

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TÜRKİYE’DE TIBBİ AMAÇLI
KULLANILAN BAZI BİTKİLERİN
ANTİOKSİDAN ETKİLERİNİN TARANMASI**

GÜLSÜM GENÇASLAN

**FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Tülay ÇOBAN**

2007 - ANKARA

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TÜRKİYE’DE TIBBİ AMAÇLI
KULLANILAN BAZI BİTKİLERİN
ANTIOKSİDAN ETKİLERİNİN TARANMASI**

GÜLSÜM GENÇASLAN

**FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Tülay ÇOBAN

**Bu tez, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü tarafından
2005-08-03-001 HPD proje numarası ile desteklenmiştir.**

2007 - ANKARA

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmasötik Toksikoloji Tezli Yüksek Lisans Programı

çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 04/10/2007



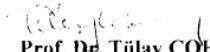
Prof. Dr. Mümtaz İŞCAN
Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Jüri Başkanı



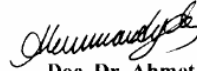
Prof. Dr. Benay CAN EKE
Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi



Prof. Dr. Yalçın DUYDU
Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi



Prof. Dr. Tülay ÇOBAN
Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi



Doç. Dr. Ahmet AYDIN
Gülhane Askeri Tıp Akademisi
Eczacılık Meslek Bilimleri Merkezi

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	v
Simgeler ve Kısaltmalar	vi
Şekiller	vii
Tablolar	viii
1. GİRİŞ	1
1.1. Oksidatif Stres, Lipid Peroksidasyon ve Antioksidan Aktivite	1
1.1.1. Oksidanlar ve Antioksidanlar	7
1.1.2. Reaktif Oksijen Türleri	10
1.1.2.1 Süperoksit ($O_2^{\bullet-}$) Anyon Radikali	13
1.1.2.2 Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	15
1.1.2.3 Hidroksil radikali ($\bullet OH$)	16
1.1.2.4 Singlet oksijen	18
1.1.2.5 Nitrik Oksit (NO)	18
1.1.3. Reaktif Oksijen Türlerinin Fizyolojik Fonksiyonları	21
1.1.3.1 Enfeksiyonlara Karşı Savunma	21
1.1.3.2 Transkripsiyon faktörü aktivitesinin redoks regülasyonu	22
1.1.4. Reaktif Oksijen Türlerinin Yarattığı Oksidatif Hasarlar	22
1.1.4.1 DNA	23
1.1.4.2 Lipidler	24
1.1.4.3 Proteinler	24
1.1.5. Hücresel Antioksidan Sistemler	25
1.1.5.1 Süperoksit dismutazlar (SOD)	25
1.1.5.2 Süperoksit redüktazlar (SOR)	26
1.1.5.3 Katalazlar	27
1.1.5.4 Peroksiredoksinler (Prx)	28
1.1.5.5 Glutatyon peroksidazlar (GPx)	28
1.1.5.6 Glutatyonla ilgili diğer sistemler	29
1.1.5.7 Düşük moleküler ağırlıklı antioksidan bileşikler	30
1.1.6. Çalışmanın Kapsamı	33

2. GEREÇ VE YÖNTEM	40
2.1. Gereç	40
2.1.1. Kullanılan Maddeler	40
2.1.2. Kullanılan Aletler ve Malzemeler	41
2.1.3. Bitki Numunelerinin Temini, Hazırlanması ve Saklanması	41
2.2. Yöntem	43
2.2.1. DPPH Radikalini Süpürücü Aktivite Tayini	43
2.2.2. Süperoksit Radikalini Süpürücü Aktivite Tayini	45
2.2.3. Lipid Peroksidasyonu Üzerine İnhibitör Etki Tayini	46
3. BULGULAR	48
3.1. DPPH Radikalini Süpürücü Aktivite Tayini Bulguları	48
3.2. Süperoksit Radikalini Süpürücü Aktivite Tayini Bulguları	51
3.3. Lipid Peroksidasyonu Üzerine İnhibitör Etki Tayini Bulguları	54
3.4. Uygulanan Yöntemlere Göre Araştırılan Bitkilerin Aktivitelerine Göre Sıralamaları	57
3.5. İstatistiksel analiz	58
4. TARTIŞMA	59
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	72
ÖZET	75
SUMMARY	77
KAYNAKLAR	79
ÖZGEÇMİŞ	92

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tez çalışmalarım süresince ilgi ve desteklerini eksik etmeyen, önerileriyle beni yönlendiren danışman hocam, Sayın Prof. Dr. Tülay ÇOBAN (Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji ABD)'a, tez dönemim boyunca her zaman yanımda olan aileme ve arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin laboratuvar çalışmalarını yapabilmem için araştırma laboratuvarının tüm olanaklarını kullanmama izin verdikleri için Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Bu araştırmanın yapılması için gerekli bitki numunelerini sağlayan Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi ABD Öğretim Elemanı Sayın Dr. Ecz. Alev TOSUN'a teşekkür ederim.

Yüksek lisans öğrenim dönemim boyunca bana Yüksek Lisans Bursiyerliği hakkını vererek destekleyen TÜBİTAK Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı (BİDEB)'na teşekkür ederim.

Bu çalışma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü tarafından 2005-08-03-001 HPD proje numarası ile desteklenmiştir.

SİMGELER VE KISALTMALAR

A	Absorbans
α -TOH	α -tokoferol
BHA	Butil hidroksi anisol
BHT	Butil hidroksi toluen
DNA	Deoksiribonükleik asit
DHLA	Dihidrolipoik asit
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
GPx	Glutasyon peroksidaz
GR	Glutasyon Redüktaz
Grx	Glutaredoksin
GSH	Glutasyon
GSNO	S-nitrozoglutasyon adductu
GSSG	Glutasyon disülfid
LA	Lipoik asit
LDL	Low Density Lipoprotein (Düşük Yoğunluklu Lipoprotein)
LP	Lipid Peroksidasyon
MDA	Malondialdehid
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid
NO	Nitrik oksit
NOS	NO sentetaz
Prx	Peroksiredoksin
ROT	Reaktif Oksijen Türü
RNT	Reaktif Nitrojen Türü
RSA	Radikal Süpürücü Aktivite
SOD	Süperoksit dismutaz
SOR	Süperoksit redüktaz
TBA	Tiyobarbitürik asit
TBARS	TiyobarbitürikAsit Reactant Substance
Trx	Tiyoredoksin
TrxR	Tiyoredoksin Redüktaz
VLDL	Very Low Density Lipoproteins (Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein)
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Hücrelerdeki oksidatif ve antioksidatif sistemlerin basitleştirilmiş nonstokiyometrik şeması

TABLÖLAR

Tablo 1.1. Bazı reaktif türler

Tablo 1.2. Başlıca ROT molekülleri ve metabolizmaları

Tablo 2.1. Çalışmada kullanılan bitkiler

Tablo 3.1. Metanollü bitki ekstralarının DPPH Radikalini süpürücü etkileri

Tablo 3.2. Etilasetatlı bitki ekstralarının DPPH Radikalini süpürücü etkileri

Tablo 3.3 Metanollü bitki ekstralarının Süperoksit Radikalini süpürücü etkileri

Tablo 3.4. Etilasetatlı bitki ekstralarının Süperoksit Radikalini süpürücü etkileri

Tablo 3.5. Metanollü bitki ekstralarının lipid peroksidasyonu üzerine inhibitör etkileri

Tablo 3.6. Etilasetatlı bitki ekstralarının lipid peroksidasyonu üzerine inhibitör etkileri

Tablo 3.7. Metanollü bitki ekstraları içinde en yüksek aktiviteyi gösteren beş bitki sıralaması

Tablo 3.8. Etilasetatlı bitki ekstraları içinde en yüksek aktiviteyi gösteren beş bitki sıralaması

1. GİRİŞ

1.1. Oksidatif Stres, Lipid Peroksidasyon ve Antioksidan Aktivite

Son yıllarda “oksidatif stres” ve oksidatif stresin insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri üzerine yapılan çalışmalar ilgi odağı haline gelmiştir (Tripathi ve ark., 2007). Organizmaların ekzojen ve endojen faktörlere maruziyetleri sonucunda birçok reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluştuğu ve bu reaktif oksijen türlerinin homeostatik dengeyi bozduğu açıkça ortaya konulmuştur (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Bonnefont ve ark., 2000). Hücre membranında bulunan çoklu doymamış yağ asitleri böyle ROT'lara duyarlı kritik bileşenlerdir (Halliwell ve Gutteridge, 1999). ROT'lar, hücre içindeki yapısal değişimleri ve fonksiyonel düzeni bozarlar ve bu da hastalıklara yol açan bir takım ciddi anomaliler ile birlikte direkt olarak sitotoksositeye ve/veya indirekt olarak genotoksositeye neden olmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

Bitkisel kaynaklı antioksidan maddeler etkileri yönünden çok yönlü olarak araştırılmaktadır ve uygun bir diyet ile düzenli olarak alınmaları vasıtasıyla eksiklikleri büyük oranda düzeltmektedirler (Tripathi ve ark., 2007). Bitkisel antioksidanların alımını artırarak dışarıdan müdahalenin serbest radikallerin tehlikesini azaltabileceği düşünülmektedir (Ng ve ark., 2000; Tripathi ve ark., 2007). Bitkiler insan sağlığının sürdürülmesinde ve insan yaşamının kalitesinin artırılmasında önemli bir rol oynamaktadırlar. Baharatlar ve içecekler gibi değerli gıda maddeleri olmaları yanında kozmetiklerde, boyalarda ve ilaçlarda da kullanılmaktadırlar. Dünya Sağlık

Örgütü (WHO) dünyada yaşayan insanların <%80 kadarının primer sağlık ihtiyaçları için geleneksel ilaçları kullandıklarını ve bu tedavilerin çoğunun bitki ekstrelerini ve etkin maddelerini kullanarak ortaya çıktığını tahmin etmektedir (Winston, 1999).

Lipid peroksidasyon gıda endüstrisi ve tüketiciler için büyük önem taşımaktadır. Çünkü istenmeyen ve potansiyel olan toksik reaksiyon ürünlerinin oluşmasına yol açmaktadır (Maillard ve ark., 1996). Lipid peroksidasyonu yavaşlatmak için butil hidroksi anisol, butil hidroksi toluen, *t*-butil hidroksi kinon ve propil gallat gibi birçok sentetik antioksidan kullanılmaktadır (Wanita ve Lorenz, 1996). Ancak, bu tür bileşiklerin neden olduğu sağlığa olası tehlikeleri nedeniyle sentetik antioksidanların kullanımı kısıtlıdır (Park ve ark., 2001). Bitkilerin yararlı rolleri ve çeşitli hastalıkların oluşumunda oksidatif stresin rolünün anlaşılması, bazı bitkisel ürünlerin antioksidan potansiyellerinin araştırılması için girişimleri teşvik etmektedir (Tripathi ve ark., 2007).

Lipid peroksidasyon aerobik hücrelerde meydana gelen kompleks bir prosestir ve moleküler oksijen ile çoklu doymamış yağ asitleri arasındaki ilişkiyi yansıtmaktadır (Tepe ve ark., 2006a). Organizmaların yaşlanmasına, kanserin ilerlemesine yol açan radikallerin lipid peroksidasyonunda yer aldıkları bilinmektedir (Ashok ve Ali, 1999). Reaktif oksijen türlerinin ayrıca astım, inflamasyon, artrit, nörodejenerasyon, Parkinson hastalığı, mongolizm ve muhtemelen demansta bile rol oynadıkları rapor edilmiştir (Tepe ve ark., 2006a). Antioksidanlar radikal süpürücüler olarak görev alırlar ve lipid peroksidasyonu ve diğer serbest radikal aracılı reaksiyonları inhibe ederler. Bu nedenle, insan vücudunu, radikallerin neden olduğu çeşitli hastalıklardan

koruyabilmektedirler (Tepe ve ark., 2006a). Serbest radikallerin neden olduğu hasarı önlemek amacıyla sentetik antioksidanların kullanımının toksik yan etkileri olduğu rapor edilmiştir (Cornwell ve ark., 1998). Bu da antioksidan ve radikal süpürücü etkileri olan doğal bileşiklerin araştırılmasını çekici kılmaktadır.

Sağlıklı bireylerde aktif radikallerin süpürülmesi için doğal antioksidan savunma mekanizmaları yeterlidir, ancak bu antioksidanların konsantrasyonu yaş ilerledikçe düşmektedir, sonuç olarak yaşla birlikte oksidasyon ürünlerinin miktarı artmaktadır (Akowuah ve ark., 2004). Bunlar yaşlanma, kanser, demans, inflamasyon ve ateroskleroz gibi çeşitli hastalıklarda rol almaktadır (Akowuah ve ark., 2004).

Yüksek düzeydeki serbest radikaller veya aktif oksijen türleri oksidatif stres üretirler. Oksidatif stres birtakım kimyasal ve fizyolojik lezyonlara yol açmakta ve bazen metabolik bozukluk ve hücre ölümüyle sonuçlanmaktadır (Ames, 1998). Epidemiyolojik bulgular, antioksidan fitokimyasalları (özellikle flavonoidler ve diğer polifenoller) içeren gıda maddelerinin tüketiminin insan sağlığı için yararlı olduğunu göstermektedir (Cao ve ark., 1996). Çünkü bunlar insan vücudunu serbest radikallerden koruyabilmekte ve birçok kronik hastalığın ilerleyişini yavaşlatabilmektedirler (Ordoñez ve ark., 2006). Ayrıca antimutajenite, antikarsinojenite ve anti-aging gibi çok sayıda biyolojik fonksiyona sahiptirler (Yen ve Chen, 1995). 2-3-ter-butil-4-metoksifenol (örn; BHA), 2,6-di-ter-butil-4-metilfenol (örn, BHT) ve ter-butil hidrokinon (TBHQ) gibi çok sayıda sentetik antioksidan gıda maddelerine ilave edilmiştir, fakat toksisitelerinden dolayı kullanımları sorgulanmaktadır (Valentaõ ve ark., 2002). Bu nedenle, bitki türlerinden, özellikle yenilebilir

bitkilerden elde edilen doğal antioksidanların izolasyonu ve araştırılması yapılmaktadır.

Reaktif oksijen türleri, normal fizyolojik olaylarda sürekli olarak üretilirler ve kolaylıkla membran lipidlerinin peroksidasyonunu başlatabilirler ve lipid peroksitlerinin birikimine neden olurlar. Ancak, antioksidan savunma mekanizmaları ile atılabilirler. Organizma içinde reaktif oksijen türlerinin oluşumu ile antioksidan sistem tarafından reaktif oksijen türlerinin inaktivasyonu arasında bir denge vardır. Patolojik durumlarda, ROT'lar daha fazla miktarda üretilir ve oksidatif strese neden olurlar. ROT'lar, endojen antioksidan savunma yetersiz kaldığında oluşur. ROT'lar ve antioksidan savunma arasındaki dengesizlik, hücre membranında ya da intrasellüler moleküllerde oksidatif modifikasyona yol açar (Büyükokuroğlu ve ark., 2001).

Reaktif oksijen türlerinin etkilerini en aza indirmek için birçok antioksidan tanımlanmıştır. Örneğin, fenolik bileşikler serbest radikalleri doğrudan yakalarlar veya antioksidan enzimlerle gerçekleşen bir dizi reaksiyon aracılığıyla süpürürler (Gülçin, 2006).

Birçok hastalıkta serbest radikallerin rolü açık bir şekilde ortaya konulmuştur (Kumaran ve Karunakaran, 2006). Vücudumuzdaki reaktif oksijen türleri bazı biyokimyasal reaksiyonlar ile üretilirler ve bunlar hayati biyomoleküllerin hasarından sorumludurlar. Eğer hücrenel bileşenler tarafından etkili bir şekilde süpürülmezlerse, hastalıklara yol açarlar (Halliwell ve Gutterige, 1999). Ancak, serbest radikallerin zararlı etkileri

serbest radikalleri süpüren ve organizmayı detoksifiye eden antioksidan maddeler tarafından bloke edilebilir (Kumaran ve Karunakaran, 2006). Serbest radikallerle ilgili mevcut araştırmalar, antioksidanlar yönünden zengin yiyeceklerin kardiyovasküler hastalıkların, kanserlerin, Parkinson ve Alzheimer dahil nörodejeneratif hastalıkların ve ayrıca inflamasyonun, hücre ve deri yaşlanmasının neden olduğu problemlerin önlenmesinde önemli rol oynadıklarını açıkça göstermektedir (Gerber ve ark., 2002). Son yıllarda, büyük ilgi toplayan alanlardan biri, oksidatif hasarın gösterildiği dejeneratif hastalıkların kontrolünde antioksidanların rolüdür. Bazı bitki ekstralarının ve değişik fitokimyasal sınıflarının antioksidan aktiviteye sahip oldukları gösterilmiştir (Bergman ve ark., 2001; Rice-Evans, 2001; Amarowicz ve ark., 2004; Su ve Silva, 2006; Wei ve ark., 2006). Özellikle bitkilerden elde edilen yeni doğal antioksidan araştırmaları giderek artmıştır (Kumaran ve Karunakaran, 2006). Süperoksit radikalleri, hidroksil radikalleri, singlet oksijen ve hidrojen peroksiti içeren reaktif oksijen türleri genellikle biyolojik reaksiyonların ürünleridir veya ekzojen faktörler tarafından oluşmaktadır (Cerutti, 1994). İn vivo olarak bu reaktif oksijen türlerinin bazılarının enerji üretimi, fagositoz ve hücre büyümesinin düzenlenmesi ve hücreler arası haberleşme veya biyolojik olarak önemli bileşiklerin sentezi gibi rolleri vardır (Halliwell, 1997; Rathee ve ark., 2006). Ancak, lipidlerin ve DNA'nın oksidasyonunu indükleyebildikleri, membran hasarına neden oldukları, membran akışkanlığını azalttıkları ve DNA mutasyonu ile kansere yol açtıkları için ROT'lar çok zararlı olabilmektedirler (Pietta, 2000; Rathee ve ark., 2006).

Yapılan çalışmalar polifenolik maddeleri (örn. flavonoidler ve tanninler) içeren bazı bitkilerin ve değişik bitki ekstralarının antioksidan aktiviteler

gösterdiğini ortaya çıkarmıştır (Kahkonen ve ark., 1999). Bazı gıda maddelerinin radikal süpürücü etkileri dolayısıyla antioksidan aktivitelerinin olduğu bilinmektedir (Rathee ve ark., 2006). Gıda kaynakları arasında, baharatlar ve tatlandırıcılar geleneksel yemeklere tat, renk ve kokularını artırmak amacıyla katıldıklarında yüksek etki potansiyeline sahiptirler (Rathee ve ark., 2006).

Bilindiği gibi, pek çok polifenolik ve flavonoid bileşikler metal şelasyonu ve serbest radikal süpürücü özellikleri ile antioksidan etki gösterirler (Bors ve Mitchel, 1999). Bu etkiler, ROT'lar ve aerobik metabolizma tarafından üretilen diğer serbest radikallerin inaktivasyonu yolu ile ortaya çıkmaktadır (Wu ve ark., 2006).

Hastalık durumlarında, immun sistem daha fazla miktarda süperoksit üreterek süperoksit dismutaz (SOD) enzimlerinin süperoksit serbest radikallerini ortadan kaldırma yeteneğini yok eder, böylece hücre ve dokularda serbest radikallerle indüklenen hasarlar meydana getirir. Serbest radikal hasarı artan sayıda hastalık ve romatoid artrit, Parkinson hastalığı gibi nörodejeneratif bozukluklar, pek çok sayıda kanser türü, diabetes mellitus, inme, kalp krizleri, ağrı ve inflamasyon gibi durumlarla ilişkilidir (Halliwell ve Gutteridge, 1999). Serbest radikaller DNA ve enzimler gibi bazı biyomoleküllere saldırır ve zarar veren kimyasal olarak reaktif türlerdir.

Antioksidanlar ve antioksidan enzimler organizmada serbest radikal ataklarına karşı majör koruyucu sistemler olarak görev alırlar (Buettner ve Jurkiewicz, 1996).

Serbest radikal süpürücüleri ve antioksidanlar lipid peroksidasyonunu ve reaktif oksijen türlerinin oluşumunu azaltabilirler (Boveris ve Puntarulo, 1998). Meyve ve sebzelerin kanser, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklar dâhil hastalıklara karşı koruyucu etkileri içermeleri çeşitli antioksidanlarla ilişkilidir (Wang ve ark., 1996; Boveris ve Puntarulo, 1998). Bu nedenle, dengeli bir diyetin yanında doğal antioksidanların alınmasının vücudu değişik koşullar altında oksidatif hasara karşı koruduğu düşünülmüştür (Boveris ve Puntarulo, 1998).

1.1.1. Oksidanlar ve Antioksidanlar

Reaktif oksijen türleri intrasellüler iletişim basamaklarının araçları olarak bilinmektedirler. Ancak, bunların aşırı miktarda üretilmesi oksidatif strese, hücre fonksiyonunun kaybına ve sonunda apoptozis veya nekroza yol açar. Hücredeki oksidan ve antioksidan sistemler arasındaki denge bu nedenle hücrenin fonksiyonu, regülasyonu ve büyüme şartlarına adaptasyonu için çok önemlidir (Nordberg ve Arnér, 2001).

ROT'lar tüm aerobik organizmalar tarafından oluşturulup parçalanarak ya normal hücre fonksiyonları için gerekli olan fizyolojik konsantrasyonları oluştururlar ya da fazla miktarlarda oluşarak *oksidatif stres* adı verilen bir durum ortaya çıkarırlar. Reaktif oksijen türleri teriminin ifade ettiği gibi, bu oksijen ara ürünlerinin intrasellüler üretimi proteinler, lipidler ve ayrıca ateroskleroziste yer alan lipoproteinler, DNA gibi birçok biyomolekülün bütünlüğünü tehlikeye düşürmektedir (Nordberg ve Arnér, 2001). Oksidatif stresin ayrıca yaşlanma prosesinde de hem mitokondriyal

DNA'yı hasara uğratarak hem de diğer mekanizmalar vasıtasıyla yer aldığı düşünülmektedir (Finkel ve Holbrook, 2000).

ROT terimi, okside edici etkileri olan hem oksijen türlerini hem bazı nonradikal bileşikleri içeren geniş bir terimdir. Tüm oksijen radikalleri ROT'tur, ancak tüm ROT'lar oksijen radikali değildir (Halliwell, 2006).

Tablo 1.1. Bazı reaktif türler (Halliwell, 2006)

Serbest radikaller	Nonradikaller
ROT	ROT
Süperoksit, $O_2^{\cdot-}$	H_2O_2
Hidroksil, OH^{\cdot}	Hipobromoz asit, $HOBr^a$
Hidroperoksil, HO_2^{\cdot} (Protonlanmış süperoksit)	Hipokloroz asit, $HOCl^b$
Karbonat, $CO_3^{\cdot-}$	
Peroksil, RO_2^{\cdot}	Ozon, O_3^c
Alkoksil, RO^{\cdot}	Singlet oksijen, ($O_2^1\Delta g$)
Karbon dioksit radikali, $CO_2^{\cdot-}$	Organik peroksitler, $ROOH$
Singlet $O_2^1\Sigma g^+$	Peroksinitrit, $ONOO^-d$
	Peroksinitrat, O_2NOO^-d
	Peroksinitroz asit, $ONOOH^d$
	Peroksomonokarbonat, $HOOCO_2^-$
Reaktif klorin türleri	Reaktif klorin türleri
Atomik klorin, Cl^{\cdot}	Hipokloroz asit, $HOCl^b$
	Nitril klorür, NO_2Cl^e
	Kloraminler
	Klorin gazı (Cl_2)
	Bromin klorür ($BrCl^a$)
	Klorin dioksit (ClO_2)
Reaktif bromin türleri	Reaktif bromin türleri
Atomik bromin, Br^{\cdot}	Hipobromoz asit ($HOBr$)
	Bromin gazı (Br_2)
	Bromin klorür ($BrCl^a$)

Reaktif nitrojen türleri (RNT)	Reaktif nitrojen türleri (RNT)
Nitrik oksit, NO [•]	Nitroz asit, HNO ₂
Nitrojen dioksit, NO ₂ ^{•c}	Nitrosil katyonu, NO ⁺
Nitrat radikali, NO ₃ ^{•c,f}	Nitroksil anyonu, NO ⁻
	Dinitrojen tetroksit, N ₂ O ₄
	Dinitrojen trioksit, N ₂ O ₃
	Peroksinitrit, ONOO ^{-d}
	Peroksinitrat, O ₂ NOO ^{-d}
	Peroksinitroz asit, ONOOH ^d
	Nitronyum katyonu, NO ₂ ⁺
	Alkil peroksinitritler, ROONO
	Alkil peroksinitratlar, RO ₂ ONO
	Nitril klorür, NO ₂ Cl
	Peroksiasetil nitrat, CH ₃ C(O)OONO ₂ ^c

^a HOBr ve BrCl reaktif bromin türleri olarak da görülürler.
^b HOCl ve HOBr genelde ROT olarak kabul edilirler.
^c Bitki ve hayvanlara toksik etki gösteren ve kirli havada oluşan oksitleyici türler.
^d ONOO⁻, ONOOH ve O₂NOO⁻ genelde ROT olarak kabul edilirler.
^e NO₂Cl reaktif nitrojen türleri olarak da görülürler.
^f Bu türler polenlerde alerjenik nitratlanmış proteinlerin oluşumuna yol açabilirler.

Reaktif oksijen türlerinin yararlı fizyolojik hücresel kullanımı, hücre içi iletişim ve redoks regülasyonu gibi değişik alanlarda gösterilmektedir (Nordberg ve Arnér, 2001). Örneğin, nitrik oksit (NO)'in haberleşme molekülü olduğu 1987'de ispatlanmıştır (Palmer ve ark., 1987; Furchgott, 1995) ve transkripsiyon faktörü işlevlerinin düzenleyicisi ve gen ekspresyonunun belirleyicisi olduğu bilinmektedir (Bogdan, 2001). Hidrojen peroksit ve süperoksit benzer intrasellüler etkilere sahiptir (Finkel, 1998). Bazı sitokinler, büyüme faktörleri, hormonlar ve nörotransmitterler reaktif oksijen türlerini intrasellüler haberleşmede sekonder haberciler olarak kullanırlar (Thannickal ve Fanburg, 2000).

En fazla tanınan ROT molekülleri ve bu moleküllerin yararlı ve zararlı etkileri ve bunların intrasellüler düzeylerini düzenleyen değişik hücre sistemleri aşağıda tanıtılmaktadır.

1.1.2. Reaktif Oksijen Türleri

Serbest radikal, bir veya daha fazla sayıda eşleşmemiş elektron içeren bağımsız olarak var olabilen herhangi bir tür olarak tanımlanmaktadır (Fantel, 1996). Eşleşmemiş elektron, kendi başına atomik veya moleküler orbitali işgal eden bir elektrondur (Fantel, 1996). Radikallere reaktivite ve instabilite özelliklerini veren, eşleşmemiş elektronların varlığıdır (Fantel, 1996). Moleküler oksijen kendi başına serbest bir radikaldir veya daha doğru olarak, iki eşleşmemiş elektron içeren bir biradikaldir. Oksijenin reaktivitesi ayrı orbitallerde bulunan ve paralel spine sahip olan iki eşleşmemiş elektronu dolayısıyla sınırlanmaktadır. Bu, atomları kısıtlamaktadır (Fantel, 1996). Kendisi antiparalel spine sahip iki eşleşmemiş elektronu ile atomlara okside olabilmektedir. Oksijen, başlıca diğer radikallerle reaksiyona girerek bir elektron almaya eğilimlidir. Radikaller genellikle eşleşmemiş elektronu ifade eden bir nokta ile gösterilirler (X^\bullet gibi). O_2 , stabilitesinden dolayı nadiren $O_2^{\bullet\bullet}$ olarak belirtilir.

ROT, oksijenden türemiş kimyasal olarak reaktif birçok molekülü içermektedir (Halliwell, 1999; Nordberg ve Arnér, 2001). Bu moleküllerin bazıları son derece reaktiftir, örneğin, hidroksil radikali; bazıları ise daha az reaktiftir (süperoksit ve hidrojen peroksit gibi). İntrasellüler serbest radikaller, örneğin, bir eşleşmemiş elektronu bulunan serbest, düşük

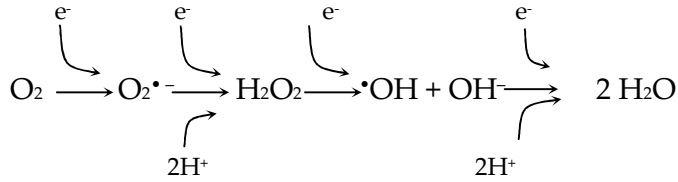
moleküler ağırlıklı moleküller genellikle reaktif oksijen türleridir veya bunun tam tersi de geçerlidir. Bu iki terim bu nedenle genellikle birbirinin eşdeğeri olarak kullanılmaktadır (Nordberg ve Arnér, 2001). Serbest radikaller ve ROT'lar zincir serbest radikal reaksiyonunu başlatarak birçok biyomolekülle kolayca reaksiyona girebilirler. Bu zincir reaksiyonu durdurmak için, yenice oluşmuş bir radikal ya diğer bir serbest radikal ile eşleşmemiş elektronları elimine ederek reaksiyona girmeli ya da bir serbest radikal süpürücü, zincir kırıcı veya primer antioksidan ile reaksiyona girmelidir.

Tablo 1.2'de, reaktif oksijen türlerinin en yaygın intrasellüler formları, hücrel üretim kaynakları ve bu ROT moleküllerini süpüren ilgili enzimatik antioksidan sistemler birlikte verilmektedir:

Tablo 1.2. Başlıca ROT molekülleri ve metabolizmaları (Nordberg ve Arnér, 2001)

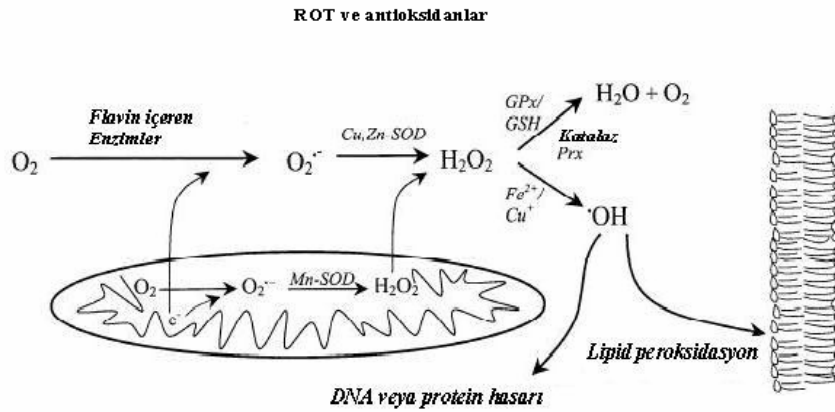
ROT Molekülü	Oluşum kaynakları	Enzimatik savunma sistemleri	Ürün(ler)
Süperoksit ($O_2^{\bullet-}$)	- Elektron iletim zincirinden elektronların 'sızıntı'sı - Aktive edilmiş fagositler - Ksantin oksidaz - Flavoenzimler	Süperoksit dismutaz (SOD) Süperoksit redüktaz (bazı bakterilerde)	$H_2O_2 + O_2$ H_2O_2
Hidrojen peroksit (H_2O_2)	- Süperoksit dismutaz (SOD) yoluyla $O_2^{\bullet-}$ -den - NADPH-oksidad (nötrofiller) - Glukoz oksidaz - Ksantin oksidaz	Glutasyon peroksidad Katalazlar Peroksiredoksinler (Prx)	$H_2O + GSSG$ $H_2O + O_2$ H_2O
Hidroksil radikali ($\bullet OH$)	Geçiş metalleri (Fe veya Cu) yoluyla $O_2^{\bullet-}$ - ve H_2O_2 'den		
Nitrik oksit ($NO\bullet$)	- Nitrik oksit sentetazlar	Glutasyon/TrxR	GSNO

Moleküler oksijenin 1-elektron transferiyle zincir redüksiyonu, Tablo 1.2’de listelenen ROT moleküllerinin üretimi aşağıdaki gibi özetlenebilir:



Reaksiyon 1.

İntrasellüler düzeyde, ROT oluşumu ve metabolizması aşağıda Şekil 1.1’de görüldüğü gibi özetlenebilir:



Şekil 1.1. Hücrelerdeki oksidatif ve antioksidatif sistemlerin basitleştirilmiş nonstokiyometrik şeması (Nordberg ve Arnér, 2001)

Şekil 1.1’de görüldüğü gibi, intrasellüler olarak hem flavin-içeren enzimler vasıtasıyla sitozolde hem de başlıca, solunum zincirinden elektronların sızmasına bağlı olarak mitokondride önemli miktarlarda süperoksit üretilmektedir. İki molekül süperoksit hızlıca, ya kendiliğinden ya

da süperoksit dismutazlar vasıtasıyla dioksijen ve hidrojen perokside dönüşmektedir. Hidrojen peroksit değişik enzim sistemleri tarafından enzimatik yolla dioksijen ve suya metabolize olmaktadır veya geçiş metallere katalizlediği bir kimyasal reaksiyon ile oldukça reaktif olan hidroksil radikaline dönüşmektedir.

Reaktif oksijen türlerinin başlıca formları, oluşum yolları ve hücre üzerindeki etkileri şu şekilde özetlenebilir:

1.1.2.1. Süperoksit ($O_2^{\bullet-}$) Anyon Radikali

Moleküler oksijenin bir elektronunun redüksiyonu ile süperoksit anyon radikali oluşur. Süperoksit anyon radikali nispeten stabil olduğundan eşleşmemiş elektronu ile değil, yükü ile tanımlanmaktadır (O_2^-). Süperoksit, arterlerde (spazmı başlattığı) ve merkezi sinir sisteminde haberci bir molekül olarak düşünülmüştür (Fantel, 1996). Biyolojik sistemlerdeki kararsızlığı ve zayıf membran geçirgenliğinin olması bazı araştırmacıların intrasellüler ulak olarak sınırlı olduğunu düşünmelerine neden olmuştur (Saran ve Bors, 1994).

Süperoksit anyon radikali perokside dönüşebilir. Bu da, proton alarak aşağıdaki şekilde gösterildiği gibi hidrojen peroksit oluşturabilir:



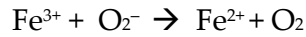
Reaksiyon 2.

Spontan reaksiyon fizyolojik pH'da yavaş gerçekleşir. Ancak SOD tarafından katalizlendiğinde hızlıdır ve nispeten pH'dan bağımsız olarak ilerler (Fantel, 1996). Organizmada en az üç farklı süperoksit dismutaz enzimi vardır. Biri mitokondriyal matriste yer alan manganez formudur (*Mn-SOD*). Ve iki adet bakır ve çinko formu (*Cu, Zn-SOD*) bulunmaktadır. Bunlardan biri sitozolde ve diğeri çeşitli ekstrasellüler sıvılarda yer alır (Fantel, 1996).

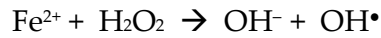
Moleküler oksijene bir elektron bağlanmasıyla oluşan süperoksit anyonu bir serbest radikal olmasına karşın çok fazla reaktif değildir. Lipid membranların geçirgenlik yeteneğini azaltır ve bu nedenle üretildiği kompartmanda çevrili olarak bulunur (Nordberg ve Arnér, 2001). Süperoksit, özellikle solunum zinciri ile birlikte mitokondriyal membranın iç yüzeyinde elektrondan zengin aerobik bir ortamda kendiliğinden oluşmaktadır (Şekil 1.1). Süperoksit ve ayrıca hidrojen peroksit iskemi-reperfüzyonda aktive olan flavoenzimler, örneğin, ksantin oksidaz, tarafından endojen olarak da üretilmektedir. Diğer süperoksit-üretici enzimler lipoksijenaz ve siklooksijenazdır. Fagositik hücrelerde membrana bağlı bir enzim kompleksi olan NADPH'a bağımlı oksidaz yüksek düzeyde $O_2^{\bullet-}$ üretimine neden olur. İki molekül süperoksit hızlıca hidrojen perokside ve moleküler oksijene dönüşür ve bu reaksiyon ayrıca SOD ile hızlandırılır (Nordberg ve Arnér, 2001).

1.1.2.2. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Hidrojen peroksit hücre membranlarından serbestçe geçebilir. Ne bir radikaldir ne de sulu çözeltilerde özellikle kararsızdır. Başlıca tiyol grupları ile reaksiyona giren kısmen zayıf bir oksidandır. Metal katalizli *Haber-Weiss reaksiyonunda*, demir veya bakır gibi geçiş metalleri varlığında, hidrojen peroksit tamamen reaktif hidroksil radikaline (OH•) indirgenebilir. Bu reaksiyonda, süperoksit anyon radikali geçiş metalini kuprik (Cu²⁺) formdan kuproz (Cu⁺) forma veya ferrik (Fe³⁺) formdan ferroz (Fe²⁺) forma aşağıda görüldüğü gibi indirgemektedir:



Reaksiyon 3.

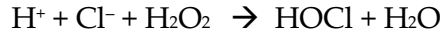


Reaksiyon 4.

Çoğu hücresel demir, başlıca depo molekülü olan ferritin bünyesinde bulunur. Hücrelerde serbest halde bulunan demir ise ferrik (Fe³⁺) halde bulunur (Fantel, 1996). Ancak O₂⁻ dahil redüksiyon ajanları ile ferritinden ve peroksit ile proteinlerden salınabilir.

H₂O₂ bir serbest radikal değildir fakat bununla birlikte biyolojik membranlardan geçme yeteneği nedeniyle çok önemli bir moleküldür. Nötrofillerde fagozomlarda bulunan bir enzim olan miyeloperoksidazın etkisi ile HOCl (hipokloröz asit) dahil daha reaktif ROT moleküllerinin

üretiminde bir ara ürün olarak radikal oluşturucu bir rol oynar (Reaksiyon 5). Ve daha önemlisi, geçiş metallere oksidasyonu yolu ile $\bullet\text{OH}$ oluşumunda rol alır (Reaksiyon 6).



Reaksiyon 5.

H_2O_2 'nin diğer bir önemli işlevi intrasellüler iletişim molekülü olarak görev yapmasıdır (Rhee, 1999; Nordberg ve Arnér, 2001).

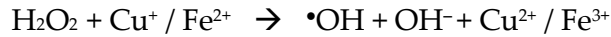
Yukarıda belirtilen mekanizmalar ile üretilen H_2O_2 en az üç antioksidan enzim sistemi, katalazlar, glutatyon peroksidazlar ve peroksiredoksinler tarafından, Şekil 1.1'de görüldüğü gibi, parçalanmaktadır (Mates ve ark., 1999; Nordberg ve Arnér, 2001).

1.1.2.3. Hidroksil radikali ($\bullet\text{OH}$)

Hidroksil radikali biyolojik sistemlerde yaklaşık 10^{-9} saniye yarı ömrü olan ve yaklaşık 1.5 atom difüzyon yolu olan son derece güçlü bir oksidandır. Bilinen en toksik radikaldir ve lipidler, proteinler ve nükleik asitler dahil hemen hemen tüm biyolojik makromolekülleri difüzyon ile sınırlı oranlarda okside edebilir (Fantel, 1996). X-ışınlarının yüksek miktardaki toksisitesi sitozolde bulunan sudan, radikal ve singlet oksijenin doğrudan oluşumundan kaynaklanmaktadır. Metabolik olarak aktif, aerobik hücrelerde bulunan

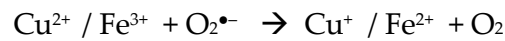
süperoksit anyon radikali, geçiş metallerinin kullanılabilirliğini sınırlamaktadır (Fantel, 1996).

Biyomoleküllere olan güçlü aktivitesinden dolayı $\bullet\text{OH}$ radikali diğer reaktif oksijen türlerine nazaran biyolojik sistemlere daha fazla hasar verme yeteneğine sahiptir (Betteridge, 2000). Hidroksil radikali, hidrojen peroksitten, daha çok değişik proteinler veya diğer moleküllerle kompleks halinde bağlı bulunan metal iyonları (Fe^{2+} veya Cu^+) aracılığıyla katalizlenen bir reaksiyonla oluşmaktadır. Bu reaksiyon, *Fenton Reaksiyonu* olarak bilinmektedir:



Reaksiyon 6.

Süperoksit ayrıca Reaksiyon 6 ile bağlantılı olarak metal iyonlarının geri dönüşümü ile ilgili önemli bir rol oynamaktadır:



Reaksiyon 7.

Reaksiyon 6 ve 7'nin toplamı *Haber-Weiss reaksiyonudur*; geçiş metalleri bu nedenle hidroksil radikallerinin oluşumunda önemli bir rol oynarlar (Halliwell, 1999). Geçiş metalleri, $\text{O}_2^{\bullet-}$ ile reaksiyonları aracılığıyla ferritin gibi proteinlerden ve değişik dehidrazların [4Fe-4S] merkezlerinden salınabilirler (Harris ve ark., 1994). Canlı hücreler için spesifik olan bu

mekanizma *in vivo Haber-Weiss reaksiyonu* olarak adlandırılır (Fridovich, 1997; Nordberg ve Arnér, 2001).

1.1.2.4. Singlet oksijen

Singlet oksijen, enerji girdisi, örneğin ışımaya, yoluyla oluşturulabilir. Singlet oksijenin en reaktif formu ters dönmüş bir elektron spinine sahip olan bir biradikaldır. İkinci form tam olarak bir radikal değildir, fakat elektronları hem paralel hem antiparalel spin konfigürasyonu içinde tek bir orbitalde yer alır. Her iki durumda da, taban düzeyi moleküler oksijenin spin kısıtlaması ortadan kalkar ve onları güçlü oksidanlar haline çevirir (Fantel, 1996).

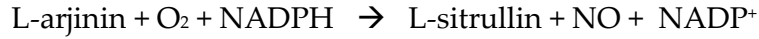
1.1.2.5. Nitrik Oksit (NO)

Diğer bir oksijen içeren radikal olan nitrik oksit (NO), biyoloji ve tıpta yoğun olarak araştırılmaktadır (Fantel, 1996). Henüz tam olarak anlaşılmamış bir reaksiyonda, nitrik oksit sentetaz L-arjinin'i L-sitrullin ve nitrik oksite okside eder (Griffith ve Stuehr, 1995). NO'nun damar genişletici rolü iyi bilinmektedir (Lowenstein ve Snyder, 1992) ve NO ve süperoksit anyon radikalinin damar durumunun belirleyicileri olarak antagonist biçimde işlev gösterdikleri öne sürülmüştür. Saran ve Bors (1994) NO'nun yarı ömrü saniyeler boyutunda olduğundan onun *in vivo* ekstrasellüler mesaj dönüştürücü olarak görev yapmak için yeterince stabil olan tek oksijen radikali olduğunu belirtmişlerdir. NO'nun yarı ömrü tiyollerle reaksiyon yoluyla önemli ölçüde artırılabilir. Bu reaksiyon NO biyoaktivitesini koruyan

fakat saatler boyutunda yarı ömre sahip olan S-nitrozotiyol türevlerini oluşturur.

Nitrik oksit serbest radikal ailesinin farklı bir üyesini temsil eder ve çeşitli yönlerden $O_2^{\bullet-}$ ile benzerdir; eşleşmemiş elektronuna rağmen birçok biyomolekülle hemen etkileşime girmez. Diğer taraftan diğer serbest radikallerle (örneğin, peroksil ve alkil radikaller) kolayca reaksiyona girerek temelde daha az reaktif molekülleri üretirler, bu nedenle aslında bir serbest radikal süpürücüsü olarak görev yapmaktadır; mesela, NO'nun hücre membranlarında lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Rubbo ve ark., 2000). Eğer $O_2^{\bullet-}$, NO ile paralel olarak yüksek miktarlarda üretilirse, bu ikisi birbirleriyle etkileşerek oldukça sitotoksik olan $OONO^{\bullet}$ (peroksinitrit) radikalini üretirler (Beckman ve Koppenol, 1996). Peroksinitrit birçok biyomolekülle doğrudan bir- veya iki-elektron reaksiyonuna girebilir, hızlıca CO_2 ile reaksiyona girerek oldukça reaktif peroksokarboksilat ($ONOO_2^{\bullet}$) oluşturabilir veya proton alarak peroksonitroz asit olarak ya $\bullet OH$ ve $\bullet NO_2$ oluşturmak için hemolize uğrar ya da yeniden nitrat (NO_3^-) oluşturur. Peroksinitritin bu değişik reaksiyonlarının bireysel hızları, pH'ya, sıcaklığa ve çevresel ortamda bulunan bileşenlerin tiplerine bağlıdır (Radi ve ark., 2001). Peroksinitrit, doğrudan veya reaksiyon ürünleri vasıtasıyla, çoğu iltihabi hastalıkta gözlendiği gibi, LDL'yi yükseltgeyebilir, seruloplazmin'e zarar vererek bakır iyonlarını salabilir ve genellikle değişik proteinlerde bulunan tirozin kalıntılarına saldırabilir (Halliwell, 1997; Nordberg ve Arner, 2001).

NO, enzimatik olarak L-arjinin'den NO sentetaz (NOS) aracılığıyla sentez edilir (Andrew ve Mayer, 1999):



Reaksiyon 8.

NOS enzimatik olarak NADPH'tan elektronların transferini katalizlemektedir. Enzimin üç ana izoformu vardır, nöronal NOS (*nNOS*), indüklenbilir NOS (*iNOS*) ve endotelial NOS (*eNOS*). Bunlar kendi aralarında, ekspresyonları ve aktiviteleri yönünden değişiklikler göstermektedir (Bredt, 1999; Nordberg ve Arner, 2001).

Fizyolojik konsantrasyonlarda NO, başlıca guanilat siklaz ve protein kinazları stimüle eden bir intrasellüler yolak olarak görev yapar ve dolayısıyla diğer etkilere karşı kan damarlarındaki düz kasları gevşetir. NO, hücre membranlarını geçme yeteneğine sahiptir ve dolayısıyla uyarıları diğer hücrelere de iletebilmektedir. Proteinlerin nitrozilasyonunun, örneğin enzimatik aktiviteyi düzenlediği bilinmektedir (Stamler, 1994).

NO'nun aşırı miktardaki üretimi, glutatyon ile konjugasyonu ve sonuçta S-nitrozoglutatyon adductının (GSNO) oluşması ile etkisiz hale getirilmektedir. GSNO doğrudan memeli TrxR yoluyla veya tüm tiyoredoksin sistemi aracılığıyla parçalanabilmektedir ve NADPH'ı tüketerek tekrar GSH ve NO'ya ayrılmaktadır (Nikitovic ve Holmgren, 1996; Nordberg ve Arner, 2001). GSNO'nun ayrıca olası bir düzenleyici mekanizma olarak belirtilen TrxR'yi inhibe ettiği de gösterilmiştir (Nordberg ve Arner, 2001).

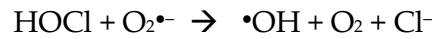
NO'nun hücrelerin redoks durumu üzerindeki total etkisi çok yönlü olarak açıkça incelenmiş olduğu halde, sonuç olarak birçok yönden oksidan

değil antioksidan olarak görev yaptığı görülmektedir (Halliwell, 1999; Nordberg ve Arner, 2001).

1.1.3. Reaktif Oksijen Türlerinin Fizyolojik Fonksiyonları

1.1.3.1. Enfeksiyonlara Karşı Savunma

Fagositler aktive edildiklerinde, vücuda giren bakterileri öldürebilecek miktarlarda ROT üretmektedirler (Wink ve Mitchell, 1998; Nordberg ve Arner, 2001). Bu sistem içinde ROT, O₂ ve O₂•⁻'ye dönüşen NADPH oksidaz kompleksi tarafından üretilmektedir. Daha sonra süperoksit fagozomda SOD aracılığıyla H₂O₂'ye indirgenir ve H₂O₂ de daha sonra miyeloperoksidaz aracılığıyla HOCl'ye dönüşebilmektedir (Reaksiyon 5). Hipokloroz asit sonra kendiliğinden Reaksiyon 9 ve Reaksiyon 10 aracılığıyla •OH oluşturabilir. Reaksiyon 10, Fenton reaksiyonuna (Reaksiyon 6) benzer ancak burada H₂O₂'nin yerini HOCl almıştır (Nordberg ve Arner, 2001).



Reaksiyon 9.



Reaksiyon 10.

Fagozomlarda bu yolla oluşan oldukça reaktif iki ROT molekülü (HOCl ve •OH) fagositler tarafından sindirilen bakteriler için oldukça toksiktir ve reaktif oksijen türünün doğrudan antimikrobiyal etkilerini taşırlar. Miyeloperoksidaz reaksiyonunda üretilen hipokloroz asit ayrıca bakteriyal membranlarda DNA bağlarını tahrip ederek DNA replikasyonunun durmasına yol açar ve bu nedenle antimikrobiyal savunmanın önemli bir parçasıdır (Rosen ve ark., 1990; Nordberg ve Arner, 2001).

1.1.3.2. Transkripsiyon faktörü aktivitesinin redoks regülasyonu

ROT'lar, proteinler veya GSH gibi sülfidril grubu içeren tüm moleküllerin yapılarını veya aktivitelerini tiyol gruplarının oksidasyonu yoluyla doğrudan etkileyebilmektedirler. Bu tip bir redoks regülasyonu diğer birçok enzim ve membran reseptörleri içinde protein kinaz C, Ca²⁺-ATPaz, kollajenaz ve tirozin kinazlar gibi sinyal iletimi ve karsinogeneziste önemli rol oynayan birçok proteini etkileyebilmektedir (Dalton ve ark., 1999; Nordberg ve Arner, 2001).

1.1.4. Reaktif Oksijen Türlerinin Yarattığı Oksidatif Hasarlar

Reaktif oksijen türleri, yüksek reaktiviteleri dolayısıyla hasar vermeye eğilimlidirler ve bu nedenle potansiyel olarak toksik, mutajenik veya karsinogeniktirler (Nordberg ve Arner, 2001). ROT hasarının hedefleri aşağıda özetlenen hücresel makromoleküllerdir:

1.1.4.1. DNA

Reaktif oksijen türlerinin kimyasal modifikasyon dolayısıyla mutajenik etkili oldukları gösterilmiştir (Marnett, 2000). DNA'nın yarılması, DNA-protein çapraz bağları, purinlerin oksidasyonu gibi bazı değişiklikler reaktif oksijen türlerinin ve özellikle bunlar içinde •OH'in reaksiyonlarından dolayı olmaktadır. Eğer DNA-onarıcı sistemler tüm DNA'yı hemen yeniden oluşturamazlarsa replikasyon sırasında hatalı eşlemeden dolayı bir mutasyonla sonuçlanacaktır. Bu mekanizma oksidatif strese maruz kalmış bireylerin kansere yatkınlığını kısmen açıklayabilmektedir (Mates ve ark., 1999). Bazı durumlarda görülen apoptozisin ROT aracılığıyla gerçekleştiği gerçeği kısmen ROT-aracılı DNA hasarına bağlı olabilir, ancak ayrıca mitokondriyal geçirgenliğin artması, sitokrom C'nin salınması, intrasellüler Ca^{2+} 'un artması ve diğer etkilere de bağlıdır (Kroemer ve ark., 1998; Nordberg ve Arner, 2001).

Reaktif oksijen türlerinin mitokondriyal hasardan dolayı hücrenin ve tüm organizmanın yaşlanmasında önemli bir faktör oldukları düşünülmektedir (Beckman ve Ames, 1997; Cortopassi, 1999; Nordberg ve Arner, 2001). Ancak, birikmiş veriler reaktif oksijen türlerinin yaşlanmada payı olduğunu (Finkel ve Holbrook, 2000) ve bunun tersine, süperoksit dismutaz ve katalaz mimetiklerinin yaşam süresini uzatabildiklerini *C. elegans*'ta göstermiştir (Melov ve ark., 2000).

1.1.4.2. Lipidler

Reaktif oksijen türleriyle ilgili olarak, lipid peroksidasyon çok araştırılan bir konudur (Nordberg ve Arner, 2001). Çoklu doymamış yağ asitleri, birden çok çift bağ içermelerinden dolayı, serbest radikal ataklarına en uygun hedefler olmaktadır. Böyle bir oksidasyon ayrıca aterosklerotik plakların oluşumunun da nedeni olarak gösterilmektedir (Halliwell, 1993).

Plak oluşumu nedeniyle ortaya çıkan kardiyovasküler hastalıklar, en azından batı ülkelerinde, total hastalık miktarının önemli bir bölümünü oluşturmaktadır (Nordberg ve Arner, 2001). Bu nedenle, lipid peroksidasyonun önlenmesi veya düşüşü son derece önemlidir.

1.1.4.3. Proteinler

İn vitro olarak reaktif oksijen türlerinin bazı amino asit kalıntıları ile reaksiyona girdiği ve modifiye, fonksiyonel olmayan proteinleri oluşturduğu gösterilmiştir (Butterfield ve ark., 1998). En kolay etkilenen amino asitler, sülfür veya selenyum içeren kalıntılardır. Genel antioksidan sistemlerinin (Trx, Grx, veya GSH, veya Trx'in elektron donörü olarak rol oynadığı metiyonin sülfoksit redüktazlar gibi spesifik sistemler) hepsi proteinleri bu tür modifikasyonlardan korumaya çalışırlar (Nordberg ve Arner, 2001).

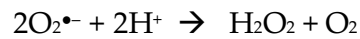
1.1.5. Hücresel Antioksidan Sistemler

Hücresel antioksidan sistemler başlıca iki ana gruba ayrılabilirler:

- 1) enzimatik olanlar
- 2) enzimatik olmayanlar

1.1.5.1. Süperoksit dismutazlar (SOD)

Süperoksit dismutazlar (SOD) keşfedilen ilk gerçek ROT-metabolize edici enzimlerdir (McCord ve Fridovich, 1969; Nordberg ve Arner, 2001). Ökaryotik hücrelerde, $O_2^{\bullet-}$, metal içeren iki SOD izoenzimi aracılığıyla hidrojen peroksitde metabolize olabilir. Bu SOD izoenzimlerinin biri mitokondride bulunan 80-kDa tetramerik *Mn-SOD* ve diğeri sitozolde bulunan 32-kDa dimerik *Cu/Zn-SOD*'dir (Şekil 1.1). Bakteriler hem *Mn-SOD*'yi hem de *Fe-SOD*'yi ve bazı durumlarda *Cu,Zn-SOD*'yi de içerirler (Fridovich, 1997). SOD tarafından katalizlenen reaksiyonda, iki molekül süperoksit, hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluşturur ve bu nedenle hücresel hidrojen peroksitin bir kaynağıdır (Reaksiyon 11).



Reaksiyon 11.

Mitokondride, solunum zincirinden elektronların sızmasından dolayı nispeten yüksek konsantrasyonlarda süperoksit oluşur. Mitokondriyal *Mn-SOD* gereklidir çünkü *Mn-SOD*'nin eksik olduğu hiçbir kalıtsal hastalık

bulunmamıştır ve Mn-SOD'den yoksun fareler doğumdan kısa bir süre sonra ölmüştür veya ciddi nörodejenerasyon geçirmişlerdir (Melov ve ark., 1998). Cu,Zn-SOD'nin aksine, Mn-SOD'nin ekspresyonu oksidatif stresle indüklenir. Sitozolik Cu,Zn-SOD, Mn-SOD'den daha az önemli görünmektedir ve bu enzimleri çıkarılmış transjenik hayvanlar duruma adapte olabilmektedirler (Ohlemiller ve ark., 1999; Nordberg ve Arner, 2001). Sonunda öldürücü olabilen nörodejeneratif hastalık, Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS), enzimin peroksidaz aktivitesini arttıran sitozolik SOD'nin geninde mutasyonlar nedeniyle oluşabilmektedir (Rosen ve ark., 1993; Orrell, 2000). Büyük miktarda Cu,Zn-SOD, sitozolik formdan ayrı olarak, ekstrasellüler olarak da bulunabilmektedir (Marklund, 1982; Nordberg ve Arner, 2001).

1.1.5.2. Süperoksit redüktazlar (SOR)

Süperoksit redüktaz, süperoksitin doğrudan redüksiyonunu katalizleyen bir süperoksit süpürücü enzim tipidir:



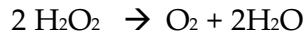
Reaksiyon 12.

Süperoksit redüktaz enzimleri, demir içerirler ve şimdiye kadar sadece anaerobik sülfat indirgeyici bakterilerde bulunmuştur, bu nedenle *desülfoferrodoksin* de denilmektedir. Bu bakteriler, anaerobik arkea *Pyrococcus furiosus* veya cinsel ilişki ile bulaşan sifilise neden olan mikroaerofilik bakteri *Treponema pallidum*'dur (Lombard ve ark., 2000). *Treponema pallidum* SOD'den

yoksundur ve bu nedenle süperoksit eliminasyonu için sadece SOR'yi kullanmaktadır.

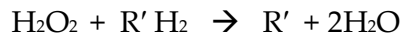
1.1.5.3. Katalazlar

Çoğu organizmada bulunan katalazlar başlıca hem-içeren enzimlerdir (Aebi, 1974; Nordberg ve Arner, 2001). Memeli hücrelerindeki subsellüler yerleşimleri daha çok peroksizomlardadır ve hidrojen peroksitin su ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizlemektedir:



Reaksiyon 13.

Katalaz ayrıca değişik substratları, örneğin fenoller ve alkoller hidrojen peroksitin çift redüksiyonu yoluyla detoksifiye edebilmektedir:



Reaksiyon 14.

Katalaz, Cu veya Fe iyonlarının katalizörlüğü ile, H_2O_2 'den Fenton reaksiyonu ile hidroksil radikalinin oluşumu riskini düşürmektedir (Reaksiyon 6) ve bu şekilde bir antioksidan görevi bulunmaktadır (Fridovich, 1999; Halliwell, 1999). Katalaz, enzimi inaktivasyondan koruyan ve etkinliğini artıran NADPH'a bağlanmaktadır (Kirkman, 1999; Nordberg ve Arner, 2001).

1.1.5.4. Peroksiredoksinler (Prx)

Peroksiredoksinler (Prx; tiyoredoksin peroksidazlar), hidrojen peroksit ve değişik alkil hidroperoksitler gibi peroksitleri doğrudan indirgeyebilen enzimlerdir. Peroksiredoksinlerin p53 ve hidrojen peroksit tarafından indüklenen apoptozisi inhibe ettiği gösterilmiştir (Zhang ve ark., 1997). En az 13 memeli peroksiredoksini bilinmektedir (Chae ve ark., 1999a; Chae ve ark., 1999b; Nordberg ve Arner, 2001).

1.1.5.5. Glutatyon peroksidazlar (GPx)

Memelilerde, hepsi selenosistein içeren en az dört değişik GPx (GPx1–4) vardır. GPx1 ve GPx4 (fosfolipid hidroperoksit GPx)'in ikisi de çoğu dokuda bol miktarda bulunan sitozolik enzimlerdir (Ursini ve ark., 1995). GPx2 (gastrointestinal GPx) ve GPx3 (plazma GPx) sırasıyla, başlıca gastrointestinal bölge ve böbreklerde üretilirler; GPx4 ise spermatidlerde görev yapar (Nordberg ve Arner, 2001). Tüm glutatyon peroksidazlar, H₂O₂'nin redüksiyonunu glutatyonu bir substrat olarak kullanarak katalize edebilmektedirler. Bunlar ayrıca diğer peroksitleri (örneğin, hücre membranlarındaki lipit peroksitler) alkollere indirgeyebilirler (Nordberg ve Arner, 2001):



Reaksiyon 15.

Hidroperoksitlerin GPx tarafından redüksiyonu için öngörülen katalitik mekanizma, aktif bölge selenolat (Se⁻)'ın selenenik asit (SEOH)'e oksidasyonunu içermektedir. Bir molekül GSH'ın eklenmesiyle, selenenik asit glutatyon ile selenenil sülfid adductına dönüştürülmektedir (Se-SG). Bu da ikinci bir GSH molekülünün ilavesiyle aktif selenolat ve glutatyon disülfid (GSSG)'i yeniden oluşturabilir. Böylece, reaksiyonda iki molekül GSH, GSSG'ye yükseltgenir ve sonrasında başlıca memeli GSSG-indirgeyici enzimi olan GR tarafından indirgenebilmektedir. Bazı veriler GPx'in fizyolojik koşullar altında yüksek antioksidan öneme sahip olduğunu göstermiştir (Jones ve ark., 1981). Ancak bazı veriler de enzimlerin sadece oksidatif stres durumlarında önemli olduğunu varsaymaktadır (Kelner ve Bagnell, 1990). Ayrıca, GPx1'den yoksun farelerin son derece normal olarak geliştikleri ve hatta hiperoksi şeklindeki oksidatif strese maruziyete bile dayandıkları da gösterilmiştir (Ho ve ark., 1997). Bu nedenle, GPx izoenzimlerinin antioksidan savunma sistemindeki fonksiyonu hala belirsizdir, fakat kinetik özellikleri ve geniş dağılımları, oksidatif hasara karşı total korumada görev aldıklarını düşündürmektedir (Nordberg ve Arnér, 2001).

1.1.5.6. Glutatyonla ilgili diğer sistemler

Glutatyon (GSH) tüm canlı aerobik hücrelerde milimolar konsantrasyonlarda yaygın olarak bulunan, intrasellüler tiyol içerikli antioksidandır. Fonksiyonu başlıca sülfidril tamponu olarak görev yapmasıdır, fakat GSH ayrıca, glutatyon S-transferazlarla katalizlenen konjugasyon reaksiyonları yoluyla veya GPx'in katalizlediği reaksiyonla doğrudan bileşikleri detoksifiye edebilmektedir (Armstrong, 1997; van Bladeren, 2000).

GSH ile yakından ilgili diğere protein sınıfı glutaredoksinlerdir (Grx). Grx, GSH tarafından indirgenebilir ve oksidatif stresle oluşan GSH-karışık protein disülfidleri indirgeyebilmektedir ki bu, total hücrenel antioksidan savunmada önemli bir rol oynamaktadır (Holmgren, 2000; Nordberg ve Arnér, 2001).

1.1.5.7. Düşük moleküler ağırlıklı antioksidan bileşikler

Askorbik asit (Vitamin C) ve α -tokoferol (Vitamin E), değişik selenyum bileşikleri, lipoik asit ve ubikinonlar gibi çok sayıda düşük moleküler ağırlıklı bileşikler biyolojik öneme sahip antioksidanlar olarak düşünülmektedir (Nordberg ve Arnér, 2001).

Askorbik asit (vitamin C) ve α -tokoferol (vitamin E)

Askorbat suda çözünür özellik göstermektedir ve insan plazmasında ve hücre membranlarında başlıca antioksidan olarak gösterilmektedir (Frei, 1990; May, 1999). Süperoksit gibi α -tokoferol'ü ve peroksitleri indirgeyebilmektedir (Nordberg ve Arnér, 2001). Vitamin C, plazma lipoproteinlerinde, örneğin LDL'de, lipid hidroperoksit oluşumunu önlemektedir. Bunu lipid peroksil radikalleri ile reaksiyon sonucu oluşan α -tokoferol radikallerini indirgeyerek yapar (Nordberg ve Arnér, 2001). Bu fonksiyonu aterosklerotik plak oluşumunun önlenmesinde önemlidir. Askorbat ayrıca bu mekanizma ile hücre membranlarındaki lipidleri korur.

İntrasellüler olarak, sıvı fazda, askorbat ve GSH hücreyi oksidatif hasardan korumak için uyum içinde görev yaparlar (Meister, 1995).

Vitamin E veya α -tokoferol (α -TOH) biyolojik membranlarda bulunan yağda çözünür bir vitamindir. Eşleşmemiş elektronlarla reaksiyona giren bir hidroksil grubu içerir ve örneğin peroksil radikallerini indirgeyebilir. α -TOH bağırsaklardan absorbe edilir ve şilomikronlar içinde karaciğere taşınır. VLDL partikülleri içinde kana geri döner ve VLDL partikülleri lipoprotein lipaz ile LDL'ye parçalanır. LDL partikülleri periferik dokulardaki hücrelere kolesterol sağlar ve ayrıca aterogenezde önemli bir faktördür (Chopra ve Thurnham, 1999).

Lipoik asit

R- α -Lipoik asit (LA; tioktik asit), mitokondride bulunan α -keto asit dehidrojenaz bileşiklerinin dihidrolipoil transasetilaz (E_2) bileşenlerinde gerekli bir prostetik gruptur (Nordberg ve Arner, 2001). Dihidrolipoik asit (DHHLA)'e indirgenen serbest LA güçlü bir indirgeyici kapasiteye sahiptir (Reed, 1996). Serbest LA'nın veya DHHLA'nın terapötik kullanımı araştırılmıştır. LA/DHHLA'nın metal şelasyonu, serbest radikalleri süpürme ve GSH, askorbat ve vitamin E gibi diğer antioksidanların yeniden oluşumunda görev alma gibi birçok antioksidan özelliğinden dolayı ilaç olarak kullanıldığı bilinmektedir (Packer ve ark., 1995). LA normalde kanda mikromolar miktarlarda bulunmaktadır (çoğunlukla DHHLA formunda). Dışarıdan uygulandığında, LA bağırsaklar yoluyla alınır, ana organlara dağılır ve geniş bir miktarı intrasellüler olarak DHHLA'ya indirgenir. Kültür

hücreleri LA'yı alarak onu DHLA'ya indirger ve daha sonra indirgenmiş molekülü salabilirler. Bu nedenle, LA ve özellikle indirgenmiş formu DHLA, farmakolojik antioksidan olarak potansiyel özelliklere sahiptir (Nordberg ve Arner, 2001). Birçok değişik hastalıkta LA'nın kullanıldığı klinik çalışmalar yürütülmüştür. Başlıca sonuçlar, diabetes mellitus'ta LA'nın β -hücrelerinin yıkımını önleyerek, glukoz alımını stimule etmek, ateroskleroza ve katarakta karşı koruyucu etki göstermek ve diyabetik nöropati semptomlarını azaltmak şeklinde terapötik kullanımı olduğunu göstermektedir. İskemi-reperfüzyon hasarında, iskemik doku yeniden oksijenlediğinde LA'nın ROT'lardan dolayı oluşan hasarı önlediği veya azalttığı gösterilmiştir. LA'nın ayrıca mantar zehirlenmesi, karaciğer hastalığı, HIV-enfeksiyonu, ağır metal zehirlenmesi ve Chagas hastalığının tedavisinde adjuvan olarak etkilerinin olduğu da gösterilmiştir (Scott ve ark., 1994; Handelman ve ark., 1994; Packer ve ark., 1995; Bustamante ve ark., 1998; Nordberg ve Arner, 2001).

Ubikinon (koenzim Q/Q10)

Ubikinon başlıca mitokondride elektron taşıma zincirinin bir parçası olarak görev yapmaktadır. Ancak ayrıca düşük konsantrasyonlarda plazmada ve hücre membranlarında da bulunur ve lipid peroksidasyonu önleyen antioksidan olarak da görev yapar (Ernster ve Dallner, 1995; Nordberg ve Arner, 2001).

Selenyum içeren enzimler ve bileşikler

Değişik düşük moleküler bileşikler şeklinde Selenyum, bazı terapötik etkiler gösterebilmektedir. In vitro deneyler bazı Se bileşiklerinin apoptozisi indükleyebildiğini ve hücre siklusunu durdurabildiğini göstermiştir ve bu suretle kanser hücrelerinin büyümesini inhibe edebilmektedir (Wilson ve ark, 1992; Jiang ve ark., 2001). Se desteği tüm kanser insidansının %50 kadarı için önleyici olabilmektedir (Clark ve ark., 1996). Ancak, terapötik indeksinin dar olduğu dikkate alınmalıdır, çünkü selenyum bileşikleri ciddi derecede toksik olabilmektedir (Nordberg ve Arner, 2001).

1.1.6. Çalışmanın Kapsamı

Bu çalışmada, belli bir yöredeki farklı familyalara ait değişik 14 bitkiye ait etilasetat ve metanol ekstralarının antioksidan etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla *Allium rotundum* (Liliaceae), *Anthemis tinctoria* L., *Centranthus longiflorus* Stev. (Valerianaceae), *Digitalis lamarckii* Ivan., *Fumaria asepsala* Boiss. (Papaveraceae), *Glaucium grandiflorum* Boiss.&Huet var. *grandiflorum*, *Inula britannica* L., *Malabaila secacul* Banks&Sol, *Phlomis armeniaca* Willd., *Potentilla recta* L., *Sedum acre* L., *Sideritis galatica* Bornm., *Thymus sipyleus* Boiss. ve *Zosima absinthifolia* (Vent.) Link bitkileri seçilmiştir.

Allium rotundum, Liliaceae familyasından *Allium* cinsinden bir türdür (TÜBİTAK-Türkiye Taksonomik Tür Veritabanı, 2004-2005). *Allium* türleri soğanlı bitkilerdir ve Türkiye’de yetişen 65’i endemik olmak üzere 164

türü bulunmaktadır. *Allium rotundum* Adana, Antalya, Mersin ve Sivas bölgelerinde 'körmen' ismiyle tanınıp kullanılmaktadır. İdrar söktürücü, müshil, kan şekerini düşürücü, hazım kolaylaştırıcı, antibakteriyel, yara iyileştirici, kalp kuvvetlendirici olarak halk arasında kullanımları vardır. *Allium* türleri polifenolik bileşikler olan flavonoid bileşiklerinin ana kaynaklarından biridir (Tepe ve ark., 2005b). *Allium* türleri hem yemek olarak hem de halk tıbbında kullanımları mevcuttur. Patolojik hastalıklarda, tümör tedavilerinde ve kardiyovasküler hastalıklarda kullanıldığı bilinmektedir.

Anthemis tinctoria L. (*Anthemis tinctoria* Linnaeus), Asteraceae familyasından Anthemis cinsinden bir türdür (TÜBİTAK-Türkiye Taksonomik Tür Veritabanı, 2004-2005). Sarıpapatya, Boyacı papatyası gibi isimlerle tanınır. Avrupa'da ve özellikle Batı ve Güneybatı Asya'da yetişen ve kültürü yapılan bir bitki türüdür. Sarı renginden dolayı halk arasında boyamada ve uçucu yağından dolayı da halk arasında antienflamatuar etkisinden dolayı çay olarak kullanılmaktadır. İçerdiği uçucu yağ içerisinde flavon türevi bileşikler taşımaktadır (Baytop, 1999). Çeşitli *Anthemis* türleri üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda, yapılarında uçucu yağ içerdikleri ve bileşimindeki ana kimyasal bileşenlerin seskiterpen hidrokarbonlar olduğu bulunmuştur (Saroglou, 2006) ve seskiterpenlerin özelliklerinden dolayı antimikrobiyal, anti-aging ve antioksidan etki potansiyellerinin olduğu düşünülmektedir. *A. tinctoria* üzerinde yapılan başka çalışmalarda da bitkinin toprak üstü kısımlarında flavonol glikozidleri ve flavonlar içerdiği tespit edilmiştir (Wollenweber ve Mayer, 1991; Williams ve ark., 2001).

Centranthus longiflorus Stev., Valerianaceae familyasından *Centranthus* cinsinden bir türdür (TÜBİTAK-Türkiye Taksonomik Tür Veritabanı, 2004-2005). Türkiye florasında üç tür ile temsil edilmektedir ve kediotu, kırmızı kantaron ya da kırmızı mahmuz çiçeği gibi isimlerle bilinmektedir. Halk arasında yatıştırıcı ve uyuşturucu etkisinden dolayı kullanımı bulunmaktadır (Baytop, 1999). Yapısında flavonoidler, triterpen bileşikler, iridoid glikozidler, fenilpropanoid glikozidler ve valepotriatlar içermektedir (Süleyman ve ark., 2007). Antioksidan etkinliğiyle ilgili yapılmış çalışmalar bulunmaktadır (Çoban ve ark., 2003).

Digitalis lamarckii Ivan. (*D. orientalis*), Scrophulariaceae familyasından *Digitalis* cinsinden bir türdür (TÜBİTAK-Türkiye Taksonomik Tür Veritabanı, 2004-2005). Türkiye’de endemik olarak İç, Batı ve Doğu Anadolu bölgelerinde yetişmektedir. Doğu yüksükotu adıyla bilinmektedir. Türkiye’de 10 kadar türü yetişmekte olup bunların yetiştiği bölgeler farklıdır. Halk arasında kullanımı yoktur (Baytop, 1999).

Fumaria asepalae Boiss., Fumariaceae familyasından *Fumaria* cinsinden bir türdür (TÜBİTAK-Türkiye Taksonomik Tür Veritabanı, 2004-2005). Türkiye’de Kuzey, Güney, Orta ve Doğu Anadolu’da yetişmektedir. Ahtere ismiyle bilinmektedir. Halk arasında deri kaşıntısına ve egzamaya karşı kullanımı bulunmaktadır. *Fumaria* türlerinin bazılarının karaciğeri koruyucu etkinlikleri bildirilmektedir (Aktay ve ark., 2000). *F. asepalae* ile ilgili yapılmış çalışma bulunmamakla birlikte değişik *Fumaria* türlerinin asetilkolinesterazı inhibe edici etkileri bulunmuştur (Orhan ve ark., 2004; Mukherjee ve ark., 2007).

Glaucium grandiflorum Boiss.&Huet var. *grandiflorum* Boiss. et Huet., Papaveraceae familyasından Glaucium cinsinden *Glaucium grandiflorum* Boiss.&Huet türünün varyetesidir (TÜBİTAK-Türkiye Taksonomik Tür Veritabanı, 2004-2005). Türkiye’de Kuzey, Orta ve Doğu Anadolu’da yetişmektedir. Halk arasında boynuzlu haşhaş, boynuzlu gelincik, kellale gibi isimlerle bilinmektedir. Türkiye’de bilinen 7 türü bulunmakta olup *G. caniculatum* (L.) Rud., yatıştırıcı, öksürük kesici ve uyuşturucu etkilere sahiptir. Nadiren uyuşturucu olarak infüzyon (%1) halinde kullanılır. *G. flavum* Crantz (sarı boynuzlu gelincik) çiçeklerinden hazırlanan ekstrenin kalp üzerine yavaşlatıcı etkisinin bulunduğu gösterilmiştir (Baytop, 1999). Çeşitli *Glaucium* türlerinin laksatif, hipnotik ve antidiyabetik etkilerinin olduğu ve ayrıca bazı türlerinin yapraklarının da dermatit tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir (Zargari, 1990; Morteza-Semnani ve ark., 2002). Bu türlerde yapılan bazı fitokimyasal araştırmalar sonucunda bileşimindeki bazı alkaloidlerin ((-)-norkelidonin, dihidrokeleritrin, protopin, allokriptopin, tetrahidropalmatin, glausin, koridin, berberin gibi) izolasyonu gerçekleştirilmiştir (Gözler, 1982; Morteza-Semnani ve ark., 2002). Bitkinin analjezik ve antiinflamatuvar etkisinin bileşimindeki glausin alkaloidinden, analjezik etkisinin ise tetrahidropalmatin’den kaynaklandığı bulunmuştur (Ayres, 1994; Morteza-Semnani, 2002).

Inula britannica L. (*Inula britannica* Linnaeus), Asteraceae familyasından Inula cinsinden bir türdür (TÜBİTAK-Türkiye Taksonomik Tür Veritabanı, 2004-2005). Andız otu, andız adlarıyla bilinmektedir. *Inula* türleri Avrupa, Asya ve Afrika’da yetişmektedir. Halk arasında çeşitli kullanım şekillerinin olduğu binmektedir (Baytop, 1999). *Inula* türlerinin

yaprakları sindirim bozuklukları, bronşit ve inflamasyonda kullanılmaktadır.

Malabaila secacul Banks&Sol., Apiaceae familyasından Malabaila cinsinden bir türdür (TÜBİTAK-Türkiye Taksonomik Tür Veritabanı, 2004-2005). Anadolu'da yetişir ve çörtük adıyla bilinir. Yaprakları Isparta yöresinde hemoroid tedavisinde kullanılmaktadır (Gürhan ve Ezer, 2004). Türkiye'de doğal olarak yetişen Umbelliferae bitkilerinden birisidir. Umbelliferae türlerinin halk tıbbında kullanılan türleri yanında sebze, baharat, tat verici ve daha birçok amaçla kullanılan türleri mevcuttur. Bu nedenle bu tür de antioksidan aktivitesi yönünden incelenmiştir.

Phlomis armeniaca Willd., Lamiaceae familyasından Phlomis cinsinden bir türdür (TÜBİTAK-Türkiye Taksonomik Tür Veritabanı, 2004-2005). Türkiye'de endemik olarak yetişen bu tür Emecen, balıkotu, çalba, şalba, şalvarotu isimleriyle tanınmaktadır. Köylerde bazı *Phlomis* türlerinin çiçek veya yapraklarının iştah açıcı ve midevi olara kullanıldığı bilinmektedir. Bu tür de özellikle çay şeklinde mide ağrılarına karşı kullanılmaktadır. Türler genelde uçucu yağ, tanen içermekte ve uyarıcı, gaz söktürücü, iştah açıcı ve mide ağrılarını kesici özelliklerinden dolayı kullanılmaktadırlar (Baytop, 1999).

Potentilla recta L. (Potentilla recta Linaneus), Rosaceae familyasından Potentilla cinsinden bir türdür (TÜBİTAK-Türkiye Taksonomik Tür Veritabanı, 2004-2005). Beşparmak otu, kurtpençesi, incibar

kök, sarı tabusluk, yedi yaprak otu adlarıyla bilinmektedir. Halk arasında analjezik, kuvvet verici olarak ve kabızlıkta kullanımı vardır (Baytop, 1999).

Sedum acre L. (Sedum acre Linnaeus), Crassulaceae familyasından Sedum cinsinden bir türdür (TÜBİTAK-Türkiye Taksonomik Tür Veritabanı, 2004-2005). Anadolu'da yetişen bu tür damkoruğu, acı damkoruğu, acı yağotu, kayakoruğu ve kulakotu gibi isimlerle bilinmektedir. Yapraklarında acı madde, müsilaj içerir. Yara ve nasır iyi edici olarak uygulanmaktadır (Tanker ve ark., 1998). İdrar artırıcı ve müşhil etkisi bulunmaktadır (Baytop, 1999). Toprak üstü kısımlarından flavonoidler, tüm bitkiden de alkaloidler izole edilmiştir (Grzybek ve ark., 1997).

Sideritis galatica Bormm., Lamiaceae familyasından Sideritis cinsinden bir türdür (TÜBİTAK-Türkiye Taksonomik Tür Veritabanı, 2004-2005). Türkiye'de endemiktir, Batı ve Güney Anadolu bölgesinde yayılış gösterir (Kaya ve Başer, 2002). Genelde dağ çayı, yayla çayı olarak bilinmektedir (Baytop, 1999). Ve halk arasında çay ve halk ilacı olarak kullanılmaktadır. Bitkiden diterpen-lakton yapısında bileşikler izole edilmiştir (Dişli ve ark., 2002).

Thymus sipyleus Boiss., Lamiaceae familyasından Thymus cinsinden bir türdür (TÜBİTAK-Türkiye Taksonomik Tür Veritabanı, 2004-2005). Thymus'un Türkiye'de 40 kadar türü bulunmakta ve birbirlerinden ayırt edilmeden tedavi amaçlı kullanılmaktadırlar. Limon kokulu bir kekik türü olan *Thymus sipyleus Boiss.* uçucu yağında bol miktarda sitrol ve ökaliptol ihtiva eder (Tanker, 1973) ve baharat olarak kullanımı yaygındır. Ayrıca

medevi, yatıştırıcı, antiseptik, kurt düşürücü ve kan dolaşımını uyarıcı etkileri halk arasında bilinmektedir.

Zosima absinthifolia (Vent.) Link, Apiaceae (alt Umbelliferae) familyasından Zosima cinsinden bir bitkidir (TÜBİTAK-Türkiye Taksonomik Tür Veritabanı, 2004-2005). Batı Asya'da yetişen bir türdür. Anadolu'da da yetişen bu bitki "peynir otu" adıyla bilinir. Umbelliferae familyasından olan bu bitki de içerdiği uçucu yağlardan (Başer ve ark., 2000) dolayı antioksidan aktivitesi yönünden araştırılmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Kullanılan Maddeler:

DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) (Sigma, ABD)

Metanol (Merck, Almanya)

K₂HPO₄ (Merck, Almanya)

KH₂PO₄ (Merck, Almanya)

NaOH 2 N (Merck, Almanya)

HCl 0.1 M (Merck, Almanya)

FeCl₃ (Sigma, ABD)

Askorbik asit (Merck, Almanya)

KCl (Merck, Almanya)

BHT (%10) (Butilhidroksitoluen) (Sigma, ABD)

H₃PO₄ (%1) (Merck, Almanya)

TBA (Tiyobarbitürik asit) (Sigma, ABD)

SDS (%10) (Sodyum dodesil sülfat) (Sigma, ABD)

1,1,3,3-tetrametoksipropan (Sigma, ABD)

α -tokoferol (Vitamin E) (Fluka)

Etil asetat (Merck, Almanya)

DMSO (Dimetilsülfoksit) (Merck, Almanya)

Metanol (%80) (Merck, Almanya)

Sıçan karaciğer dokusu

Sitokrom C (Sigma, ABD)

Ksantin (Sigma, ABD)

Ksantin oksidaz enzimi (Sigma, ABD)

Tris HCl Buffer

Potasyum fosfat tamponu

Distile su

2.1.2. Kullanılan Aletler ve Malzemeler

Spektrofotometre (Shimadzu UV-160 A)

Microplate okuyucu (Molecular Devices - SPECTRAMax® 190 Microplate Spectrophotometer)

Sallamalı su banyosu (Elektro-Mag)

Buz makinası (Hoshizaki)

Vorteks (Labinco L 46)

Spektrofotometre küvetleri

Hassas terazi (Sartorius)

pHmetre (Jenway, BM)

Magnetik karıştırıcı (Jenway, BM)

Teflon homojenizatör başlık

Otomatik pipetler (Jenkins, Gilsen, Boeco)

2.1.3. Bitki Numunelerinin Temini, Hazırlanması ve Saklanması

İnceleme materyali olarak Ankara, Hasanoğlu - İdrisdağı'ndan toplanan 14 bitki ve bu bitkilerden hazırlanan ekstreler kullanılmıştır.

Bitki ekstraları Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognözi Ana Bilim Dalı tarafından sağlanmıştır. Her bir bitki türünden tartılan 10'ar gram materyal, ayrı ayrı etilasetat ve %80 su içeren metanol ile manyetik karıştırıcı (30°C) üzerinde 1 gün süreyle ekstre edilmiştir. Elde edilen ekstralar liyofilize edildikten sonra gerekli miktarlar tartılarak deney için gerekli olan 100 mg/ml konsanrasyonundaki stok çözeltiler hazırlanmıştır.

Numuneler deneylerde incelenme aşamasına kadar plastik kapaklı cam flakonlar içinde -20°C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Kullanılan bitki numuneleri aşağıdaki tabloda özetlenmektedir:

Tablo 2.1. Çalışmada kullanılan bitkiler

Tür ismi	Familiya	Kullanılan kısım	Yetiştiği yer, yükseklik
<i>Allium rotundum</i> L.	Liliaceae	TÜ	Ankara, Hasanoğlan - İdris Dağı, 2300 m.
<i>Anthemis tinctoria</i> L.	Compositae	TÜ	
<i>Centranthus longifolius</i>	Valerianaceae	TÜ	
<i>Digitalis lamarckii</i> Ivan	Scrophulariaceae	TÜ	
<i>Fumaria asepalae</i> Boiss.	Papaveraceae	TÜ	
<i>Glaucium grandiflorum</i> Boiss. & Huet. var. <i>grandiflorum</i>	Papaveraceae	TÜ	
<i>Inula britannica</i> L.	Compositae	TÜ	
<i>Malabaila secacul</i> Banks. & Sol.	Umbelliferae	TÜ	
<i>Phlomis armeniaca</i> Willd.	Labiataeae	TÜ	
<i>Potentilla recta</i>	Rosaceae	TÜ	
<i>Sedum acre</i> L.	Crassulaceae	TÜ	
<i>Sideritis galatica</i> Bornm.	Labiataeae	TÜ	
<i>Thymus sipyleus</i> Boiss.	Labiataeae	TÜ	
<i>Zosima absinthifolia</i> (Vent.) Link	Umbelliferae	TÜ	

TÜ: Toprak üstü

Bu çalışmada çeşitli bitkilerin değişik konsantrasyonlardaki ekstralarının antioksidan etkinliğine bakılmıştır ve bu etki antioksidan özelliği bilinen standart madde (α -tokoferol) ile karşılaştırılması yapılarak bitki ekstralarının antioksidan aktiviteleri tayin edilmiştir.

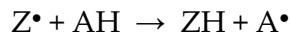
Bu amaçla aşağıdaki yöntemler uygulanmıştır:

2.2. Yöntem

2.2.1. DPPH Radikalini Süpürücü Aktivite Tayini

Bitki ekstralarının DPPH serbest radikalini süpürücü etkileri 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil stabil radikalinin menekşe/mor rengini giderme yetenekleri ile ölçülmektedir. Bu maddelerin DPPH ile oluşturdukları rengin 517 nm'de ölçümüne ve standart madde ile karşılaştırılmasına dayanmaktadır (Blois, 1958).

DPPH çözeltisi, bir hidrojen atomu verebilecek bir madde ile karıştırıldığında, mor-menekşe rengin kaybolması ile birlikte indirgenmiş forma dönüşmektedir. DPPH radikali $Z\bullet$ ile ve donör molekül AH ile gösterilirse, primer reaksiyon şu şekilde gerçekleşir:



ZH, indirgenmiş formu ve $A\bullet$, ilk basamakta oluşan serbest radikali göstermektedir. Bu radikal daha sonra tüm stokiyometriyi kontrol eden yani,

indirgeyici bir molekül tarafından indirgenen (rengi giderilen) DPPH moleküllerinin sayısı kadar reaksiyona girecektir. Üstteki reaksiyon bu nedenle bir lipidin veya doymamış bir maddenin otooksidasyonu gibi okside edici bir sistem içinde gerçekleşen reaksiyonlar için bir temel oluşturmaktadır. DPPH molekülü Z^{\bullet} , sistem içindeki aktiviteleri AH tarafından baskılanan serbest radikalleri temsil etmektedir (Molyneux, 2004).

Reaksiyon ortamı: 100 μ M DPPH (metanolde) ve değişik konsantrasyonlardaki bitki ekstraktları içermektedir.

Oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyonun ardından 517 nm'de absorbans ölçülmüştür ve süpürücü etki, radikal redüksiyonunun yüzdesi olarak hesaplanmıştır. Her deney 2-4 ölçümün ortalaması olarak verilmiştir. Referans madde (pozitif kontrol) olarak α -tokoferol kullanılmıştır.

DPPH serbest radikalini süpürücü aktivite aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır:

$$\text{RSA (\%inhibisyon)} = [(A_k - A_n) / A_k] \times 100$$

RSA, Radikal Süpürücü Aktiviteyi, yani % inhibisyonu; A_k , kontrolün, yani referans maddenin absorbansını ve A_n , numunenin, yani bitki ekstraktının absorbansını göstermektedir.

Herbir bitki ekstresi için çizilen kalibrasyon grafiğinden IC_{50} değerleri hesaplanmıştır.

2.2.2. Süperoksit Radikalini Süpürücü Aktivite Tayini

Yöntem ksantin ve ksantin oksidaz tarafından oluşturulan süperoksit anyonunun bitki ekstresi ve standart madde varlığında Sitokrom C'nin redüksiyonunun inhibisyonunun ölçümüne dayanmaktadır (McCord ve Fridovich, 1969).

Reaksiyon ortamı: 100 µl 4 mM ksantin, 400 µl sitokrom C, 0.1 M pH 7.8 fosfat tamponu, değişik konsantrasyonlardaki bitki ekstraları ve 40 µl ksantin oksidaz içermektedir.

Ksantin oksidaz karışıma eklendikten sonra reaksiyon karışımının absorbansı 550 nm'de ölçülmüştür. Süperoksit anyon radikalini süpürücü etki (%), 60 saniye sonra kontrole karşı, sitokrom C'nin redüksiyonunun inhibisyon derecesi olarak belirtilmiştir. Referans madde (pozitif kontrol) olarak α-tokoferol kullanılmıştır.

Süperoksit anyon radikalini süpürücü aktivite aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır:

$$\% \text{ inhibisyon} = [(A_k - A_n) / A_k] \times 100$$

% inhibisyon, süperoksit radikalini süpürücü aktiviteyi; A_k , pozitif kontrolün, yani referans maddenin absorbansını ve A_n , numunenin, yani bitki ekstresinin absorbansını göstermektedir.

Herbir bitki ekstresi için çizilen kalibrasyon grafiğinden IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

2.2.3. Lipid Peroksidasyonu Üzerine İnhibitör Etki Tayini

Sıçan karaciğerinden elde edilen 1000 g homojenatında bitkisel ekstre, standart madde, askorbik asit ve demir-3-klorür varlığında 37°C'de bir saat inkübasyonla oluşan malondialdehidin (MDA) tiyobarbitürik asitle (TBA) vermiş olduğu rengin 532 nm'de spektrofotometrik ölçümüne dayanmaktadır (Mihara ve ark., 1980). Oluşan bu renk TBARS (ThioBarbituric Acid Reactant Substance) nedeniyle oluşmaktadır.

Bitki ekstresinin FeCl₃-askorbik asit ile indüklenen sıçan karaciğeri homojenatı üzerine etkisi araştırılmıştır ve lipid peroksidasyon Mihara ve ark. (1980)'nın yöntemiyle tayin edilmiştir. Sıçanlar standart laboratuvar koşullarında beslenmiştir. Hayvanlar kesilmeden 24 saat önce aç bırakılmaya başlanmıştır ve sonra anestezi uygulamasıyla birlikte kesilmiştir. Çalışma, Laboratuvar Hayvanlarının Bakımı ve Kullanımı için Kılavuz'a uygun olarak yürütülmüştür. Karaciğerleri hızlıca kesilip alınmıştır ve soğuk distile su ile yıkanmıştır. Sonra bir Teflon homojenizatör yardımıyla buz içerisinde hızlıca homojenize edilmiştir. LP spektrofotometrik olarak tiyobarbitürik asit reaktant maddelerinin (TBARS) değerlendirilmesiyle ölçülmüştür. TBARS miktarları *nmol* veya *μmol malondialdehit (MDA)/g doku* olarak belirtilmiştir. Optimize edilmiş bir reaksiyon ortamına 0.5 ml karaciğer homojenatı, 0.1 ml Tris-HCl tamponu (pH 7.2), 0.05 ml 10 mM askorbik asit, 0.05 ml 4 mM FeCl₃ ve 0.05 ml değişik konsantrasyonlardaki bitki ekstraları veya α-tokoferol

eklenmiştir ve karışım 37°C'de 1 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından, 3.0 ml H₃PO₄ ve 1.0 ml %0.6 TBA reaksiyon ortamına eklenmiştir ve hızlıca karıştırılmıştır. Sonra karışım 30 dakika kaynatılmıştır. Karışım oda sıcaklığına geldikten sonra süpernatantın absorbanansı 532 nm'de köre karşı okunmuştur. Kör, karaciğer homojenatı hariç tüm bileşenleri içermektedir. Pozitif kontrol olarak α-tokoferol kullanılmıştır.

Lipid peroksidasyonunu inhibe edici aktivite (%) aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır:

$$\% \text{ inhibisyon} = [(A_k - A_n) / (A_k - A_{k\ddot{o}r})] \times 100$$

% inhibisyon, lipid peroksidasyonunu inhibe edici aktiviteyi; A_k, kontrolün absorbanansı; A_n, numunenin, yani bitki ekstresinin absorbanansı ve A_{k^{ör}}, körün absorbanansı göstermektedir.

Herbir bitki ekstresi için çizilen kalibrasyon grafiğinden IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

3. BULGULAR

3.1. DPPH Radikalini Süpürücü Aktivite Tayini Bulguları

Tablo 3.1. Metanollü bitki ekstralarının DPPH Radikalini süpürücü etkileri ^a

Bitki ekstraları ^b	İnkübasyon ortamındaki konsantrasyon (mg/ml)	DPPH radikalini süpürücü etki (% İnhibisyon)	IC ₅₀ (mg/ml)
Kontrol (Metanol)		0.0	
<i>Allium rotundum</i>	0.05	7.62 ± 3.54	0.140
	0.1	38.28 ± 2.97	
	0.2	74.80 ± 1.91	
<i>Anthemis tinctoria</i>	0.006	1.70 ± 2.04	0.020*
	0.013	27.73 ± 3.15	
	0.025	64.84 ± 1.41	
<i>Centranthus longiflorus</i>	0.013	20.04 ± 4.18	0.045*
	0.025	41.57 ± 3.77	
	0.05	53.18 ± 2.23	
	0.1	90.07 ± 1.06	
<i>Digitalis lamarckii</i>	0.025	10.35 ± 4.40	0.069*
	0.05	36.18 ± 3.31	
	0.1	75.78 ± 0.87	
<i>Fumaria asepalae</i>	0.025	15.04 ± 4.58	0.064*
	0.05	42.77 ± 3.16	
	0.1	78.32 ± 2.75	
<i>Glaucium grandiflorum var. grandiflorum</i>	0.025	19.92 ± 4.30	0.055*
	0.05	53.71 ± 2.44	
	0.1	85.16 ± 1.72	
<i>Inula britannica</i>	0.013	5.86 ± 4.10	0.033*
	0.025	39.65 ± 3.87	
	0.05	82.62 ± 2.24	
<i>Malabaila secacul</i>	0.05	7.42 ± 3.10	0.140
	0.1	35.55 ± 2.65	
	0.2	75.58 ± 1.56	
<i>Phlomis armeniaca</i>	0.013	14.61 ± 4.81	0.052*
	0.025	32.21 ± 4.76	
	0.05	49.25 ± 2.04	
	0.1	88.76 ± 0.59	
<i>Potentilla recta</i>	0.004	12.29 ± 4.32	0.014*
	0.008	26.17 ± 4.59	
	0.017	60.16 ± 4.24	
<i>Sedum acre</i>	0.013	7.81 ± 3.63	0.042*
	0.025	30.66 ± 2.90	
	0.05	59.96 ± 3.19	
<i>Sideritis galatica</i>	0.013	15.54 ± 4.16	0.049*

	0.025	32.58 ± 3.00	
	0.05	55.24 ± 2.07	
	0.1	88.76 ± 0.59	
<i>Thymus sipyleus</i>	0.006	9.77 ± 4.74	
	0.013	46.00 ± 2.01	0.019*
	0.025	62.30 ± 1.46	
<i>Zosima absinthifolia</i>	0.05	9.18 ± 3.10	
	0.1	42.19 ± 2.52	0.134
	0.2	76.17 ± 1.38	
α – tokoferol (pozitif kontrol)	0.005	25.22 ± 1.25	
	0.010	52.15 ± 2.25	0.011
	0.020	80.86 ± 0.50	

^a Her bir değer, 2 – 4 ölçüm ortalaması ± standart sapma ile birlikte gösterilmiştir.

^b Bitki ekstraktları metanol ile dilüe edilmiştir (çözücü antioksidan aktivite göstermemiştir).

* Pozitif kontrol kadar etkin bulunmuştur.

Metanollü bitki ekstraktlarında 0.1 mg/ml konsantrasyonda %36 - %90 arasında DPPH radikali üzerinde süpürücü etkiler saptanmıştır ve IC₅₀ değerleri göz önüne alındığında *A. rotundum*, *M. secacul* ve *Z. absinthifolia* dışındaki tüm bitkilerin α-tokoferol kadar anlamlı olarak DPPH radikalini süpürdükleri saptanmıştır (Tablo 3.1).

Etilasetatlı bitki ekstraktlarının *T. sipyleus*, *P. recta* ve *A. tinctoria* dışında hepsinin 0.2 mg/ml konsantrasyonda %34 - %90 arasında DPPH radikali üzerinde süpürücü etkileri saptanmıştır. IC₅₀ değerlerine bakıldığında, 14 etilasetatlı ekstreten dördünün (sırasıyla *T. sipyleus*, *P. recta*, *A. tinctoria* ve *S. acre*) α-tokoferol kadar etkili oldukları saptanmıştır (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. Etilasetatlı bitki ekstralarının DPPH Radikalini süpürücü etkileri ^a

Bitki ekstraları ^b	İnkübasyon ortamındaki konsantrasyon (mg/ml)	DPPH radikalini süpürücü etki (% İnhibisyon)	IC ₅₀ (mg/ml)
Kontrol (Etilasetat)		0.0	
<i>Allium rotundum</i>	0.1	21.22 ± 0.65	0.23
	0.2	39.55 ± 0.46	
	0.4	75.79 ± 0.28	
<i>Anthemis tinctoria</i>	0.025	11.89 ± 3.24	0.06*
	0.05	37.94 ± 2.56	
	0.1	84.96 ± 1.43	
<i>Centranthus longiflorus</i>	0.1	13.04 ± 1.61	0.31
	0.2	34.38 ± 1.38	
	0.4	64.18 ± 0.47	
<i>Digitalis lamarckii</i>	0.1	28.94 ± 0.90	0.17
	0.2	57.88 ± 0.71	
	0.4	65.90 ± 0.04	
<i>Fumaria asepalae</i>	0.1	22.35 ± 1.4	0.24
	0.2	45.85 ± 0.9	
	0.4	65.33 ± 0.6	
<i>Glaucium grandiflorum var. grandiflorum</i>	0.1	27.36 ± 3.09	0.25
	0.2	40.97 ± 2.27	
	0.4	73.93 ± 0.99	
<i>Inula britannica</i>	0.1	24.07 ± 2.47	0.19
	0.2	54.44 ± 1.08	
	0.4	82.23 ± 0.41	
<i>Malabaila secacul</i>	0.1	19.05 ± 1.41	0.25
	0.2	38.83 ± 0.83	
	0.4	75.93 ± 0.46	
<i>Phlomis armeniaca</i>	0.05	8.68 ± 2.90	0.13
	0.1	39.71 ± 1.88	
	0.2	71.54 ± 0.93	
<i>Potentilla recta</i>	0.025	32.96 ± 3.13	0.03*
	0.05	77.65 ± 2.63	
	0.1	88.10 ± 0.59	
<i>Sedum acre</i>	0.1	46.28 ± 2.16	0.11
	0.2	83.52 ± 1.00	
	0.4	91.69 ± 0.76	
<i>Sideritis galatica</i>	0.05	19.61 ± 3.39	0.12
	0.1	45.98 ± 2.29	
	0.2	90.35 ± 1.69	
<i>Thymus sipyleus</i>	0.025	40.51 ± 3.85	0.03*
	0.05	85.59 ± 2.84	
	0.1	89.87 ± 1.55	
<i>Zosima absinthifolia</i>	0.05	6.10 ± 3.02	0.22
	0.1	21.86 ± 1.36	

	0.2	46.30 ± 0.73	
	0.4	83.81 ± 0.72	
α – tokoferol (pozitif kontrol)	0.005	25.22 ± 1.25	
	0.010	52.15 ± 2.25	0.011
	0.020	80.86 ± 0.50	

^a Her bir değer, 2 – 4 ölçüm ortalaması ± standart sapma ile birlikte gösterilmiştir.

^b Bitki ekstraktları *etilasetat* ile dilüe edilmiştir (çözücü antioksidan aktivite göstermemiştir).

* Pozitif kontrol kadar etkin bulunmuştur.

3.2. Süperoksit Radikalini Süpürücü Aktivite Tayini Bulguları

Tablo 3.3. Metanollü bitki ekstraktlarının Süperoksit Radikalini süpürücü etkileri ^a

Bitki ekstraktları ^b	İnkübasyon ortamındaki konsantrasyon (mg/ml)	Süperoksit radikalini süpürücü etki (% İnhibisyon)	IC ₅₀ (mg/ml)
Kontrol (Metanol)		0.0	
<i>Allium rotundum</i>	2.5	EY	
	5	EY	
	10	EY	
<i>Anthemis tinctoria</i>	1.25	29.74 ± 2.53	
	2.5	63.83 ± 2.04	1.92
	5	86.17 ± 1.52	
<i>Centranthus longiflorus</i>	2.5	EY	
	5	EY	
	10	EY	
<i>Digitalis lamarckii</i>	2.5	EY	
	5	EY	
	10	EY	
<i>Fumaria asepalae</i>	2.5	EY	
	5	EY	
	10	EY	
<i>Glaucium grandiflorum</i> <i>var. grandiflorum</i>	2.5	EY	
	5	EY	
	10	EY	
<i>Inula britannica</i>	2.5	EY	
	5	25.53 ± 2.64	8.50
	10	60.64 ± 1.07	
<i>Malabaila secacul</i>	2.5	EY	
	5	EY	
	10	EY	
<i>Phlomis armeniaca</i>	2.5	EY	
	5	EY	

	10	EY	
<i>Potentilla recta</i>	2.5	34.48 ± 3.80	6.11
	5	37.93 ± 2.43	
	10	58.62 ± 1.52	
<i>Sedum acre</i>	2.5	48.94 ± 2.54	2.87
	5	68.09 ± 1.07	
	10	75.53 ± 0.65	
<i>Sideritis galatica</i>	2.5	EY	
	5	EY	
	10	12.77 ± 0.17	
<i>Thymus sipyleus</i>	2.5	EY	8.14
	5	26.60 ± 1.58	
	10	63.83 ± 0.82	
<i>Zosima absinthifolia</i>	2.5	EY	
	5	EY	
	10	EY	
α – tokoferol (pozitif kontrol)	0.108	38.18 ± 0.7	0.13
	0.216	75.47 ± 1.4	
	0.431	90.57 ± 2.8	

^a Her bir değer, 2 – 4 ölçüm ortalaması ± standart sapma ile birlikte gösterilmiştir.

^b Bitki ekstraları metanol ile dilüe edilmiştir (çözücü antioksidan aktivite göstermemiştir).

EY: Etki yoktur

Metanollü ekstraların süperoksit anyonunu süpürücü etkilerine bakıldığında, *A. tinctoria* (IC₅₀: 1.92) ve *S. acre*'nin (IC₅₀: 2.87) değerleriyle α-tokoferol'e yakın etki gösterdikleri saptanmıştır. Burada, α-tokoferol kadar olmasa da *P. recta*, *T. sipyleus* ve *I. britannica*'nın süperoksit anyonu radikali üzerine 5 mg/ml konsantrasyonlarda kontrol çözücüye göre sırasıyla %37.93, %26.60 ve %25.53 oranlarında inhibisyon gösterdikleri saptanmıştır (Tablo 3.3).

Etilasetatlı ekstraların süperoksit anyonunu süpürücü etkileri incelendiğinde, bitki ekstralarının konsantrasyona bağlı olarak süperoksit radikali üzerine inhibitör etkileri gözlenmiş ve sırasıyla *A. rotundum* (IC₅₀: 0.11), *T. sipyleus* (IC₅₀: 0.59), *S. acre* (IC₅₀: 0.63), *M. secacul* (IC₅₀: 0.88) ve *P. recta* (IC₅₀: 0.94) bitkilerinin α-tokoferole en yakın etkiyi gösterdikleri saptanmıştır (Tablo 3.4).

Tablo 3.4. Etilasetatlı bitki ekstralarının Süperoksit Radikalini süpürücü etkileri ^a

Bitki ekstraları ^b	İnkübasyon ortamındaki konsantrasyon (mg/ml)	Süperoksit radikalini süpürücü etki (% İnhibisyon)	IC ₅₀ (mg/ml)
Kontrol (Etilasetat)		0.0	
<i>Allium rotundum</i>	0.063	38.68 ± 3.12	0.11*
	0.125	63.97 ± 1.04	
	0.25	72.06 ± 0.98	
	0.5	76.47 ± 0.88	
<i>Anthemis tinctoria</i>	0.83	3.77 ± 4.67	1.82
	1.67	57.55 ± 4.00	
	3.33	93.40 ± 2.04	
<i>Centranthus longiflorus</i>	0.83	EY	2.32
	1.67	37.74 ± 1.04	
	3.33	94.34 ± 0.87	
<i>Digitalis lamarckii</i>	0.83	1.47 ± 3.11	2.66
	1.67	15.44 ± 1.03	
	3.33	81.62 ± 1.33	
<i>Fumaria asepalae</i>	1.25	10.38 ± 2.43	1.96
	2.5	77.36 ± 1.33	
	5	98.11 ± 2.66	
<i>Glaucium grandiflorum var. grandiflorum</i>	1.25	31.13 ± 2.81	1.30
	2.5	96.23 ± 1.42	
	5	100.00 ± 2.73	
<i>Inula britannica</i>	0.83	17.65 ± 1.41	1.12
	1.67	86.03 ± 1.03	
	3.33	100.00 ± 1.45	
<i>Malabaila secacul</i>	0.83	43.30 ± 1.66	0.88*
	1.67	83.02 ± 1.66	
	3.33	96.23 ± 2.30	
<i>Phlomis armeniaca</i>	1.25	37.74 ± 3.33	1.32
	2.5	90.23 ± 2.16	
	5	100.0 ± 2.66	
<i>Potentilla recta</i>	0.83	33.96 ± 2.85	0.94*
	1.67	85.85 ± 1.34	
	3.33	98.11 ± 1.04	
<i>Sedum acre</i>	0.31	18.38 ± 2.07	0.63*
	0.63	54.41 ± 1.03	
	1.25	91.18 ± 2.07	
	2.5	97.79 ± 1.44	
<i>Sideritis galatica</i>	0.83	38.68 ± 1.65	1.36
	1.67	53.77 ± 2.61	
	3.33	88.68 ± 0.99	
<i>Thymus sipyleus</i>	0.63	49.26 ± 1.03	0.62*
	1.25	85.71 ± 2.07	
	2.5	99.26 ± 1.04	

<i>Zosima absinthifolia</i>	0.83	13.21 ± 1.60	1.21
	1.67	81.13 ± 1.33	
	3.33	95.28 ± 2.17	
α – tokoferol (pozitif kontrol)	0.108	38.18 ± 0.7	0.13
	0.216	75.47 ± 1.4	
	0.431	90.57 ± 2.8	

^a Her bir değer, 2 – 4 ölçüm ortalaması ± standart sapma ile birlikte gösterilmiştir.

^b Bitki ekstraları *etilasetat* ile dilüe edilmiştir (çözücü antioksidan aktivite göstermemiştir).

EY: Etki yoktur

* Pozitif kontrol kadar etkin bulunmuştur.

3.3. Lipid Peroksidasyonu Üzerine İnhibitör Etki Tayini Bulguları

Tablo 3.5. Metanollü bitki ekstralarının lipid peroksidasyonu üzerine inhibitör etkileri ^a

Bitki ekstraları ^b	İnkübasyon ortamındaki konsantrasyon (mg/ml)	µmol MDA/ g doku	Lipid peroksidasyonunun inhibisyonu (% İnhibisyon)	IC ₅₀ (mg/ml)
Kontrol (Metanol)			0.0	
<i>Allium rotundum</i>	0.3125	0.49 ± 0.006	37.67 ± 0.71	0.44
	0.625	0.28 ± 0.01	63.99 ± 1.43	
	1.25	0.16 ± 0.01	79.46 ± 1.32	
<i>Anthemis tinctoria</i>	0.3125	0.62 ± 0.01	21.47 ± 1.12	0.84
	0.625	0.50 ± 0.01	37.53 ± 0.71	
	1.25	0.23 ± 0.01	71.08 ± 1.32	
<i>Centranthus longiflorus</i>	0.3125	0.62 ± 0.07	21.47 ± 6.20	0.52
	0.625	0.28 ± 0.01	64.14 ± 1.63	
	1.25	0.20 ± 0.00	74.55 ± 0.92	
<i>Digitalis lamarckii</i>	0.3125	0.65 ± 0.01	17.86 ± 0.81	0.54
	0.625	0.28 ± 0.02	64.71 ± 1.23	
	1.25	0.14 ± 0.01	82.07 ± 2.04	
<i>Fumaria asepalae</i>	0.3125	0.48 ± 0.01	29.55 ± 1.83	0.65
	0.625	0.42 ± 0.01	47.36 ± 1.63	
	1.25	0.26 ± 0.01	67.46 ± 1.53	
<i>Glaucium grandiflorum var. grandiflorum</i>	0.3125	0.61 ± 0.01	23.07 ± 0.81	0.69
	0.625	0.38 ± 0.01	49.55 ± 0.51	
	1.25	0.28 ± 0.07	74.14 ± 0.30	
	2.5	0.12 ± 0.11	84.67 ± 0.10	
<i>Inula britannica</i>	0.3125	0.49 ± 0.03	37.53 ± 3.27	0.41
	0.625	0.25 ± 0.01	68.33 ± 1.53	
	1.25	0.14 ± 0.01	81.78 ± 1.73	

<i>Malabaila secacul</i>	0.625	0.57 ± 0.02	28.13 ± 3.27	1.12
	1.25	0.35 ± 0.09	56.18 ± 4.57	
	2.5	0.17 ± 0.02	78.89 ± 1.94	
<i>Phlomis armeniaca</i>	0.3125	0.76 ± 0.03	3.69 ± 3.47	0.85
	0.625	0.45 ± 0.01	42.44 ± 1.22	
	1.25	0.18 ± 0.01	77.73 ± 0.92	
<i>Potentilla recta</i>	0.3125	0.47 ± 0.07	40.42 ± 5.30	0.42
	0.625	0.27 ± 0.01	65.73 ± 1.12	
	1.25	0.17 ± 0.02	79.03 ± 1.84	
<i>Sedum acre</i>	0.3125	0.53 ± 0.03	33.04 ± 3.88	0.57
	0.625	0.38 ± 0.05	51.84 ± 6.04	
	1.25	0.22 ± 0.01	72.38 ± 1.43	
<i>Sideritis galatica</i>	2.5	0.49 ± 0.02	38.25 ± 2.55	3.44
	5	0.31 ± 0.005	60.81 ± 0.61	
	10	0.20 ± 0.004	74.11 ± 0.51	
<i>Thymus sipyleus</i>	0.3125	0.42 ± 0.03	46.49 ± 4.89	0.38
	0.625	0.28 ± 0.01	64.86 ± 2.24	
	1.25	0.23 ± 0.01	71.37 ± 1.53	
<i>Zosima absinthifolia</i>	0.625	0.45 ± 0.02	42.44 ± 2.76	0.87
	1.25	0.31 ± 0.01	61.39 ± 1.53	
	2.5	0.16 ± 0.01	80.33 ± 0.92	
α – tokoferol (pozitif kontrol)	0.054	0.48 ± 0.010	39.26 ± 1.32	0.084
	0.108	0.23 ± 0.002	70.79 ± 0.31	
	0.216	0.16 ± 0.004	79.75 ± 0.61	
	0.431	0.15 ± 0.006	81.20 ± 0.81	

^a Her bir değer, 2 – 4 ölçüm ortalaması ± standart sapma ile birlikte gösterilmiştir.

^b Bitki ekstraları metanol ile dilüe edilmiştir (çözücü antioksidan aktivite göstermemiştir).

Metanollü bitki ekstralarının konsantrasyona bağlı olarak lipid peroksidasyon üzerinde inhibe edici etkileri incelendiğinde, *S. galatica* dışındaki bitkilerde 1.25 mg/ml konsantrasyonda kontrol çözümüye göre %56 - %82 arasında inhibisyon gözlemlendiği saptanmıştır. IC₅₀ değerlerine bakıldığında grubun en güçlü üyesi *T. sipyleus* olarak bulunmuş, bunu sırasıyla *I. britannica*, *P. recta* ve *A. rotundum* izlemiştir (Tablo 3.5).

Tablo 3.6. Etilasetatlı bitki ekstralarının lipid peroksidasyonu üzerine inhibitör etkileri ^a

Bitki ekstraları ^b	İnkübasyon ortamındaki konsantrasyon (mg/ml)	nmol MDA/g doku	Lipid peroksidasyonunun inhibisyonu (% İnhibisyon)	IC ₅₀ (mg/ml)
Kontrol (Etilasetat)			0.0	
<i>Allium rotundum</i>	0.625	36.55 ± 2.87	11.11 ± 6.98	1.87
	1.25	21.32 ± 1.43	48.15 ± 3.49	
	2.5	20.31 ± 2.87	54.62 ± 6.98	
	5	17.26 ± 2.15	60.02 ± 5.23	
<i>Anthemis tinctoria</i>	0.3125	35.53 ± 2.15	13.58 ± 5.23	0.74
	0.625	21.32 ± 2.58	48.15 ± 5.73	
	1.25	9.14 ± 1.43	77.78 ± 3.49	
<i>Centranthus longiflorus</i>	0.625	24.37 ± 2.53	40.74 ± 6.22	0.67
	1.25	6.09 ± 2.15	85.19 ± 5.23	
	2.5	2.03 ± 1.87	95.06 ± 4.98	
<i>Digitalis lamarckii</i>	0.15625	38.58 ± 1.43	6.17 ± 3.49	0.43
	0.3125	24.37 ± 1.43	40.74 ± 3.49	
	0.625	10.15 ± 2.15	75.31 ± 5.23	
<i>Fumaria asepalae</i>	0.3125	29.44 ± 2.15	28.40 ± 5.23	0.58
	0.625	19.29 ± 1.87	53.09 ± 4.98	
	1.25	5.07 ± 1.87	87.65 ± 4.98	
<i>Glaucium grandiflorum var. grandiflorum</i>	0.3125	21.32 ± 1.43	48.15 ± 3.49	0.34
	0.625	9.14 ± 2.87	77.78 ± 6.89	
	1.25	2.03 ± 2.15	95.06 ± 5.23	
<i>Inula britannica</i>	0.3125	23.35 ± 2.15	43.21 ± 5.23	0.39
	0.625	13.19 ± 1.43	67.90 ± 3.49	
	1.25	7.11 ± 1.43	82.72 ± 3.49	
<i>Malabaila secacul</i>	0.625	26.39 ± 1.43	35.80 ± 3.49	0.99
	1.25	18.27 ± 0.71	55.56 ± 1.74	
	2.5	14.21 ± 2.15	65.43 ± 5.23	
<i>Phlomis armeniaca</i>	0.3125	24.37 ± 1.87	40.74 ± 4.98	0.40
	0.625	13.19 ± 1.43	67.90 ± 3.49	
	1.25	7.11 ± 2.15	82.72 ± 5.23	
<i>Potentilla recta</i>	0.625	24.36 ± 2.15	40.74 ± 5.23	0.85
	1.25	15.23 ± 2.15	62.96 ± 5.23	
	2.5	11.17 ± 1.43	72.84 ± 3.49	
<i>Sedum acre</i>	0.3125	32.48 ± 0.72	20.99 ± 1.74	0.68
	0.625	20.31 ± 2.15	48.62 ± 5.23	
	1.25	10.16 ± 1.58	75.31 ± 4.73	
<i>Sideritis galatica</i>	0.625	30.45 ± 1.43	25.93 ± 3.49	1.01
	1.25	15.22 ± 2.15	62.96 ± 5.23	
	2.5	13.19 ± 0.31	67.90 ± 1.48	
	5	11.17 ± 0.31	72.84 ± 1.48	
<i>Thymus sipyleus</i>	0.3125	23.35 ± 1.87	43.21 ± 4.98	0.43
	0.625	16.24 ± 0.71	60.49 ± 1.74	

	1.25	10.15 ± 1.87	75.31 ± 4.98	
<i>Zosima absinthifolia</i>	1.25	24.36 ± 2.15	30.74 ± 5.23	
	2.5	20.31 ± 1.43	50.62 ± 3.49	2.42
	5	15.23 ± 2.15	62.96 ± 5.23	
α – tokoferol (pozitif kontrol)	0.054	480.00 ± 10.16	39.26 ± 1.32	
	0.108	230.86 ± 2.42	70.79 ± 0.31	
	0.216	160.00 ± 4.48	79.75 ± 0.61	0.084
	0.431	148.57 ± 6.46	81.20 ± 0.81	

^a Her bir değer, 2 – 4 ölçüm ortalaması ± standart sapma ile birlikte gösterilmiştir.

^b Bitki ekstraları *etilasetat* ile dilüe edilmiştir (çözücü antioksidan aktivite göstermemiştir).

Etilasetatlı bitki ekstralarının lipid peroksidasyon üzerinde inhibe edici etkileri incelenmiş ve *A. rotundum* ile *Z. absinthifolia* haricinde diğer tüm bitkilerin α -tokoferol'e en yakın aktiviteyi gösterdikleri saptanmıştır (Tablo 3.6).

3.4. Uygulanan Yöntemlere Göre Araştırılan Bitkilerin Aktivitelerine Göre Sıralamaları

Tablo 3.7. Metanollü bitki ekstraları içinde en yüksek aktiviteyi gösteren beş bitki sıralaması

	DPPH Radikalini Süpürücü Etki	Süperoksit Anyon Radikalini Süpürücü Etki	Lipid Peroksidasyonunun İnhibisyonu
1	<i>Potentilla recta</i>	<i>Anthemis tinctoria</i>	<i>Thymus sipyleus</i>
2	<i>Thymus sipyleus</i>	<i>Sedum acre</i>	<i>Inula britannica</i>
3	<i>Anthemis tinctoria</i>	<i>Potentilla recta</i>	<i>Potentilla recta</i>
4	<i>Inula britannica</i>	<i>Thymus sipyleus</i>	<i>Allium rotundum</i>
5	<i>Sedum acre</i>	<i>Inula britannica</i>	<i>Centranthus longiflorus</i>

Tablo 3.8. Etilasetatlı bitki ekstraları içinde en yüksek aktiviteyi gösteren beş bitki sıralaması

	DPPH Radikalini Süpürücü Etki	Süperoksit Anyon Radikalini Süpürücü Etki	Lipid Peroksidasyonunun İnhibisyonu
1	<i>Thymus sipyleus - Potentilla recta</i>	<i>Allium rotundum</i>	<i>Glaucium grandiflorum var. grandiflorum</i>
2	<i>Anthemis tinctoria</i>	<i>Thymus sipyleus</i>	<i>Inula britannica</i>
3	<i>Sedum acre</i>	<i>Sedum acre</i>	<i>Phlomis armeniaca</i>
4	<i>Sideritis galatica</i>	<i>Malabaila secacul</i>	<i>Thymus sipyleus - Digitalis lamarckii</i>
5	<i>Phlomis armeniaca</i>	<i>Potentilla recta</i>	<i>Fumaria asejala</i>

3.5. İstatistiksel analiz

Her değer 2–4 ölçüme ait analizlerin ortalamasıdır. Veriler ortalama \pm standart sapma ile birlikte verilmiştir. SPSS (SPSS Inc. versiyon 11.0) programı kullanılarak tek yönlü ANOVA varyans analizi uygulanmış ve ortalamaların α -tokoferole göre farklılıkları *Dunnett* testi ile belirlenmiştir. $p < 0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4. TARTIŞMA

Bitkilerin antioksidan potansiyellerinin tayini ile ilgili her gün yeni çalışmalar yapılmaktadır. Antioksidanlar için uluslararası bir tanım bulunmamakla birlikte çeşitli şekillerde tanımlanmaktadır. Genel olarak antioksidanlar, kolaylıkla oksidasyona uğrayabilen lipidler, proteinler, DNA ve karbonhidratlar gibi moleküllerin oksidasyonunu önleyebilen maddeler olarak tanımlanmaktadırlar. Antioksidan etki, enerji bağları ve standart indirgeme potansiyelleri ile değerlendirilmektedir. Antioksidan etkinin değerlendirilmesi değişik durumlarda farklı antioksidan mekanizmaların aydınlatılmasına dayanmaktadır. Polifenolik bileşikler, bitkiler, baharatlar ve çayların antioksidan etkisi ile ilgili yapılan çalışmalarda değişik sonuçlar alındığı saptanmıştır (Bastianetto ve Quirion, 2002; Amarowicz ve ark., 2004; Nagai ve ark., 2005; Wei ve ark., 2006). Flavonoidler, tanenler, kumarinler gibi çeşitli fenolik antioksidanların ve son zamanlarda prosiyanidinlerin, doza bağlı olarak, radikaller üzerine süpürücü etkilerinin olduğu ve bu nedenle serbest radikallerin neden olduğu patolojilerde terapötik ilaç olarak kullanılabilecekleri bildirilmektedir (Kim ve ark., 2003; Fenglin ve ark., 2004; Ljubuncic ve ark., 2005; Maiga ve ark., 2005; Djeridane ve ark., 2006).

Bu çalışmada, belli bir yöredeki farklı familyalara ait değişik 14 bitkiye ait etilasetat ve metanol ekstratlarının antioksidan etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla *Allium rotundum* (Liliaceae), *Anthemis tinctoria* L., *Centranthus longiflorus* Stev. (Valerianaceae), *Digitalis lamarckii* Ivan., *Fumaria asepalae* Boiss. (Papaveraceae), *Glaucium grandiflorum* Boiss.&Huet var. *grandiflorum*, *Inula britannica* L., *Malabaila secacul* Banks&Sol, *Phlomis armeniaca* Willd., *Potentilla recta* L., *Sedum acre* L., *Sideritis galatica* Bornm., *Thymus sipyleus* Boiss. ve

Zosima absinthifolia (Vent.) Link bitkilerinin metanollü ve etilasetatlı ekstreleri kullanılmıştır.

Allium'un farklı türlerinin antioksidan aktivitelerinin de incelendiği ve saptandığı çalışmalar yapılmıştır (Helen ve ark., 2000; Egert ve Tevini, 2002; Nuutila ve ark., 2003; Durak ve ark., 2004; Saravanan ve Prakash, 2004; Fatima ve Ahmad, 2005; Tepe ve ark., 2005b; Stajner ve ark., 2004; Stajner ve ark., 2006). *Allium rotundum* da bu çalışmada olası antioksidan etkinliği yönünden incelenmiştir. Yaptığımız çalışmada, *Allium rotundum*'un hem metanollü hem etilasetatlı ekstresinin DPPH radikalini süpürücü etkileri zayıf bulunmuştur. Süperoksit anyon radikalini süpürücü etki bakımından bitkinin metanollü ekstresi etkisiz bulunmuştur, etilasetatlı ekstresinin ise güçlü süpürücü etkisi gözlenmiştir. Bitkinin metanollü ekstresinin lipid peroksidasyon üzerine kuvvetli derecede inhibitör etkisi saptanmıştır, etilasetatlı ekstresinin ise lipid peroksidasyon üzerine çok az etkisi bulunmuştur.

Anthemis'in diğer türleri üzerinde yapılan antioksidan aktivite tayini çalışmaları bulunmaktadır (Bandoniene ve ark., 2000). Flavonoid taşıyan bitkilerin antioksidan özelliğinden yola çıkılarak (Bathori ve ark., 2004) bu bitkide antioksidan aktivite araştırması yapılmıştır. *Anthemis tinctoria*'nın hem metanollü hem etilasetatlı ekstrelerinin DPPH radikalini süpürücü etkilerinin kuvvetli olduğu saptanmıştır. Süperoksit radikalini süpürme yeteneği açısından, bitkinin metanollü ekstresi kuvvetli etkili bulunurken etilasetatlı ekstresi daha az etkili bulunmuştur. Bitkinin lipid peroksidasyonu inhibe edici etkisi her iki ekstre için de kuvvetli etkili olarak gözlenmiştir.

A. tinctoria'nın muhtemelen bileşimindeki daha önceki çalışmalarla tespit edilmiş olan fenolik yapılar ve dolayısıyla polifenolik yapıların hidrojen donörü olması nedeniyle radikal süpürücü etkilerinin lipid peroksidasyonu inhibe edici etkilerine nazaran daha kuvvetli olduğu görülmüştür. Bu polifenollerin metal iyonlarına bağlanması nedeniyle de metal iyonlarının katalizlediği radikal oluşumunu da inhibe ettikleri düşünülmektedir.

Centranthus longiflorus, yapısında flavonoidler, triterpen bileşikler, iridoid glikozidler, fenilpropanoid glikozidler ve valepotriatlar içermektedir (Süleyman ve ark., 2007). Hücre kültüründe yapılan çalışmalarda iridoid glikozidler ve fenilpropanoid glikozidlerin radikal süpürücü etkileri saptanmıştır (Lin ve ark., 2006). Bu çalışmada da *Centranthus longiflorus* olası antioksidan etkinliği yönünden incelenmiştir. Yaptığımız bu çalışmada, *Centranthus longiflorus*'un metanollü ekstresi DPPH radikalini güçlü bir biçimde süpürücü etki gösterirken, etilasetatlı ekstresi ise zayıf etkili bulunmuştur. Metanollü ekstresinin süperoksit radikalini süpürücü etkisi bulunamamıştır, ancak etilasetatlı ekstresi çok zayıf derecede süperoksit radikalini süpürücü etki göstermiştir. Bitkinin her iki ekstresi de lipid peroksidasyon üzerine güçlü inhibitör etki göstermişlerdir.

İnsan glioblastoma hücrelerinde yapılan bir çalışmada *D. purpurea* ve *D. lanata* türlerinde antikanser etkinlik saptanmıştır (Haux, 1999). α -tokoferol ile karşılaştırıldığında, *Digitalis lamarckii*'nin hem metanollü hem de etilasetatlı ekstrelerinin DPPH radikali üzerine orta kuvvette süpürücü etki gösterdikleri görülmüştür. Metanollü ekstre süperoksit radikalini süpürücü etki göstermemiştir. Etilasetatlı ekstrenin ise süperoksit radikalini süpürücü

etkisi yok denecek kadar az çıkmıştır. Ancak bitkinin her iki ekstresinin de lipid peroksidasyonu üzerine inhibitör etkileri diğer araştırdığımız bitkilere göre daha fazla gözlenmiştir. Ancak α -tokoferol ile kıyaslandığında daha zayıf bir etki saptanmıştır. Tüm bu sonuçlar dikkate alındığında, bu bitkinin antioksidan etkinliğini daha çok radikal süpürücü olarak gösterdiğini söylemek mümkündür.

Fumaria asepala'nın antioksidan aktivitesini araştırdığımız bu çalışmada, DPPH radikalini süpürücü etkileri metanollü ekstrede orta kuvvetli, etilasetatlı ekstresi için ise zayıf etkili olarak bulunmuştur. Bitkinin süperoksit radikalini süpürücü etkilerine bakıldığında, metanollü ekstresinin bu radikali süpürücü etki göstermediği, etilasetatlı ekstresinin ise çok düşük etkili olduğu gözlenmiştir. *F. asepala*'nın metanollü ekstresinin lipid peroksidasyonunu inhibe edici etkisi zayıf bulunmuştur, etilasetatlı ekstrenin lipid peroksidasyonunu inhibe edici etkisi ise metanollü ekstreya nazaran daha fazla bulunmuştur.

Glaucium grandiflorum ekstrelerinin antienflamatuar ve analjezik etkilerinin olduğu bildirilmektedir (Morteza-Semnani ve ark., 2004). Antienflamatuar etkinliğin antioksidan etkiyle ilişkili olduğunu araştıran çalışmalar mevcuttur (Morteza-Semnani ve ark., 2002; Morteza-Semnani ve ark., 2004). Bu amaçla bu çalışmada *Glaucium grandiflorum*'un metanollü ve etilasetatlı ekstrelerinin antioksidan etkinliğine bakılmıştır. *Glaucium grandiflorum*'un metanollü ekstresinin, pozitif kontrol olarak α -tokoferol ile kıyaslandığında, DPPH radikalini etkin bir biçimde uzaklaştırdığı, etilasetatlı ekstresinin ise DPPH radikalini süpürücü etkisinin buna kıyasla daha az olduğu saptanmıştır. Süperoksit radikalini süpürücü etkileri incelendiğinde,

metanollü ekstresinin süperoksit radikali üzerine etki göstermediği, etilasetatlı ekstresinin ise orta derecede etki gösterdiği gözlenmiştir. *G. grandiflorum*'un metanollü ekstresinin lipid peroksidasyon üzerine orta derecede inhibe edici etki gösterdiği, etilasetatlı ekstresinin ise kuvvetli etkisinin olduğu saptanmıştır.

G. grandiflorum'un her iki ekstresinin de DPPH radikalini süpürücü etkileri bulunmasına karşın, süperoksit anyonu üzerine sadece etilasetatlı ekstresinin etkili olduğu görülmüştür. Lipid peroksidasyon üzerine ise her iki ekstre de inhibe edici etki göstermiştir. Bu farklılıkların, deney mekanizmalarının farklılığından ileri geldiği gibi çözücülerin etkilerinden dolayı da ortaya çıktığı düşünülmektedir. Bitkinin gösterdiği antioksidan aktivitelerin ise bileşiminde bulunan flavonoidlere ve fenolik yapılara bağlı olabileceği düşünülmektedir ve bitki ekstresinin göstermiş olduğu antioksidan etkinin Morteza ve ark. (2004)'larının yapmış olduğu çalışmada saptanan antienflamatuar etkinin nedeni olduğu düşünülebilir.

Inula britannica bitkisinin ekstrelerinin antienflamatuar, antibakteriyel, anihepatitik, ve anti-tümör etkilerinin olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır (Kim ve ark., 2002; Han ve ark., 2004; Liu ve ark., 2005). *Inula* türleri fenolik bileşikler ve flavonoidler içerdiği için antioksidan etkileri de araştırılmıştır (Park ve ark., 2000; Kim ve ark., 2002). Fitokimyasal bileşim çalışmaları sonucunda *I. britannica*'nın bileşiminde kansere karşı sitotoksik özellikler gösteren bazı seskiterpen laktonlarının olduğu bulunmuştur (Shao ve ark., 1996; Liu ve ark., 2004; Liu ve ark., 2005). Bazı *Inula* türlerinin bileşimlerinde bulunan flavonoidlerden (patuletin, nepetin, aksillarin gibi) dolayı antioksidan ve bununla ilişkili olarak antienflamatuar ve

nöroprotektif etkilerinin gözleendiği daha önce yapılan çalışmalarla bildirilmiştir (Kim ve ark., 2002; Schinella ve ark., 2002). Yaptığımız çalışmada, *Inula britannica*'nın metanollü ekstresinin kuvvetli bir biçimde DPPH radikalini süpürücü etki gösterdiği, etilasetatlı ekstresinin ise DPPH radikali üzerine orta derecede etkili olduğu gözlenmiştir. Bitkinin metanollü ekstresinin süperoksit radikali üzerine çok az süpürücü etki gösterdiği, etilasetatlı ekstresinin ise orta derecede etki gösterdiği saptanmıştır. *I. britannica*'nın her iki ekstresinin de lipid peroksidasyon üzerine güçlü derecede inhibe edici etki gösterdikleri gözlenmiştir.

Bitkinin metanollü ekstresinin DPPH radikali üzerine kuvvetli süpürücü etki göstermesine rağmen süperoksit radikali üzerine çok zayıf süpürücü etki göstermesi, metanollü ekstreye geçen aktif bileşenlerinin yapısında hidrojen donörü polifenolik bileşiklerin bulunmasından kaynaklanabildiğini düşündürmektedir. Ekstreler arasındaki sonuç farklılıklarının, çözücülerin polarite farkları ve dolayısıyla ekstreye geçen aktif bileşenlerin cinsi ve miktarı ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Malabaila secacul'un metanollü ekstresinin DPPH radikali üzerine süpürücü etkisi zayıf bulunmuştur, hatta araştırdığımız diğer bitkilerin metanollü ekstreleri arasında en düşük etkilidir. Etilasetatlı ekstresi de DPPH radikalini süpürücü etki bakımından zayıf etkili bulunmuştur. Bitkinin metanollü ekstresinin süperoksit radikali üzerine hiçbir etkisi tespit edilememesine karşın, etilasetatlı ekstresi güçlü derecede süperoksit radikalini süpürücü etki göstermiştir. *M. secacul*'un her iki ekstresinin de lipid peroksidasyon üzerine inhibitör etkisi zayıf olarak bulunmuştur.

Bazı *Phlomis* türlerinin antioksidan etkinliği ile ilgili yapılmış çalışmalar bulunmaktadır (Kynakopoulou ve ark., 2001; Couladis ve ark., 2003). Bu özelliğin içerdikleri flavonoidlerle ilgili olduğu düşünülmektedir. Yaptığımız çalışmada, *Phlomis armeniaca'nın* hem metanollü hem de etilasetatlı ekstrelerinin DPPH radikalini kuvvetli derecede süpürücü etki gösterdikleri gözlenmiştir. *P. armeniaca'nın* metanollü ekstresinin süperoksit radikalini süpürücü etkisi bulunamamıştır, ancak etilasetatlı ekstresinin süperoksit radikalini süpürücü etkisi orta derecede bulunmuştur. Lipid peroksidasyon üzerine ise, bitkinin metanollü ekstresi orta derecede inhibe edici etki gösterirken, etilasetatlı ekstresi güçlü derecede inhibe edici etki göstermiştir.

Potentilla türlerinin antioksidan özelliğine dair yapılmış çeşitli araştırmalar bulunmaktadır (Vennat ve ark., 1994; Bos ve ark., 1996; Kirby ve Schmidt, 1997; Bol'shakova ve ark., 1998; Wilkes ve Glasl, 2001; Miliauskas ve ark., 2004; Turanlı ve Schaffner, 2004; Chen ve ark., 2005; Avcı ve ark., 2006). Fenolik bileşiklerden flavonoidler, glikozidler, tanninler içermektedir. Bu bileşiklerden dolayı bu çalışmada antioksidan etkinliği araştırılmıştır. *Potentilla recta'nın* metanollü ve etilasetatlı ekstreleri, DPPH radikalini süpürücü etkileri bakımından α -tokoferol ile kıyaslandıklarında ve ayrıca araştırılan diğer tüm bitki ekstreleri içinde en kuvvetli etkileri göstermektedirler. Bitkinin metanollü ekstresi süperoksit anyon radikalini süpürücü etkisi bakımından etkilidir, ancak etkisi çok zayıf gözlenmiştir. Etilasetatlı ekstresinin ise süperoksit radikalini güçlü süpürücü etkisi bulunmuştur. *P. recta'nın* metanollü ekstresinin lipid peroksidasyonu üzerine inhibitör etkisi oldukça kuvvetlidir, etilasetat ekstresinin inhibitör etkisi ise daha az olmakla birlikte güçlüdür. *P. recta'nın* göstermiş olduğu bu

etkinin nedeni yapısındaki fenolik bileşikler ve flavonoidlere bağlanabilmektedir.

Bazı *Sedum* türlerinin antienflamatuar etkisiyle ilgili yapılmış çalışmalar bulunmaktadır (Kim ve ark., 2004). Antienflamatuar etkinliğin antioksidan etkiyle bağlantısı olabileceği düşünülmüştür ve bu nedenle antioksidan etkinlik araştırılmıştır. Bu çalışmada, *Sedum acre*'nin metanollü ve etilasetatlı ekstrelerinin DPPH radikalini güçlü bir biçimde süpürücü etki gösterdikleri gözlenmiştir. Süperoksit radikali üzerine ise, bitkinin metanollü ekstresi kuvvetli etki göstermiştir. Etilasetatlı ekstresinin de süperoksit radikalini güçlü süpürücü etkisi bulunmuştur. Bitkinin her iki ekstresi de lipid peroksidasyon üzerine güçlü inhibe edici etki göstermişlerdir.

S. acre'nin bileşimindeki polar yapılardan dolayı antioksidan aktivitesi bakımından radikal süpürücü ve lipid peroksidasyon önleyici etkilerinin fazla olmasına bağlı olarak antioksidan etkinlik gösterdiği ve bitkinin antienflamatuar ve sikatrizan etkilerinin antioksidan etkisiyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Bazı *Sideritis* türlerinin içerdikleri flavonoidlere bağlı olarak antioksidan aktiviteleri saptanmıştır (Triantaphyllou ve ark., 2001; Gabrieli ve ark., 2005). Değişik kaynaklarda bu cinsin uçucu yağından dolayı antioksidan, antibakteriyel, antiülser ve antienflamatuar etkilerini olduğu bildirilmektedir (Basile ve ark., 2006; Tepe ve ark., 2006c). Yaptığımız bu çalışmada da, *Sideritis galatica*'nın metanollü ekstresinin DPPH radikalini etkin bir biçimde süpürdüğü saptanmıştır, etilasetatlı ekstresinin ise orta derecede etkili olduğu gözlenmiştir. Süperoksit radikali üzerine bitkinin

metanollü ekstresi etki göstermemiştir, etilasetatlı ekstresinin ise orta derecede süpürücü etkisi gözlenmiştir. Lipid peroksidasyon üzerine metanollü ekstre çok zayıf inhibe edici etki, etilasetatlı ekstre ise orta derecede inhibe edici etki göstermiştir. Bitkinin yapısındaki fenolik bileşenlerden dolayı DPPH radikali üzerine güçlü süpürücü etki gösterdiği düşünülebilir.

Thymus türlerinin bazılarının antioksidan özelliği bilinmektedir (Ismaili ve ark., 2004; Tepe ve ark., 2004). Tepe ve ark. (2005a) Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden elde ettikleri iki *Thymus sipyleus* varyetesinde bu bitkilerin uçucu yağlarındaki antioksidan etkiyi araştırmışlardır. Bazı *Thymus* türleri üzerinde de uçucu yağlarından dolayı antimikrobiyal ve antioksidan etki araştırmaları yapılmıştır ve özellikle yapılarındaki timol ve karvakrol gibi polifenolik bileşiklerden kaynaklanan etkiler saptanmıştır (Ismaili ve ark., 2004; Miguel ve ark., 2004; Sokmen ve ark., 2004; Sacchetti ve ark., 2005; Vitalini ve ark., 2006). Bu çalışmada da, *Thymus sipyleus*'un antioksidan aktivitesi araştırılmıştır. Hem metanollü hem de etilasetatlı ekstrelerinin DPPH radikalini güçlü derecede süpürücü etkilerinin bulunduğu gözlenmiştir. Süperoksit radikali üzerine metanollü ekstresi çok zayıf süpürücü etki gösterirken, etilasetatlı ekstresi süperoksit radikalini süpürme açısından araştırılan diğer tüm bitki ekstreleri arasında güçlü etki göstermiştir. *T. sipyleus*'un hem metanollü hem de etilasetatlı ekstrelerinin lipid peroksidasyonunu güçlü derecede inhibe ettikleri saptanmış olup lipid peroksidasyonunu inhibe edici etkileri tüm bitki ekstrelerinden daha yüksek bulunmuştur.

T. sipyleus'un yapısındaki fenolik bileşiklerden dolayı, hem lipid peroksidasyon üzerine zincir-kırıcı hem de radikal süpürücü etkileri bakımından oldukça belirgin antioksidan potansiyellerinin bulunduğu saptanmıştır. Metanollü ve etilasetatlı ekstreleri arasındaki farklılığa sebep olarak bu çözücülere geçen etken madde miktarı ve içeriğindeki değişiklikleri söylemek mümkündür.

Zosima absinthifolia'nın hem metanollü hem etilasetat ekstresinin DPPH radikalini zayıf süpürücü etkileri bulunmuştur. Bitkinin metanollü ekstresinin süperoksit radikali üzerine süpürücü etkisi bulunamamıştır, etilasetat ekstresinin ise orta derecede etkili olduğu gözlenmiştir. Bitkinin her iki ekstresinin de lipid peroksidasyonunu orta derecede inhibe edici etkilerinin olduğu gözlenmiştir.

Yaptığımız bu çalışmada, farklı familyalara ait 14 değişik bitki ekstresinin antioksidan etkileri üç farklı yöntem kullanılarak araştırılmıştır. Aynı bitkinin metanol ve etilasetat ekstrelerinin aktiviteleri tayin edilmiş, ve bu ekstrelerin farklı yöntemlerle farklı sonuçlar verdiği gözlenmiştir.

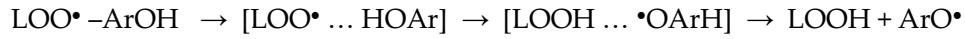
Antioksidan kapasite ve aktivite ile ilgili olarak farklı yöntemlerle yapılan bu çalışmalardaki farklılığın nedeni olarak çeşitli faktörler ileri sürülebilir:

- a) Test sistemlerinin fiziksel yapıları
- b) Okside olan substratın yapısı
- c) Antioksidan maddenin yapısal özelliği

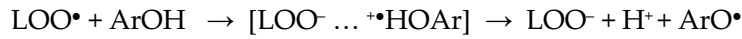
- d) Ortamdaki diğ er bileş enlerin sinerjistik veya antagonistik etkisi
- e) Oksidasyonu baş latma şek li
- f) Oksidasyonun ölç üm metodu

Antioksidan etkiyi etkileyen faktörler basit sistemlerde açıklanabilse bile insan vücudu gibi kompleks sistemlerde sonuç bilinmemekte ve antioksidan etkiyi belirleyecek standardize test yöntemlerine gereksinim duyulmaktadır. Antioksidan etkiyi belirlemek için yapılması gereken *ilk adım* (I) olarak, diyetteki ya da bitkideki ya da yiyeceklerdeki fenolik komponentlerin miktar tayini ve yapılarının aydınlatılması gerekmektedir. *İkinci adım* (II), kullanılan çözücünün antioksidan mekanizma üzerindeki olası etkisi göz önüne alınarak ve birden fazla metot kullanılarak farklı antioksidanların radikal süpürücü etkilerinin tayin edilmesi gerekmektedir. *Üçüncü adım* (III) olarak, ilgili model sistemlerde antioksidanın lipid peroksidasyonunu durdurma ya da inhibe edici etkisinin değerlendirilmesi gerekmektedir. *Son adım* (IV), çalışmaların amacına bağlı olarak değişkenlik gösterebilir ki bunlar insanlarda diyetle kullanılan antioksidanların sağlığa olası etkilerini incelemek gibi ya da insan vücudunda diyetle alınan antioksidanların etkilerini incelemek ve değerlendirmek için yapılan çalışmalar olabilir.

Ekstrelerin farklı yöntemlerle farklı sonuçlar vermesinin bir diğ er önemli nedeni de, çözücü etkisidir. Çözücü, yapısına göre, antioksidanların etkinliğini gösteren süpürme oranlarını etkilemektedir. Non-polar çözücülerde, antioksidan (ArOH) ile peroksil radikali (LOO•) arasında bir hidrojen-bağlı kompleks oluşmakta ve bu da direkt bir hidrojen transferini kolaylaştırmaktadır (Becker ve Nissen, 2004):



Polar çözücülerde, bir fenol'den peroksil radikaline bir elektron transfer reaksiyonu gerçekleşir. Elektron transferinin ardından, aroksil radikal kationundan ($\text{ArOH}^{+\bullet}$) peroksil anyonu (LOO^\bullet) vasıtasıyla bir proton ayrılır:



Ayrıca, farklı çözücülerini dolayısıyla, ekstrelerde oluşan polarite farkından dolayı, bitkilerin bileşiminde bulunan farklı bileşenlerden oluşmuş antioksidan etkili/etki potansiyeli olan komponentler, sinerjistik ya da antagonistik etkiler gösterebilirler. Sinerjizmada aynı sistemde çeşitli maddelerin bir arada bulunmasıyla antioksidan etkide artma gözlenebilir. Antagonizmada ise aynı sistemde bulunan maddeler birbirlerinin etkilerini azaltabilirler. Antioksidan etkiyle ilgili diğer kavramlar, koantioksidanlar ve oksidasyonu geciktirici maddelerdir. Oksidasyonu geciktirici maddeler, oksidasyonda bir bekleme fazı olmaksızın oksidasyonun hızını düşürürler. Zincir reaksiyonu engelleyen antioksidanlar oksidasyonu yavaşlatarak etki gösterirler. Antioksidan etkinin ölçülmesi oksidasyon oranında genel bir azalma ve yavaşlama etkisinin miktarıyla ölçülmektedir. Değişik basamaklarda oksidasyon ölçümüyle, farklı mekanizmalarla etki gösteren antioksidan maddeler tayin edilebilir.

Bitki ekstrelerinde antioksidanlar genellikle karışım halinde bulunmaktadır ve bu nedenle, antioksidanlar arasında bir sinerjik etkinin oluşması muhtemeldir. Antioksidan sinerjizması farklı biçimlerde olabilmektedir (Becker ve Nissen, 2004):

1. Sistem içindeki daha az etkili antioksidanlar veya oksidasyon geciktiricileri tarafından daha etkili antioksidanların oluşturulması. Örneğin, baharatlar içindeki α -tokoferol ile flavonoidler arasındaki ve α -tokoferol ile fenoller arasındaki sinerjizma ile α -tokoferol yeniden oluşturulur.
2. Değişik çözünürlükteki antioksidanların etkileşimi,
3. Değişik etki mekanizmaları olan antioksidanların etkileşimi, örneğin singlet oksijen süpürücüleri ile zincir kırıcı antioksidanlar gibi.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Serbest radikaller doku hasarı, enflamasyon, nörodejeneratif hastlıklar, kanser ve yaşlanmayı içine alan pek çok hastalıkta önemli rol oynamaktadır (Griffits ve ark., 1998). Tüm radikallere karşı, organizmada enzimatik ve enzimatik olmayan savunma sistemleri bulunmaktadır. Enzimatik olmayan savunma sistemleri içinde endojen ve endojen olmayan antioksidan maddeler bulunmaktadır. Serbest radikalleri uzaklaştırıcı etkisi olan bu antioksidan bileşikler bu nedenle günümüzde son derece önem kazanmıştır. Antioksidanlar, fazlaca oluşan reaktif oksijen radikallerine karşı enzimatik savunma sisteminin yetersiz kalması durumunda organizmayı koruyucu olarak rol oynamaktadırlar. Son zamanlarda bu radikallere karşı koruyucu önlem olarak, doğal ürünler ve antioksidan maddeler giderek önem kazanmaya başlamıştır. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde farmasötik ürünlerin pahalılığından dolayı bazı sağlık problemlerinin çözümünde, bitkisel ürünlerle tedavi alternatif tedavi olarak karşımıza çıkmaktadır. Türkiye’de halk arasında çeşitli amaçlarla kullanılan ve bilimsel aktivitesi bilinmeyen pek çok bitki bulunmaktadır. Bazı bitki ekstraları ve bitkisel ürünlerin ise antioksidan etkinliklerini gösteren çalışmalar bilinmektedir (Coban ve ark., 2003; Couladis ve ark., 2003; Tepe ve ark., 2006b; Altun ve ark., 2007; Kartal ve ark., 2007).

Ekzojen kaynaklı çeşitli kimyasal maddelere maruziyet sırasında ve hücrel metabolizma sonrasında endojen olarak oluşan serbest radikallere karşı pek çok antioksidan madde olduğu bilinmektedir. Bu amaçla kullanılan çeşitli bitkisel preparatlar ve çaylar da bulunmaktadır. Türkiye’de halk arasında tedavi amaçlı kullanılan çeşitli bitki ekstraları bulunmaktadır. Bunlardan bazılarının antioksidan aktiviteleri ile ilgili yapılmış bilimsel

çalışmalar bulunmakla birlikte çalışma sayısı kısıtlıdır. Bu araştırmada, halk arasında kullanımlarının olduğu bilinen bazı bitkilerin etilasetat ve metanol ekstralarının antioksidan etkinliklerini belirlemek amacıyla bir tarama çalışması yapılmıştır.

Yaptığımız bu çalışmada, belli bir yöredeki farklı familyalara ait değişik 14 bitkiye ait etilasetat ve metanol ekstralarının antioksidan etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla *Allium rotundum* (Liliaceae), *Anthemis tinctoria* L., *Centranthus longiflorus* Stev. (Valerianaceae), *Digitalis lamarckii* Ivan., *Fumaria asepalae* Boiss. (Papaveraceae), *Glaucium grandiflorum* Boiss.&Huet var. *grandiflorum*, *Inula britannica* L., *Malabaila secacul* Banks&Sol, *Phlomis armeniaca* Willd., *Potentilla recta* L., *Sedum acre* L., *Sideritis galatica* Bornm., *Thymus sipyleus* Boiss. ve *Zosima absinthifolia* (Vent.) Link bitkileri seçilmiştir.

Bitki ekstraları üzerinde üç farklı yöntemle antioksidan aktivite tayini yapılmıştır ve elde edilen sonuçlara göre önemli derecede antioksidan etkinliği bulunan bitkilerin olduğu gözlenmiştir.

14 bitki numunesinin metanollü ve etilasetatlı ekstraları, DPPH serbest radikalini ve süperoksit anyon radikalini süpürücü etkileri ve lipid peroksidasyonu inhibe edici etkileri açısından taranmıştır. Antioksidan aktiviteleri, antioksidan etkinliği bilinen standart madde α - tokoferol'ün etkisi ile karşılaştırılmıştır.

Flavonoidler, tanenler, kumarinler gibi çeşitli fenolik antioksidanların ve son zamanlarda prosiyanidinlerin doza bağlı olarak radikaller üzerine temizleyici etkilerinin olduğu ve bu nedenle serbest radikallerin neden olduğu patolojilerde terapötik ilaç olarak kullanılabilecekleri bildirilmektedir. Farklı ekstralardan farklı sonuçlar alınmasının nedeni

olarak metanollü ve etilasetatlı ekstrelerin farklı içerikleri gösterilebilir. Çalışmalarda kullandığımız in vitro deneylerin hayvan deneyleri ile desteklenmesi gerekmektedir. Bu çalışmada kesin bir kanıt olmamakla birlikte bitki ekstrelerinin antioksidan etkisinden içerdikleri tanen ve flavonoid gibi fenolik maddelerin aromatik hidroksil gruplarının rol oynayabileceği ileri sürülebilir. Polifenollerin hidroksil gruplarına bağlı olarak serbest radikalleri süpürme yetenekleri ve iki değerlikli katyonlarla şelasyon yapma yetenekleri ve ayrıca lipid peroksidasyon üzerine zincir-kırıcı etkilerinden dolayı çok önemli bileşikler olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmada test edilen bitki ekstrelerinin antioksidan etkilerine hangi bileşenin neden olduğu bilinmemekle beraber en fazla antioksidan etkiye sahip bitki ekstreleri araştırılmıştır. Bitki bileşenlerinin analizlerinin yapıp, potansiyel etkiye neden olan yapıların ortaya çıkarılması, aktif maddelerin bireysel etkilerine bakılması ve aralarında sinerjizma, antagonizma gibi etkilerin araştırılması gerekmektedir. Yaptığımız bu çalışmalar, gelecekteki çalışmalara ışık tutacaktır ve bitki ekstrelerinden ilaç geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

Ayrıca, Türkiye’de yaygın olarak yetişen ve kolaylıkla elde edilebilen bu bitkilerin antioksidan etkilerinin varlığı, sağlığa faydalı muhtemel başka etkilerinin de olabileceğini düşündürmektedir ve bu bitkilerin daha detaylı ve çok yönlü olarak araştırılması özellikle halk sağlığı açısından ülkemize maddi olarak da oldukça yarar sağlayacaktır.

ÖZET

Türkiye’de Tıbbi Amaçlı Kullanılan Bazı Bitkilerin Antioksidan Etkilerinin Taranması

Bu çalışmanın amacı, Türkiye’de tıbbi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin antioksidan etkilerinin taranmasıdır. Ekzojen kaynaklı çeşitli kimyasal maddelere maruziyet sırasında ve hücrel metabolizma sonrasında endojen olarak oluşan, serbest radikallere karşı pek çok antioksidan madde olduğu bilinmektedir. Bu amaçla kullanılan çeşitli bitkisel preparatlar ve çaylar da bulunmaktadır. Türkiye’de halk arasında tedavi amaçlı kullanılan çeşitli bitki ekstraktları bulunmaktadır. Bunlardan bazılarının antioksidan aktiviteleri ile ilgili yapılmış bilimsel çalışmalar bulunmakla birlikte çalışma sayısı kısıtlıdır. Bu araştırmada, halk arasında kullanımlarının olduğu bilinen bazı bitkilerin etilasetat ve metanol ekstraktlarının antioksidan etkinliklerini belirlemek amacıyla bir tarama çalışması yapılmıştır.

Araştırmamızda, belli bir yöredeki farklı familyalara ait değişik 14 bitkiye ait etilasetat ve metanol ekstraktlarının antioksidan etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla *Allium rotundum* (Liliaceae), *Anthemis tinctoria* L., *Centranthus longiflorus* Stev. (Valerianaceae), *Digitalis lamarckii* Ivan., *Fumaria asepalae* Boiss. (Papaveraceae), *Glaucium grandiflorum* Boiss.&Huet var. *grandiflorum*, *Inula britannica* L., *Malabaila secacul* Banks&Sol, *Phlomis armeniaca* Willd., *Potentilla recta* L., *Sedum acre* L., *Sideritis galatica* Bornm., *Thymus sipyleus* Boiss. ve *Zosima absinthifolia* (Vent.) Link bitkileri in vitro standart testler kullanılarak IC₅₀ değerleri tayin edilmiştir. Bu testler DPPH radikali ve süperoksit radikalini süpürücü etki ve lipid peroksidasyonu tayin yöntemleridir. Sonuç olarak, metanollü ekstraktlarda α-tokoferol’e kıyasla DPPH radikalini süpürücü etki bakımından en fazla aktiviteyi *Potentilla recta*’nın (IC₅₀:0.014 mg/ml) gösterdiği, bunu sırasıyla *Thymus sipyleus* (IC₅₀:0.019 mg/ml) ve *Anthemis tinctoria*’nın (IC₅₀:0.020 mg/ml) izlediği; etilasetatlı ekstraktlarda ise en fazla etkiyi yine *Potentilla recta* ve *Thymus sipyleus*’un (IC₅₀:0.03 mg/ml) gösterdiği bunu *Anthemis tinctoria*’nın (IC₅₀:0.06 mg/ml) izlediği bulunmuştur. Süperoksit radikalini süpürücü etki açısından metanollü ekstraktlarda çok fazla etki gözlenmemiş olup etilasetatlı ekstraktlarda en fazla etkiyi *Allium rotundum* (IC₅₀:0.11 mg/ml) göstermiş olup bunu *Sedum acre* ve *Thymus sipyleus* (IC₅₀:0.62 mg/ml; 0.63 mg/ml) izlemiştir. Lipid

peroksidasyonu inhibisyonu açısından incelendiğinde metanollü ekstrelerde *Thymus sipyleus* (IC₅₀:0.38 mg/ml) ve etilasetatlı ekstrelerde *Glaucium grandiflorum var. grandiflorum* (IC₅₀:0.34 mg/ml) en fazla etkiyi göstermiştir.

Araştırmamız, Türkiye’de yetişen bu bitki türlerinin antioksidan etkinliğine, bildiğimiz kadarıyla ilk kez bakılması nedeni ile orijinallik taşımaktadır.

Anahtar Sözcükler: Antioksidan aktivite, DPPH radikali, lipid peroksidasyon, serbest radikal, süperoksit anyonu.

SUMMARY

Screening of Some Turkish Medicinal Plants for Antioxidant Activity

The purpose of this study is to screen the antioxidant effects of some plants used for medical purposes in Turkey. It is well known that there are a great many antioxidant substances against free radicals which are constituted during exposure to various chemicals of exogen origin and after cellular metabolism endogenously. There are also various herbal medicines and teas used for this purpose, too. Certain herbal extracts are used in public for treatment in Turkey. There are studies on antioxidant activities of some of these plants, yet the number of studies is limited. In this research, a screening study has been conducted in order to determine the antioxidant activities of ethylacetate and methanol extracts of these plants, which are known to be used by people.

In our research, the antioxidant activities of ethylacetate and methanol extracts from 14 different plants of different families in a particular region were studied. For this purpose, IC₅₀ values of the plants *Allium rotundum* (Liliaceae), *Anthemis tinctoria* L., *Centranthus longiflorus* Stev. (Valerianaceae), *Digitalis lamarckii* Ivan., *Fumaria asepala* Boiss. (Papaveraceae), *Glaucium grandiflorum* Boiss.&Huet var. *grandiflorum*, *Inula britannica* L., *Malabaila secacul* Banks&Sol, *Phlomis armeniaca* Willd., *Potentilla recta* L., *Sedum acre* L., *Sideritis galatica* Bornm., *Thymus sipyleus* Boiss., and *Zosima absinthifolia* (Vent.) Link were determined using the standard in vitro tests. These tests are DPPH radical and superoxide radical scavenging effect and lipid peroxidation methods. In conclusion, when compared to α -tocopherol, in DPPH radical scavenging effect, among methanol extracts it was found that *Potentilla recta* (IC₅₀:0.014 mg/ml) showed the highest activity, *Thymus sipyleus* (IC₅₀:0.019 mg/ml) and *Anthemis tinctoria* (IC₅₀:0.020 mg/ml) followed that; and among ethylacetate extracts *Potentilla recta* and *Thymus sipyleus* (IC₅₀:0.03 mg/ml) showed the highest activities, and *Anthemis tinctoria* (IC₅₀:0.06 mg/ml) followed them. In superoxide radical scavenging effect, among methanol extracts there wasn't much effect observed, and among ethylacetate extracts *Allium rotundum* (IC₅₀:0.11 mg/ml) showed the highest activity, and *Sedum acre* and *Thymus sipyleus* (IC₅₀:0.62 mg/ml; 0.63 mg/ml) followed it. When analysing in inhibition of lipid peroxidation among methanol extracts

Thymus sipyleus (IC₅₀:0.38 mg/ml) and among ethylacetate extracts *Glaucium grandiflorum* var. *grandiflorum* (IC₅₀:0.34 mg/ml) showed the highest activities.

Our study is original in that these plants are studied in terms of their antioxidant activities for the first time to our knowledge.

Key words: Antioxidant activity, DPPH radical, free radical, lipid peroxidation, superoxide anion.

KAYNAKLAR

- AEBI, H. (1974). Catalase. In : *Methods of enzymatic analyses*, Ed.: H.U. Bergmeyer. New York: Academic Press, p. 673-683.
- AKOWUAH, G.A., ZHARI, I., NORHAYATI, I., SADIKUN, A. (2004). Radical scavenging activity of methanol leaf extracts of *Orthosiphon stamineus*. *Pharm. Bio.l*, **42**: 629–635.
- AKTAY, G., DELIORMAN, D., ERGUN, E., ERGUN, F., YESİLADA, E., CEVIK, C. (2000). Hepatoprotective effects of Turkish folk remedies on experimental liver injury. *J. Ethnopharmacol.*, **73(1-2)**: 121-129.
- ALTUN, M.L., CITOGLU, G.S., YILMAZ, B.S., COBAN, T. (2007). Antioxidant properties of *Viburnum opulus* and *Viburnum lantana* growing in Turkey. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, **5**: 1-6.
- AMAROWICZ, R., PEGG, R.B., RAHIMI-MOGHADDAM, P., BARL, B., WEIL, J.A. (2004). Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from teh Canadian prairies. *Food Chem.*, **84**: 551-562.
- AMES, B. (1998). Micronutrients prevent cancer and delay aging. *Toxicol. Lett.*, **102**: 5–18.
- ANDREW, P.J., MAYER, B. (1999). Enzymatic function of nitric oxide synthases. *Cardiovasc. Res.*, **15**: 521-531.
- ARMSTRONG, R.N. (1997). Structure, catalytic mechanism, and evolution of the glutathione transferases. *Chem. Res. Toxicol.*, **10**: 2-18.
- ASHOK, B.T., ALI, R. (1999). The aging paradox: free radical theory of aging. *Experimental Gerontology*, **34**: 293–303.
- AVCI, G., KUPELİ, E., ERYAVUZ, A., YESİLADA, E., KUCUKKURT, I. (2006). Antihypercholesterolaemic and antioxidant activity assessment of some plants used as remedy in Turkish folk medicine. *J. Ethnopharmacol.*, **107(3)**: 418-423.
- AYRES, D.C. (1994). Dictionary of Natural Products. 1st Ed. London: Chapman & Hall, s.: 2556, 5409.
- BANDONIENĖ, D., PUKALSKAS, A., VENSKUTONIS, P.R., GRUZDIENĖ, D. (2000). Preliminary screening of antioxidant activity of some plant extracts in rapeseed oil. *Food Res. Int.*, **33**: 785-791.
- BASILE, A., SENATORE, F., GARGANO, R., SORBO, S., DEL PEZZO, M., LAVITOLA, A., RITIENI, A., BRUNO, M., SPATUZZI, D., RIGANO, D., VUOTTO, M.L. (2006). Antibacterial and antioxidant activities in *Sideritis italica* (Miller) Greuter et Burdet essential oils. *J. Ethnopharmacol.*, **107(2)**: 240-248.
- BASTIANETTO, S., QUIRION, R. (2002). Natural extracts as possible protective agents of brain aging. *Neurobiol. Aging*, **23**: 891-897.

- BAŞER, K.H.C., ÖZEK, T., DEMİRCİ, B., KÜRKÇÜOĞLU, M., AYTAÇ, Z., DUMAN, H. (2000). Composition of the essential oils of *Zosima absinthifolia* (Vent.) Link and *Ferula elaeochytris* Korovin from Turkey. *Flavour and Fragr. J.*, **15**: 371-372.
- BATHORI, M., ZUPKO, I., HUNYADI, A., GACSNE-BAITZ, E., DINYA, Z., FORGO, P. (2004). Monitoring the antioxidant activity of extracts originated from various *Serratula* species and isolation of flavonoids from *Serratula coronata*. *Fitoterapia*, **75(2)**: 162-167.
- BAYTOP, T. (1999). Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi, Geçmişte ve Bugün. İlaveli İkinci Baskı. Nobel Tıp Kitapevleri.
- BECKER, E.M., NISSEN, L.R., SKIBSTED, L.H. (2004). Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. *Eur. Food Res. Technol.*, **219**: 561-571.
- BECKMAN, J.S., KOPPENOL, W.H. (1996). Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *Am. J. Physiol.*, **271**: C1424-C1437.
- BECKMAN, K.B., AMES, B.N. (1997). Oxidative decay of DNA. *J. Biol. Chem.*, **272**: 19633-19636.
- BERGMAN, M., VARSHAVSKY, L., GOTTLIEB, H.E., GROSSMAN, S. (2001). The antioxidant activity of aqueous spinach extract: chemical identification of active fractions. *Phytochemistry*, **58**: 143-152.
- BETTERIDGE, D.J. (2000). What is oxidative stress? *Metabolism*, **49**: 3-8
- BLOIS, M.S. (1958). Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, **181**: 1199-1200
- BOGDAN, C. (2001). Nitric oxide and the regulation of gene expression. *Trends Cell Biol.*, **11**: 66-75.
- BOL’SHAKOVA, I.V., LOZOVSKAIA, E.L., SAPEZHİNSKİİ, I.I. (1998). Antioxidant properties of plant extr. *Biofizika*, **43(2)**: 186-188.
- BONNEFONT, R.D., BASTARD, J.P., JANDON, M.C., DELATTRE, J. (2000). Consequences of the diabetic status on oxidant/antioxidant balance. *Diabetes and Metabolism*, **26**: 163-176.
- BORS, W., MICHEL, C. (1999). Antioxidant capacity of flavonols and gallate esters: pulse radiolysis studies. *Free Radic. Biol. Med.*, **27**: 1413-1426.
- BOS, M.A., VENNAT, B., MEUNIER, M.T., POUGET, M.P., POURRAT, A., FIALIP, J. (1996). Procyanidins from tormentil: antioxidant properties towards lipoperoxidation and anti-elastase activity. *Biol. Pharm. Bull.*, **19(1)**: 146-148.
- BOVERIS, A.D., PUNTARULO, S. (1998). Free-radical scavenging actions of natural antioxidants. *Nutr. Res.*, **18**: 1545-1557.
- BREDT, D.S. (1999). Endogenous nitric oxide synthesis: biological functions and pathophysiology. *Free Radic. Res.*, **31**: 577-596.

- BUETTNER, G.R., JURKIEWICZ, B.A. (1996). Catalytic metals, ascorbate and free radicals: combinations to avoid. *Radiat. Res.*, **145**: 532-541.
- BUSTAMANTE, J., LODGE, J.K., MARCOCCI, L., TRITSCHLER, H.J., PACKER, L., RIHN, B.H. (1998). Alpha-lipoic acid in liver metabolism and disease. *Free Radic. Biol. Med.*, **24**: 1023-1039.
- BUTTERFIELD, D.A., KOPPAL, T., HOWARD, B., SUBRAMANIAM, R., HALL, N., HENSLEY, K., YATIN, S., ALLEN, K., AKSENOV, M., AKSENOVA, M., CARNEY, J. (1998). Structural and functional changes in proteins induced by free radical-mediated oxidative stress and protective action of the antioxidants N-tert-butyl-alpha-phenylnitron and vitamin E. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **854**: 448-462.
- BÜYÜKOKUROĞLU, M.E., GÜLÇİN, İ., OKTAY, M., KÜFREVOĞLU, Ö.İ. (2001). In vitro antioxidant properties of dantrolene sodium. *Pharmacol. Res.*, **44**: 491-495.
- CAO, G.H., SOFIC, E., PRIOR, R.L. (1996). Antioxidant capacity of tea and common vegetable. *J. Agric. Food. Chem.*, **44**: 3426-3431.
- CERUTTI, P.A. (1994). Oxy-radicals and cancer. *Lancet*, **344**: 862-863.
- CHAE, H.Z., KIM, H.J., KANG, S.W., RHEE, S.G. (1999a). Characterization of three isoforms of mammalian peroxiredoxin that reduce peroxides in the presence of thioredoxin. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **45**: 101-112.
- CHAE, H.Z., KANG, S.W., RHEE, S.G. (1999b). Isoforms of mammalian peroxiredoxin that reduce peroxides in presence of thioredoxin. *Methods Enzymol.*, **300**: 219-226.
- CHEN, K., PLUMB, G.W., BENNETT, R.N., BAO, Y. (2005). Antioxidant activities of extracts from five anti-viral medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.*, **96**: 201-205.
- CHOPRA, M., THURNHAM, D.I. (1999). Antioxidants and lipoprotein metabolism. *Proc. Nutr. Soc.*, **58**: 663-671.
- CLARK, L.C., COMBS, G.F.J., TURNBULL, B.W., SLATE, E.H., CHALKER, D.K., CHOW, J., DAVIS, L.S., GLOVER, R.A., GRAHAM, G.F., GROSS, E.G., KRONGRAD, A., LESHER, J.L.J., PARK, H.K., SANDERS, B.B.J., SMITH, C.L., TAYLOR, J.R. (1996). Effects of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin. A randomized controlled trial. Nutritional Prevention of Cancer Study Group. *JAMA*, **276**: 1957-1963.
- CORNWELL, D. G., JONES, K. H., JIANG, Z., LANTRY, L. E., SOUTHWELL KEELY, P., KOHAR, I. (1998). Cytotoxicity of tocopherols and their quinones in drug-sensitive and multidrug-resistant leukemia cells. *Lipids*, **33**: 295-301.
- CORTOPASSI, G.A., WONG, A. (1999). Mitochondria in organismal aging and degeneration. *Biochim. Biophys. Acta*, **1410**: 183-193.
- COULADIS, M., TZAKOU, O., VERYKOKIDOU, E., HARVALA, C. (2003). Screening of some Greek aromatic plants for antioxidant activity. *Phytother. Res.*, **17**(2): 194-195.
- ÇOBAN, T., SALTAN ÇİTOĞLU, G., SEVER, B., İŞÇAN, M. (2003). Antioxidant activities of plants used in traditional medicine in Turkey. *Pharm. Biol.*, **41**(8): 608-613.

- DALTON, T.P., SHERTZER, H.G., PUGA, A. (1999). Regulation of gene expression by reactive oxygen. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **39**: 67-101.
- DİŞLİ, A., YİLDİRİR, Y., YAŞAR, A. (2002). *Sideritis galatica*'dan yeni bir diterpen; Galaticat. *Ankara Ecz. Fak. Derg.*, **31(2)**: 83-89.
- DJERIDANE, A., YOUSFI, M., NADJEMI, B., BOUTASSOUNA, D., STOCKER, P., VIDAL, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food. Chem.*, **97**: 654-660.
- DURAK, I., AYTAC, B., ATMACA, Y., DEVRİM, E., AVCI, A., EROL, C., ORAL, D. (2004). Effects of garlic extract consumption on plasma and erythrocyte antioxidant parameters in atherosclerotic patients. *Pharm. Biol.*, **41(8)**: 608-613.
- EGERT, M., TEVİNİ, M. (2002). Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium schoenoprasum*). *Environ. Exp. Bot.*, **48**: 43-49.
- ERNSTER, L., DALLNER, G. (1995). Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function. *Biochim. Biophys. Acta*, **1271**: 195-204.
- FANTEL, A.G. (1996). Reactive oxygen species in developmental toxicity: Review and hypothesis. *Teratology*, **53**: 96-217.
- FATİMA, R.A., AHMAD, M. (2005). Certain antioxidant enzymes of *Allium cepa* as biomarkers for the detection of toxic heavy metals in wastewater. *Sci. Total Environ.*, **k346**: **256-273**.
- FENGLİN, H., RUILİ, L., HUANG, B., LIANG, M. (2004). Free radical scavenging activity of extracts prepared from fresh leaves of selected Chinese medicinal plants. *Fitoterapia*, **75**: 14-23.
- FINKEL, T., HOLBROOK, N.J. (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, **408**: 239-247
- FINKEL, T. (1998). Oxygen radicals and signaling. *Curr. Opin. Cell. Biol.*, **10**: 248-253.
- FREI, B., STOCKER, R., ENGLAND, L., AMES, B.N. (1990). Ascorbate: the most effective antioxidant in human blood plasma. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **264**: 155-163.
- FRIDOVICH, I. (1997). Superoxide anion radical (O_2^-), superoxide dismutases, and related matters. *J. Biol. Chem.*, **272**: 18515-18517.
- FRIDOVICH, I. (1999). Fundamental aspects of reactive oxygen species, or what's the matter with oxygen? *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **893**: 13-18.
- FURCHGOTT, R.F. (1995). A research trail over half a century. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **35**: 1-27.
- GABRIELI, C.N., KEFALAS, P.G., KOKKALOU, E.L. (2005). Antioxidant activity of flavonoids from *Sideritis raeseri*. *J. Ethnopharmacol.*, **96**: 423-428.

- GERBER, M., BOUTRON-RUAULT, M.C., HERCBERG, S., RIBOLI, E., SCALBERT, A., SIESS, M.H. (2002). Food and cancer: state of the art about the protective effect of fruits and vegetables. *B. Cancer*, **89**: 293–312.
- GOZLER, T. (1982). Alkaloids of Turkish *Glacium Species*. *Planta. Med.*, **46**: 179-180.
- GRIFFITH, O.W., STUEHR, D.J. (1995). Nitric oxide synthases: Properties and catalytic mechanism. *Annu. Rev. Physiol.*, **57**: 707-736.
- GRIFFITHS, H.R., LUNEC, J., IN AROUMA, O.I., HALLIWELL, B. (1998). (Eds.) *Molecular Biology of Free Radicals in Human Diseases*. London: Oica International, s.: 327-366.
- GRZYBEK, J., WONGPANICH, V., MATA-GREENWOOD, E., ANGERHOFER, C.K., PEZZUTO, J.M., CORDELL, G.A. (1997). Biological evaluation of selected plants from Poland. *Int. J. Pharmacog.*, **35**(1): 1-5.
- GÜLÇİN, İ. (2006). Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*, **217**: 213–220.
- GÜRHAN, G., EZER, N. (2004). Halk Arasında Hemoroit Tedavisinde Kullanılan Bitkiler-I. *Hacettepe Üni. Ecz. Fak. Der.*, **24**(1): 37-55.
- HALLIWELL, B. (1993). The role of oxygen radicals in human disease, with particular reference to the vascular system. *Haemostasis*, **23**(Suppl. 1): 118-126.
- HALLIWELL, B. (1997). Antioxidants and human diseases: a general introduction. *Nutr. Rev.*, **55**: S44-S52.
- HALLIWELL, B. (1999). Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). *Free Radic. Res.*, **31**: 261-272.
- HALLIWELL, B. (2006). Reactive species and antioxidants .Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant. Physiol.*, **141**: 312-322.
- HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J. M. C. (1999). *Free Radicals In Biology and Medicine*. Oxford: Oxford Press.
- HAN, M., WEN, J., ZHENG, B., ZHANG, D.Q. (2004). Acetylbritannilone suppresses NO and PGE₂ synthesis in RAW 264.7 macrophages through the inhibition of iNOS and COX-2 gene expression. *Life Sci.*, **75**: 675-684.
- HANDELMAN, G.J., HAN, D., TRITSCHLER, H., PACKER, L. (1994). Alpha-lipoic acid reduction by mammalian cells to the dithiol form, and release into the culture medium. *Biochem-Pharmacol.*, **47**: 1725-1730.
- HARRIS, L.R., CAKE, M.H., MACEY, D.J. (1994). Iron release from ferritin and its sensitivity to superoxide ions differs among vertebrates. *Biochem. J.*, **301**: 385-389.
- HAUX, J. (1999). Digitoxin is a potential anticancer agent for several types of cancer. *Med. Hypotheses*, **53**: 543-548.

- HELEN, A., KRISHNAKUMAR, K., VIJAYAMMAL, P.L., AUGUSTI, K.T. (2000). Antioxidant effect of onion oil (*Allium cepa*. Linn) on the damages induced by nicotine in rats as compared to alpha-tocopherol. *Toxicol. Lett.*, **116**: 61-68.
- HO, Y., MAGNENAT, J., BRONSON, R.T., CAO, J., GARGANO, M., SUGAWARA, M., FUNK, C.D. (1997). Mice deficient in cellular glutathione peroxidase develop normally and show no increased sensitivity to hyperoxia. *J. Biol. Chem.*, **272**: 16644-16651.
- HOLMGREN, A. (2000). Antioxidant function of thioredoxin and glutaredoxin systems. *Antioxid. Redox Signal.*, **2**: 811-820.
- ISMAILI, H., MILELLA, L., FKIH-TETOUANI, S., ILIDRISSI, A., CAMPORESE, A., SOSA, S., ALTINIER, G., DELLA LOGGIA, R., AQUINO, R. (2004). In vivo topical anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of two extracts of *Thymus satureioides* leaves. *J. Ethnopharmacol.*, **91**: 31-36.
- JIANG, C., WANG, Z., GANTHER, H., LU, J. (2001). Caspases as key executors of methyl selenium-induced apoptosis (anoikis) of DU-145 prostate cancer cells. *Cancer Res.*, **61**: 3062-3070.
- JONES, D.P., EKLOW, L., THOR, H., ORRENIUS, S. (1981). Metabolism of hydrogen peroxide in isolated hepatocytes: relative contributions of catalase and glutathione peroxidase in decomposition of endogenously generated H₂O₂. *Arch. Biochem. Biophys.*, **210**:505-516.
- KAHKONEN, M.P., HOPIA, A.I., VUORELA, H.J., RAUUHA, J.P., PIHLAJA, K., KUJALA, T.S. (1999). Antioxidant activity of plant extract containing phenolic compounds. *J. Agric. Food. Chem.*, **32**: 661-667.
- KARTAL, N., SOKMEN, M., TEPE, B., DAFERERA, D., POLISSIOU, M., SOKMEN, A. (2007). Investigation og the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. *Food Chem.*, **100**: 584-589.
- KAYA, A., BAŞER, K.H.C. (2004). Endemik bir tür: *Sideritis galatica* bornm. (Labiatae). 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, 29-31 Mayıs 2002, Eskişehir. Web'de yayın tarihi: Haziran 2004.
- KELNER, M.J., BAGNELL, R. (1990). Alteration of endogenous glutathione peroxidase, manganese superoxide dismutase, and glutathione transferase activity in cells transfected with a copper-zinc superoxide dismutase expression vector. Explanation for variations in paraquat resistance. *J. Biol. Chem.*, **265**: 10872-10875
- KIM, D.W., SON, K.H., CHANG, H.W., BAE, K., KANG, S.S., KIM, H.P. (2004). Anti-inflammatory activity of *Sedum kamtschaticum*. *J. Ethnopharmacol.*, **90(2-3)**: 409-414.
- KIM, H.Y., YOKOZAWA, T., CHO, E.J., CHEIGH, H.S., CHOI, J.S., CHUNG, H.Y. (2003). In vitro and in vivo antioxidant effects of mustard leaf (*Brassica juncea*). *Phytother. Res.*, **17**: 465-471.
- KIM, S.R., PARK, M.J., LEE, M.K., SUNG, S.H., PARK, E.J., KIM, J., KIM, S.Y., OH, T.H., MARKELONIS, G.J., KIM, Y.C. (2002). Flavonoids of *Inula britannica* protect cultured

- cortical cells from necrotic cell death induced by glutamate. *Free rad. Biol. Med.*, **32**: 596-604.
- KIRBY, A.J., SCHMIDT, R.J. (1997). The antioxidant activity of Chinese herbs for eczema and of placebo herbs – I. *J. Ethnopharmacol.*, **56**: 103-108.
- KIRKMAN, H.N., ROLFO, M., FERRARIS, A.M., GAETANI, G.F. (1999). Mechanisms of protection of catalase by NADPH. Kinetics and stoichiometry. *J. Biol. Chem.*, **274**: 13908-13914.
- KROEMER, G., DALLAPORTA, B., RESCHE-RIGON, M. (1998). The mitochondrial death/life regulator in apoptosis and necrosis. *Annu. Rev. physiol.*, **60**: 619-642.
- KUMARAN, A., KARUNAKARAN, R.J. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chem.*, **97**: 109–114.
- KYRIAKOPOULOU, I., MAGIATIS, P., SKALTSOUNIS, A.L., ALIGIANNIS, N., HARVALA, C. (2001). Samioside, a new phenylethanoid glycoside with free-radical scavenging and antimicrobial activities from *Phlomis samia*. *J. Nat. Prod.*, **64(8)**: 1095-1097.
- LIN, L.C., WANG, Y.H., HOU, Y.C., CHANG, S., LIOU, K.T., CHOU, Y.C., WANG, W.Y., SHEN, Y.C. (2006). The inhibitory effect of phenylpropanoid glycosides and iridoid glucosides on free radical production and beta2 integrin expression in human leucocytes. *J. Pharm. Pharmacol.*, **58(1)**:129-135.
- LIU, S., LIU, H., YAN, W., ZHANG, L., BAI, N., HO, C.T. (2004). Studies on 1-*O*-acetylbritannilactone and its derivative, (2-*O*-butyloxime-3-phenyl)-propionyl-1-*O*-acetylbritannilactone ester. *Bioorg. Med. Chem.*, **14**: 1101-1104.
- LIU, S., LIU, H., YAN, W., ZHANG, L., BAI, N., HO, C.T. (2005). Design, synthesis, and anti-tumor activity of (2-*O*-alkyloxime-3-phenyl)-propionyl-1-*O*-acetylbritannilactone esters. *Bioorgan. Med. Chem.*, **13**: 2783-2789.
- LOMBARD, M., TOUATI, D., FONTECAVE, M., NIVIERE, V. (2000). Superoxide reductase as a unique defense system against superoxide stress in the microaerophile *Treponema pallidum*. *J. Biol. Chem.*, **275**: 7021-7026.
- LOWENSTEIN, C.J., SNYDER, S.H. (1992). Nitric oxide, a novel biological messenger. *Cell*, **70**: 705-707.
- LYUBUNCIC, P., PORTNAYA, I., COGAN, U., AZAIZEH, H., BOMZON, A. (2005). Antioxidant activity of *Crataegus aronia* extract used in traditional Arab medicine in Israel. *J. Ethnopharmacol.*, **101**: 153-161.
- MAIGA, A., MALTERUD, K.E., DIALLO, D., PAULSEN, B.S. (2005). Antioxidant and 15-lipoxygenase inhibitory activities of the Malian medicinal plants *Diospyros abyssinica* (Hiern) F. White (Ebenaceae), *Lannea velutina* A. Rich (Anacardiaceae) and *Crossopteryx febrifuga* (Afzel) Benth. (Rubiaceae) *J. Ethnopharmacol.*, In pres.
- MAILLARD, M. N., SOUM, M. H., MEYDANI, S. N., BERSET, C. (1996). Antioxidant activity of barley and malt: relationship with phenolic content. *Food Sci. Technol.*, **29**: 238-244.

- MARKLUND, S.L. (1982). Human copper-containing superoxide dismutase of high molecular weight. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**: 7634-7638.
- MARNETT, L.J. (2000). Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis*, **21**: 361-370.
- MATES, J.M., PEREZ-GOMEZ, C., NUNEZ DE CASTRO, I. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin. Biochem.*, **32**: 595-603.
- MAY, J.M. (1999). Is ascorbic acid an antioxidant for the plasma membrane? *FASEB J.*, **9**: 995-1006.
- MCCORD, J.M., FRIDOVICH, I. (1969). Superoxide dismutases: an enzymatic function for erythrocyte hemoglobin. *J. Biol. Chem.* **244**: 6049-6055.
- MEISTER, A. (1995). Mitochondrial changes associated with glutathione deficiency. *Biochim. Biophys. Acta*, **1271**: 35-42.
- MELOV, S., SCHNEIDER, J.A., DAY, B.J., HINERFELD, D., COSKUN, P., MIRRA, S.S., CRAPO, J.D., WALLACE, D.C. (1998). A novel neurological phenotype in mice lacking mitochondrial manganese superoxide dismutases. *Nat. Genet.*, **18**: 159-163
- MELOV, S., RAVENSCROFT, J., MALIK, S., GILL, M.S., WALKER, D.W., CLAYTON, P.E., WALLACE, D.C., MALFROY, B., DOCTROW, S.R., LITHGOW, G.J. (2000). Extension of life-span with superoxide dismutase/catalase mimetics. *Science*, **289**: 1567-1569.
- MIGUEL, G., SIMÕES, M., FIGUEIREDO, A.C., BARROSO, J.G., PERDO, L.G., CARVALHO, L. (2004). Composition and antioxidant activities of the essential oils of *Thymus caespitosus*, *Thymus camphoratus*, *Thymus mastichina*. *Food Chem.*, **86**: 183-188.
- MIHARA, M., UCHIYAMA, M., FUKUZAWA, K. (1980). Thiobarbituric acid value on fresh homogenate of rat as a parameter of lipid peroxidation in aging, CCl₄ intoxication, and Vitamin E deficiency. *Biochem. Med.*, **41**: 608-613.
- MILIAUSKAS, G., VENSKUTONIS, P.R., VAN BEEK, T.A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chem.*, **85**: 231-237.
- MOLYNEUX, P. (2004). The use of stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakar J. Sci. Technol.*, **26**: 211-219.
- MORTEZA-SEMNANI, K., SAEEDI, M., HAMIDIAN, M., VAFAMEHR, H., DEHPUR, A.R. (2002). Anti-inflammatory, analgesic activity and acute toxicity of *Glaucium grandiflorum* extract. *J. Ethnopharmacol.*, **80**: 181-186.
- MORTEZA-SEMNANI, K., SAEEDI, M., HAMIDIAN, M. (2004). Anti-inflammatory and analgesic activity of the topical preparation of *Glaucium grandiflorum*. *Fitoterapia.*, **75**: 123-129.
- MUKHERJEE, P.K., KUMAR, V., MAL, M., HOUGHTON, P.J. (2007). Acetylcholinesterase inhibitors from plants. *Phytomedicine*, **14(4)**: 289-300.

- NAGAI, T., MYODA, T., NAGASHIMA, T. (2005). Antioxidative activities of water extract and ethanol extract from field horsetail (*tsukushi*) *Equisetum arvense* L. *Food. Chem.*, **91**: 389-394.
- NG, T.B., LIU, F., WANG, Z. T. (2000). Antioxidative activity of natural products from plants. *Life Sci.*, **66**:709-723.
- NIKITOVIC, D., HOLMGREN, A. (1996). S-nitrosoglutathione is cleaved by the thioredoxin system with liberation of glutathione and redox regulating nitric oxide. *J. Biol. Chem.*, **271**: 19180-19185.
- NORDBERG, J., ARNÉR, E.S.J. (2001). Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biol. Med.*, **31**: 1287–1312.
- NUUTILA, A.M., PUUPPONEN-PIMIÄ, R., AARNI, M., OKSMAN-CALDENTEY, K.M. (2003). Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity. *Food Chem.*, **81**: 485-493.
- OHLEMILLER, K.K., MCFADDEN, S.L., DING, D.L., FLOOD, D.G., REAUME, A.G., HOFFMAN, E.K., SCOTT, R.W., WRIGHT, J.S., PUTCHA, G.V., SALVI, R.J. (1999). Targeted deletion of the cytosolic Cu/Zn-superoxide dismutase gene (Sod1) increases susceptibility to noise-induced hearing loss. *Audiol. Neurootol.*, **4**: 237-246.
- ORDOÑEZ, A.A.L., GOMEZ, J.D., VATTUONE, M.A., ISLA, M.I. (2006). Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts. *Food Chem.*, **97**: 452–458.
- ORHAN, I., ŞENER, B., CHOUDHARY, M.I., KHALID, A. (2004). Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activity of some Turkish medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.*, **91**(1): 57-60.
- ORRELL, R.W. (2000). Amyotrophic lateral sclerosis: copper/zinc superoxide dismutases (SOD1) gene mutations. *Neuromuscul. Disord.*, **10**: 63-68.
- PACKER, L., WITT, E.H., TRITSCHLER, H. (1995). alpha-Lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radic. Biol. Med.*, **19**: 227-250.
- PALMER, R.M., FERRIGE, A.G., MONCADA, S. (1987). Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*, **327**: 524–526.
- PARK, E.J., KIM, Y., KIM, J. (2000). Acylated flavonol glycosides from the flower of *Inula britannica*. *J. Nat. Prod.*, **63**: 34-36.
- PARK, P. J., JUNG, W. K., NAM, K. S., SHADIDI, F., KIM, S. K. (2001). Purification and characterization of antioxidative peptides from protein hydrolysate of lecitin-free egg yolk. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **78**: 651–656.
- PIETTA, P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Prod.*, **63**: 1035–1042.
- RADI, R., PELUFFO, G., ALVAREZ, M.N., NAVILIAT, M., CAYOTA, A. (2001). Unraveling peroxynitrite formation in biological systems. *Free Radic. Biol. Med.*, **30**: 463-488.
- RATHEE, J.S., HASSARAJANI, S.A., CHATTOPADHYAY, S. (2006). Antioxidant activity of *Mammea longifolia* bud extracts. *Food Chem.*, **99**: 436-443.

- REED, L.J. (1996). Chemistry and function of lipoic acid. In: *Comprehensive biochemistry*, Vol. 14, Eds.: M. Florkin, E.H. Stotz. New York: Elsevier Science, p.99-126.
- RHEE, S.G. (1999). Redox signaling: hydrogen peroxide as intracellular messenger. *Exp. Mol. Med.*, **31**: 53-59
- RICE-EVANS, C. (2001). Flavonoid antioxidants. *Curr. Med. Chem.*, **8**: 797-807.
- ROSEN, D.R., SIDDIQUE, T., PATTERSON, D., FIGLEWICZ, D.A., SAPP, P., HENTATI, A., DONALDSON, D., GOTO, J., O'REGAN, J.P., DENG, H.X. (1993). Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature*, **362**: 59-62.
- ROSEN, H., ORMAN, J., RAKITA, R.M., MICHEL, B.R., VANDEVANTER, D.R. (1990). Loss of DNA-membrane interactions and cessation of DNA synthesis in myeloperoxidase-treated *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* **87**: 100410052.
- RUBBO, H., RADİ, R., ANSELMİ, D., KIRK, M., BARNES, S., BUTLER, J., EISERICH, J.P., FREEMAN, B.A. (2000). Nitric oxide reaction with lipid peroxy radicals spares alpha-tocopherol during lipid peroxidation. Greater oxidant protection from the pair nitric oxide/alpha-tocopherol than alpha-tocopherol/ascorbate. *J. Biol. Chem.*, **275**: 10812-10818.
- SACCHETTI, G., MAIETTI, S., MUZZOLI, M., SCAGLIANTI, M., MANFREDINI, S., RADICE, M., BRUNI, R. (2005). Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in food. *Food Chem.*, **91**: 621-632.
- SARAN, M., BORS, W. (1994). Signalling by O₂⁻ and NO: How far can either radical, or any specific reaction product, transmit a message under in vivo conditions? *Chem. Biol. Interact.*, **90**: 35-45.
- SAROGLOU, V., DORIZAS, N., KYPRIOTAKIS, Z., SKAL TSA, H.D. (2006). Analysis of the essential oil composition of eight *Anthemis* species from Greece. *J. Chromatogr.*, **1104**: 313-322.
- SARAVANAN, G., PRAKASH, J. (2004). Effect of garlic (*Allium sativum*) on lipid peroxidation in experimental myocardial infarction in rats. *J. Ethnopharmacol.*, **94**: 155-158.
- SCHINELLA, G.R., TOURNIER, H.A., PRIETO, J.M., MORDUJOVICH DE BUSCHIAZZO, P., RÍOS, J.L. (2002). Antioxidant activity of anti-inflammatory plant extracts. *Life Sci.*, **70**: 1023-1033.
- SCOTT, B.C., ARUOMA, O.I., EVANS, P.J., O'NEILL, C., VAN DER VLIET, A., CROSS, C.E., TRITSCHLER, H., HALLIWELL, B. (1994). Lipoic and dihydrolipoic acids as antioxidants. A critical evaluation. *Free Radic. Res.*, **20**: 119-133.
- SHAO, Y., BAI, N.S., ZHOU, B.N. (1996). Kaurane glycosides from *Inula britannica*. *Phytochemistry*, **42**: 783-786.

- SOKMEN, A., GULLUCE, M., AKPULAT, H.A., DAFERERA, D., TEPE, B., POLISSIOU, M., SOKMEN, M., SAHIN, F. (2004). The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Control*, **15**: 627-634.
- ŠTAJNER, D., ČANADANOVIĆ-BRUNET, J., PAVLOVIĆ, A. (2004). *Allium schoenoprasum* L., as a natural antioxidant. *Phytother. Res.*, **18(7)**: 522-524.
- ŠTAJNER, D., MILIĆ-DEMARINO, N., ČANADANOVIĆ-BRUNET, J., ŠTAJNER, M., POPOVIĆ, B.M. (2006). Screening for antioxidant properties of *Allium giganteum*. *Fitoterapia*, **77**: 268-270.
- STAMLER, J.S. (1994). Redox signaling: nitrosylation and related target interactions of nitric oxide. *Cell*, **78**: 931-936.
- SU, M.S., SILVA, J.L. (2006) Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) by-products as affected by fermentation. *Food Chem.*, **97**: 447-451.
- SULEYMAN, H., GUVENALP, Z., KIZILKAYA, M., DEMIREZER, L.O. (2007). Sedative effect of *Centranthus longiflorus* ssp. *longiflorus* in rats and the influence of adrenalectomy on its effect. *Yakugaku Zasshi*, **127(8)**:1263-1265.
- TANKER, N. (1973). Limon kokulu bir kekik türünün (*Thymus sipyleus* Boiss.) uçucu yağında gaz kromatografisi ile araştırmalar. *Ankara Ecz. Fak. Derg.*, **3(1)**: 115-135.
- TANKER, N., KOYUNCU, M., COŐKUN, M. (1998). Farmasötik Botanik. Ankara:Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, s.: 249.
- TEPE, B., DAFERERA, D., SOKMEN, M., POLISSIOU, M., SOKMEN, A. (2004). In vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and various extracts of *Thymus eigi* M. Zohary et P.H. Davis. *J. Agric. Food Chem.*, **52(5)**: 1132-1137.
- TEPE, B., SOKMEN, M., AKPULAT, H.A., DAFERERA, D., POLISSIOU, M., SOKMEN, A. (2005a). Antioxidative activity of the essential oils of *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* and *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans*. *J. Food Eng.*, **66**: 447-454.
- TEPE, B., SOKMEN, M., AKPULAT, H.A., SOKMEN, A. (2005b). In vitro antioxidant activities of the methanol extracts of five *Allium* species from Turkey. *Food Chem.*, **92**: 89-92.
- TEPE, B., AKPULAT, H.A., SOKMEN, M., DAFERERA, D., YUMRUTAS, O., AYDIN, E., POLISSIOU, M., SOKMEN, A. (2006a). Screening of the antioxidative and antimicrobial properties of the essential oils of *Pimpinella anisetum* and *Pimpinella flabellifolia* from Turkey. *Food Chem.*, **97**: 719-724.
- TEPE, B., SOKMEN, M., AKPULAT, H.A., SOKMEN, A. (2006b). Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chem.*, **95**: 200-204.
- TEPE, B., SOKMEN, M., AKPULAT, H.A., YUMRUTAS, O., SOKMEN, A. (2006c). Screening of antioxidative properties of the methanolic extracts of *Pelargonium endlicherianum* Fenzl., *Verbascum wiedemannianum* Fisch. & Mey., *Sideritis libanotica* Labill. subsp.

linearis (Bentham) Borm., *Centaurea mucronifera* DC. and *Hieracium cappadocicum* Freyn from Turkish flora. *Food Chem.*, **98**: 9-13.

- THANNICKAL, V.J., FANBURG, B.L. (2000). Reactive oxygen species in cell signaling. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, **279**: L1005-L1028.
- TRANTAPHYLLOU, K., BLEKAS, G., BOSKOU, D. (2001). Antioxidative properties of water extracts obtained from herbs of the species Lamiaceae. *J. Agric. Food Chem.*, **252(4)**: 313-317.
- TRIPATHI, R., MOHAN, H., KAMAT, J.P. (2007). Modulation of oxidative damage by natural products. *Food Chem.*, **100**: 81-90.
- TURANLI, F., SCHAFFNER, U. (2004). Oviposition specificity of the specialist *Tinithia myrmosaeformis* under different degrees of behavioral restrictions. *Biol. Control.*, **30**: 274-280.
- TÜBİTAK-Türkiye Taksonomik Tür Veritabanı, 2004-2005
- URSINI, F., MAIORINO, M., BRIGELIUS-FLOHE, R., AUMANN, K.D., ROVERI, A., SCHOMBURG, D., FLOHE, L. (1995). Diversity of glutathione peroxidases. *Methods Enzymol.*, **252**: 38-53.
- VALENTAÕ, P., FERNANDES, E., CARVALHO, F., ANDRADE, P.B., SEABRA, R.M., BASTOS, M.L. (2002). Antioxidative properties of cardoon (*Cynara cardunculus* L.) infusion against superoxide radical, hydroxyl radical and hypochlorous acid. *J. Agric. Food Chem.*, **50**: 4989-4993.
- VAN BLADEREN, P.J. (2000). Glutathione conjugation as a bioactivation reaction. *Chem. Biol. Interact.*, **129**: 61-76.
- VENNAT, B., BOS, M.A., POURRAT, A., BASTIDE, P. (1994). Procyanidins from tormentil: fractionation and study of the anti-radical activity towards superoxide anion. *Biol. Pharm. Bull.*, **17(12)**: 1613-1615.
- VITALINI, S., GRANDE, S., VISIOLI, F., AGRADI, E., FICO, G., TOME, F. (2006). Antioxidant activity of wild plants collected in Valsesia, an alpine region of Northern Italy. *Phytother. Res.*, **20**: 576-580.
- WANG, H., CAO, G., PRIOR, R. (1996). Total antioxidant capacity of fruits. *J. Agric. Food Chem.*, **44**: 701-705.
- WANITA, A., LORENZ, K. (1996). Antioxidant potential of 5-*n*-pentadecylresorcinol. *J. Food Process. Pres.*, **20**: 417-429.
- WEI, Q.Y., CHEN, W.F., ZHOU, B. YANG, L., LIU, Z.L. (2006). Inhibition of lipid peroxidation and protein oxidation in rat liver mitochondria by curcumin and its analogues. *Biochim. Biophys. Acta*, **1760**: 70-77.
- WILKES, S., GLASL, H. (2001). Isolation, characterization, and systematic significance of 2-pyrone-4,6-dicarboxylic acid in Rosaceae. *Phytochemistry*, **58**: 441-449.

- WILLIAMS, C.A., GREENHAM, J., HARBORNE, J.B. (2001). The role of lipophilic and polar flavonoids in the classification of temperate members of the Anthemideae. *Biochem. Syst. Ecol.*, **29**: 929-945.
- WILSON, A.C., THOMPSON, H.J., SCHEDIN, P.J., GIBSON, N.W., GANTHER, H.E. (1992). Effect of methylated forms of selenium on cell viability and the induction of DNA strand breakage. *Biochem. Pharmacol.*, **43**: 1137-1141.
- WINK, D.A., MITCHELL, J.B. (1998). Chemical biology of nitric oxide: insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. *Free Radic. Biol. Med.*, **25**: 434-456.
- WINSTON, J. C. (1999). Health-promoting properties of common herbs. *Am. J. Clin. Nutr.*, **70**(Suppl.): 491S-499S.
- WOLLENWEBER, E., MAYER, K. (1991). Exudate flavonoids of *Anthemis nobilis* and *A. tinctoria*. *Fitoterapia*, **62**: 365-366.
- WU, C., CHEN, F., WANG, X., KIM, H., HE, G., HALEY-ZITLIN, V., HUANG, G. (2006). Antioxidant constituents in fewerfew (*Tanacetum parthenium*) extract and their chromatographic quantification. *Food Chem.*, **96**: 220-227.
- YEN, G.C., CHEN, H.Y. (1995). Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food. Chem.*, **43**: 27-32.
- ZARGARI, A. (1990). Medicinal Plants, Vol. 1, 5th Ed. Tehran University Publications, p.: 154-157.
- ZHANG, P., LIU, B., KANG, S.W., SEO, M.S., RHEE, S.G., OBEID, L.M. (1997). Thioredoxin peroxidase is a novel inhibitor of apoptosis with a mechanism distinct from that of Bcl-2. *J. Biol. Chem.*, **272**: 30615-30618.

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı: Gülsüm
 Soyadı: Gençaslan
 Doğum yeri ve tarihi: Burdur - 15.08.1982
 Uyruğu: T.C.
 Medeni durumu: Bekar
 İletişim adresi: Oğuzlar Mah. 11. Cad. 638. Sok. Erzincanlılar Sitesi J Blok D:5 Elvankent-ANKARA
 Telefonu: (0312) 260 65 37

II- Eğitimi

2007 - 2004 Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji ABD (Tezli Yüksek Lisans)
 2004 - 2000 Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (Lisans)
 2000 - 1997 Burdur Anadolu Öğretmen Lisesi
 1997 - 1993 Burdur Anadolu Lisesi (Ortaokul)
 1993 - 1988 Burdur Şeker İlkokulu

Yabancı Dili: İngilizce (Çok iyi)
 Almanca (Temel)

III- Mesleki Deneyimi

2007 Mart - ... Novo Nordisk Sağlık Ürünleri Tic. Ltd. Şti.
 Ruhsatlandırma Sorumlusu

2007 Mart - 2006 Nisan Cankat İlaç ve Tıbbi Hizm. San. ve Tic. Ltd.
 Şti. Mesul Müdür, Farmakovijilans ve
 Ruhsatlandırma Sorumlusu

2005 Eylül - 2005 Mart Pfizer İlaçları Ltd. Şti.
 Ruhsatlandırma Sorumlusu (Staj)

IV- Üye Olduğu Kuruluşlar

Ankara Eczacı Odası
Farmakovijilans Derneği

V- Bilimsel İlgi Alanları

Yayınları:

ÇİTOĞLU, G.S., ALTUN, M.L., YILMAZ, B.S., GENÇASLAN, G., ÇOBAN, T.
(2006) Free radical scavenging effects of *Viburnum opulus* L. and
Viburnum lantana L. species growing in Turkey. 8 th International
Symposium on Pharmaceutical Sciences. Poster, Ankara University
Faculty of Pharmacy

VI- Bilimsel Etkinlikleri

Aldığı burslar:

- TÜBİTAK Yurtiçi Yüksek Lisans Bursiyerliği (2005 Mart - 2006
Eylül)

VII- Diğer Bilgiler

Eğitim programı haricinde aldığı kurslar ve katıldığı eğitim
seminerleri:

- Farmakovijilans Eğitimi (T.C. Sağlık Bakanlığı İlaç ve Eczacılık
Genel Müdürlüğü TÜFAM - 2006)
- Türkiye’de CTD Uygulamaları Eğitimi (FarmaTeam – 2007)
- İlaç Sektöründe Sunum Teknikleri Eğitimi (HealthSciences – 2007)
- Human & Veterinary Medicinal Products Regulation – *Turkey’s
Road to EU Membership* (EMA – 2007)