

*PISTACIA TEREBINTHUS, SALVIA MULTICAULIS, MORUS
ALBA*'NİN ANTIOKSİDAN KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ
VE OKSİDATİF STRES OLUŞTURULMUŞ RATLARDA BAZI
BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİLERİ

Semra TÜRKOĞLU

**Doktora Tezi
Kimya Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Sait ÇELİK
ŞUBAT-2011**

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Pistacia terebinthus, Salvia multicaulis, Morus alba'nın Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi ve Oksidatif Stres Oluşturulmuş Ratlarda Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkileri

DOKTORA TEZİ

Semra TÜRKOĞLU

(06217205)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 21 Ocak 2011
Tezin Savunulduğu Tarih : 25 Şubat 2011

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Sait ÇELİK (Bingöl Ü)
Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Metin DIĞRAK (K.S.Ü)
Prof. Dr. Kadir DEMİRELLİ (F.Ü)
Doç. Dr. Ökkeş YILMAZ (F.Ü)
Doç. Dr. Mustafa KARATEPE (F.Ü)

Ocak-2011

ÖNSÖZ

Tez konumu belirleyen ve çalışmalarımı yönlendiren ve her konuda destek olan danışman hocam Prof. Dr. Sait ÇELİK'e,

Tezimin bütün aşamalarında bilgileri, sabırları ve yol göstericilikleri ile yakından ilgilenen değerli hocam Doç. Dr. Ökkeş YILMAZ'a,

Bitkileri toplayan ve teşhis eden eşim Yrd. Doç. Dr. İsmail TÜRKOĞLU'na,

Yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Mustafa KARATEPE'ye,

Deney hayvanları konusunda yardımlarını eksik etmeyen Yrd. Doç. Dr. Mehmet TUZCU'ya,

Doktora çalışmalarına mali destek sağlayan 106T898 nolu proje ile TÜBİTAK'a ve 1937 nolu proje ile Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) Yönetim Birimi'ne,

Desteklerini her zaman yanımda hissettiğim anneme, babama ve tüm aileme en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Semra TÜRKOĞLU

ELAZIĞ – 2011

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ÖZET.....	VIII
SUMMARY.....	IX
ŞEKİL LİSTESİ.....	X
TABLO LİSTESİ.....	XV
SEMBOLLER LİSTESİ.....	XVII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Genel Bilgiler.....	1
1.2. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Türleri.....	2
1.2.1. Radikallerin Oluşumu.....	3
1.2.2. Kovalent Bağların Homolitik Kırılması.....	3
1.2.3. Normal BirMolekülün Elektron Kaybetmesi.....	3
1.2.4. Normal BirMoleküle Elektron Transferi.....	3
1.2.5. Süperoksit Radikali.....	4
1.2.5.1. Süperoksit Radikali Üzerine Doğal Kaynaklı Antioksidanların Etkisi.....	6
1.2.6. Hidrojen Peroksit Radikali.....	6
1.2.6.1. Hidrojen Peroksit Üzerine Doğal Kaynaklı Antioksidanların Etkisi.....	7
1.2.7. Hidroksil Radikali (OH [•]).....	8
1.2.7.1. Hidroksil Radikali Üzerine Doğal Kaynaklı Antioksidanların Etkisi.....	9
1.2.8. Singlet Oksijen.....	9
1.2.9. Serbest Radikallerin Biyolojik Hedefleri.....	10
1.2.9.1. Serbest Radikallerin Membran Lipidlerine Etkileri.....	10
1.2.9.1.1. MDA (Malondialdehit).....	13
1.2.9.1.2. Yağ Asitleri.....	14
1.2.9.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri.....	17
1.2.9.3. Serbest Radikallerin Nükleik asitlere Etkileri.....	18
1.2.9.4. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri.....	19

1.3. Antioksidanlar.....	19
1.3.1. Antioksidanların Sınıflandırılması.....	21
1.3.1.1. Birincil Antioksidanlar.....	21
1.3.1.2. İkincil Antioksidanlar.....	24
1.3.2. Enzim Karakterli Antioksidanlar.....	25
1.3.2.1. Süperoksit Dismutaz.....	25
1.3.2.2. Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz.....	27
1.3.2.3. Katalaz.....	27
1.3.2.4. Glutasyon Peroksidaz.....	28
1.3.2.5. Glutasyon S-Transferaz.....	29
1.3.2.6. Glutasyon Redüktaz.....	30
1.3.3. Antioksidant Maddeler.....	30
1.3.3.1. Glutasyon.....	30
1.3.3.2. L-Askorbik Asit.....	32
1.3.3.3. Tokoferoller.....	32
1.3.3.3.1. α -Tokoferol.....	33
1.3.3.4. Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT).....	34
1.3.3.5. Bütillenmiş hidroksianisol (BHA).....	35
1.4. <i>Pistacia terebinthus</i> (Çedene, menengiç).....	36
1.5. <i>Morus alba</i> (Dut).....	38
1.6. <i>Salvia multicaulis</i> (Adaçayı).....	40
1.7. Kaynak Özetleri.....	41
2. MATERYAL ve METHOD.....	44
2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	44
2.2. Yararlanılan Alet ve Cihazlar.....	44
2.3. Bitkilerin Toplanması, Kurutulması ve Ekstraksiyon İşlemleri.....	45
2.4. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması.....	46
2.4.1. Total Antioksidant Aktivite Tayininde Kullanılan Çözeltiler.....	46
2.4.2. İndirgeme Kuvveti Tayininde Kullanılan Çözeltiler.....	47
2.4.3. Serbest Radikal (DPPH) Giderme Aktivitesi Tayininde Kullanılan Çözeltiler.....	47
2.4.4. Süperoksit Radikali Giderme Aktivitesi Tayininde Kullanılan Çözeltiler.....	47

2.4.5. Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi Tayininde Kullanılan Çözeltiler.....	48
2.4.6. Metal Şelatlama Aktivitesi Tayininde Kullanılan Çözeltiler.....	48
2.4.7. Total Fenolik Bileşik Miktarı Tayininde Kullanılan Çözeltiler.....	48
2.4.8. FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) Testinde Kullanılan Çözeltiler.....	48
2.4.9. ABTS ⁺ Yok Edici Testinde Kullanılan Çözeltiler.....	49
2.5. İn Vitro Antioksidant Aktivitenin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler.....	49
2.5.1. Total Antioksidan Aktivite Tayini.....	49
2.5.2. İndirgeme Kuvveti Tayini.....	50
2.5.3. Serbest Radikal (DPPH [*]) Giderme Aktivitesi.....	50
2.5.4. Süperoksit Radikalleri Giderme Aktivitesi.....	51
2.5.5. Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi.....	51
2.5.6. Metal Şelatlama Aktivitesi.....	51
2.5.7. Toplam Fenolik Bileşik Miktarı Tayini.....	52
2.5.8. FRAP Testi.....	53
2.5.9. ABTS ⁺ Yok Edici Testi.....	53
2.6. İn Vivo Ortamda Yapılan Deney Yöntemleri.....	54
2.6.1. Deney Hayvanları.....	54
2.6.2. Doku Örneklerinin Alınması.....	56
2.6.3. Dokulardaki Lipid peroksidasyon Miktarının Ölçülmesi.....	56
2.6.4. Dokulardaki Glutasyon Miktarının Ölçülmesi.....	57
2.6.4.1. Glutasyon Kalibrasyon Eğrisinin Oluşturulması.....	57
2.6.5. Dokularda Total Protein Miktarının Ölçülmesi.....	58
2.6.5.1. Protein Kalibrasyon Eğrisinin Oluşturulması.....	59
2.6.6. Dokulardan Lipidlerin Ekstraksiyonu.....	59
2.6.7. Dokulardan Yağ Asidi Metil Esterlerinin Hazırlanması.....	60
2.6.8. Yağ Asidi Metil Esterlerinin Gaz kromatografik Analizi.....	60
2.6.9. Dokularda ADEK Vitaminleri ve Kolesterol Miktarının HPLC Cihazı ile Analizi...61	
2.7. İstatistik Analizi.....	61
3. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	62
3.1. Total Antioksidan Aktivite Tayini İle İlgili Bulgular.....	62
3.2. İndirgeme Kuvveti Tayini İle İlgili Bulgular.....	70

3.3. Serbest Radikal (DPPH) Giderme Aktivitesi Tayini İle İlgili Bulgular.....	75
3.4. Süperoksit Radikali Giderme Aktivitesi Tayini İle İlgili Bulgular.....	80
3.5. Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi Tayini İle İlgili Bulgular.....	82
3.6. Metal Şelatlama Aktivitesi Tayini İle İlgili Bulgular.....	83
3.7. Total Fenolik Bileşik Miktarı Tayini İle İlgili Bulgular.....	87
3.8. FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) Testi İle İlgili Bulgular.....	89
3.9. ABTS ⁺ Yok Edici Testi İle İlgili Bulgular.....	90
3.10. Bitki Ekstraktının Wistar Ratlar Üzerindeki Etkileri.....	93
3.10.1. Bitki Ekstraktının Deney Hayvanlarının Lipid Peroksidasyon Oluşumu Üzerine Etkileri.....	93
3.10.1.1. Bitki Ekstraktının Karaciğer Dokusunda Lipid Peroksidasyon Oluşumu Üzerine Etkisi.....	93
3.10.1.2. Bitki Ekstraktının Böbrek Dokusunda Lipid Peroksidasyonu Oluşumu Üzerine Etkisi.....	94
3.10.1.3. Bitki Ekstraktının Kas Dokusunda Lipid Peroksidasyonu Oluşumu Üzerine Etkisi.....	94
3.10.1.4. Bitki Ekstraktının Beyin Dokusunda Lipid Peroksidasyon Oluşumu Üzerine Etkisi.....	95
3.10.2. Bitki Ekstraktının Deney Hayvanlarının Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkileri.....	96
3.10.2.1. Bitki Ekstraktının Serumda Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkileri.....	96
3.10.2.2. Bitki Ekstraktının Karaciğer Dokusunun Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkileri.....	98
3.10.2.3. Bitki Ekstraktının Böbrek Dokusu Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkileri.....	99
3.10.2.4. Bitki Ekstraktının Beyin Dokusu Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkileri.....	101
3.10.2.5. Bitki Ekstraktının Kas Dokusu Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkileri.....	102
3.10.2.6. Bitki Ekstraktının Kalp Dokusu Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkileri.....	103
3.10.3. Bitki Ekstraktının Deney Hayvanlarının Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkileri.....	105
3.10.3.1. Bitki Ekstraktının Serumdaki Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkileri.....	105
3.10.3.2. Bitki Ekstraktının Karaciğerdeki Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkileri.....	106
3.10.3.3. Bitki Ekstraktının Böbrekte Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkileri.....	107

3.10.3.4. Bitki Ekstraktının Beyindeki Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkileri.....	108
3.10.3.5. Bitki Ekstraktının Kastaki Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkileri.....	109
3.10.3.6. Bitki Ekstraktının Kalpteki Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkileri...	110
3.10.4. Bitki Ekstraktının Deney Hayvanlarının Glutasyon Miktarı Üzerine Etkileri.....	111
3.10.4.1. Bitki Ekstraktının Karaciğerde Glutasyon Miktarı Üzerine Etkileri.....	111
3.10.4.2. Bitki Ekstraktının Böbrekte Glutasyon Miktarı Üzerine Etkileri.....	112
3.10.4.3. Bitki Ekstraktının Beyindeki Glutasyon Miktarı Üzerine Etkileri.....	113
3.10.4.4. Bitki Ekstraktının Kasta Glutasyon Miktarı Üzerine Etkileri.....	114
3.10.4.5. Bitki Ekstraktının Kalpte Glutasyon Miktarı Üzerine Etkileri.....	115
3.10.5. Bitki Ekstraktının Deney Hayvanlarının Total Protein Miktarı Üzerine Etkileri.....	117
3.10.5.1. Bitki Ekstraktının Karaciğerde Total Protein Miktarı Üzerine Etkileri.....	117
3.10.5.2. Bitki Ekstraktının Böbrekteki Total Protein Miktarı Üzerine Etkileri.....	117
3.10.5.3. Bitki Ekstraktının Kastaki Total Protein Miktarı Üzerine Etkileri.....	118
3.10.5.4. Bitki Ekstraktının Beyinde Total Protein Miktarı Üzerine Etkileri.....	119
3.10.5.5. Bitki Ekstraktının Kalpte Total Protein Miktarı Üzerine Etkileri.....	120
4. TARTIŞMA.....	122
4.1. <i>În vitro</i> Ortamda Bitki Ekstraktının Antioksidant Aktivitesi.....	123
4.2. <i>In vivo</i> Ortamda Bitki, Ekstraktının Etkisi.....	139
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	150
6. KAYNAKLAR.....	152
7. ÖZGEÇMİŞ.....	165

ÖZET

Bu çalışmada, *Pistacia terebinthus*, *Morus alba*, *Salvia multicaulis*'in su ve etanol ekstraktlarının *in vitro* şartlarda antioksidan etkileri araştırıldı. Lipit peroksidasyon (LPO), yağ asidi düzeyi, lipofilik vitamin değerleri, protein ve glutatyon miktarları ile ortam şartlarına göre kolesterol düzeyleri ölçüldü. Bu amaçla kontrol, H₂O₂ reaktifi ve *Pistacia terebinthus* ekstraktını içeren gruplar ile bunların kombinasyonları kullanıldı.

Ekstraktların antioksidan ve antiradikal aktivitelerini belirlemek için toplam antioksidan aktivite, 2,2'-azinobis (3-etilbenztiyoazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) radikal giderme aktivite, 2,2-difenil-1-pikril-hidrazil (DPPH·) serbest radikal giderme aktivite, indirgeme kuvveti, süperoksit anyon radikali (O₂^{•-}) giderme aktivite, hidrojen peroksit giderme aktivite, FRAP testi ve metal şelatlama aktiviteleri ayrı ayrı çalışıldı. Buna ilaveten ekstraktlarda toplam fenolik bileşiklerleri pirokatekol ve kuersetin miktarı olarak belirlendi. Ekstraktlar etkin biçimde antioksidan aktivite gösterdi.

Deneylerin sonuçlara göre, *in vivo* ortamlarda, *Pistacia terebinthus*-H₂O₂ içeren gruplarda ki LPO seviyelerinin belirli oranlarda azaldığı gözlemlendi (p<0.0001). Ratlar üzerindeki çalışmalarda, protein, glutatyon, vitamin-kolesterol ve yağ asidi düzeylerinin ekstraktlardan etkilendiği belirlendi.

Bu sonuçlar yapılan çalışmada bitki ekstraktlarının doğal antioksidanların potansiyel bir kaynağı olduğunu gösterdi.

Anahtar kelimeler: *Pistacia terebinthus*, *Morus alba*, *Salvia multicaulis*, Antioksidant, Rat, Lipit peroksidasyon, Kolesterol, Lipofilik vitamin, Yağ asidi

SUMMARY

Determination of Antioxidant Capacities of *Pistacia terebinthus*, *Salvia multicaulis*, *Morus alba* and Effects on Some Biochemical Parameters in Rats Constituted Oxidative Stress

In this study, antioxidant effects of extracts water and ethanol of *Pistacia terebinthus*, *Morus alba*, *Salvia multicaulis*, which are under *in vitro* conditions were investigated. The lipid preoxidation (LPO), level of fatty acid, lipophilic vitamin values and cholesterol levels were measured based on the environmental conditions, the amount of protein and glutathione. For this purpose, control, H₂O₂ reagent and containing extract of *Pistacia terebinthus* groups and their combinations were used.

In order to determine the antioxidant and antiradical activities of extracts, the total antioxidant activity, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical scavenging activity, 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH·) free radical scavenging activity, reducing power, superoxide anion radical (O₂^{•-}) scavenging activity, hydrogen peroxide scavenging activity, FRAP assay and metal chelating activities were performed separately. In addition, total phenolic compound in extracts were determined as pyrocatechol and quercetin equivalent. The extracts showed effectively antioxidant activity.

According to the results of the experiment, “*in vivo*” environments, LPO levels of groups, which include *Pistacia terebinthus*-H₂O₂, were observed to decrease in specific ratios (p<0.0001). In the studies on rats, it has been identified that protein, glutathione, vitamin-cholesterol and fatty acid levels were affected by extracts.

The results obtained in the present study indicated that the plant extracts have a potential source of natural antioxidant.

Key Words: *Pistacia terebinthus*, *Morus alba*, *Salvia multicaulis*, Antioxidant, Rat, Lipid peoxidation, Cholesterol, Lipophilic vitamin, Fatty acid

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.1. Elektron taşıma zinciri ve süperoksit radikalinin açığa çıkması.....	5
Şekil 1.2. Lipid peroksidasyonu.....	12
Şekil 1.3. Linoleik asidin OH [•] radikalinin bulunduğu ortamda lipid peroksidasyona uğraması ve son ürün olarak farklı aldehid moleküllerinin oluşması.....	14
Şekil 1.4. Memelilerde esansiyel yağ asitlerinin izlediği metabolik yolları.....	15
Şekil 1.5. Memelilerde esansiyel olmayan yağ asitlerinin izlediği metabolik yollar.....	16
Şekil 1.6. Memelilerde Δ -6 ve Δ -5 desaturaz aktivitelerinin modülasyonu ve aşırı doymamış yağ asitlerinin (PUFA) hormonal düzenlenmesi.....	17
Şekil 1.7. Hidroksil radikallerinin DNA' ya etkileri.....	19
Şekil 1.8. Antioksidan gruplar ve görevleri.....	20
Şekil 1.9. Birincil antioksidanlar.....	24
Şekil 1.10. İkincil antioksidanlar.....	25
Şekil 1.11. Süperoksit dismutaz enziminin etki mekanizması.....	26
Şekil 1.12. Hücrede Süperoksit dismutaz'ın etki mekanizması.....	27
Şekil 1.13. Katalaz'ın etki mekanizması.....	28
Şekil 1.14. Glutatyon'un (GSH) yapısı; L- γ -glutamil-L-sisteinilglisin.....	30
Şekil 1.15. L- askorbik asit ve L-dehidroaskorbik asit.....	32
Şekil 1.16. α -Tokoferol radikalının oluşumu.....	33

Şekil 1.17. BHT'nin farklı türleri.....	34
Şekil 1.18. BHT nin yağ ve yağ asitlerinin oksidasyonuna etkisi	35
Şekil 1.19. BHA nın farklı türleri.....	35
Şekil 1.20. <i>P. terebinthus</i> 'un çiçeklerinin görünümü.....	37
Şekil 1.21. <i>P. terebinthus</i> ' un yaprak ve meyvelerinin görünümü.....	37
Şekil 1.22. <i>Morus alba</i> 'nın yaprak, meyve ve ham meyvesinin görünümü.....	40
Şekil 1.23. <i>Salvia multicaulis</i> 'in yaprak ve çiçeklerinin görünümü.....	41
Şekil 2.1. FRAP testi için hazırlanan standart grafik.....	53
Şekil 2.2. Glutasyon kalibrasyon eğrisi.....	58
Şekil 2.3. Protein kalibrasyon eğrisi.....	59
Şekil 3.1. <i>Morus alba</i> 'nın su ekstralarının antioksidan aktiviteleri ve doğal bir antioksidant olan α -tokoferol ile karşılaştırılması.....	62
Şekil 3.2. <i>Morus alba</i> 'nın etanol ekstralarının antioksidan aktiviteleri ve doğal bir antioksidant olan α -tokoferol ile karşılaştırılması.....	63
Şekil 3.3. <i>Pistacia terebinthus</i> ' un su ekstralarının antioksidan aktiviteleri ve doğal bir antioksidant olan α -tokoferol ile karşılaştırılması.....	63
Şekil 3.4. <i>Pistacia terebinthus</i> ' un etanol ekstralarının antioksidan aktiviteleri ve doğal bir antioksidant olan α -tokoferol ile karşılaştırılması.....	64
Şekil 3.5. <i>Salvia multicaulis</i> ' in su ekstralarının antioksidan aktiviteleri ve doğal bir antioksidant olan α -tokoferol ile karşılaştırılması.....	64
Şekil 3.6. <i>Salvia multicaulis</i> ' in etanol ekstralarının antioksidan aktiviteleri ve doğal bir antioksidant olan α -tokoferol ile karşılaştırılması.....	65

Şekil 3.7. <i>Pistacia terebinthus</i> ' un su ve etanol ekstralarının antioksidan aktivitelerinin aynı şekil üzerinde gösterilmesi ve doğal bir antioksidant olan α -tokoferol ile karşılaştırılması.....	66
Şekil 3.8. <i>Salvia multicaulis</i> ' in su ve etanol ekstralarının antioksidan aktivitelerinin aynı şekil üzerinde gösterilmesi ve doğal bir antioksidant olan α -tokoferol ile karşılaştırılması.....	66
Şekil 3.9. <i>Morus alba</i> ' nın su ve etanol ekstralarının antioksidan aktivitelerinin aynı şekil üzerinde gösterilmesi ve doğal bir antioksidant olan α -tokoferol ile karşılaştırılması.....	67
Şekil 3.10. Bitkilerin su ve etanol ekstralarının 100 μg ' nın inkübasyonun 110. saat itibarıyla peroksidasyonu inhibe etme yüzdeleri.....	68
Şekil 3.11. <i>Morus alba</i> 'nın su ekstralarının indirgeme kuvvetleri.....	71
Şekil 3.12. <i>Morus alba</i> 'nın etanol ekstralarının indirgeme kuvvetleri.....	71
Şekil 3.13. <i>Pistacia terebinthus</i> 'un su ekstralarının indirgeme kuvvetleri.....	72
Şekil 3.14. <i>Pistacia terebinthus</i> 'un etanol ekstralarının indirgeme kuvvetleri.....	72
Şekil 3.15. <i>Salvia multicaulis</i> 'in su ekstralarının indirgeme kuvvetleri.....	73
Şekil 3.16. <i>Salvia multicaulis</i> 'in etanol ekstralarının indirgeme kuvvetleri.....	73
Şekil 3.17. Bir antiradikal (AH) _n tarafından DPPH radikallerinin giderilmesi.....	75
Şekil 3.18. <i>Morus alba</i> 'nın su ekstralarının DPPH radikali giderme aktivitesi.....	76
Şekil 3.19. <i>Morus alba</i> 'nın etanol ekstralarının DPPH radikali giderme aktivitesi.....	76
Şekil 3.20. <i>Pistacia terebinthus</i> 'un su ekstralarının DPPH radikali giderme aktivitesi.....	77
Şekil 3.21. <i>Pistacia terebinthus</i> 'un etanol ekstralarının DPPH radikali giderme aktivitesi.....	77
Şekil 3.22. <i>Salvia multicaulis</i> 'in su ekstralarının DPPH radikali giderme aktivitesi.....	78

Şekil 3.23. <i>Salvia multicaulis</i> 'in etanol ekstrelerinin DPPH radikali giderme aktivitesi...78	78
Şekil 3.24. 100 µg'lık bitki ekstrelerinin süperoksit radikali giderme aktivite testi sonuçları.....80	80
Şekil 3.25. Bitki ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin 100 µg/ml konsantrasyonunda H ₂ O ₂ giderme aktivitesi yüzdeleri.....82	82
Şekil 3.26. <i>M. alba</i> ekstrelerinin metal şelatlama aktiviteleri.....84	84
Şekil 3.27. <i>P. terebinthus</i> ekstrelerinin metal şelatlama aktiviteleri.....84	84
Şekil 3.28. <i>S. multicaulis</i> ekstrelerinin metal şelatlama aktiviteleri.....85	85
Şekil 3.29. 100 µg'lık bitki ekstrelerinin % metal şelatlama aktiviteleri ve bunların standart antioksidantlar ile karşılaştırması.....85	85
Şekil 3.30. Ekstrelerin toplam fenolik bileşik miktarları.....87	87
Şekil 3.31. 100 µg'lık bitki ekstrelerinin FRAP testi sonuçları.....90	90
Şekil 3.32. Bitki ekstrelerinin ABTS yok edici testi sonuçları.....91	91
Şekil 3.33. Bitki ekstraktının karaciğerde MDA-TBA seviyesi üzerine etkisi.....93	93
Şekil 3.34. Bitki ekstraktının böbrekte MDA-TBA seviyesi üzerine etkisi.....94	94
Şekil 3.35. Bitki ekstraktının kasta MDA-TBA seviyesi üzerine etkisi.....95	95
Şekil 3.36. Bitki ekstraktının beyinde MDA-TBA seviyesi üzerine etkisi.....96	96
Şekil 3.37. Bitki ekstraktının karaciğerde glutasyon miktarı üzerine etkileri.....112	112
Şekil 3.38. Bitki ekstraktının böbrekte glutasyon miktarı üzerine etkileri.....113	113
Şekil 3.39. Bitki ekstraktının beyinde glutasyon miktarı üzerine etkileri.....114	114

Şekil 3.40. Bitki ekstraktının kasta glutatyon miktarı üzerine etkileri.....	115
Şekil 3.41. Bitki ekstraktının kalpte glutatyon miktarı üzerine etkileri.....	116
Şekil 3.42. Bitki ekstraktının karaciğerde total protein miktarı üzerine etkileri.....	117
Şekil 3.43. Bitki ekstraktının böbrekte total protein miktarı üzerine etkileri.....	118
Şekil 3.44. Bitki ekstraktının kasta total protein miktarı üzerine etkileri.....	119
Şekil 3.45. Bitki ekstraktının beyinde total protein miktarı üzerine etkileri.....	120
Şekil 3.46. Bitki ekstraktının kalpte total protein miktarı üzerine etkileri.....	121

TABLolar LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1.1. Bazı önemli reaktif oksijen ve azot türleri.....	10
Tablo 1.2. Antioksidanların Hücresel Yerleşimlerine Göre Sınıflandırılması.....	21
Tablo 2.1. Deney hayvanları yem % bileşimleri.....	55
Tablo 2.2. Araştırma Grupları.....	55
Tablo 3.1. Bitkilerin su ve etanol ekstrelerinin 100 µg' nın inkübasyonun 110. saat itibariyle peroksidasyonu inhibe etme yüzdeleri.....	69
Tablo 3.2. Ekstrelerin 100 µg'larının indirgeme kuvvetlerinin büyükten küçüğe doğru sıralanışı.....	74
Tablo 3.3. 500 µg'lık bitki ekstrelerinin (DPPH*) serbest radikalini inhibe etme yüzdeleri	79
Tablo 3.4. Bitki ekstrelerinin 100 µg'nın % süperoksit radikali giderme aktiviteleri testi sonuçları.....	81
Tablo 3.5. 100 µg'lık bitki ekstrelerinin % metal şelatlama aktivitelerinin büyükten küçüğe doğru sıralanışı.....	86
Tablo 3.6. 1000 µg ekstrelerin fenolik bileşik miktarlarının pirokatekol ekivalent ve kuersetin ekivalent olarak değerlendirmesi.....	88
Tablo 3.7. Bitki ekstrelerinin 100 µg'lık miktarlarının ABTS yok edici testi sonuçlar.....	92
Tablo 3.8. Bitki ekstraktının dokularda lipid peroksidasyonu miktarı üzerine etkileri.....	96
Tablo 3.9. Bitki ekstraktının serumda yağ asidi bileşimi üzerine etkileri.....	97
Tablo 3.10. Bitki ekstraktının karaciğerde yağ asidi bileşimi üzerine etkileri.....	99

Tablo 3.11. Bitki ekstraktının böbrek yağ asidi bileşimi üzerine etkileri.....	100
Tablo 3.12. Bitki ekstraktının beyinde yağ asidi bileşimi üzerine etkileri.....	102
Tablo 3.13. Bitki ekstraktının kasta yağ asidi bileşimi üzerine etkileri.....	103
Tablo 3.14. Bitki ekstraktının kalpte yağ asidi bileşimi üzerine etkileri.....	105
Tablo 3.15. Bitki ekstraktının serumda vitamin ve kolesterol bileşimi üzerine etkileri...	106
Tablo 3.16. Bitki ekstraktının karaciğerde vitamin ve kolesterol bileşimi üzerine etkileri.....	107
Tablo 3.17. Bitki ekstraktının böbrekte vitamin ve kolesterol bileşimi üzerine etkileri...	108
Tablo 3.18. Bitki ekstraktının beyinde vitamin ve kolesterol bileşimi üzerine etkileri....	109
Tablo 3.19. Bitki ekstraktının kasta vitamin ve kolesterol bileşimi üzerine etkileri.....	110
Tablo 3.20. Bitki ekstraktının kalpte vitamin ve kolesterol bileşimi üzerine etkileri.....	111
Tablo 3.21. Bitki ekstraktının dokularda glutatyon miktarı üzerine etkileri.....	116
Tablo 3.22. Bitki ekstraktının dokularda total protein miktarı üzerine etkileri.....	121

SEMBOLLER LİSTESİ

A₀	: Kontrol numunesinin absorbansı
A₁	: Numune absorbansı
ABTS	: 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
ABTS^{•+}	: 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) radikali
BHA	: Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	: Bütillenmiş hidroksitoluen
CAT	: Katalaz enzimi
DPPH	: 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil
DPPH[•]	: 1,1-Difenil 2-pikril hidrazil radikali
DTNB	: 5,5'-Ditiyo-bis (2-Nitrobenzoik Asit)
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz enzimi
H₂O₂	: Hidrojen peroksidi
LPO	: Lipit peroksidasyon
MDA	: Malondialdehit
NBT	: Nitroblue tetrazolium
O₂^{•-}	: Süperoksit radikal anyonu
OH[•]	: Hidroksil radikali
PMS	: Fenazin meta sülfat
SCN⁻	: Tiyosiyanat
SOD	: Süperoksit dismutaz enzimi
TBA	: Tiyobarbiturik asit
TCA	: Triklorasetik asit

1. GİRİŞ

1.1. Genel Bilgiler

Bitkiler yaşamımızı sürdürebilmemiz için gerekli oksijeni, besinleri sağlar; sağlığımızı korurlar. Eski Mısırlılar, Yunanlılar ve Romalılar tarafından temelleri atılan şifalı bitkilerle tedavi ilmini, daha sonraki çağların insanları da kullanmış ve onu sürekli olarak zenginleştirmişlerdir. Son yıllarda;

- Modern yaşantının getirdiği kötü beslenme alışkanlıkları
- Hareketsizlik
- Aşırı stres
- Ekolojik dengenin bozulması v.s. nedenlerinden dolayı hastalıklarda artış gözlenmiştir.

Teknolojide yaşanan hızlı ilerlemenin insan ömrüne olumlu etkisi aynı oranda olamamıştır. Diğer yandan, tıp alanına yansıyan bu yoğun teknolojik ilerlemenin, insan sağlığı ve ömrüne çok daha fazla yarar getirmesi beklenirken (insan ömründe küçük bir artış görülse de) yaşam sürecinin çok mutlu ve sağlıklı geçtiği söylenemez. Yine de son zamanlarda, teknolojinin de katkısıyla, doğanın şifa sırları birer birer ortaya çıkmaya başlamıştır. Her hastalığın şifası doğada bulunmaktadır, insanoğluna düşen onu arayıp bulmak ve uygulamaktır. Ancak hastalıkları tedavi etmek, hangi ilacın hangi hastalığa iyi geldiğini bulmak, hangi ilacın hangi işlemlerden geçtikten sonra ne kadar ölçüyle uygulanması gerektiği gibi bir dolu soru, insanoğlunun binlerce yıldır çözmesi gereken problemler yığnında yer almaktadır. İşte bu yüzden insanlık 7000 yıldır kendisini tedavi edebilecek ilaç reçetelerini doğanın kaynaklarına başvurarak elde etmektedir.

Ülkemizde tıbbi olarak kullanılan bitkilerin sayısı 500 civarında olup bu bitkilerin nerdeyse tamamı doğal olarak yetişmektedir. Çok az bir kısmı kültüre alınmış bunların üretimleri de çok dar bir alanda yürütülmektedir. Tıbbi ve kokulu bitkilerin ilaç sanayi alanında, gıda ve meşrubat, parfüm ve kozmetik endüstrisi gibi pek çok alanda kullanımları, tüketimlerini hızlandırmıştır. Günümüzde ilaç endüstrisinin geliştirmiş olduğu ilaçların dörtte birinin, temel veya tamamlayıcı etkin maddeleri bitkisel kaynaklıdır. Sentetik ilaçların yan etkilerinden dolayı bitkisel kaynaklı ilaçlara yönelim artmaktadır. İnsan ve bitki vücutları hücrelerden oluştuğu için biyokimya seyrinde uyumlulukları

vardır; bu nedenle bitkilerdeki aktif maddeler zehirli olsalar bile sentetik ilaçlar gibi insan hücrelerinde ani ve kuvvetli tahripler yapmazlar [1].

1.2. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Türleri

Serbest radikaller, bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron ihtiva eden atom veya moleküllerdir. Orbitali doldurup stabil hale gelmek için başka elektrona ihtiyaç duyduğundan ortaklanmamış elektronlar serbest radikalleri oldukça reaktif hale getirir [2]. Bu bileşikler organizmada normal metabolik yolların işleyişi sırasında oluştuğu gibi, çeşitli dış etkenlerin etkisiyle de oluşmaktadır. Yaşam süreleri çok kısa olmasına rağmen, yapılarındaki dengesizlik nedeniyle çok aktif yapıda olan serbest radikaller tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliğine sahiptirler. Aerobik metabolizması olan memelilerde serbest radikaller başlıca oksijenden türemektedir [3]. Bilindiği gibi, oksijen canlıların yaşamlarını sürdürmeleri için mutlak gerekli bir elementtir. Hücre içinde çeşitli reaksiyonlardan geçerek su haline dönüşmektedir. Bu sırada hücre kendisi için gerekli enerjiyi sağlamaktadır. Fakat bu süreçte oksijenin %1-3'ü tam olarak suya dönüşemez, süperoksit anyonu ve hidroksil radikali oluşur [4].

Aslında serbest radikaller, hücrelerin enerji üretiminde rol oynadıkları gibi, vücudun normal metabolik faaliyetleri sırasında gerçekleşen pek çok yararlı biyokimyasal süreçlerin içinde de yer alırlar. Oksidasyon sonucu kısa süreli oluşan serbest radikaller vücudumuzun antijenlerle savaşmasında bağışıklık sistemine yardımcı olurlar. Ancak çevresel ajanların da etkisiyle aşırı miktarlarda oluştuklarında durum değişir ve hücre hasarına neden olabilirler [5]. Oksijen kaynaklı olan reaktif radikallerin hücrede aşırı miktarda oluşmaları "oksidatif stres" olarak tanımlanır. Bu olay, tüm hücre bileşenleri (karbonhidratlar, proteinler, yağlar) üzerinde tahrip edici etkiye sahiptir.

Canlı hücrelerde bulunan protein, lipit, karbonhidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar ve bu olaya antioksidan savunma denir [6].

Serbest radikaller üç farklı şekilde oluşur:

1.2.1. Radikallerin Oluşumu

İçinde bulunduğumuz çevrede çeşitli fiziksel ve kimyasal olaylar nedeniyle sürekli bir radikal oluşumu vardır. Hücrelerdeki metabolik olaylar sırasında farklı tür ve miktarlarda radikaller oluşmaktadır. Radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya yüksüz olarak bulunabilirler. Radikaller başlıca 3 temel mekanizma ile oluşurlar [7].

1.2.2. Kovalent Bağların Homolitik Kırılması

Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar veya yüksek sıcaklık (500–600°C) kimyasal bağların kırılmasına neden olur. Kırılma sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalıyorsa, bu tür kırılmaya homolitik kırılma denir. Organik moleküllerdeki bağların heterolitik kırılması durumunda zıt yüklü iyon çiftleri oluşur ve bu türler de reaktiftirler.



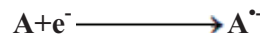
1.2.3. Normal Bir Molekülün Elektron Kaybetmesi

Radikal özelliği bulunmayan bir molekülden elektron kaybı sırasında dış orbitalinde paylaşılmamış elektron kalıyorsa, radikal formu oluşur. Örneğin askorbik asit, glutatyon ve tokoferoller (E vitamini) gibi hücrel antioksidanlar, radikal türlere tek elektron verip radikalleri indirgerken, kendilerinin radikal formları oluşur.



1.2.4. Normal Bir Moleküle Elektron Transferi

Radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek elektron transferi ile dış orbitalinde paylaşılmamış elektron oluşuyorsa, bu tür indirgenme radikal oluşumuna neden olabilir. Örneğin moleküler oksijenin tek elektron ile indirgenmesi, radikal formu olan süperoksitin ($O_2^{\bullet-}$) oluşumuna neden olur. Bu mekanizma ile radikal yapımı biyolojik sistemlerde yaygın olarak gerçekleştiğinden canlılar için önemlidir [8].



Biyolojik sistemlerde elektron transferi ile radikal oluşumu homolitik füzyondan daha yaygındır. Homolitik füzyon; yüksek sıcaklık, ultraviyole ışığı veya iyonize radyasyondan elde edilecek enerjiye ihtiyaç duymaktadır. Heterolitik füzyonda ise serbest radikaller oluşmamakta ve ürün olarak sadece yüklü gruplar meydana gelmektedir [7].

Serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek üzere organizmada antioksidan savunma sistemleri veya kısaca antioksidanlar olarak adlandırılan çeşitli savunma mekanizmaları gelişmiştir. Serbest radikallerin ve antioksidanların düzeyleri arasında denge korunmadığı takdirde hücre hasarına kadar giden bir çok patolojik değişiklik ortaya çıkmaktadır [9].

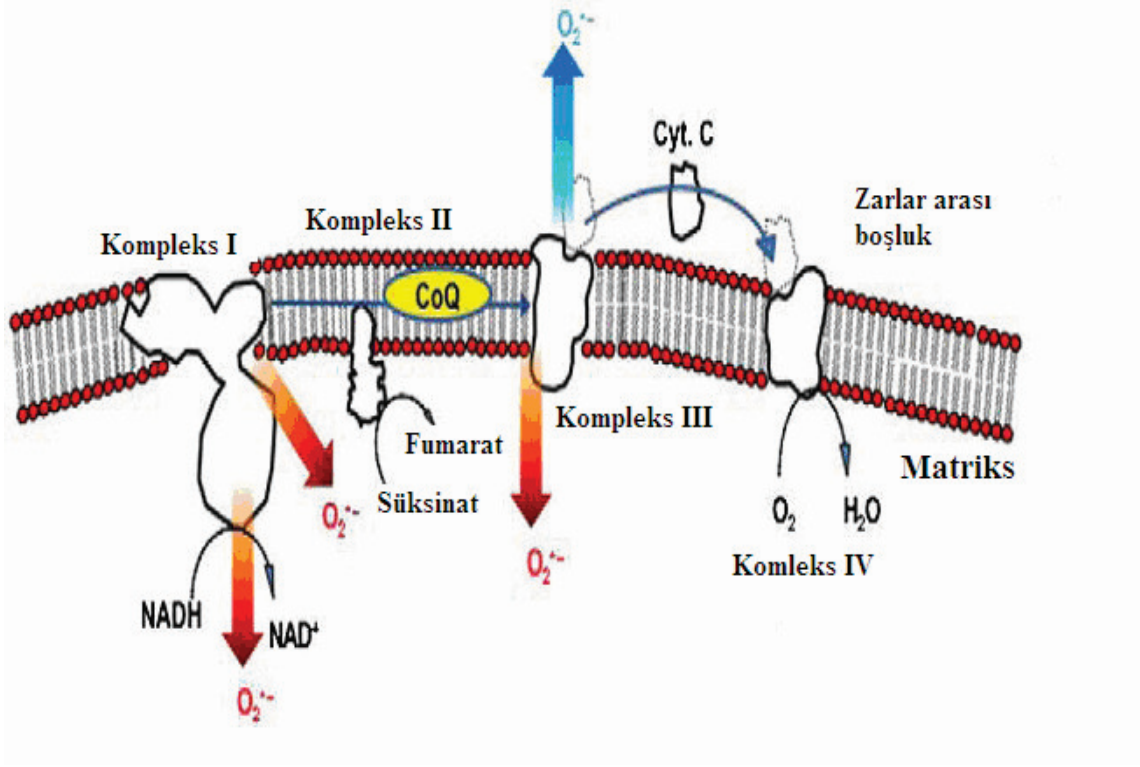
1.2.5. Süperoksit Radikali

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşmuş radikallerdir [10]. Moleküler oksijen dış orbitallerinde paylaşılmamış iki elektron içerir. Bu elektronlar paylaşılmadığında, ayrı ayrı orbitallerde bulduklarında ve spinleri aynı yönde olduğu zaman en düşük enerji seviyesindedirler. Bu dış orbitallerden her biri birer elektron daha kabul edebilir. Bu orbitallerin tek elektron alması ile süperoksit anyonu (süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$), iki elektron alması ile de peroksi anyonu (O_2^{2-}) oluşur [11]. Hem çevresel etkenler, hem de organizmalardaki enzimatik ve enzimatik olmayan tepkimelerle en çok ve en kolay oluşan oksijen radikali süperoksit radikalidir.

Serbest süperoksit radikal anyonu ($O_2^{\bullet-}$) hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu meydana gelir [12,13]. Süperoksit radikali normalde mitokondriyal solunum esnasında oluşmaktadır. Mitokondrilerde kullanılan oksijenin % 2'si süperoksit haline gelir. Oksijen mitokondride redükte olduğunda primer ürün sudur. Su, sitokrom oksidaz moleküler oksijene 4 elektron eklediğinde oluşur [14].

Süperoksit anyonu, diğer moleküllerden elektronları çekerek enerji gereksinimlerini karşılayabildiklerinden, oksitleyici ajanlar olarak kabul edilir. Ayrıca süperoksit radikali aldığı elektronu başka bir elektron alıcıya vererek tekrar oksijene oksitlenebilir ve böylece bir indirgeyici (redüktör) olarak davranabilir (Şekil 1.1) [12,15].

Hücre membranındaki siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimleri lökosit membranındaki NADH oksidaz enzimi, stoplazmadaki ksantin oksidaz ve ksantin dehidrogenaz enzimleri aracılığıyla da süperoksit radikali oluşmaktadır [14,16].



Şekil 1.1. Elektron taşıma zinciri ve süperoksit radikalinin açığa çıkması

Canlılarda, süperoksit radikallerinin oluşumuna neden olan olayları iki grupta toplayabiliriz:

1. Çeşitli çevresel etkilerle (fiziksel ve kimyasal) süperoksit radikali oluşabilir. Örneğin, yüksek enerjili ışıklardan beta, gama ve X ışınları süperoksit radikalleri yanında diğer radikallerin oluşumunu da gerçekleştirirler [16].

2. Canlı sistemler radikal oluşumuna neden olan çevre koşullarından tümüyle izole edilseler bile; eğer moleküler oksijeni metabolize ediyorsa, canlı sistemdeki yükseltgenme indirgenme tepkimeleri sırasında süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$) üretebilirler [17].

Süperoksit radikali hemen tüm aerobik hücrelerde oluşan, indirgen ve orta derecede yükseltgen olan bir ajandır. Esas önemi, hidrojen perokside kaynaklık etmesi ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Uzun bir yarı ömre sahip olup, lipofilik özellik gösterir. Bu özelliğinden dolayı da oluştuğu yerden uzak bölgelere difüzyonla yayılabilmektedir [18,19]. Ancak doğrudan doğruya hasar yapıcı etkisi çok fazla değildir. En çok mitokondri, endoplazmik retikulum ve kloroplast gibi hücresel organellerde, elektron transport zincirinin çeşitli komponentlerinden O_2 'e elektron sızması ile oluşur. Mitokondriyal elektron transport zincirinde elektronlar iki moleküler noktada kaçak olur.

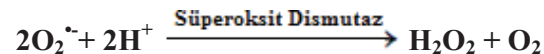
Bunlardan birincisi, NADH-dehidrogenaz basamağı, ikincisi ise koenzim Q ya da ubikinon basamağıdır. En son basamakta elektronların O₂'e taşınmasından sorumlu olan sitokrom oksidaz enzimi oksijenin % 97-99'unu harcayarak suya indirger. Fakat O₂'nin % 1-3'ünden, transport zincirinden sızan elektronlarla O₂^{•-} oluşur [19,20]

1.2.5.1. Süperoksit Radikali Üzerine Doğal Kaynaklı Antioksidanların Etkisi

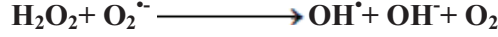
Günümüzde yapılan çalışmalar oksijen radikallerinin giderilmesinde sadece organizmadan kaynaklanan savunma sistemlerinin yeterli olmadığına sıkça değinmektedir. Özellikle yapılan araştırmalar ile organizmada meydana gelen oksidatif hasarlara karşı dışardan alınan antioksidanların da oldukça etkili olabildiği saptanmıştır. Süperoksit radikalının etkilerini gidermede bu bitkisel kaynaklı antioksidanların oldukça etkili olduğu yapılan araştırmalarla gösterilmiştir. Devi ve Arumughan [21] pirinç kepeğinden elde edilen ekstraktların fitokimyasal içeriklerine göre antiradikal etkisini belirlemek amacıyla yaptıkları araştırmalarında bu bitkinin ekstraktlarının süperoksit radikalini temizleme özelliğine sahip olduğunu belirlemişlerdir. Moridani ve ark. [22] ise flavonoid bakımından zengin bir beslenme ile yaşlanma, iskemik reperfüzyon ve kronik hastalıkların oluşumunda etkili olan süperoksit radikale karşı organizmanın korunabileceğini bildirmişlerdir. Beyaz lahananın antioksidan etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada da bu bitkinin özellikle dış yapraklarının süperoksit ve hidroksil radikalının etkilerine karşı koruyucu etkisinin olduğu saptanmıştır [8].

1.2.6. Hidrojen Peroksit Radikali

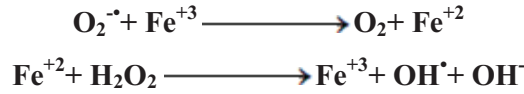
Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksidin bir elektron alması sonucu peroksit meydana gelir. Peroksit molekülü de iki hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksidi (H₂O₂) oluşturur [8,24]. H₂O₂, süperoksit dismutaz tarafından katalizlenen dismutasyon reaksiyonu sonucu ortaya çıkar. İki süperoksit molekülü iki proton alarak H₂O₂ ve moleküler oksijeni oluştururlar. Reaksiyon sonucu radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden bu bir dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir.



H₂O₂ membranlardan geçebilen uzun ömürlü oksidandır. Kendisi bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Geçiş metal iyonları varlığında daha da hızla gerçekleşen bir reaksiyonla süperoksit anyon radikali ile birlikte en reaktif radikal olan hidroksil radikalini oluşturur [10,20,25].



Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu adı verilir. “Haber-Weiss” reaksiyonu katalizörlü veya katalizörsüz oluşabilir. Fakat katalizörsüz reaksiyon oldukça yavaş ilerler. Katalizör olmayınca ortamdaki H₂O₂ ve O₂^{•-} antioksidanlar tarafından kolayca kaldırılır [18,19]. Demir gibi geçiş metalleri ile katalizlenen ikinci şekli ise çok hızlıdır [12,20,8]. Bu reaksiyonda önce ferri demir (Fe⁺³), süperoksit tarafından ferro demire (Fe⁺²) indirgenir. Sonra bu ferro demir kullanılarak ‘Fenton Reaksiyonu’ ile hidrojen peroksitten OH[•] ve OH⁻ üretilir. Reaksiyon mekanizması aşağıdaki gibidir:



Hidrojen peroksit özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek yüksek oksidan düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturur. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilir. Oksitleyici özelliği nedeniyle biyolojik sistemlerde oluşan H₂O₂'nin derhal ortamdaki uzaklaştırılması gerekir.

1.2.6.1. Hidrojen Peroksit Üzerine Doğal Kaynaklı Antioksidanların Etkisi

Hidrojen peroksitin etkisinin giderilmesinde günümüzde artık katalazın yanı sıra doğal kaynaklı antioksidanlarında etkisini olduğu yapılan çalışmalar ile sıkça ortaya konmuştur. Son yıllarda canlı sistemlerde oluşan oksidatif stres üzerine özellikle bitkisel kaynaklı antioksidanların etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, oksidatif stres oluşturmadaki etkisinden dolayı hidrojen peroksit sıkça kullanılmaktadır. Esmaeili ve ark. [26] çalışmalarında hücre kültüründe H₂O₂ ile indüklenen oksidatif strese karşı *Tanacetum* (pire otu) bitkisinin etkisini araştırmışlardır. H₂O₂ muamelesine karşın bu bitkinin hücreyi koruduğunu ve antioksidan enzimlerin miktarını da artırdığını ortaya koymuşlardır. Jeong ve ark. [10] *Cnidium officinale* bitki ekstraktlarının yine H₂O₂ ile oluşturulmuş olan

oksidatif stresle karşı etkili olduğunu ve bu bitkinin DNA ve hücre hasarlarını azaltarak kansere karşı koruyucu bir bitki olduğunu bildirmişlerdir.

H₂O₂ ile yapılan çalışmalar sadece *in vitro* şartlarda değil *in vivo* şartlarda da aynı amaç için kullanılmıştır. Kaviarasn ve ark. [27] çemenotu tohumlarının rat karaciğer mitokondrisinde H₂O₂ ile indüklenen lipid peroksidasyonu üzerine önleyici etkisini ve OH[•] radikalini giderme etkisini araştırdıkları çalışmalarında bu tohumların oksidatif hasara karşı hücre yapılarını koruyucu etkide bir antioksidan moleküllerin olduğu sonucuna varmışlardır.

1.2.7. Hidroksil Radikali (OH[•])

Hidroksil radikali, kimyada en aktif radikal olarak bilinir. Bu nedenle *in vivo*'da oluşan bir OH[•] radikali hemen her moleküle saldırır ve oluştuğu yerde de büyük hasara neden olur. Nonradikal biyolojik moleküllerle zincirleme reaksiyonları başlatır [24,28]. OH[•] radikali, hidrojen peroksitin geçiş metalleri varlığında indirgenmesi ile (Fenton reaksiyonu) oluşan son derece reaktif bir radikaldir. Ayrıca hidrojen peroksitin süperoksit radikali ile reaksiyonu sonucunda da (Haber-Weiss reaksiyonu) meydana gelir. Bu reaksiyon katalizörsüz çok yavaş olduğu halde Fe⁺³ katalizörlüğünde çok hızlı oluşur [7,29].



Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda da OH[•] radikali oluşur. Bir OH[•] radikali, yüzlerce yağ asidini ve yan zincirini lipid hidroperokside çevirebilir. Bu oluşan hidroperoksitler birikerek membran bütünlüğünü bozar ve hücrenin parçalanmasına neden olur. Ayrıca bu hidroperoksitlerden son ürün olarak toksik ve reaktif olan aldehitler de oluşabilir. Bunların en önemlilerden biri de MDA'dır [3,30,31].

OH[•] radikali, organik ve inorganik bileşiklerde elektron transfer tepkimelerine neden olur, ancak normalde OH[•] radikali oluşmaz. Çünkü OH[•] oluşumu için moleküler oksijenin üç değerlikli olarak indirgenmesi gerekir ki, bu oldukça zordur. OH[•] meydana gelebilmesi için O₂^{•-} ve H₂O₂ gereklidir. Bunlarda SOD, CAT veya GSH-Px sistemiyle uzaklaştırılır. Bu antioksidan moleküllerin aktivitesi sonucu fizyolojik şartlarda fazla miktarlarda OH[•] oluşmaz [31,32].

1.2.7.1. Hidroksil Radikali Üzerine Doğal Kaynaklı Antioksidanların Etkisi

Hücre içi ortamın aksine hücre dışı sıvılarda enzimatik antioksidan sistemin aktivitesi sınırlıdır. Bu nedenle dışardan antioksidan maddelerin alınmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Günümüzün geliştirilen yeni bilimsel tekniklerin sayesinde kullanılan sentetik antioksidanların bazı yan etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Bundan dolayı, bitkisel kaynaklardaki doğal antioksidanların araştırılması son yıllarda dikkat çeken bir araştırma konusu olmuştur, önemi de günden güne de artmaktadır.

Sithisarn ve ark. [33] *Azadirachta* (Nim ağacı, yalancı tesbih ağacı) bitki yapraklarının antioksidan etkilerinin araştırdıkları çalışmalarında bu bitkinin Fenton reaksiyonuna etki ederek OH[•] radikali üzerine antioksidan etkisinin olduğunu tespit etmişlerdir. Yine yapılan başka bir araştırmada da *Palmaria palmata* (kırmızı denizotu)'nın *in vitro* şartlarda antioksidan etkisi belirlenmiştir ve bu bitkinin OH[•] üzerinde radikal giderici özellikte olduğunu bildirmişlerdir.

1.2.8. Singlet Oksijen

Enerji absorpsiyonu ile oksijenin paylaşılmamış dış elektronlarını değiştirerek aynı veya farklı orbitale yerleşebilirler. Uyarılmış haldeki bu oksijene singlet oksijen denir. Singlet oksijen diğer moleküllerle etkileştiğinde ya içerdiği enerjiyi transfer eder, ya da kovalent tepkimelere girer. Özellikle karbon-karbon çift bağları singlet oksijenin tepkimeye girdiği bağlardır. Doymamış yağ asitleri ile de doğrudan tepkimeye girerek peroksi radikalini oluşturur ve OH[•] kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilir. Reaktif olmayan ancak reaktif oksijen radikallerinden biri olan singlet oksijenin sigma ve delta diye iki tipi vardır [34]. Sigma formu çok enerjik olduğundan yarı ömrü kısadır, hızlıca bozularak delta formuna dönüşür [35]. Singlet oksijen radyasyon sonucu oluşabileceği gibi *in vivo* olarak sitokrom P-450, prostaglandin endoperoksit sentetaz ve miyeloperoksidaz reaksiyonlarıyla da oluşabilmektedir. Karotenler, bilirubin, histidin, methionin, 2–5-difenilfuran, 1,4-diazbisikloalefan, singlet oksijeni temizlerler [35]. Singlet oksijen, DNA, RNA, proteinler, lipitler ve sterollerini kapsayan çok sayıda biyolojik hedeflerle reaksiyona girerek hücrede zararlı etkilere sebep olur [35].

1.2.9. Serbest Radikallerin Biyolojik Hedefleri

Serbest radikaller (Tablo 1.1) hücre ve dokularda birçok zarara yol açmaktadır. Bu zararlar şöyle sıralanabilir:

- a) DNA 'nın tahrip olması,
- b) Nükleotit yapıları koenzimlerin yıkımı,
- c) Lipid peroksidasyonu ile hücrenin zar yapısı ve fonksiyonunun değişmesi,
- d) Enzim aktivitelerinde ve lipid metabolizmasındaki değişiklikler,
- e) Protein ve lipidlerle kovalent bağlantılar yapması,
- f) Zar proteinlerinin tahribi, taşıma sistemlerinin bozulması,
- g) Seroid ve yaş pigmenti denilen bazı maddelerin birikimi
- h) Proteinlerin tahrip olması ve protein " turnover" nin artması
- i) Tiollere bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulması, hücre ortamının tiol/disülfid oranının değişmesi
- j) Kollagen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerdeki oksido-redüksiyon olaylarının bozulması kapillerlerde aterosklerotik değişikliklerin oluşması
- k) Mukopolisakkaritlerin yıkımı şeklinde özetlenebilir [3].

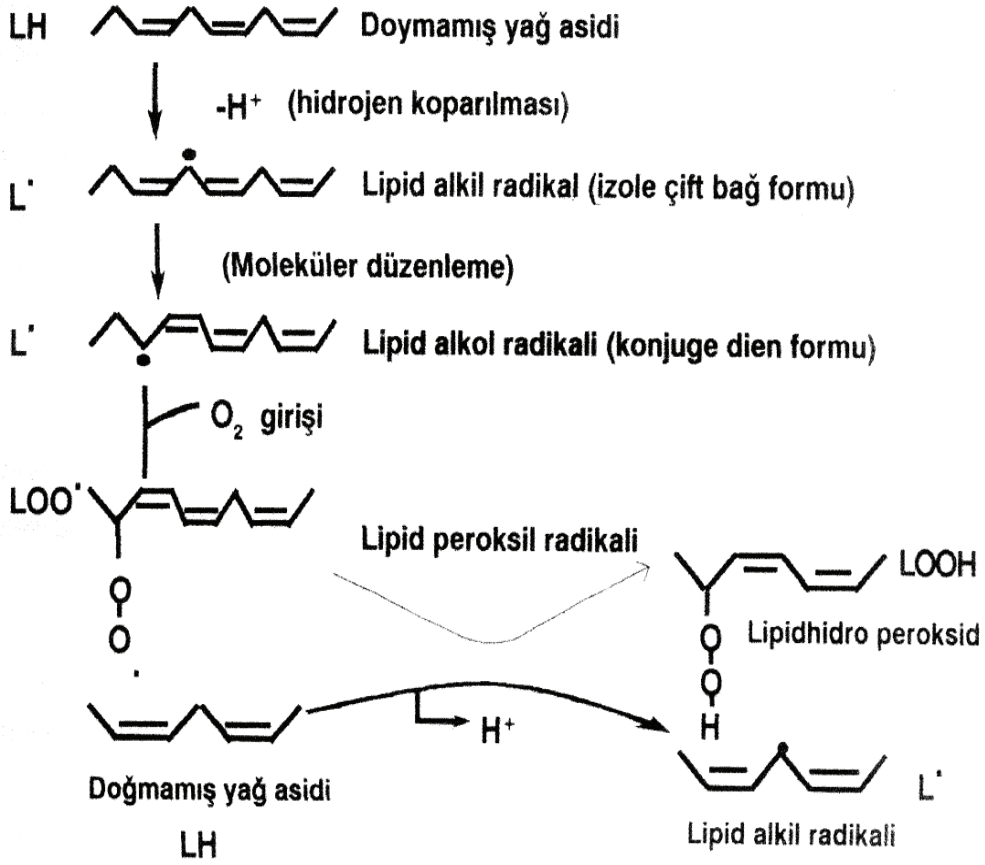
Tablo 1.1. Bazı önemli reaktif oksijen ve azot türleri

Reaktif oksijen türleri		Reaktif azot türleri	
Süperoksit radikali	$O_2^{\cdot-}$	Nitrik oksit radikali	NO^{\cdot}
Hidrojen peroksit	H_2O_2	Azot dioksit radikali	NOO^{\cdot}
Hidroksit radikali	OH^{\cdot}	Peroksinitrit radikali	$ONOO^{\cdot}$
Hipokloröz asit	$HOCl$	Nitroz asit	HNO_2
Singlet oksijen	1O_2	Nitrozil katyonu	NO^+
Organik radikaller	$RO^{\cdot}, R^{\cdot}, R-S^{\cdot}$	Nitroksi anyonu	NO^{\cdot}
Peroksil radikali	$RCOO^{\cdot}$	Peroksinitrit	$ONOO^{\cdot}$
Peroksi anyonu	$O_2^=$		

1.2.9.1. Serbest Radikallerin Membran Lipidlerine Etkileri

Biyomembranlar ve hücre içi organeller (mitokondri, endoplazmik retikulum), membran fosfolipidlerindeki doymamış yağ asitlerinin varlığı dolayısıyla oksidatif ataklara duyarlıdır [36]. Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Poliansature

yağ asitlerinin oksidatif yıkımı, lipid peroksidasyonu olarak bilinir ve oldukça zararlıdır. Çünkü kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür (Şekil 1.2). Lipid peroksidasyonu, organizmada oluşan bir serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan poliansature yağ asidi zincirindeki α - metilen gruplarından hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlar [8]. Biyolojik sistemlerde bu serbest radikalın süperoksit anyonu ve hidroksil radikali olduğu kabul edilmektedir. Lipid peroksidasyonunda asıl etkili radikalın OH^{\bullet} olduğu benimsenmektedir. Yağ asidi zincirinden hidrojen atomunun uzaklaşması, bu yağ asidi zincirinin radikal niteliği kazanmasına neden olmaktadır. Oluşan lipid radikali (L) dayanıksız bir bileşik olup bir dizi değişikliğe uğramaktadır. Öncelikle, molekül içi çift bağ aktarılması ile dien konjugatları oluşmaktadır. Daha sonra lipid radikalının oksijen ile reaksiyona girmesi ile lipid peroksit radikali (LOO^{\bullet}) meydana gelir. Bu radikalde zardaki poliansature yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumunu sağlamakta ve kendileride açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksitlerine dönüşmektedir. Böylece olay kendi kendini katalizleyerek devam eder [3,8]. Lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesi ile sona ermektedir. Bu bileşiklerden biri olan malondialdehit (MDA) miktarı, tiyobarbitürik asit testi ile ölçülmekte ve bu yöntem lipid peroksit düzeylerinin saptanmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Peroksidasyon sırasında oluşan dien konjugatlarının ölçümü de, in vivo lipid peroksitlerinin düzeyini yansıtmaları açısından giderek önem kazanmaktadır. Lipid hidroperoksitlerinin parçalanması ile oluşan etan, bütan ve pentan gibi gazların tayini de, son yıllarda lipid peroksidasyon göstergesi olarak değerlendirilmektedir [37].



Şekil 1.2. Lipid peroksidasyonu

Organizmadaki etkileri;

a) Lipid peroksidasyonu sonucu membran akışkanlığı azalır ve normalde hücre içine geçemeyen maddelerin hücre içine girişleri artar.

b) Lipid peroksitler ve alkoksil radikaller, triptofan ve sistein gibi protein kısımlarına ataklar yaparak protein yapısını bozar ve hasar meydana getirirler.

c) Lipid peroksidasyonu sırasında aktiviteleri için sülfidril ve amino grubuna gereksinim duyan, özellikle hormonal uyarılara hücrenin cevap verme imkanı sağlayan yüzey reseptörlerini inhibe ederler (G6P-az ve Na-K ATP-az gibi)

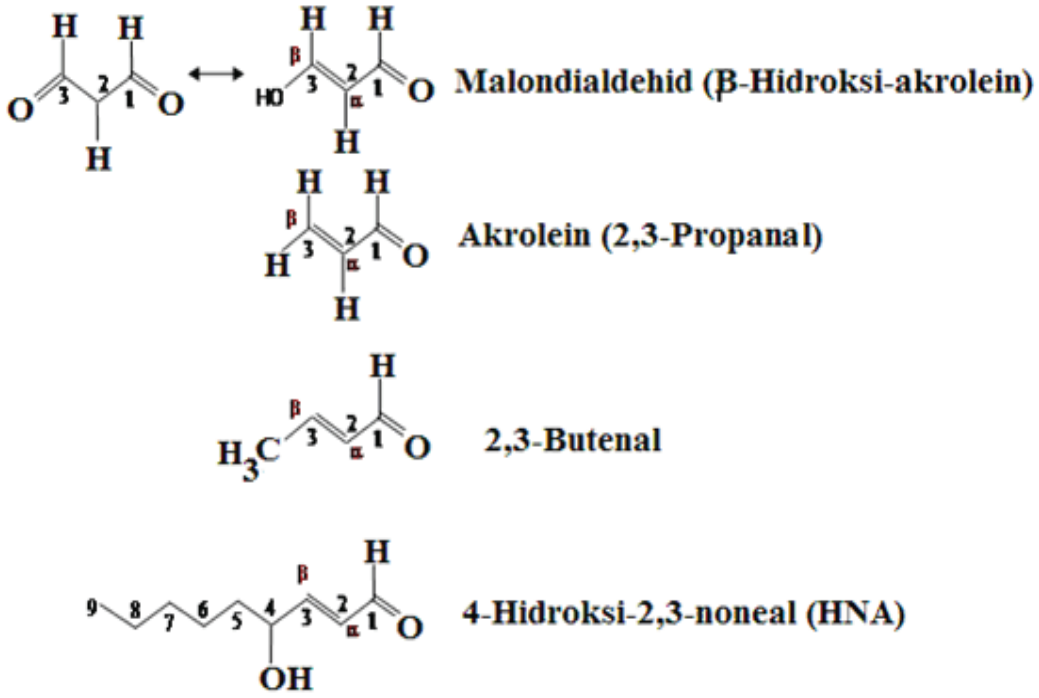
d) Hücre membranına yakın yerleşimdeki DNA molekülleri de lipid peroksidasyonundan hasar görürler ve bazen DNA'nın replikasyonu yapılamaz.

e) Bazı aldehitler biyolojik sıvılarda kemotaktik etki gösterirler.

f) MDA gibi aldehitler, LDL'yi modifiye ederek metabolik yolu değiştirebilirler [36].

1.2.9.1.1. MDA (Malondialdehit)

Lipid peroksidasyonu, membrandaki doymamış yağ asitlerinin serbest oksijen radikalleri tarafından alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur. Serbest radikaller özellikleri nedeniyle, lipitler, proteinler ve nükleik asitler ile etkileşerek hücreye zarar verirler. Çeşitli patolojik durumlar sırasında birçok hücre tipinde O_2' nin redüksiyonundan oluşan türlerin üretimiyle oksidatif stres meydana gelir. Bunun sonucunda hücre yapısındaki lipitlerde bozulmalar olur [38]. MDA (Malondialdehit), biyolojik sistemde lipitlerin oksidasyonu sonucunda oluşmaktadır. MDA ölçümü ile LPO'nun değerlendirilmesi yapılabilmektedir. Bu bileşikler ya hücre olarak metabolize olurlar ya da başlangıçta etkili oldukları bölgeden diffüze olup hasarı hücrenin diğer bölümlerine yayarlar. Lipid radikallerinin hidrofobik yapıda olması dolayısı ile reaksiyonların çoğu membrana bağlı moleküllerde meydana gelir. Peroksil radikalleri ve aldehitler, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur. Böylece membranlarda, reseptörleri ve membrana bağlı enzimleri inaktive etmek suretiyle membran proteinlerinde de ciddi hasarlar meydana getirebilirler. İyon transportunu etkileyebilirler. Plazma lipoproteinleri ve özellikle düşük dansiteli lipoproteinler de oksidasyona uğrayabilirler. Okside lipoproteinler hücre fonksiyonlarının bozulmasına aracılık edebilirler [38]. LPO reaksiyonu ya toplayıcı antioksidan reaksiyonlarla sonlandırılır veya otokatalitik yayılma reaksiyonları ile devam eder (Şekil 1.3) [19,25].



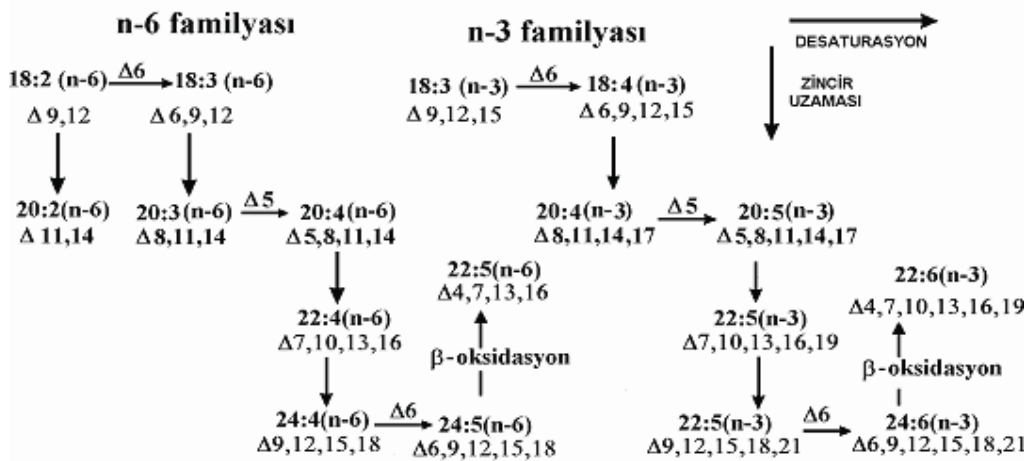
Şekil 1.3. Linoleik asidin OH[•] radikalinin bulunduğu ortamda lipid peroksidasyona uğraması ve son ürün olarak farklı aldehid moleküllerinin oluşması

1.2.9.1.2. Yağ Asitleri

İnsanların da içinde yer aldığı memeli grubunda iki farklı yağ asidi metabolizması etkili olmaktadır. Bunlardan birincisi vücuttaki karbonhidrat ve amino asit öncüllerinden *de novo* olarak sentezlenen ve doku fosfolipidlerinde ve depo lipitlerinde yer alan palmitik, palmitoleik, stearik, oleik, eikosanoik, dokosanoik ve lignoserik asit ile nervonik asitler; ikincisi ise linoleik (18:2, n-6) ve linolenik asitler (18:3, n-3) ile başlayan esansiyel yağ asidi metabolizması olarak bilinir. Çünkü; bu metabolizmanın başlaması için gerekli olan linoleik (18:2, n-6) ve linolenik asit (18:3, n-3), özellikle karasal ortamda yaşayan organizmalar için Δ -12 desaturaz ve Δ -15 desaturaz enzimleri bulunmadığı için *de novo* olarak sentezlenemezler, ancak besin yoluyla vücuda alınması gerekir (Şekil 1.4) [39-41].

Memeliler grubu canlıların dokularında, doymamış yağ asidi sentezini sağlayan enzim sistemi 9. ile 10. karbon atomları arasında sonlanmaktadır. 10. karbondan daha ileri çift bağ girişini sağlayan enzim sistemi, *de novo* olarak sentezlenen yağ asitleri için söz konusu değildir. Lipit biyosentezinin en önemli bölümünü oluşturan *de novo* yağ asidi sentezi, hücredeki homeostasiyi sağlamada ve hücrenin yaşamı açısından çok önemlidir

[42,43]. Hücre yaşamını devam ettirebilmek için değişik kaynaklardan karbonhidrat, protein ve lipit içerikli besinler almak zorundadır. Özellikle bu moleküllerden karbonhidratlar hücre için tercih edilen yakıt molekülleri arasında ilk sırada gelmektedir. Hücre kendisi için gerekli olan ATP molekülünü sentezledikten sonra, geriye kalan karbonhidratların bir kısmını karaciğer ve kas dokusunda glikojen olarak depolar ve sonra geriye kalan kısmı da *de novo* yağ asidi sentezine yönlendirmektedir.

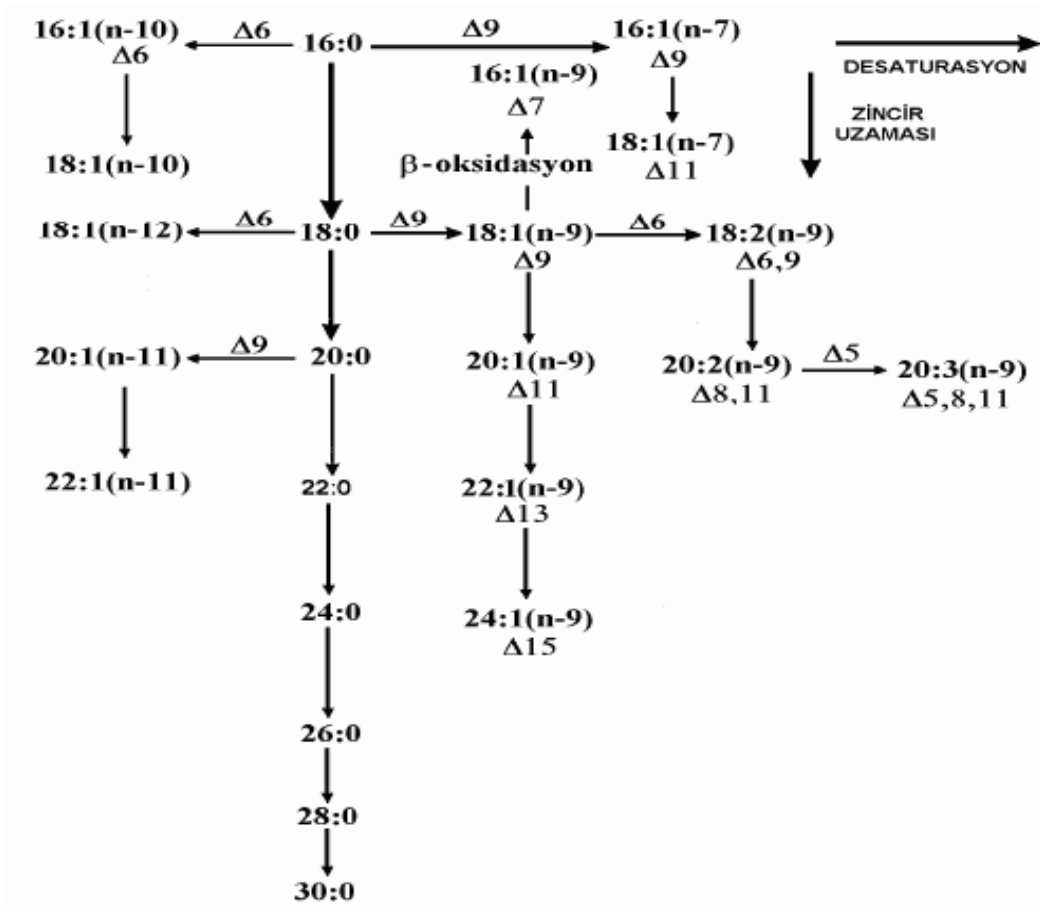


Şekil 1.4. Memelilerde esansiyel yağ asitlerinin izlediği metabolik yolları. Tvrvicka ve ark. [39]'den alınmıştır.

Yağ asidi sentezinde hız sınırlayıcı enzim asetil CoA karboksilaz olup, indirgeyici molekül NADPH'tır. Bu enzim insülin hormonu etkisi altında olup, insülin tarafından aktive edilmektedir. Mitokondriden sitosole sitrat ile taşınan asetil CoA, bu enzim tarafından bir CO₂'in ilave edilmesiyle Malonil CoA oluşur ve bu şekilde yağ asidi sentetaz enzimi de aktif hale getirilir. Yağ asidi sentetaz enziminin aktivitesi sonucunda asetil CoA ile başlayan sentez sonunda 16 C'lu palmitoil CoA ve daha sonra palmitik asit (16:0) gibi bir ürün oluşumu ile sonlanır (Şekil 1.5). Bu şekilde gerçekleşen olay lipogenez olarak adlandırılır ve başlıca olarak da karaciğer, adipoz doku, meme bezleri ve böbrek dokularında aktif şekilde gerçekleşir. Lipogenez'in son ürünü olarak sentezlenen palmitik asit, mitokondri, endoplazmik retikulum, peroksizomlar ve mikrozomlarda iki karbon birimlerinin eklenip zincir uzatılmasıyla 24 karbonlu lignoserik asite kadar farklı yağ asitlerinin oluşumunu sağlar. Doku hücrelerinde *de novo* olarak sentezlenen palmitik, stearik, oleik asit gibi yağ asitleri aynı zamanda besinlerle alınarak hücre yapısına

katılırlar. Bu aşamadan sonra *de novo* olarak sentezlenen palmitik asit ve zincir uzaması ile elde edilen stearik asit bazı değişikliklere uğratarak hücre yapısına katılmadığı zaman hücre fizyolojisinde anormal olayların ortaya çıkmasına neden olur. Bundan dolayı bazı enzimatik olaylarla doymamış hale getirilerek, hücre fosfolipidlerine katılır ya da hücredeki trigliseridlerde depo edilir.

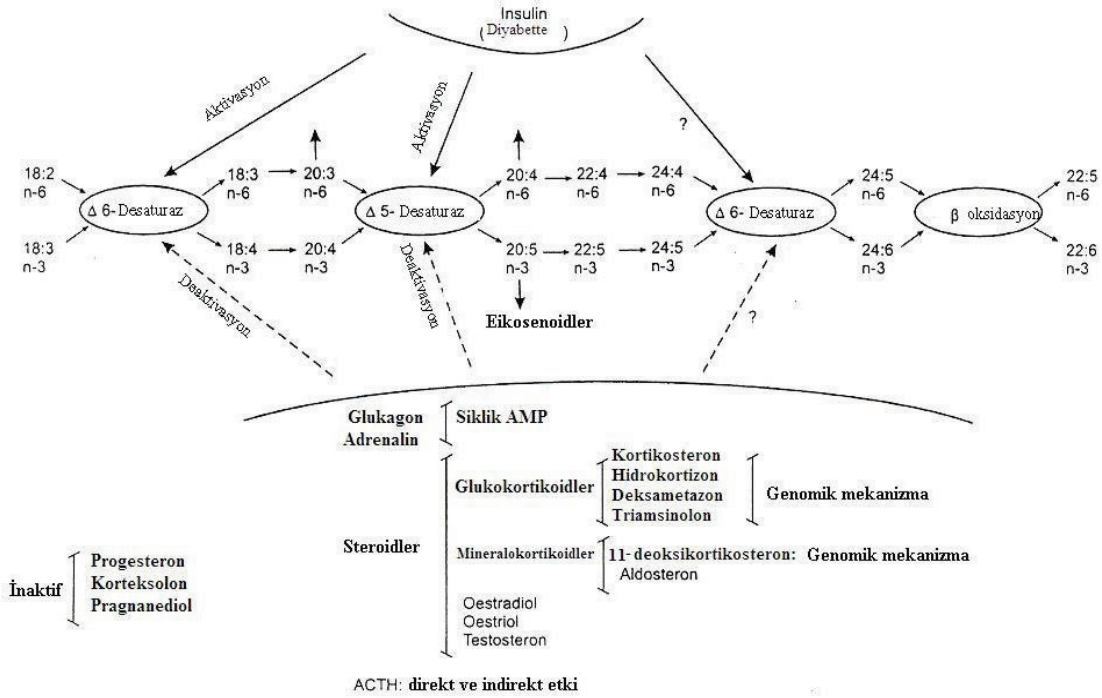
Bu yağ asitlerinin doymamış formu olan palmitoleik (16:1, n9 ve n7) ile oleik (18:1, n9 ve n7) asitlere dönüşümünü katalize eden enzim sterol CoA desaturaz enzimidir. Yapılan çalışmalarda sterol CoA desaturaz (SCD) enziminin memelilerin birçok dokusunda bulunduğu saptanmıştır.



Şekil 1.5. Memelilerde esansiyel olmayan yağ asitlerinin izlediği metabolik yollar. Tvrvzicka ve ark. [39]'den alınmıştır

İnsanlarda ve diğer memelilerde *de novo* olarak sentezlenen ve monoenoik yağ asidi sentezi dışındaki diğer yağ asidi metabolizması aşırı doymamış yağ asitlerinin

sentezlediği esansiyel yağ asidi metabolizmasıdır. Esansiyel yağ asidi metabolizması bütün dokularda linoleik (18:2, n6) ve linolenik (18:3, n3) yağ asitleri ile başlar. Bu yağ asitlerini metabolizması zincir uzatılması ve hidrokarbon zincire çift bağ girişini sağlayan enzimlerin aktivitesiyle devam eder. Memelilerde Δ -12 ve Δ -15 enzimleri bulunmadığı için bu yağ asitlerini sentezleyemezler. Bunlar besin yoluyla memeliler tarafından alındığı için esansiyel yağ asidi olarak bilinirler. Bu yağ asitleri Δ -6 desaturaz ve Δ -5 desaturaz enzimlerinin aktivitesiyle, linoleik asitler (18:2 n6), eikosadienoik asit (20:2, n6), araşidonik asit (20:4, n6), dekosadienoik asit (22:2, n6), dekosatetroenoik asit (22:4, n6), dekosapentaenoik asit (22:5, n6) gibi daha uzun zincirli ve aşırı doymamış yağ asitlerinin meydana gelmesini katalize ederler (Şekil 1.6) [39,44].

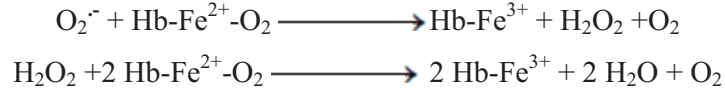


Şekil 1.6. Memelilerde Δ -6 ve Δ -5 desaturaz aktiviteilerinin modülasyonu ve aşırı doymamış yağ asitlerinin (PUFA) hormonal düzenlenmesi. Brenner [44]'den alınmıştır.

1.2.9.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Proteinlerin serbest radikallerden etkilenme dereceleri aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür ihtiva eden moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksek olduğundan triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin, sistein gibi

aminoasitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolayca etkilenirler. Özellikler sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller meydana gelirler. Bu reaksiyonlar sonucu immünglobülin G ve albümin gibi fazla sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapıları bozular. Böylece normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. “Hem” proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobinin O_2^- veya H_2O_2 ile reaksiyonu methemoglobin oluşmasına sebep olur [23].

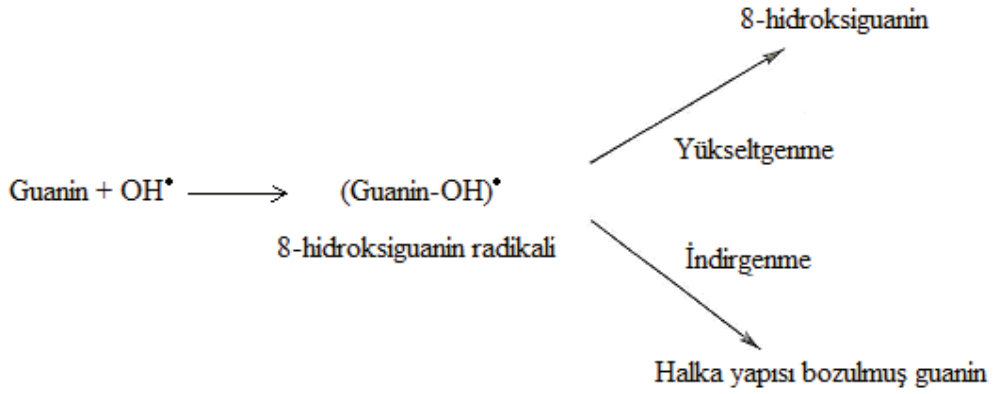


1.2.9.3. Serbest Radikallerin Nükleik asitlere Etkileri

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA’yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Sitotoksite, büyük oranda, nükleik asit baz modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine veya DNA’daki diğer bozukluklara bağlıdır. Hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre modifikasyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir. Bu yüzden DNA, serbest radikallerden kolay zarar görebilir önemli bir hedeftir.

Serbest radikaller kanserin başlangıç, ilerleme ve gelişme safhalarında etkili olmakla beraber bu etki ilerleme safhasında daha belirgin, diğer safhalarda ise nispeten azdır. Serbest radikal sonucu DNA ve kromozomlarda kırılma ve onkogenlerde aktivasyon meydana gelir. Süperoksit üretimi özellikle mitokondride daha fazla olduğundan mitokondrial DNA daha fazla hasar görür.

DNA yakınlarında sentezlenen hidroksil radikalleri pürin ve pirimidin bazlarına saldırarak mutasyona sebep olur. Oksidatif stresten en çok etkilenen bazlar DNA’daki guanin ve sitozindir. Deoksiguanozindeki 8 numaralı karbona bir oksijen atomu bağlanması 8-hidroksiguanozin oluşturur. Bu bileşik fizyolojik pH da 8-oksoguanozine dönüşür ki bu da DNA da anormal baz dizilişine ve böylece mutasyona sebep olur. Aynı şekilde oksidatif şartlarda deoksizitozinden 5-hidroksizitozin meydana gelir (Şekil 1.7) [8].



Şekil 1.7. Hidroksil radikallerinin DNA'ya etkileri

1.2.9.4. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine de önemli etkileri vardır. Monosakkaritlerin oksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve oksialdehitler meydana gelir. Bunlar diyabet ve sigara içimi ile ilişkili kronik hastalıklar gibi patojenik proseslerde önemli rol oynarlar.

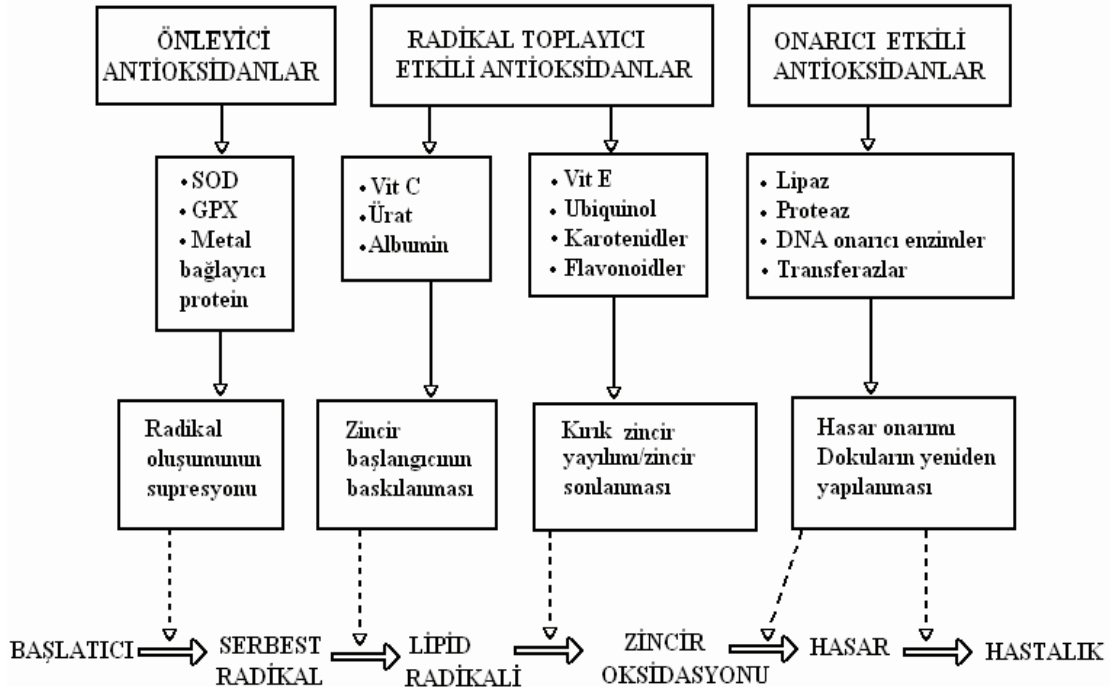
Hücrede karbonhidratlar üzerine serbest oksijen radikallerin etkisi çeşitli şekillerde ortaya çıkmaktadır. Özellikle glikoz, mannitol ve bazı sakkarit türevleri, hidroksil radikalleri ile reaksiyon verirler. Monosakkaritlerin yükseltgenmesi ile oluşan çeşitli peroksit türevleri ve oksialdehitler, protein ve nükleik asitler gibi diğer biyomoleküllerle etkileşerek ve bu moleküller üzerinde çapraz bağlar oluşturarak bu moleküllerin yapısını bozabilmektedir. Böylece oluşacak hasar hücre yaşlanması veya kanserle sonuçlanabilmektedir [8].

1.3. Antioksidanlar

Antioksidan madde bakımından zengin olan sebze ve meyvelerin tüketilmesi reaktif oksijen türlerinin neden olduğu doku hasarına bağlı hastalıklardan insanları korumaktadır [45]. Diğer taraftan işlenmiş gıdaların bozunmasını önlediği ve raf ömrünü uzattığı için sentetik antioksidanlar gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Günümüzde BHA (Bütillenmiş hidroksi anisol), BHT (Bütillenmiş hidroksi toluen), PG (propil gallat) ve TBHQ (*t*-bütillhidrokinon) en çok kullanılan sentetik antioksidan maddelerdir. Ancak

sentetik antioksidanlar ve oluşturdıkları yan ürünlerin çeşitli kanser hastalıklarına neden oldukları tespit edilmiştir [46,47]. Bu nedenle doğal kaynaklardan, sentetik antioksidanların yerini tutabilecek yeni antioksidanların bulunması için yapılan çalışmalar giderek önem kazanmış ve bu alanda yapılan araştırmalar artmıştır. Askorbik asit ve tokoferoller ticari amaçla kullanılan en önemli doğal antioksidanlardır. Karotenoitler, fenolik bileşikler, flavonoitler, amino asitler ve enzimatik antioksidanlar (glukoz oksidaz, süperoksit dismutaz, katalaz) diğer doğal antioksidan kaynaklarıdır [48].

Vücutta serbest radikaller meydana geldiğinde organizmayı oksidatif stresten korumak için antioksidan sistem devreye girer. Birinci defans hattını, peroksidaz ve metal bağlayan proteinlerin süpresyonu ile serbest radikallerin meydana gelmesini önleyen antioksidanlar oluşturur. İkinci defans hattını, vitamin C ve vitamin E gibi radikal temizleyici antioksidanların zincir oksidasyonunun başlamasını inhibe etmesi ve zincirleme reaksiyonların yayılımını önlemesi oluşturmaktadır. Üçüncü olarak hasarı onarma ve eski haline getirmeye çalışan onarıcı ve yeniden yapılandırıcı enzimler (lipazlar, proteazlar, DNA onarıcı enzimler ve tranferazlar gibi) defansta rol alırlar (Şekil 1.8) [49].



Şekil 1.8. Antioksidan grupları ve görevleri [49].

Tablo 1.2. Antioksidanların Hücrel Yerleşimlerine Göre Sınıflandırılması

Antioksidantlar	İşlev
İntraselüler Antioksidantlar	
SOD (Cu, Zn, Mn)	$O_2^{\cdot -}$ i katalitik olarak uzaklaştırmak
Katalaz	Yüksek konsantrasyonlarda H_2O_2 i uzaklaştırmak
Glutasyon peroksidaz(Se) *	HO ve organik hidroperoksitleri uzaklaştırmak
Sitokrom oksidaz(Cu)*	Mitokondri O_2 ' in H_2O 'ya indirgenmesi sırasında reaktif oksijen türlerinin salınımını engellemek
Membrandaki Antioksidantlar	
E vitamini	Yağda çözünen, zincir kırıcı antioksidant
B-karoten	Yağda çözünen, radikal ve singlet oksijen yakalayıcısı
Koenzim Q	Radikal yakalayıcısı
Membran yapısı	Fosfolipid/kolesterol oranını oluşturması
Ekstraselüler Antioksidantlar	
Transferrin	Ferik iyonları bağlama (1 mol Fe^{+3} bağlar)
Laktoferrin	Düşük pH değerlerinde ferik iyonları bağlama
Haptogloblin	Hemoglobini bağlama
Albümin	Cu ve hemi bağlama, HOCl i yakalama
SOD	$O_2^{\cdot -}$ i katalitik olarak uzaklaştırma
GSHP _x	H_2O_2 i ve hidroperoksitleri uzaklaştırma
Billurubin	Peroksit radikallerini yakalama
Ürik asit	Radikal yakalama ve metal bağlama
Glukoz	HO [•] Yakalama
Askorbik asit	HO [•] Yakalama
Eritrosit	$O_2^{\cdot -}$ i ve H_2O_2 i yakalama

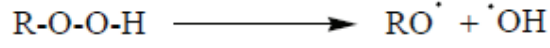
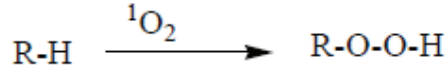
*Aktif merkezde metal iyonu

1.3.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar, reaksiyon mekanizmalarına göre birincil ve ikincil antioksidanlar olarak ikiye ayrılmaktadır. Bazı antioksidanlar birden fazla aktivite mekanizması gösterirler ve bunlar çok fonksiyonlu antioksidanlar olarak adlandırılmaktadır [48].

1.3.1.1. Birincil Antioksidanlar

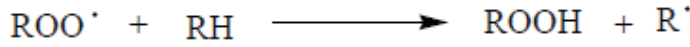
Birincil antioksidanlar (tip-1 veya zincir kırıcı antioksidanlar) otooksidasyonun başlangıç aşamasını erteleyen veya engelleyen ya da otooksidasyonun ileri aşamasını yarıda kesen serbest radikal alıcılarıdır. Bir lipit (alkil) radikali (R^{\cdot}) oluşturmak için, doymamış yağdan α -metilenik hidrojen ayrıldığında otooksidasyon başlar [48].



Oluşan lipit radikali çok reaktiftir, ilerleyen aşamalarda peroksi radikali (ROO[•]) oluşturmak için oksijenle reaksiyona girer [48].



Reaksiyonun ilerleyen aşamalarında peroksi radikalleri lipitle reaksiyona girerek hidroperoksit ve yeni bir kararsız lipit radikali oluştururlar [48].



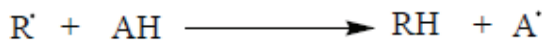
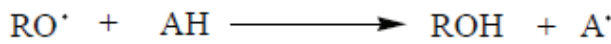
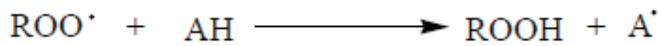
Daha sonra bu lipit radikali başka peroksi radikali oluşturmak üzere oksijen ile reaksiyona girecektir. Bu oksidatif mekanizma kendiliğinden katalizlenir ve böylece otooksidasyon devam eder [48].



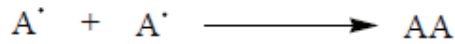
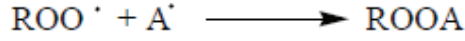
Hidroperoksitler (ROOH) kararsızdırlar ve bozunarak radikaller oluştururlar. Bu da reaksiyonun hızlanmasına neden olur [48].



Birincil antioksidanlar (AH), lipit radikali (R[•]) ve peroksi radikallerle (ROO[•]) reaksiyona girerler ve onları daha kararlı, radikal olmayan ürünlere çevirirler. Birincil antioksidanlar lipit radikallerine hidrojen atomları verirler ve lipit türevleri ile antioksidan radikaller meydana getirirler (A[•]). Hidrojen verici olarak birincil antioksidanlar peroksi radikallerine lipitlerden daha çok ilgi gösterirler. Bu yüzden otooksidasyon reaksiyonunda oluşan peroksi (ROO[•]) ve oksi (RO[•]) serbest radikalleri birincil antioksidanlar tarafından giderilirler. Antioksidanlar lipit radikalleriyle doğrudan da etkileşebilirler [48].



Hidrojenin verilmesiyle oluşan antioksidan radikali lipitlerle çok az reaksiyona girer. Oksijen veya lipitlerle antioksidan radikalinin reaksiyonu çok yavaş olduğundan reaksiyon hızı azalır. Kararlı rezonans hibritler oluşturmak için fenol halkasının çevresindeki ortaklanmamış elektronun delokalizasyonu ile antioksidan radikali kararlı hale getirilir. Antioksidan radikaller peroksi, oksijen ve diğer antioksidan radikaller ile sonlandırma reaksiyonlarına katılabilme yeteneğine sahiptirler [48].

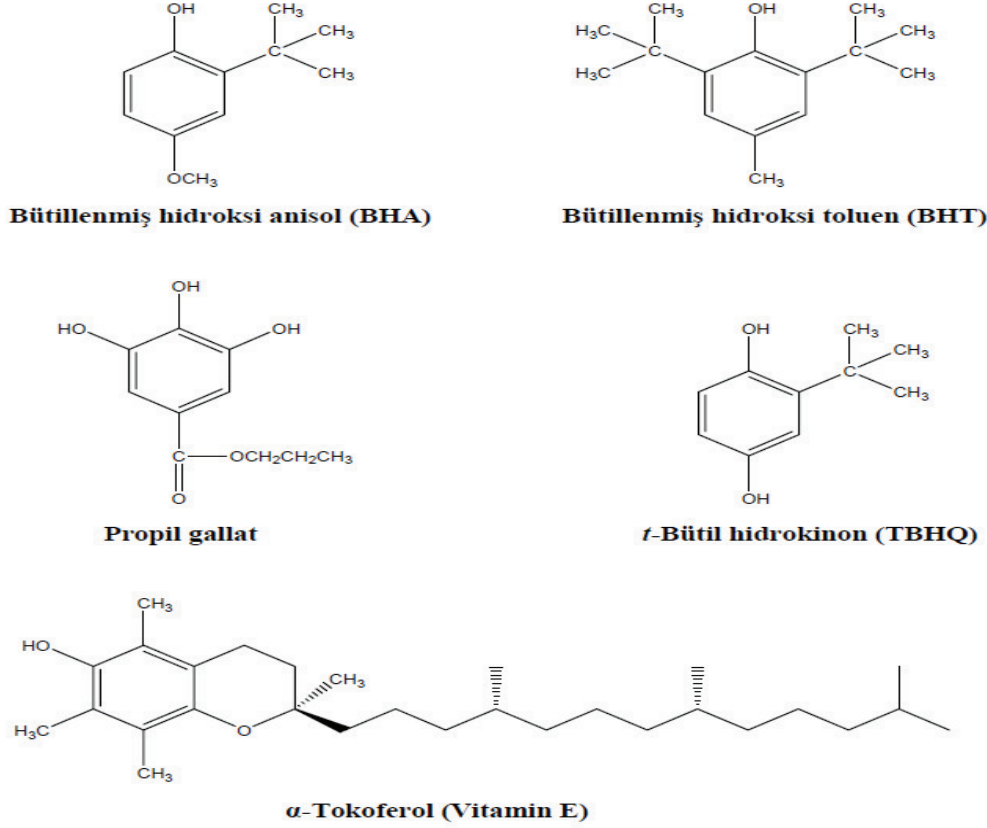


Katı ve sıvı yağlarda antioksidan dimerlerin oluşumu göze çarpar ve bu oluşum fenolik antioksidan radikallerin kolayca sonlandırma reaksiyonlarına uğradığını gösterir. Antioksidanlar, radikal olmayan tarzda ne kadar uzun süre kalırsa antioksidan dimerler otokatalitik serbest radikal zincir mekanizmasını o kadar etkili şekilde durdururlar [48].

Otooksidasyonun başlangıcından önce, antioksidanların tüketildiği ve serbest radikallerin oluştuğu indüksiyon zamanı olmalıdır. Bu yüzden birincil antioksidanlar, otooksidasyon basamakları meydana gelmeden oksidasyonun indüksiyon ve başlangıç aşamalarında ilave edilirlse daha etkili olurlar. Radikal gidermeye ilaveten birincil antioksidanlar, hidroperoksitleri hidroksi bileşiklerine indirgeyebilirler. Bununla beraber birincil antioksidanların esas antioksidatif mekanizması radikal gidermedir [48].

Birincil antioksidanlar, çeşitli halka sübstitüsyonlarına sahip mono veya polihidroksi fenollerdir. Fenoldeki hidroksil grubuna göre orto ve para konumuna elektron veren grupların sübstitüsyonundan oluşan indüktif etki bileşiğin antioksidan aktivitesini artırır. Fenolik antioksidanlar, hidroksil grubunun elektron yoğunluğunu arttırarak onun reaktifliğini azaltır. Hidroksil grubuna göre para konumunda etil veya bütül grupların sübstitüsyonu, antioksidan aktiviteyi artırır. Bununla beraber sterik engelleme nedeniyle para pozisyonlarındaki uzun zincir veya dallanmış alkil gruplarının varlığı antioksidan etkiyi azaltabilir. Orto pozisyonlardaki dallanmış alkil gruplarının sübstitüsyonları kararlı rezonans yapılar oluşturarak fenolik antioksidanın etkisini arttırırlar ve antioksidan radikalinin reaksiyonlara katılma yeteneğini azaltır. Sentetik birincil antioksidanlara örnek olarak bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), propil gallat

(PG) ve t-bütül hidrokinon (TBHQ) verilebilir (Şekil 1.9). Tokoferoller ve karotenoitler doğal kaynaklı birincil antioksidanlardır [48].



Şekil 1.9. Birincil antioksidanlar

1.3.1.2. İkincil Antioksidanlar

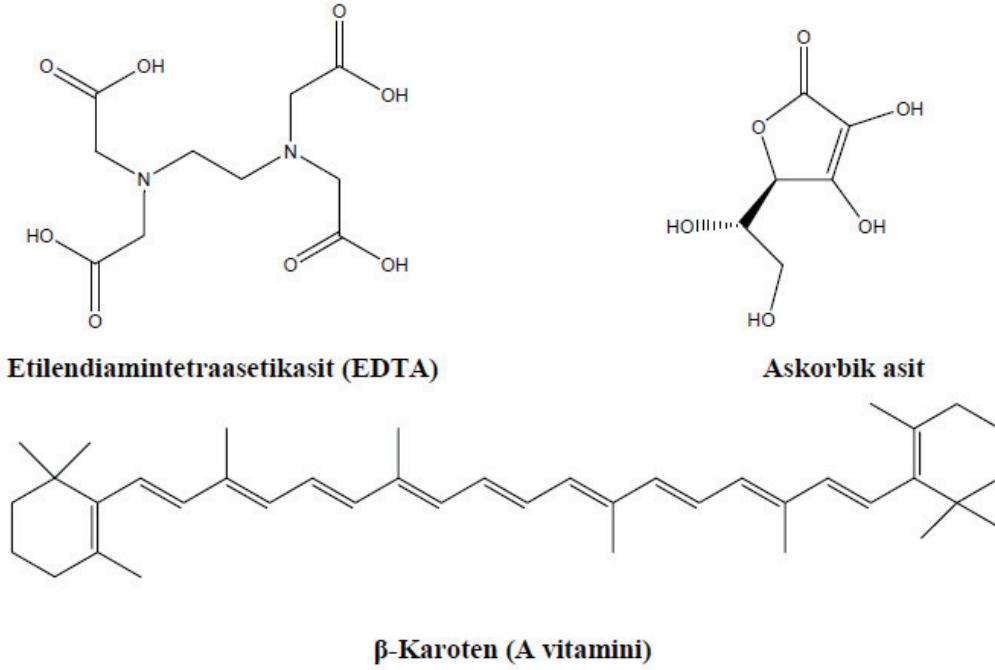
İkincil (tip-2 veya koruyucu antioksidanlar) antioksidanlar çok çeşitli reaksiyon mekanizmalarına sahiptirler. Bu antioksidanlar oksidasyon hızını yavaşlatırlar fakat serbest radikalleri daha kararlı ürünlere dönüştürmezler. İkincil antioksidanlar prooksidan metallerle kelat yapabilirler ve onları deaktive edebilirler, hidroksiperoksitlerin radikal olmayan türlere parçalanmasını sağlayabilirler, singlet oksijeni deaktive edebilirler, ultraviyole radyasyonu absorbe edebilirler veya oksijen giderici olarak davranabilirler. Bu antioksidanlar sıklıkla birincil antioksidanların antioksidan aktivitesini arttırlar. Sitrik asit, askorbik asit, askorbil palmitat, lesitin, tartarik asit, EDTA ve β-karoten ikincil antioksidanlara örnek olarak verilebilirler [48] (Şekil 1.10).

İkincil antioksidanlar en önemli etki mekanizmalarına göre 3 gruba ayrılabilir [48]:

a) Kelat Yapıcılar: Sitrik asit, fosforik asit, etilendiamintetraasetik asit (EDTA), tartarik asit.

b) Oksijen Gidericiler ve İndirgeme Ajanları: Askorbik asit, askorbil palmitat, eritorbik asit, sodyum eritorbat, sülfidler.

c) Singlet Oksijen Gidericiler: Karotenoitler (β -Karoten, likopen ve lutein)



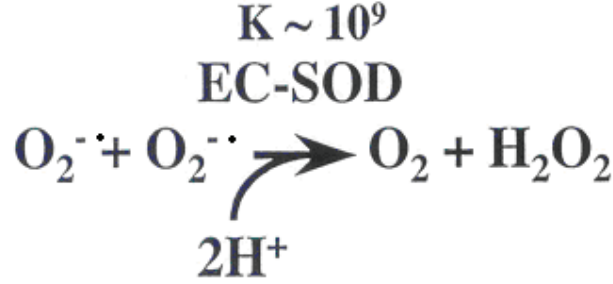
Şekil 1.10. İkincil antioksidanlar

1.3.2. Enzim Karakterli Antioksidanlar

1.3.2.1. Süperoksit Dismutaz

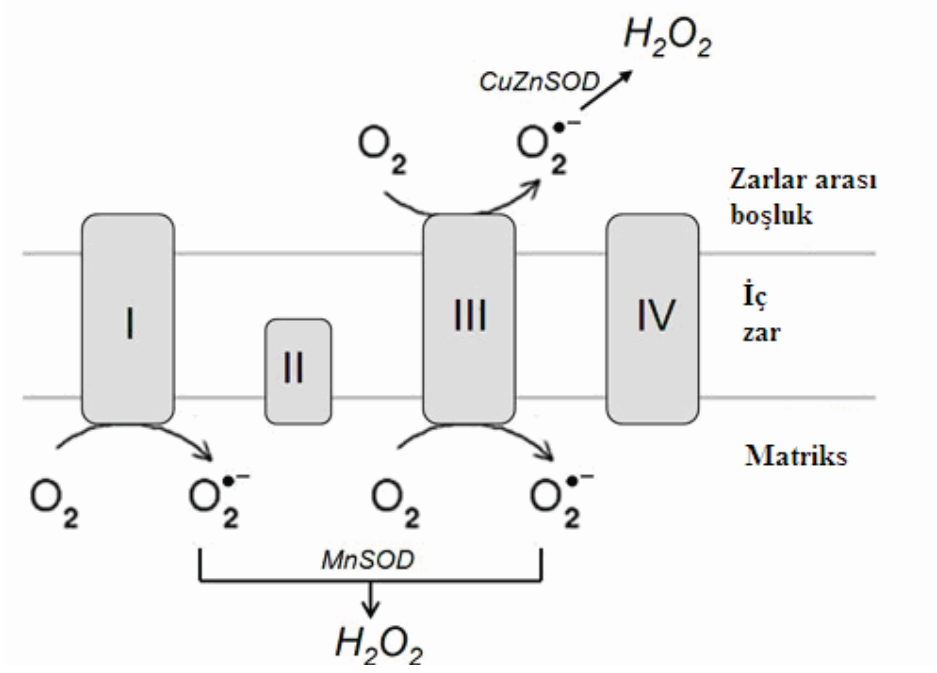
Aerobik organizmalar reaktif oksijen türlerinin sebep olduğu toksisiteye karşı hem kimyasal hem de enzimatik korunma sistemlerine sahiptir [10]. Süperoksit radikalleri, sulu ortamda önemli ölçüde birikmezler ve kendiliğinden dismutasyon ile ortamdaki temizlenirler [14,49]. Süperoksit radikali, yüksek katalitik etkiye sahip süperoksit dismutaz (SOD) enziminin etkisiyle dismutasyona girerek konsantrasyonu azalır. SOD tarafından katalizlenen bu reaksiyon dismutasyon tepkimesi olarak adlandırılır [10]. Süperoksit

dismutaz, $O_2^{\cdot -}$ anyonunu, daha az reaktif türler olan O_2 ve H_2O_2 'ye dönüştürür (Şekil 1.11) [50].



Şekil 1.11. Süperoksit dismutaz enziminin etki mekanizması

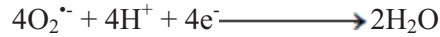
Memelilerde üç farklı SOD bulunur. Bunlar; sitosol, nükleus ve lizozomlarda bulunan homodimerik yapıdaki bakır (Cu) ve çinko (Zn) taşıyan Cu, Zn-SOD; mitokondriyal matrikste bulunan homotetramerik mangan (Mn) içeren Mn-SOD; ekstraselüler boşluklarda heparine bağlı olarak bulunan homotetramerik Cu, Zn-SOD'dir [51]. Bakır, çinko içeren süperoksit dismutaz sitosol ve çekirdeğe, Mn-SOD ise mitokondriyal matriks içerisine yerleşmiştir [52]. Cu, Zn-SOD; yaklaşık 32 kiloDalton (kDa) büyüklüğünde iki alt üniteden oluşmaktadır ve Cu ile Zn köprülerinden oluşan kısım enzimin aktif bölgesi olarak kabul edilmektedir. Cu eksikliği, Zn eksikliğine oranla enzimin aktivitesini daha çok engellemektedir [53]. Mn-SOD ortalama 86 kDa molekül ağırlığında tetramerik bir proteindir. Prokaryotlarda Cu, Zn-SOD ve Mn-SOD'a ek olarak 41 kDa moleküler ağırlığındaki dimerik bir protein olan Fe içeren SOD (Fe-SOD) bulunmaktadır. Metal katalizörleri ne olursa olsun bütün SOD'ler benzer bir mekanizmayı paylaşırlar. Ancak, prooksidanlar tarafından oluşturulan aşırı oksidatif stres şartlarında Cu, Zn-SOD daha hızlı indüklenir ve omurgalılarda SOD'lerin %80'i sitosolik Cu, Zn-SOD'dir [54]. Süperoksit dismutaz tarafından gerçekleşen redüktif detoksifikasyonda, her $O_2^{\cdot -}$ radikali için bir adet H_2O_2 molekülü oluşmakta ve NADPH gibi çeşitli hücrel indirgeyiciler tüketilmektedir. SOD tarafından gerçekleşen direk detoksifikasyonda ise hücrel indirgeyicilere gereksinim duyulmaksızın, tüketilen her $O_2^{\cdot -}$ radikali için 0,5 H_2O_2 molekülü oluşmaktadır (Şekil 1.12) [55]. Süperoksit dismutaz, $O_2^{\cdot -}$ 'nin singlet oksijen (1O_2) ile peroksil radikalleri gibi reaktif türlerle de reaksiyona girebilecek histidin ve diğer çeşit yan zincirler içermektedir [56].



Şekil 1.12. Hücrede Süperoksit dismutaz'ın etki mekanizması

1.3.2.2. Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz

Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz, aşağıdaki reaksiyonla süperoksidi detoksifiye eden enzimdir.

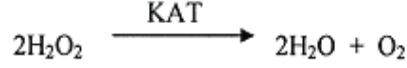


Bu reaksiyon, fizyolojik şartlarda sürekli cereyan eden normal bir reaksiyon olup, bu yolla yakıt maddelerinin oksidasyonu tamamlanır ve bol miktarda enerji üretimi sağlanır [32].

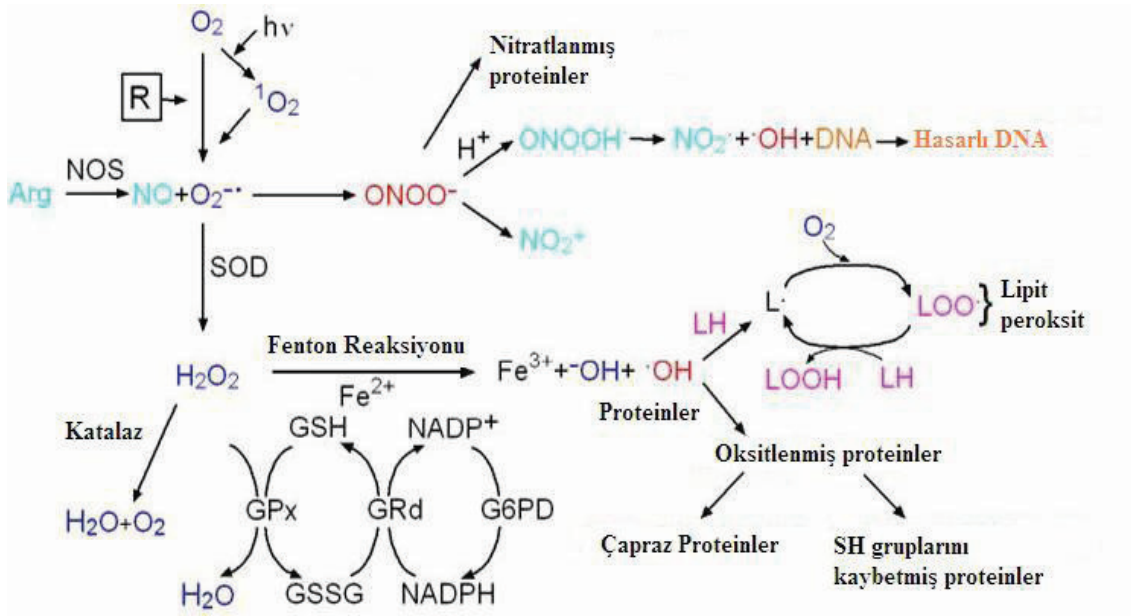
1.3.2.3. Katalaz

Katalaz (KAT), her biri yaklaşık 60 kDa ağırlığındaki dört alt ünitenin tetrahedral düzenlenmesiyle oluşan, tetramerik bir enzimdir. Dolayısıyla, dört protoporfirin grubu içeren enzimin moleküler ağırlığı, 240 kDa civarındadır. Katalaz, H_2O_2 'nin hiçbir konsantrasyonu ile doygunluğa ulaştırılmayan tek enzimdir [57]. Katalaz yapı ve işlevlerine göre bifonksiyoneldir. Tüm prokaryot ve ökaryotlarda bulunur. Her subünite bir hem grubu ve NADPH molekülü içerir. Birçok katalazda NADPH molekülü yüzeye yakın

ve sıkıca bağlıdır. Bu kofaktör peroksitin oksijene dönüşümünde katalazın inaktivasyonunu koruduğu ve etkisini arttırdığı gözlenmiştir [58]. SOD aktivitesi sonucunda oluşan H_2O_2 'nin büyük bir kısmı, KAT tarafından H_2O ve O_2 'ye dönüştürülür (Şekil 1.13) [56].



Hücrelerde, H_2O_2 üretiminden sorumlu oksidazların birçoğu peroksizomlara yerleştiği için; KAT'ın büyük bir kısmı sitosol ve mitokondriye oranla peroksizomlarda bulunur. Mitokondriyal KAT 11 peroksidazlar gibi görev yaparken, peroksizomal KAT daha çok dismutazlar gibi çalışmaktadır [59]. GPx'in, KAT'a oranla daha başarılı kabul edilmesinin nedeni; hidrojen peroksit dışındaki peroksitleri de detoksifiye edebilmesi ve enzimin hücrelerde, oksidatif stresin yoğun olarak gerçekleştiği bölgelere lokalize olmasıdır [60].



Şekil 1.13. Katalaz'ın etki mekanizması

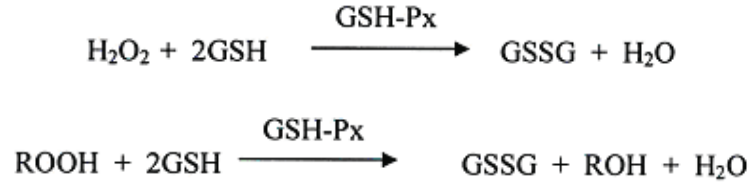
1.3.2.4. Glutasyon Peroksidaz

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) Hücrelerde oluşan hidroperoksitlerin uzaklaştırılmasından sorumlu olan bir enzimdir. Molekül ağırlığı ise yaklaşık olarak 85

kDa'dur. Birbirinin aynı dört subünitten oluşan tetramerik bir enzimdir. Her subünit bir selenyum atomu içerir. Bu nedenle hücreleri çeşitli hasarlara karşı koruyan bir selenoenzim olduğu düşünülür [20,8,61].

Enzim miktarının % 60-75'i ökaryot hücrelerin sitoplazmasında bulunur. % 25-40'ı ise mitokondridedir. Enzim aktivitesinin en fazla olduğu dokular ise eritrositler ve karaciğerdir [20].

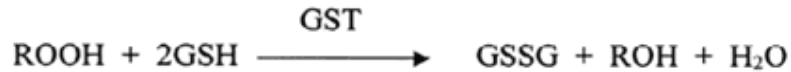
Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), intrasellüler mesafede lipidleri peroksidasyondan koruyan en önemli enzimdir. Bu nedenle hücrenin özellikle sitozolik kompartmanında yer alan bu enzim hücrenin yapısını ve fonksiyonunu korur [8,12,62]. GSH-Px, aşağıdaki reaksiyonları katalizler:



Membran fosfolipid hidroperoksitlerini alkole indirgeyen fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz (PLGSH-Px) da selenyum atomu içerir ve monomerik yapıdadır. Ayrıca sitozolik bir enzimdir. Membrana bağlı antioksidan olan vitamin E'nin yetersiz olduğu durumlarda PLGSH-Px membranın peroksidasyonuna karşı korunmasını sağlar [63].

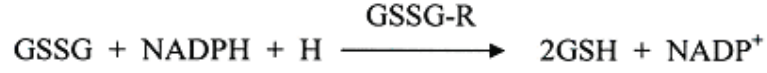
1.3.2.5. Glutasyon S-Transferaz

Glutasyon S-transferaz (GST) "Selenyuma bağlı olmayan GSH-Px" olarak adlandırılır. Membran LPO'nu yalnızca fosfolipaz A2'nin varlığında inhibe eder. Öncelikle araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı Se bağımsız GSH peroksidaz gibi aktivite göstererek antioksidan etki gösterir [12,19, 64].



1.3.2.6. Glutasyon Redüktaz

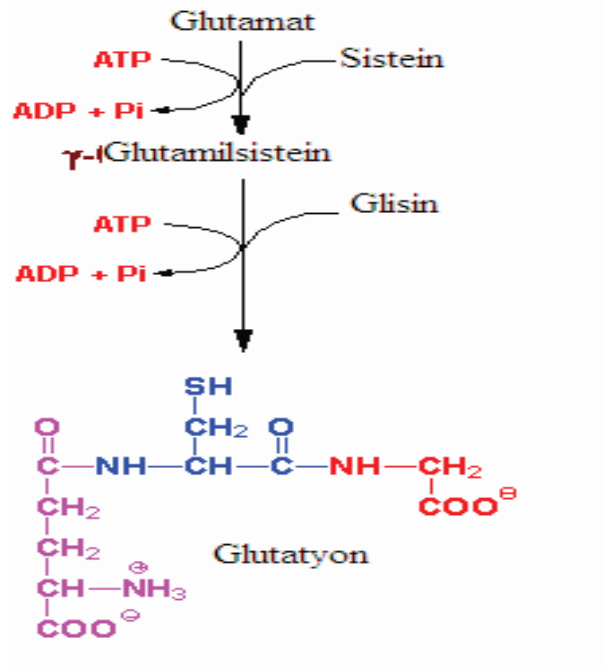
Glutasyon redüktaz (GSSG-R) hidroperoksitlerin redükte olması esnasında meydana gelen okside glutasyon (GSSG), GSSG-R'ın katalizlediği reaksiyonla tekrar redükte hale (GSH) dönüşür. Reaksiyonun gerçekleşmesi için NADPH'a ihtiyaç vardır [8,38,64].



1.3.3. Antioksidant Maddeler

1.3.3.1. Glutasyon

Glutasyon (GSH); hücrelerde suda çözünebilir formlarda bulunan düşük molekül ağırlıklı antioksidan bir moleküldür [65]. L-sistein, L-glutamat ve L-glisin amino asitlerinden oluşan ve glutamat ile sistein amino asitleri arasında γ -peptid bağı içeren bir tripeptiddir (Şekil 1.14). Bu bağ, GSH'ı peptidazların hidrolitik etkilerinden korumaktadır.



Şekil 1.14. Glutasyon'un (GSH) yapısı; L- γ -glutamil-L-sisteinilglisin

Glutasyon genellikle tüm hücrelerde milimolar (mM) düzeylerde bulunur [66]. Hücre içi GSH derişimi hücre tipine bağlı olarak 0.5-10 mM arasında değişmektedir. GSH'ın hücre içi lokalizasyonu incelendiğinde, stoplazma ve mitokondriye ait havuzların, GSH içeriklerinin birbirinden farklı olduğu ve sitosolik havuzun hücresel savunma fonksiyonu ile karakterize edilirken, mitokondriyal havuzun mitokondrinin fonksiyonlarının korunabilmesi açısından gerekli olduğu düşünölmektedir [67]. GSH; kan hücreleri, plazma, beyin, böbrekler ve sindirim sistemi gibi birçok organ ve dokuda bulunmakla birlikte temel kaynağı karaciğerdir. Eksikliği mitokondri ile hücre fonksiyonlarındaki bozukluklardan kaynaklanmaktadır [68]. Hücrelerde, total glutasyonun %95'i redökte glutasyon (GSH), kalan %5'lik kısmı ise okside glutasyon (GSSG) şeklinde bulunur (şekil 1.15). Hayvansal hücrelerin birçokunda, GSSG'nin protein sentezini inhibe ettiği bilinmektedir. Bu bilgi; GSSG'nin hücrelerde neden daha düşük derişimlerde bulunduğunu ve GSSG'nin neden kalp ve böbrek gibi organlar ile eritrositlerden dışarıya taşındığını açıklamaktadır [56].

GSH'ın, antioksidan savunma, elektrofilik ksenobiyotiklerin detoksifikasyonları, sisteinin taşınması ve depolanması, immün tepkinin düzenlenmesi, prostaglandin metabolizmasının düzenlenmesi ve DNA sentezi gibi çok önemli fizyolojik görevleri bulunmaktadır [66]. Bu görevlerinin yanı sıra hücre içersindeki tiyollerin %50'sini oluşturan GSH; E ve C vitaminleri gibi eksojen kaynaklı antioksidanların kullanılabilirliğini de arttırmaktadır.

Glutasyon oksidatif strese karşı savunmanın en önemli basamağını oluşturmaktadır [69]. Oksidatif stresin zayıf olduğu durumlarda devreye giren adaptasyon mekanizmaları sonucunda GSH düzeyi artmaktadır. Ancak; oksidatif stresin güçlü olduğu durumlarda zayıflayan adaptasyon mekanizmalarına ve artan GSSG oluşumuna bağlı olarak GSH düzeyi azalmaktadır [70]. Hücre içersinde GSSG'nin GSH'a redüksiyonunu katalizlemekle görevli olan enzim, glutasyon disülfid redöktaz (GR; EC 1.6.4.2) olarak bilinmektedir. Sitosole yerleşen enzim, aktivitesi sırasında bir kofaktör olan nikotinamid adenin dinökleotid fosfat'a (NADPH) gereksinim duymaktadır. Bu durumda; NADPH üretim yollarındaki herhangi bir bozukluk, enzimin inaktivasyonu ve dolayısıyla hücre içi GSH miktarının azalması anlamına gelmektedir [66].

1.3.3.2. L-Askorbik Asit

L-Askorbik Asit, C vitaminin meyvelerde bulunan en baskın formudur. Özellikle biber, maydanoz, turunçgiller ve ıspanakta bol miktarda bulunmaktadır. Hayvansal ve bitkisel dokularda yüksek konsantrasyonda mevcuttur. İnsan kan plazması 100 mL’de 1 mg kadar askorbik asit içerir. Çoğu yüksek hayvanlar ve bitkiler askorbik asidi glukoz ve diğer basit öncül maddelerden sentezler. Fizyolojik şartlarda dönüşümlü olarak L-dehidroksiaskorbik aside yükseltgenebilir ancak bu madde dönüşümsüz olarak C vitamini aktivitesi olmayan bir başka ürüne dönüşebilir (Şekil 1.15). Birincil oksidasyon ürünü olan L-dehidroksiaskorbik asit (DHA) de biyolojik aktiviteye sahip olduğu için önemlidir. Ancak okside olmuş olan form dekompozisyona daha dayanıksız olduğu ve biyolojik aktivite kaybına yol açtığı için, askorbik asit formlarındaki değişiklikler hem teknolojik hem de besinsel açıdan önemlidir. Meyvelerdeki ortalama DHA miktarı, toplam C vitamini içeriğinin %10’undan daha azdır.

L-Askorbik asidin kuvvetli indirgen özelliği süperoksit ve hidroksil radikalleri ile kolayca ve etkin bir şekilde reaksiyona girerek iyi bir antioksidant olarak görev yapma kapasitesini sağlar. L-Askorbik asit fotooksidasyona karşı retina ve lens dokularını korur ve katarakt oluşumunu geciktirebilir [71].



Şekil 1.15. L- askorbik asit ve L-dehidroaskorbik asit

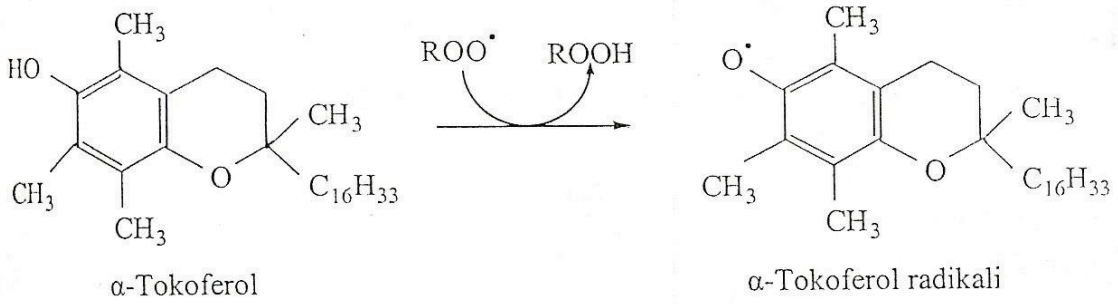
1.3.3.3. Tokoferoller

En iyi bilinen ve en geniş kapsamlı kullanılan antioksidantlardır. Tokoferoller ve tokotrenler olmak üzere iki gruba ayrılırlar ve her iki grup için dört izomer (α -, β -, γ - ve δ -) vardır. Böylelikle toplam sekiz tokoferol izomeri bulunmaktadır. Hemen hemen tüm gıdalarda eser miktarda dahi olsa bulunurlar. Bu gruptaki en önemli antioksidant E

vitamininin en aktif formu olan α -tokoferoldür. Tokoferoller, hidroksil grubunun hidrojenini lipid peroksil radikaline vererek antioksidatif aktivite göstermektedirler. α -tokoferolün aynı zamanda hidroperoksitlerin dekompozisyonunu yavaşlattıkları bilinmektedir. Tokoferoller ısıya karşı oldukça dayanıklıdırlar. α -tokoferolün oksidatif stabiliteyi arttırmada ve sıcaklık arttıkça oksidasyon hızını azaltmada etkili olduğu bildirilmiştir [71].

1.3.3.3.1. α -Tokoferol

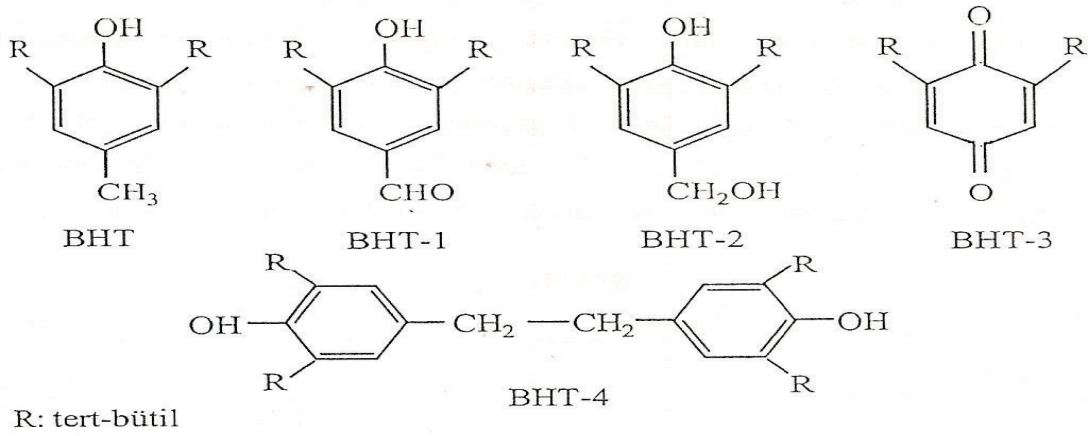
Doğal olarak mevcut olan sekiz adet tokoferolden biri olan α -tokoferol (E vitamini) antioksidant olarak en aktifi olanı ve doğada en yaygın olarak bulunanıdır. Tokoferollerin biyolojik olarak bu etkinliği halka sisteminde bulunan hidroksil grubunun varlığından kaynaklanmaktadır. Bu bileşikler izoprenoid yan zincirleri de içerirler. Vitamin E nin başlıca fonksiyonu hücre bileşenlerinin moleküler oksijen ve serbest radikallerin oksidasyonundan korumasıdır. Güçlü ve doğal bir antioksidant olan E vitamini, membran lipidlerini serbest oksijen radikallerinden koruyan ilk savunmayı gerçekleştirir. Süperoksit ve hidroksi radikallerini, singlet oksijeni ve lipid peroksit radikallerini süpürme yeteneği vardır. Taşıdığı fenolik hidrojeni peroksidasyona uğramış çoklu doymamış yağ asidindeki serbest peroksit radikallerine aktararak serbest radikal zincir reaksiyonlarını sonlandırmaktadır. Oluşan serbest fenoksi radikali daha sonra bir serbest peroksit radikali ile reaksiyona girer ve böylece geriye dönüşümlü oksidasyona uğramayan α -tokoferol, kroman halkası ve yan zinciri serbest radikal olmayan ürünlere yükseltgenmektedir. Oluşan oksidasyon ürünü, halka üzerindeki hidroksil grubu üzerinden glukuronik asit ile konjuge olarak safra salgısı ile atılmaktadır (Şekil 1.16). Görevini tamamlayan α -tokoferol tekrar kullanılmadığı için yenilenmesi gerekir. Özellikle yer fıstığı, badem, pamuk gibi bitkilerin yağlarında ve keten tohumlarında bol bulunan E vitamini antioksidant özelliğinin yanı sıra, hücrede sinyal iletim mekanizmasındaki bazı basamaklar üzerinden hücre çoğalmasını da etkilemektedir. Ayrıca E vitamininin kalp hastalığı oluşma riskini azalttığı birçok araştırma ile gösterilmiştir [71].



Şekil 1.16. α -Tokoferol radikalinin oluşumu

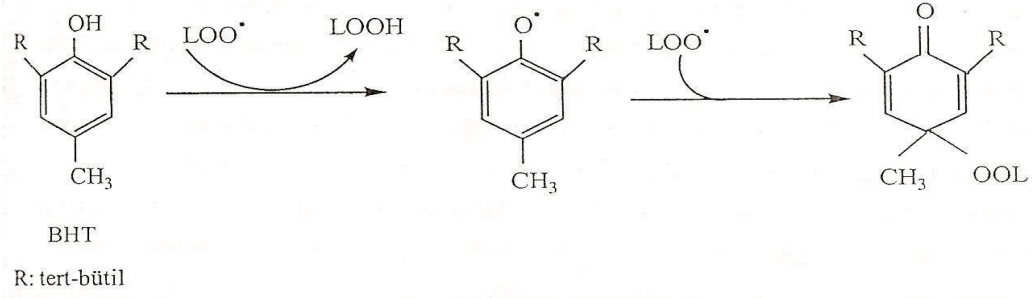
1.3.3.4. Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT)

Bütillenmişhidroksitoluen en çok kullanılan antioksidantlardır. BHT ilk defa soya yağının otoksidasyonunda bozunma ürünlerinin tayin edilmesiyle fark edilmiştir. BHT içeren soya yağı ultraviyole ışığına maruz bırakılacak olursa bozunma ürünleri olan BHT-1, BHT-2, BHT-3 ve BHT-4 oluşmaktadır (Şekil 1.17) [71].



Şekil 1.17. BHT nin farklı türleri

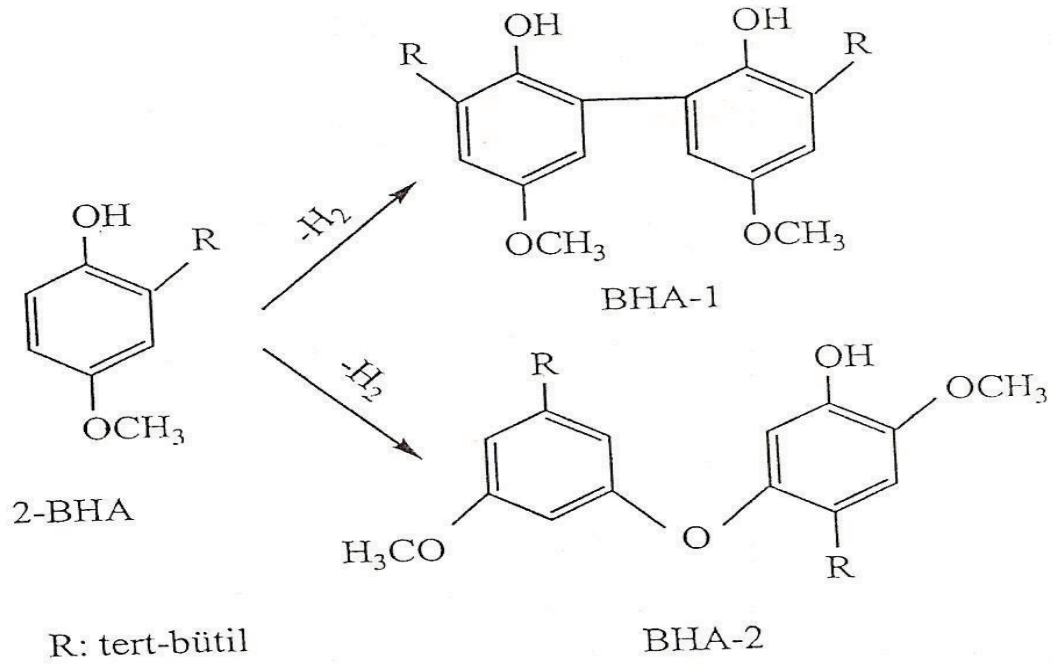
BHT yağlar ve yağ asitlerinin oksidasyonunda okside olmuş lipidlerle verdiği reaksiyon sonucu peroksit radikallerinin etkisini yok eder (Şekil 1.18) [71].



Şekil 1.18. BHT nin yağ ve yağ asitlerinin oksidasyonuna etkisi

1.3.3.5. Bütillenmiş hidrokşianisol (BHA)

Yiyeceklerde antioksidant olarak kullanılan bütillenmiş hidrokşianisol (2-BHA ve 3-BHA) 2- ve 3-izomerlerinin 9:1 oranında karışımıdır. 2-BHA'nın kimyasal oksidasyonunda bifenil tipi dimeri olan BHA-1 oluşmaktadır. Alkolde 2-BHA ve 3-BHA izomerleri ultraviyole ve görünür ışıktan etkilenmektedir. Benzende 2-BHA ultraviyole ışıkta iki farklı oksidasyon ürünleri olan ve BHA-2 oluşturmaktadır (Şekil 1.19) [71].



Şekil 1.19. BHA'nın farklı türleri

1.4. *Pistacia terebinthus* (Çedene, menengiç)

Pistacia L. Anacardiaceae familyasına ait olup, günümüzde 13 türü bulunmaktadır. *Pistacia* L.'nin orjini, Merkezi Asya (Kuzey Doğu Hindistan, Afganistan, Tacikistan ve Özbekistan) ve Yakın Doğu, Anadolu, Kafkasya, İran ve Türkmenistan dağlarıdır [72]. Türkiye, *Pistacia* L. için çok büyük bir gen merkezi olup, ülkemizde yaklaşık 66 milyon yabani fıstık ağacı bulunmaktadır [73]. *Pistacia* L. cinsinin filogenisi üzerine çalışmalar oldukça azdır ve çoğunlukla morfolojik temelli çalışmalar bulunmaktadır. Cinsin ilk monografik çalışması Engler (1883) tarafından yapılmıştır. Engler bu çalışmasında sekiz tür ve birkaç varyete tanımlamıştır.

Türkiye'de *Pistacia* L. türleri Yaltırık (1967a) tarafından sınıflandırılmış olup, Türkiye Florasında altı tür ve iki alttür ile temsil edilmektedir. Bunlar; *P. atlantica* Desf., *P. lentiscus* L., *P. khinjuk* Stock, *P. eurycarpa* Yalt., *P. vera* L. ve *P. terebinthus* L. türleridir [74].

Menengiç (*Pistacia terebinthus* L.), sakız ağacıgiller (Anacardiaceae) familyasından Akdeniz bölgesine özgü, yaprak döken bir çalı türüdür. Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu, Doğu Anadolu ve Akdeniz bölgelerinde kırsal kesimlerinde yetişen bir ağaçtır. Boyu 6-9 metreye kadar ulaşmaktadır [75,76]. Mart ve nisan aylarında açan, bir önceki yıla ait sürgünlerde gelişen çiçekler kırmızimsı erguvan (Şekil 1.20); küremsi küçük meyveler ise olgunlaştığında mavimsi yeşil renktedir (Şekil 1.21). Menengiç yörelere göre çitlenbik, çedene, çitlik, çitemik, bittım gibi farklı isimlerle anılmaktadır. Örneğin Elazığ yöresinde sakız ağacı ya da çedene olarak isimlendirilmiştir. Bitki olarak fıstık ağacına benzerlik gösterir ve antep fıstığı bu ağacın aşılansıyla üretilmektedir [77]. Ağacın meyvesi olan tanelerinden menengiç kahvesi veya çedene kahvesi olarak bilinen Elazığ yöresine has bir kahve üretilmektedir. Bu kahvenin içerisinde kimyasal madde yoktur ve % 100 doğaldır. Menengiç kahvesinin faydalarına bakarsak [77,78]: Öksürüğü kesmek ve balgamı söktürerek nefes açmak, antiseptik özelliği sayesinde iltihabi yaraları tedavi etmek, göğsü yumuşatmak, böbrek kumlarının dökülmesine yardımcı olmak, mide ağrılarını dindirmek, kalp yetmezliği riskini azaltmak, yağlı bir içecek olmasından dolayı yüksek E vitamini ve doymamış yağ asidi düzeyi ile kandaki kolesterolü düşürmeye ve kalp ve damar sertliğini önlemeye yardımcı olmak gibi rahatsızlıklara iyi geldiği ileri sürülmüştür.



Şekil 1.20. *P. terebinthus*'un çiçeklerinin görünümü



Şekil 1.21. *P. terebinthus*' un yaprak ve meyvelerinin görünümü

Dünyanın değişik yerlerinde menengiç ağacının farklı organlarından çok yönlü yararlanılmaktadır. Türkiye'de, arkeolojik bulgular menengicin eski çağlardan beri gıda olarak kullanıldığını göstermiştir. Taze sürgün ve meyvelerden beslenmede

yararlanılmaktadır. Meyveler iştah açıcı olarak, özel köy ekmeklerinde, kahve ve çay şeklinde tüketilmektedir. Meyveleri dahilen gastralgi ve romatizmada, haricen öksürükte (stimülan, diüretik ve antitüsiv olarak) kullanılmaktadır [79,80].

Özcan'ın yaptığı çalışmada, çitlembik meyvelerinin mineral içeriği ICP-AES tarafından belirlenmiş ve mükemmel bulunmuştur. Mineral konsantrasyonu: K, Mg ve Zn içerikleri daha az ve Na ve P içerikleri ise daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca meyvelerin K, P, Ca ve Fe konsantrasyonları da muz ve zeytin gibi bazı meyvelere göre yüksek bulunmuştur [81].

Özcan'a göre; çitlembik yağı oleik ve linoleik asitin yüksek bir içeriğine sahiptir ve bu nedenle beslenme için sağlıklı bir kompozisyonudur. Bu bulgular diyet için faydalı olabilir. Yüksek protein ve yağ içeriği ve hoş kokusu ve tadı ile bu meyve gıda endüstrisinde kullanılabilir [81].

1.5. *Morus alba* (Dut)

Morus L. (Dut) 12 kadar türe sahiptir. Bunlar kışın yaprağını döken ağaç ya da boylu çalı şeklindeki odunsu bitkilerdir (Şekil 1.22). *Morus alba* L. (Ak Dut) Çin'in doğal bir türüken, *Morus nigra* L. (Kara Dut) İran'ın, *Morus rubra* L. (Mor Dut) ve *Morus microphylla* Buckl. (Texas Dutu) Kuzey Amerika'nın doğal türleridir. Ayrıca *Morus australis* (Çin Dutu), *Morus indica* (Hindistan Dutu), *Morus serrata* (Himalaya Dutu) türleri de vardır.

Ak Dut ağaçlarının bazı önemli varyeteleri; *M. alba* var. *tataricum* Loud., *M. alba* var. *multicaulis* Loud, *M. alba* var. *pendula*, *M. alba* var. *pyramidalis*, *M. alba* var. *nana*, *M. alba* var. *Laciniata*'dır [82].

Ak Dut 15 m kadar boy yapabilen, kalın dallı, geniş tepeli bir ağaçtır. Tepe çapı 6-8 m'dir. Hızlı büyüme özelliğine sahiptir. Derin topraklarda iyi gelişme göstermektedir. Bunun yanında kurak, kumlu, kireçli topraklarda da yetişebilmektedir ve tuzlu suya dayanabilir. Ilıman iklimde, sıcak, çok güneş alan bölgelerde iyi gelişme gösterir. Soğuk hava şartlarına dayanıklıdır. Ak Dut'un anavatanı Çin'dir. Japonya, Kore, Mançurya, Hindistan, Pakistan, İran ve Anadolu'da genellikle sıcak ve ılıman bölgelerde, Avrupa'da Akdeniz çevresindeki ülkelerde, Orta Avrupa'da kısmen de kuzey bölgelerde bu ağaç yetişmektedir [83].

Türkiye’de dut ağaçları sayısı bakımından Erzincan ilk sırada yer alırken bu ili sırasıyla Elazığ, Ankara, Malatya ve Tunceli izlemektedir [84]. Çeşitli hastalıkların tedavisi amacıyla yaprak, kabuk ve meyveleri de kullanılmaktadır. Meyvesi taze ve kuru halde tüketilebilir. Meyvesinden pekmez, pestil, sirke, ispirto vb. ürünler elde edilebilir [85]. Dut meyvesinin yanında diğer kısımları da kullanılabilen bir ağaçtır. Dut yaprağı ipekböceği besini olmasının yanında iyi protein içeriği ve kolay sindirilebilmesi sayesinde büyükbaş, küçükbaş hayvanlarla balıklar için yem olarak kullanılmaktadır [86,87].

Dut yapraklarıyla yapılan çay içeriği sayesinde sakinleştirici, kan basıncını ve kan şekerini düşürücü etkiye sahiptir. Çin’de kurutulmuş dut yaprakları çörek, ekme vb. yapımında kullanılmaktadır [87,88] Amerika’da dut ağacının içteki bölümleri kızartılıp una katılmakta ve yemeklerde kullanılmaktadır [89]. Ak Dut yaprakları antibakteriyel, kan düşürücü, ateş düşürücü, terletici özelliğe sahiptir. Taze yapraklar kanamaları durdurmak için kullanılabilir. Meyveleri baş dönmesi, kulak çınlaması, uykusuzluk, böbrek iltihabı, hipertansiyon, sinir zayıflığı, saçların erken beyazlaması tedavilerinde, gövdesi romatizma ağrıları, spazm tedavisinde, kök kabukları astım, akciğer iltihabı, öksürük, bronşit, ödem, hipertansiyon tedavisinde kullanılabilir [87,89,90,91]. Bunun yanında kök kabukları tansiyon düşürücü olarak kullanılır. Ayrıca dut ağacının kök kabukları, yaprakları ve meyveleri şeker hastalığı tedavisinde kullanılır [92].

Yine dut meyvesi romatoid artrit (romatizmal eklem iltihabı) de dahil olmak üzere çeşitli iltihabi durumların tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır. Kim ve arkadaşlarının [93] yaptıkları çalışmada, carrageenanla oluşturulan deneysel artritde, dut meyvesi özütü uygulaması iltihap parametreleri ile romatoid faktörlerde önemli bir azalma belirlenmiştir. Dutun antidiyabetik etkileri ise çok daha iyi çalışılmıştır [94]. Dut yaprakları, alfa glikozidaz denilen barsak enzimlerini inhibe ettikleri için hipoglisemik etki gösterirler. Bu enzimlerin görevi sukroz, maltoz ve laktoz gibi disakaritleri (çifte şekerleri) glikoz, fruktoz ve galaktoz gibi monosakaritlere parçalayarak onların barsaktan kana geçişini sağlamaktır. Baskılanan enzim aktivitesi ile enzimlerin kana geçişi engellenmiş olur. Japon araştırmacıların ratlarda yaptıkları bu çalışmalarda, hayvanları karbonhidratça zengin yemekle beslemeden evvel dut yaprağı özütü yedirmenin normal postprandial (yemek sonrası) kan şekeri düzeyinde önemli bir düşüşe yol açtığı gösterilmiştir [95].



Şekil 1.22. *Morus alba*'nın yaprak, meyve ve ham meyvesinin görünümü

1.6. *Salvia multicaulis* (Adaçayı)

Salvia cinsi, otsu veya çalimsı çok yıllık, nadiren iki yıllık ya da tek yıllık ve çoğu zaman güçlü aromatik bitkilerdir (Şekil 1.23). Yaklaşık olarak dünyada 900 tür kaydedilmiştir. Bitki ağırlıklı olarak hafif ve sıcak iklimlerde yetişir. Bu cinsin bazı üyelerinin ekonomik önemi vardır, onlar tüm dünya etrafında halk hekimliğinde kullanıldığından beri onların antibakteriyel [96], antitümör [97], antidiyabetik [98], antituberkuloz [99] faaliyetleri ve parfümeri ve kozmetikte [100,101] kullanım alanları tespit edilmiştir.

S. multicaulis'in ekstraktlarından izole edilen bileşenlerin çoğunun, diterpenoid [96], noditerpenoid [99] ve triterpenoid [100] olduğu rapor edilmiştir. *S. multicaulis*'in uçucu yağ analizlerinin sonuçları, çiçekli gövdelerden elde edilen yağ analizlerinde major bileşen olarak bornil asetat, β -karyofillen ve α -pinen, çiçek ve yapraklardan elde edilen uçucu yağlarda, α -pinen (%26), 1,8-sineol ve limonen (%20) ve kamfor (%19) temel bileşenler olarak tespit edilmiştir [96,102]. *S. multicaulis*'in toprak üstü kısımlarından elde edilen yağın yüksek oranda bornil asetat içerdiği rapor edilmiştir [103]. *S. multicaulis*'in uçucu

yağında en yüksek oranda α -pinen (yaklaşık olarak %26) olduğu bildirilmiştir [104]. Ahmadi ve Mirza [103]'a göre, bornil asetat (%18) ve kamfor'un (%10) *S. multicaulis*'de temel bileşenler olduğu oysa *S. multicaulis* var. *simplicifolia*'da düşük miktarda (yaklaşık olarak %0.4 ve %0.5) olduğu belirtilmiştir. Bornil asetat'ın *S. multicaulis*'te olmadığı, buna rağmen kamfor'un yüksek miktarlarda olduğu bildirilmiştir [104]. Bu farklılıkların, hem hasat dönemi hem de lokaliteden, iklim ve çevresel faktörlerden kaynaklanabileceği Senatore ve ark. [105], İran ve Lübnan örneklerinin farklı kemotiplere sahip olacağı hipotezini desteklemiştir.



Şekil 1.23. *Salvia multicaulis*'in yaprak ve çiçeklerinin görünümü

1.7. Kaynak Özetleri

Sebze ve meyvelerin, E vitamini, C vitamini, α - tokoferol, β -karoten ve polifenolik bileşik gibi antioksidantlar ile birçok hastalığa karşı koruma görevi yaptığı kaydedilmiştir [106]. Doğal antioksidantlar, özellikle E vitamini ilk çalışılan antioksidantlardır [107]. Canlı sistemlerde diyetle alınan α -tokoferol, β -karoten ve askorbik asit gibi antioksidanlar ile SOD, GPx ve CAT gibi endojen antioksidanlar oksidatif hasarları önlemektedir. Bir çok

çalışmada fenolik bileşiklerin in vitro olarak LDL'nin oksidasyonunu engellediği bildirilmiştir. Özellikle birden fazla hidroksil grubuna sahip fenolik bileşiklerin LDL'nin oksidasyonunu çok etkin bir şekilde önlediği bilinmektedir [108,109]. Son yapılan çalışmalarda antioksidantların, serbest radikallerin meydana getirdiği hasarlardan hücreyi koruduğu gözlenmiştir [110].

Bitkilerde farklı antioksidant bileşiklerin meydana geldiği bilinmektedir [111,112]. Doğal antioksidantlar, bitkilerin yaprak, gövde ve tohumları başta olmak üzere bütün organlarında bulunmaktadır. Bitkilerde meydana gelen doğal antioksidantların başlıcaları karotenoidler, vitaminler, fenoller, flavonoidler, glutatyon, endojen metabolitlerdir. Bitki türevli antioksidantlar singlet ve triplet oksijen gidericisi, serbest radikal gidericisi, peroksit dekompozeri, enzim inhibitörleri ve aktivatörü olarak fonksiyon görürler [111]. Bunun yanı sıra sebzelerde, kabuklu ve kabuksuz meyvelerde, tohumlarda, yapraklarda, çiçeklerde, köklerde ve kabuklarda bol miktarda antioksidant bileşikler bulunmaktadır [113]. Yapılan araştırmalar, bol miktarda sebze ve meyve tüketiminin, hastalıklara yakalanma riskini azalttığını, kalp-damar hastalıklarında, kanser vakalarında ve ölüm oranlarında kayda değer azalmalara sebep olduğunu ortaya koymuştur [114, 115].

Sebze ve meyvelerin bazıları yüksek antioksidant aktiviteye sahip bileşikler içerirler. Örnek olarak özellikle Asya ülkelerinde içecek olarak bol miktarda tüketilen çay verilebilir. Çayın anti-hipertansiyon [116], antioksidatif [117,118], anti-aterosklerotik [119] ve antikarsinojenik [120] etkilere sahip olduğu ispatlanmıştır. Yeşil çay yaprakları değişik oranlarda (-)-epikatekin, (-)-epikatekin galat,(-)-epigallokatekin ve (-)-epigallokatekin galat içerir [121,122]. Katekinler metal iyonlarını bağlayıcı ve oksijen radikalini tutuklayıcı etkilerinden dolayı kuvvetli antioksidant olarak tanınırlar [123].

Yapılan birçok çalışmada meyve ve sebzede kuvvetli antioksidant bileşiklerin bulunduğu gösterilmiştir. Örneğin keyif verici bitkilerde [124], dut yaprağında (*Morus alba* L.) [125], zeytinde [126] kuvvetli antioksidant aktiviteye sahip bileşiklerin bulunduğu tespit edilmiştir.

Meyvelerde, antioksidan özellik gösteren fenolik bileşikler ve flavonoidler mevcuttur. Meyvelerdeki antioksidan aktiviteler üzerine yapılan bir çalışmada çilekteki antioksidan kapasitenin şeftali, elma, portakal, kivi ve domatesten fazla olduğu bulunmuştur [127]. Bazı meyve sularının ve içeceklerin de antioksidan özelliklere sahip oldukları bulunmuştur. Karamel içeren içeceklerin, antioksidan kapasitelerinin çay, kahve veya

çikolata içeren içeceklere göre daha az olmasına rağmen, diyetle gelen antioksidan besin havuzuna katkıda buldukları ileri sürülmüştür [128].

Bitkilerde doğal antioksidant aktivitelerin belirlenmesi ve bazı antioksidant komponentleri izolasyon ve karakterizasyon işlemleri son zamanlarda büyük bir ivme kazanmış ve bu konuda çok yoğun çalışmalar devam etmektedir. Özellikle halk arasında tıbbi amaçlı kullanılan bitkiler ile gıda sektöründe kullanılan bazı bitkiler antioksidant çalışmaların odak noktasını teşkil etmektedir.

2. MATERYAL ve METHOD

Bu çalışmada ilk olarak *P. terebinthus* var *palaestina* (çedene, çitlembik), *Salvia multicaulis* var *multicaulis* (adaçayı), *Morus alba* (dut) bitkileri, Doğu ve Güneydoğu Anadolu'nun çeşitli yerlerinden arazi çalışmalarıyla toplandı ve bu bitkilerin çiçek, yaprak, tohum ve meyvelerinin su ve etanol ekstraları elde edilerek, bu ekstraların toplam antioksidan aktiviteleri 9 farklı metotla belirlendi. Toplam antioksidan aktivite belirleme testleri UV-Vis Spektrofotometresi kullanılarak yapıldı.

2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Linoleik asit, Folin-Ciocalteu Reaktifi, pirokatekol, askorbik asit, Na₂CO₃, Tween-20, butilhidroksitoluen (BHT), butilhidroksianisol (BHA) Fluka'dan, fenazin metasülfat (PMS), amonyum tiyosiyanat (NH₄SCN), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzo thiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS), 3-(2-Pyridyl)-5,6-bis (4-phenyl-sulfonic acid)-1,2,4-triazine (Ferrozin), FeCl₂.4H₂O, Oleik asit (18:1, n 9), linoleik asit (18:2, n 6), linolenik asit (18:3, n 3), Tris-baz, HPLC saflıkta metanol, asetonitril, n-hekzan, n-Butanol, izopropanol, 2-thiobarbiturik asit (TBA), nitroblutetrazolium (NBT), kuersetin, EDTA, NADPH, kolesterol, α-tokoferol asetat, vitamin standartları, glutatyon (GSH), yağ asidi metil esteri (doymuş ve doymamış türleri), 5,5'ditiyobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB) Sigma Aldrich'den, etil alkol, hidroklorik asit (HCl) %37, trikloroasetik asit (TCA), FeCl₃.6H₂O, α-tokoferol, NaOH, sodyum asetat, sodyum sitrat, nicotinamide adenine dinucleotide (NADH), H₂O₂, K₃Fe(CN)₆, NaH₂PO₄.2H₂O E. Merck'den satın alınmıştır.

2.2. Yararlanılan Alet ve Cihazlar

Soxlet Cihazı	: Gerhardt Soxtherm SOX-402
pH Metre	: Hanna HI 221
Çalkalamalı Su Banyosu	: Memmert VNB 14
Magnetik Karıştırıcı	: IKA
Döner Buharlaştırıcı (Rotavapor)	: IKA

Gaz Kromatogafi	: Shimadzu GC 17
HPLC Cihazı	: Shimadzu
Homojenizatör	: Micra-D8
Etüv	: Memmert
UV-Vis Spektrofotometre	: Shimadzu UV-1700 Spectrophotometer
Vorteks	: IKA
Hassas Terazi	: Denver
Soğutmalı Santrifüj	: Hettich 320R
Derin Dondurucu	:Uğur

2.3. Bitkilerin Toplanması, Kurutulması ve Ekstraksiyon İşlemleri

Çalışmada kullanılan bitki örnekleri farklı yerlerden farklı zamanlarda toplandı. Bitki kısımlarının toplanma yerleri ve zamanları aşağıda gösterilmiştir:

<u><i>Pistacia terebinthus</i> (Çedene)</u>	02.05.2009	Gaziantep Sof Dağı Işıklı Köyü Meşe Koruluğu İçi
Koordinatlar		
N 37°	09.415'	Rakım: 1090 metre
E0 37°	12.864'	Çiçekler ve yapraklar
<u><i>Pistacia terebinthus</i> (Çedene)</u>	02.07.2009	Gaziantep Sof Dağı Işıklı Köyü Meşe Koruluğu İçi
Koordinatlar		
N 37°	09.415'	Rakım: 1090 metre
E0 37°	12.864'	Meyve
<u><i>Pistacia terebinthus</i> (Çedene)</u>	03.10.2009	Gaziantep Sof Dağı Işıklı Köyü Meşe Koruluğu İçi
Koordinatlar		
N 37°	09.415'	Rakım: 1090 metre
E0 37°	12.864'	Olgun meyve ve tohum
<u><i>Salvia multicaulis</i> (Adaçayı)</u>	01.05.2009	Malatya-Doğanşehir Yolu 40. km Yamaçlar
Koordinatlar		
N 38°	14.490'	Rakım: 1031 metre
E0 38°	00.912'	Yaprak ve Çiçekler
<u><i>Salvia multicaulis</i> (Adaçayı)</u>	15.06.2009	Malatya-Doğanşehir Yolu 40. km Yamaçlar
Koordinatlar		

N 38° 14.490' Rakım: 1031 metre
E0 38° 00.912' Meyve

Salvia multicaulis (Adaçayı)

05.07.2009 Malatya-Doğuşehir Yolu 40. km
Yamaçlar

Koordinatlar

N 38° 14.490' Rakım: 1031 metre
E0 38° 00.912' Tohumlar

Morus alba (Dut)

01.05.2009 Adıyaman Besni Burunçayır Köyü

Koordinatlar

N 37° 44.997' Rakım: 796 metre
E0 37° 47.788' Yapraklar ve ham meyve

Morus alba (Dut)

30.06.2009 Adıyaman Besni Burunçayır Köyü

Koordinatlar

N 37° 44.997' Rakım: 796 metre
E0 37° 47.788' Meyve

Bitkilerin yeşil kısımları gölgede kurultuldu. Meyveleri ise çalışma yapılana kadar -20°C'de saklandı. Bitkilerin mevcut kısımları homojenizatörle parçalandı. Öğütülen örnekler çözücülerini eklenerek Soxlet cihazına yerleştirildi ve ekstraların dönerli buharlaştırıcıda çözücüsü buharlaştırılarak kullanıma hazır hale getirildi.

2.4. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

2.4.1. Total Antioksidant Aktivite Tayininde Kullanılan Çözeltiler

1. 0.04 M pH: 7.4 Fosfat Tamponu: 1.38 g NaH₂PO₄.H₂O alınarak destile suda çözüldü ve hacmi 250 mL' ye tamamlandı.

2. 0.017 M Linoleik Asit Emülsiyonu: 265 µL linoleik asit alınıp 50 mL pH 7.4 fosfat tamponuna ilave edildi. Emülgatör olarak Tween-20 ilave edilerek karışım homojenize edildi.

3. %3.5 'lik HCl Çözeltisi: %37' lik HCl' den 9.46 mL alınarak, destile su ile hacmi 100 mL' ye tamamlandı.

4. 20 mM FeCl₂ Çözeltisi: 397 mg FeCl₂.4H₂O, %3.5' lik HCl ile çözümlenerek hacim destile su ile 100 mL' ye tamamlandı.

5. %30'luk NH₄SCN Çözeltisi: 30 g NH₄SCN destile suda çözüldü, hacmi 100 mL' ye tamamlandı.

2.4.2. İndirgeme Kuvveti Tayininde Kullanılan Çözeltiler

1. 0.2 M Fosfat Tamponu (pH: 6.6.): 6.24 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ bir miktar destile suda çözülerek 250 mL' ye yakın bir hacme tamamlandı ve pH metre kullanılarak NaOH çözeltisiyle pH 6.6' ya ayarlandı.

2. % 1'lik $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ Çözeltisi: 2.5 g $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ bir miktar destile suda çözüldü, toplam hacmi 250 mL' ye tamamlandı.

3. % 10'luk TCA Çözeltisi: 25 g TCA bir miktar destile suda çözüldü, toplam hacmi 250 mL' ye tamamlandı.

4. % 0.1'lik FeCl_3 Çözeltisi: 83 mg $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ destile suda çözüldü, toplam hacmi 50 mL' ye tamamlandı.

2.4.3. Serbest Radikal (DPPH') Giderme Aktivitesi Tayininde Kullanılan Çözeltiler

1. 10^{-3} mM'lık DPPH' Çözeltisi: 39 mg kuru DPPH' alüminyum folyo sarılı erlende 100 mL destile etanolde tamamen çözününceye kadar karıştırılarak çözüldü.

2.4.4. Süperoksit Radikali Giderme Aktivitesi Tayininde Kullanılan Çözeltiler

1. 60 μM ' lık PMS Çözeltisi: Önce 18 mg PMS alındı ve hacim 1 litreye fosfat tamponuyla (pH 7.4, 0.1 M) tamamlandı. Daha sonra bu çözeltden 10 mL alındı ve 100 ml' ye aynı tamponla seyreltildi.

2. 468 μM ' lık NADH Çözeltisi: 34 mg NADH alındı ve toplam hacim 100mL' ye kadar fosfat tamponuyla (0.1 M, pH 7.4) tamamlandı.

3. 150 μM ' lık NBT Çözeltisi: 6.1 mg NBT alındı ve toplam hacim 50 mL' ye kadar fosfat tamponuyla (0.1 M, pH 7.4) tamamlandı.

2.4.5. Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi Tayininde Kullanılan Çözeltiler

1. 0.1 M'lık Fosfat Tamponu: 1.56 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 80 mL destile suda çözülerek, pH metre yardımıyla pH: 7.4' e ayarlandı ve toplam hacim saf su ile 100 mL' ye tamamlandı.

2. 40 mM'lık H_2O_2 Çözeltisi: %30' luk H_2O_2 ' den 343 μL alındı ve 0.1 M'lık fosfat tamponu ile 100 mL' ye tamamlandı.

2.4.6. Metal Şelatlama Aktivitesi Tayininde Kullanılan Çözeltiler

1. 2mM'lık FeCl_2 Çözeltisi: 0.02 g $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ alındı ve hacim saf su ile 50 mL' ye tamamlandı.

2. 5 mM'lık Ferrozin Çözeltisi: 0.123 g Ferrozin alındı, bir miktar suda çözüldü ve toplam hacim saf su ile 50 mL' ye tamamlandı.

2.4.7. Total Fenolik Bileşik Miktarı Tayininde Kullanılan Çözeltiler

1. %2' lik Na_2CO_3 Çözeltisi: 2 g Na_2CO_3 100 mL' lik balon jodede bir miktar saf suda çözüldü ve hacmi saf suyla 100 mL' ye tamamlandı.

2. Folin-Ciocalteu Reaktifi: Satın alındığı şekilde kullanılmıştır.

2.4.8. FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) Testinde Kullanılan Çözeltiler

1. 10 mM'lık TPTZ (2,4,6-Tripyridyl-s-Triazine) Çözeltisi: 0,156 g TPTZ alındı ve toplam hacim saf su ile 50 mL' ye tamamlandı.

2. 20 mM'lık FeCl_3 Çözeltisi: 0,27g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ alındı ve toplam hacim saf su ile 50 mL' ye tamamlandı.

3. 300 mM'lık Asetat Tamponu Çözeltisi: 10.206 g Sodyum Asetat alındı ve toplam hacim saf su ile 250 mL' ye tamamlandı.

2.4.9. ABTS^{•+} Yok Edici Testinde Kullanılan Çözeltiler

1. 0.01 M'lık Fosfat Tamponu Çözeltisi: 0.39 g NaH₂PO₄·2H₂O alındı ve toplam hacim saf su ile 250 mL'ye tamamlandı.

2. 2.45 mM'lık K₂S₂O₈ Çözeltisi: 0.033 g K₂S₂O₈ alındı ve toplam hacim saf su ile 50 mL'ye tamamlandı.

3. 7 mM'lık ABTS Çözeltisi: 0.068 g ABTS alındı ve toplam hacim fosfat tamponuyla 25 mL'ye tamamlandı.

2.5. İn Vitro Antioksidant Aktivitenin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler

2.5.1. Total Antioksidan Aktivite Tayini

Ekstrelerin antioksidan aktiviteleri tiyosiyanat metoduna göre belirlendi [129]. Öncelikle her bir ekstrenin stok çözeltisi hazırlandı. İstenilen miktarlara karşılık gelen hacimde stok çözelti vezin kaplarına otomatik pipetlerle aktarıldı ve toplam hacim tampon çözelti ile 2.5 mL'ye tamamlandı. Daha sonra her bir vezin kabına 2.5 mL linoleik asit emülsiyonu ilave edildi. Kontrol olarak da 2.5 mL tampon çözelti ve 2.5 mL linoleik asit emülsiyonu karışımı kullanıldı.

İnkübasyon 37 °C de ve karanlıkta gerçekleştirildi. Her 10 saatte bir vezin kaplarından 100'er µL alınarak 4.7 mL etanol bulunan deney tüplerine konuldu ve sırasıyla 100 µL Fe⁺² çözeltisi ve 100 µL SCN⁻ çözeltisi ilave edildi. Kör numune ise 4.8 mL etanola 100 µL Fe⁺² çözeltisi ve 100 µL NH₄SCN çözeltisi ilave edilerek hazırlandı. Numunelerin 500 nm deki absorbanları köre karşı okundu. İnkübasyona kontrolün maksimum absorbansa ulaştığı noktadan sonra son verildi.

Kontrol absorbansının maksimuma ulaştığı zamanda ekstrelerin peroksidasyonu inhibe etme yüzdeleri aşağıdaki eşitlik yardımıyla hesaplandı.

$$\% I = [(A_0 - A_c) / A_0] \times 100$$

$$I = \text{İnhibisyon}$$

$$A_0 = \text{Kontrolün Absorbans Değeri}$$

$$A_c = \text{Numunenin Absorbans Değeri}$$

Bu yöntemde peroksit oluşumunu SCN^- sağlamaktadır. Kontrol absorbansının maksimuma ulaştığı anda spektrofotometrik ölçüme son verildi ve hesaplama işlemine geçilerek ekstrelerin total antioksidan aktiviteleri belirlendi [129].

2.5.2. İndirgeme Kuvveti Tayini

İndirgeme gücü tayini, Oyaizu metoduna göre yapıldı [130]. Stok çözeltiler için etanol ekstreleri 10 mL etanolda; 10 mg su ekstreleri ise 10 mL saf suda çözülerek hazırlandı. 0, 50, 100, 250 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ stok çözeltiler alınarak cam tüplere aktarıldı ve hacimler saf su ile 1 mL'ye tamamlandı. Daha sonra her bir tüpe 2.5 mL 0.2 M fosfat tamponu (pH=6.6) ve 2.5 mL % 1 lik potasyum ferrisiyanür $K_3[Fe(CN)_6]$ ilave ederek karışım 50 °C de 20 dk inkübe edildi. Bu işlemden sonra reaksiyon karışımlarına 2.5 mL % 10 luk triklor asetik asit (TCA) ilave edildi. Çözeltinin üst fazından 2.5 mL alınarak üzerine 2.5 mL saf su ve % 0.1 lik 0.5 mL $FeCl_3$ ilavesinden sonra absorbans 700 nm de köre karşı okundu. Kör olarak saf su kullanıldı. Kontrolde ise numune yerine su kullanıldı.

Bu yöntemde Fe^{+3} 'ün ne kadarının Fe^{+2} 'ye dönüştüğü 700 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülebilir. Bu metotta Fe^{+3} kaynağı olarak $FeCl_3$ kullanılır. 700 nm dalga boyundaki yüksek absorbans ortamdaki Fe^{+2} 'nin fazlalığını göstermektedir [129].

2.5.3. Serbest Radikal (DPPH[•]) Giderme Aktivitesi

Serbest radikal giderme, Blois metoduna (1958) göre küçük bir modifikasyonla yapıldı. Serbest radikal olarak DPPH[•] kullanıldı ve 1 mM'lık çözeltisi kullanıldı. Numune olarak total antioksidan aktivite ve indirgeme kuvvetlerinde kullanılan 1mg/mL yoğunluğundaki stok çözelti kullanıldı. Deney tüplerine sırasıyla 50, 100, 250, 500 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ çözelti aktarıldı ve toplam hacimleri 3 mL olacak şekilde saf etanol ile tamamlandı. Daha sonra her bir numune tüpüne stok DPPH[•] çözeltisinden 1 mL ilave edildi. 30 dk oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyondan sonra etanoldan oluşan köre karşı 517 nm de absorbansları ölçüldü. Kontrol olarak, 3 mL etanol ve 1 mL DPPH[•] çözeltisi kullanıldı. Azalan absorbans, geriye kalan DPPH[•] çözeltisi miktarını serbest radikal giderme aktivitesini verir [131].

2.5.4. Süperoksit Radikalleri Giderme Aktivitesi

Ekstrelerin süperoksit radikallerinin oluşmasındaki etkisi nitroblue tetrazolium (NBT)'nin indirgeme ürünlerinin spektrofotometrik olarak ölçümü Nishimiki metoduna (1972) göre belirlendi. Bunun için çalışmada kullanılan ekstrelerin 100 µg'ını içeren 1 mL saf suya önce 1 mL 60 µM'lık fenazin meta sülfat (PMS) çözeltisi ilave edildi. Daha sonra sırasıyla 1 mL 468 µM'lık NADPH ve 1 mL 150 µM'lık NBT çözeltisi ilave edildi. Oluşan reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 5 dk bekletildi. Reaksiyon karışımında ekstre numunesinin eksik olduğu köre karşı 560 nm de absorbansı okundu. Azalan absorbans, artan süperoksit radikalleri giderme aktivitesini gösterir.

2.5.5. Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi

Ekstrelerin hidrojen peroksit giderme aktiviteleri Ruch ve arkadaşlarının belirledikleri metoda göre yapıldı [132]. Bunun için pH'ı 7.4 olan fosfat tamponunda 40 mM'lık hidrojen peroksit çözeltisi hazırlandı. H₂O₂ konsantrasyonu spektrofotometrik olarak, H₂O₂'nin 230 nm de absorbans göstermesiyle belirlendi. 100 µg/µL konsantrasyonda alınan ekstrelerin hacimleri 4 mL'ye kadar tampon çözeltiyle tamamlandı. Bu işlemlerden sonra 0.6 mL'lik H₂O₂ çözeltisi ilave edildi. 10 dk oda sıcaklığında inkübe edildi. İnkübasyondan sonra H₂O₂'in azalan miktarı, 230 nm de azalan absorbansı, tampon çözeltiden oluşan köre karşı kaydedildi.

Giderilen % H₂O₂ giderme aktivitesi aşağıdaki denklemden hesaplanır:

$$\% \text{H}_2\text{O}_2 \text{Giderme Aktivitesi} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A₀ = Başlangıçtaki H₂O₂ konsantrasyonu

A₁ = Ekstre ilave edildikten sonraki H₂O₂ konsantrasyonu

2.5.6. Metal Şelatlama Aktivitesi

Ekstrelerin metal şelatlama aktiviteleri, Dinis ve arkadaşlarının belirledikleri metoda göre yapıldı [133]. Bu işlem için 2 mM'lık ve 0.05 mL FeCl₂.4H₂O ve 0.35 mL saf su içeren çözelti, 50 ile 250 mg arasında değişik miktarlarda ekstre ihtiva eden 0.2 mL'lik çözeltiye ilave edildi. Bunun üzerine de toplam hacim 4 mL olacak şekilde saf etanol ilave

edildi. Reaksiyon 0.2 mL ve 5 mM'lık ferrozin çözeltisi ilave edilmesiyle başlatıldı. Çözelti vortekste kuvvetli bir şekilde karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 10 dk bekletildi. İnkübasyondan sonra çözeltinin 562 nm de absorbansı ferrozin hariç geriye kalan çözeltiden oluşan köre karşı kaydedildi. Kontrol olarak ekstre numunesi hariç geriye kalan çözelti kullanıldı.

Tutuklanan metalin yüzdesi şu formülle hesaplanabilir:

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

A_0 = Kontrolün absorbans değeri

A_1 = Ekstre ilave edildikten sonraki absorbans değeri

2.5.7. Toplam Fenolik Bileşik Miktarı Tayini

Ekstrelerdeki toplam fenolik bileşik miktarı, Folin-Ciocalteu reaktifi ile Singleton ve arkadaşlarının metoduna göre belirlendi [134]. Standart fenolik bileşik olarak pirokatekol ve quercetin kullanıldı. Önce standart grafik çizmek amacıyla 25 mg pirokatekol ve 25 mg quercetin ayrı ayrı 25 mL saf suda çözülerek stok çözelti hazırlandı. Bu stok çözeltilerden 1000 µL alınıp 100 mL'lik erlenlere konuldu. Toplam hacim saf suyla 46 mL'ye tamamlandı. Erlenlere sırasıyla 1 mL Folin-Ciocalteu reaktifi ve 3 dk sonra da % 2'lik Na_2CO_3 çözeltisinden 3 mL ilave edildi. Böylece toplam hacim 50 mL'ye tamamlandı. Karışım 2 saat boyunca oda sıcaklığında çalkalandı. Daha sonra numunelerin absorbansı 760 nm de saf suya karşı okundu. Bu işlemler 3'er defa yapıldı. Kontrol için numune yerine saf su kullanılarak hazırlandı. Numunelerin absorbans değerlerine karşılık gelen pirokatekol miktarları

$$\text{Absorbans} = 0,00209 \times \text{Mikrogram Pirokatekol} + 0.00466$$

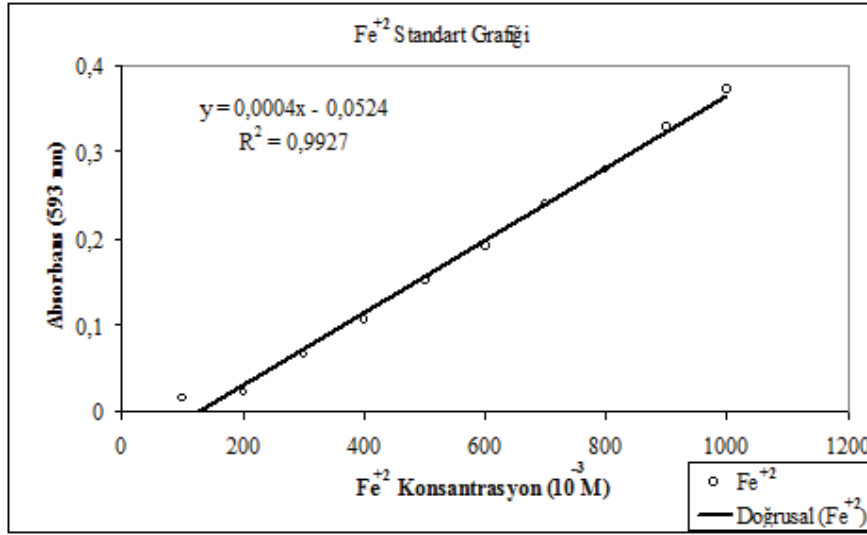
standart grafik denklemi kullanılarak tespit edildi ve sonuçlar pirokatekol ekivalent şeklinde ifade edildi. Quercetin için de

$$\text{Absorbans} = 0.0005 \times \text{Mikrogram Quercetin}$$

standart grafik denklemi yardımıyla belirlendi ve sonuçlar quercetin ekivalent şeklinde ifade edildi.

2.5.8. FRAP Testi

300 mM Asetat tamponu (pH=3.6), 10 mM TPTZ ve 20 mM FeCl₃.6H₂O çözeltileri 10:1:1 oranında karıştırılıp 37 °C’de su banyosunda bekletilerek FRAP reaktifi hazırlanmış oldu. Daha sonra 3 mL FRAP reaktifi, 100 µL bitki ekstresi ve 300 µL saf su deney tüplerine sırasıyla konarak 37 °C’deki su banyosunda 40 dk inkübe edildi. Bu sürenin sonunda 593 nm’de örneklerin absorbansı alındı. Kör olarak FRAP reaktifi, kontrol olarak da içinde bitki ekstresinin eksik olduğu çözelti karışımı kullanıldı. Elde edilen sonuçlar aşağıdaki grafikte gösterilmiştir [135]. Ortamda ne kadar Fe⁺³ ün Fe⁺²,ye dönüştüğü yani ortamdaki Fe⁺² konsantrasyonu aşağıdaki standart grafikten hesaplanmıştır. Bunun için 100-1000 10⁻³ M arasında hazırlanmış Fe⁺² çözeltilerinin absorbansları alınarak kaydedilmiş ve bu standart grafik çizilmiştir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. FRAP testi için hazırlanan standart grafik

2.5.9. ABTS⁺⁺ Yok Edici Testi

ABTS⁺ (2,2'-azino-bis(3-etilbenziazolin-6-sülfonik asit)diamonyum tuzu) yok edici testi Yu ve ark., (2002) metodunun modifiye edilmesiyle gerçekleştirildi. ABTS⁺⁺ metodu, 2,2'-azino-bis(etilbenziazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu gibi bir azino-bileşiğin

ortamdan yok edilmesi, yani bir başka deyişle inhibisyonuna dayanan bir antioksidan kapasite belirleme yöntemidir [136].

2.45 mM $K_2S_2O_8$ ve 7 mM ABTS çözeltileri 1:1 oranında karıştırılarak oda sıcaklığında ve karanlıkta 16 saat inkübasyona bırakıldı. Hazırlanan bu $ABTS^{*+}$ radikal çözeltilisinin 734 nm’de absorbansı alınarak 1.660 ± 0.02 absorbansına ulaşılan kadar etil alkolle seyreltildi. Bu absorbans kontrol absorbansı olarak kullanıldı. Daha sonra bu radikal çözeltilisinden deney tüplerine 4 mL bırakıldı. Bu tüplerin üzerine 100 μ L bitki ekstraktlarından eklenerek oda sıcaklığında ve karanlıkta 2 saat inkübasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda örneklerin absorbansı 734 nm’de PBS (Fosfat Tamponu, pH=7.4)’den oluşan köre karşı kaydedildi. Azalan absorbans ortamdan yok edilen $ABTS^{*+}$ radikallerinin miktarını verir.

2.6. İn Vivo Ortamda Yapılan Deney Yöntemleri

2.6.1. Deney Hayvanları

Deneysel çalışmada kullanılan Wistar cinsi, Inbret soy, 8 haftalık albino erkek sıçanlar, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM)’nden temin edildi ve aynı yerde deneysel uygulama gerçekleştirildi. Sıçanlar havalandırma sistemi bulunan bir ortamda özel olarak hazırlanmış ve her gün altları temizlenen kafeslerde beslendi. Yemler özel çelik kaplarda ve su ise paslanmaz çelik bilyeli biberonlarda normal çeşme suyu olarak verildi. Deney hayvanları Elazığ Yem Fabrikasında özel olarak hazırlanan pelletler halindeki sıçan yemleriyle beslendi. Sıçanlara verilen yemin bileşiminde bulunan katkı maddeleri Tablo 2.1’de gösterilmiştir. Sıçanların bakımına deneysel uygulama yapılacak safhaya kadar bu şekilde devam edildi.

Tablo 2.1. Deney hayvanları yem % bileşimleri

Yem ham maddeleri	% Bileşimleri
Buğday	10
Mısır	21
Arpa	14
Kepek	8
Soya Küspesi	25
Balık Unu	8
E-Kemik unu	4
Melas	4
Tuz	4
*Vitamin Karması	1
**Mineral Karması	1

*Vitamin karması: Deney hayvanlarına verilen yemlerin vitamin karmasında A, D3, E, K, B1, B2, B6, B12 vitaminleri ile nikotinamid, folik asit, D-biotin ve kolin klorit bulunmaktadır.

**Mineral karması: Mangan, demir, çinko, bakır, iyot, kobalt, selenyum ve kalsiyumdan oluşmuştur.

Deneyisel çalışmalara başlamadan önce, çıkabilecek aksaklıkların asgariye indirilmesi amacıyla ön çalışma yapıldı. Deney hayvanlarının buldukları ortamın sıcaklığı 22–25 °C arasında sabit tutuldu ve hayvanlar 12 saat ışık altında ve 12 saat karanlıkta takip edildi.

Tablo 2.2. Araştırma Grupları

Gruplar	Uygulama	Deneme Süresi
Negatif Kontrol (Kontrol)	Standart diyet ile beslenen, bitki ekstresi ve Hidrojen peroksit verilmeyen grup	10 hafta
Pozitif Kontrol (PT)	Standart diyet ile beslenen, Hidrojen peroksit verilmeyen fakat <i>Pistacia terebinthus</i> çiçek su ekstresi verilen grup	10 Hafta
Hidrojen Peroksit Grubu (HP)	Standart diyet ile beslenen ve Hidrojen peroksit verilen grup	10 hafta
Hidrojen peroksit + <i>Pistacia terebinthus</i> Grubu (PH)	Hidrojen peroksit ve <i>Pistacia terebinthus</i> çiçek su ekstresi verilen grup	10 hafta

Ratlar canlı ağırlıkları birbirine yakın olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Gruplar: (I) Negatif Kontrol: Standart diyet ile beslenen, bitki ekstresi ve Hidrojen peroksit verilmeyen grup; (II) Pozitif Kontrol Standart diyet ile beslenen, Hidrojen peroksit verilmeyen fakat bitki ekstresi verilen grup; (III) Hidrojen peroksit Grubu: Standart diyet ile beslenen ve Hidrojen peroksit verilen grup; (20 mg/kg CA dozunda) (IV) Hidrojen peroksit + bitki ekstresi Grubu: Hidrojen peroksit ve bitki ekstresi verilen grup. Hayvanların başlangıç canlı ağırlıkları eşit olacak şekilde ayarlanıp gruplar oluşturuldu (Tablo 2.2). Canlı ağırlıklar çalışma boyunca haftalık olarak kaydedildi.

Ratlarda oksidatif stres oluşturmak için 20 mg/kg hidrojen peroksit (H_2O_2) intraperitoneal yolla haftada iki kez enjekte edildi. Ekstraktlar blenderda örnek bitki grubunun çözücüler içerisinde parçalanmasıyla elde edildi. Blenderde parçalama işleminden sonra bütün gruplar santrifüj edildi (5000 rpm +4°C). Kullanıma hazır hale getirilen bitki ekstraktları ise deneklere gavaj yöntemi ile gün aşırı olacak şekilde 250 mg/kg dozunda verildi. Bitkiler ise 50/250 oranında su ile ekstrakte edildi. Bu sürenin sonunda ratlar dekapite edilerek doku ve serum örnekleri alınarak analize kadar bekletildi.

2.6.2. Doku Örneklerinin Alınması

Hayvanlar dekapite edildikten hemen sonra kan, karaciğer, böbrek, kas, beyin ve kalp dokuları alındı. Bu doku kısımları, bekletilmeden % 0.9 serum fizyolojik ile yıkanarak, kandan temizlenmeleri sağlandı ve biyokimyasal işlemler yapılncaya kadar -60 °C'de saklandı.

2.6.3. Dokulardaki Lipid peroksidasyon Miktarının Ölçülmesi

Dokular, Tris-HCl ve EDTA (pH:7) tamponu ile homojenizasyondan sonra +4 °C'de 9000 rpm 10 dk süre ile santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlardan 2ml alındıktan sonra 0.084 N H_2SO_4 'den 6 ml ve %10'luk PHA'dan 3ml ilave edildikten sonra oda sıcaklığında 5 dk bekletilip 5000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek üst sıvı atıldı. Kalan pellet üzerine 1ml distile su ilave edilip çözüldükten sonra 1 ml %3'lük hidroklorik asit ve 1ml %0.6'lük TBA eklendi ve 95 °C'de 60 dk bekletildi. Bu süre sonunda soğuyan örneklerle 3 ml

butanol ilave edildi ve santrifüj edildikten sonra süpernatantdan 1ml viallere alınarak ölçüm gerçekleştirildi.

2.6.4. Dokulardaki Glutatyon Miktarının Ölçülmesi

Deney hayvanlarından alınan uygun miktardaki doku örnekleri Tris-HCl ve EDTA (pH:7) tamponu ile homojenizasyondan sonra +4 °C'de 9000 rpm 10 dk süre ile santrifüj edilerek doku pelletinden ayrıldı. Santrifüj sonunda üstteki süpernatant kısım alınarak üzerine 1ml %5'lik TCA çözeltisi ilave edildi. Bu şekilde proteinlerin çökmesi sağlandı. Karışım bu şekilde 5 dk 4500 rpm'de santrifüj edilerek pellet çöktürüldü ve süpernatant kısmı başka bir tüp içine alındı. Elde edilen süpernatant kısım üzerine 1 ml 150 µl DTNB ve 0.3 M Na₂HPO₄ çözeltisinden 2 ml ilave edildi, oluşan sarı renk 412 nm'de köre karşı okundu [137]. Doku homojenatlarındaki GSH miktarı tayini, Şekil 2.2'de verilen kalibrasyon eğrisine göre hesaplandı. Doku pelletlerindeki GSH miktarının hesaplanmasında mg/g hücre pelleti miktarı cinsinden belirlendi.

2.6.4.1. Glutatyon Kalibrasyon Eğrisinin Oluşturulması

Örneklerdeki GSH miktarı tayini, saf GSH standardından (Merck) hazırlanan kalibrasyon eğrisine göre hesaplandı. Bunun için; saf glutatyondan 10 ml için 0.002 g olacak şekilde hazırlandıktan sonra aşağıdaki şekilde gruplar oluşturuldu:

S1→ 20 µl GSH + 2 ml Na₂HPO₄ + 1 ml DTNB

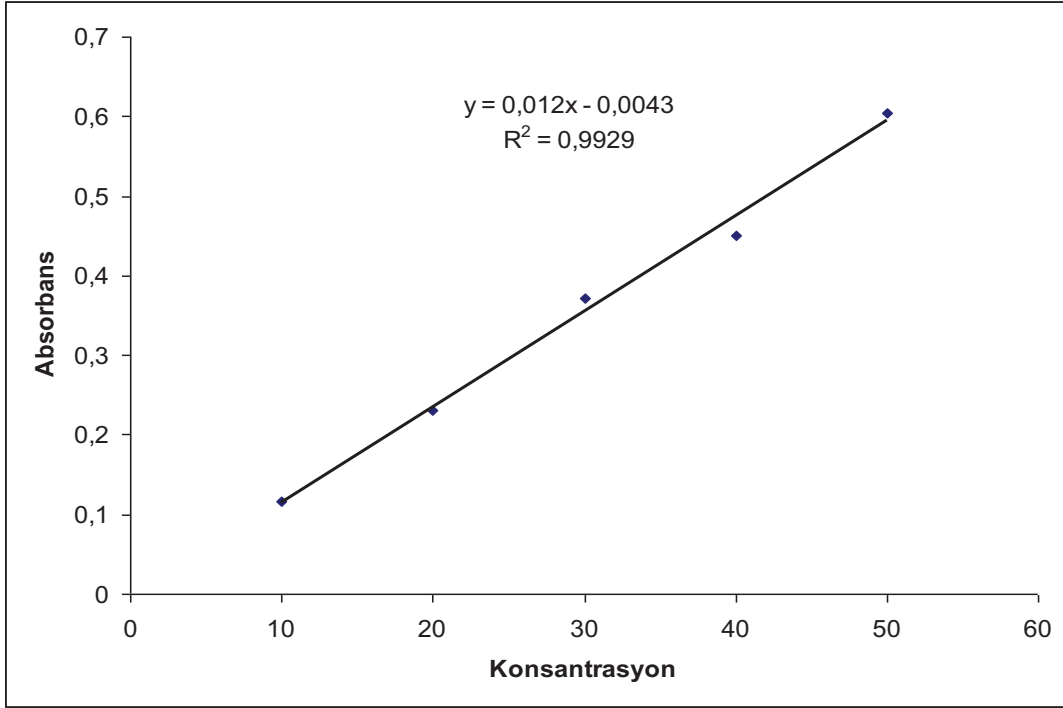
S2→ 40 µl GSH + 2 ml Na₂HPO₄ + 1 ml DTNB

S3→ 60 µl GSH + 2 ml Na₂HPO₄ + 1 ml DTNB

S4→ 80 µl GSH + 2 ml Na₂HPO₄ + 1 ml DTNB

S5→ 100 µl GSH + 2 ml Na₂HPO₄ + 1 ml DTNB

Gruplar stabil hale geldikten sonra 412 nm'de köre karşı okundu ve okunan değerlere göre Şekil 2.2'deki kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. GSH miktarının hesaplanmasında mg/g pellet miktarı cinsinden belirlendi.



Şekil 2.2. Glutatyon kalibrasyon eğrisi

2.6.5. Dokularda Total Protein Miktarının Ölçülmesi

Örneklerin total protein miktarlarının ölçümü Lowry yöntemine göre yapıldı [138].

Bu amaçla aşağıdaki çözeltiler hazırlandı:

A= %1 (w/v) Bakır sülfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) çözeltisi

B= %2 (w/v) Sodyum potasyum tartarat

C= 0.2 M Sodyum hidroksit

D= %4 (w/v) Sodyum karbonat

Protein ile ilgili deney yapılacağı zaman 49 ml C reaktifi üzerine 49 ml D reaktifi ilave edildi, daha sonra 1 ml A ve 1 ml B reaktifinden ilave edildi. Bu çözeltilerin karışımından hazırlanan reaktife E solüsyonu adı verildi. Daha sonra protein çözeltisinden deney tüpüne alındı ve örnek üzerine 4 ml E reaktifinden ilave edildi, karıştırıldı ve 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Bekleme süresi sonunda 500 µl Folin (10 ml Folin-Ciocalteu reaktifi üzerine 10 ml saf su ilave edilerek hazırlanır) karışımında eklenerek 30 dakika tekrar oda sıcaklığında bekletildi ve sonra 750 nm'de blank'a karşı spektrofotometrede okundu.

2.6.5.1. Protein Kalibrasyon Eğrisinin Oluşturulması

Bu amaçla saf haldeki albuminden 10 ml için 0.003 g olacak şekilde hazırlandıktan sonra standart grupları aşağıdaki şekilde hazırlandı:

S1→ 100 µl albumin + 4 ml E çözeltisi + 0.5 ml Folin

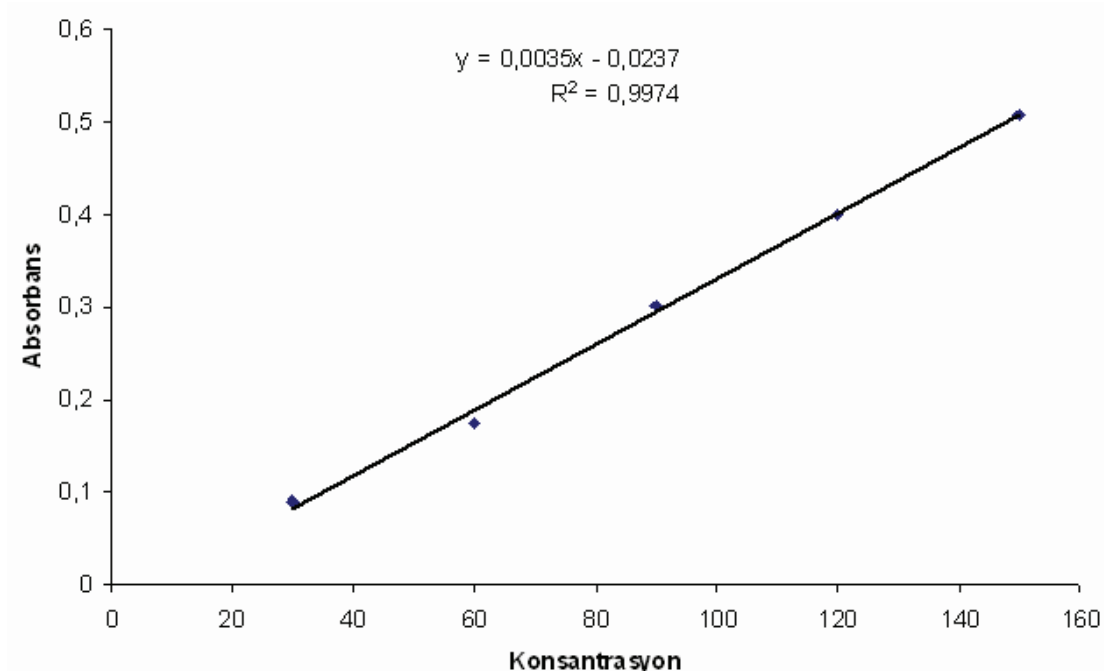
S2→ 200 µl albumin + 4 ml E çözeltisi + 0.5 ml Folin

S3→ 300 µl albumin + 4 ml E çözeltisi + 0.5 ml Folin

S4→ 400 µl albumin + 4 ml E çözeltisi + 0.5 ml Folin

S5→ 500 µl albumin + 4 ml E çözeltisi + 0.5 ml Folin

Gruplar 750 nm’de blank’a karşı okundu ve okunan değerlere göre Şekil 2.3’deki kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Örneklerin protein miktarları elde edilen bu kalibrasyon eğrisindeki denklem vasıtasıyla hesaplandı.



Şekil 2.3. Protein kalibrasyon eğrisi

2.6.6. Dokulardan Lipidlerin Ekstraksiyonu

Doku ve serum örneklerinden lipidlerin ekstraksiyonu 3:2 (v/v) hekzan-izopropanol karışımının kullanıldığı Hara ve Radin [139] metoduyla yapıldı. Bunun için:

Dokular Micra-D.8 homojenizatöründe 11000 rpm’de 30 sn ile 3:2 (v/v) oranında 10 ml hekzan-izopropanol ile parçalandı. Homojenizasyon kabı 2 ml parçalama çözeltisi ile yıkandı ve santrifüj tüplerine alındı. Daha sonra 4500 rpm’de 10 dk süre ile santrifüj edilen doku örneklerinden üst süpernatant kısım alınarak ağız kapaklı deney tüplerine konuldu.

2.6.7. Dokulardan Yağ Asidi Metil Esterlerinin Hazırlanması

Lipitler içinde bulunan yağ asitlerinin gaz kromatografik analizinin yapılabilmesi için polar olmayan uçucu ve kararlı yapıya sahip olan *metil esterleri* gibi türevlerine dönüştürülmesi gerekir. Lipitler içindeki yağ asitlerini, metil esteri gibi türevlerine dönüştürülmesinde değişik metodlar kullanılmasına rağmen, Christie [140] ifade edildiği gibi uygulaması pratik ve verimi yüksek olan asit katalizli esterleştirme yöntemi kullanıldı. Bu yöntemeye göre:

Metil esteri hazırlamak için hekzan/izopropanol fazı içindeki lipit ekstraktı 30 ml’lik sızdırma yapmayan deney tüplerine alındı. Üzerine % 2 ’lik metanolik sülfürik asitten 5 ml ilave edildi, vorteks ile iyice karışmaları sağlandı. Bu karışım 50 °C’lik etüvde 15 saat süre ile metilleşmeye bırakıldı. 15 saatlik süre sonunda, tüpler etüvden çıkarıldı oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve 5 ml % 5 lik sodyum klorür ilave edilerek iyice karıştırıldı. Tüpler içinde oluşan yağ asidi metil esterleri 5 ml hekzan ile ekstre edildi ve hekzan fazı üstten pipetle alınarak 5 ml %2’lik KHCO₃ ile muamele edildi ve fazların ayrılması için 4 saat bekletildi. Daha sonra metil esterlerinin içeren karışım, 45 °C’de ve azot akımı altında çözücüsü uçuruldu, 1 ml hekzan ile çözülerek 2 ml’lik ağız kapaklı otosampler vialleri içine alınarak gaz kromatografisinde analiz edildi.

2.6.8. Yağ Asidi Metil Esterlerinin Gaz kromatografik Analizi

Lipit ekstraktı içindeki yağ asitleri metil esterlerine dönüştürüldükten sonra SHIMADZU GC 17 gaz kromatografisi ile analiz edildi. Bu analiz için 25 m uzunluğunda, 0,25 µm iç çapında ve PERMABOND 25 mikron film kalınlığına sahip Machery-Nagel (Germany) kapiller kolon kullanıldı.

Analiz sırasında kolon sıcaklığı 120–220 °C, enjeksiyon sıcaklığı 240 °C ve dedektör sıcaklığı 280 °C olarak tutuldu. Kolon sıcaklık programı 120 °C’den 220 °C’ye kadar

ayarlandı. Sıcaklık artışı 200 °C'ye kadar 5 °C /dk ve 200 °C'den 220 °C'ye kadar 4 °C /dk olarak belirlendi. 220 °C'de 8 dakika tutuldu ve toplam süre 35dk olarak belirlendi. Taşıyıcı gaz olarak azot gazı kullanıldı. Analiz sırasında örneklere ait yağ asidi metil esterlerinin analizinden önce, standart yağ asidi metil esterlerine ait karışımlar enjekte edilerek, her bir yağ asidinin alıkonma süreleri belirlendi. Bu işlemden sonra gerekli progamlama yapılarak örnekler ait yağ asidi metil esterleri karışımlarının analizi yapıldı [39].

2.6.9. Dokularda ADEK Vitaminleri ve Kolesterol Miktarının HPLC Cihazı ile Analizi

5 ml süpernatant 25 ml 'lik ağzı kapaklı tüpler içine alınarak üzerine % 5'lik KOH çözeltisi ilave edildi. Vortekslendikten sonra 85 C°de 15 dk bekletildi. Tüpler çıkartılarak oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve üzerine 5ml saf su ilave edildi ve karıştırıldı. Sabunlaşmayan lipofilik moleküller 2x5 ml hekzan ile ekstrakte edildi. Hekzan fazı azot akımı ile uçuruldu. 1 ml (% 50 + % 50, v/v) asetonitril/metanol karışımında çözülerek otosampler viallerine alındı ve analiz edildi.

Analiz, Shimadzu marka HPLC cihazı ile yapıldı. Cihazda pompa olarak LC-10 ADVP UV-visible detektör olarak SPD-10AVP, kolon firmı olarak CTO-10ASVP, otosampler olarak SIL-10ADVP, degasser ünitesi olarak DGU-14A ve Class VP software (Shimadzu, Kyota Japan). Mobil faz olarak asetonitril/metanol (%60+%40, v/v) karışımı kullanıldı. Mobil faz akış hızı 1 ml olarak belirlendi. Analiz için UV dedektör kullanıldı. Kolon olarak da Süpelcosil LC 18 (15×4.6 cm, 5 µm; Sigma, USA) kolonu kullanıldı. A vitamini için dedeksiyon dalga boyu 326 nm, E vitamini için 202 nm, D ve K vitaminleri için 265 nm kullanıldı [141].

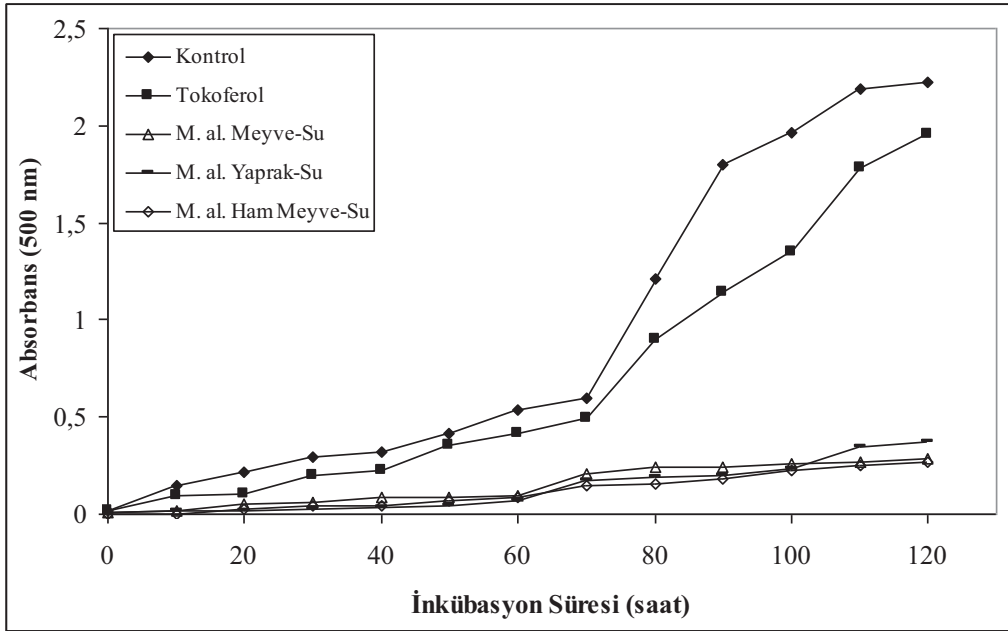
2.7. İstatistik Analizi

İstatistik analizi için, SPSS 15.0 software programı kullanıldı. Kontrol grubu ile deneysel gruplar arasındaki karşılaştırma varyans analizi (ANOVA) ve LSD testleri kullanılarak yapıldı. Sonuçlar mean ± SEM olarak verildi. Gruplar arasındaki farklılıklarda p<0.01, p<0.05, p<0.001 ve p<0.0001 değerleri kullanıldı.

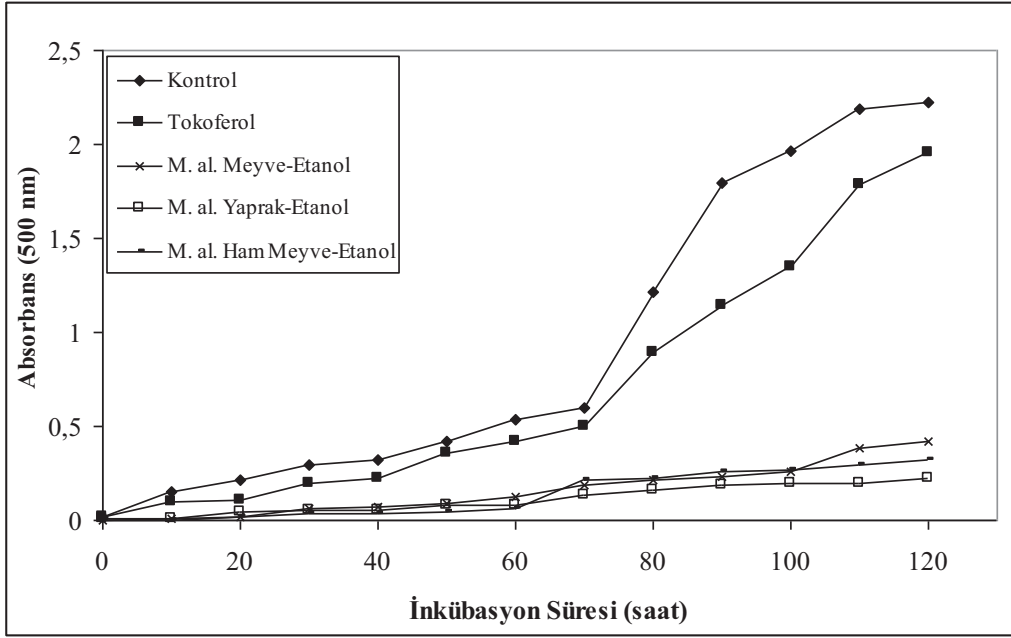
3. ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1. Total Antioksidant Aktivite Tayini İle İlgili Bulgular

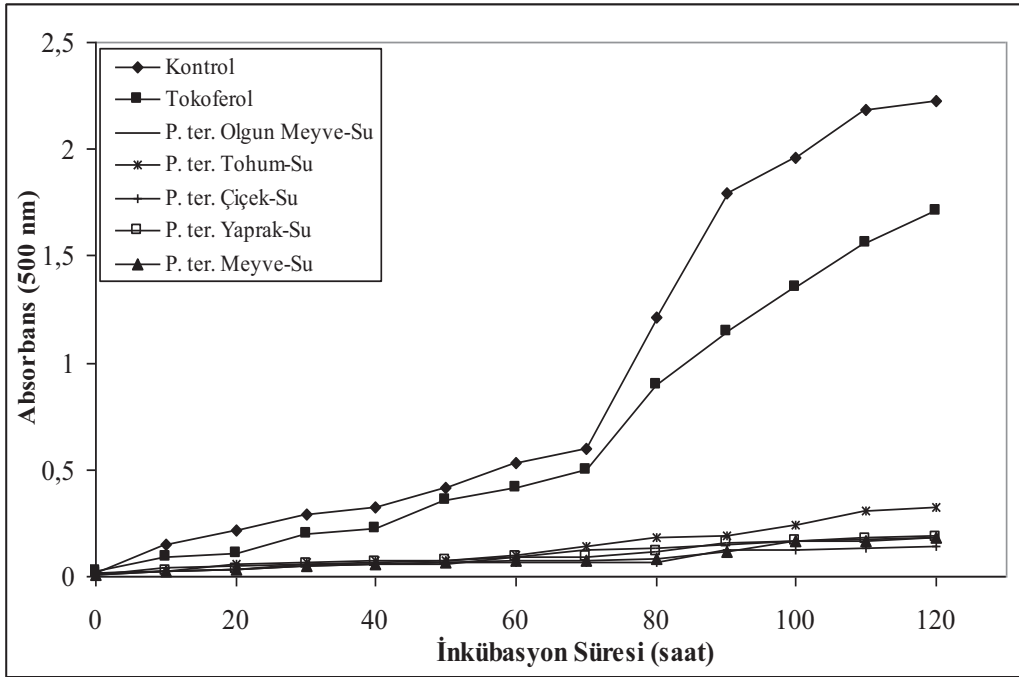
Deneylerde kullanılan materyallerin total antioksidan aktiviteleri “tiyosiyanat metoduna” göre belirlendi. Bu metot, linoleik asit emülsiyonunda oksidasyon sonucu oluşan peroksidin spektrofotometrik olarak 500 nm’de ölçülmesi esasına dayanır. Yüksek absorbans, peroksidasyon sonucu oluşan peroksit miktarının fazlalığını göstermektedir. Antioksidant aktiviteler her bir ekstrenin 100 µg miktarlarının içinde bulunduğu çözeltilerin absorbansları ölçülerek belirlendi (Şekil 3.1-Şekil 3.6).



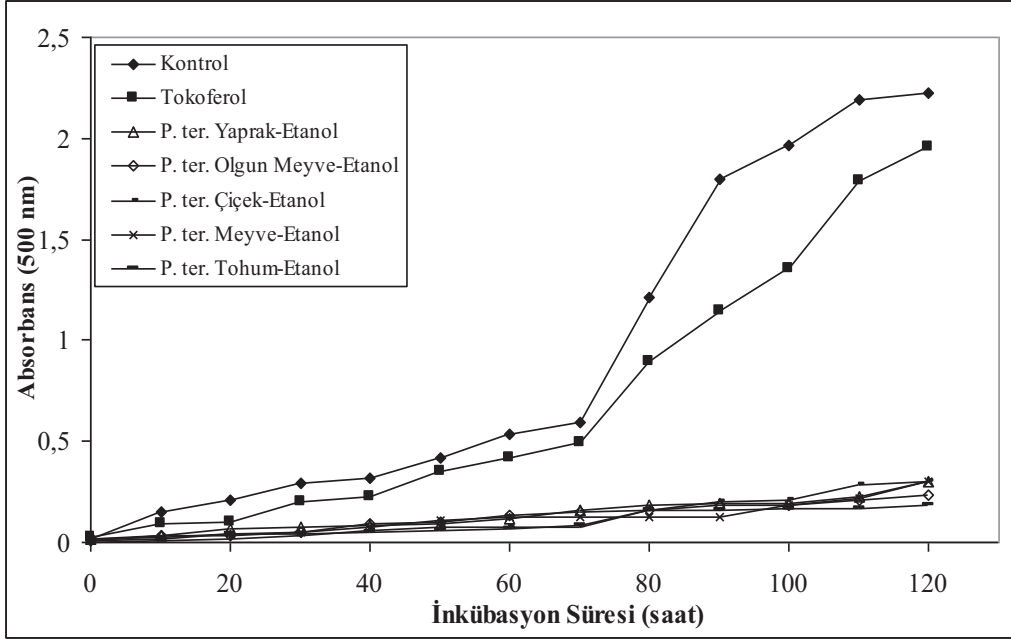
Şekil 3.1. *Morus alba*'nın su ekstralarının antioksidan aktiviteleri ve doğal bir antioksidant olan α -tokoferol ile karşılaştırılması



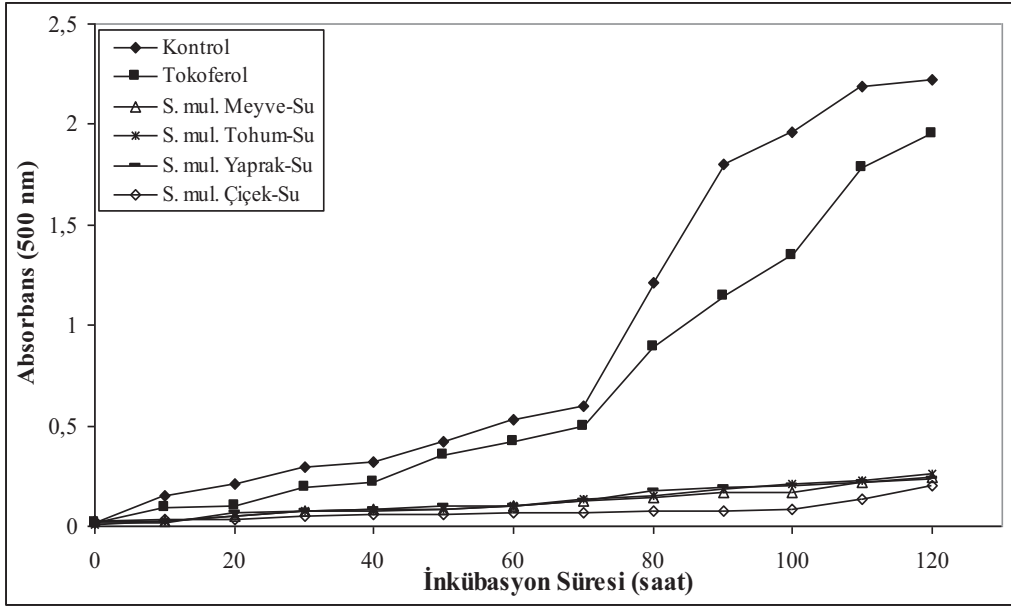
Şekil 3.2. *Morus alba*'nın etanol ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri ve doğal bir antioksidant olan α -tokoferol ile karşılaştırılması



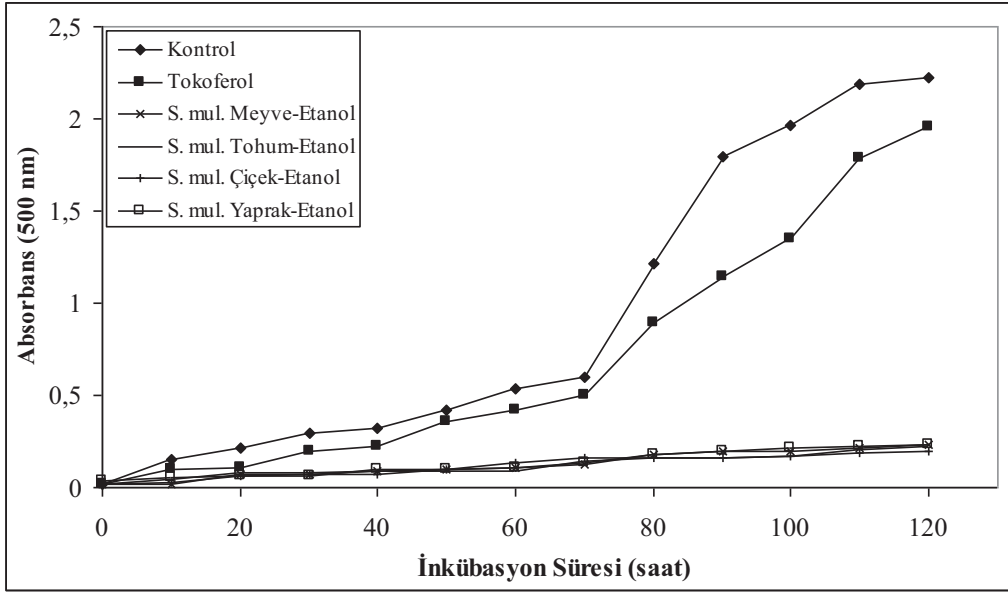
Şekil 3.3. *Pistacia terebinthus*'un su ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri ve doğal bir antioksidant olan α -tokoferol ile karşılaştırılması



Şekil 3.4. *Pistacia terebinthus*' un etanol ekstralarının antioksidan aktiviteleri ve doğal bir antioksidant olan α -tokoferol ile karşılaştırılması

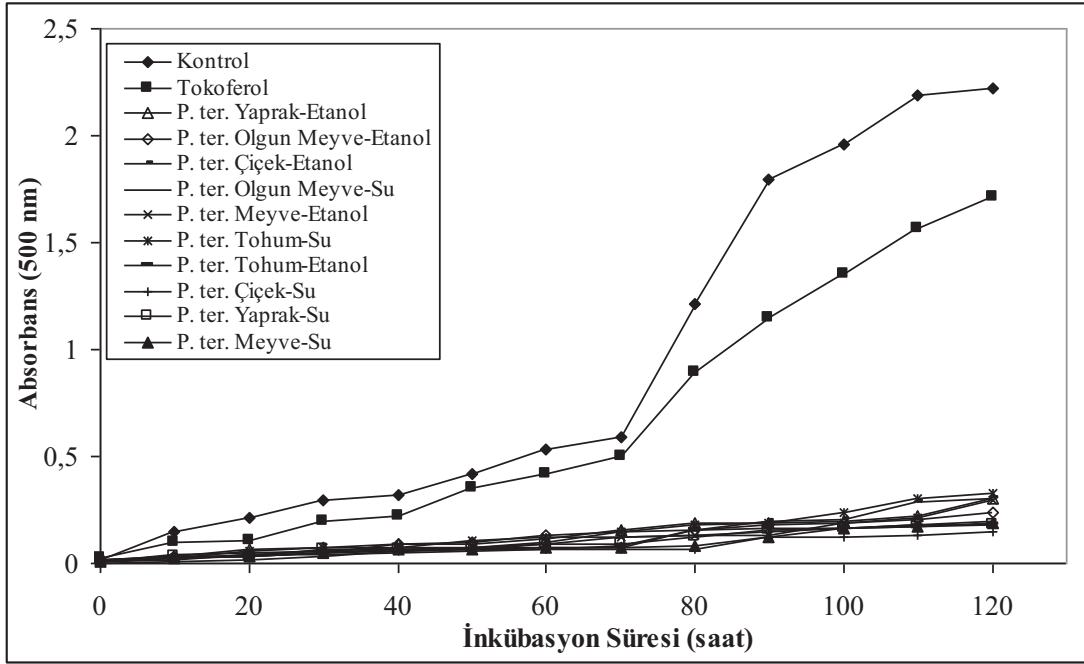


Şekil 3.5. *Salvia multicaulis*' in su ekstralarının antioksidan aktiviteleri ve doğal bir antioksidant olan α -tokoferol ile karşılaştırılması

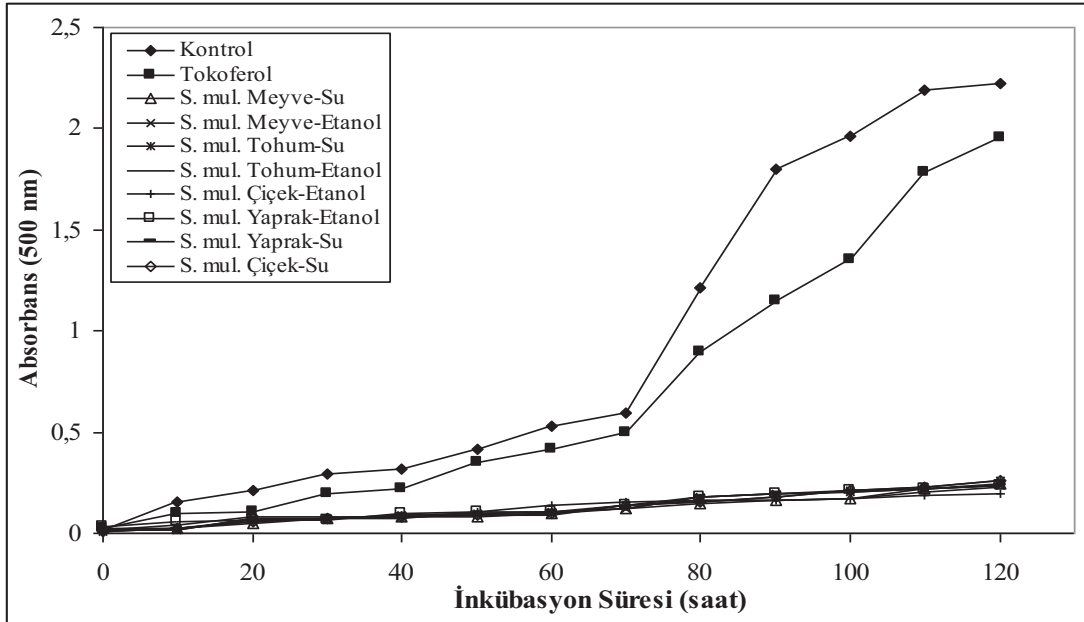


Şekil 3.6. *Salvia multicaulis*' in etanol ekstralarının antioksidan aktiviteleri ve doğal bir antioksidant olan α -tokoferol ile karşılaştırılması

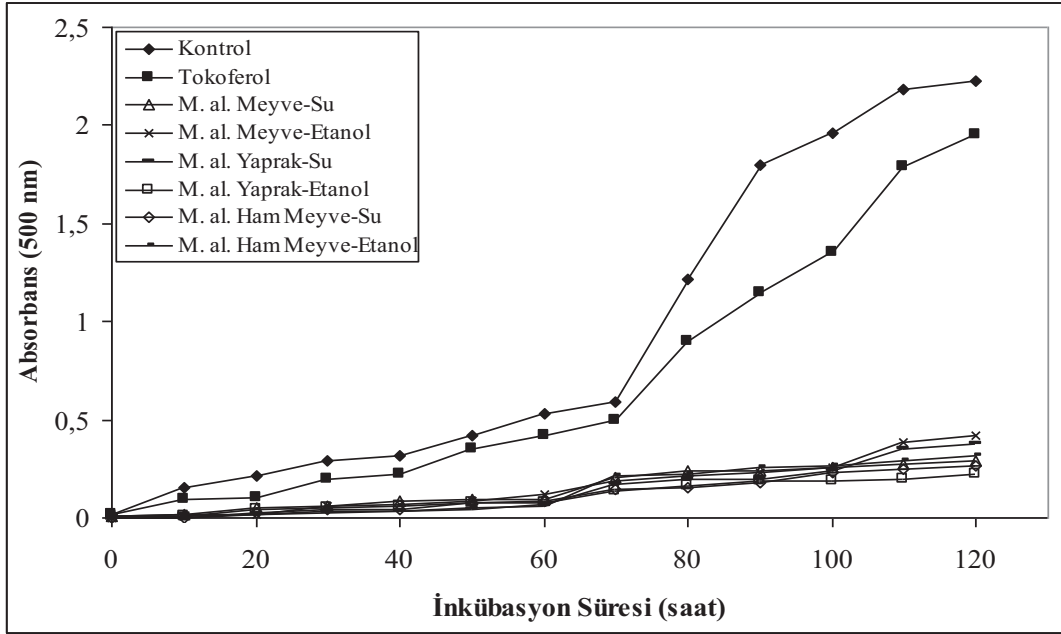
Yukarıdaki şekillerde görüldüğü (Şekil 3.1-3.6) gibi bütün ekstralardan, 110. saat itibariyle en iyi antioksidant aktiviteyi gösteren ekstre *Pistacia terebinthus* çiçeklerinin su ekstresi olduğu bulunmuştur. Bitkilerin bütün ekstralarının toplam antioksidan aktiviteleri Şekil 3.7-3.9'da görülmektedir. Ayrıca 100 μ g'lık bitki ekstralarının inkübasyonunun 110. saat itibariyle peroksidasyonu inhibe etme yüzdeleri Şekil 3.10'da, bunların büyükten küçüğe doğru sıralanışı ise Tablo 3.1'de gösterilmektedir. Buna göre kontrolde oluşan peroksidasyonu en fazla *Pistacia terebinthus* çiçeklerinin su ekstresi inhibe etmektedir (%93.9). En düşük peroksidasyonu inhibe etme yüzdesi ise *Morus alba* meyve etanol ekstreside görülmüştür (%82.5). Doğal ve standart bir antioksidant olan α -tokoferol ile kıyaslama yapıldığında ise ekstraların tamamı α -tokoferolden (% 28.5) daha fazla peroksidasyonu inhibe etmektedirler.



Şekil 3.7. *Pistacia terebinthus*' un su ve etanol ekstralarının antioksidan aktivitelerinin aynı şekil üzerinde gösterilmesi ve doğal bir antioksidant olan α -tokoferol ile karşılaştırılması



Şekil 3.8. *Salvia multicaulis*' in su ve etanol ekstralarının antioksidan aktivitelerinin aynı şekil üzerinde gösterilmesi ve doğal bir antioksidant olan α -tokoferol ile karşılaştırılması



Şekil 3.9. *Morus alba*'nın su ve etanol ekstralarının antioksidan aktivitelerinin aynı şekil üzerinde gösterilmesi ve doğal bir antioksidant olan α -tokoferol ile karşılaştırılması

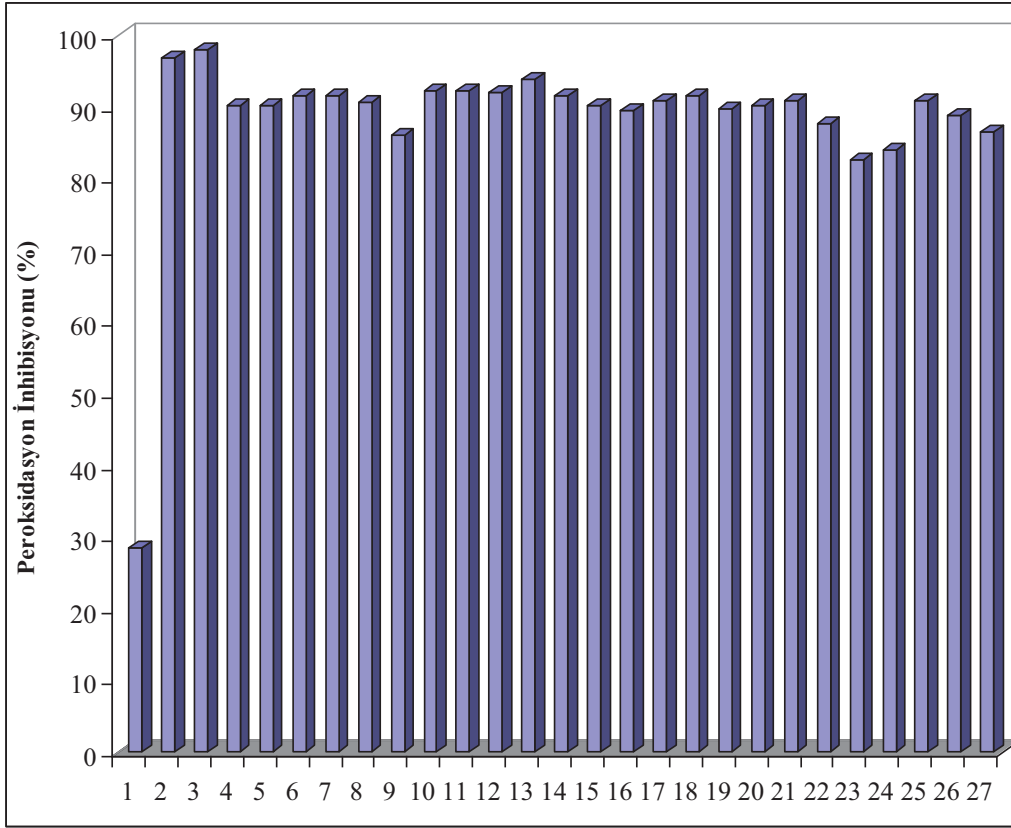
Ayrıca kontrol absorbansının maksimuma ulaştığı zaman olan 110. saat itibariyle ekstraların peroksidasyonu inhibe etme yüzdeleri aşağıdaki eşitlik yardımıyla hesaplanarak sonuçlar Şekil 3.10 ve Tablo 3.1' de verilmiştir.

$$\% I = [(A_o - A_c) / A_o] \times 100$$

I : İnhibisyon

A_o : Kontrolün absorbans değeri

A_c : Numunenin absorbans değeri



Şekil 3.10. Bitkilerin su ve etanol ekstralarının 100 µg' nın inkübasyonun 110. saat itibariyle peroksidasyonu inhibe etme yüzdeleri. **1.** α-Tokoferol **2.** BHA **3.** BHT **4.** *Pistacia terebinthus* Yaprak Etanol **5.** *Pistacia terebinthus* Meyve Etanol **6.** *Pistacia terebinthus* Çiçek Etanol **7.** *Pistacia terebinthus* Olgun Meyve Su **8.** *Pistacia terebinthus* Olgun Meyve Etanol **9.** *Pistacia terebinthus* Tohum Su **10.** *Pistacia terebinthus* Tohum Etanol **11.** *Pistacia terebinthus* Meyve Su **12.** *Pistacia terebinthus* Yaprak Su **13.** *Pistacia terebinthus* Çiçek Su **14.** *Salvia multicaulis* Meyve Su **15.** *Salvia multicaulis* Meyve Etanol **16.** *Salvia multicaulis* Tohum Su **17.** *Salvia multicaulis* Tohum Etanol **18.** *Salvia multicaulis* Çiçek Etanol **19.** *Salvia multicaulis* Yaprak Etanol **20.** *Salvia multicaulis* Yaprak Su **21.** *Salvia multicaulis* Çiçek Su **22.** *Morus alba* Meyve Su **23.** *Morus alba* Meyve Etanol **24.** *Morus alba* Yaprak Su **25.** *Morus alba* Yaprak Etanol **26.** *Morus alba* Ham Meyve Su **27.** *Morus alba* Ham Meyve Etanol

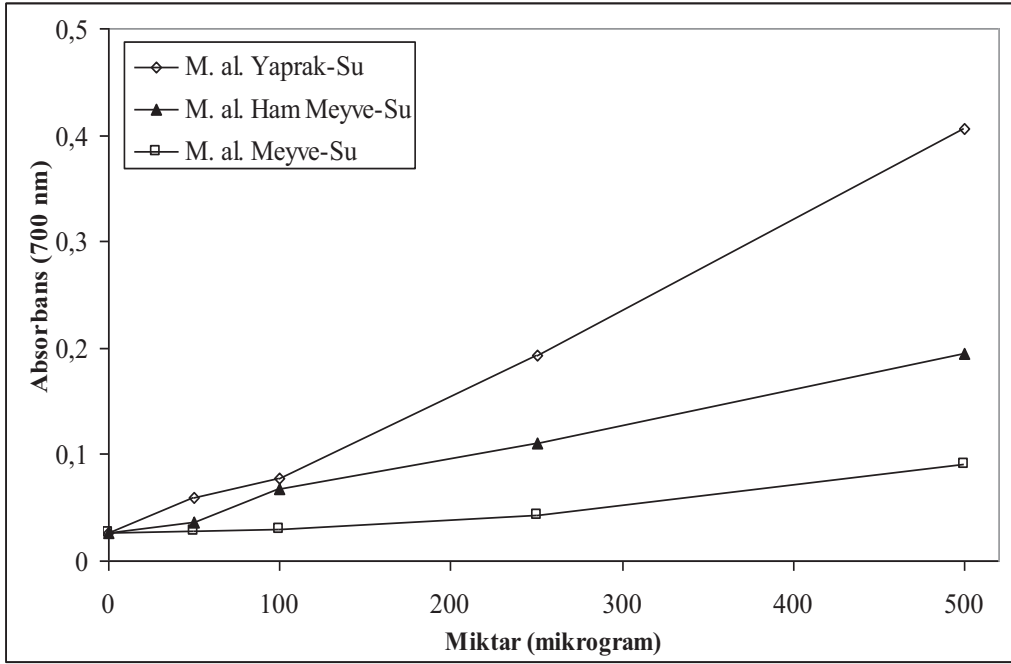
Tablo 3.1. Bitkilerin su ve etanol ekstratlarının 100 µg' nın inkübasyonun 110. saat itibariyle peroksidasyonu inhibe etme yüzdeleri

Ekstrenin Adı	% İnhibisyon
BHT	97.9
BHA	96.8
<i>Pistacia terebinthus</i> Çiçek Su	93.9
<i>Pistacia terebinthus</i> Meyve Su	92.2
<i>Pistacia terebinthus</i> Tohum Etanol	92.2
<i>Pistacia terebinthus</i> Yaprak Su	91.9
<i>Pistacia terebinthus</i> Olgun Meyve Su	91.6
<i>Salvia multicaulis</i> Çiçek Etanol	91.5
<i>Salvia multicaulis</i> Meyve Su	91.5
<i>Morus alba</i> Yaprak Etanol	90.9
<i>Salvia multicaulis</i> Çiçek Su	90.8
<i>Salvia multicaulis</i> Meyve Etanol	90.08
<i>Salvia multicaulis</i> Tohum Etanol	90.8
<i>Salvia multicaulis</i> Yaprak Su	90.07
<i>Pistacia terebinthus</i> Olgun Meyve Etanol	90.5
<i>Pistacia terebinthus</i> Meyve Etanol	90.2
<i>Pistacia terebinthus</i> Yaprak Etanol	90.2
<i>Salvia multicaulis</i> Yaprak Etanol	89.8
<i>Salvia multicaulis</i> Tohum Su	89.4
<i>Morus alba</i> Ham Meyve Su	88.7
<i>Morus alba</i> Meyve Su	87.6
<i>Pistacia terebinthus</i> Çiçek Etanol	86.9
<i>Morus alba</i> Ham Meyve Etanol	86.5
<i>Pistacia terebinthus</i> Tohum Su	86.0
<i>Morus alba</i> Yaprak Su	84.04
<i>Morus alba</i> Meyve Etanol	82.5
α-Tokoferol	28.5

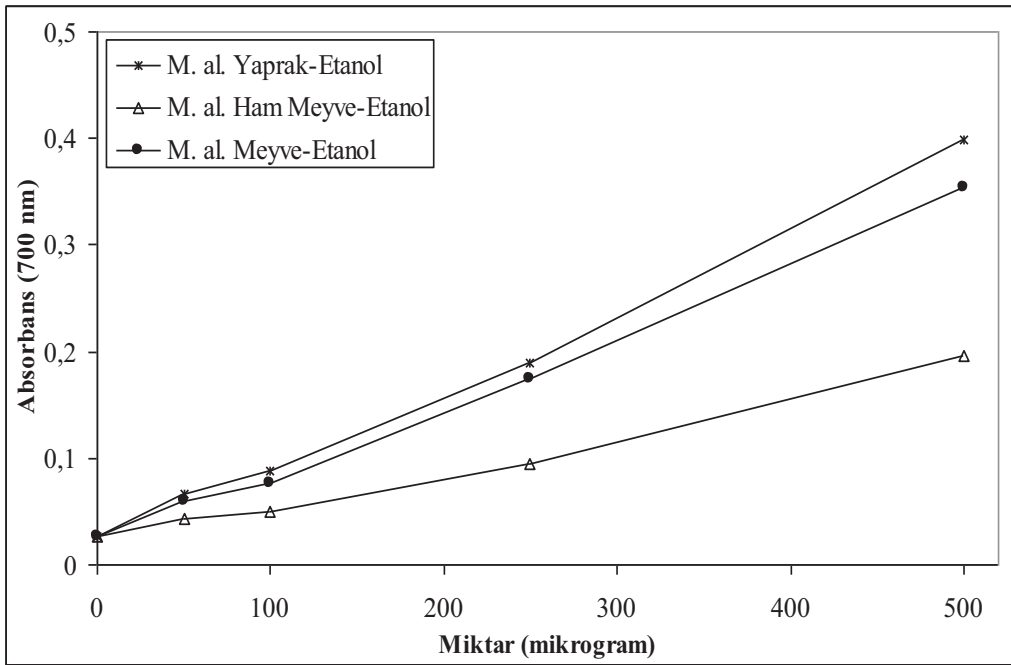
3.2. İndirgeme Kuvveti Tayini İle İlgili Bulgular

Çalışmada kullanılan bütün ekstrelerin indirgeme kuvveti Oyaizu metoduna (1986) göre, Fe^{+3} 'ün Fe^{+2} 'ye dönüşümüne göre yapıldı. Bir bileşik veya ekstrenin indirgeme kapasitesi, o bileşik veya ekstrenin antioksidan aktivitesinin önemli bir indikatörü olarak bilinir [142]. Antioksidan bileşiklerin aktiviteleri, radikalik zincir reaksiyonlarını önleme, metal iyonlarını şelatlama, peroksit oluşumunu engelleme, radikal giderme veya indirgeme kuvveti gibi temel antioksidatif özelliklerden kaynaklanmaktadır [143,144].

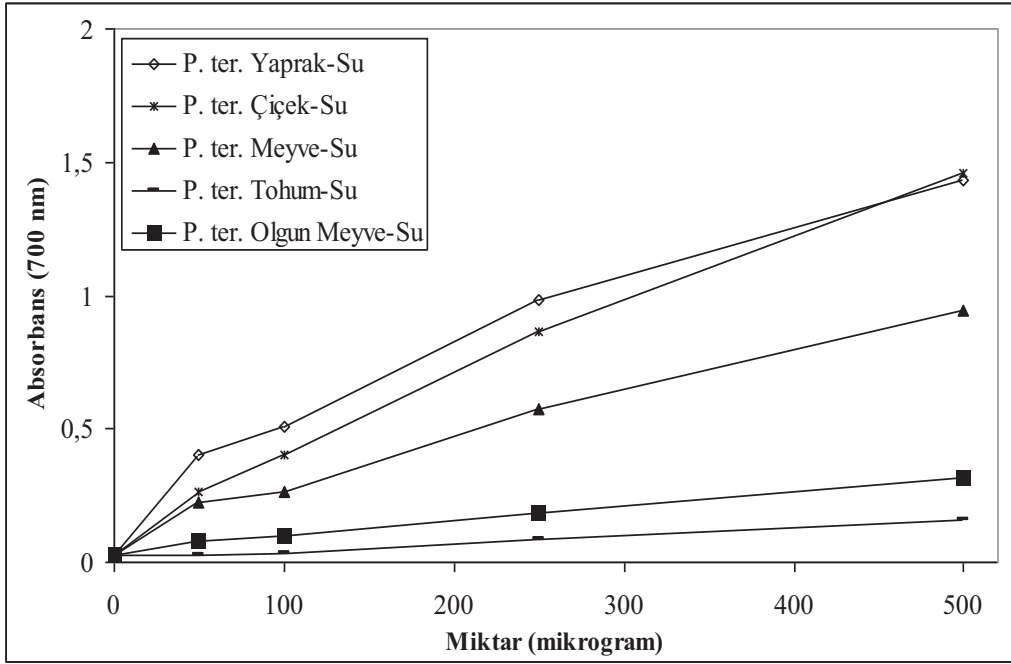
Ekstrelerin indirgeme kapasiteleri, total antioksidant aktivitede olduğu gibi ekstrenin miktarına bağlı olarak artmaktadır. İndirgeme kuvveti her bir ekstreden 50, 100, 250, 500 μg 'larının içinde bulunduğu test çözeltilerinin 700 nm'de absorbanları ölçülerek belirlenmiştir (Şekil 3.11-Şekil 3.16). *M. alba*'nın su ve etanol ekstrelerinde en yüksek indirgeme kuvveti yapraklarda gözlenirken, *P. terebinthus*'un su ve etanol ekstrelerinde en yüksek indirgeme kuvveti çiçeklerde gözlenmiştir. *S. multicaulis*'in ekstrelerinde ise en yüksek indirgeme kuvveti yaprakların su ekstresinde, meyvelerin etanol ekstresinde gözlenmiştir. İndirgeme kuvvetlerinin karşılaştırması için bütün ekstrelerin indirgeme kuvvetleri aynı şekilde ölçülmüştür. Tablo 3.2'de görüldüğü gibi 100 μg dozajda çalışılan bütün ekstreler içinde en yüksek indirgeme kuvveti *P. terebinthus* çiçeklerinin etanol ekstresinde gözlenmiştir.



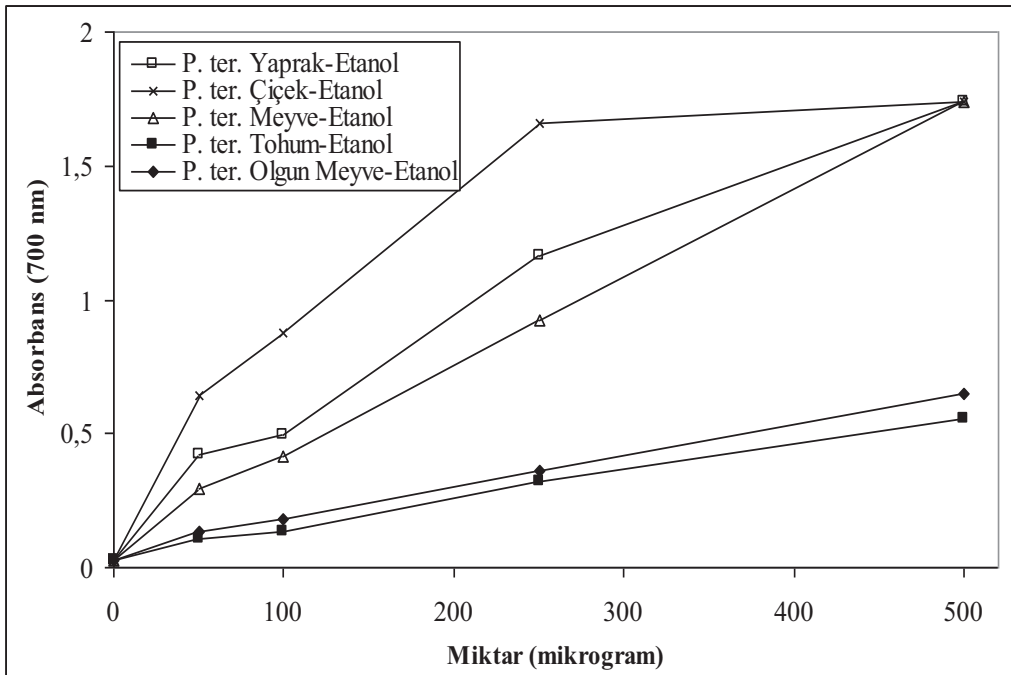
Şekil 3.11. *Morus alba*'nın su ekstralarının indirgeme kuvvetleri



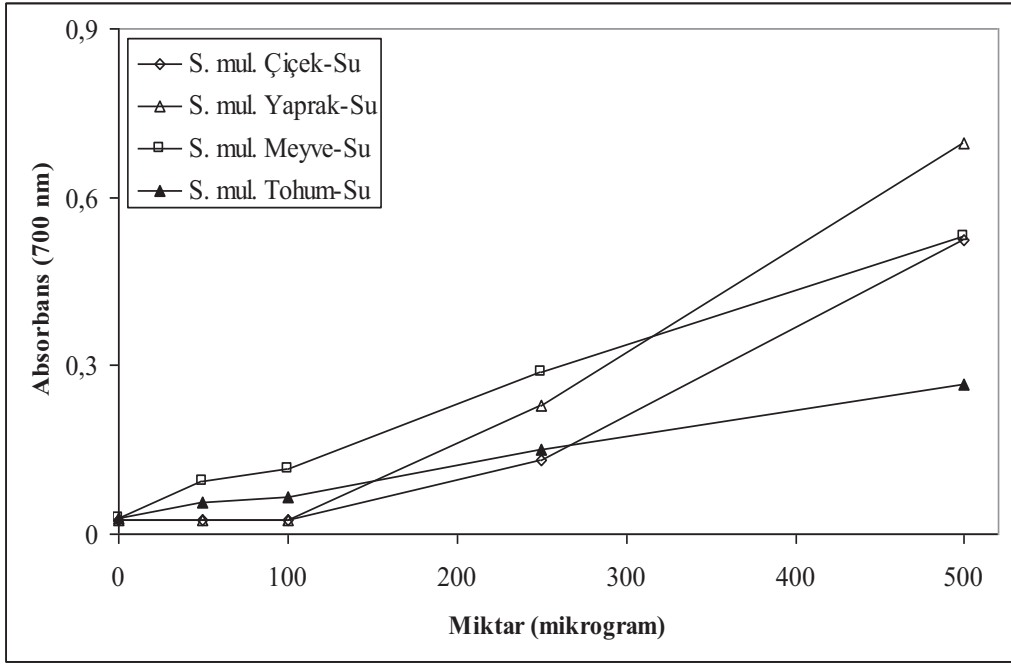
Şekil 3.12. *Morus alba*'nın etanol ekstralarının indirgeme kuvvetleri



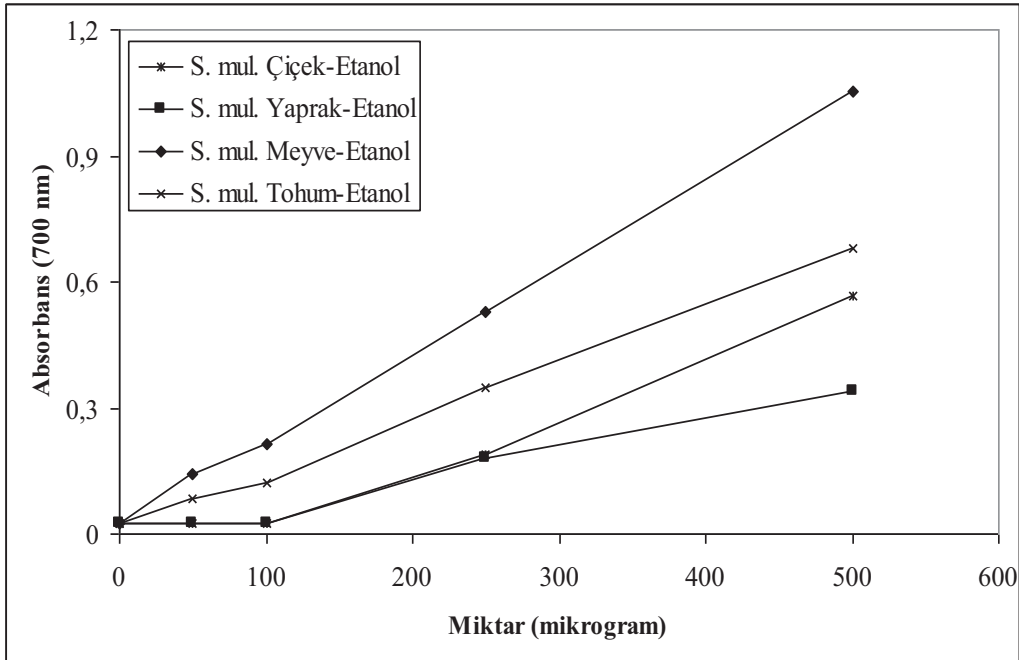
Şekil 3.13. *Pistacia terebinthus*'un su ekstralarının indirgeme kuvvetleri



Şekil 3.14. *Pistacia terebinthus*'un etanol ekstralarının indirgeme kuvvetleri



Şekil 3.15. *Salvia multicaulis*'in su ekstrlerinin indirgeme kuvvetleri



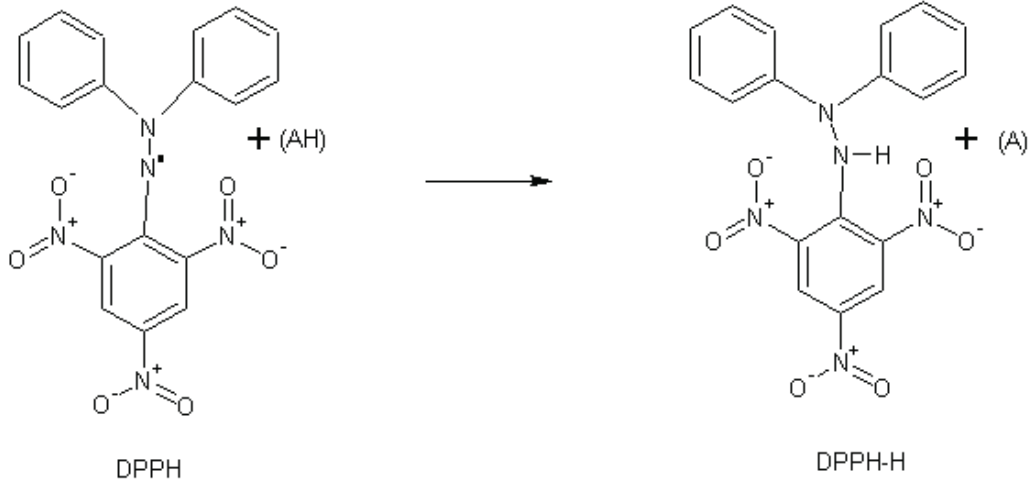
Şekil 3.16. *Salvia multicaulis*'in etanol ekstrlerinin indirgeme kuvvetleri

Tablo 3.2. Ekstrelerin 100 µg'larının indirgeme kuvvetlerinin büyükten küçüğe doğru sıralanışı

Numunenin Adı	İndirgeme Kuvveti (100 µg)
<i>Pistacia terebinthus</i> Çiçek Etanol	0.878
Kuercetin	0,596
<i>Pistacia terebinthus</i> Yaprak Su	0.511
<i>Pistacia terebinthus</i> Yaprak Etanol	0.497
<i>Pistacia terebinthus</i> Meyve Etanol	0.412
<i>Pistacia terebinthus</i> Çiçek Su	0.402
<i>Pistacia terebinthus</i> Meyve Su	0.264
<i>Salvia multicaulis</i> Meyve Etanol	0.213
<i>Pistacia terebinthus</i> Olgun Meyve Etanol	0.181
<i>Pistacia terebinthus</i> Tohum Etanol	0.136
<i>Salvia multicaulis</i> Tohum Etanol	0.123
<i>Salvia multicaulis</i> Meyve Su	0.116
<i>Pistacia terebinthus</i> Olgun Meyve Su	0.101
<i>Morus alba</i> Yaprak Etanol	0.088
<i>Morus alba</i> Yaprak Su	0.077
<i>Morus alba</i> Meyve Etanol	0.077
<i>Morus alba</i> Ham Meyve Su	0.068
<i>Salvia multicaulis</i> Tohum Su	0.066
<i>Morus alba</i> Ham Meyve Etanol	0.05
<i>Pistacia terebinthus</i> Tohum Su	0.035
<i>Morus alba</i> Meyve Su	0.029
<i>Salvia multicaulis</i> Çiçek Su	0.024
<i>Salvia multicaulis</i> Çiçek Etanol	0.024
<i>Salvia multicaulis</i> Yaprak Su	0.024
<i>Salvia multicaulis</i> Yaprak Etanol	0.024
Kontrol	0.024

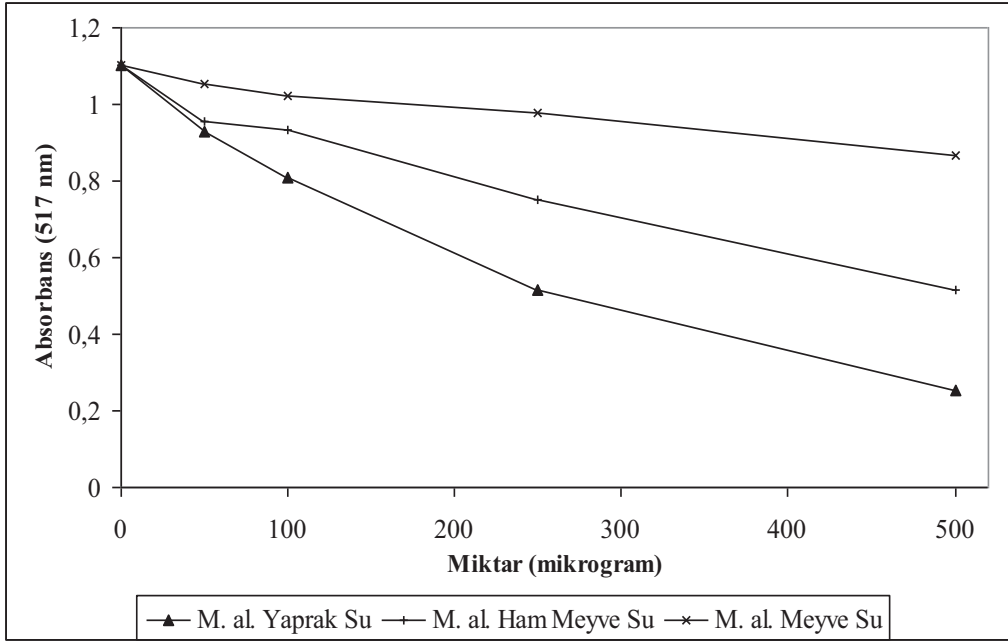
3.3. Serbest Radikal (DPPH[•]) Giderme Aktivitesi Tayini İle İlgili Bulgular

DPPH[•] (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) bir serbest radikaldir ve bir elektron veya bir hidrojen radikali ile etkileşerek stabil bir diamanyetik bir molekül olma eğilimindedir [131,144]. DPPH[•] radikalleri miktarındaki meydana gelen azalma, 517 nm'de spektrofotometrik olarak tayin edilebilmektedir. Bu yüzden DPPH[•] radikali, antioksidan aktivite tayininde sıklıkla kullanılır. Ortamda bulunan radikal giderici veya söndürücü antiradikal türlerin (AH)_n varlığında koyu menekşe renginde olan DPPH[•] radikalleri şekilde de görüldüğü gibi açık sarı renkli olan indirgenmiş DPPH formuna (DPPH-H) dönüşmektedir (Şekil 3.17). Bu indirgenmiş formdaki DPPH ise 517 nm'de maksimum absorbans göstermektedir.

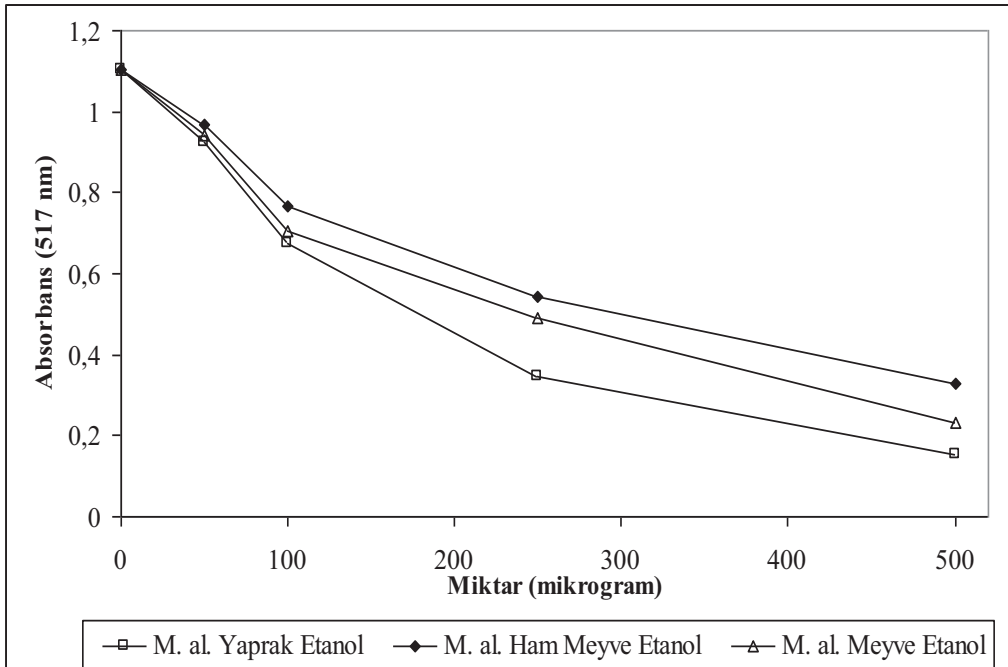


Şekil 3.17. Bir antiradikal (AH)_n tarafından DPPH[•] radikallerinin giderilmesi [(AH)_n: Antiradikal, DPPH-H: İndirgenmiş DPPH[•] formu]

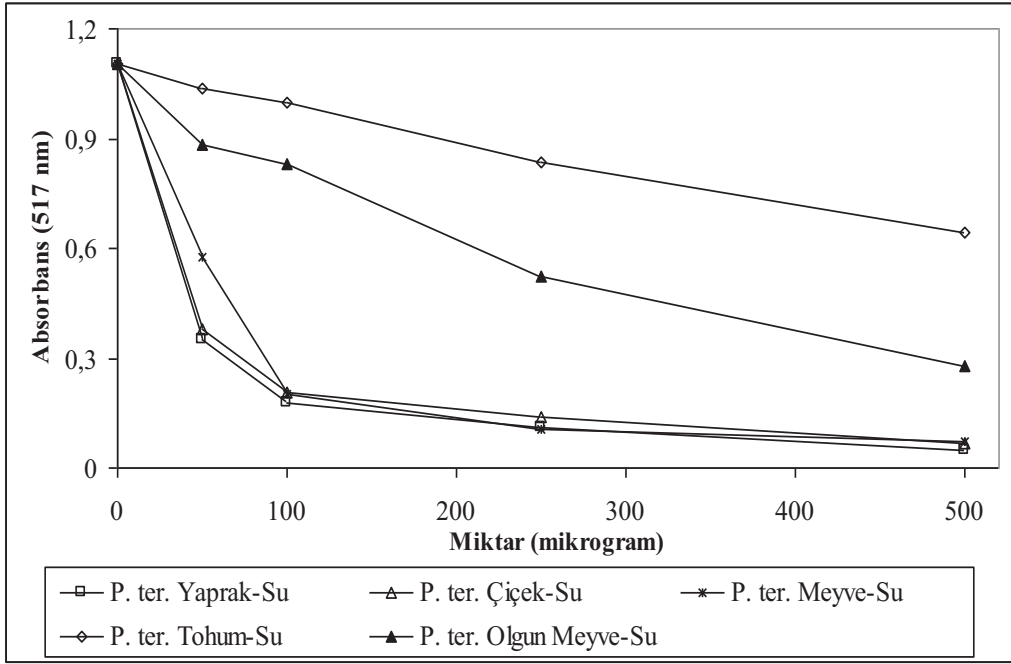
DPPH[•] radikallerinin giderilmesi aktivitesi de konsantrasyon ile ekstre miktarı ile doğru orantılı olarak artmaktadır (Şekil 3.18-Şekil 3.23). En yüksek DPPH[•] radikallerinin giderilme aktivitesi *P. terebinthus*'un çiçek etanol ekstresinde ve yaprak etanol ekstresinde gözlenmiştir (Tablo 3.3).



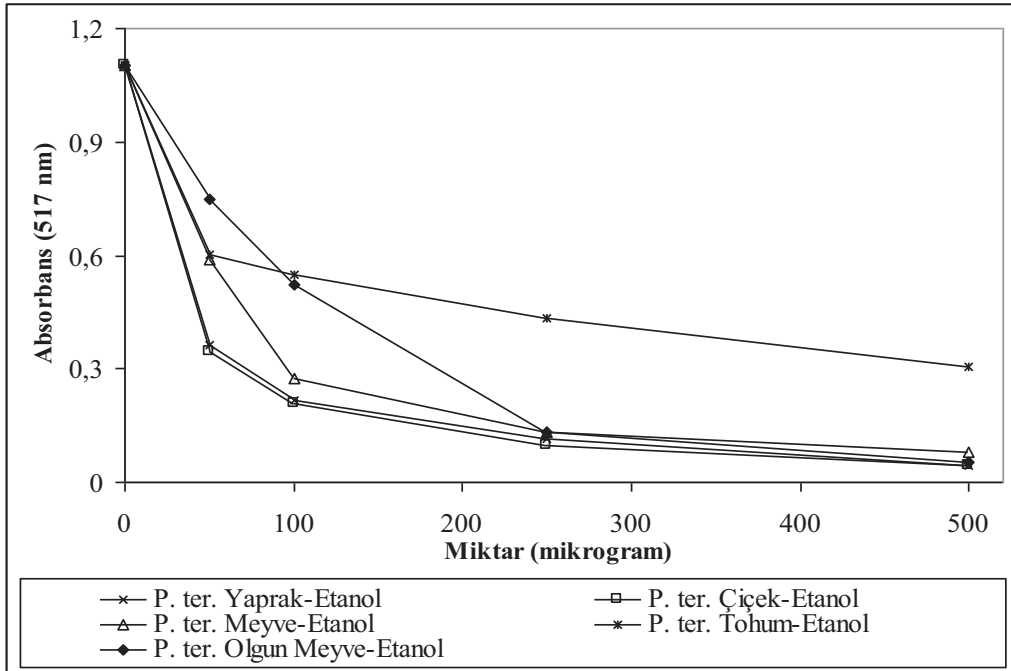
Şekil 3.18. *Morus alba*'nın su ekstrelerinin DPPH radikali giderme aktivitesi



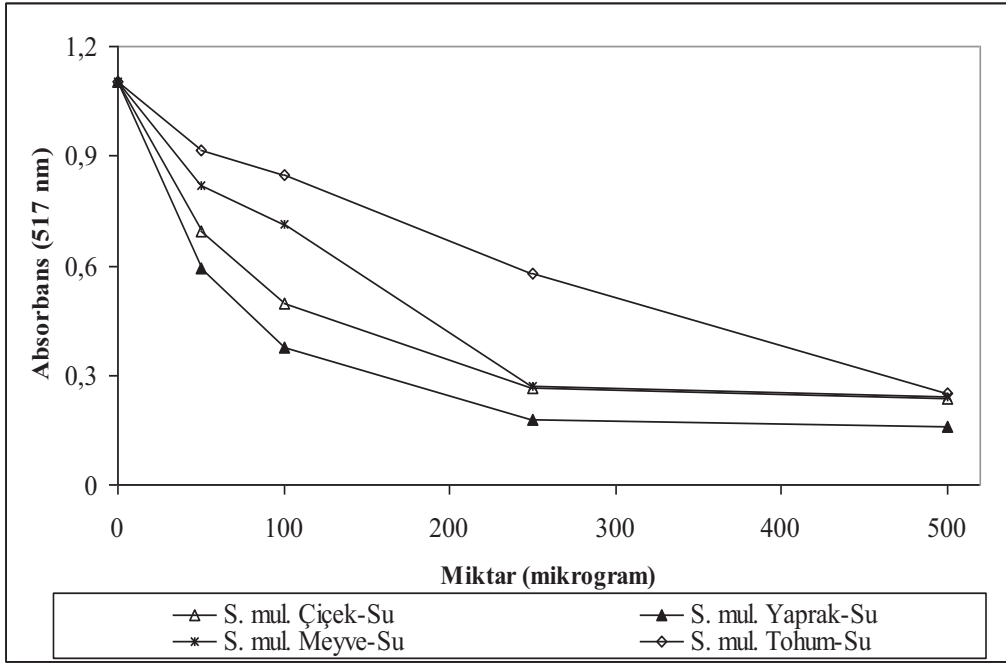
Şekil 3.19. *Morus alba*'nın etanol ekstrelerinin DPPH radikali giderme aktivitesi



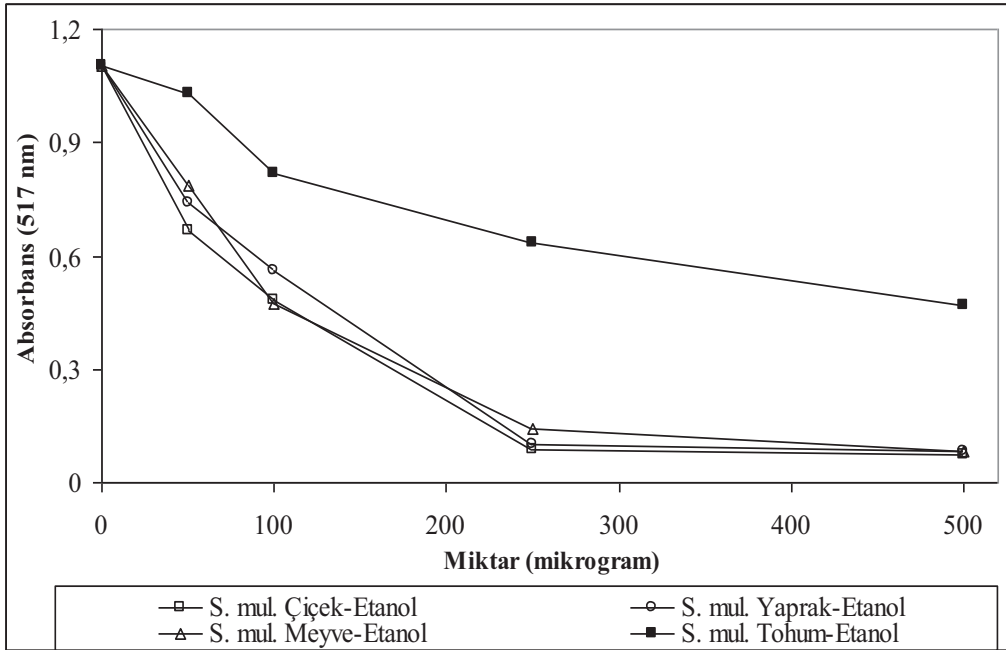
Şekil 3.20. *Pistacia terebinthus*'un su ekstralarının DPPH radikali giderme aktivitesi



Şekil 3.21. *Pistacia terebinthus*'un etanol ekstralarının DPPH radikali giderme aktivitesi



Şekil 3.22. *Salvia multicaulis*'in su ekstrlerinin DPPH radikali giderme aktivitesi



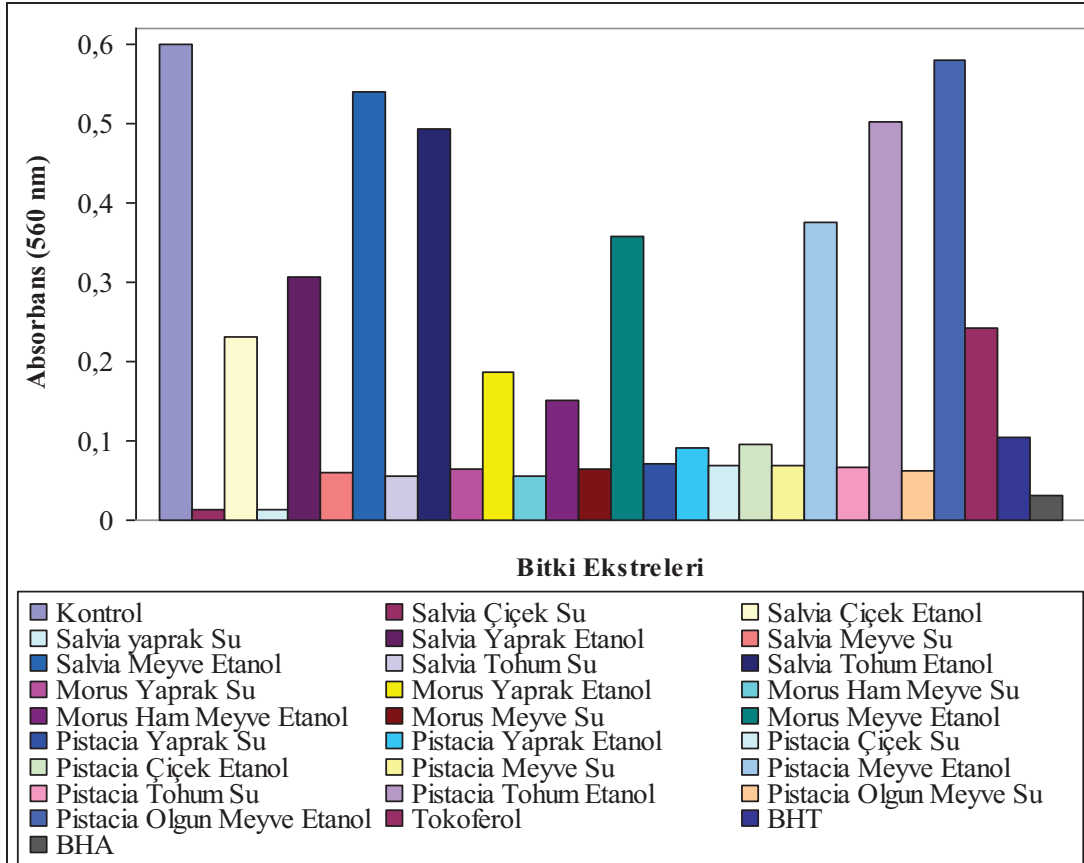
Şekil 3.23. *Salvia multicaulis*'in etanol ekstrlerinin DPPH radikali giderme aktivitesi

Tablo 3.3. 500 µg'lık bitki ekstralarının (DPPH^{*}) serbest radikalini inhibe etme yüzdeleri

Numunenin Adı	% İnhibisyon
α-tokoferol	96.9
<i>Pistacia terebinthus</i> Çiçek Etanol	95.5
<i>Pistacia terebinthus</i> Yaprak Etanol	95.4
<i>Pistacia terebinthus</i> Yaprak Su	95
<i>Pistacia terebinthus</i> Olgun Meyve Etanol	94.7
<i>Pistacia terebinthus</i> Çiçek Su	93.4
<i>Salvia multicaulis</i> Çiçek Etanol	92.7
<i>Pistacia terebinthus</i> Meyve Su	92.6
<i>Pistacia terebinthus</i> Meyve Etanol	92
<i>Salvia multicaulis</i> Yaprak Etanol	91.9
<i>Salvia multicaulis</i> Meyve Etanol	91.6
<i>Morus alba</i> Yaprak Etanol	84.7
<i>Salvia multicaulis</i> Yaprak Su	83.9
<i>Morus alba</i> Meyve Etanol	77
<i>Salvia multicaulis</i> Çiçek Su	76.6
<i>Salvia multicaulis</i> Meyve Su	75.7
<i>Salvia multicaulis</i> Tohum Su	74.9
<i>Morus alba</i> Yaprak Su	74
<i>Pistacia terebinthus</i> Olgun Meyve Su	72.3
<i>Pistacia terebinthus</i> Tohum Etanol	69.5
<i>Morus alba</i> Ham Meyve Etanol	67
<i>Salvia multicaulis</i> Tohum Etanol	53
<i>Morus alba</i> Ham Meyve Su	48.5
<i>Pistacia terebinthus</i> Tohum Su	35.8
<i>Morus alba</i> Meyve Su	13

3.4. Süperoksit Radikali Giderme Aktivitesi Tayini İle İlgili Bulgular

PMS/NADH-NBT sisteminde, PMS/NADH çifti tarafından meydana getirilen süperoksit anyonlarının NBT'yi indirgeme reaksiyonlarına dayanmaktadır. İndirgenmiş NBT ürünü ise 560 nm'de maksimum aktivite göstermektedir. Reaksiyon karışımında 560 nm'deki absorbans azalması, süperoksit anyonlarının giderildiğini ve dolayısıyla antioksidant aktiviteyi göstermektedir. Şekil 3.24 ve Tablo 3.4'te görüldüğü gibi en yüksek süperoksit anyonu radikali giderme aktivitesi *S. multicaulis* çiçeklerinin su ekstresinde gözlenirken, en düşük süperoksit anyonu radikali giderme aktivitesi *P. terebinthus* olgun meyvelerinin etanol ekstresinde gözlenmiştir.



Şekil 3.24. 100 µg'lık bitki ekstralarının süperoksit radikali giderme aktivite testi sonuçları

Tablo 3.4. Bitki ekstralarının 100 µg'nın % süperoksit radikali giderme aktiviteleri

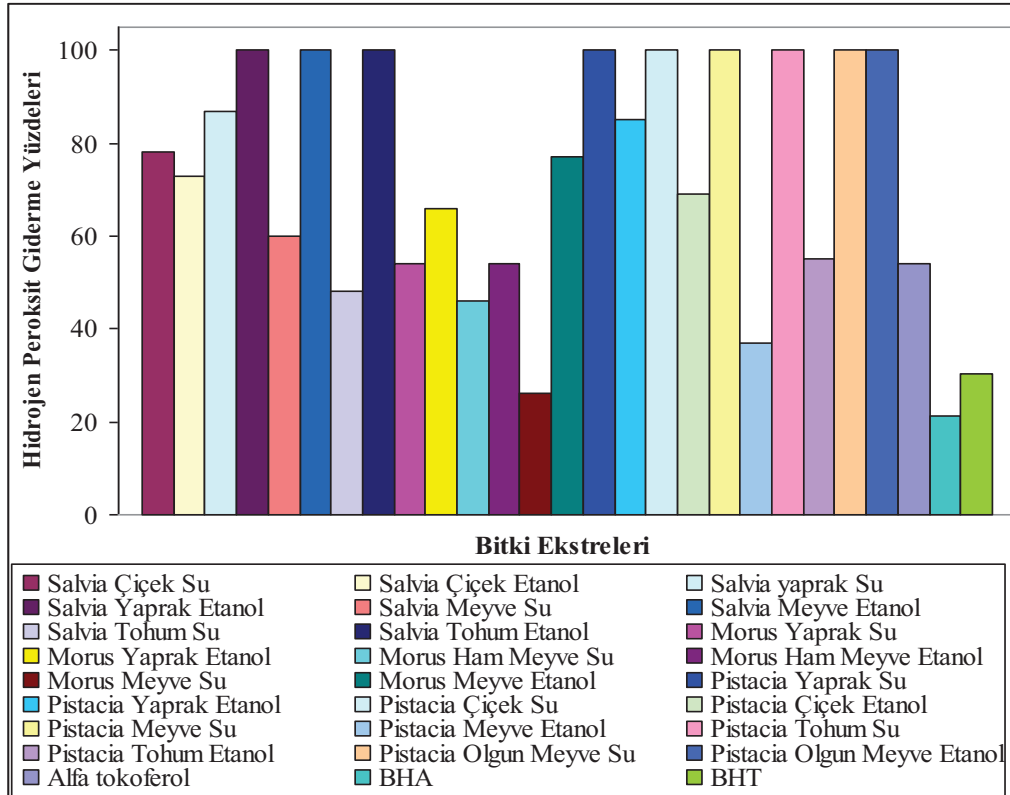
Numunenin Adı	% İnhibisyon
<i>Salvia multicaulis</i> Çiçek Su	97.8
<i>Salvia multicaulis</i> Yaprak Su	97.6
BHA	94.8
<i>Morus alba</i> Ham Meyve Su	90.6
<i>Salvia multicaulis</i> Tohum Su	90.6
<i>Salvia multicaulis</i> Meyve Su	90.1
<i>Pistacia terebinthus</i> Olgun Meyve Su	89.5
<i>Morus alba</i> Meyve Su	89.3
<i>Morus alba</i> Yaprak Su	89.3
<i>Pistacia terebinthus</i> Tohum Su	89
<i>Pistacia terebinthus</i> Çiçek Su	88.6
<i>Pistacia terebinthus</i> Meyve Su	88.6
<i>Pistacia terebinthus</i> Yaprak Su	88.1
<i>Pistacia terebinthus</i> Yaprak Etanol	84.8
<i>Pistacia terebinthus</i> Çiçek Etanol	84
BHT	82.6
<i>Morus alba</i> Ham Meyve Etanol	74.8
<i>Morus alba</i> Yaprak Etanol	69
<i>Salvia multicaulis</i> Çiçek Etanol	61.5
α-Tokoferol	59.6
<i>Salvia multicaulis</i> Yaprak Etanol	49
<i>Morus alba</i> Meyve Etanol	40.5
<i>Pistacia terebinthus</i> Meyve Etanol	37.5
<i>Salvia multicaulis</i> Tohum Etanol	17.8
<i>Pistacia terebinthus</i> Tohum Etanol	16.3
<i>Salvia multicaulis</i> Meyve Etanol	9.87
<i>Pistacia terebinthus</i> Olgun Meyve Etanol	3.3

3.5. Hidrojen Peroksit Giderme Aktivitesi Tayini İle İlgili Bulgular

Ekstrelerin H₂O₂ giderme aktiviteleri Ruch ve ark. [132] metoduna göre yapıldı. H₂O₂, kendisi çok reaktif bir ürün olmamasına rağmen zaman zaman hücrelerin toksisitesine sebep olabilmekte ve hücrelerde hidroksil radikallerinin artmasını sağlamaktadır [145]. Özellikle Fe⁺² ve Cu⁺ gibi metal iyonlarının varlığında kolayca OH[•]'e dönüşebilmektedir. Bu yüzden hücre ve gıda sistemlerinde H₂O₂'nin giderilmesi O₂^{•-} kadar önemlidir. Çünkü gıda sistemlerinde H₂O₂'nin en önemli diğer kaynağı O₂^{•-}'dir. SOD enzimi tarafından O₂^{•-} kolayca H₂O₂' dönüşürülebilir.



Ekstrelerin H₂O₂ giderme aktiviteleri, total antioksidant aktivite, indirgeme kuvveti, serbest radikal giderme aktiviteleri ve diğer antioksidant aktivitelerde olduğu gibi ekstrenin dozuna bağlı olarak artmaktadır.



Şekil 3.25. Bitki ekstraktlarının ve standart antioksidant maddelerin 100 µg/ml konsantrasyonunda H₂O₂ giderme aktivitesi yüzdeleri

Ekstrelerinin H₂O₂ giderme aktivitesi, her bir ekstreden 100 µg'larının içinde bulunduğu test çözeltilerinin 230 nm'deki absorbansları ölçülerek belirlenmiştir (Şekil 3.25). Bütün ekstrelerde en yüksek H₂O₂ giderme aktiviteleri etanol ekstrelerinde gözlenirken, *P. terebinthus* bitkisinin bütün kısımlarının etanol ekstreleri %100 giderme aktivitesi göstermiştir.

3.6. Metal Şelatlama Aktivitesi Tayini İle İlgili Bulgular

Metal şelatlama aktivitesi lipit peroksidasyonuna sebep olan metalleri tutukladığından dolayı önemlidir [146]. Fenton kimyasında da görüldüğü gibi antioksidant kapasite açısından OH[•] radikallerinin oluşmasına sebep olan Fe⁺² ve Cu⁺ gibi metallerin tutklanmasında son derece önemlidir.



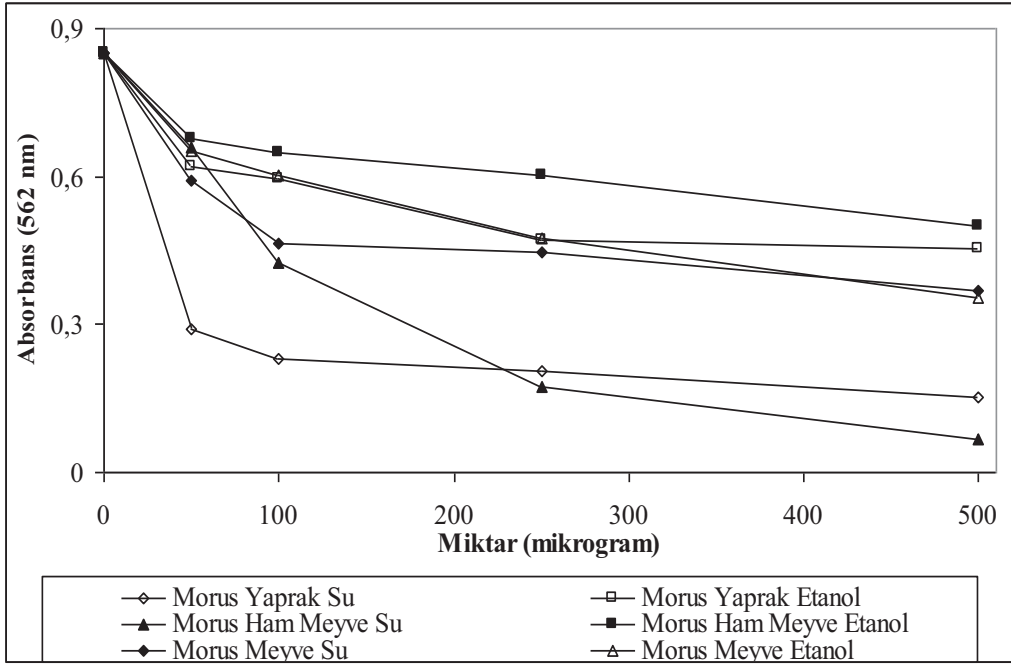
Şekil 3.29'de de görüldüğü gibi ekstreler veya standart antioksidantların varlığında ferrozin-Fe⁺² kompleksi, kontrol grubunda olduğu gibi tam meydana gelmez. Bu durum kullanılan ekstrelerin metal şelatlayıcı özelliklerini göstermektedir (Şekil 3.26-3.28). Tutuklanan metalin yüzdesi aşağıdaki formülden hesaplanmıştır.

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

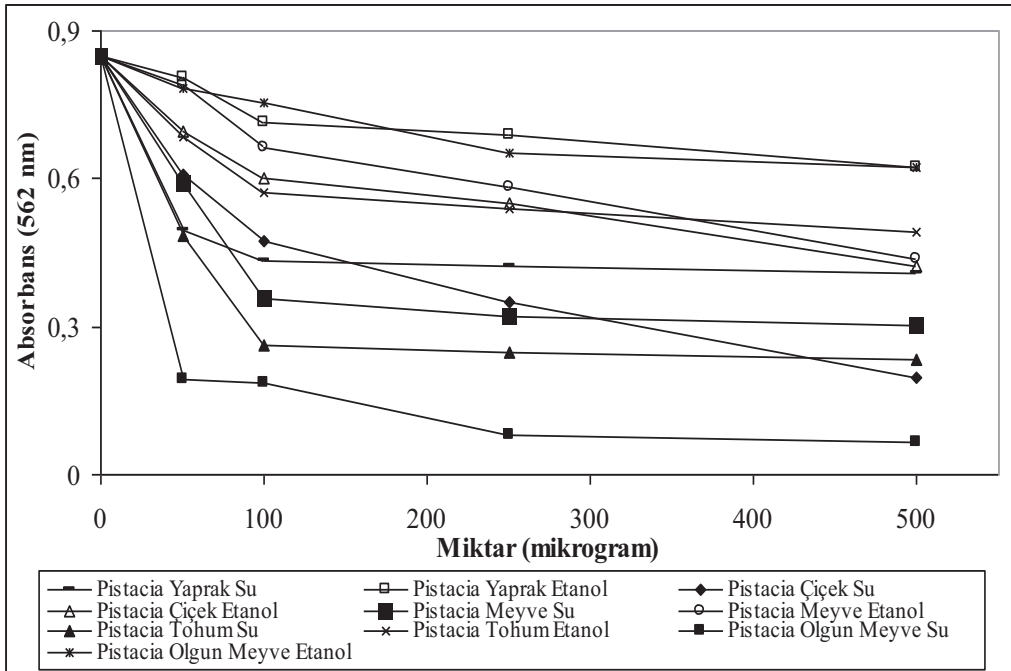
A₀ = Kontrolün absorbans değeri

A₁ = Ekstre ilave edildikten sonraki absorbans değeri

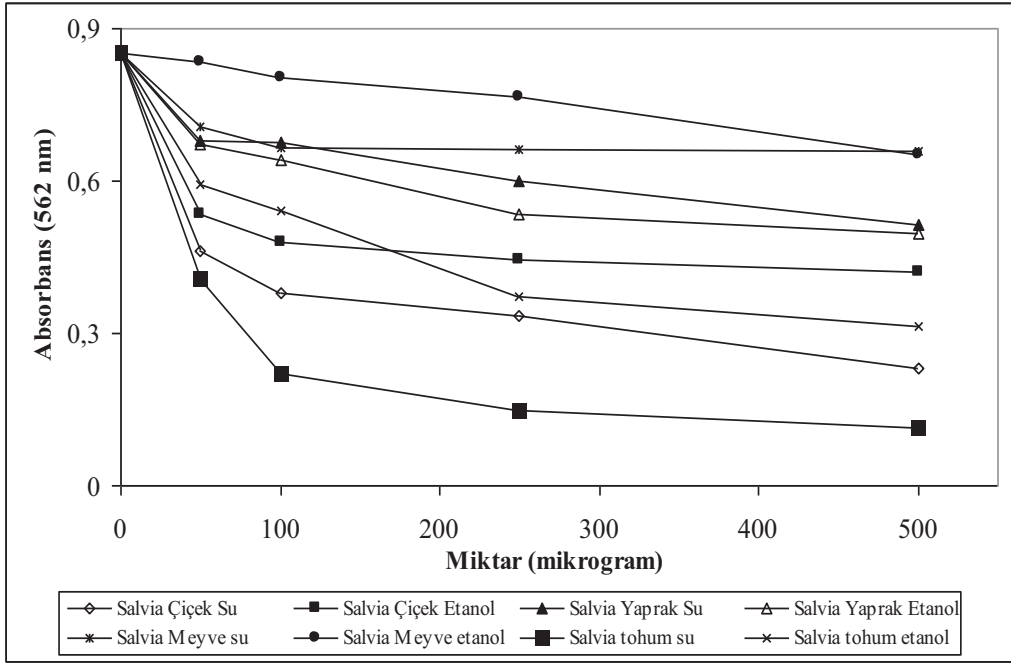
Şekil 3.29'te ve Tablo 3.5'de de görüldüğü gibi en yüksek metal şelatlama aktivitesi *P. terebinthus* olgun meyvelerinin su ekstresinde bulunurken (%78.23), en düşük metal şelatlama aktivitesi *S. multicaulis* meyvelerinin etanol ekstresi (%5.52) göstermektedir.



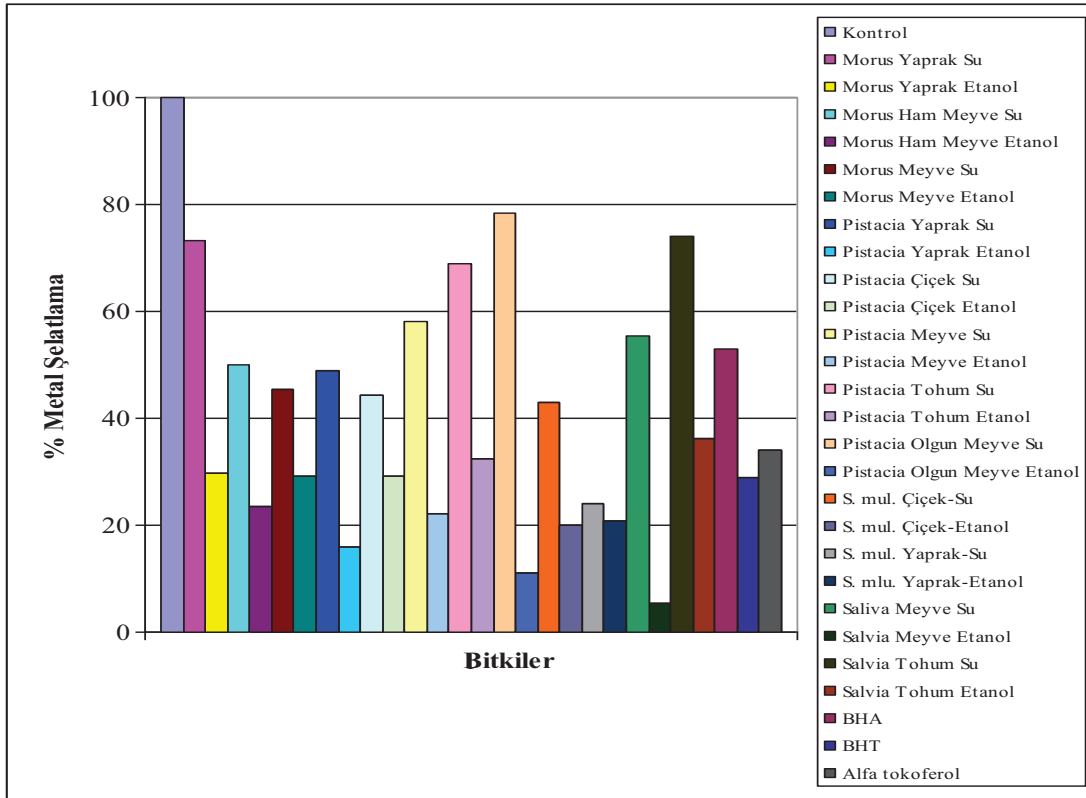
Şekil 3.26. *M. alba* ekstrlerinin metal şelatlama aktiviteleri



Şekil 3.27. *P. terebinthus* ekstrlerinin metal şelatlama aktiviteleri



Şekil 3.28. *S. multicaulis* ekstrelerinin metal şelatlama aktiviteleri



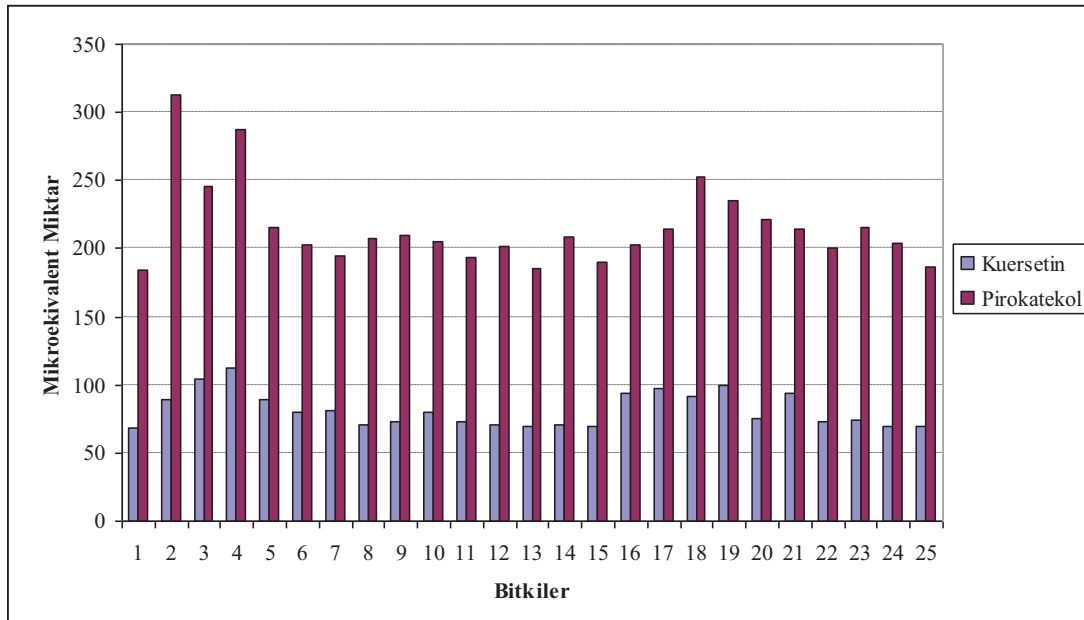
Şekil 3.29. 100 µg'lık bitki ekstrelerinin % metal şelatlama aktiviteleri ve bunların standart antioksidantlar ile karşılaştırması

Tablo 3.5. 100 µg'lık bitki ekstralarının % metal şelatlama aktivitelerinin büyükten küçüğe doğru sıralanışı

Numunenin Adı	% Metal Şelatlama Aktiviteleri (100 µg)
<i>Pistacia terebinthus</i> Olgun Meyve Su	78.23
<i>Salvia multicaulis</i> Tohum Su	73.88
<i>Morus alba</i> Yaprak Su	73.05
<i>Pistacia terebinthus</i> Tohum Su	68.94
<i>Pistacia terebinthus</i> Meyve Su	58
<i>Salvia multicaulis</i> Meyve Su	55.29
BHA	53
<i>Morus alba</i> Ham Meyve Su	50.11
<i>Pistacia terebinthus</i> Yaprak Su	48.82
<i>Morus alba</i> Meyve Su	45.52
<i>Pistacia terebinthus</i> Çiçek Su	44.35
<i>Salvia multicaulis</i> Çiçek Su	43
<i>Salvia multicaulis</i> Tohum Etanol	36.35
α-Tokoferol	34
<i>Pistacia terebinthus</i> Tohum Etanol	32.58
<i>Morus alba</i> Yaprak Etanol	29.88
<i>Pistacia terebinthus</i> Çiçek Etanol	29.17
<i>Morus alba</i> Meyve Etanol	29.17
BHT	29
<i>Salvia multicaulis</i> Yaprak Su	24
<i>Morus alba</i> Ham Meyve Etanol	23.52
<i>Pistacia terebinthus</i> Meyve Etanol	22.11
<i>Salvia multicaulis</i> Yaprak Etanol	21
<i>Salvia multicaulis</i> Çiçek Etanol	20
<i>Pistacia terebinthus</i> Yaprak Etanol	16.11
<i>Pistacia terebinthus</i> Olgun Meyve Etanol	11.17
<i>Salvia multicaulis</i> Meyve Etanol	5.52

3.7. Total Fenolik Bileşik Miktarı Tayini İle İlgili Bulgular

Değişik konsantrasyonlardaki pirokatekol ve kuersetin miktarlarının (0-1000 µg) 760 nm'deki absorbans değerlerinin ölçülmesiyle standart grafik elde edilmiştir. Aynı şekilde bitki örneklerinin de 1000 µg ekstralarının fenolik bileşik miktarları 760 nm'de ölçülmüştür. Bulunan absorbans değerleri standart grafikten elde edilen $y=mx+n$ denkleminde yerine koyularak ekstraların 1000 µg larındaki toplam fenolik bileşik miktarları belirlenmiştir. Ekstrelerde bulunan toplam fenolik bileşik miktarları için ölçülen absorbansları, standart grafiklerde elde edilen eşitliklerde yerlerine konularak pirokatekol ekivalent ve kuersetin ekivalenti olarak hesaplanmıştır ve sonuçlar Şekil 3.30 ve Tablo 3.6'te verilmiştir.



Şekil 3.30. Ekstrelerin toplam fenolik bileşik miktarları. **1:** Kontrol, **2:** *Salvia* çiçek Su, **3:** *Salvia* çiçek Etanol, **4:** *Salvia yaprak* Su, **5:** *Salvia yaprak* Etanol, **6:** *Salvia meyve* Su, **7:** *Salvia meyve* Etanol, **8:** *Salvia tohum* Su, **9:** *Salvia tohum* Etanol, **10:** *Morus alba* Yaprak Su, **11:** *Morus alba* Yaprak Etanol, **12:** *Morus alba* Ham Meyve Su, **13:** *Morus alba* Ham Meyve Etanol, **14:** *Morus alba* Meyve Su, **15:** *Morus alba* Meyve Etanol, **16:** *Pistacia terebinthus* Yaprak Su, **17:** *Pistacia terebinthus* Yaprak Etanol, **18:** *Pistacia terebinthus* Çiçek Su, **19:** *Pistacia terebinthus* Çiçek Etanol, **20:** *Pistacia terebinthus* Meyve Su, **21:** *Pistacia terebinthus* Meyve Etanol, **22:** *Pistacia terebinthus* Tohum Su, **23:** *Pistacia terebinthus* Tohum Etanol, **24:** *Pistacia terebinthus* Olgun Meyve Su, **25:** *Pistacia terebinthus* Olgun Meyve Etanol

Tablo 3.6. 1000 µg ekstrelerin fenolik bileşik miktarlarının pirokatekol ekivalent ve kuersetin ekivalent olarak değerlendirilmesi

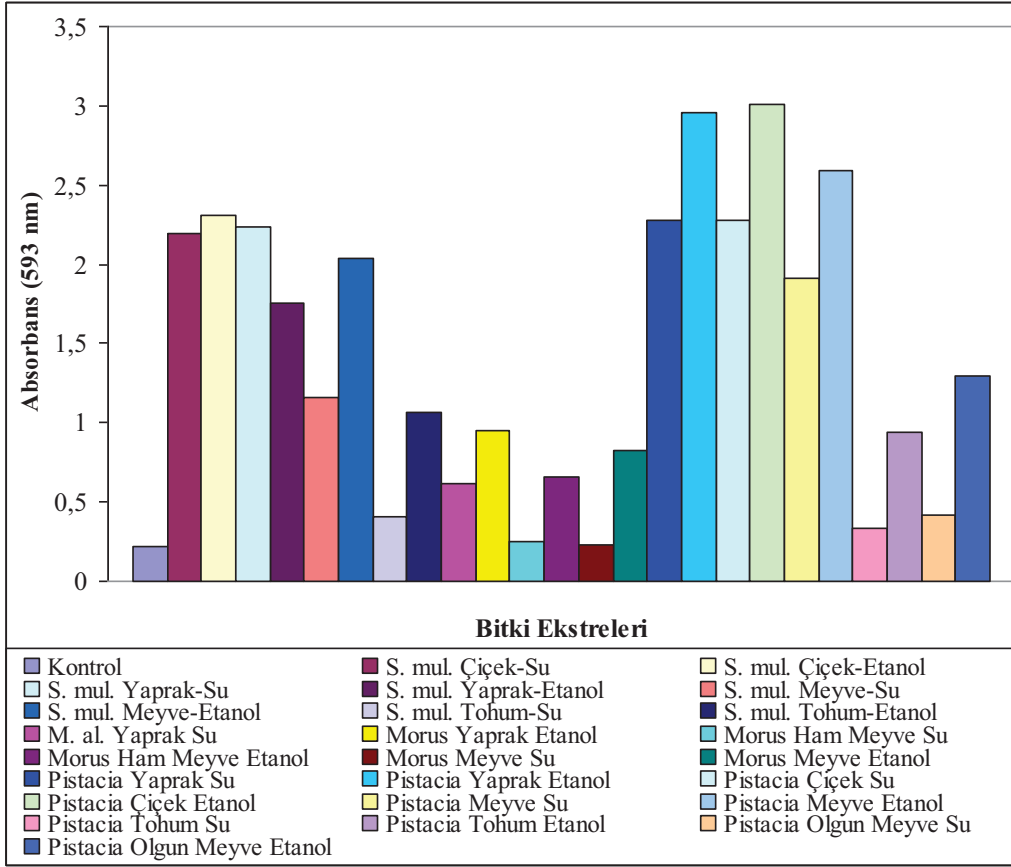
Bitki Ekstreleri (1000 µg)	Kuercetın		Pirokatekol	
	Absorbans	µg	Absorbans	µg
Kontrol	0.343	68.6	0.390	184
<i>Salvia multicaulis</i> Çiçek Su	0.448	89.6	0,660	313
<i>Salvia multicaulis</i> Çiçek Etanol	0.520	104	0,519	246
<i>Salvia multicaulis</i> Yaprak Su	0.560	112	0,605	287
<i>Salvia multicaulis</i> Yaprak Etanol	0.443	88.8	0,455	215
<i>Salvia multicaulis</i> Meyve Su	0.397	79.4	0.431	203
<i>Salvia multicaulis</i> Meyve Etanol	0.407	81.4	0.393	195
<i>Salvia multicaulis</i> Tohum Su	0.354	70.8	0.438	207
<i>Salvia multicaulis</i> Tohum Etanol	0.365	73	0.445	210
<i>Morus alba</i> Yaprak Su	0.400	80	0.435	205
<i>Morus alba</i> Yaprak Etanol	0.365	73	0.409	193
<i>Morus alba</i> Ham Meyve Su	0.353	70.6	0.427	202
<i>Morus alba</i> Ham Meyve Etanol	0.348	69.6	0.395	186
<i>Morus alba</i> Meyve Su	0.351	70.2	0.442	209
<i>Morus alba</i> Meyve Etanol	0.350	70	0.403	190
<i>Pistacia terebinthus</i> Yaprak Su	0.471	94.2	0.429	203
<i>Pistacia terebinthus</i> Yaprak Etanol	0.485	97	0.454	214
<i>Pistacia terebinthus</i> Çiçek Su	0.460	92	0.534	253
<i>Pistacia terebinthus</i> Çiçek Etanol	0.500	100	0.497	235
<i>Pistacia terebinthus</i> Meyve Su	0.374	74.8	0.468	221
<i>Pistacia terebinthus</i> Meyve Etanol	0.467	93.4	0.454	214
<i>Pistacia terebinthus</i> Tohum Su	0.367	73.4	0.426	201
<i>Pistacia terebinthus</i> Tohum Etanol	0.372	74.4	0.457	216
<i>Pistacia terebinthus</i> Olgun Meyve Su	0.350	70	0.431	204
<i>Pistacia terebinthus</i> Olgun Meyve Etanol	0.349	69.8	0.396	187

Elde ettiğimiz sonuçlara göre en yüksek fenolik bileşik miktarları ve Şekil 3.30 ve Tablo 3.6’de de görüldüğü üzere kuercetin bakımından *S. multicaulis*’in yapraklarının su ekstresinde, pirokatekol bakımından ise *S. multicaulis*’in çiçeklerinin su ekstresinde; en düşük sonuçlar ise kuercetin ve pirokatekol bakımından *Morus alba* ham meyve etanol ekstralarında gözlenmiştir.

3.8. FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) Testi İle İlgili Bulgular

Bir örneğin veya ekstrenin Fe^{+3} indirgeme yeteneğinin ölçülmesi basit ve çok yaygın bir yöntem olup FRAP testi adı verilmiştir ve antioksidan kapasitenin ölçülmesi için kullanılan yöntemlerden biridir. Fe^{+3} iyonlarının düşük pH değerlerinde Fe^{+2} ,ye indirgenmesi, renkli Fe^{+3} -tripridil triazin kompleksinin oluşmasına neden olmaktadır. FRAP değerleri, bilinen konsantrasyonlarda Fe^{+2} içeren karışımların ekstralarla 593 nm’de absorbanslarının karşılaştırılmasıyla gözlenebilir. Ekstrelerin absorbansları alınarak standart grafik yardımıyla ekstraların ne kadar Fe^{+3} ,ü indirgediği ve ortamda ne kadar Fe^{+2} oluştuğu hesaplanmıştır [135].

Şekil 3.31’de görüldüğü gibi Fe^{+3} ,ü en fazla dönüştürme aktivitesi *Pistacia terebinthus* çiçek etanol ekstralarında, en düşük sonuçlar ise *Morus alba* ham meyve su ve meyve etanol ekstralarında gözlenmiştir.



Şekil 3.31. 100 µg'lık bitki ekstralarının FRAP testi sonuçları

3.9. ABTS⁺ Yok Edici Testi İle İlgili Bulgular

ABTS⁺ metodu, 2,2'-azino-bis(etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu gibi bir bileşiğin ortamdaki yok edilmesi, yani bir başka deyişle inhibisyonuna dayanan bir antioksidan kapasite belirleme yöntemidir. Ortamdaki ABTS⁺ radikalleri bitki ekstresi ilavesinin ardından belli bir yüzdede yok edilmektedir. Aşağıdaki formül kullanılarak her bir bitki ekstresinin ne kadar ABTS⁺ radikalini yok ettiği hesaplanmıştır:

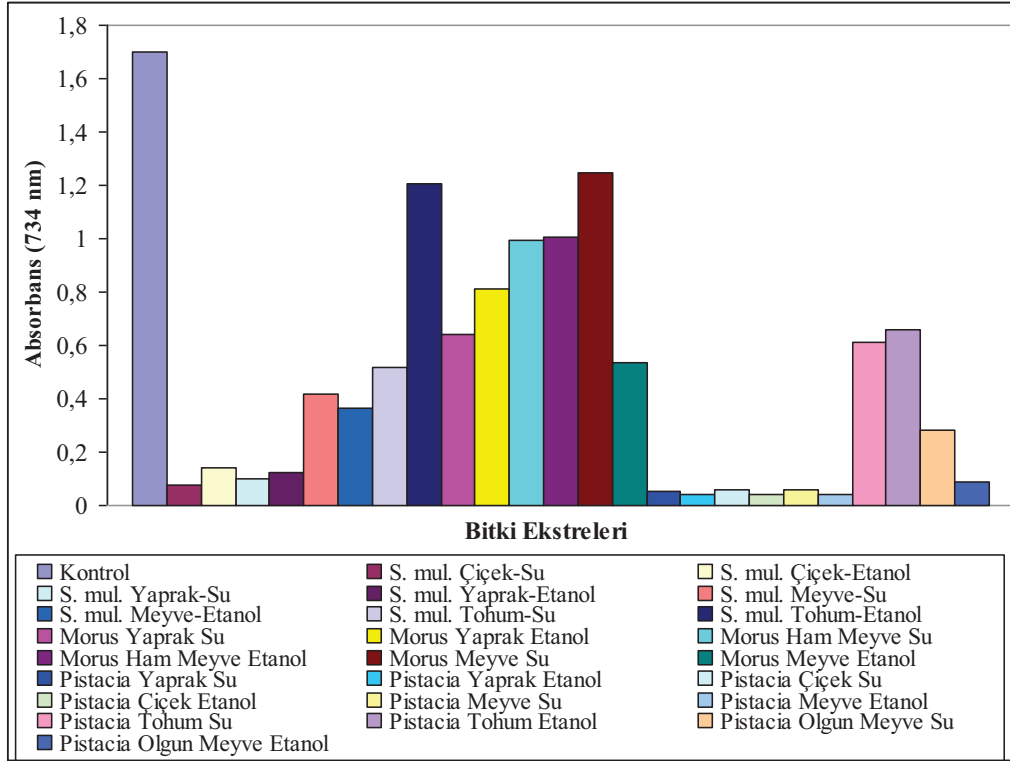
$$\% \text{ ABTS Yok Etme Aktivitesi} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A_0 = Kontrolün absorbans değeri

A_1 = Ekstre ilave edildikten sonraki absorbans değeri

Elde ettiğimiz sonuçlara göre en yüksek ABTS⁺ radikali yok etme kapasitesi Şekil 3.32 ve Tablo 3.7' da görüldüğü gibi *Pistacia terebinthus* yaprak, çiçek ve meyve etanol

ekstrelerinde; en düşük sonuçlar ise *Morus alba* meyve su ve *Salvia multicaulis* tohum etanol ekstralarında gözlenmiştir.



Şekil 3.32. Bitki ekstralarının ABTS^{•+} yok edici testi sonuçları

Tablo 3.7. Bitki ekstralarının 100 µg'lık miktarlarının ABTS⁺ yok edici testi sonuçları

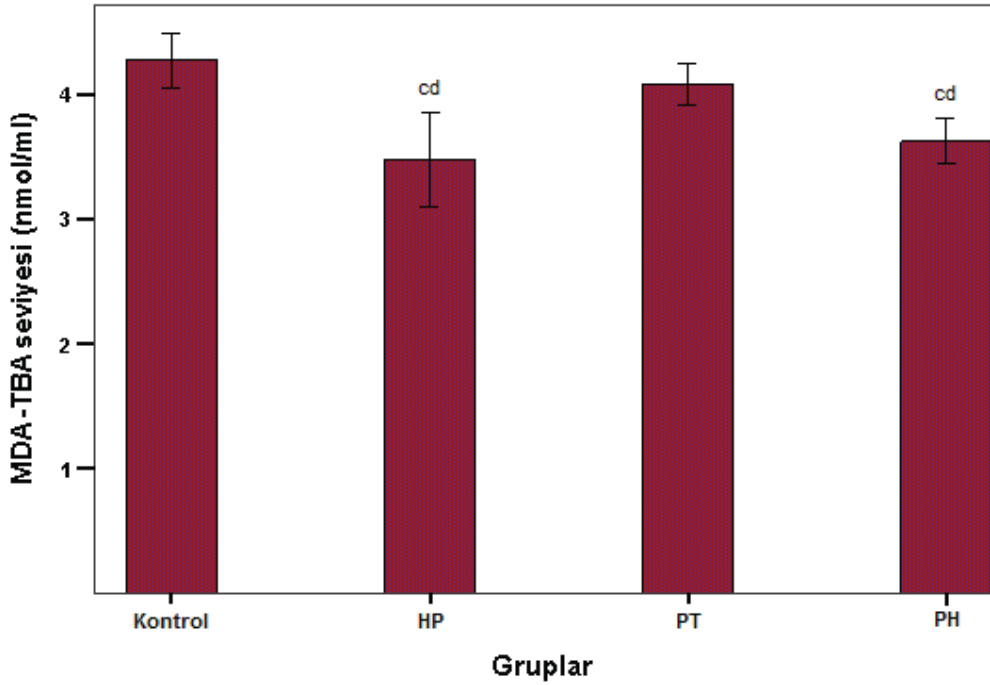
Numunenin Adı	ABTS⁺ Yok Etme Yüzdeleri (%)
<i>Pistacia terebinthus</i> Meyve Etanol	97.5
<i>Pistacia terebinthus</i> Yaprak Etanol	97.4
<i>Pistacia terebinthus</i> Çiçek Etanol	97.4
<i>Pistacia terebinthus</i> Yaprak Su	96.8
<i>Pistacia terebinthus</i> Çiçek Su	96.6
<i>Pistacia terebinthus</i> Meyve Su	96.58
<i>Salvia multicaulis</i> Çiçek Su	95,4
<i>Pistacia terebinthus</i> Olgun Meyve Etanol	94.88
<i>Salvia multicaulis</i> Yaprak Su	93,8
<i>Salvia multicaulis</i> Yaprak Etanol	92,4
<i>Salvia multicaulis</i> Çiçek Etanol	91,4
<i>Pistacia terebinthus</i> Olgun Meyve Su	83.3
<i>Salvia multicaulis</i> Meyve Etanol	78.4
<i>Salvia multicaulis</i> Meyve Su	75.4
<i>Salvia multicaulis</i> Tohum Su	69.5
<i>Morus alba</i> Meyve Etanol	68.4
<i>Pistacia terebinthus</i> Tohum Su	64
<i>Morus alba</i> Yaprak Su	62.4
<i>Pistacia terebinthus</i> Tohum Etanol	61.2
<i>Morus alba</i> Yaprak Etanol	52.3
<i>Morus alba</i> Ham Meyve Su	41.58
<i>Morus alba</i> Ham Meyve Etanol	40.94
<i>Salvia multicaulis</i> Tohum Etanol	29
<i>Morus alba</i> Meyve Su	26.64

3.10. Bitki Ekstraktının Wistar Ratlar Üzerindeki Etkileri

3.10.1. Bitki Ekstraktının Deney Hayvanlarının Lipid Peroksidasyon Oluşumu Üzerine Etkileri

3.10.1.1. Bitki Ekstraktının Karaciğer Dokusunda Lipid Peroksidasyon Oluşumu Üzerine Etkisi

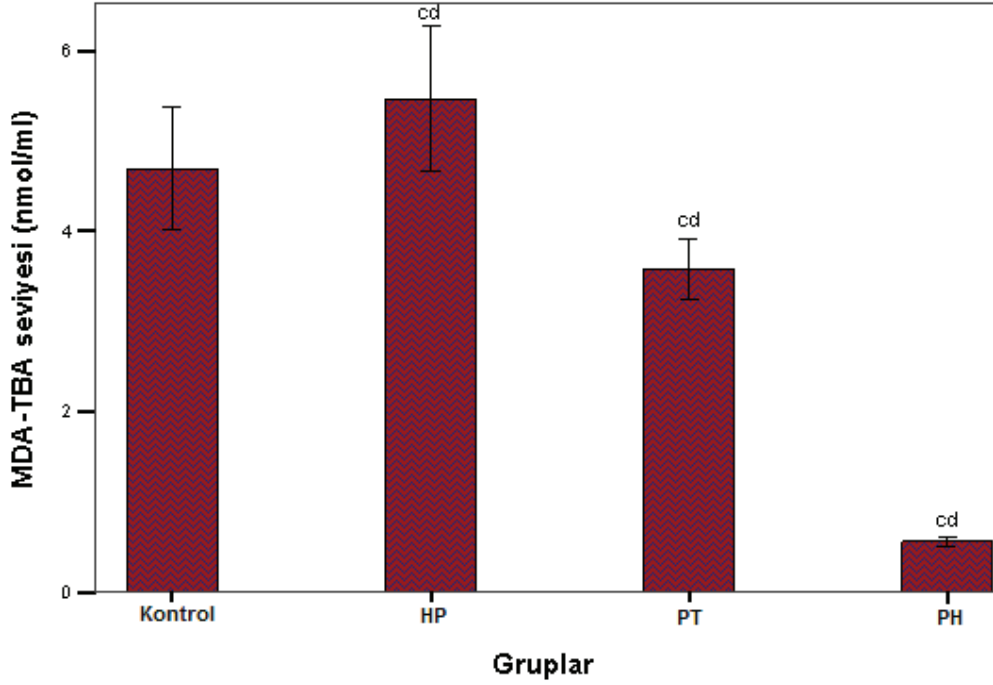
Karaciğerde kontrol ile HP (Hidrojen peroksit) ve PH (*Pistacia terebinthus*-Hidrojen peroksit) grupları kıyaslandığında LPO düzeyinin belirgin oranda azaldığı gözlemlendi ($p<0.0001$). PT (*Pistacia terebinthus*) grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ise anlamlı bir farklılık olmadığı saptandı (Tablo 3.8) (Şekil 3.33).



Şekil 3.33. Bitki ekstraktının karaciğerde MDA-TBA seviyesi üzerine etkisi
cd: $p<0.0001$, d: $p<0.001$

3.10.1.2. Bitki Ekstraktının Böbrek Dokusunda Lipid Peroksidasyonu Oluşumu Üzerine Etkisi

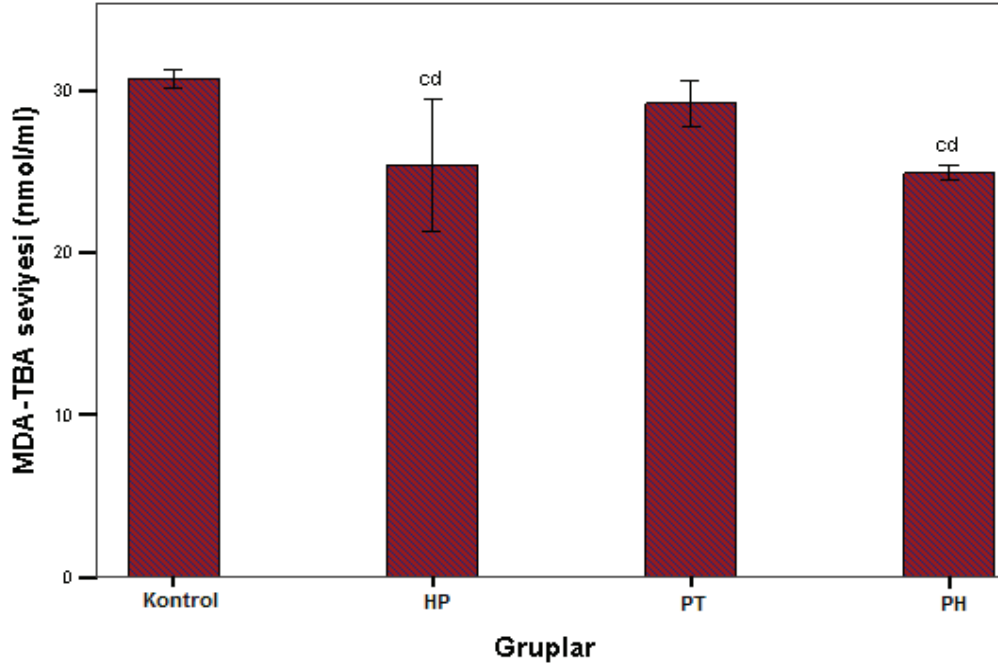
Böbrek dokusunda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında LPO düzeyinin HP grubunda arttığı belirlenirken ($p<0.0001$), PT ve PH gruplarında ise azaldığı belirlendi ($p<0.0001$). Özellikle PH grubundaki MDA-TBA seviyesinin ise çok belirgin miktarda azaldığı tespit edildi (Şekil 3.34) (Tablo 3.8).



Şekil 3.34. Bitki ekstraktının böbrekte MDA-TBA seviyesi üzerine etkisi
cd: $p<0.0001$

3.10.1.3. Bitki Ekstraktının Kas Dokusunda Lipid Peroksidasyonu Oluşumu Üzerine Etkisi

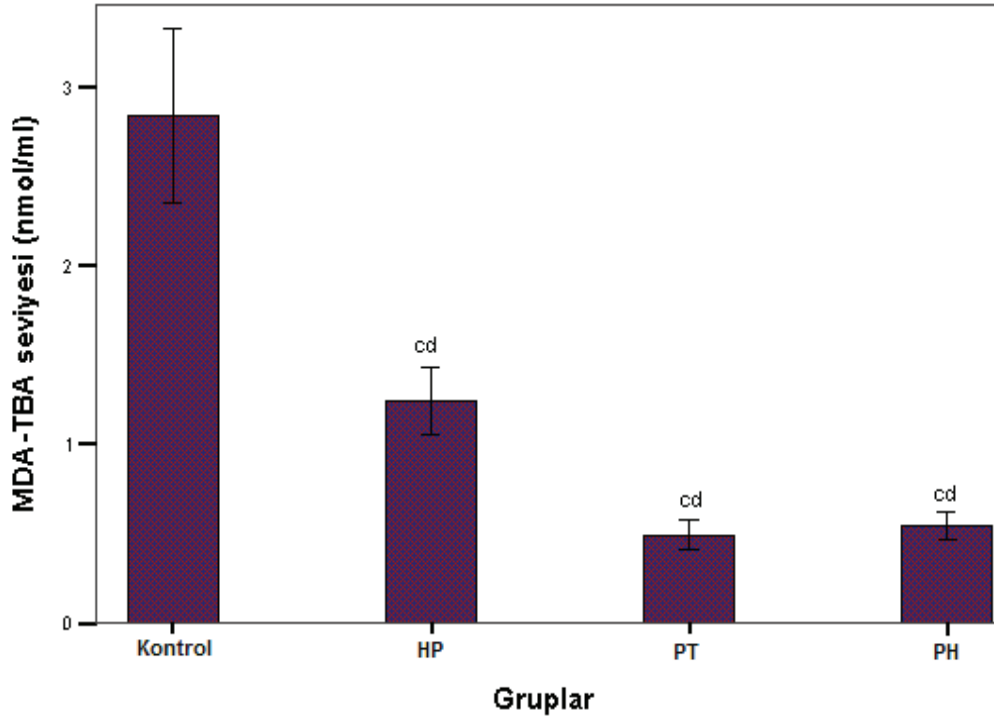
Kas dokusunda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında LPO düzeyinin PT grubunda anlamlı olmayan bir azalma gösterdiği, HP ve PH gruplarında MDA-TBA seviyesinin daha belirgin olarak azaldığı ($p<0.0001$) (Şekil 3.35), bununda en fazla HP grubunda olduğu tespit edildi (Tablo 3.8).



Şekil 3.35. Bitki ekstraktının kasta MDA-TBA seviyesi üzerine etkisi
 cd: $p < 0.0001$, d: $p < 0.001$, c: $p < 0.01$, b: $p < 0.05$

3.10.1.4. Bitki Ekstraktının Beyin Dokusunda Lipid Peroksidasyon Oluşumu Üzerine Etkisi

Beyinde lipit peroksidasyonu kontrole göre tüm gruplarda çok önemli ölçülerde azaldığı ($p < 0.0001$) (Şekil 3.36), bu azalmanın en fazla PT grubunda olduğu saptandı (Tablo 3.8).



Şekil 3.36. Bitki ekstraktının beyinde MDA-TBA seviyesi üzerine etkisi
cd: $p < 0.0001$, d: $p < 0.001$, c: $p < 0.01$

Tablo 3.8. Bitki ekstraktının dokularda lipid peroksidasyonu miktarı üzerine etkileri

	Kontrol	HP	PT	PH
Karaciğer	4.3±0.08	3.47±0.14 ^{cd}	4.1±0.07	3.6±0.07 ^{cd}
Böbrek	4.6±0.2	5.4±0.3 ^{cd}	3.6±0.14 ^{cd}	0.5±0.02 ^{cd}
Kas	30.6±0.2	25.4±1.5 ^{cd}	29.2±0.6	24.9±0.2 ^{cd}
Beyin	2.8±0.18	1.2±0.07 ^{cd}	0.49±0.03 ^{cd}	0.54±0.03 ^{cd}

3.10.2. Bitki Ekstraktının Deney Hayvanlarının Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkileri

3.10.2.1. Bitki Ekstraktının Serumda Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkileri

Meyve ekstraktının serumdaki yağ asidi profili üzerine etkisi incelendiğinde; palmitik asit (16:0) miktarında kontrole ile HP grubu arasında anlamlı bir farklılık olmadığı, buna karşılık meyve ekstraktı içeren gruplarda belirgin olarak arttığı saptandı ($p < 0.0001$).

Palmitoleik asit (16:1) düzeyinin kontrole göre tüm gruplarda arttığı ($p<0.0001$) ve bu artışın özellikle PH grubunda daha belirgin olduğu sonucuna varıldı.

Stearik asit (18:0) miktarının kontrole kıyasla HP grubunda anlamlı olmayan bir azalma olduğu, meyve ekstraktı verilen gruplarda ise miktarların arttığı ($p<0.0001$) ve özellikle PH grubunda artışın daha fazla olduğu saptandı. Oleik asit (18:1) miktarının kontrole karşılaştırıldığında bütün gruplarda artış gösterdiği ($p<0.0001$), özellikle PH grubunda daha belirgin bir artış olduğu sonucuna varıldı. Linoleik asit (18:2) miktarının kontrol grubu ile karşılaştırılmasında HP grubunda belirgin düzeyde azaldığı ($p<0.0001$), PT ve PH gruplarında ise belirgin olarak arttığı ($p<0.0001$) ve özellikle PH grubunda artışın daha fazla olduğu gözlemlendi.

Araşidonik asit (20:4) miktarının kontrole kıyasla HP grubunda belirgin düzeyde azaldığı ($p<0.001$), PT ve PH gruplarında ise belirgin olarak arttığı ($p<0.0001$) ve özellikle PH grubunda çok daha fazla artma olduğu belirlendi. Dokosaheksaenoik asit (22:6) düzeyinin kontrole kıyasla HP grubunda belirgin miktarda azaldığı saptanırken ($p<0.0001$), meyve ekstraktı içeren gruplarda belirgin oranlarda arttığı tespit edildi ($p<0.0001$) (Tablo 3.9).

Tablo 3.9. Bitki ekstraktının serumda yağ asidi bileşimi üzerine etkileri (mg/1g)

Yağ Asitleri	Kontrol	HP	PT	PH
16:0	129.2±2.3	129.6±1	171±1.1^{cd}	180.4±1.5^{cd}
16:1	27.7±0.5	45.3±0.9^{cd}	57.7±0.7^{cd}	75.2±0.8^{cd}
18:0	128.8±1	124.2±1.7	159.4±2.1^{cd}	173.7±2^{cd}
18:1	13.6±0.2	30.9±1.9^{cd}	30.8±1.5^{cd}	53.7±1.3^{cd}
18:2	100±1.9	88.4±1.3^{cd}	144.4±0.6^{cd}	153.8±0.8^{cd}
20:4	25±1.3	17.7±0.1^{cd}	59.1±1.6^{cd}	94±1.1^{cd}
22:6	63.2±1	36.6±1^{cd}	83.6±0.8^{cd}	92.4±0.5^{cd}

cd: $p<0.0001$, d: $p<0.001$, c: $p<0.01$, b: $p<0.05$

3.10.2.2. Bitki Ekstraktının Karaciğer Dokusunun Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkileri

Ekstraktların böbrekteki yağ asidi profili üzerine etkisi incelendiğinde; palmitik asit (16:0) miktarının kontrol grubuna göre HP grubunda anlamlı düzeylerde arttığı belirlendi ($p<0.0001$). PT ($p<0.001$) ve PH ($p<0.05$) gruplarında ise anlamlı düzeylerde azaldığı belirlendi. Stearik asit (18:0) miktarlarının tüm gruplarda kontrole kıyasla azaldığı ve bununla PT ile PH gruplarında oldukça belirgin düzeyde fazla olduğu saptandı ($p<0.0001$) (Tablo 3.10).

18:1 düzeyinin HP grubunda kontrole kıyasla arttığı ve bu artışın oldukça belirgin düzeyde olduğu ($p<0.0001$), PT ile PH gruplarında ise azaldığı, bu azalmanın da PH grubunda anlamlı olduğu belirlendi ($p<0.01$) (Tablo 3.10). Linoleik asidin (18:2) kontrole göre miktarının tüm gruplarda arttığı buna karşılık PT ($p<0.001$) ve HP grubunda anlamlı olduğu gözlemlendi ($p<0.0001$).

20:3 düzeyinin HP ve PH gruplarında kontrole kıyasla anlamlı olarak arttığı ($p<0.0001$), PT grubunda ise azaldığı belirlendi ($p<0.0001$). Araşidonik asit (20:4) miktarının da kontrole göre tüm gruplarda belirli oranlarda arttığı ve özellikle HP ve PH gruplarında oldukça belirgin olduğu sonucuna varıldı ($p<0.0001$). Dokosaheksaenoik asit (22:6) miktarı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında HP grubunda anlamlı olarak arttığı gözlemlenirken ($p<0.0001$), PT ve PH gruplarında azaldığı bununla sadece PT grubunda anlamlı olduğu belirlendi ($p<0.05$).

Toplam yağ asidi düzeyi bakımından gruplar kontrole göre kıyaslandığında HP grubunda anlamlı olarak arttığı ($p<0.001$), PT ve PH gruplarında azaldığı bununla sadece PT grubunda anlamlı olduğu belirlendi ($p<0.001$).

PUFA miktarının kontrole kıyasla tüm gruplarda belirli oranlarda arttığı ve bu artışın anlamlı olmadığı belirlendi. MUFA düzeyinin de kontrole göre bütün gruplarda belirli seviyelerde arttığı buna ilaveten bu artışın önemli olmadığı (Tablo 3.10).

Tablo 3.10. Bitki ekstraktının karaciğerde yağ asidi bileşimi üzerine etkileri (mg/1g)

Yağ Asitleri	Kontrol	HP	PT	PH
16:0	1.58±0.016	2.04±0.014^{cd}	1.476±0.022 ^d	1.526±0.016 ^b
18:0	1.759±0.018	1.69±0.016^{cd}	1.32±0.027^{cd}	1.608±0.011^{cd}
18:1	0.368±0.008	0.553±0.013^{cd}	0.352±0.009	0.32±0.12 ^c
18:2	1.165±0.03	1.654±0.015^{cd}	1.286±0.023 ^d	1.19±0.022
20:3	0.101±0.001	0.138±0.001^{cd}	0.87±0.0007^{cd}	0.129±0.002^{cd}
20:4	3.453±0.14	4.097±0.061^{cd}	3.586±0.121	4.01±0.032^{cd}
22:6	0.755±0.01	0.911±0.016^{cd}	0.683±0.021 ^b	0.715±0.023 ^b
Diğer	0.076±0.007	0.093±0.01	0.088±0.012	0.066±0.007
PUFA	1.12±0.267	1.355±0.272	1.157±0.197	1.235±0.218
MUFA	0.15±0.023	0.189±0.049	0.185±0.026	0.156±0.019
Toplam	10.664±0.279	11.978±0.417 ^d	9.28±0.23 ^d	10±0.169

cd: p<0.0001, d: p<0.001, c: p<0.01, b: p<0.05

3.10.2.3. Bitki Ekstraktının Böbrek Dokusu Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkileri

Meyve ekstraktının böbrekteki yağ asidi profili üzerine etkisi incelendiğinde; Palmitik asit (16:0) düzeyinin kontrole kıyasla tüm gruplarda azaldığı (p<0.0001) ve bu azalmanın PT grubunda daha belirgin olduğu tespit edildi (p<0.0001). Stearik asidin (18:0) kontrole karşılık tüm gruplarda azaldığı ve bu azalmanın PH grubunda istatistiksel bir farklılık göstermediği, HP ve PT gruplarında ise anlamlı bir azalma olduğu tespit edildi (p<0.05) (Tablo 3.11).

Palmitoleik asit (16:1) miktarının kontrole göre HP ve meyve ekstraktı içeren gruplarda azaldığı (p<0.0001) ve bu azalmanın PT grubunda daha belirgin olduğu tespit edildi (p<0.0001). Oleik asit (18:1) düzeyinin kontrol grubuna göre bütün gruplarda anlamlı bir azalma gösterdiği, PT ve PH gruplarında ise düzeyin belirgin oranlarda azaldığı belirlendi. Linoleik asit (18:2) miktarının kontrole göre HP ve meyve ekstraktı içeren gruplarda azaldığı (p<0.0001) ve bu azalmanın PT grubunda daha belirgin olduğu tespit edildi (p<0.0001).

Araşidonik asit (20:4) miktarının kontrole oranla HP ve PH gruplarında önemli düzeyde bir farklılık göstermediği, PT grubunda ise p<0.05 anlamlılık düzeyinde bir

azalma olduğu tespit edildi. Dokosaheksaenoik asit (22:6) miktarının tüm gruplarda kontrole göre arttığı belirlenirken özellikle HP ve PH gruplarında bunun daha anlamlı düzeyde olduğu gözlemlendi ($p<0.05$) (Tablo 3.11).

Toplam yağ asidi düzeyi kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında miktarların tüm gruplarda azaldığı belirlendi. Bu azalmanın da HP grubunda $p<0.001$ düzeyinde, PH grubunda $p<0.01$ düzeyinde ve özellikle PT grubunda ise $p<0.0001$ düzeyinde anlamlılığın daha belirgin olduğu belirlendi.

PUFA miktarının PT ve PH gruplarında kontrole göre azaldığı belirlenirken, HP grubunda artma tespit edilmiştir. Bu farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir. MUFA düzeyinin ise kontrol grubuna kıyasla PT ve PH gruplarında anlamlı bir azalma tespit edilirken ($p<0.0001$), HP grubunda önemli olmayan bir artış tespit edilmiştir (Tablo 3.11).

Tablo 3.11. Bitki ekstraktının böbrek yağ asidi bileşimi üzerine etkileri (mg/1g)

Yağ Asitleri	Kontrol	HP	PT	PH
16:0	2.343±0.042	1.691±0.053^{cd}	1.397±0.029^{cd}	1.727±0.021^{cd}
16:1	0.323±0.018	0.14±0.004^{cd}	0.086±0.011^{cd}	0.148±0.012^{cd}
18:0	1.299±0.048	0.978±0.186 ^a	0.982±0.086 ^a	1.167±0.035
18:1	1.104±0.017	0.947±0.022^{cd}	0.221±0.01^{cd}	0.294±0.01^{cd}
18:2	1.931±0.054	1.626±0.044^{cd}	1.413±0.049^{cd}	1.622±0.053^{cd}
20:4	3.757±0.146	4.038±0.022	3.367±0.077 ^a	3.859±0.13
22:6	0.135±0.06	0.269±0.009 ^a	0.193±0.024	0.241±0.01 ^a
Diğer	0.128±0.012	0.11±0.015	0.193±0.031	0.21±0.037
PUFA	1.093±0.25	1.406±0.32	0.792±0.154	0.833±0.161
MUFA	0.48±0.088	0.543±0.128	0.127±0.013^{cd}	0.167±0.025^{cd}
Toplam	11.991±0.59	10.237±0.202 ^d	8.886±0.275^{cd}	10.675±0.283 ^c

cd: $p<0.0001$, d: $p<0.001$, c: $p<0.01$, a: $p<0.05$

3.10.2.4. Bitki Ekstraktının Beyin Dokusu Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkileri

Palmitik asidin (16:0) kontrol grubuna göre HP grubunda istatistiksel yönden bir farklılık göstermediği, PT ($p<0.001$) ve PH gruplarında miktarının arttığı, özellikle bu artışın PH grubunda daha belirgin olduğu saptandı ($p<0.0001$) (Tablo 3.12). Stearik (18:0) ve oleik asidin (18:1), kontrole kıyasla HP grubunda anlamlı bir azalma saptanırken ($p<0.0001$), PT ve PH gruplarında miktarının arttığı ($p<0.0001$), artışın PH grubunda çok daha belirgin olduğu saptandı. Linoleik asit miktarının kontrole ile HP grubu arasında anlamlı bir azalma gösterdiği belirlendi ($p<0.0001$). PT grubunda $p<0.05$ anlamlılık düzeyinde bir artma gösterirken, PH grubunda ise düzeyin daha belirgin miktarda arttığı bulundu ($p<0.0001$).

20:1 miktarı PT grubu ile kontrol arasında istatistiksel yönden bir farklılık olmadığı saptanırken, HP grubunda anlamlı bir azalma, PH grubunda anlamlı bir artma saptandı ($p<0.0001$). Araşidonik asidin (20:4) HP grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir azalma buna karşılık diğer gruplarda miktarının belirgin düzeylerde arttığı saptandı ($p<0.0001$). Bu artışında PH grubunda daha anlamlı bir düzeyde olduğu tespit edildi (Tablo 3.12).

Dokosahekzaenoik asit (22:6) düzeyinin kontrol ile PT grubu arasında istatistiksel bir farklılık göstermediği belirlenirken, HP grubu anlamlı bir azalma ($p<0.001$), PH grubunun ise belirgin düzeyde anlamlı bir artma gösterdiği belirlendi ($p<0.0001$). 24:1 düzeyi kontrol grubuna göre HP grubunda azalma gösterirken ($p<0.001$), PT grubunda $p<0.05$ anlamlılık düzeyinde bir artma, PH grubunda ise daha belirgin seviyelerde bir artma tespit edildi ($p<0.0001$).

Toplam yağ asidi düzeyleri kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında ise, HP ve PT grupları arasında anlamlı bir farklılık olmadığı buna ilaveten PH grubunda miktarın önemli ölçüde arttığı belirlendi ($p<0.0001$) (Tablo 3.12).

PUFA miktarına göre gruplar kontrol ile kıyaslandığında PT grubu ile kontrol arasında istatistiksel yönden bir farklılık olmadığı, diğer gruplarda miktarların arttığı belirlendi ($p<0.001$). MUFA miktarında ise kontrol ile kıyaslandığında HP ve PT grupları arasında istatistiksel yönden bir farklılık olmadığı, PH grubunda miktarın arttığı belirlendi ($p<0.001$) (Tablo 3.12).

Tablo 3.12. Bitki ekstraktının beyinde yağ asidi bileşimi üzerine etkileri (mg/1g)

Yağ Asitleri	Kontrol	HP	PT	PH
16:0	2.151.9±0.031	2.147±0.032	2.314±0.025 ^d	3.016±0.037^{cd}
18:0	2±0.023	1.864±0.022^{cd}	2.188±0.022^{cd}	2.567±0.008^{cd}
18:1	2.104±0.029	1.933±0.016^{cd}	2.217±0.026^{cd}	3.558±0.036^{cd}
18:2	0.085±0.001	0.073±0.0009^{cd}	0.09±0.0007 ^a	0.157±0.002^{cd}
20:1	0.291±0.002	0.178±0.006^{cd}	0.304±0.004	0.386±0.007^{cd}
20:4	1.932±0.014	1.772±0.022^{cd}	2.129±0.005^{cd}	3.037±0.028^{cd}
22:6	3.866±0.056	3.56±0.006 ^d	3.951±0.014	5.777±0.106^{cd}
24:1	0.423±0.008	0.382±0.009 ^d	0.446±0.004 ^a	0.611±0.004^{cd}
Diğer	0.155±0.017	0.241±0.022	0.226±0.018	0.293±0.057
PUFA	1.279±0.296	1.343±0.289 ^d	1.267±0.234 ^d	1.387±0.288 ^d
MUFA	0.43±0.071	0.443±0.075	0.455±0.057	0.685±0.11 ^d
Toplam	14.844±1.099	13.646±0.343	16.052±0.955	22.368±1.24^{cd}

cd: p<0.0001, d: p<0.001, c: p<0.01, a: p<0.05

3.10.2.5. Bitki Ekstraktının Kas Dokusu Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkileri

Palmitik asidin kontrol grubuna göre HP (p<0.05) ve PH gruplarında miktarının arttığı, özellikle bu artışın PH grubunda daha belirgin olduğu saptandı (p<0.0001). PT grubunda ise önemli olmayan bir artma tespit edildi. Palmitoleik asit (16:1) miktarının PT ve PH grubunda kontrole kıyasla belirli oranlarda arttığı ve bu artışın sadece PH grubunda belirgin düzeyde olduğu belirlendi (p<0.0001). HP grubunda ise miktarın önemli olmayan oranlarda azaldığı belirlendi (Tablo 3.13).

Stearik ve oleik asidin, kontrole kıyasla HP ve PH gruplarında önemli ölçüde arttığı gözlemlenirken (p<0.0001), özellikle oleik asit miktarındaki artışın PH grubunda çok daha belirgin olduğu belirlendi. Her iki yağ asidi miktarının kontrole göre PT grubunda bir farklılık göstermediği belirlendi. Linoleik asit miktarının kontrole ile PT grubu arasında istatistiksel yönden farklılık göstermediği belirlendi. Diğer gruplardaki düzeyin belirgin oranlarda arttığı ve bunun PH grubunda daha anlamlı olduğu bulundu (p<0.0001).

Araşidonik asidin kontrole kıyasla tüm gruplarda miktarının belirgin düzeylerde arttığı saptandı. Bu artışında PT grubunda daha anlamlı bir düzeyde olduğu tespit edildi (p<0.0001) (Tablo 3.13).

Dokosahekzaenoik asit düzeyinin kontrol ile PH grubu arasında istatistiksel bir farklılık göstermediği belirlenirken, HP ($p<0.001$) ve PT ($p<0.05$) gruplarında miktarın belirli düzeylerde arttığı saptandı.

24:0 düzeyinin bütün gruplarda belirli oranlarda arttığı ancak bu artışın PH grubunda istatistiksel yönden anlamlı bir artış olduğu saptandı ($p<0.001$).

Toplam yağ asidi düzeyleri kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında bütün gruplarda artış olduğu özellikle PH grubunda miktarın önemli ölçüde arttığı belirlendi ($p<0.0001$).

PUFA ve MUFA miktarları kontrol grubu ile kıyaslandığında bütün gruplarda miktarların arttığı ve özellikle PH grubunda artışların oldukça anlamlı olduğu belirlendi ($p<0.0001$) (Tablo 3.13).

Tablo 3.13. Bitki ekstraktının kasta yağ asidi bileşimi üzerine etkileri (mg/1g)

Yağ Asitleri	Kontrol	HP	PT	PH
16:0	0.852±0.035	1.462±0.222 ^a	0.888±0.066	3.148±0.21^{cd}
16:1	0.143±0.009	0.136±0.008	0.196±0.005	0.576±0.031^{cd}
18:0	0.247±0.023	0.426±0.028^{cd}	0.25±0.019	0.467±0.029^{cd}
18:1	0.465±0.03	0.995±0.038^{cd}	0.463±0.055	2.582±1.134^{cd}
18:2	1.103±0.033	2.278±0.164^{cd}	1.225±0.034	4.922±0.192^{cd}
20:4	0.592±0.059	0.883±0.045^{cd}	0.924±0.069^{cd}	0.869±0.065^{cd}
22:6	0.322±0.055	0.565±0.054 ^d	0.474±0.054 ^a	0.441±0.03
24:0	0.045±0.007	0.063±0.004	0.055±0.005	0.076±0.006 ^d
Diğer	0.271±0.083	0.48±0.16	0.471±0.104	0.939±0.395
PUFA	0.544±0.101	0.832±0.18 ^{cd}	0.865±0.135 ^{cd}	1.543±0.52 ^{cd}
MUFA	0.242±0.041	0.381±0.094 ^{cd}	0.343±0.093 ^{cd}	0.87±0.34 ^{cd}
Toplam	3.997±0.737	7.252±1.078^{cd}	6.214±0.698^{cd}	13.093±4.536^{cd}

cd: $p<0.0001$, d: $p<0.001$, c: $p<0.01$, a: $p<0.05$

3.10.2.6. Bitki Ekstraktının Kalp Dokusu Yağ Asidi Bileşimi Üzerine Etkileri

Palmitik asidin kontrol grubuna göre HP grubunda miktarının arttığı, PT ve PH gruplarında ise azaldığı saptandı ($p<0.0001$) (Tablo 3.14).

Stearik ve oleik asidin miktarlarının ise HP grubunda belirli düzeylerde arttığı gözlemlenirken ($p<0.05$), PT ve PH gruplarında azaldığı saptandı. Özellikle oleik asit miktarındaki azalmanın PH grubunda çok daha belirgin olduğu saptandı. Linoleik asit miktarının kontrole kıyasla HP grubunda anlamlı bir artma ($p<0.0001$), PT ve PH gruplarında anlamlı bir azalma ($p<0.0001$) belirlendi.

Araşidonik asidin HP grubu ile kontrol grubu arasında bir farklılık göstermediği buna karşılık diğer gruplarda miktarının belirgin düzeylerde azaldığı saptandı ($p<0.0001$). Bu azalmanın da PT grubunda daha belirgin bir düzeyde olduğu tespit edildi (Tablo 3.14).

Dokosahekzaenoik asit düzeyinin kontrol ile HP ve PH grupları arasında istatistiksel bir farklılık göstermediği belirlenirken, PT grubunda miktarın belirli düzeylerde azaldığı saptandı ($p<0.001$).

Lignoserik asit (24:0) miktarının kontrole göre bütün gruplarda azalma belirlenirken, azalmanın PT ve PH gruplarında anlamlı olduğu saptandı ($p<0.0001$). Nervonik asit (24:1) miktarı ise kontrole kıyasla bütün gruplarda azaldığı ($p<0.0001$), azalmanın PH grubunda daha belirgin olduğu saptandı.

Toplam yağ asidi düzeyleri kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında ise, HP grubunda belirli düzeylerde arttığı gözlemlenirken ($p<0.001$), PT ve PH gruplarında azaldığı saptandı ($p<0.0001$).

PUFA miktarına göre gruplar kontrol ile kıyaslandığında HP grubunun istatistiksel bir farklılık göstermediği belirlenirken, PT grubunda azalma PH grubunda artma saptandı ($p<0.001$). MUFA miktarlarına göre gruplar kontrol ile kıyaslandığında PT ve HP gruplarının istatistiksel yönden bir farklılık göstermediği belirlenirken, PH grubunda anlamlı bir azalma tespit edildi ($p<0.001$) (Tablo 3.14).

Tablo 3.14. Bitki ekstraktının kalpte yağ asidi bileşimi üzerine etkileri (mg/1g)

Yağ Asitleri	Kontrol	HP	PT	PH
16:0	1.292±0.037	1.578±0.043^{cd}	1.112±0.013^{cd}	0.859±0.036^{cd}
18:0	1.015±0.017	1.083±0.021 ^a	0.868±0.016	0.899±0.021
18:1	0.57±0.009	0.742±0.018 ^a	0.463±0.017	0.251±0.009^{cd}
18:2	2.185±0.05	2.777±0.072^{cd}	1.891±0.053^{cd}	1.677±0.034^{cd}
20:4	2.31±0.045	2.262±0.023	1.894±0.027^{cd}	2.06±0.03^{cd}
22:6	0.867±0.025	0.811±0.023	0.72±0.023 ^d	0.826±0.027
24:0	0.145±0.005	0.133±0.001	0.11±0.002^{cd}	0.116±0.002^{cd}
24:1	0.073±0.002	0.061±0.0008^{cd}	0.06±0.001^{cd}	0.054±0.001^{cd}
Diğer	0.419±0.1	0.43±0.11	0.347±0.076	0.404±0.09
PUFA	1.247±0.183	1.201±0.199	1.05±0.128 ^d	1.343±0.122 ^d
MUFA	0.213±0.023	0.242±0.029	0.179±0.016	0.149±0.01 ^d
Toplam	9.677±0.3	10.97±0.14 ^d	8.159±0.23^{cd}	7.49±0.12^{cd}

cd: p<0.0001, d: p<0.001, c: p<0.01, a: p<0.05

3.10.3. Bitki Ekstraktının Deney Hayvanlarının Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkileri

3.10.3.1. Bitki Ekstraktının Serumdaki Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkileri

A ve E vitamin miktarlarının kontrole kıyasla HP grubunda azaldığı, PT ve PH gruplarında ise arttığı ve bu farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi (p<0.0001). D3 vitamin miktarının PT ve PH grupları ile kontrol grubu arasında istatistiksel bir farklılık göstermediği saptanırken, HP grubunda miktarın anlamlı olarak azaldığı tespit edildi (p<0.05). K1 vitamin miktarının kontrole göre PT ve PH gruplarında istatistiksel bir farklılık göstermediği saptanırken, HP grubunda anlamlı bir azalma gösterdiği belirlendi (p<0.0001 (Tablo 3.15)).

Tablo 3.15. Bitki ekstraktının serumda vitamin ve kolesterol bileşimi üzerine etkileri ($\mu\text{g}/1\text{g}$)

Vitaminler	Kontrol	HP	PT	PH
A	0.34 \pm 0.01	0.27\pm0.01^{cd}	0.41\pm0.01^{cd}	0.49\pm0.01^{cd}
E	3.5 \pm 0.12	2.7\pm0.06^{cd}	4.2\pm0.04^{cd}	5.37\pm0.12^{cd}
D3	41.2 \pm 2.5	29.7 \pm 1.2 ^a	41.1 \pm 2.1	38.5 \pm 3.1
K1	3.7 \pm 0.1	2.3\pm0.07^{cd}	3.8 \pm 0.1	3.59 \pm 0.1

cd: p<0.0001, d: p<0.001, c: p<0.01, a: p<0.05

3.10.3.2. Bitki Ekstraktının Karaciğerdeki Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkileri

K1 vitamin miktarının kontrol ile karşılaştırılmasında HP grubunda miktarın azaldığı buna karşılık PT ve PH gruplarında ise arttığı gözlemlendi (p<0.0001). K2 vitamininin PT ve PH gruplarında kontrole göre arttığı (p<0.05), HP grubunda ise önemli olmayan azalış gösterdiği tespit edildi (Tablo 3.16).

α -tokoferol düzeyinin; kontrol grubuna göre bütün gruplarda arttığı bu artışın HP grubunda p<0.001, PT grubunda p<0.01 ve PH grubunda ise p<0.05 anlamlılık düzeyinde olduğu belirlendi. α -tokoferol asetat miktarının ise; HP grubunda kontrol grubuna kıyasla çok önemli bir artış olduğu tespit edildi (p<0.0001). PT ve PH gruplarında ise belirgin bir azalma tespit edildi (p<0.0001) (Tablo 3.16).

Kolesterol düzeyinin kontrol grubuna kıyasla tüm gruplarda arttığı, bu artışın PT (p<0.0001) ve PH gruplarında (p<0.001) anlamlı olduğu belirlendi. Retinol miktarlarının bütün gruplarda kontrole göre arttığı ve bu artışın HP grubunda (p<0.0001) ve PT (p<0.05) grubunda anlamlı olduğu, PH grubunda ise önemli olmayan bir artışın olduğu tespit edildi. Kampesterol düzeyi, bütün gruplarda kontrole kıyasla önemli olmayan bir azalma gösterdi. β -sitosterol düzeyinde ise bütün gruplarda kontrole kıyasla anlamlı artışlar tespit edilirken (p<0.0001), PT grubunda artışın daha fazla olduğu belirlendi (Tablo 3.16).

Tablo 3.16. Bitki ekstraktının karaciğerde vitamin ve kolesterol bileşimi üzerine etkileri ($\mu\text{g}/\text{1g}$)

Vitaminler	Kontrol	HP	PT	PH
K1	3.01 \pm 0.042	2.07\pm0.034^{cd}	4.15\pm0.09^{cd}	3.45\pm0.056^{cd}
K2	1.24 \pm 0.046	0.777 \pm 0.25	1.715 \pm 0.08 ^a	1.68 \pm 0.187 ^a
α - tokoferol	3.376 \pm 0.32	5.31 \pm 0.85 ^d	4.87 \pm 0.17 ^c	4.5 \pm 0.09 ^a
α - tokof. ast	3.21 \pm 0.095	35.18\pm0.69^{cd}	0.224\pm0.01^{cd}	0.188\pm0.10^{cd}
Kolesterol	993.74 \pm 8.9	1000.32 \pm 16.32	1090.07\pm16.95^{cd}	1077.4 \pm 51.4 ^d
Retinol	238.88 \pm 1.7	257.27\pm4.32^{cd}	248.68 \pm 2.71 ^a	245.55 \pm 1.94
Kampesterol	121.64 \pm 4.32	115.97 \pm 3.81	119.23 \pm 2.69	113.76 \pm 3.39
β -sitosterol	12.61 \pm 0.29	15.86\pm0.114^{cd}	21.63\pm0.512^{cd}	19.78\pm0.31^{cd}

cd: p<0.0001, d: p<0.001, c: p<0.01, a: p<0.05

3.10.3.3. Bitki Ekstraktının Böbrekte Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkileri

K1 vitamini düzeyinin kontrole kıyasla PH grubunda belirgin bir seviyede arttığı ve HP grubunda belirgin bir seviyede azaldığı gözlemlendi (p<0.0001). PT grubunda ise önemli olmayan bir azalmanın görüldüğü tespit edildi (Tablo 3.17). K2 vitamininin PT ve PH gruplarında kontrole göre arttığı (p<0.0001), HP grubunda ise azaldığı (p<0.0001) ve bu farklılıkların anlamlı olduğu saptandı. D2 vitamininin kontrole kıyasla PT grubunda p<0.01 düzeyinde bir artma, PH grubunda oldukça belirgin miktarda artma (p<0.0001) ve HP grubunda ise önemli olmayan bir azalma belirlendi.

α -tokoferol miktarının kontrole kıyasla HP ve PH gruplarında arttığı gözlenirken (p<0.0001), PT grubunda önemli olmayan bir azalma tespit edildi (Tablo 3.17). α -tokoferol asetat seviyesinin; PH grubunda kontrole göre oldukça belirgin miktarda azaldığı tespit edildi (p<0.0001). PT grubunda ise kontrole göre anlamlı bir artış görüldü (p<0.0001). HP grubunda kontrole göre p<0.05 düzeyinde bir azalma belirlendi. Retinol miktarlarının kontrol grubuna kıyasla PH grubunda değişme gözlenmezken, HP grubunda anlamlı bir artış (p<0.001), PT grubunda anlamlı bir azalma tespit edildi (p<0.0001). Kolesterol düzeyinin kontrol grubuna göre PT ve PH gruplarında anlamlı seviyelerde azaldığı gözlemlendi (p<0.0001), HP grubunda ise p<0.05 düzeyinde anlamlı bir azalma tespit edildi (Tablo 3.17). Kampesterol düzeyinin HP ve PH gruplarında kontrole kıyasla anlamlı bir artma gösterdiği (p<0.0001) ve PT grubunda ise anlamlı bir azalma gösterdiği tespit

edildi ($p<0.0001$). β -sitosterol düzeyinde HP ve PT gruplarında kontrole kıyasla önemli olmayan bir azalma ve PH grubunda ise belirgin bir artma belirlendi ($p<0.0001$).

Tablo 3.17. Bitki ekstraktının böbrekte vitamin ve kolesterol bileşimi üzerine etkileri ($\mu\text{g}/1\text{g}$)

Vitaminler	Kontrol	HP	PT	PH
K1	2.38±0.13	0.06±0.001^{cd}	2.21±0.082	3.73±0.1^{cd}
K2	17.9±0.43	14.24±1^{cd}	3.66±0.17^{cd}	3.3±0.49^{cd}
D2	0.24±0.046	0.31±0.01	0.11±0.001 ^c	1.49±0.05^{cd}
α - tokoferol	17.88±0.24	24.26±0.3^{cd}	17.24±0.15	24.83±0.29^{cd}
α - tokof. ast	2.24±0.102	1.98±0.039 ^a	3.75±0.062^{cd}	0.91±0.06^{cd}
Kolesterol	1730.46±26.9	1679.8±17.6 ^a	1608.9±10.6^{cd}	1609.8±9^{cd}
Retinol	2.1±0.59	2.55±0.14 ^d	1.31±0.03^{cd}	2.11±0.09
Kampesterol	71.03±0.53	103.2±2.2^{cd}	42.3±0.3^{cd}	120.6±1.5^{cd}
β -sitosterol	16.88±0.25	13.15±0.30	14.2±0.2	28.2±2.01^{cd}

cd: $p<0.0001$, d: $p<0.001$, c: $p<0.01$, a: $p>0.05$

3.10.3.4. Bitki Ekstraktının Beyindeki Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkileri

K1 vitamini kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm gruplarda arttığı, HP ve PT gruplarında artışın belirgin düzeyde olduğu saptandı ($p<0.0001$) (Tablo 3.18).

α -tokoferol miktarlarının HP ve PH gruplarında kontrole kıyasla istatistiksel bir farklılık göstermediği saptanırken, PT grubunda anlamlı artma gösterdiği tespit edildi ($p<0.001$). α -tokoferol asetat düzeyinin bütün gruplarda kontrole kıyasla önemli miktarlarda arttığı belirlendi ($p<0.0001$). Kolesterol seviyesinin de kontrole kıyasla bütün gruplarda anlamlı olarak arttığı, miktarın HP ve PH gruplarında daha belirgin seviyelerde arttığı sonucuna ulaşıldı ($p<0.0001$). PT grubunda ise $p<0.001$ anlamlılık düzeyinde bir artma gösterdiği gözlemlendi (Tablo 3.18). Kampesterol miktarı kontrole göre HP ve PT gruplarında azalma gösterirken ($p<0.0001$), PH grubunda önemli bir artma tespit edildi ($p<0.0001$). β -sitosterol miktarında ise bütün gruplarda belirgin artışlar tespit edilirken ($p<0.0001$), PH grubundaki artışın çok daha fazla olduğu belirlendi (Tablo 3.18).

Tablo 3.18. Bitki ekstraktının beyinde vitamin ve kolesterol bileşimi üzerine etkileri ($\mu\text{g}/1\text{g}$)

Vitaminler	Kontrol	HP	PT	PH
K1	4.58 \pm 0.04	5.42\pm0.08^{cd}	5.76\pm0.16^{cd}	4.82 \pm 0.19
α - tokoferol	9.53 \pm 0.1	9.85 \pm 0.13	10.59 \pm 0.18 ^d	9.77 \pm 0.2
α - tokof. ast	5.04 \pm 0.19	8.26\pm0.14^{cd}	9.28\pm0.14^{cd}	8.85\pm0.2^{cd}
Kolesterol	1568.29 \pm 34.3	1762.12\pm12.8^{cd}	1681.5 \pm 15.5 ^d	1725.14\pm19.6^{cd}
Kampesterol	0.82 \pm 0.02	0.435\pm0.04^{cd}	0.328\pm0.02^{cd}	1.34\pm0.07^{cd}
β -sitosterol	0.1 \pm 0.02	0.89\pm0.08^{cd}	0.76\pm0.02^{cd}	2.32\pm0.09^{cd}

cd: p<0.0001, d: p<0.001, c: p<0.01, a: p<0.05

3.10.3.5. Bitki Ekstraktının Kastaki Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkileri

K1 vitamin miktarının kontrol ile karşılaştırılmasında tüm gruplarda önemli artışlar gösterdiği, HP ve PT gruplarındaki artışın (p<0.0001) PH grubundaki artışa göre daha fazla olduğu (p<0.01) belirlendi. K2 vitamin miktarlarının kontrole göre tüm gruplarda arttığı, bu artışların oldukça belirgin olduğu gözlemlendi (p<0.0001). D3 vitamin miktarının HP grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel bir farklılık göstermediği, PT (p<0.001) ve PH gruplarında miktarın azaldığı ve bunun PH grubunda daha belirgin olduğu tespit edildi (p<0.0001) (Tablo 3.19).

α -tokoferol miktarının, bütün gruplarda kontrole göre anlamlı olarak arttığı, bu artışın PT grubunda daha az olduğu saptanırken (p<0.05), HP ve PH gruplarında daha belirgin olduğu tespit edildi (p<0.0001). α -tokoferol asetat düzeyinin ise, HP grubunda istatistiksel yönden bir farklılık göstermediği belirlenirken, PT grubunda anlamlı bir artış tespit edildi (p<0.05). PH grubunda ise miktarın arttığı saptandı (p<0.001). Kampesterol düzeyinde kontrol grubuna göre bütün gruplarda belirgin artmalar olduğu gözlemlendi (p<0.0001). Retinol düzeyinin ise sadece HP grubunda anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi.

Kolesterol miktarının kontrol grubuna göre karşılaştırılmasında da tüm gruplarda düzeyin arttığı (p<0.0001) ve özellikle HP ve PT gruplarında daha belirgin seviyede olduğu bulunduğu. Yine β -sitosterol miktarının da bütün gruplarda anlamlı olarak arttığı gözlemlendi (p<0.0001) (Tablo 3.19).

Tablo 3.19. Bitki ekstraktının kasta vitamin ve kolesterol bileşimi üzerine etkileri ($\mu\text{g}/1\text{g}$)

Vitaminler	Kontrol	HP	PT	PH
K1	0.32 \pm 0.01	1.23\pm0.21^{cd}	1.15\pm0.07^{cd}	0.75 \pm 0.08 ^c
K2	3.45 \pm 0.15	11.03\pm0.22^{cd}	8.34\pm0.11^{cd}	7.45\pm0.11^{cd}
D3	0.459 \pm .013	0.52 \pm 0.05	0.31 \pm 0.005 ^d	0.23\pm0.02^{cd}
α - tokoferol	3.58 \pm 0.3	8.69\pm0.22^{cd}	4.35 \pm 0.2 ^a	8.18\pm0.13^{cd}
α - tokof. ast	2.33 \pm 0.15	2.48 \pm 0.07	2.84 \pm 0.13 ^a	3.2 \pm 0.2 ^d
Kolesterol	347.73 \pm 12.97	510.24\pm2.3^{cd}	598.16\pm6.9^{cd}	479.92\pm6.03^{cd}
Retinol	0.18 \pm 0.02	0.26 \pm 0.02 ^a	0.17 \pm 0.01	0.19 \pm 0.02
Kampesterol	90.11 \pm 4.2	112.3\pm2.3^{cd}	151.8\pm1.2^{cd}	148.4\pm2.7^{cd}
β -sitosterol	2.48 \pm 0.16	5.99\pm0.18^{cd}	5.2\pm0.14^{cd}	4.07\pm0.37^{cd}

cd: $p<0.0001$, d: $p<0.001$, c: $p<0.01$, a: $p<0.05$

3.10.3.6. Bitki Ekstraktının Kalpteki Vitamin ve Kolesterol Bileşimi Üzerine Etkileri

K1 vitamin miktarının kontrol ile karşılaştırılmasında HP grubunda miktarın anlamlı bir farklılık göstermemesine karşılık PT ve PH gruplarında belirgin bir azalma gözlemlendi ($p<0.0001$). K2 vitamininin PT ve HP gruplarında kontrole göre arttığı ($p<0.0001$), PH grubunda ise önemli olmayan artma gösterdiği tespit edildi. D2 vitamininin kontrole kıyasla bütün gruplarda anlamlı olarak azaldığı belirlendi ($p<0.0001$). D3 vitamininin kontrole kıyasla HP grubunda artış gösterdiği, PT ve PH gruplarında ise azaldığı belirlendi ($p<0.0001$) (Tablo 3.20).

α -tokoferol asetat düzeylerinin kontrole kıyasla PH grubunda anlamlı bir farklılık gözlenmezken, PT ve HP gruplarında oldukça belirgin bir artış olduğu tespit edildi ($p<0.0001$). α -tokoferol düzeyinin; kontrol grubuna göre HP ve PH gruplarında anlamlı bir farklılık gözlenmemesine karşılık PT grubunda anlamlı bir azalma olduğu belirlendi ($p<0.0001$) (Tablo 3.20).

Kolesterol düzeyinin kontrol grubuna kıyasla PT ve PH gruplarında istatistiksel bir farklılık göstermediği saptanırken, HP grubunda anlamlı bir artış olduğu belirlendi ($p<0.001$). Retinol miktarlarının bütün gruplarda kontrole göre belirli oranlarda arttığı ve bu artışın HP grubunda ($p<0.05$) ve PT ($p<0.001$) grubunda anlamlı olduğu tespit edildi. Kampesterol düzeyi, PT ve PH gruplarında kontrole göre önemli olmayan bir azalma

gösterdi. HP grubunda ise anlamlı bir artış olduğu belirlendi ($p<0.01$). β -sitosterol düzeyinde ise bütün gruplarda kontrole kıyasla anlamlı azalmalar tespit edilirken ($p<0.0001$), PT grubunda azalmanın oldukça belirgin düzeyde olduğu görüldü (Tablo 3.20).

Tablo 3.20. Bitki ekstraktının kalpte vitamin ve kolesterol bileşimi üzerine etkileri ($\mu\text{g}/1\text{g}$)

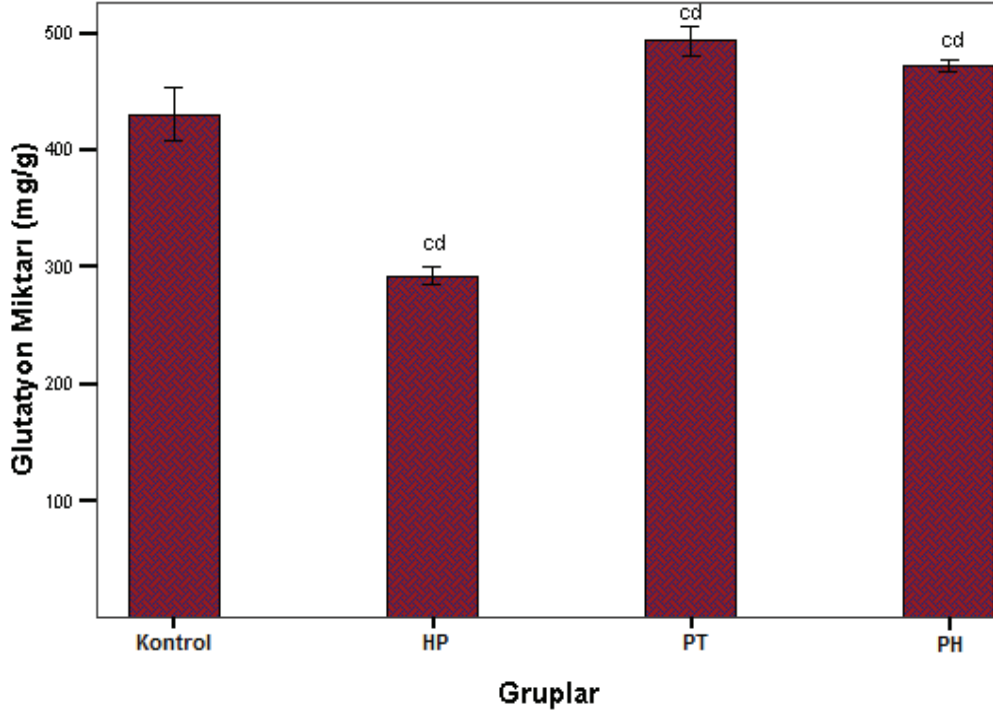
Vitaminler	Kontrol	HP	PT	PH
K1	0.53±0.02	0.56±0.01	0.09±0.01^{cd}	0.15±0.01^{cd}
K2	3.16±0.1	4.37±0.11^{cd}	4.31±0.09^{cd}	3.37±0.17
D2	0.22±0.019	0.1±0.006^{cd}	0.06±0.001^{cd}	0.137±0.01^{cd}
D3	0.26±0.01	0.34±0.01^{cd}	0.07±0.001^{cd}	0.14±0.007^{cd}
α - tokoferol	6.47±0.12	6.68±0.18	3.52±0.22^{cd}	6.66±0.18
α -tokof. ast	3.07±0.16	0.43±0.03^{cd}	0.13±0.007^{cd}	2.94±0.2
Kolesterol	811.5±13.06	954.26±30.89 ^d	776.9±22.1	838.17±25.4
Retinol	0.18±0.009	0.22±0.01 ^a	0.23±0.007 ^d	0.19±0.01
Kampesterol	111.35±2.8	134±7.6 ^c	108.8±1.8	108.8±4.04
β -sitosterol	10.8±0.79	7.39±0.17^{cd}	0.12±0.009^{cd}	8.59±0.25^{cd}

cd: $p<0.0001$, d: $p<0.001$, c: $p<0.01$, a: $p<0.05$

3.10.4. Bitki Ekstraktının Deney Hayvanlarının Glutasyon Miktarı Üzerine Etkileri

3.10.4.1. Bitki Ekstraktının Karaciğerdeki Glutasyon Miktarı Üzerine Etkileri

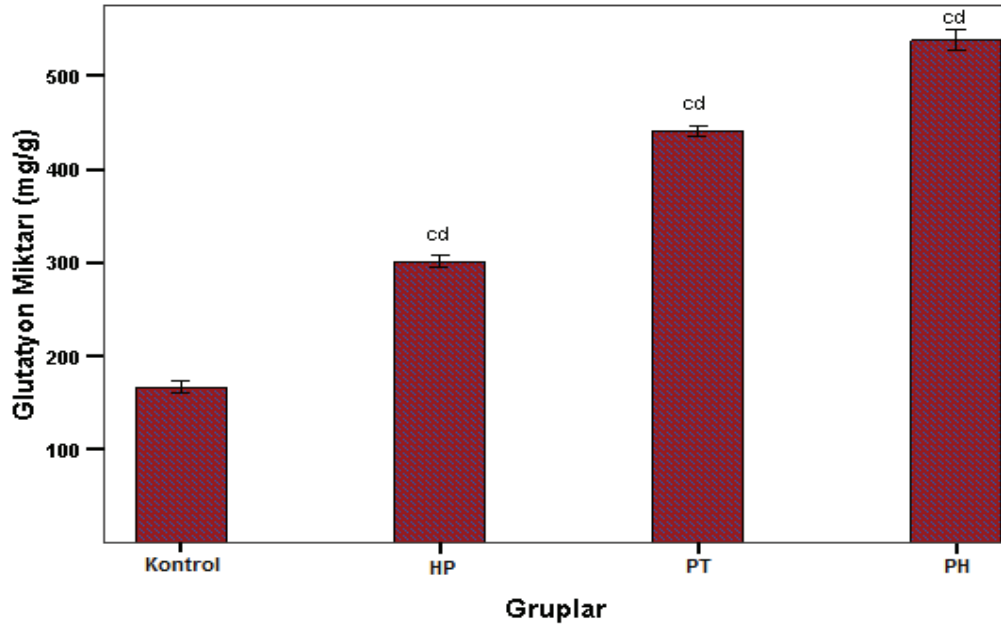
Karaciğerde glutasyon miktarının kontrol grubuna kıyasla PT ve PH gruplarında arttığı ve HP grubunda azaldığı belirlendi ($p<0.0001$) (Tablo 3.21). HP grubuna göre ise glutasyon düzeyinin bitki ekstresi verilen gruplarda arttığı ve bunun da PT grubunda daha belirgin olduğu bulundu ($p<0.0001$) (Şekil 3.37).



Şekil 3.37. Bitki ekstraktının karaciğerde glutatyon miktarı üzerine etkileri
cd: $p < 0.0001$

3.10.4.2. Bitki Ekstraktının Böbrekte Glutatyon Miktarı Üzerine Etkileri

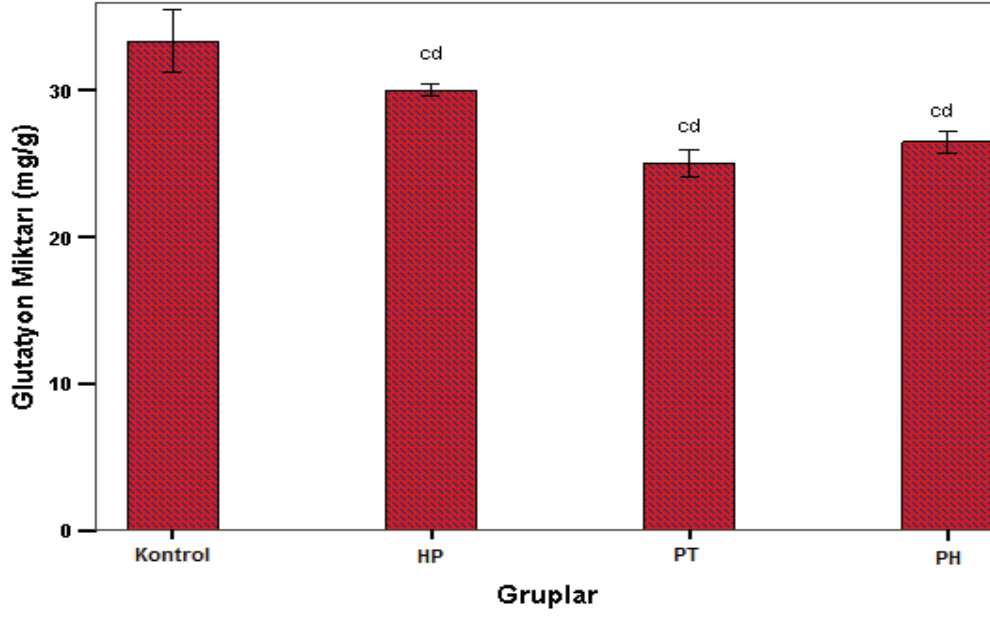
Böbrekte glutatyon seviyesinin kontrol grubuna göre bütün gruplarda çok belirgin düzeylerde artışlar gösterdiği belirlenirken ($p < 0.0001$) (Tablo 3.21), bu artışında PH grubunda çok fazla olduğu gözlemlendi (Şekil 3.38).



Şekil 3.38. Bitki ekstraktının böbrekte glutatyon miktarı üzerine etkileri
cd: $p < 0.0001$

3.10.4.3. Bitki Ekstraktının Beyindeki Glutatyon Miktarı Üzerine Etkileri

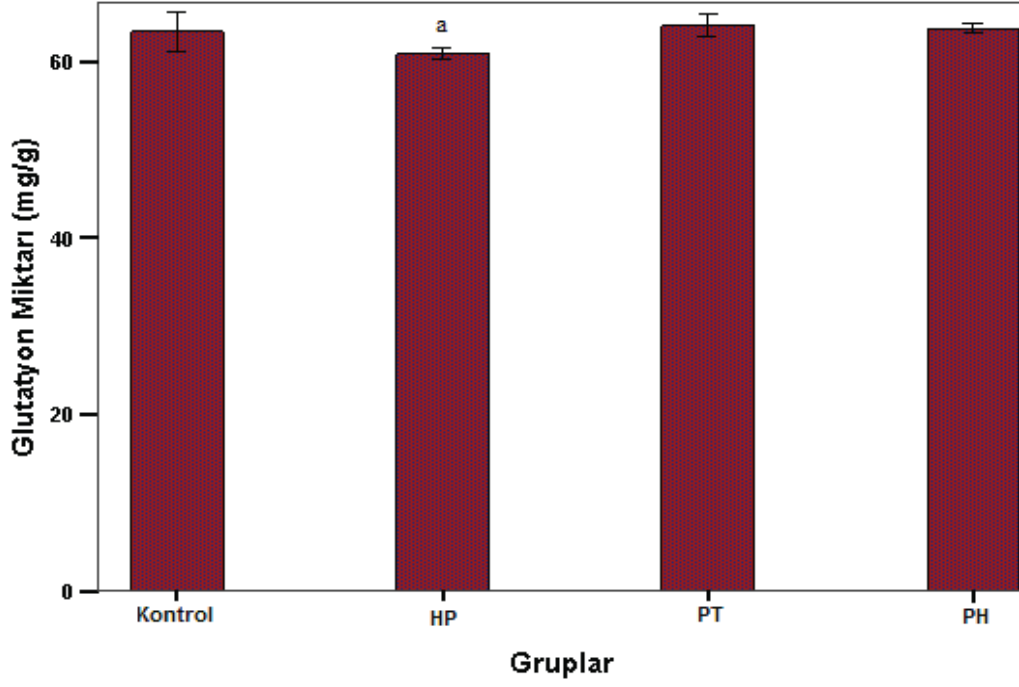
Beyinde glutatyon düzeyinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, miktarın bütün gruplarda anlamlı olarak azaldığı bulundu ($p < 0.0001$) (Tablo 3.21) (Şekil 3.39).



Şekil 3.39. Bitki ekstraktının beyinde glutasyon miktarı üzerine etkileri
cd: $p < 0.0001$

3.10.4.4. Bitki Ekstraktının Kasta Glutasyon Miktarı Üzerine Etkileri

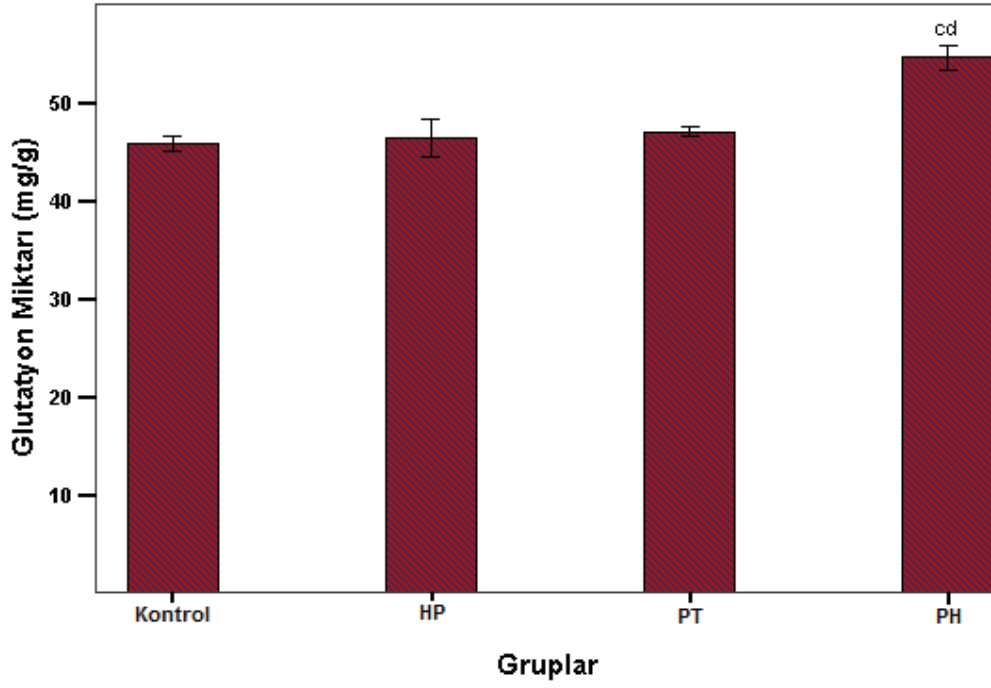
Kasta glutasyon düzeyi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, miktarın PT ve PH gruplarında anlamlı bir farklılık olmadığı, HP grubunda ise anlamlı bir azalma olduğu bulundu ($p < 0.05$) (Tablo 3.21) (Şekil 3.40).



Şekil 3.40. Bitki ekstraktının kasta glutatyon miktarı üzerine etkileri
a: $p < 0.05$

3.10.4.5. Bitki Ekstraktının Kalpte Glutathyon Miktarı Üzerine Etkileri

Kalpte glutathyon düzeyi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, miktarın HP ve PT gruplarında anlamlı bir farklılık göstermediği, PH grubunda ise belirgin oranlarda arttığı bulundu ($p < 0.0001$) (Tablo 3.21) (Şekil 3.41).



Şekil 3.41. Bitki ekstraktının kalpte glutasyon miktarı üzerine etkileri
cd: p<0.0001

Tablo 3.21. Bitki ekstraktının dokularda glutasyon miktarı üzerine etkileri

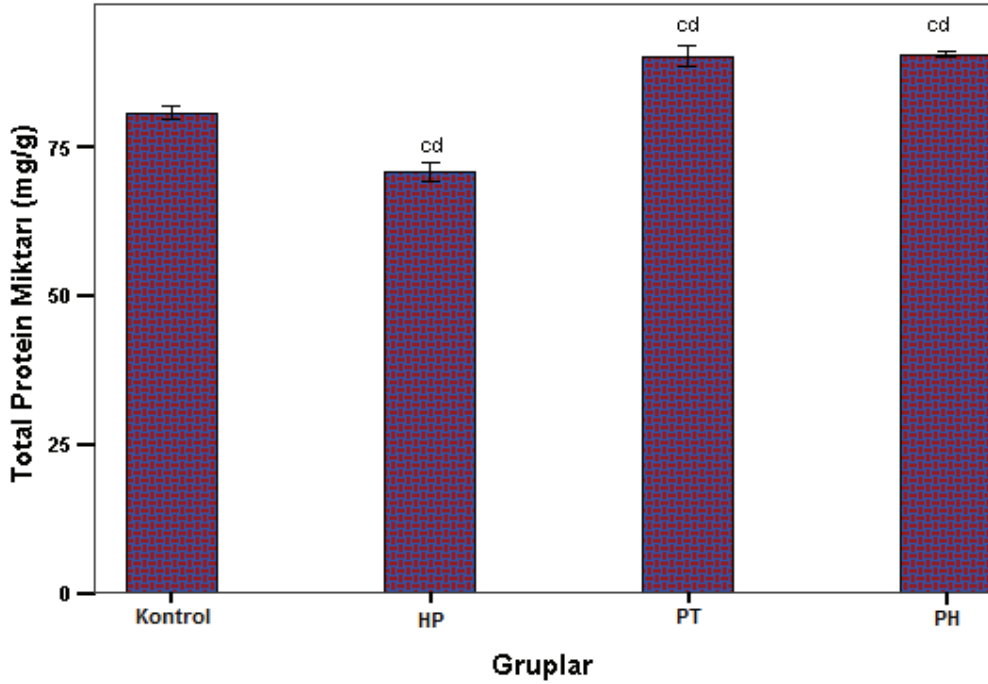
GSH	Kontrol	HP	PT	PH
Karaciğer	429.85±8.7	292±3.1 ^{cd}	492.9±5.3 ^{cd}	471.7±2.3 ^{cd}
Böbrek	166.5±2.5	300.8±2.4 ^{cd}	440.4±2.18 ^{cd}	537.9±4.9 ^{cd}
Kas	63.3±0.89	60.8±0.25 ^a	64.1±0.53	63.7±0.2
Kalp	45.7±0.3	46.3±0.7	46.9±0.2	54.6±0.5 ^{cd}
Beyin	33.3±0.8	30.05±0.15 ^{cd}	25±0.4 ^{cd}	26.5±0.3 ^{cd}

cd: p<0.0001, a: p<0.05

3.10.5. Bitki Ekstraktının DeneY Hayvanlarının Total Protein Miktarı Üzerine Etkileri

3.10.5.1. Bitki Ekstraktının Karaciğerde Total Protein Miktarı Üzerine Etkileri

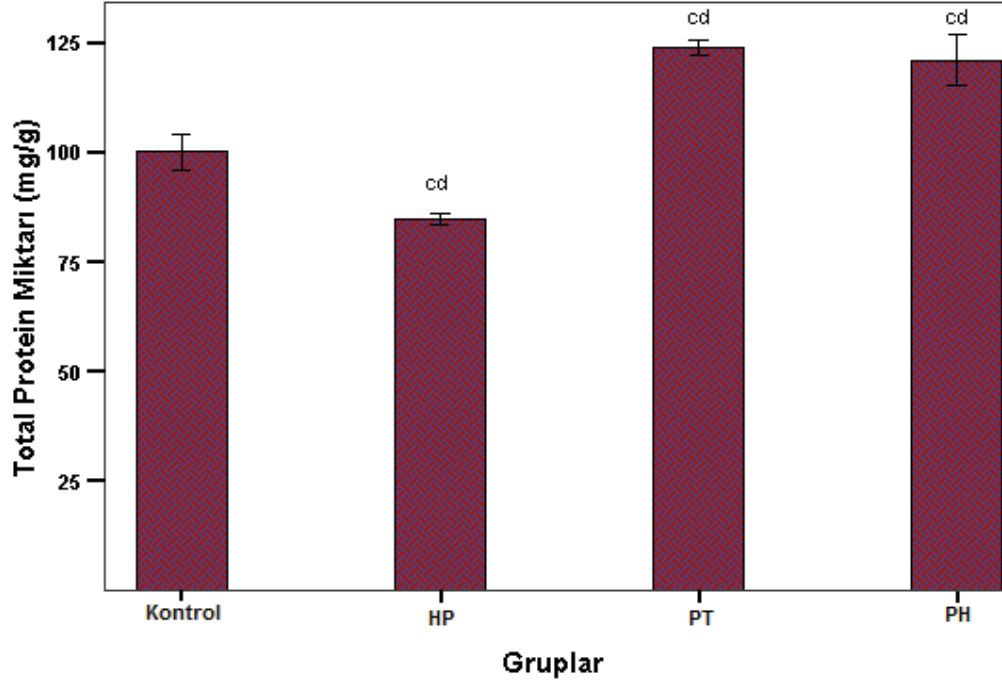
Karaciğerde total protein seviyesinin kontrole göre HP grubunda azaldığı gözlenirken ($p<0.0001$), PT ve PH gruplarında belirgin oranlarda arttığı saptandı ($p<0.0001$). (Şekil 3.42) (Tablo 3.22).



Şekil 3.42. Bitki ekstraktının karaciğerde total protein miktarı üzerine etkileri
cd: $p<0.0001$

3.10.5.2. Bitki Ekstraktının Böbrekteki Total Protein Miktarı Üzerine Etkileri

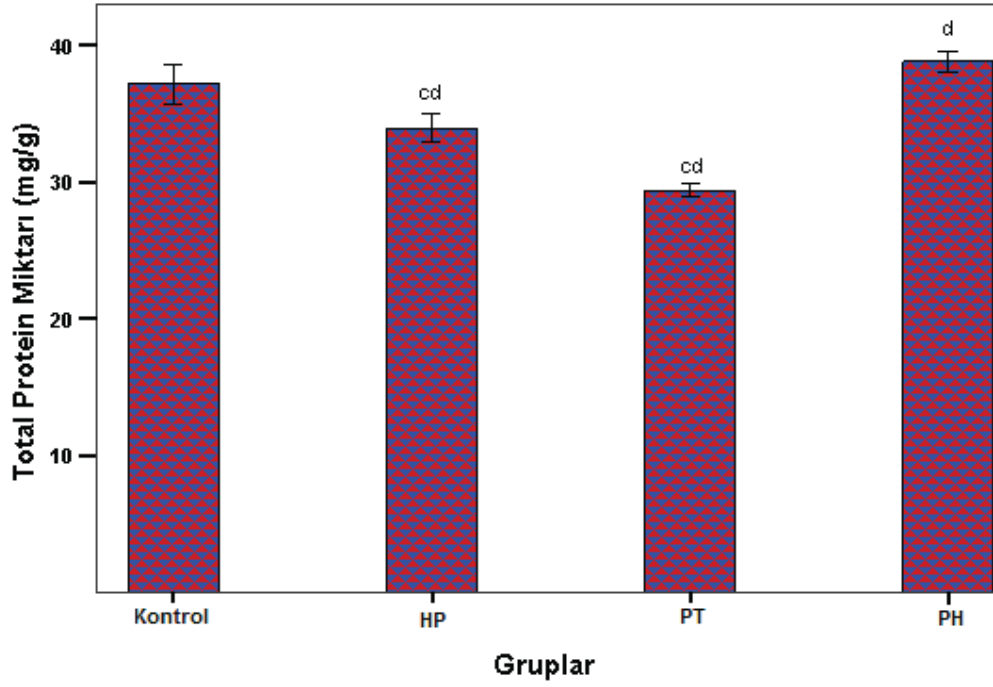
Böbrekte total protein seviyesinin kontrole göre HP grubunda azaldığı gözlenirken ($p<0.0001$), PT ve PH gruplarında belirgin oranlarda arttığı saptandı ($p<0.0001$) (Tablo 3.22). HP grubuna göre PH grubunda total protein seviyesinin çok fazla miktarda arttığı saptandı (Şekil 3.43).



Şekil 3.43. Bitki ekstraktının böbrekte total protein miktarı üzerine etkileri
cd: $p < 0.0001$

3.10.5.3. Bitki Ekstraktının Kastaki Total Protein Miktarı Üzerine Etkileri

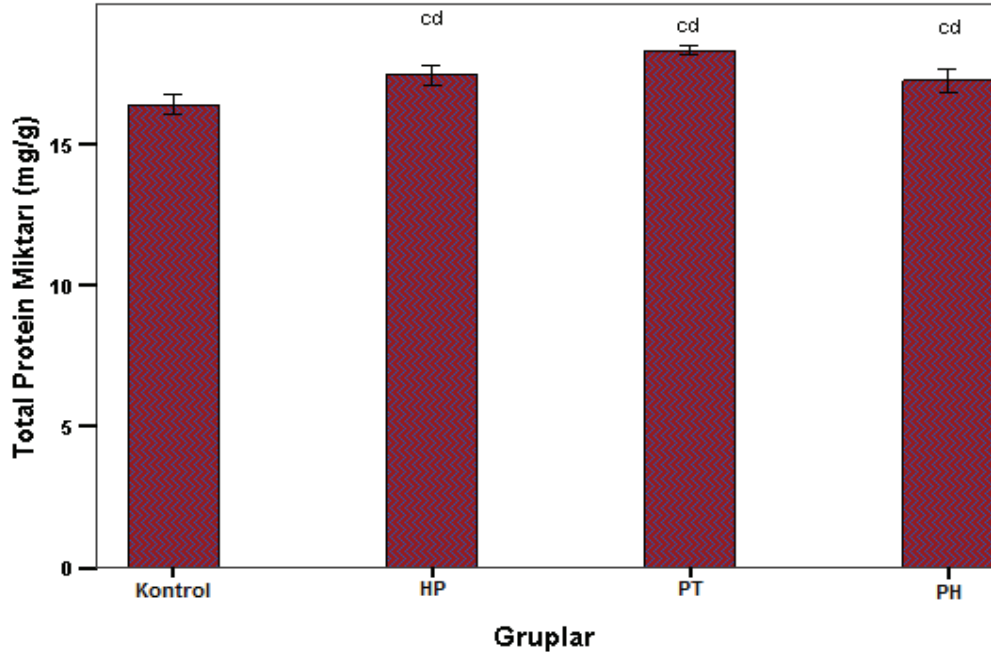
Kasta total protein seviyesinin kontrole göre HP ve PT gruplarında azaldığı gözlenirken ($p < 0.0001$), PH grubunda belirli oranlarda arttığı saptandı ($p < 0.001$) (Tablo 3.22) (Şekil 3.44).



Şekil 3.44. Bitki ekstraktının kasta total protein miktarı üzerine etkileri
cd: $p<0.0001$, d: $p<0.001$

3.10.5.4. Bitki Ekstraktının Beyinde Total Protein Miktarı Üzerine Etkileri

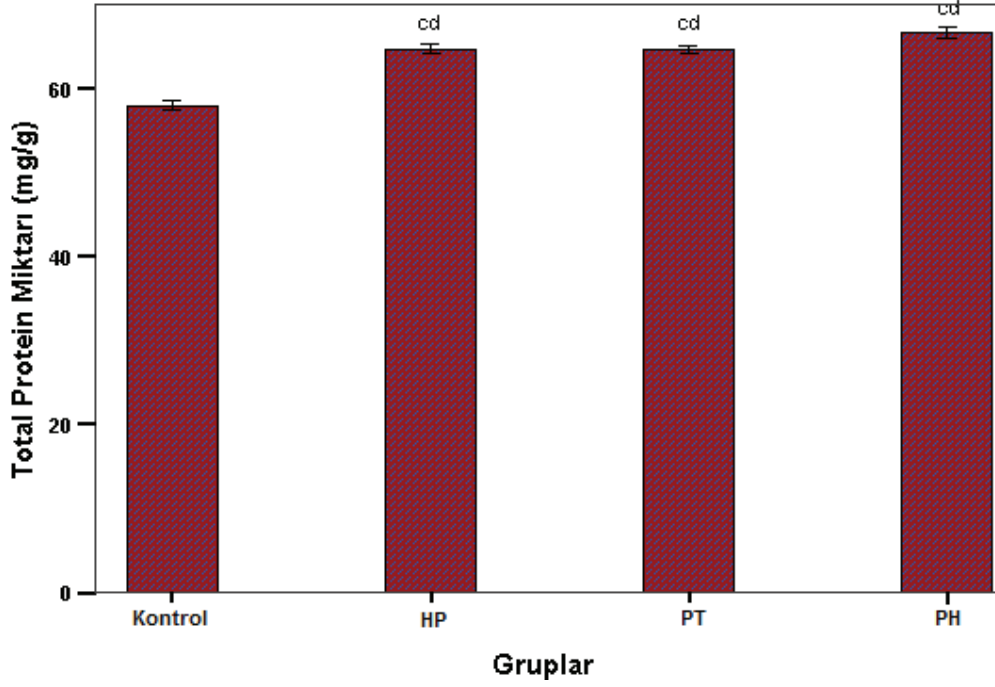
Beyin dokusunda total protein seviyesinin kontrol grubuna göre bütün gruplarda belirgin seviyelerde arttığı ($p<0.0001$) (Tablo 3.22), bunun PT grubunda daha belirgin olduğu gözlemlendi ($p<0.0001$) (Şekil 3.45).



Şekil 3.45. Bitki ekstraktının beyinde total protein miktarı üzerine etkileri
cd: $p < 0.0001$

3.10.5.5. Bitki Ekstraktının Kalpte Total Protein Miktarı Üzerine Etkileri

Kalp dokusunda total protein seviyesinin kontrol grubuna göre bütün gruplarda belirgin seviyelerde arttığı ($p < 0.0001$) (Tablo 3.22), bunun PH grubunda daha belirgin olduğu gözlemlendi ($p < 0.0001$) (Şekil 3.46).



Şekil 3.46. Bitki ekstraktının kalpte total protein miktarı üzerine etkileri
cd: p<0.0001

Tablo 3.22. Bitki ekstraktının dokularda total protein miktarı üzerine etkileri

Total Protein	Kontrol	HP	PT	PH
Karaciğer	80.6±0.4	70.7±0.5 ^{cd}	90.2±0.7 ^{cd}	90.5±0.16 ^{cd}
Böbrek	100±1.5	84.6±0.4 ^{cd}	123.9±0.7 ^{cd}	120.9±2.4 ^{cd}
Kas	37.1±0.5	33.9±0.3 ^{cd}	29.4±0.18 ^{cd}	38.8±0.3 ^d
Kalp	57.9±0.2	64.6±0.2 ^{cd}	64.5±0.2 ^{cd}	66.6±0.3 ^{cd}
Beyin	16.4±0.13	17.4±0.13 ^{cd}	18.4±0.06 ^{cd}	17.3±0.17 ^{cd}

cd: p<0.0001, d: p<0.001

4. TARTIŞMA

Doğal kaynaklı antioksidanlar tahıllarda, baklagillerde, meyvelerde, şifalı bitkilerde ve bitki kaynaklı içeceklerde bol miktarlarda bulunurlar. Bu kaynaklarda bulunan antioksidanlar; tokoferoller, flavonoidler, fenolik asitler gibi fenolik bileşikler, alkaloid, klorofil, protein, amin gibi azotlu bileşikler, polifonksiyonlu organik asitler ve karotenlerdir. Maliyet nedeniyle doğal kaynaklı antioksidanlar yerine sentetik antioksidanlar yirminci yüzyılın başlarından beri kullanılmaktadır. Ancak sentetik antioksidanların toksik ve kansere yol açabileceğini ortaya koyan çalışmalar sonucunda bazı ülkelerde kullanılmalarına dair ciddi sınırlamalar ya da yasaklar getirilmiştir. Sentetik antioksidanlar hakkındaki bu şüpheler, doğal antioksidanlara olan eğilimi arttırmış ve bu alandaki çalışmalar ise bitki kaynaklı antioksidanlar üzerinde yoğunlaşmıştır. Doğal kaynaklı E ve C vitamini uzun yıllardır besinlerde ayrı ayrı veya sinerjistik etkiden dolayı birlikte antioksidan olarak kullanılmaktadır. Ancak tokoferol ve askorbik asidin antioksidan aktivitesi nispi olarak sentetik antioksidanlardan daha düşüktür [115].

Bitkilerde farklı antioksidan bileşiklerin meydana geldiği bilinmektedir. Doğal antioksidanlar bitkilerin yaprak, gövde ve tohumları olmak üzere bütün organlarında bulunmaktadır. Bitkilerde meydana gelen doğal antioksidanların başlıcaları karotenoidler, vitaminler, fenoller, flavonoidler, glutatyon ve endojen metabolitlerdir. Bitki kökenli antioksidanlar singlet ve triplet oksijen söndürücüsü, serbest radikal gidericisi, peroksit yok edicisi ve enzim inhibitörleri olarak fonksiyon görürler. Sebze ve meyveler birçok antioksidan bileşik içerirler. Bunun yanı sıra sebzelerde, kabuklu ve kabuksuz meyvelerde, tohumlarda, yapraklarda, çiçeklerde, köklerde ve kabuklarda bol miktarda antioksidan bileşikler bulunmaktadır. Yapılan araştırmalar, bol miktarda sebze ve meyve tüketiminin, hastalıklara yakalanma riskini azalttığını, kalp-damar hastalıklarında, kanser vakalarında ve ölüm oranlarında kayda değer azalmalara sebep olduğunu ortaya koymuştur [115].

Bitkilerde doğal antioksidan aktivitelerin belirlenmesi ve bazı antioksidan bileşikleri izolasyon ve karakterizasyon işlemleri son zamanlarda büyük bir ivme kazanmış ve bu konuda çok yoğun çalışmalar devam etmektedir. Özellikle halk arasında tıbbi amaçlı kullanılan bitkiler ile gıda sektöründe kullanılan bazı bitkiler antioksidan çalışmalarının odak noktasını teşkil etmektedir.

4.1. *İn vitro* Ortamda Bitki Ekstraktının Antioksidant Aktivitesi

Antioksidant bileşiklerin aktiviteleri, radikal zincir reaksiyonlarını önleme, metal iyonlarını şelatlama, peroksit oluşumunu engelleme, radikal giderme veya indirgeme kuvveti gibi temel antioksidatif özelliklerden kaynaklanmaktadır.

Antioksidant aktivite ile ilgili çalışma çerçevesinde *P. terebinthus* (çedene, menengiç), *M. alba* (dut), *S. multicaulis* (adaçayı) bitkilerinin su ve etanol ekstralarının antioksidan ve antiradikal özellikleri ile ilgili yaptığımız bu çalışmada toplam antioksidan kapasite, indirgeme gücü kapasitesi, metal şelatlama aktivitesi, DPPH[•] serbest radikali giderme aktivitesi, ABTS^{•+} radikali giderme aktivitesi, süperoksit anyon radikalleri giderme aktivitesi, H₂O₂ giderme aktivitesi ile FRAP testi gibi farklı antioksidan metotlar ve ek olarak toplam fenolik bileşik miktarı tayini kullanılarak farklı konsantrasyonlarda ayrı ayrı belirlenmiştir.

Ekstrelerin değişik metotlarla yapılan antioksidant tayinleri arasında ilişki bulunabilir. Örneğin bir bileşiğin sahip olduğu indirgeme kuvveti o bileşiğin antioksidant aktivite sergilemesinde önemli bir etken olabilir [142]. Ancak antioksidant karakter değişik yollar ve mekanizmalar ile yürüyebilir. Örneğin, oksidasyon geçiş metalleri tarafından hızlandırıldığı bir sistemde, antioksidant bileşiğin indirgeme kuvveti, antioksidant özellik bakımından çok önemli olmayabilir. Bir ekstrenin veya bileşiğin sadece metal bağlayabilme özelliğinin olması bile böyle bir sistemde oksidasyon hızını yavaşlatacaktır. Metal şelatlayıcı ajanlara sahip bir ekstre veya bileşiğin antioksidant karakteri, onun indirgeme kuvveti veya sahip olduğu hidroksil gruplarından ziyade ortamda bulunan metalleri uzaklaştırma özelliğinden kaynaklanmaktadır. Oksidasyonun singlet oksijen tarafından indüklendiği sistemlerde ise etkili antioksidantlar singlet oksijeni bertaraf edebilen bileşiklerdir. Buna örnek olarak karotenoidler verilebilir [147]. Bütün bu özelliklerden dolayı antioksidant bileşikler sahip oldukları antioksidatif etkinliklerini geçiş metallerini bağlama, peroksitleri parçalama, hidrojen koparılmasını engelleme, radikal giderme gibi değişik mekanizmalarla ortaya koyabilirler [148].

Bu çalışmada antioksidan aktivite tayinlerinin yapılabilmesi için hazırlanan her bir ekstrenin 50, 100, 250 ve 500 µg'lık veya 100 µg'lık miktarları kullanılmıştır. Çalışma sonunda elde edilen bulgularda her bir ekstrenin artan miktarı ile orantılı olarak antioksidan kapasitede ekstre miktarına bağlı olan bir korelasyon olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.1-Şekil 3.32). Bu durum, ekstre miktarı arttıkça ekstrelerde bulunan etken madde

miktarının da artmasından kaynaklanmaktadır. Meydana gelen bu korelasyonunun sebebi bitkilerin içerdiği antioksidan etkiye sahip fenolik bileşikler (fenolik asit, flavonoidler, kumarinler vs.), azotlu bileşikler (alkaloidler, aminler vs.), vitaminler, terpenoidler gibi birçok serbest radikal temizleyici gruplar olabilir.

Cai ve ark. [149], Çin'deki antioksidan ve fenolik bileşikleri bulunan 112 çeşit şifalı bitkinin antikanser ilişkisini araştırmak için total antioksidan kapasitesine ve total fenolik içeriğine bakmışlardır. Şifalı bitkilerdeki antioksidan kapasite ile total fenolik içerik arasında belirgin pozitif ilişki bulunmuş ve fenolik içeriğin antioksidan etkiyi oluşturan temel yapı olduğu düşünülmüştür. Diğer sebze ve meyvelere göre bu şifalı bitkilerin çok güçlü antioksidan aktiviteye ve yüksek fenolik bileşik içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Çin'deki şifalı bitkilerin doğal bileşimlerinin kemopreventif ajan kaynağı olarak kullanılabilceği ileri sürülmüştür.

Yaptığımız çalışmalarda bütün ekstrelerin toplam antioksidan aktivitesi sonuçları doğal ve standart bir antioksidant olan α -tokoferole nazaran çok yüksek aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.10). Ayrıca yine ekstrelerin peroksidasyonu inhibe etme yüzdelerinin çok kuvvetli ve sentetik birer standart antioksidant olan BHA ve BHT'ye yakın olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.10). Ekstrelerin içinde en yüksek total antioksidant aktiviteye sahip olan ekstrenin *Pistacia terebinthus* çiçeklerinin su ekstresi olduğu gözlenmiştir. Ekstreler arasında linoleik asit emülsiyonun oksidasyonunu inhibe etme sıralamasında ise; BHT> BHA> PT Çiçek Su Ekstresi> PT Meyve Su Ekstresi> PT Tohum Etanol Ekstresi> PT Yaprak Su Ekstresi> PT Olgun Meyve Su Ekstresi> SM Çiçek Etanol Ekstresi> SM Meyve Su Ekstresi> MA Yaprak Etanol Ekstresi> SM Çiçek Su Ekstresi> SM Meyve Etanol Ekstresi> SM Tohum Etanol Ekstresi> SM Yaprak Su Ekstresi> PT Olgun Meyve Etanol Ekstresi> PT Meyve Etanol Ekstresi> PT Yaprak Etanol Ekstresi> SM Yaprak Etanol Ekstresi> SM Tohum Su Ekstresi> MA Ham Meyve Su Ekstresi> MA Meyve Su Ekstresi> PT Çiçek Etanol Ekstresi> MA Ham Meyve Etanol Ekstresi> PT Tohum Su Ekstresi> MA Yaprak Su Ekstresi> MA Meyve Etanol Ekstresi> α -Tokoferol şeklinde olduğu tespit edildi.

Ekstrelerin çoğu kontrol grubuna göre kuvvetli indirgeyici özelliğe sahiptir. Ekstrelerin indirgeme kuvvetleri standart bir antioksidant olan kuersetinle mukayese edildiğinde, *P. terebinthus*' un çiçek etanol ekstresi kuersetinden oldukça yüksek bir aktivite sergilemektedir. *P. terebinthus*' un bazı kısımlarının aktiviteleride kuersetinden düşük fakat yakın aktiviteler sergilemiştir. Ancak bu durum ekstrelerdeki maddelerin

indirgeme kuvvetinin kuersetinden daha düşük olduğunu göstermez. Ekstrelerdeki her bir bileşimin saf halinin kuersetin ile mukayese edilmesi suretiyle ancak ekstrelerin indirgeme kapasiteleri hakkında bilgi verme imkanı sağlanabilirdi. 100 µg miktarındaki ekstrelerin sahip olduğu indirgeme kuvvetleri Tablo 3.2’de görülmektedir. Tablo 3.2’den de anlaşılacağı gibi ekstrelerin içerisinde en kuvvetli indirgeme *P. terebinthus* türü çiçeklerinin etanol ekstresinde olduğu gözlenmiştir. Ekstrelerin ve kuersetinin sahip olduğu indirgeme kuvvetlerinin; PT Çiçek Etanol Ekstresi> Kuersetin> PT Yaprak Su Ekstresi> PT Yaprak Etanol Ekstresi> PT Meyve Etanol Ekstresi> PT Çiçek Su Ekstresi> PT Meyve Su Ekstresi> SM Meyve Etanol Ekstresi> PT Olgun Meyve Etanol Ekstresi> PT Tohum Etanol Ekstresi> SM Tohum Etanol Ekstresi> SM Meyve Su Ekstresi> PT Olgun Meyve Su Ekstresi> MA Yaprak Etanol Ekstresi > MA Yaprak Su Ekstresi> MA Meyve Etanol Ekstresi> MA Ham Meyve Su Ekstresi> SM Tohum Su Ekstresi> MA Ham Meyve Etanol Ekstresi> PT Tohum Su Ekstresi> MA Meyve Su Ekstresi> SM Çiçek Su Ekstresi = SM Çiçek Etanol Ekstresi= SM Yaprak Su Ekstresi= SM Yaprak Etanol Ekstresi sıralamasına sahip olduğu gözlenmiştir. Bütün ekstrelerin total indirgeme kapasitelerine bakıldığında *P. terebinthus*’ un yaprak ve çiçeklerinin aktivitelerinin daha yüksek olduğu, *S. multicaulis* türünün çiçek ve yapraklarının aktivitelerinin ise çok düşük aktiviteye sahip oldukları gözlenmiştir. Bu durum ise *S. multicaulis* türünün çiçek ve yapraklarında bulunan indirgeyici bileşiklerinin çok fazla çözünmemiş olmasından kaynaklanmış olabilir.

Fe⁺³’ü indirgeyici antioksidant güç (FRAP) testi sonuçlarına göre yine en yüksek aktiviteyi *P. terebinthus* türü çiçeklerinin etanol ekstresi göstermiştir. Ekstrelerin sahip olduğu indirgeme kuvvetlerinin PT Çiçek Etanol Ekstresi> PT Yaprak Etanol Ekstresi> PT Meyve Etanol Ekstresi> SM Çiçek Etanol Ekstresi> PT Çiçek Su Ekstresi = PT Yaprak Su Ekstresi> SM Yaprak Su Ekstresi> SM Çiçek Su Ekstresi> SM Meyve Etanol Ekstresi> PT Meyve Su Ekstresi> SM Yaprak Etanol Ekstresi> PT Olgun Meyve Etanol Ekstresi> SM Meyve Su Ekstresi> SM Tohum Etanol Ekstresi> > MA Yaprak Etanol Ekstresi> PT Tohum Etanol Ekstresi> MA Meyve Etanol Ekstresi> MA Ham Meyve Etanol Ekstresi> MA Yaprak Su Ekstresi> PT Olgun Meyve Su Ekstresi> SM Tohum Su Ekstresi>PT Tohum Su Ekstresi> MA Ham Meyve Su Ekstresi> MA Meyve Su Ekstresi sıralamasına sahip olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.31).

FRAP testi ve indirgeme kuvveti belirleme testleri prensip olarak benzer görülmektedir. Fakat testlerin sonuçlarına bakıldığında bazı ekstreler için benzer sonuçlar bulunmuşsa da, bazıları için çok farklı sonuçlar saptanmıştır. *S. multicaulis*’ in çiçek ve

yapraklarının indirgeme kuvvetleri kontrolle aynı bulunmuşken, yani hemen hemen hiç indirgeme kuvveti göstermemişken, FRAP testi sonuçlarına göre yüksek indirgeyici antioksidan güç göstermiştir.

Serbest radikallerin ortamdan uzaklaştırılmaları birçok biyomolekül için hayati öneme sahiptir. Çünkü radikalik zincir reaksiyonları radikaller ile başlamakta ve gelişmektedir. Böyle bir durumda yağ asitleri, proteinleri, monosakkaritleri ve hatta DNA gibi çok önemli biyomoleküllerin stabilitesi bozulmakta [147] kanser, damar tıkanıklığı gibi yüzden fazla hastalıklara, sebep olmakta ve yaşlanma gibi bir çok olguya neden olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda serbest radikal olarak DPPH[•] ve ABTS^{•+} kullanılmıştır. Tablo 3.3' te de görüldüğü gibi çalışmada kullanılan bütün ekstrelelere göre *P. terebinthus* türünün yaprak, çiçek ve meyve ekstrelerinin daha yüksek temizleme aktivitesine sahip olduğu, en yüksek DPPH[•] radikallerini giderme aktivitesi ise *P. terebinthus*' un çiçek etanol ve yaprak etanol ekstrelerinde bulunduğu gözlenmiştir. Bu durum *P. terebinthus* ekstrelerinin daha fazla radikal söndürücülere sahip olmalarıyla açıklanabilir. Artan konsantrasyonlara da bağlı olarak ekstrelerin etkinliği karşılaştırıldığında ise 250 µl'den itibaren her farklı konsantrasyonda gittikçe azalan bir antioksidan kapasiteye sahip olduğu ve 500 µl ile 1000 µl'de çok az aktivite değişikliği gösterdiği saptanmıştır. Ekstrelerin içerisinde en yüksek DPPH giderme aktivitesine sahip olma sıralaması ise α-tokoferol> PT Çiçek Etanol Ekstresi = PT Yaprak Etanol Ekstresi > PT Yaprak Su Ekstresi > PT Olgun Meyve Etanol Ekstresi> PT Çiçek Su Ekstresi> SM Çiçek Etanol Ekstresi> PT Meyve Su Ekstresi> PT Meyve Etanol Ekstresi> SM Yaprak Etanol Ekstresi > SM Meyve Etanol Ekstresi> MA Yaprak Etanol Ekstresi> SM Yaprak Su Ekstresi> MA Meyve Etanol Ekstresi> SM Çiçek Su Ekstresi> SM Meyve Su Ekstresi> SM Tohum Su Ekstresi> MA Yaprak Su Ekstresi> PT Olgun Meyve Su Ekstresi> PT Tohum Etanol Ekstresi> MA Ham Meyve Etanol Ekstresi> SM Tohum Etanol Ekstresi> MA Ham Meyve Su Ekstresi> PT Tohum Su Ekstresi> MA Meyve Su Ekstresi> şeklindedir.

Çalışmamızda araştırdığımız bir diğer antiradikal test olan ABTS^{•+} giderme aktivitesi testi sonuçlarımıza göre bitki ekstrelerinin 100 µl'lik miktarlarının radikal giderme aktivitelerine bakıldığında *P. terebinthus* çiçek, yaprak ve meyvelerinin etanol ekstrelerinin aktivitelerinin yüksek olduğu, ekstrelerin kuvvetli bir şekilde ABTS^{•+} radikalini giderdiği tespit edilmiştir. ABTS^{•+} radikali, antioksidan maddeler ile kimyasal tepkimeye girerek bir elektron transfer eder ve radikal olmayan ABTS^{•+} maddesine

dönüşmektedir. ABTS^{•+} radikali 734 nm’de absorbans veren renkli bir maddedir ve dolayısıyla bu dalga boyundaki absorbans azalması antioksidan aktivitenin hesaplanmasında kullanılmaktadır. Ekstrelerin içerisinde en yüksek ABTS giderme aktivitesine sahip olma sıralaması ise PT Çiçek Etanol Ekstresi> PT Meyve Etanol Ekstresi> PT Yaprak Etanol Ekstresi> PT Yaprak Su Ekstresi> PT Çiçek Su Ekstresi> PT Meyve Su Ekstresi> SM Çiçek Su Ekstresi> PT Olgun Meyve Etanol Ekstresi> SM Yaprak Su Ekstresi> SM Yaprak Etanol Ekstresi> SM Çiçek Etanol Ekstresi> PT Olgun Meyve Su Ekstresi> SM Meyve Etanol Ekstresi> SM Meyve Su Ekstresi> SM Tohum Su Ekstresi> MA Meyve Etanol Ekstresi> PT Tohum Su Ekstresi> MA Yaprak Su Ekstresi> PT Tohum Etanol Ekstresi> MA Yaprak Etanol Ekstresi> MA Ham Meyve Su Ekstresi> MA Ham Meyve Etanol Ekstresi> SM Tohum Etanol Ekstresi> MA Meyve Su Ekstresi> şeklinde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.32).

Süperoksit anyon radikallerinin organizmada meydana gelebileceğinden daha önceden bahsedilmiştir. Süperoksit anyon radikalleri lipit peroksidasyonuna sebep olan radikallerdir. Bu radikaller biyokimyasal yapılar ile tekimeye girerek doku hasarlarına sebep olurlar [56]. Ayrıca lipit peroksidasyonunu başlatan hidroksi radikali gibi daha aktif radikalleri oluşturabilirler. Süperoksit anyon radikalleri Fe³⁺’ü Fe²⁺’ye indirgeyebilirler. Fe²⁺ ise Fenton reaksiyonu ile hidrojen peroksitle tepkimeye girerek oldukça reaktif olan OH[•] radikallerinin oluşumuna sebep olurlar. Bilindiği gibi Fe²⁺ nin oksidasyonu sonucu bir ara kompleks oluşmakta ve bu ara kompleks daha sonra Fe³⁺ ve O₂^{•-}’te dönüşmektedir. Bunun yanı sıra bazı metabolik olaylarda laktoperoksidaz enzimi H₂O₂’i GSH varlığında suya dönüştürmekte ve bu arada açığa su çıkmakta ve GS radikali meydana gelmektedir. Daha sonra bu radikalın GSH’ın iyonlaşma formu ile etkileşebilmekte ve bunun sonucunda farklı bir GSSG meydana gelmektedir. Bu GSSG’nin oksidasyonu sonucu normal GSSG ile O₂^{•-} meydana gelmektedir. Ayrıca O₂^{•-}’in nonoenzimatik elektron transferleri sonucu da oluşabilmektedir. Bunlar gibi farklı metabolik durumlarda organizmada O₂^{•-} oluşabilmektedir. İşte bütün bu durumlardan dolayı canlı organizmalar için O₂^{•-}’in giderilmesi oldukça önemlidir.

Tez kapsamında yapılan çalışmalarda bütün ekstrelerden en yüksek süperoksit giderme aktivitesinin su ekstrelerinde olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.4). Ekstrelerin çoğunun standart bir antioksidant olan α -tokoferol’den yüksek süperoksit giderme aktivitesi sergiledikleri görülmüştür. Bütün ekstreler içerisinde ise en yüksek süperoksit giderme aktivitesinin *S. multicaulis* türünün çiçeklerinin su ekstresinde olduğu

belirlenmiştir. Ekstrelerin içerisinde en yüksek süperoksit giderme aktivitesine sahip olma sıralaması ise SM Çiçek Su Ekstresi> SM Yaprak Su Ekstresi> BHA> MA Ham Meyve Su Ekstresi> SM Tohum Su Ekstresi> SM Meyve Su Ekstresi> PT Olgun Meyve Su Ekstresi> MA Meyve Su Ekstresi> MA Yaprak Su Ekstresi> PT Tohum Su Ekstresi> PT Çiçek Su Ekstresi> PT Meyve Su Ekstresi> PT Yaprak Su Ekstresi> PT Yaprak Etanol Ekstresi> PT Çiçek Etanol Ekstresi> BHT> MA Ham Meyve Etanol Ekstresi> MA Yaprak Etanol Ekstresi> SM Çiçek Etanol Ekstresi> α -Tokoferol> SM Yaprak Etanol Ekstresi> MA Meyve Etanol Ekstresi> PT Meyve Etanol Ekstresi> SM Tohum Etanol Ekstresi> PT Tohum Etanol Ekstresi> SM Meyve Etanol Ekstresi> PT Olgun Meyve Etanol Ekstresi şeklindedir.

H_2O_2 bir serbest radikal değildir, fakat membranı baştan sona geçebilir ve membrandaki birçok bileşiği de oksitleyebilir. Daha önceden de anlatıldığı gibi H_2O_2 , süperoksit dismutaz ve diğer birçok enzim tarafından in vivo olarak meydana getirilebilir. H_2O_2 mikromolar düzeyde daha az reaktiftir, fakat yüksek düzeyde birçok selüler enerji üretim sistemlerine saldırabilmektedir. Örneğin bir glikolitik enzim olan gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz metal iyonlarının varlığında hidroksil radikallerini de oluşturabilmektedir. Ayrıca oksijenin de meydana geldiği bu reaksiyonu hızlandırmaktadır.

Bu çalışmada ekstrelerin sahip oldukları H_2O_2 giderme aktiviteleri de araştırılmış ve Şekil 3.25' de görüldüğü gibi bu çerçevede yapılan çalışmalarda bütün ekstrelerde en yüksek H_2O_2 giderme aktivitesi *P. terebinthus* su ekstrelerinde görülmüştür. Etanol ekstreleri ise birer standart antioksidant olan BHA ve BHT'den yüksek H_2O_2 giderme aktivitesine sahiptirler.

Metal şelatlamada, lipit peroksidasyonuna sebep olan metaller tutukladığından dolayı büyük bir önem arz etmektedir [146]. Fenton reaksiyonunda daha önceden anlatıldığı gibi antioksidant kapasite açısından OH^\bullet radikallerinin oluşmasına sebep olan Fe^{+2} ve Cu^+ gibi merallerinin tutuklanması son derece önemlidir. Bu metal iyonlarının bulunması OH^\bullet radikalleri gibi reaktif radikallerin meydana gelmesini sağlar.

Total indirgenme kapasitesi, antioksidan maddelerin indirgeyici özelliklerinin olabilmesi esasına dayanmaktadır. İndirgeyici antioksidanlar, oksidan maddeleri indirgeyerek bunların zararlı etkilerini inhibe ederler. Total indirgenme kapasitesi; ferik iyonlarını (Fe^{3+}) ferröz iyonlarına (Fe^{2+}) indirgeme ve kuprik iyonlarını (Cu^{2+}) kupröz iyonlarına (Cu^+) indirgeme kapasitelerine göre hesaplanmaktadır. Ferrik iyonlarını (Fe^{3+}) ferröz iyonlarına (Fe^{2+}) indirgeme metodunda; $K_3Fe(CN)_6$ (potasyum ferrisiyanat) bileşiği

antioksidan kapasitesi olan bir madde eşliğinde $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ ferrosiyanata dönüşmektedir. Burada ferrik iyonları (Fe^{3+}) ferröz iyonlarına (Fe^{2+}) indirgenmektedir. Kalitatif veya kantitatif indirgenme tayini için ortama FeCl_3 ilave edilir. İndirgenmiş ürüne Fe^{3+} ilavesi, 700 nm'de güçlü absorbansa sahip olan Prussian mavisi renginde bir kompleks olan $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$ oluşumuna yol açar. Absorbansdaki artış, kompleksin oluşumundan kaynaklanan artışı ve dolayısıyla indirgenme kapasitesini göstermektedir [150].

Ferröz (Fe^{2+}) iyonu gibi iyonik türler, organizmada serbest radikal ve reaktiflerin üretimini arttırdığı için bu metallerin etkisi minimize edilmelidir. Bunu sağlamak için ise metal iyonlarının şelatlanması önemli bir yoldur. Metal iyonları şelatlama aktivitesi metallerin katalizlediği oksidasyon reaksiyonlarını engellemek veya geciktirmek için sıklıkla kullanılan önemli bir antioksidan metoddur. Fenton reaksiyonları sonucunda hidrojen peroksite göre daha reaktif ve metabolizmaya daha zararlı hidroksil radikali oluşmaktadır. Bundan dolayı ferröz iyonlarının (Fe^{2+}) ortamdaki giderilmeleri veya uzaklaştırılmaları gerekmektedir. Fenton tipi reaksiyonlarda peroksitlerin ortama bulunmaları esnasında ferrik iyonları oluşur fakat ferröz iyonları (Fe^{2+}), ferrik iyonlarından (Fe^{3+}) on kata daha fazla reaktif oldukları için negatif etkiler büyük ölçüde giderilmiş olur [151]. Ferrozin, ferröz iyonları (Fe^{2+}) gibi metal iyonları ile kompleks oluşturmaktadır. Oluşan renkli ferrozin-metal kompleksi ise 562 nm'de maksimum absorbans sergilemektedir. Antioksidan maddeler metal şelatlayıcı olarak görev yaparak ferrozin-metal kompleksinin bozulmasına sebep olur. Dolayısıyla metal şelatlama aktivitesinde 562 nm'de absorbans meydana gelen azalma metal şelatlama miktarını verir.

Çalışma kapsamında kullanılan ekstraktların Fe^{2+} iyonu şelatlama aktiviteleri incelenmiştir. Metot olarak indirgeme kuvveti ile metal şelatlama aktiviteleri arasında bir benzerlik olmasına rağmen temelde birbirinden tamamen farklıdır. Çünkü metal şelatlamada metal iyonları tutuklanırken, indirgeme kuvvetinde ise indirgeme söz konusudur. Ekstrelerin metal şelatlama sıralaması ise PT Olgun Meyve Su Ekstresi> SM Tohum Su Ekstresi> MA Yaprak Su Ekstresi> PT Tohum Su Ekstresi> PT Meyve Su Ekstresi>BHA> SM Meyve Su Ekstresi> MA Ham Meyve Su Ekstresi> PT Yaprak Su Ekstresi> MA Meyve Su Ekstresi> PT Çiçek Su Ekstresi> SM Çiçek Su Ekstresi> SM Tohum Etanol Ekstresi> α -tokoferol> PT Tohum Etanol Ekstresi> MA Yaprak Etanol Ekstresi> PT Çiçek Etanol Ekstresi= MA Meyve Etanol Ekstresi>BHT> SM Yaprak Su Ekstresi> MA Ham Meyve Etanol Ekstresi> PT Meyve Etanol Ekstresi> SM Yaprak

Etanol Ekstresi> SM Çiçek Etanol Ekstresi>PT Yaprak Etanol Ekstresi> PT Olgun Meyve Etanol Ekstresi> SM Meyve Etanol Ekstresi şeklinde artmaktadır (Şekil 3.29, Tablo 3.5).

Bir ekstrenin antioksidant aktivitesini çok değişik faktörlerin etkileyebilmesi, antioksidant aktiviteye sebep olan ana kaynağın diğer faktörlerin katkısının tespitini zorlaştırmaktadır. Ana etkenin ne olduğunun tespiti için ekstredeki her bir bileşik hakkında indirgeme gücü, serbest metal bağlayabilme, radikal giderme, peroksit giderme, süperoksit giderme kapasiteleri gibi çok sayıda veriye ihtiyaç vardır.

Total antioksidant aktivitenin düşük olduğu ekstrelerdeki bileşiklerin antioksidant aktivitelerinin de düşük olacağını söylemek mümkün değildir. Ekstrelerde oksidasyonu hızlandırıcı maddelerin varlığı (serbest geçiş metalleri gibi), o ekstrede bulunabilecek yüksek antioksidant aktiviteye sahip bileşiklerin etkisini perdeleyebilir. Bu sebeple fenolik bileşik miktarı ve indirgeme kuvveti yüksek olan ekstrelerde düşük antioksidant aktivite gözlenebilir. Sonuçlarımıza göre en yüksek fenolik bileşik miktarları Şekil 3.30 ve Tablo 3.6 de de görüldüğü üzere kuercetin bakımından *S. multicaulis*'in yapraklarının su ekstresinde, pirokatekol bakımından ise *S. multicaulis*'in çiçeklerinin su ekstresinde; en düşük sonuçlar ise kuersetin ve pirokatekol bakımından *Morus alba* ham meyve etanol ekstrelerinde bulunduğu gözlenmiştir. Ayrıca ekstrelerin yüksek antioksidant aktiviteye sahip olması onlardaki bileşiklerin de yüksek antioksidant aktiviteye sahip olacağını göstermez. Ekstrenin yüksek aktivitesi, ekstrelerde bulunan birden fazla maddenin sinerjistik etkisinden de kaynaklanabilir ve bileşiklerin ayrı ayrı antioksidant aktiviteleri gözlemlendiğinde aynı aktivite elde edilebilir.

Gıda endüstrisinde lipid oksidasyon inhibitörü olarak kullanılan bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve bütillenmiş hidroksianisol (BHA) gibi sentetik antioksidanların sağlığa zararlı etkilerinin belirlenmiş olması nedeniyle [152], son yıllarda doğal antioksidanlar üzerindeki araştırmalar yoğunlaşmıştır. Dünyada başlıca Akdeniz bölgesinde yetişen 20 *Pistacia* türünden birisi olan *Pistacia terebinthus* L. [80], halk arasında bronşit, astım, soğuk algınlığı, mide rahatsızlıkları tedavisinde kullanılmaktadır.

Topçu ve ark. yaptığı çalışmada, *Pistacia terebinthus* L. subsp *terebinthus* L. nin meyvelerinin aseton ve metanol ekstraktları, toplam fenolik ve flavonoid içeriğini, DPPH* radikal temizleme etkisini, süperoksit anyon radikali temizleme aktivitesini ve demir iyonu metal şelatlama etkisini araştırarak antioksidan aktivitelerini belirlemişlerdir. Her iki ekstrakt, çok benzer kimyasal profil göstermiş ve süperoksit anyon radikali ve DPPH* radikalinde yüksek temizleme faaliyeti sergilemiştir. Ancak sadece metanol ekstresinin

indirgeme gücü ve metal şelatlama aktivitesi kuersetin ile benzer olduğu bulunmuştur. Ekstrelerin toplam fenolik ve flavonoid içeriklerinin yüksek olduğu bulunmuştur. Toplam fenolik içerik miktarları pirokatekol ekivalent olarak aseton ekstresinde 61, metanol ekstresinde 122.78 µg [152]. Bizim çalışmamızda ise *P. terebinthus*'un meyvelerinin su ve etanol ekstralarının toplam fenolik içerik miktarları pirokatekol ekivalent olarak sırasıyla 221 ve 214 µg olarak bulunmuştur. Yapılan çalışmanın sonuçlarına paralel olarak bizim sonuçlarımızda da süperoksit anyon radikali ve DPPH' radikalinde yüksek temizleme aktivitesi gözlenmiştir. Süperoksit radikali temizleme aktivitesinin sonuçlarına göre *P. terebinthus*'un yapraklarının su ve etanol ekstresi, çiçeklerinin su ve etanol ekstresi, meyve, tohum ve olgun meyvelerinin ise sadece su ekstralarında α-tokoferol ve BHT gibi standart antioksidanlardan daha yüksek aktivite gösterdiği bulunmuştur. DPPH' radikali giderme aktivitesi sonuçlarında ise *P. terebinthus*'un çiçek, yaprak ve meyvelerinin su ekstralarında, çiçek, yaprak, tohum ve meyvelerinin ise etanol ekstralarında düşük konsantrasyonlarda dahi yüksek aktivite gösterdiği bulunmuştur. Metal şelatlama aktivitesi sonucunda *P. terebinthus*'un meyve, yaprak, çiçek ve olgun meyvelerinin su ekstralarının BHA, α-tokoferol ve BHT gibi standart antioksidanlardan yüksek aktivite gösterdiği bulunmuştur.

Yılmaz ve ark. yaptığı çalışmada *Pistacia terebinthus*'un olgun, yarıolgun ve ham meyvelerinin ekstralarının LPO düzeylerini belirgin düzeyde azalttığını, ekstradaki yağ asidi miktarlarının belirgin düzeyde yüksek olduğunu, ekstraların DPPH' temizleme aktivitelerinin 25 ile 50 µL de en çok etkinlik gösterdiğini belirlemişlerdir. Çalışmamızda *P. terebinthus*'un çiçek, yaprak, meyve, tohum ve olgun meyvelerinin su ve etanol ekstralarının DPPH' radikali giderme aktivitesi de 50 ile 250 µL de en çok etkinlik gösterdiği belirlenmiştir [153]. Ayrıca Yılmaz ve ark. *P. terebinthus*'un flavonoid içeriğini, rutin, kuersetin, resveratrol, mirisetin, naringin, naringenin olarak belirlemişlerdir. Bu flavonoidler radikal temizleme ve metal şelatlama yetenekleri sebebiyle antioksidanlar olarak görev yaptıkları bildirmişlerdir. Çalışmamızda da benzer sonuçlar tespit edilmiştir. *P. terebinthus*'un olgun meyvelerinin su ekstresinin bütün ekstralara göre en yüksek metal şelatlama aktivitesi gösterdiği bulunmuştur.

Topçu ve ark. *Pistacia* türlerinin doğal antioksidanların önemli kaynakları olarak kullanılabileceğini önermişlerdir. Çünkü, standart antioksidan bileşiklerden kuersetin ve α-tokoferol gibi fenolik ve flavonoidler içerdiklerini tespit etmişlerdir [154].

Amerikan Tarım Bakanlığının (USDA) Tarım Araştırmaları (ARS) birimine ait resmi internet sitesinde [155] bitki kimyasallarının etkinlikleri halka duyurulmaktadır. Bu sitede yapılan araştırmada *P. terebinthus* esansiyel yağında bulunduğu belirtilen bileşiklerin kanser, alzheimer vb. pek çok hastalığın önlenmesinde etkin rol oynadığı görülmüştür. Bu maddelerin lipofilik etkiyle kolayca dokulara girerek tepken oksijen türlerini bağladığı ve dolayısıyla antioksidan özellik gösterdiği de belirtilmektedir [156]. Doğada portakal kabuğu yağında bol miktarda (~% 95) bulunan ve *P. terebinthus* tanelerinde de mevcut olduğu belirtilen limonen maddesinin deney hayvanlarında yapay olarak oluşturulan pankreas kanserini kanserli hücrelerin çoğalmasını engelleyerek [157], mide kanserini ise kanserli hücrelerde apoptozu (programlanmış hücre ölümlerini) arttırarak ve DNA sentezini azaltarak [158] önlediği görülmüştür. Ayrıca, limonin maddesi çeşitli hayvansal modeller üzerinde kimyasal yollarla tetiklenen cilt, meme, böbrek, akciğer ve ön mide kanserlerinin oluşumunu engellemiştir [159].

Couladis ve arkadaşları (2002) yaptıkları bir çalışmada *P. terebinthus* (menengiç ağacının), meyvesi de dahil olmak üzere, çeşitli kısımlarında esansiyel yağ bileşimini tayin etmişlerdir. Bu çalışmaya göre sulu özütlemeye olgun tanelerden kuru ağırlık bazında % 0.73 esansiyel yağ özütlenebilmiştir. Bu yağda 48 çeşit terpen bileşiğinin varlığı tespit edilebilmiş ve ana bileşenlerin limonen (%32.8), β -pinen (%22.5), α -fellandren (%11.4), terpinolen (%7) ve α -pinen (%5.3) (diğerlerinin toplamı %20) olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, çiçek uçucu yağında germakren D, meyve uçucu yağlarında limonen ve sürgün uçucu yağında karyofilen oksit öne çıkan bileşik çeşidi veya miktar olarak vurgulanmalıdır. Sonuç olarak, *P. terebinthus* ağacının değişik organları uçucu yağ açısından zengin ve farklı bileşimde materyal sayılabilir. Uçucu yağlar bazı önemli ve ilginç bileşenlerin kaynağıdır. Kimi baharatların aromasını andıran bileşimden dolayı, *P. terebinthus* uçucu yağlarını gıda sanayinde de, ayrıca parfümeri ve ilaç ürünlerinde değerlendirmek mümkündür [160]. Bu tek ve çift halkalı terpen bileşiklerinin çeşitli hastalıkların önlenmesi açısından işlevsellikleri çeşitli kaynaklarda belirtilmektedir [159].

Yapılan başka bir çalışmada *P. terebinthus* var *palaestina* meyvelerinin esansiyel yağ bileşiminde benzer maddelerin olduğu ve bunların oranları tespit edilmiştir [161]. Ayrıca *P. terebinthus* ve diğer Pistacia türlerinin çeşitli kısımlarının (organlarının ve reçinelerinin) esansiyel yağ bileşimi ve bu yağların antimikrobiyal ve antifungal etkileri üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır. *P. terebinthus* yapraklarından bir tür yaprak biti istilası sonucu oluşan mazılardan (kese oluşturmuş yaprak) elde edilen özütlerin ve türevlerinin anti-

inflatuar etki gösterdiği ve ödem oluşumunu engellediği saptanmıştır [162,163]. *P. terebinthus*'un tavşanlarda deneysel olarak oluşturulan hiperkolesteroleminin sebep olduğu belirtileri hipolipidemik etki göstererek azalttığı görülmüştür [164].

Özcan'ın bir çalışmasında *P. terebinthus* tohumlarından yağ asidi kompozisyonları incelenmiş, yağda palmitik asit veya stearik asit benzeri doymuş yağ asitleri ve oleik, linoleik ve linolenik gibi doymamış yağ asitleri gibi yaygın tohum yağlarını içerdiği bulunmuştur [81].

Matthaus ve ark. yağ asidi kompozisyonuna ek olarak, E vitamini aktif bileşikler grubu bitkisel yağların teşhisi için önemli karakteristik bir özellik olduğu bildirmişlerdir. Ayrıca, bu bileşiklerin beslenmede bazı önemleri olduğunu, vitaminin oksidatif bozulmaya karşı yağları koruyan antioksidan bir aktiviteye sahip olduğunu, ayrıca, E vitamini oksidatif strese karşı hücreleri koruyan biyolojik bir aktiviteye sahip olduğunu ileri sürmüşlerdir. E vitamini aktif bileşiklerinin grubu, aynı zamanda tokoferol, dört tokotrienol ve plastokromanol-8 antioksidan ve biyolojik aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir. *P. terebinthus* tohum yağlarında da tokoferollerin bulunduğunu tespit etmişlerdir [165].

P. terebinthus tohumu yağı sterol kompozisyonunda β -sitosterolün baskın olduğu bulunmuştur. Yağda toplam sterolün yaklaşık % 80'i β -sitosteroldür. Bazı önemli olan diğer steroller (toplam sterolün yaklaşık % 5'i) kampesterol, 5-avenasterol (yaklaşık% 4), ve stigmasterol (yaklaşık% 3) dür [165].

Özcan'ın başka bir çalışmasında, çitlenbik meyve yağı yağ asidi kompozisyonu gaz kromatografi ile belirlenmiş, en yüksek konsantrasyonda oleik asit (% 52.3), sonrasında palmitik (% 21.3) ve linoleik (% 19.7) asitlerin takip ettiği saptanmıştır. Palmitoleik, stearik ve linolenik asit az miktarda mevcut olduğu bulunmuş ve aynı zamanda laurik, miristik, eikosanoik ve eikosanoik asitlerinin izleri bulunmuştur. Doymuş yağ asitleri ise toplam yağ asitlerinin yaklaşık olarak % 23.6 sını olarak hesaplanmıştır [81].

Otlar ve baharatlar önemli doğal antioksidanlardır ve antioksidan aktiviteleri polar fenolik bileşikler ve uçucu yağların varlığına atfedilmiştir [166,167]. Demo ve arkadaşlarının (1998) bir makalesinde *P. terebinthus*' da α -tokoferolün varlığını tespit etmişlerdir [168]. *P. terebinthus* yapraklarından elde edilen ekstre sentetik ve doğal antioksidanlarla karşılaştırıldığı zaman daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Antioksidan kapasite BHA ve askorbik asitten fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu da muhtemelen yüksek flavonoid ve fenolik bileşik içeriği nedeniyle. Bu sonuçlar

göstermiştir ki bitkinin yüksek antioksidan aktivitesi serbest radikallerin zararlarından hücreleri koruyarak kanseri önlemede etkin bir rol alabilir [169]. Benzer sonuçlar bizim çalışmamızda da tespit edilmiştir. Antioksidan aktivite belirleme testlerinin sonuçlarına göre *P. terebinthus*'un hemen hemen bütün ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri ve antiradikal giderme aktiviteleri doğal bir antioksidan olan α -tokoferol ile karşılaştırıldığında, ekstrelerin α -tokoferol'den daha yüksek bir aktivite gösterdikleri bulunmuştur.

Kıvçak ve ark. çalışmasında, *P. terebinthus* yaprağının uçucu yağından α -cadinol (% 6.9), fitol (% 5.4), d-cadinene (% 5.1), α -terpinol (5.0%) ve bornil asetat (% 4.4) önemli bileşenler gibi yetmiş yedi bileşen karakterize edilmiştir. *P. terebinthus* dallarının esansiyel yağlarında germacren D (%10), β -pinen (%7.5) bornil asetat (%6), α -cubeben (% 5.9) ve (% 5.4) cubebol ana bileşenleri olarak karakterize 61 bileşik bulunmuştur [170].

Çitlembik, protein ve yağ gibi temel besin maddelerince zengin olduğu gibi içeriğinde miktarca daha az ölçüde bulunan bazı maddeler (mikrobeyinler) bakımından da temel kaynaklardandır. Fonksiyonel gıda olarak günlük tüketilecek bir miktar çitlembiğin çeşitli rahatsızlıkların oluşumunu önlemesi ve/veya rahatsızlıkları hafifletmesi hususunda etkili olduğunu göstermek kuşkusuz bu ürünün değerini arttıracaktır.

Dut (*Morus alba* L.) yaprak, kabuk ve dalları ateş tedavisi, karaciğeri korumak, görmeyi geliştirmek, eklemeleri güçlendirmek, idrar boşaltımını kolaylaştırmak ve düşük kan basıncı için Çin tıbbında uzun zamandır kullanılmaktadır [171]. Japonyada, çay veya toz meyve suyu olarak dut yapraklarının tüketimi son yıllarda artmıştır. Birkaç yeni çalışmada dut yapraklarının antioksidan aktivitesi rapor edilmiştir. Dut yapraklarından izole edilen izokuersitrinin DPPH radikalini temizlediği, insan ve tavşan LDL'sinin oksidatif modifikasyonunu inhibe ettiği bulunmuştur. Dut yapraklarında izole edilen pirenilflavonlarında kuersetinden daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir [172]. Yaptığımız çalışmalar sonucunda da dutun yaprak, meyve ve ham meyvelerinin DPPH* radikalini temizleme aktivitesi gösterdikleri bulunmuştur. Özellikle ekstrelerin 50 ile 500 μ g/mL arasındaki konsantrasyonlarda etkin aktivite gösterdiği bulunmuştur. Yani yüksek konsantrasyonlarda daha iyi aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Beş flavonoid olarak glikozitler-rutin, izokuersitrin, kuersetin 3-(6-acetylglucoside) astragalin ve kaempferol 3-(6-acetylglucoside) ve klorojenik asit antioksidanlar olarak dut yapraklarında bildirilmiştir [173]. Kantitatif olarak dut yapraklarında önemli antioksidan bileşik olarak quercetin- 3 (6-malonylglucoside) tespit edilmiştir [174]. Aynı zamanda dut

yaprakları oksidatif modifikasyona LDL direncinin geliştirme yoluyla nakavt fareler LDL reseptörlerinde aterosklerotik lezyonların gelişimini azaltmıştır ve bu antioksidan ve antiaterojenik koruyucu etkiler esas olarak quercetin 3-(6-malonylglucoside)'e atfedilmiştir [175].

Choi ve ark. yaptığı çalışmada birkaç tıbbi bitkinin, antioksidan aktiviteleri ve serbest radikal temizleme kapasitelerini araştırmışlardır. Diklorometan, metanol veya etanol ekstraktlarında, en iyi antioksidan sonuçlar belirlenmiştir. Katekin, morin, naringenin, quersetin ve rutin gibi flavonoidler bu çalışmada standartlar olarak kullanılmış ve test edilen her numune, lipid peroksidasyon ve ksantin oksidazın engelleyici etkisine bağlı ve DPPH[•] (1,1-difenil-2-pikril hidrazil radikali)'in serbest radikal temizleyici etkisine karşı araştırılmıştır. Bitki ekstraktının arasında, *Morus alba*'nın kök kabuğu ve *Saururus chinensis*'in yaprağı, *Astragali membranaceus*, *Houttuynia cordata*, *Polygonatum odoratum* bitkilerinin ekstraktlarından daha kuvvetli SC50 ve ID50 değerleri göstermiştir. Aynı zamanda, hidrojen peroksitin UV-ile fotolizinden oluşan hidroksil radikalleri tarafından oluşturulan DNA hasarında koruyucu bir etki göstermiştir. TLC (ince tabaka kromatografisi) ve DPPH[•] metotları kullanılarak antioksidanlar için hızlı bir değerlendirme ve çeşitli serbest radikal temizleme kapasitesine sahip olan bitki ekstraktları çalışılmıştır [176].

Taze meyve ve sebze tüketimi ile koroner kalp hastalığı riskini azaltabilmektedir. Düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) oksidasyonu aterosklerozda bir rol oynar: bu nedenle oksidatif LDL (oxLDL)'nin oluşumu ne kadar azsa, koroner kalp hastalıkları (KKH) alt oluşum o kadar azdır. Dut, *Morus alba* L.'nin meyveleri, KKH önlenmesi için Çin tıbbında etkili olarak kullanılmaktadır. Ancak bu işlemin mekanizması belirsizdir. Dut ekstraktları, dut suyu ekstresi ve dut antosiyanin-zengin ekstresi, in vitro antioksidan ve anti-atherosklerogenesis yeteneklerini sergilemiştir. Ekstreler aynı zamanda bakır iyonları ile serbest radikallerin oluşumunu azalttığı için 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH[•]) radikal süpürücü yeteneği göstermiştir. Ayrıca, ekstrelerin oxLDL tarafından uyarılan makrofaj ölümünü (p <0.05) azaltabildiği gözlenmiştir. Buna ek olarak, ekstreler köpük hücre oluşumunda (p <0.05) engelleyebildiği ileri sürülmüştür. Bu bulgular, dut antosiyaninlerinin atherogenesisi azaltmış olabileceğini göstermiştir [177].

Çeşitli meyve ve sebzelerde doğal bir renklendirici olarak bulunan antosiyaninlerin çeşitli biyoaktivite nitelikleri ve antioksidan özellikleri iyi bilinmektedir. Dahası son zamanlardaki çalışmalar antosiyaninlerin antikanser ve antiproliferatif (çoğalmayı

önleyici) özelliklerini ortaya koymuştur. Bunlardan cyanidin 3-rutinoside ve cyanidin 3-glucoside, yüksek metastatik özellikli insan akciğer kanseri hücre dizilerinde yapılan in vitro çalışmalarda, doza bağlı olarak yayılmayı baskılayarak kanser tedavisinde önemli bir potansiyele sahip olduklarını göstermişlerdir [177].

Dut su ekstresi ve dut antosiyanin zengini ekstresinin ana bileşiği, sırasıyla %22.8 ve %88.5 seviyelerinde antosiyaninlerdir. Duttan elde edilen 2 ekstre (dut su ekstresi ve dut antosiyanin zengini ekstresi) bakır ile uyarılan LDL oksidasyonunu inhibe etmek için güçlü bir etki gücüne sahiptir. Ekstreler ateroskleroza önlemek için LDL oksidasyonunu inhibe etmede önemlidir. Ekstreler makrofaj ölüm ve köpük hücre oluşumunu hatta oxLDL oluşumunu bile azaltabilir. Ekstrelerin antosiyaninlerin konsantrasyonlarının LDL oksidasyonunu, makrofaj ölümüne bağlı oxLDL ve köpük hücre oluşumu engellediği görülmüştür. Bu bulgular, dut antosiyaninlerinin atherogenezisi azaltmış olabileceğini göstermiştir [177].

Singab ve ark. [178], *Morus alba* kök kabuklarından hazırladıkları flavonoid bakımından zengin olan alkollü ekstresinin streptozotosinle diyabet yapılmış sıçanlarda insülin seviyesini arttırdığını ve lipit peroksidasyonunu azalttığını tespit etmişlerdir.

Hansawasdi ve Kawabata [179], *Morus alba* yapraklarından hazırladıkları sulu ekstrenin dijestif bir enzim olan α -glukozidaz, sakkaraz ve maltaz enzimlerini kuvvetli oranda inhibe ettiğini belirlemişlerdir.

Kim ve ark. *Morus alba*'nın (Moraceae) yapraklarından dokuz flavonoid izole etmişlerdir. Bileşiklerin yapıları, kaempferol-3-O-beta-D-glukopiranosid (astragalin, 1) kaempferol-3-O-(6"-O-acetyl)-beta-D-glukopiranosid (2), quersetin-3-O-(6"-O-acetyl)-beta-D-glukopiranosid (3), quersetin-3-O-beta-D-glukopiranosid (4), kaempferol-3-O-alfa-L-rhamnopyranosil-(1-->6)-beta-D-glukopiranosid (5), quersetin-3-O-alfa-L-ramnopyranosil-(1-->6)-beta-D-glukopiranosid (rutin, 6), quersetin-3-O-beta-D-glukopiranosil-(1-->6)-beta-D-glukopiranosid (7), quersetin-3,7-di-O-beta-D-glukopiranosid (8) ve quercetin (9) olarak belirlenmiştir. Bileşik 7 ve 9; 1,1 difenil-2-pikrilhidrazil radikalinde önemli radikal temizleme etkisini sergilemiştir [180].

Du ve ark. yaptığı çalışmada dutun meyvelerinden (*Morus alba* L.) antosiyaninler elde edilmiştir: siyanidin 3-O-(6 \square -O- α -ramnopyranosil- β -D-glukopiranosid) (C3RG), siyanidin 3-O-(6 \square -O-ramnopyranosil- α -D-galaktopyranosid) (C3RGa), siyanidin 3-O- β -D-glukopiranosid (C3G), siyanidin 3-O- β -D-galaktopyranosid (C3Ga) and siyanidin 7-O- β -D-glukopiranoside (C7G). Ham dut antosiyaninlerinin C3G, C3Ga, C7G, C3RG ve C3RGa

antioksidan aktivitesi 1,1-difenil-2-picrylhydrazyl (DPPH) serbest radikal temizleme yöntemiyle araştırılmıştır. Sonuçlar Ham dut antosiyaninlerinin, C3G, C3Ga, C3G ve C7G daha yüksek DPPH temizleme yeteneği olduğunu göstermiştir [181].

Ohsugi ve ark. çalışmasında *M. alba* (su ekstresi) hidroksil radikale (HO[•]) karşı kuvvetli temizleme aktivitesi gösterdiği bulunmuştur [182].

Tıbbi bitkiler ve otlar doğal antioksidanların çeşitli kaynakları olarak umut vericidir. Bu nedenle, farklı baharatlar ve aromatik otlar büyük bir çoğunluğunun antioksidan aktivitesi araştırılmıştır. Özellikle Lamiaceae familyasına ait olan bazı türler doğal antioksidanlar açısından çok etkili olduğu tespit edilmiştir. Çeşitli çalışmalarda, biberiye, adaçayı, kekikotu ve kekik kuvvetli bir antioksidan aktivite göstermiştir [183].

Salvia 88 türle Türkiyede bitkilerin en çok çeşidi olan cinsinden biridir ve yarısından fazlası endemiktir [184]. Türk halk hekimliğinde, Salvia türlerinin infüzyon soğuk algınlığı, karın ağrısı ve mide rahatsızlıkları tedavisinde kullanılır olmuştur [185].

Erdemoğlu ve ark. bir çalışmasında, Türkiyede yetişen dört Lamiaceae türü *Stachys byzantina*, *Salvia viridis*, *S. multicaulis* and *Eremostachys laciniata*'nın serbest radikal giderme aktiviteleri DPPH' serbest radikal testi kullanılarak belirlenmiştir. *Salvia multicaulis*'in DPPH' testi sonucunda yüksek radikal giderme aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. Salvia cinsinin bitkileri başlıca flavonoidler, fenolik asitler ve fenolik diterpenler gibi fenolik bileşikler ve uçucu yağ içermektedir [186,187]. Bu nedenle, ekstraktlardaki bu fenolik bileşikler antioksidan aktiviteden sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Bizim çalışmamızda *S. multicaulis*'in yaprak, çiçek, meyve ve tohumlarının su ve etanol ekstrelerinin DPPH' radikali temizleme aktivitesi sonucunda 50 ile 250 µg/mL konsantrasyonları arasında yüksek aktivite gösterdiği bulunmuştur. Toplam fenolik bileşik miktarı tayini sonucunda ise *S. multicaulis*'in yaprak, çiçek, meyve ve tohumlarının su ve etanol ekstrelerinin sırasıyla 287, 313, 203, 207, 215, 246, 195, 210 µg fenolik bileşik içerdiği bulunmuştur.

Mohammadhosseini ve ark. *S. multicaulis* çiçek yağında yirmi bir bileşen (94,28%) tespit etmişlerdir: Yedi monoteren hidrokarbonlar (33,73%), beş oksijenli monoterenler (47,79%), sekiz seskiterpen hidrokarbonlar (12,54%) ve bir oksijenli seskiterpen (% 0.22). 1,8-sineol en bol bileşen, ardından α-pinen (18,32%), kamfor (12.40%), kamfen (% 8.45) ve bornil asetat (7.89%) tespit etmişlerdir [188].

Gövde yağında sekiz bileşen (98,05%) tespit etmişlerdir: Üç monoteren hidrokarbonlar (% 36.9) ve beş oksijenlenmiş monoterenler (61,15%). Bu yağda yüksek

miktarda 1,8-sineol+limonen (24.83%), kamfor (24.20%), α -pinene (20.91%), and kamfen (13.03%) tespit etmişlerdir [188].

Kök yağında dokuz bileşik (95,37%) tespit edilmiştir: İki monoterpen hidrokarbonlar (10,96%), dört oksijenlenmiş monoterpenler (75,43%), iki seskiterpen hidrokarbonlar (5.56%) ve bir oksijenlenmiş seskiterpen (3.66%). Yağda yüksek miktarda borneol (48,75%) ve akabinde kamfor (17,17%), 1,8-sineol (% 7,96) ve α -pinen (6,59%) tespit etmişlerdir [188].

Tepe ve ark. *Salvia cryptantha* ve *Salvia multicaulis*'in esansiyel yağlarını ve metanolik ekstraktlarını, potansiyel antimikrobiyal ve radikal temizleme etkilerini incelemişlerdir. *S. multicaulis* ve *S. cryptantha* esansiyel yağlarından sırayla 47 ve 53 analiz edilmiştir. GC-MS ile *S. cryptantha* ve *S. multicaulis* yağlarının önemli bileşenleri α -pinen (18.1 ve% 21.9), ökaliptol(15.3 ve% 20.1), kamfor (7.7 ve% 11.0), kamfen (6.4 and 7.8%) ve borneol (4.8 ve 7.3%) izole edilmiştir [189].

Kutupsal subfraksiyonunun antioksidan faaliyetleri ve esansiyel yağı, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazille (DPPH), hidroksil radikal temizleme ve lipit peroksidasyon testleri kullanılarak teşhis edilmiştir. Metanol ekstraktının kutupsal olmayan subfraksiyonu ve özellikle esansiyel yağları, antioksidan aktivite göstermiştir. Sonuç olarak, *S. cryptantha*'nın ve *S. multicaulis*'in yağları, patojenik mikroorganizmalarının büyümesini engellemiş ve serbest radikaller temizleme kapasitesine sahip olduğunu gözlenmiştir. in vitro tayinlerde sonuçları göstermektedir ki *S. multicaulis* esansiyel yağı ve metanolik ekstraktları *S. cryptantha*'dan daha fazla antioksidan özellikleri sahip olduğu görülmüştür. Her iki bitkinin uçucu yağları metanolik ekstraktlardan daha güçlü aktivite göstermiştir. pozitif kontrol, curcumin, askorbik asit ve BHT ile karşılaştırıldığı zaman, uçucu yağlar daha fazla serbest radikal temizleme ve lipit peroksidasyon aktivitesi göstermiştir [189].

Türkiye'de yetişen 14 *Salvia* (*Lamiaceae*) türünden (*Salvia albimaculata*, *Salvia aucheri* Benth var. *canescens* Boiss and Heldr, *Salvia candidissima* Vahl. ssp. *occidentalis*, *Salvia ceratophylla* L., *Salvia cryptantha* Montbret and Benth, *Salvia cyanescens* Boiss and Bal., *Salvia frigida* Boiss, *Salvia forskahlei* L., *Salvia halophila* Hedge, *Salvia migrostegea* Boiss and Bal., *Salvia multicaulis* Vahl., *Salvia sclarea* L., *Salvia syriaca* L., *Salvia verticillata* L. ssp. *amasiaca*) elde edilen petrol eteri, kloroform, etil asetat ve metanolla hazırlanan ekstraktların in vitro antikolinesteraz ve antioksidan faaliyetleri araştırılmıştır [190]. Orhan ve ark. çalışmasına göre, *S. multicaulis*'in etanol ekstresi ksantin oksidaza karşı %100 inhibisyon gösterirken, metanol ekstresi %73.3

inhibisyon göstermiştir. DPPH radikaline karşı yüzde inhibisyon değerleri; petrol eteri ekstresinde %4.9, kloroform eksterinde %26.8, etil asetat ekstresinde %85.3, metanol ekstresinde %92.6 olarak bulunmuştur [190]. Yaptığımız çalışmalar sonucunda *S. multicaulis*'in 250 µg/ml'lik konsantrasyonlardaki ekstralarının DPPH radikaline karşı yüzde inhibisyon değerleri, yaprak etanol ekstresinde %90,7, meyve etanol ekstresinde %87, yaprak su ekstresinde %84, meyve su ekstresinde %75, çiçek su ekstresinde %75, tohum su ekstresinde %47, tohum etanol ekstresinde %42 bulunmuştur.

Salvia cinsinin bitkileri başlıca flavonoidler, fenolik asitler ve fenolik diterpenler gibi fenolik bileşikler ve uçucu yağ içermektedir [186,187]. Bu nedenle, ekstraktlardaki bu fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteden sorumlu olabileceği düşünülmektedir.

4.2. *In vivo* Ortamda Bitki, Ekstraktının Etkisi

Çalışmamızda üç farklı bitkinin farklı kısımlarının su ve etanol ekstralarının antioksidant aktiveleri, farklı metodlarla incelenmiş ve yapılan antioksidant aktivite testlerinin sonuçlarına göre en fazla antioksidant aktivite gösteren bitkinin *Pistacia terebinthus* türünün çiçeklerinin olduğuna karar verilmiştir. Bu nedenle de yaptığımız *in vivo* deneylerde *P. terebinthus*' un çiçeklerinin ekstresinin kullanılması uygun bulunmuştur. Etanolün ratlarda oluşturabileceği depresyon (doza bağımlı), duyarsızlık, anestezi, narkoz, koma, solunum yetmezliği ve ölüm, asidoz, elektrolit bozuklukları, göz ile üst hava yolları irritasyonu gibi daha birçok endikasyonları neyle de ekstraksiyon işleminin su ile yapılması yani *P. terebinthus*' un çiçeklerinin su ekstresinin ratlara uygulanmasına karar verilmiştir.

Çalışma sonunda kullandığımız bitki ekstresinin Wistar ratlarda farklı dokularda farklı parametreler üzerinde etkili olduğunu gözlemlenmiştir. Bu bitkinin oksidatif strese maruz kalan dokularda LPO'yu önlemedeki etkileri öncelikli olarak araştırılmıştır. Araştırma sonucunda *P. terebinthus* ekstraktının böbrek ve beyinde oluşturulan LPO'ya karşı koruyucu etkilerinin olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3.8). Bu etkinin ise özellikle bitkinin içerdiği fitokimyasal bileşiklere bağlı olarak açığa çıktığı düşünülmektedir. Bununla beraber *P. terebinthus* ekstresinin lipid peroksidasyonu üzerindeki bu olumlu etkilerinin yanı sıra dokulardaki glutatyon ve toplam protein düzeyleri üzerindeki etkileri de araştırılmıştır. Çalışma ile *P. terebinthus* ekstresinin beyin glutatyon seviyesi dışında tüm dokularda glutatyon ve total protein seviyesi üzerinde olumlu etki gösterdiğini ve

miktarlarında artışa neden olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar, kullanılan ekstrenin dokulardaki LPO seviyesi üzerinde göstermiş olduğu etki ile paralellik göstermekte olup çalışmamızda kullandığımız bitki türünün LPO'yu önleme özelliklerinin yanında antioksidant moleküllerin aktiviteleri üzerinde de olumlu etkilere sahip olduklarını göstermektedir.

Bu düşüncemizi destekleyen bitkisel kaynaklı çoğu araştırmada da deneysel aşamada kullandığımız benzer dokular üzerinde oluşturulan oksidatif strese karşı fitokimyasalların koruyucu özelliklerinin yanında antioksidan moleküllerin aktivitesini arttırıcı yönde etkili oldukları ortaya konmuştur. Özşahin'in yaptığı çalışmada kayısı ve üzüm ekstraktının serum, eritrosit, karaciğer, böbrek ve beyinde oluşturulan LPO'ya karşı koruyucu etkilerinin olduğunu tespit etmiştir. Çalışmada kayısı ve üzüm ekstraktının eritrosit dışındaki tüm dokularda glutasyon ve total protein seviyesi üzerinde olumlu etki gösterdiğini ve miktarlarında artışa neden olduğunda saptanmıştır [191]. Gülçin'in çalışmasında mide ülseri oluşturulan ratlarda ısırgan otunun su ekstresinin mide muokoza ülserini %61.1'e kadar engellediği tespit edilmiştir [192]. Seif-El-Nasr ve ark. yaptığı çalışmada mabet ağacı ekstraktının lipit peroksit ve fosfolipit içeriğini azaltmayı başardıklarını bildirmişlerdir [193]. Bakirel ve ark. çalışmasında deneysel hiperkolesterolemi ve arterioskleroz oluşturulmuş tavşanlarda histopatolojik olarak, bitkinin Arterio torakalis'te arteriosklerotik ve karaciğerde hidropik dejenerasyon ve yağlı değişim lezyonlarının gelişim derecelerini azalttığı görülmüştür. Sonuçta *Pistacia terebinthus* L.'nin hiperkolesterolemik tavşanlarda hipolipidemik bir etkiye sahip olduğunu ortaya koymuşlardır [164]. Feng ve ark., [194] çalışmalarında yeni doğan ratlarda üzüm çekirdek ekstraktının beyinde hipoksi iskemik hasarı azalttığını ve lipid peroksidasyonunu önlediğini bildirmişlerdir. Buna ilaveten Hwang ve ark. [195] yetişkin gerbillerde ön beyin iskemik hasarının 5 dakika sonrasında nöronal hasara karşı üzüm çekirdek ekstraktının hasarı azaltıcı etkisi olduğunu saptamışlardır. Oboh ve ark., [196] *in vitro* şartlarda beyin dokusunda Fe^{++} ile indüklenen lipit peroksidasyonuna karşı yeşil ve kırmızı biberlerin koruyucu etkisini araştırmışlardır. Biber ekstraktının rat beyinde hem basal hem de Fe^{++} ile indüklenen lipit peroksidasyonunda MDA oluşumunu önemli ölçüde azalttığını belirlemişlerdir. Bu koruyucu etkinin ise biberlerin içerdiği fenolik bileşiklere bağlı olarak oluştuğunu ileri sürmüşlerdir.

Konyalıoğlu ve Karamenderes [197] Türkiye'de doğal olarak yetişen *Achillea* (civanperçemi) bitkisinin insan eritrosit ve lökositlerinde H_2O_2 ile indüklenen oksidatif

strese karşı koruyucu etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonunda *Achillea* türlerinin lipit peroksidasyonunun önlenmesinde doğal bir antioksidan kaynağı olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca bu bitki türlerinin içerdikleri flavonoid ve total fenol içeriğine bağlı olarak eritrosit ve lokositlerde GSH seviyesini çok yüksek oranda arttırdığını göstermişlerdir. Eritrositler üzerinde yapılan başka bir araştırmada ise *Magnifera indica*'nın H₂O₂ ile indüklenen lipit peroksidasyonuna karşı eritrositlerde direnç oluşturduğu belirlenmiştir [198].

Bhatia ve Jain [199] fare karaciğerinde oksidatif stres durumunda ıspanak bitkisinin LPO ve GSH üzerinde azaltıcı etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Dixit ve Kar [200] bazı bitki kabuklarının (kabak, turp, havuç, bezelye) ferik sülfat, hidrojen peroksit ve karbon tetraklorür ile oluşturulan lipit peroksidasyonuna karşı karaciğerde koruyucu etkilerinin olduğunu, bu değişimin ise çalışmalarında kullandıkları bitki kabuklarının içerdiği polifenol ve flavonoid içeriğinden kaynaklandığını bildirmişlerdir. Bagchi ve ark., [201] çalışmalarında lipit peroksidasyonuna karşı üzüm çekirdeklerinin hem karaciğer hem de beyin dokularında MDA seviyesini azalttığını ve bu azalmanın üzüm çekirdeğinin miktarına bağlı olarak oluştuğunu saptamışlardır. Bu etkinin ise üzüm çekirdeklerinin, başta antosiyaninler olmak üzere içerdiği fenollere bağlı olarak açığa çıktığını bildirmişlerdir.

Durak ve ark., [202] ise siyah zmn plazmada antioksidan seviyeyi güçlü bir şekilde arttırdığını gözlemlemişlerdir. Ayrıca alışma ile siyah üzüm tketiciminin alkole duyarlı insanlarda şarap tketicimine göre kanda antioksidan savunmayı daha fazla arttıracadığını bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada da zmde bol miktarda bulunan resveratrolün böbrekte oluşan proteinüri, hipoalbumini ve hiperlipidemiyi baskıladığı bildirilmiştir [203]. Yılmaz ve ark. yaptığı çalışmada *P. terebinthus*'da da resveratrolün bulunduğunu saptamışlardır [153].

Miura ve ark., [204] serum lipit peroksidasyon seviyesinin resveratrol tarafından önemli ölçüde nlendiğini ortaya koymuşlardır. Skrzydlewska ve ark., [205] yeşil çayın ratlarda serum, beyin ve karaciğer dokularında lipit peroksidasyonuna karşı koruyucu etkisini araştırmışlardır. alışmalarında yeşil çayın karaciğerde glutatyon peroksidaz ve glutatyon redktaz seviyelerini arttırdığını, lipit peroksidasyon markerları olan LOOH, 4-HNE ve MDA'yı ise azalttığını, buna ilaveten glutatyon seviyesinde de düşüş meydana getirdiğini saptamışlardır. Serumda ise yeşil çayın glutatyon seviyesini az miktarda arttırdığını, MDA seviyesini ise bunun aksine önemli derecede azalttığını gözlemlemişlerdir. Aynı çalışmada merkezi sinir dokusunda SOD ve Glutatyon Px

aktivitesinin azaldığını buna karşılık yeşil çay içiminden sonra CAT ve glutatyon redüktaz aktivitesinin arttığını belirlemişlerdir. Üstelik LOOH, 4-HNE ve MDA seviyelerinin önemli miktarda azaldığını da tespit etmişlerdir. Farklı dokulardaki lipit peroksidasyonu sonucu oluşan hasarların bu dokuların hücre biyomembranlarındaki değişikliklerden dolayı farklı sonuçlandığı düşüncesini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca çalışmaları ile bitkilerin doku üzerindeki bu olumlu etkilerinin içerdiği flavonoidler gibi fitokimyasal bileşiklerden kaynaklandığını bildirmişlerdir. Bu polifenollerin gastrointestinal sistemde emiliminin oldukça fazla düzeyde olmasından dolayı diğer dokularda serumdan daha hızlı bir şekilde etki gösterdikleri sonucuna varmışlardır. Önceki yapılan hayvan deneylerinde diyetle verilen kateşinin emiliminin sınırlı olduğu gösterildiği için serumda epikateşin ve kateşin varlığının 4-HNE ve MDA seviyesini düşürdüğünü ileri sürmüşlerdir. Bunun nedeninin ise; kateşinin bağırsakta emiliminden önce bağırsak mikroorganizmaları tarafından heterosiklik halkasal yapılarının tahrip edilmesi olduğunu bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar bu çalışmaları destekler şekildedir. Yaptığımız çalışmada, karaciğer, kas ve beyin dokularında H_2O_2 verilen gruplarda glutatyon seviyesinin azaldığı belirlenmiştir. Karaciğer, böbrek, kas ve kalp dokularında bitki ekstraktı verilen gruplarda ise glutatyon seviyelerinde artma gözlenmiştir. Bu glutatyon seviyelerindeki artışın H_2O_2 'ye karşı oluşturulan bir adaptasyon mekanizması olduğunu düşünülmektedir. Glutatyon oksidatif strese karşı savunmanın en önemli basamağını oluşturmaktadır [69]. Oksidatif stresin zayıf olduğu durumlarda devreye giren adaptasyon mekanizmaları sonucunda GSH düzeyi artmaktadır. Ancak; oksidatif stresin güçlü olduğu durumlarda zayıflayan adaptasyon mekanizmalarına ve artan GSSG oluşumuna bağlı olarak GSH düzeyi azalmaktadır [70]. Hücre içerisinde GSSG'nin GSH'a redüksiyonunu katalizlemekle görevli olan enzim, glutatyon disülfid redüktaz (G; EC 1.6.4.2) olarak bilinmektedir. Sitosole yerleşen enzim, aktivitesi sırasında bir kofaktör olan nikotinamid adenin dinükleotid fosfat'a (NADPH) gereksinim duymaktadır. Normal fizyolojik koşullar altında GSSG, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH)-bağımlı bir enzim olan glutatyon redüktaz (GR; EC 1.6.2.4) tarafından GSH'a indirgenir ve bu şekilde bir redoks döngüsü meydana gelir. Hücrenin indirgeme kapasitesi yetersiz kaldığında GSH/GSSG oranında azalmalar meydana gelir [206]. Böylece reaktif oksijen türlerine olan duyarlılığın artması ile antioksidan savunma sistemi başarısızlığa uğrayarak glutatyon miktarında azalma gerçekleşebilir. Buna karşılık böbrek ve kas dokularında H_2O_2 reaktifi verilen gruplarda ise glutatyon miktarında bir azalma olmamıştır. Bunun

nedeni olarak da H_2O_2 reaktifinin dokudaki konsantrasyonundan ve dokunun yapısından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. GSSG miktarının artması durumu ise NADPH üretim yollarındaki herhangi bir bozukluğu göstermekte veya enzimin inaktivasyonu sonucu hücre içi GSH miktarının azalması anlamına gelmektedir. Hücre tipine bağlı olarak GSH'nin hücre içi derişimi yaklaşık 0.5-10 mM düzeyindedir. Karaciğer derişimi 4-8 mM'dır. Hücrede total GSH'nin %5'inden daha azı okside formda bulunur [207]. GSSG hayvansal hücrede protein sentezini inhibe edebilmektedir. GSSG'nin bu etkisi hücrede intrasellüler GSSG düzeylerinin neden normalden çok düşük olduğunu ve eritrositler, karaciğer ve kalp gibi organlardan plazmaya neden GSSG salındığını açıklamaktadır. GSH metabolik çevrimde sabit bir oranda korunur. İnsan eritrositlerinde yarı ömrü 4 gün, sıçan karaciğerinde ise 3 saattir. Eritrositlerdeki döngüsü safraya GSSG veren karaciğere benzer olarak ATP-bağımlı bir transport sistemi ile plazmaya hücrelerden GSSG'nin taşınmasını içerir. Karaciğer de sürekli olarak plazmaya GSH vermektedir [147]. Çeşitli organ ve dokulardaki GSH içeriği düşük moleküler ağırlıklı tiyoller ve total non-proteinlerin en az %90'ını oluşturmaktadır. Karaciğerin GSH içeriği böbrek ve testislerden yaklaşık iki kat, akciğerden yaklaşık üç kat daha fazladır [207]. Beyindeki GSH derişimi 1-3 mM'dır. Bu organdaki GSH homeostasisi baskın olarak GSH yapıtaşlarının beyin içerisindeki sirkülasyonu ile sağlanmaktadır. Bununla birlikte beyinde GSH sentezi için gereken yapıtaşları kan-beyin engelini geçerek beyne ulaşmaktadırlar [208].

P. terebinthus ekstresinin Wistar ratların yağ asidi bileşimi üzerindeki etkileri karşılaştırıldığında; böbrek dokusunda 22:6 ve 20:4 yağ asitlerinin dışındaki tüm yağ asitlerinin kontrole göre azaldığı ve bu azalmanın PT grubunda daha belirgin olduğu gözlemlenmiştir. Buna karşılık karaciğer dokusunda stearik asit dışındaki tüm yağ asitlerinin kontrole göre HP grubunda arttığı gözlenmiştir. 18:0 yağ asidi miktarı HP grubunda azalmıştır. 16:0, 18:0, 18:1, 22:6 yağ asitleri seviyeleri bitki ekstresi verilen gruplarda azalırken, 18:2, 20:4 yağ asitleri seviyeleri ise artmıştır. Beyin dokusunda tüm yağ asitlerinin seviyelerinin kontrol grubuna göre HP grubunda azaldığı, buna karşılık bitki ekstresi verilen gruplarda arttığı, özellikle bu artışın PH grubunda çok daha belirgin olduğu tespit edilmiştir. Kas dokusunda yağ asidi seviyelerinin HP ve PH gruplarında kontrol grubuna göre arttığı tespit edilmiştir. PT grubunda ise sadece 20:4 ve 22:6 yağ asidi seviyelerinin arttığı diğer yağ asidi miktarlarının değişmediği saptanmıştır. Kalp dokusunda 16:0, 18:0, 18:1, 18:2 yağ asitlerinin seviyelerinin HP grubunda arttığı, buna karşılık bitki ekstresi verilen gruplarda tüm yağ asitlerinin azaldığı gözlenmiştir.

Özşahin'in çalışmasında da bulgularımıza benzer sonuçlar gözlenmiştir. Kayısı ve üzüm ekstraktının ratların yağ asidi bileşimi üzerindeki etkileri karşılaştırıldığında; böbrek dokusunda tüm yağ asitlerinin kontrole göre azaldığı, buna karşılık serum, karaciğer ve beyin dokularında bütün yağ asidi değerlerinde artış olduğu bulunmuştur [191].

İnsanların da içinde yer aldığı memeli grubunda iki farklı yağ asiti metabolizması etkili olmaktadır. Bunlardan birincisi vücutta karbonhidrat ve aminoasit öncüllerden *de novo* olarak sentezlenen ve doku fosfolipitlerinde ve depo lipitlerinde yer alan palmitik, palmitoleik, stearik, oleik, eikosenoik, dokosanoik ve lignoserik asit ile nervonik asitler; ikincisi ise linoleik (18:2, n6) ve linolenik asitler (18:3, n3) ile başlayan esansiyel yağ asiti metabolizmasıdır. İkinci yağ asiti metabolizması memeliler için esansiyel yağ asiti metabolizması olarak bilinir. Çünkü bu metabolizmanın başlaması için gerekli olan 18:2, n6 ve 18:3, n3, özellikle karasal ortamda yaşayan memeli organizmalar için Δ -12 desaturaz ve Δ -15 desaturaz enzimleri bulunmadığı için *de novo* olarak sentezlenemezler; ancak besin yoluyla vücuda alınması gerekir [39,41,209]. 14:0, 16:0, 18:0, 18:1 gibi yağ asitleri endojen olarak sentezlenen yağ asitleridir.

Çalışmamızda palmitik asit düzeyinin serum, beyin ve kas dokusunda kontrol grubuna göre bitki ekstraktı verilen gruplarda arttığı, karaciğer, böbrek ve kalp dokusunda azaldığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlardan bitkilerin lipit biyosentezinde görevli olan asetil CoA karboksilaz ile yağ asidi sentetaz enzimlerinin aktivitesi üzerinde etkili olduklarını düşünmekteyiz. Çünkü palmitik asit yağ asidi sentezinde son ürünü olup, yağ asidi sentetaz enzimi tarafından sentezlenir. Daha sonra bu madde değişik enzimatik reaksiyonlarla serbest hale gelir. Palmitik asidin artması ise sentez olayının artışıyla tanımlanabilir. Hücrenin ihtiyacına göre fosfolipit, sifingolipit, trigliserit, kolesterol esteri sentezi ve Δ ⁹ desaturaz (stearoil CoA) enzimi tarafından palmitoleik asite çevrilir ya da elongaz enzimi tarafından stearik asit sentezinde kullanılır. Palmitik asit ve stearik asit substrat olarak kullanılan, stearoil CoA desaturaz enzimi tarafından palmitik asitten palmitoleik, stearik asitten oleik asit gibi tek çift bağlı yağ asitlerin oluşumunu katalize eder. Çalışmamızda palmitoleik asidin kontrol grubuna göre bitki ekstraktı verilen gruplarda serum ve kas dokularında arttığı buna karşılık böbrek dokusunda azaldığı gözlemlenmiştir. Stearik ve oleik asit miktarları ise serum, beyin ve kas dokularında artmış karaciğer, böbrek ve kalp dokularında azalmıştır. Dokulardaki bu artmanın stearoil CoA desaturaz enzim aktivitesinin uyarılmasından kaynaklandığını, buna karşılık miktarda azalış gösteren dokularda ise bu enzimin aktivitesinin engellenmesinden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Stearoil CoA

desaturaz enzimi, palmitik asit ve stearik asidi substrat olarak kullanmaktadır. Bu yağ asitlerinden palmitoleik asit ve oleik asit gibi yağ asitlerinin oluşumu gerçekleşir. Bu enzim aktivitesi diyet, hormonal faktörler ve diğer bazı faktörlerden etkilenmektedir. Steroil CoA desaturaz enzimi endoplazmik retikulum membranına bağlı bir enzim olduğu için bu olayların gerçekleşmesi endoplazmik retikulumda meydana gelir. Doymuş yapıda olan palmitik asit ve stearik asidin doymamış formu olan tek-çift bağlı palmitoleik ve oleik asit formuna dönüştürülmesi hücredeki denge için çok önemlidir. Stearik yağ asidi ise palmitik asit yağ asidinden zincir uzatılma reaksiyonlarıyla sentezlenmektedir. Bu enzim hücre membranı yapısının akışkanlığının korunmasında oldukça önemli bir konumdadır. Yağ asidi sentetaz ve Δ^9 desaturaz enzimlerinin aktiviteleri farklı diyetlerle beslenme, değişik hormonlar ve diyetteki ilave maddeler tarafından etkilenmektedir [210]. Bizim sonuçlarımıza benzer sonuçlar başka bir çalışmada da gösterilmiştir. Özşahin'in bulunduğu sonuçlara göre, palmitik asit düzeyinin böbrekte azaldığı, karaciğer beyin ve serum dokularında kontrol grubuna göre meyve ekstraktı verilen gruplarda arttığı tespit edilmiştir. Palmitoleik asidin ise serum ve böbrek dokularında azaldığı buna karşılık karaciğer ile beyin dokularında arttığı gözlemlenmiştir. Özellikle meyve ile reaktif (kayısı, üzüm + fenton reaktifi) verilen gruplarda artışın çok daha anlamlı olduğu bulunmuştur [191].

İnsanlarda ve memeliler grubunun diğer üyelerinde *de nove* olarak sentezlenen ve monoenoik yağ asidi sentezi dışındaki, diğer yağ asidi metabolizması, aşırı doymamış yağ asitlerinin sentezlendiği, esansiyel yağ asidi metabolizmasıdır. Esansiyel yağ asidi metabolizması bütün dokularda 18:2, n6 ve 18:3, n3 yağ asitleriyle başlar. Bu yağ asitlerinin metabolizması zincir uzatılması ve hidrokarbon zincire çift bağ girişini sağlayan enzimlerin aktivitesiyle devam eder. 18:2, n6 ve 18:3, n3 yağ asitleri, memelilerde Δ^{12} desaturaz ve Δ^{15} desaturaz enzimleri bulunmadığı için bu yağ asitlerini sentezleyemezler. Bunlar besinler yoluyla memeliler tarafından alındığı için esansiyel yağ asidi olarak bilinirler. Bu yağ asitleri, memelilerin hücrelerinde bulunan Δ^6 desaturaz ve Δ^5 desaturaz enzimlerinin aktivitesiyle, linoleik asitler (18:2, n6), eikosadienoik asit (20:2, n6) eikosadienoik asit (20:3, n6), araşidonik asit (20:4, n6), dekosadienoik asit (22:2, n6), dekosatetroenoik asit (22:4, n6), dekosapentaenoik asit (22:5, n6) gibi daha uzun zincirli ve aşırı doymamış yağ asitlerinin meydana gelmesini katalize ederler. 18:3, n3 bu enzimler tarafından kullanılmasıyla steridonik asit (18:4, n3), eikosadienoik asit (20:5, n3), dekosadienoik asit (22:5, n3) ve dekosaheksaenoik asit (22:6, n3) gibi uzun zincirli ve aşırı

doymamış yağ asitlerinin oluşumu meydana gelir. 18:2, n6 ve 18:3, n3 asitlerin Δ^6 ve Δ^5 desaturaz enzimleri tarafından substrat olarak kullanıldığı ve zincir uzatılmasının meydana geldiği metabolik yola Δ^6 desaturasyon yolu adı verilir [39,41,44,209,210]. Serbest radikaller, hücredeki doymamış yağ asitleri, DNA molekülleri ve protein moleküllerindeki sülfidril bağlarıyla reaksiyona girerek hücre ve dokulara zarar verir [211].

Araşidonik asit, linoleik asitten delta 6 desaturaz yoluyla sentezlenen bir yağ asididir. Araştırmalarımız sonucunda böbrekte linoleik asit miktarının bitki gruplarında azaldığı, araşidonik asit miktarının ise PT grubunda azaldığı, PH grubunda anlamlı bir farklılık bulunmadığı, buna karşılık serum, karaciğer, kas ve beyinde ise linoleik asit miktarındaki artışın yanı sıra araşidonik miktarında da artış olduğu belirlenmiş olup, bu durumun ortaya çıkmasında sentez dışında başka faktörlerin de etkili olduğu sonucunu akla getirmektedir. Serum, beyin ve kas dokularında kontrole göre PH grubunda artma HP grubundakinden daha fazla olduğu için bitki ekstraktlarının H_2O_2 'ye karşı esansiyel yağ asitlerini koruma yönünden olumlu etki gösterdiği düşünülmektedir. Hem linoleik hem de araşidonik asit miktarındaki azalış, eikosenoidlerin sentezi ile ilgili olabilir. Çünkü eikosenoidler araşidonik asidin lipoksigenaz ve siklooksigenaz enzimleri tarafından kullanılarak lökotrienler ve prostoglandinlere dönüştürülmesini sağlarlar. Araşidonik asidin azalışı bu metabolik yolun aktif olmasıyla açıklanabilir. Delta 6 desaturasyonun başka bir son ürünü olan dokosaheksaenoik asidin ise karaciğer ve kalp dokularında miktarının önemli bir farklılık göstermemesine karşılık, diğer dokularda miktarının arttığı ve PH grubunda artışın daha anlamlı olduğu belirlenmiştir. Ayrıca patolojik şartlarda bu yağ asit düzeyinin yükseldiği bildirilmiştir. Bunun sebebi olarak ise bu maddenin sentezinde görev yapan enzimin hastalık faktörlerinden etkilendiği ileri sürülmüştür [44]. Özşahin'in yaptığı çalışma sonucunda ise böbrekte kayısı ve üzüm ekstraktları verilen gruplarda kontrol grubuna kıyasla, linoleik asit ile araşidonik asit miktarının azaldığı buna karşılık serum, karaciğer ve beyinde ise linoleik ve araşidonik asit miktarının arttığı belirlenmiştir [191]. *Salvia hispanica* bitkisi ile beslenen sıçanlarda serumda linoleik asit içeriğinde farklılık bulunmamıştır, fakat araşidonik asit anlamlı derecede düşük miktarda bulunmuştur. *Chia* bitkisi ile beslenen ratlarda ω -3 (α -linolenik asit) yağ asidi miktarı artmış, ω -6/ ω -3 oranı azalmıştır.

Kullandığımız ekstraktların Wistar ratların vitamin ve kolesterol değerleri üzerindeki etkileri karşılaştırıldığında; tüm vitamin değerlerinin farklı dokularda farklı miktarlarda bulunduğu gözlemlenmiştir. Serumda A, E, D3 ve K1 vitaminlerinin seviyelerinde kontrol

grubuna göre HP grubunda anlamlı olarak azalma bulunmuş, PT ve PH gruplarında ise A ve E vitaminlerinde anlamlı olarak artma bulunmuştur. Karaciğerde HP grubunda K1 vitamini azalmış, diğer vitaminler artmıştır. Bitki gruplarında ise α -tokoferol asetat miktarı azalmış, diğer vitaminler ve kolesterol miktarı artmıştır. Böbrekte K1 ve K2 seviyeleri HP azalmış, retinol seviyesi artmıştır. PT grubunda K2 vitamini artmış, D2 ve retinol miktarı azalmıştır. PH grubunda ise bütün vitaminler artış göstermiştir. Kolesterol ise bütün gruplarda azalmıştır. Beyinde Kolesterol ve β -sitosterol seviyeleri bütün gruplarda artmıştır. K1 vitamini HP ve PT grubunda artmış, α -tokoferol sadece PT grubunda artmıştır. Kasta Kolesterol ve β -sitosterol seviyeleri bütün gruplarda artmıştır. K1, K2 ve α -tokoferol miktarları bütün gruplarda artmış, D3 vitamini bitki gruplarında azalmıştır. Retinol ise sadece HP grubunda artmıştır. Kalpte K1 vitamini bitki gruplarında azalmış, K2 ise HP ve PT gruplarında artmıştır. D2 vitamini bütün gruplarda azalmış, D3 vitamini HP grubunda artmış PT ve PH gruplarında azalmıştır. α -tokoferol miktarı PT grubunda azalmıştır. β -sitosterol seviyeleri bütün gruplarda azalmıştır. Kolesterol sadece HP grubunda artmıştır. Retinol ise HP ve PT gruplarında artmıştır. Domitrovic ve ark., [212] çalışmalarında zeytin ve mısır yağı ile beslenen farelerde diyetle demir ilavesinin karaciğerde retinol ve α -tokoferol miktarları üzerine artışa neden olduğunu bildirmişlerdir. Çeşitli çalışmalarda demir yönünden yetersiz bir diyetle rat karaciğerinde ve plazmasında retinol seviyesinde azalmaya neden olduğu ortaya konmuştur [213,214]. Bizim çalışmamızda da α -tokoferol miktarının bitki ve H₂O₂ reaktifi içeren gruplarda artmasının bu sonuçları doğrular şekilde paralellik gösterdiği tespit edilmiştir. Yine Özşahin'in çalışmasında da D vitamininin serum, karaciğer, böbrek, beyin dokularında belirli oranlarda arttığı saptanmıştır. α -tokoferol miktarının da tüm dokularda kontrole göre kayısı ve üzüm gruplarında arttığı belirlenirken, α -tokoferol asetat düzeyinin serum ve böbrekte kontrole oranla azaldığı ancak karaciğer ile beyin dokularında özellikle meyve gruplarında arttığı tespit edilmiştir. Retinol düzeyinin ise karaciğer, böbrek dokularında kontrole göre arttığı, beyin dokusunda genel olarak azaldığı gözlemlenmiştir [191]. Başka bir çalışmada chia (*Salvia hispanica*) bitkisi ile beslenen sıçanlarda serumda linoleik asit içeriğinde farklılık bulunmamıştır, fakat araşidonik asit anlamlı derecede düşük miktarda bulunmuştur. Yine chia bitkisi ile beslenen ratlarda ω -3 (α -linolenik asit) yağ asidi miktarı artmış, ω -6/ ω -3 oranı azalmıştır [215]. Orta zincirli doymuş yağ asitleri, özellikle miristik asit (14:00) ve palmitik asit (16:00) hindistan cevizi yağı beslenen ratların serum lipitlerinde anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. On sekiz karbonlu yağ asitleri, özellikle

stearik asit (18:0), zeytinyağı veya hindistancevizi yağı ile beslenen sıçanlarda serum lipitlerinde yüksek bulunmuştur. Oleik asit (18:1 N9) düzeyleri zeytinyağı ile beslenen ratların serum lipitlerinde yüksek bulunmuştur. Linoleik asit (18:02 n6) ve araşidonik asit (20:04 n6) miktarları hindistan cevizi yağı ile beslenen sıçanlarda serum lipidlerinde yüksek bulunmuştur. Benzer şekilde, Uzun zincirli yağ asitleri, hem 24:0 gibi doymuş ve hem de 22:2, 22:5 and 22:6 gibi doymamış yağ asitlerinde yüksek olduğu saptanmıştır [216].

Kolesterol miktarlarının dokularda kontrol grubuna göre karşılaştırılmasında, karaciğerde, beyinde, kasta bitki gruplarında arttığı, buna karşılık böbrek dokusunda azaldığı gözlenmiştir. Kalpte ise önemli farklılıkların olmadığı saptanmıştır. Tüm bu sonuçlar kullanılan bitki ekstraktlarından farklı dokuların farklı düzeylerde etkilendiğini, bunun sonucunda da vitamin ve kolesterol bileşimlerini değiştirdiğini düşündürmektedir.

Yapılan çalışmalarla da bitki içeriğinin dokuda farklı kolesterol profili oluşmasına neden olduğu saptanmıştır. Özşahinin [191] sonuçlarında da kolesterol miktarlarının serumda üzüm gruplarında arttığı gözlenmiştir. Karaciğerde kontrole göre kolesterol düzeyi tüm gruplarda artmış, böbrek dokusunda ise kayısı ve üzüm ekstraktı verilen gruplarda kolesterol seviyesinde yine artış olduğu belirlenmiştir. Beyinde ise tüm gruplarda (kayısı, üzüm grupları ve meyve + fenton reaktifi verilen gruplar) kontrol grubuna oranla kolesterol miktarında artış olduğu gözlemlenmiştir. Ntanos ve Jones [217] fitosterol içerikli beslenme ile hamsterlarda plazmada kolesterol seviyesinde azalma olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca bazı araştırmacılar fitosteroller içerisinde özellikle β -sitosterolün plazmada kolesterol düşürücü etkiye sahip olduğunu ortaya koymuşlardır [218]. Bitkisel sterollerin kolesterol üzerindeki bu etkilerinin yanı sıra fenolik bileşiklerinde kolesterol üzerinde olumlu etkilerinin olduğu yapılan çalışmalar ile belirlenmiştir. Tebib [219] üzüm çekirdeklerinin içerdiği tannin flavonoidinin plazma kolesterolüne karşı koruyucu etki gösterdiğini saptamıştır. Bowers ve ark., [220] bir fitoestrogen olan resveratrolün kanser oluşumu ve gelişimini önlediğini ayrıca kolesterol seviyesini de düşürdüğünü ileri sürmüştür. Laden ve Porter [221] resveratrolün kolesterol biyosentezini inhibe ederek kalp hastalıklarına karşı koruyucu etkisi olduğunu rapor etmişlerdir. Zern ve ark., [222] ise çalışmalarında kontrol ile karşılaştırıldığında üzüm ile beslenen deney grubunda hepatik açıl CoA kolesterol açıltransferaz aktivitesinin %27 oranında azaldığını ortaya koymuşlardır. Bu sonuca paralel olarak üzüm ile beslenen gunia piglerde kolesterol seviyesinin %33 azaldığını gözlemlemişlerdir.

Tüm bu araştırmaların aksine bizim çalışmamızda kullandığımız ekstraktların dokularda kolesterol miktarını arttırması oldukça şaşırtıcı bir sonuçtur. Bu artışın nedenlerinden biri olarak kullandığımız bitkinin içeriklerinin kolesterol biyosentezini aktive edici özellik gösterdiğini düşünmekteyiz. Bunun yanında yapılan bütün araştırmalarda bitkisel sterollerin ve fenolik bileşiklerin kolesterol düşürücü etkisi olduğu bildirilmektedir. Ancak bizim çalışmamızda bu bileşikler kolesterol seviyesini azaltmada yukarıda da belirttiğimiz gibi olumlu bir etki gösterememiştir. Bunun bir diğer nedeninin ise bitkide bulunan fitosterol ve fenollerin dokularda yeterli miktarlarda bulunmamasından kaynaklandığı düşünölmektedir.

Çalışmamız sonucunda kullandığımız bitki örneğinin *in vivo* ortam şartlarında bu bitkinin lipit peroksidasyonunu önlemede etkili oldukları ortaya konmuştur. Kullandığımız bitkinin bu sonuca Wistar ratlarda yağ asidi ile vitamin profilleri ve glutatyon ile total protein miktarları üzerindeki etkileri de araştırmamızda belirlenmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Her geçen gün, radikallerin çeşitli hastalıkların patojenezindeki etkileri ve yeni antioksidantlar ortaya konmaktadır. Özellikle radikallerin günümüz tıbbını en çok uğraştıran hastalıklar olan diabetes mellitus, kanser ve kardiyovasküler hastalıklar ile yaşlanma olayındaki etkileri çok büyük ilgi uyandırmıştır. Hastalıklardaki bu artış insanları bitkisel ilaçlar gibi alternatif yöntemler aramaya itmiştir.

Günümüzde kullanılan ilaçların 1/4'ünün temel veya tamamlayıcı etkin maddesi bitkisel kaynaklıdır. Bitkisel ilaçların, bitkilerin de hücrelerden oluşmasından dolayı biyokimya seyrinde mühim uyumlulukları vardır. Bu sebeple bitkilerdeki aktif maddeler zehirli olsalar bile sentetik ilaçlar gibi hücrelerde ani ve kuvvetli tahribat yapmazlar. Bitkisel kaynaklı ilaçların bu önemli etkilerinden dolayı çalışmada *P. terebinthus* (çedene, menengiç), *M. alba* (dut), *S. multicaulis* (adaçayı) bitkilerinin tohum, çiçek, yaprak, ham meyve ve meyvelerinin su ve etanol ekstralarının antioksidant özellikleri incelenmiştir.

Cansız ortamda çeşitli antioksidant sistemlerde *P. terebinthus* (çedene, menengiç), *M. alba* (dut), *S. multicaulis* (adaçayı) bitkilerinin su ve etanol ekstralarının güçlü bir antioksidant kapasiteye sahip olduğu bu çalışmanın sonucunda bulunmuştur. Bitkilerin ilaç endüstrisi ve gıda katkı endüstrisi için doğal antioksidantların kolay bulunur bir kaynağı olarak kullanılabilir. Bununla birlikte numune ekstraktının antioksidant aktivitelerinden sorumlu olan bileşenleri tam olarak açık değildir. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda bitkilerin içerdiği aktif bileşikler farklı yöntem ve teknikler kullanılarak kimyasal analizleri yapılabilir ve farmakolojik özellikleri incelenebilir. Bitkinin içerdiği aktif bileşikler izole edilerek canlı sistemlerdeki antioksidant özellikleri araştırılabilir. Ayrıca bitkinin içerdiği aktif maddeler dikkate alınarak antioksidant aktivitesi ile birlikte başka tedavi edici özellikleri de araştırılabilir.

Ayrıca, in vivo çalışma sonuçlarına göre yağ asitlerinin miktarlarında gözlenen beklenmeyen artışların sebebini ortaya koymak için çalışmalar yapılabilir. Bunun için farklı doz ve sürelerde dizayn edilmiş farklı çalışmalarla bu farklı sonuçların nedenleri ortaya çıkarılabilir.

Çalışmamızda kullandığımız ekstraktların dokularda kolesterol miktarını arttırmasının nedenleride sonraki çalışmalar için bir araştırma konusu olabilir. Çünkü bitkilerin içerdiği bitkisel sterollerin ve fenolik bileşiklerin kolesterol düşürücü etkisi

olduğu bir çok çalışmada bildirilmiştir. Ancak bizim çalışmamızda bu bileşikler kolesterol seviyesini azaltmada yukarıda da belirttiğimiz gibi olumlu bir etki gösteremediğinden, bu sonuçların nedenleri de araştırma konusu olabilir.

KAYNAKLAR

- [1] **Çöllü, Z.**, 2007. *Urtica Pilulifera* L. Bitkisinin Antioksidant Aktivitesinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Samsun.
- [2] **Willcox, J.K., Ash, S.L. and Catignani, G.L.**, 2004. Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit Rev Food Sci Nutr.*, **44**, 275–295
- [3] **Uysal, M.**, 1998. Serbest radikaller, lipid peroksidleri organizmada prooksidan-antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klinik gelişim*, **11**, 336–341.
- [4] **Nakazawa, H., Genka, C. and Fujishima, M.**, 1996. Pathological aspects of active oxygens/free radicals. *Jpn J Physiol.*, **46**, 15–32.
- [5] Nelson, D.L. and Cox, M.M., 2004. Lehninger Principles of Biochemistry, Fourth edition. W.H. Freeman and Company, New York.
- [6] **Çavdar, C., Sifil, A. ve Çamsarı T.**, 1997. Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, **3-4**, 92-95.
- [7] **Cheeseman, K.H., Slater T.F.**, 1993. An Introduction to radical biochemistry. *Br. Med. Bull*, **49**, 481–493.
- [8] **Akkuş, İ.**, 1995. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza yayınları, Kuzucular ofset, Konya.
- [9] **Yalçın, A.S.**, 1998. Antioksidanlar. *Klinik gelişim*, **11**, 342 –334.
- [10] **Jeong, J.B., Park, J.H., Lee, H.K., Ju, S.Y., Hong, S.C., Lee, J.R., Chung, G.Y., Lim, J.H. and Jeong, H.J.**, 2009. Protective effect of the extracts from *Cnidium officinale* against oxidative damage induced by hydrogen peroxide via antioxidant effect. *Food and Chem. Toxicol.*, **47**, 525-529.
- [11] **Ajila, C.M. and Prasada Rao, U.J.S.**, 2008. Protection against hydrogen peroxide induced oxidative damage in rat erythrocytes by *Magnifera indica* L. Peel extract. *Food and Chem. Toxicol.*, **46**, 303-309.
- [12] **Yanbeyi, S.**, 1999. Aspirin ve antioksidant buthylated hydroxyanisole'ün tavşanlarda eritrosit total katalaz, süperoksit dismutaz ve glutasyon peroksidaz aktiviteleri üzerine etkileri. *Doktora Tezi*, O.M.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- [13] **Verma, A.R., Vijayakumar, M., Rao, C.V. and Mathela, C.S.**, 2010. *In vitro* and *in vivo* antioxidant properties and DNA damage protective activity of gren fruit of *Ficus glomerata*. *Food and Chem. Toxicol.*, **48**, 704-709.
- [14] **Çakır, M.**, 1997. Aspirin ve vitamin E (α -Tokoferol)'nin farelerde (*Mus musculus*) karaciğer total süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitelerine etkileri. *Yüksek Lisans Tezi*, O. M.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- [15] **Gülçin, I., Küfrevioğlu Ö.I., Oktay, M. and Büyükokuroğlu, M.E.**, 2004. Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *Journal of Ethnopharma.*, **90**, 205–215.
- [16] **Klug, D., Rabani, J. and Fridovich, I.**, 1972. A direct demonstration of the catalytic action of superoxide dismutase through the use of pulse radiolysis. *J. Biol. Chem.*, **247(15)**, 4839-4842.
- [17] **Kılınç, K.**, 1985. Serbest oksijen radikallerinin biyokimyasal etkileri ve metabolizması. *Biyokimya Dergisi*, **2**, 60-89.
- [18] **Ünal, D.**, 1999. Serbest radikaller. *Sendrom*, **11**, 68-80.
- [19] **Dikici, İ.**, 1999. Akut viral hepatitlerle interferon tedavisi görmüş kronik viral hepatitlerde oksidatif stresin araştırılması. *Uzmanlık Tezi*, S. Ü. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı, Konya.

- [20] **Firat, S.**, 1997. Kobaylarda radyasyonla oluşan akciğer hasarında doku glutatyon , glutatyon peroksidaz, glutatyon- S-transferaz düzeyleri ve N-asetil sistein'in bu sistem üzerindeki etkisi. *Uzmanlık Tezi*, G. Ü. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara.
- [21] **Devi, D.D. and Arumughan, C.**, 2007. Antiradical efficacy of phytochemical extracts from defatted rice bran. *Food and Chem. Toxicol.*, **45**, 2014-2021.
- [22] **Moridani, M.Y. and O'Brien, P.J.**, 2001. Iron complexes of deferiprone and dietary plant catechols as cytoprotective superoxide radical scavengers. *Biochem. Pharma.*, **62**, 1579-1585.
- [23] **Vrcovska, V., Sousa, C., Valentao, P., Ferreres, F., Pereira, J.A., Seabra, R.M. and Andrade, P.B.**, 2006. Antioxidative properties of tronchuda cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *costata* DC) external leaves against DPPH, superoxide radical, hydroxyl radical and hypochlorous acid. *Food Chem.*, **98**, 416-425.
- [24] **Imahori, Y., Takemura, M. and Bai, J.**, 2008. Chilling-induced oxidative stress and antioxidant responses in mume (*Prunus mume*) fruit during low temperature storage. *Postharvest Biol. and Technol.*, **49**, 54-60.
- [25] **Gutteridge, J.M.**, 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin. Chem.*, **41**, 1819-1828.
- [26] **Esmacili, M.A., Sonboli, A. and Noushabadi, M.A.**, 2010. Antioxidant and protective properties of six *Tanacetum* species against hydrogen peroxide induced oxidative stress in K562 cell line: A comparative study. *Food Chem.*, **121**, 148-155.
- [27] **Kaviarasan, S., Naik, G.H., Gangabthagirathi, R., Anuradha, C.V. and Priyadarsini, K.I.**, 2007. In vitro studies on antiradical and antioxidant activities of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) seeds. *Food Chem.*, **103**, 31-37.
- [28] **Kawanishi, S., Hiraku, Y. and Oikawa, S.**, 2001. Mechanism of guanine-specific DNA damage by oxidative stress and its role in carcinogenesis and aging. *Mutation Res.*, **488**, 65-76.
- [29] **Matsuzaki, S., Szwed, P.A., Szwed, L.I. and Humphries, K.M.**, 2009. Regulated production of free radicals by the mitochondrial electron transport chain: Cardiac ischemic preconditioning. *Avdan. Drug Deliv. Revi.*, **61**, 1324-1331.
- [30] **Girotti, A.W.**, 1998. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *J. Lipid Res.* **39(8)**, 1529-42.
- [31] **Bolanos, J.P., Moro, M.A., Lizasoain, I. and Almeida, A.**, 2009. Mitochondria and reactive oxygen and nitrogen species in neurological disorders and stroke: Therapeutic implications. *Avdan. Drug Deliv. Revi.*, **61**, 1299-1315.
- [32] **Smirnoff, N. and Pallanca, J.E.**, 1995. Ascorbate metabolism in relation to oxidative stress. *Biochem. Soc. Trans.*, **24**, 16.
- [33] **Sithisarn, P., Carlsen, C.U., Andersen, M.L., Gritsanapan, W. and Skibsted, L.H.**, 2007. Antioxidative effects of leaves from *Azadirachta* species of different provenience. *Food Chem.*, **104(4)**, 1539-1549.
- [34] **Slater, T.F.**, 1984. Free-Radical Mechanisms in Tissue Injury. *Biochem. J.*, **222**, 1-15.
- [35] **Davies, M.J.**, 2003. Singlet oxygen-mediated damage to proteins and its consequences. *Biochem Biophys Res Commun*, **305**, 761-70.
- [36] **Baykal, Y. ve Kocabalkan, F.**, 2000. Serbest radikaller ve hücre hasarı. *Sendrom*, **9**, 31-36.

- [37] **Halliwell, B.**, 1996. Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. *Free Radic Res.*, **25**, 57-74.
- [38] **Rice-Evans, CA., Diplock, AT. and Symons, M.C.R.**, 1991. Techniques in free radicals research. *Elsevier*, Amsterdam, vol 22.
- [39] **Tvrzicka, E., Vecka, M., Stankova, B. and Zak, A.**, 2002. Analysis of fatty acids in plasma lipoproteins by gas chromatography flame ionisation detection Quantative aspects. *Anal. Chimica. Acta*, **465**, 337-350.
- [40] **Atueno, R.J., Kinckle, L.C., Smith, H., Eliot, M.L., Allen, S.J., Nwaka, S. and Winther, M.D.**, 2001. Activity human of $\Delta 5$ and $\Delta 6$ desaturases on multiple n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids. *FEBS Lett.*, **509**, 77-80.
- [41] **Duplus, E. and Forest, C.**, 2002. Is there single mechanism for fatty acid regulation of gene transcription? *Biochem. Pharma.*, **64**, 893-901.
- [42] **Voet, D., Voet, J.G., Wiley, J. and Pratt, C.W.**, 1999. Biochemistry. Sons Inc. New York.
- [43] **Nelson, D.L. and Cox, M.M.**, 2000. Lehninger Principles of Biochemistry. Worth publishers, *Third Edition*, p.1152, New York.
- [44] **Brener, R.R.**, 2000. Effect of experimental diabetes on the fatty acids composition, molecular species of phosphatidylcholina and physical properties of hepatic mikrosomal membranes. *Prostaglandis Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, **63**, 167-176.
- [45] **Rang, R.Y., Tsou, S.C.S., Lee, T.C., Wu, W.J., Hanson, P.M., Kuo, G., Engle, L.M. and Lai, P.Y.**, 2006. Distribution of 127 Edible Plant Species for Antioxidant Activities by Two Assays. *J Sci Food Agric.*, **86**, 2395-2403.
- [46] **Öztürk, M., Öztürk, F., Duru, M.E. and Topçu. G.**, 2007. Antioxidant Activity of Stem and Root Extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An Edible Medicinal Plant. *Food Chem.*, **103**, 623-630.
- [47] **Tepe, B., Eminagaoglu, O., Akpulat, H.A. and Aydin, E.**, 2007. Antioxidant Potentials and Rosmarinic Acid Levels of The Methanolic Extracts of *Salvia verticillata* (L.) subsp. *verticillata* and *S. Verticillata* (L.) subsp. *amasiaca* (Freyn & Bornm.) Bornm. *Food Chem.*, **100**, 985-989.
- [48] **Reische, D.W., Lillard, D.A., Eitenmiller, R.R., Akoh, C.C. and Min, D.B.**, editör., 2002. *Food Lipids Chemistry, Nutrition and Biotechnology*, New York: Marcel Dekker Inc; p. 489-516.
- [49] **Fridovich, I.**, 1975. Superoxide dismutases. *Annu. Rev. Biochem.*, **44**, 147-59.
- [50] **Doyotte, A., Cossu, C., Jacqiuin, M.C., Babut, M. and Vasseur, P.**, 1997. Antioxidant enzymes, glutathione and lipid peroxidation as relevant biomarkers of experimental or field exposure in the gills and digestive gland of freshwater bivalve *Unio tumidus*. *Aquatic Toxicol.*, **39**, 93-110.
- [51] **Fridovich, I.**, 2001. Oxidative stress. Encyclopedia of Life Sciences, Nature Publishing Group, www.els.com, 1-5.
- [52] **Olsvik, P.A., Kristensen, T., Waagbq, R., Rosseland, B.O., Tollefsen, K.E., Baeverfjord, G. and Berntssen, M.H.G.**, 2005. mRNA expression of antioxidant enzymes (SOD:CAT and GSH-Px) and lipid peroxidative stres in liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*) expopsed to hyperoxic water during smoltification. *Comp. Biochem. and Phys. Part C.*, **143**, 263-274.
- [53] **Kim, A., Murphy, M.P. and Oberley, T.D.**, 2005. Mitochondrial redox state regulates transcription of the nuclear-encoded mitochondrial protein manganese

- superoxide dismutase: a proposed adaptive response to mitochondrial redox imbalance. *Free Radical Biology & Medic.*, **38**, 644– 654.
- [54] **Voinea, M., Georgescu, A., Manea, A., Dragomir, E., Manduteanu, I., Popov, D. and Simionescu, M.**, 2004. Superoxide dismutase entrapped-liposomes restore the impaired endothelium-dependent relaxation of resistance arteries in experimental diabetes. *Eur. J. of Pharma.*, **484**, 111-118.
- [55] **Fattman, C.L. Schaefer, L.M. and Oury, T.D.**, 2003. Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine. *Free Radical Biology & Medic.*, **35 (3)**, 236-256.
- [56] **Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.**, 1999. Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press, London.
- [57] **Cemeli, E. Baumgartner, A. and Anderson, D.**, 2009. Antioxidants and the Comet assay. *Muta. Resear.*, **681**, 51-67.
- [58] **Zamocky, M. and Koller, F.**, 1999. Understanding the structure and function of catalases: clues from molecular evolution and in vitro mutagenesis. *Progress in Biophysics & Molecular Biology*, **72**, 19-66.
- [59] **Chaudiere, J. and Ferrai-Iliou, R.**, 1999. Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanism. *Food and Chem. Toxicol.*, **37**, 949-962.
- [60] **Kelner, M.J. Bagnell, R.D. Ugluk, S.F. Montoya, M.A. and Mullenbach, G.T.**, 1995. Heterologous expression of selenium-dependent glutathione peroxidase affords cellular resistance to paraquat. *Archives of Biochem. And Bioph.*, **323**, 40-46.
- [61] **Mungan, G.**, 1996. Kan bankalarında CPDA-1 (Citrate Phosphate Dextrose Adenine) ile saklanan kanlarda allopürinolün lipid peroksidasyonu ve biyokimyasal parametrelere etkisinin incelenmesi. *Uzmanlık Tezi*, Ankara Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara.
- [62] **Michiels, C. Raes, M. Toussaint, O. and Remacle, J.**, 1994. Importance of Seglutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.*, **17(3)**, 235-48.
- [63] **Halliwell, B. and Gutteridge, JM.**, 1990. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch. Biochem. Biophys.*, **280(1)**, 1-8.
- [64] **Mannervik, B.**, 1985. Glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.*, **113**, 490-5.
- [65] **Travacio, M., Polo, J.M. and Llesuy, S.**, 2000. Chromium (VI) induces oxidative stress in the mouse brain. *Toxicol.*, **150**, 137-146.
- [66] **Sen, C.K.**, 1997. Nutritional biochemistry of cellular glutathione. *Nut. Biochem.*, **8**, 660-662.
- [67] **Reed, D.J.**, 2001. Mechanisms of Chemically Induced Cell Injury and Cellular Protections Mechanisms, pp.697, Eds. HODGSON, E. & SMART, R.C. Introduction to biochemical toxicology. *Wiley-Interscience*, New York, Third edition.
- [68] **Faintuch, J., Aguilar, P.B. and Nadalin, W.**, 1999. Relevance of *Nacetylcysteine* in clinical practice: fact, myth or consequence?. *Nutr.*, **15**, 177-179.
- [69] **Ahmed, R.S. Seth, V. Pasha, S.T. and Banerjee, B.D.**, 2000. Influence of dietary ginger (*Zingiber officinales*) on oxidative stress induced by malathion in rats. *Food and Chem. Toxicol.*, **38**, 443-450.
- [70] **Zhang, J.F., Liub, H., Sun, Y.Y., Wang, X.R., Wu, J.C. and Xue, Y.Q.**, 2005. Responses of the antioxidant defenses of the Goldfish *Carassius auratus*, exposed to 2,4-dichlorophenol. *Environ. Toxicol. and Pharma.*, **19**, 185-190.

- [71] **Hudson, B.J.F., 1990.** Food antioxidants, Elsevier Applied Science, London and New York.
- [72] **Onay, A., 1996.** In Vitro Organogenesis and Embryogenesis of Pistachio, *Pistacia vera* L. Institute of Cell and Molecular Biology, Daniel Rutherford Building, University of Edinburgh, Edinburgh.
- [73] **Kuru, C. ve Özsabuncuoğlu, I.H., 1990.** Yabani *Pistacia* türlerinin aşılmasında sorunlar ve çözüm yolları. Türkiye I. Antepfıstığı Sempozyumu, 11-12 Sept. 1990, Gaziantep, Türkiye, sy. 51-57.
- [74] **Yaltirik, F. 1967a.** *Pistacia* L. In: P.H. Davis (Ed.) Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. 2, pp.544-549. Edinburgh Uni. Press, Edinburgh, UK.
- [75] **Koç, H., 2002,** Bitkilerle sağlıklı yaşama, Ankara, 321-322,
- [76] **Eskioğlu, A.N., Anadol, C., 1998,** “Şifalı Bitkiler Ansiklopedisi”, vol. 211-314.
- [77] www.mutfakkedisi.com/sifali-bitkiler/14.11.2010.
- [78] www.uludagsozluk.com/k/citlembik/&ba=menengic/14.11.2010.
- [79] **Walheim, L., 1981.** *Western Fruit and Nuts*. HP Books, Inc. p.166.
- [80] **Baytop, T. 1984.** *Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi*. İstanbul Üniv. Yay. No.3255. İstanbul.
- [81] **Özcan, M., 2004.** Characteristics of fruit and oil of terebinth (*Pistacia terebinthus* L.) growing wild in Turkey. *J. Sci. Food Agric.*, **84**, 517-520.
- [82] **Rehder, A., 1962.** Manual of Cultivated Trees and Shrubbs, 2. Edition. New York.
- [83] **Gökmen, H., 1973.** *Kapalı Tohumlular* Sark Matbaası, Ankara, I. cilt. p. 186-190
- [84] **Anon., 2002.** 1997 Köy Envanteri, T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü, Yayın No: 2618, S. 161, Ankara.
- [85] **Güven, S. ve Başaran, M., 1979.** Çanakkale Yöresinde Üretilen Karadut (*Morus nigra* L.) Meyvesinin Besin Teknolojileri Yönünden Değerlendirilmesi. *Tarım Araştırma Dergisi* **1(2)**, 108-117.
- [86] **Trujillo, F.U., 2002.** Mulberry for Rearing Dairy Heifers, Mulberry for Animal Production, *FAO Animal Production and Health Paper*, **147**, 203-206.
- [87] **Huo, Y., 2002.** Mulberry Cultivation and Utilization In China, Mulberry for Animal Production, *FAO Animal Production and Health Paper*, **147**, 11-44.
- [88] **Machii, I.I., Koyama, A., Yamanouchi, I.I., Matsumoto, K., Kobayashi, S. and Katagiri, K., 2001.** A List of Morphological and Agronomical Traits of Mulberry Genetic Resources. Misc. Publ. Natl. Inst. Seric. *Entomol. Sci.*, **29**, 1-307.
- [89] **Moore, L.M., 2002.** White Mulberry (*Morus alba* L.). www.plants.usda.gov/plantguide/pdf
- [90] **Duke, J.A., 1983.** Handbook of Energy Crops, www.newcrop.hort.purdue.edu/newcrop/nexus/morus_spp_nex.html
- [91] **Anon., 2002a.** *Morus alba*, http://gardenbed.com/source/43/4223_lan.asp
- [92] **Behferooz, F., 1993.** *M. alba* L. ve *M. nigra* L. Üzerinde Farmakognozik Araştırma, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozi Anabilim Dalı, *Yüksek Lisans Tezi*, S. 119, Ankara.
- [93] **Kim, and., Park, S., 2006.** Mulberry extract supplement ameliorate the inflammation related hemalotogical parameters in Carrageenan -induced arthritic rats. *Journal of Medicinal Food Sep*, **9(3)**, 431-435
- [94] **Bart, C., 1932.** Hypoglisemic action of the leaves of *Morus Alba*. *Compt.Rend.Soc.Biol.*, **109**, 897-9

- [95] **Miyahara, C., Miyazawa, M., Satoh, S., Sakai, A. and Mizusaki S.,** 2004. Inhibitory effects of mulberry leaf extract on postprandial hyperglycemia in normal rats. *J Nutr Sci Vitaminol*, **50**,161-4.
- [96] **Ulubelen, A., Tan, N., Sönmez, U. and Topçu, G.,** 1998. Diterpenoids and triterpenoids from *Salvia multicaulis*, *Phytochemistry*, **47**, 899-901.
- [97] **Topcu, G., Tan, N., Kökdil, G. and Ulubelen, A.,** 1997. Terpenoids from *Salvia glutinosa*. *Phytochemistry*, **45**, 1293.
- [98] **Hitokato, H., Morozumi, S., Wauke, T., Saiki, S. and Kurata, H.,** 1980. App. Environ. Microbiol. **39**, 818.
- [99] **Ulubelen, A., Topçu, G., Bozok-Johannson, C.,** 1997. Norditerpenoids and diterpenoids from *Salvia multicaulis* with antituberculous activity, *J. Nat. Prod.* **60**, 1275-1280.
- [100] **Werker, E., Ravid, U. and Putievsky, E.,** 1985. Glandular hairs and their secretion in the vegetative and reproductive organs of *Salvia sclarea* and *S. dominica*. *Israel J. Bot.* **34**, 239-252.
- [101] **Tzakou, O., Pitarokili, D., Chinou, L.B. and Harvala, C.,** 2001. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Salvia ringens*. *Planta Med.* **67** 81.
- [102] **Morteza-Semnani, K., Goodarzi, A. and Azadbakht, M.,** 2005. The essential oil of *Salvia aethiopis* L. *Journal of Essential Oil Research*, **17**, 274-275.
- [103] **Ahmadi, L. and Mirza, M.,** 1999. Essential oil of *Salvia multicaulis* Vahl from Iran. *J. Essent. Oil Res*, **11**, 289.
- [104] **Rustaiyan, A., Masoudi, S., Monfared, A. and Komeilizadeh, H.,** 1999. Volatile constituents of three *Salvia* species grown wild in Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, **14**, 276.
- [105] **Senatore, F., Arnold, N.A. and Piozzi, F.,** 2004. Chemical composition of the essential oil of *Salvia multicaulis* Vahl. Var. *simplicifolia* Boiss. Growing wild in Lebanon. *Journal of chromatography A*, **1052**, 237-240.
- [106] **Abushita, A.A., Hebshi, E.A., Daoud, H.G. and Biacs, PA.,** 1997. Determination of antioxidation vitamins in tomatoes. *Food Chemistry*, **60**, 207-212.
- [107] **Tappel, A.,** 1997. Vitamin E as a biological lipid antioxidant. *Inform.* **8**, 392-396.
- [108] **Meyer, A.S., Heinonen, M. And Frankel, E.N.,** 1998. Antioxidant interactions of catechin, cyanidin, caffeic acid, quercetin, and ellagic acidon human LDL oxidation. *Food Chem.* **61**, 71-75.
- [109] **Nakagawa, K., Ninomiya, M., Okubo, T., Aoi, N., Nuneja, L.R., Kim, M., Yamanaka, K. and Miyazava, T.,** 1999. Tea catechin supplementation increases antioxidant capacity and prevents phospolilpid, hydroperoxidation in plasma in human. *J. Agric. Food Chem.* **47**, 3967-3973.
- [110] **Saint-Cricq de Glaulejac, N., Provost, C. and Vivas, N.,** 1999. Comparative study of polyphenol scavenging activites by differen methods. *J. Agric. Food Chem.* **47**, 425-431.
- [111] **Larson, R.A.,** 1988. The antioxidants of higher plants. *Pytochemistry*, **27** (4), 969-978.
- [112] **Ramarathnam, N., Osawa, T., Namiki, M and Kawakishi, S.,** 1988. Chemical studies on novel rice hull antioxidants. 1. Isolation, fractionation, and partial characterization. *J. Agric. Food Chem.* **36**, 732-737.
- [113] **Pratt, D.E. and Hudson, B.J.F.,** 1990. Natural antioxidants not exploited commercially in food antioxidants. Hudson B.J.F. Ed.; Elsevier; Amsterdam,171-192.

- [114] **Ames, B.M., Shigena, M.K. and Hagen, T.M.**, 1993. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of ageing. *Proceedings of National Academy of Sciences*, USA, **90**, 7915-7922.
- [115] **Dragsted, L.O., Strube, M. and Larsen, J.C.**, 1993. Cancer-protective factors in fruits and vegetables: Biochemical and biological background. *Pharmacol. Toxicol.*, **72** (Suppl. 1), 116-135.
- [116] **Henry, J.P. and Stephens-Larson, P.**, 1984. Reduction of chronic psychosocial hypertension in mice by decaffeinated tea. *Hypertension*, **6**, 437-444.
- [117] **Ho, C.T., Chen, Q., Shi-Zhang, K.Q. and Rosen, R.T.**, 1992. Antioxidative effect of polyphenol extract prepared from various Chinese teas. *Prev. Med.*, **21**, 520-525.
- [118] **Yildirim, A., Mavi, A., Oktay, M., Kara, A.A., Algur, Ö.F. and Bilaloğlu, V.**, 2000. Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of Tilia (*Tilia argenta Desf Ex DQ*, Sage {*Salvia Triloba L.*) and Black tea {*Camellia Sinensis*) Extracts. *J. of Agric. Food Chem.* **48**, 5030-5034.
- [119] **Luo, M., Kannar, K., Wahlqvist, M.L. and O'Brien, R.C.**, 1997. Inhibition of LDL oxidation by green tea extract. (comment, letter) *Lancet*, **349**, 360-361.
- [120] **Wang, Z.Y., Huang, M.T., Lou, Y.R., Xie, J.G., Reuhl, K.R., Nevvmark, H.L., Ho, C.T., Yang, C.S. and Conney, A.H.**, 1994. Inhibitory effects of black tea, green tea, decaffeinated black tea and decaffeinated green tea on ultraviolet B light induced skin carcinogenesis in 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-initiated SKH-1 mice. *Cancer Res.*, **54**, 3428-3435.
- [121] **Ho, C.T., Chen, C.W., Vanasundara, U.N. and Shahidi, F.**, 1997. Natural antioxidants from tea. Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects and Applications, Shahidi, F. (Ed.), AOCS Press: Champaign, IL, 213-223.
- [122] **Amarowicz, R. and Shahidi, F.**, 1996. A rapid chromatographic method for separation of individual, catechins for green tea. *Food Res. Int.*, **29**, 71-76.
- [123] **Chen, Y., Zheng, R., Zhongjian, J. and Yong, J.**, 1990. Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants. *Free Radicals Biol. Med.*, **9**, 19-21.
- [124] **Wang, H., Nair, M.G., Strasburg, G.M., Chang, Y.C., Booren, A.M., Gray, J.I. and DeWitt, D.L.**, 1999. Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their glycon, cyanidin from tart cherries. *Journal of Natural Products*, **62**, 294-296.
- [125] **Yen G.C., Wu, S.C. and Duh, P.D.**, 1996. Extraction and identification of antioxidant component from the mulberry (*Morus alba L.*). *J. of Agric. Food Chem.* **44**, 1687-1690.
- [126] **Romani, A., Mulinacci, N., Pinelli, P., Vincierri, F.F. and Cimato, A.**, 1999. Polyphenolic content in five Tuscan cultivars of *Ulea europea*. *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 964-967.
- [127] **Halvorsen, B.L., Holte, K., Myhrstad, M.C.W., Barikmo, I., Hvattum, E. and Fargetun Remberg, S.**, 2002. A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *Journal of Nutrition*, **132**, 461-471.
- [128] **Brennen, T., Anderson, L.E.**, 1980. Inhibition by catalase of dark mediated glucose 6-phosphate-dehydrogenase activation in pea chloroplast. *Plant Physiol*, **66**, 815-817.
- [129] **Yen, G.C. and Chen, H.W.**, 1995. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **43**, 27-32.

- [130] **Oyaizu, M.**, 1986. Studies on products of browning reaction prepared from glucoseamine. *Japanese Journal of Nutrition*, **44**, 307–315.
- [131] **Soares, J.R., Dins, T.C.P., Cunha, A.P. and Almeida, L.M.**, 1997. Antioxidant activity of some extracts of *Thymus zygis*. *Free Radical Research*. **26**, 469-478.
- [132] **Ruch, R.J., Cheng, S.J. and Klaunig, J.E.**, 1989. Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogenesis*, **10**, 1003-1008
- [133] **Dinis, T.C.P., Madeira, V.M.C. and Almeida, L.M.**, 1994. Action of phenolic derivatives (acetoaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **315**, 161-169.
- [134] **Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.M.**, 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Oxidants and Antioxidants*, **299**, 152-178.
- [135] **Benzie, I.F.F., Strain, J.J.**, 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power” the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, **239**, 70-76.
- [136] **Yu, L.L., Haley, S., Perret, J., Harris, M., Wilson, J. and Qian, M.**, 2002. Free radical scavenging properties of wheat extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 1619-1624.
- [137] **Elman, G.L.**, 1959. Tissue Sulfhydryl Groups. *Arch. Biochem. Biophys.*, **82**, 70-77.
- [138] **Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.**, 1951. Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *The J. of Biochem.*, **193**, 265-277.
- [139] **Hara, A. and Radin, N.S.**, 1978. Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. *Anal. Biochem.*, **90** (1), 420–426.
- [140] **Christie, W.W.**, 1990. Gas chromatography and lipids. The Oil Pres, Glaskow.
- [141] **Katsanidis, E. and Addis, P.B.**, 1999. Novel HPLC analysis of tocopherols and cholesterol in tissue. *Free Radic. Biol. Med.*, **27**(11-12), 1137-1140.
- [142] **Meir, S., Kanner, J., Akiri, B. and Hadas, S.P.**, 1995. Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **43**, 1813-1819.
- [143] **Diplock, A.T.**, 1997. Will the good fairies please prove us that vitamin E lessens human degenerative disease? *Free Rad. Res.*, **27**, 511-532.
- [144] **Gülcin, İ., Oktay, M., Küfrevioğlu O.I. and Aslan, A.** 2002. Determination of antioxidant activity of Lichen *Ceşraria islandica* (L) *Ach. Journal of Ethnopharmacology*, **79** (3), 325-329.
- [145] **Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C.**, 1990. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview, *Methods Enzymol.* **186**, 1-85.
- [146] **Duh, P.D., Tu, Y.Y. and Yen, G.C.**, 1999. Antioxidant activity of Harnng Jyur (*Cheysatheumum morifolium* Ramat). *Lebnesm-VViss.u TechnoL*, **32**, 269-277.
- [147] **Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C.**, 1989. Free radicals in biology and medicine, Oxford Universty Press, London, 36-245..
- [148] **Diplock, A.T.**, 1997. Will the good fairies please prove us that vitamin E lessens human degenerative disease? *Free Rad. Res.*, **27**, 511-532.
- [149] **Cai, Y., Luo, Q., Sun, M. and Corke, H.**, 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci.*, **74**, 2157-84.

- [150] **Gülcin, I., Beydemir, S., Sat, İ.G., Küfrevioğlu, Ö.I.**, 2005. Evaluation of antioxidant activity of cornelian cherry (*Cornus mas* L.). *Acta Alimentaria*, **34**, 193-202.
- [151] **Miller, D.D.**, 1996. Mineral. *Food Chemistry*, Fennema, O. R. (Ed.), Dekker: New York, p 618-649.
- [152] **Chen, Q., Shi, H., Ho, C.T.**, 1992. Effects of Rosemary extracts and major constituents on lipid oxidation and soybean lipoxygenase activity. *J. Amer. Oil Chemists' Soc.*, **69**, 999-1002.
- [153] **Yılmaz, Ö., Özşahin, A.D., Bircan, B., Erden, Y., Karaboga, Z.**, 2010 Radical Scavenging Activity of the Pistacia terebinthus in Fenton Reagent Environment and Its Protective Effects on the Unsaturated Fatty Acids. *Asian J. of Chem.*, **22**, 7949-7958.
- [154] **Topçu, G., Ay, M., Bilici, A., Sarıkürkcü, C., Öztürk, M. and Ulubelen, A.**, 2007. A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food chemistry*, **103**, 816-822.
- [155] **Karakaş, B., Certel, M.**, Menengiç (*Pistacia terebinthus* L.) Ağacı Meyvesinin (Çitlembik) Değerlendirilme Olanakları. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya.
- [156] **Grassman, J., Hippeli, S. ve E. F. Elstner**, 2002. Plant's defence and its benefits for animals and medicine: role of phenolics and terpenoids in avoiding oxygen stress. *Plant Physiol Biochem.*, **40**, 471-478.
- [157] **Nakaizumi, A., Baba, M., Uehara, H., Iishi, H. and Tatsuta, M.**, 1997. d-Limonene inhibits N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine induced hamster pancreatic carcinogenesis. *Cancer Letters.*, **117**, 99-103.
- [158] **Uedo, N., Tatsuma, M., Iishi, H., Baba, M., Sakai, N., Yano, H. and Otani, T.**, 1999. Inhibition by d-limonene of gastric carcinogenesis induced by N-methyl-N'-nitrosoguanidine in Wistar rats. *Cancer Letters.*, **137**, 131-136.
- [159] **Wagner, K. and Elmafda, I.**, 2003. Biological relevance of terpenoids-overview focusing on mono-, di- and tetraterpenes. *Ann Nutr Metab.*, **47**, 95-106.
- [160] **Couladis, M., Özcan, M., Tzakou, O. and A. Akgül**, 2002. Comparative essential oil composition of various parts of the turpentine tree (*Pistacia terebinthus* L.) growing wild in Turkey. *J Sci Food Agric.*, **83**, 136-138.
- [161] **Flamini, G., Bader, A., Cioni, P.L., Katbeh-Bader, A. and Morelli, I.**, 2004. Composition of the essential oil of leaves, galls and ripe and unripe fruits of Jordanian *Pistacia palaestina* Bioss. *J Agric Food Chem.*, **52**, 572-576.
- [162] **Giner-Larza, E. M., Manez, S., Giner-Pons, R. M., Recio, C. M., Prieto, J. M., Cerda-Nicholas, M. and J. Rios**, 2002. Anti-inflammatory triterpenes from *Pistacia terebinthus* galls. *Planta Med.*, **68**, 311-315.
- [163] **Giner-Larza, E. M., Manez, S., Giner-Pons, R. M., Recio, C. M., Prieto, J. M., Cerda-Nicholas, M. and J. Rios**, 2001. Oleanonic acid, a 3-oxotriterpene from Pistacia, inhibits leukotriene synthesis and has anti-inflammatory activity. *Eur J Pharm.*, **428**, 137-143.
- [164] **Bakirel, T., Şener, S., Bakirel, U., Keleş, O., Şennazlı, G. ve A. Gürel.**, 2003. Tavşanlarda deneysel hiperkolesterolemi ve arterioskleroz üzerine *Pistacia terebinthus* L. (Menengiç)'in etkisi. *Turk J Vet Anim Sci.*, **27**, 1283-1292.
- [165] **Matthaus, B., Özcan M.** 2006. Quantitation of Fatty Acids, Sterols, and Tocopherols in Turpentine (*Pistacia terebinthus* Chia) Growing Wild in Turkey. *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 7667-7671.

- [166] **Lagouri, V. and Boskou, D.**, 1995. Screening for antioxidant activity of essential oils obtained from spices. In *Food Flavors*, G. Charalampous (Ed.), pp. 869-874. Elsevier, Amsterdam.
- [167] **Shahidi, F.**, 1997. *Natural Antioxidants, Chemistry, Health Effects and Applications*, AOCS Press, Champaign, Illinois.
- [168] **Demo, A., Petrakis, C., Kefalas, P., and Boskou, D.**, 1998, Nutrient antioxidants in some herbs and Mediterranean plant leaves. *Food Res. Int.*, **31**, 351-354.
- [169] **Kavak, D.D., Altıok, E., Bayraktar, O. and Ulku, S.**, 2010. Pistacia terebinthus extract: As a potential antioxidant, antimicrobial and possible α -glucuronidase inhibitor. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* **64**, 167-171.
- [170] **Kıvçak, B., Akay, S., Demirci, B. and Başer, K.H.C.**, 2004. Chemical Composition of Essential Oils from Leaves and Twigs of *Pistacia lentiscus*, *Pistacia lentiscus* var. *chia*, and *Pistacia terebinthus* from Turkey. *Pharmaceutical Biology*, **42**, 360-366
- [171] **Jia, Z.S., Tang, M.C. and Wu, J.M.**, 1995. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, **64**, 555-559.
- [172] **Doi, K., Kojima, T., Makino, M., Kimura, Y. and Fujimoto, Y.**, 2001. Studies on the constituents of the leaves of *M. alba* L.. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **49**, 151-153.
- [173] **Matsuoka, T., Kimura, T. and Muraoka, N.**, 1994. Research of the available constituents from mulberry tree. *Tohoku Agricultural Research*, **47**, 361-362.
- [174] **Katsube, T., Imawaka, N., Kawano, Y., Yamazaki, Y., Shiwaku, K. and Yamane, Y.**, 2006. Antioxidant flavonol glycosides in mulberry (*M. alba* L.) leaves isolated based on LDL antioxidant activity. *Food Chemistry*, **97**, 25-31.
- [175] **Enkhmaa, B., Shiwaku, K., Katsube, T., Kitajima, K., Anuurad, E. and Yamasaki, M.**, 2005. Mulberry (*M. alba* L.) leaves and their major flavonol quercetin 3-(6- malonylglucoside) attenuate atherosclerotic lesion development in LDL receptor-deficient mice. *Journal of Nutrition*, **135**, 729-734.
- [176] **Choi, C.W., Kim, S.C., Hwang, S.S., Choi, B.K., Ahn, H.J., Lee, M.Y., Park, S.H. and Kim, S.K.**, 2002. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. *Plant Science*, **163**, 1161-1168.
- [177] **Liu, L.K., Lee, H.J., Shih, Y.W., Chyau, C.C. and Wang, C.J.**, 2008. Mulberry Anthocyanin Extracts Inhibit LDL Oxidation and Macrophage-Derived Foam Cell Formation Induced by Oxidative LDL. *Journal of Food Science*, **73**, 6.
- [178] **Singab, A.N.B., El-Beshbishy, H., Yonekawa, M., Nomura, T. and Fukai, T.** 2005. Hypoglycemic effect of Egyptian *Morus alba* root bark extract: Effect on diabetes and lipid peroxidation of streptozotocin-induced diabetic rats, *Journal of Ethnopharmacology*, **100**, 333-338.
- [179] **Hansawasdi, C. and Kawabata, J.**, 2006. α -Glucosidase inhibitory effect of mulberry (*Morus alba*) leaves on Caco-2. *Fitoterapia*, **77** (7-8), 568-573.
- [180] **Kim, S.J., Gao, J.J., Lee, W.C., Ryu, K.S., Lee, R.R. and Kim Y.C.**, 1999. Antioxidative flavonoids from the leaves of *Morus alba*. *Arch. Pharm.*, **22** (1), 81-85.
- [181] **Du, Q., Zheng, J. and Xu, Y.**, 2008. Composition of anthocyanins in mulberry and their antioxidant activity. *Journal of Food Composition and Analysis*, **21**, 390-395

- [182] Ohsugi, M., Fan, W., Hase, K., Xiong, Q., Tezuka, Y., Komatsu, K., Namba, T., Saitoh, T., Tazawa, K. and Kadota, S., 1999. Active-oxygen scavenging activity of traditional nourishing- tonic herbal medicines and active constituents of *Rhodiola sacra*. *Journal of Ethnopharmacology*, **67**, 111-119.
- [183] Cuvelier, M.E., Richard, H. and Berset, C., 1996. Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary. *J Am Oil Chem Soc.*, **73**, 645-652.
- [184] Davis, P.H., 1982. Flora of Turkey and The East Aegean Islands, vol. 7. Edinburgh University Press: Edinburgh.
- [185] Honda, G., Yesilada, E., Tabata, M., Sezik, E., Fujita, T., Takeda, Y., Tanaka, T., Takaishi, Y., 1996. Traditional medicine in Turkey VI. Folk medicine in West Anatolia: Afyon, Kutahya, Denizli, Mugla, Aydin provinces. *J Ethnopharmacol*, **53**: 75-87.
- [186] Başer, K.H.C., Kürkçüoğlu, M. and Kirimer, N., 1998. Essential oils of *Salvia* species growing in Turkey. 29th. International Symposium on Essential Oils, Book of Abstracts, 6–9 September, Frankfurt /Main, Germany.
- [187] Lu, Y. and Foo, Y., 2002. Polyphenolics of *Salvia* – a review. *Phytochemistry* **59**: 117–140.
- [188] Mohammadhosseini, M., Pazoki, A. and Akhlaghi, H., 2008. Chemical Composition Of The Essential Oils From Flowers, Stems, And Roots Of *Salvia Multicaulis* Growing Wild In Iran. *Chemistry Of Natural Compounds*, **44** (1).
- [189] Tepe, B., Dönmez, E., Unlu, M., Candan, F., Daferera, D., Vardar-Unlu, G., Polissiou, M. and Sökmen, A., 2004. Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* (Montbret et Aucher ex Benth.) and *Salvia multicaulis* (Vahl). *Food Chemistry*, **84**, 519-525.
- [190] Orhan, I., Kartal, M., Naz, Q., Ejaz, A., Yilmaz, G., Kan, Y., Konuklugil, B., Sener, B. and Choudhary, M.I., 2007. Antioxidant and anticholinesterase evaluation of selected Turkish *Salvia* species. *Food Chemistry*, **103**, 1247-1254
- [191] Özşahin., A.D., 2010. Malatya Yöresine Ait Bazı Üzüm Ve Kayısı Çeşitlerinin Fitokimyasal İçeriklerine Bağlı Olarak Antioksidan Aktivitelerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- [192] Gülçin, İ., 2002. Isırgan otunun (*Urtica dioica*) antioksidant aktivitesinin belirlenmesi, oksidatif enzimlerinin karakterizasyonu ve bazı in vivo etkilerinin incelenmesi. Doktora tezi, Atatürk Ün., Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- [193] Seif-El-Nasr, M, and El-Fattah, A.A., 1995. Lipid peroxide, phospholipids, glutathione levels and superoxide dismutase activity in rat brain after ischaemia: effect of ginkgo biloba extract. *Pharmacol Res.*, **32** (5), 273-8.
- [194] Feng, Y., Liu, Y., Fratkins, J.D. and LeBlanc, M.H., 2005. Grape seed extract suppresses lipid peroxidation and reduces hypoxic ischemic brain injury in neonatal rats. *Brain Res. Bul.*, **66**, 120–127.
- [195] Hwang, I.K., Yoo, K.Y., Kim, D.S., Jeong, Y.K., Kim, J.D., Shin, D.W., Lim, S.S., Yoo, I.D., Kang, T.C., Kim, H.K., Moon, W.K. and Won, M.H., 2004. Neuroprotective effects of grape seed extract on neuronal injury by inhibiting DNA damage in the gerbil hippocampus after transient forebrain ischemia. *Life Sci.*, **75**, 1989-2001.
- [196] Oboh, G., Puntel, R.L. and Rocha, J.B.T., 2007. Hot pepper (*Capsicum annum*, Tepin and *Capsicum chinese*, Habanero) prevents Fe²⁺-induced lipid peroxidation in brain – in vitro. *Food Chem.*, **102**, 178-185.

- [197] **Konyalioglu, S. and Karamenderes, C.**, 2005. The protective effects of *Achillea* L. species native in Turkey against H₂O₂ -induced oxidative damage in human erythrocytes and leucocytes. *J of Ethnopharma.*, **102**, 221-227.
- [198] **Rodriguez, J., Di Pierro, D., Gioia, M., Monaco, S., Delgado, R., Coletta, M. and Marini, S.**, 2006. Effects of a natural extract from *Mangifera indica* L, and its active compound, mangiferin, on energy state and lipid peroxidation of red blood cells. *Biochim. et Biophys. Acta*, **1760**, 1333-1342.
- [199] **Bhatia, A.L. and Jain, M.**, 2004. *Spinacia oleracea* L. protects against gamma radiations: a study on glutathione and lipid peroxidation in mouse liver. *Phytomed.*, **11**, 607-615.
- [200] **Dixit, Y. and Kar, A.**, 2009. Antioxidative activity of some vegetable peels determined in vitro by inducing liver lipid peroxidation. *Food Res. Inter.*, **42**, 1351-1354.
- [201] **Baghci, D., Garg, A., Khorn, R.L., Baghci, B., Baghci, D.J., Balmoori, J. and Stohs, S.J.**, 1998. Protective Effects of Grape Seed Proanthocyanidins and Selected Antioxidants against TPA-Induced Hepatic and Brain Lipid Peroxidation and DNA Fragmentation, and Peritoneal Macrophage Activation in Mice. *Gen. Pharmac.*, **30(5)**, 771-776.
- [202] **Durak, I., Köseoğlu, M.H., Kacmaz, M., Büyükkocak, S., Cimen, B. and Oztürk, H.S.**, 1999. Black grape enhances plasma antioxidant potential. *Nutr. Res.*, **19(7)**, 973-977.
- [203] **Nihei, T., Miura, Y. and Yagasaki, K.**, 2001. Inhibitory effect of resveratrol on proteinuria, hyopalbuminemia and hyperlipidemia in nephritic rats. *Life Sci.*, **68**, 2845-2852.
- [204] **Miura, D., Miura, Y. and Yagasaki, K.**, 2003. Hypolipidemic action of dietary resveratrol, a phytoalexin in grapes and red wine, in hepatoma-bearing rats. *Life Sci.*, **68**, 2845-2852.
- [205] **Skrzydłewska, E., Ostrowska, J., Farbiszewski, R. and Michalak, K.**, 2001. Protective effect of green tea against lipid peroxidation in the rat liver, blood serum and the brain. *Phytomed.*, **9**, 232-238.
- [206] **Cnubben, N.H.P., Rietjens, I.M.C.M., Wortelboer, H., Zanden, J.V., Bladeren, P.J.V.**, 2001. The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Environmental Toxi. and Pharma.*, **10**, 141-152.
- [207] **Reed, D.J.**, 2001. Mechanisms of Chemically Induced Cell Injury and Cellular Protections Mechanisms, (HODGSON, E., SMART, R.C. editörler). Introduction to biochemical toxicology. Wiley-Interscience, New York, Third edition. 697 s.
- [208] **Dringen, R.**, 2000. Metabolism and functions of glutathione in brain. *Progress in Neurobiology*, **62**, 649-671.
- [209] **Antueno, R.J., Kinckle, L.C., Smith, H., Eliot, M.L., Allen, S.J., Nwaka, S., Winther M.D.**. (2001). Activity of human $\Delta 5$ and $\Delta 6$ desaturases on multiple n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids. *FEBS Letters*, **509**, 77-80.
- [210] **Ntambi, J.M.**, (1999). Regulation of stearyl-CoA desaturase by polyunsaturated fatty acids and cholesterol. *Journal of Lipit Research*, **40(9)**, 1549-58.
- [211] **Machlin, L.J. and Bendich, A.**, (1987). Free Radical Tissue Damage : Protective Role of Antioxidant Nutrients. *Fabes J.*, **1**, 441-445.
- [212] **Domitrovic, R., Tota, M. and Milin, C.**, 2008. Differential effect of high dietary iron on α -tocopherol and retinol levels in the liver and serum of mice fed olive oil- and corn oil-enriched diets. *Nutr. Res.*, **28**, 263-269.

- [213] **Staab, D.B., Hodges, R.E., Metcalf, W.K. and Smith, J.L.**, 1984. Relationship between vitamin A and iron in the liver. *J Nutr.*, **114**, 840-844.
- [214] **Jang, J.T., Gren, J.B., Beard, J.L. and Gren, M.H.**, 2000. Kinetic analysis shows that iron deficiency decreases liver vitamin A mobilization in rats. *J Nutr.*, **130**, 1291-1296.
- [215] **Ayerza, R. and Coates, W.**, 2005. Ground chia seed and chia oil effects on plasma lipids and fatty acids in the rat. *Nutrition Research*, **25**, 995–1003.
- [216] **Mohamed, A., Hussein, A.S., Bhatena, S.J., and Hafez, Y.S.**, 2002. The effect of dietary menhaden olive, and coconut oil fed with three levels of vitamin E on plasma and liver lipids and plasma fatty acid composition in rats *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **13**, 435-441.
- [217] **Ntanos, F.Y. and Jones, P.J.H.**, 1998. Effects of variable dietary sitostanol concentrations on plasma lipid profile and phytosterol metabolism in hamsters. *Biochim. et Biophys. Acta*, **1390**, 237–244.
- [218] **Newman, R.K., Bestchart, A.A., Newman, C.W. and Hofer, P.J.**, 1992. Effect of full-fat or defatted rice bran on serum cholesterol. *Plant Foods Hum. Nutr.*, **42**(1), 37-43.
- [219] **Tebib, K., Rouanet, J.M. and Besançon, P.**, 1997. Antioxidant effects of dietary polymeric grape seed tannins in tissues of rats fed a high cholesterol/vitamin E-deficient diet. *Food Chem.*, **59**, 135-141.
- [220] **Bowers, J.L., Tyulmenkov, V.V., Jernigan, S.C. and Klinge, C.M.**, 2000. Resveratrol acts as a mixed agonist/antagonist for estrogen receptors alpha and beta. *Endocrin.*, **141**(10), 3657-3667.
- [221] **Laden, B.P. and Porter, T.D.**, 2001. Resveratrol inhibits human squalene monooxygenase. *Nutr. Res.*, **21**, 747-753.
- [222] **Zern, T.L., West, K.L. and Fernandez, M.M.**, 2003. Grape polyphenols decrease plasma triglycerides and cholesterol accumulation in the aorta of ovariectomized guinea pigs. *J. Nutr.*, **133**, 2268-2272.

ÖZGEÇMİŞ

08.05.1980 yılında Elazığ'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimini Elazığ'da tamamladıktan sonra 1998 yılında Fırat Üniversitesi Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Bölümünü kazandım. 2002 yılında mezun oldum ve 2003 yılında Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya ABD'da yüksek lisansa başladım. 2006 yılında yüksek lisansı bitirdikten sonra 08.02.2007 tarihinde Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Bölümünde doktora eğitimime başladım.