



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**AKYILDIZ (*Ornithogalum Sigmoidum* Freyn Et Sint.)'IN  
ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİ**

**Mediha Dilek HEVES  
Kimya Anabilim Dalı  
Biyokimya Programı**

**Danışman  
Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ**

**Şubat, 2008**

**İSTANBUL**



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**AKYILDIZ (*Ornithogalum Sigmoidum* Freyn Et Sint.)'IN  
ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİ**

**Mediha Dilek HEVES  
Kimya Anabilim Dalı  
Biyokimya Programı**

**Danışman  
Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ**

**Şubat, 2008**

**İSTANBUL**

Bu çalışma 29/02/2008 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı Biyokimya programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ (Danışman)  
İstanbul Üniversitesi  
Mühendislik Fakültesi  
Kimya Bölümü  
Biyokimya Anabilim Dalı

Prof. Dr. Ayşe YUSUFOĞLU  
İstanbul Üniversitesi  
Mühendislik Fakültesi  
Kimya Bölümü  
Organik Kimya Anabilim Dalı

Prof. Dr. Nuriye AKEV  
İstanbul Üniversitesi  
Eczacılık Fakültesi  
Biyokimya Anabilim Dalı

Prof. Dr. Ayşen YARAT  
Marmara Üniversitesi  
Diş Hekimliği Fakültesi  
Temel Bilimler Bölümü  
Biyokimya Anabilim Dalı

Prof. Dr. İnci ARISAN-ATAÇ  
Yıldız Teknik Üniversitesi  
Fen-Edebiyat Fakültesi  
Kimya Bölümü  
Biyokimya Anabilim Dalı

Bu alışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliği'nin T-982/06102006 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

## **ÖNSÖZ**

Yüksek Lisans öğrenimim sırasında ve bu tezin konusunun belirlenmesinde, çalışmalarımın yürütülmesi ve değerlendirilmesinde yardım ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ'a en içten dileklerimle teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösteren hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Özlem SAÇAN'a, Arş. Gör. Sevim TUNALI'ya, Arş. Gör. M. Mutluhan DÖĞER'e, Arş. Gör. İ. Burcu TÜRKYILMAZ'a Arş. Gör. Bertan Boran BAYRAK'a ve diğer çalışma arkadaşlarıma, laboratuvar çalışmalarım esnasında bana gösterdikleri ilgi, anlayış ve desteklerinden dolayı çok teşekkür ederim.

Öğrenim hayatım boyunca bana her zaman sonsuz destek olan aileme ve yüksek lisans öğrenimim süresince desteğini esirgemeyen eşime çok teşekkür ederim.

Akyıldız bitkisinin teşhisini yapan Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Anabilim Dalı emekli Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Kerim ALPINAR'a da teşekkür ederim.

T-982/06102006 sayılı proje kapsamında, çalışmama maddi destek sağlayan İstanbul Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliği'ne de teşekkürlerimi sunarım.

**Şubat, 2008**

**Mediha Dilek HEVES**

## İÇİNDEKİLER

|                                                       |      |
|-------------------------------------------------------|------|
| ÖNSÖZ .....                                           | i    |
| İÇİNDEKİLER .....                                     | ii   |
| ŞEKİL LİSTESİ .....                                   | v    |
| TABLO LİSTESİ .....                                   | vi   |
| DENKLEM LİSTESİ .....                                 | vii  |
| SEMBOL LİSTESİ .....                                  | viii |
| ÖZET .....                                            | ix   |
| SUMMARY .....                                         | x    |
| 1. GİRİŞ .....                                        | 1    |
| 2. GENEL KISIMLAR .....                               | 3    |
| 2.1. SERBEST RADİKALLER.....                          | 3    |
| 2.1.1. Serbest Radikallerin Oluşum Mekanizmaları..... | 3    |
| 2.1.1.1. Elektron Transferi.....                      | 3    |
| 2.1.1.2. Homolitik Parçalanma.....                    | 4    |
| 2.1.1.3. Heterolitik Parçalanma .....                 | 4    |
| 2.1.2. Serbest Radikal Kaynakları .....               | 4    |
| 2.1.2.1. Endojen Kaynaklar .....                      | 5    |
| 2.1.2.2. Eksojen Kaynaklar .....                      | 8    |
| 2.1.3. Serbest Radikal Türleri .....                  | 9    |
| 2.1.3.1. Süperoksid Radikali .....                    | 10   |
| 2.1.3.2. Hidroksi Radikali .....                      | 12   |
| 2.1.3.3. Hidrojen Peroksid.....                       | 12   |
| 2.1.3.4. Singlet Oksijen.....                         | 13   |
| 2.1.3.5. Nitrik oksid.....                            | 13   |
| 2.1.3.6. Ozon.....                                    | 14   |
| 2.1.3.7. Tiyil Radikali.....                          | 15   |
| 2.1.3.8. Karbon Merkezli Radikaller .....             | 15   |
| 2.1.4. Serbest Radikallerin Etkileri .....            | 15   |
| 2.1.4.1. Lipid Karboksilasyonu .....                  | 16   |

|                                                       |           |
|-------------------------------------------------------|-----------|
| 2.1.4.2. Protein Oksidasyonu.....                     | 17        |
| 2.1.4.3. Lipid Peroksidasyonu.....                    | 17        |
| 2.1.4.4. Karbohidratlara Etkisi.....                  | 19        |
| 2.1.4.5. Nükleik Asidlere ve DNA'ya Etkisi .....      | 19        |
| <b>2.2. ANTİOKSİDANLAR.....</b>                       | <b>20</b> |
| 2.2.1. Antioksidan Etki Tipleri .....                 | 22        |
| 2.2.1.1. Toplayıcı etki.....                          | 22        |
| 2.2.1.2 Bastırıcı Etki .....                          | 22        |
| 2.2.1.3 Zincir Kırıcı Etki.....                       | 22        |
| 2.2.1.4. Onarıcı Etki.....                            | 22        |
| 2.2.2. Antioksidanların Sınıflandırılması.....        | 22        |
| 2.2.2.1. Yapılarına Göre Antioksidanlar.....          | 22        |
| 2.2.2.2. Etki Menizmasına Göre Antioksidanlar .....   | 23        |
| 2.2.2.3. Doğal Antioksidanlar .....                   | 24        |
| 2.2.2.4. Sentetik Antioksidanlar .....                | 28        |
| 2.2.2.5. Kaynaklarına Göre Antioksidanlar.....        | 30        |
| <b>2.3. AKYILDIZ .....</b>                            | <b>32</b> |
| <b>3. MALZEME VE YÖNTEM .....</b>                     | <b>35</b> |
| <b>3.1. DENEYDE KULLANILAN ALETLER.....</b>           | <b>35</b> |
| <b>3.2. DENEYDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER.....</b> | <b>35</b> |
| <b>3.3. BİTKİ MATERYALİ .....</b>                     | <b>37</b> |
| 3.3.1. Sulu Ekstrenin Hazırlanması.....               | 37        |
| 3.3.2. Etil Alkollü Ekstrenin Hazırlanması .....      | 37        |
| 3.3.3. Asetonlu Ekstrenin Hazırlanması.....           | 37        |
| <b>3.4 ANTİOKSİDAN AKTİVİTE DENEYLERİ .....</b>       | <b>38</b> |
| 3.4.1. Total Fenolik Bileşik Miktarı Tayini .....     | 38        |
| 3.4.2. Flavonoid Miktarı Tayini .....                 | 38        |
| 3.4.3. İndirgeme Gücü.....                            | 39        |
| 3.4.4. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi (DPPH)..... | 39        |
| 3.4.5. Hidroksi Radikali Giderme Aktivitesi .....     | 40        |
| 3.4.6. ABTS Radikal Giderme Aktivitesi .....          | 40        |
| 3.4.7. Metal Kelatlama Aktivitesi .....               | 41        |
| <b>4. BULGULAR .....</b>                              | <b>42</b> |
| <b>4.1. TOTAL FENOLİK BİLEŞİK MİKTARI TAYİNİ.....</b> | <b>43</b> |

|                                                      |    |
|------------------------------------------------------|----|
| 4.2. TOTAL FLAVONOİD MİKTARI TAYİNİ .....            | 43 |
| 4.3. İNDİRGEME GÜCÜ .....                            | 44 |
| 4.4. SERBEST RADİKAL GİDERME AKTİVİTESİ (DPPH) ..... | 45 |
| 4.5. HİDROKSİ RADİKALİ GİDERME AKTİVİTESİ .....      | 49 |
| 4.6. ABTS RADİKAL GİDERME AKTİVİTESİ .....           | 49 |
| 4.7. METAL KELATLAMA AKTİVİTESİ .....                | 50 |
| 5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....                           | 53 |
| KAYNAKLAR .....                                      | 56 |
| ÖZGEÇMİŞ .....                                       | 67 |

## ŞEKİL LİSTESİ

|            |                                                                                                                                                                                                                |    |
|------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 2.1  | : Singlet oksijenin delta ve sigma formları .....                                                                                                                                                              | 13 |
| Şekil 2.2  | : Oksidatif stres.....                                                                                                                                                                                         | 16 |
| Şekil 2.3  | : Lipid peroksidasyonu.....                                                                                                                                                                                    | 18 |
| Şekil 2.4  | : Bazı antioksidanların hücreye etkileri .....                                                                                                                                                                 | 21 |
| Şekil 2.5  | : Flavonoidlerin genel kimyasal yapısı .....                                                                                                                                                                   | 24 |
| Şekil 2.6  | : Gallik asid, Vanilik asid, Kafeik asid moleküllerinin kimyasal yapıları .....                                                                                                                                | 25 |
| Şekil 2.7  | : $\beta$ -Karoten molekülünün kimyasal yapısı .....                                                                                                                                                           | 26 |
| Şekil 2.8  | : Tokoferollerin kimyasal yapıları.....                                                                                                                                                                        | 27 |
| Şekil 2.9  | : Askorbik asidin kimyasal yapısı .....                                                                                                                                                                        | 28 |
| Şekil 2.10 | : BHA molekülünün kimyasal yapısı.....                                                                                                                                                                         | 28 |
| Şekil 2.11 | : BHT molekülünün kimyasal yapısı .....                                                                                                                                                                        | 29 |
| Şekil 2.12 | : Propil Gallat molekülünün kimyasal yapısı.....                                                                                                                                                               | 29 |
| Şekil 2.13 | : TBHQ molekülünün kimyasal yapısı .....                                                                                                                                                                       | 30 |
| Şekil 2.14 | : NDGA molekülünün kimyasal yapısı .....                                                                                                                                                                       | 30 |
| Şekil 2.15 | : Akyıldızın kök ve çiçek görünüşleri .....                                                                                                                                                                    | 33 |
| Şekil 2.16 | : Akyıldızın çeşitli görünüşleri.....                                                                                                                                                                          | 34 |
| Şekil 4.1  | : Akyıldızın sulu, etanolü ve asetonlu ekstraktları için UV-görünür spektrumları .....                                                                                                                         | 42 |
| Şekil 4.2  | : Akyıldızın sulu, etil alkollü, asetonlu ekstraktlarının ve E vitamininin indirgeme güçleri.....                                                                                                              | 44 |
| Şekil 4.3  | : Akyıldızın sulu, etil alkollü, asetonlu ekstraktlarının 500 $\mu$ g/mL lık konsantrasyonlarının ve BHT, Trolox standart maddelerinin zamana göre elde edilen % DPPH radikali giderme aktiviteleri.....       | 46 |
| Şekil 4.4  | : Akyıldızın sulu, etil alkollü, asetonlu ekstraktlarının 500 $\mu$ g/mL lık konsantrasyonlarının ve BHT, Trolox standart maddelerinin madde türüne göre elde edilen % DPPH radikali giderme aktiviteleri..... | 46 |
| Şekil 4.5  | : Akyıldızın sulu, etil alkollü, asetonlu ekstraktlarının 400 $\mu$ g/mL lık konsantrasyonlarının ve BHT, Trolox standart maddelerinin zamana göre elde edilen % DPPH radikali giderme aktiviteleri.....       | 47 |
| Şekil 4.6  | : Akyıldızın sulu, etil alkollü, asetonlu ekstraktlarının 400 $\mu$ g/mL lık konsantrasyonlarının ve BHT, Trolox standart maddelerinin madde türüne göre elde edilen % DPPH radikali giderme aktiviteleri..... | 47 |
| Şekil 4.7  | : Akyıldızın sulu, etil alkollü, asetonlu ekstraktlarının 300 $\mu$ g/mL lık konsantrasyonlarının ve BHT, Trolox standart maddelerinin zamana göre elde edilen % DPPH radikali giderme aktiviteleri.....       | 48 |
| Şekil 4.8  | : Akyıldızın sulu, etil alkollü, asetonlu ekstraktlarının 300 $\mu$ g/mL lık konsantrasyonlarının ve BHT, Trolox standart maddelerinin madde türüne göre elde edilen % DPPH giderme aktiviteleri.....          | 48 |
| Şekil 4.9  | : Akyıldızın sulu, etanolü ve asetonlu ekstraktlarının % hidroksi radikali giderme aktiviteleri.....                                                                                                           | 49 |
| Şekil 4.10 | : 0,01 mM EDTA ve 0,025 mM sitrik asidin % metal kelatlama aktivitesi.....                                                                                                                                     | 50 |
| Şekil 4.11 | : Akyıldızın sulu ekstraktının farklı konsantrasyonlardaki % metal kelatlama aktivitesi.....                                                                                                                   | 51 |
| Şekil 4.12 | : Akyıldızın etil alkollü ekstraktının farklı konsantrasyonlardaki % metal kelatlama aktivitesi.....                                                                                                           | 51 |
| Şekil 4.13 | : Akyıldızın asetonlu ekstraktının farklı konsantrasyonlardaki % metal kelatlama aktivitesi.....                                                                                                               | 52 |

## TABLO LİSTESİ

|                                                                                                                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 2.1 :</b> Serbest radikal kaynakları .....                                                                                                                 | 5  |
| <b>Tablo 2.2 :</b> Serbest radikal türleri ile radikal özellik gösteren bazı metabolitler .....                                                                     | 9  |
| <b>Tablo 2.3 :</b> Serbest radikallerin neden olduğu bazı hastalıklar .....                                                                                         | 19 |
| <b>Tablo 2.4 :</b> Endojen ve eksojen kaynaklı antioksidanlar .....                                                                                                 | 31 |
| <b>Tablo 4.1 :</b> Akyıldızın sulu, etil alkollü, asetonlu ekstrelerinin fenolik bileşik miktarlarının pirokateşol ekivalenti olarak değerlendirilmesi (mg/g) ..... | 43 |
| <b>Tablo 4.2 :</b> Akyıldızın sulu, etil alkollü, asetonlu ekstrelerinin flavonoid miktarlarının kateşin ekivalenti olarak değerlendirilmesi (mg/g) .....           | 44 |
| <b>Tablo 4.3 :</b> Akyıldızın sulu, etil alkollü, asetonlu ekstrelerinin ABTS miktarlarının troloks cinsinden değerlendirilmesi (µg/g) .....                        | 50 |

## DENKLEM LİSTESİ

|                                                                                                         |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Denklem 2.1</b> : Elektron transferi .....                                                           | 4  |
| <b>Denklem 2.2</b> : Homolitik parçalanma.....                                                          | 4  |
| <b>Denklem 2.3</b> : Heterolitik parçalanma.....                                                        | 4  |
| <b>Denklem 2.4</b> : Süperoksid radikalının oluşumu.....                                                | 10 |
| <b>Denklem 2.5</b> : Süperoksid radikalinden peroksinitrit radikalının oluşumu .....                    | 10 |
| <b>Denklem 2.6</b> : Süperoksid radikalinden hidroksi radikalının oluşumu.....                          | 10 |
| <b>Denklem 2.7</b> : Süperoksid radikalının peroksi radikaline indirgenmesi .....                       | 11 |
| <b>Denklem 2.8</b> : Süperoksid radikalinden hidrojen peroksid radikalının oluşumu .....                | 11 |
| <b>Denklem 2.9</b> : Süperoksid radikalının $Fe^{+3}$ ve $Cu^{+2}$ iyonlarını indirgemesi .....         | 11 |
| <b>Denklem 2.10</b> : Fenton reaksiyonu.....                                                            | 12 |
| <b>Denklem 2.11</b> : Haber-Weiss reaksiyonu.....                                                       | 12 |
| <b>Denklem 2.12</b> : Hidrojen peroksid radikalının oluşumu .....                                       | 12 |
| <b>Denklem 2.13</b> : Hidrojen peroksid radikalından hidroksi radikalının oluşumu.....                  | 12 |
| <b>Denklem 2.14</b> : Nitrik oksid radikalının oluşumu.....                                             | 13 |
| <b>Denklem 2.15</b> : Nitrik oksid radikalının azotdioksitlerine dönüşmesi.....                         | 14 |
| <b>Denklem 2.16</b> : Nitrik oksid ve süperoksid radikallerinden peroksinitrit radikalının oluşumu..... | 14 |
| <b>Denklem 2.17</b> : Peroksinitrit radikalının indirgenmesi.....                                       | 14 |
| <b>Denklem 2.18</b> : Ozon molekülünün serbest radikal etkisi.....                                      | 15 |
| <b>Denklem 2.19</b> : Tiyil radikalının oluşumu.....                                                    | 15 |
| <b>Denklem 2.20</b> : Tiyil radikalının oksijen molekülü ile tepkimesi.....                             | 15 |
| <b>Denklem 2.21</b> : Lipid karboksilasyonu.....                                                        | 16 |
| <b>Denklem 2.22</b> : C vitamininin peroksil radikali ile tepkimesi.....                                | 27 |

## SEMBOL LİSTESİ

|                            |                                                            |
|----------------------------|------------------------------------------------------------|
| <b>ABTS</b>                | : 2,2'-Azino-bis (3-etilbenzenothiazoline-6-sülfonik asid) |
| <b>ATP</b>                 | : Adenozin trifosfat                                       |
| <b>BHA</b>                 | : Bütillenmiş hidroksi anisol                              |
| <b>BHT</b>                 | : Bütillenmiş hidroksi toluen                              |
| <b>BH<sub>4</sub></b>      | : Tetrahidro biyopterin                                    |
| <b>CAT</b>                 | : Katalaz                                                  |
| <b>CoA</b>                 | : Koenzim A                                                |
| <b>CCl<sub>3</sub>•</b>    | : Triklormetil radikali                                    |
| <b>DMSO</b>                | : Dimetil sülfoksit                                        |
| <b>DNA</b>                 | : Deoksiribonükleik asid                                   |
| <b>DPPH</b>                | : 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil                             |
| <b>EDTA</b>                | : Etilen diamin tetraasetik asid                           |
| <b>FAD</b>                 | : Flavın adenin dinükleotid                                |
| <b>FMN</b>                 | : Flavın mononükleotid                                     |
| <b>G6P</b>                 | : Glukoz-6-Fosfat                                          |
| <b>GSH-P<sub>x</sub></b>   | : Glutasyon peroksidaz                                     |
| <b>G-P<sub>x</sub></b>     | : Glutasyon peroksidaz                                     |
| <b>G-R</b>                 | : Glutasyon redüktaz                                       |
| <b>GSH-R</b>               | : Glutasyon redüktaz                                       |
| <b>GST</b>                 | : Glutasyon-S-transferaz                                   |
| <b>GSH</b>                 | : Glutasyon                                                |
| <b>GSSH</b>                | : İndirgenmiş glutasyon                                    |
| <b>Hem</b>                 | : Hem grubu                                                |
| <b>HMP</b>                 | : Heksoz monofosfat                                        |
| <b>MPO</b>                 | : Miyeloperoksidaz enzim sistemi                           |
| <b>NAD•</b>                | : Nikotinamid adenin dinükleotid                           |
| <b>NADH</b>                | : İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid               |
| <b>NADP<sup>+</sup></b>    | : Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat                    |
| <b>NADPH+H<sup>+</sup></b> | : İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat        |
| <b>NDGA</b>                | : Nordihidroguareyetik asid                                |
| <b>NOS</b>                 | : Nitrik oksid sentetaz                                    |
| <b>PG</b>                  | : Propil gallat                                            |
| <b>PMNL</b>                | : Polimorfonükleo lökosit                                  |
| <b>p450</b>                | : Sitokrom p450 enzim sistemi                              |
| <b>RNA</b>                 | : Ribonükleik asid                                         |
| <b>RNS</b>                 | : Reaktif azot maddeleri                                   |
| <b>ROS</b>                 | : Reaktif oksijen maddeleri                                |
| <b>r-SOD</b>               | : Redükte süperoksid dismutaz                              |
| <b>SOD</b>                 | : Süperoksid dismutaz                                      |
| <b>TBA</b>                 | : Tiyoarbutirik asid                                       |
| <b>TBHQ</b>                | : Tersiyerbütıl hidrokinon                                 |
| <b>TCA</b>                 | : Triklorasetik asid                                       |

## ÖZET

### **AKYILDIZ (*Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint.)’IN ANTiOKSiDAN AKTiViTESİ**

Akyıldız (*Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint.) Türkiye’de Karadeniz Bölgesi’nde günlük diyetle yaygın bir şekilde kullanılır.

Bu çalışmada akyıldızdan hazırlanan sulu, etil alkollü ve asetonlu ekstrelerin antioksidan aktiviteleri, indirgeme gücü, serbest radikal giderme aktivitesi (DPPH), hidroksi radikali giderme aktivitesi, ABTS radikal giderme aktivitesi, metal kelatlama aktivitesi gibi çeşitli antioksidan testler kullanılarak incelendi. Sonuçlar  $\alpha$ -tokoferol, bütillenmiş hidroksi anisol, bütillenmiş hidroksi toluen gibi nötral ve sentetik antioksidanlarla karşılaştırıldı. Ekstrelerin total fenolik bileşikleri ve flavonoid miktarları da tayin edildi. Çalışmada, antioksidan aktivitelerin ekstrelerin konsantrasyonuna bağlı olarak arttığı saptandı.

Testlerin büyük bir kısmında flavonoidce zengin aseton ekstresinin yüksek antioksidan aktivite göstermesinden dolayı, antioksidan aktivite ile flavonoid bileşikler arasında bir ilgi olduğu düşünüldü.

Ekstrelerin bütün testlerde antioksidan aktivite gösterdiği ve bu ekstrelerin doğal bir antioksidan kaynağı olabileceği sonucuna varıldı.

## SUMMARY

### ANTIOXIDANT ACTIVITY of *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint.

*Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint. are used widely in the Black Sea region of Turkey for consumption in the daily diet.

In the present study, different antioxidant tests were employed in order to evaluate the antioxidant activities of water, ethanol and acetone extracts of *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint., namely, reducing power, free radical scavenging (DPPH), hydroxy radical scavenging, ABTS radical scavenging, metal chelating activities. The results were compared with natural and synthetic antioxidants, e. g.  $\alpha$ -tocopherol, butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene. The levels of total phenolics and total flavonoids of the extracts were also determined. It was determined that antioxidant activity increased with increased concentrations of the extracts.

It is concluded that because of the highest antioxidant activity of acetone extract, which was rich in flavonoid, there could be a relation between flavonoids and antioxidant activity.

This study showed that *Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint. extracts exhibited antioxidant activity in all tests and that the extracts could be considered as a source of natural antioxidants.

## 1.GİRİŞ

Aerobik organizmalarda oksijen, canlılığın devamı için temel koşuldur. Oksijenin % 99' luk kısmı kullanılırken, %1' lik kısmı serbest oksijen radikal oluşumunda rol alır. Çeşitli klinik, epidemiyolojik ve deneysel çalışmalar, reaktif oksijen türleri ile lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu, polisakkarid depolimerizasyonu, monosakkarid otooksidasyonu ve DNA hasarları arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir. Serbest radikaller bu etkileri gerçekleştirebilmek için kaynak alanlarından biri olan plazma membranlarından geçmektedirler ya da toksik reaksiyonları membranda başlatmaktadırlar. Oksidatif stres, normal metabolik faaliyetlerin devam ettirilmesi için gerekli olan aktif oksijen-antioksidan dengesini aktif oksijen lehine bozarak; biyomoleküllere zarar vermekte ve canlılar üzerinde kalp hastalıkları, şeker hastalığı, romatoid artrit, astım, kanser, genetik hastalıklar, katarakt gibi pek çok hastalık ile yaşlılığa neden olmaktadır. Biyomoleküllerin korunması için vücutta endojen ve eksojen savunma mekanizmaları vardır. Antioksidanlar, aktif oksijenin neden olduğu oksidasyon sürecini geciktiren ya da önleyen maddelerdir. İnsan vücudu radikal hasarı minimuma indirmek için antioksidan savunma mekanizmaları geliştirmiştir. Reaktif oksijen türlerini nötralize etmede intraselüler antioksidan enzimler, ilk savunma çizgisi olarak fonksiyon gösterirler, ancak oksidatif hasara karşı iç enzimatik savunmalar yeterli değildir ve bir seri iç ve dış serbest radikal yok edici antioksidanlar ikinci bir savunma çizgisi olarak davranırlar. Besin faktörlerinde bulunan antioksidanlar insan sağlığına faydalı olduğu gibi gıda maddelerinin de raf ömrünü uzatarak ve oksidasyonu geciktirerek veya inhibe ederek besin değerlerindeki kaybı azaltmaktadırlar. Antioksidan maddeleri içeren sebze veya meyvelerin düzenli tüketilmeleri sonucunda kalp-damar, katarakt, kanser, serebrovasküler rahatsızlıklar gibi hastalıklarda büyük ölçüde azalma görüldüğü saptanmıştır. Antioksidan etkileri öne çıkan bileşikler; C ve E vitaminleri, karotenoidler, retinoidler, tanenler, flavonoidler, glutatyon peroksidaz, glutatyon ve katalaz gibi enzimler ile selenyum gibi eser elementlerdir. Besin maddelerinde en çok kullanılan sentetik antioksidanlar bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), propil gallat (PG) ve tersiyer bütillhidrokinon

(TBHQ) dur. Bu maddeler serbest radikalleri nötralize ederek organizmayı çeşitli hastalıklara, besin maddelerini ise bozulmaya karşı korumaktadırlar. Bu toksik maddelerin toksik ve mutajenik etki göstermeleri nedeni ile doğal antioksidanlarla ilgili araştırmalar daha da önem kazanmıştır.

Bu bilgiler ışığında ülkemizde Kuzey Anadolu Bölgesinde yetişen ve sebze olarak tüketilen Liliaceae familyasında ve Ornithogalum türlerinden olan akyıldız (*Ornithogalum sigmoideum*, Freyn Et Sint.) bitkisinin antioksidan etkisinin olup olmadığı incelenmiştir.

## 2. GENEL KISIMLAR

### 2.1. SERBEST RADİKALLER

Atom, nötron ve protonlardan oluşan bir çekirdek ile bu çekirdeğin etrafında dönen elektronlardan meydana gelir. Atomlardaki elektronlar, orbital olarak bilinen belirli enerji seviyelerinde bulunurlar. Her bir orbital, zıt spinli en çok iki elektron tutabilir. Atom, ancak bu şekilde stabildir. Atomlar, stabilitelerini koruyabilmek ya da daha stabil hale gelmek için yörüngelerindeki elektron sayılarını tamamlarlar. Atom, iyon veya molekül dış yörüngesinde bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron içeriyorsa “radikal” adını alır. Serbest radikalın eşleşmemiş elektronu baskı olarak bulunduğu atom veya grubun üzerinde ya da yanında bir nokta (.) ile gösterilir [1-3]. Dış orbitallerde paylaşılmamış elektron bulunması, söz konusu kimyasal türün reaktivitesini olağanüstü arttırdığı için radikallerin reaktivitesi çok yüksektir [4]. Serbest radikaller, kısa ömürlüdürler ve elektriksel olarak pozitif yüklü, negatif yüklü veya nötr olabilirler [5-8]. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan serbest radikallerdir [5]. Genel olarak serbest oksijen radikalleri, kovalent bağlı bir molekülün her bir parçasının ortak elektronlardan birini alarak bölünmesi, elektron eklenmesi ya da elektron kaybolması ile meydana gelirken, biyolojik sistemlerde daha çok elektron transferi sonucu oluşur [9].

#### 2.1.1. Serbest Radikallerin Oluşum Mekanizmaları

Serbest radikaller 3 yolla ortaya çıkabilirler [10,11]:

##### 2.1.1.1. Elektron Transferi

Radikal özelliği bulunmayan bir moleküle 1 elektron eklenmesi veya molekülden bir elektron çıkarılması ile dış orbitalinde paylaşılmamış elektron bulunması sonucu serbest radikal meydana gelir.



#### 2.1.1.2. Homolitik Parçalanma

Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık (500-600°C) kimyasal bağların kırılmasına neden olur. Kırılma sırasında kovalent bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalıyorsa homolitik yıkım meydana gelir.



#### 2.1.1.3. Heterolitik Parçalanma

Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı ya da bir molekülden heterolitik olarak bölünmesi sonucunda kovalent bağ oluşturan her iki elektron, atomlardan birinde kalır. Organik moleküllerdeki bağların heterolitik kırılması durumunda zıt yüklü iyon çiftleri oluşur ve bu türler de reaktiftir.



### 2.1.2. Serbest Radikal Kaynakları

Oksijenli ortamda yaşam, oksidatif fosforilasyonla adenozintrifosfat (ATP) üretimi açısından önemli ölçüde yarar sağlarken birtakım tehlikeleri de beraberinde getirmektedir. Serbest radikal kaynakları biyolojik, hücre içi sıvısı veya toksik maddeler olabilir. Bu kaynaklar endojen ve eksojen olmak üzere iki genel başlık altında sınıflandırılabilir (Tablo 2.1).

Tablo 2.1: Serbest radikal kaynakları

| ENDOJEN KAYNAKLAR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | EKSOJEN KAYNAKLAR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mitokondriyal e transport zinciri</li> <li>• Mikrozomal e transport zinciri</li> <li>• Kloroplast e transport zinciri</li> <li>• Oksidan enzimler</li> <li>• Proteinler</li> <li>• Araşidonik asid döngüsünün aktivasyonu</li> <li>• Oksidatif stres</li> <li>• Peroksizomlar</li> <li>• Plazma membranı</li> <li>• Transizyon metalleri</li> <li>• Fagositik hücreler</li> <li>• Endojenik bileşiklerin otooksidasyon reaksiyonları</li> <li>• Egzersiz</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Çözücüler</li> <li>• Anestezikler</li> <li>• İlaçlar</li> <li>• İyonize radyasyon</li> <li>• X-Işını</li> <li>• Güneş ışığı (UV)</li> <li>• Isı şoku</li> <li>• Ozon</li> <li>• Sigara dumanı</li> <li>• Kirleticiler</li> <li>• Egsoz gazları</li> <li>• Glutasyonu okside eden maddeler<br/>- Asetaminofen -kokain</li> <li>• Metal iyonları</li> </ul> |

#### 2.1.2.1. Endojen Kaynaklar

##### A. Mitokondriyal Elektron Transport Zinciri

Mitokondri, hücre solunumunun gerçekleştiği organeldir. Moleküler oksijenin en önemli kullanım yeri, mitokondrilerin iç membranındaki elektron transport sistemidir. Elektronların taşınmasından sorumlu olan sitokrom-C oksidaz enzimi, oksijenin % 98-99 kadarını suya indirgerken oksijenin % 1-2' si süperoksida indirgenebilmektedir [5,12].

##### B. Mikrozomal Elektron Transport Zinciri

Endoplazmik retikulumda ve nükleer membranlarda birçok p450 ve flavin mono oksijenaz (FMO) enzim sistemleri bulunur. Bu enzim sistemleri doymamış yağ

asidlerini ve organizma için yabancı olan maddeleri okside ederek serbest radikal oluşturlar [12].

### *C. Proteinler*

Reaktif oksijen türevlerinin proteinlerle etkileşimi sonucunda histidin, pirolin, arginin, glisin gibi çok sayıda amino asid bakiyesinden veya peptid omurgasında meydana gelen oksidatif hasar sonucunda protein karbonil türevleri oluşur. Ayrıca serbest radikaller proteinlerdeki tiyol (-SH) gruplarının oksidasyonuna yol açarak oksidatif protein hasarına neden olurlar [13].

### *D. Araşidonik Asid Döngüsünün Aktivasyonu*

Araşidonik asid döngüsü reaktif oksijen türlerinin üretildiği önemli bir kavşaktır. Fagositoz, hücrelerin ayrılması, membransel siklooksijenaz, fosfolipaz ve protein kinaz enzimlerinin aktivasyonuna ve plazma membranında araşidonik asid salınımına neden olur. Araşidonik asidin enzimatik oksidasyonu ise serbest radikalleri açığa çıkarır [14].

### *E. Oksidatif Stres Yapıcı Durumlar (Travma, İskemi, Reperfüzyon)*

Oksidatif stres, serbest radikallerin oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki dengesizlik olarak tanımlanır. Travma, çoğu zaman kinetik, termal veya kimyasal enerjinin dokulara transferi ile yapısal hasar oluşturmaktan kaynaklanır. Normal homeostatik mekanizmaların kaybına, fizyolojik gereksinimlerin artmasına ve anormalleşmesine neden olur.

İskemi, bir organa gelen kan akımının, özellikle cerrahi işlemler ve organ transplantasyonu gibi çeşitli nedenlerle yetersiz hale gelmesi veya durmasıdır. İskemi sonucunda doku hipokside kalır ve hipoksik doku hasarı ortaya çıkar. İskeminin uzun sürmesi sonucunda hücrelerin bütünlüğü kaybolur, hatta hücre ölüm meydana gelir. Reperfüzyon ise dokunun kanlanmasıyla yeniden başlamasıdır. İskemili bir dokuda kan akımının yeniden başlaması durumunda, özellikle dokuya gelip yerleşen PMNL (polimorfonükleo lökosit) tarafından salınan serbest oksijen radikalleri, dokudaki yıkımı artırıcı etki yaparlar [15].

### *F. Fagositik Hücreler*

Fagositik hücreler, enfeksiyona karşı vücudun hücresel cevabını başlatan hücrelerdir. Bu hücreler: nötrofiller, monositler ve makrofajlar, eozinofiller, lenfositler, endotenyal hücrelerdir. Fagosit hücreler, fagositoz sırasında bakterileri öldürmek için hidrojen peroksid veya hipokloröz asid meydana getirirler. Bu işlemleri önemli iki tür mekanizma ile gerçekleştirirler [16]:

- MPO (miyeloperoksidaz) sistemi
- NADPH (nikotinamid adenin dinükleotid fosfat) oksidaz sistemi

### *G. Peroksizomlar*

Oksidazların yüksek derişimlerde bulunmalarından dolayı hücresel hidrojen peroksid kaynağıdır. Bu yapılar; D-amino asid oksidaz, ürat oksidaz, L-alfa-hidroksi asid oksidaz ve açıl CoA (koenzim A) oksidaz olup, bunlardan oldukça fazla miktarda bulunurlar [17].

### *H. Plazma Membranı*

İntrasellüler olarak ortaya çıkan serbest radikaller, hücrenin diğer bölümleriyle reaksiyona girebilmek için öncelikle plazma membranını geçmek durumundadırlar ya da toksik reaksiyonları membranda başlatmalıdırlar. Membran yapısında bulunan doymamış yağ asidleri, fosfolipidler, glikolipidler, gliserol ve steroller, okside olabilen amino asid içeren membran proteinleri, serbest radikal hasarına duyarlıdırlar. Serbest radikaller tarafından başlatılan lipid peroksidasyonu veya yapı proteinlerinin oksidasyonu, membran iyon geçirgenliğinin bozulmasına, sekresyon fonksiyonlarında kayıplara ve hücre içi metabolik olayların inhibisyonuna neden olabilir.

Plazma membranında bulunan lipoksijenaz, prostaglandin sentetaz, fagositlerde bulunan NADPH oksidaz, lipid peroksidasyonuna sebep olan serbest radikallerin kaynaklarıdır. Fagositoz esnasında, oksijen kullanımı arttığından oksijenden süperoksid dolayısıyla hidrojen peroksid açığa çıkışı da artar. Bu nedenle fagositik hücrelerin plazma membranları NADPH oksidazın aracılık ettiği serbest radikal üretiminde önemli bir kaynaktır. Lipoksijenaz ve siklooksijenaz gibi mikrozomal ve

plazma membranına bağlı olan enzimlerin predominant substratı olan araşıdonik asidin biyolojik olarak etkili ürünlere (prostaglandinler, lökotrienler, tromboksanlar) dönüşümü sırasında serbest radikaller meydana gelir [14]

#### *İ. Tranzisyon Metalleri*

Demir, bakır metalleri, DNA (deoksiribonükleik asid), protein ve lipidlere elektron taşıyarak oksidatif hasarı hızlandırır. Hücre lizisi sonucu hücre içinde ferritin ve hemosiderin şeklinde depolanan demir ile yapısında bakır bulunan seruloplazmin proteinlerinin yıkımıyla demir ve bakır serbest hale geçer. Bunun sonucunda çevre dokulara salınan Fe ve Cu oksidatif hasarı hızlandırır [12].

#### *2.1.2.2. Eksojen Kaynaklar*

##### *A. İlaçlar*

Herbisitler, pestisitler, parasetamol, aminotriazol, asetaminofen, bleomisin, doksorubisin, hiperbarik oksijen, klonazin, klosapin, 3,4- metilendioksimetamfetamin, nitrofurantoin, siprofloksasin, siklosporin, trisiklik antidepresanlar ve troglitazon serbest radikal oluşumuna yol açan ilaçlardır [18].

##### *B. Metal İyonları*

Demir, bakır, kadmiyum, nikel, krom, civa iyonları serbest radikal oluşumuna neden olurlar [18].

##### *C. Kirleticiler*

Asbest lifleri, mineral tozlar, ozon, karbonmonoksit, nitrik oksid, azot dioksit, silika, bazı çözücüler, toksinler, hipoklorit, kükürt dioksit, parakuat, dikuat, plumbagin, juglone gibi kirleticiler serbest radikal kaynaklarındandır [18].

##### *D. Radyasyon*

Ultraviyole ışık, x ışını, gamma ışını da radikal oluşumuna neden olurlar [18].

### 2.1.3.Serbest Radikal Türleri

Tablo 2.2: Serbest radikal türleri ile radikal özellik gösteren bazı metabolitler

|                                                      |
|------------------------------------------------------|
| A.Oksijen Merkezli Serbest Radikaller                |
| Singlet Oksijen ( $^1\text{O}_2$ )                   |
| Süperoksid Radikali ( $\text{O}_2^{\bullet}$ )       |
| Hidroksi Radikali ( $\text{HO}^{\bullet}$ )          |
| Alkoksil Radikali ( $\text{RO}^{\bullet}$ )          |
| Peroksil Radikali ( $\text{ROO}^{\bullet}$ )         |
| Peroksinitrit Radikali ( $\text{ONOO}^{\bullet}$ )   |
| B.Karbon Merkezli Serbest Radikaller                 |
| Lipid Radikali ( $\text{L}^{\bullet}$ )              |
| Karboksil Radikali ( $\text{LCOO}^{\bullet}$ )       |
| Lipidperoksid Radikali ( $\text{LOO}^{\bullet}$ )    |
| Triklorometil Radikali ( $\text{CCl}_3^{\bullet}$ )  |
| C.Kükürt Merkezli Serbest Radikal                    |
| Tiyil radikali ( $\text{RS}^{\bullet}$ )             |
| D.Hidrojen Merkezli Serbest Radikal                  |
| Hidrojen Atomu ( $\text{H}^{\bullet}$ )              |
| E.Azot Merkezli Serbest Radikaller                   |
| Nitrik Oksid ( $\text{NO}^{\bullet}$ )               |
| Azot Dioksit ( $\text{NO}_2^{\bullet}$ )             |
| Diazot Trioksit ( $\text{N}_2\text{O}_3^{\bullet}$ ) |
| F.Demir Merkezli Serbest Radikal                     |
| Perferil Radikali                                    |
| G.Radikal Olmayan Toksik Metabolitler                |
| Ozon ( $\text{O}_3$ )                                |
| Hidrojen Peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )         |
| Lipid Hidroperoksit ( $\text{LOOH}$ )                |
| Hipokloröz Asit ( $\text{HOCl}$ )                    |
| Kloraminler ( $\text{RRCl}$ )                        |
| Homosistein                                          |

### 2.1.3.1. Süperoksid Radikali ( $O_2^{\bullet-}$ )

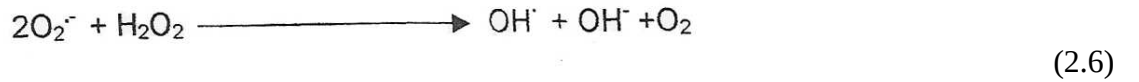
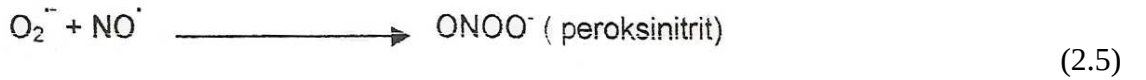
Süperoksid radikali, en kolay ve en çok oluşan radikaldır ve başlıca 4 yolla oluşur [11]:

- İndirgeyici özellikteki biyomoleküller oksijene tek elektron verip kendileri oksitlenirken süperoksid radikali oluşur. Hidrokinonlar, flavinler, tiyoller, katekolaminler, ferrodoksinler, indirgenmiş nükleotidler gibi yüzlerce biyolojik molekül aerobik ortamda oksitlenirken süperoksid yapımına neden olurlar.



- Başta çeşitli dehidrogenazlar ve oksidazlar olmak üzere, yüzlerce enzimin katalitik etkisi sırasında süperoksid radikali bir ürün olarak oluşabilir.
- Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, tüketilen oksijenin %1-5 kadarı süperoksid yapımı ile sonlanır. Buradaki radikal yapımının nedeni NADH dehidrogenaz ve koenzim-Q gibi elektron taşıyıcılardan oksijene elektron kaçağının olmasıdır.
- Aktive edilen fagositik lökositler bol miktarda süperoksid üreterek fagozom içine ve bulundukları ortama verirler. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal yapımı, daha reaktif türlerin oluşumunu da başlatır.

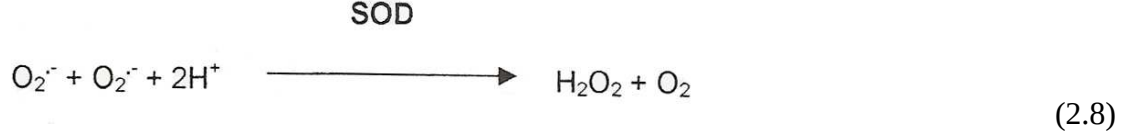
Süperoksid radikali, reaktifliği düşük olmasına rağmen diğer radikallerin oluşumuna yol açması bakımından önemlidir [12].



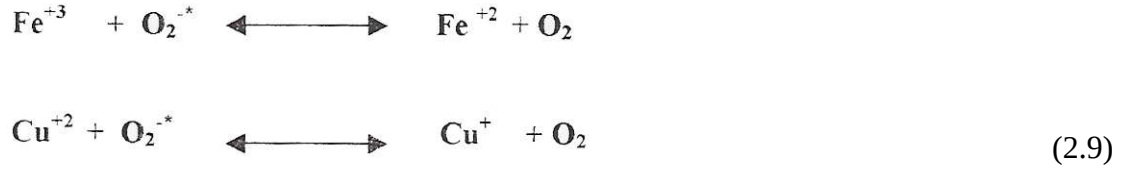
Hücrel koşullarda üretilen süperoksid, oksitleyici veya indirgeyici olarak davranabilir. Aldığı elektronu metal iyonuna, sitokrom C'ye veya bir radikale verirse tekrar oksijene oksitlenir. Oksijenden daha oksitleyici olan süperoksid, bir elektron daha alırsa peroksi anyonuna indirgenir:



Süperoksidlerin hidrojen perokside çevrilmesi katalitik aktivitesi çok yüksek bir enzim olan süperoksid dismutaz (SOD) tarafından katalizlenir.



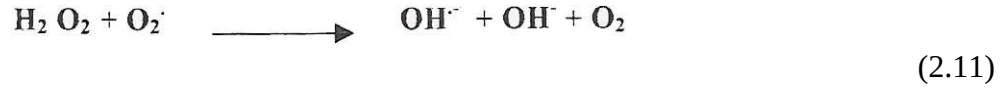
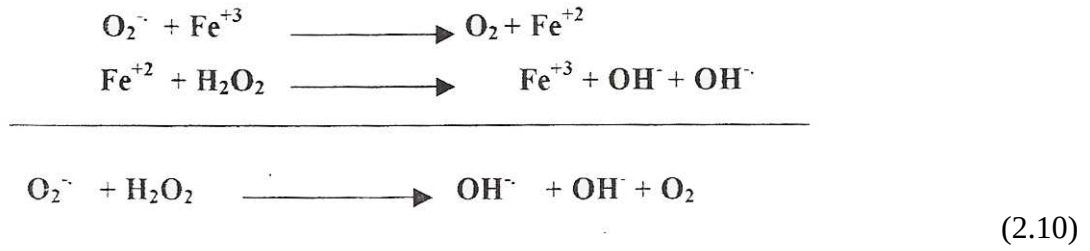
Süperoksid metal iyonların indirgeyerek bağlı oldukları proteinlerden salınımına neden olur, kofaktörlerin oksidasyon düzeylerini bozar, metal iyonlarının katıldığı hidroksi radikali yapım tepkimelerini hızlandırır.



Diğer radikallere göre daha az reaktif olsa da, süperoksid indirgenmiş nükleotidleri, bazı amino asitleri ve antioksidan bileşikleri (glutasyon, askorbik asid, tokoferol) oksitler. Süperoksid hücre zarlarının hidrofobik ortamlarında daha uzun ömürlü ve çözünürlüğü daha fazladır. Zar fosfolipidleri nedeniyle hücre zarı yüzeyleri daha asidiktir ve süperoksid burada daha kolayca bir proton olarak hidroperoksid radikali oluşturur. Bu radikal de çok reaktif olup hücre zarında lipid peroksidasyonunu başlatabilir [11].

#### 2.1.3.2. Hidroksi Radikali ( $\text{HO}^\bullet$ )

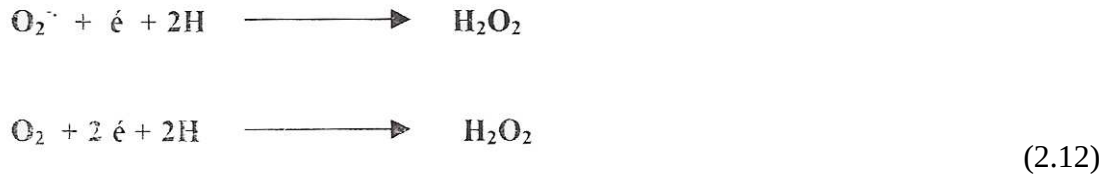
Hidroksi radikali, geçiş metalleri varlığında hidrojen peroksidin indirgenmesiyle oluşabildiği gibi hidrojen peroksidin süperoksid radikali ile reaksiyonu sonucunda da meydana gelebilir. Ayrıca suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalmasıyla da oluşur. Son derece reaktif bir radikal olmasından dolayı hücre bileşenleri ile difüzyona gerek kalmadan tepkimeye girer [5, 8, 19].



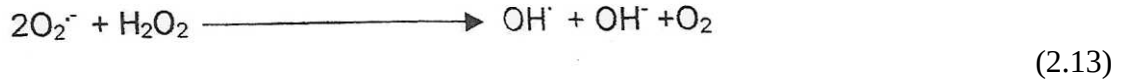
Hidroksi radikali tiyoller ve yağ asitleri gibi daha birçok molekülden hidrojen atomları kopararak yeni radikallerin oluşumuna neden olur [14].

#### 2.1.3.3. Hidrojen Peroksid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )

Hidrojen peroksid, oksijenin enzimatik olarak iki elektronla indirgenmesi ya da süperoksitlerin enzimatik/nonenzimatik dismutasyonu tepkimeleri sonucu oluşur.



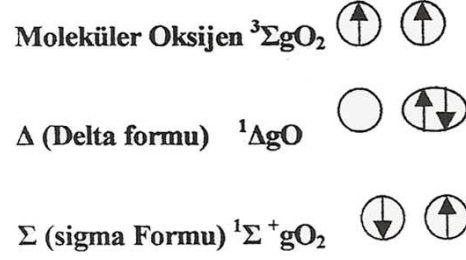
Yapısında paylaşılmamış elektron içermediğinden radikal özelliği taşımaz, reaktif bir tür değildir. Hidrojen peroksidin oksitleyici bir tür olarak bilinmesinin nedeni, Cu, Fe gibi metal iyonları varlığında hidroksi radikalının öncüsü olarak davranmasıdır.



Hidrojen peroksid özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek yüksek oksidasyon düzeyindeki ferril demir ve perferril demir oluşumuna neden olur. Bu formdaki reaktif demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilir. Belirtilen potansiyel oksitleyici özelliği nedeniyle biyolojik sistemlerde oluşan  $\text{H}_2\text{O}_2$ ' in derhal ortamdan uzaklaştırılması gerekir. Bu görevi, hücrelerdeki önemli antioksidan enzimler olan katalaz ve peroksidaz enzimleri yerine getirirler [11].

#### 2.1.3.4 . Singlet Oksijen ( $O_2$ )

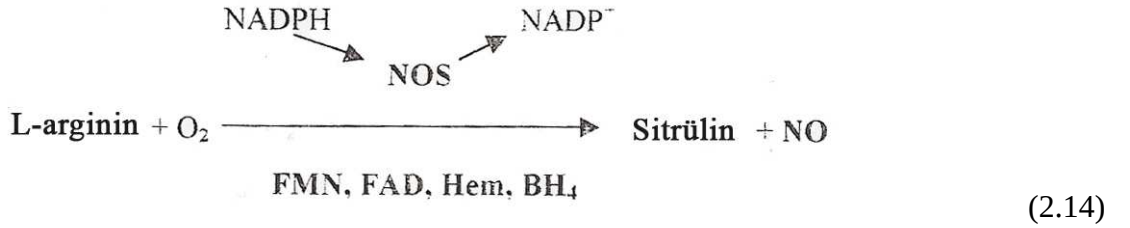
Singlet oksijen, eşlenmemiş elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Oksijenin yüksek enerjili ve mutajenik formudur. Serbest radikal reaksiyonları sonucu oluşabildiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da neden olur. Singlet oksijenin delta ve sigma olmak üzere iki formu vardır [5,14]:



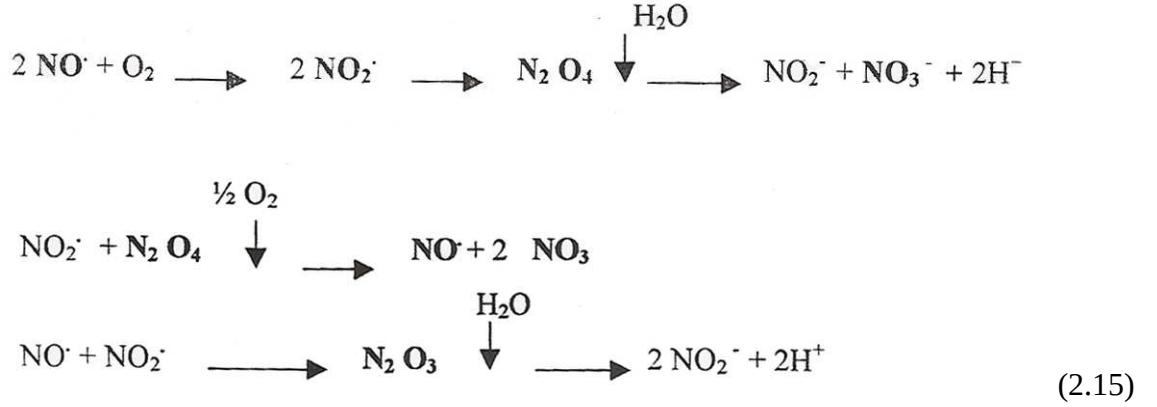
Şekil 2.1: Singlet oksijenin delta ve sigma formları

#### 2.1.3.5. Nitrik Oksid (NO)

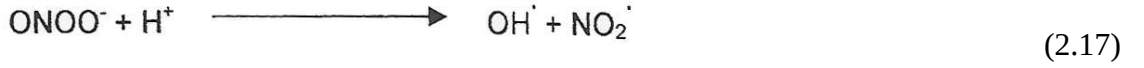
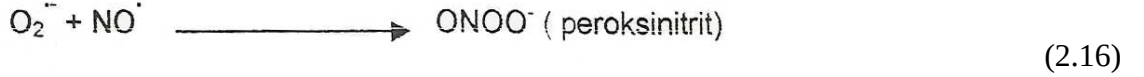
Nitrik oksid, L-argininden nitrik oksid sentetaz (NOS) aracılığıyla sentezlenir. L-argininden moleküler oksijen ve hem, FAD (flavin adenin dinükleotid), FMN (flavin mono nükleotid) ve  $BH_4$  (tetrahidrobiyopterin) kofaktörleri aracılığıyla sitrülin ve NO oluşturur [20].



Nitrik oksid elektriksel olarak yüksüz olduğundan reseptöre bağımlı olmayan yollarla kolayca membranlardan difüze olabilir. Aşağıdaki gibi bir seri azotdioksidlerine dönüşebilir [20]:



Nitrik oksid ve süperoksit radikallerinin birleşmesiyle oluşan peroksinitrit, çok güçlü bir oksitleyicidir. Birçok biyolojik materyeli doğrudan etkilemesinin yanısıra proteinlerdeki tirozini nitrataştırarak birçok hastalığın oluşumunda önemli bir rol oynar [14].

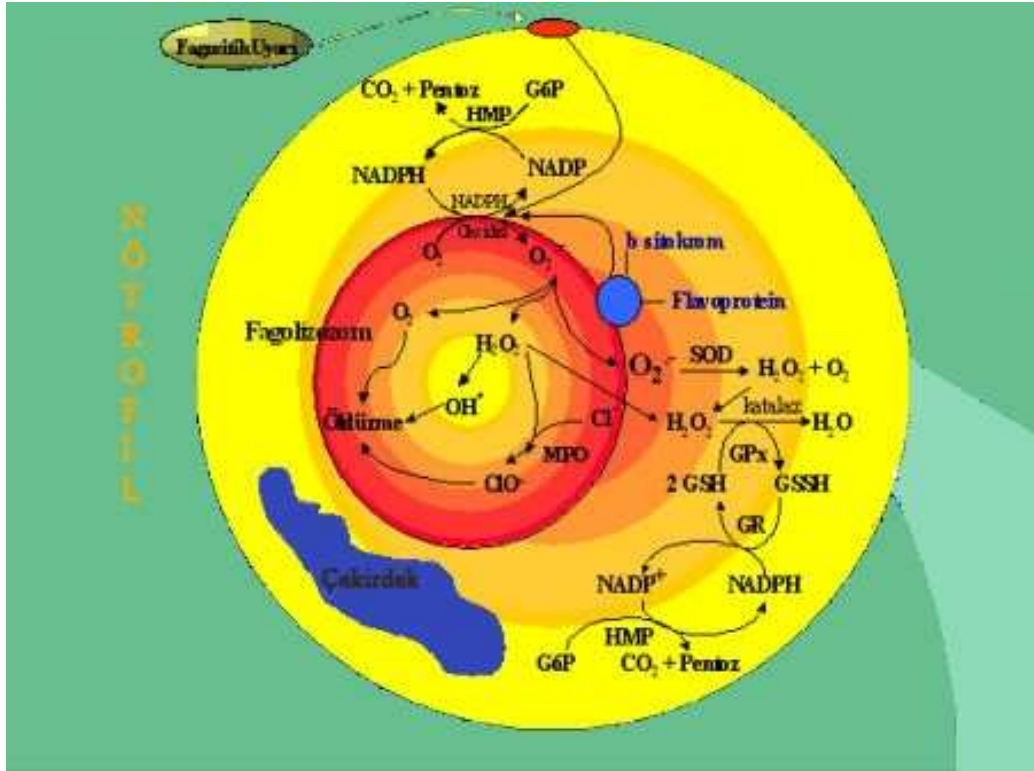


#### 2.1.3.6. Ozon ( $\text{O}_3$ )

Atmosferin üst kısmında ve çevre kirliliği olan şehirlerde meydana gelen bu doğal bileşik, hidrokarbonlar ve azot oksitleri arasındaki fitokimyasal reaksiyonla oluşturulan en büyük kirliliktir. Ozon, bir serbest radikal değildir fakat, singlet oksijen olarak onları üretebilir, lipid peroksidasyonunu stimüle edebilir ve böylece *in vivo* olarak lipid ve protein seviyelerindeki hasarı indükleyebilir.

Ozon' un stimüle ettiği peroksidasyonun asıl kimyası tam olarak bilinmemektedir. Ozon, bir çifte bağ ekleyebilir ve bir serbest radikalın oluşumunu bozabilir. Öngörülen mekanizma aşağıda verilmiştir [21].





Şekil 2.2: Oksidatif stres [23]

Serbest radikallerin etkilerini 5 ana başlık altında incelemek mümkündür:

#### 2.1.4.1. Lipid Karboksilasyonu

Serbest radikallerin etkisi ile oluşan lipid radikali ( $L^{\bullet}$ ), dokuda artmış bulunan karbondioksit ile reaksiyona girerek lipid karboksil radikalini ( $LCOO^{\bullet}$ ) oluşturmaktadır. Karboksil radikali lipid peroksidasyonu kadar yaygın olmasa da membran hasarına katkıda bulunmaktadır [24].



(2.21)

#### 2.1.4.2. Protein Oksidasyonu

Oksidatif strese bağı olarak oluşan *in vivo* DNA ve protein hasarının lipidlerdeki hasardan daha önemli olduğu öne sürülmektedir [25]. Proteinlerin serbest oksijen radikal harabiyetinden etkilenme dereceleri, içerdikleri aminoasid çeşidine bağıdır [26]. Doymamış bağı ve sülfür ihtiva eden moleküllerin serbest oksijen radikalleri ile reaksiyona girme eğilimi yüksek olduğundan triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin ve sistein gibi aminoasidlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bunun sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller meydana gelir. Proteinlerin üç boyutlu yapısı bozulur [5]. Proteinlerde oluşan yapısal değişiklikler üçe ayrılır [14]:

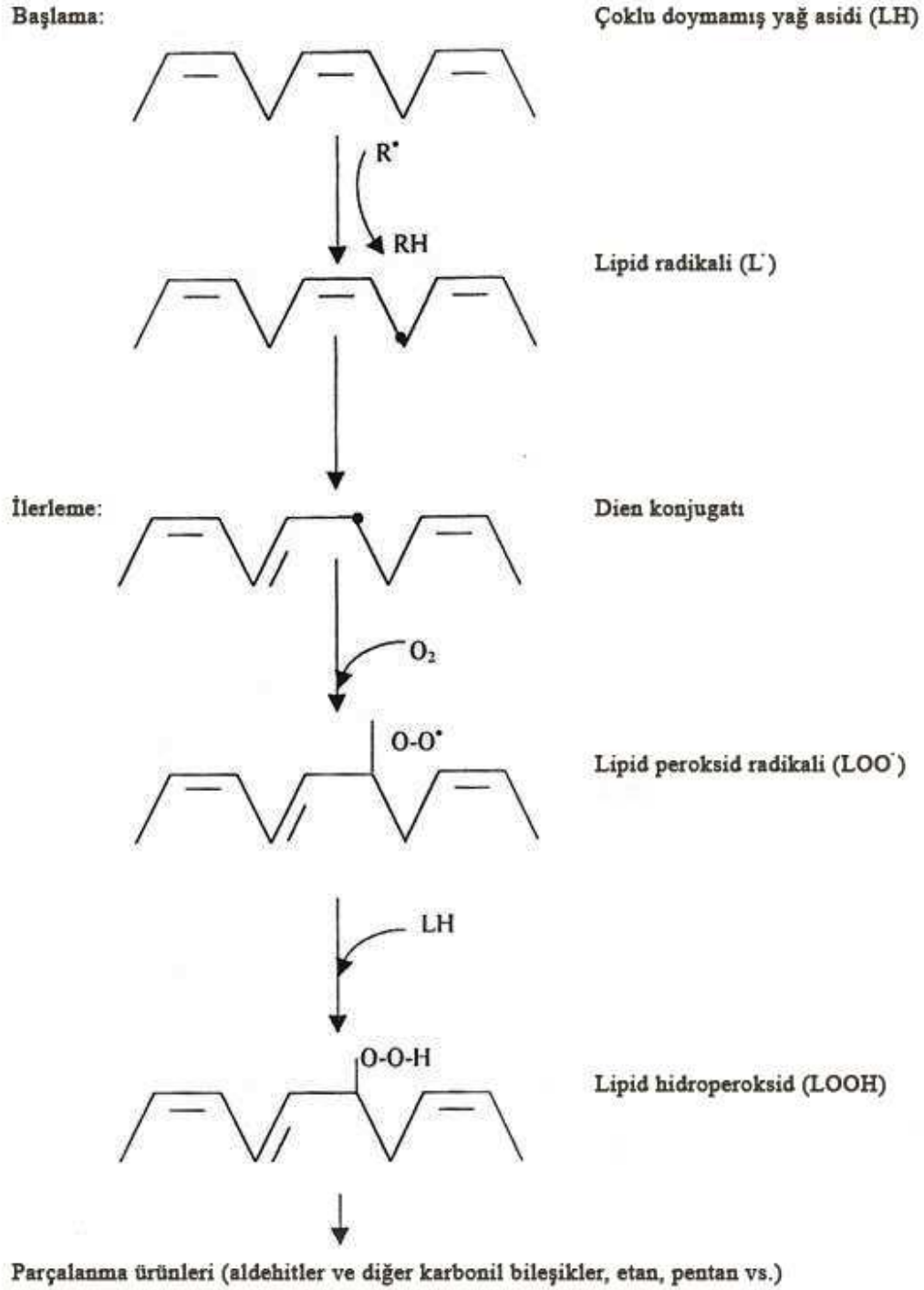
- Amino asidlerin modifikasyonu
- Proteinlerin fragmentasyonu
- Proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmalar

Protein yapılarındaki hasarın gösterilmesi için protein karbonillerinin belirlenmesi yaygın olarak kullanılan bir göstergedir [27].

#### 2.1.4.3. Lipid Peroksidasyonu

Moleküllerin hepsi serbest radikallerden etkilenir ancak, lipidler en hassas moleküllerdir. Lipid peroksidasyonu, organizmada serbest oksijen radikallerinin etkisiyle lipidin yapısında bulunan doymamış yağ asidlerinden bir hidrojen atomunun uzaklaştırılmasıdır. Böylece yağ asidi zinciri bir lipid radikali ( $L^{\bullet}$ ) kazanır. Oluşan lipid radikali reaktiftir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Moleküler bağların pozisyonlarının değişmesi ile konjugatlar ve daha sonra lipid radikallerinin oksijen ile birleşmesi sonucu lipid peroksid radikalleri ( $LOO^{\bullet}$ ) meydana gelir [28]. Lipid radikalleri, membran yapısındaki doymamış yağ asidlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşmasına yol açar [27]. Lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonları, iki lipid peroksid radikali etkileşinceye kadar devam etmekte ve siklik peroksid ( $LOOL$ ) oluşumu ile sonlanmaktadır [29].

Artan lipid peroksidasyonu ve azalan antioksidan korumalar sonucu epoksitler oluşur. Bunlar hücre içinde nükleofilik merkez ile spontan olarak reaksiyona girip DNA, RNA (ribonükleik asit) ve proteinlere kovalent olarak bağlanır [30]. Böyle bir reaksiyon sitotoksisiteye, alerjiye, mutajeniteye ve/veya karsinogeneze neden olabilir [31, 32].



Şekil 2.3: Lipid peroksidasyonu

#### 2.1.4.4. Karbohidratlara Etkisi

Serbest radikallerin karbohidratlar üzerine polisakkarid depolimerizasyonu ve monosakkarid otooksidasyonu gibi etkileri vardır [33]. Monosakkaridlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve oksoaldehitler meydana gelir [34]. Glukoz ve mannitol gibi monosakkaridlerin geçiş metalleri katalizörlüğünde hidroksi radikaliyle tepkimeye girmeleri, moleküler oksijeni indirgeyerek ketoaldehit, hidrojen peroksit, peroksitler ve oksoaldehitler oluşumuna yol açar. Oksoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliğine sahiptirler. Bu sayede kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar [14, 31].

#### 2.1.4.5. Nükleik Asidlere ve DNA'ya Etkisi

İyonize edici radyasyona maruz kalınmasıyla oluşan serbest oksijen radikalleri DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyon meydana getirirler. Hidroksi radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer. Aktif olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit, membranlardan kolayca geçip hücre çekirdeğine ulaşarak mutajenez, karsinogenez ve hücre ölümü meydana getirebilir. Bu yüzden DNA, serbest oksijen radikallerinin kolay zarar verdiği önemli bir hedeftir [31, 34].

Tablo 2.3: Serbest radikallerin neden olduğu bazı hastalıklar

|                                    |                                    |
|------------------------------------|------------------------------------|
| 1.İltihabi ve İmmün Hasarlar       | 7.İskemi-Reperfüzyon Sendromları   |
| -Vazkültler -Romatoid Artrit       | -Stres Ülserleri -Serebral İskemi  |
| 2.Solunum Sistemi                  | 8.Göz                              |
| -Amfizem -Akciğer kanseri          | -Katarakt -Retinopatiler           |
| 3.Kardiyovasküler Sistem           | 9.Karaciğer                        |
| -Ateroskleroz -Keshan hastalığı    | -Endotoksin                        |
| 4.Böbrekler                        | 10.Sinir Sistemi                   |
| -Otoimmün Nefrotik Sendromlar      | -Epilepsi -Parkinson -Alzheimer    |
| 5.Gastrointestinal Sistem          | 11.Cilt Bozuklukları               |
| -Mide Mukozası Ülserleri           | -Yanıklar -Porfiria                |
| -Pankreatitler                     | -Kontakt Dermatit                  |
| 6.Eritrositler                     | 12.Diğer                           |
| -Sıtma -Anemi -Kurşun Zehirlenmesi | -Diyabet -Kas Distrofisi -Yaşlanma |

## 2.2. ANTİOKSİDANLAR

Son yıllarda insanlar sağlıklı yaşam ve sağlıklı yaşlanma konularına büyük ilgi göstermektedirler. Bu nedenle alınan gıdaların ve gıdalara katılan katkı maddelerinin büyük önemi bulunmaktadır [35].

Antioksidanlar serbest radikalleri nötralize ederek vücudun onlardan etkilenmemesini veya kendini yenilemesini sağlayan maddelerdir. Antioksidanlar hücrelere zarar veren serbest radikalleri, reaktif oksijen türlerini etkin bir şekilde indirgeyerek düşük toksiteli veya toksik olmayan ürünlere dönüştürürler.

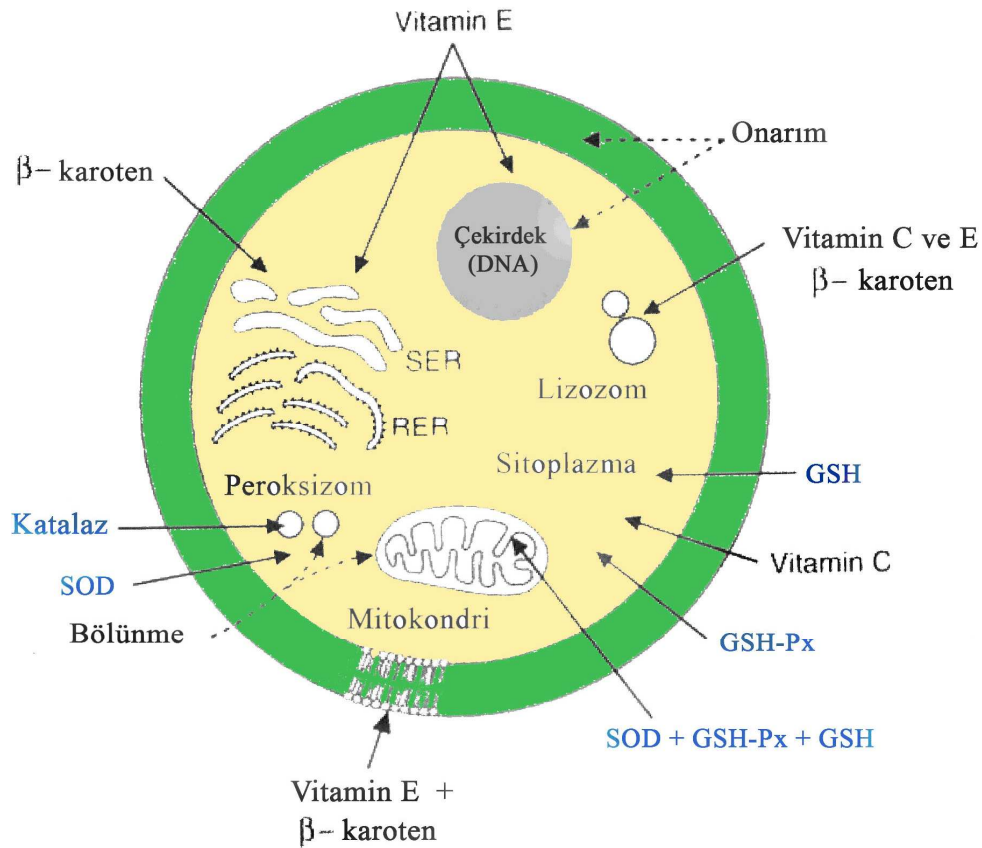
Antioksidanlar vücuttan üretildikleri gibi, dışarıdan gıda yolu ile de alınabilmektedir. Besin faktörlerinde bulunan antioksidanlar insan sağlığına faydalı olduğu gibi gıda maddelerinin de raf ömrünü uzatarak ve oksidasyonu geciktirerek veya inhibe ederek besin değerlerindeki kaybı azaltmaktadırlar [36, 37].

Besin maddelerinde bulunan ve insan vücudunu serbest radikallerden koruyan başlıca doğal antioksidanlar, esas olarak vitaminler, flavonidler, karotenoidler ve polifenollerdir. Antioksidan madde içeren gıda maddelerinin tüketimi sonucunda kanser, kalp ve damar hastalıklarının oranında büyük ölçüde azalma görüldüğü saptanmıştır [38].

Ayrıca yaşlanmaya karşı mücadele edilmesinde ve bağışıklık sistemini de olumlu yönde etkilemesi nedeniyle antioksidanlar önemli maddelerdir. Antioksidanlar biyokimyacılar ve diğer sağlık uzmanları için de önemli olan maddelerdir. Vücudu reaktif oksijen maddelerine (ROS), reaktif azot maddelerine (RNS) ve reaktif klor içerikli maddelere karşı korurlar. Piyasada en çok kullanılan sentetik antioksidanlar bütillenmiş hidroksianizol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), propil gallat (PG) ve tersiyer bütillhidrokinon (TBHQ) dur [39].

Bu maddeler serbest radikalleri nötralize ederek organizmayı hastalıklara karşı, besin maddelerini ise bozulmaya karşı korumaktadırlar. Ancak bu bileşiklerin toksik mutajenik etikleri göstermeleri nedeni ile bazı Avrupa ülkeleri ve Japonya'da kullanılmalarına izin verilmemiştir. Bu nedenle günümüzde bitkisel kaynaklı doğal antioksidanlar üzerindeki araştırmalar daha da önem kazanmıştır.

Antioksidanlar hücrelere zarar veren serbest radikalleri, reaktif oksijen türlerinin neden oldukları hasarı hücre içi ve hücre dışı savunma ile etkisiz hale getirirler. Hücre içi savunma süperoksid dismutaz, glutatyon-S-transferaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, katalaz ve sitokrom oksidaz gibi enzimler tarafından sağlanırken, hücre dışı savunma ise albümin, bilirubin, transferin, seruloplazmin, ürik asid gibi çeşitli moleküllerle sağlanır. Bazı antioksidanların hücreye etkileri şekil 2.4 te gösterilmektedir.



Şekil 2.4: Bazı antioksidanların hücreye etkileri

### 2.2.1. Antioksidan Etki Tipleri

#### 2.2.1.1 . Toplayıcı Etki

Serbest radikalleri etkileyerek onları tutma veya daha küçük bir moleküle çevirme işlemidir. Süperoksid dismutaz (SOD), etilendiamintetraasetik asid (EDTA) ve fitik asid gibi metal kelatörleri ile katalaz (CAT) örnek verilebilir.

#### 2.2.1.2. Bastırıcı Etki

Serbest oksijen radikalleri ile etkileşerek onlara bir hidrojen atomu aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme işlemidir. C ve E vitaminleri, mannitol, flavonoidler örnek verilebilir.

#### 2.2.1.3. Zincir Kırıcı Etki

Zincirleme olarak devam eden reaksiyonların belli yerlerinden kırılıp, radikallerin fonksiyonlarını engelleme işlemidir. Hemoglobin, seruloplazmin, bilirubin, ürik asid örnek verilebilir.

#### 2.2.1.4 .Onaracı Etki

Hasar görmüş hücrelerin onarılması işlemidir. Metionin, sülfoksit redüktaz örnek verilebilir [40-42].

### 2.2.2. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar çeşitli kriterlere göre sınıflandırılabilirler:

#### 2.2.2.1. Yapılarına Göre Antioksidanlar

##### A. Fenolik Yapılı Antioksidanlar

Antioksidanların en önemli grubunu fenol grubuna sahip olan bileşikler içermektedir, fenol grubuna o- veya p- konumunda bir hidroksi grubunun bağlanması ile antioksidan aktivite artmaktadır [43]. Bunların temel prensibi hidrokinonun kinona yükseltgenmesidir. Bazı flavonoidler, bitkilerde bulunan fenolik antioksidanlardır.

Doğal fenolik antioksidanların bir diğer grubu E vitaminidir. Sentetik antioksidanlardan fenolik yapıda olanlar propil gallat, oktil gallat, dodecil gallat, bütillenmiş BHA, BHT ve TBHQ dur.

#### *B. Aromatik Yapılı Antioksidanlar*

Aromatik amino antioksidanlarda genellikle fenollü antioksidanlara benzerler, yalnız hidroksi grupları kısmen veya tamamen amino grupları ile yer değiştirmiştir. Bunlara örnek olarak para izobütil amino fenol adlı madde verilebilir [44].

#### *C. Organik Sülfürlü Antioksidanlar*

Kuvvetli antioksidanların bir grubunu da kükürtlü organik bileşikler oluşturur. Dilavril ve distearil ditiyopropiyonatlar çok etkili antioksidanlardır [44].

#### *2.2.2.2. Etki Mekanizmasına Göre Antioksidanlar*

##### *A. Primer Antioksidanlar*

Birincil ya da zincir parçalayan antioksidanlardır. Elektron vererek serbest radikal zincirini kıran ve çoğunlukla fenolik yapıdaki bileşiklerdir. Serbest radikallerle reaksiyona girerek daha kararlı ürünler oluşturup, hidroperoksid oluşumunu engellerler. Doğal ve sentetik yapıda olabilirler. Tokoferoller, flavonidler, BHA, BHT, TBHQ ve alkali gallatlar örnek olarak verilebilir.

##### *B. Sekonder Antioksidanlar*

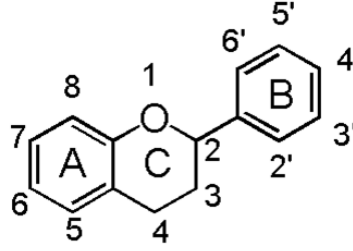
Oksidasyon hızını azaltan bileşiklerdir. Metal iyonlarını yakalamak, oksijen molekülünü tutmak, hidroperoksidleri radikal olmayan bileşiklere parçalamak, ultraviyole ışınlarını absorblamak ve oksijen atomunu etkisiz hale getirmek şeklinde görev yaparlar. Tek başlarına antioksidan etkileri azdır. Ortamda iki antioksidan madde bulunursa daha çok etki yaparlar. Bu şekilde antioksidan etkisini arttıran maddelere sinerjist adı verilir. Askorbik asid, sitrik asid, polifosfatlar ve tartarik asid gibi maddeler fenollü antioksidanların etkilerini arttırırlar.

### 2.2.2.3. Doğal Antioksidanlar

Doğal antioksidanlar bitkinin bütün kısımlarında bulunabilen fenolik ve polifenolik bileşiklerdir. Flavonidler, fenolik asid türevleri, naftokinonlar, kumarin, tokoferoller, C vitamini örnek olarak verilebilir.

#### A. Flavonoidler

Bitkilerde yaygın olarak bulunan fenolik maddelerdir. En çok sebze, meyve, fındık, şarap, kakao, çayda bulunurlar. Bitkilerin ise tohum, çiçek, yaprak ve köklerinde bulunurlar. Yapıları aromatik A halkasına birleşmiş heterosiklik C halkasından ve buna bağlı ikinci aromatik B halkasının birleşmesinden oluşur.



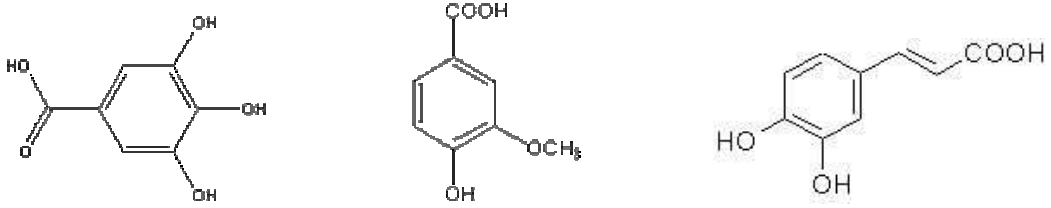
Şekil 2.5: Flavonoidlerin genel kimyasal yapısı

Bu yapının aromatik halkalarına hidroksi grubunun bağlanması ile oluşan flavonoidler antioksidan aktivite gösterirler [41]. Metal kelatlama, lipid peroksidasyonunu engelleme, reaktif oksijen türlerini içeren diğer süreçleri azaltma özellikleri vardır. Flavonoidlerin biyolojik aktiviteleri son yıllarda daha iyi anlaşılmıştır. Antioksidan, serberst radikal süpürücü ve antienflamatuar etkilerinin yanı sıra, farklı enzimlerin aktivitelerini arttırarak ve spesifik reseptörlerle etkileşerek de insan sağlığına faydaları gösterilmiştir. Flavonoidler, ayrıca vazodilatör etki gösterirler, bakır ve demir gibi metal iyonlarını şeletlama özelliğine sahiptirler. Besinlerdeki flavonoidler oksidatif strese karşı önemli eksojen savunma mekanizmalarıdır. Flavonoidlerin ateroskleroz, tromboz ve karsinogeneze olaylarında önemli etkisi olduğu düşünülen LDL oksidasyonunu önlediği de literatürde belirtilmektedir [45]. Koroner kalp hastalıklarını önleyici ve antikanserojen özelliğe de sahiptirler [46]. Flavonoidlerin ve metabolitlerinin antioksidan aktivitesi halkalı çekirdeksel yapılarındaki fonksiyonel grupların yerleşmesine bağlıdır. Flavonoidlerin yapılarındaki süstitüentlerin yerleşimi

flavon iskeletinin tek başına göstermiş olduğu antioksidan aktivitesinden daha yüksek olabilmektedir. Birçok polifenolik antioksidan birbirleriyle karşılaştırıldığında, hem konfigürasyonun hem de toplam hidroksi gruplarının antioksidan aktivitesini büyük oranda etkilediği görülmüştür [47-49].

### B. Fenolik Asidler

Bitkilerde çok yaygın miktarda bulunan, genellikle suda çözünen, fenolik bileşiklerdir [50]. Fenolik asidler fenil propanoidler adı ile de bilinirler. Hidroksi sinnamik ve hidroksi benzoik asid içeren iki gruptan oluşurlar. Fenolik asidlerin çoğunu hidroksi sinnamik asidler oluşturur [51]. Hidroksi benzoik asid türevleri hidroksi ve metoksi gruplarının yerleşimi ve çeşitlerine göre farklı isimler alırlar. p-hidroksi benzoik asid, gallik asid, vanilik asid, şiringik asid, resorsilik asid, protokateşik asid örnek olarak verilebilir.



Şekil 2.6: Gallik asid, Vanilik asid, Kafeik asid moleküllerinin kimyasal yapıları

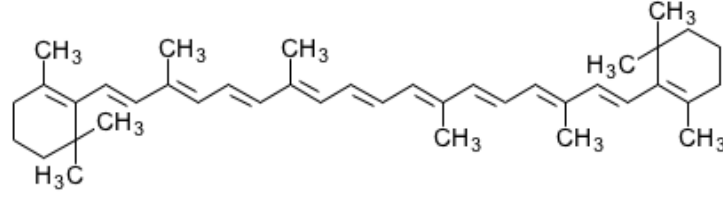
p-hidroksi benzoik asid, protokateşik asid, vanilik asid ve şiringik asid anjiospermelerde yaygın olarak bulunur. Gallik ve salisilik asidler ise daha çok molekülleri ya da organik asidle kombine olarak bitkilerde yer alırlar.

### C. Fenolik Polimerler (Tanenler)

Fenolik polimerler, yüksek molekül ağırlıklı bileşiklerdir. Yoğunlaşmış tanenler bu gruba girerler. Bugün besin tanenleri denilince genellikle kateşin ve epikateşinin polimerler anlaşılmaktadır. Koyu renkli ve tadı buruk bileşiklerdir. Kırmızı ve beyaz şarapta, elma ve nar suyunda mevcuttur [51].

#### D. Karotenoidler

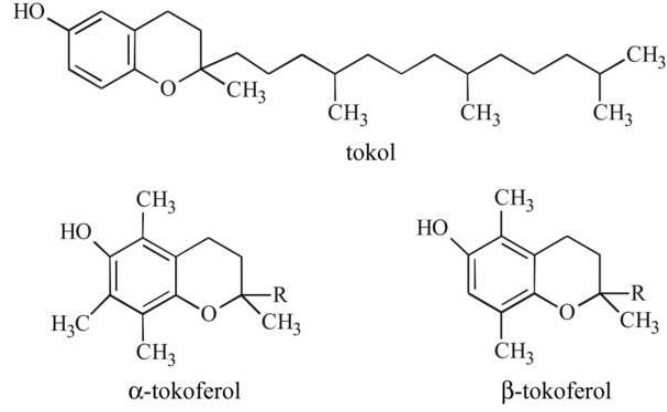
Karotenoidler, bitkilerde sentezlenirler fakat hayvanlar için önemlidirler. Yüksek derecede doymamış izoprenidlerdenirler. Çifte bağların konjuge oluşundan kuvvetli renklidirler. Açık sarıdan kırmızıya kadar renkli, birçok bitki ve hayvanlarda bulunan, azot içermeyen, suda çözünmeyen fakat yağlarda ve organik çözücülerde çözünen pigmentlerdir. Birçok sebze, meyve ve çiçeklerin karakteristik renkleri bunlardan ileri gelir. Havuç, mısır, domates, tereyağı, süt, yumurta sarısı ve birçok meyvede bolca bulunurlar. En yaygın kullanılanı A-provitamini olarak da bilinen  $\beta$ -karoten'dir.



Şekil 2.7:  $\beta$ -karoten molekülünün kimyasal formülü

#### E. E Vitamini ( $\alpha$ -Tokoferol)

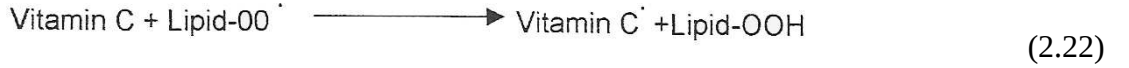
Tokoferol yapısında olup 7 farklı izomeri bulunmaktadır. Tokoferoller başlıca bitkisel ürünlerde bulunmaktadır. Özellikle bitkisel yağlarda, yeşil yapraklı sebzelerde, baklagillerde, ceviz, fındık, süt ve yumurtada bulunurlar. Tokoferollerin kimyasal yapıları birbirlerine benzese de, bunların biyolojik etkileri oldukça farklıdır. 3 metil grubu taşıyan  $\alpha$ -tokoferol vitamin olarak en etkili olanıdır ve sadece "E vitamini" denildiğinde  $\alpha$ -tokoferol anlaşılır.  $\beta$  ve  $\gamma$  tokoferoller,  $\alpha$  izomerinin yarısı kadar,  $\delta$  izomeri ise ancak yüzde biri kadar etkilidir. Tokoferoller, monofenolik yapıdaki doğal antioksidanlardır. Antioksidan etkileri vitamin etkilerinin tersine olarak  $\alpha$ 'dan  $\gamma$ 'ya doğru artar. Antioksidan aktivitesi en büyük olan  $\alpha$ -tokoferoldür. En yüksek vitamin E konsantrasyonu mitokondri ve mikrozomlar gibi membrandan zengin hücre kısımlarında bulunur. Çok güçlü bir antioksidan olan E vitamini hücre membran fosfolipidlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal etkilerinden koruyucu savunma elemanıdır.



Şekil 2.8: Tokoferollerin kimyasal yapıları

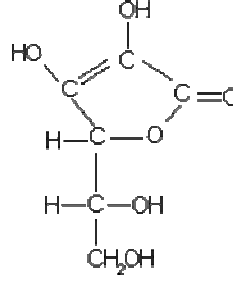
#### F. C Vitamini (Askorbik Asid)

Kapalı formülü  $C_6H_8O_6$  olan bir ketolaktondur. Yapısı karbohidratlardan heksozlara benzer. Heksanoik asidin laktonudur. Hayvanların çoğu C vitamini sentezini kendisi yapabilirken insanlar yapamaz. C vitamini vücutta hidroksiasyon reaksiyonları, demir emiliminde görev alır. Ayrıca sulu peroksil radikalleri ile reaksiyona girerek antioksidan görevini de yerine getirir [42].



C vitamini kollajen yapısında yer alan hidroksiprolin sentezini sağlayan prolin hidroksiazdaki demirin indirgenmesinde görev alır. Hidroksiasyon bozukluğunda; kıkırdak, dentin, kemiklerdeki intrasekiler bağ doku proteinlerinin sentezi bozulur. C vitamini eksikliğinde; kemik büyümesi geriler, kan damarları kolay zedelenir, skorbüt hastalığı oluşur, yaralar geç iyileşir, diş gelişimi bozulur, diş eti kanamaları olur. Kapiler damarların zedelenmesine bağlı peteşi ve ekimozlar görülür. Çocuklarda C vitamini eksikliği sonucu Barlow hastalığı ile kurbağa ayağı pozisyonu görülür, diş etleri şişer ve kanar.

C vitamini en çok yabani gül tohumu, limongiller, kuş üzümü, taze sebze ve meyvelerde, özellikle portakal, greyfurt gibi turuncgillerde, çiğ lahana, domates ve salgamda bulunur. Vücutta depolanmadığından, her gün düzenli olarak alınması gerekir [52].

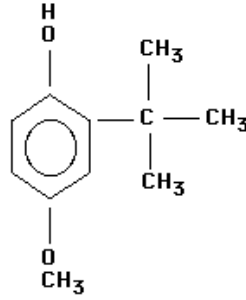


Şekil 2.9: Askorbik asidin kimyasal yapısı

#### 2.2.2.4. Sentetik Antioksidanlar

##### A. Bütillenmiş Hidroksi Anisol (BHA)

Beyaz mumsu, katı bir yapıya sahiptir. Erime noktası yaklaşık 48-63 °C dir.

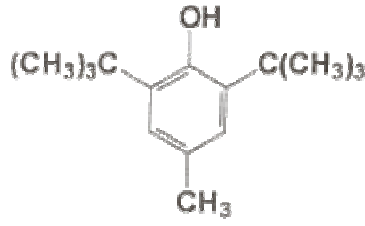


Şekil 2.10: BHA molekülünün kimyasal yapısı

BHA  $C_{11}H_{16}O_2$  ; 3-tertiyer bütıl-4-hidroksi anisol (%90) ve 2-tertiyer bütıl-4-hidroksi anisol (%10) izomerlerinin karışımı halinde bulunur. Bitkisel ve hayvansal yağlarda kolay çözünebilen, suda çözünmeyen etkili bir sentetik antioksidandır. BHA gıdalarda % 0.02 oranında kullanılır. Hayvansal yağlar ve bu yağlarla yapılan bisküvi, pasta ve patates cipsinde etkili antioksidan olarak kullanılırlar [44].

##### B. Bütillenmiş Hidroksi Toluen (BHT)

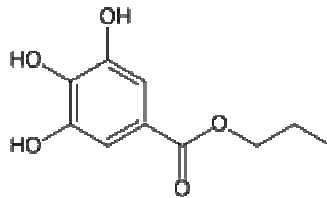
Beyaz renkli kristal yapıda bir maddedir. (2,6 di terciyer butıl 4-metil fenol)  $C_{15}H_{24}O$  formülüne sahip bitkisel ve hayvansal yağlarda çözünen, suda çözünmeyen bir yapıya sahiptir.



Şekil 2.11: BHT molekülünün kimyasal yapısı

### C. Propil Gallatlar (PG)

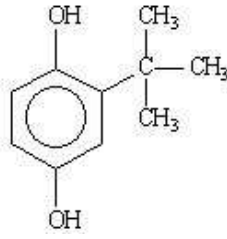
Propil gallat, ticari olarak gallik asidin propil alkol ile esterifikasyonu sonucu üretilir. Beyaz renkli kristal toz halinde bir madde olup suda az çözünür, erime noktası da  $148^{\circ}\text{C}$ ' dir. Propil gallat, demir iyonları ile mavi-siyah renkte bir kompleks oluşturur. Bunu önlemek için PG daima sitrik asitle birlikte kullanılır. Propil gallatlar, BHA ve BHT ile iyi sinerjistik etki gösterirler. PG, bitkisel ve hayvansal yağlarda, et ürünlerinde, taze ve dondurulmuş salam ve soslerde antioksidan olarak kullanılır.



Şekil 2.12: Propil gallat molekülünün kimyasal yapısı

### D. Tersiyer Butil Hidrokinon (TBHQ)

$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_2$  , Yüksek sıcaklıklara dayanıklı, yağlarda orta derecede, suda ise çok az çözünebilen, beyaz ile sarımsı kahverengi arası bir renkte, kristal yapıda bir madde olup, erime noktası  $127^{\circ}\text{C}$ ' dir. Yüksek sıcaklıklara dayanıklıdır. Gıdalara %0.02 oranında katılır [44].



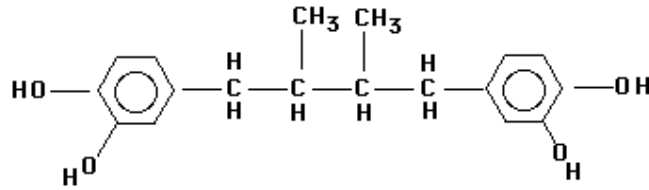
Şekil 2.13: TBHQ molekülünün kimyasal yapısı

THBQ, doymamış yağ asitlerinde kullanıldığında diğer antioksidanlara göre daha etkilidir ve birçok avantajları vardır. Bunlar;

- Yağlarda kullanıldığında tadı ve kokusu fark edilmez.
- Yağlarda iyi çözünebilme özelliğine sahiptir.
- Demir ihtiva eden ortamda kullanıldığında renk değişimine uğramaz.
- Fırınlanacak ve kızartılacak ürünlerde de kullanılır.
- Tokoferollerden daha iyi stabilite etkisine sahiptir.
- Hayvansal yağlarda, kümes hayvanlarında ve bitkisel yağlarda etkilidir.

#### *E. Nordihidroguareyetik Asid (NDGA)*

NDGA, toksik etkisi yüksek, yağlardaki çözünürlüğü az olan bir sentetik antioksidandır. Özellikle domuz yağı için etkili bir antioksidandır. Gıdalara % 0.01 oranında katılır [44].



Şekil 2.14: NDGA molekülünün kimyasal yapısı

#### *2.2.2.5. Kaynaklarına Göre Antioksidanlar*

Antioksidanlar kaynaklarına göre sınıflandırıldıklarında endojen ve eksojen olmak üzere ikiye ayrılır. Bunlardan endojen antioksidanlar ise enzimatik ve nonenzimatik olarak iki grupta incelenir. Endojen ve eksojen kaynaklı antioksidanlar tablo 2.4. te gösterilmektedir:

Tablo 2.4: Endojen ve eksojen kaynaklı antioksidanlar

| ENDOJEN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | EKSOJEN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p><b><i>Enzimatik</i></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)</li> <li>• Glutasyon Redüktaz (GSH-R)</li> <li>• Glutasyon-S-Transferaz (GST)</li> <li>• Hidroperoksidaz</li> <li>• Katalaz (CAT)</li> <li>• Peroksidaz</li> <li>• Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz (Solunum zinciri son enzimi)</li> <li>• Süperoksid Dismutaz (SOD)</li> </ul> <p><b><i>Nonenzimatik</i></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Albumin</li> <li>• Askorbik asid (C vitamini)</li> <li>• Alfa- Tokoferol (E vitamini)</li> <li>• Beta-Karoten</li> <li>• Bilirubin</li> <li>• Ferritin</li> <li>• Glutasyon</li> <li>• Haptogloblin</li> <li>• Hemoglobin</li> <li>• Laktoferrin</li> <li>• Melatonin</li> <li>• Retinoik asid</li> <li>• Seruloplazmin</li> <li>• Sistein</li> <li>• Transferrin</li> <li>• Ubikinol</li> <li>• Ürat</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Albumin</li> <li>• Aneztezikler</li> <li>• Asetil Sistein</li> <li>• Besinlere Eklenenler <ul style="list-style-type: none"> <li>- BHA</li> <li>- BHT</li> <li>- Etoksiguin</li> <li>- Fe Süperoksid Dismutaz</li> <li>- Propil Gallat</li> <li>- Sodyum Benzoat</li> </ul> </li> <li>• Desferroksamin (Fe tutucu)</li> <li>• DMSO</li> <li>• Ebselen</li> <li>• Flavonoidler</li> <li>• Kalsiyum Kanal Blokerleri</li> <li>• Ksantin Oksidaz İnhibitörleri <ul style="list-style-type: none"> <li>- Allopürinol</li> <li>- Folik asid</li> <li>-Oksipürinal</li> <li>- Pterin Aldehit</li> </ul> </li> <li>• Mannitol</li> <li>• Probukol</li> <li>• Rekombinant</li> <li>• Antioksidan Enzimler (r-SOD)</li> <li>• Serüloplazmin</li> <li>• Steroid Yapıda Olmayan Antiflematuarlar</li> <li>• Troloks-C</li> <li>• Taurin</li> </ul> |

### 2.2.3. Akyıldız

Akyıldız soğanı, *Ornithogalum sigmoideum* L. (Liliaceae) ve buna benzer diğer türlerin taze yumrusudur. Bu tür 20-30 cm yükseklikte, beyaz çiçekli, otsu ve çok yıllık bir bitkidir. Çiçekler gövdenin ucundan ve 8-20 tanesi bir arada bulunur [53]. Tükrük otu, karga soğanı, sakarca, köpek soğanı ve kurt soğanı gibi isimleri de bulunan akyıldız, Anadolu’da yaygın bir türdür [54]. Anadolu’nun bazı bölgelerinde (Konya) kurutulmuş akyıldız soğanının yumruları toz hale getirilerek, salep yerine dondurma yapımında kullanılmaktadır. Bu bitkinin yumruları müsilaj taşıdığından dondurmaya kıvam vermektedir.

Akyıldız bitkisi Karadeniz bölgesinde bahçelerde yetişmekte ve sebze olarak tüketilmek üzere pazarlarda satılmaktadır. Orta Karadeniz’ de halk arasında ‘sakarca’ olarak bilinmektedir.

Yumrular Dioscorides döneminden beri kusturucu ve çıban açıcı olarak tanınmıştır. Taze veya pişmiş yumru çıban üzerine sarılır ve çıbanın olgunlaşıp açılması sağlanır. Anadolu’da 30 kadar *Ornithogalum* türü bulunmaktadır.

Akyıldız yumruları bol miktarda iğne şeklinde kristaller ve az miktarda, küçük taneler halinde (çapları 18-28 mikron) nişasta taşıması nedeni ile diğer bitkisel droglardan mikroskobik analiz sonucu kolaylıkla ayrılabilir.

Çalışmamızda Karadeniz Bölgesi’nde sebze olarak tüketilen akyıldızın antioksidan etkisinin olup olmadığı incelenmiştir.



Şekil 2.15: Akyıldızın kök ve çiçek görünümleri



Şekil 2.16: Akyıldızın çeşitli görünüşleri

### 3. MALZEME VE YÖNTEM

#### 3.1. DENEYDE KULLANILAN ALETLER

|                   |                                        |
|-------------------|----------------------------------------|
| Buzdolabı         | : Arçelik                              |
| Destile Su Cihazı | : Brand MonoDest 3000                  |
| Deepfreeze        | : Beko                                 |
| Etüv              | : Nüve FN500                           |
| Evaporatör        | : Bibby Rotary Vacum Evaporator        |
| Fırın             | : Heraus                               |
| pH Metre          | : Backman pH Meter H5                  |
| Santrifüj Cihazı  | : Denley BS400                         |
| Spektrofotometre  | : Shimadzu UV Visible UV-120-02        |
| Spektrofotometre  | : Cary 1E UV-Visible Spectrophotometer |
| Sonikatör         | : Bandelin Sonarex                     |
| Su Banyosu        | : Bibby Waterbath RE100B               |
| Su Banyosu        | : Nüve BM 101                          |
| Su Banyosu        | : Clifton                              |
| Terazi            | : Mettler 110 Hassas Terazi            |
| Terazi            | : 1Gec Avery Terazi                    |
| Vorteks           | : Fisons Whirlimixer                   |

#### 3.2. DENEYDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Akyıldızın aseton ve etil alkollü ekstraherinin hazırlanmasında aseton (Merck) ve etil alkol (%96'lık) gibi çözücüler kullanıldı.

Ekstrelerin toplam fenolik bileşik miktarı tayininde sodyum tungstat (Merck 106673), sodyum molibdat (Merck 386021),  $H_3PO_4$  (Merck 100563), HCl (Merck 100314) ve  $LiSO_4$  (Fluka 62609), brom (Merck) kullanılarak Folin reaktifi hazırlandı. Hazırlanan Folin reaktifi ile %2  $Na_2CO_3$  (Merck 106398) kullanılarak ekstrelerin fenolik bileşik miktarları tayin edildi. Standart olarak pirokateşol kullanıldı.

Total flavonoid miktarı tayininde ise %0.5' lik sodyum nitrit (Merck 6544), %10' luk  $AlCl_3$  (Merck 1064), 1 M NaOH' den yararlanıldı. Standart olarak kateşin kullanıldı

İndirgeyici güç miktar tayininde  $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$  (Merck 106345) ve  $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$  (Merck 106573)' tan pH= 6.6 olan 0.2 M fosfat tamponu hazırlandı. Deneyde %1' lik potasyum ferrisiyanür (Riedel de Häen 12643), %10' luk TCA (Merck 100807), %0.1' lik  $FeCl_3$  (Merck 3948) ve standart olarak  $\alpha$ -tokoferol (Sigma T-3376) kullanıldı.

DPPH radikal giderme aktivitesi deneyinde ise DPPH (Sigma D9132) ve metanol (Riedel-de Häen 24229) kullanıldı. Standart olarak troloks (Calbiochem 648471) ve BHT (Fluka 34750) kullanıldı.

Hidroksi radikali giderme aktivitesi deneyinde ise 0.2 M sodyum fosfat pH= 7, 10 mM 2-deoksiriboz (Fluka 31170), 10 mM  $FeSO_4$ -EDTA, 10 mM  $H_2O_2$  (Merck 108600), %2.8 TCA (Merck 100807), %1 TBA (Fluka 88481) ve 50 mM NaOH kullanılarak aktivite tayini yapıldı.

ABTS radikal giderme aktivitesi deneyinde ise 7.4 mM ABTS (Fluka 11557), metanol (Riedel de Häen 24229) ve standart olarak troloks (Calbiochem 648471) kullanıldı.

Metal kelatlama aktivite tayininde ise 2 mM  $FeCl_2$  (Merck 3860) ve 5 mM ferrozin (Fluka 82950) kullanılarak deneyler yapıldı. Standart olarak EDTA ve sitrik asid kullanıldı.

### 3.2. BİTKİ MATERYALİ

Ordu'dan Mart ve Nisan aylarında sağlanan taze akyıldız (*Ornithogalum sigmoideum* Freyn et Sint.) bitkisinin tümü alınarak destile su ile yıkandı. Süzgeç kağıdı ile kurulandıktan sonra küçük parçalara ayrıldı. Bitkinin teşhisi İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi emekli Öğretim Üyesi, Prof. Dr. Kerim ALPINAR tarafından yapıldı. Akyıldızdan sulu, etil alkollü ve asetonlu ekstreler hazırlandı. Ekstre hazırlanmasında bitkinin kök, yaprak ve çiçek kısımlarının tümü kullanıldı.

#### 3.2.1. Sulu Ekstrenin Hazırlanması

100 g bitki balona konularak üzerine 1000 mL destile su ilave edildi. Karışım geri soğutucu altında 5 saat reflüks edildi. Elde edilen karışım soğutuldu ve süzgeç kağıdından süzüldü. Süzüntü, önceden darası alınan balona konuldu. Balon rota evaporatöre yerleştirilerek karışımın suyu uzaklaştırıldı. Elde edilen ekstre miktarı 165 mg/g bitkidir.

#### 3.2.2. Etil Alkollü Ekstrenin Hazırlanması

50 g bitki balona konularak üzerine 250 mL %96' lık etil alkol ilave edildi. Karışım Soxhlet cihazına yerleştirilerek 4 saat reflüks edildi. Elde edilen karışım soğutuldu ve süzgeç kağıdından süzüldü. Süzüntü önceden darası alınan balona konuldu. Balon rota evaporatöre yerleştirilerek etil alkol karışımdan uzaklaştırıldı. Elde edilen ekstre miktarı 2,58 mg/g bitkidir.

#### 3.2.3. Asetonlu Ekstrenin Hazırlanması

100 g bitki balona konularak üzerine 350 mL aseton ilave edildi. Karışım Soxhlet cihazına yerleştirilerek 4 saat reflüks edildi. Elde edilen karışım soğutuldu ve süzgeç kağıdından süzüldü. Süzüntü önceden darası alınan balona konuldu. Balon rota evaporatöre yerleştirilerek aseton karışımdan uzaklaştırıldı. Elde edilen ekstre miktarı 9,22 mg/g bitkidir.

Çalışmamızda hazırlanan tüm ekstrelerin UV-görünür absorpsiyon spektrofotometresinde spektrumları alındı.

### 3.3. ANTİOKSİDAN AKTİVİTE DENEYLERİ

#### 3.3.1. Total Fenolik Bileşik Miktarı Tayini

Ekstrelerdeki toplam fenolik bileşik miktarı Folin-Ciocalteu reaktifi ile Slinkard ve arkadaşlarının metoduna göre belirlendi [55].

Standart fenolik bileşik olarak pirokateşol kullanıldı. Önce standart grafik çizmek amacıyla 25 mg pirokateşol 25 mL destile suda çözülerek (1mg/mL) stok çözelti hazırlandı. Bu stok çözeltiden 20, 40, 60, 80 ve 100µg/mL lik çözeltiler hazırlandı. Tüplere 0,1 mL destile su ve standart çözeltiden ilave edildi. Sonra tüplere sıra ile 0,1 mL Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edildi. 3 dakika sonra %2 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisinden 3 mL ilave edildi. Karışım 2 saat boyunca karanlıkta oda sıcaklığında çalkalandı. Benzer şekilde numuneler ve kör de hazırlandı.

Daha sonra standardın ve numunelerin absorbansı 760 nm' de köre karşı okundu. Numunelerin absorbans değerlerine karşılık gelen pirokateşol miktarı standart grafik denklemi kullanılarak tespit edildi ve sonuçlar pirokateşol ekivalent şeklinde ifade edildi.

#### 3.3.2. Total Flavonoid Miktarı Tayini

Bitki ekstrelerinde total flavonoid miktarı Zhishen, Megcheng Jianming metoduna göre tayin edildi [56].

Standart flavonoid bileşik olarak kateşin kullanıldı. standart grafik çizmek amacıyla 2, 4, 6, 8 mg/mL lik kateşin çözeltileri hazırlandı. Kateşin çözeltilerinden ve bitki ekstraktının farklı derişimlerdeki çözeltilerinden (1000 µg-4000 µg/mL) 0.25 mL alındı. Üzerine 1.25 mL destile su ve 75 µL %5' lik NaNO<sub>2</sub> ilave edildi. 6 dakika oda temperaturünde bekletildi. Üzerine 150µL %10' luk AlCl<sub>3</sub> çözeltisi ilave edilerek tekrar

5 dakika bekletildi. 0.5 mL 1 M NaOH çözeltisi ve 275 µL destile su ilavesinden sonra tüpler iyice karıştırılarak 510' nm de absorbans değerleri okundu.

Ekstrelerin flavonoid miktarı gram ekstrede mg kateşine eşdeğer olarak olacak şekilde hesaplandı.

### 3.3.3. İndirgeme Gücü

Ekstrelerin indirgenme gücü tayini Oyaizu metoduna göre yapıldı [57]. 100-400 µg/mL lik standart ve bitki ekstresi çözeltileri hazırlandı. Standart olarak E vitamini kullanıldı. Üzerine pH= 6.6 olan 0.2 M fosfat tamponundan 2.5 mL ilave edildi. Daha sonra %1'lik  $K_3[Fe(CN)_6]$  den 2.5 mL ilave edilerek karışım su banyosunda 50°C' de 20 dakika inkübe edildi. Bu işlemten sonra reaksiyon karışımlarına 2.5 mL %10'luk triklorasetikasid (TCA) ilave edildi. Tüpler karıştırıldı. 3000 rpm' de 10 dakika santrifüje edildi. Çözeltinin üst fazından 2.5 mL alındı. Üzerine 2.5 mL destile su ve 0.5 mL %0.1'lik  $FeCl_3$  ilave edildi. 10 dakika beklenildi. Spektrofotometrede 700 nm' de köre karşı absorbans değeri ölçüldü. Körün hazırlanmasında 5 mL destile su alındı. Üzerine 2.5 mL  $FeCl_3$  ilave edildi. Ekstrelerin ve standardın indirgeme gücü, grafik denklemi kullanılarak hesaplandı ve grafikleri çizildi.

### 3.3.4. Serbest Radikal Giderme Aktivitesi (DPPH)

Serbest radikal giderme aktivitesi Brand-Williams metoduna göre 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikali kullanılarak yapıldı [58, 59].

Metanolde günlük olarak 20 mg/L DPPH çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiden 1.5 mL alınarak üzerine farklı konsantrasyonlarda hazırlanan bitki ekstrelerinden 0.75 mL ilave edildi. 5, 10, 30 ve 60. dakikalarda köre karşı absorbans değeri 517 nm' de spektrofotometrede ölçüldü. Kontrol olarak 0.75 mL metanol ve 1.5 mL DPPH çözeltisi kullanıldı. Kör olarak sadece metanol kullanıldı. Standart olarak Troloks ve BHT kullanıldı. Azalan absorbans değeri geriye kalan DPPH çözelti miktarını yani serbest radikal giderme aktivitesini verir.

Serbest radikal giderme aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki formül yardımı ile hesaplandı:

$$\text{Serbest Radikal Giderme Aktivitesi (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

$A_0$ =Kontrol absorbans değeri

$A_1$ =Örnek absorbans değeri

### 3.3.5. Hidroksi Radikali Giderme Aktivitesi

Hidroksi radikali giderme aktivitesi deoksiriboz metoduna göre yapıldı [60]. Reaksiyon karışımı 450 µL 0,2 M sodyum fosfat (pH:7), 150 µL 10 mM 2-deoksiriboz , 150 µL 10 mM FeSO<sub>4</sub>-EDTA, 525 µL bidistile su ve 150 µL 10 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>’ den ibaret olan reaksiyon karışımına 75 µL örnek numune çözeltisi ilave edildi. Reaksiyon H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilavesi ile başlatıldı. 37°C’ de 4 saat inkübasyondan sonra 750 µL % 2,8’lik TCA ve 50 mM NaOH’deki %1’lik TBA çözeltisinden 750 µL ilave edildi ve 10 dakika kaynatıldı. Tüpler soğutulularak 520 nm de absorbans değerleri okundu. Numune içermeyen reaksiyon karışımı kontrol olarak kullanıldı.

Hidroksi radikal giderme aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki formül yardımı ile hesaplandı:

$$\text{Hidroksi Radikal Giderme Aktivitesi (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

$A_0$ =Kontrol absorbans değeri

$A_1$ =Örnek absorbans değeri

### 3.3.6. ABTS Radikal Giderme Aktivitesi

1 mL destile suda 7,4 mM ABTS (2,2’-Azino-bis (3-etilbenzenothiazoline-6-sülfonik asid)) çözülerek 12 saat karanlıkta bekletildi. Bu karışımdan 1 mL alındı. Üzerine 60 mL metanol ilave edildi. Bu çözeltinin 734 nm’ de spektrofotometrede absorbansı metanole karşı okundu. ABTS radikal katyonunu 734 nm’ deki absorbansı 1,1-0,02 ünitedir. Her deney için bu karışım taze olarak hazırlandı. Hazırlanan metanollü ABTS çözeltisinden 2,850 µL alındı. Üzerine 150 µL bitki ekstresi konuldu. 2 saat karanlıkta

bekletildi. Spektrofotometrede 734 nm' de absorbands değeri okundu. Standart olarak Troloks kullanıldı. Troloks yardımı ile çizilen standart eğriden ABTS radikal giderme aktivitesi hesaplandı [61].

### 3.3.7. Metal Kelatlama Aktivitesi

Ekstrelerin metal kelatlama aktivitesi Decher ve Welch yöntemine göre yapıldı [62].

Farklı konsantrasyonlarda 1 mL ekstre alındı. Üzerine 3.7 mL bidestile su ve 2 mM FeCl<sub>2</sub>' den 0.1 mL ilave edildi. Karışım 5, 10, 30 ve 60 dakika karanlıkta bekletildi. Reaksiyon 5 mM ferrozinden 0.2 mL ilave edilmesi ile başlatıldı. Çözelti vortekste kuvvetli bir şekilde karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. İnkubasyondan sonra çözeltinin 562 nm' de absorbandsı bidestile suya karşı okundu. Kontrol olarak 4.7 mL destile su alındı. Üzerine 0.1 mL FeCl<sub>2</sub> ve ferrozin ilave edilerek yukarıda belirtilen şekilde yapıldı.

Metal kelatlama aktivitesi (% inhibisyon) aşağıdaki formül yardımı ile hesaplandı:

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

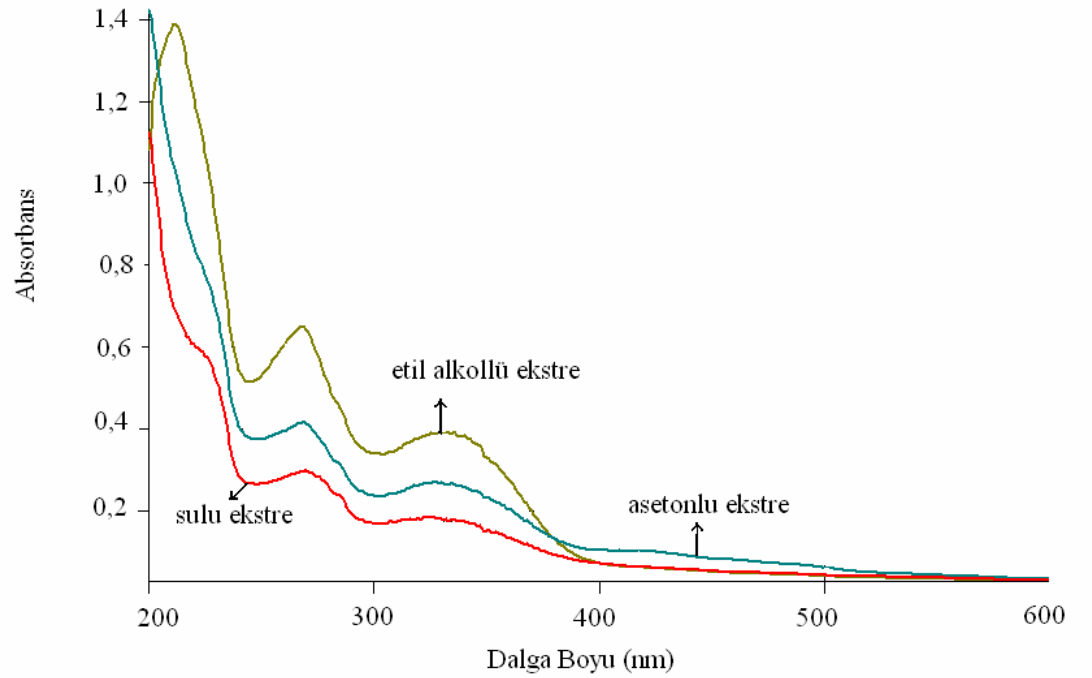
A<sub>0</sub>=Kontrol absorbands değeri

A<sub>1</sub>=Örnek absorbands değeri

#### 4. BULGULAR

UV-görünür absorpsiyon spektrofotometresi fenolik bileşiklerin yapısal analiz tayinleri için en faydalı yöntemlerden biridir. Akyıldız bitkisinden hazırlanan sulu, etanollü ve asetonlu ekstreleri için UV-görünür spektrumlar Şekil 4.1’ de verildi. Fenolik bileşikler UV-görünür absorpsiyon spektrofotometresinde 2 maksimum absorpsiyon bandı gösterirler. 1.band 320-380 nm arasında, ikinci band ise 250-285 nm arasındadır [63]. Bütün antosiyaninler ve flavon, flavonal türevleri 250-285 nm arasında spektrum verir.

Çalışmada bütün ekstrelerde 280 nm’ de ve 320 nm’ de maksimum absorbans pikleri görüldü. Bitkilerde flavon/flavonol türevlerinin veya antosiyaninin varlığı 220 nm’ de bir pik şeklinde görülmektedir. Çalışmada sadece etil alkollü ekstrede 220 nm’ de maksimum bir pik görülmektedir. Bu da etil alkollü ekstrede flavon/flavonol türevleri ile antosiyaninlerin varlığını göstermektedir.



Şekil 4.1: Akyıldız bitkisinin sulu, etil alkollü ve asetonlu ekstreleri için UV-görünür spektrumları

#### 4.1. TOTAL FENOLİK BİLEŞİK MİKTAR TAYİNİ

$\text{CuSO}_4$  alkali ortamda protein veya antioksidanla kompleks oluşturur. Folin reaktifi ilave edildiğinde Folin reaktifi protein ile bağlanır. Protein veya antioksidanla  $\text{Cu (II)}$ 'nin reaksiyonundan açığa çıkan  $\text{Cu (I)}$  molibdotungstat reaktifini heteropoli mavisine indirger ve rengi sarıdan maviye dönüşür.

Toplam fenol miktarı değişik polaritedeki ekstrelerde tayin edildi. Toplam fenol içeriği pirokateşol ekivalenti olarak ifade edildi. Çalışmada en yüksek miktarda fenolik bileşik asetonlu ekstre olarak tespit edildi. Alınan ekstre miktarına bağlı olarak toplam fenolik bileşik miktarında da artış olduğu Tablo 4.1' de saptandı. Ekstrelerin toplam fenolik madde içerikleri sırası ile asetonlu>etanollü>sulu ekstre' dir. Sulu ekstrenin toplam fenolik içeriği ise en düşük olarak bulunmuştur.

Tablo 4.1: Akyıldızın sulu, etil alkollü, asetonlu ekstrelerinin fenolik bileşik miktarlarının pirokateşol ekivalenti olarak değerlendirilmesi (mg/g)

| Ekstre Miktarı<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) | Sulu Ekstre      | Etil Alkollü Ekstre | Asetonlu Ekstre  |
|----------------------------------------|------------------|---------------------|------------------|
| 100                                    | $10.13 \pm 0.41$ | $16.41 \pm 0.39$    | $17.40 \pm 0.47$ |
| 200                                    | $11.89 \pm 0.52$ | $23.86 \pm 0.60$    | $27.15 \pm 9.10$ |
| 300                                    | $14.71 \pm 2.08$ | $29.67 \pm 0.85$    | $39.47 \pm 0.76$ |
| 400                                    | $17.05 \pm 2.89$ | $35.25 \pm 0.66$    | $50.86 \pm 0.90$ |

#### 4.2. TOTAL FLAVONOİD BİLEŞİK MİKTAR TAYİNİ

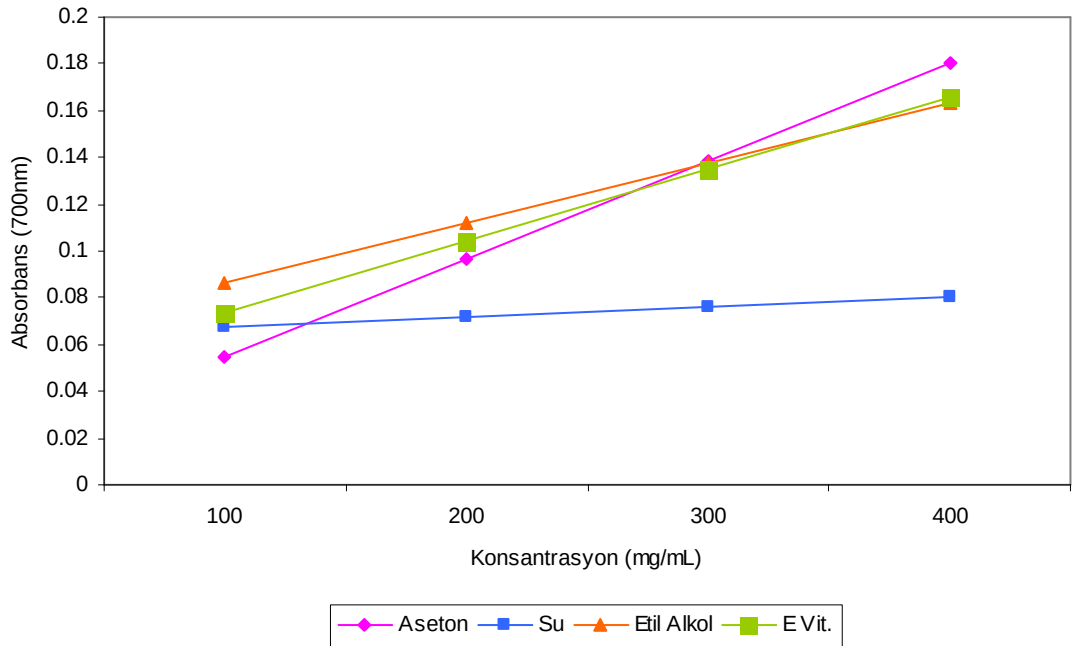
Akyıldız bitkisinin sulu, etanollü ve asetonlu ekstrelerinin total flavonoid miktarları Tablo 4.2' de verildi. Ekstrelerin flavonoid miktarları mg/g kateşin eşdeğeri olarak ifade edildi. Ekstrelerin total flavonoid miktarları sırasıyla asetonlu>etil alkollü>sulu ekstre şeklinde sıralanmaktadır. Tablo 4.2' ye göre en yüksek flavonoid miktarının asetonlu ekstrede olduğu görülmektedir. Ekstrelerin konsantrasyonuna bağlı olarak flavonoid miktarı da artmaktadır. Sulu ekstrede toplam fenolik madde içeriğinde olduğu gibi flavonoid madde içeriğinin de düşük miktarda olduğu görülmektedir.

Tablo 4.2: Akyıldızın sulu, etil alkollü, asetonlu ekstralarının flavonoid miktarlarının kateşin ekivalenti olarak değeriendirilmesi (mg/g)

| Ekstre Miktarı (µg/mL) | Sulu Ekstre | Etil Alkollü Ekstre | Asetonlu Ekstre |
|------------------------|-------------|---------------------|-----------------|
| 1000                   | 2.66 ± 0.17 | 11.96 ± 1.11        | 19.87 ± 0.55    |
| 2000                   | 3.20 ± 0.38 | 20.22 ± 2.05        | 38.62 ± 1.08    |
| 3000                   | 3.46 ± 0.65 | 31.38 ± 1.56        | 63.69 ± 1.55    |
| 4000                   | 4.80 ± 0.45 | 44.18 ± 2.29        | 85.91 ± 3.60    |

### 4.3. İNDİRGE ME GÜCÜ

Çalışmada kullanılan bütün ekstraların indirgeme kuvveti Oyaizu metoduna göre  $Fe^{+3}$ , ün  $Fe^{+2}$ , ye indirgenmesine göre yapıldı [57]. Bir bileşik veya ekstranın indirgenme kapasidesi o bileşik veya ekstranın antioksidan aktivitesinin önemli bir indikatörü olarak bilinir [63]. Çalışmamızda akyıldız ekstralarının indirgeme gücünün ekstre miktarına bağı olarak arttığı Şekil 4.2’ de görölmektedir. En yüksek indirgeme gücüne asetonlu ekstranın, en düşük indirgeme gücüne ise sulu ekstranın sahip olduğu Şekil 4.2’ de gözlenmektedir. Asetonlu ekstranın E vitamininden daha yüksek bir indirgeme gücüne sahip olduğu Şekil 4.2’ de görölmektedir.



Şekil 4.2: Akyıldız bitkisinin sulu, etil alkollü, asetonlu ekstralarının ve E vitamininin indirgeme güçleri

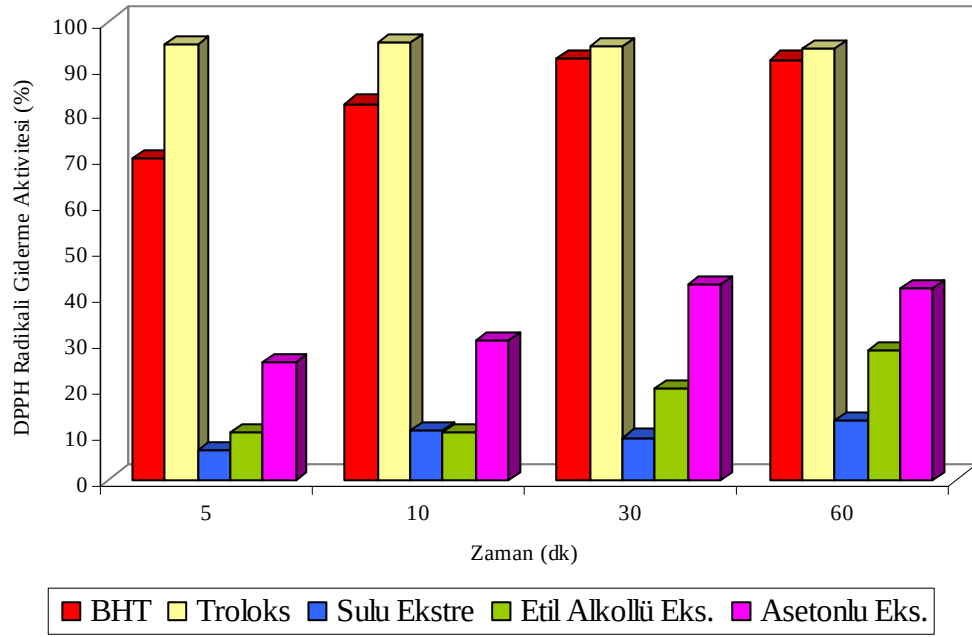
#### 4.4. SERBEST RADİKAL GİDERME AKTİVİTESİ (DPPH)

Genel olarak kimyasal maddelerin elektron verme yetenekleri lipid peroksidasyonuna karşı gösterdikleri antioksidan aktivitenin sonucudur. DPPH serbest radikal giderme aktivitesi hidrojen verme potansiyelinin araştırılması için en kısa ve en ucuz yöntemlerden biridir [64].

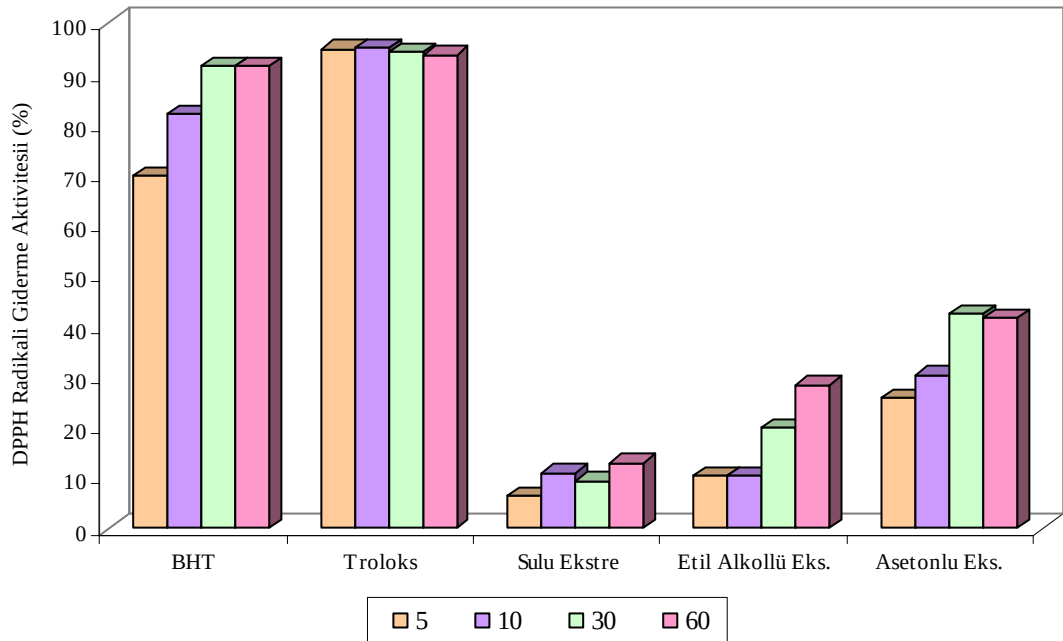
DPPH, bir serbest radikaldir. Bir elektron veya hidrojen radikali ile etkileşerek stabil diyamagnetik bir molekül olma eğilimindedir [65, 66]. Çalışmada DPPH radikal giderme aktivitesi Şekil 4.3' te verildi.

Çalışmada sulu, etanollü ve asetonlu ekstrelerin DPPH serbest radikal giderme aktiviteleri % inhibisyon olarak değerlendirildi ve sentetik antioksidan olan BHT ve Troloks serbest radikal giderme aktivite değerleri ile karşılaştırıldı. Bu değerler Şekil 4.3' te verildi. DPPH serbest radikal giderme aktivitesinin asetonlu ekstrede BHT ve Troloks ile karşılaştırıldığında en yüksek oranda olduğu görüldü. Test edilen madde konsantrasyonu ile antioksidan aktivitesi doğru orantılı bir şekilde arttığı görüldü. 5, 10, 30 ve 60. dakikalarda hesaplanan % inhibisyon değerleri genelde 60. dakikada en yüksekti. Ancak Troloks ve asetonlu ekstrede 30. ve 60. dakikalarda % inhibisyonda bir azalma olduğu görüldü. Ekstrelerin serbest radikal giderme aktivitesi sırasıyla aseton>etil alkollü >sulu ekstre şeklindedir.

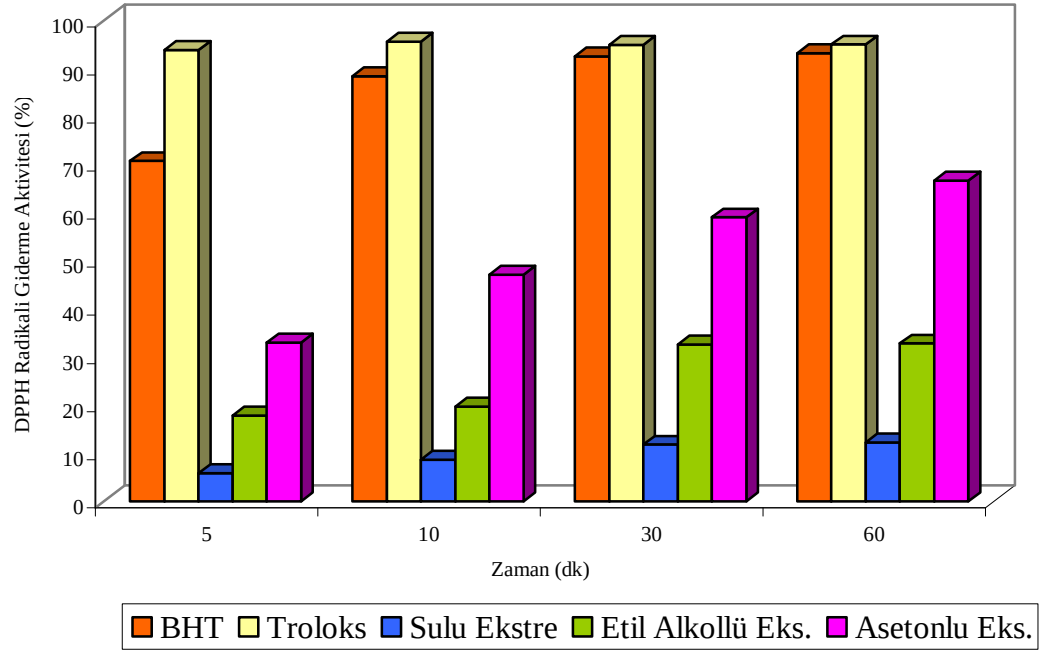
Akyıldız bitki ekstrelerinin çeşitli konsantrasyonlardaki DPPH radikali giderme aktiviteleri zamana göre sütun grafiği ile gösterilmiştir. (Şekil 4.3-4.8)



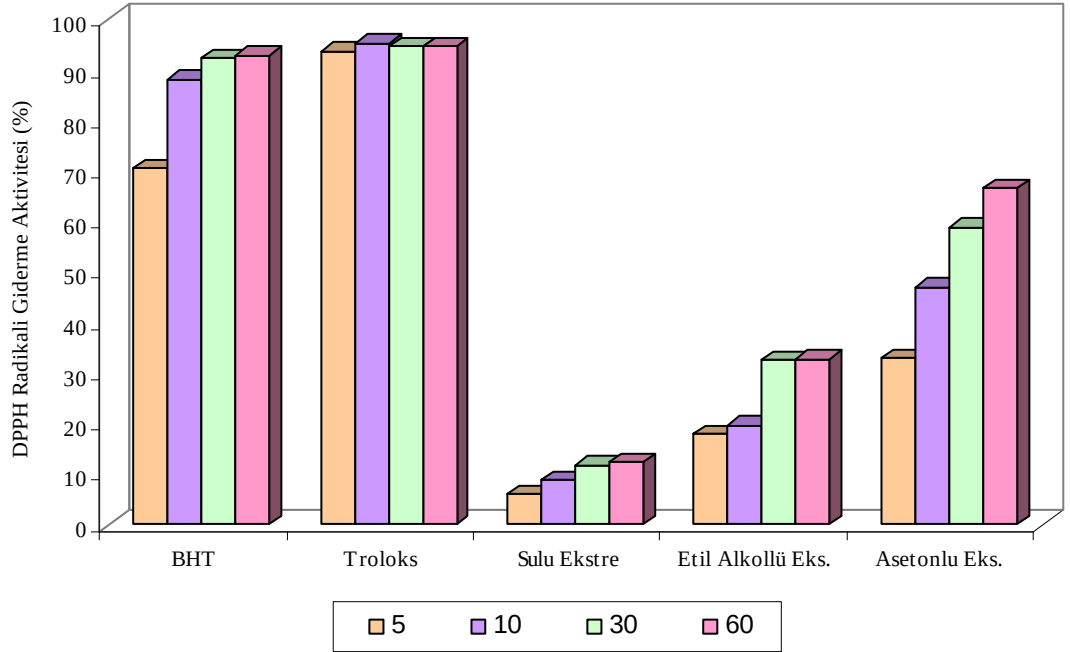
Şekil 4.3: Akyıldız bitkisinin sulu, etil alkollü, asetonlu ekstrelerinin 300µg/mL lık konsantrasyonlarının ve BHT, Trolox standart maddelerinin zamana göre elde edilen % DPPH radikali giderme aktiviteleri



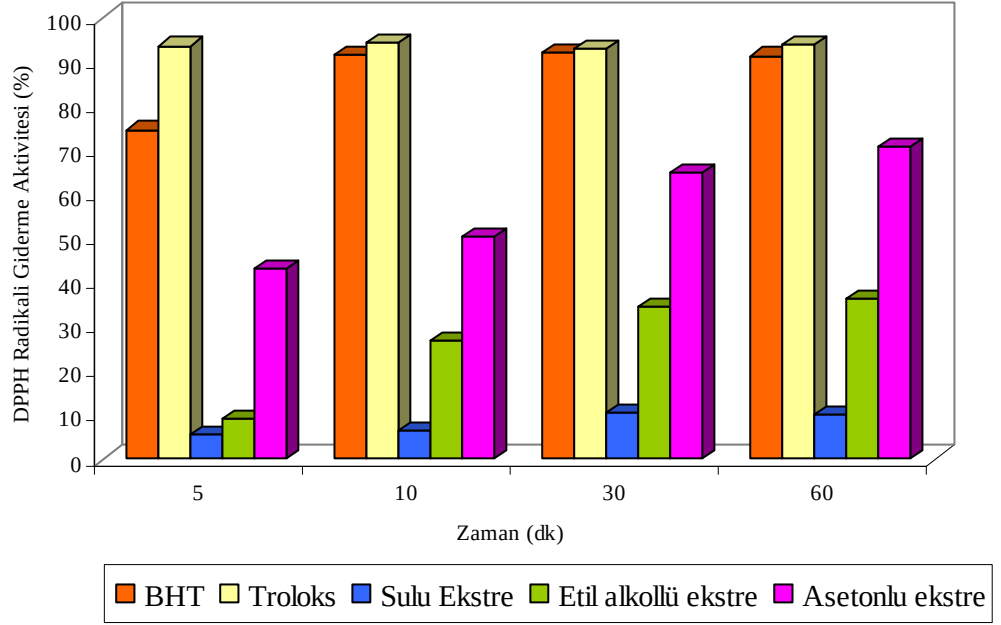
Şekil 4.4: Akyıldız bitkisinin sulu, etil alkollü, asetonlu ekstrelerinin 300µg/mL lık konsantrasyonlarının ve BHT, Trolox standart maddelerinin 5, 10, 30 ve 60. dakikalardaki % DPPH radikali giderme aktivitelerinin madde türüne göre değişimi



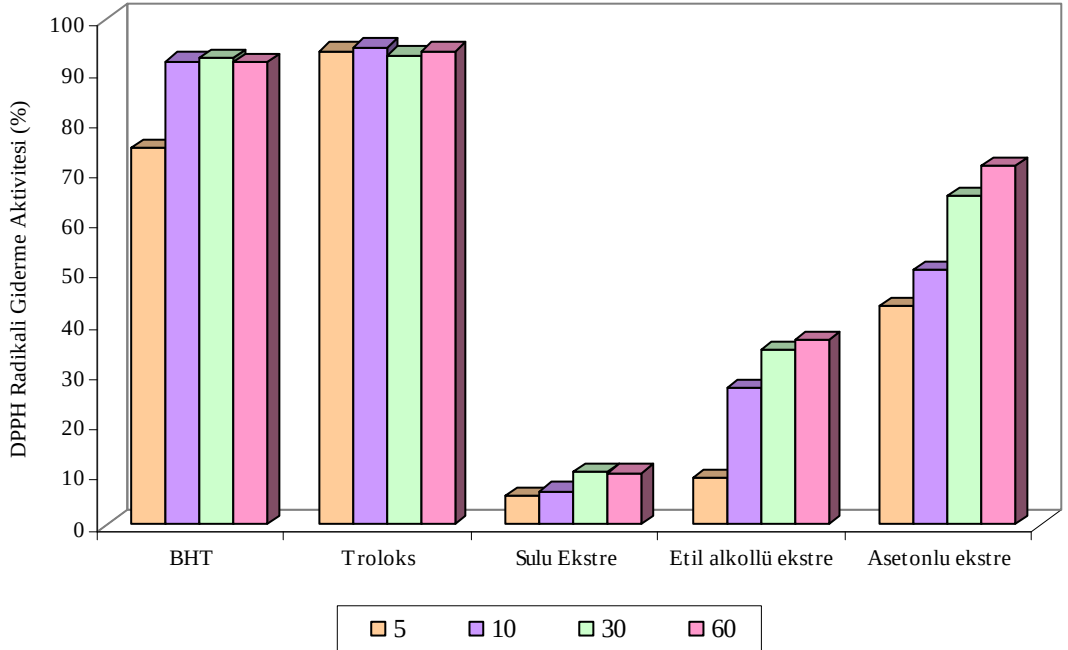
Şekil 4.5: Akyıldız bitkisinin sulu, etil alkollü, asetonlu ekstralarının 400µg/mL lık konsantrasyonlarının ve BHT, Trolox standart maddelerinin zamana göre elde edilen % DPPH radikali giderme aktiviteleri



Şekil 4.6: Akyıldızın sulu, etil alkollü, asetonlu ekstralarının 400µg/mL lık konsantrasyonlarının ve BHT , Trolox standart maddelerinin 5, 10, 30 ve 60. dakikalardaki % DPPH radikali giderme aktivitelerinin madde türüne göre değişimi



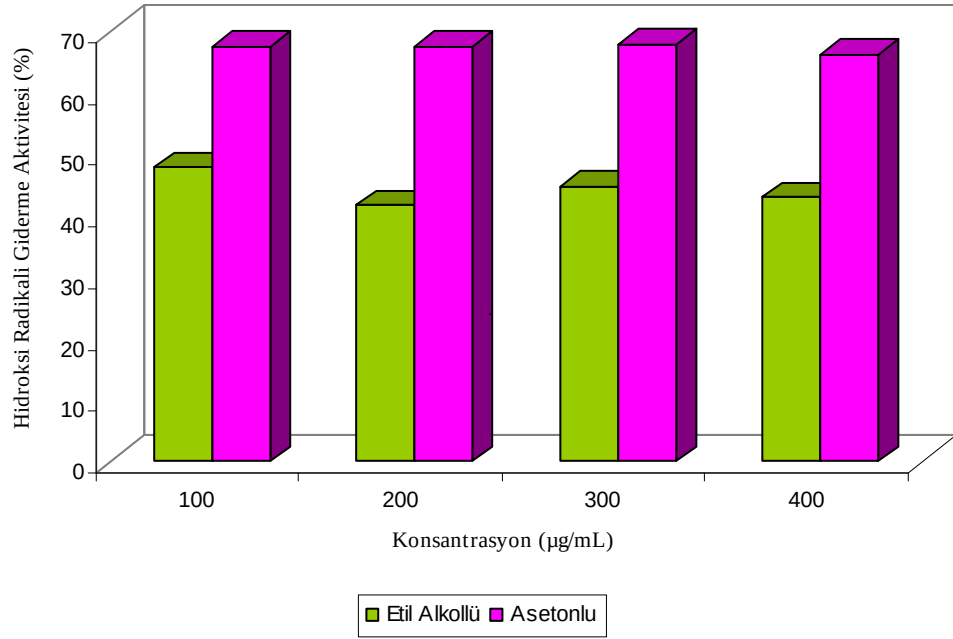
Şekil 4.7: Akyıldız bitkisinin sulu, etil alkollü, asetonlu ekstrelerinin 500µg/mL lık konsantrasyonlarının ve BHT, Trolox standart maddelerinin zamana göre elde edilen % DPPH radikali giderme aktiviteleri



Şekil 4.8. Akyıldız bitkisinin sulu, etil alkollü, asetonlu ekstrelerinin 500µg/mL lık konsantrasyonlarının ve BHT, Trolox standart maddelerinin 5, 10, 30 ve 60. dakikalardaki % DPPH radikali giderme aktivitelerinin madde türüne göre değişimi.

#### 4.5. HİDROKSİ RADİKALİ GİDERME AKTİVİTESİ

Hidroksi radikali giderme aktivitesi Şekil 4.9’ da görülmektedir. Çalışmada sulu ekstrede hidroksi radikali giderme aktivitesi tayin edilememiştir. Hidroksi radikal giderme aktivitesi asetonlu ekstrede etanollü ekstreya göre daha fazla miktardadır (Şekil 4.9). Antioksidan aktivitenin düşük olduğu etil alkollü ekstrede fenolik bileşik miktarı da düşük bulunmuştur (Tablo 4.1).



Şekil 4.9: Akyıldız bitkisinin etil alkollü ve asetonlu ekstrelerinin % hidroksi radikali giderme aktiviteleri

#### 4.6. ABTS RADİKAL GİDERME AKTİVİTESİ

ABTS yöntemine göre elde edilen değerler Tablo 4.3’ te verilmektedir. Bu yöntemle göre ekstrelerin sıralaması yine diğer yöntemlerde olduğu gibi aseton>etil alkollü >sulu ekstre şeklindedir. Konsantrasyon artışına bağlı olarak ABTS aktivitesinde de artış görülmektedir. Diğer yöntemlerde olduğu gibi asetonlu ekstrede yine radikal yakalama aktivitesi diğerlerine nazaran daha yüksek oranda bulunmuştur (Tablo 4.3).

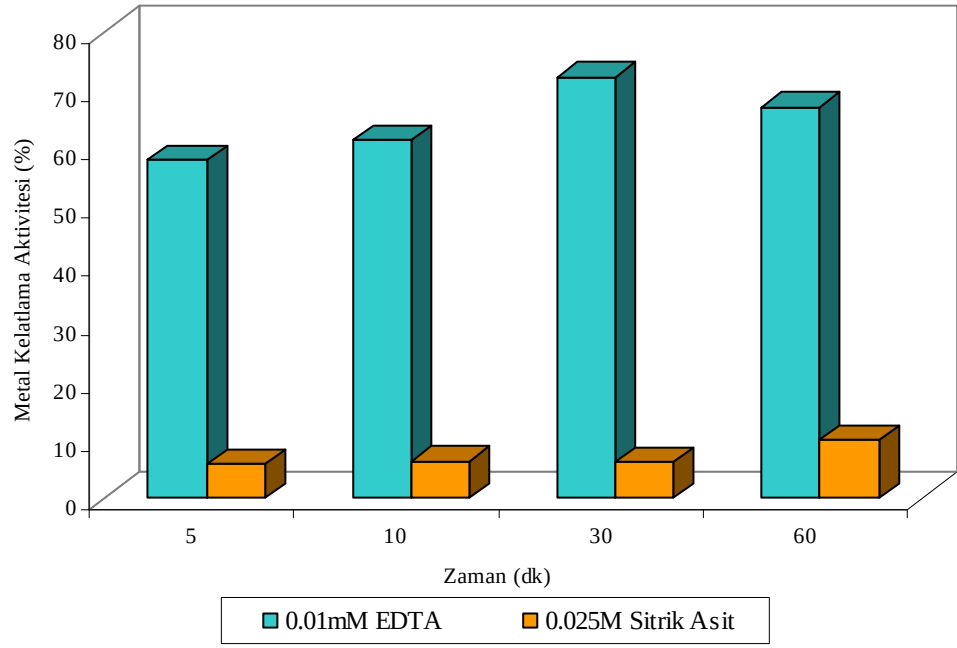
Tablo 4.3: Akyıldızın sulu, etil alkollü, asetonlu ekstralarının ABTS miktarlarının troloks cinsinden değerlendirilmesi ( $\mu\text{g/g}$ )

| Ekstre Miktarı ( $\mu\text{g/mL}$ ) | Sulu Ekstre      | Etil Alkollü Ekstre | Asetonlu Ekstre  |
|-------------------------------------|------------------|---------------------|------------------|
| 400                                 | $5.21 \pm 6.15$  | $27.89 \pm 5.15$    | $55.26 \pm 4.50$ |
| 600                                 | $7.25 \pm 6.36$  | $35.23 \pm 4.41$    | $66.26 \pm 4.26$ |
| 800                                 | $12.10 \pm 4.55$ | $44.23 \pm 4.17$    | $73.40 \pm 3.26$ |
| 1000                                | $14.78 \pm 4.28$ | $51.94 \pm 4.26$    | $84.06 \pm 5.01$ |

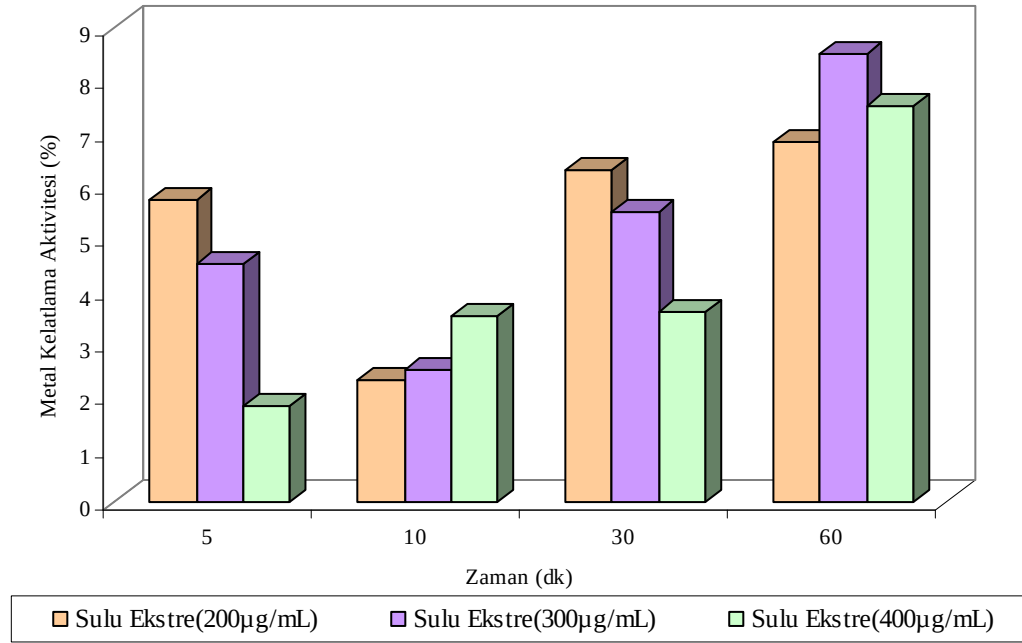
#### 4.7. METAL KELATLAMA AKTİVİTESİ

Metal kelatlama aktivitesi, lipid peroksidasyonuna neden olan metalleri tutukladığından dolayı önemlidir [67]. Fenton reaksiyonlarında görüldüğü gibi antioksidan aktivite açısından hidroksi radikallerinin oluşmasına sebep olan  $\text{Fe}^{+2}$  ve  $\text{Cu}^{+1}$  gibi metallerin tutuklanması son derece önemlidir. Çalışmada metal kelatlama aktivitesi tayininde standart olarak 0.01 mM EDTA ve 0.025 mM sitrik asid kullanıldı (Şekil 4.10).

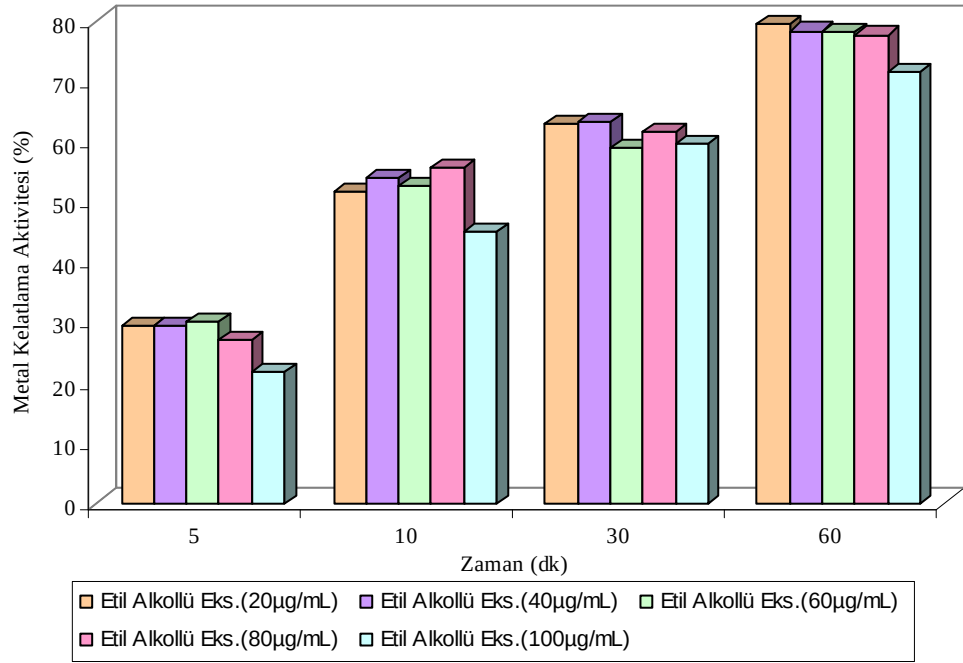
Etil alkollü ve asetonlu ekstralarda konsantrasyon ve zaman artışına bağlı olarak metal kelatlama aktivitesinde artış görüldü (Şekil 4.11-4.12). Çalışmada ekstraların zamana bağlı olarak 60. dakikada en yüksek metal kelatlama aktivitesine sahip oldukları görüldü. 0,01 mM EDTA' nın 5. dakikada %60'lık metal kelatlama aktivitesine sahip olduğu görüldü. Sulu ve asetonlu ekstrede metal kelatlama aktivitesi %8-10' larda iken etil alkollü ekstrede bu oran 60. dakikada %80-90' lara kadar artış göstermiştir (Şekil 4.11-4.13).



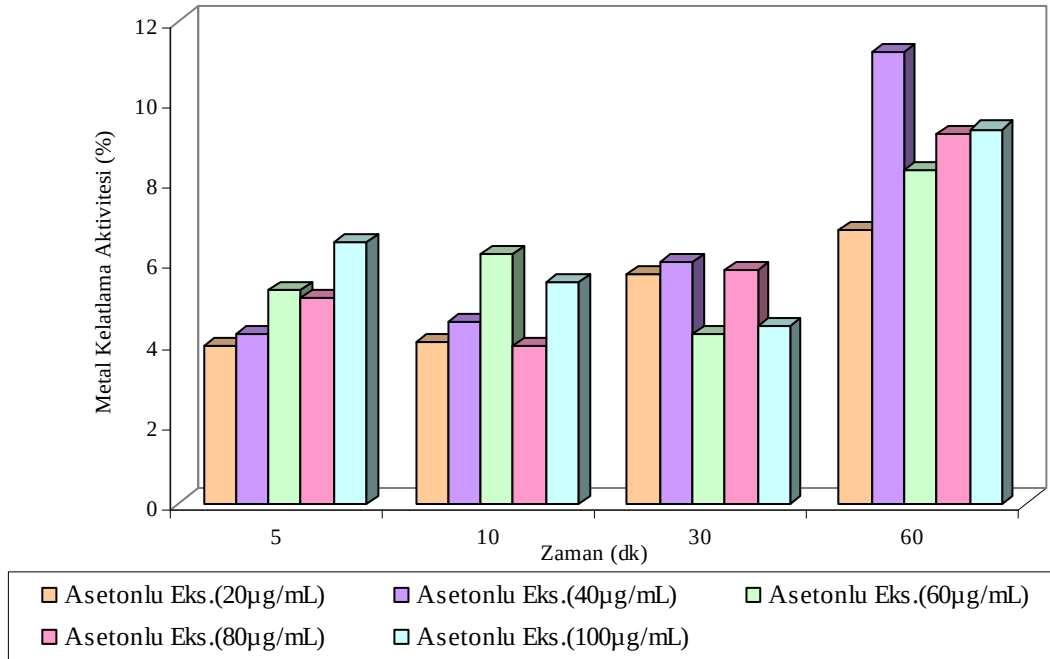
Şekil 4.10: 0,01 mM EDTA ve 0,025 mM sitrik asidin farklı zamanlardaki % metal kelatlama aktiviteleri



Şekil 4.11: Akyıldız bitkisinin sulu ekstresinin farklı konsantrasyonlardaki % metal kelatlama aktivitesi



Şekil 4.12: Akyıldız bitkisinin etil alkollü ekstresinin farklı konsantrasyonlardaki % metal klatlama aktivitesi



Şekil 4.13: Akyıldız bitkisinin asetonlu ekstresinin farklı konsantrasyonlardaki % metal klatlama aktivitesi

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Beslenmenin çeşitli hastalıkların önlenmesindeki rolü olduğu bilinmekte olup , bu konu ile yapılan çalışmalarda diyetel faktörlerin çeşitli mekanizmalarla oksidatif stresi azaltıkları tespit edilmiştir [68]. Antioksidanlar lipid oksidasyonunu engellemekte veya geciktirmektedir. Böylece hem gıdaların kalitesi korunmakta hem de bu gıdaların raf ömrü uzamaktadır. Oksidasyonu önlemek veya ortadan kaldırmak amacıyla gıdalara antioksidanlar ilave edilmekte ve bu amaçla antioksidan olarak BHT, BHA, TBHQ gibi sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır.

Meyve ve sebzeler, hem yüksek antioksidan aktiviteye sahip olmaları hem de iyi bir antioksidan karışımı ve kombinasyonunu temsil etmeleri açısından çok önemli doğal antioksidan kaynakları arasında sayılmaktadır. Meyve ve sebzeler E vitamini, C vitamini, karotenoid gibi bileşiklere ilaveten güçlü antioksidan aktiviteye sahip flavon, kateşin, antosiyanin, izoflavon gibi fenolik bileşikler de içermektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda insanlarda koroner kalp hastalıkları ile alınan flavonoid miktarlarının ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bazı çalışmalarda da kardiovasküler kalp hastalıklarına bağlı ölüm oranının azalmasının C vitamini alımı ile ilişkili olduğu belirlenmiştir [69]. Bu ve buna benzer yapılan çalışmalarda kardiovasküler kalp hastalıkları ile diyetel antioksidanların tüketimi arasında bir ilişki olduğu belirlenmiş ve antioksidan alımının kardiovasküler hastalıkların azalmasına neden olabileceği ileri sürülmüştür [70]. Beslenme ile alınan antioksidanların rolü sadece kalp hastalıkları ile sınırlı değildir. Antioksidan kanser ilişkisi ile ilgili yapılan çalışmalar, antioksidanlarca zengin sebze ve meyvelerin alımının azalmasının karaciğer, akciğer, pankreas ve daha birçok organda kanserin gelişmesinde major bir risk olduğunu göstermiştir [71].

Sigara içimi, terleme ve aşırı egzersiz gibi durumlarda oluşan hasarlara, bireylere C vitamini verilmesinin yararlı olduğu yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir [72]. Kadmiyum toksisitesi oluşturulan sıçanlarda çeşitli dokularda oluşan hasarın

antioksidan maddeler olan C vitamini, E vitamini ve selenyum verilmesi ile önlendiği Yanardağ ve arkadaşları tarafından çeşitli çalışmalarla bildirilmiştir [73-76]. Alkol ile oluşturulan mide, gastrointestinal ve karaciğer hasarlarının yine antioksidan maddeler olan C vitamini, E vitamini ve selenyum verilmesi ile önlendiği öne sürülmektedir [77-79]. Tüm bu hastalıklardan başka hiperlipidemili sıçanlara uygulanan *Melissa officinalis* bitkisinin sıçanlarda oluşan karaciğer hasarını önlediği Bolkent ve arkadaşları tarafından ileri sürülmüştür [80]. Ayrıca fındık ve fıstık gibi antioksidan madde açısından zengin olan gıdaların tüketiminin diyabetik ve hiperlipidemili sıçanlarda oluşan komplikasyonların önlenmesi açısından diyabetik hastalara önerileceği Yarat ve arkadaşları tarafından öne sürülmüştür [81, 82].

Birçok epidemiyolojik çalışma; meyve, sebze ve hububat alımı ile koroner kalp hastalığı ve çeşitli kanser hastalıklarının oluşumu arasında ters bir ilişki olduğunu, ayrıca kanser, kalp hastalığının az olmasının da polifenolik bileşiklerin alımı ile bağlantılı olduğunu göstermektedir. Bu etkilerin polifenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesinden kaynaklandığı ileri sürülmektedir [83].

Polifenolik bileşiklerin antiallerjik, antimutajenik, antibakteriyel ve antidiabetik özelliklere sahip olduğu literatürde çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir [84, 85, 86]. Ayrıca antioksidan özellikleri olduğu bilinen fenolik bileşiklerin (doğal veya sentetik) de lipid substratlarında lipidlerin oksidasyonunu önlediği bilinmektedir [87]. Birçok çalışmada polifenollerin alkoksi, hidroksi ve lipid peroksil radikallerini indirgediği ve lipid peroksidasyonunu önlediği bildirilmektedir.

Çalışmada serbest radikal giderme aktivite tayini için DPPH serbest radikalının inhibe etme özelliği incelenmiştir. DPPH inhibisyonu ne kadar yüksek ise radikal giderme aktivitesi o kadar yüksek olmaktadır. Ekstrelerin konsantrasyonu arttıkça inhibisyon aktiviteleri de beklendiği gibi artış göstermiştir.

Hidroksi radikal giderme özelliğinin origanum türlerinde yüksek olduğu ve bunun da fenolik bileşiklerden kaynaklandığı Moller ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir [88].

Bu tez çalışmasında ilk defa akyıldız bitkisinin 3 farklı polaritede çözücü ile sulu, etil alkollü, asetonlu ekstreleri hazırlandı. Hazırlanan 3 farklı ekstrede 7 farklı yöntem kullanılarak akyıldız bitkisinin antioksidan özelliğe sahip olup olmadıkları araştırıldı.

### **Genel Değerlendirme**

Total fenolik ve flavonoid bileşik miktar tayinlerinde en yüksek aktivitenin asetonlu bitki ekstresinde olduğu görüldü.

Çalışmada indirgeme gücünün asetonlu ekstrede en yüksek oranda olduğu bulundu.

Serbest radikal giderme aktivitesi (DPPH), referans olarak kullanılan BHT ve Troloks' a oranla düşük olmakla beraber bu aktivite sırası ile Troloks, BHT, asetonlu ekstre, etil alkollü ekstre ve sulu ekstre şeklinde azaldı.

Hidroksi radikal giderme aktivitesi tayini sonucunda en yüksek aktivitenin asetonlu ekstrede olduğu görüldü.

ABTS radikal giderme aktivitesinin ise asetonlu ekstrede en yüksek, sulu ekstrede en düşük değerde olduğu bulundu.

Metal kelatlama aktivitesi etil alkollü ekstrede en yüksek değerde olup, konsantrasyon artışına bağlı olarak bu değerin arttığı saptandı.

Antioksidan aktivitenin en yüksek flavonoid miktarını gösteren asetonlu ekstrede bulunması, bu aktiviteden daha çok flavonoid bileşiklerinin sorumlu olduğunu düşündürmektedir.

Sonuç olarak, yapılan bütün testlerde, antioksidan aktivitenin görülmesi nedeni ile akyıldız bitkisinden doğal antioksidan kaynağı olarak yararlanılabileceği ileri sürülmektedir.

## KAYNAKLAR

1. HALLIWELL, B., 1991, Reactive oxygen species in living systems, *The American Journal of Medicine*, 91(3C), 14-21.
2. HALLIWELL, B., 1994, Free radicals, antioxidants and human disease, curiosity cause, of consequence?, *The Lancet*, 44(10).
3. BAST, A., HAENEN, G. R. M. M., DOELMAN, C. J. A., 1991, Oxidant and antioksidant stage of the art, *The American Journal of Medicine*, 91(3C), 2-12.
4. TURE, T., 1998, *Akut miyokard infarktüsünde SOD ve GSHPx enzimleri ile E ve C vitaminlerinin düzeyleri*. Uzmanlık Tezi, T.C Sağlık Bakanlığı İzmir Atatürk Eğitim Hastanesi Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir.
5. AKKUŞ, I., 1995, *Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri*, Mimoza Yayınları, 5. Sağlık Dizisi.
6. REPINE, J. E., 1991, Oxidant-antioxidant balance, some observations from studies of ischemia reperfusion in solated perfused rat hearts, *The American Journal of Medicine*, 91 (3C), 45-53.
7. UYSAL, M., 1998, Serbest radikallerin lipit peroksidleri, organizmada prooksidan-antioksidan dengeyi etkileyen koşullar, *Klinik Gelişim*, 11, 336-341
8. CEVRİM, E., 2000, *Sigara içenlerde antioksidan enzimler, ferritin ve hemoglobin düzeylerinin değerlendirilmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, s: 105, Kütahya.

9. GOODYEAR-BRUNCH, C., PIERCE, J. D., *Oxidative stress in critically ill patient. American Journal of Critical Care*, 11(6):543-51, 2002.
10. HALLIWELL, B, GUTTERIDGE, J. M. C., 2001, *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3<sup>rd</sup> Ed., Oxford Science publications, s: 22-24.
11. KILINÇ K., KILINÇ A., 2002, Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*; 33(2): 110-118.
12. HASANI, A., 1999, *Sıçanlarda kafa travması sonrası artan serbest oksijen radikalleri üzerine sevofluranın etkisi*. Uzmanlık Tezi, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, İstanbul.
13. ÇAKATAY U., TELCI A., 2000, Oksidatif protein hasarı ve saptanmasında kullanılan marker'lar. *İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 63(3):314-317.
14. ÇELİK, S., 2001, *APS ile Opere edilen tavşanların kan ve karaciğer dokularındaki serbest oksijen radikallerinin antioksidan enzimlerin yoluyla tayini*. Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, Kütahya.
15. ÖZAN E., KOYUTÜRK L., SAPMAZ T., 2004, Böbrek iskemi- reperfüzyon hasarında antioksidan olarak prostaglandin E1 (PGE1) kullanımının incelenmesi. *Fırat Tıp Dergisi*, 9(3):67-71.
16. KILICOĞLU-AYDIN B., *Aspirin ve E vitamini verilmiş ratlarda karaciğerde yapılan İskemi/Reperfüzyon sonrası kanda radikal süpürücü enzimlerin aktivitelerindeki değişikliklerin araştırılması*. Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Samsun.
17. KAVAS, G., 1989, Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri, *Türkiye Klinikleri*, 9(1), 1-8.

18. ABDOLLAHI, M., RANJBAR, A., SHADNIA, S., NIKFAR, S., REZAIE, A., Pesticides and oxidative stress: A review. *Medical Science and Monitoring*, 10. 141-147.
19. YU, B. P., 1994, Cellular defense against damage from reactive oxygen species, *Physiological Reviews*, 74 (1), 139-162.
20. KARABULUT, A., 2001, *Hepatit B'li hastalarda eritrosit ve lenfosit antioksidan enzimler, nitrik oksid düzeyleri ve plazma stokinleri*. Doktora Tezi, T.C. İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
21. [www.cyberlipid.org/index.htm](http://www.cyberlipid.org/index.htm) [Ziyaret Tarihi: 11.02.2008]
22. SERAFINI, M., DEL RIO, D. 2004, Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool?, *Redox Report*, 9(3), 145-152.
23. [www.w3.sdu.edu.tr/images/16\\_02\\_08\\_02.jpg](http://www.w3.sdu.edu.tr/images/16_02_08_02.jpg). [Ziyaret Tarihi: 16.02.2008]
24. GUTTERIDGE J. M., 1995, Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*, 41 (12), 1819-1828.
25. WYLLIE, A. H., DUVAL, E., 1992, *Cell injury and death*. McGee JO'D, Isaacson PG, Wright. N. A., Oxford Textbook of Pathology. Newyork: Oxford University Press, 141-193.
26. JECKINS, D. J., KENDAL, C. W., MACHIE, A., PARKER, T. L., CONELLY, P. W., OIAN, W., HAIGHT, J. S., FAULKNER, D., VIDGEN, E., LAPSLEY, K. G., SPILLER, G. A., 2002, Dose response of almonds on coronary heart disease risk factors: blood lipids, oxidized low density lipoproteins, lipoprotein (a), homocystein, and pulmonary nitric oxide: A randomized, controlled, crossover trial. *Circulation*, 10, 106(11), 1327-1332.

27. GUTTERIDGE, J. M. C., HALLIWELL, B., 1990, The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends in Biochemical Science*, 15, 129-135.
28. GREEN, P., GLOZMAN, S., WEINER, L., YAVIN, E., 2001, Enhanced free radical scavenging and decreased lipid peroxidation in the rat fetal brain after treatment with ethyl decosaheptaenoate. *Biochimica Biophysica Acta*, 29, 1532(3), 203-212.
29. ISLEKEL S., ISLEKEL H., GUNER G., OZDAMAR, N., 1999, Evaluation of lipid peroxidation, cathepsin L and acid phosphatase activities in experimental brain ischemia–reperfusion, *Brain Research*, 843 (1-2):18-24.
30. BENZIE, I. F., 1996, Lipid peroxidation: a review of causes, consequences, measurement and dietary influences. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 47, 233-261.
31. RIKANS, L. E., HORNBROOK, K. R., 1997, Lipid peroxidation, antioxidant protection and aging. *Biochimica Biophysica Acta*, 1362, 116-127.
32. OESCH, F., 1984, Metabolism of carcinogens, possibilities for modulation. *Acta Pharmacology and Toxicology (Copenh)*, 55, Suppl 2, 15-33.
33. SALICI, Y. E., 2002, *Taze sıkılmış ve ticari domates ve portakal sularının antioksidan aktivitelerinin saptanması ve toplam fenolik madde ve askorbik asit içeriklerinin antioksidan aktivitelerine olan etkileri*, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.
34. OZKAN A., FISKIN K., 2004, Serbest oksijen radikalleri, karsinogenez ve antioksidant enzimler, *Uluslararası Hematoloji–Onkoloji Dergisi*, 1, 14:52-60.
35. PACKER, L., HIRAMATSU, M., YOSHIKAWA, T., 1999. *Antioxidant food supplements in human health*, Academic Press, USA.

36. KIRALAN, M., ERCOŞKUN, H., IŞIKSAL, S., 2004, Gıda antioksidanları ve etki mekanizmaları, *Akademik Gıda*, 2, 5-14.
37. NISHINO, H., 1999, *Cancer prevention by natural carotenoids, antioxidant food supplements in human health*, Ed. By PACKER, L., HIRAMASTU, M., YOSHIKAWA, T., Academic Press, USA.
38. RICE-EVANS, C. A., MILLER, N. J., PAGANDA, G., 1997, Antioxidant properties of fenolic compunds, *Trends in Plant Science*, 2 , 152-159.
39. SHAHIDI, F., 2000, Antioxidants in foods and food antioxidants, *Nahrung*, 44, 158-163.
40. ÇAKIR, U., 1999, *Depresyonda serbest radikaller ve antioksidan savunma sistemlerinin incelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, T.C. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sinir Bilimleri Anabilim Dalı, İstanbul.
41. ONER, A., 2003, *Diyabet oluşturulmuş albino sıçanların lens kataraktını önlemede çeşitli antioksidanların rolü*, Yüksek Lisans Tezi, T.C. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adıyaman.
42. ERYILMAZ, B., 2001, *Capsicum annuum L. (Solanaceae) meyvelerinin antioksidan aktivite açısından değerlendirilmesi*, Yüksek Lisans Tezi, T.C. Gazi Üniversitesi Sağlık Birimleri Enstitüsü, Farmakognozi Anabilim Dalı, Ankara.
43. CORNWELL D. G., MA, J., 2007, Studies in vitamin E: Biochemistry and molecular biology of tocopherol quinones, *Vitamines and Hormones*, 76, 99-134.
44. KESKİN, H., ERKMEN, G., 1987, *Besin Kimyası*, Güryay Matbaacılık, 5. basım, İstanbul.

45. BOOYSE, F. M., PAN, W., GRENETT, H. E., PARKS, D. A., DARLEY-USMAY, V. M., BRADLEY, K. M., TABENGWA, E. M., 2007, Mechanisim by which alcohol and wine polyphenols affect coronary heart disease risk, *Annals of Epidemiology*, 17, S24-S31.
46. KIM, D., LEE, J., HA, J., 2008, Comperative anticancer effects of flavonoids and diazepam in cultered cancer cells, *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 31(2), 255-259.
47. CAO, G., SOFIC, E., PRIOR, R. L., 1997, Antioxidant and proantioxidant behaviour of flavonoids: structure-activity relationship, *Free Radical Biology & Medicine*, 22, 749-760.
48. SEKHER PANNALA, A., CHAN, T. S., O'BRIEN, P. J., RICE-EVANS, C. A., 2001, Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: fast reaction kinetics, Biochemistry, *Biophysical Research Communication*, 282, 1161-1168 .
49. BURDA, S., OLESZEK, W., 2001, Antioxidant and antiradical acitivities of flavonoids, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 2774-2779.
50. MILLER, H. E., RIGELHOF, F., MARQUART, L., PRAKASH, A., KANTER, M., Antioxidant content of whole grain breakfast cereals, fruits and vegetables, *Journal of American College of Nutrition*, 19, 312-319.
51. CADENAS, E., PACKER, L., 2002, *Handbook of antioxidants*, Marcel Dekker, Second Edition, New York, 0-8247-0547-5.
52. HALLIWEL, B., MURCIA MA., CHIRICO S., ARUOMA OI., Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work, *Critical Reviews and Food Science and Nutrition*, 35(1-2), 7-20.
53. BAYTOP, T., 1984, *Türkiye’de bitkiler ile tedavi (geçmişte ve bugün)*, İstanbul Üniversitesi Yayınları, No: 3255, s:161.

54. [www.biyolojiegitim.yyu.edu.tr](http://www.biyolojiegitim.yyu.edu.tr)

55. SLINKARD, K., SINGLETON, V. L., 1977, Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, 49-55.

56. ZHISHEN, J., MENGCHENG, T., JIANMING, W., 1999, The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64 : 555-559.

57. OYAIZU M., 1986, Studies on products of browning reaction: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine, *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307-315.

58. BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER M. E., BERSET, C., 1995, Use of a free radical method to evaluate antioxidant acitivity. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie/Food Science and Technology*, 28, 25-30.

59. TAKASHIRA M., OHTAKE, Y., 1998, A new antioxidative 1,3-benzodioxole from *Melissa officinalis*, *Planta Medica*, 64, 555-558.

60. NAGAI, T., MYODA, T., NAGASHIMA, T., 2005, Antioxidative activities of water extract and ethanol extract from field horsetail (*tsukushi*). *Equisetum arvense* L. *Food Chemistry*, 91, 389-394.

61. OSMAN, A. M., WONG, K. K. Y., FERNYHOUGH, A., 2006, ABTS radical driven-oxidation of polyphenols: Isolation and educidation of covalent adducts, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 346, 321-329.

62. DECKER, E. A, WELCH, B., 1990, Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 674-677.

63. MEIR S., KANNER, J., AKIRI, B., HADAS, S.P., 1995, Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves, *Journal Agricultural and Food Chemistry* , 43, 1813.
65. SOARES, J. R., DINS, T. C. P., CUNHA, A. P., AMEIDA, L. M., 1997. Antioxidant activity of some extracts of *Thymus zygis*. *Free Radical Reserach*, 26, 469-478.
66. GULCIN, I., OKTAY, M., KUFREVİOĞLU, O.I., ASLAN, A., 2002, Determination of antioxidant activity of *Lichen cetraria islandica* (L). Ach, *Journal of Ethnopharmacology*, 79,325-329.
67. DUH, P. D., TU, Y. Y., YEN, G. C., 1999, Antioxidant activity of Harng Jyur (*Cheysatheumum morifolium ramat*) *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie/Food Science and Technology*, 32, 269-277.
68. SERAFINI, M., GLISELL, A., FRREO-LUZZI, A., 1996, In vivo antioxidant effect of green and black tea in man. *European Journal of Clinical Nutrition*. 50, 28-32.
69. GORDON, M. H., 1996, Dietary antioxidants in disease prevention. *Natural Product Reports*, 13, 265-273.
70. GAZIANO, M. J., HENNEKENS, C. H., 1993, The role of beta carotene in the prevention of cardiovascular disease. *Annals of New York Academy of Science*, 691, 148-155.
71. TRIBBLE, D. L., FRANK, E., 1994, Dietary antioxidants, cancer and atherosclerotic heart disease. *West Journal Medicine*, 161, 605-613.
72. KANTER, M., 1995, Free radicals and exercise .Effects Of nutritional antioxidant supplementation, *Exercise and Sport Sciences Reviews.*, 23, 375-397.
73. YANARDAG, R., OZSOY-SACAN, O., OZDIL, S., BOLKENT, S. 2007. Combined effects of vitamin c, vitamin e, and sodium selenate supplementation on

absolute ethanol-induced injury in various organs of rats. *International Journal of Toxicology*, 26,513-523.

74. BOLKENT, S., KOYUTURK, M., BULAN, O. K., TUNALI, S., YANARDAG, R., TABAKOGLU, A. O., 2007, The effects of combined alpha-tocopherol, ascorbic acid, and selenium against cadmium toxicity in rat intestine, *Journal of Environmental Pathology Toxicology and Oncology*, 26, 21-27.

75. KOYUTURK, M., YANARDAG, R., BOLKENT, S., TUNALI, S., 2006, Influence of combined antioxidants cadmium induced testicular damage, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 21, 235-240.

76. SACAN, O., YANARDAG, R., BOLKENT, S., BILGIN- SOKMEN, B. TUNALI, S., 2007, Protective effects of selenium, vitamin C and E combination on cadmium-induced toxicity in various tissues of rats, *Fresenius Environmental Bulletin*, 16 (7), 839-845.

77. OZDIL, S., YANARDAG, R., KOYUTURK, M., BOLKENT, S., ARBAK, S., 2004, Protective effects of ascorbic acid, DL-alpha-tocopherol acetate, and sodium selenate on ethanol-induced gastric mucosal injury of rats. *Biological Trace Element Research*, 99, 173-189.

78. KOYUTURK, M., BOLKENT, S., OZDIL, S., ARBAK, S., YANARDAG, R., 2004, The Protective Effect Of Vitamin C, Vitamin E And Selenium Combination Therapy On Ethanol-Induced Duodenal Mucosal Injury, *Human Experimental Toxicology*, 23, 391-398.

79. OZDIL, S., BOLKENT S., YANARDAG, R., ARDA-PIRINCCI., 2004, Protective Effects Of Ascorbic Acid, DI-Alpha-Tocopherol Acetate, And Sodium Selenate On Ethanol-Induced Liver Damage Of Rats. Ethanol-Induced Liver Damage Of Rats. *Biological Trace Element Research*, 97(2), 149-62.

80. BOLKENT, S., YANARDAG, R., KARABULUT-BULAN, O., YESILYAPRAK, B., 2005, Protective role of *Melissa officinalis* L. extract on liver of hyperlipidemic rats: a morphological and biochemical study, *Journal of Ethnopharmacology*, 99, 391-398.
81. EMEKLI-ALTURFAN, E., KASIKCI, E., YARAT, A., 2008, Peanut (*Arachis hypogaea*) consumption improves Glutathione and HDL-cholesterol levels in experimental diabetes, *Phytotherapy Research*, 22(2), 180-184.
82. KASIKCI, E., 2006, *Hiperlipidemik ve diyabetik hayvan modellerinde "Corylus avellana"nın ve doymamış yağ asidi içeriğinin tromboplastik aktivite ve lipid profili üzerine etkisinin incelenmesi*, Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi, İstanbul.
83. WU, X. J., HANSEN, C., 2008, Antioxidant capacity, phenolic content, and polysaccharide content of *Lentinus edodes* grown in whey permeate-based submerged culture, *Journal of Food Science*, 73(1), M1-8.
84. BUYUKBALCI, A., EL, S. N., 2008, Determination In Vitro Antidiabetic Effects, Antioxidant Activities And Phenol Contents Of Some Herbal Teas. *Plant Foods for Human Nutrition*, 63(1), 27-33.
85. MELO CAVALCANTE, AA., RUBENSAM, G., PICADA, JN., GOMES DA SILVA E., FONSECA MOREIRA, JC., HENRIQUES, JA., 2003, Mutagenicity, antioxidant potential, and antimutagenic activity against hydrogen peroxide of cashew (*Anacardium occidentale*) apple juice and cajuina. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 41(5):360-9.
86. PETTINARI, A., AMICI, M., CUCCIOLONI, M., ANGELETTI, M., FIORETTI, E., ELEUTERİ, AM., 2006, Effect of polyphenolic compounds on the proteolytic activities of constitutive and immuno-proteasomes. *Antioxidants and Redox Signaling*. Jan-Feb;8(1-2):121-9.

87. SKALICKA- WOZNIAK, K., MELLIOU, E., GORTZI, O., GLOWNIAK, K., CHINOUE, I. B., 2007, Chemical constituents of *Lavatera trimestris* L.--antioxidant and antimicrobial activities, *Zeitschrift fur Naturforschung C-A Journal of Biosciences*, 62(11-12):797-800.
88. MOLLER, J. K. S., MADSEN, H. L., AALTONEN, T., SKIBSTED, L. H., 1999, Dittany (*Origanum dictamnus*) as a source of water-extractable antioxidants. *Food Chemistry*, 64,215-219.

## ÖZGEÇMİŞ

Mediha Dilek HEVES, 17.06.1977 tarihinde Ordu’ da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini İstanbul’da tamamladı. 1995 yılında girdiği Trakya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü’nden Temmuz 1999’da mezun oldu. İş hayatına 1999 yılında İstanbul Bahçelievler Hürriyet İlköğretim Okulu’nda öğretmen olarak başladı. 2000 yılında, halen görev yapmakta olduğu Bahçelievler Kemal Hasoğlu Lisesi’ ne atandı. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Programı’ nda 2003 yılında başlayan “Akyıldız (*Ornithogalum sigmoideum* Freyn Et Sint.)’ ın Antioksidan Aktivitesi” konulu yüksek lisans öğrenimini 2008 yılında tamamladı.



