

Atıf İçin: Işık, M. (2025). *Lamium galeobdolon* (L.) Ekstraktının Biyoaktif Özellikleri: Antioksidan Aktivite ve AChE ve PON1 Enzimlerinin İnhibisyonu. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 15(2), 606-614.

To Cite: Işık, M. (2025). Bioactive Properties of *Lamium galeobdolon* (L.) Extract: Antioxidant Activity and Inhibition of AChE and PON1 Enzymes. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 15(2), 606-614.

***Lamium galeobdolon* (L.) Ekstraktının Biyoaktif Özellikleri: Antioksidan Aktivite ve AChE ve PON1 Enzimlerinin İnhibisyonu**

Mesut IŞIK^{1*}

Öne Çıkanlar:

- *Lamium galeobdolon* ekstraktının antioksidan aktivitesi
- Enzimler üzerine *Lamium galeobdolon* ekstraktının inhibisyon etkilerinin belirlenmesi

Anahtar Kelimeler:

- Antioksidan
- Asetilkolinesteraz,
- Paraoksonaz,
- Enzim inhibisyonu

ÖZET:

Bu çalışmada, *Lamium galeobdolon* (L.) ekstraktının radikal giderme, metal indirgeme ve bazı metabolik enzimler üzerindeki inhibisyon etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. *Lamium galeobdolon* (L.) bitkisinin etanol ekstraktının antioksidan (metal indirgeme ve radikal giderme), ve asetilkolinesteraz (AChE) ve paraoksonaz-I (PON1) inhibisyon özellikleri spektroskopik yöntemle incelenmiştir. Bu ekstrakt, standartlara kıyasla daha düşük olsa da orta düzeyde metal indirgeme potansiyeli sergilemiştir. CUPRAC testinde ekstrakt, 30 µg / mL konsantrasyonda troloks ile benzer düzeyde bakır indirgeme potansiyeli göstermiştir. Ayrıca, bu ekstraktın DPPH radikali için yaklaşık % 29, ABTS radikali için ise % 19 oranında radikal giderme aktivitesi tespit edilmiştir. Standart antioksidanlara göre daha düşük aktiviteye sahip olmasına rağmen, ekstraktın orta düzeyde radikal giderme yeteneği olduğu belirlenmiştir. Enzim inhibisyon çalışmalarında, ekstrakt, AChE enzimi üzerinde 0.154 ± 0.01 µg / mL IC₅₀ değeri, PON1 enzimi üzerinde ise 0.163 ± 0.02 µg / mL IC₅₀ değeri ile inhibisyon etki göstermiştir. Bu sonuçlar, ekstraktın her iki enzim üzerinde de inhibitör etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Elde edilen bulgular, *Lamium galeobdolon* (L.) ekstraktının antioksidan ve enzim inhibe edici özellikleri ile oksidatif stres ve nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde potansiyel bir kaynak olabileceğine işaret etmektedir. Bu bitkinin fitokimyasal bileşenlerinin ve etki mekanizmalarının detaylı olarak incelenmesi, gelecekteki terapötik uygulamalar açısından önem taşımaktadır.

Bioactive Properties of *Lamium galeobdolon* (L.) Extract: Antioxidant Activity and Inhibition of AChE and PON1 Enzymes

Highlights:

- Antioxidant activity of *Lamium galeobdolon* extract
- Determination of inhibition effects of *Lamium galeobdolon* extract on enzymes

Keywords:

- Antioxidant
- Acetylcholinesterase
- Paraoxonase
- Enzyme inhibition

ABSTRACT:

In this study, it was aimed to determine the radical removal, metal reduction, and inhibition effect of *Lamium galeobdolon* (L.) extract on some metabolic enzymes. The antioxidant (metal reduction and radical scavenging), and acetylcholinesterase (AChE) and paraoxonase-I (PON1) inhibition properties of ethanol extract of *Lamium galeobdolon* (L.) were investigated by spectroscopic method. This extract exhibited moderate metal reduction potential, although lower than the standards. In the CUPRAC assay, the extract showed a similar copper reduction potential as trolox at a concentration of 30 µg / mL. In addition, the radical scavenging activity of this extract was approximately 29% for DPPH radical and 19% for ABTS radical. Despite having lower activity than standard antioxidants, the extract was found to have moderate radical scavenging ability. In enzyme inhibition studies, the extract showed an inhibition effect on AChE with an IC₅₀ value of 0.154 ± 0.01 µg / mL and on the PON1 enzyme with an IC₅₀ value of 0.163 ± 0.02 µg / mL. These results indicate that the extract has inhibitory effect on both enzymes. The findings indicate that *Lamium galeobdolon* (L.) extract may be a potential source for the treatment of oxidative stress and neurodegenerative diseases with its antioxidant and enzyme inhibitory properties. Detailed investigation of the phytochemical constituents and mechanisms of action of this plant is important for future therapeutic applications.

¹ Mesut IŞIK ([Orcid ID: 0000-0002-4677-8104](https://orcid.org/0000-0002-4677-8104)), Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Bilecik, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Mesut IŞIK, e-mail: mesut.isik@bilecik.edu.tr

GİRİŞ

Tıbbi aromatik bitkiler ve şifalı otlar, kimyasal ilaçlara kıyasla daha uygun maliyetli olmaları nedeniyle yüzyıllardır dünya çapında farklı hastalıkların tedavisinde önemli kaynaklar olarak kullanılmaktadır. Ayrıca bu tip aromatik bitkiler, sağlık sorunlarına iyileştirici veya önleyici kaynaklar olarak kullanılmasına yönelik tıbbi özellikler açısından bitki türevli fitokomplekslerin geliştirilmesinde kilit rol oynamaktadır (Santini ve Novellino, 2014; Yeung ve ark., 2020; Kavaz ve ark., 2022). Antioksidanların, serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasara karşı canlı organizmalar için koruyucu rolü bulunmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, hasarlı insan dokularında lipid peroksidasyonu ve DNA'daki nükleotid mutasyonları gibi hücresel süreçler sonucunda ortaya çıkan serbest radikallerin zararlı etkilerini azaltmak amacıyla güçlü antioksidan bileşiklerin geliştirilmesine odaklanmıştır (Gulcin ve Beydemir, 2013; Ndhlala ve ark., 2024). Kanseri, kardiyovasküler ve gastrointestinal hastalıklar gibi oksidan maddelerin seviyesiyle doğrudan ilişkili birçok hastalığı önlemek için antioksidanlar kullanarak vücudun dengesini yeniden sağlamak gerekmektedir. Bunun için diyet, doğal bitki kaynaklarında bulunan antioksidan bileşiklerle desteklenmelidir (Akkoyunlu ve Dulger 2022; Shanthi ve ark., 2024). Bilinen birçok sentetik antioksidan, oksidasyonu önlemek için en yaygın olarak gıda ve farmasötik katkı maddelerinde kullanılmaktadır. Son yıllarda, sentetik antioksidanların birçok yan etkisi endişelere yol açmıştır. Bu durumda, daha güvenli antioksidanların kullanımına yönelik dünya çapında bir eğilim söz konusudur. Bu nedenle, daha güvenli doğal kaynaklı antioksidanların kullanımı önem arz etmektedir (Berchtold ve Cotman, 1998; Choudhary, 2001).

Kolinerjik sistemdeki bozulma, öncelikle asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesinin artması nedeniyle, nörotransmitter asetilkolinin aşırı hidrolizine ve yüksek amiloid protein oluşumuna yol açarak Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıkların bir nedeni olarak bilinmektedir. AChE inhibisyonu, aşırı asetilkolin parçalanması ve amiloid birikimi ile ilişkili semptomları hafifletmek için terapötik bir strateji olarak ortaya çıkmıştır. Hem sentetik hem de doğal bileşikler, metabolik yolları etkileyerek düşük konsantrasyonlarda enzim aktivitelerini modüle edebilir. Günümüzde, yeni AChE inhibitörlerinin geliştirilmesi, Alzheimer hastalığı (AD)'nın etkili tedavisini geliştirmek için kritik bir odak noktasıdır (Dastan ve ark., 2017; Taslimi ve ark., 2017; Durgun ve ark., 2020).

Yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL)'ler üzerinde bulunan anti-oksidatif bir enzim olan paraoksonaz-I (EC 3.1.8.1, PON1), memeli laktonaz enzim ailesinin bir üyesidir. Yapısında iki Ca^{2+} iyonu bulunan bu enzim esas olarak karaciğerden sentezlenmektedir. Paraoksonaz, arilesteraz ve diazokson olmak üzere bilinen üç aktivitesi bulunmaktadır (İşgör and Beydemir, 2010). PON1, HDL lipoproteinleri ile ilişkili bir anti-oksidatif enzimdir ve lipid peroksidasyonunu önlediği bilinmektedir. Ayrıca bu enzim LDL ve diğer lipoproteinleri oksidatif strese koruyarak hücresel metabolizmada antioksidan savunma sistemine önemli ölçüde katkıda bulmaktadır (Avelar ve ark., 2015; Adeshara ve ark., 2018). Bu koruyucu rol, hastalığa karşı doza bağlı koruma gösteren PON1 transgenik fareler üzerinde yapılan çalışmalarda gösterildiği gibi, aterosklerotik plakların oluşumunu engellemeye yardımcı olarak ateroskleroz riskini azaltır. Aterosklerozun ötesinde, PON1'in antioksidan özellikleri, hidrojen peroksit de dahil olmak üzere zararlı radikalleri nötralize ettiği için diyabet, hiperkolesterolemi ve karaciğer hasarı gibi durumların daha düşük riskiyle bağlantılıdır (Aviram ve ark., 1998; Tward ve ark., 2002).

Türkiye, 271 tür ve 75 alttür dahil olmak üzere 346 endemik taksona ev sahipliği yapan Lamiaceae familyası için önemli bir gen merkezi olarak kabul edilmektedir (Celep ve Dirmenci, 2017). Bunlar arasında *Lamium* cinsi, fitokimyasal özellikleri ve hem geleneksel hem de modern tıptaki uygulamaları nedeniyle son 40 yılda büyük ilgi görmüştür. Çalışmalar, bu tür bitkilerin antispazmodik, anti-

enflamatuar ve diüretik olarak ve ayrıca travma, kırıklar, yara iyileşmesi, enfeksiyonlar, felç, hipertansiyon, menoraji, uterus kanaması ve böbrek ve sindirim bozuklukları gibi durumların tedavisinde de dahil olmak üzere çeşitli terapötik kullanımlarını vurgulamaktadır (Trouillas ve ark., 2003; Akkoyunlu ve Dulger, 2022).

Bu çalışmada, Giresun bölgesinden toplanan *Lamium galeobdolon* (L.) çiçeklerinin etanol ekstraktı hazırlandı ve bu ekstraktın antioksidan ve antikolinerjik özelliklerinin aydınlatılmasına odaklanılmıştır. Ekstraktın antioksidan aktivite olarak metal indirgeme ve radikal giderme aktiviteleri belirlenmiştir. Ayrıca antioksidan bir enzim olan PON1 üzerine etkisi ve AD tedavisinde bir yaklaşım olan AChE inhibisyon potansiyelleri de araştırılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Kimyasallar

Trolox, bütillenmiş hidroksianisol (BHA) ve bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) gibi bileşikler antioksidan yöntemlerde referans olarak kullanılmış ve diğer tüm kimyasallar ticari olarak Sigma-Aldric'den temin edildi. *Lamium galeobdolon* (L.) 'nin çiçek kısımları çiçeklenme mevsiminde (Haziran-Ağustos 2020) Giresun, Türkiye'den toplanmıştır. Bitki materyalinin çiçek kısımları ayrılarak deiyonize su ile yıkanmış ve oda koşullarında gölgede kurutulmuş ve bir öğütücü (Lavion Herb Spice Grinder Mill Machine) kullanılarak öğütülmüş ve analiz edilene kadar -4°C'de şişelerde saklanmıştır.

Bitki ekstraktının hazırlanması

Ekstraksiyon, modifiye edilmiş yöntem kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Atmani ve ark., 2009). Bitkilerden fenolik ve flavonoid bileşiklerin ekstraksiyonunda etanol çözücüsü daha yaygın kullanıldığından dolayı bu çalışmada ekstraksiyon çözücüsü olarak etanol tercih edilmiştir. Kurutulmuş numune:çözücü (etanol) oranı 1:10 olacak şekilde karıştırılmış ve ekstraksiyon işlemi 24 saat boyunca bir çalkalayıcıda gerçekleştirilmiştir. Ekstrakt filtre kağıdından (Whatman No.1) süzülüş, ardından buharlaştırılmıştır. Kuru madde analize kadar kapalı bir kapta 4°C'de muhafaza edilmiştir.

Antioksidan aktivite

Total indirgeme kapasitesi

Lamium galeobdolon (L.) ekstraktlarının metal indirgeme potansiyeli Elmastaş ve arkadaşları (Elmastaş ve ark., 2006) tarafından bildirilen yöntemin modifiye edilmiş şekline göre yapılmıştır. Çeşitli konsantrasyonlarda bitki özütleri (10-40 µg / mL), 2,5 mL %1'lik potasyum ferrisiyanür [K₃Fe(CN)₆] ve 2,5 mL fosfat tampon çözeltisi (0,2 M, pH 6,6) ile belirli oranlarda karıştırılmıştır. Bu karışımlar 50°C'de 20 dakika boyunca bekletilmiştir. Ardından, her bir örneğe 0,25 mL % 0,1 FeCl₃ ve 2,5 mL % 10 trikloroasetik asit ilave edilmiş ve 10 dakika 3.000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Son olarak, indirgeme kapasitesini belirlemek için ölçümler 700 nm dalga boyunda alındı ve bu sonuçlar standart antioksidanlarla kıyaslandı.

Cu⁺⁺ indirgeme kapasitesi (CUPRAC)

Cu(II)-Nc'nin Cu(I)-Nc şelatına indirgenmesine dayanan CUPRAC yöntemi uygulanmıştır (Apak ve ark., 2006). 1 mL neokuprin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin), 1 mL CuCl₂ (0.01 M) ve 1 mL amonyum asetat (NH₄Ac) tampon çözeltisi ölçüm için test tüpüne eklenmiş ve vortekslenmiştir. Ardından farklı miktarlarda ekstraktlar (10-40 µg / mL) örnekleri eklenmiş ve toplam hacim 4 mL'ye deiyonize su ile ayarlanmıştır. 30 dakika oda koşullarında inkübe ettikten sonra 450 nm'de absorbans kaydedilmiştir. Ölçüm tüplerinde reaksiyon sonrasında absorbansın artması Cu iyonu indirgeme potansiyelinin göstergesidir.

DPPH radikal giderme aktivitesi

Standart antioksidanlar ve *Lamium galeobdolon* (L.) ekstraktlarının DPPH serbest radikallerini süpürme potansiyelinin değerlendirilmesi, Blois yöntemine (Blois, 1958) göre gerçekleştirilmiştir. Serbest radikal olarak, metanol çözücüsü ile 0.1 mM DPPH çözeltisi hazırlanmıştır. 1 mL DPPH çözeltisi, farklı konsantrasyonlardaki ekstrakt örnekleri (10-40 µg / mL) üzerine ilave edildi ve daha sonra etanol ile toplam hacim 3 mL'ye tamamlanmıştır. Karışımlar vortekslenerek homojen hale getirilmiş ve karanlık ortamda 30 dakika boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında, örneklerin absorbans değerleri 517 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Elde edilen veriler, radikal süpürme aktivitesinin yüzde olarak ifade edilmesiyle sunulmuştur.

ABTS radikal giderme aktivitesi

Bu yöntem, ABTS⁺ katyon radikalının ekstrakt ile etkileşimi sonucu meydana gelen renk değişimi esasına dayanmaktadır (Re ve ark., 1999). Analiz için, 2 mmol L⁻¹ ABTS çözeltisi, 2,45 mmol L⁻¹ potasyum persülfat (K₂S₂O₈) çözeltisi ile karıştırılarak hazırlanmış ve oluşan karışım 14 saat boyunca oda sıcaklığında karanlık ortamda inkübasyona bırakılmıştır. ABTS⁺ radikal çözeltisi, 734 nm dalga boyunda 0,750 ± 0,025 absorbans değerine ulaşana kadar 0,1 mol L⁻¹ sodyum fosfat tampon çözeltisi (pH 7,4) ile seyreltilmiştir. Ardından, stok çözeltilerden alınan 10-40 µg / mL aralığındaki konsantrasyonlarındaki ekstrakt örnekleri, fosfat tamponu eklenerek toplam hacim 3 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan 1 mL ABTS⁺ çözeltisi, ekstrakt örnekleri ile karıştırılarak vortekslenmiş ve 734 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak absorbans değerleri ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar, radikal süpürme aktivitesinin yüzde olarak ifade edilmesiyle sunulmuştur.

Asetilkolinesteraz aktivitesi

Ellman spektrofotometrik yöntemi kullanılarak *Lamium galeobdolon* (L.) ekstraktının AChE enzimine karşı İnhibisyon potansiyeli belirlenmiştir (Ellman ve ark., 1961). 50 µl AChE (5.32x10⁻³ U), 100 µl Tris - HCl tamponu (1 M, pH 8.0) ve 50 µl 5,5'-ditiyo-bis (2-nitro-benzoik) asit (DTNB) içeren analiz örnekleri 30°C'de bekletilerek 15 dakika karışması sağlandı. Ardından, substrat olarak 50 µL asetiltiokolin iyodür (AChI) eklenmesiyle reaksiyon başlatılmıştır. Enzimatik hidrolizin spektrofotometrik ölçümü 412 nm'de gerçekleştirildi. Etanol ekstraktının AChE üzerindeki etkisi farklı derişim aralıklarında (0.8-0.25 mg / mL) taranmıştır. IC₅₀ değerleri ekstrakt için aktivite (%)-[Ekstrakt] grafiklerinden hesaplanmıştır (Demir ve ark., 2017; Necip ve Işık, 2019; Türkeş ve ark., 2022).

Paraoksonaz-I aktivitesi

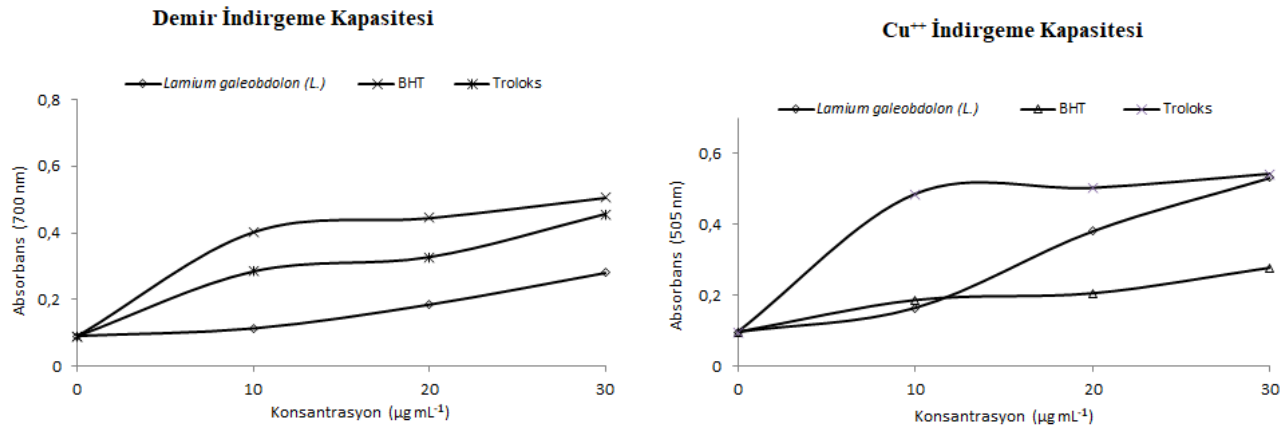
Substrat olarak 1 mM paraokson (dietyl p-nitrofenil fosfat) kullanılarak hPON1 aktivitesi belirlenmiştir. Analiz tüplerinde bulunan 1 mL reaksiyon karışımı içerisinde 1 mM CaCl₂ içeren 50 mM glisin/NaOH (pH 10.5, 1 mM) bulunmaktadır. Enzimatik hidrolizin spektrofotometrik ölçümü 412 nm'de p-nitrofenol ölçümüne bağlı olarak gerçekleştirildi (Rodrigo ve ark., 2001; Türkeş ve ark., 2014; Işık ve ark., 2020). Bir seri etanol ekstrakt konsantrasyonu hazırlandı ve sonrasında PON1 üzerindeki inhibitör etkisi tarandı. IC₅₀ değerleri ekstrakt için aktivite (%)-[Ekstrakt] grafiklerinden hesaplanmıştır

BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmamızda, *Lamium galeobdolon* (L.) etanol ekstraktının radikal giderme ve metal indirgeme potansiyelleri, ve ayrıca önemli metabolik enzimlerden AChE ve PON1 üzerine inhibisyon/aktivasyon etkileri spektroskopik yöntemlerle belirlendi. Enzimler için inhibitör potansiyelleri IC₅₀ değeri olarak verilmiştir. İnhibisyon/aktivasyon çalışması için en az beş farklı inhibitör konsantrasyonunda ölçümler

gerçekleştirildi. Enzimler üzerine ekstraktların etkisini belirlemek için % Aktivite – ekstrakt konsantrasyonu grafiği çizilerek IC₅₀ değerleri belirlendi.

Metal indirgeme testleri, çeşitli polifenoller için etkili, seçici, güvenilir ve hızlı bir antioksidan değerlendirme yöntemi olarak öne çıkmaktadır. Bu tip metal indirgemenin temel mekanizmalarından biri, hidroperoksit ayrışmasını ve fenton tipi reaksiyonları katalizleyebilen geçiş metallerinin şelatlanması ve inaktivasyonudur. Bu bağlamda, metal indirgeme testleri, antioksidan bileşiklerin metal iyonları ile etkileşimini değerlendirerek, onların potansiyel koruyucu etkilerini belirlemede önemli bir araç olarak kullanılmaktadır (Dorman ve ark., 2003; Apak ve ark., 2006). **Şekil 1'de** görüldüğü gibi, demir indirgeme testinde en yüksek metal indirgeme aktivitesi 30 µg / mL konsantrasyonunda BHT için bulunmuştur. Bunu sırasıyla troloks ve *Lamium galeobdolon* (L.) ekstraktı takip etmektedir. Bu bitki ekstraktı standartlara göre daha düşük olsada orta düzeyde metal indirgeme potansiyeline sahiptir. CUPRAC testinde ise *Lamium galeobdolon* (L.) ekstraktı 30 µg / mL konsantrasyonunda troloks ile yaklaşık aynı düzeyde bakır indirgeme potansiyeline sahiptir.



Şekil 1. *Lamium galeobdolon* (L.) ekstraktının demir ve bakır indirgeme potansiyeli

Tıbbi aromatik bitkiler fenolik/flavonoid içeriklerinden dolayı antioksidan, serbest radikal süpürme, metal iyonlarını şelatlama veya hidrojen atomu elektronu bağışlama kapasitelerine sahip olduğu bilinmektedir (Amarowicz ve ark., 2004). DPPH (1,1-difenil-2-pikril-hidrazil) ve ABTS (% 2,2'-azino-bis(3-etilbenzthiazoline-6-sülfonik asit) radikal giderme testleri genellikle sentezlenmiş veya izole edilmiş saf bileşiklerin radikal giderme aktivitelerini belirlemek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada, ekstraktların serbest radikal temizleme etkinliğini belirleyebilmek için DPPH ve ABTS gibi serbest radikal giderme testleri kullanılmıştır. Oksitlenebilir substrat olarak bulunan bu serbest radikaller farklı yöntemler kullanılarak indirgenebilir [Prior ve Cao, 1999]. Yapılan bir çalışmada, Türkiye'deki bazı *Lamium* türlerinin antimikrobiyal ve serbest radikal giderme aktiviteleri belirlenmiştir. Bu türlerin farklı çözücülerle ekstraksiyonu gerçekleştirilmiş olup, bu ekstraktlar 50.79 ile 99.19 aralığında IC₅₀ ile DPPH radikal giderme potansiyeline sahip olduğu belirlenmiştir (Yalçın ve ark., 2007). Diğer bir çalışmada, *Lamium galeobdolon* (L.) 'nin kimyasal bileşimi ve biyoaktif özellikleri değerlendirilmiştir. Etanol ekstresi elde edildikten sonra, kimyasal bileşiminin analizi yapılmış olup, uçucu yağın antioksidan aktiviteleri gösterdiği toplam antioksidan kapasite (TAS) ve toplam oksidan kapasite (TOS) kitleri kullanılarak belirlenmiştir (Akkoyunlu ve Dulger 2022). Bu çalışma kapsamında hazırlanan bitki ekstraktı, 30 µg / mL konsantrasyonda DPPH için yaklaşık % 29, ABTS için ise % 19 oranında radikal süpürme aktivitesi sergilemiştir. Tablo 1'de gösterildiği gibi, bu etanol ekstraktı standartlardan düşük aktiviteye sahip olsada orta düzeyde DPPH ve ABTS radikal giderme yeteneğine sahiptir.

Bu sonuçlardan, *Lamium galeobdolon* (L.) içeriğinde bulunan birçok flavonoid ve fenolik bileşiklerin yüksek oranda metal indirgeme ve radikal giderme potansiyellerine sahip olabileceği söylenebilir. Bu bitki, içeriğindeki fenolik bileşiklerin serbest radikallerin giderilmesindeki etkisi nedeniyle oksidatif stresin azaltılmasında rol oynayabilir.

Kolinesteraz hipotezine göre nörotransmitter asetilkolinin hidrolizindeki artış AD'nin gelişmesine yol açan en önemli faktörlerden biridir. Bu nörotransmitterin hidrolizinde rol alan AChE'nin inhibisyonu AD tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir stratejidir. AD'nin tedavisinde bir yaklaşım olarak bilinen AChE inhibisyonu ve yaygın olarak kullanılan bu enzimin inhibitörlerinin, antioksidan üretimini artırdığı ve hücreleri oksidatif hasara karşı koruyucu etki gösterdiği bilinmektedir (Jha ve ark., 2018; Işık, 2019). Bu açıdan AChE inhibisyon potansiyeli olan antioksidan içerikli doğal kaynakların bilinmesi önem arz etmektedir.

PON1'in oksidatif stresi azaltarak, reaktif oksijen türlerinin (ROS) önemli bir rol oynadığı kanser, Parkinson ve Alzheimer gibi hastalıkların önlenmesinde de bir etkiye sahip olabileceği düşünülmektedir. Kritik işlevleri göz önüne alındığında, PON1, tedavi amaçlı kullanılan tıbbi aromatik bitkilerin PON1 üzerine etkilerinin bilinmesi önem arz etmektedir (Aviram ve ark., 1998; Gülcin, 2012; Işık ve ark., 2017). **Tablo 1**'de *Lamium galeobdolon* (L.) etanol ekstraktının AChE ve PON1 enzimlerine karşı inhibisyon etkileri sunulmuştur. Ekstraktın AChE enzimi üzerindeki IC₅₀ değeri 0.154 ± 0.01 ve PON1 enzimi üzerindeki IC₅₀ değeri 0.163 ± 0.02 µg / mL olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, ekstraktın her iki enzim üzerinde de inhibitör etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Tablo 1. *Lamium galeobdolon* (L.)'un AChE inhibisyon potansiyeli ve radikal giderme kapasitesi

Antioksidanlar	DPPH ^a (30 µg / mL)	ABTS ^a (30 µg / mL)	AChE IC ₅₀ (µg / mL)	PON1 IC ₅₀ (µg / mL)
<i>amium galeobdolon</i> (L.)	28.728± 2.37	18.883±1.56	0.154±0.01	0.163± 0.02
BHA	74.36± 5.36	82.45±6.56	-	-
BHT	45.12± 3.86	45.89±2.98	-	-
Trolox	76.45± 5.87	81.28± 7.07	-	-

Standart antioksidanlar (BHA, bütillenmiş hidroksianisol; BHT, bütillenmiş hidroksitoluen, trolox)

Bu enzimlerin inhibisyon sonuçları değerlendirildiğinde *Lamium galeobdolon* (L.) AChE inhibitör potansiyeli ile AD tedavisinde kullanım potansiyeli olsa da, PON1 inhibitör potansiyelinden dolayı ateroskleroza neden olabileceğinden dolayı tüketilirken dikkat edilmeli ve uygun dozda tüketilmesi gerekmektedir.

SONUÇ

Bu çalışmanın bulguları, *Lamium galeobdolon* (L.) etanol ekstraktının çeşitli analizlerde orta düzeyde antioksidan potansiyel sergilediğini göstermektedir. Demir indirgeme testinde ekstrakt, BHT ve Trolox'un ardından 30 µg / mL konsantrasyonda orta düzeyde metal indirgeme aktivitesi göstermiştir. CUPRAC testinde, ekstrakt aynı konsantrasyonda trolox ile karşılaştırılabilir bakır indirgeme aktivite göstererek bakır iyonlarını etkili bir şekilde nötralize etme yeteneğini vurgulamıştır. Ek olarak, ekstrakt DPPH ve ABTS radikalleri için orta düzeyde serbest radikal süpürme potansiyeli göstermiştir. Ekstraktın antioksidan aktivitesi standart antioksidanlardan daha düşük olmasına rağmen, ara radikal süpürme ve metal azaltma yetenekleri, doğal bir antioksidan bileşik kaynağı olarak potansiyelini göstermektedir. Ek olarak, ekstrakt, AChE ve PON1 için nörodejeneratif ve oksidatif stresle ilgili koşullarla ilişkili enzimatik aktiviteleri modüle etme potansiyelini gösteren önemli enzim inhibitör etkileri göstermiştir. Bu bulgular, *Lamium galeobdolon*'un (L.) antioksidan ve enzim inhibe edici özelliklere sahip bir

biyoaktif bileşik kaynağı olarak terapötik potansiyelinin altını çizmektedir. Oksidatif stres ve ilgili bozuklukların tedavisinde potansiyel uygulamalar için fitokimyasal bileşimini ve etki mekanizmalarını keşfetmek için daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir. Farmakolojik açıdan bakıldığında, bu sonuçlar ilaç geliştirmede, özellikle nörodejeneratif hastalıkları hedefleyen yeni terapötik ajanların tasarlanmasında olası uygulamaları önermektedir. Ayrıca, çalışmanın bulguları *Lamium galeobdolon*'un biyoaktivitesine ilişkin ilk hipotezin doğrulanmasına katkıda bulunmaktadır. Bununla birlikte, bu araştırma *in vitro* olarak gerçekleştirildiğinden, klinik önemi sınırlı kalmaktadır. Gelecekteki çalışmalar, farmakokinetiğini, etkinliğini ve güvenliğini daha fazla değerlendirmek için *in vivo* modellere odaklanmalı ve böylece terapötik uygulamalar için potansiyelini güçlendirmelidir.

Çıkar Çatışması

Makale tek yazarlı olup, yazar/yazarlar aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Adeshara, K. A., Agrawal, S. B., Gaikwad, S. M., & Tupe, R. S. (2018). Pioglitazone inhibits advanced glycation induced protein modifications and down-regulates expression of RAGE and NF- κ B in renal cells. *International journal of biological macromolecules*, 119, 1154-1163.
- Akkoyunlu, A., & Dulger, G. (2022). Chemical Composition and In Vitro Antimicrobial, Antioxidant, and Antiproliferative Studies of the *Lamium galeobdolon* L.(L.) Essential Oil. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 48(6), 1240-1246.
- Amarowicz, R., Pegg, R. B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B., & Weil, J. A. (2004). Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food chemistry*, 84(4), 551-562.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Esin Karademir, S., & Erçağ, E. (2006). The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *International journal of food sciences and nutrition*, 57(5-6), 292-304.
- Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., ... & Atmani, D. (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food chemistry*, 112(2), 303-309.
- Avelar, T. M., Storch, A. S., Castro, L. A., Azevedo, G. V., Ferraz, L., & Lopes, P. F. (2015). Oxidative stress in the pathophysiology of metabolic syndrome: which mechanisms are involved?. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 51, 231-239.
- Aviram, M., Rosenblat, M., Bisgaier, C. L., Newton, R. S., Primo-Parmo, S. L., & La Du, B. N. (1998). Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. *The Journal of clinical investigation*, 101(8), 1581-1590.
- Berchtold, N. C., & Cotman, C. W. (1998). Evolution in the conceptualization of dementia and Alzheimer's disease: Greco-Roman period to the 1960s. *Neurobiology of aging*, 19(3), 173-189.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- Celep, F., & Dirmenci, T. (2017). Systematic and biogeographic overview of Lamiaceae in Turkey. *Natural Volatiles and Essential Oils*, 4(4), 14-27.
- Choudhary, M. I. (2001). Bioactive natural products as a potential source of new pharmacophores. A theory of memory. *Pure and Applied Chemistry*, 73(3), 555-560.

- Dastan, T., Kocyigit, U. M., Durna Dastan, S., Canturk Kilickaya, P., Taslimi, P., Cevik, O., ... & Cetin, A. (2017). Investigation of acetylcholinesterase and mammalian DNA topoisomerases, carbonic anhydrase inhibition profiles, and cytotoxic activity of novel bis (α -aminoalkyl) phosphinic acid derivatives against human breast cancer. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 31(11), e21971.
- Demir, Y., Işık, M., Gülçin, İ., & Beydemir, Ş. (2017). Phenolic compounds inhibit the aldose reductase enzyme from the sheep kidney. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 31(9), e21936.
- Dorman, H. D., Koşar, M., Kahlos, K., Holm, Y., & Hiltunen, R. (2003). Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties, and cultivars. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(16), 4563-4569.
- Durgun, M., Türkeş, C., Işık, M., Demir, Y., Saklı, A., Kuru, A., ... & Supuran, C. T. (2020). Synthesis, characterisation, biological evaluation and in silico studies of sulphonamide Schiff bases. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 35(1), 950-962.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, 7(2), 88-95.
- Elmastaş, M., Gülçin, I., Beydemir, Ş., İrfan Küfrevioğlu, Ö., & Aboul-Enein, H. Y. (2006). A study on the in vitro antioxidant activity of juniper (*Juniperus communis* L.) fruit extracts. *Analytical letters*, 39(1), 47-65.
- Gülçin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of toxicology*, 86, 345-391.
- Gulcin, I., & Beydemir, S. (2013). Phenolic compounds as antioxidants: carbonic anhydrase isoenzymes inhibitors. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 13(3), 408-430.
- İşgör, M. M., & Beydemir, Ş. (2010). Some cardiovascular therapeutics inhibit paraoxonase 1 (PON1) from human serum. *European journal of pharmacology*, 645(1-3), 135-142.
- Işık, M. (2019). The binding mechanisms and inhibitory effect of intravenous anesthetics on AChE in vitro and in vivo: kinetic analysis and molecular docking. *Neurochemical research*, 44(9), 2147-2155.
- Işık, M., Beydemir, Ş., Demir, Y., Durgun, M., Türkeş, C., Nasır, A., ... & Akkuş, M. (2020). Benzenesulfonamide derivatives containing imine and amine groups: Inhibition on human paraoxonase and molecular docking studies. *International journal of biological macromolecules*, 146, 1111-1123.
- Işık, M., Beydemir, Ş., Yılmaz, A., Naldan, M. E., Aslan, H. E., & Gülçin, İ. (2017). Oxidative stress and mRNA expression of acetylcholinesterase in the leukocytes of ischemic patients. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 87, 561-567.
- Jha, A. B., Panchal, S. S., & Shah, A. (2018). Ellagic acid: insights into its neuroprotective and cognitive enhancement effects in sporadic Alzheimer's disease. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 175, 33-46.
- Kavaz, A., Işık, M., Dikici, E., & Yüksel, M. (2022). Anticholinergic, antioxidant, and antibacterial properties of *Vitex agnus-castus* L. seed extract: assessment of its phenolic content by LC/MS/MS. *Chemistry & Biodiversity*, 19(10), e202200143.
- Ndhala, A. R., Işık, M., Kavaz Yüksel, A., & Dikici, E. (2024). Phenolic Content Analysis of Two Species Belonging to the Lamiaceae Family: Antioxidant, Anticholinergic, and Antibacterial Activities. *Molecules*, 29(2), 480.

- Necip, A., & Işık, M. (2019). Bioactivities of *Hypericum Perforatum* L and *Equisetum Arvense* L fractions obtained with different solvents. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 2(3), 221-230.
- Prior, R. L., & Cao, G. (1999). In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods1. *Free radical biology and medicine*, 27(11-12), 1173-1181.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- Rodrigo, L., Mackness, B., Durrington, P. N., Hernandez, A., & Mackness, M. I. (2001). Hydrolysis of platelet-activating factor by human serum paraoxonase. *Biochemical journal*, 354(1), 1-7.
- Santini, A., & Novellino, E. (2014). Nutraceuticals: Beyond the diet before the drugs. *Current Bioactive Compounds*, 10(1), 1-12.
- Shanthi, S. KS., Yasodamma, N. and Paramageetham, CH. 2010. Phytochemical screening and in vitro antibacterial activity of the methanolic leaf extract: *Sebastiania chamaelea* Müell. Arg. *The Bioscan*, 5, 173-175.
- Taslimi, P., Akıncioğlu, H., & Gülçin, İ. (2017). Synephrine and phenylephrine act as α -amylase, α -glycosidase, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, and carbonic anhydrase enzymes inhibitors. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 31(11), e21973.
- Trouillas, P., Calliste, C. A., Allais, D. P., Simon, A., Marfak, A., Delage, C., & Duroux, J. L. (2003). Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative properties of sixteen water plant extracts used in the Limousin countryside as herbal teas. *Food chemistry*, 80(3), 399-407.
- Türkeş, C., Akocak, S., Işık, M., Lolak, N., Taslimi, P., Durgun, M., ... & Beydemir, Ş. (2022). Novel inhibitors with sulfamethazine backbone: synthesis and biological study of multi-target cholinesterases and α -glucosidase inhibitors. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 40(19), 8752-8764.
- Türkeş, C., Söyüt, H., & Beydemir, Ş. (2014). Effect of calcium channel blockers on paraoxonase-1 (PON1) activity and oxidative stress. *Pharmacological reports*, 66(1), 74-80.
- Tward, A., Xia, Y. R., Wang, X. P., Shi, Y. S., Park, C., Castellani, L. W., ... & Shih, D. M. (2002). Decreased atherosclerotic lesion formation in human serum paraoxonase transgenic mice. *Circulation*, 106(4), 484-490.
- Yalçın, F. N., Kaya, D., Kılıç, E., Özalp, M., Ersöz, T., & Çalış, İ. (2007). Antimicrobial and free radical scavenging activities of some *Lamium* species from Turkey. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, (1), 11-22.
- Yeung, A. W. K., Heinrich, M., Kijjoa, A., Tzvetkov, N. T., & Atanasov, A. G. (2020). The ethnopharmacological literature: An analysis of the scientific landscape. *Journal of ethnopharmacology*, 250, 112414.