonu yaptığına dair bir çalışmaya literatürde henüz rastlanamamıştır. Fakat kinik asitin kaffeoil konjugatlarının KO'ı inhibe edebildiğine dair bazı yayınlar mevcuttur (Kim ve Lee, 2005; Nyugen ve diğerleri, 2006; Zhang, Wu ve Fan, 2018; Mohamed Isa, Ablat ve Mohamad, 2018). Ekstre ve fraksiyonlarda tespit ettiğimiz bir diğer fenolik asit olan sirinjik asitin ise bir çalışmada zayıf KO inhibitör etkisi, diğerinde ise inaktif olduğuna dair sonuçlar bildirilmiştir (Kong, Abliz, Zhou, Li, Cheng ve Tan, 2001; Schmeda-Hirschmann ve diğerleri, 2004).

Diğer yandan, EB etanol ekstresi ve aktif fraksiyonlarında bulunan bileşiklerin *in silico* toksisite analizine göre; örneğin kersetinin mutajenite, luteolinin ise genotoksisite göstermesi ihtimali yüksek çıkmıştır. Bu konuda yapılmış deneysel çalışmalar incelendiğinde; 1977

yılında Science dergisinde yayınlanan bir çalışmada, kersetinin mutajenik etkisi gösterilmiştir (Bjeldanes ve Chang, 1977). Daha sonra Rietiens ve diğerleri (2005) tarafından kersetinin mutajenik olmasının etki mekanizması olarak, kersetinin enzimatik veya kimyasal oksidasyon reaksiyonu ile *orto*-kinonik yapıya dönüşmesi, akabinde de *orto*-kinonun kinon metabolitlerine dönüşmesi, oluşan kinon metabolitlerinin metilkinon türevlerine izomerizasyonu ile metabolik yollarda DNA-reaktif türlerin aktivasyonuna neden olduğu şeklinde önerilmiştir. Ancak bu noktada; mutajenitenin doğrudan kersetin değil, metabolitleri üzerinden oluştuğu göz ardı edilememelidir. Ayrıca bakterilerde yapılan AMES toksisite testinde kullanılan dozların, insan dozundan çok daha yüksek olduğu da bilinmektedir. Diğer yandan biyoaktivite açısından etkili ama toksisite sorunu olabilecek kersetin ve benzeri bileşiklerin özellikle insan için olabilecek toksisitelerinin kimyasal yapıda küçük modifikasyonlar yapılarak bertaraf edilmesi oldukça mümkündür. Bu nedenle ilaç adayı olabilecek doğal öncü moleküllerde yapı-etki ilişkisi de kritik bir role sahiptir.

Sonuç olarak; EB etanol ekstresi ve aktif fraksiyonlarında ortak olduğunu LC-MS-MS analizi ile tespit ettiğimiz bileşikler ile literatür verileri de bulgularımızla uyumlu bulunmuştur. Bu nedenle kersetin başta olmak üzere, luteolin, apigenin ve gallik asit, EB ekstresinin ve fraksiyonlarının KO inhibitör etkisine katkısı olan başlıca muhtemel fenolik bileşikler olarak öne çıkmaktadır. Aktif fraksiyonların inhibitör etkisinin ana ekstreya göre daha fazla olmasının bir sebebi, ana ekstreya göre daha belirgin olan ve KO inhibitör etkisi olduğu gösterilmiş olan prosiyanidin grubu bileşiklerin aktif fraksiyonlardaki belirgin varlığı ile açıklanabilir. Ön tarama sonuçlarımıza göre; *Erodium* ve *Geranium* türlerinin yaklaşık % 69'unun KO'a karşı aktif olması, KO inhibitörü bileşikleri açısından bu türlerin ümit vaat eden bitkisel kaynaklar olduğuna işaret etmektedir.

Tez çalışmamız, Türkiye'de yetişen *Erodium* ve *Geranium* türlerinin KO inhibitörü etkilerini aydınlatmak amacıyla yapılmış ilk araştırmayı teşkil etmektedir. İlaveten, tez kapsamında daha ileri düzeyde çalışma için hedef tür olarak seçtiğimiz, daha önce üzerinde hiç fitokimyasal veya biyolojik aktivite çalışması yapılmamış, endemik *Erodium birandianum* türünün fitokimyasını ve KO inhibitör etkisi ile etkiden sorumlu olabilecek bileşiklerin tespit edilmesi açısından da ilk araştırma olmuştur.

Bu tez çalışması, Türkiye'de yetişen bitkilerin tıbbi anlamda araştırılarak değerlendirilmesinin ülke ekonomimiz açısından önemini bir kez daha göstermiştir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Dünyada ve Türkiye’de hızla büyüyen bitkisel tıbbi ürün profiline projeksiyon yapıldığında; büyük bir talep olduğu görülmektedir. Hem doğal, hem de sentetik kökenli yeni ilaç adayı molekülleri üzerinde yoğun araştırmalar hedef enzimler üzerinde de hızla devam etmektedir. Tezimizin kapsamında belirtilen amaca yönelik olarak, ülkemizde yetişen ve dikkate değer oranda endemik tür içeren *Erodium* ve *Geranium* cinslerine ait taksonlar taranarak, *Erodium birandianum* (EB) üzerinde daha ileri çalışmalar yapılmış, etkiye yol açan bileşiklerden birkaçı belirlenmeye çalışılmış, elde edilen *in vitro* bulgular *in silico* (bilgisayar-destekli) yöntemlerle desteklenmiştir.

Tezin ileriki aşamasında, KO enzimine karşı kendisinin de yüksek inhibisyon gösterdiği bu bitkinin yüksek inhibitör etkili olan aktif fraksiyonlarının da fitokimyasal profilinin kısmen aydınlatılması, hatta ana ekstreden daha yüksek inhibitör etkili bileşiklerin (kersetin gibi) teşhis edilmesi mümkün olmuştur. Tez sonrasında, yarısından fazlasının % 50’den fazla inhibisyon gösterdiğini saptadığımız ülkemize ait diğer *Erodium* ve *Geranium* türlerinin de KO inhibitörü etkilerinin ve fitokimyasal açıdan daha ileri aşamada incelenmesi de gayet mantıklı görünmektedir. Ayrıca bu türlerden hazırlanabilecek ekstrelerin standardize edilerek bitkisel ilaç formülasyonuna hazır hale getirilmesi, toksisitelerinin ve stabilitelerinin tayin edilmesi de tezden sonra devam edilebilecek araştırma konuları arasındadır.

Bu konuda daha çok çalışma yapılması ile Türk ilaç sektörünün ihtiyacı olan Ar-Ge çalışmalarına ve üniversite-sanayii işbirliğine daha fazla katkıda bulunulabilecek ve ülkemiz endemik bitkilerinin tıbbi açıdan değerlendirilerek ekonomiye kazandırılması mümkün olabilecektir.



KAYNAKLAR

- Abbey, E. L., and Rankin, J. W. (2011). Effect of quercetin supplementation on repeated-sprint performance, xanthine oxidase activity, and inflammation. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 21(2), 91-96.
- Abhishek, A. (2018). New urate-lowering therapies. *Current Opinion in Rheumatology*, 30(2), 177-182.
- Abu-Gharbieh, E., Shehab, N. G., Almasri, I. M., and Bustanji Y. (2018). Antihyperuricemic and xanthine oxidase inhibitory activities of *Tribulus arabicus* and its isolated compound, ursolic acid: *in vitro* and *in vivo* investigation and docking simulations. *PLoS One*, 13(8), Article no: e0202572.
- Akaydın, G., Şimşek, I., Artutluk, Z. C. ve Yeşilada, E. (2013). An ethnobotanical survey in selected towns of the Mediterranean subregion (Turkey). *Turkish Journal of Biology*, 37(2), 230-247.
- Aktaş, B. ve Akkan, S. (2011). Sığır besi yemine ilave edilen meşe palamudu taneninin rumen fermantasyonuna etkilerinin rumen simulasyon tekniği (Rusitek) ile saptanması. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 48, 249-254.
- Alali, F.Q., Tawaha, K., El-Elimat, T., Syouf, M., El-Fayad, M., Abulaila, K., Nielsen, S. J., Wheaton, W. D., Falkinham, J. O., and Oberlies, N. H. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of aqueous and methanolic extracts of Jordanian plants: An ICBG project. *Natural Product Research*, 21(12), 1121-1131.
- Albertse, E. H. (2002). Cloning, expression and characterization of tannase from *Aspergillus species*, Ph.D. Thesis, University of the Free State, ABD, 122.
- Aldasoro, J. J., Aedo, C., and Navarro, C. (2002). Insect attracting structures on *Erodium* petals (Geraniaceae). *Plant Biology*, 2, 471-481.
- Al-Douri, N. A. (2000). A survey of medicinal plants and their traditional uses in Iraq. *Pharmaceutical Biology*, 38(1), 74-79.
- Al-Fatimi, M. (2019). Ethnobotanical survey of medicinal plants in central Abyan governorate, Yemen. *Journal of Ethnopharmacology*, 241(15).
- Ali, M. S., Ibrahim, S. A., Jalil, S., and Choudhary, M. I. (2007). Ursolic acid: a potent inhibitor of superoxides produced in the cellular system. *Phytotherapy Research*, 21(6), 558-561.
- Ali-Shtayeh, M. S., Jamous, R. M., Zaitoun, S. Y. A., and Qasem, I. B. (2014). *In vitro* screening of acetylcholinesterase inhibitory activity of extracts from Palestinian indigenous flora in relation to the treatment of Alzheimer's disease. *Functional Foods in Health and Disease*, 4(9), 381-400.
- Altmann, K. H. (2017). Drugs from the oceans: marine natural products as leads for drug discovery. *Chimia (Aarau)*, 71(10), 646-652.

- Alu'datt, M. H., Rababah, T., Alhamad, M.N., Al-Mahasneh, M.A., Almajwal, A., Gammoh, S., Ereifej, K., Johargy, A., and Alli, I. (2017). A review of phenolic compounds in oil-bearing plants: distribution, identification and occurrence of phenolic compounds. *Food Chemistry*, 218, 99-106.
- Ammar, R. B., Kilani, S., Bouhlel, I., Ezzi, L., Skandrani, I., Boubaker, J., Sghaier, M. B., Naffeti, A., Mahmoud, A., Chekir-Ghedira, L., and Ghedira, K. (2008a). Antiproliferative, antioxidant, and antimutagenic activities of flavonoid-enriched extracts from (Tunisian) *Rhamnus alaternus* L.: combination with the phytochemical composition. *Drug and Chemical Toxicology*, 31(1), 61-80.
- Ammar, R. B., Sghaier, M. B., Boubaker, J., Bhourri, W., Naffeti, A., Skandrani, I., Bouhlel, I., Kilani, S., Ghedira, K., and Chekir-Ghedira, L. (2008b). Antioxidant activity and inhibition of aflatoxin B1-, nifuroxazide-, and sodium azide-induced mutagenicity by extracts from *Rhamnus alaternus* L. *Chemico-Biological Interactions*, 174(1), 1-10.
- An, B. J., Kwak, J. H., Park, J. M., Lee, J. Y., Park, T. S., Lee, J. T., Son, J. H., Jo, C., and Byun, M. W. (2005). Inhibition of enzyme activities and the antiwrinkle effect of polyphenol isolated from the persimmon leaf (*Diospyros kaki* folium) on human skin. *Dermatological Surgery*, 31(7), 848-54.
- Andriani, Y., Syamsumir, D. F., Yee, T. C., Harisson, F. S., Herng, G. M., Abdullah, S. A., Orosco, C. A., Ali, A. M., Latip, J., Kikuzaki, H., and Mohamada, H. (2016). Biological activities of isolated compounds from three edible Malaysian red seaweeds, *Gracilaria changii*, *G. manilaensis* and *Gracilaria* sp. *Natural Product Communications*, 11(8), 1117-1120.
- Asadi-Samani, M., Moradi, M. T., Bahmani, M., and Shahrani, M. (2016). Antiviral medicinal plants of Iran: A review of ethnobotanical evidence. *International Journal of PharmTech Research*, 9(5), 427-434.
- Ascherio, A., Le Witt, P. A., Xu, K., Eberly, S., Watts, A., Matson, W. R., Marras, C., Kieburzt, K., Rudolph, A., Bogdanov, M. B., Schwid, S. R., Tennis, M., Tanner, C. M., Beal, M. F., Lang, A. E., Oakes, D., Fahn, S., Shoulson, I., Schwarzschild, M. A. and Parkinson Study Group DATATOP Investigators. (2009). Urate as a predictor of the rate of clinical decline in Parkinson disease. *Archives of Neurology*, 66(12), 1460-1468.
- Atakul, N. ve Demir, H. (2014). Gut tedavisinde kullanılan ilaçlar. *Türkiye Klinikleri - Special Topics*, 7(4), 42-47.
- Atta-ur-Rahman, Naz, H., Fadimatou, Makhmoor, T., Yasin, A., Fatima, N., Ngounou, F. N., Kimbu, S. F., Sondengam, B. L., and Choudhary, M. I. (2005). Bioactive constituents from *Boswellia papyrifera*. *Journal of Natural Products*, 68(2), 189-193.
- Aydın, S. A. ve Üstün, F. (2007). Tanenler 1, kimyasal yapıları, farmakolojik etkileri, analiz yöntemleri. *İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 33, 21-31.
- Bakari, S., Hajlaoui, H., Daoud, A., Mighri, H., Ross-Garcia, J.M., Gharsallah, N., and Kadri, A. (2018). Phytochemicals, antioxidant and antimicrobial potentials and LC-MS analysis of hydroalcoholic extracts of leaves and flowers of *Erodium glaucophyllum* collected from Tunisian Sahara. *Food Science and Technology*, 38(2), 310-317.

- Bangou, M. J., Kiendrebeogo, M., Meda, N. T., Coulibaly, A. Y., Compaoré, M., Zeba, B., Millogo-Rasolodimby, J., and Nacoulma, O. G. (2011). Evaluation of enzymes inhibition activities of medicinal plant from Burkina Faso. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 14(2), 99-105.
- Bardin, T., and Richette, P. (2018). Novel uricosurics. *Rheumatology (Oxford)*, 57(1), 42-46.
- Bayraktar, A. (2010). Hiperürisemi ve gut. *TEB Haberler*, 2, 22-25.
- Baytop, T. (1994). *Türkçe Bitki Adları Sözlüğü*. Ankara: Türk Dil Kurumu Yayınları, 118.
- Bazylko, A., Piwowarski, J. P., Filipek, A., Bonarewicz, J., and Tomczyk, M. (2013). *In vitro* antioxidant and anti-inflammatory activities of extracts from *Potentilla recta* and its main ellagitannin, agrimoniin. *Journal of Ethnopharmacology*, 149(1), 222-227.
- Behera, B. C., Adawadkar, B., and Makhija, U. (2006). Tissue-culture of selected species of the *Gaphis lichen* and their biological activities. *Fitoterapia*, 77(3), 208-215.
- Belhaddad, O. E., Charef, N., Amamra, S., Zerargui, F., Baghiani, A., Khennouf, S., and Arrar, L. (2017). Chromatographic fractionation, antioxidant and antibacterial activities of *Urginea maritima* methanolic extract. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 30(1), 127-134.
- Ben Bacha, A., Jemel, I., Bhat, R. S., and Onizi, M. A. (2018). Inhibitory effects of various solvent extracts from *Rhamnus frangula* leaves on some inflammatory and metabolic enzymes. *Cellular and Molecular Biology*, 64(13), 55-62.
- Berry, D. E., MacKenzie, L., Shultis, E. A., Chan, J. A. ve Hecht, S. M. (1992). Naturally occurring inhibitors of topoisomerase-I mediated DNA relaxation. *Journal of Organic Chemistry*, 57(2), 420-422.
- Bindoli, A., Valente, M., and Cavallini, L. (1985). Inhibitory action of quercetin on xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase activity. *Pharmacology Research Communications*, 17(9), 831-839.
- Bjeldanes, L. F., and Chang, G. W. (1977). Mutagenic activity of quercetin and related compounds. *Science*, 197(4303), 577-578.
- Booth, V. H. (1938). The specificity of xanthine oxidase, *Biochemical Journal*, 32, 494-502.
- Borodina, T.V., Filimonov, D.A., and Porokov, V.V. (1996). Computer-aided prediction of prodrug activity using the pass system. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 30(12), 760-763.
- Bouaziz, M., Dhouib, A., Loukil, S., Boukhris, M., and Sayadi, S. (2009). Polyphenols content, antioxidant and antimicrobial activities of extracts of some wild plants collected from the south of Tunisia. *African Journal of Biotechnology*, 8(24), 7017-7027.
- Bouhlef, I., Limem, I., Skandrani, I., Nefatti, A., Ghedira, K., Dijoux-Franca, M. G., and Leila C. G. (2010). Assessment of isorhamnetin 3-O-neohesperidoside from *Acacia salicina*: protective effects toward oxidation damage and genotoxicity induced by aflatoxin B1 and nifuroxazide. *Journal of Applied Toxicology*, 30(6), 551-558.

- Boukhris, M., Simmonds, M. S., Sayadi, S., and Bouaziz, M. (2013). Chemical composition and biological activities of polar extracts and essential oil of rose-scented geranium, *Pelargonium graveolens*. *Phytotherapy Research*, 27(8), 1206-1213.
- Boumerfeg, S., Baghiani, A., Messaoudi, D., Khenouf, S., and Arrar, L. (2009). Antioxidant properties and xanthine oxidase inhibitory effects of *Tamus communis* L. root extracts. *Phytotherapy Research*, 23(2), 283-238.
- Bove, M., Cicero, A. F. G., and Borghi, C. (2017). The effect of xanthine oxidase inhibitors on blood pressure and renal function. *Current Hypertension Reports*, 19(12), 1-6.
- Bräunlich, M., Slimestad, R., Wangensteen, H., Brede, C., Malterud, K. E., and Barsett, H. (2013). Extracts, anthocyanins and procyanidins from *Aronia melanocarpa* as radical scavengers and enzyme inhibitors. *Nutrients*, 5(3), 663-678.
- Bremner, P., Rivera, D., Calzado, M. A., Obón, C., Inocencio, C., Beckwith, C., Fiebich, B. L., Muñoz, E., and Heinrich, M. (2009). Assessing medicinal plants from South-Eastern Spain for potential anti-inflammatory effects targeting nuclear factor-kappa B and other pro-inflammatory mediators. *Journal of Ethnopharmacology*, 124(2), 295-305.
- Bulut, G. ve Tuzlacı, E. (2013). An ethnobotanical study of medicinal plants in Turgutlu (Manisa-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 149(3), 633-647.
- Busmann, R. W., Malca, G., Glenn, A., Sharon, D., Nilsen, B., Parris, B., Dubose, D., Ruiz, D., Saleda, J., and Martinez, M. (2011). Toxicity of medicinal plants used in traditional medicine in Northern Peru. *Journal of Ethnopharmacology*, 137(1), 121-140.
- Butt, M. S., Imran, A., Sharif, M. K., Ahmad, R. S., Xiao, H., Imran, M., and Rsool, H. A. (2014). Black tea polyphenols: a mechanistic treatise. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(8), 1002-1011.
- Cao, H., Paufl, J. M., and Hille, R. (2014). X-ray crystal structure of a xanthine oxidase complex with the flavonoid inhibitor quercetin. *Journal of Natural Products*, 77(7), 1693-1699.
- Carpino, S., Mallia, S., Licitra, G., Van Soest, P. J., and Acree, T. E. (2004). Aroma compounds of some Hyblean pasture species. *Flavour and Fragrance Journal*, 19, 293-297.
- Chan, W. S., Wen, P. C., and Chiang, H. C. (1995). Structure-activity relationship of caffeic acid analogues on xanthine oxidase inhibition. *Anticancer Research*, 15(3), 703-707.
- Chander, R., Kapoor, N. K., and Dhawan, B. N. (1992). Picroliv, picroside-I and kutkoside from *Picrorhiza kurroa* are scavengers of superoxide anions. *Biochemical Pharmacology*, 44(1), 180-183.
- Chang, W. S., Lee, Y. J., Lu, F. J., and Chiang, H. C. (1993). Inhibitory effects of flavonoids on xanthine oxidase. *Anticancer Research*, 13(6A), 2165-2170.
- Chang, W. S., Chang, Y. H., Lu, F. J., and Chiang, H. C. (1994). Inhibitory effects of phenolics on xanthine oxidase. *Anticancer Research*, 14(2A), 501-506.

- Chen, K., Ye, C., Plumb, G. W., and Bao, Y. (2004). Investigation on the antioxidant activities *in vitro* of extracts from *Ampelopsis humilifolia* var. *heterophylla* and *A. sinica*. *Zhong Yao Cai*, 27(9), 650-653.
- Chen, X., Xiong, J., Huang, S., Li, X., Zhang, Y., Zhang, L., and Wang, F. (2018). Analytical Profiling of proanthocyanidins from *Acacia mearnsii* bark and *in vitro* assessment of antioxidant and antidiabetic potential. *Molecules*, 23, 1-10.
- Chen, Y., de Bruyn, K. C., and Kirchmair, J. (2017). Data resources for the computer-guided discovery of bioactive natural products. *Journal of Chemical Information and Modelling*, 57(9), 2099-2111.
- Chien, S. C., Yang, C. W., Tseng, Y. H., Tsay, H. S., Kuo, Y. H., and Wang, S. Y. (2009). *Lonicera hypoglauca* inhibits xanthine oxidase and reduces serum uric acid in mice. *Planta Medica*, 75(4), 302-306.
- Choudhary, D. K., and Mishra, A. (2019). *In vitro* and *in silico* interaction of faba bean (*Vicia faba* L.) seed extract with xanthine oxidase and evaluation of antioxidant activity as a therapeutic potential. *Natural Product Research*, 33(18), 2689-2693.
- Chu, Y. H., Chen, C. J., Wu, S. H., and Hsieh, J. F. (2014). Inhibition of xanthine oxidase by *Rhodiola crenulata* extracts and their phytochemicals. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 62(17), 3742-3749.
- Cicero, A. F. G., Pirro, M., Watts, G. F., Mikhailidis, D. P., Banach, M., and Sahebkar, A. (2018). Effects of allopurinol on endothelial function: a systematic review and meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. *Drugs*, 78(1), 99-109.
- Conaghan, P. G., and Day, R. O. (1994). Risks and benefits of drugs used in the management and prevention of gout. *Drug Safety*, 11(4), 252-258.
- Corry, D. B., Eslami, P., Yamamoto, K., Nyby, M.D., Makino, H., and Tuck, M. L. (2008). Uric acid stimulates vascular smooth muscle cell proliferation and oxidative stress *via* the vascular renin-angiotensin system. *Journal of Hypertension*, 26(2), 269-275.
- Crozier, A., Jaganath, I. B., and Clifford, M. N. (2009). Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports*, 26(8), 1001-1043.
- Çakılcıoğlu, U. ve Türkoğlu, İ. (2010). An ethnobotanical survey of medicinal plants in Sivrice (Elazığ-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 132(1), 165-175.
- Çakılcıoğlu, U., Khatun, S., Türkoğlu, İ. ve Hayta, Ş. (2011). Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Maden (Elazığ-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 137(1), 469-486.
- Çelikler, Ö. (2017). *Bitkisel kaynaklı yeni tirozinaz inhibitörlerinin belirlenmesi üzerinde farmakognozik araştırmalar*. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 96.
- Dağdemir, E. ve Özdemir, S. (2008-21-23 Mayıs). Ksantin oksidaz enzimi ve sütteki önemi. Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum, 1-4.

- Davis, P. H. (1966). Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Vol. 2). Edinburgh: Edinburgh University Press, 122.
- Dawson, J., and Walters, M. (2006). Uric acid and xanthine oxidase: future therapeutic targets in the prevention of cardiovascular disease?, *British Journal of Clinical Pharmacology*, 62(6), 633-644.
- Day, R. O., Kannangara, D. R., Stocker, S. L., Carland, J. E., Williams, K. M., and Graham, G. G. (2017). Allopurinol: insights from studies of dose-response relationships. *Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology*, 13(4), 449-462.
- de Araújo, M. E., Moreira Franco, Y. E., Alberto, T. G., Sobreiro, M. A., Conrado, M. A., Priolli, D. G., Frankland Sawaya, A. C., Ruiz, A. L., de Carvalho, J. E., and de Oliveira Carvalho, P. (2013). Enzymatic de-glycosylation of rutin improves its antioxidant and antiproliferative activities. *Food Chemistry*, 141(1), 266-273.
- de la Puerta, R., Forder, R.A., and Hoult, J. R. (1999). Inhibition of leukocyte eicosanoid generation and radical scavenging activity by gnaphalin, a lipophilic flavonol isolated from *Helichrysum picardii*. *Planta Medica*, 65(6), 507-511.
- Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J. P., Tognolini, M., Borges, G., and Crozier, A. (2013). Dietary (poly)phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxidant and Redox Signalling*, 18(14), 1818-1892.
- De-la-Cruz, H., Vilcapoma, G., and Zevallos, P. A. (2007). Ethnobotanical study of medicinal plants used by the Andean people of Canta, Lima, Peru. *Journal of Ethnopharmacology*, 111(2), 284-294.
- Demircioğlu, Ç. (2009). Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu'ndaki (ANK) Geraniaceae Familyasının Revizyonu ve Veritabanının Hazırlanması. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 132.
- Dew, T. P., Day, A. J., and Morgan, M. R. (2005). Xanthine oxidase activity *in vitro*: effects of food extracts and components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(16), 6510-6515.
- Di Petrillo, A., María González-Paramás, A., Rosa, A., Ruggiero, V., Boylan, F., Kumar, A., Pintus, F., Santos-Buelga, C., Fais, A., and Era, B. (2019). Chemical composition and enzyme inhibition of *Phytolacca dioica* L. seeds extracts. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 34(1), 519-527.
- Ding, Z., Dai, Y., and Wang, Z. (2005). Hypouricemic action of scopoletin arising from xanthine oxidase inhibition and uricosuric activity. *Planta Medica*, 71(2), 183-185.
- Doğan, Y. (2012). Traditionally used wild edible greens in the Aegean Region of Turkey. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 81(4), 329-342.
- Duong, N. T., Vinh, P. D., Thuong, P. T., Hoai, N. T., Thanh, L. N., Bach, T. T., Nam, N. H., and Anh, N. H. (2017). Xanthine oxidase inhibitors from *Archidendron clypearia* (Jack.) I.C. Nielsen: Results from systematic screening of Vietnamese medicinal plants. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10(6), 549-556.

- Ejaz, A. A., Mu, W., Kang, D. H., Roncal, C., Sautin, Y. Y., Henderson, G., Tabah-Fisch, I., Keller, B., Beaver, T. M., Nakagawa, T., and Johnson, R. J. (2007). Could uric acid have a role in acute renal failure? *Clinical Journal of American Society of Nephrology*, 2(1), 16-21.
- El-Hela, A. A., Abdel-Hady, N. M., Dawoud, G. T., Hamed, A. M., and Morsy, T. A. (2013). Phenolic content, antioxidant potential and *Aedes aegyptii* ecological friend larvicidal activity of some selected Egyptian plants. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 43, 215-234.
- Elias, T., and Dykeman, P. (1987). *A Field Guide to North American Edible Wild Plants*. Van Nostrand Reinhold Publishers, USA, 128-130.
- El-On, J., Ozer, L., Gopas, J., Sneir, R., Enav, H., Luft, N., Davidov, G., and Golan-Goldhirsh, A. (2009). Antileishmanial activity in Israeli plants. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 103(4), 297-306.
- Erdoğan-Orhan, İ. (2017). *Doğadan insanlığa hediye ilaçlar*. 1. Baskı, Ankara: Artı Farma Yayınevi, 86.
- Ergezer, H. ve Çam, M. (2008-21-23 Mayıs). *Tanenler: Sınıflandırma, yapıları ve sağlık üzerine etkileri*. Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum, 229-232.
- Ertuğ, F. (2000). An ethnobotanical study in central Anatolia (Turkey). *Economic Botany*, 54(2), 155-182.
- Esmaili, S., Naghibi, F., Mosaddegh, M., Sahranavard, S., Ghafari, S., and Abdullah, N. R. (2009). Screening of antiplasmodial properties among some traditionally used Iranian plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 121(3), 400-404.
- Fais, A., Era, B., Di Petrillo, A., Floris, S., Piano, D., Montoro, P., Tuberoso, C. I. G., Medda, R., and Pintus, F. (2018). Selected enzyme inhibitory effects of *Euphorbia characias* extracts. *Biomed Research International*, 1219367.
- Falodun, A., Qadir, M. I., and Chouldary, M. I. (2009). Isolation and characterization of xanthine oxidase inhibitory constituents of *Pyrenacantha staudtii*. *Yao Xue Xue Bao*, 44(4), 390-394.
- Fecka, I., and Cisowski, W. (2005). Tannins and flavonoids from the *Erodium cicutarium* herb. *Zeitschrift für Naturforschung B*, 60(5), 555-560.
- Fecka, I., Kowalczyk, A., and Cisowski, W. (2001). Phenolic acids and depsides from some species of the *Erodium* genera. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 56(11-12), 943-950.
- Fernandez, E. C., Sandi, Y. E., and Kokoska, L. (2003). Ethnobotanical inventory of medicinal plants used in the Bustillo Province of the Potosi Department, Bolivia. *Fitoterapia*, 74(4), 407-416.
- Filha, Z. S., Vitolo, I. F., Fietto, L. G., Lombardi, J. A., and Saúde-Guimarães, D. A. (2006). Xanthine oxidase inhibitory activity of *Lychnophora* species from Brazil ("Amica"). *Journal of Ethnopharmacology*, 107(1), 79-82.

- Flemmig, J., Kuchta, K., Arnhold, J., and Rauwald, H. W. (2011). *Olea europaea* leaf (Ph.Eur.) extract as well as several of its isolated phenolics inhibit the gout-related enzyme xanthine oxidase. *Phytomedicine*, 18(7), 561-566.
- Fogliani, B., Raharivelomanana, P., Bianchini, J. P., Bouraïma-Madjèbi, S., and Hnawia, E. (2005). Bioactive ellagitannins from *Cunonia macrophylla*, an endemic Cunoniaceae from New Caledonia. *Phytochemistry*, 66(2), 241-247.
- Fokialakis, N., Kalpoutzakis, E., Tekwani, B. L., Khan, S. I., Kobaisy, M., Skaltsounis, A. L., and Duke, S. O. (2007). Evaluation of the antimalarial and antileishmanial activity of plants from the Greek island of Crete. *Journal of Natural Medicines*, 61(1), 38-45.
- Friesner, R. A., Murphy, R. B., Repasky, M. P., Frye, L. L., Greenwood, J. R., Halgren, T. A., Sanschagrin, P. C., and Mainz, D. T. (2006). Extra precision glide: docking and scoring incorporating a model of hydrophobic enclosure for protein-ligand complexes. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49, 6177-6196.
- Frontera, M.A., Tomás, M.A., Badajoz, M.A., Tombesi, O.L., and Ponce, M.A. (1999). A chemical study of *Erodium malacoides* (L.) Willd. *Anales des la Asociacion Quimica Argentina*, 87(1-2), 55-58.
- Gardiner, D. T., and Miller, R. W. (2008). *Soils in Our Environment*. 11th Edition, Pearson/Prentice Hall, USA: Upper Saddle Hill, Ne Jersey, 205-207.
- Gariboldi, E., Mascetti, D., Galli, G., Caballion, P., and Bosio, E. (1998). LC-UV-electrospray-MS-MS mass spectrometry analysis of plant constituents inhibiting xanthine oxidase. *Pharmaceutical Research*, 15(6), 936-943.
- Gatadi, S., Gour, J., and Nanduri, S. (2019). Natural product derived promising anti-MRSA drug leads: A review. *Bioorganic Medicinal Chemistry*, 27(17), 3760-3774.
- Gebhardt, P., Dornberger, K., Gollmick, F. A., Gräfe, U., Härtl, A., Görls, H., Schlegel, B., and Hertweck, C. (2007). Quercinol, an anti-inflammatory chromene from the wood-rotting fungus *Daedalea quercina* (Oak Mazegill). *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*, 17(9), 2558-2560.
- Gfeller, D., Michielin, O., and Zoete, V. (2013). Shaping the interaction landscape of bioactive molecules. *Bioinformatics*, 29(23), 3073-3079.
- Ghafari, S., Naghibi, F., Esmaeili, S., Sahranavard, S., and Mosaddegh, M. (2015). Investigating the cytotoxic effect of some medicinal plants from northern parts of Iran. *Research Journal of Pharmacognosy*, 2(2), 47-51.
- Gohar, A. A., Lahloub, M. F., and Niwa, M. (2003). Antibacterial polyphenol from *Erodium glaucophyllum*. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 58(9-10), 670-674.
- Gonzalez, J.A., Garcia-Barriuso, M., and Amich, F. (2011). The consumption of wild and semi-domesticated edible plants in the Arribes del Duero (Salamanca-Zamora, Spain): an analysis of traditional knowledge. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 58, 991-1006.
- Gu, J., Gui, Y., Chen, L., Yuan, G., Lu, H. Z., and Xu, X. (2013). Use of natural products as chemical library for drug discovery and network pharmacology. *PLoS One*, 8(4).

- Guerrini, A., Rossi, D., Paganetto, G., Tognolini, M., Muzzoli, M., Romagnoli, C., Antognoni, F., Vertuani, S., Medici, A., Bruni, A., Useli, C., Tamburini, E., Bruni, R., and Sacchetti, G. (2011). Chemical characterization (GC/MS and NMR Fingerprinting) and bioactivities of South-African *Pelargonium capitatum* (L.) L'Her. (Geraniaceae) essential oil. *Chemistry and Biodiversity*, 8(4), 624-642.
- Guttmann, A., Krasnokutsky, S., Pillinger, M.H., and Berhanu, A. (2017). Pegloticase in gout treatment - safety issues, latest evidence and clinical considerations. *Therapeutic Advances in Drug Safety*, 8(12), 379-388.
- Güneş, S., Savran, A., Paksoy, M.Y., Koşar, M. ve Çakılcıoğlu, U. (2017). Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Karaisalı and its surrounding (Adana-Turkey). *Journal of Herbal Medicine*, 8, 68-75.
- Gyamfi, M. A., and Aniya, Y. (2002). Antioxidant properties of thonningianin A, isolated from the African medicinal herb, *Thonningia sanguinea*. *Biochemical Pharmacology*, 63(9), 1725-1737.
- Habtemariam, S. (2019). Natural products in Alzheimer's disease therapy: would old therapeutic approaches fix the broken promise of modern medicines? *Molecules*, 24(8), 1519.
- Hamza, G., Emna, B. H., Yeddes, W., Dhouafli, Z., Moufida, T. S., and El Akrem, H. (2018). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities data of three plants from Tunisia region: *Erodium glaucophyllum*, *Erodium hirtum* and *Erodium guttatum*. *Data Brief*, 19, 2352-2355.
- Hatano, T., Yasuhara, T., Fukuda, T., Noro, T., and Okuda, T. (1989). Phenolic constituents of licorice. II. Structures of licopyranocoumarin, licoaryl coumarin and glisoflavone, and inhibitory effects of licorice phenolics on xanthine oxidase. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 37(11), 3005-3009.
- Havlik, J., Gonzalez de la Huebra, R., Hejtmankova, K., Fernandez, J., Simonova, J., Melich, M., and Rada, V. (2010). Xanthine oxidase inhibitory properties of Czech medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 132(2), 461-465.
- He, Z. Z., Yan, J. F., Song, Z. J., Ye, F., Liao, X., Peng, S. L., and Ding, L. S. (2009). Chemical constituents from the aerial parts of *Artemisia minor*. *Journal of Natural Products*, 72(6), 1198-1201.
- Ho, K. Y., Huang, J. S., Tsai, C. C., Lin, T. C., Hsu, Y. F., and Lin, C. C. (1999). Antioxidant activity of tannin components from *Vaccinium vitis-idaea* L. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 51(9), 1075-1078.
- Hofmann, E., Webster, J., Do, T., Kline, R., Snider, L., Hauser, Q., Higginbottom, G., Campbell, A., Ma, L., and Paula, S. (2016). Hydroxylated chalcones with dual properties: xanthine oxidase inhibitors and radical scavengers. *Bioorganic Medicinal Chemistry*, 24(4), 578-587.
- Hsieh, C. Y., and Chang, S. T. (2010). Antioxidant activities and xanthine oxidase inhibitory effects of phenolic phytochemicals from *Acacia confusa* twigs and branches. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 58(3), 1578-1583.

- Hsieh, J. F., Wu, S. H., Yang, Y. L., Choong, K. F., and Chen, S. T. (2007). The screening and characterization of 6-aminopurine-based xanthine oxidase inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 15(10), 3450-3456.
- Huang, C. G., Shang, Y. J., Zhang, J., Zhang, J. R., Li, W. J., and Jiao, B. H. (2008). Hypouricemic effects of phenylpropanoid glycosides acteoside of *Scrophularia ningpoensis* on serum uric acid levels in potassium oxonate-pretreated mice. *American Journal of Chinese Medicine*, 36(1), 149-157.
- Huo, L. N., Wang, W., Zhang, C. Y., Shi, H. B., Liu, Y., Liu, X. H., Guo, B. H., Zhao, D. M., and Gao, H. (2015). Bioassay-guided isolation and identification of xanthine oxidase inhibitory constituents from the leaves of *Perilla frutescens*. *Molecules*, 20(10), 17848-17859.
- Ikeda, H. (2017). Natural products discovery from micro-organisms in the post-genome era. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 81(1), 13-22.
- Insanu, M., Ramadhania, Z. M., Halim, E. N., Hartati, R., and Wirasutisna, K. R. (2018). Isolation of 5,7-dihydroxy, 6,8-dimethyl flavanone from *Syzygium aqueum* with its antioxidant and xanthine oxidase inhibitor activities. *Pharmacognosy Research*, 10(1), 60-63.
- International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH). (2017). Assessment and control of dna reactive (mutagenic) impurities in pharmaceuticals to limit potential carcinogenic risk, ICH Harmonized Guideline M7(R1), 286.
- Ironi, E. A., Agboola, S. O., Oboh, G., Boligon, A. A., Athayde, M. L., and Shode, F. O. (2016). Guava leaves polyphenolics-rich extract inhibits vital enzymes implicated in gout and hypertension *in vitro*. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 5(2), 122-130.
- Izumida, H., Adachi, K., Mihara, A., Yasuzawa, T., and Sano, H. (1997). Hydroxyakalone, a novel xanthine oxidase inhibitor produced by a marine bacterium, *Agrobacterium aurantiacum*. *Journal of Antibiotics*, 50(11), 916-918.
- İlarslan, R. ve Yurdakulol, E. (1994). A new species of *Erodium* (Geraniaceae) from Turkey. *Flora Mediterranea*, 4, 167-170.
- İnternet: https://en.wikipedia.org/wiki/Xanthine_oxidase, Son Erişim Tarihi: 26.08.2019.
- İnternet: <https://www.doktorix.com/urik-asit-ve-gut-nedir-yuksekligi-ve-dusuklugu-nedenleri/>, Son Erişim Tarihi: 30.08.2019.
- İnternet: USDA Plants Database, <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fplants.usda.gov%2Fcore%2Fprofile%3Fsymbol%3DERODI&date=2017-07-30>, Son Erişim Tarihi: 26.08.2019.
- Jagadeeshwar-Rao, R., Tiwari, A. K., Kumar, U. S., Reddy, S. V., Ali, A. Z., and Rao, J. M. (2003). Novel 3-O-acyl mesquitol analogues as free-radical scavengers and enzyme inhibitors: synthesis, biological evaluation and structure-activity relationship. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*, 13(16), 2777-2780.

- Jaradat, N., Al-Masri, M., Zaid, A. N., and Othman, D. G. (2017). Pharmacological and phytochemical screening of Palestinian traditional medicinal plants *Erodium laciniatum* and *Lactuca orientalis*. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 15(1), pii.
- Jiao, R. H., Ge, H. M., Shi da, H., and Tan, R. X. (2006). An apigenin-derived xanthine oxidase inhibitor from *Palhinhaea cernua*. *Journal of Natural Products*, 69(7), 1089-1091.
- Kaisera, J., Yassin, M., Prakash, S., Safi, N., Agami, M., Lauw, S., Ostrozhenkova, E., Bachera, A., Rohdicha, F., Eisenreicha, W., Safi, J., and Golan-Goldhirsh, A. (2007). Anti-malarial drug targets: screening for inhibitors of 2C-methyl-derythritol 4-phosphate synthase (IspC protein) in Mediterranean plants. *Phytomedicine*, 14, 242-249.
- Kanbay, M., Huddam, B., Azak, A., Solak, Y., Kocak Kadioglu, G., Kirbas, I., Duranay, M., Covic, A., and Johnson, R. J. (2011). A randomized study of allopurinol on endothelial function and estimated glomerular filtration rate in asymptomatic hyperuricemic subjects with normal renal function. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 6, 1887-1894.
- Kapoor, N., and Saxena, S. (2016). Xanthine oxidase inhibitory and antioxidant potential of Indian *Muscodor* species. *3 Biotech*, 6(2), 248-252.
- Karabulut, H. ve Gülay, M. Ş. (2016). Antioksidanlar. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1(1), 65-76.
- Kargioğlu, M., Cenkci, S., Serteser, A., Evliyaoğlu, N., Konuk, M., Kök, M. Ş., ve Bağcı, Y. (2008). An ethnobotanical survey of inner-West Anatolia, Turkey. *Human Ecology*, 36(5), 763-777.
- Kargioğlu, M., Cenkci, S., Serteser, A., Konuk, M. ve Vural, G. (2010). Traditional uses of wild plants in the middle Aegean region of Turkey. *Human Ecology*, 38(3), 429-450.
- Karim, A., Noor, A. T., Malik, A., Qadir, M. I., and Choudhary, M. I. (2009). Barlerisides A and B, new potent superoxide scavenging phenolic glycosides from *Barleria acanthoides*. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 24(6), 1332-1335.
- Kayani S., Ahmad, M. Sultana, S., Shinwari, Z.K., Zafar, M., Yaseen, G. Hussain, M., and Bibi, T. (2015). Ethnobotany of medicinal plants among the communities of Alpine and sub-Alpine regions of Pakistan. *Journal of Ethnopharmacology*, 164, 186-202.
- Khallouki, F., Haubner, R., Hull, W. E., Erben, G., Spiegelhalder, B., Bartsch, H., and Owen, R. W. (2007). Isolation, purification and identification of ellagic acid derivatives, catechins, and procyanidins from the root bark of *Anisophyllea dichostyla* R. Br. *Food and Chemical Toxicology*, 45(3), 472-485.
- Khan, S. B., Afza, N., Malik, A., Azhar-Ul-Haq, Perveen, S., Ahmad, I., Ejaz, A., and Choudhary, M. I. (2006). Xanthine oxidase inhibiting flavonol glycoside from *Amberboa ramosa*. *Natural Product Research*, 20(4), 335-339.
- Khanbabaee, K., and Ree, T. (2001). Tanens: classification and definition. *Natural Product Reports*, 18, 641-649.

- Kırmızıbekmez, H., Tiftik, K., Kúsz, N., Orban-Gyapai, O., Zomborszki, Z. P., and Hohmann, J. (2017). Three new iridoid glycosides from the aerial parts of *Asperula involucrata*. *Chemistry and Biodiversity*, 14(3).
- Kim, D. W., Curtis-Long, M. J., Yuk, H. J., Wang, Y., Song, Y. H., Jeong, S. H., and Park, K. H. (2014). Quantitative analysis of phenolic metabolites from different parts of *Angelica keiskei* by HPLC-ESI MS/MS and their xanthine oxidase inhibition. *Food Chemistry*, 153, 20-277.
- Kim, H. J., and Lee, Y. S. (2005). Identification of new dicaffeoylquinic acids from *Chrysanthemum morifolium* and their antioxidant activities. *Planta Medica*, 71(9), 871-876.
- Kim, J. K., Kim, W. J., Hyun, J. M., Lee, J. S., Kwon, J. G., Seo, C., Song, M. J., Choi, C. W., Hong, S. S., Park, K., Kim, P., Sung, H., Lee, J. K., and Choi, Y. (2017). *Salvia plebeia* extract inhibits xanthine oxidase activity *in vitro* and reduces serum uric acid in an animal model of hyperuricemia. *Planta Medica*, 83(17), 1335-1341.
- Klocke, J. A., Van Wagenent, B., and Balandrin, M. F. (1985). The ellagitannin geraniin and its hydrolysis products isolated as insect growth inhibitors from semi-arid land plants. *Phytochemistry*, 25(1), 85-91.
- Ko, H. H., Chang, W. L., and Lu, T. M. (2008). Antityrosinase and antioxidant effects of ent-kaurane diterpenes from leaves of *Broussonetia papyrifera*. *Journal of Natural Products*, 71(11), 1930-1933.
- Kobayashi, Y., Sato, H., Yorita, M., Nakayama, H., Miyazato, H., Sugimoto, K., and Jippo, T. (2016). Inhibitory effects of *Geranium* essential oil and its major component, citronellol, on degranulation and cytokine production by mast cells. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 80(6), 1172-1178.
- Koca, F. ve Karadeniz, F. (2014). Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve vücuttaki antioksidan savunma sistemleri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 32-27.
- Kohagura, K., Tana, T., Higa, A., Yamazato, M., Ishida, A., Nagahama, K., Sakima, A., Iseki, K., and Ohya, Y. (2016). Effects of xanthine oxidase inhibitors on renal function and blood pressure in hypertensive patients with hyperuricemia. *Hypertension Research*, 39(8), 593-597.
- Kondo, M., Hirano, Y., Nishio, M., Furuya, Y., Nakamura, H., and Watanabe, T. (2013). Xanthine oxidase inhibitory activity and hypouricemic effect of aspalathin from unfermented rooibos. *Journal of Food Science*, 78(12), 1935-1939.
- Kong, L. D., Abliz, Z., Zhou, C. X., Li, L. J., Cheng, C. H., and Tan, R. X. (2001). Glycosides and xanthine oxidase inhibitors from *Conyza bonariensis*. *Phytochemistry*, 58(4), 645-651.
- Kong, L. D., Wolfender, J. L., Cheng, C. H., Hostettmann, K., and Tan, R. X. (1999). Xanthine oxidase inhibitors from *Brandisia hancei*. *Planta Medica*, 65(8), 744-746.
- Kostic, D. A., Dimitrijevic, D. S., Stojanovic, G. S., Palic, I. R., Yorzevic, A. S., and Ickovski, J. D. (2015). Xanthine oxidase: isolation, assays of activity, and inhibition. *Journal of Chemistry*, 294858.

- Kumar, S., and Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *Scientific World Journal*, 162750.
- Kumar, S., Pagar, A. D., Ahmad, F., Dwibedi, V., Wani, A., Bharatam, P. V., Chhibber, M., Saxena, S., and Pal Singh, I. (2019). Xanthine oxidase inhibitors from an endophytic fungus *Lasiodiplodia pseudotheobromae*. *Bioorganic Chemistry*, 87, 851-856.
- Kumar, U. S., Tiwari, A. K., Reddy, S. V., Aparna, P., Rao, R. J., Ali, A. Z., and Rao, J. M. (2005). Free-radical-scavenging and xanthine oxidase inhibitory constituents from *Stereospermum personatum*. *Journal of Natural Products*, 68(11), 1615-1621.
- Kurisawa, M., Chung, J. E., Kim, Y. J., Uyama, H., and Kobayashi, S. (2003). Amplification of antioxidant activity and xanthine oxidase inhibition of catechin by enzymatic polymerization. *Biomacromolecules*, 4(3), 469-471.
- Kuruppu, A. I., Paranagama, P., and De Silva, R. (2019). Anticancer potential of natural products: a review focusing on Sri Lankan plants. *Frontiers in Biosciences*, 11, 161-177.
- Kweon, M. H., Hwang, H. J., and Sung, H. C. (2001). Identification and antioxidant activity of novel chlorogenic acid derivatives from bamboo (*Phyllostachys edulis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4646-4655.
- Lakhdari, W., and Dehliz, A. (2016). Ethnobotanical study of some plants used in traditional medicine in the region of Oued Righ (Algerian Sahara). *Journal of Medicinal Plants*, 4(2), 204-211.
- Lam, M. P., Yeung, C. K., and Cheung, B. M. (2013). Pharmacogenetics of allopurinol-making an old drug safer. *Journal of Clinical Pharmacology*, 53(7), 675-679.
- Lamaison, J.L., Petitjean-Freytet, C., and Carnat, A. (1993). Tannin in polyphenols and antioxidant activity in French Geraniaceae. *Plantes Medicinales et Phytotherapie*, 26(2), 130-134.
- Lavelli, V. (2002). Comparison of the antioxidant activities of extra virgin olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(26), 7704-7708.
- Lespade, L., and Bercion, S. (2010). Theoretical study of the mechanism of inhibition of xanthine oxidase by flavonoids and gallic acid derivatives. *Journal of Physical Chemistry B*, 114(2), 921-928.
- Leu, S. J., Lin, Y. P., Lin, R. D., Wen, C. L., Cheng, K. T., Hsu, F. L., and Lee, M. H. (2006). Phenolic constituents of *Malus doumeri* var. *formosana* in the field of skin care. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29(4), 740-745.
- Li, J. W., and Vederas, J. C. (2009). Drug discovery and natural products: end of an era or an endless frontier? *Science*, 325(5937), 161-165.
- Li, S., Liu, C., Guo, L., Zhang, Y., Wang, J., Ma, B., Wang, Y., Wang, Y., Ren, J., Yang, X., Qin, Y., and Tang, Y. (2014). Ultrafiltration liquid chromatography combined with high-speed counter current chromatography for screening and isolating potential α -glucosidase and xanthine oxidase inhibitors from Cortex *Phellodendri*. *Journal of Separation Science*, 37(18), 2504-2512.

- Li, S., Tang, Y., Liu, C., Li, J., Guo, L., and Zhang, Y. (2015). Development of a method to screen and isolate potential xanthine oxidase inhibitors from *Panax japonicus* Var via ultrafiltration liquid chromatography combined with counter-current chromatography. *Talanta*, 134, 665-673.
- Li, Y., Frenz, C. M., Li, Z., Chen, M., Wang, Y., Li, F., Luo, C., Sun, J., Bohlin, L., Li, Z., Yang, H., and Wang, C. (2013). Virtual and *in vitro* bioassay screening of phytochemical inhibitors from flavonoids and isoflavones against xanthine oxidase and cyclooxygenase-2 for gout treatment. *Chemical Biology & Drug Design*, 81(4), 537-544.
- Lin, C. M., Chen, C. S., Chen, C. T., Liang, Y. C., and Lin, J. K. (2002). Molecular modeling of flavonoids that inhibits xanthine oxidase. *Biochemistry and Biophysics Research Communications*, 294(1), 167-172.
- Lin, J. H., and Lin, M. F. (1997). Tannins and related compounds from *Erodium moschatum* (L.) L'Her. *Journal of Food and Drug Analysis*, 5, 347-354.
- Lin, K. W., Chen, Y. T., Yang, S. C., Wei, B. L., Hung, C. F., Lin, and C. N. (2013). Xanthine oxidase inhibitory lanostanoids from *Ganoderma tsugae*. *Fitoterapia*, 89, 231-238.
- Lin, K. W., Huang, A. M., Tu, H. Y., Weng, J. R., Hour, T. C., Wei, B. L., Yang, S. C., Wang, J. P., Pu, Y. S., and Lin, C. N. (2009). Phloroglucinols inhibit chemical mediators and xanthine oxidase, and protect cisplatin-induced cell death by reducing reactive oxygen species in normal human urothelial and bladder cancer cells. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 57(19), 8782-8787.
- Lin, L. Z., Sun, J., Chen, P., Monagas, M. J., and Harnly, J. M. (2014). UHPLC-PDA-ESI/HRMSn profiling method to identify and quantify oligomeric proanthocyanidins in plant products. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 62, 9387-9400.
- Lin, L., Yang, Q., Zhao, K., and Zhao, M. (2018). Identification of the free phenolic profile of Adlay bran by UPLC-QTOF-MS/MS and inhibitory mechanisms of phenolic acids against xanthine oxidase. *Food Chemistry*, 253, 108-118.
- Lin, S., Zhang, G., Liao, Y., Pan, J., and Gong, D. (2015). Dietary flavonoids as xanthine oxidase inhibitors: structure-affinity and structure-activityrelationships. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 63(35), 7784-7794.
- Lin, W. Q., Xie, J. X., Wu, X. M., Yang, L., and Wang, H. D. (2014). Inhibition of xanthine oxidase activity by *Gnaphalium affine* extract. *Chinese Medical Sciences Journal*, 29(4), 225-230.
- Lis-Balchin, M. T., and Hart, S. L. (1994). A pharmacological appraisal of the folk medicinal usage of *Pelargonium grossularioides* and *Erodium cicutarium*. *Journal of Herbs Spices & Medicinal Plants*, 2(3), 41-48.
- Lis-Balchin, M., and Guittonneau, G.G. (1995). Preliminary investigations on the presence of alkaloids in the genus *Erodium* L'Her. (*Geraniaceae*). *Acta Botanica Gallica*, 142(1), 31-35.

- Lis-Balchin, M., and Guittonneau, G. G. (1993). Alkaloid screening in the genus *Erodium*. *Planta Medica*, 59(7), 694.
- Liu, C. W., Chang, W. C., Lee, C. C., Shau, W. Y., Hsu, F. S., Wang, M. L., Chen, T. C., Lo, C., and Hwang, J. J. (2019). The net clinical benefits of febuxostat versus allopurinol in patients with gout or asymptomatic hyperuricemia - A systematic review and meta-analysis. *Nutrition Metabolism & Cardiovascular Diseases*, S0939-4753(19), 30245-30245.
- Liu, K., Wang, W., Guo, B. H., Gao, H., Liu, Y., Liu, X. H., Yao, H. L., and Cheng, K. (2016). Chemical evidence for potent xanthine oxidase inhibitory activity of ethyl acetate extract of *Citrus aurantium* L. dried immature fruits. *Molecules*, 21(3).
- Liu, X. X., Sun, S. W., Yuan, W. J., Gao, H., Si, Y. Y., Liu, K., Zhang, S., Liu, Y., and Wang, W. (2018). Isolation of triclinic as a xanthine oxidase inhibitor from sweet white clover (*Melilotus albus*) and its distribution in selected Gramineae species. *Molecules*, 23(10), pii: E2719.
- Liu, X., Chen, R., Shang, Y., Jiao, B. and Huang, C. (2009). Superoxide radicals scavenging and xanthine oxidase inhibitory activity of magnesium lithospermate B from *Salvia miltiorrhiza*. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 24(3), 663-668.
- Lopes Galeno, D. M., Carvalho, R. P., Boleti, A. P., Lima, A. S., Oliveira de Almeida, P. D., Pacheco, C. C., Pereira de Souza, T., and Lima, E. S. (2014). Extract from *Eugenia punicifolia* is an antioxidant and inhibits enzymes related to metabolic syndrome. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 172(1), 311-324.
- Macia, M. J., Garcia, E., and Vidaurre, P. J. (2005). An ethnobotanical survey of medicinal plants commercialized in the markets of La Paz and El Alto, Bolivia. *Journal of Ethnopharmacology*, 97, 337-350.
- Maffei Facino, R., Carini, M., Aldini, G., Bombardelli, E., Morazzoni, P., and Morelli, R. (1994). Free radicals scavenging action and anti-enzyme activities of procyanidines from *Vitis vinifera*. A mechanism for their capillary protective action. *Arzneimittelforschung*, 44(5), 592-601.
- Malik, N., Dhiman, P., and Khatkar, A. (2019). *In silico* design and synthesis of targeted rutin derivatives as xanthine oxidase inhibitors. *BMC Chemistry*, 13(1), 71.
- Meda, N. T., Lamien-Meda, A., Kiendrebeogo, M., Lamien, C. E., Coulibaly, A. Y., Millogo-Rasolodimby, J., and Nacoulma, O. G. (2010). *In vitro* antioxidant, xanthine oxidase and acetylcholinesterase inhibitory activities of *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. (Balanitaceae). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 13(8), 362-368.
- Medina, J.E., Rendina, R.V.D., and Cousslo, J.D. (1977). Phytochemical screening of Argentine plants with potential pharmacological activity (Part VII). *Planta Medica*, 31, 136-140.
- Meneshian, A., and Bulkley, G. B. (2002). The physiology of endothelial xanthine oxidase: from urate catabolism to reperfusion injury to inflammatory signal transduction. *Microcirculation*, 9, 161-175.

- Mingshu, L., Kai Y., Qiang, H., and Dongying, J. (2006). Biodegradation of gallotannins and ellagitannins. *Journal of Basic Microbiology*, 46, 68-84.
- Mitomo, S., Hirota, M., and Fujita, T. (2019). New xanthine oxidase inhibitors from the fruiting bodies of *Tyromyces fissilis*. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 83(5), 813-823.
- Mohamed Isa, S. S. P., Ablat, A., and Mohamad, J. (2018). The antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activity of *Plumeria rubra* flowers. *Molecules*, 23(2), pii: E400.
- Mohos, V., Pánovics, A., Fliszár-Nyúl, E., Schilli, G., Hetényi, C., Mladěnka, P., Needs, P. W., Kroon, P. A., Pethő, G., and Poór, M. (2019). Inhibitory effects of quercetin and its human and microbial metabolites on xanthine oxidase enzyme. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(11), pii: E2681.
- Moini, H., Guo, Q., and Packer, L. (2000). Enzyme inhibition and protein-binding action of the procyanidin-rich french maritime pine bark extract, pycnogenol: effect on xanthine oxidase. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48(11), 5630-5639.
- Molares, S., and Ladio, A. (2009). Ethnobotanical review of the Mapuche medicinal flora: use patterns on a regional scale. *Journal of Ethnopharmacology*, 122(2), 251-260.
- Morgan, E. J., Stewart, C. P., and Hopkins, F. G. (1922). On the anaerobic and aerobic oxidation of xanthin and hypoxanthin by tissues and by milk, *Proceedings of the Royal Society of London - Series B*, 94(657), 109-131.
- Mossa, J. S., Al-Yahya, M. A., Al-Meshal, I. A., and Tariq, M. (1983). Phytochemical and biological screening of Saudi medicinal plant (Part 5). *Fitoterapia*, 54, 147-152.
- Muñoz, O., Christen, P., Cretton, S., Backhouse, N., Torres, V., Correa, O., Costa, E., Miranda, H., and Delporte, C. (2011). Chemical study and anti-inflammatory, analgesic and antioxidant activities of the leaves of *Aristolelia chilensis* (Mol.) Stuntz, Elaeocarpaceae. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 63(6), 849-859.
- Murata, K., Nakao, K., Hirata, N., Namba, K., Nomi, T., Kitamura, Y., Moriyama, K., Shintani, T., Iinuma, M., and Matsuda, H. (2009). Hydroxychavicol: A potent xanthine oxidase inhibitor obtained from the leaves of betel, *Piper betle*. *Journal of Natural Medicine*, 63(3), 355-359.
- Murugaiyah, V., and Chan, K. L. (2009). Mechanisms of antihyperuricemic effect of *Phyllanthus niruri* and its lignan constituents. *Journal of Ethnopharmacology*, 124(2), 233-239.
- Muzychka, O. V., Kobzar, O. L., Popova, A. V., Frasinyuk, M. S., and Vovk, A. I. (2017). Carboxylated aurone derivatives as potent inhibitors of xanthine oxidase. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 25(14), 3606-3613.
- Nagao, A., Seki, M., and Kobayashi, H. (1999). Inhibition of xanthine oxidase by flavonoids. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 63(10), 1787-1790.
- Nakagawa, T., Mazzali, M., Kang, D. H., Sánchez-Lozada, L. G., Herrera-Acosta, J., and Johnson, R. J. (2006). Uric acid-a uremic toxin? *Blood Purification*, 24(1), 67-70.

- Napagoda, M., Gerstmeier, J., Butschek, H., Lorenz, S., Kanatiwela, D., Qader, M., Nagahawatte, A., De Soyza, S., Wijayaratne, G. B., Svatoš, A., Jayasinghe, L., Koeberle, A., and Werz, O. (2018). Lipophilic extracts of *Leucas zeylanica*, a multi-purpose medicinal plant in the tropics, inhibit key enzymes involved in inflammation and gout. *Journal of Ethnopharmacology*, 224, 474-481.
- Narang, R. K., and Dalbeth, N. (2018). Management of complex gout in clinical practice: Update on therapeutic approaches. *Best Practice & Research: Clinical Rheumatology*, 32(6), 813-834.
- Newman, D. J, and Cragg, G. M. (2016). Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *Journal of Natural Products*, 79(3), 629-661.
- Ngoc, T. M., Hung, T. M., Thuong, P. T., Kim, J. C., Choi, J. S., Bae, K., Hattori, M., Choi, C. S., Lee, J. S., and Min, B. S. (2008). Antioxidative activities of galloyl glucopyranosides from the stem-bark of *Juglans mandshurica*. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 72(8), 2158-2163.
- Nguyen, M. T., and Nguyen, N. T. (2012). Xanthine oxidase inhibitors from Vietnamese *Blumea balsamifera* L. *Phytotherapy Research*, 26(8), 1178-11781.
- Nguyen, M. T., Awale, S., Tezuka, Y., Tran, Q. L., and Kadota, S. (2005). Xanthine oxidase inhibitors from the heartwood of Vietnamese *Caesalpinia sappan*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 53(8), 984-988.
- Nguyen, M. T., Awale, S., Tezuka, Y., Ueda, J. Y., Tran, Q. L., and Kadota, S. (2006). Xanthine oxidase inhibitors from the flowers of *Chrysanthemum sinense*. *Planta Medica*, 72(1), 46-51.
- Nieto, F. J., Iribarren, C., Gross, M. D., Comstock, G. W., and Cutler, R. G. (2000). Uric acid and serum antioxidant capacity: a reaction to atherosclerosis? *Atherosclerosis*, 148(1), 131-139.
- Nijveldt, R. J., van Nood, E., van Hoorn, D. E., Boelens, P. G., van Norren, K., and van Leeuwen, P. A. (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal of Clinical Nutrition*, 74(4), 418-425.
- Nikitina, V. S., Kuz'mina, L. Y., Melent'ev, A. I., and Shendel, G. V. (2007). Antibacterial activity of polyphenolic compounds isolated from plants of Geraniaceae and Rosaceae families. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 43(6), 629-634.
- Nikolova, M., Tsvetkova, R., and Ivancheva, S. (2010). Evaluation of antioxidant activity in some Geraniacean species. *Botanica Serbica*, 34(2), 123-125.
- Nile, S. H., and Park, S. W. (2014). Antioxidant, α -glucosidase and xanthine oxidase inhibitory activity of bioactive compounds from maize (*Zea mays* L.). *Chemical Biology & Drug Design*, 83(1), 119-125.
- Nile, S. H., Keum, Y. S., Nile, A. S., Jalde, S. S., and Patel, R. V. (2018). Antioxidant, anti-inflammatory, and enzyme inhibitory activity of natural plant flavonoids and their synthesized derivatives. *Journal of Biochemistry and Molecular Toxicology*, 32(1), 1-8.

- Nishiwaki, K., Ohigashi, K., Deguchi, T., Murata, K., Nakamura, S., Matsuda, H., and Nakanishi, I. (2018). Structure-activity relationships and docking studies of hydroxychavicol and its analogs as xanthine oxidase inhibitors. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 66(7), 741-747.
- Niu, Y., Liu, J., Liu, H. Y., Gao, L. H., Feng, G. H., Liu, X., and Li, L. (2016). Hypouricaemic action of mangiferin results from metabolite norathyriol via inhibiting xanthine oxidase activity. *Pharmaceutical Biology*, 54(9), 1680-1686.
- Noro, T., Sekiya, T., Katoh, M., Oda, Y., Miyase, T., Kuroyanagi, M., Ueno, A., and Fukushima, S. (1988) Inhibitors of xanthine oxidase from *Alpinia galanga*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 36, 244-248.
- Ojha, R., Singh, J., Ojha, A., Singh, H., Sharma, S., and Nepali, K. (2017). An updated patent review: xanthine oxidase inhibitors for the treatment of hyperuricemia and gout (2011-2015). *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 27(3), 311-345.
- Okamoto, K., Eger, B.T., Nishino, T., Pai, E.F., and Nishino, T. (2008). Mechanism of inhibition of xanthine oxidoreductase by allopurinol: crystal structure of reduced bovine milk xanthine oxidoreductase bound with oxipurinol. *Nucleosides Nucleotides and Nucleic Acids*, 27, 888-893.
- Olğaç, A., Orhan, I. E., and Banoglu, E. (2017). The potential role of *in silico* approaches to identify novel bioactive molecules from natural resources. *Future Medicinal Chemistry*, 9(14), 1665-1686.
- Orbán-Gyapai, O., Lajter, I., Hohmann, J., Jakab, G, and Vasas, A. (2015). Xanthine oxidase inhibitory activity of extracts prepared from Polygonaceae species. *Phytotherapy Research*, 29(3), 459-465.
- Oskay, D. ve Eş, Ö. (2015). Bazı tek yıllık *Erodium* taksonlarının merikarpları üzerinde mikromorfolojik incelemeler. *Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 11(2), 135-142.
- Oskay, D. ve Oskay, M. (2009). Bitki sekonder metabolitlerinin biyoteknolojik önemi. *Ecological Life Sciences*, 4(2), 5A0006.
- Owen, P. L., and Johns, T. (1999). Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout. *Journal of Ethnopharmacology*, 64(2), 149-160.
- Öksüz, M.C. ve Samancı, N. (2003). Kristal artropatilerinden gut. *Türk Tabipleri Birliği Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi-STED*, 12(8), 303-206.
- Özgen, U., Kaya, Y., and Houghton, P. (2012). Folk medicines in the villages of Ilıca District (Erzurum, Turkey). *Turkish Journal of Biology*, 36(1), 93-106.
- Özyürek, M., Bektaşoğlu, B., Güçlü, K., ve Apak, R. (2009). Measurement of xanthine oxidase inhibition activity of phenolics and flavonoids with a modified cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC) method. *Analytica Chimica Acta*, 636(1), 42-50.

- Pacher, P., Nivorozhkin, A., and Szabo, C. (2006). Therapeutic effects of xanthine oxidase inhibitors: renaissance half a century after the discovery of allopurinol. *Pharmacological Reviews*, 58, 87-114.
- Palu, A., Deng, S., West, B., and Jensen, J. (2009). Xanthine oxidase inhibiting effects of noni (*Morinda citrifolia*) fruit juice. *Phytotherapy Research*, 23(12), 1790-1791.
- Pardo-de Santayana, M., Blanco, E., and Morales, R. (2005). Plants known as té in Spain: An ethno-pharmaco-botanical review. *Journal of Ethnopharmacology*, 98(1), 1-19.
- Pardo-de Santayana, M., Pieroni, A., and Puri, R.K. (2010). *Ethnobotany in New Europe*, Berghahn Books, 222-228.
- Pascart, T., and Richette, P. (2017). Current and future therapies for gout. *Expert Opinion in Pharmacotherapy*, 18(12), 1201-1211.
- Pauff, J. M., and Hille, R. (2009). Inhibition studies of bovine xanthine oxidase by luteolin, silibinin, quercetin, and curcumin. *Journal of Natural Products*, 72(4), 725-731.
- Peluso, I., and Serafini, M. (2017). Antioxidants from black and green tea: from dietary modulation of oxidative stress to pharmacological mechanisms. *British Journal of Pharmacology*, 174(11), 1195-1208.
- Penkov, D., Andonova, V., Kostadinov, I., Delev, D., Georgieva, M., Kostadinova, I., and Dimitrova, S. (2014). Study on anti-inflammatory and analgesic effects of total extract of *Geranium sanguineum*, *Astragalus glycyphyllos*, *Erodium cicutarium* and *Vincetoxicum officinalis*. *Science & Technologies*, IV(1), 50-54.
- Pereira, O. R., Catarino, M. D., Afonso, A. F., Silva, A. M. S., and Cardoso, S. M. (2018). *Salvia elegans*, *Salvia greggii* and *Salvia officinalis* decoctions: antioxidant activities and inhibition of carbohydrate and lipid metabolic enzymes. *Molecules*, 23(12), pii: E3169.
- Perez-Ruiz, F., and Dalbeth, N. (2019). Combination urate-lowering therapy in the treatment of gout: What is the evidence? *Seminars in Arthritis and Rheumatology*, 48(4), 658-668.
- Perez-Vizcaino, F., and Fraga, C. G. (2018). Research trends in flavonoids and health. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 646, 107-112.
- Phuwapraisirisan, P., Sowanthip, P., Miles, D. H., and Tip-Pyang, S. (2006). Reactive radical scavenging and xanthine oxidase inhibition of proanthocyanidins from *Carallia brachiata*. *Phytotherapy Research*, 20(6), 458-461.
- Pieroni, A., and Cattero, V. (2019). Wild vegetables do not lie: Comparative gastronomic ethnobotany and ethnolinguistics on the Greek traces of the Mediterranean diet of southeastern Italy. *Acta Botanica Brasilica*, 33(2), 198-211.
- Prachayasittikul, V., Worachartcheewan, A., Shoombuatong, W., Songtawe, N., Simeon, S., Prachayasittikul, V., and Nantasenamat, C. (2015). Computer-aided drug design of bioactive natural products. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 15(18), 1780-1800.

- Prathapan, A., Lijo Cherian, O., Nampoothiri, S. V., Mini, S., and Raghu, K. G. (2011). *In vitro* antiperoxidative, free radical scavenging and xanthine oxidase inhibitory potentials of ethyl acetate fraction of *Saraca ashoka* flowers. *Natural Product Research*, 25(3), 298-309.
- Quave, C. L., Plano, L. R. W., Pantuso, T., and Bennett, B. C. (2008). Effects of extracts from Italian medicinal plants on planktonic growth, biofilm formation and adherence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 118(3), 418-428.
- Radhia, A., Hanen, N., Abdelkarim, B. A., and Mohamed, N. (2018). Phytochemical screening, antioxidant and antimicrobial activity of *Erodium glaucophyllum* (L.) L'Hérit. *Journal of Biomedical Sciences*, 7(4), 13.
- Radulović, N., Dekić, M., Stojanović-Radić, Z., and Palić, R. (2009) Volatile constituents of *Erodium cicutarium* (L.) L' Hér. (Geraniaceae). *Central European Journal of Biology*, 4(3), 404-410.
- Rajaei, P., and Mohamadi, N. (2012). Ethnobotanical study of medicinal plants of Hezar mountain allocated in south east of Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 11(4), 1153-1167.
- Rani, M. P., and Padmakumari, K. P. (2012). *In vitro* studies to assess the antidiabetic, antiperoxidative, and radical scavenging potential of *Stereospermum colais*. *Pharmaceutical Biology*, 50(10), 1254-1260.
- Ranjana, Nooreen, Z., Bushra, U., Jyotshna, Bawankule, D. U., Shanker, K., Ahmad, A., and Tandon, S. (2019). Standardization and xanthine oxidase inhibitory potential of *Zanthoxylum armatum* fruits. *Journal of Ethnopharmacology*, 230, 1-8.
- Rathee, P., Chaudhary, H., Rathee, S., Rathee, D., Kumar, V., and Kohli, K. (2009). Mechanism of action of flavonoids as anti-inflammatory agents: a review. *Inflammation Allergy and Drug Targets*, 8(3), 229-235.
- Raziq, N., Saeed, M., Ali, M. S., Zafar, S., Shahid, M., and Lateef, M. (2017). A new glycosidic antioxidant from *Ranunculus muricatus* L. (Ranunculaceae) exhibited lipoxygenasae and xanthine oxidase inhibition properties. *Natural Product Research*, 31(11), 1251-1257.
- Rehman, K., Khan, M. A., Ullah, Z., and Chaudhary, H. J. (2015). An ethnobotanical perspective of traditional medicinal plants from the Khattak tribe of Chonthra Karak, Pakistan. *Journal of Ethnopharmacology*, 165, 251-259.
- Ren, J., Liao, L., Shang, S., Zheng, Y., Sha, W., and Yuan, E. (2019). Purification, characterization, and bioactivities of polyphenols from *Platycladus orientalis* (L.) Franco. *Journal of Food Science*, 84(3), 667-677.
- Rietjens, I. M., Boersma, M. G., van der Woude, H., Jeurissen, S. M., Schutte, M. E., and Alink, G. M. (2005). Flavonoids and alkenylbenzenes: mechanisms of mutagenic action and carcinogenic risk. *Mutation Research*, 574(1-2), 124-138.

- Rodrigo, G. C., Almanza, G. R., Akesson, B., and Duan, R. D. (2010). Antiproliferative activity of extracts of some Bolivian medicinal plants. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(21), 2204-2210.
- Rodrigues, T., Reker, D., Schneider, P., and Schneider, G. (2016). Counting on natural products for drug design. *Nature Chemistry*, 8(6), 531-541.
- Rungsung, W., Ratha, K. K., Dutta, S., Dixit, A. K., and Hazra, J. (2015). Secondary metabolites of plants in drug discovery. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 4(7), 604-613.
- Safa, O., Soltanipoor, M. A., Rastegar, S., Kazemi, M., Dehkordi, K. N., and Ghannadi, A. R. (2012). An ethnobotanical survey on hormozgan province, Iran. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 3(1), 64-81.
- Sakai, T., Tanemura, Y., Itoh, S., and Fujimoto, Y. (2013). Dodecyl α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-fucopyranoside derivatives from the glandular trichome exudate of *Erodium pelargoniflorum*. *Chemistry & Biodiversity*, 10(6), 1099-1108.
- Sakurai, T., Sugawara, H., Saito, K., and Kano, Y. (1994). Effects of the acetylene compound from *Atractylodes* rhizome on experimental gastric ulcers induced by active oxygen species. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 17(10), 1364-1368.
- Saleh, N. A. M., El-karemy, Z. A. R., Mansour, R. M. A., and Fayed, A. A. A. (1983). A chemosystematic study of some Geraniaceae. *Phytochemistry*, 22(11), 2501-2505.
- Salvamani, S., Gunasekaran, B., Shukor, M. Y., Shaharuddin, N. A., Sabullah, M. K., and Ahmad, S. A. (2016). Anti-HMG-CoA reductase, antioxidant, and anti-inflammatory activities of *Amaranthus viridis* leaf extract as a potential treatment for hypercholesterolemia. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 8090841.
- Santi, M. D., Paulino-Zunini, M., Vera, B., Bouzidi, C., Dumontet, V., Abin-Carriquiry, A., Grougnet, R., and Ortega, M. G. (2018). Xanthine oxidase inhibitory activity of natural and hemisynthetic flavonoids from *Gardenia oudiepe* (Rubiaceae) *in vitro* and molecular docking studies. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 143, 577-582.
- Sarawek, S., Feistel, B., Pischel, I., and Butterweck, V. (2008). Flavonoids of *Cynara scolymus* possess potent xanthinoxidase inhibitory activity *in vitro* but are devoid of hypouricemic effects in rats after oral application. *Planta Medica*, 74(3), 221-227.
- Sargin, S. A., Selvi, S., and Büyükcengiz, M. (2015). Ethnomedicinal plants of Aydıncık district of Mersin, Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, 174, 200-216.
- Schardinger, F. (1902). Ueber das verhalten der kuhmilch gegen methylenblau und seine verwendung zur unterscheidung von ungekochter und gekochter milch, *Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs- und Genussmittel*, 5(22), 1113-1121.
- Schlegel, B., Härtl, A., Gollmick, F. A., and Gräfe, U. (2003). 7-Methoxy-2,3-dimethylbenzofuran-5-ol, a new antioxidant from *Malbranchea cinnamomea* HKI 0286. *Journal of Antibiotics*, 56(9), 792-794.

- Schmeda-Hirschmann, G., Tapia, A., Theoduloz, C., Rodríguez, J., López, S., and Feresin, G. E. (2004). Free radical scavengers and antioxidants from *Tagetes mendocina*. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 59(5-6), 345-353.
- Selloum, L., Reichl, S., Müller, M., Sebihi, L., and Arnhold, J. (2001). Effects of flavonols on the generation of superoxide anion radicals by xanthine oxidase and stimulated neutrophils. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 395(1), 49-56.
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. S. R., and De, B. (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(1), 91-100.
- Shi, B., He, Q., Yao, K., Huang, W., and Qing, L. (2005). Production of ellagic acid from degradation of valonea tannins by *Aspergillus niger* and *Candida utilis*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 80, 1154-1159.
- Shu, R. G., Wang, F. W., Yang, Y. M., Liu, Y. X., and Tan, R. X. (2004). Antibacterial and xanthine oxidase inhibitory cerebrosides from *Fusarium* sp. IFB-121, an endophytic fungus in *Quercus variabilis*. *Lipids*, 39(7), 667-673.
- Singleton, V. L., and Rossi, J. A. J. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- Song, H. P., Zhang, H., Fu, Y., Mo, H. Y., Zhang, M., Chen, J., and Li, P. (2014) Screening for selective inhibitors of xanthine oxidase from Flos Chrysanthemum using ultrafiltration LC-MS combined with enzyme channel blocking. *Journal of Chromatography B*, 961, 56-61.
- Song, S. H., Park, D. H., Bae, M. S., Choi, C. Y., Shim, J. H., Yoon, G., Cho, Y. C., Oh, D. S., Yoon, I. S., and Cho, S. S. (2018). Ethanol extract of *Cudrania tricuspidata* leaf ameliorates hyperuricemia in mice via inhibition of hepatic and serum xanthine oxidase activity. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 8037925.
- Song, S. Y., Song, S. H., Bae, M. S., and Cho, S. S. (2018) Phytochemical constituents and the evaluation biological effect of *Cinnamomum yabunikkei* H. Ohba leaf. *Molecules*, 24(1), pii: E81.
- Souri, E., Amin, G., Dehmobed-Sharifabadi, A., Nazifi, A., and Farsam, H. (2004). Antioxidative activity of sixty plants from Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 3, 55-59.
- Sousa, C., Pereira, D. M., Valentão, P., Ferreres, F., Pereira, J. A., Seabra, R. M., and Andrade, P. B. (2009). *Pieris brassicae* inhibits xanthine oxidase. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 57(6), 2288-2294.
- Sroka, Z., Bodalska, H. R., and Mazol, I. (1994). Antioxidative effect of extracts from *Erodium cicutarium* L. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 49(11-12), 881-884.
- Stamp, L. K., and Barclay, M. L. (2018). How to prevent allopurinol hypersensitivity reactions? *Rheumatology*, 57(1), 35-41.

- Stobiecki, M., Olechnowicz-Stępień, W., Rządowska-Bodalska, H., Cisowski, W., and Budko, E. (1988). Identification of flavonoid glycosides isolated from plants by fast atom bombardment mass spectrometry and gas chromatography/mass spectrometry. *Biological Mass Spectrometry*, 15(11), 589-594.
- Stojanović-Radić, Z., Čomić, L., Radulović, N., Dekić, M., Randelović, V., and Stefanović, O. (2010). Chemical composition and antimicrobial activity of *Erodium* species: *E. ciconium* L., *E. cicutarium* L., and *E. absinthoides* Willd. (Geraniaceae). *Chemical Papers*, 64(3), 368-377.
- Stratton, C. F., Newman, D. J., and Tan, D. S. (2015). Cheminformatic comparison of approved drugs from natural product versus synthetic origins. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25(21), 4802-4807.
- Strilchuk, L., Fogacci, F., and Cicero, A. F. (2019). Safety and tolerability of available urate-lowering drugs: a critical review. *Expert Opinion in Drug Safety*, 18(4), 261-271.
- Su, Q, Su, H, Nong, Z., Li, D., Wang, L., Chu, S., Liao, L., Zhao, J., Zeng, X., Ya, Q., He, F., Lu, W., Wei, B., Wei, G., and Chen, N. (2018). Hypouricemic and nephroprotective effects of an active fraction from *Polyrhachis vicina* Roger on potassium oxonate-induced hyperuricemia in rats. *Kidney and Blood Pressure Research*, 43(1), 220-233.
- Sukuru, S. C. K., Jenkins, J. L., Beckwith, R. E. J., Scheiber, J., Bender, A., Mikhailov, D., Davies, J. W., and Glick, M. (2009). Plate-based diversity selection based on empirical HTS data to enhance the number of hits and their chemical diversity. *Journal of Biomolecular Screening*, 14 (6), 690-699.
- Sweeney, A. P., Wyllie, S. G., Shalliker, R. A., and Markham, J. L. (2001). Xanthine oxidase inhibitory activity of selected Australian native plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 75(2-3), 273-277.
- Şimşek, I., Aytekin, F., Yeşilada, E. ve Yıldırım, Ş. (2004). An ethnobotanical survey of the Beypazari, Ayas, and Gündül district towns of Ankara Province (Turkey). *Economic Botany*, 58(4), 705-720.
- Tanaka, R., Miyata, Y., Minakuchi, N., Murakami, A., and Sakazaki, F. (2015). The xanthine oxidase inhibitory activity and hypouricemic effects of crude drugs obtained from the silkworm in mice. *Yakugaku Zasshi*, 135(10), 1169-1176.
- Tang, H. J., Li, W., Zhou, M., Peng, L. Y., Wang, J. X., Li, J. H., and Chen, J. (2018). Design, synthesis and biological evaluation of novel xanthine oxidase inhibitors bearing a 2-arylbenzo[b]furan scaffold. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 151, 849-860.
- Tang, X., Tang, P., Ma, L., and Liu, L. (2019). Screening and evaluation of xanthine oxidase inhibitors from *Gnetum parvifolium* in China. *Molecules*, 24(14), pii: E2671.
- Tanker, N., Koyuncu, M. ve Coşkun, M. (2004). *Farmasötik botanik*. Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 78, 260.
- Tene, V., Malagón, O., Finzi, P.V., Vidari, G., Armijos, C., and Zaragoza, T. (2007). An ethnobotanical survey of medicinal plants used in Loja and Zamora-Chinchi, Ecuador. *Journal of Ethnopharmacology*, 111(1), 63-81.

- Tetik, F., Civelek, Ş. ve Çakılcıoğlu, U. (2013). Traditional uses of some medicinal plants in Malatya (Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 146(1), 331-346.
- Tita, I., Mogosanu, G. D., and Tita, M. G. (2009). Ethnobotanical inventory of medicinal plants from the South-West of Romania. *Farmacia*, 57(2), 141-156.
- Trevisan, M. T., Pfundstein, B., Haubner, R., Würtele, G., Spiegelhalder, B., Bartsch, H., and Owen, R. W. (2006). Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity. *Food and Chemical Toxicology*, 44(2), 188-197.
- Tsai, S. F., and Lee, S. S. (2014). Neolignans as xanthine oxidase inhibitors from *Hyptis rhomboides*. *Phytochemistry*, 101, 121-127.
- Tung, Y. T., and Chang, S. T. (2010). Inhibition of xanthine oxidase by *Acacia confusa* extracts and their phytochemicals. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 58(2), 781-786.
- Umamaheswari, M., Asokkumar, K., Sivashanmugam, A. T., Remyaraju, A., Subhadradevi, V., and Ravi, T. K. (2009). *In vitro* xanthine oxidase inhibitory activity of the fractions of *Erythrina stricta* Roxb. *Journal of Ethnopharmacology*, 124(3), 646-648.
- Umamaheswari, M., Asokkumar, K., Somasundaram, A., Sivashanmugam, T., Subhadradevi, V., and Ravi, T. K. (2007). Xanthine oxidase inhibitory activity of some Indian medical plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 109(3), 547-551.
- Unno, T., Sugimoto, A., and Kakuda, T. (2004). Xanthine oxidase inhibitors from the leaves of *Lagerstroemia speciosa* (L.) Pers. *Journal of Ethnopharmacology*, 93(2-3), 391-395.
- Ünver, E., Ağma Okur, A., Tahtabiçen, E., Kara, B. ve Şamlı, H. E. (2014). Tanenler ve hayvan besleme üzerine etkileri. *Türk Tarım Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 2(6), 263-267.
- Valentão, P., Fernandes, E., Carvalho, F., Andrade, P. B., Seabra, R. M., and Bastos, M. L. (2001). Antioxidant activity of *Centaurea erythraea* infusion evidenced by its superoxide radical scavenging and xanthine oxidase inhibitory activity. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49(7), 3476-3479.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncola, J., Cronin, M. T. D., Mazura, M., and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39, 44-84.
- Wang, J., Shi, D., Zheng, M., Ma, B., Cui, J., Liu, C., and Liu, C. (2017). Screening, separation, and evaluation of xanthine oxidase inhibitors from *Paeonia lactiflora* using chromatography combined with a multi-mode microplate reader. *Journal of Separation Science*, 40(21), 4160-4167.
- Wang, S. Y., Yang, C. W., Liao, J. W., Zhen, W. W., Chu, F. H., and Chang, S. T. (2008). Essential oil from leaves of *Cinnamomum osmophloeum* acts as a xanthine oxidase inhibitor and reduces the serum uric acid levels in oxonate-induced mice. *Phytomedicine*, 15(11), 940-945.

- Wang, T., Li, D., Yu, B., and Qi, J. (2017). Screening inhibitors of xanthine oxidase from natural products using enzyme immobilized magnetic beads by high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Journal of Separation Science*, 40(9), 1877-1886.
- Woisky, R. G., and Salatino, A. (1998). Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *Journal of Apicultural Research*, 37(2), 99-105.
- Wright, G. D. (2014). Something old, something new: revisiting natural products in antibiotic drug discovery. *Canadian Journal of Microbiology*, 60(3), 147-154.
- Wright, G. D. (2017). Opportunities for natural products in 21st century antibiotic discovery. *Natural Product Reports*, 34(7), 694-701.
- Wu, C. C., Yen, M. H., Yang, S. C., and Lin, C. N. (2008). Phloroglucinols with antioxidant activity and xanthonolignoids from the heartwood of *Hypericum geminiflorum*. *Journal of Natural Products*, 71(6), 1027-1031.
- Xiong, Q., Kadota, S., Tani, T., and Namba, T. (1996). Antioxidative effects of phenylethanoids from *Cistanche deserticola*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 19(12), 1580-1585.
- Xu, F., Zhao, X., Yang, L., Wang, X., and Zhao, J. (2014). A new cycloartane-type triterpenoid saponin xanthine oxidase inhibitor from *Homonoia riparia* Lour. *Molecules*, 19(9), 13422-13431.
- Xu, H. B., Yang, T. H., Xie, P., Liu, S. J., Liang, Y. N., Zhang, Y., Song, Z. X., and Tang, Z. S. (2018). Pheophytin analogues from the medicinal lichen *Usnea diffracta*. *Natural Product Research*, 32(9), 1088-1094.
- Yahfoufi, N., Alsadi, N., Jambi, M., and Matar, C. (2018). The immunomodulatory and anti-inflammatory role of polyphenols. *Nutrients*, 10(11), pii: E1618.
- Yan, H., Ma, Y., Liu, M., and Zhou L. (2008). The dual actions of *Paederia scandens* extract as a hypouricemic agent: xanthine oxidaseinhibitory activity and uricosuric effect. *Planta Medica*, 74(11), 1345-1350.
- Yan, J., Zhang, G., Hu, Y., and Ma, Y. (2013). Effect of luteolin on xanthine oxidase: inhibition kinetics and interaction mechanism merging with docking simulation. *Food Chemistry*, 141(4), 3766-3773.
- Yao, H., Liu, J., Xu, S., Zhu, Z., and Xu, J. (2017). The structural modification of natural products for novel drug discovery. *Expert Opinion in Drug Discovery*, 12(2), 121-140.
- Yoo, E. A., Kim, S. D., Lee, W. M., Park, H. J., Kim, S. K., Cho, J. Y., Min, W., and Rhee, M. H. (2008). Evaluation of antioxidant, antinociceptive, and anti-inflammatory activities of ethanol extracts from *Aloe saponaria* Haw. *Phytotherapy Research*, 22(10), 1389-1395.
- Yuk, H. J., Lee, Y. S., Ryu, H. W., Kim, S. H., and Kim, D. S. (2018). Effects of *Toona sinensis* leaf extract and its chemical constituents on xanthine oxidase activity and serum uric acid levels in potassium oxonate-induced hyperuricemic rats. *Molecules*, 23(12), pii: E3254.

- Zagklis, D. P., and Paraskeva, C. A. (2015). Purification of grape marc phenolic compounds through solvent extraction, membrane filtration and resin adsorption/desorption. *Separation and Purification Technology*, 156, 328-335.
- Zeljковиć, S. Ć., Tan, K., Siljak-Yakovlev, S., and Maksimović, M. (2017). Essential oil profile, phenolic content and antioxidant activity of *Geranium kikianum*. *Natural Product Communications*, 12(2), 273-276.
- Zhang, C., Wang, R., Zhang, G., and Gong, D. (2018). Mechanistic insights into the inhibition of quercetin on xanthine oxidase. *International Journal of Biological Macromolecules*, 112, 405-412.
- Zhang, W., Wu, C. Z., and Fan, S. Y. (2018). Chemical constituents from *Gnaphalium affine* and their xanthine oxidase inhibitory activity. *Chinese Journal of Natural Medicine*, 16(5), 347-353.
- Zhang, X., Hung, T. M., Phuong, P. T., Ngoc, T. M., Min, B. S., Song, K. S., Seong, Y. H., and Bae, K. (2006). Anti-inflammatory activity of flavonoids from *Populus davidiana*. *Archives of Pharmaceutical Research*, 29(12), 1102-1108.
- Zhao, X., and Yin, H. (2011). Simultaneous determination of four acids active compounds in *Erodium stephanianum* by RP-HPLC. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 36(22), 3137-3140.
- Zhao, X., Zhu, J. X., Mo, S. F., Pan, Y., and Kong, L. D. (2006). Effects of *Cassia* oil on serum and hepatic uric acid levels in oxonate-induced mice and xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase activities in mouse liver. *Journal of Ethnopharmacology*, 103(3), 357-365.
- Zhou, C. X., Kong, L. D., Ye, W. C., Cheng, C. H., and Tan, R. X. (2001). Inhibition of xanthine and monoamine oxidases by stilbenoids from *Veratrum taliense*. *Planta Medica*, 67(2), 158-161.
- Zhou, L. Y., Peng, J. L., Wang, J. M., Geng, Y. Y., Zuo, Z. L., and Hua, Y. (2018). Structure-Activity relationship of xanthenes as inhibitors of xanthine oxidase. *Molecules*, 23(2), pii: E365.
- Zhu, L. L., Fu, W. W., Watanabe, S., Shao, Y. N., Tan, H. S., Zhang, H., Tan, C. H., Xiu, Y. F., Norimoto, H., and Xu, H. X. (2014). Xanthine oxidase inhibitors from *Garcinia esculenta* twigs. *Planta Medica*, 80(18), 1721-1726.
- Zielińska-Jencylik, J., Sypuła, A., Budko, E., and Rzadkowska-Bodalska, H. (1987). Interferonogenic and antiviral effect of extracts from *Erodium cicutarium*. *Archivum Immunologiae et Therapia Experimentalis*, 35(2), 211-220.
- Zielińska-Jencylik, J., Sypuła, A., Budko, E., and Rzadkowska-Bodalska, H. (1988). Interferonogenic and antiviral effect of extracts from *Erodium cicutarium* II. Modulatory activity of *Erodium cicutarium* extracts. *Archivum Immunologiae et Therapia Experimentalis*, 36(5), 527-536.
- Zlatkovic, B. K., and Bogosavljević, S. (2014). Taxonomic and pharmacological valorization of the medicinal flora in Svrljiški Timok Gorge (Eastern Serbia). *Facta Universitatis, Series: Medicine and Biology*, 16(2), 76-86.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : BAKİ KEKİLLİ, Elif
 Uyuğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 11/07/1981, Ağrı
 Medeni hali : Evli
 Telefon : 0312 5833800
 e-mail : eczebaki@gmail.com



Eğitim Derecesi	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi / Farmakognozi ABD	Devam ediyor
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi / Farmakognozi ABD	2009
Lisans	Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2002
Lise	Kastamonu-Tosya Anadolu Lisesi (Yabancı Dil Ağırlıklı)	1998

İş Deneyimi, Yıl	Çalıştığı Yer	Görev
2016-devam ediyor	Sosyal Güvenlik Kurumu, Ankara İbni Sina Sağlık Sosyal Güvenlik Merkezi	İthal İlaç Birimi, Eczacı
2006-2016	Sosyal Güvenlik Kurumu, Ankara Kavaklıdere Sağlık Sosyal Güvenlik Merkezi	Reçete Kontrol, Eczacı
2004-2006	Çalışma ve Sosyal Güvenlik Kurumu, Ankara Sağlık İşleri İl Müdürlüğü	İlaç depo ve firma faturaları, hastane faturaları kontrolü, Eczacı
2002-2004	İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Hastane Eczanesi	Eczacı

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

Orhan, İ. E., Baki, E., Şenol, F. S. ve Yılmaz, G. (2010). Sage-called plant species sold in aktars in Turkey and their antioxidant activities. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 75, 1491-1501.

Hobiler

Yüzmek, seyahat etmek, kitap okumak, amigurumi



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..



Gazili olmak aygırdır

