



***HİPPOPHAE RHAMNODIES* L. (YABANI İÇDE) BİTKİSİNİN
MEYVE EKSTRAKLARININ İN VİTRO ANTİOKSİDAN
ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Bilal HAYTA

Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Mine GÜLABOĞLU

Yüksek Lisans Tezi-2021

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***HİPPOPFAE RHAMNOİDES* L. (YABANI İĞDE)
BİTKİSİNİN MEYVE EKSTRAKLARININ İN VİTRO
ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Bilal HAYTA

**Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı
Yüksek Lians Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Mine GÜLABOĞLU**

**ERZURUM
2021**

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
TABLolar DİZİNİ	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. <i>Hippophae Rhamnoides</i> L. (Yabani İğde) Bilimsel Sınıflandırılması.....	3
2.2. <i>Hippophae Rhamnoides</i> L. (Yabani İğde) Botanik Özellikleri	3
2.3. <i>Hippophae rhamnoides</i> L. (Yabani İğde) Ülkemizdeki Doğal Yayılışı	4
2.4. <i>Hippophae Rhamnoides</i> L. (Yabani İğde) Farmakolojik Özellikleri	5
2.5. Serbest Radikaller	7
2.6. Serbest Radikallerin Kaynakları	8
2.6.1. Endojen Kaynaklar	8
2.6.2. Eksojen Kaynaklar	9
2.7. Serbest Radikallerin Etkileri	9
2.7.1. DNA Üzerine Etkileri	10
2.7.2. Proteinler Üzerine Etkileri	10
2.7.3. Karbonhidratlar Üzerine Etkileri	11
2.7.4. Membran Lipidleri Üzerine Etkileri	11
2.8. Antioksidanlar.....	11
2.9. Antioksidanların Organizmaya Etkileri	12

3. MATERYAL VE METOT	14
3.1. Bitki Materyali	14
3.2. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler	14
3.3. Deneylerde Kullanılan Aletler ve Cihazlar	15
3.4. Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması	15
3.5. Bitki Ekstraktlarının Total Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi	15
3.6. Bitki Ekstraktlarının Toplam Fenolik Bileşiklerin Miktarlarının Belirlenmesi	16
3.7. Bitki Ekstraktlarının İndirgeyici Güçlerinin Belirlenmesi	16
3.8. Antioksidan Kapasite Deneyleri	17
3.8.1. DPPH Radikal Süpürücü Kapasite Tayini	17
3.8.2. ABTS.+ Süpürücü Kapasite Tayini	17
3.8.3. Demir İyonu İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP)	18
3.8.4. Bakır İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite Tayini Yöntemi (CUPRAC)	18
4. BULGULAR	19
4.1. Total Antioksidan Kapasitelerine Ait Bulgular	19
4.2. Toplam Fenolik Bileşik Miktar Tayini Bulguları	20
4.3. İndirgeyici Güçlerine Ait Bulgular	21
4.4. Antioksidan Kapasite Bulguları	22
4.4.1. DPPH Radikali Süpürme Çalışmalarına Ait Bulgular	22
4.4.2. ABTS ⁺ Radikali Süpürme Kapasite Çalışmalarına Ait Bulgular	23
4.4.3. Demir İyonu İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP) Ait Bulgular	25
4.4.4. Bakır İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite Tayini Yöntemi (CUPRAC)	26
5. TARTIŞMA	29
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	32
KAYNAKLAR	33

EK-1. ÖZGEÇMİŞ	41
EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU.....	42
EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU	43
EK-4. TEZ KONUSU	44



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, Yüksek lisans eğitimim sırasında bilgi ve tecrübesiyle daima yol gösteren ve tez çalışmalarım boyunca tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Prof. Dr. Mine GÜLABOĞLU' na,

Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde gerçekleştirilen bu çalışmanın ortaya çıkmasında büyük emeği olan, sabrı ve hoşgörüsü ile ilgi ve desteklerini esirgemeyen Sayın Arş. Gör. Dr. Zerrin KUTLU'ya ve bu süreçte bilgisiyle desteğini esirgemeyen Sayın Arş. Gör. Lale DUYSAK'a gösterdikleri özveri ve anlayıştan dolayı en derin saygı ve şükranlarımı sunarım. Eğitim hayatım boyunca beni destekleyen aileme teşekkür ederim.

Bilal HAYTA

ÖZET

***Hippophae Rhamnoides* L. (Yabani İğde) Bitkisinin Meyve Ekstraktlarının İn Vitro Antioksidan Özelliklerinin Araştırılması**

Amaç: *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinin farklı polaritelere sahip ekstraktlarının toplam fenolik bileşik, total antioksidan bileşik, indirgeyici güç ve aktivite testlerinin yapılması çalışmamızın amacını oluşturmaktadır.

Materyal ve Metot: Bu çalışmada *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinin farklı polaritelere sahip ekstraktlarının toplam fenolik bileşik, total antioksidan bileşik, indirgeyici güç ve DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal süpürücü aktivite tayin yöntemi, ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonikası)) metodu, (FRAP) demir(III) iyonu indirgenmesine dayalı antioksidan güç metodu ve Cu(II) indirgeyici antioksidan kapasitesi (CUPRAC) metodu ile tespit edildi.

Bulgular: *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinin farklı ekstraktlarındaki total antioksidan kapasiteleri, fenolik bileşik miktarları ve indirgeyici güç analizleri sonucunda diğer ekstraktlara göre en yüksek etki etanol ekstresinde tespit edildi. DPPH radikali süpürme kapasitesi ve ABTS katyon radikali süpürücü kapasite % inhibisyon değerleri diğer ekstraktlara göre etanol ekstresinde oldukça yüksek olduğu tespit edildi. Ayrıca FRAP radikali süpürme kapasitesi ve CUPRAC katyon radikali süpürücü kapasite değerleri diğer ekstraktlara daha yüksek olduğu tespit edildi.

Sonuç: *Hippophae rhamnoides* L. meyvesinin etanol ekstresindeki antioksidan aktivitenin diğer ekstraktlara göre oldukça yüksek olduğu tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: ABTS, CUPRAC, DPPH, FRAP, *Hippophae rhamnoides* L.

ABSTRACT

Investigation of In Vitro Antioxidant Properties of Fruit Extracts of *Hippophae Rhamnoides* L.

Aim: The aim of our study is to perform the total phenolic compound, total antioxidant compound, reducing power and activity tests of the extracts of the fruits of the *Hippophae rhamnoides* L. (Wild Spindle) plant with different polarities

Material and method: In this study, the total phenolic compound, total antioxidant compound, reducing power and DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical scavenging activity determination method, ABTS (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) -Azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) method, (FRAP) iron (III) ion reduction based antioxidant power method and Cu (II) reducing antioxidant capacity (CUPRAC) method was determined

Results: As a result of the analysis of total antioxidant capacities, phenolic compound amounts and reducing power in different extracts of fruits of *Hippophae rhamnoides* L. DPPH radical scavenging capacity and ABTS cation radical scavenging capacity% inhibition values were found to be quite high in ethanol extract compared to other extracts. In addition, FRAP radical scavenging capacity and CUPRAC cation radical scavenging capacity values were found to be higher than other extracts.

Conclusion: It was determined that the antioxidant activity of the ethanol extract of *Hippophae rhamnoides* L. fruit was higher than the other extracts.

Keywords: ABTS, CUPRAC, DPPH, FRAP, *Hippophae rhamnoides* L.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS	: 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
CUPRAC	: Bakır(II) iyonu indirgeme antioksidan kapasite yöntemi
DNA	: Deoksiriboz Nükleik Asit
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
Eq	: Equivalent
FCR	: Folin-Ciocalteu reaktifi
FRAP	: Demir(III) iyonu indirgeme antioksidan kapasite yöntemi
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
LOOH	: lipid hidroperoksit
μL	: Mikrolitre
mM	: Milimolar
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
SOD	: Süperoksit dismutaz
HO·	: Hidroksi radikali
TCA	: Trikloroasetik asit
TEAC	: Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite Tayini
TPTZ	: 2,4,6 Tripridil-S-Triazin
UV	: Ultra Viyole
XO	: Ksantin oksidaz

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1 <i>Hippophae Rhamnoides</i> L. Bitkisinin doğal ortamdaki görüntüsü	4
Şekil 2.2. <i>Hippophae rhamnoides</i> L. bitkisinin doğal yayılışı	5
Şekil 4.1. Gallik asit standart grafiği	20
Şekil 4.2. α -Tokoferolün konsantrasyon- % İnhibisyon grafiği	22
Şekil 4.3. Troloksun konsantrasyon-% inhibisyon grafiği	24
Şekil 4.4. Troloks standart grafiği	25
Şekil 4.5. Troloks standart grafiği	27

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 3.1. Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler.....	14
Tablo 3.2. Tez kapsamında deneylerde kullanılan aletler ve cihazlar	15
Tablo 4.1. <i>Hippophae rhamnoides</i> L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerine ait ekstrelerin total antioksidan aktiviteleri	19
Tablo 4.2. <i>Hippophae rhamnoides</i> L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerine ait ekstrelerin toplam fenolik bileşik miktarları	20
Tablo 4.3. <i>Hippophae rhamnoides</i> L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerine ait ekstrelerin indirgeme güçleri	21
Tablo 4.4. Ekstrelerin 50 µg/mL konsantrasyonda DPPH serbest radikali süpürücü kapasitelerinin karşılaştırılması.....	23
Tablo 4.5. Ekstrelerin 50 µg/ml konsantrasyonda ABTS ⁺ katyon radikali süpürme kapasitelerinin karşılaştırılması.....	24
Tablo 4.6. Ekstrelerin 50 µg/mL konsantrasyonda demir (III) indirgeme/antioksidan güçlerinin µgTEAC cinsinden karşılaştırılması.....	26
Tablo 4.7. Ekstrelerin 50 µg/mL konsantrasyonda Cu (II) neocuproin kompleksinin Cu (I) neocuproine dönüşmesinin µg TEAC cinsinden karşılaştırılması ...	27

1. GİRİŞ

İnsanlar bitkileri tedavi amacıyla eski çağlardan beri kullanmaktadır. Günümüzde dünya üzerinde yetişen 250 bin çiçekli bitkinin yaklaşık %5-10'u etken madde bakımından incelenmiştir.¹ Ülkemiz florasında yaklaşık 8500 bitki türü yetişmekte ve bunlardan yalnız 650 kadarı tedavi amacıyla kullanıldığı bilinmektedir. Araştırmalara konu olmuş bu bitkilerde bulunan bazı doğal kimyasallar insan sağlığı açısından oldukça faydalı antioksidanlar olarak dikkat çekmekte ve bu bitkiler ilk uygarlıklardan bu yana insanlar ve hayvanlar tarafından tüketilmekte olduğu gibi günümüzde de git gide tüketilmesine talep artmaktadır.²

Antioksidanlar, canlılardaki metabolik faaliyetler sonucu ortaya çıkan, kısa ömürlü olmalarına karşı olumsuz etkisi fazla olan serbest radikalleri etkisiz hale getirerek pek çok hastalığa sebep olabilecek zincir reaksiyonlarını engelleyen ve bunun yanı sıra gıdalardaki oksidasyondan kaynaklanan tat bozulmalarını geciktirme ve önleme yeteneğine sahip olan maddeler olarak tanımlanmaktadır.

Gıdaların üretim aşamasında yapılan uygulamalar nedeniyle oluşan ve bunların tüketimi sırasında organizmaya serbest radikal alımı artarak bunların reaksiyonu sonucu oluşan toksik maddeler vücudumuzda birikmektedir. Vücudumuzda biriken bu toksik maddeleri atmak ve onların zararlı etkilerinden kurtulmak için antioksidan maddeler içeren besinlerin tüketilmesi önem arz etmektedir.³ Böylece serbest radikallerin meydana getirdiği hücre hasarı büyük oranda engellenmiş olmaktadır. Bu bağlamda insan sağlığı açısından yararlı olabilecek antioksidan özellikli bileşikler içeren doğal ürünlerin araştırılması önem kazanmaktadır.

Bu çalışma, Erzurum ili Tortum yöresinden toplanan *Hippophae rhamnoides* L. bitkisi meyvelerinin su, etil alkol, metanol ve hekzan ekstraktlarının in vitro antioksidan özellikleri tespit etmek amacıyla yapılmıştır.

Tez kapsamındaki bu çalışmada, amacımız *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinin farklı polaritelere sahip ekstralarının toplam fenolik bileşik, total anitoksidan bileşik, indirgeyici güç ve DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Radikal Süpürücü Aktivite Tayin Yöntemi, ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonikasit)) metodu, (FRAP) Demir(III) İyonu İndirgenmesine Dayalı Antioksidan Güç Metodu ve Cu(II)İndirgeyici Antioksidan Kapasitesi (CUPRAC) Metodu ile tespit etmektir. Çalışmamız, kullanılan bitki materyalinin Erzurum Tortum ilçesinden toplanmış olması, test edilen konsantrasyon aralığının genişliği ve farklı polaritedeki ekstre sayısı bakımından diğer çalışmalardan ayrılmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Hippophae Rhamnoides* L. (Yabani İğde) Bilimsel Sınıflandırılması

Alem: Plantae

Şube: Magnoliophyta

Sınıf: Magnoliopsida

Takım: Rosales

Aile: Elaeagnaceae

Cins: *Hippophae* L.

Tür: *Hippophae rhamnoides* L

2.2. *Hippophae Rhamnoides* L. (Yabani İğde) Botanik Özellikleri

Yüzyıllardan beri kullanılmakta olan *Hippophae rhamnoides* L. bitkisi köklü bir tarihe sahip olduğu görülmektedir. Bu bağlamda M.S. 618’de Tang Hanedanı’ndan itibaren geleneksel Çin tıbbında kullanılmıştır. Ayrıca M.Ö. 800’lerde Tibet medikal klasiği olan “Gyud Bzi” kayıtlarında da bulunmaktadır. Antik Yunan tarihinde ise atların yemine katılan *Hippophae rhamnoides* L. bitkisinin yaprakları atların daha çok büyümesinin ve tüylerinin parlak olmasının nedeni olarak kabul edilmiştir. Bu nedenle Latince *Hippophae* adı “parlayan at” anlamına geldiği belirtilmektedir.⁴

Türkiye’deki yerel isimleri Cıcılık, Çıçırğan, Çişkan (Erzurum bölgesi), Sincan çalısı (İlgaz, Sivas) olduğu görülmektedir. Ancak Türkçe Botanik kitaplarında ‘Yalancı İğde’ veya ‘Yabani İğde’ olarak da geçmektedir.⁵ *Hippophae* cinsi 6 tür ve 12 alt türden oluşmaktadır. Şekil 2.1. ‘de görüldüğü gibi *Hippophae Rhamnoides* L. bitkisi simpodial dallanma gösteren, çeşitli yükseklikte, yaprak döken, dikenli ağaç ve çalılardır. Yapraklar, alternat dizilişli, yaprak kenarı genellikle düz, taban kısmı geniş, uca doğru gittikçe incelen yapıdadır ve gümüşü-bronz renkte tüylerle kaplıdır. Meyve renkleri sarıdan koyu kırmızıya doğru renk çeşitliliği gösterebilmektedir. Olgunlaşmış meyveleri

genellikle turuncu renkte ve küresel bir şekil aldığı görülmektedir. Çiçeklenme nisan-mayıs, meyve oluşumu eylül-ekim aylarında görülür.^{4,6}



Şekil 2.1 *Hippophae Rhamnoides* L. Bitkisinin doğal ortamdaki görüntüsü.

2.3. *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) Ülkemizdeki Doğal Yayılışı

Hippophae rhamnoides L. bitkisi Türkiye’de 2000 m ve daha fazla yükseltilere kadar doğal yayılışa sahip olduğu belirtilmektedir.⁵ *Hippophae Rhamnoides* L. bitkisi Şekil.2.3’ de gösterildiği gibi başlıca Kuzey ve Batı Anadolu, Çankırı-Koçhisar (İlgaz)’da, Kastamonu-Taşköprü’de yayılış göstermektedir. Samsun yöresinde, Giresun-Tirebolu’nun 4 km doğusundaki bölgelerde, Nevşehir-Göreme, Sivas Alacahan’ın güneyinde, Erzincan-Refahiye’de, Van’ın Hoşap ile Kehir Dağı’nın batı yamacında ve Erzurum-Oltu yakınlarında doğal yayılış alanı gösterdiği belirtilmektedir.^{7,8}



Şekil 2.2. *Hippophae rhamnoides* L. bitkisinin doğal yayılımı.

2.4. *Hippophae Rhamnoides* L. (Yabani İğde) Farmakolojik Özellikleri

Hippophae rhamnoides L. bitkisi yüzyıllardır Asya ve Avrupa’da kullanımına rağmen, son zamanlarda besleyici ve tedavi edici değerlerinden dolayı dünya genelinde bu bitkiye ilginin arttığı görülmektedir. Kanseri, kalp rahatsızlıkları, ülser, hepatik hastalıklar ve beyin hastalıkları tedavi etmek için yaklaşık 200’den fazla endüstriyel üründe kullanıldığı bilinmektedir. *Hippophae rhamnoides* L. bitkisinin meyvesi kullanılarak üretilen tıbbi ürünlerin anti-inflamatuvar, anti-mikrobiyal, ağrı kesici, doku rejenerasyonun teşviki, bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi, kanser ve kardiyovasküler hastalıklara karşı korunma sağladığı belirtilmektedir.⁴

Hippophae rhamnoides L. meyvesinin bileşenleri potansiyel bir anti-kanserojen aktiviteye sahip olduğu belirtilmektedir.^{9, 10} Ayrıca meyvelerinin kardiyovasküler hastalıklara karşı tüketilmeleri oldukça faydalı olduğu ifade edilmektedir.¹¹

Son yıllarda yapılan çalışmalar ile *Hippophae rhamnoides* L. bitkisinin içerdiği biyoaktif bileşiklerin kanser, gastrik ülser, deri hastalıkları, diyabet gibi hastalıkların tedavisinde ilaç olarak kullanılabileceği belirtilmektedir.^{12, 13}

Hippophae rhamnoides L. bitkisinin taze meyvelerinden elde edilen meyve suyu, meyve şurubu, meyve veya tohum yağları; mide ülseri, kanser ve metabolik bozuklukların tedavisinde, analjezik olarak soğuk algınlığı, ateş, halsizlik için kullanılmaktadır.¹⁴

Hippophae rhamnoides L. bitkisinin sayısız yararlarından dolayı antioksidan açıdan in vitro ortamda birçok kez çalışma yapılmıştır.¹⁵⁻¹⁷

In vitro ve in vivo yapılan çeşitli deneylerde *Hippophae rhamnoides* L. bitkisinin oksidatif stres ve yaşlanmaya karşı koruyucu etki gösterdiği belirtilmektedir.¹⁸ *Hippophae rhamnoides* L. bitkisinin ham meyve ekstresinin içeriği hem lipofilik hemde hidrofilik antioksidan enzimler açısından oldukça zengin olduğu bilinmektedir. İlginç bir şekilde hem ham ekstrenin hem de fenolik ve askorbatlı ekstrelerinin radikal süpürücü etkinlikleri meyve olgunlaştıkça azalmaktadır.¹⁵

Diğer bitki türlerinde olduğu gibi genetik çeşitlilik, büyüme durumu, olgunluk derecesi ve hasat mevsimi *Hippophae rhamnoides* L. bitkisinin fitokimyasal konsantrasyonunu, in vitro ve in vivo aktivitelerini farklı oranlarda etkilediği gözlemlenmektedir.^{15, 19}

Hippophae rhamnoides L. bitkisinin meyveleri gıda endüstrisinde yaygın olarak birçok içecekte aroma artırıcı, gıda takviyesi, reçel yapımı, meyve suyu ve gıda renklendirme materyali olarak kullanılmaktadır. *Hippophae rhamnoides* L. bitkisinin meyveleri fenolik bileşikler, flavonoidler, askorbik asit, tokoferoller, yağ asitleri, karotenoidler ve organik asitler gibi doğal antioksidanlar bakımından oldukça zengin olduğu belirtilmektedir.²⁰

Hippophae rhamnoides L. bitkisinin meyveleri, çeşitli vitaminler (A, C, E ve K), karotenoidler, flavonoidler, organik asitler, mikro ve makro besinler gibi bileşikler açısından oldukça zengin besin kaynağıdır.^{14, 21-23}

Hippophae rhamnoides L. bitkisinin meyvesi, içeriğindeki C vitamini konsantrasyonu çilek, kivi, portakal, domates, havuç gibi meyve ve sebzelerde yüksek oranda bulunan C vitamini konsantrasyonundan daha yüksek olduğu belirtilmektedir.¹⁴

Hippophae rhamnoides L. bitkisinin meyveleri zengin antioksidan içeriğine sahip olmalarının yanı sıra ayrıca bu meyveler palmitik asit, oleik asit, palmitoleik asit, linoleik asit ve linolenik asit gibi yağ asitleri ve fitosteroller açısından da oldukça zengin olduğu ifade edilmektedir.^{24, 25}

Hippophae rhamnoides L. bitkisinin meyvelerinden ekstrakte edilen yağlar UV ışınını absorbe ederek cildi korumakta, bu nedenle farmasötik ve kozmetik endüstrilerde hammadde olarak tercih edildiği bilinmektedir.²⁶

2.5. Serbest Radikaller

Dış orbitallerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron bulunduran atom ya da moleküle serbest radikal denilmektedir. Bu eşleşmemiş elektronları nedeniyle molekülü kararsız yapan serbest radikaller, kimyasal olarak son derece reaktif bir yapıya dönüşmektedir. Kısa ömürlü aktiviteleri olmasına rağmen protein, lipit, nükleik asit gibi büyük moleküllü yapılarla etkileşimleri sonucu hücrelerin fonksiyon ve yapılarında olağanüstü değişikliklere yol açabilmektedir.²⁷ Yaşadığımız çevrede çok sayıda fiziksel etkenler ve kimyasal etkiler nedeniyle sürekli radikal üretimi bulunmaktadır. Serbest radikaller başlıca üç yolla meydana gelmektedirler.²⁸⁻³⁰

Kovalent bağların homolitik kırılması: Yüksek sıcaklıklar (500 - 600°C) ve oldukça yüksek enerjiye sahip elektromanyetik dalgalar kimyasal bağların kırılmasına neden olmaktadır. Bunun sonucunda bağ yapısındaki iki elektronun herbiri farklı atomlar üzerinde kalmasıyla homolitik kırılma oluşmaktadır. Meydana gelen her iki atom üzerinde de reaktif özellik gösteren çiftleşmemiş elektron bulunur.

Normal bir molekülün elektron kaybetmesi veya bir molekülün heterolitik bölünmesi: Radikal özellik göstermeyen normal bir molekülden yalnız bir elektron kaybetmesi sonucu dış orbitalinde çiftleşmemiş elektron bulunmasıyla meydana gelmektedir.

Normal bir moleküle elektron transferi: Radikal özelliği bulunmayan normal bir moleküle tek elektron transfer edilmesi sonucu dış orbitalinde eşleşmemiş elektron meydana gelerek oluşmaktadır. Biyolojik sistemlerdeki en önemli radikal kaynağı oksijen ve azottan meydana gelen radikallerdir.

Reaktif oksijen türlerinden meydana gelen serbest radikaller metabolizmadaki faaliyetlerden kaynaklı olmasının yanı sıra dış kaynaklı da oluşabilmektedir. Bu serbest radikallerden metabolik kaynaklı oluşmalar elektron transport sistemi esnasında veya oksidasyon reaksiyonları sonucunda ve bazı enzimatik reaksiyonlar sonucunda oluşurken dış kaynaklı oluşmalar ise UV ışınları veya radyasyon etkisiyle diğer yandan hava kirliliği, bazı ilaçların yan etkileri, sigara dumanına maruz kalmak, kötü beslenme ve çeşitli kanserojen maddelerin etkisiyle meydana geldiği bilinmektedir.^{29, 31, 32}

2.6. Serbest Radikallerin Kaynakları

Serbest radikaller organizmalarda normal metabolik faaliyetler sonucu oluşan oksidasyon-redüksiyon reaksiyonları esnasında organizmada yabancı maddelerin (ksenobiyotiklerin) metabolize edilmesinde veya organizmanın radyasyon gibi dış kaynaklı etkilere maruziyeti sonucunda meydana gelebilmektedir.^{33, 34}

Organizmadaki serbest radikaller hem endojen hem de eksojen kaynaklar tarafından meydana gelebilmektedir.³⁵⁻⁴⁰

2.6.1. Endojen Kaynaklar

Mitokondride meydana gelen oksijenli solunum esnasında elektron transport sistemi ile katalize edilen oksijenler serbest radikalleri yan ürün olarak meydana

getirmektedir. Ayrıca lipid peroksidasyonu, ksantin oksidaz ve mitokondriyel sitokrom oksidaz gibi çeşitli endojen radikal kaynakları olarak bilinmektedir. Düz kas hücreleri, plateletler ve araşidonik asit metabolizması tarafından serbest radikaller üretilmektedir. Otooksidasyon reaksiyonları sırasında ksantin oksidaz (XO) ile nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz gibi enzimlerle endoplazmik retikulumda sitokrom p450 sisteminde meydana gelen elektron kaçaklarından oluşabilmektedir. Ayrıca stres sonucu olarakta yine serbest radikal üretebilmektedir. Bu hormonların kendileri de serbest radikallere dönüşebilmektedir. Bağışıklık sistemi hücreleri patojenlere yanıt olarak reaktif oksijen türlerini ve oksiradikalleri üretebilmektedirler.⁴¹

2.6.2. Eksojen Kaynaklar

UV ışınlar, X-rays, gamma ışınları, mikrodalga ışınları, gıdaları pişirme sırasındaki organik maddelerin yakılması, volkanik faaliyetler, orman yangınları, karbonmonoksit, benzen, formaldehit, asbest ve toluen gibi hava kirletici faktörler, temizlik ürünleri, boya, tiner, parfümler ve insektisitler gibi kimyasallar, kloroform ve diğer çevresel kirletici maddeler, alkol ve sigara tüketimi, sigara ve egzoz dumanı serbest radikal üretimine katkıda bulunan eksojen kaynaklardır.⁴¹

2.7. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller genellikle iç ve dış etkilere maruz kalması sonucunda daha çok oluşarak ve organizmada antioksidan sistemindeki eksikliğe bağlı olarak öncelikle membran lipidleri yanı sıra proteinler, karbonhidratlar ve DNA'ya ciddi biçimde hasar verebilmektedir. Meydana gelen hasarlar hücrenin türüne, maruz kalınan strese ve şiddetine bağlı olarak toksik etki, mutasyona sebep olan veya kanser yapıcı etki göstermektedir.⁴²⁻⁴⁴

2.7.1. DNA Üzerine Etkileri

Reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türleri DNA üzerine etki yaparak oksidatif hasara neden olabilir. Çünkü DNA, hidroksil gibi serbest radikaller tarafından rahatlıkla hasar görebilmektedir.^{38, 45-47}

Süperoksit radikali ve hidroksil radikali; sitoplazma, mitokondri, endoplazmik retikulum gibi organelerde, nükleus membranlarında lipid peroksidasyonunun başlamasına sebep olmaktadır. Membranlarda meydana gelen lipid peroksidasyonu sonucunda membran geçirgenliğinde artış oluşmaktadır. Serbest radikallerin etkisi altındaki proteinlerde sistein sülfidril grupları ve diğer amino asit kalıntıları okside olarak yıkılmaktadır. Böylece mitokondriyal DNA okside olur. Sonuç olarak hücrelerde meydana gelen hasara serbest oksijen radikalleri sebep olmaktadır .

Günümüzde yapılan birçok araştırma sayesinde serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hücre hasarlarının çoğu kronik hastalığa sebep olduğu bilinmektedir. Bunlardan bazılarını solunum yetmezliği, parkinson hastalığı, rahim ağzı kanseri, çeşitli gebelik komplikasyonları, alkolik karaciğer hastalığı, hemodiyaliz hastaları, ani gelişen böbrek yetmezliği, yaşlanma, bazı bebeklerde görülen retina hasarı, beyin ve kalp damarlarında tıkanıklığa bağlı olarak gelişen birçok durumda serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hücre hasarı söz konusu olmaktadır.⁴⁸⁻⁵⁰

2.7.2. Proteinler Üzerine Etkileri

Serbest radikaller proteinleri direkt etkilemektedir. Bu etkilenmenin boyutu ise amino asit içeriklerine bağlı olarak gelişmektedir.⁵¹ Serbest radikallerin proteinler üzerinde meydana getirdiği başlıca önemli değişiklikler; amino asitlerin modifikasyonu, proteinlerin fragmentasyonu, proteinlerin agregasyonu ve çapraz bağlanmalar olarak bilinmektedir.⁵²

2.7.3. Karbonhidratlar Üzerine Etkileri

Karbonhidratlarla hidroksil gibi serbest radikaller reaksiyona girebilmekte ve karbon atomlarının birinden bir hidrojen atomu çıkararak karbon merkezli radikal üretebilmektedir. Bunlar hyalüronik asit gibi önemli moleküllerde zincir kırılmalarına neden olmaktadır.⁴⁶

2.7.4. Membran Lipidleri Üzerine Etkileri

Hücre içi organellerin membranlarında bulunan lipitler, serbest radikal hasarına karşı oldukça hassas olduğu görülmektedir.²⁷ Serbest radikaller, lipitler ile reaksiyona girdiğinde lipit peroksidasyonu, toksik yan ürünlerin çok fazla üretilmesine sebep olarak meydana gelen bu yan ürünler ikinci haberciler gibi hareket eder ve üretildiği bölgeden uzak bir alanda etkilerini gösterebilmektedir. Lipit peroksidasyonundan kaynaklanan hasar, hücrelerin fonksiyonlarını sürdürmek için oldukça zararlı olmaktadır.⁵³

Hücre membranındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle kolaylıkla reaksiyona girerek peroksidasyona sebep olmaktadır. Bunun sonucunda membran akışkanlığında bozulma ve geçirgenliğinde değişikliklere neden olmaktadır.^{54, 55}

2.8. Antioksidanlar

Antioksidanlar, daha düşük yoğunluklarda yükseltgenebilen substratlara göre substratın prooksidanlarla başlatılan oksidasyonunu önemli ölçüde engelleyen veya geciktiren maddeler olarak bilinmektedir. Prooksidanlar ise proteinler, lipidler ve nükleik asitlerde oksidatif bozunmalara neden olan ve bunun sonucunda birçok patolojik hastalığa yol açan toksisitesi yüksek maddelerdir. Ortamdaki bu tehlikeli bileşiklerin varlığı, sağlıklı bir yaşam için antioksidanları son derece gerekli kılmaktadır. Antioksidanlar, hücrelerin zarar görmesine sebep olan bu prooksidanları (serbest radikaller, reaktif azot

ve oksijen türleri) oldukça etkili şekilde indirgeyip düşük toksisiteli veya toksik olmayan maddelere dönüştürmektedirler.⁵⁶

Antioksidanlar; vücut hücreleri tarafından üretilmelerinin yanı sıra tüketilen gıdalar yoluyla da vücudumuza girebilmektedir. Tükettiğimiz bu gıdalarda bulunan ve insan vücudunu zararlı serbest radikallerin etkilerinden koruyan doğal antioksidanlardan başlıcaları; vitaminler (A, C ve E vitaminleri), flavonoidler, karotenoidler ve polifenoller olarak sıralanabilmektedir. Günümüzde yapılan çoğu araştırmada sebze ve meyve tüketimi ile belirli kanser ve kalp hastalıklarının oluşumu arasında ters orantılı bir ilişki olduğu kanıtlanmıştır.⁵⁷

Polifenoller ve bunların türevleri, bilinen antioksidanlar arasında önemli bir yere sahiptir. Bu bileşikler oksidatif sistemde çeşitli şekilde etki göstermektedir. Mesala singlet oksijeni pasif hale getirerek oksijen derişimini düşürebilmektedir. Ayrıca birincil radikalleri tutma özelliğini kullanan hidroksil radikalleri zincirleme oluşan reaksiyonların başlamasını önleyerek bu bölgelere metal iyon katalizörlerini bağlamaktadırlar.⁵⁸

Bir antioksidanın aktivitesi hidrojen veya elektron donör aracı olarak gösterebildiği reaktiviteye, antioksidanların kendisinden türeyen radikalın akıbetine, diğer antioksidanlarla etkileşime girme yeteneğine, geçiş metali şelatlama potansiyeli gibi çeşitli faktörler ile belirlenmektedir.⁵⁷

2.9. Antioksidanların Organizmaya Etkileri

Antioksidanlar organizmaya etkilerini başlıca iki şekilde gösterebilmektedir.⁵⁹ Bunlardan biricisi serbest radikal oluşumunun önlenmesi şeklinde gösterilir. Bunlar ise oksijeni uzaklaştırıcı veya derişimini azaltıcı etki, başlatıcı reaktif türevlerini uzaklaştırma etkisi ve katalitik metal iyonlarını uzaklaştırıcı etki olarak bilinmektedir.

İkinci olarak oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesiyle olabilmektedir. Bunlar dört ayrı etki tipi ile açıklanabilmektedir.⁶⁰⁻⁶²

- 1) **Toplayıcı etki:** Serbest oksijen radikallerini etkileyip onları tutma veya reaktif olamayan yeni bir moleküle dönüştürme “toplayıcı” etkidir. Antioksidan enzimler, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) vb. bu şekilde etkilidir.
- 2) **Bastırıcı etki:** Serbest oksijen radikali ile etkileşerek onlara bir hidrojen bağlayıp aktivitelerini azaltma veya inaktif haline dönüştürme “bastırıcı” etkidir. C vitamini, flavonoidler, E vitamini bu tarz bir etkiye sahiptirler.
- 3) **Onarıcı etki:** Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması “onarıcı” etkidir. Genellikle DNA’daki hasarların onarılmasında görülmektedir.
- 4) **Zincir kırıcı etki:** Serbest oksijen radikalleri bağlanmasıyla zincir reaksiyonlarını kırıp fonksiyonlarını önleyici etki “zincir kırıcı” etkidir.

Serbest radikalleri etkisiz hale getirmede önemli rolü bulunan antioksidanlar hakkında yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen bilgiler arttıkça bunlara olan ilgi de bilim insanları tarafından gün geçtikçe artarak devam etmektedir. Dolayısıyla günümüzde yapılan her alandaki çalışmaların antioksidan özelliğiyle beraber değerlendirme çalışmaları da çoğaldığı görülmektedir.^{63, 64}

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Bitki Materyali

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyve örnekleri Ekim 2019 yılında Erzurum ilinin Tortum bölgesinden toplanmış. Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Prof. Dr. Meryem Şengül Köseoğlu tarafından teşhis edilmiştir.

3.2. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tez çalışması kapsamında kullanılan tüm kimyasallar ve çözücüler (Tablo 3.1) piyasadaki saflık derecesi en yüksek olanları tercih edilerek çalışmada kullanıldı.

Tablo 3.1. Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler

Kimyasal Maddeler	Firma
DPPH (CAS No: 1898-66-4)	Sigma-Aldrich®, St. Louis, USA
ABTS (CAS No: 30931-67-0)	Sigma-Aldrich®, St. Louis, USA
TPTZ (CAS No: 3682-35-7)	Sigma-Aldrich®, St. Louis, USA
Neocuproine%98(CAS No:484-11-7)	Sigma-Aldrich®, St. Louis, USA
Amonyum tiyosiyanat (CAS No: 1762-95-4)	Sigma-Aldrich®, St. Louis, USA
Amonyum asetat (CAS No: 631-61-8)	Sigma-Aldrich®, St. Louis, USA
Bakır (II)klorür (CAS No: 10125-13-0)	Merck Millipore®, Almanya
Demir (III)klorür (CAS No: 7705-08-0)	Sigma-Aldrich®, St. Louis, USA
Demir (II)klorür CAS No: 7758-94-3	Sigma-Aldrich®, St. Louis, USA
Folin & Ciocalteu reaktifi	Sigma-Aldrich®, St. Louis, USA
Potasyum ferrisiyanür (CAS No: 13746-66-2)	Sigma-Aldrich®, St. Louis, USA
Potasyum persülfat 99.0% (CAS No: 7727-21-1)	Sigma-Aldrich®, St. Louis, USA
Sodyum karbonat (CAS No: 497-19-8)	Sigma-Aldrich®, St. Louis, USA
Linoleik asit, 60-74% (CAS No: 60-33-3)	Sigma-Aldrich®, St. Louis, USA
Trikloroasetik asit (CAS No: 76-03-9)	Merck Millipore®, Almanya
Etanol %96 (CAS No: 64-17-5)	Sigma-Aldrich®, St. Louis, USA

3.3. Deneylerde Kullanılan Aletler ve Cihazlar

Araştırmanın yürütülmesinde Tablo 3.2’de belirtilen alet ve cihazlar kullanıldı.

Tablo 3.2. Tez kapsamında deneylerde kullanılan aletler ve cihazlar

Adı /Modeli	Firma
Buzdolabı (+4 °C ve -20 °C)	Vestel®, Türkiye
Çalkalayıcı su banyosu	Memmert®, Almanya
Derin dondurucu (-80 °C)	GLACIER®, ABD
Elisa Sistemi Epoch+Take3+Pc	Roche®, isviçre
pH metre	Schott CG 842®, Filipinler
Pipet seti	Eppendorf®, Almanya
Santrifüj	Hettich UNIVERSAL 32R®, İngiltere
Döner Buharlaştırıcı	SCIOLOGEX, İngiltere
Saf su cihazı	Merck Millipore Direct-Q 3, Almanya
Magnetik karıştırıcılar	Boeco MSH 300, Almanya

3.4. Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyveleri kurutulduktan sonra bir havanda sıvı azot ile muamele edilerek toz haline getirildi. Her birinden 100 g örnek tartılarak bir Soxhlet cihazı balonuna yerleştirildi. Çalkalayıcı su banyosunda iki gün süreyle ekstrakte edildi. Meyvenin su, etanol, metanol ve hekzan olmak üzere 4 farklı çözücü sistemi (50°C, 250 ml x 4) kullanıldı. Ekstraktlar süzildükten sonra ve çözücü içeriği döner buharlaştırıcı (evaporatör) da düşük basınç ve düşük sıcaklıkta uzaklaştırıldı. Ekstraktlar 5 µm-Hg basınç altında liyofilize edildi.

3.5. Bitki Ekstraktlarının Total Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi

Hippophae rhamnoides L. bitkisinin meyvelerinden elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitesi Mitsuda ve arkadaşları tarafından geliştirilen yönteminin modifiye edilmiş hali kullanılarak gerçekleştirildi. Bu metoda göre, tiyosiyanat yöntemi kullanılarak ölçüldü.⁶¹ 1 mg ekstrakt 1 mL saf suda çözüldükten sonra kapaklı deney tüpü

içerisinde üzerine 4 mL fosfat tamponu (0.2 M, pH 7.0) ve 5 mL linoleik asit çözeltisi ilave edildi ve daha sonra 37°C 'da inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun başlatılmasını müteakip her 10 saatte bir %75 etanol ve %30 amonyum tiyosiyanat çözeltilerine 0.1 mL inkübasyon karışımı ilave edilerek vortekslendi. Karışıma %35 HCl içerisinde 0.02 M FeCl₂ çözeltisi ilave edilerek absorbanslar 500 nm' de köre karşı ölçüldü. Kontrol için aynı işlemler yalnızca linoleik asitli karışımda, kör için ise 0.1 mL saf su ilave edilerek tekrarlandı. İnkübasyona kontrolün maksimum absorbansa ulaşması neticesinde son verildi. İnkübasyon karışımından her seferinde 6 tekrür ile sonuçlar verilmiştir.

3.6. Bitki Ekstraktlarının Toplam Fenolik Bileşiklerin Miktarlarının Belirlenmesi

Hippophae rhamnoides L. bitkisinin meyve ekstraktlarındaki toplam fenolik bileşiklerin miktarları, Slinkard ve Singleton tarafından geliştirilen yönteminin modifiye edilmiş hali kullanılarak gerçekleştirildi.⁶⁵ 0.5 mg liyofilizat 0.5 mL saf suda çözüldükten sonra kapaklı deney tüpü içerisinde üzerine 2.5 mL Folin-Coicalteu çözeltisi ilave edildi ve 30 °C ' de 5 dakika inkübasyona bırakıldı. Sonra bu karışımın üzerine 2 mL Na₂CO₃ ilave edilerek 30 °C'de 90 dakika süreyle yeniden inkübasyona bırakıldı. 90. dakikanın sonunda 765 nm'de absorbanslar ölçüldü. Gallik asit kullanılarak hazırlanan standart grafikten de yararlanılarak sonuçlar, mg Gallik Asit ekivalenti (GAE)/g liyofilizat şeklinde verildi.

3.7. Bitki Ekstraktlarının İndirgeyici Güçlerinin Belirlenmesi

Hippophae rhamnoides L. bitkisinin meyve ekstraktlarının indirgeyici güçleri Yen ve Chen tarafından geliştirilen yönteminin modifiye edilmiş hali kullanılarak gerçekleştirildi.⁶⁶ 0.5 mg ekstrakt 0.5 mL saf suda çözüldükten sonra kapaklı deney tüpü içerisinde üzerine 2.5 mL fosfat tamponu (0.2 M, pH 6.6) ve 2.5 mL % 1 potasyum ferrisiyanür çözeltisi eklendikten sonra 50°C 'de 30 dakika inkübasyona bırakıldı. %10

TCA çözeltisinden 2.5 mL ilave edilip 3000 rpm’ de 10 dakika santrifüj edildi. Bu karışımın üzerine 2.5 mL süpernatant alınarak üzerine 2.5 mL %0,1 FeCl₃ ve 2.5 mL saf su ilave edildikten sonra 700 nm’ de absorbans ölçüldü. Yüksek absorbans, yüksek indirgeyici gücü temsil etmektedir.

3.8. Antioksidan Kapasite Deneyleri

3.8.1. DPPH Radikal Süpürücü Kapasite Tayini

Hippophae rhamnoides L. bitkisinin meyvelerinden elde edilen ekstraktların DPPH radikali süpürücü kapasiteleri Blois metoduna göre tespit edildi.⁶⁷ 1 mM DPPH çözeltisi serbest radikal çözeltisi olarak kullanılarak bitki ekstraktlarına ait 10-60 µg/mL arasında değişen stok çözeltiler hazırlandı. Ardından her bir kuyucuğa 210 µL stok çözelti ve 70 µL DPPH çözeltisi pipetlendi. Örnekler 1 dakika süresince vorteks yardımıyla çalkalandıktan sonra oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dk inkübe edildi. Kontrol numunesi için 210 µL etanol ve 70 µL DPPH çözeltisi, standart antioksidan olarak ise α - tokoferol, troloks ve askorbik asit kullanıldı. Tüm örnekler etanolden oluşan köre karşı 517 nm’de absorbansları kaydedildi ve sonuçlar yüzde inhibisyon olarak hesaplandı.

3.8.2. ABTS.+ Süpürücü Kapasite Tayini

Re ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmaya göre ABTS katyon radikali süpürme kapasitesi belirlendi. Bu yöntemle göre ilk önce 2 mM ABTS çözeltisi hazırlandı ve bu çözeltiye 1:1 oranında, 2.45 mM potasyum persülfat çözeltisi eklenerek ABTS.+ elde edildi. Ekstrelerin 1-40 µg/mL arasında hazırlanan stok çözeltilerinden 40 µL ve ABTS.+ çözeltisinden ise 100 µL fosfat tamponu (0.1 M, pH = 7.4) kullanıldı. 30 dk inkübasyondan sonra tampondan oluşan köre karşı 734 nm’de absorbanslar kaydedildi. Standart bileşik olarak ise troloks ve α -tokoferol kullanıldı.⁶⁸

3.8.3. Demir İyonu İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP)

Hippophae rhamnoides L. bitkisinin meyvelerinden elde edilen ekstrelerin, elektron transferine dayanan antioksidan kapasite/aktivite tayin yöntemi Huang ve arkadaşları metoduna göre yapıldı. İlk önce 0.3 M asetat tamponu (pH= 3.6) hazırlandı. 100 mL balon joje içerisinde 10 mM TPTZ, 40 mM HCl asit konulacak ve son hacim 100 mL tamamlandı.

Daha sonra 20 mM FeCl₃ çözeltisi hazırlanacak. Hazırlanan bu çözeltilerden 2.5 mL TPTZ, 2.5 mL FeCl₃ ve 25 mL asetat tamponundan olacak şekilde 30 mL'lik FRAP çözeltisi elde edildi. Elde edilen FRAP çözeltisi 37°C 'de 30 dk inkübasyon süresinden sonra 593 nm'de kör numunesi olarak ölçüldü.⁶⁹

3.8.4. Bakır İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite Tayini Yöntemi (CUPRAC)

Apak ve arkadaşları metoduna göre *Hippophae rhamnoides* L. bitkisinin meyvelerinden elde edilen ekstrelerin ve bileşiklerin antioksidan kapasite tayinleri belirlendi. Bu yöneme göre ilk önce 10 mM 250 mL CuCl₂H₂O çözeltisi hazırlandı. Tampon çözeltisi olarak da 250 mL NH₄Ac (1 M, pH= 7.0) kullanıldı. Daha sonra 25 mL'lik balon jojelerde %96'lık etanol ile 7.5 mM Neocuproin (Nc) çözeltisi hazırlandı. 60 µL CuCl₂, 60 µL asetat tamponu, 60 µL Neocuproin ve 60 µL numuneden oluşan çözelti karıştırılacak. 30 dk inkübasyon süresinden sonra, Cu (II) neocuproin kompleksinin ortamdaki antioksidan etki gösteren bileşikler vasıtasıyla Cu (I) neocuproine dönüşmesine ve bu kompleksin metanolden oluşan köre karşı absorbans artışları 450 nm'de okundu. Standart bileşik olarak 1-60 µg/mL arasında değişen konsantrasyonlarda troloks çözeltisi kullanıldı.⁷⁰⁻⁷²

4. BULGULAR

4.1. Total Antioksidan Kapasitelerine Ait Bulgular

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstrelerinin her 10 saatte bir alınan ölçümleri içeren veriler esas alınarak 50. saatte en yüksek seviyeye çıkan peroksit oluşumu esnasında ölçülen total antioksidan sonuçları ortalama absorbans olarak hesaplandı (Tablo 4.1).

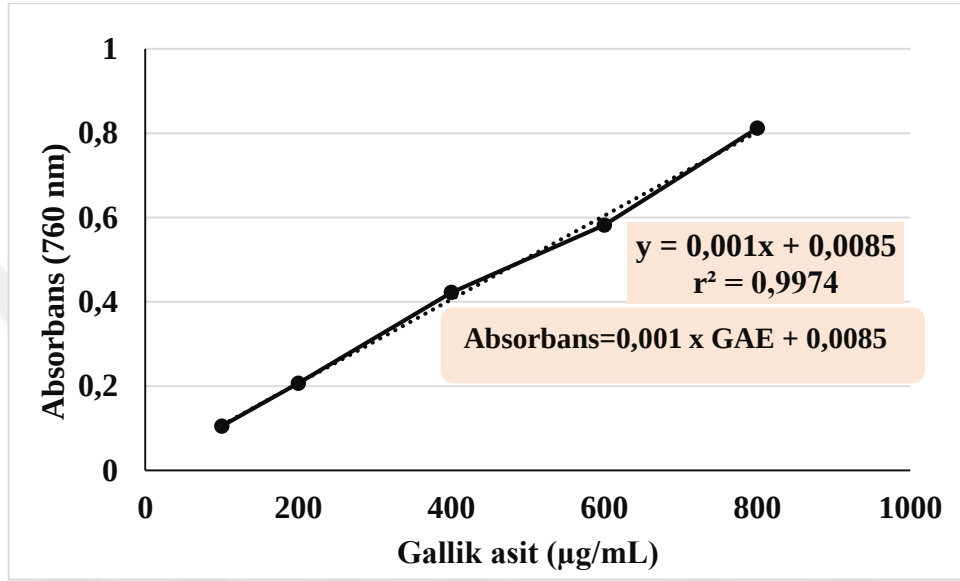
Tablo 4.1. *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerine ait ekstrelerin total antioksidan aktiviteleri

Ekstreler	Doz (mg/mL)	Total antioksidan aktivite
		Ortalama absorbans (50. saat, 500 nm)
Etanol	1	0.256±0.001
	5	0.484±0.005
	10	0.679±0.003
Metanol	1	0.216±0.004
	5	0.281±0.002
	10	0.323±0.007
Su	1	0.175±0.003
	5	0.226±0.005
	10	0.319±0.007
n-hekzan	1	0.178±0.003
	5	0.236±0.002
	10	0.312±0.003

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstrelerinin antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve aktivitenin doz artışına bağlı olduğu belirlenmiştir. Ekstreler (su, etanol, metanol ve n-hekzan) arasındaki en yüksek antioksidan aktivite ise etanol ekstresinde tespit edilmiştir.

4.2. Toplam Fenolik Bileşik Miktar Tayini Bulguları

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstralarının toplam fenolik bileşik miktarları Folin-Ciocalteu Reaktif (FCR) ile belirlendi. Standart fenolik bileşik olarak gallik asit kullanıldı ve hesaplamalarda yararlanılacak olan standart grafik hazırlandı (Şekil 4.1).



Şekil 4.2. Gallik asit standart grafiği

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstralarının toplam fenolik bileşik miktarları gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak hesaplandı (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerine ait ekstraların toplam fenolik bileşik miktarları

Ekstreler	Toplam Fenolik Bileşik (µg GAE/mg ekstre)
Etanol	77.75±0.05
Metanol	50.28±0.01
Su	58.75±0.04
n-hekzan	45.32±0.03

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan ekstreler arasından en yüksek toplam fenolik içerik miktarı etanol ekstresinde olduğu tespit edilmiştir.

4.3. İndirgeyici Güçlerine Ait Bulgular

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstrelerinin indirgeyici güçlerine ait sonuçlar ortalama absorbans olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerine ait ekstrelerin indirgeme güçleri

Ekstreler	Doz (mg/mL)	<u>İndirgeyici gücü</u>
		Ortalama absorbans (700 nm)
Etanol	1	0.341±0.001
	5	0.565±0.003
	10	0.735±0.001
Metanol	1	0.131±0.005
	5	0.291±0.007
	10	0.330±0.002
Su	1	0.158±0.005
	5	0.222±0.004
	10	0.321±0.003
n-hekzan	1	0.356±0.006
	5	0.442±0.004
	10	0.540±0.002

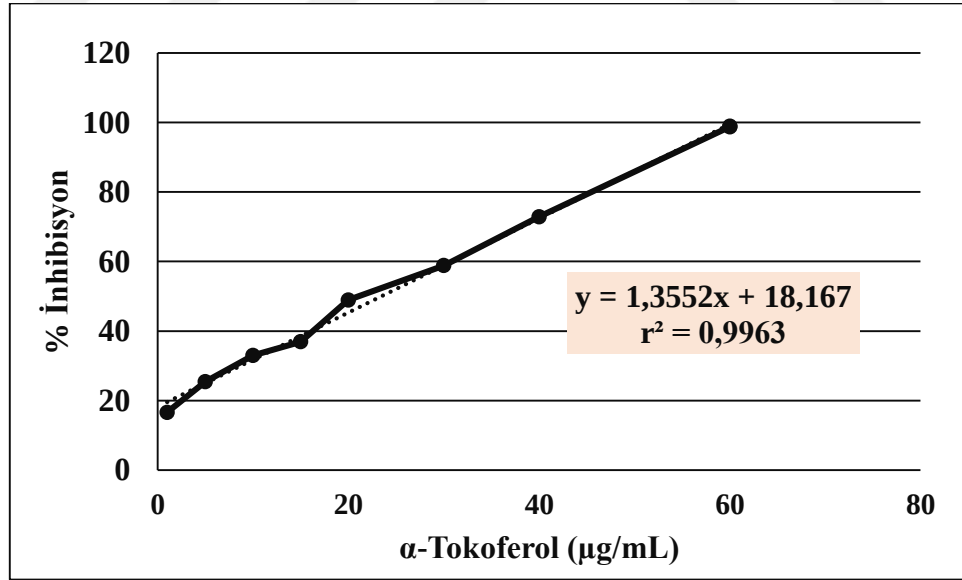
Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstrelerinin hepsinde indirgeyici güçlerinin doza bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Bitki ekstraktlarının antioksidan özelliklerinde genellikle

içerdikleri fenolik maddeler sorumludur. Bu sonuç bize *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitki meyvesinin antioksidan özelliğinin genellikle içerdiğinden kaynaklandığını göstermektedir.

4.4. Antioksidan Kapasite Bulguları

4.4.1. DPPH Radikali Süpürme Çalışmalarına Ait Bulgular

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstralarının ve standart antioksidan bileşiklerin DPPH radikali süpürme aktivite tayinleri Blois metoduna göre yapıldı. Analiz edilen konsantrasyon aralığı (10-60 µg/mL) standart antioksidan bileşikleri üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda belirlendi. Standart antioksidan olarak α-tokoferolün DPPH radikali süpürme aktivitesi 60 µg/mL konsantrasyonunda en yüksek değere ulaşmıştır. Bu veriler doğrultusunda ekstraların çalışılacak konsantrasyon aralığı 10-60 µg/mL olarak belirlendi (Şekil 4.2.).



Şekil 4.2. α-Tokoferolün konsantrasyon- % İnhibisyon grafiği

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstralarının ve standart antioksidan bileşiklerin 50 µg/mL

konsantrasyonda gerçekleştirdikleri DPPH radikali süpürücü kapasiteleri % inhibisyon şeklinde (Tablo 4.4) gösterilmektedir.

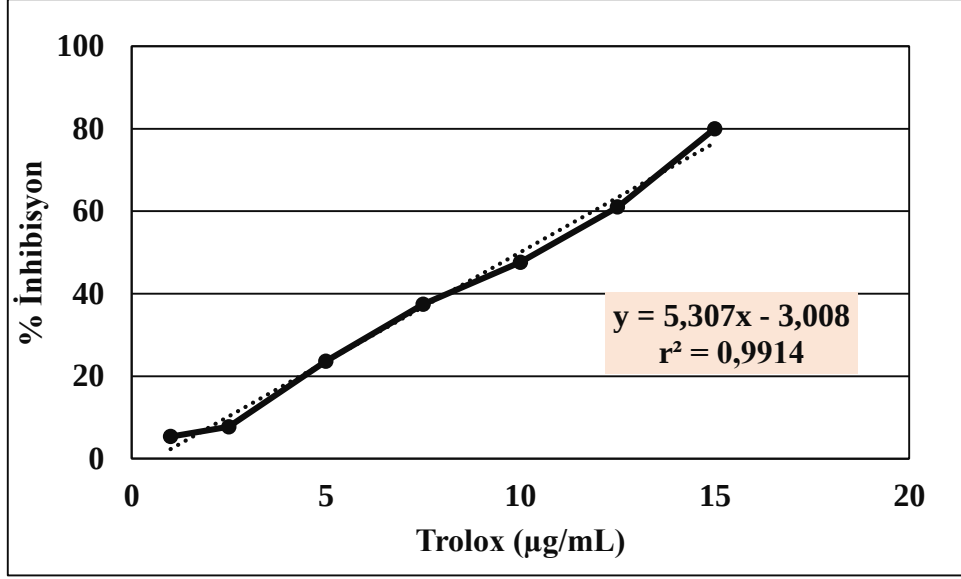
Tablo 4.4. Ekstrelerin 50 µg/mL konsantrasyonda DPPH serbest radikali süpürücü kapasitelerinin karşılaştırılması

Ekstreler	% İnhibisyon (50 µg/mL)
Etanol	42.27
Metanol	38.03
Su	24.17
n-hekzan	20.21
α-Tokoferol	91.8

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstrelerinden en yüksek DPPH serbest radikali süpürücü kapasiteye sahip ekstrenin etanol ekstresi olduğu tespit edilmiştir.

4.4.2. ABTS⁺ Radikali Süpürme Kapasite Çalışmalarına Ait Bulgular

ABTS⁺ katyon radikali süpürücü kapasite tayinleri Re ve ark. tarafından geliştirilen yöntemle göre yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak troloks kullanıldı. Analiz edilecek konsantrasyon aralığı (10-60 µg/mL) standart antioksidan bileşikler üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda belirlendi. Standart antioksidan olarak troloks ABTS⁺ katyon radikali süpürme aktivitesi 50 µg/mL konsantrasyonunda en yüksek değere ulaşmıştır. Bu veriler doğrultusunda ekstrelerin çalışılacak konsantrasyon aralığı 10-60 µg/mL olarak belirlendi (Şekil 4.3.).



Şekil 4.3. Troloksun konsantrasyon-% inhibisyon grafiği

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstralarının ve standart antioksidan bileşiklerin 50 µg/mL konsantrasyonda ABTS⁺ katyon radikali süpürme kapasiteleri % inhibisyon olarak (Tablo 4.5) gösterilmektedir.

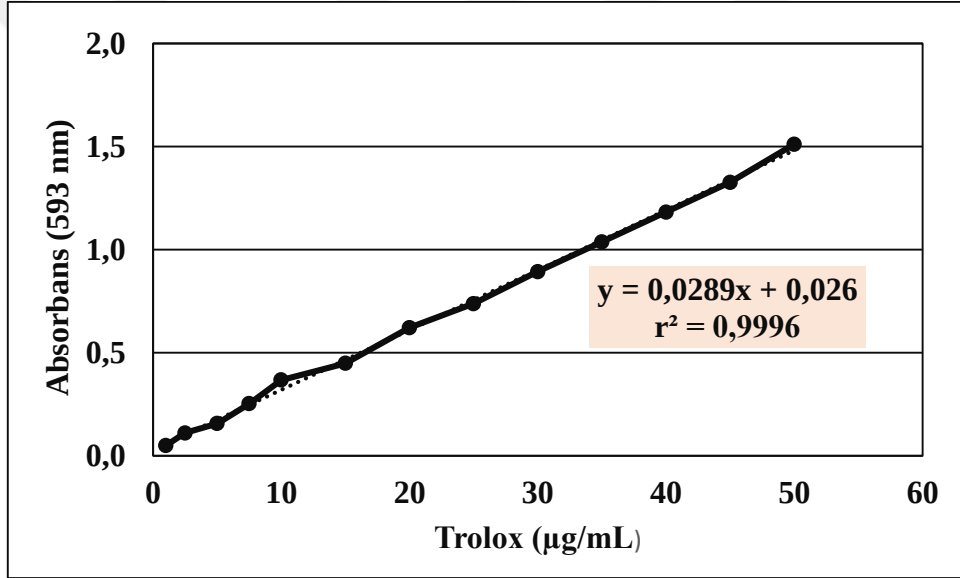
Tablo 4.5. Ekstrelerin 50 µg/ml konsantrasyonda ABTS⁺ katyon radikali süpürme kapasitelerinin karşılaştırılması

Ekstreler	% İnhibisyon (50 µg/mL)
Etanol	47.02
Metanol	31.37
Su	27.06
n-hekzan	18.07
Troloks	88.38

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstralarının en yüksek ABTS⁺ katyon radikali süpürme kapasiteye sahip ekstrenin etanol ekstresi olduğu tespit edilmiştir.

4.4.3. Demir İyonu İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP) Ait Bulgular

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarının ve standart antioksidan bileşiklerin 595 nm’de demir (III) indirgeme/antioksidan gücüne karşılık gelen absorbans değerleri spektrofotometrik olarak ölçüldü. Analiz edilen konsantrasyon aralığı (10-60 µg/mL) standart antioksidan bileşikleri üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda belirlendi. Standart antioksidan olarak troloks, demir (III) indirgeme/antioksidan gücü aktivitesi 40 µg/mL konsantrasyonunda en yüksek değere ulaşmıştır. Bu veriler doğrultusunda ekstraktların çalışılacak konsantrasyon aralığı 10-60 µg/mL olarak belirlendi (Şekil.4.4).



Şekil 4.4. Troloks standart grafiği

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarının ve standart antioksidan bileşiklerin 50 µg/mL konsantrasyonda spektrofotometrik yöntemle 593 nm’de demir(III) indirgeme/antioksidan güçlerinin µg Troloks eşdeğer Antioksidan Kapasite (TEAC) cinsinden karşılaştırılması (Tablo 4.6) gösterilmektedir.

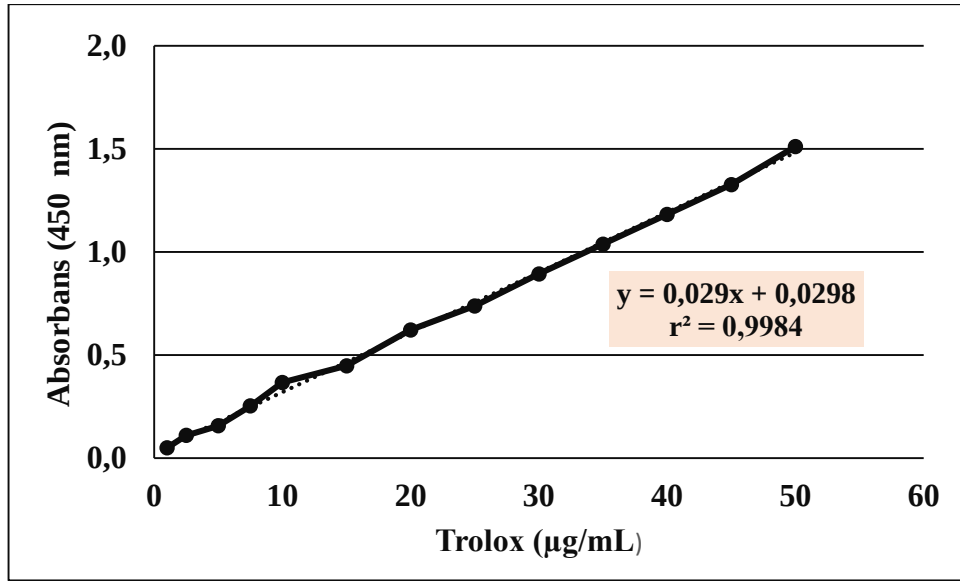
Tablo 4.6. Ekstrelerin 50 µg/mL konsantrasyonda demir (III) indirgeme/antioksidan güçlerinin µgTEAC cinsinden karşılaştırılması

Ekstreler	Troloks (Eq µg/ml)
Etanol	48.05
Metanol	28.07
Su	36.17
n-hekzan	23.09

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstrelerinden en yüksek demir iyonu indirgeyici antioksidan güç kapasitesine sahip ekstrenin etanol ekstresi olduğu tespit edilmiştir.

4.4.4. Bakır İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite Tayini Yöntemi (CUPRAC)

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstrelerinin ve standart antioksidan bileşiklerin 450 nm’de Cu (II) neocuproin kompleksinin ortamdaki antioksidan etki gösteren bileşikler vasıtasıyla Cu (I) neocuproine dönüşmesine ve bu kompleksin metanolden oluşan köre karşı absorbans artışları 450 nm’de okuma yapıldı. Analiz edilecek konsantrasyon aralığı (10-60 µg/mL) standart antioksidan bileşikleri üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda belirlendi. Standart antioksidan olarak troloks, Cu (II) neocuproin kompleksinin ortamdaki antioksidan etki gösteren bileşikler vasıtasıyla Cu (I) neocuproine dönüşme aktivitesi 50 µg/mL konsantrasyonunda en yüksek değere ulaşmıştır. Bu veriler doğrultusunda ekstrelerin çalışılacak konsantrasyon aralığı 10-60 µg/mL olarak belirlendi (Şekil 4.5.).



Şekil 4.5. Troloks standart grafiği

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstrelerinin ve standart antioksidan bileşiklerin 50 µg/mL konsantrasyonda spektrofotometrik yöntemle 450 nm’de Cu (II) neocuproin kompleksinin ortamdaki antioksidan etki gösteren bileşikler vasıtasıyla Cu (I) neocuproine dönüşmesine ve bu kompleksin µg Troloks eşdeğer Antioksidan Kapasite (TEAC) cinsinden karşılaştırılması (Tablo 4.7) gösterilmektedir.

Tablo 4.7. Ekstrelerin 50 µg/mL konsantrasyonda Cu (II) neocuproin kompleksinin Cu (I) neocuproine dönüşmesinin µg TEAC cinsinden karşılaştırılması

Ekstreler	Troloks (Eq µg/ml)
Etanol	42.15
Metanol	23.41
Su	33.33
n-hekzan	21.05

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden hazırlanan su, etanol, metanol ve n-hekzan ekstraktlarından en yüksek bakır iyonu indirgeyici antioksidan kapasitesine sahip ekstraktın etanol ekstresi olduğu tespit edilmiştir.



5. TARTIŞMA

Bitkiler eski çağlardan beri halk hekimliğinde tedavi amaçlı kullanılmaktadır.¹ Bilim insanları birçok bitki türü üzerinde çeşitli araştırmalar yapılmasına rağmen halen daha üzerine araştırma yapılmamış birçok bitki türü bulunmaktadır. Bu çalışmada *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinin farklı polaritelere sahip ekstraktlarının toplam fenolik bileşik, total antioksidan bileşik, indirgeyici güç ve antioksidan kapasiteleri (DPPH, ABTS, FRAP ve CUPRAC) tespit edilmiştir.

Son yıllarda araştırmacılar, serbest radikal kaynakları, rol oynadıkları reaksiyonlar ve bunlara karşı oluşan savunma mekanizmalarının aydınlatılması üzerine birçok araştırma yapmaktadırlar. Serbest radikallerin aşırı üretilmesi ve antioksidan sistemin yetersiz kalması durumunda organizmada oksidatif stres meydana gelmektedir. Antioksidanlar, biyolojik sistemlerde oluşan radikalleri yakalamak bu molekülleri zararsız hale getirmek ve başlayan zincir reaksiyonlarını durdurarak oluşan hasarı ortadan kaldırmaya çalışırlar.¹

Antioksidan aktivite tayin yöntemleri çeşitli parametrelere bağlı olduğundan, bir bileşiğin antioksidan aktivitesini tayin etmek için tek bir standart yöntem yoktur. Bundan dolayı antioksidan aktivite tayin etmek için birçok yöntem kullanılmaktadır.^{61, 65-72} Deneysel çalışmalarda, total antioksidan kapasitesinin belirlenmesi, antioksidanların tek tek analizlere göre daha değerli kabul edilmektedir. Yaptığımız bu çalışmada, *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinin farklı ekstraktlarındaki total antioksidan kapasiteleri analiz edildi. Çalışmanın sonuçlarına göre en yüksek antioksidan aktivite ise etanol ekstresinde tespit edilmiştir.

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinin farklı ekstraktlarındaki toplam fenolik bileşik miktarları sonuçlarına göre etanol ekstresinde diğer ekstraktlara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Doğal bileşikler olarak bilinen

fenolik bileşikler antioksidan özelliklerini, serbest radikalleri yakalayarak ve zincir reaksiyonlarını durdurarak yapabilmektedirler.⁷³ Bundan dolayı toplam fenolik bileşik miktarı yüksek olan ekstraler antioksidan deney sistemlerinde etkili bulunmuştur.

Total indirgeyici güç, antioksidan kapasite tayininde kullanılan yöntemlerden biridir. Bu analizde yüksek absorbans yüksek indirgeme potansiyelini göstermektedir.³ Yaptığımız çalışmada, *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinin farklı ekstralerindeki total indirgeyici güç analizi yapıldı. Çalışmanın sonuçlarına göre en yüksek indirgeyici güç etanol ekstresinde tespit edilmiştir.

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden elde edilen farklı ekstrelerin antioksidan kapasitelerini belirlemek amacıyla DPPH, ABTS, CUPRAC ve FRAP testleri yapılmıştır. DPPH radikali süpürme kapasitesi Blois metodu kullanılarak analiz edilmiştir.⁶⁷ Deney sonuçlarında görüldüğü gibi etanol ekstresi yüksek inhibisyon değerlerine sahip olduğu görülmüştür.

ABTS katyon radikali süpürücü kapasite çalışmaları Re ve arkadaşları tarafından geliştirilen yöntemle göre yapılmıştır.⁶⁸ 734 nm dalga boyunda yapılan ölçümlere yardımıyla % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen bulgulara göre *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden elde edilen farklı ekstraler arasından etanol ekstresindeki % inhibisyon diğer ekstrelere göre oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir.

FRAP testinde antioksidan varlığında $[\text{Fe(III)(TPTZ)}_2]^{3+}$, $[\text{Fe(II)(TPTZ)}_2]^{2+}$ ye indirgenmektedir. Oksido-redüksiyon reaksiyonlarında rol alan demir, biyolojik moleküllere elektron taşıyarak oksidatif hasarı hızlandırır. Ayrıca demir iyonları lipid peroksidlerinin (LOOH) parçalanmalarını ve lipid peroksidasyonunun zincir reaksiyonlarını katalize ederek radikallerin oluşturduğu hasarı daha da artırmaktadır. Bundan dolayı demir iyonlarının tutulmaları radikallerin sebep olduğu zararları

önlemektedir. Deney sonuçlarına göre etanol ekstresi 42,15 Eq $\mu\text{g/mL}$ Troloks'a eşdeğer olduğu tespit edildi. FRAP antioksidan deney sonuçlarına göre etanol ekstresi 48,05 Eq $\mu\text{g/mL}$ Troloks'a eşdeğer olduğu tespit edildi.

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden elde edilen farklı ekstrelerde, CUPRAC yöntemi ile ekstrelerin bakır(II)-neokuproin kompleksini bakır(I)-neokuproin kompleksine indirgeme gücü ölçülmüştür.⁷⁰⁻⁷² CUPRAC antioksidan deney sonuçlarına göre etanol ekstresi 42,15 Eq $\mu\text{g/mL}$ Troloks'a eşdeğer olduğu tespit edildi.

Son yıllarda gıda sanayinde kullanılan sentetik antioksidanların toksik etkisinin olduğu anlaşıldıktan sonra, bilim insanları sentetik antioksidanların yerini alabilecek doğal antioksidanları araştırmaya başlamışlardır. Antioksidan özelliği bulunan bitki ekstrelerinin gıda sanayinde çeşitli araştırmalarla analizi sonucunda endüstriyel uygulamaya yönelik devamlılık için önemli bir yer tutabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada analiz edilen *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden elde edilen daha çok etanol ekstresinde olmak kaydıyla metanol, su ve n-hekzan ekstrelerinde yüksek antioksidan aktivite, yüksek indirgeyici güç ve toplam fenolik bileşik bakımından zengin olduğu tespit edildi. Bu çalışma sonuçlarının son zamanlarda artan çalışmalara katkı sağlayacağına inanılmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez çalışması kapsamında *Hippophae rhamnoides* L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden elde edilen farklı polaritelere sahip 4 ekstrede (su, etanol, metanol ve n-hekzan) toplam fenolik bileşik, total anitoksidan bileşik, indirgeyici güç ve antioksidan kapasiteleri (DPPH, ABTS, FRAP ve CUPRAC) analiz edilmiştir. Çalışmamız test edilen konsantrasyon aralığının genişliği ve farklı polaritedeki ekstre sayısı bakımından diğer çalışmalardan ayrılmaktadır.

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinin farklı ekstrelerindeki total antioksidan kapasiteleri, fenolik bileşik miktarları ve indirgeyici güç analizleri sonucunda diğer ekstrelerle göre en yüksek etki etanol ekstresinde tespit edildi.

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden elde edilen farklı ekstreler arasından etanol ekstresindeki DPPH radikali süpürme kapasitesi ve ABTS katyon radikali süpürücü kapasite % inhibisyon değerleri diğer ekstrelerle göre oldukça yüksek olduğu tespit edildi.

Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyvelerinden elde edilen farklı ekstreler arasından etanol ekstresindeki FRAP radikali süpürme kapasitesi ve CUPRAC katyon radikali süpürücü kapasite değerleri diğer ekstrelerle daha yüksek olduğu tespit edildi.

Hippophae rhamnoides L. meyvesinin etanol ekstresindeki etki diğerlerine göre oldukça yüksek olduğu tespit edildi. Bu bitkinin etanol ekstresinden izolasyon işlemleri sonucu elde edilen major bileşiklerle daha ileri düzey çalışmalar yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Baytop A. *Farmasötik botanik ders kitabı*. Baskı. İstanbul Üniversitesi, 1996.
2. Namiki M. Antioxidants/antimutagens in food. *Critical reviews in food science & nutrition*, 1990, 29: 273-300.
3. Mathew S, Abraham TE. Studies on the antioxidant activities of cinnamon (Cinnamomum verum) bark extracts, through various in vitro models. *Food Chemistry*, 2006, 94: 520-528.
4. Li TS, Beveridge TH. *Sea buckthorn (Hippophae rhamnoides L.) production and utilization*. Baskı. NRC Research Press, 2003.
5. Aras Tayhan A. Türkiye'nin Hippophae rhamnoides L. Taksonu Üzerinde Ksilolojik ve Palinolojik Araştırmalar. PhD. Thesis (Unpublished), 1997.
6. Kurzenko NV. Hippophae rhamnoides Common Seabuckthorn. https://calphotos.berkeley.edu/cgi/img_query?enlarge=0000+0000+0311+0619.
7. Davis PH. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 3. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 3.*, 1970.
8. Aras-Tayhan A. Hippophae Rhamnoides L. ssp. caucasica Rousi tohumlarının morfolojisi. *İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 1995, 45: 97-106.
9. Teng B-s, Lu Y-H, Wang Z-T, Tao X-Y, Wei D-Z. In vitro anti-tumor activity of isorhamnetin isolated from Hippophae rhamnoides L. against BEL-7402 cells. *Pharmacological research*, 2006, 54: 186-194.
10. Zeb A. Anticarcinogenic potential of lipids from Hippophae; Evidence from the recent literature. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2006, 7: 32.
11. Sayegh M, Miglio C, Ray S. Potential cardiovascular implications of Sea Buckthorn berry consumption in humans. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2014, 65: 521-528.

12. Malinowska P, Olas B. Sea buckthorn—valuable plant for health. *Kosmos*, 2016, 2: 285-292.
13. Suryakumar G, Gupta A. Medicinal and therapeutic potential of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.). *Journal of ethnopharmacology*, 2011, 138: 268-278.
14. Bal LM, Meda V, Naik S, Satya S. Sea buckthorn berries: A potential source of valuable nutrients for nutraceuticals and cosmoceuticals. *Food research international*, 2011, 44: 1718-1727.
15. Gao X, Ohlander M, Jeppsson N, Björk L, Trajkovski V. Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) during maturation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2000, 48: 1485-1490.
16. Rösch D, Bergmann M, Knorr D, Kroh LW. Structure— antioxidant efficiency relationships of phenolic compounds and their contribution to the antioxidant activity of sea buckthorn juice. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2003, 51: 4233-4239.
17. Velioglu Y, Mazza G, Gao L, Oomah B. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of agricultural and food chemistry*, 1998, 46: 4113-4117.
18. Eccleston C, Baoru Y, Tahvonen R, Kallio H, Rimbach GH, Minihaue AM. Effects of an antioxidant-rich juice (sea buckthorn) on risk factors for coronary heart disease in humans. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2002, 13: 346-354.
19. Zheng J, Kallio H, Yang B. Sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* ssp. *rhamnoides*) berries in Nordic environment: Compositional response to latitude and weather conditions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2016, 64: 5031-5044.

20. Tiitinen KM, Hakala MA, Kallio HP. Quality components of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) varieties. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2005, 53: 1692-1699.
21. Allmann S, Strass G, Kranl K, Frank T, Bitsch I, Bitsch R, Netzel M. Bioactivity and bioactive compounds of seabuckthorn fruit juice. 2005.
22. Zeb A. Important therapeutic uses of sea buckthorn (*Hippophae*): a review. *Journal of biological sciences*, 2004, 4: 687-693.
23. Yang B, Kallio H. Composition and physiological effects of sea buckthorn (*Hippophae*) lipids. *Trends in Food Science & Technology*, 2002, 13: 160-167.
24. Andersson SC, Olsson ME, Johansson E, Rumpunen K. Carotenoids in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries during ripening and use of pheophytin a as a maturity marker. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2009, 57: 250-258.
25. Yang B, Kallio HP. Fatty acid composition of lipids in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries of different origins. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2001, 49: 1939-1947.
26. Beveridge T, Li TS, Oomah BD, Smith A. Sea buckthorn products: manufacture and composition. *Journal of agricultural and food chemistry*, 1999, 47: 3480-3488.
27. Cheeseman K, Slater T. An introduction to free radical biochemistry. *British medical bulletin*, 1993, 49: 481-493.
28. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 2002, 33: 110-8.
29. Gülçin İ, Oktay M, Kireççi E, Küfrevioğlu Öİ. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food chemistry*, 2003, 83: 371-382.

30. Bast A, Haenen GR, Doelman CJ. Oxidants and antioxidants: state of the art. *The American journal of medicine*, 1991, 91: S2-S13.
31. AKSOY Y. Antioksidan mekanizmada glutatyonun rolü. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 2002, 22: 442-448.
32. Aruoma OI. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *Journal of the American oil chemists' society*, 1998, 75: 199-212.
33. Kehrer JP. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Critical reviews in toxicology*, 1993, 23: 21-48.
34. Wickens AP. Ageing and the free radical theory. *Respiration physiology*, 2001, 128: 379-391.
35. Bagchi K, Puri S. Free radicals and antioxidants in health and disease: a review. *EMHJ-Eastern Mediterranean Health Journal*, 4 (2), 350-360, 1998, 1998.
36. Cadenas E. Biochemistry of oxygen toxicity. *Annual review of biochemistry*, 1989, 58: 79-110.
37. Nagendrappa G. An appreciation of free radical chemistry 3. Free radicals in diseases and health. *Resonance*, 2005, 10: 65-74.
38. Sarma AD, Mallick AR, Ghosh A. Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 2010, 1: 185-192.
39. Sen S, Chakraborty R, Sridhar C, Reddy Y, De B. Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. *International journal of pharmaceutical sciences review and research*, 2010, 3: 91-100.
40. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science: IJBS*, 2008, 4: 89.

41. Karabulut H, Gülay MŞ. Serbest radikaller. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2016, 4.
42. Nordberg J, Arnér ES. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free radical biology and medicine*, 2001, 31: 1287-1312.
43. Vaca C, Wilhelm J, Harms-Ringdahl M. Interaction of lipid peroxidation products with DNA. A review. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 1988, 195: 137-149.
44. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 1982, 47: 412-426.
45. Fang Y-Z, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 2002, 18: 872-879.
46. Devasagayam T, Tilak J, Boloor K, Sane KS, Ghaskadbi SS, Lele R. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *Japi*, 2004, 52: 4.
47. Kuraoka I, Robins P, Masutani C, Hanaoka F, Gasparutto D, Cadet J, Wood RD, Lindahl T. Oxygen free radical damage to DNA: Translesion synthesis by human DNA polymerase η and resistance to exonuclease action at cyclopurine deoxynucleoside residues. *Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276: 49283-49288.
48. Burtis CA. *Tietz textbook of clinical chemistry*. Baskı. Saunders, 1999.
49. Dawn B, Allan D, Colleen M. *Basic Medical Biochemistry a Clinical Approach*. 1996.
50. Finley PR, Tietz N. *Clinical guide to laboratory tests*. Baskı. WB Saunders company, 1996.

51. Shacter E. [38] Protein oxidative damage. *Methods in enzymology*, 2000, 319: 428-436.
52. Erenel G, Erbaş D, ARICIOĞLU A. Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. *Gazi medical journal*, 1992, 3.
53. Devasagayam T, Bloor K, Ramasarma T. Methods for estimating lipid peroxidation: an analysis of merits and demerits. 2003.
54. Halliwell B. Antioxidant defenses. *Free radicals in biology and in medicine*, 1999.
55. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 1982, 47: 412.
56. Prior RL, Cao G. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods¹. *Free radical biology and medicine*, 1999, 27: 1173-1181.
57. Rice-Evans C, Miller N, Paganga G. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in plant science*, 1997, 2: 152-159.
58. Shahidi F. *Natural antioxidants: chemistry, health effects, and applications*. Baskı. The American Oil Chemists Society, 1997.
59. Temür N. Çam, kavak, söğüt ve armut ağaçları üzerinde yetişen ökse otu (*Viscum album* l.) bitkilerinin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2006.
60. Epe B, Ballmaier D, Adam W, Grimm GN, Saha-Möller CR. Photolysis of N-hydroxypyridinethiones: a new source of hydroxyl radicals for the direct damage of cell-free and cellular DNA. *Nucleic acids research*, 1996, 24: 1625-1631.
61. Mitsuda H. Antioxidative action of indole compounds during the autoxidation of linoleic acid. *Eiyo to shokuryo*, 1966, 19: 210-221.

62. Odabasoglu F, Cakir A, Suleyman H, Aslan A, Bayir Y, Halici M, Kazaz C. Gastroprotective and antioxidant effects of usnic acid on indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Journal of ethnopharmacology*, 2006, 103: 59-65.
63. ODABAŞOĞLU YDF. Meyan kökü (*Glycyrrhiza glabra*) ve karanfil (*Syzygium aromaticum*) baharatlarından elde edilen ekstraktların invitro antioksidan özelliklerinin araştırılması. 2013.
64. Kutlu Z, DUMLU F, BERKTAŞ ÖA, Odabasoglu F. Investigation of In Vitro Antioxidant Activity of Glycyrrhiza glabra and Syzygium aromaticum Extracts. *Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences*, 3: 55-58.
65. Slinkard K, Singleton VL. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American journal of enology and viticulture*, 1977, 28: 49-55.
66. Yen G-C, Chen H-Y. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 1995, 43: 27-32.
67. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 1958, 181: 1199-1200.
68. Zulueta A, Esteve MJ, Frígola A. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*, 2009, 114: 310-316.
69. Huang D, Ou B, Prior RL. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2005, 53: 1841-1856.
70. Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Çelik S. A novel total antioxidant capacity measurement for food and plasma antioxidants: CUPRAC method OP-104. *The Febs Journal*, 2006, 273.
71. Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademiş SEn, Altun M. Total antioxidant capacity assay of human serum using copper (II)-neocuproine as chromogenic oxidant: the CUPRAC method. *Free radical research*, 2005, 39: 949-961.

72. Sözgen K, Cekic SD, Tütem E, Apak R. Spectrophotometric total protein assay with copper (II)–neocuproine reagent in alkaline medium. *Talanta*, 2006, 68: 1601-1609.
73. Hamid A, Aiyelaagbe O, Usman L, Ameen O, Lawal A. Antioxidants: Its medicinal and pharmacological applications. *African Journal of pure and applied chemistry*, 2010, 4: 142-151.



EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
Adı Soyadı: Bilal HAYTA Doğum Tarihi: Doğum Yeri: Medeni Hali: Uyruğu: T.C Adres: 1
Eğitim
Lise: Erzurum Anadolu Atatürk Lisesi Lisans: Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Yüksek Lisans: Atatürk Üniversitesi Eczacılık Biyokimya Doktora:
Yabancı Dil Bilgisi
İngilizce: Almanca: Rusça:
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
İlgi Alanları ve Hobiler

EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

	SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ Graduate School of Health Sciences
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU¹	
Öğrencinin Adı ve Soyadı	BİLAL HAYTA
Öğrencinin Numarası	16020901006
Ana Bilim Dalı	Biyokimya
Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program Türü	Yüksek Lisans

Yukarıda bilgileri verilen tezin intihal tespit yazılımıyla (Turnitin) yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdaki gibidir. Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi hâlde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Bölümler	Benzerlik Oranı	Maksimum Benzerlik Oranları
I. Giriş	% 10	% 15
II. Genel Bilgiler	% 25	% 35
III. Materyal ve Metod	% 22	% 35
IV. Bulgular	% 9	% 15
V. Tartışma	% 5	% 20

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5 den büyük olmaması gerekir.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
BİLAL HAYTA	Prof. Dr. Mine GÜLABOĞLU
11.06.21	11.06.21
İmza: [Redacted]	İmza: [Redacted]

1. Bu form bilgisayar ortamında doldurulmalı, çıktısı alınarak Tez Savunması Jüri Öneri Formu'yla birlikte Ana Bilim Dalı Başkanlığı aracılığıyla ÜBYS üzerinden Enstitüye iletilmelidir.

EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU



1900321802

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Eczacılık Fakültesi Dekanlığı
Birim Etik Kurulu

Sayı : 93722986.12/
Konu: Birim Etik Kurul Kararı

13/04/2019

Sayın: Prof. Dr. Mine GÜLABOĞLU

İlgi: 08.11.2019 tarih ve 1900321802 sayılı dilekçeniz.

Fakültemiz Birim Etik Kurulunun 13.04.2019 tarihinde almış olduğu 04 numaralı karar ile danışmanı olduğunuz Yüksek Lisans öğrencisi Bilal HAYTA'nın "Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyve ekstraktlarının in vitro antioksidan özelliklerinin araştırılması" başlıklı çalışma etik kurulumuz tarafından kabul edilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof. Dr. Yücel KADIOĞLU
Başkan

Prof. Dr. Zühal GÜVENALP
Üye

Prof. Dr. Halise İnci GÜL
Üye

Prof. Dr. Yasin BAYIR
Üye

Doç. Dr. Beyzağul ERKAYMAN
Üye

Karar -4- Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Mine GÜLABOĞLU'nun danışmanı olduğu Yüksek Lisans öğrencisi Bilal HAYTA'nın Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarlarında yürüteceği "Hippophae rhamnoides L. (Yabani İğde) bitkisinin meyve ekstraktlarının in vitro antioksidan özelliklerinin araştırılması" başlıklı araştırma çalışması ile ilgili 08.11.2019 tarih ve 1900321802 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; söz konusu çalışmanın yürütülmesinin etik kurallara uygun olduğu mevcut oybirliği ile kabul edilmiştir.

EK-4. TEZ KONUSU



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü



Sayı : 20369917-050.02.04-E.1900337653
Konu : Bilal HAYTA'nın Tez Konusu

27.11.2019

DAĞITIM YERLERİNE

Enstitümüz Yönetim Kurulunun 26.11.2019 tarihli oturumunda alınan 20369917-050.02.04-E.1900337280 sayılı, 2019/48 Yönetim Kurulu Kararları konulu belgede yer alan karar metni aşağıya çıkarılmıştır.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof.Dr. Yasin BAYIR
Enstitü Müdürü V.

Karar 3: Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğinin MADDE 8-(1) gereğince; **Bilal HAYTA'nın** tez konusunun "*Hippophae Rhamnoides L. (Yabani İğde) Bitkisinin Meyve Ekstraktlarının İn Vitro Antioksidan Özelliklerinin Araştırılması*" olarak belirlenmesine, oy birliği ile karar verildi.

Dağıtım:

Gereği:

Biyokimya Ana Bilim Dalı Başkanlığına

Bilgi:

Sayın Prof.Dr. Mine GÜLABOĞLU

Atatürk Üniversitesi Enstitüler Binası Kat:1 25240 Erzurum
Tel: +90 442 2314886
Elektronik Ağ: <http://www.atauni.edu.tr/#lbirim=saglik-bilimleri-enstitusu>

Kep Adresi: atauni@hs01.kep.tr

Bilgi: Ogün YILDIR
Faks: +90 442 2314888



Bu belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
<https://ubys.atauni.edu.tr/ERMS/Record/Confirmation/Confirmation?code=6A253EC5AF9>