



T.C.

BARTIN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÜVEZ (*Sorbus domestica* L.) BİTKİSİ MEYVE ÖZÜTÜNÜN
ANTİOKSİDAN, ANTİKOLİNERJİK, ANTİKANSER VE
GENOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

KUBİLAY ŞAHİN

DANIŞMAN

DOÇ. DR. SEVGİ ÜNAL KARAKUŞ

BARTIN-2023



T.C.

BARTIN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ÜVEZ (*Sorbus domestica* L.) BİTKİSİ MEYVE ÖZÜTÜNÜN ANTİOKSİDAN,
ANTİKOLİNERJİK, ANTİKANSER VE GENOTOKSİK ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kubilay ŞAHİN

BARTIN-2023

KABUL VE ONAY



BEYANNAME

Bartın Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre Doç. Dr. Sevgi ÜNAL KARAKUŞ danışmanlığında hazırlamış olduğum “ÜVEZ (*Sorbus domestica* L.) BİTKİSİ MEYVE ÖZÜTÜNÜN ANTİOKSİDAN, ANTİKOLİNERJİK, ANTİKANSER VE GENOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI” başlıklı yüksek lisans tezimin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

01.02.2023

Kubilay ŞAHİN

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tezimin tüm aşamalarında, bilgi birikimi ve tecrübesiyle beni destekleyen, yardımlarını esirgemeyen sayın danışman hocam Doç Dr. Sevgi ÜNAL KARAKUŞ'a ve ortak tez danışmanım Prof. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL'e katkılarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışması sürecinde düşüncelerinden yardım aldığım, antikanser aktivite aşamasında ve veri sonuçlarının istatistiksel analizinde yardımcı olan Arş. Gör. Dr. Ahmet KARAKUŞ'a, enzim aktivitesi testlerinde destek olan Doç Dr. Parham TASLİMİ ve Dr. Öğr. Üyesi Nastaran SADEGHIAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Her adımında ve en sıkıntılı zamanlarda bile maddi, manevi desteklerini yanımda hissettiğim ve emeklerini asla ödeyemeyeceğim değerli aileme (annem Ayşe ŞAHİN, babam Yaşar ŞAHİN ve ağabeyim Birgütay ŞAHİN) en içten teşekkürlerimi sunarım.

Kubilay ŞAHİN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ÜVEZ (*Sorbus domestica* L.) BİTKİSİ MEYVE ÖZÜTÜNÜN ANTIOKSİDAN, ANTİKOLİNERJİK, ANTİKANSER VE GENOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Kubilay ŞAHİN

Bartın Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Sevgi ÜNAL KARAKUŞ

Ortak Tez Danışmanı: Prof. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL

Bartın-2023, sayfa: 65

Üvez (*Sorbus domestica* L.) meyvesi ülkemizin çoğu bölgesinde yetişebilen ve şifalı olduğuna inanılan bir meyvedir. Bu çalışmada, üvezin içeriğinde bulunan serbest radikal süpürücü antioksidan maddelerin etkinliği ve antikolinerjik olarak enzim inhibisyonu araştırılmıştır. Antioksidan kapasitesi bakır iyonlarını indirgeme (Cu^{2+}) (CUPRAC) testi, antikolinerjik etkinliği ise Asetilkolinesteraz (AChE) ve Bütilkolinesteraz (BChE) enzimleri üzerindeki inhibisyonu ile belirlenmiştir. Ayrıca tıbbi açıdan koruyucu ya da iyileştirici özelliği olabilecek bu meyvenin muhtemel sitotoksik ve genotoksik etkileri *in vitro* ortamda insan meme kanseri hücre kültürü (MCF-7) üzerinde çalışılmıştır. Sitotoksik etkinliği WST-1 testi ile incelenmiştir. Genotoksik etkinliği ise Komet testi ile araştırılmıştır.

CUPRAC testi ile üvez meyvesinin sulu ekstraksiyonuna ait farklı konsantrasyonların (5,10,15,20,25,30 $\mu\text{g/mL}$) etkinliği incelendiğinde standart antiosidanlara göre (α -Tokoferol ve Trolox) daha yüksek olduğu bulunmuştur. Antikolinerjik aktivitesi incelendiğinde ise Kolinesteraz enziminin standart inhibitörü olan Takrin'e karşı oldukça yüksek akviteye sahip olduğu görülmüştür. Sitotoksik etkinlik WST-1 ile incelendiğinde hücre kültürü

zerinde %50 inhibisyon konsantrasyonunun (IC₅₀) en yüksek ekstraksiyon (500000 ppm) oranında dahil elde edilemediği belirlenmiştir. Komet testi ile genotoksisite aktivitesi araştırılmış ve az miktarda da olsa genotoksik etki gösterdiği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, Antikolinerjik, Fitoterapi, Genotoksisite, MCF-7, *Sorbus domestica* L., Sitotoksisite.

Bilim Alan Kodu: 20325



ABSTRACT

M. Sc. Thesis

INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT, ANTICHOLNERGIC, ANTI-CANCER AND GENOTOXIC EFFECTS OF FRUIT EXTRACT OF ROWAN (*Sorbus domestica* L.)

Kubilay ŞAHİN

Bartın University

Graduate School

Department of Biology

Thesis Advisor: Assoc. Prof. Sevgi ÜNAL KARAKUŞ

Co-Advisor: Prof. Kemal BÜYÜKGÜZEL

Bartın-2023, pp: 65

Rowan (*Sorbus domestica* L.) fruit is a fruit that can be grown in most regions of our country and is believed to be medicinal. In this study, the effectiveness of free radical scavenging antioxidants in rowan content and enzyme inhibition as anticholinergic were investigated. Its antioxidant capacity was determined by the reduction of copper ions (Cu^{2+}) (CUPRAC) test, and its anticholinergic activity was determined by inhibition of Acetylcholinesterase (AChE) and Butyrylcholinesterase (BChE) enzymes. In addition, the possible cytotoxic and genotoxic effects of this fruit, which may have medicinal or curative properties, were studied *in vitro* on human breast cancer cell culture (MCF-7). Its cytotoxic activity was examined by the WST-1 test. Its genotoxic effect was investigated by the Comet test.

When the efficacy of different concentrations (5,10,15,20,25,30 $\mu\text{g/mL}$) of the aqueous extraction of rowan fruit was examined with the CUPRAC test, it was found that it was higher than the standard antioxidants (α -Tocopherol and Trolox). When its anticholinergic activity was examined, it was observed that it had a very high activity against Tacrine, the standard inhibitor of the Cholinesterase enzyme. When the cytotoxic activity was examined

with WST-1, it was determined that 50% inhibition concentration (IC₅₀) on cell culture could not be obtained even at the highest extraction rate (50000 ppm). Genotoxicity activity was investigated with the comet test and it was observed that it had a small amount of genotoxic effect.

Keywords: Antioxidant, Anticholinergic, Phytotherapy, Genotoxicity, MCF-7, *Sorbus domestica* L., Cytotoxicity.

Science Field Code: 20325



İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	ii
BEYANNAME.....	iii
ÖNSÖZ.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Çalışmada Kullanılan Meyve ve Genel Özellikleri.....	3
2.1.1. Üvez (<i>Sorbus domestica</i> L.).....	3
2.2. Fitoterapide Tıbbi Aromatik Bitkilerin Kullanımı.....	4
2.3. Oksidatif Stres ve Antioksidan Sistem.....	5
2.3.1. Serbest Radikaller.....	5
2.3.2. Reaktif Oksijen Türleri (ROT).....	6
2.4. Antioksidanlar.....	11
2.4.1. Antioksidanların Sınıflandırılması.....	14
2.4.2. Besin Maddelerinin İçeriğinde Bulunan Antioksidanlar.....	18
2.4.3. Antioksidan Aktivitesi Tayin Yöntemleri.....	20
2.5. Antikolinerjik Aktivite.....	22
2.6. Antikanser Aktivite.....	23
2.6.1. Sitotoksik Aktivite.....	23
2.7. Genotoksisite.....	24
2.7.1. Komet Testi (Alkali Tek Hücre Jel Elektroforezi).....	25
2.8. Çalışmanın Amacı.....	27
3. LİTERATÜR ÖZETLERİ.....	28
4. MATERYAL ve YÖNTEM.....	30
4.1. Bitki Materyalinin Hazırlanması.....	30
4.2. Ekstraktın Hazırlanışı ve Çözelti Elde Edilmesi.....	30

4.3. Bakır Antioksidan Kapasitesini Azaltma Testi (Kuprak Metodu)	31
4.3.1. Kuprak yöntemiyle indirgeme kapasitesi tayini için hazırlanan çözeltiler	31
4.4. Asetilkolinesteraz Enzimi Üzerine İnhibisyon Etkilerinin Belirlenmesi	31
4.5. Bütirilkolinesteraz Enzimi Üzerine inhibisyon Etkilerinin Belirlenmesi	32
4.6. Hücre Proliferasyon Testi	32
4.6.1. WST-1 Testi	33
4.7. Genotoksik Aktivitenin Belirlenmesi (Komet Testi).....	33
5. SONUÇLAR.....	35
5.1. Antioksidan Aktivite (Kuprak Testi)	35
5.2. Antikolinerjik Aktivite	36
5.2.1. Asetilkolin Esteraz Enzim Aktivitesine Karşı Standart İnhibitör (Takrin) Değerlendirilmesi	36
5.2.2. Bütirilkolin Esteraz Enzim Aktivitesine Karşı Standart İnhibitör (Takrin) Değerlendirilmesi	37
5.3. Antikanser Aktivite.....	38
5.3.1. Hücre Canlılığı Değerlendirmesi (WST-1 Testi).....	38
5.3.2. Komet Testi.....	39
6. TARTIŞMA.....	41
7. SONUÇ VE ÖNERİLER	47
KAYNAKLAR.....	48
ÖZGEÇMİŞ	65

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
2.1: Üvez meyvesi (<i>Sorbus domestica</i> L.)	3
2.2: AChE enziminin asetilkolinle etkileşimi	13
2.3: BChE enzimin mekanizma reaksiyonu	13
2.4: Askorbik asidin yapısı	18
2.5: Askorbik asidin oksidasyonu	18
2.6: Gıdalara ilave edilen sentetik antioksidanların yapısı	20
2.7: Komet görüntülerinin, oluşan DNA hasarına göre derecelendirilmesi	26
2.8: Komet testinin görüntü analizi şematik şekli	27
4.1: Bitkinin tartımı	30
4.2: Ekstraksiyon aşaması.	30
4.3: Asetilkolinesteraz aktivitesinin Ellman metoduyla tayini	32
5.1.: <i>S. domestica</i> ekstraktının farklı konsantrasyonlardaki bakır iyonlarını (Cu^{2+}) indirgeme aktivitesinin standart antioksidanlar ile karşılaştırması	35
5.2: AChE enzminin aktivite grafiği	36
5.3: BChE enzminin aktivite grafiği	37
5.4: <i>Sorbus domestica</i> 'ya ait hücre canlılığı grafiği	38
5.5: Çeşitli derecelerde DNA hasarının floresan mikroskop altındaki görüntüsü (10.000 ppm).	39
5.6: Çeşitli derecelerde DNA hasarının floresan mikroskop altındaki görüntüsü (50.000 ppm).	39

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
No	No
2.1: Reaktif oksijen türleri (ROT) ve serbest radikal (SR) olmayan türler	7
5.1: <i>Sorbus domestica</i> 'ya ait hücre canlılığı oranları	38
5.2: <i>S. domestica</i> L.'ye ait genotoksisite (Komet Testi) değerlendirme sonuçları.....	40



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
µl	: Mikrolitre
dk	: Dakika
g	: Gram
µg	: Mikrogram
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
°C	: Santigrat derece
rpm	: Dakikadaki devir sayısı

KISALTMALAR

+ Kontrol	: Pozitif kontrol
IC ₅₀	: İnhibitör Konsantrasyon 50
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
DMEM	: Dulbecco'nun Modifiye Eagle Medyumu
FBS	: Fetal Sığır Serumumu
PBS	: Fosfat Tampon Solüsyonu
WST-1	: 2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disülföfenil)-2H tetrazolyum monosodyum tuzu
MCF-7	: Meme kanseri hücre hattı

1. GİRİŞ

İnsanlar eski çağlardan beri bitkileri gıda temini ve hastalıkların tedavisi için kullanmışlardır. İnsanlar ve bitkiler arasında süregelen bağlantı etnobotanik alanın ortaya çıkmasına neden olmuştur (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011). Etnobotanik, yılların birikimiyle bitkilerin bilimsel olarak araştırılmasına, tıpta ve çeşitli alanlarda kullanılmasına katkı sağlamıştır (Koçyiğit, 2005).

Yüzyıllardır gıda, baharat, çeşni, tedavi gibi birçok alanda kullanılan Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin önemi ve kullanım miktarı her geçen gün artmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü verileri, dünyada yaklaşık 21.000 bitki türünün tıbbi amaçlı kullanıldığını bildirmektedir. Bugün tıbbi bitki pazarının yıllık 100 milyar dolar civarında olduğu tahmin ediliyor. Almanya (Hamburg), ABD (New York) ve Hong Kong, bitkisel ilaçların dünyadaki başlıca ticaret merkezleridir. Modern tıp, ilaç ve kimya endüstrisinde önemli ilerlemeler kaydedilmesine rağmen, alternatif tedavi yöntemleri ve şifalı bitkilerle tedavi güncelliğini korumuş ve hatta son yıllarda gelişmiş ülkelerde yoğun ilgi görmüştür. Öte yandan, az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde yaklaşık 2,5 milyarlık bir nüfus bilinen modern ilaçlardan yararlanamamaktadır (Koçyiğit, 2005). Mevcut çalışmalar, bitkiler tarafından üretilen doğal ürünler olan birincil ve ikincil metabolitlerin doğrudan ve dolaylı olarak endüstrinin en temel ürünlerinden biri olduğunu göstermektedir. Bitkiler topraktan elde ettikleri suyu, mineralleri ve bazı bileşenleri insan vücudunun kullanabileceği şekilde kendi metabolizmalarında bileşiklere dönüştürürler. Örneğin karbonhidratlar, proteinler, yağlar, vitaminler ve sekonder metabolitler gibi bazı birincil metabolitler bu bileşikler arasındadır. Bunlar tıbbi amaçlar için kullanılabilen aktif maddelerdir. Bu aktif maddeler vücudun savunma gücünü artırabilir ve organizmadaki belirli doku ve organların işlevleri üzerinde olumlu bir etkiye sahip olabilir (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011). Bitkilerin tıbbi amaçlarla kullanılabilmesi için etken maddelerin izole edilmesi gerekir. Bitkilerin etken madde özleri hayati öneme sahiptir (John vd., 2016).

Alternatif tıp ve beslenme amaçlı kullanılan bir bitkinin, toksik açıdan profilinin değerlendirilmesi, o meyvenin hastalıklara faydasının bilinmesi kadar önem arz etmektedir. Bitkiler doğal yollarla tüketilse dahi her maddenin belli bir miktarından fazlasının organizma için toksik etki vardır. Genetik toksikoloji, endojen veya ekzojen ajanlara maruziyetin ardından DNA'da oluşan kimyasal ve fiziksel hasarları inceleyen bilim dalıdır. Birçok ajanın

genotoksik etkisinin incelendiği çalışmalarda ajanların DNA hasarının ardından tümör oluşumunu (karsinogenez) indüklediği görülmektedir. Bu nedenle, genotoksisite ile kanser arasında kuvvetli bir ilişki olduğu ve insanlar için karsinogen olan ajanların %90'ının genotoksik etkili olduğu bildirilmiştir.

Oksidatif stres birçok hastalığın nedeni olabileceği gibi, hastalıkların patofizyolojisinde de ilerlemeyi tetikler. Bu sebepten, oksidatif stres ve antioksidanların hastalıklar ile ilişkisi *in vivo* ve *in vitro* alışmalar ile araştırılmaktadır. Sentetik antioksidanların kullanımı oldukça risklidir ve başta kanser olmak üzere birçok hastalığın oluşmasına ya da tetiklenmesine sebep olmasından dolayı, insanlar doğal antioksidanlara yönelmiştir. Doğal beslenme ile kardiovasküler hastalıklar, diyabet, hipertansiyon, kanser, Parkinson ve Alzheimer gibi birçok kronik hastalığın önüne geçildiği çalışmalar ile ispatlanmıştır (Marchand, 2002). Bitkilerin serbest radikalleri (karotenoid, fenolik, flavonik, antosiyanik türevler, doymamış yağ asitleri, vitaminler, enzimler ve kofaktörler) yakalayabilen antioksidan özelliklere sahip bileşiklerin yüksek içeriği, bunların profilaktik ve iyileştirici fitoterapide kullanımına ilgi uyandırmıştır. Antioksidanların rolü, canlı organizmalar üzerinde olumsuz etkisi olan biyolojik hücrelerdeki serbest radikalleri nötralize etmektir. Serbest radikallerin varlığına bağlı oksidatif stresin etkilerini nötralize etmede antioksidanlar önemli bir yere sahiptir (Elliot, 1999).

Bu bağlamda çalışmamız kapsamında; serbest radikallerin giderilmesinde kullanılan doğal antioksidanlara alternatif olarak katkı sağlayabilecek vez (*Sorbus domestica*) bitkisi meyveleri sulu özütlerinin antioksidan aktivitesini belirlemek için CUPRAC yöntemi kullanılmıştır. Sonuçlar standart olarak kullanılan olivetol'e göre karşılaştırılmıştır. Ek olarak Asetilkolin esterase ve Bütirilkolin esterase enzimleri üzerinde meyve özütünün antikolinergik etkinliği incelenmiştir. Ayrıca elde vez meyvesi özütünün sitotoksik aktivitesi WST-1 testi, genotoksik etkinliği ise Komet testi ile belirlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Çalışmada Kullanılan Meyve ve Genel Özellikleri

2.1.1. Üvez (*Sorbus domestica* L.)

Rosaceae familyası içerisinde yer alan üvez (*Sorbus domestica* L.); kış mevsiminde yapraklarını döken, yüksekliği 3-25 m olarak değişen, çiçekleri erselik çiçek yapısı sahip olup taç yaprakları beyaz veya pembe renge sahiptir. Çiçekleri ilkbahar aylarında açmaktadır. Yapraklar 3-6 cm uzunluğunda, kenarları dişli ve yaprak yüzeyi tüylü, 13-21 adet yaprakçığa sahiptir (Şekil 2.1) (Atasever, 2014).



Şekil 2.1: Üvez meyvesi (*Sorbus domestica* L.)

Üvezin ülkemizde yayılım gösteren 17 taksonu bulunmaktadır. Bu türlerden en önemlileri üvez (*Sorbus domestica* L.), Akçaağaç yapraklı üvez (*Sorbus torminalis*), Kuş üvezi (*Sorbus aucuparia*) ve Ak üvez (*Sorbus umbellata*)'dir (Gültekin ve Alan, 2007). Üvez meyvesi genellikle sarımsı ve kırmızı renge sahiptir. Meyveleri sevilerek tüketildiği gibi insan sağlığı açısından birçok hastalığa karşı iyileştirici özelliğe sahiptir (Schönfelder ve Schönfelder, 1982). Yapılan çalışmalarda üvez meyvelerinin şeker hastalığına, ses kısıklığına, soğuk algınlığına, diş ağrısına, karaciğer ve mide ağrılarına, yüksek kan şekeri gibi birçok hastalığı iyileştirici özelliğe sahiptir (Karadeniz, 2004).

Üvez meyvesi olgunlaşıp yeme olumuna geldikten sonra taze olarak veya reçel, şurup, marmelat, komposto ve çay gibi birçok farklı şekilde değerlendirilmektedir (Olszewska, 2011; Yılmaz, 2010). Üvez meyveleri eski dönemlerde şarap yapımında çok yaygın olarak kullanılmıştır. Bu dönemde üvez meyvesinden elde edilen şaraplar diğer meyve şaraplarına göre daha üstün kaliteye sahip olmuştur. Eski dönemden günümüze doğru üvez yetiştiriciliğinin önemi azalarak üvez şarabının yerini üzüm şarabı almıştır. Yoğun tarımla

birlikte üvez üretim alanlarının yerini elma, armut ve üzüm almıştır (Hrdousek ve Straznicko, 2015).

Üvez özellikle Karadeniz Bölgesi'nde etnofarmakolojik açıdan çok önemli bir meyvedir. Batı Karadeniz Bölgesinde doğal olarak yetişmekte ve yöre insanı tarafından doğrudan tüketilmektedir (Gültekin ve Divrik, 2005). Dünyada ve ülkemizde üvez üretim miktarı FAO verilerine göre ticari açıdan üretilmediği için yıllık üretim miktarı tam olarak verilmemektedir. Üvez meyvesi antioksidan değerleri bakımından insan sağlığı açısından önemli yere sahiptir. İçerisinde bulunan fenolik bileşikler çok çeşitli fizyolojik özellikler sergilemektedir (Balasundram vd., 2006). Üvezin içerdiği besinler ve kimyasallar gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Farmakolojik olarak doğal antioksidan bileşiklere sahip olan üvez meyvesi serbest radikallerin etkilerini azalttığı ve kronik hastalık riskini engellediği gözlemlenmiştir. (Ölschlager vd., 2004). Hasat edildiğinde olgunlaşmayan üvez meyvelerinde yüksek miktarda fenol bulunduğu için tadı buruktur. Olgunlaşma ile meyvedeki yüksek düzeyde olan fenolik bileşikler azalır ve buruk tat daha hoş a giden bir tada dönüşerek tüketime hazır hale gelir (Hakinken vd., 1999; Gil-Izquierdo ve Mellenthin 2001).

Kimyasal Yapısı: Meyveleri A, B2, C vitaminleri ve diğer mineralleri içerir. Her ikisi de flavonoid yapıya sahip olan seksangularetin glikozit ve isorhamnetin konjugatları, yaprak, meyve ve çiçek gibi *S. domestica*'nın çok çeşitli kısımlarında tespit edilmiştir. Meyveleri ayrıca prosiyanidinler, sinnamik asitler ve kersetin açısından da zengindir. Bitkinin fenolik bileşiklerce zengin olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmalar bitkinin çeşitli olgunlaşma dönemlerinde kalitatif ve kantitatif amaçlarla yürütülmüş ve tüm meyvelerin benzoik asitten zengin olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca fenilpropanoidlerden sinamoilkinik asit, flavonoidlerden kersetin glikozitler, hidroksisinamik asit ve türevleri, sersetol ve kemferol türevleri tanımlanmıştır. Bunlara ek olarak bir cercetole dimer de bulundu. Başka bir çalışmada ise meyvelerinden kafeoilkinik asit ve klorojenik asit izole edilmiştir (Olszewska, 2008; Forino vd., 2015).

2.2. Fitoterapide Tıbbi Aromatik Bitkilerin Kullanımı

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) raporlarına göre, gelişmekte olan ülkelerde yaşayan nüfusun %80'i, sağlık kalitelerini arttırabilmek amacıyla genellikle kimyasal olmayan bitki

kaynaklı ilaçlara güvenmektedir. Farmakolojik olarak üretilen modern ilaçların etken maddelerinin en az %25'inin genellikle bitkilerden elde edildiği bildirilmiştir. Ayrıca, sentetik olarak üretilen birçok ilacın etken maddeleri, bitkilerden ilk kez izole edilen kimyasalların yapısal analoglarıdır. Orta maliyetli olmaları, sentetik ilaçlara göre yan etkilerinin düşük olması, toksik etkilerinin çok nadir olması ve organik olarak üretilmeleri nedeniyle hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde ilacın elde edildiği bitkilere olan talep yüksek oranda artmaktadır (Özhatay ve Koyuncu, 1998).

Şifalı bitkiler, günümüzde birçok hastalığı tedavi etmek için kullanılabilecek doğal bileşim kaynağıdır (Tarakçıoğlu ve Koç, 2005). Bitkiler tarafından sentezlenen flavonoidler, alkaloidler, terpenoidler, tanenler, berberin ve kinin gibi kimyasallar, sağlığı iyileştirmek ve çoğu hastalığı tedavi etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Binici, 2002). Yapılan bir çalışma, siyah çayın kalp hastalığı riskini önemli ölçüde azalttığını ortaya koymuştur. Çalışma sonrası elde edilen veriler, siyah ve yeşil çayda bol miktarda bulunan flavonoid adı verilen bir antioksidan maddenin kalp ve damar hastalıklarını iyileştirdiğini gösterdi. Uzmanlar, çayda bulunan flavonoid maddenin damar sertliğini de önlediğini ve kötü kolesterolü düşürdüğünü belirtmişlerdir (Şener, 2010). Çalışmalar, antioksidan içeren bileşiklerin yaraları iyileştirmek ve dokuları hasardan yıkım reaksiyonlarından korumak için lokal olarak uygulanmasının faydalı olacağını göstermiştir (Kendir ve Güvenç, 2010).

Bitkiler tarafından doğal olarak üretilen birincil ve ikincil metabolitler doğrudan veya dolaylı olarak kullanılmaktadır. Temel besinlerden karbonhidratlar, proteinler, yağlar, vitaminler ve mineraller bunlara bir örnektir. Bunlar bitki metabolizmasında yaygın olarak kullanılan aktif maddelerdir (Ertem, 1998). Bitkiler ve bitkisel ürünler herhangi bir hastalığın tedavisinde ve ortaya çıkmasının önlenmesinde kullanılırken, ilaçlarla birlikte kullanıldıklarında etkileşim göstererek yan etkiler ortaya çıkarabilirler (Shanley ve Luz, 2003).

2.3. Oksidatif Stres ve Antioksidan Sistem

2.3.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller (SR), en dış orbitalinde birçok eşlenmemiş elektrona sahip (kararsız yapıda), kendiliğinden oluşabilen kimyasal türler olarak tanımlanır. Mitokondri içinde ksantin oksidaz (XO), peroksizomlar, fagositoz, iltihaplanma süreçleri, iskemi, araziidonat

yolları ve fiziksel egzersiz yoluyla metabolizmanın normal bir parçası olarak dahili olarak üretilirler. Öte yandan, serbest radikallerin üretimini teşvik etmeye yardımcı olan dış faktörler çevresel kirleticiler, sigara, radyasyon, ilaçlar, ozon, böcek ilaçları ve endüstriyel çözücülerdir (Gülçin vd., 2006b, c; Lobo vd., 2010). Serbest radikallerin farklı reaksiyon mekanizmaları vardır. Çevre moleküllerle elektron bağı,

- a) Elektron kabulü, indirgeyici radikaller ve oksitleyici radikaller,
- b) Hidrojen soyutlaması,
- c) Kendi kendini yok etme reaksiyonları,
- d) Ekleme reaksiyonları,
- e) Orantısızlık yoluyla reaksiyona girebilirler (Carocho ve Ferreira, 2013; Aslani ve Ghobadi, 2016).

Kararlı hale gelebilmek ve kimyasal bir bağ oluşturabilmek için minimum iki elektron gereklidir. SR'ler pozitif, nötral veya negatif yüklü olabilirler (Jesberger ve Richardson, 1991; Akkuş, 1995; Bast vd., 1997; Cheesman ve Slater, 1993).

2.3.2. Reaktif Oksijen Türleri (ROT)

Oksijen, oldukça reaktif bir metal olmayan ve diğer bileşiklerin yanı sıra çoğu elementle kolayca oksit oluşturan bir oksitleyici ajandır. Atmosferde kararlı üçlü biradikal ($^3\text{O}_2$) olarak temel halde bulunur, kademeli bir indirgenme sürecinden geçer (Taslimi ve Gülçin 2018; Rezai vd., 2018). Moleküler oksijen, temel durumda, iki ayrı anti-bağlayıcı orbitalinde paralel dönüşlere sahip iki eşleşmemiş elektrona sahiptir. Bu spin kısıtlaması nedeniyle, bir elektron vericisinden bir çift elektron kabul edebilir. Öte yandan redoks, canlı sistemde elektronların bir türden diğerine aktarıldığı temel bir metabolik reaksiyondur. Bu süreçler biyolojik sistemlerdeki ana reaksiyonlar olup, canlı organizmada havadaki oksijeni oksidasyon ve ATP şeklinde enerji sağlamak için kullanan kimyasal reaksiyon zinciri gerçekleşir (Gülçin 2012).

Oksijen, canlı organizmalarda oldukça entegre bir oksidasyon-redüksiyon ve enzimatik süreç serisidir. Ayrıca, elektronları bir atomdan diğerine aktarabilir ve oksijen, ATP şeklinde enerji üreten elektron akış sistemindeki nihai elektron alıcısı olduğundan, aerobik yaşamın ve metabolizmamızın önemli bir parçasını temsil eder. Hücreler, oksijeni metabolize ederek, potansiyel olarak zararlı olan reaktif oksijen türleri (ROT) oluşturur (Davies, 1995; Gülçin

vd., 2005; Elmastaş vd., 2018). Bu ROT'ların oluşumu, hücre homeostazının sürdürülmesi için çok önemlidir ve canlı organizmalar bunu, oksidatif stres ile antioksidan koruma arasındaki dengeyi korumalarına izin veren bir antioksidan savunma sistemi ile başarır (Huyut vd., 2017; Öztaşkin vd., 2017). ROT, canlı organizmalarda normal hücresel metabolizma sırasında ortaya çıkar ve lipitler, karbonhidratlar, nükleik asitler ve proteinler dahil zararlı belirleyici biyomoleküller olabilir (Çakmak ve Gülçin 2019). Canlı organizmalar sürekli olarak metabolizmanın, normal solunumun ve ksenobiyotiklerin otooksidasyonunun yan ürünleri olarak veya bir dizi hastalığa eşlik eden stresin sonucu olarak ortaya çıkan ROT'a maruz kalır (Anraku vd., 2018). Oksidatif stres, ROT ve antioksidan savunma arasındaki dengesizliğin bir sonucudur. Bu oksidatif stres, bir dizi hücresel fonksiyonu serbest bırakır ve ROT'un organizmanın antioksidatif savunmasını bastırdığı, yukarıda belirtilen biyolojik makromoleküllerin oksidatif modifikasyonuna, doku yaralanmasına ve birçok hastalığın temeli olarak hızlandırılmış hücresel ölüme yol açan çeşitli patolojik koşullara yol açar. (Sindhi vd., 2013; Apak vd., 2016). Varsayılan ROT ve SR olmayan türler Tablo 2.1'de özetlenmiştir.

Tablo 2.1: Reaktif oksijen türleri (ROT) ve serbest radikal (SR) olmayan türler.

Reaktif Oksijen Türleri		Serbest Radikal Olmayan Türler	
Hidroksil radikali	HO*	Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂
Süperoksit radikali	O ₂ *	Singlet oksijen	¹ O ₂
Hidroperoksil radikali	HOO*	Ozon	O ₃
Lipid radikali	L*	Lipid hidroperoksit	LOOH
Lipid peroksil radikali	LOO*	Hipoklorid asit	HOCl
Peroksil radikali	ROO*	Peroksinitrit	ONOO ⁻
Lipid alkoksil radikali	LO*	Dinitrojen trioksit	N ₂ O ₃
Nitrojen dioksit radikali	NO ₂ *	Nitrik asit	HNO ₂
Nitrik oksit radikali	NO*	Nitril klorit	NO ₂ Cl
Thiyl radical	RS*	Nitroksil anyonu	NO ⁻
Protein radikali	P*	Nitroksil katyonu	NO ⁺

Normal hücre fonksiyonu için fizyolojik konsantrasyonlarda ROT gerekli olabilir. Bununla birlikte, aşırı ROT üretimi kademeli oksidatif hasara ve sonunda hücre fonksiyonunun bozulmasına ve sonuç olarak DNA, RNA, proteinler ve lipitlere zarar vererek hücre ölümüne neden olabilir (Isik vd., 2017; Krawczyk, 2019; Tohma vd., 2017; Köksal vd., 2017b). Ayrıca mutasyonlara yol açabilecek DNA hasarına neden olabilirler. Hücresel bileşenler

ROT'u etkin bir şekilde temizleyemezlerse serbest radikal zincir reaksiyonlarını uyararak proteinler, lipidler, karbonhidratlar ve nükleik asitler gibi hücrel biyomoleküllere zarar verebilirler ve sonunda hastalık durumlarına yol açabilirler (Craft vd., 2012). ROT'un bir diğer önemli yıkıcı etkisi mitokondri üzerindedir. Hücrenin güç merkezi olan mitokondrinin rolü, elektron taşıma zinciri yoluyla oksidatif fosforilasyon yoluyla ATP üretmektir. ROT ve oksidatif stres, mitokondriyal disfonksiyondan veya bu faktörlerin herhangi birinin bir kombinasyonundan da kaynaklanabilir (Gülçin vd., 2004a; Krawczyk, 2019). İnsan vücudu da dahil olmak üzere canlı organizmalar, ROT'u temizleyerek ve serbest radikalleri temizleyen endojen veya eksojen antioksidan bileşikler üreterek kendilerini koruyabilir (Hamad vd., 2017; Anraku vd., 2018). İnsan vücudu, çok sayıda hastalığa ve diğer oksitleyici ajanlara neden olan serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı koyan karmaşık bir doğal enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemine sahiptir (Ekinci Akdemir vd., 2016a, b). ROT'un insan vücudundan atılması, bu ve diğer hastalıkların insidansını önlemeye veya azaltmaya yardımcı olabilir, böylece daha iyi bir yaşam kalitesine katkıda bulunur (Gülçin, 2012; Aksu vd., 2016). Serbest radikallere karşı koruma, diyetle alınan antioksidanlar ile artırılabilir (Alam vd., 2013; Ekinci Akdemir vd., 2016a).

Bazı hastalıklara, en azından kısmen ROT aktivitesinden kaynaklanan doku hasarıyla sonuçlanan aşırı fagosit aktivasyonu eşlik eder (Diplock vd., 1998; Bae vd., 2016; Tohma vd., 2016; Aruoma, 1994). ROT'un sıtma, edinilmiş immün yetmezlik sendromu, kalp hastalığı, inme, damar sertliği, diyabet ve kanser dahil birçok hastalıkta rol oynadığı bilinmektedir (Tanizawa vd., 1992; Duh, 1998). Ayrıca, endojen ROT oluşumu için biyolojik yollar, bütün bir reaktif ara ürün sınıfının ve bunların üretim yollarının örnekleridir. Ayrıca, organizmanın dış kaynaklardan da ROT'a maruz kaldığı belirtilmelidir. Canlı organizmalarda, çeşitli ROT farklı şekillerde oluşabilir. Normal aerobik solunum, polimorfonükleer lökositleri ve makrofajları uyarır ve peroksizomlar, hücreler tarafından üretilen oksidanların çoğunun ana endojen kaynakları gibi görünmektedir. ROT'un eksojen kaynakları arasında tütün dumanı, belirli kirleticiler, organik çözücüler ve böcek ilaçları bulunur (Halliwell ve Gutteridge, 1989; Topal vd., 2016a). Diyetle, redoks döngüsü yapabilen kinonlar gibi prooksidan nitelikteki birçok bileşik organizmaya verilir. Ayrıca, sigara dumanı ile bir dizi radikal solunmaktadır; hava kirliliğine bağlı olarak arttığı bildirilen ozon, lipidleri okside edebilen bir ROT'dur (Diplock vd., 1998; Köse vd., 2015).

2.3.2.1. Süperoksit radikali (O_2)

Moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu, reaktif süperoksit radikali oluşur. Süperoksit radikalının yarılanma süresi uzun olduğundan dolayı katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimleri inaktif hale getirerek glutatyon oksidasyonunu açığa çıkarır (Aslani ve Ghobadi, 2016).

2.3.2.2. Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Oksijen-oksijen tek bağı olan en basit peroksittir. Kararsızdır ve Işık varlığında yavaş yavaş ayrışır. H_2O_2 , insan vücudu da dahil olmak üzere biyolojik sistemlerde bulunur. H_2O_2 'yi kullanan veya parçalayan enzimler peroksidazlar olarak sınıflandırılır. O_2 'nin iki elektronla indirgenmesiyle oluşan bir serbest radikal değil, oksitleyici bir maddedir. O_2 ve geçiş metali iyonlarının varlığında, H_2O_2 , Fenton tepkimesiyle $OH\cdot$ üretebilir (Halliwell ve Gutteridge, 1989). Ayrıca Haber–Weiss reaksiyonu, demir iyonları tarafından katalize edilen H_2O_2 ve süperoksit $O_2\cdot^-$ 'den $OH\cdot$ üretir. Bu görüş ilk olarak Fritz Haber ve öğrencisi Joseph Joshua Weiss tarafından ortaya atıldı. Daha sonra Haber–Weiss ve Fenton reaksiyonlarının birlikte oksidatif stres ve hücrel hasarlardan sorumlu radikallerin ana kaynakları olduğu kanıtlandı (Deaton ve Marlin, 2003).

Oluşan kısa ömürlü $OH\cdot$ radikali, difüzyonla sınırlı bir reaksiyonda biyomoleküllere spesifik olmayan bir şekilde saldırır ve böylece üretim bölgesinden birkaç nanometre içinde bulunan proteinleri, polisakkaritleri ve nükleik asitleri kırabilir (Shivakumar ve Kumar, 2018; Sen ve Packer, 1996).

2.3.2.3. Hidroksil radikali (OH)

Hidroksit iyonlarının (OH^-) nötr formudur. Bu radikaller oldukça reaktiftir, kolayca hidroksil grupları haline gelir ve sonuç olarak kısa ömürlüdür. Her gün bir insan hücresinin hidroksil radikali ($OH\cdot$) ve diğer radikal türler tarafından hedeflendiği ve ortalama 105 kez oksidatif stres oluşturduğu bildirilmektedir (Valko vd., 2004; Carochi ve Ferreira 2013). Hidroksil radikalleri bazen bağışıklık etkisinin bir yan ürünü olarak üretilebilir. Mikroglia ve makrofajlar, çok spesifik patojenlere ve belirli bakterilere maruz kaldıklarında en sık bu bileşiği üretirler. $OH\cdot$ 'nin yıkıcı etkisi, bağışıklık hücreleri aşırı aktif hale geldiğinde ve komşu sağlıklı hücreler için toksik hale geldiğinde birçok nörolojik otoimmün hastalıkta rol

oyunar (Gülçin, 2012). Bu radikal, tahmini yarı ömrü yaklaşık 10^{-9} sn olan en reaktif türdür. Vücut suyunun hemolitik parçalanmasıyla yüksek enerjili ışınlamada veya metal katalizli işlemlerde endojen H_2O_2 'den *in vivo* oluşturulabilir. UV ışığı suyu parçalamak için yeterli enerjiye sahip değildir, ancak H_2O_2 'yi parçalayarak iki hidroksil radikali molekülü verebilir. Bu radikalın yüksek reaktivitesi, üretildiği yerde ani reaksiyon anlamına gelir (Diplock vd., 1998; Çaylak, 2011).

2.3.2.4. Singlet oksijen (1O_2)

Bir radikal değil, oldukça yüksek bir ROT'tur ve ultraviyole ışınlamanın neden olduğu cilt hasarından ve fotodinamik terapide sitotoksik anti-kanser etkisinden sorumludur. Fotodinamik terapi ve cilt fotoyaşlanmasında tümör hücrelerinde sitotoksik bir sürece neden olur. Önemli rollerine rağmen, 1O_2 'nin biyolojik etkileri tam olarak anlaşılamamıştır (Homma vd., 2019). Singlet oksijen, çoklu hücrel bileşenlerle reaksiyona girebilir, konjuge çift bağlarla reaksiyona girme tercihi çok yüksektir ve bu nedenle, hücrelerdeki DNA bazlarında tercihen çoklu doymamış yağ asitlerine (PUFA) veya guanin'e saldırır (Di Mascio vd., 2019). Ayrıca uyarma enerjisini aktararak veya kimyasal olarak birleşerek diğer moleküllerle etkileşime girebilir (Stahl ve Sies, 1993).

Sağlıklı ve hasarsız bir hücre uygun bir prooksidan-antioksidan dengesi sahiptir. Bununla birlikte, oksijen türlerinin üretimi büyük ölçüde arttığında veya antioksidan seviyeleri azaldığında bu denge prooksidanlara doğru kayabilir. Bu duruma oksidatif stres denir (Kalın vd., 2015; Öztaşkın vd., 2015). Antioksidan konsantrasyonu, mutasyona uğramış antioksidan enzimler, toksinler veya doğal antioksidan alımının azalması nedeniyle azalır. Aktif fagositlerden türetilen oksijen, nitrojen veya karbon bazlı reaktif türlerin sayısı kronik inflamasyon durumunda artar (Somogyi vd., 2007; Gülçin, 2012).

2.3.2.5. Nitrik oksit (NO)

Enzimatik olarak L-arginin'den oluşan bir sinyal bileşiğidir. Kan damarlarının çeperlerindeki düz kasları gevşeterek kan basıncını düşürür. Birçok fizyolojik ve patolojik süreçte yer alan önemli bir hücrel haberci moleküldür. Ayrıca birincil bağışıklık savunmasına katkıda bulunan aktif makrofajlar tarafından üretilir. Fazla $NO\cdot$ sitotoksiktir. Doğrudan biyomoleküllerle reaksiyona girebilir veya peroksinitrit ($ONOO^-$) oluşturmak için $O_2^{\cdot-}$ ile birleşebilir (Hou vd., 1999).

2.3.2.6. Peroksinitrit (ONOO-)

Yalnızca lipoproteinlerde lipid peroksidasyonunu indükleme yeteneğine sahip değildir, bunun yanında proteinlerdeki tirozin kalıntılarını nitratlayarak hücrel sinyalleşmeye engel olabilir (Packer, 1996). Peroksinitrit oksitleyici ve nitratlayıcı bir maddedir. Oksitleyici özellikleri nedeniyle ONOO-, proteinler ve DNA dahil olmak üzere hücrelerde çok çeşitli moleküllere zarar verebilir. NO'nun O₂- ile çok daha güçlü oksidan ONOO- oluşturmak üzere reaksiyonu, NO'nun fizyoloji ve patolojideki zıt rollerini çözmede kilit bir unsurdur. Ayrıca ONOO- güçlü bir oksidandır ve sülfhidriller, çinko-tiolatlar, demir-kükürt merkezleri ve tirozin fosfatazlardaki aktif bölge sülfhidril gibi elektronca zengin gruplarla doğrudan reaksiyona girebilir (Pacher vd., 2007).

2.4. Antioksidanlar

Antioksidanlar, ROT'un oksidatif süreçlerini ve zararlı etkilerini azaltmak için hem gıda sistemlerinde hem de insan vücudunda hayati bir rol oynamaktadır (Çakmakçı vd., 2015; Göçer vd., 2013). Gıda sektöründe, bozulmayı geciktiren lipid peroksidasyonu ürününün oluşumu, besinsel antioksidan moleküllerin kullanımı ile önlenilmekte ve böylece depolama sırasında gıda ürününün lezzet, renk ve dokusunun korunmasına yardımcı olmaktadır (Bursal vd., 2013; Çakmakçı vd., 2015). Ayrıca, antioksidanlar amino asitleri azaltmada, protein oksidasyonunda ve ayrıca lipid türevli karbonillerin protein fonksiyonunda bir değişikliğe yol açan proteinlerle etkileşiminde yardımcı olur (Sindhi vd., 2013). Antioksidan, "oksitlenebilir bir substratinkine kıyasla düşük konsantrasyonlarda bulunduğu, o substratın oksidasyonunu önemli ölçüde geciktiren veya engelleyen herhangi bir madde" olarak tanımlanmış, ancak daha sonra bunları "geciktiren, önleyen veya engelleyen herhangi bir madde" olarak tanımlamıştır. Hedef moleküldeki oksidatif hasarı ortadan kaldırır (Halliwell ve Gutteridge, 1989; Sies, 1993; Halliwell, 1995).

Son yıllarda, gıda antioksidanlarının alternatif doğal ve güvenli kaynaklarının belirlenmesine ve özellikle bitki kaynaklı doğal antioksidan arayışlarına büyük ilgi vardır. Antioksidanlar genellikle oksidasyonun radikal zincir reaksiyonlarını önlemek için gıdalara eklenirler ve reaksiyonun başlama ve ilerleme basamağını engelleyerek reaksiyonun sonlanmasını sağlayarak oksidasyon sürecini geciktirirler (Shahidi vd., 1992; Gülçin, 2006a). Gıda sisteminde kullanım için antioksidanlar ucuz, etkili ve düşük

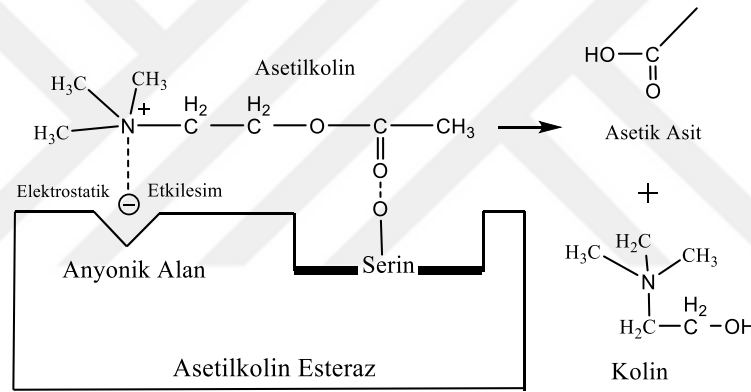
konsantrasyonlarda toksik olmamalıdır; son derece kararlı ve işlemeyi sürdürebilen, kendilerine ait kokusu, tadı veya rengi olmayan; dahil edilmesi kolaydır ve üründe iyi çözünürlüğe sahiptir (Shahidi ve Ambigaipalan, 2015; MacDonald-Wicks vd., 2006).

Bitkisel beslenme, en tehlikeli damar tıkanıklığı da dahil olmak üzere bazı kronik hastalıkların riskinin azalmasıyla ilişkilendirilmiştir (Rimm vd., 1996). Epidemiyolojik araştırmalar, bitkisel beslenme ile kanser dahil yaşa bağlı olarak çıkan hastalıklar arasında ters bir ilişki olduğunu göstermiştir. Bu durum, antioksidan aktivitelerine atfedilebilir (Ganesan vd., 2011). Bu doğal kaynakların başlıca biyoaktif bileşikleri, özellikle sağlık yararlarından sorumlu olan fenolikler ve flavonoidlerdir (Bocco vd., 1998). Fenoliklerin antioksidan özellikleri, düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterolün oksidasyonunun inhibisyonundan sorumludur (Eberhardt vd., 2000). Sonuç olarak, meyve ve sebze tüketimi koroner ateroskleroz ile ters orantılıdır (Rimm vd., 1996).

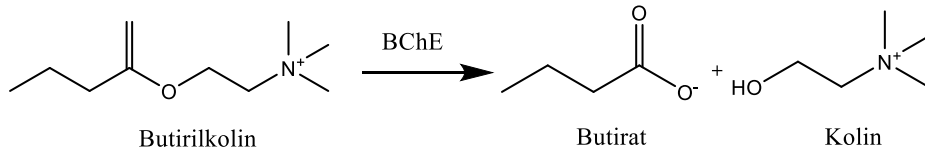
Biyoyararlanım terimi, normal yollarla sindirilen, emilen ve metabolize edilen besinin göstergesi için kullanılır. Polifenol bakımından zengin gıdaların tüketilmesinden sonra, polifenollerin bağırsak bariyerinden emildiğine dair dolaylı kanıtın, plazmanın antioksidan kapasitesindeki artışla verildiği iyi bilinmektedir. Polifenollerin bağırsakta emilimi ve hız limiti kimyasal özelliği ve yapısı ile ilgilidir. Ölülerde aglikonlar ince bağırsaktan emilir; ancak esterler, glikozitler veya polimerler formunda bulunan polifenoller doğal formda emilemez. Bu nedenle laktaz ve β -glikosidazlar gibi bağırsak enzimleri veya kolonik mikroflora tarafından hidrolize edilirler ve sonra adsorbe edilirler (Nemeth vd., 2003). Bu nedenle, insan kanında ve dokularında bulunan polifenol formları, gıdalarda bulunanlardan farklıdır, bu da tüm metabolitlerin tanımlanmasını ve biyolojik aktivitelerinin değerlendirilmesini zorlaştırır. Aslında, polifenollerin kimyasal yapısı, absorpsiyon hızını ve kapsamını ve plazmada dolaşan metabolitlerin doğasını belirlediği için konsantrasyonlarından daha önemlidir (Cipolletti vd., 2018).

Gıdalardaki fenolik bileşikler, bitkilerdeki ana ikincil metabolit sınıflarından birinden kaynaklanır. Antioksidan görevi görürler ve düşük konsantrasyonlarda gıdayı oksidatif acılaşmadan korurlar (Karakaya, 2004). Fenolik bileşiklerin antioksidan potansiyeli ilgili moleküllerdeki hidroksil gruplarının sayısına ve düzenine bağlıdır. Fenolikler, orto- veya para-pozisyonundaki sübstitüsyon hidroksil grubundaki elektron yoğunluğunu artırmadıkça ve oksijen-hidrojen bağ enerjisini düşürmedikçe, aslında lipid serbest radikallerine karşı

reaktiviteyi artırmadıkça aktif antioksidanlar değildir. Fenolik bileşiklerde meta-pozisyonunda yer değiştirme oldukça sınırlı bir etkiye sahiptir (Barclay vd., 1993). Fenolik antioksidanların otooksidasyon zincir sürecindeki hidrojen soyutlama mekanizmasının aydınlatılması için moleküler orbital teorisi uygulanmıştır (Tomiyama vd., 1993; Gülçin, 2012). Son zamanlarda bromofenollerin antioksidan aktivite (Öztaşkın vd., 2015; Boztaş vd., 2019), antimikrobiyal aktivite, antikanser aktivite, antiinflamatuvar ve antidiyabetik aktivite (Cherian vd., 2019) gibi birçok tıbbi özelliğe sahip olduğu ve karbonik anhidraz (Boztaş vd., 2015; Taslimi vd., 2016), asetilkolinesteraz (Öztaşkın vd., 2015; Bursal vd., 2019; Eruygur vd., 2019; Türkan vd., 2019; Lolak vd., 2020) (Şekil 2.2), bütirikolinesteraz (Bayrak vd., 2017, 2019; Öztaşkın vd., 2017) (Şekil 2.3), aldoz redüktaz (Demir vd., 2018), α -amilaz, α -glukosidaz (Taslimi vd., 2018a) ve paraoksonaz (Cherian vd., 2019) inhibisyonu özellikleri. Bu enzimler bazı küresel sağlık hastalıklarıyla bağlantılıydı.



Şekil 2.2: AChE enziminin asetilkolinle etkileşimi



Şekil 2.3: BChE enzimin mekanizma reaksiyonu

Stres, patojen istilası, yaşlanma, apoptoz ve nörolojik hastalıklar gibi süreçlerde antioksidanların çeşitli sağlık yararlarını ele alan bir dizi bilimsel çalışma devam etmektedir. Antioksidanlar, serbest radikallerin hücreye zarar veren etkilerini azaltır. İnsanlar antioksidanları doğrudan taze ve kuru meyve ve sebzelerden alırlar; bunlar, kanserler ve kardiyovasküler sağlık sorunları da dahil olmak üzere farklı hastalık türlerine karşı korunmaya katkıda bulunan çok miktarda flavonoid ve antioksidan takviyesi içerir (Sindhi vd., 2013; Gao vd., 2006; Halliwell, 1997).

2.4.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidan bileşikler tarafından oksidasyonun önlenmesi sürecinde bir dizi yöntem ve aktivite yer almaktadır (Shadidi ve Zhong, 2015).

E ve C vitaminleri gibi eksojen antioksidanlar organizmada hücre zarında ve hücre içi ve hücre dışı sıvıda bulunabilir. Onları ortadan kaldırmak veya engellemek için ROT ile reaksiyona girerler. Membranların hidrofobik lipid iç kısmı, farklı bir antioksidan spektrumu gerektirir. Yağda çözünen E vitamini, bu ortamdaki en önemli antioksidandır ve zar bütünlüğünün kaybolmasına karşı koruma sağlar.

Yağda çözünen antioksidanlar, biyolojik zarlarda çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) peroksidasyonunu önlemede önemlidir. C vitamini gibi suda çözünür antioksidanlar, hidrofilik fazda ROT'u nötralize etmede önemli bir rol oynar. Çalışma mekanizmalarına göre, antioksidanlar birincil ve ikincil antioksidanlar olarak sınıflandırılabilir. Antioksidanlar, hidrojen vericileri veya serbest radikallerin alıcıları olarak hareket ederek oksidasyonun zincir reaksiyonunu inhibe ederek daha stabil radikaller üretir. Bu gruptaki antioksidanlar temel olarak fenolik bir yapıya sahiptir ve şunları içerir: antioksidan mineraller, antioksidan vitaminler ve aralarında flavonoidler, kateşinler, karotenoidler, -karoten, likopen, diterpen ve bunların türevlerinin de bulunduğu fitokimyasallar. Bu bileşikler, metal iyonlarının bağlanması, reaktif oksijen türlerinin temizlenmesi, hidroperoksitlerin radikal olmayan türlere dönüştürülmesi veya singlet oksijenin etkisizleştirilmesi dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalarla etkileşime girer. Bu kategori şunları içerir: butilhidroksianisol (BHA), butilhidroksitoluen (BHT) ve propil galat (PG) (Moharram ve Youssef, 2014). Antioksidanlar enzimatik olan veya enzimatik olmayan şeklinde iki sınıfa ayrılır (Aslani ve Ghobadi, 2016).

2.4.1.1. Antioksidan enzimler ve etki mekanizmaları

Uygun hücre sinyalleşmesini sürdürmek için, bir dizi radikal süpürücü enzimin, hücre içinde bir ROT eşik seviyesini sürdürmesi muhtemeldir. Bununla birlikte, ROT seviyesi bu eşiği aştığında, ROT üretimindeki bir artış, sinyal yollarındaki ana bileşenlere doğrudan zarar vermenin yanı sıra, hücreye aşırı sinyal gönderilmesine yol açabilir. Oksidatif stres, ROT oluşumu ve detoksifikasyon arasındaki denge, ROT seviyelerinde bir artışı desteklediğinde meydana gelir ve bu da hücresel fonksiyonun bozulmasına yol açar. ROT aynı zamanda

DNA, protein ve lipitler gibi karsinogenezi başlatabilen temel makromoleküler hedeflere geri dönüşümsüz şekilde zarar verebilir (İmlay, 2003). Bu nedenle, ROT konsantrasyonlarının, aynı zamanda bir dizi antioksidan ve detoksifiye edici enzimi içeren birkaç savunma mekanizması tarafından kontrol edilmesi gerekir.

Bir antioksidan, makromoleküllerin oksidasyonunu önleme veya yavaşlatma yeteneğine sahip bir moleküldür. Antioksidanların rolü, serbest radikalleri ortadan kaldırarak bu zincir reaksiyonları azaltmak veya sonlandırmak veya kendilerini oksitleyerek diğer oksidasyon reaksiyonlarını inhibe etmektir. Bu nedenle, antioksidanlar genellikle polifenoller veya tiyoller gibi indirgeyici maddelerdir (Duerte ve Lunec, 2005).

Oksidasyon reaksiyonları hücreler için yaşamsal olmakla birlikte, zarar verici etkileri vardır; bu nedenle bitkiler ve hayvanlar, C ve E vitaminleri ve glutatyon gibi çeşitli antioksidanların yanı sıra katalaz, süperoksit dismutaz (SOD) ve peroksidazlar gibi antioksidan reaksiyonlarını katalize eden farklı enzimatik sistemler içerir. Bu antioksidan enzimlerdeki kusurlar veya inhibisyon, oksidatif strese yol açacaktır ve hücrelere zarar verebilir ve parçalayabilir (Valko vd., 2007). Antioksidan savunmanın izlediği mekanizmalar şunlardır:

- 1) Serbest radikallerin üretimini bloke etme
- 2) Oksidanlar Atma
- 3) Toksik serbest dönüştürme radikalleri daha az toksik maddelere dönüştürür
- 4) Sekonder toksik metabolitlerin ve iltihaplanma aracılarının üretimini bloke eder
- 5) Sekonder oksidanların zincir yayılımını bloke eder
- 6) Hasarlı molekülleri onarır
- 7) Endojen antioksidan savunma sistemini başlatır ve geliştirir.

Tüm bu savunma mekanizmaları, vücudun oksidatif stresten korunması için el ele hareket eder. İnsan vücudundaki antioksidan sistemler enzimatik olmayan ve enzimatik güçlü antioksidanlardan oluşur (Halliwell, 2007).

Tüm vücut hücrelerindeki antioksidan enzimler, katalazlar, süperoksit dismutazlar (SOD) ve glutatyon peroksidazlar (GPX) olan üç ana antioksidan enzim sınıfından oluşur ve bunların tümü, hücrelerde homeostazın korunmasında çok önemli roller oynar. Bu enzimlerin uyarılması, kirlenici oksidatif strese verilen spesifik bir yanıtı yansıtır (Cheng vd., 2001).

SOD'nin rolü, süperoksit radikallerini temizlemek ve onları H_2O_2 'ye dönüştürmektir (McCord ve Fridovich, 1969). GPx'in rolü, hidrojen peroksit, lipid hidroperoksitler ve diğer organik hidroperoksitlerin indirgenmesiyle elde edilir (Tappel vd., 1982). Glutasyon-S-transferazlar (GST), sitotoksik ve genotoksik bileşiklerin hücresel detoksifikasyonunda ve dokuların oksidatif hasara karşı korunmasında yer alan çok işlevli proteinlerin bir ailesini oluşturan, detoksifiye edici enzimlerin büyük bir grubunu temsil eder (Hayes ve Pulford, 1995). Endojen metabolizmada belirli rollere sahip olan bu enzimler, insan ve hayvanlarda ilaçlar, karsinojenler ve çevresel kirleticiler gibi ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu ve böceklerde ve bitkilerde pestisit ve herbisit direnci ile ilişkilidir (Hayes vd., 1990). Literatürden önemli sayıda GST izoenziminin GPx aktivitesi gösterdiği ve organik hidroperoksitlerin karşılık gelen alkollerine indirgenmesini katalize ettiği bilinmektedir (Prohaska, 1991; Mosialou vd., 1993).

Katalaz (H_2O_2 oksidoredüktaz), dört polipeptit zincirinden oluşur, her zincir 500'den fazla amino asit uzunluğundadır ve enzimin H_2O_2 ile reaksiyona girmesini sağlayan dört porfirin heme (demir) grubu içerir. Katalazın H_2O_2 'yi ayrıştırmadaki enzimatik aktivite modları, katalitik aktivite modu ve peroksidatik aktivite modudur. Katalazın devir hızı, diğer tüm antioksidan enzimler arasında en yüksektir. H_2O_2 'nin katalazın katalitik aktivitesi ile ayrışması, birinci dereceden bir reaksiyon şeklini takip eder ve hızı, H_2O_2 konsantrasyonuna bağlıdır (Berg vd., 2002). Katalaz, bir hidrojen peroksit molekülü tarafından oksitlenen ve bağlı oksijeni başka bir moleküle aktaran bir kofaktördür (Hiner vd., 2002).

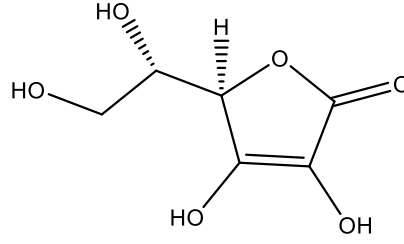
Katalaz hem ökaryotik hem de bakteri hücrelerinde bulunur. Çoğu, çeşitli H_2O_2 oksidazların yaratıldığı kırmızı kan hücreleri hariç, tüm memeli hücrelerinin oksidatif bir partikülünde bulunur. H_2O_2 , yüksek oranda hidroksil radikali üreten spesifik bir reaksiyon için bir substrat görevi gördüğünden, hücresel antioksidan savunma mekanizmalarında katalazın birincil rolünün H_2O_2 birikimini azaltmak olduğuna inanılmaktadır (Ho vd., 2004). Katalazın hücreleri ve dokuları oksidasyondan korumadaki rolü kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Katalazın aşırı üretimi, hücreleri H_2O_2 toksisitesine ve oksidatif aracılı hasara karşı daha dirençli hale getirir. Genetiği değiştirilmiş farelerde, aşırı eksprese olan katalaz, farelere adriamisin verildikten sonra ve parafin veya anjiyotensin ile tedaviden sonra yüksek tansiyon geliştirdikten sonra miyokard enfarktüsüne karşı korunur (Yang vd., 2003).

Glutasyon sistemi, glutasyon S-transferazları, glutasyon peroksidazları ve glutasyon redüktazı içerir. Glutasyon S-transferazlar, lipid peroksidlerin parçalanmasını katalize eden başka bir enzimatik antioksidan sınıfıdır. Glutasyon peroksidaz, hidrojen peroksit ve organik hidroperoksidlerle yüksek aktivite gösterir (Sharma vd., 2004). Bu enzimler detoksifikasyon mekanizmasına yardımcı olur (Hayes vd., 2005).

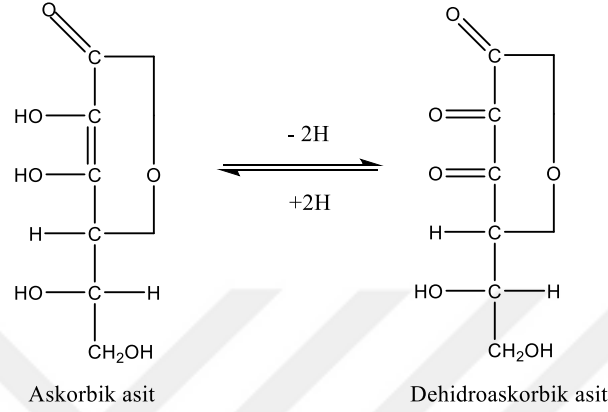
Glutasyon redüktaz (GR), bu enzim, hücrenin yeterli düzeyde hücrel GSH'yi sürdürmesini sağlar. Enzim, önemi nedeniyle birçok bitki, hayvan ve mikroorganizma kaynağından saflaştırılarak yapısı, moleküler özellikleri ve kinetik mekanizması belirlenmeye ve aydınlatılmaya çalışılmıştır (Linster ve Van Schaftingen, 2007). Kinetik mekanizması pinpon/pinpon/ sıralı sipariş modeli GR, NADPH ile indirgenebilen, protez grubu olarak iki FAD molekülü içeren bir flavoproteindir. GR termostabil enzimlerden biridir. GR, organizmayı kimyasal ve oksidatif strese karşı koruyan savunma sistemine aittir. GR eksikliği, eritrosit membranlarının H₂O₂'ye artan duyarlılığı nedeniyle hemoliz ile karakterizedir ve birçok hastalığın patogeneğinde anahtar rol oynayan oksidatif strese katkıda bulunur (Ulus ve Tandoğan, 2007).

2.4.1.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar ve etki mekanizmaları

Proteine bağlı tiyol ve protein olmayan tiyol, -SH grubu aracılığıyla çoğu inorganik kirleticiye karşı hücrel bir indirgeyici ve koruyucu bir madde görevi görür (Mosialou vd., 1993). Bu nedenle, tiyol genellikle oksidatif strese karşı ilk savunma hattıdır. Tiyol seviyeleri, sentezinde bir artış yoluyla hafif oksidatif strese adaptif bir mekanizma nedeniyle artırılabilir; bununla birlikte, ciddi bir oksidatif stres, adaptif mekanizmaların kaybına bağlı olarak tiyol seviyelerini azaltabilir. Glutasyon, hücrelerin redoks durumunu korumada merkezi bir rol oynayan hücrel bir antioksidandır (Ulus ve Tandoğan, 2007). Askorbik asit (C Vitamini) hem bitkilerde hem de hayvanlarda bulunan bir antioksidandır ancak insanlarda sentezlenemediği için diyetle alınması gerekir (Şekil 2.4). Reaktif oksijen türlerini azaltabilir ve nötralize edebilir. Çok güçlü bir indirgeyici olan askorbik asit semihidroaskorbat radikal ara ürünü aracılığıyla kolaylıkla dehidroaskorbik aside okside olur (Şekil 2.5) (Murray vd., 1993). E vitamininin, serbest radikal ara maddeleri uzaklaştırarak ve lipid radikalleri ile reaksiyona girerek hücre zarlarını oksidasyondan koruduğu bulunmuştur (Sen vd., 2006).



Şekil 2.4: Askorbik asidin yapısı



Şekil 2.5: Askorbik asidin oksidasyonu

2.4.2. Besin Maddelerinin İçeriğinde Bulunan Antioksidanlar

Gıda maddelerinin bozulmasının sebebi olan oksijen, gıdalar içerisinde bulunan organik yapıları (karbohidrat, yağ ve protein) oksitleyerek bozulmalarına neden olabilmektedir. Bu sürece otooksidasyon adı verilir ve havada bulunan oksijenle gıda bileşenleri arasında kendiliğinden meydana gelir (Becker vd., 2004).

2.4.2.1. Doğal antioksidanlar

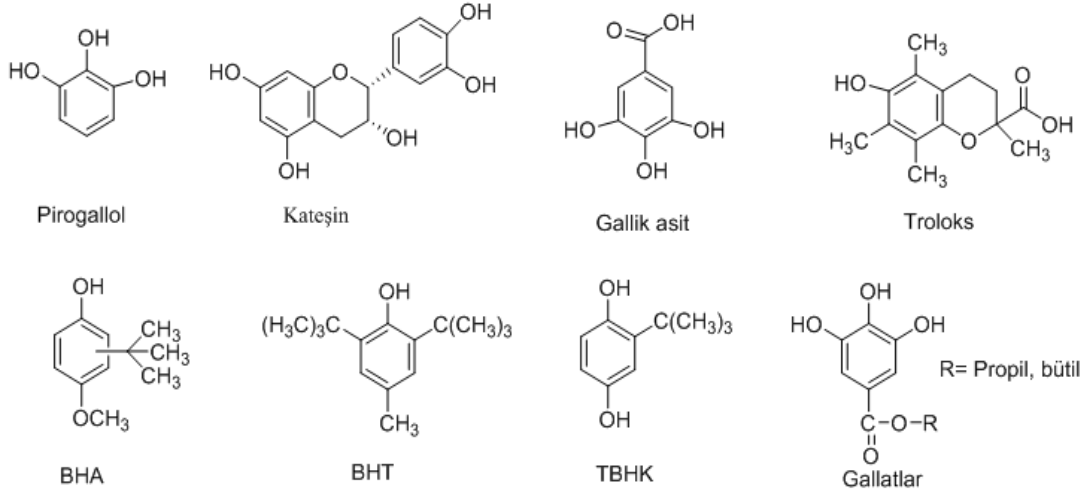
Doğal antioksidanların koruyucu etkileri, serbest radikal kaynaklı toksisitelere karşı daha fazla dikkat çekmiştir (Frei ve Higdon, 2003). Flavonoidler, özellikle kanser durumunda oksidatif strese karşı korumada (Okada vd., 2001; Babich vd., 2005) önemli bir rol oynamaktadır. Flavonoidler sebzelerde, kırmızı şarapta, meyvelerde, kakaolarda ve çayda yaygın olarak bulunur (Arts vd., 1999; Bearden vd., 2000; Matito vd., 2003). Flavonoidler, geniş bir biyolojik aktivite yelpazesine sahip içecekler ve gıdalarda yaygındır (Harborne ve Williams, 2000) ve bunların antioksidasyonu kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır (Pietta, 2000; Goupy vd., 2003; McPhail vd., 2003). Doğal antioksidanlar, endojen antioksidanlar ROT'tan korur ve reaktif türleri nötralize ederek optimal dengeyi yeniden sağlar (Al-Mamary vd., 2002; Fetouh ve Azab, 2014). Fenoliklerin antioksidan aktiviteleri, serbest

radikal yakalama, hidrojen bağışlama, tekli oksijen söndürme, metal iyonu şelatlama ve süperoksit ve hidroksil gibi radikaller için bir substrat görevi görür. Azab ve Albasha (2018), *Curcuma longa*, *Trigonella foenumgraecum*, *Allium sativum*, *Coffea arabica*, *Petroselinum crispum*, *Olea europaea* yaprakları ve *Mentha piperita* uygulamasının dikkate değer bir hepatik koruma gösterdiği sonucuna vardı (Azab ve Albasha, 2018). Bu şifalı bitki ve bitkilerin antioksidan özelliklerinden kaynaklanabilecek hepatotoksik ajanlara karşı. Bu nedenle, hepatotoksik ajanlara maruz kalan insanlara ve karaciğer rahatsızlığı olan hastalara bu şifalı bitki ve otları almaları önerilmelidir (Vaya vd., 2003).

Doğal antioksidanlar, ROT üretiminin engellenmesi ve serbest radikallerin temizlenmesi gibi çeşitli biyokimyasal etkilere sahiptir (Lakshmi vd., 2012; Cyril vd., 2016; Azab ve Albasha, 2017). Azab ve ark. (2017), çemen otu, kurkumin, nane, maydanoz, biberiye, sarımsak, nar tüketiminin olduğunu bildirmiştir (Azab ve Albasha, 2017). Susam ve propolisin böbrek hastalıklarına ve nefrotoksik ajanların neden olduğu böbrek fonksiyon bozukluklarına karşı koruyucu etkileri deney hayvanlarında ve insanlarda gösterilmiştir. Nefroprotektif etki, doku lipid peroksidasyonunun inhibisyonuna ve antioksidan aktivitenin artmasına bağlı olabilir. Bu nedenle çalışma, bu antioksidanların nefrotoksik ajanlara maruz kalan kişilerde ve böbrek hastalığı olan hastalarda faydalı olabileceğini düşündürmektedir. Koruyucu etkiler, bu tıbbi bitkilerde benzokinonlar, flavonoidler, flavonol glikozitler, alkaloidler, karotenoidler, katekoller, glikozitler, steroid glikozitler, terpenoidler, glikoalkaloidler, mono, di ve triterpenler, saponinler, polifenoller ve sterollerin varlığından kaynaklanabilir (Sundararajan vd., 2014).

2.4.2.2. Sentetik antioksidanlar

Besinlere antioksidan eklenmesinin nedeni, o besini korunması ve raf ömrünü uzatılmak istenmesidir. Bu sebeplerden dolayı besinlere bütillendirilmiş hidroksitoluen (BHT), bütillendirilmiş hidroksianisol (BHA), trolox, gallik asit ve kateşin gibi sentetik antioksidanlar ilave edilmektedir (Şekil 2.6).



Şekil 2.6: Gıdalara ilave edilen sentetik antioksidanların yapısı

2.4.3. Antioksidan Aktivitesi Tayin Yöntemleri

Antioksidanların aktivitelerini ölçmek için kullanılan yöntemler ve araçlar son birkaç on yılda dikkate değer ilerlemeler kaydetmiştir. Erken yöntemler, antioksidanların belirli oksidasyon ürünleri türlerinin oluşumuna karşı etkinliğini ölçer ve bu nedenle lipid oksidasyonunun ölçülmesine dayanır. Şimdiye kadar, antioksidan aktiviteyi özel yöntemlerle değerlendirmek için, örneğin farklı türde serbest radikallere veya ROT'a karşı süpürme aktivitesi, azaltma gücü ve metal şelasyonu ve diğerleri gibi, oldukça hassas ve otomatik tespit teknolojileriyle birleştirilmiş çeşitli kimyasal testler kullanıldı. Oksidasyon substratları ayrıca gıda model sistemlerinden kimyasal bileşiklere, biyolojik materyallere, hücresel hatlara ve hatta canlı dokulara kadar genişlemiştir (Shadidi ve Zhong, 2015).

Gıdaların içeriğinde bulunan antioksidanların yapıları oldukça karmaşıktır. Bu nedenle bu bileşiklerin ayrılması, çalışılması pahalı ve zordur. Bir gıda yapısındaki antioksidanın belirlenmesi için standardize edilmiş bir yöntem, aşağıdaki ideal gereksinimleri karşılamalıdır (Prior vd., 2005):

- Kullanılan radikal kaynak biyolojik olarak ilgili olmalıdır;
- Basit olması arzu edilir;
- Kullanılan yöntemin tanımlanmış bir son noktası ve kimyasal mekanizması olmalıdır;

- Hem kullanılan aletler hem de kimyasallar kolayca bulunabilmelidir;
- Döngü içinde ve günler arasında tekrar üretilebilirlik uygundur;
- Farklı radikal kaynakları kullanarak hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanlar için analiz yapılmasına izin verir;
- Yöntem, kalite kontrol analizleri için uygulanabilir olmalıdır.

Literatüre bakıldığında antioksidan kapasitenin tayininde kullanılan testlerin iki ayrı grupta yer aldığı görülmektedir. Bunlar;

- **Hidrojen atomu transferine dayalı yöntemler:** ORAC (Oksijen radikalini absorplama kapasitesi) yöntemi (Thaipong vd., 2006) ve TRAP (Linoleik asit oksidasyonunun inhibisyonu) yöntemleridir (Apak vd. 2018).
- **Elektron transferine dayalı yöntemler:** TEAC (Trolox ekivalenti antioksidan kapasite) yöntemi (Antolovich vd., 2002), FRAP (Fe^{3+} iyonu indirgeme gücü) yöntemi (Li vd., 2017), DPPH radikali giderme yöntemi (Sanchez-Mareno, 2002) ve Antioksidan gücü azaltan bakır iyonları (Cu^{2+}) indirgeme (Kuprak testi) yöntemidir (Gülçin, 2008).

Antioksidan gücü azaltan bakır iyonları (Cu^{2+}) (Kuprak testi): Bu test ilk olarak Apak'ın grubu (2006) tarafından geliştirilmiş ve kullanılmıştır. Ayrıca hem lipofilik hem de hidrofilik antioksidanlar içeren çeşitli matrislere uygulanmıştır. Bu deneyler, tüm antioksidanların birleşik etkisiyle veya sulu etanolik ortamda (pH 7.0) neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) mevcudiyetinde polifenoller ile indirgeme yoluyla Cu^{2+} 'nın Cu^{+} 'ya indirgenmesine dayanır. 450 nm'de maksimum absorpsiyon zirvesine sahip Cu^{+} kompleksleri (Gülçin, 2008). Bu yöntem, kromojenik radikal reaktif olarak Cu^{2+} -neokuproin ile gıda bileşeninin antioksidan kapasitesinin belirlenmesi için kullanılabilir. Cu^{2+} 'nin neokuproin varlığında bir indirgeme ajanı ile indirgenmesi, 450 nm'de maksimum absorpsiyon tepe noktasına sahip bir Cu^{+} kompleksi verir (Tutem vd., 1991). CUPRAC reaktifi, kromojenik radikal reaktiflerinden çok daha kararludur ve kolayca erişilebilirdir. Mükemmel lineer absorbans-konsantrasyon eğrileri verir. Bu indirgeme deneyinde, serbest kalan protonlar nispeten konsantrasyon asetat tamponu ile tamponlanabilir. Bu yöntem, aynı anda uygun maliyetli, hızlı, kararlı, seçici ve kimyasal türü veya hidrofobikliği ne olursa olsun çeşitli antioksidanlar için uygundur. Ayrıca, *in vitro* kuprik iyon (Cu^{2+}) indirgeme

ölçümlerinden elde edilen sonuçların, antioksidanların olası *in vivo* reaksiyonlarına daha etkili bir şekilde genişletilebileceği bildirilmiştir (Gülçin ve Daştan, 2007; Karaman vd., 2009). Kuprak testi için optimum pH 7.0'dır ve fizyolojik pH'a (7.4) yakındır ve gerçek koşullar altında antioksidan etkiyi simüle eder. Bu yöntem hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanları ölçebilmektedir (Apak vd., 2008).

2.5. Antikolinerjik Aktivite

Alzheimer hastalığı (AD), çok sayıda yaşlı insanın ve akrabalarının yaşamını hem sosyal hem de fizyolojik olarak etkileyen yaygın bir demans şeklidir (Lewczuk vd., 2020). AD'nin etiyolojisi, nörofibriler yumaklardaki artış, nöritik plaklar ve kolinerjik nörotransmisyonadaki eksiklik ile karakterizedir (Hampel vd., 2018). Ek olarak AD, hipokampus ve beyin korteksinde nörotransmitter asetilkolin eksikliği ile yakından ilişkilidir. Kanıtlar, nörotransmitter asetilkolinin (ACh), ya asetil transferaz aktivitesi ile kolinde (Ch) bir düşüşe ya da asetilkolinesteraz tarafından ACh'nin aşırı bozunmasına bağlı olarak azaldığını göstermiştir (Galimberti ve Scarpini, 2016). Bu nedenle, AD'yi tedavi etmek için araştırmalar, geçici bir semptomatik müdahale olarak kolinesteraz (ChE) inhibitör tedavisine odaklanmıştır (Koçyiğit vd., 2018). Asetilkolin (ACh), nörodejeneratif durumlarda hafıza işlevinin modülasyonuna yardımcı olan iyi bir nörotransmitterdir. Kolinesterazlar (ChE'ler), ACh ve kolinerjik sinyal iletiminin düzenlenmesinde anahtar rol oynayan bir grup önemli enzimdir. Asetilkolin'in asetat ve koline hidrolizi, sinaptik bir yarıktaki asetilkolinesteraz (AChE) tarafından katalize edilir. BChE ve AChE enzimleri, ACh seviyesinin düzenlenmesinde, sinaptik hidrolizinde ve nörotransmitter etkisinin sonlandırılmasında hayati bir rol oynar. Nörotransmitter seviyesini yeniden kurmak için, ChE enzimlerini baskılayarak işlev gören kolinesteraz inhibitörleri kullanılarak yapılır. Bu durum hem seviye artışına hem de nörotransmitter etkisinin süresine neden olur (Gülçin vd., 2019). Donepezil, galantamin ve rivastigmin gibi asetilkolinesteraz (AChE) inhibitörleri, ChE inhibitörleri (ChEI'ler) olarak kullanılmış olsa da, uzun süreli kullanımlarında yan etkiler konusunda endişeler olmuştur. Bu nedenle, bitki kaynaklarından elde edilen aktif doğal bileşikler, ChE inhibe edici etkileri açısından incelenmiştir ve şimdiye kadar bitki çeşitlerinin, AD'nin tedavisi için önemli ChE inhibisyonuna sahip olduğu belgelenmiştir (Tan vd., 2014).

Kronik hastalıkları önlemek için doğal kaynakların sağlık alanında kullanımında fenolik bileşiklerin rolü oldukça fazladır. Bu fitokimyasallar, serbest radikalleri temizleyerek, çeşitli

enzimleri inhibe ederek ve sinyal iletimini modüle ederek hücrelerdeki biyolojik fonksiyonlara müdahale edebilir. Bu nedenle, doğal bir kaynağın terapötik potansiyeli keşfedildiğinde, fenolik bileşikleri içeren fitokimyasal bileşimleri de aydınlatılmalıdır (Gülçin, 2012).

2.6. Antikanser Aktivite

2.6.1. Sitotoksik Aktivite

Bir ilaç etkin maddesinin, kozmetik ürünün, çevresel bir kimyasalın (pestisitler, endokrin bozucular, ağır metaller, nanopartiküller gibi) ve fiziksel veya biyolojik ajanların *in vitro* olarak sitotoksik etkilerinin güncel yöntemlerle belirlenmesi son yıllarda oldukça önem kazanmıştır.

Bilimsel çalışmalarda sitotoksitenin veya hücre canlılığının belirlenmesinde *in vitro* olarak kullanılan birçok yöntem mevcuttur. Bu testler içinde en yaygın kullanılan Nötral kırmızısı alım (NRU) testi (Ateş vd., 2017), MTT (3-(4,5-dimetiltriazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid) testi (Mosmann, 1983), MTS (5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4,5-dimetil-tiyazolil)-3-(4-sülfenil) testi (Stepanenko ve Dmitrenko, 2015), XTT (2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sülfenil)-2Htetrazolyum-5-karboksanilid) testi ve (2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disülfenil)-2H tetrazolyum yapısındaki WST-1 testidir. Bu çalışmada, sitotoksitenin veya hücre canlılığı profillerinin belirlenmesinde WST-1 testi kullanılmıştır.

2.6.1.1. WST-1 Testi

WST-1 testi, hücresel canlılığın belirlenmesi için yaygın olarak kullanılan bir kolorimetrik testtir. Prensip olarak, WST-1 mitokondriyal süksinat tetrazolyum redüktaz ile reaksiyona girerek suda çözünür formazan boyası oluşturur ve genellikle MTT ile benzer şekilde çalışır. Farklı olarak, WST-1, net negatif yükü nedeniyle hücrenin dışında tutulmasına izin veren iki sülfonat grubu içerir. MTT gibi pozitif yüklü tetrazolyum tuzları canlı hücrelere girme yeteneğine sahiptir. Bu nedenle hücre içinde oksidoredüktaz enzimleri tarafından indirgenirler. Tersine, WST-1 gibi negatif yüklü tetrazolyum tuzları hücreye giremez ve hücre dışı olarak indirgenir. Hücre dışı indirgeme, bir ara elektron taşıyıcısı (Berridge vd., 2005) yardımıyla plazma zarı boyunca elektronların taşınmasıyla gerçekleşir.

2.7. Genotoksisite

Genetik toksisite ya da genotoksisite; çekirdek, kromozom ve DNA yapısında meydana gelen DNA eklenmeleri, kırılmaları, mutasyonlar (kansere yol açabilen) ve kromozom bozuklukları gibi hasarları kapsayan genel bir terimdir. Genotoksisite genellikle mutajenite ile karıştırılsa da tüm mutajenler genotoksiktir, ancak tüm genotoksik maddeler mutajenik değildir (Mortelmans ve Rupa, 2004). Genotoksik etki ise, herhangi bir faktörün (kimyasal, biyolojik veya fiziksel) hücre iç yapısında meydana getirdiği mutasyonlara bağlı hasar olarak tanımlanabilir (Choy, 2001; Young, 2002). DNA yapısında mutasyonlara yol açan genotoksik ajanlar, direk olarak DNA yapısına saldırarak etki gösterebilir veya yakından ilişkili olduğu enzim ve proteinlere bağlanarak da hasar verebilirler (Kirsch-Volders vd., 2003). DNA’da meydana gelen hafif hasar hücre döngüsü duraklatılarak ya da duraklatmadan tamir edilebilir. Hasarın daha fazla olması durumunda apoptoz mekanizması uyarılmaktadır. DNA bozulmasına yol açan mutajenler ve mekanizmasal bozukluklar ise yaşlanma, kanser, kısırılık vb. birçok hastalığa sebep olabilmektedir (Mateuca vd., 2006).

Genotoksisite ve karsinojenite arasında oldukça güçlü bir ilişki mevcuttur. Yapılan çalışmalarda, insanlar için karsinojenik olarak kabul edilen bazı bileşiklerin genotoksik olduğu bulunmuştur. Kanser etken maddeler üzerinde yapılan genotoksisite çalışmaları ile karsinojen olan çoğu maddenin aynı zamanda genotoksik olduğu ve moleküler materyal üzerinde ciddi hasarlara yol açtığı bilinmektedir. İlaç sektörü, gıda sanayi, kozmetik, konfeksiyon gibi daha sayılabilecek birçok alanda kullanılan her türlü maddenin kanser etkinliğini anlamak üzere genotoksik testlerden geçmesi büyük önem arz etmektedir. Genotoksisite testlerinin kimyasalların karsinojenik potansiyelleri ve kanser riskini değerlendirmesi açısından bilim insanlarının odak noktası haline gelmiştir (Zeiger, 1998; Choy, 2001).

Genetik toksikolojinin temel amaçları mutajenleri genotoksisite çalışmaları ile tespit etmek, insanlardaki riski belirlemek ve bu bileşiklere gereksiz maruziyetten kaçınmaktır. Bir bileşiğin potansiyel genotoksisitesini ve mutajenitesini ilaç geliştirme sürecinin başlarında değerlendirmek çok önemlidir (Zeiger, 2004). İlaç geliştirmede, faz I denemelerine başlamadan önce genotoksisite verilerinin incelenmesi gerektiği ve klinik araştırmaya ancak genotoksisite yoksa başlanması gerektiği yaygın olarak kabul edilmektedir. Doğrudan DNA

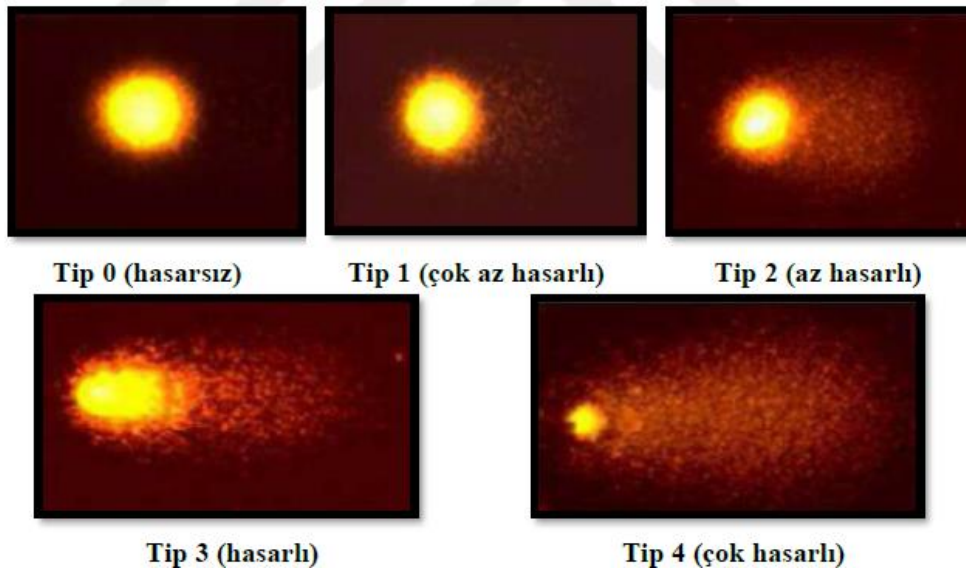
hasarına neden olma potansiyeline sahip ilaçlar sadece yaşamı tehdit eden durumlarda kullanılmalıdır. Ayrıca bu testler, kanserden korunma, kansere yatkınlığın belirlenmesi ve takibinde biyoizleme testi olarak kullanılmaktadır. *In vitro* genotoksisite birincil hücrelerde, bakterilerde, ilkel ökaryotlarda ve hücre hatlarında uygulanabilir. *In vivo* genotoksisite testleri, *in vitro* olarak gerçekleştirilen kromozomal testlerin sonuçlarını doğrulamak için kullanılır (Custer ve Sweder, 2008). Genotoksisite testleri (*in vivo* ve *in vitro*), bileşiğin doğrudan veya dolaylı olarak mutasyonları indüklemeye potansiyeli hakkında bilgi sağlamanın yanı sıra kanserojenlik olasılığı hakkında bir uyarı sağlamak için kullanılabilir. Tahliller iyi istatistiksel güce sahiptirler, tekrarlanabilirler ve çok çeşitli genotoksik uç noktaları tespit edebilirler. Aşamalı bir standart yaklaşımda kullanılmak üzere, küresel olarak doğrulanmış önerilerde genotoksisite testleri kabul edilmiştir (Albertini vd., 2000).

Genotoksik molekülleri test etmek için araştırmacılar, toksik substratlara maruz kalan hücrelerde DNA hasarını test eder. Bu DNA hasarı, tek ve çift sarmal kırılmaları, eksizyon onarımının kaybı, çapraz bağlanma, alkali kararsız bölgeler, nokta mutasyonları ve yapısal ve sayısal kromozomal sapmalar şeklinde olabilir. Genetik materyalin tehlike altındaki bütünlüğünün kansere neden olduğu bilinmektedir. Sonuç olarak, kimyasalların kansere yol açabilecek DNA hasarına neden olma potansiyelini değerlendirmek için *in vivo* ve *in vitro* testler mevcuttur. Bu testler içinde en yaygın kullanılan Ames testi, Komet (tek hücre jel elektroforezi) testi, kardeş kromatid değişimi (KKD), kromozomal anormallik (KA) testi ve mikronükleus (MN) testidir. Bu testler sayesinde doğal ürünler üzerinde anti-mutajenik ve anti-karsinojenik çalışmalar yapılabilmektedir (Mortelmans ve Rupa, 2004). Çalışmamız kapsamında, genotoksisite profilinin belirlenmesinde Komet testi kullanılmıştır.

2.7.1. Komet Testi (Alkali Tek Hücre Jel Elektroforezi)

Son yıllarda gelişen Komet tekniği, mutajenik ve karsinojenik ajanlara maruz kalan canlı popülasyonlarında ökaryotik hücrelerdeki DNA tek ve çift zincir kırıklarının tespiti amacıyla kullanılan hızlı, güvenilir, basit, ucuz ve çok hassas bir yöntemdir. Kullanım alanı oldukça geniş olan bu teknik “Tek hücre jel elektroforez (Single cell gel electrophoresis) veya SCGE ve Microgel Electrophoretic Technique” olarak da isimlendirilmektedir (Bilgici, 2005; Fidan, 2005; Durmaz vd., 2010). Ayrıca kanser hastalarında DNA hasarının derecesini ve tamirini tespit etmede, bazı kalıtsal hastalıkların prenatal tanısında, bazı hastalıklarda artmış DNA hasarını belirlemede kullanılan bir biyoizlem testidir (Choy, 2011; Preston vd., 1981).

Komet yöntemi, alkali pH’da farklı molekül ağırlıklarına ve farklı elektrik yüke sahip DNA moleküllerinin elektriksel alanda farklı göç etmeleri esasına dayanmaktadır (Östling ve Johanson, 1984; McKelvey-Martin vd., 1993; Fairbairn vd., 1995). Bu yöntemde göre, hücreler veya çekirdekçikler öncelikle agarozta yerleştirilmekte, daha sonra lizis ve alkali elektroforez tamponunda yürütme ve nötralizasyon işlemlerinden geçirilerek floresan boya ile boyanmaktadır. Floresan mikroskop ile incelenen preparatlarda zarar görmemiş DNA’lar comet (kuyruk) oluşturmazken, hasar görmüş DNA moleküllerindeki fragmentler farklı molekül ağırlıklarına ve elektrik yüklerine sahip olacaklarından elektriksel alanda farklı hızlarda hareket ederek çekirdekten dışarı doğru göç etmekte ve kuyruklu yıldız görünümü oluşturmaktadırlar. Bu görünüm nedeniyle bu tekniğe "Komet" adı verilmiştir. Komet görüntüsü, oluşan DNA hasarına göre derecelendirilir. Hasar bulunmayan DNA’lar 0 ile puanlandırılırken hasarlı DNA’lar oluşan hasarın boyutuna göre 1 ve 4 arasında puanlandırılır (Collins 2004; Kumaravel vd., 2007). (Şekil 2.7).



Şekil 2.7: Komet görüntülerinin, oluşan DNA hasarına göre derecelendirilmesi. (Fairbairn vd., 1995).

Komet testi ile DNA hasarının kantitatif olarak saptanmasında; kuyruk moment, kuyruktaki DNA yüzdesi ve kuyruk uzunluğu gibi parametreler kullanılmaktadır (Singh vd., 1988; Dinçer ve Kankaya, 2010; Şekeroğlu vd., 2011; Çelik vd., 2005). DNA’sı zarara uğramış hücre, kafa ve kuyruk olmak üzere 2 kısımdan meydana gelmektedir. “Kafa” bölgesi çekirdek dışına göç etmeyen, “kuyruk” ise parçalanmaya ve yapısal kayba bağlı olarak çekirdek dışına göç etmiş DNA’yı belirtir (Başaran, 2004) (Şekil 2.8).

DNA Göçünün Uzunluğu

(Tanımlanabilen en küçük DNA)

Göç Etmiş DNA Yüzdesi

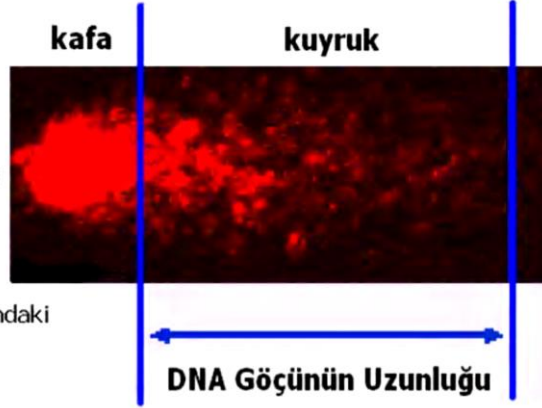
(Göç Eden DNA Miktarı)

Kuyruk Momenti

(Göç etmiş DNA) x (kuyruk uzunluğu)

Çekirdek Kuyruk Momenti

(Göç etmiş DNA) x (kuyruktaki DNA yoğunluğunun merkezi ile kafa arasındaki mesafe)



Şekil 2.8: Komet testinin görüntü analizi şematik şekli (Başaran, 2004).

2.8. Çalışmanın Amacı

Bu çalışmanın amacı, ülkemizde Karadeniz Bölgesi'nde yaygın olarak tüketilmekte olan ve sağlık açısından birçok faydası olduğu bilinen üvez meyvelerinin antioksidan, antikolinerjik, antikanser aktivitelerinin ve muhtemel genotoksik profilinin araştırılmasıdır. Bu amaçla, ilk aşamalarda üvez meyvelerinin serbest radikal giderme kapasiteleri Kuprak testi ve antikolinerjik etkinlikleri ise AChE ve BChE inhibisyonu üzerinde incelenmiştir. Sonraki aşamalarda ise meyve özütlerinin kanser hücre kültürleri üzerinde sitotoksik aktiviteleri araştırılmıştır. En son aşamada genotoksik aktivitesi komet testi ile belirlenmiştir. Bu amaçla yapılan çalışmamız neticesinde elde edilen bilgiler üvez meyvesinin alternatif tıp alanında öncül ilaç olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Yürütülen diğer araştırmalardan farklı olarak ülkemizde nadir yetiştirilen üvezin antikanser aktivitesi ile ilgili bir çalışmaya rastlanılmaması araştırmanın önemini arttırmaktadır.

3. LİTERATÜR ÖZETLERİ

Test mikroorganizmalarına karşı *S. domestica*'nın yapısındaki antimikrobiyal özellikteki fenolik bileşiklerden ileri geldiği Termentzi ve ark. (2006)'nın yaptığı bir araştırma ile doğrulanmıştır.

Baltacıoğlu (2006), Ham üvez ve olgunlaşmış üvez meyvesinin fenolik bileşiklerde meydana gelen değişimleri gözlemlenmiştir. Olgunlaşmamış üvez meyvesinin fenolik madde miktarı 134,17 mg/100 g değerinde bulunurken, olgunlaşmanın ilerlediği aşamada fenol madde miktarı 90,90 mg/100 g değerinde düşüş görülmüştür. Bunun yanında üvezde 3 adet pik gözlemlenmiş neoklorojenik, klorojenik ve rutin asit olduğu belirlenmiştir.

Şen (2011) yaptığı çalışmada, kullandığı üvez meyvelerini Karadeniz Bölgesinin Bartın yöresinden toplamıştır. Meyveler destile suda yıkanıp parçalara ayrılarak kurutulmuş ve sulu ekstresi hazırlanmıştır. Hazırlanan sulu ekstrenin CUPRAC, DPPH, Hidroksi, ABTS, DMPD radikal giderme aktiviteleri antioksidan testler ile tayin edilmiştir. Sonuçlarda tokoferol, bütillenmiş hidroksitoluen, troloks, askorbik asit gibi sentetik antioksidanlarla karşılanmıştır. Yapılan antioksidan testlerin büyük bir kısmında antioksidan aktivitenin tayin edilmesi, üvez meyvelerinin doğal antioksidan olarak fayda sağladığı öne sürülmüştür.

Hasbal (2013) yürüttüğü çalışmada, *Sorbus torminalis* L. meyvelerinin su, etil asetat, metanol ve aseton gibi çözücüler hazırlanarak antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Bunun yanı sıra ekstrelerin total flavonoid ve fenolik bileşik miktarından serbest radikal giderici etkileri ve indirgeyici güçleri incelenmiştir. Ekstre edilen bileşikler arasında en yüksek total fenolik bileşik miktarı 20,435 mg ve total flavonoid miktarları 12,186 mg ile sulu ekstrede olduğu saptanmıştır. Elde edilen ekstrelerin bileşik miktarı (EC) sulu 0,42 g/g etil asetat 0,029 g/g metanol; 0,228 g/g ve asetonlu; 0,055 g/g meyve olarak belirlenmiştir. Ekstrelerden elde edilen EC miktarları metanollu, sulu, etil asetat ve asetonlu ekstrelerle göre daha fazla olduğu saptanmıştır.

Canlı ve ark. (2017); *S. domestica*'nın yapraklarının antimikrobiyal etkiye sahip olduğu tespit etmişlerdir.

Ceylan (2017) yürüttüğü çalışmada, üvez meyvelerinin antioksidan aktivite ekstraktları hazırlanıp aseton ve su kullanılarak incelenmiştir. Su ekstraktının toplam fenolik bileşikleri ve toplam flavonoid miktarlarının, en iyi ve en yüksek ekstrakt verimi olduğu saptanmıştır. Toplam antioksidan tayininde en yüksek aktivitenin su ekstraktı olduğu gözlemlenmiştir. Böylece üvez meyvelerinden elde edilen meyve suyu özütlerinin antioksidan aktivite gösterdiği görülmüştür. Bunun sonucunda üvez meyvesinin doğal bir antioksidan kaynağı olduğu sonucuna varılmıştır.

Bayram vd. (2019) yürüttüğü çalışmada, insan sağlığı açısından önemli olan üvez ekstraktlarının fenolik, flavonoid ve antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Ekstraktların hazırlanmasında çözücü olarak etanol, metanol ve aseton kullanılarak, 10 dk santrifüjlenmiştir. Sonuç olarak en yüksek fenolik madde miktarı 19,25 mg GAE/g alkon çözücüsünde görülmüştür. Etanol ekstraktlarının fenolik madde miktarının yüksek olduğu ve DDP radikallerini giderme aktivitelerine sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Üvez sağlık açısından önemli biyoaktif bileşenlere sahip ve birçok hastalık için kullanıldığı tespit edilmiştir.

Sönmez ve Kırbağ (2019), üvez meyvesinin antimikrobiyal etkisini çeşitli mikroorganizma türleri üzerinde test etmiş ve olumlu sonuçlar almışlardır.

Mrkonjic vd. (2019) yapmış oldukları çalışmada, *Sorbus domestica* L. ve *Sorbus intermedia* olan 2 türün meyvelerinin ve bu meyvelerden elde edilen reçelin fenolik profilleri, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri üzerine ayrıntılı bir şekilde çalışmışlardır. LC-MS/MS kullanılan teknik ile *Sorbus domestica* meyvelerinde en baskın bileşikler olan 44 fenolik maddenin varlığı ortaya çıkmıştır. BHT (bütillenmiş hidroksitoluen) ve PG (propil gallat) antioksidan standartları karşılaştığında her iki sorbus türde orta seviyede antioksidan etkisi göstermiştir. Çalışma ile sorbus meyvelerinin, insan sağlığı açısından önemli bir meyve olduğu sonucuna varılmıştır.

4. MATERİYAL ve YÖNTEM

4.1. Bitki Materyalinin Hazırlanması

Çalışmamızda kullanılan Üvez meyveleri Ekim 2021’de Batı Karadeniz Bölgesi Bartın ilinden toplandı. Üvez meyveleri destile suda (dH_2O) yıkandıktan sonra parçalara ayrılarak oda sıcaklığında kurutuldu. Çalışmada üvez meyvesinin sulu ekstresi hazırlandı. Kurutulmuş bir numune (25 g), bir blender kullanılarak küçük parçalara bölündü (Şekil 4.1).



Şekil 4.1: Bitkinin tartımı

4.2. Ekstraktın Hazırlanışı ve Çözelti Elde Edilmesi

Su ekstraksiyonu, geri akıtılan çözücü renksiz hale gelene kadar bir soxhlet cihazında gerçekleştirildi (Şekil 4.2). Ekstraksiyon, Whatman No 1 filtre kağıdından süzüldü ve süzöntü vakumlu buharlaştırıcıda 30°C 'de kuruyana kadar buharlaştırıldı. Kuru tortu, vidalı kapaklı bir Erlenmeyer şişesi içinde 250 mL su ile karıştırılmak üzere çalkalayıcıya yerleştirildi. Elde edilen son çözelti 50 mL Falcon tüplerine konularak $+4^\circ\text{C}$ 'de buzdolabında muhafaza edildi.



Şekil 4.2: Ekstraksiyon aşaması

4.3. Bakır Antioksidan Kapasitesini Azaltma Testi (Kuprak Metodu)

Eksraktan Cu^{2+} iyonlarının indirgemesi metodunun (Apak vd., 2006) hafif bir modifikasyonu yapıldı. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan örnek tüplerine 0,25 mL CuCl_2 çözeltisi (0,01 M), 0,25 mL etanolik neokuprin çözeltisi ($7,5 \times 10^{-3}$ M) ve 0,25 mL $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ tampon çözeltisi (1 M) sırasıyla eklendi. Yarım saat sonra 450 nm’de köre karşı absorbands değerleri ölçüldü ve kör olarak saf su kullanıldı. Standart antioksidanın standart kalibrasyon eğrisi, absorbands-konsantrasyon grafiği olarak oluşturuldu ve her bir antioksidan için kuprak yönteminin molar absorptivitesi, ilgili kalibrasyon çizgisinin eğiminden bulundu.

4.3.1. Kuprak yöntemiyle indirgeme kapasitesi tayini için hazırlanan çözeltiler

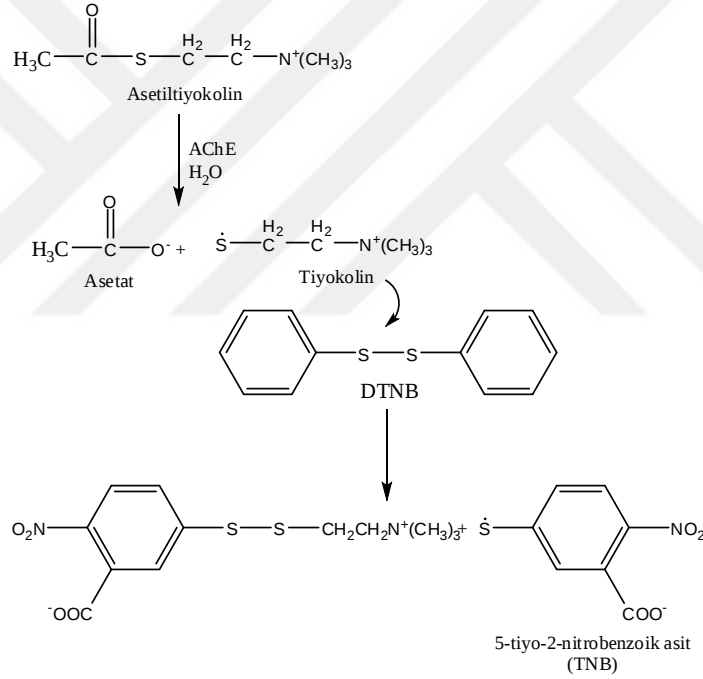
0,01 M’lık CuCl_2 çözeltisi hazırlamak için 47 mg CuCl_2 alındı ve 50 mL dH_2O içerisinde çözüldü. İkinci aşamada $7,5 \times 10^{-3}$ M’lık etanolik neokuprin çözeltisi hazırlandı. Bu aşamada 156 mg Neokuprin alınarak ve 100 mL etanol içerisinde çözüldü. Son aşamada 1 M’lık $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ tampon çözelti hazırlandı. 15,4 g $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ alındı ve 180 mL saf suda çözüldü. Solüsyon pH metre yardımıyla pH:6,5’e ayarlandıktan sonra hacim dH_2O ile 200 mL’ye tamamlandı.

4.4. Asetilkolinesteraz Enzimi Üzerine İnhibisyon Etkilerinin Belirlenmesi

Ekstraktın asetilkolinesteraz enzimi üzerindeki etkisi Ellman metoduna göre araştırıldı (Ellman, 1961). Bu amaçla IC_{50} değerleri bulundu ve inhibisyon türleri belirlendi. Metot asetilkolinin, tiyokolin ve asetata parçalanması reaksiyonunu katalizlemesi esasına dayanır. Ürün olarak açığa çıkan tiyokolin ve DTNB’nin reaksiyonuyla oluşan sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoik asit oluşturur. Kontrol küveti içeriğinde 100 μL Tris-HCl, 790 μL saf su, 50 μL DTNB, 10 μL enzim çözeltisi ve 50 μL Asetilkolintiyoiyodür bulunur. Çalışılan örnek küvetinde ise 100 μL Tris-HCl, 780 μL saf su, 50 μL DTNB, 10 μL enzim çözeltisi, 50 μL Asetilkolintiyoiyodür ve 10 μL örnek bulunur. Örnek içerisinde meydana gelen renk ve kör küvetlerinin 412 nm dalga boyunda, 5 dakikada boyunca absorbandsları ölçüldü (Şekil 4.3).

4.5. Bütirilkolinesteraz Enzimi Üzerine inhibisyon Etkilerinin Belirlenmesi

Ekstraktın BChE üzerindeki etkisi araştırıldı. Daha sonra IC₅₀ değerleri bulunarak inhibisyon türleri belirlendi. Metot bütirilkolinin, tiyokolin ve asetata parçalanması reaksiyonunu katalizlemesi esasına dayanır. Ürün olarak açığa çıkan tiyokolin ve DTNB'nin reaksiyonuyla sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoik asit oluşturur. Kontrol küveti içeriğinde 100 µL Tris-HCl, 790 µL saf su, 50 µL DTNB, 10 µL enzim çözeltisi ve 50 µL Bütirilkolintiyoiyodür bulunur. Çalışılan örnek küvetinde ise 100 µL Tris-HCl, 780 µL saf su, 50 µL DTNB, 10 µL enzim çözeltisi, 50 µL Bütirilkolintiyoiyodür ve 10 µL örnek bulunur. Örnek içerisinde meydana gelen renk ve kör küvetlerinin 412 nm dalga boyunda, 5 dakikada boyunca absorbansları ölçüldü.



Şekil 4.3: Asetilkolinesteraz aktivitesinin Ellman metoduyla tayini

4.6. Hücre Proliferasyon Testi

Sorbus domestica L. bitki ekstraktının proliferasyonu MCF-7 (meme kanseri) hücre hattında uygulama yapılarak analiz edildi. Her iki numune için geniş konsantrasyon taraması yapıldı. *Sorbus domestica* L. numuneleri için 1, 5, 10, 50, 100, 500, 1.000, 5.000, 10.000 ve 50.000 ppm (µg/ml) olmak üzere 10 farklı konsantrasyon hazırlandı. MCF-7 hücreleri %10 Fetal bovine serum (FBS) ve %1 penicilin/streptomisin içeren DMEM ortamında kültürlendi.

Hücreler %80-90 konfluense ulaştığında çalışmaya alındı. Hücreler 96 kuyucuklu mikrotiplerde 1×10^4 hücre/kuyucuk olacak şekilde ekildi. 24 saat 37°C 'de %5 CO_2 koşullarında inkübasyona bırakıldı. Inkübasyon sonunda test ajanları ile hücreler muamele edildi ve 24 saat 37°C 'de %5 CO_2 koşullarında inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda % canlılığı değerlendirmek için WST-1 hücre proliferasyon test protokolü uygulandı.

4.6.1. WST-1 Testi

WST-1 (2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disülfofenil)-2H tetrazolyum monosodyum tuzu) hücre proliferasyon testi, bağıl değeri ölçmek için tasarlanmış basit, kolorimetrik bir testtir. Suda çözünür tuz, hücre kültürü ortamına salınır. Inkübasyon süresi içinde reaksiyon, hücre kültüründeki mitokondriyal dehidrojenaz miktarı ile doğru orantılı bir renk değişikliği üretir. Bu nedenle tahlil, hücrelerin metabolik aktivitesini ölçer. Testi gerçekleştirmek için, kullanıma hazır olan WST-1 reaktifi, çok oyuklu plakalarda kültürlenmiş hücrelerin ortamına doğrudan eklenir. Kültürlere daha sonra reaktifi boya formuna indirgemek için 30 dakika-4 saat verilir. Plaka daha sonra 630 nm'de bir referans okuma ile 450 nm'de hemen okunur. Sonuçlar ELISA mikrotiplerinde okuma sonuçlarına göre değerlendirildi. Ayrıca IC_{50} değerleri GraphPad Prism 9.4.1 (GraphPad Software, Inc., San Diego) yazılımı kullanılarak hesaplandı.

4.7. Genotoksik Aktivitenin Belirlenmesi (Komet Testi)

Yapılan hücre kültürü çalışmasının sonuçlarına göre IC_{50} değerinin altı ve üstü olmak üzere farklı konsantrasyonlar belirlenerek deney tasarımı gerçekleştirildi. MCF-7 hücreleri, *Sorbus domestica* L. için 10000 ve 50000 ppm konsantrasyonları ile 24 saat 37°C 'de %5 CO_2 koşullarında inkübe edildi. Doz uygulaması yapılan hücreler yüzeyden alındı ve santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırıldı. Geriye kalan hücrelere PBS eklendi. Elde edilen hücre süspansiyonundan 50 μL çekilerek yeni tüpe aktarıldı ve 100 μL LMA (Low Melting Agaroz) (%0,7) ile karıştırıldı. Hücre-LMA karışımı daha önceden hazırlanmış %1 NMA (Normal Melting Agaroz)'lı lamlara yayılımı sağlandı. Hazırlanan lamalar lamel ile kapatılarak buz kasetlerinin üzerinde donmaları için yerleştirildi. Donan lamalar üzerindeki lameller dikkatlice çıkarıldı ve lamaların her yerine gelecek şekilde lizis çözeltisi içerisine konularak 3 saat bekletildi. Lizis işleminden sonra elektroforez işlemine tabi tutuldu. (25 V, 300 mA, 20 dk.). Elektroforez sonrasında alınan lamalar soğuk dH_2O ile yıkama yapıldı.

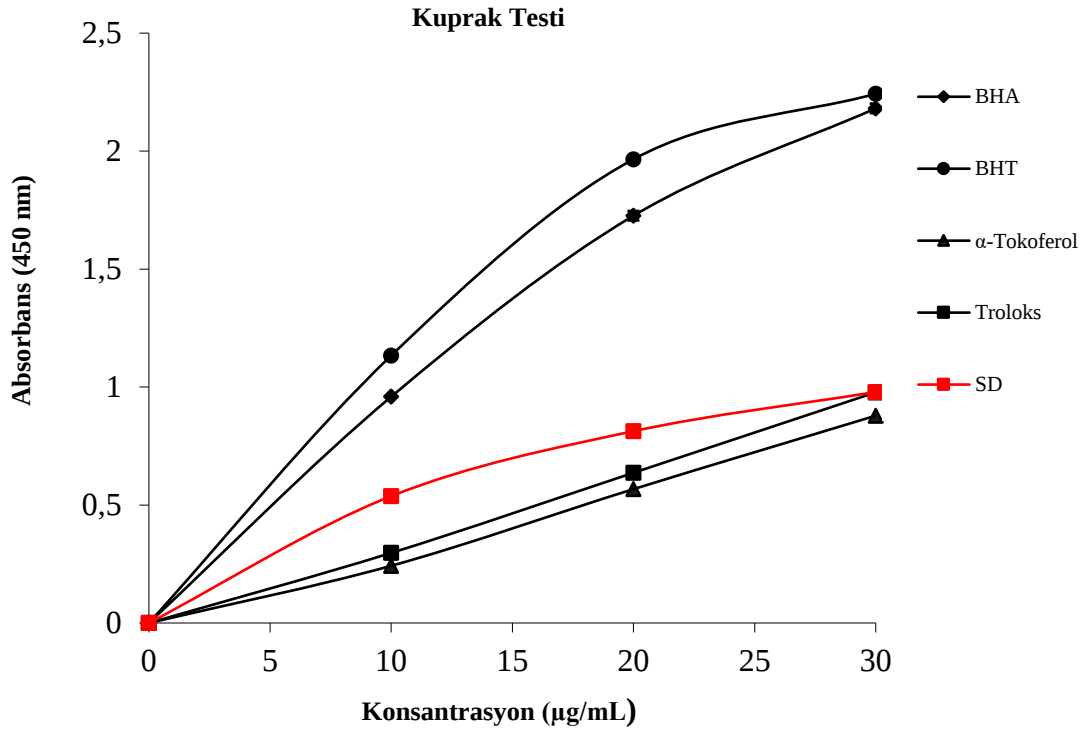
Yıkama işleminden sonra nötralizasyon tamponunda 10 dk bekletildi. Süre sonunda tekrar yıkama yapıldı ve SafeView floresan boya ile boyaması yapıldı. Floresans mikroskopta fotoğraflanarak sayım yapıldı. Yapılan test değerlendirilmesi TriTek CometScore2.0 software (TriTek Corporation, Sumerduck, VA, USA) yazılımı ile yapıldı.



5. SONUÇLAR

5.1. Antioksidan Aktivite (Kuprak Testi)

S. domestica (SD) ekstraktının bakır iyonlarını (Cu^{2+}) indirgeme kapasitesinin, konsantrasyon ile doğru orantılı olarak arttığı bulunmuştur. Farklı konsantrasyondaki (10-30 $\mu\text{g/mL}$) çözeltilerinin 450 nm'deki absorbansları ölçülerek antioksidan değerleri belirlenmiştir (Şekil 5.1). *S. domestica* ekstraktının ve standart antioksidanların bakır iyonlarını (Cu^{2+}) indirgeme grafiği çizildikten sonra her bir standart antioksidan, olivetol için 30 $\mu\text{g/mL}$ 'ye karşılık gelen absorbans değerleri birbirleriyle mukayese edilmiştir.



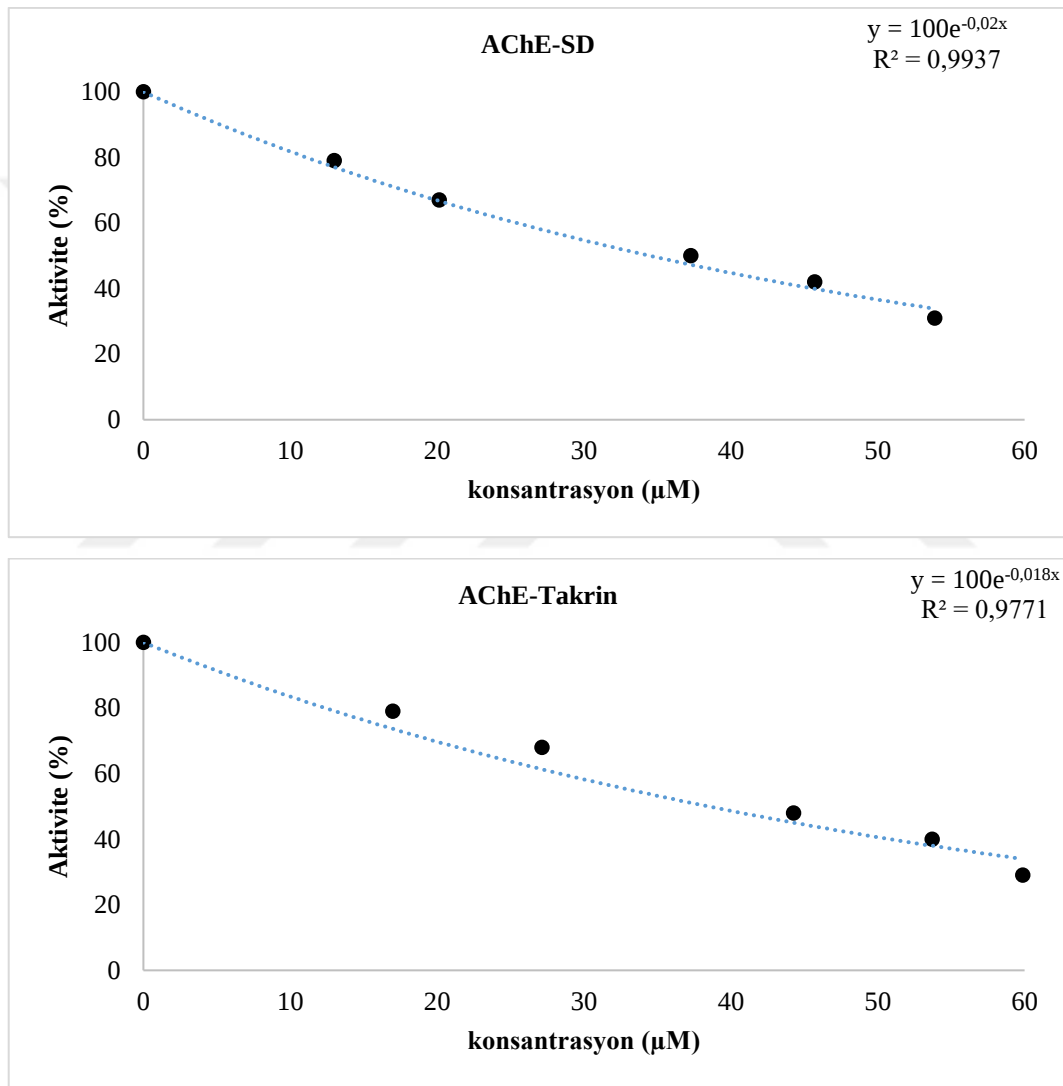
Şekil 5.1: *S. domestica* ekstraktının farklı konsantrasyonlardaki bakır iyonlarını (Cu^{2+}) indirgeme aktivitesinin standart antioksidanlar ile karşılaştırması

Farklı konsantrasyonlarda *S. domestica* ekstraktının ve standart antioksidanların kuprik iyonlarını (Cu^{2+}) kupröz iyonlarına (Cu^{+}) indirgeme aktiviteleri birbirleriyle karşılaştırıldıklarında $\text{BHA} > \text{BHT} > \text{SD} > \alpha\text{-Tokoferol} > \text{Trolox}$ şeklinde sıralanmanın meydana geldiği belirlendi.

5.2. Antikolinerjik Aktivite

5.2.1. Asetilkolin Esteraz Enzim Aktivitesine Karşı Standart İnhibitör (Takrin) Değerlendirilmesi

Doygun substrat derişiminde AChE enziminin standart inhibitörü olan Takrin'e karşı *S. domestica*'nın (SD) inhibisyon etkisine incelendi. Her bir madde için aktivite (%) /konsantrasyon grafikleri çizildi. Çizilen grafiklerde Takrin ve *Sorbus domestica* L. için IC₅₀ değerleri hesaplandı (Şekil 5.2).

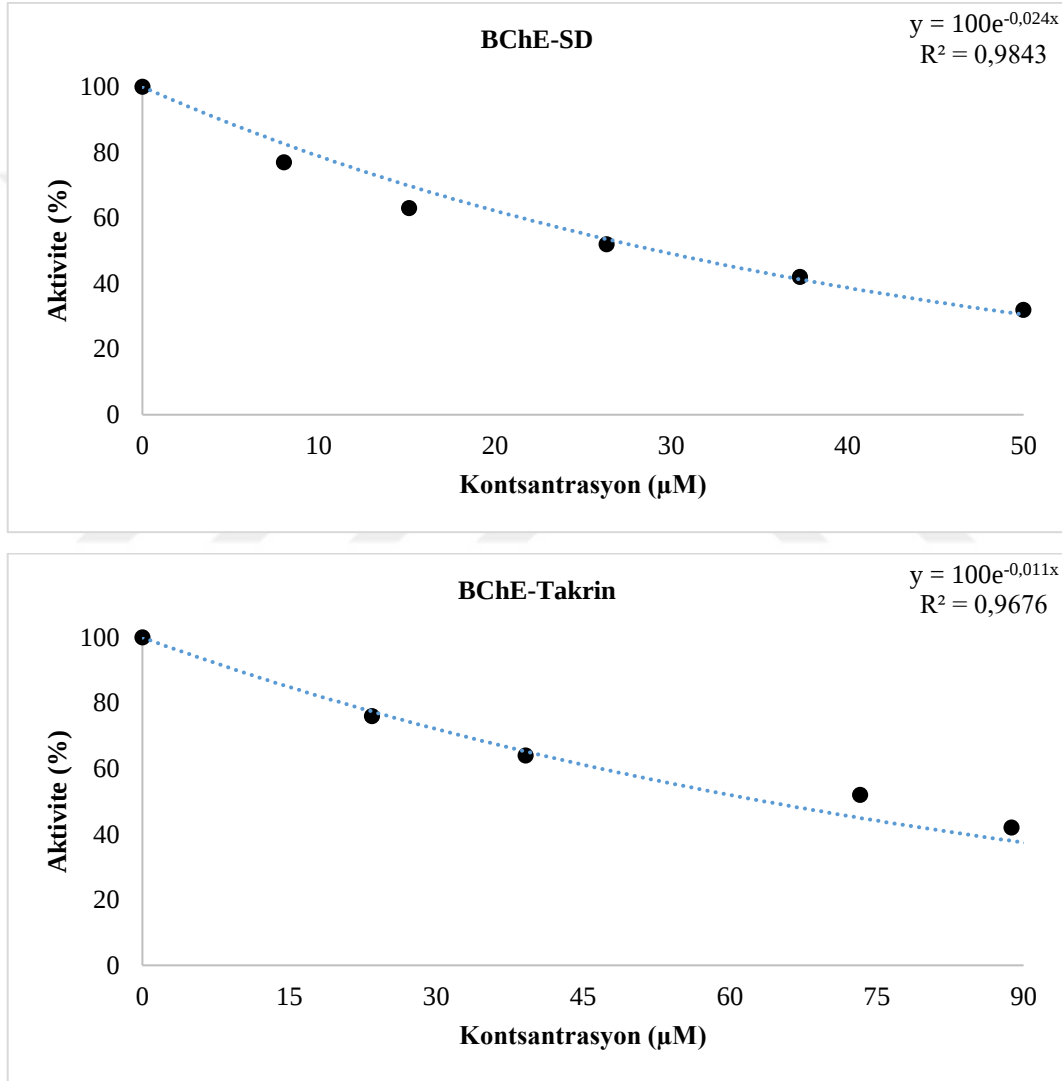


Şekil 5.2: AChE enzminin aktivite grafiğı

S. domestica'nın IC₅₀ değeri 34,65 µg/mL elde edildi. Bu değer standart inhibitör değerine göre kıyasladığında daha iyi veriler elde etmemizi sağladı. Bu çalışmada AChE için standart (Takrin) IC₅₀ değerimiz 38,50 µg/mL elde edildi. (IC₅₀ değeri az olursa iyi inhibitör olduğunu gösterir).

5.2.2. Bütirilkolin Esteraz Enzim Aktivitesine Karşı Standart İnhibitör (Takrin) Değerlendirilmesi

Doygun substrat derişiminde BChE enziminin standart inhibitörü olan Takrin'e karşı *S. domestica*'nın (SD) inhibisyon etkisine incelendi. Her bir madde için aktivite (%) /konsantrasyon grafikleri çizildi. Çizilen grafiklerde Takrin ve *Sorbus domestica* L. için IC₅₀ değerleri hesaplandı (Şekil 5.3).



Şekil 5.3: BChE enzminin aktivite grafiğı

S. domestica'nın IC₅₀ değeri 28,87 µg/mL elde edildi. Bu değer standart inhibitör değerine göre kıyasladığında daha iyi veriler elde etmemizi sağladı. Bu çalışmada BChE için standart (Takrin) IC₅₀ değerimiz 63,01 µg/mL elde edildi. (IC₅₀ değeri az olursa iyi inhibitör olduğunu gösterir).

5.3. Antikanser Aktivite

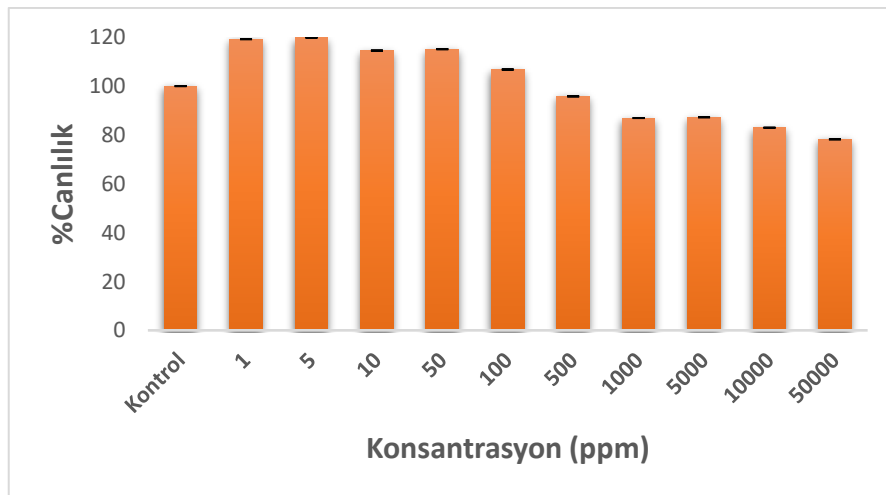
5.3.1. Hücre Canlılığı Değerlendirmesi (WST-1 Testi)

Antikanserojenite – IC₅₀ belirleme: ELISA mikropate okuma sonuçlarına göre; herhangi bir ürün verilmeyen negatif kontrol olarak sınıflandırılan grup %100 canlı olarak değerlendirildi ve test konsantrasyonlarındaki % canlılık hesaplamaları yapıldı (Tablo 5.1).

Tablo 5.1: *S. domestica* 'ya ait hücre canlılığı oranları

Konsantrasyonlar (ppm)	%Canlılık
Kontrol	100
1	119,23
5	119,87
10	114,56
50	115,12
100	106,8
500	95,8
1000	86,93
5000	87,25
10.000	82,97
50.000	78,22

S. domestica için en yüksek konsantrasyon da dahi canlılık azalmadığından dolayı IC₅₀ hesaplanamamıştır (Şekil 5.4).



Şekil 5.4: *S. domestica* 'ya ait hücre canlılığı grafiği

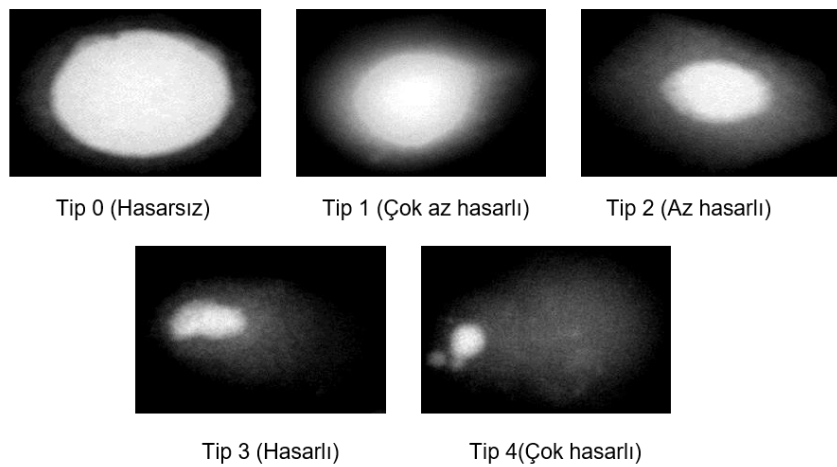
5.3.2. Komet Testi

Görüntüler incelendiğinde 10.000 ppm konsantrasyonda hücrelerin DNA'sında herhangi herhangi bozunma olmadığı görülmektedir. Ancak 50.000 ppm konsantrasyonda DNA'nın tümüyle hasarlanmış olduğu hücrelerin varlığı görülmektedir. 10.000 ppm ekstrakt ile muamele edilen hücrelerin komet görüntülerinde 100 taneden az 2. derece (Çok az) hasarlı DNA sayılamadığı için comet skorlaması yapılamadı. Bu preparatlarda maksimum 50 tane 1. derece hasarlı DNA sayılabildi (Şekil 5.5).



Şekil 5.5: Çeşitli derecelerde DNA hasarının floresan mikroskop altındaki görüntüsü (10.000 ppm).

50.000 ppm ekstrakt ile muamele edilen hücrelerin komet görüntülerinde ise baş yapısı kısmen kaybolmuş, uzun kuyruklu DNA yapıları oluşmaya başlamıştır. Şekil 5.6'da, çalışmada değerlendirmeye alınmayan kimi otoritelerce 3. derece hasarlı olarak kabul edilen baş yapısı kısmen kaybolmuş DNA fragmanları gösterilmiştir (Kumaravel vd., 2007).



Şekil 5.6: Çeşitli derecelerde DNA hasarının floresan mikroskop altındaki görüntüsü (50.000 ppm).

Tablo 5.2 incelendiğinde ise negatif kontrol grubunun kuyruk uzunluğu 12,691 px (piksel) iken bu değer 10.000 ve 50.000 ppm dozlarda 9,642 ve 13,760 px bulunmuştur. Ayrıca kuyruk yoğunlukları (Kuyrukta bulunan DNA parçacıklarının yüzdesi) incelendiğinde ise negatif kontrol grubunun %7,98 bir yoğunluğa sahip olduğu görülürken bu değer 10.000 ve 50.000 ppm dozlarda %4,98 ve %6,99 olarak görülmüştür.

Tablo 5.2: *S. domestica*'ya ait genotoksisite (Komet Testi) değerlendirme sonuçları

Numune İsmi	Kuyruk Uzunluğu (px)	DNA Kuyruğu (%)	Kuyruk Momenti	Kuyruklu Çekirdek Momenti
Negatif Kontrol	12.691.083	7.981.535	9.719.895	3.530.256
<i>Sorbus domestica</i> 10.000 ppm (%1)	9.642.276	4.983.902	4.251.653	2.486.858
<i>Sorbus domestica</i> 50.000 ppm (%5)	13.760.000	6.994.748	12.641.829	4.284.774

6. TARTIŞMA

Yapılan bu çalışmada, Üvez (*Sorbus domestica* L.) bitkisinin meyvelerinden elde edilen özütün bazı biyolojik aktiviteleri (enzim inhibisyonu, antioksidan ve antikanser) incelendi. Bitki özütleri Soxhlet ekstraksiyon yöntemi ile elde edildi. Antikanser aktiviteleri WST-1 ve Komet testleri ile değerlendirilmiştir. Hücre canlılığını değerlendirmek için yapılan WST-1 testinde hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki (1, 5, 10, 50, 100, 500, 1.000, 5.000, 10.000 ve 50.000 ppm ($\mu\text{g/mL}$)) özütlerin MCF-7 meme kanseri hücre hatları üzerindeki etkinlikleri incelenmiştir. Elde edilen veriler en yüksek konsantrasyon da (50.000 ppm) dahi canlılık azalmadığından dolayı IC_{50} hesaplanamamıştır. Komet testi sonucunda elde edilen verilerde ise 10.000 ppm konsantrasyonda değerlendirme yapılamazken, 50.000 ppm konsantrasyonda baş yapısı kısmen kaybolmuş, uzun kuyruklu DNA yapıları oluşmaya başlamıştır. Antioksidan aktivitenin belirlenmesi amacıyla CUPRAC testi kullanıldı. Üvezin standart oksidantlara (BHA, BHT, α -Tokoferol ve Troloks) karşı bakır iyonlarını indigeme aktivitesinin α -Tokoferol ve Troloks'a göre yüksek çıkarken, BHA ve BHT'e göre düşük seviyede olduğu tespit edilmiştir. Enzim aktivitesi incelenmesi için kolinesterazlar (AChE ve BChE) kullanılmıştır. Üvezin AChE ve BChE enziminin standart inhibitörü olan Takrin'e karşı inhibisyon etkisi incelendiğinde iki enzime göre daha yüksek aktiviteye sahip olduğu gözlemlendi.

Şen (2011) yaptığı çalışmada, kullandığı üvez meyvelerini Karadeniz Bölgesinin Bartın yöresinden toplamıştır. Meyveler destile suda yıkanıp parçalara ayrılarak kurutulmuş ve sulu ekstresi hazırlanmıştır. Hazırlanan sulu ekstrenin CUPRAC, DPPH, Hidroksi, ABTS, DMPD radikal giderme aktiviteleri antioksidan testler ile tayin edilmiştir. Sonuçlarda tokoferol, bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), troloks, askorbik asit gibi sentetik antioksidanlarla karşılanmıştır. Yapılan antioksidan testlerin büyük bir kısmında antioksidan aktivitenin tayin edilmesi, üvez meyvelerinin doğal antioksidan olarak fayda sağladığı öne sürülmüştür. Yaptığımız çalışmada ise *S. domestica* L. meyvelerinden soxhlet yöntemiyle elde edilen özütlerinde yüksek radikal giderme kapasitesine sahip ve literatüre göre daha düşük konsantrasyonda daha yüksek aktivite göstermiştir.

Hasbal (2013) yürüttüğü çalışmada, *Sorbus torminalis* L. meyvelerinin su, etil asetat, metanol ve aseton gibi çözücüler hazırlanarak antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Bunun yanı sıra ekstrelerin total flavonoid ve fenolik bileşik miktarından serbest radikal giderici

etkileri ve indirgeyici güçleri incelenmiştir. Ekstre edilen bileşikler arasında en yüksek total fenolik bileşik miktarı 20,435 mg ve total flavonoid miktarları 12,186 mg ile sulu ekstrede olduğu saptanmıştır. Elde edilen ekstrelerin bileşik miktarı (EC) sulu 0,42 g/g etil asetat 0,029 g/g metanol; 0,228 g/g ve asetonlu; 0,055 g/g meyve olarak belirlenmiştir. Ekstrelerden elde edilen EC miktarları metanollü, sulu, etil asetat ve asetonlu ekstrele göre daha fazla olduğu saptanmıştır. Çalışmamız kapsamında Üvez'in sulu ekstresi kullanılmıştır.

Elsayed (2015) yaptığı çalışmada, *Moringa oleifera* Lam.'dan elde edilen tohum esansiyel yağının HeLa, HepG2, MCF-7, CACO-2 ve L929 hücre hatları üzerindeki potansiyel sitotoksik aktivitesini araştırmıştır. Farklı hücre hatları, 24 saat boyunca 0.15 ila 1 mg/mL arasında artan yağ konsantrasyonlarına tabi tutulmuş ve sitotoksikite, MTT tahlili kullanılarak değerlendirilmiştir. Tedavi edilen tüm hücre hatları, artan yağ konsantrasyonuna yanıt olarak hücre canlılığında önemli bir azalma göstermiştir. Ayrıca, azalma uygulanan yağ konsantrasyonunun yanı sıra hücre hattına da bağlı olarak gerçekleşmiştir. En yüksek etki HeLa hücrelerinde görülmüş ve ardından kaydedilen hücre toksisite yüzdelерinin sırasıyla %76.1, 65.1, 59.5, 57.0 ve 49.7 olduğu HepG2, MCF-7, L929 ve CACO-2'de izlenmiştir. Ayrıca MCF-7, HeLa ve HepG2 hücreleri için elde edilen IC50 değerleri sırasıyla 226.1, 422.8 ve 751.9 µg/mL olarak bulunmuştur.

Garbi (2015) yaptığı çalışmada, *Bauhinia rufescens* ekstraktlarının MCF-7 hücre hattına karşı sitotoksik aktivitelerini araştırmıştır. MCF-7 hücreleri, MEM ortamında kültürlenmiş ve 72 saat boyunca farklı konsantrasyonlarda 31.25, 62.50, 125, 250 ve 500 µg/ml *Bauhinia rufescens* özü ile inkübe edilmiştir. Tedavi sonrası, hücre ölüm yüzdesi (MTT) analizleri ile incelenmiştir. Sonuçlar, petrol eteri ve metanol özlerinin, konsantrasyona bağlı bir şekilde MCF-7 hücreleri üzerindeki hücre ölümlerini önemli ölçüde azalttığını göstermiştir. 31.25 µg/ml ve üzeri petrol eteri ve 500 µg/ml metanol ekstresi konsantrasyonlarının MCF-7 hücrelerinde sitotoksik olduğu bulunmuştur. 31.25, 62.50, 125, 250 ve 500 µg/mL petrol eteri ekstraktında hücre ölümleri sırasıyla %61.69, %64.12, %78.39, %82.34 ve %87.35 olarak kaydedilirken, 31.25, 62.50, 125, 250 ve 500 µg/mL 'de hücre ölümleri metanol ekstrakt değerleri MTT testi ile sırasıyla %56.97, %59.35, %66.86, %71.26 ve %74.22 kaydedilmiştir.

Poongodi (2015) yaptığı çalışmada, *Prunus angustifolia*'nın yaprak ekstraktının Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) ile ön fitokimyasal taramasını yapılmış ve in-

vitro sitotoksosite testi ile antikanser aktivitesi incelenmiştir. Fitokimyasal tarama, alkaloidler, fenol, tanenler, glikozitler, saponinler ve diterpenler gibi aktif bitki metabolitlerinin varlığını ortaya çıkarmıştır. Ayrıca GC-MS analizi ile *Prunus angustifolia*'da 8 farklı tıbbi kullanım bileşiğinin belirlenmesine devam edilmiştir. Çalışma ayrıca MTT tahlili kullanılarak meme kanseri hücre hattında (MCF-7) *Prunus angustifolia* yapraklarının farklı konsantrasyonlarının (18,5-300 µg/mL) *in-vitro* sitotoksik doğası hakkında araştırma yapılmıştır. IC50 değeri 99.97µg/mL olarak bulunmuş ve 300 µg/mL'de %100 hücre inhibisyonu meydana gelmiştir.

Rosangkima ve Jagetia (2015) yaptıkları çalışmada, bazı geleneksel şifalı bitkilerin antikanser potansiyellerini *in vitro* olarak Dalton lenfoma (DL), MCF-7 ve HeLa hücrelerine karşı araştırmışlardır. Çeşitli bitki özlerinin sitotoksitesisi, MTT tahlili ile belirlenmiştir. Mevcut çalışmaların sonucu, üzerinde çalışılan 24 farklı ekstraktan *Solanum khasianum* meyvesinin metanol ekstraktları ve *Dillenia pentagyna* gövde kabuğunun yanı sıra *Solanum khasianum* meyvesinin sulu ekstraktları gibi üç ekstraktın bir testte test edilen üç kanser hücresinin tümü üzerinde konsantrasyona bağlı bir şekilde güçlü antikanser aktivite gösterdiğini görmüşlerdir. En güçlü antikanser aktivite, DL, MCF-7 ve HeLa hücrelerinde sırasıyla 18.24 µg/mL, 23.65 µg/mL ve 21.26 µg/mL IC50 değerleri ile *S. khasianum* meyvesinin sulu ekstraktı (SKF-Aq) ile gözlemlenmiştir.

Srihari (2015) yaptığı çalışmada, meme kanseri MCF-7 hücre dizileri üzerinde *Aleo vera*'nın metanolik ekstraktının *in vitro* anti-kanser potansiyelini araştırmışlardır. MCF-7 hücreleri, artan konsantrasyonlarda (0-500µg/ml) 24 saat ve 72 saat süreyle ekstraktla muamele edilmiş ve sonrasında IC50 değeri hesaplanmıştır. *Aleo vera* ekstresi, 74.33 µg/ml IC50 ile MCF-7 hücrelerinde sitotoksik etki göstermiştir.

Arsianti (2016) yaptığı çalışmada, Deniz yosunu *Ulva lactuca* ve *Eucheuma cottonii*'nin fitokimyasal bileşiminin belirlenmesi ve potansiyel bir antikanser ajanı olabilme kapasitelerini araştırmışlardır. *U. lactuca*'nın konsantre özleri için fitokimyasal test, steroidler, glikozitler, flavonoidler ve tanenlerin metabolitleri için pozitif sonuç gösterirken, *E. cottonii*'nin konsantre özleri, steroidler, glikozitler ve flavonoid metabolitleri için pozitif sonuç gösterdi. *U. lactuca* ve *E. cottonii*'nin konsantre özlerinin her ikisi de, 21 µg/mL ila 99 µg/mL arasında değişen IC50 ile göğüs MCF-7 ve kolorektal HCT-116 hücrelerine karşı antikanser aktivite sergilemiştir.

Cheshomi (2016) yaptığı çalışmada, Orta ve Güney Amerika'ya özgü ve Afrika, Asya, Avustralya ve Avrupa'da dağıtılan *Datura innoxia* taç yapraklarının metanolik ekstraktlarının meme kanseri hücre hattı (MCF-7) üzerindeki sitotoksik etkilerini değerlendirmiştir. Elde edilen bulgular, *D. innoxia* taç yaprakları metanolik ekstraktlarının, antikanser etkileri olan olası bir gıda takviyesi görevi görebileceğini ve tamamlayıcı testlerden sonra kullanılabileceğini göstermektedir. Veriler, ekstraktın 48 saat sonunda habis olmayan hücreler üzerinde çok az etkiye sahip olacağını göstermektedir; bununla birlikte, 50- 100 µg/mL'lik konsantrasyonlarda ekstrakt, tümör hücreleri üzerinde yüksek bir inhibitör etki sergilemiştir. Sonuçlar karşılaştırıldığında, meme kanseri hücreleri için hücre büyümesini %50'si inhibe edici konsantrasyonun (IC50), sırasıyla 48 ve 72 saat boyunca 28 µg /mL ve <5 µg /mL'ye eşdeğer olduğu görülmüştür.

Ajagun (2017) yaptığı çalışmada, Nijerya şifalı bitkilerinin (NMP'ler) farklı kısımlarının kombinasyonundan hazırlanan beş tarifin meme kanseri hücreleri (MCF-7 ve MDA-MB-231) ve normal insan fibroblastları üzerindeki sitotoksik özelliklerini araştırmışlardır. İn vitro sitotoksik ve anti-proliferatif etki, 3-[4,5-dimetiltisol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) tahlili ile değerlendirilmiştir. MTT testi sonucu, tariflerin MCF-7, MDA-MB-231 ve fibroblast hücrelerinin büyümesini ve çoğalmasını doza bağlı bir şekilde engelleyebildiğini göstermiştir ($P < 0.05$). Kullanılan numunelerin iksinde kanser hücreleri için 30 µg/mL konsantrasyonda proliferasyonun %50 inhibisyonunda (IC50) etkinlik belirlenmiştir. Çalışmamız kapsamında Üvez'in en yüksek konsantrasyonunda bile proliferasyonun %50 inhibisyonunda (IC50) etkinlik görülmemiştir.

Nikseresht (2017) yaptığı çalışmada, *Matricaria chamomilla*'nın bu antikanser mekanizmalarını insan meme kanseri MCF-7 ve MDA-MB-468 hücre hatları üzerinde değerlendirmeye yönelik yöntemleri araştırmıştır. Hücreler, %10 fetal sığır serumu içeren bir kültür ortamında 24, 48 ve 72 saat boyunca farklı konsantrasyonlarda (50–1300 µg/mL) *M. chamomilla*'nın hidroalkolik ekstraktı ile muamele edilmiştir. Bu çalışma, 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) testi ile %50 büyüme engelleme konsantrasyonu (IC50) ölçmüştür. Hoechst 33342/propidyum iyodür boyama yoluyla apoptoz ve nekroz tayini ve klonojenik tahlil ile hücre proliferasyonu ve klon oluşumunun yanı sıra hücresel göç, istila ve bağlanma kapasiteleri belirlenmiştir. 24, 48 ve 72 saatlik tedaviden sonra, MDA-MB-468'e karşı IC50 seviyeleri sırasıyla $992 \pm 2,3$ µg/mL, $893 \pm 5,4$ µg/mL ve $785 \pm 4,8$ µg/mL ve MCF-7'ye karşı sırasıyla $1288 \pm 5,6$ µg/mL, $926 \pm$

2,5 µg/mL ve $921 \pm 3,5$ µg/mL olarak bulunmuştur. Ayrıca, ekstrakt konsantrasyonlarının artırılması, hücresel apoptozu ve nekrozu indüklemiş ve doza bağlı bir şekilde 8 µm gözenekler yoluyla hücre istilasını veya göçünü, kolonizasyonu ve bağlanmayı azaltmıştır.

Pradhan (2018) yaptığı çalışmada, *Ocimum gratissimum* (OG) bitkisinin MCF-7 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkinliğini incelemişlerdir. MCF-7 hücre hattı OG sulu ekstraktı ile farklı konsantrasyonlarda (0-200 µg/mL) ve zaman aralıklarında (24 ve 48 saat) maruz bırakılmıştır. Sonrasında MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür] testi ile büyüme inhibisyonunun değerlendirildiği *in vitro* sitotoksikite çalışması yapılmıştır. MCF-7 hücre hattındaki çoğalmayı önleyici aktivite değerlendirilmiş ve IC(50) değeri 41.7 µg/mL olarak bulunmuştur.

Kavak (2019) yaptığı çalışmada, *Sorbus umbellata* (Desf.) Fritsch var. yapraklarının fenolik içeriğini ve antioksidan aktivitelerini en üst düzeye çıkarmak ve optimum koşullar altında elde edilen ekstraktların β-glukuronidaz (GUS) enzimini inhibe edici, antimikrobiyal ve sitotoksik potansiyellerini araştırmışlardır. Fenolik içeriği ve antioksidan aktiviteyi maksimize etmek için optimum ekstraksiyon koşulları sırasıyla %78.2 ve %79.7 solvent, 73.1 ve 71.5 °C ve 89.9 ve 88.8 dakika olarak bulundu. Düşük varyasyon katsayısı değerleri, yürütülen ekstraksiyon deneylerinin yüksek güvenilirliğini ve tekrarlanabilirliğini göstermiştir. Biyoaktivite sonuçları, ekstraktların MCF-7 ve A549 hücreleri üzerinde sitotoksik etkiye sahip olduğunu göstermiş ve en yüksek hücre proliferasyonu inhibisyonu A549 hücre hattında gözlemlenmiştir (150 µg/mL'de %71.8). *Staphylococcus aureus*, tüm bakterilerde en yüksek inhibisyon bölgesini (19.3 mm) göstermiştir. Ek olarak, ekstraktlar potansiyel GUS inhibe edici aktivite göstermiştir.

Sundram ve arkadaşları (2019), Zingiberaceae ailesine ait olan *Curcuma mangga* ve *Bosenbergia rotunda* bitkilerinin etanolik özlerin antioksidan ve sitotoksik aktivitesinin belirlenmesine üzerine bir araştırma yapmışlardır. Başlangıçta, *C. mangga* ve *B. rotunda* rizomlarından etanolik ekstraktlar soxhlet ekstraksiyon yöntemi ile elde edilmiştir. Ham ekstraktının %12,6'sı ve %3,5'i sırasıyla *C. mangga* ve *B. rotunda*'dan elde edilmiştir. MTT deneyi için, IC50 değerleri sırasıyla *C. mangga* ve *B. rotunda* için 207 µg/mL ve 31.96 µg/mL'dir. Bu arada DPPH deneyi kullanan antioksidan aktivite için IC50 değerleri incelendiğinde; *C. mangga* IC50 değeri ile 578 µg/mL olarak *B. rotunda*'ya ait 1073 µg/mL IC50 değerine kıyasla daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Çalışmamız

kapsamında *S. domestica* meyvelerinin sulu ekstrelerinin farklı konsantrasyonlarının (5-30 µg/mL) antioksidan aktiviteleri KUPRAK metodu ile incelenmiştir. Elde edilen veriler, farklı konsantrasyonlarda *S. domestica* ekstraktının ve standart antioksidanların kuprik iyonlarını (Cu^{2+}) kupröz iyonlarına (Cu^{+}) indirgeme aktiviteleri birbirleriyle karşılaştırıldıklarında BHA> BHT> SD> α -Tokoferol> Trolox şeklinde sıralanmanın meydana geldiğini göstermiştir. Ayrıca *S. domestica* meyvelerinin sulu ekstrelerinin farklı konsantrasyonlarının (1, 5, 10, 50, 100, 500, 1000, 5000, 10000 ve 50000 ppm (µg/mL)) MCF-7 hücre hatları üzerinde sitotoksik etkinlikleri WST-1 testi ile incelenmiştir.

Hatefi Kia (2021) yaptığı çalışmada, *Epilobium parviflorum* kök, toprak üstü kısımları ve çiçek özlerinin MCF-7 meme karsinoma hücreleri ve HEK293 normal hücre hattının büyümesi üzerindeki etkisini MTT tahlili kullanılarak değerlendirmiştir. Ekstraktların hiçbirisi normal HEK293 hücreleri üzerinde kayda değer bir toksisite göstermezken, bazıları MCF-7 hücreleri üzerinde değişen seviyelerde toksisite göstermiştir. Metanolik özlerin sulu muadilinden daha fazla sitotoksik olduğu görülmüştür. Köklerin metanolik özü, MCF-7 hücreleri üzerinde doza ve maruz kalma süresine bağlı bir şekilde en güçlü sitotoksiteyi göstermiştir. 48 saatlik tedaviden sonra IC₅₀, 73µg/mL olarak belirlenmiştir. Çalışmamız kapsamında *S. domestica* meyvelerinin sulu ekstrelerinin farklı konsantrasyonlarının (1, 5, 10, 50, 100, 500, 1000, 5000, 10000 ve 50000 ppm (µg/mL)) MCF-7 hücre hatları üzerinde sitotoksik etkinlikleri WST-1 testi ile incelenmiştir. En yüksek konsantrasyonda (50000 µg/mL) dahil hücre hattının %50'sinin inhibe edilmesinde (IC₅₀) etkili olmadığı görülmüştür. Daha yüksek konsantrasyonlara çıkıldığında bu değerin elde edilebileceği düşünülmektedir.

7. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tezin planlanma kısmında Üvez (*Sorbus domestica* L.) meyve özütünün antikanser ve enzim aktivite çalışmalarına literatür taramalarında rastlanılmamıştır. Üvez'in meyve kısmı kullanılarak hazırlanan özütün farklı konsantrasyonları hazırlanarak antikanser, antioksidan ve enzim inhibisyonu aktiviteleri incelenmiştir. Çalışılan özüt literatür taramalarında tespit edilen benzer verilerle karşılaştırarak sonuçlar değerlendirilmiştir.

Her biyolojik çalışmada olduğu gibi bitkilerin biyolojik aktivitelerini etkileyen çeşitli faktörler bulunmaktadır. Bunlar çalışmada kullanılan test sentez yöntemi, kullanılan konsantrasyon aralıkları ve özütün hazırlanma şekilleri gibi faktörler olabilmektedir. Bu sebeplerden dolayı yapılan çalışmada önceki çalışmalara göre farklı sonuçlar elde edilebilmektedir.

Tez kapsamında değerlendirilen diğer bir nokta ise kimyasal yöntemlerde kullanılan toksik indirgen ajanların yerine, Üvez (*Sorbus domestica* L.) bitkisinin meyvelerinden sulu ortamda elde edilen bitkisel özütleri kullanılmasıdır. Bu sayede daha çevreci ve ucuz bir sentez yönteminin geliştirilmesi hedeflenmiştir.

Özetle, Üvez (*Sorbus domestica* L.) bitkisinin meyve kısımlarından elde edilen özütün enzim inhibisyonu, antioksidan ve antikanser aktiviteleri incelenmiş ve literatür çalışmalarındaki benzer verilerle karşılaştırarak sonuçlar değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmalar bitki özütünün gıda, ilaç ve sağlık endüstrilerinde kullanılabileceğini göstermiştir. Yaptığımız çalışmanın sonuçlarına göre, bitki özütünden daha iyi sonuçlar almak için farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılabilir. Ayrıca bitkinin etken maddeleri farklı metotlarla belirlendiğinde hem antioksidan hem de antikanser aktivite sonuçlarının daha yüksek çıkacağı öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

- Ajagun, E. J. (2017). *In vitro* cytotoxicity of recipes derived from Nigerian medicinal plants (NMPs) on breast cancer cells. *In vitro*, 1(2).
- Aksu, K., Özgeriş, B., Taslimi, P., Naderi A., Gülçin, İ. ve Göksu, S. (2016). Antioxidant activity, acetylcholinesterase and carbonic anhydrase inhibitory properties of novel ureas derived from phenethylamines. *Arch Pharm* 349(12):944–954.
- Alam, N., Bristi, N.C. ve Rafiquzzaman, M. (2013). Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharm J* 21:143–152.
- Albertini, R.J., Anderson, D. ve Douglas, G.R. (2000). IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. *Mutat Res- Rev Mutat Res*;463(2):111-172.
- Al-Mamary, M., Al-Meer, A. ve Al-Habori, M. (2002). Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutr Res*. 22:1041– 1047.
- Anraku, M., Gebicki, J.M., Iohara, D., Tomida, H., Uekama, K., Maruyama, T., Hirayama, F. ve Otagiri, M. (2018) Antioxidant activities of chitosans and its derivatives in *in vitro* and *in vivo* studies. *Carbohydr Polym* 199:141–149.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. ve Çelik, S.E. (2008). Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity) assay. *Microchim Acta* 160:413–419.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E. ve Erça, E. (2006). The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *Int J Food Sci Nutr* 57:292–304.
- Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K. ve Çapanoğlu, E. (2016). Antioxidant activity/ capacity measurement. 1. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays. *J Agric Food Chem* 64:997–1027.
- Apak, R., Çapanoğlu, E. ve Shahidi, F. (2018). *Measurement of Antioxidant Activity and Capacity Recent Trends and Applications*; John Wiley & Sons Ltd.: Hoboken, NJ, USA; pp. 1–283.
- Arts, I.C., Hollman, P.C. ve Kromhout, D. (1999). Chocolate as a source of tea flavonoids. *Lancet*; 61:354–488.
- Aruoma, O.I. (1994) Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants. *Food Chem Toxicol* 62:671–683.
- Arsianti, A., Fadilah, F., Wibisono, L.K., Kusmardi, S., Putrianingsih, R., Murniasih, T. ve Pangestuti, R. (2016). Phytochemical composition and anticancer activity of seaweeds *Ulva lactuca* and *Eucheuma cottonii* against breast MCF-7 and colon HCT-116 cells. *Asian J. Pharm. Clin. Res*, 9(6), 115-119.

- Aslani, B.A. ve Ghobadi, S. (2016). Studies on oxidants and antioxidant with a brief glance at their relevance to the immune system. *Life Sciences*.
- Atasever, Ö.Ö., (2014). Tokat'ta doğal olarak yetişen üvez (*Sorbus domestica L.*) genotiplerinin seleksiyonu. Doktora Tezi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Tokat.
- Ateş, G., Vanhaecke, T., Rogiers, V. ve Rodrigues, R.M. (2017). Assaying Cellular Viability Using the Neutral Red Uptake Assay. *Methods Mol Biol.*, 1601:19-26.
- Azab, A.E., Albasha, M.O. ve Elsayed, A.S.I. (2017). Prevention of nephropathy by some natural sources of antioxidants. *Yangtze Medicine*,1:235– 266.
- Azab, A.E. ve Albasha, M.O. (2018). Hepatoprotective effect of some medicinal plants and herbs against hepatic disorders induced by hepatotoxic agents. *J Biotechnol Bioeng.*, 2(1):8–23.
- Babich, H., Gold, T. ve Gold, R. (2005). Mediation of the *in vitro* cytotoxicity of green tea and black tea polyphenols by cobalt chloride. *Toxicol Lett.*,155:195–205.
- Bae, J.H., Park, Y.J., Namiesnik, J., Gülçin, İ., Kim, T.C., Kim, H.C., Heo, B.G., Gorinstein, S. ve Ku, Y.G. (2016). Effects of artificial lighting on bioactivity of sweet red pepper (*Capsicum annuum L.*). *Int J Food Sci Technol* 51(6):1378–1385.
- Balasundram, N., Sundram, K., ve Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food*.
- Baltacıoğlu, C. (2006). Üvez meyvesinin fenolik madde dağılımının olgunlaşma sürecinde değişimi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
- Barclay, L.R.C., Vinqvist, M.R., Mukai, K., Itoh, S. ve Morimoto, H. (1993) Chainbreaking phenolic antioxidants: steric and electronic effects in polyalkylchromanols, tocopherol analogs, hydroquinones, and superior antioxidants of polyalkylbenzochromanol and naphthofuran class. *J Org Chem* 58:7416–7420.
- Bast, A., Haenen, G.R.M.M. ve Cees, J.A.D. (1997). Oxidant and antioxidant: state of the art. *The American Journal of Medicine*; 91: (Suppl 3C), 30, 3C-2S, 3C-13S.
- Başaran, A.A. (2004). Farmakognozide tek hücre jel elektroforezi uygulamaları. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, Eskisehir, 4 s.
- Bayrak, Ç., Taslimi, P., Gülçin, İ. ve Menzek, A. (2017) The first synthesis of 4-phenylbutenone derivative bromophenols including natural products and their inhibition profiles for carbonic anhydrase, acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase enzymes. *Bioorg Chem* 72:359–366.

- Bayrak, Ç., Taslimi, P., Kahraman, H.S., Gülçin, İ. ve Menzek, A (2019) The first synthesis, carbonic anhydrase inhibition and anticholinergic activities of some bromophenol derivatives with S including natural products. *Bioorg Chem* 85:128–139.
- Bayram, Y., Torlak, Y. ve Sağdıç, O. (2019). Üvez meyvesinin antioksidan aktivitesi. Pamukkale Üniversitesi Çal Meslek Yüksekokulu Gıda İşleme Bölümü. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi* Sayı 16, S. 933-939.
- Bearden, Z.M., Pearson, D. ve Rein, D. (2000). Potential cardiovascular health benefits of procyanidins present in chocolate and cocoa; in *Caffeinated Beverages: Health Benefits*. In: Parliament TH, editor. Oxford University Press, Washington DC, USA., p. 177–186.
- Becker, E.M., Nissen, L.S. ve Skibsted, L.H. (2004). Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. *European Food Research and Techonology*; 10.107/s00217-004-1012-4.
- Berg, J.M., Tymoczko, J.L. ve Stryer, L. (2002). *Biochemistry*. 5th ed. Freeman WH and Co, New York., p. 205–206.
- Berridge, M.V., Herst, P.M. ve Tan, A.S. (2005). Tetrazolium dyes as tools in cell biology: New insights into their cellular reduction. *Biotechnol Annu Rev.*; 11:127–152.
- Bilgici, B. (2005). “Behçet hastalığında genetoksisite”, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Ana Bilim Dalı, Uzmanlık Tezi.
- Binici, A., (2002). Baharat değerlendirme raporu, Orta Anadolu İhracatçı Birlikleri Genel Sekreterliği, 1-37.
- Blois, M.S. (1958). Antioxidant determinatios by the use of stable free radical. *Nature*; 1199-1200.
- Bocco, A., Cuvelier, M.E., Richard, H. ve Berset, C. (1998). Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. *J Agric Food Chem* 46:2123–2129.
- Boztaş, M., Taslimi, P., Yavari, M.A., Gülçin, İ., Şahin, E. ve Menzek, A. (2019). Synthesis and biological evaluation of bromophenol derivatives with cyclopropyl moiety: ring opening of cyclopropane with monoester. *Bioorg Chem* 89:103017.
- Bursal, E., Köksal, E., Gülçin, İ., Bilsel, G. ve Gören, A.C. (2013). Antioxidant activity and polyphenol content of cherry stem (*Cerasus avium* L.) determined by LC-MS/MS. *Food Res Int* 51:66–74.
- Bursal, E., Aras, A., Kılıç, Ö., Taslimi, P., Gören, A. C. ve Gülçin, İ. (2019). Phytochemical content, antioxidant activity, and enzyme inhibition effect of *Salvia eriophora* Boiss. & Kotschy against acetylcholinesterase, α -amylase, butyrylcholinesterase, and α -glycosidase enzymes. *Journal of food biochemistry*, 43(3), e12776.

- Çakmakçı, S., Topdaş, E.F., Kalın, P., Han, H., Şekerci, P., Köse, L.P. ve Gülçin, İ. (2015) Antioxidant capacity and functionality of oleaster (*Elaeagnus angustifolia* L.) flour and crust in a new kind of fruity ice cream. *Int J Food Sci Technol* 50(2):472–481.
- Canlı, K., Yetgin, A., Akata, I. ve Altuner, E. M. (2017). Antimicrobial activity and chemical composition screening of *Anacyclus pyrethrum* root, *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 51 (3), Jul-Sep, (Special Issue), 244-248.
- Carocho, M. ve Ferreira, I.C.F.R. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food Chem Toxicol* 51:15–25.
- Çetin-Çakmak, K. ve Gülçin, İ. (2019). Anticholinergic and antioxidant activities of usnic acid—an activity-structure insight. *Toxicol Rep* 6:1273–1280.
- Ceylan, B. (2017). Üvez (*Sorbus domestica* L.) ekstraktlarının antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Trakya Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Cheesman, K.H. ve Slater, T.F. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulltin*; 49(3): 481-493.
- Cherian, C., Vennila, J.J. ve Sharan, L. (2019) Marine bromophenols as an effective inhibitor of virulent proteins (peptidyl T arginine deiminase, gingipain R and hemagglutinin A) in *Porphyromas gingivalis*. *Arch Oral Biol* 100:119–128.
- Cheshomi, H., Aldaghi, L. S., & Rezaei Seresht, H. (2016). Cytotoxicity of the methanol extract of *datura innoxia* petals on MCF-7 and HEK-293 cell lines. *J Biomed*, 1(2), e6623.
- Cheung, C.C., Zheng, G.J. ve Li, A.M. (2001). Relationship between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and antioxidative responses of marine mussels, *Perna viridis* *Aquat Toxicol.*; 52:189– 203.
- Choy, W.N. (2001). “Genetic toxicology and cancer risk assessment”, *Marcel Dekker*, New York, 29-187.
- Cipolletti, M., Fernandez, V.S., Montalesi, E., Marino, M. ve Fiocchetti, M. (2018). Beyond the antioxidant activity of dietary polyphenols in cancer: the modulation of estrogen receptors (ERs) signaling. *Int J Mol Sci* 19:2624.
- Collins, A.R. (2004). “The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations”, *Molecular Biotechnology*, 26(3), 249-261.
- Craft, B.D., Kerrihard, A.L., Amarowicz, R. ve Pegg, R.B. (2012). Phenolbased antioxidants and the *in vitro* methods used for their assessment. *Compr Rev Food Sci F* 11:148–173.
- Custer, L. ve Sweder, K. (2008). The Role of Genetic Toxicology in Drug Discovery and Optimization. *Curr Drug Metab.*;9(9):978-985.

- Cyril, D.G., Landry, K.S. ve Francois, K.Y.K. (2016). Evaluation of Nephroprotective Activity of Aqueous and Hydroethanolic Extracts of *Trema guineensis* Leaves (*Ulmaceae*) against Gentamicin-Induced Nephrotoxicity in Rats. *International Journal of Biochemistry Research & Review*, 15:1–10.
- Çaylak, E. (2011). Hayvan vw bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi*; 9(1): 78-83.
- Çelik, A., Mazmanci, B., Çamlıca, Y., Çömelekoğlu, Ü. ve Aşkın, A. (2005). “Evaluation of cytogenetic effects of lambda- Cyhalothrinon wistar rat bone marrow by gavage administration”, *Environ Safe*, 61: 128–133.
- Deaton, C.M. ve Marlin, D.J. (2003). Exercise-Associated Oxidative stress. *Clin. Tech. Equine Pract.*; 2(3): 278-291.
- Demir, Y., Taslimi, P., Özaslan, M.S., Öztaşkın, N., Çetinkaya, Y., Gülçin, İ., Beydemir, S. ve Göksu, P. (2018). Antidiabetic potential: *In vitro* inhibition effects of bromophenol and diarylmethanones derivatives on metabolic enzymes. *Arch Pharm* 351(12):e1800263.
- Di Mascio, P., Martinez, G.R., Miyamoto, S., Ronsein, G.E., Medeiros, M.H.G. ve Cadet, J. (2019). Singlet molecular oxygen reactions with nucleic acids, lipids, and proteins. *Chem Rev* 119:2043–2086.
- Dinçer, Y. ve Kankaya, S. (2010). “DNA hasarının belirlenmesinde Comet assay”, *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, 30 (4): 1365-1373.
- Duarte, T.L. ve Lunec, J. (2005). When is an antioxidant not an antioxidant? A review of novel actions and reactions of vitamin C. *Free Radic Res.*;39(7):671–686.
- Duh, P.D. (1998). Antioxidant activity of burdock (*Arctium lappa* Linne): its scavenging effect on free radical and active oxygen. *J Am Oil Chem Soc* 75:455–465.
- Durmaz, A., Dikmen, N. ve Gündüz, C. (2010). “DNA hasar analizinde tek hücre jel elektroforezi”, *Dergi Park Akademik*, 19(4), 236-243.
- Eberhardt, M.V., Lee, C.Y. ve Liu, R.H. (2000). Antioxidant activity of fresh apples. *Nature* 405:903–904.
- Ekinci Akdemir, F.N., Gülçin, İ. ve Alwasel, S. (2016a). A Comparative study on the antioxidant effects of hesperidin and ellagic acid against skeletal muscle ischemia/reperfusion injury. *J Enzyme Inhib Med Chem* 31(S4):114–118.
- Ekinci Akdemir, F.N., Gülçin, İ., Karagöz, B., Soslu, R. (2016b). Quercetin protects rat skeletal muscle from ischemia reperfusion injury. *J Enzyme Inhib Med Chem* 31(S2):162–166.
- Elliot, J.G. (1999). Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Tech.*; 53(2): 46-48.

- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres Jr., V. and FeatherStone, R.M. (1961) A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7, 88-95.
- Elmastaş M., Çelik, S.M., Genç, N., Akşit, H., Erenler, R. ve Gülçin İ. (2018). Antioxidant activity of an Anatolian herbal tea- *Origanum minutiflorum*: isolation and characterization of its secondary metabolites. *Int J Food Prop* 21(1):374–384.
- Elsayed, E. A., Sharaf-Eldin, M. A., ve Wadaan, M. (2015). *In vitro* evaluation of cytotoxic activities of essential oil from *Moringa oleifera* seeds on HeLa, HepG2, MCF-7, CACO-2 and L929 cell lines. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 16(11), 4671-4675.
- Ertem, H. (1998). Boğazköy metinlerine göre Hititler Devri Anadolu'su'nun Florası, Türk Tarih Kurumu yayınları VII. Dizi-S65a.
- Ertürk, E. S. (2021). Sucuk Yüzey Mikrobiyal Florası Üzerine Üvez (*Sorbus domestica* L.) ve Kekik (*Thymus vulgaris* L.) Ekstraktlarının Etkisinin Belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Eruygur, N., Koçyiğit, U.M., Taslimi, P., Atas, M., Tekin, M. ve Gülçin, İ. (2019). Endemik *Achillea cucullata* (Asteraceae) etanol ekstraktının *in vitro* antioksidan, antimikrobiyal, antikolinesteraz, antidiyabetik aktivitelerinin taranması. *Güney Afrika Botanik Dergisi*, 120, 141-145.
- Fairbairn, D.W., Olive, P.L. ve O'Neill, K.L. (1995). "The comet assay: a comprehensive review", *Mutat Res*, 339: 37-59.
- Faydaoğlu, E., Sürücüoğlu, M.S. (2011). Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanımı ve ekonomik önemi. *Kastamonu Üniv. Journal of Forestry*. 11(1), 52-67.
- Fetouh, F.A. ve Azab, A.E. (2014). Ameliorating effects of curcumin and propolis against the reproductive toxicity of gentamicin in adult male Guinea pigs: Quantitative analysis and morphological study. *Amer J Life Sci.*;2(3):138–149.
- Fidan, A.F. (2005). "DNA hasar tespitinde tek hücre jel elektroforezi", *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8(1), 41-52.
- Forino, M., Tenore, G.C. ve Ciminiello, P. (2015). (1S,3R,4S,5R)5-O-cafeoylquinic acid: Isolation, stereo-structure characterization and biological activity. *Food Chem.* 178, 306-310.
- Frei, B. ve Higdon, J. (2003). Antioxidant activity of tea polyphenols *in vivo*: evidence from animal studies. *J Nutr.*;133:3275–3284.
- Freman, B.A. ve Crapo, J.D. (1982). Biology of disease, free radicals and tissue injury. *Laboratory Investigation.*; 47(5): 412.
- Galimberti, D., ve Scarpini, E. (2016). Old and new acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Exp. Opin. Invest. Drugs* 25, 1181–1187.

- Ganesan, K., Kumar, K.S. ve Rao, P.V.S. (2011) Comparative assessment of antioxidant activity in three edible species of green seaweed, *Enteromorpha* from Okha, Northwest coast of India. *Innov Food Sci Emerg* 12:73–78.
- Garbi, M. I., Osman, E. E., & Kabbashi, A. S. (2015). Anticancer activity of *Bauhinia rufescens* (Lam.) leaf extracts on MCF-7 Human Breast Cancer Cells. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 3(5), 103-106.
- Gao, K., Henning, S.M., Niu, Y., Youssefian, A.A., Seram, N.P., Xu, A. ve Heber, D. (2006). The citrus flavonoid naringenin stimulates DNA repair in prostate cancer cells. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 17: 89-95.
- Göçer, H., Akıncıoğlu, A., Öztaşkın, N., Göksu, S. ve Gülçin İ. (2013). Synthesis, antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of sulfonamide derivatives of dopamine related compounds. *Arch Pharm* 346(11):783–792
- Goupy, P., Dufour, C. ve Loonis, M. (2003). Quantitative kinetic analysis of hydrogen transfer reactions from dietary polyphenols to the DPPH radical. *J Agricult Food Chem.*;51:615–622.
- Gülçin, İ. (2006a). Antioxidant and antiradical activities of L-Carnitine. *Life Sci* 78:803–811.
- Gülçin, İ. (2008) Measurement of antioxidant ability of melatonin and serotonin by the DMPD and CUPRAC methods as trolox equivalent. *J Enzyme Inhib Med Chem* 23:871–876.
- Gülçin, İ., Berashvili, D. ve Gepdiremen, A. (2005). Antiradical and antioxidant activity of total anthocyanins from *Perilla pankinensis* decne. *J Ethnopharmacol* 101:287–293.
- Gülçin, İ., Beydemir, Ş., Alıcı, H.A., Elmastaş, M. ve Büyükokuroğlu, M.E. (2004a). *In vitro* antioxidant properties of morphine. *Pharmacol Res* 49:59–66.
- Gülçin, İ. ve Daştan, A. (2007). Synthesis of dimeric phenol derivatives and determination of *in vitro* antioxidant and radical scavenging activities. *J Enzyme Inhib Med Chem* 22:685–695.
- Gülçin, İ., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A. ve Elias, R. (2006b). Antioxidant activity of a triterpenoid glycoside isolated from the berries of *Hedera colchica*: 3-O-(β -D-glucopyranosyl)-hederagenin. *Phytother Res* 20:130–134.
- Gülçin, İ., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A. ve Elias, R. (2006c). Screening of antioxidant and antiradical activity of monodesmosides and crude extract from *Leontice smirnowii* Tuber. *Phytomedicine* 13:343–351.
- Gülçin, İ. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Arch. Toxicol.* 86, 345–391.

- Gülçin, İ., Tel, A.Z., Gören, A.C., Taslimi, P. ve Alwasel, S. (2019). Sage (*Salvia piliifera*): determination its polyphenol contents, anticholinergic, antidiabetic and antioxidant activities, J. Food Measure. 13 (3), 2062–2074.
- Gültekin, H. C. ve Alan, M. (2007). Türkiye'nin üvezleri, Floraplus Dergisi, 2007, Sayı:12, s 76-82, İstanbul.
- Gültekin, H. ve Divrik, A. (2005). Üvez (*Sorbus L.*) Taksonlarında (*S. torminalis L. Crantz*, *S. aucuparia L.*, *S. umbellata (Desf) Fritsch var. umbellata*, *S. domestica L.*) Fidan üretim çalışmaları hakkında bazı tespitler. Teknik Rapor (AGM) No:22, Orman ve Av Dergisi Sayı:3, Ankara.
- Hakkinen, S., Heinonen, M., Karenlampi, S., Mykkanen, H., Ruuskanen, J. ve Törrönen, R. (1999). Screening of selected flavonoid and phenolic acids in 19 berries. Food Research International V.32 S.345-353.
- Halliwell, B. ve Gutteridge, J.M.C. (1984). Role of Iron in Oxygen Radical reactions. Methods in Enzymology 1984; 105: 47-56.
- Halliwell, B. (1995). Antioxidant characterization; methodology and mechanism. Biochem Pharmacol 49:1341–1348.
- Halliwell, B. (1997). Antioxidants in human health and disease. Ann Rev Nut 16:33–50.
- Halliwell, B. ve Gutteridge J.M.C. (1989). Free radicals in biology and medicine, 2nd edn. Clarendon Press, Oxford.
- Halliwell, B. (2007). Biochemistry of oxidative stress. *Biochem Soc Trans.*; 35:1147–1150.
- Halliwell, B. (1997). Antioxidants and human disease: A general introduction. Nutrition Reviews, 55: 44-49.
- Halliwell, B., (2008), Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and *in vivo* studies? *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 476, 107–112.
- Hamad, H.O., Alma, M.H., Gülçin İ., Yılmaz, M.A. ve Karaoğul, E. (2017). Evaluation of phenolic contents and bioactivity of root and nutgall extracts from Iraqi *Quercus infectoria* Olivier. Rec Nat Prod 11(2):205–210.
- Hampel, H., Mesulam, M.M., Cuello, A.C., Farlow, M.R., Giacobini, E., Grossberg, G.T., Khachaturian, A.S., Vergallo, A., Cavedo, E., Snyder, P.J., ve Khachaturian, Z.S. (2018). The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. Brain 141, 1917–1933.
- Harborne, J.B. ve Williams, C.A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*;55:481–504.

- Hasbal G., (2013). *Sorbus torminalis* L. Crantz (akçaağaç yapraklı üvez)'in antioksidan aktivitesinin incelenmesi. Yüksek lisans tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Hatefi Kia, B., Kazemi Nouredini, S., ve Vaezi Kakhki, MR (2021). *Epilobium parviflorum* özleri, MCF-7 meme kanseri hücrelerini inhibe eder. *İran Toksikoloji Dergisi* , 15 (1), 65-72.
- Hayes, J., Flanagan, J. ve Jowsey, I. (2005). Glutathione transferases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*.;45:51–88.
- Hayes, J.D. ve Pickett, C.B. (1990). Glutathione-S-transferases and drug resistance. London: Taylor & Francis., p. 3–16.
- Hayes, J.D. ve Pulford, D.J. (1995). The glutathione-S-transferase supergene family: regulation of resistance. *Crit Rev Biochem Mol Biol*.,30:445–600.
- Hiner, A.N., Raven, E.L. ve Thorneley, R.N. (2002). Mechanisms of compound I formation in heme peroxidases. *J Inorg Biochem*.,91(1):27–34.
- Ho, Y.S., Xiong, Y. ve Ma, W. (2004). Mice lacking catalase develop normally but show differential sensitivity to oxidant tissue injury. *J Biol Chem*.;279:32804–32812.
- Homma, T., Kobayashi, S. ve Fujii, J. (2019). Induction of ferroptosis by singlet oxygen generated from naphthalene endoperoxide. *Biochem Biophys Res Commun* 518:519–525.
- Hou, Y.C., Janczuk, A. ve Wang, P.G. (1999). Current trends in the development of nitric oxide donors. *Curr Pharm Des* 5:417–441.
- Hrdousek, V. ve Straznicko, L., (2015). The history of the study and uses of *Sorbus domestica* in Europe. Service tree – tree for new Europe International Conference, p.12-17, Czech republic.
- Huyut, Z., Beydemir, Ş. ve Gülçin, İ. (2017). Antioxidant and antiradical properties of selected flavonoids and phenolic compounds. *Biochem Res Int* 2017:1–10.
- Imlay, J.A. (2003). Pathways of oxidative damage. *Annu Rev Microbiol*.; 57:395–418.
- Işık, M., Beydemir, S., Yılmaz, A., Naldan, M.E., Aslan, H.E. ve Gülçin, İ. (2017). Oxidative stress and mRNA expression of acetylcholinesterase in the leukocytes of ischemic patients. *Biomed Pharmacother* 87:561–567.
- Jesberger, J.A. ve Richardson, J.S. (1991). Oxygen Free Radicals and Brain Dysfunction. *Intern J Neuroscience*; 57: 1-17.
- John, R.L., Foster, S., Doğ, T.L. ve Kiefer, D. (2016). Şifalı Bitkiler Ansiklopedisi. İstanbul: Promat Basım.
- Kalın, P., Gülçin, İ. ve Gören, A.C. (2015). Antioxidant activity and polyphenol content of cranberries (*Vaccinium macrocarpon*). *Rec Nat Prod* 9(4):496–502.

- Karadeniz, T., (2004). Şifalı meyveler beslenme ve tedavi şekilleri. ISBN 975288867-4.
- Karakaya, S. (2004). Bioavailability of phenolic compounds. *Crit Rev Food Sci Nutr* 44:453–464.
- Karaman, S., Tütem, E., Başkan, K.S. ve Apak, R. (2009). Comparison of total antioxidant capacity and phenolic composition of some apple juices with combined HPLC-CUPRAC assay. *Food Chem* 120:1201–1209.
- Kavak, D. D., & Akdeniz, B. (2019). *Sorbus umbellata* (Desf.) Fritsch var. *umbellata* leaves: Optimization of extraction conditions and investigation antimicrobial, cytotoxic, and β -glucuronidase inhibitory potential. *Plant Foods for Human Nutrition*, 74, 364-369.
- Kendir, G. ve Güvenç, A. (2010). Etnobotanik ve Türkiye’de yapılmış etnobotanik çalışmalara genel bir bakış. *Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fak. Der.*, 8(2), 129-134.
- Kirsch-Volders, M., Vanhauwaert, A., Eichenlaub-Ritter, U. ve Decordier, I. (2003). Indirect mechanisms of genotoxicity. *Toxicology Letters*, 140-141: 63-74.
- Koçyiğit, M. (2005). Yalova ilinde etnobotanik bir araştırma. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Koçyiğit, U.M., Budak, Y., Gürdere, M.B., Ertürk, F., Yencilek, B., Taslimi, P., Gülçin, İ. ve Ceylan, M. (2018). Synthesis of chalcone-imide derivatives and investigation of their anticancer and antimicrobial activities, carbonic anhydrase and acetylcholinesterase enzymes inhibition profiles. *Arch. Physiol. Biochem.* 124, 61–68.
- Köksal, E., Tohma, H., Kılıç, O., Alan, Y., Aras, A., Gülçin, İ. ve Bursal, E. (2017b) Assessment of antimicrobial and antioxidant activities of *Nepeta trachonitica*-analysis of its phenolic compounds using HPLC-MS/MS. *Sci Pharm* 15:85.
- Krawczyk, H. (2019). The stilbene derivatives, nucleosides, and nucleosides modified by stilbene derivatives. *Bioorg Chem* 90:103073.
- Kumaravel, T.S., Vilhar, B., Faux, S.P. ve Awadhesh, N.J. (2007). “Comet assay measurements: A perspective”, *Cell Biology and Toxicology*, 25, 53-64.
- Lakshmi, M.S., Reddy, U.K. ve Rani, S.R.K.S. (2012). A Review on Medicinal Plants for Nephroprotective Activity. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 5:8–14.
- Lewczuk, P., Lukaszewicz-Zajac, M., Mroczko, P. ve Kornhuber, J. (2020). Clinical significance of fluid biomarkers in Alzheimer’s Disease. *Pharmacological Reports*, 72(3), 528–542.

- Li, D., Li, B., Ma, Y., Sun, X., Lin, Y. ve Meng, X. (2017). Polyphenols, anthocyanins, and flavonoids contents and the antioxidant capacity of various cultivars of highbush and half-high blueberries. *Journal of Food Composition and Analysis*, 62, 84–93.
- Lobo, V., Phatak, A. ve Chandra, N. (2010) Free radicals and functional foods: impact on human health. *Pharmacogn Rev* 4:118–126.
- Lolak, N., Akocak, S., Türkeş, C., Taslimi, P., Işık, M., Beydemir, Ş. ve Durgun, M. (2020). 1, 3, 5-triazin yapısal motifleri içeren yeni benzensülfonamidlerin asetilkolinesteraz, a-glikosidaz ve karbonik anhidraz inhibitörleri olarak sentezi, karakterizasyonu, inhibisyon etkileri ve moleküler yerleştirme çalışmaları. *Biyoorganik kimya*, 100, 103897.
- MacDonald-Wicks, L.K., Wood, L.G. ve Garg, M.L. (2006). Methodology for the determination of biological antioxidant capacity *in vitro*: a review. *J Sci Food Agric* 86:2046–2056
- Marchand, L.L. (2002). Cancer preventive effects of flavonoids-A. Review, *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 56, 296-301.
- Mateuca, R., Lombaert, N., Aka, P.V. ve Decordier, I. (2006). Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. *Biochimie*, 88(11), 1515-1531.
- Matito, C., Mastoraku, F., ve Centelles, Z.J. (2003). Antiproliferative effect of antioxidant polyphenols from grape in murine Hep1c1c7. *Eur J Nutr.*;42:43–49.
- McCord, J.M. ve Fridovich, I. (1969). Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J Biol Chem.*;244:6049–6055.
- McKelvey-Martin, V.J. Green, M.H. Schmezer, P. Pool-Zobel, B.L. De Meo, M.P. ve Collins, A. (1993). “The single cell gel electrophoresis assay (comet assay): A european review”, *Mutat Res*, 288: 47-63.
- McPhail, D.B., Hartley, R.C. ve Gardner, P.T. (2003). Kinetic and stoichiometric assessment of antioxidant of flavonoids by ESR spectroscopy. *J Agricul Food Chem.*;51:1684–1690.
- Moharram, H.A. ve Youssef, M.M. (2014). Methods for Determining the Antioxidant Activity: A Review. *Alex. J. Food Sci. Technol.*, 11, 31–42.
- Mortelmans, K. ve Rupa, S.D. (2004). “Current issues in genetic toxicology testing for microbiologists”, *Adv Appl Microbiol*, 56: 379-401.
- Mosialou, E., Ekström, G. ve Adang, A.E. (1993). Evidence that rat liver microsomal glutathione transferase is responsible for glutathione-dependent protection against lipid peroxidation. *Biochem Pharmacol.*;45:1645–1651.
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*, 65:55–63.

- Mrkonjić, Z., Nadpal, J., Beara, I., Sibul, F., Knezević, P., Lesjak, M. ve Mimica-Dukić, N. (2019). Fresh fruits and jam of *Sorbus domestica* L. and *Sorbus intermedia* (Ehrh.) Pers.: phenolic profiles, antioxidant action and antimicrobial activity. Novi Sad University, Faculty of Science, Department of Chemistry, Biochemistry and Environment. *Botanica Serbica* 43 (2), 187-196.
- Murray, R.K., Mayes, P.A., Granner, D.K., Radwell, V.W. (1993). (Çeviri: G. Menten, B. Ersöz). Harper'in Biyokimyası. İstanbul: Barış Kitabevi.
- Nemeth, K., Plumb, G.W., Berrin, J.G., Juge, N., Jacob, R., Naim, H.Y., Williamson, G., Swallow, D.M. ve Kroon, P.A. (2003). Deglycosylation by small intestinal epithelial cell beta-glucosidases is a critical step in the absorption and metabolism of dietary flavonoid glycosides in humans. *Eur J Nutr* 42:29-42.
- Nikseresht, M., Kamali, A. M., Rahimi, H. R., Delaviz, H., Toori, M. A., Kashani, I. R., & Mahmoudi, R. (2017). The hydroalcoholic extract of *Matricaria chamomilla* suppresses migration and invasion of human breast cancer MDA-MB-468 and MCF-7 cell lines. *Pharmacognosy Research*, 9(1), 87.
- Okada, K., Wangpoengtrakul, C. ve Tanaka, T. (2001). Curcumin and especially tetrahydrocurcumin ameliorate stress-induced renal injury in mice. *J Nutr.*; 131:2090-2095.
- Olszewska, M. (2008). Separation of quercetin, sexangularetin, kaempferol and isorhamnetin for simultaneous HPLC determination of flavonoid aglycones in inflorescences, leaves and fruits of three *Sorbus* species. *J Pharm Biomed. Anal.* 48:629-635
- Olszewska, M.A. (2011). Variation in the phenolic content and *in vitro* antioxidant activity of *Sorbus aucuparia* leaf extracts during vegetation. *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*, 68, 937-944.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Japan Journal of Nutrition*; 44: 307-315.
- Östling, O. ve Johanson, K.J. (1984). "Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells", *Biochem Biophys Res Commun*, 123 (11): 291-298.
- Özhatay, N. ve Koyuncu, M. (1998). Türkiye'de doğal bitkilerin ticareti. XII. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı 20-22 Mayıs 1998. Özet Kitabı, 5.
- Öztaşkın, N., Çetinkaya, Y., Taslimi, P., Göksu, S. ve Gülçin, İ. (2015). Antioxidant and acetylcholinesterase inhibition properties of novel bromophenol derivatives. *Bioorg Chem* 60:49-57.
- Öztaşkın, N., Taslimi, P., Maraş, A., Gülçin, İ. ve Göksu, S. (2017). Novel antioxidant bromophenols with acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase and carbonic anhydrase inhibitory actions. *Bioorganic chemistry*, 74, 104-114.

- Pacher, P., Beckman, J.S. ve Liaudet, L. (2007). Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev* 87:315–424.
- Packer, L. (1996). Nitric oxide. Part A: sources and detection of NO; NO synthase. *Method Enzymol* 268:331–340.
- Pietta, P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *J Natural Products*.;63:1035–1042.
- Polat Köse, L., Gülçin, İ., Gören, A.C., Namiesnik, J., Martinez-Ayala, A.L., Gorinstein, S. (2015). LC-MS/MS analysis, antioxidant and anticholinergic properties of galanga (*Alpinia officinarum* Hance) rhizomes. *Ind Crops Prod* 74:712–721.
- Poongodi, T., Srikanth, R. ve Lalitha, G. (2015). Phytochemistry, GC-MS analysis and *in vitro* cytotoxic activity of *Prunus angustifolia* leaves against MCF-7 breast cancer cell line. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4, 1489-1499.
- Pradhan, S., Pradhan, D., ve Behera, B. (2018). Antiproliferation activity of *Ocimum gratissimum* aqueous extract on human breast cancer MCF-7 cell line. *World J Pharm Res*, 7, 421-428.
- Prior, R.L., Wu, X. ve Schaich, K. (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53, 4290–4302.
- Prohaska, J.R. (1991). Changes in Cu, Zn-superoxide dismutase, cytochrome C oxidase, glutathione peroxidase and glutathione transferase activities in copper-deficient mice and rats. *J Nutr.*;121:355–363.
- Rezai, M., Bayrak, Ç., Taslimi, P., Gülçin, İ. ve Menzek, A. (2018). The first synthesis, antioxidant and anticholinergic activities of 1-(4,5-dihydroxybenzyl) pyrrolidin-2-one derivative bromophenols including natural products. *Turk J Chem* 42(3):808–825.
- Rimm, E.B., Katan, M.B., Ascherio, A., Stampfer, M.J. ve Willett, W. (1996). Relation between intake of flavonoids and risk for coronary heart disease in male health professionals. *Ann Intern Med* 125:384–389.
- Rosangkima, G. ve Jagetia, G. C. (2015). *In vitro* anticancer screening of medicinal plants of Mizoram State, India, against Dalton's lymphoma, MCF-7 and HELA cells. *Int J Recent Sci Res*, 6(8), 5648-5653.
- Sánchez-Moreno, C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International*, 8(3), 121–137.
- Schönfelder, P. ve Schönfelder, I., (1982). *Dergi Kosmos-Heilplanzaführer*: 50, Stuttgart.
- Sen, C., Khanna, S. ve Tocotrienols, R.S. (2006). Vitamin E beyond tocopherols. *Life Sci.*;78(18):2088–2098.

- Sen, C.K. ve Packer, L. (1996). Antioxidant and redox regulation of gene transcription. *FEBS Lett* 10:709–720.
- Shahidi, F. ve Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: antioxidant activity and health effects a review. *J Funct Foods* 18:820–897.
- Shahidi, F., Janitha, P.K. ve Wanasundara, P.D. (1992). Phenolic antioxidants. *Crit Rev Food Sci Nutr* 32:67–103.
- Shahidi, F. ve Zhong, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *J. Funct. Foods*, 18, 757–781.
- Shanley, P. ve Luz, L. (2003). The impacts of forest degradation on Medicinal plant use and implications for health. *BioScience*. 53(6):573-584.
- Sharma, R., Yang, Y. ve Sharma, A. (2004). Antioxidant role of glutathione S-transferases: protection against oxidant toxicity and regulation of stress-mediated apoptosis. *Antioxid Redox Signal.*;6(2):289–300.
- Shivakumar, A. ve Kumar, M.S.Y. (2018). Critical review on the analytical mechanistic steps in the evaluation of antioxidant activity. *Crit Rev Anal Chem* 48:214–236.
- Sies, H. (1993). Strategies of antioxidant defence. *Eur J Biochem* 215:213–219.
- Sindhi, V., Gupta, V., Sharma, K., Bhatnagar, S., Kumari, R. ve Dhaka, N. (2013). Potential applications of antioxidants—a review. *J Pharm Res* 7:828–835.
- Singh, N.P. McCoy, M.T. Tice, R.R. Schneider, E.L. (1988). “A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells”, *Exp Cell Res*, 175: 184-191.
- Srihari, R., Surendranath, A. R., Kasturacharya, N., Shivappa, K.C., Sivasitambaram, N.D., ve Dhananjaya, B. (2015). Evaluating the cytotoxic potential of methonolic leaf extract of Aloe vera on MCF-7 breast cancer cell lines. *International Journal of Pharmacy Pharmaceutical Sciences*, 7, 81-83.
- Somogyi, A., Rosta, K., Pusztai, P., Tulassay, Z. ve Nagy, G. (2007). Antioxidant measurements. *Physiol Meas* 28:41–55.
- Sönmez Ecevit, P. ve Kırbağ, S. (2019). Türkiye'de Doğal Olarak Yetişen Üvez (*Sorbus domestica* L.) Meyvesinin Farklı Ekstraktlarının Antibakteriyal Ve Antifungal Etkilerinin İncelenmesi, *Bilge Kağan ISC-2019*, 177.
- Stahl, W. ve Sies, H. (1993). Physical quenching of singlet-oxygen and *cis*trans isomerization of carotenoids. *Ann NY Acad Sci* 691:10–19

- Stepanenko, A.A. ve Dmitrenko, V.V. (2015). Pitfalls of the MTT assay: Direct and off-target effects of inhibitors can result in over/ underestimation of cell viability. *Gene*, 574(2):193-203.
- Sundararajan, R., Bharampuram, A. ve Koduru, R.A. (2014). Review on Phyto- Constituents for Nephroprotective Activity. *Pharm.*;5:160–182.
- Sundram, T.C., Zakaria, M.H.B. ve Nasir, M.H.B.M. (2019). Curcuma Mangga ve Bosenbergia Rotunda Etanolik özlerinin Mcf-7 kanser hücre hatları üzerindeki antioksidan ve sitotoksik etkileri. *Bilim* , 3 (2), 10-14.
- Şekeroğlu, Z., Şekeroğlu, A. ve Kolören, V. Z. (2011). “The *in vitro* alkaline comet assay in genetic toxicology”, *JABS*, 5 (13): 49-54.
- Şen M. (2011), Üvez meyvelerinin antioksidan aktivitesi, Yüksek lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Şener, B. (2010). Bitkisel İlaçlar ve Bitkisel İlaç Mevzuatı, Bitkilerle Tedavi Sempozyumu, 5-6 Haziran 2010, Zeytinburnu, İstanbul, 153-171.
- Tan, C.C., Yu, J.T., Wang, H.F., Tan, M.S., Meng, X.F., Wang, C., Jiang, T., Zhu, X.C. ve Tan, L. (2014). Efficacy and safety of donepezil, galantamine, rivastigmine, and memantine for the treatment of Alzheimer’s disease: a systematic review and meta-analysis. *J. Alzheimers Dis.* 41, 615–631.
- Tanizawa, H., Ohkawa, Y., Takino, Y., Ueno, A., Kageyama, T. ve Hara, S. (1992) Studies on natural antioxidants in citrus species. I. Determination of antioxidant activities of citrus fruits. *Chem Pharm Bull* 40:1940–1942
- Tappel, M.E. (1982). Chaudiere J, Tappel AL. Glutathione peroxidase activities of animal tissues. *Comp Biochem Physiol.*;73B:945–949.
- Tarakçıoğlu, G.B. ve Koç, D. (2005). Organik Tarım Ürünlerinde Dış Pazar Araştırması.251s.
- Taslimi, P., Aslan, H.E., Demir, Y., Öztaşkın, N., Maraş, A., Gülçin, İ., Beydemir, Ş. ve Göksu, Ş. (2018a). Diarilmethanon, bromophenols and diarilmetan compounds: discovery of potent aldose reductase, α -amylase and α -glycosidase inhibitors as new therapeutic approach in diabetes and functional hyperglycemia. *Int J Biol Macromol* 119:857–863.
- Taslimi, P., Gülçin, İ., Öztaşkın, N., Çetinkaya, Y., Göksu, S., Alwasel, S.H. ve Supuran, C.T. (2016). The effects of some bromophenol derivatives on human carbonic anhydrase isoenzymes. *J Enzyme Inhib Med Chem* 31(4):603–607.
- Taslimi, P., ve Gülçin, İ. (2018). Zeytintolün antioksidan ve antikolinerjik özellikleri. *Gıda biyokimyası dergisi*, 42 (3), e12516.

- Termentzi, A., Kefalas, P. ve Kokkalou, E. (2006). Antioxidant activities of various extracts and fractions of *Sorbus domestica* fruits at different maturity stages, *Food Chemistry*, 98 (4), 599-608.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L. ve Byrne, D.H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 669-675.
- Tohma, H., Gülçin, İ., Bursal, E., Gören, A.C., Alwasel, S.H. ve Köksal, E. (2017). Antioxidant activity and phenolic compounds of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) determined by HPLC-MS/MS. *J Food Meas* 11(2):556-566.
- Tohma, H., Köksal, E., Kılıç, Ö., Alan, Y., Yılmaz, M.A., Gülçin, İ., Bursal, E. ve Alwasel, S.H. (2016). RP-HPLC/MS/MS analysis of the phenolic compounds, antioxidant and antimicrobial activities of *Salvia* L. species. *Antioxidants* 5:38.
- Tomiyama, S., Sakai, S., Nishiyama, T. ve Yamada, F. (1993). Factors influencing the antioxidant activities of phenols by an *ab initio* study. *Bull Chem Soc Jpn* 66:299-304.
- Topal, F., Topal, M., Göçer, H., Kalın, P., Koçyiğit, U.M., Gülçin, İ. ve Alwasel S.H. (2016a). Antioxidant activity of taxifolin: An activitystructure relationship. *J Enzyme Inhib Med Chem* 31(4):674-683.
- Tutem, E., Apak, R. ve Baykut, F. (1991). Spectrophotometric determination of trace amounts of copper(I) and reducing agents with neocuproine in the presence of copper(II). *Analyst* 116:89-94.
- Türkan, F., Çetin, A., Taslimi, P., Karaman, M. ve Gülçin, İ. (2019). Güçlü karbonik anhidraz ve asetilkolinesteraz inhibitörleri olarak yeni pirazol türevlerinin sentezi, biyolojik değerlendirmesi ve moleküler kenetlenmesi. *Biyoorganik kimya*, 86, 420-427.
- Ulus, N.N. ve Tandoğan, B. (2007). Purification and kinetic properties of glutathione reductase from bovine liver. *Mol Cell Biochem.*;303(1-2):45-51.
- Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C.J. ve Telser, J. (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem* 266:37-56.
- Valko, M., Leibfritz, D. ve Moncol, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.*;39(1):44-84.
- Vaya, J., Mahmood, S. ve Goldblum, A. (2003). Inhibition of LDL oxidation by flavonoids in relation to their structure and calculated enthalpy. *Phytochemistry.*;62:89-99.
- Vural, N. (2005). "Toksikoloji", *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları*, Ankara, 115-129.

- Yang, H., Shi, M.J. ve Van Remmen, H. (2003). Reduction of pressor response to vasoconstrictor agents by overexpression of catalase in mice. *Am J Hypertens.* 2003;16(1):1–5.
- Yılmaz, C. (2010). Tokat yöresinde yetişen bazı üvez (*Sorbus domestica L.*) tiplerinin tohumlarının çimlenmesi üzerine farklı uygulamaların etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- Young, R.R. (2002). Genetic toxicology. *Toxicology*, 173, 103-21..
- Zeiger, E. (1998). Identification of rodent carcinogens and noncarcinogens using genetic toxicity tests: Premises, promises, and performance. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 28: 85-95.
- Zeiger, E. (2004). History and rationale of genetic toxicity testing: An impersonal, and sometimes personal, view. *Environ Mol Mutagen*;44(5):363-371.



ÖZGEÇMİŞ

