

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

UDİ HİNDİ EKSTRAKTLARININ ANTİOKSİDAN
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Büşra OKUR

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kimya Anabilim Dalı
Biyokimya Programı

Danışman
Prof. Dr. Ayşegül PEKSEL

Temmuz, 2024

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

UDİ HİNDİ EKSTRAKTLARININ ANTİOKSİDAN
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Büşra OKUR tarafından hazırlanan tez çalışması 31.07.2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Programı **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ayşegül PEKSEL
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Ayşegül PEKSEL, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Melda ALTİKATOĞLU YAPAÖZ, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Ece ÖZDEMİR BABAVATAN, Üye
İstanbul Aydın Üniversitesi

Danışmanım Prof. Dr. Ayşegül PEKSEL sorumluluğunda tarafımca hazırlanan Udi Hindi Ekstraktlarının Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Büşra OKUR

İmza

Aileme ve sevgili eşime...



TEŞEKKÜR

Çalışmalarım esnasında yoğun mesaisine rağmen bana vakit ayıran, bilgisini ve desteğini esirgemeyen, tanımaktan ve öğrencisi olmaktan mutluluk duyduğum, saygıdeğer hocam ve danışmanım Prof. Dr. Ayşegül PEKSEL'e kalpten teşekkür ederim. Tüm eğitim hayatım boyunca bana her koşulda destek olan annem Elmira DOĞAN'a, babam Ergün DOĞAN'a, kardeşim Miray Nur DOĞAN'a, hayatımın en zorlu sürecinde desteğini her zaman hissettiğim eşim Fatih OKUR'a minnettarım. Çalışmalarımda, laboratuvarı tanımamda bilgi ve tecrübesini paylaşan Mesut BİLGİ'ye, tezimi titizlikle kontrol ederek önerilerde bulunan Ece ÖZDEMİR BABAVATAN'a, süreç içerisinde çalışmalarımızı yürütürken birbirimize maddi-manevi destek olduğumuz Zeynep Banu GÜLER'e teşekkürlerimi borç bilirim.

Büşra OKUR

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ	viii
KISALTMA LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ	xi
TABLO LİSTESİ	xiii
ÖZET	xiv
ABSTRACT	xvi
1 GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti	1
1.2 Tezin Amacı	2
1.3 Hipotez	3
2 GENEL BİLGİLER	4
2.1 Serbest Radikaller	4
2.1.1 Serbest Radikallerin Sınıflandırılması ve Kaynakları	5
2.1.2 Endojen Serbest Radikal Kaynakları	5
2.1.3 Eksojen Serbest Radikal Kaynakları	11
2.1.4 Serbest Radikallerin Oluşum Mekanizmaları	11
2.1.5 Lipid Peroksidasyonu	12
2.1.6 Serbest Radikallerin Zararları ve Canlı Vücuduna Etkileri	14
2.2 Antioksidanlar	15
2.2.1 Antioksidanların Sınıflandırılması	15
2.2.2 Polifenoller	17
2.2.3 Karotenoidler	18
2.2.4 C Vitamini (L-askorbik asit)	18
2.2.5 E Vitamini (α - tokoferol)	19
2.3 Udi Hindi (<i>Aquilaria agallocha</i>) Bitkisi ve Özellikleri	20
2.3.1 Udi Hindi Bitkisi Fitokimyasal Yapısı ve Etkileri	20
2.3.2 Udi Hindi Bitkisi ile İlgili Yapılan Önceki Çalışmalar	22

2.3.3	Udi Hindi (<i>A. agallocha</i>) Antioksidan Etkinliği	24
3	MATERYAL METOT	25
3.1	Çalışmada Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar	25
3.1.1	Çalışmada Kullanılan Cihazlar	25
3.1.2	Kimyasallar	25
3.1.3	Udi Hindi Kökünün Temini	27
3.2	Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması	28
3.3	Bitki Çaylarının Hazırlanması	29
3.4	Uygulanan Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri	30
3.4.1	Toplam Flavonoid İçeriğinin Tayini	30
3.4.2	Toplam Fenolik Bileşik İçeriği Tayini	31
3.4.3	Antosiyanin Tayini	32
3.4.4	Prolin Analizi	33
3.4.5	β -Karoten Ağartma Yöntemi	34
3.4.6	İndirgeme Gücü	35
3.4.7	Metal şelatlama Aktivitesi	36
3.4.8	DPPH•+ Radikali Süpürme Aktivitesi	37
3.4.9	ABTS•+ Radikali Süpürme Aktivitesi	39
3.4.10	DMPD•+ Radikali Süpürme Aktivitesi	41
3.4.11	Udi Hindi Bitki Çayı Deneylerinde Antioksidan Etki	42
4	BULGULAR	44
4.1	Toplam Fenolik Bileşik İçeriği Tayini	44
4.2	Toplam Flavonoid İçeriğinin Tayini	44
4.3	Antosiyanin Tayini	44
4.4	Prolin Analizi	45
4.5	β -Karoten Ağartma Yöntemi	45
4.6	İndirgeme Gücü Belirlenmesi	46
4.7	Metal şelatlama Gücü Belirlenmesi	47
4.8	DPPH•+ Radikali Yakalama Gücü	47
4.9	ABTS•+ Radikali Yakalama Gücü	48
4.10	DMPD•+ Radikali Süpürme Aktivitesi	49
4.11	Udi Hindi Bitki Çayı Deneylerinde Antioksidan Etki	49
4.11.1	DPPH•+ Radikali Yakalama Gücü	49
4.11.2	Metal şelatlama Gücü Analizi	50
4.11.3	İndirgeme Gücü Belirlenmesi	52
5	SONUÇ	54

KAYNAKÇA

59

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

67



SİMGE LİSTESİ

A	Absorbans
α	Alfa
β	Beta
dk	Dakika
e-	Elektron
γ	Gama
g	Gram
L	Litre
m	Metre
μ	Mikro
μg	Mikrogram
μL	Mikrolitre
μmol	Mikromol
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
M	Molar
nm	Nanometre
sn	Saniye
°C	Santigrat derece
cm	Santimetre
%	Yüzde

KISALTMA LİSTESİ

ABTS	2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
ADP	Adenozin difosfat
ATP	Adenozin trifosfat
ALT	Alanin aminotransferaz
ALB	Albümin
ALP	Alkalen fosfataz
AST	Aspartat aminotransferaz
AA	Araşidonik asit
THIE	Avrupa çay ve bitkisel infüzyon birliği
BHA	Bütillenmiş hidroksi anisol
BHT	Bütillenmiş hidroksi toluen
DNA	Deoksiribonükleik asit
ETZ	Elektron taşıma zinciri
EAE	Etil asetat ekstraktı
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
FRAP	Ferrik iyon indirgeme antioksidan parametresi
FAD	Flavin adenin dinükleotit
GPx	Glutasyon peroksidaz
VIS	Görünür ışık
IL-1	İnterlökin-1
XO	Ksantin oksidaz
LDH	Laktat dehidrogenaz

MDA	Malondialdehit
NOX	NADPH oksidaz
NADH	Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
DMPD	N,N-dimetil-p-fenilendiamin
Tween-20	Polisorbat 20
Tween-40	Polisorbat 40
R•	Radikal
RNS	Reaktif nitrojen türleri
ROS	Reaktif oksijen türleri
RNA	Ribonükleik asit
RAA	Rölatif antioksidan aktivite
SOD	Süperoksit dismutaz
TBHQ	Tersiyer-bütilhidrokinon
TP	Toplam protein
TCA	Trikloroasetik asit
TNF	Tümör nekroz faktörü
UV	Ultraviyole (mor ötesi)
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1	Fenton ve Haber Weiss Reaksiyonu [4], [29]	6
Şekil 2.2	Elektron transport zincirinde reaktif oksijen türleri salınımı [24] .	7
Şekil 2.3	Nötrofil ve lökositlerde reaktif oksijen türlerinin oluşturduğu solunum patlaması [32]	8
Şekil 2.4	Siklooksijenaz yolağı [35]	9
Şekil 2.5	Prostaglandin sentezi [36]	9
Şekil 2.6	Pürin bozunma yolu, ksantin oksidazın katalitik döngüsü [39] . .	10
Şekil 2.7	Hipoksantinin ürik aside oksidasyonu [40]	10
Şekil 2.8	Hidrokinon molekülünün radikal aktivitesi [46]	12
Şekil 2.9	Lipid peroksidasyonu tepkimesi [46]	12
Şekil 2.10	Lipid peroksidasyonu başlama aşaması [40]	13
Şekil 2.11	Lipid peroksidasyonu ilerleme aşaması [40]	13
Şekil 2.12	Lipid peroksidasyonu sonlanma aşaması [40]	14
Şekil 2.13	Serbest radikallerin yol açtığı membran hasarı [39]	14
Şekil 2.14	Sentetik antioksidan BHA ve BHT'nin kimyasal yapıları [51] . .	16
Şekil 2.15	Doğal kaynaklardan üretilen antioksidan bileşenlerin sınıflandırılması [52]	16
Şekil 2.16	Çeşitli polifenollerin moleküler gösterimi [58]	18
Şekil 2.17	β -karotenin kimyasal yapısı [61]	18
Şekil 2.18	L-askorbik asidin moleküler yapısı [62]	19
Şekil 2.19	Tokoferolün antioksidan aktivite ile lipid peroksidasyonunu önlemesi [51]	19
Şekil 2.20	Tokoferolün molekül yapısı [50]	19
Şekil 2.21	<i>A. agallocha</i> ağaçlarından tanımlanan 2-(2-feniletetil) kromonların yapıları [68]	21
Şekil 2.22	<i>A. agallocha</i> ağaç kökünde bulunan seskiterpenlerden Gmelofuran'ın yapısı [67]	21
Şekil 2.23	Agarwood kaynaklı kromonların yapıları [68]	22
Şekil 2.24	<i>Aquilaria</i> ağaçlarından tanımlanan seskiterpenlerin yapıları [68] .	23
Şekil 3.1	Udi hindi kökü kullanıma hazırlama aşamaları	27
Şekil 3.2	Farklı çözücüler ile udi hindi kökü ekstraktları hazırlanması	28

Şekil 3.3	Demleme ve kaynatma metotlarına göre udi hindi kökü bitki çayı hazırlanması	29
Şekil 3.4	Toplam flavonoid tayini	30
Şekil 3.5	Bir flavonidin genel yapısı [77]	31
Şekil 3.6	Folin-Ciocalteu ile fenolik madde tayininde genel redoks reaksiyonu [84]	31
Şekil 3.7	Antosiyanin türevleri [85]	32
Şekil 3.8	Bitki kökünün antosiyanin analizi için hazırlanan çözelti	33
Şekil 3.9	Ekstrelerin prolin analizi	34
Şekil 3.10	β -karoten ağartma tayini	35
Şekil 3.11	İndirgeme gücü kapasitesi analizi	36
Şekil 3.12	Metal şelatlama aktivitesi analizi	37
Şekil 3.13	DPPH•+ radikalinin antioksidan ile etkileşimi [98]	37
Şekil 3.14	Kararlı bir hidrazil serbest radikali olan DPPH•+'nın kimyasal yapısı [99]	38
Şekil 3.15	Ekstrelerin DPPH radikali süpürme aktivitesi	38
Şekil 3.16	ABTS•+ radikalinin antioksidan bileşik ile etkileşimi [101]	39
Şekil 3.17	ABTS•+ radikali oluşumu	40
Şekil 3.18	Ekstrelerin ABTS•+ radikali yakalama aktiviteleri	41
Şekil 3.19	Ekstrelerin DMPD•+ radikali yakalama aktiviteleri	42
Şekil 3.20	Bitki örneklerinin kaynatma ve demleme formlarının DPPH•+ radikali yakalama analizi	42
Şekil 3.21	Bitki örneklerinin kaynatma ve demleme formlarının metal şelatlama analizi	43
Şekil 3.22	Bitki örneklerinin kaynatma ve demleme formlarının indirgeme gücü kapasitesi süpürme analizi	43
Şekil 4.1	<i>Aquilaria malaccensis</i> kaynaklı flavonoidlerin yapıları [68]	45
Şekil 4.2	Çalışılan bitki örneklerinin indirgeme gücü aktiviteleri	47
Şekil 4.3	Çalışılan bitki örneklerinin DPPH•+ radikali süpürme aktiviteleri	48
Şekil 4.4	Çalışılan bitki örneklerinin ABTS•+ radikali yakalama aktivitesi	48
Şekil 4.5	Çalışılan bitki örneklerinin DMPD•+ radikali süpürme aktivitesi	49
Şekil 4.6	Udi hindi çayı ve BHA'nın DPPH•+ radikali yakalama aktivitesi	50
Şekil 4.7	Udi hindi çayı örneklerinin metal şelatlama aktivitesi	51
Şekil 4.8	EDTA'nın metal şelatlama aktivitesi	51
Şekil 4.9	Udi hindi çayı örneklerinin indirgeme gücü	52
Şekil 4.10	BHA'nın indirgeme gücü aktivitesi	53

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1	Yaygın olan serbest radikaller [26]	5
Tablo 2.2	En sık görülen serbest radikallerin kimyasal reaksiyonları [43], [45]	11
Tablo 2.3	Endojen kaynaklı bazı enzimatik antioksidanlar [29]	17
Tablo 2.4	Endojen kaynaklı enzimatik olmayan bazı antioksidanlar [29] . .	17
Tablo 3.1	Çalışmada kullanılan kimyasalların listesi	26
Tablo 4.1	Çalışılan bitki örneklerinin fenolik madde içeriği, flavonoid madde içeriği ve prolin miktarı	45
Tablo 4.2	Çalışılan bitki örneklerinin β -karoten ağartma gücü	46

Udi Hindi Ekstraktlarının Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi

Büşra OKUR

Kimya Anabilim Dalı
Biyokimya Programı
Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Ayşegül PEKSEL

Besinlerin bileşiminde bulunan antioksidanlar; vücudun doğal seyrinde üretilen reaktif oksijen ya da reaktif azot türlerinin hücre hasarına yol açan aktivitelerini azaltmaktadır. Hücrelerde gerçekleşen metabolik olaylar sonucu serbest radikaller veya reaktif oksijen türleri optimum miktarın üstüne çıktığında hücre zarlarına saldırarak hasara yol açmaktadır. Antioksidanlar, serbest radikallerin artışına karşı radikal yakalama, radikali nötr hale getirme ve vücuttan atma fonksiyonlarına sahiptir. Antioksidanlar, yaşlanma süreciyle birlikte ilerleyen hastalıkları ve hücrelerde oluşan oksidasyon ürünlerini inhibe etme gücü sayesinde önemli bir role sahiptir.

Agarwood olarak da bilinen udi hindi bitkisinin pek çok ismi ve adlandırması vardır. Asya Kıtası'nda popüler olan bitkinin Latince isimlerine *Aquilaria malaccensis*, *A. agallocha*; yerel adlandırmalarına ise kartal ağacı, aloe ağacı, kusti bahri, oud olarak örnek verilebilir. Agarwoodun sağlık iyileştirici bir ürün olarak kullanımı sekizinci yüzyıldan bu yana devam etmektedir. Farmakoloji

alışmalarında agarwooddan elde edilen esansiyel yağ serbest radikalleri yakalayarak enflamasyonu önler.

Bu çalışmada udi hindi bitkisinin kökünden elde edilen su ve etil asetat ekstrelerinin her biri için antioksidan aktivite analiz yöntemlerinden toplam fenolik madde, toplam flavonoid içeriğı, DPPH radikali, ABTS katyon radikali ve DMPD katyon radikalleri yakalama etkisi, indirgeyici güç analizi, metal şelatlama etkisi, beta-karoten ağartma aktivitesi, antosiyanin analizi, prolin tespiti yöntemleri çalışılarak udi hindi bitkisi ekstrelerinin antioksidan kapasitesi incelenmiştir. Ayrıca kök bitkilerin kaynatma yöntemi ile etken maddelerinin aktifleştiğı bilinmektedir. Bitki kökünün çay formunu da değerlendirmek için demleme yöntemi ve kaynatma yöntemleri uygulandı. Udi hindi bitkisi kökünün sıcaklık faktörüne karşı antioksidan aktivitesindeki değişim gözlemlenerek çay formunda da antioksidan aktivite tespiti yapılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Aquilaria agallocha, udi hindi kökü, antioksidan aktivite

ABSTRACT

Determination Of Antioxidant Activities Of Agarwood Extracts

Büşra OKUR

Department of Chemistry
Master of Science Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Ayşegül PEKSEL

Antioxidants found in the composition of foods; the activities of reactive oxygen or reactive nitrogen species produced in the natural course of the disease, which cause cell infection, decrease. When free radicals or reactive oxygen species exceed the optimum amount as a result of metabolic events taking place in cells, they attack cell membranes and cause damage. Antioxidants have radical scavenging, radical regeneration and storage breakthrough to counter the increase of free radicals. Antioxidants have an important role thanks to their power to reduce diseases and oxidation that occur with the maturation process. Udi hindi plant, also known as agarwood, has many names and designations. The Latin names of the plant, which is popular in the Asian continent, are *Aquilaria malaccensis*, *A. agallocha*; examples of its local names are eagle tree, aloe tree, kusti bahri, oud. The use of agarwood as a health-improving product has been around since the eighth century. In pharmacology studies, the essential oil obtained from agarwood prevents inflammation by trapping free radicals.

In this research, antioxidant activity analysis methods were applied for each of the water and ethyl acetate extracts obtained from the root of the agarwood plant. Analysis methods, total phenolic substance content, total flavonoid content, DPPH radical, ABTS cation radical and DMPD cation radicals scavenging effect, reducing power analysis, metal chelation effect, beta-carotene bleaching activity, anthocyanin analysis, proline detection methods were applied. It is also known that the active ingredients of root plants are activated by boiling. Brewing method and boiling methods were applied to evaluate the tea form of the plant root. Antioxidant

activity was also determined in tea form by observing the change in antioxidant activity of agarwood plant root against the temperature factor.

Keywords: Aquilaria agallocha, agarwood root, antioxidant activity



1.1 Literatür Özeti

Metabolizma için redoks dengesi önemlidir bu sebeple redoks tepkimeleri sonucunda hücre içi antioksidan-oksidan dengesinin bozulması, kronik hastalıklara veya morbiditeye yol açar ve biyolojik homeostazda önemli bozulmalara neden olabilir [1], [2]. Özellikle, çok hücreli organizmalarda redoks sinyali ve redoks kontrolü, yaklaşık 600 milyon yıl önce atmosferik O_2 'deki artışla birlikte gelişmeye başlamıştır [3]. Oksijen, ATP üretimi için kullanıldığında serbest radikal olarak adlandırılan, yüksek aktivasyona sahip oksijen moleküllerinin oluşumunu tetiklemektedir [4]. Reaktif oksijen türlerinin 1990'lı yıllardan bu yana pek çok yaşam aktivitesini düzenleyen aktif bir faktör olduğu ileri sürülmektedir [5].

Serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri diğer moleküllerden veya atomlardan elektronları uzaklaştırma eğiliminde olmaları sebebiyle, hücrede artışları sonucu biyolojik sistemlerde oksidasyona neden olmaktadır [6]. Bu konuda yapılan önceki araştırmalar, serbest oksijen radikalleri artışının, lipit peroksidasyonunun artmasında ve birçok hastalığın ilerlemesinde rol oynadığını göstermektedir [7].

Antioksidanlar, serbest radikalleri etkisiz hale getiren fitokimyasallardır [8]. Antioksidanlar, hücrelerde serbest radikallerin artmasıyla meydana gelen oksidasyon ürünlerini ve bunun sonucunda ortaya çıkan bozulmuş metabolik sinyalleri onarma özellikleri sebebiyle güncel çalışmalarda ilgi odağı olmaya başlamıştır. Sağlıklı bireylerde, antioksidan kapasitesi diyet çeşitliliği niteliğini gösteren parametrelerden biridir [9].

Doğada oluşan temel antioksidan grupları, flavonoidler ve farklı fenolik gruplara sahip polifenoller çoğunlukla fotosentetik canlılar tarafından sentezlenirler [10]. Bitkilerdeki bu fonksiyonel faydaları olan bileşenlere genel olarak fitokimyasallar denilmektedir. Fitokimyasallar, diyet kaynaklı oldukları için daha güvenli kabul edilirler ve nispeten düşük toksisite ile daha iyi tolere edilirler [11]. Yapılan

alışmalara göre pek çok kök sebze, yapraklı sebze ve meyve güçlü antioksidan bileşenlere sahiptir. Zencefil, zerdeçal gibi baharat olarak kullanılan bitkilerin güçlü antioksidan içeriğe sahip olduğu bilinmektedir. Zencefil kksapı genellikle yiyeceklerle baharat olarak eklenir veya besin takviyesi olarak alınır, hatta çalışmalar zencefilin birçok ülkede en çok kullanılan bitkisel ilaç olduğunu kanıtlamıştır. Bu zellikleri sebebi ile tarih boyunca geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılmıştır [12].

Udi hindi ile ilgili çalışmalarda bitki genelde İngilizce ismi olan agarwood olarak geçmektedir ve Latince ismi *Aquilaria malaccensis*, *A. agallocha* ve *A. sinensis* ile eş anlamlı olarak literatürde yer alır. Bitkinin kullanımına ilişkin ilk bilimsel kayıt, Avicenna (İbni Sina)'ya aittir [13]. Agarwood reçinesinin esansiyel yağ bileşimi esas olarak seskiterpenler ve 2-(2-feniletıl) kromonların karışımını içermektedir [14]. Hidrosolnde ise seskiterpenler ve çeşitli düşük moleküler ağırlıklı aromatik bileşikler tespit edilmiştir [15]. Udi hindi bitkisinin en önemli biyoaktif bileşenleri alkaloidler, saponinler, steroidler, terpenoidler, tanenler, flavonoidler ve fenoliklerdir [16].

A. agallocha'nın antioksidan, antidiyabetik, antiinflamatuvar ve antibakteriyel aktiviteler gösterdiği, inflamasyon öncüllerini inhibe ettiği, oksidasyon hasarına karşı etkili bir savunma yaptığı ve bu özellikleri sayesinde inflamasyonla ilgili rahatsızlıkları tedavi etmek için geleneksel olarak kullanıldığı bilinmektedir [17]. Uzak doğu tıbbında farmakolojik olarak kullanımı olan agarwood esansiyel yağının 1 µL/mL konsantrasyonunda genotoksik olarak inaktif olduğu bulunmuştur [18]. Yapılan bir çalışmada 500-3500 µg/ml konsantrasyon aralığında, *Aquilaria agallocha*'nın öz odun kısmı etil asetat ekstrelerinin, güçlü bir antioksidan etki gösterdiği raporlanmıştır. İçeriğindeki bileşikler, 500-3500 µg/ml konsantrasyon aralığından daha yüksek konsantrasyonlarda ise pro-oksidan aktivite göstermektedir [19], [20]. Bu ve benzeri çalışmalara bakıldığında, *Aquilaria agallocha*'nın etil asetat ekstraktlarının serbest radikal temizleme aktivitesine sahip olduğu bilinmektedir [20].

1.2 Tezin Amacı

Bitkiler, geçmişten bu yana kadim ve modern tıp tarafından hastalıkları iyileştirmek için kullanılmıştır. Farmakoloji ve fitoterapi ile uğraşan bilim adamları tek bir bitki veya birden fazla bitkinin etken maddelerinin karışımı ile ilaçlar üretmektedir. Bitkiler, içerdikleri polifenol grubu bileşikler sayesinde antioksidan etkiye sahiptir. Bitkilerin bu şıfalı özellikleri halk tarafından da bilinip kullanılmaktadır. Dilden

dile aktarılan halk ilaçları popülarlığını hep korumaktadır. Geçmiş yıllarda, ülkemizde ve dünyada yayılmaya başlayan Covid-19 (patojen ajanı SARS-CoV-2 olan) salgın döneminde de hastalık karşısında doktorlar yeni tedavi yöntemleri geliştirmeyi amaçladı. Halk arasında da salgına yönelik koruyucu bitkisel tedavi yöntemleri kullanılmaya başlandı. Udi hindi yağı kullanımı, salgın döneminde halk arasında popüler hale gelen bitkisel bir tedavi yöntemi olmuştur. Günümüzde sosyal medyanın aktif olarak kullanılması, bu tedavi önerisinin insanlar arasında yayılmasını hızlandırmıştır. Covid-19 salgınında, doğruluğu kanıtlanmamış modern tıbbi tedavi ve ilaçları reddeden hastalar tarafından udi hindi yağı gibi doğal bitkisel yöntemler tercih edilmiştir. Udi hindi bitkisi ile ilgili yapılan kimyasal çalışmalar incelendiğinde, udi hindi bitkisinin çeşitli etken maddelere sahip olduğu tespit edilmiştir, fakat antioksidan kapasitesi analizine dair çalışmalar kısıtlıdır. Bu çalışmada, popüler hale gelen udi hindi bitkisinin ekstrelerinin ve bitki çayı formunun antioksidan kapasitesinin araştırılması hedeflenmiştir.

1.3 Hipotez

Bu çalışmada, udi hindi kökünün su ve etil asetat çözücülerini kullanarak, ultrases ses destekli ekstraksiyon yöntemi ile ekstraktları hazırlanmıştır. Su ve etil asetat ekstraktlarının her biri için antioksidan aktivite analiz yöntemlerinden total fenolik ve total flavonoid bileşenlerin ölçümlerinin yapılması, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikali yakalama etkisi, ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) radikali yakalama etkisi, DMPD (N,N-dimetil-p-fenilendiamin) radikali yakalama etkisi, indirgeyici güç analizi, metal şelatlama etkisi, β -karoten ağartma aktivitesi, antosiyanin analizi, prolin tespiti yöntemleri çalışılarak udi hindi bitkisi ekstraktlarının antioksidan kapasitesi incelenmiştir. Ayrıca kök bitkilerin kaynatma yöntemi ile etken maddelerinin aktifleştirdiği bilinmektedir. Bitki örneklerinin çay formunu değerlendirmek için demleme yöntemi ve kaynatma yöntemleri uygulanmıştır. Udi hindi bitkisi kökünün sıcaklık faktörüne karşı antioksidan aktivitesindeki değişim gözlemlenerek çay formunda da antioksidan aktivite tespiti yapılmıştır.

2 GENEL BİLGİLER

Oksijen, yaşamın başlangıcından sonuna kadar ulaşılması gereken elzem elementtir. Canlıların birçok metabolik faaliyetinin aksamadan devam etmesi için oksijene ihtiyaç duyulur. Oksijen, hücrelerde oksijen molekülünün kullanıldığı olaylarda sürekli olarak serbest radikallerin oluşumuna neden olmaktadır. Ayrıca, mitokondri organelinde sürekli üretilmektedir [4]. Düşük veya orta düzeyde meydana gelen radikaller, hücre sinyal yollarında uyarıcı olarak bağışıklık sistemi üzerinde faydalı etki göstermektedir. Hücre içinde konsantrasyonları arttığında ise tüm hücre yapılarına zarar verebilecek kadar zararlı hale gelebilmektedir [21]. Antioksidanlar ise bu radikallerin neden olduğu hasarları azaltmaktadır [22].

2.1 Serbest Radikaller

Eşleşmemiş elektron ya da elektron çiftleri içerebilen herhangi bir molekül veya atom olarak tanımlanan serbest radikallerin bu özellikleri onları reaktivitesi yüksek hale getirir. Serbest radikaller diğer moleküllerden veya atomlardan elektronları uzaklaştırma eğilimindedir. Bu özellikleri sebebiyle oksidasyona neden olmaktadır [6]. Son yapılan çalışmalar, serbest oksijen radikallerinin, lipid peroksidasyonunu artırdığını ve pek çok hastalığın seyrinde rol oynadığını göstermektedir. Serbest oksijen radikallerinin konsantrasyonunun artması, Schwann hücrelerinde ve nöronlarda kümülatif yıkıcı etkilere neden olmaktadır [7]. Oksidasyona yol açan bu tepkimeler, redoks dengesinin bozulmasıyla birlikte hastalıklara ve morbiditeye yol açacak şekilde biyolojik homeostazda önemli dengesizliklere neden olabilmektedir [23]. Geçmişte ROS'un yalnızca hücrelere zararlı olduğuna inanılsa da son çalışmalar, ROS'un farklı hücre içi yollara aracılık eden çok önemli ikinci haberciler olduğunu göstermiştir [24]. Yapılan bu çalışmalara rağmen serbest radikallerin sadece kötü ve zararlı kelimesini temsil etmediğine dair moleküler açıklamalar şöyledir:

(i) sağlıklı bir insanda serbest radikallerin üretimi, sistemde bir anormallik

değil, fizyolojik bir süreçtir; çünkü organizma, enzimler yoluyla, belirli hücresel konumlarda ve belirli miktarlarda temel serbest radikalleri de novo olarak üretir;

(ii) serbest radikaller, spesifik ve düzenlenmiş oksidatif reaksiyonlar yoluyla, hücre sinyali olarak bilinen temel biyolojik süreci, yani hücrenin kendisiyle ve diğer hücrelerle iletişimini kontrol eder;

(iii) serbest radikaller fagositoz, oksijen taşınması ve enerji üretimi gibi önemli süreçlerde görev yapar [6].

Reaktif oksijen ve hidrojen türleri, sık egzersize karşı metabolizmanın oluşturduğu yanıtı düzenleyen fizyolojik sinyal yollarında da önemli rollere sahiptir. Örneğin, fiziksel egzersiz ROS düzeylerini artırır, bu da hücre çoğalması ve antrenman adaptasyonu ile ilgili sinyal yollarının gen ekspresyonunu artırır fakat eksojen antioksidan kullanımıyla bu durum ortadan kaldırılmaktadır [1].

2.1.1 Serbest Radikallerin Sınıflandırılması ve Kaynakları

Serbest radikaller, canlı sistemlerde fizyolojik metabolizmanın sonucu oluşan oldukça reaktif, kısa ömürlü organik ve inorganik moleküllerdir. Oksijen, karbon, nitrojen ve kükürt merkezli dört tip radikal vardır. Oksijen radikalleri fotosentez ve aerobik solunumun benzer şekilde oksijen kullanması nedeniyle biyolojik sistemlerde yaygın olarak görülen serbest radikallerdir. Biyolojik sistemlerde oksijen merkezli radikallerin önemi nedeniyle serbest radikallere reaktif oksijen türleri (ROS) adı da verilmektedir [25].

Tablo 2.1 Yaygın olan serbest radikaller [26]

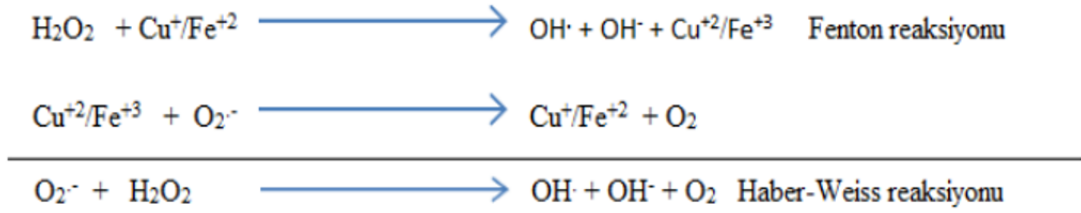
Sembol	Radikal	Özellik
H·	Hidrojen	En çok bulunan radikal
OH·	Hidroksil	Aktivitesi en yüksek oksijen radikali
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit	Aktivitesi en düşük oksijen radikali
O ₂ ^{·-}	Süperoksit	Aerobik tepkimelerde en yaygın görülen radikal
ROO·	Peroksil	Lipidlerin oksidasyonu sonucu oluşan radikal
NO·	Nitrik Oksit	Fizyolojik düzenlemelerden sorumlu radikal

2.1.2 Endojen Serbest Radikal Kaynakları

Reaktif oksijen türlerinin 1990'lı yıllardan bu yana pek çok yaşam aktivitesini düzenleyen aktif bir faktör olduğu ileri sürülmektedir [5]. Mental stres, yoğun egzersiz, bağışıklık sisteminin sık uyarılması, enfeksiyon artışı, iltihap oluşumu, artmış iskemi, kanser ve yaşlanma gibi faktörlerin etkisiyle endojen olarak serbest radikallerin hücre içi konsantrasyonu artmaktadır [21]. Endojen olarak en önemli

üretim yeri mitokondridir. Elektron taşıma zinciri, oksijenin kısmi indirgenmesi yoluyla üretilen süperoksitin çoğundan sorumludur. Aktivite açısından hidroksil radikali bilinen en reaktif türdür ve ROS'un sitotoksik etkilerinden büyük ölçüde sorumludur. Buna karşılık, nitrik oksit ve hidrojen peroksit gibi reaktif türler daha az reaktiftir ve çeşitli hücrel aktivitelere önemli bir rol oynadıkları gösterilmiştir [27].

H_2O_2 'nin Fe^{2+} ile Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları, oksidatif stresi artıran, lipid, protein ve DNA hasarından sorumlu olan hidroksil radikallerini üretir [28]. Hidroksil radikali, biyomoleküllere karşı güçlü reaktivite gösterir ayrıca hücrelerde daha ciddi zararlar oluşturabilecek etki gücüne sahiptir. Şekil 2.1'de görüldüğü gibi Fe^{2+} ve Cu^+ gibi geçiş elementlerinin bulunduğu ortamda hidrojen peroksit, indirgenerek $\bullet OH$ 'a dönüştürülür. Bu reaksiyon "Fenton reaksiyonu" olarak adlandırılır. Fenton reaksiyonu ile süperoksit radikali tepkime verdiğinde oluşan metal iyonlarının yeniden kullanılması sağlanır. Bu tepkimeler "Haber-Weiss tepkimeleri" olarak adlandırılır (Şekil 2.1). Bu yönüyle geçiş elementleri, $OH\bullet$ oluşmasında etkili role sahiptir [4].

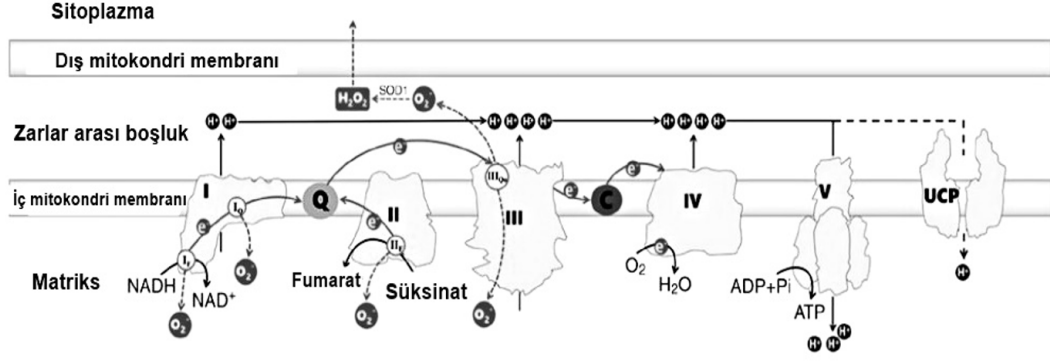


Şekil 2.1 Fenton ve Haber Weiss Reaksiyonu [4], [29]

Endojen serbest radikal kaynakları şu şekilde sıralanabilir:

1. Mitokondriyal Enerji Üretimi

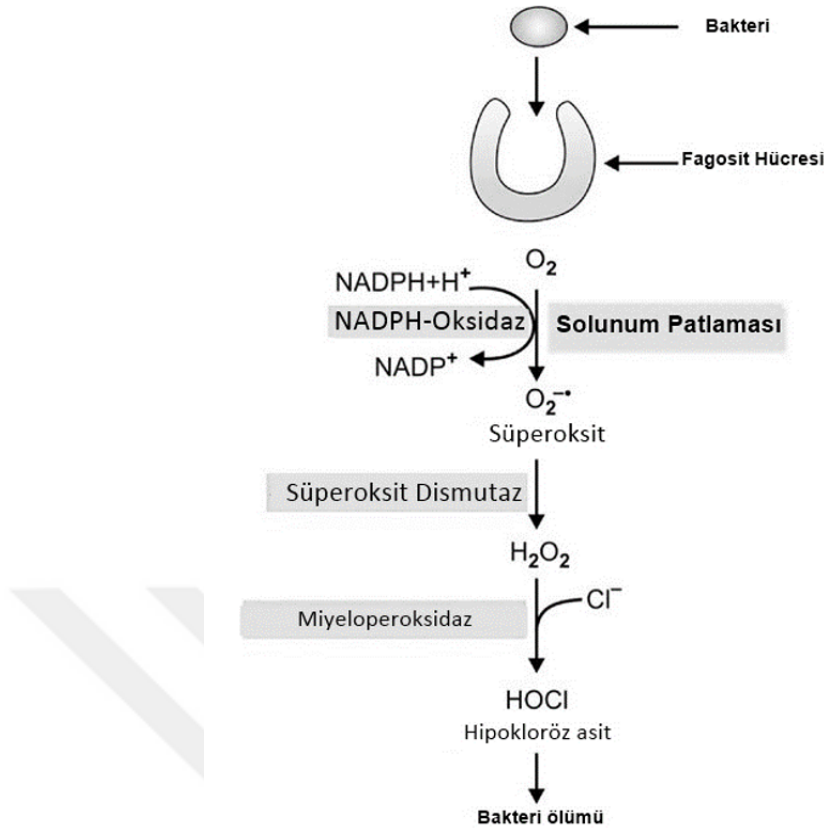
ATP üretimi sırasında fizyolojik koşullar altında ETZ'deki elektronların aktarımında %100 verim sağlanamaz, %0,2-2'si normal şekilde transfer edilemez, ETZ'den dışarı sızar ve süperoksit veya H_2O_2 oluşturmak üzere oksijenle etkileşime girer [5]. Elektron kaçağı ve proton kaçağının varlığı nedeniyle, ETZ'deki tüm elektronlar son elektron alıcısı O_2 'ye aktarılamaz bu sebeple aktarılan elektronlar tarafından salınan enerji, ATP üretimi ile tamamen birleştirilemez. Elektron sızıntısı tarafından üretilen ROS ($O_2^{\cdot-}$ ve H_2O_2) hücrelerin fizyolojik ve patolojik dengesinin sürdürülmesinde önemli rol oynamaktadır (Şekil 2.2) [24].



Şekil 2.2 Elektron transport zincirinde reaktif oksijen türleri salınımı [24]

2. Nötrofil ve Lökositlerde Solunum Patlaması

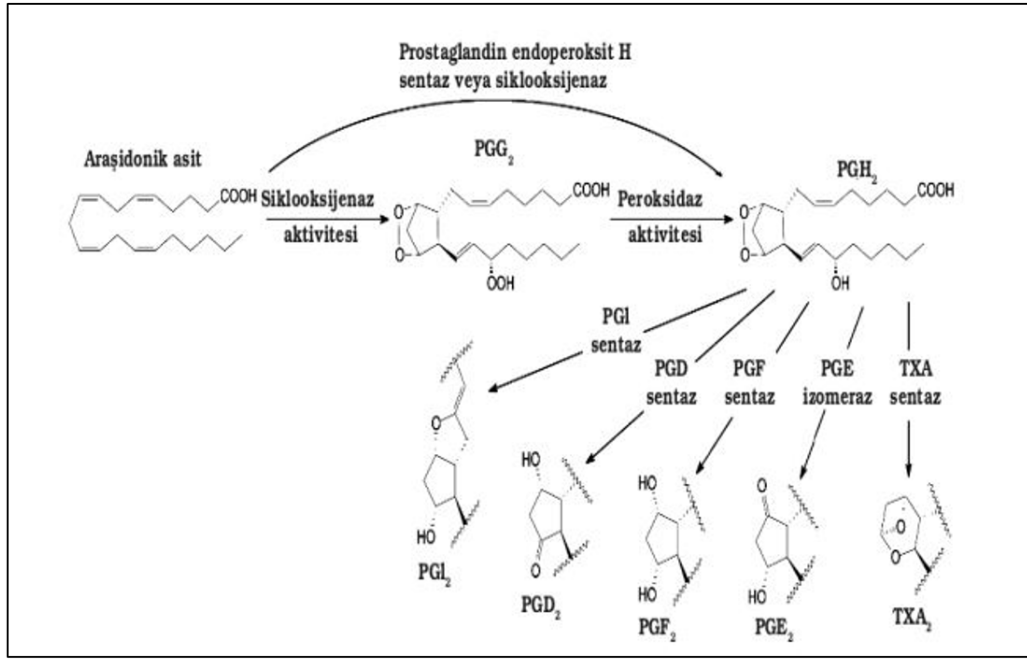
Mikroorganizmalar ve bakteriler fagositlerin içine alındığında ROS etkisiyle parçalanarak hücreden uzaklaştırılır. Fakat ROS'lar aşırı arttığında sağlıklı organizmaya zarar vererek çeşitli hastalıkların patogenezinde rol oynarlar [26]. Nötrofiller, eozinofiller, monositler ve makrofajlar gibi fagositler, yüksek düzeyde ROS üretmek için antimikrobiyal mekanizmaların bir parçası olan, süperoksit üreten NADPH oksidazı (NOX) kullanırlar [30]. Nötrofillerin en önemli savunma mekanizmalarından biri, reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu yoluyla güçlü bir oksidatif patlama yetenekleriyle ilişkilidir. Oksidatif patlama, istilacı mikroorganizmaların ortadan kaldırılması için etkili bir yöntemdir [31]. Fagozom membranında lokalize olan NADPH oksidaz aracılığıyla NADPH'tan O_2 'ye elektron aktarılması sonucu "solunum patlaması (respiratory burst)" adı verilen, oksijen kullanımının yükseldiği ve süperoksit radikal konsantrasyonunun arttığı bir süreç gerçekleşir (Şekil 2.3).



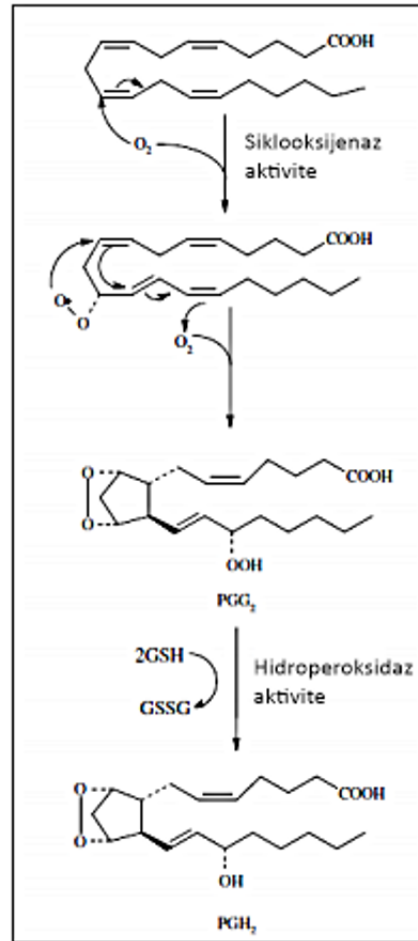
Şekil 2.3 Nötrofil ve lökositlerde reaktif oksijen türlerinin oluşturduğu solunum patlaması [32]

3. Araşidonik Asit Metabolizması

Araşidonik asit (AA), normalde hücre zarında fosfolipidler formunda insan vücudunda bolca bulunur. Hücre zarı uyaranlara, özellikle de inflamatuvar reaksiyona maruz kaldığında, fosfolipitler hücre zarından salınır [33]. Hücreler AA'ya maruz kaldığında mitokondriyal solunum zincirindeki kompleks I ve III enzimlerinin aktivitesinin inhibe edilmesi ve mitokondriyal membranların akışkanlığının artırılmasıyla ROS üretimi de indüklenir [34]. Şekil 2.4 ve 2.5'de bu reaksiyonlar gösterilmiştir.



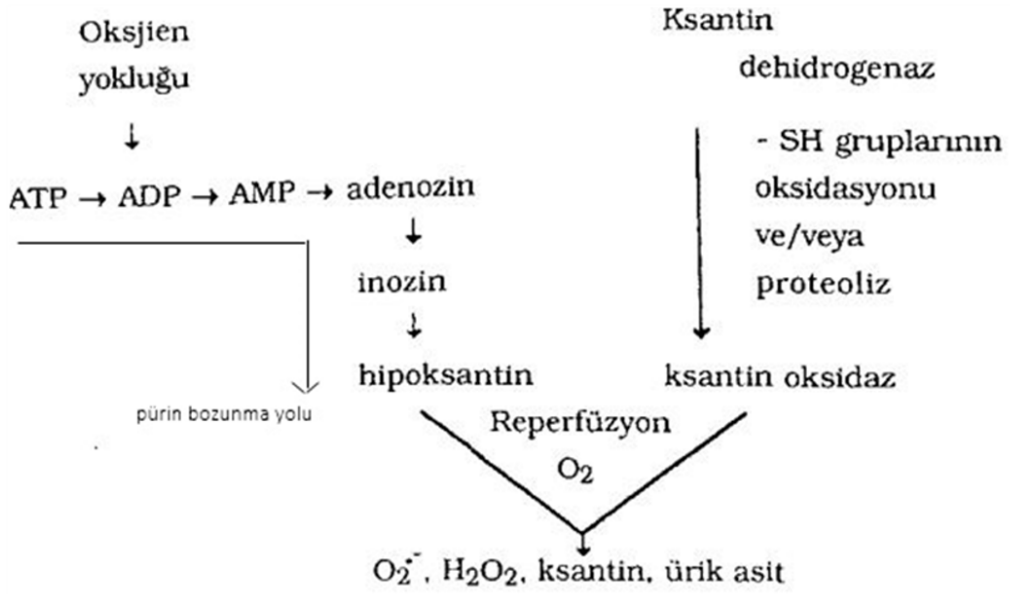
Şekil 2.4 Siklooksijenaz yolağı [35]



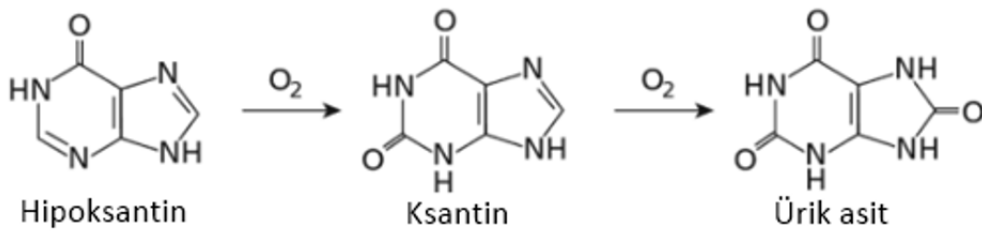
Şekil 2.5 Prostaglandin sentezi [36]

4. Ksantin Oksidazın Katalitik Döngüsü

Ksantin oksidaz (XO), tüm hücre tiplerinde bulunur, esas olarak dehidrojenaz olarak görev yapar ve çoğu durumda düşük düzeyde aktiviteye sahiptir [37]. Artan hipoksantin seviyeleri, ürik asitin daha fazla oksidasyonu için XO aktivitesinin artmasını indükler (Şekil 2.7). XO reaksiyonları; yüksek yoğunluklu antrenmanlar, cerrahi ameliyatlar, miyokardik şok ve anemi sebebi ile oluşur [26]. Bu durum XO fonksiyonu açısından çok önemlidir ve bu arada yan ürünler olarak O_2^- ve H_2O_2 üretilir (Şekil 2.6) [38].



Şekil 2.6 Pürin bozunma yolu, ksantin oksidazın katalitik döngüsü [39]



Şekil 2.7 Hipoksantin ürik aside oksidasyonu [40]

5. Endoplazmik Retikulum Radikalleri

Endoplazmik retikulumda hücrelere ulaşan kimyasalların zehirsizleştirilmesi gerçekleştirilir. Sitokrom P-450 enzimleri ile katalizlenen zehirsizleştirme işlemleri sırasında farklı serbest radikaller oluşur [26].

6. Stres

Psikolojik stres, fizyolojik, nöroendokrin ve otonomik değişikliklere sebep olur. Özellikle, stres hormonlarından olan glukokortikoidler mitokondrinin aktivitesini arttırarak ROS üretiminin artışına sebep olur [41].

7. Bazı Geçiş Metalleri

H_2O_2 , özellikle demir, bakır veya diğer geçiş elementlerinin ortamda bulunduğu zamanlar indirgenerek $OH^\bullet$ 'a dönüştürülür.

2.1.3 Eksojen Serbest Radikal Kaynakları

Eksojen ROS kaynakları, UV ışınları ve çeşitli kimyasal maddeler başta olmak üzere, hava ve su kirliliği, sigara dumanı, alkol, ağır metaller veya geçiş metalleri, ksenobiyotikler, bazı ilaçlar, endüstriyel çözücüler, gıda tütülenme yöntemi, yağ metabolizmasının bazı toksik ürünleri ve radyasyon etkisi ile oluşmaktadır [4], [21], [30], [42].

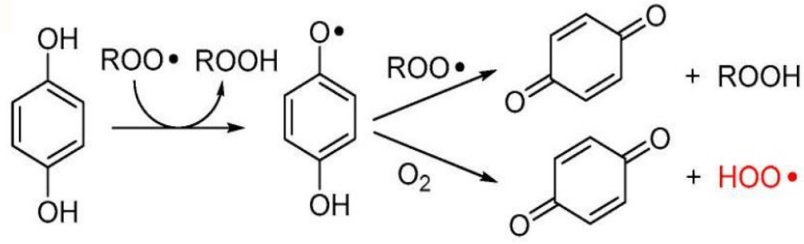
Sigara dumanı pek çok oksidan madde ve ROS'ları içerir. Ayrıca sigara dumanının akciğerlere solunması, nötrofil ve makrofajların birikmesi gibi bazı endojen mekanizmaları da aktive ederek oksidan hasarı daha da artırır. Ozon gazı, kurşun ağır metali maruziyeti lipid peroksidasyonuna neden olan diğer faktörlerdendir [43].

2.1.4 Serbest Radikallerin Oluşum Mekanizmaları

Serbest radikal aracılı reaksiyonların önemli bir özelliği, zincirleme reaksiyon olarak ilerleme eğiliminde olmalarıdır. Örneğin lipid peroksidasyonu zincirleme devam ettiği için hücrelerde büyük bozunmalara sebep olacak kadar tehlikelidir [44].

Tablo 2.2 En sık görülen serbest radikallerin kimyasal reaksiyonları [43], [45]

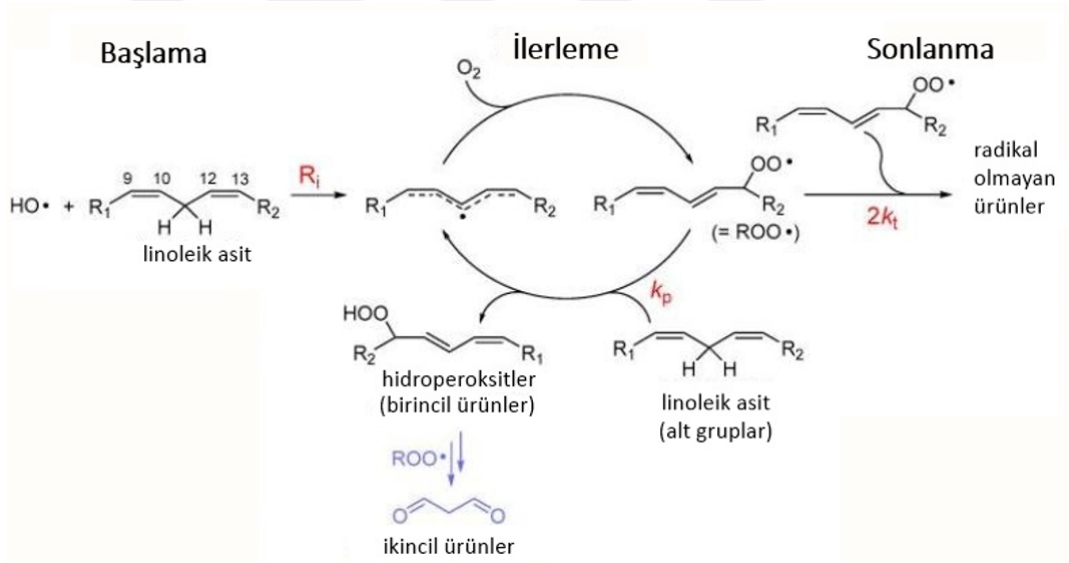
Radikal adı	Formül	Mekanizmalar
Süperoksit	O_2^-	$O_2 + e^- \rightarrow O_2^-$
Peroksi radikali	$ROO^\bullet$	$R + O_2 \rightarrow ROO^\bullet$
Hidroperoksil radikali	$HOO^\bullet$	$O_2^- + H_2O \rightarrow HOO^\bullet + OH^-$
Hidroksil	$OH^\bullet$	$H_2O_2 + O_2^- \rightarrow OH^\bullet + OH^- + O_2$
Hipokloröz asit	$HOCl$	$H_2O_2 + Cl^- + H^+ \rightarrow HOCl + H_2O$
Hidrojen peroksit	H_2O_2	$Hüresel\ O_2 \rightarrow SOD \rightarrow O_2 + H_2O_2$ $O_2 + 2e^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$ $Hipoksantin + H_2O + O_2 \rightarrow ksantin + H_2O_2$ $Ksantin + H_2O + O_2 \rightarrow H_2O_2 + urikasit$



Şekil 2.8 Hidrokinon molekülünün radikal aktivitesi [46]

2.1.5 Lipid Peroksidasyonu

Serbest radikaller, bir yan zincir metilen karbonundan hidrojen atomunu kopararak lipid peroksidasyon zincirleme tepkimelerini başlatabilirler. Lipid radikali bu tepkimelerle oksijen ile tepkimeye girerek peroksil radikali üretir. Peroksil radikali bir zincirleme tepkime başlatır ve çoklu doymamış yağ asitlerini lipid hidroperoksitlere dönüştürür. Kararsız olan lipid hidroperoksitler, malondialdehitler (MDA'lar) ve aldehitler gibi ikincil ürünlere dönüşürler [43].

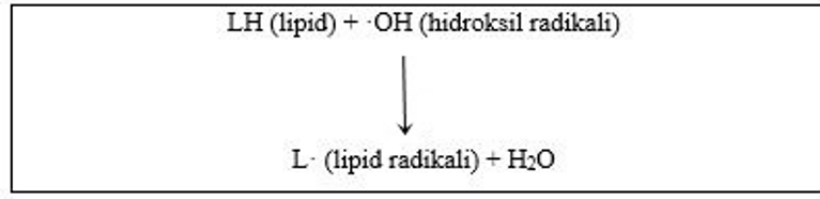


Şekil 2.9 Lipid peroksidasyonu tepkimesi [46]

Lipid Peroksidasyonu Aşamaları

1. Başlatma Aşaması

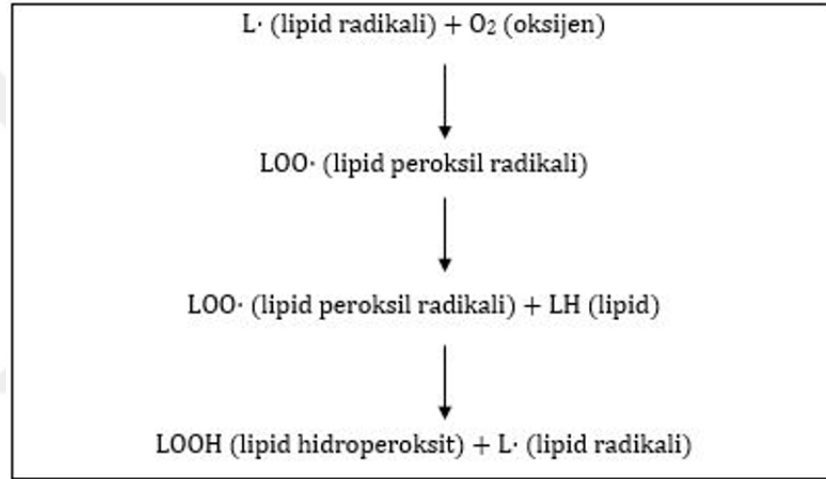
Lipid peroksidasyonu, bir hidrojen atomunun lipid molekülünden serbest bir radikal (genellikle hidroksil radikali, $\bullet\text{OH}$) tarafından koparılmasıyla başlar. Bu, lipidden bir lipid radikali ($\text{L}\bullet$) oluşturur.



Şekil 2.10 Lipid peroksidasyonu başlama aşaması [40]

2. İlerleme Aşaması

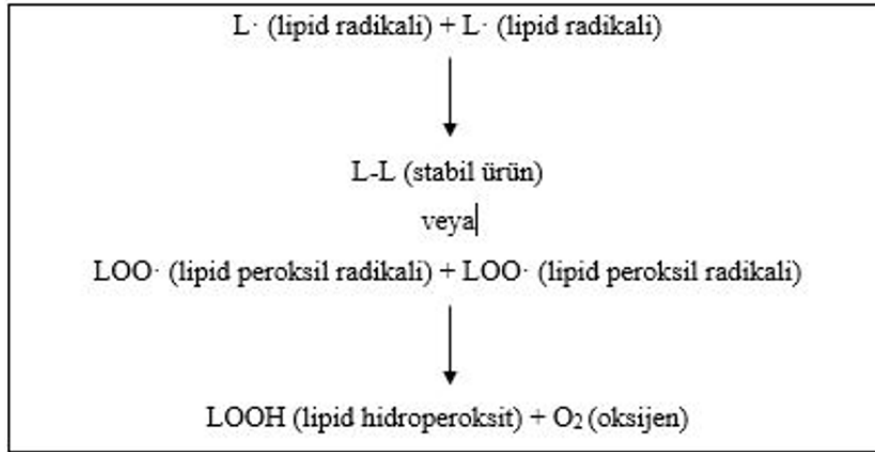
Oluşan ($\text{L}\cdot$) radikali oksijenle varlığında hızlıca ($\text{LOO}\cdot$) radikalini oluşturarak zincirleme tepkimeleri sürdürür. Bu radikal, diğer lipid moleküllerinden hidrojen atomlarını kopararak zincir reaksiyonunu devam ettirir.



Şekil 2.11 Lipid peroksidasyonu ilerleme aşaması [40]

3. Sonlanma Aşaması

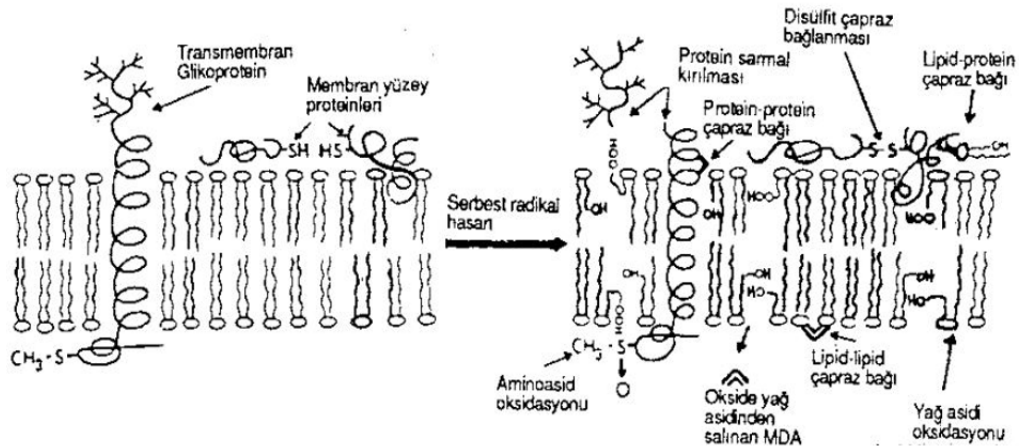
Zincir reaksiyonları, iki radikalin bir araya gelerek daha stabil ürünler oluşturmasıyla sona erer.



Şekil 2.12 Lipid peroksidasyonu sonlanma aşaması [40]

2.1.6 Serbest Radikallerin Zararları ve Canlı Vücuduna Etkileri

Serbest radikaller nötralize edilmediklerinde hücre zarlarına saldırma, biyomoleküllere saldırarak fonksiyonlarını bozma, çekirdek zarına zarar vererek genetik materyale kadar ulaşabilme etkisine sahiptir. Bu sebeple DNA'yı mutasyonlara açık hale getirerek hücrelerin bağışıklık sistemine darbe vurabilmektedir [7]. Oksidatif stres, oksidan türlerin üretimi ile antioksidan savunmalar arasındaki, hücresel redoks homeostazisini etkileyerek moleküler değişikliklere yol açan ve dolayısıyla hücre hasarına yol açabilen bir dengesizlik olarak tanımlanabilir [2], [6] .



Şekil 2.13 Serbest radikallerin yol açtığı membran hasarı [39]

Vücut, serbest radikal gruplarını azaltmak için C vitamini (askorbat), E vitamini, glutatyon ve çeşitli enzimler gibi doğal antioksidanlar kullanır. Serbest radikallerin oluşumu kontrol edilmezse aşırı reaktif oksijen birikimi lipidlerin ve proteinlerin yapısını değiştirebilir ve hücresel işlev bozukluğuna neden olabilir [47]. Oksidan türler, lipidler, proteinler ve DNA dahil olmak üzere biyolojik sistemlerin tüm

bileşenlerine zarar verebilir ve bu modifikasyonlar kanser, Alzheimer ve Parkinson gibi hastalıklara, nörolojik bozukluklara ve çeşitli metabolik sistemlerde hasara sebep olabilirler [48].

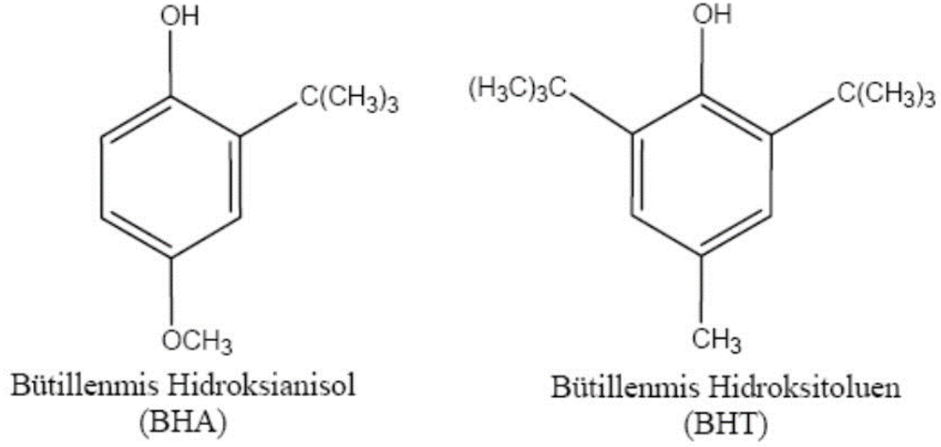
2.2 Antioksidanlar

Bir antioksidan, diğer moleküller veya atomlar tarafından gerçekleştirilen oksidatif modifikasyonları geciktiren, önleyen veya ortadan kaldıran (indirgemeye neden olan) herhangi bir molekül veya atomdur [6]. Dünyanın her yerinden çok sayıda araştırmacı, antioksidanların kardiyovasküler hastalıklar, kanser, diyabetik komplikasyonlar, Alzheimer ve benzeri hastalıkları önleyip önleyemeyeceğini araştırmıştır [44]. Diyet toplam antioksidan kapasitesi, metabolik sendrom ve çeşitli kanser türleri ile ters korelasyon gösterir. Sağlıklı bireylerde, antioksidan kapasitesi diyet çeşitliliği niteliğini göstermektedir [9]. Ayrıca besinlerde doğal olarak bulunan bazı besin öğeleri antioksidan sistemi destekleyerek vücudun savunma sistemine katkı sağlar. Fakat tüm bu olumlu yanını öne çıkaran çalışmalara rağmen antioksidanlara mutlak iyi ve sadece faydalı bileşikler gözüyle bakmak doğru değildir. Antioksidan eksikliği olan bireylere hedefli bir şekilde uygulanan antioksidan takviyenin iyileştirici etkisi vardır ancak eksikliği olmayan bireylerde uygulanan takviye ekstra bir iyilik hali sağlamamaktadır [49]. Fazla antioksidan tüketiminin olumsuz etkileri de göz önünde bulundurulmalıdır. Eksojen antioksidanlar, hücre sinyalleşmesi için gerekli olan serbest radikallerin bazı fizyolojik fonksiyonlarını engeller. Yüksek dozda antioksidan takviyesinin olumsuz etkilerinin potansiyel faydalarını aşması muhtemeldir [1].

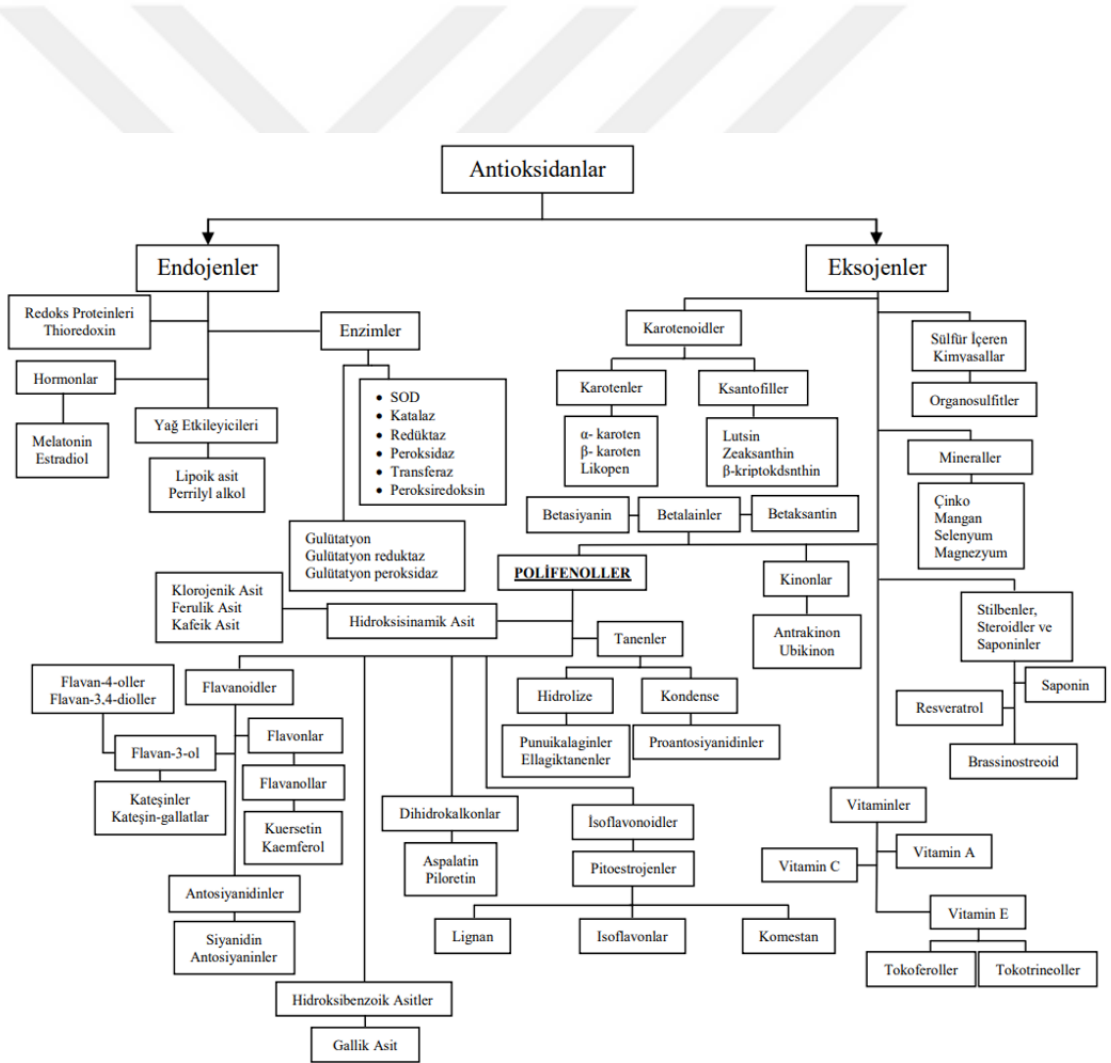
2.2.1 Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar doğal ve yapay olarak ikiye ayrılır. Birçok sentetik antioksidanın, örneğin bütillenmiş hidroksianisol (BHA) ve bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ile yapılan hayvan çalışmaları sonucunda bu maddelerin kanserojen ve toksik etkilere sahip olduğu gözlemlenmiştir. Bu sebeple bazı ülkelerin yönetmeliklerine göre bu sentetik antioksidanların kullanımlarında sınırlandırmalar uygulanmıştır. Doğal olmayan antioksidanlar hakkındaki endişeler, ekonomik olan bitkisel kaynaklı doğal antioksidanlara yönelimi artırmıştır [10], [50].

Doğal antioksidanların büyük çoğunluğu bitkisel kaynaklı olup bunlar çeşitli fenolik yapıya sahip polifenoller ve flavonoidler halinde bitkiler tarafından sentezlenirler [10].



Şekil 2.14 Sentetik antioksidan BHA ve BHT'nin kimyasal yapıları [51]



Şekil 2.15 Doğal kaynaklardan üretilen antioksidan bileşenlerin sınıflandırılması [52]

Doğal antioksidanlar, endojen ve eksojen olmak üzere iki türe ayrılırlar. Endojen kaynaklı antioksidanlar, enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar olarak iki alt grupta sınıflandırılabilir [29]. İnsan ve hayvan organizmalarında üretilen endojen antioksidanlar, enzimler, hormonlar ve redoks proteinleri olmak üzere çeşitli sınıflara ayrılır. Vücutta üretilen endojen antioksidanlar ve diyetle aldığımız eksojen antioksidanlar, redoks homeostazını sürdürmek veya yeniden kurmak için sinerjik olarak hareket edebilir [53].

Daha çok bitkiler aleminde, sebze ve meyve gibi gıdaların yapısında üretilenlere ise eksojen antioksidan kaynakları denilmektedir. Antioksidan maddelerin en önemli kaynağı bitkisel gıdalar olduğundan dolayı diyetle alınan antioksidanlar genellikle fitokimyasal antioksidanlar olarak adlandırılırlar. Gıdalardaki doğal antioksidan bileşenler; indirgen ajan, serbest radikal bağlayıcı, singlet oksijen tutucu mekanizmalardan bir veya birkaçı ile antioksidan etkilerini göstermektedirler [54]. Enzimatik olmayan antioksidanlar arasında en sık bilinen A, C ve E vitaminleri; flavonoidler; ve karotenoidler sayılabilir [30].

Tablo 2.3 Endojen kaynaklı bazı enzimatik antioksidanlar [29]

Glutasyon	Glutasyon peroksidaz
Glutasyon redüktaz	Süperoksit dismutaz
Katalaz	Albümin
Transferrin	Melatonin

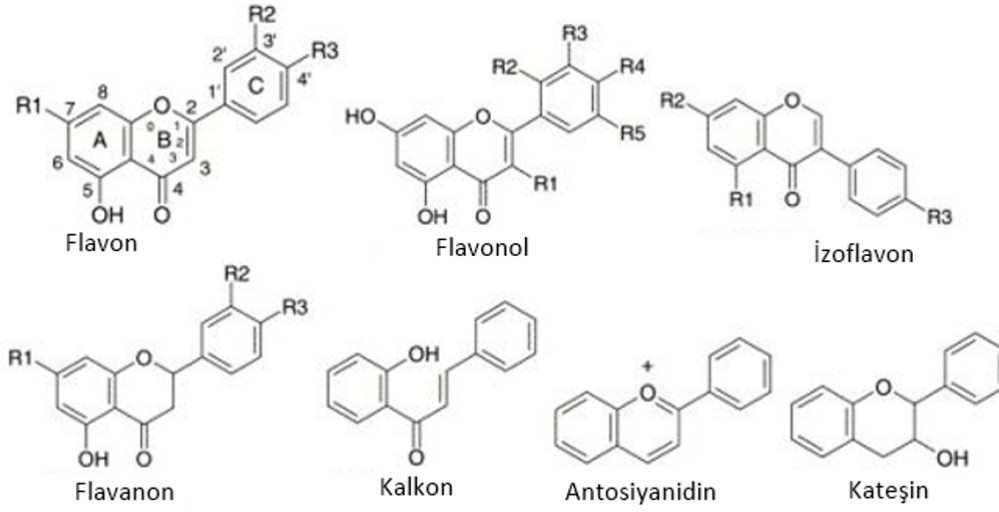
Tablo 2.4 Endojen kaynaklı enzimatik olmayan bazı antioksidanlar [29]

Bilirubin	Ürik asit
Hormonlar (Melatonin, Estradiol)	Redoks proteinleri
Alfa Lipoik asit	Koenzim Q10

2.2.2 Polifenoller

Doğal biyoaktif polifenoller, çeşitli kimyasal yapılara sahip bileşiklerdir [55]. Polifenol ailesinde 8000'den fazla yapısal varyant mevcuttur. Polifenoller, meyve ve sebzelerde bulunan ve renklerine, lezzetlerine ve farmakolojik aktivitelerine katkıda bulunan biyoaktif bileşiklerdir [56]. Polifenollerin morbiditeyi azalttığı, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar ile kanser hastalığının ilerlemesini yavaşlattığı sonuçlarına ulaşılmıştır. Polifenollerin etki mekanizması, antioksidan etkinlikleri ile ilişkilidir [57]. Polifenoller Fe^{+2} , Cu^{+2} gibi metal iyonlarını ve serbest radikalleri şelatlayabilir böylece reaktif oksijen türlerinin seviyesini düşürür. Kimyasal yapılarına göre flavonoid türleri şekil 2.16'da gösterilmiştir. Bu moleküllerin çoğunluğu bitkilerin metabolitleridir ve hidroksil sübstituentlerine

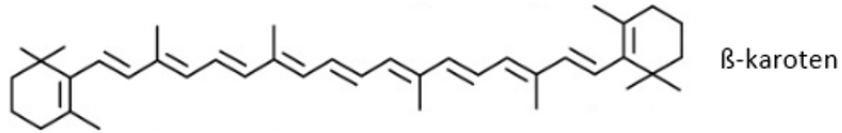
sahip çeşitli aromatik halkalardan oluşurlar. Kimyasal yapılarındaki bu farklılıklar, polifenollerin farklı sınıflara ayrılmasını sağlamaktadır [56].



Şekil 2.16 Çeşitli polifenollerin moleküler gösterimi [58]

2.2.3 Karotenoidler

Karotenoid kaynakları, yapısındaki eşleşmemiş çift bağlara sahip olması yönüyle ROS'ları nötralize etme özelliğine sahiptir. Karotenoidlerin antioksidan aktivitesi, yapısındaki konjuge çifte bağlardan kaynaklanmaktadır [51]. Karotenoidler, sarı, kırmızı, turuncu gibi pigmentasyon skalası gösteren ve yağda kolayca çözünebilen fitokimyasallardır. Gıdalarda renk yoğunluğu karotenoid içeriğiyle orantılıdır [59]. Karotenler, süperoksitleri yakalama, ROS'ları temizleme, hücre zarlarına karşı oluşabilecek zincirleme peroksidasyon ataklarını önleme fonksiyonu ile değerli bir fitobileşiktir [60].

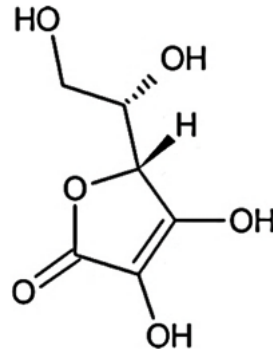


Şekil 2.17 β -karotenin kimyasal yapısı [61]

2.2.4 C Vitamini (L-askorbik asit)

C Vitamini, glikoza benzer altı karbondan oluşan hidrofilik bir moleküldür [62]. C vitamini, alfa-tokoferol (E Vitamini) gibi vücuttaki diğer antioksidanları yenilemenin yanı sıra kolayca elektron verme yeteneği nedeniyle oldukça etkili bir antioksidandır, böylece önemli biyomolekülleri serbest radikal hasarından

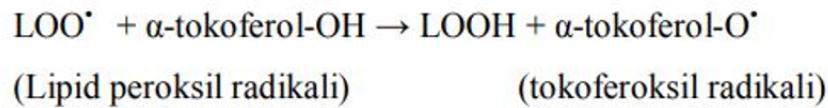
korumaktadır [62], [63]. Özellikle süperoksit radikalleriyle güçlü bir şekilde reaksiyona giren birkaç biyolojik molekülden biridir [64].



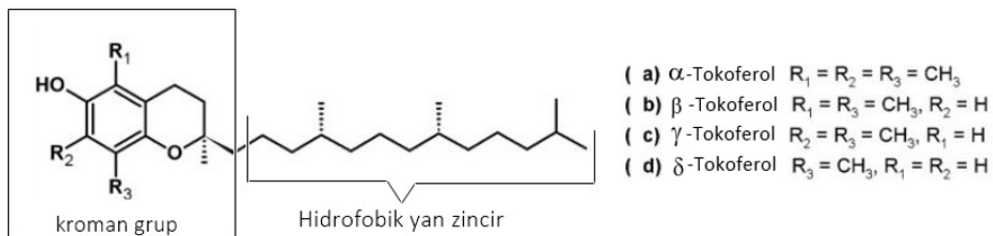
Şekil 2.18 L-askorbik asidin moleküler yapısı [62]

2.2.5 E Vitamini (α -tokoferol)

Tokoferoller (E vitamini), yalnızca fotosentetik organizmalar tarafından sentezlenen ve membranların lipid çift katmanlarında, özellikle de kloroplastlarda bulunan, yağda çözünen moleküllerdir [50]. Kromanol kısmındaki fenolik grup, ROS'ları bir elektron indirgemesiyle etkili bir şekilde söndürür ve lipid peroksidasyonunda serbest radikal reaksiyonlarının yayılmasını önler. Ortaya çıkan tokoferol fenoksi radikali, askorbik asit veya glutatyon varlığında indirgenerek tokoferol molekülünü yeniden oluşturabilir [65].



Şekil 2.19 Tokoferolün antioksidan aktivite ile lipid peroksidasyonunu önlemesi [51]



Şekil 2.20 Tokoferolün molekül yapısı [50]

2.3 Udi Hindi (*Aquilaria agallocha*) Bitkisi ve Özellikleri

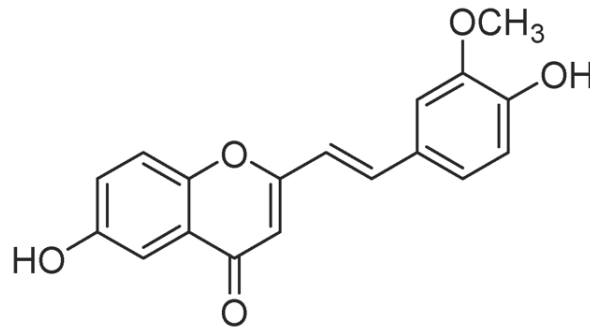
Udi hindi, yaygın olarak "agarwood" olarak bilinir ve Latince ismi *Aquilaria malaccensis*, *A. agallocha* ve *A. sinensis* ile eş anlamlı olarak literatürde yer alır. Morfolojik çalışmaların ardından Japonya'daki araştırmacılar *A. sinensis*, *A. agallocha* ve *A. malaccensis* arasında önemli anatomik farklılıkların olmadığı bildirilmektedir [13]. Asya Kıtası'nda yaygın olarak kullanılmaktadır. Thymelaeaceae familyasında olan bu ağaç grubu, Hindistan, Malezya, Butan, Endonezya, Laos, Singapur, Myanmar, Bangladeş, Tayland ve Filipinler'de yetişmektedir [18]. *Aquilaria agallocha* bitkisinin halk arasında bilinen pek çok adı vardır. Udi hindi, yaygın olarak oud veya kusti bahri adları ile endüstride tanınmaktadır. Hindistan'da 'agar', Malezya'da 'agarwood ağacı', Japonya'da 'jin-koh', Kore'de 'chimhyuang', Fransa'da 'calambac' veya 'calambour' ve Orta Doğu'da 'ud, oud' olarak adlandırılmaktadır [66]. Geleneksel olarak, kabuk, kök ve öz odun tıbbi özellikleri nedeniyle agarwoodun sağlık uygulamalarında kullanımı sekizinci yüzyıla kadar uzanmaktadır [17].

Agarwood kullanımına ilişkin ilk bilimsel kaydın doktor Avicenna (İbni Sina)'ya ait olduğu bilinmektedir. Çin, tıbbi etkileri sebebi ile şifalı bir bitki olarak; Japonya meditasyon uygulamalarında sakinleştirici olarak; Hindistan dini bir gelenek olması sebebi ile parfüm, tütsü ve ticaret kaynağı olarak *Aquilaria* ağaçlarını önemsemektedir [13]. Agarwood binlerce yıldır tıbbi amaçlarla kullanılmıştır ve Ayurveda, Tibet ve geleneksel Doğu Asya tıbbında kullanılmaya devam etmektedir. Yüksek dereceli agarwood reçinesi tozu aromaterapide ve ayrıca farmasötik tentürlerin üretiminde kullanılır. Geleneksel Doğu Asya tıbbında, qi akışını teşvik etmek, ağrıyı hafifletmek, mideyi ısıtarak kusmayı durdurmak ve astımı hafifletmek için reçete edilmektedir. Japonya'da birçok kişi tarafından kutsal kabul edilir ve ölüleri yağlamak için kullanılır. Budizm'de birçok tütsü karışımının ana maddesi olarak hizmet eder ve sandal ağacı ve karanfil ile birlikte üç tamamlayıcı tütsüden biri olarak kabul edilir [14].

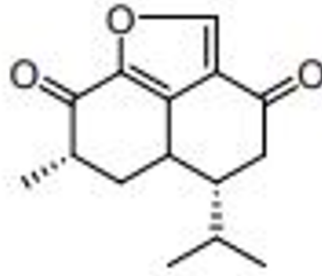
2.3.1 Udi Hindi Bitkisi Fitokimyasal Yapısı ve Etkileri

Udi hindi ağacı reçinesinin esansiyel yağ bileşimi esas olarak seskiterpenler ve 2-(2-feniletıl) kromonların karışımını içermektedir [14]. Hidrosolünde ise seskiterpenler ve çeşitli düşük moleküler ağırlıklı aromatik bileşikler tespit edilmiştir [15]. Udi hindi bitkisinin en önemli biyoaktif bileşenleri flavonoidler, fenolikler, alkaloidler, saponinler, steroidler, terpenoidler ve tanenlerdir [16]. Ayrıca bitkide mantar ve patojenlere direnmek için bir bağışıklık tepkisi olarak biyotik stres altında cucurbitacin de sentezlenmektedir. Cucurbitane tipi

triterpenoidler (cucurbitacins) antikanser aktiviteleriyle iyi bilinmektedir. *A. sinensis*'in çiçeklerinde, kabuklarında, meyvelerinde ve saplarında ondan fazla sitotoksik kukurbitasin bulunmuştur [67]. Yapılan çalışmalarda cucurbitacin ön tedavisinin apoptozu ve oksidatif stresini inhibe ettiği, kanser hücrelerinde apoptozu indükleyerek güçlü anti-kanser aktivitesi sergilediği ayrıca hafıza fonksiyonlarını iyileştirdiği bildirilmektedir [17]. Bildirilen her çalışmanın agarwood metabolit bileşenlerinin sayısı ve türleri, Aquilaria ağacı kaynağına, ekstraksiyon yöntemlerine ve kullanılan analiz yaklaşımlarına bağlı olarak değişmektedir. Doğal yaşam alanlarının aşırı tahribatı nedeniyle, agarwood taşıyan türlerin çoğu nesli tükenmekte olan türler kategorisine girmiştir [14].



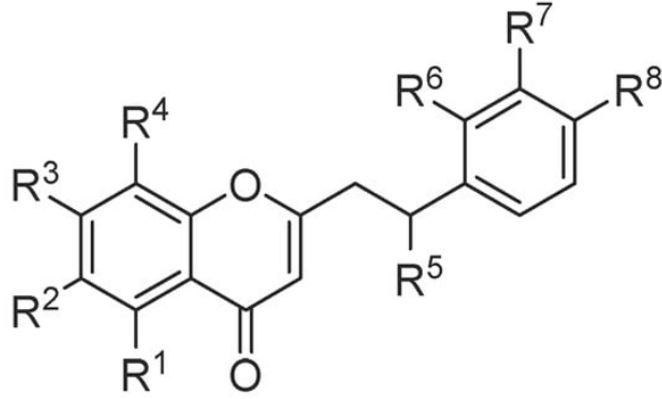
Şekil 2.21 *A. agallocha* ağaçlarından tanımlanan 2-(2-feniletlenil) kromonların yapıları [68]



Şekil 2.22 *A. agallocha* ağaç kökünde bulunan seskiterpenlerden Gmelofuran'ın yapısı [67]

A. agallocha'nın antioksidan, antidiyabetik, antiinflamatuvar ve antibakteriyel aktiviteler gösterdiği, oksidatif stresi ve proinflamatuvar sitokin üretimini önemli ölçüde azalttığı ve inflamasyonla ilgili rahatsızlıkları tedavi etmek için geleneksel olarak kullanıldığı bilinmektedir [17]. Farmakolojik değerlendirme kısmında agarwood esansiyel yağı etkili bir sitokin azaltıcı, anti-diyabetik, anti-ürolitik özelliklere sahiptir. Esansiyel yağının bu etkileri sebebi ile *A. malaccensis*, bitkisel ilaçların formülasyonu ve hazırlanmasında kullanılmıştır. Bunların dışında

agarwood esansiyel yağının 1 $\mu\text{L/mL}$ konsantrasyonunda genotoksik olarak inaktif olduğu bulunmuştur [18].

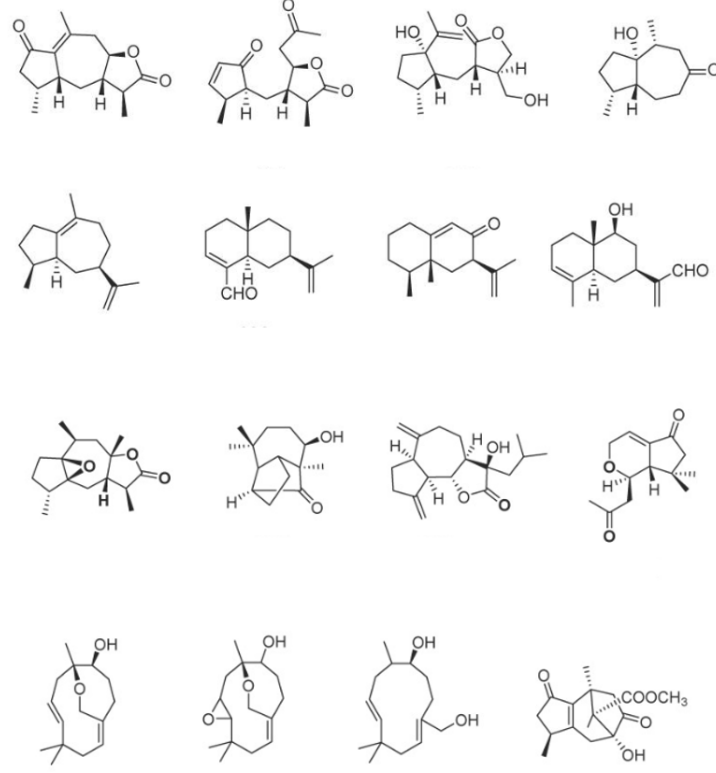


Şekil 2.23 Agarwood kaynaklı kromonların yapıları [68]

2.3.2 Udi Hindi Bitkisi ile İlgili Yapılan Önceki Çalışmalar

Yurt dışında, özellikle Asya Kıtası'ndaki ülkelerde udi hindi bitkisi yaygın bir kullanıma sahiptir. Bu sebeple çalışmalar daha çok Asya Kıtası'nda yapılmıştır. Covid-19 (patojen SARS-CoV-2) salgını döneminde dünyada ve ülkemizde fitoterapi ajanlarına olan ilgi artmıştır ve *A. agallocha*, karaciğer koruyucu ve sinir sistemi üzerindeki bilinen etkileri ile farmakoloji alanında etkili olan türler arasında sayılmıştır [17]. Covid-19 salgını ile gündeme gelen bitki hakkında, ülkemizde yapılan araştırmalar da artmaya başlamıştır.

Covid-19 virüsü, patojenik etkilerini çoklu organ düzeyinde oksidatif stres ve inflamasyona sebep olarak göstermiştir ayrıca pek çok organı aynı anda etkileyen bir hastalık olarak ortaya çıkmıştır. Covid-19 viral hasarının ilerlemesinde anahtar rol oynayan oksidatif stres ve inflamasyonun tedavisinde, gıda kaynaklı antioksidanlar ve metal şelatör ajanları iyileştirici etkilere sahiptir [69].



Şekil 2.24 *Aquilaria* ağaçlarından tanımlanan seskiterpenlerin yapıları [68]

A. agallocha yapraklarının etanolik ekstraktı, sıçanlarda aspartat aminotransferaz (AST), alanin transaminaz (ALT), alkalın fosfataz (ALP), laktat dehidrojenaz (LDH), kolesterol, bilirubin seviyelerinde önemli bir azalmaya sebep olmuştur ayrıca albümin (ALB), toplam protein (TP) konsantrasyonunda artış ile parasetamole bağlı hepatotoksisiteye karşı koruyucu etki sergilemiştir [70]. Hepatoprotektif özelliği sayesinde karaciğeri koruyan agarwoodun esansiyel yağından türetilen agarofuran, sıçanlar üzerinde mental anlamda ruh halini iyileştirici etkiler göstermiştir [68].

Farmakolojik çalışmalar agarwood ve *A. sinensis* ağaçlarının yapraklarının mide-bağırsak düzenleyici etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Çalışmalar, agarwood etanol ekstraktının bağırsak hareketliliğini iyileştirdiğini ve mide ülserini tedavi edici etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Agarwood esansiyel yağı, oksidatif stresi ve sitokin üretimini önemli ölçüde azaltan bir anti-inflamatuar fonksiyona sahiptir [71].

Suyla damıtılarak izole edilen agarwood (*A. crassna*) ekstraktları, *S. aureus* ve *Candida albicans*'a karşı antimikrobiyal aktivite gösterirken, *Escherichia coli* üzerinde bu etkiye rastlanmamıştır [68].

A. crassna yaprağı sulu ekstraktının, *Staphylococcus epidermidis*'e karşı *in vitro* antibakteriyel etkiye sahip olduğu, bakterilere karşı mikrobiyosidal etki gösterdiği, biyofilm oluşumunu engellediği tespit edilmiştir. *A. crassna* türünün etil asetat ekstraktı, etanol ekstraktından daha güçlü antifungal (*Fusarium solani*) aktivite sergilemiştir [72].

A. agallocha yaprakları etanolik ekstraktının, Sprague-Dawley sıçanlarında parasetamol kaynaklı hepatotoksistide hepatoprotektif etkileri vardır; AST, ALP, ALT, laktat dehidrojenaz'ı azaltmıştır; ALB'de artış gözlemlenmiş, toplam protein konsantrasyonu ve karaciğerde parasetamol'ün neden olduğu histopatolojik değişikliklerin önlenmesinde etkili olduğu saptanmıştır [73].

2.3.3 Udi Hindi (*A. agallocha*) Antioksidan Etkinliği

Literatürde bitkilerden elde edilen polifenollerin antioksidan, antiinflamatuvar ve pek çok farmakolojik aktiviteleri açıkça vurgulanmaktadır [69]. ABTS, DPPH ve FRAP analizleri doğru, sabit ve basit olması yönüyle bitki ekstraktlarındaki antioksidan kapasiteyi belirlemek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Udi hindi bitki türleri ile ilgili çalışmalar, *A. crassna* yaprak kısmı sulu ekstraktının önemli miktarda antioksidan aktivite sergilediğini göstermiştir. Bu da onun antimikrobiyal aktiviteye sahip olma potansiyelini ortaya koymaktadır. *Aquilaria crassna*'nın çeşitli bölümleri 500 µg/mL konsantrasyonlarda, çözücü olarak metanol, metanol-su ve aseton ile ekstrakt edilerek incelendiğinde yüksek antioksidan aktivite gözlemlenmiştir [74].

Modern farmakolojiye göre, agarwood esansiyel yağı antioksidan, antibakteriyel, antiinflamatuvar özelliklere sahiptir [75]. *Aquilaria agallocha* öz odunu etil asetat ekstraktının (EAE) antioksidan aktivitesini araştırmak amacıyla bir çalışma gerçekleştirildi. İnsan kan hemolizatında hemoglobinin, nitrit kaynaklı oksidasyonu üzerindeki inhibitör etkisi gözlemlendi. Sonuçlar 500-3500 µg/ml konsantrasyon aralığında *Aquilaria agallocha* öz odununu EAE'nin güçlü bir antioksidan etki gösterdiğini raporlamıştır [19].

Ülkemizde yakın zamanda yapılan bir çalışmada; akut rinosinüzit modeli oluşturulan ratlarda, oral yolla kullanılan agarwoodun antioksidan ve antiinflamatuvar özelliği ile TNF- α (tümör nükler faktör- α), interlökin-6 (IL-6), interlökin-1 β (IL- β) total oksidan seviye ve oksidatif stres indekisinde anlamlı şekilde azalma görüldü. Total antioksidan seviyesinde de anlamlı şekilde artma gözlemlendi. Agarwoodun anlamlı şekilde akut rinosinüzitte antioksidan ve antiinflamatuvar özelliği ile oral yolla kullanılabileceği görülmüştür [76].

3

MATERYAL METOT

3.1 Çalışmada Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar

3.1.1 Çalışmada Kullanılan Cihazlar

- Spektrofotometrik olarak yapılan antioksidan aktivite tayinleri için: Perkin Elmer, UV/Vis Spektrometre
- pH ölçümü için: Sartorius, pH metre
- Santrifüjleme işlemleri için: Sigma, 3K Santrifüj
- Öğütme / Parçalama: Cereals, Yüksek hızlı çok fonksiyonlu hububat öğütücü
- Çözeltilerin hazırlanmasında: Chiltern, Hotplate manyetik karıştırıcı, IKA, Basic model Vorteks, Sartorius, Tartı
- Ultrases Ses Destekli Ekstraksiyon: Bandelin, Electronic 320 w 35 kHz

3.1.2 Kimyasallar

Çalışmada kullanılan kimyasallar analitik saflıkta olup satın alınan firmalar Tablo 3.1’de gösterilmiştir.

Tablo 3.1 Çalışmada kullanılan kimyasalların listesi

Kimyasal	FİRMA/Numara
BHA	Fluka / 20021
(+)- Kateşin hidratı	Fluka / 22110
Folin & Ciocalteu Reaktifi	Sigma Aldrich / F-9252
ABTS	Sigma Aldrich / A1888
DPPH	Sigma Aldrich / D9132
DMPD	Merck / 103067
EDTA	Merck / 108421
β -Karoten	Fluka / 22040
Linoleik Asit	Sigma Aldrich / 62240
Tween 40	Sigma Aldrich / P1504
$K_2S_2O_8$	Merck / 105091
NaOH	Merck / 106462
TCA	Merck / 100807
Pirokatekol Brenzkatechin	Fluka / 15880
Ferrozin	Fluka / 82950
Etanol	Merck / 100971
Etil Asetat	Merck / 109623
Metanol	Riedel-de Haen / 24229
Kloroform	Merck / 102431
Toluen	Merck / 108323
Fosforik Asit	Riedel-de Haen / 30417
HCl	Sigma Aldrich / 07102
$NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$	Riedel-de Haen / 04269
$Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$	Riedel-de Haen / 04272
Asetik asit (glasial)	Merck / 100063
Prolin	Sigma Aldrich / P-5607
Ninhidrin	Fluka / 72490
$NaNO_2$	Merck / 106544
$AlCl_3 \cdot 6H_2O$	Merck / 10841000
$K_3[Fe(CN_6)]$	Merck / 104973
$FeCl_2 \cdot 4H_2O$	Fluka / 44939
$FeCl_3$	Fluka / 44943
Sodyum asetat	Sigma Aldrich / S-7545250
Sülfosalisilik asit	Merck / 800691

3.1.3 Udi Hindi Kökünün Temini

Araştırmalarda kullanılan udi hindi (*Aquilaria agallocha*) bitkisinin kök kısmı aktardan alınmıştır. Saf su ile yıkanıp temizlenerek, 25 °C’de 24 saat kurutulmuştur. Kuruyan kökler öğütülmüştür, elenerek toz kısmı deneylerde kullanılmıştır. Materyaller, kullanılacağı zamana kadar buzdolabında +4 °C’de saklanmıştır.



Şekil 3.1 Udi hindi kökü kullanıma hazırlama aşamaları

3.2 Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması

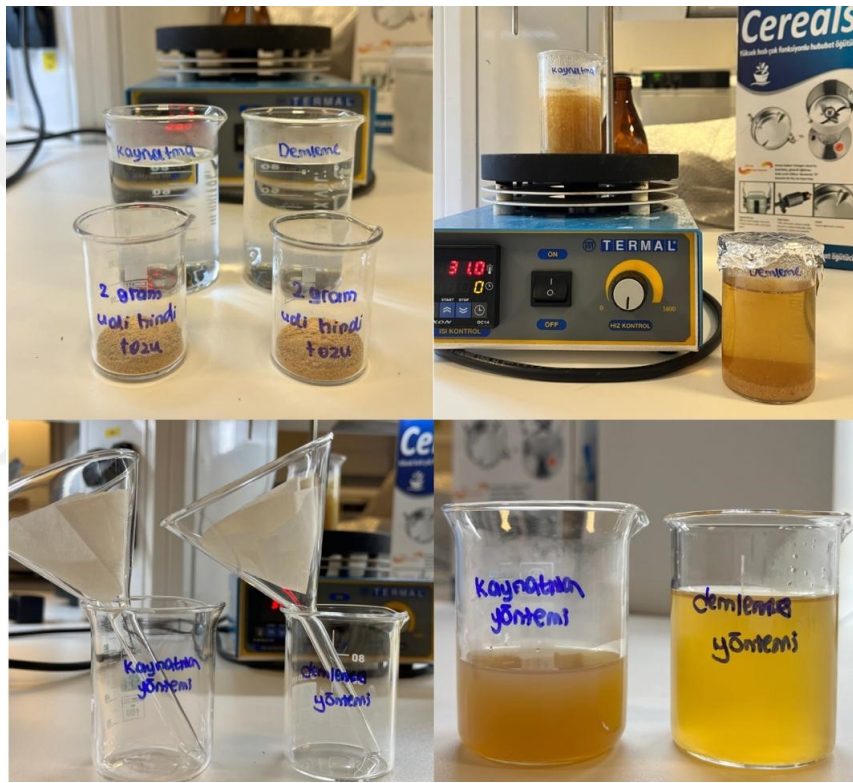
Kurutulmuş udi hindi kökü öğütüldükten sonra su ve etil asetat çözücülerinde ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi ile (Şekil 3.2) ayrı ayrı ekstrakte edildi. Ultrasonik banyo ısındıkça tüpler soğuk su altında soğutulularak toplam 10 dakika boyunca ultrases destekli ekstraksiyon işlemi uygulandı. İşlemin sonunda udi hindi bitkisinin özütü çözücü olarak kullanılan sıvıya geçti. Sonra, ekstraktlar 20 dakika 10.000 devir ile santrifüjlenerek kalan toz parçaları uzaklaştırıldı. Ekstraksiyon sonrası çözücüler uçurularak etil asetat ekstresi ile su ekstresi elde edildi (Şekil 3.2). Antioksidan analiz yöntemlerini çalışırken, bu ekstraktlardan alınan özütün üzerine aynı miktarda çözücü eklenerek mg/mL stok çözeltiler hazırlanarak çalışmalar gerçekleştirildi.



Şekil 3.2 Farklı çözücüler ile udi hindi kökü ekstraktları hazırlanması

3.3 Bitki aylarının Hazırlanması

Kurutulmuş udi hindi kökü tozu 2'şer gram olarak tartıldı. Demleme (enfüzyon) yöntemi ile bitki ayı demlemek için 100 mL kaynar suya, kurutulmuş 2 gram udi hindi bitkisi eklenerek üzeri örtülü şekilde 15 dakika bekletildi. Kaynatma (dekoksiyon) yöntemi ile bitki ayı yapmak için 100 mL kaynayan suya 2 gram udi hindi bitkisi eklendi ve 15 dakika boyunca kaynatılmaya devam edildi. Elde edilen bitki çayları filtrasyon işleminde kullanılan süzgeç kağıdından süzülerek partiküllerinden ayrıldı. Ardından santrifüjlenerek (20 dakika 6.000 rpm) kalan bitki tozlarından iyice arındırıldı. Süzülerek sıvı hale getirilen bitki çayları 1/1 oranında ve 1/10 oranında seyreltilerek deneylerde kullanıldı.



Şekil 3.3 Demleme ve kaynatma metotlarına göre udi hindi kökü bitki ayı hazırlanması

3.4 Uygulanan Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

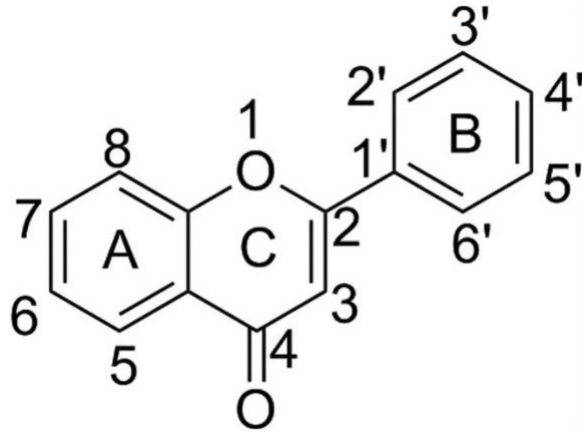
3.4.1 Toplam Flavonoid İçeriğinin Tayini

Flavonoid sınıfı bileşikler, bitkilerde yaygın olarak bulunan ve çeşitli biyolojik süreçlerden sorumlu olan, doğal olarak oluşan polifenolik fitokimyasallardır [55], [77]. Flavonoidler, bitkilerin bulunduğu çevre şartlarına yanıt olarak üretilen bileşiklerdir. Örneğin, bitkilerdeki flavonoid içeriğinin mor ötesi ışına ve karbondioksit seviyelerine bağlı olduğu bildirilmiştir [78]. Bitkilerin ana bileşenlerinden olan flavonoidler, ortamda bulunan ROS'ların birikimini kontrol etme yeteneğine sahip organik maddelerdir. Flavonoidlerdeki fonksiyonel hidroksi grupları, serbest radikalleri stabilize etmek ve antioksidan korumaya aracılık etmek için rezonans yoluyla elektron verir [79]. Hem süperoksit hem de hidroksil radikalleri, flavonoidler tarafından in vitro olarak temizlenir [80]. Flavonoidler antioksidan özellikleri sayesinde kazandıkları güçlü etkileri ile endüstrinin pek çok alanında, gıda, kozmetik ve ilaç üretiminde kullanılmaktadır.

Udi hindi bitkisinin total flavonoid içeriği, Zhishen ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntem kullanılarak belirlenmiştir [81]. Öncelikle, stok çözeltilerden (mg/mL) ve standart antioksidan olan (+)-kateşin çözeltisinden farklı konsantrasyonlarda (20-100 $\mu\text{g/mL}$) seyreltildikten sonra içerisinden 0,25 mL alındı ve ardından 1,25 mL saf su eklendi. 75 μL sodyum nitrit (%5 m/v) , 150 μL %10 (m/v) AlCl_3 ve 0,5 mL 1 M NaOH ilave edildi. 510 nm dalga boyunda absorbans ölçüldü (Şekil 3.4).



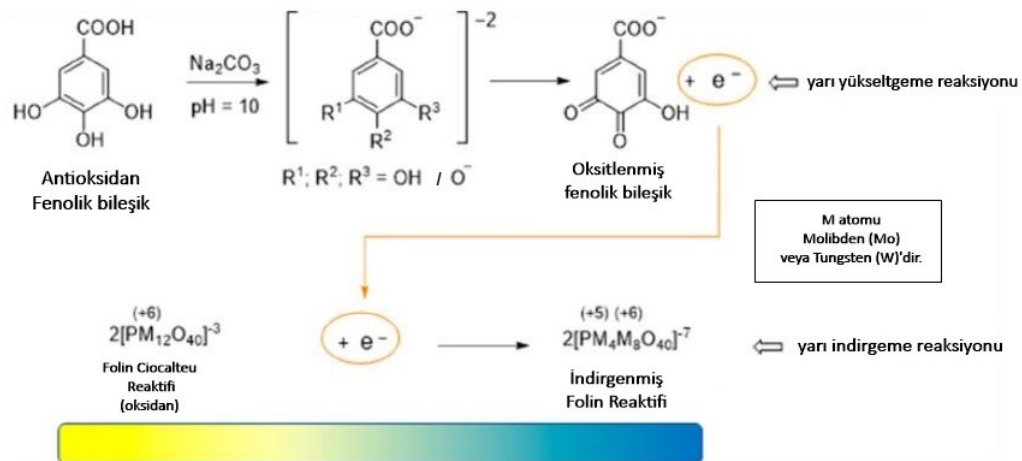
Şekil 3.4 Toplam flavonoid tayini



Şekil 3.5 Bir flavonidin genel yapısı [77]

3.4.2 Toplam Fenolik Bileşik İçeriği Tayini

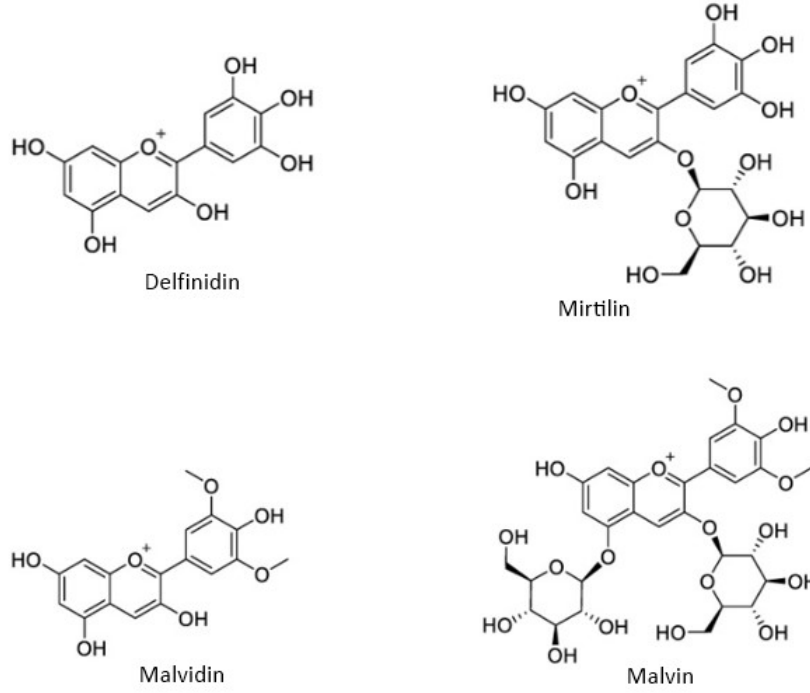
Toplam fenolik içeriğinin belirlenmesi deneyinde standart antioksidan olarak pirokatekol kullanılarak Slinkard ve Singleton'un yöntemine göre Folin-Ciocalteu reaktifi ile belirlendi [82]. Deneyde kullanılan Folin-Ciocalteu reaktifi, molibden ve tungsten heteropoli bileşiklerinin karışımından oluşmaktadır [83]. Folin-Ciocalteu yöntemi, nispeten hızlı ve ucuz olması nedeniyle dünya çapında laboratuvarlarda en yaygın kullanılan yöntem olarak kabul edilebilir. Ayrıca karmaşık enstrümantal cihazlara veya reaktiflere ihtiyaç duyulmadığından gerçekleştirilmesi kolaydır [84]. Farklı konsantrasyonlardaki örnek ve standart çözeltilerinden (25-100 $\mu\text{g/mL}$) 1 mL alınarak 45 mL su ve 1 mL Folin-Ciocalteu reaktifi ile karıştırıldı. 3 dakika sonra 3 mL %2 (w/v) Na_2CO_3 ilave edilerek 60 dk inkübe edildi. Sonra 760 nm'de absorbans değeri ölçüldü.



Şekil 3.6 Folin-Ciocalteu ile fenolik madde tayininde genel redoks reaksiyonu [84]

3.4.3 Antosiyanin Tayini

Antosiyaninler, fenilpropanoid yoluyla üretilen flavonoid türevleri olan antosiyanidinlerin glikozitleridir. Bitkilerin meyve, çiçek, yaprak, gövdeler, kökler gibi tüm dokularında bulunurlar. Gıdalarda bulunan altı baskın antosiyanidin, siyanidin, delphinidin, pelargonidin, peonidin, petunidin ve malvidindir [85].



Şekil 3.7 Antosiyanin türevleri [85]

Udi hindi kökündeki antosiyanin içeriği, Padmavati'nin geliştirdiği yöntem ışığında belirlenmiştir [86]. Bu metot için kurutulup öğütülen udi hindi kökü 25 mg tartılarak 25 mL %1'lik asitlendirilmiş metanol ile iyice karıştırıldı. Çözelti buzdolabında +4 °C'de tam 24 saat bekletildi. 24 saat ardından bitki tozları filtre kağıdı yardımı ile çözültiden ayrıldı (Şekil 3.4). 20 dakika 1000 devirde santrifüjlendi. 530 ve 657 nm'de antosiyanin içeriği absorbanları ölçüldü. Kör olarak metanol kullanıldı. Absorbans değerlerinden yararlanılarak antosiyanin konsantrasyonu eşitlik (3.1)'e göre hesaplandı.

Antosiyanin konsantrasyonu ($\mu\text{mol/g}$):

$$[(A_{530} - 0,33 \times A_{657}) / 31,6] \times [V (\text{mL}) / m (\text{g})] \quad (3.1)$$



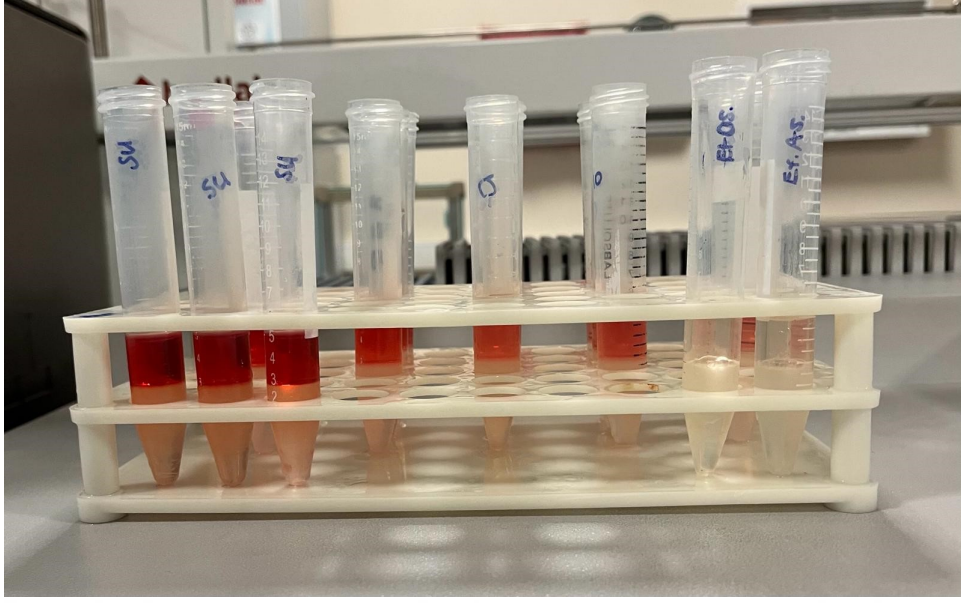
Şekil 3.8 Bitki kökünün antosiyanin analizi için hazırlanan çözelti

3.4.4 Prolin Analizi

Prolin, bitki ve insan metabolizmasında üretilen, esansiyel olmayan amino asitlerdendir [87]. Bitkilerin içerdiği prolin miktarı, kuraklık, ağır metal, düşük sıcaklıklar, yüksek tuzluluk, hastalık yapan ajanların enfeksiyonu, gıda yetersizliği, hava kirliliği ve UV radyasyonu gibi birçok çevresel stres ile indüklenebilir ve stresli bitkiler için koruyucu olduğu düşünülmektedir [88], [89]. Prolinin, prolin tüketimi olmadan bir prolin-prolin döngüsü yoluyla hidroksil radikallerinin temizlenmesine katkıda bulunduğu bulunmuştur [90].

Prolin analizi Bates'in keşfettiği yöntemin ışığında belirlendi [91]. Prolin miktarı belirlemek için çalışılan örneklerden 50 mg alınarak 10 mL %3 oranında sülfosalisilik asit ile çözelti hazırlandı. Çözelti iyice karıştıktan sonra süzülerek 1 mL'si bir tüpe aktarıldı. 1'er mL glasiyal asetik asit ile 1 mL asitninhidrin de eklenerek çalkalandı. 100°C'ye ayarlanan su banyosunda 1 saat inkübasyona bırakıldı. Bekleme süresi dolan deney tüpleri, buz dolu suyun içerisinde bekletilerek reaksiyon durduruldu.

Deneyin ikinci aşamasında, oluşan deney çözeltisine 2 mL toluen ilave edilerek 15-20 sn kuvvetlice vortekslendi. Reaksiyon sonucu meydana gelen kırmızı faz ve su fazı birbirinden ayrıldı. Prolin miktarı tespiti için spektrofotometrenin 520 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçüldü. Şekil 3.9'da numunelerin prolin analizi örneğine yer verilmiştir.

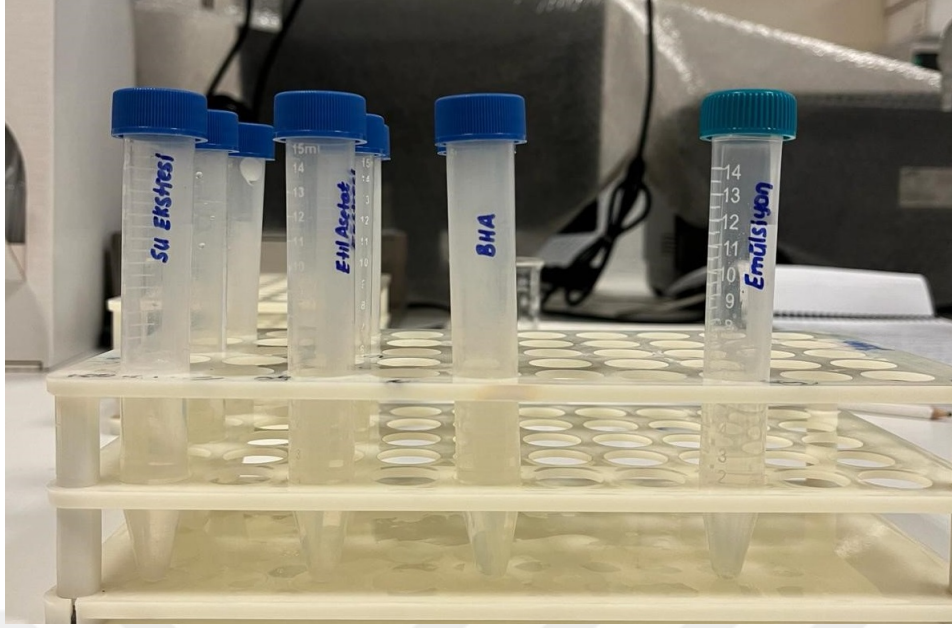


Şekil 3.9 Ekstrelerin prolin analizi

3.4.5 β -Karoten Ağartma Yöntemi

β -karoten ağartma metodu, Bruni'nin yöntemi ışığında belirlendi [92]. β -karoten, kloroformda çözülerek hazırlandı. Bundan 0,2 mL alınarak 20 mg linoleik asit ve 200 mg Tween-40 ile karıştırıldı. Kloroform uçuruldu ve karışıma 50 mL su eklenerek viskoz bir emülsiyon elde edildi. Deneyin ikinci aşamasında, oluşturulan emülsiyondan 5 mL, farklı konsantrasyonlardaki stok çözeltilerden ise 0.2 mL alınarak deney tüplerine aktarılarak 50°C'de beklemeye alındı. 60 ve 120 dakikalarda, 470 nm'de absorbans ölçümü yapıldı. BHA pozitif kontrol olarak kullanıldı. Sonuçlar rölatif antioksidan aktivite (RAA) formülüne göre hesaplandı.

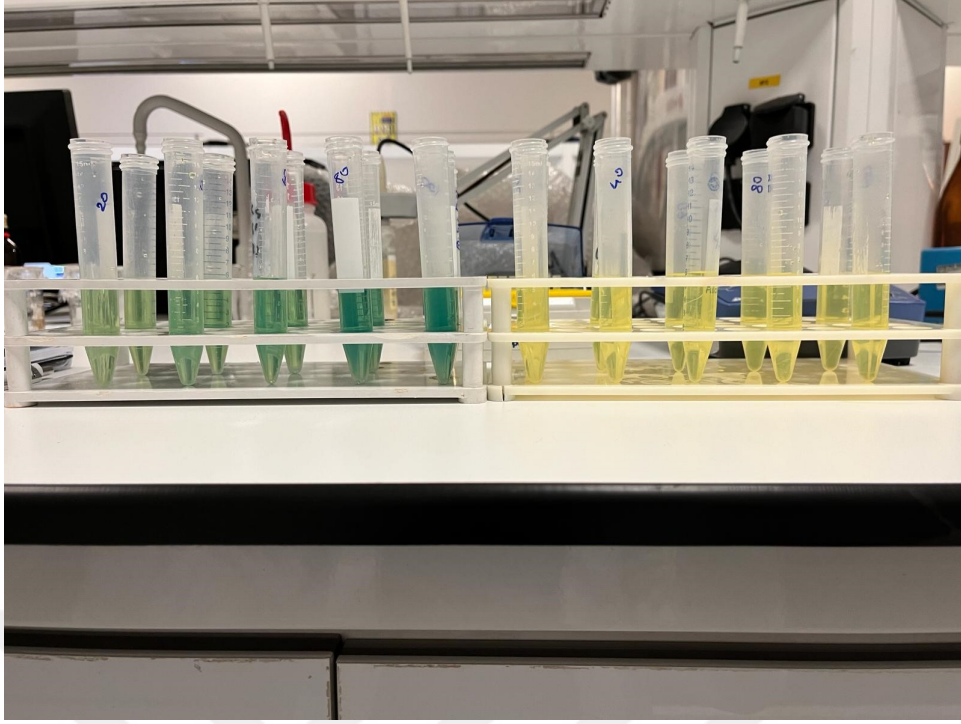
- $RAA = \frac{\text{Örneğin absorbansı}}{\text{BHA çözeltilisinin absorbansı}}$



Şekil 3.10 β -karoten ağartma tayini

3.4.6 İndirgeme Gücü

Bu çalışma, Oyaizu (1986)'de geliştirdiği analiz yöntemine göre gerçekleştirildi [93]. Antioksidan bileşikler, indirgeyici yeteneklerinden dolayı demirin (Fe^{3+}) formunu (Fe^{+2}) formuna indirgerler. Deneyde, demir (Fe^{+2}) formu ile $FeCl_3$ reaksiyona girerek deney sonunda Prusya mavisi renkli kompleks oluşturulur [94]. Reaksiyon sonucu ölçülen absorbanstaki artış, örneklerin indirgeme gücü ile doğru orantılıdır. Deneyin yapılışında farklı konsantrasyonlardaki örnekler (200-1000 $\mu g/mL$) ve standart antioksidan (20-100 $\mu g/mL$) kullanıldı. İşlem, 2,5 mL fosfat tamponu (0,2 M, pH 6,6) içinde 2,5 mL potasyum ferrisiyanür (%1) ile gerçekleştirildi. 50°C'deki su banyosunda 30 dakika bekletildikten sonra 2,5 mL %10'luk TCA konuldu. 3000 rpm'de 10 dk santrifüjlendi. Üst fazdan alınıp üzerine eşit miktarda su ve 0,5 mL $FeCl_3$ (%0,1) eklendi. Spektrofotometrik olarak 700 nm'de absorbans okundu (Şekil 3.11).



Şekil 3.11 İndirgeme gücü kapasitesi analizi

3.4.7 Metal Şelatlama Aktivitesi

Bu yöntem için Decker ve Welch'in yöntemi ışığında çalışmalar yapıldı [95]. Çalışılan bu yöntem, kırmızı renkli Ferrozin- Fe^{2+} kompleksinin inhibisyonunun 562 nm'de ölçülerek belirlenmesine dayanmaktadır [95]. Bu metoda göre örnekler ve standart farklı konsantrasyonlarda 1 mL alınarak 3,7 mL su, 0,1 mL (2mM/L) $FeCl_2$ ile karıştırıldı. 25°C'ye ayarlanan etüvde 30 dk bekletildi. Sonra, 0,2 mL Ferrozin (5mM/L) eklenerek çalkalandı ve 10 dakika daha etüvde bekletildi. Standart antioksidan olarak 0,1 mM EDTA kullanıldı.

Demir Metali Selatlama Aktivitesi:

$$\frac{[(A_0 - A_1) / A_0 \times 100]}{(3.2)}$$

A_0 : Kontrol absorbansı

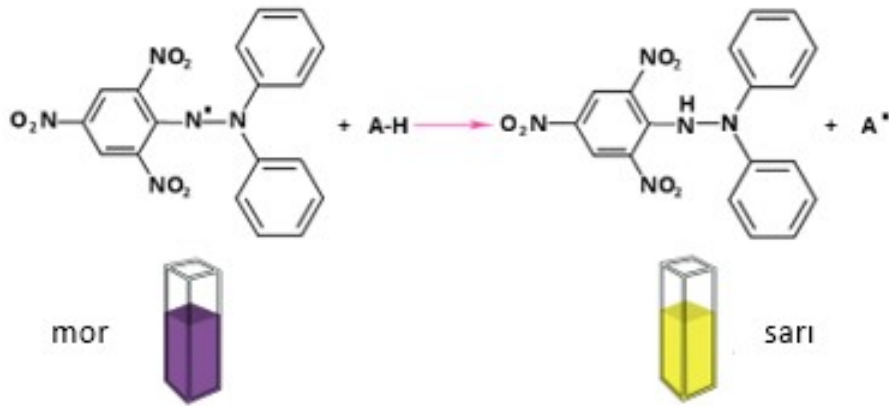
A_1 : Örnek veya standardın absorbansı



Şekil 3.12 Metal şelatlama aktivitesi analizi

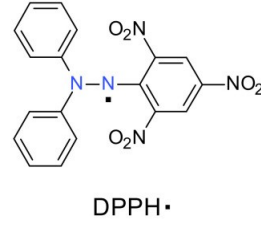
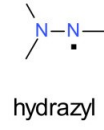
3.4.8 DPPH•+ Radikali Süpürme Aktivitesi

Brand Williams'ın yöntemi kullanılarak DPPH•+ radikali yakalama gücü belirlendi [96]. DPPH, oda sıcaklığında stabil bir serbest radikaldır ve elektron veya hidrojen radikaline karşı oldukça reaktiftir [97]. Antioksidanlarla bir arada bulunduğu, DPPH•+'ın eflatun renginin şiddeti ve 517 nm'de ölçülen absorban değeri düşer. Bu absorban düşüşü ve renk açılması, radikal yakalama gücü ile orantılıdır.



Şekil 3.13 DPPH•+ radikalinin antioksidan ile etkileşimi [98]

Bu çalışmada etanol içerisinde 1 mg/L DPPH•+ eklenerek radikal hazırlandı. Bitki ekstraktları 200-800 $\mu\text{g/mL}$ ve BHA ise 20-100 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarında çalışıldı. Örneklerden ve BHA çözeltisinden 0,75 mL alınarak üzerlerine 1,5 mL



Şekil 3.14 Kararlı bir hidrazil serbest radikali olan DPPH•'nin kimyasal yapısı [99]

DPPH•+ eklenerek tepkimeye girmeleri sağlandı. Reaksiyonun gerçekleşmesi için 30 dakika boyunca 25°C'ye ayarlanan etüvde bekletildi. Kontrol grubu olarak su kullanılan deneyde 517 nm'de absorbanslar ölçülerek eşitlik 3.3'deki formüle göre hesaplamalar yapıldı.

%DPPH•+ radikali süpürme etkisi:

$$[(A_0 - A_1) / A_0 \times 100]$$

(3.3)

A_0 : Kontrol absorbansı

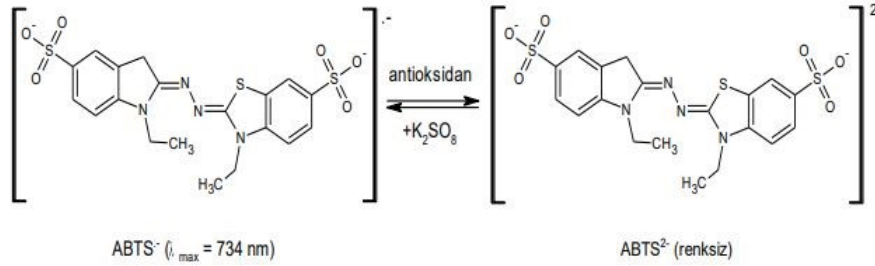
A_1 : Örnek veya standardın absorbansı



Şekil 3.15 Ekstrelerin DPPH radikali süpürme aktivitesi

3.4.9 ABTS•+ Radikali Süpürme Aktivitesi

ABTS•+ radikal yakalama gücünün belirlenmesi, Arnao ile arkadaşlarının yöntemi ile ölçülmüştür [100]. Bu yöntem, ABTS'nin $K_2S_2O_8$ ile tepkimesi sonucu oluşan katyon bileşiğinin yanına antioksidan içeren örnek eklenmesi ve radikalın indirgenmesine dayanır. Bu yöntem sonucunda ortamdaki radikal indirgenmekte ve renk açılması görülmektedir.



Şekil 3.16 ABTS•+ radikalinin antioksidan bileşik ile etkileşimi [101]

Bu çalışmayı yapmak için öncelikle hazırlanan 7,4 mM radikal çözeltisi ve 2,6 mM $K_2S_2O_8$ çözeltileri aynı miktarlarda karıştırılarak, oda sıcaklığında karanlık ortamda 12 saat bekletilmiştir. Bu bekleme sonucunda ABTS•+ radikal çözeltisi oluşmuştur. Ertesi gün, 12 saatin ardından radikal çözeltiden 1 mL behere eklenerek radikalın üzerine metanol çözeltisi kademeli olarak ilave edilmiştir. Üzerine metanol eklenen radikal çözeltisi, 734 nm'de absorbansı ölçülerek $1,1 \pm 0,02$ değerine ulaşana kadar izlenmiş ve seyreltik hale getirilmiştir. Çalışılan her bir konsantrasyon için örneklerden 150 μL , ABTS•+ radikal çözeltisinden ise 2850 μL alınarak kuvvetlice karıştırılmış ve 2 saat inkübe edilmiştir. Kontrol grubu olarak deneyde örnek yerine su kullanılmıştır. Bekleme süresinin ardından, 734 nm'de tekrar absorbans ölçümü alınmıştır. Örneklerin sonuçları, standart BHA ile kıyaslanarak yorum yapılmıştır. ABTS•+ radikali yakalama gücü aktiviteleri eşitlik (3.4)'deki formüle göre hesaplanmıştır.

% ABTS•+ radikali süpürme etkisi:

$$\left[\frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100 \right] \quad (3.4)$$

A_0 : Kontrol absorbansı

A_1 : Örnek veya standardın absorbansı



Şekil 3.17 ABTS•+ radikali oluşumu



Şekil 3.18 Ekstrelerin ABTS•+ radikali yakalama aktiviteleri

3.4.10 DMPD•+ Radikali Süpürme Aktivitesi

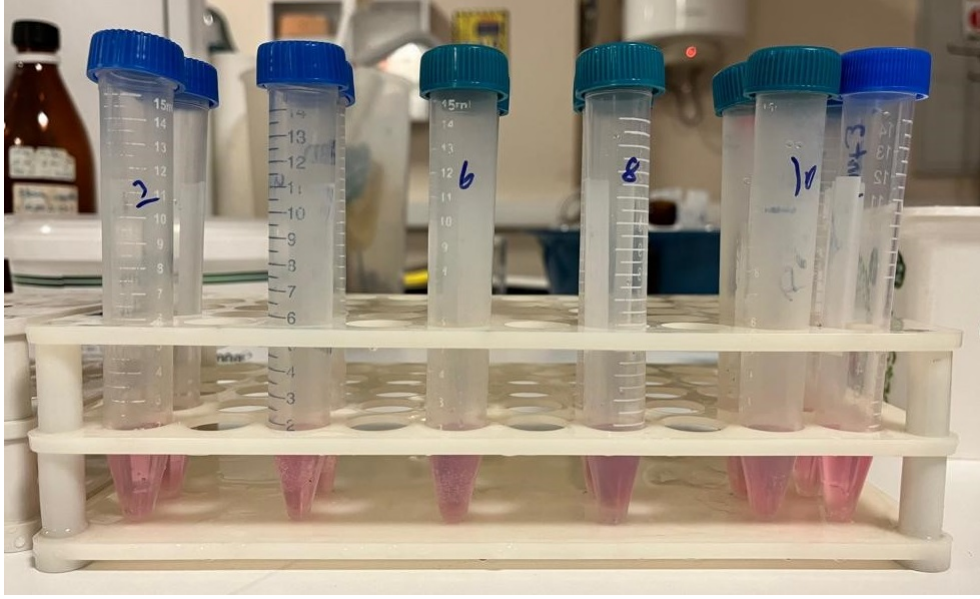
DMPD•+ radikal yakalama aktivitesi Fogliano ile arkadaşlarının metodundan faydalanarak belirlenmiştir [102]. DMPD, asidik ortamlarda veya oksidan varlığında katyon radikalini (DMPD•+) oluşturmaktadır. Bu deneyde ilk olarak renkli DMPD•+ radikal katyonu oluşturuldu. Bir beherin içerisine 1 mL 100 milimolar DMPD çözeltisi, 100 mL pH 5,3 0,1 molar asetat tamponu ve 0,2 mL 0,05 molar $FeCl_3$ ilavesi ile DMPD•+ radikali elde edildi. Farklı konsantrasyonlarda örnek ile standarttan 0,5 mL alınarak üzerine 1 mL radikal çözeltisi eklendi. Kontrol grubu olarak su kullanıldı. Spektrofotometrik ölçümleri 505 nm dalga boyunda yapıldı. DMPD•+ radikali yakalama aktivitesi eşitlik (3.5)'deki formülden hesaplandı.

% DMPD•+ radikali süpürme aktivitesi :

$$[(A_0 - A_1) / A_0 \times 100] \quad (3.5)$$

A_0 : Kontrol absorbansı

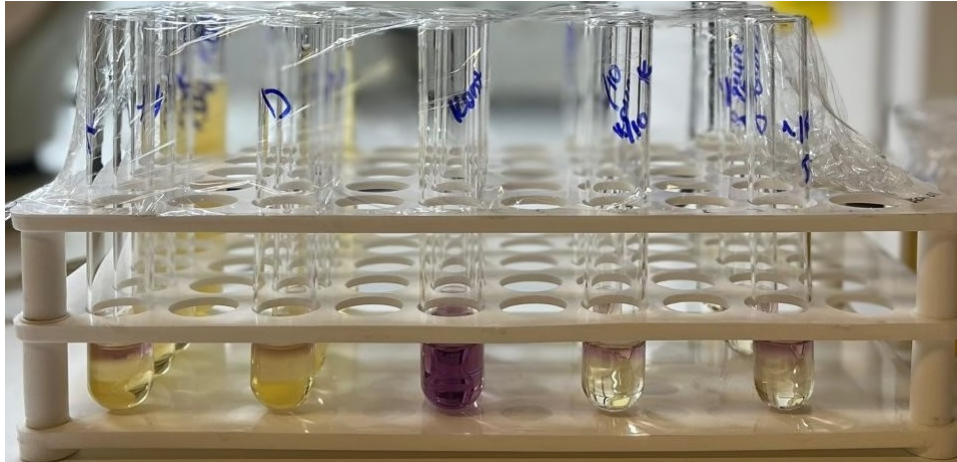
A_1 : Örnek veya standardın absorbansı



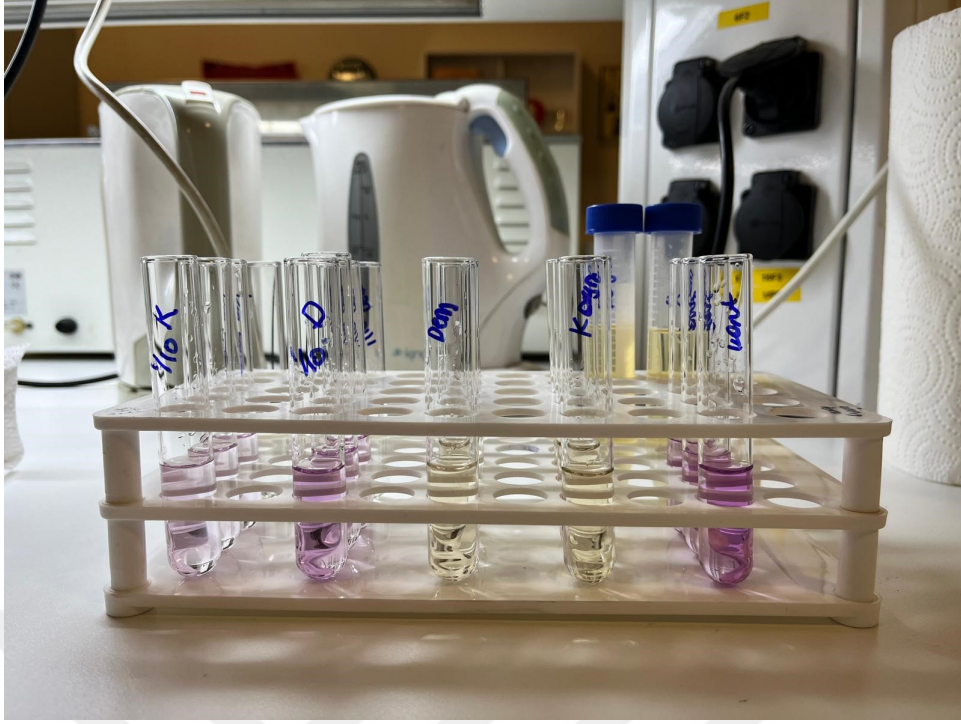
Şekil 3.19 Ekstrelerin DMPD•+ radikali yakalama aktiviteleri

3.4.11 Udi Hindi Bitki Çayı Deneylerinde Antioksidan Etki

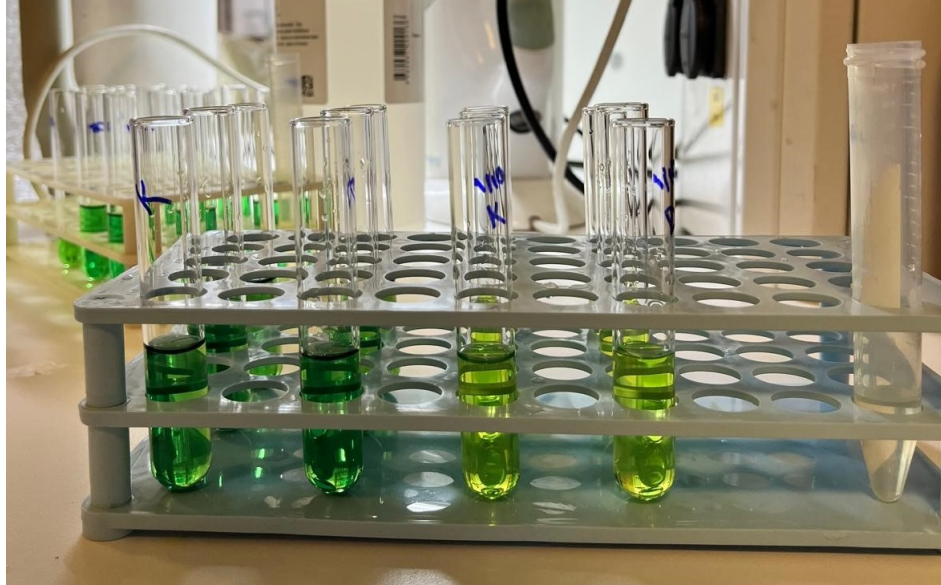
Bitki çayında antioksidan aktivite denemeleri için DPPH•+ radikali yakalama aktivitesi (Şekil 3.20), metal şelatlama aktivitesi (Şekil 3.21), indirgeme gücü kapasitesi (Şekil 3.22) ölçümüne ait deneyler uygulandı. Deneylerde udi hindi kökü çayı'nın doğrudan ve 1/10 oranında seyreltilmiş konsantrasyonlarının antioksidan aktivite ölçümleri yapıldı.



Şekil 3.20 Bitki örneklerinin kaynatma ve demleme formlarının DPPH•+ radikali yakalama analizi



Şekil 3.21 Bitki örneklerinin kaynatma ve demleme formlarının metal şelatlama analizi



Şekil 3.22 Bitki örneklerinin kaynatma ve demleme formlarının indirgeme gücü kapasitesi süpürme analizi

4.1 Toplam Fenolik Bileşik İçeriği Tayini

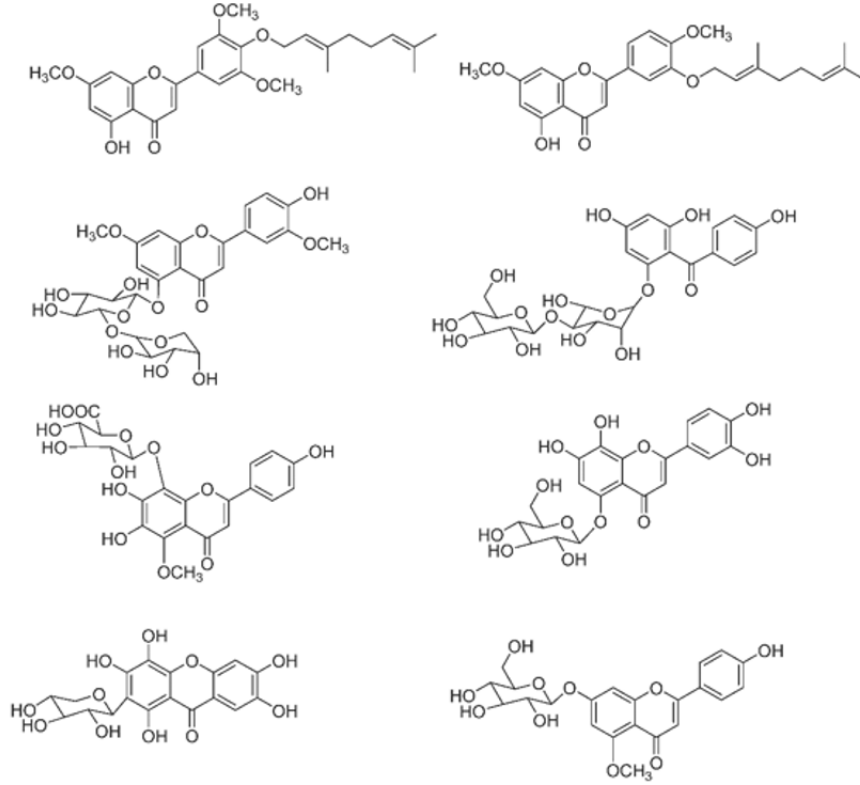
Udi hindi bitkisinin, su ve etil asetat olmak üzere iki farklı çözücü kullanılarak, ultrases ses destekli ekstraksiyon yöntemi ile ekstraktları oluşturulmuştur. Ekstrelerin fenolik madde miktarı pirokatekol eşdeğeri olarak belirtilmiştir. Toplam fenolik madde içeriği en yüksek etil asetat ekstresinde 48,01 μg pirokatekol eşdeğeri/mg ekstre değerinde bulunmuştur.

4.2 Toplam Flavonoid İçeriğinin Tayini

Ekstrelerin flavonoid miktarı kateşin eşdeğeri olarak belirtilmiştir. Toplam flavonoid madde değeri maksimum etil asetat ekstresinde 216,04 μg kateşin eşdeğeri/mg ekstre olarak ölçülmüştür. Bu metoda göre udi hindi kökü su ekstresinde flavonoid madde içeriği gözlemlenmemiştir.

4.3 Antosiyanin Tayini

Antosiyaninler, çiçeklerin pembeden maviye değişen renklerde olmasından sorumludur. Antosiyaninler bitkilerin yapraklarında, meyvelerinde ve köklerinde de bulunurlar [79]. Çeşitli çalışmalar, antosiyaninlerin antimikrobiyal, antioksidan gibi çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğunu göstermiştir [103]. Eşitlik (3.1)'den yararlanılarak udi hindi bitkisinin antosiyanin içeriği 4,89 $\mu\text{mol/g}$ bulunmuştur (Tablo 4.1).



Şekil 4.1 *Aquilaria malaccensis* kaynaklı flavonoidlerin yapıları [68]

4.4 Prolin Analizi

Bitki dokusunda biriken prolin, ROS'un neden olduğu oksidatif hasarı önler. Prolin, enzimatik olmayan antioksidan görevi görür [104]. Udi hindi kök ekstralarının toplam prolin içeriğine bakıldığında su ekstresinin 61,14 μg prolin/mg ekstre sonucu ile en yüksek olduğu bulunmuştur (Tablo 4.1).

Tablo 4.1 Çalışılan bitki örneklerinin fenolik madde içeriği, flavonoid madde içeriği ve prolin miktarı

Örnek	Toplam Fenolik İçeriği (μg pirokatekol eşdeğeri /mg ekstre)	Toplam Flavonoid İçeriği (μg kateşin eşdeğeri/ mg ekstre)	Prolin İçeriği (μg prolin/ mg ekstre)
Su Ekstresi	27,01	0	61,14
Etil Asetat Ekstresi	48,01	216,04	3,44

4.5 β -Karoten Ağartma Yöntemi

Bu yöntemden elde edilen sonuçlara göre udi hindi bitki kökü rölatif antioksidan aktivitesi absorbans değerleri 60. dakikada etil asetat ekstresi için 1,13; su ekstresi için ise 1,01 ölçülmüştür. Örneklerin ağartma gücü, 60. dakikada pozitif kontrol

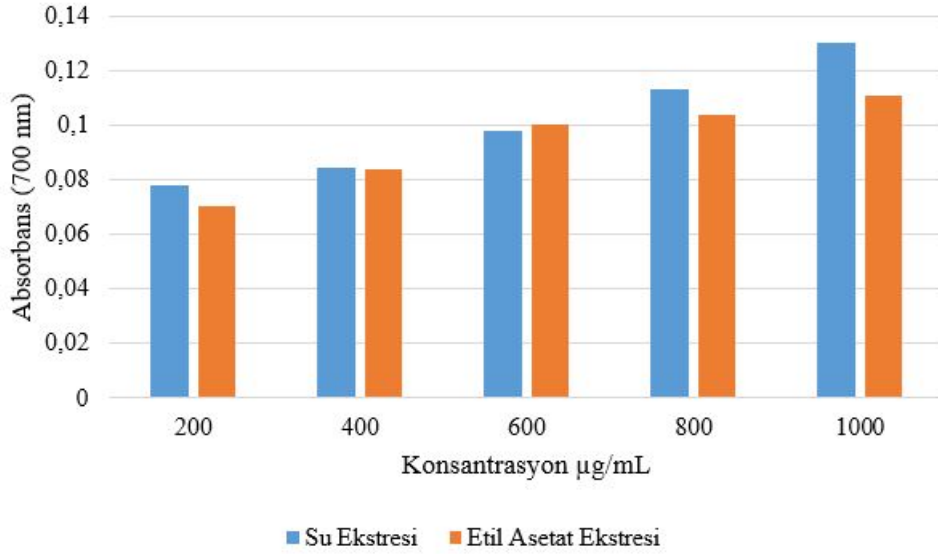
için kullanılan BHA'dan daha üstün sonuç göstermiştir. 120. dakikada ise etil asetat ekstresi 1,12 ölçülerek BHA'dan yüksek etki gösterirken, su ekstresi 0,89 değerinde ölçülerek BHA'dan düşük etki göstermiştir (Tablo 4.2).

Tablo 4.2 Çalışılan bitki örneklerinin β -karoten ağartma gücü

Örnek	RAA (60. dk)	RAA (120. dk)
Su ekstresi	1,01	0,89
Etil asetat ekstresi	1,13	1,12
BHA	1	1
Negatif kontrol	0,91	0,91
RAA: Rölatif antioksidan aktivite Pozitif kontrol: BHA Negatif kontrol: Linoleik asit emülsiyon		

4.6 İndirgeme Gücü Belirlenmesi

İndirgeme gücü belirlenmesinde, udi hindi bitkisinin farklı çözücüler ile hazırlanan ekstrelerinin Fe^{+3} 'ü Fe^{+2} 'ye indirgeme gücü ölçülerek, standart antioksidan olan BHA ile karşılaştırılmıştır. Sonuç, Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Ortamdaki indirgenmiş demir miktarı ile ölçülen absorbans değeri doğru orantılıdır. Ekstrelerin konsantrasyonları artırıldıkça, indirgeme güçlerinde de kademeli artış gözlemlenmiştir. BHA ve bitki örneklerinin indirgeme gücü kapasitesi kıyaslandığında BHA üstün gelmiştir. Bu deneyde standart antioksidan olarak kullanılan BHA, 20, 40, 60, 80, 100 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarında sırasıyla 0,29 – 0,50 – 0,72 – 0,85 – 0,98 şeklinde absorbans ölçüm değerleri göstermiştir. Etil asetat ve su ekstreleri 400-600 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyon aralığında birbirine yakın değerlerde aktivite gösterdi. 200, 800, 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarında ise su ekstresi etil asetat ekstresinden daha yüksek aktivite göstermiştir.



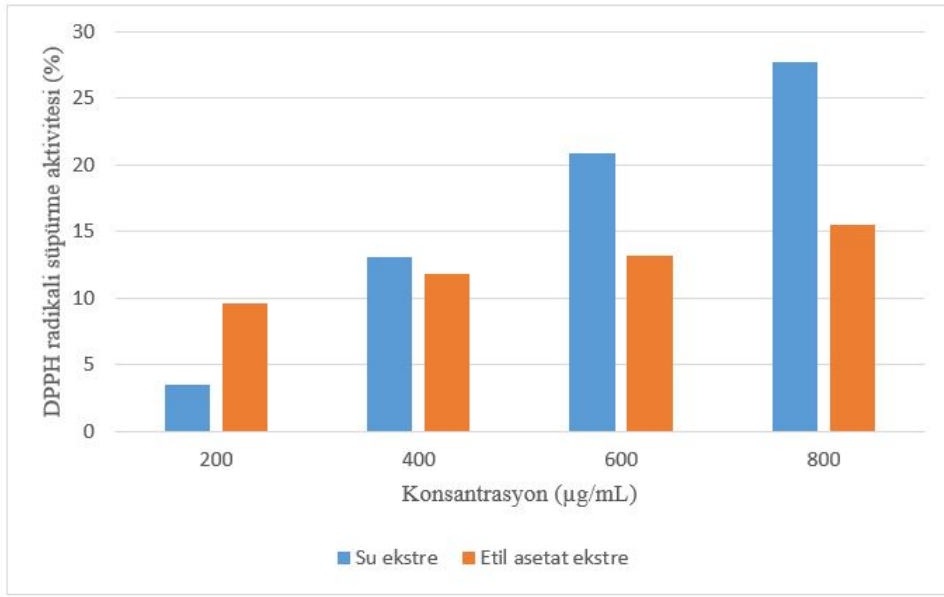
Şekil 4.2 Çalışılan bitki örneklerinin indirgeme gücü aktiviteleri

4.7 Metal Şelatlama Gücü Belirlenmesi

Metal şelatlama gücü belirlenmesi, ortama eklenen antioksidan ile Ferrozin- Fe^{+2} kompleksi oluşumunun inhibisyonuna dayanmaktadır. Deney sonucunda çalışılan tüm örneklerin farklı konsantrasyonları için metal şelatlama aktivitesi gözlemlenmedi. Standart antioksidan olarak kullanılan EDTA ile konsantrasyon arttıkça yükselen bir şelatlama etkisi görüldü.

4.8 DPPH•+ Radikali Yakalama Gücü

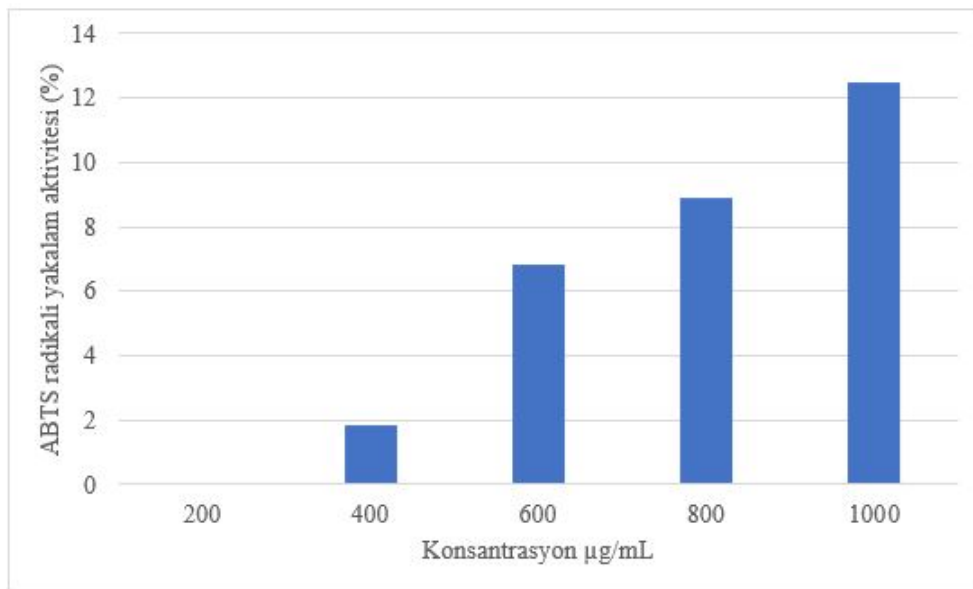
DPPH•+ radikali yakalama gücü için etil asetat veya su ile hazırlanan udi hindi ekstreleri, standart antioksidan olan BHA ile kıyaslandı. Örneklerin DPPH•+ radikali yakalama gücü Şekil 4.3’de gösterilmiştir. 200 $\mu\text{g/mL}$ ’lik konsantrasyonda etil asetat ekstresi su ekstresinden daha üstün bir aktivite gösterdi. 400-800 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyon aralığında ise konsantrasyon arttıkça, su ekstresi sırasıyla artan; %13, %21, %28 oranlarında DPPH radikal süpürme aktivitesi sergiledi. 400-800 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyon aralığında, etil asetat aktiviteleri sırasıyla %12, %13, %15 oranlarında aktivite gösterdi. Su ekstrelerinin DPPH•+ radikali süpürme aktiviteleri, etil asetat ekstrelerinden daha üstün sonuçlar verdi. BHA ise ölçülen tüm konsantrasyonlarda (50-100-150-200 $\mu\text{g/mL}$) %90’ın üzerinde bir aktivite gösterdi.



Şekil 4.3 Çalışılan bitki örneklerinin DPPH•+ radikali süpürme aktiviteleri

4.9 ABTS•+ Radikali Yakalama Gücü

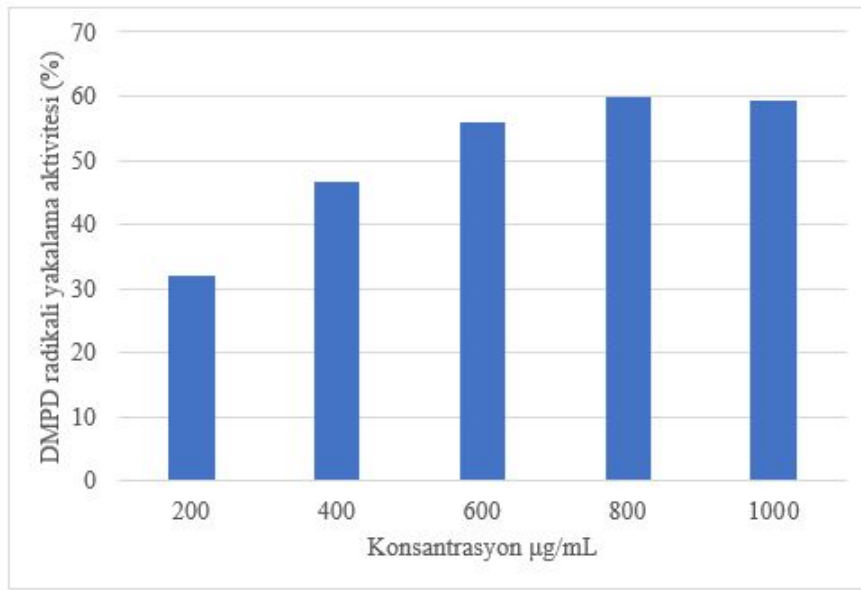
Udi hindi bitkisi örneklerinin 200-1000 µg/mL konsantrasyon aralığında ABTS•+ radikali yakalama aktiviteleri çalışılmıştır (Şekil 4.4). Bulgulara göre etil asetat ekstralarının radikal yakalayıcı aktivite göstermediği bulundu. Su ekstralarını konsantrasyon artışı ile birlikte %1- %12,5 arası artan standart antioksidana kıyasla daha düşük aktivite görülmüştür. Standart antioksidan olarak kullanılan BHA ise 20-100 µg/mL konsantrasyonlarında %24'den %100'e doğru artan bir ABTS radikali süpürme aktivitesi göstererek udi hindi ekstresinden daha yüksek etki gösterdi.



Şekil 4.4 Çalışılan bitki örneklerinin ABTS•+ radikali yakalama aktivitesi

4.10 DMPD•+ Radikali Süpürme Aktivitesi

Çalışılan örneklerin DMPD•+ radikali süpürme aktivitesi Şekil 4.5’de görülmektedir. Su ekstresi örneğinin 200 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda DMPD•+ radikali yakalama oranı %32 iken 800 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda ise bu oran %59’a ulaşmıştır. 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda aktivite bir miktar düşmüştür. Standart antioksidan olan BHA, (20-100 $\mu\text{g/mL}$) konsantrasyon aralığında sırasıyla %19 - %25 - %28- %31 - %34 şeklinde aktivite göstermiştir. Bu durumda bitki örneği, standart antioksidana üstün gelmiştir. Etil asetat ekstresi DMPD•+ radikali yakalama etkisi göstermemiştir.

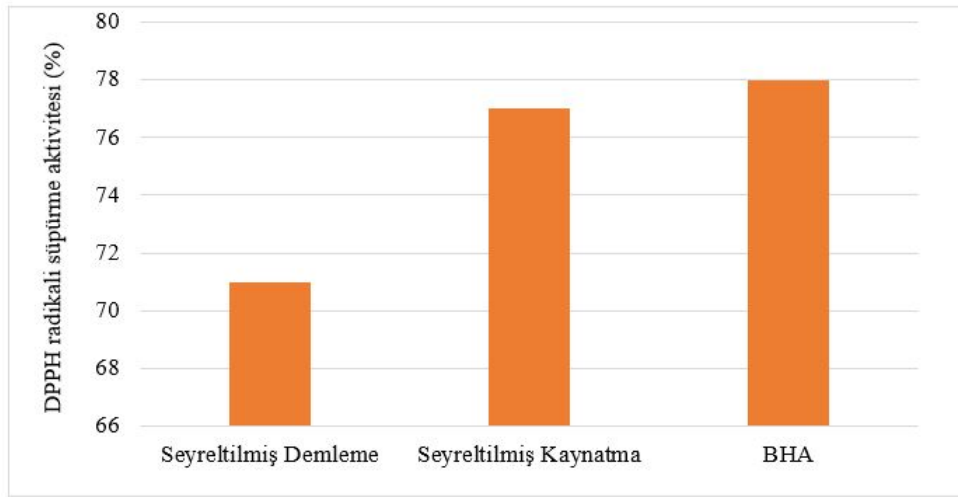


Şekil 4.5 Çalışılan bitki örneklerinin DMPD•+ radikali süpürme aktivitesi

4.11 Udi Hindi Bitki Çayı Deneylerinde Antioksidan Etki

4.11.1 DPPH•+ Radikali Yakalama Gücü

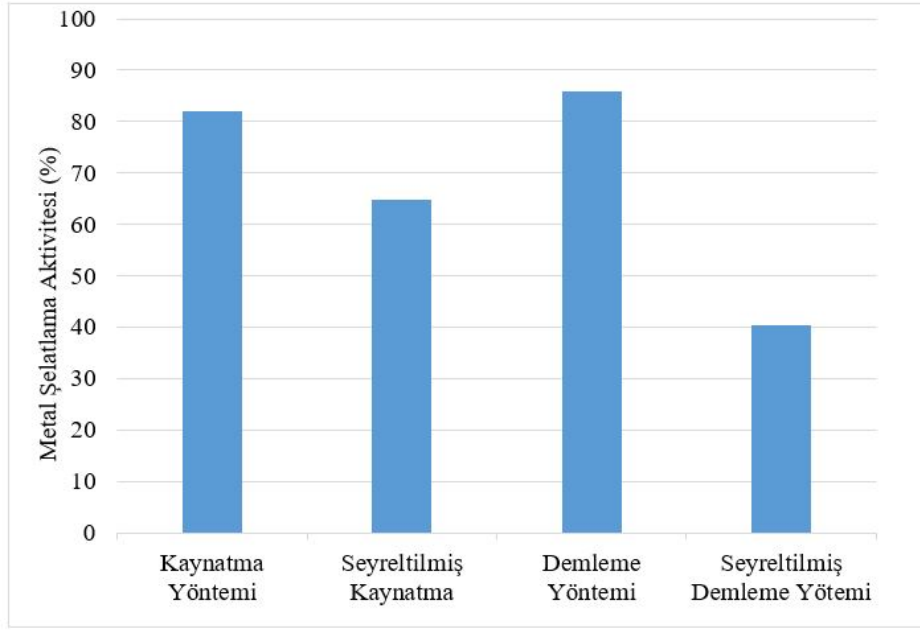
Udi hindi bitki çayı antioksidan etki analizlerinde DPPH•+ radikali yakalama gücü tek konsantrasyon çalışılmıştır. Udi hindi bitki çayının 1/10 oranında seyreltilmiş kaynatma örneğinde %77, 1/10 oranında seyreltilmiş demleme örneğinde ise %71 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.6). Standart antioksidan olarak uygulanan BHA %78’lik DPPH•+ radikali yakalama aktivitesi göstermiştir.



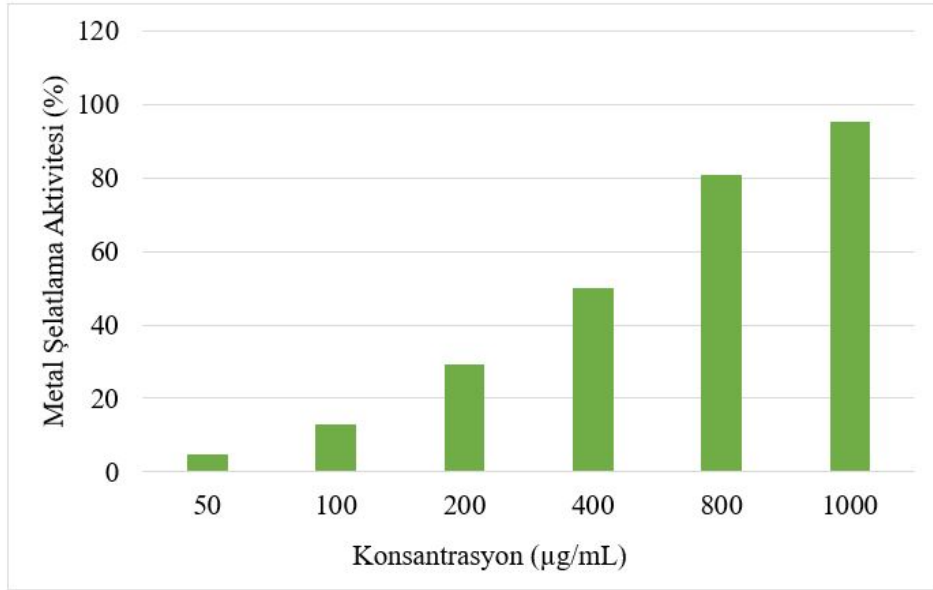
Şekil 4.6 Udi hindi çayı ve BHA'nın DPPH•+ radikali yakalama aktivitesi

4.11.2 Metal Şelatlama Gücü Analizi

Udi hindi antioksidan etki analizlerinde en düşük metal şelatlama aktivitesi, demlenerek hazırlanan bitki çayının 1/10 oranında seyreltilmiş örneğinde %40; kaynatma yöntemi ile hazırlanan bitki çayının 1/10 oranında seyreltilmiş örneğinde ise %60 olarak gözlemlenmiştir. Ayrıca seyreltilmeyen bitki çayı demleme yöntemi örneği %85, kaynatma yöntemi örneği %82'lik metal şelatlama aktivitesi göstermiştir. (Şekil 4.7). Standart antioksidan olarak kullanılan EDTA, konsantrasyona bağlı artan bir etki göstermektedir (Şekil 4.8). EDTA, 400 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonda %50'lik bir aktiviteye ulaşmıştır; 800 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonda ise %80'lik metal şelatlama aktivitesi göstermiştir. Bitki örneklerinde demleme yöntemi, kaynatma yönteminden daha üstün metal şelatlama aktivitesi göstermiştir. Seyreltilen örneklerde ise kaynatma yöntemi değeri, demleme yöntemine üstün etki göstermiştir.



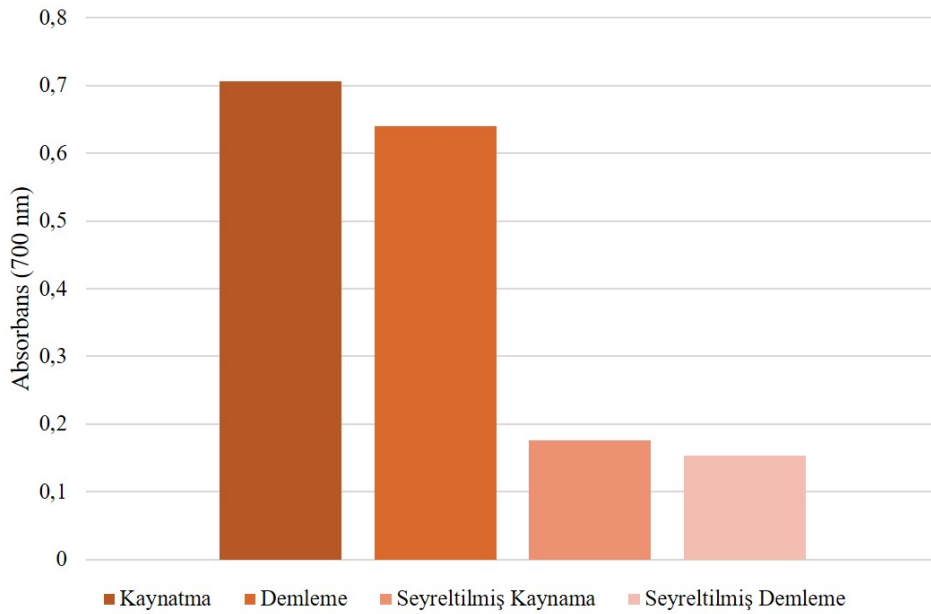
Şekil 4.7 Udi hindi çayı örneklerinin metal şelatlama aktivitesi



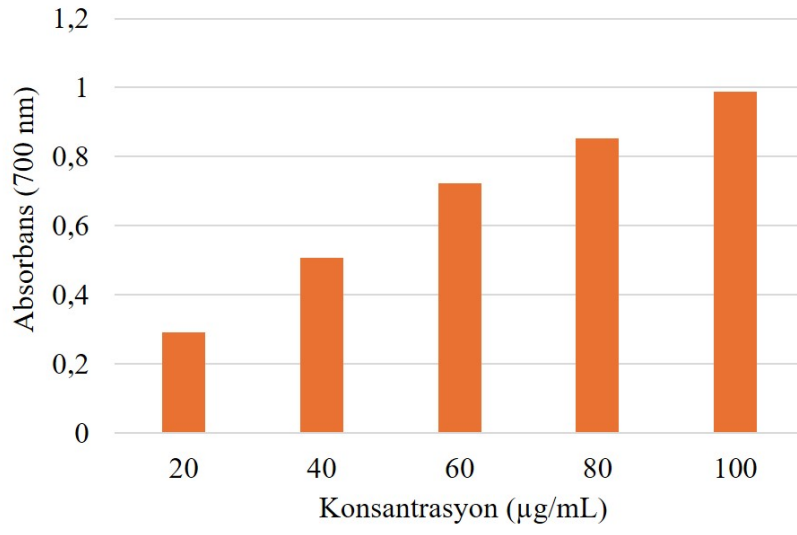
Şekil 4.8 EDTA'nın metal şelatlama aktivitesi

4.11.3 İndirgeme Gücü Belirlenmesi

Udi hindi bitki çaylarının indirgeme gücünün belirlenmesinde, kaynatılan bitki çayı örneğinin absorbans değeri 0,70, demlenen bitki çayı örneğinin değeri ise 0,64 olarak ölçülmüştür. Bitki çaylarının doğrudan kullanılan demleme ve kaynatma formlarının indirgeme gücü absorbansları, BHA'nın 60 $\mu\text{g/mL}$ 'lık konsantrasyonda gösterdiği absorbans değerine yakın bir indirgeme gücü aktivitesi göstermiştir. Bitki çayının seyreltilmiş kaynatma örneği absorbans değeri 0,17, seyreltilmiş demleme örneği değeri 0,15 olarak aktivite göstermiştir (Şekil 4.9). Bitki çayının seyreltilmiş kaynatma ve demleme örnekleri, standart antioksidan olarak kullanılan BHA'nın en düşük konsantrasyonunda gösterdiği etkidenden daha düşük indirgeme gücü aktivitesi göstermiştir. BHA'da, konsantrasyona bağlı absorbans artışı görülmüştür (Şekil 4.10).



Şekil 4.9 Udi hindi çayı örneklerinin indirgeme gücü



Şekil 4.10 BHA'nın indirgeme gücü aktivitesi

Gezeganimizde bulunan bitkisel ve hayvansal kaynaklı pek çok gıdanın içerisinde sağlığa faydalı bileşenler bulunmaktadır. Bu bileşenler vitamin, mineral, enerji ihtiyaçlarımızı karşılamamanın yanı sıra fizyolojik olarak metabolik yollarda da düzenleyici olarak etkili olmaktadır. Metabolik süreçlerde oksijenin aktivasyonunu takiben ortaya çıkan süperoksit anyonu ve türevleri yüksek reaktivite özellikleri sebebi ile biyomoleküllerle etkileşime girebilirler [22]. Serbest radikal ve ROS'lar bu özellikleri sebebiyle artışları sonucu biyolojik sistemlerde oksidasyona neden olmaktadır [6]. Piyasadaki pek çok maddenin ve gıdaların üretiminde, kullanım tarihlerinin uzatılarak muhafaza edilmesi hedefi ile antioksidan bileşikler yaygın olarak kullanılmaktadır. Antioksidanların, ürünlerde peroksidasyon proseslerini önleme ve geciktirme güçleri sebebi ile endüstriyel üretim teknolojilerinde sentetik antioksidanların kullanımı oldukça yaygındır. Sentetik antioksidanlardan BHA, BHT, TBHQ yaygın olarak kullanılmaktadır fakat sentetik antioksidanların kanserojen olabileceğine dair çalışmalar sebebi ile kullanımı konusunda kısıtlayıcı kurallara sahip ülkeler mevcuttur [105]. Bu sebeple araştırmacılar, daha doğal ve düşük toksisiteye sahip antioksidanlar üzerine çalışmalar yapmaktadır. Bitki ekstraktları ve bileşikleri üzerinde yapılan çalışmalar, polifenollerin antioksidan özelliklerini ön plana çıkarmaktadır.

Bu çalışmada udi hindi bitkisinin kökü toz haline getirilerek çalışmalarda kullanılmış ve antioksidan özellikleri kapasitesini belirlemek amacı ile çeşitli radikal türlerine maruz bırakılan örneklerin radikal süpürme aktiviteleri ölçülmüştür. Bitkinin su ve etil asetat ekstraktlarının, standart olarak kullanılan antioksidanın radikal süpürme aktivitesine üstün geldiği parametreler mevcuttur. Ayrıca bitki kökü çayı hazırlanarak bazı antioksidan parametreler bitki çayı örneklerinde tekrar çalışılmıştır. Sıcaklık faktörü ile muamele edilen udi hindi bitki kökünde yüksek aktivite ölçülürken, standart ile karşılaştırıldığında, metal şelatlama ve indirgeme gücü aktivitesi standarda karşı üstün bir aktivite göstermiştir.

Çalışılan udi hindi bitkisi örneklerinin fenolik madde miktarı su ekstresinde 27,01 pirokatekol eşdeğeri/mg ekstre, etil asetat ekstresinde ise 48,01 pirokatekol eşdeğeri/mg ekstre olarak bulunmuştur.

Weijuan ve Li (2012) ile Tay ve ark. (2014) yapmış olduğu çalışmalarda, çeşitli çözücülerle ekstrakte ettikleri *Aquilaria* türü bitkinin yapraklarındaki toplam fenolik madde içeriğinin 157,41 - 183,5 mg gallik asit eşdeğeri /g kuru ağırlık aralığında olduğunu raporlamışlardır [106], [107].

Bu çalışmada flavonoid madde miktarı su ekstresinde tespit edilmemiş, etil asetat ekstresinde ise 216,04 kateşin eşdeğeri olarak bulunmuştur. Yapılan deneylerde bitki örneğinin prolin miktarı su ekstresinde 61,14 μg prolin/mg ekstre, etil asetat ekstresinde 3,44 μg prolin/mg ölçülerek su örneği etil asetat örneğine üstün gelmiştir (Tablo 4.1). Bitki örneğinin antosiyanin içeriği ise 4,89 $\mu\text{mol/g}$ olarak ölçülmüştür. Birden fazla hidroksil grubu içeren flavonoid molekülleri, büyük bir radikal temizleme aktivitesi sergilemektedir [108].

Tay ve ark. (2014) yaptığı çalışmada bitki yapraklarının etanol ekstraktındaki toplam flavonoid madde içeriğini 249 mg quersetin eşdeğeri /g kuru ağırlık; Bahrani (2013)'de yaptığı çalışmada bitki yapraklarının kloroform ekstraktındaki toplam flavonoid içeriğini 414 mg quersetin eşdeğeri/g kuru ağırlık olarak belirtmiştir [107], [109].

Örneklerin β -karoten ağartma aktivitesi, 60. dakikada su 1,01, etil asetat ekstresi 1,13 ölçüldü; 120 dakikada ise su 0,89, etil asetat ekstresi 1,12 ölçüldü (Tablo 4.2). Etil asetat ekstresi iki farklı süredeki ölçümde de standart antioksidan olan BHA'dan daha yüksek aktivite gösterdi.

Bu çalışmada indirgeme gücü kapasitesi deneylerinde örneklerin su ve etil asetat ekstreleri 400-600 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyon aralığında 0.08 absorbans değeri göstermiştir. 200-800-1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarında ise sırası ile su ekstreleri 0,07 - 0,11 - 0,13; etil asetat ekstreleri ise 0,07 - 0,10 - 0,11 şeklinde artan bir absorbans göstermişlerdir (Şekil 4.2). Yüksek absorbans, yüksek indirgeme gücünü göstermektedir [110]. Sıcaklık faktörü devreye gidiğinde, bitki çayı demleme ve kaynatma metodları uygulanan bitki örneklerinin indirgeme gücü kapasitesindeki artış şöyledir; kaynatma yöntemi ile hazırlanan bitki çayı örneğinin absorbansı 0.70, demleme yöntemi ile hazırlanan bitki çayı örneği ise 0,64 değerini göstermiştir. Bu deneyde standart antioksidan olarak kullanılan BHA ise 20-100 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyon aralığında sırasıyla 0,29 - 0,50 - 0,72 - 0,85 - 0,98 şeklinde artarak bitki örneklerinden daha yüksek indirgeme gücü aktivitesi göstermiştir (Şekil 4.2). Deney sonucuna göre ekstrelerin indirgeme gücü aktivitesi düşük olsa

da bitki çayı örneklerinin aktiviteleri standart antioksidanın aktivitelerine yakın etki göstermiştir.

Farklı araştırmacılar tarafından yapılan önceki çalışmalarda indirgeme gücü, metal şelatlama aktivitesi, DPPH radikali yakalama gücü, ABTS radikali yakalama gücü gibi antioksidan aktivite parametreleri ile ilgili değerler IC_{50} değeri olarak belirtilmiştir. IC_{50} değeri radikallerinin oluşumunu %50 oranında engellemek için gereken ekstrakt konsantrasyonu olarak tanımlanmaktadır [74].

Weijuan ve Li (2012)'de, *A. sinensis* yaprakları metanol ekstraktlarının 0-140 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyon aralığında indirgeme gücü aktivitesi için IC_{50} değerini $18,56 \pm 1,60 \mu\text{g/mL}$ olarak belirtmiştir [106].

Metal şelatlama deneylerinde ise su ve etil asetat ekstreleri negatif aktivite gösterirken; bitkinin çayı yapıldığında demleme yöntemi uygulanan örnekler %86, kaynatma yöntemi uygulanan örnekler %82 oranında aktivite gösterdi. Örneklerden demleme yöntemi ile hazırlanan bitki çayı örneği 1/10 oranında seyreltildiğinde aktivitesi %40, kaynatma yöntemi ile hazırlanan bitki çayı örneği 1/10 oranında seyreltildiğinde ise %65'lik bir metal şelatlama aktivitesi göstermiştir (Şekil 4.7). EDTA 50, 100, 200, 400, 800, 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarında sırasıyla %5 - %13 - %29 - %50 - %80 - %95 metal şelatlama aktivitesi sergilemiştir (Şekil 4.8). Örnekler, standart antioksidan olarak kullanılan EDTA'nın bazı konsantrasyonlarından daha yüksek aktivite göstermiştir.

Weijuan ve Li (2012)'de, *A. sinensis* yaprakları metanol ekstraktlarının 0-140 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyon aralığında metal şelatlama aktivitesi için IC_{50} değerini $94,24 \pm 3,19 \mu\text{g/mL}$ olarak belirtmiştir [106].

DPPH radikali süpürme aktivitesi deneylerinde 200 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonda etil asetat ekstresi su ekstresinden daha üstün bir aktivite gösterdi. 400-800 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyon aralığında ise konsantrasyon arttıkça, su ekstresi sırasıyla artan; %13 - %21 - %28 oranlarında DPPH radikal süpürme aktivitesi sergiledi. 400-800 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyon aralığında, etil asetat aktiviteleri sırasıyla %12 - %13 - %15 oranlarında aktivite gösterdi. Su ekstrelerinin DPPH radikali süpürme aktiviteleri, etil asetat ekstrelerinden daha üstün sonuçlar verdi. BHA ise ölçülen tüm konsantrasyonlarda 50, 100, 150, 200 $\mu\text{g/mL}$ %90'ın üzerinde bir aktivite gösterdi. Yapılan deneyde su ekstesi örnekleri en yüksek aktiviteyi 800 $\mu\text{g/mL}$ 'de %27 olarak; etil asetat ekstresi ise %15 olarak göstermiştir (Şekil 4.3).

Bitki köküne demleme ve kaynatma yöntemi uygulanan örneklerde ise aktivite artışı gözlemlenmiştir. Kaynatma yöntemi ile hazırlanan örnekler %78, demleme

yöntemi ile hazırlanan örnekler %71'lik bir DPPH radikali süpürme aktivitesi göstermiştir (Şekil 4.6).

Weijuan ve Li (2012)'de, *A. sinensis* yaprakları metanol ekstraktlarının 0-140 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyon aralığında DPPH radikali süpürme aktivitesi için IC_{50} değerini $11,63 \pm 0,16 \mu\text{g/mL}$ olarak belirtmiştir [106].

Kamonwannasit ve ark. (2013), *A. crassna* yaprak ekstraktının DPPH radikalini yakalama aktivitesi IC_{50} değerini $7,25 \pm 2,05 \mu\text{g/mL}$ olarak belirtmiştir [74].

Moosa'nın (2010)'daki araştırmalarına göre *A. malaccensis* yaprakları ile 0-1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyon aralığında metanol, heksan, etil asetat, butanol ekstraktları çalışılmıştır. En yüksek aktiviteyi 1000 $\mu\text{g/mL}$ 'de metanol ekstraktı %80 DPPH radikali süpürme aktivitesi yaparak göstermiştir [111].

Bu çalışmada ABTS radikali süpürme aktivitesinde etil asetat ekstraktlarında ABTS radikali süpürme aktivitesi görülmezken, su ekstraktlarında %1- %12,5 arası artan standart antioksidanla kıyasla daha düşük aktivite görülmüştür (Şekil 4.4). Standart BHA, 20-100 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyon aralığında %24'den %100'e doğru artan bir aktivite göstermiştir.

Kamonwannasit ve ark. (2013), *A. crassna* yaprak ekstraktının ABTS radikalini yakalama aktivitesi IC_{50} değerini $218,93 \pm 2,771$ olarak belirtmiştir [74].

Weijuan ve Li (2012)'de, *A. sinensis* yaprakları metanol ekstraktlarının, 0-140 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyon aralığında ABTS radikali süpürme aktivitesi için IC_{50} değerini $2,05 \pm 0,06 \mu\text{g/mL}$ olarak bildirmişlerdir [106].

DMPD radikali süpürme aktiviteleri, bu çalışmada 200-800 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyon aralığında su ekstraktları için sırasıyla %32 - %46 - %55 - %59 oranında ölçülmüştür. (Şekil 4.5). Etil asetat ekstraktları ise negatif sonuç vermiştir. Standart BHA 20-100 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyon aralığında sırasıyla %19 - %25 - %28 - %31 - %34 şeklinde artan aktivite göstermiştir. Örneklerin su ekstraktları, BHA'dan daha üstün aktiviteye sahiptir.

Miles ve Grisham (1994), *Aquilaria agallocha* yapraklarının etil asetat ekstraktının farklı konsantrasyonlarında (500, 1000, 1500, 2000 $\mu\text{g/mL}$) antioksidan potansiyelini araştırmış, etil asetat ekstraktlarının düşük konsantrasyon aralığında antioksidan etki gösterdiğini ve yüksek konsantrasyonlarda bu etkinin tersine döndüğünü raporlamıştır [112].

Miniyar ve ark. (2008), insan kan hemoglobininde oksidasyona karşı *A. agallocha*

öz odununun etil asetat ekstraktlarının 500-3500 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyon aralığında inhibitör etki gösterdiğini, daha yüksek konsantrasyonlarda ise prooksidan etki gösterdiğini raporlamıştır [19].

Kamonwannasit ve ark. (2013)'de *Aquilaria crassna*'nın 500 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda, çözücü olarak metanol, metanol-su ve aseton ile ekstraktlarını incelediğinde yüksek antioksidan aktivite gözlemlemiştir [74].

Ayrıca Gogoi, Sarma ve ark. (2023)'de *A. malaccensis* esansiyel yağının 1 $\mu\text{L/mL}$ konsantrasyonunda genotoksik olarak inaktif olduğunu bildirmiştir [18].

Özbalta (2022)'de sıçanlar üzerinde yaptığı bir deney için udi hindi bitkisini metanol içerisinde çözdürmüş, ardından metanolden uzaklaştırılıp toz haline getirerek kullanmıştır. Rinosinüzite yakalanan hayvanlara 100 ve 200 mg/kg/gün dozlarında uygulanmıştır. Çalışma sonucunda toplam oksidan seviye ve oksidatif stres indeksi anlamlı şekilde azalma görülmüş, toplam antioksidan seviyesinde anlamlı şekilde artma gözlemlenmiştir. Agarwoodun sahip olduğu antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri sebebiyle sıçanların akut rinosinüzit tedavisi için oral yolla kullanılabileceğini raporlamıştır [76].

Rahman ve ark. (2012), *Aquilaria agallocha* yağının 2.000 mg/kg vücut ağırlığına kadar kullanım dozunun güvenli olduğunu bildirmiştir [113].

Yapılan tüm bu deneylerin sonucunda udi hindi bitkisinin anlamlı bir antioksidan aktivite sergilediği görülmektedir. Literatürde udi hindi bitkisinin birden çok etken maddeye sahip olduğu tespit edilmesine rağmen antioksidan kapasitesi tespitine yönelik sınırlı bilgi mevcuttur. Bu çalışmada halk arasında kullanımı artan udi hindi bitkisinin ekstrelerinin ve bitki çayı formunun antioksidan kapasitesi ölçümleri ile bazı soru işaretleri giderilmiştir. Udi hindi bitki türüne dair araştırmalar incelendiğinde, birden fazla isme sahip olduğu görülmektedir. Çalışmaların netlik kazanabilmesi için bitkinin cinsine dair spesifik özellikler tespit edilmesi gerekebilir. Ayrıca bitkinin detaylı toksikoloji testleri yapılarak güvenli kullanım doz aralığı tespit edilmelidir.

- [1] S. Li, B. Fasipe I. Laher, “Potential harms of supplementation with high doses of antioxidants in athletes,” *Journal of Exercise Science & Fitness*, c. 20, no. 4, ss. 269–275, 2022.
- [2] L. Rochette, G. Dogon, E. Rigal, M. Zeller, Y. Cottin C. Vergely, “Lipid peroxidation and iron metabolism: two corner stones in the homeostasis control of ferroptosis,” *International journal of molecular sciences*, c. 24, no. 1, s. 449, 2022.
- [3] D. P. Jones H. Sies, “The redox code,” *Antioxidants & redox signaling*, c. 23, no. 9, ss. 734–746, 2015.
- [4] H. Karabulut M. Ş. Gülay, “Serbest radikaller,” *Mehmet Akif Ersoy University Journal of Health Sciences Institute*, c. 4, no. 1, 2016.
- [5] B. Zhang ve diğ., “Role of mitochondrial reactive oxygen species in homeostasis regulation,” *Redox Report*, c. 27, no. 1, ss. 45–52, 2022.
- [6] M. G. Nikolaidis N. V. Margaritelis, “Free radicals and antioxidants: Appealing to magic,” *Trends in Endocrinology & Metabolism*, c. 34, no. 9, ss. 503–504, 2023.
- [7] P. Soylu, “Obez hastaların diyetle antioksidan alımları ve total antioksidan kapasiteleri arasındaki ilişkinin saptanması,” dok. tezi, yüksek lisans tezi). Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2015.
- [8] B. Usta L. Yılmaz-ersan, “Sütün antioksidan enzimleri ve biyolojik etkileri,” *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, c. 27, no. 2, ss. 123–130, 2013.
- [9] N. Arslan, “Koroner arter hastalarında serum antioksidan/oksidan durumu, diyet toplam antioksidan kapasitesi ile beslenme durumunun değerlendirilmesi,” yük. lis. tezi, Gazi Üniversitesi, 2017.
- [10] G. Özay, “Kayısı ve incir meyvelerinin antioksidan kapasitelerinin araştırılması,” yük. lis. tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2008.
- [11] H. Zubair ve diğ., “Cancer chemoprevention by phytochemicals: Nature’s healing touch,” *Molecules*, c. 22, no. 3, s. 395, 2017.
- [12] P. Ballester, B. Cerdá, R. Arcusa, J. Marhuenda, K. Yamedjeu P. Zafrilla, “Effect of ginger on inflammatory diseases,” *Molecules*, c. 27, no. 21, s. 7223, 2022.
- [13] S. Y. Lee R. Mohamed, “The origin and domestication of *Aquilaria*, an important agarwood-producing genus,” *Agarwood: science behind the fragrance*, ss. 1–20, 2016.

- [14] M. Ullah, “Boosting up the economy of Pakistan through agarwood production,” *International Journal of Horticulture and Food Science*, c. 2, no. 2, ss. 25–35, 2020.
- [15] S. Takamatsu M. Ito, “Agarotetrol: a source compound for low molecular weight aromatic compounds from agarwood heating,” *Journal of natural medicines*, c. 72, ss. 537–541, 2018.
- [16] M. Börübaşı, V. Kızak Ö. Aksu, “Masere udi hindi (Aquilaria agallocha roxb.) yagının yüksek yoğunlukta stoklanan Japon balıklarında (Carassius auratus) antioksidan durumuna etkileri,” içinde. BİDGE Yayınları, 2023, böl. Bölüm VII.
- [17] M. Kankaynar, “Udi hindi tozu su ekstraktının anksiyolitik, sirkadiyen düzenleyici etkisi ve gelecek nesiller üzerindeki etkileri; zebra balığı modellenmesi,” yük. lis. tezi, Atatürk Üniversitesi, 2023.
- [18] R. Gogoi ve diğ., “Agarwood (Aquilaria malaccensis L.) a quality fragrant and medicinally significant plant based essential oil with pharmacological potentials and genotoxicity,” *Industrial Crops and Products*, c. 197, s. 116535, 2023.
- [19] P. Miniyar, T. Chitre, H. Deuskar, S. Karve K. Jain, “Antioxidant activity of ethyl acetate extract of Aquilaria agallocha on nitrite-induced methaemoglobin formation P.,” *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*, c. 2, no. 2, 2008.
- [20] S. Iskandar, S. M. Gnansounou, M. Robin, J. Lorquin, C. Di Giorgio P. Piccerelle, “Antioxidant, Anti-inflammatory and Neuroprotective Activities of a Plant Extract Derived from Traditional Chinese Medicine SuHeXiang Wan (AT000),” *chemistry and advanced Materials*, 2018.
- [21] L. A. Pham-Huy, H. He C. Pham-Huy, “Free radicals, antioxidants in disease and health,” *International journal of biomedical science: IJBS*, c. 4, no. 2, s. 89, 2008.
- [22] M. Valko, C. Rhodes, J. Moncol, M. Izakovic M. Mazur, “Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer,” *Chemico-biological interactions*, c. 160, no. 1, ss. 1–40, 2006.
- [23] M. M. Gaschler B. R. Stockwell, “Lipid peroxidation in cell death,” *Biochemical and biophysical research communications*, c. 482, no. 3, ss. 419–425, 2017.
- [24] R. Z. Zhao, S. Jiang, L. Zhang Z.-B. Yu, “Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling,” *International journal of molecular medicine*, c. 44, no. 1, ss. 3–15, 2019.
- [25] B. L. Zaric, M. T. Macvanin E. R. Isenovic, “Free radicals: relationship to human diseases and potential therapeutic applications,” *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, c. 154, s. 106346, 2023.
- [26] D. Akdoğan, “Farklı ekstraksiyon yöntemlerinin enginarın antioksidan aktivitesine etkileri,” yük. lis. tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [27] S. Bolisetty E. A. Jaimes, “Mitochondria and reactive oxygen species: physiology and pathophysiology,” *International journal of molecular sciences*, c. 14, no. 3, ss. 6306–6344, 2013.

- [28] C. Lehmann ve diğ., “The utility of iron chelators in the management of inflammatory disorders,” *Mediators of inflammation*, c. 2015, no. 1, s. 516 740, 2015.
- [29] H. Karabulut M. Ş. Gülay, “Antioksidanlar,” *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2016.
- [30] R. Begum, S. Thota, A. Abdulkadir, G. Kaur, P. Bagam S. Batra, “NADPH oxidase family proteins: signaling dynamics to disease management,” *Cellular & Molecular Immunology*, c. 19, no. 6, ss. 660–686, 2022.
- [31] M. Číž A. Lojek, “Modulation of neutrophil oxidative burst via histamine receptors,” *British journal of pharmacology*, c. 170, no. 1, ss. 17–22, 2013.
- [32] N. Pankaja, “Free Radicals in Health Disease and Antioxidants,” içinde. JAYPEE, 2010, böl. 29.
- [33] M. Hoxha, A. Barbonetti B. Zappacosta, “Arachidonic acid pathways and male fertility: a systematic review,” *International Journal of Molecular Sciences*, c. 24, no. 9, s. 8207, 2023.
- [34] Y. Ma, L. Zheng, Y. Wang, Y. Gao Y. Xu, “Arachidonic acid in follicular fluid of PCOS induces oxidative stress in a human ovarian granulosa tumor cell line (KGN) and upregulates GDF15 expression as a response,” *Frontiers in Endocrinology*, c. 13, s. 865 748, 2022.
- [35] A. Labhsetwar, “Prostaglandins and the reproductive cycle,” 1974.
- [36] E. Özdemir, “Geleneksel probiyotik fermente gıdaların antioksidan ve DNA bağlanma etkilerinin incelenmesi,” yük. lis. tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2015.
- [37] M. Bortolotti, L. Polito, M. G. Battelli A. Bolognesi, “Xanthine oxidoreductase: One enzyme for multiple physiological tasks,” *Redox biology*, c. 41, s. 101 882, 2021.
- [38] H. M. Schmidt, E. E. Kelley A. C. Straub, “The impact of xanthine oxidase (XO) on hemolytic diseases,” *Redox Biology*, c. 21, s. 101 072, 2019.
- [39] H. Gürer, “Biyolojik sıvılarda lipid peroksitlerin tayini ve klinik öneminin değerlendirilmesi,” yük. lis. tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1994.
- [40] B. Halliwell J. M. Gutteridge, *Free radicals in biology and medicine*. Oxford university press, USA, 2015.
- [41] J. Lin E. Epel, “Stress and telomere shortening: Insights from cellular mechanisms,” *Ageing research reviews*, c. 73, s. 101 507, 2022.
- [42] M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol, M. T. Cronin, M. Mazur J. Telser, “Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease,” *The international journal of biochemistry & cell biology*, c. 39, no. 1, ss. 44–84, 2007.
- [43] E. Birben, U. M. Sahiner, C. Sackesen, S. Erzurum O. Kalayci, “Oxidative stress and antioxidant defense,” *World allergy organization journal*, c. 5, ss. 9–19, 2012.
- [44] S. K. Biswas, “Does the interdependence between oxidative stress and inflammation explain the antioxidant paradox?” *Oxidative medicine and cellular longevity*, c. 2016, no. 1, s. 5 698 931, 2016.

- [45] R. Aslan, M. R. Şekeroğlu F. Bayıroğlu, “Serbest radikal türlerinin membran lipid peroksidasyonuna etkileri ve hücrel antioksidan savunma,” *Van Sağlık Bilimleri Dergisi*, c. 1, no. 2, ss. 137–142, 1995.
- [46] L. Valgimigli, “Lipid peroxidation and antioxidant protection,” *Biomolecules*, c. 13, no. 9, s. 1291, 2023.
- [47] D. Abdali, S. E. Samson A. K. Grover, “How effective are antioxidant supplements in obesity and diabetes?” *Medical Principles and Practice*, c. 24, no. 3, ss. 201–215, 2015.
- [48] C. L. Hawkins M. J. Davies, “Detection, identification, and quantification of oxidative protein modifications,” *Journal of Biological Chemistry*, c. 294, no. 51, ss. 19 683–19 708, 2019.
- [49] N. V. Margaritelis, V. Paschalis, A. A. Theodorou, A. Kyparos M. G. Nikolaidis, “Antioxidant supplementation, redox deficiencies and exercise performance: A falsification design,” *Free Radical Biology and Medicine*, c. 158, ss. 44–52, 2020.
- [50] N. Coulombier, T. Jauffrais N. Lebouvier, “Antioxidant compounds from microalgae: A review,” *Marine drugs*, c. 19, no. 10, s. 549, 2021.
- [51] A. Ardağ, “Antioksidan kapasite tayin yöntemlerinin analitik açıdan karşılaştırılması,” yük. lis. tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2008.
- [52] O. T. Okan, H. Varlıbaş, M. Öz İ. Deniz, “Antioksidan analiz yöntemleri ve doğu karadeniz bölgesinde antioksidan kaynağı olarak kullanılabilecek odun dışı bazı bitkisel ürünler,” *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty*, c. 13, no. 1, ss. 48–59, 2013.
- [53] I. Mironczuk-Chodakowska, A. M. Witkowska M. E. Zujko, “Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body,” *Advances in medical sciences*, c. 63, no. 1, ss. 68–78, 2018.
- [54] N. Güleşçi İ. Aygöl, “Beslenmede yer alan antioksidan ve fenolik madde içerikli çerezler,” *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, c. 5, no. 1, ss. 109–129, 2016.
- [55] K. B. Pandey S. I. Rizvi, “Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease,” *Oxidative medicine and cellular longevity*, c. 2, no. 5, ss. 270–278, 2009.
- [56] N. Yahfoufi, N. Alsadi, M. Jambi C. Matar, “The immunomodulatory and anti-inflammatory role of polyphenols,” *Nutrients*, c. 10, no. 11, s. 1618, 2018.
- [57] L. Z. Ellis ve diğ., “Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate suppresses melanoma growth by inhibiting inflammasome and IL-1 β secretion,” *Biochemical and biophysical research communications*, c. 414, no. 3, ss. 551–556, 2011.
- [58] d. E. Rijke, P. Out, W. M. Niessen, F. Ariese, C. Gooijer U. A. Brinkman, “Analytical separation and detection methods for flavonoids,” *Journal of Chromatography A*, c. 1112, no. 1, ss. 31–63, 2006, Plant Analysis, issn: 0021-9673. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.01.019>.

- [59] G. Marcelino ve diğ., “ β -Carotene: Preventive role for type 2 diabetes mellitus and obesity: A review,” *Molecules*, c. 25, no. 24, s. 5803, 2020.
- [60] C. İriş M. Çınar, “Antioksidan vitaminler ve ağır metal toksisitesi üzerine etkileri,” *Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni*, c. 10, no. 3, ss. 135–151, 2019.
- [61] A. A. O. Xavier A. Pérez-Gálvez, “Carotenoids as a Source of Antioxidants in the Diet,” *Carotenoids in Nature: Biosynthesis, Regulation and Function*, ss. 359–375, 2016.
- [62] A. C. Caritá, B. Fonseca-Santos, J. D. Shultz, B. Michniak-Kohn, M. Chorilli G. R. Leonardi, “Vitamin C: One compound, several uses. Advances for delivery, efficiency and stability,” *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, c. 24, s. 102 117, 2020.
- [63] A. C. Carr S. Maggini, “Vitamin C and immune function,” *Nutrients*, c. 9, no. 11, s. 1211, 2017.
- [64] A. Parker, S. L. Cuddihy, T. G. Son, M. C. Vissers C. C. Winterbourn, “Roles of superoxide and myeloperoxidase in ascorbate oxidation in stimulated neutrophils and H₂O₂-treated HL60 cells,” *Free Radical Biology and Medicine*, c. 51, no. 7, ss. 1399–1405, 2011.
- [65] C. S. Yang, P. Luo, Z. Zeng, H. Wang, M. Malafa N. Suh, “Vitamin E and cancer prevention: Studies with different forms of tocopherols and tocotrienols,” *Molecular carcinogenesis*, c. 59, no. 4, ss. 365–389, 2020.
- [66] Y. Z. H. Y. Hashim, P. G. Kerr, P. Abbas H. M. Salleh, “Aquilaria spp. (agarwood) as source of health beneficial compounds: A review of traditional use, phytochemistry and pharmacology,” *Journal of Ethnopharmacology*, c. 189, ss. 331–360, 2016.
- [67] X. Y. Chen ve diğ., “Cytotoxicities of cucurbitacins from the stem bark of *Aquilaria sinensis*,” *Phytochemistry Letters*, c. 60, ss. 190–193, 2024.
- [68] S. Wang, Z. Yu, C. Wang, C. Wu, P. Guo J. Wei, “Chemical constituents and pharmacological activity of agarwood and *Aquilaria* plants,” *Molecules*, c. 23, no. 2, s. 342, 2018.
- [69] C. Lammi A. Arnoldi, “Food-derived antioxidants and COVID-19,” *Journal of Food Biochemistry*, c. 45, no. 1, e13557, 2021.
- [70] J. Alam, M. Mujahid, Y. Jahan, P. Bagga, M. A. Rahman ve diğ., “Hepatoprotective potential of ethanolic extract of *Aquilaria agallocha* leaves against paracetamol induced hepatotoxicity in SD rats,” *Journal of traditional and complementary medicine*, c. 7, no. 1, ss. 9–13, 2017.
- [71] D. K. Yadav ve diğ., “Molecular docking and ADME studies of natural compounds of Agarwood oil for topical anti-inflammatory activity,” *Current computer-aided drug design*, c. 9, no. 3, ss. 360–370, 2013.
- [72] E. Novriyanti, E. Santosa, W. Syafii, M. Turjaman I. R. Sitepu, “Anti fungal activity of wood extract of *Aquilaria crassna* Pierre ex Lecomte against agarwood-inducing fungi, *Fusarium solani*,” *Indonesian Journal of Forestry Research*, c. 7, no. 2, ss. 155–165, 2010.

- [73] M. Sikander ve diğ., “Role of nutraceuticals in COVID-19 mediated liver dysfunction,” *Molecules*, c. 25, no. 24, s. 5905, 2020.
- [74] S. Kamonwannasit, N. Nantapong, P. Kumkrai, P. Luecha, S. Kupittayanant N. Chudapongse, “Antibacterial activity of *Aquilaria crassna* leaf extract against *Staphylococcus epidermidis* by disruption of cell wall,” *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, c. 12, ss. 1–7, 2013.
- [75] X. Chen ve diğ., “Chemical composition and potential properties in mental illness (anxiety, depression and insomnia) of agarwood essential oil: a review,” *Molecules*, c. 27, no. 14, s. 4528, 2022.
- [76] S. Özbalta-Öztürk, “Sıçan modelinde rinosinüzit tedavisinde agarwood maddesinin etkinliği,” dok. tezi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2022.
- [77] S. L. Badshah, S. Faisal, A. Muhammad, B. G. Poulson, A. H. Emwas M. Jaremko, “Antiviral activities of flavonoids,” *Biomedicine & pharmacotherapy*, c. 140, s. 111 596, 2021.
- [78] F. Vallejo, J. Marin F. A. Tomás-Barberán, “Phenolic compound content of fresh and dried figs (*Ficus carica* L.),” *Food Chemistry*, c. 130, no. 3, ss. 485–492, 2012.
- [79] M. C. Dias, D. C. Pinto A. M. Silva, “Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity,” *Molecules*, c. 26, no. 17, s. 5377, 2021.
- [80] M. A. Alam, N. Subhan, M. M. Rahman, S. J. Uddin, H. M. Reza S. D. Sarker, “Effect of citrus flavonoids, naringin and naringenin, on metabolic syndrome and their mechanisms of action,” *Advances in Nutrition*, c. 5, no. 4, ss. 404–417, 2014.
- [81] J. Zhishen, T. Mengcheng W. Jianming, “The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals,” *Food chemistry*, c. 64, no. 4, ss. 555–559, 1999.
- [82] K. Slinkard V. L. Singleton, “Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods,” *American journal of enology and viticulture*, c. 28, no. 1, ss. 49–55, 1977.
- [83] P. Torres, S. Osaki, E. Silveira, D. Y. dos Santos F. Chow, “Comprehensive evaluation of Folin-Ciocalteu assay for total phenolic quantification in algae (*Chlorophyta*, *Phaeophyceae*, and *Rhodophyta*),” *Algal Research*, s. 103 503, 2024.
- [84] F. Raposo, R. Borja J. A. Gutiérrez-González, “A comprehensive and critical review of the unstandardized Folin-Ciocalteu assay to determine the total content of polyphenols: The conundrum of the experimental factors and method validation,” *Talanta*, s. 125 771, 2024.
- [85] R. Mattioli, A. Francioso, L. Mosca P. Silva, “Anthocyanins: A comprehensive review of their chemical properties and health effects on cardiovascular and neurodegenerative diseases,” *Molecules*, c. 25, no. 17, s. 3809, 2020.

- [86] M. Padmavati, N. Sakthivel, K. Thara A. R. Reddy, "Differential sensitivity of rice pathogens to growth inhibition by flavonoids," *Phytochemistry*, c. 46, no. 3, ss. 499–502, 1997.
- [87] R. C. Geck A. Toker, "Nonessential amino acid metabolism in breast cancer," *Advances in biological regulation*, c. 62, ss. 11–17, 2016.
- [88] M. Chalecka, A. Kazberuk, J. Palka A. Surazynski, "P5C as an interface of proline interconvertible amino acids and its role in regulation of cell survival and apoptosis," *International journal of molecular sciences*, c. 22, no. 21, s. 11 763, 2021.
- [89] W. Ying ve diğ., "The correlation between proline/P5C cycle and the response to avirulent pathogen infection in Arabidopsis," *Current Plant Biology*, c. 35, s. 100 293, 2023.
- [90] M. Naliwajski M. Skłodowska, "The relationship between the antioxidant system and proline metabolism in the leaves of cucumber plants acclimated to salt stress," *Cells*, c. 10, no. 3, s. 609, 2021.
- [91] L. S. Bates, R. Waldren I. Teare, "Rapid determination of free proline for water-stress studies," *Plant and soil*, c. 39, ss. 205–207, 1973.
- [92] R. Bruni ve diğ., "Tocopherols, fatty acids and sterols in seeds of four Sardinian wild Euphorbia species," *Fitoterapia*, c. 75, no. 1, ss. 50–61, 2004.
- [93] M. Oyaizu, "Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine," *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, c. 44, no. 6, ss. 307–315, 1986.
- [94] E. Bursal E. Köksal, "Evaluation of reducing power and radical scavenging activities of water and ethanol extracts from sumac (*Rhus coriaria* L.)," *Food Research International*, c. 44, no. 7, ss. 2217–2221, 2011.
- [95] E. A. Decker B. Welch, "Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food," *Journal of Agricultural and food Chemistry*, c. 38, no. 3, ss. 674–677, 1990.
- [96] W. Brand-Williams, M.-E. Cuvelier C. Berset, "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity," *LWT-Food science and Technology*, c. 28, no. 1, ss. 25–30, 1995.
- [97] H. Yaşa, "Türkiye Çanakkale'den hünnap meyvesinin (*Zizyphus jujuba*.) sulu ekstrelerinin toplam fenolik miktarı ve antioksidan aktivitesi," *Journal of the Institute of Science and Technology*, c. 9, no. 1, ss. 158–165, 2019.
- [98] *Determination of the activity of an antioxidant by the DPPH° assay.* erişim adresi: <https://chimactiv.agroparistech.fr/en/aliments/antioxydant-dpph/principe> (erişim tarihi 03/07/2024).
- [99] P. Ionita, "The chemistry of DPPH· free radical and congeners," *International journal of molecular sciences*, c. 22, no. 4, s. 1545, 2021.

- [100] M. B. Arnao, A. Cano, J. F. Alcolea M. Acosta, "Estimation of free radical-quenching activity of leaf pigment extracts," *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, c. 12, no. 2, ss. 138–143, 2001.
- [101] D. Özyurt, "Florometrik Bir Antioksidan Tayin Yöntemi Geliştirilmesi ve Uygulamaları," dok. tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2014.
- [102] V. Fogliano, V. Verde, G. Randazzo A. Ritieni, "Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines," *Journal of agricultural and food chemistry*, c. 47, no. 3, ss. 1035–1040, 1999.
- [103] E. J. Jeyaraj, Y. Y. Lim W. S. Choo, "Antioxidant, cytotoxic, and antibacterial activities of Clitoria ternatea flower extracts and anthocyanin-rich fraction," *Scientific reports*, c. 12, no. 1, s. 14 890, 2022.
- [104] K. B. Rejeb, C. Abdelly A. Savouré, "How reactive oxygen species and proline face stress together," *Plant Physiology and Biochemistry*, c. 80, ss. 278–284, 2014.
- [105] S. Öğüt, "Doğal Antioksidanların Önemi," *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, c. 11, no. 1, ss. 25–30, 2014.
- [106] W. Han X. Li, "Antioxidant activity of aloeswood tea in vitro," *Spatula DD*, c. 2, no. 1, ss. 43–50, 2012.
- [107] P. Y. Tay, C. P. Tan, F. Abas, H. S. Yim C. W. Ho, "Assessment of extraction parameters on antioxidant capacity, polyphenol content, epigallocatechin gallate (EGCG), epicatechin gallate (ECG) and iriflophenone 3-C- β -glucoside of agarwood (*Aquilaria crassna*) young leaves," *Molecules*, c. 19, no. 8, ss. 12 304–12 319, 2014.
- [108] K. Jomová ve diğ., "A switch between antioxidant and prooxidant properties of the phenolic compounds myricetin, morin, 3, 4-dihydroxyflavone, taxifolin and 4-hydroxy-coumarin in the presence of copper (II) ions: A spectroscopic, absorption titration and DNA damage study," *Molecules*, c. 24, no. 23, s. 4335, 2019.
- [109] H. Bahrani, "Isolation and characterization of acetylcholinesterase inhibitors from *Aquilaria* species for treatment of Alzheimer Disease (AD)," yük. lis. tezi, University of Malaysia, 2013.
- [110] I. Gülçin, Ö. İ. Küfrevioğlu, M. Oktay M. E. Büyükokuroğlu, "Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.)," *Journal of ethnopharmacology*, c. 90, no. 2-3, ss. 205–215, 2004.
- [111] S. Moosa ve diğ., *Phyto chemical and antioxidant screening of extracts of Aquilaria malaccensis leaves*, 2010.
- [112] S. Ahmed S. Islam, "Aquilaria Crassna (Agarwood): Study of pharmacological activity and medical benefits," *J. Pharm. Res*, c. 4, no. 2, ss. 1–6, 2020.
- [113] H. Rahman, K. Vakati M. C. Eswaraiah, "In-vivo and in-vitro anti-inflammatory activity of *Aquilaria agallocha* oil," *International Journal of Basic Medical Sciences and Pharmacy (IJBMS)*, c. 2, no. 1, 2012.

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Konferans Bildirisi

1. Okur B., Peksel A., "Udi Hindi Kökü Ekstraktlarının Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi", 19. Uluslararası Bilimsel Araştırmalar Kongresi (UBAK), Fen ve Mühendislik Bilimleri, s. 37, Ankara, TÜRKİYE, 16-17 Mart 2024.

