

**AFYON ENDEMİĞİ *SIDERİTİS AKMANII*
TÜRÜNÜN SERBEST RADİKAL GİDERİCİ,
TOPLAM FENOLİK MADDE MİKTARI, TOTAL
ANTİOKSİDAN VE OKSİDAN STATÜSÜ İLE
MİNERAL MADDE İÇERİĞİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İsmail GÜZEY

Danışman

Doç. Dr. Laçine AKSOY

KİMYA ANABİLİM DALI

Aralık 2017

Bu tez çalışması 15.FEN.BİL.41 numaralı proje ile Afyon Kocatepe Üniversitesi
Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**AFYON ENDEMIĞI *SIDERİTIS AKMANII* TÜRÜNÜN SERBEST
RADİKAL GİDERİCİ, TOPLAM FENOLİK MADDE MİKTARI,
TOTAL ANTIOKSİDAN VE OKSİDAN STATÜSÜ İLE MİNERAL
MADDE İÇERİĞİNİN İNCELENMESİ**

İsmail GÜZEY

DANIŞMAN

Doç. Dr. Laçine AKSOY

KİMYA ANABİLİM DALI

Aralık 2017

TEZ ONAY SAYFASI

İsmail GÜZEY tarafından hazırlanan “Afyon Endemiği *Sideritis Akmanii* Türünün Serbest Radikal Giderici, Toplam Fenolik Madde Miktarı, Total Antioksidan ve Oksidan Statüsü ile Mineral Madde İçeriğinin İncelenmesi” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca 07/12/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **oy birliği** ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Kimya Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Laçine AKSOY

Başkan : Doç. Dr. Ömer HAZMAN
A.K.Ü. Fen Edebiyat Fakültesi

Üye : Doç. Dr. Laçine AKSOY
A.K.Ü. Fen Edebiyat Fakültesi

Üye : Yrd. Doç. Dr. Yasemin Sunucu KARAFAKIOĞLU
Uşak Üniversitesi Eğitim Fakültesi



Afyon Kocatepe Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun
...../...../..... tarih ve
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....
Prof. Dr. İbrahim EROL
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

07/12/2017

İsmail GÜZEL



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

AFYON ENDEMİĞİ *SIDERİTİS AKMANII* TÜRÜNÜN SERBEST RADİKAL GİDERİCİ, TOPLAM FENOLİK MADDE MİKTARI, TOTAL ANTİOKSİDAN VE OKSİDAN STATÜSÜ İLE MİNERAL MADDE İÇERİĞİNİN İNCELENMESİ

İsmail GÜZEY

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Laçine AKSOY

Bu çalışmada *Sideritis akmani* türünün metanol ve aseton ekstraktlarının toplam fenolik madde içeriği, DPPH serbest radikal savıcı özelliği, Total antioksidan/oksidan statüleri, mineral madde profilleri belirlenmiştir. Bulgular, türün fenolik madde miktarının aseton ekstresinde ($117.72 \pm 6.4 \mu\text{G GAE/mg}$ ekstre) metanol ekstresinden ($144.08 \pm 2.01 \mu\text{G GAE/mg}$ ekstre) daha az olduğunu göstermektedir. *Sideritis akmanii* nin metanol ekstresinin (% 73,2) radikal savıcı etkisinin BHT (% 72,7) ye yakın olduğu ve aseton ekstresinin (% 60,1) etkisinden fazla olduğu görülmüştür. *Sideritis akmanii* nin metanol ekstresinin total antioksidan ve oksidan statüsü sırayla ($2,32 \pm 0,4 \mu\text{mol Trolox Eq/g}$ ve $4,88 \pm 0,8 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/g}$); aseton ekstresinin total antioksidan ve oksidan statüsü sırayla ($2,38 \pm 0,2 \mu\text{mol Trolox Eq/g}$ ve $5,04 \pm 0,5 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/g}$)'dır. *Sideritis akmanii*'nin, Mn, Fe, Cu gibi enzim yapısına katılan elementleri, mineralleri içermesi, total fenolik madde düzeyleri, radikallere karşı gösterdiği etki ve total antioksidan/oksidan statüleri sebebiyle fitoterapik çalışmalarda özellikle de antioksidatif etki çalışmalarında kullanılabilecek tür olduğu düşünülmektedir. Biyodeğerliliği yüksek bir tür olan *Sideris akmanii* ile ilgili sonra da yapılacak araştırmalar için bilgi verici niteliktedir.

2017, x + 65 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Sideritis akmanii*, Serbest Radikal, Toplam fenolik, Mineral madde

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

DETERMINATION OF AFYON ENDEMIC PLANT *SIDERITIS AKMANII* FREE RADICAL SCAVENING, THE TOTAL PHENOLIC SUBSTANCES, TOTAL ANTI-OXIDANT AND AN OXIDANT STATUS AND MINERAL MATTER CONTENT

İsmail GÜZEY

Afyon Kocatepe University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry

Supervisor: Assoc. Prof. Laçine AKSOY

Total phenolic content, DPPH free radical scavenging properties, total antioxidant/oxidant status and mineral substance content of methanol and acetone extracts of the *Sideritis akmanii* species were determined in the present study. The findings indicated that the phenolic substance content was lower in acetone extract ($117.72 \pm 6.4 \mu\text{g GAE} / \text{mg extract}$) when compared to the methanol extract ($144.08 \pm 2.01 \mu\text{g GAE} / \text{mg extract}$). It was observed that the radical scavenging effect of *Sideritis Akmanii* methanol extract (73.2%) was similar to that of the synthetic antioxidant BHT (72.7%) and higher than the effects of the acetone extract (60.1%). The total antioxidant and oxidant status of the *Sideritis Akmanii* methanol extract were $2.34 \pm 0.3 \mu\text{mol Trolox Eq} / \text{g}$ and $4.88 \pm 0.8 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/g}$, respectively and the total antioxidant and oxidant status of acetone extract were $2.38 \pm 0.2 \mu\text{mol Trolox Eq} / \text{g}$ and $5.04 \pm 0.5 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq} / \text{g}$, respectively. Due to its Mn, Fe, and Cu content, which are minerals that are incorporated in the enzyme structure, its total phenolic substance levels, its antiradical properties and antioxidant/oxidant status, *Sideritis Akmanii* was considered a species with high bio-value. The present study is considered to provide information for future studies.

2017, x + 65 pages

Keywords: *Sideritis akmanii*, Free Radical, Total Phenolic, Mineral matter

TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın konusu, deneysel çalışmaların yönlendirilmesi, sonuçların değerlendirilmesi ve yazımı aşamasında yapmış olduğu büyük katkılarından dolayı tez danışmanım Sayın Doç.Dr. Laçine AKSOY'a,

Araştırma ve laboratuvar aşamasında, ICP analizleri yapımında bilgi ve becerilerini esirgemeyen Çay Meslek Yüksek Okulu'nunda görev yapan Öğr. Gör. Dr. Ahmet BÜYÜKBEN'e,

Yüksek lisans öğrenimim boyunca ders aldığım, desteğini gördüğüm Doç. Dr. Ömer HAZMAN'a,

Bu araştırmanın yürütülmesi için gerekli kaynakların toplanmasında emeği geçen Doç. Dr. Mustafa KARGIOĞLU'na,

Her konuda eleştirileriyle ve önerileriyle bana destek olan bölüm başkanıma ve çalışma arkadaşlarıma,

Ayrıca yüksek lisans çalışmalarına maddi anlamda 15.FEN.BİL.41 nolu proje ile destekleyen Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na,

Bütün öğrenim hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, başarılarımı görmeyi hayal ve hakeden ailem Derya Demirtaş, Vacide ve Mustafa GÜZEY'e, deney aşamasında yardımı olan Simge DEMİR'e, tezin yazımında ve hazırlanmasında desteğini her zaman yanımda hissettiğim Sevim YEGÜL'e teşekkürü bir borç bilirim.

İsmail GÜZEY
AFYONKARAHİSAR, 2017

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
ÖZET	i
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	iv
SİMGELER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
RESİMLER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR BİLGİLERİ	3
2.1 Serbest Radikaller	3
2.2 Reaktif Oksijen Türleri	5
2.2.1 Süperoksit Radikali (O ₂ ⁻)	7
2.2.2 Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂).....	8
2.2.3 Hidroksil Radikali (OH [·])	9
2.3 Hücrelerdeki Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS) Kaynakları	10
2.3.1 Intraselüler (Hücre içi) Kaynaklar	10
2.3.2 Biyolojik Kaynaklar	11
2.4 Serbest Radikallerin Yol Açtığı Hasarlar	11
2.4.1 Karbonhidratlar Üzerine Etkileri	11
2.4.2 Proteinler Üzerine Etkisi	11
2.4.3 DNA Üzerine Etkileri	12
2.4.4 Lipidler Üzerine Etkileri.....	12
2.5 Antioksidanlar.....	13
2.5.1 Antioksidanların Sınıflandırılması	14
2.5.1.1 Doğal Antioksidanlar	15
2.5.1.2 Sentetik Antioksidanlar.....	18
2.6 Endemizm ve Türkiye'deki Endemizm	18
2.6.1 Sideritis Cinsi	23
2.6.2 Sideritis Türlerinin Halk Arasında Kullanılışı	24
2.6.3 <i>Sideritis Akmanii</i>	26

3. MATERYAL ve METOD	32
3.1 Materyal	32
3.1.1 Bitki Materyali.....	32
3.1.2 Bitki Ekstesinin Hazırlanması	32
3.1.3 Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	33
3.1.4 Kullanılan Alet ve Cihazlar	33
3.2 Metod	34
3.2.1 Serbest Radikal Giderme Aktivite Tayini	34
3.2.2 Total Fenolik İçeriği Tayini.....	34
3.2.3 Total Antioksidan Statü (TAS) Analizi	34
3.2.4 Total Oksidan Statü (TOS) Analizi	35
3.2.5 Oksidatif Stres İndeksinin (OSI) Hesaplanması.....	35
3.2.6 Mineral Madde Miktarının Belirlenmesi.....	35
3.3 İstatistiksel Analizler	36
4. BULGULAR	37
4.1 Toplam Fenolik Madde İçeriği	37
4.2 Serbest Radikal Giderme Aktivite Değerleri	39
4.3 <i>Sideritis akmanii</i> türünün Mineral Madde İçeriği.....	43
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	45
6. KAYNAKLAR	55
ÖZGEÇMİŞ.....	65

SİMGELER DİZİNİ

Simgeler

ABTS	2,2-Azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit radikali
BHA	Bütillenmiş Hidroksianisol
BHT	Bütillenmiş Hidroksitoluen
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
ETS	Elektron Taşıma Sistemi
GAE	Gallik asit ekivalent
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
LOOH	Lipid Hidroperoksit
O ₂ ⁻	Süperoksit radikali
¹ O ₂	Singlet Oksijen
OH [·]	Hidroksil Radikali
OSI	Oksidatif stres indeksi
PG	Propil Gallat
R [·]	Alkil Radikalleri
RO [·]	Alkoksi Radikalleri
ROO [·]	Peroksit Radikalleri
ROOH	Hidroperoksitler
RNS	Reaktif Azot Türleri
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RS [·]	Tiyol Radikalleri
SOD	Süperoksit dismutaz
Trolox	6-hydroxy-2,5,7,8-troloks2-carboxylic acid
TAS	Total Antioksidan Statü
TOS	Total Oksidan Statü
SAM	<i>Sideritis akmani</i> bitkisinin metanol ekstresi
SAA	<i>Sideritis akmani</i> bitkisinin asetonl ekstresi

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1 Reaktif Oksijen Türleri	6
Şekil 2.2 Akdeniz, Kafkas ve İran Anadolu havzası.....	19
Şekil 2.3 Türkiye’de yetişen endemik türlerin dağılımı.....	20
Şekil 2.4 Linearol (Ent-3 β ,7 α -dihidroksi,18-asetoksi kaur-15-en) bileşiği	29
Şekil 2.5 İsolineraol (Ent-3 β ,7 α -dihidroksi,18-asetoksi kaur-15-en) bileşiği.....	29
Şekil 2.6 Sideroxol (Ent-7 α ,18-dihydroxy-15 β ,16 β epoxykaurane) bileşiği	30
Şekil 2.7 Foliol (Ent-3 β ,7 α ,18-trihydroxykaur-16-ene) bileşiği	30
Şekil 2.8 İsofoliol (Ent-3,7 α ,18-trihydroxykaur-15-ene) bileşiği	31
Şekil 2.9 Sideridiol (Ent-7 α ,18-dihydroxy-kaur-15-ene) bileşiği	31
Şekil 4.1 Standart olarak kullanılan gallik asitin molekül yapısı	37
Şekil 4.2 Gallik Asit ile hazırlanan standart eğri	38
Şekil 4.3 DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikalinin molekül yapısı.....	39
Şekil 4.4 DPPH radikal giderme aktivitesi tayininde hazırlanan standart DPPH grafiği40	
Şekil 4.5 Farklı konsantrasyonlardaki (45-135 μ g/ml) bitki ekstralarının BHT ve α - tokoferol DPPH radikali giderme aktiviteleri	41
Şekil 4.6 Farklı konsantrasyonlardaki (45-135 μ g/ml) bitki ekstralarının DPPH radikali giderme aktivitesinin BHT ve α -tokoferol ile karşılaştırılması.....	41
Şekil 4.7 <i>Sideritis akmanii</i> bitkisine ait total antioksidan statü, total oksidan statü, oksidatif stress indeksi değerleri.....	43
Şekil 4.8 <i>Sideritis akmanii</i> türünün içerdiği major element konsantrasyonları (ppm)....	44
Şekil 4.9 <i>Sideritis akmanii</i> türünün içerdiği minor element konsantrasyonları (ppm) ...	44
Şekil 5.1 Antioksidan molekül varlığında DPPH radikalinin indirgenmesi	50

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1 Serbest Radikal Kaynakları.....	5
Çizelge 2.2 Reaktif Oksijen, Klorür ve Azot Türleri	7
Çizelge 2.3 Antioksidanların sınıflandırılması.....	15
Çizelge 2.4 Türkiye’de Yetişen Bazı <i>Sideritis</i> Türlerinden İzole Edilen Diterpenler.....	21
Çizelge 2.4 (Devam) Türkiye’de Yetişen Bazı <i>Sideritis</i> Türlerinden İzole Edilen Diterpenler.....	22
Çizelge 2.5 <i>Sideritis</i> Türlerinin Halk Arasında Kullanılan Yöresel Adları	25
Çizelge 2.5 (Devam) <i>Sideritis</i> Türlerinin Halk Arasında Kullanılan Yöresel Adları....	26
Çizelge 4.1 <i>Sideritis akmani</i> türününmetanol ve aseton ekstralarının 1 mg’ında bulunan toplam fenolik bileşik miktarları	38
Çizelge 4.2 <i>Sideritis akmani</i> türüne ait total antioksidan statü, total oksidan statü, oksidatif stres indeksi	42
Çizelge 4.3 <i>Sideritis akmanii</i> bitkisinin içerdiği mineral madde düzeyleri	43

RESİMLER DİZİNİ

	Sayfa
Resim 2.1 Sideritis cinsine ait <i>Sideritis taurica</i> türü.....	24
Resim 2.2 <i>Sideritis akmanii</i>	27
Resim 2.3 <i>Sideritis akmanii</i>	27
Resim 2.4 <i>Sideritis akmanii</i>	28

1. GİRİŞ

Ballıbabagiller (Lamiaceae), bir ya da çok yıllık, otsular, bazende çalılar veya ağaçları kapsayan bir çiçekli bitkiler familyasıdır. Yaklaşık 3000-3500 tür ve 170-250 cins ile yeryüzünün bütün bölgelerine yayılmış güzel kokulu bir ailedir (Feinburg-Dothan 1978, Baytop 1991, Heywood 1978). Kokuları yapraklarında bulunan salgı bezlerinden kaynaklandığı için nane, adaçayı, kekik gibi ıtırli bitkiler bu gruba dahil edilmiştir. Genellikle aromatik yağ içermesi ve uçucu olması nedeniyle farmakoloji ve parfüm sanayiinde tercih edilmektedir. Bunların yanında bazı süs bitkilerinin üretimi ve baharat yapımında da kullanıldığı bilinmektedir. Bölgesel olarak başlıca İç Anadolu ve Batı Anadolu'da geniş bir alana yayılmıştır (Davis 1982). Lamiaceae ailesi Dünya'nın birkaç bölgesi hariç tüm yaşam alanlarında ve yüksekliklerde yetişmekte olup, Kuzey Kutbundan Himalayalar'a kadar, Güneydoğu Asya'dan Hawaii'ye kadar, ayrıca Avustralya'da, tüm Afrika'da ve Amerika'nın kuzeyi ve güneyi boyunca yayılış göstermiştir (Kaya 1997). Çoğu özelliklerinin yanında bu familyanın ılıman ve tropikal bölgelere çok iyi uyum göstermesi de son derece önemlidir. Son birkaç yıl içerisinde belirlenen 7 tür ile birlikte Türkiye'deki Sideritis türlerinin sayısız alt türü ve iki varyetesi ile 46'ya ulaşmıştır (Kırimer vd. 1995, Kırimer vd. 1996). Sideritis cinsi Türkiye'deki endemik türler içinde %77'lik oran ile ilk sırada yer almaktadır (Baytop 1984).

Sideritis türleri halk arasında da geniş bir kullanım alanına sahiptir. Yapılan araştırmalar dabu bitkinin en çok soğuk algınlığı ve sindirim sistemi rahatsızlıklarını giderilmesinde kullanıldığı tespit edilmiştir (Ezer 1991). Türkiye'de ise son olarak Sideritis cinsinin antistres ve sinirsistemi uyarıcısı olduğu fareler üzerinde yapılan çalışma ile kanıtlanmıştır. Daha önce Sideritis türleri ile birçok çalışma yapılmış olup Akmanii cinsi ile çok fazla çalışma yapılmamıştır.

Sekonder metabolitler, bitkiler tarafından üretilen ve bitkinin temel yaşamsal işlevleri ile doğrudan ilişkisi olmayan, bitkide savunma, korunma, ortama uyum, hayatta kalma ve nesillerini devam ettirmek için gerekli olan mekanizmaların ürünleridir. Başlıca sekonder metabolitler fenolik bileşikler, terpenler ve alkaloidlerdir. Bütün

bitkilerin yapılarında farklı nitelik ve miktarlarda çeşitli sekonder metabolit olan fenolik bileşikler bulunmaktadır. Bitkilerin ikincil metabolizma ürünleri olarak tanımlanan fenolik bileşikler bitkilerde en yaygın bulunan maddeler grubu olup, bunlara her geçen gün yeni tanımlanan fenolik bileşikler eklenmektedir. Bitkinin içerdiği fenolik bileşikler, hücreyi reaktif oksijen türlerinden veya serbest radikallerden kaynaklanan oksidatif hasara karşı korumaktadırlar(Shoib and Shahid 2015).

Bu çalışmada, Afyon'un Kumalar Dağı'ndan toplanan *Sideritis akmanii* bitkisine ait metanol ve aseton ekstraktlarının serbest radikal süpürücü etkisi, toplam fenolik içeriği, total antioksidan statüsü, total oksidan statüsü, oksidatif stres ve mineral madde düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmaktadır. Elde edilen bilgilerin *Sideritis akmanii*'nin çeşitli patolojilerde ve hastalıklarda fitoterapik etkinliğinin açıklanmasına katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

2. LİTERATÜR BİLGİLERİ

2.1 Serbest Radikaller

Radikal ve serbest radikal terimleri genellikle birbirlerinin yerine kullanılır (Slater 1984). Serbest radikaller, son yörüngelerinde eşleşmemiş elektron bulunduran bileşikler ya da atomlardır. Başka bir deyişle yapılarında tek sayıda elektron bulunduran, açık elektron konfigürasyonuna sahip molekül ya da atomlardır. Serbest radikallerde bulunan bu ortaklanmamış elektron(lar)serbest radikallere çok büyük reaktivite kazandırır. Serbest radikaller, kısa ömürlü olmakla birlikte, küçük moleküllerdir ve düşük aktivasyon enerjisine sahiptir. Bu özelliklerden belkide en önemlisi hücre membranlarından geçmelerine olanak sağlayan boyutta ve yapıda olmalarıdır (Jensen 2003).

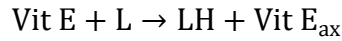
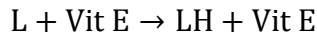
Serbest radikallerdeki ortaklanmamış elektronların aktifliği, diğer biyomoleküllerin yapısını bozabilmektedir. Bu reaktivite ve oluşan ürünler lipitleri, nükleik asitleri ve proteinleri oksitleyerek metabolizmada olumsuz sonuçlar doğurabilmektedir. Antioksidan maddeler ise bu okside ürünlerin etkilerini yok ederler. En basit serbest radikal ise bir p^+ , bir e^- bulunduran Hidrojen atomudur (Fantel 1996, Temple 2000, Stadtman 2002).

Serbest radikaller, yaşam için gerekli olan atom veya moleküllerdir. Metabolik olayların çoğunda (elektron transferi, enerji üretimi vb.) görev alır. Bunlarla birlikte eğer zincir reaksiyonu kontrolsüz bir davranış gösterirse hücrede hasarlara neden olabilir. Bu hasarların başında bilim adamlarının 1954'den beri yaptığı çalışmaların sonucu olarak yaşlanma ve dejeneratif hastalıklar gelmektedir. Ayrıca serbest radikal mekanizmasının kanser, sıtma, damar tıkanıklığı, romatoidartrit ve nörodejeneratif hastalıkları gibi birçok hastalığın patolojisiyle yakından ilgili olduğu bilinmektedir (Nelson and Cox 2004, Gülçin 2007).

Serbest radikallerin muhtemel olumsuz etkileri sadece canlılarla sınırlı değildir. Gıdalarda da serbest radikallerin neden olduğu oksidasyon, gıdaların kalitesini,

biyodeğerliliğini etkileyen en önemli faktörler arasındadır. Çünkü serbest radikaller kullandığımız bütün besinlerde lipitlerin radikallik peroksidasyonu oluşmaktadır. Gıda sektöründeki nakil ve depolama esnasında oluşan ürünlerin bozulması, bayatlaması ya da çürümesinin önüne geçmek çok önemlidir. Bu olaylar neticesinde kötü kokuları yayan ürünler oluşur. Oluşan bu maddeler lipitlerin ve vitaminlerin yapısını bozan toksik maddelerdir. Bu durumun önüne geçmek amacıyla uzun yıllardan beri süregelen araştırmalar yapılmıştır ve halen de yapılmaktadır. Serbest radikallerin hem canlılarda hem de gıdalarda oluşturduğu bu olumsuz etkileri bertaraf etmek için antioksidanlar sıklıkla kullanılmaktadır. Serbest radikallere karşı antioksidanlar dört ayrı şekilde etki eder;

- a) Toplayıcı etki, serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirir. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki meydana getirirler.
- b) Bastırıcı etki; serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürmedir. Vitaminler flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.



- c) Zincir kırıcı etki, serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki meydana getirirler.
- d) Onarıcı etki, serbest radikallerin meydana getirdikleri hasarın onarılmasıdır. Antioksidan sistem; serbest radikalleri hücre zarına, nükleik asitlere (DNA) ve hücre bileşenlerine saldırmadan kendine çeker ve bağlar.

1900'lü yıllarda Gomberg'in trifenilmetil radikalinin (Ph_3C) varlığını kanıtlamasıyla serbest radikal ile ilgili çalışmalara hız verildi (Gomberg 1900). Birçok elektron ikili bir

şekilde bulunurken, serbest radikal bu elektronları birbirinden ayırarak reaksiyonu durdurur. Sonuçta serbest radikal kendisine elektron alır ve elektron çift hale geçer. Diğer elektronlar ise serbest radikal olurlar (Nelson and Cox 2004, Gülçin 2007).

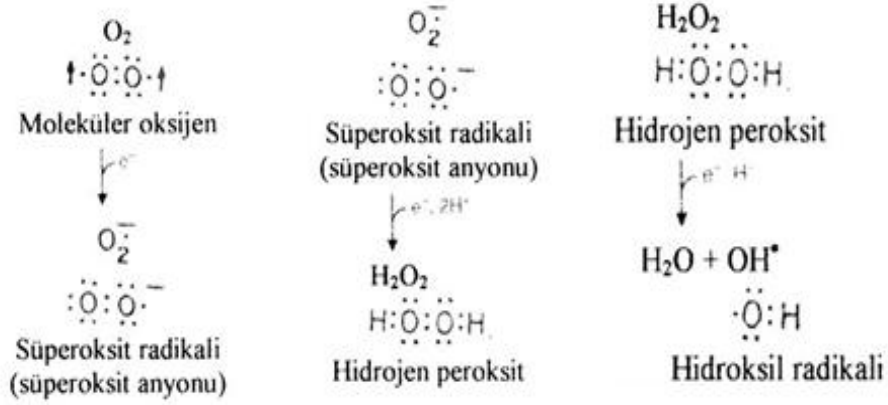
2.2 Reaktif Oksijen Türleri

Metabolizmadaki serbest radikaller, reaktif oksijen türlerini oluşturmaktadır. Serbest radikaller üzerinde bulunan yüksek enerjili eşleşmemiş elektronlar çoğu reaksiyona zarar verebilmektedir. Bu yüzden serbest radikaller kullanışlı olmasının yanında tehlikelidir. Reaktif oksijen türlerinin oluşmasını sağlayan olaylardan başlıcaları; elektron transport sistemi, enzimatik reaksiyonlardan bazıları, oksidasyon reaksiyonları gibi metabolik olaylar ve UV ışınları, radyasyon, sigara, beslenme, ilaç tüketimi, kanserojen maddeler (Aksoy 2002, Gülçin 2006).

Serbest radikallerin fazlalığı hücrelere hatta bunların yönetici moleküllerine zarar vermekte, kimyasal zincir reaksiyonlarını başlatarak kanser vb. hastalıklara neden olabilmektedir (Karabulut ve Gülay 2016). Serbest radikal kaynakları Çizelge 2.1 de verilmiştir.

Çizelge 2.1 Serbest Radikal Kaynakları (Aksoy 2002, Gülçin 2006).

Endojen Kaynaklar	Eksojen Kaynaklar
Otooksidasyon reaksiyonları	İlaçlar
Mitokondrial elektron transport zinciri	Diyet Faktörleri
Redoks Reaksiyonları	Sigara Dumanı
Fagositik ve Endotelial Hücreler	Zararlı Işımlar (UV, X-RAY)
Oksidatif Reaksiyonlar	Ksenobiyotikler
Enzimler	Pestisitler
Araşidonik Asit Metabolizması	Organik Solventler



Şekil 2.1Reaktif Oksijen Türleri.

Metabolizmada oluşun ve dış kaynaklı radikal ve reaktiflerin oluşum yolları Şekil 2.1 de gösterilmiştir (Nelson and Cox 2004). Glikoliz, yağ asitleri ve TCA devrinde oluşun NADH ve $FADH_2$ de bulunan yüksek indirgeme potansiyeline sahip olan elektronlar, mitokondri iç membranında elektron transport sistemi adı verilen bir yolla oksijen molekülüne geçer. Mitokondriyel elektron transport sisteminde elektronların oksijen molekülüne geçişi sırasında bir takım indirgenmiş ürünler oluşur. Bu ürünler bazı biyomoleküllerin yapılarına girerek dönüşümü olmayan zarar verebilmektedir (Keha ve Küfrevioğlu 2000).

Reaktif oksijen türleri ve oksijen içermeyen radikaller, çoğunlukla stabil olmayıp oldukça reaktif ürünlerdir. Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali ($OH\cdot$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) en önemli reaktif türlerinin başında gelirler. Şekil 2.1 de reaktif oksijen türleri gösterilmiştir. Bunların haricinde peroksil radikali, nitrik oksit, organik peroksit radikali gibi radikaller; lipid hidroperoksit, ozon, azot dioksit ve hipokloröz asit gibi radikal olmayanlarda vardır. Reaktif oksijen türlerinden en önemlisi olan süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali büyüyen hücrelerde enerji veren organel olan mitokondri tarafından sürekli üretilen normal metabolik ürünlerdir (Seifried *et al.* 2007). Reaktif oksijen, klorür ve azot türleri Çizelge 2.2 de verilmiştir.

Çizelge 2.2Reaktif Oksijen, Klorür ve Azot Türleri (Halliwell 2001).

Reaktif Oksijen Türleri (ROS)

Radikaller

Süperoksit

Hidroksil

Hidroperoksil

Lipit Peroksil

Lipid Alkoksil

Radikal Olmayanlar

Hidrojen Peroksit

Hipobromöz Asit

Ozon

Lipit Peroksitler

Maillard Reaksiyon Ürünleri

Reaktif Klorür Türleri (RCS)

Atomik Klor

Hipokloröz Asit

Nitril Klorür

Kloraminler

Reaktif Azot Türleri (RNS)

Nitrik Asit

Nitröz Asit

Azotdioksit

Nitrozil Katyonu

Nitroksil Anyonu

Diazot Tetraoksit

Diazot Trioksit

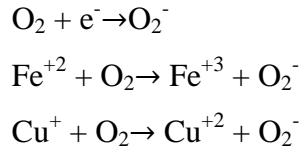
2.2.1 Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot -}$)

Süperoksit radikalleri hücrelerde birkaç şekilde oluşur:

- a) İndirgeyici özellikleri olan biyomoleküller bir tane elektronlarını oksijene vererek kendilerini yükseltgenme özelliği kazanır ve sonucunda süperoksit radikali oluşur.
- b) Etkinleştirilen fagositik lökositler ortamda süperoksit üreterek bırakırlar. Bu radikaller bazı reaktif türlerinin oluşması için gerekli ortamı hazırlar.

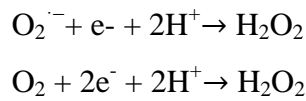
- c) Bazı enzimlerin katalizlenmesi sırasında bir ürün olarak da oluşabilmektedir.
- d) Hücrenin enerji üretim merkezi olan mitokondride kullanılan oksijene bazı elektron taşıyıcılarından elektron transferinden dolayı kullanılmış olan oksijenin yaklaşık %5 kadarı süperoksit oluşumunu gerçekleştirebilir.

Süperoksit radikali oksidan olmasının yanında iyi bir indirgendir. Bu özelliğinden dolayı bazı hormonları (dopamin, askorbat, adrenalin) hidroksil amini veya sitokrom C'yi indirgerler (Bast *et al.* 1991). Başka bir ifadeyle süperoksit radikali moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu sonucu süperoksit radikali oluşturabilir. Süperoksit radikalleri mikroorganizmaları etkisizleştirir. Nedeni ise biyolojik olarak oldukça toksik olmasıdır. Fagositlerde patojenlerin savunma mekanizmalarını ortadan kaldırmak için NADH-oksidadaz enzimi tarafından çok fazla miktarda üretilirler. Süperoksit radikalleri birçok enzim tarafından oluşturulabildiği halde nonenzimatik elektron transferleri sonucunda da oluşabilmektedir. Süperoksit radikalleri süperoksit dismutaz adı verilen bir enzim ile inaktive edilirler (Keha ve Kührevioğlu 2000, Asad *et al.* 2004).



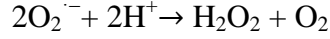
2.2.2 Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Hidrojen peroksit süperoksitin çevresindeki moleküllerden bir elektron alması ya da moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması sonucu oluşan peroksitin iki proton (H⁺) ile birleşmesi sonucu meydana gelir.

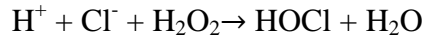


H₂O₂, süperoksit dismutaz ve diğer birçok enzim tarafından oluşturulabilse de biyolojik

sistemlerde genellikle süperoksit dismutasyonu ile üretilir. İki tane süperoksit molekülü süperoksitin dismutasyonu tepkimesinden iki H⁺ alarak H₂O₂ ve O₂'yi oluştururlar.



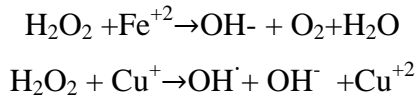
Bu reaksiyon dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir ve süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından katalizlenir. Kendiliğinden de gerçekleşebilir. Kendiliğinden gerçekleşen dismutasyon pH 4.8 de en hızlıdır. Enzimatik dismutasyonda ise daha yavaş, nötral ya da alkali pH'da daha belirgindir. Hidrojen peroksit kolayca hücre içerisine girebilir ve Fe⁺²'in yapısına katılarak, bunları güçlü oksitleyici durumuna getirir. Ayrıca H₂O₂ reaktif bir ürün olan hipokloröz asiti (HOCl) oluşturmaktadır (Keha ve Kührevioğlu 2000, Asad *et al.* 2004).



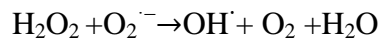
2.2.3 Hidroksil Radikali (OH[·])

Hidroksil radikali, yarı ömrü 10⁻⁹ saniye gibi çok kısa olan; lipid, protein ve nükleik asitler gibi biyomolekülleri çok güçlü bir şekilde oksitleyerek, yapılarında kalıcı hasarlar bırakan reaktif oksijen türüdür (Fantel 1996). Atomik oksijeninsu ile reaksiyonu sonucu yada hidrojen peroksitin indirgenmesi sonucu kolayca açığa çıkabilir. Haber-Weiss ve Fenton tepkimeleri olarak isimlendirilen bu tepkimeler;

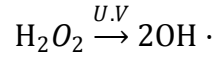
Fenton Reaksiyonları



Haber- Weiss Reaksiyonu



Hidroksil radikalının elde edilme yöntemlerinden birisi de hidrojen peroksidin UV ışınlarının etkisine bırakılmasıdır (Fridovich 1997, Nordberg ve Arner 2001, Deaton and Marlin 2003).



2.3 Hücrelerdeki Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS) Kaynakları

Serbest radikaller hücresel koşullarda 3 temel mekanizma ile oluşmaktadır (Kılınç ve Kılınç 2002).

- i. Kovalent bağlı bir molekülün, her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalarak bölünmesi (Homolitik Bölünme)
- ii. Normal bir moleküle tek bir elektron eklenmesi
- iii. Normal bir molekülün elektron kaybetmesiyle ya da heterolitik bölünmesiyle (Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron atomlardan birinin yapısına yerleşir).

Serbest radikaller biyolojik sistemlerde en fazla elektron transferi sonucu oluşmaktadır (Halliwell and Gutteridge 1999). Serbest radikaller organizmalardaki yabancı maddelerin (ksenobiyotik) metabolize edilmesinde, organizmada normal reaksiyonlar sonucu oluşan oksidasyon-redüksiyon reaksiyonları sırasında veya organizmanın dış etkilere maruz kalması sonucunda da oluşabilir (Kehrer 1993, Wickens 2001).Serbest radikal kaynakları temel olarak iki grupta toplanır:

2.3.1 Intraselülüler (Hücre içi) Kaynaklar

Enzimler, proteinler (ksantin oksidaz, triptofan dehidrogenaz, hemoglobin) oksidatif stres yapıcı durumlar (iskemi, travma) plazma membranı (lipooksigenaz, lipid peroksidasyonu, fagositlerde NADPH oksidaz) peroksidomlar (oksidazlar,

flavoproteinler) küçük moleküllerin oksidasyonu (tiyoller, hidrokarbonlar, katekolaminler, flavinler) mitokondrial elektron transport zinciri, endoplazmik retikulum ve nükleer membran transport sistemi reaktif oksijen türlerinin intraselluler kaynaklardır (Cheesman and Slater 1993, Akkuş 1995, Özkan ve Fışkın 2004).

2.3.2 Biyolojik Kaynaklar

Radyasyon, bağımlılık yapan maddeler (alkol,uyuşturucu) aktifleşmiş fagositler, antineoplastik ajanlar (kanser ilaçları), stres (katekolamin oksidasyonu), çevresel ajanlar (hava kirliliğine neden olan kimyasallar, sigara dumanı, pestisitler, anestezipler) biyolojik kaynaklardır(Kappus 1987, Akkuş 1995, Mohammed *et al.* 2004, Oruç Ozcanvd. 2004).

2.4 Serbest Radikallerin Yol Açtığı Hasarlar

2.4.1 Karbonhidratlar Üzerine Etkileri

Serbest radikallerin yaşlanma ve kanser gibi olaylarda etkili olduğu düşünülmektedir. Nedeni olarak da monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksit ve okzoaldehit yapısında ürünlerin meydana gelmesi ve özellikle okzoaldehitlerin DNA, RNA ve proteinler bağlanabilme, aralarında çapraz bağ oluşturabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki ile etkilenmesi gösterilmektedir (Thornaley and Vasak 1985).

2.4.2 Proteinler Üzerine Etkisi

Proteinlerin aminoasit kompozisyonu,serbest radikal hasarlarından ne denli etkileneceğini belirler. Sistein, metionin, alanin, histidin, fenil, tirozin, triptofan gibi doymamış yağ ve sülfür içeren aminoasitler ve yapılarında bu aminoasitleri bulunduran proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenmektedir. Nedeni ise; doymamış yağ ve sülfür içeren moleküllerin içerdiği çift bağlardır. Bu sebeple bu moleküllere serbest radikallerle reaktivitesi çok yüksektir (Nordberg and Arner 2001).

'Hem' proteinleri de özellikle oksihemoglobin süperoksit ve hidrojen peroksit ile reaksiyona girer ve methemoglobini oluşturur (Rice- Evans *et al.* 1991, Berantley 1993, Akkuş 1995, Domigan *et al.* 1995). Serbest radikallerin proteinler üzerine neden olduğu değişikliklerden bazıları;

- a) Aminoasitlerin modifikasyonu
- b) Proteinlerin fragmantasyonu
- c) Proteinlerin agregasyonu ve çapraz bağlanmalar (Erenelvd.1992).

2.4.3 DNA Üzerine Etkileri

Radyasyonla oluşan serbest radikallerin muajenik etkilerinden DNA üzerinde önemli hasarlara sebep olduğu bilinmektedir (Halliwell 1994, Mamett 2000). Reaktif oksijen türlerinin (özellikle hidroksil radikali) neden olduğu hasarlardan bazıları DNA'nın yarılması, pürinlerin otooksidasyonu, DNA-protein çapraz bağlarıdır (Gümrükçüoğlu 2009, Mates *et al.* 1999). Bunun yanında, membrandan geçerek hücre çekirdeğinde hasara yol açan reaktif oksijen türü, aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksittir (Halliwell 1994, Ames *et al.* 1993, Chessman and Slater 1993). Hidroksil radikali ise DNA'nın bulunduğu konumun yakınında oluşursa pürin ve pirimidin bazlarına etki eder ve mutasyona neden olur (Halliwell and Gutteridge 1984).

2.4.4 Lipidler Üzerine Etkileri

Serbest radikallerin zararlı etkilerinden etkilenen yapıların başında membran lipidleri gelir (Cheesman and Slater 1993). Serbest radikallerle membranda bulunan yağ asitleri ve kolesterolün doymamış bağları kolayca reaksiyona girer ve peroksidasyona neden olurlar (Weiss and Lobuglio 1982, Freeman and Crapo 1982, Halliwell and Gutteridge 1999). Peroksidasyonu başlatan ise bir metilen grubundan bir hidrojen atomunu yerinden çıkartan herhangi bir radikaldir. Oksijen peroksil radikalini oluşturmak için karbon radikaline eklenir ve sonuçta diğer lipit molekülünden bir hidrojen atomunu çıkararak lipit hidroksili oluşturur. Bu şekilde endoperoksitler ileri derecede oksidasyon sonucunda malondialdehit (MDA) oluşabilir (Erenel vd.1992, Sinclair *et al.*1990).

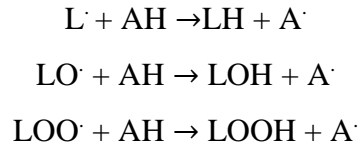
2.5 Antioksidanlar

Hücreyi zararlı maddelere karşı savunarak kalkan görevi gören, serbest radikallerin oluşumunu engelleyen ve yapısında çoğunlukla fenolik madde bulunduran moleküllerdir (Kahkönen *et al.* 1999). Biyolojik olarak, havanın oksijeni ile bozulan ürünlere ilave edilerek, bozulmayı engelleyen veya geciktiren doğal ya da sentetik madde olarak tanımlanır. Reaktif oksijen türleri, azot türleri vs. metabolizmada bulunan lipit, protein gibi organik maddelere etki eder ve bu etki sonucunda çeşitli hastalıklara neden olur. Bu maddelerin yok edilmesi ya da etkilerinin azaltılması antioksidanların önemini daha da artırmaktadır (Cao and Prior 1999). Çünkü antioksidanlar, toksik özellikte olan bu maddelerin etkilerini azaltarak ya da bu maddeleri indirgeyerek zararlı olmayan maddelere dönüştürmektedirler. Antioksidanlar canlıların sağlığında çok önemli bir yere sahiptir. Aslında bu kadar önemli olmasını sağlayan bazı faktörler vardır. Bu faktörlerden bazıları; antioksidanların kimyasal yapıları, doğal kaynaklardan elde edilebilirleri, çözünürlükleri ve yapı/işlev ilişkisidir (Kaur and Kapoor 2001).

Vücuttaki bazı hücreler tarafından sentezlenebilen antioksidanlar aynı zamanda dışardan bazı gıdalar ile de vücuda alınabilmektedir. Gıdaların içerisinde bulunan ve serbest radikallerin etkilerinden koruyan başlıca doğal antioksidanlar; A, C ve E vitaminleri, polifenoller, karotenoidler ve flavonoidlerdir. Bugüne kadar yapılan birçok araştırmada özellikle meyve ve sebze tüketen insanlarda kalp rahatsızlıkları ve kanser oluşumunu olumsuz yönde etkilediği belirtilmektedir (Güçlü vd.2009). Polifenol ve bunların türevleri antioksidanların en önemlilerinin başında gelmektedir. Bu maddeler sistemlerde farklı şekillerde davranarak radikallerin reaksiyon oluşturmalarını ve bu reaksiyonlara bağlı zincir reaksiyonların oluşumunu engeller (Shahidi 1996).

Yükseltgenebilen maddelerin başında gelen antioksidanlar zincir reaksiyonlarını koparmaları sırasında kendileri de bozunurlar. Antioksidanların bu özelliklerinden dolayı yükseltgenebilen maddeleri çok kısa bir süre için koruyabilirler. Bir süre sonra ortamda hiç antioksidan yokmuş gibi maddeler yükseltgenmeye devam ederler (Güçlü2009). Antioksidanlar, serbest radikallerin başlatıp ilerlettiği zincirleme oksidasyon reaksiyonlarını zincir koparıcı etkisiyle sonlandırır. Zincir koparıcı

antioksidan aktivitesinin reaksiyonu aşağıdaki şekilde gösterilmiştir:



Antioksidan moleküller tarafından inhibe edilen reaksiyonlar, radikalik reaksiyonların başlaması ve bu reaksiyonların uzamasıdır. Burada LOO• peroksil, LO• alkoksil, L• ise lipid radikallerini göstermektedir. Bu reaksiyonlara etki eden antioksidanlar ‘primer antioksidanlar olarak isimlendirilmektedir.

Bir diğer taraftan ‘sekonder antioksidanlar’ olarak bilinen antioksidanlarda vardır. Bu antioksidanlar çoğu zaman Fenton tipi reaksiyonları inhibe ederken aynı zamanda oksidasyon hızını da düşürebilirler (Apak vd. 2007).

Bir antioksidanın aktivitesi 4 şekilde anlaşılır:

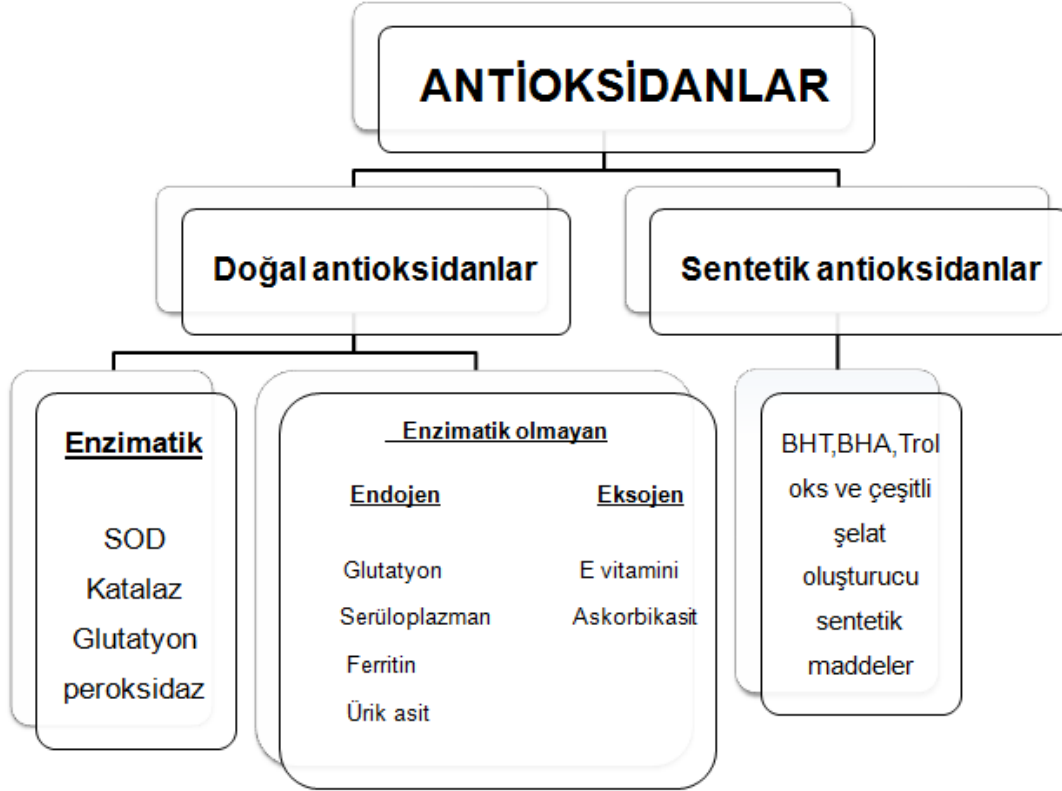
- a) Antioksidandan türeyen radikalın sonucu
- b) Diğer antioksidanlarla etkileřim durumu
- c) Geçiş metallere sahip halkasal yapı oluşturarak meydana getirdiği şelatlamaya potansiyeli
- d) Hidrojen ya da elektronun indirgeme potansiyeline bağlı olduğu reaktiviteler (Rice-Evans *et al.* 1997).

2.5.1 Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidan savunma mekanizmaları, serbest radikal ürünlerinin ve peroksit moleküllerinin oluşturabileceği hasarlara karşı hücreleri korumaktadır (Rice-Evans *et al.* 1997). Bu antioksidan mekanizmaları doğal ve sentetik antioksidanlar olarak iki

sınıfta toplanırlar. Çizelge 2.3te antioksidanların sınıflandırılması gösterilmiştir.

Çizelge 2.3Antioksidanların sınıflandırılması.



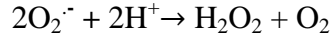
2.5.1.1 Doğal Antioksidanlar

Enzimatik Antioksidanlar

Hücre içerisinde bulunan bazı enzimler, radikallerin etkilerini giderebilirler. Enzimlerin birçoğu serbest radikallerin etkilerini giderebilmek için doğrudan ya da dolaylı olarak etki gösterirler. Bu enzimlerden bazıları, sümeroksitdismutaz (SOD), Katalaz (CAT) ve Glutasyon peroksidazdır.

Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz, süperoksit radikalının oksijen ve hidrojen peroksidin tek elektronlu dismutasyonunukatalizler (Chaudiere and Iliou 1999).

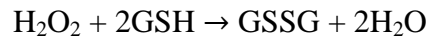


Katalaz (CAT)

Katalaz enzimi 240.000 dalton molekül ağırlığında dört monomer biriminden meydana gelmiş (tetramerik) aynı zamanda dört alt birimden oluşan ve her alt biriminde [Fe(III)-protoporfirin] grubu bulunduran bir proteindir. Oksijenli solunum yapan bütün canlı hücreler katalaz enzimini bulundurur. Katalaz enziminin en fazla aktif olarak çalıştığı hücrelerden bazıları böbrek, karaciğer, miyokard, eritrositler ve çizgili kaslardır. Katalaz enzimi, % 80 oranında peroksizomlarda geriye kalan %20 ise sitozolde bulunur (Özkan 2000).

Glutasyon Peroksidaz (GPx)

Glutasyon peroksidaz hidrojen peroksit varlığında hidroperoksitlerin indirgenmesinde kullanılan selenoenzimler ailesinden bir antioksidandır. Bu reaksiyonda hidrojen peroksit suya ve organik hidroperoksitler alkole indirgenirler. Bu sırada GSH (glutasyon) ise GSSG (okside glutasyon) a yükseltgenir (Chaudiere and Iliou 1999).



Enzimatik Olmayan (Non-Enzimatik) Antioksidanlar

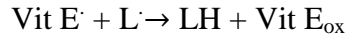
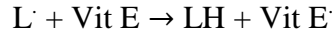
Bitkilerin neredeyse hepsinde aynı zamanda bazı mikroorganizmalarda ve hayvansal dokularda bulunan bu antioksidanlar, hayvansal ve bitkisel kaynaklı bileşiklerin bazı işlemlerden geçirilmesi sonucu oluşurlar (Görünmezoğlu2008). Enzimatik olmayan antioksidanlar endojen ve eksojen olmak üzere iki kısımda incelenir (Şekil 2.3). Askorbik asit, tokoferoller, karotenoidler ve flavonoidler en önemli fenolik bileşiklerin başında gelir ve bu bileşikler doğal antioksidanların başında gelirler. Non enzimatik antioksidanlar; Askorbik asit (C vitamini), Tokoferol (E Vitamini), Ürik asit, Ferritin, Serüloplazmin ve Glutasyon'dur.

Askorbik asit (C vitamini)

İndirgenmiş hücrelerin durumlarının korunmasında gerekli olan, düşük molekül ağırlığına sahip, suda çözünebilir bir antioksidandır (Antmen2005). C vitamini çoğunlukla meyvelerde bulunan, fazlası vücutta depolanmayıp idrarla dışarı atılan ve vücutta sentezlenmeyip dışardan alınması gereken bir vitamindir.

Tokoferoller (E Vitamini)

Yağda çözünüp suda çözünemeyen oksijen bulunmayan ortamlarda sıcaklığa ve asite dayanıklı olan, doğada dört farklı normda (α , β , γ , δ) bulunan ve en aktif şekli d- α -tokoferol olan vitamindir. Bazı sebze ve meyvelerde özellikle ayçekirdeği, badem, domates bol miktarda bulunan ve birçok rahatsızlığa karşı savunma oluşturan bir vitamindir. Ayrıca E vitamini zincir kırıcı antioksidan olarak da bilinmektedir. Bunun yanında lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonu, E vitamini ile sonlandırabilmektedir (Antmen 2005).



Bunların yanında endojen kaynaklı olan antioksanlarda vardır. Lipid peroksidasyonu üzerine etkisi olmayan, C vitamini oksidasyonunu engelleyen ve ayrıca reaktif oksijen türlerini temizleyici etkisi olan bir madde de ürik asittir. Bunun yanında dokulardaki demiri bağlayan bir antioksidan olan ferritin ve mekanizmasıyla süperoksit dismutaza benzeyen ve Fe^{+2} yi Fe^{+3} e yükseltgeyerek hidroksil radikalinin oluşmasını engelleyen madde serüloplazmindir. Tripeptit yapısında olan ve karaciğerde sentezlenen en önemli antioksidanların başında gelmektedir. Serbest radikallerle ve peroksitlerle etkilişerek hücrelerin oksidatif hasarlara karşı korunmasını sağlar. Ayrıca yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve proteinlerin yapı taşı olan amino asitlerin membranlardan transportunu sağlar. Glutasyon, eritrositleri, lökositleri ve göz lensini yine oksidatif strese karşı koruyan hayati önem taşıyan bir antioksidandır.

2.5.1.2 Sentetik Antioksidanlar

Biyomolekülleri oksidatif hasarlardan koruyan vücutta sentezlenebilen ya da dışardan alınması gereken antioksidanlara gün geçtikçe daha da fazla ilgi duyulmaktadır. Günümüzde birçok bilim insanı organizmaya zararı olmayan, yüksek aktiviteye sahip bir sentetik bileşik elde edebilmek için yoğun çaba sarfetmektedir. Yağların oksidasyon mekanizmalarını önlemek için antioksidan sentezlemek için birçok çalışma yapılmıştır. Buna göre tokoferoller ve askorbik asidin doğal formları ya da türevleri laboratuvar ortamında sentezlenmiştir. Bununla birlikte 1940'lı yıllardan günümüze kadar ulaşan çalışmalar neticesinde elde edilen yapay antioksidan kullanımı günümüzde oldukça azalmıştır (Eken 2007).

2.6 Endemizm ve Türkiye'deki Endemizm

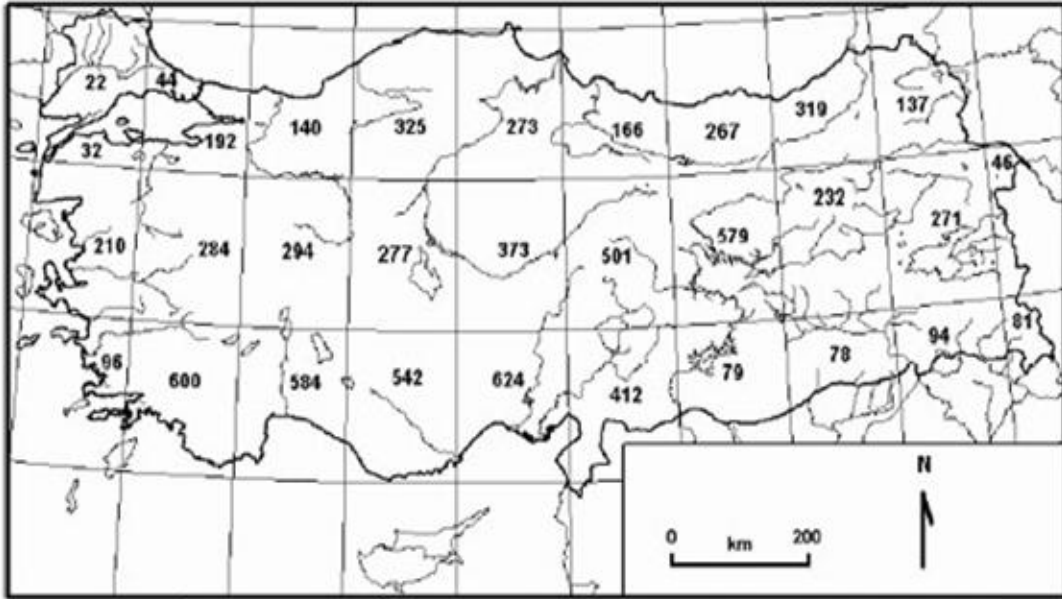
Endemizm Latince "endemos" kelimesinden gelir ve yerli anlamında kullanılır. Endemizm ise bir bitki türünün dar bir bölgede sınırlanmış halde bulunması anlamına ya da dar bir alanda yayılış göstermesine denir. Endemik bitki ise yalnızca belirli bölgelerde yetişen bitkilerdir. Bu belirli bölgeler birkaç metre olarak kabul edildiği gibi bir kıta olarak kabul edilebilmektedir.

Endemik bitkilerin genellikle tropikal ve subtropikal bölgelerde yoğun bir şekilde bulunduğu bilinmektedir. Tropikal ve subtropikal bölgelerde endemik bitkilerin yoğunluğunun fazla olmasının nedeni bu bölgelerin dört mevsim yağış alması ve çeşitli iklimsel faktörlerin dağılmasıdır. Dünya üzerinde bugüne kadar tanımlanmış 37 fitocoğrafya (bitki coğrafyası) bölgesi bulunmaktadır ve bunlardan 3 tanesi Anadolu coğrafyasında kesişmektedir. Dünya genelinde bu şekilde 3 bitki coğrafya bölgesinin daha kesiştiği ülke sayısı 2 ya da 3 tür. Özellikle Kuzey Anadolu'da vejetasyon bağlamında zengin Avrupa-Sibirya Bölgesi, Batıda ve Güneyde dünyanın korumada öncelikli 34 noktasından biri konumunda olan Akdeniz bitki coğrafya bölgesi bulunmaktadır. Şekil 2.2 de bu üç bölge gösterilmiştir.



Şekil 2.2 Akdeniz, Kafkas ve İran Anadolu havzası.

Türkiye coğrafik bölgelerin toprak, iklim ve yükseltilerinin farklı olması, üç tarafının denizlerle çevrili olması gibi özelliklerden dolayı çok fazla bitki çeşitliliğine sahiptir (Demirayak 2002, Avcı 2005). Son yapılan çalışmalar da dahil edildiğinde 3.649'u endemik olmak üzere toplam 11.466 bitki taksonu ülkemizde yetişmektedir. Türkiye'de yetişen endemik türlerin dağılımı Şekil 2.3 de gösterilmiştir. Bununla birlikte bu endemik türler arasında en büyük familya olan bir kaç tür vardır. Bunlardan birisi de Lamiaceae familyasıdır. Son yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen veriler Lamiaceae familyasının üçüncü büyük familya olduğu kanıtlanmıştır. Toplamda Lamiaceae (Labiatae) familyası dünyada yaklaşık 200 cins ve 3500 türle temsil olunmaktadır. Lamiaceae familyasına ev sahipliği yapan bölgelerin başında Akdeniz havzası gelmektedir. Diğer bölgeler ise Güney Batı Asya, Avusturalya ve Güney Amerikadır (Aytaç ve Ekici 1995). Yurdumuzda ise 45 cins ve 546' dan fazla türe ve 735 taksonu bulundurmaktadır. Bu sayılarla birlikte Türkiye' deki endemizm oranı ortalama %45'dir (Ekim ve Güner 2000).



Şekil 2.3 Türkiye'de yetişen endemik türlerin dağılımı.

Çizelge 2.4Türkiye’de Yetişen Bazı SideritisTürlerinden İzole Edilen Diterpenler (Çarıkçı 2010).

Sideritis Türlerinden Elde Edilen Diterpenler	<i>S.athoa</i>	<i>S.arguta</i>	<i>S.trojana</i>	<i>S.dichomata</i>	<i>S.spylea</i>	<i>S.argyrea</i>	<i>S.lycia</i>	<i>S.leptoclada</i>	<i>S.akmanii</i>	<i>S.niveotomentos</i>	<i>S.brevidens</i>	<i>S.rubiflora</i>	<i>S.gülendami</i>	<i>S.hubermorathi</i>	<i>S.caesarea</i>	<i>S.perfoliata</i>	<i>S.galatica</i>	<i>S.congesta</i>	<i>S.öztürki</i>	<i>S.condensata</i>	<i>S.stricta</i>	<i>S.tmolea</i>	Toplam
Linearol (<i>Ent-3,7</i> -dihydroxy-18-acetoxykaur-16-ene)	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	15
Isolinearol (<i>Ent-3,7</i> -dihydroxy-18-acetoxykaur-15-ene)	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	5
Epoxy-isolinearol	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	2
Foliol (<i>Ent-3,7,18</i> -trihydroxykaur-16-ene)	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	6
Isofoliol	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
3,7,18-triacetyl-foliol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Sidol (<i>Ent-3</i> -acetoxy-7,18-dihydroxykaur-16-ene)	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	8
Isosidol (<i>Ent-3</i> -acetoxy-7,18-dihydroxykaur-15-ene)	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	3
<i>Ent-3,7</i> -dihydroxykaur-16-ene	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Ent-1</i> ,18-dihydroxykaur-16-ene (Canadiol)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Candicandiol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1
7-epicandicandiol (<i>Ent-7,18</i> -dihydroxykaur-16-ene)	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	13
7-epicandicandiol 18-monoacetate	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Ent-3</i> -hydroxykaur-16-ene	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Athonolone	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	2
Siderol (<i>Ent-7</i> -acetoxy-18-hydroxykaur-15-ene)	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	12

Çizelge 2.4(Devam)Türkiye’de Yetişen Bazı SideritisTürlerinden İzole Edilen Diterpenler (Çarıkçı 2010).

Sideridiol (<i>Ent-7</i> ,18-dihidroxykaur-15-ene)	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	9
Candol B (<i>Ent-18</i> -hydroxykaur-16-ene)	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	2
Isocandol B (<i>Ent-18</i> -hydroxykaur-15-ene)	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Candol A acetate (<i>Ent-7</i> -acetoxykaur-15-ene)	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Ent-7</i> -acetoxykaur-15-ene	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Ent-7</i> -acetoxy-15 ,16 -epoxykaurane	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Ent-7</i> -acetoxy-18-hydroxykaur-16-ene	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Sideroxol (<i>Ent-7</i> ,18-dihydroxy-15 ,16 -epoxykaurane	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	8
<i>Ent-7</i> -hydroxy-18-acetoxy-15 ,16 -epoxykaurane	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1

Geçmişten günümüze kadar halen kullanılmakta olan Sideritis türlerinin içerdiği bileşenler hakkında kesin bir bilgi yoktur. Bunun temel nedeni ise Sideritis türleri ile ilgili çok fazla çalışma yapılmamış olmasıdır. Sideritis türlerinin içeriklerine bakıldığı zaman aslında çoğu hastalığın tedavisinde kullanılan bileşenler bulunduğu bilinmektedir. Bu hastalıkların başında antitümoral, antibakteriyel, antikanserojen ve antifungal gelmektedir. Türkiye’de Sideritis cinsi ile ilgili ilk kez 1985’te Sezik ve arkadaşları çalışmıştır ve sonucunda manoiloksit bileşiği bulunmuştur. Sideritis türleri ile ilgili yapılan çalışmaların amaçlarından birisi uçucu bileşenlerinin bulunması olmakla birlikte uçucu olmayan bileşikleri ile ilgili çalışmalar da yakın zamanda başlamıştır. Sideritis türü ile ilgili çalışmaların çoğunluğu İspanya’da yapılmıştır. Türkiye’de ise yapılan fitokimyasal araştırmalara bakıldığında 22 türden 15’inde linearol, 13’ünde 7-epicandicandiol, 11’inde siderolün varlığı gözlemlenmiştir. Bugüne kadar Sideritis ile ilgili yapılan çalışmalar ve bu türlerden izole edilen diterpenler Çizelge 2.4 de verilmiştir (Çarıkçı 2010).

2.6.1 Sideritis Cinsi

Yaklaşık 150’den fazla türe sahip olan Sideritis cinsi Kuzey yarımkürenin tropikal alanları başta olmak üzere Akdeniz, Kafkasya ve Kanarya Adaları’nda geniş bir alana yayılmaktadır. Türkiye ve İspanya bu bölgeler içerisinde Sideritis türünü bünyesinde en çok barındıran ülkelerin başında gelmektedir (Gonzales *et al.* 2011). Sideritis cinsinden *Sideritis taurica* türüne ait Resim 2.1 de gösterilmiştir. Türkiye’de 46 tür ve 53 takson bulunduran Sideritis cinsinin 39 taksonu endemiktir (Davis 1982, Duman vd.1995, Duman vd.1998, Güner vd.2000, Aytaç ve Aksoy2000).

Sideritis cinsi bulunduğu yöre halkı tarafından dağ çayı ya da ada çayı olarak bilinmektedir. Dışarı ülkelere çok fazla ihracat edilmemekle birlikte iç piyasalarda değerlendirilmektedir. Bununla birlikte bazı türleri yok olma tehlikesi ile karşı karşıya kalmıştır. Nedeni ise fazla miktarda toplanıp, hayvan otlatılmasıdır. Bu yüzden ekonomik öneme sahip olan bu türlerin korumaya alınması ve ileri aşamada kültüre alınmasıyla değerlendirilmesi gerekmektedir (Gümüüşü vd. 2011).



Resim 2.1Sideritis cinsine ait *Sideritis taurica* türü.

2.6.2 Sideritis Türlerinin Halk Arasında Kullanılışı

Herkesin bildiği gibi hemen hemen bütün ilaçların hammaddesini bitkiler oluşturmaktadır. Bitkiler eski çağlardan beri çeşitli hastalıkların tedavilerinde kullanılmaktadır. Mezopotamya uygarlığı zamanında kullanılan bitkisel ilaçların sayısı yaklaşık 250 civarındadır. Eski yunanlılar zamanında ise yaklaşık 600 kadar bitki kullanılırken, Arap-Fars uygarlığı döneminde bu miktar yaklaşık 7 katına çıkmıştır. 19. yüzyılın başladığı zamanlarda ise bu bitki sayısı yaklaşık 13000 kadar olmuştur.

Sideritis türlerinin büyük çoğunluğu güzel ve hoş kokulu olmasının yanında bitki çayı olarak da kullanılmaktadır (Çıtak 2012). Özellikle kış aylarında oluşan soğuk algınlığı ve gribal enfeksiyonlara karşı kuvvetli bir ağrı kesicidir. Sinir hastaları ve çocuklar için çok iyi bir yatıştırıcı olduğu yöre halkı tarafından söylenmektedir. Bu yüzden halk arasındaki kullanımı aşırı derecede yaygın olup Sideritis cinsinin bazı türleri yok olma tehlikesi ile karşı karşıya kalmıştır.

Çizelge 2.5Sideritis Türlerinin Halk Arasında Kullanılan Yöresel Adları (Çıtak 2012).

Türler	Yerel Adı	Kullanıldığı Bölge
<i>S. albiflora</i>	Dağ çayı	Muğla
<i>S. amasiaca</i>	Tosbağa otu, dağ çayı	Çorum
<i>S. arguta</i>	Yayla çayı, dağ çayı	Antalya, Gündoğmuş
<i>S. argyrea</i>	Eşek çayı	Antalya, Gündoğmuş
<i>S. athoa</i>	Kedi kuyruğu çayı	Balıkesir, Kazdağı
<i>S. caeseria</i>	Dağ çayı	Sivas
<i>S. condensata</i>	Kozalı kekik, kozalı çay, eşek çayı	Antalya, Isparta
<i>S. congesta</i>	Anamur adaçayı, yayla çayı, dağ çayı	Antalya, Alanya
<i>S. dichotoma</i>	Sarıköz çayı	Balıkesir, Kazdağı
<i>S. germanicopolitana</i>	Tosbağa çayı	Amasya
<i>S. gülendami</i>	Dağ çayı	Eskişehir, Afyon
<i>S. hispida</i>	Dağ çayı	Kayseri
<i>S. huber-morathii</i>	Dağ çayı	Hatay, Yayladağ
<i>S. leptoclada</i>	Kızlan çayı, dağ çayı	Muğla, Karadağ
<i>S. libanotica ssp. curdica</i>	Dağ çayı	Maraş
<i>S. libanotica ssp. Libanotica</i>	Dağ çayı, altınbaş, adaçayı	Hatay, İskenderun
<i>S. libanotica ssp. linearis</i>	Kardelen çayı, bozlan çayı	Muğla
<i>S. libanotica ssp. linearis</i>	Acem arpası, altınbaş	Konya
<i>S. libanotica ssp. linearis</i>	Düğümlü çay	Afyon
<i>S. Lycia</i>	Dağ çayı	Antalya, Burdur
<i>S. montana ssp. montana</i>	Ballı ot, dağ çayı	Kırklareli
<i>S. perfoliata</i>	Dağ çayı	Antalya, Alanya
<i>S. perfoliata</i>	Elduran otu, kandil çayı	Balıkesir, Bergama
<i>S. pisidica</i>	Eldiven çayı, havaotu, dallı adaçayı	Antalya
<i>S. scardica ssp. scardica</i>	Dağ çayı	Kırklareli

Çizelge 2.5(Devam)Sideritis Türlerinin Halk Arasında Kullanılan Yöresel Adları (Çıtak 2012).

<i>S. sipylea</i>	Adaçayı, sivri çay	İzmir, Ödemiş
<i>S. syriaca ssp. Nusariensis</i>	Boz kekik	Mersin, Anamur
<i>S. syriaca ssp. violascens</i>	Topuklu çay	Antalya, Alanya
<i>S. tmolea</i>	Balbaşı, sivri çayı	İzmir, Ödemiş
<i>S. trojana</i>	Kazdağı çayı	Çanakkale, Bayramiç

2.6.3Sideritis Akmanii

Halk arasında dağ çayı, ada çayı olarak da bilinen akmanii türleri antibakteriyal, antifungal, antiviral, antiseptik, analjezik (ağrı kesici), antispazmodik, karminatif, antidiyabetik gibi tıbbi özelliklerinden dolayı eski çağlardan başlayarak hala günümüzde de kullanılan bir bitkidir. *Sideritis akmanii*, boyları 1 metreye kadar uzanan, açık yeşil renkli yapraklara sahip olan, aromatik otsu bir bitkidir. İçerisinde uçucu yağlar, çeşitli kimyasallar ve flavonlar bulunmaktadır (Edinburg 1982).

Alt yaprakları beyaz ipeksi tüylü, sapı 1-3 cm; yapraklarının ucu sivri ve uzundur. Alt tarafa doğru incelik ve kenaribirbirine kenetlenmiştir. Tepesinde mukronat yaprakları vardır ve yapraklar 0,5 mm ve sarımsı renktedir. Orta taraftaki yaprak sapları 0,5-2,5 cm dir ve bu yaprakların kenarı birbirine kenetlenmiştir. Üst yaprakları sapsız ve sivridir kenarları birbirine kenetlenmiştir. Basit çiçekleri ya da birkaç dalı vardır. *Sideritis akmanii* türü Resim 2.2, Resim 2.3 ve Resim 2.4 de gösterilmiştir.



Resim 2.2*Sideritis akmanii*.



Resim 2.3*Sideritis akmanii*.

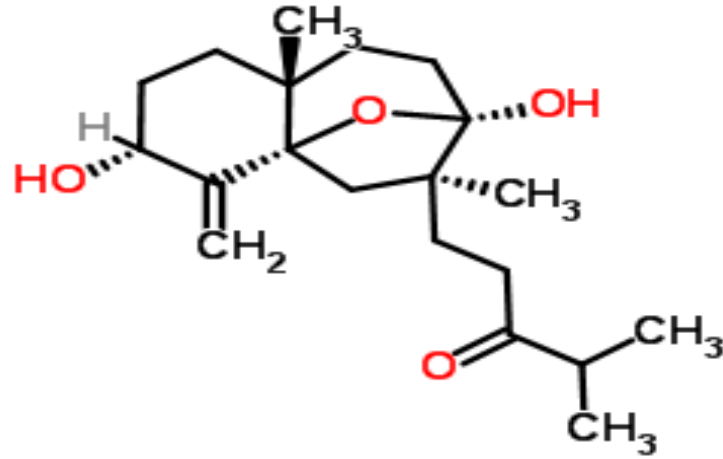
Ülkemizde özellikle Ege ve Akdeniz başta olmak üzere Marmara ve Güney Anadolu bölgelerinde çalılıklarda, dağ eteklerinde dikilerek yetiştiği gibi ormanlık alanların içinde yabancı olarak da yetişebilmektedir. Çok yönlü bir bitki olmasından dolayı halk arasında özellikle kış aylarında çeşitli hastalıkların ve rahatsızlıkların tedavisinde kullanılır. İştahsızlık, hazımsızlık, iltihap giderici, rahatlatıcı etkileri vardır. Ayrıca dağ çayı antioksidan özelliğe sahiptir. Mide rahatsızlıklarını azaltmada, idrar artırmada ve özellikle soğuk algınlığına karşı etkili bir bitkidir (Edinburg 1982).



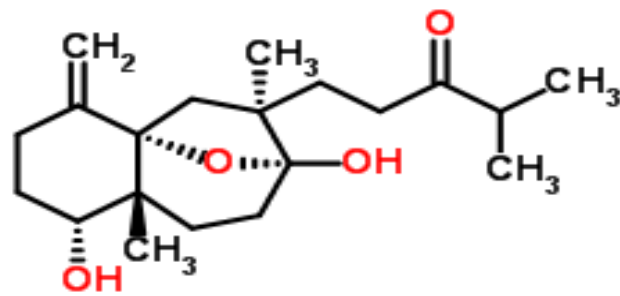
Resim 2.4 *Sideritis akmanii*.

Sideritis akmanii çok yıllık ve aromatik, 1500 ile 1550 metre yükseklikte bozkırda yetişen bir bitkidir. Genellikle Temmuz ve Ağustos aylarında çiçek açar.

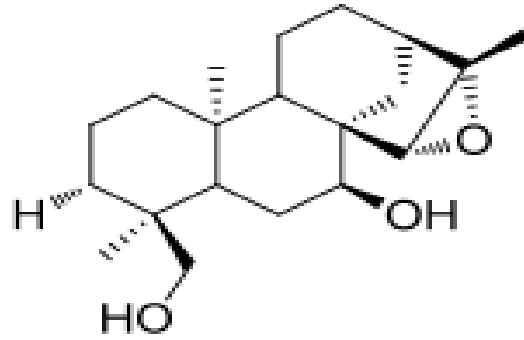
Afyonkarahisar Kumalar Dağı'nda 1800 rakımda bulunur. *Sideritis akmanii* cinsi ile ilgili yapılan çalışmalar neticesinde bulunan diterpenler taşıdıkları halka sistemlerine göre gruplandırılarak aşağıda verilmiştir. Metinde Türkçe okunuşları yazılan diterpenlerin isimleri, hazırlanan tablolarda IUPAC tarafından verilen veya varsa genel olarak kabul edilen İngilizce yazılışları Çizelge 1.3 de verilmiştir. *Sideritis akmanii* cinsi ile ilgili bulunan bu yapılar aşağıdaki şekillerde gösterilmiştir.



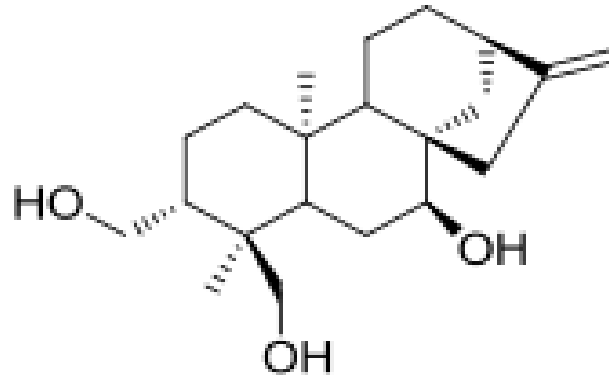
Şekil 2.4 Linearol (Ent-3 β ,7 α -dihidroksi,18-asetoksi kaur-15-en) bileşiği.



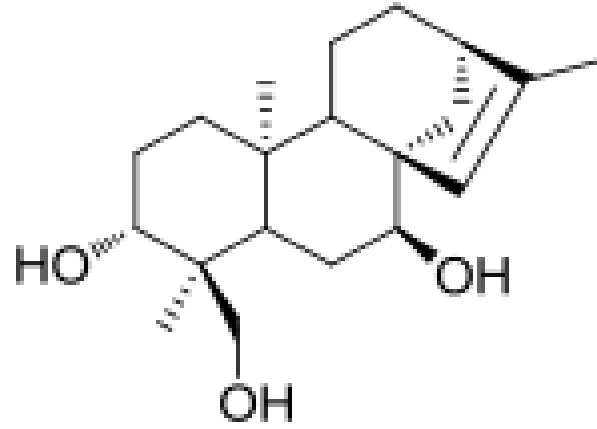
Şekil 2.5 İsolineraol (Ent-3 β ,7 α -dihidroksi,18-asetoksikaur-15-en) bileşiği.



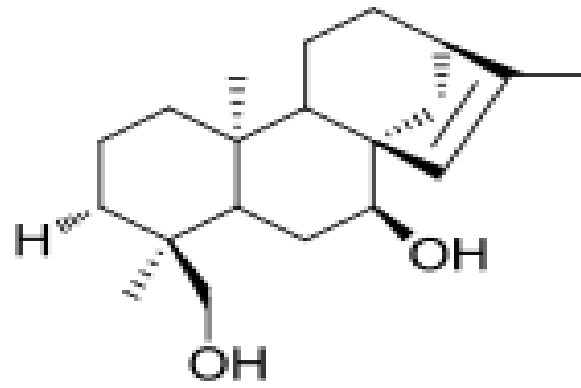
Şekil 2.6 Sideroxol (Ent-7 α ,18-dihydroxy-15 β ,16 β epoxykaurane) bileşiği.



Şekil 2.7 Foliol (Ent-3 β ,7 α ,18-trihydroxykaur-16-ene) bileşiği.



Şekil 2.8İsofoliol (Ent-3,7 α ,18-trihydroxykaur-15-ene) bileşiği.



Şekil 2.9Sideridiol(Ent-7 α ,18-dihydroxykaur-15-ene) bileşiği.

3. MATERYAL ve METOD

3.1 Materyal

3.1.1 Bitki Materyali

Sideritis akmani bitkisi 2015 yılı Ağustos ayında Kumalar Dağı, Çakmaktepe Geçidi, Şuhut/Afyonkarahisar'dan (37 T 0719245, UTM 4511056) 1880 m yüksekten toplanmış ve Dr. Mustafa Kargıoğlu tarafından teşhis edilmiştir. Yöresel olarak kuyruk çayı ismiyle bilinen bitki örneği Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Herbaryumu'nda saklanmaktadır.

3.1.2 Bitki Ekstesinin Hazırlanması

Sideritis akmanii bitkisinin yaprak, dal, çiçek ve gövde kısımlarından oluşan karışım kullanıldı. Bu kısımlar küçük parçalara ayrıldı ve oda sıcaklığında gölgede kurutuldu. Ekstre hazırlamak için, toz halindeki *Sideritis akmani* bitkisinden 20 g alınarak üzerine 400 mL çözücü eklendi. Elde edilen ekstreler süzgeç kâğıdından süzülerek çözümleri rotary evaporatör ile uzaklaştırıldı (Gülçin 2005). Bu hazırlanan ekstrelerde serbest radikal giderme aktivitesi ve total fenolik içeriği tayini yapıldı.

Total antioksidan statü analizlerinde kullanılacak numuneler için kurutulup toz haline getirilen bitkiden alınan 1 g kısımlar üzerine 10 mL çözücü eklenerek sonikasyona tabii tutuldu. Süzgeç kâğıdından süzildikten sonra santrifuj edildi. Süpernatant alınarak tekrar santrifuj edilerek analizlerde kullanıldı (Dikilitaş vd.2011).

Sideritis akmani bitkisinin mineral madde içeriğini belirlemek için, kurutulup toz haline getirilen bitkiden alınan 0,5 g kısım alınmış ve organik bileşenleri bozundurmak amacıyla mikrodalga fırına konulmuştur (Aksoy ve Sözbilir 2015).

3.1.3 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneyde kullanılan kimyasallardan; Nitrik Asit (HNO_3) , Hidrojen Peroksit (H_2O_2), DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), PBS Tablet, α - tokoferol, Etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) Sigma-Aldrich firmasından, Perklorik Asit (HClO_4), Methanol (CH_3OH), Aseton ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$), Sodyum Karbonat (Na_2CO_3), Folin-Ciocalteu VWR Prolabo Chemicals firmasından, BHT (Bütillenmiş Hidroksi Toluen) Gallik Asit ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$) Across Organics firmasından temin edilmiştir.

3.1.4 Kullanılan Alet ve Cihazlar

ICP-OES: Spectro Genesis FEE

Mikrodalga Fırın: Speed Wave ERGHOF

ELİSA: Epson LX 30-II

UV-VIS Spektrofotometre: Shimadzu UV-1700 Pharmaspec

Evaporatör: Heidolph GI

Saf Su Cihazı: TKA Pacific

Otomatik Pipetler: VWR, Ependorf

Hassas Terazî: RADWAG- AS220/C/2

Vorteks: MIGVortex Mixer Elektro Mag

Magnetik Karıştırıcı: IKA RH Basic 2

Sonikatör: VWR VDI 12

3.2 Metod

3.2.1 Serbest Radikal Giderme Aktivite Tayini

Sideritis akmanii türünün yaprak, dal, çiçek gibi gövde kısımlarından elde edilen metanol ve aseton ekstralarının serbest radikal giderme aktiviteleri Blois (1958) metoduna göre yapıldı. Serbest radikal olarak DPPH• (2,2-difenil-1-pikril hidrazin) kullanıldı. 45, 90 ve 135 µg/mL konsantrasyonlarında örnekler üzerine etanol eklendi. Daha sonra üzerlerine stok DPPH• çözeltisinden ilave edildi. 30 dakika oda sıcaklığı ve karanlıkta inkübe edildikten sonra etanolden oluşan köre karşı 517 nm'de absorbansları kaydedildi. Antioksidan içeren ekstralar, DPPH• dan kaynaklı mor rengin azalmasına absorbansın düşmesine neden olur. Azalan absorbans geriye kalan DPPH• çözeltisi miktarını yani serbest radikal giderme aktivitesini verir. Bu şekilde hazırlanan DPPH'a ait kalibrasyon grafiği kullanılarak numunelerin Radikal giderme aktiviteleri tayin edilebilir (Blois1958).

3.2.2 Total Fenolik İçeriği Tayini

Total fenolik içeriği Folin-Ciocalteu metoduna göre yapıldı. Bitki ekstraktları ve standart antioksidan maddelerin hazırlanan çözeltilerine Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edildi. Na₂CO₃ ilavesinden sonra 2 saat boyunca oda sıcaklığında bekletildi. Karışımın absorbansı suya karşı 760 nm de ölçüldü. Sonuçlar, standart olarak kullanılan gallik asitin kalibrasyon eğrisinden hesaplanmış ve gallik asit eşleniği olarak belirtilmiştir (Slinkard and Singleton 1977).

3.2.3 Total Antioksidan Statü (TAS) Analizi

Sideritis akmani bitkisinin total antioksidan statüsü ticari kitler (Rell Assay) ile ölçüldü. Kitler, 2,2-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic asitin (ABTS) asidik ortamda H₂O₂ ile reaksiyona girerek ABTS⁺'nin yükseltgenmesi ve daha sonra ABTS radikalininbaşlangıçtaki mavi ve yeşil rengini kaybetmesi prensibine göre çalışmaktadır. Rengin şiddeti antioksidan miktarına ve antioksidan kapasiteye göre açılmaktadır. Bu

rengin absorbansı 660 nm’de spektrofotometrik olarak ölçülür (Dikilitaş vd.2011)

3.2.4 Total Oksidan Statü (TOS) Analizi

Ekstrelerin toplam oksidan kapasitesi ticari kitler (Rell Assay) ile ölçüldü. Bu yöntemin temeli, bitki içerisinde bulunan Fe^{+2} kompleksinin oksidanlar tarafından +3 değerlikli demir kompleksine yükseltgenmesine dayanmaktadır. Oluşan Fe^{+3} xylenele orange ile renkli kompleks oluşturur. Renk şiddeti numunedeki oksidan miktarına göre değişir. Bu rengin absorbansı 530 nm’de spektrofotometrik olarak ölçülür (Dikilitaş vd.2011).

3.2.5 Oksidatif Stres İndeksinin (OSI) Hesaplanması

Oksidatif stres indeksi (OSI), oksidatif stresin bir göstergesidir. Toplam oksidan statü(TOS) ve toplam antioksidan statü (TAS) ölçümleri yapıldıktan sonra OSI aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$OSI = [(TOS, \mu mol/L) / (TAS, mmol Trolox Equiv/L)] \times 100$$

3.2.6 Mineral Madde Miktarının Belirlenmesi

Örnekleredeki organik bileşimleri bozundurmamak amacıyla mikrodalga fırın (Speed Wave ERGHOF) kullanıldı. *Sideritis akmanii* bitkisinden 0,5 g numune alınarak Teflon numune kaplarına konuldu. Numune üzerine nitrik asit, hidrojen peroksit ve perklorik asit eklendi. Mikrodalga fırına yerleştirilerek ısınması sağlandı. Mikrodalga fırın içinde numuneler 90-150 °C’de belirli sürelerde tutuldu. Fırından çıkan ve oda sıcaklığına gelen numuneler 10 mL’lik balon jöjelere aktarıldı. 18,2 MΩ cm ultra saf su ile 10 mL’ye tamamlandı. Balon jöjelere alınan numunelerdeki biyoelement konsantrasyonları ölçüldü (Aksoy ve Sözbilir 2015) .

3.3 İstatistiksel Analizler

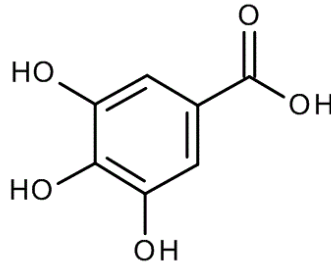
Antioksidan ve antiradikal özelliği belirlemek için yapılan çalışmada üç ayrı analiz yapılarak ortalama belirlenmiştir. Elde edilen bulguların istatistiksel hesaplamaları SPSS 15.0 kullanılarak yapılmış verilerin analizleri ‘ortalama±standart sapma’ ($X\pm SD$) olarak ifade edilmiştir.

4. BULGULAR

Sideritis akmani endemik türünün yaprak, dal, çiçek ve gövde kısımlarından elde edilen karışımın metanol veaseton ekstraktlarında bulunan toplam fenolik madde içeriği, serbest radikal giderme aktivite değerleri, total antioksidan statü, total oksidan statü ile oksidatif stres indeksi ve türün mineral madde içeriği belirlenmiştir.

4.1 Toplam Fenolik Madde İçeriği

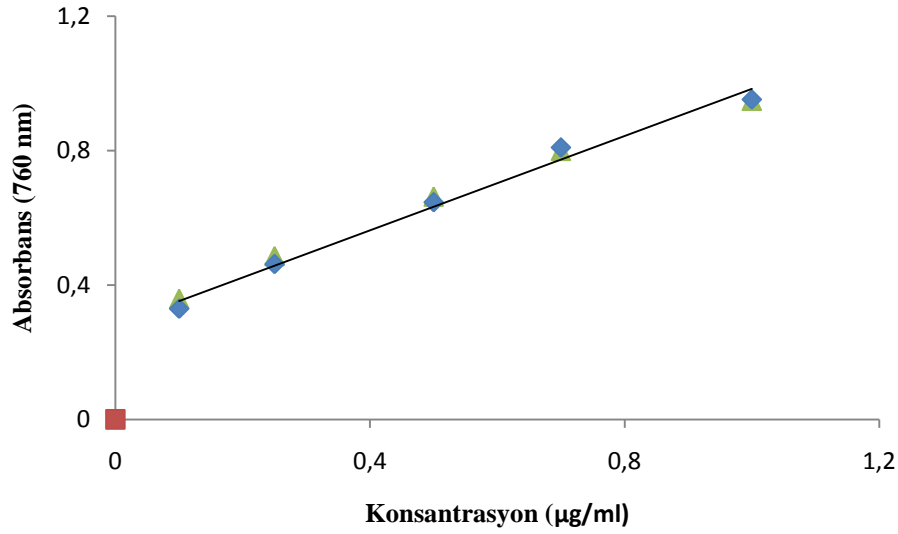
Bitkilerin sekonder metabolitleri olan fenolik bileşikler yapılarında en az bir aromatik halka ve bir yada daha fazla hidroksil (OH) grubu içeren bileşiklerdir. Aromatik halkaların yapısına, OH grubu sayısına ve yerine göre farklılıklar gösteren çok sayıda fenolik madde bulunur. Fenolik maddeler doğal antioksidanların en önemli grubunu oluşturmaktadır. Özellikle 3. ve 4. pozisyonunda OH grubu içeren fenolik maddelerin antioksidan aktivitelerinin yüksek olduğu bildirilmiştir. Toplam fenolik madde içeriği belirleme çalışmalarında standart fenolik bileşik olarak güçlü bir antioksidan olan gallik asit (3,4,5- tri hidroksi benzoik asit) kullanılmıştır. Gallik asitin molekül yapısı Şekil 4.1 de gösterilmiştir.



Şekil 4.1 Standart olarak kullanılan gallik asitin molekül yapısı.

Standart gallik asitten grafik çizilmiştir. Grafikten elde edilen formülden de yine her iki ekstrakte bulunan toplam fenolik bileşik miktarları gallikasit ekivalent (GAE) olarak hesaplandı ($r^2:0,9881$). Bu amaçla hazırlanan standart gallikasit grafiği Şekil 4.2 de verilmiştir.

$$\text{Absorbans} = 0,7006x + 0,2823$$



Şekil 4.2 Gallik Asit ile hazırlanan standart eğri.

Sideritis akmanii türünün yaprak, dal, çiçek ve gövde kısımlarından elde edilen metanol ve aseton ekstralarında bulunan toplam fenolik bileşik 1 mg'da bulunan toplam fenolik bileşik miktarı olarak Çizelge 4.1 verilmiştir.

Çizelge 4.1 *Sideritis akmani* türünün metanol ve aseton ekstralarının 1 mg'ında bulunan toplam fenolik bileşik miktarları.

Ekstre	SAM	SAA
Total Fenolik Bileşik		
µG GAE/mg ekstre	144.08±2.01	117.72±6.4

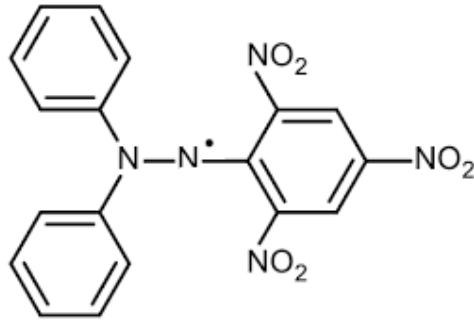
SAM: *Sideritis akmani* metanol ekstresi SAA: *Sideritis akmani* aseton ekstresi

Çizelge 4.1 de görüldüğü gibi *Sideritis akmanii* bitkisinden elde edilen metanol ve aseton ekstralarının 1 mg'da sırasıyla 144.08±2.01 ve 117.72±6.4 µg GAE olarak fenolik bileşik bulundu. Bitkinin içeriğindeki fenolik maddelerin ve bunun sonucunda antioksidan aktivite belirlenmesinde kullanılan çözücülerin farklı sonuçlar verdiği görülmüştür. Bitkinin aseton ekstresinin metanol ekstresine göre daha fazla fenolik madde içerdiği bulunmuştur. Elde edilen bu sonuç, seçilen uygun çözücü ile gerçekleştirilecek işlemler sayesinde, türün daha fazla fenolik içerik dolayısıyla daha

yüksek antioksidan kapasitesi hakkında da bilgi vermektedir.

4.2 Serbest Radikal Giderme Aktivite Değerleri

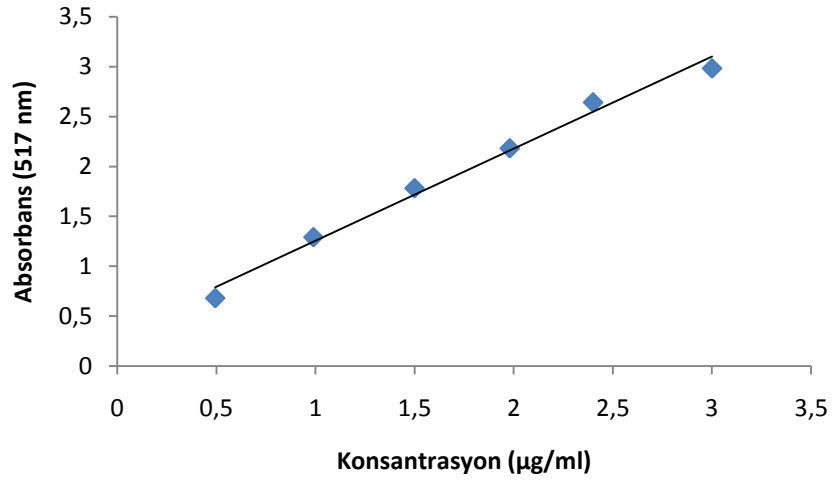
Serbest radikal giderme aktivitesi belirlenirken, kararlı ve sentetik bir radikal olan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) kullanılır ve antioksidanın bu serbest radikali giderme aktivitesi ölçülerek antioksidan aktivite belirlenir.



Şekil 4.3DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikalinin molekül yapısı.

Çalışmadaki bitki ekstraktlarının, BHT ve α -tokoferolün radikal giderme kapasitelerini belirlemek için ilk olarak sentetik antioksidan bileşik olan DPPH ile standart grafik oluşturulmuştur ve Şekil 4.4 de gösterilmiştir ($r^2=0.9895$).

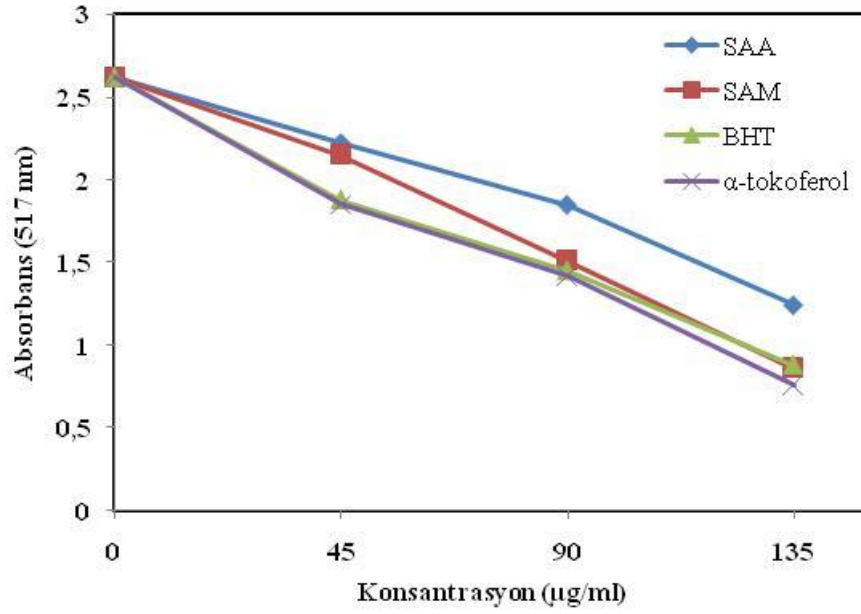
$$\text{Absorbans} = 0.9232 [\text{DPPH}] + 0.3302$$



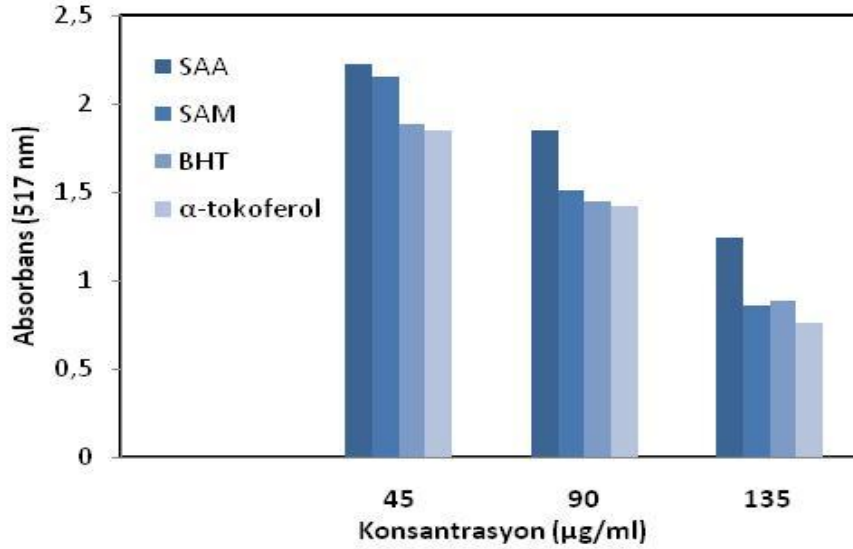
Şekil 4.4 DPPH radikal giderme aktivitesi tayininde hazırlanan standart DPPH grafiği.

DPPH radikal giderme aktivitesi tayininde hazırlanan standart DPPH grafiği ve grafikten elde edilen denklem analiz sonucunda kalan DPPH konsantrasyonu belirlemek için kullanılır.

Sideritis akmani bitkisinden elde edilen metanol ve aseton ekstrelerinin DPPH radikal giderme aktiviteleri Şekil 4.5 ve Şekil 4.6 de verilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi ekstrelerin DPPH radikal giderme aktiviteleri konsantrasyonla doğru orantılı olarak artmaktadır.



Şekil 4.5 Farklı konsantrasyonlardaki (45-135 µg/ml) bitki ekstrlerinin BHT ve α-tokoferol DPPH radikali giderme aktiviteleri.



Şekil 4.6 Farklı konsantrasyonlardaki (45-135 µg/ml) bitki ekstrlerinin DPPH radikali giderme aktivitesinin BHT ve α-tokoferol ile karşılaştırılması.

Sideritis akmanii bitkisinden elde edilen metanol ve aseton ekstrlerinin DPPH radikal giderme aktiviteleri ile standart antioksidan olan BHT ve α-tokoferolün 135µg/ml konsantrasyonunda sırasıyla α-tokoferol > *Sideritis akmani* bitkisinin metanol ekstresi (SAM) ~BHT > *Sideritis akmani* bitkisinin aseton ekstresi (SAA) şeklinde belirlendi. *Sideritis akmani* bitkisinin elde edilen metanol ve aseton ekstrlerinin DPPH

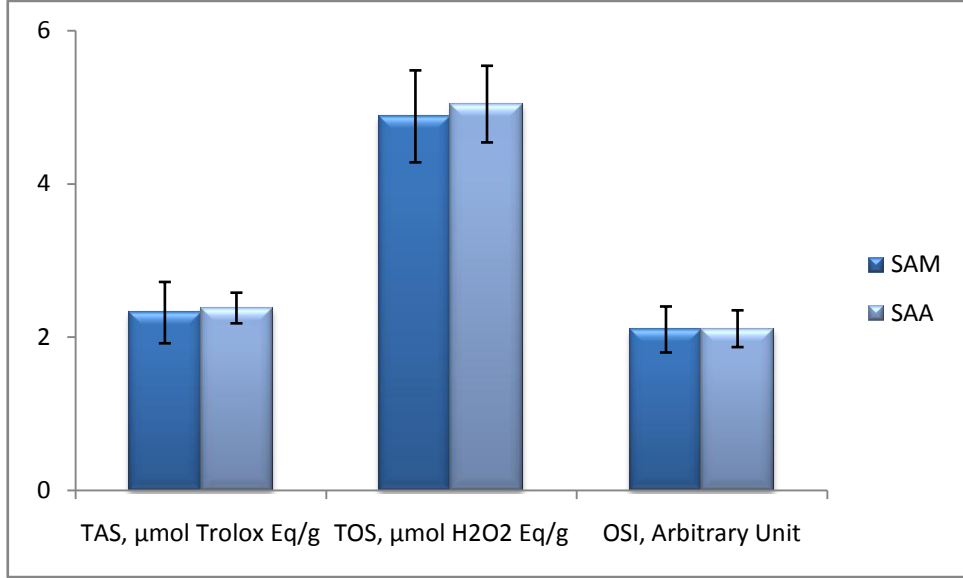
giderme aktiviteleri α -tokoferol de % 78.7, metanol ekstresinde % 73.2, BHT de % 72.7 ve aseton ekstraktında % 60.1 olarak bulundu. Sonuçlar; özellikle *Sideritis akmanii* metanol ekstresinin sentetik antioksidan olan BHT ile yakın düzeyde aktivitede olduğunu göstermektedir.

Total antioksidan kapasitenin ölçümü, antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgi vermektedir. Antioksidanların tek tek ölçülmesi, zaman alıcı, pahalı ve karmaşık teknikler gerektirmektedir. Bu nedenle total antioksidan kapasite veya total antioksidan durum ölçümü günümüzde tercih edilmekte, çokça kullanılmaktadır. *Sideritis akmanii* bitkisinin yaprak, dal, çiçek ve gövde kısımlarından elde edilen metanol ve aseton ekstraktlarında bulunan total antioksidan statü, total oksidan statü, oksidatif stres indeksi verileri Çizelge 4.2 ve Şekil 4.7 de verilmiştir.

Çizelge 4.2 *Sideritis akmanii* bitkisine ait total antioksidan statü, total oksidan statü, oksidatif stres indeksi.

	SAM	SAA
TAS, $\mu\text{mol Trolox Eq/g}$	2,32 \pm 0,4	2,38 \pm 0,2
TOS, $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/g}$	4,88 \pm 0,6	5,04 \pm 0,5
OSI, Arbitrary Unit	2,1 \pm 0,3	2,11 \pm 0,24

Sonuçlar ortalama \pm SD olarak verilmiştir (n=3). SAM: *Sideritis akmanii* metanol ekstresi SAA: *Sideritis akmanii* aseton ekstresi; TAS: Total antioksidan statü; TOS: Total oksidan statü; OSI: Oksidatif stres indeks



Şekil 4.7 *Sideritis akmanii* bitkisine ait total antioksidan statü, total oksidan statü, oksidatif stress indeksi değerleri.

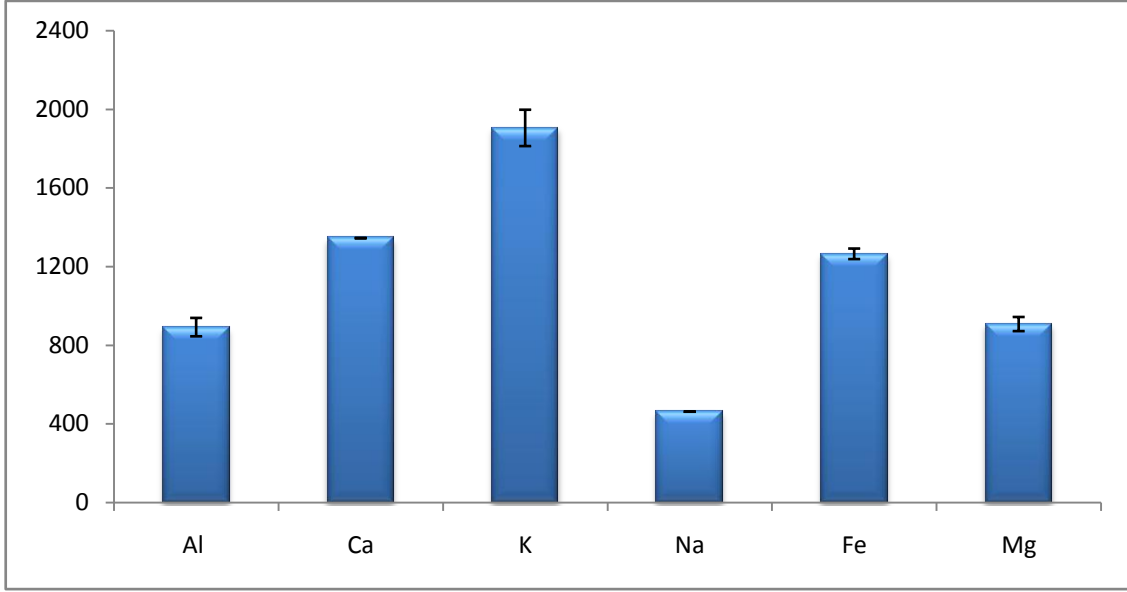
4.3 *Sideritis akmanii* türünün Mineral Madde İçeriği

Sideritis akmanii türünün içerdiği mineral madde düzeyleri Çizelge 4.3 de verilmiştir.

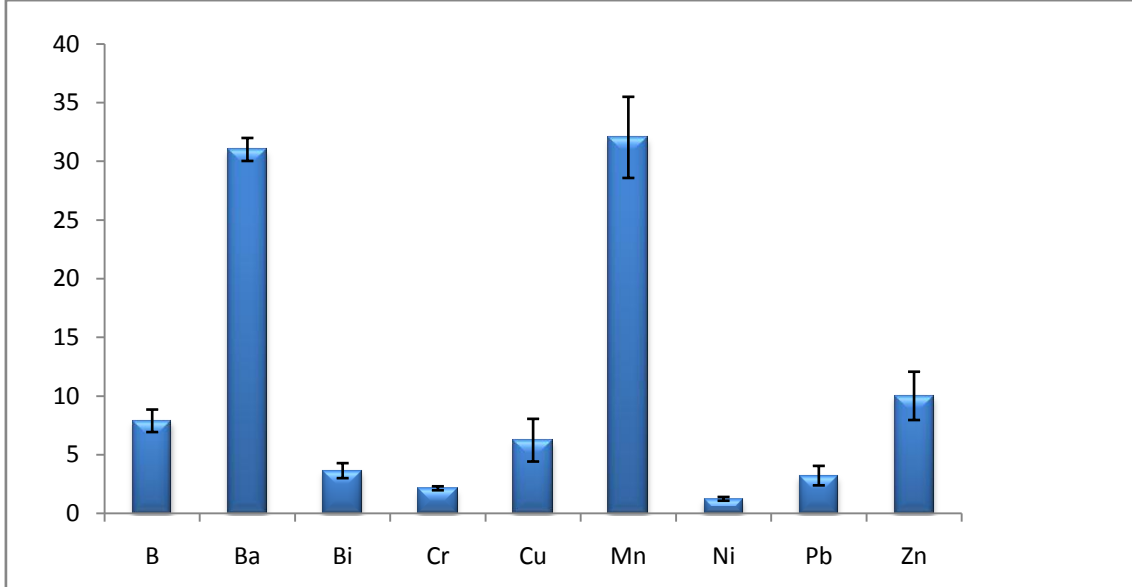
Çizelge 4.3 *Sideritis akmanii* bitkisinin içerdiği mineral madde düzeyleri.

Mineral Madde	Miktarı (ppm)	Mineral Madde	Miktarı (ppm)
Al	891.64±46.78	K	1904.69±86.48
B	7.884±0.96	Li	0.619±0.28
Ba	31.02±0.98	Mg	907.26±35.96
Bi	3.634±0.64	Mn	32.05±3.46
Ca	1344.5±92.5	Na	461.68±28.59
Cr	2.13±0.17	Ni	1.23±0.16
Cu	6.23±1.82	Pb	3.21±0.83
Fe	1264.37±26.75	Zn	10.01±2.06

Sideritis akmanii türünün içerdiği makro elementler Al, Ca, Fe, K, Mg, Na düzeyleri ile minor elementler B, Ba, Bi, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn düzeyleri sırasıyla Şekil 4.8. ve 4.9 de gösterilmiştir.



Şekil 4.8 *Sideritis akmanii* türünün içerdiği major element konsantrasyonları (ppm).



Şekil 4.9 *Sideritis akmanii* türünün içerdiği minor element konsantrasyonları (ppm).

Çizelge 4.3de görüldüğü gibi Se, Be ve Co elementlerine ait konsantrasyonlar belirlenebilir sınırlar içerisinde olmadığından bu elementlere ait konsantrasyonlar belirlenememiştir. *Sideritis akmani* türünün içerisinde Se hariç antioksidan olarak tanımlanan diğer tüm mineral maddelerin yeterli miktarda bulunduğu belirlenmiştir.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bitkiler tedavi amaçlı eski çağlardan beri kullanılmaktadırlar. Günümüzde de bu kullanım giderek artmış durumdadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) yaptığı bir çalışmada 20. yüzyılda tıbbi amaçla kullanılan bitki sayısının 20000 olduğunu göstermektedir. Özellikle gelişmekte olan ülkeler, ekonomik şartlar ve tıbbi tedavilerin yetersizliği gibi gerekçelerle, tıbbi bitkileri kullanmaktadırlar. Gelişmekte olan ülkeler tedavide %80 oranında geleneksel ilaçları tercih etmektedir. Amerika ve Kanada gibi ülkelerde ise bitkilerden elde edilen etken maddelerin ilaçlarda kullanımı söz konusudur ve ilaçların önemli bir bölümü doğal bitki ürünlerinden oluşmaktadır. Bitkisel ilaçların ucuz ve kolaylıkla temin edilmesi, sentetik ilaçlara kıyasla yan etkilerinin az olması, bitkilere olan ilgiyi artırmıştır. Bitkilerden elde edilen biyolojik aktif bileşikler, bitkilerin doğrudan tüketimi, bitkilerin biyoyararlılıkları günümüzdeki birçok araştırmacının çalışma alanını oluşturmaktadır (Baytop 1999, Alkofahi *et al.* 1990).

Endemik tür, sadece belli bölge ya da alanda yetişen bitkiler için kullanılan terimdir. Bu alandan kasıt birkaç metrekare ya da bir bölge de olabilmektedir. Ülkemizin farklı iklim ve coğrafi yapıya sahip olması, üç gen merkezinin kesişme yerinde bulunması, doğusunda ve batısında ekolojik farklılıklar bulunması ve dolayısıyla bunun flora farklılıklarına yol açması nedeniyle oldukça fazla bitki türüne sahiptir. Türkiye’de yetişen bitki türü sayısı 9000 civarındadır ve bunların yaklaşık 3000 kadarı endemiktir. Çevresindeki ülkeler ile kıyaslandığında gerek tür çeşitliliği gerekse endemik tür sayısı olarak ilk sırada yer almaktadır. Avrupa kıtasında bulunan tür sayısı 12500 iken endemik tür sayısı yalnızca 2500 dür. Ülkemizde yetişen bitki türleri 145 familyaya aittir. Tür bakımında zengin familyalar Poaceae, Asteraceae, Fabaceae ve Lamiaceae’dir (İpek ve Gündüz 2010, Kaya ve Aksal 2005).

Ballıbabagiller (*Labiatae-Lamiaceae*), özellikle Akdeniz ülkelerinde doğal olarak yetişen ılıman iklimi olan ülkelerde de kültürü yapılan zengin bir familyadır. Türkiye’de toplam 731 takson, 546 tür ve 45 genus ile temsil edilmektedir. Endemizm oranı %44,2 dir (Uçar ve Turgut 2009). *Lamiaceae* familyasına ait bitkilerin birçoğu hem halk ilacı olarak hemde gıda ve kozmetik endüstrisinde yüzyıllardır kullanılmaktadır

(Saleem2000). *Lamiaceae* familyasının önemli bir cinsi olan *Sideritis*, özellikle Akdeniz havzasında yetişen tek yıllık ya da çok yıllık 150 tür ile temsil edilmektedir. *Sideritis* cinsi ülkemizde 46 tür ve takson içerir ve bu taksonların 46 tanesi endemiktir (Davis 1982, Aytaç ve Aksoy 2000, Güner vd. 2000).

Sideritis türleri otsu küçük çalı benzeri bitkilerdir. Yaprakları tan kenarlı, dişli ve kör dişli olabilmektedir. *Sideritis* türleri eskiden beri çay olarak ya da halk ilacı olarak tüketilmektedir. Çay olarak tüketiminin soğuk algınlığı, sindirim sistemi ve sinir sistemi rahatsızlıkları, tansiyon yüksekliği problemlerine karşı etkili olduğu düşünülmektedir. İçerdiği antioksidan bileşikler nedeniyle bu türe olan ilgi daha da artmıştır (Ekimvd. 1989). *Sideritis* türleriyle yapılan halk ilacı olarak kullanımından bahseden pek çok çalışma bulunmaktadır.

İspanya'da yetişen *Sideritis hirsuta* veya *Sideritis arborescens* bilinen türün çay olarak tüketiminin gastroprotektif olduğu, sadece yapraklarından yapılan çayın ise anti-inflamatuar ve anti-romatizmal etkili olduğu bildirilmiştir (Gonzalez-Burgos *et al.* 2009).

İtalya'nın güneyinde yaşayan yöre halkının *Sideritis syriaca* türüne ait yaprakların kesik sonucu oluşan kanamayı durdurucu olarak kullandığını belirten bir çalışma bulunmaktadır (Leporatti and Impieri 2007).

Bulgaristan'da *Sideritis scardica* türünün balgam söktürücü olarak kullanıldığı ayrıca akciğer rahatsızlıklarına da iyi geldiğini bildiren çalışma bulunmaktadır (Ivancheva and Stantcheva 2000).

Ülkemizde yetişen *Sideritis syriaca* ile yapılan çalışmada bu türün diüretik etkili olduğu ancak bunun yanında öksürük artırıcı bir özelliği olduğundan söz edilmektedir (Karaman ve Kocabaş 2001).

Türkiye'de yetişen *Sideritis psicida* türünün yapraklarının suda kaynatılması daha sonra içine soğan rendesi ve çam reçinesi eklenmesiyle bir macun elde edilir. Elde edilen bu

macunun karın bölgesine sürülmesinin karın ağrısına iyi geldiğine inanılmaktadır (Yeşilada 1995).

Sideritis akmanii 1520-1550 m yüksekte ve bozkırda yetişen çok yıllık bir türdür. Temmuz Ağustos aylarında çiçek açmaktadır. Afyonkarahisar ili Kumalar Dağına ait endemik bir türdür. *Sideritis akmanii* türü aşırı otlatma ve bitkisel çay olarak tüketimi dolayısıyla EN (Endangered) tehlikede kategorisinde yer almaktadır.

Sekonder metabolitler, bitkinin hayatta kalmak, neslini devam ettirmek, ortama uyum sağlamak ve kuraklık, tuzluluk, radyasyon, gazlar, mineraller (bunların fazlalığı ya da eksikliği) veya toprak kayması, rüzgâr, gömülme, kar örtüsü, buz tabakası gibi abiyotik etkiler ile parazit bitkiler, mikroorganizmalar, çiğneme ve otlatma dolayısıyla hayvanlar, kirletme herbisit kullanma yangın, elektro manyetik alan oluşturma gibi sebepler dolayısıyla insanların oluşturduğu biyotik etkilere karşı korumak için bitkiler tarafından üretilen ürünlerdir. Sekonder metabolitler günlük hayatta, ilaç hammaddesi, gıda sektöründe tat ve koku verici olarak, zirai ilaç olarak ve yine hoş kokuları nedeniyle kozmetik endüstrisinde kullanılmaktadırlar (Larcher 2003).

Sekonder metabolitler bitkilerin gelişimleri sırasında farklı dönemlerde üretilip farklı dokularda depolanmaktadır. Genellikle yapraklar, bitki çiçek açmaya başladığı zaman; çiçekler ise tamamen açılmadan, tomurcuk halinde iken toplanması durumunda bitki materyalinde etkin maddelerin daha fazla olduğu bildirilmiştir. Kök kısımları çalışılacak ise bitkinin toprak üstü kısmının kuruması, meyve ve tohum çalışmalarında ise olgunlaşma süresi beklenir (Baytop 1999). Bu çalışmada kullanılan *Sideritis akmanii* çiçeklenme zamanı olan Ağustos ayında endemik olduğu Afyonkarahisar, Şuhut Kumalar Dağından toplanmıştır

Sekonder metabolit içeriği belirlemek için yapılan çalışmalarda bitki materyali taze ya da kurtulmuş olarak kullanılabilir. Kurutulmuş türü tercih etmek daha fazla bitki ekstresi elde etmek için tercih edilebilir. Bitkinin sahip olduğu enzimlerin en verimli sıcaklık aralığı olan 35-50 °C olduğundan bu sıcaklığın üzerine çıkılmadan kurutulma yapılmalıdır. Diğer tüm işlerin de bu sıcaklık aralığında tercih edilmesi gerekir. Daha

yüksek sıcaklıklar enzim yapısına da zarar vereceği için uygun olmayacaktır (Eloff 1998). *Sideritis akmanii* toplandıktan sonra oda sıcaklığında gölgede kurutulmaya bırakılmıştır. Ekstraksiyondan sonra çözücü uzaklaştırma aşamasında sıcaklık 40 °C olarak belirlenmiştir.

Bitkilerden ekstraksiyon işlemi yapılacağına seçilen çözücüler oldukça önemlidir. Ekstraksiyon işlemlerinde çözücü olarak genellikle su, etanol, metanol, kloroform, petrol eteri ve aseton tercih edilmektedir. Su; bitkilerdeki antosiyanin, saponin, tanen izolasyonu sağlarken, kloroform; terpenoid ve flavonoidlerin izolasyonunda, metanol; polifenol, flavon, lakton, ksantoksin, antosiyonin, terpenoid izolasyonu; aseton ise; flavonol izolasyonunda kullanılmaktadır. *Sideritis* türlerinin içerdiği fitokimyasal içerik de göz önüne alındığında bu çalışmada ekstraksiyon işlemlerinde çözücü olarak metanol ve aseton tercih edilmiştir.

Bitkilerin ikincil metabolizma ürünleri olarak tanımlanan fenolik bileşikler bitkilerde en yaygın bulunan maddeler grubu olup, günümüzde binlerce fenolik bileşiğin yapısı tanımlanmıştır. Fenolik bileşikler yapılarında en az bir aromatik halka ve OH grubu içeren yapılardır. Fenolik bileşikler fenolik asitler ve flavonoidler olarak gruba ayrılırlar. Fenolik asitler, hidroksi benzoik ve hidroksisünamik asit türevleridir. Flavonoidler ise iki fenil halkasının propan zinciri ile birleşmesinden oluşan ve 15 karbon atomu içeren difenilpropan yapısındadır (Nizamlıoğlu ve Nas 2010). Aromatik halkanın yapısal farklılıkları, OH grubunun sayısı ve yeri, karbonhidratlarla ve organik asitlerle yaptıkları bileşiklere bağlı olarak çeşitlilik gösterirler. Fenolik bileşiklerin antioksidan kapasiteleri kimyasal yapılarına göre değişiklik gösterebilmektedir. Yapılarındaki aromatik halkadaki OH grubu ve bu grubun pozisyonu oldukça önemlidir. 3. ve 4. grubunda OH grubu içeren fenoller daha aktiftir. Fenolik bileşiklerin antioksidatif, serbest radikal savıcı, enzimatik aktiviteyi düzenleyici, hücre proliferasyonunu inhibe edici, antiinflamatuvar etki gösterdiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Bravo 1998, Halliwell 1994).

Sideritis cinsi ile yapılan çalışmalarda yapılarında terpen, flavonoid, iridoid, kumarin, lignan ve sterol içerdiği görülmüştür. Diterpen ve flavonoid yapısına hemen hemen tüm

türlerde rastlanmıştır. Türlerin farmakolojik aktivitesinin bu yapılardan kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Sideritis türlerinde sesquiterpen ve triterpen yapılarına çok rastlanmazken diterpen yapıları oldukça yaygın olarak bulunmaktadır. Yaklaşık 160 farklı diterpen türler içerisinde bulunmaktadır (González-Burgos *et al.* 2011). Özellikle Akdeniz ülkelerinde (Türkiye, Yunanistan ve İtalya) yetişen Sideritis türlerinin kauren diterpenleri içerdiği görülmüştür. Kauren diterpenler türevleri olan foliol, sidol, linearol, sideridiol ve isolinearol bulunmaktadır (Topcu 1999, Kilic 2006, Fraga 2003). Sideritis türleri aynı zamanda zengin bir flavonoid kaynağıdır. Sideritis türlerinde bulunan başlıca flavonoidler; flavonlar, metoksiflavonlar, sideroflavonlar, cirsiliol, ksantomikroldur. Araştırmacılar türün içerdiği flavonoid türevlerinin bitkilerin yarı-kurak yaşam alanlarına adaptasyonları için önemli rolü olduğunu bildirmişlerdir (González-Burgos *et al.* 2011). *Sideritis akmanii* türünün incelendiği fitokimyasal çalışmalarda içeriğinde Sideridiol, Sideroxol, linearol, isolinearol, foliol, isofoliol içerdiği görülmüştür (Şahin 2003, Bondi 2000).

Bitkilerdeki fenolik bileşikler yüksek redoks potansiyelleri nedeni ile önemli antioksidanlardır. Fenolik bileşikler, serbest radikalleri bağlamaları, metallerle şelat oluşturmaları ve bazı enzimleri aktive/inaktive etmeleri dolayısıyla antioksidan etkilidirler. Yapılarındaki OH grubu zincir kırıcı etki göstermektedir. H vererek redoks reaksiyonuna girmeleri, özellikle flavonoidlerin B halkalarındaki oksijen atomunun bulunduğu yerden okside olmaları sayesinde serbest radikalleri yok edebilirler. Çünkü fenolik bileşiklerdeki oksijen ile hidrojen arasındaki bağ, oluşacak fenol radikalinin rezonans kararlılığından dolayı kolaylıkla homolitik olarak parçalanabilmekte ve bunun sonucunda üzerinde mevcut olan ve bir tane elektron bulduran hidrojeni kolaylıkla verebilmektedir. Ayrıca metal şelatlama özellikleri sebebiyle de OH⁻ ve O⁻² gibi reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engelleyebilmektedirler (Naczki and Shahidi 2004).

Çalışmada kullanılan bitkilerdeki total fenolik madde içeriği Çizelge 4.1 de görüldüğü gibidir. *Sideritis akmanii* bitkisinin elde edilen metanol ve aseton ekstratlarının 1 mg'da sırasıyla 144.08±2.01 ve 117.72±6.4 µg GAE olarak fenolik bileşik bulundu. Bitkinin metanol ekstresinde, aseton ekstresine göre daha fazla fenolik madde içerdiği bulunmuştur. Metanol, bitkilerden polifenol, flavon, lakton, ksantoksilin, antosiyonin,

ölçülmüştür. Azalan absorbans geriye kalan DPPH radikalinin konsantrasyonunu verir. Çalışma esnasında standart madde olarak sentetik antioksidan BHT ile doğal antioksidan α -tokoferol kullanılmış ve ekstrelerin radikal giderici etkisi bu antioksidanlarla kıyaslanmıştır.

Çalışma sonunda Şekil 4.4 de görüldüğü gibi *Sideritis akmanii* bitkisinin metanol ve aseton ekstrelerinin artan konsantrasyonlarında (45-135 $\mu\text{g/ml}$) DPPH radikal giderme aktivitesiyle doğru orantılı olarak artış görülmüştür. *Sideritis akmanii* bitkisinin metanol ve aseton ekstrelerinin DPPH radikal giderme aktiviteleri ile sentetik antioksidan olan BHT ve doğal antioksidan α -tokoferolün 135 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonunda sırasıyla α -tokoferol > *Sideritis akmanii* nin metanol ekstresi (SAM) ~BHT > *Sideritis akmanii* bitkisinin aseton ekstresi (SAA) şeklinde belirlendi. *Sideritis akmanii* bitkisinin elde edilen metanol ve aseton ekstrelerinin DPPH giderme aktiviteleri α -tokoferol de % 78.7, metanol ekstresinde % 73.2, BHT de % 72.7 ve aseton ekstresinde % 60.1 olarak bulundu. Sonuçlar doğal antioksidan olan α -tokoferolün diğer tüm örneklerden daha etkili radikal giderici etkili olduğunu gösterdi. *Sideritis akmanii* özellikle metanol ekstresinde sentetik antioksidan olan BHT'ye benzer sonuçlar gösterdiği görüldü. Yapılan pek çok çalışmada metanol ekstresinin DPPH radikali gidermede daha etkili olduğu gösterilmiştir.

Miliauskas vd. (2004), aromatik bitkilerle yaptığı çalışmada aseton, metanol ve etil asetat ekstreleri arasında DPPH radikali gidermede metanol ekstresinin tercih edilmesi önermiştir. Arıduru ve Arabacı (2013) *Salvia officinalis* türünün DPPH radikali karşı antiradikalik etki çalışmasında yine aseton, metanol ve etil asetat ekstrelerini kullanmış, metanolün diğer iki çözücünden daha etkili olduğunu göstermiştir.

Sideritis türleri ile yapılan çalışmalar da literatürde yer almaktadır. Tunalier vd. (2004), yaptıkları kapsamlı bir çalışmada kullandıkları tüm *Sideritis* türlerin yüksek miktarda fenolik madde içermesi dolayısıyla DPPH radikali savıcı ve antioksidan etkili olduğunu belirtmişlerdir. Sagdic vd. (2008), *Sideritis ozturkii* ve *Sideritis caesarea* türleri üzerine yaptığı antioksidan aktivite çalışmasında total fenolik madde miktarı ve flavonol içeriği fazla olan *Sideritis caesareanin* DPPH radikal giderici etkisi olduğu bildirmiştir.

Literatürdeki bu çalışmalarda metanol ekstresinin yüksek radikal savıcı etkisinin, metanol ekstresinde daha fazla bulunan toplam fenolik madde miktarıyla ilişkilendirilmiştir. Benzer şekilde bu çalışmada da fenolik madde miktarı fazla olan metanol ekstresi olduğundan bu ekstrenin radikal giderici özelliği yüksek bulunmuştur.

Bitkilerden elde edilen ekstre veya onlardan izole edilen etken maddelerin total antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi için birçok metot mevcuttur (Miller *et al.* 1996). Antioksidanların tek başına ölçülmesi, zaman alıcı, pahalı ve karmaşık teknikler gerektirmektedir. Bu nedenle total antioksidan kapasite veya total antioksidan durum ölçümü günümüzde tercih edilmekte, çokça kullanılmaktadır. *Sideritis akmanii* bitkisinin metanol ve aseton ekstrelerinde bulunan total antioksidan statü, total oksidan statü, oksidatif stres indeksi verileri Çizelge 4.2 ve Şekil 4.7 de verilmiştir. *Sideritis akmanii* bitkisinin metanol ve aseton ekstrelerinin TAS değeri sırasıyla $2,32 \pm 0,4$ ve $2,38 \pm 0,2$ $\mu\text{mol Trolox Eq/g}$, TOS değeri sırasıyla $4,88 \pm 0,6$ ve $5,04 \pm 0,5$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/g}$, OSI değerleri sırasıyla $2,1 \pm 0,3$ ve $2,11 \pm 0,24$ arbitrary unit olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar bitkinin her iki ekstresinde TAS değerlerinin birbirine yakın olduğu göstermektedir. Aseton ekstresinin TOS düzeyi metanol ekstresine göre fazladır ama oksidatif stresin göstergesi olan oksidatif stres indeksi her iki ekstrede de yakın bulunmuştur.

Total antioksidan kapasitenin ölçüldüğü çalışmalar incelendiğinde *Sideritis akmanii* türünün total antioksidan kapasitesinin sarımsak, soğan, erik, çilek (sırasıyla 19.4, 4.5, 9.49, 15.36 $\mu\text{mol Trolox Eq/g}$) gibi türlerden daha düşük olduğu ancak antioksidatif özellikleri ile bilinen domates, havuç, muz ve armut gibi türlerden (sırasıyla 2.1, 1.89, 2.21, 1.34 $\mu\text{mol Trolox Eq/g}$) daha yüksek görülmektedir (Kalt *et al.* 1999, Cao *et al.* 1996).

Normal bir bitki büyümesi ve gelişmesi için beslenmenin önemli olduğu bilinmektedir. Bitkilerde besin elementi alımını etkileyen faktörler arasında iklim, toprak, genotip ve kültürel uygulamalar yer almaktadır. Bunlar arasında toprak nemi, hava nemi, fotoperiyot, sıcaklık, ışık yoğunluğu, toprak pH'ı, bitki büyüklüğü ve sağlığı, toprakta besin elementlerinin seviyesi, organik madde, bitki yoğunluğu, mikrobiyal

populasyonların yanısıra çeşitlerin morfolojik ve gelişme özellikleri de yer almaktadır. Besin elementlerinin alınabilirliği; toprağın ve elementlerin kimyasal ve fiziksel durumu ile bunların bitki metabolizmasının, bitki kök ilişkileri ile ilgilidir. Verimliliğin istenen seviyelerde olması, bitkilerin buldukları çevreyle doğrudan ilgilidir. Gerek iklimin gerekse toprağın verimlilikte önemli roller oynadıkları bilinmektedir. Bitkiler sadece kökleriyle değil, toprak üstü organları aracılığı ile de iyon absorbe ederek beslenebilirler. Topraklarımızın genel olarak organik madde içeriği düşük, fakat kil içeriği oldukça yüksek, alkali özellikle olması bazı mikro besin elementlerinin bitkiler tarafından alınmasını güçleştirmektedir. Bitki gelişiminin değişik aşamalarında toprağa uygulanan birçok kimyasal maddenin bir kısmı topraktan bitkiye, bir kısmı sızıntılarla taban suyuna geçmekte, bir kısmı ise toprak kolloitleri tarafından tutulmaktadır. Bu nedenle toprakta bulunan besin elementlerinin ancak belli bir kısmından bitkiler yararlanabilmektedir (Albregts and Howard 1980, Almaliotis *et al.* 2002, May and Pritts 1990).

Bitkilerde tuzluluk, aşırı sıcaklık, pH, ağır metal kuraklık hava kirliliği ve besin yetersizliği gibi maruz kaldığı olumsuz şartlar dolayısıyla serbest radikal oluşumu söz konusudur. Bitkilerin bu radikallerin zararlı etkilerinden korunmak için tıpkı hayvansal organizmalarda olduğu gibi hücre organellerinde (kloroplast, mitokondri, peroksizom) ve sitoplazmasında enzimatik antioksidan savunma sistemlerine sahiptirler. Süperoksit dismutaz (SOD), oksijenli solunum yapan tüm organizmalarda ROS'a karşı en etkili antioksidan metaloenzimdir. Bitkilerde Cu/Zn SOD, MnSOD ve FeSOD şeklinde üç formu bulunur. Katalaz, tetrametrik Fe içeren ROS ların detoksifikasyonu en hızlı gerçekleştiren antiosidan enzimdir. Glutatyon peroksidaz ise Se içeren H₂O₂ üzerine etkili diğer bir antioksidan enzimdir. Tüm bu antioksidan enzimler yapılarında önemli elementleri içeren metaloenzimdirler (Gill and Tuteja 2010).

İnsanların temel mineral kaynağı bitkiler olmasına rağmen, bitkiler çoğu zaman gereksinimi karşılamak için yeterli miktarda mineral içermezler. 22'den fazla mineral elementi ihtiyaç duyan insanlar, bazı elementlere büyük miktarlarda gereksinim duyarken Fe, Zn, Cu, I ve Se gibi elementlerin, yüksek konsantrasyonları zararlı belirli miktarları ise gereklidir (Martinez-Ballesta *et al.* 2010)

Endemik *Sideritis* türleri (*Sideritis germanicopolitana*, *Sideritis galatica* ve *Sideritis hispida*) bioelement içeriğinin belirlendiği bir çalışmada, *Sideritis* türlerinin ağır metal konsantrasyonlarının, tıbbi bitkilerde sağlık riski olmadan insan tüketimi için belirlenen sınırların içerisinde olduğu ayrıca Türkiye'de yetişen *Sideritis* türlerinin, insan beslenmesi için demir ve potasyum gibi bazı besin öğelerinin önemli bir kaynağı olarak görülebileceği belirtilmiştir (Korkmaz vd.2017).

Bu çalışmada *Sideritis akmani* türünün mineral madde profili de incelenmiştir. *Sideritis akmanii* türünün diğer *Sideritis* türlerinde olduğu gibi Fe ve K konsantrasyonunun yanında Mg ve Al konsantrasyonlarının yüksek oluşu göze çarpmaktadır. Bunun yanında antioksidan enzim yapısına katılan Zn, Mn ve Cu konsantrasyonları oldukça yüksektir. Ancak glutatyon peroksidaz yapısına katılan Se elementi konsantrasyonu ölçülebilir düzeyler arasında olmadığı için kaydedilememiştir.

Sonuç olarak, *Sideritis akmani* bitkisinin metanol ve aseton ekstraktlarının içerdiği fenolik maddeler dolayısıyla antioksidatif etkili olabileceği düşünülebilir. Belirlenen TAS, TOS ve OSI değeri de bunu destekler niteliktedir. Metanol ekstresinin radikal savııcı etkisinin sentetik antioksidan BHT'ye yakın olduğu ve aseton ekstresinin radikal savııcı etkisinden fazla olduğu görülmüştür. Bu değerler türün özellikle de metanol ekstresinin antiradikal etkili olduğunu göstermektedir. Türün içerdiği mineral maddeler antioksidan enzim yapısına katılan (Mn, Zn, Fe, Cu) önemli minerallerdir. Sentetik antioksidanların etkilerinin bulunmasından dolayı doğal antioksidan kaynakları üzerine çalışmalar hız kazanmıştır. Bitkilerin antioksidan aktivitelerinin tespiti, türlerin aktif bileşenlerinin belirlenmesi, yapılarının aydınlatılması ve saflaştırılması çalışmalarının ilk basamağını oluşturmaktadır. Sahip olduğu total fenolikler, radikallere karşı gösterdiği etki, TAS, TOS, OSI değerleri ve içerdiği mineral maddeler sebebiyle *Sideritis akmani* bitkisinin fitoterapik çalışmalarda özellikle de antioksidatif etki çalışmalarında kullanılabilecek tür olduğu düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Akkuş, I.(1995). Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları, 38, Kuzucular Ofset, Konya-Türkiye.
- Aksoy, L.ve Sözbilir, N.B. (2015) Trace and major element levels in rats after oral administration of diesel and biodiesel derived from opium poppy (*Papaver somniferum* L.) seeds.*Toxicol Ind Health*, **31**(10) :890-897.
- Aksoy, Y.(2002). Antioksidan mekanizmada glutatyonun rolü. *T Klin Tıp Bilimleri*,**22**: 442-448.
- Albregts, E.E. and Howard, C.M.(1980). Accumulation of nutrients by strawberry plants and fruit grown in annual hill culture. *Journal of the American Society for Horticultural Science*,**105**: 386-388.
- Alkofahi, A.S., Abdelaziz, A., Mahmoud, I., Abuirjie, M., Hunaiti A. and El-Oqla A., (1990). Cytotoxicity, mutagenicity and antimicrobial activity of fortyjordanian medicinal plants. *International Journal of Crude Drug Research*,**28**: 139-144.
- Almaliotis, D., Velemis, D, Bladenopoulou and S., Karapetsas, N.(2002). Leaf nutrient levels of strawberries (cv.Tudla) in relation to crop yield. *Acta Horticulturae*,**567**: 447-450.
- Ames, B.N., Shigenaga, M.K. and Hagen, T.M.(1993). Oxidants, Antioxidants, and the Degenerative Diseases of Aging. *Proceedings of the National Academi of Science*,**90**: 7915-7922.
- Antmen, E. (2005). Beta Talasemide Oksidatif Stres.Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B., Berker, K.I. ve Özyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, **12**: 1496-1547.
- Arıdurur, R. ve Arabacı, G. (2013). Ciğertaze otu (*salvia officinalis*) bitkisinin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi.*Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Dergisi*,**17**:241-246.

- Asad, N.R., Asad, L.M.B.O., Bonacossa de Almeida, C.E., Felzenszwalb, I., CabralNeto, J.B. and Leitão, A. C.(2004). Several pathways of hydrogen peroxide action that damage the E. coli genome. *Genetics and Molecular Biology*, **27**: 291-303.
- Avcı, M. (2005). Çeşitlilik ve endemizm açısından Türkiye'nin bitki örtüsü. *Coğrafya Dergisi*, 13.
- Aytaç, Z., Ekici, M., Karaveliogullari, F.A., Donmez, A. veDuran, A. (1995). Three New species (Labiatae) from Turkey. - *Fl. Medit.*, **V**: 221-228.
- Aytaç, Z. ve Aksoy, A. (2000). A New Sideritis species (Labiatae) from Turkey.*Flora Meditt.*, **10**: 181-184.
- Bast, A., Haenen, G.R.M. M.andDoelman, C.J.A.(1991). Oxidants and Antioxidants: State of the Art. *American Journal Medical.*, **91**:2-13.
- Baytop, T. (1984).Türkiye'de Bitkilerle Tedavi. İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul.
- Baytop, A. (1991). Farmasötik Botanik. İstanbul Üniversitesi. Yayınları No:3637, Eczacılık Fakültesi Yayınları., No:**58**, 234-237, İstanbul.
- Baytop, T. (1999). Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün), Nobel TıpKitabevleri. İstanbul.
- Blois, M.S., (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, **26**: 1199-1200
- Bondi, L. M., Bruno, M., Piozzi, F., Başer, K.H.C. and Simmonds, S.J. (2000).Diversity and Antifeedant Activity of Diterpenes from Turkish Species of *Sideritis*.*Biochemical Systematics and Ecology*, **28**: 299-303.
- Berantley, R.E., (1993). The Mechanism of Autoxidation of Myoglobin. *Journal Biology Chemistry.*, **268**: 6995–7010.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutritional Rev*, **56**: 317-333.
- Burtis, C.A., Ashwood, E.R. (1999). Tietz Textbook of Clinical Chemistry. W.B. Saunders Company. Philadelphia, Pennsylvania.

- Cao, G. and Prior, R.L. (1999). In vivo antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radical Biology and Medicine*, **27**: 1173-1181.
- Chaudiere, J. and Ferrari-Iliou, R., (1999). Intracellular Antioxidants: From chemical to biochemical mechanisms. *Food and Chemical Toxicology*, **37**: 949-962.
- Cheeseman, K.H. and Slater, T.F.(1993). An Introduction to Free Radical Biochemistry. *Br. Med. Bull.*, **49**: 481-93.
- Çarıkci,S.(2010). Bazı Sideritis (Sideritis Niveotomentosa, Sideritis Hololeuca, Sideritis Brevidens) Türlerinin Diterpenik Bileşenlerinin izolasyonu ve Yapılarının Tayini.Doktora Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı.
- Çıtak, S. (2012). Çeşitli sideritis türlerinden izole edilen linearol bileşiği üzerine deneysel ve hesapsal çalışmalar, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı.
- Davis, P.H.(1982). Flora of Turkey and East Aegean Islands, Vol. 7, Edinburgh: Press University of Edinburgh.
- Dawn, B.M., Allan, D.M. and Colleen, M.S. (1996). Basic Medical Biochemistry a Clinical Approach. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland.
- Deaton, C.M. and Marlin, D.J. (2003). Exercise-Associated Oxidative Stress.*Clinic Technical Equine Pract*, **2**: 278-291.
- Demirayak, F. (2002). Biyolojik Çeşitlilik-Doğa koruma ve sürdürülebilir kalkınma. Tübitak Vizyon 2023 Projesi Çevre Sürdürülebilir Kalkınma Paneli.
- Dikilitaş, M., Guldur, M.E., Deryaoglu, A. ve Erel, O. (2011). Antioxidant and Oxidant Levels of Pepper (*Capsicum annum* cv. ‘Charlee’) Infected with Pepper Mild Mottle Virus, *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, Vol 39, **2**: 58-63
- Domıgan, N.M., Charlton, T.S., Duncan, M.W., Winterbourn, C.C. and Kettle, A.J.(1995). Chlorination of Tyrosyl Residues in Peptides by Myeloperoxidase and Human Neutrophils. *Journal Biology Chemistry.*, **270**: 16542– 16548.

- Duman, H., Aytaç, Z., Ekici, M., Duman, A. ve Dönmez, A.A.(1995). Three new species (Labiatae) from Turkey. *Flora Mediterranea, Palermo*, **5**: 221–228.
- Duman, H., Başer, K.H.C.ve Aytaç, Z. (1998). Two new species and a new hybrid from Anatolia. *Turkish Journal of Botany*, **22**: 51–57.
- Duman, H., Aytaç, Z. , Ekici, M. , Karaveliogullari, F.A., Dinmez, A. ve Duran, A. (1995). Three new species (Labiatae) from Turkey. - *Fl. Medit.* **5**: 221-228.
- Eken, S. (2007). Bazı Materyallerde Antioksidan Tayinleri.Yüksek Lisans Tezi,Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Ekim, T., Koyuncu, M. Erik, S.ve İlarıslan, R. (1989). Türkiye'nin Tehlike Altındaki Nadir ve EndemikBitkileri Türkiye Tabiatı Koruma Derneği, Yayın no: **18**: 227.
- Ekim, T.,Güner, A., Özhatay, N. ve Başer, K.H.C. (2000). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol: 11, Edinburg Univercity. Pres., Edinburg, p: 201-204.
- Eloff, J.N. (1998). Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants.*Journal Ethnopharmacol*,**60**: 1-8.
- Erenel, G., Erbaş, D. veArıcıoğlu, A. (1992). Serbest Radikaller ve Antioksidan Sistemler. *Gazi Tıp Dergisi.*, **3**: 243-250.
- Ezer, N., Sezik, E., Erol, K. ve Özdemir, M. (1991). Bazı Sideritis Türlerinin Antispazmodik Etkileri, IX. Bitkisel ilaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, 16-, Ed. K. H. C. Başer, s: 371.
- Fantel, A.G.(1996). Reactive Oxygen Species in Developmental Toxicity: Review and Hypothesis. *Teratology*, **53**: 96–217.
- Feinburg-Dothan, N. (1978), Flora Palaestina. The Israel Academy of Sciences and Humanities, Jarrusalem, Three Text, 155-56.
- Fraga, B., Hernández, M. and Díaz, C. (2003). On the ent-kaurene diterpenes from *Sideritis athoa*. *Natural Product Research*,**17**: 141–144.
- Freeman, B.A. and Crapo, J.D.(1982). Free Radicals and Tissue Injury. *Laboratory. Investigation.*, **47**: 412-426.

- Fridovich, I.(1997). Superoxide Anion Radical, Superoxide Dismutases and Related Matters. *Journal Biology Chemistry.*, **272**: 18515-18525.
- Gill, S.S. and Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol Biochem. Dec*, **48**:909-930.
- Gomberg, M.(1900). An incidence of trivalent carbon trimethylphenyl. *Journal American Chemistry Society.*, **22**: 757-771.
- Gonzalez-Burgos, E., Gomez-Serranillos, M.P., Palomino, O.M. and Carretero, M.E., (2009). Aspectos botanicos y farmacologicos del genero *Sideritis*. *Revista de Fitoterapia*, **9**: 133–145.
- Gonzalez, B.E., Carretero, M.E. and GomezSerranillos, M.P.(2011). *Sideritis* spp.: Uses, chemical composition and pharmacological activities—A review. *Journal of Ethnopharmacology*, **135**:209–225.
- Görünmezoğlu, Ö. (2008). Kayısı ve İncir Meyvelerinin Antioksidan Kapasitelerinin Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Graf, E., Mahoney, J.R., Bryant, R.G. and Eaton, J.W. (1984). Iron-Catalyzed Hydroxyl Radical Formation. *The Journal Of Biological Chemistry*, **259**: 3620-3624.
- Güçlü, K., Apak, R. ve Özyürek, M. (2009). Hidroksil ve Süperoksit Radikallerinin Süpürülmesine Dayalı Yeni Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemlerinin Geliştirilmesi. Tübitak Proje, pp. 1-114.
- Gülçin, İ. (2006). Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*, **217**: 213–220.
- Gülçin, İ. Beydemir S., Sat, İ.G. ve Küfrevioğlu, Ö. (2005). Evaluation of antioxidant activity of cornelian cherry (*Cornus mas* L.). *Acta Alimentaria*, **34**: 193-202.
- Gülçin, İ., Köksal, E., Elmastas, M. ve Aboul-Enein, H.Y. (2007). Determination of in vitro antioxidant and radical scavenging activity of *Verbascum oreophilum* C. KOCH var. *joannis*. *Research Journal of Biological Sciences*, **2**: 372-382.

- Gümüşçü, A., Tugay, O. ve Kan, Y. (2011). Comparison of Essential Oil Compositions of Some Natural and Cultivated Endemic Sideritis Species. *Advances in Environmental Biology*, **5**: 222-226.
- Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T. ve Başer, K.H.C.(2000). Flora of Turkey and the Aegean Islands, vol. 11, Edinburgh at the University Press.
- Halliwell, B.(1994). Free Radicals and Antioxidants: A Personal View. *Nutr.*,**52**: 253-265.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C.(1984). Oxygen Toxicity, Oxygen Radicals, Transition Metals and Disease. *Biochem. J.*, **219**: 1-14.
- Halliwell, B. andGutteridge, J.M.C.(1999). Free Radicals in Biology and Medicine. Third Edition, Oxford University Pres. Inc., 936s New York.
- Heywood, V.H. (1978), Flowering Plants of The World, Oxford Univercity Pres, 239, Londra.
- Ivancheva, S. and Stantcheva, B. (2000). Ethnobotanical inventory of medicinal plants in Bulgaria. *Journal of Ethnopharmacology*, **69**: 165–172.
- İpek, A. veGürbüz B., (2010). Türkiye Florasında Bulunan Salvia Türleri ve Tehlike Durumları.*Tarla Bitkileri merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, **19**: 30-35.
- Jensen, S.J.K. (2003). Oxidative stress and free radicals. *Journal of Molecular Structure (Theochem)*, **666–667**: 387–392.
- Kahkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S. and Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**: 3954-3962.
- Kalt, W., Forney, C.H., Martin, A. and Prior, R.L. (1999). Antioxidant Capacity, Vitamin C, Phenolics, and Anthocyanins After Fresh Storage of Small Fruits. *Journal. AgricultureFood Chemistry*.**47**:4638-4644.
- Kappus, H.(1987). A Survey of Chemicals Inducing Lipid Peroxidation in Biological systems. *Chemistry Physical Lipids.*, **45**: 105–115.
- Karabulut, H. ve Gülay, M.Ş. (2016). Serbest Radikaller, *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi***4**: 50-59

- Karaman, S. ve Kocabaş, Y.Z. (2001). Traditional medicinal plants of Kahramanmaraş (Turkey). *The Sciences*, **1**: 125–128.
- Kaur, C. and Kapoor, H.C. (2001). Antioxidants in fruits and vegetables—the Millennium’s health. *International Journal of Food Science and Technology*, **36**: 703–725.
- Kaya, A. (1997). Türkiyede Yetişen AcinosMiller Türleri Üzerinde Morfolojik Anatomik ve Kimyasal Araştırmalar. Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Keha, E. ve Küfrevioğlu, Ö.İ.(2000). Biyokimya. Aktif Yayınevi, Erzurum.
- Kehrer, J.P.(1993). Free Radicals as Mediators of Tissue Injury and Disease. *Critical Reviews Toxicology*, **23**: 21–48.
- Kilic, T., (2006). Isolation and biological activity of new and known diterpenoids from *Sideritis stricta* Boiss & Heldr. *Molecules*, **11**:257–262.
- Kılınç K. ve Kılınç A., (2002). Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*, **33**: 110-118
- Kırimer, N., Kürkçüoğlu, M., Baser, K.H.C. ve Tümen, G. (1995). A Review, 13th International Congress of Flavours, Fragrances and Essential Oils, İstanbul.
- Kırimer, N., Kürkçüoğlu, M., Özek, T., Baser, K.H.C. ve Tümen, G. (1996). Composition of The Essential Oil of *Sideritis Condensata* Boiss. *Et Heldr Flavour and Fragrance Journal*, **11**: 315-317.
- Korkmaz, K., Kara Şevket, M., Özkutlu, F., Akgün, M. ve Coşge, B. (2017). Profile of Heavy Metal and Nutrient Elements in Some *Sideritis* Species. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, **51**: 209-212
- Larcher, W. (2003). *Physiological Plant Ecology: Ecophysiology and Stress Physiology of Functional Groups*. Springer Science & Business Media, 513.
- Leporatti, M.L. and Impieri, M. (2007). Ethnobotanical notes about some uses of medicinal plants in Alto Tirreno Cosentino area (Calabria, Southern Italy). *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* **3**:1–6.

- Marnett, L.J.(2000). Oxyradicals and DNA Damage. *Carcinogenesis*, **21**: 361- 370.
- Martinez-Ballesta, M.C., Dominguez-Perles, R., Moreno, D.A., Muries, B., Alcaraz-Lopez, C., Bastias, E., Garcia-Viguera, C. and Carvajal, M. (2010). Minerals in plant food: effect of agricultural practices and role in human health. *A review Agronomy Sustainable Development*,**30**: 295–309
- Mates, J. M., Perez-Gomez, C.and Nunez De Castro, I.(1999). Antioxidant Enzymes and Human Diseases. *Clinic Biochemistry*., **32**: 595-603.
- May, G.M. and Pritts, M.P.(1990). Strawberry nutrition. *Advances in Strawberry Production*, **9**: 10–24.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P.R. and Van beek, T.A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts.*Food Chemisrty*, **85**:231-237.
- Mill, M., Sideritis, L. (1982).Flora of Turkey and East Aegean Islands. ed., Davis, Philippens University Press, Edinburgh V.
- Miller, D.D. (1996). Mineral. Food Chemistry, Fennema, O.R. (Ed.), Dekker: New York,p 618–649.
- Mohammad, A., Akram, R., Shahin, S., Shekoufeh, N.and Ali, R.(2004). Pesticides and Oxidative Stress: A Review. *Medical Science Moni*, **10**: 141-147.
- Naczk, M. and Shahidi, F.,(2004). Extarction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*,**1054**: 95-111.
- Nelson, D.L. and Cox, M.M.(2004). Lehninger Principles of Biochemistry, Fourth edition. W.H. Freeman and Company, New York.
- Nizamlıoğlu, N.M. ve Nas, S., (2010). Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik Bileşikler.*Yapıları ve Önemleri*,**5**: 20-35.
- Nordberg, J. and Arner, E.S.J.(2001). Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine*,**31**: 1287-1312.

- Oruc, E.O., Sevgiler, Y. ve Uner, N.(2004). Tissue-specific Oxidative Stress Responses in Fish Exposed to 2,4-D and Azinphosmethyl *Comparative Biochemistry Physiology., Part C*, **137**: 43-51.
- Ozkan, A. ve Fıskın, K.(2004). Free Radicals, Carcinogenesis and Antioxidant Enzymes. *Tr. J. Hem. Oncology.*,**14**: 52-60.
- Özkan, A., Gündüz, G., Çıplak, B. ve Fıskın, K. (2000). Kimyasal mücadele uygulanmış *Dociostaurus Maroccanus* epidemik populusyonundan alınan örneklerde antioksidan enzim aktiviteleri. *Turkish Journal of Biology*, **24**: 141-149.
- Rice-Evans, C.A., Diplock A.T. and Symons, M.C.R.(1991). Techniques in Free Radicals Research. *Elsevier, Amsterdam*, **22**:1-278.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. and Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, **2**: 152-159.
- Sagdic, O., Aksoy, A., Ozkan, G., Ekici ve L., Albayrak, S.(2008). Biological activities of the extracts of two endemic *Sideritis* species in Turkey. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*,**9**: 80–84.
- Seifried, H.E., Andersson, D.E., Fisher, E.I. and Milner, J.A.(2007). A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **18**: 567-579.
- Shahidi, F. (1996). Natural antioxidants: chemistry, health effects, and applications. AOCS Press, Champaign- Illinois 1-11. AOCS Press, Champaign Illinois, pp. 209, USA.
- Shoib A. Baba and Shahid A. Malik, (2015). Determination of total phenolic and flavonoid content, antimicrobial and antioxidant activity of a root extract of *Arisaema jacquemontii* Blume. *Journal of Taibah University for Science*,**9**:449–454.
- Sinclair, A.J., Barnett, A.H. and Junec, J.(1990). Free Radicals and Antioxidant Systems in Health and Disease. *British Journal Hospital Medical.*, **43**: 334-344.

- Slater, T.F. (1984). Free radical mechanisms in tissue injury. *Journal Biochemistry*, **222**: 1-15.
- Slinkard, K. and Singleton, V.L. (1977). Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods. *Am J Enol Viticult*, **28**:49-55.
- Stadtman, E.R.(2002). Importance of individuality in oxidative stress and aging. *Free Radical Biology and Medicine*, **33**: 597-604.
- Şahin, F.P., (2003). Bazı *Sideritis* L. Türleri Üzerinde Farmasötik Botanik ve Fitokimyasal Çalışmalar, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Temple, N.J.(2000). Antioxidants and disease: more questions than answers. *Nutritional Research*, **20**: 449-459.
- Thornaley, P.J. and Vasak, M.(1985). Possible Role of Metallothionein in Protection against Radiation-Induced Oxidative Stress: Kinetics and Mechanism of Its Reaction with Superoxide and Hydroxyl Radicals, *Biochemistry Biophysical Acta.*, **827**: 35–44.
- Tietz, N.W. (1995). *Clinical Guide to Laboratory Tests*. W.B. Saunders Company. Philadelphia, Pennsylvania.
- Topçu, G., Gören, A.C., Yıldız, Y.K. ve Tümen, G., (1999). Ent-kaurene diterpenes from *Sideritis athena*. *Natural Product Letters*, **14**: 123–129
- Tunalier, Z., Kosar, M., Ozturk, N., Baser, K.H.C., Duman, H. ve Kirimer, N.(2004). Antioxidant properties and phenolic composition of *Sideritis* species. *Chemistry of Natural Compounds*, **40**: 206–210.
- Weiss, S.J., Lobuglio, A.F.(1982). Phagocyte-Generated Oxygen Metabolites and Cellular Injury. *Laboratory Investigation.*, **47**: 5–18.
- Wickens, A.P.(2001). Ageing and Free Radical Theory. *Respiration Physiology*, **128**: 379–391.
- Yesilada, E., Honda, G., Sezik, E., Tabata, M., Fujita, T., Tanaka, T., Takeda, Y. and Takaishi, Y.(1995). Traditional medicine in Turkey V. Folk medicine in the inner Taurus Mountains. *Journal of Ethnopharmacology*, **46**:133–152.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : İsmail GÜZEY
Doğum Yeri ve Tarihi : Konya-25.01.1988
Yabancı Dili : İngilizce
İletişim (Telefon/e-posta) : 0 554 613 46 07 / isogzyy@gmail.com

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Konya Karatay Lisesi, (2001-2004)
Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen-Edebiyat
Fakültesi, Kimya Bölümü (2009-2014)

Çalıştığı Kurum ve Yılı: Tahmaz Dil Okulu
(2015-halen)