

**T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**CİVANPERÇEMİ (*Achillea millefolium*), ALIÇ (*Crataegus monogyna*) VE
BÖĞÜRTLEN (*Rubus discolor*)'İN TOPLAM ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN
BELİRLENMESİ VE OKSİDATİF STRES OLUŞTURULMUŞ RATLARDA BAZI
BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Serhat KESER

Anabilim Dalı: Kimya

Programı: Biyokimya

Danışman: Prof. Dr. Sait ÇELİK

OCAK-2012

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**CİVANPERÇEMİ (*Achillea millefolium*), ALIÇ (*Crataegus monogyna*) VE
BÖĞÜRTLEN (*Rubus discolor*)'İN TOPLAM ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN
BELİRLENMESİ VE OKSİDATİF STRES OLUŞTURULMUŞ RATLARDA BAZI
BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Serhat KESER

(06117201)

Anabilim Dalı: Kimya

Programı: Biyokimya

Danışman: Prof. Dr. Sait ÇELİK

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 16 Aralık 2011

OCAK-2012

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**CİVANPERÇEMİ (*Achillea millefolium*), ALIÇ (*Crataegus monogyna*) VE
BÖĞÜRTLEN (*Rubus discolor*)'İN TOPLAM ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN
BELİRLENMESİ VE OKSİDATİF STRES OLUŞTURULMUŞ RATLARDA BAZI
BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Serhat KESER

(06117201)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 16 Aralık 2011
Tezin Savunulduğu Tarih : 09 Ocak 2012

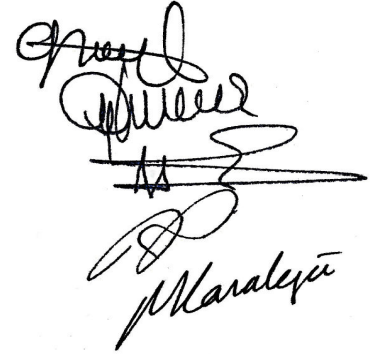
Tez Danışmanı : Prof. Dr. Sait ÇELİK (F.Ü)

Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Ökkeş YILMAZ (F.Ü)

Prof. Dr. Metin DIĞRAK (K.S.Ü)

Prof. Dr. Memet ŞEKERCİ (F.Ü)

Doç. Dr. Mustafa KARATEPE (F.Ü)



OCAK-2012

ÖNSÖZ

Tez konumu belirleyen ve çalışmalarımı yönlendiren, desteğini, bilgisini, tecrübelerini benimle sürekli paylaşan ve her konuda destek olan danışman hocam Prof. Dr. Sait ÇELİK'e teşekkürlerimi sunarım. Tezimin bütün deney ve planlama aşamalarında, deneylerin gerçekleştirilmesi ve değerlendirilmesi aşamasında, bilgi ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Ökkeş YILMAZ'a teşekkürü bir borç bilirim. Tezle ilgili deneylerin gerçekleştirilmesi esnasında, bilgi birikimini esirgemeyen, devamlı desteğini hissettiğim sayın hocam Doç. Dr. Mustafa KARATEPE'ye, tezle ilgili proje kapsamında birlikte çalıştığımız, tezle ilgili bitkilerin toplanması ve teşhis edilmesini gerçekleştiren Yrd. Doç. Dr. İsmail TÜRKOĞLU'na, deney hayvanlarıyla ilgili çalışmaların planlanması, gerçekleştirilmesi ve sonuçlandırılması sırasında bilgi ve desteklerini esirgemeyen değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Mehmet TUZCU'ya, deney hayvanlarının kesimi esnasında bana yardımcı olan arkadaşlarım Yrd. Doç. Dr. Muammer BAHŞI'ye, Arş. Gör. Dr. Abdullah ASLAN'a, Arş. Gör. Hasan GENÇOĞLU'na, Doktora Öğrencisi Yüksek Kimyager Sibel SELÇUK'a, Yüksek Lisans Öğrencisi Kimyager Engin ÖZ'e, deneysel aşamalarda yardımları olan değerli arkadaşım Arş. Gör. Dr. Zuhale KARAGÖZ, Teknisyen Abdurrahman ÖKSÜZ ve Teknisyen Yardımcısı Nevzat Vural KILIÇ'a, Kimya Bölüm Şefi Mehmet ORHAN'a ve Biyoloji Bölüm Şefi Cihat YILDIRIM'a teşekkürlerimi sunarım.

Doktora çalışmama mali destek sağlayan 107T898 nolu proje ile TÜBİTAK'a ve 1936 nolu proje ile Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) Yönetim Birimi'ne teşekkürlerimi sunarım.

Desteklerini her zaman yanımda hissettiğim anneme, babama, kardeşlerime ve sevgili eşim Fatma KESER'e en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Serhat KESER
ELAZIĞ – 2012

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ÖZET.....	IX
SUMMARY.....	X
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	XI
TABLolar LİSTESİ.....	XIV
SEMBOLLER LİSTESİ.....	XVII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Antioksidanlar	2
1.1.1. Endojen Antioksidanlar.....	3
1.1.2. Eksojen Antioksidanlar.....	3
1.1.3. Antioksidanlar ve Metabolizma İçin Önemleri.....	5
1.1.4. Glutasyon.....	6
1.1.5. A Vitamini (Retinol).....	7
1.1.6. E Vitamini (α -Tokoferol).....	7
1.1.7. C Vitamini (Askorbik Asit).....	9
1.2. Serbest Radikaller.....	10
1.3. O ₂ 'nin Toksik Etkisi	13
1.4. Süperoksit Radikali	15
1.4.1. Süperoksit Radikalini Etkisiz Hale Getiren Sistemler.....	17
1.4.1.1. Süperoksit Dismutaz	17
1.4.1.2. Süperoksit Radikali Üzerine Doğal Kaynaklı Antioksidanların Etkisi.....	19
1.5. Hidrojen Peroksit.....	19
1.5.1. Hidrojen Peroksiti Etkisiz Hale Getiren Sistemler	20
1.5.1.1. Katalaz.....	20
1.5.1.2. Glutasyon Peroksidaz	21
1.5.1.3. Glutasyon Redüktaz.....	22
1.5.2. Hidrojen Peroksit Üzerine Doğal Kaynaklı Antioksidanların Etkisi	22

	<u>Sayfa No</u>
1.6. Hidroksil Radikali (OH [•]).....	23
1.6.1. Hidroksil Radikali Üzerine Doğal Kaynaklı Antioksidanların Etkisi	24
1.7. Serbest Radikallerin Biyomoleküller Üzerindeki Etkileri.....	24
1.7.1. Membran Lipidleri Üzerine Etkileri.....	25
1.7.2. MDA (Malondialdehit).....	28
1.7.3. Proteinler Üzerine Etkileri	29
1.7.4. Karbonhidratlar Üzerine Etkileri.....	30
1.7.5. Nükleik Asitler ve DNA Üzerine Etkileri.....	30
1.8. Yağ Asitleri	31
1.9. Bitkilerin Canlı Organizmalardaki Etkileri.....	34
1.10. Çalışmada Kullanılan Bitkiler.....	36
1.10.1. Böğürtlen (<i>Rubus discolor</i>).....	36
1.10.2. Alıç (<i>Crataegus monogyna</i>).....	38
1.10.3. Civanperçemi (<i>Achillea millefolium</i>).....	40
2. MATERYAL ve METOD.....	41
2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Organik Çözücüler.....	41
2.2. Yararlanılan Alet ve Cihazlar.....	41
2.3. İnceleme Materyali.....	42
2.4. Ekstraksiyon İşlemleri	43
2.5. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	44
2.5.1. Total Antioksidan Aktivite Tayininde Kullanılan Çözeltiler.....	44
2.5.2. İndirgeme Kuvveti Tayininde Kullanılan Çözeltiler.....	44
2.5.3. Serbest Radikal (DPPH [•]) Giderme Aktivitesi Tayininde Kullanılan Çözeltiler.....	44
2.5.4. Süperoksit Radikali Giderme Aktivitesi Tayininde Kullanılan Çözeltiler.....	45
2.5.5. Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi Tayininde Kullanılan Çözeltiler.....	45
2.5.6. Metal Şelatlama Aktivitesi Tayininde Kullanılan Çözeltiler.....	45
2.5.7. Total Fenolik Bileşik Miktarı Tayininde Kullanılan Çözeltiler.....	45
2.5.8. FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) Testinde Kullanılan Çözeltiler.....	46
2.5.9. ABTS ^{•+} Yok Edici Testinde Kullanılan Çözeltiler.....	46
2.6. <i>In Vitro</i> Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi.....	46
2.6.1. İndirgeme Kuvveti Tayini.....	46
2.6.2. Serbest Radikal (DPPH [•]) Giderme Aktivitesi.....	47

	<u>Sayfa No</u>
2.6.3. Süperoksit Radikalleri Giderme Aktivitesi	48
2.6.4. Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi	49
2.6.5. Metal Şelatlama Aktivitesi	49
2.6.6. Toplam Fenolik Bileşik Miktarı Tayini	50
2.6.7. Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) Testi	51
2.6.8. ABTS ⁺⁺ Yok Edici Testi.....	52
2.6.9. Total Antioksidan Aktivite Tayini	52
2.7. <i>In Vivo</i> Ortamda Yapılan Deney Yöntemleri.....	53
2.7.1. Deney Hayvanları.....	53
2.7.2. Doku Örneklerinin Alınması.....	55
2.7.3. Dokularda Total Protein Miktarının Ölçülmesi	55
2.7.3.1. Protein Kalibrasyon Eğrisinin Oluşturulması.....	56
2.7.4. Dokulardaki Lipid Peroksidasyon Miktarının Ölçülmesi	57
2.7.5. Dokulardaki Glutasyon Miktarının Ölçülmesi	57
2.7.5.1. Glutasyon Kalibrasyon Eğrisinin Oluşturulması.....	58
2.7.6. Dokulardan Lipidlerin Ekstraksiyonu.....	59
2.7.7. Dokulardan Yağ Asidi Metil Esterlerinin Hazırlanması.....	59
2.7.8. Yağ Asidi Metil Esterlerinin Gaz Kromatografik Analizi.....	59
2.7.9. Dokularda ADEK Vitaminleri ve Kolesterol Miktarının HPLC Cihazı ile Analizi...60	60
2.7.10. Enzim Aktivitelerinin Ölçümü.....	61
2.7.10.1. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Enzim Aktivitesinin Ölçümü.....	61
2.7.10.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Ölçümü.....	61
2.7.11. İstatistiksel Analiz.....	61
3. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	62
3.1. Total Antioksidan Aktivite Tayini	62
3.2. İndirgeme Kuvveti Tayini.....	65
3.3. DPPH [•] Radikali Giderme Aktivitesi Tayini.....	69
3.4. ABTS ⁺⁺ Yok Edici Testi	74
3.5. Süperoksit Radikali Giderme Aktivitesi	76
3.6. Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi	80
3.7. Metal Şelatlama Aktivitesi	83
3.8. Toplam Fenolik Bileşik Miktarı Tayini	86

3.9. Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) Testi.....	88
3.10. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Wistar Ratlar Üzerindeki Etkileri.....	92
3.10.1. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Deney Hayvanlarında Lipid Peroksidasyon Oluşumu Üzerine Etkileri.....	92
3.10.1.1. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Karaciğerdeki Lipid Peroksidasyon Oluşumu Üzerine Etkisi.....	92
3.10.1.2. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Böbrekteki Lipid Peroksidasyon Oluşumu Üzerine Etkisi.....	93
3.10.1.3. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Kastaki Lipid Peroksidasyon Oluşumu Üzerine Etkisi.....	93
3.10.1.4. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Beyindeki Lipid Peroksidasyon Oluşumu Üzerine Etkisi.....	94
3.10.1.5. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Dalaktaki Lipid Peroksidasyon Oluşumu Üzerine Etkisi.....	95
3.10.1.6. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Akciğerdeki Lipid Peroksidasyon Oluşumu Üzerine Etkisi.....	96
3.10.2. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Deney Hayvanlarında Glutasyon Miktarı Üzerine Etkileri.....	98
3.10.2.1. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Karaciğerde Glutasyon Miktarı Üzerine Etkisi	98
3.10.2.2. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Böbrekte Glutasyon Miktarı Üzerine Etkisi.....	98
3.10.2.3. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Kalpte Glutasyon Miktarı Üzerine Etkisi.....	99
3.10.2.4. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Kasta Glutasyon Miktarı Üzerine Etkisi.....	100
3.10.2.5. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Beyinde Glutasyon Miktarı Üzerine Etkisi.....	101
3.10.2.6. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Dalakta Glutasyon Miktarı Üzerine Etkisi.....	102
3.10.2.7. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Akciğerde Glutasyon Miktarı Üzerine Etkisi.....	103

3.10.3. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Deney Hayvanlarında Toplam Protein Miktarı Üzerine Etkileri.....	105
3.10.3.1. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Karaciğerde Toplam Protein Miktarı Üzerine Etkisi.....	105
3.10.3.2. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Böbrekte Toplam Protein Miktarı Üzerine Etkisi	105
3.10.3.3. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Kalpte Toplam Protein Miktarı Üzerine Etkisi	106
3.10.3.4. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Kasta Toplam Protein Miktarı Üzerine Etkisi.....	107
3.10.3.5. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Beyinde Toplam Protein Miktarı Üzerine Etkisi.....	108
3.10.3.6. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Dalakta Toplam Protein Miktarı Üzerine Etkisi	109
3.10.3.7. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Akciğerde Toplam Protein Miktarı Üzerine Etkisi.....	110
3.10.4. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Deney Hayvanlarında Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkileri	112
3.10.4.1. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Serumda Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkisi.....	112
3.10.4.2. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Karaciğerde Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkisi	113
3.10.4.3. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Böbrekte Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkisi.....	115
3.10.4.4. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Kalpte Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkisi.....	116
3.10.4.5. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Kasta Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkisi.....	117
3.10.4.6. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Beyinde Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkisi.....	119
3.10.4.7. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Dalakta Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkisi.....	121

Sayfa No

3.10.4.8. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Akciğerde Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkisi.....	123
3.10.5. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Deney Hayvanlarında Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkileri.....	124
3.10.5.1. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Serumda Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkisi.....	124
3.10.5.2. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Karaciğerde Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkisi	125
3.10.5.3. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Böbrekte Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkisi	127
3.10.5.4. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Kalpte Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkisi	128
3.10.5.5. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Kasta Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkisi	130
3.10.5.6. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Beyinde Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkisi.....	131
3.10.5.7. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Dalakta Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkisi.....	133
3.10.5.8. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Akciğerde Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkisi.....	134
3.10.5.9. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Kan Serumunda Kolesterol ve Lipoprotein Bileşimi Üzerine Etkileri.....	136
3.10.6. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Kanda Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkileri.....	137
3.10.6.1. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Kanda GSH-Px Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	137
3.10.6.2. <i>Rubus discolor</i> (Böğürtlen) Ekstraktının Kanda SOD Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	137
4. TARTIŞMA.....	139
4.1. <i>In vitro</i> Ortamda Bitki Ekstraktlarının Antioksidan Özellikleri.....	140
4.2. <i>In vivo</i> Ortamda Bitki Ekstraktının Etkisi.....	161
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	175

	<u>Sayfa No</u>
6. KAYNAKLAR.....	177
7. ÖZGEÇMİŞ.....	191

ÖZET

Bu çalışmada, *Rubus discolor*, *Achillea millefolium*, *Crataegus monogyna*'nın su ve etanol ekstralarının *in vitro* şartlarda antioksidan özellikleri araştırıldı. En yüksek *in vitro* antioksidan özelliğe sahip *R. discolor* çiçek su ekstresi verilen sıçanlarda lipid peroksidasyon (LPO), yağ asidi düzeyi, lipofilik vitamin değerleri, protein ve glutatyon miktarları ile kolesterol düzeyleri ölçüldü. Bu amaçla kontrol, H₂O₂ reaktif ve *Rubus discolor* ekstralarını içeren gruplar ile bunların kombinasyonları kullanıldı.

Ekstrelerin *in vitro* antioksidan ve antiradikal aktivitelerini belirlemek için toplam antioksidan aktivite, 2,2'-azinobis (3-etilbenztiyoazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) radikal giderme aktivitesi, 2,2-difenil-1-pikril-hidrazil (DPPH[•]) serbest radikal giderme aktivitesi, indirgeme kuvveti, süperoksit anyon radikali (O₂^{•-}) giderme aktivitesi, hidrojen peroksit giderme aktivitesi, FRAP testi ve metal şelatlama aktiviteleri ayrı ayrı çalışıldı. Buna ilaveten ekstraların toplam fenolik bileşikleri pirokatekol ve kuersetin miktarı olarak belirlendi. Ekstrelerin -özellikle *R. discolor* (böğürtlen) ekstresinin- etkili bir antioksidan özelliğe sahip olduğu saptandı.

Çalışma sonuçlarımıza göre, *in vivo* ortamda H₂O₂ uygulanan gruplarda LPO'nun arttığı, GSH ve toplam protein miktarlarının azaldığı belirlenmiş, bitki ekstresi verilen gruplarda LPO'nun azaldığı veya önlendiği, GSH ve toplam protein miktarlarının ise arttığı veya korunduğu tespit edilmiştir. Lipofilik vitaminler ve kolesterol seviyelerinin ise bitki ekstresi verilen gruplarda belirgin şekilde etkilendiği gözlenmiştir. Bitki ekstresinin yağ asidi metabolizmasında görevli önemli enzimlerin substratları olan bazı önemli yağ asitlerinin miktarlarını belirgin şekilde etkilediği belirlenmiştir. Ayrıca, bitki ekstresi verilen gruplarda GSH-Px ve SOD enzim miktarlarının arttığı gözlenmiştir.

Sonuç olarak *A. millefolium*, *C. monogyna* ve *R. discolor* bitkilerinin etkili birer antioksidan kaynağı oldukları ve *R. discolor* çiçek ekstralarının de *in vivo* ortamda etkili oldukları söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Böğürtlen, Civanperçemi, Alıç, Antioksidan kapasite, Lipid peroksidasyon, Kolesterol, Lipofilik vitaminler, Yağ asitleri

SUMMARY

Determination of Total Antioxidant Activities of Yarrow (*Achillea millefolium*), Hawthorn (*Crataegus monogyna*) and Blackberry (*Rubus discolor*) and Investigation of Their Effects on Some Biochemical Parameters in Oxidative Stress Generated Rats

In this study, antioxidant properties of extracts water and ethanol of *Rubus discolor*, *Achillea millefolium*, *Crataegus monogyna*, which are under *in vitro* conditions were investigated. The lipid peroxidation (LPO), levels of fatty acid, lipophylic vitamin values and cholesterol levels, the amount of total protein and glutathione were measured in rats applied *R. discolor* flower water extract, highest *in vitro* antioxidant activity. For this purpose, control, H₂O₂ reagent and containing extract of *Rubus discolor* groups and their combinations were used.

In order to determine *in vitro* antioxidant and antiradical activities of extracts, the total antioxidant activity, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical scavenging activity, 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH·) free radical scavenging activity, reducing power, superoxide anion radical (O₂^{•-}) scavenging activity, hydrogen peroxide scavenging activity, FRAP assay and metal chelating activities were performed separately. In addition, total phenolic compound in extracts were determined as pyrocatechol and quercetin equivalent. It was determined that extracts -especially *R. discolor* extract- were effective antioxidant property.

According to our study results, *in vivo* conditions, it was determined that amount of LPO was increased, GSH and total protein levels were decreased in H₂O₂ applied group. And it was observed that amount of LPO was decreased or protected, GSH and total protein levels were increased or protected in extract applied groups. It was observed that lipophylic vitamin and cholesterol levels were clearly affected in extract applied groups. Extract was significantly affected amount of important fatty acids that substrates in fatty acid metabolism on duty enzymes. In addition, it was observed that amount of GSH-Px and SOD increased in the extract applied groups.

In conclusion, it can be said that *A. millefolium*, *C. monogyna* and *R. discolor* extracts are effective source of antioxidants and *R. discolor* flower extracts are effective antioxidants *in vivo* conditions.

Key Words: Blackberry, Yarrow, Hawthorn, Antioxidant capacity, Lipid peroxidation, Cholesterol, Lipophylic vitamins, Fatty acids

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.1. GSH ve GSSG'nin açık formülleri	6
Şekil 1.2. Metabolik olaylar sonucu oksijen radikallerinin oluşumu.....	15
Şekil 1.3. Elektron taşıma zinciri ve süperoksit radikalının açığa çıkması.....	16
Şekil 1.4. Süperoksit dismutaz enziminin etki mekanizması.....	17
Şekil 1.5. Hücrede süperoksit dismutaz'ın etki mekanizması.....	18
Şekil 1.6. Katalaz'ın etki mekanizması.....	21
Şekil 1.7. Serbest radikallerin oluşumu, biyolojik moleküllerin hasara uğratılması ve lipid peroksidasyon olayı sonucunda sekonder ürünlerin oluşması.....	26
Şekil 1.8. Lipid peroksidasyonun fazlarına genel bir bakış.....	27
Şekil 1.9. Linoleik asidin OH [•] radikalının bulunduğu ortamda lipid peroksidasyona uğraması ve son ürün olarak farklı aldehit moleküllerinin oluşması.....	29
Şekil 1.10. Memelilerde esansiyel yağ asitlerinin izlediği metabolik yolları.....	32
Şekil 1.11. Memelilerde Δ^6 ve Δ^5 desaturaz aktivitelerinin modülasyonu ve aşırı doymamış yağ asitlerinin (PUFA) hormonal düzenlenmesi.....	33
Şekil 1.12. <i>Rubus discolor</i> yaprak ve çiçeklerinin görünüşü	37
Şekil 1.13. <i>Rubus discolor</i> ham ve olgun meyvelerinin görünüşü.....	37
Şekil 1.14. <i>Crataegus monogyna</i> yaprak ve çiçeklerinin görünüşü.....	39
Şekil 1.15. <i>Crataegus monogyna</i> meyvelerinin görünüşü.....	39
Şekil 1.16. <i>Achillea millefolium</i> bitkisinin yaprak ve çiçeklerinin görünüşü.....	40
Şekil 2.1. Bir antiradikal (AH) _n tarafından DPPH radikallerinin giderilmesi	47
Şekil 2.2. FRAP testi için hazırlanan standart grafik.....	51
Şekil 2.3. Protein kalibrasyon eğrisi.....	57
Şekil 2.4. Glutatyon kalibrasyon eğrisi.....	58

Şekil 3.1. <i>Achillea millefolium</i> bitkisine ait total antioksidan aktivite tayini sonuçları.....	63
Şekil 3.2. <i>Crataegus monogyna</i> bitkisine ait total antioksidan aktivite tayini sonuçları....	63
Şekil 3.3. <i>Rubus discolor</i> bitkisine ait total antioksidan aktivite tayini sonuçları.....	64
Şekil 3.4. <i>Achillea millefolium</i> bitkisine ait indirgeme kuvveti sonuçları.....	66
Şekil 3.5. <i>Crataegus monogyna</i> bitkisine ait indirgeme kuvveti sonuçları.....	67
Şekil 3.6. <i>Rubus discolor</i> bitkisine ait indirgeme kuvveti sonuçları.....	68
Şekil 3.7. <i>Achillea millefolium</i> bitki ekstrelerinin DPPH giderme aktiviteleri.....	70
Şekil 3.8. <i>Crataegus monogyna</i> bitki ekstrelerinin DPPH giderme aktiviteleri.....	71
Şekil 3.9. <i>Rubus discolor</i> bitki ekstrelerinin DPPH giderme aktiviteleri.....	72
Şekil 3.10. Bitki örnekleri ve standart antioksidanların ABTS radikali yok etme sonuçları.....	75
Şekil 3.11. Bitki ekstreleri ve standart antioksidanların süperoksit radikali giderme aktivitesi sonuçları.....	78
Şekil 3.12. Bitki örnekleri ve standart antioksidanların hidrojen peroksit yok etme sonuçları.....	83
Şekil 3.13. <i>Achillea millefolium</i> bitkisine ait metal şelatlama aktivitesi sonuçları.....	84
Şekil 3.14. <i>Crataegus monogyna</i> bitkisine ait metal şelatlama aktivitesi sonuçları.....	85
Şekil 3.15. <i>Rubus discolor</i> bitkisine ait metal şelatlama aktivitesi sonuçları.....	85
Şekil 3.16. Bitki ekstrelerinin ihtiva ettiği kuersetin ve pirokatekol miktarları	87
Şekil 3.17. Bitki ekstreleri ve standart antioksidanların FRAP testi sonuçları	90
Şekil 3.18. Böğürtlen ekstraktının karaciğerde MDA-TBA seviyesi üzerine etkisi.....	92
Şekil 3.19. Böğürtlen ekstraktının böbrekte MDA-TBA seviyesi üzerine etkisi.....	93
Şekil 3.20. Böğürtlen ekstraktının kasta MDA-TBA seviyesi üzerine etkisi.....	94
Şekil 3.21. Böğürtlen ekstraktının beyinde MDA-TBA seviyesi üzerine etkisi.....	95
Şekil 3.22. Böğürtlen ekstraktının dalakta MDA-TBA seviyesi üzerine etkisi.....	96

Şekil 3.23. Böğürtlen ekstraktının akciğerde MDA-TBA seviyesi üzerine etkisi.....	97
Şekil 3.24. Böğürtlen ekstraktının karaciğerde GSH seviyesi üzerine etkisi.....	98
Şekil 3.25. Böğürtlen ekstraktının böbrekte GSH seviyesi üzerine etkisi.....	99
Şekil 3.26. Böğürtlen ekstraktının kalpte GSH seviyesi üzerine etkisi.....	100
Şekil 3.27. Böğürtlen ekstraktının kasta GSH seviyesi üzerine etkisi.....	101
Şekil 3.28. Böğürtlen ekstraktının beyinde GSH seviyesi üzerine etkisi.....	102
Şekil 3.29. Böğürtlen ekstraktının dalakta GSH seviyesi üzerine etkisi.....	103
Şekil 3.30. Böğürtlen ekstraktının akciğerde GSH seviyesi üzerine etkisi.....	104
Şekil 3.31. Böğürtlen ekstraktının karaciğerde toplam protein seviyesi üzerine etkisi....	105
Şekil 3.32. Böğürtlen ekstraktının böbrekte toplam protein seviyesi üzerine etkisi.....	106
Şekil 3.33. Böğürtlen ekstraktının kalpte toplam protein seviyesi üzerine etkisi.....	107
Şekil 3.34. Böğürtlen ekstraktının kasta toplam protein seviyesi üzerine etkisi.....	108
Şekil 3.35. Böğürtlen ekstraktının beyinde toplam protein seviyesi üzerine etkisi.....	109
Şekil 3.36. Böğürtlen ekstraktının dalakta toplam protein seviyesi üzerine etkisi.....	110
Şekil 3.37. Böğürtlen ekstraktının akciğerde toplam protein seviyesi üzerine etkisi.....	111
Şekil 3.38. Böğürtlen ekstraktının kan serumunda GSH-Px seviyesi üzerine etkisi.....	137
Şekil 3.39. Böğürtlen ekstraktının kan serumunda SOD seviyesi üzerine etkisi.....	138

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1.1. Antioksidanların sınıflandırılması	5
Tablo 1.2. Reaktif oksijen ve azot türleri.....	13
Tablo 1.3. Serbest radikallerin hücredeki başlıca zararlı etkileri.....	25
Tablo 2.1. Çalışmada kullanılan bitkilerin toplanma detayları.....	42
Tablo 2.2. Kuru bitki ağırlığına karşılık gelen ekstre miktarları ve yüzdeleri.....	43
Tablo 2.3. Deney hayvanlarına verilen yemin bileşimi.....	54
Tablo 2.4. Gruplardaki ratların haftalara göre ağırlık değişimleri (gram).....	55
Tablo 3.1. Bitki örnekleri ve standart antioksidanların peroksidasyonu inhibe etme yüzdeleri.....	65
Tablo 3.2. Bitki ekstreleri ve standart antioksidanların indirgeme kuvveti sonuçları.....	69
Tablo 3.3. Bitki ekstreleri ve standart antioksidanların DPPH radikali yok etme yüzdeleri.....	73
Tablo 3.4. Bitki örnekleri ve standart antioksidanların ABTS radikali yok etme yüzdeleri.....	76
Tablo 3.5. Bitki ekstreleri ve standart antioksidanların süperoksit radikali giderme aktivitesi sonuçları.....	79
Tablo 3.6. Bitki ekstreleri ve standart antioksidanların süperoksit radikali giderme aktivitesi sonuçları (%).....	80
Tablo 3.7. Bitki ekstreleri ve standart antioksidanların hidrojen peroksit giderme aktivitesi sonuçları.....	82
Tablo 3.8. Bitki ekstreleri ve standart antioksidanların metal şelatlama aktivitesi sonuçları.....	86
Tablo 3.9. Bitki ekstrelerinin ihtiva ettiği toplam fenolik bileşik miktarları.....	88
Tablo 3.10. Bitki ekstreleri ve antioksidanların Fe^{+3} 'den indirgediği Fe^{+2} miktarları.....	91
Tablo 3.11. <i>Rubus discolor</i> ekstraktının dokularda LPO miktarı üzerine etkileri.....	97

Tablo 3.12. <i>Rubus discolor</i> ekstraktının dokularda GSH miktarı üzerine etkileri.....	104
Tablo 3.13. <i>Rubus discolor</i> ekstraktının dokularda toplam protein miktarı üzerine etkileri.....	111
Tablo 3.14. <i>Rubus discolor</i> ekstraktının serumda yağ asitleri profili üzerine etkisi (nmol/mL).....	113
Tablo 3.15. <i>Rubus discolor</i> ekstraktının karaciğer dokusunda yağ asitleri profili üzerine etkisi (mg/g).....	114
Tablo 3.16. <i>Rubus discolor</i> ekstraktının böbrek dokusunda yağ asitleri profili üzerine etkisi (mg/g).....	116
Tablo 3.17. <i>Rubus discolor</i> ekstraktının kalp dokusunda yağ asitleri profili üzerine etkisi (mg/g).....	117
Tablo 3.18. <i>Rubus discolor</i> ekstraktının kas dokusunda yağ asitleri profili üzerine etkisi (mg/g).....	119
Tablo 3.19. <i>Rubus discolor</i> ekstraktının beyin dokusunda yağ asitleri profili üzerine etkisi (mg/g).....	121
Tablo 3.20. <i>Rubus discolor</i> ekstraktının dalak dokusunda yağ asitleri profili üzerine etkisi (mg/g).....	122
Tablo 3.21. <i>Rubus discolor</i> ekstraktının akciğer dokusunda yağ asitleri profili üzerine etkisi (mg/g).....	124
Tablo 3.22. <i>Rubus discolor</i> ekstraktının serumda biyokimyasal parametreler üzerine etkisi (mg/mL)	125
Tablo 3.23. <i>Rubus discolor</i> ekstraktının karaciğer dokusunda biyokimyasal parametreler üzerine etkisi (µg/g).....	126
Tablo 3.24. <i>Rubus discolor</i> ekstraktının böbrek dokusunda biyokimyasal parametreler üzerine etkisi (µg/g).....	128
Tablo 3.25. <i>Rubus discolor</i> ekstraktının kalp dokusunda biyokimyasal parametreler üzerine etkisi (µg/g).....	130
Tablo 3.26. <i>Rubus discolor</i> ekstraktının kas dokusunda biyokimyasal parametreler üzerine etkisi (µg/g).....	131
Tablo 3.27. <i>Rubus discolor</i> ekstraktının beyin dokusunda biyokimyasal parametreler üzerine etkisi (µg/g).....	132

Tablo 3.28. <i>Rubus discolor</i> ekstraktının dalak dokusunda biyokimyasal parametreler üzerine etkisi (µg/g).....	134
Tablo 3.29. <i>Rubus discolor</i> ekstraktının akciğer dokusunda biyokimyasal parametreler üzerine etkisi (µg/g).....	135
Tablo 3.30. <i>Rubus discolor</i> ekstraktının kan serumunda kolesterol ve lipoprotein bileşimi üzerine etkisi (mg/dL).....	136
Tablo 3.31. <i>Rubus discolor</i> ekstraktının kan serumunda antioksidan enzim seviyeleri üzerine etkisi.....	138
Tablo 4.1. <i>Crataegus monogyna</i> ekstrelerinin besin ve enerji miktarları.....	155

SEMBOLLER LİSTESİ

A₀	: Kontrol absorbansı
A₁	: Numune absorbansı
ABTS	: 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
ABTS^{•+}	: 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) radikali
BHA	: Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	: Bütillenmiş hidroksitoluen
CAT	: Katalaz enzimi
DPPH	: 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil
DPPH[•]	: 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil radikali
DTNB	: 5,5'-Ditiyo-bis (2-Nitrobenzoik Asit)
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
GSH	: Redükte glutatyon
GSH-Px	: Glutatyon peroksidaz enzimi
GSSG	: Okside glutatyon
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HP	: Hidrojen peroksit grubu
K	: Kontrol grubu
LPO	: Lipid peroksidasyon
MDA	: Malondialdehit
NBT	: Nitroblue tetrazolium
O₂^{•-}	: Süperoksit radikali
OH[•]	: Hidroksil radikali
PBS	: Fosfat tamponu
PMS	: Fenazin meta sülfat
RD	: <i>Rubus discolor</i> grubu
RD+HP	: <i>Rubus discolor</i> +Hidrojen peroksit grubu
SCD	: Stearoil CoA Desaturaz enzimi
SCN⁻	: Tiyosiyanat iyonu
SOD	: Süperoksit dismutaz enzimi
TBA	: Tiyobarbitürik asit
TCA	: Triklorasetik asit

1. GİRİŞ

Canlı sistemlerde meydana gelen bütün fizyolojik olaylar enzim, hormon ve iz elementleri gibi farklı ajanlar tarafından yönetilen oksidasyon ve indirgenme reaksiyonlarının kompleks kombinasyonlarını içerir. Canlı sistemlerde bulunan redoks dengesindeki herhangi bir değişiklik, hücrelerin ve dolayısıyla dokuların fonksiyonlarının bozulmasına sebep olur ve bu durum zamanla ölümle sonuçlanabilir (Gülçin, 2002). Farklı oksidasyon reaksiyonlarını düzenleyen ve dokularda doğal bir şekilde bulunan antioksidan bileşikler, uzun ömürlü determinantların potansiyel bir sınıfı olarak değerlendirilmektedir. Antioksidan bileşiklerde veya antioksidan telafi sistemlerinde bulunan bazı komponentlerin endojen sentezindeki herhangi bir yetersizlik farklı hastalıkları meydana getirebilir (Cutler ve Cao, 1994).

Hücrelerde çok sayıda koruma ve savunma mekanizmaları bulunur. Organizmaların kendilerini oksijen metabolizmasının toksik etkilerine karşı korumaları için bu savunma mekanizmaları gereklidir (Fridovich, 1975). Bu bakımdan biyolojik sistemlerde antoksidatif savunma mekanizmasının araştırılması ile ilgili çalışmalar son zamanlarda büyük önem kazanmıştır. Günümüzde en çok araştırılan biyolojik süreçlerden biri olan yaşlanma dahil, birçok hastalığın oksidatif hasardan kaynaklandığı ispatlanmıştır.

Lipid peroksidasyonu, gıda maddelerinin işlenmesinde ve korunmasında önemli bir sorun oluşturmaktadır. Lipid peroksidasyonu yağlarda ve yağlı yiyeceklerde sadece yiyecekleri bozmakla kalmaz, aynı zamanda kansere, mutasyonlara ve yaşlanmaya sebep olan peroksi ($ROO^{\bullet}$) ve hidroksil ($OH^{\bullet}$) radikalleri ile aktif oksijen türlerini ve serbest radikalleri de meydana getirir (Yagi, 1987). Canlı organizmalarda bu reaktif oksijen türleri farklı şekillerde meydana gelmektedir. Normal aerobik solunum; polimorfonükleer lökositleri, makrofajları ve peroksizomları stimüle eder. Peroksizomlar, hücre tarafından üretilen birçok reaktif oksijen türlerinin temel endojen kaynağıdır. Serbest oksijen radikallerinin temel ekzojen kaynakları ise sigara dumanı, radyasyon, çevre kirliliği, organik çözücüler ve pestisitlerdir (Halliwell ve Gutteridge, 1990).

Serbest radikaller ve diğer reaktif oksijen türleri insan vücudunda sürekli meydana gelmektedir. Serbest radikal mekanizmasının kanser, damar tıkanıklığı, sıtma, romatizmal eklem ağrıları ve nörodejeneratif hastalıkları içeren birçok hastalığın patolojisiyle ilgili olduğu belirtilmiştir. Örneğin süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2)'in

beyin ve sinir sisteminde meydana geldiği bilinmektedir. İnsan beyninin bazı bölgeleri demir bakımından zengindir, bu durumda serbest radikal reaksiyonları kolayca uyarılabilen bir şekilde mobilize olur. Antioksidan savunma mekanizması, mevcut $O_2^{\cdot-}$ ve H_2O_2 'i kolaylıkla giderebilir. Süperoksit dismutaz, hızlı bir şekilde $O_2^{\cdot-}$ 'i H_2O_2 'e çevirebilir. Peroksizomlarda ise katalaz H_2O_2 'i su ve oksijene kolayca çevirebilmektedir. Bu organellerde lokalize halde bulunan oksidaz enzimleri, oksidasyon sonucu meydana gelen H_2O_2 'in giderilmesine yardımcı olurlar. İnsan hücrelerinde diğer önemli H_2O_2 giderici enzimler ise glutatyon peroksidazlardır. Reaktif oksijen türleri ihtiyaçtan fazla üretildiği zaman dokulara hasar verebilir. Bunun yanı sıra doku hasarı sonucu, reaktif oksijen türleri kendiliğinden meydana gelebilir. Örneğin hasar gören hücrelerden fagositlerin veya ilgili geçiş metal iyonlarının uyarılması durumunda reaktif oksijen türleri kolaylıkla kendiliğinden meydana gelebilmektedir. Biyomoleküllerin oksidatif hasarı DNA, lipid veya proteinlerin oksidatif hasara uğraması sonucu oluşan ürünlerden yararlanılarak hesaplanabilir. Çünkü DNA oksidasyonu sonucu 8-hidroksideoksiguanozin, lipidlerin oksidasyonu sonucu izoprostanlar ve proteinlerin oksidasyonu sonucu da yapıları değişmiş amino asitler meydana gelmektedir (Gülçin ve ark., 2002).

1.1. Antioksidanlar

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler.

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler.

1) Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirir (**toplayıcı etki**). Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.

2) Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürür (**bastırıcı etki**). Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.

3) Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engellerler (**zincir kırıcı etki**). Hemoglobinin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.

4) Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılmasını sağlarlar (**onarıcı etki**).

Antioksidanlar, endojen kaynaklı veya eksojen kaynaklı olabilirler:

1.1.1. Endojen Antioksidanlar

Endojen antioksidanlar, enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar.

Enzim olan endojen antioksidanlar şunlardır:

- 1) Süperoksit dismutaz (SOD).
- 2) Glutasyon peroksidaz (GSH-Px).
- 3) Glutasyon S-Transferazlar (GST).
- 4) Katalaz (CAT).
- 5) Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi.
- 6) Hidroperoksidaz.

Enzim olmayan endojen antioksidanlar şunlardır:

- 1) Melatonin.
- 2) Seruloplazmin.
- 3) Transferrin.
- 4) Miyogloblin.
- 5) Hemogloblin.
- 6) Ferritin.
- 7) Bilirubin.
- 8) Glutasyon.
- 9) Sistein.
- 10) Metiyonin.
- 11) Ürat.
- 12) Laktoferrin.
- 13) Albümin.

1.1.2. Eksojen Antioksidanlar

İnsanlar için eksojen antioksidanlar, vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olmak üzere sınıflandırılabilirler.

Vitamin eksojen antioksidanlar şunlardır:

- 1) α - tokoferol (vitamin E).

2) β -karoten.

3) Askorbik asit (vitamin C).

4) Folik asit (folat).

İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar şunlardır:

1) Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten).

2) NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, diphenylene iodonium).

3) Rekombinant süperoksit dismutaz.

4) Troloks (vitamin E analogu).

5) Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GSH-Px aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein).

6) Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin).

7) Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin).

8) Nötrofil adezyon inhibitörleri.

9) Sitokinler (TNF ve IL-1).

10) Barbitüratlar.

11) Demir şelatörleri.

Gıdalardaki eksojen antioksidanlar şunlardır:

1) Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT).

2) Bütillenmiş hidroksianisol (BHA).

3) Sodyum benzoat.

4) Etoksikuin.

5) Propilgalat.

6) Fe-süperoksit dismutaz.

Tablo 1.1. Antioksidanların sınıflandırılması

ANTIÖKSİDANLAR			
Vücutta Bulunan Antioksidanlar		Besin Kaynaklı Antioksidanlar	
Enzimler	Küçük Moleküller	Sentetik	Doğal
Katalaz	Askorbik Asit	BHA	Tokoferoller
Peroksidaz	Glutasyon	BHT	Karotenler
Süperoksit Dismutaz	Ürik Asit	TBHQ	Fenoller
Glutasyon Peroksidaz	Metal Bağlayıcılar	Propil Gallat	Flavonlar
Glutasyon Redüktaz	(Hmg ve Myg gibi)	Kuersetin	Kateşinler

1.1.3. Antioksidanlar ve Metabolizma İçin Önemleri

Reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlara kısaca “antioksidanlar” denilmiştir. Antioksidanlar bu amaçla reaktif maddeleri ve reaksiyonlarını bir dengede tutabilmek üzere sürekli aktivite gösterirler. Organizmada süperoksit radikalleri enzimatik dismutasyonla temizlenirken, antioksidan olarak bilinen bileşikler de oksijen radikallerinin yok edilmesini sağlarlar. Bu kimyasal bileşikler arasında A, E, C vitaminleri ve selenyum önemli bir rol oynamaktadır (Byung, 1994).

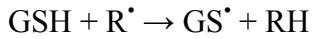
Antioksidanlar hem direkt hem de dolaylı olarak ksenobiyotiklerin, ilaçların, karsinojenlerin ve toksik radikal reaksiyonların istenmeyen etkilerine karşı hücreleri koruyan maddelerdir. Vitamin C, E, A, betakaroten, poliaminler, melatonin, NADPH, adenosin, koenzim Q-10, ürat, ubikuinon, polifenoller, flavonoidler, fitoöstrojenler, sistein, homosistein, taurin, metionin, s-adenozil-L-metionin, resveratrol, nitroksidler, GSH, glutasyon peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz, tioredoksin redüktaz, nitrik oksit sintaz, hem oksijenaz-L ve eozinofil peroksidaz bu gruba girer. Diyetle alınan alfa-tokoferol lipid peroksidasyona karşı korur ve sonuçta steroidlerin neden olduğu karaciğer hücre hasarı ve tümör gelişimine karşı kullanılabilir. Bunlara karşın Krajcovicova ve ark., (2004) Vitamin C ve E’nin artmış lipid peroksidasyon ve serbest radikallere karşı savunmada yetersiz kaldığını belirtmişlerdir. İnsanlarda serebrovasküler hastalıklarda kullanım alanı bulan idebenonun, serbest radikal yok edicisi gibi etki gösterdiği ve lipid peroksidasyona karşı mitokondrial membranı koruduğu belirlenmiştir. Yine anestezi

dozlarda kullanılan propofolun, hücre membranlarında lipid peroksidasyonu sınırlandırabildiği veya durdurabildiği gösterilmiştir (Bao ve ark., 1998).

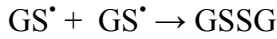
1.1.4. Glutatyon

Glutatyon (GSH) bir tripeptid olup önemli bir tiyol antioksidandır. GSH, hücre içi multifonksiyonel non-enzimatik bir antioksidandır ve hücrenin önemli tiyol-disülfid redoks tamponudur. GSH sitozolde (1-11 mM), çekirdekte (3-15 mM) ve mitokondride (5-11 mM) yüksek miktarlarda bulunur ve bu hücre kompartımanlarının önemli bir çözülebilir antioksidanıdır. GSH glutatyonun indirgenmiş formudur, yükseltgenmiş formu ise glutatyon disülfid (GSSG)'tir (Şekil 1.1). GSH çekirdekte DNA onarımı ve ekspresyonu için gerekli olan kritik protein disülfidrilere redoks basamağını korur (Masella ve ark., 2005).

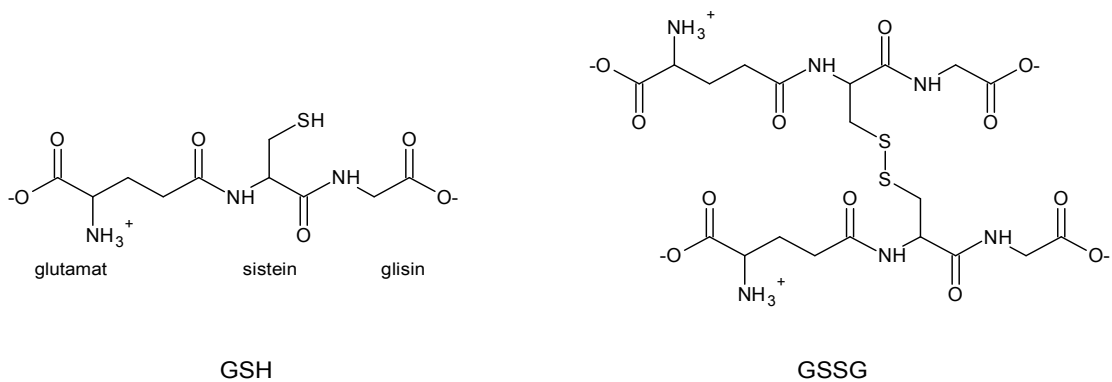
Genellikle tiyol bileşiklerin antioksidan kapasitesi sülfür atomları nedeniyle tek elektronlarını kolaylıkla verebilmelerinden kaynaklanır. Glutatyonun radikal $R^{\bullet}$ ile böyle bir reaksiyonu şöyle tanımlanabilir:



Thiyl radikaller oluşunca radikal olmayan bu ürünler dimerize olarak oksitlenmiş glutatyonu (GSSG) oluştururlar:



Oluşan GSSG hücre içinde toplanır ve GSH/GSSG oranı bir organizmadaki oksidatif stresin iyi bir ölçüsü olarak kabul edilir. Oksitlenmiş glutatyon GSSG'nin çok yüksek konsantrasyonlarda olması birçok enzimdeki hasarı gösterir (Hwang ve ark., 1992).



Şekil 1.1. GSH ve GSSG'nin açık formülleri (Valko ve ark., 2006)

1.1.5. A Vitamini (Retinol)

A vitamini suda çözünmeyen, yağda ve organik çözücülerde çözünen bir madde olup, bir primer alkol grubuna ve çok sayıda doymamış bağa sahiptir. Bir büyüme vitamini olan A vitamininin alkol (retinol), aldehit (retinal) ve asit (retinoik asit) formları da mevcuttur. Memelilerde sadece retinol A vitamini etkisi göstermez, karotenoidler de (α , β ve γ -karotenler) A vitamini etkisi gösterir (Keha ve Küfrevioğlu, 1997). Ayrıca α -karoten ve γ -karotenin birleşmesiyle bir molekül A vitamini oluşur. A vitamini karaciğerde yağ asidi esteri halinde depolanır (Tüzün, 1997). Gıda ile alınan β -karotenler, karoten dioksigenaz enzimi ile oksidatif parçalanmaya uğramaktadırlar. Bu parçalanmada moleküler oksijenden yararlanılmakta ve safra tuzlarının varlığında hızlanan olay sonucunda iki molekül retinal açığa çıkmaktadır. İntestinal mukozada retinal NADPH yardımıyla spesifik bir retinal redüktaz enzimi tarafından retinole indirgenmektedir. Retinolün büyük kısmı doymuş yağ asitleri ile ester oluşturarak kan dolaşımına lenf kanalı ile verilmektedir. Düşük oksijen kısmi basıncında β -karotenlerin antioksidan özellik gösterdikleri yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Keser, 2006).

A vitamini görme, büyüme, üreme ve epitel hücrelerin sağlamlığı fonksiyonlarına sahiptir. İnsanın günlük A vitamini ihtiyacı 1 mg civarındadır. Karaciğer, böbrek, yağ, yumurta sarısı A vitamini için zengin kaynaklardır. Sarı ve koyu yeşil sebzeler ve meyveler A vitamini öncülü olan karotenler bakımından zengindirler. A vitamininin eksikliğinde eklemlerde iltihaplanmalar ve beraberinde göz kornealarında iltihaplar, hastanın görme netliğinin azalması, gözaltı derilerinde büzülmeler, hastanın gece ile gündüz görmelerinde uyumsuzluk gözlenmektedir. (Özer, 1996). A vitamini singlet oksijen temizleyicisi özelliği nedeniyle diğer oksijen radikallerine karşı da koruyucu etki yapar (Kılınç, 1985).

1.1.6. E Vitamini (α -Tokoferol)

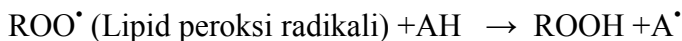
E vitamini, tokoferol yapısında olup, yağda çözünen bir vitamindir. Doğal olarak alfa, beta, gama, eta ve zeta gibi çeşitli tokoferoller bulunmaktadır. Bunların hepsi, izoprenoidlerin değişime uğratıldığı 6-hidroksi kromanlar veya tokoferollerdir. α -tokoferol geniş dağılım gösteren ve en büyük biyolojik aktiviteye sahip olan formudur (Akkuş, 1995). Bitkisel yağlar E vitamini bakımından zengindir. Karaciğer ve yumurta orta derecede E vitamini içerir. α -tokoferol için önerilen günlük gereksinim erkeklerde 10 mg,

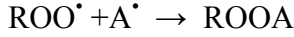
kadınlarda 8 mg'dır. E vitamini gereksinimi, çoklu doymamış yağ asiti alımı arttığı zaman artar. E vitamini ince bağırsaklarda absorplanır. E vitamini eksikliği erken doğan bebeklere özgüdür. Yetişkinlerde genellikle kusurlu lipid Emilimi ve taşınmasıyla görülmektedir. İnsanlarda E vitamini eksikliği belirtileri eritrositlerin peroksitlere karşı duyarlılığı ve anormal hücre membranlarının oluşmasıdır. Enzim ve bileşiklerin çoğu oksidatif stresin etkilerine karşı hücreleri korurlarken E vitamini antioksidan savunmanın tümünde önemli bir yere sahiptir. E vitamini serbest radikallerin oksidasyonuna karşı hücre membranındaki çoklu doymamış yağ asitlerini korumada ilk savunma hattını oluşturur (Zintzen, 1978).

Son çalışmalar α -tokoferol ve askorbik asidin döngüsel olarak beraber fonksiyon gösterdiklerini kanıtlamıştır. Antioksidan reaksiyonu sırasında α -tokoferol, lipid veya lipid peroksil radikaline kararsız hidrojenini vererek α -tokoferol radikaline dönüşür. α -tokoferol radikali, askorbik asit tarafından tekrar orijinal α -tokoferol şekline dönüştürülmektedir (Pryor, 2000; Kojo, 2004).

Birkaç epidemiyolojik çalışmada Vitamin E'nin vücuda girmesinin etkileri rapor edilmiştir. Vitamin E'nin günlük 200 IU alınmasının kanser hücrelerinin apoptozisini tetikleyerek kolorektal kanserin oluş sıklığını azalttığı kanıtlanmıştır. Böylece Vitamin E'nin güçlü bir hücre döngüsü inhibitörü olduğu kabul edilmiştir. Genellikle Vitamin E'nin koruyucu etkisi, endonükleazların aktivasyonunun ve serbest radikal oluşumunu inhibisyonunun bir sonucudur. Diğer çalışmalarla 4 yılın üzerindeki periyotlarda kolorektal kanser adenomayı önlemeye Vitamin C ve beta-karoten ile kombinasyonunda Vitamin E'nin negatif sonuçları da rapor edilmiştir (Greenberg ve ark., 1994). Vitamin C'nin Vitamin E'yi yenilemesinin anlaşılmasından bu yana oksidatif hasara karşı Vitamin C'nin koruyucu etkisine Vitamin E'nin engel olduğu ileri sürülmüştür (Dreher ve Junod, 1996).

Vitamin E, sellüler ve organel zarlar arasına girerek serbest radikalleri daha az reaktif bileşiklere çevirerek zarları lipid peroksidasyona karşı korumaktadır. E vitamini, peroksit ve hidroperoksitleri hidrojen iyonlarıyla doyurup, peroksit radikallerinin aktivitesini azaltarak otooksidasyonun başlatıcısı olan bu reaksiyonları inhibe etmektedir. GSH-Px'e benzer etki göstererek hücrede zar oksidasyonunu önleyerek dokuların yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünü sağlayan E vitamininin, etkisini zar fosfolipidlerinde bulunan araşidonik aside bağlanarak gösterdiği ve kendi başlattığı reaksiyon ile bir radikale (A[•]) dönüşerek peroksidasyon zincir reaksiyonunu kestiği çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (Keser, 2006).





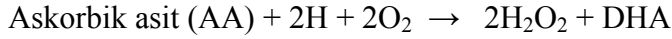
Her bir E vitamini iki oksidasyon zincirini durdurur. Çünkü vitamin E radikali zincirin devamı için az reaktiftir (Erenel ve ark., 1992). E vitamininin antioksidan fonksiyonu çoğu diyetel bileşenlerin durumu ile yakından ilgilidir. E vitamini verilmemiş hayvanlar, E vitamini verilmiş hayvanlara göre çevrenin etkilerine karşı genellikle daha duyarlıdır. E vitamini eksikliği olan deneklerde metabolik olan hidroperoksitler, aldehytler ve diğer oksidasyon ürünlerinin arttığı, E vitamini verilen deneklerde lipid peroksidasyonu sebep olan serbest radikallerin azaldığı gözlenmiştir (Chow, 1991).

E vitamini eksikliğinde oluşan bir takım bozuklukların düzeltilmesinde selenyum (Se)' un etkisi vardır. Dolayısıyla Se antioksidatif mekanizmada oldukça önemli bir görev üstlenmiştir. Ayrıca Se, α -tokoferol'ün bozunmasının önlenmesinde, absorpsiyonunda ve biyolojik aktivitenin artmasında etkilidir. Antioksidanların çoğu, radikallerin etkisini önlemek amacıyla hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Diplock, 1991).

1.1.7. C Vitamini (Askorbik Asit)

Vitamin C, kapalı formülü $C_6H_8O_6$ olan bir ketolaktondur. Kollajenin prolin ve lizin birimlerinin hidroksilasyon reaksiyonlarında koenzim olarak görev alır. Suda çözünebilen vitaminlerden olan askorbik asit, özellikle yeşil taze sebze, patates, domates, meyve ve turunçgillerde bol miktarda bulunur. C vitamini bağırsaklarda kolayca emilir ve kana karışır. Askorbik asit yeterince alınmadığı zaman skorbüt hastalığı, kansızlık ve uyuşukluklar başlar ilerledikçe kanamalar olur, bağ dokuları zayıflar ve kemikler kırılabilir olur. C vitamininin besinlerle fazla alınması, koroner kalp hastalığı ve bazı kanserler gibi kronik hastalıkların görülme sıklığını azaltır. C vitamini fazlası idrar ve terle dışarı atılır. Böylece alınan fazla miktar depo edilmez (Tüzün, 1997).

C vitamini güçlü indirgeyici aktiviteye sahip olduğundan aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Süperoksit ve hidroksil radikali ile kolayca reaksiyona girerek onların temizlenmesinde rol oynar. C vitaminin etkili bir singlet oksijen temizleyicisi olduğu da belirtilmektedir (Kılınç, 1985). İnsanlar, diğer primatlar, kobaylar ve meyve yiyen yarasaların, L-glukonolakton oksidaz enzimini içermedikleri için sentezleyemedikleri gerekli bir diyet vitaminidir. Askorbik asit güçlü bir indirgeyici ajan ve antioksidan olup süperoksit, peroksit ve hidroksil radikalleriyle reaksiyona girerek bir ara ürün olan semidehidroaskorbat yoluyla metaboliti dehidroaskorbik asiti (DHA) oluşturur (Erenel ve ark., 1992):



1.2. Serbest Radikaller

Serbest radikal, orbitalinde paylaşılmamış bir elektron taşıyan herhangi bir bileşiktir. Bu radikaller bir veya daha fazla sayıda eşleşmemiş elektron içeren oldukça reaktif ve toksik bileşiklerdir. Serbest radikaller diğer moleküllerle birleşerek dış yörüngelerindeki elektron sayısını eşleştirmeye böylece kararlı bileşiklere dönüşmeye çalışmaktadırlar (Kılınç, 1985; Akkuş, 1995).

Serbest radikaller ve reaktif karakterli maddeler ile bu maddeleri üreten tüm faktörler “oksidan” veya “prooksidan” olarak tanımlanır. Reaktif karakterli bu tür metabolitlerin oluşumuna yol açan faktörlerin tamamı “prooksidan veya oksidan madde” olarak tanımlanmıştır (Mecoci ve ark., 1997).

Serbest radikaller, hücrelerde endojen ve ekzojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak oluşurlar. Ekzojen kaynaklı etmenler arasında parakuat gibi kimyasalların etkisi altında kalma, karbon tetraklorür, parasetamol gibi ilaç toksikasyonları, iyonize ve ultraviyole radyasyon, hava kirliliği yapan fitokimyasal maddeler, sigara dumanı, solventler gibi çevresel faktörler, nitrofurantoin, bleomisin, doksorubisin ve adriamisin gibi antineoplastik ajanlar, alkol ve uyuşturucular gibi alışkanlık yapıcı maddeler bulunması nedeniyle serbest radikaller toksikolojik açıdan da önemlidir (Özdem ve Sadan, 1994).

Vücutta doğal metabolik yollarla oluşan serbest radikaller, radikal parçalayan antioksidan sistemlerle ortadan kaldırıldığından, herhangi bir sitotoksiste ortaya çıkmaz. Ancak bu işleyişin radikaller lehine bozulduğu durumlarda bir dizi patolojik olay ortaya çıkar. Organizmada serbest radikal oluşturan doğal olayların başlıcaları, mitokondrial elektron transportu, heksoz monofosfat yolu, ksenobiyotiklerin metabolizması, doğal uyaranla fagositik hücrelerin aktivasyonu, biyosentetik ve biyokimyasal yıkım olaylarıdır. Serbest radikallerin hücre dışı etkileri hücreler arası boşluk ve sıvılarda ortaya çıkar. Özellikle eklem ve beyin omurilik sıvılarında antioksidan savunmanın yetersiz olması nedeniyle, bu bölgelerde serbest radikallere bağlı yıkımın daha fazla olduğu gözlenmektedir. Hücreler kendilerini serbest radikallerin oluşturacağı hasarlardan korumak için enzimler, antioksidanlar ve serbest radikal yok edicileri gibi detoksifikasyon sistemlerine bağılırlar (Haskell ve ark., 1970). Organizmada sürekli serbest radikal

üretimi devam ettiğinden bu serbest radikallerin olumsuz etkilerine karşı da birçok savunma sistemi işlemektedir (Ozturk ve ark., 2001).

Oksidatif stres ifadesi, reaktif oksijen türleri ile antioksidan savunma sistemi arasında bulunan dengesizliği ifade eden bir terimdir. Bu dengesizlik reaktif oksijen türleri lehine, başka bir deyişle antioksidan savunma sistemi aleyhinedir. Şiddetli oksidatif stres, hücre hasarlarına ve ölümlere bile sebep olabilmektedir (Gülçin, 2002).

Serbest radikaller ile ilgili çalışmalar Gomberg'in 1900 yılında trifenilmetil radikalinin ($\text{Ph}_3\text{C}^\bullet$) varlığını ispatlamasıyla başladı. Gomberg'e göre serbest radikal bir orbitalinde bir veya birden fazla ortaklanmamış elektron içeren kimyasal türlerdir. Radikallerin reaktiviteleri farklılık göstermesine rağmen, genellikle nonradikallerden daha az stabildirler. En basit radikal, bir proton ve bir elektron içeren hidrojen atomudur.

Hemen her radikal türü diğer bir radikali veya molekülü değişik etkileşimler sonucu etkileyebilir. Bu tür reaksiyonların seçiciliği ve oranı, radikallerin konsantrasyonuna, radikalde bulunan ortaklanmamış elektronun yerleşimine ve radikallerin etkileştiği moleküllerin zayıf bağlar içermesine bağlıdır. Birçok biyolojik molekül, sadece ortaklanmış elektron içeren nonradikallerdir. Bunun yanı sıra serbest radikallerin kimyasal yapısı üzerinde yoğun araştırmalar ve tartışmalar da bulunmaktadır (Moad ve Solomon, 1995).

Tıpta, biyolojide, toksikolojide ve gıdaların bozulmasında serbest radikaller gittikçe artan yoğun bir ilgi alanına sahip olmaktadır. Lipid peroksidasyonunun serbest radikalik reaksiyonları, gıda endüstrisinde imalat süreçleri boyunca karşılaşılan en önemli sorunlardan biridir. İmalatçılar antioksidanları kullanarak, lipid içeren gıdaların oksidasyonunu en aza indirmeyi hedeflerler. Bunun yanı sıra biyomedikalciiler ve klinisyenler de vücudu, reaktif oksijen türleri tarafından oluşan hasara karşı korudukları için antioksidanlara ilgi duymaktadırlar (Aruoma, 1993; Aruoma 1996; Pezzuto, 1997).

Serbest radikaller hidroksil, süperoksit, nitrik oksit ve lipid peroksit radikalleri gibi değişik kimyasal yapılara sahiptir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Oksijen, süperoksit grubuna bazı demir-kükürt içeren yükseltgenme-indirgenme enzimleri ve flavoproteinlerin etkisiyle indirgenir. Son derece etkin olan ve hücre hasarına yol açan süperoksit grubu, bakırlı bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) aracılığıyla hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijene çevrilir. Süperoksit grubundan daha zayıf etkili olan H_2O_2 , dokularda bulunan katalaz, peroksidaz ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi enzimlerle su ve oksijen gibi daha zayıf etkili ürünlere

dönüştürülerek etkisiz kılınır. Dietilditiyokarbamat gibi süperoksit dismutazın etkinliğini engelleyen maddeler, süperoksit gruplarının zararsız hale getirilmesini sınırlandırırken, lipid peroksidasyonu hızlandırırlar. Ayrıca katalazın etkinliğini engelleyen maddeler (aminotriazol gibi herbisidler) de etkin oksijen gruplarına veya bu grupları oluşturan maddelere duyarlılığı artırır (Mercan, 2004).

Oksijenli solunum yapan canlılarda, serbest oksijen radikallerinin oluşması kaçınılmazdır. Bu oksijen kaynaklı radikaller; süperoksit radikali, hidrojen peroksit, serbest hidroksil radikalleridir. Bu radikaller özellikle hücrenin farklı kısımlarında bulunan protein, karbonhidrat, lipid ve DNA gibi molekülleri etkileyerek önemli değişikliklere neden olurlar. Bilhassa hücre zarında bulunan doymamış yağ asitleri bunlar için çok iyi bir hedeftir. Reaktif madde miktarındaki artışların hücresel homeostazisi olumsuz etkilemesini vücut sıvılarında ve hücre membranlarında bulunan ve “antioksidan” olarak isimlendirilen bazı faktörler önleyebilir (Keser, 2006).

Süperoksit gruplarının hızlı bir şekilde oluşturduğu singlet oksijen, hücre zarlarının fosfolipid, glikolipid, gliserid ve sterol yapısındaki doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girerek peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli lipid peroksidasyon ürünlerini oluşturur. Lipid peroksitler, indirgenmiş glutatyona (GSH) bağımlı selenyumlu bir enzim olan GSH-Px tarafından lipid alkollere çevrilerek inaktive edilirse de, gerek süperoksit gruplarıyla fazla miktarda lipid peroksitlerin şekillendirilmesi ve gerek selenyum eksikliği ve gerekse ortamdaki GSH’un tükenmesine neden olabilen dietilmaleat, dioksin gibi maddelerin bulunması, lipid hidroperoksitlerinden serbest lipid grupların oluşmasına yol açar. Serbest lipid grupları da, ayrıca doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olur. Lipid hidroperoksitlerin yıkımı ile oluşan ve biyolojik olarak aktif olan aldehitler ya hücre düzeyinde metabolize olurlar ya da başlangıçtaki etki alanlarında diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarak sekonder bozuklukların da göstergesi olabilirler. Beyin, oksidatif hasara en duyarlı bölgedir. Serbest radikaller, santral sinir sisteminin patolojik durumlarının pek çoğunda, direkt olarak doku hasarı meydana getirirler. Serbest oksijen türleri, ekzitotoksisite, metabolik disfonksiyon ve kalsiyumun intraselüler homeostazisinde bozulma gibi çoğul mekanizmalarla doku hasarı meydana getirirler (Güven ve ark., 2003).

Oksidatif stres kalıtsal bozukluklar, hasarlar, ağır fiziksel aktiviteler, çevredeki fiziksel ve kimyasal (ozon, sigara dumanı ve güneş ışığı) etkilere maruz kalma ile dengesiz beslenme gibi çeşitli şartların artmasıyla meydana gelir. Strese yol açan bu faktörler ise

serbest oksijen radikallerini büyük ölçüde arttırmaktadır (Aslan ve ark., 1997). Son zamanlarda biyokimyasal ara ürünler ve stres sonucu oluşan serbest radikallerin birçok hastalıkla ilişkili olduğunun tespit edilmesi özellikle antioksidanlara karşı olan ilgiyi arttırmıştır (Diplock, 1991).

Sonuç olarak organizma doğuştan kazandığı çok hassas bir donanım sayesinde, fizyolojik aktivitenin doğal sonucu olarak serbest radikal nitelikli biyokimyasal ürünleri “oksidan-antioksidan denge” olarak tanımlanabilecek bir çizgide tutmayı başarır. Tehlikeli olan durum, radikallerin varlığından daha çok oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki bu dengenin herhangi biri lehine bozulmasıdır (Aslan ve ark., 1997; Aalt ve ark., 1991)

Oksidatif strese neden olan reaktif oksijen ve azot türleri Tablo 1.2’de gösterilmiştir:

Tablo 1.2. Reaktif oksijen ve azot türleri

Reaktif Oksijen Türleri			
Radikaller	Formülü	Nonradikaller	Formülü
Süperoksit	$O_2^{\bullet -}$	Hidrojen Peroksit	H_2O_2
Hidroksi	$OH^{\bullet}$	Hipoklorik Asit	$HOCl$
Peroksi	$RO_2^{\bullet}$	Hipobromik Asit	$HOBr$
Alkoksi	$RO^{\bullet}$	Ozon	O_3
Hidroperoksi	$HO_2^{\bullet}$	Singlet Oksijen	$^1\Delta g^1O_2$
Reaktif Azot Türleri			
Nitrik Oksit	$NO^{\bullet}$	Nitroz Asit	HNO_2
Azotdioksit	$NO_2^{\bullet}$	Nitrozil Katyonu	NO^+
		Nitroksi Anyonu	NO^-
		Dinitrojen Tetraoksit	N_2O_4
		Peroksinitrit	$ONOO^-$
		Peroksinitril Asit	$ONOOH$
		Nitronyum Katyonu	NO_2^+
		Alkil Peroksinitritler	$ROONO$

1.3. O_2 'nin Toksik Etkisi

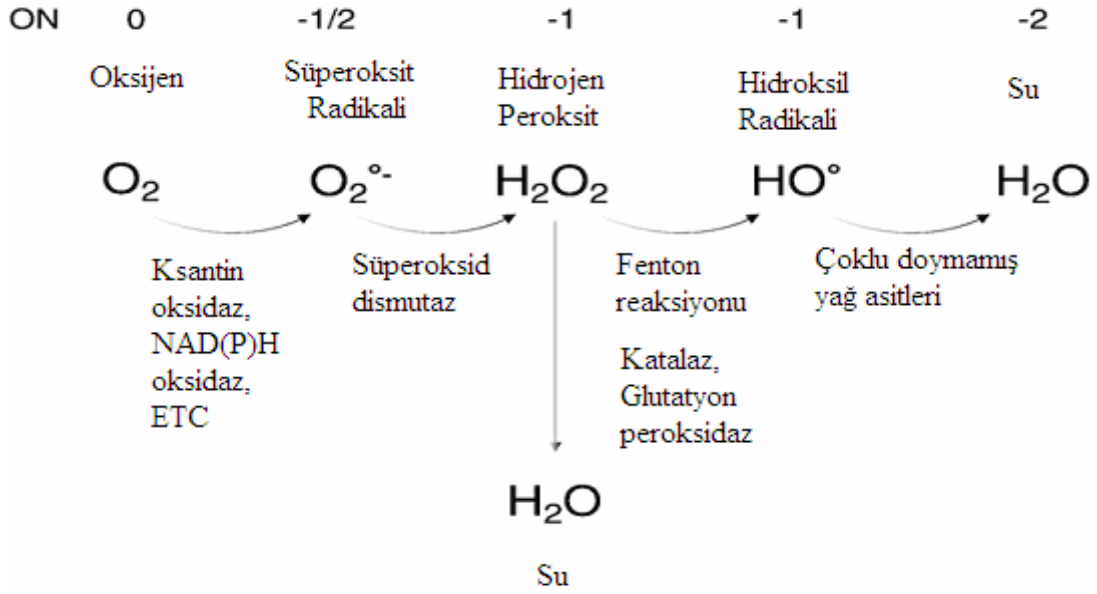
Aerobik organizmalar, metabolik olaylarını ve canlılıklarını devam ettirebilmek için su ile oksijene gereksinim duyarlar. Ancak serbest formdaki moleküler oksijen her canlı türü için aynı anlamı ifade etmez. Aerobik canlılar yaşamları için mutlaka moleküler

oksijene gereksinim duyarken, anaerobik canlılar büyümeleri ve çoğalmaları için oksijene bağımlı değildirler. Oksijene maruz kaldıklarında ise bu canlı türleri, oksijenden kaynaklanan bazı reaktif ürünlerin biyolojik moleküllerini oksitlemeleri ve bu reaktif ürünlere karşı savunma sistemlerinin bulunmaması nedeniyle oksijen anaerobik canlılarda toksik etkiye sahiptir. Oksijen kullanımı bakımından canlılar sadece aerobik ve anaerobik olarak ayrılmazlar. Fakültatif (seçici) olarak adlandırılan canlı türleri ise gereksinim duydukları zaman moleküler oksijeni kullanırlar. Bu türlere en iyi örnek ise *Saccharomyces cerevisiae* mayasıdır. *Saccharomyces cerevisiae* normal şartlarda anaerobik bir canlıdır. Ancak aynı zamanda oksijen varlığında oksijeni kullanabilme yeteneğine de sahiptir. Özellikle oksijen varlığında şeker bazlı moleküllerden oksijenli solunum ile yararlanarak CO₂ üretimi yaparlar. Oksijensiz solunumda ise metabolik yollarını değiştirerek alkol üretimi gerçekleştirirler.

Oksijen sadece anaerobik organizmalarda değil, yaşamları için mutlaka moleküler oksijene bağımlı olan canlılarda da toksik etkiye neden olabilmektedir. Oksijenin canlılardaki toksik etkileri başlıca iki tür mekanizma ile gerçekleşir:

1. Aerobik canlılarda gözlenen oksijen toksisitesinin ilk açıklaması, moleküler oksijenin bazı enzimleri inhibe ettiği şeklindedir. Örneğin; nitrojen fiksasyonunu katalizleyen nitrojenaz enzimleri ve CO₂ fiksasyonunu katalizleyen ribüloz bifosfat karboksilaz, oksijen tarafından kompetitif olarak inhibe edilirler.

2. Oksijenin enzim inhibisyonu etkisi sınırlı ve çok zayıftır. İlk kez 1954 yılında oksijenin toksik etkilerinin, oksijenin bazı reaktif türlerinden kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür. Günümüzde, oksijenin canlılardaki toksik etkisinin “oksijen radikalleri” olarak adlandırılan ve oksijenin vücuttaki metabolizması sırasında oluşan reaktif türlerden kaynaklandığı bilinmektedir (Özşahin, 2010) (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Metabolik olaylar sonucu oksijen radikallerinin oluşumu

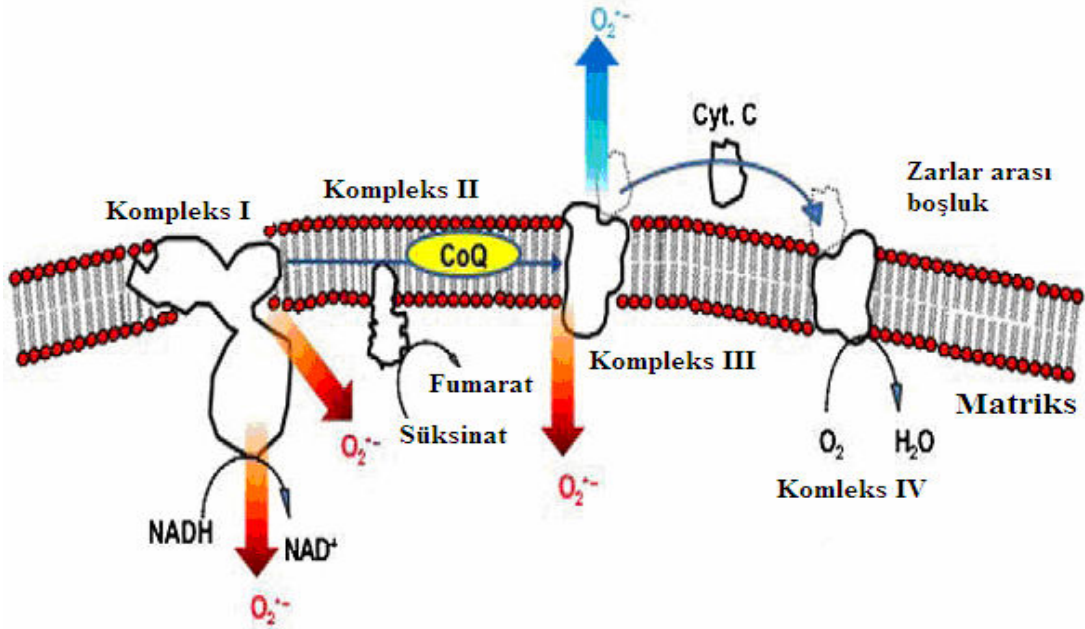
1.4. Süperoksit Radikali

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşmuş radikallerdir (Jeong ve ark., 2009). Moleküler oksijen dış orbitallerinde paylaşılmamış iki elektron içerir. Bu elektronlar paylaşılmadığında, ayrı ayrı orbitallerde bulunduklarında ve spinleri aynı yönde olduğu zaman en düşük enerji seviyesindedirler. Bu dış orbitallerden her biri birer elektron daha kabul edebilir. Bu orbitallerin tek elektron alması ile süperoksit anyonu (süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$), iki elektron alması ile de peroksi anyonu (O_2^{2-}) oluşur (Ajila ve ark., 2008). Hem çevresel etkenler, hem de organizmalardaki enzimatik ve enzimatik olmayan tepkimelerle en çok ve en kolay oluşan oksijen radikali süperoksit radikali. Serbest süperoksit radikal anyonu ($O_2^{\bullet-}$) hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron olarak indirgenmesi sonucu meydana gelir (Yanbeyi, 1999; Verma ve ark., 2010).

Süperoksit radikali normalde mitokondriyal solunum esnasında oluşmaktadır. Mitokondrilerde kullanılan oksijenin % 2'si süperoksit haline gelir. Oksijen mitokondride redükte olduğunda primer ürün sudur. Su, sitokrom oksidaz moleküler oksijene 4 elektron eklediğinde oluşan nontoksik bir moleküldür (Çakır, 1997).

Süperoksit anyonu, diğer moleküllerden elektronları çekerek enerji gereksinimlerini karşılayabildiklerinden, oksitleyici ajan olarak kabul edilir. Ayrıca süperoksit radikali aldığı elektronu başka bir elektron alıcıya vererek tekrar oksijene oksitlenebilir ve böylece bir indirgeyici olarak davranabilir (Şekil 1.3) (Yanbeyi, 1999; Gülçin ve ark., 2004). Hücre

membranındaki siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimleri; lökosit membranındaki, NADH oksidaz enzimi; sitoplazmadaki ksantin oksidaz ve triptofan dehidrogenaz enzimleri aracılığıyla da süperoksit radikali oluşmaktadır (Çakır, 1997; Klug ve ark., 1972).



Şekil 1.3. Elektron taşıma zinciri ve süperoksit radikalının açığa çıkması

Canlılarda, süperoksit radikallerinin oluşumuna neden olan olayları iki grupta toplayabiliriz:

1. Çeşitli çevresel etkilerle (fiziksel ve kimyasal) süperoksit radikali oluşabilir. Örneğin, yüksek enerjili ışınlardan beta, gama ve X ışınları, süperoksit radikallerinin yanında diğer radikallerin oluşumunu da gerçekleştirirler (Klug ve ark., 1972).

2. Canlı sistemler radikal oluşumuna neden olan çevre koşullarından tümüyle izole edilseler bile, eğer moleküler oksijeni metabolize ediyorlarsa canlı sistemdeki yükseltgenme indirgenme tepkimeleri sırasında süperoksit radikali ($O_2^{\cdot -}$) üretebilirler (Kılınç, 1985).

Süperoksit radikali hemen tüm aerobik hücrelerde oluşan, indirgen ve orta derecede yükseltgen olan bir ajandır. Esas önemi, hidrojen perokside kaynaklık etmesi ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Uzun bir yarı ömre sahip olup, lipofilik özellik gösterir. Bu özelliğinden dolayı da oluştuğu yerden uzak bölgelere difüzyonla

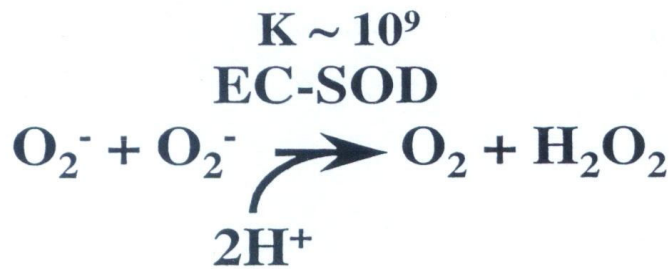
yayılabilmektedir. Ancak doğrudan doğruya hasar yapıcı etkisi çok fazla değildir (Ünal, 1999; Dikici, 1999).

En çok mitokondri, endoplazmik retikulum ve kloroplast gibi hücresel organellerde, elektron transport zincirinin çeşitli komponentlerinden O₂'e elektron sızması ile oluşur. Mitokondriyal elektron transport zincirinde elektronlar iki moleküler noktada kaçak olur. Bunlardan birincisi, NADH-dehidrogenaz basamağı, ikincisi ise koenzim Q ya da ubikinon basamağıdır. En son basamakta elektronların O₂'e taşınmasından sorumlu olan sitokrom oksidaz enzimi oksijenin % 97-99'unu harcayarak suya indirger. Fakat O₂'nin % 1-3'ünden, transport zincirinden sızan elektronlarla O₂' oluşur (Dikici, 1999; Fırat, 1997).

1.4.1. Süperoksit Radikalini Etkisiz Hale Getiren Sistemler

1.4.1.1. Süperoksit Dismutaz

Aerobik organizmalar reaktif oksijen türlerinin sebep olduğu toksisiteye karşı hem kimyasal hem de enzimatik korunma sistemlerine sahiptir (Jeong ve ark., 2009; Genestra, 2007). Süperoksit radikalleri, sulu ortamda önemli ölçüde birikmezler ve kendiliğinden dismutasyon ile ortamdan temizlenirler (Fridovich, 1975; Çakır, 1997). Süperoksit radikali, yüksek katalitik etkiye sahip süperoksit dismutaz (SOD) enziminin etkisiyle dismutasyona girerek konsantrasyonu azalır. SOD tarafından katalizlenen bu reaksiyon dismutasyon tepkimesi olarak adlandırılır (Jeong ve ark., 2009). Süperoksit dismutaz, O₂⁻ anyonunu, daha az reaktif türler olan O₂ ve H₂O₂'ye dönüştürür (Şekil 1.4) (Doyotte ve ark., 1997).

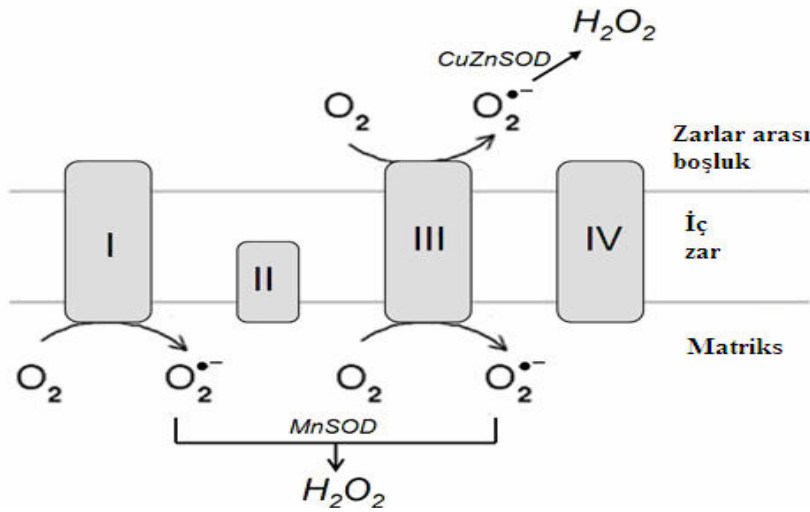


Şekil 1.4. Süperoksit dismutaz enziminin etki mekanizması

Memelilerde üç farklı SOD bulunur. Bunlar; sitosol, nükleus ve lizozomlarda bulunan homodimerik yapıdaki bakır (Cu) ve çinko (Zn) taşıyan Cu,Zn-SOD; mitokondriyal matrikste bulunan homotetramerik mangan (Mn) içeren Mn-SOD;

ekstraselüler boşluklarda heparine bağlı olarak bulunan homotetrametik Cu,Zn-SOD'dir (Fridovich, 2001). Bakır, çinko içeren süperoksit dismutaz sitosol ve çekirdekte, Mn-SOD ise mitokondriyal matriks içerisine yerleşmiştir (Olsvik ve ark., 2005). Cu,Zn-SOD; yaklaşık 32 kiloDalton (kDa) büyüklüğünde iki alt ünitelerden oluşmaktadır ve Cu ile Zn köprülerinden oluşan kısım enzimin aktif bölgesi olarak kabul edilmektedir (Banci ve ark., 1998). Cu eksikliği, Zn eksikliğine oranla enzimin aktivitesini daha çok engellemektedir (Evans ve Halliwell, 2001; Kim ve ark., 2005). Mn-SOD ortalama 86 kDa molekül ağırlığında tetrametik bir proteindir. Prokaryotlarda Cu,Zn-SOD ve Mn-SOD'a ek olarak 41 kDa molekül ağırlığındaki dimerik bir protein olan Fe içeren SOD da (Fe-SOD) bulunmaktadır.

Metal katalizörleri ne olursa olsun bütün SOD'ler benzer bir mekanizmayı paylaşırlar. Ancak, prooksidanlar tarafından oluşturulan aşırı oksidatif stres şartlarında Cu,Zn-SOD daha hızlı indüklenir ve omurgalılarda SOD'lerin % 80'i sitosolik Cu,Zn-SOD'dir (Ahmad, 1995; Voinea ve ark., 2004). Süperoksit dismutaz tarafından gerçekleşen redüktif detoksifikasyonda, her $O_2^{\bullet -}$ radikali için bir adet H_2O_2 molekülü oluşmakta ve NADPH gibi çeşitli hücresel indirgeyiciler tüketilmektedir. SOD tarafından gerçekleşen direkt detoksifikasyonda ise hücresel indirgeyicilere gereksinim duyulmaksızın, tüketilen her $O_2^{\bullet -}$ radikali için 0.5 H_2O_2 molekülü oluşmaktadır (Şekil 1.5). SOD, $O_2^{\bullet -}$ 'nin singlet oksijen (1O_2) ile peroksil radikalleri gibi reaktif türlerle de reaksiyona girebilecek histidin ve diğer çeşit yan zincirler içermektedir (Benov ve Fridovich, 1998; Fattman ve ark., 2003).



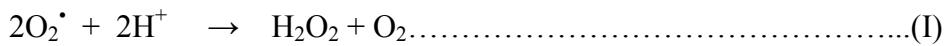
Şekil 1.5. Hücrede süperoksit dismutaz'ın etki mekanizması

1.4.1.2. Süperoksit Radikali Üzerine Doğal Kaynaklı Antioksidanların Etkisi

Günümüzde yapılan çalışmalar oksijen radikallerinin giderilmesinde sadece organizmadan kaynaklanan savunma sistemlerinin yeterli olmadığına sıkça değinmektedir. Özellikle yapılan araştırmalar ile organizmada meydana gelen oksidatif hasarlara karşı dışardan alınan antioksidanların da oldukça etkili olabildiği saptanmıştır. Süperoksit radikalının etkilerini gidermede bu bitkisel kaynaklı antioksidanların oldukça etkili olduğu yapılan araştırmalarla gösterilmiştir. Devi ve Arumughan (2007) pirinç kepeğinden elde edilen ekstraktların fitokimyasal içeriklerine göre antiradikal etkisini belirlemek amacıyla yaptıkları araştırmalarında bu bitkinin ekstraktlarının süperoksit radikalini temizleme özelliğine sahip olduğunu belirlemişlerdir. Moridani ve O'Brien (2001) ise flavonoid bakımından zengin bir beslenme ile yaşlanma, iskemik reperfüzyon ve kronik hastalıkların oluşumunda etkili olan süperoksit radikale karşı organizmanın korunabileceğini bildirmişlerdir. Beyaz lahananın antioksidan etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada da bu bitkinin özellikle dış yapraklarının süperoksit ve hidroksil radikalının etkilerine karşı koruyucu etkisinin olduğu saptanmıştır (Vrcovska ve ark., 2006).

1.5. Hidrojen Peroksit

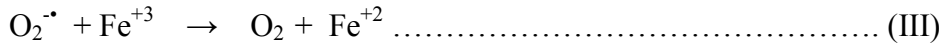
Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksidin bir elektron alması sonucu peroksit meydana gelir. Peroksit molekülü de iki hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksiti (H_2O_2) oluşturur (Akkuş, 1995; Genestra, 2007; Imahori ve ark., 2008). H_2O_2 , süperoksit dismutaz tarafından katalizlenen dismutasyon reaksiyonu sonucu ortaya çıkar. İki süperoksit molekülü iki proton alarak H_2O_2 ve moleküler oksijeni oluştururlar. Reaksiyon sonucu radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden bu bir dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir.



H_2O_2 membranlardan geçebilen uzun ömürlü oksidandır. Kendisi bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Geçiş metal iyonları varlığında daha da hızla gerçekleşen bir reaksiyonla süperoksit anyon radikali ile birlikte en reaktif radikal olan hidroksil radikalini oluşturur (Jeong ve ark., 2009; Fırat, 1997; Gutteridge, 1995).



Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu adı verilir. “Haber-Weiss” reaksiyonu katalizörlü veya katalizörsüz oluşabilir. Fakat katalizörsüz reaksiyon oldukça yavaş ilerler. Katalizör olmayınca ortamdaki H_2O_2 ve $\text{O}_2^{\bullet-}$, antioksidanlar tarafından kolayca kaldırılır (Ünal, 1999; Dikici, 1999). Demir gibi geçiş metalleri ile katalizlenen ikinci şekli ise çok hızlıdır (Akkuş, 1995; Yanbeyi, 1999; Fırat, 1997). Bu reaksiyonda önce ferri demir (Fe^{+3}), süperoksit tarafından ferro demire (Fe^{+2}) indirgenir. Sonra bu ferro demir kullanılarak ‘Fenton Reaksiyonu’ ile hidrojen peroksitten OH^- ve $\text{OH}^{\bullet}$ üretilir. Reaksiyon mekanizması aşağıdaki gibidir:



Hidrojen peroksit özellikle proteinlerdeki “hem” grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek yüksek oksidan düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturur. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilir. Oksitleyici özelliği nedeniyle biyolojik sistemlerde oluşan H_2O_2 ’nin derhal ortamdan uzaklaştırılması gerekir.

1.5.1. Hidrojen Peroksiti Etkisiz Hale Getiren Sistemler

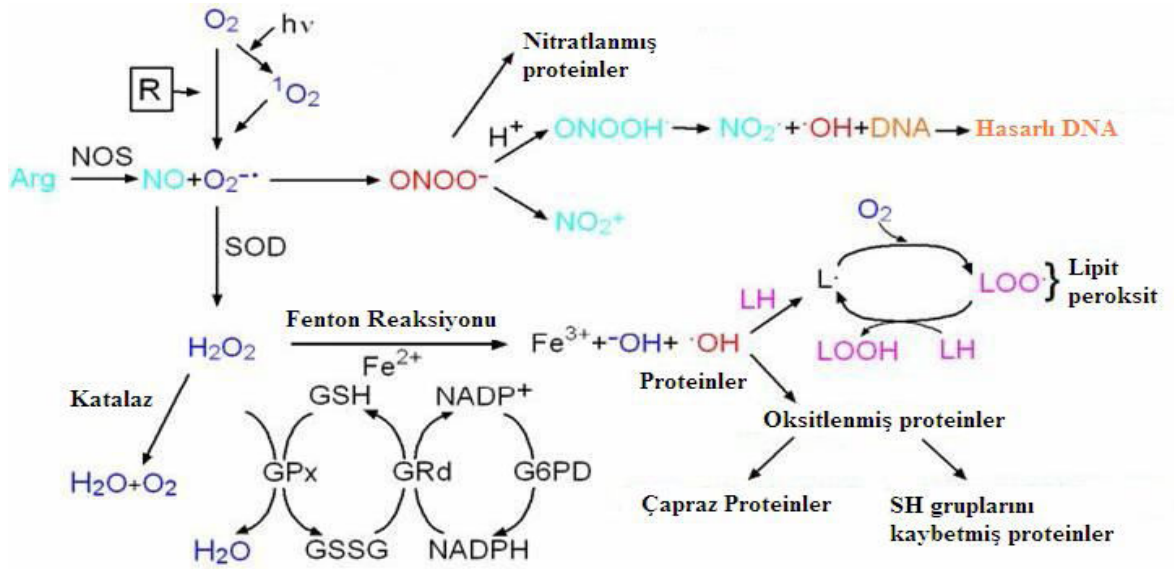
1.5.1.1. Katalaz

Katalaz (CAT), her biri yaklaşık 60 kDa ağırlığındaki dört alt ünitenin tetrahedral düzenlenmesiyle oluşan, tetramerik bir enzimdir. Dolayısıyla, dört protoporfirin grubu içeren enzimin moleküler ağırlığı, 240 kDa civarındadır. Katalaz, H_2O_2 ’nin hiçbir konsantrasyonu ile doyumluğa ulaştırılamayan tek enzimdir (Cemeli ve ark., 2009). SOD aktivitesi sonucunda oluşan H_2O_2 ’nin büyük bir kısmı, CAT tarafından H_2O ve O_2 ’ye dönüştürülür (Şekil 1.6) (Halliwell ve Gutteridge, 1999).



İnsan ve sığır CAT’ı enzime sıkıca bağlı olan dört NADPH molekülü taşır. Bu redükte nükleotid, CAT aktivitesi için gerekli olmayıp sadece enzimin H_2O_2 ’nin düşük derişimlerinde gösterdiği inaktivasyona karşı duyarlılığını azaltır (Nishikawa ve ark., 2009). Hücrelerde, H_2O_2 üretiminden sorumlu oksidazların birçoğu peroksizomlara

yerleştiği için; CAT'ın büyük bir kısmı sitosol ve mitokondriye oranla peroksisomlarda bulunur (Kelly ve ark., 1998). Mitokondriyal CAT, peroksidazlar gibi görev yaparken, peroksisomal CAT, daha çok dismutazlar gibi çalışmaktadır (Chaudiere ve Ferrai-Iliou, 1999). GSH-Px'in, CAT'a oranla daha başarılı kabul edilmesinin nedeni, hidrojen peroksit dışındaki peroksitleri de detoksifiye edebilmesi ve enzimin hücrelerde, oksidatif stresin yoğun olarak gerçekleştiği bölgelere lokalize olmasıdır (Kelner ve ark., 1995).



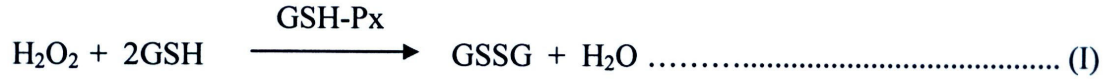
Şekil 1.6. Katalaz'ın etki mekanizması

1.5.1.2. Glutasyon Peroksidaz

Hücrelerde oluşan hidroperoksitlerin uzaklaştırılmasından sorumlu olan bir enzimdir. Molekül ağırlığı ise yaklaşık olarak 85 kDa'dur. Birbirinin aynı dört subünitten oluşan tetramerik bir enzimdir. Her subünit bir selenyum atomu içerir. Bu nedenle hücreleri çeşitli hasarlara karşı koruyan bir selenoenzim olduğu düşünülür (Akkuş, 1995; Fırat, 1997; Mungan, 1996). Bu enzimin varlığı ilk defa Mills tarafından 1957 yılında memeli eritrositlerinde saptanmıştır. Endotel hücrelerinde, özellikle akciğerde en etkili enzimdir (Mungan, 1996).

Enzim miktarının % 60-75'i ökaryot hücrelerin sitoplazmasında bulunur. % 25-40'ı ise mitokondridedir. Enzim aktivitesinin en fazla olduğu dokular ise eritrositler ve karaciğerdir (Fırat, 1997).

Glutatyon peroksidaz (GSH-Px), intrasellüler mesafede lipidleri peroksidasyondan koruyan en önemli enzimdir. Bu nedenle hücrenin özellikle sitosolik kompartmanında yer alan bu enzim hücrenin yapısını ve fonksiyonunu korur (Akkuş, 1995; Yanbeyi, 1999; Michiels ve ark., 1994). GSH-Px, aşağıdaki reaksiyonları katalizler:



Membran fosfolipid hidroperoksitlerini alkole indirgeyen fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz (PLGSH-Px) da selenyum atomu içerir ve monomerik yapıdadır. Ayrıca sitosolik bir enzimdir. Membrana bağlı antioksidan olan vitamin E'nin yetersiz olduğu durumlarda PLGSH-Px, membranın peroksidasyona karşı korunmasını sağlar (Halliwell ve Gutteridge, 1990).

1.5.1.3. Glutatyon Redüktaz

Hidroperoksitlerin redükte olması esnasında meydana gelen okside glutatyon (GSSG), GSSG-R'ın katalizlediği reaksiyonla tekrar redükte hale (GSH) dönüşür. Reaksiyonun gerçekleşmesi için NADPH'a ihtiyaç vardır (Akkuş, 1995; Mannervik, 1985; Rice-Evans ve ark., 1991).



1.5.2. Hidrojen Peroksit Üzerine Doğal Kaynaklı Antioksidanların Etkisi

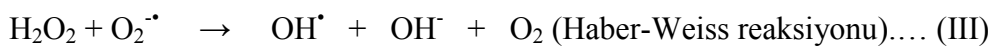
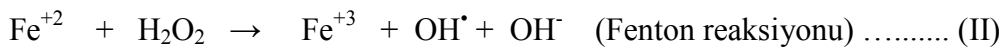
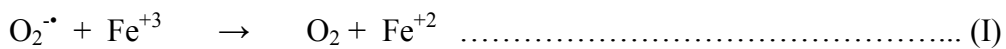
Hidrojen peroksitin etkisinin giderilmesinde günümüzde artık katalazın yanı sıra doğal kaynaklı antioksidanların da etkisinin olduğu yapılan çalışmalar ile sıkça ortaya konmuştur. Son yıllarda canlı sistemlerde oluşan oksidatif stres üzerine özellikle bitkisel kaynaklı antioksidanların etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, oksidatif stres oluşturmadaki etkisinden dolayı hidrojen peroksit sıkça kullanılmaktadır. Esmaili ve ark., (2010) çalışmalarında hücre kültüründe H_2O_2 ile indüklenen oksidatif strese karşı

Tanacetum bitkisinin etkisini araştırmışlardır. H₂O₂ muamelesine karşın bu bitkinin hücreyi koruduğunu ve antioksidan enzimlerin miktarını da arttırdığını ortaya koymuşlardır. Jeong ve ark., (2009) *Cnidium officinale* bitki ekstraktlarının yine H₂O₂ ile oluşturulmuş olan oksidatif strese karşı etkili olduğunu ve bu bitkinin DNA ve hücre hasarlarını azaltarak kansere karşı koruyucu bir bitki olduğunu bildirmişlerdir. H₂O₂ ile yapılan çalışmalar sadece *in vitro* şartlarda değil *in vivo* şartlarda da aynı amaç için kullanılmıştır. Kaviarasn ve ark., (2007) çemenotu tohumlarının rat karaciğer mitokondrisinde H₂O₂ ile indüklenen lipid peroksidasyonu üzerine önleyici etkisini ve OH[•] radikalini giderme etkisini araştırdıkları çalışmalarında bu tohumların oksidatif hasara karşı hücre yapılarını koruyucu etki gösteren antioksidan özelliğe sahip oldukları sonucuna varmışlardır. Rat eritrositleri üzerinde yapılan bir başka araştırmada da H₂O₂ tarafından tetiklenen oksidatif stres durumunda mango bitkisinin ekstraktlarının eritrositlerde meydana gelebilecek hasarlara ve fizyolojik değişikliklere karşı koruyucu etkisinin olduğu tespit edilmiştir (Herrero ve ark., 2008). Ayrıca en basit yapılı ökaryotik hücre olan *Saccharomyces cerevisiae* üzerine yapılan oksidatif stres çalışmalarında da yine indükleyici olarak H₂O₂ kullanılmıştır. Ancak bu çalışmalarda mayanın çeşitli yollar ile hidrojen peroksite karşı adaptasyon gösterdiği saptanmıştır (Folmer ve ark., 2008).

1.6. Hidroksil Radikali (OH[•])

Hidroksil radikali, kimyada en aktif radikal olarak bilinir. Bu nedenle *in vivo*'da oluşan bir OH[•] radikali hemen her moleküle saldırır ve olduğu yerde de büyük hasara neden olur. Nonradikal biyolojik moleküllerle zincirleme reaksiyonları başlatır (Imahori ve ark., 2008; Kawanishi ve ark., 2001).

OH[•] radikali, hidrojen peroksitin geçiş metalleri varlığında indirgenmesi ile (Fenton reaksiyonu) oluşan son derece reaktif bir radikaldır. Ayrıca hidrojen peroksitin süperoksit radikali ile reaksiyonu sonucunda da (Haber-Weiss reaksiyonu) meydana gelir. Bu reaksiyon katalizörsüz çok yavaş olduğu halde Fe⁺³ katalizörlüğünde çok hızlı oluşur (Cheeseman ve Slater, 1993; Matsuzaki ve ark., 2009).



Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda da OH[•] radikali oluşur. Bir OH[•] radikali, yüzlerce yağ asidini ve yan zincirini lipid hidroperoksida çevirebilir. Oluşan bu hidroperoksitler birikerek membran bütünlüğünü bozar ve hücrenin kollabe olmasına neden olur. Ayrıca bu hidroperoksitlerden son ürün olarak toksik ve reaktif olan aldehitler de oluşabilir. Bunlardan en önemlilerden biri de MDA'dır (Uysal, 1998; Girotti, 1998; Bolanos ve ark., 2009).

OH[•] radikali, organik ve inorganik bileşiklerde elektron transfer tepkimelerine neden olur, ancak normalde OH[•] radikali oluşamaz. Çünkü OH[•] oluşumu için moleküler oksijenin üç değerlikli olarak indirgenmesi gerekir ki, bu oldukça zordur. OH[•] meydana gelebilmesi için O₂^{•-} ve H₂O₂ gereklidir. Bunlarda SOD, CAT veya GSH-Px sistemiyle uzaklaştırılır. Bu antioksidan moleküllerin aktivitesi sonucu fizyolojik şartlarda fazla miktarlarda OH[•] oluşamaz (Bolanos ve ark., 2009; Smirnoff ve Palanca, 1995).

1.6.1. Hidroksil Radikali Üzerine Doğal Kaynaklı Antioksidanların Etkisi

Hücre içi ortamın aksine hücre dışı sıvılarda enzimatik antioksidan sistemin aktivitesi sınırlıdır. Bu nedenle dışardan antioksidan maddelerin alınmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Günümüzde geliştirilen yeni bilimsel teknikler sayesinde üretilen sentetik antioksidanların bazı yan etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Bundan dolayı, bitkisel kaynaklardaki doğal antioksidanların araştırılması son yıllarda dikkat çeken bir araştırma konusu olmuştur ve önemi de günden güne artmaktadır. Sithisarn ve ark., (2007) *Azadirachta* bitki yapraklarının antioksidan etkilerinin araştırdıkları çalışmalarında bu bitkinin Fenton reaksiyonuna etki ederek OH[•] radikali üzerine antioksidan etkisinin olduğunu tespit etmişlerdir. Yine yapılan başka bir araştırmada da *Palmaria palmata* (kırmızı denizotu)'nın *in vitro* şartlarda antioksidan etkisi belirlenmiş ve bu bitkinin OH[•] radikal giderici özellikte olduğu bildirilmiştir.

1.7. Serbest Radikallerin Biyomoleküller Üzerindeki Etkileri

Serbest radikaller vücutta antioksidan savunma mekanizmasının kapasitesini aştıkları zaman çeşitli bozukluklara yol açarlar. Karbonhidrat, lipid, protein ve DNA gibi biyomoleküllerin tüm sınıfları ve tüm hücre komponentleri ile etkileşme özelliği göstererek

hücrede yapısal ve metabolik değişikliklere neden olurlar (Akkuş, 1995; Cheeseman ve Slater, 1993).

Tablo 1.3. Serbest radikallerin hücredeki başlıca zararlı etkileri

Doymamış yağlar	Kolesterol ve yağ asitlerinde oksidasyon Lipidlerde çapraz bağlanmalar Organel ve hücrelerde çapraz bağlanmalar
Karbohidratlar	Polisakkaritlerin depolimerizasyonu
Nükleik asit bazları	Hidroksilasyonlar Mutasyonlar, kimyasal modifikasyonlar Şekerlerde benzer reaksiyonlar
Kükürtlü amino asitler	Protein denatürasyonu ve çaprazlanma Enzimlerde inhibisyon
Proteinler	Peptid zincirlerinde kopma Denatürasyon
Nükleik asitler	Tek ve çift iplikçik kırılmaları Proteinlerde çapraz bağlar Baz içermeyen bölgeler
Hiyaluronik asit	Sinovyal sıvı akışkanlığında değişme

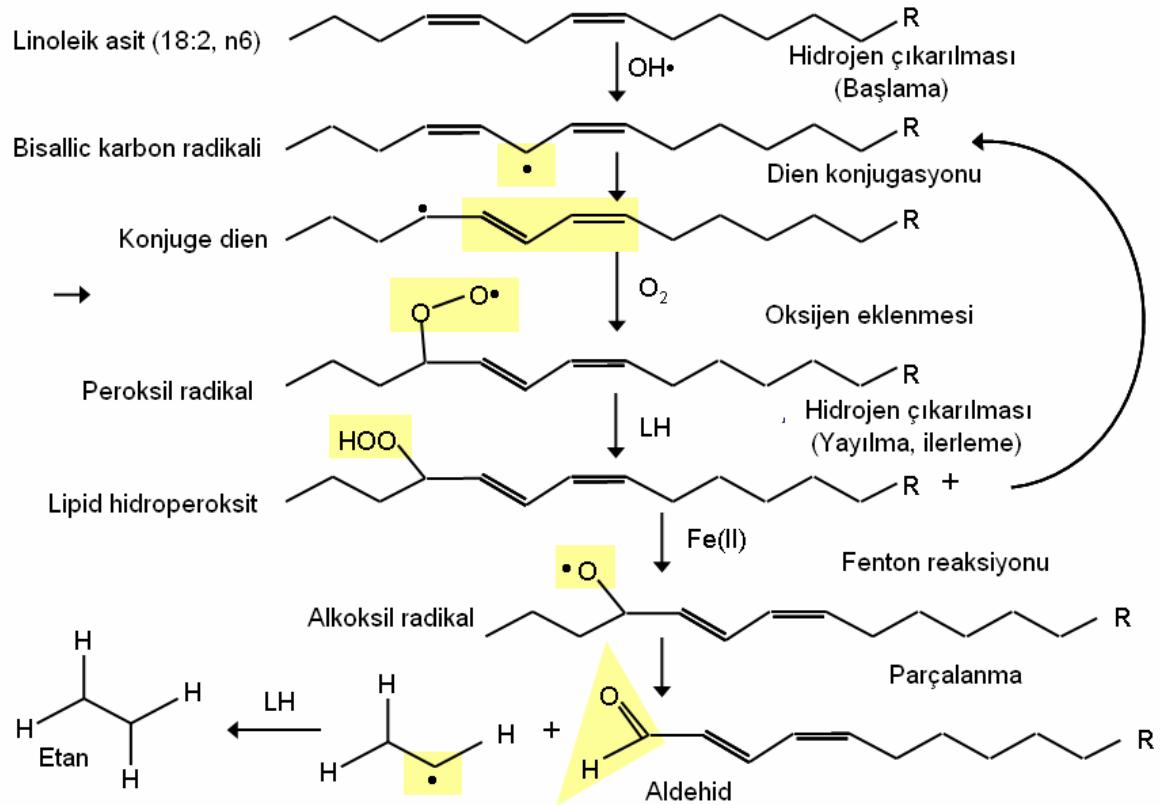
1.7.1. Membran Lipidleri Üzerine Etkileri

Serbest radikallerin en belirgin etkileri, lipid peroksidasyonuna (LPO) neden olarak, bir dizi hastalığın komplikasyonlarının ortaya çıkmasında rol oynamalarıdır. Biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilenirler, fakat lipidler en hassas olanlarıdır (Yanbeyi, 1999).

Tüm biyolojik zarlar, poliunsature yağ asitleri ile amfipatik lipidler ve zar proteinlerinin birleşmesinden oluşur. LPO, çoklu doymamış yağ asitlerinin radikaller ile oksidasyonu sonucu başlayan ve otokatalitik zincir reaksiyonları şeklinde uzayan, lipid peroksitlerinin aldehit türevleri, hidrokarbon radikalleri ve uçucu bazı ürünlere çevrilmesi şeklinde sonlanan süreçtir (Şekil 1.7) (Ünal, 1999; Imahori ve ark., 2008). LPO ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. LPO, membranlara yakın bölgelerde

ortaya çıkan $\text{OH}^\bullet$ radikalinin membran fosfolipidlerinin yağ asidi yan zincirlerine saldırmasıyla oluşur (Yanbeyi, 1999; Dikici, 1999).

Reaksiyon $\text{OH}^\bullet$ radikalini ortadan kaldırır, fakat membranda karbon (C) merkezli lipid radikali oluşur. Oluşan lipid radikali dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Molekül içi çift bağların pozisyonlarının değişmesiyle konjuge dien yapıları ve daha sonra lipid radikallerinin moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipid peroksil radikali meydana gelir. Lipid peroksil radikalleri, membran yapısındaki diğer poliunsature yağ asitleri ile reaksiyona girerek yeni karbon merkezli radikaller oluştururken, kendileri de açığa çıkan $\text{H}^\bullet$ parçacığı ile birleşerek lipid hidroperoksitlerine dönüşürler. Böylece olay kendi kendine katalizlenerek devam eder (Gutteridge, 1995).

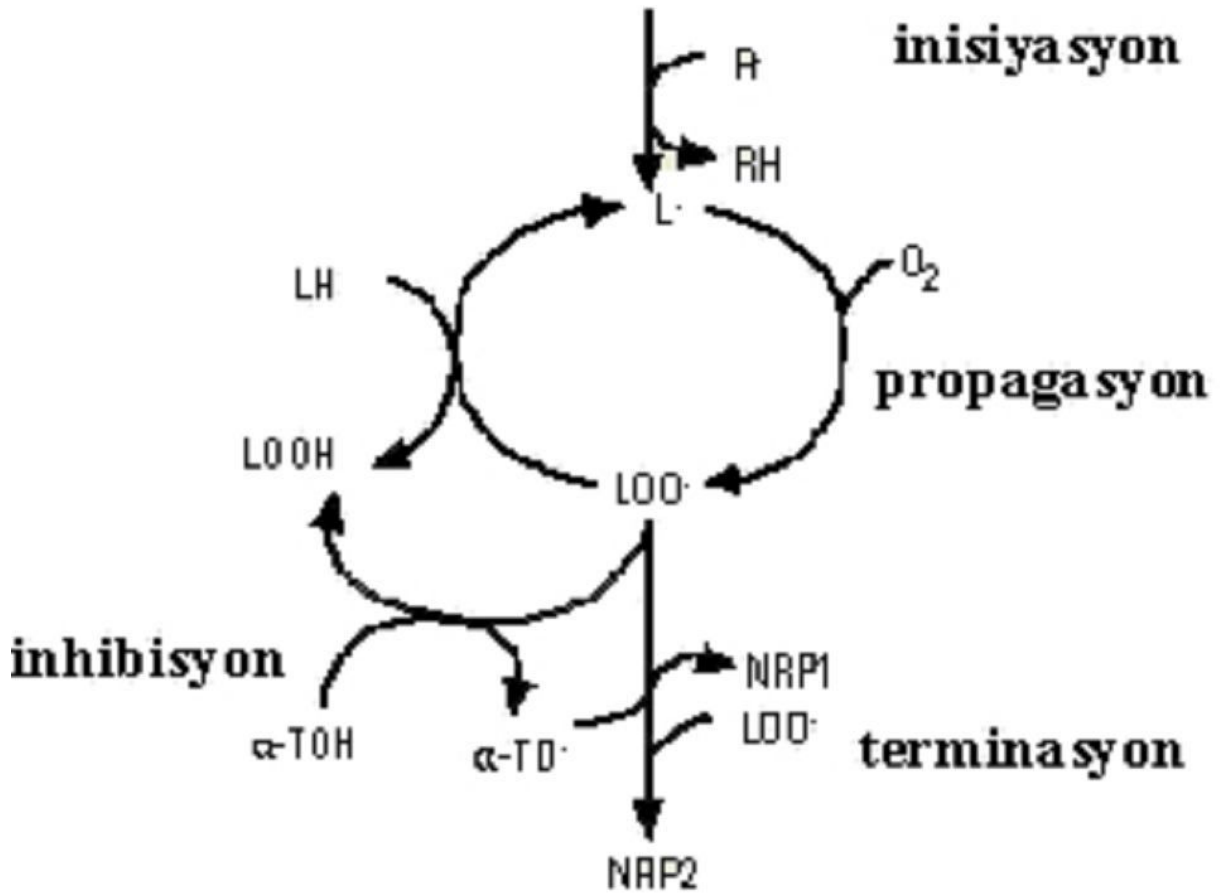


Şekil 1.7. Serbest radikallerin oluşumu, biyolojik moleküllerin hasara uğratılması ve lipid peroksidasyon olayı sonucunda sekonder ürünlerin oluşması

Başlangıç fazında; $\text{O}_2^{\bullet-}$ ve $\text{OH}^\bullet$ gibi ROS ile lipid molekülü arasında gerçekleşen reaksiyonun sonucunda meydana gelen lipid substratının ($\text{LH}^\bullet$) metilen karbon çekirdeğinden H atomunun ayrılması ile çok daha reaktif bir karbon çekirdeği taşıyan lipid radikali ($\text{L}^\bullet$) oluşur (Şekil 1.8).

Uzama fazında; L ile O_2 reaksiyona girerek hızla lipid peroksil radikaline ($LOO^\bullet$) dönüşür. $LOO^\bullet$, DNA ve proteinler gibi birçok *in vivo* kaynaktan H atomu alarak temel oksidasyon ürünü lipid hidroperoksitini ($LOOH$) oluşturur. Antioksidanların yokluğunda ya da yetersiz kaldığı durumlarda ise $LOO^\bullet$ diğer bir LH'den H alarak yeni $L^\bullet$ 'lerin oluşmasına neden olur. Bu da, zincir reaksiyonlar şeklinde devam eden yeni propagasyon reaksiyonları ile sonuçlanmaktadır (Şekil 1.8).

Lipid peroksidasyonun son fazı olarak kabul edilen **sonlanma reaksiyonunda** ise iki radikalın eşleşmesiyle radikal olmayan bir son ürün oluşur ve bu stabil ürün, lipid peroksidasyon zincirinin devamını sağlayamaz (Özşahin, 2010).



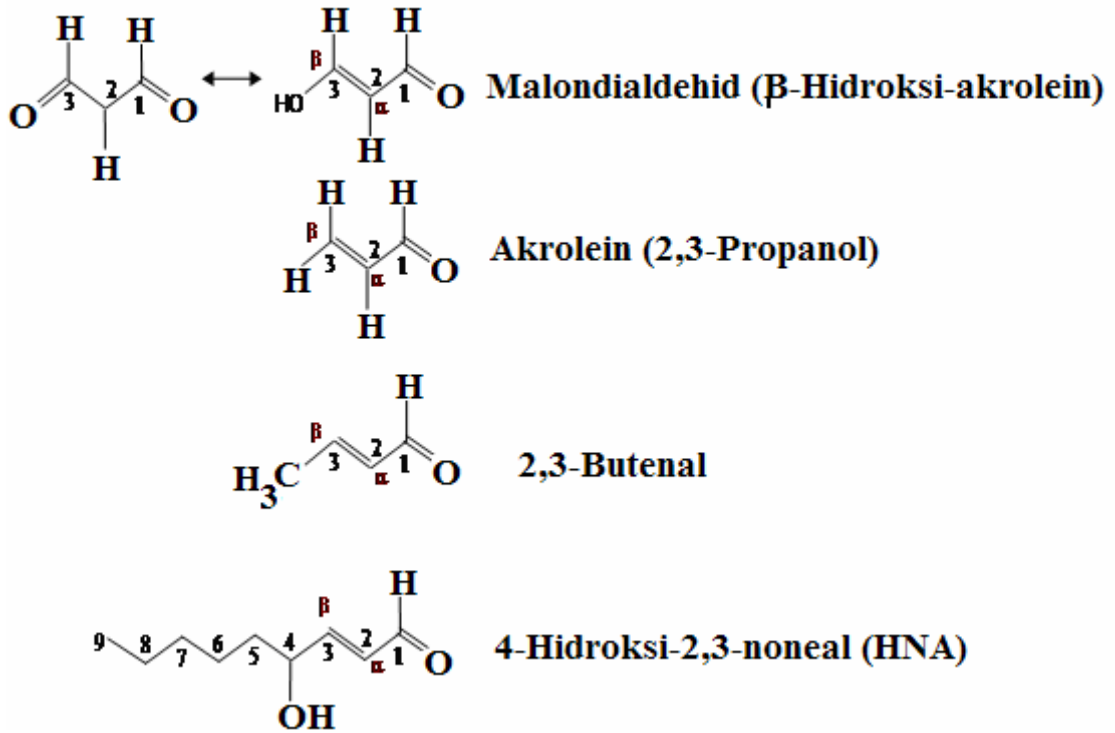
Şekil 1.8. Lipid peroksidasyonun fazlarına genel bir bakış. Kısaltmalar: NRP, nonradikal ürün; $LOOH$, lipid hidroperoksit; $\alpha\text{-TOH}$, tokoferol; $\alpha\text{-TO}^\bullet$, $\alpha\text{-TOH}$ radikali; LH , lipid substratı; $LOO^\bullet$, lipid peroksil radikal

Lipid hidroperoksitlerinin membranlarda birikimi sonucu, membran fonksiyonları bozulur ve hücre kollabe olur. Ayrıca lipid hidroperoksitleri geçiş metalleri katalizi ile

yıkıldığında çoğu zararlı olan aldehitler oluşur. LPO sonucunda ortaya çıkan çeşitli aldehitlerden en iyi bilinenleri MDA (Malondialdehit) ve 4-hidroksinonenal (HNE)'dir (Özşahin, 2010).

1.7.2. MDA (Malondialdehit)

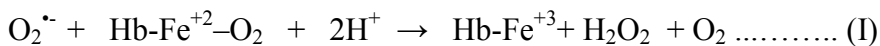
Lipid peroksidasyonu, membrandaki doymamış yağ asitlerini serbest oksijen radikalleri tarafından alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur. Serbest radikaller özellikleri nedeniyle, lipidler, proteinler ve nükleik asitler ile etkileşerek hücreye zarar verirler. Çeşitli patolojik durumlar sırasında birçok hücre tipinde O₂'nin redüksiyonundan oluşan türlerin üretimiyle oksidatif stres meydana gelir. Bunun sonucunda hücre yapısındaki lipidlerde bozulmalar olur. MDA (Malondialdehit), biyolojik sistemde lipidlerin oksidasyonu sonucunda oluşmaktadır. MDA ölçümü ile LPO'nun değerlendirilmesi yapılabilmektedir. Bu bileşikler ya hücrenel olarak metabolize olurlar ya da başlangıçta etkili oldukları bölgeden diffüze olup, hasarı hücrenin diğer bölümlerine yayarlar. Lipid radikallerinin hidrofobik yapıda olması dolayısı ile reaksiyonların çoğu membrana bağlı moleküllerde meydana gelir. Peroksil radikalleri ve aldehitler, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur. Böylece membranlarda, reseptörleri ve membrana bağlı enzimleri inaktive etmek suretiyle membran proteinlerinde de ciddi hasarlar meydana getirebilirler. İyon transportunu etkileyebilirler. Plazma lipoproteinleri ve özellikle düşük dansiteli lipoproteinler de oksidasyona uğrayabilirler. Okside lipoproteinler hücre fonksiyonlarının bozulmasına aracılık edebilirler (Rice-Evans ve ark., 1991). LPO reaksiyonu ya toplayıcı antioksidan reaksiyonlarla sonlandırılır veya otokatalitik yayılma reaksiyonları ile devam eder (Şekil 1.9) (Dikici, 1999; Gutteridge, 1995).

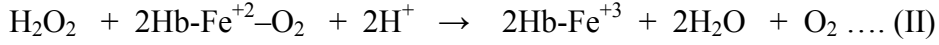


Şekil 1.9. Linoleik asidin OH[•] radikalinin bulunduğu ortamda lipid peroksidasyona uğraması ve son ürün olarak farklı aldehit moleküllerinin oluşması

1.7.3. Proteinler Üzerine Etkileri

Proteinler serbest radikallere karşı lipidlerden daha az hassastır. Etkilenme dereceleri içerdikleri aminoasit kompozisyonuna bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren amino asitlerden (triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin, sistein gibi) meydana gelmiş proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenir. Karbon merkezli radikaller ve sülfür radikalleri meydana gelir. Bu karbon merkezli radikallerden karbonillerin ölçülmesi ile proteinlerin oksidatif hasarı ölçülebilir. Serbest radikallerin meydana getirdiği hasar sonucunda proteinlerde fragmentasyon, çapraz bağlanmalar ve proteinlerin agregasyonu meydana gelir. Yapıları bozulan proteinler normal fonksiyonlarını meydana getiremezler. Enzimler protein yapısında olduklarından enzim aktivitelerinde değişiklikler meydana gelir. “Hem” proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobin O₂^{•-} veya H₂O₂ ile reaksiyona girerek methemoglobin oluşur (Akkuş, 1995; Rice-Evans ve ark., 1991).





1.7.4. Karbonhidratlar Üzerine Etkileri

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine de önemli etkileri vardır. Glukoz, mannoz ve deoksi şekerler fizyolojik şartlarda otooksidasyona uğrayarak, süperoksit ve hidrojen peroksiti meydana getirirler. Monosakkaritlerin otooksidasyonunun, protein çapraz bağlanmalarına yol açarak agrega olmalarına sebep olduğu gibi bazal membran kalınlaşmasına ve sonuçta katarakt, mikroanjiopati gelişimine de sebep oldukları ileri sürülmektedir (Yanbeyi, 1999).

Serbest radikaller, bu etkilerinden dolayı çok çeşitli hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynarlar. Diabet ve diabet komplikasyonlarının gelişimi, koroner kalp hastalığı, hipertansiyon, romatoid artrit, behçet hastalığı, çeşitli deri, kas ve göz hastalıkları, kanser ve yaşlılık gibi birçok hastalıkta serbest radikal üretiminin arttığı ve antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu gösterilmiştir (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Böylece kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar (Holley ve Cheeseman, 1993).

1.7.5. Nükleik Asitler ve DNA Üzerine Etkileri

İyonize edici radyasyona bağlı hücre ölümünün başlıca nedeni nükleik asitlerin reaktif oksijen türleri ile reaksiyonudur. Reaktif oksijen türleri, DNA çift sarmalının ayrılmasına veya nükleik asit-baz değişimlerine neden olabilir. Bu da kromozal mutasyonlar ve sitotoksosite ile sonuçlanır (Frei, 1994).

OH[•] radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar. Eğer OH[•] radikali DNA'nın yakınında meydana gelirse pürin ve pirimidin bazlarını hasara uğratarak mutasyonlara neden olabilir. OH[•] radikali, nükleik asitlerde doymuş karbon atomlarından hidrojen çıkarır veya çift bağlara katma tepkimeleri ile sonuçlanan tepkimelere girer. Singlet oksijenin nükleik asitlerle tepkimeye girme yeteneği daha sınırlıdır. Süperoksit anyonu güçlü bir oksitleyici olduğundan, guanin gibi yüksek elektron

yoğunluklu bölgeler içeren moleküllerle daha kolay tepkimeye girer (Yanbeyi, 1999; Halliwell and Gutteridge, 1999).

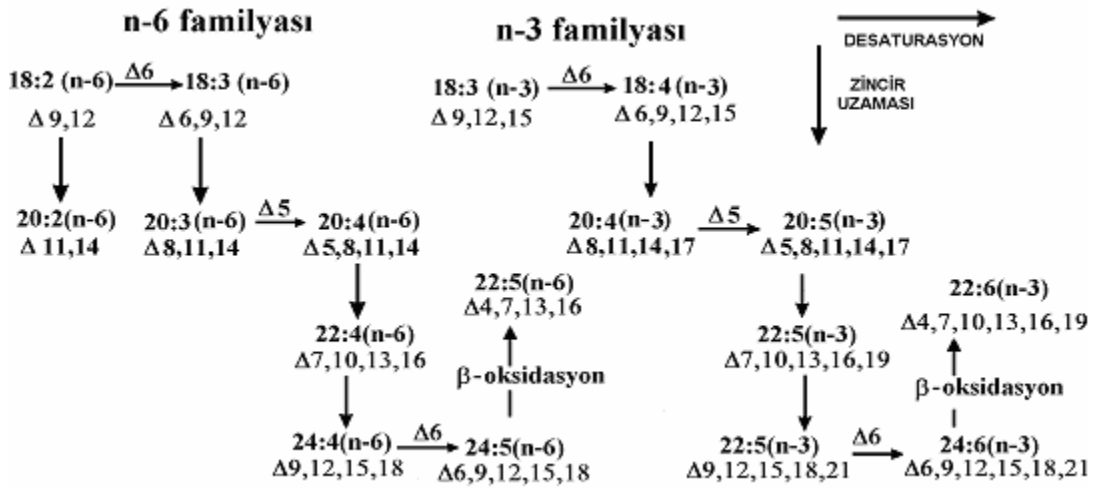
Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir (Oğuz, 1990; Taşdemir, 1997). Reaktif oksijen türleri, DNA'nın oksidatif hasarına neden oldukları için karsinogenesis, bazı hastalıklar ve yaşlanmada önemli rol oynamaktadırlar (Frei, 1994; Winrow ve ark., 1993).

1.8. Yağ Asitleri

İnsanların da içinde yer aldığı memeli grubunda iki farklı yağ asidi metabolizması etkili olmaktadır. Bunlardan birincisi vücuttaki karbonhidrat ve amino asit öncüllerinden *de nove* olarak sentezlenen ve doku fosfolipidlerinde ve depo lipitlerinde yer alan palmitik, palmitoleik, stearik, oleik, eikosenoik, dokosanoik ve lignoserik asit ile nervonik asitler; ikincisi ise linoleik (18:2, n6) ve linolenik asitler (18:3, n3) ile başlayan esansiyel yağ asidi metabolizması olarak bilinir. Çünkü; bu metabolizmanın başlaması için gerekli olan linoleik (18:2, n6) ve linolenik asit (18:3, n3), özellikle karasal ortamda yaşayan organizmalar için Δ^{12} desaturaz ve Δ^{15} desaturaz enzimleri bulunmadığı için *de nove* olarak sentezlenemezler, ancak besin yoluyla vücuda alınmaları gerekir (Şekil 1.10) (Tvrzicka ve ark., 2002; Antueno ve ark., 2001; Duplus ve Forest, 2002).

Mammalia grubu canlıların dokularında, doymamış yağ asidi sentezini sağlayan enzim sistemi 9. ile 10. karbon atomları arasında sonlanmaktadır. 10. karbondan daha ileri çift bağ girişini sağlayan enzim sistemi, *de nove* olarak sentezlenen yağ asitleri için söz konusu değildir. Lipid biyosentezinin en önemli bölümünü oluşturan *de nove* yağ asidi sentezi, hücredeki homeostaziyi sağlama ve hücrenin yaşamı açısından oldukça önemlidir (Voet ve ark., 1999; Nelson ve Cox, 2000).

Hücre yaşamını devam ettirebilmek için değişik kaynaklardan karbonhidrat, protein ve lipid içerikli besinler almak zorundadır. Özellikle bu moleküllerden karbonhidratlar hücre için tercih edilen yakıt molekülleri arasında ilk sırada gelmektedir. Hücre kendisi için gerekli olan ATP molekülünü sentezledikten sonra, geriye kalan karbonhidratların bir kısmını karaciğer ve kas dokusunda glikojen olarak depolar ve geriye kalan kısmını da *de nove* yağ asidi sentezine yönlendirir.

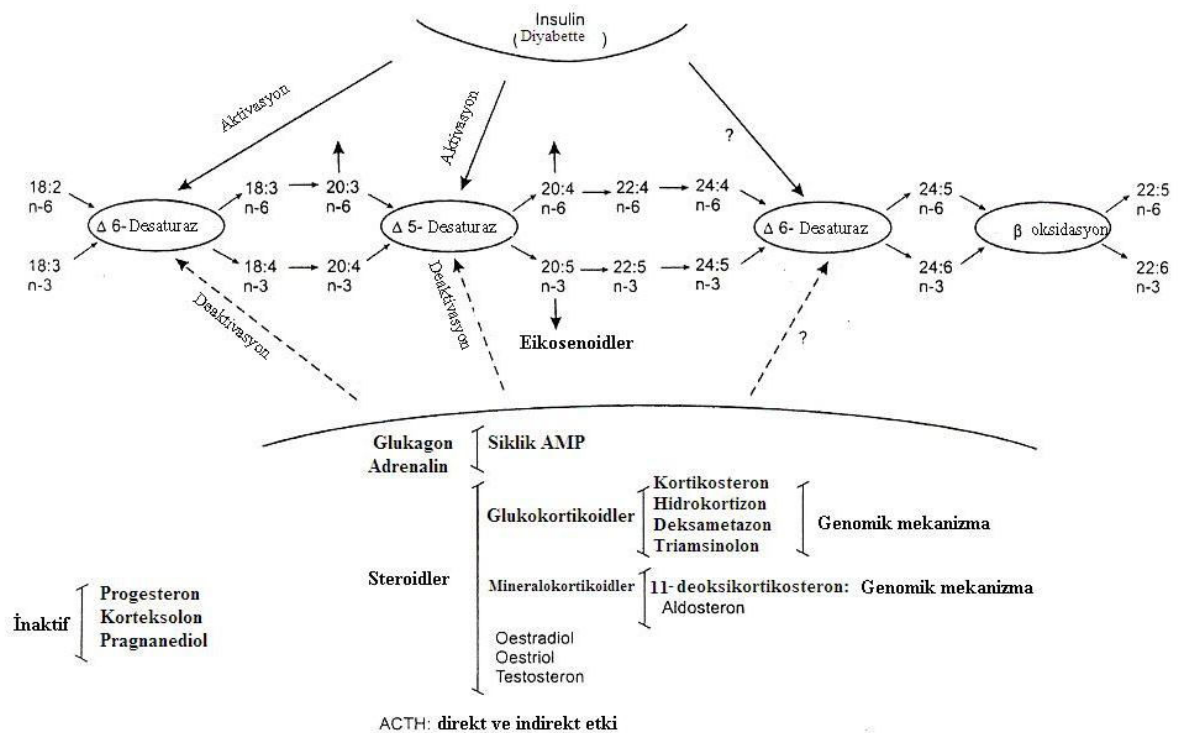


Şekil 1.10. Memelilerde esansiyel yağ asitlerinin izlediği metabolik yolları (Tvrzicka ve ark., 2002)

Yağ asidi sentezinde hız sınırlayıcı enzim asetil CoA karboksilaz olup, indirgeyici molekül NADPH'tır. Bu enzim insülin hormonu etkisi altında olup, insülin tarafından aktive edilmektedir. Mitokondriden sitosole sitrat ile taşınan asetil CoA, bu enzim tarafından bir CO₂'in ilave edilmesiyle Malonil CoA'ya dönüşür ve bu şekilde yağ asidi sentetaz enzimi de aktif hale getirilir. Yağ asidi sentetaz enziminin aktivitesi sonucunda asetil CoA ile başlayan sentez sonunda 16 C'lu palmitoil CoA ve daha sonra palmitik asit (16:0) gibi bir ürün oluşumu ile sonlanır. Bu şekilde gerçekleşen olay lipogenez olarak adlandırılır ve başlıca karaciğer, adipoz doku, meme bezleri ve böbrek dokularında aktif şekilde gerçekleşir. Lipogenez'in son ürünü olarak sentezlenen palmitik asit, mitokondri, endoplazmik retikulum, peroksizomlar ve mikrozomlarda iki karbon birimlerinin eklenip zincir uzatılmasıyla 24 karbonlu lignoserik asite kadar farklı yağ asitlerinin oluşumunu sağlar. Doku hücrelerinde *de novo* olarak sentezlenen palmitik, stearik, oleik asit gibi yağ asitleri aynı zamanda besinlerle alınarak hücre yapısına katılırlar. Bu aşamadan sonra *de novo* olarak sentezlenen palmitik asit ve zincir uzaması ile elde edilen stearik asit, bazı değişikliklere uğratarak hücre yapısına katılmadığı zaman hücre fizyolojisinde anormal olayların ortaya çıkmasına neden olur. Bundan dolayı bazı enzimatik olaylarla doymamış hale getirilerek, hücre fosfolipidlerine katılır ya da hücredeki trigliseridlerde depo edilir.

Bu yağ asitlerinin doymamış formu olan palmitoleik (16:1, n9 ve n7) ile oleik (18:1, n9 ve n7) asitlere dönüşümünü katalize eden enzim sterol CoA desaturaz enzimidir.

İnsanlarda ve diğer memelilerde *de novo* olarak sentezlenen ve monoenoik yağ asidi sentezi dışındaki diğer yağ asidi metabolizması, aşırı doymamış yağ asitlerinin sentezlendiği esansiyel yağ asidi metabolizmasıdır. Esansiyel yağ asidi metabolizması bütün dokularda linoleik (18:2, n6) ve linolenik (18:3, n3) yağ asitleri ile başlar. Bu yağ asitlerini metabolizması zincir uzatılması ve hidrokarbon zincire çift bağ girişini sağlayan enzimlerin aktivitesiyle devam eder. Memeliler Δ^{12} ve Δ^{15} enzimlerine sahip olmadıkları için bu yağ asitlerini sentezleyemezler. Bunlar besin yoluyla memeliler tarafından alındığı için esansiyel yağ asidi olarak bilinirler. Bu yağ asitleri Δ^6 desaturaz ve Δ^5 desaturaz enzimlerinin aktivitesiyle, linoleik asitler (18:2 n6), eikosadienoik asit (20:2, n6), araşidonik asit (20:4, n6), dokosadienoik asit (22:2, n6), dokosatetroenoik asit (22:4, n6), dokosapentaenoik asit (22:5, n6) gibi daha uzun zincirli ve aşırı doymamış yağ asitlerinin meydana gelmesini katalize ederler (Şekil 1.11) (Tvrzicka ve ark., 2002; Brener, 2000).



33

1.9. Bitkilerin Canlı Organizmalardaki Etkileri

Oksidatif stresin kanser, damar tıkanıklığı, sıtma ve romatizmal eklem ağrıları gibi hastalıklara sebep olduğu bilinmekle beraber, yaşlanma ve nörodejenratif gibi süreçlerde de önemli rol oynadığı ileri sürülmektedir. Bunların yanı sıra inflamasyon ve şeker hastalığı gibi patofizyolojik durumlara da sebep olduğu belirtilmiştir (Gülçin ve ark., 2002). Sebze ve meyvelerin, E vitamini, C vitamini, α - tokoferol, β -karoten ve polifenolik bileşik gibi antioksidanlar ile birçok hastalığa karşı koruma görevi yaptığı kaydedilmiştir (Abushita ve ark., 1997). Canlı sistemlerde diyetle alınan α - tokoferol, β -karoten ve askorbik asit gibi antioksidanlar ile süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) gibi endojen antioksidan olan enzimler oksidatif hasarları önlemektedirler. Birçok çalışmada fenolik bileşiklerin *in vitro* olarak LDL'nin oksidasyonunu engellediği bildirilmiştir. Özellikle birden fazla hidroksil grubuna sahip fenolik bileşiklerin bu oksidasyonu çok etkin bir şekilde önlediği bilinmektedir (Meyer ve ark., 1998; Nakagawa ve ark., 1999). Son yapılan çalışmalarda antioksidanların serbest radikallerin meydana getirdiği hasardan hücreyi koruduğu gözlenmiştir (Saint-Cricq ve ark., 1999). Bütün bunların yanı sıra antioksidan bileşiklerin antimikrobiyal, antiviral, antimutajenik, antialerjik, antikarsinojenik, antimetastaz aktivite, antiülserojenik aktivite ve artan kan basıncını düzenleyici gibi bazı fizyolojik aktivitelere de sahip olduğu kaydedilmiştir. Antioksidanların bu özelliklerinin, meydana gelen serbest radikalleri inhibe eden kemopreventif ajanlar olarak görev yapmalarından kaynaklandığı ileri sürülmektedir (Gülçin, 2002; Miyake ve ark., 1999).

Bitkilerde farklı antioksidan bileşiklerin meydana geldiği bilinmektedir (Larson, 1988; Ramarathnam ve ark., 1988). Doğal antioksidanlar bitkilerin yaprak, gövde ve tohumları olmak üzere bütün organlarında bulunmaktadır. Bitkilerde meydana gelen doğal antioksidanların başlıcaları karotenoidler, vitaminler, fenoller, flavonoidler, glutatyon ve endojen metabolitlerdir. Bitki kökenli antioksidanlar singlet ve triplet oksijen söndürücüsü, serbest radikal gidericisi, peroksit yok edicisi ve enzim inhibitörleri olarak fonksiyon görürler (Larson, 1988). Sebze ve meyveler birçok antioksidan bileşik içerirler. Bunun yanı sıra sebzelerde, kabuklu ve kabuksuz meyvelerde, tohumlarda, yapraklarda, çiçeklerde, köklerde ve kabuklarda bol miktarda antioksidan bileşikler bulunmaktadır (Pratt ve Hudson, 1990). Yapılan araştırmalar, bol miktarda sebze ve meyve tüketiminin,

hastalıklara yakalanma riskini azalttığını, kalp-damar hastalıklarında, kanser vakalarında ve ölüm oranlarında kayda değer azalmalara sebep olduğunu ortaya koymuştur (Gülçin, 2002; Ames ve ark., 1993; Dragsted ve ark., 1993).

Birçok epidemiyolojik çalışma, kalp-damar ve kanser hastalıklarına yakalanma riski ile meyve-sebze tüketimi arasında ters bir orantının olduğunu ortaya koymuştur. Sebze ve meyvelerin bu özellikleri, onlarda bulunan antioksidan özelliğe sahip askorbik asit, tokoferoller, karotenoidler, flavonoidler gibi temel bileşik gruplarından kaynaklanmaktadır. Çünkü bu bileşikler meyvelerde ve bitkisel besinlerde bol miktarda bulunmaktadır. Ayrıca kalp-damar hastalıkları oranının yüksek olduğu ülkelerde insan kanındaki E vitamini miktarının, kalp-damar hastalıklarının az olduğu ve C vitamini kadar E vitamininin de tüketildiği ülkelere göre daha düşük olduğu bulunmuştur.

Sebze ve meyvelerin bazıları yüksek antioksidan aktiviteye sahip bileşikler içerirler. Örnek olarak özellikle Asya ülkelerinde içecek olarak bol miktarda tüketilen çay verilebilir. Çayın anti-hipertansiyon (Henry ve Stephens, 1984), antioksidatif (Ho ve ark., 1992; Yildirim ve ark., 2000), anti-aterosklerotik (Luo ve ark., 1997) ve antikarsinojenik (Wang ve ark., 1994) etkilere sahip olduğu ispatlanmıştır. Yeşil çay yaprakları değişik oranlarda (-)-epikateşin, (-)-epikateşin galat, (-)-epigallokateşin ve (-)-epigallokateşin galat içerir (Ho ve ark., 1997; Amarowicz ve Shahidi, 1996). Kateşinler metal iyonlarını bağlayıcı ve oksijen radikalini tutuklayıcı etkilerinden dolayı kuvvetli antioksidan olarak tanınırlar (Chen ve ark., 1990). Yapılan çalışmalar meyve ve sebzelerde kuvvetli antioksidan bileşiklerin bulunduğunu göstermiştir. Örneğin keyif verici bitkilerde (Wang ve ark., 1999), dut yaprağında (*Morus alba* L.) (Yen ve ark., 1996), zeytinde (Romani ve ark., 1999) kuvvetli antioksidan aktiviteye sahip bileşiklerin bulunduğu tespit edilmiştir.

Meyvelerde, antioksidan özellik gösteren fenolik bileşikler ve flavonoidler mevcuttur. Meyvelerdeki antioksidan aktivite üzerine yapılan bir çalışmada çilekteki antioksidan kapasitenin şeftali, elma, portakal, kivi ve domatesten fazla olduğu bulunmuştur (Halvorsen ve ark., 2002). Bazı meyve sularının ve içeceklerin de antioksidan özelliklere sahip oldukları bulunmuştur. Karamel içeren içeceklerin, antioksidan kapasitelerinin çay, kahve veya çikolata içeren içeceklere göre daha az olmasına rağmen, diyetle gelen antioksidan besin havuzuna katkıda bulundukları ileri sürülmüştür (Brennen ve Anderson, 1980). Bitkilerde doğal antioksidan aktivitelerin belirlenmesi ve bazı antioksidan komponentlerin izolasyon ve karakterizasyon işlemleri son zamanlarda büyük bir ivme kazanmış ve bu konuda çok yoğun çalışmalar devam etmektedir. Özellikle halk

arasında tıbbi amaçlı kullanılan bitkiler ile gıda sektöründe kullanılan bazı bitkiler antioksidan çalışmaların odak noktasını teşkil etmektedir.

1.10. Çalışmada Kullanılan Bitkiler

1.10.1 Böğürtlen (*Rubus discolor*)

Rubus discolor (böğürtlen) Rosaceae familyasındandır. Anayurdu Kuzey Yarıküre'nin ılıman iklim bölgeleri olan *Rubus* cinsi 400 kadar çok yıllık çalı türünün ortak adı böğürtlendir. Bunun 17 türüne ülkemizdeki orman ve fundalıklarda; yol, bahçe ve hendek kenarlarında sıkça rastlanır. Böğürtlen türleri 1-3 m boylanabilirken, kimi türleri sarmaşık şeklinde, kimileri de yerde sürünerek gelişir. İki yıllık dikenli gövdeleri, kenarları dişli 3-5 yaprakçıktan oluşan ve kışın dökülmeyen yaprakları, yaz aylarında tek tek ya da salkım halinde açan pembe veya beyaz çiçekleri vardır. Yaz sonu ya da sonbahar başında bu çiçekler kırmızımsı kara renkli, üzeri çok ince tüylü, duta benzeyen meyvelere dönüşür. Böğürtlenin tıbbi etkileri arasında doku ve damar büzücü, idrar söktürücü ve yara iyileştirici etkisi sayılabilir.

Gövdeleri silindir şekillidir ve içi dolu, odunlu ve dikenli dallar, önce dik, sonra aşağı doğru kıvrık olarak gelişir. Yapraklar saplı, kenarları dişli, alt yüzeyleri tüylüdür. Yaprak sapında, uçları geriye doğru kıvrık dikenler bulunur. Çiçekler dalların ucunda toplanmıştır. Meyveleri, çok sayıda meyvenin bir araya gelmesiyle meydana gelmiş küre biçiminde bir birleşik meyvedir. Rengi önce yeşil, sonra kırmızı ve daha sonra olgunlukta siyahımtıraktır. Kullanılan kısımları yaprakları ve çiçek tomurcuklarıdır. Yapraklar bitki çiçek açmadan toplanır ve gölgede kurutulur. Yapraklarda tanen ve organik asitler ihtiva eder (Baytop, 1984).



Şekil 1.12. *Rubus discolor* yaprak ve çiçeklerinin görünüşü



Şekil 1.13. *Rubus discolor* ham ve olgun meyvelerinin görünüşü

1.10.2. Alıç (*Crataegus monogyna*)

Alıç kışın yaprağını döken, çoğunlukla boylu çalı ya da 8-10 m boylanabilen küçük bir ağaçtır. Kahverengi, yeşil-kırmızı renkteki genç sürgünler çıplak veya taze iken tüylüdür. Ağaca ismini veren dikenler eğri değil, düz olup tek tekdir. Tomurcuklar küçük, yuvarlakçadır. 4-5 cm boyundaki yapraklar derin 3-7 lopludur. Bu lopların uçları yalın veya çift dişlidir. Üst yüzleri koyu yeşil, alt yüzü mavi-yeşil ve tüylüdür. Mayıs ayında açan beyaz çiçekler şemsiyemsi salkım tipinde kurullar oluştururlar. Sonbaharda olgunlaşan kırmızı renkli meyvenin içinde tek tohum bulunur. Doğal yayılış alanı Avrupa, Kuzey Afrika ile Asya'nın ılıman bölgeleridir. Türkiye'de geniş bir yayılış alanı vardır. Uzun yıllardır süs bitkisi olarak kullanılır. İyi bir çit bitkisidir.

Alıç meyvesinin bileşimi aminler, tanen, vitamin C, tri-terpen türevleri, flavon türevleri ve acı maddedir. Herbiri, bitkiye çok güçlü antioksidan özellikler veren flavonoid bileşikler açısından oldukça zengindir. Alıç, kalp-damar sistemi üzerinde pozitif etkiler gösteren 3 grup ana bileşik içerir. Bu bileşikler; triterpenoid saponinler, aminler ve flavonoidlerdir. Alıç serbest radikal oluşumunu engelleyerek kalbin damar sistemini olumlu yönde etkilemektedir. Araştırmacılar, bu bitkinin kalp ve beyine kan akışını ve kalbin kasılma gücünü artırdığını, kalbi düzensiz atışlara (kalp ritm bozukluğu) karşı koruduğunu ve kan basıncını dengelediğini göstermişlerdir. Alıç içerisindeki etken maddeler kalp kasları dejenerasyonunda ve koroner damarlardaki daralmalar sonucu gerekli miktarda kanın ve oksijenin kalp kaslarına gönderilememesi durumundaki oksijen yetersizliğine karşı da kalbin korunmasına yardımcı olmaktadır. Bilindiği gibi bu durum, şiddetli göğüs veya kalp ağrısı şeklinde kendini gösteren ve anjina olarak bilinen bir rahatsızlığa yol açabilmektedir (Baytop, 1984).



Şekil 1.14. *Crataegus monogyna* yaprak ve çiçeklerinin görünüşü



Şekil 1.15. *Crataegus monogyna* meyvelerinin görünüşü

1.10.3. Civanperçemi (*Achillea millefolium*)

Halk arasında ayvadana olarak da bilinen *Achillea millefolium* (civanperçemi), papatyagiller ailesinden olan çok yıllık otsu bir türü olup, en eski tıbbi bitkilerden birisi olarak kabul edilmektedir. Boyu 30-90 cm arasında değişen bu tür yoğun tüylerle kaplıdır. Kendine has bir kokusu olan civanperçeminin yaprakları tüysü yapıdadır. Beyaz renkli olan çiçekleri büyük bir başçık şeklindedir ve tüpsü ile dilsî çiçeklerden oluşur. Tohumları küçük ve sert olup yuvarlak yapıdadır. Bu tohumların papus adı verilen tüyleri yoktur. Halk arasında hazımsızlık ve soğuk algınlığında kullanılır. Tıbbi olarak bu bitkinin kurutulmuş çiçekli kısımları kullanılır. Hafif kokulu ve acı lezzetli olan bu bitkinin içerisinde uçucu yağ, sesquiterpenler, flavonoidler ve tanenler bulunur. Mavimtrak renkli uçucu yağın bileşimi ve miktarı bitkinin varyetesine ve elde ediliş zaman ve yörenesine göre çok değişmektedir. Herba kısmında genellikle % 0.2-0.4 arasında uçucu yağ bulunmaktadır. Bu uçucu yağda, azulen, limonen, sineol, borneol, pinenler, seskiterpenler vardır (Baytop, 1999).



Şekil 1.16. *Achillea millefolium* bitkisinin yaprak ve çiçeklerinin görünüşü

2. MATERYAL ve METOD

2.1. Kimyasal Maddeler ve Organik Çözücüler

Oleik asit (18:1, n9), linoleik asit (18:2, n6), linolenik asit (18:3, n3), Tween 20, Tris-baz, Tris-HCl, EDTA, kuersetin, metanol, asetonitril, n-hekzan, n-heptan, izopropanol, hidrojen peroksit, NaH_2PO_4 , Na_2HPO_4 , butilhidroksitoluen (BHT), butilhidroksianisol (BHA) n-butanol, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), 2-thiobarbitürik asit (TBA), etil alkol, NaCl, KHCO_3 , yağ asidi metil esterleri (doymuş ve doymamış türleri), kolesterol, α - tokoferol, α -tokoferol asetat, vitamin standartları, H_2SO_4 , HCl, fosfat tamponu, glutatyon (GSH), trikloroasetik asit (TCA), 5,5'ditiyobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB), sodyum sitrat, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, sodyum potasyum tartarat, NaOH, Na_2CO_3 , Folin-ciocalteau reaktifi (2 N), albümin, potasyum ferrosiyanür, demir (III) klorür, PMS, NADPH, NBT, demir (II) klorür, ferrozin, pirokatekol, TPTZ, asetat tamponu, CH_3COOH , ABTS, $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, NH_4SCN , KOH, gallik asit, troloks.

2.2. Yararlanılan Alet ve Cihazlar

Soxhlet Cihazı	: Gerhardt Soxtherm SOX-402
pH Metre	: Hanna HI 221
Çalkalamalı Su Banyosu	: Memmert VNB 14
Magnetik Karıştırıcı	: IKA RH Basic
Döner Buharlaştırıcı	: IKA RV 05
Gaz Kromatogafi	: Shimadzu GC 1.7
HPLC Cihazı	: Shimadzu
Homojenizatör	: Micra-D8
Etüv	: Memmert UNB 400
UV-Vis Spektrofotometre	: Shimadzu UV-1700
Vorteks	: IKA
Hassas Terazı	: Denver TP 323
Soğutmalı Santrifüj	: Hettich 320R
Derin Dondurucu	: Uğur

2.3. İnceleme Materyali

Çalışmada kullanılacak olan bitkilerin toplandıkları tarih, rakım, koordinat ve toplanma yerleri aşağıdaki Tablo 2.1’de gösterilmiştir. Toplanan bitkiler laboratuvar ortamında, oda sıcaklığında ve gölgede kurutuldu. Kurutulan bitkiler toplandıkları bölgeye ve türlerine göre tasnif edilerek ekstraksiyon işlemlerine kadar saklandı. Ekstraksiyon işlemine geçilmeden önce toplanan bitkilerin yaprak, çiçek, ham meyve, meyve, olgun meyve ve tohum gibi kısımları ayrı ayrı blenderde öğütülerek ekstaksiyona hazır hale getirildi.

Tablo 2.1. Çalışmada kullanılan bitkilerin toplanma detayları

Bitki Adı	Tarih	Toplandığı Yer	Koordinatlar	Rakım	Toplanan Kısım
<i>Crataegus monogyna</i>	02.05.2009	Gaziantep Sof Dağı Işıklı Köyü Çevresi Meşe Koruluğu İçi	N 37 ⁰ 09.415’ E0 37 ⁰ 12.864’	1090 m	Yaprak ve Çiçekler
<i>Crataegus monogyna</i>	16.05.2009	Gaziantep Sof Dağı Işıklı Köyü Çevresi Meşe Koruluğu İçi	N 37 ⁰ 09.415’ E0 37 ⁰ 12.864’	1090 m	Yaprak ve Çiçekler
<i>Achillea millefolium</i>	01.07.2009	Muş Şeker Fabrikası Çevresi Yol Kenarı	N 38 ⁰ 43.958’ E0 41 ⁰ 33.884’	1300 m	Yaprak ve Çiçekler
<i>Rubus discolor</i>	02.07.2009	Bingöl-Muş Yolu 11. km Yol Kenarı	N 38 ⁰ 54.731’ E0 40 ⁰ 35.312’	1059 m	Yaprak ve Çiçekler
<i>Achillea millefolium</i>	13.08.2009	Muş Şeker Fabrikası Çevresi Yol Kenarı	N 38 ⁰ 43.958’ E0 41 ⁰ 33.884’	1300 m	Meyve ve Tohumlar
<i>Rubus discolor</i>	13.08.2009	Bingöl-Muş Yolu 11. km Yol Kenarı	N 38 ⁰ 54.731’ E0 40 ⁰ 35.312’	1059 m	Ham ve Olgun Meyveler
<i>Crataegus monogyna</i>	03.10.2009	Gaziantep Sof Dağı Işıklı Köyü Çevresi Meşe Koruluğu İçi	N 37 ⁰ 09.415’ E0 37 ⁰ 12.864’	1090 m	Meyve

2.4. Ekstraksiyon İşlemleri

Bütün ekstraksiyon işlemleri Gerhardt Soxtherm SOX-402 soxhlet cihazıyla gerçekleştirildi. Ekstraksiyon işlemi *Crataegus monogyna* (Alıç), *Achillea millefolium* (Civanperçemi) ve *Rubus discolor* (Böğürtlen) bitkilerinin çiçek, yaprak, ham meyve, meyve, olgun meyve ve tohumlarından; su ve etanol çözücülerini kullanılarak gerçekleştirildi. Ekstraksiyon işlemi, 10 gram ağırlığındaki kuru bitki kısımlarının Soxhlet cihazında kuru ağırlıklarının 20 katı kadar çözücülerle gerçekleştirildi. Kuru bitki ağırlığına karşılık gelen ekstre miktarları ve yüzdeleri aşağıdaki Tablo 2.2’de gösterilmiştir.

Tablo 2.2. Kuru bitki ağırlığına karşılık gelen ekstre miktarları ve yüzdeleri

Bitki Adı	Kuru Ağırlık	Etanol Ekstresi		Su Ekstresi	
	(g)	(g)	(%)	(g)	(%)
<i>Achillea millefolium</i> Yaprak	10	0.756	7.56	2.495	24.95
<i>Achillea millefolium</i> Çiçek	10	1.693	16.93	1.901	19.01
<i>Achillea millefolium</i> Tohum	10	0.967	9.67	1.972	19.72
<i>Crataegus monogyna</i> Çiçek	10	1.77	17.7	3.047	30.47
<i>Crataegus monogyna</i> Yaprak	10	1.626	16.26	2.551	25.51
<i>Crataegus monogyna</i> Meyve	10	3.232	32.32	3.898	38.98
<i>Rubus discolor</i> Yaprak	10	1.835	18.35	2.334	23.34
<i>Rubus discolor</i> Çiçek	10	3.134	31.34	3.125	31.25
<i>Rubus discolor</i> Ham Meyve	10	1.706	17.06	2.728	27.28
<i>Rubus discolor</i> Meyve	10	3.638	36.38	2.77	27.7

2.5. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

2.5.1. Total Antioksidan Aktivite Tayininde Kullanılan Çözeltiler

1. 0.04 M Fosfat Tamponu (pH=7.4): 1.38 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ alınarak destile suda çözüldü ve hacmi 250 mL'ye tamamlandı.

2. 0.017 M Linoleik Asit Emülsiyonu: 265 μL linoleik asit alınıp 50 mL pH=7.4 fosfat tamponuna ilave edildi. Emülgatör olarak Tween-20 ilave edilerek karışım homojenize edildi.

3. % 3.5'lik HCl Çözeltisi: % 37'lik HCl'den 9.46 mL alınarak, destile su ile hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

4. 20 mM FeCl_2 Çözeltisi: 397 mg $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, % 3.5'lik HCl içinde çözülerek hacim destile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

5. % 30'luk NH_4SCN Çözeltisi: 30 g NH_4SCN destile suda çözüldü, hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

2.5.2. İndirgeme Kuvveti Tayininde Kullanılan Çözeltiler

1. 0.2 M Fosfat Tamponu (pH=6.6): 6.24 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ bir miktar destile suda çözülerek 250 mL'ye yakın bir hacme tamamlandı ve pH metre kullanılarak NaOH çözeltisiyle pH=6.6'ya ayarlandı.

2. % 1'lik $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ Çözeltisi: 2.5 g $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ bir miktar destile suda çözüldü, toplam hacmi 250 mL'ye tamamlandı.

3. % 10'luk TCA Çözeltisi: 25 g TCA bir miktar destile suda çözüldü, toplam hacmi 250 mL'ye tamamlandı.

4. % 0.1'lik FeCl_3 Çözeltisi: 83 mg $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ destile suda çözüldü, toplam hacmi 50 mL'ye tamamlandı.

2.5.3. Serbest Radikal (DPPH') Giderme Aktivitesi Tayininde Kullanılan Çözeltiler

1. 10^{-3} mM DPPH' Çözeltisi: 39 mg kuru DPPH' alüminyum folyo sarılı erleninde 100 mL destile etanolde tamamen çözününceye kadar karıştırılarak çözüldü.

2.5.4. Süperoksit Radikali Giderme Aktivitesi Tayininde Kullanılan Çözeltiler

1. 60 μ M PMS Çözeltisi: Önce 18 mg PMS alındı ve toplam hacim 1 litreye fosfat tamponuyla (pH=7.4, 0.1 M) tamamlandı. Daha sonra bu çözeltiden 10 mL alındı ve 100 mL'ye aynı tamponla seyreltilti.

2. 468 μ M NADH Çözeltisi: 34 mg NADH alındı ve toplam hacim 100 mL'ye kadar fosfat tamponuyla (0.1 M, pH=7.4) tamamlandı.

3. 150 μ M NBT Çözeltisi: 6.1 mg NBT alındı ve toplam hacim 50 mL'ye kadar fosfat tamponuyla (0.1 M, pH=7.4) tamamlandı.

2.5.5. Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi Tayininde Kullanılan Çözeltiler

1. 0.1 M Fosfat Tamponu: 1.56 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 80 mL destile suda çözülerek, pH metre yardımıyla pH=7.4'e ayarlandı ve toplam hacim saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

2. 40 mM H_2O_2 Çözeltisi: % 30'luk H_2O_2 'den 343 μ L alındı ve 0.1 M'lık fosfat tamponu ile 100 mL'ye tamamlandı.

2.5.6. Metal Şelatlama Aktivitesi Tayininde Kullanılan Çözeltiler

1. 2 mM FeCl_2 Çözeltisi: 0.02 g $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ alındı ve hacim saf su ile 50 mL'ye tamamlandı.

2. 5 mM Ferrozin Çözeltisi: 0.123 g Ferrozin alındı, bir miktar suda çözüldü ve toplam hacim saf su ile 50 mL'ye tamamlandı.

2.5.7. Total Fenolik Bileşik Miktarı Tayininde Kullanılan Çözeltiler

1. % 2'lik Na_2CO_3 Çözeltisi: 2 g Na_2CO_3 100 mL'lik balon jodede bir miktar saf suda çözüldü ve hacmi saf suyla 100 mL'ye tamamlandı.

2. Folin-Ciocalteu Reaktifi: Satın alındığı şekilde kullanılmıştır.

2.5.8. FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) Testinde Kullanılan Çözeltiler

1. 10 mM TPTZ (2,4,6-Tripyridyl-s-Triazine) Çözeltisi: 0.156 g TPTZ alındı ve toplam hacim saf su ile 50 mL'ye tamamlandı.
2. 20 mM FeCl₃ Çözeltisi: 0.27 g FeCl₃.6H₂O alındı ve toplam hacim saf su ile 50 mL'ye tamamlandı.
3. 300 mM Asetat Tamponu Çözeltisi: 10.206 g NaCH₃COO alındı ve toplam hacim saf su ile 250 mL'ye tamamlandı.

2.5.9. ABTS^{•+} Yok Edici Testinde Kullanılan Çözeltiler

1. 0.01 M Fosfat Tamponu Çözeltisi: 0.39 g NaH₂PO₄.2H₂O alındı ve toplam hacim saf su ile 250 mL'ye tamamlandı.
2. 2.45 mM K₂S₂O₈ Çözeltisi: 0.033 g K₂S₂O₈ alındı ve toplam hacim saf su ile 50 mL'ye tamamlandı.
3. 7 mM ABTS Çözeltisi: 0.068 g ABTS alındı ve toplam hacim fosfat tamponuyla 25 mL'ye tamamlandı.

2.6. In Vitro Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

Antioksidan kapasite belirleme testleri Shimadzu UV-1700 spektrofotometre cihazında gerçekleştirilmiştir.

2.6.1. İndirgeme Kuvveti Tayini

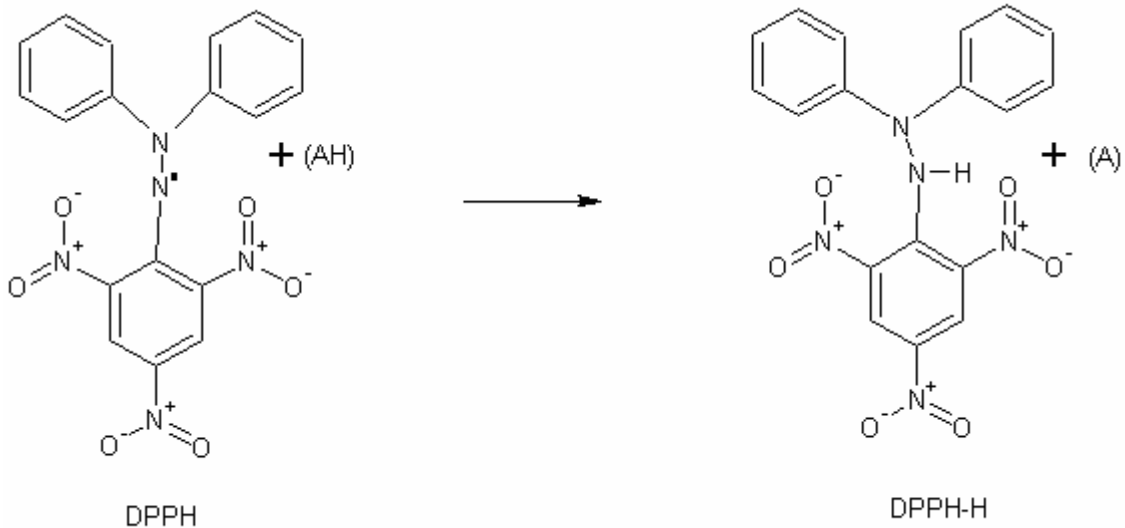
Çalışmada kullanılan bütün ekstrelerin indirgeme kuvveti Oyaizu (1986) metoduyla Fe⁺³'ün Fe⁺²'ye transformasyonuna göre yapıldı. Bu yöntemde Fe⁺³'ün ne kadarının Fe⁺²'ye dönüştüğü 700 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülebilir. Burada Fe⁺³ kaynağı olarak FeCl₃ kullanılır. 700 nm dalga boyundaki yüksek absorbans ortamdaki Fe⁺²'nin fazlalığını göstermektedir (Gülçin, 2002).

Stok çözeltiler için 10 mg etanol ekstreleri 10 mL etanolde; 10 mg su ekstresi için ise 10 mL destile suda çözülerek hazırlandı. 0, 50, 100, 250, 500 µg/µL stok çözeltiler

alınarak cam tüplere aktarıldı ve hacimler destile su ile 1 mL'ye tamamlandı. Daha sonra her bir tüpe 2.5 mL 0.2 M fosfat tamponu (pH=6.6) ve 2.5 mL % 1'lik $K_3[Fe(CN)_6]$ ilave ederek karışım 50 °C'de 20 dk inkübe edildi. Bu işlemten sonra reaksiyon karışımlarına 2.5 mL % 10'luk triklor asetik asit (TCA) ilave edildi. Çözeltilerin üst fazından 2.5 mL alınarak üzerine 2.5 mL destile su ve % 0.1'lik 0.5 mL $FeCl_3$ ilavesinden sonra absorbans 700 nm'de köre karşı okundu. Kör olarak destile su kullanıldı. Kontrolde ise numune yerine su kullanıldı.

2.6.2. Serbest Radikal (DPPH[•]) Giderme Aktivitesi

DPPH[•] (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), bir radikal olup bir elektron veya hidrojen radikali ile etkileşerek stabil diamanyetik bir molekül olma eğilimi göstermektedir. DPPH[•] miktarında meydana gelen azalma, 517 nm'de spektrofotometrik olarak tayin edilebilmektedir. Bu yüzden DPPH[•], antioksidan aktivite tayininde sıklıkla substrat olarak kullanılır. Ortamda bulunan radikal giderici veya söndürücü antiradikal türlerin $(AH)_n$ varlığında koyu menekşe renginde olan DPPH radikalleri Şekil 2.1'de görüldüğü gibi açık sarı renkli olan indirgenmiş DPPH formuna (DPPH-H) dönüşmektedir. Bu dalga boyunda azalan absorbans geriye kalan DPPH[•] miktarını yani serbest radikal giderme aktivitesini verir (Soares ve ark., 1997).



Şekil 2.1. Bir antiradikal $(AH)_n$ tarafından DPPH radikallerinin giderilmesi [($AH)_n$: Antiradikal, DPPH: İndirgenmiş DPPH formu]

Serbest radikal olarak DPPH kullanıldı ve 1 mM'lık çözeltisi kullanıldı. Numune olarak indirgeme kuvveti tayininde kullanılan stok çözeltiler kullanıldı. Deney tüplerine önce 4 mL DPPH çözeltisinden bırakıldı. Daha sonra sırasıyla tüplere 50, 100, 250, 400, 500 µg/µL bitki ekstresi içeren çözelti aktarıldı. 30 dk oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyondan sonra etanoldan oluşan köre karşı 517 nm'de absorbansları ölçüldü. Kontrol olarak, 4 mL DPPH çözeltisi kullanıldı. Azalan absorbans, geriye kalan DPPH çözeltisi miktarını yani serbest radikal giderme aktivitesini verir. Ortamdan yok edilen DPPH miktarı aşağıdaki eşitlikten hesaplanmıştır (Shimada ve ark., 1992):

$$\text{DPPH}^{\bullet} \text{ Yok Etme Yüzdesi } \% = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$$

A_0 kontrolün absorbansı, A_1 örneklerin absorbansı olarak alınmıştır.

2.6.3. Süperoksit Radikalleri Giderme Aktivitesi

Bu yöntem PMS/NADH-NBT sisteminde, PMS/NADH çifti tarafından meydana getirilen süperoksit anyonlarının NBT'yi indirgeme reaksiyonlarına dayanmaktadır. İndirgenmiş NBT ürünü ise 560 nm'de maksimum aktivite göstermektedir. Reaksiyon karışımında absorbans azalması, süperoksit anyonlarının giderildiğini ve dolayısıyla antioksidan aktiviteyi gösterir. Bitki örneklerinin ve standart antioksidanların 100 µg'lık miktarları 560 nm'de absorbansları alınmış ve ortamdan yok edilen süperoksit radikallerinin yüzde miktarı aşağıdaki eşitlikten hesaplanmıştır:

$$\text{Süperoksit Radikali Yok Etme Yüzdesi } \% = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$$

A_0 kontrolün absorbansı, A_1 örneklerin absorbansı olarak alınmıştır.

Ekstrelerin süperoksit radikallerini giderme aktivitesi Cos ve ark., (1998) yapmış olduğu yöntemle göre belirlendi. Bunun için çalışmada kullanılan ekstrelerin 100 µg'ını içeren 1 mL destile suya önce 1 mL 60 µM'lık PMS çözeltisi ilave edildi. Daha sonra sırayla 1 mL 468 µM'lık NADPH ve 1 mL 150 µM'lık NBT çözeltileri ilave edildi. Oluşan reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 5 dk bekletildi. Reaksiyon karışımında ekstre numunesinin eksik olduğu köre karşı 560 nm'de absorbansı okundu. Azalan absorbans, artan süperoksit radikalleri giderme aktivitesini gösterir.

2.6.4. Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi

H₂O₂, kendisi çok reaktif bir ürün olmamasına rağmen zaman zaman hücrelerin toksisitesine sebep olabilmekte ve hücrelerde hidroksil radikallerinin artmasını sağlamaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1990). Özellikle Fe⁺² ve Cu⁺² gibi metal iyonlarının varlığında kolayca OH[•]'e dönüşebilmektedir. Bu yüzden hücre ve gıda sistemlerinde H₂O₂'nin giderilmesi O₂^{•-} radikallerinin giderilmesi kadar önemlidir. Çünkü hücre ve gıda sistemlerinde H₂O₂'nin en önemli diğer kaynağı O₂^{•-}'dir. SOD enzimi tarafından O₂^{•-} kolayca H₂O₂'ye dönüştürülebilir.

Ekstrelerin hidrojen peroksit giderme aktiviteleri Ruch ve ark., (1989) belirledikleri yöntemle yapıldı. Bunun için pH=7.4 olan fosfat tamponunda 40 mM'lık hidrojen peroksit çözeltisi hazırlandı. H₂O₂ konsantrasyonu spektrofotometrik olarak, H₂O₂'nin 230 nm'de absorbans göstermesiyle belirlendi. H₂O₂ için önce standart grafik çizildi. Daha sonra 100 µg/µL alınan ekstrelerin hacimleri 4 mL'ye kadar tampon çözelti ile tamamlandı. Bu işlemlerden sonra 0.6 mL'lik H₂O₂ çözeltisi ilave edildi. 10 dk oda sıcaklığında inkübe edildi. İnkübasyondan sonra hidrojen peroksitin azalan miktarı, 230 nm'de azalan absorbansı, tampon çözeltiden oluşan köre karşı kaydedildi.

Ortamdan giderilen H₂O₂ miktarı aşağıdaki denklemden hesaplanmıştır:

$$\% \text{ H}_2\text{O}_2 \text{ Giderme Aktivitesi} = [(1-(A_0-A_1)/A_0) \times 100]$$

A₀ = Başlangıçtaki H₂O₂ konsantrasyonu

A₁ = Ekstre ilave edildikten sonraki H₂O₂ konsantrasyonu

2.6.5. Metal Şelatlama Aktivitesi

Metal şelatlama aktivitesi lipid peroksidasyonuna sebep olan metalleri tutukladığından dolayı önemlidir. Fenton kimyasında da görüldüğü gibi antioksidan kapasite açısından OH[•] radikallerinin oluşmasına sebep olan Fe⁺² ve Cu⁺ gibi metallerin tutuklanmasında son derece önemlidir.



Ekstreler veya standart antioksidanların varlığında ferrozin-Fe⁺² kompleksi, kontrol grubunda olduğu gibi tam olarak meydana gelmez. Bu durum kullanılan ekstrelerin veya standart antioksidanların metal şelatlayıcı özelliklerini gösterir (Gülçin, 2002).

Ekstrelerin metal şelatlama aktiviteleri, Dinis ve ark., (1994) belirledikleri yöntemle

göre yapıldı. Bu işlem için 2 mM'lık ve 0.05 mL FeCl₂.4H₂O ve 0.35 ml saf su içeren çözelti, 50 ile 500 mg arasında değişik miktarlarda ekstre ihtiva eden 0.2 mL'lik çözeltiye ilave edildi. Bunun üzerine de toplam hacim 4 mL olacak şekilde etanol ilave edildi. Reaksiyon 0.2 mL ve 5 mM'lık ferrozin çözeltisi ilave edilmesiyle başlatıldı. Çözelti vortekste kuvvetli bir şekilde karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 10 dk bekletildi. İnkübasyondan sonra çözeltinin 562 nm'de absorbansı ferrozin hariç geriye kalan çözeltiden oluşan köre karşı kaydedildi. Kontrol olarak ekstre numunesi hariç geriye kalan çözelti kullanıldı. Yüzde metal şelatlama aktivitesi şu formülden hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Metal Şelatlama Aktivitesi} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A₀ = Kontrol Absorbansı

A₁ = Numunenin Absorbansı

2.6.6. Toplam Fenolik Bileşik Miktarı Tayini

Ekstrelerdeki toplam fenolik bileşik miktarı, Folin-Ciocalteu reaktifi ile Singleton ve ark., (1999) metoduna göre belirlendi. Standart fenolik bileşik olarak pirokatekol ve kuersetin kullanıldı. Önce standart grafik çizmek amacıyla 25 mg pirokatekol ve 25 mg kuersetin ayrı ayrı 25 mL destile suda çözülerek stok çözelti hazırlandı. Bu stok çözeltilerden 0, 50, 100, 200 ve 400 µL alınıp 100 mL'lik erlenlere konuldu. Toplam hacim destile suyla 46 mL'ye tamamlandı. Erlenlere sırasıyla 1 mL Folin-Ciocalteu reaktifi ve 3 dk sonra da % 2'lik Na₂CO₃ çözeltisinden 3 mL ilave edildi. Böylece toplam hacim 50 mL'ye tamamlandı. Karışım 2 saat boyunca oda sıcaklığında çalkalandı. Daha sonra numunelerin absorbansı 760 nm'de destile suya karşı okundu. Kontrol için numune yerine destile su kullanılarak hazırlandı. Numunelerin absorbans değerlerine karşılık gelen pirokatekol miktarları

$$\text{Absorbans} = 0.00209 \times \mu\text{g Pirokatekol} + 0.00166$$

standart grafik denklemi kullanılarak tespit edildi ve sonuçlar pirokatekol ekivalent şeklinde ifade edildi Kuersetin için ise

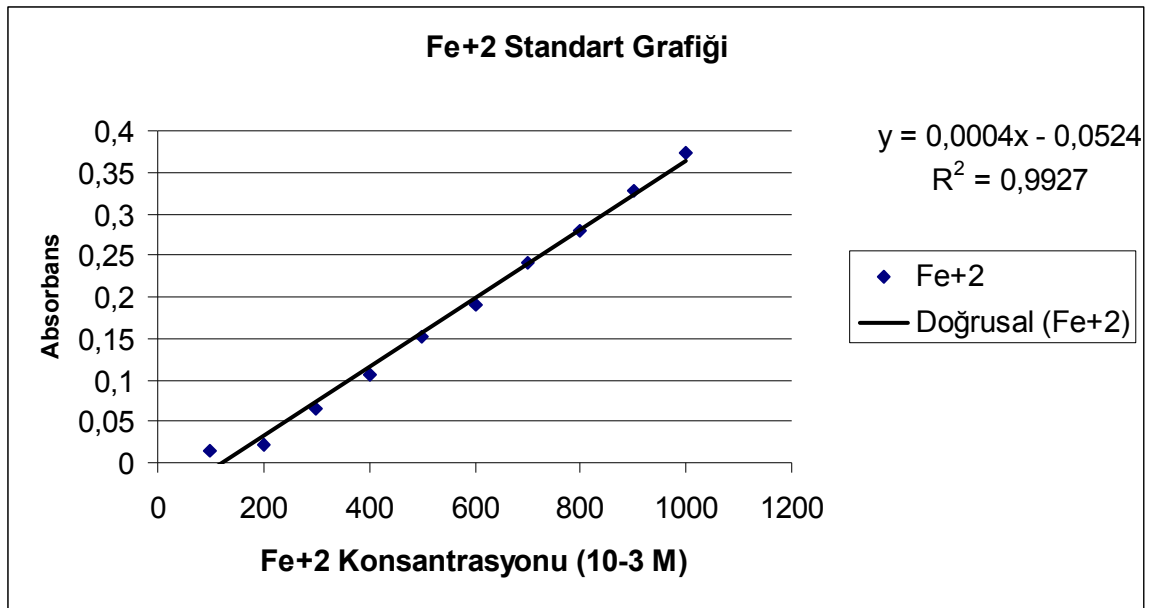
$$\text{Absorbans} = 0.0005 \times \mu\text{g Kuersetin}$$

standart grafik denklemi yardımıyla belirlendi ve sonuçlar kuersetin ekivalent şeklinde ifade edildi.

2.6.7. Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) Testi

Bir örneğin veya ekstrenin Fe^{+3} indirgeme yeteneğinin ölçülmesi basit ve çok yaygın bir yöntem olup FRAP testi adı verilir ve antioksidan kapasitenin ölçülmesi için kullanılan yöntemlerden biridir. Fe^{+3} iyonlarının düşük pH değerlerinde Fe^{+2} ’ye indirgenmesi, renkli Fe^{+3} -tripridil triazin kompleksinin oluşmasına neden olur. FRAP değerleri, bilinen konsantrasyonlarda Fe^{+2} içeren karışımların ekstrelerle 593 nm’de absorbanlarının karşılaştırılmasıyla gözlenebilir.

Bu yöntemde, 300 mM asetat tamponu (pH=3.6), 10 mM TPTZ ve 20 mM $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ çözeltileri 10:1:1 oranında karıştırılıp 37 °C’de su banyosunda bekletilerek FRAP reaktifi hazırlanmış oldu. Daha sonra sırayla 3 mL FRAP reaktifi, 100 µL bitki ekstresi ve 300 µL saf su deney tüplerine konarak 37 °C’deki su banyosunda 40 dk inkübe edildi. Bu sürenin sonunda 593 nm’de örneklerin absorbanı alındı. Kör olarak FRAP reaktifi, kontrol olarak ise içinde bitki ekstresinin eksik olduğu çözelti karışımı kullanıldı (Benzie ve Strain, 1996). Ortamda ne kadar Fe^{+3} ’ün Fe^{+2} ’ye dönüştüğü yani ortamdaki Fe^{+2} konsantrasyonu aşağıdaki standart grafikten hesaplanmıştır. Bunun için 100-1000 10^{-3} M arasında hazırlanmış Fe^{+2} çözeltilerinin absorbanları alınarak kaydedilmiş ve standart grafik çizilmiştir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. FRAP testi için hazırlanan standart grafik

2.6.8. ABTS^{•+} Yok Edici Testi

ABTS^{•+} metodu, 2,2'-azino-bis(etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu gibi bir bileşiğin ortamdan yok edilmesi, yani bir başka deyişle inhibisyonuna dayanan bir antioksidan kapasite belirleme yöntemidir. Ortamdaki ABTS radikalleri bitki ekstresi ilavesinin ardından belli bir oranda yok edilmektedir. ABTS radikali yok etme testi, bitki ekstraktları ve standart antioksidanlar BHA, BHT ve tokoferol örneklerinin 100 µg'lık çözeltileri kullanılarak gerçekleştirilmiş ve örneklerin 734 nm'de absorbansları alınarak kaydedilmiştir.

Bu metotta, 2.45 mM K₂S₂O₈ ve 7 mM ABTS çözeltileri 1:1 oranında karıştırılarak oda sıcaklığında ve karanlıkta 16 saat inkübasyona bırakıldı. Hazırlanan bu ABTS radikal çözeltisinin 734 nm'de absorbansı alınarak 1.660±0.02 absorbansına ulaşılan kadar etil alkolle seyreltilti. Bu absorbans kontrol absorbansı olarak kullanıldı. Daha sonra bu radikal çözeltisinden deney tüplerine 4 mL bırakıldı. Bu tüplerin üzerine 100 µL bitki ekstraktlarından eklenerek oda sıcaklığında ve karanlıkta 2 saat inkübasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda örneklerin absorbansı 734 nm'de PBS (Fosfat Tamponu, pH=7.4)'den oluşan köre karşı kaydedildi. Azalan absorbans ortamdan yok edilen ABTS radikallerinin miktarını vermektedir (Wu ve ark., 2009). Ekstrelerin ortamdaki ABTS radikallerinin ne kadarını yok ettiği şu formülle hesaplandı:

$$\% \text{ ABTS Yok Etme Aktivitesi} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A₀ = Kontrolün absorbans değeri

A₁ = Ekstre ilave edildikten sonraki absorbans değeri

2.6.9. Total Antioksidan Aktivite Tayini

Ekstrelerin total antioksidan aktiviteleri tiyosiyanat metoduna göre belirlendi (Yen ve Chen, 1995). Bu metot linoleik asit emülsiyonunda oksidasyon sonucu oluşan peroksidin spektrofotometrik olarak 500 nm'de ölçülmesi esasına dayanır. Yüksek absorbans peroksidasyon sonucu oluşan peroksit miktarının fazlalığını gösterir. Antioksidan aktiviteler her bir örneğin 100 µg'lık çözeltilerinin 500 nm'deki absorbansları ölçülerek belirlenmiştir. Kontrol absorbansının maksimuma ulaştığı 100. saat itibarıyla deney sona erdirilmiş ve ekstraktların peroksidasyonu inhibe etme yüzdeleri aşağıdaki eşitlik yardımıyla hesaplanmıştır:

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A_0 = Kontrolün absorbans değeri

A_1 = Numunenin absorbans değeri

Bitki ekstraktlarının stok çözeltilerinden 100 µL alınarak vezin kaplarına bırakıldı. Daha sonra toplam hacim 2.5 mL'ye 0.04 M fosfat tamponuyla (pH=7.4) tamamlandı. Her bir vezin kabına 2.5 mL linoleik asit emülsiyonu ilave edildi. Kontrol olarak 2.5 mL tampon çözelti ve 2.5 mL linoleik asit emülsiyonu kullanıldı.

İnkübasyon 37° C de karanlıkta gerçekleştirildi. Her 10 saatte bir vezin kaplarından 100 µL alınarak içinde 4.7 mL etanol bulunan deney tüplerine aktarıldı. Üzerlerine sırasıyla 100 µL 20 mM FeCl₂ ve 100 µL % 30'luk NH₄SCN çözeltisi ilave edildi. Kör numune ise 4.8 mL etanole 100 µL 20 mM FeCl₂ ve 100 µL % 30'luk NH₄SCN çözeltisi ilave edilerek hazırlandı. Numunelerin 500 nm'deki absorbansları her 10 saatte bir köre karşı okundu. İnkübasyona kontrolün maksimum absorbansa ulaştığı noktadan sonra son verildi.

2.7. *In Vivo* Ortamda Yapılan Deneyler

2.7.1. Deney Hayvanları

Deneyisel çalışmada kullanılan Wistar cinsi albino erkek sıçanlar, Fırat Üniversitesi Deneyisel Araştırma Merkezi (FÜDAM)'nden temin edildi ve aynı yerde deneyisel uygulama gerçekleştirildi. Sıçanlar havalandırma sistemi bulunan bir ortamda özel olarak hazırlanan ve her gün altları temizlenen kafeslerde beslendi. Yemler özel çelik kaplarda, su paslanmaz çelik bilyeli biberonlarda normal çeşme suyu olarak verildi. Deney hayvanları Elazığ Yem Fabrikasında özel olarak hazırlanan pelletler halindeki sıçan yemleriyle beslendi. Sıçanlara verilen yemin bileşiminde bulunan katkı maddeleri Tablo 2.3'de gösterilmiştir. Sıçanların bakımına deneyisel uygulama yapılacak safhaya kadar bu şekilde devam edildi.

Tablo 2.3. Deney hayvanlarına verilen yemin bileşimi

Yem maddeleri	Yüzdesi (%)
Buğday	10
Mısır	21
Arpa	14
Kepek	8
Soya Küspesi	25
Balık Unu	8
E-Kemik unu	4
Melas	4
Tuz	4
*Vitamin Karması	1
**Mineral Karması	1

*Vitamin karması: Deney hayvanlarına verilen yemlerin vitamin karmasında A, D₃, E, K, B₁, B₂, B₆, B₁₂ vitaminleri ile nikotinamid, folik asit, D-biotin ve kolin klorit bulunmaktadır.

**Mineral karması: Mangan, demir, çinko, bakır, iyot, kobalt, selenyum ve kalsiyumdan oluşmuştur.

Deneyisel çalışmalara başlamadan önce, çıkabilecek aksaklıkların asgariye indirilmesi amacıyla ön çalışma yapıldı. Deney hayvanlarının bulundukları ortamın sıcaklığı 22–25 °C arasında sabit tutuldu ve hayvanlar 12 saat ışık altında, 12 saat karanlıkta takip edildi. Deneyisel çalışmalarda Wistar albino türü, Inbret soy, 8 haftalık ortalama ağırlıkları 192 g (192±25 g) olan toplam 36 adet erkek sıçan kullanıldı. Bu ratlar rasgele dört gruba ayrıldı. Bu gruplar ve gruplardaki ratların haftalara göre ağırlık değişimleri aşağıda Tablo 2.4’de belirtilmiştir:

1. Kontrol (K)
2. H₂O₂ (HP)
3. *Rubus discolor* grubu (RD)
4. *Rubus discolor*+H₂O₂ grubu (RD+HP)

Tablo 2.4. Gruplardaki ratların haftalara göre ağırlık değişimleri (gram)

Gruplar /Hafta	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Kontrol (K)	174	180	187	221	257	262	274	283	291	302
H₂O₂ (HP)	209	220	241	254	276	282	296	303	305	308
<i>Rubus discolor</i> (RD)	195	211	231	250	274	282	290	301	306	314
<i>Rubus discolor</i>+H₂O₂ (RD+HP)	218	238	250	264	293	317	324	328	331	335

Kontrol (K) grubunda 9, H₂O₂ (HP) grubunda 9, *Rubus discolor* grubu (RD) grubunda 9 ve *Rubus discolor*+H₂O₂ grubu (RD+HP) grubunda 9 adet sıçan deney süresince kullanıldı. Deney 10 hafta süre ile yapıldı. Kontrol grubuna deney süresince serum fizyolojik uygulaması yapıldı. HP ve RD+HP grubundaki ratlara 20 mg/kg CA dozunda haftada iki kez serum fizyolojik içinde hazırlanmış H₂O₂ intraperitoneal yolla uygulandı. RD ve RD+HP grubundaki ratlara ise *Rubus discolor* çiçek su ekstresi 250 mg/kg CA dozunda gavaj yöntemiyle uygulandı. 10 hafta sonunda hayvanlar dekapite edilerek doku örnekleri alındı.

2.7.2. Doku Örneklerinin Alınması

Hayvanlar dekapite edildikten hemen sonra kan, karaciğer, böbrek, beyin, kas, kalp, akciğer ve dalak dokuları alındı. Bu doku kısımları, bekletilmeden % 0.9 serum fizyolojik ile yıkanarak, kandan temizlenmeleri sağlandı ve biyokimyasal işlemler yapılincaya kadar -60 °C’de saklandı.

2.7.3. Dokularda Total Protein Miktarının Ölçülmesi

Deney hayvanlarından alınan uygun miktardaki doku örnekleri Tris-HCl ve EDTA (pH=7.0) tamponu ile homojenizasyondan sonra +4 °C’de 9000 rpm 10 dk süre ile santrifüj edilerek doku pelletinden ayrıldıktan sonra oluşan süpernatant kısım alınarak üzerine Lowry (1951) metodu uygulandı.

Bu amaçla aşağıdaki çözeltiler hazırlandı:

A= % 1 (w/v) Bakır sülfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) çözeltisi

B= % 2 (w/v) Sodyum potasyum tartarat

C= 0.2 M Sodyum hidroksit

D= % 4 (w/v) Sodyum karbonat

Dokularda toplam protein miktarı tayin edileceği zaman 49 mL C reaktifi üzerine 49 mL D reaktifi ilave edildi, daha sonra 1 mL A ve 1 mL B reaktifinden ilave edildi. Bu çözeltilerin karışımından hazırlanan reaktife E solüsyonu adı verildi. Daha sonra protein çözeltisinden deney tüpüne alındı ve örnek üzerine 4 mL E reaktifinden ilave edildi, karıştırıldı ve 10 dk oda sıcaklığında bekletildi. Bekleme süresi sonunda 500 μL Folin (10 mL Folin-Ciocalteu reaktifi üzerine 10 mL saf su ilave edilerek hazırlanır) karışımından eklenerek 30 dk tekrar oda sıcaklığında bekletildi ve sonra 750 nm’de köre karşı spektrofotometrede okundu.

2.7.3.1. Protein Kalibrasyon Eğrisinin Oluşturulması

Bu amaçla saf haldeki albuminden 10 mL için 0.003 g olacak şekilde hazırlandıktan sonra standart grupları aşağıdaki şekilde hazırlandı:

S1→ 100 μL albumin + 4 mL E çözeltisi + 0.5 mL Folin

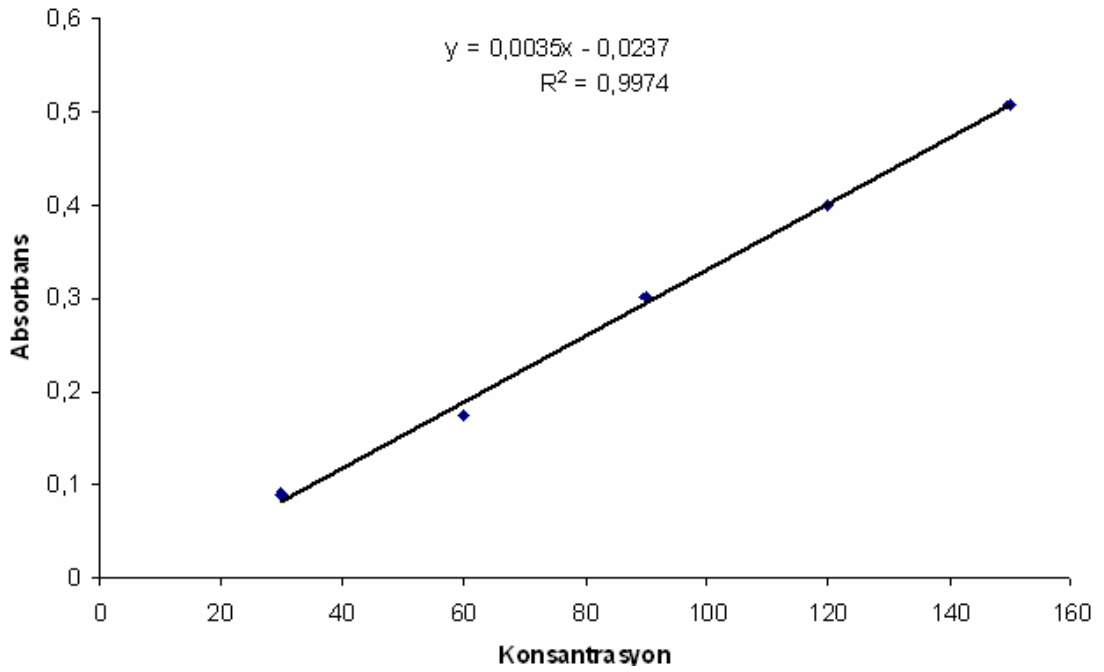
S2→ 200 μL albumin + 4 mL E çözeltisi + 0.5 mL Folin

S3→ 300 μL albumin + 4 mL E çözeltisi + 0.5 mL Folin

S4→ 400 μL albumin + 4 mL E çözeltisi + 0.5 mL Folin

S5→ 500 μL albumin + 4 mL E çözeltisi + 0.5 mL Folin

Gruplar 750 nm’de köre karşı okundu ve okunan değerlere göre Şekil 2.3’deki kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Örneklerin protein miktarları elde edilen bu kalibrasyon eğrisindeki denklem yardımıyla hesaplandı.



Şekil 2.3. Protein kalibrasyon eğrisi

2.7.4. Dokulardaki Lipid Peroksidasyon Miktarının Ölçülmesi

Dokular, Tris-HCl ve EDTA (pH=7.0) tamponu ile homojenizasyondan sonra +4 °C’de 9000 rpm 10 dk süre ile santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlardan 2 mL alındıktan sonra üzerine 1 mL % 3’lük hidroklorik asit ve 1 mL % 0.6’lık TBA eklendi ve 95 °C’de 60 dk bekletildi. Bu süre sonunda soğuyan örneklerle 3 mL bütanol ilave edildi ve santrifüj edildikten sonra süpernatantdan 1 mL viallere alınarak HPLC cihazında floresan dedektör ile ölçüm gerçekleştirildi.

2.7.5. Dokulardaki Glutasyon Miktarının Ölçülmesi

Deney hayvanlarından alınan uygun miktardaki doku örnekleri Tris-HCl ve EDTA (pH=7.0) tamponu ile homojenizasyondan sonra +4 °C’de 9000 rpm 10 dk süre ile santrifüj edilerek doku pelletinden ayrıldı. Santrifüj sonunda üstteki süpernatant kısım 2 mL alınarak üzerine 1 mL % 10’lık TCA çözeltisi ilave edildi. Bu şekilde proteinlerin çökmesi sağlandı. Karışım bu şekilde 5 dk 4500 rpm’de santrifüj edilerek pellet çöktürüldü ve süpernatant kısmı başka bir tüp içine alındı. Süpernatant kısım üzerine 1 mL 150 µL DTNB ve 0.3 M Na₂HPO₄ çözeltisinden 2 mL ilave edildi, oluşan sarı renk 412 nm’de

köre karşı okundu (Elman, 1959). Doku homojenatlarındaki GSH miktarı tayini, Şekil 2.3’de verilen kalibrasyon eğrisine göre hesaplandı.

2.7.5.1. Glutasyon Kalibrasyon Eğrisinin Oluşturulması

Örneklerdeki GSH miktarı tayini, saf GSH standardından (Merck) hazırlanan kalibrasyon eğrisine göre hesaplandı. Bunun için; saf glutatyondan 10 mL için 0.002 g olacak şekilde hazırlandıktan sonra aşağıdaki şekilde gruplar oluşturuldu:

S1→ 20 µL GSH + 2 mL Na₂HPO₄ + 1 mL DTNB

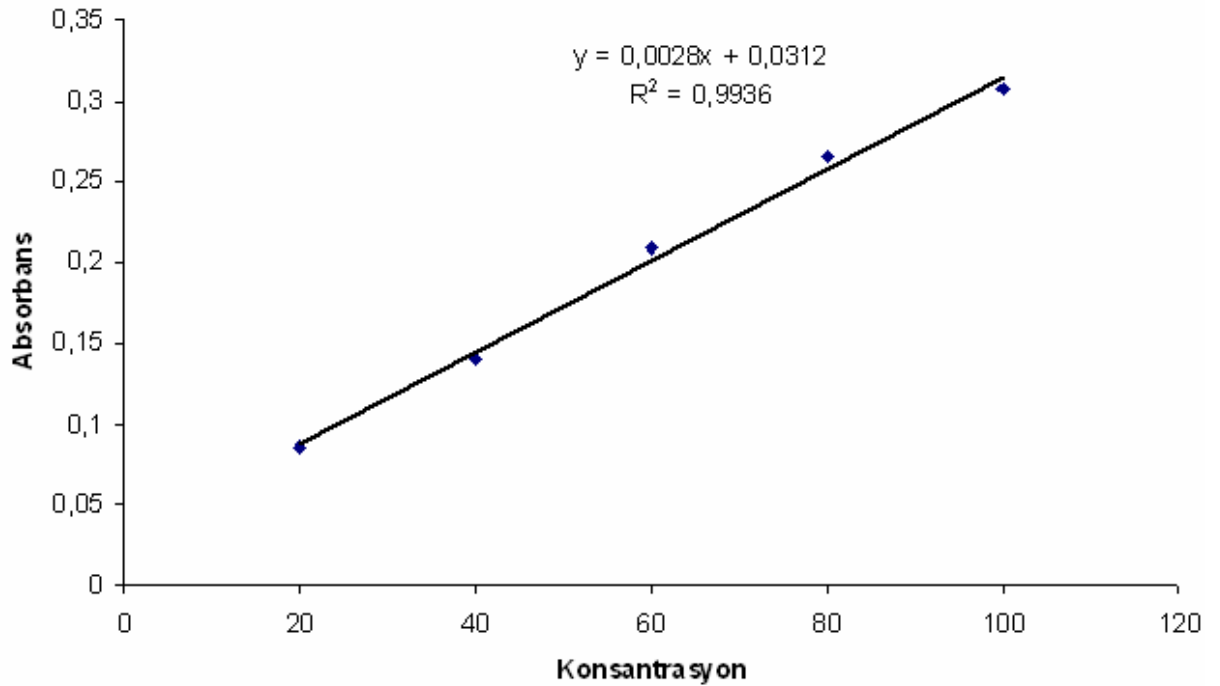
S2→ 40 µL GSH + 2 mL Na₂HPO₄ + 1 mL DTNB

S3→ 60 µL GSH + 2 mL Na₂HPO₄ + 1 mL DTNB

S4→ 80 µL GSH + 2 mL Na₂HPO₄ + 1 mL DTNB

S5→ 100 µL GSH + 2 mL Na₂HPO₄ + 1 mL DTNB

Gruplar stabil hale geldikten sonra 412 nm’de köre karşı okundu ve okunan değerlere göre Şekil 2.4’deki kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. GSH miktarı mg/g doku üzerinden hesaplandı.



Şekil 2.4. Glutasyon kalibrasyon eğrisi

2.7.6. Dokulardan Lipidlerin Ekstraksiyonu

Doku ve serum örneklerinden lipidlerin ekstraksiyonu 3:2 (v/v) hekzan izopropanol karışımının kullanıldığı Hara ve Radin (1978) metoduyla yapıldı. Bunun için dokular Micra–D.8 homojenizatöründe 11000 rpm’de 30 sn ile 3:2 (v/v) oranında 10 mL hekzan-izopropanol ile parçalandı. Homojenizasyon kabı 2 mL parçalama çözeltisi ile yıkandı ve santrifüj tüplerine alındı. Daha sonra 4500 rpm’de 10 dk süre ile santrifüj edilen doku örneklerinden üst süpernatant kısım alınarak ağzı kapaklı deney tüplerine konuldu.

2.7.7. Dokulardan Yağ Asidi Metil Esterlerinin Hazırlanması

Lipidler içinde bulunan yağ asitlerinin gaz kromatografik analizinin yapılabilmesi için polar olmayan uçucu ve kararlı yapıya sahip olan *metil esterleri* gibi türevlerine dönüştürülmesi gerekir. Lipidler içindeki yağ asitlerini, metil esteri gibi türevlerine dönüştürülmesinde değişik metotlar kullanılmasına rağmen Christie (1990) tarafından ifade edildiği gibi uygulaması pratik ve verimi yüksek olan asit katalizli esterleştirme yöntemi kullanıldı.

Bu yöntemle göre: Metil esteri hazırlamak için hekzan/izopropanol fazı içindeki lipid ekstraktı 30 mL’lik sızdırma yapmayan vida kapaklı deney tüplerine alındı. Üzerine % 2’lik metanolik sülfürik asitten 5 mL ilave edildi, vorteks ile iyice karışmaları sağlandı. Bu karışım 50 °C’lik etüvde 15 saat süre ile metilleşmeye bırakıldı. 15 saatlik süre sonunda, tüpler etüvden çıkarıldı oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve 5 mL % 5’lik NaCl ilave edilerek iyice karıştırıldı. Tüpler içinde oluşan yağ asidi metil esterleri 5 mL hekzan ile ekstre edildi ve hekzan fazı üstten pipetle alınarak 5 mL % 2’lik KHCO₃ ile muamele edildi ve fazların ayrılması için 4 saat bekletildi. Daha sonra metil esterlerinin içeren karışım, 45 °C’de ve azot akımı altında çözücüsü uçuruldu ve deney tüplerinin altındaki yağ asitleri 1 mL hekzan ile çözülerek 2 mL’lik ağzı kapaklı otosampler vialleri içine alınarak gaz kromatografi cihazında analiz edildi.

2.7.8. Yağ Asidi Metil Esterlerinin Gaz Kromatografik Analizi

Lipid ekstraktı içindeki yağ asitleri metil esterlerine dönüştürüldükten sonra SHIMADZU GC 1.7 gaz kromatografisi ile analiz edildi. Bu analiz için 25 m uzunluğunda,

0.25 µm iç çapında ve PERMABOND 25 mikron film kalınlığına sahip Machery-Nagel (Germany) kapiller kolon kullanıldı.

Analiz sırasında kolon sıcaklığı 120–220 °C, enjeksiyon sıcaklığı 240 °C ve dedektör sıcaklığı 280 °C olarak tutuldu. Kolon sıcaklık programı 120 °C'den 220 °C'ye kadar ayarlandı. Sıcaklık artışı 200 °C'ye kadar 5 °C/dk ve 200 °C'den 220 °C'ye kadar 4 °C/dk olarak belirlendi. 220 °C'de 8 dakika tutuldu ve toplam süre 35 dk olarak belirlendi. Taşıyıcı gaz olarak azot gazı kullanıldı. Analiz sırasında örnekler ait yağ asidi metil esterlerinin analizinden önce standart yağ asidi metil esterlerine ait karışımlar enjekte edilerek her bir yağ asidinin alıkonma süreleri belirlendi. Bu işlemten sonra gerekli programlama yapılarak örnekler ait yağ asidi metil esterleri karışımlarının analizi yapıldı (Tvrzicka ve ark., 2002).

2.7.9. Dokularda ADEK Vitaminleri ve Kolesterol Miktarının HPLC Cihazı ile Analizi

Dokuların 10 mL 3/2 heksan/izopropanol karışımında parçalanıp santrifüj edilmesiyle elde edilen süpernatanttan 5 mL 25 mL'lik vida kapaklı tüpler içine alınarak üzerine % 5'lik KOH çözeltisi ilave edildi. Vortekslelendikten sonra 85 °C'de 30 dk bekletildi. Daha sonra tüpler çıkarılarak oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve üzerine 5 mL saf su ilave edildi ve karıştırıldı. Sabunlaşmayan lipofilik moleküller 2x5 mL hekzan ile ekstrakte edildi. Hekzan fazı azot akımı ile uçuruldu. 1 mL (60/40, v/v) asetronitril/metanol karışımında çözülerek otosampler viallerine alındı ve HPLC'de analiz edildi.

Analiz Shimadzu HPLC cihazı ile yapıldı. Cihazda pompa olarak LC-10 ADVP, UV-visible dedektör olarak SPD-10AVP, kolon fırını olarak CTO-10ASVP, otosampler olarak SIL-10ADVP, degasser ünitesi olarak DGU-14A ve Class VP software (Shimadzu, Kyoto Japan) kullanıldı. Mobil faz olarak asetronitril/metanol (% 60 + % 40, v/v) karışımı kullanıldı. Mobil faz akış hızı 1 mL olarak belirlendi. Analiz için UV dedektör kullanıldı. Kolon olarak da Süpelcosil LC 18 (15 cm x 4.6 mm, 5 µm; Sigma, USA) kolonu kullanıldı. A vitamini için dedeksiyon dalga boyu 326 nm, E vitamini için 202 nm, D ve K vitaminleri için 265 nm kullanıldı (Katsanidis ve Addis, 1999).

2.7.10. Enzim Aktivitelerinin Ölçümü

2.7.10.1. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) Enzim Aktivitesinin Ölçümü

GSH-Px enzim aktivitesi ölçümü, Valentine ve Paglia (1980) metoduna göre yapıldı. GSH-Px, redükte glutatyonu kullanarak hidrojen peroksidin suya dönüşümünü katalizleyen bir enzimdir. Reaksiyon sonunda redükte glutatyon okside formuna dönüşürken, hidrojen peroksit ise suya katalizlenir. Oluşan okside glutatyonun tekrar kullanılabilmesi (başka bir hidrojen peroksit molekülünün suya katalizi) için okside glutatyonun (GSSG) tekrar redükte formuna (2GSH) dönüşmesi gerekir. Bu dönüşüm, ortamda redükte NADP varlığında (NADPH) gerçekleştirilir.

GSH-Px seviyesinin ölçüm metodunun esası, standardize edilmiş bir deney ortamında, 340 nm’de NADPH’ın azalan absorbansını takip ederek GSH-Px’in seviyesini hesaplamayı içermektedir.

2.7.10.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Ölçümü

Süperoksit dismutaz aktivitesi Durak ve ark., (1999a) metoduna göre tayin edildi. Bu metotta SOD seviyesi, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksitin nitroblue tetrazoliumu (NBT) indirgemesi esasına dayanır. Oluşan süperoksit radikalleri NBT’yi indirgeyerek renkli formazon oluşturur. Bu kompleks 560 nm’de maksimum absorbans verir. Enzimin olmadığı ortamda bu indirgeme meydana gelip mavi-mor renk oluşmaktadır. Ortamda SOD olduğunda ise NBT indirgenmesi olmayıp mavi-mor renk meydana gelmemekte ve enzim miktarı ile aktivitesine bağlı olarak açık renk oluşmaktadır.

2.7.11. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için SPSS 15.0 yazılım programı kullanıldı. Kontrol grubu ile deneysel gruplar arasındaki karşılaştırma varyans analizi (ANOVA) ve LSD testleri kullanılarak yapıldı. Sonuçlar mean $\pm$ SE olarak verildi. Kontrol ve diğer gruplar arasındaki farklılıklarda $p<0.05$, $p<0.01$ ve $p<0.001$ değerleri kullanıldı.

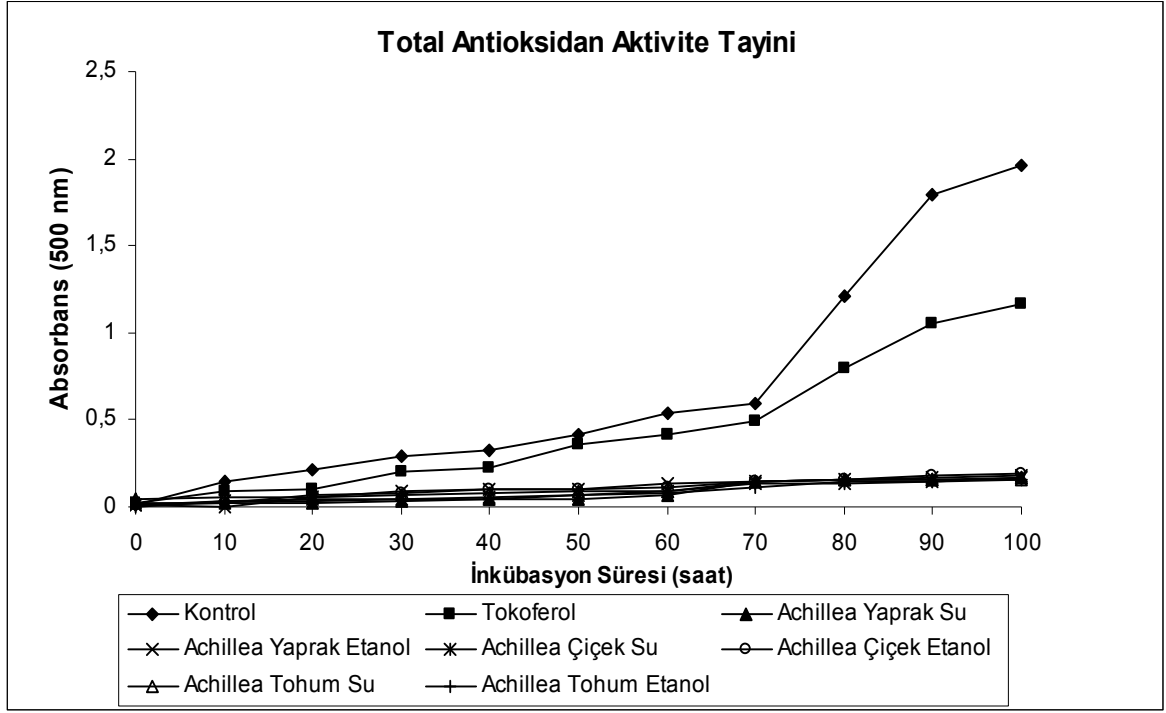
3. ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1. Total Antioksidan Aktivite Tayini

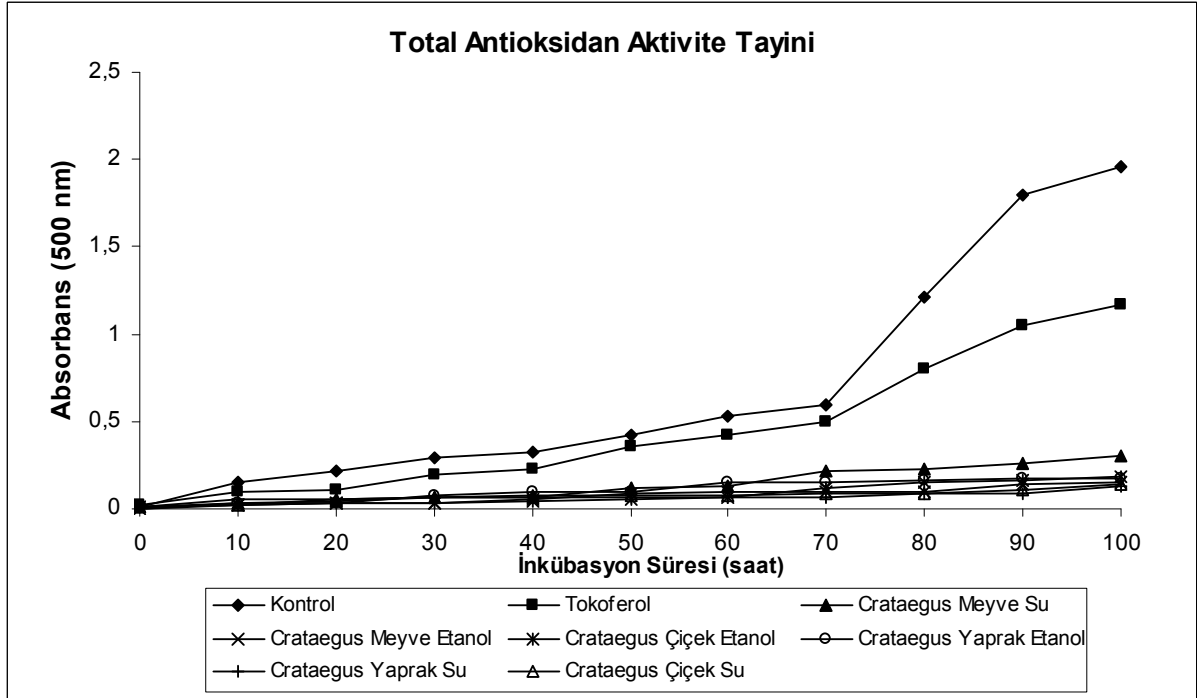
A. millefolium bitkisinde en yüksek total antioksidan aktivite tohum su ekstresinde, en düşük total antioksidan aktivite ise çiçek etanol ekstresinde gözlenmiştir (Şekil 3.1, Tablo 3.1). Bitki ekstralarının inhibisyon yüzdeleri şu şekilde sıralanmaktadır: BHT (% 97.85) > BHA (% 96.74) > *A. millefolium* tohum su ekstresi (% 92.09) > *A. millefolium* tohum etanol ekstresi (% 91.89) > *A. millefolium* çiçek su ekstresi (% 91.53) > *A. millefolium* yaprak su ekstresi (% 91.43) > *A. millefolium* yaprak etanol ekstresi (% 90.77) > *A. millefolium* çiçek etanol ekstresi (% 90.31) > Tokoferol (% 40.48).

C. monogyna bitkisinde en yüksek total antioksidan aktivite yaprak su ekstresinde, en düşük total antioksidan aktivite ise meyve su ekstresinde gözlenmiştir (Şekil 3.2, Tablo 3.1). Bitki ekstralarının inhibisyon yüzdeleri şu şekilde sıralanmaktadır: BHT (% 97.85) > BHA (% 96.74) > *C. monogyna* yaprak su ekstresi (% 93.52) > *C. monogyna* çiçek su ekstresi (% 93.06) > *C. monogyna* meyve etanol ekstresi (% 92.09) > *C. monogyna* yaprak etanol ekstresi (% 90.92) > *C. monogyna* çiçek etanol ekstresi (% 90.61) > *C. monogyna* meyve su ekstresi (% 84.80) > Tokoferol (% 40.48).

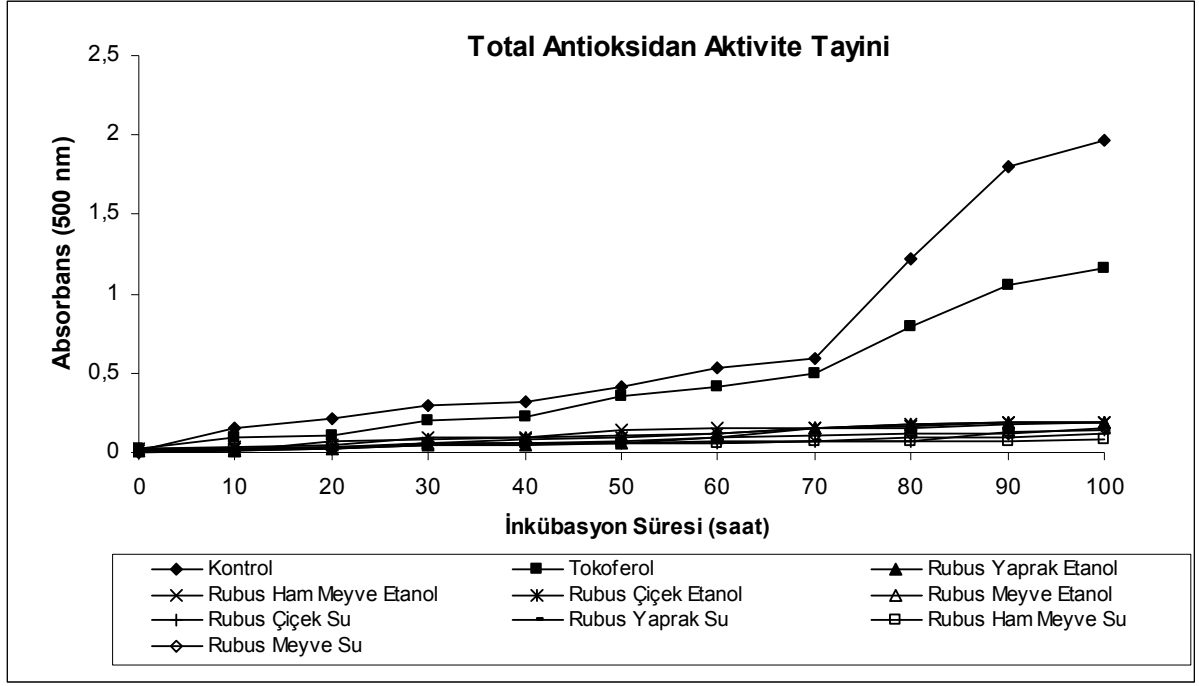
R. discolor bitkisinde en yüksek total antioksidan aktivite ham meyve su ekstresinde, en düşük total antioksidan aktivite ise meyve etanol ekstresinde gözlenmiştir (Şekil 3.3, Tablo 3.1). Ekstrelerin inhibisyon yüzdeleri ise şu şekilde sıralanmaktadır: BHT (% 97.85) > BHA (% 96.74) > *R. discolor* ham meyve su ekstresi (% 95.66) > *R. discolor* yaprak su ekstresi (% 93.67) > *R. discolor* çiçek su ekstresi (% 92.60) > *R. discolor* meyve su ekstresi (% 92.09) > *R. discolor* ham meyve etanol ekstresi (% 90.51) > *R. discolor* yaprak etanol ekstresi (% 90.41) > *R. discolor* çiçek etanol ekstresi (% 90.20) > *R. discolor* meyve etanol ekstresi (% 90.10) > Tokoferol (% 40.48).



Şekil 3.1. *Achillea millefolium* bitkisine ait total antioksidan aktivite tayini sonuçları



Şekil 3.2. *Crataegus monogyna* bitkisine ait total antioksidan aktivite tayini sonuçları



Şekil 3.3. *Rubus discolor* bitkisine ait total antioksidan aktivite tayini sonuçları

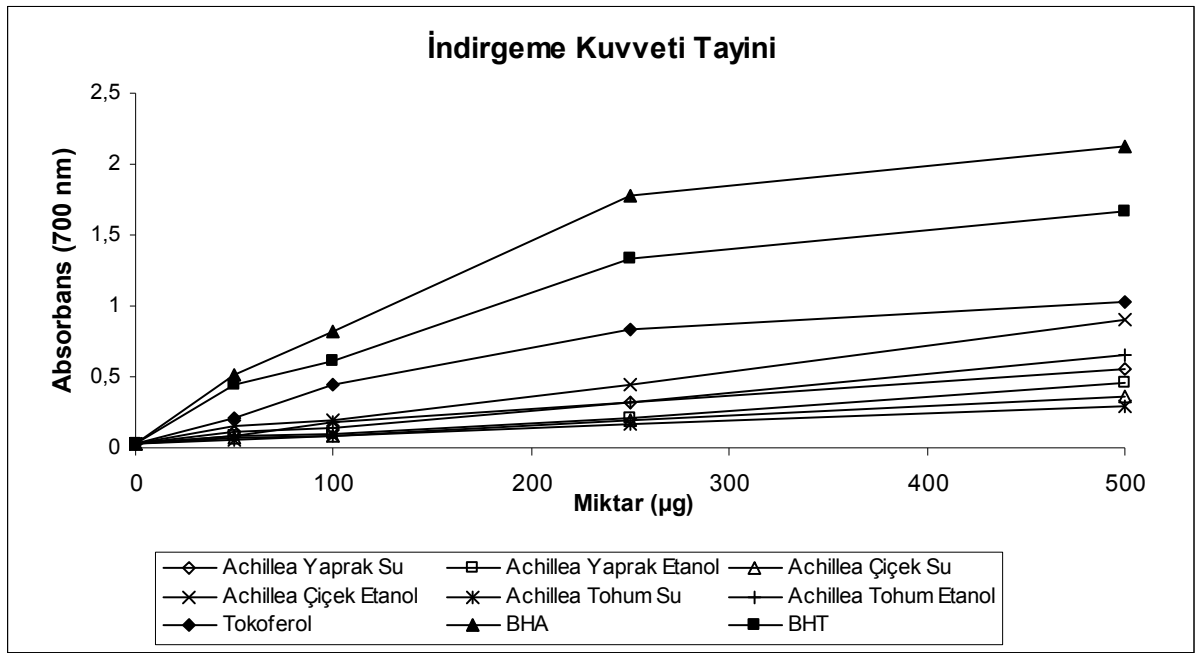
Tablo 3.1. Bitki örnekleri ve standart antioksidanların peroksidasyonu inhibe etme yüzdeleri

Numune (100 µg/mL)	% İnhibisyon
<i>Achillea millefolium</i> Yaprak Su	91.43
<i>Achillea millefolium</i> Yaprak Etanol	90.77
<i>Achillea millefolium</i> Çiçek Su	91.53
<i>Achillea millefolium</i> Çiçek Etanol	90.31
<i>Achillea millefolium</i> Tohum Su	92.09
<i>Achillea millefolium</i> Tohum Etanol	91.89
<i>Crataegus monogyna</i> Çiçek Su	93.06
<i>Crataegus monogyna</i> Çiçek Etanol	90.61
<i>Crataegus monogyna</i> Yaprak Su	93.52
<i>Crataegus monogyna</i> Yaprak Etanol	90.92
<i>Crataegus monogyna</i> Meyve Su	84.80
<i>Crataegus monogyna</i> Meyve Etanol	92.09
<i>Rubus discolor</i> Yaprak Su	93.67
<i>Rubus discolor</i> Yaprak Etanol	90.41
<i>Rubus discolor</i> Çiçek Su	92.60
<i>Rubus discolor</i> Çiçek Etanol	90.20
<i>Rubus discolor</i> Ham Meyve Su	95.66
<i>Rubus discolor</i> Ham Meyve Etanol	90.51
<i>Rubus discolor</i> Meyve Su	92.09
<i>Rubus discolor</i> Meyve Etanol	90.10
α-tokoferol	40.48
BHT	97.85
BHA	96.74

3.2. İndirgeme Kuvveti Tayini

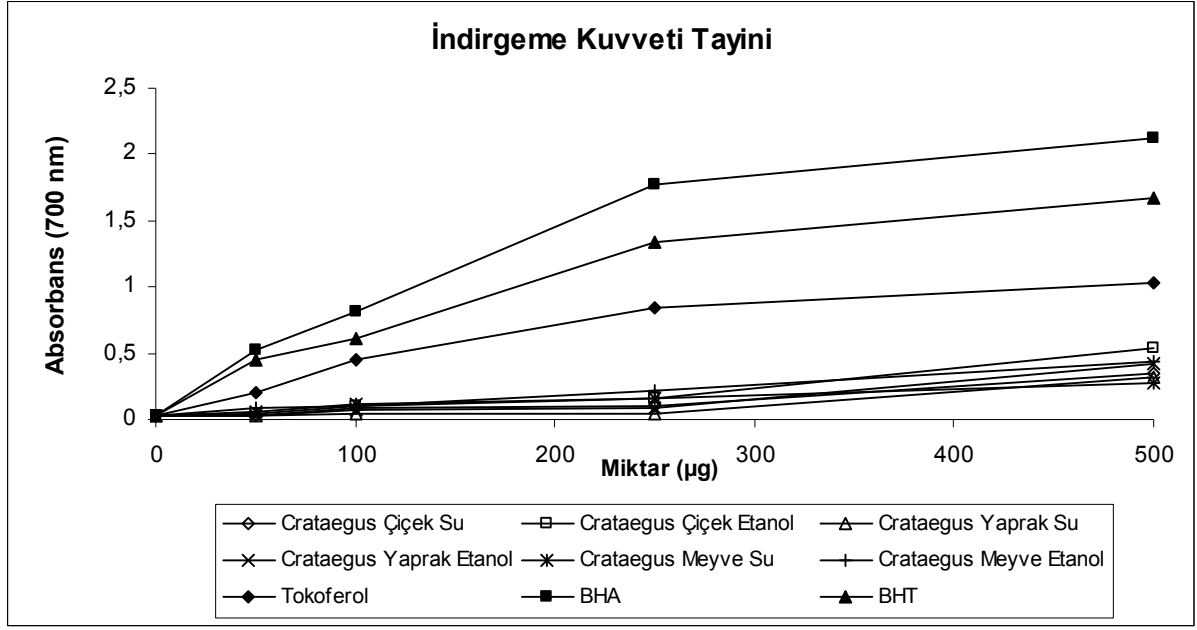
Ekstrelerin indirgeme kapasiteleri ekstre miktarına yani konsantrasyona bağlı olarak artmaktadır. İndirgeme kuvveti her bir bitki ekstresi için 50, 100, 250 ve 500 µg'larının içinde bulunduğu test çözeltilerinin 700 nm'de absorbanlarının ölçülmesiyle belirlenmiştir.

A. millefolium bitkisinde en yüksek indirgeme kapasitesi çiçek etanol ekstresinde gözlenirken, en düşük indirgeme kapasitesi tohum su ekstresinde gözlenmiştir. Standart antioksidanlar olan BHT, BHA ve α -tokoferol ile karşılaştırıldığı zaman *A. millefolium* bitkisi için indirgeme kuvveti kapasiteleri şu şekilde sıralanmaktadır (Şekil 3.4): BHA > BHT > α -tokoferol > *A. millefolium* çiçek etanol ekstresi > *A. millefolium* tohum etanol ekstresi > *A. millefolium* yaprak su ekstresi > *A. millefolium* yaprak etanol ekstresi > *A. millefolium* çiçek su ekstresi > *A. millefolium* tohum su ekstresi.



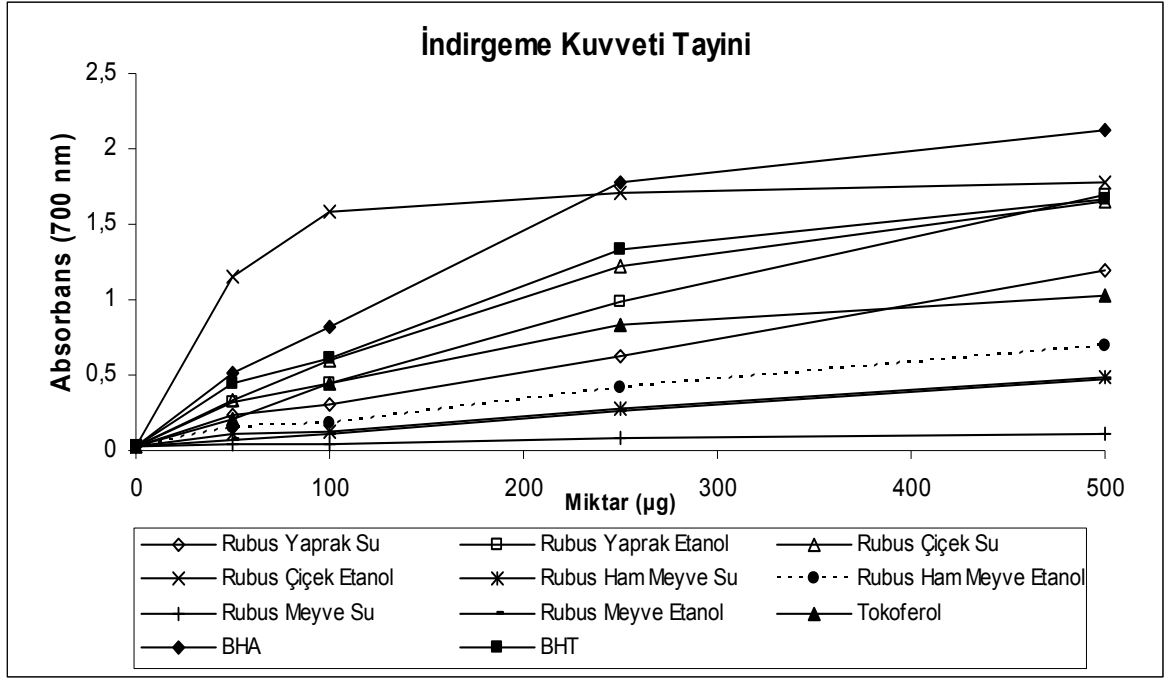
Şekil 3.4. *Achillea millefolium* bitkisine ait indirgeme kuvveti sonuçları

C. monogyna bitkisinde en yüksek indirgeme kapasitesi çiçek etanol ekstresinde, en düşük indirgeme kapasitesi ise meyve su ekstrlerinde gözlenmiştir. Standart antioksidanlara beraber indirgeme kuvveti kapasiteleri şu şekilde sıralanmaktadır (Şekil 3.5): BHA > BHT > α -tokoferol > *C. monogyna* çiçek etanol ekstresi > *C. monogyna* meyve etanol ekstresi > *C. monogyna* yaprak etanol ekstresi > *C. monogyna* çiçek su ekstresi > *C. monogyna* yaprak su ekstresi > *C. monogyna* meyve su ekstresi.



Şekil 3.5. *Crataegus monogyna* bitkisine ait indirgeme kuvveti sonuçları

R. discolor bitkisinin çiçek etanol ve yaprak etanol ekstralarında BHT ve α -tokoferolden daha yüksek indirgeme kuvveti kapasitesi gözlenirken, en düşük indirgeme kapasitesi meyve su ekstralarında gözlenmiştir. Sıralama ise şu şekilde olmaktadır (Şekil 3.6): BHA > *R. discolor* çiçek etanol ekstresi > *R. discolor* yaprak etanol ekstresi > BHT > *R. discolor* çiçek su ekstresi > *R. discolor* yaprak su ekstresi > α -tokoferol > *R. discolor* ham meyve etanol ekstresi > *R. discolor* ham meyve su ekstresi > *R. discolor* meyve etanol ekstresi > *R. discolor* meyve su ekstresi.



Şekil 3.6. *Rubus discolor* bitkisine ait indirgeme kuvveti sonuçları

Tablo 3.2. Bitki ekstreleri ve standart antioksidanların indirgeme kuvveti sonuçları

Numune	İndirgeme Kuvveti (100 µg)
Kontrol	0.027
<i>Achillea millefolium</i> Yaprak Su	0.136
<i>Achillea millefolium</i> Yaprak Etanol	0.096
<i>Achillea millefolium</i> Çiçek Su	0.090
<i>Achillea millefolium</i> Çiçek Etanol	0.201
<i>Achillea millefolium</i> Tohum Su	0.078
<i>Achillea millefolium</i> Tohum Etanol	0.176
<i>Crataegus monogyna</i> Çiçek Su	0.090
<i>Crataegus monogyna</i> Çiçek Etanol	0.102
<i>Crataegus monogyna</i> Yaprak Su	0.039
<i>Crataegus monogyna</i> Yaprak Etanol	0.076
<i>Crataegus monogyna</i> Meyve Su	0.123
<i>Crataegus monogyna</i> Meyve Etanol	0.109
<i>Rubus discolor</i> Yaprak Su	0.312
<i>Rubus discolor</i> Yaprak Etanol	0.444
<i>Rubus discolor</i> Çiçek Su	0.600
<i>Rubus discolor</i> Çiçek Etanol	1.589
<i>Rubus discolor</i> Ham Meyve Su	0.121
<i>Rubus discolor</i> Ham Meyve Etanol	0.184
<i>Rubus discolor</i> Meyve Su	0.045
<i>Rubus discolor</i> Meyve Etanol	0.110
Tokoferol	0.450
BHA	0.820
BHT	0.610

3.3. DPPH' Radikali Giderme Aktivitesi

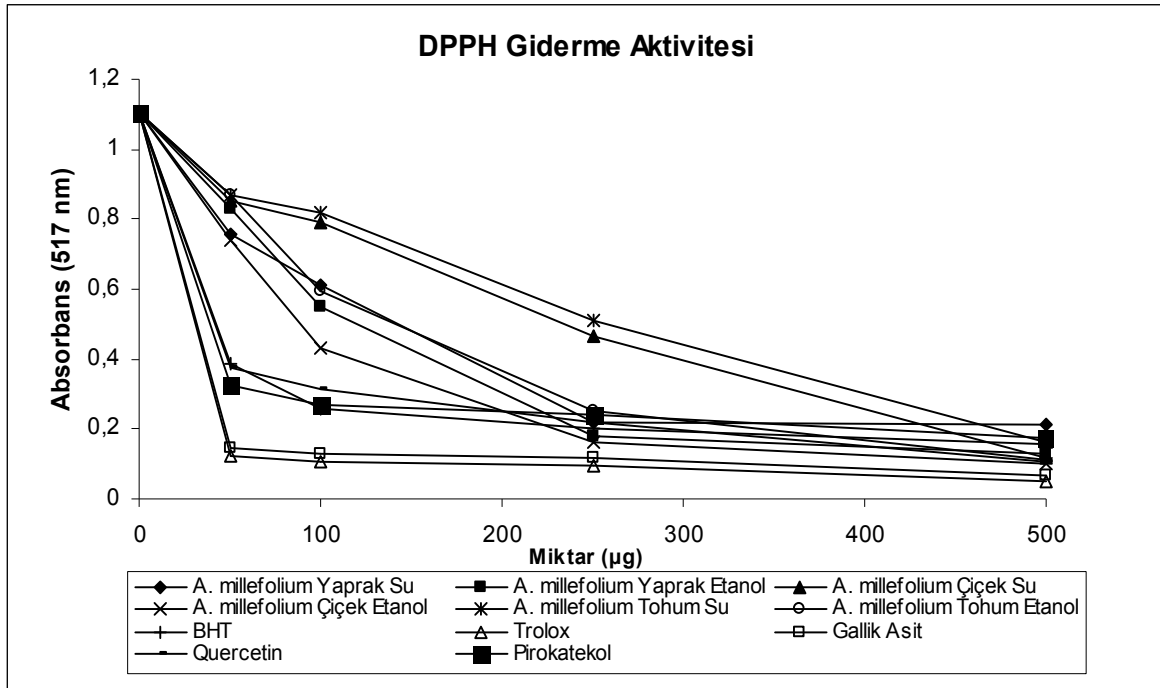
DPPH radikali giderme aktivitesi konsantrasyon ve ekstre miktarı ile doğru orantılı olarak artmaktadır. Bitki örneklerinin 50, 100, 250 ve 500 µg'lık miktarları ve onlarla aynı konsantrasyondaki standart antioksidan olarak kabul edilen troloks, gallik asit, BHT,

kuersetin ve pirokatekol örneklerinin 517 nm’de absorbensları alınmış ve sonuçlar aşağıdaki şekillerde gösterilmiştir (Şekil 3.7-3.9). Ortamdan yok edilen DPPH miktarı aşağıdaki eşitlikten hesaplanmış ve sonuçlar Tablo 3.3’de gösterilmiştir:

$$\text{DPPH}^{\bullet} \text{ Yok Etme Yüzdesi } \% = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$$

A_0 kontrolün absorbensı, A_1 örneklerin absorbensı olarak alınmıştır.

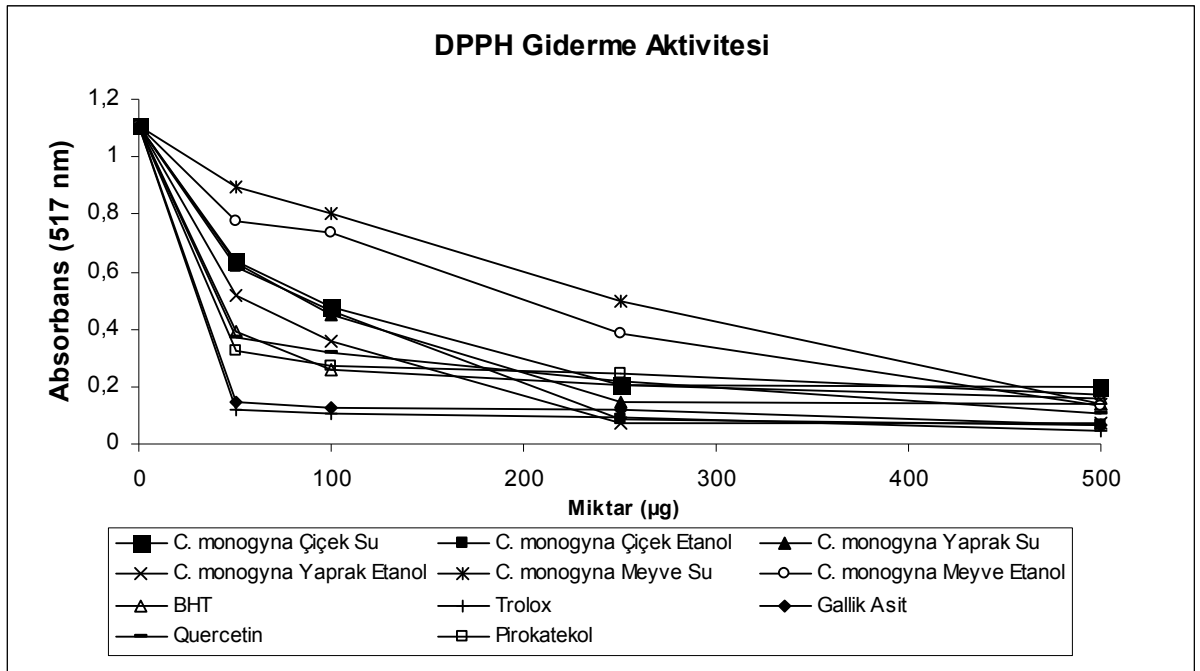
A. millefolium bitkisinde en yüksek DPPH radikali giderme aktivitesi çiçek etanol ekstresinde, en düşük DPPH radikali giderme aktivitesi ise tohum etanol ekstresinde gözlenmiştir. Bütün örneklerin ortamdan yok ettiği DPPH yüzdeleri şu şekilde sıralanmaktadır (Şekil 3.7, Tablo 3.3): Troloks (% 95.65) > Gallik Asit (% 93.84) > *A. millefolium* çiçek etanol ekstresi (% 91.03) > Kuersetin (% 90.48) > *A. millefolium* çiçek su ekstresi (% 89.13) > *A. millefolium* yaprak etanol ekstresi (% 88.31) > BHT (% 85.77) > *A. millefolium* tohum su ekstresi (% 85.41) > Pirokatekol (% 84.23) > *A. millefolium* yaprak su ekstresi (% 80.79) > *A. millefolium* tohum etanol ekstresi (% 79.94).



Şekil 3.7. *Achillea millefolium* bitki ekstrelerinin DPPH giderme aktiviteleri

C. monogyna bitkisinde en yüksek DPPH radikali giderme aktivitesi çiçek etanol ekstresinde, en düşük DPPH radikali giderme aktivitesi ise çiçek su ekstresinde gözlenmiştir. *C. monogyna* çiçek etanol ekstresi, troloks hariç diğer standart

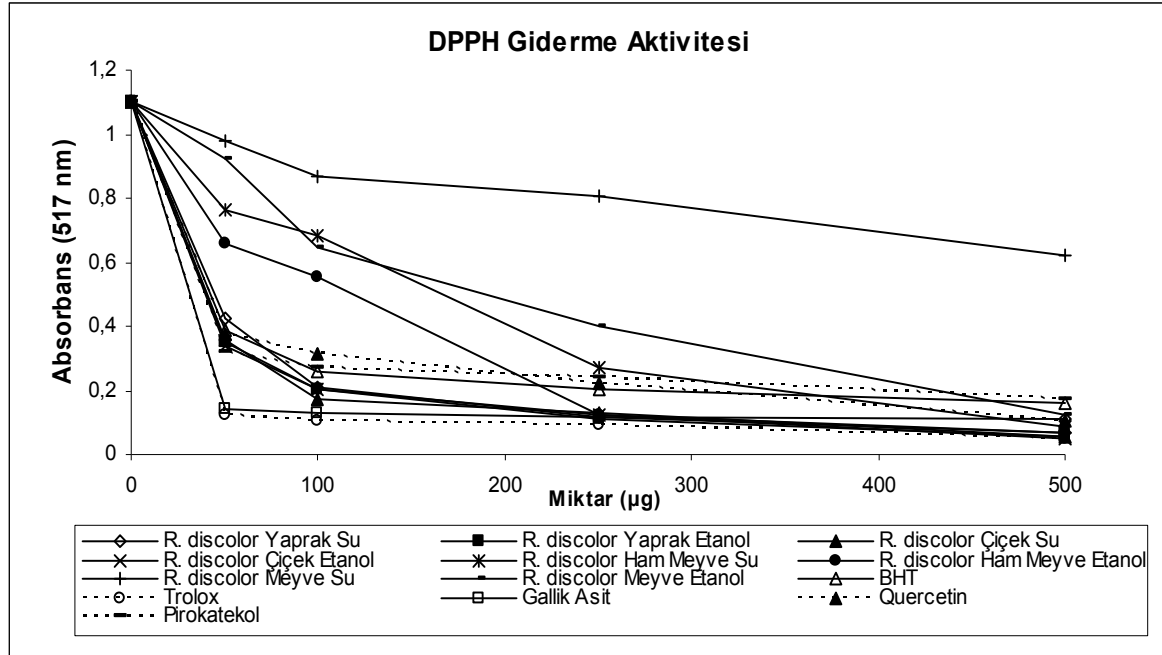
antioksidanların hepsinden daha yüksek miktarda DPPH radikali yok etme yüzdesi göstermiştir. Ortamdan yok edilen DPPH yüzdeleri şu şekilde sıralanmaktadır (Şekil 3.8, Tablo 3.3): Troloks (% 95.65) > *C. monogyna* çiçek etanol ekstresi (% 94.02) > Gallik Asit (% 93.84) > *C. monogyna* yaprak etanol ekstresi (% 93.56) > Kuersetin (% 90.48) > *C. monogyna* meyve etanol ekstresi (% 88.22) > *C. monogyna* meyve su ekstresi (% 87.22) > *C. monogyna* yaprak su ekstresi (% 87.40) > BHT (% 85.77) > Pirokatekol (% 84.23) > *C. monogyna* çiçek su ekstresi (% 81.88).



Şekil 3.8. *Crataegus monogyna* bitki ekstrelerinin DPPH giderme aktiviteleri

R. discolor bitkisinde en yüksek DPPH radikali giderme aktivitesi çiçek etanol ekstresinde, en düşük DPPH radikali giderme aktivitesi ise meyve su ekstresinde gözlenmiştir. *R. discolor* çiçek etanol, çiçek su, yaprak etanol ve ham meyve etanol ekstrelerinin, troloks hariç diğer standart antioksidanlardan daha yüksek DPPH radikali yok etme yüzdesine sahip oldukları anlaşılmıştır. DPPH yok etme yüzdeleri şu şekilde sıralanmaktadır (Şekil 3.9, Tablo 3.3): Troloks (% 95.65) > *R. discolor* çiçek etanol ekstresi (% 95.56) > *R. discolor* çiçek su ekstresi (% 95.19) > *R. discolor* yaprak etanol ekstresi (% 94.74) > *R. discolor* ham meyve etanol ekstresi (% 94.11) > Gallik Asit (% 93.84) > *R. discolor* ham meyve su ekstresi (% 92.11) > Kuersetin (% 90.48) > *R. discolor*

yaprak su ekstresi (% 90.03) > *R. discolor* meyve etanol ekstresi (% 89.03) > BHT (% 85.77) > Pirokatekol (% 84.23) > *R. discolor* meyve su ekstresi (% 43.47).



Şekil 3.9. *Rubus discolor* bitki ekstraktlerinin DPPH giderme aktiviteleri

Tablo 3.3. Bitki ekstreleri ve standart antioksidanların DPPH radikali yok etme yüzdeleri

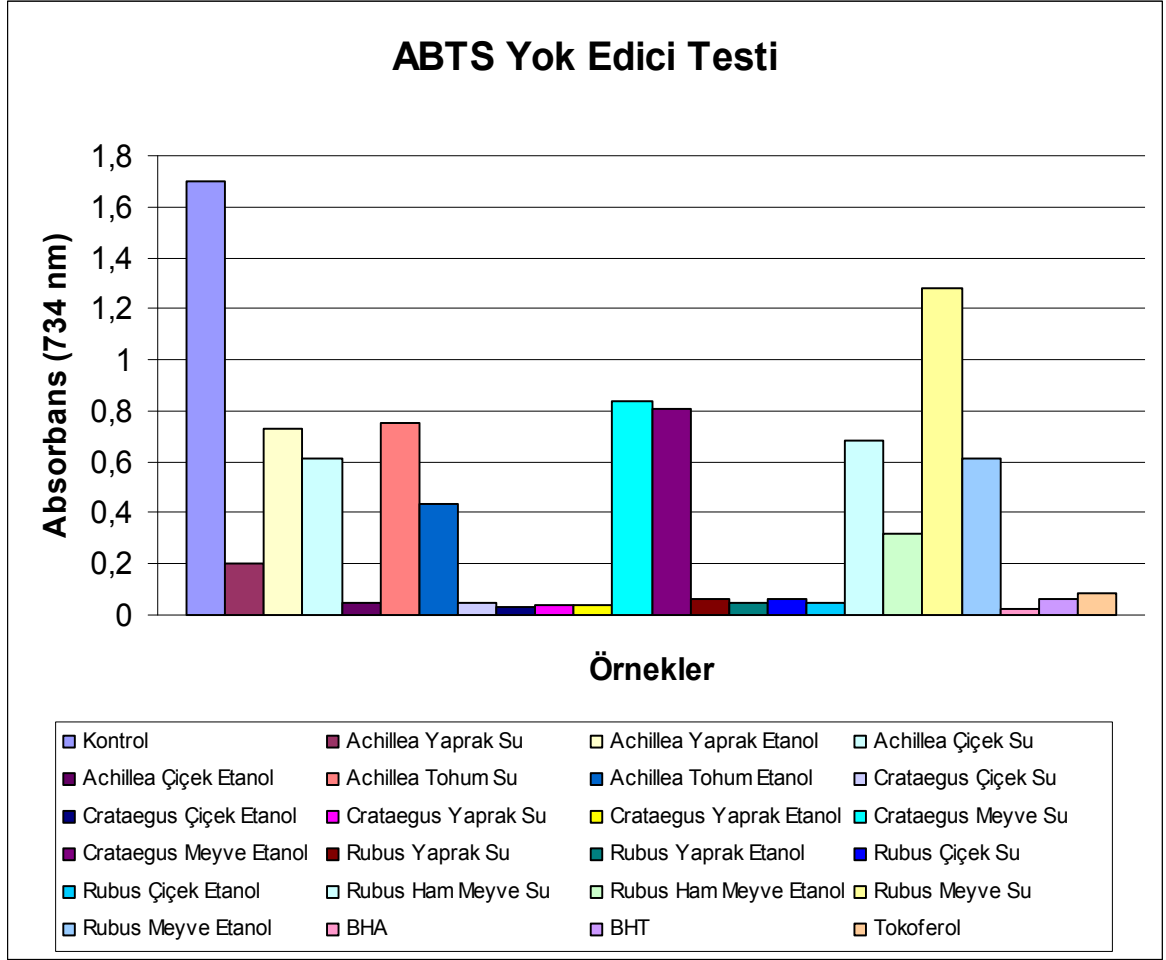
Numune (500 µg/mL)	DPPH' Yok Etme Yüzdeleri (%)
Kontrol	0
<i>Achillea millefolium</i> Yaprak Su	80.79
<i>Achillea millefolium</i> Yaprak Etanol	88.31
<i>Achillea millefolium</i> Çiçek Su	89.13
<i>Achillea millefolium</i> Çiçek Etanol	91.03
<i>Achillea millefolium</i> Tohum Su	85.41
<i>Achillea millefolium</i> Tohum Etanol	79.94
<i>Crataegus monogyna</i> Çiçek Su	81.88
<i>Crataegus monogyna</i> Çiçek Etanol	94.02
<i>Crataegus monogyna</i> Yaprak Su	87.40
<i>Crataegus monogyna</i> Yaprak Etanol	93.56
<i>Crataegus monogyna</i> Meyve Su	87.22
<i>Crataegus monogyna</i> Meyve Etanol	88.22
<i>Rubus discolor</i> Yaprak Su	90.03
<i>Rubus discolor</i> Yaprak Etanol	94.74
<i>Rubus discolor</i> Çiçek Su	95.19
<i>Rubus discolor</i> Çiçek Etanol	95.56
<i>Rubus discolor</i> Ham Meyve Su	92.11
<i>Rubus discolor</i> Ham Meyve Etanol	94.11
<i>Rubus discolor</i> Meyve Su	43.47
<i>Rubus discolor</i> Meyve Etanol	89.03
BHT	85.77
Troloks	95.65
Gallik Asit	93.84
Kuersetin	90.48
Pirokatekol	84.23

3.4. ABTS⁺⁺ Yok Edici Testi

A. millefolium bitkisinde en yüksek ABTS radikali yok etme kapasitesi çiçek etanol ekstresinde, en düşük ABTS radikali yok etme kapasitesi ise tohum su ekstresinde gözlenmiştir (Tablo 3.4, Şekil 3.10). *A. millefolium* bitkisinde çiçek etanol ekstresinin BHT ve tokoferolden daha yüksek ABTS radikali yok etme kapasitesine sahip olduğu anlaşılmıştır. Bitki ekstralarının ve standart antioksidanların ABTS radikali yok etme yüzdeleri şu şekilde sıralanmaktadır: BHA (% 98.70) > *A. millefolium* çiçek etanol ekstresi (% 97.40) > BHT (% 96.41) > Tokoferol (% 95.05) > *A. millefolium* yaprak su ekstresi (% 88.00) > *A. millefolium* tohum etanol ekstresi (% 74.30) > *A. millefolium* çiçek su ekstresi (% 63.90) > *A. millefolium* yaprak etanol ekstresi (% 56.90) > *A. millefolium* tohum su ekstresi (% 55.76).

C. monogyna bitkisinde en yüksek ABTS radikali yok etme kapasitesi çiçek etanol ekstresinde, en düşük ABTS radikali yok etme kapasitesi ise meyve su ekstresinde gözlenmiştir. *C. monogyna* bitkisinde çiçek etanol, yaprak etanol, yaprak su ve çiçek su ekstralarının standart antioksidanlar BHT ve tokoferolden daha yüksek ABTS radikali yok etme kapasitesine sahip oldukları anlaşılmıştır. Bitki ekstralarının ve antioksidanların ABTS radikali yok etme yüzdeleri şu şekilde sıralanmaktadır: BHA (% 98.70) > *C. monogyna* çiçek etanol ekstresi (% 97.90) > *C. monogyna* yaprak etanol ekstresi (% 97.60) > *C. monogyna* yaprak su ekstresi (% 97.50) > *C. monogyna* çiçek su ekstresi (% 97.30) > BHT (% 96.41) > Tokoferol (% 95.05) > *C. monogyna* meyve etanol ekstresi (% 52.50) > *C. monogyna* meyve su ekstresi (% 50.76).

R. discolor bitkisinde en yüksek ABTS radikali yok etme kapasitesi yaprak etanol ekstresinde, en düşük ABTS radikali yok etme kapasitesi ise meyve su ekstresinde gözlenmiştir. *R. discolor* bitkisinde yaprak etanol, çiçek etanol ve yaprak su ekstralarının standart antioksidanlar BHT ve tokoferolden daha yüksek ABTS radikali yok etme kapasitesine sahip oldukları anlaşılmıştır. Bitki ekstraları ve standart antioksidanların ABTS radikali yok etme yüzdeleri şu şekilde sıralanmaktadır: BHA (% 98.70) > *R. discolor* yaprak etanol ekstresi (% 97.30) > *R. discolor* çiçek etanol ekstresi (% 97.00) > *R. discolor* yaprak su ekstresi (% 96.47) > BHT (% 96.41) > *R. discolor* çiçek su ekstresi (% 96.20) > Tokoferol (% 95.05) > *R. discolor* ham meyve etanol ekstresi (% 81.17) > *R. discolor* meyve etanol ekstresi (% 64.00) > *R. discolor* ham meyve su ekstresi (% 60.00) > *R. discolor* meyve su ekstresi (% 24.64).



Şekil 3.10. Bitki örnekleri ve standart antioksidanların ABTS radikali yok etme sonuçları

Tablo 3.4. Bitki örnekleri ve standart antioksidanların ABTS radikali yok etme yüzdeleri

Numune (100 µg/mL)	ABTS Yok Etme Yüzdeleri (%)
Kontrol	0
<i>Achillea millefolium</i> Yaprak Su	88.00
<i>Achillea millefolium</i> Yaprak Etanol	56.90
<i>Achillea millefolium</i> Çiçek Su	63.90
<i>Achillea millefolium</i> Çiçek Etanol	97.40
<i>Achillea millefolium</i> Tohum Su	55.76
<i>Achillea millefolium</i> Tohum Etanol	74.30
<i>Crataegus monogyna</i> Çiçek Su	97.30
<i>Crataegus monogyna</i> Çiçek Etanol	97.90
<i>Crataegus monogyna</i> Yaprak Su	97.50
<i>Crataegus monogyna</i> Yaprak Etanol	97.60
<i>Crataegus monogyna</i> Meyve Su	50.76
<i>Crataegus monogyna</i> Meyve Etanol	52.50
<i>Rubus discolor</i> Yaprak Su	96.47
<i>Rubus discolor</i> Yaprak Etanol	97.30
<i>Rubus discolor</i> Çiçek Su	96.20
<i>Rubus discolor</i> Çiçek Etanol	97.00
<i>Rubus discolor</i> Ham Meyve Su	60.00
<i>Rubus discolor</i> Ham Meyve Etanol	81.17
<i>Rubus discolor</i> Meyve Su	24.64
<i>Rubus discolor</i> Meyve Etanol	64.00
BHA	98.70
BHT	96.41
Tokoferol	95.05

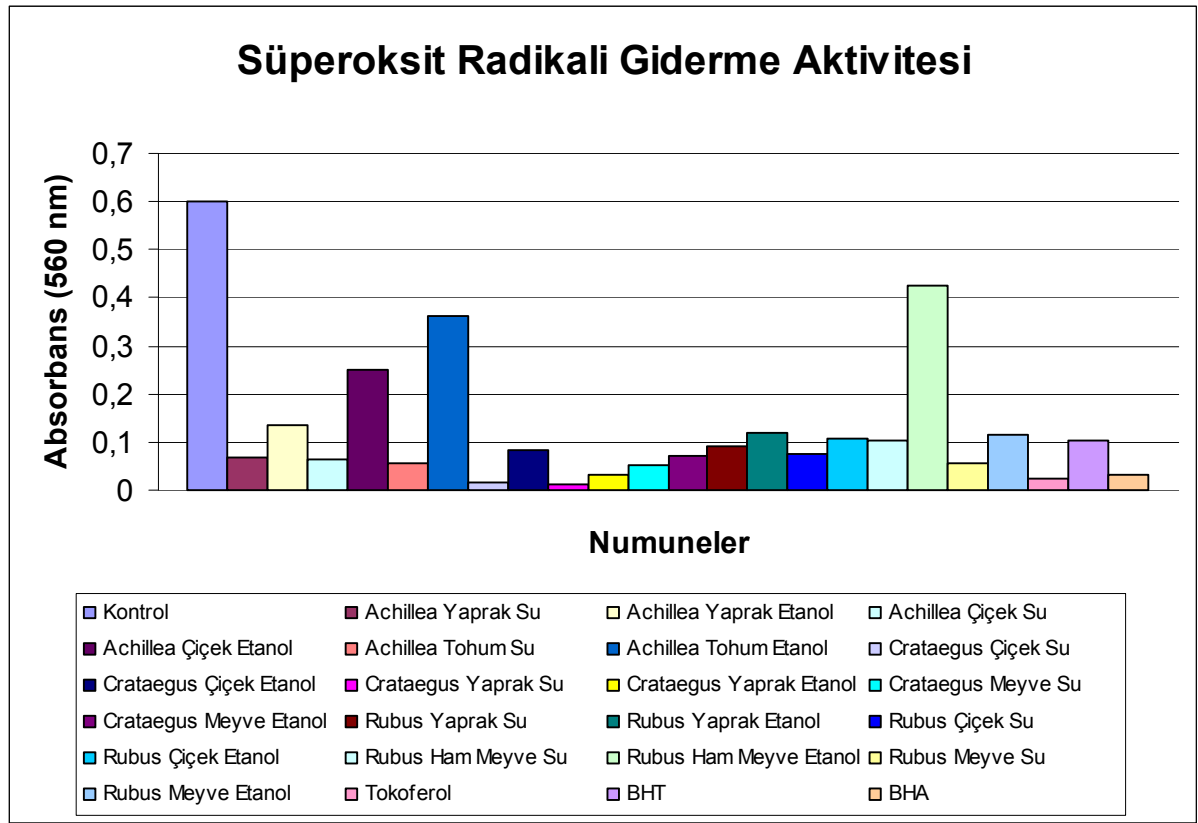
3.5. Süperoksit Radikali Giderme Aktivitesi

A. millefolium bitkisinde en yüksek süperoksit radikali giderme aktivitesi tohum su ekstresinde, en düşük süperoksit radikali giderme aktivitesi ise tohum etanol ekstresinde gözlenmiştir. Birer standart antioksidan olan tokoferol, BHA ve BHT ile beraber

ekstrelerin ortamdan yok ettikleri süperoksit miktarları şu şekilde sıralanmaktadır (Tablo 3.6): Tokoferol (% 96.33) > BHA (% 94.83) > *A. millefolium* tohum su ekstresi (% 90.67) > *A. millefolium* çiçek su ekstresi (% 89.66) > *A. millefolium* yaprak su ekstresi (% 88.83) > BHT (% 82.67) > *A. millefolium* yaprak etanol ekstresi (% 77.33) > *A. millefolium* çiçek etanol ekstresi (% 58.33) > *A. millefolium* tohum etanol ekstresi (% 40.00).

C. monogyna bitkisinde en yüksek süperoksit radikali giderme aktivitesi yaprak su ekstresinde, en düşük süperoksit radikali giderme aktivitesi ise çiçek etanol ekstresinde gözlenmiştir. *C. monogyna* çiçek su ve yaprak su ekstralarının standart antioksidanlar tokoferol, BHA ve BHT'den daha yüksek oranda süperoksit radikalini giderdiği görülmüştür. Ortamdan yok edilen süperoksit radikallerinin yüzdeleri şu şekilde sıralanmaktadır (Tablo 3.6): *C. monogyna* yaprak su ekstresi (% 98.00) > *C. monogyna* çiçek su ekstresi (% 97.17) > Tokoferol (% 96.33) > BHA (% 94.83) > *C. monogyna* yaprak etanol ekstresi (% 94.50) > *C. monogyna* meyve su ekstresi (% 91.50) > *C. monogyna* meyve etanol ekstresi (% 87.83) > *C. monogyna* çiçek etanol ekstresi (% 86.33) > BHT (% 82.67).

R. discolor bitkisinde en yüksek süperoksit radikali giderme aktivitesi meyve su ekstresinde, en düşük süperoksit radikali giderme aktivitesi ise ham meyve etanol ekstresinde gözlenmiştir. Standart antioksidanlar ve *R. discolor* bitki ekstralarına ait, yok edilen süperoksit radikali miktarları şu şekilde sıralanmaktadır (Tablo 3.6): Tokoferol (% 96.33) > BHA (% 94.83) > *R. discolor* meyve su ekstresi (% 90.67) > *R. discolor* çiçek su ekstresi (% 87.16) > *R. discolor* yaprak su ekstresi (% 84.83) > BHT (% 82.67) > *R. discolor* ham meyve su ekstresi (% 82.50) > *R. discolor* çiçek etanol ekstresi (% 82.00) > *R. discolor* meyve etanol ekstresi (% 80.83) > *R. discolor* yaprak etanol ekstresi (% 80.33) > *R. discolor* ham meyve etanol ekstresi (% 28.83).



Şekil 3.11. Bitki ekstraktları ve standart antioksidanların süperoksit radikali giderme aktivitesi sonuçları

Tablo 3.5. Bitki ekstreleri ve standart antioksidanların süperoksit radikali giderme aktivitesi sonuçları

Numuneler (100 µg)	Süperoksit Radikali Giderme Aktivitesi (Absorbans)
Kontrol	0.600
<i>Achillea millefolium</i> Yaprak Su	0.067
<i>Achillea millefolium</i> Yaprak Etanol	0.136
<i>Achillea millefolium</i> Çiçek Su	0.062
<i>Achillea millefolium</i> Çiçek Etanol	0.250
<i>Achillea millefolium</i> Tohum Su	0.056
<i>Achillea millefolium</i> Tohum Etanol	0.360
<i>Crataegus monogyna</i> Çiçek Su	0.017
<i>Crataegus monogyna</i> Çiçek Etanol	0.082
<i>Crataegus monogyna</i> Yaprak Su	0.012
<i>Crataegus monogyna</i> Yaprak Etanol	0.033
<i>Crataegus monogyna</i> Meyve Su	0.051
<i>Crataegus monogyna</i> Meyve Etanol	0.073
<i>Rubus discolor</i> Yaprak Su	0.091
<i>Rubus discolor</i> Yaprak Etanol	0.118
<i>Rubus discolor</i> Çiçek Su	0.077
<i>Rubus discolor</i> Çiçek Etanol	0.108
<i>Rubus discolor</i> Ham Meyve Su	0.105
<i>Rubus discolor</i> Ham Meyve Etanol	0.427
<i>Rubus discolor</i> Meyve Su	0.056
<i>Rubus discolor</i> Meyve Etanol	0.115
Tokoferol	0.022
BHT	0.104
BHA	0.031

Tablo 3.6. Bitki ekstreleri ve standart antioksidanların süperoksit radikali giderme aktivitesi sonuçları (%)

Numuneler (100 µg)	Süperoksit Radikali Giderme Aktivitesi (%)
Kontrol	0
<i>Achillea millefolium</i> Yaprak Su	88.83
<i>Achillea millefolium</i> Yaprak Etanol	77.33
<i>Achillea millefolium</i> Çiçek Su	89.66
<i>Achillea millefolium</i> Çiçek Etanol	58.33
<i>Achillea millefolium</i> Tohum Su	90.67
<i>Achillea millefolium</i> Tohum Etanol	40.00
<i>Crataegus monogyna</i> Çiçek Su	97.17
<i>Crataegus monogyna</i> Çiçek Etanol	86.33
<i>Crataegus monogyna</i> Yaprak Su	98.00
<i>Crataegus monogyna</i> Yaprak Etanol	94.50
<i>Crataegus monogyna</i> Meyve Su	91.50
<i>Crataegus monogyna</i> Meyve Etanol	87.83
<i>Rubus discolor</i> Yaprak Su	84.83
<i>Rubus discolor</i> Yaprak Etanol	80.33
<i>Rubus discolor</i> Çiçek Su	87.16
<i>Rubus discolor</i> Çiçek Etanol	82.00
<i>Rubus discolor</i> Ham Meyve Su	82.50
<i>Rubus discolor</i> Ham Meyve Etanol	28.83
<i>Rubus discolor</i> Meyve Su	90.67
<i>Rubus discolor</i> Meyve Etanol	80.83
Tokoferol	96.33
BHT	82.67
BHA	94.83

3.6. Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi

A. millefolium bitkisinde en yüksek hidrojen peroksit giderme aktivitesi tohum etanol ekstresinde, en düşük hidrojen peroksit giderme aktivitesi ise tohum su ekstresinde

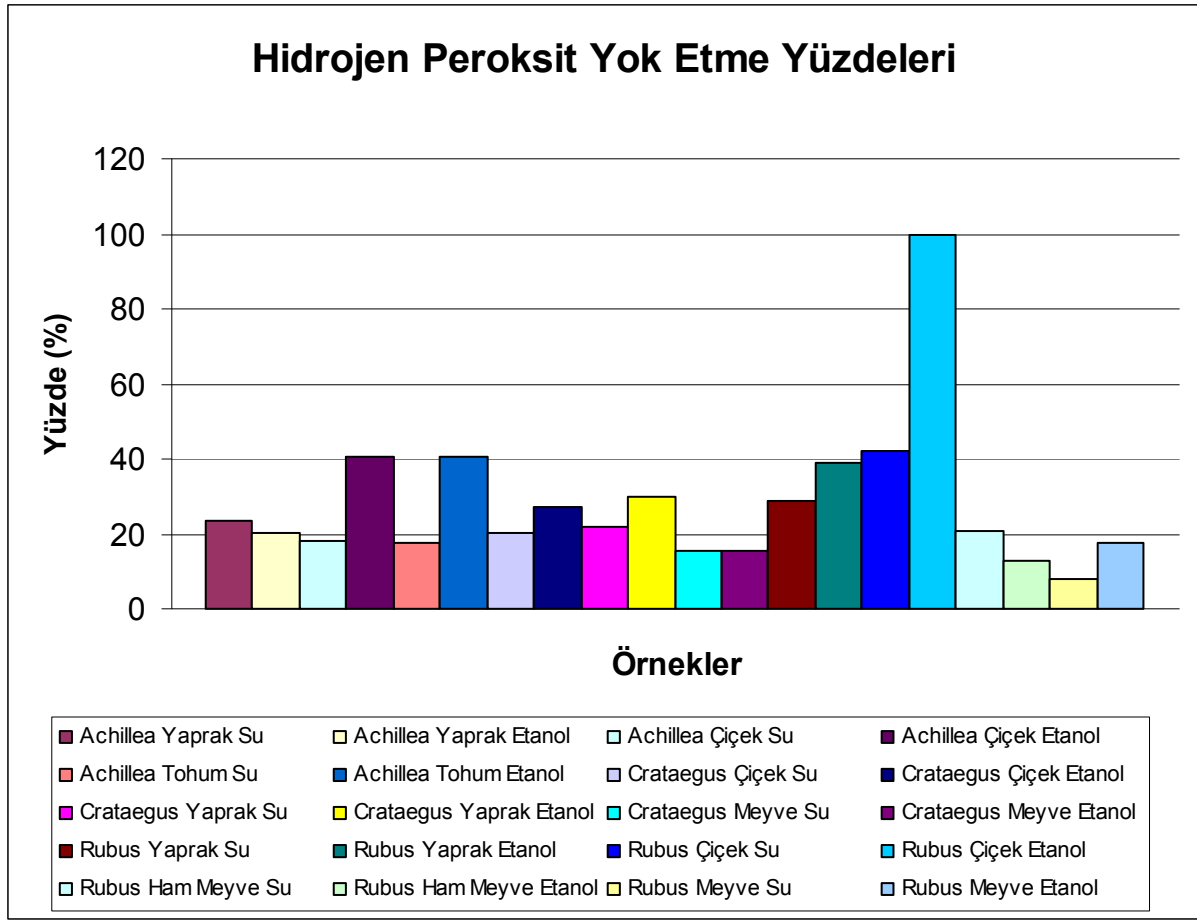
gözlenmiştir. *A. millefolium* bitki ekstralarının hidrojen peroksit giderme yüzdeleri şu şekilde sıralanmaktadır (Tablo 3.7, Şekil 3.12): *A. millefolium* tohum etanol ekstresi (% 40.63) > *A. millefolium* çiçek etanol ekstresi (% 40.57) > BHA (% 38.76) > *A. millefolium* yaprak su ekstresi (% 23.63) > BHT (% 22.54) > *A. millefolium* yaprak etanol ekstresi (% 20.07) > *A. millefolium* çiçek su ekstresi (% 18.19) > *A. millefolium* tohum su ekstresi (% 17.75).

C. monogyna bitkisinde en yüksek hidrojen peroksit giderme aktivitesi yaprak etanol ekstresinde, en düşük hidrojen peroksit giderme aktivitesi ise meyve su ekstresinde gözlenmiştir. Bitki ekstralarının hidrojen peroksit giderme yüzdeleri şu şekilde sıralanmaktadır (Tablo 3.7, Şekil 3.12): BHA (% 38.76) > *C. monogyna* yaprak etanol ekstresi (% 30.13) > *C. monogyna* çiçek etanol ekstresi (% 27.13) > BHT (% 22.54) > *C. monogyna* yaprak su ekstresi (% 22.00) > *C. monogyna* çiçek su ekstresi (% 20.07) > *C. monogyna* meyve etanol ekstresi (% 15.57) > *C. monogyna* meyve su ekstresi (% 15.44).

R. discolor bitkisinde en yüksek hidrojen peroksit giderme aktivitesi çiçek etanol ekstresinde, en düşük hidrojen peroksit giderme aktivitesi ise meyve su ekstresinde gözlenmiştir. Bitki ekstralarının hidrojen peroksit giderme yüzdeleri şu şekilde sıralanmaktadır (Tablo 3.7, Şekil 3.12): *R. discolor* çiçek etanol ekstresi (% 100) > *R. discolor* çiçek su ekstresi (% 42.07) > BHA (% 38.76) > *R. discolor* yaprak etanol ekstresi (% 38.69) > *R. discolor* yaprak su ekstresi (% 28.57) > BHT (% 22.54) > *R. discolor* ham meyve su ekstresi (% 20.82) > *R. discolor* meyve etanol ekstresi (% 17.69) > *R. discolor* ham meyve etanol ekstresi (% 12.57) > *R. discolor* meyve su ekstresi (% 7.88).

Tablo 3.7. Bitki ekstreleri ve standart antioksidanların hidrojen peroksit giderme aktivitesi sonuçları

Numune (100 µg/mL)	H ₂ O ₂ Yok Etme Yüzdeleri (%)
Kontrol	0
<i>Achillea millefolium</i> Yaprak Su	23.63
<i>Achillea millefolium</i> Yaprak Etanol	20.07
<i>Achillea millefolium</i> Çiçek Su	18.19
<i>Achillea millefolium</i> Çiçek Etanol	40.57
<i>Achillea millefolium</i> Tohum Su	17.75
<i>Achillea millefolium</i> Tohum Etanol	40.63
<i>Crataegus monogyna</i> Çiçek Su	20.07
<i>Crataegus monogyna</i> Çiçek Etanol	27.13
<i>Crataegus monogyna</i> Yaprak Su	22.00
<i>Crataegus monogyna</i> Yaprak Etanol	30.13
<i>Crataegus monogyna</i> Meyve Su	15.44
<i>Crataegus monogyna</i> Meyve Etanol	15.57
<i>Rubus discolor</i> Yaprak Su	28.57
<i>Rubus discolor</i> Yaprak Etanol	38.69
<i>Rubus discolor</i> Çiçek Su	42.07
<i>Rubus discolor</i> Çiçek Etanol	100
<i>Rubus discolor</i> Ham Meyve Su	20.82
<i>Rubus discolor</i> Ham Meyve Etanol	12.57
<i>Rubus discolor</i> Meyve Su	7.88
<i>Rubus discolor</i> Meyve Etanol	17.69
BHA	22.54
BHT	38.76



Şekil 3.12. Bitki örnekleri ve standart antioksidanların hidrojen peroksit yok etme sonuçları

3.7. Metal Şelatlama Aktivitesi

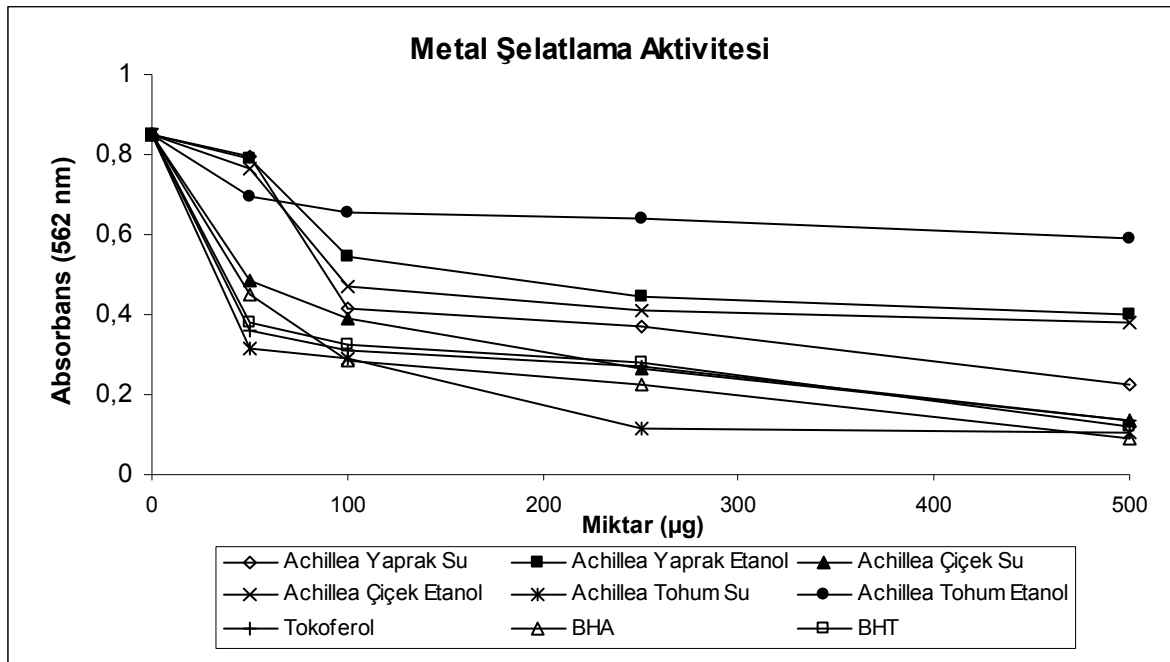
Metal şelatlama aktivitesi konsantrasyon ve ekstre miktarı ile doğru orantılı olarak artmaktadır. Bitki örneklerinin 50, 100, 250 ve 500 µg'lık miktarları ve onlarla aynı konsantrasyondaki standart antioksidan olarak kabul edilen tokoferol, BHA ve BHT örneklerinin 562 nm'de absorbanları alınmış ve sonuçlar aşağıdaki şekillerde gösterilmiştir (Şekil 3.13-3.15).

A. millefolium bitkisinde en yüksek metal şelatlama aktivitesi tohum su ekstresinde, en düşük metal şelatlama aktivitesi ise tohum etanol ekstresinde gözlenmiştir. *A. millefolium* tohum su ekstresinin tokoferol ve BHT gibi standart antioksidanlardan daha yüksek metal şelatlama aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.13). *A. millefolium* bitki ekstreleri ve standart antioksidanların metal şelatlama yüzdeleri şu şekilde sıralanmaktadır (Tablo 3.8): BHA (% 66.23) > *A. millefolium* tohum su ekstresi (% 65.76) > Tokoferol (% 63.52) > BHT (% 61.52) > *A. millefolium* çiçek su ekstresi (% 53.88) > *A.*

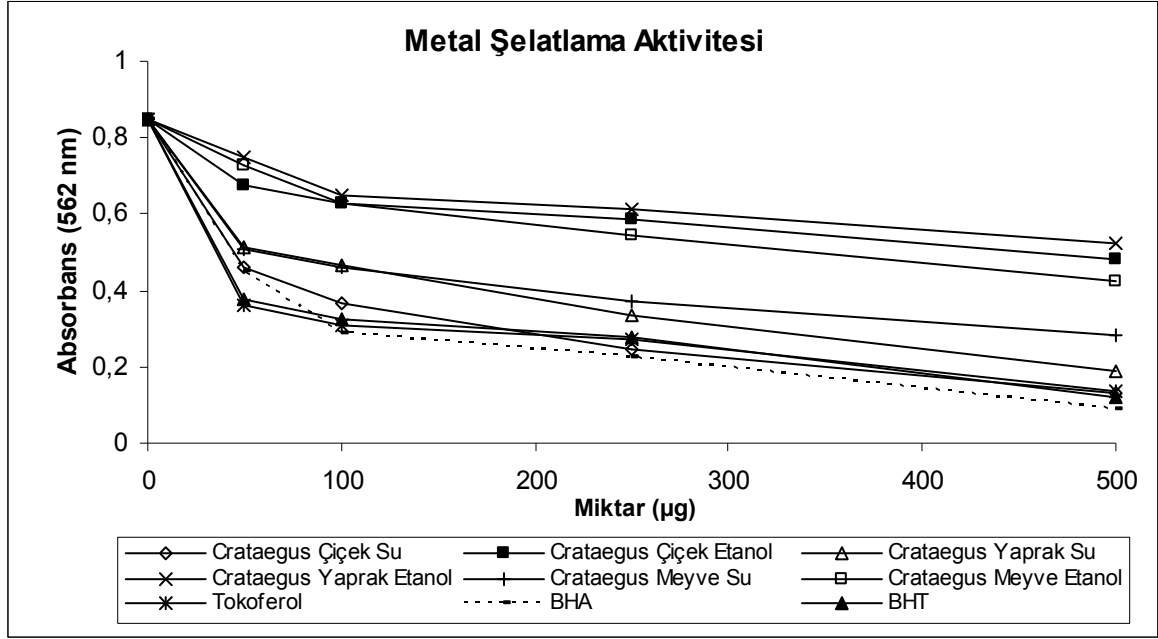
millefolium yaprak su ekstresi (% 50.94) > *A. millefolium* çiçek etanol ekstresi (% 44.47) > *A. millefolium* yaprak etanol ekstresi (% 36.00) > *A. millefolium* tohum etanol ekstresi (% 22.94).

C. monogyna bitkisinde en yüksek metal şelatlama aktivitesi çiçek su ekstresinde, en düşük metal şelatlama aktivitesi ise yaprak etanol ekstresinde gözlenmiştir (Şekil 3.14). Bitki ekstraktları ve standart antioksidanların metal şelatlama yüzdeleri şu şekilde sıralanmaktadır (Tablo 3.8): BHA (% 66.23) > Tokoferol (% 63.52) > BHT (% 61.52) > *C. monogyna* çiçek su ekstresi (% 57.17) > *C. monogyna* meyve su ekstresi (% 45.88) > *C. monogyna* yaprak su ekstresi (% 45.17) > *C. monogyna* çiçek etanol ekstresi (% 26.11) > *C. monogyna* meyve etanol ekstresi (% 25.88) > *C. monogyna* yaprak etanol ekstresi (% 23.52).

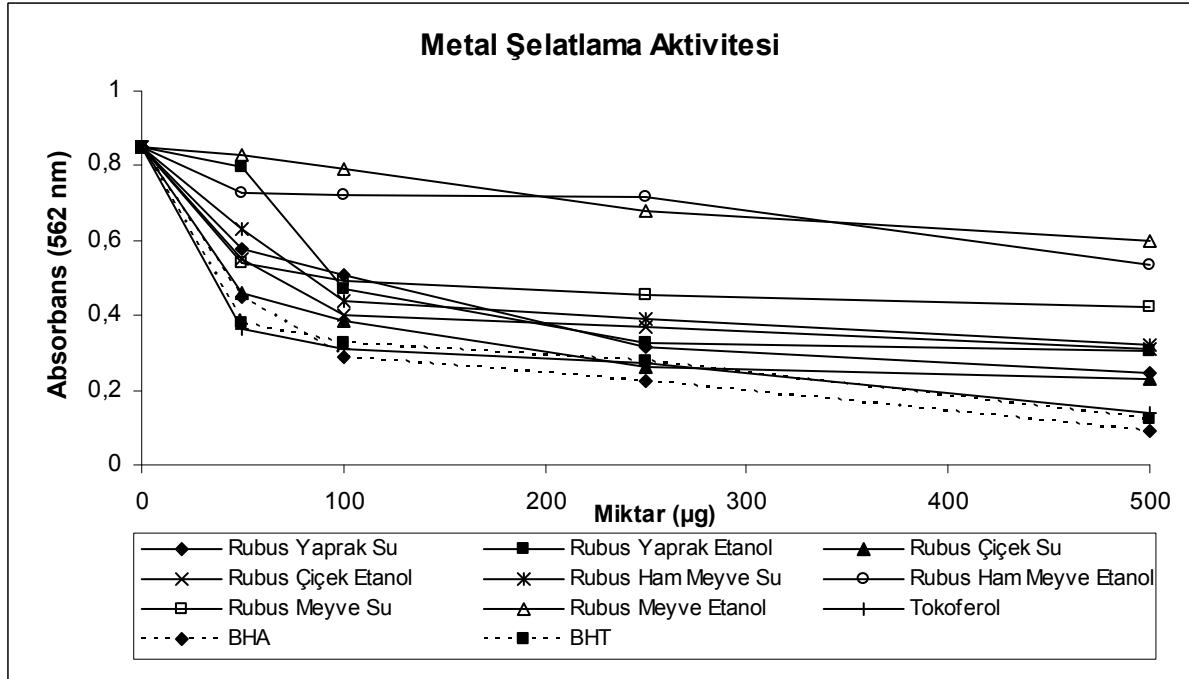
R. discolor bitkisinde en yüksek metal şelatlama aktivitesi çiçek su ekstresinde, en düşük metal şelatlama aktivitesi ise meyve etanol ekstresinde gözlenmiştir (Şekil 3.15). Bitki ekstraktları ve antioksidanların metal şelatlama yüzdeleri şu şekilde sıralanmaktadır (Tablo 3.8): BHA (% 66.23) > Tokoferol (% 63.52) > BHT (% 61.52) > *R. discolor* çiçek su ekstresi (% 54.58) > *R. discolor* çiçek etanol ekstresi (% 52.82) > *R. discolor* ham meyve su ekstresi (% 48.35) > *R. discolor* yaprak etanol ekstresi (% 44.94) > *R. discolor* meyve su ekstresi (% 41.88) > *R. discolor* yaprak su ekstresi (% 40.35) > *R. discolor* ham meyve etanol ekstresi (% 15.17) > *R. discolor* meyve etanol ekstresi (% 6.70).



Şekil 3.13. *Achillea millefolium* bitkisine ait metal şelatlama aktivitesi sonuçları



Şekil 3.14. *Crataegus monogyna* bitkisine ait metal şelatlama aktivitesi sonuçları



Şekil 3.15. *Rubus discolor* bitkisine ait metal şelatlama aktivitesi sonuçları

Tablo 3.8. Bitki ekstraktları ve standart antioksidanların metal şelatlama aktivitesi sonuçları

Numunenin Adı	% Metal Şelatlama Aktiviteleri (100 µg)
Kontrol	0
<i>Achillea millefolium</i> Yaprak Su	50.94
<i>Achillea millefolium</i> Yaprak Etanol	36.00
<i>Achillea millefolium</i> Çiçek Su	53.88
<i>Achillea millefolium</i> Çiçek Etanol	44.47
<i>Achillea millefolium</i> Tohum Su	65.76
<i>Achillea millefolium</i> Tohum Etanol	22.94
<i>Crataegus monogyna</i> Çiçek Su	57.17
<i>Crataegus monogyna</i> Çiçek Etanol	26.11
<i>Crataegus monogyna</i> Yaprak Su	45.17
<i>Crataegus monogyna</i> Yaprak Etanol	23.52
<i>Crataegus monogyna</i> Meyve Su	45.88
<i>Crataegus monogyna</i> Meyve Etanol	25.88
<i>Rubus discolor</i> Yaprak Su	40.35
<i>Rubus discolor</i> Yaprak Etanol	44.94
<i>Rubus discolor</i> Çiçek Su	54.58
<i>Rubus discolor</i> Çiçek Etanol	52.82
<i>Rubus discolor</i> Ham Meyve Su	48.35
<i>Rubus discolor</i> Ham Meyve Etanol	15.17
<i>Rubus discolor</i> Meyve Su	41.88
<i>Rubus discolor</i> Meyve Etanol	6.70
Tokoferol	63.52
BHA	66.23
BHT	61.52

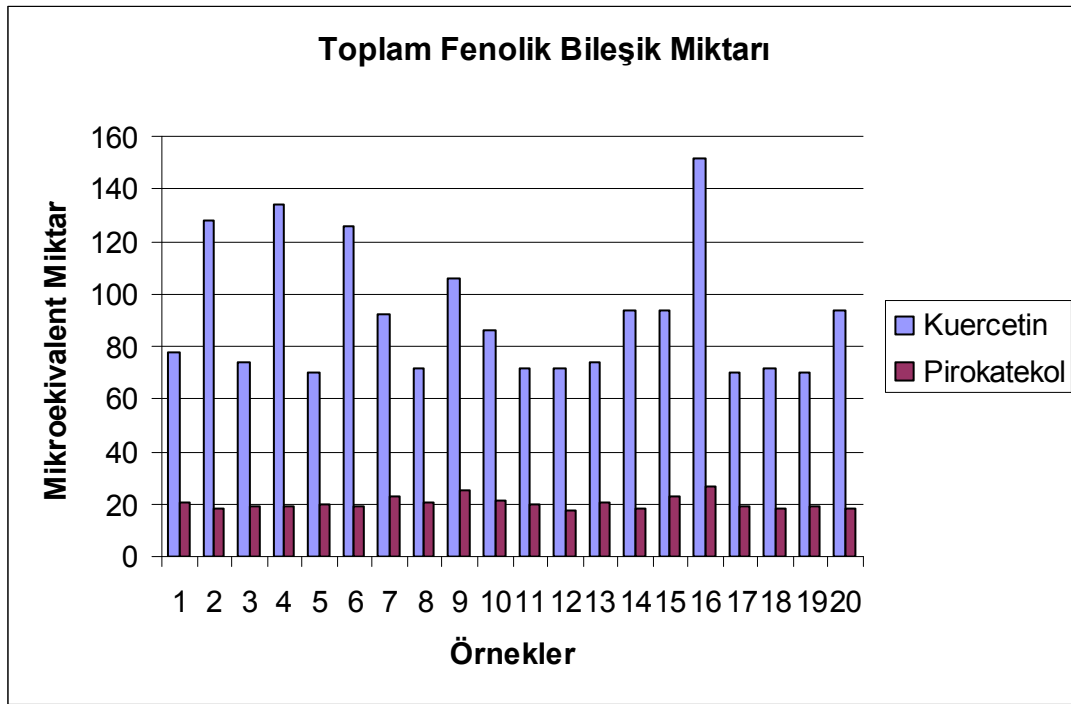
3.8. Toplam Fenolik Bileşik Miktarı Tayini

A. millefolium bitkisinde en yüksek kuersetin miktarı çiçek etanol ekstresinde, en düşük kuersetin miktarı ise tohum su ekstresinde gözlenmiştir. *A. millefolium* bitkisinde en

yüksek pirokatekol miktarı yaprak su ekstresinde, en düşük pirokatekol miktarı ise yaprak etanol ekstresinde gözlenmiştir (Şekil 3.16 ve Tablo 3.9).

C. monogyna bitkisinde en yüksek kuersetin miktarı yaprak su ekstresinde, en düşük kuersetin miktarı ise meyve su ekstresinde gözlenmiştir. *C. monogyna* bitkisinde en yüksek pirokatekol miktarı yaprak su ekstresinde, en düşük pirokatekol miktarı ise meyve etanol ekstresinde gözlenmiştir (Şekil 3.16 ve Tablo 3.9).

R. discolor bitkisinde en yüksek kuersetin miktarı çiçek etanol ekstresinde, en düşük kuersetin miktarı ise ham meyve su ekstresinde gözlenmiştir. *R. discolor* bitkisinde en yüksek pirokatekol miktarı çiçek etanol ekstresinde, en düşük pirokatekol miktarı ise yaprak etanol ekstresinde gözlenmiştir (Şekil 3.16 ve Tablo 3.9).



Şekil 3.16. Bitki ekstratlarının ihtiva ettiği kuersetin ve pirokatekol miktarları (1: *A. millefolium* yaprak su, 2: *A. millefolium* yaprak etanol, 3: *A. millefolium* çiçek su, 4: *A. millefolium* çiçek etanol, 5: *A. millefolium* tohum su, 6: *A. millefolium* tohum etanol, 7: *C. monogyna* çiçek su, 8: *C. monogyna* çiçek etanol, 9: *C. monogyna* yaprak su, 10: *C. monogyna* yaprak etanol, 11: *C. monogyna* meyve su, 12: *C. monogyna* meyve etanol, 13: *R. discolor* yaprak su, 14: *R. discolor* yaprak etanol, 15: *R. discolor* çiçek su, 16: *R. discolor* çiçek etanol, 17: *R. discolor* ham meyve su, 18: *R. discolor* ham meyve etanol, 19: *R. discolor* meyve su, 20: *R. discolor* meyve etanol)

Tablo 3.9. Bitki ekstralarının ihtiva ettiği toplam fenolik bileşik miktarları

Bitki Ekstreleri (1000 µg)	Kuersetin		Pirokatekol	
	Absorbans	µg	Absorbans	µg
<i>Achillea millefolium</i> Yaprak Su	0.039	78	0.044	20.25
<i>Achillea millefolium</i> Yaprak Etanol	0.064	128	0.040	18.34
<i>Achillea millefolium</i> Çiçek Su	0.037	74	0.041	18.82
<i>Achillea millefolium</i> Çiçek Etanol	0.067	134	0.042	19.30
<i>Achillea millefolium</i> Tohum Su	0.035	70	0.043	19.78
<i>Achillea millefolium</i> Tohum Etanol	0.063	126	0.041	18.82
<i>Crataegus monogyna</i> Çiçek Su	0.046	92	0.049	22.65
<i>Crataegus monogyna</i> Çiçek Etanol	0.036	72	0.045	20.73
<i>Crataegus monogyna</i> Yaprak Su	0.053	106	0.054	25.04
<i>Crataegus monogyna</i> Yaprak Etanol	0.043	86	0.046	21.21
<i>Crataegus monogyna</i> Meyve Su	0.036	72	0.043	19.78
<i>Crataegus monogyna</i> Meyve Etanol	0.036	72	0.039	17.86
<i>Rubus discolor</i> Yaprak Su	0.037	74	0.044	20.25
<i>Rubus discolor</i> Yaprak Etanol	0.047	94	0.040	18.34
<i>Rubus discolor</i> Çiçek Su	0.047	94	0.050	23.12
<i>Rubus discolor</i> Çiçek Etanol	0.076	152	0.057	26.47
<i>Rubus discolor</i> Ham Meyve Su	0.035	70	0.042	19.3
<i>Rubus discolor</i> Ham Meyve Etanol	0.036	72	0.040	18.34
<i>Rubus discolor</i> Meyve Su	0.035	70	0.041	18.82
<i>Rubus discolor</i> Meyve Etanol	0.047	94	0.040	18.34

3.9. Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) Testi

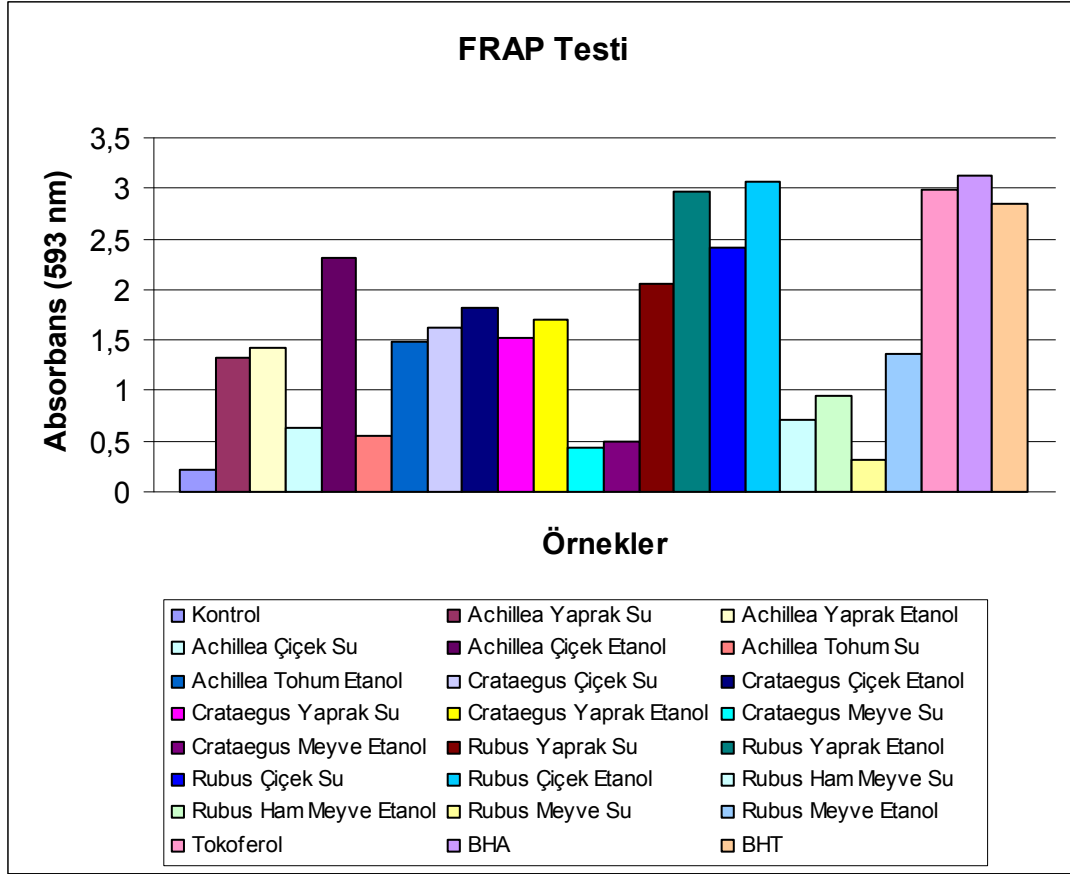
Bu testte bitki ekstralarının ve standart antioksidanların reaksiyon ortamındaki Fe^{+3} iyonlarının ne kadarını Fe^{+2} ’ye indirgediği hesaplanmıştır. Fe^{+2} standart grafiği üzerinden reaksiyon sonunda elde edilen absorbans, $y = 0.0004x - 0.0524$ ($R^2 = 0.9927$) denkleminde yerine konarak ortamda ne kadar Fe^{+2} olduğu hesaplanarak Şekil 3.17 ve Tablo 3.10’de gösterilmiştir.

A. millefolium bitkisinde en yüksek Fe^{+3} indirgeme kapasitesi çiçek etanol

ekstresinde, en düşük Fe^{+3} indirgeme kapasitesi ise tohum su ekstresinde gözlenmiştir. Standart antioksidanlarla beraber bitki ekstralarının sıralaması şu şekilde olmaktadır: BHT > Tokoferol > BHA > *A. millefolium* çiçek su ekstresi > *A. millefolium* tohum etanol ekstresi > *A. millefolium* yaprak etanol ekstresi > *A. millefolium* yaprak su ekstresi > *A. millefolium* çiçek su ekstresi > *A. millefolium* tohum su ekstresi.

C. monogyna bitkisinde en yüksek Fe^{+3} indirgeme kapasitesi çiçek etanol ekstresinde, en düşük Fe^{+3} indirgeme kapasitesi ise meyve su ekstresinde gözlenmiştir. Standart antioksidanlar ve bitki ekstralarının ne kadar Fe^{+3} indirgediği şu şekilde sıralanmaktadır: BHT > Tokoferol > BHA > *C. monogyna* çiçek etanol ekstresi > *C. monogyna* yaprak etanol ekstresi > *C. monogyna* çiçek su ekstresi > *C. monogyna* yaprak su ekstresi > *C. monogyna* meyve etanol ekstresi > *C. monogyna* meyve su ekstresi.

R. discolor bitkisinde en yüksek Fe^{+3} indirgeme kapasitesi çiçek etanol ekstresinde, en düşük Fe^{+3} indirgeme kapasitesi ise meyve su ekstresinde gözlenmiştir. *R. discolor* çiçek etanol ekstresinin standart antioksidanlar tokoferol ve BHA'dan daha yüksek Fe^{+3} indirgeme kapasitesine sahip olduğu anlaşılmıştır. Fe^{+3} indirgeme kapasiteleri şu şekilde sıralanmaktadır: BHT > *R. discolor* çiçek etanol ekstresi > Tokoferol > *R. discolor* yaprak etanol ekstresi > BHA > *R. discolor* çiçek su ekstresi > *R. discolor* yaprak su ekstresi > *R. discolor* meyve etanol ekstresi > *R. discolor* ham meyve etanol ekstresi > *R. discolor* ham meyve su ekstresi > *R. discolor* meyve su ekstresi.



Şekil 3.17. Bitki ekstreleri ve standart antioksidanların FRAP testi sonuçları

Tablo 3.10. Bitki ekstreleri ve standart antioksidanların Fe⁺³'den indirgediği Fe⁺² miktarları

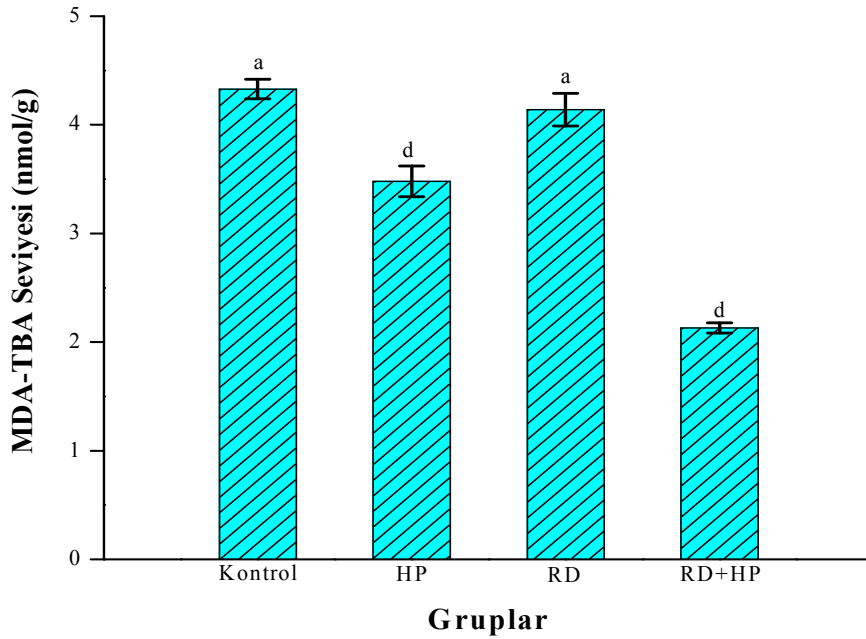
Numuneler (100 µg)	FRAP Fe⁺² Konsantrasyonları (10⁻³ M)
<i>Achillea millefolium</i> Yaprak Su	3436
<i>Achillea millefolium</i> Yaprak Etanol	3688.5
<i>Achillea millefolium</i> Çiçek Su	1723.5
<i>Achillea millefolium</i> Çiçek Etanol	5913.5
<i>Achillea millefolium</i> Tohum Su	1518.5
<i>Achillea millefolium</i> Tohum Etanol	3833.5
<i>Crataegus monogyna</i> Çiçek Su	4206
<i>Crataegus monogyna</i> Çiçek Etanol	4681
<i>Crataegus monogyna</i> Yaprak Su	3923.5
<i>Crataegus monogyna</i> Yaprak Etanol	4378.5
<i>Crataegus monogyna</i> Meyve Su	1226
<i>Crataegus monogyna</i> Meyve Etanol	1371
<i>Rubus discolor</i> Yaprak Su	5288.5
<i>Rubus discolor</i> Yaprak Etanol	7531
<i>Rubus discolor</i> Çiçek Su	6151
<i>Rubus discolor</i> Çiçek Etanol	7801
<i>Rubus discolor</i> Ham Meyve Su	1906
<i>Rubus discolor</i> Ham Meyve Etanol	2486
<i>Rubus discolor</i> Meyve Su	911
<i>Rubus discolor</i> Meyve Etanol	3521
Tokoferol	7576
BHT	7943.5
BHA	7266

3.10. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Wistar Ratlar Üzerindeki Etkileri

3.10.1. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Deney Hayvanlarında Lipid Peroksidasyon Oluşumu Üzerine Etkileri

3.10.1.1. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Karaciğerdeki Lipid Peroksidasyon Oluşumu Üzerine Etkisi

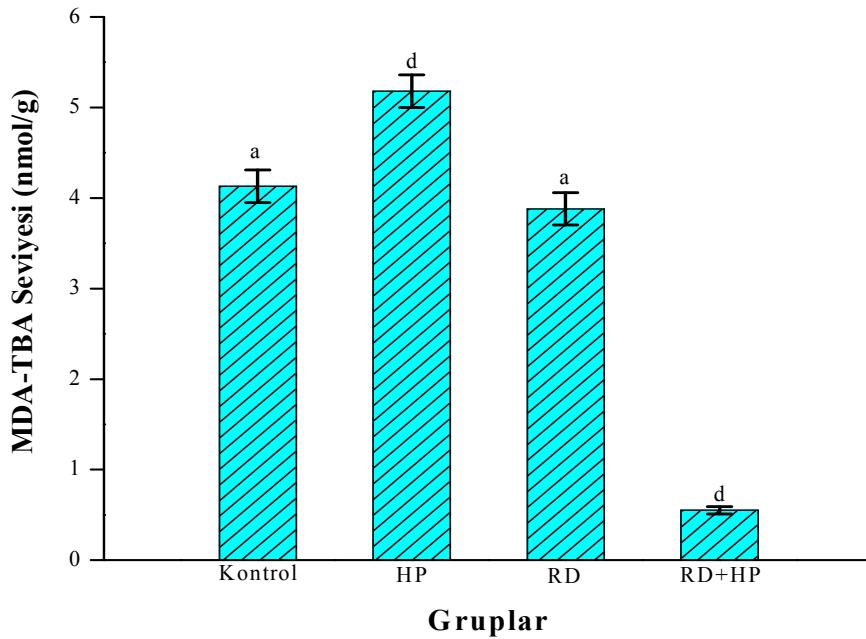
Karaciğerdeki MDA-TBA seviyesi kontrol grubuna göre kıyaslandığında HP ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde azaldığı gözlemlendi ($p < 0.001$). Kontrol grubuna kıyasla RD grubunda MDA-TBA seviyesinin istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p > 0.05$) (Şekil 3.18) (Tablo 3.11).



Şekil 3.18. Böğürtlen ekstraktının karaciğerde MDA-TBA seviyesi üzerine etkisi
a: $p > 0.05$, b: $p < 0.05$, c: $p < 0.01$, d: $p < 0.001$

3.10.1.2. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Böbrekteki Lipid Peroksidasyon Oluşumu Üzerine Etkisi

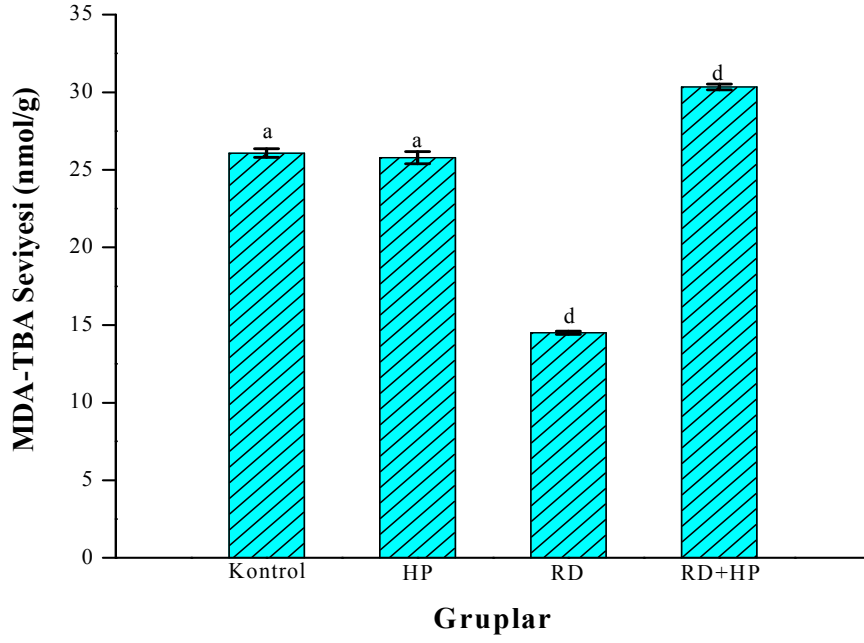
Böbrek dokusunda MDA-TBA seviyesinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında HP grubunda belirgin şekilde arttığı gözlemlendi ($p<0.001$). RD grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak bir değişim saptanmazken ($p>0.05$), RD+HP grubunda MDA-TBA seviyesinin belirgin şekilde azaldığı belirlendi ($p<0.001$) (Şekil 3.19) (Tablo 3.11).



Şekil 3.19. Böğürtlen ekstraktının böbrekte MDA-TBA seviyesi üzerine etkisi
a: $p>0.05$, b: $p<0.05$, c: $p<0.01$, d: $p<0.001$

3.10.1.3. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Kastaki Lipid Peroksidasyon Oluşumu Üzerine Etkisi

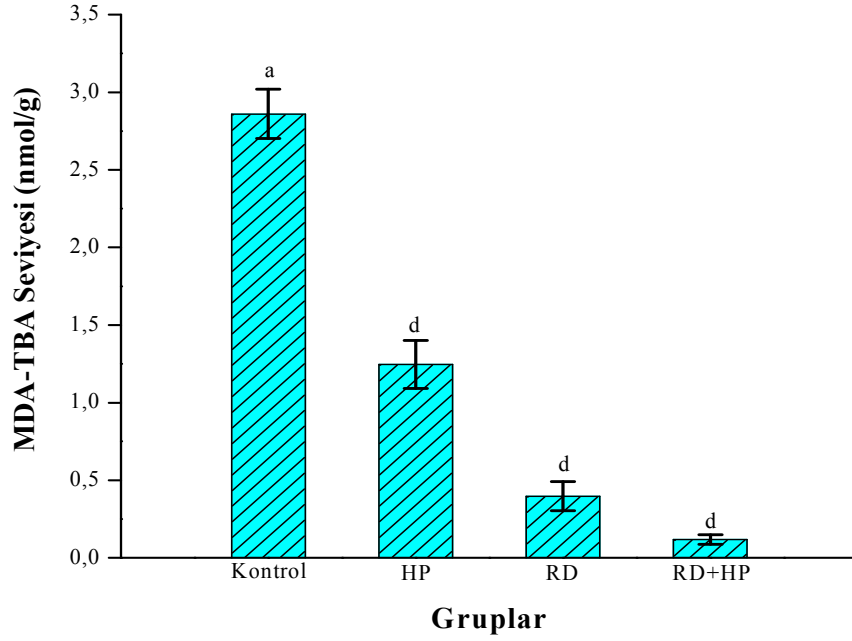
Kas dokusunda MDA-TBA seviyesinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği gözlemlendi ($p>0.05$). RD grubunda, kontrol grubuna göre MDA-TBA seviyesinin belirgin şekilde azaldığı belirlenirken ($p<0.001$), RD+HP grubunda istatistiksel olarak aynı oranda arttığı saptandı ($p<0.001$) (Şekil 3.20) (Tablo 3.11).



Şekil 3.20. Böğürtlen ekstraktının kasta MDA-TBA seviyesi üzerine etkisi
a: $p>0.05$, b: $p<0.05$, c: $p<0.01$, d: $p<0.001$

3.10.1.4. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Beyindeki Lipid Peroksidasyon Oluşumu Üzerine Etkisi

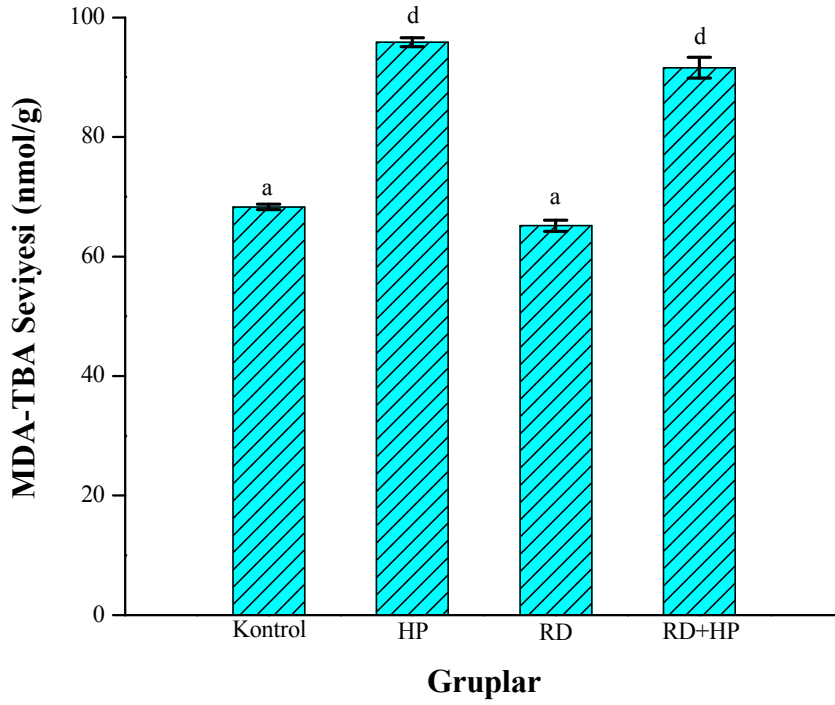
Beyin dokusunda kontrol grubuyla kıyaslandığında MDA-TBA seviyesinin HP, RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde azaldığı saptandı ($p<0.001$) (Şekil 3.21) (Tablo 3.11).



Şekil 3.21. Böğürtlen ekstraktının beyinde MDA-TBA seviyesi üzerine etkisi
a: $p>0.05$, b: $p<0.05$, c: $p<0.01$, d: $p<0.001$

3.10.1.5. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Dalaktaki Lipid Peroksidasyon Oluşumu Üzerine Etkisi

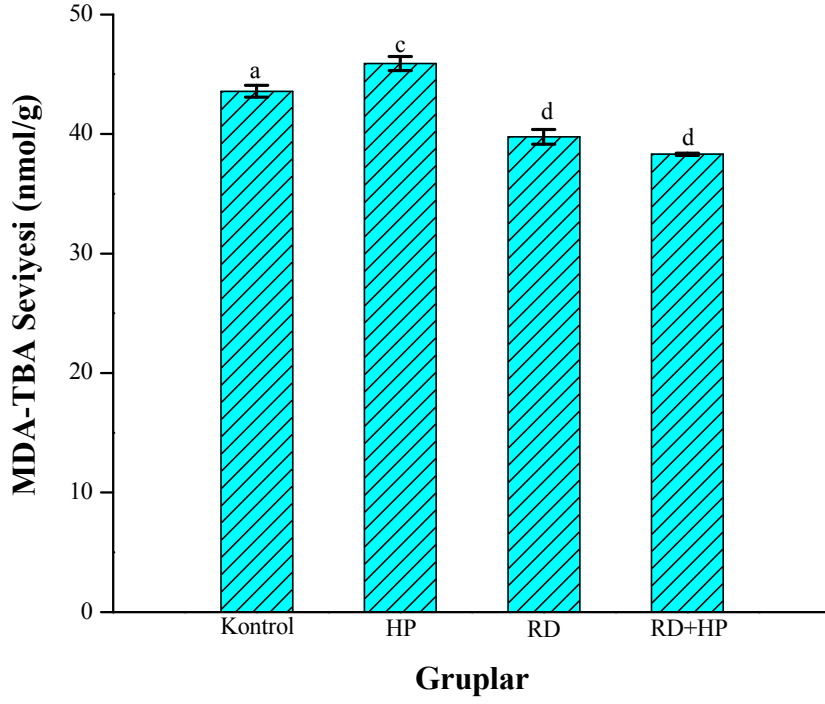
Dalak dokusunda MDA-TBA seviyesinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında HP ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde arttığı gözlenirken ($p<0.001$), RD grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$) (Şekil 3.22) (Tablo 3.11).



Şekil 3.22. Böğürtlen ekstraktının dalakta MDA-TBA seviyesi üzerine etkisi
a: $p>0.05$, b: $p<0.05$, c: $p<0.01$, d: $p<0.001$

3.10.1.6. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Akciğerdeki Lipid Peroksidasyon Oluşumu Üzerine Etkisi

Akciğer dokusunda MDA-TBA seviyesinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP grubunda anlamlı şekilde arttığı belirlendi ($p<0.01$). RD ve RD+HP gruplarında kontrol grubuna göre MDA-TBA seviyesinin belirgin şekilde azaldığı gözlemlendi ($p<0.001$) (Şekil 3.23) (Tablo 3.11).



Şekil 3.23. Böğürtlen ekstraktının akciğerde MDA-TBA seviyesi üzerine etkisi
a: $p>0.05$, **b:** $p<0.05$, **c:** $p<0.01$, **d:** $p<0.001$

Tablo 3.11. *Rubus discolor* ekstraktının dokularda LPO miktarı üzerine etkileri

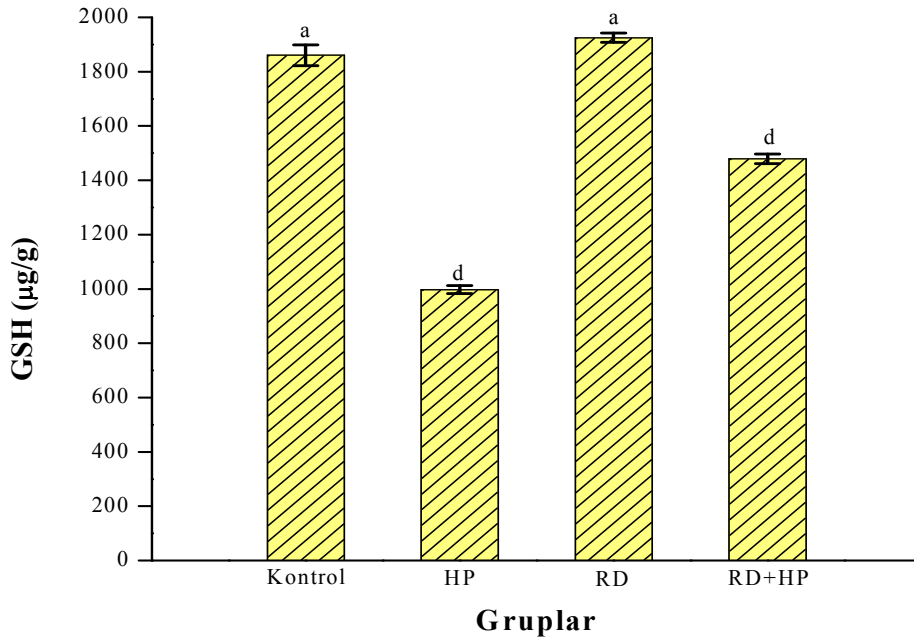
LPO (MDA-TBA) (nmol/g)	Kontrol	HP	RD	RD+HP
Karaciğer	4.33±0.09	3.48±0.14^d	4.14±0.15 ^a	2.13±0.048^d
Böbrek	4.13±0.18	5.18±0.18^d	3.88±0.18 ^a	0.55±0.04^d
Kas	26.08±0.28	25.78±0.39 ^a	14.50±0.11^d	30.34±0.19^d
Beyin	2.860±0.159	1.246±0.154^d	0.397±0.094^d	0.118±0.031^d
Dalak	68.28±0.45	95.86±0.77^d	65.14±0.93 ^a	91.58±1.74^d
Akciğer	43.58±0.50	45.90±0.59^c	39.76±0.62^d	38.31±0.09^d

a: $p>0.05$ **b:** $p<0.05$ **c:** $p<0.01$ **d:** $p<0.001$

3.10.2. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Deney Hayvanlarında Glutasyon Miktarı Üzerine Etkileri

3.10.2.1. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Karaciğerde Glutasyon Miktarı Üzerine Etkisi

Karaciğer dokusunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında GSH seviyesinin HP ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde azaldığı saptanırken ($p<0.001$), RD grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$) (Şekil 3.24) (Tablo 3.12).

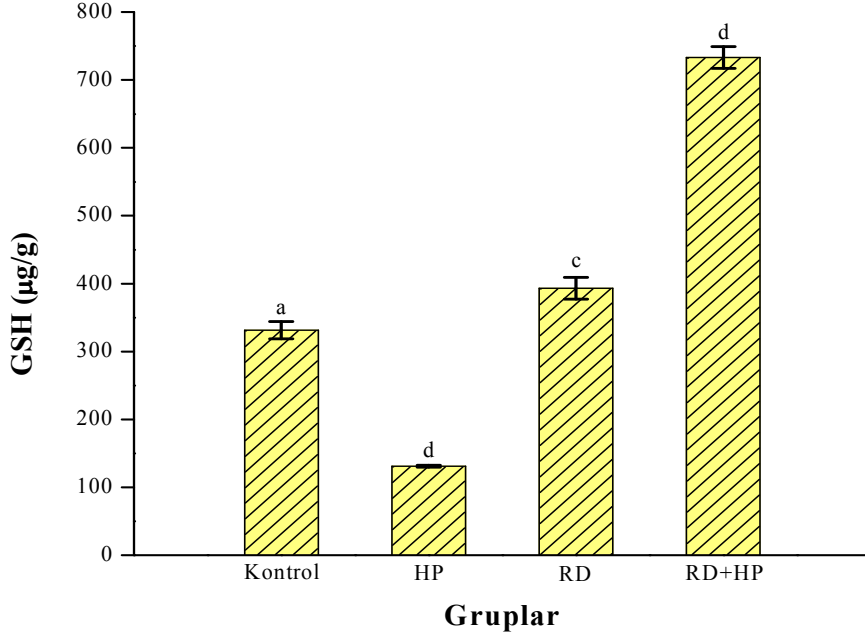


Şekil 3.24. Böğürtlen ekstraktının karaciğerde GSH seviyesi üzerine etkisi
a: $p>0.05$, b: $p<0.05$, c: $p<0.01$, d: $p<0.001$

3.10.2.2. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Böbrekte Glutasyon Miktarı Üzerine Etkisi

Böbrek dokusunda kontrol grubuyla kıyaslandığında GSH seviyesinin HP grubunda belirgin şekilde azaldığı saptandı ($p<0.001$). Kontrol grubuna göre RD ve RD+HP gruplarında GSH seviyesinin anlamlı şekilde arttığı gözlenirken ($p<0.01$, $p<0.001$,

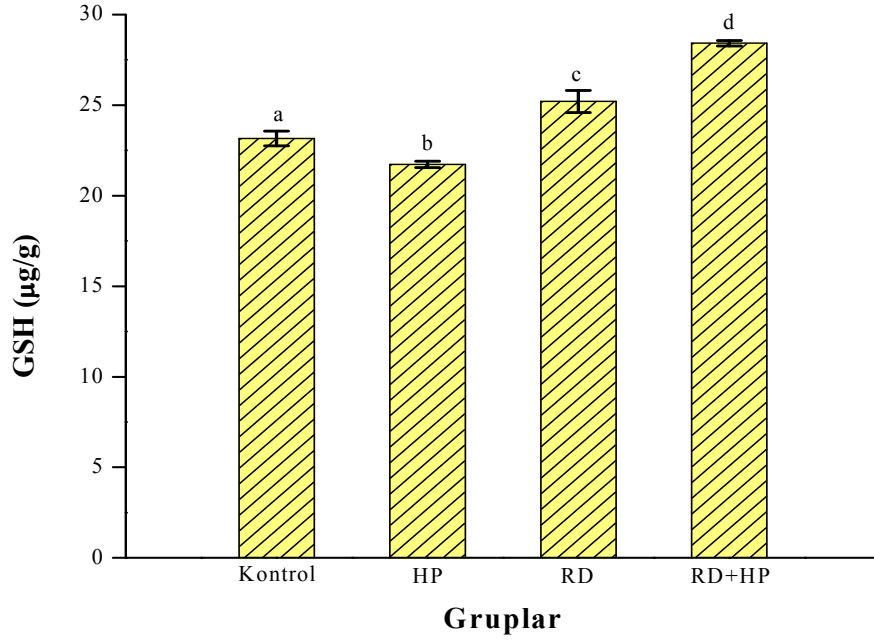
sırasıyla), bu artmanın RD+HP grubunda çok daha yüksek miktarda ve istatistiksel olarak daha anlamlı olduğu belirlendi (Şekil 3.25) (Tablo 3.12).



Şekil 3.25. Böğürtlen ekstraktının böbrekte GSH seviyesi üzerine etkisi
a: $p>0.05$, b: $p<0.05$, c: $p<0.01$, d: $p<0.001$

3.10.2.3. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Kalpte Glutatyon Miktarı Üzerine Etkisi

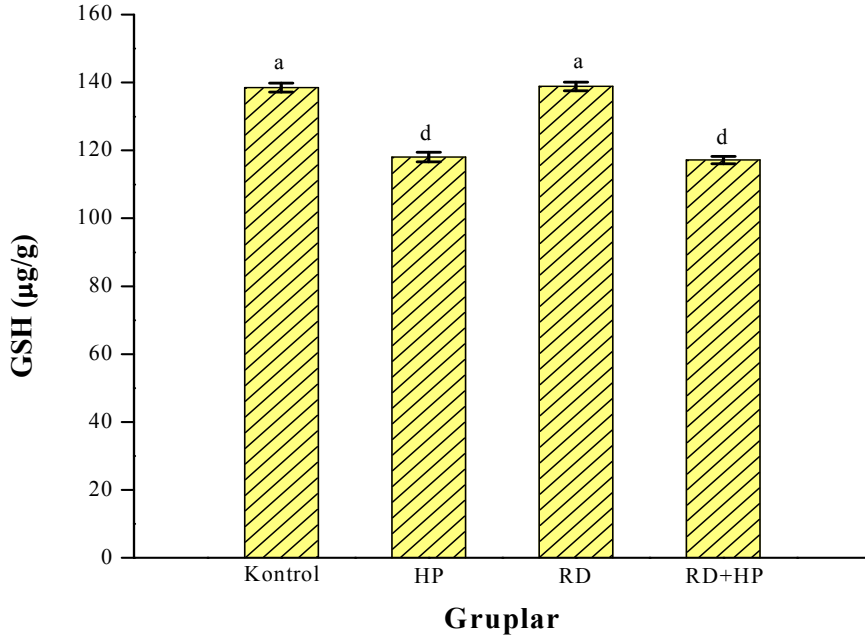
Kalp dokusunda GSH seviyesinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında HP grubunda azaldığı saptandı ($p<0.05$). RD ve RD+HP gruplarında kontrol grubuna göre GSH seviyesinin anlamlı şekilde arttığı gözlenirken ($p<0.01$, $p<0.001$, sırasıyla), bu artışın RD+HP grubunda daha yüksek miktarda ve istatistiksel olarak daha anlamlı olduğu saptandı (Şekil 3.26) (Tablo 3.12).



Şekil 3.26. Böğürtlen ekstraktının kalpte GSH seviyesi üzerine etkisi
a: $p>0.05$, b: $p<0.05$, c: $p<0.01$, d: $p<0.001$

3.10.2.4. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Kasta Glutasyon Miktarı Üzerine Etkisi

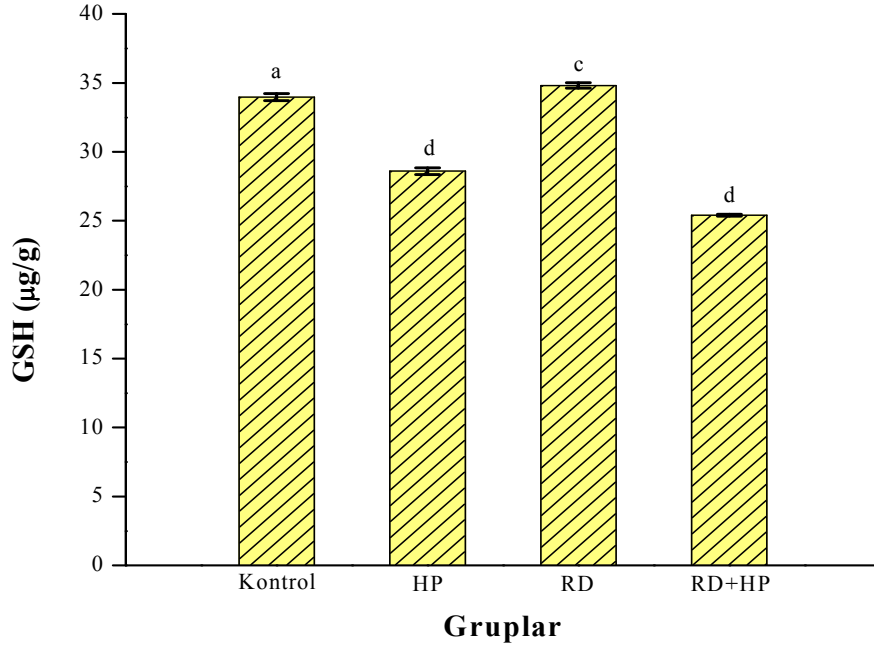
Kas dokusunda GSH seviyesinin kontrol grubuyla kıyaslandığında HP ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde azaldığı gözlemlendi ($p<0.001$). RD grubunda kontrol grubuna göre GSH miktarının istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$) (Şekil 3.27) (Tablo 3.12).



Şekil 3.27. Böğürtlen ekstraktının kasta GSH seviyesi üzerine etkisi
a: $p>0.05$, b: $p<0.05$, c: $p<0.01$, d: $p<0.001$

3.10.2.5. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Beyinde Glutasyon Miktarı Üzerine Etkisi

Beyin dokusunda GSH seviyesinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında HP ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde azaldığı gözlemlendi ($p<0.001$). RD grubunda GSH seviyesinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığı saptandı ($p<0.01$) (Şekil 3.28) (Tablo 3.12).

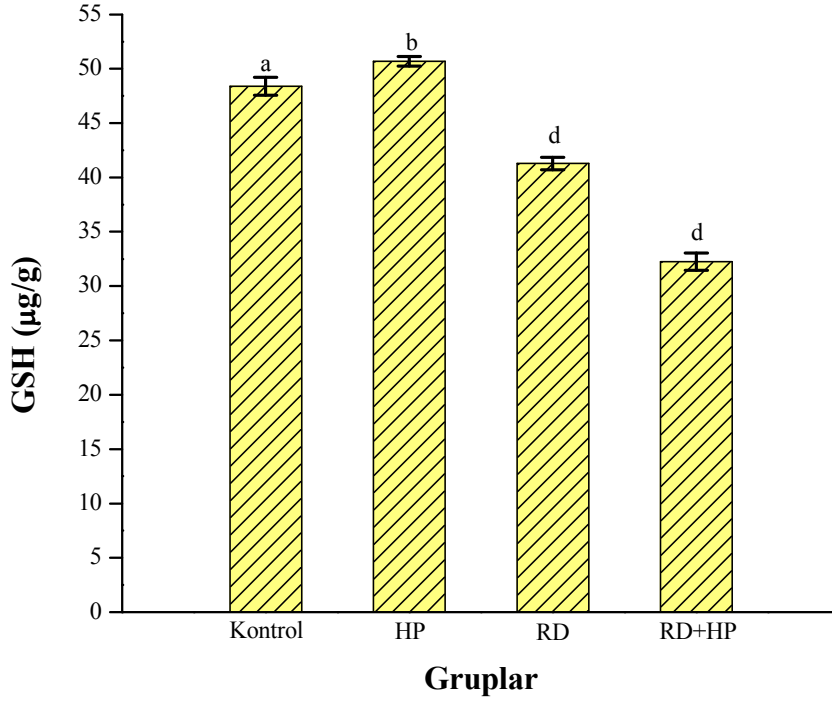


Şekil 3.28. Böğürtlen ekstraktının beyinde GSH seviyesi üzerine etkisi

a: $p>0.05$, b: $p<0.05$, c: $p<0.01$, d: $p<0.001$

3.10.2.6. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Dalakta Glutasyon Miktarı Üzerine Etkisi

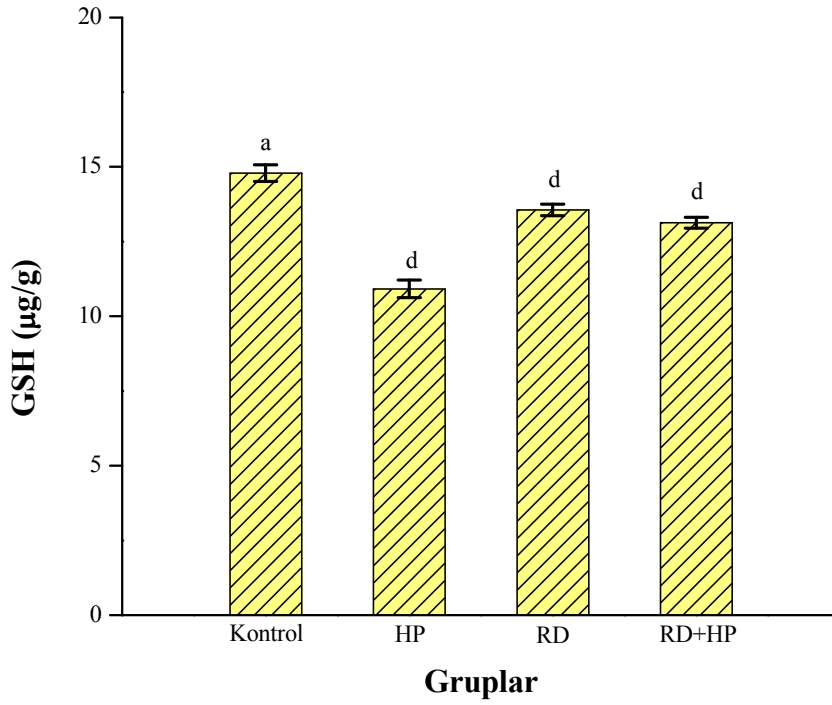
Dalak dokusunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman GSH seviyesinin HP grubunda anlamlı şekilde arttığı saptandı ($p<0.05$). RD ve RD+HP gruplarında GSH seviyesinin kontrol grubuna göre belirgin şekilde azaldığı belirlendi ($p<0.001$) (Şekil 3.29) (Tablo 3.12).



Şekil 3.29. Böğürtlen ekstraktının dalakta GSH seviyesi üzerine etkisi
a: $p>0.05$, b: $p<0.05$, c: $p<0.01$, d: $p<0.001$

3.10.2.7. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Akciğerde Glutasyon Miktarı Üzerine Etkisi

Akciğer dokusunda kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman GSH seviyesinin HP, RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde azaldığı belirlendi ($p<0.001$) (Şekil 3.30) (Tablo 3.12).



Şekil 3.30. Böğürtlen ekstraktının akciğerde GSH seviyesi üzerine etkisi
a: $p > 0.05$, **b:** $p < 0.05$, **c:** $p < 0.01$, **d:** $p < 0.001$

Tablo 3.12. *Rubus discolor* ekstraktının dokularda GSH miktarı üzerine etkileri

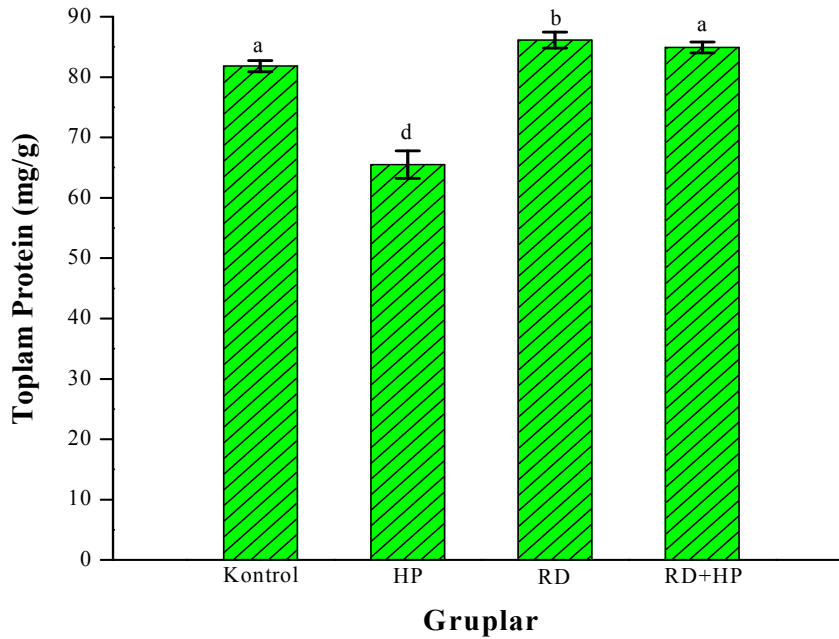
GSH (µg/g)	Kontrol	HP	RD	RD+HP
Karaciğer	1860.63±38.32	997.84±15.06 ^d	1924.62±16.87 ^a	1479.00±17.80 ^d
Böbrek	331.40±12.53	131.14±1.51 ^d	393.31±15.79 ^c	733.10±16.15 ^d
Kas	138.55±1.32	118.06±1.43 ^d	138.87±1.25 ^a	117.16±1.11 ^d
Kalp	23.16±0.41	21.73±0.17 ^b	25.21±0.61 ^c	28.42±0.15 ^d
Beyin	33.97±0.25	28.60±0.25 ^d	34.81±0.20 ^c	25.41±0.07 ^d
Dalak	48.40±0.82	50.69±0.45 ^b	41.28±0.57 ^d	32.25±0.79 ^d
Akciğer	14.79±0.28	10.92±0.29 ^d	13.56±0.19 ^d	13.13±0.18 ^d

a: $p > 0.05$ **b:** $p < 0.05$ **c:** $p < 0.01$ **d:** $p < 0.001$

3.10.3. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Deney Hayvanlarında Toplam Protein Miktarı Üzerine Etkileri

3.10.3.1. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Karaciğerde Toplam Protein Miktarı Üzerine Etkisi

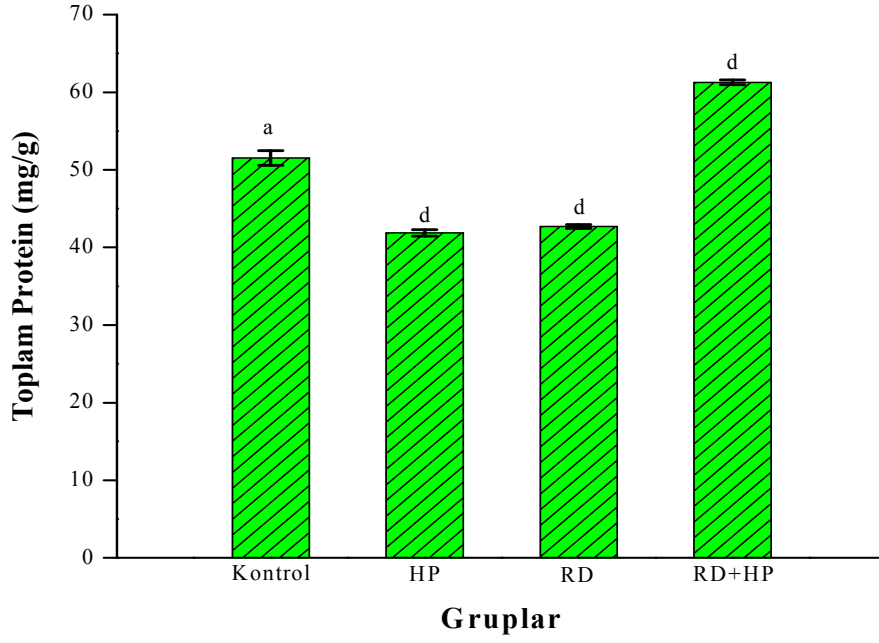
Karaciğer dokusunda toplam protein seviyesinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında HP grubunda belirgin şekilde azaldığı saptandı ($p<0.001$). RD grubunda kontrol grubuna kıyasla toplam protein seviyesinin arttığı gözlenirken ($p<0.05$), RD+HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$) (Şekil 3.31) (Tablo 3.13).



Şekil 3.31. Böğürtlen ekstraktının karaciğerde toplam protein seviyesi üzerine etkisi
a: $p>0.05$, b: $p<0.05$, c: $p<0.01$, d: $p<0.001$

3.10.3.2. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Böbrekte Toplam Protein Miktarı Üzerine Etkisi

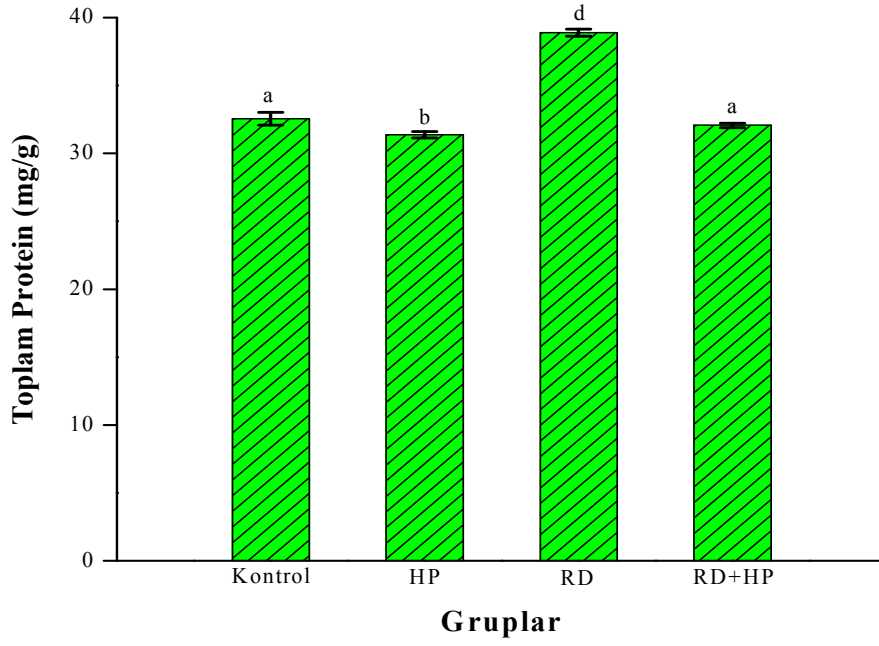
Böbrek dokusunda toplam protein seviyesinin kontrol grubuyla kıyaslandığında HP ve RD gruplarında belirgin şekilde azaldığı gözlemlendi ($p<0.001$). RD+HP grubunda kontrol grubuna göre toplam protein seviyesinin belirgin şekilde arttığı saptandı ($p<0.001$) (Şekil 3.32) (Tablo 3.13).



Şekil 3.32. Böğürtlen ekstraktının böbrekte toplam protein seviyesi üzerine etkisi
a: $p>0.05$, b: $p<0.05$, c: $p<0.01$, d: $p<0.001$

3.10.3.3. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Kalpte Toplam Protein Miktarı Üzerine Etkisi

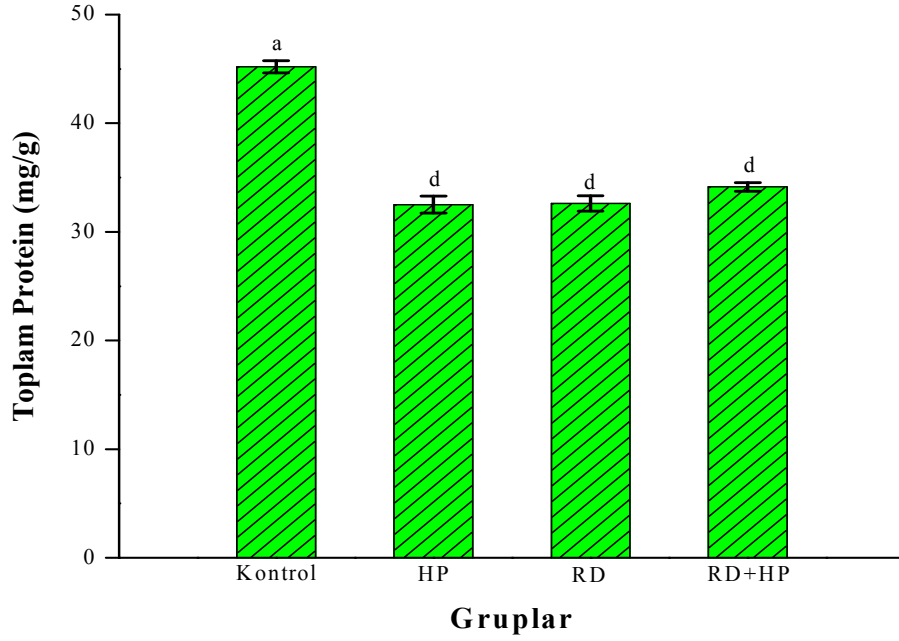
Kalp dokusunda toplam protein seviyesinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında HP grubunda azaldığı belirlendi ($p<0.05$). RD grubunda kontrol grubuna kıyasla toplam protein seviyesinin belirgin şekilde arttığı gözlenirken ($p<0.001$), RD+HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$) (Şekil 3.33) (Tablo 3.13).



Şekil 3.33. Böğürtlen ekstraktının kalpte toplam protein seviyesi üzerine etkisi
a: $p>0.05$, b: $p<0.05$, c: $p<0.01$, d: $p<0.001$

3.10.3.4. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Kasta Toplam Protein Miktarı Üzerine Etkisi

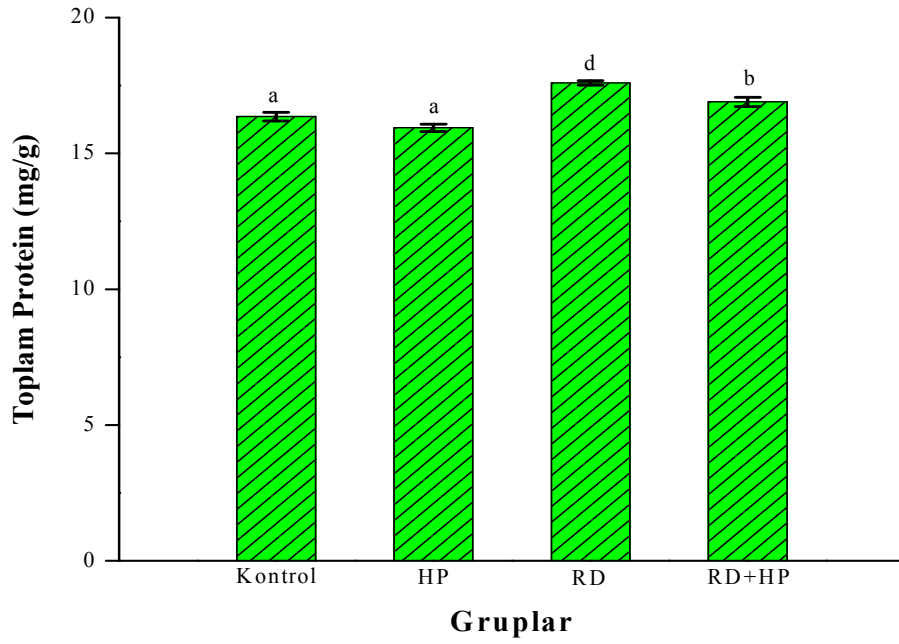
Kas dokusunda toplam protein seviyesinin kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde azaldığı saptandı ($p<0.001$) (Şekil 3.34) (Tablo 3.13).



Şekil 3.34. Böğürtlen ekstraktının kasta toplam protein seviyesi üzerine etkisi
a: $p>0.05$, b: $p<0.05$, c: $p<0.01$, d: $p<0.001$

3.10.3.5. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Beyinde Toplam Protein Miktarı Üzerine Etkisi

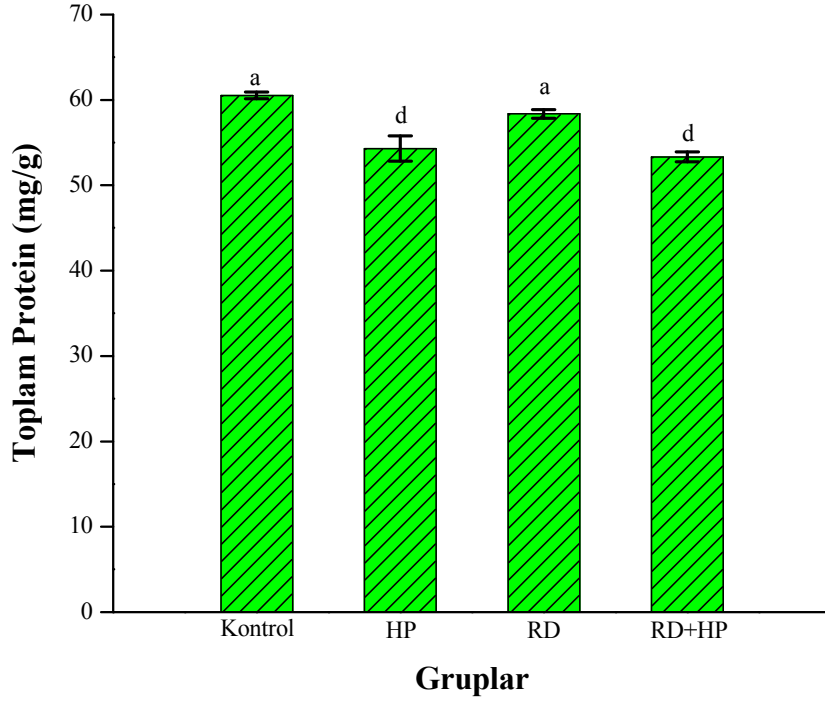
Beyin dokusunda toplam protein seviyesinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$). RD ve RD+HP gruplarında toplam protein seviyesinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığı saptanırken ($p<0.001$, $p<0.05$), bu artışın RD grubunda daha yüksek miktarda ve istatistiksel olarak daha anlamlı olduğu belirlendi (Şekil 3.35) (Tablo 3.13).



Şekil 3.35. Böğürtlen ekstraktının beyinde toplam protein seviyesi üzerine etkisi
a: $p>0.05$, b: $p<0.05$, c: $p<0.01$, d: $p<0.001$

3.10.3.6. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Dalakta Toplam Protein Miktarı Üzerine Etkisi

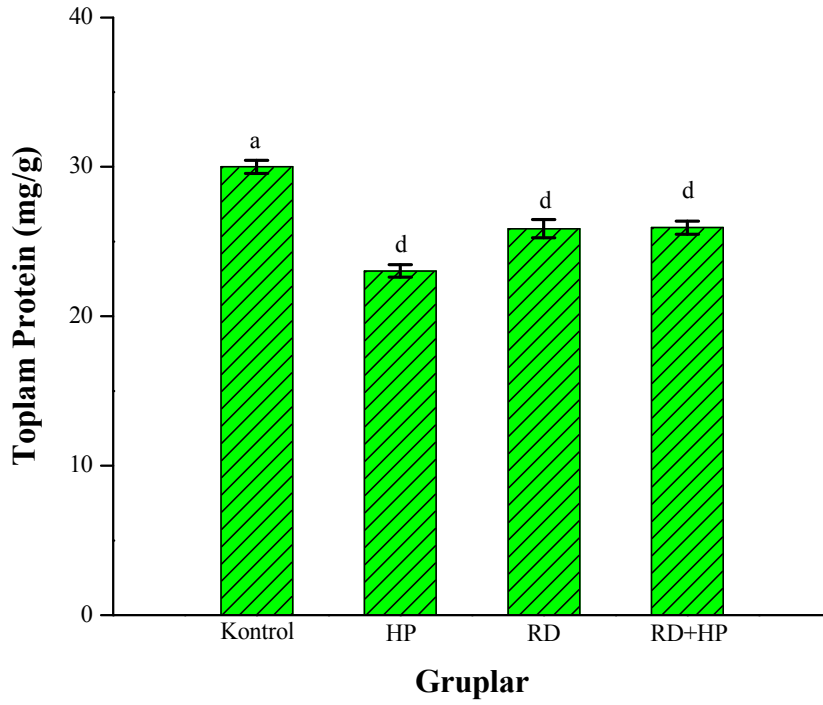
Dalak dokusunda toplam protein seviyesinin kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde azaldığı saptanırken ($p<0.001$), RD grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$) (Şekil 3.36) (Tablo 3.13).



Şekil 3.36. Böğürtlen ekstraktının dalakta toplam protein seviyesi üzerine etkisi
a: $p>0.05$, b: $p<0.05$, c: $p<0.01$, d: $p<0.001$

3.10.3.7. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Akciğerde Toplam Protein Miktarı Üzerine Etkisi

Akciğer dokusunda toplam protein seviyesinin kontrol grubuna kıyasla HP, RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde azaldığı gözlemlendi ($p<0.001$) (Şekil 3.37) (Tablo 3.13).



Şekil 3.37. Böğürtlen ekstraktının akciğerde toplam protein seviyesi üzerine etkisi
a: $p>0.05$, b: $p<0.05$, c: $p<0.01$, d: $p<0.001$

Tablo 3.13. *Rubus discolor* ekstraktının dokularda toplam protein miktarı üzerine etkileri

Toplam Protein (mg/g)	Kontrol	HP	RD	RD+HP
Karaciğer	81.81±0.94	65.50±2.27 ^d	86.13±1.33 ^b	84.90±0.89 ^a
Böbrek	51.52±0.93	41.86±0.42 ^d	42.68±0.24 ^d	61.27±0.31 ^d
Kas	45.20±0.56	32.51±0.78 ^d	32.63±0.70 ^d	34.15±0.40 ^d
Kalp	32.55±0.47	31.37±0.24 ^b	38.89±0.26 ^d	32.07±0.17 ^a
Beyin	16.36±0.16	15.94±0.14 ^a	17.60±0.08 ^d	16.90±0.17 ^b
Dalak	60.51±0.40	54.29±1.48 ^d	58.35±0.51 ^a	53.31±0.59 ^d
Akciğer	30.00±0.44	23.04±0.42 ^d	25.86±0.61 ^d	25.93±0.43 ^d

a: $p>0.05$ b: $p<0.05$ c: $p<0.01$ d: $p<0.001$

3.10.4. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Deney Hayvanlarında Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkileri

3.10.4.1. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Serumda Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkisi

Serumda palmitik asit miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP grubunda istatistiksel olarak değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$). RD ve RD+HP gruplarında palmitik asit miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı şekilde arttığı gözlenirken ($p<0.01$, $p<0.001$), bu artışın RD+HP grubunda daha yüksek miktarda ve istatistiksel olarak daha anlamlı olduğu belirlendi.

Palmitoleik asit miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP grubunda anlamlı şekilde azaldığı gözlemlendi ($p<0.01$). RD grubunda kontrol grubuna kıyasla palmitoleik asit miktarının belirgin şekilde arttığı saptanırken ($p<0.001$), RD+HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim olmadığı belirlendi ($p>0.05$).

Stearik asit miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığında HP ve RD gruplarında istatistiksel olarak değişim göstermediği belirlenirken ($p>0.05$), RD+HP grubunda belirgin şekilde arttığı saptandı ($p<0.001$).

Oleik asit miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında HP, RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde arttığı ($p<0.001$) ve bu artışın RD grubunda çok daha yüksek miktarda olduğu gözlemlendi.

Linoleik asit miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde arttığı ($p<0.001$) ve bu artışın RD ve RD+HP gruplarında çok daha yüksek miktarda olduğu saptandı.

Araşidonik asit miktarının kontrol grubuna göre HP, RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde azaldığı ($p<0.001$) ve bu azalmanın RD ve RD+HP gruplarında çok daha fazla miktarda olduğu gözlemlendi.

Dokosahekzaenoik asit miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde azaldığı ($p<0.001$) ve bu azalmanın HP grubunda çok daha fazla miktarda olduğu belirlendi (Tablo 3.14).

Tablo 3.14. *Rubus discolor* ekstraktının serumda yağ asitleri profili üzerine etkisi (nmol/mL)

Yağ Asitleri	Kontrol	HP	RD	RD+HP
16:0	132.5±1.24	134.44±2.04 ^a	143.08±2.88^c	177.87±1.82^d
16:1	13.44±0.87	10.69±0.41^c	21.49±0.41^d	13.90±0.50 ^a
18:0	128.8±2.43	136.05±0.46 ^a	135.80±3.26 ^a	165.48±3.47^d
18:1	11.1±0.30	16.86±0.58^d	25.07±0.69^d	16.15±0.70^d
18:2	96.71±3.73	115.85±1.13^d	144.68±0.84^d	145.80±2.07^d
20:4	26.74±1.17	22.14±0.57^d	17.36±0.33^d	12.73±0.42^d
22:6	53.26±1.02	36.95±1.01^d	42.47±1.77^d	42.27±0.67^d

a: p>0.05 b: p<0.05 c: p<0.01 d: p<0.001

3.10.4.2. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Karaciğerde Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkisi

Karaciğer dokusunda palmitik asit miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP grubunda anlamlı şekilde arttığı saptandı (p<0.01). RD ve RD+HP gruplarında kontrol grubuna göre palmitik asit miktarının istatistiksel olarak değişim göstermediği gözlemlendi (p>0.05). Palmitoleik asit miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığında HP grubunda istatistiksel olarak değişim göstermediği saptandı (p>0.05). RD ve RD+HP gruplarında palmitoleik asit miktarının kontrol grubuna göre belirgin şekilde azaldığı belirlendi (p<0.001).

Stearik asit miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP ve RD gruplarında anlamlı şekilde azaldığı gözlemlendi (p<0.05). RD+HP grubunda stearik asit miktarının kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak değişim göstermediği belirlendi (p>0.05).

Oleik asit miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında HP, RD ve RD+HP gruplarında anlamlı şekilde azaldığı gözlenirken (p<0.05, p<0.001, p<0.01, sırasıyla), bu azalmanın RD grubunda çok daha yüksek miktarda ve istatistiksel olarak daha anlamlı olduğu belirlendi. Linoleik asit miktarının kontrol grubuna göre HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı (p>0.05).

Araşidonik asit miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında anlamlı şekilde azaldığı gözlenirken (p<0.05, p<0.05, p<0.01, sırasıyla), bu

azalmanın RD+HP grubunda daha yüksek miktarda ve istatistiksel olarak daha anlamlı olduğu belirlendi.

Dokosahekzaenoik asit miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP grubunda anlamlı şekilde arttığı gözlemlendi ($p<0.01$). RD ve RD+HP gruplarında dokosahekzaenoik asit miktarının kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$).

Monounsature yağ asitleri (MUFA) miktarının kontrol grubuna göre HP, RD ve RD+HP gruplarında anlamlı şekilde azaldığı gözlenirken ($p<0.05$, $p<0.001$, $p<0.001$, sırasıyla), bu azalmanın RD ve RD+HP gruplarında çok daha yüksek miktarda ve istatistiksel olarak daha anlamlı olduğu belirlendi.

Polyunsature yağ asitleri (PUFA) miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP ve RD gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$). RD+HP grubunda PUFA miktarının kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde azaldığı saptandı ($p<0.05$).

Toplam yağ asitleri miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP ve RD gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$). RD+HP grubunda toplam yağ asitleri miktarının kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azaldığı gözlemlendi ($p<0.05$) (Tablo 3.15).

Tablo 3.15. *Rubus discolor* ekstraktının karaciğer dokusunda yağ asitleri profili üzerine etkisi (mg/g)

Yağ Asitleri	Kontrol	HP	RD	RD+HP
16:0	1.53±0.02	1.75±0.07^c	1.52±0.03 ^a	1.47±0.03 ^a
16:1	0.099±0.009	0.088±0.005 ^a	0.032±0.002^d	0.034±0.003^d
18:0	1.72±0.09	1.52±0.07^b	1.51±0.04^b	1.58±0.04 ^a
18:1	0.593±0.020	0.535±0.012^b	0.511±0.015^d	0.525±0.008^c
18:2	1.39±0.08	1.31±0.05 ^a	1.53±0.02 ^a	1.30±0.04 ^a
20:4	4.54±0.21	3.94±0.23^b	4.06±0.11^b	3.88±0.11^c
22:6	0.793±0.068	0.973±0.043^c	0.758±0.029 ^a	0.777±0.030 ^a
Diğerleri	0.188±0.021	0.250±0.024 ^a	0.159±0.020 ^a	0.135±0.016 ^a
MUFA	0.693±0.026	0.626±0.012^b	0.548±0.017^d	0.562±0.010^d
PUFA	6.62±0.20	6.23±0.30 ^a	6.35±0.14 ^a	5.95±0.17^b
Toplam	10.80±0.31	10.39±0.42 ^a	10.11±0.22 ^a	9.72±0.20^b

a: $p>0.05$ b: $p<0.05$ c: $p<0.01$ d: $p<0.001$

3.10.4.3. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Böbrekte Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkisi

Böbrek dokusunda palmitik asit miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$). RD ve RD+HP gruplarında palmitik asit miktarının kontrole kıyasla belirgin şekilde azaldığı saptandı ($p<0.001$). Palmitoleik asit miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığında HP, RD ve RD+HP gruplarında anlamlı şekilde azaldığı gözlenirken ($p<0.01$, $p<0.001$, $p<0.001$, sırasıyla), bu azalmanın RD ve RD+HP gruplarında çok daha yüksek miktarda ve istatistiksel olarak daha anlamlı olduğu belirlendi.

Stearik asit miktarının kontrol grubuna göre HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$). Oleik asit miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında HP grubunda anlamlı şekilde arttığı belirlendi ($p<0.05$). RD ve RD+HP gruplarında oleik asit miktarının kontrole kıyasla anlamlı şekilde azaldığı saptanırken ($p<0.001$, $p<0.01$, sırasıyla), bu azalmanın RD grubunda daha yüksek miktarda ve istatistiksel olarak daha anlamlı olduğu belirlendi.

Linoleik asit miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP grubunda anlamlı şekilde arttığı gözlemlendi ($p<0.01$). RD ve RD+HP gruplarında linoleik asit miktarının kontrole göre anlamlı şekilde azaldığı saptandı ($p<0.05$).

Araşidonik asit miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$).

Dokosaheksaenoik asit miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$).

MUFA miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$). RD ve RD+HP gruplarında MUFA miktarının kontrole kıyasla belirgin şekilde azaldığı saptandı ($p<0.001$).

PUFA miktarının kontrole kıyasla HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$).

Toplam yağ asitleri miktarının kontrole göre HP grubunda istatistiksel olarak değilim göstermediği saptandı ($p>0.05$). RD ve RD+HP gruplarında toplam yağ asitleri miktarının kontrole kıyasla anlamlı şekilde azaldığı gözlenirken ($p<0.01$, $p<0.001$, sırasıyla), bu azalmanın RD+HP grubunda çok daha yüksek miktarda ve istatistiksel olarak daha anlamlı olduğu belirlendi (Tablo 3.16).

Tablo 3.16. *Rubus discolor* ekstraktının böbrek dokusunda yağ asitleri profili üzerine etkisi (mg/g)

Yağ Asitleri	Kontrol	HP	RD	RD+HP
16:0	2.31±0.09	2.43±0.15 ^a	1.55±0.07^d	1.57±0.05^d
16:1	0.327±0.028	0.243±0.013^c	0.112±0.011^d	0.086±0.008^d
18:0	1.25±0.06	1.17±0.02 ^a	1.17±0.05 ^a	1.18±0.04 ^a
18:1	1.376±0.054	1.724±0.214^b	0.808±0.056^d	0.901±0.029^c
18:2	1.98±0.12	2.57±0.10^c	1.52±0.13^b	1.59±0.08^b
20:4	3.96±0.18	3.67±0.25 ^a	4.12±0.18 ^a	3.76±0.25 ^a
22:6	0.206±0.004	0.240±0.022 ^a	0.245±0.014 ^a	0.206±0.020 ^a
Diğerleri	0.563±0.021	0.630±0.023 ^a	0.551±0.104 ^a	0.304±0.041 ^a
MUFA	1.704±0.079	1.968±0.209 ^a	1.014±0.075^d	0.988±0.034^d
PUFA	6.15±0.16	6.48±0.23 ^a	5.89±0.30 ^a	5.56±0.33 ^a
Toplam	12.48±0.54	12.53±0.23 ^a	10.19±0.52^c	9.61±0.45^d

a: p>0.05 b: p<0.05 c: p<0.01 d: p<0.001

3.10.4.4. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Kalpte Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkisi

Kalp dokusunda palmitik asit miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı (p>0.05).

Palmitoleik asit miktarının kontrol grubuna kıyasla HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi (p>0.05).

Stearik asit miktarının kontrol grubuna göre HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı (p>0.05).

Oleik asit miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi (p>0.05).

Linoleik asit miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında HP grubunda anlamlı şekilde arttığı saptandı (p<0.01). RD ve RD+HP gruplarında linoleik asit miktarının kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi (p>0.05).

Araşidonik asit miktarının kontrol grubuna kıyasla HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi (p>0.05).

Dokosahekzaenoik asit miktarının kontrol grubuna göre HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı (p>0.05). RD ve RD+HP gruplarında

dokosaheksaenoik asit miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman anlamlı şekilde azaldığı belirlendi ($p<0.05$).

MUFA miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$).

PUFA miktarının kontrol grubuna göre HP grubunda anlamlı şekilde arttığı saptandı ($p<0.05$). RD ve RD+HP gruplarında PUFA miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$).

Toplam yağ asitleri miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$) (Tablo 3.17).

Tablo 3.17. *Rubus discolor* ekstraktının kalp dokusunda yağ asitleri profili üzerine etkisi (mg/g)

Yağ Asitleri	Kontrol	HP	RD	RD+HP
16:0	0.956±0.056	1.144±0.113 ^a	0.949±0.029 ^a	0.877±0.062 ^a
16:1	0.072±0.008	0.088±0.010 ^a	0.083±0.003 ^a	0.072±0.004 ^a
18:0	0.908±0.065	1.007±0.029 ^a	1.006±0.040 ^a	0.787±0.040 ^a
18:1	0.703±0.048	0.788±0.109 ^a	0.619±0.031 ^a	0.652±0.063 ^a
18:2	1.62±0.14	2.26±0.18^c	1.86±0.10 ^a	1.79±0.15 ^a
20:4	1.99±0.07	2.25±0.11 ^a	1.78±0.16 ^a	1.69±0.07 ^a
22:6	0.773±0.046	0.725±0.079 ^a	0.549±0.063^b	0.582±0.039^b
Diğerleri	0.678±0.116	0.557±0.065 ^a	0.484±0.035 ^a	0.411±0.027 ^a
MUFA	0.776±0.051	0.876±0.118 ^a	0.703±0.034 ^a	0.725±0.067 ^a
PUFA	4.39±0.20	5.24±0.11^b	4.20±0.28 ^a	4.07±0.20 ^a
Toplam	7.71±0.30	8.83±0.30 ^a	7.35±0.35 ^a	6.87±0.35 ^a

a: $p>0.05$ b: $p<0.05$ c: $p<0.01$ d: $p<0.001$

3.10.4.5. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Kasta Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkisi

Kas dokusunda palmitik asit miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$). RD ve RD+HP gruplarında palmitik asit miktarının kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde arttığı belirlendi ($p<0.05$).

Palmitoleik asit miktarının kontrol grubuna göre HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$).

Stearik asit miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$).

Oleik asit miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$). RD ve RD+HP gruplarında oleik asit miktarının kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığı belirlendi ($p<0.01$, $p<0.05$, sırasıyla).

Linoleik asit miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığında HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$). RD ve RD+HP gruplarında linoleik asit miktarının kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde arttığı saptandı ($p<0.01$).

Araşidonik asit miktarının kontrol grubuna göre HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$).

Dokosaheksaenoik asit miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$).

MUFA miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$). RD ve RD+HP gruplarında MUFA miktarının kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde arttığı belirlendi ($p<0.01$, $p<0.05$, sırasıyla). PUFA miktarının kontrol grubuna göre HP ve RD gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$). RD+HP grubunda PUFA miktarının kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığı saptandı ($p<0.05$).

Toplam yağ asitleri miktarının kontrol grubuna kıyasla HP ve RD gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$). RD+HP grubunda toplam yağ asitleri miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı şekilde arttığı saptandı ($p<0.05$) (Tablo 3.18).

Tablo 3.18. *Rubus discolor* ekstraktının kas dokusunda yağ asitleri profili üzerine etkisi (mg/g)

Yağ Asitleri	Kontrol	HP	RD	RD+HP
16:0	0.73±0.087	1.042±0.127 ^a	1.108±0.141^b	1.046±0.068^b
16:1	0.087±0.017	0.084±0.019 ^a	0.145±0.029 ^a	0.085±0.011 ^a
18:0	0.309±0.041	0.403±0.037 ^a	0.337±0.029 ^a	0.386±0.018 ^a
18:1	0.403±0.056	0.676±0.120 ^a	0.792±0.091^c	0.746±0.089^b
18:2	0.886±0.128	1.289±0.166 ^a	1.536±0.121^c	1.514±0.155^c
20:4	0.795±0.100	0.798±0.063 ^a	0.747±0.030 ^a	0.869±0.035 ^a
22:6	0.477±0.079	0.506±0.057 ^a	0.403±0.011 ^a	0.513±0.023 ^a
Diğerleri	0.254±0.047	0.269±0.051 ^a	0.124±0.015 ^a	0.316±0.038 ^a
MUFA	0.491±0.072	0.761±0.139 ^a	0.938±0.107^c	0.833±0.098^b
PUFA	2.16±0.26	2.59±0.26 ^a	2.68±0.15 ^a	2.89±0.15^b
Toplam	3.94±0.49	5.07±0.61 ^a	5.19±0.41 ^a	5.47±0.35^b

a: p>0.05 b: p<0.05 c: p<0.01 d: p<0.001

3.10.4.6. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Beyinde Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkisi

Beyin dokusunda palmitik asit miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP ve RD gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği gözlemlendi (p>0.05). RD+HP grubunda palmitik asit miktarının kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde arttığı saptandı (p<0.05).

Palmitoleik asit miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP ve RD gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi (p>0.05). RD+HP grubunda palmitoleik asit miktarının kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığı gözlemlendi (p<0.01).

Stearik asit miktarının kontrol grubuna kıyasla HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı (p>0.05). RD grubunda stearik asit miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı şekilde azaldığı gözlenirken (p<0.05), RD+HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi (p>0.05).

Oleik asit miktarının kontrol grubuna göre HP ve RD gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı (p>0.05). RD+HP grubunda oleik asit miktarının kontrol grubuna kıyasla belirgin şekilde arttığı belirlendi (p<0.001).

Linoleik asit miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği gözlemlendi ($p>0.05$). RD grubunda linoleik asit miktarının kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azaldığı saptanırken ($p<0.05$), RD+HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$).

Araşidonik asit miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığında HP ve RD gruplarında istatistiksel olarak değişim göstermediği gözlemlendi ($p>0.05$). RD+HP grubunda araşidonik asit miktarının kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde arttığı belirlendi ($p<0.01$).

Dokosahekzaenoik asit miktarının kontrol grubuna göre HP ve RD gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$). RD+HP grubunda dokosahekzaenoik asit miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı şekilde arttığı belirlendi ($p<0.05$).

MUFA miktarının kontrol grubuna kıyasla HP ve RD gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$). RD+HP grubunda MUFA miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığında belirgin şekilde arttığı gözlemlendi ($p<0.001$).

PUFA miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$). RD grubunda PUFA miktarının kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azaldığı saptanırken ($p<0.05$), RD+HP grubunda anlamlı şekilde arttığı gözlemlendi ($p<0.05$).

Toplam yağ asitleri miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$). RD grubunda toplam yağ asitleri miktarının kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde azaldığı belirlenirken ($p<0.01$), RD+HP grubunda anlamlı şekilde arttığı belirlendi ($p<0.01$) (Tablo 3.19).

Tablo 3.19. *Rubus discolor* ekstraktının beyin dokusunda yağ asitleri profili üzerine etkisi (mg/g)

Yağ Asitleri	Kontrol	HP	RD	RD+HP
16:0	2.17±0.13	2.04±0.12 ^a	1.94±0.04 ^a	2.48±0.10^b
16:1	0.063±0.004	0.072±0.004 ^a	0.068±0.005 ^a	0.123±0.020^c
18:0	2.25±0.14	2.13±0.08 ^a	1.86±0.06^b	2.49±0.10 ^a
18:1	2.49±0.09	2.57±0.09 ^a	2.23±0.07 ^a	3.02±0.09^d
18:2	0.170±0.029	0.171±0.024 ^a	0.109±0.011^b	0.164±0.011 ^a
20:4	1.96±0.10	1.95±0.06 ^a	1.74±0.05 ^a	2.30±0.09^c
22:6	3.57±0.27	3.58±0.07 ^a	3.20±0.06 ^a	4.00±0.13^b
Diğerleri	1.89±0.12	1.71±0.09 ^a	1.30±0.03 ^a	2.13±0.06 ^a
MUFA	2.55±0.09	2.64±0.10 ^a	2.30±0.07 ^a	3.15±0.10^d
PUFA	5.72±0.36	5.70±0.12 ^a	5.06±0.12^b	6.48±0.20^b
Toplam	14.64±0.66	14.41±0.44 ^a	12.49±0.30^c	16.74±0.45^c

a: p>0.05 b: p<0.05 c: p<0.01 d: p<0.001

3.10.4.7. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Dalakta Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkisi

Dalak dokusunda palmitik asit miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı (p>0.05). RD ve RD+HP gruplarında palmitik asit miktarının kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azaldığı belirlenirken (p<0.05, p<0.001, sırasıyla), bu azalmanın RD+HP grubunda çok daha yüksek miktarda ve istatistiksel olarak çok daha belirgin olduğu saptandı.

Palmitoleik asit miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi (p>0.05).

Stearik asit miktarının kontrol grubuna kıyasla HP ve RD gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptanırken (p>0.05), RD+HP grubunda anlamlı şekilde azaldığı gözlemlendi (p<0.001).

Oleik asit miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi (p>0.05).

Linoleik asit miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığında HP ve RD gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlenirken (p>0.05), RD+HP grubunda anlamlı şekilde azaldığı saptandı (p<0.05).

Araşidonik asit miktarının kontrol grubuna göre HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$). RD ve RD+HP gruplarında araşidonik asit miktarının kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde azaldığı gözlenirken ($p<0.05$, $p<0.001$, sırasıyla), bu azalmanın RD+HP grubunda çok daha yüksek miktarda ve istatistiksel olarak çok daha belirgin olduğu saptandı.

Dokosaheksaenoik asit miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$). RD ve RD+HP gruplarında dokosaheksaenoik asit miktarının kontrole kıyasla anlamlı şekilde arttığı belirlenirken ($p<0.01$, $p<0.001$, sırasıyla), bu artışın RD+HP grubunda çok daha yüksek miktarda ve istatistiksel olarak çok daha belirgin olduğu gözlemlendi.

MUFA miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$).

PUFA miktarının kontrol grubuna göre HP ve RD gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlenirken ($p>0.05$), RD+HP grubunda belirgin şekilde azaldığı gözlemlendi ($p<0.001$).

Toplam yağ asitleri miktarının kontrol grubuna kıyasla HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$) (Tablo 3.20).

Tablo 3.20. *Rubus discolor* ekstraktının dalak dokusunda yağ asitleri profili üzerine etkisi (mg/g)

Yağ Asitleri	Kontrol	HP	RD	RD+HP
16:0	2.04±0.13	1.81±0.16 ^a	1.53±0.16^b	1.10±0.08^d
16:1	0.283±0.050	0.215±0.021 ^a	0.336±0.053 ^a	0.396±0.057 ^a
18:0	1.19±0.07	1.16±0.07 ^a	1.02±0.10 ^a	0.78±0.04^c
18:1	1.092±0.126	0.862±0.103 ^a	0.843±0.068 ^a	0.915±0.148 ^a
18:2	1.23±0.11	1.07±0.15 ^a	1.39±0.17 ^a	0.63±0.18^b
20:4	1.86±0.10	1.74±0.13 ^a	1.32±0.22^b	0.78±0.04^d
22:6	0.108±0.011	0.125±0.019 ^a	0.262±0.050^c	0.430±0.025^d
Diğerleri	0.504±0.256	0.376±0.050 ^a	1.982±0.552 ^a	3.342±0.402 ^a
MUFA	1.38±0.17	1.08±0.12 ^a	1.16±0.09 ^a	1.28±0.21 ^a
PUFA	3.20±0.16	2.91±0.30 ^a	3.00±0.18 ^a	1.84±0.20^d
Toplam	8.33±0.49	7.33±0.70 ^a	8.75±0.59 ^a	8.44±0.86 ^a

a: $p>0.05$ b: $p<0.05$ c: $p<0.01$ d: $p<0.001$

3.10.4.8. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Akciğerde Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkisi

Akciğer dokusunda palmitik asit miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$).

Palmitoleik asit miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında anlamlı şekilde azaldığı belirlendi ($p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.001$, sırasıyla).

Stearik asit miktarının kontrol grubuna göre HP grubunda anlamlı şekilde azaldığı gözlenirken ($p<0.01$), RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$).

Oleik asit miktarının kontrol grubuna kıyasla HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$).

Linoleik asit miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında HP, RD ve RD+HP gruplarında anlamlı şekilde azaldığı belirlenirken ($p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.001$, sırasıyla), bu azalmanın RD+HP grubunda çok daha yüksek miktarda ve istatistiksel olarak çok daha belirgin olduğu gözlemlendi.

Araşidonik asit miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığında HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$).

Dokosaheksaenoik asit miktarının kontrol grubuna göre HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$).

MUFA miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP ve RD+HP gruplarında anlamlı şekilde azaldığı gözlenirken ($p<0.05$), RD grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$).

PUFA miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında anlamlı şekilde azaldığı belirlenirken ($p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.001$, sırasıyla), bu azalmanın RD+HP grubunda çok daha yüksek miktarda ve istatistiksel olarak çok daha belirgin olduğu gözlemlendi.

Toplam yağ asitleri miktarının kontrol grubuna göre HP grubunda anlamlı şekilde azaldığı saptanırken ($p<0.05$), RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$) (Tablo 3.21).

Tablo 3.21. *Rubus discolor* ekstraktının akciğer dokusunda yağ asitleri profili üzerine etkisi (mg/g)

Yağ Asitleri	Kontrol	HP	RD	RD+HP
16:0	1.25±0.12	1.03±0.04 ^a	1.29±0.08 ^a	1.17±0.04 ^a
16:1	0.855±0.004	0.608±0.021^c	0.692±0.050^b	0.642±0.026^c
18:0	0.507±0.038	0.407±0.018^c	0.500±0.014 ^a	0.512±0.021 ^a
18:1	0.968±0.103	0.721±0.031 ^a	0.848±0.108 ^a	0.767±0.030 ^a
18:2	1.613±0.352	0.918±0.032^c	1.013±0.102^b	0.559±0.074^d
20:4	0.448±0.029	0.384±0.017 ^a	0.471±0.010 ^a	0.498±0.025 ^a
22:6	0.323±0.031	0.244±0.016 ^a	0.348±0.022 ^a	0.371±0.030 ^a
Diğerleri	4.62±0.59	4.00±0.17 ^a	5.21±0.37 ^a	4.36±0.26 ^a
MUFA	1.82±0.18	1.33±0.05^b	1.54±0.15 ^a	1.41±0.05^b
PUFA	2.40±0.38	1.54±0.06^c	1.83±0.11^b	1.43±0.08^d
Toplam	10.60±1.26	8.30±0.32^b	10.39±0.69 ^a	8.89±0.33 ^a

a: p>0.05 b: p<0.05 c: p<0.01 d: p<0.001

3.10.5. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Deney Hayvanlarında Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkileri

3.10.5.1. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Serumda Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkisi

Serumda retinol miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP ve RD gruplarında belirgin şekilde azaldığı gözlemlendi ($p<0.001$). RD+HP grubunda retinol miktarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$).

Vitamin D₃ miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında anlamlı şekilde azaldığı belirlenirken ($p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.05$, sırasıyla), bu azalmanın HP ve RD gruplarında çok daha yüksek miktarda ve istatistiksel olarak çok daha anlamlı olduğu gözlemlendi.

α -tokoferol miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında HP ve RD gruplarında anlamlı şekilde azaldığı saptanırken ($p<0.001$, $p<0.05$, sırasıyla), bu azalmanın HP grubunda daha yüksek miktarda ve istatistiksel olarak daha anlamlı olduğu belirlendi.

RD+HP grubunda α -tokoferol miktarının kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$).

Vitamin K₁ miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığında HP ve RD gruplarında anlamlı şekilde azaldığı saptanırken ($p<0.01$, $p<0.001$, sırasıyla), bu azalmanın RD grubunda daha yüksek miktarda ve istatistiksel olarak daha anlamlı olduğu gözlemlendi. RD+HP grubunda vitamin K₁ miktarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$) (Tablo 3.22).

Tablo 3.22. *Rubus discolor* ekstraktının serumda biyokimyasal parametreler üzerine etkisi (mg/mL)

Biyokimyasal Parametreler	Kontrol	HP	RD	RD+HP
Retinol	0.411 $\pm$ 0.007	0.271 $\pm$ 0.014 ^d	0.324 $\pm$ 0.015 ^d	0.390 $\pm$ 0.005 ^a
D ₃	41.20 $\pm$ 0.58	33.06 $\pm$ 0.25 ^d	31.43 $\pm$ 0.66 ^d	39.10 $\pm$ 0.78 ^b
α -tokoferol	4.03 $\pm$ 0.02	2.74 $\pm$ 0.12 ^d	3.54 $\pm$ 0.20 ^b	4.28 $\pm$ 0.08 ^a
K ₁	3.62 $\pm$ 0.13	3.03 $\pm$ 0.15 ^c	2.96 $\pm$ 0.08 ^d	3.56 $\pm$ 0.10 ^a

a: $p>0.05$ b: $p<0.05$ c: $p<0.01$ d: $p<0.001$

3.10.5.2. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Karaciğerde Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkisi

Karaciğer dokusunda retinol miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında anlamlı şekilde arttığı belirlenirken ($p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.001$, sırasıyla), bu azalmanın RD+HP grubunda daha yüksek miktarda ve istatistiksel olarak daha anlamlı olduğu gözlemlendi.

Vitamin D₂ miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$). RD grubunda vitamin D₂ miktarının kontrol grubuna göre belirgin şekilde arttığı belirlenirken ($p<0.001$), RD+HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$).

Vitamin D₃ miktarının kontrol grubuna göre HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$).

α -tokoferol miktarının kontrol grubuna kıyasla HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$). RD ve RD+HP gruplarında α -tokoferol miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında belirgin şekilde arttığı saptandı ($p<0.001$).

α -tokoferol asetat miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığında HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$). RD grubunda α -tokoferol

asetat miktarının kontrol grubuna göre belirgin şekilde arttığı gözlenirken ($p<0.001$), RD+HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$).

Vitamin K₁ miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında HP grubunda anlamlı şekilde arttığı gözlemlendi ($p<0.05$). RD grubunda vitamin K₁ miktarının kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde azaldığı belirlenirken ($p<0.05$), RD+HP grubunda belirgin şekilde arttığı saptandı ($p<0.001$).

Vitamin K₂ miktarının kontrol grubuna göre HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$). RD ve RD+HP gruplarında vitamin K₂ miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı şekilde arttığı belirlendi ($p<0.01$).

Kolesterol miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde arttığı saptandı ($p<0.001$).

Kampesterol miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$).

β -sitosterol miktarının kontrol grubuna kıyasla HP, RD ve RD+HP gruplarında anlamlı şekilde arttığı gözlenirken ($p<0.01$, $p<0.001$, $p<0.001$, sırasıyla), bu artışın RD ve RD+HP gruplarında çok daha yüksek miktarda ve istatistiksel olarak çok daha anlamlı olduğu saptandı (Tablo 3.23).

Tablo 3.23. *Rubus discolor* ekstraktının karaciğer dokusunda biyokimyasal parametreler üzerine etkisi ($\mu\text{g/g}$)

Biyokimyasal Parametreler	Kontrol	HP	RD	RD+HP
Retinol	224.05 $\pm$ 11.35	251.47$\pm$7.07^b	254.83$\pm$8.09^b	271.53$\pm$6.48^d
D₂	0.211 $\pm$ 0.07	0.199 $\pm$ 0.04 ^a	0.494$\pm$0.04^d	0.087 $\pm$ 0.006 ^a
D₃	0.121 $\pm$ 0.02	0.172 $\pm$ 0.05 ^a	0.123 $\pm$ 0.02 ^a	0.102 $\pm$ 0.03 ^a
α-tokoferol	4.24 $\pm$ 0.19	4.39 $\pm$ 0.08 ^a	6.45$\pm$0.10^d	6.57$\pm$0.12^d
α-tokoferol asetat	0.120 $\pm$ 0.026	0.116 $\pm$ 0.011 ^a	4.251$\pm$0.131^d	0.088 $\pm$ 0.018 ^a
K₁	2.94 $\pm$ 0.22	3.51$\pm$0.12^b	2.42$\pm$0.15^b	3.91$\pm$0.08^d
K₂	1.16 $\pm$ 0.11	1.27 $\pm$ 0.09 ^a	1.69$\pm$0.09^c	1.83$\pm$0.15^c
Kolesterol	950.03 $\pm$ 8.89	1053.93$\pm$13.85^d	1024.01$\pm$11.57^d	1191.95$\pm$9.53^d
Kampesterol	106.92 $\pm$ 2.75	111.81 $\pm$ 2.25 ^a	108.52 $\pm$ 1.97 ^a	108.16 $\pm$ 1.55 ^a
β-Sitosterol	13.26 $\pm$ 0.54	14.91$\pm$0.31^c	19.45$\pm$0.21^d	22.95$\pm$0.31^d

a: $p>0.05$ b: $p<0.05$ c: $p<0.01$ d: $p<0.001$

3.10.5.3. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Böbrekte Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkisi

Böbrek dokusunda retinol miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP ve RD gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$). RD+HP grubunda retinol miktarının kontrol grubuna göre belirgin şekilde azaldığı gözlemlendi ($p<0.001$).

Vitamin D₂ miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığında HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$). RD grubunda vitamin D₂ miktarının kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde azaldığı gözlenirken ($p<0.05$), RD+HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$).

Vitamin D₃ miktarının kontrol grubuna göre HP ve RD gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$). RD+HP grubunda vitamin D₃ miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı şekilde azaldığı gözlemlendi ($p<0.05$).

α - tokoferol miktarının kontrol grubuna kıyasla HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$). RD grubunda α - tokoferol miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman anlamlı şekilde arttığı gözlenirken ($p<0.01$), RD+HP grubunda belirgin şekilde azaldığı saptandı ($p<0.001$).

α - tokoferol asetat miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığında HP ve RD gruplarında belirgin şekilde azaldığı gözlemlendi ($p<0.001$). RD+HP grubunda α - tokoferol asetat miktarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$).

Vitamin K₁ miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında HP, RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde azaldığı saptandı ($p<0.001$).

Vitamin K₂ miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığında HP grubunda belirgin şekilde arttığı gözlemlendi ($p<0.001$). RD ve RD+HP gruplarında vitamin K₂ miktarının kontrol grubuna göre belirgin şekilde azaldığı belirlendi ($p<0.001$).

Kolesterol miktarının kontrol grubuna göre HP ve RD gruplarında anlamlı şekilde azaldığı saptanırken ($p<0.001$, $p<0.01$, sırasıyla), bu azalmanın HP grubunda daha yüksek miktarda ve istatistiksel olarak daha anlamlı olduğu gözlemlendi. RD+HP grubunda kolesterol miktarının kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$).

Kampesterol miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde arttığı saptandı ($p<0.001$).

β -sitosterol miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde azaldığı belirlendi ($p<0.001$) (Tablo 3.24).

Tablo 3.24. *Rubus discolor* ekstraktının böbrek dokusunda biyokimyasal parametreler üzerine etkisi ($\mu\text{g/g}$)

Biyokimyasal Parametreler	Kontrol	HP	RD	RD+HP
Retinol	2.16 $\pm$ 0.14	2.49 $\pm$ 0.12 ^a	2.21 $\pm$ 0.09 ^a	1.40$\pm$0.06^d
D₂	0.208 $\pm$ 0.06	0.166 $\pm$ 0.019 ^a	0.085$\pm$0.014^b	0.115 $\pm$ 0.027 ^a
D₃	0.412 $\pm$ 0.020	0.413 $\pm$ 0.132 ^a	0.229 $\pm$ 0.047 ^a	0.171$\pm$0.033^b
α-tokoferol	21.40 $\pm$ 0.14	21.82 $\pm$ 0.24 ^a	22.56$\pm$0.18^c	17.91$\pm$0.21^d
α-tokoferol asetat	3.184 $\pm$ 0.190	0.864$\pm$0.077^d	0.305$\pm$0.053^d	2.842 $\pm$ 0.154 ^a
K₁	3.053 $\pm$ 0.186	0.493$\pm$0.046^d	0.215$\pm$0.065^d	2.255$\pm$0.039^d
K₂	20.57 $\pm$ 0.20	31.89$\pm$0.39^d	7.58$\pm$0.19^d	2.96$\pm$0.21^d
Kolesterol	1682.5 $\pm$ 18.86	1575.19$\pm$12.43^d	1606.21$\pm$14.11^c	1636.20 $\pm$ 17.83 ^a
Kampesterol	68.52 $\pm$ 1.00	99.47$\pm$1.98^d	95.89$\pm$1.48^d	85.32$\pm$0.58^d
β-Sitosterol	16.87 $\pm$ 0.32	12.51$\pm$0.10^d	10.94$\pm$0.13^d	14.13$\pm$0.22^d

a: $p>0.05$ b: $p<0.05$ c: $p<0.01$ d: $p<0.001$

3.10.5.4. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Kalpte Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkisi

Kalp dokusunda retinol miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP grubuna anlamlı şekilde arttığı gözlemlendi ($p<0.05$). RD ve RD+HP gruplarında retinol miktarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$).

Vitamin D₂ miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında anlamlı şekilde azaldığı belirlenirken ($p<0.01$, $p<0.001$, $p<0.001$, sırasıyla), bu azalmanın RD ve RD+HP gruplarında çok daha yüksek miktarda ve istatistiksel olarak çok daha anlamlı olduğu gözlemlendi.

Vitamin D₃ miktarının kontrol grubuna göre HP grubunda anlamlı şekilde arttığı saptandı ($p<0.01$). RD ve RD+HP gruplarında vitamin D₃ miktarının kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde azaldığı belirlendi ($p<0.05$, $p<0.01$, sırasıyla).

α -tokoferol miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığında HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$). RD ve RD+HP gruplarında α -tokoferol miktarının kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azaldığı gözlenirken ($p<0.05$, $p<0.001$, sırasıyla), bu azalmanın RD+HP grubunda çok daha yüksek miktarda ve istatistiksel olarak çok daha anlamlı olduğu belirlendi.

α -tokoferol asetat miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında HP, RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde azaldığı gözlemlendi ($p<0.001$).

Vitamin K₁ miktarının kontrol grubuna kıyasla HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$). RD ve RD+HP gruplarında vitamin K₁ miktarının kontrol grubuna göre belirgin şekilde azaldığı belirlendi ($p<0.001$).

Vitamin K₂ miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP ve RD gruplarında anlamlı şekilde arttığı gözlenirken ($p<0.001$, $p<0.01$), bu artışın HP grubunda daha yüksek miktarda ve istatistiksel olarak daha anlamlı olduğu saptandı. RD+HP grubunda vitamin K₂ miktarının kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$).

Kolesterol miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP grubunda belirgin şekilde arttığı gözlemlendi ($p<0.001$). RD grubunda kolesterol miktarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptanırken ($p>0.05$), RD+HP grubunda belirgin şekilde azaldığı belirlendi ($p<0.001$).

Kampesterol miktarının kontrol grubuna göre HP, RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde arttığı gözlemlendi ($p<0.001$).

β -sitosterol miktarının kontrol grubuna kıyasla HP, RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde azaldığı saptanırken ($p<0.001$), bu azalmanın RD ve RD+HP gruplarında çok daha yüksek miktarda olduğu belirlendi (Tablo 3.25).

Tablo 3.25. *Rubus discolor* ekstraktının kalp dokusunda biyokimyasal parametreler üzerine etkisi (µg/g)

Biyokimyasal Parametreler	Kontrol	HP	RD	RD+HP
Retinol	0.167±0.012	0.219±0.018^b	0.167±0.013 ^a	0.170±0.015 ^a
D₂	0.220±0.037	0.121±0.011^c	0.072±0.002^d	0.065±0.004^d
D₃	0.246±0.020	0.368±0.033^c	0.183±0.011^b	0.142±0.016^c
α-tokoferol	5.66±0.24	6.02±0.16 ^a	5.13±0.13^b	3.88±0.05^d
α-tokoferol asetat	2.458±0.110	0.076±0.004^d	0.103±0.018^d	0.579±0.100^d
K₁	0.511±0.020	0.524±0.016 ^a	0.374±0.020^d	0.302±0.022^d
K₂	2.88±0.21	5.01±0.14^d	3.85±0.19^c	3.09±0.13 ^a
Kolesterol	801.58±3.16	906.56±1.09^d	790.12±3.95 ^a	660.08±6.03^d
Kampesterol	111.35±3.65	167.79±1.33^d	124.30±1.11^d	125.11±0.97^d
β-Sitosterol	10.663±0.16	7.541±0.254^d	0.189±0.037^d	0.156±0.042^d

a: p>0.05 b: p<0.05 c: p<0.01 d: p<0.001

3.10.5.5. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Kasta Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkisi

Kas dokusunda retinol miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı (p>0.05).

Vitamin D₂ miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP grubunda belirgin şekilde arttığı gözlemlendi (p<0.001). RD ve RD+HP gruplarında vitamin D₂ miktarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi (p>0.05).

Vitamin D₃ miktarının kontrol grubuna göre HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı (p>0.05).

α-tokoferol miktarının kontrol grubuna kıyasla HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi (p>0.05). RD ve RD+HP gruplarında α-tokoferol miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında belirgin şekilde arttığı gözlenirken (p<0.001), bu artışın RD+HP grubunda çok daha yüksek miktarda olduğu saptandı.

α-tokoferol asetat miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığında HP grubunda anlamlı şekilde azaldığı belirlendi (p<0.05). RD ve RD+HP gruplarında α-tokoferol asetat miktarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı (p>0.05).

Vitamin K₁ miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi (p>0.05). RD ve RD+HP gruplarında vitamin K₁ miktarının kontrol grubuna göre belirgin şekilde arttığı saptandı (p<0.001).

Vitamin K₂ miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde arttığı gözlenirken (p<0.001), bu artışın RD ve RD+HP gruplarında çok daha yüksek miktarda olduğu belirlendi.

Kolesterol miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde arttığı saptandı (p<0.001).

Kampesterol miktarının kontrol grubuna göre HP, RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde arttığı gözlenirken (p<0.001), bu artışın RD ve RD+HP gruplarında daha yüksek miktarda olduğu belirlendi.

β -sitosterol miktarının kontrol grubuna kıyasla HP grubunda belirgin şekilde arttığı saptandı (p<0.001). RD ve RD+HP gruplarında β -sitosterol miktarının kontrol grubuna göre belirgin şekilde azaldığı gözlemlendi (p<0.001) (Tablo 3.26).

Tablo 3.26. *Rubus discolor* ekstraktının kas dokusunda biyokimyasal parametreler üzerine etkisi ($\mu\text{g/g}$)

Biyokimyasal Parametreler	Kontrol	HP	RD	RD+HP
Retinol	0.153 $\pm$ 0.063	0.099 $\pm$ 0.008 ^a	0.188 $\pm$ 0.014 ^a	0.117 $\pm$ 0.005 ^a
D₂	0.062 $\pm$ 0.010	0.304$\pm$0.072^d	0.039 $\pm$ 0.002 ^a	0.108 $\pm$ 0.011 ^a
D₃	0.253 $\pm$ 0.010	0.236 $\pm$ 0.035 ^a	0.280 $\pm$ 0.017 ^a	0.237 $\pm$ 0.011 ^a
α-tokoferol	2.48 $\pm$ 0.09	2.82 $\pm$ 0.13 ^a	5.83$\pm$0.05^d	14.96$\pm$0.13^d
α-tokoferol asetat	2.32 $\pm$ 0.15	1.89$\pm$0.12^b	2.35 $\pm$ 0.08 ^a	2.06 $\pm$ 0.12 ^a
K₁	0.116 $\pm$ 0.043	0.033 $\pm$ 0.001 ^a	0.955$\pm$0.044^d	0.880$\pm$0.052^d
K₂	0.690 $\pm$ 0.104	1.935$\pm$0.081^d	6.342$\pm$0.085^d	7.128$\pm$0.164^d
Kolesterol	335.57 $\pm$ 7.77	439.16$\pm$9.47^d	470.16$\pm$3.93^d	432.67$\pm$4.18^d
Kampesterol	84.46 $\pm$ 0.92	92.73$\pm$1.23^d	135.90$\pm$1.27^d	122.59$\pm$0.89^d
β-Sitosterol	2.502 $\pm$ 0.118	4.581$\pm$0.196^d	0.457$\pm$0.024^d	0.158$\pm$0.039^d

a: p>0.05 b: p<0.05 c: p<0.01 d: p<0.001

3.10.5.6. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Beyinde Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkisi

Beyin dokusunda retinol miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi (p>0.05). RD

grubunda retinol miktarının kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azaldığı saptandı ($p<0.05$).

Vitamin D₂ miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$). RD ve RD+HP gruplarında vitamin D₂ miktarının kontrol grubuna kıyasla belirgin şekilde arttığı gözlenirken ($p<0.001$), bu artışın RD+HP grubunda çok daha yüksek miktarda olduğu saptandı.

α - tokoferol miktarının kontrol grubuna göre HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$).

α - tokoferol asetat miktarının kontrol grubuna kıyasla HP, RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde arttığı gözlemlendi ($p<0.001$).

Vitamin K₁ miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında HP, RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde arttığı belirlendi ($p<0.001$).

Kolesterol miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığında HP, RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde arttığı saptandı ($p<0.001$).

Kampesterol miktarının kontrol grubuna göre HP, RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde azaldığı belirlendi ($p<0.001$).

β -sitosterol miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde arttığı gözlenirken ($p<0.001$), bu artışın RD+HP grubunda çok daha yüksek miktarda olduğu saptandı (Tablo 3.27).

Tablo 3.27. *Rubus discolor* ekstraktının beyin dokusunda biyokimyasal parametreler üzerine etkisi ($\mu\text{g/g}$)

Biyokimyasal Parametreler	Kontrol	HP	RD	RD+HP
Retinol	0.044 $\pm$ 0.006	0.038 $\pm$ 0.001 ^a	0.032$\pm$0.002^b	0.039 $\pm$ 0.001 ^a
D₂	0.041 $\pm$ 0.004	0.269 $\pm$ 0.027 ^a	0.695$\pm$0.067^d	2.641$\pm$0.118^d
α- tokoferol	9.11 $\pm$ 0.19	9.69 $\pm$ 0.30 ^a	9.59 $\pm$ 0.17 ^a	8.71 $\pm$ 0.07 ^a
α- tokoferol asetat	3.31 $\pm$ 0.14	7.59$\pm$0.15^d	7.99$\pm$0.15^d	6.40$\pm$0.12^d
K₁	3.34 $\pm$ 0.19	4.72$\pm$0.12^d	4.37$\pm$0.09^d	5.15$\pm$0.09^d
Kolesterol	1511.37 $\pm$ 17	1641.87$\pm$12.75^d	1638.71$\pm$9.24^d	1658.58$\pm$7.24^d
Kampesterol	0.768 $\pm$ 0.046	0.412$\pm$0.026^d	0.266$\pm$0.042^d	0.324$\pm$0.017^d
β-Sitosterol	0.159 $\pm$ 0.021	0.750$\pm$0.082^d	0.693$\pm$0.047^d	3.822$\pm$0.095^d

a: $p>0.05$ b: $p<0.05$ c: $p<0.01$ d: $p<0.001$

3.10.5.7. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Dalakta Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkisi

Dalak dokusunda δ - tokoferol miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$).

Vitamin D₂ miktarının kontrol grubuna kıyasla HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$).

Vitamin D₃ miktarının kontrol grubuna göre HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$).

α - tokoferol miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde azaldığı saptandı ($p<0.001$).

α - tokoferol asetat miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında HP, RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde azaldığı saptandı ($p<0.001$).

Vitamin K₁ miktarının kontrol grubuna göre HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$). RD ve RD+HP gruplarında vitamin K₁ miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında belirgin şekilde azaldığı gözlemlendi ($p<0.001$).

Vitamin K₂ miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde azaldığı saptanırken ($p<0.001$), RD grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$).

Kolesterol miktarının kontrol grubuna kıyasla HP, RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde azaldığı belirlendi ($p<0.001$).

Kampesterol miktarının kontrol grubuna göre HP, RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde azaldığı saptandı ($p<0.001$).

β -sitosterol miktarının kontrol grubuna göre HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$). RD ve RD+HP gruplarında β -sitosterol miktarının kontrole kıyasla anlamlı şekilde azaldığı belirlenirken ($p<0.01$, $p<0.001$, sırasıyla), bu azalmanın RD+HP grubunda çok daha yüksek miktarda ve istatistiksel olarak çok daha belirgin olduğu saptandı (Tablo 3.28).

Tablo 3.28. *Rubus discolor* ekstraktının dalak dokusunda biyokimyasal parametreler üzerine etkisi (µg/g)

Biyokimyasal Parametreler	Kontrol	HP	RD	RD+HP
δ-tokoferol	0.191±0.025	0.249±0.050 ^a	0.157±0.017 ^a	0.202±0.040 ^a
D₂	0.453±0.108	0.272±0.059 ^a	0.364±0.065 ^a	0.580±0.085 ^a
D₃	0.425±0.046	0.371±0.071 ^a	0.320±0.073 ^a	0.267±0.031 ^a
α-tokoferol	1.96±0.11	1.37±0.07^d	1.27±0.06^d	0.85±0.11^d
α-tokoferol asetat	6.93±0.19	4.13±0.04^d	4.04±0.18^d	2.93±0.15^d
K₁	0.53±0.05	0.51±0.14 ^a	0.13±0.01^d	0.20±0.02^d
K₂	1.36±0.07	0.41±0.07^d	1.32±0.11 ^a	0.24±0.05^d
Kolesterol	1961.36±11.97	1691.99±20.91^d	1840.63±11.66^d	1063.06±11.9^d
Kampesterol	21.52±0.08	19.16±0.24^d	8.05±0.36^d	12.62±0.42^d
β-Sitosterol	25.96±0.33	26.61±0.77 ^a	22.78±0.93^c	9.72±0.19^d

a: p>0.05 b: p<0.05 c: p<0.01 d: p<0.001

3.10.5.8. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Akciğerde Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkisi

Akciğer dokusunda retinol miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde azaldığı belirlendi (p<0.001). RD grubunda retinol miktarının kontrole göre istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı (p>0.05).

Vitamin D₂ miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde azaldığı gözlemlendi (p<0.001).

Vitamin D₃ miktarının kontrol grubuna göre HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi (p>0.05).

α-tokoferol miktarının kontrol grubuna kıyasla HP grubunda belirgin şekilde arttığı gözlemlendi (p<0.001). RD grubunda α-tokoferol miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptanırken (p>0.05), RD+HP grubunda belirgin şekilde azaldığı belirlendi (p<0.001).

α-tokoferol asetat miktarının kontrole kıyasla HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi (p>0.05). RD grubunda α-tokoferol asetat miktarının kontrol grubuna göre belirgin şekilde azaldığı saptanırken (p<0.001), RD+HP grubunda istatistiksel olarak aynı oranda arttığı belirlendi (p<0.001).

Vitamin K₁ miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP grubunda anlamlı şekilde arttığı gözlemlendi (p<0.01). RD grubunda vitamin K₁ miktarının kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptanırken (p>0.05), RD+HP grubunda anlamlı şekilde arttığı belirlendi (p<0.05).

Vitamin K₂ miktarının kontrol grubuna göre HP grubunda anlamlı şekilde azaldığı gözlemlendi (p<0.01). RD grubunda vitamin K₂ miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptanırken (p>0.05), RD+HP grubunda belirgin şekilde azaldığı belirlendi (p<0.001).

Kolesterol miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında HP, RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde arttığı gözlemlendi (p<0.001).

Kampesterol miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığında HP, RD ve RD+HP gruplarında anlamlı şekilde arttığı belirlenirken (p<0.001, p<0.05, p<0.001, sırasıyla), bu artışın HP ve RD+HP gruplarında çok daha yüksek miktarda ve istatistiksel olarak çok daha belirgin olduğu saptandı.

β -sitosterol miktarının kontrol grubuna göre HP ve RD gruplarında belirgin şekilde arttığı gözlemlenirken (p<0.001), RD+HP grubunda istatistiksel olarak aynı oranda azaldığı belirlendi (p<0.001) (Tablo 3.29).

Tablo 3.29. *Rubus discolor* ekstraktının akciğer dokusunda biyokimyasal parametreler üzerine etkisi ($\mu\text{g/g}$)

Biyokimyasal Parametreler	Kontrol	HP	RD	RD+HP
Retinol	4.66 $\pm$ 0.12	3.14$\pm$0.11^d	4.42 $\pm$ 0.10 ^a	3.81$\pm$0.17^d
D₂	0.317 $\pm$ 0.028	0.145$\pm$0.017^d	0.166$\pm$0.018^d	0.155$\pm$0.020^d
D₃	0.600 $\pm$ 0.059	0.679 $\pm$ 0.077 ^a	0.756 $\pm$ 0.093 ^a	0.432 $\pm$ 0.065 ^a
α-tokoferol	4.34 $\pm$ 0.15	5.47$\pm$0.15^d	4.77 $\pm$ 0.17 ^a	3.08$\pm$0.17^d
α-tokoferol asetat	5.94 $\pm$ 0.18	5.46 $\pm$ 0.10 ^a	3.25$\pm$0.18^d	7.50$\pm$0.14^d
K₁	1.81 $\pm$ 0.11	2.37$\pm$0.10^c	2.11 $\pm$ 0.13 ^a	2.22$\pm$0.10^b
K₂	14.65 $\pm$ 0.19	13.00$\pm$0.14^c	14.03 $\pm$ 0.36 ^a	10.54$\pm$0.33^d
Kolesterol	1122.10 $\pm$ 11.58	1281.48$\pm$14.26^d	1390.07$\pm$28.42^d	1300.38$\pm$11.56^d
Kampesterol	12.94 $\pm$ 0.44	15.39$\pm$0.20^d	13.79$\pm$0.19^b	14.40$\pm$0.12^d
β-Sitosterol	13.96 $\pm$ 0.29	17.19$\pm$0.27^d	18.95$\pm$0.26^d	8.27$\pm$0.11^d

a: p>0.05 b: p<0.05 c: p<0.01 d: p<0.001

3.10.5.9. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Kan Serumunda Kolesterol ve Lipoprotein Bileşimi Üzerine Etkileri

Kan serumunda kolesterol miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında HP ve RD gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlenirken ($p>0.05$), RD+HP grubunda belirgin şekilde arttığı gözlemlendi ($p<0.001$).

Trigliserit miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığında HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$).

HDL miktarının kontrol grubuna göre HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$).

LDL miktarının kontrol grubuna kıyasla HP ve RD gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$). RD+HP grubunda LDL miktarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman belirgin şekilde arttığı saptandı ($p<0.001$).

VLDL miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP, RD ve RD+HP gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği belirlendi ($p>0.05$) (Tablo 3.30).

Tablo 3.30. *Rubus discolor* ekstraktının kan serumunda kolesterol ve lipoprotein bileşimi üzerine etkisi (mg/dL)

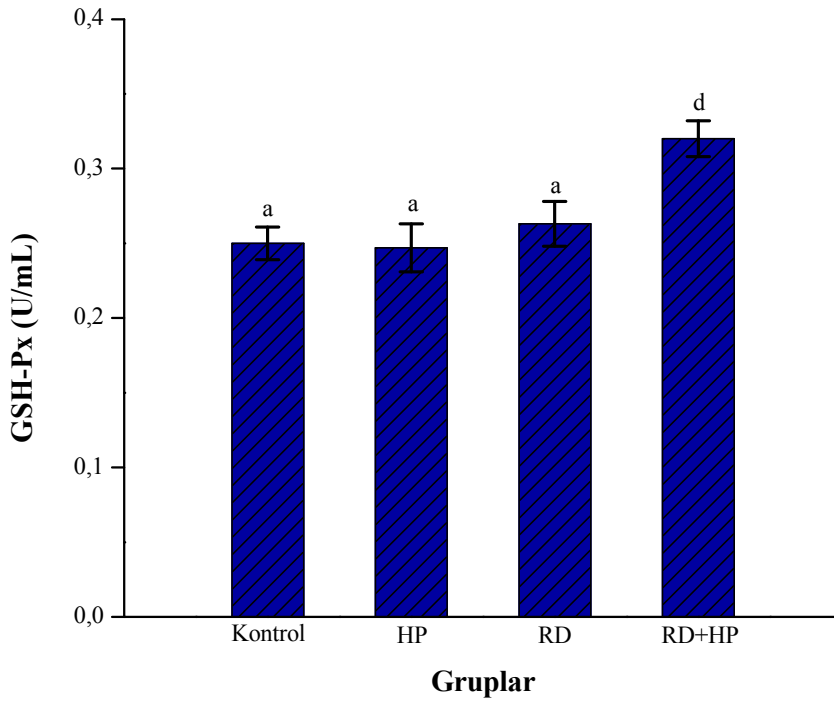
Biyokimyasal Parametreler	Kontrol	HP	RD	RD+HP
Kolesterol	50.00±1.80	45.10±1.80 ^a	51.00±1.60 ^a	63.80±1.60^d
Trigliserit	66.50±12.20	61.00±6.30 ^a	69.10±10.40 ^a	76.10±7.10 ^a
HDL	32.50±2.70	27.80±1.40 ^a	30.30±0.80 ^a	39.00±2.40 ^a
LDL	12.60±0.80	14.80±1.10 ^a	16.60±1.30 ^a	20.60±1.60^d
VLDL	13.00±2.40	12.10±1.20 ^a	13.60±2.10 ^a	15.30±1.40 ^a

a: $p>0.05$ b: $p<0.05$ c: $p<0.01$ d: $p<0.001$

3.10.6. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Kanda Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkileri

3.10.6.1. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Kanda GSH-Px Aktivitesi Üzerine Etkisi

Kan dokusunda GSH-Px aktivitesinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman HP ve RD gruplarında istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptanırken ($p>0.05$), RD+HP grubunda belirgin şekilde arttığı belirlendi ($p<0.001$) (Şekil 3.38, Tablo 3.31).

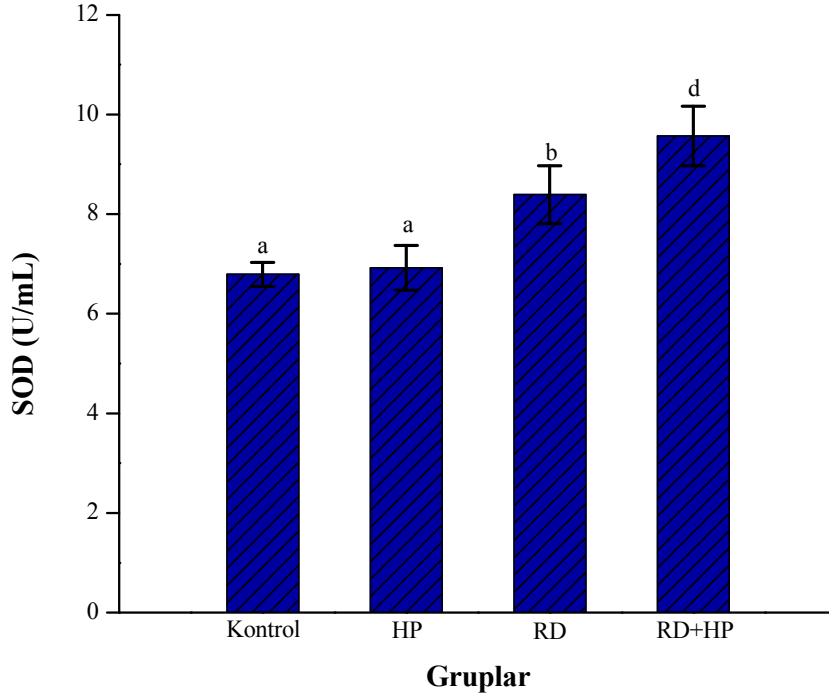


Şekil 3.38. Böğürtlen ekstraktının kan serumunda GSH-Px aktivitesi üzerine etkisi
a: $p>0.05$, b: $p<0.05$, c: $p<0.01$, d: $p<0.001$

3.10.6.2. *Rubus discolor* (Böğürtlen) Ekstraktının Kanda SOD Aktivitesi Üzerine Etkisi

Kan dokusunda SOD aktivitesinin kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman HP grubunda istatistiksel olarak bir değişim göstermediği saptandı ($p>0.05$). RD ve RD+HP gruplarında SOD seviyesinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığı belirlenirken ($p<0.05$,

$p<0.001$, sırasıyla), bu artışın RD+HP grubunda çok daha yüksek miktarda ve istatistiksel olarak çok daha belirgin olduğu saptandı (Şekil 3.39, Tablo 3.31).



Şekil 3.39 Böğürtlen ekstraktının kan serumunda SOD aktivitesi üzerine etkisi

a: $p>0.05$, b: $p<0.05$, c: $p<0.01$, d: $p<0.001$

Tablo 3.31. *Rubus discolor* ekstraktının kan serumunda antioksidan enzim seviyeleri üzerine etkisi

Enzimler (U/mL)	Kontrol	HP	RD	RD+HP
GSH-Px	0.250±0.011	0.247±0.016 ^a	0.263±0.015 ^a	0.320±0.012^d
SOD	6.79±0.24	6.92±0.45 ^a	8.39±0.58^b	9.57±0.60^d

a: $p>0.05$, b: $p<0.05$, c: $p<0.01$, d: $p<0.001$

4. TARTIŞMA

Doğal kaynaklı antioksidanlar tahıllarda, baklagillerde, meyvelerde, şifalı bitkilerde ve bitki kaynaklı içeceklerde bol miktarlarda bulunurlar. Bu kaynaklarda bulunan antioksidanlar; tokoferoller, flavonoidler, fenolik asitler gibi fenolik bileşikler, alkaloid, klorofil, protein, amin gibi azotlu bileşikler, polifonksiyonlu organik asitler ve karotenlerdir. Maliyet nedeniyle doğal kaynaklı antioksidanlar yerine sentetik antioksidanlar yirminci yüzyılın başlarından beri kullanılmaktadır. Ancak sentetik antioksidanların toksik ve kansere yol açabileceğini ortaya koyan çalışmalar sonucunda bazı ülkelerde kullanılmalarına dair ciddi sınırlamalar ya da yasaklar getirilmiştir. Sentetik antioksidanlar hakkındaki bu şüpheler, doğal antioksidanlara olan eğilimi arttırmış ve bu alandaki çalışmalar bitki kaynaklı antioksidanlar üzerinde yoğunlaşmıştır. Doğal kaynaklı E ve C vitamini uzun yıllardır besinlerde ayrı ayrı veya birlikte antioksidan olarak kullanılmaktadır. Ancak tokoferol ve askorbik asidin antioksidan aktivitesi nispi olarak sentetik antioksidanlardan daha düşüktür (Dragsted ve ark., 1993).

Bitkilerde farklı antioksidan bileşiklerin meydana geldiği bilinmektedir. Doğal antioksidanlar bitkilerin yaprak, gövde ve tohumları olmak üzere bütün organlarında bulunmaktadır. Bitkilerde meydana gelen doğal antioksidanların başlıcaları karotenoidler, vitaminler, fenoller, flavonoidler, glutatyon ve endojen metabolitlerdir. Bitki kökenli antioksidanlar singlet ve triplet oksijen söndürücüsü, serbest radikal gidericisi, peroksit yok edicisi ve enzim inhibitörleri olarak fonksiyon görürler. Sebze ve meyveler birçok antioksidan bileşik içerirler. Bunun yanı sıra sebzelerde, kabuklu ve kabuksuz meyvelerde, tohumlarda, yapraklarda, çiçeklerde, köklerde ve kabuklarda bol miktarda antioksidan bileşikler bulunmaktadır. Yapılan araştırmalar, bol miktarda sebze ve meyve tüketiminin, hastalıklara yakalanma riskini azalttığını, kalp-damar hastalıklarında, kanser vakalarında ve ölüm oranlarında kayda değer azalmalara sebep olduğunu ortaya koymuştur (Dragsted ve ark., 1993).

Bitkilerde doğal antioksidan aktivitelerin belirlenmesi ve bazı antioksidan bileşiklerin izolasyon ve karakterizasyon işlemleri son zamanlarda büyük bir ivme kazanmış ve bu konuda çok yoğun çalışmalar devam etmektedir. Özellikle halk arasında tıbbi amaçlı kullanılan bitkiler ile gıda sektöründe kullanılan bazı bitkiler antioksidan çalışmaların odak noktasını teşkil etmektedir.

4.1. *In vitro* Ortamda Bitki Ekstraktlarını Antioksidan Özellikleri

Antioksidan bileşiklerin aktiviteleri, radikalik zincir reaksiyonlarını önleme, metal iyonlarını şelatlama, peroksit oluşumunu engelleme, radikal giderme veya indirgeme kuvveti gibi temel antioksidatif özelliklerden kaynaklanmaktadır.

Antioksidan aktivite ile ilgili çalışma çerçevesinde *A. millefolium* (civanperçemi), *C. monogyna* (alıç), *R. discolor* (böğürtlen) bitkilerinin su ve etanol ekstraktlarının antioksidan ve antiradikal özellikleri ile ilgili yaptığımız bu çalışmada toplam antioksidan kapasite, indirgeme gücü kapasitesi, metal şelatlama aktivitesi, DPPH[•] serbest radikali giderme aktivitesi, ABTS^{•+} radikali giderme aktivitesi, süperoksit anyon radikalleri giderme aktivitesi, H₂O₂ giderme aktivitesi ile FRAP testi gibi farklı antioksidan metotlar ve bunlara ek olarak toplam fenolik bileşik miktarı tayini ayrı ayrı belirlenmiştir.

Ekstrelerin değişik metotlarla yapılan antioksidan tayinleri arasında ilişki bulunabilir. Örneğin bir bileşiğin sahip olduğu indirgeme kuvveti o bileşiğin antioksidan aktivite sergilemesinde önemli bir etken olabilir (Meir ve ark., 1995). Ancak antioksidan karakter değişik yollar ve mekanizmalar ile yürüyebilir. Örneğin, oksidasyonun geçiş metalleri tarafından hızlandırıldığı bir sistemde, antioksidan bileşiğin indirgeme kuvveti, antioksidan özellik bakımından çok önemli olmayabilir. Bir ekstrenin veya bileşiğin sadece metal bağlayabilme özelliğinin olması bile böyle bir sistemde oksidasyon hızını yavaşlatacaktır. Metal şelatlayıcı ajanlara sahip bir ekstre veya bileşiğin antioksidan karakteri, onun indirgeme kuvveti veya sahip olduğu hidroksil gruplarından ziyade ortamda bulunan metalleri uzaklaştırma özelliğinden kaynaklanmaktadır. Oksidasyonun singlet oksijen tarafından indüklendiği sistemlerde ise etkili antioksidanlar singlet oksijeni bertaraf edebilen bileşiklerdir. Buna örnek olarak karotenoidler verilebilir (Halliwell ve Gutteridge, 1999). Bütün bu özelliklerden dolayı antioksidan bileşikler sahip oldukları antioksidatif etkinliklerini geçiş metallerini bağlama, peroksitleri parçalama, hidrojen koparılmasını engelleme, radikal giderme gibi değişik mekanizmalarla ortaya koyabilirler (Diplock, 1991).

Bu tez çalışmasında antioksidan aktivite tayinlerinin yapılabilmesi için hazırlanan her bir ekstrenin 50, 100, 250 ve 500 µg'lık serileri veya 100 µg'lık miktarları kullanılmıştır. Çalışma sonunda elde edilen bulgulara her bir ekstrenin konsantrasyonunun artması ile antioksidan kapasite arasında bir doğru orantı olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.1-Şekil 3.17). Bu durum, ekstre miktarı arttıkça ekstrelerde bulunan etken madde miktarının da

artmasından kaynaklanmaktadır. Meydana gelen bu korelasyonunun sebebi bitkilerin içerdiği antioksidan etkiye sahip fenolik bileşikler (fenolik asit, flavonoidler, kumarinler vs.), azotlu bileşikler (alkaloidler, aminler vs.), vitaminler, terpenoidler gibi birçok serbest radikal temizleyici gruplar olabilir.

Cai ve ark., (2004) tarafından Çin’de 112 çeşit şifalı bitkinin antikanser özelliğini araştırmak için bu bitkilerin total antioksidan kapasiteleri ve total fenolik içeriği belirlenmiştir. Şifalı bitkilerdeki antioksidan kapasite ile total fenolik içerik arasında belirgin pozitif ilişki olduğu görülmüş ve fenolik içeriğin antioksidan etkiyi oluşturan temel yapı olduğu iddia edilmiştir. Araştırmacılar diğer sebze ve meyvelere göre bu şifalı bitkilerin çok daha güçlü antioksidan aktiviteye ve yüksek fenolik bileşik içeriğine sahip olduğunu tespit ettikten sonra bu şifalı bitkilerin doğal bileşimlerinin kemopreventif ajan kaynağı olarak kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Yaptığımız çalışmada bütün ekstrelerin **toplam antioksidan aktivite** sonuçlarının doğal ve standart bir antioksidan olan α -tokoferole kıyasla çok daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.1, Şekil 3.2, Şekil 3.3). Ayrıca yine ekstrelerin peroksidasyonu inhibe etme yüzdelерinin çok kuvvetli ve sentetik birer standart antioksidan olan BHA ve BHT’ye yakın olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.1). Ekstrelerin içinde en yüksek total antioksidan aktiviteye sahip olan ekstrenin *Rubus discolor* ham meyve su ekstresi olduğu gözlenmiştir. Ekstreler arasında linoleik asit emülsiyonun oksidasyonunu inhibe etme sıralamasının ise; BHA > BHT > RD Ham Meyve Su Ekstresi > RD Yaprak Su Ekstresi > CM Yaprak Su Ekstresi > CM Çiçek Su Ekstresi > RD Çiçek Su Ekstresi > RD Meyve Su Ekstresi = CM Meyve Etanol Ekstresi = AM Tohum Su Ekstresi > AM Tohum Etanol Ekstresi > AM Çiçek Su Ekstresi > AM Yaprak Su Ekstresi > CM Yaprak Etanol Ekstresi > AM Yaprak Etanol Ekstresi > CM Çiçek Etanol Ekstresi > RD Ham Meyve Etanol Ekstresi > RD Yaprak Etanol Ekstresi > AM Çiçek Etanol Ekstresi > RD Çiçek Etanol Ekstresi > RD Meyve Etanol Ekstresi > CM Meyve Su Ekstresi > α -tokoferol şeklinde olduğu tespit edildi.

Ekstrelerin çoğu kontrol grubuna göre kuvvetli indirgeyici özelliğe sahiptir. Ekstrelerin **indirgeme kuvvetleri** standart birer antioksidan olan tokoferol, BHA ve BHT ile karşılaştırıldığında, *R. discolor*’un çiçek etanol ekstresinin bu antioksidanlardan oldukça yüksek bir aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. *R. discolor*’un bazı kısımlarının aktiviteleri de bu antioksidanlardan düşük fakat yakın aktiviteler sergilemiştir. Ancak bu durum ekstrelerdeki maddelerin indirgeme kuvvetinin bu antioksidanlardan daha düşük

olduğunu göstermez. Ekstrelerdeki her bir bileşiğin saf halinin bu antioksidanlar ile mukayese edilmesi suretiyle ancak ekstrelerin indirgeme kapasiteleri hakkında bilgi verme imkânı sağlanabilirdi. 100 µg miktarındaki ekstrelerin sahip olduğu indirgeme kuvvetleri Tablo 3.2’de görülmektedir. Bu tablodan da anlaşılabacağı gibi ekstreler içinde en yüksek indirgeme kuvvetinin *R. discolor* türü çiçeklerinin etanol ekstresinde olduğu gözlenmiştir. Ekstrelerin ve antioksidanların sahip olduğu indirgeme kuvvetlerinin; RD Çiçek Etanol Ekstresi > BHA > BHT > RD Çiçek Su Ekstresi > Tokoferol > RD Yaprak Etanol Ekstresi > RD Yaprak Su Ekstresi > AM Çiçek Etanol Ekstresi > RD Ham Meyve Etanol Ekstresi > AM Tohum Etanol Ekstresi > AM Yaprak Su Ekstresi > CM Meyve Su Ekstresi > RD Ham Meyve Su Ekstresi > RD Meyve Etanol Ekstresi > CM Meyve Etanol Ekstresi > CM Çiçek Etanol Ekstresi > AM Yaprak Etanol Ekstresi > AM Çiçek Su Ekstresi = CM Çiçek Su Ekstresi > AM Tohum Su Ekstresi > CM Yaprak Etanol Ekstresi > RD Meyve Su Ekstresi > CM Yaprak Su Ekstresi sıralamasına sahip olduğu belirlenmiştir. Bütün ekstrelerin total indirgeme kapasitelerine bakıldığında *R. discolor*’un yaprak ve çiçeklerinin aktivitelerinin daha yüksek olduğu, *C. monogyna* türünün çiçek ve yapraklarının aktivitelerinin ise çok daha düşük aktiviteye sahip oldukları gözlenmiştir. Bu durum ise *C. monogyna* türünün çiçek ve yapraklarında bulunan indirgeyici bileşiklerinin çok fazla çözünmemiş olmasından kaynaklanmış olabilir.

Fe⁺³’ü indirgeyici antioksidan güç (**FRAP**) testi sonuçlarına göre yine en yüksek aktiviteyi *R. discolor* türü çiçeklerinin etanol ekstresi göstermiştir ve bu aktivitenin standart antioksidanlar tokoferol ve BHA’dan daha yüksek olduğu anlaşılmıştır. Ekstrelerin sahip olduğu indirgeme kuvvetlerinin büyükten küçüğe doğru sıralanışı şu şekilde olmaktadır: BHT > RD Çiçek Etanol Ekstresi > Tokoferol > RD Yaprak Etanol Ekstresi > BHA > RD Çiçek Su Ekstresi > AM Çiçek Etanol Ekstresi > RD Yaprak Su Ekstresi > CM Çiçek Etanol Ekstresi > CM Yaprak Etanol Ekstresi > CM Çiçek Su Ekstresi > CM Yaprak Su Ekstresi > AM Tohum Etanol Ekstresi > AM Yaprak Etanol Ekstresi > RD Meyve Etanol Ekstresi > AM Yaprak Su Ekstresi > RD Ham Meyve Etanol Ekstresi > RD Ham Meyve Su Ekstresi > AM Çiçek Su Ekstresi > AM Tohum Su Ekstresi > CM Meyve Etanol Ekstresi > CM Meyve Su Ekstresi > RD Meyve Su Ekstresi.

FRAP ve indirgeme kuvveti tayin testleri prensip olarak benzer görülmektedir. Fakat testlerin sonuçlarına bakıldığında bazı ekstreler için benzer sonuçlar bulunmuşsa da, bazıları için çok farklı sonuçlar saptanmıştır. *C. monogyna*’nın çiçek ve yapraklarının

indirgeme kuvvetleri kontrole çok yakın bulunmuşken, FRAP testi sonuçlarına göre yüksek indirgeyici antioksidan aktivite göstermişlerdir.

Serbest radikallerin ortamdan uzaklaştırılmaları birçok biyomolekül için hayati öneme sahiptir. Çünkü radikalik zincir reaksiyonları radikaller ile başlamakta ve gelişmektedir. Böyle bir durumda yağ asitleri, proteinler, monosakkaritler ve hatta DNA gibi çok önemli biyomoleküllerin stabilitesi bozulmakta ve kanser, damar tıkanıklığı gibi çeşitli hastalıklara sebep olmakta ve yaşlanma gibi birçok olguya neden olduğu bilinmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1989). Çalışmamızda serbest radikal olarak DPPH[•] ve ABTS^{•+} kullanılmıştır. Tablo 3.3’de görüldüğü gibi çalışmada kullanılan bütün ekstreler içinde *R. discolor* türünün yaprak, çiçek, ham meyve ve meyve ekstrelerinin daha yüksek radikal temizleme aktivitesine sahip olduğu, en yüksek DPPH[•] radikallerini giderme aktivitesinin ise *R. discolor*’un çiçek su ve çiçek etanol ekstrelerinde bulunduğu gözlenmiştir. Bu iki ekstrenin DPPH yok etme oranları, standart antioksidan maddeler olarak kabul edilen BHT, gallik asit, kuersetin ve pirokatekoldan daha yüksek bulunmuştur. Bu durum *R. discolor* ekstrelerinin daha fazla radikal söndürücülere sahip olmalarıyla açıklanabilir.

Ekstreler içinde **DPPH giderme aktivitesinin** büyükten küçüğe doğru sıralaması Trolox > RD Çiçek Etanol Ekstresi > RD Çiçek Su Ekstresi > RD Yaprak Etanol Ekstresi > RD Ham Meyve Etanol Ekstresi > CM Çiçek Etanol Ekstresi > Gallik Asit > CM Yaprak Etanol Ekstresi > RD Ham Meyve Su Ekstresi > AM Çiçek Etanol Ekstresi > Kuersetin > RD Yaprak Su Ekstresi > AM Çiçek Su Ekstresi > RD Meyve Etanol Ekstresi > AM Yaprak Etanol Ekstresi > CM Meyve Etanol Ekstresi > CM Yaprak Su Ekstresi > CM Meyve Su Ekstresi > BHT > AM Tohum Su Ekstresi > Pirokatekol > CM Çiçek Su Ekstresi > AM Yaprak Su Ekstresi > AM Tohum Etanol Ekstresi > RD Meyve Su Ekstresi şeklindedir. Genelde bitki kısımlarının etanol ekstrelerinin su ekstrelerinden daha yüksek oranda DPPH radikalini yok etmesinin sebebi etanol ekstrelerine bitkinin yapısında yer alan serbest radikalleri yok edebilecek bileşenlerin daha iyi ve yüksek oranda geçmesiyle açıklanabilir.

Çalışmamızda araştırdığımız bir diğer antiradikal test olan **ABTS^{•+} giderme aktivitesi** testi sonuçlarımıza göre bitki ekstrelerinin 100 µg’lik miktarlarının radikal giderme aktivitelerine bakıldığında *C. monogyna* çiçeklerinin su ve etanol ile yapraklarının su ve etanol ekstrelerinin aktivitelerinin yüksek olduğu ve kuvvetli bir şekilde ABTS^{•+} radikali giderdiği tespit edilmiştir. ABTS^{•+} radikali, antioksidan maddeler ile kimyasal

tepkimeye girerek bir elektron transfer eder ve radikal olmayan ABTS maddesine dönüşmektedir. $ABTS^{•+}$ radikali 734 nm'de absorbans veren renkli bir maddedir ve dolayısıyla bu dalga boyundaki absorbans azalması antioksidan aktivitenin hesaplanmasında kullanılmaktadır. Ekstreler içinde ABTS radikali giderme aktivitesi sıralamasının; BHA > CM Çiçek Etanol Ekstresi > CM Yaprak Etanol Ekstresi > CM Yaprak Su Ekstresi > AM Çiçek Etanol Ekstresi > CM Çiçek Su Ekstresi = RD Yaprak Etanol Ekstresi > RD Çiçek Etanol Ekstresi > RD Yaprak Su Ekstresi > BHT > RD Çiçek Su Ekstresi > Tokoferol > AM Yaprak Su Ekstresi > RD Ham Meyve Etanol Ekstresi > AM Tohum Etanol Ekstresi > RD Meyve Etanol Ekstresi > AM Çiçek Su Ekstresi > RD Ham Meyve Su Ekstresi > AM Yaprak Etanol Ekstresi > AM Tohum Su Ekstresi > CM Meyve Etanol Ekstresi > CM Meyve Su Ekstresi > RD Meyve Su Ekstresi şeklinde olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3.4).

Süperoksit anyon radikallerinin organizmada meydana gelebileceğinden daha önceden bahsedilmişti. Süperoksit anyon radikalleri lipid peroksidasyonuna sebep olan radikallerdir. Bu radikaller biyokimyasal yapılar ile tekimeye girerek doku hasarlarına sebep olurlar (Halliwell ve Gutteridge, 1999). Ayrıca lipid peroksidasyonunu başlatan hidroksil radikali gibi daha aktif radikalleri oluşturabilirler. Süperoksit anyon radikalleri Fe^{3+} 'ü Fe^{2+} 'ye indirgeyebilirler. Fe^{2+} ise Fenton reaksiyonu ile hidrojen peroksitle tepkimeye girerek oldukça reaktif olan $OH^•$ radikallerinin oluşumuna sebep olurlar. Bilindiği gibi Fe^{+2} nin oksidasyonu sonucu bir ara kompleks oluşmakta ve bu ara kompleks daha sonra Fe^{+3} ve $O_2^{•-}$ 'te dönüşmektedir. Bunun yanı sıra bazı metabolik olaylarda laktoperoksidaz enzimi H_2O_2 'i GSH varlığında suya dönüştürmekte ve bu arada açığa su çıkmakta ve GS radikali meydana gelmektedir. Daha sonra bu radikalın GSH'ın iyonlaşma formu ile etkileşebilmekte ve bunun sonucunda farklı bir GSSG meydana gelmektedir. Bu GSSG'nin oksidasyonu sonucu normal GSSG ile $O_2^{•-}$ meydana gelmektedir. Ayrıca $O_2^{•-}$ 'in nonoenzimatik elektron transferleri sonucu da oluşabilmektedir. Bunlar gibi farklı metabolik durumlarda organizmada $O_2^{•-}$ oluşabilmektedir. İşte bütün bu durumlardan dolayı canlı organizmalar için $O_2^{•-}$ 'in giderilmesi oldukça önemlidir.

Tez kapsamında yapılan çalışmalarda bütün ekstreler içinde en yüksek **süperoksit giderme aktivitesinin** su ekstrelerinde olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.6). Ekstrelerinin birçoğunun standart bir antioksidan olan BHT'den yüksek süperoksit giderme aktivitesi sergiledikleri görülmüştür. Bütün ekstreler içerisinde ise en yüksek süperoksit giderme aktivitesinin *C. monogyna* türünün yapraklarının su ekstresinde olduğu ve standart

antioksidanlar tokoferol ve BHA'dan daha yüksek aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir. Ekstreler içinde en yüksek süperoksit radikali giderme aktivitesi sıralaması; CM Yaprak Su Ekstresi > CM Çiçek Su Ekstresi > Tokoferol > BHA > CM Yaprak Etanol Ekstresi > CM Meyve Su Ekstresi > AM Tohum Su Ekstresi = RD Meyve Su Ekstresi > AM Çiçek Su Ekstresi > AM Yaprak Su Ekstresi > CM Meyve Etanol Ekstresi > RD Çiçek Su Ekstresi > CM Çiçek Etanol Ekstresi > RD Yaprak Su Ekstresi > BHT > RD Ham Meyve Su Ekstresi > RD Çiçek Etanol Ekstresi > RD Meyve Etanol Ekstresi > RD Yaprak Etanol Ekstresi > AM Yaprak Etanol Ekstresi > AM Çiçek Etanol Ekstresi > AM Tohum Etanol Ekstresi > RD Ham Meyve Etanol Ekstresi şeklindedir.

H₂O₂ bir serbest radikal değildir, fakat membranı baştan sona geçebilir ve membrandaki birçok bileşiği de oksitleyebilir. Daha önceden de anlatıldığı gibi H₂O₂, süperoksit dismutaz ve diğer birçok enzim tarafından *in vivo* olarak meydana getirilebilir. H₂O₂ mikromolar düzeyde daha az reaktiftir, fakat yüksek düzeyde birçok selüler enerji üretim sistemlerine saldırabilmektedir. Örneğin bir glikolitik enzim olan gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz metal iyonlarının varlığında hidroksil radikallerini de oluşturabilmektedir. Ayrıca oksijenin de meydana geldiği bu reaksiyonu hızlandırmaktadır.

Bu çalışmada ekstrelerin sahip oldukları **H₂O₂ giderme aktiviteleri** de araştırılmış ve Şekil 3.13'de görüldüğü gibi bu çerçevede yapılan çalışmalarda bütün ekstreler içinde en yüksek H₂O₂ giderme aktivitesi *R. discolor* çiçek ekstrelerinde görülmüştür. Ekstrelerin H₂O₂ giderme aktivitesi sıralaması ise şu şekilde olmaktadır: RD Çiçek Etanol Ekstresi > RD Çiçek Su Ekstresi > AM Tohum Etanol Ekstresi > AM Çiçek Etanol Ekstresi > BHA > RD Yaprak Etanol Ekstresi > CM Yaprak Etanol Ekstresi > RD Yaprak Su Ekstresi > CM Çiçek Etanol Ekstresi > AM Yaprak Su Ekstresi > BHT > CM Yaprak Su Ekstresi > RD Ham Meyve Su Ekstresi > CM Çiçek Su Ekstresi = AM Yaprak Etanol Ekstresi > AM Çiçek Su Ekstresi > AM Tohum Su Ekstresi > RD Meyve Etanol Ekstresi > CM Meyve Etanol Ekstresi > CM Meyve Su Ekstresi > RD Ham Meyve Etanol Ekstresi > RD Meyve Su Ekstresi.

Antioksidan kapasite belirleme testlerinden biri olan metal şelatlama, lipid peroksidasyonuna sebep olan metalleri tutukladığından büyük bir öneme sahiptir (Duh ve ark., 1999). Fenton reaksiyonunda daha önceden anlatıldığı gibi antioksidan kapasite açısından OH[•] radikallerinin oluşmasına sebep olan Fe⁺² ve Cu⁺ gibi metallerin tutuklanması son derece önemlidir. Bu metal iyonlarının bulunması OH[•] radikalleri gibi reaktif radikallerin meydana gelmesini sağlar.

Total indirgenme kapasitesi, antioksidan maddelerin indirgeyici özelliklerinin olabilmesi esasına dayanmaktadır. İndirgeyici antioksidanlar, oksidan maddeleri indirgeyerek bunların zararlı etkilerini inhibe ederler. Total indirgenme kapasitesi, ferrik iyonlarını (Fe^{3+}) ferröz iyonlarına (Fe^{2+}) indirgeme ve kuprik iyonlarını (Cu^{2+}) kupröz iyonlarına (Cu^+) indirgeme kapasitelerine göre hesaplanmaktadır. Ferrik iyonlarını (Fe^{3+}) ferröz iyonlarına (Fe^{2+}) indirgeme metodunda; $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (potasyum ferrisiyanat) bileşiği antioksidan kapasitesi olan bir madde eşliğinde $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ ferrosiyanata dönüşmektedir. Burada ferrik iyonları (Fe^{3+}) ferröz iyonlarına (Fe^{2+}) indirgenmektedir. Kalitatif veya kantitatif indirgenme tayini için ortama FeCl_3 ilave edilir. İndirgenmiş ürüne Fe^{3+} ilavesi, 700 nm’de güçlü absorbansa sahip olan Prussian mavisi renginde bir kompleks olan $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$ oluşumuna yol açar. Absorbansdaki artış, kompleksin oluşumundan kaynaklanan artışı ve dolayısıyla indirgenme kapasitesini göstermektedir (Gülcin ve ark., 2005).

Ferröz (Fe^{2+}) iyonu gibi iyonik türler, organizmada serbest radikal ve reaktiflerin üretimini arttırdığı için bu metallerin etkisi minimize edilmelidir. Bunu sağlamak için ise metal iyonlarının şelatlanması önemli bir yoldur. Metal iyonları şelatlama aktivitesi metallerin katalizlediği oksidasyon reaksiyonlarını engellemek veya geciktirmek için sıklıkla kullanılan önemli bir antioksidan metottur. Fenton reaksiyonları sonucunda hidrojen peroksit göre daha reaktif ve metabolizmaya daha zararlı hidroksil radikali oluşmaktadır. Bundan dolayı ferröz iyonlarının (Fe^{2+}) ortamdan giderilmeleri veya uzaklaştırılmaları gerekmektedir. Fenton tipi reaksiyonlarda peroksitlerin ortamda bulunmaları esnasında ferrik iyonları oluşur fakat ferröz iyonlar (Fe^{2+}), ferrik iyonlardan (Fe^{3+}) on kata daha fazla reaktif oldukları için negatif etkiler büyük ölçüde giderilmiş olur (Miller, 1996). Ferrozin, ferröz iyonları (Fe^{2+}) gibi metal iyonları ile kompleks oluşturmaktadır. Oluşan renkli ferrozin-metal kompleksi ise 562 nm’de maksimum absorbanı göstermektedir. Antioksidan maddeler metal şelatlayıcı olarak görev yaparak ferrozin-metal kompleksinin bozulmasına sebep olur. Dolayısıyla metal şelatlama aktivitesinde 562 nm’de absorbansta meydana gelen azalma metal şelatlama miktarını verir.

Çalışma kapsamında kullanılan ekstrelerin **metal şelatlama** aktiviteleri incelenmiştir. Metot olarak indirgeme kuvveti ile metal şelatlama aktiviteleri arasında bir benzerlik olmasına rağmen temelde birbirinden tamamen farklıdır. Çünkü metal şelatlamada metal iyonları tutuklanırken, indirgeme kuvvetinde ise indirgeme söz konusudur. Ekstrelerin

metal şelatlama sıralaması; BHA > AM Tohum Su Ekstresi > Tokoferol > BHT > CM Çiçek Su Ekstresi > RD Çiçek Su Ekstresi > AM Çiçek Su Ekstresi > RD Çiçek Etanol Ekstresi > AM Yaprak Su Ekstresi > RD Ham Meyve Su Ekstresi > CM Meyve Su Ekstresi > CM Yaprak Su Ekstresi > RD Yaprak Etanol Ekstresi > AM Çiçek Etanol Ekstresi > RD Meyve Su Ekstresi > RD Yaprak Su Ekstresi > AM Yaprak Etanol Ekstresi > CM Çiçek Etanol Ekstresi > CM Meyve Etanol Ekstresi > CM Yaprak Etanol Ekstresi > AM Tohum Etanol Ekstresi > RD Ham Meyve Etanol Ekstresi > RD Meyve Etanol Ekstresi şeklinde belirlenmiştir (Şekil 3.13-3.15, Tablo 3.8).

Bir ekstrenin antioksidan aktivitesini çok değişik faktörlerin etkileyebilmesi, antioksidan aktiviteye sebep olan ana kaynağın diğer faktörlerin katkısının tespitini zorlaştırmaktadır. Ana etkenin ne olduğunun tespiti için ekstredeki her bir bileşik hakkında indirgeme gücü, serbest metal bağlayabilme, radikal giderme, peroksit giderme, süperoksit giderme kapasiteleri gibi çok sayıda veriye ihtiyaç vardır.

Total antioksidan aktivitenin düşük olduğu ekstrelerdeki bileşiklerin antioksidan aktivitelerinin de düşük olacağını söylemek mümkün değildir. Ekstrelerde oksidasyonu hızlandırıcı maddelerin varlığı (serbest geçiş metalleri gibi), o ekstrede bulunabilecek yüksek antioksidan aktiviteye sahip bileşiklerin etkisini perdeleyebilir (Gülçin, 2002). Bu sebeple fenolik bileşik miktarı ve indirgeme kuvveti yüksek olan ekstrelerde düşük antioksidan aktivite gözlenebilir. Sonuçlarımıza göre en yüksek fenolik bileşik miktarları Şekil 3.16 ve Tablo 3.9’da görüldüğü üzere kuersetin bakımından *R. discolor*’un çiçeklerinin etanol ekstresinde, pirokatekol bakımından yine *R. discolor*’un çiçeklerinin etanol ekstresinde gözlenmiştir. En düşük sonuçlar ise kuersetin bakımından *A. millefolium* tohum su, *R. discolor* ham meyve su ve *R. discolor* meyve su ekstrelerinde, pirokatekol bakımından ise *C. monogyna* meyve etanol ekstrelerinde tespit edilmiştir. Ayrıca ekstrelerin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olması onlardaki bileşiklerin de yüksek antioksidan aktiviteye sahip olacağını göstermez. Ekstrenin yüksek aktivitesi, ekstrelerde bulunan birden fazla maddenin beraberce etkisinden de kaynaklanabilir ve bileşiklerin ayrı ayrı antioksidan aktiviteleri gözlemlendiğinde aynı aktivite elde edilebilir.

Gıda endüstrisinde lipid oksidasyon inhibitörü olarak kullanılan bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve bütillenmiş hidroksianisol (BHA) gibi sentetik antioksidanların sağlığa zararlı etkilerinin belirlenmiş olması nedeniyle son yıllarda doğal antioksidanlar üzerindeki araştırmalar yoğunlaşmıştır (Chen ve ark., 1992).

Nickavar ve ark., (2006) yaptıkları çalışmada, altı (6) *Achillea* (*A. micrantha*, *A. filipendula*, *A. millefolium*, *A. tenuifolia*, *A. vermicularis* ve *A. wilhelmsii*) türünün etanol ekstrelerinin toplam fenolik içeriklerini ve serbest radikal temizleme aktivitesini incelemişler ve çalışma sonunda *A. micrantha* ve *A. millefolium*'un önemli seviyede serbest radikal temizleme aktivitesi gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Giorgi ve ark., (2009) iki farklı bölgeden topladıkları *Achillea collina* bitkisinin yaprak ve çiçeklerinin su ekstrelerinin DPPH radikali temizleme kapasitesi ve toplam fenolik bileşik miktarını tayin etmişlerdir. DPPH radikali temizleme kapasitesinin, çiçek ekstrelerinde yapraklardan daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Bu sonuç bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir. Çünkü bizim çalışmamızda *A. millefolium* bitkisinin çiçekleri, yapraklardan daha yüksek DPPH radikali temizleme kapasitesi göstermiştir (Tablo 3.3). Toplam fenolik bileşik miktarının ise yaprak ekstrelerinde daha yüksek (gallik asit üzerinden 49.00-49.36 mg/gram); çiçek ekstrelerinde ise daha düşük (gallik asit üzerinden 31.39-32.86 mg/gram) miktarda olduğunu saptamışlardır.

Adam ve ark., (2009) *Achillea millefolium* yapraklarını su/asetonitril (70/30) karışımında iki farklı yöntemle ekstrakte etmişler ve DPPH radikali temizleme kapasitesiyle toplam fenolik bileşik miktarını tayin etmişlerdir. Birinci tip ekstraksiyondan elde edilen ekstrelerin DPPH radikali temizleme kapasitesini % 17.82, toplam fenolik bileşik miktarını kuersetin üzerinden 64.5 mg/100 gram; ikinci tip ekstraksiyondan elde edilen ekstrelerin DPPH radikali temizleme kapasitesini ise % 18.31, toplam fenolik bileşik miktarını kuersetin üzerinden 58 mg/100 gram şeklinde saptamışlardır. Bu araştırmacıların yaptıkları çalışma sonuçlarının, bizim sonuçlarımızla karşılaştırıldığı zaman daha düşük olduğu görülmektedir. Sonuçlarımıza göre *A. millefolium* yapraklarının DPPH radikali temizleme kapasitesi su ekstresinde % 80.79, etanol ekstresinde % 88.31 olarak bulunmuşken (Tablo 3.3), toplam fenolik bileşik miktarı su ekstresinde 78 µg/g, etanol ekstresinde ise 128 µg/g olarak belirlenmiştir (Tablo 3.9).

Yapılan başka bir çalışmada *Achillea collina* bitkisi biri normal, diğeri azot yoksunu olmak üzere iki farklı toprakta yetiştirilmiş ve bu ortamlarda yetişen bitkilerin yaprak, çiçek ve köklerinin metanol ekstreleri hazırlanıp bu ekstrelerin DPPH radikali temizleme kapasitesi ve toplam fenolik bileşik miktarları saptanmıştır. Çalışma sonunda DPPH radikali temizleme kapasitesinin normal toprakta yetişen yaprak ve köklerde daha yüksek olduğu gözlenirken, azot yoksunu toprakta yetişen çiçek ekstrelerinin daha yüksek radikal temizleme kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Toplam fenolik bileşik miktarlarının

ise, azot yoksunu toprakta yetişen yaprak ve kök ekstralarında daha yüksek bulunurken (gallik asit üzerinden yaprakta 43.7 mg/gram, kökte 12.2 mg/g), normal toprakta daha düşük bulunmuştur (gallik asit üzerinden yaprakta 26.8 mg/g, kökte 4.5 mg/g). Çiçek ekstralarında ise tam tersi bir sonuç gözlenmiştir; normal şartlarda yetişen çiçeklerde 26.4 mg/g, azot yoksunu toprakta yetişen çiçeklerde ise 23.9 mg/g fenolik bileşik bulunmuştur (Giorgi ve ark., 2009b).

Candan ve ark., (2003) *Achillea millefolium* bitkisinin metanolik ekstraktının ve esansiyal yağlarının antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Ekstrelerin DPPH, hidroksil ve süperoksit radikali temizleme kapasitelerinin yüksek olduğunu tespit etmişler, fakat esansiyal yağların metanol ekstralarına oranla çok daha yüksek DPPH ve hidroksil radikali temizleme kapasitelerine sahip olduğunu, fakat hiç süperoksit radikali temizleme aktivitesi göstermediklerini belirlemişlerdir.

Potrich ve ark., (2010) ise *Achillea millefolium* bitkisinin etanol/su (80/20) ekstralarını elde etmiş ve DPPH radikali temizleme kapasitelerini incelemişlerdir. Araştırma sonucunda 300 µg/mL konsantrasyondaki bitki ekstresinin % 72 oranında DPPH radikali yok ettiğini saptamışlardır. Bizim çalışmamızda ise *A. millefolium* bitkisine ait DPPH radikali yok etme yüzdeleri 500 µg/mL konsantrasyondaki ekstralar için % 79.94-91.03 arasında değişmektedir (Tablo 3.3).

Kintzios ve ark., (2010) *Achillea millefolium* yapraklarının metanol ve su ekstralarının DPPH radikali yok etme kapasitesini incelemiş ve metanol ekstresinin % 83, su ekstresinin % 68 oranında DPPH radikali yok ettiğini tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise *A. millefolium* yapraklarının etanol ve su ekstralarının DPPH radikali temizleme kapasitesi incelenmiş ve etanol ekstresinin % 88.31, su ekstresinin % 80.79 oranında olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3.3). Bu sonuca bakarak *A. millefolium* yapraklarının etanol ekstresinin metanol ekstresine oranla daha iyi radikal temizleme kapasitesine sahip olduğunu söyleyebiliriz.

Vitalini ve ark., (2006) aralarında *Achillea distans* ve *Achillea moschata*'nın da bulunduğu bir grup bitkinin metanol ekstralarının toplam fenolik bileşik miktarlarını gallik asit üzerinden incelemiş ve *Achillea distans*'ın 110.42 mg/g, *Achillea moschata*'nın 88.12 mg/g oranında toplam fenolik bileşiğe sahip olduklarını tespit etmişlerdir.

Trumbeckaite ve ark., (2011) *Achillea millefolium* bitkisinin yaklaşık 10 cm uzunluğundaki en iyi çiçeklenme dönemindeki halini, bütün olarak toplayıp, kurutup su /etanol (60/40) ekstralarını elde etmişlerdir. Bu çalışmada DPPH radikali temizleme

kapasitesini HPLC cihazıyla ölçmüş ve rat kalp mitokondrilerinde H₂O₂ oluşumunu nasıl etkilediğini incelemişler yüksek oranda DPPH radikali temizleme kapasitesi, % 45 H₂O₂ oluşumunu inhibe etme oranına sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Froehlicher ve ark., (2009) *Crataegus monogyna* çiçeklerinin, kuru ve taze meyvelerinin, çiçeklenme bölgeleri ve farklılaşmamış dokularından üretilen kırmızı ve sarı hücre dizisi kısımlarının metanol/aseton/su ve etil asetat ekstresi olmak üzere iki farklı ekstresini hazırlamış ve bu ekstrelerin ABTS, DPPH radikalleri temizleme kapasiteleriyle toplam fenolik ve flavonoid bileşik miktarlarını belirlemişlerdir. Çalışma sonunda kırmızı hücre dizilerinin metanol/aseton/su ekstresinin yüksek DPPH ve ABTS radikali temizleme aktivitesi gösterdiğini ve en yüksek toplam fenolik bileşik miktarının (12333 mg/100 gram) bu ekstrede olduğunu saptamışlardır. Taze meyveler, kuru meyveler, çiçeklenme bölgeleri ve çiçeklerin metanol/aseton/su ekstrelerinin de yüksek DPPH ve ABTS radikali temizleme kapasitesine sahip olduğu gözlenmiştir. Toplam flavonoid içeriğinin ise en yüksek çiçek etil asetat ekstresinde bulunduğu belirlenirken metanol/aseton/su ekstrelerinde hiç flavonoid tespit edilememiştir.

Tadic ve ark., (2008) *Crataegus monogyna* ve *Crataegus oxycantha* meyvelerinin karışımının etanol ekstrelerini elde ettikten sonra bu ekstrelerin toplam fenolik bileşik, toplam flavonoid miktarları, DPPH radikali temizleme kapasitesi ve yetişkin erkek ratlar üzerinde anti-inflamatuar etkilerini incelemişlerdir. Çalışma sonunda toplam fenolik bileşik miktarını gallik asit üzerinden 35.4 mg/gram, flavonoid miktarını ise % 0.14 kuru meyve ağırlığı olarak saptamışlardır. Bu iki meyve karışımı ekstrelerinin DPPH radikali temizleme kapasitesinin yüksek olduğunu belirleyen araştırmacılar, bu ekstreleri 50, 100, 200 mg/kg dozlarında ratlara oral yolla verdiklerinde bu ratların pençelerindeki ödemi sırasıyla % 20.8, % 23 ve %36.3 oranında azalttıklarını tespit etmişlerdir.

Yapılan başka bir çalışmada aralarında *Achillea millefolium* çiçeklerinin ve *Crataegus monogyna* meyvelerinin de yer aldığı bir grup bitkinin su ekstrelerinin ABTS radikali yok etme kapasiteleri ve toplam fenolik bileşik miktarları tayin edilmiştir. Araştırma sonucunda *A. millefolium* çiçek su ekstrelerinin, *C. monogyna* meyve su ekstrelerinden daha yüksek ABTS radikali yok etme aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç bizim çalışma sonuçlarımızla paralellik göstermektedir. Çünkü bizim çalışmamızda *A. millefolium* çiçek su ekstresinin % 63.9, *C. monogyna* meyve su ekstresinin ise % 50.76 ABTS radikali yok etme kapasitesine sahip olduğu gözlenmiştir. Toplam fenolik bileşik miktarları -kuersetin üzerinden- bu çalışmada *C. monogyna* meyve

su ekstresinde, *A. millefolium* çiçek su ekstresinden çok daha yüksek miktarda iken, bizim çalışmamızda *A. millefolium* çiçek su ve *C. monogyna* meyve su ekstresinde hemen hemen aynı bulunmuştur (74 µg/mg, 72 µg/mg, sırasıyla) (Kiselova ve ark., 2006).

Chu ve ark., (2003) *Crataegus pinnatifida* bitkisine ait kuru meyvelerin su ekstraktlarının DPPH radikali temizleme kapasitesini incelemişler ve konsantrasyona bağlı olarak DPPH yok etme yüzdelerinin şu şekilde sıralandığını tespit etmişlerdir: 10 µg/mL % 21.22, 100 µg/mL % 48.47, 200 µg/mL % 63.54, 500 µg/mL % 90.19, 1000 µg/mL % 96.88. Bu sonuçlar, *C. pinnatifida* meyve su ekstresi bizim çalışmamızda kullanılan *C. monogyna* meyve su ekstresinden daha yüksek DPPH radikali temizleme kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir. Çünkü bizim çalışmamızda *C. monogyna* meyve su ekstresinin 500 µg/mL'lik konsantrasyonunun DPPH radikali temizleme kapasitesi % 87.22 bulunurken (Tablo 3.3), bu araştırmacılar *C. pinnatifida* meyve su ekstresinin 500 µg/mL'lik konsantrasyonunun DPPH radikali temizleme kapasitesini % 90.19 olarak tespit etmişlerdir.

Kirakosyan ve ark., (2003) *Crataegus monogyna* ve *Crataegus laevigata* bitkilerinin kuraklık ve soğuk stresine maruz bırakıldıkları zaman fenolik bileşik miktarlarının nasıl etkileneceğini incelemişlerdir. Çalışma sonunda *Crataegus monogyna* bitkisinde soğuk stresinin hemen hemen bütün fenolik bileşik miktarlarını arttırdığını, fakat ABTS radikali temizleme kapasitesini düşürdüğünü saptamışlardır.

Bahorun ve ark., (2003) *Crataegus monogyna* bitkisinin kallus adı verilen farklılaşmamış dokularını önce aseton/su (70/30) karışımında, daha sonra metanolde ekstrakte edip bu ekstraktların ABTS radikali temizleme kapasitesi, FRAP testi, toplam fenolik bileşik, toplam proanthocyanidin, toplam anthocyanin ve toplam flavonoid içeriğini belirlemişlerdir. Araştırma sonunda, kallus kültürlerinin gelişimi sürdükçe toplam fenolik, proanthocyanidin, anthocyanin ve flavonoid miktarının yükseldiği ve buna bağlı olarak da ABTS ve FRAP aktivitesinin de arttığı belirlenmiştir. Ancak bu artış 35. günden sonra azalmaya başlamış ve deney 45. günde sonuçlandırılmıştır. Bu sonuçlar bizim çalışma sonuçlarımızla paralellik göstermektedir. Çünkü bizim sonuçlarımızda da toplam fenolik bileşik miktarları arttıkça antioksidan kapasiteyi belirleyen diğer testlerin sonuçları da yüksek çıkmaktadır.

Liu ve ark., (2010a) *Crataegus pinnatifida* meyvelerinin tohumları çıkarıldıktan sonra mikrodalga ışınları altında etanol ekstraktlarını elde edip bu ekstraktların toplam fenolik bileşik, DPPH radikali, hidroksil radikali, süperoksit radikali, lipid peroksidasyon ve

indirgeme kuvveti testlerini gerçekleştirmişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre ekstrelerin toplam fenolik bileşik miktarı 96.9 mg/g gallik asit, DPPH radikali yok etme kapasitesi 200 µg/mL için % 87.8, hidroksil radikali yok etme kapasitesi 500 µg/mL için %90.8, süperoksit radikali yok etme kapasitesi 4000 µg/mL için % 49.8, lipid peroksidasyonu inhibe etme aktivitesi 200 µg/mL için % 72 olarak tespit edilmiştir. İndirgeme kuvveti tayini sonuçları ise ekstrenin konsantrasyonuna bağlı olarak doğru orantıyla artmış ve 5 µg/mL için 0.115, 10 µg/mL için 0.146, 50 µg/mL için 0.405, 100 µg/mL için 0.613 ve 500 µg/mL için 1.575 absorbans gözlenmiştir. Bu araştırmacıların yaptığı çalışma sonuçlarının bazıları bizim sonuçlarımızdan yüksek, bazıları ise düşüktür. Örneğin, bu çalışmada DPPH radikali temizleme kapasitesi ve indirgeme kuvveti tayini *C. pinnatifida* meyvesinde, bizim çalışmamızdaki *C. monogyna* meyvesinden daha yüksek bulunmuştur. Fakat süperoksit radikali temizleme kapasitesi, bizim çalışmamızda daha düşük konsantrasyondaki meyve ekstresi (100 µg/mL) yüzde olarak daha yüksek (% 87.83) süperoksit radikali temizlemiştir (Tablo 3.5 ve Tablo 3.6).

Yapılan başka bir çalışmada ise aralarında *Crataegus monogyna*'nın da yer aldığı doğal ortamda yetişen birkaç bitkinin meyvesinin su, etanol ve metanol ekstreleri elde edilerek bu ekstrelerin toplam fenolik bileşik miktarı, DPPH ve ABTS radikali temizleme kapasiteleri belirlenmiştir. Çalışma sonunda, toplam fenolik bileşik miktarları su ekstresinde 450 mg/100 g gallik asit, metanol ekstresinde 600 mg/100g, etanol ekstresinde ise 2068 mg/100g bulunmuştur. Bu sonuçlar, bizim çalışma sonuçlarımızdan farklılık göstermektedir. Çünkü bizim çalışmamızda *C. monogyna* meyvelerinin su ekstresinin etanol ekstresiyle hemen hemen eşit miktarda kuersetin ve pirokatekol ihtiva ettiği saptanmıştır (Tablo 3.9). Bu araştırmacıların yaptığı çalışmada DPPH radikali yok etme kapasitesi en düşük su ekstresinde, en yüksek etanol ekstresinde gözlenirken, bizim çalışmamızda *C. monogyna* meyve su ve etanol ekstreleri arasında DPPH radikali yok etme kapasitesi bakımından çok büyük farklar gözlenmemiştir (% 87.22, % 88.22, sırasıyla). ABTS radikali yok etme kapasitesi bu bilim adamları tarafından en düşük meyve su ekstresinde, en yüksek metanol ekstresinde saptanmıştır. Yine bu meyvelerin TBARS inhibe etme yüzdesi, bu inhibisyon testinde standart kabul edilen heksanal ile karşılaştırılmış ve heksanalın TBARS inhibisyonu % 91 olarak tespit edilirken, *C. monogyna* meyvelerinin TBARS inhibisyonu % 85 olarak saptanmıştır (Ganhao ve ark., 2010).

Li ve ark., (2010) *Crataegus pinnatifida* (CB) ve *Crataegus pinnatifida typica* (CBS) meyvelerinin metanol ekstrelerini elde edip bu ekstrelerin toplam fenolik, toplam flavonoid, toplam antioksidan, DPPH, süperoksit radikalleri temizleme aktivitesi ve indirgeme kuvveti tayini testlerini gerçekleştirmişlerdir. Çalışma sonunda, toplam fenolik bileşik miktarı tannik asit üzerinden CBS’de 54.33 mg/g, CB’de 101.56 mg/g; toplam flavonoid bileşik miktarı kateşin üzerinden CBS’de 11.25 mg/g, CB’de 44.52 mg/g; toplam antioksidan aktivite BHT üzerinden CBS’de 23.72 mg/g, CB’de 119.81 mg/g; DPPH radikali temizleme kapasitesi α -tokoferol üzerinden CBS’de 34.50 mg/g, CB’de 62.75 mg/g; süperoksit radikali temizleme kapasitesi gallik asit üzerinden CBS’de 58.95 mg/g, CB’de 166.36 mg/g; indirgeme kuvveti tayini sonuçları ise 200 μ g/mL’lik bitki ekstreleri için absorbans olarak CBS’de 0.29, CB’de 0.55 şeklinde tespit edilmiştir. Bu sonuçlar yapılan bütün testlerde *Crataegus pinnatifida* meyvelerinin metanol ekstresinin, *Crataegus pinnatifida typica* meyvelerinin metanol ekstresinden daha yüksek aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir.

Egea ve ark., (2010) *Crataegus monogyna* (CM), *Crataegus azarolus* (CA) ve *Rubus ulmifolius* (RU) türlerini de içeren bir grup bitkinin meyvelerinin fosfat tamponunda ekstrelerini elde ederek çeşitli antioksidan testler gerçekleştirmişlerdir. Hidroksil radikali yok etme kapasiteleri reaksiyon ortamında askorbat varlığında CM % 81.04, CA % 78.61, RU % 64.64 oranında, askorbat olmayan reaksiyon ortamında ise CM % 73.27, CA % 75.30 ve RU % 12.08 oranında tespit edilmiştir. H_2O_2 yok etme kapasiteleri ise CM için % 86.39, CA için % 12.90 ve RU için % 78.21 olarak belirlenmiştir. Toplam fenolik bileşik miktarları ise gallik asit üzerinden şu şekilde saptanmıştır: CM için 216.61 mg/100 g, CA için 379.16 mg/100 g, RU için 297.39 mg/100 g. Bu çalışmadaki H_2O_2 yok etme kapasiteleri bizim çalışmamızla karşılaştırıldığı zaman *C. monogyna* için çok yüksek bulunmuştur. Çünkü bizim çalışmamızda *C. monogyna* meyvelerinin H_2O_2 yok etme kapasiteleri % 15-16 civarında iken bu araştırmacılar tarafından gerçekleştirilen bu çalışmada % 86.39 olarak tespit edilmiştir. *Rubus* türü için H_2O_2 yok etme kapasitesi bizim çalışmamızda *Rubus discolor* meyve su ekstresinde % 7.88, meyve etanol ekstresinde % 17.69 bulunmuşken, bu çalışmada *Rubus ulmifolius* meyvesinde % 78.21 gibi çok yüksek oranda bulunmuştur.

Pande ve Akoh (2010) yapmış oldukları çalışmada aralarında *Crataegus sp.*’nin de yer aldığı birkaç bitkinin yaprak, meyve ve tohumlarının lipofilik (heksan/etanol) ve hidrofilik (aseton/su/asetik asit) ekstrelerini elde edip bu ekstrelerin toplam polifenol

içerikleriyle, FRAP ve ABTS testlerini gerçekleştirmişlerdir. Toplam fenolik bileşik miktarı hidrofilik tohum ekstresinde 82.9 mg gallik asit/100 gram, lipofilik tohum ekstresinde 32 mg/100 g, hidrofilik meyve ve kabuk ekstresinde 120 mg/100 g, lipofilik meyve ve kabuk ekstresinde 15.8 mg/100 g, hidrofilik bütün meyve ekstresinde 125 mg/100 g, lipofilik bütün meyve ekstresinde 17.1 mg/100 g, hidrofilik yaprak ekstresinde 148 mg/100 g, lipofilik yaprak ekstresinde ise 27.6 mg/100 g olarak saptanmıştır. Hidrofilik ekstrelerin FRAP testinde en yüksek sonuçlar yaprak ekstresinde gözlenirken, en düşük sonuçlar tohum ekstresinde; lipofilik ekstrelerin FRAP testinde en yüksek sonuçlar tohum ve yaprak ekstresinde, en düşük sonuçlar meyve ve kabuk ekstresinde gözlenmiştir. Hidrofilik ekstrelerin ABTS testinde ise en yüksek sonuçlar yaprak ekstresinde, en düşük sonuçlar tohum ekstresinde; lipofilik ekstrelerin ABTS testinde en yüksek sonuçlar tohum ekstresinde, en düşük sonuçlar meyve ve kabuk ekstresinde gözlenmiştir.

Liu ve ark., (2010b) yapmış oldukları başka bir çalışmada *Crataegus pinnatifida* bitkisinin procyanidinlerini ekstrakte edip hidroksil radikali ve süperoksit radikali giderme aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışma sonunda ekstrelerin hidroksil radikali giderme aktivitesini % 92.2, süperoksit radikali giderme aktivitesini ise yaklaşık % 90 olarak belirlemişlerdir.

Barros ve ark., (2011) *Crataegus monogyna* bitkisinin tomurcuk çiçek, çiçek, ham meyve, meyve ve olgun meyvelerinin petrol eteri ekstrelerini elde etmiş ve bu ekstrelerin karbohidrat, protein, yağ, şeker ve enerji miktarlarını, yağ asitleri kompozisyonunu, tokoferol, askorbik asit ve karoten miktarlarını ve toplam fenolik, toplam flavonoid içerikleri ile DPPH radikali yok etme aktiviteleri ve indirgeme kuvvetini saptamışlardır. Çalışma sonunda besin miktarları ve enerji değerlerinin yer aldığı Tablo 4.1’de de görüldüğü gibi; en yüksek nem miktarı ham meyve ekstresinde, en yüksek karbohidrat miktarı olgun meyve ekstresinde, en yüksek protein miktarı tomurcuk çiçek ekstresinde, en yüksek lipid miktarı çiçek ekstresinde, en yüksek enerji miktarı ham meyve ekstresinde, en yüksek fruktoz ve glukoz miktarları olgun meyve ekstresinde, en yüksek sükroz miktarı çiçek ekstresinde, en yüksek trehaloz miktarı tomurcuk çiçek ekstresinde, en yüksek toplam şeker miktarı ise olgun meyve ekstresinde gözlenmiştir.

Tablo 4.1. *Crataegus monogyna* petrol eteri ekstresinin besin ve enerji miktarları (Barros ve ark., 2011)

Tayin Edilen Parametre (g/100g)	Tomurcuk Çiçek	Çiçek	Ham Meyve	Meyve	Olgun Meyve
Nem	70.68	69.83	76.81	60.00	59.76
Karbohidrat	75.71	77.42	91.24	91.99	92.75
Proteinler	15.18	11.75	5.57	3.97	3.40
Yağlar	2.33	3.57	0.80	0.83	0.60
Enerji	384.53	388.84	394.43	391.32	389.98
Fruktoz	2.17	3.44	0.29	7.24	10.16
Glukoz	7.54	7.91	1.48	33.39	44.44
Sükroz	1.19	2.02	0.36	0.14	0.66
Trehaloz	0.48	0.11	0.08	0.25	0.36
Toplam Şekerler	11.38	13.48	2.21	41.03	56.07

Aynı çalışmada *Crataegus monogyna* bitki kısımlarının petrol eteri ekstraktlarının yağ asitleri kompozisyonuna bakıldığında en yüksek palmitik asit ve stearik miktarı sırasıyla % 15.52 ve % 2.96 ile olgun meyve ekstresinde, en yüksek oleik asit miktarı % 13.92 ile meyve ekstresinde, en yüksek linoleik asit miktarı % 58.48 ile ham meyve ekstresinde, en yüksek linolenik asit miktarı % 29.51 ile çiçek ekstresinde, en yüksek total doymuş yağ asitleri miktarı % 62.93 ile olgun meyve ekstresinde, en yüksek doymamış yağ asitleri miktarı ise % 75.05 ile ham meyve ekstresinde belirlenmiştir. Araştırmacılar bu bitkinin vitamin düzeylerini de incelemiş ve α - tokoferol miktarının 113.42 mg/100 gram ile en fazla meyve ekstresinde, β - tokoferol miktarının 4.27 mg/100 gram ile en fazla çiçek ekstresinde, γ - tokoferol miktarının 22.76 mg/100 gram ile en fazla çiçek ekstresinde, δ - tokoferol miktarının 22.73 mg/100 gram ile en fazla çiçek ekstresinde, toplam tokoferol miktarının 159.84 mg/100 gram ile en fazla çiçek ekstresinde, askorbik asit miktarının 408.37 mg/100 gram ile en fazla çiçek ekstresinde, β -karoten miktarının 94.15 mg/100 gram ile en fazla olgun meyve ekstresinde olduğunu belirlemişlerdir.

Aynı çalışmada toplam fenolik bileşik miktarı ise tomurcuk çiçek ekstresinde 275.25 mg gallik asit/gram, çiçek ekstresinde 330.32 mg/g, ham meyve ekstresinde 701.65 mg/g, meyve ekstresinde 274.27 mg/g, olgun meyve ekstresinde ise 247.03 mg/g olarak tespit edilmiştir. Ekstrelerin toplam flavonoid bileşik miktarı kateşin üzerinden tomurcuk çiçek

ekstresinde 106.84 mg/g, çiçek ekstresinde 103.78 mg/g, ham meyve ekstresinde 436.34 mg/g, meyve ekstresinde 21.70 mg/g, olgun meyve ekstresinde ise 22.26 mg/g olarak saptanmıştır. DPPH radikali temizleme aktivitesi, indirgeme kuvveti ve TBARS inhibisyon kapasitesi ise en yüksek ham meyve ekstresinde gözlenmiştir. Toplam fenolik ve flavonoid içeriği de çok yüksek çıkan ham meyve ekstresi, fenolik ve flavonoid içeriğinin antioksidan kapasiteyi arttırdığının bir kanıtı olabilir.

Jung ve ark., (2009) *Rubus coreanus* bitkisinin meyveleri ve bu meyvelerden elde edilen iki farklı kırmızı şarap türünün DPPH radikali yok etme kapasitesini incelemişlerdir. Çalışma sonunda 500 ve 1000 µg/mL’lik böğürtlen ekstrelerinin DPPH radikali yok etme kapasitelerini sırasıyla % 59 ve % 79 olarak hesaplamışlardır. Kırmızı şarapların 500 µg/mL’lik ekstrelerinin DPPH yok etme yüzdeleri ise sırasıyla % 19 ve % 48 olarak belirlenmiştir. Bu çalışmadaki *R. coreanus* meyve ekstresinin DPPH radikali temizleme kapasitesi 500 µg/mL’lik meyve ekstresinde % 59 bulunmuşken, bizim çalışmamızda *R. discolor* meyve etanol ekstresinin 500 µg/mL’lik örneğinde % 89.03 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuca bakarak *R. discolor* meyvelerinin *R. coreanus* meyvelerinden daha yüksek DPPH radikali temizleme kapasitesine sahip olduğu söylenebilir.

Martini ve ark., (2009) yaptıkları çalışmada *Rubus ulmifolius* bitkisinin yapraklarının su ekstresini elde edip, toplam fenolik bileşik içeriğinin ABTS radikali temizleme kapasitelerini incelemişlerdir. Çalışma sonunda ABTS radikalini inhibe etme yüzdeleri; gallik asit % 3.26, ellagik asit % 10.68, ferulik asit % 6.03, kafeik asit % 0.00, rutin % 7.15, kuersetin 3-*O*-β-D-glukopiranozid % 4.00, kuersetin % 0.00 ve kaempferol % 0.60 şeklinde tespit edilmiştir.

Garzon ve ark., (2009) *Rubus glaucus* bitkisinin meyvelerinin toplam fenolik içeriğini ve ABTS ile FRAP testlerini gerçekleştirmişlerdir. Çalışma sonunda toplam fenolik bileşik miktarını gallik asit üzerinden 294 mg/100 g olarak tespit ederken, ABTS radikali temizleme ve FRAP aktivitesinin yüksek olduğunu saptamışlardır.

Yapılan bir çalışmada aralarında *Rubus idaeus* ve *Rubus fruticosus* meyvelerinin de bulunduğu birkaç bitki türünün renkli meyvelerinin antosiyanin miktarları ve DPPH radikali temizleme kapasiteleri incelenmiştir. Analiz sonunda *Rubus idaeus* meyvesinde 14.9 mg/kg kateşin, 22.7 mg/kg ellagik asit, 18.1 mg/kg epikateşin, 0.3 mg/kg kuersetin; *Rubus fruticosus* meyvesinde 19.5 mg/kg ellagik asit, 1.9 mg/kg kateşin, 24.6 mg/kg epikateşin, 16.0 mg/kg rutin, 1.8 mg/kg kuersetin tespit edilmiştir. Antosiyaninlerin ve flavonol ile fenolik asit karışımının ayrı ayrı DPPH radikali temizleme kapasitesi

incelenmiş ve sonuçta antosiyaninlerin her iki bitki meyvesinde de aynı oranda DPPH radikali yok ettiğini, flavonol ve fenolik asit karışımında ise *Rubus fruticosus* meyvesinin daha yüksek oranda DPPH radikali yok ettiği anlaşılmıştır (Jakobek ve ark., 2009).

Ju ve ark., (2009) *Rubus coreanus* bitkisinin meyvelerini fermente ettikten sonra fenolik bileşiklerini karakterize edip, DPPH radikali temizleme kapasitelerini incelemişlerdir. Çalışma sonunda fermente edilen meyvelerin, fermente edilmeyen doğal meyvelere oranla çok daha yüksek fenolik bileşik miktarına sahip olduğu ve daha yüksek oranda DPPH radikali temizlediği belirlenmiştir.

Khanizadeh ve ark., (2009) *Rubus idaeus* bitkisinin 8 farklı genotipinin meyvelerinin toplam fenolik bileşik miktarı ile FRAP aktivitesini incelemişler ve çalışma sonunda *R. idaeus* bitkisine ait farklı genotiplerin meyvelerinin yüksek oranda fenolik bileşik miktarına ve yüksek FRAP aktivitesine sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Michalczyk ve ark., (2009) aralarında *Rubus idaeus* meyvelerinin de bulunduğu birkaç bitkinin meyvelerinin 40 °C’de havada kurutulması ve dondurarak -23 °C’de kurutulmasının ardından metanol ekstratlarını elde etmişlerdir. Araştırmacılar daha sonra meyvelerin bu kurutulma şekillerine bağlı olarak toplam polifenol içeriğinin ve antioksidan aktivitelerinin nasıl değiştiğini incelemişlerdir. Çalışma sonunda havada kurutulan *R. idaeus* meyvelerinde polifenol içeriği daha yüksek olmasına rağmen antioksidan aktivite dondurularak kurutulan meyve ekstratlarında daha yüksek bulunmuştur.

Wang ve ark., (2009) yapmış olduğu çalışmada *Rubus idaeus* bitkisinin meyvelerinin olgunlaşma yüzdeleri sırasıyla 5, 20, 50, 80 ve 100 olduğunda toplayıp, bu meyvelerin toplam fenolik bileşik miktarları ve DPPH radikali temizleme kapasitelerini belirlemişlerdir. Çalışma sonunda, en yüksek DPPH radikali giderme aktivitesi % 50 oranında olgunlaşan meyvelerde, en düşük DPPH radikali giderme aktivitesi ise % 5 oranında olgunlaşan meyvelerde gözlenmiştir. Toplam fenolik bileşik sonuçlarına göre meyvelerin olgunlaşma yüzdeleri arttıkça fenolik içeriğin azalmakta olduğu belirlenmiştir. Sırasıyla, gallik asit üzerinden fenolik bileşik miktarları; % 5 olgunlaşmış meyvede 800 mg/100 g, % 20 olgunlaşmış meyvede 580 mg/100 g, % 50 olgunlaşmış meyvede 410 mg/100 g, % 80 olgunlaşmış meyvede 390 mg/100 g, % 100 olgunlaşmış meyvede ise 365 mg/100 g şeklinde sıralanmaktadır. Bu çalışmanın sonuçları, toplam fenolik bileşik miktarının artmasıyla radikal temizleme kapasitesinin de arttığı şeklindeki birçok çalışma sonuçlarıyla çelişmektedir.

Ku ve Mun (2008) *Rubus coreanus* bitkisinin tohumlarının etanol ekstralarının ve bu tohumlardan elde edilen şarapların antioksidan kapasitesini incelemişlerdir. Çalışma sonunda DPPH radikali, süperoksit radikali ve H₂O₂ temizleme kapasiteleri her iki ekstrenin de % 90'ın üzerinde olduğu belirlenirken, şarap ekstresinin taze ekstrede daha yüksek DPPH radikali temizleme kapasitesine sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları bizim çalışma sonuçlarımızla paralellik göstermektedir. Çünkü bizim çalışmamızda *R. discolor* bitkisine ait ekstraların DPPH radikali, süperoksit radikali ve H₂O₂ temizleme kapasiteleri çok yüksek bulunmuş ve çalışmamızda kullanılan *C. monogyna* ve *A. millefolium* bitkilerinden çok daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Ogawa ve ark., (2008) aralarında *Rubus fruticosus* ve *Rubus idaeus*'un da bulunduğu 10 farklı bitkinin meyvelerini taze iken toplayıp, dondurarak kurutmuş daha sonra toz halinde saklanmış ekstralarının antioksidan kapasitelerini incelemişlerdir. Çalışma sonunda *R. fruticosus* meyvelerinin DPPH radikali temizleme kapasitesi % 51, ABTS radikali yok etme kapasitesi % 26, FRAP aktivitesi ise 124 mg troloks/mL; *R. idaeus* meyvelerinin DPPH radikali temizleme kapasitesi % 46, ABTS radikali yok etme kapasitesi % 23, FRAP aktivitesi ise 94 mg/mL olarak tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda *R. discolor* bitkisine ait meyve ekstralarının ABTS radikalleri temizleme kapasiteleri bu araştırmacıların çalışma sonuçlarıyla benzer özellikler göstermektedir. Bizim çalışmamızda *R. discolor* meyve su ekstralarının ABTS radikali temizleme kapasitesi % 24.64, etanol ekstralarının % 64 olarak gözlenmiştir. DPPH radikali yok etme aktivitesi ise *R. discolor* meyve su ekstresinde % 43.47, meyve etanol ekstresinde % 89.03 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara bakarak *R. discolor* meyvesinin *R. fruticosus* ve *R. idaeus* meyvelerinden daha yüksek radikal giderici aktiviteye sahip olduğu söylenebilir.

Kafkas ve ark., (2008) yapmış oldukları çalışmada *Rubus idaeus* bitkisinin 7 farklı genotipine ait meyvelerin toplam fenolik, toplam şeker, toplam yağ asidi ve ABTS radikali temizleme kapasitelerini incelemişlerdir. Çalışma sonunda farklı genotipteki meyvelerin toplam fenolik miktarı gallik asit üzerinden 748.7-1246.9 µg/g arasında, ABTS yok etme kapasitesi 17.9-32.7 µmol troloks/g arasında değişkenlik gösterirken, bütün genotiplerde 18:1 n9, 18:2 n6 18:3 n3 yağ asitlerinin toplam yağ asitlerinin yaklaşık % 90'ını oluşturmakta olduğu belirlenmiştir. Şeker oranlarının ise sükroz 7.46-13.12 g/kg, glukoz 21.15-27.72 g/kg, fruktoz 25.09-34.95 g/kg, toplam şeker miktarı ise 56.32-78.82 g/kg arasında değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada *Rubus sp.* türlerine ait meyvelerin aseton ekstraktlarının toplam fenolik bileşik miktarları tespit edilip, bu meyvelerin insan kanser hücreleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Çalışma sonunda meyvelerin toplam fenolik bileşik miktarlarının 180.2-317.2 mg gallik asit/g arasında değiştiği belirlenmiştir. Yine çalışma sonunda ekstraktların insan kanser hücrelerinde hücre proliferasyonun ve apoptozisi azalttığı tespit edilmiştir (Wang ve ark., 2008).

Dall'Acqua ve ark., (2008) *Rubus ulmifolius* bitkisinin metanol ekstraktlarının ABTS, DPPH radikali temizleme kapasiteleri ve toplam fenolik bileşik miktarlarını tayin etmişlerdir. Çalışma sonunda *R. ulmifolius* bitki ekstraktlarının yüksek oranda ABTS ve DPPH radikali temizleme kapasitesi gösterdiklerini tespit ederken, gallik asit üzerinden 2.76 mg/L toplam fenolik bileşik miktarına sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Luther ve ark., (2007) *Rubus occidentalis* bitkisinin tohumlarının etanol ekstraktlarının DPPH radikali temizleme kapasitesi ve toplam fenolik bileşik miktarlarını tespit etmişlerdir. Araştırma sonunda *R. occidentalis* tohum etanol ekstraktlarının yaklaşık % 90 oranında DPPH radikalini giderdiği ve 11.8 mg/g gallik asit üzerinden toplam fenolik içeriğe sahip olduğu belirlenmiştir.

Pantelidis ve ark., (2007) yaptıkları bir çalışmada aralarında *Rubus idaeus* ve *Rubus fruticosus* bitkilerinin de bulunduğu birkaç bitki meyvelerinin askorbik asit, toplam fenolik bileşik miktarı, FRAP aktivitesi ve hidroksil radikali yok etme kapasitelerini incelemişlerdir. Çalışma sonunda askorbik asit miktarının *R. idaeus* meyvelerinde 16.8-37.7 mg/100 g arasında, *R. fruticosus* meyvelerinde 14.3-17.5 mg/100g arasında değişkenlik gösterdiği ve *R. fruticosus* meyvelerinde daha az miktarda olduğu belirlenmiştir. Toplam fenolik bileşik miktarları ise gallik asit üzerinden *R. idaeus* meyvelerinde 1052-2494 mg/100 g arasında, *R. fruticosus* meyvelerinde 1703-2349 mg/100 g arasında değişim göstermektedir. FRAP aktivitelerinin askorbik asit üzerinden *R. idaeus* meyvelerinde 77.7-145.4 μ mol/g arasında, *R. fruticosus* meyvelerinde ise 113.6-169 μ mol/g arasında değiştiği gözlenmiştir. Hidroksil radikali yok etme kapasitelerinin ise *R. idaeus* meyvelerinde %57.1-92.2 aralığında, *R. fruticosus* meyvelerinde ise %95.9-98.9 aralığında değişmekte olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarının göstermiş olduğu gibi toplam fenolik ve askorbik asit gibi bitkide antioksidan bileşikler olarak kabul edilen maddelerin miktarı ile antioksidan kapasite arasında doğru bir orantının olduğu rahatlıkla söylenebilir.

Motamed ve Naghibi (2010) yapmış oldukları bir çalışmada aralarında *Rubus sanctus* türünün de yer aldığı birkaç bitkinin meyvelerinin metanol/su (8/2) ekstralarının toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid miktarı, DPPH radikali temizleme kapasitesi, ksantin oksidaz inhibisyonu, lipid peroksidasyonun inhibisyonu (toplam antioksidan aktivite) ve deoksiriboz inhibisyonunu incelemişlerdir. Araştırma sonunda ekstraların DPPH radikali temizleme kapasitesi % 83.27, ksantin oksidaz inhibisyonu % 5.38, toplam fenolik bileşik miktarı gallik asit üzerinden 4.52 mg/g, toplam flavonoid miktarı rutin üzerinden 4.66 mg/g olarak saptanmıştır. Ekstrelerin lipid peroksidasyon inhibisyonunun % 4.38, deoksiriboz inhibisyonunun ise yaklaşık % 45 civarında olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre bizim çalışmamızda kullanılan *R. discolor* meyve etanol ekstresinin DPPH radikali temizleme kapasitesi (% 89.03), *R. sanctus* meyve metanol/su ekstresinden (% 83.27) daha yüksek bulunmuştur.

Serteser ve ark., (2008) yapmış oldukları bir çalışmada aralarında *Crataegus tanacetifolia* (CT), *Crataegus bornmuelleri* (CB), *Crataegus orientalis* (CO), *Crataegus szovitsii* (CS), *Crataegus curvisepala* (CC), *Crataegus monogyna* subsp. *monogyna* (CMM), *Crataegus monogyna* subsp. *azarella* (CMA), *Crataegus microphylla* (CMi), *Rubus discolor* (RD), *Rubus canescens* (RCC), *Rubus sanctus* (RS) ve *Rubus caesius* (RC) bitkilerinin de yer aldığı bir grup bitkinin su/metanol (1:1) ekstralarının DPPH radikali temizleme kapasitesi, metal şelatlama aktivitesi, H₂O₂ giderme aktivitesini belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda *Crataegus* türlerinde en yüksek DPPH giderme aktivitesi CMi ekstresinde gözlenirken, *Rubus* türlerinde RCC ekstresinde gözlenmiştir. Metal şelatlama aktivitesi sonuçları, *Crataegus* türlerinde CT % 36.45, CB % 28.41, CO % 32.74, CS % 35.26, CC % 38.26, CMM % 37.52, CMA % 38.05, CMi % 32.86 şeklinde sıralanırken en yüksek CC ekstresinde; *Rubus* türlerinde metal şelatlama aktivitesi RD % 52.47, RCC % 53.41, RS % 50.14, RC % 51.36 şeklinde sıralanmış ve en yüksek RCC ekstresinde gözlenmiştir. H₂O₂ giderme aktiviteleri *Crataegus* türlerinde CT % 20.26, CB % 18.65, CO % 22.54, CS % 23.14, CC % 17.65, CMM % 25.32, CMA % 21.32, CMi % 24.62 şeklinde sıralanırken en yüksek CMM ekstresinde; *Rubus* türlerinde H₂O₂ giderme aktiviteleri RD % 44.26, RCC % 42.65, RS % 38.54, RC % 40.25 şeklinde sıralanmış ve en yüksek RD ekstresinde gözlenmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre metal şelatlama yüzdeleri bizim çalışmamızdaki *C. monogyna* bitki kısımlarına ait ekstraların sonuçlarıyla (%23.52-57.17) ve *R. discolor* bitki kısımlarına ait ekstraların sonuçlarıyla (% 6.7-54.58) benzerlik göstermektedir. H₂O₂ giderme aktiviteleri ise bizim çalışmamızda

kullanılan *C. monogyna* bitki kısımlarına ait ekstrelerde birbirine yakın değerlerde (% 15.44-30.13) ve *R. discolor* bitki kısımlarına ait ekstrelerde çok daha yüksek miktarlarda (% 7.88-100) bulunmuştur.

4.2. *In vivo* Ortamda Bitki Ekstraktının Etkisi

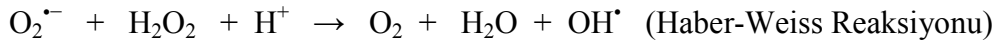
Çalışmamızda üç farklı bitkinin farklı kısımlarının su ve etanol ekstrelerinin antioksidan aktivileri, farklı metodlarla incelenmiş ve yapılan antioksidan aktivite testlerinin sonuçlarına göre en fazla antioksidan aktivite gösteren bitkinin *Rubus discolor* türünün çiçeklerinin olduğuna karar verilmiştir. Bu nedenle de yaptığımız *in vivo* deneylerde *R. discolor*'un çiçeklerinin ekstresinin kullanılması uygun bulunmuştur. Etanolün ratlarda oluşturabileceği depresyon (doza bağımlı), duyarsızlık, anestezi, narkoz, koma, solunum yetmezliği ve ölüm, asidoz, elektrolit bozuklukları, göz ile üst hava yolları irritasyonu gibi daha birçok endikasyonları nedeniyle ekstraksiyon işleminin su ile yapılması yani *R. discolor*'un çiçeklerinin su ekstresinin ratlara verilmesi uygun görülmüştür.

Bu çalışmada kullandığımız *R. discolor* çiçek su ekstresinin Wistar ratlarda farklı dokularda farklı parametreler üzerinde etkili olduğu gözlemlenmiştir. Bu bitkinin H₂O₂ tarafından oksidatif strese maruz kalan dokularda lipid peroksidasyonu (LPO) önlemedeki etkileri MDA-TBA düzeyleri belirlenmek suretiyle öncelikli olarak araştırılmıştır. Araştırma sonucunda *R. discolor* ekstresinin kas, böbrek, kalp, karaciğer, akciğer, dalak ve beyin dokusunda meydana gelen LPO'ya karşı koruyucu veya düşürücü etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Bu azaltıcı veya koruyucu etkinin bitkinin fitokimyasal içeriğine bağlı olduğu söylenebilir. Bununla beraber *R. discolor* ekstresinin LPO üzerindeki bu olumlu etkilerinin yanı sıra dokulardaki glutatyon ve toplam protein düzeyleri üzerindeki etkileri de araştırılmıştır. Çalışma sonuçlarımıza göre akciğer ve dalak GSH seviyesi hariç geriye kalan diğer tüm dokularda bitki ekstresinin GSH seviyesinde olumlu etki gösterdiği anlaşılmıştır. Toplam protein seviyeleri ise akciğer ve kas dokusu hariç geriye kalan bütün dokularda *R. discolor* ekstresi verilen RD ve RD+HP gruplarında ya korunmuş ya da artmıştır. Bu sonuçlar, kullanılan ekstrenin dokulardaki LPO seviyesi üzerinde göstermiş olduğu etki ile paralellik göstermekte olup çalışmamızda kullandığımız bitki türünün LPO'yu önleme özelliklerinin yanında antioksidan moleküllerin aktiviteleri üzerinde de olumlu etkilere sahip olduklarını göstermektedir. GSH ve toplam protein seviyeleri

üzerinde dalak GSH seviyesi dışında bütün dokularda yalnızca H₂O₂ uygulanan grupta olumsuz yani kontrole göre düşürücü etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Bilindiği üzere H₂O₂ bir serbest radikal değildir. Membranı baştan sona geçebilir ve membrandaki birçok bileşiği de oksitleyebilir.

H₂O₂, süperoksit dismutaz ve diğer birçok enzim tarafından *in vivo* olarak meydana getirilebilir. H₂O₂, mikromolar düzeyde daha az reaktiftir fakat yüksek düzeyde birçok selüler enerji üretim sistemlerine saldırabilmektedir. Örneğin bir glikolitik enzim olan gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz enzimini inaktive edebilmektedir. H₂O₂ aynı zamanda geçiş metal iyonlarının varlığında hidroksil radikallerini de oluşturabilmektedir. Ayrıca oksijenin meydana geldiği bu reaksiyonu hızlandırmaktadır.

Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri (ROS) kapsamına girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü Fe⁺² veya diğer geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu sonucu, süperoksit radikalının (O₂^{•-}) varlığında ise Haber-Weiss reaksiyonu sonucu en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali (OH[•]) oluşturur (Gülçin, 2002).



Yukarıda anlatılan özelliklere sahip olan H₂O₂ bizim çalışmamızda da buna benzer etkiler gösterip, dokularda LPO oluşumunu artırıp, GSH ve toplam protein düzeylerini olumsuz yönde etkilemiş olabilir.

Bu sonuçlarımızı destekleyen bitkisel kaynaklı çoğu araştırmada da deneysel aşamada kullandığımıza benzer dokular üzerinde oluşturulan oksidatif strese karşı fitokimyasalların koruyucu özelliklerinin yanında antioksidan moleküllerin aktivitesini artırıcı yönde etkileri oldukları ortaya konmuştur. Özşahin (2010)'in yaptığı çalışmada kayısı ve üzüm ekstresinin serum, eritrosit, karaciğer, böbrek ve beyinde oluşturulan LPO'ya karşı koruyucu etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada kayısı ve üzüm ekstraktının eritrosit dışındaki tüm dokularda glutatyon ve total protein seviyesi üzerinde olumlu etki gösterdiği ve miktarlarında artışa neden olduğu saptanmıştır. Gülçin (2002) yaptığı çalışmada mide ülseri oluşturulan ratlarda ısırgan otunun su ekstresinin mide mukoza ülserini % 61.1 oranında engellediğini tespit etmiştir. Bakırel ve ark., (2003) yaptıkları bir çalışmada deneysel olarak hiperkolesterolemi ve arterosklerozis oluşturulmuş tavşanlara *Pistacia terebinthus* L. ekstresi vermişler ve bu bitki ekstresinin tavşanlarda karaciğer dokusunda hidropik dejenerasyon ve lezyonlarının gelişimini durdurduğunu hatta

azalttığını tespit etmişlerdir. Feng ve ark., (2005) çalışmalarında yeni doğmuş ratların beyinlerindeki iskemik hasarın üzüm çekirdeği ekstresi tarafından azaltıldığını ve LPO'nun önlendiğini saptamışlardır. Hwang ve ark., (2004) yetişkin gerbillerde ön beyin iskemik hasarının 5. dakikasından itibaren nöronal hasara karşı üzüm çekirdeği ekstresi uygulamış ve bu ekstrenin hasar azaltıcı etkisi olduğunu tespit etmişlerdir. Oboh ve ark., (2007) *in vitro* şartlarda beyin dokusunda Fe^{+2} ile oluşan LPO'ya karşı kırmızı ve yeşil biberlerin koruyucu etkilerini incelemişlerdir. Çalışma sonunda biber ekstresinin beyinde meydana gelen LPO sonrasında oluşan MDA miktarını önemli oranda azalttığını, bu azaltıcı ve koruyucu etkinin ise biberlerin içerdiği fenolik bileşiklerden kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir.

Konyalıoğlu ve Karamenderes (2005) Türkiye'de doğal olarak yetişen *Achillea* bitki ekstrelerinin insan eritrosit ve lökositlerinde H_2O_2 kaynaklı oksidatif strese karşı koruyucu etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonunda *Achillea* türlerinin LPO'nun önlenmesinde doğal bir antioksidan kaynağı olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca bu bitki türlerinin içerdikleri flavonoid ve total fenol içeriğine bağlı olarak eritrosit ve lökositlerde GSH seviyesini çok yüksek oranda arttırdığını göstermişlerdir. Eritrositler üzerinde yapılan başka bir araştırmada ise *Magnifera indica*'nın H_2O_2 ile indüklenen lipid peroksidasyonuna karşı eritrositlerde direnç oluşturduğu belirlenmiştir (Rodriguez ve ark., 2006).

Bhatia ve Jain (2004) fare karaciğerinde oksidatif stres karşısında ıspanak bitkisinin LPO ve GSH üzerinde azaltıcı etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Dixit ve Kar (2009) ise kabak, turp, havuç, bezelye gibi bazı bitki kabuklarının ferrik sülfat, hidrojen peroksit ve karbon tetraklorür ile oluşturulan LPO'ya karşı karaciğerde koruyucu etkilerinin olduğunu, bu değişimin ise çalışmalarında kullandıkları bitki kabuklarının içerdiği polifenol ve flavonoid içeriğinden kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bagchi ve ark., (1998) çalışmalarında LPO'ya karşı üzüm çekirdeklerinin hem karaciğer hem de beyin dokularında MDA seviyesini azalttığını ve bu azalmanın üzüm çekirdeğinin miktarına bağlı olduğunu saptamış ve bu etkinin üzüm çekirdeklerinin içerdiği fenollere bağlı olabileceğini bildirmişlerdir. Durak ve ark., (1999b) yaptıkları bir çalışmada siyah üzüm ekstresinin plazma antioksidan seviyesini belirgin bir şekilde arttığını belirlemişlerdir.

Skrzydowska ve ark., (2001) yeşil çay ekstresi verilen ratların serum, beyin ve karaciğer dokularında LPO'ya karşı etkilerini incelemişlerdir. Çalışma sonunda yeşil çay verilen ratların karaciğer dokusunda GSH-Px ve GSH redüktaz enzim seviyelerinin arttığını, LPO'nun göstergesi olarak kabul edilen LOOH, 4-HNE ve MDA bileşiklerinin

miktarlarını azalttığını tespit etmişlerdir. Ancak aynı dokuda GSH miktarında da azalma olduğu görülmüştür. Serumda yeşil çay ekstresi verilen grupta GSH seviyesinin arttığı, buna karşın MDA seviyesinin ise belirgin şekilde azaldığı gözlenmiştir. Aynı çalışmada merkezi sinir sistemine ait dokularda SOD ve GSH-Px enzimlerinin aktivitelerinin LPO nedeniyle azaldığı ancak, yeşil çay ekstresi verildikten sonra CAT ve GSH redüktaz enzimlerinin aktivitelerinin arttığı, LOOH, 4-HNE ve MDA bileşiklerinin seviyelerinin de önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir. Bu araştırmacılar farklı dokulardaki LPO sonucunda meydana gelen hasarların bu dokulara ait hücrelerin zarlarındaki değişiklikler nedeniyle oluştuğunu iddia etmişlerdir. Yine bu çalışmada bitki ekstresi verilen gruplara ait ratların dokularındaki koruyucu ve önleyici etkilerin bitki ekstresinin ihtiva ettiği flavonoid, fenolik bileşik gibi bitki kimyasallarından kaynaklanıyor olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Bizim çalışmamızda elde edilen sonuçlarımız bu çalışma sonuçlarını destekler niteliktedir. Yaptığımız çalışmada akciğer ve dalak dokusu hariç diğer tüm dokularda GSH seviyesinin bitki ekstresi verilen RD ve RD+HP gruplarında korunduğu ya da arttığı belirlenirken, H₂O₂ verilen HP grubunda dalak dokusu hariç diğer bütün dokularda GSH seviyesinin azaldığı saptanmıştır. *R. discolor* ekstresi verilen RD grubunun beyin, kalp ve böbrek dokularında GSH seviyesi artarken, karaciğer ve kas dokusunda korunmuş; *R. discolor* ekstresi ve H₂O₂ verilen RD+HP grubunun kalp ve böbrek dokularında ise GSH seviyesinin arttığı görülmüştür. GSH seviyelerindeki bu artmanın ya da koruyucu etkinin bitki ekstresinin antioksidan özelliğine bağlanabileceği gibi H₂O₂'e karşı bir adaptasyon mekanizması olduğu söylenebilir. Çünkü GSH, oksidatif strese karşı savunma sisteminin en önemli basamağını oluşturmaktadır (Ahmed ve ark., 2000). Oksidatif stresin zayıf olduğu durumlarda devreye giren adaptasyon mekanizmaları sonucunda GSH düzeyi artmaktadır. H₂O₂ verilen HP grubunun hemen hemen bütün dokularında GSH seviyesinin azalması bu dokularda H₂O₂ kaynaklı oksidatif stresin güçlü olduğunu ve artan GSSG oluşumuna bağlı olarak GSH düzeyinin azalmakta olduğunu göstermektedir (Zhang ve ark., 2005). Hücre içerisinde GSSG'nin GSH'a indirgenmesini katalizlemekle görevli olan enzim, glutatyon disülfid redüktaz enzimidir. Sitosole yerleşen bu enzim, aktivitesi sırasında bir kofaktör olan nikotinamid adenin dinükleotid fosfat'a (NADPH) gereksinim duymaktadır. Normal fizyolojik koşullar altında GSSG, NADPH bağımlı bir enzim olan GSH redüktaz tarafından GSH'a indirgenir ve bu şekilde bir redoks döngüsü meydana gelir. Hücrenin indirgeme kapasitesi yetersiz kaldığında GSH/GSSG oranında azalmalar meydana gelir (Cnubben ve ark., 2001). Böylece reaktif oksijen türlerine olan duyarlılığın

artması ile antioksidan savunma sistemi başarısızlığa uğrayarak GSH miktarında azalma meydana gelebilir. Bizim çalışmamızda H₂O₂ verilen gruba ait dalak dokusunda GSH seviyesinde bir azalma olmadığı gözlenmiştir. Bu olay H₂O₂ reaktifinin dokudaki konsantrasyonuna ve dokunun yapısına bağlı olarak meydana gelmiş olabilir. GSSG miktarının artması durumu ise NADPH üretim yollarındaki herhangi bir bozukluğu göstermekte veya enzimin inaktivasyonu sonucu hücre içi GSH miktarının azalması anlamına gelmektedir. Hücre tipine bağlı olarak değişiklik göstermekle beraber GSH'ın hücre içi konsantrasyonu yaklaşık 0.5-10 mM düzeyindedir. Karaciğer konsantrasyonu ise 4-8 mM'dır. Hücrede total GSH'ın % 5'inden daha azı okside formda bulunur (Reed, 2001). GSSG hayvansal hücrelerde protein sentezini inhibe edebilmektedir. GSSG'nin bu etkisi hücrede intrasellüler GSSG düzeylerinin neden normalden çok düşük olduğunu ve eritrositler, karaciğer ve kalp gibi organlardan plazmaya neden GSSG salındığını açıklamaktadır. GSH metabolik çevrimde sabit bir oranda korunur. İnsan eritrositlerinde yarı ömrü 4 gün, sıçan karaciğerinde ise 3 saattir. Eritrositlerdeki döngüsü safraya GSSG veren karaciğere benzer olarak ATP-bağımlı bir transport sistemi ile plazmaya hücrelerden GSSG'nin taşınmasını içerir. Karaciğer de sürekli olarak plazmaya GSH vermektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1989). Çeşitli organ ve dokulardaki GSH içeriği, düşük molekül ağırlıklı tiyoller ve total non-proteinlerin en az % 90'ını oluşturmaktadır. Karaciğerin GSH içeriği, böbrek ve testislerden yaklaşık iki kat, akciğerden yaklaşık üç kat daha fazladır (Reed, 2001). Beyindeki GSH derişimi 1-3 mM'dır. Bu organdaki GSH homeostasisi baskın olarak GSH yapıtaşlarının beyin içerisindeki sirkülasyonu ile sağlanmaktadır. Bununla birlikte beyinde GSH sentezi için gereken yapıtaşları kan-beyin engelini geçerek beyne ulaşmaktadırlar (Dringen, 2000).

R. discolor ekstresinin Wistar ratların yağ asidi bileşimi üzerindeki etkileri incelendiğinde; böbrek dokusunda 16:0 ve 16:1 yağ asitlerinin kontrole göre bütün gruplarda azaldığı, 18:1 ve 18:2 yağ asitlerinin HP grubunda arttığı, RD ve RD+HP gruplarında ise azaldığı belirlenmiştir. Böbrek dokusunda 18:0, 20:4 ve 22:6 yağ asitlerinin ise gruplar arasında değişiklik göstermediği saptanmıştır. Karaciğer dokusunda 16:0 ve 22:6 yağ asitleri seviyesinin HP grubunda arttığı ancak diğer gruplarda değişiklik göstermediği gözlenirken, 16:1, 18:0, 18:1 ve 20:4 yağ asitleri seviyesinin bütün gruplarda azaldığı belirlenmiştir. Beyin dokusunda 16:0, 16:1, 18:1, 20:4 ve 22:6 yağ asitleri seviyeleri bitki ekstresi ve H₂O₂ verilen RD+HP grubunda artarken, 18:0, 18:1, 18:2 yağ asitlerinin seviyeleri bitki ekstresi verilen RD grubunda azalmış, diğer yağ asitleri kontrol

grubuna kıyasla istatistiksel olarak bir değişiklik göstermemiştir. Kas dokusunda 16:0, 18:1 ve 18:2 yağ asitleri seviyelerinin RD ve RD+HP gruplarında artarken HP grubunda değişiklik göstermediği, diğer yağ asitlerinin ise kontrol grubuna kıyasla değişiklik göstermediği saptanmıştır. Kalp dokusunda 18:2 yağ asidi seviyesinin HP grubunda arttığı, 22:6 yağ asidi seviyesinin RD ve RD+HP grubunda azaldığı, geriye kalan diğer bütün yağ asitlerinin ise kontrol grubuna göre değişmediği belirlenmiştir. Dalak dokusunda 16:0 ve 20:4 yağ asitlerinin RD ve RD+HP gruplarında azaldığı, 22:6 yağ asidinin ise aynı gruplarda arttığı saptanırken, 18:0 ve 18:2 yağ asitlerinin sadece RD+HP grubunda azaldığı gözlenmiştir. Akciğer dokusunda 16:1 ve 18:2 yağ asitleri seviyesinin bütün gruplarda, 18:0 seviyesinin ise sadece HP grubunda azaldığı belirlenmiştir. Serumda 16:0 yağ asidi seviyesinin RD ve RD+HP gruplarında, 18:0 seviyesinin ise sadece RD+HP grubunda arttığı gözlenirken, 18:1 ve 18:2 seviyelerinin bütün gruplarda arttığı, 20:4 ve 22:6 seviyelerinin ise bütün gruplarda azaldığı belirlenmiştir. Bu sonuçlara bakıldığında H₂O₂ verilen HP grubunda genelde bütün dokularda yağ asitlerinin etkilenmediği, *R. discolor* ekstresi verilen RD ve RD+HP gruplarında yağ asitleri miktarının değiştiği görülmektedir. Bu durum ratlara verilen bitki ekstralarının yağ asitleri metabolizmasını etkilemesinden kaynaklanabilir.

İnsanların da içinde yer aldığı memeli grubunda iki farklı yağ asidi metabolizması etkili olmaktadır. Bunlardan birincisi vücutta karbonhidrat ve aminoasit öncüllerden *de nove* olarak sentezlenen ve doku fosfolipidlerinde ve depo lipidlerinde yer alan palmitik (16:0), palmitoleik (16:1), stearik (18:0), oleik (18:1), eikosenoik, dokosanoik ve lignoserik asit ile nervonik asitler; ikincisi ise linoleik (18:2, n6) ve linolenik asitler (18:3, n3) ile başlayan esansiyel yağ asidi metabolizmasıdır. İkinci yağ asidi metabolizması memeliler için esansiyel yağ asidi metabolizması olarak bilinir. Çünkü bu metabolizmanın başlaması için gerekli olan 18:2 n6 ve 18:3 n3, özellikle karasal ortamda yaşayan memeli organizmalar için Δ^{12} desaturaz ve Δ^{15} desaturaz enzimleri bulunmadığı için *de nove* olarak sentezlenemezler; ancak besin yoluyla vücuda alınmaları gerekmektedir (Tvrzicka ve ark., 2002; Antueno ve ark., 2001; Duplus ve Forest, 2002). 14:0, 16:0, 18:0, 18:1 gibi yağ asitleri ise, endojen olarak sentezlenen yağ asitleridir.

Bu çalışmada palmitik asit (16:0) seviyesinin kas, serum, beyin dokusunda bitki ekstresi verilen gruplarda kontrol grubuna göre arttığı; dalak ve böbrek dokularında azaldığı belirlenmiştir. Bu sonuçların bitki ekstralarının lipid biyosentezinde görevli olan asetil CoA karboksilaz ve yağ asidi sentetaz gibi enzimlerin aktivitesini etkilemesinden

kaynaklandığını söyleyebiliriz. Çünkü palmitik asit, yağ asidi sentezinde son ürün olup, yağ asidi sentetaz enzimi tarafından sentezlenir ve bazı enzimatik reaksiyonlarla serbest hale gelir. Palmitik asit miktarının artmış olması yağ asidi sentezi olayının artmasıyla açıklanabilir. Buna bağlı olarak palmitik asit miktarının azalması ise yağ asidi sentezinin azalmasıyla açıklanabilir. Palmitik asit hücrelerin ihtiyaçlarına göre fosfolipid, sfingolipid, trigliserit, kolesterol esteri sentezi için Δ^9 desaturaz (Stearoil CoA) enzimi tarafından palmitoleik aside (16:1) dönüştürülür veya elongaz enzimi tarafından stearik asit (18:0) sentezinde kullanılır. Stearoil CoA desaturaz (SCD) enzimi, palmitik asit ve stearik asidi substrat olarak kullanan bir enzim olup, palmitik asitten palmitoleik asit, stearik asitten oleik asit gibi tek çift bağa sahip yağ asitlerinin oluşumunu katalizler. Ayrıca bu enzimin memelilerin birçok dokusunda bulunduğu tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda palmitoleik asit miktarının bitki ekstresi verilen gruplarda kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman serum ve beyin dokusunda arttığı, akciğer, karaciğer ve böbrek dokularında ise azaldığı saptanmıştır. Bitki ekstresi verilen gruplarda stearik asit seviyesi serumda artarken, beyin, karaciğer ve dalak dokularında azalmıştır. Serumdaki bu artışın SCD enzim aktivitesinin artmasından, beyin, karaciğer ve dalak dokularındaki azalmanın ise aynı enzimin aktivitesinin engellenmesinden kaynaklandığını düşünmekteyiz. SCD enzimi palmitik asit ve stearik asidi substrat olarak kullanmakta ve bu yağ asitlerini palmitoleik asit ve oleik aside dönüştürmektedir. Bu enzimin aktivitesinin beslenme ve hormonal değişimler gibi durumlardan etkilendiği bilinmektedir. SCD enzimi endoplazmik retikulum membranına bağlı bir enzimdir ve bu olaylar endoplazmik retikulumda meydana gelmektedir. Doymuş yağ asitleri olan palmitik asit ve stearik asidin doymamış yağ asitleri olan palmitoleik asit ve oleik aside dönüştürülmesi hücre içindeki denge için çok önemlidir. Stearik asidin sentezi ise palmitik asitten zincir uzatılma reaksiyonu ile sağlanmaktadır. Bunu sağlayan enzim olan elongaz enzimi hücre membranının akışkanlığının korunmasında çok önemli bir yer tutar. Çünkü stearik asit miktarı hücre içinde arttığı ve hücre fosfolipitlerine katılması ya da hücredeki trigliseritlerle beraber depo edilmesi sağlanamadığı zaman hücrede anormal değişikliklere neden olmaktadır. Elongaz, yağ asidi sentetaz ve SCD enzimlerinin aktiviteleri ve miktarları farklı diyetlerle beslenme, hormonal değişimler ve beslenmedeki ilave maddeler tarafından etkilenebilmektedir (Ntambi, 1999). Oleik asit seviyesinin bitki ekstresi verilen gruplarda kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman böbrek ve karaciğer dokularında azaldığı, serum ve kas dokularında ise arttığı belirlenmiştir. Dokularda bu yağ asidinin miktarının azalması SCD enzim

aktivitesinin azalmış olması, artması ise aynı enzimin aktivitesinin artmasıyla açıklanabilir. Çünkü SCD enzimi stearik asidi substrat olarak kullanmakta ve oleik aside dönüştürmektedir.

İnsanlarda ve memeliler grubunun diğer üyelerinde *de nove* olarak sentezlenen monoenoik yağ asidi sentezi dışında kalan diğer yağ asidi metabolizması aşırı doymamış yağ asitlerinin sentezlendiği esansiyel yağ asidi metabolizması olarak kabul edilmektedir. Bütün dokularda bu metabolizma linoleik (18:2) ve linolenik (18:3) yağ asitleriyle başlamaktadır. Bu yağ asitlerinin metabolizması zincir uzatılması ve hidrokarbon zincirine çift bağ girişini sağlayan enzimlerin aktive edilmesiyle devam etmektedir. Memeliler ve insanlar linoleik (18:2) ve linolenik (18:3) yağ asitlerinin sentezini sağlayan Δ^{12} ve Δ^{15} desaturaz enzimlerine sahip olmadıkları için bu yağ asitlerinin sentezini gerçekleştiremezler. Bu yağ asitleri beslenme yoluyla dışarıdan alınırlar ve bu yüzden esansiyel yağ asitleri olarak bilinirler. Memeli organizmaların hücrelerinde bulunan Δ^6 ve Δ^5 desaturaz enzimlerinin aktivitesiyle linoleik asitten (18:2) eikosadienoik asit (20:2), eikosatrienoik asit (20:3), araşidonik asit (20:4), dokosadieonik asit (22:2), dokosatetraenoik asit (22:4), dokosapentaenoik asit (22:5) gibi daha uzun zincirli ve aşırı doymamış yağ asitlerinin meydana gelmesi sağlanır. Bu enzimlerin linolenik asidi (18:3) substrat olarak kullanmasıyla steridonik asit (18:4), eikosapentaenoik asit (20:5), dokosapentaenoik asit (22:5) ve dokosaheksaenoik asit (22:6) gibi uzun zincirli ve aşırı doymamış yağ asitleri meydana gelir. Linoleik asit (18:2) ve linolenik asit (18:3) yağ asitlerinin Δ^6 ve Δ^5 desaturaz enzimleri tarafından substrat olarak kullanıldığı ve zincir uzatılmasının meydana geldiği bu metabolik yola Δ^6 desaturasyon yolu adı verilir (Tvrzicka ve ark., 2002; Antueno ve ark., 2001; Duplus ve Forest, 2002; Brener, 2000; Ntambi, 1999). Serbest radikaller hücredeki doymamış yağ asitlerine, DNA ve protein moleküllerindeki sülfhidril bağlarına saldırarak hücre ve dokulara zarar verir (Machlin ve Bendich, 1987). Bizim çalışmamızda bitki ekstresi verilen gruplarda linoleik asit (18:2) miktarının kontrol grubuyla kıyaslandığında akciğer, beyin, böbrek ve dalak dokularında azaldığı, serum ve kas dokusunda ise arttığı tespit edilmiştir. Linoleik asit miktarının azaldığı dokularda Δ^6 desaturasyon yolu enzimleri olan Δ^6 ve Δ^5 desaturaz enzimlerinin aktivitesinin arttığı, azaldığı dokularda ise bu enzimlerin aktivitelerinin azaldığı söylenebilir. Böylece bu dokularda linoleik asit miktarının neden değiştiği açıklanabilir.

Araşidonik asit (20:4), linoleik asitten (18:2) Δ^6 desaturasyon yoluyla sentezlenen bir yağ asididir (Brener, 2000). Çalışma sonuçlarımıza göre araşidonik asit (20:4) miktarının

bitki ekstresi verilen gruplarda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında beyin dokusunda arttığı, serum, karaciğer ve dalak dokularında ise azaldığı gözlenmiştir. Özellikle serumda linoleik asit miktarının bütün gruplarda azaldığı, araşidonik asit miktarının ise arttığı belirlenmiştir. Bu durum beyin dokusunda Δ^6 ve Δ^5 desaturaz enzimlerinin aktivitelerinin azalması, serum karaciğer ve dalak dokularında ise Δ^6 ve Δ^5 desaturaz enzimleri aktivitelerinin artmasıyla açıklanabilir. Bu yağ asidi miktarındaki değişimler, bitki ekstresi verilen gruplarda meydana geldiği için bu duruma ratlara verilen bitki ekstresinin neden olduğunu düşünmekteyiz. Ayrıca linoleik asit ve araşidonik asit miktarlarındaki azalma, eikosanoidlerin senteziyle ilgili olabilmektedir. Çünkü eikosanoidler araşidonik asidin lipooksigenaz ve siklooksigenaz enzimleri tarafından lökotrienler ve prostaglandinlere dönüştürülmesini sağlarlar. Araşidonik asit miktarında herhangi bir azalma bu metabolik yolun aktive olmasıyla da açıklanabilir. Δ^6 desaturasyon yolunun diğer bir son ürünü olan dokosaheksaenoik asit (22:6) miktarının bitki ekstresi verilen gruplarda beyin ve dalak dokularında arttığı, serum ve kalp dokularında ise azaldığı belirlenmiştir. Patolojik şartlarda bu yağ asidi miktarının arttığı ileri sürülmüş ve buna neden olarak da bu yağ asidinin sentezinde görev alan enzimin çeşitli hastalık faktörlerinden etkilendiği iddia edilmiştir (Brener, 2000). Bizim çalışmamızda bu yağ asidi miktarındaki artış Δ^6 desaturasyon yolundaki enzimlerin aktivitelerinin azalmasıyla, bu yağ asidi miktarındaki azalma ise bu yoldaki enzimlerin aktivitelerinin artmasıyla açıklanabilir. Özşahin (2010)'ın yaptığı çalışmada böbrekte kayısı ve üzüm ekstreleri verilen gruplarda kontrol grubuna göre, linoleik asit ile araşidonik asit miktarının azaldığı buna karşılık serum, karaciğer ve beyinde ise linoleik ve araşidonik asit miktarının arttığı belirlenmiştir.

Çalışmamızda bitki ekstrelerinin Wistar ratların vitamin ve kolesterol değerleri üzerindeki etkileri incelendiğinde bütün vitaminlerin hem miktarları hem de değişimlerinin tüm dokularda farklı değerlerde olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlarımıza göre akciğer dokusunda H_2O_2 verilen HP ve RD+HP gruplarında retinol miktarının azaldığı, vitamin D₂ miktarının bütün gruplarda azaldığı, α -tokoferol miktarının HP grubunda arttığı, RD+HP grubunda azaldığı saptanmıştır. Vitamin K₁ seviyesi HP ve RD+HP gruplarında artarken, vitamin K₂ seviyesi aynı gruplarda azalmıştır. Kolesterol ve kampesterol seviyesinin bütün gruplarda arttığı, β -sitosterol miktarının ise HP ve RD grubunda arttığı, RD+HP grubunda ise azaldığı belirlenmiştir. Beyin dokusunda retinol miktarı RD grubunda azalırken vitamin D₂ miktarı bitki ekstresi verilen RD ve RD+HP gruplarında artmıştır. α -tokoferol asetat, vitamin K₁ kolesterol ve β -sitosterol miktarları bütün gruplarda artarken, kampesterol

miktarı aynı gruplarda azalmıştır. Böbrek dokusunda retinol, vitamin D₂, D₃, K₁, K₂ miktarlarının bitki ekstresi verilen gruplarda azaldığı saptanmıştır. α -tokoferol miktarı RD grubunda artarken, RD+HP grubunda azalmıştır. α -tokoferol asetat, β -sitosterol ve kolesterol miktarları bütün gruplarda azalırken, kampesterol miktarı bütün gruplarda artmıştır. Dalak dokusunda α -tokoferol, α -tokoferol asetat, vitamin K₁, kolesterol, kampesterol ve β -sitosterol miktarlarının bitki ekstresi verilen gruplarda azaldığı gözlenmiştir. Kalp dokusunda retinol miktarının HP grubunda arttığı, vitamin D₂, D₃, α -tokoferol, α -tokoferol asetat ve vitamin K₁ miktarlarının ise bitki ekstresi verilen gruplarda azaldığı belirlenmiştir. Vitamin K₂ miktarının HP ve RD gruplarında arttığı, kolesterol miktarının HP grubunda arttığı, RD+HP grubunda ise azaldığı gözlenmiştir. Kampesterol miktarı bütün gruplarda artarken, β -sitosterol miktarı aynı gruplarda azalmıştır. Karaciğer dokusunda retinol, kolesterol ve β -sitosterol miktarları bütün gruplarda artmıştır. α -tokoferol ve vitamin K₂ miktarlarının bitki ekstresi verilen gruplarda arttığı belirlenmiştir. Kas dokusunda α -tokoferol ve vitamin K₁ miktarları bitki ekstresi verilen gruplarda artarken, β -sitosterol miktarı aynı gruplarda azalmıştır. Vitamin K₂, kolesterol ve kampesterol miktarları bütün gruplarda artmıştır. Serumda ise retinol, α -tokoferol ve vitamin K₁ miktarları HP ve RD gruplarında azalmıştır. GSH-Px, LDL ve kolesterol miktarları RD+HP grubunda, SOD ise bitki ekstresi verilen gruplarda artmıştır.

Domitrovic ve ark., (2008) yapmış olduğu bir çalışmada diyetle zeytin ve mısır yağı verilen farelerde diyetle demir ilave edildiği zaman karaciğerde retinol ve α -tokoferol miktarlarında artış olduğu görülmüştür. Yine farklı çalışmalarda demir yönünden yetersiz bir diyetin rat karaciğerinde ve plazmada retinol seviyesinde azalmaya neden olduğu ortaya konulmuştur (Staab ve ark., 1984; Jang ve ark., 2000). Bizim çalışmamızda karaciğer dokusunda bitki ekstresi verilen gruplarda retinol ve α -tokoferol miktarlarındaki artış bu çalışmaların sonuçlarına bağlanabilir. Ratlara verilen bitki ekstresinin demir yönünden zengin olması bu sonuçları doğurmuş olabilir. Yine kas dokusundaki α -tokoferol miktarındaki artış da bu durumdan kaynaklanıyor olabilir. Vitamin D₂ miktarının karaciğer ve beyin dokusunda bitki ekstresi verilen gruplarda artmış olması, bu vitaminin bitkisel kaynaklı olup ratlara bitki ekstreleri yoluyla geçmiş olmasıyla açıklanabilir. Çünkü karaciğer bu vitamin için depo görevi görmektedir. Özşahin (2010)'ın yapmış olduğu çalışmada D vitamininin serum, karaciğer, böbrek, beyin dokularında arttığı, α -tokoferol miktarının ise kayısı ve üzüm ekstresi verilen gruplarda bütün dokularda arttığı, α -tokoferol asetat düzeyinin ise serum ve böbrekte azaldığı, fakat beyin ve karaciğerde arttığı

belirlenmiştir. Retinol miktarının ise karaciğer ve böbrek dokusunda arttığı, beyin dokusunda azaldığı saptanmıştır. Bizim çalışmamızda D vitaminin beyin ve karaciğer dokularında artmış olması Özşahin'in çalışma sonuçlarıyla paralellik göstermektedir. Çalışma sonuçlarımıza göre beyin, akciğer ve karaciğer dokularında α - tokoferol asetat miktarının bitki ekstresi verilen gruplarda artmış, böbrek, dalak ve kalp dokularında azalmış olması Özşahin'in çalışma sonuçlarıyla uyum göstermektedir. Bizim çalışmamızda böbrek, karaciğer ve kas dokularında bitki ekstresi verilen RD grubunda α - tokoferol miktarının belirgin şekilde arttığı tespit edilmiştir. Bu durum Özşahin'in çalışma sonuçlarıyla benzerlik gösterdiği gibi, ratlara verilen bitki ekstresinin bu dokularda antioksidan savunma sistemine yardımcı olduğunu ve bu yüzden α - tokoferol miktarının arttığını gösteriyor olabilir.

Yapılan bir çalışmada *Salvia hispanica* (Chia) bitkisiyle sıçanları beslemişler ve bu sıçanların yağ asitleri düzeyini incelemişlerdir. Çalışma sonunda bu sıçanlarda linoleik asit miktarında bir değişiklik olmadığını, fakat araşidonik asit miktarının azaldığı tespit edilmiştir (Ayerza ve Coates, 2005).

Hindistan cevizi yağı ile beslenen ratların serum lipidlerinde orta zincirli doymuş yağ asitleri olan miristik asit (16:0) ve palmitik asit (16:0) miktarlarının yükseldiği saptanmıştır. Aynı çalışmada stearik asit (18:0), oleik asit (18:1), linoleik asit (18:2) ve araşidonik asit (20:4) miktarlarının da yükseldiği belirlenmiştir (Mohamed ve ark., 2002).

Kolesterol miktarlarının dokularda kontrol grubuna göre karşılaştırılmasında serum, akciğer, beyin, karaciğer ve kas dokularında bitki ekstresi verilen gruplarda arttığı, buna karşın böbrek, dalak ve kalp dokularında ise azaldığı tespit edilmiştir. Daha önce yapılmış olan çalışmalar bitki ekstresi verilen hayvanlarda farklı dokularda farklı kolesterol profili oluştuğunu göstermiştir. Örneğin Özşahin (2010), yapmış olduğu çalışmada serum, karaciğer, böbrek ve beyin dokularında üzüm ve kayısı ekstreleri verilen gruplarda kolesterol miktarının arttığını göstermiştir. Bu sonuç doku bazında bakıldığı zaman bizim çalışmamızla ortak özellikler göstermektedir. Ntanos ve Jones (1998) yapmış oldukları çalışmada fitosterol içeren bir diyetle hamster plazmasında kolesterol seviyesinde azalma olduğunu belirlerken, bazı araştırmacılar bir fitosterol olan β -sitosterolün plazmada kolesterol miktarını önemli oranda düşürdüğünü göstermişlerdir. Bitkilerin ihtiva ettiği sterollerin kolesterol üzerindeki bu etkilerinin yanında, fenolik içeriği yüksek olan bitkilerin de kolesterol üzerinde olumlu etki gösterdiği çeşitli çalışmalarla ileri sürülmüştür. Bizim çalışmamızda kullandığımız *R. discolor* çiçeklerine ait ekstrenin

fenolik bileşik miktarının çok yüksek olduğunu tespit etmiştik. Böbrek, dalak ve kalp dokularında kolesterol miktarının bitki ekstresi verilen gruplarda kontrol grubuna kıyasla belirgin şekilde azalması bitki ekstrelerinin fenolik içeriğinden kaynaklanıyor olabilir. Örneğin Tebib ve ark., (1997) yaptıkları çalışmada üzüm çekirdeklerinin ihtiva ettiği tanin adlı flavonoidin plazma kolesterolüne karşı koruyucu etki gösterdiğini ileri sürmüşlerdir. Bowers ve ark., (2000) ise yine bitki kaynaklı bir bileşik olan resveratrolün kanser oluşumu ve gelişimini önlediğini ve kolesterol seviyesini de düşürdüğünü göstermişlerdir. Zern ve ark., (2003) yaptıkları çalışmada üzüm ile beslenen deney hayvanlarında kolesterol biyosentezinde görevli bir enzim olan hepatik açıl CoA kolesterol açıltransferaz enziminin aktivitesinin % 27 oranında azaldığını, buna paralel olarak da bu hayvanlarda kolesterol seviyesinin % 33 azaldığını tespit etmişlerdir.

Bu araştırmalar incelendiğinde bizim çalışmamızda bitki ekstresi verilen grupların serum, akciğer, beyin, karaciğer ve kas dokularında kolesterol miktarının artmış olması oldukça düşündürücü ve şaşırtıcı bir sonuç olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu artışın ratlara vermiş olduğumuz bitki ekstresinin ratlarda kolesterol biyosentezini artırıcı özellik göstermesinden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Bizim çalışmamızın aksine, yapılan diğer araştırmaların birçoğunda bitkisel içerikli diyet uygulanan veya bitki ekstresi verilen deney hayvanlarında bitki içeriğinin kolesterol düzeyini düşürdüğü ileri sürülmüştür. Ancak bizim çalışmamızda, yukarıda kolesterol düzeyi incelenen araştırmalardaki olumlu etki gözlenmemiştir. Bu durum, bitki ekstrelerinin ihtiva ettiği fitosterol ve fenolik içeriğin sıçan dokularında yeterince bulunamaması, dokulara ulaşamaması veya metabolize edilememesinden kaynaklanmış olabilir.

Bizim çalışmamızda bitki ekstrelerinin serumda GSH-Px ve SOD enzim seviyeleri üzerindeki etkileri de incelenmiştir. Çalışma sonuçlarımıza göre GSH-Px enzim seviyesi RD+HP grubunda, SOD enzim seviyesi ise RD ve RD+HP gruplarında belirgin şekilde artmıştır. Bu sonuçlar bitki ekstresi ve H₂O₂ beraber verilen ratlarda bu iki enzim seviyesinin etkilendiğini göstermektedir. LPO seviyesinin RD+HP grubuna ait karaciğer, böbrek, beyin ve akciğer dokularında artmış, GSH seviyesinin ise aynı gruba ait karaciğer, kas, beyin, dalak ve akciğer dokularında azalmış olması bu iki antioksidan enzim aktivitesinin bu grupta artmış olmasıyla ilişkilendirilebilir. Bilindiği gibi GSH-Px, GSH moleküllerinin H₂O₂ bulunan ortamlarda oksidasyonunu katalizleyen enzimdir (Akkuş, 1995; Fırat, 1997; Mungan, 1996). Bu enzimin aktivitesinin artması, GSH seviyesinin azalmasını sağlamış olabilir.

Plazmada üretilen ve eritrosit membranlarını rahatlıkla geçebilen H_2O_2 ve süperoksit iyonları eritrositlerde toplanmaktadır (İlhan, 1998). Eritrositler devamlı olarak oksidatif strese maruz kalmakta ve normal bir eritrosit hücresinin indirgeme potansiyeli yükseltgeme potansiyelinden 250 kat daha fazladır (Gerber ve ark., 1991). Bu bakımdan eritrositler önemli bir serbest radikal havuzu olup H_2O_2 'nin detoksifikasyonu için GSH-Px ve CAT enzimleriyle, süperoksit radikallerinin dismutasyonu için ise SOD enzimiyle hücre içi antioksidan savunma sistemini devreye sokarlar ve daha toksik oldukları ispatlanmış olan hidroksil radikallerinin oluşmasını engellerler (İlhan, 1998). SOD, süperoksit radikallerinin H_2O_2 ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen antioksidan bir enzimdir. Aktif merkezinde mangan (Mn) metali bulunan Mn-SOD enzimi mitokondri matriksinde yerleşmiş bir enzimdir. Mn-SOD enzimi hücresel metabolizma ürünü olan ve aşırı reaktif özelliğe sahip bir oksidan olan süperoksit radikallerinin hücredeki konsantrasyonunun düzenlenmesinde ve oksidatif hücre hasarında karşı korumada rol almaktadır. Birçok tümör hücresinde Mn-SOD seviye ve aktivitesinin düşük olduğu gösterilmiştir (Mukhopadhyay ve ark., 2004). Perumal ve ark., (2005) deneysel olarak oluşturdukları meme kanseri hücrelerinde CAT, SOD ve GSH-Px gibi antioksidan enzim seviyelerinin azaldığını tespit etmişlerdir. Kumaragurupam ve ark., (2002) yaptıkları çalışmada meme kanseri olan ve olmayan iki farklı hasta grubunun enzim profiline bakmışlar ve meme kanserli hastalarda diğer hastalara göre SOD, CAT, GSH-Px ve GSH aktivitelerinde azalma olduğunu göstermişlerdir. Bu antioksidan enzimlerin eritrositleri LPO sonucunda oluşan süperoksit radikali ve H_2O_2 'ye karşı koruduğu bilinmektedir. Meme kanseri olan hastalarda LPO artışına bağlı olarak SOD ve CAT enzimleri aktivitesinin düştüğü belirlenmiştir. Bu durumu araştırmacılar meme kanseri hastalarında SOD, CAT ve GSH-Px gibi enzimlerin aktivitelerinin azalmasının tümör hücrelerindeki LPO'yu temizlemek için aşırı kullanılmasına bağlamışlardır.

Konyalıoğlu ve Karamenderes (2005) H_2O_2 'ye karşı insan eritrosit ve lökositlerinde *Achillea* türlerinin su ekstrelerinin CAT, SOD, GSH-Px enzimleri ve lipid peroksidasyon (LPO) düzeyleri üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. *Achillea falcata* ekstresinin eritrositlerde, adı geçen enzimlerin aktivitesi üzerinde en etkili ekstre olduğu belirlenmiştir. Lökositlerde ise *Achillea crithmifolia* ve *Achillea nobilis* bitki ekstrelerinin CAT enzim aktivitesinde, *Achillea millefolium* ekstresinin SOD enzim aktivitesinde, *Achillea teretifolia* ekstresinin ise GSH-Px enzim aktivitesinde en etkili ekstre olduğunu saptamışlardır. Sonuç olarak *Achillea* L. türlerinin insan eritrosit ve lökositlerinde H_2O_2

kaynaklı oksidatif hasara karşı antioksidan enzim sistemleri (GSH-Px, SOD ve CAT), GSH ve LPO seviyeleri üzerinde koruyucu etkisi olduğunu iddia etmişlerdir. Bu aktiviteler çalışmayı gerçekleştiren araştırmacılar tarafından bu bitkilerin flavonoid ve fenolik içeriğine atfedilmiştir.

Hassimotto ve ark., (2008) *Rubus fruticosus* bitkisinin meyvelerinin su ve yağı alınmış sütle hazırlanan meyve sularının insanlarda plazma ve eritrositlerdeki CAT, GSH-Px enzim seviyeleri ve antioksidan bileşiklerin miktarları üzerinde etkilerini incelemiş ve buna ek olarak meyve sularının toplam fenolik bileşik miktarlarını tayin etmişlerdir. Çalışma sonunda her iki meyve suyunda da fenolik bileşik ve antosiyanin miktarı yüksek bulunurken, bu meyve sularını tüketen insanların CAT enzim seviyelerinin arttığı belirlenmiştir. Yine insan plazma antioksidan seviyelerinin yani ürat, askorbat ve tokoferol miktarlarının 0. ve 4. saat aralığında zamanla arttığı belirlenirken, GSH-Px enzim seviyesi üzerinde bu meyve sularının istatistiksel olarak bir etkisi olmadığı gözlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları *R. fruticosus* meyve ekstresinin insan kanındaki antioksidan sistem üzerinde doğrudan bir etkisi olduğunu kanıtlamaktadır.

Yazdanparast ve ark., (2008) yaptıkları bir çalışmada *Nasturtium officinale* bitkisinin 7/3 etanol/su ekstresini hazırlamış ve bu ekstreleri 500 mg/kg dozunda hiperkolesterolemik ratlara vermişlerdir. Çalışma sonunda hiperkolesterolemik ratların karaciğerinde MDA miktarında yükselme, GSH miktarında ve CAT, SOD, GSH-Px ve glutatyon redüktaz enzim aktivitelerinde azalma gözlenirken, bitki ekstresi verilen hiperkolesterolemik ratların bulunduğu grupta ise GSH, CAT, SOD, GSH-Px ve glutatyon redüktaz enzim aktivitelerinde belirgin bir artış saptanmıştır. Bu sonuç deneyi gerçekleştiren araştırmacılar tarafından bitkinin yüksek hipolipidemik aktivitesine atfedilmiştir.

Tüm bu sonuçlar kullanılan bitki ekstrelerinden farklı dokuların farklı düzeylerde etkilendiğini, bunun sonucunda da vitamin ve kolesterol bileşimlerinin bitki ekstrelerinin ihtiva ettiği fitokimyasal içerik nedeniyle değiştiğini düşündürmektedir.

Çalışma sonuçlarımız kullandığımız bitki ekstresinin *in vivo* ortam şartlarında LPO'yu önlemede etkili olduğunu ortaya koymuştur. Kullandığımız bitkinin Wistar ratlarda yağ asidi ile vitamin profilleri ve GSH ile total protein miktarları ve kanda GSH-Px ve SOD enzimleri üzerindeki etkileri araştırmamızda belirlenmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan çalışmalar gün geçtikçe serbest radikallerin çeşitli hastalıkların oluşumu ve gelişimi üzerindeki etkilerini ve doğal veya sentetik yeni antioksidan bileşiklerin varlığını ortaya koymaktadır. Özellikle serbest radikaller, günümüz tıp dünyasını en çok uğraştıran hastalıklar olan diyabet, kanser ve kalp damar hastalıkları ile yaşlanma olayındaki etkileri yüzünden her zaman çok büyük ilgi ve merak uyandırmıştır. Buna bağlı olarak hastalıklardaki bu artış insanları bitkisel ilaçlar gibi alternatif çözümler aramaya yönlendirmiştir.

Günümüzde kullanılan ilaçların yaklaşık dörtte birinin temel veya tamamlayıcı etken maddesi bitkisel kaynaklıdır. Bitkisel ilaçların biyokimyasal olaylarda çok önemli uyumlulukları vardır. Bu nedenle bitkilerdeki etken maddeler zehirli olsalar dahi sentetik ilaçlar gibi hücrelerde ani kuvvetli tahribata neden olmazlar. Bitkisel kökenli ilaçların bu önemli etkileri ve avantajları nedeniyle her geçen gün bitki ve bitkilerden elde edilen doğal bileşiklerin *in vitro* ortamda antioksidan kapasiteleri, *in vivo* ortamda ise vitamin, kolesterol ve enzim aktiviteleri üzerindeki etkileri açıklığa kavuşturulmaya çalışılmaktadır. Bizim çalışmamızda *Rubus discolor* (böğürtlen), *Achillea millefolium* (civanperçemi) ve *Crataegus monogyna* (alıç) bitkilerinin yaprak, çiçek, meyve, ham meyve, tohum vb. kısımlarının etanol ve su ekstraktlarının antioksidan özellikleri incelenmiştir. *In vitro* ortamda çeşitli antioksidan testlerle bu üç bitkinin su ve etanol ekstraktlarının güçlü ve etkili bir antioksidan kapasiteye sahip olduğu çalışmamız sonunda anlaşılmıştır. Bitki ve bitkisel ürünlerin ilaç endüstrisi ve gıda endüstrisi için doğal antioksidanların kolay temin edilebilir bir antioksidan kaynağı olduğu bilinmektedir. Buna ilaveten bizim çalışmamızda kullandığımız ekstraktların antioksidan aktivitelerinden sorumlu olan bileşik veya içerikler tam olarak aydınlatılmamıştır. Bundan sonra yapılacak olan çalışmalarda bu bitki kısımlarından elde edilecek etken maddelerin değişik yöntem ve teknikler yardımıyla izole edilip, doğrudan bu bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi, kimyasal özelliklerinin karakterize edilmesi ve farmakolojik özelliklerinin açığa çıkarılması yeni çalışmaların konusu ve amacı olabilir. Yine bu özelliklere ek olarak izole edilen bileşiklerin çeşitli hastalık, tümör ve kanser gibi durumlar üzerindeki etkileri de incelenip açıklığa kavuşturulabilir.

Bizim çalışmamızda *in vivo* çalışma sonuçlarımıza göre yağ asidi seviyelerinde görülen değişiklikler ve yağ asidi metabolizmasında görevli enzimlerin substratları olan önemli yağ asitlerinin miktarlarında görülen beklenmedik artış veya azalışların nedenlerinin ortaya konulması için yeni çalışmalar yapılabilir. Özellikle bitki ekstresi ve H₂O₂ beraber verilen RD+HP grubunda hemen hemen bütün dokularda yağ asitleri miktarının değişmiş olması başlı başına yeni bir çalışmanın konusu olabilir. Bunun için yağ asitleri miktarının yanında yağ asitleri metabolizmasında görevli enzimlerin aktiviteleri de incelenebilir. Bu çalışma sonuçlarına göre RD+HP grubuna ait birçok dokuda LPO miktarının azalmış olmasının nedenleri de yeni bir çalışmanın konusu olabilir. Çalışmada kullandığımız bitki ekstrelerinin lipofilik vitaminler üzerindeki farklı dokulardaki farklı etkileri ve bazı dokulardaki kolesterol miktarının artması üzerindeki etkilerinin nedenleri de incelenebilir. Çünkü bitkilerin ihtiva ettiği bitkisel sterollerin, flavonoidlerin ve fenolik bileşiklerin kolesterol düşürücü etkisi olduğu belirtilmiş fakat bizim çalışmamızda bazı dokularda bunun tam tersi sonuçlar bulunmuştur. Bu durumun nedenlerinin araştırılması da yeni çalışmaların konusu olabilir.

KAYNAKLAR

- Aalt, B., Haenen, R.M. and Doelman, J.A.,** 1991. Oxidants and antioxidants, State of the Art. *The American Journal of Medicine.* **91**, 3-13.
- Abushita, A.A., Hebshi, E.A., Daood, H.G. and Biacs, PA.,** 1997. Determination of antioxidation vitamins in tomatoes. *Food Chemistry.* **60**, 207-212.
- Adam, M., Dobias, P., Eisner, A. and Ventura, K.,** 2009. Extraction of antioxidant from plants using ultrasonic methods and their antioxidant capacity. *Journal of Separation Science.* **32**, 288-294.
- Ahmad, S.,** 1995. Antioxidant Mechanisms of the Enzymes and Proteins. Oxidative stress and antioxidant defences in biology. pp.238-265, Eds. S.Ahmad, Chapman and Hall, America.
- Ahmed, R.S., Seth, V., Pasha, S.T. and Banerjee, B.D.,** 2000. Influence of dietary ginger (*Zingiber officinales*) on oxidative stress induced by malathion in rats. *Food and Chem. Toxicol.* **38**, 443-450.
- Ajila, C.M. and Prasada Rao, U.J.S.,** 2008. Protection against hydrogen peroxideinduced oxidative damage in rat erythrocytes by *Magnifera indica* L. Peel extract. *Food and Chem. Toxicol.* **46**, 303-309.
- Akkuş, İ.,** 1995, Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, *Mimoza yayınları*.
- Amarowicz, R. and Shahidi, F.,** 1996. A rapid chromatographic method for separation of individual, catechins for green tea. *Food Res. Int.* **29**, 71-76.
- Ames, B.M., Shigena, M.K. and Hagen, T.M.,** 1993. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of ageing. *Proceedings of National Academy of Sciences USA.* **90**, 7915-7922.
- Antueno, R.J., Kinckle, L.C., Smith, H., Eliot, M.L., Allen, S.J., Nwaka, S. and Winther, M.D.,** 2001. Activity human of $\Delta 5$ and $\Delta 6$ desaturases on multiple n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids. *FEBS Lett.* **509**, 77-80.
- Aruoma, O.I.,** 1993. Free radicals and food. *Chemistry in Britain.* **29**, 210-214.
- Aruoma, O.I.,** 1996. Characterisation of drugs as antioxidant prophlactics. *Free Radical Biology and Medicine.* **20**, 675-705.
- Aslan, R., Şekeroğlu, M.R. and Tarakçıoğlu, M.,** 1997. Investigation of MDA formation and antioxidant enzyme activity in stored bloom. *Haematologia.* **28**, 233.
- Aslan, R., Şekeroğlu, M.R., Gultekin, F., and Bayiroglu, F.,** 1997. Blood lipoperoxidation and antioxidant enzymes in healthy individuals: Relation to age, sex, habits, life style and environment. *J Environ. Sci. Health Part A.* **32**, 2101-2109.
- Ayerza, R. and Coates, W.,** 2005. Ground chia seed and chia oil effects on plasma lipids and fatty acids in the rat. *Nutrition Research.* **25**, 995-1003.
- Baghci, D., Garg, A., Khorn, R.L., Baghci, B., Baghci, D.J., Balmoori, J. and Stohs, S.J.,** 1998. Protective effects of grape seed proanthocyanidins and selected antioxidants against tpa-induced hepatic and brain lipid peroxidation and DNA fragmentation, and peritoneal macrophage activation in mice. *Gen. Pharmac.* **30(5)**, 771-776.

- Bahorun, T., Aumjaud, E., Ramphul, H., Ryche, M., Luximon-Ramma, A., Trotin, F. and Aruoma, O.I., 2003.** Phenolic constituents and antioxidant capacities of *Crataegus monogyna* (hawthorn) callus extracts. *Nahrung/Food*. **47**, 191-198.
- Bakirel, T., Şener, S., Bakirel, U., Keleş, O., Şennazlı, G. ve Gürel, A., 2003.** Tavşanlarda deneysel hiperkolesterolemi ve arterioskleroz üzerine *Pistacia terebinthus* L. (Menengiç)'in etkisi. *Turk J Vet Anim Sci*. **27**, 1283-1292.
- Banci, L., Bertini, I., Cramaro, F., Del Conte, R. and Viezzoli, M.S., 1998.** The structural effects of dimerization. *Eur. J. of Biochem*. **269**, 1905–1915.
- Bao, Y.P., Williamson, G., Tew, D., Plumb, G.W., Lambert, N., Jones, J.G. and Menon, D.K., 1998.** Antioxidant effects of propofol in human hepatic microsomes: concentration effects and clinical relevance. *British J. Anaesth*. **8**, 584-589.
- Barros, L., Carvalho, A.M. and Ferreira, I.C.F.R., 2011.** Comparing the composition and bioactivity of *Crataegus monogyna* flowers and fruits used in folk medicine. *Phytochemical Analysis*. **22**, 181-188.
- Baytop T., 1984.** Türkiye'de Bitkilerle Tedavi. I.U Eczacılık Fak. İstanbul.
- Baytop T., 1999.** Türkiye'de bitkilerle tedavi. Nobel Tıp Kitapevleri. ISBN 975-420-021-1.
- Benov, L. and Fridovich, I., 1998.** Growth in iron-enriched medium partially compensates *Escherichia coli* for the lack of manganase and iron süperoxide dismutase, *The J. of Biolo. Chem*. **273**, 10313-10316.
- Benzie, I.F.F. and Strain, J.J., 1996.** The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power” the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*. **239**, 70-76.
- Bhatia, A.L. and Jain, M., 2004.** Spinacia oleracea L. protects against gamma radiations: a study on glutathione and lipid peroxidation in mouse liver. *Phytomed*. **11**, 607-615.
- Bolanos, J.P., Moro, M.A., Lizasoain, I. and Almeida, A., 2009.** Mitochondria and reactive oxygen and nitrogen species in neurological disorders and stroke: Therapeutic implications. *Avdan. Drug Deliv. Revi*. **61**, 1299–1315.
- Bowers, J.L., Tyulmenkov, V.V., Jernigan, S.C. and Klinge, C.M., 2000.** Resveratrol acts as a mixed agonist/antagonist for estrogen receptors alpha and beta. *Endocrin*. **141(10)**, 3657-3667.
- Brener, R.R., 2000.** Effect of experimental diabetes on the fatty acids composition, molecular species of phosphatidylcholine and physical properties of hepatic mikrosomal membranes. *Prostaglandis Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. **63**, 167-176.
- Brennen, T., Anderson, L.E., 1980.** Inhibition by catalase of dark mediated glucose 6-phosphate-dehydrogenase activation in pea chloroplast. *Plant Physiol*. **66**, 815-817.
- Byung, P.Y., 1994.** Cellular defenses against damage from reactive species. *Physiological Reviews*. **74**, 139-172.
- Cai, Y., Luo, Q., Sun, M. and Corke, H., 2004.** Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci*. **74**, 2157-2184.
- Candan, F., Unlu, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sökmen, A. and Akpulat, H.A., 2003.** Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*. **87**, 215-220.

- Cemeli, E., Baumgartner, A. and Anderson, D., 2009. Antioxidants and the Comet assay. *Muta. Resear.* **681**, 51-67.
- Chaudiere, J. and Ferrai-Iliou, R., 1999. Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanism. *Food and Chem.Toxico.* **37**, 949-962.
- Cheeseman, KH. and Slater, T.F., 1993. An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull.* **49(3)**, 481-93.
- Chen, Q., Shi, H. and Ho, C.T., 1992. Effects of Rosemary extracts and major constituents on lipid oxidation and soybean lipoxygenase activity. *J. Amer. Oil Chemists' Soc.* **69**, 999-1002.
- Chen, Y., Zheng, R., Zhongjian, J. and Yong, J., 1990. Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants. *Free Radicals Biol. Med.* **9**, 19-21.
- Chow, C.K., 1991. Vitamin E and oxidative stres. *Free Radic. Biol. Med.* **2**, 215-232.
- Christie, W.W., 1990. Gas chromatography and lipids. The Oil Pres, Glasgow.
- Chu, C.Y., Lee, M.J., Liao, C.L., Lin, W.L., Yin, Y.F. and Tseng, T.H., 2003. Inhibitory effect of hot-water extract from dried fruit of *Crataegus pinnatifida* on low-density lipoprotein (LDL) oxidation in cell and cell-free systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* **51**, 7583-7588.
- Cnubben, N.H.P., Rietjens, I.M.C.M., Wortelboer, H., Zanden, J.V. and Bladeren, P.J.V., 2001. The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *ETAP.* **10**, 141-152.
- Cos, P., Ying, L.Y., Calomme, M., Hu, J.H., Cimanga, K., Van Poel, B., Pieters, L., Vlietinck, A.J. and Berghe, D.V., 1998. Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *Journal of Natural Products.* **61**, 71-76.
- Cutler, R.G. and Cao, G., 1994. New approaches for measuring plasma or serum antioxidant capacity -a methodological note- reply. *Free Radical Biology and Medicine.* **16**, 136-137.
- Çakır, M., 1997. Aspirin ve vitamin E (α -Tokoferol)'nin farelerde (*Mus musculus*) karaciğer total süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitelerine etkileri. *Yüksek Lisans Tezi*, O. M.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Dall'Acqua, S., Cervellati, R., Loi, M.C. and Innocenti, G., 2008. Evaluation of in vitro antioxidant properties of some traditional Sardinian medicinal plants: Investigation of the high antioxidant capacity of *Rubus ulmifolius*. *Food Chemistry.* **106**, 745-749.
- Devi, D.D. and Arumughan, C., 2007. Antiradical efficacy of phytochemical extracts from defatted rice bran. *Food and Chem. Toxico.* **45**, 2014-2021.
- Dikici, İ., 1999. Akut viral hepatitlerle interferon tedavisi görmüş kronik viral hepatitlerde oksidatif stresin araştırılması. *Uzmanlık Tezi*, S. Ü. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı, Konya.
- Dinis, T.C.P., Maderia, V.M.C. and Almeida L.M., 1994. Action of phenolic derivates (acetaminophen, salicylate and, 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* **315**, 161-169.
- Diplock, A.T., 1991. Antioxidant nutrients and disease prevention: An overview. *Am. J. Chim. Nutr.* **53**, 1895-1935.
- Dixit, Y. and Kar, A., 2009. Antioxidative activity of some vegetable peels determined *in vitro* by inducing liver lipid peroxidation. *Food Res. Inter.* **42**, 1351-1354.

- Domitrovic, R., Tota, M. and Milin, C.,** 2008. Differential effect of high dietary iron on α -tocopherol and retinol levels in the liver and serum of mice fed olive oil- and corn oil-enriched diets. *Nutr. Res.* **28**, 263-269.
- Doyotte, A., Cossu, C., Jacqun, M.C., Babut, M. and Vasseur, P.,** 1997. Antioxidant enzymes, glutathione and lipid peroxidation as relevant biomarkers of experimental or field exposure in the gills and digestive gland of freshwater bivalve *Unio tumidus*. *Aquatic Toxicol.* **39**, 93-110.
- Dragsted, L.O., Strube, M. and Larsen, J.C.,** 1993. Cancer-protective factors in fruits and vegetables: Biochemical and biological background. *Pharmacol. Toxicol.* **72**, 116-135.
- Dreher, D. and Junod, A.F.,** 1996. Role of oxygen free radicals in cancer development. *Eur. J. Cancer.* **32**, 30-38.
- Dringen, R.,** 2000. Metabolism and functions of glutathione in brain. *Progress in Neurobiology.* **62**, 649-671.
- Duh, P.D., Tu, Y.Y. and Yen, G.C.,** 1999. Antioxidant activity of Harnng Jyur (*Cheysatheumum morifolium* Ramat). *LWT.* **32**, 269-277.
- Duplus, E. and Forest, C.,** 2002. Is there single mechanism for fatty acid regulation of gene transcription? *Biochem. Pharma.* **64**, 893-901.
- Durak, I., Köseoğlu, M.H., Kacmaz, M., Büyükkocak, S., Cimen, B. and Oztürk, H.S.,** 1999b. Black grape enhances plasma antioxidant potential. *Nutr. Res.* **19(7)**, 973-977.
- Durak, I., Yalcin, S., Cimen, M.Y.B., Buyukocak, S., Kacmaz, M. and Ozturk, H.S.,** 1999a. Effects of smoking on plasma and erythrocyte antioxidant defense systems. *Journal of Toxicology and Environmental Health-Part A.* **56(6)**, 373-378.
- Egea, I., Sanchez-Bel, P., Romojaro, F. and Pretel, M.T.,** 2010. Six edible wild fruits as potential antioxidant additives or nutritional supplements. *Plant Foods and Human Nutrition.* **65**, 121-129.
- Elman, G.I.,** 1959. Tissue Sulfhydryl Groups. *Arch. Bioc.* 70-77.
- Erenel, G., Erbaş, D. ve Akıcıoğlu, A.,** 1992. Serbest Radikaller ve Antioksidan Sistemler. *Gazi Tıp Dergisi.* 243-250.
- Esmaceli, M.A., Sonboli, A. and Noushabadi, M. A.,** 2010. Antioxidant and protective properties of six Tanacetum species against hydrogen peroxideinduced oxidative stress in K562 cell line: A comparative study. *Food Chem.* **121**, 148-155.
- Evans, P. and Halliwell, B.,** 2001. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. *British J. of Nutr.* **85**, 67-74.
- Fattman, C.L., Schaefer, L.M. and Oury, T.D.,** 2003. Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine. *Free Radical Biology & Medic.* **35(3)**, 236-256.
- Feng, Y., Liu, Y., Fratkins, J.D. and LeBlanc, M.H.,** 2005. Grape seed extract suppresses lipid peroxidation and reduces hypoxic ischemic brain injury in neonatal rats. *Brain Res. Bul.* **66**, 120-127.
- Fırat, S.,** 1997. Kobaylarda radyasyonla oluşan akciğer hasarında doku glutatyon, glutatyon peroksidaz, glutatyon- S-transferaz düzeyleri ve N-asetil sistein'in bu sistem üzerindeki etkisi. *Uzmanlık Tezi*, G. Ü. Tıp Fak. Biyokimya Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara.
- Folmer, V., Pedroso, N., Matias, A.C., Lopes, S.C.D.N., Antunes, F., Cyrne, L. and Marinho, H.S.,** 2008. H_2O_2 induces rapid biophysical and permeability

- changes in the plasma membrane of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochim. Et Bioph. Acta*. **1778**, 1141-1147.
- Frei, B.**, 1994. Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: Mechanisms of action. *The Am. J. of Med.* **97**, S5-S13.
- Fridovich, I.**, 1975. Superoxide dismutases. *Annual Review of Biochemistry*. **44**, 147-159.
- Fridovich, I.**, 2001. Oxidative stress. Encyclopedia of Life Sciences, Nature Publishing Group, www.els.com, 1-5.
- Froehlicher, T., Hennebelle, T., Martin-Nizard, F., Cleenewerck, P., Hilbert, J.L., Trotin, F. and Grec, S.**, 2009. Phenolic profiles and antioxidative effects of hawthorn cell suspensions fresh fruits, and medicinal dried parts. *Food Chemistry*. **115**, 897-903.
- Ganhao, R., Estevez, M., Kylli, P., Heinonen, M. and Morcuende, D.**, 2010. Characterization of selected wild Mediterranean fruits and comparative efficacy as inhibitors of oxidative reactions in emulsified raw pork burger patties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **58**, 8854-8861.
- Garzon, G.A., Riedi, K.M. and Schwartz, S.J.**, 2009. Determination of anthocyanins, total phenolic content, and antioxidant activity in Andes berry (*Rubus glaucus* Benth). *Journal of Food Science*. **74(3)**, 227-232.
- Genestra, M.**, 2007. Oxyl radicals, redox-sensitive signaling cascades and antioxidants. *Cell. Signal*. **19**, 1807–1819.
- Gerber, M., Richardson, S., Salkeld, R. and Chappuis, P.**, 1991. Antioxidants in female breast cancer patients. *Cancer Invest.* **9**, 421-428.
- Giorgi, A., Bombeli, R., Luini, A., Speranza, G., Cosentino, M., Lecchini, S. and Cocucci, M.**, 2009a. Antioxidant and cyto-protective properties on infusions from leaves and inflorescences of *Achillea collina* Becker ex Rechb. *Phytotherapy Research*. **23**, 540-545.
- Giorgi, A., Mingozi, M., Madeo, M., Speranza, G. and Cocucci, M.**, 2009b. Effect of nitrogen starvation on the phenolic metabolism and antioxidant properties of yarrow (*Achillea collina* Becker ex Rechb.). *Food Chemistry*. **114**, 204-211.
- Girotti, A.W.**, 1998. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *J. Lipid Res.* **39(8)**, 1529-1542.
- Greenberg, E.R., Baron, J.A., Tosteson, T.D., Freeman, D.H., Beck, G.J. and Bond, J.H.**, 1994. Clinical-trial of antioxidant vitamins to prevent colorectal adenoma. *N. Engl. J. Med.* **331**, 141-147.
- Gutteridge, J.M.**, 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin. Chem.* **41**, 1819-1828.
- Gülçin, I., Beydemir, S., Sat, İ.G. and Küfrevioğlu, Ö.I.**, 2005. Evaluation of antioxidant activity of cornelian cherry (*Cornus mas* L.). *Acta Alimentaria*. **34**, 193-202.
- Gülçin, İ, Oktay, M., Küfrevioğlu, Ö.İ. ve Aslan, A.**, 2002. Determination of antioxidant activity of Lichen *Cetraria islandica* (L). *Journal of Ethnopharmacology*. **79**, 325-329.
- Gülçin, İ.**, 2002. Isırgan Otunun (*Urtica dioica*) Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi, Oksidatif Enzimlerin Karakterizasyonu ve Bazı *in vivo* Etkilerinin İncelenmesi. *Doktora Tezi*, A.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Gülçin, İ., Küfrevioğlu Ö.İ., Oktay, M. ve Büyükokuroğlu, M.E.**, 2004. Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *Journal of Ethnopharma*. **90**, 205–215.

- Güven, A., Erginsoy, S. ve Kaya, N., 2003. Kazlarda karbon tetraklorür zehirlenmesinin biyokimyasal ve patolojik parametrelere etkisi. *Kafkas Ü. Vet. Fak. Derg.* **9**, 131-136.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., 1989. Free radicals in biology and medicine, Oxford University Press, London, 36-245.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., 1990. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. *Method in Enzymology*. **186**, 1-85.
- Halliwell, B. and Gutteridge, W.M.C., 1999. Free radicals in biology and medicine. Oxford Medicine Press 246-351.
- Halvorsen, B.L., Holte, K., Myhrstad, M.C.W., Barikmo, I., Hvattum, E. and Fargetun Remberg, S., 2002. A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *Journal of Nutrition*. **132**, 461-471.
- Hara, A. and Radin, N.S., 1978. Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. *Anal. Biochem.* **90**(1), 420-426.
- Haskell, T.H., Peterson, F.E., Watson, D., Plessas, N.R. and Culbertson, T., 1970. Nevraminidose inhibition and viral chemotherapy. *J.Med. Chem.* **13**, 697-704.
- Hassimotto, N.M.A., Pinto, M.D.S. and Lajolo, F.M., 2008. Antioxidant status in humans after consumption of blackberry (*Rubus fruticosus* L.) juices with and without defatted milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **56**, 11727-11733.
- Henry, J.P. and Stephens-Larson, P., 1984. Reduction of chronic psychosocial hypertension in mice by decaffeinated tea. *Hypertension*. **6**, 437-444.
- Herrero, E., Ros, J., Belli, G. and Cabisco, E., 2008. Redox control and oxidative stress in yeast cells. *Biochem. et Bioph. Acta*. **1780**, 1217-1235.
- Ho, C.T., Chen, C.W., Vanasundara, U.N. and Shahidi, F., 1997. Natural antioxidants from tea. Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects and Applications, Shahidi, F. (Ed.), AOCS Press: Champaign, IL, 213-223.
- Ho, C.T., Chen, Q., Shi-Zhang, K.Q. and Rosen, R.T., 1992. Antioxidative effect of polyphenol extract prepared from various Chinese teas. *Prev. Med.* **21**, 520-525.
- Holley, A.E. and Cheeseman, K.H., 1993. Measuring free radical reactions *in vivo*. *Br. Med. Bull.* **49**(3), 494-505.
- Hwang, C., Sinskey, A.J. ve Lodish, H.F., 1992. Oxidized redox state of glutathione in the endoplasmic-reticulum. *Science*. **57**, 1496-1502.
- Hwang, I.K., Yoo, K.Y., Kim, D.S., Jeong, Y.K., Kim, J.D., Shin, D.W., Lim, S.S., Yoo, I.D., Kang, T.C., Kim, H.K., Moon, W.K. and Won, M.H., 2004. Neuroprotective effects of grape seed extract on neuronal injury by inhibiting DNA damage in the gerbil hippocampus after transient forebrain ischemia. *Life Sci.* **75**, 1989-2001.
- Imahori, Y., Takemura, M. and Bai, J., 2008. Chilling-induced oxidative stress and antioxidant responses in mume (*Prunus mume*) fruit during low temperature storage. *Postharvest Biol. and Techno.* **49**, 54-60.
- İlhan, N., 1998. Deneysel olarak karaciğer iskemi reperfüzyon hasarı oluşturulan koyalarda oksidan ve antioksidan sistemin incelenmesi. Doktora Tezi. Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Bölümü.
- Jakobek, L., Seruga, M., Seruga, B., Novak, I. and Kosanovic, M.M., 2009. Phenolic compounds composition and antioxidant activity of fruits of *Rubus* and *Prunus* species from Croatia. *International Journal of Food Science and Technology*. **44**, 860-868.

- Jang, J.T., Gren, J.B., Beard, J.L. and Gren, M.H., 2000. Kinetic analysis shows that iron deficiency decreases liver vitamin A mobilization in rats. *J Nutr.* **130**, 1291-1296.
- Jeong, J.B., Park, J.H., Lee, H.K., Ju, S.Y., Hong, S.C., Lee, J.R., Chung, G.Y., Lim, J.H. and Jeong, H.J., 2009. Protective effect of the extracts from *Cnidium officinale* against oxidative damage induced by hydrogen peroxide via antioxidant effect. *Food and Chem. Toxicol.* **47**, 525-529.
- Ju, H.K., Cho, E.J., Jang, M.H., Lee, Y.Y., Hong, S.S., Park, J.H. and Kwan, S.W., 2009. Characterization of increased phenolic compounds from fermented bokbunja (*Rubus coreanus* Miq.) and related antioxidant activity. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* **49**, 820-827.
- Jung, J., Son, M.Y., Jung, S., Nam, P., Jung, J.S., Lee, S.J. and Lee, K.G., 2009. Antioxidant properties of Korean black raspberry wines and their apoptotic effects on cancer cells. *Journal of Science and Food Agricultural.* **89**, 970-977.
- Kafkas, E., Özgen, M., Özoğul, Y. and Türemiş, N., 2008. Phytochemical and fatty acid profile of selected red raspberry cultivars: a comparative study. *Journal of Food Quality.* **31**, 67-78.
- Katsanidis, E. and Addis, P.B., 1999. Novel HPLC analysis of tocopherols and cholesterol in tissue. *Free Radic. Biol. Med.* **27(11-12)**, 1137-1140.
- Kaviarasan, S., Naik, G.H., Gangabthagirathi, R., Anuradha, C.V. and Priyadarsini, K.I., 2007. In vitro studies on antiradical and antioxidant activities of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) seeds. *Food Chem.* **103**, 31-37.
- Kawanishi, S., Hiraku, Y. and Oikawa, S., 2001. Mechanism of guanine-specific DNA damage by oxidative stress and its role in carcinogenesis and aging. *Mutation Rese.* **488**, 65-76.
- Keha, E. ve Küfrevioğlu Ö.İ., 1997. *Biyokimya Şafak Yayınevi*, 151-157.
- Kelly, S.A., Havrilla, C.M., Brady, T.C., Abramo, K.H. and Levin, E.D., 1998. Oxidative stress in toxicology: established mammalian and emerging piscine model systems. *Environ. Health Persp.* **106**, 1-24.
- Kelner, M.J., Bagnell, R.D., Ughk, S.F., Montoya, M.A. and Mullenbach, G.T., 1995. Heterologous expression of selenium-dependent glutathione peroxidase affords cellular resistance to paraquat. *Archives of Biochem. And Bioph.* **323**, 40-46.
- Keser, S., 2006. Trans-3,5,4'-Trihidroksistilben'in, Potasyum Bromat Etkisine Maruz Bırakılan Yaşlı Dişi Sıçanların Bazı Dokularındaki Biyokimyasal Değişimler Üzerine Etkisi. *Yüksek Lisans Tezi*, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- Khanizadeh, S., Rekika, D., Moghaddam, B.E., Tsao, R., Yang, R., Charles, M.T., Sullivan, J.A., Gauthier, L., Gosselin, A., Potel, A.M., Reynaud, G. and Thomas, E., 2009. Horticultural characteristics and chemical composition of advanced raspberry lines from Quebec and Ontario. *LWT-Food Science and Technology.* **42**, 893-898.
- Kılınç, K., 1985. Oksijen radikalleri, üretilmeleri, fonksiyonları, toksik etkileri, *Biyokimya Dergisi.* **10**, 60-89.
- Kim, A., Murphy, M.P. and Oberley, T.D., 2005. Mitochondrial redox state regulates transcription of the nuclear-encoded mitochondrial protein manganese superoxide dismutase: a proposed adaptive response to mitochondrial redox imbalance. *Free Radical Biology & Medic.* **38**, 644-654.
- Kintzios, S., Papagorgiou, K., Yiakoumettis, I., Baricevic, D. and Kusar, A., 2010. Evaluation of the antioxidant activities of four Slovene medicinal plant species

- by traditional and novel biosensory assays. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **53**, 773-776.
- Kirakosyan, A., Seymour, E., Kaufman, P.B., Warber, S., Bolling, S. and Chang, S.C.**, 2003. Antioxidant capacity of polyphenolic extracts from leaves of *Crataegus laevigata* and *Crataegus monogyna* (Hawthorn) subjected to drought and cold stress. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **51**, 3973-3976.
- Kiselova, Y., Ivanova, D., Chervenkov, T., Gerova, D., Galurska, B., Yankova, T.**, 2006. Correlation between the *in vitro* antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from Bulgarian herbs. *Phytotherapy Research*. **20**, 961-965.
- Klug, D., Rabani, J. and Fridovich, I.**, 1972. A direct demonstration of the catalytic action of superoxide dismutase through the use of pulse radiolysis. *J. Biol. Chem.* **247(15)**, 4839-4842.
- Kojo, S.**, 2004. Vitamin C: basic metabolism and its function as an index of oxidative stress. *Curr. Med. Chem.* **11**, 1041-1064.
- Konyalıoğlu, S. and Karamenderes C.**, 2005. The protective effects of *Achillea* L. species native in Turkey against H₂O₂-induced oxidative damage in human erythrocytes and leucocytes. *Journal of Ethnopharmacology*. **102**, 221-227.
- Krajcovicova-Kudlackova, M., Paukova, V., Bacekova, M. and Dusinska, M.**, 2004. Lipid peroxidation in relation to vitamin C and vitamin E levels. *Cent. Eur. J. Public Health*. **12**, 46-48.
- Ku, C.S. and Mun, S.P.**, 2008. Antioxidant activities of ethanol extracts from seeds in fresh bokbunja (*Rubus coreanus* Miq.) and wine processing waste. *Bioresource Technology*. **99**, 4503-4509.
- Kumaraguruparan, R., Subapriya, R., Kabalimoorthy, J. and Nagini, S.**, 2002. Antioxidant profile in the circulation of patients with fibroadenoma and adenocarcinoma of the breast. *Clin Biochem*. **35**, 275-279.
- Larson, R.A.**, 1988. The antioxidants of higher plants. *Pytochemistry*. **27(4)**, 969-978.
- Li, C., Son, H.J., Huang, C., Lee, S.K., Lohakare, J. and Wang, M.H.**, 2010. Comparison of *Crataegus pinnatifida* Burge var. *typica* Schneider and *C. pinnatifida* Burge fruits for antioxidant, anti α -glucosidase, and anti-inflammatory activities. *Food Science and Biotechnology*. **19(3)**, 769-775.
- Liu, J.L., Yuan, J.F. and Zhang, Z.Q.**, 2010a. Microwave-assisted extraction optimized with response surface methodology and antioxidant activity of polyphenols from hawthorn (*Crataegus pinnatifida* Bge.) fruit. *International Journal of Food Science and Technology*. **45**, 2400-2406.
- Liu, T., Cao, Y. and Zhao, M.**, 2010b. Extraction optimization, purification and antioxidant activity of procyanidins from hawthorn (*C. pinnatifida* Bge. Var. *major*) fruits. *Food Chemistry*. **119**, 1656-1662.
- Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.**, 1951. Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *The J. of Biochem.* **193**, 265-277.
- Luo, M., Kannar, K., Wahlqvist, M.L. and O'Brien, R.C.**, 1997. Inhibition of LDL oxidation by green tea extract. (comment, letter) *Lancet*. **349**, 360-361.
- Luther, M., Parry, J., Moore, J., Meng, J., Zhang, Y., Cheng, Z. and Yu, L.L.**, 2007. Inhibitory effect of chardonnay and black raspberry seed extracts on lipid oxidation in fish oil and their radical scavenging and microbial properties. *Food Chemistry*. **104**, 1065-1073.
- Machlin, L.J. and Bendich, A.**, 1987. Free radical tissue damage: Protective role of antioxidant nutrients. *Fabes J.* **1**, 441-445.

- Mannervik, B.**, 1985. Glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.* **113**, 490-495.
- Martini, S., D'Addario, C., Colacevich, A., Focardi, S., Borghini, F., Santucci, A., Figura, N. and Rossi, C.**, 2009. Antimicrobial activity against *Helicobacter pylori* strains and antioxidant properties of blackberry leaves (*Rubus ulmifolius*) and isolated compounds. *International Journal of Antimicrobial Agents.* **34**, 50-59.
- Masella, R., Di Benedetto, R., Vari, R., Filesi, C. and Giovannini, C.**, 2005. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J. Nutr. Biochem.* **16**, 577-586.
- Matsuzaki, S., Szweda, P.A., Szweda, L.I. and Humphries, K.M.**, 2009. Regulated production of free radicals by the mitochondrial electron transport chain: Cardiac ischemic preconditioning. *Avdan. Drug Deliv. Rev.* **61**, 1324-1331.
- Mecoci, P., Beal, M.F., Polidori, M.C., Cherubini, A. and Chiosne, F.**, 1997. Mitochondrial membrane fluidity and oxidative damage to mitochondrial DNA in aged human brain. *Mol. Chem. Neuropathol.* **31**, 53-64.
- Meir, S., Kanner, J., Akiri, B. and Hadas, S.P.**, 1995. Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* **43**, 1813-1819.
- Mercan, U.**, 2004. *YYU Vet Fak Derg.* **15**, 91-96.
- Meyer, A.S., Heinonen, M. and Frankel, E.N.**, 1998. Antioxidant interactions of catechin, cyanidin, caffeic acid, quercetin, and ellagic acid on human LDL oxidation. *Food Chem.* **61**, 71-75.
- Michalczyk, M., Macura, R. and Matuszak, I.**, 2009. The effect of air-drying, freeze-drying and storage on the quality and antioxidant activity of some selected berries. *Journal of Food Processing and Preservation.* **33**, 11-21.
- Michiels, C., Raes, M., Toussaint, O. and Remacle, J.**, 1994. Importance of Superoxide dismutase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.* **17(3)**, 235-48.
- Miller, D.D.**, 1996. Mineral. *Food Chemistry*, Fennema, O. R. (Ed.), Dekker: New York, p 618-649.
- Miyake, Y., Murakami, A., Sugiyama, Y., Isobe, M., Koshimizu, K. ve Ohigashi, H.**, 1999. Identification of coumarin from lemon fruit (*Citrus limon*) as inhibitors of *in vitro* tumor promotion and superoxide and nitric oxide generation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* **47**, 3151-3157.
- Moad, G., Solomon, D.H.**, 1995. The chemistry of free radical polymerisation. Pergamon, Oxford.
- Mohamed, A., Hussein, A.S., Bhathena, S.J., and Hafez, Y.S.**, 2002. The effect of dietary menhaden olive, and coconut oil fed with three levels of vitamin E on plasma and liver lipids and plasma fatty acid composition in rats *The Journal of Nutritional Biochemistry.* **13**, 435-441.
- Moridani, M.Y. and O'Brien, P.J.**, 2001. Iron complexes of deferiprone and dietary plant catechols as cytoprotective superoxide radical scavengers. *Biochem. Pharma.* **62**, 1579-1585.
- Motamed, S.M. and Naghibi, F.**, 2010. Antioxidant activity of some edible plants of the Turkmen Sahara region in northern Iran. *Food Chemistry.* **119**, 1637-1642.
- Mukhopadhyay, S., Das, S.K. and Mukherjee, S.**, 2004. Expression of Mn-superoxide dismutase gene in nontumorigenic and tumorigenic human mammary epithelial cells. *J Biomed Biotechnol.* **2004**, 195-202.

- Mungan, G.**, 1996. Kan bankalarında CPDA-1 (Citrate Phosphate Dextrose Adenine) ile saklanan kanlarda allopürinolün lipid peroksidasyonu ve biyokimyasal parametrelere etkisinin incelenmesi. *Uzmanlık Tezi*, Ankara Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara.
- Nakagawa, K., Ninomiya, M., Okubo, T., Aoi, N., Nuneja, L.R., Kim, M., Yamanaka, K. and Miyazawa, T.**, 1999. Tea catechin supplementation increases antioxidant capacity and prevents phospholipid, hydroperoxidation in plasma in human. *J. Agric. Food Chem.* **47**, 3967-3973.
- Nelson, D.L. and Cox, M.M.**, 2000. Lehninger Principles of Biochemistry. Worth publishers, Third Edition, p.1152, New York.
- Nickavar, B., Kamalinejad, M., Haj-Yahya, M. and Shafaghi B.**, 2006. Comparison of the free radical scavenging activity of six Iranian *Achillea* species. **44(3)**, 208-212.
- Nishikawa, M., Hasdida, M. and Takakura, Y.**, 2009. Catalase delivery for inhibiting ROS-mediated tissue injury and tumor metastasis. *Avdan. Drug Deliv. Rev.* **61**, 319-326.
- Ntambi, J.M.**, 1999. Regulation of stearyl-CoA desaturase by polyunsaturated fatty acids and cholesterol. *Journal of Lipid Research.* **40(9)**, 1549-1558.
- Ntanios, F.Y. and Jones, P.J.H.**, 1998. Effects of variable dietary sitostanol concentrations on plasma lipid profile and phytosterol metabolism in hamsters. *Biochim. et Biophys. Acta*, **1390**, 237-244.
- Oboh, G., Puntel, R.L. and Rocha, J.B.T.**, 2007. Hot pepper (*Capsicum annuum*, Tepin and *Capsicum chinese*, Habanero) prevents Fe²⁺-induced lipid peroxidation in brain – in vitro. *Food Chem.* **102**, 178-185.
- Ogawa, K., Sakakibara, H., Iwata, R., Ishii, T., Sato, T., Goda, T., Shimoi, K. and Kumazawa, S.**, 2008. Anthocyanin composition and antioxidant activity of the crowberry (*Empetrum nigrum*) and other berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* **56**, 4457-4462.
- Oğuz, M.**, 1990. Oksijen radikalleri. *C.Ü.Tıp Fak.Der.* **12**, 2.
- Olsvik, P.A., Kristensen, T., Waagbø, R., Rosseland, B.O., Tollefsen, K.E., Baevefjord, G. and Berntssen, M.H.G.**, 2005. mRNA expression of antioxidant enzymes (SOD:CAT and GSH-Px) and lipid peroxidative stress in liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*) exposed to hyperoxic water during smoltification. *Comp. Biochem. and Phys. Part C.* **143**, 263-274.
- Oyaizu, M.**, 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Jpn J Nutr.* **44**, 307-315.
- Ozturk, M., Guzelhan, Y., Sayar, K. ve Tuzun, U.**, 2001. Bulletin of Clinical Psychopharmacology. **11**, 3.
- Özdem, S.S. and Sadan, G.**, 1994. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve klinik açıdan önemi. *Akdeniz Ü. Tıp Fak. Derg.* **11**, 63-71.
- Özer, N.**, 1996. Temel Biyokimya Editörler (Onat, T. Emerk, K.) *Saray Medikal Yayıncılık*, İzmir 785-820.
- Özşahin, A.D.**, 2010. Malatya Yöresine Ait Bazı Üzüm Ve Kayısı Çeşitlerinin Fitokimyasal İçeriklerine Bağlı Olarak Antioksidan Aktivitelerinin Araştırılması. *Doktora Tezi*, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- Pande, G. and Akoh, C.C.**, 2010. Organic acids, antioxidant capacity, phenolic content and lipid characterization of Georgia-grown underutilized fruit crops. *Food Chemistry.* **120**, 1067-1075.

- Pantelidis, G.E., Vasilakakis, M., Manganaris, G.A. and Diamantidis, Gr., 2007.** Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin, and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and cornelian cherries. *Food Chemistry*. **102**, 777-783.
- Perumal, S.S., Shanthi P. and Sachdanandam, P., 2005.** Combined efficacy of tamoxifen and coenzyme Q10 on the status of lipid peroxidation and antioxidants in DMBA induced breast cancer. *Mol Cell Biochem*. **273**, 151-160.
- Pezzuto, J.M., 1997.** Plant-derived anticancer agents. *Biochemical Pharmacology*. **53**, 121-133.
- Potrich, F.B., Allemand, A., Da Silva, L.M., Dos Santos, A.C., Baggio, C.H., Freitas, C.S., Mendes, D.A.G.B., Andre, E., Werner, M.F.P. and Marques, M.C.A., 2010.** Antiulceronic activity of hydroalcoholic extract of *Achillea millefolium* L.: Involvement of the antioxidant system. *Journal of Ethnopharmacology*. **130**, 85-92.
- Pratt, D.E. and Hudson, B.J.F., 1990.** Natural antioxidants not exploited commercially in food antioxidants. Hudson B.J.F. Ed.; Elsevier; Amsterdam, 171-192.
- Pryor, W.A., 2000.** Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trials. *Free Rad. Biol. Med*. **28**, 141-164.
- Ramarathnam, N., Osawa, T., Namiki, M and Kawakishi, S., 1988.** Chemical studies on novel rice hull antioxidants. 1. Isolation, fractionation, and partial characterization. *J. Agric. Food Chem*. **36**, 732-737.
- Reed, D.J., 2001.** Mechanisms of Chemically Induced Cell Injury and Cellular Protections Mechanisms, (HODGSON, E., SMART, R.C. editörler). Introduction to biochemical toxicology. Wiley-Interscience, New York, Third edition. 697 s.
- Rice-Evans, C.A., Diplock, A.T. and Symons, M.C.R., 1991.** Techniques in free radicals research. *Elsevier*, Amsterdam, vol 22.
- Rodriguez, J., Di Pierro, D., Gioia, M., Monaco, S., Delgado, R., Coletta, M. and Marini, S., 2006.** Effects of a natural extract from *Mangifera indica* L. and its active compound, mangiferin, on energy state and lipid peroxidation of red blood cells. *Biochim. et Biophys. Acta*. **1760**, 1333-1342.
- Romani, A., Mulinacci, N., Pinelli, P., Vincierri, F.F. and Cimato, A., 1999.** Polyphenolic content in five Tuscany cultivars of *Ulea europea*. *J. Agric. Food Chem*. **47**, 964-967.
- Ruch, R.J., Cheng, S.J. and Klaunig, J.E., 1989.** Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogenesis*. **10**, 1003-1008.
- Saint-Cricq de Glaulejac, N., Provost, C. and Vivas, N., 1999.** Comparative study of polyphenol scavenging activities by different methods. *J. Agric. Food Chem*. **47**, 425-431.
- Serteser, A., Kargioğlu, M., Gök, V., Bağci, Y., Özcan, M.M. and Arslan, D., 2008.** Determination of antioxidant effects of some plant species wild growing in Turkey. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. **59(7-8)**, 643-651.
- Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. and Nakamura T., 1992.** Antioxidant properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **40**, 945-948.

- Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Oxidants and Antioxidants*. **299**, 152-178.
- Sithisarn, P., Carlsen, C.U., Andersen, M.L., Gritsanapan, W. and Skibsted, L.H., 2007. Antioxidative effects of leaves from *Azadirachta* species of different provenience. *Food Chem.* **104**(4), 1539-1549.
- Skrzydłewska, E., Ostrowska, J., Farbiszewski, R. and Michalak, K., 2001. Protective effect of green tea against lipid peroxidation in the rat liver, blood serum and the brain. *Phytomed.* **9**, 232-238.
- Smirnoff, N. and Pallanca, J.E., 1995. Ascorbate metabolism in relation to oxidative stress. *Biochem. Soc. Trans.* **24**, 16.
- Soares, J.R., Dins, T.C.P., Cunha, A.P. and Ameida, L.M., 1997. Antioxidant activity of some extracts of *Thymus zygis*. *Free Radical Research*. **26**, 469-478.
- Staab, D.B., Hodges, R.E., Metcalf, W.K. and Smith, J.L., 1984. Relationship between vitamin A and iron in the liver. *J Nutr.* **114**, 840-844.
- Tadic, V.M., Dobric, S., Markovic, G.M., Dordevic, S.M., Arsic, I.A., Menkovic, N.R. and Stevic, T., 2008. Anti-inflammatory, gastroprotective, free-radical scavenging, and antimicrobial activities of hawthorn berries ethanol extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **56**, 7700-7709.
- Taşdemir, B., 1997. Behçet hastalığında lipid peroksidasyonu, antioksidan durum ve nitrik oksit düzeylerinin değerlendirilmesi. *Uzmanlık Tezi*, O.M.Ü. Tıp Fak. Dermatoloji Anabilim Dalı, Samsun.
- Tebib, K., Rouanet, J.M. and Besançon, P., 1997. Antioxidant effects of dietary polymeric grape seed tannins in tissues of rats fed a high cholesterol vitamin E-deficient diet. *Food Chem.* **59**, 135-141.
- Trumbeckaite, S., Benetis, R., Bumblauskiene, L., Burdulis, D., Janulis, V., Toleikis, A., Viskelis, P. and Jakstas, V., 2011. *Achillea millefolium* L. s.l. herb extract: Antioxidant activity and effect on the rat heart mitochondrial functions. *Food Chemistry*. **127**, 1540-1548.
- Tüzün, C., 1997. Biyokimya 3. Baskı Palme Yayıncılık, 151-187.
- Tvrzicka, E., Vecka, M., Stankova, B. and Zak, A., 2002. Analysis of fatty acids in plasma lipoproteins by gas chromatography flame ionisation detection Quantative aspects. *Anal. Chimica. Acta*. **465**, 337-350.
- Uysal, M., 1998. Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada prooksidan antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim*. **11**, 336-341.
- Ünal, D., 1999. Serbest radikaller. Sendrom, Mart, 68-80.
- Valentine, W.N. and Paglia, D.E., 1980. Syndromes with increased red-cell glutathione (GSH). *Hemoglobin*. **4**(5-6), 799-804.
- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M. and Mazur, M., 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*. **160**, 1-40.
- Verma, A.R., Vijayakumar, M., Rao, C.V. and Mathela, C.S., 2010. *In vitro* and *in vivo* antioxidant properties and DNA damage protective activity of green fruit of *Ficus glomerata*. *Food and Chem. Toxicol.* **48**, 704-709.
- Vitalini, S., Granda, S., Visioli, F., Agradi, E., Fico, G. and Tome, F., 2006. Antioxidant activity of wild plants collected in Valsesia, an Alpine Region of Northern Italy. *Phytotherapy Research*. **20**, 576-580.
- Voet, D., Voet, J.G., Wiley, J. and Pratt, C.W., 1999. Biochemistry. Sons Inc. New York.

- Voinea, M., Georgescu, A., Manea, A., Dragomir, E., Manduteanu, I., Popov, D. and Simionescu, M.,** 2004. Superoxide dismutase entrapped-liposomes restore the impaired endothelium-dependent relaxation of resistance arteries in experimental diabetes. *Eur. J. of Pharma.* **484**, 111 – 118.
- Vrcovska, V., Sousa, C., Valentao, P., Ferreres, F., Pereira, J.A., Seabra, R.M. and Andrade, P.B.,** 2006. Antioxidative properties of tronchuda cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *costata* DC) external leaves against DPPH, superoxide radical, hydroxyl radical and hypochlorous acid. *Food Chem.* **98**, 416-425.
- Wang, H., Nair, M.G., Strasburg, G.M., Chang, Y.C., Booren, A.M., Gray, J.I. and DeWitt, D.L.,** 1999. Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their glycon, cyanidin from tart cherries. *Journal of Natural Products.* **62**, 294-296.
- Wang, S.Y., Bowman, L. and Ding, M.,** 2008. Methyl jasmonate enhances antioxidant activity and flavonoid content in blackberries (*Rubus sp.*) and promotes antiproliferation of human cancer cells. *Food Chemistry.* **107**, 1261-1269.
- Wang, S.Y., Chen, C.T. and Wang, C.Y.,** 2009. The influence of light and maturity on fruit quality and flavonoid content of red raspberries. *Food Chemistry.* **112**, 676-684.
- Wang, Z.Y., Huang, M.T., Lou, Y.R., Xie, J.G., Reuhl, K.R., Nevvmark, H.L., Ho, C.T., Yang, C.S. and Conney, A.H.,** 1994. Inhibitory effects of black tea, green tea, decaffeinated black tea and decaffeinated green tea on ultraviolet B light induced skin carcinogenesis in 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-initiated SKH-1 mice. *Cancer Res.* **54**, 3428-3435.
- Winrow, V.R., Winyard, P.G., Morris, C.J. and Blake, D.R.,** 1993. Free radicals in inflammation. Second messengers and mediators of tissue destruction. *Br. Med. Bul.* **49(3)**, 506-522.
- Wu, L., Chang, L., Chen, S., Fan, N. and Ho, J.A.,** 2009. Antioxidant activity and melanogenesis inhibitory effect of the acetonic extract of *Osmanthus fragrans*: A potential natural and functional food flavor additive. *LWT-Food Science and Technology.* **42**, 1513-1519.
- Yagi, K.,** 1987. Lipid peroxides and human disease. *Chemistry and Physics of Lipids.* **45**, 337-351.
- Yanbeyi, S.,** 1999. Aspirin ve antioksidan buthylated hydroxyanisole'ün tavşanlarda eritrosit total katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri üzerine etkileri. *Doktora Tezi*, O. M.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Yazdanparast, R., Bahramikia, S. and Ardestani, A.,** 2008. *Nasturtium officinale* reduces oxidative stress and enhances antioxidant capacity in hypercholesterolaemic rats. *Chemico-Biological Interactions.* **172**, 176-184.
- Yen G.C., Wu, S.C. and Duh, P.D.,** 1996. Extraction and identification of antioxidant component from the mulberry (*Morus alba* L.). *J. of Agric. Food Chem.* **44**, 1687-1690.
- Yen, G.C. and Chen, H.W.,** 1995. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* **43**, 27-32.
- Yildirim, A., Mavi, A., Oktay, M., Kara, A.A., Algur, Ö.F. and Bilaloğlu, V.,** 2000. Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of Tilia (*Tilia argentea* Desf Ex DQ), Sage (*Salvia triloba* L.) and Black tea (*Camellia sinensis*) extracts. *J. of Agric. Food Chem.* **48**, 5030-5034.

- Zern, T.L., West, K.L. and Fernandez, M.M., 2003.** Grape polyphenols decrease plasma triglycerides and cholesterol accumulation in the aorta of ovariectomized guinea pigs. *J. Nutr.* **133**, 2268-2272.
- Zhang, J.F., Liub, H., Sun, Y.Y., Wang, X.R., Wu, J.C. and Xue, Y.Q., 2005.** Responses of the antioxidant defenses of the Goldfish *Carassius auratus*, exposed to 2,4-dichlorophenol. *Environ. Toxicol. and Pharma.* **19**, 185-190.
- Zintzen, H., 1978.** A Summary of The Vitamin E/Selenium Problem in Ruminants. *News and Reviews Roche.* 1-18.

ÖZGEÇMİŞ

15.05.1983 tarihinde Elazığ İli Palu İlçesinde doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Palu'da lise öğrenimini ise Elazığ'da tamamladıktan sonra 2000 yılında Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'ne yerleştim. 2004 yılında mezun oldum ve aynı yıl Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji ABD'nda yüksek lisansa başladım. 2006 yılında yüksek lisansı bitirdikten sonra 07.09.2006 tarihinde Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya ABD'nda doktora eğitimime başladım. 2004 yılında Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde araştırma görevlisi olarak işe başladım ve halen aynı yerde görev yapmaktayım.