

T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ  
KİMYA ANABİLİM DALI



**ARISTOLOCHIA BODAMAE DİNGLER YAPRAK, ÇİÇEK VE TOHUM  
EKSTRAKTLARININ FİTOKİMYASAL BİLEŞENLERİNİN VE  
BİYOKİMYASAL AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

**Merve DEMİR**

Danışman

**Prof.Dr. Tevfik ÖZEN**

Bu Yüksek Lisans Tez Çalışması Ondokuz Mayıs Üniversitesi  
PYO.FEN.1904.20.002 No'lu Proje ile desteklenmiştir.

SAMSUN  
2021

## TEZ KABUL VE ONAYI

Merve Demir tarafından, Prof.Dr. Tevfik ÖZEN danışmanlığında hazırlanan “*Aristolochia bodamae* Dingler Yaprak, Çiçek Ve Tohum Ekstraktlarının Fitokimyasal Bileşenlerinin ve Biyokimyasal Aktivitelerinin Araştırılması” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 13/01/2021 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	İmza	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. Nihat TINKILIÇ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Kimya Anabilim Dalı		<input type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
Üye (Danışman)	Prof. Dr. Tevfik ÖZEN Ondokuz Mayıs Üniversitesi Kimya Anabilim Dalı		<input type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
Üye	Prof. Dr. İbrahim DEMİRTAŞ İğdır Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı		<input type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

ONAY

... / ... / .....

Prof. Dr. Ali BOLAT

Enstitü Müdürü

## BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım yüksek lisans/doktora/sanatta yeterlik tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

15/02/2021

Merve DEMİR

## TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

**Tez Başlığı :** *Aristolochia bodamae* Dingler Yaprak, Çiçek Ve Tohum Ekstraktlarının Fitokimyasal Bileşenlerinin ve Biyokimyasal Aktivitelerinin Araştırılması

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 15/02/2021 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 9

Tek kaynak oranı : % 1 çıkmıştır.

15/02/2021

Danışman Prof.Dr. Tevfik ÖZEN

## ÖZET

### **ARISTOLOCHIA BODAMAE DINGLER YAPRAK, ÇİÇEK VE TOHUM EKSTRAKTLARININ FİTOKİMYASAL BİLEŞENLERİNİN VE BİYOKİMYASAL AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Merve DEMİR

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans, Şubat/2021

Danışman: Prof. Dr. Tevfik ÖZEN

*Aristolochia bodamae* Dingler (Develiotu) *Aristolochiaceae* familyasına ait bir türdür. *A. bodamae* Doğu Karadeniz, Güney ve Batı Anadolu bölgelerinde yaygın olarak yetişmektedir. Literatürde, Samsun’ da toplanan *A. bodamae* kök ekstraktlarının fitokimyasal bileşenleri ve biyoaktivite belirlenmiştir. Ayrıca bu familyanın farklı türleri ile ilgili fitokimyasal ve biyoaktivite ile ilgili araştırmalar gerçekleştirilmiştir. Bu tez çalışmasında, *A. bodamae*’ nin çiçek, tohum ve yaprak kısımları altı farklı çözücü kullanılarak (aseton, etil asetat, etanol, hekzan, metanol ve su) sokslet cihazında ekstraksiyon yapıldı ve ham ekstraktlar elde edildi. Elde edilen 18 ham ekstrakt örneklerinin fotokimyasal bileşen analizleri (kimyasal bileşen, toplam fenol ve flavonoid içerikleri) ve biyokimyasal aktivite (antioksidan, enzim inhibisyon, antibakteriyel ve DNA ile ilgili koruma aktivite) testleri gerçekleştirildi.

*A. bodamae* çiçek, tohum ve yaprak ekstraktlarının toplam fenol içerikleri Folin C yöntemi uygulanarak 160.54 mg GAE/g ile 10.32 mg GAE/g arasında olduğu belirlendi. Ekstraktların toplam flavonoid içerikleri ise kolorometrik yöntem kullanarak 50.03 mg KE/g ile 3.42±0.27 mg KE/g arasında olduğu belirlendi. Ayrıca tüm ekstraktların LC-MS/MS analizinde taranan 23 fenolik bileşiklerden fumarik asit, kafeik asit, kuersetin-3-glukozit, rutin, *p*-kumarik asit ve protokateşuik asit içeriklerinin yüksek olduğu bulundu. ABYEA ekstraktının toplam antioksidan ( $A_{0.5}$ :4.22 µg/mL), ABYHE ekstraktının indirgeme gücü ( $A_{0.5}$ :52.92 µg/mL), ABYET ekstraktının serbest radikal giderme ( $EC_{50}$ :2.99 µg/mL), ABTAS ekstraktının metal şelat ( $EC_{50}$ :5.15 µg/mL), ABÇET ekstraktının lipit peroksidasyon inhibisyonu ( $EC_{50}$ :2.34 µg/mL), ABTET ekstraktının süperoksit radiali giderme ( $EC_{50}$ :24.70 µg/mL), ABÇET ekstraktının asetilkolin esteraz inhibisyonu ( $EC_{50}$ :0.43 µg/mL), ABTME ekstraktının üreaz inhibisyonu ( $EC_{50}$ :6.32 µg/mL), ABTET ekstraktının antibakteriyel aktivitesi, ABTAS ekstraktının deoksiriboz koruma ( $A_{0.5}$ :6.23 µg/mL) aktivitelerinin en etkili olduğu tayin edildi. Ayrıca tüm ekstraktlar DNA koruma aktivitesi olduğu elektroforez jel görüntülerinde gözlemlendi. Elde edilen aktivite sonuçları SPSS 20 programı ile sonuçlar arasındaki anlamlı bir farklılık olup olmadığı ANOVA ve Tukey analizleri ile belirlendi ( $p<0.05$ ).

*A. bodamae* bitkisinin topraküstü kısmının oksidatif hasar giderici, enzim-aktivite bozukluklarını önleyici ve antibakteriyel etkisinin bulunduğu görülmüş olup, *Aristolochiaceae* familyasına ait diğer bitkiler gibi etkili olabileceği ortaya konulmuştur.

**Anahtar kelimeler:** *A. bodamae*, *Aristolochiaceae*, Antioksidan Aktivite, Enzim İnhibisyonu, Antibakteriyel Aktivite, DNA Koruma Aktivitesi

## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF PHYTOCHEMICAL COMPONENTS AND BIOCHEMICAL ACTIVITIES OF *ARISTOLOCHIA BODAMAE* DINGLER LEAF, FLOWER AND SEED EXTRACTS

Merve DEMİR

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Chemistry

Master, January/2021

Supervisor: Prof. Dr. Tevfik ÖZEN

*Aristolochia bodamae* Dingler (Develiotu) is a species belonging to the *Aristolochiaceae* family. *A. bodamae* is widely grown in the Eastern Black Sea, Southern and Western Anatolia regions. In the literature, phytochemical components and bioactivities of *A. bodamae* root extracts collected from Samsun were determined. In addition, biochemical and bioactivity studies were carried out on different species of this family. In this thesis study, the flower, seed and leaf parts of bodamine were extracted using six different solvents (acetone, ethyl acetate, ethanol, hexane, methanol and water) in a soxlet apparatus and crude extracts were obtained. Photochemical component analysis (chemical component, total phenol and flavonoid contents) and biochemical activity (antioxidant, enzyme inhibition, antibacterial and DNA related protection activity) tests of 18 raw extract samples were performed.

Total phenol contents of *A. bodamae* flower, seed and leaf extracts were determined to be between 160.54 mg GAE/g and 10.32 mg GAE/g by applying Folin C method. Total flavonoid contents of the extracts were determined to be between 50.03 mg QE/g and 3.42 mg quercetin equivalent/g using the colorimetric method. In addition, all extracts were found to have high content of fumaric acid, caffeic acid, quercetin-3-glucoside, rutin, *p*-coumaric acid and protocatechic acid among 23 phenolic compounds screened in LC-MS/MS analysis. The activities of total antioxidant of the ABYEA extract ( $A_{0.5}$ : 4.22  $\mu\text{g/mL}$ ), reducing power of the ABYHE extract ( $A_{0.5}$ : 52.92  $\mu\text{g/mL}$ ), free radical removal of the ABYET extract ( $EC_{50}$ : 2.99  $\mu\text{g/mL}$ ), metal chelate of the ABTAS extract ( $EC_{50}$  : 5.15  $\mu\text{g/mL}$ ), lipid peroxidation inhibition of the ABCET extract ( $EC_{50}$ : 2.34  $\mu\text{g/mL}$ ), superoxide radical removal of the ABTET extract ( $EC_{50}$ : 24.70  $\mu\text{g/mL}$ ), acetylcholine esterase inhibition of ABCET extract ( $EC_{50}$ : 0.43  $\mu\text{g/mL}$ ), urease inhibition of ABTME extract ( $EC_{50}$ : 6.32  $\mu\text{g/mL}$ ), antibacterial activity of the ABTET extract and deoxyribose protection of the ABTAS extract ( $A_{0.5}$ : 6.23  $\mu\text{g/mL}$ ) activities were determined to be the most effective. In addition, all extracts were observed to have DNA protection activity in electrophoresis gel images. The activity results obtained were evaluated using the IBM SPSS 20.0 package program. Whether there was a significant difference between the results was determined by ANOVA and Tukey analyzes.

It has been observed that the aboveground part of the *A. bodamae* plant has oxidative damage, preventing enzyme-activity disorders and antibacterial effects, and it has been revealed that it can be effective like other plants belonging to the *Aristolochiaceae* family.

**Keywords:** *A. bodamae*, *Aristolochiaceae*, antioxidant activity, enzyme inhibition, antibacterial activity, DNA protection activity

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışma sürecimde bilgisi, tecrübesi ve öngörleriyle manevi desteğini hep üzerimde tutan ve yoluma ışık olan çok değerli tez danışmanım akıl hocam, Prof. Dr. Tevfik ÖZEN' e sonsuz saygılarımı sunar ve sabrı için ayrıca teşekkür ederim.

Bitki materyallerimi temin etmem konusundaki yardımlarından dolayı Biyoloji Bölümü' nden Prof. Dr. Hasan KORKMAZ' a ve bu süreçte hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen laboratuvar arkadaşlarım Semiha YENİGÜN' e, Aslıhan ALEV' e, Kemal YILDIRIM' a, Sarmad MARAH' a ve Neslihan BORA' ya teşekkürü bir borç bilirim.

Yaşamım boyunca her zaman sevgileriyle yanımda olan, her daim güvenen, her ne olursa olsun başaracağıma inanan ve benim her şeyim olan Annem Münevver DEMİR, Babam İsmail DEMİR' e Kardeşlerim; Ömer Faruk DEMİR ve Feyza DEMİR' e sonsuz destekleri ve fedakarlıklarından dolayı sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Varlıklarıyla ve destekleriyle beni bu yolda yalnız bırakmayan Anneannem Şahinde ŞEN' e, Babaannem Pakize DEMİR' e ve Dedelerim İsmet ŞEN' e, Sabahattin DEMİR' e bolca teşekkür ederim.

Samsun'da manevi desteklerini esirgemeyen Fırat EKİNCİ, İbrahim BULUT dostlarıma, her daim yanımda olduğunu hissettirerek bana yardımcı olan Oğuzhan YAMAN'a; şeflerim Göksel ENEÇ' e ve Emre YILDIRIM' a bu süreçte sağladıkları kolaylıklar için ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Manevi desteğini esirgemeyip bu yolda beni yalnız bırakmayan çok değerli ekip şefim Serkan ETİLER' e teşekkürü bir borç bilirim.

Bu tez çalışması, PYO.FEN.1904.20.002 no lu Bilimsel Araştırma Projesi olarak Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından desteklenmiştir.

Merve DEMİR



*Ailem'e...*

# İÇİNDEKİLER

<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1. Tezin Amacı ve Önemi .....	3
<b>2. KURUMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI</b> .....	<b>6</b>
2.1. Serbest Radikaller .....	6
2.1.1. Serbest Radikallerin Oluşumu.....	6
2.1.2. Serbest Radikallerin Kaynakları .....	7
2.1.2.1. Serbest Radikallerin Endojen (Hücre İçi) Kaynakları.....	7
2.1.2.2. Serbest Radikallerin Eksojen (Hücre Dışı) Kaynakları .....	13
2.2. Serbest Radikal Türleri .....	14
2.2.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROS).....	16
2.2.1.1. Süperoksit Radikali ( $O_2^{\cdot-}$ ).....	16
2.2.1.2. Hidroksi Radikali ( $HO^{\cdot}$ ) .....	17
2.2.1.3. Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ ).....	18
2.2.1.4. Singlet Oksijen ( $^1O_2$ ) .....	19
2.2.1.5. Peroksil ve Alkoksil Radikali.....	20
2.2.1.6. Ozon ( $O_3$ ) .....	20
2.2.2. Reaktif Azot Türleri .....	20
2.2.2.1. Nitrik Oksit ( $NO^{\cdot}$ ) ve Nitrik Dioksit ( $NO_2^{\cdot}$ ) .....	21
2.2.2.2. Peroksinitrit ( $ONOO^{\cdot}$ ) .....	21
2.2.3. Reaktif Klorür Türleri .....	22
2.2.3.1. Hipoklorik Asit ( $HOCl$ ).....	22
2.3. Serbest Radikallerin Yararlı Etkileri.....	22
2.4. Serbest Radikallerin Zararlı Etkileri .....	23
2.4.1. Hücre Zarı ve Membran Lipitleri Üzerindeki Etkileri .....	24
2.4.2. Proteinler Üzerindeki Etkileri .....	26
2.4.3. DNA Üzerindeki Etkileri .....	27
2.4.4. Karbonhidratların Üzerindeki Etkileri .....	28
2.5. Serbest Radikallere Bağlı Hastalıklar .....	29
2.5.1. Damar Tıkanıklığı (Ateroskleroz).....	30
2.5.2. Katarakt.....	31
2.5.3. Diabetes Mellitus .....	32
2.5.4. Şizofreni .....	34
2.5.5. Presbiakuzi .....	34
2.5.6. Alzhemier.....	35
2.5.7. Kanser .....	36
2.5.8. Parkinson.....	37
2.6. Antioksidanlar.....	38
2.7. Antioksidanların Etki Mekanizması .....	39
2.8. Antioksidanların Sınıflandırılması.....	41
2.8.1. Doğal Antioksidanlar .....	42
2.8.1.1. Endojen Antioksidanlar .....	44
2.8.1.2. Eksojen Antioksidanlar .....	65
2.8.2. Yapay (Sentetik) Antioksidanlar.....	77
2.8.2.1. Bütilendirilmiş Hidroksianisol (BHA).....	77
2.8.2.2. Bütilendirilmiş Hidroksitoluen (BHT).....	78
2.8.2.3. Tersiyer Bütil Hidrokinon (TBHQ).....	79
2.8.2.4. Propil Gallat (PG).....	80
2.8.2.5. Nondihidroguayeretik Asit (NDGA).....	81
2.9. Enzimler.....	81
2.10. Oksidatif Stres.....	84
2.10.1. Lipit Peroksidasyonu.....	85

2.10.2. Protein Oksidasyonu .....	86
2.10.3. DNA Hasarı.....	86
2.11. Antibakteriyel Aktivite .....	87
2.11.1. Gram Pozitif Bakteriler .....	88
2.11.2. Gram Negatif Bakteriler ( GNB).....	88
2.12. <i>Aristolochiaceae</i> Familyası.....	89
2.12.1. <i>Aristolochia bodamae</i> Dingler .....	90
2.12.1.1. <i>Aristolochia</i> Türlerinin Fitokimyasal Yapı İncelenmesi .....	92
2.12.1.2. <i>Aristolochia</i> Türlerinin Etnofarmakolojisi .....	93
2.12.1.3. <i>Aristolochia</i> Türlerinin Biyoaktivitesi.....	95
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM .....</b>	<b>98</b>
3.1. Kullanılan Kimyasallar .....	98
3.2. Kullanılan Cihazlar .....	98
3.3. <i>Aristolochia bodamae</i> Dingler.....	99
3.4. Metod.....	99
3.4.1. Bitki Ekstraktlarının Hazırlanışı .....	99
3.4.2. Örnekler ve Standartlar .....	99
3.4.3. Deneysel Kısım .....	100
3.4.4. Fitokimyasal Bileşen Tayinleri .....	100
3.4.4.1. Toplam Fenolik Tayinleri.....	101
3.4.4.2. Toplam Flavonoid Tayini.....	101
3.4.4.3. LC-MS/MS İle Fenoliklerin Analizi .....	101
3.4.5. Antioksidan Aktivite Tayinleri .....	102
3.4.5.1. Toplam Antioksidan Aktivite Tayini.....	103
3.4.5.2. İndirgenme Gücü Tayini.....	103
3.4.5.3. Lipit Peroksidasyonu İnhibisyon Tayini .....	103
3.4.5.4. Serbest Radikal Giderme Tayini .....	104
3.4.5.5. Metal Şelat Aktivitesi Tayini.....	104
3.4.5.6. Süperoksit Anyonu Giderme Aktivitesi .....	105
3.4.6. Enzim İnhibisyon Aktivite Tayinleri .....	105
3.4.6.1. Asetilkolinesteraz İnhibisyon Aktivite Tayini.....	105
3.4.6.2. Üreaz İnhibisyon Aktivite Tayini.....	105
3.4.7. Antibakteriyel Aktivite Tayinleri .....	106
3.4.7.1. Disk Difüzyon Metodu.....	106
3.4.7.2. Mikrodilüsyon Metodu.....	107
3.4.8. DNA İle İlgili Aktivite Tayinleri .....	107
3.4.8.1. Deoksiriboz Koruma Aktivitesi Tayini .....	107
3.4.8.2. DNA Koruma Aktivitesi.....	108
3.4.9. İstatistiksel Değerlendirme.....	108
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....</b>	<b>108</b>
4.1. <i>A. bodamae</i> Ekstraktlarının Verimi, Toplam Fenol ve Flavonoid İçerikleri .....	108
4.1.1. LC-MS/MS ile Fenoliklerin Analizi .....	111
4.2. Antioksidan Aktivite Tayinleri .....	128
4.2.1. Toplam Antoksidan Aktivite.....	128
4.2.2. İndirgenme Gücü.....	129
4.2.3. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi.....	131
4.2.4. Metal Şelat Aktivitesi.....	133
4.2.5. Lipid Peroksidasyonu İnhibisyonu.....	134
4.2.6. Süperoksit Anyonu Giderme Aktivitesi .....	136
4.3. Ekstraktların Enzim İnhibisyon Aktiviteleri.....	139
4.3.1. Ekstraktların Asetilkolinesteraz İnhibisyonu Aktivitesi .....	139
4.3.2. Ekstraktların Üreaz İnhibisyon Aktivitesi.....	140
4.4. Antibakteriyel Aktivite Testleri .....	142
4.4.1. Disk Difüzyon Metodu.....	142
4.4.2. Mikrodilüsyon Metodu .....	147

4.5. DNA İle İlgili Aktiviteler .....	150
4.5.1. Deoksiriboz Koruma Aktivite .....	150
4.5.2. DNA Koruma Aktivitesi .....	152
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>154</b>
<b>KAYNAKÇA.....</b>	<b>170</b>
<b>ÖZ GEÇMİŞ .....</b>	<b>196</b>



## SİMGELER VE KISALTMALAR

$^1\text{O}_2$	:	Singlet oksijen
$\text{O}_2^-$	:	Süperoksit radikali
$\text{ONOO}^-$	:	Peroksinitrit
$\cdot\text{OH}$	:	Hidroksil radikali
GSH	:	Glutasyon
$\text{GS}\cdot$	:	Tiyil radikali
$\text{O}_2$	:	Oksijen molekülü
$\text{H}_2\text{O}_2$	:	Hidrojen peroksit
$\text{NO}_2$	:	Azotdioksit
$\text{O}_3$	:	Ozon
$\text{RO}\cdot$	:	Alkoksi radikali
$\text{ROO}\cdot$	:	Peroksil radikali
$\text{HO}_2\cdot$	:	Hidroperoksil radikali
$\text{CO}_3^-$	:	Karbonat radikali
$\text{CO}_2^-$	:	Karbondioksit radikali
ROOH	:	Organik peroksidler
ONOOH	:	Peroksinitrit asit
$\text{O}_2\text{NOO}\cdot$	:	Peroksonitrat
$\text{HOOCO}_2^-$	:	Peroksomono karbonat
HOBBr	:	Hipobromik asit
HOCl	:	Hipoklorik asit
$\text{Cl}\cdot$	:	Klor radikali
HOCl	:	Hipoklorik asit
$\text{Cl}_2$	:	Klor gazı
$\text{NO}_2\text{Cl}$	:	Nitril klorit
BrCl	:	Bromklorür
$\text{ClO}_2$	:	Klordioksit
Br	:	Brom radikali
HOBBr	:	Hipobromik asit
$\text{Br}_2$	:	Brom gazı
BrCl	:	Bromklorür
$\text{RS}\cdot$	:	Tiyil radikali
$\text{NO}_2\cdot$	:	Azotdioksit
$\text{NO}_3\cdot$	:	Nitrat radikali
$\text{NO}\cdot$	:	Nirtik oksit
$\text{N}_2\text{O}_3\cdot$	:	Diazot trioksit
$\text{HNO}_3$	:	Nitrik asit
$\text{OONOO}\cdot$	:	Peroksinitrat
$\text{ClNO}_2$	:	Nitril klorit
$\text{OONO}\cdot$	:	Peroksinitrit
$\text{NO}^{2+}$	:	Nitronyum katyonu
$\text{N}_2\text{O}_3$	:	Dinitrojen tetraoksit
$\text{N}_2\text{O}_4$	:	Dinitrojen tetraoksit
ROONO	:	Alkil peroksinitritler
$\text{RO}_2\text{NO}_2$	:	Alkil peroksinitratlar
$\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{O}_2\text{NO}_2$	:	Peroksiasetil nitrat
ONOOH	:	Peroksinitrik asit
$\text{Fe}^{+2}$	:	Ferro demir

$\text{Fe}^{+3}$	:	Ferri demir
$\text{CoQH}_2$	:	Ubikinol
$\text{LOO}\cdot$	:	Lipit peroksil radikali
$\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$	:	Bütillendirilmiş hidroksitoluen (kapalı formülü)
$\text{NH}_3$	:	Amonyum
$\text{H}_2\text{CO}_3$	:	Karbonik asit
$\text{FeSO}_4$	:	Demir II sülfat
$\text{NaH}_2\text{PO}_4$	:	Monobazik sodyum fosfat
$\text{NaNO}_2$	:	Sodyum nitrit
$\text{FeCl}_3$	:	Demir (III) klorür
$\text{HCl}$	:	Hidroklorik asit
$\text{H}_2\text{SO}_4$	:	Sülfürik asit
nm	:	Nanometre
Mm	:	Milimetre
$\mu\text{M}$	:	Mikro molar
$^\circ\text{C}$	:	Santigrat



## KISALTMALAR

ABÇAS	: <i>Aristolochia bodamae</i> Dingler çiçek aseton
ABÇEA	: <i>Aristolochia bodamae</i> Dingler çiçek etil asetat
ABÇET	: <i>Aristolochia bodamae</i> Dingler çiçek etanol
ABÇHE	: <i>Aristolochia bodamae</i> Dingler çiçek hekzan
ABÇME	: <i>Aristolochia bodamae</i> Dingler çiçek metanol
ABÇSU	: <i>Aristolochia bodamae</i> Dingler çiçek su
ABTAS	: <i>Aristolochia bodamae</i> Dingler tohum aseton
ABTEA	: <i>Aristolochia bodamae</i> Dingler tohum etil asetat
ABTET	: <i>Aristolochia bodamae</i> Dingler tohum etanol
ABTHE	: <i>Aristolochia bodamae</i> Dingler tohum hekzan
ABTME	: <i>Aristolochia bodamae</i> Dingler tohum metanol
ABTSU	: <i>Aristolochia bodamae</i> Dingler tohum su
ABYAS	: <i>Aristolochia bodamae</i> Dingler yaprak aseton
ABYEA	: <i>Aristolochia bodamae</i> Dingler yaprak etil asetat
ABYET	: <i>Aristolochia bodamae</i> Dingler yaprak etanol
ABYHE	: <i>Aristolochia bodamae</i> Dingler yaprak hekzan
ABYME	: <i>Aristolochia bodamae</i> Dingler yaprak metanol
ABYSU	: <i>Aristolochia bodamae</i> Dingler yaprak su
AChE	: Asetilkolin esteraz
AD	: Alzhemier hastalığı
ALA	: $\alpha$ -lipoik asit
AMP	: Adenozin monofosfat
ATC	: <i>Aristolochia tagala</i> Cham.
ATP	: Adenozin trifosfat
BHA	: Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	: Bütillenmiş hidroksitoluen
BP	: Benzo(a)piren
Co-Q10	: Koenzim-Q10
COX	: Siklooksijenaz
DDA	: Düşük doğum ağırlığı
DHLA	: Dihidroliipoik asit
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DPPH	: 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil radikali
DTNB	: 5,5'-ditiyobis-2-nitrobenzoik asit
ETS	: Elektron transport zinciri
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit
FMO	: Flavın mono oksijenaz
G6PD	: Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz
GAE	: Gallik asit eşdeğer
GCL	: Glutamin-sistein ligaz
GP	: Glutasyon peroksidaz
GPDH	: Gliserol 3-fosfat dehidrogenaz
GSH	: İndirgenmiş Glutasyon
GSS	: Glutasyon sentetaz
GSSG	: Glutasyon (Yükseltgenmiş)
GST	: Glutasyon S-transferaz
HDL	: Yüksek yoğunluklu lipoprotein
HNE	: 4-hidroksi-2-nonenal
HPTLC	: Yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi
KAT	: Katalaz
KDH	: Ksantin dehidrogenaz
KE	: Kuersetin eşdeğer
KO	: Ksantin oksidaz
L	: Lipid radikali
LDL	: Lipoprotein
IgG	: İmmünoglobulin
LOOH	: Lipit peroksid

LOX	: Lipooksijenaz
LPO	: Lipit peroksidasyonu
LPS	: Lipopolisakkarit
MDA	: Malondialdehit
MEL	: Melatonin
MHA	: Mueller Hinton Agar
MHB	: Mueller Hinton Broth
MİK	: Minimum inhibisyon konsantrasyonu
Mn-SOD	: Manganez süperoksit dismutaz
MPO	: Miyeloperoksidaz
MPTP	: 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidro piridin
MRM	: Çoklu reaksiyon izlemcisi
NADH	: İndirgenmiş Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NAFLD	: Alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer bozukluğu
NBT	: Nitro Blue Tetrazolium Chloride
NDGA	: Nondihidroguayeretik asit
NH <sub>3</sub>	: Amonyum
P450	: Sitokrom p450 enzimi
PABA	: p-amino benzoik asit
PFS	: Bitki besin takviyeleri
PG	: Propil gallat
PMS	: Fenazin metosülfat
PLGSH-Px	: Fosfolipit hidroperoksit glutatyon peroksidaz
PUFA	: Çoklu doymamış yağ asiti
R·	: Alkil radikali
RNS	: Reaktif azot türleri
ROB	: Reaktif oksijen bileşimi
ROO·	: Peroksil radikali
ROT	: Reaktif oksijen türleri
Sens	: Sensitizer
Sens*	: Sensitizer aktif formu
SH	: Tiyol
SPSS	: Statistical packages for the social sciences
STZ	: Streptozotosin
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
TBA	: Tiyobarbütirik asit
TBHQ	: Tersiyer-bütillhidroksikinin
TCA	: Trikloroasetik asit
TCM	: Geleneksel çin tıbbı
TRX	: Tioredoksin
TRxRS	: Tiyoredoksin redüktaz
UA	: Ürik asit
VLDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
Zn-SOD	: Çinko süperoksit dismutaz
WHO	: Dünya sağlık örgütü

## ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Aktive olmuş nötrofillerde fagositik patlama sonucu radikal oluşumu (Altınışik, 2006) ....	11
Şekil 2.2. Nötrofillerde oksijene bağımlı bakteri öldürme aktiviteleri (Gökhan, 2007).....	12
Şekil 2.3. Singlet oksijen formu .....	19
Şekil 2.4. Hücre zarı ve yapısı (Koolman ve Röhm, 2005).....	25
Şekil 2.5. Ateroskleroz oluşumuna zemin oluşturan atardamar çeperindeki lipit hasarı (Koolman ve Röhm, 2005).....	31
Şekil 2.6. Glikasyona uğramış bir proteinden önce shift bazı sonra ise amadori türünü oluşumu (Coleman ve Chung, 2002).....	33
Şekil 2.7. Parkinson hastalığının patajonezisi ile ilgili öne sürülen fizyolojik süreçler (Richards vd, 2016).....	38
Şekil 2.8. Antioksidanların hücredeki işlevinin genel şekli (Maltaş, 2011).....	41
Şekil 2.9. Antioksidanların sınıflandırılması (İnan, 2015).....	42
Şekil 2.10. Epifiz bezinde melatonin üretimi ve kontrol edilmesi (Brzezinski, 1997).....	49
Şekil 2.11. Melatonin antioksidan özellikleri (Reiter, 2003).....	50
Şekil 2.12. Ağız boşluğunda melatonin terapöz potansiyeli (Najeeb vd, 2016).....	51
Şekil 2.13. Seruloplazmin ana fizyolojik işlevleri (Gürer, 2005).....	52
Şekil 2.14. Oksidatif strese karşı savunmada glutatyonun antioksidan fonksiyonlarının şematik hali (Bharath vd, 2002).....	57
Şekil 2.15. Glutatyonun antioksidan olarak davrandığı durumlar (Bharath vd, 2002).....	56
Şekil 2.16. $\alpha$ -Lipoik asit ve indirgenmiş formu olan dihidrolipoik asitin (DHLA) kimyasal yapısı ....	57
Şekil 2.17. Ubikinon kimyasal yapısı.....	61
Şekil 2.18. Selenyumun biyokimyasal özellikleri arasında yer alan antioksidan savunma ve immün etkileri (Kangalgil ve Yardımcı, 2017).....	63
Şekil 2.19. $\alpha$ -Tokoferolün kimyasal yapısı .....	66
Şekil 2.20. $\beta$ -karoten kimyasal yapısı .....	69
Şekil 2.21. A vitamini eksikliğinde meydana gelen rahatsızlıklar (Evcil ve Malas, 2008) .....	70
Şekil 2.22. L-askorbik asitin kimyasal yapısı (Gökhan, 2007).....	71
Şekil 2.23. Folik asitin kimyasal yapısı (Koolman ve Röhm, 2005).....	73
Şekil 2.24. Karotenoidlerin engellediği bazı hastalıklar (Stahl ve Sies, 1996) .....	74
Şekil 2.25. BHA'nın kimyasal yapısı .....	78
Şekil 2.26. BHT'nin kimyasal yapısı (Döğler, 2010).....	79
Şekil 2.27. TBHQ'nun kimyasal yapısı .....	80
Şekil 2.28. Propil gallatın kimyasal yapısı .....	80
Şekil 2.29. NDGA'nın kimyasal yapısı.....	81
Şekil 2.30. Üreaz katalizli reaksiyon (Krajewska vd, 2001) .....	82
Şekil 2.31. Üreaz enziminin üç boyutlu yapı modeli (Çınar vd, 2017) .....	83
Şekil 2.32. ROT ve RN'lerin meydana getirdiği oksidatif hasarın biyo göstergesi (Kahraman ve Yanardağ, 2009) .....	85
Şekil 2.33. 16. ve 17. yüzyıllarda kullanılan tencere, kutu ve halk ilaçları (A) " <i>Aristolochia</i> Goblenini". (B) zayıflama hapı (C) (Nortier ve Vanherweghem, 2007) .....	90
Şekil 2.34. <i>A. bodamae</i> çiçek kısmı .....	91
Şekil 2.35. <i>A. bodamae</i> yaprak kısmı.....	91
Şekil 2.36. <i>A. bodamae</i> kök kısmı.....	91
Şekil 3.1. DPPH· radikalinin bir antioksidan (AH) tarafından giderilmesi .....	106
Şekil 4.1. Standart bileşiklerin LC-MS/MS spektrumu .....	113
Şekil 4.2. ABÇAS ekstraktının LC-MS/MS spektrumu .....	113
Şekil 4.3. ABÇEA ekstraktının LC-MS/MS spektrumu .....	114
Şekil 4.4. ABÇHE ekstraktının LC-MS/MS spektrumu .....	114
Şekil 4.5. ABÇME ekstraktının LC-MS/MS spektrumu .....	115
Şekil 4.6. ABÇSU ekstraktının LC-MS/MS spektrumu .....	115
Şekil 4.7. ABÇET ekstraktının LC-MS/MS spektrumu .....	116
Şekil 4.8. ABTAS ekstraktının LC-MS/MS spektrumu .....	116
Şekil 4.9. ABTEA ekstraktının LC-MS/MS spektrumu .....	117
Şekil 4.10. ABTET ekstraktının LC-MS/MS spektrumu .....	117
Şekil 4.11. ABTME ekstraktının LC-MS/MS spektrumu.....	118
Şekil 4.12. ABTHE ekstraktının LC-MS/MS spektrumu.....	118
Şekil 4.13. ABTSU ekstraktının LC-MS/MS spektrumu.....	119

Şekil 4.14.ABYAS ekstraktının LC-MS/MS spektrumu.....	119
Şekil 4.15.ABYEA ekstraktının LC-MS/MS spektrumu.....	120
Şekil 4.16.ABYET ekstraktının LC-MS/MS spektrumu.....	120
Şekil 4.17.ABYHE ekstraktının LC-MS/MS spektrumu.....	121
Şekil 4.18.ABYSU ekstraktının LC-MS/MS spektrumu.....	121
Şekil 4.19.ABYME ekstraktının LC-MS/MS spektrumu.....	122
Şekil 4.20. <i>A. bodamae</i> ekstraktlarının DNA koruma aktivitesi jel görüntüleri.....	153





## TABLolar

Tablo 2. 1. Serbest radikallerin endojen ve eksojen kaynakları (Döğer, 2010).....	7
Tablo 2. 2. Serbest radikal türleri ve radikal olmayan reaktif türler (Döğer, 2010) .....	14
Tablo 2. 3. En çok karşılaşılan serbest radikallerin, bazı reaktif oksijen türleriyle birlikte bu radikallerin ihtiva ettiği bazı temel özellikler (Dündar, 1999).....	15
Tablo 2. 4. Reaktif oksijen türlerinin tahmini yarı ömürleri (Tekkes, 2006) .....	15
Tablo 2. 5. Serbest radikallerin hücrelerde meydana getirdikleri başlıca hasarlar (Akpoğraz ve Durak, 1995; Yanbeyi, 1999) .....	24
Tablo 2. 6. Oksidasyona uğramaya meyilli amino asitler ve oksidasyon ürünleri (Shacter, 2000).....	27
Tablo 2. 7. Serbest radikallerin neden olduğu bazı hastalıklar (Uğuzlar, 2009) .....	30
Tablo 2. 8. Antioksidanların savunma sistemindeki farklı işlevsel durumları (Berger, 2005; Vinson, 2006).....	39
Tablo 2. 9. Gıda koruyucu olarak en yaygın kullanılan doğal antioksidanların listesi ve tipik kaynakları (Sood ve Venkatesh, 2011).....	43
Tablo 2. 10. Doğal antioksidanların listesi ve emilimi en üst düzeye çıkarma teknikleri (Sood ve Venkatesh, 2011) .....	43
Tablo 2. 11. Endojen antioksidanların sınıflandırılması (Aydemir ve Sarı, 2009; Sen ve Chakraborty, 2011).....	44
Tablo 2. 12. $\alpha$ -lipoik asit ile DHLA'nın ROT ve RN üzerindeki süpürücü etkileri (Packer vd, 2001) .....	59
Tablo 2. 13. Ürik asidin pro-oksidan ve antioksidan etkileri (Kumar vd, 2015).....	64
Tablo 2. 14. Eksojen antioksidanlar (Aydemir ve Sarı, 2009; Sen ve Chakraborty, 2011).....	66
Tablo 2. 15. Fenolik bileşenlerin sınıfları (Rice, 1999).....	75
Tablo 2. 16. Flavonoidlerin sınıfları ve örnekler (İnan, 2015).....	76
Tablo 2. 17. Bazı enzimlerin kullanım alanları (Kırkkbir, 2018).....	82
Tablo 2. 18. <i>Aristolochia</i> üyelerinin biyolojik faaliyetleri ve biyoaktiviteleri (Wu vd,2004).....	94
Tablo 3.1.Deneylerde kullanıldığımız ekstrakt ve standartların isimleri ve kısaltmaları .....	101
Tablo 3. 2.Yapılan deneysel çalışmalar .....	101
Tablo 4. 1. <i>A. bodamae</i> çiçek, tohum ve yaprak ekstraktlarının verimi, toplam fenolik ve flavonoid içerikleri .....	113
Tablo 4. 2. <i>A. bodamae</i> ABÇAS, ABÇEA ve ABÇET ekstraktlarının kimyasal içerikleri .....	116
Tablo 4. 3. <i>A. bodamae</i> ABÇME, ABÇSU ve ABÇHE ekstraktlarının kimyasal içerikleri .....	117
Tablo 4. 4. <i>A. bodamae</i> ABTAS, ABTEA ve ABTET ekstraktlarının kimyasal içerikleri .....	118
Tablo 4. 5. <i>A. bodamae</i> ABTME, ABTSU ve ABTHE ekstraktlarının kimyasal içerikleri .....	119
Tablo 4. 6. <i>A. bodamae</i> ABYAS, ABYEA ve ABYET ekstraktlarının kimyasal içerikleri .....	120
Tablo 4. 7. <i>A. bodamae</i> ABYME, ABYSU ve ABYHE ekstraktlarının kimyasal içerikleri .....	121
Tablo 4. 8. <i>A. bodamae</i> çiçek, tohum ve yaprak toplam antioksidan aktivite, indirgenme gücü ve serbest radikal giderme aktivite deneylerinin $A_{0.5}$ ( $\mu\text{g/mL}$ ) ve $r_2$ değerleri .....	126
Tablo 4.9. <i>A. bodamae</i> çiçek, tohum ve yaprak ekstraktlarının metal şelat aktivitesi, lipid peroksidasyon inhibisyonu ve süperoksit anyonu giderme aktivitesi deneylerinin $EC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ ) ve $r^2$ değerleri .....	130
Tablo 4. 10 <i>A. bodamae</i> çiçek, tohum ve yaprak ekstraktlarının asetilkolin esteraz inhibisyon değerleri.....	131
Tablo 4. 11 <i>A. bodamae</i> çiçek, tohum ve yaprak ekstraktlarının üreaz inhibisyon değerleri .....	132
Tablo 4. 12 <i>A. bodamae</i> çiçek, tohum ve yaprak ekstraktlarının disk difüzyon yöntemiyle antibakteriyel aktivite değerleri .....	134
Tablo 4. 13. <i>A. bodamae</i> çiçek, tohum ve yaprak ekstraktlarının mikrodilüsyon metodu antibakteriyel aktivite değerleri .....	139
Tablo 4.14. <i>A. bodamae</i> çiçek, tohum ve yaprak ekstraktlarının deoksiriboz koruma aktivite değerleri.....	142



# 1. GİRİŞ

Serbest radikaller canlı metabolizmasında önemli bir yere sahiptir (Inglett vd, 2011). Bu bileşiklerin oluşumu biyolojik sistemdeki normal metabolik işleyiş (solunum faaliyeti, otooksidasyon, enzim reaksiyonları gibi) veya çevresel faktörlerin (radyasyon, tütün ürünleri dumanı, hava kirliliği, stres gibi) çevresel ajanlar da aktivitesi yüksek bu bileşiklerin oluşumunda etkilidir (Halliwell ve Gutteridge, 1990; Young ve Woodside, 2001).

Serbest radikaller dış orbitallerinde eşlenmemiş elektron taşıyan moleküllerdir. Eşlenmemiş elektron sayısı bir ya da birden fazla olabilir. Atomik veya moleküler yapıda bulunan bu bileşikler kısa ömürlüdür (Kılınç, 2002). Sahip olduğu eşlenmemiş elektronlarından dolayı serbest radikaller, elektronlarını eşleştirme eğilimindedir. Bu özellik gevşek bağlı elektronları koparabilme yeteneği sağlayarak onlara kimyasal aktiflik kazandırmıştır (Maltaş, 2011). Birçok serbest radikal türü bulunmaktadır. Bunlardan en önemlileri reaktif oksijen türleri (ROT) dir. Bunlar singlet oksijen ( $^1O_2$ ), süperoksit radikali ( $O_2^-$ ), peroksinitrit ( $ONOO^-$ ) ve hidroksil radikali ( $-OH$ ) dir (Halliwell ve Gutteridge, 1990).

Serbest radikaller canlı organizmasında, gıda ve endüstri teknolojisinde birçok olumsuz sonuca sebep olmaktadır. Eşlenmemiş elektrona sahip olan bu bileşiklerin canlı organizmasında kontrolsüz bir şekilde artması sonucu biyomoleküllerin (lipidler, karbonhidratlar, DNA yapısındaki nükleik asitler, proteinler) modifikasyonuna sebep olmaktadır. Bu durum yaşlılık, koroner kalp rahatsızlığı, hücre membranında yıpranma, diyabet, mutajenizm, kanser ve bağışıklık sistemi hastalıklarına sebep olur (Akkuş, 1995).

Gıda ve endüstri teknolojisinde ise serbest radikaller doymamış yağ içeren yağ asitlerinin ve yağ oranı yüksek ürünlerin oksidasyonuna sebep olmaktadır. Bu durum lipid peroksidasyonu olarak adlandırılmaktadır. Lipid peroksidasyonu tatda acılaşmaya (ransidleşme) aroma, kıvam, renk, tekstürde bozulmalara sebep olarak gıdaların korunmasına ve raf ömrünün uzamasına engel olmaktadır (Senköylü, 2001).

Serbest radikallerin bu etkilerini antioksidan denilen maddeler saf dışı bırakmaktadır. Antioksidanların koruyucu ve engelleyici özellikleri bu bileşiklere olan ilgiyi artırmıştır (Prior ve Cao, 2000).

Antioksidanlar genellikle fenolik yapıdadır. Serbest radikalleri, elektronlarını vererek nötralize eden bu bileşikler, reaksiyon sonunda serbest radikal haline

dönüşmezler (Prior ve Cao, 2000). Bu maddeler, endojen (hücre içi) ve eksojen (hücre dışı) olmak üzere iki grup halinde incelenmiştir. Endojen antioksidanlara enzimatik ve enzimatik olmayan (hormonlar gibi) olarak örnek verilirken, vitaminler, bazı ilaçlar ve yapay gıda antioksidanları (BHA, BHT, troloks vb.) ise eksojen antioksidanlar içerisinde değerlendirilmektedir (Halvorsen vd, 2002).

Fenolik yapıda bulunan bu koruyucu bileşiklerin birçok bitki, meyve, sebze ve mantarlarda bulunduğu görülmüştür (Shahidi, 2000). Antioksidan bileşiklerce zengin bu ürünlerin organizma tarafından yeterli miktarda alınmaması halinde reaktif oksijen türleri ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki denge bozulur. Bunun sonucunda oksidatif stres oluşumu gerçekleşir (Arbos vd, 2008). Bu nedenle organizmanın endojen savunma sisteminin antioksidan takviyesiyle desteklenmesi gerekmektedir.

Canlı metabolizmasının ve gıdaların korunmasında doğal ve fenolik bileşiklerce zengin bitkilerin yararlı olduğu bilinmektedir (Arbos vd, 2008). Doğal antioksidan içeren bu bitkisel kaynaklar yüzyıllarca kullanılmış olup teknolojinin ilerlemesiyle yerini yapay antioksidanlara bırakmıştır. Ancak bu yapay antioksidanların toksik etkilerinin olduğu ve bazı hastalıklara sebebiyet verdiği anlaşılmıştır. Hatta gıdaların korunmasında yaygın olarak tercih edilen sentetik antioksidanlardan olan bütillendirilmiş hidroksianisol (BHA) ve bütillendirilmiş hidroksitoluen (BHT)'nin karsinojenik olma riski yapılan araştırmalarla ortaya konmuştur (Ito vd, 1986). Bu nedenle araştırmacılar çalışmalarını bitkisel kaynaklardaki antioksidan aktivitelerine yoğunlaşmıştır. Sağlık ve endüstriyel alanda kullanmak üzere sebze, meyve ve kabuk gibi kısımları incelenerek antioksidan bakımından zengin ekstraktları tanımlamak için yapılmış pek çok çalışma bulunmaktadır (Chen vd, 2007).

Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre (WHO) tıbbi kullanım için yararlanılan bitki türü sayısı yaklaşık 20.000'dir. Türkiye 174 familyaya ait 1251 cins ile 12.000'den fazla tür ve tür altı taksonu (alt tür ve varyete) ile oldukça zengin bir floraya sahiptir. Ülkemizin coğrafi konumu ve buna bağlı olarak iklimi, bu çeşitliliğin en önemli sebeplerini oluşturmaktadır (Bayram vd, 2010; Kendir ve Güvenç, 2010).

Endemizm bakımından ise tüm Avrupa ülkelerinde toplam endemik tür sayısı 2750 iken Türkiye'de bu sayı 2891'dir. Bu sayıya endemik olan 497 alt türü ve 390 varyeteyi dahil ettiğimizde, toplam endemik takson sayısının 3750'den fazla olduğu

görülmüştür (Güner vd, 2000). Türkiye’de tıbbi olarak kullanılan bitkilerin sayısı kesin olarak bilinmemekle birlikte, 500 civarında olduğu tahmin edilmektedir. Bunların yaklaşık 200’ünün tıbbi ve aromatik ihraç potansiyeline sahip olduğu belirtilmektedir (Kendir ve Güvenç, 2010).

Bitki türleri içerisinde, *Aristolochiaceae* familyasının en fazla türe sahip cinsi *Aristolochia*’dır. Yaklaşık 550 çeşidi bulunmaktadır (Wanke vd, 2006). Genellikle tropik, subtropik ve ılıman bölgelerde yayılış gösteren *Aristolochia* türleri geleneksel tıpta birçok alanda çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Binorkar vd; Wanke vd, 2006). Bu türlerin bir kısmı antiinflamatuvar ajan olarak gut, akrep sokması, artrit, romatizmal hastalıklar ve kronik inflamatuvar deri hastalıklarında kullanıldığı gibi (Binorkar vd), antiinflamatuvar (Das vd, 2016), antifungal (Benarba ve Meddah, 2014), antihelmintic (D’Souza vd, 2011) ve serbest radikal süpürme (Benmehdi vd, 2017) aktiviteleri gibi özelliklere de sahip olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Aynı zamanda yılan ısırıklarında panzehir olarak da kullanılmaktadır (Bhattacharjee ve Bhattacharyya, 2013).

Elde edilen bu veriler *Aristolochia* türlerinin faydaları konusunda ilgi ve merakı artırmış olup biz de bu doğrultuda endemik bir tür olan *Aristolochia bodamae* Dingler bitkisini ele aldık. Bitkinin çiçek, tohum ve yaprak kısımlarının farklı çözücü ve konsantrasyonlardaki ekstraktlarını in vitro çalışmalar ile kimyasal bileşenlerini, antioksidan aktivitelerini, enzim inhibisyon düzeyini ve antibakteriyel etkilerini inceledik.

### **1.1. Tezin Amacı ve Önemi**

Fizyolojik ve biyokimyasal süreçler sonucunda canlı sisteminde çoğunlukla oksijen ihtiva eden serbest radikalleri ve diğer reaktif oksijen türlerini meydana getirmekte olup aşırı miktarda üretimi lipid, protein ve DNA gibi biyomoleküllerde oksidatif hasar oluşturabilir. Bunun sonucunda ateroskleroz, kanser, diyabet, yaşlanma gibi kronik hastalıklar ile başka dejeneratif hastalıklara neden olur (Sarıkürkcü vd, 2014). Bu bileşiklerin zararlı etkilerini engelleyebilecek ya da yok edebilecek çeşitli mekanizmalar mevcuttur (Velioglu vd, 1998).

Bu mekanizmalar antioksidan savunma sistemleridir. Bu antioksidan savunma sistemleri çeşitli antioksidan bileşiklerden meydana gelmekte ve bu bileşiklerin antioksidan kapasiteleri vücutta sentezlenen serbest radikaller ile besinlerden alınan

antioksidanlar arasındaki dengeye göre değişim göstermektedir (Koca ve Karadeniz, 2005). Bu dengenin bozulması halinde besinsel kaynaklı antioksidanların alınması önem kazanmaktadır. Fenolik bileşikler, azotlu bileşikler, vitaminler, terpenler ve bazı iç metabolitler gibi bileşikler serbest radikal yakalar ve etkisiz hale getirir. Bitkiler, bu bileşikleri içermektedir. Antioksidatif özellikler gösteren bu bileşiklerin anti-inflamatuvar, anti-aterosklerotik, anti-tümör, anti-mutajenik, anti-karsinojenik, anti-bakteriyel ve anti-viral özelliklere de sahip olduğu yapılan epidemiyolojik çalışmalar sonucu belirtilmiştir (Halliwell, 1994). Sentetik (yapay) antioksidanların karsinojenik etkiler başta olmak üzere birçok toksik etkiye sahip olduğu yapılan araştırmalar neticesinde ortaya konulmuş olup bu sebeple doğal kaynaklı antioksidanların tercih edilmesi önerilmektedir (Kranl vd, 2005; Ito vd, 1986). Bu anlamda tez çalışmasında yeni doğal antioksidan kaynaklarının tespit edilmesi amaçlanmıştır.

*Aristolochia* türleri, geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılan önemli bitki türleridir. *Aristolochia*'nın birçok türünün kanser, kaşıntı, zehirlenme, cilt hastalıkları, akciğer iltihaplanması gibi rahatsızlıkların, yılan ısırıklarının tedavisinde kullanıldığı yapılan araştırmalar sonucu ortaya konmuştur. Bu anlamda tez çalışmasında *Aristolochia* türlerinden biri olan *A. bodamae* bitkisinin antioksidan, antibakteriyel aktivite, enzim inhibisyon aktivite kapasitesi ve DNA koruma aktivitelerinin araştırılması amaçlandı.

Flavonoid ve fenolikler antioksidan bileşikler olması nedeniyle bitkideki miktarlarını incelemek amacıyla toplam fenolik ve toplam flavonoid tayinleri gerçekleştirildi. Antioksidanların miktarları kadar çeşitliliği de antioksidatif etki ile ilişkilidir. Bu sebeple LC-MS/MS fenolik tayin yöntemiyle bitkideki fenolik bileşiklerin kantitatif analizinin incelenmesi amaçlandı. *A. bodamae* bitkisinin antioksidan kapasitesinin tayini için Mo(VI)'in Mo(V)'e indirgenmesi esasına dayanan Amonyummolibdenyum yöntemi kullanılarak toplam antioksidan kapasite tayininin araştırılması amaçlandı. Fe<sup>3+</sup>'ün, Fe<sup>2+</sup>'ye indirgenmesi esasına dayanan indirgenme gücü tayini ile bitkinin antioksidan aktivite tayininin incelenmesi amaçlanmıştır.

Reaktif oksijen türleri, serbest radikal zincir reaksiyonlarından olan lipit peroksidasyonunu hızlandırır. Hücre membranında fosfolipit yer almakta olup bu nedenle hücre membranında radikal saldırıları sonucu lipit peroksidasyonu meydana gelebilmektedir. Bu sebeple linoleik aist peroksidasyon inhibisyonu tayin yöntemi

kullanılarak, *A. bodamae* bitkisinin lipid peroksidasyonu inhibisyon gücünün incelenmesi amaçlanmıştır.

Antioksidan aktivitesi serbest radikal giderme aktivitesiyle de ilişkilidir. Uzun ömürlü azot türevi olan DPPH' radikali kullanılarak, *A. bodamae* bitkisinin serbest radikal giderme aktivitesinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Demir ve bakır metalleri gibi geçiş metalleri, organizmada serbest radikal oluşumuna neden olmaktadır. Demir gibi toksik etki meydana getirebilecek metaller organizmada toksik etkisi olmayan şelat formunda bulunmaktadır. Bu nedenle *A. bodamae* bitkisinin metal şelat aktivitesinin tayini incelemesi amaçlanmıştır.

Oksijene bir elektron katılması sonucu oluşan süperoksit radikali en fazla ve çoğunlukla da ilk oluşan radikal türlerindedir. Süperoksit radikali, hidrojen peroksit, singlet oksijen, perhidroksi radikalleri gibi radikallerin de oluşumuna neden olmaktadır. Aynı zamanda peroksinitrit gibi toksik ürünlerin de meydana gelmesinde etkili olabilmektedir. Bu nedenle *A. bodamae* bitkisinin süperoksit anyonu giderme aktivitesinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Serbest radikaller DNA' da bulunan heterosiklik bazlar ve deoksiriboz-fosfatlarla etkileşim gösterir ve DNA yapısında hasara neden olur. Bu nedenle *A. bodamae* bitkisinin DNA koruma aktivitesinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Üreaz enzimi bir atılım olan üreyi parçalamaktadır. Ürenin fazlası amonyum zehirlenmesine neden oluşturmaktadır. Bu sebeple *A. bodamae* bitkisi ekstraktlarının üreaz enzimi inhibisyon aktivitelerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Bakterilerin zararlı etkilerini gidermek için üretilen antibiyotiklere karşı bakterilerde bağışıklık oluşmuş olup bu sebeple bakterilerin zararlı etkilerini ortadan kaldırmak için yeni arayışlar içerisine girilmiştir. Bu durumdan dolayı disk difüzyon metodu ve mikrodilüsyon metodu kullanılarak *A. bodamae* bitkisinin antibakteriyel etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

*A. bodamae* bitkisinin çiçek, tohum ve yaprak kısımlarının antioksidan, antibakteriyel aktivite, DNA koruma aktivitesi ve enzim inhibisyon aktivitelerinin incelenmesi açısından literatürde ilk çalışma olması bu çalışmayı önemli kılmaktadır.

## 2. KURUMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. Serbest Radikaller

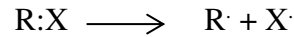
Son yörüngesinde yani atomik orbitalinde bir veya daha fazla çiftlenmemiş elektron taşıyan, son derece reaktif, yarı ömrü kısa, molekül ağırlığı küçük ve çok etkili olan atom ya da moleküllere serbest radikaller denir (Abdollahi vd, 2004; Karabulut ve Gülay, 2016b). Bu atom ya da moleküller pozitif, negatif ya da nötral olabilirler (Delibaş ve Özcankaya, 1995).

Çiftlenmiş halde bulunan elektronlar yapıya kararlılık sağlarken, çiftlenmemiş elektronlar ise atom ya da molekülün daha reaktif ve kararsız olmasına neden olur. Bu durum eşlenmemiş elektron içeren serbest radikallerin yüksek enerjili ve kararsız yapılar olmasının sebebidir. Böylelikle serbest radikaller, eşleşmiş elektronları ayırarak işleyişlerine engel olur. Bu özellik serbest radikallerin yararlı etkilerinin olmasını sağlamasının yanı sıra zararlı etkilerinin de ortaya çıkmasına neden olur (Altan, 2006). Aynı zamanda elektronları çiftlenmiş halde yani eşlenik olan atomlar ya da moleküller, kararlı özellik gösterir ve reaktivlikleri serbest radikallere kıyasla düşük seviyededir. Bu tür moleküllere ise nonradikaller denir (Karabulut ve Gülay, 2016b).

#### 2.1.1. Serbest Radikallerin Oluşumu

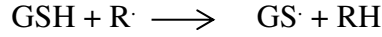
Serbest radikaller çeşitli reaksiyonlarla oluşabilirler. Bu reaksiyonlar (Cheeseman ve Slater, 1993);

1. Kovalent bağlar yüksek derecedeki sıcaklık (500-600 °C) ve yine yüksek seviyedeki elektromanyetik dalgaların etkisiyle simetrik olarak ayrılır ve bağ atomları üzerinde eşlenmemiş birer elektron kalır. Bu olaya homolitik parçalanma adı verilir. Böylelikle eşlenmemiş elektrona sahip serbest radikal meydana gelir (Yalçın, 2007).

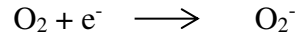


2. Bir molekülün elektron kaybederek dış orbitalinde eşlenmemiş elektron oluşumu gerçekleşmesiyle veya heterolitik kırılma ile oluşan zıt yüklü iyon çiftleri ve serbest radikal meydana gelir. Örneğin; antioksidanlar radikallere indirgenirken bir elektron vererek radikal forma dönüşür.

İndirgenmiş glutatyonun (GSH) radikal ile reaksiyonu sonucu oluşan tiyol radikali (GS<sup>·</sup>) örnek olarak verilebilmektedir (Bachmayer, 2004).



3. Radikal olmayan bir moleküle elektron katılmasıyla (indirgenme) molekülün dış orbitalinde eşlenmemiş elektron oluşması sonucu serbest radikal meydana gelir. Örneğin; solunum ile alınan oksijenin mitokondride kullanımı sırasında oksijene elektron transferi gerçekleşir. Bu elektron transferi, tek bir elektron olursa serbest süperoksit radikali oluşur (Kılınç, 2002).



### 2.1.2. Serbest Radikallerin Kaynakları

Serbest radikaller sürekli olarak üretilir ve bu durum doğal bir olaydır. Serbest radikal üretimi birçok yolla gerçekleşir. Bu üretim kaynakları genel olarak endojen ve eksojen kaynaklar olarak sınıflandırılır. Serbest radikallerin endojen ve eksojen kaynaklar Tablo 2.1’de gösterilmiştir (Döger, 2010).

Tablo 20.1. Serbest radikallerin endojen ve eksojen kaynakları (Döger, 2010)

<b>Eksojen (Hücre İçi) Kaynaklar</b>	<b>Endojen (Hücre Dışı) Kaynaklar</b>
Mitokondriyal elektron transport zinciri	Çevresel faktörler
Endoplazmik retikulum elektron transport zinciri	Toksik kimyasallar
Mikrozomal elektron transport zinciri	Radyasyon
Çözünür enzimler ve proteinler	İlaçlar
Araşidonik asit döngüsünün aktivasyonu	
Geçiş metal iyonlarının etkisi	
Peroksizomlar	
Plazma membranı	
Fagositik hücreler	
Fotooksidasyon	

#### 2.1.2.1. Serbest Radikallerin Endojen (Hücre İçi) Kaynakları

**Mitokondriyal elektron transport zinciri:** Hücre solunumu mitokondride gerçekleşir. Canlı tarafından alınan oksijenin yaklaşık %95’i suya indirgenir ve kalan %1-5’i ise süperoksit radikalinin oluşumunda rol alır (Halliwell ve Gutteridge, 1989). ATP üretiminin esas kaynağı olan organel mitokondridir. Yağ asidi veya glukozun oksidize olmasıyla başlayan enerji üretiminde oksidize olan bu moleküller elektron taşıyıcıları (flavin mononükleotid, flavin adanın dinükleotid ve nikotin adenin dinükleotid gibi) ile elektron kaybeder. Böylelikle indirgenmiş moleküller (nikotin adenin dinükleotid ve flavinler) oluşur (Tamer vd, 2012).

İç mitokondriyal membranda indirgenen bu moleküller tekrar oksidize olur ve böylelikle temel enerji olan ATP üretimi gerçekleşir (Halliwell ve Gutteridge, 2006). Oksidasyon işlemi basamaklar halinde gerçekleşir. Elektron transport zincirinde enzimlerin yapısındaki demir iyonlarının indirgenmesinde kullanılan elektronlar NADH'dan ayrılan elektronlardır. Örneğin; zincirde sitokrom oksidaz enzimi yapısında bakır ve demir iyonları oksijenin indirgenmesini sağlar ve bu indirgenen oksijenin zararsız bir şekilde bağlanmasında görev alır (Tamer vd, 2012). Fakat zincirin önceki basamaklarında elektron taşıyıcı enzimlerden oksijene elektron kaçağı olur ve süperoksit radikalleri oluşur (Döğer, 2010). Süperoksit radikalinin miktarı, mitokondri organelinin hasar görmesiyle artış gösterir (Dean vd, 1997).

**Endoplazmik retikulum elektron transport zinciri:** Canlı dokularındaki endoplazmik retikulum membranında sitokromların oksidasyonu sonucu serbest radikal üretimi gerçekleşir. NADPH-450 enziminde elektron transferiyle oluşan flavinlerde oksijen üzerine elektron sızıntısıyla süperoksit radikalleri oluşur (Tayefi, 2009).

**Mikrozomal elektron transport zinciri:** Nükleer membranlar ve endoplazmik retikulumda çok sayıda P-450 ve flavin mono oksijenaz (FMO) enzim sistemleri yer alır. Bunlardan en önemlileri nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) sitokrom P-450 redüktaz enzimidir. Bu yapılar doymamış yağ asitlerini ve yabancı maddeleri (ksenobiyotikleri) okside ederken elektron kaçağı sonucu yan ürün olarak serbest radikallerin oluşumuna neden olur (Hasani, 1999).

**Çözünür enzimler ve proteinler:** Serbest radikallerin oluşum yollarından biri de enzimlerin katalitik döngüleri sırasında oluşan anomalilerdir. Hücrede iskemik dönemde yapısal ve metabolik değişiklikler oluşur. ATP üretimi dursa da kullanımının devam etmesiyle ATP'den AMP ve adenozin meydana gelir. Hızlı bir şekilde hücre dışına difüze olmasıyla adenozin, inozin ve hipoksantine parçalanır. Bu şekilde enerjisi yüksek olan fosfat bileşiklerinin (ATP gibi) yıkımıyla doku dahilinde ksantin ve hipoksantin gibi pürin metabolitleri birikir. Ayrıca ksantin dehidrojenaz da (KDH), ksantin oksidaza (KO) dönüşmüş olur. Bu nedenle de hipoksantin, ksantine ve ürik aside dönüşürken oksidaz olarak aktivite gösteren enzim KO enzimi olur. Bu reaksiyon sırasında moleküler oksijen elektron alıcı olarak kullanılır. Moleküler oksijen hidrojen peroksite indirgenir. Oksijen seviyesi iskemi döneminde düşüktür ve hasar önemli bir derecede değildir.

Fakat reperfüzyon esnasında oksijen seviyesinin normale dönmesiyle iskemi kısmında ksantin oksidazın da etkisiyle yüksek düzeyde hidrojen peroksit ve süperoksit radikalleri meydana gelir. Bu durum “iskemi-reperfüzyon hasarı” olarak adlandırılır (Şener, 2009).

**Araşidonik asit döngüsünün aktivasyonu:** Serbest radikallerin önemli bir üretim noktası da araşidonik asit döngüsüdür (Çelik, 2001). Prostaglandin sentezinde birinci adım, yağ asidi substratının elde edilmesidir. Bunun için fosfolipaz A<sub>2</sub> enziminin aktifleşmesiyle plazma membranından lipitler, araşidonik asit salınımını gerçekleştirir. Araşidonik asitin oksidasyon mekanizmasıyla eikozonoidlere (prostaglandine, lökotrienlere ve tromboksanlara) lipoksigenaz ve siklooksigenaz enzimleriyle oksidasyonu birlikte serbest radikal türleri de meydana gelir. Yani lipoksigenaz ve siklooksigenaz yoluyla araşidonik asit metabolizması sonucunda serbest radikal ara ürünlerinin oluşumu gerçekleşir. Fagositik hücrelerin etkilenmesiyle doku hasarına yol açarlar(Çelik, 2001).

**Geçiş metal iyonlarının etkisi:** Geçiş metalleri özellikle de demir ve bakır gibi metaller organizmada serbest radikal oluşumunu hızlandıran oksidatif katalist vazifesi görürler (Halliwell ve Gutteridge, 1990). Organizmanın doğal metabolik sisteminde demir iyonunun, ATP üretiminde, oksijenin taşınmasında klorofilin ve DNA (deoksiribonükleik asit)’nin sentezi işlemlerinde önemi büyüktür. Demir iyonları hücrelerde toksik etkiler meydana getirip bu toksite sonucuyla aktif oksijen türlerini oluşturur. Aktif oksijen türleri lipit peroksidasyonuna neden olabilmekte ya da DNA moleküllerine hasar verebilmektedir. Normalde canlı hücrelerin tamamında demir iyonlarının toksik etkisini izole edecek ve demir iyonlarının artanını toksik olmayacak formlara dönüştürerek hücrede saklayabildiği mekanizmalar bulunmaktadır (Miller, 1996 ). Metallerin birçoğu organizmada kelat formuyla yer alır. Buna örnek olarak bakırın çeşitli enzimlerde ve demirin de miyogloblin ve hemogloblin porfirin halkasında veya proteinlerde (ferritin gibi) kelat formunda bulunması verilebilir (Lindsay, 1996). Antioksidan savunma mekanizmasına kelat formunun büyük katkıları vardır. Bu formun serbest metal iyonlarına dönüşmesini tetikleyen durumlar da olabilir. Bunlar toksin, travma ve hastalık gibi etkenler olabilmektedir. Örneğin; diyabet, katarakt veya ateroskleroziz durumlarda serbest metal iyonlarının varlığını gösteren kanıtlar mevcuttur (Lavelli vd, 2000).

Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonları geçiş metallerinin serbest radikal oluşumlarını hızlandıran reaksiyonlara örnektir.

Haber-Weiss reaksiyonunda süperoksit radikali ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) eşliğinde ve  $Fe^{2+}$  iyonu katalizrlğinde girdiği reaksiyon sonucu hidroksil radikalini ( $\cdot OH$ ) oluşturur. Fenton reaksiyonu ise  $Fe^{2+}$  iyonlarının hidrojen peroksit ile reaksiyona girerek lipit peroksidasyon zincir reaksiyonlarını başlatması ve hidroksil radikalini ( $\cdot OH$ ) meydana getirmesidir (Duthie vd, 1989).

**Peroksizomlar:** Peroksizomlar hidrojen peroksit oluşumuna neden olan enzimlerdir. Bu enzimler;

- L-alfa-hidroksi asit oksidaz
- D-amino asit oksidaz
- Ürat oksidaz ve
- Yağ asiti ail-CoA oksidaz enzimleridir.

Oksidazlar canlı hücrede derişimi yüksek olan ve süperoksit oluşturmadan çok miktarda hidrojen peroksit meydana gelmesine sebep olurlar (Kavas, 1989).

**Plazma membranı:** Plazma membranı, birçok nedenden dolayı serbest radikal reaksiyonlarında önemli bir noktada yer alır. İntraselüler olarak üretilen serbest radikaller, hücrenin diğer kısımlarıyla reaksiyona girebilmek için ilk olarak plazma membranından geçecek veya membranda toksik reaksiyonlarını başlatılacaktır. Membranın yapısında yer alan doymamış yağ asitleri (fosfolipitler, glikolipitler, gliseridler ve steroller yapısında yer alan doymamış yağ asitleri) bunun yanı sıra rahatlıkla okside olabilen amino asitleri barındıran transmembran proteinleri serbest radikal hasarına açıktır. Lipit peroksidasyonu ve transmembran proteinlerinin oksidasyonu sonucu bazı fonksiyon kayıplarına neden olur. Bunlar;

- Membran iyon geçirgenliğinin bozulması,
- Sekratuar fonksiyon kayıpları ve
- Ekstraselüler metabolik olayların inhibisyonu olarak söylenebilir.

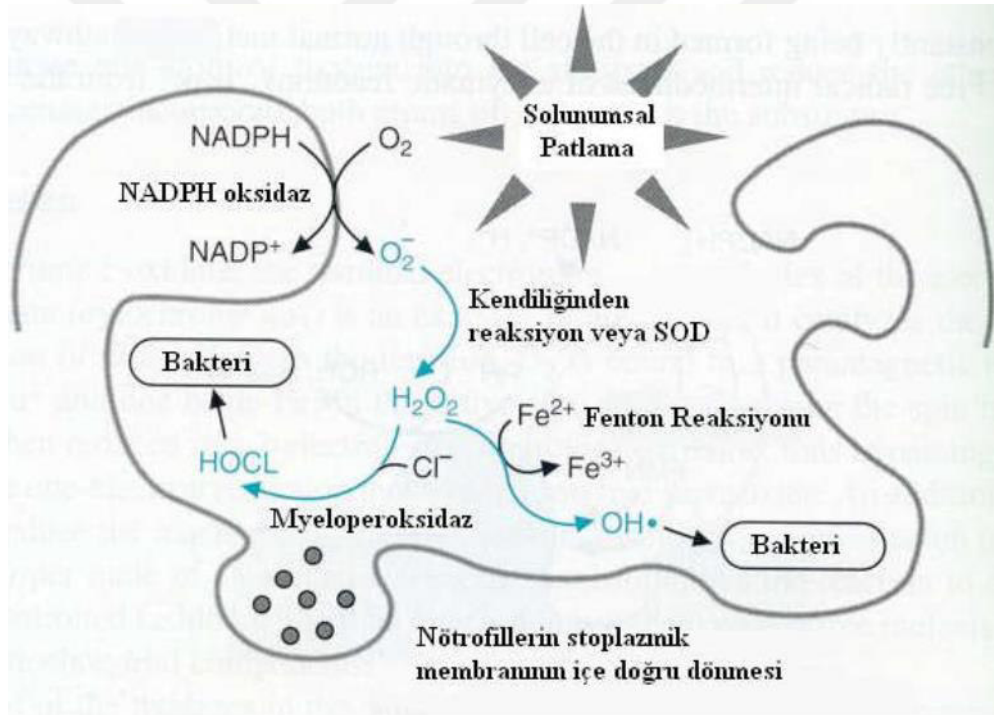
Fagositik hücre plazma membranlarında serbest radikal üretim kaynağı olan enzimler; nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz prostaglandin sentetaz, lipoksijenazdır. Lipoksijenaz ve siklooksijenaz gibi mikrozomal ve plazma membranına bağlı enzimler araşidonik asitin serbest kalmasına neden olur.

Oksidasyon mekanizmasıyla arəşidonik asit, eikozonoidlere (prostaglandine, lökotrienlere ve tromboksanlara) oksidasyonu sonucu ara ürünler olarak serbest radikaller de sentezlenir (Çelik, 2001).

**Fagositik hücreler:** Bakteriyel enfeksiyon gibi durumlarda fagositik hücreler, hücresel savunma mekanizmasını başlatır. Bu hücrelerse (Altınışık, 2006);

- Nötrofiller
- Monositler ve makrofajlar
- Eozinofiller
- Lenfositler
- Endotel hücreler olarak sıralanabilir.

Aktive olmuş nötrofillerde fagositik patlama sonucu radikal oluşumu Şekil 2.1' de gösterilmektedir.



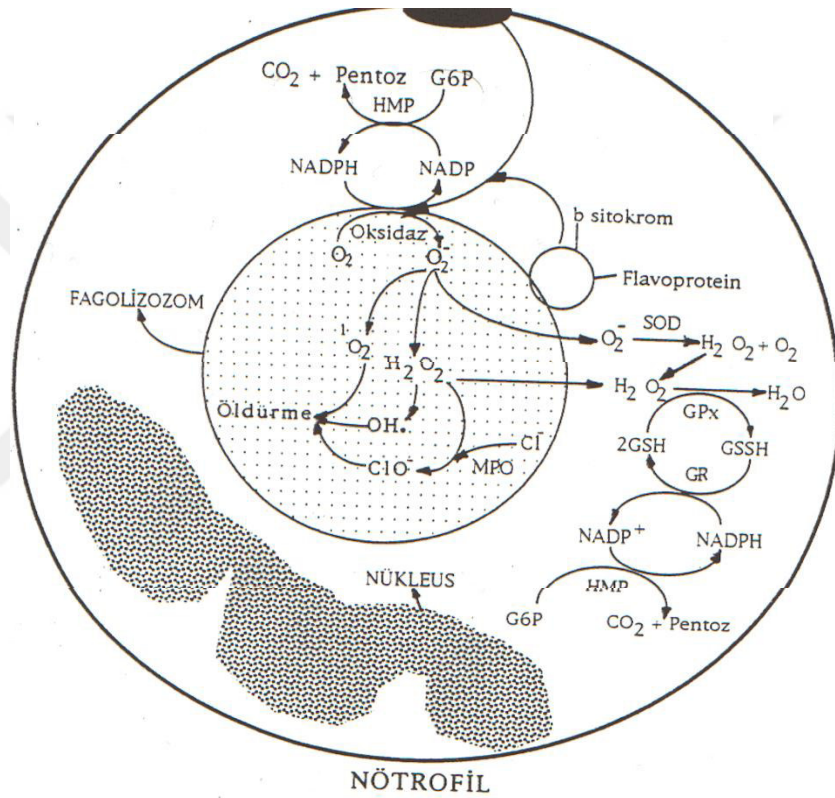
Şekil 2.1. Aktive olmuş nötrofillerde fagositik patlama sonucu radikal oluşumu (Altınışık, 2006)

Fagositik aktivite esnasında bu hücreler bakterileri yok etmek için hidrojen peroksid ve hipokloröz asit oluştururlar. Mikroorganizmalarla savaşmak için gerçekleşen bu işlemler için son derece önemli iki mekanizma kullanılır. Bunlar;

- NADPH (Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat)
- MPO (Miyeloperoksidaz) sistemidir.

Mitochondri organelinin aldığı oksijenin yaklaşık olarak %1-4'ü süperoksit anyonu üretiminde kullanılır ve bu süperoksit anyonunun yaklaşık olarak %20'si ise hücrelere gönderilir. Bakteriyel bir enfeksiyon durumunda nötrofil ve makrofaj gibi fagositik hücrelerin oksijen molekülü ( $O_2$ ) alımı artar.

Nötrofil ve makrofaj hücrelerin membranında bulunan NADPH oksidaz enzim sistemi aktifleşir. Bu olaya solunumsal patlama denir ve bakteriler öldürülür (Şekil 2.2). Fakat oksijenden oluşan süperoksit radikali ve hidrojen peroksit miktarı hücre içi sıvılarda artış göstermesiyle hücreler hasar görür (Koca ve Karadeniz, 2003).



Şekil 02. Nötrofillerde oksijene bağımlı bakteri öldürme aktiviteleri (Gökhan, 2007)

Bir hem proteini olan ve nötrofil ile monositlerde bulunan miyeloperoksidaz enzimi ise iyi bir oksidan kaynağıdır. Hüresel savunma sisteminde miyeloperoksidaz enzim sistemiyle gerçekleşen oksidasyon reaksiyonunda hidrojen peroksit tarafından klorid iyonları hipoklorik asit üretimini katalizler. Bakterileri yok etmekte etkili olduğu gibi hipoklorik asitle birlikte  $\alpha$ 1-antiproteinaz'ı inaktive ederek doku hasarı ve iltihaplanmasıyla sonuçlanacak zararlar da verebilmektedir (Lavelli vd, 2000).

**Fotooksidasyon:** Oksidasyon mekanizmalarını başlatan fotokimyasal yollar peroksitlerin meydana gelmesinde önemli bir faktördür.

Işık bir molekülce direkt olarak absorbe edilerek süperoksit anyonunun üretimini sağlayan elektron transport sistemlerinin oluşumuna sebep olabilmektedir (Foote, 1985).

Fotooksidasyon reaksiyonları iki tür olmaktadır. Bunlardan ilki sensitizer (Sens) adı verilen bir molekülle gerçekleşmektedir (Foote, 1985). Sensitizerlere örnek olarak klorofil-a, feofitin-a, hemoglobin, hematoporfirin, miyoglobin gibi bazı pigmentlerle eritrosit gibi sentetik bir boya verilebilir (Nawar, 1996). Bu moleküller ışığı absorbe etmektedir. Bu şekilde diğer türlerden bazılarının oksidasyonuna sebep olmaktadır. Bunu yaparken genellikle sensitizerin kendisi tüketilmeyip aktif formuna (Sens\*) dönüşmektedir. Aktif formu substratla reaksiyona girmektedir. Bunu ya hidrojen atomu geçişi ya da elektron vererek gerçekleştirmektedir. Böylece radikal üretimine neden olmaktadır. İkinci tür fotooksidasyon reaksiyonunda ise aktif formdaki sensitizer O<sub>2</sub> ile direkt reaksiyona girmektedir. Bu şekilde singlet oksijen (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) meydana getirmiş olmaktadır. Bu singlet oksijen de, oksijene ürünler (Subs-O<sub>2</sub>) meydana getirmek için substratla reaksiyona girmektedir (Foote, 1985).

#### **2.1.2.2. Serbest Radikallerin Eksojen (Hücre Dışı) Kaynakları**

**Çevresel faktörler:** Hava kirliliği, tütün, sigara içimi (Dursun, 2010), demir, titanyum, kurşun, alüminyum, molibden, bakır, kadmiyum, nikel, krom, civa, kobalt, arsenik gibi metaller, azotdioksit (NO<sub>2</sub>), ozon (O<sub>3</sub>) (Döğer, 2010), orman yangınları, volkanik faaliyetler, temizlik ürünleri, böcek ilaçları ve egzoz dumanı (Karabulut ve Gülay, 2016b) serbest radikal kaynaklarındandır.

**Kirleticiler:** Silika, toksik kimyasallar (kloroform, bromobenzen gibi halojenlenmiş hidrokarbonlar, paraquat, diquat, difenoller), asbest lifleri, karbonmonoksit, bazı çözücüler, hipoklorid, plumbagin, kükürt dioksit ve juglone gibi kirleticiler de serbest radikal oluşumuna neden olmaktadır (Abdollahi vd, 2004).

**Radyasyon:** İyonizan radyasyon (Dursun, 2010), X-ışını, ultraviyole ışık ve gama ışını gibi ışınlar serbest radikal oluşumunda etkili faktörlerdendir (Abdollahi vd, 2004).

**İlaçlar:** Bleomisin, parasetamol, herbisitler, pestisitler, aminotriazol, asetaminofen, klonazin, doksorubisin, 3,4-metilendioksümetamfetamin, klosapin, hiperbarik oksijen, troglitazon, trisiklik antidepresanlar, nitrofurantoin, siklosporin ve siprofloksasin serbest radikal üretimine neden olmaktadır (Abdollahi vd, 2004).

## 2.2. Serbest Radikal Türleri

Serbest radikaller, oksijen ve azot kaynaklı olabildiği gibi brom ve klor kaynaklı türler de vardır. Bunların radikal olmayan reaktif türleri de mevcuttur (Tablo 2.2) (Döğer, 2010). Bu reaktif türler bazı temel özellikleri ihtiva etmekte (Tablo 2.3) ve belirli yarı ömürlere sahiptir (Tablo 2.4).

Tablo 2.2. Serbest radikal türleri ve radikal olmayan reaktif türler (Döğer, 2010)

<b>SERBEST RADİKALLER</b>	<b>RADİKAL OLMAYAN REAKTİF TÜRLER</b>
<b>Reaktif Oksijen Türleri</b>	<b>Reaktif Oksijen Türleri</b>
Süperoksid Radikali ( $O_2^{\cdot-}$ )	Singlet Oksijen ( $^1O_2$ )
Hidroksi Radikali ( $HO^{\cdot}$ )	Ozon ( $O_3$ )
Alkoksil Radikali ( $RO^{\cdot}$ )	Hidrojen Peroksid ( $H_2O_2$ )
Peroksil Radikali ( $ROO^{\cdot}$ )	Organik Peroksidler ( $ROOH$ )
Hidroperoksil Radikali ( $HO_2^{\cdot}$ )	Peroksinitrit Radikali ( $ONOO^{\cdot}$ )
Karbonat Radikali ( $CO_3^{\cdot-}$ )	Peroksinitrik asid ( $ONOOH$ )
Karbondioksit radikali ( $CO_2^{\cdot-}$ )	Peroksonitrat ( $O_2NOO^{\cdot}$ )
	Peroksomono karbonat ( $HOOCO_2^{\cdot-}$ )
	Hipobromik asid ( $HOBr$ )
	Hipoklorik asid ( $HOCl$ )
<b>Reaktif Klorür Türleri</b>	<b>Reaktif Klorür Türleri</b>
Klor radikali ( $Cl^{\cdot}$ )	Hipoklorik Asid ( $HOCl$ ) Klor gazı ( $Cl_2$ )
	Nitril klorit ( $NO_2Cl$ ) Brom klorür ( $BrCl$ )
	Kloraminler Klordioksit ( $ClO_2$ )
<b>Reaktif Brom Türleri</b>	<b>Reaktif Brom Türleri</b>
Brom radikali ( $Br^{\cdot}$ )	Hipobromik Asid ( $HOBr$ )
	Brom gazı ( $Br_2$ )
	Brom klorür ( $BrCl$ )
<b>Reaktif kükürt Türleri</b>	
Tiyil ( $RS^{\cdot}$ )	
<b>Reaktif Azot Türleri</b>	<b>Reaktif Azot Türleri</b>
Azot Dioksit ( $NO_2^{\cdot}$ )	Nitrik asid ( $HNO_3$ )
Nitrat Radikali ( $NO_3^{\cdot}$ )	Peroksinitrat ( $OONOO^{\cdot}$ )
Nitrik Oksid ( $NO^{\cdot}$ )	Nitrosil katyonu ( $NO^+$ )
Diazot Trioksit ( $N_2O_3^{\cdot}$ )	Nitril klorit ( $ClNO_2$ )
	Nitrosil anyonu ( $NO^{\cdot-}$ )
	Peroksinitrit ( $OONO^{\cdot}$ )
	Nitronyum katyonu ( $NO^{2+}$ )
	Dinitrojen trioksit ( $N_2O_3$ )
	Dinitrojen tetraoksit ( $N_2O_4$ )
	Alkil peroksinitritler ( $ROONO$ )
	Alkil peroksinitratlar ( $RO_2NO_2$ )
	Peroksiasetil nitrat ( $CH_3C(O)O_2NO_2$ )
	Peroksinitrik asid ( $ONOOH$ )

Tablo 2.3. En çok karşılaşılan serbest radikallerin, bazı reaktif oksijen türleriyle birlikte bu radikallerin ihtiva ettiği bazı temel özellikler (Dündar, 1999)

Adı	Simgesi	Özelliği
Hidrojen radikali	H·	Bilinmekte olan en basit radikaldir.
Süperoksit radikali	O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Oksijen metabolizmasındaki birinci ara üründür.
Hidroksil radikali	HO·	Toksik özelliği en fazla olan oksijen metaboliti radikalidir. Organizmadaki tüm moleküllere saldırır.
Hidrojen peroksit	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Reaktivitesi ve organizmadaki moleküllere karşı hasar verme oranı azdır.
Singlet oksijen	<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	Yarılanma ömrü kısa olmasının yanı sıra oksijenin oksidatif formunun en yüksek olduğu formdur.
Perhidroksil radikali	HO <sub>2</sub> ·	Lipitlerde hızlı çözünür ve böylece lipit peroksidasyonunun artmasına neden olur.
Peroksil radikali	ROO·	Perhidroksile göre etkisi zayıf ve lipitlere lokalize olma özelliği yüksektir.
Triklorometil radikali	CCl <sub>3</sub> ·	Karbon tetra klorür metabolizması ürünüdür ve karaciğerde sentezlenmektedir.
Tiyil radikali	RS·	Eşlenmemiş elektronları bulunan sülfürlü türlerin genel adıdır.
Alkoksil radikali	RO·	Organik peroksitlerin parçalanmasıyla meydana gelen oksijen türevli metabolitdir.
Azot monoksit	NO	Vücutta L-arjininden sentezlenir.
Azot dioksit	NO <sub>2</sub>	Nitrik oksit'in oksijenle meydana gelen tepkimesi sonucu sentezlenir.

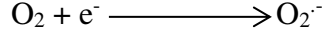
Tablo 2.4. Reaktif oksijen türlerinin tahmini yarı ömürleri (Tekkes, 2006)

Reaktif oksijen türleri		Yarı ömürleri (saniye)
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Süperoksit anyon radikali	Enzimatik
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen peroksit	Enzimatik
HO·	Hidroksil radikali	10 <sup>-9</sup>
<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	Singlet oksijen	10 <sup>-6</sup>
RO·	Alkoksil radikali	7
ROO·	Peroksil radikali	Günler
Q·	Semikinon radikali	1-10 (5,6) kalpte 0,1 s.
NO·	Nitrik oksit radikali	0,05-1

## 2.2.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROS)

### 2.2.1.1. Süperoksit Radikali ( $O_2^{\cdot-}$ )

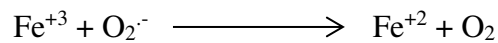
Süperoksit radikali moleküler oksijene bir elektron katılmasıyla (indirgenme) meydana gelir. Bunun yanı sıra bu radikal en rahat, en çok ve genellikle ilk oluşan radikaldir.



Süperoksit radikali genel olarak bakıldığında temelde 4 yolla meydana gelmektedir.

1. Biyomoleküllerden indirgeyici özellik gösterenler oksijen molekülüne bir elektronunu vererek oksitlenir ve süperoksit radikalının oluşumunu sağlar. Bu biyomoleküllere örnek olarak flavinler, ferrodoksinler, hidrokarbonlar, tiyoller ve indirgenmiş nükleotidler verilebilir.
2. Enzimlerin katalitik döngüleri esnasında süperoksit radikali oluşmaktadır.
3. Hücresel solunumun gerçekleştiği mitokondride oksijen kullanımı sırasında elektron taşıyıcı enzimler tarafından oksijene elektron sızıntısı gerçekleşir ve süperoksit radikali oluşumu meydana gelir. Bu nedenle mitokondri enerji üretiminde kullandığı oksijenin %1-5 kadarını süperoksit yapımına harcamış olur.
4. Bakteriyel enfeksiyonları önlemek için fagositik hücrelerin aktifleşip savunma mekanizmaları başlatmasıyla süperoksit radikali oluşur. Süperoksit radikali bakterileri öldürmek için gerekli olmasına karşın başka radikal türlerin de oluşumuna neden olmaktadır (Hasani, 1999).

Süperoksit radikali, organik çözücülerde örneğin, hücre zarının hidrofobik ortamında ömrü daha uzun ve çözünürlüğü oldukça yüksektir. Ayrıca bazı amino asitlerin, indirgenmiş nükleotidlerin ve antioksidan bileşiklerin (E vitamini, C vitamini gibi) oksitlenmesine neden olmaktadır (Kılınç, 2002). Bu radikal, ortamın sıvı olduğu durumlarda genellikle indirgen olarak davranmaktadır. Buna örnek olarak demir iyonunun indirgenmesi verilebilir (Aksu, 2006).



Süperoksit radikalının organizmada katıldığı bazı reaksiyonlar vardır. Bunlar (Halliwell ve Gutteridge, 1986; Winterbourn ve Kettle, 2003);

- Süperoksit dismutaz enzimi ile dismutasyon reaksiyonuyla birbiri ile etkileşen iki süperoksit radikalinden birinin indirgenip diğerinin yükseltgenmesiyle  $H_2O_2$  ve  $O_2$  oluşmaktadır.
- Perhidroksi radikali ( $HO_2\cdot$ ) oluşumuna neden olabilir. Bunu ortamdan bir proton alarak sağlamaktadır. Oluşumuna neden olduğu bu perhidroksi radikali, süperoksit radikalinden de reaktif olup hücre zarındaki yağ asitlerinin peroksidasyonunun başlamasına neden olmaktadır.
- Haber-Weiss reaksiyonu adı verilen reaksiyonda  $Fe^{2+}$  katalizörü eşliğinde  $O_2\cdot^-$  ile  $H_2O_2$ , hidroksil radikalinin oluşumuna neden olabilmektedir.
- Süperoksit radikali ile başka bir oksijen türevli nitrik oksit radikalinin ( $NO\cdot$ ) reaksiyona girmesi sonucu, reaktivitesi fazla olan ve toksik bir ürün olan peroksinitritin ( $ONOO\cdot$ ) oluşumuna neden olmaktadır.
- Fenollerin ( $\alpha$ -tokoferol, tirozin vb.) oksidasyonu ile oluşan fenoksil radikalleriyle süperoksit radikali reaksiyona girerek protein yapısında hasara neden olmaktadır.

#### 2.2.1.2. Hidroksi Radikali ( $HO\cdot$ )

Reaktivliği en yüksek olan oksijen radikali olarak bilinmektedir. Hasar oranı oldukça yüksek olup hücre içerisindeki bütün moleküllerle reaksiyon verebilir ve serbest radikal zincir tepkimlerinin başlamasına neden olabilmektedir. Hidroksi radikalinin oluştuğu iki tip reaksiyon vardır. Birinci reaksiyon, Fenton reaksiyonu ile  $H_2O_2$  radikalinde yer alan oksijen bağlarının (O-O) ısı veya iyonize edici ışıkla (radyasyon) homolitik olarak parçalanmasıyla hidroksi radikalinin meydana gelmesidir (Yu, 1994).

İkinci reaksiyonda ise,  $O_2\cdot^-$  radikali ile  $H_2O_2$  radikali, demir iyonu katalizörlüğünde, Haber-Weiss tepkimesiyle reaksiyona girer ve hidroksil radikali meydana gelmiş olur (Döğür, 2010).

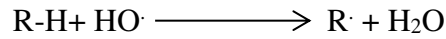
Bunların yanı sıra suyun iyonize radyasyona uğraması sonucunda da hidroksi radikali meydana gelmektedir. Bu şekilde meydana gelen hidroksi radikalinin hasar verme oranı az olmaktadır. Nitrik oksit radikallerinin meydana getirdiği tepkimeyle geçiş metali iyonlarından bağımsız bir şekilde de hidroksi radikali üretilmektedir (Schöneich, 1999). Hidroksi radikali doymamış yağ asitlerinden hidrojen atomu kopararak yağ asitlerini peroksidasyona uğratması sonucu lipid radikalleri oluşturmaktadır (Çelik, 2001).

Hidroksi radikalinin katıldığı üç çeşit tepkime olduğu söylenebilir (Gökhan, 2007; Halliwell ve Gutteridge, 1986; Reiter, 1996);

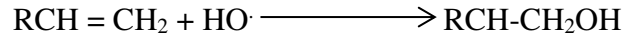
- Elektron transferi; organik ve organik olmayan bileşiklerin elektron transferi tepkimelerinin gerçekleşmesine meydan oluşturur.



- Hidrojen ayrılması; alkollerle tepkimeye girmesiyle hidrojen çıkararak tepkime ürünü olarak bir karbon radikali ve su açığa çıkmasına neden olur.



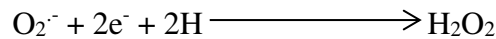
- Eklenme; aromatik bileşiklerde yer alan çift bağlara eklenerek zincirin kırılmasına neden olur. Örnek olarak DNA'da yer alan guanin bazına hidroksi radikalinin eklenmesiyle bazın hidroksilasyona uğramasına sebep olması ya da aşağıdaki tepkime verilebilir.



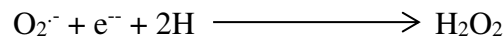
### 2.2.1.3. Hidrojen Peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Eşlenmemiş elektron içermemesi nedeniyle radikal olmamasının yanı sıra oksijen kaynaklı doku hasarlarında rol oynaması sebebiyle reaktif oksijen türleri arasında yer almaktadır (Aksu, 2006). Hidrojen peroksit radikali, yükseltgen ve indirgen özelliği çok az olması nedeniyle reaktif özelliği çok zayıftır ve ortamdaki konsantrasyonunun çok olduğu durumların dışında tek başına organizma için toksisitesi olmayan zayıf oksidan özellikte kabul edilen bir radikal türüdür. Hidrojen peroksit radikali, metal iyonlarının olmadığı durumlarda, organizmanın doğal sıcaklık ve pH değerinde durağan olmaktadır (Aksu, 2006; Lee vd, 2003). Hidrojen peroksit radikalının meydana gelmesini sağlayan iki tür tepkime vardır.

1. Hidrojen peroksit, oksijen molekülünün iki elektron kabul edip indirgenmesiyle oluşumu



2. Süperoksit radikalının bir elektron transferiyle indirgenmesi sonucu hidrojen peroksit radikalının meydana gelmesi



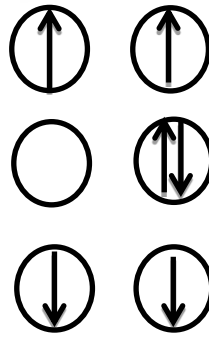
Bunun yanı sıra biyolojik sistemlerde süperoksit ile süperoksit dismutaz (SOD) enziminin dismutasyona uğraması sonucu hidrojen peroksit meydana gelmekte ve asıl üretim yeri olduğu kabul edilmektedir (Döğer, 2010).

Hidrojen peroksit, ferrik ve periferik demir oluşumuna neden olmaktadır. Bu oluşum hidrojen peroksit radikalının proteinlerde yer alan hem grubundaki demir ile reaksiyon vermesi sonucu meydana gelmektedir. Bu formda bulunan demirin reaktivitesi yüksek ve oksitleyici gücü fazladır. Bu nedenle membranda lipit peroksidasyonunun başlamasına neden olur. Bunun sonucunda hidrojen peroksit radikalının ortamdaki uzaklaştırılması için antioksidan enzimler (glutatyon, peroksidaz, katalaz gibi) devreye girmektedir (Kılınç, 2002).

#### 2.2.1.4. Singlet Oksijen ( $^1O_2$ )

Eşleşmemiş elektronun bulunmaması sebebiyle radikal olmamasının yanı sıra reaktivitesinin yüksek olması ve üretimi esnasında radikalik reaksiyonların oluşmasına neden olmasından dolayı serbest radikaller arasında yer almaktadır (Halliwell, 2006; Mavi vd, 2005).

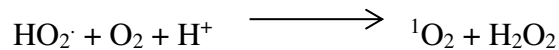
Singlet oksijen, oksijenin enerji alan elektronlarından birinin spininin değişmesiyle meydana gelir ve iki formu bulunmaktadır (Şekil 2.3) (Lledias vd, 1998).



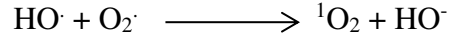
Şekil 2.3. Singlet oksijen formu

Singlet oksijeni oluşturan tepkimeler vardır. Bunlar (Gökhan, 2007; Reiter, 1996; Tamer vd, 2012);

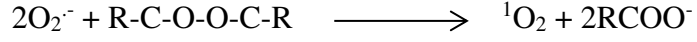
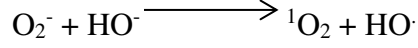
- Süperoksit radikalının enzimatik olmayan dismutasyonu



- Süperoksit ile hidroksil radikalleri arasındaki reaksiyonuyla



- Haber-Weiss tepkimesi
- Diaçilperoksitlerle süperoksit radikalinin tepkimeye girmesi



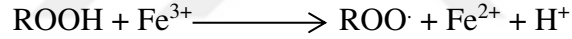
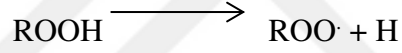
- Fagositoz esnasında myeloperoksidazın hidrojen perokside etki etmesidir.

Organizmada singlet oksijen radikali mikroplara, virüslere ve kansere karşı iyileştirici etkiye ve uyarıcı özelliğe sahiptir (Stief, 2003).

### 2.2.1.5. Peroksil ve Alkoksil Radikali

Peroksil radikallerinin ( $\text{ROO}\cdot$ ) meydana gelmesi oksijen molekülünün alkil radikalleriyle ( $\text{R}\cdot$ ) tepkimeye girmesi sonucunda gerçekleşir. Buna örnek olarak lipid radikallerinin oksijenle tepkimeye girmesi verilebilir.

Alkil peroksidlerin ( $\text{ROOH}$ ) dekombinasyona uğramasıyla da peroksil ( $\text{ROO}\cdot$ ) ile alkoksil ( $\text{RO}\cdot$ ) radikalleri meydana gelebilir. (Döğer, 2010).



### 2.2.1.6. Ozon ( $\text{O}_3$ )

Ozon çevre kirliliğine neden olmaktadır. Hidrokarbonlar ile azot oksitler arasında fitokimyasal tepkime gerçekleşir ve bu tepkimeyle ozon meydana gelmektedir. Serbest radikal olmamasına rağmen singlet oksijen olarak radikal üretebildiği için reaktif oksijen türleri arasında yer almaktadır. Ayrıca ozon çifte bağ ekleyerek serbest radikal oluşumunu da bozabilir. Ozonun bu lipid peroksidasyonunu stimüle ettiği ve hasarı indükleyici kimyası net olarak bilinmemektedir (Döğer, 2010).

### 2.2.2. Reaktif Azot Türleri

Nitrik oksitle oksijen ve süperoksitin reaksiyona girmesiyle oluşan radikal türleri reaktif azot türleri olarak adlandırılır (Saleem ve Ohshima, 2004). Fazla miktarda reaktif azot türlerinin üretimi sonucu nitrosatif stres meydana gelir.

Protein hasarına neden olan nitrolizasyon reaksiyonlarının oluşumuna zemin hazırlar (Ridnour vd, 2004; Valko vd, 2007).

### 2.2.2.1. Nitrik Oksit (NO·) ve Nitrik Dioksit (NO<sub>2</sub>·)

Eşlenmemiş elektronu nedeniyle nitrik oksit, serbest radikal olup reaktif oksijen türleri arasında yer almaktadır. Muskarinik ya da histidin gibi reseptörlerin aktive olmasıyla L-arjinin ve oksijenden, nitrik oksit sentetaz etkisiyle sentezlenmektedir (Fang vd, 2002; Liew F. vd., 1998). Nitrik oksit radikalinin tek başına reaktivitesi yüksek değildir. Ancak fazla miktarda üretimiyle iskemi-reperfüzyon, romatid anhidrit nörodejeneratif ve bazı iltihap içeren kronik hastalıkların (iltihaplı bağırsak hastalığı) meydana gelmesinde yer almaktadır.

Ayrıca nitrik oksit radikali, askorbik asit ile ürik asit derişimini düşürerek lipit peroksidasyonun başlamasına zemin hazırlayabilir (Beneš vd, 1999). Savunma molekülü olarak görev aldığı durumlar da (sitotoksik ve antimikrobiyal aktiviteler gibi) vardır.

Bunun yanı sıra fizyolojik fonksiyonlarda önem arz eden bir oksidatif biyolojik sinyal molekülü olarak da çalışmaktadır. Bunlara örnek (Beneš vd, 1999; Ridnour vd, 2004);

- Kan basıncının düzenlenmesi
- Düz kas gevşemesi
- Savunma mekanizması
- İmmun savunma verilebilir.

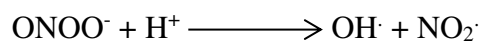
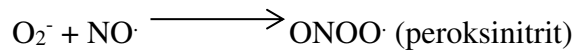
Nitrik dioksinin oluşum nedenleri olarak ise;

- Hava kirliliği
- Sigara içmek
- Peroksil radikaliyle nitrik oksit arasında gerçekleşen reaksiyon olarak söylenebilmektedir (Noguchi ve Niki, 2019).

### 2.2.2.2. Peroksinitrit (ONOO·)

Süperoksit dismutaz enzimiyle nitrikoksit yarışır ve bunun sonucunda süperoksit radikaliyle birleşmesi sonucu peroksinitrit oluşur. Peroksinitrit radikali birçok biyolojik molekül üzerinde hasar meydana getirir.

Proteinlere doğrudan etki ederek proteinlerde bulunan tirozini nitratlaştırmasıyla az miktardaki lipoproteinleri (LDL) oksitler. Bunun sonucunda birçok hastalığın oluşumuna neden olur (Çelik, 2001).



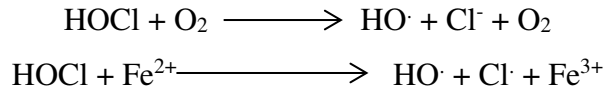
Normal şartlarda nitrik oksitin son ürünü olarak nitrit ve nitrat oluşturur. Plazmada nitritin geneli nitrata dönüşmektedir ( Liew F. vd., 1998).

### 2.2.3. Reaktif Klorür Türleri

#### 2.2.3.1. Hipoklorik Asit (HOCl)

Oksidan özelliği yüksek olan hipoklorik asit, organizmada nötrofil ve makrofajlar tarafından enzimatik yollarla üretilmektedir.

Demire bağımlı ile demire bağımlı olmayan tepkimelerle hipoklorik asit, hidroksil radikali üretiminin artmasına neden olmaktadır (Gutteridge, 1995).



### 2.3. Serbest Radikallerin Yararlı Etkileri

Organizmadaki yoğunlukların az olması durumlarında reaktif oksijen türleri ve reaktif azot türlerinin yararlarından söz edilebilmektedir. Birçok durumda normal fizyolojik işleyişte serbest radikal üretimi söz konusudur. Hatta bazı hücreler gösterdikleri etkilerle reaktif oksijen ve reaktif nitrojen türleri salınım sistemini uyarırlar. Serbest radikallerin yararlı etkileri;

- Fagositoz tarafından enfeksiyon savunma sistemi
- Kanser hücrelerini sitotoksik lenfosit ve makrofajla yok etme
- Sitokrom P-450 tarafından ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu
- Mitokondri organelinde gerçekleşen ATP'nin üretimi
- Hücrelerin büyümesi
- Düşük konsantrasyon mitojenik yanıtlara sebep olmasıdır.

Ayrıca serbest radikallerin bazı önemli hücre sinyallerinin oluşumunda da büyük rolleri vardır. Bunlar;

- Nükleer transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu
- Trozin amino asitlerinin fosfatlanma aktivasyonu
- Bazı sitokinlerin aktivasyonu
- İntrasellüler depolardan kalsiyumun salınımı
- Nonreseptör trozin kinaz aktivasyonu ve
- Büyüme faktörü olarak söylenebilmektedir.

Reaktif oksijen türleri prostaglandin ile tiroksin gibi bazı moleküllerin sentez işlemine dahil olup bu sentezin gelişimini uyarmaktadır. Hücrede ROS'un

çözünmesiyle guanilat siklaz aktivitesinin düzenlenmesi ve gen transkripsiyonu gibi yaşamsal faaliyetlerde de kullanılmaktadır. Nitrik oksit radikalının organizmadaki yararlı etkileri incelendiğinde;

- Endotel hücrelerce kullanıldığında lökosit adezyonu, anjiogenesis, platelet agregasyonu ve damar düz kaslarının kan basıncının düzenlenmesinde gerekli olduğu
- Nöronlarca sentezlenen nitrik oksit ise önemli bir transmitter madde olup nöral plastisite bakımından çok önemli bir rol üstlendiği
- Makrofajlarca sentezlenen nitrik oksit ise immun cevapta önemi yüksek bir arabolucu olduğu görülmüştür.

Ayrıca süperoksit ve hidrojen peroksit radikalleri de sekonder haberciler gibi hareket edebilmektedir. Tüm bu serbest radikallerin organizmada aşırı sentezlenmesiyle vücutta birikimi artar ve zararlı etkileri meydana çıkabilmektedir (Devasagayam vd, 2004; Droge, 2002; Fang vd, 2002; Lander, 1997; Schreck ve Baeuerle, 1991; Valko vd, 2007).

#### **2.4. Serbest Radikallerin Zararlı Etkileri**

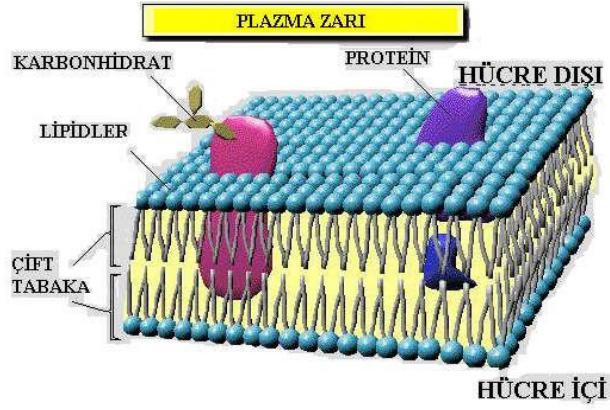
Serbest radikaller yalnız bir hücrede hasara sebep olmasının yanı sıra organizmadaki bütün fizyolojik sistemin tamamında da etki gösterebilir. Hücrelerdeki önemi büyük olan bileşiklerde (DNA, lipit, karbonhidrat, protein vb.) yıkıma neden olmaktadır (Tablo 2.5). Hücre membranında lipid peroksidasyonunun başlamasına ve böylece membranın geçirgenliğinin artmasına neden olur. Nükleer ve mitokondriyal DNA okside olur. Serbest radikaller; birçok organı besleyen damarların daralmasına ve bunun sonucunda tamamen tıkanmasıyla hasara sebep olmaktadır (Sayılan, 2008; Yanbeyi, 1999).

Tablo 2.5. Serbest radikallerin hücrelerde meydana getirdikleri başlıca hasarlar (Akpoyraz ve Durak, 1995; Yanbeyi, 1999)

<b>Etki ettiği bileşikler</b>	<b>Sonucunda oluşan tepkimeler</b>
Doymamış yağlar	Kolesterol ve yağ asitlerinde oksidasyon meydana gelmesi Lipitlerdeki çapraz bağlanmalar Organel ile hücrelerdeki çapraz bağlanmalar
Proteinler	Peptit zincirlerinde meydana gelen kopma Denatürasyon
Doymamış amino asitler ve kükürtlü amino asitler	Çaprazlanma Enzimlerin inhibisyonu Organ ile hücrelerin permeabilitesindeki değişimler
Karbonhidratlar	Polisakkaritlerin depolimerizasyonu Hücre yüzey reseptörlerindeki değişimler
Nükleik asit bazları	Hücre gelişimindeki değişimler Hidroksilasyonlar Mutasyonlar Kimyasal modifikasyonlar
Nükleik asitler	Şekerlerde benzer reaksiyonlar Tek ve çift iplikçik kırılmaları Proteinlerde çapraz bağlar Baz içermeyen bölgeler
DNA	Bazlarda meydana gelen modifikasyonlar DNA zincirinde oluşan kırılmalar
Kofaktörler	Nikotinamid ile flavin ihtiva eden kofaktörlerin aktifliğinde meydana gelen azalma
Antioksidanlar	Askorbat ile porfirindeki oksidasyon E vitamini ve $\beta$ -karoten gibi antioksidanlardaki aktiflik düzeyinin düşmesi
Hyaluronik asit	Synovial sıvının vizkozitesinde meydana gelen değişiklikler

#### 2.4.1. Hücre Zarı ve Membran Lipitleri Üzerindeki Etkileri

Biyolojik zarlarının tümü, çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA), amfipatik lipitler zar proteinlerinin birleşiminden meydana gelmektedir (Şekil 2.4). Membranın serbest radikallerce hasara uğraması noktasında önemli olan kısım, membranda yer alan lipitlerin, yağ asitlerinin oksidasyonu olarak kısaca özetlenen lipid peroksidasyonuna (LPO) uğramasıdır. Yarı bağlı doymamış çoklu yağ asitleri radikal hasarına karşı çok hassastır. Lipit peroksidasyonunda başlangıçta çoklu doymamış yağ asitleri radikallerle oksidasyona uğrar ve oto katalitik zincir tepkimeleri şeklinde devam eder. Lipit peroksidasyonunun aldehit türevleri, hidrokarbon radikalleri ve uçucu bazı ürünlere çevrilmesiyle son bulur (Dikici, 1999; Yanbeyi, 1999).



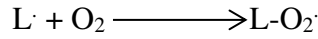
Şekil 2.4. Hücre zarı ve yapısı (Koolman ve Röhm, 2005)

Doymuş yağ asitlerine göre çoklu doymamış yağ asitleri otooksidasyona daha fazla yatkındır. Bunun nedeni PUFA'larda hidrojen kopmasıyla meydana gelen radikalın çift bağın konjügasyonu ile kararlı hale getirilmesinin ve bu şekilde hidrojenin daha rahat koparılmasıdır (Halliwell ve Gutteridge, 1989; Uğuzlar, 2009).

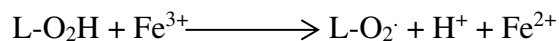
Hücre membranında yer alan poliansatüre yağ asitleri özellikle hidroksi radikalince saldırıya uğrar. Bunun sonucunda yağ asitinin yan zincirinde (L-H) bir hidrojen atomu uzaklaşır ve lipid peroksidasyonu başlamış olur (Aksu, 2006).



Meydana gelen bu lipid radikali (L·) dayanıklı olmayan bir bileşik olup bir dizi değişikliğe uğrar ve oksijenle reaksiyona girer. Lipid peroksit radikali (L-O<sub>2</sub>·) oluşur.



Lipid peroksit radikalının reaktifliği yüksektir ve zar yapısında bulunan diğer poliansatüre yağ asitlerini etkiler. Böylece yeni lipid radikallerinin meydana gelmesine neden olurken kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alır ve lipid peroksitlerine (LOOH) dönüşürler. Bu şekilde reaksiyon kendi kendini katalizleyerek sürer. Ortaya çıkan lipid peroksit ve ürünleri oldukça karardır. Fakat ortamda demir (Fe) ya da bakır (Cu) gibi metal iyonları yoksa bu durum geçerlidir. Eğer bu metal iyonları ve bunların kompleksleri ortamda yer alıyorsa lipid peroksitleri parçalar ve lipid peroksidasyonu oluşturmaktadırlar. Böylece metal iyonları varlığında lipid peroksidasyonu artmış olmaktadır (Özenç, 2011).



LOOH'ların yıkımıyla birçok biyolojik bakımdan aktif aldehitler meydana gelmektedir. Bu bileşikler ya hücre yüzeyinde metabolize edilmektedir ya da en baştaki etki alanlarında difüze olmaktadır.

Böylece hücrenin başka kısımları da hasarın yayılmasına neden olmaktadır (Özenç, 2011). Lipit peroksidlerinin malondialdehit (MDA) miktarı lipit peroksidasyon ölçümünde önemli bir parametre olarak kullanılmaktadır (Urso ve Clarkson, 2003). Lipit peroksidasyonunun membran yapısında meydana getirdiği hasarlar (Van der Vliet ve Bast, 1992);

- Hücre membranında işlevini yerine getirebilmesi zarın akışkanlık özelliğine bağlıdır. Akışkanlık özelliğiye çoklu doymamış yağ asitleriyle sağlanmaktadır. Serbest radikallerce hasara uğratılan çoklu doymamış yağ asitleri nedeniyle zar akışkanlığı değişir. Böylece iyon pompalarının ve reseptörlerinin bağlanması etkilenebilmektedir.
- Hücre membranının ihtiva ettiği lipitler hidrolize uğradığında fosfolipaz A<sub>2</sub> uyarılabilmektedir ve bunun sonucunda reseptör fonksiyonları etkilenebilmektedir.
- Membran geçirgenliğinin artmasıyla kalsiyum homeostazisi değişebilmektedir. Böylece ATPazların kalsiyumu tutma özelliği azalmaktadır.

Son olarak, hücre zarının bütünlüğü bozulmakta ve hücre ölümünün de gerçekleşmesiyle dokunun patolojik ölümü de gerçekleşmiş olmaktadır (Aksu, 2006).

#### **2.4.2. Proteinler Üzerindeki Etkileri**

Proteinlerin serbest radikallere karşı hassasiyeti çoklu doymamış yağ asitlerine göre daha azdır. Amino asit kompozisyonu proteinlerin serbest oksijen radikalleri (SOR)'den etkilenme düzeyinin belirlenmesindeki bir parametredir. Serbest radikallerden etkilenme düzeyi yüksek olanların arasında doymamış bağ ile kükürt içeren tirozin, histidin, sistein, triptofan, fenilalanin, metiyonin gibi amino asitleri ihtiva eden proteinler yer almaktadır (Tablo 2.6). Bu proteinlerin etkilenmesi sonucunda sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller meydana gelmektedir.

SOR'un etkileri sonucunda, yapısında çok miktarda disülfid bağı ihtiva eden immünoglobulin G (IgG) ve albümin gibi proteinlerin tersiyer yapılarının bozulmasıyla bu proteinler normal işleyişlerini gerçekleştiremezler. Prolin ve lizin gibi amino asitler, reaktif oksijen sentezleyen nonenzimatik hidroksilasyona maruz kalabilmektedirler. Hemoglobin gibi hem proteinleri ise serbest radikallerden yüksek derecede zarara uğrarlar.

Özellikle oksihemoglobinin, süperoksit radikali ( $O_2^-$ ) ya da hidrojen peroksit ile tepkimesi methemoglobinin meydana gelmesine sebebiyet vermektedir.

Yapılan araştırmalarda proteinlerin reaktif oksijen radikalleri (ROS) ya da oksidatif stres ürünleriyle kovalent modifikasyonu sonucunda oluşan protein oksidasyonuna sebep olan asıl mekanizmaların polipeptit omurgasında yer alan çeşitli amino asitlerin  $\alpha$ -karbon atomlarından hidroksil radikalının etkisiyle hidrojen atomu çıkarılmasıyla başladığı belirlenmiştir. Yani protein oksidasyonu asıl olarak OH<sup>-</sup> radikali ile başlamasının yanı sıra oksidasyon esnasında da  $O_2$  ile  $O_2^-$  ve süperoksit radikalının protonlanmış şekli olan  $HO_2^-$ 'nin de ortamda bulunması gerekmektedir. Bu ROS'lar amino asitlerin yan zincirlerinde oksidasyonuna, protein-protein çapraz bağların meydana gelmesine ve protein omurgasının oksidasyona uğramasına neden olmaktadır. Bunun sonucunda protein parçalanır (Berlett ve Stadtman, 1997; Kayalı ve Çakatay, 2004; Shacter, 2000).

Tablo 2.6. Oksidasyona uğramaya meyilli amino asitler ve oksidasyon ürünleri (Shacter, 2000)

Amino asit	Oksidasyon ürünleri
Sistein	Disülfid ve sisteik asit
Histidin	Aspartat, asparagin ve oxo-histidin
Arginin	$\gamma$ -glutamilsesialdehit
Tirozin	Tirozin-tirozin çapraz bağları (ditrozin)
Prolin	Hidroksiprolin, glutamat, $\gamma$ -glutamilsesialdehit
Treonin	Amino-ketabutirat
Lizin	Amino-adipiksialdehit

Proteinlerin yapısında meydana gelen değişimler üç kısımda incelenebilir.

Bunlar;

- I. Amino asitlerde oluşan modifikasyon
- II. Proteinlerdeki fragmentasyon
- III. Proteinlerdeki agregasyon ve çapraz bağlanma

Protein yapısındaki meydana gelen hasarın belirlenmesinde, protein karbonillerin parametre olarak kullanılmasının yanı sıra proteindeki oksidasyon sonucu meydana gelen oksidasyon ürünleri ve spektrofotometrik yöntem kullanımı doku ve plazma örnekleriyle de belirlenebilmektedir (Dean vd, 1997; Gutteridge ve Halliwell, 1990).

### 2.4.3. DNA Üzerindeki Etkileri

İyonize edici radyasyonlar (görünür ışık, UV, X-ışınları vb.) ve ısı gibi etkiler serbest radikalleri, iyonları ve enerji kazanmış molekülleri meydana getirmektedir.

ROS ve reaktif azot türleri (RNS), kanser oluşumuna neden olmakta ve bu etkisini ise DNA molekülünü direkt yolla, sinyal iletimini, hücre proliferasyonunu, hücre ölümünü ve hücre içi iletişimi etkileyerek yapmaktadır. Reaktif oksijen türleri pürin ve pirimidin bazlarına modifikasyona yol açtığı gibi, bu modifikasyonlar da mutasyon ile son bulabilir (Ashok ve Ali, 1999). DNA molekülünün tüm bazlarının modifikasyonuna  $\cdot\text{OH}$  radikali neden olurken,  $^1\text{O}_2$  radikali ise 8-hidroksilasyon yolunu kullanarak guanin bazının modifikasyona uğramasına yol açmaktadır (Aksu, 2006). Hidroksil radikali, DNA'nın ihtiva ettiği heterosiklik bazlarla ve deoksiriboz-fosfatlarla tepkimeye uğrayarak hücrede mutasyonun oluşmasına neden olmaktadır. Tepkime bitiminde, DNA molekülündeki tüm bazlar modifikasyona uğrar ve bunun sonucunda riboz-fosfat zinciri kırılır.

Yapılan araştırmalarda in vitro ortamda sulu çözeltilerde denendiğinde hidroksil radikalının, deoksiriboz ve tetrasiklik bazlarla çok rahat bir şekilde tepkimeye girdiği görülmüştür. Ama çift zincirli DNA molekülünde, heterosiklik bazlar hidroksil radikallerine karşı sterik olarak çok yüksek düzeyde korunmuşlardır. Bunun yanı sıra enzimatik radikal yakalayıcılar, önce gelen hidroksil radikallerinin konsantrasyonunu azaltarak DNA molekülünü korumaktadırlar (Akpoyraz ve Durak, 1995).

Aktifleşmiş nötrofil kaynaklı hidrojen peroksit radikali, hücre zarından rahatlıkla geçerek çekirdeğe ulaşarak karsinogenez, mutajenez ve hücre ölümüne neden olabilmektedir. Bu nedenle serbest oksijen radikalleri için DNA molekülü çok rahat hasara uğratılabilen bir hedeftir (Özkan ve Fışkın, 2004; Rikans ve Hornbrook, 1997).

ROS türlerinin çok sayıda sentezi, hücre yıkımına neden olabilmektedir. Bu türlerden hidrojen peroksit, hızlı bir şekilde çevre hücrelere geçmekte ve hem glikolitik hem de oksidatif fosforilasyon yollarını etkilemektedir (Schraufstatter vd, 1986). Aynı zamanda ATP üretiminin inhibisyonuna sebep olmaktadır. Reaktif oksijen metabolitleri hücre zarında lipit peroksidasyonunun başlamasına neden olmaktadır. Bu lipit peroksidasyonun sentezlediği ürünler de DNA hasarına sebebiyet vermektedir (Ochi ve Cerutti, 1987).

#### **2.4.4. Karbonhidratların Üzerindeki Etkileri**

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerinde hasarı yüksektir. Karbonhidratlarla tepkimeye giren hidroksil radikali gibi serbest radikaller, karbonhidratlardan karbon

atomlarının birinden hidrojen atomunu çıkarır ve böylece karbon merkezli radikal üretimine neden olmaktadır. Bunlar da hyaluronik asit gibi önemi büyük moleküllerde zincir kırılmaları meydana getirmektedir (Devasagayam vd, 2004).

Hidroksil radikali glukoza etki ederek peroksit radikali meydana getirmektedir. Glukoz, aldehit grubu ihtiva etmesi sebebiyle toksik etkiye sahip olmaktadır. Reaktivitesi yüksek olan aldehitler proteinlerle birlikte DNA'ya bağlanmaktadır ve enzimatik olmayan glikasyonlara yol açmaktadır. Bu reaksiyon glikoz miktarı artışıyla daha kolay meydana gelmekte ve diyabetli hastalardaki bazı proteinlerde görülebilmektedir (Dean vd, 1997).

Monosakkaritler otooksidasyona uğradığında peroksitle okzoaldehit oluşturmaktadır. Meydana gelen okzoaldehit proteinlere bağlanabilme özelliği nedeniyle antimitotik etki göstermektedir. Bu etki nedeniyle kanser ve yaşlanma ortaya çıkmaktadır (Ceballos-Picot vd, 1992).

## **2.5. Serbest Radikallere Bağlı Hastalıklar**

Vücutta ilerleyen ve istenmeyen etkiler meydana getiren serbest radikaller, tüm insanlarda doğal yaşlanma süreciyle birlikte yaklaşık olarak aynı olan bazı değişikliklere neden olmaktadır. Benzer ilerleyen bu süreç, kalıtsal ve periferik etkenlerin de etkisiyle kişiden kişiye değişiklikler gösterebilmekte ve zaman içinde fark edilebilirliği artmaktadır (Derin vd, 2001). Serbest radikallerin hücre membranında ve membrandaki lipitlerde, nükleotidlerde, DNA molekülünde proteinlerde ve karbonhidratlarda meydana getirdiği hasarlar sonucu organizmada bazı hastalıklar ortaya çıkmaktadır (Tablo 2.7).

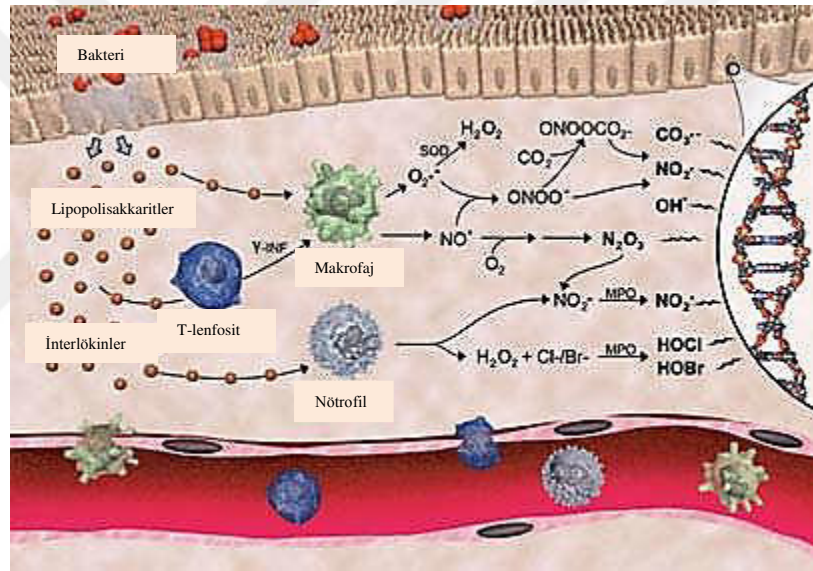
Tablo 2.7. Serbest radikallerin neden olduğu bazı hastalıklar (Uğuzlar, 2009)

<b>Hastalıklar</b>	<b>Sebepleri</b>
<b>Akciğer düzensizlikleri</b>	
Asbestosis	Aktifleşmiş fagositik hücrelerin aşırı $O_2^-$ , $H_2O_2$ sentezi
Yetişkin solunum stresi	Aktifleşmiş fagositik hücrelerin aşırı $O_2^-$ , $H_2O_2$ sentezi
<b>Beyindeki düzensizlikler</b>	
Anoksia	Kandaki oksijen miktarının az olması
Nöral lipofuskinosis	Hücrede meydana gelen yapısal bozulma
Alzheimer	Aktifleşmiş fagositik hücrelerin aşırı $O_2^-$ , $H_2O_2$ ve HClO sentezi
Parkinson	Hücrelerde meydana gelen yapısal bozulma
Down sendromu	Savunma sisteminde oluşan aşırı oranda yüklenme ya da hatalar
Multiple skleroz	Hücrelerde meydana gelen yapısal bozulma
Kronik granümatöz	Antioksidan savunma sisteminde oluşan gen hasarı
Diabetes Mellitus	Anormal substrat oksidasyonu ya da derişimindeki değişimler
<b>Kardiyovasküler sistem patalojisi</b>	
Aterosklerozis (damar sertliği)	Savunma sisteminde oluşan aşırı oranda yüklenme ya da hatalar
<b>İnflamatory (ateşli) düzensizlikler</b>	
Astım	Aktifleşmiş fagositik hücrelerin aşırı $O_2^-$ , $H_2O_2$ sentezi
Romatizmal artrit	Aktifleşmiş fagositik hücrelerin aşırı $O_2^-$ , $H_2O_2$ sentezi
İdiyopatik hemokromatozis	Geçiş metalllerinde oksijene elektron transferi sonucunda meydana gelir
Talesemi	Geçiş metalllerinde oksijene elektron transferi sonucunda meydana gelir
<b>Deri bozuklukları</b>	
Solar radyasyon zehirlenmesi	Yüksek ya da düşük radyasyon enerjisiyle gerçekleşen doku tahribatı
Bloom sendromu	Savunma sisteminde meydana gelen aşırı oranda yüklenme ya da hatalar
<b>Meydana gelen toksit maddeler</b>	
Zenobiyotikler	İlaç ve toksin kullanımı sonucunda
Metal iyonları (Hg, Fe, Cu)	Geçiş metalllerinden oksijen elektron transferi sonucu
Sitositatikler (blomyein)	İlaç ve toksin kullanımı sonucu
Kanser	Mesane, bağırsak, göğüs, kolorektal, karaciğer, akciğer, lösemi, deri ve prostat gibi

### 2.5.1. Damar Tıkanıklığı (Ateroskleroz)

Damar tıkanıklığına düşük yoğunluklu lipoproteinlerin (LDL) peroksidasyonu yol açmaktadır. Kan damarlarında meydana gelen bu daralma sonucu arteriyel kan basıncı düşer ve hastalığın başka belirtileri de ortaya çıkmaya başlamaktadır (Kırşan, 2002).

Aterosklerozun başlangıcı atar damar duvarlarında meydana gelen bozulmadır. Atar damar çeperindeki hücrelerin membranındaki lipitlere serbest radikallerin saldırmasıyla membran bütünlüğünü kaybetmektedir (Şekil 2.5). Makrofajlar hasar gören hücreleri ortadan kaldırmak için ortama gelmekte ve hücreler arasında oluşan boşlukları kapatmaktadır. Bu makrofajlar tahribata uğramış LDL'leri yuttuğundan damar çeperlerinde çizgiler şeklinde yağ birikimleri meydana gelmeye başlamaktadır. Oluşan bu yağ birikimleri arttıkça kalınlaşır, trombositler bu biyolojik atıklara takılmaktadır. Takılan bu trombositler aşırı oranda kümeleşmeye meyillendikçe damarlarda kan akışı engellenir ve pıhtı oluşumu gerçekleşmektedir. Diğer bir serbest radikal mekanizması trombositlerin atar damar duvarları üzerinde oluşturduğu bu kümelenme eğiliminin artmasına yol açmaktadır (Kırşan, 2002; Koolman ve Röhm, 2005).



Şekil 2.5. Ateroskleroz oluşumuna zemin oluşturan atardamar çeperindeki lipit hasarı (Koolman ve Röhm, 2005).

### 2.5.2. Katarakt

Serbest radikale en çok maruz kalan organlardan biri gözdür. Bu organda yüksek konsantrasyonlarda antioksidan enzimler, serbest radikal tutucuları ve süper oksit sentezi inhibitörleri yer almaktadır (Yıldız, 2001).

Gözde yer alan retina tabakası ışığa duyarlı olup üzerine gelen ışığın etkisiyle retinal ve opsine ayrılan rodopsin pigmentini ihtiva etmektedir. Bu esnada meydana gelen uyarı, görme siniri aracılığıyla beyne ulaştırılır ve görme olayı gerçekleşmektedir. Işığa duyarlı olan retinal türü maddeler oksijen ile etkileştiğinde singlet oksijen oluşmaktadır.

Retinal hem ışığın fotoreseptörler ile retinel pigment epitelyum üzerine olan direkt etkileri hem de termal hasar ve bununla birlikte inflamasyondan dolayı, ışığın zarar verici etkilerine maruz kalır. Çünkü retinada  $H_2O_2$  sentezini gerçekleştiren fotosensitize edici ajanlarla serbet radikallerden etkilenme oranı yüksek çoklu doymamış yağ asitlerinde oldukça fazla miktarda yer almaktadır (Welfare, 2002).

### 2.5.3. Diabetes Mellitus

Günümüz yaşam koşullarında diabetes mellitus dünya çapında bir şekilde yayılım gösteren bir hastalıktır (Atlan vd, 2006). Serbest radikaller diyabetin kendisinin meydana gelmesinde etkilidirler. Diyabete sebebin oksidasyon olduğu düşünülmektedir (Kalak vd, 1996).

Diyabette serbest radikal üretiminde hiperglisemi aracılı reaktif oksijen bileşimi sentezi temelde üç mekanizmayla meydana gelmektedir;

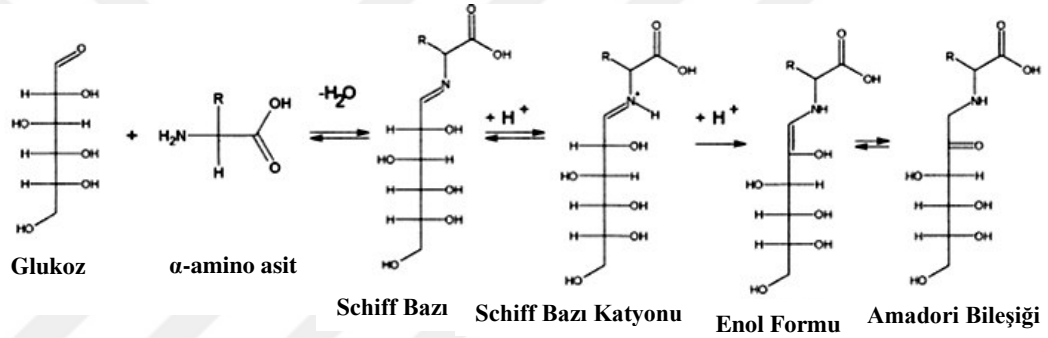
1. Glukozun oto-oksidasyona uğraması ve süperoksit sentezi,
2. Proteinlerin glikasyonu ve ilerlemiş glikasyon son ürünler (AGE) meydana gelmesi,
3. Poliöl yoludur.

**Glukozun oto-oksidasyonu ve süperoksit sentezi :** Solunum zincirinde başlıca hücre içi reaktif oksijen bileşimi (ROB) üretimi kaynağı mitokondri organelidir. Glukoz ortamdaki geçiş elementleri nedeniyle reaktif olan ketoaldehitlere çevrilmektedir ve reaksiyon esnasında süperoksit anyonu sentezlenmektedir. Hidrojen peroksit üzerinden, süperoksit radikali reaktivitesi yüksek hidroksil radikaline çevrilmektedir. ATP üretimi için gerekli enerjinin sağlanmasında hücre içi glukoz oksidasyonu ile ortaya çıkan NADH kullanılır. Bunu solunum zincirindeki oksidatif fosforilasyon yoluyla gerçekleştirmektedir. Süperoksit radikal sentezi, hücre içi glukoz konsantrasyonunun artışıyla da gerçekleşmektedir.

**Proteinlerin glikasyonu ve AGE oluşumu :** Hücre içi glukoz derişimi yükseldiğinde, enzim aracılığına gerek duymadan glukoz proteine bağlanmakta ve kontrolü kaybolan glikasyona yol açmaktadır. Glikasyona uğrayan proteinin, serbest oksijen radikali oluşturmaya eğilimi vardır. Glukoz ile proteinlerin amino grupları arasında nonenzimatik glikasyon tepkimeleri yoluyla öncelikle shiff bazları ve sonrasında stabilitesi daha yüksek olan amadori ürünleri meydana gelmektedir (Şekil 2.6).

AGE'ler, endotelin-1'i aracı olarak kullanarak vazokonstriksiyonu (damar büzülmesi, kasılması) artırmasıyla endotel yıkıma neden olması, kompleks biyokimyasal yollar ile serbest radikal sentezlemesi, proteinlerde yapı ve fonksiyon değişikliği meydana getirmesi toksik etki olarak görülmektedir. Bunun yanı sıra yapılan çalışmalarda serbest radikallerin hücre içi AGE'lerin meydana gelmesinde artışa sebep olduğu görülmüştür (Atlan vd, 2006).

Araştırmalarda AGE ile serbest radikallerin, proteinlerin, protein kinaz C'yi aktive ettiği görülmüştür. Aktif haldeki protein kinaz C'nin, vasküler (damarsal) kan akımını, damar permeabilitesini (geçirgenlik), hücre dışı matriks bileşenlerini ve hücre büyümesini etkileyerek vasküler komplikasyonların patogeneğinde yer aldığı belirtilmektedir (Chappey vd, 1997; Koya ve King, 1998).



Şekil 2.6. Glikasyona uğramış bir proteinden önce schiff bazı sonra ise amadori ürünü oluşumu (Coleman ve Chung, 2002)

**Poliol yolu:** Aşırı oranda glukoz derişimi, poliil yoluyla sorbitol sentezine yol açmaktadır. Aldoz redüktaz enzimi aracılığıyla glukoz sorbitole dönüşmektedir. Sorbitol de sorbitol dehidrogenaz enzimiyle früktoza dönüşmüş olur ve bu enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır. Glukozun sorbitole dönüşümünde NADPH tüketimi gerçekleşmektedir. Aşırı oranda glukoz alındığıdaysa NADPH da aşırı oranda tüketilmiş olur ve aynı zamanda çok miktarda da sorbitol meydana gelmektedir. NADPH'ın yüksek oranda kullanımı ve beraberinde gelen sorbitol birikimi dehidrogenaz enziminin etkinliğinin kaybolmasına sebep olarak früktoza dönüşümü engellenmektedir. Sonuç olarak, sorbitol birikiminde NADPH kullanımında artış gerçekleşmektedir. Okside glutatyonun redükte şekline dönüşümü ve nitrik oksit üretimi için NADPH gerekmektedir. Bu sebeple sorbitol yolunun aktif olması ve sonuç olarak NADPH'ın yokluğu hücrenin antioksidan kapasitesini sınırlandırması demektir. Bunun yanı sıra sorbitol de bir doku toksini gibi davranır.

Bu sebeple bazı hastalıkların (nöropati, nefropati, retinopati, katarakt ve kalp hastalığı) patogeneğinde etkinliğe sahip olduğu fikrine varılmıştır (Atlan vd, 2006).

#### **2.5.4. Şizofreni**

İlk kez 1954 yılında serbest radikallerin şizofreni patolojisinde etkisi olduğu iddiası ortaya atılmıştır (Reddy ve Yao, 1996). Bu iddianın temeli nörotoksik serbest radikallerin, katekolamin metabolizması esnasında sentezlenmesi ve nörodejeneratif değişiklikler ortaya çıkarmasıdır. Şizofreni hastalarının beyinlerinde dopamin dengesinde değişiklikler olduğudur. Bu kuram yalnızca akut şizofrenik belirtileri açıklamakla kalmaz, dopamin metabolizmasının nörotoksik son ürünleri dikkate alındığında bu hastaların beyinlerinde meydana gelen nöropatolojik değişikliklerin varlığını da açıklar (Henn ve DeLisi, 1987).

Beyin dokusu, birçok nedenlerle (yüksek oksijenin kullanımı, hızla peroksitelebilen fosfolipitlerin çok miktarda bulunması ve nöronların yenilenememesi gibi) serbest radikal hasarına oldukça duyarlıdır. Bunun yanı sıra katekolamin metabolizması vücutta serbest radikal sentezleyen kaynaklardır. Artan katekolamin metabolizmasıyla beraber olan durumlarda serbest radikal tahribatının çok olduğu bilinmektedir. Bu olay, şizofreni nedenleriyle ilgili en önemli kuramlardan olan dopamin kuramıyla düşünüldüğünde çok daha anlamlı olan bir patafizyolojidir (Gümüştas ve Oksidatif, 2008). Yapılan araştırmalarda, katekolamin metabolizması esnasında meydana gelen zararlı serbest radikallerin dopaminerjik sinir uçlarında anormal sinir iletimine neden olduğu görülmüştür. Şizofrenik bazı hastalarda plazma PLA<sub>2</sub>'nin artış gösterdiği görülmüştür. Hücre membranındaki fosfolipidlerden PLA<sub>2</sub> araşidonik asit salınımı başlatır. Araşidonik asit de serbest radikallerin meydana gelmesine ve peroksidasyona neden olmaktadır (Delibaş vd, 1996). Ayrıca şizofrenik hastalarda lipit peroksidasyonu ile ilgili yapılan çalışmalarda, normal bireylere göre lipit peroksidasyonundaki son ürün olarak ortaya çıkan malondialdehitin miktarında da artış olduğu saptanmaktadır (Pavlova, 1996).

#### **2.5.5. Presbiakuzi**

Presbiakuzi, yaşlılık dönemlerinde meydana gelen ilerleme olasılığı olan, işitme kaybı olarak tanımlanmaktadır. Nedeninin nöral dejenerasyon ve stria vaskülarisde aterosklerotik değişiklikler olduğu düşünülmektedir (Delibaş vd, 1996).

Serbest radikallerinse nöron hasarında ve atosklerotik değişimlerde etkin olduğuyla ilgili bazı çalışmalar yer almaktadır (Bast ve Goris, 1989; De Groot, 1994; Halliwell, 1994; Ward, 1994).

SOD enzim aktivitesi azaldığında süperoksit anyon seviyesi artış gösterir. Süperoksit indirgeyici özellik göstererek depo proteini olan ferritinden demir salınımına neden olabilmektedir . Bunun sonucunda süperoksit radikali, demir salınımıyla Fenton ile Haber-Weiss tepkimelerine zemin hazırlamış olmaktadır. Fenton tepkimesi sonucu hidroksil radikali sentezlenirken bir yandan da lipit peroksidasyonuyla zardaki lipitlerde yıkıma neden olmaktadır. Bunun sonucunda hücre zarının yapısı ve işleyişi de hasar görmektedir. Süperoksit anyonu lipit peroksitlerle de tepkimeye girerek başka radikal tepkimelerinin de başlamasına yol açmaktadır. Sonuç olarak denge serbest radikal sentezi yönünde olacaktır ve Fe, lipit peroksidasyon tepkimelerinde yer alacağından serbest radikal toksisitesinde artışa neden olacaktır (Delibaş vd, 1996).

#### **2.5.6. Alzhemier**

Alzhemier hastalığı (AD), dünya çapında 65 yaş üstü bireylerde en sık görülen rahatsızlıktır (Huang vd, 2016). Alzhemier hastalığında serbest radikallerin beyin bölgelerinde patojenik bir rolü olduğu kanıtlanmıştır. Yapılan alışmalar alzhemier hastalığı ve mikrovasküler beyin hasarı için terapötik bir hedef olarak beyne serbest radikal hasarının baskılanmasını desteklemektedir (Sonnen vd, 2009).

Yaşlanma ile beyinde artan bir süreç olan aşırı reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretimini veya antioksidan sistemin işlev bozukluğunu içeren redoks durumunda bir dengesizlik ile indüklenir. Mitokondriyal elektron taşıma zinciri sitokrom oksidaz kompleksinde moleküler oksijenin yaklaşık %98'ini tüketmektedir. Kalan oksijen hidrojen peroksit ve süperoksit radikallerine indirgenmektedir. Normal metabolizma ve çeşitli fonksiyonlar sırasında oksijen, radikal süperoksit ( $O_2^{\cdot-}$ ) ve radikal olmayan oksidan hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve hipokloröz asit üretilmektedir. Süperoksit ve hidrojen peroksit üretimi aşırı hale geldiğinde, genellikle yüksek derecede reaktif hidroksil radikalinin ( $\cdot OH$ ) ve katalitik demir veya bakır iyonlarının varlığında diğer oksidan moleküllerin oluşumunu içeren doku hasarına neden olabilmektedirler.

Buna göre metal, redoks reaksiyonlarını katalizlediğinden ana antioksidan savunma formlarından biri, demirin doku yaralanması sırasında olduğu gibi reaktif radikallerin

oluşumunu katalizlemeyen formlarda depolanması ve taşınmasından oluşmaktadır. Serbest radikal reaksiyonlarını hızlandırabilecek demir mevcudiyetinde bir artış vardır.

Biyometaller ve lipitler açısından zengin olmasına rağmen beyin, peroksidasyona duyarlı lipit hücreleri bol miktarda bulunmakta ve yüksek oksijen ihtiyacı olan bir organdır. Ek olarak beyin, omurilik sıvısı salınan demir iyonlarını bağlayamamaktadır. Sonuç olarak, sinir dokusu üzerindeki oksidatif stres, hücre içi serbest  $Ca^{2+}$ 'da artış, uyarıcı amino asitlerin salınması ve nörotoksisite dahil olmak üzere çeşitli etkileşimli mekanizmalar yoluyla beyne ciddi şekilde zarar verebilmektedir. Bunun yanı sıra nitrik oksit (NO) ve peroksinitrit gibi reaktif nitrojen türleri de proteinler, lipitler, nükleik asit ve diğer molekülleri hasara uğratarak beyin için zararlı etkilere yol açmaktadır.

Sonuç olarak, stresli koşullar altında ve yaşlanma sırasında mitokondri içindeki elektron taşıma sistemi tarafından arttırılan ROS oluşumu, etkili bir antioksidan sistem olmadığında alzheimer hastalığının gelişimi için bir risk oluşturmaktadır. Bu nedenle mitokondri, toksik ROS'un kaynağı ve hedefi olarak işlev görmektedir. Çünkü mitokondriyal disfonksiyon ve oksidatif stres özellikle AD'de ve yaşlanma ile nörodejenaratif hastalıklarda önemli olmaktadır.

### **2.5.7. Kanser**

Hemen hemen tüm kanserlerde, tümör gelişimi ve ilerlemesine nedenin yüksek oranda reaktif oksijen türü olduğu tespit edilmiştir (Liou ve Storz, 2010). Mitokondri, ROS'un hem kaynağı hem de hedefidir (Storz, 2005). Mitokondride ROS, oksidatif fosforilasyonun kaçınılmaz bir yan ürünü olarak üretilmektedir (Liou ve Storz, 2010). Mitokondriye ek olarak, peroksizomlar hücreSEL ROS oluşumunun diğer önemli bölgeleri olmaktadır (Dansen ve Wirtz, 2001). Bu solunum organellerinde, süperoksit ve  $H_2O_2$ , peroksizomlar matris ve peroksizom membranlardaki ksantin oksidaz yoluyla üretilir (Luis vd, 1992; Singh, 1996).

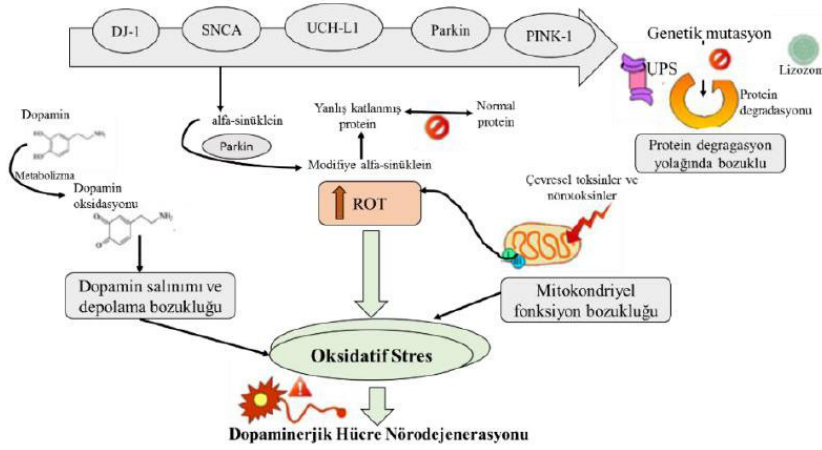
Süperoksit veya onun parçalanma ürünü hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin diyabet, kalp hastalığı, mitokondriyal hastalık, çeşitli nörodejenaratif hastalıklar ve kanser gibi çeşitli hastalıkların gelişiminde rol oynadığı belirtilmiştir. ROS, hem hayvan hastalık modellerinde hem de insanlarda çeşitli ajanların neden olduğu tümör başlangıcında önemli rol oynamaktadır (Storz, 2005).

Reaktif oksijen türleri DNA'ya zarar vermektedir ve bu nedenle karsinom başlangıcını ve ilerlemesini destekleyen mutajenik aktiviteye sahiptir (Storz, 2005). ROS'un tümörün başlamasındaki rolü üzerine deneylerde ROS'un DNA'ya zarar veren ajanlar olarak hareket ettiği, hücrelerdeki mutasyon oranını etkili bir şekilde artırdığı ve böylece onkojenik dönüşümü desteklediği görülmüştür (Jackson ve Loeb, 2001). ROS'un DNA'ya zarar veren etkilerinin çoğu spesifik olmayan, yıkıcı bir şekilde hareket etme kapasitesine sahip hidroksil radikallerinden kaynaklanmaktadır (Storz, 2005). Kemoterapötiklerin aracılık ettiği gibi hücre içi ROS seviyelerinde aşırı artış; tümör hücrelerinin hücre döngüsünün durmasına, yaşlanmasına veya hücre ölümüne neden olmaktadır (Liou ve Storz, 2010).

### **2.5.8. Parkinson**

Mitokondriyal ROT sentez yolu, mitokondriyal solunum zincir kompleksi tarafından ayarlanmaktadır. Beş tane kompleks oluşan mitokondriyal elektron transport sisteminde (ETS)'deki kompleks 1'in parkinsonlu hastalarda aktivitesinin çok miktarda ROT sentezine sebep olduğu ve apoptozu (bir bakıma programlanmış hücre ölümü denilebilir) tetiklediği görülmüştür. (Kim vd, 2015). Bu hastalığın patajonesi konusunda meydana geldiği düşünülen süreçler Şekil 2.7'de gösterilmiştir.

Pestisitlerden ve nörotoksik özelliğe sahip retonon ve meperidin analogu olan 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidro piridin (MPTP) mitokondride ETS'de solunum zincir proteinlerinden olan ve oksidatif fosforilasyon kilit rolü bulunan kompleks-1'i inhibe etmektedir. Bu şekilde parkinsonizime neden olmaktadır. Hatta ailesel olduğu bazı parkinson hastalarında, hastalığın meydana gelmesinin PINK-1, DJ-1, Parkin ve LRRK<sub>2</sub> mutasyonları gibi proteinlerdeki mutasyonlarla bağlantılı olduğu görülmektedir (Calabrese vd, 2005; Luo vd, 2015).



Şekil 2.7. Parkinson hastalığının patajenezisi ile ilgili öne sürülen fizyolojik süreçler (Richards vd, 2016)

Ayrıca lipitler de oksidatif hasara çok müsait moleküllerdir. Hücre zarında yer alan lipitlerden serbest radikaller elektron alır. Bunun sonucunda lipit radikali meydana gelmektedir ve bu radikal de oksijenle etkileşerek peroksi radikali oluşumuna neden olmaktadır. Lipit peroksidasyonu ve çoğunlukla mutajenik ya da karsinojenik olan ürünlerin meydana gelmesiyle mitokondriyal solunum zincirinin inhibisyonuna (kompleks 1 ve 2) da sebep olmaktadır. Lipit peroksidasyonu meydana gelen mutajenik ya da karsinojenik maddelerden olan 4-hidroksi-2-nonenal (HNE) dopamin kaybını desteklediği görülmektedir. HNE ve protein agregasyonu sebebiyle kaybolan dopamin eksikliği parkinson hastalığındaki kişilerin öğrenme ve fiziksel kabiliyetlerini oldukça etkilemektedir (Reed, 2011).

## 2.6. Antioksidanlar

Antioksidanlar , oksidasyona engel olan ya da gecikmesini sağlayan bileşen grubunun genel adıdır (Berger, 2005). Oksidasyon organizmanın hücresinde ya da lipit ihtiva eden gıda maddelerinin tadında, renginde ve kokusunda oksijen molekülünün oksidatif etki göstermesiyle oluşan ve genellikle istenilmeyen değişikliklerdir (Güleşçi ve Aygül, 2016). Antioksidanlar vücuttaki yapısal ve fonksiyonel moleküllerin (lipit, DNA, protein ve karbonhidrat gibi) zarar görmesine engel olan, konsantrasyonunun düşük olduğu hallerde bile oksidan olarak adlandırılan substratlara karşı etkili olmaktadır (Vinson, 2006).

Araştırmalar sonucunda görülmüştür ki uzun ve kaliteli yaşam antioksidan tüketimiyle doğru orantılıdır. Bunu serbest radikal mekanizması üzerindeki etkinliğiyle gerçekleştirmektedir (Meydani, 1999).

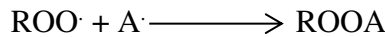
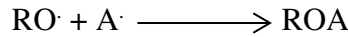
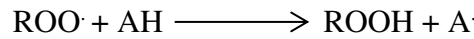
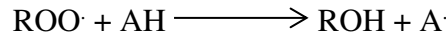
Oksidantlara karşı organizmanın farklı savaşıma yolları vardır. Serbest radikallere karşı vücut korunma, tamir, fiziksel savunma ve antioksidan savunma gibi 4 farklı savunma mekanizması bulunmaktadır (Valko vd, 2006). Bunlardan antioksidan savunma sistemindeki antioksidan işlevlerinin bazıları ve örnekleri Tablo 2.8'de gösterilmiştir.

Tablo 2.8. Antioksidanların savunma sistemindeki farklı işlevsel durumları (Berger, 2005; Vinson, 2006)

Antioksidanların işlevselliği	Örnek
Serbest radikalleri zincir tepkimlerinde tutması	Tokoferolün lipit reaksiyonlarındaki rolü
Diğer antioksidanların rejenerasyonu (yenilenme)	Askorbatın tokoferiloksi radikaline hidrojen atomu vererek tokoferole indirgenmesi
Enzimi aktive ya da inhibe etmesi	Askorbatın nitrik oksidazı aktive edip, tokoferol ile polifenollerin tirozin kinaz enzimini inhibe etmesi
Radikal ya da oksidantlarla tepkime vermesi	Katalazın hidrojen peroksit ile tepkimeye girmesi

## 2.7. Antioksidanların Etki Mekanizması

Kimyasal özellikleri ve etki mekanizmaları bakımından farklı bir alanda yer alan antioksidanların etki mekanizmaları açısından en önemlisi lipit serbest radikalleri üzerindeki etkisidir. Antioksidanlar lipit serbest radikalleriyle girdiği reaksiyonda bu radikallerin radikal özelliğine son vermektedir. Antioksidanların etki mekanizması;



Antioksidanların etki mekanizmasında genel fonksiyon, oksidatif zincirden substrata hidrojen iyonlarının aktarılmasını sağlayarak aktif radikallerin giderilmesi, nonreaktif forma dönüştürülmesi ve bu bileşiklerin sonraki adımda moleküler rezonans yolunu kullanarak kararlı bir forma çevrilmesidir.

Bu adımlar sırasında antioksidan maddenin de aktifliği azalmakta ve en sonunda g¼c¼ zamanla s¼nmektedir (Sood ve Venkatesh, 2011).

Biyolojik proseslerde h¼cre ile dokunun biyolojik b¼t¼nl¼đ¼n¼n devam ettirilmesinde, oksidanların yıkımı ile oluşumu arasındaki denge ¼ok b¼y¼k ¼nem arz etmektedir. Antioksidan maddelerin oksidan molek¼ller ¼zerindeki etkileri 4 yolla g¼sterilebilmektedir (Klouche vd, 2004; Krinsky, 1992; Pinchuk ve Lichtenberg, 2002).

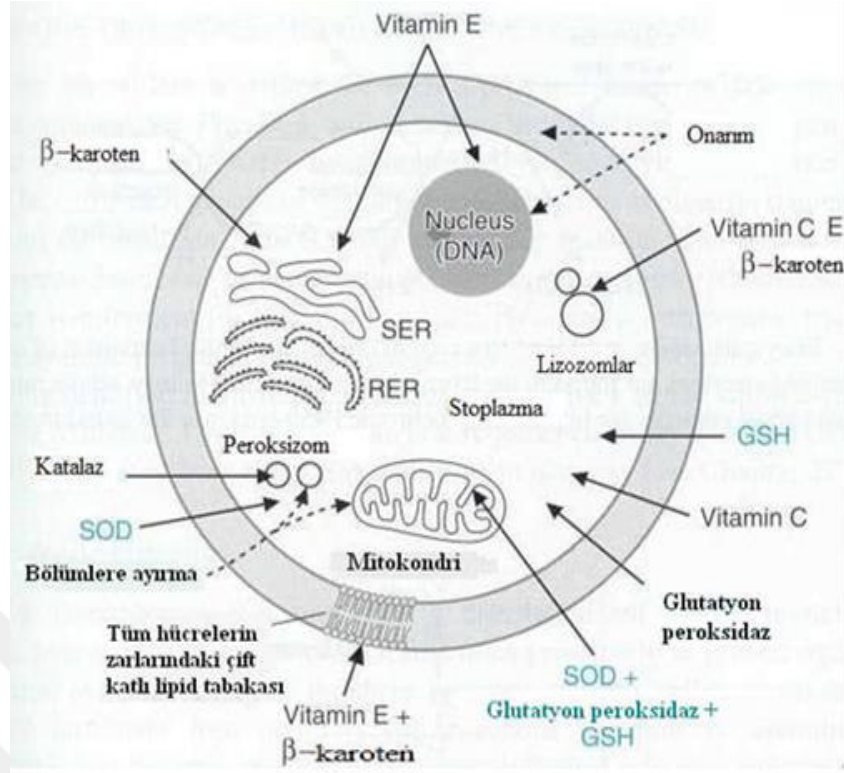
**S¼p¼r¼c¼ etki:** Radikallerin meydana gelmesine engel olma ve meydana gelmiş olan radikal molek¼llerinin zararlı olmayan şekline ¼evrilmesidir. Antioksidan enzimlerin etki mekanizması bu sınıfa girmektedir.

**Bastırıcı etki:** Oksidan maddelerle reaksiyona girerek, onlara bir hidrojen vererek aktifliklerini azaltır veya onları aktif olmayan formuna ¼evirir.

**Zincir kırıcı etki:** Bu yolla etki g¼steren antioksidanlar DNA tamir edici enzimlerle metiyonin s¼lfoksit red¼ktaz enzimleri bulunmaktadır.

**Onarıcı etki:** Bu yolla etki g¼steren antioksidanlar DNA tamir edici enzimlerle metiyonin s¼lfoksit red¼ktaz enzimleri bulunmaktadır.

Bu etkilerin yanı sıra h¼creSEL kinaz kayıplarını ¼nleme ve enzimatik etki olmak ¼zere iki etki daha vardır. H¼creSEL kinaz kayıplarını ¼nleme etkisinde, oksidasyon reaksiyonlarını durdurmaktadırlar. Enzimatik etki de ise SOD gibi antioksidan enzimlerle nonenzimatik antioksidanların sentezini artırması şeklinde etki g¼stermektedirler (Akkuş, 1995). H¼crede, antioksidanların işlevlerinin genel g¼sterimi şekil 2.8’de verilmiştir.

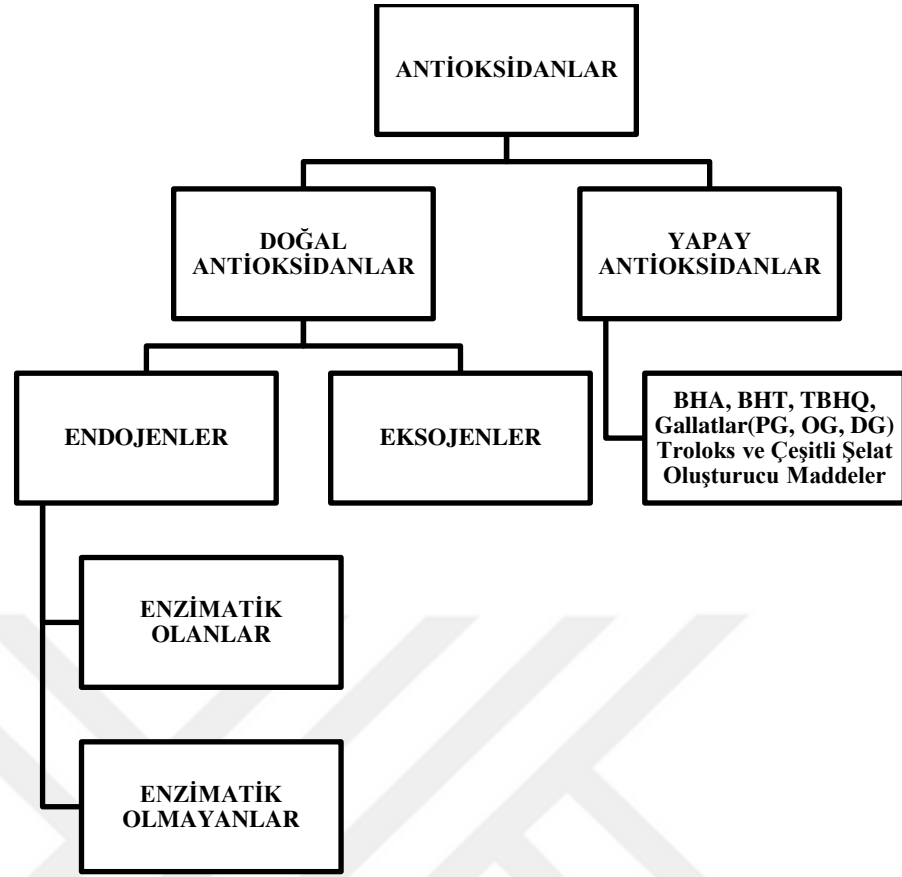


Şekil 2.8. Antioksidanların hücredeki işlevinin genel şekli (Maltaş, 2011)

En az iki antioksidan bir araya gelerek bir antioksidanın tek başına gösterdiği etkiden daha kuvvetli bir etki göstermesi “sinerjik etki” olarak adlandırılır. Bu etki iki antioksidan arasında oluşabileceği gibi biri antioksidan diğeri antioksidan özelliği olmayan başka bir maddeyle birlikte de oluşabilmektedir (Altuğ, 2001; Öner vd, 2004; Sood ve Venkatesh, 2011).

## 2.8. Antioksidanların Sınıflandırılması

Olağan fizyolojik durumlarda hücreler, meydana gelen serbest radikal ürünleri ve peroksitler gibi moleküllerin sebep olduğu oksidatif hasara karşı antioksidan savunma sistemleri tarafınca korunur. Bu sistemler Şekil 2.9’da gösterildiği gibi doğal ve sentetik antioksidanlar olmak üzere iki grup halinde incelenmiştir (Rice, 1997).



Şekil 2.9. Antioksidanların sınıflandırılması (İnan, 2015)

### 2.8.1. Doğal Antioksidanlar

Doğal antioksidanlar, meyve, sebze ve et gibi doğal kaynaklarda bulunan antioksidanlardır (Tablo 2.9). Günlük gıdalarda bulunan ve en yaygın olanları C vitamini (askorbik asit), E vitamini ( tokoferoller), A vitamini (karetonoidler), flavonoidler dahil çeşitli polifenoller ve antosiyaninler (bir tür flavonoid) olan birkaç yaygın doğal antioksidan, likopen (bir tür karetonoid) ve bir tür protein olan ubuquitin olarak da bilinen koenzim Q-10'dir (Sood ve Venkatesh, 2011). Bu doğal antioksidanların emiliminin en üst düzeye çıkarılmasını sağlamak için uygulanabilecek bazı yollar vardır. Bu yollar Tablo 2.10'da gösterilmiştir.

Tablo 2.9. Gıda koruyucu olarak en yaygın kullanılan doğal antioksidanların listesi ve tipik kaynakları (Sood ve Venkatesh, 2011)

<b>Bileşik adı</b>	<b>Doğal kaynakları</b>
Vitamin C (askorbik asit)	Çoğu meyve (özellikle turunçgiller) , bazı sebzeler, domates
Vitamin E (tokoferol)	Tahıl taneleri, brokoli, brüksel lahanası, karnabahar, yemeklik yağlar (zeytin, ayçiçeği, aspvir), badem, fındık
Beta-karoten	Lahana, kırmızı biber, ıspanak, maydanoz ve domates, havuç, tatlı patates, kayısı, papaya gibi sebzeler
Flavonoidler	Patates, domates, marul, soğan, buğday, bitter çikolata, concord üzüm, kırmızı şarap, siyah çay
Antosiyaninler	Kırmızı şaraplarda yüksek miktarda bulunur
Çeşitli polifenoller (apigenin gibi)	Çaylar (çoğunlukla yeşil) ve concord üzümleri kırmızı lahana, yaban mersini, böğürtlen, acai meyveleri gibi birçok kırmızı ve mor renkli meyve veya sebze
Likopenin	Domates, papaya, karpuz, pembe greyfurt
Koenzim Q-10 (antioksidan enzim)	Buğday kepeği, balık, et

Tablo 2.10. Doğal antioksidanların listesi ve emilimi en üst düzeye çıkarma teknikleri (Sood ve Venkatesh, 2011)

<b>Bileşik adı</b>	<b>Nasıl tüketilirse emilim artar ?</b>
Vitamin C (askorbik asit)	Meyve, özellikle turunçgiller tüketilmeli. Günde bir kez büyük bir takviye almak yerine emilimi artırmak için gün boyunca orta miktarda narenciye tüketilmeli
Vitamin E (tokoferol)	Buğday ekmeği gibi tam tahıllı yiyecekler tüketilmeli. Bir tür doymamış yağ (zeytin yağı gibi) ile tokoferol bakımından zengin yiyecekler tüketilmeli
Beta-karoten	Kırmızımsı ve turuncu renkli meyve sebzeler tüketilmeli (havuç ve papaya gibi). Yüksek lifli gıdalarla (örneğin rendelenmiş buğday) birlikte yüksek beta-karoten seviyesine sahip yiyecekleri tüketmekten kaçınılmalıdır. Çünkü bu emilimi azaltır.
Flavonoidler	Patates, soğan, siyah çay, üzüm gibi yiyecekler tüketilmeli. Flavonoidler, molekül herhangi bir şeker molekülüne bağlı olmadığında daha iyi emilir. Bu nedenle soğanlardan elde edilen flavonoidler üzümlerden elde edilenlerden daha iyi emilir.
Antosiyaninler	Yaban mersini, böğürtlen, concord üzümleri gibi meyveler yenilmeli ve bitter çikolata da tüketilmeli. Çilek ve ahududu gibi diğer gıdalar antosiyaninler içermekle birlikte, koyu renkli gıdalardan elde edilen antosiyaninler daha iyi emilir
Çeşitli polifenoller (apigenin gibi)	Çaylar, koyu renkli meyveler, concord üzüm suyu vb. Antosiyaninlerden ve flavonoidlerden tüketim yönergelerinin çoğu polifenol için geçerlidir.
Likopenin	Domates ürünleri veya kırmızı meyveler (domates veya papaya gibi) tüketilmeli. Likopeni domates ürünlerinden (ketçap, domates sosu gibi) emilimi çiğ domateslerden daha kolaydır. Diyet yağlı domates tüketmek (örneğin yemeklik yağlar) likopen emilimini artırır.
Koenzim Q-10 (antioksidan enzim)	Kepekli ekmek ve et tüketimi

### 2.8.1.1. Endojen Antioksidanlar

Doğal antioksidanlar, kaynaklarına göre endojen ve eksojen antioksidanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılır. Endojen antioksidanlar enzimatik ve nonenzimatik (enzimatik olmayan) antioksidanlar olarak iki sınıfta incelenmektedir. Enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar Tablo 2.11’de gösterilmektedir.

Tablo 2.11. Endojen antioksidanların sınıflandırılması (Aydemir ve Sarı, 2009; Sen ve Chakraborty, 2011)

Endojen antioksidanlar	
Enzimatik antioksidanlar	Nonenzimatik antioksidanlar
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutasyon Koenzim Q-10
Katalaz (CAT)	Melatonin Selenyum
Glutasyon peroksidaz (GPx)	Ürik asit $\alpha$ -lipoik asit
Glutasyon redüktaz (GR)	Bilurubin Transferrin
Glutasyon S-transferaz (GST)	Albumin Seruloplazmin

**1. Enzimatik antioksidanlar:** Oksijen molekülünün metabolize edildiği her hücrede oksijen ara ürünleri oluşturmaktadır. Bu ara ürünlerin yıkıcı etkilerini azaltmak hatta tamamen ortadan kaldırmak için antioksidanlar görev almaktadır. Enzimatik antioksidanlar, antioksidan savunmada ilk sırada etkili olanlardır (Döğer, 2010).

**Süperoksit dismutaz (SOD):** ROT’a karşı savunma sistemindeki ilk hat süperoksit dismutazdır (Sen ve Chakraborty, 2011). Oksijenin metabolize edilmesinde görevli bütün hücrelerde yer almaktadır ve süperoksit dismutaz enziminin fizyolojik işlevi, süperoksit radikalinin hasar verici etkilerinden hücreyi korumaktır. Bu şekilde lipit peroksidasyonu engellenmiş olmaktadır (Gürsoy, 2005). SOD’un etki ettiği radikal yalnızca süperoksit radikalidir. Süperoksit radikalinin dismutasyonu enzimatik olmayan ortamlarda çok yavaş gerçekleşmektedir (Tayefi, 2009). SOD bu dismutasyonu hızlandırır ve süperoksit radikalini hidrojen peroksit ve moleküler oksijene katalizleyen enzimatik bir antioksidan olarak görev yapar. Daha sonra hidrojen peroksit katalaz veya glutasyon redüktazla ortamdan uzaklaşması sağlanmaktadır (Is ve Woodside, 2001).



Süperoksit dismutaz enziminin karaciğerdeki aktivitesi kalpteki aktivitesine göre 4 kat daha fazladır. SOD enziminin aslında memeli dokularındaki yerleşimi hücre içi olmasının yanı sıra yaklaşık %10 ise hücre dışında yer almaktadır (Tayefi, 2009).

SOD’un antioksidan etkisi süperoksit ile  $\text{Fe}^{3+}$ ’ün,  $\text{Fe}^{2+}$ ’ye indirgenmesiyle hidroksil radikali oluşumunu engellemesidir (Baskin vd, 1997).

İnsanlarda SOD'un üç şekli bulunmaktadır. Bunlar; bakır-çinko, mangan ve demir ihtiva eden formlarıdır. Bakır ve çinko ihtiva eden süperoksit dismutaz (CuZn-SOD) sitozolde bulunurken mangan bulunan şekli ise (Mn-SOD) mitokondri ve ekstraselüler süproksit dismutaz (EC-SOD) hücre dışı sıvılarda bulunmaktadır (Sen ve Chakraborty, 2011; Young ve Woodside, 2001). EC-SOD, CuZn-SOD'dan farklı olarak bakır ve çinko taşıyan salgısal bir SOD formudur (Marklund, 1982). Enzimatik aktivite için çinko ve bakır gereklidir. EC-SOD öncelikli yeri ekstraselüler matriksle hücre yüzeyleridir ve buralarda yoğunluğu daha yüksektir. EC-SOD, fibroblast hücreleri, glia hücreleri ve endotel hücreleri tarafından salgılanmaktadır ve üretilmektedir. Akciğer dokusunda tip 2 epitel hücrelerinin ve solunum yollarıyla kan damarlarını çevreleyen düz kas hücrelerinin yoğunluğuna bağlı olarak EC-SOD düzeyleri yüksektir. Ekstraselüler düzeyde enzimatik olarak süperoksit radikallerini etkisiz hale getiren tek antioksidan olması nedeniyle, EC-SOD oksidan tahribatı, yangı ve fibrozis gibi birçok akciğer hastalıklarında koruma için çok mühim bir role sahiptir (Gao vd, 2008).

Bakır ve çinko içeren (CuZn-SOD) dismutazlar (sitozolik SOD): Bu şekilde bakır ve çinko enzimin aktif olan bölgesinde bulunmakta ve sitozolde yer almaktadır. Protein yapıda olan enzimin, hücrelerde yerleştiği yer hücre sitoplazmasıdır. SOD'un bu formu hücrelerde en fazla yer alan formudur ve Mn-SOD ile aynı tepkimeyi katalizlemektedir (Nordberg ve Arnér, 2001; Orbea vd, 2000). Yapıdaki Zn'nin ayrılması geri dönüşümsüz olduğu gibi Cu'nun ayrılması ise geri dönüşümlüdür. Yani bakır ayrılıp tekrar bağlanabilir. CuZn-SOD bazı ajanlar ile (ısı, protez ve üre vb.) denatürasyonuna karşı dirence sahiptir. Bu formun karaciğer ve beyindeki konsantrasyonu en fazla iken akciğer ve pankreasta ise en az düzeydedir (Tayefi, 2009).

Mangan içeren (Mn-SOD) dismutazlar (mitokondrial SOD): Mitokondri matriksinde yer almaktadır. Birbirinin aynısı olan iki alt birimden oluşmaktadır. Bu alt birimlerin her birine birer atom bağlı bulunmaktadır. Manganın yer aldığı bölge aktivitenin yüksek olduğu bölgedir. Eğer bu aktif bölgeden mangan uzaklaştırılırsa bu enzim formunun katalitik aktivitesi de ortadan kalkmış olmaktadır.

Mn-SOD formu, ısı ya da kimyasal maddelere karşı denatürasyonu CuZn-SOD formuna göre daha azdır. Bu açıdan Mn-SOD formunun, CuZn-SOD formuna göre daha dayanıksız olduğu söylenebilmektedir (Tayefi, 2009).

Demir içeren dismutazlar (Fe-SOD): Aktif bölgesinde demir iyonu yer almaktadır. Hücre matriksinde bulunmakta ve iki alt ünitesi vardır. Bu alt üniteler protein yapılıdır. Mn-SOD ile benzerliği çok fazla olsa da her iki enzim formu da ancak aktif bölgelerinde kendi metal iyonları bulunduğu zaman işlevsel hale gelebilir. Hücre içi süperoksit radikallerine karşı organizmayı savunan Mn-SOD iken, Fe-SOD da hücre dışı radikallere karşı savunmaktadır. Azitle inhibisyona karşı duyarlılığı yüksektir. Fe-SOD formu, bitki ve bazı bakterilerde bulunmaktadır (Vatassery, 1998).

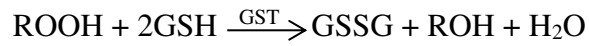
**Glutasyon ve glutasyon peroksidaz (GPx):** Tiyol (-SH) grupları, hücresel antioksidanlardır. Enzimatik reaksiyonlar eşliğinde serbest radikalleri yakalayarak görev yaparlar. Glutasyon da tiyol grubu taşıyan bir tripeptittir. Transferazlar, peroksidazlar gibi enzimler serbest radikal hasarlarına engel olan ya da azalmasını sağlayan enzimlerdir. Bu enzimlerin substratı olarak savunma sisteminde rol alan glutasyon suda çözünebilen bir tiyoldür. Hücrelerin çoğunda çok fazla konsantrasyonda yer alan glutasyon hücre zarını lipit peroksidasyonuna karşı enzimatik olarak savunmaktadır (Di Mascio vd, 1991).

Glutasyon peroksidaz, hidrojen ve oksijen peroksitlerin temizlenmesini sağlamaktadır. Alt ünite sayısı dördür ve bunlar protein yapılıdır. Bu alt üniteler aktif bölgeler olup selenyum atomu ihtiva etmektedir (Schulz vd, 2000). Hidrojen peroksitin indirgenmiş glutasyona bağlanmasına aracılık eden glutasyon peroksidaz bu şekilde hidrojen peroksitin suya indirgenmesini sağlamış olmaktadır. Bu reaksiyon esnasında indirgenmiş glutasyonun (GSH), yükseltgenmiş glutasyona (GSSG) çevrilmesine neden olmaktadır. GSH, düşük molekül ağırlığına sahip ve -SH ihtiva eden bir tripeptittir. GSSG'nin yeniden GSH'a çevrilmesi gerekmektedir. Çünkü tepkimeye giren glutasyonlar disülfid bağlarıyla bağlanmaktadır ve böylece indirgeyici özelliklerini yitirmektedir. GSSG'nin GSH'a çevrilmesi için gerçekleşen reaksiyon NADPH bağımlı bir enzim olan glutasyon redüktaz aracılığıyla katalizlenir. Pentoz fosfat yoluyla reaksiyonda kullanılan NADPH sağlanmış olmaktadır (Martinovic, 1999; Sastre vd, 1996; Schulz vd, 2000).

Glutasyon peroksidaz iki tür enzim ihtiva etmektedir. İlki, klasik bir çeşidi olan GPx'tir. Plazmada bulunma oranı azdır. Plazmada GSH düzeyinin de az olması nedeniyle GPx enzimi olarak işlev görüp görmediği net olarak bilinmemektedir. İkinci çeşit ise fosfolipit hidroperoksit glutasyon peroksidaz (PLGSH-Px) olup yağ asiti ve kolesterol hidroperoksitlerini azaltmaktadır (Tayefi, 2009).

GPx'in kofaktörü olarak çalışan selenyumun antioksidan reaksiyonlarında eksikliği halinde "keshan hastalığı"na neden olmaktadır. Keshan hastalığı bir dilate kardiyomyopati tipidir. Esansiyel bir mineral türü olan selenyumun eksikliği halinde glutatyon peroksidaz aktivitesi azalmakta ve bunun neticesinde miyosite direkt toksik etki gösteren serbest radikaller artış göstermektedir (Yeşil ve Çelik, 2017).

**Glutatyon-S-Transferaz (GST):** Bu enzim ailesinin her biri, iki alt birimden meydana gelmektedir. Lipit peroksidlerine karşı antioksidan savunma gösterirler. Glutatyon-S-transferazlar (GST, EC 2.5.1.18) bunu selenyumun bağımsız glutatyon peroksidaz aktivitesi göstererek gerçekleştirmektedir (Altınışık, 2006).



Katalitik ve katalitik olmayan birçok fonksiyon gerçekleştirebilen GST'ler detoksifikasyon yapar ve hücre içi bağlayıcı, taşıyıcı görevleri bulunmaktadır. Karaciğerde sitokrom P-450 enzim sistemi tarafından reaktifliği yüksek ara ürünler olan yabancı maddeler meydana getirmektedir. Bu yabancı maddelerin reaktivitesi daha az olan konjugatlara çevrilmesini katalizleyen enzim grubu GST'lerdir (Altınışık, 2006). Oksidatif hasar ve oksidatif strese karşı savunmada glutatyon transferazlar çok önemli bir yere sahiptir (Döğer, 2010).

**Katalaz (CAT):** Katalaz ( $\text{H}_2\text{O}_2:\text{H}_2\text{O}_2$  oksidoredüktaz, EC 1.11.1.6), dört alt birimden meydana gelmektedir. Hem grubu içeren tetramerik bir homoprotein olup peroksidazlar grubunun bir üyesidir. Asıl olarak peroksizomlarda yer almaktadır. Bunu yanı sıra sitozol ve mikrozomal reaksiyonda az miktarda bulunmaktadır (Altınışık, 2006; Tayefi, 2009). Katalaz enzimi bir metaloenzim olarak bilinmektedir. Redoks reaksiyonunu teşvik eden en etkili protein katalistlerindendir (Larson, 1988).  $\text{H}_2\text{O}_2$  oluşum hızının az olduğu zaman peroksidatif reaksiyonla  $\text{H}_2\text{O}_2$  yüksek hızda oluştuğundaysa, katalitik reaksiyonla hidrojen peroksiti suya çevirerek ortamdan uzaklaşmasını sağlamaktadır (Tayefi, 2009). SOD enzimi sonucu oluşan toksik hidrojen peroksitin su ve oksijene parçalanmasında da katalaz enzimi etki göstermektedir (Duthie vd, 1989).

Peroksidaz aktivitesinin yanı sıra katalaz enzimi bir molekül hidrojen peroksiti elektron verici bir substrat olarak ve diğerlerini ise oksidan ya da elektron alıcı olarak kullanabilmektedir (Akkuş, 1995).

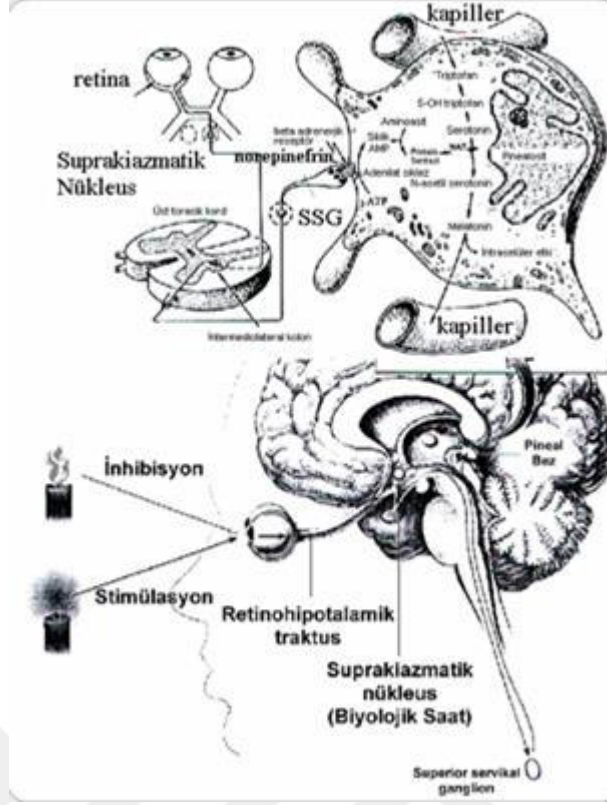
Gramulotöz hücrelerin kendi solunumsal patlamalarında meydana gelen hidrojen peroksit, hidroksil radikali oluşumuna neden olmaktadır. Bunu önlemek için katalaz enzimi hidrojen peroksiti ortadan kaldırmaktadır (Atif vd, 2006).

Katalaz enziminin indirgeyici aktivitesi  $H_2O_2$  ve metil, etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküller üzerinde etkindir. Lipit hidroperoksitler gibi büyük moleküller üzerinde etkin değildir (Jenkins, 1981). CAT enzim aktivitesinin, insanlarda görüldüğü yerler beyin, karaciğer, böbrek, eritrositler, çizgili ve düz iskelet kaslarıdır. Karaciğerdeki aktivitesi beyindeki aktivitesine göre daha yüksek olup hatta diğerlerine göre en yoğun aktivite gösterdiği yer karaciğerdir (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Yalçın, 2007; Vatassery, 1998).

**Mitokondriyal sitokrom oksidaz:** Solunum zincirinin son enzimi olan mitokondriyal sitokrom oksidaz enzimi, süperoksit radikalının detoksife edilmesinde görev almaktadır. Organizmada normal şartlarda bu reaksiyon olağan bir reaksiyon olmasının yanı sıra besin maddelerinin oksidasyonunun tamamlanması ve organizmanın ihtiyacı olan enerjinin sentezinin (ATP) gerçekleşmesini sağlamaktadır. Fakat birçok kez  $O_2^-$  radikalının yıkıcı etkisi önlenmiş olmaktadır (Gökhan, 2007).

**2. Nonenzimatik antioksidanlar:** Esansiyel mikronutrient bileşiklerin nonenzimatik antioksidan savunmalarında çok mühim bir yere sahiptir. Bunlardan suda çözünebilir askorbik asit (C vitamini) oldukça önemlidir. İndirgeyici bir güce sahiptir ve bu özelliği radikal-radikal olmayan redoks tepkimelerinde kullanılmaktadır (Döğer, 2010).

**Melatonin (epifiz hormonu):** Hasar verme oranı en yüksek serbest radikal olan hidroksil radikalının yok edilmesinde görevli çok etkili bir lipofilik antioksidandır. Aynı zamanda hidrofildir. Karanlıkta pineal bezden (epifiz bezi) salgılanan, uyku, üreme, ve immün sistem gibi birçok biyolojik işlevleri düzenlemede görev alan, tümörün meydana gelmesini sınırlandıran ve reproduktif fonksiyonların kontrolünü sağlayan melatonin (MEL), aynı zamanda da bir hormondur. Epifizde triptofan amino asidinden, serotonin üzerinden üretilen melatonin (Şekil 2.10) , antioksidan enzim üretiminin uyarılmasını sağlamaktadır. Melatonin üretimi yaşlanmayla azalır (Acuña-Castroviejo vd, 2001; Blanc vd, 2003; Yazıcı ve Kader, 2004). Ayrıca melatonin (N-asetil-5-metoksi triptamin) epifiz bezi dışında retine, kemik iliği, gastro-intestinal kanal ve bağışıklık sistemi dahil olmak üzere birçok organ tarafından da salgılanmaktadır (Najeeb vd, 2016).



Şekil 2.10. Epifiz bezinde melatonin üretimi ve kontrol edilmesi (Brzezinski, 1997)

Lipofilik ve bir antioksidan olması nedeniyle hücredeki tüm organellere, hücre çekirdeğine ulaşabilmekte ve kan-beyin bariyerini de aşarak çok geniş bir alanda antioksidan aktivite etkisini gösterebilmektedir (Memişoğulları, 2005). Antioksidan özellikleri Şekil 2.11’de gösterilmiştir. Melatonin, reaktivitesi en yüksek radikal olan hidroksil radikaliyle reaksiyona girerek indolil katyon radikalının oluşumuna neden olmaktadır. Bu radikal ortamda bulunan süperoksit radikalini tutmakta ve etkisini yok etmektedir (Cam vd, 2003; Guerrero-Romero ve Rodríguez-Morán, 2005).

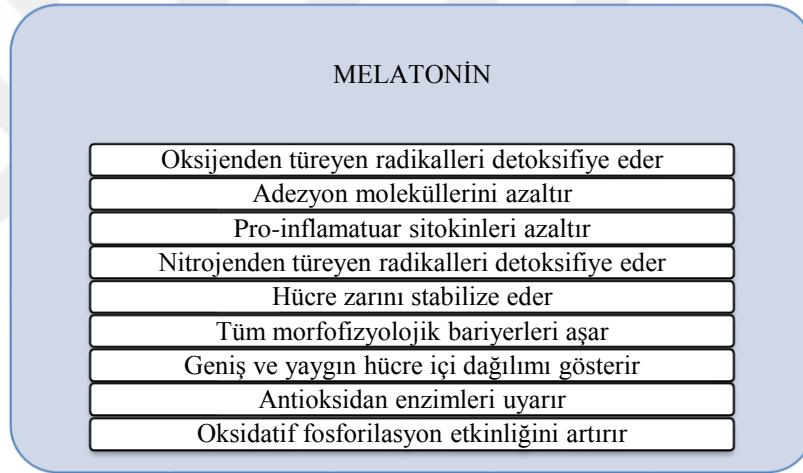
İlk defa 1991’de, Inas ve arkadaşları yaptıkları araştırmalarla melatoninin antioksidan olarak literatüre girmesini sağlamışlardır. Devamında in vitro (Pähkla vd, 1998; Tan vd, 1993) ve in vivo (Yamamoto ve Tang, 1996) yapılan araştırmalarla melatoninin bir antioksidan olduğu desteklenmiştir. Antioksidanlar arasında bilinen en etkin ve güçlü antioksidan olarak kabul görmektedir (Gökhan, 2007).

Safrol, serbest radikal oluşumuyla kansere neden olan ve DNA üzerinde hasar oluşturan bir etkiye sahiptir. Melatonin bu hasarı oldukça etkili bir şekilde inhibe ettiği görülmektedir (Reiter, 2003). Melatoninin antioksidan etkisi 3 temel başlık altında toplanmaktadır (Reiter vd, 2000; Yazıcı ve Kader, 2004).

Direkt antioksidan etki: Bazı oksidatif strese neden olan radikalleri (hidroksil, hidrojen peroksit, singlet oksijen, hipokloröz asit, nitrik oksit, peroksinitrit radikalleri gibi) detoksifiye ederek bunların biyomoleküller üzerinde oluşturabilecekleri yıkıcı etkileri engellemektedir. Yapısında yer alan pirol halkası melatoninin antioksidan özelliğini oluşturmaktadır (Reiter vd, 2000).

Antioksidan enzim aracılığıyla etki: Farmakolojik ve fizyolojik düzeylerdeki melatonin bazı antioksidan enzimlerin (süperoksit dismutaz, glutasyon peroksidaz, GSSG-Rd, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) ve g-glutamilsistein sentetaz gibi) aktivitelerinin artmasını sağlayarak oksidatif stresi baskılamaktadır (Reiter vd, 2000).

Prooksidan enzim aracılığıyla etki: Bazı prooksidan enzimlerin inhibe edilmesini sağlayan melatonin, serbest radikal oluşumunu bu yolla azaltmakta ve antioksidan sistemine destekte bulunmaktadır (Reiter vd, 2000).



Şekil 2.11. Melatonin antioksidan özellikleri (Reiter, 2003)

**Melatoninin diş sağlığı üzerindeki etkileri:** Melatoninin diyabetik sıçanlar üzerinde yapılan deneylerde perodontitisi (diş eti iltihabı) azalttığı görülmektedir (Kose vd, 2016). Benzer şekilde, diyabetli hastalarda melatoninin deriye uygulanması (topikal uygulama), proenflamatuar faktörlerin azalmasına bağlı olarak periodontal kemik kaybının ilerlemesini azaltmaktadır (Cutando vd, 2014; Cutando vd, 2015). Bu nedenle melatonin, ağız kanseri tedavisinde kullanılabilirliği öne sürülmektedir (D Mediavilla vd, 2010; Nakamura vd, 2008; Reiter vd, 2015). Melatoninin ağız boşluğunda terapöz potansiyeli vardır (Şekil 2.12). Ek olarak melatonin, rutin olarak ağız kanseri tedavisinde kullanılan radyoterapiye bağlı sağlıklı dokuların zarar görmesini de önlemektedir (Reiter ve Meltz, 1995). Melatoninin diyabetik hastalar

üzerindeki etkileri iki yönlü gözükmektedir. Birincisi melatonin doğal antiinflamatuvar ve antioksidan özellikleri periodontal dokulardaki inflamasyonun büyüklüğünü azaltmak iken ikincisiyse melatoninin diyabet nedeniyle üretilen ROS'u temizlemesi ve periodontium (dişi çevreleyen ve destekleyen dokular) üzerindeki enflamatuvar etkileri azaltmasıdır. Melatonin antioksidan özelliğinden dolayı, dental pulpa (diş özü olarak bilinmektedir) hücrelerini metakrilat kaynaklı DNA hasarına karşı koruduğu gözlemlenmektedir (Blasiak vd, 2011). Bu nedenle, dilaltı tabletler, jeller veya ağız durulama sularında melatonin kullanımı metakrilat esaslı diş materyallerinin genotoksik etkilerini önlemekte etkin olmaktadır (Najeeb vd, 2016).

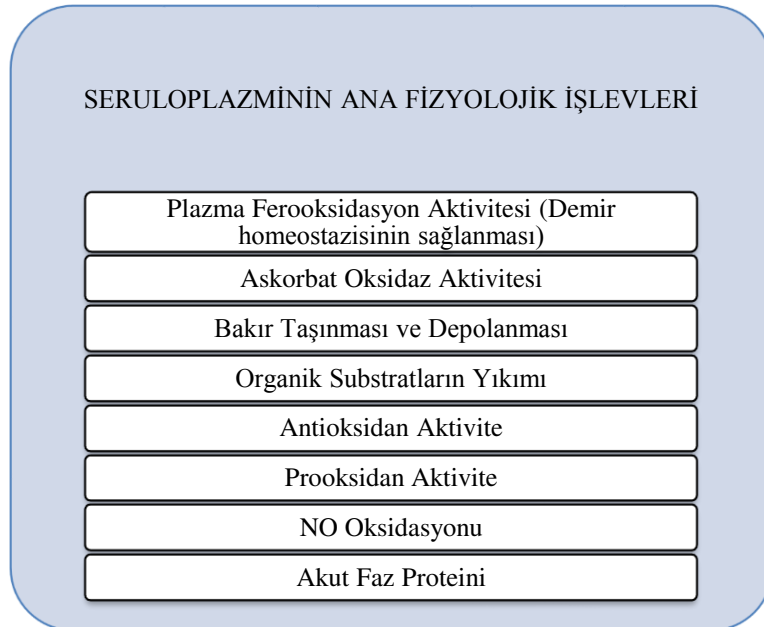


Şekil 20.12. Ağız boşluğunda melatonin terapöz potansiyeli (Najeeb vd, 2016)

**Seruloplazmin:** Seruloplazmin bakır bağlayan bir glikoprotein olup kandaki bakırın %95'ini taşımaktan sorumludur. Altı adet sıkı bağlı ve genellikle yedincisi gevşek bağlı bakır iyonları içermektedir. Hem bakır hem de demir metabolizmasında görev alan bir antioksidan olup süperoksit dismutaza benzeyen bir mekanizmayla etki göstermektedir (Gürer, 2005; Harris, 1992; Karabulut ve Gülay, 2016a). Seruloplazmin bazı temel fizyolojik işlevlere sahiptir (Şekil 2.13). Ferro demirin ( $Fe^{2+}$ ) ferri demire ( $Fe^{3+}$ ) yükseltgenmesini sağlayarak fenton reaksiyonunu başlatmaktadır.

Bu yolla hidroksil radikalının meydana gelmesini inhibe etmiş olmaktadır (Gürer, 2005). Prooksidan bir metal olan bakırı da bağlayarak antioksidan etki göstermektedir (Harris, 1992). Katekolaminleri ihtiva eden polifenol bileşiklerinin ve poliaminlerin oksidasyonunu katalizleyen seruloplazminin bu özelliği, reaksiyonun asidik ortamda gerçekleşmesi nedeniyle biyolojik açıdan önemi belirsizdir (Harris, 1992). Seruloplazmin, aynı zamanda bir protein olup içerdiği elektron vermeye istekli bakır molekülüyle serbest radikalleri etkisiz hale getirmektedir. Bu durum  $O_2^-$ ,  $HO\cdot$  ve  $^1O_2$  radikallerini etkisiz hale getirmektedir ve kan dolaşımında bulunan antioksidan aktivitenin yaklaşık %70'ini gerçekleştirmiş olmaktadır. Seruloplazmin seviyesi yaralanmalardan sonra artmaktadır. Bu durum inflamasyon sonucunda meydana gelen çok miktardaki serbest radikale karşı savunma gerektiğinde seruloplazminin, indüklenemediğini göstermektedir. İnflamasyon sırasındaki hücre ölümlerini seruloplazmin önlemektedir (Gürer, 2005).

Askorbat serbest radikalleri, askorbik asitin,  $O_2^-$  ve  $HO\cdot$  radikaliyle reaksiyonu yoluyla da oluşabilmektedir. Fakat değişken metallerin varlığında özellikle de bakır, oksidasyondan daha fazla etkilenmektedir. Bu oksidasyon, seruloplazmine bağlı olan bakır atomları ve albümin ile birleşmiş olan demir atomlarından oluşmuş katalitik redoks sistemi aracılığıyla gerçekleşmektedir (Gürer, 2005).



Şekil 2.13. Seruloplazmin ana fizyolojik işlevleri (Gürer, 2005)

Seruloplazminin antioksidan aktivitesi 4 yolla gerçekleşmektedir(Gürer, 2005). Bunlar;

1. Ferrooksidaz aktivitesi,
2. Askorbat oksidaz aktivitesi,
3. Oksijen radikali temizleyici aktivitesi,
4. GSH-bağımlı peroksidaz aktivitesidir.

Yapılan çalışmalarda seruloplazmin diyabetli hastalarda artış gösterdiği görülmektedir.

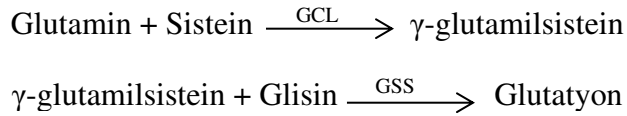
Bu artışın nedeni olarak serbest radikal reaksiyonlarını ve lipit peroksidasyonunu hızlandıran  $Fe^{+2}$ 'ye yanıt olduğu düşünülmektedir (Daimon vd, 1998; Memişoğulları vd, 2003; Memişoğulları ve Bakan, 2004).

**Transferrin:** Transferrin esas olarak karaciğerde üretilirken, serumda bulunmasının yanı sıra diğer vücut sıvılarında da daha az konsantrasyonda bulunmaktadır (Chauhan vd, 2004; Halliwell ve Gutteridge, 1999). Yapısını meydana getiren azot ve karbon terminallerinin her birine sıkıca birer demir atomu bağlama kapasitesine sahip olmaktadır. Sağlıklı bir bireyde transferrinin %20-30 civarı demir ile yüklüdür. Ortamın asitli olduğu durumlar demirin transferrinden salınmasına sebep olmaktadır. Başlıca hücre içi demir ferritinin içinde depo edilmektedir. Tüm moleküller ferritin etrafında 4500 adet demir atomu tutma kapasitesine sahiptir (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

Transferrinin ana işlevi hücrelere  $Fe^{3+}$  taşımak ve bununla beraber önemli bir büyüme faktörüdür. Ferröz iyon ( $Fe^{2+}$ ), fenton reaksiyonu ile hidrojen peroksitin çok yüksek düzeyde toksik olan hidroksil radikale dönüşümünü katalizler ve oksidatif strese yol açmaktadır. Transferrin serbest ferröz iyon konsantrasyonunu düşürerek antioksidan savunma etkisi göstermektedir (Chauhan vd, 2004). Serbest demiri bağlayarak demirin lipit peroksidasyona neden olmasına engel olmaktadır. Transferrin demir ile tam bağlı olmadığı sürece antioksidan etki göstermektedir. Fakat transferrin tam doyurulduğunda plazmaya demir salınımına neden olmakta ve prooksidan etki göstermektedir (Yu, 1994).

**Glutasyon (GSH):** Nerdeyse tüm ökaryotik hücrelerde üretilen glutasyon (y-glutamilsisteinil glisin), organizmadaki tiyol grubu ihtiva eden ve molekül ağırlığı küçük olan tripeptittir. Glutasyonun antioksidan olarak davrandığı durumlar vardır (Şekil 2.14). Suda çözünen antioksidanlar arasında yer almaktadır (İşbilir, 2008).

Birçok ökaryotik hücrede bulunması nedeniyle organizmadaki yoğunluğu çok fazla olmaktadır (Karabulut ve Gülay, 2016a; Sayılan, 2008). İlk sırada karaciğer de olmak üzere bir çok dokuda yer alan glutatyon, glutamat, sistein ve gliserinden üretilmektedir (Döğer, 2010). Glutatyonun üretilmesinde önemli olan iki aşama vardır. Birinci aşamada, glutamin-sistein ligaz (GCL), glutamin ve sisteini bağlar ve  $\gamma$ -glutamilsistein meydana gelmektedir. İkinci aşamadaysa glutatyon sentetaz (GSS),  $\gamma$ -glutamilsisteine glisini bağlayarak GSH molekülünü oluşturmaktadır (Lagman vd, 2015; Pei vd, 2013).



Glutatyonun, amino asitleri hücre içine taşımalarının yanı sıra, organizmada başka birçok metabolik olayda görev almaktadır (Aksu, 2006; Onat vd, 2002). Yapısında bulunan sistein kalıntısının ihtiva ettiği tiyol grubu nedeniyle hücre içinde redoks potansiyeli fazla olan bir ortam oluşturarak, oksidatif hasara karşı hücreyi korumaktadır. Glutatyonun önem arz ettiği bir nokta da, organizmadaki hücre, doku ve organ sistemlerinin bütünlüğünün ve yapısal-fonksiyonel bakımdan savunulmasını sağlamasıdır (Ulakoğlu vd, 2014).

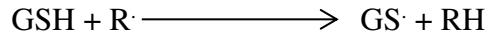
Organizmadaki başta gelen metabolik süreçlerdeki görevlerinden biri ise glutatyonun, glutatyon peroksidaz, GSH redüktaz ve GSH transferaz gibi enzimler için substrat ya da kofaktör olarak görev yapmasıdır (Aksu, 2006; Döğer, 2010). Glutatyon, hidrojen peroksitin suya çevrilmesinde rol aldığı gibi hidroksil, peroksil ve peroksinitrit gibi radikallerle de etkileşerek bunların organizmada hasara yol açmasını engellemektedir (Aksu, 2006). Hücre içinde glutatyon, toksin maddelerle etkileşerek yine onların da zarar verici özelliklerinin ortadan kalmasını sağlamaktadır ve bunun memeli hücrelerinde yaygın olarak bulunan glutatyon transferaz enzimiyle katalizlenmektedir (Gutteridge, 1994).

Hücrede bulunduğu form indirgenmiş halidir. Glutatyon çeşitli reaksiyonlarda yükseltgenir ve GSSH'a çevrilmektedir. Yükseltgen glutatyonun yeniden indirgenirken glutatyon redüktazla indirgenmesi tepkimesi nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH)'a ihtiyaç duymaktadır. Bu nedenle heksoz monofosfat yoluyla bağlantılıdır. Böylelikle dokularda GSSG/GSH oranı düşük tutulmaktadır. Oksidatif stres karşısında glutatyon antioksidan fonksiyonlarıyla organizmayı savunur

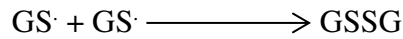
(Şekil 2.15). Eğer çok miktarda oksidatif stres ya da antioksidan potansiyelin yetersizliği olduğunda ve böylelikle meydana gelen oksidatif hasar sonucu, glutatyon seviyesi azalmaktadır. Böylece serbest radikal yıkımına bağlı patolojik durumlar meydana gelebilmektedir (Aksoy, 2002; Memişoğulları, 2005).

Tiyol gruplarının antioksidan kapasitesinin kaynağını yine kendi yapılarında bulunan sülfür atomunun rahatlıkla bir elektron kaybedebilme özelliği oluşturmaktadır.

Bu şekilde sentezlenen sülfür radikallerinin yani tiyil radikalinin (GS $\cdot$ ) yaşam süresi oksidatif stres esnasında meydana gelen diğer radikallere göre daha uzundur. Glutatyonun radikalle reaksiyonu şu şekildedir;



Sentezlenen tiyil radikali dimerize olarak radikal olmayan ürünler meydana getirebilmektedir.



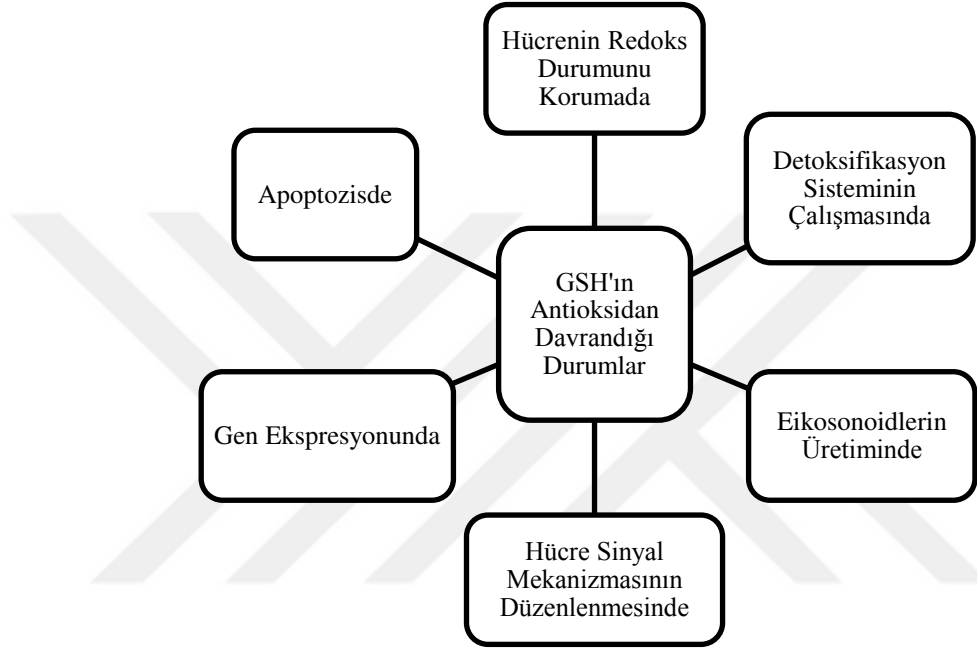
GSSG, hücre içinde birikmektedir. Burdan yola çıkıldığında GSSG/GSH oranı organizmada var olan oksidatif stresin ölçümünde kaliteli bir yöntem olarak kabul edilmektedir. GSH'ın oksidatif stres durumunda savunması temelde şu şekildedir;

- GSH detoksifiye edici birçok enzimin kofaktörüdür.
- Plazma membranından amino asitlerin taşınmasında yer almaktadır.
- HO $\cdot$  ve  $^1\text{O}_2$  radikallerin direkt olarak hidrojen peroksit ve lipit peroksit glutatyon peroksidazın katalitik aktivitesi aracılığıyla temizlemektedir.
- A vitamini ve C vitamini eski aktif formlarına çevrilebilmektedir. Örneğin; glutatyon direkt olarak E vitamini tokoferol radikalini dolaylı olarak da askorbati semidehidroaskorbata indirgeyebilmektedir (Sen ve Chakraborty, 2011; Valko vd, 2006).

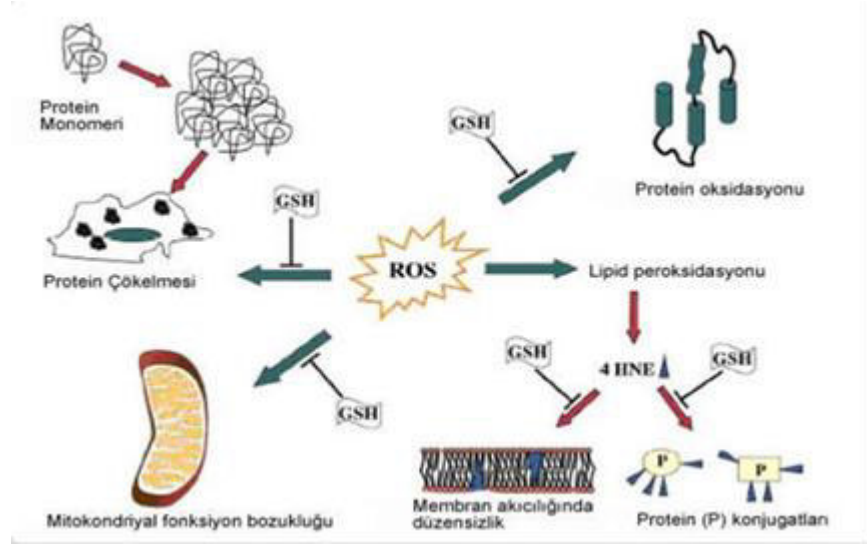
Lipit peroksitlerin temizlenmesinde, glutatyon sistemi yegane enzim sistemi olmasının yanı sıra lipit peroksitlerin temizlenmesinin 3 önemli fonksiyonu bulunmaktadır (Yıldız, 2001);

1. Lipit peroksitin, çapraz bağ oluşumuna neden olan aldehite çevrilmesini engellemektedir.

2. Lipit peroksidin demir ya da bakırla etkileşmesine engel olmaktadır. Böylece bu zincir dallanma reaksiyonunun oluşumuna neden olduğu alkoksi ve hidroksi radikallerinin meydana gelmesine de engel olmaktadır.
3. Kemotaktik maddelerin neden olduğu kimyasal reaksiyonu engelleyerek beraberinde meydana gelmesine neden olduğu serbest radikal saçan fagositlerin ortama gelişini yavaşlatmakta ve böylece kemotaktik maddelerin neden olduğu serbest radikal oluşumunu engellemiş olmaktadır.



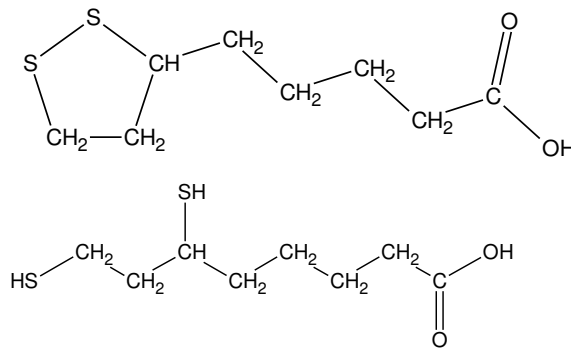
Şekil 2.14. Glutatyonun antioksidan olarak davrandığı durumlar (Bharath vd, 2002)



Şekil 2.15. Oksidatif strese karşı savunmada glutatyonun antioksidan fonksiyonlarının şematik hali (Bharath vd, 2002)

**$\alpha$ -Lipoik asit:**  $\alpha$ -Lipoik asit (ALA) fizyolojik sistemlerde bulunmakta ve yapısında tiyol grubu bulunmaktadır. Antioksidan aktiviteye sahip önemli bir moleküldür (Liang ve Akaike, 2000). Molekül ağırlığı küçük sayılabilmektedir (Clair vd, 2005). Bitkiler, hayvanlar ve insanlarda hatta bakteriler de dahil olmak üzere tüm organizmalarda sentezlenebilen bir bileşik olup, insanlarda sentezlendiği yer karaciğer ve diğer dokulardır (Liu vd, 2002; Song vd, 2004).

ALA, oksitlenmiş ya da indirgenmiş iki sülfür molekülü ihtiva etmekte (Şekil 2.16) ve bu farklılık birçok önemli enzimin kofaktörü olarak görev yapmasını sağlamaktadır (Song vd, 2004).



Şekil 2.146.  $\alpha$ -lipoik asit ve indirgenmiş formu olan dihidrolipoik asitin (DHLA) kimyasal yapısı

$\alpha$ -Lipoik asite indirgenme özelliği kazandıran ditiyolan halkasıdır.  $\alpha$ -lipoik asit ve indirgenmiş formu DHLA'nın kimyasal reaktivitesini de sağlayan ditiyolan halkasıdır.  $\alpha$ -Lipoik asitteki bu yapı, bilinen diğer biyomoleküller arasında ona

özgünlük katmaktadır (Clair vd, 2005).  $\alpha$ -lipoik asit, yağda ve suda çözünebilen güçlü bir antioksidandır. Hem okside hem de indirgenmiş formu antioksidan aktivite göstermektedir. Dihidroklorik asit, dihidroaskorbik asiti tekrar askorbik asite dönüşümünü ve direkt olarak C vitamininin, indirekt olarak da E vitamininin tekrar oluşumunu sağlamaktadır. Yapılan araştırmalarda,  $\alpha$ -lipoik asitin hücreler arası glutasyon ve koenzim Q-10 düzeylerini artırdığı görülmüştür (Gültekin, 2009).  $\alpha$ -lipoik asit ve redükte formu olan DHLA bütün antioksidan kriterlerini içerdiğinde ideal antioksidanlar olarak görülmektedir (Packer vd, 1995).  $\alpha$ -lipoik asit ve DHLA'nın serbest radikaller üzerinde süpürücü etkileri vardır (Tablo 2.12) (Packer vd, 2001). Lipit tabakada ve suda çözünebilme özelliği sayesinde lipit-su ara yüzeyinde okside antioksidan redüksiyon fonksiyonunu gerçekleştirmektedir. E vitamininin tekrar oluşum siklusunda C vitamini ve glutasyonla etkileşim göstererek membranın korunmasını sağlamaktadır. Ayrıca lipit-su fazları arasında yer alan okside antioksidanların indirgenmesini de sağlamaktadır (Sen vd, 1997). Bilinen bir yan etkisi bulunmamaktadır. Ayrıca endojen  $\alpha$ -lipoik asit çoğunlukla bazı multienzimlerin komplekslerinde (piruvat dehidrogenaz kompleksi,  $\alpha$ -ketoglurat dehidrogenaz kompleksi) proteine bağlı kısımlarında bulunmakta ve bu enzim komplekslerinin kofaktörüdür (Goralska vd, 2003).

$\alpha$ -Lipoik asit eksojen verildiği zaman serbest radikal temizleyici, metal şelasyon ve E vitamini, C vitamini ve GSH rejenerasyonu gibi antioksidan özellikleri gerçekleştirmektedir (Goralska vd, 2003).

$\alpha$ -Lipoik asitin redükte formu olan DHLA,  $\alpha$ -lipoik asite göre daha çok antioksidan etki göstermektedir (Çakatay, 2006). Her iki form da hidroksil, hipoklorik asit (HOCl) ve singlet oksijen radikallerini doğrudan temizler ve hidrojen peroksiti redükte eder. Bu formların doğal fizyolojik sistemlerde yer alması nedeniyle terapötik antioksidan düşünülmektedir.

DHLA'nın antioksidan etkisinin yanı sıra demir bulunduğu ortamda prooksidan etki gösterebilmektedir. DHLA'nın in vitro ortamda hem ferrik hem de ferröz demir ile şelat oluşturduğu görülmüştür. Bu şekilde demirin oksidatif hasarını önlemektedir. Fakat ferritinden demirin ayrılması ve  $Fe^{3+}$ 'ün  $Fe^{2+}$ 'ye dönüşümünü azalttığından oksidatif hasar da artmış olmaktadır (Goralska vd, 2003).  $\alpha$ -Lipoik asit ve DHLA'nın antioksidan ya da prooksidan aktivite göstermesini oksidan stresin tipi ve fizyolojik şartlar belirlemektedir. Tiyol bileşiklerce meydana getirilen prooksidan

etkilerin geneli süperoksit, hidrojen peroksit ve hidrosil radikali oluşumuna bağlı olmaktadır (Çakatay, 2006). Yapılan bazı çalışmalarda  $\alpha$ -lipoik asitin faydaları;

- Hayvan deneylerinde arsenik zehirlenmesi durumunda  $\alpha$ -lipoik asitin tedavisinde kullanılabileceği görülmüştür. İn vitro ve in vivo çalışmalarda kadmiyuma bağlı gerçekleşen hepototositeyi azalttığı tespit edilmiştir (Gültekin, 2009).
- Sıçanlar üzerinde yapılan çalışmada endonöral kan akımını zenginleştirdiği, glutasyonun fizyolojik antioksidan etkisini çoğalttığı ve diyabetik sinirde SOR etkilerinin azalmasında rol aldığı görülmüştür (Gültekin, 2009).
- İki hafta boyunca  $\alpha$ -lipoik asitin diyetle eklenmesiyle yaşa bağlı artan oksidan sentezinde kayda değer bir azalış sağladığı, miyokardiyal askorbik asit düzeyinde azalmayı düzene koyduğu ve yaşlı ratların kalp dokusundaki oksidatif DNA hasarını azalttığı görülmüştür (Suh vd, 2001).
- İntraperitoneal verilmiş olan  $\alpha$ -lipoik asit (100 mg/kg/gün; 2 hafta) serebrak lipit peroksidasyonunu azalmasını rol aldığı ve yaşlı ratların beyinde  $\alpha$ -tokoferol ile glutasyon düzeyindeki azalmanın durdurulmasını sağladığı tespit edilmiştir (Arivazhagan ve Panneerselvam, 2000).
- Glutasyon, C vitamini ve  $\alpha$ -tokoferol ile birlikte  $\alpha$ -lipoik asitin takviye edilmesi (100 mg/kg/gün; 2 hafta) sıçanların karaciğer ve böbreklerinde izole edilmiş olan izositrat dehidrogenaz,  $\alpha$ -ketogluterat dehidrogenaz ve süksinat dehidrogenaz gibi enzimlerin azalmış olan aktivitelerinin tekrar artırılmasını sağladığı görülmüştür (Arivazhagan vd, 2001).
- $\alpha$ -Lipoik asitin intraperitoneal uygulanarak sisplatinin aktive ettiği lipit peroksidasyonuna bağlı gerçekleşen glutasyonun tüketimi azalttığı tespit edilmiştir (Rybak vd, 1999).

Tablo 2.12.  $\alpha$ -lipoik asit ile DHLA'nın ROT ve RN üzerindeki süpürücü etkileri (Packer vd, 2001)

Serbest radikal	$\alpha$ -Lipoik asit	DHLA
Süperoksit radikali	-	+
Hidrosil radikali	+	+
Hipokloröz radikali	+	+
Hidrojen peroksit	+	+
Singlet oksijeni	+	-
Nitrik oksit radikali	+	+
Peroksinitrit	+	+
Peroksil radikali	-	+

**Albümin:** Albümin çözünmesi oldukça fazla ve insan plazmasında 35-50 mg/ml arasında bulunan bir proteindir. Birçok fizyolojik ve farmakolojik önemi vardır.

Vücutta çeşitli kısımlar arasında yer alan sıvının dağılmasını ve ozmotik basıncın düzenlenmesini sağlayan kilit bir protein yer alan sıvının dağılmasını ve ozmotik basıncın düzenlenmesini sağlayan kilit bir protein olarak görev yapmaktadır. Yani albümin, plazmada bulunan en etkili ve önemi yüksek antioksidanlardandır (Roche vd, 2008). Kan pH'sının ayarlanmasında tampon görevi görmektedir. Karaciğerin protein sentezi aktivitesi, amino asit deposu gibi görev yaparak düzenler. Tiroksin, bilirubin, kortizol, östrojen, serbest yağ asitleri, warfarin ve penisilin gibi ilaçların bunun yanı sıra kalsiyum, magnezyum gibi metabolik öneme sahip veya toksik özellik gösteren organik ya da inorganik birçok maddenin taşınmasında rol almaktadır (Carter ve Ho, 1994; Sugio vd, 1999).

Albüminin iki bağlanma yeri bulunmaktadır. Bunlardan biri yüksek afiniteye sahipken diğeri ise düşük afinitelidir. Bu bağlanma yerleriyle iki bilirubin molekülünün taşınmasını sağlamaktadır (Akın, 2019). Bütün bu işlevlerin yanı sıra albümin, bakır iyonunu bağlama özelliğine de sahip olup bu şekilde bakır iyonunun neden olduğu lipid peroksidasyonunu ve ·OH radikalinin meydana gelmesini engellemektedir (Dündar, 2000).

Sağlıklı yetişkin bireylerde, albüminin yapısında yer alan sistein 34'ün yaklaşık olarak %70-80'i serbest sülfidril grupları ihtiva etmektedir. Geri kalanı ise sistein, homosistein veya glutatyon gibi farklı bileşiklerle bir disülfid meydana getirmektedir. Albümin, hidroksil radikalini süpürücü etkiye sahiptir. Bunu yapısındaki indirgenmiş sistein 34 sayesinde gerçekleştirmektedir. Ayrıca albümin çok etkili bir oksidan bileşik olan hipokloröz asit üzerinde de süpürücü etkiye sahiptir. Bazı aktif fagositler (nötrofil ve monosit gibi) hipokloröz asitinin oluşumunu katalizleyen myeloperoksidaz enziminin salınmasına neden olmaktadır. Bu noktada albümin bu hipokloröz asit oksidanlarını süpürmektedir ve bunun sonucunda bu radikallerin  $\alpha$ -antiproteazı değiştirmesi önlenmektedir (Roche vd, 2008). Albuminin bakır iyonunu bağlama özelliği de bulunmaktadır. Bu şekilde bakır iyonunun neden olduğu lipid peroksidasyonunu ve hidroksil radikalinin meydana gelmesine neden olmaktadır (Döğer, 2010). Ayrıca albümin plazma zincir kırıcı antioksidan aktivitesine neden olan plazma sülfidril gruplarının majör komponentidir denilebilmektedir (Gökhan, 2007).

**Koenzim-Q10 (Co-Q10):** Diğeri bir adı ubiquinon olan koenzim-Q10, vitamin benzeri bir maddedir. Aynı vitaminler gibi yiyecekler de doğal olarak çok küçük



Q10'nun çoğunluğu redükte formu olan ubikinol (CoQH<sub>2</sub>) şeklinde yer almakta ve antioksidan etkisi oldukça fazla olup lipit peroksidasyonuna engelleme özelliğine sahiptir (Crane, 2001; Turunen vd, 2004). Co-Q10'i hücrenin bütün intraselüler alanlarında redükte tutabilmek için etkili olan 3 adet enzim vardır. Bunlar;

1. NADH sitokrom-b5 redüktaz
2. NADH/NADPH oksidoredüktaz
3. NADPH CoQ redüktazdır.

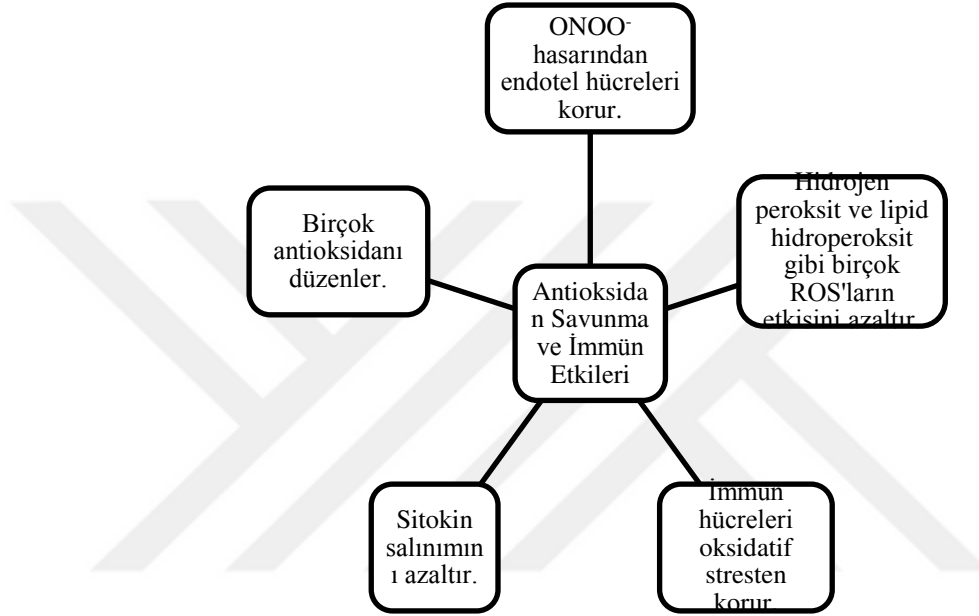
CoQH<sub>2</sub>, başlangıçta lipit peroksil radikallerinin (LOO<sup>·</sup>) meydana gelmesini önlemektedir. Hidrojen peroksitin oluşmasını ve başlangıç peroksit radikalini indirger. Lipit peroksiti direkt olarak da yok edebilmektedir.

CoQH<sub>2</sub> membran proteinlerinin oksidasyonunu engelleyebilmektedir (Turunen vd, 2004). Co-Q10, lipit peroksidasyonunu E vitaminine benzer oranda engel olmaktadır. E vitaminiyle sinerjik olarak çalışmakta, aktif formlarını tekrar meydana getirmekte ve askorbik asitle benzer bir mekanizmayla etkisini göstermektedir (Gürkan ve Bozdağ, 2005).

**Selenyum:** Antioksidan ve bağışıklık düzenleyici işleve sahip temel bir element olan selenyum, insan metabolizmasının önemli metabolik yolları arasındadır ve proteinlerin aktif bölgelerine selenosistein formunda katılmaktadır. Selenyumun selenosistein formu amino asit sentezi için kullanılmaktadır. Bu proteinlere selenoprotein adı verilmektedir. Selenoproteinlerin işlevlerini yerine getirebilmeleri için selenyuma ihtiyaçları vardır. İnsan vücudunda yaklaşık 100 çeşit selenoprotein yer aldığı düşünülmektedir. Fakat bunlardan sadece 30 tanesi tanımlanmış olmakta ve fizyolojik görevleri hala bilinmemektedir (Bal vd, 2015; Iglesias vd, 2013; Kim vd, 2014).

Selenoproteinlerin birçok görevi bulunmakta olup en çok antioksidan savunmada görev almaktadır. Selenoproteinlerin antioksidan savunma ve immün etkileri Şekil 2.18'de gösterilmiştir. Glutasyon peroksidaz ve tiyoredoksin redüktaz (TRxRS) enzimleri büyük önem gösteren selenoproteinler olarak söylenebilmektedir (Xia vd, 2010). Besinsel anlamda önemli bir eser element olan selenyum, hücrede çok önemli işlevleri olan yaklaşık 20-30 enzimin aktivitesini doğrudan veya dolaylı olarak düzenlenmesinde görev almaktadır (Rayman, 2000). Bu enzimler özellikle beyinde ve endokrin sistemde işlevsel olan diğer selenyum ihtiva eden moleküllerle beraber birçok antioksidan savunmalarda kanserin engellenmesinde ve sağlıklı bir bireyin

immün sistemini desteklemede rol oynamaktadır (Beck vd, 2003; Rayman, 2000). Glutasyon aktivitesini artıran selenyum böylece reaktif oksijen oluşumunu engellemektedir (Kim vd, 2014). Selenyum ayrıca canlılar için toksik etkisi yüksek olan ağır metallerle etkileşerek onların toksik etkilerine karşı organizmayı savunmaktadır (Plessi vd, 2001). Yapılan bir çalışmada civanın antioksidan enzimler ve lipid peroksidasyonu üzerindeki toksisitesini selenyumun azalttığı veya tamamen önlediği belirlenmiştir (Fırat ve Kaya, 2019).



Şekil 2.168. Selenyumun biyokimyasal özellikleri arasında yer alan antioksidan savunma ve immün etkileri (Kangalgil ve Yardımcı, 2017 )

**Bilirubin:** Ömrünü dolduran eritrositlerin dalak, karaciğer ve kemik iliğindeki retikuloendotelial hücreler tarafından parçalanması sonucu hemoglobin ve diğer hem proteinler meydana gelmektedir. Bunların “hem” fonksiyonel grubunun yıkım yan ürünü olarak bilirubin meydana gelmektedir (Akın, 2019; Aslan, 2005; Gutteridge, 1995).

Bilirubin, peroksit ve serbest radikallere bağlı oluşan oksidatif hasarı inhibe eden antioksidanlar arasında enzimatik olmayan antioksidanlar sınıfında değerlendirilmektedir.  $\cdot\text{OH}$  ve  $\text{H}_2\text{O}_2$  radikallerini süpürmekte ve lipid peroksidasyonunu inhibe etmektedir. Bağırsaktan emildikten sonra karaciğere gelen bilirubin bir bölümü safrayla yeniden bağırsağa atılır ve bir bölümüyse karaciğer doymamış yağ asitleri peroksitlerinin meydana gelmesine engel olarak antioksidan savunma görevini gerçekleştirdikten sonra yıkılmaktadır (Shapiro, 2003). Hatta

taşınması için gerekli olan albüminin de antioksidan etkisi bulunmaktadır (Krijgsman vd, 2002).

**Ürik asit:** Ürik asit (UA), pürin metabolizmasının sonudur ve idrarla atılır (Oda vd, 2002). Ürik asitin pro-oksidan etkisi olduğu gibi büyük miktarda serbest radikalleri nötralize edebilen güçlü antioksidan etkileri olduğu bilinmektedir (Tablo 2.13) (Kumar vd, 2015).

Başlangıçta ürik asit, yüksek konsantrasyonlarda kristalleşen ve böbrek taşı oluşturan bir ürün olarak düşünülmüştür. Fakat ürik asit, singlet oksijeni, oksijen radikallerini ve peroksinitriti temizleyen ve geçiş metalleri kenetleyen güçlü bir antioksidan olduğu tespit edilmiştir. Çalışmalar ürik asitin insan plazmasının antioksidan kapasitesinin yaklaşık yarısını oluşturduğunu ve bir antioksidan olan askorbat (C vitamini) kadar etkili olduğunu bildirmiştir (Kumar vd, 2015; Spitsin vd, 2002; Watanabe vd, 2002).

Oksidatif hasarı önleme ve onarma-koruma sisteminde süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimler, sulu fazdaki hücrelerin lipit kısmındaki askorbik asit ve UA, E vitamini ve A vitamini gibi serbest radikal süpürücüleri içermektedir (Watanabe vd, 2002). UA, güçlü bir serbest radikal süpürücüsü olmakla birlikte, demir ve bakır gibi metal iyonlarının kenetleyicileri gibi davranarak kötü reaktif formlara dönüştüren, insan biyolojik sıvılarının en önemli antioksidanlarından biri olmaktadır (Glantzounis vd, 2005).

Ürik asitin antioksidan özelliklerinin, yaşlanma, oksidatif stres ve kardiyovasküler ile nöral hücreler dahil olmak üzere hücrelerin oksidatif hasarına karşı koruyucu olabileceği düşünülmektedir (Kumar vd, 2015).

Tablo 2.13. Ürik asidin pro-oksidan ve antioksidan etkileri (Kumar vd, 2015)

<b>Ürik Asit</b>	
<b>Pro-oksidan etkileri / Zararlı etkileri</b>	<b>Antioksidan etkileri / Yararlı etkileri</b>
Hipertansiyon	NO seviyesini ve endotal fonksiyonunu korur
Kardiyo vasküler hastalıklar	Demir ve bakır gibi metal iyonlarının şelatörü
Böbrek hastalıkları	Parkinson ve alzheimer hastalıklarında yararlıdır
p 2 diyabetes mellitus	Çeşitli hastalıklarda bir işaretleyici olarak yararlıdır
Metabolik sendrom	
Alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer bozukluğu (NAFLD)	Kemik mineral yoğunluğunda koruyucu rol alır
İnflamasyon	Ekstra hücrel SOD <sub>3</sub> enziminin bozulmasını önler
İskemi reperfüzyon hasarı	Atık hidroksil radikali, tekli oksijen ve peroksinitrit radikali
Gut	

Urate (kandaki ürik asit çözünür formu) süperoksit, hidroksil radikallerinin ve singlet oksijeni temizleyebilmekte ve geçiş metalleri şelatlayabilmektedir.

Peroksinitrit proteinlerin tirozin artıklarını (nitrotirosin oluşumu) nitrosilleme yoluyla hücrelere zarar verebilecek süperoksit anyonunun nitrik oksit ile reaksiyona girmesiyle oluşan toksik bir üründür. Ürik asit ayrıca bu reaksiyonu bloke edebilmektedir (Squadrito vd, 2000).

Yapılan araştırmalarda ürik asit, endotel ve vasküler fonksiyonun korunmasında kritik bir enzim olan hücre dışı süperoksit dismutaz (SOD<sub>3</sub>)'ün degradasyonunu önleyebileceği bildirilmektedir. Ürik asit, bir urat radikalinin üretimiyle SOD<sub>3</sub>'ü rejenere ederek H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile SOD inaktivasyonunu engellemektedir (Hink vd, 2002). Bu son radikal, potansiyel olarak prooksidan olmasına rağmen, klasik oksidanlara göre belirgin şekilde daha az reaktif bulunmuştur ve askorbatın (Maples ve Mason, 1988) mevcudiyetinde hızla geri kazanılabilmektedir. Ayrıca başka bir çalışmada menapoz sonrası kadınlarda yüksek serum UA düzeyleri kemik kaybı açısından koruyucu görünmektedir (Makovey vd, 2013).

Ürik asit bazı nörolojik bozukluklarda yararlı rol oynamaktadır. Bu hipotezi destekleyen argüman, çeşitli nörolojik bozuklukları olan hastalarda UA'nın düşük seviyede bulunmasından kaynaklanmasıdır. Parkinson hastalığının gelişme riski UA'nın daha yüksek konsantrasyonlarında düşüktür ve hastalığın ilerlemesini engellemede olumlu bir etkiye sahiptir (Bannon, 2011; Kumar vd, 2015). Ayrıca ürik asitin enfeksiyon ve diğer yaralanmalara karşı doğal bağışlık tepkimelerinde rol oynadığı gösterilmektedir (Jin vd, 2012).

Mevcut veriler, ürik asitin sadece bir antioksidan olarak değil kimyasal ortama bağlı olarak prooksidan gibi davranabileceğini de göstermektedir. Bir taraftan hücre dışı ortamda urat, özellikle askorbik asit veya tiyollerle kombine edildiğinde hidroksil radikalini, singlet oksijeni ve peroksinitriti süpürebilmektedir (de Oliveira ve Burini, 2012; Pasalic vd, 2012). Öte yandan ürik asit, hidrofobik ortamda antioksidan yeteneğini kaybeder. Dahası tek başına veya peroksinitrit ile kombinasyon halinde serbest radikal oluşturabilmektedir (de Oliveira ve Burini, 2012).

### **2.8.1.2. Eksojen Antioksidanlar**

Eksojen kaynaklı antioksidan sistemleri metabolizmanın içerdiği bazı biyomoleküllerden çok insan ve hayvan organizmasında sentezi gerçekleşmeyen fakat bitkiler tarafından ve sekonder (ikincil) metabolitler olarak isimlendirilen maddelerdir (Köksal, 2007). Bu maddeler indirgeyici hücresel ajan olarak çalışan askorbik asit (C vitamini), radikal toplayıcı etkiye sahip β-karoten (vitamin A), zincir kırıcı antioksidan

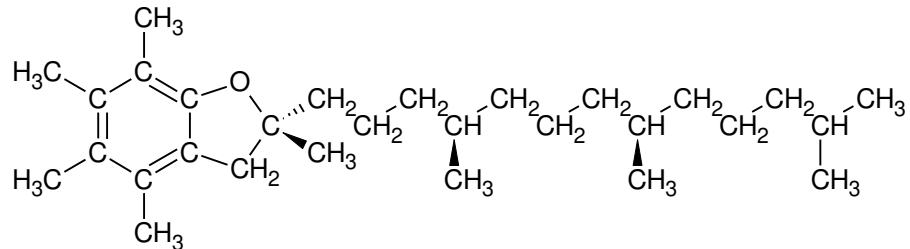
etkisi olan  $\alpha$ -tokoferol (E vitamini) ve polifenoller gibi biyomoleküller olarak söylenebilir (Tablo 2.14).

Radikallerin temizlenmesinde ve zincir reaksiyonlarının durdurulmasında etkili birer antioksidan olan bu biyomoleküller enzimatik olmayan yollarla etkinliklerini gösterirler (Akyüz, 2007).

Tablo 2. 14. Eksojen antioksidanlar (Aydemir ve Sarı, 2009; Sen ve Chakraborty, 2011)

Eksojen antioksidanlar		
Vitamin eksojen antioksidanlar	İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar	Diğer eksojen antioksidanlar
$\alpha$ -tokoferol (E vitamini)	Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten)	Karetonoidler
$\beta$ -karoten (A vitamini)	NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezipler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar)	Polifenoller
Askorbik asit (C vitamini)	Rekombinant süperoksit dismutaz	Flavonoidler
Folik asit (vitamin B <sub>9</sub> )	Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GPx aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein) Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin) Nötrofil adezyon inhibitörleri Sitokinler (TNF ve IL-1) Barbitüratlar Demir şelatörleri	

**E vitamini ( $\alpha$ -tokoferol):** E vitamini, tokoferoller (alfa, beta, gama ve delta) ve tokotrienoller olarak sınıflandırılmaktadır (Brigelius-Flohe ve Traber, 1999; Janson, 2006). Tokoferollerin arasında en güçlü biyolojik aktiviteye sahip ve antioksidan etkisi en yüksek olan  $\alpha$ -tokoferoldür. Tokoferollere antioksidan özellik kazandıran ve kimyasal olarak aktiflik katan kısım, yapısındaki fenolik hidroksil gruplu aromatik halkasıdır (Şekil 2.19) (Aydın vd, 2001).



Şekil 2.179.  $\alpha$ -tokoferolün kimyasal yapısı

Tokoferollerin antioksidan etki kapasitesi çok geniştir. Çünkü tokoferoller, radikallerin yok edilmesi, zincirin kırılması, baskılaması, bozulan yapıların onarılması ve endojen savunma sistemlerinin güçlendirilmesi gibi mekanizmaları kullanabilmektedir (Kizhakekuttu ve Widlansky, 2010). Tokoferollerle lipit peroksil radikalleri kimyasal etkileşime girerek tokoferoksil radikallerini meydana getirip lipit peroksidasyon zincir reaksiyonlarını durdurmaktadır. Bu nedenle zincir kırıcı antioksidan olarak da bilinmektedir (Akın, 2019).

E vitamininin moleküler ve hücrel etkileri; membranlara ya da proteinlere serbest radikallerin ve nitrik oksitin zarar vermesini önlemek için bunları ortamdaki süpürmek, yalnızca bir antioksidan olarak etki göstermek (Traber ve Atkinson, 2007) veya spesifik enzimler ile transkripsiyon faktörleriyle etkileşime girerek ve onları düzenleyerek, membran ve lipit alanları gibi hücrel yapıları korumaktır (Zingg ve Azzi, 2004).

$\alpha$ -Tokoferol, membranın akışkanlığını ya da spesifik lipitlerdeki değişiklikleri düzenler. Trombositlerde membran akışkanlığını azaltır (Tengerdy, 1990). Hücrenin membranında antioksidan olarak  $\alpha$ -tokoferol görev alırken, hücre içindeyse antioksidan görevini glutatyon peroksidaz gerçekleştirmektedir. Glutatyonun aktive olması için selenyuma ihtiyacı vardır (Gutteridge, 1995; Hoekstra, 1975; Vallyathan vd, 1997). Selenyum metabolizmasındaysa  $\alpha$ -tokoferol görev almaktadır. Bu nedenle glutatyon peroksidaz ve  $\alpha$ -tokoferol birbirini tamamlamaktadır (El-Demerdash, 2004). Fagositoz sırasında nötrofiller ve makrofajların solunumuyla sentezlenen serbest radikallerin saldırısına karşı  $\alpha$ -tokoferol, glutatyon peroksidazla birlikte fagositik hücreleri ve etrafındaki dokuları korumaktadır (McDowell vd, 1996).

$\alpha$ -Tokoferolün antioksidan etkisi hücre zarında yer alan yağ asitlerinin hasara uğramasına karşı korumaktır (Traber ve Atkinson, 2007).  $\alpha$ -Tokoferol, hücre ve hücre içi organellerin membranlarının lipit fazında zincir kıran bir antioksidandır ve serbest radikal temizleyicisidir (Niu vd, 2009). Oksitlenebilen lipitleri koruyarak zarın özelliklerinin bozulmasına engel olan tokoferoller, özel membran bölgelerine yerleşen reseptörleri ve sinyal yollarını değiştirebilmektedir (Tengerdy, 1990). Membran fosfolipitlerinden ya da lipoproteinlerde yer alan çoklu doymamış yağ asitlerinden sentezlenen peroksil radikalleriyle, sabit bir lipit peroksit vermek amacıyla etkileşime giren  $\alpha$ -tokoferol, bu kimyasal etkileşim ile zarar verici özellikteki lipit serbest radikallerini azaltmaktadır.

Bunun sonucunda dokuları, serbest radikallerin hasar veren etkilerinden korumuş olmaktadır (Chew, 1996).  $\alpha$ -Tokoferol, lipoprotein reseptörlerinin üretimini düzenlemektedir (Tengerdy, 1990).

Plazma ve düşük yoğunlukta olan lipoproteinlerde başlıca ve en kuvvetli yağda çözünebilen antioksidan  $\alpha$ -tokoferoldür (Singh vd, 2005). İn vitro ortamda yapılan araştırmalarda, düşük yoğunlukta olan lipoproteinlerin lipit peroksidasyonunu engelleyen antioksidan etkisinin nedeninin,  $\alpha$ -tokoferolün yağda çözünebilir olması ve öncelikle lipoproteinlere dahil edilmesi olduğu görülmüştür (Thomas ve Stocker, 2000). Ayrıca düşük yoğunlukta olan lipoproteinlerin oksidasyonunu ve arteriyel hasara uğramasına engel olarak aterosklerozun azalmasını da sağladığı tespit edilmiştir (McDowell vd, 1996).

Lipit peroksidasyonuna karşı koruyucu etki göstermesinin yanı sıra  $\alpha$ -tokoferol, hummoral ve hücre aracılı bağışıklık üzerinde de düzenleyici etki göstermektedir (Niu vd, 2009). Büyüme ve farklılaşmaların düzenlenmesinde protein kinaz C enzimi anahtar sinyal molekülü olarak rol alır. Çeşitli hücre tiplerinde  $\alpha$ -tokoferolün, protein kinaz C'yi inhibe ettiği görülmüştür. Bu durum trombosit agregasyonunun (bir nevi toplanma), endotel hücrelerde nitrik oksit sentezinin ve nötrofil ile makrofajlarda süperoksit sentezinin inhibe edilmesine neden olmaktadır. Bu olay, protein kinaz C işlevlerinin aktive edildiği formunun yer aldığı membranlarda antioksidan bir olaydır (Traber ve Atkinson, 2007).

$\alpha$ -Tokoferolün hücresel etkileri, antioksidan etkilerinin ötesine geçebilir. Doku rejenerasyonu,  $\alpha$ -tokoferol ve selenyumun en önemli etkisi olarak söylenebilmektedir (McDowell vd, 1996). Yaşlanma sürecinde oksidatif strese karşı beyindeki sinir sistemini koruyan  $\alpha$ -tokoferol, bu şekilde bilişsel fonksiyonların azalmasının önüne geçmektedir (Azzi, 2007).

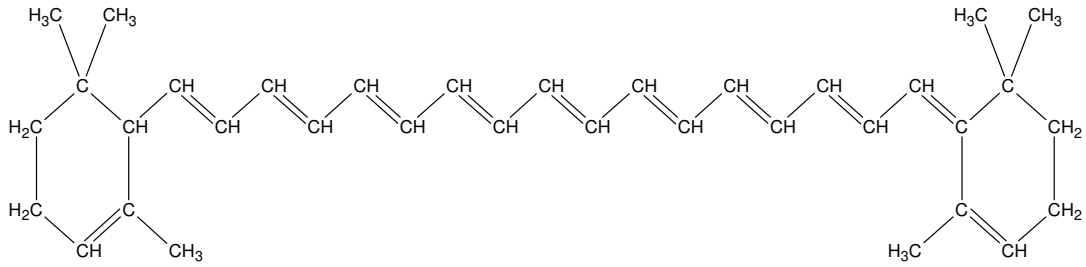
Yapılan araştırmalarda, karayolu taşımacılığı esnasında hayvanın kanındaki doku hasarının  $\alpha$ -tokoferol ilavesiyle azaldığı görülmektedir (Young vd, 2003). Başka bir çalışmada, ette protein oksidasyonuna ve renk bozukluğuna karşı korumada  $\alpha$ -tokoferolün etkin olduğu ve etin özelliklerini iyileştirdiği tespit edilmektedir (Morán vd, 2012). Ayrıca  $\beta$ -karoten ve askorbik asitle beraber kullanılan  $\alpha$ -tokoferolün, tümörlere karşı bağışıklık yanıtını güçlendirdiği ve kansere engel olmaya da katkı sağladığı bildirilmektedir (Tengerdy, 1990).

**A vitamini:** Bir ucunda  $\beta$ -iyonon halkası ve diğer ucunda da bir alkol grubu olan hidrokarbon zinciri A vitamini olarak tanımlanmaktadır.

Retinol, retinal, retinoik asit ve  $\beta$ -karoten (Şekil 2.20) gibi biyolojik bakımdan aktif olan bu moleküllere A vitamini denilmektedir.

Bunlardan A vitaminin özelliğini tam anlamıyla gösteren retinoldür (Yıldız, 2001). Hayvanlarda retinolün uzun zincirli yağ asidi esterleri şeklinde yer alırken, bitkilerdeyse bir provitamin olan  $\beta$ -karoten şeklinde bulunmakta ve bitkilerde kloroplastın bir bileşeni olarak bildirilmektedir (Akın, 2019). Sarı, turuncu sebze ve meyvelerde, yeşil sebzelerde, havuç, yeşil ve kurutulmuş yoncada  $\beta$ -karoten çok fazla miktarda yer almaktadır (Diplock, 1998).

A vitamininin ön maddesi olan ve karotenoidlerin en önemlisi  $\beta$ -karotendir. Karbon zincirinin aldehit uçlarında birleşmiş iki molekül retinalden oluşan  $\beta$ -karoten, bitkisel dokularda  $\alpha$  ve  $\gamma$ -karotenin bulunma oranına göre daha fazla yer almaktadır.  $\beta$ -Karoten, A vitaminine çevrilirken önemli oranda kayıplar olmaktadır. Bu nedenle besinlerden alınan  $\beta$ -karotenin tamamı A vitaminine dönüştürülemez.  $\beta$ -karotenin A vitamini aktivitesi retinolle kıyaslandığında, retinolün altıda biri kadar olduğu belirlenmektedir. Gıdalarla alınan  $\beta$ -karoten bağırsaklardan emilmektedir ve bağırsak mukoza hücrelerine gitmektedir. Burada yer alan karotinazlar,  $\beta$ -karoteni oksidatif olarak iki molekül retinale parçalamaktadır. (Bragadóttir, 2001).

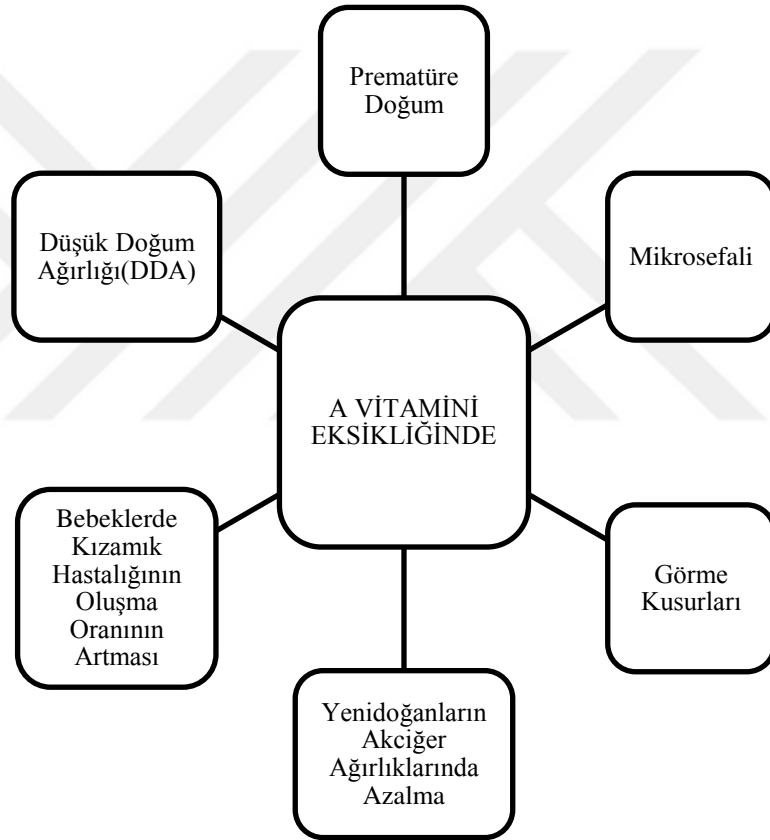


Şekil 2.2018.  $\beta$ -karoten kimyasal yapısı

Tekli oksijenin radikal etkisini en etkin şekilde inhibe eden  $\beta$ -karoten, böylece enzimatik savunma mekanizmasında boşluk oluştuğunda bu açığı kapatmaktadır. Başka birçok radikalle de mücadele etmekte ve yağda çözünme özelliğiyle de  $\beta$ -karoten, hücrenin lipit membranında E vitaminiyle beraber fonksiyon göstermektedir. A vitamininin metabolik ön maddesi olan  $\beta$ -karoten, DNA'yı tahribattan koruyarak kanserin meydana gelmesini önlemektedir ve tekli oksijenin radikalik etkisini bastırabilmektedir. Süperoksit radikalini temizlemekte, nitrik oksitin oksidasyonu

meydana gelen nitrojen dioksit ve peroksit radikalleriyle doğrudan etkileşime girerek antioksidan görevi görmektedir (Haegele vd, 2000; Khopde vd, 1998; Yanbeyi, 1999; Yıldız, 2001).

$\beta$ -Karoten, en iyi singlet oksijen süpürücüdür (Pham-Huy vd, 2008). Kansere üzerindeki etkisinin yanı sıra, büyüme, üreme, görme ve immün sistem açısından önemlidir (Ashok ve Ali, 1999). Porfiri hastalarında ışık nedeniyle meydana gelen deri tahribatına karşı savunma için de  $\beta$ -karoten kullanılmaktadır (Mathews-Roth, 1987).  $\beta$ -karoten, askorbik asit gibi antioksidan etki göstermesinin yanı sıra prooksidan etki de gösterebilmektedir. (Aksu, 2006). A vitamini eksikliğinde bazı rahatsızlıklar görülebilmektedir (Şekil 2.21).

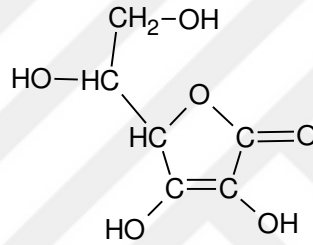


Şekil 20.21. A vitamini eksikliğinde meydana gelen rahatsızlıklar (Evcil ve Malas, 2008)

**C vitamini (askorbik asit):** Kimyasal adı askorbik asit olan C vitamini doğada en yaygın bulunan vitamin olup kapalı formülü  $C_6H_8O_6$  şeklindedir. Zayıf asidik bir karaktere sahip olan C vitamini suda çözünebilen bir ketolaktondur. Tüm fotosentetik ökaryotlarda (algler, karayosunları da dahil) yer almaktadır (Loewus, 1980). Bitkilerde askorbik asitin biyosentezinin mitokondride gerçekleştiği düşünülmekte ve buradan hücrenin diğer bölgelerine gönderilmektedir (Doğan, 2005). Hayvanların genelinde

glikozdan C vitamini sentezlenebilirken insanlarda ve bazı hayvanlarda üretilemez, gıdalarda almaları gerekmektedir (Dave ve Shah, 1997).

Canlı dokularda oksidasyon ve redüksiyon görevleri olan askorbik asit beyaz, kristal şekilde bulunmaktadır. Üç tür izomere sahiptir. Bunlar; L-askorbik asit (Şekil 2.22), D-askorbik asit ve D-izo-askorbik asit (eritorbik asit)'tir. Bu izomerlerden yalnızca biyolojik aktiviteye sahip olan L-Askorbik asittir (Dizlek ve Hülya, 2007). D izomerinin aktivitesi, L izomerinin aktivitesinin yaklaşık olarak %10'u kadardır. D-izo-askorbik asitin ise vitamin aktivitesi olmamasının yanı sıra birçok gıda redoks sistemlerinde L-askorbik asit gibi davranması nedeniyle gıdalarda antioksidan olarak tercih edilmektedir (Kırca ve Cemeroglu, 2001).

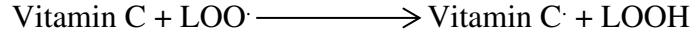


Şekil 2.192. L-askorbik asitin kimyasal yapısı (Gökhan, 2007)

Askorbik asit, kollajen, karnitin ve nörotransmitterin biyolojik olarak üretiminde görev almaktadır (Li ve Schellhorn, 2007). Elektronlarını rahatlıkla verebilmesinden dolayı oluşan antioksidan etkisi, askorbik asitin en önemli biyokimyasal özelliğidir. Birçok reaktif oksijen türlerini indirgeyici ajan olarak çalışmaktadır.  $O_2^-$ , hidroperoksil,  $^1O_2$ ,  $O_3$ ,  $ONOO^-$ , nitrojen dioksit ve  $HOCl$  gibi ROT'ları ve RN'leri kolaylıkla temizlemektedir. Böylece oksidatif hasara karşı savunma göstermektedir. Hücre zarındaki lipitlerde çözünen radikallerin temizlenmesi amacıyla üretilmiş olan  $\alpha$ -tokoferoksil radikallerini tekrar aktif formu olan  $\alpha$ -tokoferole indirgenmesini sağlamaktadır. Böylece koantioksidan da görev yapabilmektedir (Anıl, 2006; Carr ve Frei, 1999; Gök ve Serteser, 2003). Bunun yanı sıra askorbik asitin redoks durumu hücre içi GSH aracılığıyla kontrol edilmekte olup bu durum bize gösteriyor ki E vitaminin devamı ve rejenerasyonu için C vitaminine ve glutatyona ihtiyaç vardır (Chanoine vd, 1991). Ayrıca oksijen tutma yeteneğine de sahiptir. Suda çözünen bir antioksidan olmasına rağmen lipit peroksidasyonunu başlatan radikalleri

süpürmektedir ve lipitlerin, membranın oksidatif hasardan korunmasını sağlamaktadır (Akın, 2019). Böylece ateroskleroza karşı savunmada rol almaktadır.

Tirozin yıkımında, safra oluşumunda, kollajen üretiminde, epinefrin üretiminde ve birçok hidroksilasyon tepkimelerinde indirgeyici ajan olarak görev yapmaktadır (Şahinli, 2008). C vitamini sulu peroksil radikalleriyle etkileşime girerek antioksidan görevini gerçekleştirmektedir (Döğer, 2010).



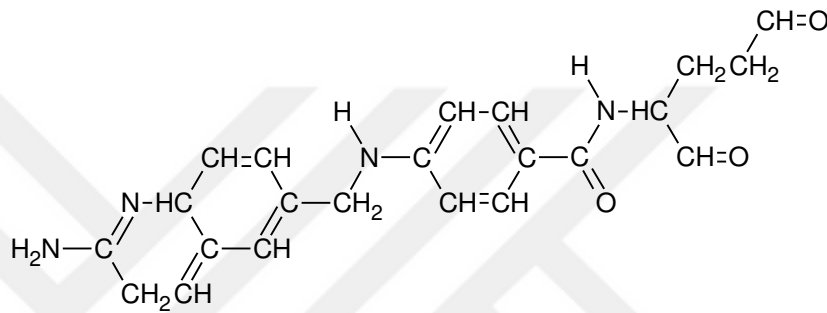
Antioksidan etkiye sahip olan askorbik asitin, oksidan etki gösterdiği durumlar da bulunmaktadır. Askorbik asit, ferri demiri indirgeyerek ferro demire çevirmektedir. Bunun sonucunda ferro demir, fenton reaksiyonuyla hidrojen peroksitle etkileşime girerek hidroksil radikalini meydana getirmektedir. Bu durum askorbik asiti, serbest radikal reaksiyonları için önemli bir katalist ya da prooksidan yapmaktadır (Franke vd, 2005; Polat ve Tokur, 2000). Fakat bu etkisini düşük konsantrasyonlarda gösterirken, yüksek konsantrasyonlardaysa antioksidan etki göstermektedir. Askorbik asitin sulu fazdayken önemli bir zincir kırıcı antioksidan olduğu belirtilmektedir (Odum ve Wakwe, 2012). Aynı zamanda yaraların iyileşmesinde ve bağışıklığın güçlenmesinde etkili olmaktadır (Mustafa vd, 1997). Et ürünlerine askorbik asit eklenerek insan beslenmesine ve ürünün renginin iyileşmesi ile raf ömrünün uzamasına katkıda bulunduğu belirtilmektedir (Özer, 2008).

**Folik asit (vitamin B<sub>9</sub>):** Birbirine bağlanmış halde olan pteridin bazı, p-amino benzoik asit (PABA) ve glutamik asitten oluşan folik asitin (Şekil 2.23) biyolojik aktif formu tetrahidrofolik asit (THF)'tir (Bragadóttir, 2001). Suda çözünen ve vitamin B grubuna dahil olan bir vitamindir (Hussein vd, 2012). En önemli ihtiyaç noktalarından biri nükleik asit metabolizması olup DNA üretiminde gerekmektedir. Hem üretimindeki tek karbon taşıyıcısı olarak görev almaktadır. Kırmızı kan hücrelerinin sentezi ve proteinlerin enerjiye çevrilmesi için ihtiyaç duyulan bir vitamindir (Bragadóttir, 2001; Hussein vd, 2012). Antihemorajik (kanama durdurucu) bir vitamin olan folik asit aynı zamanda antianemik etkiye sahip olmasından dolayı B12 vitaminiyle de yakından ilişkilidir (Bragadóttir, 2001). Folik asit, gebelik ve çocukluk gibi büyüme durumları ile hücre bölünmesi sürecinde görev almaktadır (Hussein vd, 2012). Bu alandaki etkisi hücre bölünme ve büyümedeki maddelerin bağlı olduğu enzimlerin pürin ve pirimidin sentezine katılmasından kaynaklanmaktadır. Vücuttaki

folik asit miktarı, yaraların iyileşme sürecini ve sindirim sistemi işlevlerinin devamını da etkilemektedir (Bragadóttir, 2001).

Folik asit reaktif oksijen türlerini temizleyen çok kuvvetli bir antioksidandır (Ebaid vd, 2013).

Hem tek başına hem de diğer B vitaminleriyle beraber folik asitin plazma homosistein düzeyini azaltmada etkili olmaktadır . Aynı zamanda C vitamini ile E vitamini gibi antioksidan vitaminler homosistein nedenli oksidatif vasküler hasarı önlemede yardımcı görev alabilmektedir (Koolman ve Röhm, 2005).

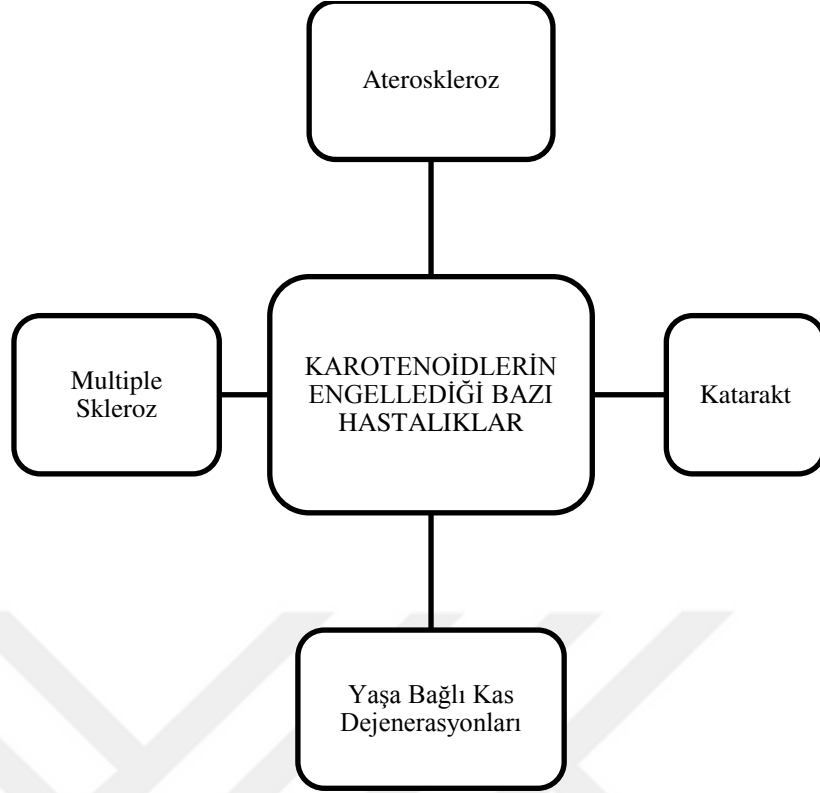


Şekil 2.203. Folik asitin kimyasal yapısı (Koolman ve Röhm, 2005)

**Karotenoidler:** Bitkiler tarafından üretilebilirken hayvanlar tarafından üretilmemektedir. Doğal bir pigmenttir (Gaziano ve Hennekens, 1993). Sarı, turuncu ya da kırmızı renklerinin nedeni yapısında yer alan çifte bağlardır. Yapısında bulunan konjuge çift bağlar, karotenoidlerin kimyasal, biyokimyasal ve fiziksel özelliklerini etkilemektedir (de Quirós ve Costa, 2006).

Tetraterpenoidlerin bir grubu olan karotenoidler, iki sınıfa ayrılmaktadır. Bunlar; karotenler ve ksantofillerdir. Karotenler hidrokarbon karotenoidlerken, ksantofiller ise hidroksil, metoksil, karboksil, keto ya da epoksi grupları halinde oksijen ihtiva etmektedirler. Karotenlere örnek, likopen ile β-karoten verilebilmektedir. Ksantofillere örnek ise yeşil yapraklarda yer alan lutein ile mısırdaki bulunan zeaksantin gösterilebilmektedir (Stahl ve Sies, 1996).

Karotenoidler, antioksidan aktiviteye sahiptirler ve bu aktivitesi peroksil radikalleri ile singlet oksijeni tutmalarından kaynaklanmaktadır (Stahl ve Sies, 1996). Antioksidan aktiviteleri, karotenoidlerin bazı hastalıkları önlemesini sağlamaktadır (Şekil 2.24).



Şekil 2.214. Karotenoidlerin engellediği bazı hastalıklar (Stahl ve Sies, 1996)

Doğal karotenoidler arasında en etkili singlet oksijen tutucu olan likopendir (Krinsky, 1998). Düşük oksijen konsantrasyonundan kaynaklı gerilimlerde peroksil radikali tutucusu olarak  $\beta$ -karoten görev almaktadır.  $\alpha$ -Tokoferol ile  $\beta$ -karotenin antioksidan aktiviteleri kıyaslandığında,  $\beta$ -karotenin daha düşük düzeyde antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmektedir (Lessin vd, 1997).

Renkli meyve ve sebzeler karotenoidleri içermektedir.  $\alpha$  ve  $\beta$ -karotenler, şeftali, havuç, bal kabağı ve patates gibi bitkilerde bulunurken likopen ise domates, kavun, ve greyfurtta bulunmaktadır (Lessin vd, 1997).

Kullanımı en yaygın olan  $\beta$ -karoten aynı zamanda bir A vitamini öncülü olup vücuttaki A vitaminin oluşmasında görev almaktadır (Gaziano ve Hennekens, 1993; Liebler, 1993).

**Polifenoller:** Bitkilerde bulunan fenolik bileşiklerin ya da polifenollerin 8000'den fazla çeşidi yer almaktadır. Fenolik bileşenlerinin sınıfları ve temel iskeletleri Tablo 2.15'de gösterilmektedir. Antioksidan, antimutajenik ve serbest radikal süpürme etkilerine sahiptirler (Rice, 1999). Antioksidan özelliği fazla olan polifenollerin yapısında benzen halkası artırma bulunmaktadır.

Bu antioksidan etkisi insan sağlığının korunması ve numunelerin dayanıklılığını artırma bakımından çok önemlidir (Barak ve Yaşar, 2008). Yapılan epidemiyolojik araştırmalarda çok miktarda fenolik bileşiklerin kullanılması kardiyovasküler rahatsızlıkların ve bazı kanser türlerinin azaltılmasında etkili olduğu görölmektedir (Rice, 1999). Sahip oldukları antioksidan özelliği sayesinde oksijenin bulunduğu ortamlarda lipitlerin yükseltgenmesini önlemektedirler. Bu durum göstermektedir ki zeytin yağının içerdiği polifenol düzeyi, zeytin yağı kalitesini direkt olarak etkilemektedir (Barak ve Yaşar, 2008).

Tablo 2.15. Fenolik bileşenlerin sınıfları (Rice, 1999)

Sınıf	Temel iskelet
Basit fenoller	C <sub>6</sub>
Benzokinonlar	C <sub>6</sub>
Fenolik asitler	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>
Asetofenoller	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>
Fenil asetik asitler	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>
Hidroksisinamik asitler	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>
Fenil propenler	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>
Kumarinler	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>
Kromonlar	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>
Antrakinonlar	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>
Flavonoidler	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>

**Flavonoidler:** Bitkisel kaynaklı doğal bir şekilde meydana gelen flavonoidler hayvanlar tarafından üretilemez (İnan, 2015). Yaklaşık olarak 4000'ini aşan sayıda flavonoid türü tespit edilmiş olup yapıları ortaya çıkarılmaktadır (Döğer, 2010). Gıda sanayisinde besinlerin bozunmasına engel olmak, lipit ve vitaminlerin parçalanmasını ve besinlerin rengini iyileştirmek için kullanılan doğal antioksidanlardan olan flavonoidler, O<sub>2</sub><sup>-</sup> ve HO• radikallerini süpürdüğu bunun yanı sıra lipit peroksit radikallerini indirgeyerek lipit peroksidasyonunun inhibasyonunu sağladığı gösterilmektedir (İnan, 2015). Yapılan çalışmalarda bu bileşiklerin, sulu fazda oksijen kaynaklı radikallerin neden olduğu membran lipitlerinin peroksidasyonuna  $\alpha$ - tokoferole kıyasla daha iyi engel olan bir lipofilik antioksidan olduğunu ortaya koymaktadır (Terao vd, 1994). Flavonoid radikalleri, alkil peroksil ve O<sub>2</sub><sup>-</sup> radikallerine kıyasla daha az düzeyde bir indirgenme potansiyeline sahip olduğu görölmektedir. Bu nedenle ortamdaki bu oksit türlerini aktif dışı bırakıp, reaksiyonlarının neden olabileceği olası hasarları engellemektedir. Ayrıca flavonoidlerin antioksidan etkisiyle, kanseri önlediği belirtilmektedir.

Quercetin, kendine özgü bir karsinojen bileşik olan, polinükleer aromatik hidrokarbon benzo(a)pirenin (BP) mutajenik aktivitesini inhibisyona uğrattığı tespit edilmiştir (İnan, 2015).

Flavonoidler, bitkilerin sekonder metabolitleri olup önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Flavonoidlerin sınıfları ve bazı örnekleri Tablo 2.16'da gösterilmektedir. Bu bileşiklerin yapı iskeletleri, propan zincirleriyle birlikte iki adet fenil grubunun bağlanmasıyla meydana gelmektedir. Yapısını oluşturan karbon atomu sayısı 15'tir. Difetilpropan olarak bilinen ve C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> olarak gösterilen yapı formunda bulunmaktadır. Fenil gruplarının propan zincirine çeşitli pozisyonlarda bağlanmasıyla farklı flavonoid türleri oluşmaktadır (İnan, 2015).

Flavonoidlerin alt gruplarını belirleyen ölçüt, yapısındaki hetero halkanın yükseltgenme derecesidir (İnan, 2015).

Tablo 2.16. Flavonoidlerin sınıfları ve örnekler (İnan, 2015)

<b>Flavonoid sınıfları</b>	<b>Örnekler</b>
Flavonlar	Apigenin Luteolin
Flavononlar	Quercetin Myricetin
Flavononlar	Naringenin
Flavonoller	Fussin
Flavan-3-oller (katekinler)	Katekin
Flavan-3-4-dioller	Leucocyanidin
Antosiyanidinler	Cyanidin

Flavonoidler, ROT ve RN yakalama yeteneğine sahiptir. Reaktif oksijen türlerinin meydana gelmesini azaltan miyokondriyal süksinoksidaz, NADH-oksidaz ve araşidonik asit metabolizmasına katılan enzimler gibi redoks reaksiyonlarını kataliz eden enzimleri etkileyerek etkin bir görev yapmaktadır (Peterson ve Dwyer, 1998). Ayrıca flavonoidler, ateroskleroz oluşumuna neden olan LDL peroksidasyonunu engellemektedir (Döğer, 2010).

Meyvelerde çok fazla bulunmasa da tahıl ve otlarda bulunan flavonların en fazla bilinen örnekleri apigenin ve luteolin olmaktadır. Maydanoz apigenini ihtiva ederken, luteolinse tahıl ve otlarda yer almaktadır. Flavonlar, yüksek konsantrasyonlarda ya da metal iyonlarıyla kompleks meydana getirdiklerinde bitki dokusunun rengini ve lezzetini olumlu yönde etkilemektedirler. Flavonollerin en bilinen örnekleri kuersetin ve kaemferoldür. Meyve ile sebzelerde kuersetin çokça bulunmaktadır (Pietta ve Simonetti, 1999).

Araştırmalarda, flavonollerin yapısındaki hidroksil gruplarının yerleşim Őekilleri antioksidatif aktiflik ile ilişkili olduğu grlmektedir. Quercetin'in de morin, kaemferol ve luteolin kadar antioksidan etkiye sahip olduğu belirtilmektedir (Pratt ve Hudson, 1990).

Östrojenik aktiviteleriyle bilinen izoflavonoidlerin en bilinen bileşikleri, daidzein ile genisteindir. Baklagillerde çokça ihtiva edilmektedir. Daidzein ve genistein bileşikleri için en önemli kaynaklardan soya fasülyesi söylenebilmektedir. Asıl kaynağı turunçgiller olan ve flavonların dihidro türevi flavononlardır. Nane ile kimyon hesperidin içermektedir. Doğal bitki pigmentleri olan antosiyanidinler dutlarda, kirazda, eriklerde, kırmızı lahanada, patlıcanda ve turplarda kırmızı ve mavi rengi vermektedir. Renkleri pH'a bağlı olup meyvelerdeki antisiyonin içeriği meyvenin olgunlaşmasıyla çoğunlukla artış göstermektedir. İçecek ve gıdalarda renklendirici amaçlı kullanılmaktadır. Apigenidin ve siyanidin antosiyanidinlere önemli birer örnektir (Pietta ve Simonetti, 1999).

### **2.8.2. Yapay (Sentetik) Antioksidanlar**

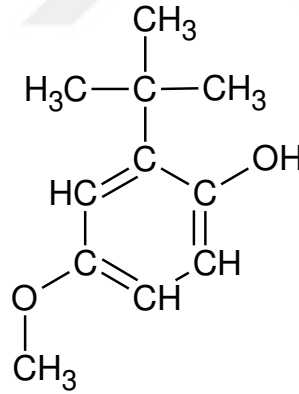
Bütillendirilmiş hidroksianisol (BHA), bütillendirilmiş hidroksitoluen (BHT), tersiyerbtilhidrokinon (TBHQ), propil gallat (PG) ve troloks başlıca kullanılan yapay antioksidanlardır (Mavi vd, 2005). Bu antioksidanların bazı yan etkileri bulunmaktadır. Yapılan araştırmalarda, BHT'nin nontoksik özelliğinin yanı sıra, karaciğerde sitokrom P-450 sisteminin zarar görmesine neden olduğu tespit edilmektedir. Fareler üzerinde yapılan deneylerde BHT'nin yüksek düzeyde verilmesi sonucunda karaciğerinde hasar meydana getirdiği grlmektedir. Başka bir alışmadaysa BHT gibi yapay antioksidanların çok alınması halinde vücuttan atılamadığı ve adipoz dokuda depo edildiği grlmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1989). Çok geniş bir kullanım alanına sahip olan yapay antioksidanlar, yan etkileri olmaları nedeniyle son dönemlerde kullanımının sınırlandırılmasına karar verilmektedir (Döğer, 2010).

#### **2.8.2.1. Bütillendirilmiş Hidroksianisol (BHA)**

BHA, beyaz renkli, mumsu parçacıklar halinde katı bir yapıya sahiptir. Erime noktası 48-63°C olup hayvansal ve bitkisel yağlarda çözünebilir yapay antioksidanlardır. Ancak suda çözünmemektedir. Günümüzde birçok katı ve sıvı yağlarda kullanılmaktadır (Döğer, 2010).

Bazen tersiyer bütül grubunun, fenolik (-OH) grubu üzerinde koruma oluşturduğu görülmektedir. Böylece molekülü dışardan oluşabilecek reaksiyonlara karşı korumakta ve uçuculuğunun daha az olmasını sağlayıp, yağdaki çözünürlüğünün daha fazla olduğu forma çevirmektedir. BHA'ya "engelleyci fenol" de denilmektedir. Bunun nedeni yapısında bulunan hidroksil grubuna karşı orto ya da meta pozisyonunda bulunan tersiyer bütül grubudur. Bu sterik engelleme, tersiyer bütül grubun fenolik yapının antioksidatif aktivitesiyle girişim oluşturmaktadır. Bu durum BHA'nın yağlardaki etkisinin az olmasına sebep olmaktadır (Eken, 2007). BHA'nın kimyasal yapısı Şekil 2.25'de gösterilmektedir.

Bitkisel yağlarda BHA, etkin bir antioksidan olmasa da çoğunlukla diğer antioksidanlarla (gallatlar gibi) birlikte kullanılarak fenolik yapıdaki antioksidanın sinerjistik etkisi ve BHA'nın ürünü koruyucu etkisinden yararlanılmaktadır. BHA, yüksek sıcaklık işlemlerinin (kızartma, fırınlama gibi) uygulanması sonucunda çok belirgin keskin bir koku meydana getirmektedir. BHA'nın etkili olduğu nokta uçucu yağların renginin tadının ve kokusunun korunmasıdır. Tahıl ve şeker içeren ürünlerde kullanımı tercih edilmektedir. BHT'yle kullanımı sinerjistik bir etki oluşturmaktadır (Döğer, 2010).



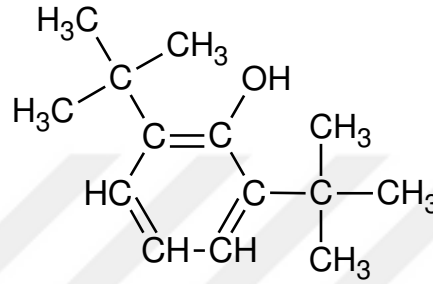
Şekil 2.225. BHA'nın kimyasal yapısı

### 2.8.2.2. Bütillendirilmiş Hidroksitoluen (BHT)

Büyük oranda BHA'ya benzerlik gösteren BHT (Şekil 2.26), beyaz renkli kristal bir görünüme sahiptir. Bütillendirilmiş hidroksitoluenin kapalı formülü  $C_{15}H_{24}O$  olup bir diğer adı da 2,6-ditersiyer bütül-4-metil fenol'dür. İlk kez 1954 yılında gliseridlerin korunmasında etkili bir antioksidan olduğu anlaşılmasıyla BHT, besinlerde kullanılan yağlar ve diğer gıdaların korunması amacıyla tercih edilmeye başlanmıştır (Döğer, 2010).

Yağlar ve yağ asitlerini oksidasyona uğraması sonucu okside olmuş lipitler ile girdiği reaksiyon sonucunda peroksit radikallerinin etkisini ortadan kaldırmaktadır (Çöllü, 2007).

Koruyucu aktivitesi BHA'ya benzer şekilde az da olsa başka antioksidanlarla birlikte kullanılmasıyla yağ içeren gıdaların korunmasında faydalanılmaktadır. BHA ve BHT'nin beraber kullanımıyla sinerjistik bir etki meydana gelmektedir. Bu sinerjistik etki, fındık, ceviz gibi yağ içeren besinlerin oksidatif hasarlarını önlemek için kullanımı çok etkin olmaktadır.

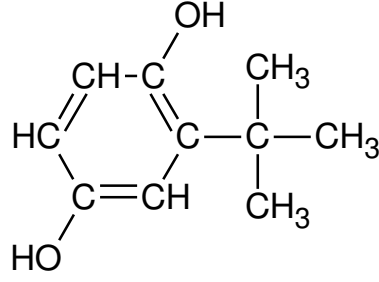


Şekil 0.236. BHT'nin kimyasal yapısı (Döger, 2010)

### 2.8.2.3. Tersiyer Bütül Hidrokinon (TBHQ)

Suda çok az özünen TBHQ (Şekil 2.27), yağlarda orta düzeyde çözünmektedir. Rengi sarımsı ya da kahverengi olup, kristal bir yapıya sahiptir. Erime noktası ise 127°C'dir.

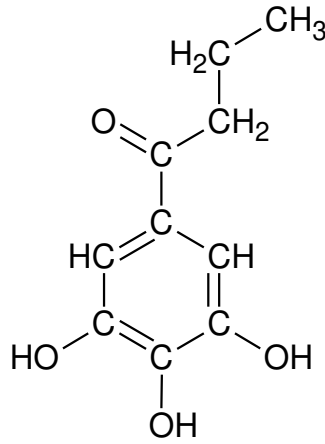
Kullanımına ilk kez 1972 yılında izin verilen TBHQ, monotersiyer bütül hidrokinon yapısında kendine has bir kokuya sahip yapay bir antioksidandır. Günümüzde TBHQ'nun bitkisel yağların stabilitesini artırabilmek amacıyla kullanımı için pek çok ülkede izin verilmektedir. Diğer antioksidanlara göre TBHQ'nun antioksidatif etkisi bitkisel yağlar üzerinde çok daha fazladır. Yenilebilir birçok hayvansal ve bitkisel yağlarda TBHQ oldukça etkili olan bir koruyucu antioksidandır. Ortamda bulunan demir metaline bağlı rengi değişime uğramaz ve eklendiği gıdaların rengi ile kokusunun korunmasını sağlamaktadır.



Şekil 0.247. TBHQ'nun kimyasal yapısı

#### 2.8.2.4. Propil Gallat (PG)

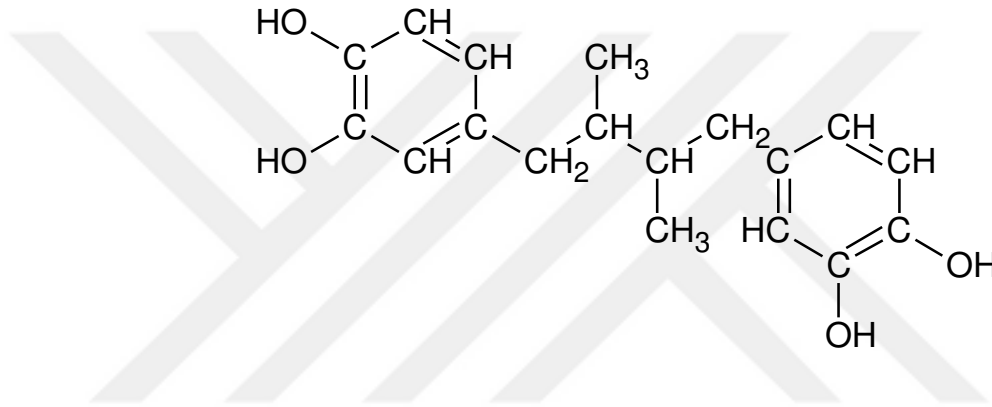
Ticari olarak gallik asidin propil alkolle esterifikasyonu sonucunda üretilen PG'nin rengi beyaz olup kristal toz halinde bir antioksidandır. Kimyasal yapısı Şekil 2.28'de gösterilmektedir. Suda az çözünürken, etanolde yüksek miktarda çözünmekte ve erime noktası 148°C'dir. Demir iyonlarıyla mavi-siyah renkli bir kompleks meydana getirmektedir. Bunun önüne geçebilmek için PG her zaman sitrik asitle beraber kullanılmaktadır. BHA ve BHT ile beraber iyi derecede sinerjistik etki göstermektedir. Propil gallatın antioksidan olarak kullanıldığı gıdalar; bitkisel ve hayvansal yağlar, et ürünleri, taze ve dondurulmuş salam ile sosislerdir (Döğer, 2010). Yağların, yiyeceklerin ve medikal preparatların tazeliği, besinin değerini, aromasını ve rengini koruyan, dengeleyen kullanımı yaygın olan bir antioksidandır (Zurita vd, 2007).



Şekil 2.258. Propil gallatın kimyasal yapısı

### 2.8.2.5. Nondihidroguayeretik Asit (NDGA)

*Lurrea divaricata* bitkisinden doğal olarak elde edildiği gibi yapay olarak da sentezlenebilmektedir. Fırın ürünlerinde, eterik yağlarda, domuz yağında ve balık yağlarında tercih edilmektedir. ABD’de uygulama şekli, limon asiti, tartarik asit ve askorbik asit gibi asitlerle birlikte kullanımı şeklindedir. Bazı ülkeler NDGA’nın gıdalara eklenmesine izin vermektedir. En önemli özelliği galatlardaki gibi ısıya duyarlı olması ve kalıntı demirle renk bozulmalarına sebep olmasıdır. Bu yapay antioksidanın kullanımı ülkemiz de dahil olmak üzere birçok ülkede yasaklanmaktadır (Döğer, 2010). Kimyasal yapısı Şekil 2.29’da gösterilmektedir.



Şekil 2.269. NDGA'nın kimyasal yapısı

## 2.9. Enzimler

Canlı organizmada meydana gelen kimyasal tepkimelerin hızlanmasını sağlayan biyolojik bir katalizör etkisi gösteren polimerik yapıya enzim adı verilmektedir (Çınar vd, 2017). Suda çözünebilir özelliğine sahip olan enzimler, etin midede sindirimiyle alakalı çalışmalar sonucunda tanınmıştır (Kırkbir, 2018). Enzim, meydana gelen kimyasal reaksiyonlardan olduğu gibi %100 verim sağlayarak çıkmaktadır. Enzim katalitik etkisinin kuvveti, yapay ve inorganik katalizörlere göre çok daha fazladır. Hem hızlı hem de spesifik bir şekilde katalizör etki gösteren enzimler, bu özellikleri nedeniyle doğal ortamlarının yanı sıra birçok alanda kullanılmasına olanak tanımaktadır (Tablo 2.17) (Lehninger vd, 2005). Uygun şartlar sağlandığında enzimler analitiksel, endüstriyel amaçla, tıbbi teşhis, tedavi ve ilaç üretiminde kullanılabilir (Wiseman, 1986). Bunun yanı sıra temizlik, gıda, deri ile tekstil sektörlerinde de yararlanılmaktadır.

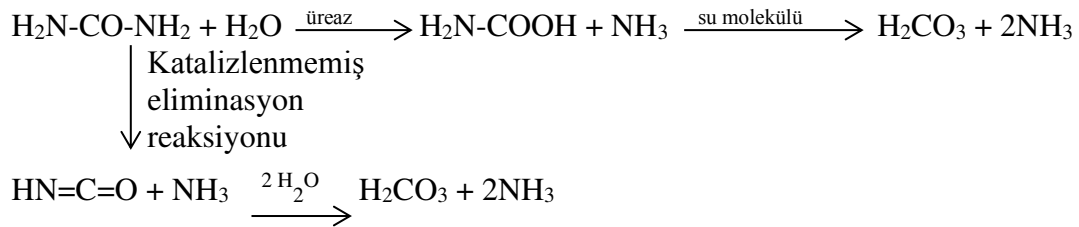
Gıdada pastörizasyon ile sterilizasyon işlemlerinin kontrolünde enzim tayinleri kullanılmaktadır (Çınar vd, 2017).

Tablo 2. 17. Bazı enzimlerin kullanım alanları (Kırkibir, 2018)

Enzim adı	Kullanım alanı
İnvertaz	Reçel ve şekerleme üretiminde
Selülaz	Narenciye sularında bulanıklık gidermede, mayalama işleminde şekerin fermente edilmesinde, lif oranı fazla ekmeklerin ekme hacminin düşük olması ve ekmeğin iç dokusunun bozulmasını önlemede
Laktaz	Süt ürünlerinin laktoz oranını ve gıda ürünlerinin tatlılık miktarının azalmasını sağlamada
Alfa amilaz	Maltoz, glukoz ve başka şeker gruplarının gıda alanında kullanımı için üretiminde, bira, unlu mamül üretiminde ve sirke fermentasyonunda
Beta-glukanaz	Kahvenin üretiminde oluşan midede sindirimi güç olan polisakkaritler olan müsilağların parçalanmasını ve kahve konsantresinin jelleşmeye uğramasını engellemede

Enzimler, 1926 yılında James Sumner ilk defa üreaz enzimini kristal bir protein olarak izole etmesiyle tanınmıştır (Balasubramanian ve Ponnuraj, 2010). Hidrolazlar sınıfında bir enzim olan üreaz enzimi, ürenin amonyakla karbondioksit hidrolizlenmesini sağlayan yapısında nikel bağlı olduğu bir metaloenzim olarak görülmektedir (Follmer vd, 2004).

Ürenin amonyak ve karbondioksit parçalanmasını katalizlediği üreaz (Şekil 2.30) enziminin bu tepkimesi katalizör olmadığına üre hidrolizi yavaş bir şekilde gerçekleşmekte olup meydana gelen ürünler ise amonyak ile siyanürik asittir. Tepkime katalizörün olduğu bir ortamda gerçekleşiyorsa meydana gelen ürünler, bu sefer amonyak ve karbonik asit olarak görülmektedir. Meydana gelen karbonik asit kendi kendine parçalanır ve amonyoğa dönüşür (Krajewska vd, 2001).

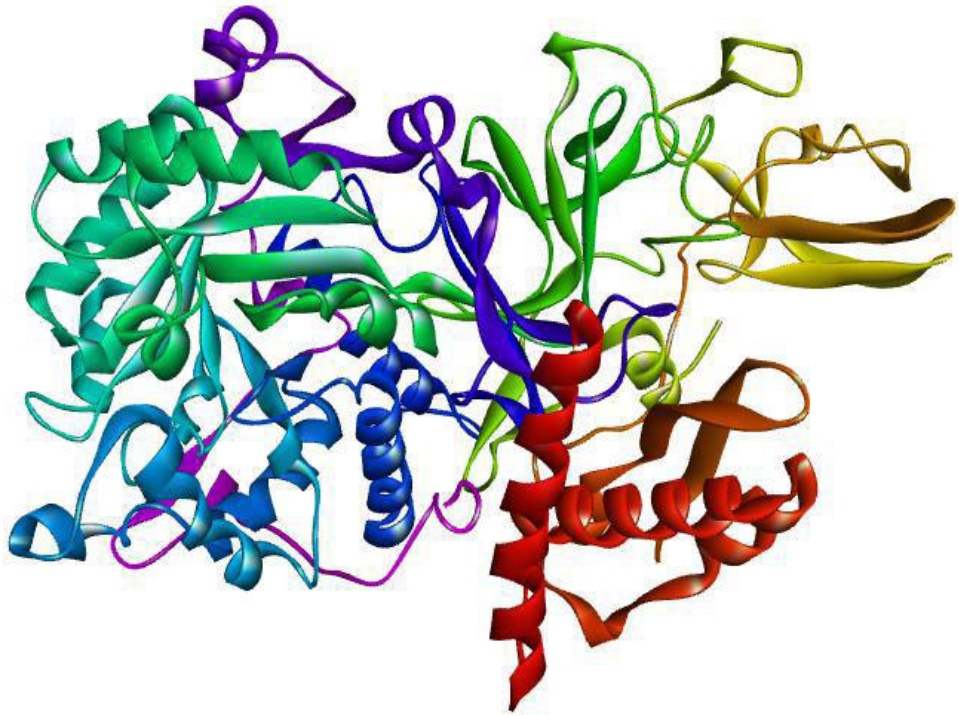


Şekil 2.3027. Üreaz katalizli reaksiyon (Krajewska vd, 2001)

Üreaz enziminin  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  olmak üzere üç alt birimi olup bu enzim bir heteropolimerdir ve aktif merkezi  $\alpha$  alt biriminde bulunmaktadır (Krajewska, 2009). Üreaz enziminin üç boyutlu yapısı Şekil 2.31’de gösterilmektedir.

Bitkilerde, bakterilerde ve funguslarda bulunan üreaz enzimi azot metabolizmasında etki göstererek bir savunma proteini olarak rol almaktadır (Sirko ve Brodzik, 2000). Bitkisel üreazların antifungal özellikleri de bulunmaktadır (Becker-Ritt vd, 2007). Yapılan çalışmalarda üreaz enziminin kan ile üre tayinlerinde biyosensör görevinde, sentetik böbreklerde ürenin kandan uzaklaştırılmasını sağlamak ve meyve sularıyla alkollü meyve ve içeceklerden ürenin uzaklaştırılmasında faydalanılmaktadır (Banerjee ve Aggarwal, 2013; Dindar vd, 2011; Faezi vd, 2004; Liu vd, 2012). Ayrıca;

- Mide ülserine sebep olan *Helicobacter pylori* bakterisinin çoğalması için pH 'ını 3'ten 7'ye çıkarması gerekir ve bunu üreaz sayesinde yapabilmektedir. Bu nedenle mide ülserinin tanısının konulmasında kullanılan ticari kitlerde üreaz varlığı baz alınması bu enzimin başka bir kullanım alanını göstermektedir (Marchetti vd, 1995).
- Biyolojik arıtma sistemleri atık sularda bulunan ürenin uzaklaştırılması için kullanılmakta ve bu amaçla uygulanan bu sistemde de üreaz ihtiva eden makroorganizmalar kullanılmaktadır (Dindar vd, 2011).
- Gıdaların üretimi sırasında meydana gelen ürenin uzaklaştırılması için üreazdan faydalanılmaktadır (Rajesh vd, 2005).



Şekil 2.31. Üreaz enziminin üç boyutlu yapı modeli (Çınar vd, 2017)

## 2.10. Oksidatif Stres

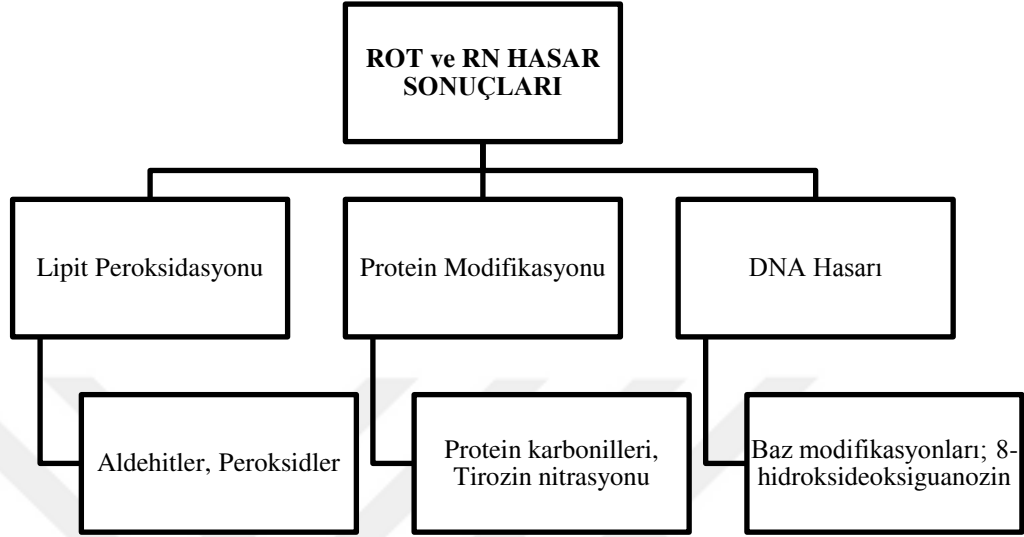
Organizmada daima reaktif oksijen türleri (ROT) ve reaktif azot türleri (RN) sentezlenmektedir. Bu reaktif türlerin hasar verici etkilerini antioksidan sistemi ortadan kaldırmaktadır ya da önlemektedir. Bir denge halinde devam eden bu durum süreklilik göstermektedir. Hücresel antoksidan savunma ROT düzeyinin toksik eşiğinin altında bu toksik etkileri gidermede yetersiz kalmaktadır (Lambeth, 2004). Denge serbest radikaller yönüne kaymış olmaktadır ve bu duruma oksidatif stres adı verilmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Schulz vd, 2000). Bu olaydan en başta lipitler, proteinler ve nükleik asitler etkilendiği gibi (Şekil 2.32) bunların yanı sıra metabolizmadaki pek çok sistem de etkilenmektedir (Lambeth, 2004). Etkilenen bu sistemler, diğer periferik sistemlerin de etkilenmesine neden olmaktadır. Radikalik zincir reaksiyonu durana kadar antioksidan proses tarafından sürecin bir yerinde zincirleme olarak devam etmektedir. Tersine bir durumda reaktif bu türler hücrenin direkt veya dolaylı şekilde ölümüne neden olmaktadır (Moldovan ve Moldovan, 2004). Oksidatif stres, aşırı miktarda reaktif oksijen üretimi, antioksidan savunmanın yetersiz kalması nedeniyle veya bu durumların her ikisinin de oluşmasıyla meydana gelmektedir (Schulz vd, 2000).

Hücre yapıları, nükleik asitler, lipitler ve proteinlerde meydana gelen hasarlar yüksek konsantrasyonda reaktif oksijen türlerinin habercisi olabilmektedir (Valko vd, 2007). DNA molekülünün bütün bileşenleriyle etkileşime girdiği bilinen hidroksil radikali, pürin ve pirimidin bazlarıyla deoksiriboz iskelete de hasar vermektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1999). Yapılan araştırmalarda oksidatif DNA hasarının göstergesinin bazı hasarları olduğu tespit edilmektedir. Mutajenez, karsinogenez ve yaşlanmanın ilk adımını, genetik materyalde oksidatif hasar nedeniyle meydana gelen kalıcı hasar oluşturmaktadır (Siems vd, 1995).

Metal indüksiyonlu olan reaktif oksijen türleri sadece DNA üzerinde değil aynı zamanda oksidayona aşırı duyarlı olan çoklu doymamış yağ asitlerini ve fosfolipit kalıntılarını da hasara uğratabilmektedir (Siems vd, 1995).

Normal fizyolojik şartlarda insan metabolizmasında serbest radikaller ve hidrojen peroksit stabil bir hız ile sentezlenmektedir. Antioksidan savunma prosesleriyle serbest radikallerin hasar verici etkileri azaltılmaktadır. Serbest radikallerin normal hızda üretildiği durumlarda antioksidan savunma prosesleri bulunmaktadır. Fakat bu antioksidan savunma proseslerin yedeği bulunmamaktadır.

Bu nedenle normal düzeydeki bir oksidan stres sonrası oluşan zarar görmüş moleküller tanınıp, uzaklaştırılmaktadır ve yerine yenileri yapılırken yoğun oksidan stres durumundaysa hasarlı hücreler meydana gelmektedir. Özetle oksidan stres durumunda ya adaptasyon ya da hücre ölümü gerçekleşmektedir (Gutteridge, 1994).



Şekil 2.282. ROT ve RN'lerin meydana getirdiği oksidatif hasarın biyo göstergesi (Kahraman ve Yanardağ, 2009)

### 2.10.1. Lipit Peroksidasyonu

Serbest radikal zincir reaksiyonlarından olan lipit peroksidasyonunu ROT'lar hızlandırabilmektedir. Hücre membranının yapısında çift tabakalı ve dış tarafında protein bulunduran fosfolipit yer almaktadır. Yapısındaki fosfolipit nedeniyle membran radikal saldırılarına müsaittir. Hücre membranında artan lipit peroksidasyonu (Döğer, 2010);

- Lipit faz yüzey yükünün polaritesi artar.
- Protein oligomerlerinin meydana gelmesinde artış görülmektedir.
- Lipitlerin moleküler mobilitesi azalmaktadır.
- SH gruplarının sayısında azalışa neden olmaktadır.
- Membranın termadenatürasyona karşı dayanıklılığı da azalış göstermektedir.

Lipit oksidasyonunun bir ürünü olan malondialdehit (MDA) proteinlerle, fosfolipitlerle ve nükleik asitlerle etkileşime girmektedir. Böylece immun sistemin disfonksiyonuna neden olan yapısal değişimlere sebep olmaktadır.

İki lipit peroksit radikali etkileşinceye kadar lipit peroksidasyonu devam etmektedir. Siklik peroksidin meydana gelmesi sonucu sona ermektedir.

Lipit peroksidasyonun birinci ürünü peroksitler olup bunlar koku oluşturmamaktadırlar. Ancak sonrasında hidrokarbonlar, aldehitler, ketonlar, alkoller ve organik asitlere parçalanmaktadır (Döğer, 2010).

### **2.10.2. Protein Oksidasyonu**

Proteinlere saldıran reaktif oksijen türleri, karbonillerin, metiyonin sülfoksitin, 2-oksohistidinin ve protein peroksitler de dahil diğer amino asitlerin modifikasyonlarına neden olmaktadır (Berlett ve Stadtman, 1997). Proteinlerin amino asit kompozisyonları serbest radikallerden etkilenme düzeylerini belirlemektedir. Triptofan, trozin, fenil alanin, histidin, metionin sistein gibi doymamış bağ ve sülfür ihtiva eden amino asitleri içeren proteinler serbest radikallerden daha kolay etkilenmektedir. Daha çok sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikallerin oluşumu gerçekleşmektedir. Bu etkileşim sonucunda immunoglobulin G ve albümin gibi çok miktarda disülfid içeren proteinlerin üç boyutu hasar görmektedir ve bozulmaktadır. Sonuçta normal işlevlerini gerçekleştiremezler (Özen, 2003). Proteinlerde meydana gelen yapısal değişimler üç grupta incelenebilmektedir (Çelik, 2001). Bunlar;

- Amino asitlerin modifikasyonu
- Proteinlerin fragmentasyonu
- Proteinlerin agregasyonu ya da çapraz bağlanmalardır.

Proteinlerde meydana gelen hasarın ortaya konması amacıyla protein karbonillerin belirlenmesi çokça tercih edilmektedir (Gutteridge ve Halliwell, 1990).

### **2.10.3. DNA Hasarı**

UV, görünür ışık, ısı ve X-ışınları gibi etkenler hücrelerde iyonların, serbest radikallerin ve enerji kazanan moleküllerin meydana gelmesine sebep oluşturmaktadır. Hidroksil radikalleri, DNA'da bulunan heterosiklik bazlar ile ve deoksiriboz-fosfatlarla etkileşim gösterip reaksiyona girmektedirler. Bunun sonucunda DNA bazlarının modifiye edilmesine ve riboz-fosfat zincirinin kırılmasına neden olmaktadır. Yapılan in vitro ve sulu çözelti ortamındaki çalışmalarda, deoksi-riboz ve tetrasiklik bazlar ile hidroksil radikalının rahatlıkla reaksiyon verdiği tespit edilmektedir.

Ancak, çift zincire sahip DNA molekülünde, heterosiklik bazlar hidroksil radikalının hasarına karşı oldukça iyi korunmaktadır.

Ayrıca, hidroksil radikallerini konsantrasyonlarını azaltan enzimatik radikal yakalayıcılar, bu şekilde DNA molekülünü koruyabilmektedir (Akpoiraz ve Durak, 1995). Oksidatif hasar sonucu DNA’da meydana gelenler;

- Tek ve çift dal kırıklıkları,
- Abazik alanlar,
- Baz modifikasyonları (baz katılımı, bazlarda yeniden düzenleme),
- Şeker hasarındır ya da
- DNA’yla protein arasında çapraz bağlanmadır (Cooke vd, 2003; Evans ve Cooke, 2004).

Oksidatif modifikasyon ile DNA antijenik karakter kazanır ve anti DNA antikoları meydana gelmektedirler (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

### **2.11. Antibakteriyel Aktivite**

Farmakolojik endüstriler son yıllarda bir dizi yeni antibiyotik üretmiş olsa da bu ilaçlara mikroorganizmalar tarafından direnç artmıştır. Genel olarak bakteriler, terapötik ajan olarak kullanılan ilaçlara karşı genetik olarak geçiş yapma ve direnç kazanma yeteneğine sahiptir (Cohen, 1992). Hastanelerde bağışıklığı baskılayan hasta sayısı ve çok dirençli yeni bakteri suşlarının varlığı gerçeği bir endişe kaynağı olmaktadır. Hastanelerde yüksek düzeyde ölümlerle sonuçlanan yeni enfeksiyonların meydana gelme olasılığı fazladır. 1980’den 1990’a kadar Montelli ve Levy (Montelli ve Levy, 1991). Brezilya’ da klinik mikrobiyolojide yüksek dirence sahip mikroorganizma vakaları belgelenmiş olup bu gerçek dünyanın birçok yerindeki başka kliniklerde de doğrulanmıştır. Gelecekte antimikrobiyal ilaçların kullanımına ilişkin görünüm ise belirsizlik göstermektedir. Bu nedenle, bu sorunu azaltmak için antibiyotik kullanımı kontrol altına alınabilir ve doğal yeni ilaçlar geliştirmek için araştırmalar yapılabilir (Nascimento vd, 2000).

Uzun bir süredir bitkiler, özellikle son yıllarda doğal tedavilere yönelik daha yoğun çalışmalarla insan sağlığının korunması için değerli bir doğal ürün kaynağı olmuştur (Nascimento vd, 2000). Bitkinin ikincil metabolizmasında sentezlenen bileşiklerden kaynaklanan antimikrobiyal özelliklerinden dolayı birçok bitki araştırma için kullanılmıştır.

Bu ürünler etken maddeleriyle, örneğin uçucu yağların bir parçası olan fenolik bileşikler ve ayrıca tanen ile bilinir (Janssen vd, 1987; Saxena vd, 1994). Latin Amerika’ da dünya çapında bir dizi araştırmacı tarafından araştırılmıştır.

Arjantin’ de bir araştırmada kullanılan bitkilerden ekstrakte edilen bileşikler arasında on ikisinin *Staphylococcus aureus*’ un büyümesini inhibe ettiği, on tanesinin *Escherichia coli*’yi ve dördünün ise *Aspergillus niger*’i inhibe ettiği görülmüştür (Martínez-Vázquez vd, 1994; Martinez vd, 1996) . Başka bir çalışmada, *Croton triangularis* yapraklarından elde edilen uçucu yağların antibakteriyel aktivitesi tespit edilmiştir (Lemos vd, 1992).

Genel olarak bakıldığında gram boyamaya dayalı olarak bakteriler, gram pozitif ve gram negatif olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Gram pozitif bakteriler, gram boyama işlemi sırasında koyu bir mor renk içermekte olup gram negatif bakteriler ise kırmızı veya pembe bir renk göstermektedir. İki bakteri türü arasındaki sınıflandırma farkı esas olarak bakteri hücre duvarlarının yapısındaki farklılıklara dayanmaktadır. Gram pozitif bakteri kalın bir peptidoglikan katmanına sahipken gram negatif bakteri ise daha ince bir peptidoglikan tabaya sahiptir (Juliantina vd, 2009).

### **2.11.1. Gram Pozitif Bakteriler**

Gram negatif bakteriler gibi gram pozitif bakteriler de antimikrobik tedavilerdeki ilerlemelere rağmen, hastane ve toplum kökenli olan önemli boyutlardaki infeksiyonlara neden olmakta ve yüksek seviyede dirence sahiptir (Büke, 2010; Ulusoy, 2003). *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* ve *Bacillus cereus* gibi bakteriler bu sınıfta yer almaktadır. Bunlardan *Staphylococcus aureus* bakterisinin direnç düzeyi yüksektir. Hatta *Staphylococcus aureus* bakterisi, Akdeniz ve Atatürk Üniversite’lerinde yoğun bakım infeksiyonu etkileri arasında birinci sırada olduğu görülmektedir (Ulusoy, 2003).

İlk penisilinaz meydana getiren *Staphylococcus aureus* kökeni 1941 yılında bildirilmiş olup artık *Staphylococcus aureus* izolatlarının neredeyse hepsi  $\beta$ -laktamaz enzimi oluşturarak penisiline dirençli hale gelmiştir (Büke, 2010). Tüm bu durumlar antibakteriyel etki gösterebilen bitki arayışını artırmaktadır.

### **2.11.2. Gram Negatif Bakteriler ( GNB)**

İnfeksiyon durumlarında çokça izole edildiği görülen mikroorganizmalar olan gram negatif bakterilerin kaynağı, bizzat hastanın kendisi ya da kişinin çevresinde yer alan canlı ve cansız yapılar olarak görülmektedir (Aktaş, 2004).

*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Klebsiella pneumoniae* bakterileri bu grupta yer almaktadır. Bunlardan *E. coli* ve *Klebsiella pneumoniae* toplu kaynaklı ve

nozokomiyal infeksiyonlardan izole edilmekte olup *P. aeruginosa* ise genelde nozokomiyal infeksiyonlardan izole edilmektedir (Özmen vd, 2010).

İnfeksiyonlarda tıbbi öneme sahip gram negatif bakteriler; *Klebsiella* türleri, *E. coli*, *P. aeruginosa* gibi türlerinin yüksek seviyede dirençli olduğu saptanmıştır. Sıklıkla karşılaşılan direnç mekanizmaları gram negatif bakteriler için şunlar bildirilmektedir (Beşirbellioğlu, 2010);

- Antibiyotikleri parçalayabilen enzimlerin üretilmesi,
- Antibiyotiklerin bağlandığı bölgelerdeki mutasyon
- Dış membran proteinlerindeki farklılaşmalar sonucu antibiyotik geçirgenliğinde azalma görülmesi.

## **2.12. Aristolochiaceae Familyası**

*Aristolochia* cinsi çoğunlukla her iki yarım kürenin tropikal, subtropikal ve Akdeniz bölgelerine dağılmış olan yaklaşık 550 türden oluşan bir bitki türüdür (Neinhuis vd, 2005; Tosunoglu ve Malyer, 2014; Wanke vd, 2007). Asya, Afrika, Kuzey ve Güney Amerika ve Avustralya kıtalarında meydana geldiği bilinmektedir (Lopes vd, 2001). Çoğu tropik olan bu bitki cinsinin bir kısmı Kanada, İskandinavya ve Kuzey Japonya'da bulunmaktadır (Koriem vd, 2014). Bazı *Aristolochia* türleri süs bitkisi olarak da yetiştirilmiştir (Wu vd, 2002). *Aristolochia* türleri, otsu, uzun ömürlü, alt dallar ya da çalılar bulunduran polimorfik veya loblu yapraklardan meydana gelmektedir (Kumar vd, 2003; Li vd, 2010). *Aristolochia* üyeleri, çalı, liyan, yarı çalı ve otsu (bazı türleri ise geofit yapıda) şekillerde bulunabilen (Pfeifer, 1966; Wagner vd, 2014; Wagner vd, 2012), çiçek, yaprak, gövde, meyve, kök ve yardımcı organlarından meydana gelmektedir (Korkmaz ve Durmaz, 2015).

*Aristolochia* cinsi, geleneksel Çin tıbbında da (TCM) sıklıkla yer alan birçok üyeye sahip geniş bir bitki familyası olup (Nortier ve Vanherweghem, 2007) yapraklarının şekillerinde farklılık göstermektedirler.

Ancak enine kesildiklerinde tipik bir ağaç gövdesi yapısına sahip olan köklere sahiptir (Humans ve Cancer, 2002). Bitkinin her kısmı (yaprak, çiçek, kök gibi) farklı bir Çin ismine sahiptir (Nortier ve Vanherweghem, 2007). *Aristolochia* cinsi, faydalı özelliklerinin bir sonucu olarak geleneksel tıpta çılgınca kullanılan önemli bir cins olup (Al-Barham vd, 2017) kökü, yaprağı, sapı ya da kendisi bütün olarak kurutulmuş birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (Nortier ve Vanherweghem, 2007). Geleneksel tıpta, bu bitki türü "bin adam" olarak bilinmektedir (Lopes vd, 2001).

Tedavi amaçlı kullanıldığı belli başlı hastalıklar, astım, öksürük, hemoroid, artralji, ödem, baş ağrısı, karın ağrısı, yılan ve böcek ısırıkları, ülserler ve idrar yolu enfeksiyonları olduğu söylenebilmektedir. Birçok Avrupa ülkesinin halk tıbbında kullanımı yüzyıllardır bilinmektedir. Hatta Fransa’da Catherine de Me’dicis’in “yeşil oda” olarak bilinen ünlü “Chenonceau” kalesinde 16. yüzyıldan kalma “*Aristolochia* Goblen” isimli Brüksel gobleni bulunmaktadır (Şekil 2.33) (Nortier ve Vanherweghem, 2007).



Şekil 2.293. 16. ve 17. yüzyıllarda kullanılan tencere, kutu ve halk ilaçları (A) "*Aristolochia* Gobleni" (B) Zayıflama hapı (C) (Nortier ve Vanherweghem, 2007)

### 2.12.1. *Aristolochia bodamae* Dingler

Yakın Doğu *Aristolochia* türü Davis ve Khan (1961) tarafından ayrıntılı olarak tanımlanmış ve daha sonra Türkiye ve Doğu Ege Adaları’ndan 23 tür bildirilmektedir (Davis ve Leblebici, 1982). *Aristolochia* Akdeniz havzasında, özellikle Türkiye’nin güney ve batı Anadolu bölgelerinde oldukça çeşitlidir. Türkiye’de 27 tür bulunduğu bildirilmektedir (Tosunoglu ve Malyer, 2014).

*A. bodamae*, *Aristolochiaceae* familyasına dahil olan bu türlerden biridir. 1962 yılında İngiliz bilim adamları tarafından Samsun’da keşfedilip Türkiye Bitkileri Envanteri’ne kaydedilmektedir. *A. bodamae* olarak bilinen bu bitki lokal bir endemik tür olup koruma altındadır. *A. bodamae*, genel olarak çiçek (Şekil 2.34), yaprak (Şekil 2.35) ve kök (Şekil 2.36) kısımlarından oluşmaktadır.



Şekil 2.304. *A. bodamae* çiçek kısmı



Şekil 3.315. *A. bodamae* yaprak kısmı



Şekil 2.326. *A. bodamae* kök kısmı

### 2.12.1.1. *Aristolochia* Türlerinin Fitokimyasal Yapı İncelenmesi

*Aristolochia*'nın altmıştan fazla türü, dünyadaki araştırma grupları tarafından fitokimyasal çalışmaların hedefi olmakta ve bu bitki ailesinin neredeyse türlerinin hepsinde aristolohik asit türevleri ve terpenoidlerin çoğu kaurane, clerodan ve labdan diterpen türevleri bulunmaktadır (Pacheco vd, 2009). Aynı zamanda yapılan başka fitokimyasal araştırmalarda bu bitki türünde hem aporfinik, tetrahidroproberberinik, benziltetrahidroizokinolik hem de bisbenziltetrahidroizokinolik alkolitlerin (Rastrelli vd, 1997) ve diğer azotlu türevlerin (fenantrenoidler, aristolaktamlar ve porfirinler) (Wu vd, 2000) varlığı ortaya koyulmuştur. Bu bitki türünü uçucu yağlar taşımakta olup (Wu vd, 2004) fenollerin, flavonoidlerin, kinonların, kumarinlerin, lignoidlerin (fenilpropanoidler, neolignandlar ve lignandlar) de sıklıkla bu bitkiden izole edildiği belirtilmektedir (Leitão ve Kaplan, 1992).

*Aristolochia* türlerindeki en çok bulunan bileşenin aristolohik asit (AA) olduğu görülmektedir (Mix vd, 1982). Üç tür aristolohik asit bulunmaktadır. Bunlar; Aristolohik asit I, Aristolohik asit II ve Aristolohik asit III'tür (Alali vd, 2006). Fakat *Aristolochia* türlerinin bileşenleri arasında, Aristolohik asit I ve Aristolohik asit II genellikle en güçlü olanlarıdır (Goun vd, 2002).

Bitki besin takviyeleri (PFS) ve diğer bitkisel ürünler bilinen sağlık yararları için yaygın olarak tüketilmektedir (Abdullah vd, 2017).

AA'lar, dünya çapında kullanılan en eski geleneksel ilaç sistemlerinden biri olarak bilinen *Aristolochiaceae* familyasında bulunmaktadır (Zhang vd, 2004). *Aristolochia* türlerinden türetilen AA'lar, aristolohik asit I (AA I) ve aristolohik asit II (AA II) dahil olmak üzere yapısal olarak ilişkili iki nitrofenantren karboksilik asitin bir karışımı olarak ortaya çıkar (Abdullah vd, 2017). *Aristolochia* bitkileri, kadın doğumunda ve yılan ısırıklarının tedavisinde (Stiborová vd, 2008). *Aristolochia* türleri aynı zamanda Çin geleneksel ilaçlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. *Aristolochia contorta* Bge'nin kuru meyveleri ve *A. debilis* Seib. Çin tıbbında solunum yolu hastalıkları tedavi etmek için kullanılırken, Tianxianteng olarak bilinen bitki kısımları antiromatizmal bir ajan olarak kullanılmaktadır (Abdullah vd, 2017). AA'ların antiinflamatuvar özelliklerinden ötürü, AA içeren preparatlar, Almanya'da farmasötik preparatlar olarak geliştirilmektedir (Stiborová vd, 2008).

### 2.12.1.2. *Aristolochia* Türlerinin Etnofarmakolojisi

*A. debilis* ekstresinin lipopolisakkarit (LPS) ile indüklenen fare makrofaj RAW 264.7 hücrelerinde COX-2 ve İNOS aktivitelerinin güçlü inhibisyon gösterdiğini bildirmektedir (Hong vd, 2002). *A.grandiflora*'nın tüm bitkisinin özleri, Bothrops atroks zehrinin hemorajik etkisine karşı orta derecede nötralizasyon yeteneği göstermiştir (Otero vd, 2000). Bazı *Aristolochia* türlerinin böcek öldürücü ve böcek kovucu aktiviteye sahip oldukları bildirilmektedir. Örneğin, bir böcek kovucu olarak *A. clematitis*, sineklere ve kurtçuklara karşı *A.grandiflora* kullanılmaktadır (Secoy ve Smith, 1983). *A. bracteata* ekstreleri sivrisineklere karşı açık aktivite göstermektedir. *A.indica*'nın uçucu yağının antibakteriyel aktivite gösterdiği bulunmuştur (Shafi vd, 2002). *A.indica* özütü, adenokarsinom 755 test sistemine karşı tekrarlanabilir tümör önleyici aktivite göstermektedir (Kupchan ve Doskotch, 1962). *A.indica* köklerinin ham petrol eteri, kloroform ve alkollü ekstraktlarının, olgun dişi farelerde %100 düşük etkinlik sergilediği bulunmaktadır (Che vd, 1984; Pakrashi vd, 1976). *A. macroura*'nın metanolik ekstresi, bir insan hepatoselüler karsinom hücre dizisi HepG<sub>2</sub>'ye karşı sitotoksisite gösterdi. *A.paucinervis*'in rizomlarında elde edilen defatted kloroform fraksiyonu, *C.perfringens* ATCC13124 ve *E. faecalis* ATCC 29212 gibi bakteri suşlarına karşı yüksek bir bakteriyostatik aktiviteye sahiptir (Gadhi vd, 2001).

Cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarını özellikle gazlı kangren ve bağırsak hastalıklarını tedavi etmek için Fas geleneksel tıpta *A.paucinervis* kullanımını desteklemektedir (Gadhi vd, 1999). *A.trilobata* yapraklarının ve kabuğunun heksan özleri, *Staphylococcus aureus*'a karşı en aktifti ve bu durum, derin ve yüzeysel yaraların iyileşmesinde geleneksel kullanımını doğrulamaktadır (Camporese vd, 2003). *A. trilobata* yapraklarının kloroform ekstresinin antienflamatuar etki gösterdiği görülmektedir. *A. longa* Batı Cezayir'in yerel eyaletlerinde kanser gibi çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde yaygın olarak kullanıldığına dair kanıtlar bulunmaktadır. Ezilmiş kökler genellikle bal, süt, su veya diğer tıbbi bitkilerde karıştırılarak kullanılmaktadır (Benarba ve Meddah, 2014). *Aristolochia* üyelerinin biyolojik faaliyetleri ve biyoaktivileri Tablo 2.18'de özetlenmektedir.

Tablo 2.18. *Aristolochia* üyelerinin biyolojik faaliyetleri ve biyoaktiviteleri (Wu vd, 2004)

Botanik İsmi	Kullanım Alanı	Kısım
<i>A. acutifolia</i>	Erizipellerin (yılancık hastalığı) tedavisi	Bitkinin tamamı
<i>A. albida</i>	Cilt hastalıklarının için merhem; dizanteri, gastrointestinal kolik ve yılan ısırıklarının tedavisinde adjuvan (cerrahi sonrası) olarak	Rizomlar
<i>A. argentina</i>	Bir emmenagog olarak antiseptik, terletici ve idrar söktürücü olarak, artrit, zehirlenme ve kaşıntı tedavisinde	Toprak üstü kısımları
<i>A. baetica</i>	Emmenagog olarak kanserde	Kök
<i>A. birostris</i>	Kanser	Kök
<i>A. bracteata</i>	Bir emmenagog, antelmintik (bağırsak solucanlarını düşürücü veya öldürücü etki), müshil, sivrisinek kovucu, panzehir, anodin(ağrı kesici ilaç), böcek ilacı olarak	Bitkinin tamamı
<i>A. brevipes</i>	Artrit, yara, yılan ısırması ve diş ağrısı tedavisinde	Rizomlar
<i>A. chamissonis</i>	İstikrarsızlık	Bitkinin tamamı
<i>A. chilensis</i>	Loğusal sekresyonlarda bir emmenagog olarak	Kök
<i>A. cinnabarina</i>	Analjezik (ağrı kesici ilaç) olarak	Kök
<i>A. clematitis</i>	Kanser, adet sorunları, ülser, yara ve tümörlerin tedavisi, onarıcı etki ve böcek kovucu	Kök
<i>A. contorta</i>	Kanser	Kök
<i>A. constricta</i>	Antispazmodik (spazm çözücü), analjezik, antikanser, sıtma önleyici, antienflamatuvar bir ajan olarak ve yılan ısırmasında tedavi amaçlı	Toprak üstü kısımları
<i>A. cucurbitifolia</i>	Yatıştırıcı, antiphlogistic(iltihap azaltıcı), balgam söktürücü, antitussif (öksürüğü kesen veya önleyen) ve antiastmatik (astım nöbetlerini önleyen veya tedavi eden) ajan olarak yılını ısırtığı ve akciğer iltihabı tedavisi	Meyve ve kök
<i>A. deblis</i>	Bronşektazi ve yüksek tansiyonu düşürmede	Kök
<i>A. giberti</i>	Mide ağrısında, şişlik tedavisinde	Bitkinin tamamı
<i>A. gigantea</i>	Bir emmenagog olarak, kürtaj ve antiseptik tedavi cilt hastalıkları tedavisinde	Bitkinin tamamı
<i>A. grandiflora</i>	Uterotonik, sitotoksik, ve antimikrobiyal ajan olarak ve yılan ısırığı tedavisinde, sinek ve kurtçuk kovucu olarak kullanımı	Toprak üstü kısmı
<i>A. heterophylla</i>	Balgam söktürücü, antitussif, antiastmatik ve analjezik; yılan ısırığı tedavisinde	Meyve, kök
<i>A. indica</i>	Kardiyotik, idrar söktürücü, antienflamatuvar, bağırsak solucanlarına ve yılan ısırıklarına ve sokmalarına karşı tedavide	Kök
<i>A. kaempferi</i>	Astım, öksürük tedavisi, bir antivenom(zehirli ısırık ve sokmalara karşı), antibakteriyel ajan, antipruritik (kaşıntı karşıtı), hipotansif(düşük tansiyon), balgam söktürücü ve emetik (kusturucu) olarak kullanımı	Bitkinin tamamı
<i>A. kankavensis</i>	Balgam söktürücü, antitussif, analjezik ve antiastmatik	Meyve ve kök
<i>A. liukiensis</i>	Antiphlogistik, detoksik ve anodin olarak	Kök
<i>A. macroura</i>	Yılan ısırıkları ve romatizmal tedavide, dolaşım uyarıcısı olarak, antienflamatuvar, antiseptik olarak ve düşük doğum tedavisinde	Bitkinin tamamı
<i>A. manshuriensis</i>	Bronşektazi tedavisinde ve yüksek tansiyonu düşürmede	Bitkinin tamamı
<i>A. mauirom</i>	Antiseptik olarak yara iyileşmesinde	Kök
<i>A. mollisima</i>	Analjezik, antikanser, antimalaryal, antienflamatuvar, antiromatizmal ve bronşektatik ajan olarak, yüksek tansiyonu düşürmede, mide ağrısında ve karın ağrısında tedavi için	Meyve, kök
<i>A. paucinervis</i>	Cilt enfeksiyonları tedavisinde, kangren ve üst solunum yolu enfeksiyonlarında	Bitkinin tamamı
<i>A. rotunda</i>	Kanser	Bitkini tamamı
<i>A. rodriguesii</i>	Düşük ve antienflamatuvar olarak; yılan ısırıkları tedavisinde	Bitkinin tamamı
<i>A. triangularis</i>	Antiromatizmal, antifertilite maddesi, terletici, diüretik, antiseptik, emmenagog, panzehir ve yaraların iyileşmesinde, düşük ve cilt hastalıklarının tedavisinde	Kabuk kısmı
<i>A. tuberosa</i>	Boğaz ağrısı, yılan ısırması ve tüberkülozda	Kök
<i>A. yunnanensis</i>	Gastrointestinal hastalıkların tedavisi, trikomoniyaz ve çeşitli ağrılarda	Kök
<i>A. zollingeriana</i>	Balgam söktürücü, ağrı kesici, antitussif, antiastmatik ve analjezik; yılan ısırıkları tedavisinde	Meyve, kök

### 2.12.1.3. *Aristolochia* Türlerinin Biyoaktivitesi

Tıbbi bitkilerin biyolojik aktiviteleri kimyasal bileşikleriyle yakından ilişkilidir (Hashemi vd, 2008). *A. tagala* köklerinden petrol eteri, etil asetat ve etanol ekstraktlarının, siklooksigenaz (COX) ve lipooksigenaz (LOX) inhibitörlere benzer olabilecek bir antienflamatuar aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. Aktif bileşen kaemferol, etil asetat ekstresinin PGE<sub>2</sub> ve LTB<sub>4</sub> tarafından inhibe edildiği için antienflamatuar aktivitesinden sorumludur. Bu nedenle, *A. tagala* özleri, antienflamatuar bozuklukların tedavisinde büyük potansiyel fayda sağlayacaktır (Battu vd, 2011).

*A. longa* sulu ekstraktının güçlü bir antifungal aktiviteye sahip olduğu görülmektedir (Benarba ve Meddah, 2014). Bu aktivitesinin içerdiği bileşiklerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Fitokimyasal araştırmalarda *A. longa*'nın sulu ekstraktında bulunan bileşikler polifenoller, fenolikler, flavonoidler, tanenler, c-heterosidler, karbonhidratlar ve saponinlerdir. Bunların içinden antifungal aktiviteden sorumlu olduğu düşünülenler fenolik bileşikler, flavonoidler ve saponinlerdir. Mikroorganizmalara fenolik toksisiteden sorumlu olduğu düşünülen mekanizmalar arasında muhtemelen sülfidril gruplarıyla reaksiyon veya proteinlerle daha spesifik olmayan etkileşimler yoluyla oksitlenmiş bileşikler tarafından enzim inhibisyonu bulunmaktadır. Diğer yandan saponinler, mantar hücrelerinin zar bütünlüğünü bozarak etki göstermektedir (Arif vd, 2009). *A. longa*'da toplam fenolikler ve flavonoidler sırasıyla 1.47 mg/g ve 0.8 mg/g olarak hesaplanmaktadır (Djeridane vd, 2006). İçerdiği biyoaktif bileşiklerin varlığı nedeniyle kanser tedavisi için umut verici yeni bir ilaç kaynağı ve iyi bir antifungal ajan olarak düşünülmektedir (Benarba ve Meddah, 2014).

*A. clematitis* kökleri üzerinde yapılan fitokimyasal tarama sonucu tanenlerin, alkaloidlerin ve uçucu yağların varlığı tespit edilmektedir. Yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi (HPTLC) taraması, incelenen ekstraktların antioksidan etkisini niteliksel olarak sağlamaktadır. Ayrıca *A. clematitis*'ten tanenlerin ve metanol ham ekstrelerin, sırasıyla 0.196 ve 0.142 mg/ml IC<sub>50</sub> değerlerine sahip güçlü bir DPPH temizleme potansiyeline sahip olduğu bulunmaktadır. Güney Cezayir'de kullanılan *A. clematitis*'in tıbbi kullanımına ek olarak, antitümör ve antikanser olarak kullanıldığı da belirtilmektedir (Benmehdi vd, 2013).

*A.clematitıs* L. bitkisinin, aristolohik asitler, aristolaktam N- $\beta$ -D-glukozit, magnoflorin iyodür, aristolon,  $\beta$ -sitosterol,  $\beta$ -sitosterol  $\beta$ -D-glukozit, ferulik (4-hidrosisinnamik) asitler ve metil esterdir (Kořt'álová vd, 1991). *A. clematitıs*'in ham su, dietil eter ve metanolik ekstraktın fitokimyasal taraması, serbest alkaloidler, alkaloid tuzları, steroidler, terpenoidler, tanenler, antrasenozitler, antosiyanositler, indirgen şekerler, yağ asitleri ve uçucu yağların varlığını ortaya çıkarmaktadır. *A. clematitıs*'in antioksidan etkinliğini ihtiva ettiği bu aktif bileşikler sayesinde oluştuğu bildirilmektedir. Hatta bu etki ana bileşenlerin yüksek yüzdesinde değil, aynı zamanda küçük miktarlarda diğer bileşenlerin varlığından ya da aralarındaki sinerjiden kaynaklandığı düşünölmektedir (Benmehdi vd, 2013).

*A.bracteolata* bitkisinin nitrik okside karşı serbest radikal temizleyici olarak davrandığı görölmektedir (Shirwaikar ve Somashekar, 2003). Başka bir çalışmada, *A. bracteolata* metanol ekstraktının, hekzan ve etil asetat ekstraktına kıyasla nitrik oksiti temizlemek için en iyi olduğu görölmüştür. Nitrik oksit, hayvan vücudundaki çeşitli enflamatuvar süreçlerde önemli bir rol oynamaktadır. Nitrik oksit radikal inhibisyon çalışması, ekstraktın güçlü bir nitrik oksit tutucu olduğunu göstermektedir. Ekstrakt, nitrik oksit ile doğrudan reaksiyona girmesi ve ayrıca sentezini inhibe etmesi için oksijen ile rekabet ederek nitrik oluşumunu inhibe etmektedir. Metanol özütü, serbest radikal aracılı deoksiriboz hasarını önemli ölçüde inhibe etmektedir ve lipit peroksidasyonunu da güçlü bir şekilde inhibe etmektedir (Das vd, 2016).

*A. bracteolata*'nın metabolik ekstraktının streptozotosin (STZ) ile indöklenen diyabetik sıçan modeline karşı antidiyabetik ve hipolipidemik aktivitesi değerlendirildiğinde bu biyoaktivitelere sahip olduğu gösterilmektedir. Diyabetik kontrol grubuna göre yüksek kan şekeri düzeylerinde anlamlı bir azalma olduğu bulunmaktadır. Diyabette en sık görölen lipit anormallikleri hipertrigliseridemi ve hiperkolesterolemidir. 200 mg/kg ve 400 mg/kg'da *A. bracteolata*'nın metanolik ekstresi, toplam kolesterol, trigliseritler, LDL ve VLDL (düşük yoğunluklu lipoprotein)'nin yüksek seviyelerini önemli ölçüde azalttığı ve ayrıca diyabetik hayvanlarda HDL seviyelerini doza bağlı bir şekilde arttığı görölmektedir. Fitokimyasal ve farmakolojik çalışmalarda, *A.bracteolata*'nın metanolik ekstraktının fenolik ve flavonoid içerdığı tespit edilmiştir (Raju ve Reddy, 2017).

Acı ve keskin bir tada sahip olan *A. tagala* Cham. (ATC)'in kurutulmuş kökünün ateş düşürücü, iltihap önleyici ajan, kas gevşetici, iştah arttırıcı ajan, antienflamatuar ajan analeptik olduğu belirtilmektedir (Tripatara vd, 2012).

Kimyasal olarak *Aristolochia* L. cinsinin bitkilerinin, ağırlıklı olarak aristolohik asitlerin lökositlerin fagositozuna neden olduğu ve ayrıca antitümör (Wall vd, 1987) ve genotoksik (Menges ve Klein, 1988) aktiviteleri ortaya koyduğu fenantren türevleri içerdiği bilinmektedir.



### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Kullanılan Kimyasallar

**Sigma:** FeSO<sub>4</sub>, kuersetin,  $\alpha$ -tokoferol, DTNB (5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit)), NADH, Folin&Ciocalteu's reaktifi ve galantamin

**Merck:** NADH-Na<sub>2</sub>, K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>, FeCl<sub>3</sub>, EDTA, FeCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O, NaOH, HCl, K<sub>3</sub>[FeCN<sub>6</sub>], H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Tween-20, askorbik asit, üre, CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, askorbik asit, üre, CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O ve MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O

**Sigma-Aldrich:** etilasetat, aseton, hekzan, Metanol, Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, NBT, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ferrozin, n-bütanol, TCA (trikloroasetik asit), K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, amonyummolibdat ve Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>

**Aldrich:** TBHQ (tersiyer-bütilhidroksikinin), 2-deoksiriboz, sodyum fosfat, Vitamin E, trolox

**Liofilchem:** MHB (Mueller Hinton II Broth)

**Acros:** PMS (fenazin metosülfat), TBA (tiyobarbütirik asit)

**Himedia:** MHA (Mueller Hinton Agar)

**Fluka:** Üreaz, DPPH', linoleik asit

#### 3.2. Kullanılan Cihazlar

Otomatik pipetler (Brand (10-100  $\mu$ L, 100-1000  $\mu$ L), Brand (5-12 mL elektronik tekrarlamalı), Socorex (100-1000  $\mu$ L) ve Nichipet EX (20-200  $\mu$ L, 100-1000  $\mu$ L, 1000-5000  $\mu$ L)).

Analitik terazi (Radwag),

Derin dondurucu (Nuair, -80 °C ve Sanyo, -35°C),

Laboratuvar parçalayıcı (Waring Commercial),

Liyofilizatör (Alpha 1-2 LD Plus),

Otoklav (Astell scientific)

UV-Vis spektrofotometre (Thermo Fisher Scientific Evolution Array),

Manyetik karıştırıcı (EMS 300 HS),

Evaporator (Rotary evaporator RE100)

Sallantılı su banyosu (Clifton),

Vorteks (Velp Svientifica),

Etüv,

Ultrasonik banyo (Kudos),

pH metre (Eutech Instruments),  
Isıtıcı (Electomantle),  
Santrifüj (MSE Mistral 2000)

### **3.3. *Aristolochia bodamae* Dingler**

*A. bodamae* bitkisinin çiçek, tohum ve yaprak kısımları Samsun ili Bafra ilçesinde yer alan Kızılırmak Deltası'ndan Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi olan Prof. Dr. Hasan KORKMAZ tarafınca 2016 yılının Haziran ayında toplanmıştır. Bitkinin çiçek, tohum ve yaprak kısımları ayıklandı, yıkandı ve etüv yardımıyla kurutuldu. Örneklerin toz haline gelmesi için laboratuvar parçalayıcısı kullanıldı ve toz örnekler -20°C de saklandı.

### **3.4. Metod**

#### **3.4.1. Bitki Ekstraktlarının Hazırlanışı**

*A. bodame* çiçek, yaprak ve tohum kısımları farklı poliritedeki su, etanol, metanol, hekzan, aseton ve etilasetat çözücüler kullanılarak ekstraksiyon işlemi uygulandı. Kuru bitki örnekleri etanol, metanol, hekzan, aseton ve etilasetat çözücülerini kullanarak soksilet cihazında ekstraksiyon işlemi gerçekleştirildi ve Watman no:1 süzgeç kâğıdı kullanılarak süzme işlemi gerçekleştirildi. Daha sonra ekstrakt karışımlarının çözücülerini 40 °C de döner buharlaştırıcı kullanılarak uzaklaştırıldı. Elde edilen ham ekstraktlar -50 °C de ve 0.01 mBr basınç altında liyofilizasyon işleminden geçirildi ve toz ham ekstraktlar elde edildi. Kuru bitki örnekleri su ekstraksiyonu ise, magnetik karıştırıcı kullanılarak kaynar suda ekstraksiyon işlemi gerçekleştirildi. Su ekstrakt Watman no:1 süzgeç kâğıdında süzülerek berrak karışım elde edildi ve -20°C de saklandı. Donmuş su ekstrakt -50 °C de ve 0.01 mBr basınç altında liyofilizasyon işlemi uygulandı ve toz ham ekstrakt elde edildi.

Toz halindeki ham ekstraktlar tartılıp yüzde verimleri hesaplanıp kaydedildi. Ham ekstrakt örnekleri kimyasal analiz ve biyoaktivite testlerinde kullanılmak üzere -20°C deki dondurucuda saklandı.

#### **3.4.2. Örnekler ve Standartlar**

*A. bodamae* (AB) ekstrakt örneklerinin ve standartların farklı konsantrasyonlardaki (50-500 µg/mL) çözeltileri hazırlandı. Deneysel çalışmalarda

kullanılan standart kısaltmalardan yararlanıldı ve Tablo 3.1’de gösterildiği gibi düzenlendi.

Tablo 3.1. Deneylerde kullanıldığımız ekstrakt ve standartların isimleri ve kısaltmaları

<b>Ekstrakt Adı</b>	<b>Çözücü</b>	<b>Kısaltma</b>	<b>Standart Adı</b>	<b>Kısaltma</b>
<i>A. bodamae</i> Çiçek	Aseton	ABÇAS	$\alpha$ - tokoferol	-
<i>A. bodamae</i> Çiçek	Etil Asetat	ABÇEA	Askorbik Asit	-
<i>A. bodamae</i> Çiçek	Etanol	ABÇET	Bütillendirilmiş Hidroksianisol	BHA
<i>A. bodamae</i> Çiçek	Hekzan	ABÇHE	Bütillendirilmiş Hidroksitoluen	BHT
<i>A. bodamae</i> Çiçek	Metanol	ABÇME	<i>t</i> -Butil Hidrokinon	TBHK
<i>A. bodamae</i> Çiçek	Su	ABÇSU	Troloks	-
<i>A. bodamae</i> Tohum	Aseton	ABTAS	Etilendiamin Tetraasetik Asit	EDTA
<i>A. bodamae</i> Tohum	Etil Asetat	ABTEA	Galantamin	-
<i>A. bodamae</i> Tohum	Etanol	ABTET	Tiyüüre	-
<i>A. bodamae</i> Tohum	Hekzan	ABTHE	Amoksilin	-
<i>A. bodamae</i> Tohum	Metanol	ABTME	Tetrasiklin	-
<i>A. bodamae</i> Tohum	Su	ABTSU		
<i>A. bodamae</i> Yaprak	Aseton	ABYAS		
<i>A. bodamae</i> Yaprak	Etil Asetat	ABYEA		
<i>A. bodamae</i> Yaprak	Etanol	ABYET		
<i>A. bodamae</i> Yaprak	Hekzan	ABYHE		
<i>A. bodamae</i> Yaprak	Metanol	ABYME		
<i>A. bodamae</i> Yaprak	Su	ABYSU		

### 3.4.3. Deneysel Kısım

Tez çalışması beş ana başlık altında toplanmaktadır. Bu çalışmalar Tablo 3.2’de gösterilmektedir.

Tablo 3.2. Yapılan deneysel çalışmalar

<b>Fotokimyasal bileşen tayinleri</b>	<b>Antioksidan aktivite tayinleri</b>	<b>Enzim inhibisyon aktiviteleri</b>	<b>Antibakteriyel aktivite testleri</b>	<b>DNA ile ilgili aktivite tayinleri</b>
-Toplam fenolik tayini	-Toplam antioksidan aktivitesi	-Üreaz inhibisyonu	-Disk difüzyon metodu	-DNA koruma
-Toplam flavonoid tayini	-İndirgenme gücü	-Asetilkolinesteraz inhibisyonu	-Mikrodilasyon metodu	aktivitesi
-LC-MS/MS ile fenoliklerin analizi	-Lipid peroksidasyon inhibisyonu			-Deoksiriboz koruma aktivitesi
	-Serbest radikal giderme aktivitesi			
	-Metal şelat aktivitesi			
	-Süperoksit anyonu giderme aktivitesi			

### 3.4.4. Fitokimyasal Bileşen Tayinleri

Bitki materyallerinin antioksidan bileşenlerinin sağlığının korunması ve koroner kalp hastalığı ve kansere karşı korunma potansiyeli, tüketiciler belli sağlık etkileri olan fonksiyonel gıdalara doğru ilerledikçe bilim adamları ve gıda üreticileri arasında ilgi uyandırmaktadır. Antioksidatif etki esas olarak flavonoidler, fenolik asitler ve fenolik

diterpenler gibi fenolik bileşenlerden kaynaklanmaktadır (Thirugnanasampandan vd, 2008).

#### **3.4.4.1. Toplam Fenolik Tayinleri**

*A. bodamae* çiçek, tohum ve yaprak kısımlarının farklı çözücüler kullanılarak hazırlanan ekstraktları için toplam fenol tayini Folin C metodu kullanılarak tayin edildi (Singleton ve Rossi, 1965). 1 ml ekstrakt ve 46 mL deiyonize su homojen karıştırıldı. Sonrasında her birine 1'er mL Folin&Ciocalteu's reaktif eklendi. Karışım 3 dakika sonra 3 mL % 2'lik Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisi ile karıştırıldı ve 2 saat karanlık ortamda sallatılı su banyosunda inkübe edildi. Toplam fenol tayini için karışımın absorbansı 760 nm'de ölçüldü. Standart olarak gallik asit kullanıldı ve ekstraktların toplam fenol içeriği "mg gallik asit eşdeğer (GAE)/ g kuru bitki" olarak belirlendi.

#### **3.4.4.2. Toplam Flavonoid Tayini**

*A. bodamae* çiçek, tohum ve yaprak kısımlarının farklı çözücüler kullanılarak hazırlanan ekstraktlarının toplam flavonoid içeriği kolorometrik metodu kullanılarak tayin edildi (Zhishen vd, 1999). 250 µL ekstrakt, 1.25 mL su ve 7.5 mL %5'lik NaNO<sub>2</sub> homojen karıştırıldı. 5 dakika sonra 150 µL %10'luk AlCl<sub>3</sub>6H<sub>2</sub>O çözeltisi eklendi. 6 dakika içerisinde 500 µL 1 M NaOH çözeltisi eklenip tekrar iyice karıştırıldı ve 275 µL su eklendi. Toplam flavonoid içeriği tayini için karışımın absorbansı 415 nm'de ölçülüp kaydedildi. Standart olarak kuarsetin kullanıldı ve ekstraktların toplam flavonoid içeriği "mg kuersetin eşdeğer (KE)/g kuru bitki" olarak belirlendi.

#### **3.4.4.3. LC-MS/MS İle Fenoliklerin Analizi**

*A. bodamae* bitkisinin çiçek, tohum ve yaprak kısımlarından hazırlanan ekstraktların fenolik bileşen içeriğinin kantitatif analizi için uygun kromatografik koşullar ile analizler uygulandı (Cavaliere vd, 2005; Ertas vd, 2015). Ekstraktların LC-MS/MS analizleri için 100 mg/mL çözeltileri hazırlandı ve 0.2 µm mikrofiber kullanılarak süzüldü.

Analiz, Shimadzu modeli LCMS 8040 ve LC tandem cihazına bağlanan MS kullanılarak gerçekleştirildi. Sıvı kromatograf, iki pompalı LC-30AD, DGU-20A3R degazör ünitesi, CTO-10ASvp kolon fırın ve SIL-30AC otomatik örnekleyici (otomatik numune alma cihazı) ile gerçekleştirildi. Kromatografik ayırma, bir C18 ters fazlı Inertsil ODS-4 (50 mm × 4.6 mm, 3 µm) analitik kolon üzerinde gerçekleştirildi. Kolon sıcaklığı 30 °C 'de sabitlendi. Elüsyon gradyanı, mobil faz A (% 0.1 formik

asit/su), mobil faz B (% 0.1 formik asit/metanol) ve mobil faz C 'den (% 50 metanol) oluşuyordu. LC gradyan zaman programında t (dakika) - % B: (0, 14), (34,37), (36,37), (51,38), (53,38), (67,44), (69,44), (69.90,44) ve (95,14) olarak uygulandı. Çözücü akış hızı 0.4 mL/dk 'da tutulmuş ve enjeksiyon hacmi 15 µL olarak eklendi. MS tespiti hem pozitif hem de negatif iyonizasyon modlarında çalışan bir ESI kaynağı ile donatılan Shimadzu LCMS 8040 model üçlü dört kutuplu kütle spektrometresi kullanılarak gerçekleştirildi. LC-MS/MS verileri LabSolutions yazılımı programı (Shimadzu, Kyoto, Japonya) vasıtasıyla toplandı ve hesaplamalar yapıldı. Analitleri ölçmek için çoklu reaksiyon izlemcisi (MRM) modu kullanıldı ve araştırılan bileşiklerin analizi, bileşik başına iki veya üç geçişin ardından gerçekleştirildi.

### **3.4.5. Antioksidan Aktivite Tayinleri**

Antioksidanlar, sağlığı koruyan faktör olarak önemli bir rol oynamaktadır (Geetha vd, 2016). Antioksidanlar serbest radikalleri atmada görev almaktadır (Das vd, 2016). Bu durum antioksidanların kanser ve kalp hastalığı da dahil olmak üzere kronik hastalık riskini azalttığını göstermektedir (Geetha vd, 2016). Hastalıkların çoğu temel olarak serbest radikaller nedeniyle oksidatif stres ile bağlantılıdır. Serbest radikaller herhangi bir biyokimyasal süreç ve normal metabolizma için temeldir (Fang vd, 2002). Antioksidan sistemler ya bu reaktif türlerin oluşmasını önler ya da hücrenin hayati bileşenlerine zarar vermeden önce onları yok eder. Antioksidan takviyeleri veya antioksidan içeren gıdalar, insan vücudundaki oksidatif hasarı azaltmak için kullanılan oksidasyon sürecine müdahale edebilmektedir (Gülçin vd, 2002; Miller vd, 1995).

Bütillendirilmiş hidroksi anisol (BHA), bütillendirilmiş hidroksi toluen (BHT), troloks ve tersiyer bütül hidrokinon (TBHQ) gibi sentetik antioksidanlar gıda endüstrisinde gıdaların bozulmasını önlemek ve gıdaların raf ömrünü uzatmak için yaygın olarak kullanılmaktadır (Hotta vd, 2002). Bununla birlikte, sentetik antioksidanların kullanımının insanda kanser oluşumu ve karaciğer hasarı riskini artırdığı görülmektedir (Ito vd, 1983; Namiki, 1990). Bu riskin, doğal antioksidanlara kıyasla sahip oldukları toksisitelerinden kaynaklandığı öne sürülmektedir (Jegadeesware vd, 2014). Bu nedenle bitki kaynaklı yeni doğal antioksidanların araştırılması artmıştır (Das vd, 2016).

### 3.4.5.1. Toplam Antioksidan Aktivite Tayini

Ekstraktların toplam antioksidan aktivitesi Amonyummolibdenyum Yöntemi kullanılarak belirlendi. Yöntem Mo(VI)'in Mo(V)'e indirgenmesi esasına dayanmaktadır. İndirgenme gerçekleştiyse yeşil bir renk gözlemlenmektedir (Mohamed vd, 2007; Prieto vd, 1999). Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan örnek veya standart maddelerden 0.3 mL alındı. Üzerine 0.6 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 28 mM sodyum sülfat ve 4 mM amonyummolibdenyumun karıştırımından oluşan 2.7 mL reaktif çözeltisiyle karıştırıldı. Karışım 95 °C'lik su banyosunda 90 dakika boyunca inkübe edildi. Oda sıcaklığında soğutulan karışımın absorbans değeri 695 nm'de ölçüldü. Örneklerin aktiviteleri A<sub>0,5</sub> (µg/mL) olarak ifade edildi ve r<sup>2</sup> değerleri belirlendi.

### 3.4.5.2. İndirgenme Gücü Tayini

Ekstraktların indirgenme gücü tayini, Fe<sup>3+</sup>'ün, Fe<sup>2+</sup>'ye indirgenmesi esasına dayanmaktadır (Huang vd, 2005; Oyaizu, 1986). 1 mL ekstrakt, 2.5 mL fosfat tamponu (0.2 M, pH 6.6) ve 2.5 mL %1'lik K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> homojen karıştırıldı. 20 dakika boyunca 50°C'de su banyosunda inkübasyon yapıldı ve karışıma 2.5 mL %10 TCA eklendi. Daha sonrasında karışımdan 2.5 mL alındı ve üzerine 2.5 mL su ilave edildi. Son olarak, 0.5 mL % 0.1 FeCl<sub>3</sub> ilave edilip karışımı vorteks ile iyice karıştırılması sağlandı. Örneklerin 700 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülüp kaydedilerek A<sub>0,5</sub> (µg/mL) ve r<sup>2</sup> değerleri belirlendi.

### 3.4.5.3. Lipit Peroksidasyonu İnhibisyon Tayini

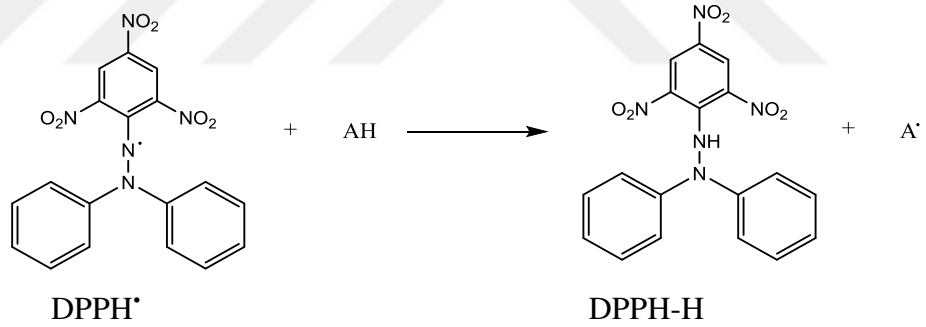
Ekstraktların lipit peroksidasyonu inhibisyonu düzeyi linoleik asit kullanılarak spektrofotometrik yöntem uygulandı (Choi vd, 2002). 1 mL ekstrakt, 550 µL 0.02 M linoleik asit, 500 µL fosfat tamponu (100 mM, pH 7.4) ve 150 µL 10 µM askorbik asit vorteks yardımıyla homojen karıştırıldı. Karışıma 0.1 mL 10 µM FeSO<sub>4</sub> ilave edilerek reaksiyon başlatıldı ve 37 °C'lik sallantılı su banyosunda 60 dakika boyunca inkübe edildi. İnkübasyondan sonra karışıma soğuk %10'luk TCA (%0.5'lik 1.5 mL HCl'de hazırlandı) çözeltisi eklenerek reaksiyonun durması sağlandı ve %1'lik 3 mL TBA çözeltisi eklendi. Karışımlar 95°C'lik sallantılı su banyosunda 60 dakika boyunca tekrar inkübasyon yapıldı ve oda sıcaklığında soğutuldu. Her bir karışımdan 3'er mL alınıp üzerlerine 3 mL *n*-bütanol eklendi ve 10 dakika boyunca 3000 xg'de santrifüjleme işlemi uygulandı. Karışımların renkli olan üst faz kısımlarından kuvars küvete spektrofotometrik ölçümler için aktarıldı ve 532 nm dalga boyunda absorbans

değerleri ölçülüp kaydedildi. Örneklerin lipid peroksidasyon seviyeleri aşağıdaki formüle göre hesaplanarak EC<sub>50</sub> (µg/mL) ve r<sup>2</sup> değerleri belirlendi.

$$\text{Lipid peroksidasyon inhibisyonu (\%)} = \frac{(\text{Absorbans}_{\text{numune}} - \text{Absorbans}_{\text{kontrol}})}{\text{Absorbans}_{\text{kontrol}}} \times 100$$

#### 3.4.5.4. Serbest Radikal Giderme Tayini

Ekstraktların serbest radikal giderme aktivitesi tayini 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH<sup>•</sup>) radikali kullanılarak gerçekleştirildi (Blois, 1958). Deney DPPH<sup>•</sup> radikali içeren çözeltideki DPPH<sup>•</sup> radikalinin, hidrojen atomu verme eğilimi olan molekül yani bir antioksidan tarafından indirgenmesi ve çözeltinin başlangıçta mor olan renginin kaybolması esasına dayanmaktadır (Şekil 3.1). 1 mL DPPH<sup>•</sup> (0.1 mM etanolde) çözeltisi 3 mL ekstrakt vorteks kullanılarak karıştırıldı. Karışım 25 °C'lik sallantılı su banyosunda (karanlık ortamda) 30 dakika bekletildi. Her bir karışımın 517 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülüp kaydedildi. Ekstraktlarla (ya da standartlar) hazırlanmış olan bu karışımların serbest radikal giderme aktiviteleri aşağıda yazılı olan formüle göre hesaplanarak EC<sub>50</sub> (µg/mL) ve r<sup>2</sup> değerleri belirlendi. Serbest radikal giderme aktivitesi (%) =  $\frac{(\text{Absorbans}_{\text{numune}} - \text{Absorbans}_{\text{kontrol}})}{\text{Absorbans}_{\text{kontrol}}} \times 100$



A: Fenolik ya da flavonoid

Şekil 3.1. DPPH<sup>•</sup> radikalinin bir antioksidan (AH) tarafından giderilmesi

#### 3.4.5.5. Metal Şelat Aktivitesi Tayini

Ekstraktların (ya da standart) metal şelat aktivitesi spektroskopik olarak tayin edildi (Dinis vd, 1994). 0.2 mL farklı konsantrasyonlardaki ekstraktlar (ya da standart) kapaklı tüplerde 2 mM 0.05 mL FeCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O çözeltisi ile homojen karıştırıldı. Daha sonra her bir deney tüplerine sıra ile 0.35 mL ddH<sub>2</sub>O ve 3.4 mL etanol eklendi. Beş dakika sonra karışım 5 mM 0.2 mL ferrozin eklenerek reaksiyon başlatıldı ve vorteks yardımıyla iyice karıştırıldı. Reaksiyon karışımı 25 °C'de 10 dakika inkübasyon yapıldı ve 562 nm dalga boyunda Fe<sup>2+</sup>-Ferozin kompleksinin absorbans değerleri

ölçülüp kaydedildi. Karışımların metal şelat giderme aktiviteleri aşağıdaki formülle hesaplanarak EC<sub>50</sub> (µg/mL) ve r<sup>2</sup> değerleri belirlendi.

Metal şelat giderme aktivite (%) = [(Absorbans<sub>numune</sub> - Absorbans<sub>kontrol</sub>) / Absorbans<sub>kontrol</sub>] x 100

### **3.4.5.6. Süperoksit Anyonu Giderme Aktivitesi**

Ekstaktların (ya da standartlar) süperoksit anyonu giderme aktivitesi spektroskopik olarak tayin edildi (Nishikimi vd, 1972). Aktivite 1.0 mL ekstrakt, 1.0 mL 156 µM NBT, 1.0 mL 468 µM NADH ve 0.1 mL 100 mM PMS çözeltileri homojen karıştırıldı. Karışım 25 °C'de 5 dakika bekletildi ve 560 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülüp kaydedildi. Ekstaktlarla (ya da standartlar) hazırlanmış olan bu karışımların süperoksit anyonu giderme aktiviteleri aşağıda yazılı olan formüle göre hesaplanarak EC<sub>50</sub> (µg/mL) ve r<sup>2</sup> değerleri belirlendi.

Süperoksit anyonu giderme aktivitesi (%) = [(Absorbans<sub>numune</sub> - Absorbans<sub>kontrol</sub>) / Absorbans<sub>kontrol</sub>] x 100

### **3.4.6. Enzim İnhibisyon Aktivite Tayinleri**

#### **3.4.6.1. Asetilkolinesteraz İnhibisyon Aktivite Tayini**

Ekstaktların asetilkolin esteraz (AChE) inhibisyon düzeyleri spektrofotometrik olarak tayin edildi (Ellman vd, 1961). Sırasıyla tüplere 750 µL 100 mM potasyum fosfat tamponu (pH 8.0), 50 µL farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış (0.025-5.0 µg/mL) ekstrakt çözeltileri (veya galantamin), 100 µL AChE çözeltisi (0.03 U/mL) ilave edildi. 25°C' de 15 dakika inkübasyona bırakıldı. Karışıma 3.3 mM 50 µL DTNB ve 1 mM 50 µL ATCh ilave edildi. Her bir karışımın absorpsiyon düzeyleri 412 nm' de ölçüldü. Farklı konsantrasyonlardaki ekstaktların ölçülen absorpsiyon değerlerinden inhibisyon grafikleri çizildi. Ekstrakt örneklerinin ve galantaminin IC<sub>50</sub> değerleri belirlendi ve inhibisyon düzeyi µg/mL olarak ifade edildi.

#### **3.4.6.2. Üreaz İnhibisyon Aktivite Tayini**

Ekstaktların üreaz (E.C.3.5.1.5.) inhibisyon aktivite düzeyleri spektroskopik olarak tayin edildi (Zhang vd, 2006). Deney tüplerine öncelikle 100 mM pH 6.8 potasyum fosfat tamponu ile hazırlanan 0.47 U 125 µL üreaz çözeltisi konuldu. Daha sonra sırasıyla 25 µL ekstrakt (ya da tiyoüre), 275 µL (0.2 mM) üre eklendi. Karışım 30 °C'de sallantılı su banyosunda 15 dakika boyunca inkübasyonu yapıldı. Daha sonra herbir karışıma 225 µL fenol reaktifi ve 350 µL alkali reaktifi ilave edildi. Karışım 30°C'de sallantılı su banyosunda 50 dakika tekrar inkübasyona yapıldı ve 630 nm

dalga boyunda absorbans değerleri ölçölüp kaydedildi. Örneklerin ölçülen absorbans değerleri kullanılarak inhibisyon grafiği çizilerek IC<sub>50</sub> (µg/mL) değerleri hesaplandı.

### 3.4.7. Antibakteriyel Aktivite Tayinleri

Disk difüzyon ve mikrodilüsyon metodları kullanılarak *A. bodamae* bitkisinin çiçek, tohum ve yaprak kısımlarının farklı çözücülerde hazırlanan ekstraktların bazı bakteriler kullanılarak antibakteriyel etkileri incelendi. Aktivite tayinlerinde gram pozitif bakterilerden *S. aureus* (ATCC 25213), *B. cereus* (CCM 99) ve *E. faecalis* (ATCC 29212) bakterileri kullanılmış olup gram negatif bakterilerden ise *P. aeruginosa* (ATCC 15442), *E. coli* (ATCC 25922) ve *K. pneumoniae* (ATCC 10031) bakterileri kullanıldı.

200 mL MHA ortamı (38 gr/1000 mL ddH<sub>2</sub>O), 200 mL serum fizyolojik (% 0.85 NaCl) steril çözeltileri ve aktivite tayininde kullanılan tüm malzemeler 120°C' de 1 saat otoklavda sterilizasyon işlemi için sterilize edildi. Steril petri kaplarına 50 °C sıcaklığa kadar soğutulan 25 mL MHA çözeltisi döküldü ve oda sıcaklığına kadar soğutuldu. 20 µL bakteri suşu damla şeklinde petri kabının kenarına damlatıldı ve steril pamuk uçlu çubuk yardımıyla tek hamlede zik zak yaparak ortama yayılması sağlandı. Gram pozitif ve negatif bakteriler MHA ortamında 37°C'de inkibatörde bekletilerek çoğaltıldı. Daha sonra serum fizyolojik kullanılarak bakterilerin 0.5 McFarland değerinde homojen çözeltisi hazırlanarak disk difüzyon ve mikrodilüsyon aktivite yöntemlerinde kullanıldı.

#### 3.4.7.1. Disk Difüzyon Metodu

*A. bodamae* çiçek, tohum ve yaprak ekstraktlarından 10 mg/mL hazırlanıp disk difüzyon metoduna göre antibakteriyel etkinliği incelendi (Reller vd, 2009).

İlk önce 100 µL 0.5 McFarland bakteri çözeltileri MHA ortamına pamuk uçlu çubukla yayılması sağlandı. 40 µL ekstrakt 6 mm' lik disklere emdirildi ve ince uçlu pens yardımıyla agar üzerine bırakıldı. Hazırlanan petri kapları 37 °C sıcaklıkta 16-18 saat inkübatöre konuldu. Ayrıca *B. cereus* da 30 °C' de inkibatörde 16-18 saat inkübasyona bırakıldı. Herbir bakteri ortamı için zon çapları milimetre (mm) olarak ölçüldü. Standart antibiyotik hazırlamak için amoksilin ve tetrasiklin kullanıldı ve

sonuçlar karşılaştırıldı. Ekstraktların petri kaplarına yerleştirme işlemi aynı Şekilde standart antibiyotikler için de gerçekleştirildi.

### 3.4.7.2. Mikrodilüsyon Metodu

*A. bodamae* iek, tohum ve yaprak kısımlarının farklı çözücülerdeki ekstraktlarının mikrodilüsyon metodu uygulanarak antibakteriyel aktivitelerinin etkinliği değerlendirildi (Andrews, 2001).

Hazırladığımız ekstraktların minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerleri için stok 1024 µg/mL' lik çözeltileri hazırlandı. Stok özelti steril 96 lık mikrolaka kuyucuklarında sekiz uçlu pipet kullanılarak seyreltildi. Daha sonra kuyucuklardaki örnekler katyon özeltisi (CaCl<sub>2</sub>-MgCl<sub>2</sub>) ve mueller Hinton II Broth (MHB) besiyeri kuyucuklarda homojen karıştırıldı. 96 lık mikrolaka kuyucuklarındaki karışımlar 10 µL 0.5 McFarland bakteri çözeltisi ilave edildi.

Uygulanan işlemler sonucunda plate + 4°C' de 2 saat süreyle bekletilip sonrasında 37°C sıcaklıkta 16-18 saat kadar inkübe edildi. Ayrıca *B. cereus* bakterisi ise 30°C' de inkübasyon edilmesi sağlandı. Bir sonraki gün ekstraktların ve standartların MİK değerleri belirlendi.

### 3.4.8. DNA İle İlgili Aktivite Tayinleri

#### 3.4.8.1. Deoksiriboz Koruma Aktivitesi Tayini

Ekstraktların deoksiriboz koruma aktivitesi literatürde uygulanan spektroskopik metoda göre tayin edildi (Halliwell ve Gutteridge, 2015). 25 mM 200 µL fosfat tamponu (pH 7.4), 100 µL EDTA (100 µM), 100 µL FeCl<sub>3</sub> (100 µM), 200 µL 2-deoksiriboz (3 mM), 100 µL örnek (veya standart), 200 µL askorbik asit (100 µM) ve 100 µL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 mM) özeltileri iyice karıştırılarak fenton reaksiyonu başlatıldı ve 37 °C'lik su banyosunda 30 dakika boyunca inkübe edildi. Elde edilen karışımdan 0.5 mL alındı. Üzerine 50 mM NaOH'te hazırlanan 0.25 mL % 1'lik TBA özeltisi, % 2.8'lik 0.25 mL TCA özeltisi ve 2 mL eklendi. Elde edilen yeni karışım 95 °C'lik su banyosunda 15 dakika boyunca inkübe edildi ve oda sıcaklığında soğutuldu. Karışımın absorbansı 532 nm de ölçölüp kaydedildi. Ekstraktların deoksiriboz koruma aktivitesi aşağıda yazılı olan formülle hesaplanarak EC<sub>50</sub> (µg/mL) ve *r*<sup>2</sup> değerleri belirlendi.

Deoksiriboz koruma aktivitesi (%) = [(Absorbans<sub>numune</sub> - Absorbans<sub>kontrol</sub>) / Absorbans<sub>kontrol</sub>] x 100

### 3.4.8.2. DNA Koruma Aktivitesi

Ekstrakt örneklerin plazmit DNA kullanarak agaroz jel elektroforez üzerinde DNA koruma aktivitesi uygulandı (Baiseitova vd, 2019; Russo vd, 2003; Sevgi vd, 2015; Tepe vd, 2011). DNA koruma testi için numuneler mikro tüpte hazırlandı ve sırasıyla 4 µL gliserol, 5 µL örnek, 3 µL pBR322 plazmit DNA (172 ng/µL) ve 1 µL % 30 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eklenerek uygulama karışımı hazırlandı. adaki şekilde hazırlandı;

Karışımlar 20 dakika UV (320 nm, 8000 µW/cm) ışık kaynağına oda sıcaklığında maruz bırakıldı. Daha sonra örnekler 2 µL yükleme boyası ilave edildi. Örnek karışımlarının çözeltisi elektroforez tankındaki hazırlanan % 1.5' lik (1X TBE tamponunda + 2 µL etidyum bromür' de eklenir) agaroz jelini kuyularına dikkatli bir şekilde eklendi. Daha sonra 120 dakika boyunca 90 V boyunca jel elektroforezi uygulandı.

Son olarak, jel görüntüsü UV translüminatörü (320 nm, 8000 µW/cm) kullanılarak fotoğraf olarak kaydedildi (Attaguile vd, 2000; Baiseitova vd, 2019; Berk vd, 2011; Chai vd, 2019; Chew vd, 2018; Russo vd, 2003; Salar ve Purewal, 2017; Sevgi vd, 2015; Tepe vd, 2011).

### 3.4.9. İstatistiksel Değerlendirme

Statistical Packages For The Social Sciences 20.0 (SPSS) paket programı kullanılarak aktivite deneylerinde elde edilen değerler arasındaki anlamlı bir fark olup olmadığı ANOVA ve Tukey HSDa,b testleriyle değerlendirildi. Ortalama sonuçlar a, b, c, d gibi harflerle harflendirildi ve istatistiksel olarak anlamlı farklar belirlendi (p<0.05).

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1. *A. bodamae* Ekstraktlarının Verimi, Toplam Fenol ve Flavonoid İçerikleri

*A. bodamae* çiçek, tohum ve yaprak kısımlarından elde edilen ekstraktların toplam fenol ve flavonid tayinleri fotokimyasal içerik tayin başlığı altında verilen şekilde uygulandı ve ekstraktların toplam fenol ve flavonoid içerikleri hesaplandı. Ekstraktların verimleri % olarak belirlendi. Ekstraktların % verim, toplam fenol ve flavonid içerikleri Tablo 4.1'de gösterilmektedir.

Tablo 4.1. *A. bodamae* çiçek, tohum ve yaprak ekstraktlarının verimi, toplam fenolik ve flavonoid içerikleri

EKSTRAKT	Verim, %	*Toplam Fenolik	**Toplam Flavonoid
ABÇAS	4.00	10.77±0.00	3.42±0.27
ABÇEA	8.09	40.41±0.20	57.96±0.75
ABÇET	21.64	110.41±0.06	7.35±0.59
ABÇHE	4.82	10.73±0.13	7.75±0.75
ABÇME	39.22	160.54±0.01	10.10±0.75
ABÇSU	30.33	70.44±0.05	12.05±1.20
ABTAS	7.04	30.42±0.10	39.00±0.67
ABTEA	14.29	20.64±0.25	150.03±2.62
ABTET	16.67	50.60±0.14	22.24±1.10
ABTHE	10.00	10.98±0.05	16.24±0.91
ABTME	20.00	30.77±0.32	17.73±0.89
ABTSU	24.39	110.35±1.02	17.92±1.00
ABYAS	7.20	40.68±0.01	8.00±0.09
ABYEA	36.40	70.02±0.00	9.28±0.16
ABYET	29.10	40.76±0,00	9.52±0.35
ABYHE	4.27	10.45±0.01	9.55±0.13
ABYME	15.37	70.64±0,04	9.33±0.31
ABYSU	21.90	10.32±0,00	11.30±0.02

\*mg gallik asit eşdeğer/g kuru bitki \*\*mg kuersetin eşdeğer/g kuru bitki

% Verim değeri en yüksek olan ekstraktlar sırasıyla ABÇME, ABYEA, ABÇSU, ABYET ekstraktlarının olduğu görüldü. En az % verime sahip olan ekstrakt ise ABÇAS olduğu belirlendi.

Chaouki vd (2010), yapmış olduğu çalışmada *Aristolochia* türlerinden biri olan *A. baetica* bitki türünün kök kısmını incelemiştir. *A. baetica*'nın ekstraktlarında en yüksek % verim değerine sahip olan metanol ekstraktı için % 24.4 olduğunu bulmuştur. Diğer ekstrakt değerlerinin ise; hekzan için % 1.36, kloroform için % 1.33 ve etil asetat için % 0.65 olarak tespit etmiştir. Tez çalışma sonuçlarımızda *A. bodamae* çiçek kısmının metanol ekstraktının verimi (% 39.22) *A. baetica* bitkisinin metanol ekstraktından daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Akindele vd (2015), çalışmasında *A. ringens* Vahl. kök ekstraktı ile yapmış olduğu deneysel araştırmada etanol, etanol-su, su ve DCM:MeOH çözücüleriyile yapılan ekstraksiyon verimlerini sırasıyla % 4.41, % 16.00, % 11.08 ve % 5.93 olarak bulmuştur. Tez çalışma sonuçlarında *A. bodamae* çiçek, tohum ve yaprak kısımlarının etanol ekstraktının % verimlerinin daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Toplam fenolik içeriği en yüksek olan *A. bodamae* ekstraktlarından ABÇME, ABÇET ve ABTSU olarak bulundu. En düşük toplam fenolik içeriği ise ABYSU ekstraktı olduğu tespit edildi. Toplam flavonoid içeriği en yüksek olan *A. bodamae*

ekstraktlarından ABTEA ve ABÇEA olarak belirlenmiş olup en düşük toplam flavonoid içeriğine sahip ekstrakt ise ABÇAS'dır (Tablo 4.1).

Geetha vd (2016), *A. indica* L. yaprak kısmı ile yapmış olduğu çalışmada toplam fenolik içeriği  $31.3 \pm 0.22$  mg GAE/g olarak bulunmuştur. Tez çalışma sonuçlarımızda *A. bodamae* yaprak kısmının metanol, etil asetat, etanol ve aseton ekstraktlarının toplam fenolik değerleri daha yüksek bulunmuştur.

Jegadeesware vd (2014), *A. bracteata* Retz. (bütün olarak) metanol ekstraktının toplam fenolik içeriği  $3.48$  g/100 g olarak bulunmuştur.

Djeridane vd (2006), yapmış olduğu çalışmada *A. longa*'nın toplam fenolik değeri  $1.44 \pm 0.02$  mg GAE/g olarak bulunmuştur. *A. bodamae* çiçek, tohum ve yaprak kısımlarının tüm ekstraktının toplam fenolik değerleri daha yüksek bulunmuştur.

Benarba ve Meddah (2014), *A. longa* su ekstraktının toplam fenolik değerini  $6.07 \pm 0.12$  mg GAE/g olarak bulunmuştur. *A. bodamae* çiçek, tohum ve yaprak kısımlarının su ekstraktları sırasıyla  $12.05 \pm 1.20$ ,  $17.92 \pm 1.00$  ve  $11.30 \pm 0.02$  mg GAE/g olarak bulunmuş olup daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Geetha vd (2016), *A. indica* L. yaprak kısmı ile yapmış olduğu çalışmada toplam flavonoid içeriği  $28 \pm 0.33$  mg rutin eşdeğer/g olarak bulunmuştur. Tez çalışmasında *A. bodamae* yaprak kısımlarının tüm ekstraktlarının daha düşük sonuç vermesinin yanı sıra çiçek kısmının etil asetat ekstraktı ile tohum kısmının etil asetat, aseton ekstraktlarının toplam flavonoid değerleri daha yüksek bulunmuştur.

Jegadeesware vd (2014), *A. bracteata* Retz. bitkisinin (bütün olarak) metanol ekstraktının toplam flavonoid içeriği  $1.32$  g/100 g olarak bulunmuştur.

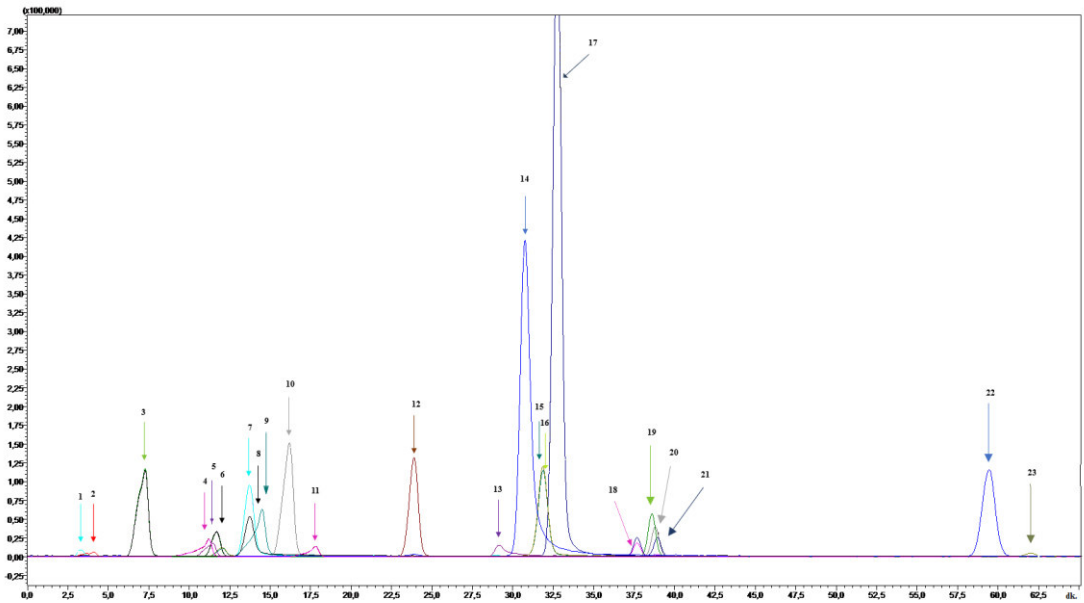
Djeridane vd (2006), Cezayir bitkileri üzerinde yapmış olduğu çalışmada *A. longa* ekstraktının toplam flavonoid değeri  $0.81$  mg rutin eşdeğer/g olarak bulunmuştur. Tez çalışmasında *A. bodamae* çiçek ve tohum kısımlarının etil asetat ekstraktının toplam flavonoid değerleri daha yüksek bulunmuştur.

Papuc vd (2010), *A. clematitis* bitkisinin topraküstü kısmı ile yapmış olduğu deneysel çalışma sonucunda etanol ekstraktının toplam flavonoid değerini  $23.87 \pm 3.33$  µg eşdeğer kuersetin/g olarak bulmuş olup tez çalışmasında *A. bodamae* çiçek, tohum ve yaprak kısımlarının etanol ekstraktlarında elde ettiğimiz toplam flavonoid değerlerinden daha yüksek olduğu görülmüştür.

#### 4.1.1. LC-MS/MS ile Fenoliklerin Analizi

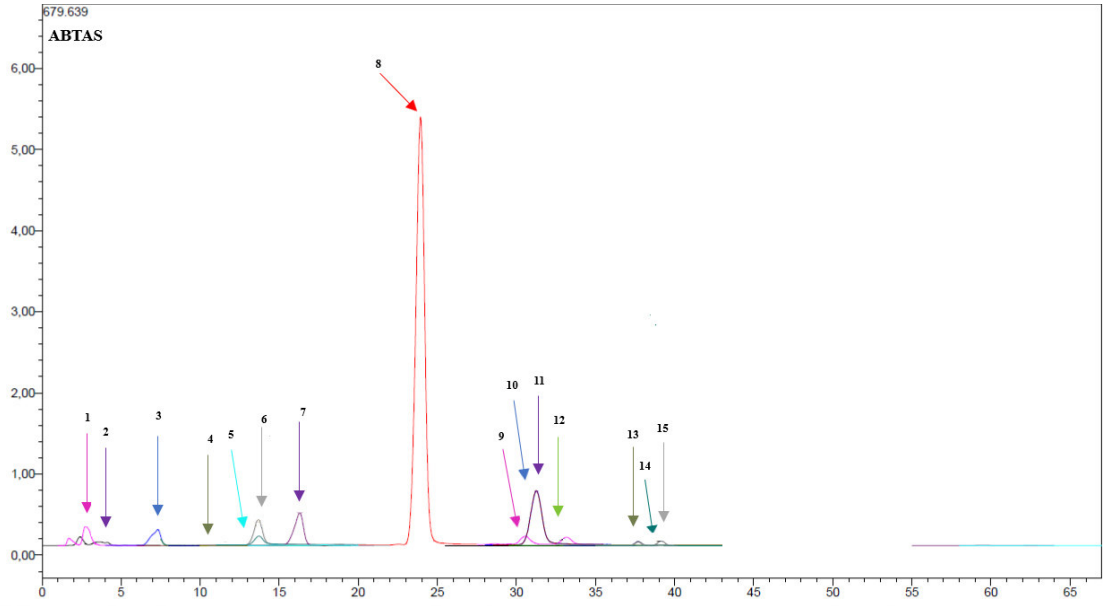
*A. bodamae* ekstraktlarının fenoliklerini LC-MS/MS ile kantitatif analizleri Ondokuz Mayıs Üniversitesi Karadeniz İleri Teknoloji Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Ekstraktların fenolik içerikleri 23 adet standart bileşik kullanılarak belirlendi "Şekil 4.1". Elde edilen standart verilere göre çiçek, tohum ve yaprak ham ekstraktlarının ayrı ayrı LC-MS/MS sonuçları Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8, Şekil 4.9, Şekil 4.10, Şekil 4.11, Şekil 4.12, Şekil 4.13, Şekil 4.14, Şekil 4.15, Şekil 4.16, Şekil 4.17, Şekil 4.18 ve Şekil 4.19' de, Tablo 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6 ve 4.7' de gösterildi.

Genel olarak tüm ekstraktların fenolik bileşenleri değerlendirildiğinde en yüksek bileşiklerin kumarik asit, fumarik asit ve rutin olduğu görüldü. Sikorik asit ise *A. bodamae*'nin hiçbir ekstraktında belirlenemedi.



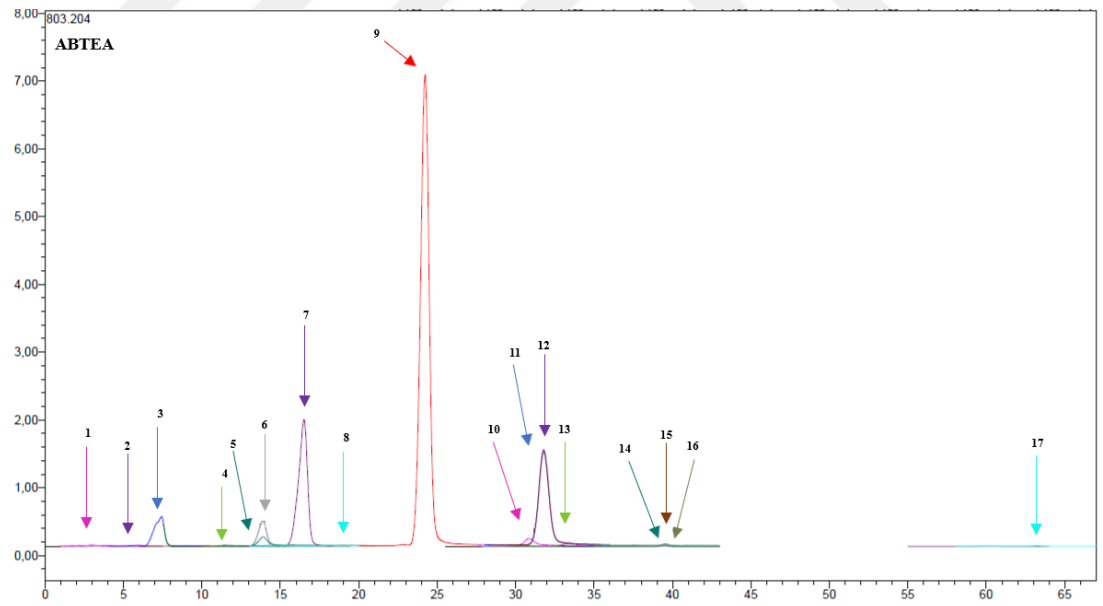
(1) Fumarik asit, (2) Gallik asit, (3) Protokateşuik asit, (4) Kateşin, (5) Tanik asit, (6) Gentisik asit, (7) Vanilik asit, (8) 4-hidroksibenzaldehit, (9) Klorojenik asit, (10) Kafeik asit, (11) Epikateşin, (12) *p*-kumarik asit, (13) Sikorik asit, (14) Kumarin, (15) Salisilik asit, (16) 4-hidroksibenzoik asit, (17) Protokateşuik asit etil ester, (18) Hesperidin, (19) Resveratrol, (20) Kuersetin-3-glukozit, (21) Rutin, (22) Naringenin ve (23) Kuersetin

Şekil 4.1. Standart bileşiklerin LC-MS/MS spektrumu



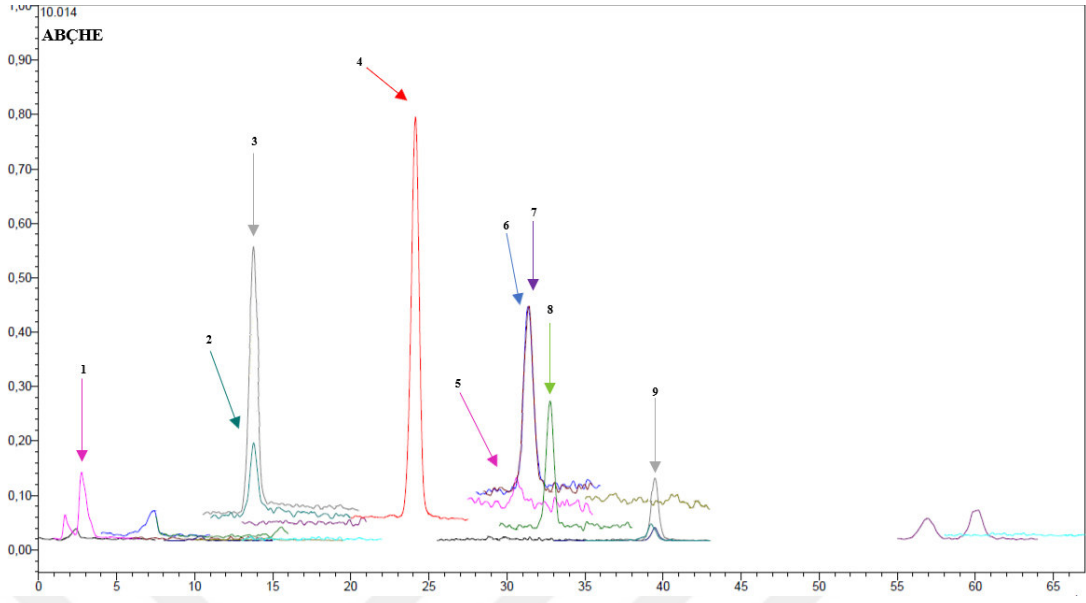
(1)Fumarik asit, (2) Gallik asit, (3) Protokateşuik asit, (4) Gentisik asit, (5) Vanilik asit, (6) 4-hidroksibenzaldehit, (7) Kafeik asit, (8) *p*-kumarik asit, (9) Kumarin, (10) Salisilik asit, (11) 4-hidroksibenzoik asit, (12) Protokateşuik asit etil ester, (13) Hesperidin, (14) Kuersetin-3-glukozit, (15) Rutin.

Şekil 4.2. ABÇAS ekstraktının LC-MS/MS spektrumu



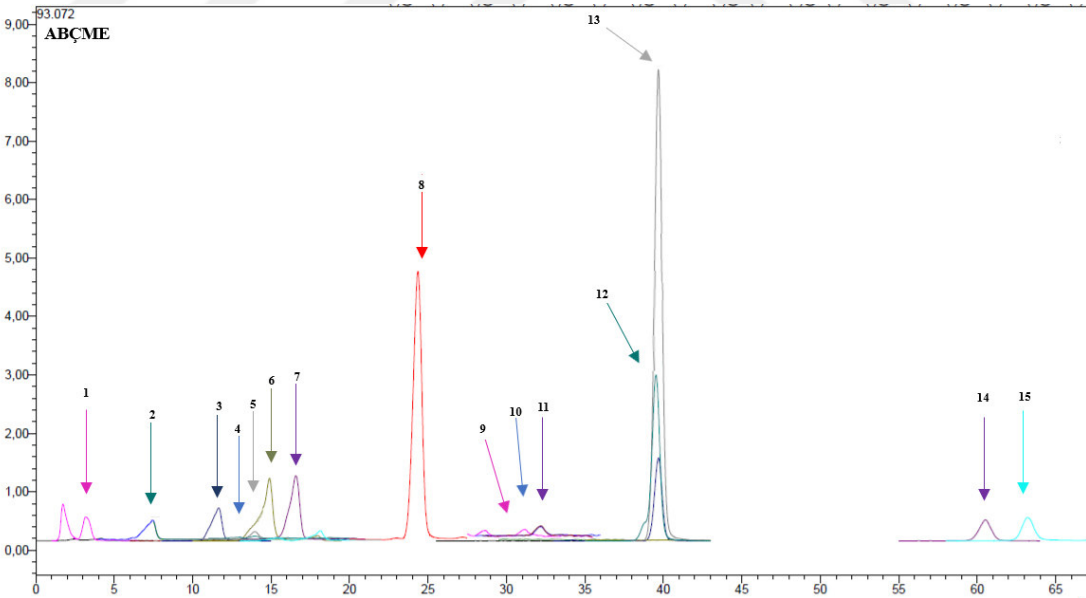
(1)Fumarik asit, (2) Gallik asit, (3) Protokateşuik asit, (4) Kateşin, (5) Vanilik asit, (6) 4-hidroksibenzaldehit, (7) Kafeik asit, (8) Epikateşin, (9) *p*-kumarik asit, (10) Kumarin, (11) Salisilik asit, (12) 4-hidroksibenzoik asit, (13) Protokateşuik asit etil ester, (14) Hesperidin, (15) Kuersetin-3-glukozit, (16) Rutin ve (17) Kuersetin

Şekil 4.3. ABÇEA ekstraktının LC-MS/MS spektrumu



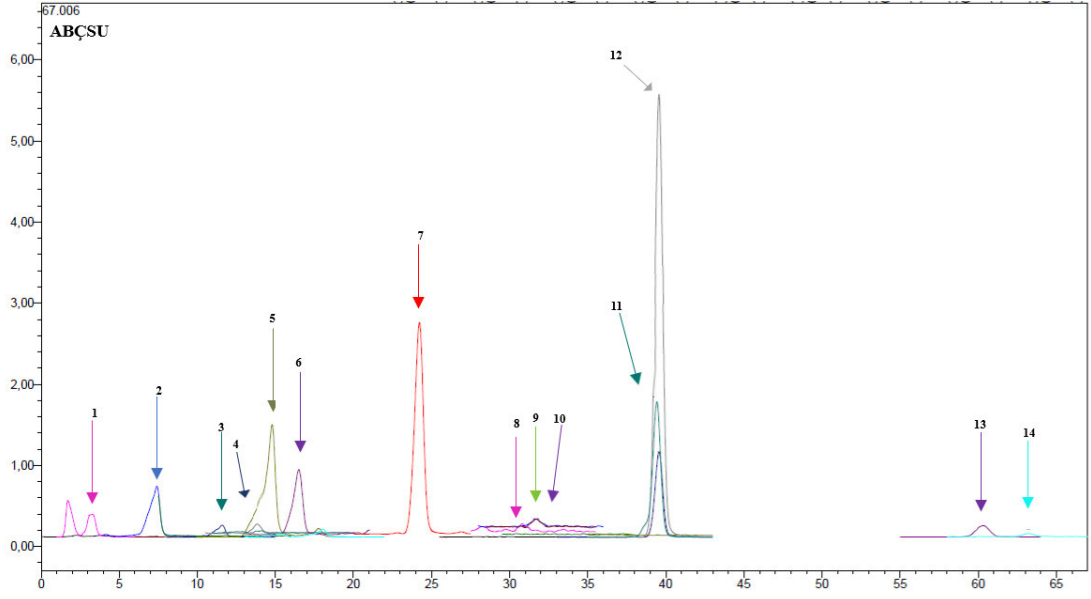
(1)Fumarik asit, (2) Vanilik asit, (3) 4-hidroksibenzaldehit, (4) *p*-kumarik asit, (5) Kumarin, (6) Salisilik asit, (7) 4-hidroksibenzoik asit, (8) Protokateşuik asit etil ester, (9) Rutin

Şekil 4.4. ABÇHE ekstraktının LC-MS/MS spektrumu



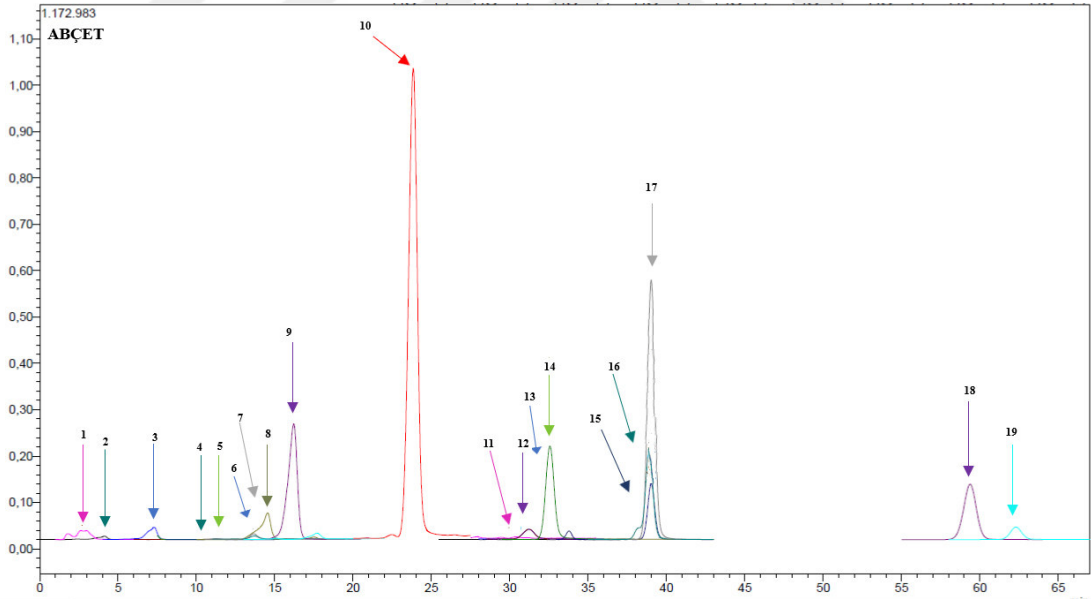
(1) Fumarik asit, (2) Protokateşuik asit, (3) Tanik asit, (4) Vanilik asit, (5) 4-hidroksibenzaldehit, (6) Klorojenik asit, (7) Kafeik asit, (8) *p*-kumarik asit, (9) Kumarin, (10) Salisilik asit, (11) 4-hidroksibenzoik asit, (12) Kuersetin-3-glukozit, (13) Rutin, (14) Naringenin ve (15) Kuersetin

Şekil 4.5. ABÇME ekstraktının LC-MS/MS spektrumu



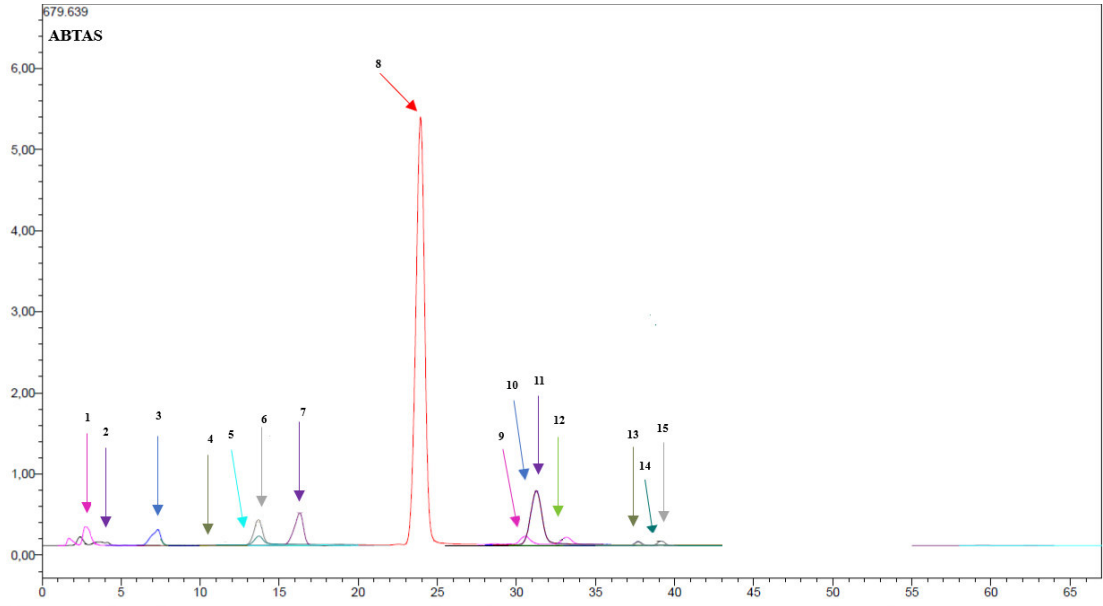
(1)Fumarik asit, (2) Protokateşük asit, (3) Tanik asit, (4) Vanilik asit, (5) Klorojenik asit, (6) Kafeik asit, (7) *p*-kumarik asit, (8) Kumarin, (9) Salisilik asit, (10) 4-hidroksibenzoik asit, (11) Kuersetin-3-glukozit, (12) Rutin, (13) Naringenin ve (14) Kuersetin

Şekil 4.6. ABÇSU ekstraktının LC-MS/MS spektrumu



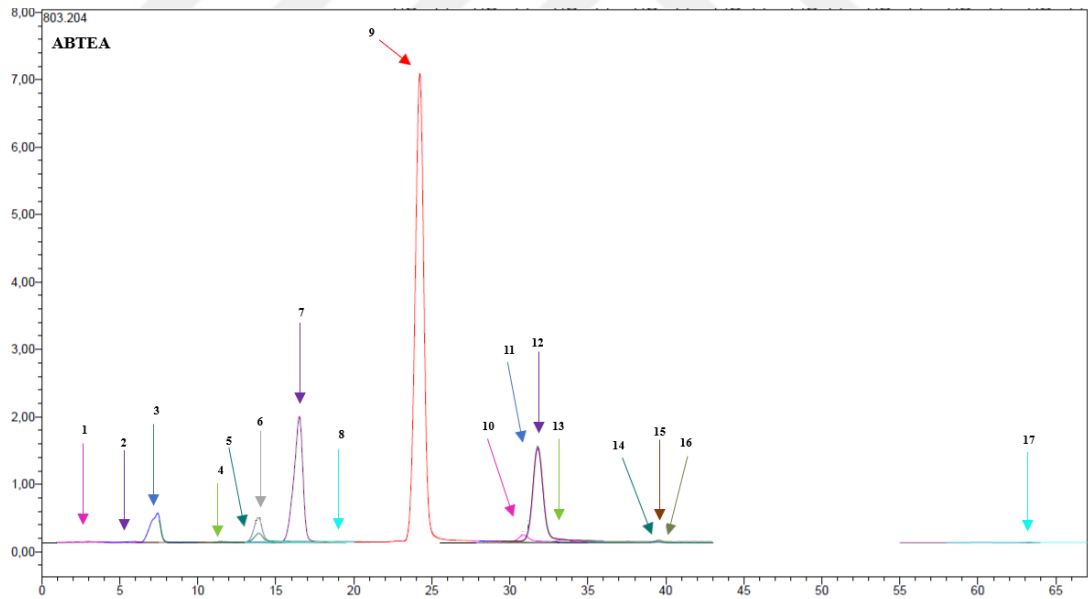
(1)Fumarik asit, (2) Gallik asit, (3) Protokateşük asit, (4) Kateşin, (5) Tanik asit, (6) Vanilik asit, (7) 4-hidroksibenzaldehit, (8) Klorojenik asit, (9) Kafeik asit, (10) *p*-kumarik asit, (11) Kumarin, (12) Salisilik asit, (13) 4-hidroksibenzoik asit, (14) Protokateşük asit etil ester, (15) Hesperidin, (16) Kuersetin-3-glukozit, (17) Rutin, (18) Naringenin ve (19) Kuersetin

Şekil 4.7. ABÇET ekstraktının LC-MS/MS spektrumu



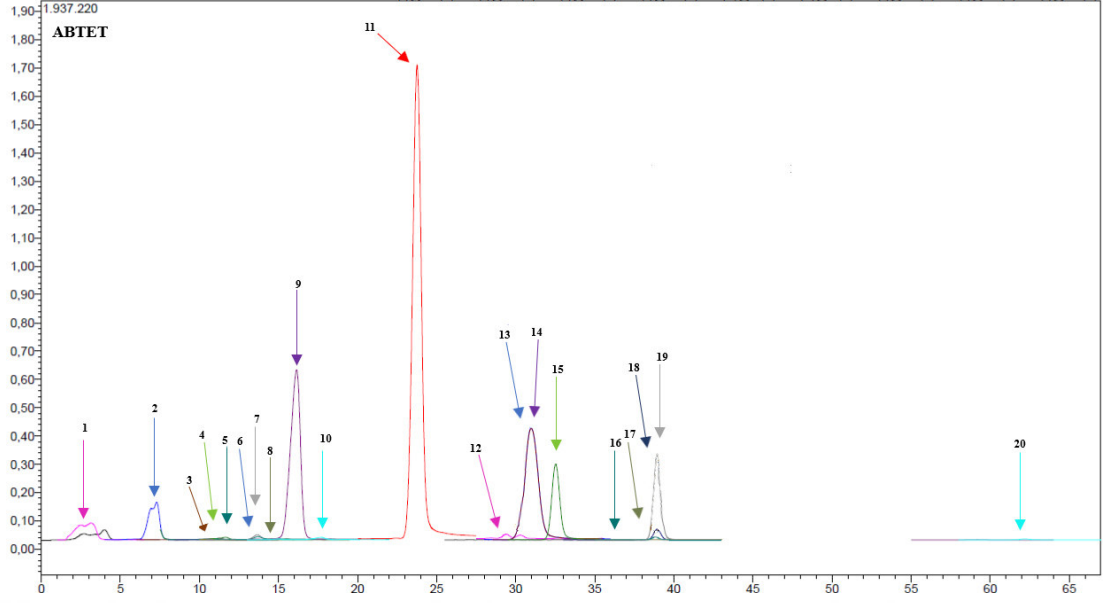
(1)Fumarik asit, (2) Gallik asit, (3) Protokateşuik asit, (4) Gentisik asit, (5) Vanilik asit, (6) 4-hidroksibenzaldehit, (7) Kafeik asit, (8) *p*-kumarik asit, (9) Kumarin, (10) Salisilik asit, (11) 4-hidroksibenzoik asit, (12) Protokateşuik asit etil ester, (13) Hesperidin, (14) Kuersetin-3-glukozit, (15) Rutin

Şekil 4.8. ABTAS ekstraktının LC-MS/MS spektrumu



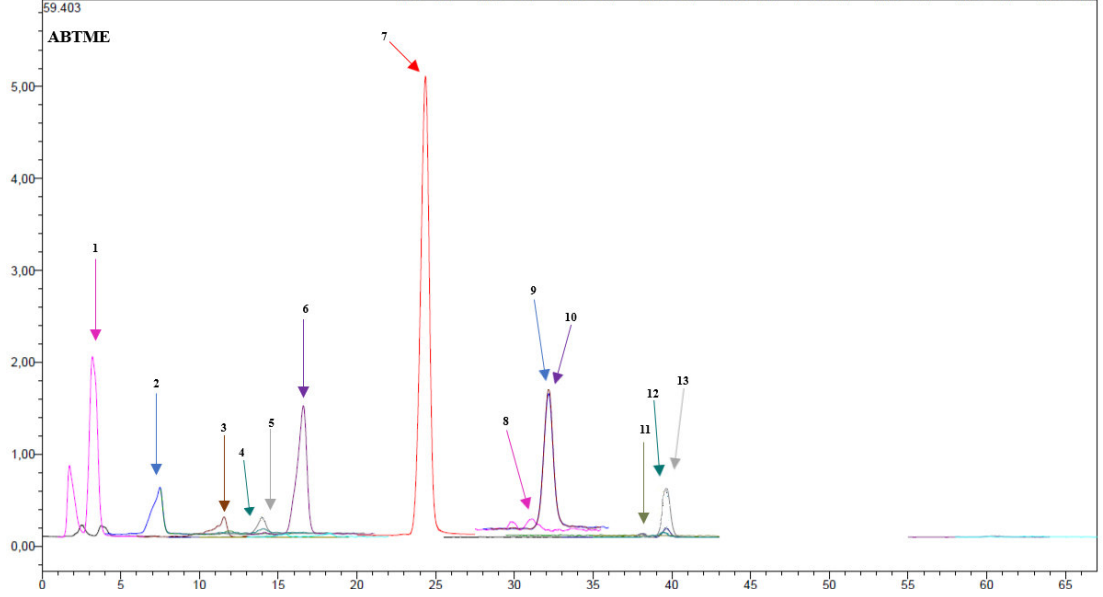
(1) Fumarik asit, (2) Gallik asit, (3) Protokateşuik asit, (4) Kateşin, (5) Vanilik asit, (6) 4-hidroksibenzaldehit, (7) Kafeik asit, (8) Epikateşin, (9) *p*-kumarik asit, (10) Kumarin, (11) Salisilik asit, (12) 4-hidroksibenzoik asit, (13) Protokateşuik asit etil ester, (14) Hesperidin, (15) Kuersetin-3-glukozit, (16) Rutin ve (17) Kuersetin

Şekil 4.9. ABTEA ekstraktının LC-MS/MS spektrumu



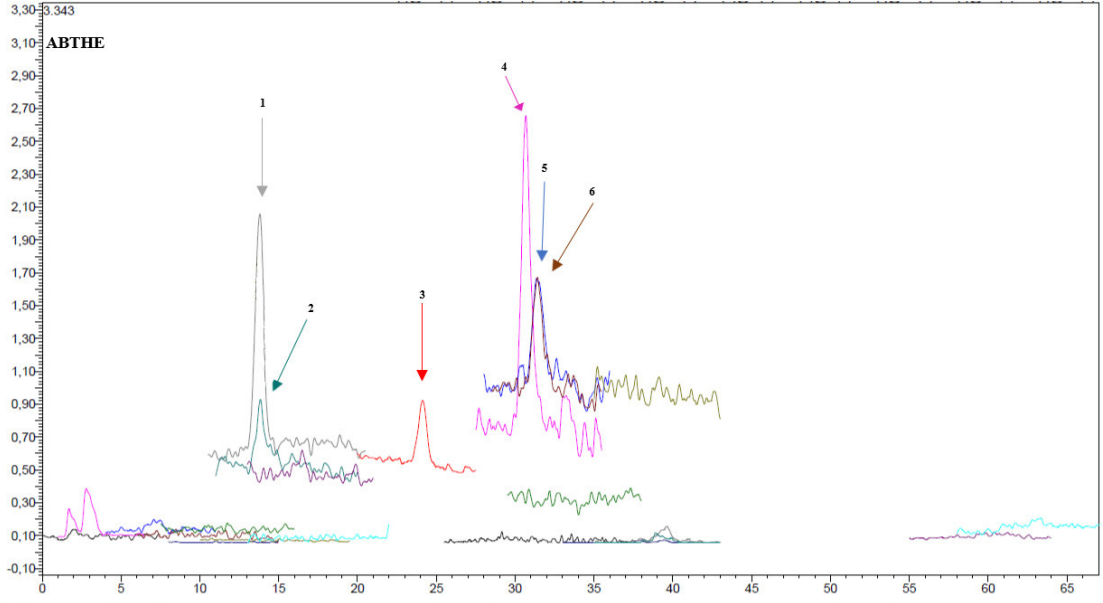
(1) Fumarik asit, (2) Protokateşuik asit, (3) Kateşin, (4) Tanik asit, (5) Gentisik asit, (6) Vanilik asit, (7) 4-hidroksibenzaldehit, (8) Klorojenik asit, (9) Kafeik asit, (10) Epikateşin, (11) *p*-kumarik asit, (12) Kumarin, (13) Salisilik asit, (14) 4-hidroksibenzoik asit, (15) Protokateşuik asit etil ester, (16) Resveratrol, (17) Kuersetin-3-glukozit, (18) Rutin, (19) Naringenin ve (20) Kuersetin

Şekil 4.10. ABTET ekstraktının LC-MS/MS spektrumu



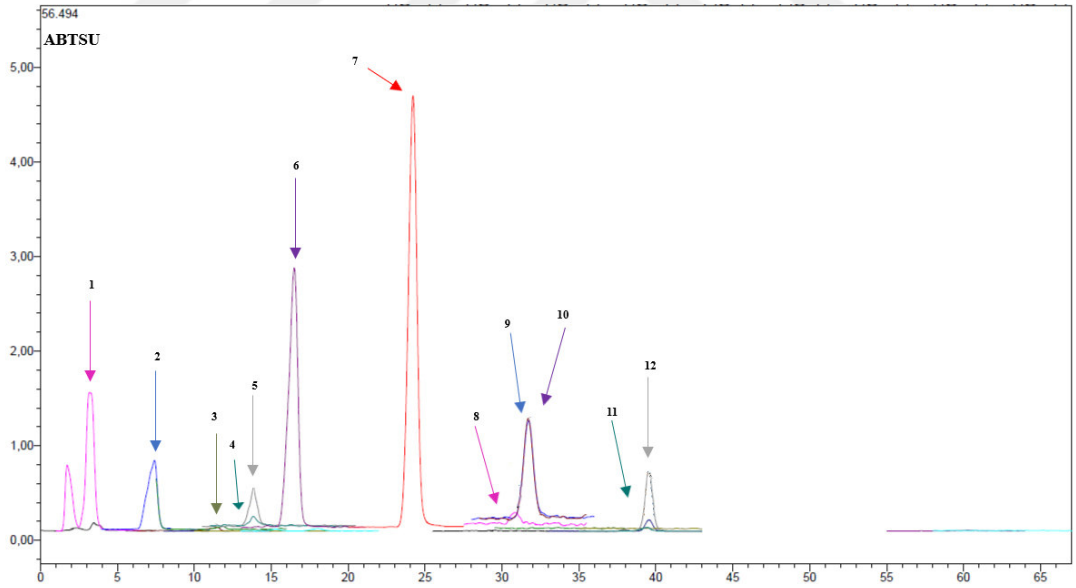
1) Fumarik asit, (2) Protokateşuik asit, (3) Kateşin, (4) Vanilik asit, (5) 4-hidroksibenzaldehit, (6) Kafeik asit, (7) *p*-kumarik asit, (8) Kumarin, (9) Salisilik asit, (10) 4-hidroksibenzoik asit, (11) Hesperidin, (12) Kuersetin-3-glukozit, (13) Rutin

Şekil 4.11. ABTME ekstraktının LC-MS/MS spektrumu



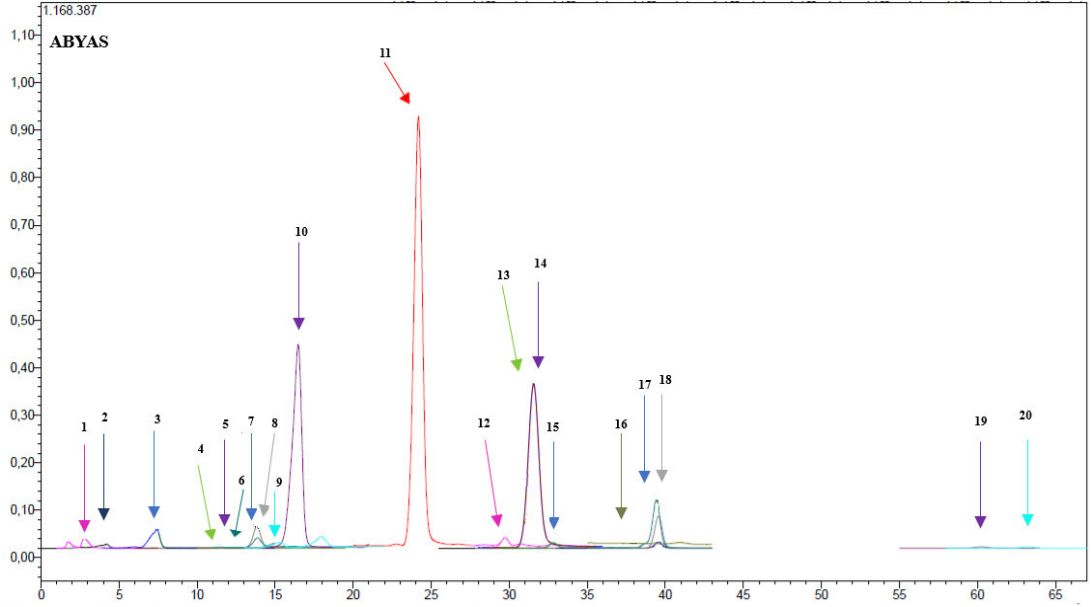
(1) Vanilik asit, (2) 4-hidroksibenzaldehit, (3) *p*-kumarik asit, (4) Kumarin, (5) Salisilik asit, (6) 4-hidroksibenzoik asit

Şekil 4.12. ABTHE ekstraktının LC-MS/MS spektrumu



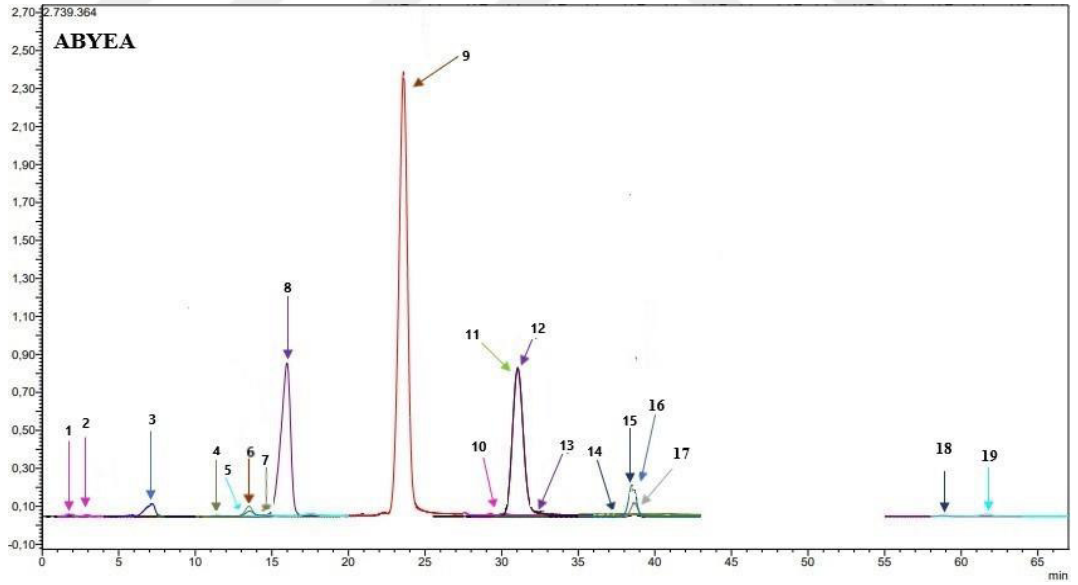
(1) Fumarik asit, (2) Protokateşuik asit, (3) Kateşin, (4) Vanilik asit, (5) 4-hidroksibenzaldehit, (6) Kafeik asit, (7) *p*-kumarik asit, (8) Kumarin, (9) Salisilik asit, (10) 4-hidroksibenzoik asit, (11) Hesperidin, (12) Rutin

Şekil 4.13. ABTSU ekstraktının LC-MS/MS spektrumu



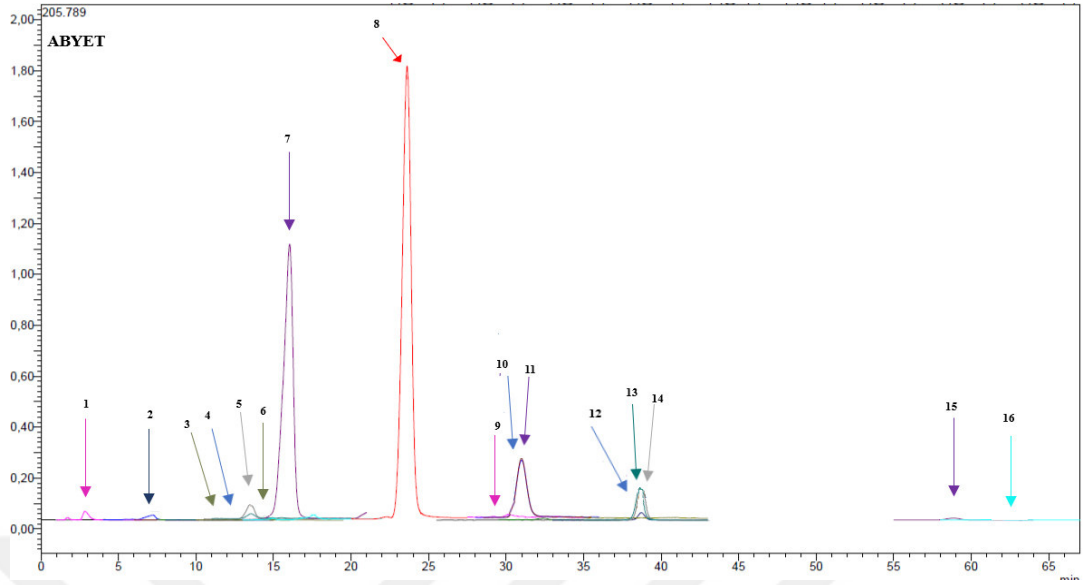
(1) Fumarik asit, (2) Gallik asit, (3) Protokateşuik asit, (4) Kateşin, (5) Tanik asit, (6) Gentisik asit, (7) Vanilik asit, (8) 4-hidroksibenzaldehit, (9) Klorojenik asit, (10) Kafeik asit, (11) *p*-kumarik asit, (12) Kumarin, (13) Salisilik asit, (14) 4-hidroksibenzoik asit, (15) Protokateşuik

Şekil 4.14. ABYAS ekstraktının LC-MS/MS spektrumu



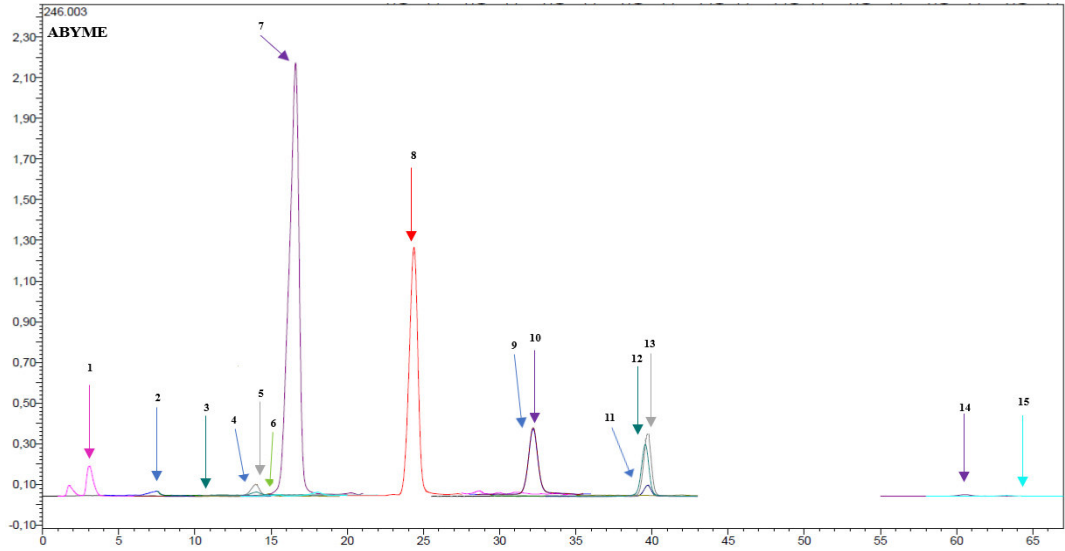
(1)Fumarik asit, (2) Gallik asit, (3) Protokateşuik asit, (4) Gentisik asit, (5) Vanilik asit, (6) 4-hidroksibenzaldehit, (7) Klorojenik asit, (8) Kafeik asit, (9) *p*-kumarik asit, (10) Kumarin, (11) Salisilik asit, (12) 4-hidroksibenzoik asit, (13) Protokateşuik asit etil ester, (14) Hesperidin, (15) Resveratrol, (16) Kuersetin-3-glukozit, (17) Rutin, (18) Naringenin ve (19) Kuersetin

Şekil 4.15. ABYEA ekstraktının LC-MS/MS spektrumu



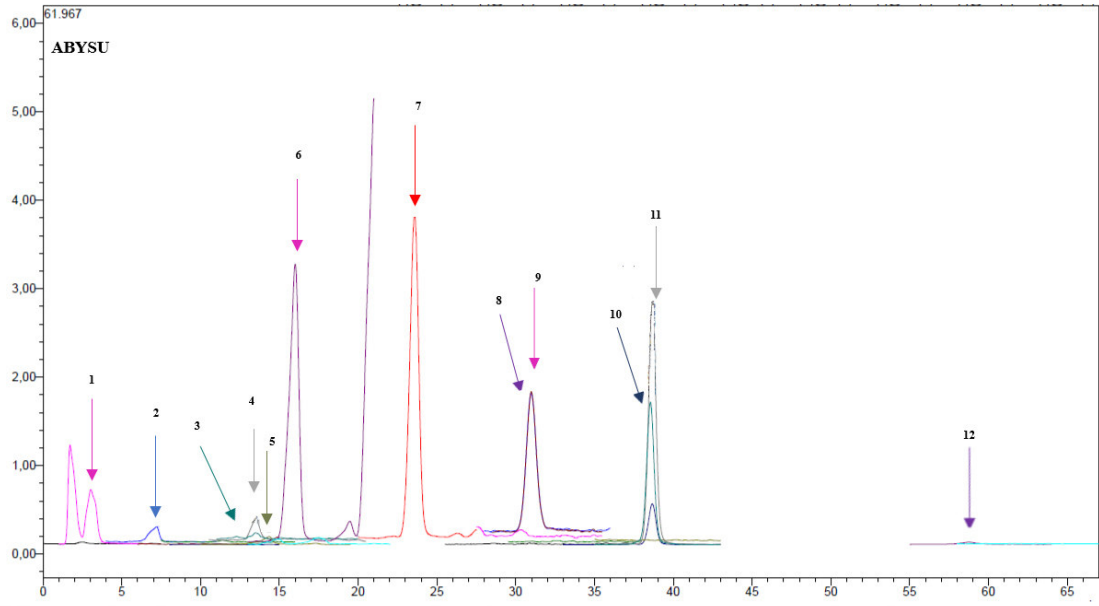
(1) Fumarik asit, (2) Protokateşuik asit, (3) Gentisik asit, (4) Vanilik asit, (5) 4-hidroksibenzaldehit, (6) Klorojenik asit, (7) Kafeik asit, (8) *p*-kumarik asit, (9) Kumarin, (10) Salisilik asit, (11) 4-hidroksibenzoik asit, (12) Hesperidin, (13) Resveratrol, (14) Kuersetin-3-glukozit, (15) Rutin, (16) Naringenin ve (17) Kuersetin

Şekil 4.16. ABYET ekstraktının LC-MS/MS spektrumu



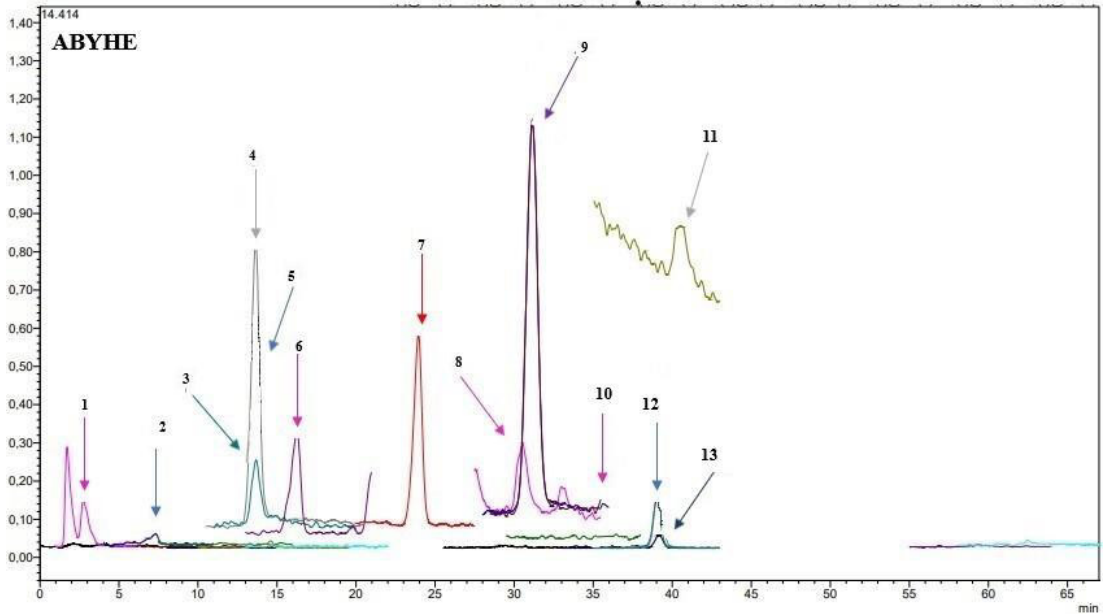
(1) Fumarik asit, (2) Protokateşuik asit, (3) Tanik asit, (4) Vanilik asit, (5) 4-hidroksibenzaldehit, (6) Klorojenik asit, (7) Kafeik asit, (8) *p*-kumarik asit, (9) Salisilik asit, (10) 4-hidroksibenzoik asit, (11) Hesperidin, (12) Kuersetin-3-glukozit, (13) Rutin, (14) Naringenin ve (15) Kuersetin

Şekil 4.17. ABYME ekstraktının LC-MS/MS spektrumu



(1) Fumarik asit, (2) Protokateşuik asit, (3) 4-hidroksibenzaldehit, (4) Klorojenik asit, (5) Kafeik asit, (6) *p*-kumarik asit, (7) Salisilik asit, (8) 4-hidroksibenzoik asit, (9) Kuersetin-3-glukozit, (10) Rutin, (11) Naringenin ve (12) Kuersetin

Şekil 4.18. ABYSU ekstraktının LC-MS/MS spektrumu



(1)Fumarik asit, (2) Protokateşuik asit, (3) Vanilik asit, (4) 4-hidroksibenzaldehit, (5) Klorojenik asit, (6) Kafeik asit, (7) *p*-kumarik asit, (8) Kumarin, (9) Salisilik asit, (10) 4-hidroksibenzoik asit, (11) Hesperidin, (12) Kuersetin-3-glukozit, (13) Rutin

Şekil 4.19. ABYHE ekstraktının LC-MS/MS spektrumu

Tablo 4.2. *A. bodamae* ABÇAS, ABÇEA ve ABÇET ekstraktlarının kimyasal içerikleri

Standart Fenolik Bileşikler	AZ (dk.)	ABÇAS*	Standart Fenolik Bileşikler	AZ (dk.)	ABÇEA*	Standart Fenolik Bileşikler	AZ (dk.)	ABÇET*
Fumarik asit	2.792	3818.34	Fumarik asit	3.087	109.17	Fumarik asit	2.972	1877.52
Gallik asit	4.196	485.30	Gallik asit	4.201	70.66	Gallik asit	4.150	672.22
Protokateşuik asit	7.410	923.54	Protokateşuik asit	7.419	548.01	Protokateşuik asit	7.299	5970.92
Tanik asit	11.453	B	Kateşin	11.117	5.82	Kateşin	11.265	218.64
Kateşin	11.556	155.77	Tanik asit	11.594	B	Tanik asit	11.389	244.95
Gentisik asit	11.618	B	Gentisik asit	11.829	B	Gentisik asit	11.564	B
Vanilik asit	13.836	622.79	Vanilik asit	13.873	78.50	Vanilik asit	13.658	761.90
4-hidroksibenzaldehit	13.874	461.62	4-hidroksibenzaldehit	13.912	56.04	4-hidroksibenzaldehit	13.699	851.96
Klorojenik asit	14.797	1120.41	Klorojenik asit	14.777	31.09	Klorojenik asit	14.535	8311.97
Kafeik asit	16.508	2953.32	Kafeik asit	16.501	998.19	Kafeik asit	16.204	21772.20
Epikateşin	18.194	10.74	Epikateşin	18.133	B	Epikateşin	17.915	40.36
<i>p</i> -kumarik asit	24.212	49761.93	<i>p</i> -kumarik asit	24.216	7795.28	<i>p</i> -kumarik asit	23.831	132385.13
Sikorik asit	28.917	B	Sikorik asit	29.265	B	Sikorik asit	28.747	B
Kumarin	30.713	7.74	Kumarin	30.820	1.57	Kumarin	30.399	10.11
4-hidroksibenzoik asit	31.573	343.37	Salisilik asit	31.765	32.33	Salisilik asit	31.213	546.99
Salisilik asit	31.579	340.73	4-hidroksibenzoik asit	31.767	30.31	4-hidroksibenzoik asit	31.231	529.25
Protokateşuik asit etil ester	32.778	2.46	Protokateşuik asit etil ester	32.942	0.73	Protokateşuik asit etil ester	32.553	2565.95
Hesperidin	37.935	101.34	Hesperidin	38.013	B	Hesperidin	37.269	59.67
Resveratrol	38.911	B	Resveratrol	38.880	1.75	Resveratrol	38.681	B
Kuersetin-3-glukozit	39.443	1358.33	Kuersetin-3-glukozit	39.410	705.51	Kuersetin-3-glukozit	38.897	14552.35
Rutin	39.578	13080.89	Rutin	39.547	2050.55	Rutin	39.018	161740.89
Naringenin	60.268	337.50	Naringenin	60.286	38.17	Naringenin	59.386	6551.66
Kuersetin	63.299	489.70	Kuersetin	63.208	326.36	Kuersetin	62.307	3622.37

\*Ekstraktlar; ABÇAS, ABÇEA, ABÇET ( $\mu$ g fenolik madde / kg kuru bitki) \*\*AZ: Alıkonma zamanı (dakika) \*\*\*B: Belirlenemedi.

Tablo 4.3. *A. bodamae* ABÇME, ABÇSU ve ABÇHE ekstraktlarının kimyasal içerikleri

Standart Fenolik Bileşikler	AZ (dk.)	ABÇME*	Standart Fenolik Bileşikleri	AZ (dk.)	ABÇSU*	Standart Fenolik Bileşikler	AZ (dk.)	ABÇHE*
<b>Fumarik asit</b>	3.190	72907.25	<b>Fumarik asit</b>	3.304	41627.19	<b>Fumarik asit</b>	2.749	1322.01
<b>Gallik asit</b>	4.219	B	<b>Gallik asit</b>	4.171	B	<b>Gallik asit</b>	4.156	B
<b>Protokateşuik asit</b>	7.438	16123.92	<b>Protokateşuik asit</b>	7.426	22351.27	<b>Protokateşuik asit</b>	7.321	128.95
<b>Kateşin</b>	11.584	B	<b>Kateşin</b>	11.180	397.97	<b>Kateşin</b>	11.474	B
<b>Tanik asit</b>	11.627	22087.84	<b>Tanik asit</b>	11.583	4388.63	<b>Tanik asit</b>	11.515	B
<b>Gentisik asit</b>	11.984	B	<b>Gentisik asit</b>	11.791	B	<b>Gentisik asit</b>	11.690	B
<b>4-hidroksibenzaldehit</b>	13.907	980.59	<b>Vanilik asit</b>	13.844	1190.13	<b>Vanilik asit</b>	13.777	388.96
<b>Vanilik asit</b>	13.932	1626.67	<b>4-hidroksibenzaldehit</b>	13.856	B	<b>4-hidroksibenzaldehit</b>	13.824	207.89
<b>Klorojenik asit</b>	14.833	33704.31	<b>Klorojenik asit</b>	14.800	32140.14	<b>Klorojenik asit</b>	14.720	B
<b>Kafeik asit</b>	16.518	20212.55	<b>Kafeik asit</b>	16.518	10711.46	<b>Kafeik asit</b>	16.427	B
<b>Epikateşin</b>	18.267	B	<b>Epikateşin</b>	18.029	240.85	<b>Epikateşin</b>	18.082	B
<b>p-kumarik asit</b>	24.266	119067.65	<b>p-kumarik asit</b>	24.231	52893.90	<b>p-kumarik asit</b>	24.133	1060.25
<b>Sikorik asit</b>	29.622	B	<b>Sikorik asit</b>	29.162	B	<b>Sikorik asit</b>	29.029	B
<b>Kumarin</b>	31.020	47.65	<b>Kumarin</b>	30.849	42.77	<b>Kumarin</b>	30.579	1.41
<b>4-hidroksibenzoik asit</b>	32.060	633.92	<b>Salisilik asit</b>	31.719	383.87	<b>4-hidroksibenzoik asit</b>	31.357	98.18
<b>Salisilik asit</b>	32.076	768.43	<b>4-hidroksibenzoik asit</b>	31.757	313.50	<b>Salisilik asit</b>	31.394	96.96
<b>Protokateşuik asit etil ester</b>	33.120	B	<b>Protokateşuik asit etil ester</b>	32.861	B	<b>Protokateşuik asit etil ester</b>	32.739	35.25
<b>Hesperidin</b>	37.976	428.63	<b>Hesperidin</b>	37.971	B	<b>Hesperidin</b>	37.865	3.58
<b>Resveratrol</b>	39.274	B	<b>Resveratrol</b>	39.177	B	<b>Resveratrol</b>	39.116	B
<b>Kuersetin-3-glukozit</b>	39.404	40690.00	<b>Kuersetin-3-glukozit</b>	39.417	18106.27	<b>Kuersetin-3-glukozit</b>	39.270	30.84
<b>Rutin</b>	39.552	470732.94	<b>Rutin</b>	39.552	251687.95	<b>Rutin</b>	39.474	386.67
<b>Naringenin</b>	60.286	3518.82	<b>Naringenin</b>	60.300	1173.14	<b>Naringenin</b>	59.996	38.48
<b>Kuersetin</b>	62.953	11375.29	<b>Kuersetin</b>	63.242	761.67	<b>Kuersetin</b>	63.136	B

\*Ekstraktlar; ABÇME, ABÇSU, ABÇHE ( $\mu\text{g}$  fenolik madde / kg kuru bitki) \*\*AZ: Alıkonma zamanı (dakika) \*\*\*B: Belirlenemedi.

Tablo 4.4. *A. bodamae* ABTAS, ABTEA ve ABTET ekstraktlarının kimyasal içerikleri

Standart Fenolik Bileşikler	AZ (dk.)	ABTAS*	Standart Fenolik Bileşikleri	AZ (dk.)	ASTE*	Standart Fenolik Bileşikler	AZ (dk.)	ABTET*
Fumarik asit	2.753	2910.60	Fumarik asit	2.940	336.06	Fumarik asit	3.141	52205.07
Gallik asit	4.145	88.71	Gallik asit	4.172	27.25	Gallik asit	4.129	2375.60
Protokateşuik asit	7.312	593.48	Protokateşuik asit	7.424	1953.74	Protokateşuik asit	7.286	65595.42
Kateşin	11.218	23.54	Kateşin	11.480	87.02	Kateşin	11.230	3414.77
Tanik asit	11.545	B	Tanik asit	11.588	B	Tanik asit	11.287	138.67
Gentisik asit	11.614	6.02	Gentisik asit	11.837	22.22	Gentisik asit	11.628	1962.37
Vanilik asit	13.675	288.73	Vanilik asit	13.875	458.84	Vanilik asit	13.651	2240.83
4-hidroksibenzaldehit	13.702	205.98	4-hidroksibenzaldehit	13.901	332.46	4-hidroksibenzaldehit	13.702	2712.31
Klorojenik asit	14.541	2.02	Klorojenik asit	14.792	B	Klorojenik asit	14.529	77.75
Kafeik asit	16.270	444.57	Kafeik asit	16.506	2905.02	Kafeik asit	16.135	111412.89
Epikateşin	17.855	4.47	Epikateşin	18.124	11.11	Epikateşin	17.751	999.46
<i>p</i> -kumarik asit	23.889	9352.61	<i>p</i> -kumarik asit	24.221	16956.69	<i>p</i> -kumarik asit	23.744	430552.12
Sikorik asit	29.082	B	Sikorik asit	29.260	B	Sikorik asit	28.695	B
Kumarin	30.492	3.39	Kumarin	30.905	4.28	Kumarin	30.230	44.18
Salisilik asit	31.196	227.56	Salisilik asit	31.781	595.62	Salisilik asit	30.951	24818.19
4-hidroksibenzoik asit	31.210	225.45	4-hidroksibenzoik asit	31.783	596.37	4-hidroksibenzoik asit	30.953	24231.32
Protokateşuik asit etil ester	32.556	0.67	Protokateşuik asit etil ester	33.031	1.23	Protokateşuik asit etil ester	32.501	6404.44
Hesperidin	37.661	190.50	Hesperidin	37.910	5.57	Hesperidin	37.574	259.21
Kuersetin-3-glukozit	38.985	3.54	Resveratrol	38.818	5.95	Kuersetin-3-glukozit	38.822	1192.82
Rutin	39.099	226.19	Kuersetin-3-glukozit	39.408	17.43	Rutin	38.932	183166.82
Resveratrol	39.152	B	Rutin	39.527	190.31	Resveratrol	38.998	106.21
Naringenin	59.384	1.82	Naringenin	60.254	1.75	Naringenin	59.229	143.92
Kuersetin	62.492	4.79	Kuersetin	63.163	14.06	Kuersetin	62.172	804.95

\*Ekstraktlar; ABTAS, ABTEA, ABTET ( $\mu$ g fenolik madde / kg kuru bitki) \*\*AZ: Alikonma zamanı (dakika) \*\*\*B: Belirlenemedi.

Tablo 4.5. *A. bodamae* ABTME, ABTSU ve ABTHE ekstraktlarının kimyasal içerikleri

Standart Fenolik Bileşikler	AZ (dk.)	ABTME*	Standart Fenolik Bileşikler	AZ (dk.)	ABTSU*	Standart Fenolik Bileşikler	AZ (dk.)	ABTHE*
Fumarik asit	3.200	164971.33	Fumarik asit	3.176	156907.52	Fumarik asit	2.806	761.74
Gallik asit	4.201	B	Gallik asit	4.179	B	Gallik asit	4.179	B
Protokateşuik asit	7.475	10833.73	Protokateşuik asit	7.411	18775.03	Protokateşuik asit	7.211	75.70
Kateşin	11.569	5413.16	Kateşin	11.402	1284.99	Kateşin	11.481	B
Tanik asit	11.682	B	Tanik asit	11.562	B	Tanik asit	11.538	B
Gentisik asit	11.941	B	Gentisik asit	11.775	B	Gentisik asit	11.719	B
Vanilik asit	14.002	1068.04	4-hidroksibenzaldehit	13.818	1667.93	Vanilik asit	13.808	254.75
4-hidroksibenzaldehit	14.062	575.32	Vanilik asit	13.831	2888.07	4-hidroksibenzaldehit	13.871	121.47
Klorojenik asit	14.913	B	Klorojenik asit	14.760	B	Klorojenik asit	14.742	B
Kafeik asit	16.603	10917.29	Kafeik asit	16.489	25070.06	Kafeik asit	16.452	B
Epikateşin	18.263	B	Epikateşin	18.123	300.36	Epikateşin	18.082	B
<i>p</i> -kumarik asit	24.361	57370.82	<i>p</i> -kumarik asit	24.204	64132.88	<i>p</i> -kumarik asit	24.126	124.63
Sikorik asit	29.567	B	Sikorik asit	29.200	B	Sikorik asit	29.048	B
Kumarin	31.134	3.09	Kumarin	30.838	39.16	Kumarin	30.694	13.33
4-hidroksibenzoik asit	32.184	2804.32	Salisilik asit	31.703	2677.49	4-hidroksibenzoik asit	31.343	39.98
Salisilik asit	32.192	2859.62	4-hidroksibenzoik asit	31.711	2635.78	Salisilik asit	31.442	42.31
Protokateşuik asit etil ester	33.112	B	Protokateşuik asit etil ester	32.884	B	Protokateşuik asit etil ester	32.770	B
Hesperidin	38.143	1075.11	Hesperidin	37.930	569.21	Hesperidin	37.941	B
Resveratrol	39.274	B	Resveratrol	39.218	B	Resveratrol	39.162	B
Kuersetin-3-glukozit	39.527	315.88	Kuersetin-3-glukozit	39.432	B	Kuersetin-3-glukozit	39.379	B
Rutin	39.706	13456.35	Rutin	39.532	19226.85	Rutin	39.489	95.80
Naringenin	60.535	B	Naringenin	60.209	47.76	Naringenin	60.193	B
Kuersetin	63.248	B	Kuersetin	63.289	B	Kuersetin	63.218	B

\*Ekstraktlar; ABTME, ABTSU, ABTHE ( $\mu$ g fenolik madde / kg kuru bitki) \*\*AZ: Alıkonma zamanı (dakika) \*\*\*B: Belirlenemedi.

Tablo 4.6. *A. bodamae* ABYAS, ABYEA ve ABYET ekstraktlarının kimyasal içerikleri

Standart Fenolik Bileşikler	AZ (dk.)	ABYAS*	Standart Fenolik Bileşikler	AZ (dk.)	ABYEA*	Standart Fenolik Bileşikler	AZ (dk.)	ABYET*
Fumarik asit	2.765	319.51	Fumarik asit	2.862	3320.54	Fumarik asit	2.844	36277.81
Gallik asit	4.209	26.83	Gallik asit	4.073	288.42	Gallik asit	4.107	B
Protokateşuik asit	7.426	174.97	Protokateşuik asit	7.201	9505.15	Protokateşuik asit	7.188	5039.25
Kateşin	11.514	6.23	Kateşin	11.136	B	Kateşin	11.135	B
Tanik asit	11.622	3.12	Tanik asit	11.299	B	Tanik asit	11.312	B
Gentisik asit	11.765	2.81	Gentisik asit	11.474	301.75	Gentisik asit	11.432	227.13
Vanilik asit	13.844	56.82	Vanilik asit	13.510	2392.96	4-hidroksibenzaldehit	13.530	3879.47
4-hidroksibenzaldehit	13.861	52.62	4-hidroksibenzaldehit	13.556	2647.99	Vanilik asit	13.531	5578.18
Klorojenik asit	14.768	5.94	Klorojenik asit	14.351	94.92	Klorojenik asit	14.375	758.06
Kafeik asit	16.490	733.88	Kafeik asit	15.994	50995.60	Kafeik asit	16.035	143975.31
Epikateşin	18.129	B	Epikateşin	17.619	B	Epikateşin	17.653	B
<i>p</i> -kumarik asit	24.201	2345.10	<i>p</i> -kumarik asit	23.598	220949.65	<i>p</i> -kumarik asit	23.608	349742.42
Sikorik asit	29.107	B	Sikorik asit	28.604	B	Sikorik asit	28.602	B
Kumarin	30.664	0.19	Kumarin	30.102	12.34	Kumarin	30.192	55.58
Salisilik asit	31.570	166.86	4-hidroksibenzoik asit	31.049	13629.25	4-hidroksibenzoik asit	30.983	7833.14
4-hidroksibenzoik asit	31.574	168.62	Salisilik asit	31.053	13544.23	Salisilik asit	30.988	7966.71
Protokateşuik asit etil ester	32.831	2.60	Protokateşuik asit etil ester	32.364	13.59	Protokateşuik asit etil ester	32.404	B
Hesperidin	37.924	6.61	Hesperidin	37.430	478.32	Hesperidin	37.457	112.33
Resveratrol	39.214	B	Resveratrol	37.736	29.81	Resveratrol	38.468	B
Kuersetin-3-glukozit	39.415	139.84	Kuersetin-3-glukozit	38.572	7892.94	Kuersetin-3-glukozit	38.598	11892.15
Rutin	39.550	391.46	Rutin	38.694	13152.85	Rutin	38.717	59592.00
Naringenin	60.217	2.42	Naringenin	59.047	147.36	Naringenin	58.740	600.77
Kuersetin	63.254	5.76	Kuersetin	61.879	1040.63	Kuersetin	61.780	598.30

\*Ekstraktlar; ABYAS, ABYEA, ABYET ( $\mu\text{g}$  fenolik madde / kg kuru bitki) \*\*AZ: Alınma zamanı (dakika) \*\*\*B: Belirlenemedi.

Tablo 4.7. *A. bodamae* ABYME, ABYSU ve ABYHE ekstraktlarının kimyasal içerikleri

Standart Fenolik Bileşikler	AZ (dk.)	ABYME*	Standart Fenolik Bileşikler	AZ (dk.)	ABYSU*	Standart Fenolik Bileşikler	AZ (dk.)	ABYHE*
Fumarik asit	3.051	92727.23	Fumarik asit	3.036	67254.68	Fumarik asit	2.741	148.91
Gallik asit	4.213	B	Gallik asit	4.073	B	Gallik asit	4.142	B
Protokateşuik asit	7.460	3958.76	Protokateşuik asit	7.234	3840.27	Protokateşuik asit	7.318	10.60
Kateşin	11.557	B	Kateşin	11.129	B	Kateşin	11.357	B
Tanik asit	11.665	629.03	Tanik asit	11.305	B	Tanik asit	11.418	B
Gentisik asit	11.935	B	Gentisik asit	11.472	B	Gentisik asit	11.593	B
Vanilik asit	13.991	2860.58	4-hidroksibenzaldehit	13.472	1095.99	Vanilik asit	13.648	81.66
4-hidroksibenzaldehit	14.016	1634.40	Vanilik asit	13.497	1924.46	4-hidroksibenzaldehit	13.686	38.35
Klorojenik asit	14.914	1572.32	Klorojenik asit	14.349	1475.62	Klorojenik asit	14.584	4.62
Kafeik asit	16.613	155649.43	Kafeik asit	16.005	29733.52	Kafeik asit	16.240	39.69
Epikateşin	18.234	B	Epikateşin	17.653	B	Epikateşin	17.926	B
<i>p</i> -kumarik asit	24.381	125343.75	<i>p</i> -kumarik asit	23.581	53622.92	<i>p</i> -kumarik asit	23.912	109.31
Sikorik asit	29.594	B	Sikorik asit	28.578	B	Sikorik asit	28.784	B
Kumarin	31.067	B	Kumarin	30.312	B	Kumarin	30.567	0.84
4-hidroksibenzoik asit	32.208	5198.16	Salisilik asit	30.981	4048.98	4-hidroksibenzoik asit	31.112	42.93
Salisilik asit	32.211	5447.79	4-hidroksibenzoik asit	30.982	4032.56	Salisilik asit	31.133	44.15
Protokateşuik asit etil ester	33.103	B	Protokateşuik asit etil ester	32.408	B	Protokateşuik asit etil ester	32.606	B
Hesperidin	37.861	91.51	Hesperidin	37.500	B	Hesperidin	37.721	2.78
Resveratrol	39.256	B	Resveratrol	38.443	B	Resveratrol	38.883	B
Kuersetin-3-glukozit	39.562	12883.64	Kuersetin-3-glukozit	38.551	10819.48	Kuersetin-3-glukozit	39.015	14.07
Rutin	39.717	69649.42	Rutin	38.668	84746.10	Rutin	39.127	94.20
Naringenin	60.506	319.09	Naringenin	58.700	156.59	Naringenin	59.622	B
Kuersetin	63.296	383.09	Kuersetin	61.747	B	Kuersetin	62.653	B

\*Ekstraktlar; ABYME, ABYSU, ABYHE ( $\mu$ g fenolik madde / kg kuru bitki) \*\*AZ: Alıkonma zamanı (dakika) \*\*\*B: Belirlenemedi.

Elde edilen LC-MS/MS sonuçları değerlendirildiğinde, *A. bodamae* ekstraktlarının analizlerinde edilen fenolikler arasında en yüksek sonuç veren fenolik bileşikler değerlendirildi.

*A. bodamae* çiçek kısmının ABÇAS ekstraktında *p*-kumarik asit (49761.93 µg fenolik madde / kg kuru bitki), ABÇEA ekstraktında *p*-kumarik asit (7795.28 µg fenolik madde / kg kuru bitki), ABÇET ekstraktında rutin (161740.89 µg fenolik madde / kg kuru bitki), ABÇME ekstraktında rutin (470732.94 µg fenolik madde / kg kuru bitki), ABÇSU ekstraktında rutin (251687.95 µg fenolik madde / kg kuru bitki) ve ABÇHE ekstraktında fumarik asit (1322.01 µg fenolik madde / kg kuru bitki) fenolik bileşiklerinin en yüksek sonuçları verdiği belirlendi (Tablo 4.2-4.3).

*A. bodamae* tohum kısmının ABTAS ekstraktında *p*-kumarik asit (9352.61 µg fenolik madde / kg kuru bitki), ABTEA ekstraktında *p*-kumarik asit (16956.69 µg fenolik madde / kg kuru bitki), ABTET ekstraktında *p*-kumarik asit (430552.12 µg fenolik madde / kg kuru bitki), ABTME ekstraktında fumarik asit (164971.33 µg fenolik madde / kg kuru bitki), ABTSU ekstraktında fumarik asit (156907.52 µg fenolik madde / kg kuru bitki) ve ABTHE ekstraktında fumarik asit (761.74 µg fenolik madde / kg kuru bitki) fenolik bileşiklerinin en yüksek sonuçları verdiği belirlendi (Tablo 4.4-4.5).

*A. bodamae* yaprak kısmının ABYAS ekstraktında *p*-kumarik asit (2345.10 µg fenolik madde / kg kuru bitki), ABYEA ekstraktının *p*-kumarik asit (220949.65 µg fenolik madde / kg kuru bitki), ABYET ekstraktının *p*-kumarik asit (349742.42 µg fenolik madde / kg kuru bitki), ABYME ekstraktının kafeik asit (155649.43 µg fenolik madde / kg kuru bitki), ABYSU ekstraktının rutin (84746.10 µg fenolik madde / kg kuru bitki) ve ABYHE ekstraktının fumarik asit (148.91 µg fenolik madde / kg kuru bitki) fenolik bileşiklerinin en yüksek sonuçları verdiği belirlendi (Tablo 4.6-4.7).

Elde edilen sonuçlarda rutin fenolik bileşiğini içeren ABÇME (470732.94 µg fenolik madde / kg kuru bitki), ABÇSU (251687.95 µg fenolik madde / kg kuru bitki), ABTET (183166.81 µg fenolik madde / kg kuru bitki), ABÇET (132385.13 µg fenolik madde / kg kuru bitki) ekstraktları; *p*-kumarik asit içeren ABYEA (220949.65 µg fenolik madde / kg kuru bitki), ABÇET (132385.13 µg fenolik madde / kg kuru bitki), ABYME (125343.79 µg fenolik madde / kg kuru bitki), ABÇME (119067.65 µg fenolik madde / kg kuru bitki) ekstraktları; fumarik asit içeren (156907.52 µg fenolik

madde / kg kuru bitki) ekstraktı ve kafeik asit içeren ABYME (155649.43 µg fenolik madde / kg kuru bitki), ABYEA (143975.31 µg fenolik madde / kg kuru bitki), ABTET (111412.89 µg fenolik madde / kg kuru bitki) ekstraktlarından elde edilen yüksek bileşenler *A. bodamae* bitkisinin biyoaktivite sonuçlarında etkili olabileceğini göstermektedir (Tablo 4.2-4.7).

#### 4.2. Antioksidan Aktivite Tayinleri

*A. bodamae* çiçek, tohum ve yaprak kısımlarından elde edilen ekstraktların toplam antioksidan aktivitesi, indirgenme gücü kapasitesi serbest radikal giderme aktivitesi, metal şelat aktivitesi, lipit peroksidasyonu ve süperoksit giderme aktivitesi tayinleri verilen yöntemlere göre uygulandı. Aktivite sonuçları Tablo 4.8 ve Tablo 4.9'da belirtilmektedir.

##### 4.2.1. Toplam Antoksidan Aktivite

*A. bodamae* bitkisinin farklı çözücülerdeki ekstraktlarının toplam antioksidan aktivitesi Amonyummolibdenum Yöntemi'ne uyularak incelenmiştir. Yöntem esası Mo(VI)'in Mo(V)'e indirgenme düzeyi 695 nm dalga boyunda yeşil fosfat/ Mo(V) bileşiğinin meydana gelmesi ve bunun spektroskopik olarak ölçülmesine dayanmaktadır. *A. bodamae* bitkisinin farklı çözücülerdeki ekstraktlarının toplam antioksidan aktivite değerlerinin standartlar ile kıyaslanması ve istatistiksel analizleri Tablo 4.8 'de gösterilmiştir.

*A. bodamae*'nin farklı çözücü ve konsantrasyonların toplam antioksidan aktivite sonuçlarına bağlı olarak  $A_{0.5}$  değerleri hesaplandı. Ekstraktlar arasında antioksidan aktivitesi en etkin olan yaprak kısmının etil asetat ekstraktı olup, standartlardaysa BHT en etkin özellik gösterdi. Bunun yanı sıra *A. bodamae* yaprak ve tohum kısımlarının etil asetat ekstraktları kullanılan standartlardan etkili sonuç vermiş olup toplam antioksidan aktivitelerinin daha yüksek olduğu tespit edildi.

*A. bodamae* bitki örneğinin farklı çözücü ve konsantrasyonların toplam antioksidan aktivite sonuçları bağlı olarak  $r^2$  değerleri hesaplandı. Ekstrakt ve standartlar da dahil olmak üzere (tohum kısmının hekzan ekstraktı hariç)  $r^2$  değerleri 1'e yakın bulundu. Böylece toplam antioksidan aktivite değerlerinin doğru orantılı olduğu belirlendi.

Geetha vd (2016), *A. indica* bitkisi üzerinde yapmış olduğu çalışmada 25-250 µg/mL konsantrasyonlarda bitki ekstraktlarının toplam antioksidan aktivite değerleri incelenmiş olup metanol ekstraktının toplam antioksidan aktivite değerini 138 mg/g olarak bulmuştur ve bu sonuç askorbik asite göre anlamlı derecede yüksek çıkmıştır. *A. bodamae* çiçek, tohum ve yaprak kısımlarının tüm ekstraktları askorbik asite göre toplam antioksidan aktivite değeri düşük çıktı. Askorbik asite en yakın değer *A. bodamae* çiçek kısmının etanol ekstraktı olduğu belirlendi.

Uygulanılan Tukey HSD<sup>ab</sup> testi istatistik analiz değerlendirmelerine göre, *A. bodamae* bitkisinin çiçek, tohum ve yaprak ekstraktları ile standart maddelerin toplam antioksidan aktivite  $A_{0,5}$  (µg/mL) değerlerinin harflendirilmesi a ile j arasında yapılmıştır. “a” en düşük ortalama ve en yüksek aktivite değerini ifade ederken “j” en yüksek ortalama ve en düşük aktivite değerini ifade etmektedir. Tukey HSD<sup>ab</sup> testi istatistik analiz değerlendirmelerine göre, tek çeşit harfin bulunması ekstrakt ve standartların  $A_{0,5}$  (µg/mL) değerleri arasında anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir. Toplam antioksidan aktivite sonuçları değerlendirildiğinde ABTEA, ABYEA ekstraktlarında ve BHT, askorbik asit standart maddelerinde tek çeşit harf bulunmuş olup anlamlı bir farklılık olduğu belirlendi. Bunların dışında kalan diğer ekstraktlar ve standart maddelerde birden fazla çeşit harf belirlenmiş olup anlamlı bir farklılık olmadığı görüldü. İncelenilen aktivite sonuçlarının  $p < 0.05$  olması istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir.

#### 4.2.2. İndirgenme Gücü

İndirgenme gücü tayini başlığı altında verilen yöntemle göre *A. bodamae* bitkisinin farklı çözeltileri ve konsantrasyonlardaki ekstraktlarının indirgenme gücü tespit edilmiştir. Yöntem esası  $Fe^{3+}$  ün  $Fe^{2+}$  ye indirgenmesi dayanmaktadır. *A. bodamae* bitkisinin farklı çözücülerdeki ekstraktlarının indirgenme gücü aktivite değerlerinin standartlar ile kıyaslanması ve istatistiksel analizleri Tablo 4.8’ de gösterilmiştir.

*A. bodamae*’ nın farklı çözücü ve konsantrasyonların indirgenme gücü sonuçlarına bağlı olarak  $A_{0,5}$  değerleri hesaplandı. Ekstraktlar arasında indirgenme gücü kapasitesi en etkin olan yaprak kısmının hekzan ekstraktı olup, standartlardaysa BHT en etkin özellik gösterdi. *A. bodamae* yaprak kısmının hekzan ekstraktı tüm standartlardan etkili sonuç vermiş olup indirgenme gücünün daha yüksek olduğu tespit edildi.

Bunun yanı sıra yaprak kısmının etilasetat ekstraktı ile tohum kısmının etil asetat ve etanol ekstraktları da, BHT hariç diğer tüm standartlardan daha etkili bir sonuç verdiği tespit edildi.

*A. bodamae* bitki örneğinin farklı çözücü ve konsantrasyonların toplam antioksidan aktivite sonuçları bağlı olarak  $r^2$  değerleri hesaplandı. Ekstrakt ve standartlar da dahil olmak üzere (çiçek kısmının hekzan ekstraktı ile tohum kısmının hekzan ve metanol ekstraktı hariç)  $r^2$  değerleri 1'e yakın bulundu. Böylece indirgeme gücü aktivite değerlerinin doğru orantılı olduğu belirlendi.

Das vd (2016), *A. bracteolata* bitkisiyle (bitkinin tamamı) yapmış olduğu çalışmada hekzan, etil asetat ve metanol ekstraktlarının BHA'ya kıyasla indirgeyici özelliklerini incelemiştir. Metanol ekstraktının indirgeme gücünün, hekzan ve etil asetat ekstraktlarına kıyasla çok daha güçlü olduğunu ve ekstraktın indirgeme gücünün, numune miktarı ile arttığını tespit etmiştir. Tez çalışmamızda da *A. bodamae* çiçek kısmının metanol ekstraktı daha düşük  $A_{0,5}$  değeriyle etil asetat ekstraktından daha etkin bir indirgenme gücü gösterdi. Hekzan ekstraktının indirgenme gücü ise belirlenemedi. Bitkinin tohum kısmının hekzan ve metanol ekstraktlarının indirgenme gücü belirlenmedi ve etil asetat ekstraktı daha iyi bir sonuç verdi. *A. bodamae* yaprak kısmının etil asetat ve hekzan ekstraktları daha düşük  $A_{0,5}$  değeriyle etil asetat ekstraktından daha etkin bir indirgenme gücü gösterdiği görüldü.

Uygulanılan Tukey HSD<sup>ab</sup> testi istatistik analiz değerlendirmelerine göre, *A. bodamae* bitkisinin çiçek, tohum ve yaprak ekstraktları ile standart maddelerin indirgenme gücü  $A_{0,5}$  ( $\mu\text{g/mL}$ ) değerlerinin harflendirilmesi a ile d arasında yapılmıştır. "a" en düşük ortalama ve en yüksek aktivite değerini ifade ederken "d" en yüksek ortalama ve en düşük aktivite değerini ifade etmektedir. Tukey HSD<sup>ab</sup> testi istatistik analiz değerlendirmelerine göre, tek çeşit harfin bulunması ekstrakt ve standartların  $A_{0,5}$  ( $\mu\text{g/mL}$ ) değerleri arasında anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir. İndirgenme gücü sonuçları değerlendirildiğinde ABTAS, ABTEA, ABTET, ABYAS, ABYEA, ABYHE ekstraktlarında ve BHA standart maddesinde tek çeşit harf bulunmuş olup anlamlı bir farklılık olduğu belirlendi. Bunların dışında kalan diğer ekstraktlar ve standart maddelerde birden fazla çeşit harf belirlenmiş olup anlamlı bir farklılık olmadığı görüldü. İncelenilen aktivite sonuçlarının  $p < 0.05$  olması istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir.

### 4.2.3. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi

Ömrü uzun bir azot türevli radikal olan DPPH' radikali bitki ekstrakt veya gıda katkı maddelerinin antioksidan aktivitelerinin değerlendirilmesinde çok sık tercih edilen bir yöntemdir (Katalinić vd, 2004). Bu radikal alkol veya sulu çözeltisi 517 nm dalga boyunda en yüksek seviyede absorban verdiği bilinmektedir (Maltaş, 2011). DPPH' radikalının bitki ekstrelerinden giderilme kapasitesi hidrojen bağışlama yeteneğine bağlanmaktadır. Stabil bir serbest radikal olup kararlı bir diyamanyetik molekül haline gelmesi için bir hidrojen radikalini kabul eder (Papuc vd, 2010). *A. bodamae*'nın farklı çözücü ve konsantrasyonlardaki ekstraktlarının serbest radikal giderme aktiviteleri DPPH' serbest radikalının temizleme aktiviteleri temelinde belirlendi. Mor DPPH'ın sarı renkli bir difenil pikrilhidrazine indirgenmesine bağlıdır (Geetha vd, 2016).

*A. bodamae* ekstraktlarının toplam antioksidan aktivite sonuçlarına bağlı olarak EC<sub>50</sub> değerleri hesaplandı. Ekstraktlar arasında serbest radikal giderme aktivitesi en güçlü olan yaprak kısmının aseton ekstraktı ve onu takip eden yine yaprak kısmının etanol ekstraktı olduğu belirlendi. Standartlar arasında en etkin özellik gösteren  $\alpha$ - tokoferoldür. *A. bodamae* yaprak kısmının aseton ve etanol ekstraktları, bitki ekstraktlarının arasında en iyi sonuç veren olmasının yanı sıra tüm standartlardan da iyi sonuç vermiştir.

*A. bodamae* bitki örneğinin farklı çözücü ve konsantrasyonların serbest radikal giderme aktivite sonuçlarına bağlı olarak  $r^2$  değerleri hesaplandı. Ekstrakt ve standartlarımızdan çiçek kısmının hekzan ekstraktının; tohum kısmının aseton,etil asetat,etanol, metanol ve su ekstraktlarının; yaprak kısmının aseton ekstraktının ve BHA ile BHT standart maddelerimizin  $r^2$  değerlerinin 1'e yakın çıktığı bulundu. Bu sonuç serbest radikal giderme aktivite değerlerinin doğru orantılı olduğunu gösterdi.

Papuc vd (2010), *A. clematitis* bitkisiyle (topaküstü kısmı) yapmış olduğu çalışmada etanol ekstraktının DPPH' ile serbest radikal giderme aktivitelerini incelemiştir. Etanol ekstraktının serbest radikal giderme aktivitesi 24.77±3.28 olarak belirlenmiştir. Tez çalışmamızda *A. bodamae* yaprak kısmı ekstraktını daha düşük EC<sub>50</sub> değerine sahip olduğu ve serbest radikal giderme aktivitesinin daha etkili sonuç verdiği görüldü.

Jegadeesware vd (2014), *A. bracteata* Retz'in (bitkinin tamamı) farklı ekstraktlarının (petrol eteri, benzen, etil asetat, etanol ve metanol) serbest radikal giderme aktiviteleri incelenmiştir. Yapılan deney sonucunda *A.bracteata*'nın metanol ve etanol ekstraktlarının, standart askorbik asit ile karşılaştırıldığında DPPH radikalinde sırasıyla % 37.68 ve % 25.33 artmış temizleme etkinliğine sahip olduğu görülmüştür. Tez çalışmamızda *A. bodamae* bitkisinin çiçek kısmının etanol, metanol ekstraktları ile yaprak kısmının etanol ekstraktı askorbik asitin EC<sub>50</sub> değerinden düşük çıkmış olup askorbik asite göre daha iyi bir serbest radikal giderme aktivitesine sahip oldukları belirlendi

Benmehdi vd (2013), *A. clematitis* bitkisinin (bütün bitki) metanol ekstraktının askorbik asite karşı serbest radikal giderme aktivitesi DPPH' kullanılarak incelenmiştir. Metanol ekstraktının EC<sub>50</sub> değeri 0.142 mg/mL bulunmuş olup *A. bodamae* çiçek, tohum ve yaprak kısımlarının metanol ekstraktlarının serbest radikal giderme aktivitelerinin daha iyi sonuç verdiği belirlendi.

Geetha vd (2016), *A. indica* bitkisinin (yaprak kısmı) metanol ekstraktının askorbik asite karşı serbest radikal giderme aktivitesini DPPH' kullanarak incelemiştir. Metanol ekstraktının EC<sub>50</sub> değeri 38.72 µg/mL ve askorbik asitin EC<sub>50</sub> değerini ise 32.42 µg/mL olarak bulmuştur. Bulduğu sonuca göre askorbik asit daha etkin çıksa da metanol ekstraktının sonucunun askorbik asite çok yakın bir değer olduğu ve *A. indica* bitkisinin umut verici bir radikal giderici olduğunu açıkça göstermektedir. *A. bodamae* çiçek kısmının metanol ekstraktının askorbik asite göre daha iyi sonuç verdiği görüldü.

Uygulanılan Tukey HSD<sup>ab</sup> testi istatistik analiz değerlendirmelerine göre, *A. bodamae* bitkisinin çiçek, tohum ve yaprak ekstraktları ile standart maddelerin serbest radikal giderme aktivitesi EC<sub>50</sub> (µg/mL) değerlerinin harflendirilmesi a ile g arasında yapılmıştır. "a" en düşük ortalama ve en yüksek aktivite değerini ifade ederken "g" en yüksek ortalama ve en düşük aktivite değerini ifade etmektedir. Tukey HSD<sup>ab</sup> testi istatistik analiz değerlendirmelerine göre, tek çeşit harfin bulunması ekstrakt ve standartların EC<sub>50</sub> (µg/mL) değerleri arasında anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir. Serbest radikal giderme aktivite sonuçları değerlendirildiğinde ABÇEA, ABCME, ABTEA, ABYAS, ABYET, ABYSU ekstraktlarında ve BHA, BHT, α-tokoferol standart maddelerinde tek çeşit harf bulunmuş olup anlamlı bir farklılık olduğu belirlendi.

Bunların dışında kalan diğer ekstraktlar ve standart maddelerde birden fazla çeşit harf belirlenmiş olup anlamlı bir farklılık olmadığı görüldü. İncelenilen aktivite sonuçlarının  $p < 0.05$  olması istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir.

Tablo 4.8. *A. bodamae* çiçek, tohum ve yaprak ekstraktlarının toplam antioksidan aktivite, indirgenme gücü ve serbest radikal giderme aktivite deneylerinin  $A_{0.5}$  ( $\mu\text{g/mL}$ ) ve  $r^2$  değerleri

ÖRNEKLER	Toplam antioksidan aktivite		İndirgenme gücü		Serbest radikal giderme aktivitesi	
	$A_{0.5}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$r^2$	$A_{0.5}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$r^2$	$EC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$r^2$
ABÇAS	139.36±2.25 <sup>fgghi</sup>	0.98	153.92±4.32 <sup>cd</sup>	1.00	120.72±4.20 <sup>ef</sup>	0.77
ABÇEA	81.64±2.19 <sup>bcd</sup>	1.00	171.35±16.93 <sup>cd</sup>	0.99	63.71±1.32 <sup>c</sup>	0.63
ABÇET	80.28±22.43 <sup>bcd</sup>	0.99	163.84±0.54 <sup>cd</sup>	1.00	48.76±3.69 <sup>bc</sup>	0.54
ABÇHE	101.43±0.08 <sup>cde</sup>	0.97	AB	B	107.23±16.94 <sup>ef</sup>	0.98
ABÇME	125.54±0.13 <sup>efghi</sup>	1.00	160.14±2.01 <sup>cd</sup>	1.00	16.93±9.09 <sup>a</sup>	0.79
ABÇSU	117.24±16.70 <sup>defgh</sup>	0.97	163.68±7.83 <sup>cd</sup>	1.00	67.06±8.65 <sup>cd</sup>	0.62
ABTAS	102.22±18.12 <sup>cdef</sup>	0.89	176.60±5.16 <sup>d</sup>	1.00	105.80±0.44 <sup>ef</sup>	0.92
ABTEA	53.07±0.94 <sup>b</sup>	0.96	94.81±6.93 <sup>b</sup>	0.90	186.04±3.01 <sup>g</sup>	0.96
ABTET	72.98±3.73 <sup>bc</sup>	1.00	94.82±7.44 <sup>b</sup>	1.00	65.82±18.92 <sup>cd</sup>	0.96
ABTHE	120.05±10.40 <sup>efghi</sup>	0.35	AB	B	49.20±5.48 <sup>bc</sup>	0.57
ABTME	149.79±4.34 <sup>hij</sup>	0.97	AB	B	93.60±5.89 <sup>de</sup>	0.99
ABTSU	157.31±8.46 <sup>ij</sup>	0.99	147.28±7.34 <sup>cd</sup>	0.97	76.72±4.55 <sup>cd</sup>	0.82
ABYAS	122.98±1.78 <sup>efghi</sup>	0.92	135.74±12.66 <sup>c</sup>	1.00	1.66±1.91 <sup>a</sup>	0.99
ABYEA	4.22±1.84 <sup>a</sup>	0.87	92.06±29.89 <sup>b</sup>	0.99	26.49±6.63 <sup>ab</sup>	0.61
ABYET	111.20±4.02 <sup>defg</sup>	0.99	163.53±3.62 <sup>cd</sup>	1.00	2.99±0.17 <sup>a</sup>	0.60
ABYHE	127.36±17.08 <sup>efghi</sup>	0.89	52.92±3.04 <sup>a</sup>	0.86	AB	B
ABYME	153.13±3.55 <sup>hij</sup>	0.98	156.78±4.24 <sup>cd</sup>	0.99	AB	B
ABYSU	143.93±13.02 <sup>ghij</sup>	0.93	165.08±5.20 <sup>cd</sup>	1.00	9.96±4.40 <sup>a</sup>	0.76
$\alpha$ -tokoferol	116.47±5.81 <sup>defgh</sup>	0.99	160.38±3.20 <sup>cd</sup>	0.99	8.25±0.52 <sup>a</sup>	0.78
Askorbik asit	171.94±3.12 <sup>j</sup>	1.00	173.49±6.65 <sup>cd</sup>	0.97	52.60±3.56 <sup>bc</sup>	0.79
BHA	160.53±5.22 <sup>j</sup>	1.00	96.57±0.74 <sup>b</sup>	1.00	15.57±1.86 <sup>a</sup>	0.89
BHT	58.88±11.21 <sup>b</sup>	0.96	80.71±9.99 <sup>ab</sup>	0.98	128.40±8.27 <sup>f</sup>	0.89
TBHK	139.68±1.26 <sup>fgghi</sup>	0.99	168.01±5.80 <sup>cd</sup>	0.99	28.26±0.88 <sup>ab</sup>	0.73
Troloks	140.68±2.25 <sup>ghij</sup>	1.00	173.10±8.69 <sup>cd</sup>	1.00	AB	B

P < 0.05. AB: Aktivite Belirlenemedi. B: Belirlenemedi.

#### 4.2.4. Metal Şelat Aktivitesi

*A. bodamae*'nin çiçek, yaprak ve tohum kısımlarının farklı konsantrasyon ve çözücülerdeki ekstraktlarının metal şelatlama aktivitesi  $\text{Fe}^{+2}$  iyonu ile şelatlama özelliği yüksek ferrozin reaktifıyla ortamdaki metal bağlayabilen bileşiklerin veya ekstraktların yarışdırılması esasına yöntemle belirlendi.

*A. bodamae* bitkisinin farklı çözücü ve konsantrasyonların metal şelat aktivite sonuçlarına bağlı olarak  $EC_{50}$  değerleri hesaplandı. Elde edilen değerler Tablo 4.9'da belirtilmektedir. Ekstraktlar arasında metal şelat aktivitesi en güçlü olan *A. bodamae* tohum kısmı aseton ekstraktı olduğu ve EDTA standartından da etkili sonuç verdiğini görüldü.

*A. bodamae* bitki örneğinin farklı çözücü ve konsantrasyonların metal şelat aktivite sonuçlarına bağlı olarak  $r^2$  değerleri hesaplandı.

Ekstrakt ve standartlarımızdan ABÇEA, ABÇET, ABÇHE, ABÇSU, ABTHE, ABTME, ABTSU, ABYHE, ABYME ve ABYSU ekstraktları ile EDTA standart maddesinin  $r^2$  değerlerinin 1'e yakın çıktığı bulundu. Bu sonuç metal şelat aktivite değerlerinin doğru orantılı olduğunu gösterdi.

Das vd (2016), *A. bracteolata* Linn'in (bütün bitki) metanol, etil asetat ve hekzan ekstraktlarının metal şelat aktivitesi EDTA standartına karşı incelemiştir. Yapılan çalışma sonucunda metanol, etil asetat ve hekzan bitki ekstraktlarının metal şelat aktivite  $EC_{50}$  değerleri sırasıyla  $680 \pm 0.33$ ,  $760.17 \pm 0.57$  ve  $900.54 \pm 1.12$   $\mu\text{g/mL}$  olarak bulunmuş olup *A. bodamae* çiçek, tohum ve yaprak kısımlarının metanol, etil asetat ve hekzan ekstraktlarının daha düşük  $EC_{50}$  değerleri ile daha etkili metal şelat aktivitesine sahip olduğu belirlendi.

Papuc vd (2010), *A. clematitis*'in etanol ekstraktının metal şelatlama kabiliyeti incelenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda *A. clematitis*'in etanol ekstraktının  $EC_{50}$  değeri  $54.71 \pm 3.05$  olarak bulunmuştur. Tez çalışmamızla karşılaştığımızda *A. bodamae* çiçek ve yaprak kısımlarının (tohum kısmının etanol ekstraktının  $EC_{50}$  değeri bulunamamıştır) etanol ekstraktlarından daha etkili sonuç verdiği görüldü.

Uygulanılan Tukey HSD<sup>ab</sup> testi istatistik analiz değerlendirmelerine göre, *A. bodamae* bitkisinin çiçek, tohum ve yaprak ekstraktları ile standart maddelerin metal şelat aktivitesi  $EC_{50}$  ( $\mu\text{g/mL}$ ) değerlerinin harflendirilmesi a ile g arasında yapılmıştır. "a" en düşük ortalama ve en yüksek aktivite değerini ifade ederken "g" en yüksek ortalama ve en düşük aktivite değerini ifade etmektedir. Tukey HSD<sup>ab</sup> testi istatistik analiz değerlendirmelerine göre, tek çeşit harfin bulunması ekstrakt ve standartların  $EC_{50}$  ( $\mu\text{g/mL}$ ) değerleri arasında anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir. Metal şelat aktivite sonuçları değerlendirildiğinde ABÇEA, ABTAS, ABTSU, ekstraktlarında tek çeşit harf bulunmuş olup anlamlı bir farklılık olduğu belirlendi. Bunların dışında kalan diğer ekstraktlar ve standart maddelerde birden fazla çeşit harf belirlenmiş olup anlamlı bir farklılık olmadığı görüldü. İncelenilen aktivite sonuçlarının  $p < 0.05$  olması istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir.

#### **4.2.5. Lipid Peroksidasyonu İnhibisyonu**

*A. bodamae* bitkisinin farklı çözeltileri ve konsantrasyonlardaki ekstraktlarının lipid peroksidasyon inhibisyonu linoleik asit kullanılarak spektrofotometrik olarak tayini gerçekleştirildi.

*A. bodamae*'nin farklı çözücü ve konsantrasyonların lipid peroksidasyon inhibisyon aktivite sonuçlarına bağlı olarak EC<sub>50</sub> değerleri hesaplandı. Elde edilen değerler Tablo 4.9'da belirtilmektedir. Ekstraktlar arasında en etkili lipid peroksidasyon aktivitesini *A. bodamae* bitkisinin çiçek kısmının etanol ekstraktının gösterdiği ve onu yaprak kısmının metanol ekstraktının takip ettiği görüldü. Standartlardaysa  $\alpha$ -tokoferolün en etkili olduğu ve onu BHA'nın takip ettiği tespit edildi. Ekstrakt ve standartlar arasında en etkin olanı  $\alpha$ -tokoferoldür. Bunun yanı sıra bitkimizin çiçek kısmının etanol ekstraktının troloks standart maddesinden daha iyi sonuç verdiği görüldü.

*A. bodamae* bitki örneğinin farklı çözücü ve konsantrasyonların lipid peroksidasyon inhibisyon aktivite sonuçlarına bağlı olarak  $r^2$  değerleri hesaplandı. ABÇME, ABTET, ABYAS, ABYEA, ABYET, ABYME ekstraktlarının ile  $\alpha$ -tokoferol, troloks standart maddelerinin  $r^2$  değerleri 1'e yakın bulundu. Böylece lipid peroksidasyon değerlerinin doğru orantılı olduğu tespit edilmiştir.

Das vd (2016), *A. bracteolata* Linn'nin metanol, etil asetat ve hekzan ekstraktlarının BHT'ye karşı sıçan karaciğeri homojenatında lipid peroksidasyonunu değerlendirmiştir. Yapılan çalışma sonucunda metanol, etil asetat ve hekzan ekstraktlarının EC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 400.01±1.23, 680.17±0.95, 760.11±1.55  $\mu$ g/mL olarak bulunmuştur. BHT'nin EC<sub>50</sub> değeri 220.21±1.16  $\mu$ g/mL olduğu görülmüştür. Tez çalışmamıza baktığımızda *A. bodamae* bitkisinin tüm kısımlarının (tohum kısmının etil asetat ekstraktı hariç) metanol, etil asetat ve hekzan ekstraktlarının daha iyi sonuç verdiği görüldü.

Uygulanılan Tukey HSD<sup>ab</sup> testi istatistik analiz değerlendirmelerine göre, *A. bodamae* bitkisinin çiçek, tohum ve yaprak ekstraktları ile standart maddelerin lipid peroksidasyonu inhibisyonu EC<sub>50</sub> ( $\mu$ g/mL) değerlerinin harflendirilmesi a ile f arasında yapılmıştır. "a" en düşük ortalama ve en yüksek aktivite değerini ifade ederken "f" en yüksek ortalama ve en düşük aktivite değerini ifade etmektedir.

Tukey HSD<sup>ab</sup> testi istatistik analiz değerlendirmelerine göre, tek çeşit harfin bulunması ekstrakt ve standartların EC<sub>50</sub> ( $\mu$ g/mL) değerleri arasında anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir. Lipid peroksidasyonu inhibisyonu sonuçları değerlendirildiğinde ABÇET, ABÇHE, ABÇME, ABÇSU, ABTET, ABTME, ABYAS, ABYEA, ABYME, ABYSU ekstraktlarında ve BHA,  $\alpha$ -tokoferol, troloks

standart maddelerinde tek çeşit harf bulunmuş olup anlamlı bir farklılık olduğu belirlendi. Bunların dışında kalan diğer ekstraktlar ve standart maddelerde birden fazla çeşit harf belirlenmiş olup anlamlı bir farklılık olmadığı görüldü. İncelenilen aktivite sonuçlarının  $p < 0.05$  olması istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir.

#### 4.2.6. Süperoksit Anyonu Giderme Aktivitesi

*A. bodamae*'nin farklı çözücü ve konsantrasyonlardaki ekstraktlarının süperoksit anyonu giderme aktivitesi, süperoksit radikalinin sarı renkteki, NBT ile etkileşmesiyle, mavi-mor renkte olan formazan formuna indirgeyebilmesi esasına göre tayin edildi. Aktivite analizinde, süperoksit radikali giderme kapasitesi olan bileşikler bulunuyorsa düşük absorbans değerleri gözlemlenir.

*A. bodamae*'nin farklı çözücü ve konsantrasyonların süperoksit anyonu giderme aktivite sonuçlarına bağlı olarak  $EC_{50}$  değerleri hesaplandı. Elde edilen değerler Tablo 4.9'da belirtilmektedir. Ekstraktlar arasında bitkimizin tohum kısmının etanol ekstraktının süperoksit anyonu giderme aktivitesi en iyi olduğu, standartlardaysa  $\alpha$ -tokoferolün en etkin sonuç verdiği görüldü.  $\alpha$ -tokoferol ekstraktlardan da daha etkin bir sonuç verdiği tespit edildi. Bunun yanı sıra bitkimizin çiçek kısmının metanol ekstraktı, tohum kısmının etil asetat ekstraktı ile yaprak kısmının etanol ve su ekstraktları, ekstraktlar arasında en süperoksit anyonu giderme aktiviteleri en iyi olmamalarına rağmen  $\alpha$ -tokoferol hariç diğer tüm standart maddelerden daha aktivitesi yüksek bir sonuç verdiği belirlendi.

*A. bodamae* bitki örneğinin farklı çözücü ve konsantrasyonların süperoksit anyonu giderme aktivite sonuçlarına bağlı olarak  $r^2$  değerleri hesaplandı. Ekstraktlarımızdan ABÇAS, ABÇSU, ABTAS, ABTEA, ABTHE, ABTSU, ABYAS, ABYET ve ABYSU ile tüm standart maddelerin  $r^2$  değerleri 1'e yakın bulundu. Böylece süperoksit anyonu aktivite değerlerinin doğru orantılı olduğu tespit edildi.

Papuc vd (2010), *A. clematitis* bitkisinin (topraküstü kısmı) etanol ekstraktının süperoksit anyonu giderme aktivitesini incelemiştir. Yapılan çalışma sonucunda etanol ekstraktının  $EC_{50}$  değerini  $35.55 \pm 3.28$   $\mu\text{g/mL}$  olarak bulmuştur. Tez çalışmamıza baktığımızda *A. bodamae* tohum kısmının etanol ekstraktı daha düşük  $EC_{50}$  değeriyle daha iyi bir süperoksit giderme aktivitesi gösterdiği belirlendi. Çiçek ve yaprak kısımlarının etanol ekstraktlarının ise daha düşük bir süperoksit anyonu giderme aktivitesi gösterdiği görüldü.

Jegadeesware vd (2014), *A. Bracteata* Retz'in (bitkinin tamamı) petrol eteri, benzen, etil asetat, metanol ve etanol ekstraktlarının süperoksit anyonu giderme aktivitelerini incelemiştir. Yapılan çalışma sonucunda petrol eteri, benzen, etil asetat, metanol ve etanol ekstraktlarının EC<sub>50</sub> değerleri 21.98 , 22.86, 18.34, 23.73, 24.28 ve 22.54 µg/mL olarak bulunmuş olup tez çalışmamıza baktığımızda bitkinin tüm kısımlarının etil asetat, metanol ve etanol ekstraktlarından daha etkin bir aktivite gösterdiği tespit edildi.

Uygulanılan Tukey HSD<sup>ab</sup> testi istatistik analiz değerlendirmelerine göre, *A. bodamae* bitkisinin çiçek, tohum ve yaprak ekstraktları ile standart maddelerin süperoksit anyonu giderme aktivitesi EC<sub>50</sub> (µg/mL) değerlerinin harflendirilmesi a ile i arasında yapılmıştır. “a” en düşük ortalama ve en yüksek aktivite değerini ifade ederken “i” en yüksek ortalama ve en düşük aktivite değerini ifade etmektedir. Tukey HSD<sup>ab</sup> testi istatistik analiz değerlendirmelerine göre, tek çeşit harfin bulunması ekstrakt ve standartların EC<sub>50</sub> (µg/mL) değerleri arasında anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir. Süperoksit anyonu giderme aktivitesi sonuçları değerlendirildiğinde ABTEA, ABTET, ABTME, ABYME ekstraktlarında ve α-tokoferol, askorbik asit standart maddelerinde tek çeşit harf bulunmuş olup anlamlı bir farklılık olduğu belirlendi. Bunların dışında kalan diğer ekstraktlar ve standart maddelerde birden fazla çeşit harf belirlenmiş olup anlamlı bir farklılık olmadığı görüldü. İncelenilen aktivite sonuçlarının  $p < 0.05$  olması istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir.

Tablo 4.9. *A. bodamae* çiçek, tohum ve yaprak ekstraktlarının metal şelat aktivitesi, lipid peroksidasyon inhibisyonu ve süperoksit anyonu giderme aktivitelerinin EC<sub>50</sub> (µg/mL) ve r<sup>2</sup> değerleri

ÖRNEKLER	Metal şelat aktivitesi		Lipid peroksidasyon inhibisyonu		Süperoksit anyonu giderme aktivitesi	
	EC <sub>50</sub> (µg/mL)	r <sup>2</sup>	EC <sub>50</sub> (µg/mL)	r <sup>2</sup>	EC <sub>50</sub> (µg/mL)	r <sup>2</sup>
ABÇAS	AB	B	AB	B	131.14±4.05 <sup>ghi</sup>	0.90
ABÇEA	747.70±54.46 <sup>g</sup>	0.96	66.60±1.91 <sup>bcd</sup>	0.57	AB	B
ABÇET	70.84±0.10 <sup>bcd</sup>	0.92	2.34±0.97 <sup>a</sup>	0.70	109.34±14.04 <sup>efg</sup>	0.51
ABÇHE	98.12±7.20 <sup>cdef</sup>	0.97	143.42±19.80 <sup>f</sup>	0.75	AB	B
ABÇME	AB	B	56.34±3.31 <sup>b</sup>	0.84	78.75±14.53 <sup>bcd</sup>	0.13
ABÇSU	60.62±4.62 <sup>abc</sup>	0.90	45.28±1.28 <sup>b</sup>	0.76	137.75±0.95 <sup>hi</sup>	0.94
ABTAS	5.15±0.37 <sup>a</sup>	0.74	AB	B	90.17±8.91 <sup>def</sup>	0.85
ABTEA	AB	B	AB	B	54.08±3.78 <sup>b</sup>	0.83
ABTET	AB	B	52.75±1.99 <sup>b</sup>	0.83	24.70±1.63 <sup>a</sup>	0.72
ABTHE	89.18±6.63 <sup>def</sup>	0.95	88.15±4.68 <sup>cd</sup>	0.53	108.36±8.37 <sup>efg</sup>	0.91
ABTME	129.89±7.76 <sup>def</sup>	0.95	5.81±1.83 <sup>a</sup>	0.63	188.95±1.09 <sup>i</sup>	0.67
ABTSU	155.43±3.12 <sup>f</sup>	0.93	AB	B	91.25±6.55 <sup>def</sup>	0.89
ABYAS	AB	B	11.71±1.11 <sup>a</sup>	0.81	85.76±3.88 <sup>cde</sup>	0.96
ABYEA	11.74±0.95 <sup>ab</sup>	0.78	55.54±3.25 <sup>b</sup>	0.81	AB	B
ABYET	65.96±0.50 <sup>abc</sup>	0.73	94.65±20.18 <sup>de</sup>	0.88	82.21±2.00 <sup>cd</sup>	0.96
ABYHE	132.48±6.94 <sup>ef</sup>	0.86	60.25±12.55 <sup>bc</sup>	0.67	AB	B
ABYME	105.84±2.22 <sup>cdef</sup>	0.91	9.69±0.34 <sup>a</sup>	0.99	175.28±5.42 <sup>i</sup>	0.60
ABYSU	143.55±8.50 <sup>ef</sup>	0.99	50.80±8.10 <sup>b</sup>	0.59	63.68±8.56 <sup>bc</sup>	0.97
α-tokoferol	K		0.01±0.00 <sup>a</sup>	0.90	10.92±0.32 <sup>a</sup>	0.93
Askorbik asit	K		124.03±3.49 <sup>ef</sup>	0.38	145.53±4.54 <sup>i</sup>	0.90
BHA	K		0.55±0.31 <sup>a</sup>	0.62	84.74±3.50 <sup>cde</sup>	0.97
BHT	K		AB	B	115.52±2.80 <sup>fgh</sup>	0.83
TBHK	K		AB	B	136.49±1.70 <sup>hi</sup>	0.97
Troloks	K		3.47±1.01 <sup>a</sup>	0.86	108.23±1.56 <sup>efg</sup>	0.95
EDTA	89.32±2.37 <sup>cde</sup>	0.82	K		K	

P < 0.05. AB: Aktivite Belirlenemedi. B:Belirlenemedi. K:Kullanılmadı

### 4.3. Ekstraktların Enzim İnhibisyon Aktiviteleri

#### 4.3.1. Ekstraktların Asetilkolinesteraz İnhibisyonu Aktivitesi

*A. bodamae*'nin çiçek, tohum ve yaprak kısımlarının farklı çözücülerle hazırlanan ekstraktlarının asetilkolinesteraz inhibisyonu aktivite sonuçlarına bağlı olarak IC<sub>50</sub> değerleri hesaplandı. Ekstraktlar arasında en iyi sonucu veren *A. bodamae* çiçek kısmının etanol ekstraktı (0.43±0.17 µg/mL) olduğu ve onu çok az bir farkla bitkinin yaprak kısmının etil asetat ekstraktının (0.45±0.38 µg/mL) takip ettiği belirlendi. Aynı zamanda en etkili aktivite sonuçları veren ABÇET ve ABYEA ekstraktları standart madde olarak kullanılan galantaminin (0.75±0.25 µg/mL) aktivite değerinden yüksek aktivite gösterdiği belirlendi. En etkili aktiviteden başlayarak sıralandığında asetilkolinesteraz inhibisyonu aktivite düzeyi; ABÇET > ABYEA > ABTEA = ABTSU > galantamin > ABTME > ABÇEA > ABTET > ABTHE > ABYME > ABYET > ABÇHE > ABÇSU > ABYHE > ABTAS > ABÇME > ABYSU > ABÇAS > ABYAS şeklinde olduğu belirlendi.

Nile ve Keum (2017), *A. indica* bitkisinin metanol ekstraktının asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesini incelemiştir. Metanol ekstraktının IC<sub>50</sub> değeri 2,7±0,1 (mg GAE/özüt) olarak bulunmuştur. *A. bodamae* metanol ekstraktının *A. indica* metanol ekstraktından daha etkin bir asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi gösterdiği belirlendi.

Uygulanan Tukey HSD<sup>ab</sup> testi istatistik analiz değerlendirmelerine göre, *A. bodamae* bitkisinin çiçek, tohum ve yaprak ekstraktları ile standart maddelerin asetilkolin esteraz inhibisyon IC<sub>50</sub> (µg/mL) değerlerinin harflendirilmesi a ile h arasında yapılmıştır. “a” en düşük ortalama ve en yüksek aktivite değerini ifade ederken “h” en yüksek ortalama ve en düşük aktivite değerini ifade etmektedir. Tukey HSD<sup>ab</sup> testi istatistik analiz değerlendirmelerine göre, tek çeşit harfin bulunması ekstrakt ve standartların IC<sub>50</sub> (µg/mL) değerleri arasında anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir. Asetilkolin esteraz inhibisyon sonuçları değerlendirildiğinde ABÇAS, ABÇET, ABÇME, ABÇSU, ABTET, ABYAS, ABYEA, ABYET ekstraktlarında ve galantamin standart maddesinde tek çeşit harf bulunmuş olup anlamlı bir farklılık olduğu belirlendi. Bunların dışında kalan diğer ekstraktlar ve standart maddelerde birden fazla çeşit harf belirlenmiş olup anlamlı bir farklılık olmadığı görüldü. İncelenilen aktivite sonuçlarının  $p < 0.05$  olması istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir.

Tablo 4.10. *A. bodamae* çiçek, tohum ve yaprak ekstraktlarının asetilkolin esterase inhibisyon aktivite değerleri

ÖRNEKLER	Aktivite, IC <sub>50</sub> (µg/mL)
ABÇAS	51.93±1.45 <sup>h</sup>
ABÇEA	1.56±0.67 <sup>ab</sup>
ABÇET	0.43±0.17 <sup>a</sup>
ABÇHE	7.99±3.29 <sup>cd</sup>
ABÇME	30.62±0.36 <sup>f</sup>
ABÇSU	17.15±3.22 <sup>d</sup>
ABTAS	26.04±2.82 <sup>ef</sup>
ABTEA	0.67±0.44 <sup>ab</sup>
ABTET	1.83±0.30 <sup>a</sup>
ABTHE	3.22±2.90 <sup>ab</sup>
ABTME	1.31±0.76 <sup>abc</sup>
ABTSU	0.67±0.36 <sup>ab</sup>
ABYAS	53.26±1.57 <sup>h</sup>
ABYEA	0.45±0.38 <sup>a</sup>
ABYET	7.11±1.75 <sup>c</sup>
ABYHE	23.56±1.70 <sup>ef</sup>
ABYME	5.96±2.87 <sup>bc</sup>
ABYSU	38.75±1.83 <sup>gh</sup>
Galantamin	0.75±0.25 <sup>a</sup>

P < 0.05.

#### 4.3.2. Ekstraktların Üreaz İnhibisyon Aktivitesi

*Helicobacter pylori* mide bakterisi besinlerin sindirimini zorlar. Üreaz bunu baskılamak için kullanılır. Üreaz üreyi parçalar ve fazlası amonyum zehirlenmesine sebep olur. Atılım (ürünü olan üre) oluşumu gerçekleşmediğinde aşırı amonyum gözlemlenir. *H. Pylori* bakterisi, üreaz aktivitesiyle bağlantılıdır (Wang, 2014). *A. bodamae*'nin bitkimsinin çiçek, tohum ve yaprak kısımlarının farklı çözücülerde hazırlanan ekstraktlarının üreaz inhibisyon aktivitesi yöntemler kısmında belirtildiği şekliyle yapıldı. Elde edilen *A. bodamae* ekstraktların üreaz inhibisyon aktivite değerleri Tablo 4.11'de gösterilmektedir.

*A. bodamae*'nin çiçek, tohum ve yaprak kısımlarının farklı çözücülerle hazırlanan ekstraktlarının üreaz inhibisyonu aktivite sonuçlarına bağlı olarak IC<sub>50</sub> değerleri hesaplandı. Ekstraktlar arasında en iyi sonucu veren tohum kısmının metanol ekstraktı olduğu ve onu çok az bir farkla yine tohum kısmının etil asetat ekstraktının takip ettiği tespit edildi. Bunun yanı sıra yine de en etkili sonuç standart olarak kullanılan tiyo üre tarafından verildiği görüldü. En etkili aktiviteden başlayarak sıralandığında üreaz inhibisyonu aktivite düzeni; tiyoüre > ABTME > ABTEA > ABÇAS > ABYAS > ABYME > ABÇEA > ABÇME > ABTAS > ABÇET > ABYET > ABTET > ABYSU > ABÇHE > ABTSU > ABÇSU > ABYHE şeklinde olduğu belirlendi.

Wang (2014), *A. paucinervis* Pomel yaprak kısmının hekzan ekstraktının, *H. pylori* ile ilişkili hastalıklardaki etkisinin araştırılmasında kullanıldığını bildirdi. Ekstrenin *H. pylori*'ye karşı MIC değeri 4 µg / mL olarak belirlendi.

Gadhi vd (2001), *A. paucinervis* yaprağı ve rizom kısımlarının metanol ekstraktlarının *H. pylori* aktivitesi (MIC) üzerindeki etkilerini sırasıyla 32 ve 128 µg/mL olarak bildirmişlerdir. Ekstraktlar, metronidazol (0.5 µg/mL) ve klaritromisin (0.06 µg/mL) gibi standartlardan daha düşük etkinlik gösterdi.

*A. bodamae*'nin çiçek, tohum ve yaprak kısımlarının tüm ekstraktları tiyoüre standart maddesine göre daha düşük etkinlik gösterdiği belirlendi.

Tablo 4.11. *A. bodamae* çiçek, tohum ve yaprak ekstraktlarının üreaz inhibisyon aktivite değerleri

ÖRNEKLER	Aktivite, IC <sub>50</sub> (µg/mL)
ABÇAS	7.42±0.46 <sup>ab</sup>
ABÇEA	8.60±0.65 <sup>ab</sup>
ABÇET	9.85±0.22 <sup>ab</sup>
ABÇHE	12.26±1.18 <sup>abc</sup>
ABÇME	8.95±0.99 <sup>ab</sup>
ABÇSU	18.12±0.01 <sup>cd</sup>
ABTAS	9.06±0.01 <sup>ab</sup>
ABTEA	6.32±0.30 <sup>ab</sup>
ABTET	10.30±1.43 <sup>ab</sup>
ABTHE	AB
ABTME	6.23±0.52 <sup>ab</sup>
ABTSU	13.21±2.14 <sup>bc</sup>
ABYAS	7.91±0.67 <sup>ab</sup>
ABYEA	AB
ABYET	10.24±1.76 <sup>ab</sup>
ABYHE	23.02±6.41 <sup>d</sup>
ABYME	8.58±1.36 <sup>ab</sup>
ABYSU	12.06±1.33 <sup>abc</sup>
Tiyoüre	5.53±0.64 <sup>a</sup>

P < 0.05. AB: Belirlenemedi.

Uygulanılan Tukey HSD<sup>ab</sup> testi istatistik analiz değerlendirmelerine göre, *A. bodamae* bitkisinin çiçek, tohum ve yaprak ekstraktları ile standart maddelerin üreaz inhibisyon aktivitesi IC<sub>50</sub> (µg/mL) değerlerinin harflendirilmesi a ile d arasında yapılmıştır. “a” en düşük ortalama ve en yüksek aktivite değerini ifade ederken “d” en yüksek ortalama ve en düşük aktivite değerini ifade etmektedir. Tukey HSD<sup>ab</sup> testi istatistik analiz değerlendirmelerine göre, tek çeşit harfin bulunması ekstrakt ve standartların IC<sub>50</sub> (µg/mL) değerleri arasında anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir.

Üreaz inhibisyon aktivitesi sonuçları değerlendirildiğinde ABYHE ekstraktı ve tiyoüre standart maddesinde tek çeşit harf bulunmuş olup anlamlı bir farklılık olduğu belirlendi. Bunların dışında kalan diğer ekstraktlar ve standart maddelerde birden fazla çeşit harf belirlenmiş olup anlamlı bir farklılık olmadığı görüldü. İncelenilen aktivite sonuçlarının  $p < 0.05$  olması istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir.

#### **4.4. Antibakteriyel Aktivite Testleri**

##### **4.4.1. Disk Difüzyon Metodu**

*A. bodamae* ekstraktların, disk difüzyon yöntemini kullanılarak antibakteriyel aktiviteleri incelendi. Elde edilen antibakteriyel aktivite değerleri Tablo 4.12’de belirtilmektedir.

Tablo 4.12. *A. bodamae* çiçek, tohum ve yaprak kısımlarının farklı çözücülerle hazırlanan ekstraktlarının disk difüzyon yöntemiyle antibakteriyel aktivite değerleri

Antibakteriyel Aktivite	Örnekler / Antibiyotikler / Kontrol	Gram-negatif bakteriler			Gram-pozitif bakteriler		
		<i>E.coli</i> (ATCC 25922)	<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 15442)	<i>K. pneumoniae</i> (ATCC 10031)	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	<i>B.cereus</i> (CCM 99)	<i>S. aureus</i> (ATCC 25213)
İnhibisyon zon, mm	ABYET	AB	AB	AB	AB	7.8±0.6	6.9±0.0
	ABYME	6.9±3.3	7.7±0.2	AB	AB	10.0±0.0	9.3±0.0
	ABYSU	AB	AB	AB	AB	AB	AB
	ABYAS	9.0±0.0	7.3±1.4	AB	7.0±0.0	7.0±0.0	7.5±0.7
	ABYEA	AB	AB	AB	AB	AB	7.0±1.5
	ABYHE	AB	AB	AB	AB	AB	AB
	ABÇET	9.0±0.7	10.8±0.4	11.0±0.3	10.3±0.4	7.0±0.0	9.0±1.4
	ABÇME	9.4±0.8	9.0±0.0	9.0±0.0	8.8±1.8	9.0±0.0	8.0±0.0
	ABÇSU	AB	AB	AB	AB	AB	AB
	ABÇAS	AB	10.0±0.0	9.8±0.4	9.0±0.3	11.5±1.3	9.2±0.3
	ABÇEA	7.0±0.0	8.7±0.9	7.0±0.0	9.5±0.0	14.0±2.2	AB
	ABÇHE	AB	AB	AB	AB	AB	AB
	ABTET	8.3±0.4	12.5±1.3	11.7±1.7	13.7±1.9	14.5±1.4	12.8±1.1
	ABTME	11.1±1.3	9.4±1.1	10.0±0.0	9.5±0.0	10.4±1.3	11.3±0.4
	ABTSU	AB	AB	AB	AB	AB	AB
	ABTAS	9.2±0.0	10.5±1.5	10.8±0.4	9.6±0.2	20.8±0.2	9.3±0.4
	ABTEA	8.2±0.3	8.2±0.3	7.5±0.4	7.6±0.0	9.0±0.0	7.0±0.10
	ABTHE	AB	AB	AB	AB	AB	AB
	Amoksilin	23.0±0.0	AB	AB	AB	33.7±0.9	AB
	Tetrasiklin	18.9±0.8	14.1±0.7	23.0±0.0	20.0±0.0	22.0±0.3	15.6±0.0
Kontrol	6.0±0.0	6.0±0.0	6.0±0.0	6.0±0.0	6.0±0.0	6.0±0.0	

AB:Aktivite Belirlenemedi.

Ekstraktların antibakteriyel aktiviteleri incelendiğinde *E.coli* bakterisine karşı ABYME, ABYAS, ABÇET, ABÇME, ABÇEA, ABTET, ABTME, ABTAS ve ABTEA ekstraktlarının antibakteriyel aktivitelerinin olduğu görüldü. Ekstraktlar arasında *E.coli* bakterisine karşı en iyi sonucu veren ABTME ekstraktı olmasına rağmen antibiyotiklerden daha iyi bir sonuç elde edilemedi. Diğer ekstraktlar antibakteriyel aktivite göstermedi.

Ekstraktların antibakteriyel aktiviteleri incelendiğinde *P.aeruginosa* bakterisine karşı ABYME, ABYAS, ABÇET, ABÇME, ABÇAS, ABÇEA, ABTET, ABTME, ABTAS ve ABTEA ekstraktlarının antibakteriyel aktivite gösterdiği görüldü. Ekstraktlar arasında *P. aeruginosa* bakterisine karşı en iyi sonucu veren ABTET ekstraktı olmasına rağmen tetrasiklin antibiyotiğine (amoksilin aktivite göstermedi) göre daha iyi bir sonuç göstermediği tespit edildi. Fakat tetrasiklin antibiyotiğinin anti bakteriyel etkisiyle arasındaki farkın az olduğu görüldü.

Disk difüzyon metodu kullanılarak ekstraktlarımızın antibakteriyel aktiviteleri incelendiğinde *K. pneumoniae* bakterisine karşı antibakteriyel aktivite gösterenlerin ABÇET, ABÇME, ABÇAS, ABÇEA, ABTET, ABTME, ABTAS ve ABTEA olduğu görüldü. Ekstraktlar arasında *K. pneumoniae* bakterisine karşı en iyi sonucu veren ABTET ekstraktı olmasına rağmen tetrasiklin antibiyotiğine (amoksilin aktivite göstermedi) göre daha iyi bir sonuç göstermediği tespit edildi.

Disk difüzyon metodu kullanılarak ekstraktlarımızın antibakteriyel aktiviteleri incelendiğinde *E. faecalis* bakterisine karşı antibakteriyel aktivite gösterenlerin ABYAS, ABÇET, ABÇME, ABÇAS, ABÇEA, ABTET, ABTME, ABTAS ve ABTEA ekstraktları olduğu görüldü. Ekstraktlar arasında *E. faecalis* bakterisine karşı en iyi sonucu veren ABTET ekstraktı olmasına rağmen antibiyotiklerden daha iyi bir sonuç göstermediği tespit edildi.

Disk difüzyon metodu kullanılarak ekstraktların antibakteriyel aktiviteleri incelendiğinde *B. cereaus* bakterisine karşı antibakteriyel aktivite gösterenlerin ABYET, ABYME, ABYAS, ABÇET, ABÇME, ABÇAS, ABÇEA, ABTET, ABTME, ABTAS ve ABTEA ekstraktlarının olduğu görüldü. Ekstraktlar arasında *B. cereaus* bakterisine karşı en iyi sonucu veren ABTAS ekstraktı olmasına rağmen antibiyotiklerden daha iyi bir sonuç göstermediği tespit edildi. Fakat tetrasiklin antibiyotiğinin anti bakteriyel etkisiyle arasındaki farkın az olduğu görüldü.

Disk difüzyon metodu kullanılarak ekstraktlarımızın antibakteriyel aktiviteleri incelendiğinde *S. aureus* bakterisine karşı antibakteriyel aktivite gösterenlerin ABYET, ABYME, ABYAS, ABYEA, ABÇET, ABÇME, ABÇAS, ABTET, ABTME, ABTAS, ABTEA ekstraktları olduğu görüldü. Ekstraktlar arasında *S. aureus* bakterisine karşı en iyi sonucu veren ABTET ekstraktı olmasına rağmen antibiyotiklerden daha iyi bir sonuç göstermediği tespit edildi. Fakat tetrasiklin antibiyotiğinin antibakteriyel etkisiyle arasındaki farkın az olduğu görüldü.

Manik vd (2006) yapmış olduğu çalışmasında Hindistan'da yerli tıpta yaygın olarak kullanılan *A. bracteate* Retz bitkisinin yapraklarının ham ekstraktları disk difüzyon yöntemiyle antibakteriyel aktivitesi araştırılmıştır. *A. bracteate* Retz'in yaprakları petrol eteri, kloroform ve alkol ile ekstrakte edilmiştir ve ham yaprak özleri, *B. subtilis*, *L. plantarum*, *E. coli*, *S. aureus*, *S. faecalis* ve *P. aeruginosa*'a karşı antibakteriyel aktiviteleri test edilmiştir. *A. bracteate* Retz bitkisinin yaprak petrol eteri ekstraktı *E. coli* bakterisine karşı aktivitesi 7 mm olarak bulunmuş olup *A. bodamae* yaprak kısmının metanol ekstraktından yüksek sonuç vermiş olup yine bitkimizin yaprak kısmının etanol, su, etil asetat ve hekzan ekstraktları sonuç vermemiştir. Bunun yanı sıra *E. coli* bakterisine karşı *A. bodamae* yaprak kısmının aseton ekstraktı (9.0±0.0 mm) ise *A. bracteate* yaprak bölümünün petrol eteri ekstraktına (10 mm) göre yüksek sonuç vermiştir. *A. bracteate* yaprak kısmının petrol eteri, kloroform, alkol ekstraktlarının *P. aeruginosa* bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesi bitkimiz olan *A. bodamae*'nin yaprak ekstraktlarından yüksek sonuç verdiği görülmüş olup bitkimizin çiçek bölümünün aseton ekstraktı (10.0±0.0 mm) *A. bracteata* yaprak bölümünün petrol eteri ekstraktıyla aynı sonuç elde edildiği belirlenmiştir. *A. bodamae* çiçek kısmının etanol ekstraktı (10.8±0.4 mm), tohum kısmının etanol ekstraktı (12.5±1.5 mm) *A. bracteate* yaprak petrol eteri ekstraktından (10 mm) daha yüksek sonuç verdiği görülmüştür.

Murugan ve Mohan (2012) yapmış olduğu çalışmada *A. indica* bitkisinin *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis*, *E. coli*, *S. typhi* ve *P. aeruginosa* bakterilerine karşı potansiyel antibakteriyel aktiviteleri açısından tarama yapmıştır. Yaprak ve gövde kabuğu kısımlarının petrol eteri, benzen, aseton, metanol ve sulu ekstraktları antibakteriyel aktivite disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir.

Yapılan çalışmalarda *S. aureus* bakterisine karşı *A. indica* yaprak kısmının aseton ekstraktı 2 mm, metanol ekstraktının 6 mm olduğu ve su ekstraktının ise aktivite vermediği görülmüştür. *A. bodamae* yaprak bölümünün su ekstraktının aktivite göstermediği ve *A. indica* bitkisiyle aynı etki sonuca varıldığı belirlendi. Elde edilen veriler ışığında karşılaştırdığımızda *A. bodamae* yaprak kısmının aseton ekstraktının  $7.5\pm 0.7$  mm, metanol ekstraktının  $9.3\pm 0.0$  mm zon çapına sahip olduğu görülerek *A. indica* bitkisine göre daha iyi bir sonuç verdiği tespit edilmiştir.

*K. pneumoniae* bakterisine karşı *A. indica* bitkisinin yaprak kısmının aseton, methanol antibakteriyel aktivite sonuçları sırasıyla 5 mm ve 6 mm olarak bulunmuş olup su ekstraktındaysa aktivite bulunamamıştır. *A. bodamae* yaprak kısmının aseton ve metanol ekstraktlarından aktivite görülememiş olup *A. indica* bitkisi daha iyi sonuç verdiği görüldü. Bunun yanı sıra her iki bitkinin de yaprak kısmının su ekstraktı aktivite göstermeyerek aynı sonuca ulaşıldığı tespit edildi.

*E. coli* bakterisine karşı *A. indica* bitkisinin yaprak kısmının aseton ekstraktı 3 mm ve metanol ekstraktı ise 2 mm zon çapına sahip olduğu görülmüştür. *A. bodamae* yaprak kısmının aseton ve metanol ekstraktları sırasıyla  $9.0\pm 0.0$  mm,  $6.9\pm 3.3$  mm olarak bulunmuş olup daha iyi bir sonuç verdiği görüldü. Bunun yanı sıra her iki bitkinin de yaprak kısmının su ekstraktları aktivite göstermemiş olup aynı sonuca ulaşıldığı görüldü.

*P. aeruginosa* bakterisine karşı *A. indica* bitkisinin yaprak kısmının metanol ekstraktı 3 mm ve su ekstraktı ise 1 mm zon çapına sahip olduğu görülmüştür. *A. bodamae* yaprak kısmının su ekstraktı aktivite göstermemiş olup *A. indica* daha iyi sonuç verdiği belirlendi. *A. bodamae* yaprak etanol ekstraktı  $7.7\pm 0.2$  mm olarak bulundu ve daha iyi bir sonuç verdiği görüldü. *A. indica* aseton ekstraktı aktivite göstermemiş olup *A. bodamae* ise  $7.3\pm 1.4$  mm zon çapıyla daha iyi bir sonuç verdiği belirlendi.

Dhouioui vd (2016) yapılan çalışmada *Aristolochia longa* bitkisinin kök ve toprak üstü kısımlarının *E. coli*, *S. typhimurium*, *E. faecium*, *S. agalactiae* ve *S. aureus* bakterilerine karşı antibakteriyel aktiviteleri incelenmiştir. *E. coli* bakterisine karşı *A. longa* bitkisinin kök kısmının antibakteriyel aktivitesi  $8.50\pm 0.50$  mm ve toprak üstü kısmının aktivitesi ise  $9.50\pm 0.50$  mm olarak bulunmuştur. Bu veriler doğrultusunda karşılaştırma yapıldığında *A. bodamae* bitkisinin yaprak kısmının metanol ekstraktı ( $6.9\pm 3.3$  mm), çiçek kısmının etil asetat ( $7.0\pm 0.0$  mm) ve tohum kısmının da etanol

(8.3±0.4 mm) ile etil asetat (8.2±0.3 mm) ekstraktları daha düşük aktivite gösterdiği belirlendi. Bunun yanı sıra çalışmamızda kullandığımız bitkinin yaprak kısmının aseton ekstraktı (9.0±0.0 mm), çiçek kısmının etanol (9.0±0.7 mm), metanol (9.4±0.8 mm) ekstraktları ve tohum kısmının aseton ekstraktı (9.2±0.0 mm) *A. longa* bitkisinin kök kısmından daha iyi sonuç verdiği görüldü. *A. bodamae* bitkisinin tohum kısmının metanol ekstraktının (11.1±1.3 mm) ise *A. longa* bitkisinin hem kök hem de toprak üstü kısımlarından daha iyi sonuç elde edildiği tespit edildi.

*S. aureus* bakterisine karşı *A. longa* bitkisinin kök kısmının antibakteriyel aktivitesi 9.83±0.80 mm ve toprak üstü kısmının aktivitesi ise bulunmamıştır. *A. bodamae* bitkisinin tohum kısmının etanol (12.8±1.1 mm) ve metanol (11.3±0.4 mm) ekstraktlarının daha iyi sonuç verdiği belirlendi. Aynı zamanda bitkimizin yaprak kısmının etanol (6.9±0.0 mm), metanol (9.3±0.0 mm), aseton (7.5±0.7 mm), etil asetat (7.0±1.5 mm), çiçek kısmının etanol (9.0±1.4 mm), metanol (8.0±0.0 mm), aseton (9.2±0.3 mm) ve tohum kısmının aseton (9.3±0.4 mm), etil asetat (7.0±0.10 mm) ekstraktları *A. longa* bitkisinin toprak üstü ekstraktından daha iyi bir sonuç verdiği görüldü.

#### 4.4.2. Mikrodilüsyon Metodu

*A. bodamae* çiçek, tohum ve yaprak kısımlarının ekstraktlarının bakterilerin üremesini durmasını sağlayan minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) sonuçları mikrodilüsyon metodu kullanılarak belirlendi. Bu yöntem için hazırlanan besiyerine *A. bodamae* ekstraktı ile standart olarak kullandığımız antibiyotikler seri şeklinde 100 µL seyreltildi. Her bir seyreltme ortamı içerisine 0.5 McFarland miktarında hücre ihtiva eden incelenicek olan bakteri süspansiyonundan aynı miktarda eklendi. Öncelikler +4°C sıcaklıkta 2 saat süreyle sonrasında ise 37 °C sıcaklıkta 16-18 saat inkübasyon yapıldı. Elde edilen MİK değerleri kaydedildi (Tablo 4.13).

Tablo 4.13. *A. bodamae* çiçek, tohum ve yaprak kısımlarının farklı çözücülerle hazırlanan ekstraktlarının mikrodilüsyon metodu antibakteriyel aktivite değerleri

Antibakteriyel Aktivite	Örnekler / Antibiyotikler / Kontrol	Gram-negatif bakteriler			Gram-pozitif bakteriler		
		<i>E.coli</i> (ATCC 25922)	<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 15442)	<i>K.pneumoniae</i> (ATCC 10031)	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	<i>B.cereus</i> (CCM 99)	<i>S. aureus</i> (ATCC 25213)
Minimum İnhibisyon Konsant. (MİK), µg/mL	ABYET	128	256	256	64	256	256
	ABYME	128	256	256	64	256	256
	ABYSU	512	1024	>2048	128	>2048	>2048
	ABYAS	>2048	>2048	>2048	64	>2048	>2048
	ABYEA	>2048	>2048	>2048	128	>2048	>2048
	ABYHE	>2048	>2048	>2048	64	>2048	>2048
	ABÇET	128	128	256	128	256	128
	ABÇME	128	128	256	128	256	256
	ABÇSU	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024
	ABÇAS	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024
	ABÇEA	>1024	>1024	>1024	128	64	>1024
	ABÇHE	256	256	1024	256	512	512
	ABTET	128	128	128	128	32	64
	ABTME	128	128	128	128	16	64
	ABTSU	>1024	512	512	>1024	256	>1024
	ABTAS	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024	64
	ABTEA	64	64	64	>1024	>1024	>1024
	ABTHE	512	256	256	256	128	128
	Amoksilin	4	>2048	>2048	>2048	128	>2048
	Tetrasiklin	1	8	8	16	<0.5	8

*A. bodamae*'nın tüm ekstraktları *E.coli* bakterisine karşı antibiyotiklerden çok daha yüksek MİK değerleri vermiştir.

*P. Aeuruginosa* bakterisine karşı ABYAS, ABYEA, ABYHE ekstraktlarının >2048 µg/mL MİK değeriyle amoksilin antibiyotiğinin MİK değeri (>2048) aynı değerleri verdiği görülmüştür. Tetrasiklin antibiyotiğinden ise tüm ekstraktların MİK değerleri daha yüksek bulunmuştur.

*K. pneumoniae* bakterisine karşı ABYSU, ABYEA, ABYHE ekstraktlarının >2048 µg/mL MİK değeriyle amoksilin antibiyotiğinin MİK değeri (>2048 µg/mL) aynı değerleri verdiği görülmüştür. Tetrasiklin antibiyotiğinden ise tüm ekstraktların MİK değerleri yüksek bulunmuştur.

*E. faecalis* bakterisine karşı hiç bir ekstrakt antibiyotiklerden yüksek MİK değeri vermediği görüldü.

*B. cereus* bakterisine karşı ABYSU, ABYAS, ABYEA, ABYHE ekstraktlarının >2048 µg/mL MİK değeriyle amoksilin antibiyotiğinden (tetrasiklin aktivite göstermedi) daha yüksek MİK değeri verdiği görülmüştür.

*K. pneumoniae* bakterisine karşı ABYSU, ABYAS, ABYEA, ABYHE, ABTHE ekstraktlarının >2048 µg/mL MİK değeriyle amoksilin antibiyotiğinden (Tetrasiklin aktivite göstermedi) daha yüksek MİK değeri verdiği görülmüştür.

Dhouioui vd (2016), yapılan çalışmada *A. longa* bitkisinin kök ve toprak üstü kısımlarının ekstraktları antibakteriyel aktiviteleri incelenmiş ve minimum inhibisyon konsantrasyon değerleri bulunmuştur. *E. coli* bakterisine karşı *A. longa* bitkisinin kök ekstraktı MİK sonucu 1000 µg/mL ve toprak üstü kısmının ekstraktı ise 1500 µg/mL olarak bulunmuştur. *A. bodamae* bitkisinin yaprak kısmının etanol, metanol ekstraktları ile çiçek kısmının etanol, metanol ve tohum kısmının etanol, metanol ekstraktlarının MİK değeri 128 µg/mL olarak bulundu. Yaprak kısmının su ekstraktı ve tohum kısmının hekzan ekstraktının MİK değeri 512 µg/mL olarak ölçüldü. Tohum kısmının etil asetat ekstraktı ise 64 µg/mL olarak tespit edildi. Bu ekstraktlarımızın MİK değerleri daha düşük ölçülmesi daha az konsantrasyonda sonuç verdiğini ve *A. longa* bitkisine göre daha iyi sonuç verdiğini göstermektedir.

*S. aureus* bakterisine karşı *A. longa* bitkisinin kök ekstraktı MİK sonucu 1000 µg/mL ve toprak üstü kısmının ekstraktı ise 1500 µg/mL olarak bulunmuştur. *A. bodamae* bitkisinin yaprak kısmının etanol, metanol ve çiçek kısmının metanol ekstraktının MİK değeri 256 µg/mL olarak bulundu.

Çiçek kısmının etanol ve tohum kısmının hekzan ekstraktlarının MİK değeri 128 µg/mL olarak ölçüldü. Tohum kısmının etanol, metanol ve aseton ekstraktların 64 µg/mL olarak tespit edildi. Bu ekstraktlarımızın MİK değerleri daha düşük ölçülmesi daha az konsantrasyonda sonuç verdiğini ve *A. longa* bitkisine göre daha iyi sonuç verdiğini göstermektedir.

Yu vd (2007), yapılan çalışmada *A. mollissima* bitkisinin rizim ve toprak üstü kısımları ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesi incelenmiş ve minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerleri incelenmiştir. *E. coli* bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesine karşı *A. mollissima* bitkisinin rizom ve toprak üstü kısımlarının ekstraktlarının MİK değeri 6.25 µg/mL olarak bulunmuştur. *A. bodamae* bitkisinin bu bakteri karşısındaki MİK değerlerimiz daha yüksek ölçüldü. Bu nedenle *A. mollissima* bitkisinin MİK değerlerinin düşük çıkması, düşük konsantrasyonda antibakteriyel etkisinin olduğunu göstermekte ve *A. bodamae* bitkisinden daha iyi sonuç verdiği tespit edilmektedir.

*K. pneumoniae* bakterisine karşı *A. mollissima* bitkisinin rizom ve toprak üstü kısımlarının ekstraktlarının MİK değeri 25 µg/mL olarak bulunmuştur. *A. bodamae* bitkisinin bu bakteri karşısındaki MİK değerlerimiz daha yüksek ölçüldü. Bu nedenle *A. mollissima* bitkisinin MİK değerlerinin düşük çıkması, düşük konsantrasyonda antibakteriyel etkisinin olduğunu göstermekte ve *A. bodamae* bitkisinden daha iyi sonuç verdiği tespit edilmektedir.

#### **4.5. DNA İle İlgili Aktiviteler**

##### **4.5.1. Deoksiriboz Koruma Aktivite**

*A. bodamae* ekstraktlarının deoksiriboz koruma aktivitesi yöntemler kısmında belirtildiği gibi uygulandı. Elde edilen  $A_{0,5}$  (µg/mL) ve  $r^2$  değerleri Tablo 4.14'de gösterilmektedir.

Tablo 4.14. *A. bodamae* çiçek, tohum ve yaprak ekstraktlarının deoksiriboz koruma aktivite değerleri

ÖRNEKLER	Deoksiriboz koruma aktivitesi	
	A <sub>0.5</sub> (µg/mL)	r <sup>2</sup>
ABÇAS	AB	B
ABÇEA	8.66±0.16 <sup>ab</sup>	0.87
ABÇET	45.83±6.42 <sup>c</sup>	0.95
ABÇHE	AB	B
ABÇME	AB	B
ABÇSU	AB	B
ABTAS	6.23±0.87 <sup>a</sup>	0.73
ABTEA	AB	B
ABTET	25.96±0.09 <sup>d</sup>	0.76
ABTHE	135.97±0.22 <sup>g</sup>	0.89
ABTME	43.39±2.98 <sup>e</sup>	0.75
ABTSU	70.67±1.91 <sup>f</sup>	0.88
ABYAS	18.92±3.75 <sup>bcd</sup>	0.90
ABYEA	AB	B
ABYET	22.67±4.05 <sup>d</sup>	0.67
ABYHE	AB	B
ABYME	AB	B
ABYSU	AB	B
α-tokoferol	8.72±0.62 <sup>ab</sup>	0.82
Askorbik asit	45.60±0.66 <sup>c</sup>	0.93
BHA	10.61±3.25 <sup>abc</sup>	0.91
BHT	22.16±3.35 <sup>cd</sup>	0.96
TBHK	10.55±4.36 <sup>abc</sup>	0.85
Troloks	18.75±2.26 <sup>bcd</sup>	0.84

P < 0.05. AB: Aktivite Belirlenemedi. B: Belirlenemedi.

*A. bodamae* ekstraktların deoksiriboz koruma aktivite sonuçlarına göre EC<sub>50</sub> değerleri hesaplandı. Ekstraktlar arasında deoksiriboz koruma aktivitesi en etkin olan *A. bodamae* bitkisinin tohum kısmının aseton ekstraktının olduğu ve standartlardan en iyi sonuç veren α-tokoferolden de daha iyi bir aktivite elde ettiğimiz görüldü. Bunun yanı sıra *A. bodamae* bitkisinin çiçek kısmının etil asetat ekstraksiyonu en iyi aktivite sonucu vermemesine rağmen diğer tüm standart maddelerden daha iyi deoksiriboz koruma aktivitesi gösterdiği görüldü.

*A. bodamae* bitki örneğinin farklı çözücü ve konsantrasyonların deoksiriboz koruma aktivite sonuçlarına bağlı olarak r<sup>2</sup> değerleri hesaplandı. Ekstraktlardan ABÇEA, ABÇET, ABTHE, ABTSU ve ABYAS ile tüm standartların r<sup>2</sup> değerleri 1'e yakın çıkmış olup böylece deoksiriboz koruma aktivite değerlerinin doğru orantılı olduğu tespit edildi.

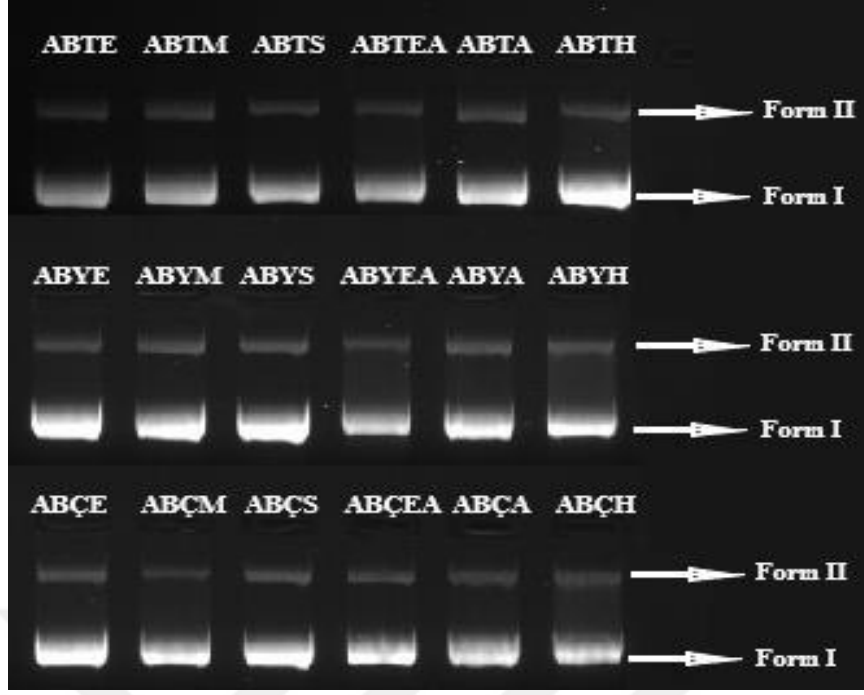
Badami vd (2005), *A. bracteolata* bitkisinin kloroform ve etil asetat ekstraktlarının deoksiriboz koruma aktivitelerini incelemiştir. Yapılan bu çalışma sonucunda kloroform ve etil asetat ekstraktlarının EC<sub>50</sub> değerlerini sırasıyla

438.30±7.80 ve 655.00±6.13 µg/mL olarak bulmuştur. Tez çalışmasına bakıldığında *A. bodamae* çiçek kısmının etil asetat ekstraktının daha iyi sonuç verdiği görüldü. Bitkinin tohum ve yaprak kısımlarının etil asetat ekstraktlarının EC<sub>50</sub> değerleri bulunamadığından karşılaştırma yapılamadı.

Uygulanılan Tukey HSD<sup>ab</sup> testi istatistik analiz değerlendirmelerine göre, *A. bodamae* bitkisinin çiçek, tohum ve yaprak ekstraktları ile standart maddelerin deoksiriboz koruma aktivitesi A<sub>0,5</sub> (µg/mL) değerlerinin harflendirilmesi a ile g arasında yapılmıştır. “a” en düşük ortalama ve en yüksek aktivite değerini ifade ederken “g” en yüksek ortalama ve en düşük aktivite değerini ifade etmektedir. Tukey HSD<sup>ab</sup> testi istatistik analiz değerlendirmelerine göre, tek çeşit harfin bulunması ekstrakt ve standartların A<sub>0,5</sub> (µg/mL) değerleri arasında anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir. Deoksiriboz koruma aktivitesi sonuçları değerlendirildiğinde ABCET, ABTAS, ABTET, ABTME, ABTHE, ABTSU, ABYET ekstraktlarında ve askorbik asit standart maddesinde tek çeşit harf bulunmuş olup anlamlı bir farklılık olduğu belirlendi. Bunların dışında kalan diğer ekstraktlar ve standart maddelerde birden fazla çeşit harf belirlenmiş olup anlamlı bir farklılık olmadığı görüldü. İncelenilen aktivite sonuçlarının  $p < 0.05$  olması istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir.

#### **4.5.2. DNA Koruma Aktivitesi**

*A. bodamae* çiçek, tohum ve yaprak kısımlarının aseton, etil asetat, etanol, hekzan, metanol ve su ekstraktlarının DNA koruma aktivitesi plazmit DNA kullanılarak incelendi. Deneyde kullanılan jel yoğunluğu DNA'nın ihtiva ettiği baz çifti sayısı dikkate alınarak hazırlandı. UV ışınları DNA hasarına sebep olmaktadır. Oluşan bu hasarı önleme potansiyelini H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin bulunduğu ortamda DNA koruma aktivitesi araştırıldı. Çalışmamızda elde ettiğimiz jelin görüntü Şekil 4.20'de gösterilmektedir.



Şekil 4.21. *A. bodamae* ekstraktlarının DNA koruma aktivitesi jel görüntüleri

Ekstraktların DNA koruma aktivitesi 5 mg/mL derişiminde uygulanmış ve elektroforez görüntüsü iki bant olarak gözlemlenmiştir. Bu bantlar plazmit DNA' nın hızlı hareket eden bantları olan sargılı dairesel formunu (*supercoiled* formI) ve yavaş hareket eden bantlar ise halkasal formlarını (*circular* formII) temsil etmektedir. ABTA, ABTH, ABYE, ABYM, ABYS, ABYA, ABYH, ABÇE, ABÇM, ABÇS, ABÇEA ve ABÇA ekstraktlarının sargılı dairesel DNA formunda halkasal formlara göre daha yüksek DNA koruma aktivitesi vardır.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Devamlı olarak canlı organizma metabolizmasında oksidasyon oluşmaktadır. Çevreden alınan ve canlı organizmanın metabolik işlevlerine dahil olan reaktif oksijen radikalleri oksidasyon olaylarının hızını artırmaktadır. Serbest radikal artışı nedeniyle oluşabilecek hücre tahribatı, sağlık bakımından önem arz eden problemler meydana getirme potansiyeli vardır. Gastrointestinal hastalıkları, infertiliteyi, kardiyovasküler hastalıkları, solunum ve boşaltım sistemi bozukluklarını ve daha pek çok hastalığı tetiklemektedir. Bu hastalıklar serbest radikal düzeyleriyle ilişkilidir. Olası bu rahatsızlıkların önüne geçebilmek için oksidan maddelerin antioksidan maddelerle denge halinde tutulması gerekmektedir. Bu anlamda beslenmenin önemi çok fazladır. Yeterli miktarda antioksidan alımı doğru beslenmeyle sağlanabilmekte ve böyle serbest radikallerin istenmeyen etkileri ortadan kalkmaktadır (Karabulut ve Gülay, 2016a).

Sadece canlı organizmasında değil daha pek çok alanda oksidasyon olumsuz sonuçlar doğurmaktadır. Gıda endüstrisinde lipid peroksidasyonu buna bir örnektir. Yapay antioksidanların yan etkilerinin ortaya çıkmasıyla doğal antioksidanlar önemli bir konum edinmiştir. Bu nedenle bitkisel kaynaklı antioksidanların araştırılması bir bakıma gerekli bir durumda olmaktadır denilebilir.

Araştırmamızda amacımız *A. bodamae* bitkisinin çiçek, tohum ve yaprak kısımlarının farklı çözücülerle (aseton, etil asetat, etanol, hekzan, metanol, su) elde ettiğimiz ekstraktlarının antioksidan etkisini standartlarla ( $\alpha$ - tokoferol, askorbik asit, BHA, BHT, TBHK ve troloks) kıyaslayarak incelemektir. Bunun yanı sıra bitki ekstraktlarının enzim inhibisyon aktiviteleri, antibakteriyel aktivite ve DNA ile ilgili koruma aktivite etkinliğini de araştırılmıştır.

*A. bodamae* çiçek, tohum ve yaprak ekstraktlarının % verimleri hesaplandı. Bitkinin bu üç kısmından elde edilen % verim değer aralığı % 4.00-39.22 olarak bulundu. Çiçek, tohum ve yaprak ekstraktlarının % verim sıralamaları ABÇME (% 39.22) > ABYEA (% 36.40) > ABÇSU (% 30.33) > ABYET (% 29.10) > ABTSU (% 24.39) > ABYSU (% 21.90) > ABÇET (% 21.64) > ABTME (% 20.00) > ABTET (% 16.67) > ABYME (% 15.37) > ABTEA (% 14.29) > ABTHE (% 10.00) > ABÇEA (% 8.09) > ABYAS (% 7.20) > ABTAS (% 7.04) ABÇHE (% 4.82) > ABYHE (% 4.27) > ABÇAS (% 4.00) şeklindedir.

Çiçek, tohum ve yaprak ekstraktları kendi aralarında incelendiğinde en yüksek verim bitkinin çiçek kısmının metanol ekstraktı, en düşük verim ise bitkinin çiçek kısmının aseton ekstraktı olarak görüldü.

Flavonoidler, fenolik asitler ve fenolik diterpenler gibi fenolik bileşikler antioksidatif etkinin esas kaynağını oluşturmakta olup bitkisel kaynaklı ve doğal bir şekilde meydana gelen bileşiklerdir (Thirugnanasampandan vd, 2008). *A. bodamae* bitkisinin toplam fenolik ve flavonoid miktarı tayin edildi. Bitkinin çiçek, tohum ve yaprak kısımlarının toplam fenolik miktarının sıralaması; ABÇME (160.54±0.01 µg/g) > ABÇET (110.41±0.06 µg/g) > ABTSU (110.35±1.02 µg/g) > ABYME (70.64±0.04 µg/g) > ABÇSU (70.44±0.05 µg/g) > ABYEA (70.02±0.00 µg/g) > ABTET (50.60±0.14 µg/g) > ABYET (40.76±0.00 µg/g) > ABYAS (40.68±0.01 µg/g) > ABÇEA (40.41±0.20 µg/g) > ABTME (30.77±0.32 µg/g) > ABTAS (30.42±0.10 µg/g) > ABTEA (20.64±0.25 µg/g) > ABTHE (10.98±0.05 µg/g) > ABÇAS (10.77±0.00 µg/g) > ABÇHE (10.73±0.13 µg/g) > ABYHE (10.45±0.01 µg/g) > ABYSU (10.32±0.00 µg/g) şeklindedir. Toplam fenolik miktarı en düşük olan yaprak kısmının su ekstraktı ve en yüksek ise çiçek kısmının metanol ekstraktı olduğu görüldü. Toplam flavonoid miktarının sıralaması; ABTEA (150.03±2.62 µg/g) > ABÇEA (57.96±0.75 µg/g) > ABTAS (39.00±0.67 µg/g) > ABTET (22.24±1.10 µg/g) > ABTSU (17.92±1.00 µg/g) > ABTME (17.73±0.89 µg/g) > ABTHE (16.24±0.91 µg/g) > ABÇSU (12.05±1.20 µg/g) > ABYSU (11.30±0.02 µg/g) > ABÇME (10.10±0.75 µg/g) > ABYHE (9.55±0.13 µg/g) > ABYET (9.52±0.35 µg/g) > ABYME (9.33±0.31 µg/g) > ABYEA (9.28±0.16 µg/g) > ABYAS (8.00±0.09 µg/g) > ABÇHE (7.75±0.75 µg/g) > ABÇET (7.35±0.59 µg/g) > ABÇAS (3.42±0.27 µg/g) şeklindedir. Toplam flavonoid miktarı en düşük olan çiçek kısmının aseton ekstraktı ve en yüksek ise tohum kısmının etil asetat ekstraktı olduğu görüldü. Literatür taraması sonucunda *Aristolochia* türlerinin içeriğinde bulunan, serbest radikal süpürücü etkisi bulunan fenolik bileşikler gıda maddelerinin dayanıklılığını artırmada, kardiyovasküler rahatsızlıkların ve bazı kanser çeşitlerinin azalmasında etkili olduğu bilinmektedir (Barak ve Yaşar 2008; Rice, 1999). Bunun yanı sıra *Aristolochia* türlerinde bulunan flavonoidler de besinlerin bozunmasını önleme amaçlı gıda sanayisinde kullanılmakta olup besinlerin rengini iyileştirmekte, serbest radikal süpürücü etkisiyle lipid peroksidasyonunu önlemekte, antioksidatif etkisiyle kanseri önlediği bilinmektedir (İnan, 2015).

Bu nedenle bitkimizde belirlenen fenolik ve flavonoid bileşiklerinin miktarları önem göstermekte olup *A. bodamae* bitkisinin antioksidatif etki içerdiğini desteklemektedir (Tablo 4.2-4.7).

Antioksidatif etki bitkideki antioksidan çeşitliliğiyle de ilgilidir. Bu sebeple *A. bodamae* bitkisinde hangi fenolik bileşiklerin bulunduğunu incelemek yani fenoliklerin kantitatif analizini yapmak için LC-MS/MS ile fenoliklerin analizi yöntemi kullanıldı. Her ekstraktımızı ayrı ayrı incelediğimizde fenolik bileşiklerin sıralaması;

ABÇAS için, *p*-kumarik asit (49761.93 µg fenolik madde / kg kuru bitki) > rutin > fumarik asit > kafeik asit > kuersetin-3-glukozit > klorojenik asit > protokateşuik asit > vanilik asit > kuersetin > gallik asit > 4-hidroksibenzaldehit > 4-hidroksibenzoik asit > salisilik asit > naringenin > kateşin > hesperidin > epikateşin > kumarin > protokateşuik asit etil ester şeklindedir. En yüksek sonucu *p*-kumarik asit (49761.93 µg fenolik madde/kg kuru bitki) vermiştir. Sikorik asit, gentisik asit, resveratrol ve tanik asit fenolik bileşikleri ABÇAS ekstraktında belirlenememiştir.

ABÇEA için, *p*-kumarik asit > rutin > kafeik asit > kuersetin-3-glukozit > protokateşuik asit > kuersetin > fumarik asit > vanilik asit > gallik asit > 4-hidroksibenzaldehit > naringenin > salisilik asit > klorojenik asit > 4-hidroksibenzoik asit > kateşin > resveratrol > kumarin > protokateşuik asit etil ester şeklindedir. En yüksek sonucu *p*-kumarik asit (7795.28 µg fenolik madde/kg kuru bitki) vermiştir. Sikorik asit, epikateşin, gentisik asit, hesperidin ve tanik asit fenolik bileşikleri ABÇEA ekstraktında belirlenememiştir.

ABÇET için, rutin > *p*-kumarik asit > kafeik asit > kuersetin-3-glukozit > klorojenik asit > naringenin > naringenin > protokateşuik asit > kuersetin > protokateşuik asit etil ester > fumarik asit > 4-hidroksibenzaldehit > vanilik asit > gallik asit > salisilik asit > 4-hidroksibenzoik asit > tanik asit > kateşin > hesperidin > epikateşin > kumarin şeklindedir. En yüksek sonucu rutin (161740.89 µg fenolik madde/kg kuru bitki) vermiştir. Sikorik asit, gentisik asit ve resveratrol fenolik bileşikleri belirlenememiştir.

ABÇME için, rutin > *p*-kumarik asit > fumarik asit > kuersetin-3-glukozit > klorojenik asit > tanik asit > kafeik asit > protokateşuik asit > kuersetin > naringenin > vanilik asit > 4-hidroksibenzaldehit > salisilik asit > 4-hidroksibenzoik asit > hesperidin > kumarin şeklindedir.

En yüksek sonucu rutin (470732.94 µg fenolik madde/kg kuru bitki) vermiştir. Kateşin, sikorik asit, epikateşin, gallik asit, gentisik asit, protokateşuik asit etil ester ve resveratrol fenolik bileşikleri belirlenememiştir.

ABÇSU için, rutin > *p*-kumarik asit > fumarik asit > klorojenik asit > protokateşuik asit > kuersetin-3-glukozit > kafeik asit > tanik asit > vanilik asit > naringenin > kuersetin > kateşin > salisilik asit > 4-hidroksibenzoik asit > epikateşin > kumarin şeklindedir. En yüksek sonucu rutin (251687.95 µg fenolik madde/kg kuru bitki) vermiştir. 4-hidroksibenzaldehit, sikorik asit, gallik asit, gentisik asit, hesperidin, protokateşuik asit etil ester ve resveratrol fenolik bileşikleri belirlenememiştir.

ABÇHE için, fumarik asit > *p*-kumarik asit > vanilik asit > rutin > 4-hidroksibenzaldehit > protokateşuik asit > 4-hidroksibenzoik asit > salisilik asit > naringenin > protokateşuik asit etil ester > kuersetin-3-glukozit > hesperidin > kumarin şeklindedir. En yüksek sonucu fumarik asit (1322.01 µg fenolik madde/kg kuru bitki) vermiştir. Gallik asit, kateşin, tanik asit, gentisik asit, klorojenik asit, kafeik asit, epikateşin, sikorik asit, resveratrol ve kuersetin fenolik bileşikleri belirlenememiştir.

ABTAS için, *p*-kumarik asit > fumarik asit > protokateşuik asit > kafeik asit > vanilik asit > salisilik asit > rutin > 4-hidroksibenzoik asit > 4-hidroksibenzaldehit > hesperidin > gallik asit > kateşin > gentisik asit > kuersetin > epikateşin > kuersetin-3-glukozit > kumarin > klorojenik asit > naringenin > protokateşuik asit şeklindedir. En yüksek sonucu *p*-kumarik asit (9352.61 µg fenolik madde/kg kuru bitki) vermiştir. Tanik asit, sikorik asit ve resveratrol fenolik bileşikleri belirlenememiştir.

ABTEA için, *p*-kumarik asit > kafeik asit > protokateşuik asit > 4-hidroksibenzoik asit > salisilik asit > vanilik asit > fumarik asit > 4-hidroksibenzaldehit > rutin > kateşin > gallik asit > gentisik asit > kuersetin-3-glukozit > kuersetin > epikateşin > resveratrol > hesperidin > kumarin > naringenin > protokateşuik asit etil ester şeklindedir. En yüksek sonucu *p*-kumarik asit (16956.69 µg fenolik madde / kg kuru bitki) vermiştir. Tanik asit, klorojenik asit ve sikorik asit fenolik bileşikeleri belirlenememiştir.

ABTET için, *p*-kumarik asit > rutin > kafeik asit > protokateşuik asit > fumarik asit > salisilik asit > 4-hidroksibenzoik asit > protokateşuik asit > kateşin > 4-hidroksibenzaldehit > gallik asit > vanilik asit > gentisik asit > kuersetin-3-glukozit > epikateşin > kuersetin > hesperidin > naringenin > tanik asit > resveratrol > klorojenik

asit > kumarin şeklindedir. En yüksek sonucu p-kumarik asit (430552.12 µg fenolik madde/kg kuru bitki) vermiştir. Sikorik asit fonilik bileşiği belirlenememiştir.

ABTME için, fumarik asit > p-kumarik asit > rutin > kafeik asit > protokateşuik asit > kateşin > salisilik asit > 4-hidroksibenzoik asit > hesperidin > vanilik asit > 4-hidroksibenzaldehit > kuersetin > kumarin şeklindedir. En yüksek sonucu fumarik asit (164971.33 µg fenolik madde/kg kuru bitki) vermiştir. Gallik asit, tanik asit, gentisik asit, klorojenik asit, epikateşin, sikorik asit, protokateşuik asit etil ester, resveratrol, naringenin ve kuersetin fenolik bileşikleri belirlenememiştir.

ABTSU için, fumarik asit > p-kumarik asit > kafeik asit > rutin > protokateşuik asit > vanilik asit > salisilik asit > 4-hidroksibenzoik asit > 4-hidroksibenzaldehit > kateşin > hesperidin > epikateşin > naringenin > kumarin şeklindedir. En yüksek sonucu fumarik asit (156907.52 µg fenolik madde / kg kuru bitki) vermiştir. Gallik asit, tanik asit, gentisik asit, klorojenik asit, sikorik asit, protokateşuik asit etil ester, resveratrol, kuersetin-3-glukozit ve kuersetin fenolik bileşikleri belirlenememiştir.

ABTHE için, fumarik asit > vanilik asit > p-kumarik asit > 4-hidroksibenzaldehit > rutin > protokateşuik asit > salisilik asit > 4-hidroksibenzoik asit > kumarin şeklindedir. En yüksek sonucu fumarik asit (761.74 µg fenolik madde/kg kuru bitki) vermiştir. Gallik asit, kateşin, tanik asit, gentisik asit, klorojenik asit, kafeik asit, epikateşin, sikorik asit, protokateşuik asit etil ester, hesperidin, resveratrol, kuersetin-3-glukozit, naringenin ve kuersetin fenolik bileşikleri belirlenememiştir.

ABYAS için, p-kumarik asit > kafeik asit > rutin > fumarik asit > protokateşuik asit > 4-hidroksibenzoik asit > salisilik asit > kuersetin-3-glukozit > vanilik asit > 4-hidroksibenzaldehit > gallik asit > hesperidin > kateşin > klorojenik asit > kuersetin > tanik asit > gentisik asit > protokateşuik asit etil ester > naringenin şeklindedir. En yüksek sonucu p-kumarik asit (2345.10 µg fenolik madde/kg kuru bitki) vermiştir. Epikateşin, sikorik asit ve resveratrol fenolik bileşikleri belirlenememiştir.

ABYEA için, p-kumarik asit > kafeik asit > 4-hidroksibenzoik asit > salisilik asit > rutin > protokateşuik asit > kuersetin-3-glukozit > fumarik asit > 4-hidroksibenzaldehit > vanilik asit > kuersetin > hesperidin > gentisik asit > gallik asit > naringenin > klorojenik asit > resveratrol > protokateşuik asit etil ester > kumarin şeklindedir. En yüksek sonucu p-kumarik asit (220949.65 µg fenolik madde/kg kuru bitki) vermiştir. Kateşin, tanik asit, epikateşin ve sikorik asit fenolik bileşikleri belirlenememiştir.

ABYET için, *p*-kumarik asit > kafeik asit > rutin > fumarik asit > kuersetin-3-glukozit > salisilik asit > 4-hidroksibenzoik asit > vanilik asit > protokateşuik asit > 4-hidroksibenzaldehit > klorojenik asit > naringenin > kuersetin > gentisik asit > hesperidin > kumarin şeklindedir. En yüksek sonucu *p*-kumarik asit (349742.42 µg fenolik madde/kg kuru bitki) vermiştir. Gallik asit, kateşin, tanik asit, epikateşin, sikorik asit, protokateşuik asit etil ester ve resveratrol fenolik bileşikleri belirlenememiştir.

ABYME için, kafeik asit > *p*-kumarik asit > fumarik asit > rutin > kuersetin-3-glukozit > salisilik asit > 4-hidroksibenzoik asit > protokateşuik asit > vanilik asit > 4-hidroksibenzaldehit > klorojenik asit > tanik asit > kuersetin > naringenin > hesperidin şeklindedir. En yüksek sonucu kafeik asit (155649.43 µg fenolik madde/kg kuru bitki) vermiştir. Gallik asit, kateşin, gentisik asit, epikateşin, sikorik asit, kumarin, protokateşuik asit etil ester ve resveratrol fenolik bileşikleri belirlenememiştir.

ABYSU için, rutin > fumarik asit > *p*-kumarik asit > kafeik asit > kuersetin-3-glukozit > salisilik asit > 4-hidroksibenzoik asit > protokateşuik asit > vanilik asit > klorojenik asit > 4-hidroksibenzaldehit > naringenin şeklindedir. En yüksek sonucu rutin (84746.10 µg fenolik madde/kg kuru bitki) vermiştir. Gallik asit, kateşin, tanik asit, gentisik asit, epikateşin, sikorik asit, kumarin, protokateşuik asit etil ester, hesperidin, resveratrol ve kuersetin fenolik bileşikleri belirlenememiştir.

ABYHE için, fumarik asit > *p*-kumarik asit > rutin > vanilik asit > salisilik asit > 4-hidroksibenzoik asit > kafeik asit > 4-hidroksibenzaldehit > kuersetin-3-glukozit > protokateşuik asit > klorojenik asit > hesperidin > kumarin şeklindedir. En yüksek sonucu fumarik asit (148.91 µg fenolik madde/kg kuru bitki) vermiştir. Gallik asit, kateşin, tanik asit, gentisik asit, epikateşin, sikorik asit, protokateşuik asit etil ester, resveratrol, naringenin ve kuersetin fenolik bileşikleri belirlenememiştir.

Fenolik bileşiklere göre ekstraktların sıralaması ise (Tablo 4.2-4.7);

Fumarik asit için, ABTME > ABTSU > ABYME > ABÇME > ABYSU > ABTET > ABÇSU > ABYET > ABÇAS > ABYEA > ABTAS > ABÇET > ABÇHE > ABTHE > ABTEA > ABYAS > ABYHE > ABÇEA şeklindedir. Tüm ekstraktlarda fumarik asit fenolik bileşiği belirlenmiştir.

Gallik asit için, ABTET > ABÇET > ABÇAS > ABYEA > ABTAS > ABÇEA > ABTEA > ABYAS şeklindedir.

Protokateşuik asit için, ABTET > ABÇSU > ABTSU > ABÇME > ABTME > ABYEA > ABÇET > ABYET > ABYME > ABYSU > ABTEA > ABÇAS > ABTAS > ABÇEA > ABYAS > ABÇHE > ABTHE > ABYHE şeklindedir. Tüm ekstraktlarda protokateşuik asit fenolik bileşiği belirlenmiştir.

Kateşin için, ABTME > ABTET > ABTSU > ABÇSU > ABÇET > ABÇAS > ABTEA > ABTAS > ABYAS > ABÇEA şeklindedir.

Tanik asit için, ABÇME > ABÇSU > ABYME > ABÇET > ABTET > ABYAS şeklindedir.

Gentisik asit için, ABTET > ABYET > ABYEA > ABTEA > ABTAS > ABYAS şeklindedir.

Vanilik asit için, ABYET > ABTSU > ABYME > ABYEA > ABTET > ABYSU > ABÇME > ABÇSU > ABTME > ABÇET > ABÇAS > ABTEA > ABÇHE > ABTAS > ABTHE > ABYHE > ABÇEA > ABYAS şeklindedir.

4-hidroksi benzaldehit için, ABYET > ABTET > ABYEA > ABTSU > ABYME > ABYSU > ABÇME > ABÇET > ABTME > ABÇAS > ABTEA > ABÇHE > ABTAS > ABTHE > ABÇEA > ABYAS > ABYHE şeklindedir.

Klorojenik asit için, ABÇME > ABÇSU > ABÇET > ABYME > ABYSU > ABÇAS > ABYET > ABYEA > ABTET > ABÇEA > ABYAS > ABYHE > ABTAS şeklindedir.

Kafeik asit için, ABYME > ABYET > ABTET > ABYEA > ABYSU > ABTSU > ABÇET > ABÇME > ABTME > ABÇSU > ABTEA > ABÇAS > ABÇEA > ABYAS > ABTAS > ABYHE şeklindedir.

Epikateşin için, ABTET > ABTSU > ABÇSU > ABÇET > ABTEA > ABÇAS şeklindedir.

*p*-kumarik asit için, ABTET > ABYET > ABYEA > ABÇET > ABYME > ABÇME > ABTSU > ABTME > ABYSU > ABÇSU > ABÇAS > ABTEA > ABTAS > ABÇEA > ABYAS > ABÇHE > ABTHE > ABYHE şeklindedir. Tüm ekstraktlarda *p*-kumarik asit fenolik bileşiği belirlenmiştir.

Kumarin için, ABYET > ABÇME > ABTET > ABÇSU > ABTSU > ABYAS > ABYET > ABÇET > ABÇAS > ABTEA > ABTAS > ABTME > ABÇEA > ABÇHE > ABYHE > ABYAS şeklindedir.

4-hidroksibenzoikasit için, ABTET > ABYEA > ABYET > ABYME > ABYSU > ABTME > ABTSU > ABÇME > ABTEA > ABÇET > ABÇAS > ABÇSU > ABTAS > ABYAS > ABÇHE > ABYHE > ABTHE > ABÇEA şeklindedir. Tüm ekstraktlarda 4-hidroksibenzoikasit fenolik bileşiği belirlenmiştir.

Salisilik asit için, ABTET > ABYEA > ABYET > ABYME > ABYSU > ABTME > ABTSU > ABÇME > ABTEA > ABÇET > ABÇSU > ABÇAS > ABTAS > ABYAS > ABÇHE > ABYHE > ABTHE > ABÇEA şeklindedir. Tüm ekstraktlarda salisilik asit fenolik bileşiği belirlenmiştir.

Protoketaşuik asit etil ester için, ABTET > ABÇET > ABÇHE > ABYEA > ABÇAS > ABYAS > ABTEA > ABÇEA > ABTAS şeklindedir.

Hesperidin için, ABTME > ABTSU > ABYEA > ABÇME > ABTET > ABYET > ABTAS > ABÇAS > ABYME > ABÇET > ABYAS > ABÇHE > ABTEA > ABYHE şeklindedir.

Resveratrol için, ABTET > ABYEA > ABTEA > ABÇEA şeklindedir.

Kuersetin-3-glukozit için, ABÇME > ABÇSU > ABÇET > ABYME > ABYET > ABYSU > ABYEA > ABÇAS > ABTET > ABÇEA > ABTME > ABYAS > ABÇHE > ABTEA > ABYHE şeklindedir.

Rutin için, ABÇME > ABÇSU > ABTET > ABÇET > ABYSU > ABYME > ABYET > ABTSU > ABTME > ABYEA > ABÇAS > ABÇEA > ABYAS > ABÇHE > ABTAS > ABTEA > ABTHE > ABYHE şeklindedir. Tüm ekstraktlarda rutin fenolik bileşiği belirlenmiştir.

Naringenin için, ABÇET > ABÇME > ABÇSU > ABYET > ABÇAS > ABYME > ABYSU > ABYEA > ABTET > ABTSU > ABÇHE > ABÇEA > ABYAS > ABTAS > ABTEA şeklindedir.

Kuersetin için, ABÇME > ABÇET > ABYEA > ABTET > ABÇSU > ABYET > ABÇAS > ABYME > ABÇEA > ABTEA > ABYAS > ABTAS şeklindedir.

4-hidroksibenzaldehit için, ABYET > ABTET > ABYEA > ABTSU > ABYME > ABYSU > ABÇME > ABÇET > ABTME > ABÇAS > ABTEA > ABÇHE > ABTAS > ABTHE > ABÇEA > ABYAS > ABYHE şeklindedir.

Sikorik asit fenolik bileşiği, *A. bodamae* bitkisinin hiçbir ekstraktında belirlenmemiştir.

Elde edilen sonuçlarda rutin fenolik bileşiğini içeren ABÇME (470732.94 µg fenolik madde / kg kuru bitki), ABÇSU (251687.95 µg fenolik madde / kg kuru bitki),

ABTET (183166.81 µg fenolik madde / kg kuru bitki), ABÇET (132385.13 µg fenolik madde / kg kuru bitki) ekstraktları; *p-kumarik* asit içeren ABYEA (220949.65 µg fenolik madde / kg kuru bitki), ABÇET (132385.13 µg fenolik madde / kg kuru bitki), ABYME (125343.79 µg fenolik madde / kg kuru bitki), ABÇME (119067.65 µg fenolik madde / kg kuru bitki) ekstraktları; fumarik asit içeren (156907.52 µg fenolik madde / kg kuru bitki) ekstraktı ve kafeik asit içeren ABYME (155649.43 µg fenolik madde / kg kuru bitki), ABYEA (143975.31 µg fenolik madde / kg kuru bitki), ABTET (111412.89 µg fenolik madde/kg kuru bitki) ekstraktlarından elde edilen yüksek değerler *A. bodamae* bitkisinin antioksidan etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Hastalıkların çoğunun temelinde serbest radikaller yatmaktadır. Antioksidan takviyesi ya da antioksidan içeren gıdalar, serbest radikaller üzerinde yıkıcı etkiye sahip olmaları sebebiyle canlı metabolizmasında oksidatif hasarı gidermek için oksidasyon sürecine müdahale edebilmektedir (Fang vd, 2002; Gülçin vd, 2002; Miller vd, 1995). Bu nedenle *A. bodamae* bitkisinin antioksidan aktivitesi incelendi. Bu amaçla *in vitro* antioksidan aktivite yöntemlerinden; toplam antioksidan aktivite, indirgenme gücü, lipid peroksidasyon inhibisyonu, serbest radikal giderme, metal şelat aktivitesi ve süperoksit giderme aktivitesi tayinleri uygulandı.

Antioksidan aktivite tayini için amonyummolibdenyum yöntemi kullanıldı.  $A_{0.5}$  (µg/mL) değerleri hesaplandı. En düşük  $A_{0.5}$  değerine sahip olan ABYEA (4.22±1.84 µg/ mL) en yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir. Bitkinin çiçek, tohum, yaprak kısımları ve standartların toplam antioksidan aktivitelerinin sıralaması; ABYEA > ABTEA > BHT > ABTET > ABÇET > ABÇEA > ABÇHE > ABTAS > ABYET > α-tokoferol > ABÇSU > ABTHE > ABYAS > ABÇME > ABYHE > ABÇAS > TBHK > Troloks > ABYSU > ABTME > ABYME > ABTSU > BHA Askorbik Asit şeklindedir.

Antioksidatif etkinin esas kaynağını flavonoid ve fenolik bileşikler oluşturmakta olup elde edilen toplam antioksidan aktivite değerleri bitkinin içeriğinde bulunan bu bileşiklerden kaynaklanabilir.

$Fe^{3+}$ 'ün,  $Fe^{2+}$ 'ya indirgenmesinin esas alındığı indirgenme gücü tayini yöntemi sonucunda çiçek, tohum, yaprak ve standartların sıralaması; ABYHE > BHT > ABYEA > ABTEA > ABTET > BHA > ABYAS > ABTSU > ABÇAS > ABYME > ABÇME > α-tokoferol > ABYET > ABÇSU > ABÇET > ABYSU > TBHK > ABÇEA > Troloks > Askorbik Asit > ABTAS şeklindedir. ABÇHE, ABTHE ve ABTME

ekstraktlarının aktivite sonuçları belirlenemedi. Ekstraktlar arasında en yüksek indirgenme gücü sırsıyla, bitkinin yaprak kısmının hekzan ekstraktı, yaprak kısmının etil asetat ekstraktı ve tohum kısmının etil asetat ekstraktıdır. ABTET yüksek indirgenme gücüne sahip olduğu gibi flavonoid bileşikler açısından da en yüksek ekstraktır. Bu sebeple ABTET ekstraktının indirgenme gücü içeriğindeki flavonoid bileşiklerine bağlanabilir. Birçok ekstraktın indirgenme gücünün standartlardan daha iyi sonuç verdiği belirlendi. Bu durum *A. bodamae* bitkisinin antioksidatif etkisi bakımından umut vericidir.

Ekstraktların ve standartların serbest radikal giderme aktivitesi, DPPH• radikalinin fenolik ya da flavonoid bileşiklerin antioksidan etkisiyle giderilmesi esasına dayanmaktadır (Blois, 1958). Uygulanan yöntem sonucunda *A. bodamae* bitkisinin çiçek, tohum, yaprak ve standartların radikal giderme aktivite sıralamaları; ABYAS > ABYET >  $\alpha$ -tokoferol > ABYSU > BHA > TBHK > ABÇET > ABTHE > Askorbik Asit > ABÇEA > ABTET > ABÇSU > ABTSU > ABTME > ABTAS > ABÇHE > ABÇAS > BHT > ABTEA şeklindedir. ABYHE, ABYME ekstraktlarının ve Troloks standartının aktivite sonuçları belirlenemedi. ABYAS ve ABYET ekstraktlarının radikal giderme aktivite değerleri yöntemde kullanılan tüm standart maddelerin aktivitelerinden yüksek sonuç verdiği görüldü.

Metal şelat aktivite yöntemi kullanılarak *A. bodamae* bitkisinin çiçek, tohum, yaprak kısımları ve standartların demir şelatlama kapasite sonuçlarının sıralaması; ABTAS > ABYEA > ABÇSU > ABYET > ABÇET > ABTHE > EDTA > ABÇHE > ABYME > ABTME > ABYHE > ABYSU > ABTSU > ABÇEA şeklindedir. ABÇAS, ABÇME, ABTEA, ABTET, ABYAS ekstraktlarının demir şelatlama kapasiteleri belirlenemedi. ABTAS, ABYEA, ABÇSU, ABYET ve ABÇET ekstraktları EDTA standartından yüksek aktiviteye sahiptir.

Hücre membran yapısında fosfolipit yer almaktadır. Yapısındaki fosfolipit nedeniyle membran radikal saldırılarına müsaittir. Bu sebeple lipit peroksidasyonu hücre membranını etkilemektedir. Ayrıca gıda ürünlerinin bozunmasına da lipit peroksidasyonu sebep olmaktadır. Lipit peroksidasyonunu ROT'lar hızlandırabilmektedir (Döğer, 2010). Bu açıdan *A. bodamae* çiçek, tohum, yaprağının farklı çözücülerdeki ekstraktlarının lipit peroksidasyon inhibisyon aktivitesi ölçüldü. Çiçek, tohum, yaprak ekstraktlarının ve standartların lipit peroksidasyon inhibisyon aktivitelerinin sıralaması;  $\alpha$ -tokoferol > BHA > ABÇET > Troloks > ABTME >

ABYME > ABYAS > ABÇSU > ABYSU > ABTET > ABYEA > ABÇME > ABYHE > ABÇEA > ABTHE > ABYET > Askorbik Asit > ABÇHE şeklindedir. ABÇAS, ABTAS, ABTEA, ABTSU ekstraktları ve BHT, TBHK standartlarının aktiviteleri belirlenmedi.  $\alpha$ -tokoferol ve BHA standartları bitkinin tüm ekstraktlarından daha yüksek aktivite gösterdi. Bunun yanı sıra ABÇET ( $2.34 \pm 0.97 \mu\text{g/mL}$ ) ekstraktı troloks standartından ve diğer ekstraktlardan daha yüksek aktivite gösterdi.

*A. bodamae* bitkisinin ve standartların süperoksit anyonu giderme aktivitesi, bir süperoksit radikali olan sarı renge sahip NBT'yi, mavi-mor renkte olan formazan formuna indirgenme esasına göre yapılan tayin sonucunda elde edilen aktivite sonuçlarının sıralaması;  $\alpha$ -tokoferol > ABTET > ABTEA > ABYSU > ABÇME > ABYET > BHA > ABYAS > ABTAS > ABTSU > Troloks > ABTHE > ABÇET > BHT > ABÇAS > TBHK > ABÇSU > Askorbik Asit > ABYME > ABTME şeklindedir. ABÇEA, ABÇHE, ABYEA ve ABYHE ekstraktlarının aktiviteleri belirlenemedi.  $\alpha$ -tokoferol ( $10.92 \pm 0.32 \mu\text{g/mL}$ ), tüm ekstratlardan yüksek aktivite gösterdi. ABTET, ABTEA, ABYSU, ABÇME ve ABYET ekstraktları diğer tüm standartlardan daha yüksek aktivite gösterdiği belirlendi. Literatür taraması sonucunda *A. bodamae* bitkisinin tohum kısmının etanol ekstraktı ( $24.70 \pm 1.63 \mu\text{g/mL}$ ) *A. clematitis* bitkisinin etanol ekstraktından ( $35.55 \pm 3.28 \mu\text{g/mL}$ ) daha düşük  $EC_{50}$  değeriyle ve *A. bodamae* bitkisinin ABTET ekstraktının daha aktif bir sonuç verdiği tespit edildi.

*A. bodamae* çiçek, tohum, yaprağının farklı çözücülerdeki ekstraktlarının antioksidan aktivitelerinin yanı sıra enzim inhibisyon aktiviteleri de araştırıldı. Bu amaçla asetilkolin esteraz ve üreaz inhibisyonları incelendi.

Standart olarak galantaminin kullandığı asetilkolin esteraz inhibisyon aktivitesi tayininde  $IC_{50}$  değerleri hesaplandı. Ekstraktların ve standartın inhibisyon aktivitelerinin sıralaması; ABÇET > ABYEA > ABTEA = ABTSU > Galantamin > ABTME > ABÇEA > ABTET > ABTHE > ABYME > ABYET > ABÇHE > ABÇSU > ABYHE > ABTAS > ABÇME > ABYSU > ABÇAS > ABYAS şeklindedir. En yüksek enzim inhibisyonu gösteren ekstrakt ABÇET ( $0.43 \pm 0.17 \mu\text{g/mL}$ ) ekstraktıdır. ABÇET, ABYEA, ABTEA ve ABTSU ekstraktları galantaminden daha iyi sonuç verdiği belirlendi. Literatür verilerindeki yetersizlik nedeniyle sonuçlar karşılaştırılmamıştır.

Standart olarak tiyoürenin kullanıldığı üreaz inhibisyon aktivitesi tayininde IC<sub>50</sub> değerleri hesaplandı. Ekstraktların ve standartın inhibisyon aktivitelerinin sıralaması; Tiyoüre > ABTME > ABTEA > ABÇAS > ABYAS > ABYME > ABÇEA > ABÇME > ABTAS > ABÇET > ABYET > ABTET > ABYSU > ABÇHE > ABTSU > ABÇSU > ABYHE şeklindedir. ABTHE ve ABYEA ekstraktlarının inhibisyon değerleri belirlenemedi. Sıralama genel olarak incelendiğinde bitkinin tüm kısımlarının su ve hekzan ekstraktlarının düşük inhibisyon aktivitesi gösterdiği belirlendi. En iyi inhibisyon aktivitesini tiyoüre (5.53±0.64 µg/mL) standart maddesiye, ekstraktlar arasında ise ABTME (6.23±0.52 µg/mL) ekstraktının en yüksek inhibisyon aktivite gösterdiği belirlendi. Literatür verilerindeki yetersizlik nedeniyle sonuçlar karşılaştırılmamıştır.

Rekstif oksijen türleri DNA'da yer alan pürin ve pirimidin bazlarının modifikasyonuna yol açar ve mutasyona sebep olmaktadır. Bunu yanı sıra reaktif oksijen türleri lipid peroksidasyonuna neden olarak bu lipid peroksidasyonla sentezlenen ürünler de yine DNA hasarına yol açmaktadır (Ashok ve Ali, 1999; Ochi ve Cerutti, 1987). Bu amaçla *A. bodamae*, ekstraktlarının DNA ile ilgili koruma aktivite tayininde, deoksiriboz koruma aktivitesi ve elektroforez jel üzerinde DNA koruma aktivite yöntemleri uygulanarak DNA hasarını önleme ya da giderme kapasitesi incelenmiştir.

Deoksiriboz koruma aktivite tayini, fenton reaksiyonuyla oluşturularak meydana getirilen hidroksil radikalının antioksidanlar aracılığıyla ortadan kaldırılması temeline dayanmaktadır (Chauhan vd, 2004). Standartlar ve ekstraktların deoksiriboz koruma aktivite sıralamaları;

ABTAS > ABÇEA > α-tokoferol > TBHK > BHA > Troloks > ABYAS > BHT > ABYET > ABTET > ABTME > Askorbik Asit > ABÇET > ABTSU > ABTHE şeklindedir. ABÇAS, ABÇHE, ABÇME, ABÇSU, ABTEA, ABYEA, ABYHE, ABYME ve ABYSU ekstraktlarının aktivite değerleri belirlenemedi. En iyi aktivite gösteren ekstrakt ABTAS (6.23±0.87 µg/mL) ekstraktıdır. Ayrıca ABTAS ve ABÇEA ekstraktları tüm standartlardan daha iyi sonuç verdi. Literatür taramasında *A. bodamae* çiçek ve yaprak kısmının etil asetat ekstraktları, *A. bracteolata*'nın etil asetat ekstraktlarından daha iyi sonuç verdiği görüldü.

Elektroforez jel üzerinde DNA koruma aktivitesi, plazmit DNA kullanılarak tayin edildi. Uygulanan yöntem sonucunda elektroforez jel görüntüleri tespit edildi.

Jel görüntülerine göre tüm ekstraktların DNA koruma aktivitesinin olduğu belirlendi. Tohum kısmının aseton ve çiçek kısmının hekzan ekstraktlarında DNA koruma aktivitelerinin daha az olduğu görüldü (Şekil 4.1). Literatür verilerindeki yetersizlik nedeniyle sonuçlar karşılaştırılamamıştır.

*A. bodamae* bitkisinin antibakteriyel aktivite kapasiteleri disk difüzyon metodu ve mikrodilüsyon metodu kullanılarak incelendi. Elde edilen antibakteriyel aktivite değerleri zon çapları cinsinden değerlendirildi.

Gram negatif bakteriler;

*E. coli*; amoksilin (23.0±0.0) > tetrasiklin (18.9±0.8) > ABTME (11.1±1.3) > ABÇME (9.4± 0.8) > ABTAS (9.2±0.0) > ABYAS (9.0±0.0) = ABÇET (9.0±0.7) > ABTET (8.3±0.4) > ABTEA (8.2±0.3) > ABÇEA (7.0±0.0) > ABYME (6.9±3.3) şeklinde sıralaması elde edildi. ABYET, ABYSU, ABYEA, ABYHE, ABÇSU, ABÇAS, ABÇHE, ABTSU ve ABTHE ekstraktlarının antibakteriyel aktiviteleri bulunamadı.

*P. aeruginosa*; tetrasiklin (14.1±0.7) > ABTET (12.5±1.3) > ABÇET (10.8±0.4) > ABTAS (10.5±1.5) > ABÇAS (10.0±0.0) > ABTME (9.4±1.1) > ABÇME (9.0±0.0) > ABÇEA (8.7±0.9) > ABTEA (8.2±0.3) > ABYME (7.7±0.2) > ABYAS (7.3±1.4) şeklinde sıralaması elde edildi. ABYET, ABYSU, ABYEA, ABYHE, ABÇSU, ABÇHE, ABTSU ve ABTHE ekstraktlarının ve amoksilin standartının antibakteriyel aktiviteleri bulunamadı.

*K. pneumoniae*; tetrasikline (23.0±0.0) > ABTET (11.7±1.7) > ABÇET (11.0±0.3) > ABTAS (10.8±0.4) > ABTME (10.0±0.0) > ABÇAS (9.8±0.4) > ABÇME (9.0±0.0) > ABTEA (7.5±0.4) > ABÇEA (7.0±0.0) şeklinde sıralaması elde edildi. ABYET, ABYME, ABYSU, ABYAS, ABYEA, ABYHE, ABÇSU, ABÇHE, ABTSU ve ABTHE ile amoksilin standart maddesinin antibakteriyel aktiviteleri bulunamadı.

Gram pozitif bakteriler;

*E. faecalis*; tetrasikline (20.0±0.0) > ABTET (13.7±1.9) > ABÇET (10.3±0.4) > ABTAS (9.6±0.2) > ABÇEA = ABTME (9.5±0.0) > ABÇAS (9.0±0.3) > ABÇME (8.8±1.8) > ABTEA (7.6±0.0) > ABYAS (7.0±0.0) şeklinde sıralaması elde edildi.

ABYET, ABYME, ABYSU, ABYEA, ABYHE, ABÇSU, ABÇHE, ABTSU ve ABYHE ile amoksilin standart maddesinin antibakteriyel aktiviteleri bulunamadı.

*B. cereus*; amoksilin (33.7±0.9) > tetrasikline (22.0±0.3) > ABTAS (20.8±0.2) > ABTET (14.5±1.4) > ABÇEA (14.0±2.2) > ABÇAS (11.5±1.3) > ABTME (10.4±1.3) > ABYME (10.0±0.0) > ABÇME = ABTEA (9.0±0.0) > ABYET (7.8±0.6) > ABYAS = ABÇET (7.0±0.0) şeklinde sıralaması elde edildi. ABYSU, ABYEA, ABYHE, ABÇSU, ABÇHE, ABTSU ve ABTHE ekstraktlarının antibakteriyel aktiviteleri bulunamadı.

*S. aureus*; tetrasikline (15.6±0.0) > ABTET (12.8±1.1) > ABTME (11.3±0.4) > ABYME (9.3±0.0) = ABTAS (9.3±0.4) > ABÇAS (9.2±0.3) > ABÇET (9.0±1.4) > ABÇME (8.0±0.0) > ABYAS (7.5±0.7) > ABYEA (7.0±1.5) = ABTEA (7.0±0.10) > ABYET (6.9±0.0) şeklinde sıralaması elde edildi. ABYSU, ABYHE, ABÇSU, ABÇEA, ABÇHE, ABTSU ve ABTHE ekstraktları ile Amoxicilin standart maddesinin antibakteriyel aktiviteleri bulunamadı.

Uygulama yapılan tüm bakteri türlerine karşı bitki ekstraktlarının tümünün antibakteriyel aktiviteleri standartlardan yüksek sonuç vermedi. Fakat bazı ekstraktların sonuçlarının standart maddelere yakın olduğu görüldü. *P. aeruginosa* bakterisine karşı tetracycline (14.1±0.7) standart maddesinin antibakteriyel aktivite değerine ABTET (12.5±1.3) ekstraktının aktivite değerinin ve *B. cereus* bakterisine karşı tetrasikline (22.0±0.3) standart maddesinin antibakteriyel aktivite değerine de ABTAS (20.8±0.2) ekstraktının aktivite değerinin yakın olduğu belirlendi. Literatür taraması sonucunda *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *S. aureus* bakterilerine karşı *A. bodamae* bitkisinin ekstraktlarının diğer *Aristolochia* türlerinden daha iyi sonuç verdiği belirlendi (Dhouioui vd, 2016; Manik vd, 2006; Murugan ve Mohan, 2012).

*A. bodamae* çiçek, tohum ve yaprak ekstraktlarının bakterilerin üremesini durmasını sağlayan minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerleri mikrodilüsyon metodu kullanılarak belirlendi. MİK değerlerinin düşük olması antibakteriyel aktivitelerinin daha yüksek olduğunu gösterir.

Gram negatif bakteriler;

*E. coli*; tetracycline (1) > amoksilin (4) > ABTEA (64) > ABYET = ABYME = ABÇET = ABÇME = ABTET = ABTME (128) > ABÇHE (256) > ABYSU = ABTHE

(512) > ABÇSU = ABÇAS = ABÇEA = ABTSU = ABTAS (>1024) > ABYAS = ABYEA = ABYHE (>2048) şeklinde sıralanmaktadır.

*P. aeruginosa*; tetracycle (8) > ABTEA (64) > ABÇET = ABÇME = ABTET = ABTME (128) > ABYET = ABYME = ABÇHE = ABTHE (256) > ABTSU (512) > ABYSU (1024) > ABÇSU = ABÇAS = ABÇEA = ABTAS (>1024) > ABYAS = ABYEA = ABYHE = amoksilin (>2048) şeklinde sıralanmaktadır.

*K. pneumoniae*; tetracycle (8) > ABTEA (64) > ABTET = ABTME (128) > ABYET = ABYME = ABÇET = ABÇME (256) > ABTSU (512) > ABÇSU = ABÇAS = ABÇEA = ABTAS (>1024) > ABYSU = ABYAS = ABYEA = ABYHE = amoksilin (>2048) şeklinde sıralanmaktadır.

*E. faecalis*; tetracycle (16) > ABYET = ABYME = ABYAS = ABYHE (64) > ABYSU = ABYEA = ABÇET = ABÇME = ABÇEA = ABTET = ABTME (128) > ABÇHE = ABTHE (256) > ABÇSU = ABÇAS = ABTSU = ABTAS = ABTEA (>1024) > amoksilin (>2048) şeklinde sıralanmaktadır.

*B. cereus*; tetracycle (<0.5) > ABTME (16) > ABTET (32) > ABÇEA (64) > ABTHE = amoksilin (128) > ABYET = ABYME = ABÇET = ABÇME = ABTSU (256) > ABÇHE (512) > ABÇSU = ABÇAS = ABTAS = ABTEA (>1024) > ABYSU = ABYAS = ABYEA = ABYHE (>2048) şeklinde sıralanmaktadır.

*S. aureus*; tetracycle (8) > ABTET = ABTME = ABTAS (64) > ABÇET = ABTHE (128) > ABYET = ABYME = ABÇME (256) > ABÇHE (512) > ABÇSU = ABÇAS = ABÇEA = ABTSU = ABTEA (>1024) > ABYSU = ABYAS = ABYEA = ABYHE = amoksilin (>2048) şeklinde sıralanmaktadır.

*E. coli*, *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae* bakterilerine karşı ABTEA (64 µg/mL) ekstraktı; *E. faecalis* bakterisine karşı ABYET = ABYME = ABYAS = ABYHE (64 µg/mL) ekstraktları; *B. cereus* bakterisine karşı ABTME (16 µg/mL) ekstraktı; *S. aureus* bakterisine karşı ABTET = ABTME = ABTAS (64 µg/mL) ekstraktları daha iyi antibakteriyel etki göstermiştir. Hatta bazı ekstraktların Amoksilin standartından daha iyi antibakteriyel etki gösterdiği belirlendi. Bunlar *P. aeruginosa* bakterisine karşı ABYAS, ABYEA, ABYHE ekstraktları dışındaki diğer tüm ekstraktlar; *K. pneumoniae* bakterisine karşı ABYSU, ABYAS, ABYEA, ABYHE ekstraktları dışındaki diğer tüm ekstraktlar; *E. faecalis* bakterisine karşı bitkinin tüm ekstraktları; *B. cereus* bakterisine karşı ABTME, ABTET, ABÇEA ekstraktları ve *S. aureus* bakterisine karşı ABYSU, ABYAS, ABYEA ve ABYHE ekstraktları dışındaki diğer

tüm ekstraktlardır. Literatür taraması sonucu *A. bodamae* ABÇET, ABÇME, ABYET, ABYME, ABYSU, ABTET, ABTME, ABTHE, ABTEA, ABTAS ekstraktları *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı diğer *Aristolochia* türlerine göre daha düşük MİK değerleri göstermesi sebebiyle daha etkin bir antibakteriyel aktivite kapasitesine sahip olduğu görüldü (Dhouioui vd, 2016).

*A. bodamae* çiçek, tohum, yaprağının farklı çözücülerdeki ekstraktlarının antioksidan aktivitesinin güçlü bir etkinliğinin olduğu çalışmamız neticesinde görülmüştür. Ekstraktların antioksidan etkisinin fenol ve flavonoid bileşiklerin içeriklerin içeriklerine bağlı olmasıdır. Çalışmamız in vitro ortamda uygulanmış olup in vivo çalışmalarla desteklenebilir. İçeriğinde bulunan aktif bileşiklerin izole edilmesi sağlanarak canlı organizmadaki etkileri araştırılabilir. Başka yöntem ve teknikler uygulanarak bitkinin tıbbi alanda ve gıda alanındaki etkileri de incelenebilir.

## KAYNAKÇA

- Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S. ve Rezaiee, A. 2004. Pesticides and oxidative stress: a review. *Medical Science Monitor*, 10:6, RA141-RA147.
- Abdullah, R., Diaz, L. N., Wesseling, S. ve Rietjens, I. M. 2017. Risk assessment of plant food supplements and other herbal products containing aristolochic acids using the margin of exposure (MOE) approach. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 34:2, 135-144.
- Acuña-Castroviejo, D., Martín, M., Macías, M., Escames, G., León, J., Khaldy, H. ve Reiter, R. J. 2001. Melatonin, mitochondria, and cellular bioenergetics. *Journal of pineal research*, 30:2, 65-74.
- Akın, G. 2019. *Köpeklerde Yaşlanmanın Enzimatik Ve Nonenzimatik Antioksidan Sistem Üzerine Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Programı, 18-27, Aydın.
- Akindele, A. J., Wani, Z., Mahajan, G., Sharma, S., Aigbe, F. R., Satti, N., Adeyemi, O. O. ve Mondhe, D. M. 2015. Anticancer activity of *Aristolochia ringens* Vahl.(Aristolochiaceae). *Journal of traditional and complementary medicine*, 5:1, 35-41.
- Akkuş, İ. 1995. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Mimoza Yayınları, Konya*, 1.
- Akpoyraz, M. ve Durak, İ. 1995, Serbest radikallerin biyolojik etkileri, *Ankara Tıp Dergisi (The Journal Of The Faculty Of Medicine)* S. 48, 253-262.
- Aksoy, Y. 2002. Antioksidan mekanizmada glutasyonun rolü. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 22:4, 442-448.
- Aksu, İ. 2006. *Egzersizizin sıçan beyinde oksidan antioksidan denge üzerine etkilerinin araştırılması*. Doktora Tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Ana Bilim Dalı, 19-35, İzmir.
- Aktaş, F. 2004. Gram-negatif bakterilerin hastane infeksiyonlarındaki rolü ve epidemiyolojisi. *Ulusoy S, Leblebicioğlu H, Arman D. Önemli ve Sorunlu Gram Negatif Bakteri İnfeksiyonları” kitabı, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara*, 183-206.
- Akyüz, E. 2007. *Polygonum bistorta ssp. carneum bitki ekstraktlarının kromatografik yöntemlerle kimyasal bileşiminin belirlenmesi ve antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri*. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, 5, Trabzon.
- Al-Barham, M. B., Al-Jaber, H. I., Al-Qudah, M. A. ve Abu Zarga, M. H. 2017. New aristolochic acid and other chemical constituents of *Aristolochia maurorum* growing wild in Jordan. *Natural product research*, 31:3, 245-252.
- Alali, F. Q., Tawaha, K., Shehadeh, M. B. ve Telfah, S. 2006. Phytochemical and biological investigation of *Aristolochia maurorum* L. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 61:9-10, 685-691.
- Altan, N. 2006. Diabetes mellitus and oxidative stress. *Türk J Biochem*, 31, 51-56.
- Altınışık, M. 2006. "Serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar". *Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Eğitim Semineri*, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın.
- Altuğ, T. 2001. Gıda Katkı Maddeleri. Meta Basım. *Bornova, izmir*, 17-39.
- Andrews, J. M. 2001. Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of antimicrobial Chemotherapy*, 48:suppl\_1, 5-16.

- Anıl, M. 2006. "Antioksidan olarak tahıllar". *Proceeding of the Hububat 2006-Hububat Ürünleri Teknolojisi Kongre ve Sergisi*, Gaziantep Üniversitesi, 7-8, Gaziantep.
- Arbos, K. A., Claro, L. M., Borges, L., Santos, C. A. ve Weffort-Santos, A. M. 2008. Human erythrocytes as a system for evaluating the antioxidant capacity of vegetable extracts. *Nutrition Research*, 28:7, 457-463.
- Arif, T., Bhosale, J., Kumar, N., Mandal, T., Bendre, R., Lavekar, G. ve Dabur, R. 2009. Natural products–antifungal agents derived from plants. *Journal of Asian natural products research*, 11:7, 621-638.
- Arivazhagan, P. ve Panneerselvam, C. 2000. Effect of DL- $\alpha$ -lipoic acid on neural antioxidants in aged rats. *Pharmacological research*, 42:3, 219-222.
- Arivazhagan, P., Ramanathan, K. ve Panneerselvam, C. 2001. Effect of DL- $\alpha$ -lipoic acid on mitochondrial enzymes in aged rats. *Chemico-biological interactions*, 138:2, 189-198.
- Ashok, B. T. ve Ali, R. 1999. The aging paradox: free radical theory of aging. *Experimental gerontology*, 34:3, 293-303.
- Aslan, D. 2005. Klinik kimyada temel ilkeler. *Tietz, Burtis CA, Ashwood ER, editörler. Palme yayıncılık, Beşinci Baskıdan Çeviri, Ankara, 961-1027.*
- Atif, F., Kaur, M., Yousuf, S. ve Raisuddin, S. 2006. In vitro free radical scavenging activity of hepatic metallothionein induced in an Indian freshwater fish, *Channa punctata* Bloch. *Chemico-biological interactions*, 162:2, 172-180.
- Atlan, N., Dinçel, A. ve Koca, C. 2006. Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Türk Biyokimya Dergisi*, 31:2, 51-56.
- Attaguile, G., Russo, A., Campisi, A., Savoca, F., Acquaviva, R., Ragusa, N. ve Vanella, A. 2000. Antioxidant activity and protective effect on DNA cleavage of extracts from *Cistus incanus* L. and *Cistus monspeliensis* L. *Cell biology and toxicology*, 16:2, 83-90.
- Aydemir, B. ve Sari, E. K. 2009. Antioksidanlar ve büyüme faktörleri ile ilişkisi. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 2:2, 56-60.
- Aydın, A., Sayal, A. ve Işimer, A. 2001. Serbest radikaller ve antioksidan savunma sistemi. *Gülhane Askeri Tıp Akademisi Basımevi*, 20, 75.
- Azzi, A. 2007. Molecular mechanism of  $\alpha$ -tocopherol action. *Free Radical Biology and Medicine*, 43:1, 16-21.
- Bachmayer, O. 2004. *Antioxidant properties of aqueous extracts from selected culinary herbs*. na,
- Badami, S., Jose, C. K., Dongre, S. K. H. ve PC, J. 2005. In vitro antioxidant activity of various extracts of *Aristolochia bracteolata* leaves. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 5:4, 316-321.
- Baiseitova, A., Jenis, J., Kim, J. Y., Li, Z. P. ve Park, K. H. 2019. Phytochemical analysis of aerial part of *Ikonnikovia kaufmanniana* and their protection of DNA damage. *Natural product research*, 1-4.
- Bal, C., Büyükşekerci, M., Ercan, M., Hocoğlu, A., Çelik, H. T., Abuşoğlu, S., Tutkun, E. ve YILMAZ, Ö. H. 2015. Farklı selenyum seviyelerinin tiroid hormon sentezi üzerine etkisi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*.
- Balasubramanian, A. ve Ponnuraj, K. 2010. Crystal structure of the first plant urease from jack bean: 83 years of journey from its first crystal to molecular structure. *Journal of molecular biology*, 400:3, 274-283.

- Banerjee, S. ve Aggarwal, A. 2013. Enzymology, immobilization and applications of urease enzyme. *International Journal of Biological Sciences*, 2, 51-56.
- Bannon, M. 2011. Is uric acid good for you? *QJM: An International Journal of Medicine*, 104:12, 1013-1013.
- Barak, C. ve Yaşar, S. B. (2008, Mayıs) "Polifenollerin Antioksidan Özelliği Ve Zeytinyağında Toplam Polifenol Tayini", *I.Ulusal Zeytin Öğrenci Kongresi*, Balıkesir Üniversitesi, Balıkesir.
- Baskin, S. I., Salem, H., Oxidants, A. ve Radicals, F. 1997. Taylor & Francis: Washington.
- Bast, A. ve Goris, R. 1989. Oxidative stress. *Pharmaceutisch Weekblad*, 11:6, 199-206.
- Battu, G. R., Parimi, R. ve Chandra Shekar, K. B. 2011. In vivo and in vitro pharmacological activity of *Aristolochia tagala* (syn: *Aristolochia acuminata*) root extracts. *Pharmaceutical biology*, 49:11, 1210-1214.
- Bayram, E., Kirici, S., Tansi, S., Yilmaz, G., Arabaci, O., Kizil, S. ve Telci, İ. (2010). "Tibbi ve aromatik bitkiler üretiminin artırılması olanakları". *TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi*, Ege Üniversitesi, İzmir.
- Beck, M. A., Levander, O. A. ve Handy, J. 2003. Selenium deficiency and viral infection. *The Journal of nutrition*, 133:5, 1463S-1467S.
- Becker-Ritt, A., Martinelli, A., Mitidieri, S., Feder, V., Wassermann, G., Santi, L., Vainstein, M., Oliveira, J., Fiuza, L. ve Pasquali, G. 2007. Antifungal activity of plant and bacterial ureases. *Toxicon*, 50:7, 971-983.
- Benarba, B. ve Meddah, B. 2014. Ethnobotanical study, antifungal activity, phytochemical screening and total phenolic content of Algerian *Aristolochia longa*. *Journal of intercultural ethnopharmacology*, 3:4, 150.
- Beneš, L., Ďuračková, Z. ve Ferenčík, M. 1999. Chemistry, physiology and pathology of free radicals. *Life sciences*, 65:18-19, 1865-1874.
- Benmehdi, H., Behilil, A., Memmou, F. ve Amrouche, A. 2013. Free radical scavenging activity, kinetic behaviour and phytochemical constituents of *Aristolochia clematitis* L. roots. *Arabian Journal of Chemistry*.
- Benmehdi, H., Behilil, A., Memmou, F. ve Amrouche, A. 2017. Free radical scavenging activity, kinetic behaviour and phytochemical constituents of *Aristolochia clematitis* L. roots. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S1402-S1408.
- Berger, M. M. 2005. Can oxidative damage be treated nutritionally? *Clinical nutrition*, 24:2, 172-183.
- Berk, S., Tepe, B., Arslan, S. ve Sarikurkcu, C. 2011. Screening of the antioxidant, antimicrobial and DNA damage protection potentials of the aqueous extract of *Asplenium ceterach* DC. *African Journal of Biotechnology*, 10:44, 8902-8908.
- Berlett, B. S. ve Stadtman, E. R. 1997. Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*, 272:33, 20313-20316.
- Beşirbellioğlu, B. 2010. Dirençli gram negatif bakteri sorunu. *Yoğun Bakım Derg*, 9:4, 173-181.
- Bharath, S., Hsu, M., Kaur, D., Rajagopalan, S. ve Andersen, J. K. 2002. Glutathione, iron and Parkinson's disease. *Biochemical pharmacology*, 64:5-6, 1037-1048.

- Bhattacharjee, P. ve Bhattacharyya, D. 2013. Characterization of the aqueous extract of the root of *Aristolochia indica*: evaluation of its traditional use as an antidote for snake bites. *Journal of ethnopharmacology*, 145:1, 220-226.
- Binorkar, S. V., Parlikar, G. R. ve Kulkarni, A. B., 2015. Bio-efficacy and Phyto-Pharmacological Activities of *Aristolochia Indica* *Aristolochia Indica*'nın biyoetkinliği ve fitofarmakolojik aktivitesi, *Spatula DD.*,s.5.
- Blanc, A., Vivien-Roels, B., Pevet, P., Attia, J. ve Buisson, B. 2003. Melatonin and 5-methoxytryptophol (5-ML) in nervous and/or neurosensory structures of a gastropod mollusc (*Helix aspersa maxima*): synthesis and diurnal rhythms. *General and comparative endocrinology*, 131:2, 168-175.
- Blasiak, J., Kasznicki, J., Drzewoski, J., Pawlowska, E., Szczepanska, J. ve Reiter, R. J. 2011. Perspectives on the use of melatonin to reduce cytotoxic and genotoxic effects of methacrylate-based dental materials. *Journal of pineal research*, 51:2, 157-162.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181:4617, 1199.
- Bragadóttir, M. 2001. Endogenous antioxidants in fish. A literature review submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in food science. *Department of Food Science. University of Iceland. Reykjavik.*
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E. ve Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28:1, 25-30.
- Brigelius-Flohe, R. ve Traber, M. G. 1999. Vitamin E: function and metabolism. *The FASEB journal*, 13:10, 1145-1155.
- Brzezinski, A. 1997. Melatonin in humans. *New England journal of medicine*, 336:3, 186-195.
- Büke, Ç. 2010. Gram-Pozitif Bakterilerde Antibiyotik Direnci/Antimicrobial Resistance in Gram-Positive Bacteria. *KLİMİK Dergisi*, 23:2, 34.
- Calabrese, V., Lodi, R., Tonon, C., D'Agata, V., Sapienza, M., Scapagnini, G., Mangiameli, A., Pennisi, G., Stella, A. G. ve Butterfield, D. A. 2005. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and cellular stress response in Friedreich's ataxia. *Journal of the neurological sciences*, 233:1-2, 145-162.
- Cam, M., Yavuz, Ö., Guven, A., Ercan, F., Bukan, N. ve Üstündag, N. 2003. Protective effects of chronic melatonin treatment against renal injury in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of pineal research*, 35:3, 212-220.
- Camporese, A., Balick, M., Arvigo, R., Esposito, R., Morsellino, N., De Simone, F. ve Tubaro, A. 2003. Screening of anti-bacterial activity of medicinal plants from Belize (Central America). *Journal of ethnopharmacology*, 87:1, 103-107.
- Carr, A. C. ve Frei, B. 1999. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *The American journal of clinical nutrition*, 69:6, 1086-1107.
- Carter, D. C. ve Ho, J. X. 1994. *Advances in protein chemistry*. Elsevier, 153-203.
- Cavaliere, C., Foglia, P., Pastorini, E., Samperi, R. ve Laganà, A. 2005. Identification and mass spectrometric characterization of glycosylated flavonoids in *Triticum durum* plants by high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry: An International Journal Devoted to the Rapid Dissemination of Up to the Minute Research in Mass Spectrometry*, 19:21, 3143-3158.

- Ceballos-Picot, I., Trivier, J.-M., Nicole, A., Sinet, P.-M. ve Thevenin, M. 1992. Age-correlated modifications of copper-zinc superoxide dismutase and glutathione-related enzyme activities in human erythrocytes. *Clinical chemistry*, 38:1, 66-70.
- Chai, W.-M., Wei, Q.-M., Deng, W.-L., Zheng, Y.-L., Chen, X.-Y., Huang, Q., Ouyang, C. ve Peng, Y.-Y. 2019. Anti-melanogenesis properties of condensed tannins from *Vigna angularis* seeds with potent antioxidant and DNA damage protection activities. *Food & function*, 10:1, 99-111.
- Chanoine, J.-P., Toppet, V., Bourdoux, P., Spehl, M. ve Delange, F. 1991. Smoking during pregnancy: a significant cause of neonatal thyroid enlargement. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 98:1, 65-68.
- Chaouki, W., Leger, D. Y., Eljastimi, J., Beneytout, J.-L. ve Hmamouchi, M. 2010. Antiproliferative effect of extracts from *Aristolochia baetica* and *Origanum compactum* on human breast cancer cell line MCF-7. *Pharmaceutical biology*, 48:3, 269-274.
- Chappey, O., Dosquet, C., Wautier, M. P. ve Wautier, J. L. 1997. Advanced glycation end products, oxidant stress and vascular lesions. *European journal of clinical investigation*, 27:2, 97-108.
- Chauhan, A., Chauhan, V., Brown, W. T. ve Cohen, I. 2004. Oxidative stress in autism: Increased lipid peroxidation and reduced serum levels of ceruloplasmin and transferrin-the antioxidant proteins. *Life sciences*, 75:21, 2539-2549.
- Che, C.-T., Ahmed, M. S., Kang, S. S., Waller, D. P., Bingel, A., Martin, A., Rajamahendran, P., Bunyaphatsara, N., Lankin, D. C. ve Cordell, G. A. 1984. Studies on *Aristolochia* III. Isolation and biological evaluation of constituents of *Aristolochia indica* roots for fertility-regulating activity. *Journal of Natural Products*, 47:2, 331-341.
- Cheeseman, K. ve Slater, T. 1993. An introduction to free radical biochemistry. *British medical bulletin*, 49:3, 481-493.
- Chen, H.-Y., Lin, Y.-C. ve Hsieh, C.-L. 2007. Evaluation of antioxidant activity of aqueous extract of some selected nutraceutical herbs. *Food Chemistry*, 104:4, 1418-1424.
- Chew, B. P. 1996. Importance of antioxidant vitamins in immunity and health in animals. *Animal Feed Science and Technology*, 59:1-3, 103-114.
- Chew, K. W., Juan, J. C., Phang, S. M., Ling, T. C. ve Show, P. L. 2018. An overview on the development of conventional and alternative extractive methods for the purification of agarose from seaweed. *Separation Science and Technology*, 53:3, 467-480.
- Choi, C. W., Kim, S. C., Hwang, S. S., Choi, B. K., Ahn, H. J., Lee, M. Y., Park, S. H. ve Kim, S. K. 2002. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. *Plant science*, 163:6, 1161-1168.
- Clair, D. S., Zhao, Y., Chaiswing, L. ve Oberley, T. 2005. Modulation of skin tumorigenesis by SOD. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 59:4, 209-214.
- Cohen, M. L. 1992. Epidemiology of drug resistance: implications for a post—antimicrobial era. *Science*, 257:5073, 1050-1055.
- Coleman III, W. ve Chung, H. 2002. Pyrolysis GC–MS analysis of Amadori compounds derived from selected amino acids and glucose. *Journal of analytical and applied pyrolysis*, 62:2, 215-223.

- Cooke, M. S., Evans, M. D., Dizdaroglu, M. ve Lunec, J. 2003. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *The FASEB journal*, 17:10, 1195-1214.
- Crane, F. L. 2001. Biochemical functions of coenzyme Q10. *Journal of the American College of Nutrition*, 20:6, 591-598.
- Cutando, A., López-Valverde, A., de Diego, R. G., de Vicente, J., Reiter, R., Fernández, M. H. ve Ferrera, M. J. 2014. Effect of topical application of melatonin to the gingiva on salivary osteoprotegerin, RANKL and melatonin levels in patients with diabetes and periodontal disease. *Odontology*, 102:2, 290-296.
- Cutando, A., Montero, J., Gómez-de Diego, R., Ferrera, M.-J. ve Lopez-Valverde, A. 2015. Effect of topical application of melatonin on serum levels of C-reactive protein (CRP), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) in patients with type 1 or type 2 diabetes and periodontal disease. *Journal of clinical and experimental dentistry*, 7:5, e628.
- Çakatay, U. 2006. Pro-oxidant actions of  $\alpha$ -lipoic acid and dihydrolipoic acid. *Medical Hypotheses*, 66:1, 110-117.
- Çelik, S. 2001. *APS ile opere edilen tavşanların kan ve karaciğer dokularındaki serbest oksijen radikalleri ve antioksidan enzim düzeylerinin tayini*. Yüksek Lisans Tezi. Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, 29, Kütahya.
- Çınar, E., Ercan, S. ve Güleşçi, N. 2017. Lewatit partikülüne üreaz enziminin immobilizasyonu. *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, 2, 125.
- Çöllü, Z. 2007. *Urtica Pilulifera L. Bitkisinin Antioksidant Aktivitesinin Araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, 22, Samsun.
- D'Souza, M. G., Bheemappa, E., Pai, V. K., Byahatti, V. V. ve Tule, C. 2011. In vitro study on anthelmintic activity of *Aristolochia indica* and *A. tagala* roots. *Latin American Journal of Pharmacy*, 30.
- D Mediavilla, M., J Sanchez-Barcelo, E., X Tan, D., Manchester, L. ve J Reiter, R. 2010. Basic mechanisms involved in the anti-cancer effects of melatonin. *Current medicinal chemistry*, 17:36, 4462-4481.
- Daimon, M., Susa, S., Yamatani, K., Manaka, H., Hama, K., Kimura, M., Ohnuma, H. ve Kato, T. 1998. Hyperglycemia is a factor for an increase in serum ceruloplasmin in type 2 diabetes. *Diabetes care*, 21:9, 1525-1528.
- Dansen, T. B. ve Wirtz, K. W. 2001. The peroxisome in oxidative stress. *IUBMB life*, 51:4, 223-230.
- Das, T. S., Ramesh, L. ve Agastian, P. 2016. GC-MS analysis of bioactive constituents of *Aristolochia bracteolata* Linn with in-vitro antioxidant properties. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6:12, 061-066.
- Dave, R. I. ve Shah, N. P. 1997. Effectiveness of ascorbic acid as an oxygen scavenger in improving viability of probiotic bacteria in yoghurts made with commercial starter cultures. *International Dairy Journal*, 7:6-7, 435-443.
- Davis, P. ve Leblebici, E. 1982. *Acinos, Flora of Turkey and The East Aegean Islands*, Vol. 7: University Press, Edinburgh.
- De Groot, H. 1994. Reactive oxygen species in tissue injury. *Hepato-gastroenterology*, 41:4, 328.
- de Oliveira, E. P. ve Burini, R. C. 2012. High plasma uric acid concentration: causes and consequences. *Diabetology & metabolic syndrome*, 4:1, 12.

- de Quirós, A. R.-B. ve Costa, H. S. 2006. Analysis of carotenoids in vegetable and plasma samples: A review. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19:2-3, 97-111.
- Dean, R. T., vd. 1997. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochemical Journal*, 324:1, 1-18.
- Delibaş, N., Doğru, H., Döner, F., Gedikli, O., Tahan, V., Biyokimya, S. T. F. ve KBB, S. T. F. 1996. Presbiakuzi ve serbest radikaller. *Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Dergisi*, 4, 811.
- Delibaş, N. ve Özçankaya, R. 1995. Serbest radikaller. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 2:3.
- Delibaş, N., Özçankaya, R., Özgüner, M. ve Boz, F. 1996. Bilişsel durum değişiklikleri, depresif ve psikotik belirtilerle serbest radikal aktivitesinin ilişkisi. *Türk Psikiyatri Derg*, 1, 46-52.
- Derin, D., Yazici, A. ve Erkoç, Ş. 2001. Şizofrenik bozukluğu olan hastalarda serbest radikal metabolizması ve nonenzimatik antioksidan savunma sistemi elemanlarının incelenmesi. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, 11, 174-182.
- Devasagayam, T., Tilak, J., Boloor, K., Sane, K. S., Ghaskadbi, S. S. ve Lele, R. 2004. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *Japi*, 52:794804, 4.
- Dhouioui, M., Boulila, A., Jemli, M., Schiets, F., Casabianca, H. ve Zina, M. S. 2016. Fatty acids composition and antibacterial activity of *Aristolochia longa* L. and *Bryonia dioica* Jacq. growing wild in Tunisia. *Journal of oleo science*, 65:8, 655-661.
- Di Mascio, P., Murphy, M. E. ve Sies, H. 1991. Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *The American journal of clinical nutrition*, 53:1, 194S-200S.
- Dikici İ. 1999. *Akut Viral Hepatitlerle İnterferon Tedavisi Görmüş Kronik Viral Hepatitlerde Oksidatif Stresin Araştırılması*. Uzmanlık Tezi, Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, 23, Konya.
- Dindar, B., Karakuş, E. ve Abasıyanık, F. 2011. New urea biosensor based on urease enzyme obtained from *Helicobacter pylori*. *Applied biochemistry and biotechnology*, 165:5-6, 1308-1321.
- Dinis, T. C., Madeira, V. M. ve Almeida, L. M. 1994. Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Archives of biochemistry and biophysics*, 315:1, 161-169.
- Diplock, A. 1998. Healthy lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. *ILSI Europe concise monograph series*, 59.
- Dizlek, H. ve Hülya, G. 2007. L-Askorbik Asit ve ekmekçilikteki işlevleri. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2:1, 26-34.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Maamri, S., Djireb, F. ve Stocker, P. 2006. Phenolic extracts from various Algerian plants as strong inhibitors of porcine liver carboxylesterase. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 21:6, 719-726.
- Doğan, M. 2005. *Ceratophyllum demersum* L.'de kadmiyum klorür, sodyum klorür ve bunların kombinasyonlarının fizyolojik ve morfolojik etkileri. Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, 32, Adana.

- Döğer, M. 2010. *Ispit 'ın (Trachystemon orientalis (L.) G. Don) Antioksidan Aktivitesi*. Doktora Tezi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, 46-61, İstanbul.
- Droge, W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*, 82:1, 47-95.
- Dursun, E. 2010. *Arsenik toksisitesinin testiste oluşturduğu hasara karşı resveratrolün koruyucu etkilerinin incelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji Embriyoloji Ana Bilim Dalı, 26, İzmir.
- Duthie, G., Wahle, K. ve James, W. 1989. Oxidants, antioxidants and cardiovascular disease. *Nutrition research reviews*, 2:1, 51-62.
- Dündar, Y. ve Aslan R. 1999. Hücre moleküler statüsünün araştırılması ve fizyolojik önem açısından radikaller-antioksidanlar. *Cer Tıp Bil Derg*, 134-142.
- Dündar, Y. 2000. Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınları*, 29-95.
- Ebaid, H., Bashandy, S. A., Alhazza, I. M., Rady, A. ve El-Shehry, S. 2013. Folic acid and melatonin ameliorate carbon tetrachloride-induced hepatic injury, oxidative stress and inflammation in rats. *Nutrition & metabolism*, 10:1, 20.
- Eken, S. 2007. *Bazı Materyallerde Antioksidan Tayinleri*. Yüksek Lisans Tezi. Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, 79, İstanbul.
- El-Demerdash, F. M. 2004. Antioxidant effect of vitamin E and selenium on lipid peroxidation, enzyme activities and biochemical parameters in rats exposed to aluminium. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18:1, 113-121.
- Ertas, A., Yılmaz, M. A. ve Firat, M. 2015. Chemical profile by LC-MS/MS, GC/MS and antioxidant activities of the essential oils and crude extracts of two Euphorbia species. *Natural product research*, 29:6, 529-534.
- Evans, M. D. ve Cooke, M. S. 2004. Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids. *Bioessays*, 26:5, 533-542.
- Evcil, E. ve Malas, M. 2008. Gebelikte beslenmenin fetal büyüme üzerine etkileri. *Selçuk Tıp Dergisi*, 25, 49-59.
- Faezi, G. M., Bakhtiari, M. R., Falahpour, M., Nouhi, A. A., Moazami, N. ve Amidi, Z. 2004. Screening of urease production by *Aspergillus niger* strains.
- Fang, Y.-Z., Yang, S. ve Wu, G. 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18:10, 872-879.
- Firat, Ö. ve Kaya, Ö. 2019. Cıva toksisitesi üzerine selenyumun koruyucu rolünün *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)'ta katalaz, süperoksit dismutaz ve malondialdehit parametreleri ile değerlendirilmesi. *Su Ürünleri Dergisi*, 36:3, 1-1.
- Follmer, C., Real-Guerra, R., Wasserman, G. E., Olivera-Severo, D. ve Carlini, C. R. 2004. Jackbean, soybean and *Bacillus pasteurii* ureases: biological effects unrelated to ureolytic activity. *European Journal of Biochemistry*, 271:7, 1357-1363.
- Footo, C. 1985. Chemistry of reactive oxygen species. In, *Chemical Changes in Food During Processing* (Eds T Richardson, JW Finley): 17-32: New York, Van Nostrand Rainhold Company.
- Franke, S. I. R., Prá, D., da Silva, J., Erdtmann, B. ve Henriques, J. A. P. 2005. Possible repair action of Vitamin C on DNA damage induced by methyl methanesulfonate,

- cyclophosphamide, FeSO<sub>4</sub> and CuSO<sub>4</sub> in mouse blood cells in vivo. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 583:1, 75-84.
- Gadhi, C., Benharref, A., Jana, M. ve Lozniewski, A. 2001. Anti-Helicobacter pylori activity of Aristolochia paucinervis Pomel extracts. *Journal of ethnopharmacology*, 75:2-3, 203-205.
- Gadhi, C., Hatier, R., Mory, F., Marchal, L., Weber, M., Benharref, A., Jana, M. ve Lozniewski, A. 2001. Bactericidal properties of the chloroform fraction from rhizomes of Aristolochia paucinervis Pomel. *Journal of ethnopharmacology*, 75:2-3, 207-212.
- Gadhi, C., Weber, M., Mory, F., Benharref, A., Lion, C., Jana, M. ve Lozniewski, A. 1999. Antibacterial activity of Aristolochia paucinervis Pomel. *Journal of ethnopharmacology*, 67:1, 87-92.
- Gao, F., Kinnula, V. L., Myllärniemi, M. ve Oury, T. D. 2008. Extracellular superoxide dismutase in pulmonary fibrosis. *Antioxidants & redox signaling*, 10:2, 343-354.
- Gaziano, J. M. ve Hennekens, C. H. 1993. The role of beta-carotene in the prevention of cardiovascular disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 691:1, 148-155.
- Geetha, S., Irulandi, K. ve Mehalingam, P. 2016. Assessment of the Radical Scavenging Activity and Total phenolic content of Crude Methanolic leaves Extract of Aristolochia indica L.-Aristolochiaceae. *Journal Of Advanced Applied Scientific Research*, 1:3, 59-66.
- Glantzounis, G., Tsimoyiannis, E., Kappas, A. ve Galaris, D. 2005. Uric acid and oxidative stress. *Current pharmaceutical design*, 11:32, 4145-4151.
- Goralska, M., Dackor, R., Holley, B. ve McGahan, M. C. 2003. Alpha lipoic acid changes iron uptake and storage in lens epithelial cells. *Experimental eye research*, 76:2, 241-248.
- Goun, E., Cunningham, G., Solodnikov, S., Krasnykch, O. ve Miles, H. 2002. Antithrombin activity of some constituents from Origanum vulgare. *Fitoterapia*, 73:7-8, 692-694.
- Gök, V. ve Serteser, A. 2003. "Doğal antioksidanların biyoyararlılığı". 3. *Gıda Mühendisliği Kongresi*, 2-4, Ankara.
- Gökhan, H. B. 2007. "Balıklarda Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi". *Doktora Semineri*, Fırat Üniversitesi, Elazığ.
- Greenberg, S. ve Frishman, W. H. 1990. Co-enzyme Q10: a new drug for cardiovascular disease. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 30:7, 596-608.
- Guerrero-Romero, F. ve Rodríguez-Morán, M. 2005. Complementary therapies for diabetes: the case for chromium, magnesium, and antioxidants. *Archives of medical research*, 36:3, 250-257.
- Gutteridge, J. 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical chemistry*, 41:12, 1819-1828.
- Gutteridge, J. M. 1994. Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. *Chemico-biological interactions*, 91:2-3, 133-140.
- Gutteridge, J. M. ve Halliwell, B. 1990. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends in biochemical sciences*, 15:4, 129-135.

- Gülçin, İ., Oktay, M., Küfrevioğlu, Ö. İ. ve Aslan, A. 2002. Determination of antioxidant activity of lichen *Cetraria islandica* (L) Ach. *Journal of ethnopharmacology*, 79:3, 325-329.
- Güleşçi, N. ve Aygül, İ. 2016. Beslenmede yer alan antioksidan ve fenolik madde içerikli çerezler. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5:1, 109-129.
- Gültekin, M. 2009. *Koroziv Özofagus Oluşturulan Ratlarda Subakut Yara İyileşmesinde Alfa Lipoik Asitin Metilprednisolon Ve Sukralfatla Karşılaştırmalı Çalışması (DeneySEL Çalışma)*. Uzmanlık Tezi. Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Göğüs Cerrahisi Ana Bilim Dalı, 32, Konya.
- Gümüştaş, K. 2008. "Oksidatif nitrozatif stresin psikiyatrik bozukluklarla ilişkisi". *İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Türkiye'de Sık Karşılaşılan Psikiyatrik Hastalıklar Sempozyum Dizisi*, İstanbul Üniversitesi, İstanbul.
- Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T. ve Başer, K. 2000. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Volume 11, Supp. 2: Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Gürer, R. 2005. *İdiyopatik Parkinson hastalığı etyopatogenezinde seruloplazminin yeri ve proton MR spektroskopisi ile verifikasyonu*. Uzmanlık Tezi, İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı, 74, İstanbul.
- Gürkan, A. S. ve Bozdağ D. O. 2005. Coenzyme Q10. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 34(2), 129-154.
- Gürsoy, F. 2005. *Etanolün İndüklediği Karaciğer Hasarında Matriks Metalloproteinazların Rolü ve Antioksidanların Etkisi*. Yüksek Lisans Tezi. Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Cerrahi Anabilim Dalı, 45, Afyonkarahisar.
- Haegele, A. D., Gillette, C., O'Neill, C., Wolfe, P., Heimendinger, J., Sedlacek, S. ve Thompson, H. J. 2000. Plasma xanthophyll carotenoids correlate inversely with indices of oxidative DNA damage and lipid peroxidation. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 9:4, 421-425.
- Halliwell, B. ve Gutteridge, M. 1999. *Free Radical in Biology and medicine, in study of generalized light emission 3rd edition: University Press: Oxford*.
- Halliwell, B. 1994. Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition reviews*, 52:8, 253-265.
- Halliwell, B. 2006. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant physiology*, 141:2, 312-322.
- Halliwell, B. ve Gutteridge, J. 1989. *Free radicals in biology and medicine*, 2nd edn. Clarendon: Oxford.
- Halliwell, B. ve Gutteridge, J. 2006. *Free Radicals in Biology and Medicine*, wydanie 4-te: Oxford University Press, Oxford.
- Halliwell, B. ve Gutteridge, J. M. 1986. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. *Archives of biochemistry and biophysics*, 246:2, 501-514.
- Halliwell, B. ve Gutteridge, J. M. 1990. *Methods in enzymology*. Elsevier, 1-85.
- Halliwell, B. ve Gutteridge, J. M. 2015. *Free radicals in biology and medicine*. Oxford University Press, USA,
- Halvorsen, B. L., Holte, K., Myhrstad, M. C., Barikmo, I., Hvattum, E., Remberg, S. F., Wold, A.-B., Haffner, K., Baugerød, H. ve Andersen, L. F. 2002. A systematic

- screening of total antioxidants in dietary plants. *The Journal of nutrition*, 132:3, 461-471.
- Harris, E. D. 1992. Regulation of antioxidant enzymes. *The FASEB journal*, 6:9, 2675-2683.
- Hasani, A. 1999. *Siçanlarda kafa travması sonrası artan serbest oksijen radikalleri üzerine sevofluranın etkisi*. Uzmanlık Tezi. Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, 3-5, İstanbul.
- Hashemi, S., Zulkifli, I., Hair Bejo, M., Farida, A. ve Somchit, M. 2008. Acute toxicity study and phytochemical screening of selected herbal aqueous extract in broiler chickens. *Int J pharmacol*, 4:5, 352-360.
- Henn, F. A. ve DeLisi, L. E. 1987. *The Neurochemistry and Neuropharmacology of Schizophrenia: Neurochemistry and Neuropharmacology*. Elsevier Science Ltd,
- Hink, H. U., Santanam, N., Dikalov, S., McCann, L., Nguyen, A. D., Parthasarathy, S., Harrison, D. G. ve Fukai, T. 2002. Peroxidase properties of extracellular superoxide dismutase: role of uric acid in modulating in vivo activity. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 22:9, 1402-1408.
- Hoekstra, W. G. (1975). Biochemical function of selenium and its relation to vitamin E. Federation proceedings, 2083-2089.
- Hong, C. H., Hur, S. K., Oh, O.-J., Kim, S. S., Nam, K. A. ve Lee, S. K. 2002. Evaluation of natural products on inhibition of inducible cyclooxygenase (COX-2) and nitric oxide synthase (iNOS) in cultured mouse macrophage cells. *Journal of ethnopharmacology*, 83:1-2, 153-159.
- Hotta, H., Nagano, S., Ueda, M., Tsujino, Y., Koyama, J. ve Osakai, T. 2002. Higher radical scavenging activities of polyphenolic antioxidants can be ascribed to chemical reactions following their oxidation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1572:1, 123-132.
- Huang, D., Ou, B. ve Prior, R. L. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53:6, 1841-1856.
- Huang, W. J., Zhang, X. ve Chen, W. W. 2016. Role of oxidative stress in Alzheimer's disease. *Biomedical reports*, 4:5, 519-522.
- Humans, I. W. G. o. t. E. o. C. R. t. ve Cancer, I. A. f. R. o. 2002. *Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene*. World Health Organization,
- Hussein, H., Elnaggar, M. ve Al-Zahrani, N. 2012. Antioxidant role of folic acid against reproductive toxicity of cyhalothrin in male mice. *Glo. Adv. Res. J. Environ. Sci. Toxicol*, 1:4, 066-071.
- Iglesias, P., Selgas, R., Romero, S. ve Díez, J. J. 2013. Selenium and kidney disease. *Journal of nephrology*, 26:2, 266-272.
- İnan Ç. B. 2015. *Bazı flavonoidlerin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi, asetilkolinesteraz ve karbonik anhidraz enzimleri üzerine etkilerinin incelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi. Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Ana Bilim Dalı, 2-12, Ağrı.
- Inglett, G. E., Chen, D., Berhow, M. ve Lee, S. 2011. Antioxidant activity of commercial buckwheat flours and their free and bound phenolic compositions. *Food Chemistry*, 125:3, 923-929.
- Is, Y. ve Woodside, J. 2001. Antioxidant in health and disease. *J Clin Pathol*, 54:3, 176-186.

- İşbilir, Ş. S. 2008. *Yaprakları Salata-Baharat Olarak Tüketilen Bazı Bitkilerin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi*. Doktora Tezi. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı, 18-23, Edirne.
- Ito, N., Fukushima, S., Haqlwara, A., Shibata, M. ve Ogiso, T. 1983. Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats. *Journal of the National Cancer Institute*, 70:2, 343-352.
- Ito, N., Hirose, M., Fukushima, S., Tsuda, H., Shirai, T. ve Tatematsu, M. 1986. Studies on antioxidants: their carcinogenic and modifying effects on chemical carcinogenesis. *Food and Chemical Toxicology*, 24:10-11, 1071-1082.
- Jackson, A. L. ve Loeb, L. A. 2001. The contribution of endogenous sources of DNA damage to the multiple mutations in cancer. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 477:1-2, 7-21.
- Janson, M. 2006. Orthomolecular medicine: the therapeutic use of dietary supplements for anti-aging. *Clinical interventions in aging*, 1:3, 261.
- Janssen, A., Scheffer, J. ve Svendsen, A. B. 1987. Antimicrobial activity of essential oils: a 1976-1986 literature review. Aspects of the test methods. *Planta medica*, 53:05, 395-398.
- Jegadeesware, P., Daffodil, E. ve Mohan, V. 2014. Quantification of total phenolics, flavonoids and in vitro antioxidant activity of *Aristolochia bracteata* retz. *Int J Pharm Pharm Sci*, 6:1, 747-752.
- Jenkins, R. 1981. Catalase activity in skeletal muscle of varying fibre types. *Experientia*, 37:1, 67-68.
- Jin, M., Yang, F., Yang, I., Yin, Y., Luo, J. J., Wang, H. ve Yang, X.-F. 2012. Uric acid, hyperuricemia and vascular diseases. *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*, 17, 656.
- Juliantina, F., Citra, D. A., Nirwani, B., Nurmasitoh, T. ve Bowo, E. T. 2009. Manfaat Sirih Merah (*Piper Crocatum*) sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif Dan Bakteri Gram Negatif. *Jurnal kedokteran dan kesehatan indonesia*:1, 12-20.
- Kahraman, S. ve Yanardağ, R. 2009. *Labada (Rumex, cristotus DC)'nin Antioksidan Aktivitesi*. Doktora Tezi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, 28, İstanbul.
- Kalak, S., Akkuş, İ., Çağlayan, O., Can, Ü. G. ve Zeren, E. M. 1996. Diabetes mellitus ve serbest radikaller. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 16:3, 206-211.
- Kangalgil, M. ve Yardimci, H. 2017. Selenyumun İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri ve Diyabetes Mellitusla İlişkisi Effects of Selenium on Human Health and its Relationship With Diabetes Mellitus. *Bozok Tıp Dergisi*, 7:4, 66-71.
- Karabulut, H. ve Gülay, M. Ş. 2016a. Antioksidanlar. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1:1, 65-76.
- Karabulut, H. ve Gülay, M. Ş. 2016b. Serbest radikaller. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4:1.
- Karaoğlan, H. 2009. *Tip II Diyabette Oksidatif Stresin 8-isoprostan ve Koenzim Q Düzeyleri İle Değerlendirilmesi*. Uzmanlık Tezi. Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, 35, Konya.

- Katalinić, V., Milos, M., Modun, D., Musić, I. ve Boban, M. 2004. Antioxidant effectiveness of selected wines in comparison with (+)-catechin. *Food Chemistry*, 86:4, 593-600.
- Kavas, G. Ö. 1989. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 9:1, 1-8.
- Kawamukai, M. 2002. Biosynthesis, bioproduction and novel roles of ubiquinone. *Journal of bioscience and bioengineering*, 94:6, 511-517.
- Kayalı, R. ve Çakatay, U. 2004. Protein oksidasyonunun ana mekanizmaları. *Cerrahpaşa J Med*, 35:2, 83-89.
- Kendir, G. ve Güvenç, A. 2010. Etnobotanik ve Türkiye’de yapılmış etnobotanik çalışmalara genel bir bakış. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 30:1, 49-80.
- Khopde, S., Priyadarsini, K., Mukherjee, T., Kulkarni, P., Satav, J. ve Bhattacharya, R. 1998. Does  $\beta$ -carotene protect membrane lipids from nitrogen dioxide? *Free Radical Biology and Medicine*, 25:1, 66-71.
- Kırca, A. ve Cemeröglü, B. 2001. Askorbik Asidin Degradasyon Mekanizması. *Gıda*, 26:4.
- Kılınç, K. 2002. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Med. J*, 33:2, 110-118.
- Kırkbir Z. G. 2018. *Yeni sentezlenmiş 1, 2, 4-merkaptotriazol bileşiklerinin üreaz aktivitesi üzerine etkisinin in vitro ve in silico olarak incelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, 2, Trabzon.
- Kırşan, İ. *Serbest radikalleri ve antioksidanlar*. Bitirme Tezi. Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, 17, Elazığ.
- Kim, G. H., Kim, J. E., Rhie, S. J. ve Yoon, S. 2015. The role of oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Experimental neurobiology*, 24:4, 325-340.
- Kim, Y., Kim, D. C., Cho, E.-S., Ko, S.-O., Kwon, W. Y., Suh, G. J. ve Shin, H.-K. 2014. Antioxidant and anti-inflammatory effects of selenium in oral buccal mucosa and small intestinal mucosa during intestinal ischemia-reperfusion injury. *Journal of Inflammation*, 11:1, 36.
- Kizhakekuttu, T. J. ve Widlansky, M. E. 2010. Natural antioxidants and hypertension: promise and challenges. *Cardiovascular therapeutics*, 28:4, e20-e32.
- Klouche, K., Morena, M., Canaud, B., Descomps, B., Beraud, J. ve Cristol, J. 2004. Mechanism of in vitro heme-induced LDL oxidation: effects of antioxidants. *European journal of clinical investigation*, 34:9, 619-625.
- Koca, N. ve Karadeniz, F. 2005. *Gıdalardaki doğal antioksidan bileşikler*. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, 4-30, Ankara.
- Koca, N. ve Karadeniz, F. 2003. Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve vücuttaki antioksidan savunma sistemleri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 16, 32-37.
- Koolman, J. ve Röhm, K.H. 2005. *Color atlas of biochemistry*. Thieme Stuttgart.
- Koriem, K. M., Shahabudin, R. E. ve Jamaludin, R. Z. 2014. *Aristolochia* gehrtii inhibits liver toxicity and apoptosis in *Schistosoma malayensis* infection. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 7:9, 685-692.

- Korkmaz, H. ve Durmaz, A. 2015. *Aristolochia* L. (*Aristolochiaceae*) cinsinin generatif özellikleri. *Biological Diversity and Conservation*, 8:3, 195-208.
- Kose, O., Arabaci, T., Kara, A., Yemenoglu, H., Kermen, E., Kizildag, A., Gedikli, S. ve Ozkanlar, S. 2016. Effects of melatonin on oxidative stress index and alveolar bone loss in diabetic rats with periodontitis. *Journal of periodontology*, 87:5, e82-e90.
- Košťálová, D., Hrochova, V., Pronayova, N. ve Leško, J. 1991. Constituents of *Aristolochia-clematitis* L. *Chemical Papers*, 45:5, 713-716.
- Koya, D. ve King, G. L. 1998. Protein kinase C activation and the development of diabetic complications. *Diabetes*, 47:6, 859-866.
- Köksal, E. 2007. *Karnabahar (Brassica oleracea L.) peroksidaz enziminin saflaştırılması ve karakterizasyonu, antioksidan ve antiradikal aktivitesinin belirlenmesi*. Doktora Tezi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, 21, Erzurum.
- Krajewska, B. 2009. Ureases I. Functional, catalytic and kinetic properties: A review. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 59:1-3, 9-21.
- Krajewska, B., Zaborska, W. a. ve Leszko, M. 2001. Inhibition of chitosan-immobilized urease by slow-binding inhibitors: Ni<sup>2+</sup>, F<sup>-</sup> and acetohydroxamic acid. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 14:4-6, 101-109.
- Kranl, K., Schlesier, K., Bitsch, R., Hermann, H., Rohe, M. ve Böhm, V. 2005. Comparing antioxidative food additives and secondary plant products—use of different assays. *Food Chemistry*, 93:1, 171-175.
- Krijgsman, B., Papadakis, J., Ganotakis, E., Mikhailidis, D. ve Hamilton, G. 2002. The effect of peripheral vascular disease on the serum levels of natural anti-oxidants: bilirubin and albumin. *International angiology*, 21:1, 44.
- Krinsky, N. I. 1992. Mechanism of action of biological antioxidants. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 200:2, 248-254.
- Krinsky, N. I. 1998. Overview of lycopene, carotenoids, and disease prevention. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 218:2, 95-97.
- Kumar, A. N., Aruna, P., Naidu, J. N., Kumar, R. ve Srivastava, A. K. 2015. Review of concepts and controversies of uric acid as antioxidant and pro-oxidant. *Arşiv kaynak tarama dergisi*, 24:1, 19-40.
- Kumar, V., Prasad, A. K. ve Parmar, V. S. 2003. Naturally occurring aristolactams, aristolochic acids and dioxoaporphines and their biological activities. *Natural product reports*, 20:6, 565-583.
- Kupchan, S. M. ve Doskotch, R. W. 1962. Tumor inhibitors. I. Aristolochic acid, the active principle of *Aristolochia indica*. *Journal of Medicinal Chemistry*, 5:3, 657-659.
- Lagman, M., Ly, J., Saing, T., Singh, M. K., Tudela, E. V., Morris, D., Chi, P.-T., Ochoa, C., Sathananthan, A. ve Venketaraman, V. 2015. Investigating the causes for decreased levels of glutathione in individuals with type II diabetes. *PloS one*, 10:3.
- Lambeth, J. D. 2004. NOX enzymes and the biology of reactive oxygen. *Nature Reviews Immunology*, 4:3, 181-189.
- Lander, H. M. 1997. An essential role for free radicals and derived species in signal transduction. *The FASEB journal*, 11:2, 118-124.

- Larson, R. A. 1988. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, 27:4, 969-978.
- Lavelli, V., Peri, C. ve Rizzolo, A. 2000. Antioxidant activity of tomato products as studied by model reactions using xanthine oxidase, myeloperoxidase, and copper-induced lipid peroxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48:5, 1442-1448.
- Lee, J., Ozcelik, B. ve Min, D. 2003. Electron donation mechanisms of  $\beta$ -carotene as a free radical scavenger. *Journal of food science*, 68:3, 861-865.
- Lehninger, A. L., Nelson, D. L. ve Cox, M. M. 2005. *Lehninger principles of biochemistry*. Macmillan,
- Leitão, G. ve Kaplan, M. 1992. Chemistry of the genus *Aristolochia*. *Rev. Bras. Farm*, 73, 65-75.
- Lemos, T., Monte, F., Matos, F., Alencar, J., Craveiro, A., Barbosa, R. ve Lima, E. 1992. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from Brazilian plants. *Fitoterapia*, 63:3, 266-268.
- Lessin, W. J., Catigani, G. L. ve Schwartz, S. J. 1997. Quantification of cis-trans isomers of provitamin A carotenoids in fresh and processed fruits and vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45:10, 3728-3732.
- Li, J., Zhang, L., Jiang, Z., Shu, B., Li, F., Bao, Q. ve Zhang, L. 2010. Toxicities of aristolochic acid I and aristololactam I in cultured renal epithelial cells. *Toxicology in Vitro*, 24:4, 1092-1097.
- Li, Y. ve Schellhorn, H. E. 2007. New developments and novel therapeutic perspectives for vitamin C. *The Journal of nutrition*, 137:10, 2171-2184.
- Liang, J. F. ve Akaike, T. 2000. Inhibition of nitric oxide synthesis in primary cultured mouse hepatocytes by  $\alpha$ -lipoic acid. *Chemico-biological interactions*, 124:1, 53-60.
- Liebler, D. C. 1993. Antioxidant Reactions of Carotenoids a. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 691:1, 20-31.
- Liew, F. Y., S. Millott, C. Parkinson, R. M. J. Palmer, S. Moncada. 1990. Macrophage killing of *Leishmania* parasites in vivo is mediated by nitric oxide from L-arginine. *The Journal of Immunology*. 144:4794.
- Lindsay, R. 1996. Food additives In: Food Chemistry OR Fennema Ed: Marcel Dekker Inc. New York.
- Liou, G.-Y. ve Storz, P. 2010. Reactive oxygen species in cancer. *Free radical research*, 44:5, 479-496.
- Liu, J., Atamna, H., Kuratsune, H. ve Ames, B. N. (2002). Delaying brain mitochondrial decay and aging with mitochondrial antioxidants and metabolites. Increasing HealthyLife Span: Conventional Measures and Slowing the Innate Aging Process., Jun, 2001, Vancouver, BC, Canada; This volume is the result of a conference sponsored by the International Association of Biomedical Gerontology., New York Academy of Sciences.
- Liu, J., Xu, Y., Nie, Y. ve Zhao, G.-a. 2012. Optimization production of acid urease by *Enterobacter* sp. in an approach to reduce urea in Chinese rice wine. *Bioprocess and biosystems engineering*, 35:4, 651-657.
- Lledias, F., Rangel, P. ve Hansberg, W. 1998. Oxidation of catalase by singlet oxygen. *Journal of Biological Chemistry*, 273:17, 10630-10637.
- Loewus, F. A. 1980. *Carbohydrates: Structure and Function*. Elsevier, 77-99.

- Lopes, L., Nascimento, I. ve Silva, T. d. 2001. Phytochemistry of the *Aristolochiaceae* family. *Research advances in phytochemistry*, 2, 19-108.
- Luis, A., Sandalio, L. M., Palma, J., Bueno, P. ve Corpas, F. J. 1992. Metabolism of oxygen radicals in peroxisomes and cellular implications. *Free Radical Biology and Medicine*, 13:5, 557-580.
- Luo, Y., Hoffer, A., Hoffer, B. ve Qi, X. 2015. Mitochondria: a therapeutic target for Parkinson's disease? *International journal of molecular sciences*, 16:9, 20704-20730.
- Makovey, J., Macara, M., Chen, J. S., Hayward, C. S., March, L., Seibel, M. J. ve Sambrook, P. N. 2013. Serum uric acid plays a protective role for bone loss in peri-and postmenopausal women: a longitudinal study. *Bone*, 52:1, 400-406.
- Maltaş, E. 2011. *Ginkgo biloba'nun kimyasal ve moleküler yöntemlerle analizi*. Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, 2-23, Konya.
- Manik, R., Selvamani, P. ve Latha, S. 2006. Antibacterial activity of leaf extracts of *Aristolochia bracteata* retz. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 68:4.
- Maples, K. R. ve Mason, R. P. 1988. Free radical metabolite of uric acid. *Journal of Biological Chemistry*, 263:4, 1709-1712.
- Marchetti, M., Arico, B., Burrioni, D., Figura, N., Rappuoli, R. ve Ghiara, P. 1995. Development of a mouse model of *Helicobacter pylori* infection that mimics human disease. *Science*, 267:5204, 1655-1658.
- Marklund, S. L. 1982. Human copper-containing superoxide dismutase of high molecular weight. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 79:24, 7634-7638.
- Martínez-Vázquez, M., Martínez, R., Espinosa Perez, E. ve Diaz, M. 1994. Antimicrobial properties of argentatine A, isolated from *Parthenium argentatum*. *Fitoterapia-Milano*, 65, 371-371.
- Martinez, M., Betancourt, J., Alonso-Gonzalez, N. ve Jauregui, A. 1996. Screening of some Cuban medicinal plants for antimicrobial activity. *Journal of ethnopharmacology*, 52:3, 171-174.
- Martinovic, J. 1999. Effects of progesterone and estradiol benzoate on glutathione dependent antioxidant enzyme activities in the brain of female rats. *Gen Physiol Biophys*, 18, 35-44.
- Mathews-Roth, M. (1987). Photoprotection by carotenoids. *Federation proceedings*, 1890-1893.
- Mavi, A. 2005. *İnsan eritrosit ve lökositlerinden süperoksit dismutaz enziminin saflaştırılması ve bazı ilaçların enzim üzerine etkilerinin incelenmesi*. Doktora Tezi. Atatürk Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, 52-53, Erzurum.
- McDowell, L., Williams, S., Hidiroglou, N., Njeru, C., Hill, G., Ochoa, L. ve Wilkinson, N. 1996. Vitamin E supplementation for the ruminant. *Animal Feed Science and Technology*, 60:3-4, 273-296.
- Memisoğullari, R., Taysı, S., Bakan, E. ve Capoglu, I. 2003. Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus. *Cell Biochemistry and Function: Cellular biochemistry and its modulation by active agents or disease*, 21:3, 291-296.

- Memişoğulları, R. ve Bakan, E. 2004. Levels of ceruloplasmin, transferrin, and lipid peroxidation in the serum of patients with Type 2 diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and its Complications*, 18:4, 193-197.
- Memişoğulları, R. 2005. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 7:3, 30-39.
- Mengs, U. ve Klein, M. 1988. Genotoxic effects of aristolochic acid in the mouse micronucleus test. *Planta medica*, 54:06, 502-503.
- Meydani, M. 1999. Dietary antioxidants modulation of aging and immune-endothelial cell interaction. *Mechanisms of ageing and development*, 111:2-3, 123-132.
- Miller, N. J., Diplock, A. T. ve Rice-Evans, C. A. 1995. Evaluation of the total antioxidant activity as a marker of the deterioration of apple juice on storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43:7, 1794-1801.
- Miller, V. DD 1996. Minerals. *Food Chemistry*, 617, 649.
- Mix, D. B., Guinaudeau, H. ve Shamma, M. 1982. The aristolochic acids and aristolactams. *Journal of Natural Products*, 45:6, 657-666.
- Mohamed, R., Pineda, M. ve Aguilar, M. 2007. Antioxidant capacity of extracts from wild and crop plants of the Mediterranean region. *Journal of food science*, 72:1, S059-S063.
- Moldovan, L. ve Moldovan, N. I. 2004. Oxygen free radicals and redox biology of organelles. *Histochemistry and Cell Biology*, 122:4, 395-412.
- Montelli, A. C. ve Levy, C. E. 1991. Sistema COBA 1988-aspectos relativos aos dados dos laboratórios de referência. *Rev. Microbiol*, 197-205.
- Morán, L., Andrés, S., Bodas, R., Benavides, J., Prieto, N., Pérez, V. ve Giráldez, F. J. 2012. Antioxidants included in the diet of fattening lambs: Effects on immune response, stress, welfare and distal gut microbiota. *Animal Feed Science and Technology*, 173:3-4, 177-185.
- Murugan, M. ve Mohan, V. 2012. Efficacy of different solvent extracts of *Vitex trifolia* L. and *Aristolochia indica* L. for potential antibacterial activity. *Science Research Reporter*, 2:1, 110-114.
- Mustafa, M. G., Umino, T. ve Nakagawa, H. 1997. Limited synergistic effect of dietary *Spirulina* on vitamin C nutrition of red sea bream *Pagrus major*. *Journal of Marine Biotechnology*, 5:2-3, 0129-0132.
- Najeeb, S., Khurshid, Z., Zohaib, S. ve Zafar, M. S. 2016. Therapeutic potential of melatonin in oral medicine and periodontology. *The Kaohsiung journal of medical sciences*, 32:8, 391-396.
- Nakamura, E., Kozaki, K. i., Tsuda, H., Suzuki, E., Pimkhaokham, A., Yamamoto, G., Irie, T., Tachikawa, T., Amagasa, T. ve Inazawa, J. 2008. Frequent silencing of a putative tumor suppressor gene melatonin receptor 1 A (MTNR1A) in oral squamous cell carcinoma. *Cancer science*, 99:7, 1390-1400.
- Namiki, M. 1990. Antioxidants/antimutagens in food. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 29:4, 273-300.
- Nascimento, G. G., Locatelli, J., Freitas, P. C. ve Silva, G. L. 2000. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Brazilian journal of microbiology*, 31:4, 247-256.
- Nawar, W. 1996. Lipids in food chemistry. *Food Chemistry*, 3, 308-310.

- Neinhuis, C., Wanke, S., Hilu, K., Müller, K. ve Borsch, T. 2005. Phylogeny of *Aristolochiaceae* based on parsimony, likelihood, and Bayesian analyses of trnL-trnF sequences. *Plant Systematics and Evolution*, 250:1-2, 7-26.
- Nile SH, Keum YS. Anti-oxidant, anti-inflammatory and enzyme inhibitory activities of 10 selected Unani herbs. *Bangladesh J Pharm.*2017;12:162-164.
- Nishikimi, M., Rao, N. A. ve Yagi, K. 1972. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen. *Biochemical and biophysical research communications*, 46:2, 849-854.
- Niu, Z., Liu, F., Yan, Q. ve Li, W. 2009. Effects of different levels of vitamin E on growth performance and immune responses of broilers under heat stress. *Poultry science*, 88:10, 2101-2107.
- Noguchi, N. ve Niki, E. 2019. *Antioxidant status, diet, nutrition, and health*. CRC Press, 1-20.
- Nordberg, J. ve Arnér, E. S. 2001. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine*, 31:11, 1287-1312.
- Nortier, J. L. ve Vanherweghem, J.-L. 2007. For patients taking herbal therapy—lessons from aristolochic acid nephropathy. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 22:6, 1512-1517.
- Ochi, T. ve Cerutti, P. A. 1987. Clastogenic action of hydroperoxy-5, 8, 11, 13-icosatetraenoic acids on the mouse embryo fibroblasts C3H/10T1/2. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 84:4, 990-994.
- Oda, M., Satta, Y., Takenaka, O. ve Takahata, N. 2002. Loss of urate oxidase activity in hominoids and its evolutionary implications. *Molecular biology and evolution*, 19:5, 640-653.
- Odum, E. ve Wakwe, V. 2012. Plasma concentrations of water soluble vitamins in metabolic syndrome subjects. *Nigerian journal of clinical practice*, 15:4, 442-447.
- Onat, T., Emerk, K. ve Sözmen, E. Y. 2002. İnsan Biyokimyası, Palme Yayıncılık. Ankara, 711s.
- Orbea, A., Fahimi, H. D. ve Cajaraville, M. P. 2000. Immunolocalization of four antioxidant enzymes in digestive glands of mollusks and crustaceans and fish liver. *Histochemistry and Cell Biology*, 114:5, 393-404.
- Otero, R., Núñez, V., Barona, J., Fonnegra, R., Jiménez, S., Osorio, R., Saldarriaga, M. ve Diaz, A. 2000. Snakebites and ethnobotany in the northwest region of Colombia: Part III: Neutralization of the haemorrhagic effect of Bothrops atrox venom. *Journal of ethnopharmacology*, 73:1-2, 233-241.
- Oyaizu, M. 1986. Studies on products of browning reaction. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44:6, 307-315.
- Öner, Y., Tuz, U. ve Güleç, S. 2004. *Besinlerdeki Antioksidan Maddeler ve Genel Tayin Yöntemleri*. Bitirme Tezi. İstanbul Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, 52, İstanbul.
- Özen, T. 2003. *Bazı bitkilerin antioksidan aktivitesinin in vitro ve in vivo araştırılması*. Doktora Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, 119, Samsun.

- Özenç, B. 2011. *Fumaria officinalis'* un antioksidan aktivitesinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, 10, Konya.
- Özer, Ö. 2008. *Farklı antioksidan ilavesinin dondurularak muhafaza edilen mekanik ayrılmış piliç eti köftelerinin bazı kalite özellikleri üzerine etkisi*. Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 54, Konya.
- Özkan, A. ve Fıfşkın, K. 2004. Serbest oksijen radikalleri, karsinogenez ve antioksidant enzimler. *Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi*, 14, 52-60.
- Özmen, E., Geyik, M. F., Çelen, M. K., Hoşoğlu, S., Celal, A. ve Mehmet, U. 2010. Yatan hastalardan izole edilen Gram negatif bakteriler ve antibiyotik dirençlerinin değerlendirilmesi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 12:3, 32-39.
- Pacheco, A. G., Machado de Oliveira, P., Piló-Veloso, D. ve Flávio de Carvalho Alcântara, A. 2009. 13C-NMR data of diterpenes isolated from *Aristolochia* species. *Molecules*, 14:3, 1245-1262.
- Packer, L., Kraemer, K. ve Rimbach, G. 2001. Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications. *Nutrition*, 17:10, 888-895.
- Packer, L., Witt, E. H. ve Tritschler, H. J. 1995. Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radical Biology and Medicine*, 19:2, 227-250.
- Pähkla, R., Zilmer, M., Kullisaar, T. ve Rägo, L. 1998. Comparison of the antioxidant activity of melatonin and pinoline in vitro. *Journal of pineal research*, 24:2, 96-101.
- Pakrashi, A., Chakrabarty, B. ve Dasgupta, A. 1976. Effect of the extracts from *Aristolochia indica* Linn. on interception in female mice. *Experientia*, 32:3, 394-395.
- Papuc, C., Crivineanu, M., Goran, G., Nicorescu, V. ve Durdun, N. 2010. Free radicals scavenging and antioxidant activity of European mistletoe (*Viscum album*) and European birthwort (*Aristolochia clematitis*). *Revista de Chimie*, 61:7, 619-622.
- Pasalic, D., Marinkovic, N. ve Feher-Turkovic, L. 2012. Uric acid as one of the important factors in multifactorial disorders—facts and controversies. *Biochemia medica: Biochemia medica*, 22:1, 63-75.
- Pavlova, O. 1996. "Comparative studies of lipid peroxidations and antioxidant status in patients with schizophrenic, affective and schizoaffective psychosis". X. *Dünya Psikiyatri Kongresi Tebliğ Özeti*, 104, Madrid.
- Pei, S., Minhajuddin, M., Callahan, K. P., Balys, M., Ashton, J. M., Neering, S. J., Lagadinou, E. D., Corbett, C., Ye, H. ve Liesveld, J. L. 2013. Targeting aberrant glutathione metabolism to eradicate human acute myelogenous leukemia cells. *Journal of Biological Chemistry*, 288:47, 33542-33558.
- Peterson, J. ve Dwyer, J. 1998. Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. *Nutrition Research*, 18:12, 1995-2018.
- Pfeifer, H. W. 1966. Revision of the North and Central American hexandrous species of *Aristolochia* (*Aristolochiaceae*). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 115-196.
- Pham-Huy, L. A., He, H. ve Pham-Huy, C. 2008. Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science: IJBS*, 4:2, 89.
- Pietta, P. ve Simonetti, P. 1999. *Antioxidant food Supplements in human health*. Elsevier, 283-308.

- Pinchuk, I. ve Lichtenberg, D. 2002. The mechanism of action of antioxidants against lipoprotein peroxidation, evaluation based on kinetic experiments. *Progress in Lipid Research*, 41:4, 279-314.
- Plessi, M., Bertelli, D. ve Monzani, A. 2001. Mercury and selenium content in selected seafood. *Journal of Food Composition and Analysis*, 14:5, 461-467.
- Polat, A. ve Tokur, B. 2000. Balıklarda prooksidan ve antioksidanların lipit oksidasyonuna etkileri. *Su Ürünleri Dergisi*, 3-4, 4299-310.
- Pratt, D. ve Hudson, B. 1990. Food antioxidants. *London: Elsevier Applied Science*, 171-191.
- Prieto, P., Pineda, M. ve Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical biochemistry*, 269:2, 337-341.
- Prior, R. L. ve Cao, G. 2000. Analysis of botanicals and dietary supplements for antioxidant capacity: a review. *Journal of AOAC International*, 83:4, 950-956.
- Rajesh, B. V., Takashima, B. ve Kaneto, K., 2005. An amperometric urea biosensor onto an electrochemically prepared copolymer poly (N-3-aminopropyl pyrrole-copolymer) film. *Biomaterials*, 26, 3683-3690.
- Raju, M. G. ve Reddy, T. H. S. 2017. Anti-diabetic and hypolipidemic activity of methanolic extract of *Aristolochia bracteolata* on streptozotocin induced diabetic rat model. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 8:3, 1173.
- Rastrelli, L., Capasso, A., Pizza, C., De Tommasi, N. ve Sorrentino, L. 1997. New protopine and benzyltetrahydroprotoberberine alkaloids from *Aristolochia constricta* and their activity on isolated guinea-pig ileum. *Journal of Natural Products*, 60:11, 1065-1069.
- Rayman, M. P. 2000. The importance of selenium to human health. *The lancet*, 356:9225, 233-241.
- Reddy, R. D. ve Yao, J. K. 1996. Free radical pathology in schizophrenia: a review. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 55:1-2, 33-43.
- Reed, T. T. 2011. Lipid peroxidation and neurodegenerative disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 51:7, 1302-1319.
- Reiter, R. J. 1996. *Advances in pharmacology*. Elsevier, 103-117.
- Reiter, R. J. 2003. Melatonin: clinical relevance. *Best practice & research clinical endocrinology & metabolism*, 17:2, 273-285.
- Reiter, R. J. ve Meltz, M. L. 1995. Melatonin protects human blood lymphocytes from radiation-induced chromosome damage. *Mutation Research Letters*, 346:1, 23-31.
- Reiter, R. J., Rosales-Corral, S., Liu, X., Acuna-Castroviejo, D., Escames, G. ve Tan, D. X. 2015. Melatonin in the oral cavity: physiological and pathological implications. *Journal of periodontal research*, 50:1, 9-17.
- Reiter, R. J., Tan, D.-x., Osuna, C. ve Gitto, E. 2000. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. *Journal of biomedical science*, 7:6, 444-458.
- Reller, L. B., Weinstein, M., Jorgensen, J. H. ve Ferraro, M. J. 2009. Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. *Clinical Infectious Diseases*, 49:11, 1749-1755.

- Rice E. C. 1999. *Antioxidant food supplements in human health*. Elsevier, 239-253.
- Rice-Evans, C., Miller, N. ve Paganga, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, 2:4, 152-159.
- Richards, R. I., Robertson, S. A., O'Keefe, L. V., Fornarino, D., Scott, A., Lardelli, M. ve Baune, B. T. 2016. The enemy within: innate surveillance-mediated cell death, the common mechanism of neurodegenerative disease. *Frontiers in neuroscience*, 10, 193.
- Ridnour, L. A., Thomas, D. D., Mancardi, D., Espey, M. G., Miranda, K. M., Paolocci, N., Feelisch, M., Fukuto, J. ve Wink, D. A. 2004. The chemistry of nitrosative stress induced by nitric oxide and reactive nitrogen oxide species. Putting perspective on stressful biological situations. *Biological chemistry*, 385:1, 1-10.
- Rikans, L. E. ve Hornbrook, K. R. 1997. Lipid peroxidation, antioxidant protection and aging. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1362:2-3, 116-127.
- Roche, M., Rondeau, P., Singh, N. R., Tarnus, E. ve Bourdon, E. 2008. The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS letters*, 582:13, 1783-1787.
- Russo, A., Izzo, A. A., Borrelli, F., Renis, M. ve Vanella, A. 2003. Free radical scavenging capacity and protective effect of *Bacopa monniera* L. on DNA damage. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 17:8, 870-875.
- Rybak, L. P., Husain, K., Whitworth, C. ve Somani, S. M. 1999. Dose dependent protection by lipoic acid against cisplatin-induced ototoxicity in rats: antioxidant defense system. *Toxicological sciences: an official journal of the Society of Toxicology*, 47:2, 195-202.
- Salar, R. K. ve Purewal, S. S. 2017. Phenolic content, antioxidant potential and DNA damage protection of pearl millet (*Pennisetum glaucum*) cultivars of North Indian region. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11:1, 126-133.
- Saleem, M. ve Ohshima, H. 2004. Xanthine oxidase converts nitric oxide to nitroxyl that inactivates the enzyme. *Biochemical and biophysical research communications*, 315:2, 455-462.
- Sarikürkcü, C., Zengin, G., Aktümsek, A. ve Ceylan, O. 2014. *Sonchus Asper* Subsp. *Glaucescens* (Asteraceae)'in Antioksidan Özellikleri. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 38, 28-37.
- Sastre, J., Pallardó, F. V. ve Viña, J. 1996. Glutathione, oxidative stress and aging. *Age*, 19:4, 129-139.
- Saxena, G., McCutcheon, A., Farmer, S., Towers, G. ve Hancock, R. 1994. Antimicrobial constituents of *Rhus glabra*. *Journal of ethnopharmacology*, 42:2, 95-99.
- Sayılan, G. 2008. *Streptozotosin ile diyabet geliştirilmiş sıçanlarda L-karnitin protein oksidasyonu üzerine etkisi*. Yüksek Lisans Tezi. Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 4-10, Edirne.
- Schöneich, C. 1999. Reactive oxygen species and biological aging: a mechanistic approach. *Experimental gerontology*, 34:1, 19-34.
- Schraufstatter, I. U., Hinshaw, D. B., Hyslop, P. A., Spragg, R. G. ve Cochrane, C. G. 1986. Oxidant injury of cells. DNA strand-breaks activate polyadenosine

- diphosphate-ribose polymerase and lead to depletion of nicotinamide adenine dinucleotide. *The Journal of clinical investigation*, 77:4, 1312-1320.
- Schreck, R. ve Baeuerle, P. A. 1991. A role for oxygen radicals as second messengers. *Trends in cell biology*, 1:2-3, 39-42.
- Schulz, J. B., Lindenau, J., Seyfried, J. ve Dichgans, J. 2000. Glutathione, oxidative stress and neurodegeneration. *European Journal of Biochemistry*, 267:16, 4904-4911.
- Secoy, D. ve Smith, A. 1983. Use of plants in control of agricultural and domestic pests. *Economic Botany*, 37:1, 28-57.
- Sen, C. K., Roy, S., Han, D. ve Packer, L. 1997. Regulation of cellular thiols in human lymphocytes by  $\alpha$ -lipoic acid: A flow cytometric analysis. *Free Radical Biology and Medicine*, 22:7, 1241-1257.
- Sen, S. ve Chakraborty, R. 2011. *Oxidative stress: diagnostics, prevention, and therapy*. ACS Publications, 1-37.
- Senköylü, N. 2001. Yemlik Yaglar. Trakya Universitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü. *Tekirdag, Turkey*.
- Sevgi, K., Tepe, B. ve Sarikurkcu, C. 2015. Antioxidant and DNA damage protection potentials of selected phenolic acids. *Food and Chemical Toxicology*, 77, 12-21.
- Shacter, E. 2000. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug metabolism reviews*, 32:3-4, 307-326.
- Shafi, P., Rosamma, M., Jamil, K. ve Reddy, P. 2002. Antibacterial activity of the essential oil from *Aristolochia indica*. *Fitoterapia*, 73:5, 439-441.
- Shahidi, F. 2000. Antioxidants in food and food antioxidants. *Food/nahrung*, 44:3, 158-163.
- Shapiro, S. M. 2003. Bilirubin toxicity in the developing nervous system. *Pediatric neurology*, 29:5, 410-421.
- Shirwaikar, A. ve Somashekar, A. 2003. Antiinflammatory activity and free radical scavenging studies of *Aristolochia bracteolata* Lam. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 65:1, 67.
- Siems, W. G., Grune, T. ve Esterbauer, H. 1995. 4-Hydroxynonenal formation during ischemia and reperfusion of rat small intestine. *Life sciences*, 57:8, 785-789.
- Singh, I. 1996. Mammalian peroxisomes: metabolism of oxygen and reactive oxygen species. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 804:1, 612-627.
- Singh, U., Devaraj, S. ve Jialal, I. 2005. Vitamin E, oxidative stress, and inflammation. *Annu. Rev. Nutr.*, 25, 151-174.
- Singleton, V. L. ve Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16:3, 144-158.
- Sirko, A. ve Brodzik, R. 2000. Plant ureases: roles and regulation. *Acta Biochimica Polonica*, 47:4, 1189-1195.
- Song, K.-H., Lee, W. J., Koh, J.-M., Kim, H. S., Youn, J.-Y., Park, H.-S., Koh, E. H., Kim, M.-S., Youn, J. H. ve Lee, K.-U. 2004.  $\alpha$ -Lipoic acid prevents diabetes mellitus in diabetes-prone obese rats. *Biochemical and biophysical research communications*, 326:1, 197-202.
- Sonnen, J. A., Larson, E. B., Gray, S. L., Wilson, A., Kohama, S. G., Crane, P. K., Breitner, J. C. ve Montine, T. J. 2009. Free radical damage to cerebral cortex in

- Alzheimer's disease, microvascular brain injury, and smoking. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 65:2, 226-229.
- Sood, D. ve Venkatesh, R. 2011. A review of the physiological implications of antioxidants in food.
- Spitsin, S. V., Scott, G. S., Mikheeva, T., Zborek, A., Kean, R. B., Brimer, C. M., Koprowski, H. ve Hooper, D. C. 2002. Comparison of uric acid and ascorbic acid in protection against EAE. *Free Radical Biology and Medicine*, 33:10, 1363-1371.
- Squadrito, G. L., Cueto, R., Splenser, A. E., Valavanidis, A., Zhang, H., Uppu, R. M. ve Pryor, W. A. 2000. Reaction of uric acid with peroxynitrite and implications for the mechanism of neuroprotection by uric acid. *Archives of biochemistry and biophysics*, 376:2, 333-337.
- Stahl, W. ve Sies, H. 1996. Lycopene: a biologically important carotenoid for humans? *Archives of biochemistry and biophysics*, 336:1, 1-9.
- Stiborová, M., Frei, E., Arlt, V. M. ve Schmeiser, H. H. 2008. Metabolic activation of carcinogenic aristolochic acid, a risk factor for Balkan endemic nephropathy. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 658:1-2, 55-67.
- Stief, T. W. 2003. The physiology and pharmacology of singlet oxygen. *Medical Hypotheses*, 60:4, 567-572.
- Storz, P. 2005. Reactive oxygen species in tumor progression. *Front biosci*, 10:1-3, 1881-1896.
- Sugio, S., Kashima, A., Mochizuki, S., Noda, M. ve Kobayashi, K. 1999. Crystal structure of human serum albumin at 2.5 Å resolution. *Protein engineering*, 12:6, 439-446.
- Suh, J. H., Shigeno, E. T., Morrow, J. D., Cox, B., Rocha, A. E., Frei, B. ve Hagen, T. M. 2001. Oxidative stress in the aging rat heart is reversed by dietary supplementation with (R)- $\alpha$ -lipoic acid. *The FASEB journal*, 15:3, 700-706.
- Şahinli, A. S. 2008. *Sigara içen ve içmeyen gebelerin kord kanında oksidatif stres faktörleri ve iskemi modifiye albümin düzeylerinin değerlendirilmesi*. Uzmanlık Tezi. Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Aile Hekimliği Ana Bilim Dalı, 45, Konya.
- Şener, G. 2009. İskemi reperfüzyon hasarı. *Klinik Gelişim Derg*, 22:3, 5-14.
- Tamer, L., Polat, G., Eskandari, G., Ercan, B. ve Atik, U. 2012. Serbest radikaller. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 1:1, 52-58.
- Tan, D.-X., Chen, L.-D., Poeggeler, B., Manchester, L., Reiter, R. ve Poeggler, B. 1993. Melatonin a potent endogenous hydroxyl radical scavenger.
- Tayefi N. H. 2009. *Elektromanyetik alanların miyokard dokusunda ultrastrüktür, apoptozis ve oksidatif stres üzerine etkileri*. Doktora Tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Anatomi Anabilim Dalı, 16-21, İzmir.
- Tekkes, Y. 2006. *Streptozotosin ile diabet oluşturulmuş farelerde aspirin ve E vitaminin dokularda lipid peroksidasyonu ve antioksidan sisteme etkisinin araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, 66, Kahramanmaraş.
- Tengerdy, R. P. 1990. The role of vitamin E in immune response and disease resistance. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 587, 24-33.

- Tepe, B., Degerli, S., Arslan, S., Malatyali, E. ve Sarikurkcu, C. 2011. Determination of chemical profile, antioxidant, DNA damage protection and antiamebic activities of *Teucrium polium* and *Stachys iberica*. *Fitoterapia*, 82:2, 237-246.
- Terao, J., Piskula, M. ve Yao, Q. 1994. Protective effect of epicatechin, epicatechin gallate, and quercetin on lipid peroxidation in phospholipid bilayers. *Archives of biochemistry and biophysics*, 308:1, 278-284.
- Thirugnanasampandan, R., Mahendran, G. ve Bai, V. N. 2008. Antioxidant properties of some medicinal Aristolochiaceae species. *African Journal of Biotechnology*, 7:4.
- Thomas, S. R. ve Stocker, R. 2000. Molecular action of vitamin E in lipoprotein oxidation:: Implications for atherosclerosis. *Free Radical Biology and Medicine*, 28:12, 1795-1805.
- Tosunoglu, A. ve Malyer, H. (2014). *Aristolochia adalica* (Aristolochiaceae), a new species from Anatolia, Turkey. *Annales Botanici Fennici*, BioOne, 161-167.
- Traber, M. G. ve Atkinson, J. 2007. Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radical Biology and Medicine*, 43:1, 4-15.
- Tripatara, P., Onlamul, W., Booranasubkajorn, S., Wattanarangsang, J., Huabprasert, S., Lumlerdkij, N., Akarasereenont, P. ve Laohapand, T. 2012. The safety of Homnawakod herbal formula containing *Aristolochia tagala* Cham. in Wistar rats. *BMC complementary and alternative medicine*, 12:1, 170.
- Turunen, M., Olsson, J. ve Dallner, G. 2004. Metabolism and function of coenzyme Q. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1660:1-2, 171-199.
- Uğuzlar, H. 2009. *Antalya'da yetişen Areceae arum dioscorides tohumlarının antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde tayini*. Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, 8-10, Konya.
- Ulakoğlu, E. Z., Gümüştaş, M. K., Belce, A., Altuğ, T. ve Kökoğlu, E. 2014. Strese Bağlı Mide Mukozası Hasarında Endojen Glutasyon Tükenişinin Enerji Metabolizması İle İlişkisi. *Cerrahpaşa tıp dergisi*, 29:3, 127-131.
- Ulusoy, S. 2003. Yoğun bakım ünitesinde Gram-pozitif mikroorganizmalar ve direnç sorunu. *Yoğun Bakım Derg*, 3:2, 118-128.
- Urso, M. L. ve Clarkson, P. M. 2003. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology*, 189:1-2, 41-54.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M. ve Telser, J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39:1, 44-84.
- Valko, M., Rhodes, C., Moncol, J., Izakovic, M. ve Mazur, M. 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160:1, 1-40.
- Vallyathan, V., Leonard, S., Kuppasamy, P., Pack, D., Chzhan, M., Sanders, S. P. ve Zweir, J. L. 1997. Oxidative stress in silicosis: evidence for the enhanced clearance of free radicals from whole lungs. *Molecular and cellular biochemistry*, 168:1-2, 125-132.
- Van der Vliet, A. ve Bast, A. 1992. Effect of oxidative stress on receptors and signal transmission. *Chemico-biological interactions*, 85:2-3, 95-116.
- Vatassery, G. 1998. Vitamin E and other endogenous antioxidants in the central nervous system. *Geriatrics (Basel, Switzerland)*, 53, S25-27.

- Velioglu, Y., Mazza, G., Gao, L. ve Oomah, B. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46:10, 4113-4117.
- Vinson, J. A. 2006. Oxidative stress in cataracts. *Pathophysiology*, 13:3, 151-162.
- Wagner, S. T., Hesse, L., Isnard, S., Samain, M.-S., Bolin, J., Maass, E., Neinhuis, C., Rowe, N. P. ve Wanke, S. 2014. Major trends in stem anatomy and growth forms in the perianth-bearing Piperales, with special focus on *Aristolochia*. *Annals of botany*, 113:7, 1139-1154.
- Wagner, S. T., Isnard, S., Rowe, N. P., Samain, M. S., Neinhuis, C. ve Wanke, S. 2012. Escaping the lianoid habit: Evolution of shrub-like growth forms in *Aristolochia* subgenus *Isotrema* (*Aristolochiaceae*). *American Journal of Botany*, 99:10, 1609-1629.
- Wall, M. E., Taylor, H. ve Wani, M. 1987. Plant antitumor agents, 24. Rapid 9-KB assay. *Journal of Natural Products*, 50:4, 764-766.
- Wang, Y.-C. 2014. Medicinal plant activity on Helicobacter pylori related diseases. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 20:30, 10368.
- Wanke, S., González, F. ve Neinhuis, C. 2006. Systematics of pipevines: Combining morphological and fast-evolving molecular characters to investigate the relationships within subfamily Aristolochioideae (*Aristolochiaceae*). *International Journal of Plant Sciences*, 167:6, 1215-1227.
- Wanke, S., Jaramillo, M. A., Borsch, T., Samain, M.-S., Quandt, D. ve Neinhuis, C. 2007. Evolution of Piperales—matK gene and trnK intron sequence data reveal lineage specific resolution contrast. *Molecular phylogenetics and evolution*, 42:2, 477-497.
- Ward, J. 1994. Free radicals, antioxidants and preventive geriatrics. *Australian family physician*, 23:7, 1297-1301, 1305.
- Watanabe, S., Kang, D.-H., Feng, L., Nakagawa, T., Kanellis, J., Lan, H., Mazzali, M. ve Johnson, R. J. 2002. Uric acid, hominoid evolution, and the pathogenesis of salt-sensitivity. *Hypertension*, 40:3, 355-360.
- Welfare, F. F. 2002. Briefing Paper 2, Fisheries Society of the British Isles: Granta Information Systems, Cambridge: UK.
- Winterbourn, C. C. ve Kettle, A. J. 2003. Radical–radical reactions of superoxide: a potential route to toxicity. *Biochemical and biophysical research communications*, 305:3, 729-736.
- Wiseman, A. 1986. Handbook of enzyme biotechnology, 2nd edn.: Horwood, Chichester, 1985 (ISBN 0-85312-420-5). 457 pp. Price£ 42.50: Elsevier.
- Wu, T.-S., Chan, Y.-Y. ve Leu, Y.-L. 2000. The constituents of the root and stem of *Aristolochia cucurbitifolia* hayata and their biological activity. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 48:7, 1006-1009.
- Wu, T.-S., Damu, A. G., Su, C.-R. ve Kuo, P.-C. 2004. Terpenoids of *Aristolochia* and their biological activities. *Natural product reports*, 21:5, 594-624.
- Wu, T.-S., Tsai, Y.-L., Damu, A. G., Kuo, P.-C. ve Wu, P.-L. 2002. Constituents from the root and stem of *Aristolochia elegans*. *Journal of Natural Products*, 65:11, 1522-1525.
- Xia, Y., Hill, K. E., Li, P., Xu, J., Zhou, D., Motley, A. K., Wang, L., Byrne, D. W. ve Burk, R. F. 2010. Optimization of selenoprotein P and other plasma selenium biomarkers for the assessment of the selenium nutritional requirement: a placebo-

controlled, double-blind study of selenomethionine supplementation in selenium-deficient Chinese subjects. *The American journal of clinical nutrition*, 92:3, 525-531.

- Yalçın, M. 2007. *Hepatitli Hastalarda Antioksidan Enzimlerinin Süperoksit Dismutaz (Sod), Glutasyon Peroksidaz (Gsh-Px) ve Katalaz (Cat) Aktivite Düzeylerinin İncelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, 34, Adana.
- Yamamoto, H. a. ve Tang, H. w. 1996. Melatonin attenuates L-cysteine-induced seizures and lipid peroxidation in the brain of mice. *Journal of pineal research*, 21:2, 108-113.
- Yanbeyi, S. 1999. *Aspirin ve antioksidant buthylated hydroxyanisole'ün tavşanlarda eritrosit total katalaz, süperoksit dismutaz ve glutasyon peroksidaz aktiviteleri üzerine etkileri*. Doktora Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, 88, Samsun.
- Yazıcı, C. ve Kader, K. 2004. Melatonin: Karanlığın Antioksidan Gücü. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13:2, 56-66.
- Yeşil, E. ve Çelik, A. 2017. Yağ Asitleri ve Antioksidanlar. *Türkiye Klinikleri Cardiology-Special Topics*, 10:4, 274-280.
- Yıldız, M. 2001. "Serbest radikaller oksidatif hasar ve antioksidan savunma". *Fen Bilimleri Entitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Semineri*, Fırat Üniversitesi, Elazığ.
- Young, I. ve Woodside, J. 2001. Antioxidants in health and disease. *Journal of clinical pathology*, 54:3, 176-186.
- Young, J. F., Stagsted, J., Jensen, S. K., Karlsson, A. ve Henckel, P. 2003. Ascorbic acid, alpha-tocopherol, and oregano supplements reduce stress-induced deterioration of chicken meat quality. *Poultry science*, 82:8, 1343-1351.
- Yu, B. P. 1994. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiological reviews*, 74:1, 139-162.
- Yu, J. Q., Liao, Z. X., Cai, X. Q., Lei, J. C. ve Zou, G. L. 2007. Composition, antimicrobial activity and cytotoxicity of essential oils from *Aristolochia mollissima*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 23:2, 162-167.
- Zhang, H., Cifone, M., Murli, H., Erexson, G., Mecchi, M. ve Lawlor, T. 2004. Application of simplified in vitro screening tests to detect genotoxicity of aristolochic acid. *Food and Chemical Toxicology*, 42:12, 2021-2028.
- Zhang, L., Mulrooney, S. B., Leung, A. F., Zeng, Y., Ko, B. B., Hausinger, R. P. ve Sun, H. 2006. Inhibition of urease by bismuth (III): implications for the mechanism of action of bismuth drugs. *Biometals*, 19:5, 503-511.
- Zhishen, J., Mengcheng, T. ve Jianming, W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64:4, 555-559.
- Zingg, J.-M. ve Azzi, A. 2004. Non-antioxidant activities of vitamin E. *Current medicinal chemistry*, 11:9, 1113-1133.
- Zurita, J. L., Jos, Á., del Peso, A., Salguero, M., López-Artíguez, M. ve Repetto, G. 2007. Ecotoxicological effects of the antioxidant additive propyl gallate in five aquatic systems. *Water research*, 41:12, 2599-2611.