



T.C.  
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

*Nepeta fissa* ve *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* BİTKİ TÜRLERİNİN  
ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN FARKLI *in vitro*  
METOTLAR ile BELİRLENMESİ ve FENOLİK İÇERİKLERİNİN  
HPLC ile ANALİZİ

İbrahim TEBER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Anabilim Dalı

Kasım-2019

MUŞ

Her Hakkı Saklıdır



T.C.  
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

*Nepeta fissa* ve *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* BİTKİ TÜRLERİNİN  
ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN FARKLI *in vitro*  
METOTLAR ile BELİRLENMESİ ve FENOLİK İÇERİKLERİNİN  
HPLC ile ANALİZİ

İbrahim TEBER

Danışman: Prof. Dr. Ercan BURSAL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Anabilim Dalı

Kasım-2019

MUŞ

Her Hakkı Saklıdır

## TEZ KABUL VE ONAYI

İbrahim TEBER tarafından hazırlanan “*Nepeta fissa* ve *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* Bitki Türlerinin Antioksidan Aktivitelerinin Farklı *in vitro* Metotlar ile Belirlenmesi ve Fenolik İçeriklerinin HPLC ile Analizi” adlı tez çalışması 22/11/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

### Jüri Üyeleri

#### Başkan

Prof. Dr. Ercan BURSAL  
Muş Alparslan Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Fakültesi  
Hemşirelik Bölümü

#### Danışman

Prof. Dr. Ercan BURSAL  
Muş Alparslan Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Fakültesi  
Hemşirelik Bölümü

#### Üye

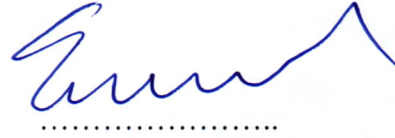
Dr. Öğr. Üyesi Fikret TÜRKAN  
İğdır Üniversitesi  
Fen Edebiyat Fakültesi  
Kimya Bölümü

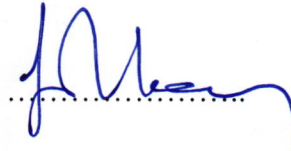
#### Üye

Dr. Öğr. Üyesi Yusuf ALAN  
Muş Alparslan Üniversitesi  
Eğitim Fakültesi  
Okul Öncesi Eğitimi

### İmza


  
.....

  
.....

  
.....

  
.....

Yukarıdaki sonuç;  
Enstitü Yönetim Kurulu 28./11./2019 Tarih ve 36./.../III.... nolu kararı  
ile onaylanmıştır.

  
Doç. Dr. Sedat BOZARI  
FBE Müdürü

Bu tez çalışması Muş Alparslan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Komisyonu tarafından BAP-18-SYO-4902-01 nolu proje ile desteklenmiştir.

## TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

## DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İbrahim TEBER  
22/11/2019



## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS

#### ***Nepeta fissa* ve *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* BİTKİ TÜRLERİNİN ANTIÖKSİDAN AKTİVİTELERİNİN FARKLI *in vitro* METOTLAR ile BELİRLENMESİ ve FENOLİK İÇERİKLERİNİN HPLC ile ANALİZİ**

**İbrahim TEBER**

**Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü  
Kimya Anabilim Dalı**

**Danışman: Prof. Dr. Ercan BURSAL**

**Yıl 2019, 63 Sayfa**

**Jüri**

**Danışman: Prof. Dr. Ercan BURSAL**

**Jüri Üyesi: Dr. Öğr. Üyesi Yusuf ALAN**

**Jüri Üyesi: Dr. Öğr. Üyesi Fikret TÜRKAN**

**Jüri Üyesi: Prof. Dr. Ercan BURSAL**

Bu çalışmadaki temel amaç *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* ve *Nepeta fissa* bitki türlerinin su ve etanol ekstralarının antioksidan özelliklerini tayin edilmesi ve fenolik bileşik içeriklerinin HPLC ile incelenmesidir.

*Nepeta nuda* subsp. *albiflora* ve *Nepeta fissa* bitki türlerinin antioksidan aktivitelerini belirlemek için tiyosiyanat ile antioksidan aktivite tayini, ABTS radikal giderme aktivitesi, DPPH serbest radikal giderme aktivitesi, FRAP (ferrik iyonları indirgeme gücü) ve CUPRAC (kuprik iyonları indirgeme kapasitesi) *in vitro* biyoanalitik metotları olarak çalışıldı. Antioksidan çalışmalarda sonuçlar standart antioksidanlar BHA, BHT, tokoferol, troloks ve askorbik asit ile karşılaştırıldı. Bu çalışmada *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* ve *Nepeta fissa* bitki türlerinin su ve etanol ekstralarının ABTS radikal giderme aktiviteleri, DPPH radikal giderme aktiviteleri, kuprik ( $Cu^{2+}$ ) iyonlarını indirgeme kuvveti ve ferrik ( $Fe^{3+}$ ) indirgeme kuvveti aktiviteleri orta düzeyde etki gösterdikleri tespit edildi.

Ayrıca bitki numunelerinin HPLC ile fenolik bileşik tayinleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre *Nepeta fissa* ve *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* bitkilerinin her ikisinde de etanol ekstresi su ekstresine göre belirgin olarak en çok miktarda bulunan fenolik bileşik olmuştur. Ayrıca apigenin ve rosmarinik asit iki bitki türünde en fazla bulunan bileşikler olarak tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Antioksidan aktivite, HPLC, *Nepeta fissa*, *Nepeta nuda*

## ABSTRACT

### GRADUATE THESIS PROJECT

#### **DETERMINATION of ANTIOXIDANT ACTIVITIES of *Nepeta fissa* and *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* by DIFFERENT *in vitro* METHODS and ANALYSES OF THEIR PHENOLIC COMPOUNDS by HPLC**

**İbrahim TEBER**

**THE GRADUATE SCHOOL of NATURAL and APPLIED SCIENCE of MUŞ  
ALPARSLAN UNIVERSITY  
THE DEGREE of MASTER of SCIENCE in CHEMISTRY SCIENCE**

**Advisor: Prof. Dr. Ercan BURSAL**

**2019, 63 Pages**

**Jury**

**Advisor: Prof. Dr. Ercan BURSAL**

**Jury member: Assist. Prof. Dr. Yusuf ALAN**

**Jury member: Assist. Prof. Dr. Fikret TÜRKAN**

**Jury member: Prof. Dr. Ercan BURSAL**

The main aim of this study is to determine the antioxidant activities of ethanol and water extracts of *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* and *Nepeta fissa* and evaluate the phenolic compounds of these plants by HPLC.

In order to determine the antioxidant activity of these plant extracts; thiocyanate antioxidant assay, ABTS cation radical scavenging activity, DPPH· free radical scavenging activity, FRAP method (ferric ions reducing antioxidant potential), and CUPRAC method (cupric ions reducing antioxidant capacity) *in vitro* bioanalytical methods were studied. The results were compared to BHA, BHT, tocopherol, trolox, and ascorbic acid as standard antioxidant compounds. Aqueous and ethanol extracts of *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* and *Nepeta fissa* presented moderate antioxidant potential on ABTS, DPPH, FRAP, and CUPRAC assays.

Additionally, determination of phenolic compounds by HPLC were achieved for plant samples. It was determined that the ethanol extract was determined to contain higher phenolic compounds than to the water extract for both *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* and *Nepeta fissa*. It was also determined that apigenin and rosmarinic acid were the major phenolic compounds for plant species.

**Key Words:** Antioxidant activities, HPLC, *Nepeta fissa*, *Nepeta nuda*

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimde maddi ve manevi her türlü desteğini sağlayan, tecrübesiyle bana birçok şey katan tez danışmanım Prof. Dr. Ecan BURSAL hocama saygılarımı sunar ve teşekkür ederim. Çalışma bitkilerinin temini ve sistematığını yapan Adıyaman Üniversitesi öğretim üyesi Doç. Dr. Ömer KILIÇ'a çok teşekkür ederim. Proje çalışmalarının yürütülmesi sırasında her türlü yardım ve desteklerini esirgemeyen Muş Alparslan Üniversitesi Merkezi Laboratuvar sorumlu ve çalışanlarına teşekkür ederim.

Ayrıca, BAP-18-SYO-4902-01 nolu projemize finansal destek sağlayan Muş Alparslan Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar-Yayımlar ve Projeler Uygulama ve Araştırma Merkezi (BAYPUAM)'a teşekkürü bir borç bilirim.

Her zaman yanımda olan desteğini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili eşim Merve TEBER ve bu günlere gelmemi sağlayan değerli aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İbrahim TEBER

## İÇİNDEKİLER

TEZ BİLDİRİMİ .....	iii
ÖZET .....	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
TABLO LİSTESİ.....	x
SEMBOLLER VE KISALTMALAR.....	xi
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1. Çalışmada Kullanılan Bitki Türleri.....	3
1.1.1. <i>Nepeta nuda</i> subsp. <i>albiflora</i> .....	3
1.1.2. <i>Nepeta fissa</i> .....	4
1.2. Serbest Radikaller .....	5
1.2.1. Serbest radikal kaynakları ve reaktif oksijen türleri .....	8
1.2.1.1. Endojen kaynaklar .....	9
1.2.1.2. Eksojen kaynaklar .....	9
1.3. Antioksidanlar.....	9
1.3.1. Antioksidanların sınıflandırılması .....	11
1.3.1.1 Enzimatik antioksidanlar .....	11
1.3.1.2. Doğal antioksidanlar .....	12
1.3.1.3. Sentetik antioksidanlar.....	13
1.3.2. Antioksidan etkiler.....	14
1.4. Fenolik Bileşikler.....	14
<b>2. KAYNAK ARAŞTIRMASI</b> .....	<b>17</b>
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	<b>21</b>
3.1. Materyal .....	21
3.1.1. Kullanılan bitki materyali .....	21
3.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler .....	21
3.1.3. Metotlarda kullanılan çözeltilerin hazırlanması .....	21
3.1.3.1. ABTS metodunda kullanılan çözeltiler.....	22
3.1.3.2. DPPH metodunda kullanılan çözeltiler.....	22
3.1.3.3. Tiyosiyanat metodunda kullanılan çözeltiler .....	22
3.1.3.4. FRAP metodunda kullanılan çözeltiler.....	23
3.1.3.5. CUPRAC metodunda kullanılan çözeltiler.....	23
3.1.4. Kullanılan cihazlar .....	23
3.2. Yöntem.....	24
3.2.1. Bitkilerin su ve etanol ekstraktlarının hazırlanması.....	24
3.2.2. CUPRAC metoduna göre indirgeme kapasitesi tayini .....	24
3.2.3. FRAP yöntemine göre indirgeme kapasite tayini .....	25
3.2.4. DPPH serbest radikali giderme aktivitesi tayini .....	25
3.2.5. ABTS <sup>+</sup> radikali giderme aktivitesi tayini.....	26
3.2.6. Tiyosiyanat metoduna göre toplam antioksidan aktivite tayini .....	27
3.2.7. HPLC ile fenolik içerik analizi .....	27
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA</b> .....	<b>30</b>
4.1. Bitki Numunelerinin Antioksidan Aktivite Tayinleri .....	30
4.1.1. ABTS yöntemi sonuçları .....	30
4.1.2. DPPH yöntemi sonuçları .....	31
4.1.3. FRAP yöntemi sonuçları.....	32
4.1.4. CUPRAC yöntemi sonuçları.....	33
4.1.5. Tiyosiyanat yöntemi sonuçları.....	34



4.2. Bitki Numunelerinin HPLC ile Fenolik Bileşik Tayinleri.....	35
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>43</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>50</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>57</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>64</b>



## ŞEKİL LİSTESİ

<u>Sekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1. <i>Nepeta nuda</i> subsp. <i>albiflora</i> bitki türünün doğadaki fotoğrafı.....	3
Şekil 1.2. <i>N. nuda</i> subsp. <i>albiflora</i> bitkisinin bulunduğu iller .....	4
Şekil 1.3. <i>Nepeta fissa</i> bitki türünün herbaryumdaki fotoğrafı.....	5
Şekil 1.4. <i>Nepeta fissa</i> bitkisinin bulunduğu iller.....	5
Şekil 1.5. Bazı fenolik bileşik kimyasal yapıları .....	16
Şekil 4.1. <i>Nepeta fissa</i> ve <i>Nepeta nuda</i> subsp. <i>albiflora</i> etanol ve su ekstralarının farklı derişimlerinin (10-50 µg/ml) ABTS <sup>•+</sup> giderme aktivitelerinin grafiği.....	30
Şekil 4.2. <i>Nepeta fissa</i> ve <i>Nepeta nuda</i> subsp. <i>albiflora</i> etanol ve su ekstralarının farklı derişimlerinin (10-50 µg/ml) DPPH <sup>•</sup> giderme aktivitelerinin grafiği.....	31
Şekil 4.3. <i>Nepeta fissa</i> ve <i>Nepeta nuda</i> subsp. <i>albiflora</i> etanol ve su ekstralarının farklı derişimlerinin (10-50 µg/ml) ferrik iyonlarını indirgeme kuvveti tayini.....	33
Şekil 4.4. <i>Nepeta fissa</i> ve <i>Nepeta nuda</i> subsp. <i>albiflora</i> etanol ve su ekstralarının farklı derişimlerinin (10-50 µg/ml) kuprik iyonlarını indirgeme kuvveti tayini.	34
Şekil 4.5. <i>Nepeta fissa</i> ve <i>Nepeta nuda</i> subsp. <i>albiflora</i> etanol ve su ekstralarının ferrik tiyosiyonat metoduna göre antioksidan aktivite tayini.....	35
Şekil 4.6. <i>Nepeta fissa</i> etanol ekstresi 272, 280 ve 310 nm’de elde edilen fenolik bileşik HPLC kromatogramları .....	38
Şekil 4.7. <i>Nepeta fissa</i> su ekstresi 272, 280 ve 310 nm’de elde edilen fenolik bileşik HPLC kromatogramları.....	39
Şekil 4.8. <i>Nepeta nuda</i> etanol ekstresi 272, 280 ve 310 nm’de elde edilen fenolik bileşik HPLC kromatogramları.....	40
Şekil 4.9. <i>Nepeta nuda</i> su ekstresi 272, 280 ve 310 nm’de elde edilen fenolik bileşik HPLC kromatogramları.....	41

## TABLO LİSTESİ

<b><u>Tablo No</u></b>	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>Tablo 3.1.</b> HPLC analizleri için kullanılan deneysel koşullar.....	<b>29</b>
<b>Tablo 4.1.</b> <i>Nepeta nuda</i> subsp. <i>albiflora</i> , <i>Nepeta fissa</i> ve standartların DPPH radikali için IC <sub>50</sub> ve radikal giderme yüzdeleri.....	<b>32</b>
<b>Tablo 4.2.</b> <i>Nepeta nuda</i> subsp. <i>albiflora</i> su ve etanol ekstralarının fenolik bileşiklerinin HPLC verileri.....	<b>36</b>
<b>Tablo 4.3.</b> <i>Nepeta fissa</i> su ve etanol ekstralarının fenolik bileşiklerinin HPLC verileri.....	<b>37</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Simgeler

M	: Molar
mg	: Miligram
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
°C	: Santigrat derece
•	: Radikal
dk	: Dakika
%	: Yüzde Değer

### Kısaltmalar

ABTS	: 2,2-Azino-bis-3-etilbenzo-tiyazolin-6-sülfonik asit
BHA	: Butillenmiş Hidroksi Anisol
BHT	: Butillenmiş Hidroksi Toluen
Cu <sup>2+</sup>	: Kuprik iyonu
CuCl <sub>2</sub>	: Bakır(II) Klorür
CUPRAC	: Cupric Reducing Antioxidant Capacity
DPPH	: 1,1-Difenil-2-Pikril-Hidrazil
FeCl <sub>2</sub>	: Demir(II) Klorür
FeCl <sub>3</sub>	: Demir(III)Klorür
FRAP	: Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter
K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	: Potasyum Persülfat
K <sub>3</sub> Fe(CN) <sub>6</sub>	: Potasyum Ferrosiyaniür
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	: Disodyum Fosfat
NH <sub>4</sub> SCN	: Amonyum Tiyosiyaniat
Neokuprin	: 2,9-dimetil-1,10-fenatrolin
<i>N. fissa</i>	: <i>Nepeta fissa</i>
<i>N. nuda</i>	: <i>Nepeta nuda</i>
SCN	: Tiyosiyaniat
TCA	: Trikloroasetik asit
Tween-20	: Polioksietilensorbitan monolaurat
UV-vis	: Ultraviyole-Görünür Bölge

## 1. GİRİŞ

Bitkiler antik çağlardan bu yana gıda, ilaç, aroma, yakacak ve tatlandırıcı gibi çeşitli alanlarda kullanılmakla beraber bitkilerin en etkin kullanım amacı şifa verici olmalarıdır. Fosil kayıtları bitkilerin, tıbbi amaçlar için kullanımının Orta Paleolitik döneme, yaklaşık olarak 60 bin yıl öncesine kadar uzandığını göstermektedir. Kuzey Irak ve İran sınırlarındaki bir mağarada bulunan bir insan fosilinin üzerinde günümüzde de şifa verici olarak kullanılan 8 farklı bitki türünün kalıntıları tespit edilmiştir (Fabricant ve Farnsworth, 2001).

Tedavi maksadıyla kullanılan bitki türleri tarih öncesi çağlardan beri sürekli artmaktadır. Antik çağda Mezopotamya uygarlığında kullanılan bitkisel ilaç sayısı 250 iken antik Yunan döneminde 600 ve Arap-Fars döneminde ise 4000 civarında olmuştur. Bu sayı 19. yüzyılın başlarında ise yaklaşık olarak 13 bin olduğu bildirilmiştir (Baytop, 1999). 20.yüzyılın sonlarında, yeryüzünde bulunan yaklaşık 250 bin bitkiden en az 80 bin tanesinin (yaklaşık olarak %32) halk hekimliğinde kullanıldığı tahmin edilmektedir. Bu veriler, etnobotanik bilgilerin kayıt altına alınması işlemlerinde çok geç kalınması, sentetik ilaçlar ve mikrobiyolojideki gelişmeler ile beraber tıbbi bitkilere olan talebin azalması ve birçok bitki türünün olumsuz çevresel faktörlerin yol açtığı neslinin kaybolması gibi sebeplerden dolayı çok daha düşük bir seviyede kalmıştır (Joy ve ark., 1998).

Halk hekimliği olarak da adlandırılan geleneksel tıbbi tedavi, doğal kaynakların kullanılması yoluyla hastalıkların tedavisi, önlenmesi veya sağlıklı bir hayatın devam ettirilmesinde insanoğlunun tarih sahnesine çıktığı andan itibaren farklı kültürlerin deneyim, inanış ve uygulamalarının harmanlanmış özeti olarak tanımlanabilir. Sağlık korunma sistemi allopatik ilaç sistemine dayanan veya tıbbi bitkilerin ulusal sağlığı koruma sistemlerine dahil edilmediği ülkelerde, geleneksel tıbbi tedavi genellikle tamamlayıcı veya alternatif ilaç adları altında tanımlanmaktadır. Geleneksel tıbbi tedavi çoğunlukla bitkiler, bitkisel materyaller, bitkisel preparatlar ve işlenmiş bitkisel ürünlerden oluşan bitkisel ilaçları içermektedir (Robinson ve Zhang, 2011).

Bitkiler şifa verici kaynaklar olarak çeşitli şekillerde kullanılabilirler. Bunlar; bitkisel çay veya diğer ev yapımı ilaçlar, fitofarmasötik preparat veya bitkisel ilaç (ham ekstreler veya standart zenginleştirilmiş fraksiyonlardan oluşan kapsül, eriyik, sıvı ekstreler, bitkisel toz veya hap) veya farmakolojik ilaçlardır (hedef hastalığın

tedavisinde kullanılmak amacıyla, bitkisel kaynaktaki biyoaktif maddelerin, saflaştırılmış ve yan etkilerinden belli ölçüde arındırılmış olduğu modern ilaç) (Rates, 2001).

Geleneksel tıbbi tedavi yöntemi, modern ilaç endüstrisine göre daha ucuz bir alternatif ve tamamlayıcı olarak dünya genelinde gittikçe popüler hale gelmektedir. Sentetik ilaçların pahalı oluşu, çevre ve insan sağlığını tehdit eden yan etkilere neden olmaları, bazı etken maddelerin sentetik olarak elde edilmelerinin oldukça zor ve masraflı oluşu, bazı bitkisel ürünlerin sentetik ilaçlardan daha etkili olmaları gibi nedenlerden ötürü bitkisel ürünlere olan ilgi günden güne artmaktadır (Baytop, 1999). Bunun yanı sıra Chang (2000), bitkisel ilaçlar hakkındaki olumlu gelişmelerin, kitlesel iletişim araçları sayesinde çok geniş insan kitlelerine iletilmesinin, tıbbi bitkilere olan ilgiyi arttırdığını bildirmiştir. Ayrıca, bitkisel ilaçların yoğun bir şekilde kullanılması insanların, bitkilerin hastalıklara karşı koruyucu veya tedavi edici olduklarına dair olan inanışlarından kaynaklanmaktadır ve aynı davranış biçimine dünya genelinde de rastlanmaktadır.

Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre bazı Afrika ve Asya ülkelerinde nüfusun %80'i temel sağlık gereksinimleri ve tedavi için alternatif halk tıbbını kullanmaktadır (Tang ve Halliwell, 2010). Özellikle Asya, Afrika, Latin Amerika ve Ortadoğu'daki gelişmekte olan ülkelerin çoğunluğunda, halkın %70-95'i sağlık gereksinimlerini karşılamak amacıyla tıbbi bitkilerden yararlanmaktadır. Aynı kullanım oranına Kanada, Fransa, Almanya ve İtalya gibi bazı gelişmiş ülkelerde tamamlayıcı-alternatif-geleneksel adları altında rastlanmaktadır. Modern ilaç endüstrisinin ilk ürünü olarak kabul edilen penisilinin 1943 yılında ticari olarak üretimine başlanmasına kadar, tıbbi tedavide kullanılan ilaçlar tamamıyla etnomedikal bitkilerden oluşmaktaydı (Robinson ve Zhang, 2011).

Bu çalışmada ise çeşitli antioksidan kaynağı olduğu düşünülen ve endemik bir tür olan *Nepeta nuda* ve *Nepeta fissa* bitkilerinin antioksidan seviyelerini çeşitli metodlarla belirleyip HPLC cihazıyla ihtiva ettiği fenolik bileşikleri tespit çalışması yapılmıştır.

## 1.1. Çalışmada kullanılan bitki türleri

*Nepeta* bitki cinsi Lamiaceae ailesinin en geniş bitki cinslerinden biridir. Bu cins dünyanın farklı bölgelerinde 300'den fazla türe sahiptir. Genellikle bu türler çok yıllık bitkilerdir fakat bazen yıllık türler ile de karşılaşılmaktadır. *Nepeta* türleri Merkez ve Güney Avrupa'da, Güney Asya'da ve Afrikanın bazı kısımlarında görülmektedir.

*Nepeta* türleri halk hekimliğinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Balgam ve idrar söktürücü etkisi nedeniyle antiseptik özellikleri bulunmaktadır. Bazı çalışmalarda bu bitki cinsinin aneljezik, antifungal ve antiviral aktiviteleri gösterilmiştir. Bununla beraber bu bitkilerin yağlarının böceklere karşı toksik etki göstererek biki savunma sistemlerine katkı sunmaktadır. *Nepeta* türlerini bir özelliği de *Helicobacter pylori* karşısında antimikrobiyal özelliğindedir (Baser ve ark., 2000).

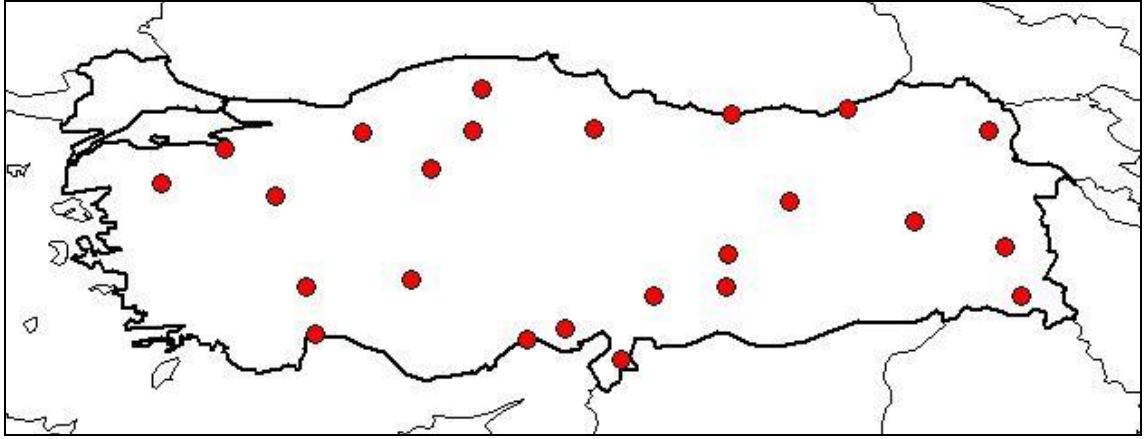
### 1.1.1. *Nepeda nuda* subsp. *albiflora*



Şekil.1.1. *Nepeda nuda* subsp. *albiflora* bitki türünün doğadaki fotoğrafı

Aile : Lamiaceae  
 Cins : *Nepeta* L.  
 Sınıf : *Nepeta nuda* L. subsp. *albiflora* (BOISS.) GAMS

*Nepeta nuda* subsp. *albiflora* Hub.-Mor.& Davis bitkisi, ülkemizin birçok yerlerinde yayılış gösteren çok yıllık otsu bir türdür ve 5-8. aylarda çiçeklenirler. Bu iller Adana, Bolu, Kars, Hakkari, Çankırı, Kastamonu, Adıyaman, Amasya, Ankara, Antalya, Balıkesir, Bursa, Giresun, Hatay, Isparta, İçel, Konya, Kütahya, Malatya, Kahramanmaraş, Muş, Rize, Tunceli ve Van olarak belirtilmiştir. Genellikle kaya yamaçlarında, çayırılık ve dere kenarlarında, 850-2750 m yüksekliklerde yetişirler [Tubives 1].



Şekil 1.2. *N. nuda* subsp. *albiflora* bitkisinin bulunduğu iller

### 1.1.2. *Nepeta fissa*

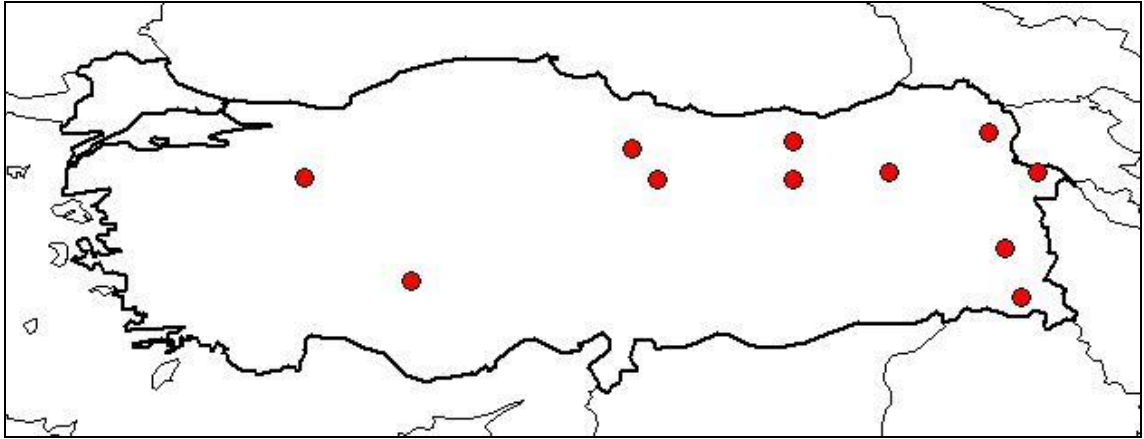
Aile : Lamiaceae  
 Cins : *Nepeta* L.  
 Sınıf : *Nepeta fissa* C. A. MEYER





Şekil.1.3. *Nepeta fissa* bitki türünün herbariyumdaki fotoğrafı

*Nepeta fissa* bitkisi, ülkemizin birçok yerlerinde dağılış gösteren çok yıllık otsu bir türdür ve 6-9. aylarda çiçeklenmektedir. Bu iller Iğdır, Kars, Hakkari, Erzincan, Erzurum, Eskişehir, Gümüşhane, Konya, Sivas, Tokat ve Van olarak belirtilmiştir. Genellikle volkanik kayalarda çayırılık dere kenarlarında 1100-1950 m yüksekliklerde yetişirler [Tubives 2].



Şekil 1.4. *Nepeta fissa* bitkisinin bulunduğu iller

## 1.2. Serbest Radikaller

Değerlik orbitallerinde eşleşmemiş olarak elektron ihtiva eden ve kimyasal olarak yüksek derecede aktif olan molekül veya atomlar serbest radikal olarak

tanımlandırılırlar. Serbest radikaller, aerobik organizmalarda endojen olarak metabolizma doğal süreci olarak veya ekzojen olarak radyasyon, zararlı ışınlar, karsinojenik maddeler, çevre kirlilikleri gibi etkenler ile oluşmaktadır. Moleküler oksijen ( $O_2$ ) aerobik organizmaların hayatlarını sürdürebilmeleri için elzemdir. Vücut hücrelerindeki aerobik metabolizma sonucu oksijen kullanılarak besinlerin oksidasyonundan yaşamın devamı için metabolik yakıt olan ATP üretilmektedir. Bu işlem boyunca bir oksijen molekülü 4 basamaklı reaksiyonlar zinciri ile elektron alarak  $H_2O$ 'ya kadar indirgenmektedir. Oksijen metabolizmasının doğal yan ürünleri olan ve yüksek reaktiviteye sahip reaktif oksijen türleri (ROT) oluşmaktadır. Bunların arasında süperoksit radikali ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidroksil radikali ( $OH^{\cdot}$ ) ile radikal olmayan hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) sayılabilir (Bursal, 2009).

Kuantum kimyasına göre kimyasal olarak oluşan bağın yapısında bir çift elektron vardır ve bu çiftin elektron yönelimleri zıt olmak zorundadır. Şöyle ki iki elektrondan birinin yönü aşağı doğru iken diğerinin yönü yukarı doğru olmalıdır. Bu elektron çiftleri son derece kararlıdır.

İnsan vücudunda bulunan hemen hemen bütün elektronlar, elektron çifti halindedir. Bir bağ koparsa elektronların ya ikisi de bir atomda kalır (heterolitik) ya da birbirinden ayrılarak her biri farklı bir atomda kalır (hemolitik). Elektronlar birbirinden ayrılırsa serbest radikal oluşur. Eşleşmemiş olan bu elektronlar çok yüksek enerjiye sahiptir ve diğer elektronlardan eşleşmiş olanları da ayırıp onların moleküler yapılarını bozarak metabolizmadaki işlevlerine engel olurlar. Bu sözkonusu durum serbest radikalleri çoğunlukla zararlı bazen de yararlı yapar (Nelson ve Cox, 2004).

Radikaller, kimyasal bir organik molekül veya basit bir atom halinde olabilir. Bütün biyokimyasal ve kimyasal tepkimeler her zaman atomların en dış yörüngelerindeki elektronların seviyesinde gerçekleşir. Dış orbitallerinde ortaklanmamış elektron olması, o kimyasal bileşik veya atomun reaktivitesini olağanüstü bir şekilde artırır. Bu sebeple serbest radikaller reaktivitesi çok yüksek kimyasal maddelerdir. Bazı elementler, atomik yapılarında ortaklanmamış elektron içerdikleri için, doğada atomlar olarak değil de moleküler şekilde bulunurlar. Örneğin oksijen, hidrojen, azot ve diğer bazı elementler doğada atomik halde serbest bulunmazlar. Soygazlar olarak adlandırılan elementler ise bütün yörüngeleri elektronlarla dolu olduğundan son derece kararlı bir halde olup serbest atom halinde bulunurlar ve reaktiviteleri yoktur.

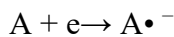
Radikaller, eşleşmemiş elektrondan dolayı stabil olmayan, çok kısa yarı ömürlü maddelerdir. Hücrenin tüm bileşenleri ile kolayca reaksiyona girme özelliğine sahiptirler.  $Mn^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$  ve  $Cu^{2+}$  gibi bazı geçiş metalleri de eşleşmemiş elektronları olduğu halde serbest radikal değillerdir. Fakat serbest radikallerin oluşmasında önemli rol alırlar. Ortaklanmamış elektronu olan moleküller son derecede reaktiftirler ve proteinler, lipidler ve nükleik asitler gibi organizmada değişik yapılarda bulunan moleküllerde yıkıcı peroksidasyon reaksiyonlarını başlatırlar (Kılınç, 2002).

Serbest radikaller ortaklanmamış elektrona sahip olduklarından dolayı çok aktiftirler ve ortamda bulunan diğer biyomoleküllere atak yaparak onların biyolojik yapılarına büyük ölçüde hasar vererek yapılarını bozarlar. Bu radikalik ve reaktif ara ürünler proteinler, lipitleri ve nükleik asitleri oksitleyebilir ve metabolizmada olumsuz etkiler oluşturabilirler. Buna karşın antioksidan sistemler bu reaktif ve radikal ara ürünleri gidererek olumsuz etkilerinin ortadan kalkmasını sağlarlar (Temple, 2000).

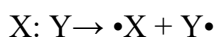
Elektronlar atomlar içerisinde orbitallerde en fazla iki tane olacak şekilde ve birbirlerine zıt konumdadırlar. Mangan, demir ve bakır gibi geçiş metalleri orbitallerinde ise birer elektron bulundurmalarına rağmen radikal karakter göstermezken bazı atom kombinasyonları (nitrik dioksit, nitrik oksit) bir orbitalinde tek elektron bulunduran dağılımları nedeni ile radikalik özellik gösterirler. Serbest radikal olarak görülen atom veya moleküller elektron dizilişlerinin yanında lokal kinetik reaktiviteleri ve termodinamik yapıları ile değerlendirilmelidir. Reaktif serbest radikaller tahrip güçleri çok yüksek olduğundan, insan sağlığını olumsuz etkileyen hastalıkların ortaya çıkmasındaki rollerinden dolayı son zamanlarda oldukça önemli bir hale bürünmüştür (Kuntal, 2005).

Serbest radikaller kimyasal olarak aşağıdaki durumlarda üretilirler.

- Bir molekülün tek bir elektron almasıyla serbest radikaller oluşabilir.



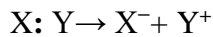
- Kovalent bağın homolitik kırılması ile serbest radikaller oluşabilir.



Yüksek sıcaklık ve enerjiye sahip elektromanyetik dalgaların etkisi ile kimyasal bağlar kırılabilir. Bu bağların kırılması esnasında bağın yapısındaki her iki elektron ayrı

ayrı atomlarda paylaşılmamış olarak kalarak radikal ürünler oluşabilir (Ercan, 2008). Bunlar hemolitik bağ ayrılması ve bir elektronun transfer edilmesi sonucu oluşan serbest radikallerdir. Hemolitik bağ ayrılması en yaygın görülen serbest radikal oluşumu kaynağıdır.

- Bir molekülün bir tek elektron vermesiyle ya da heterolitik bölünmesi ile gerçekleşir.



Bu bölünme esnasında kovalent bağı oluşturan elektronların her ikisi de atom veya atom gruplarından sadece birinde kalır (Rucker, 2004).

Normal metabolizmanın sürdürülmesi ve hücrelerde enerji üretimi için gerekli olan birçok meydana gelen tepkimelerde serbest radikaller üretilmektedir. Serbest radikaller en büyük zararı hücre zarlarına verir. Serbest radikaller hücre zarlarından elektron alarak eşlenir, bundan dolayı hem hücre zarı hem de hücre yapısı bozulur.

Aerobik organizmalarda reaktif oksijen türevleri olan moleküler oksijen türleri reaktif moleküller üretilir. Bu reaktif moleküller hem çok kısa ömürlüdür, hem de radikal olmayan diğer maddeler ile reaksiyon vererek yeni radikaller oluşturur ve zincir reaksiyonların başlamasına sebep olur (Sen, 2001). Reaktif türlerden bazıları insan metabolizmasının vazgeçilmez bir parçasıdır ve anormal şartlarda konsantrasyona bağlı olarak artış gösterebilir. Bazı reaktif türler ise insan vücudunda çok az üretilir ya da hiç üretilmez; dış kaynaklı olarak alınabilir. Sigara dumanı, hava kirliliği, pestisitler, radyasyon, serbest geçiş metali iyonları gibi iç ya da dış kaynağa bağlı olarak meydana gelebilir (Gülçin ve ark., 2003).

### 1.2.1. Serbest radikal kaynakları ve reaktif oksijen türleri

Normal bir metabolizmada oksijenli solunum neticesinde moleküler oksijenin (O<sub>2</sub>) H<sub>2</sub>O'ya kadar indirgenir. Hücre mitokondrisinde gerçekleşen elektron transport zincirindeki eksik indirgenmiş oksijen sızıntıları en büyük serbest oksijen radikalleri kaynağıdır. Mitokondrilerin iç zarlarında da gerçekleşen oksidatif fosforilasyon zinciri bileşenleri indirgenğinde mitokondriyal süperoksit radikal üretiminde artış olur.

Hücrelerde oluşan serbest radikaller endojen veya ekzojen kaynaklıdır. Ekzojen olanlar allokstan, parakuat gibi kimyasal maddelerin etkisi, parasetamol, CCl<sub>4</sub> gibi ilaç zehirlenmeleri, UV veiyonize radyasyon, hava kirliliğine sebep olan fitokimyasallar, solventler, sigara dumanları gibi dış kaynaklar gösterilebilir (Gülçin ve ark. 2003). En önemli serbest oksijen radikalleri şunlardır (Ercan, 2008).

- O<sub>2</sub><sup>-</sup> (Süperoksit radikali)
- HO (Hidroksil radikali)
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Hidrojen peroksit)
- Singlet Oksijen (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) radikali

#### **1.2.1.1. Endojen kaynaklar**

Serbest radikallere endojen kaynaklar olarak; mitokondrial elektron transport zinciri, redoks tepkimeleri, endoplazmik retikulum, araşidonik asit metabolizması sonucu serbest radikal üretimi, endotelyal ve fagositik (monosit ve makrofajlar vs.) hücrelerdeki oksidatif reaksiyonlar, NADPH oksidaz, ksantin oksidaz gibi enzimler ile otooksidasyon tepkimeleri örnek gösterilebilir (Gümüştaş ve Atukeren, 2008).

#### **1.2.1.2. Eksojen kaynaklar**

Serbest radikallere eksojen kaynaklar olarak ise; ilaç oksidasyonları, radyasyon, güneş ışığı, (UV) ışınları, egzoz gazları ve sigara dumanı, pestisitler, solventler, anestezik maddeler, aromatik hidrokarbonlar gibi ksenobiyotikler, stres, kükürt dioksit, çevresel toksik ajanlara örnek olarak gösterilebilir (Silinsin, 2016).

### **1.3. Antioksidanlar**

Antioksidan maddeler düşük konsantrasyonlarda bile substratın oksidasyonunu durduran veya geciktiren maddelerdir. Organizmadaki hücre ve dokular, serbest radikalleri ve radikallerin sebep olduğu tepkimeleri inhibe eden sistemlere sahiptir. Antioksidanlar bu radikalik ürünlerle hızla tepkime vererek otooksidasyon ve

peroksidasyonun ilerlemesine engel olan madde veya sistemler olarak tanımlanır (Boga, 2013).

Organizmadaki hücre ve dokular, serbest radikalleri ve radikallerin sebep olduğu tepkimeleri inhibe eden sistemlere sahiptir. Antioksidanlar bu radikalik ürünlerle hızla tepkime vererek otooksidasyon/peroksidasyonun ilerlemesine engel olan madde veya sistemler olarak tanımlanır (Aras ve ark., 2016; Bingol ve Bursal, 2018).

Canlılar reaktif oksijen türlerine karşı vücutta organ ve hücre sistemlerini korumak için kompleks ve karmaşık antioksidan sistemlere sahiptirler. Bu sistemler, radikalik ürünleri nötralize eden ve bu yapılarla etkileşim gösteren, endojen ve eksojen orjinli birbirinden farklı bileşiklerdir. Zincir kırma tepkimelerinin hemen her basamağında değişik miktarlarda hidroperoksit oluşması, ortamdaki ürünler ve zararın tamamen yok edilememesinden dolayı oksidasyon tepkimeleri ve radikalik ürünler tamamen yok edilemez (Valko, 2007).

Antioksidanlar, organizmanın oksidan-antioksidan dengesini koruyan mekanizmaların en az biri üzerinden etki ederler. Antioksidan mekanizmalar; lipid, protein ve DNA gibi moleküllerde oluşan hasarın giderilmesinde, radikalik ürünlerin temizlenmesinde, hücredeki bazı enzim tiplerindeki kayıpların önlenmesinde, serbest radikallere sebep olan kimyasal tepkimelerin durdurulması ya da tepkime hızının baskılanması gibi pek çok durumda önemli görevler yaparlar (Gutteridge, 1995; Güzel ve ark., 2013).

Antioksidanlar, oksidasyonun radikal zincir mekanizmasında stabil ara ürünün oluşumuna neden olan ve zincir tepkimesini kırarak şekilde tepkimeye katılan maddelerdir. Oluşan ürünler oksidasyon zincir tepkimesinin kırılmasına neden olduklarından yağlı gıdalarda kullanılması özellikle gerekmektedir. Antioksidanların istenen düzeyde etki gösterebilmesi için, yağ ve yağlı gıdaların üretiminde veya üretiminden hemen sonra gıdalara eklenmeli ve bitkisel ve hayvansal yağlarda çok iyi karıştırılmalı, ürünün içinde homojen olarak dağılması sağlanmalıdır (Gülçin ve ark., 2011).

Lipit oksidasyonunun önlenmesinde kullanılan antioksidanlar, etki mekanizmalarına göre iki gruba ayrılır. Birincisi oluşan radikallerle birleşen antioksidanlar diğeri ise yağ asidinin parçalanması ile meydana gelen radikal oluşumunu engelleyen antioksidanlardır. Bu iki tür antioksidan birlikte kullanıldıklarında sinerjistik etki göstererek antioksidatif etkiyi dahada artırır (Gök, 2006).

### 1.3.1. Antioksidanların sınıflandırılması

Antioksidanların sınıflandırılması aşağıdaki gibi yapılabilir.

Yapılarına göre:

- Enzimatik
- Non-enzimatik

Çözünürlüklerine göre:

- Suda çözünenler (C Vitamini, glukoz, ürik asit, glutatyon, sistein)
- Lipidlerde çözünenler ( $\beta$ -karoten,  $\alpha$ -tokoferol, flavonoidler, bilirubin)

Kaynaklarına göre:

- Organizmada bulunanlar (Endojen) (Katalaz,  $\alpha$  tokoferol, SOD)
- Dışarıdan alınanlar (Ekzojen) (Adenozin, Allopurinol)

Yerleştikleri yere göre:

- İntrasellüler (SOD, Glutatyon peroksidaz, Katalaz)
- Ekstrasellüler (Askorbik asit, Transferrin, Albumin) (Baykal, 1998).

#### 1.3.1.1 Enzimatik antioksidanlar

Süperoksit Dismutaz Enzimi: SOD, GPx ve CAT ile birlikte hücrelerdeki  $O_2^{\bullet-}$  düzeyini kontrol etmektedir. SOD enzimi süperoksit radikalının hidrojen peroksit dismutasyonunu katalizlemektedir. SOD tarafından katalize edilen tepkime ile bir  $O_2^{\bullet-}$  radikali yükseltgenirken diğer  $O_2^{\bullet-}$  radikali ise  $H_2O_2$ 'ye indirgenmektedir. SOD aktivitesinin eritrositler gibi oksijen taşınması yüksek olan dokularda fazla olduğu bildirilmektedir. Bunun yanı sıra granülosit fonksiyonları için de önemlidir. Fagosite edilmiş bakterilerin intrasellüler öldürülmesinde rol almaktadır.

Glutatyon Peroksidaz Enzimi: Glutatyon peroksidaz hidrojen peroksit ve çeşitli hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. Glutatyonu indirgeyici ajan olarak kullanmaktadır. GPx aktivitesindeki azalma  $H_2O_2$  artışına ve şiddetli hücre hasarına yol açmaktadır.

Katalaz: Süperoksit dismutaz tarafından katalize edilen dismutasyon reaksiyonu sonucu oluşan  $H_2O_2$ 'yi su ve moleküler oksijene çevirmektedir.  $H_2O_2$  konsantrasyonunun yüksek olduğu dokularda katalazın enzimatik aktivitesi

yükselmektedir. Kanserli dokularda daha yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu gösterilmiştir. CAT aktivitesinin çok büyük bir kısmının eritrositlerde gerçekleştiği bildirilmektedir (Rucker, 2004).

Hücre içinde ve hücre dışında görev yapan antioksidanların etki mekanizması farklıdır. Hücre dışında görev alan bir antioksidanın etki mekanizması katalitik metal iyonlarını uzaklaştırma şeklindedir. Membranlar, hücre içinin sıvı olan ortamından farklı olarak hidrofobiktir. Membran yağ dokusunda olduğundan burada oluşan radikaller hücre içinde oluşan radikallerden farklıdır. Dolayısıyla membranın antioksidan reaktivitesi farklı olur. Yağda çözünen E vitamini membran tabakası dışında zayıf bir antioksidan olmasına rağmen membran üzerinde en güçlü ve en önemli antioksidan olarak bilinir (Aras, 2016).

### 1.3.1.2. Doğal antioksidanlar

Doğal antioksidan kaynakları şunlardır.

- C vitamini
- Askorbil palmitat ve askorbil stearat
- E-Vitaminleri ( tokoferoller)
- Glikoz oksidaz
- Polifenolik bileşikler
  - Flavonoidler
  - Fenolik asitler
- Karotenoidler
- Sülfidler

Doğal antioksidanlar bitkinin her kısmında bulunur. Doğal antioksidanlar fenoller, flavonoidler, karotenoidler, vitaminler, glutatyon ve endojen metabolitleri içerir. Bitki kaynaklı olan antioksidanlar serbest radikalleri süpürücü, peroksitleri parçalayıcı, singlet ve triplet oksijen kuşağı, enzim inhibitörü ve sinerjistik olarak işlev görürler (Larson, 1998). Meyve ve sebzeler de birçok antioksidan bulunur. Antioksidanlar; sebze ve meyve dışında tohum, yaprak, çiçek, kök ve kabuklarda bol miktarda bulunur (Pratt ve ark., 1990). Dolayısıyla sebze ve meyvelerin bol miktarda tüketilmesi hastalıklara yakalanma riskinde önemli ölçüde azalmaya sebep olduğu gibi



kansere yakalanma riskinde ve ölüm oranında da düşüşe sebep olduğu anlaşılmaktadır (Ames ve ark., 1993).

Önemli doğal antioksidanlar olarak C vitamini (askorbik asit), tokoferoller, karotenoidler ve skualen sayılabilir. Askorbik asit, bitkilerde ve bazı memelilerin karaciğerinde glukozdan sentezlenir. Askorbik asit bazı enzimlerde kofaktör olarak rol oynar. Bunlardan en önemlisi olarak, kollagenin biyosentezinde yer aldığı bilinen prolin aminoasidinin hidroksiproline hidroksilasyonu gibi reaksiyonlara katılması örnek verilebilir. Ayrıca askorbik asit dopamin- $\beta$ -hidroksilaz aktivitesi için de gereklidir (Padayatty ve ark., 2003). Askorbik asit, turunçgillerde, domates, brokoli, ıspanak vb. yeşil yapraklı patates gibi bazı sebze ve meyvede bulunur. Askorbik asit çok hızlı oksidize olduğundan sebze ve meyvelerin pişirilme ve hazırlanma sırasında yapısında bulunan askorbik asit çoğunlukla işe yaramaz hale gelir. Bundan dolayı askorbik asit ihtiva eden besinlerin az pişirilmesi, çiğ olarak yemek mümkünse kesildiğinde kısa bir süre içinde tüketilmesi önerilir (Şerbetçi, 2007).

### 1.3.1.3. Sentetik antioksidanlar

- Eritrobik asit ve sodyum eritrobat
- Butillenmiş hidroksi anisol (BHA)
- Butillenmiş hidroksi toluen (BHT)
- Tersiyer butilhidrokinon (TBHQ)
- Gallatlar (propil gallat )
- Nondihidroguairatik asit (NDGH)

Sentetik antioksidanlar besinlerin oksidasyonu ile oluşan kimyasal yapı, aroma ve tatlarındaki bozulmalar, koku oluşumu ve ihtiva ettikleri vitamin miktarlarındaki azalmalar gibi sorunları çözmek ve bunların rafta kalma sürelerini uzatmak amacıyla sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır. Fakat son zamanlarda sentetik antioksidanlar üzerinde yapılan bazı araştırmalarda toksik ve kanserojen olabileceği anlaşıldığından bu maddelerin kullanılmasında ciddi yasak ve sınırlamalar getirilmiştir (Haigh, 1986).

Uzun yıllardır antioksidanlar gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Bütillendirilmiş hidroksitoluen (BHT), bütillendirilmiş hidroksianisol (BHA), tersiyer bütillhidrokinon ve gallatlar gıdalarda kullanımı en sık olan antioksidanlardır. Fakat bu

antioksidanların sentetik olmaları, toksik etkileri, yüksek maliyetleri ve tüketicilerin katkı maddeleri hakkındaki endişelerinden dolayı son zamanlarda doğal antioksidan kullanımına yönelim başlamıştır (Gülçin ve ark., 2011).

### 1.3.2. Antioksidan etkiler

Antioksidan etkiler şu şekilde sıralanabilir;

Süpürücü etki: ROT'u etkileyerek tutma veya daha zayıf bir moleküle çevirme işlemidir. Enzimatik antioksidanlar bu şekilde etki göstermektedir.

Bastırıcı etki: ROT ile etkileşerek onlara bir elektron aktarılması suretiyle aktivitelerini azaltan veya inaktif hale getiren etki şeklindedir. Vitaminler, flavonoidler ve trimetazidin bu şekilde etki göstermektedir.

Onarıcı etki: DNA hasarının tamiri bu şekildedir. DNA tamir enzimleri ve metiyonin sülfoksit redüktaz bu şekilde etki göstermektedir.

Zincir kırıcı etki: Serbest radikalleri kendilerine bağlayarak zincirlerini kırmak suretiyle fonksiyonlarının engellenmesine sebep olan etkidir (Pinchuk, 2002).

### 1.4. Fenolik Bileşikler

En az bir hidroksil grubu (OH) ve bunun fonksiyonel gruplarını ihtiva eden aromatik halkalı bileşikler ve fenolik asitler olarak tanımlanırlar. Fenolik bileşiklerin en basiti bir tane hidroksil grubu bağlı olan benzen halkasıdır. Birden çok (OH) grubu içeren fenolik maddeler ise polifenol olarak tanımlanır (Aras ve ark., 2018).

Aromatik bitkide antioksidan aktivite içerdiği sekonder komponentlerin miktarıyla doğrudan ilişkilidir ve "fitokimyasallar" olarak bilinirler. Bu komponentlerin miktarı bitkideki (ontogenetik, morfogenetik, diurnal ve çevresel etkenler), genetik farklılıklarından dolayı bitkiden bitkiye değişmektedir. Fenolik asit bileşikleri içerisinde yoğun olarak bulunanlar fenolik asitler, flavonoidler ve fenolik terpenlerdir. Bu bileşikler ve esterlerinin antioksidan etkileri bileşik içerisindeki hidroksil grubu sayısı ile doğru orantılıdır (Tohma ve ark., 2016).

Fenolikler altı üyeli aromatik benzen halkasına direkt bağlı bir (-OH) grubu içeren ve bu (-OH) grubundan bir proton kaybetmeye meyilli olan aromatik ve zayıf

asidik olan bileşiklerdir. Bu yapılar organizmada çeşitli nedenlerle oluşmuş serbest radikalleri süpürme işlevine sahiptirler. Fenoliklerin antioksidan aktivitesi, iyonik metallerle bileşik oluşturma (metal şelatlama) singlet oksijen oluşumunun engellenmesi ya da azaltılması gibi fonksiyonlardan kaynaklanır. Yani bunlar, çeşitli reaktif oksijen türlerini (serbest oksijen, peroksinitrit ve hidrojen peroksit) hücrelerden uzaklaştırarak metabolizmayı zinde tutarlar (Gülçin, 2010).

Bitkilerin en çok ihtiva ettiği yapıların başında fenolik bileşikler veya polifenoller gelir. Bitkilerde binlerce farklı fenolik yapıların olduğu bilinmektedir. Bitki tarafından sentezlenen ve yapısında mevcut olan fenolik bileşiklerden bir diğeri de flavonoidlerdir. Flavonoidler, fenolik içeriklerinden dolayı antioksidan özelliğe sahiptir. Flavonoidler çoğunlukla suda çözünürler. Bu grup bileşikler arasında yakın yapısal ilişkiler vardır. Flavonoid yapısındaki heterosiklik halkanın oksidasyon derecesine bağlı olarak farklı gruplar ortaya çıkmaktadır. Flavonoidlerden bir kısmı, hücre ve dokuların reaktif oksijen türlerinden etkin bir şekilde korunmasında rol alırlar. Karoten ve skualen de doğal antioksidanlardır. Karotenler hücreyi ışık, hava ve diğer foto sensitizasyon etkilerinden koruyan ve bu ortamlarda antioksidan olarak görev yapan bileşiklerdir. Skualen ise bir serbest radikal süpürücüsü olmakla beraber aynı zamanda singlet oksijen kuençeri olarak da görev yapmaktadır (Kohno ve ark., 1995).

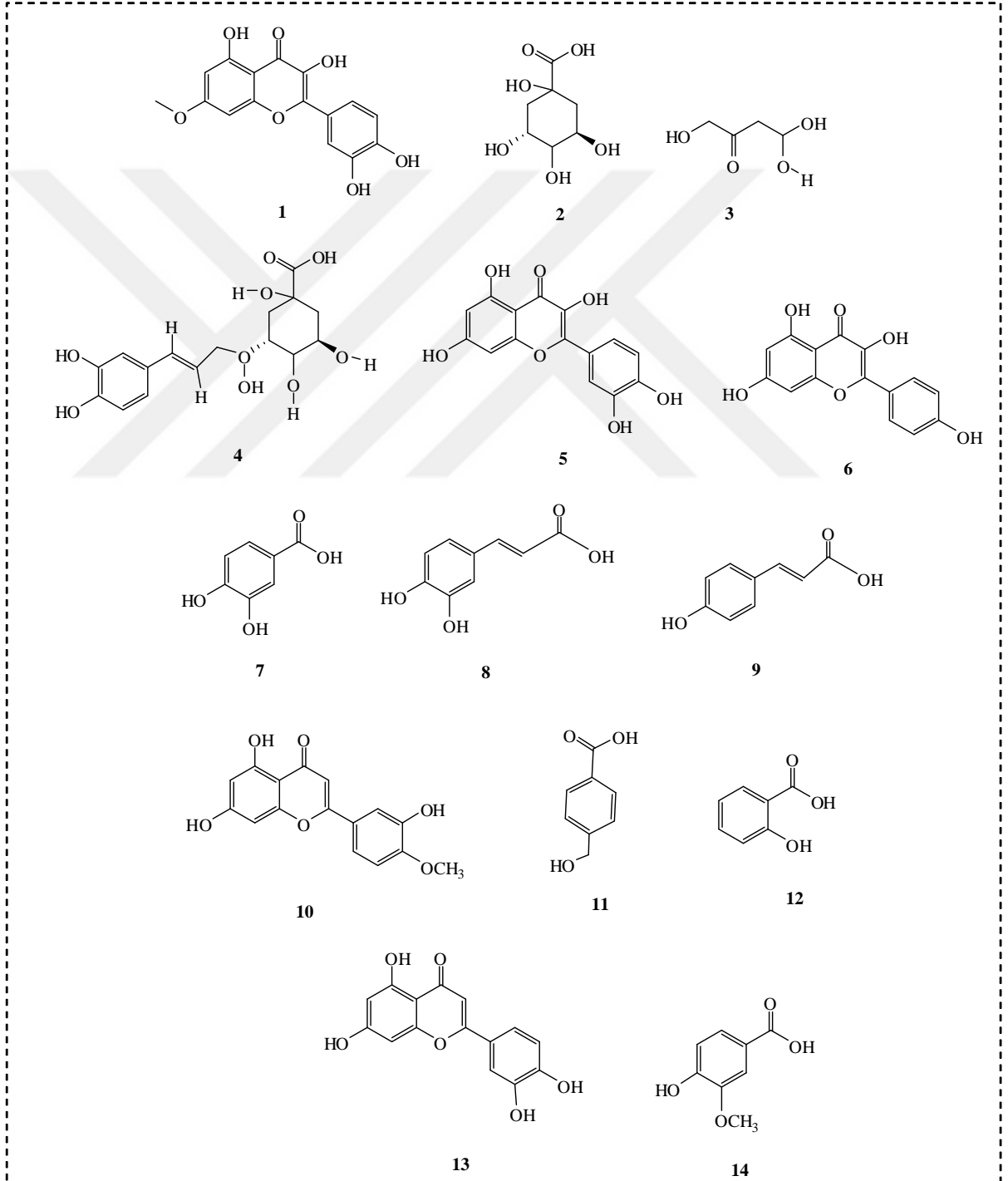
Fenolik bileşikler bitkilerin yaprak, çiçek ve gövde kısımlarında bulunur. Bundan dolayı aromatik bitkilerin çiçek ve yaprak kısımlarının kurutulması ve drog halinde veya distilasyon, ekstraksiyon gibi metotlarla elde edilen uçucu yağ özütleri şeklinde kullanılır. Her aromatik bitkinin kimyasal yapısı farklı sebeplere bağlı olarak değişiklik gösterdiğinden, antioksidan etki dereceleri değişkenlik gösterir (Arslan, 2007).

Fenolik bileşikler benzen halkasına hidroksil bağlı kimyasal bileşiklerdir. Bu sekonder metabolitler bitkilerde çok fazla tür ve miktarda bulunurlar. Antioksidan özelliği olan gruplarının içerisindeki en önemli bileşikler fenolik maddelerdir. Meyvelerin ve çiçeklerin renklenmesine sebep olurlar ve çevresel stres etmenlerine karşı bitkilere koruma sağlarlar (Cemeroğlu, 2004).

Fenolik antioksidanlar serbest radikal giderici ve metal şelatlamada fonksiyon alırlar. Bu bileşikler ve bazı türleri otooksidasyonun önlenmesinde çok etkin rol oynarlar. Bazı bitkilerde bulunan fenolik bileşikler son yıllarda antioksidan kaynağı olarak kullanılmakta ve ticari amaçlarla da üretilmektedir. Diyetle koruyucu etkiye

sahipantioksidan maddelerin gıdalardaki miktarlarının ve alınması gereken dozlarının bilinmesi çok önemlidir (Shahidi, 2004).

Şekil 1.5'te bazı fenolik bileşiklerin (1: rhamnetin, 2: quinic asit, 3: malik asit, 4: klorogenik asit, 5: quercetin, 6: kaempferol, 7: protokateşik asit, 8: tr- kafeik asit, 9: p- kumarik asit, 10: hesperetin, 11: 4-OH benzoik asit, 12: salisilik asit, 13: luteolin, 14: vanillin) kimyasal yapıları verilmiştir.



Şekil 1.5. Bazı fenolik bileşik kimyasal yapıları

## 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Daha önceki çalışmalarda farklı *Nepeta* türlerine ait fenolik bileşik tayinleri, biyolojik aktiviteler, uçucu yağ asit tayini gibi pek çok çalışmalar yapılmıştır. Ancak yapılan literatür taramalarında *Nepeta nuda* L. subsp. *albiflora* ve *Nepeta fissa* türlerine ait karşılaştırmalı antioksidan aktivite ve fenolik içerik tayinlerine rastlanılmamıştır. Bu bitki türlerine ait bazı çalışmalar şunlardır.

Bir çalışmada İran'da bulunan *Nepeta fissa* türünün çevresel durumlar değişikliği neticesinde esansiyel yağ içeriklerindeki değişikliklere sebep olduğu rapor edilmiştir (Talebi ve ark., 2017). Yine benzer bir çalışmada İran'da bulunan *Nepeta fissa* türünün uçucu yağ analizi GC-MS ile yapılmış olup caryophyllene, caryophyllene oxide, muurolene, valencene ve pinene bileşikleri bulunmuştur (Sefidkon ve ark., 2002).

Çakir (2011) tarafından yapılan bir çalışmada ise Türkiye'de yayılış gösteren *Nepeta* cinsinin 5 farklı türü incelenmiştir. Bu türler şunlardır; *N. congesta* Fisch. & Mey. var. *cryptantha* (Boiss.) Hedge & Lamond, *N. congesta* Fisch. & Mey. var. *congesta*, *N. stricta* (Banks & Sol) Hedge & Lamond var. *stricta*, *N. stricta* (Banks & Sol) Hedge & Lamond var. *curvidens* (Boiss. & Bal) Hedge & Lamond, *N. heliotropifolia* Lam. var. *heliotropifolia*. Anatomik çalışmalarda gövde ve yapraklardan alınan kesitler detaylı incelenmiştir. Gövde ve yapraklardaki tüy örtüsü de ayrıntılı olarak incelenmiştir. Yine benzer bir çalışmada ise Jamzad ve ark. (2003) tarafından İran' daki üç *Nepeta* türü üzerinde incelenmiş çalışmada yeni bulunan 3 türün morfolojik ve moleküler özellikleri ortaya konmuş ve bu karakterler göz önüne alınarak mevcut bulunan türler ile diğer akraba taksonlarla karşılaştırılmıştır (Kaya ve Dirmenci, 2008).

Başka bir çalışmada ise Dirmenci (2003) endemik olan iki yakın tür olan *Nepeta* L. türünün (*N. sulfuriflora* P.H Davis ve *N. cadmea* Boiss) durumları karşılaştırılmıştır. Yapılan arazi gözlemleri ve çalışmalar sonucunda iki türün durumlarının korunması gerektiği sonuca varmıştır.

Açar ve ark. (2010) tarafından endemik bir tür olan *N. baytopii* Hedge & Lamond'un çeşitli anatomik özellikleri incelenmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar literatürdeki diğer *Nepeta* türleri ile karşılaştırılmış ve tartışılmıştır. Türün anatomik yapısı familyanın genel anatomik özelliklerine benzer olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacı, gövde ve yapraklarda görülen tüyleri örtü ve salgı olmak üzere

sınıflandırmışlardır. Salgı tüylerini kapitat ve peltat olarak iki tip olarak gruplandırmışlardır.

Diğer bir çalışmada ise Kiliç (2013) tarafından Adıyaman'da var olan *N. cataria* bitki türünün morfolojik özellikleri sistematik olarak araştırılmıştır. Bu morfolojik çalışmalar sonucunda türlerin yaprak şekli, yaprak tüy örtüsü, tohum, ginekeum, korolla, androkeum ve kaliks özellikleri belirlenmiş ve Türkiye Florası'ndaki özellikleri ile karşılaştırılmıştır. Ayrıca, *N. cataria* türünün morfolojik özellikleri, gövde ve yaprak tüy örtüsü, polen ve tohum özellikleri ile incelenmiştir. Bu çalışma çiçek ve çiçeklenme ile ilgili morfolojik ve anatomik bir çalışma sunmaktadır.

Yine bir başka çalışmada Acar ve ark. (2011) Türkiye'de *Nepeta* L. cinsinin, *Nepeta baytopii* (sect. *Schizocalyx*) ve *N. sorgerae* (sect. *Subinterruptae*) olmak üzere iki endemik türü üzerinde *Nepeta* türünü anatomik yönden incelenmiştir. Anatomik bu çalışmada, *Nepeta* türlerinin gövde ve yaprak anatomisi ile trikrom mikromorfolojisi incelenmiştir. Türlerin anatomik karakterlerinin Lamiaceae'nin olağan özelliklerine benzer olduğu görülmüştür. Bunun yanında bu iki türün periskl, kollenkima, ksilem ve floem sıraları ile tüy örtülerinde farklılıklar görülmüştür.

Bu çalışmada Özaydın ve ark. (2004) tarafından endemik *N. nuda* L. subsp. *lydiae* P.H. Davis alt türünün morfoloji ve karyolojisi incelenmiştir. Yapmış oldukları bu çalışmada *N. nuda* subsp. *lydiae* alt türünün morfolojisi ve kromozom sayısı hakkında yapılmış olan ilk çalışma olarak nitelendirilir. Yapılan bu çalışmada incelenen bu alt türlerin diğer alttürlerden morfolojik olarak farkları olduğu tespit edilmiştir. Yapılan sitogenetik çalışmada ise, *N. nuda* subsp. *lydiae* alt türünün sahip olduğu kromozom sayısının  $2n=18$  olduğu belirlenmiştir.

Herron (2003) tarafından yapılan çalışmada, bir kültür türü olan *N. cataria* (Catnip-Kedi nanesi) ile bunun doğal yayılış gösteren örnekleri morfolojik, anatomik ve fizyolojik olarak karşılaştırılmıştır. Catnip-Kedi nanesinin halk arasında kullanımının nedeni olan sekonder metabolitlerin türün salgı tüylerinde depolandığı tespit edilmiştir. Kültür ve yabani örneklerin yaprak tüy örtüsünde farklılıklar görülmemiştir. Çalışmada, *N. cataria* bitkisinin tüy örtüsü ile kedilerin bu bitkiyi kullanımı arasındaki ilişki tartışılmıştır.

Acar ve ark. (2010) tarafından endemik bir tür olan *N. baytopii* Hedge & Lamond'un anatomik özellikleri incelenmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar literatürdeki diğer *Nepeta* türleri ile karşılaştırılmış ve tartışılmıştır. Türün anatomik yapısı familyanın genel anatomik özelliklerine benzer olduğu tespit edilmiştir.

Araştırmacı, gövde ve yapraklarda görülen tüyleri örtü ve salgı olmak üzere sınıflandırmışlardır. Salgı tüylerini kapitat ve peltat olarak iki tip olarak gruplandırmışlardır.

Çelenk (2006) çalışmasında *Nepeta* cinsinin Türkiye'deki 35 tür, 42 taksona ait 74 farklı lokaliteden toplanmış bitki örneklerinin polen morfolojileri ışık mikroskobu ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak incelemiştir. Türkiye'de yayılışı olan *Nepeta* taksonları arasında altı farklı polen tipi ayırt edilmiştir. Wodehouse yöntemi ölçümleri ve SEM ile elde edilen verilerden yararlanılarak Türkiye'de varlık gösteren *Nepeta* taksonları için palinolojik yapılarını içeren bir ayırım cetveli oluşturulmuştur.

Seyed ve ark. (2018) yaptıkları çalışmada *Nepeta fissa* C.A. Mey'in morfolojik karakterleri ve sistematik için araştırıldı. Stereo mikroskopta yapılan morfolojik çalışmaların sonunda; yaprak şekli, yaprak indumentum, kaliks, corolla, gynoecium, androecium, filamentlerin onlarla bağlantısı ve tohum karakterleri belirlendi ve Türkiye Florası ile karşılaştırıldı. Ayrıca gövde ve yaprak indumentum, *N. fissa*'nın polen karakterleri ve tohum kaplama yüzeyi SEM ile incelenmiştir. Sonuç olarak, bu çalışma ile tanı amaçlı yeni morfolojik karakterler tespit edildi ve *N. fissa*'nın deskripsiyonu genişletilmiştir.

Özcan ve ark. (2018) yaptığı bir çalışmada, Türkiye'de doğal olarak varlık gösteren bazı *Nepeta* türlerinin kromozom sayıları ve morfometrik özellikleri incelendi. *Nepeta* L. cinsine ait olan *N. trachonitica* Post., *N. macrosiphon* Boiss. ve *N. racemosa* Lam. türlerinin kromozom sayıları ve morfolojileri karyolojik teknikler kullanılarak araştırılmıştır. Diploid kromozom sayıları *N. macrosiphon*, *N. racemosa*  $2n=16$ , *N. trachonitica*  $2n=18$  olarak bulundu.

Yine başka bir çalışmada (Özcan, 2018), Türkiye için yeni bir alttür olan *N. sibthorpii* Benth tanımlanmıştır. Teşhis karakterleri, tanımları, detaylı resimler ve taksonomik yorumları sunulmuştur. *N. sibthorpii* türünün ilgili dört alttürü ile nitelikleri karşılaştırılmıştır ve *N. sibthorpii* ssp. *tumeniana* haritalanmıştır. Bitkisel parçalardan elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimi ve *Nepeta*'nın farklı bitki bölümleri, GC ve GC/MS tarafından incelenmiş ve altmış iki bileşen nepetalaktonların stereoisomerleri olarak bulunup ve izole edilmiştir.

*Nepeta* cinsinin 2 kültür çeşidi olan *Nepeta cataria* ve *Nepeta grandiflora* (Sect. *Nepeta*)'nın nutlet morfolojisi, anatomisi ve musilaj üretimini incelemiştir. Araştırmacı, perikarp yüzey yapısında, düz ve oymalı olmak üzere iki ana tip tanımlamıştır. İncelenen *Nepeta* türlerinin nutlet mikro ve makromorfolojileri ayrıntılı olarak

tanımlanmıştır. Ayrıca bu çalışmada, musilaj üretimleri de araştırılmıştır. Nutlet karakterlerine dayalı bir morfo-anatomik teşhis anahtarı yapılmıştır.

Aras (2016) çalışmasında *Nepeta nuda* bitki türünün farklı bir alttürü olan *Nepeta nuda* subsp. *lydiae* bitkisinin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerini belirlemiş, LC-MS/MS analiz metodu ile bu bitkinin fenolik içerik analizini yapmıştır.





### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Kullanılan bitki materyali

Çalışma kapsamında ilk olarak *Nepeta fissa* ve *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* bitkileri temin edilmiştir. *Nepeta fissa* ve *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* bitkileri Bingöl Üniversitesi Öğretim Üyesi Doç. Dr. Ömer Kılıç tarafından Bingöl ilinden doğal habitatlarından toplanmış ve sınıflandırılması “The Flora of Turkey and East Aegean Islands” (Davis, 1975) referansına göre yapılmıştır.

Muş Alparslan Üniversitesinin ilgili biriminin yapmış olduğu ihale ve satın alma işlemleri sonucunda, projede kullanılan kimyasal malzemeler, sarf malzemeler, otomatik pipet takımı teslim alınmış ve çalışmalarda kullanılmaya başlanılmıştır.

##### 3.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler

Çalışmada kullanılan bitkilerin antioksidan madde etkilerini belirlemek için yapmış olduğumuz çalışmalarda kullandığımız kimyasal maddelerden bazıları Muş Alparslan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Komisyonu tarafından BAP-18-SYO-4902-01 nolu proje ile satın alınmıştır. ABTS (2,2-azino-bis-3- etilbenzo-tiyazolin-6-sülfonik asit), DPPH (1,1-difenil-2-pikril-hidrazil), BHA (butillenmiş hidroksi anisol) ve BHT (butillenmiş hidroksi toluen) ve neokuprin (2,9-Dimethyl-1,10-phenanthroline) Sigma-Aldrich’ten satın alındı. Muş Alparslan Üniversitesi Merkezi Laboratuvarından FeCl<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>SCN, K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>, FeCl<sub>3</sub>, TCA (triklor asetik asit), potasyum persülfat kimyasal maddeleri ile etanol, metanol, saf su çözücüleri, cam malzemeler ve gerekli diğer kimyasal maddeler karşılandı.

##### 3.1.3. Metotlarda kullanılan çözeltilerin hazırlanması

### 3.1.3.1. ABTS metodunda kullanılan çözeltiler

1. Fosfat tamponu (pH 7.4; 0.1 M): 1.36 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  kimyasal maddesi bir beher içerisinde üzerine 85 ml saf su eklenerek çözünerek pH metre ile pH'sı 7.4'e ayarlandı. Çözeltinin toplam hacmi saf su ile 100 ml'ye tamamlandı.

2. ABTS çözeltisi (2 mM): 11 mg ABTS maddesi alınarak bir beher içerisinde üzerine 80 ml saf su eklenerek çözülerek son hacim 100 ml'ye saf su ile tamamlandı.

3. Potasyum persülfat çözeltisi (2.45 mM): 66.25 mg  $\text{K}_2\text{O}_8\text{S}_2$  kimyasal maddesi 0.1 Molar fosfat tamponunda (pH: 7.4) tamamen çözününceye kadar oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Son hacim 100 ml'ye saf su eklenerek tamamlandı.

### 3.1.3.2. DPPH metodunda kullanılan çözeltiler

1. DPPH çözeltisi (1 mM): 39 mg DPPH kimyasal maddesi 100 ml etanolde ışık geçirmeyen tamamen karanlık bir ortamda 12 saat boyunca magnetik karıştırıcı yardımıyla tamamen çözünerek DPPH serbest radikali çözeltisi hazırlandı.

### 3.1.3.3. Tiyosiyanat metodunda kullanılan çözeltiler

1. Fosfat tamponu (0.04 M): Çözeltiyi hazırlamak için 2.27 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  katı maddesi alındı, üzerine 360 ml saf su eklenerek çözüldü ve pH'sı 7.4'e ayarlandı. Toplam hacim saf su eklenerek 400 ml'ye tamamlandı.

2. Linoleik asit emülsiyonu: 50 ml fosfat tamponunda (pH: 7.4) 265 µl linoleik asit karıştırılarak derişimi 0.017 M olan linoleik asit sıvı-sıvı homojenize karışımı hazırlandı. Emülgatör olarak Tween-20 ilave edilip karışımın homojen olması sağlandı.

3. HCl çözeltisi: %3.5'luk HCl çözeltisi hazırlamak için %37'lik HCl'den 9.46 ml alınarak saf su ile son hacim 100 ml'ye tamamlandı.

4.  $\text{FeCl}_2$  çözeltisi (20 M): Bu çözeltiyi hazırlamak için 281 mg katı  $\text{FeCl}_2 \cdot 3/4\text{H}_2\text{O}$  maddesi %3.5'luk HCl ile çözünmesi sağlanarak son hacim aynı çözeltiyle 100 ml olarak ayarlandı.

5.  $\text{NH}_4\text{SCN}$  çözeltisi (%30): Bu çözeltiyi hazırlamak için gerekli olan 30 g  $\text{NH}_4\text{SCN}$  katı maddesi saf suda çözüldü, son hacmi saf su ile 100 ml olarak ayarlandı.

### 3.1.3.4. FRAP metodunda kullanılan çözeltiler

1. Fosfat tamponu (0.2 M): Bu çözeltiyi hazırlamak için 6.24 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  katı maddesi saf suda çözünmesi sağlanarak son hacmi 250 ml'ye tamamlandı ve NaOH çözeltisiyle pH'sı 6.6'ya ayarlandı.

2.  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  çözeltisi (%1'lik): Bu çözeltiyi hazırlamak için 2.5 g katı  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  maddesi saf suda çözülerek çözeltinin hacmi 250 ml'ye tamamlandı.

3. TCA çözeltisi (%10'luk): Bu çözeltiyi hazırlamak için 25 g TCA katı maddesi bir miktar saf suda çözülerek çözeltinin hacmi 250 ml'ye ayarlandı.

4.  $\text{FeCl}_3$  çözeltisi (%0.1'lik): Bu çözeltiyi hazırlamak için 83 mg  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  katı maddesi saf suda çözülerek çözeltinin hacmi 50 ml'ye ayarlandı.

### 3.1.3.5. CUPRAC metodunda kullanılan çözeltiler

1.  $\text{CuCl}_2$  çözeltisi (0.01 M'lik): Bu çözeltiyi hazırlanmak için 94 mg  $\text{CuCl}_2$  katı maddesi alındı ve 100 ml saf suda çözünmesi sağlandı.

2. neokuprin çözeltisi ( $7.5 \times 10^{-3}$  M): Bu çözeltiyi hazırlanmak için 156 mg neokuprin katı maddesi alınarak 100 ml etanolde çözüldü.

3.  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  tamponu (1 M): Bu tampon çözeltisini hazırlamak için 15.4 g  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  katı maddesi alınarak 160 ml saf suda çözülerek pH'sı 6.5'e ayarlandı. Çözeltinin hacmi saf su eklenerek 200 ml'ye ayarlandı.

### 3.1.4. Kullanılan cihazlar

Analitik hassas terazi: Scaltec SBA 41

Buzdolabı: Arçelik

Evaporatör: Heidolph 94200, Bioblock Scientific

HPLC cihazı: Agilent Technologies 1260 Infinity II

İnkübatör: Elektro-Mag (0-300 °C)

Liyofilizatör: Heidolph Scientific

Magnetik karıştırıcı: Stuart Scientific

Otomatik mikropipetler: Eppendorf Research® plus  
 pH metre: Hanna Instrument  
 Distile su cihazı: Liston A 1210, Rusya  
 Spektrofotometre (tekli numune): Shimadzu, UV-1208  
 Spektrofotometre (çoklu numune): Thermo Scientific, Multiskan  
 Spektrofotometre küveti: Quartz küvet  
 Vorteks: Four E's Scientific Vortex Mixer

### 3.2. Yöntem

#### 3.2.1. Bitkilerin su ve etanol ekstralarının hazırlanması

*Nepeta fissa* ve *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* bitkilerinin etanol ekstraları ve liyofilize su ekstraları, yöntemde belirtildiği gibi hazırlanmıştır. Çalışmalarda kullanılan *Nepeta fissa* ve *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* bitkileri direkt güneş ışınlarına maruz bırakılmadan oda şartlarında kurutulmuş ve bir parçalayıcı ile ufalanarak toz haline getirilmiştir.

Su ve etanol ekstraları hazırlanmasında 10 g kurutulmuş numune alınarak 100 ml saf su veya etanol ile (1/10 :w/v) bir manyetik karıştırıcı ile ayrı ayrı karıştırılmıştır. Karışımlar daha sonra süzgeç kâğıdından süzölmüş ve süzöntüler dondurulduktan sonra bir su ekstresi liyofilizatörde 5 mm Hg basınç ve -50 °C'de liyofilize edilmiştir. Liyofilize su ekstraları kullanılıncaya kadar -30 °C'de bekletilmiştir. Etanol ekstraları hazırlanmasında karışımlar daha sonra süzgeç kâğıdından süzölmüş ve süzöntüler bir evaporatörde 40 °C'de etanol uzaklaştırılmıştır.

#### 3.2.2. CUPRAC Metoduna göre indirgeme kapasitesi tayini

*Nepeta nuda* ve *Nepeta fissa* etanol ve su ekstralarının kuprik iyonu ( $\text{Cu}^{2+}$ ) indirgeme kapasitesi Apak ve ark. (2006) kullandığı CUPRAC metodunun hafif bir modifikasyonuna göre yapıldı. Bunun için deney tüplerinin her birine 0.01 M'lık  $\text{CuCl}_2$  çözeltisinden 0.25 ml otomatik pipetleme yardımı ile eklendi. Bunun üzerine sırayla etanolde çözülen  $7.5 \times 10^{-3}$  M'lık neokuprinden 0.25 ml ve 1 M'lık amonyum asetat

tamponundan 0.25 ml ilave edildi. Deney tüpleri iyice karıştırıldıktan sonra çeşitli konsantrasyonlarda (10-50 µg/ml) bitki ekstraktları ve standartlar aktarıldı. Son hacimler saf su ile 1 ml'ye tamamlandı. 30 dakikalık bir inkübasyon işleminden sonra 450 nm'de absorbanları sistematik olarak kaydedildi.

### 3.2.3. FRAP yöntemine göre indirgeme kapasite tayini

*Nepeta nuda* ve *Nepeta fissa* bitkilerinin su ve etanol ekstraktlarının ferrik iyonlarını ( $Fe^{3+}$ ) indirgeme kuvveti Oyaizu (1986) metoduna göre tayin edildi. Bu yöntem için hazırlanmış olduğumuz stok çözeltiler kullanıldı. Stok çözeltilerin değişik konsantrasyonlarını içeren numuneleri deney tüplerine alındı ve saf su ile hacimler 1 ml'ye tamamlandı. Tüplere ayrı ayrı olarak 2.5 ml fosfat tamponundan (0.2 M; pH 6.6) ve 2.5 ml potasyum ferrisiyanür (%1'lik) eklendikten sonra 50°C'de 20 dakika inkübe işlemi gerçekleştirildi. İnkübasyondan hemen sonra reaksiyon karışımı olan deney tüplerine 2.5 ml %10'luk triklorasetik asit (TCA) aktarıldı. Bu çözeltiden 2.5 ml alınarak üzerine 2.5 ml saf su ve 0.5 ml  $FeCl_3$  (%0.1'lik) ilave edildikten sonra 700 nm'de absorbanlar ölçüldü. Spektrofotometrede kör olarak saf su kullanıldı.

Bu yöntemin esası antioksidan ihtiva eden bir maddenin eklenmesi sonucu  $Fe^{+3}$  iyonları içeren bir kompleksin  $Fe^{2+}$  ye indirgenmesi esasına dayanmaktadır. Kullandığımız bu metotta, hazırladığımız çözeltilerin renginin ortamda bulunan ve antioksidan özellik gösteren maddelerin indirgeme yetenekleri sebebiyle kompleks oluşturmalarında çözeltilerin yeşil rengin değişik farklı tonlarında ortaya çıkması ve spektrofotometrede ölçülen absorban esasına dayanmaktadır.

### 3.2.4. DPPH serbest radikali giderme aktivitesi tayini

DPPH radikali uzun ömürlü olarak sınıflandırılan bir azot radikalidir. Bu metot antioksidan olarak görev yapan maddelerin radikal giderme reaktivitelerini belirlemede kullanılan en yaygın yöntemlerden biri olarak kabul edilmektedir. DPPH• mor renge sahip bir radikal olup bize eşleşmemiş nitrojen elektronlarının varlığından söz eder. Bu yöntemde antioksidan aktivitenin tespiti için DPPH radikalinin, antioksidan özelliği gösterebileceği düşünülen bitki ekstraktı veya standart çözeltiler ile reaksiyona girmesi

sağlanır. Reaksiyon tamamlandığında karışımın renginin açıldığını ve sarı rengin oluştuğu görülür. Oluşan bu sarı rengin anlamı, antioksidan olarak düşünülen maddelerin DPPH radikallerini sarı renkte olan difenilpikrilhidrazine indirgemeleridir. Yapılan bu çalışma sonucunda 517 nm’de azalan absorbanstaki reaksiyon sonucu geriye kalan DPPH• çözeltisi miktarını vermekte ve bu da serbest radikal giderme aktivitesi olarak tanımlanmaktadır (Bursal ve ark., 2019).

*Nepeta nuda* ve *Nepeta fissa* bitkilerden elde edilen ekstraktların serbest radikali giderme aktivitesi DPPH için Blois (1958) metodunun geliştirilmiş bir formuna göre gerçekleştirildi (Bursal ve Gülçin, 2011). Bu işlem için öncelikle serbest radikal çözeltisi hazırlandı. DPPH serbest radikali 39 mg alındı ve 100 ml etanol de çözülerek 1 mM DPPH serbest radikali çözeltisi hazırlandı. Stok çözelti olarak hazırlanan numunelerden deney tüplerine sırasıyla değişik konsantrasyonlarda (10-50 µg/ml) numuneler ve standartlar aktarıldı ve toplam hacimleri etanol ile 3 ml olacak şekilde tamamlandı. Daha sonra ayrı ayrı her bir numuneye etanolik DPPH çözeltisinden birer ml ilave edildi. 30 dakika oda sıcaklığında karanlık bir ortamda inkübe işlemi gerçekleştirildi. Daha sonra ise spektrofotometre cihazında 517 nm’de absorbanstaki ölçüldü. Kör olarak etanolden kaynaklanan absorbanstaki kaydedildi.

Kontrol çözeltisi olarak ise 3 ml etanol çözeltisi üzerine 1 ml DPPH• çözeltisinden oluşan numune aktarıldı. Absorbanstaki meydana gelen düşüş giderilmiş olan DPPH radikali karışımının miktarını yani serbest radikallerini azaltma gücünü göstermektedir.

### 3.2.5. ABTS<sup>+</sup> radikali giderme aktivitesi tayini

ABTS metodu da DPPH metodu gibi sıklıkla kullanılan radikal giderme metodlarından birisidir. ABTS<sup>+</sup> radikali giderme aktivitesi, bitki ekstraktlarının veya saf maddelerin katyon radikal giderme aktivitelerinde kullanılan bir tayin yöntemidir (Bursal, 2009). Bu yöntemde ilk olarak ABTS maddesinin radikal formu olan ABTS<sup>•+</sup> nin oluşturulması gerekmektedir. Bunun için ise 2.45 mM K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> (persülfat) ve 7 mM ABTS çözeltileri 1:1 oranında karıştırıldı ve karanlık bir ortamda oda sıcaklığı şartı sağlanarak 16 saat inkübasyon işlemine tabi tutuldu. Önceden hazırlanmış olduğumuz ABTS<sup>+</sup> çözeltisinin 734 nm’de absorbanstaki alınarak kontrol numunesinin 1.0±0.2 absorbanstaki değerine ayarlandı. Elde edilen absorbanstaki değerlerinin ortalaması

kontrol absorbansı olarak kullanıldı. ABTS<sup>+</sup> çözeltisinden ayrı ayrı olarak tüplere 3 ml aktarıldı. Yine aynı tüplerin üzerine 10-50 µl arasındaki farklı hacimlerde bitki ekstraktından ilave edilerek tüp hacmi 4 ml olacak şekilde üzerilerine alkol ilavesi sağlandı. İnkübasyon işlemi oda sıcaklığında ve karanlıkta 2 saat olarak gerçekleştirildi ve bu sürenin sonunda hazırladığımız örneklerin 734 nm'deki absorbansları kaydedildi. Absorbanstaki azalma ortamdan yok edilmiş olan ABTS<sup>+</sup> radikalinin miktarını vermektedir.

### 3.2.6. Tiyosiyanat metoduna göre toplam antioksidan aktivite tayini

Ekstrelerinin toplam antioksidan aktivite tayini ferrik tiyosiyanat metoduna göre belirlendi (Mitsuda ve ark., 1966). Ekstrelerden oluşturulan stok çözeltilerden istenilen konsantrasyonlara karşılık gelen miktarlar kapaklı deney tüplerine otomatik pipetler yardımıyla pipetlendi ve toplam hacim tampon çözeltiyle birlikte 2.5 ml olacak şekilde tamamlandı. Bu işlemin ardından her bir tüpe 2.5 ml linoleik asit emülsiyonu aktarıldı. Kontrol çözeltisi olarak 2.5 ml tampon çözelti ve 2.5 ml linoleik asit emülsiyonu kullanıldı. İnkübasyon işlemi 37 °C'de gerçekleştirildi ve her 12 saatte bir arayla deney tüplerinden 100'er µl alınarak 4.7 ml etanol bulunan deney tüplerine aktarıldı. 100 µl Fe<sup>2+</sup> çözeltisine bir sonraki işlemde 100 µl SCN çözeltisi aktarıldı. Kör çözelti olarak 4.8 ml etanol bulunan deney tüpüne 100 µl Fe<sup>2+</sup> ile birlikte 100 µl SCN çözeltilerinin ilavesiyle hazırlanan çözelti kullanıldı. Hazırlanmış olduğumuz numunelerin 500 nm'deki absorbansları köre karşı okunularak kaydedildi.

### 3.2.7. HPLC ile fenolik içerik analizi

Fenolik bileşik tespiti çalışmaları HPLC (yüksek performanslı sıvı kromatografisi) cihazı analizleri ile yapılmıştır. Yöntemde uygulanacak çözücü türleri, çözücü gradientleri, akış hızı, sıcaklık, kolon şartları gibi HPLC parametreleri standardize edilmiştir. *Nepeta fissa* ve *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* bitkilerinin etanol ekstraktlarından HPLC yöntemi için cihaza yüklenecek numuneler hazırlanmıştır. Tablo 3.1'de verilen parametrelere göre çalışılmıştır.

HPLC'de kullanılan ve hareketli fazı oluşturan iki çözücünden Solvent A % 1asetik asit ve Sovent B %100 asetonitrilden oluşmaktadır. HPLC yönteminde cihaz

açıldıktan sonra kullanılan bu solventler takılır. Öncelikle gazların pompadan çıkması sağlanır. Daha sonra sisteme A ve B solventleri girererek sistemin dengelenmesini sağlar. Kolon dengelenme işlemi 0 noktasındaki (baseline) düz bir kromatogram olana kadar devam eder. Numune hazırlanırken %1 asetik asit ve asetonytril (9:1) içeren 10 ml karışım hazırlanır ve bu karışım 10 ml metanol ile karıştırılarak ekstre çözücüsü hazırlanır. 10 mg ekstre bu 1 ml ekstre çözücüsünde çözünür ve filtreden geçirilerek vialer aktarılır. Otosamlere konular ve cihazda yürütülür.





**Tablo 3.1.** HPLC analizleri için kullanılan deneysel koşullar

HPLC koşulları		Gradient elüsyonu		
Model	Agilent Technologies 1260 Infinity II	zaman	A	B
		(dk)	(%)	(%)
Kolon	ACE 5 C18 (250x4.6 mm id)	0	90	10
Kolon firması	G7130A	25	60	40
Dedektör	1260 DAD WR	39	40	60
Pompa	1260 Quat Pump VL	50	10	90
Mobil faz	A: %1 Asetik asit B: Asetonitril	55	90	10
Dalga boyları	272, 280 ve 310 nm			
Otosampler	1260 Vialsampler			
Akış hızı	1 ml/min			
Kolon sıcaklığı	28 °C			
Enjeksiyon miktarı	20 µl			

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

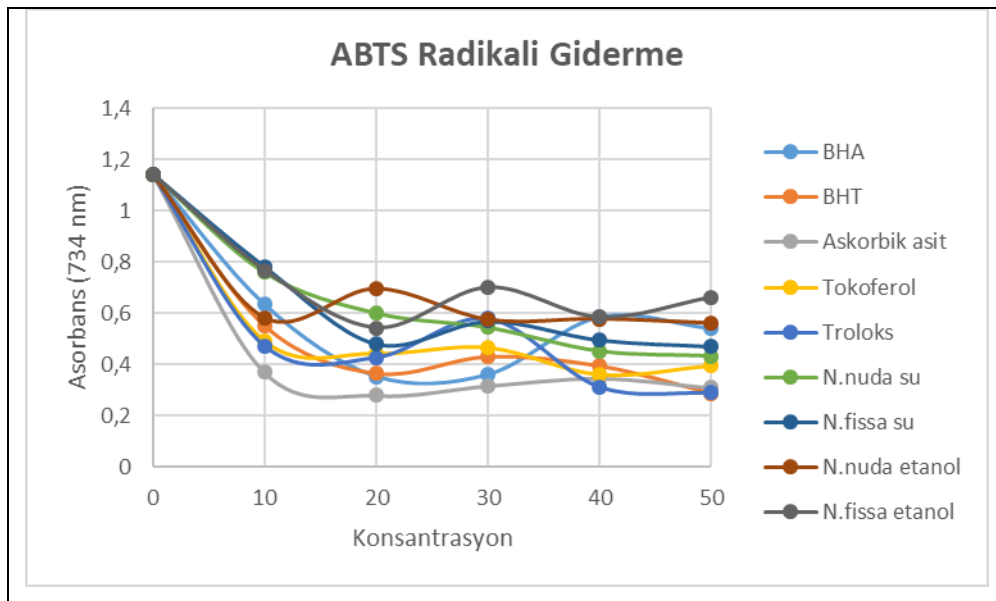
### 4.1.Bitki Numunelerinin Antioksidan Aktivite Tayinleri

Antioksidan aktivite metotlarında ekstreler ile karşılaştırma amacıyla standart antioksidan maddeler olan BHA, BHT, tokoferol, troloks ve askorbik asit maddelerinden stok çözeltiler (1 mg/ml konsantrasyonunda) hazırlanmıştır.

Antioksidan aktivite tayinlerinden ferrik tiyosiyanat ile toplam antioksidan aktivite tayini, ABTS katyon radikali radikali giderme aktivitesi, DPPH serbest radikali giderme aktivitesi, FRAP ve CUPRAC metodlarına göre indirgeme kuvveti tayini çalışmaları *Nepeta fissa* ve *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* bitkilerinin su ve etanol ekstreleri için ayrı ayrı yapılmıştır.

#### 4.1.1. ABTS yöntemi sonuçları

Bu çalışma sonuçlarına göre bitki ekstreleri yüksek miktarlarda neredeyse standart antioksidanlar kadar ABTS<sup>+</sup> radikali giderme aktivitesi gösterdikleri gözlenmiştir ve Şekil 4.1'te gösterilmiştir.

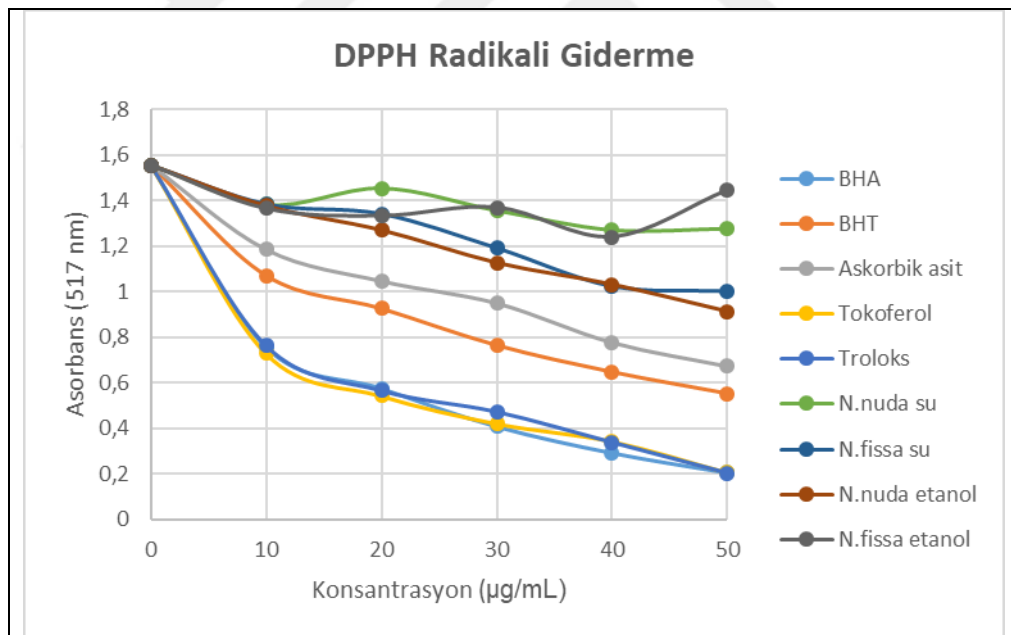


Şekil 4.1. *Nepeta fissa* ve *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* etanol ve su ekstrelerinin farklı derişimlerinin (10-50 µg/ml) ABTS<sup>+</sup> giderme aktivitelerinin grafiği

Çalışma sonuçlarına göre hazırlanan Şekil 4.1 ve Tablo 4.1'e göre *Nepeta fissa* ve *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* bitkilerin etanol ve su ekstralarının standart antioksidan olarak kullanılan askorbik asit, tokoferol, troloks, BHA ve BHT oranlarına yakın radikal giderme yüzdesi ve IC<sub>50</sub> değerleri ile ABTS<sup>+</sup> radikali giderme aktiviteleri sergilediği bulunmuştur.

#### 4.1.2. DPPH yöntemi sonuçları

DPPH metodu çalışma sonuçlarına göre hazırlanan Şekil 4.2 ve Tablo 4.1'te görülen radikal giderme yüzdesi ve IC<sub>50</sub> değerlerine göre *Nepeta fissa* ve *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* bitkilerin etanol ve su ekstralarının standart antioksidan olarak kullanılan askorbik asit, tokoferol, troloks, BHA ve BHT oranlarına göre daha düşük oranda ABTS<sup>+</sup> giderme aktiviteleri sergilediği bulunmuştur. Bu ekstralar orta düzeyde DPPH serbest radikalleri ortamdan gidermişlerdir.



Şekil 4.2. *Nepeta fissa* ve *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* etanol ve su ekstralarının farklı derişimlerinin (10-50 µg/ml) DPPH\* giderme aktivitelerinin grafiği

ABTS kation radikali giderme aktivitesi ve DPPH serbest radikali giderme aktivitesi yöntemlerine göre standartlar ve numunelerin için IC<sub>50</sub> ve radikal giderme yüzde sonuçları Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.1.** *Nepeta nuda* subsp. *albiflora*, *Nepeta fissa* ve standartların DPPH radikali için IC<sub>50</sub> ve radikal giderme yüzdeleri

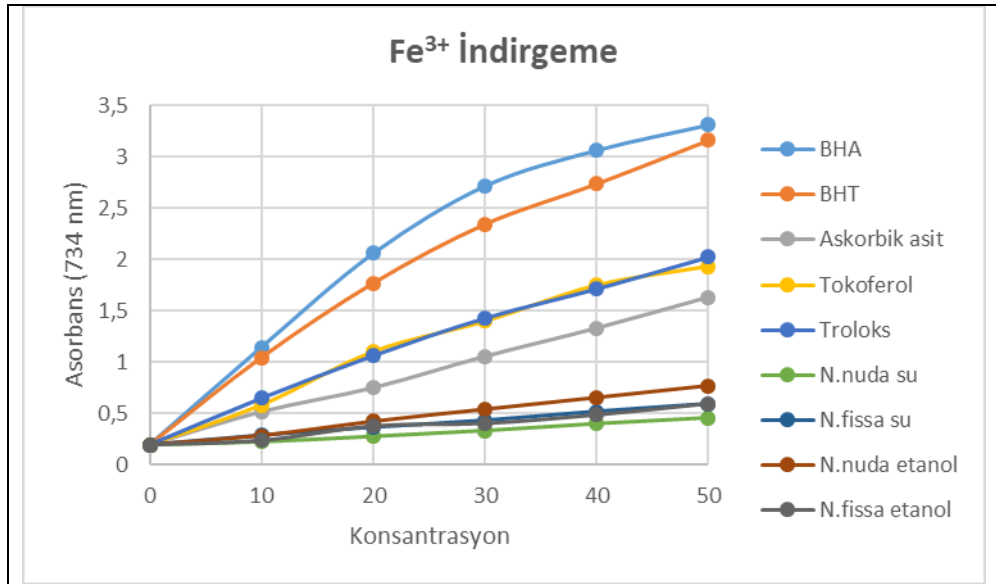
Numune	DPPH giderme		ABTS giderme	
	*IC <sub>50</sub>	**%	*IC <sub>50</sub>	**%
BHA	19.8±7.4	71.3±14.2	27.2±16.1	56.7±11.4
BHT	28.6±8.8	49.1±13.4	22.5±10.2	64.5±8.5
Askorbik asit	34.8±9.1	40.5±13.2	20.9±11.0	71.5±3.0
Tokoferol	20.0±7.8	71.2±12.8	23.6±11.4	62.2±4.6
Troloks	20.3±7.6	69.9±13.8	23.2±10.5	63.5±10.4
<i>N. nuda albiflora</i> su ekstresi	113.4±42	13.3±4.9	27.6±10.0	51.2±11.5
<i>N. nuda albiflora</i> etanol ekstresi	54.4±6.7	26.5±11.9	31.1±14.9	47.6±4.8
<i>N. fissa</i> su ekstresi	61.9±10.8	23.7±11.4	28.2±11.5	51.0±11.4
<i>N. fissa</i> etanol ekstresi	138±26	13.2±4.8	34.7±18.0	43.0±7.9

\* radikalın yarısının giderilmesi için gereken madde konsantrasyonu

\*\* radikal giderme yüzdeleri

#### 4.1.3. FRAP yöntemi sonuçları

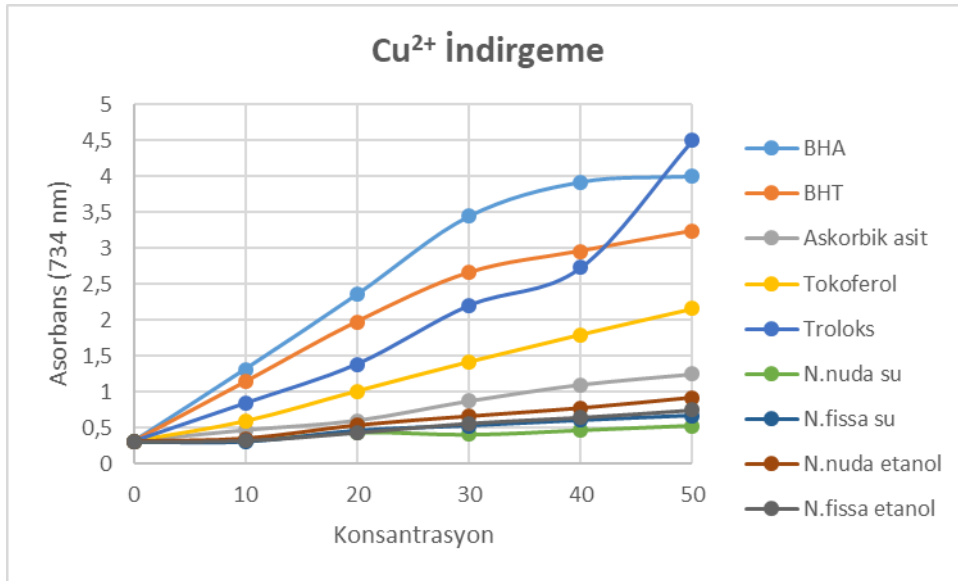
Bu çalışmada analiz edilen *Nepeta fissa* ve *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* bitkileri etanol ve su ekstralarının ferrik iyonlarını indirgeme kapasitesi standart birer antioksidan olan askorbik asit, tokoferol, troloks, BHA ve BHT gibi artan ekstre konsantrasyonu ile paralel olarak artmakta fakat artış miktarlarının standartlara nisbeten daha az olduğu anlaşılmaktadır. Bu yöntemdeki Fe<sup>3+</sup> iyonları indirgeme potansiyelleri grafik ile Şekil 4.3'te gösterilmiştir.



Şekil 4.3. *Nepeta fissa* ve *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* etanol ve su ekstralarının farklı derişimlerinin (10-50 µg/ml) ferrik iyonlarını indirgeme kuvveti tayini

#### 4.1.4. CUPRAC yöntemi sonuçları

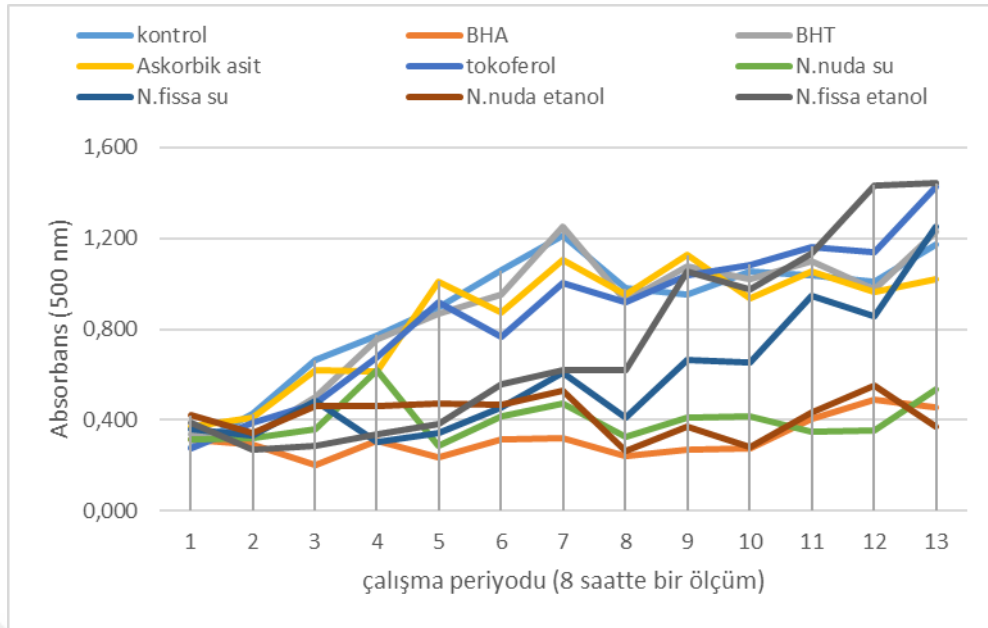
Bu yöntem reaksiyonları sonucunda artan absorbans kuprik iyon ( $\text{Cu}^{2+}$ ) indirgeme kapasitesini göstermektedir. Bulgulardan da anlaşıldığı gibi *Nepeta fissa* ve *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* bitkisi etanol ve su ekstralarının BHA, BHT, tokoferol, troloks ve askorbik asit standartlarından daha düşük oranda indirgeme kapasitesi sergilemiştir. *Nepeta nuda albiflora* ve *Nepeta fissa* bitkilerinin ikisinde de su ekstresi etanol ekstresine nisbeten düşük oranda indirgeme kapasitesi sergilemiştir. Bu çalışma sonuçlarına göre 50 µg/ml konsantrasyonunda kuprik iyonlarını ( $\text{Cu}^{2+}$ ), kupröz iyonlarına ( $\text{Cu}^+$ ) indirgeme kapasitelerinin sıralaması troloks, BHA, BHT, tokoferol, askorbik asit, *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* etanol ekstresi, *Nepeta fissa* etanol ekstresi, *Nepeta fissa* su ekstresi ve *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* su ekstresi şeklindedir. Bu yöntemdeki  $\text{Cu}^{2+}$  iyonları indirgeme potansiyelleri grafik ile Şekil 4.4'te gösterilmiştir.



Şekil 4.4. *Nepeta fissa* ve *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* etanol ve su ekstralarının farklı derişimlerinin (10-50 µg/ml) kuprik iyonlarını indirgeme kuvveti tayini

#### 4.1.5. Tiyosiyanat yöntemi sonuçları

Çalışmada kullandığımız *Nepeta fissa* ve *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* bitkilerinden temin edilen su ve etanol ekstralarının antioksidan aktiviteleri ferrik tiyosiyanat aktivite tayin yöntemine göre belirlendi. *Nepeta fissa* ve *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* elde edilen su ve etanol ekstralarının toplam antioksidan aktivite tayini için sırasıyla 20 µg/ml konsantrasyonlarındaki numuneler kullanıldı. Şekil 4.5'te *Nepeta fissa* ve *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* bitkilerinden edilen su ve etanol ekstralarının toplam antioksidan aktivitesi grafiği verilmiştir. Bu yöntemle göre kontrol numunesinin belli bir zamana kadar absorbans artışı göstermesi ve bu noktadan sonra azalma göstermesi beklenmektedir. Bu dönüm noktasının 56. saat olduğu Şekil 4.5'ten anlaşılmaktadır. Bu noktadan sonra bitki ekstraları standartlar gibi absorbans değişimleri göstermiştir. Bu yöntemin esasında antioksidan maddelerin doymamış esansiyel bir yağ asidi olan linoleik asidin peroksidasyonunu önlemesi ve bunun spektrofotometrik olarak tespit edilmesi vardır.



Şekil 4.5. *Nepeta fissa* ve *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* etanol ve su ekstralarının ferrik tiyosiyonat metoduna göre antioksidan aktivite tayini

#### 4.2. Bitki Numunelerinin HPLC ile Fenolik Bileşik Tayinleri

Standart bileşiklerin kromatogramları ile bitki ekstralarını elde edilen kromatogramlar ile karşılaştırılmış ve içerikler kantitatif olarak belirlenmiştir. *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* su ve etanol ekstralarının HPLC analiz sonuçlarına göre etanol ekstresi fenolik içerik açısından çok daha zengin bulunmuştur. Mirisetin bileşiği *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* su ekstrasının en fazla bulunan fenolik bileşiği iken apigenin ve quersetin *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* etanol ekstrasının en fazla bulunan fenolik bileşiği olduğu bulunmuştur. *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* su ve etanol ekstralarında bulunan diğer fenolik bileşikler Tablo 4.2’de gösterilmiştir.

**Tablo 4.2.** *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* su ve etanol ekstralarının fenolik bileşiklerinin HPLC verileri

	Standart Bileşikler	RT (dk)	<i>Nepeta nuda</i> su ekstresi		<i>Nepeta nuda</i> etanol ekstresi	
			Alan [mAU*s]	Miktar (µg/ml)	Area [mAU*s]	Miktar (µg/ml)
1	Askorbik asit	3.77	8.2	0.5±0.7	11.8	0.6±1.0
2	Gallik asit	5.42				
3	3,4-Dihidroksibenzoik asit	7.95	221.9	0.4±0.6		
4	4-Hidroksibenzoik asit	11.28			83.2	2.1±0.4
5	trans-p-kumarik asit	16.33	24.6	1.5±0.0	1122.7	18.5±0.4
6	Mirisetin	22.29	35.0	2.8±0.6	187.5	9.3±0.4
7	Absisik asit	26.74			212.1	17.5±7.2
8	Quersetin	27.63			1728.2	44.5±62.9
9	Apigenin	31.57			481.9	84.5±57.6
10	Kaempferol	34.10			126.8	5.7±8
11	Kurkumin	43.03			58.4	17.1±0.5
12	Katekol	13.20	24.7	0.7±1.0	12.6	0.3±0.5
13	Vanillin	17.05	107.4		52.7	
14	Kafeik asit	13.19	27.2		30.9	
15	Sinamik asit	18.60			530.3	4.5±3.3
16	Rosmarinik asit	21.53			14594.6	182.0±4.5
17	Salisilik asit	24.59			272.7	5.9±0.8

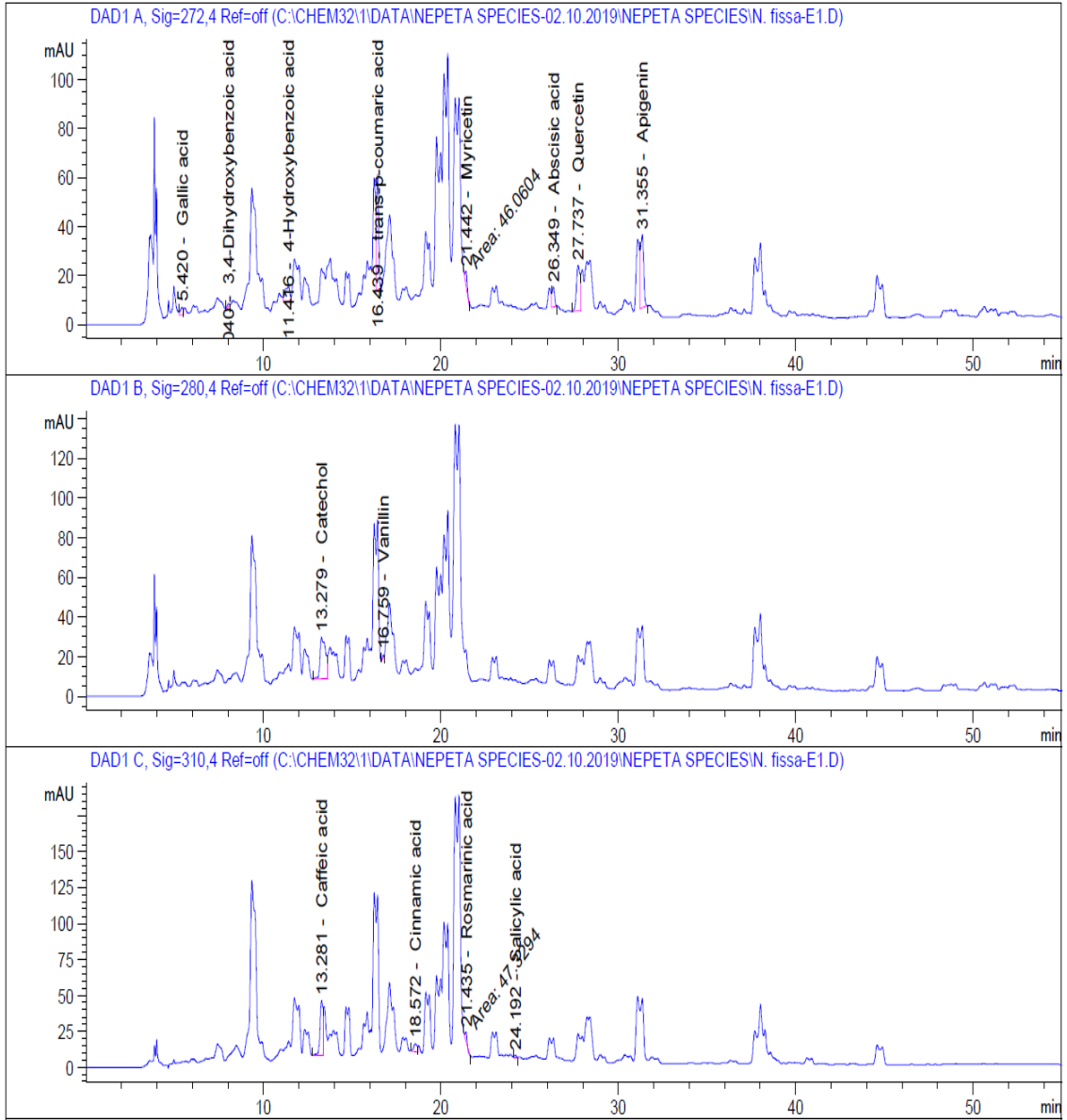
*Nepeta fissa* su ve etanol ekstralarının HPLC analiz sonuçlarına göre de *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* bitkisinde olduğu gibi etanol ekstresi fenolik içerik açısından çok daha zengin bulunmuştur. Katekol bileşiği *Nepeta fissa* su ekstresinin en fazla bulunan fenolik bileşiği iken apigenin ve rosmarinik asit *Nepeta fissa* etanol ekstresinin en fazla bulunan fenolik bileşikleridir. *Nepeta fissa* su ve etanol ekstralarında bulunan diğer fenolik bileşikler Tablo 4.3'te gösterilmiştir.



**Tablo 4.3.** *Nepeta fissa* su ve etanol ekstrelerinin fenolik bileşiklerinin HPLC verileri

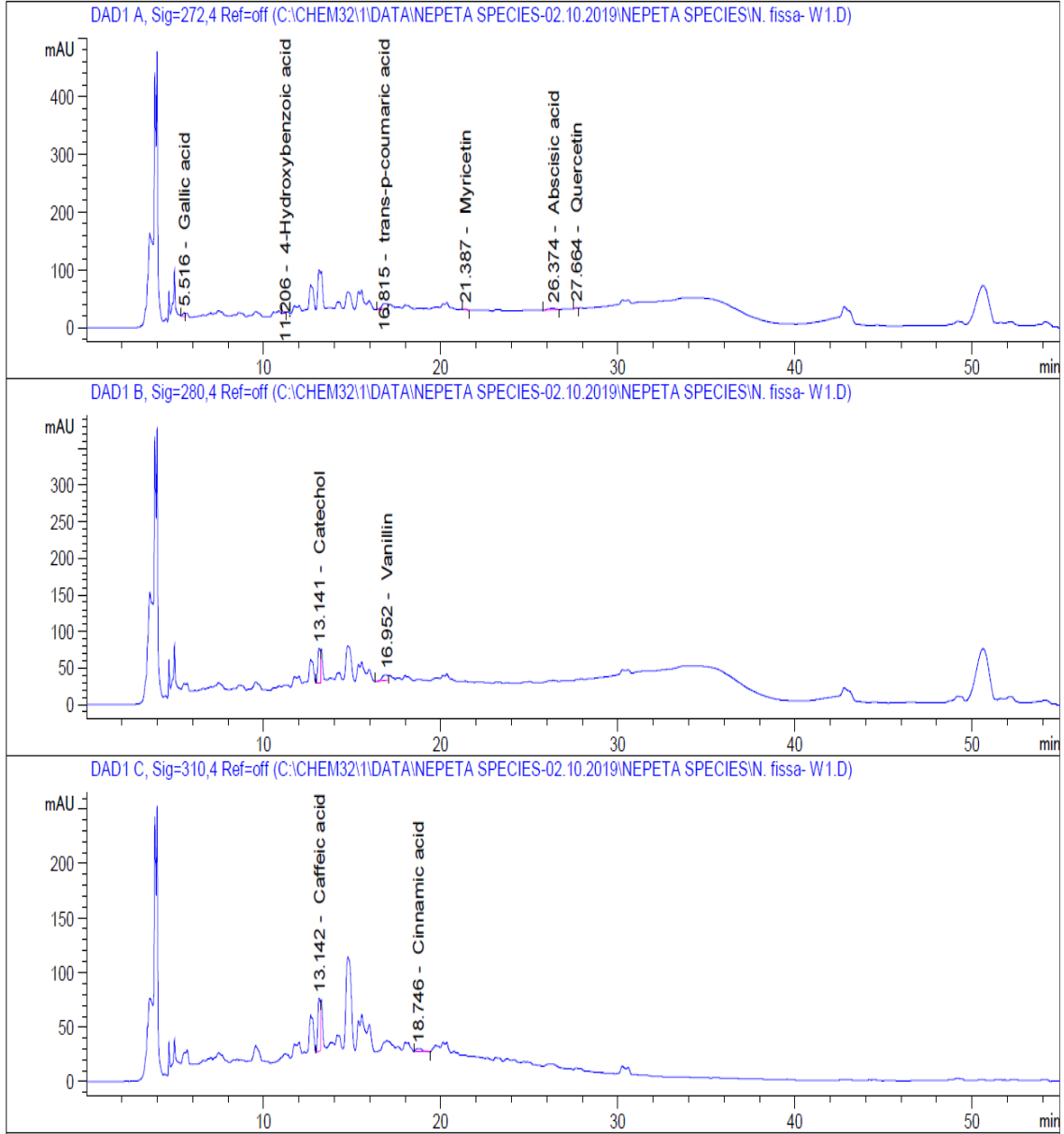
	Standart Bileşikler	RT (dk)	<i>N. fissa</i> su ekstresi		<i>N. fissa</i> etanol ekstresi	
			Alan [mAU*s]	Miktar ( $\mu$ g/ml)	Area [mAU*s]	Miktar ( $\mu$ g/ml)
1	Askorbik asit	3.77				
2	Gallik asit	5.42	30.3		27.4	
3	3,4-Dihidroksibenzoik asit	7.95			26.3	
4	4-Hidroksibenzoik asit	11.28	20.0	1.2 $\pm$ 0.1	99.3	2.3 $\pm$ 0.2
5	trans-p-kumarik asit	16.33	192.9	4.1 $\pm$ 0.2	413.5	7.5 $\pm$ 0.1
6	Mirisetin	22.29	4.9	0.8 $\pm$ 1.2	49.1	3.4 $\pm$ 0.2
7	Absisik asit	26.74	36.6	3.1 $\pm$ 4.4	82.3	6.9 $\pm$ 0.1
8	Quercetin	27.63	25.1	0.4 $\pm$ 0.1	212.4	5.3 $\pm$ 1.7
9	Apigenin	31.57			377.7	66.1 $\pm$ 0.7
10	Kaempferol	34.10				
11	Kurkumin	43.03				
12	Katekol	13.20	537.1	16.5 $\pm$ 5.3	444.7	13.6 $\pm$ 0.2
13	Vanillin	17.05	26.6			
14	Kafeik asit	13.19	574.9	3.7 $\pm$ 1.9	444.3	2.4 $\pm$ 0.1
15	Sinamik asit	18.60	92.6	1.4 $\pm$ 0.1	73.8	1.2 $\pm$ 0.0
16	Rosmarinik asit	21.53			76.5	1.5 $\pm$ 0.5
17	Salisilik asit	24.59			10.7	

*Nepeta fissa* ve *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* bitkileri etanol ve su ekstrelerinin HPLC metodunda standard olarak kullanılan 17 farklı bileşiğe ait kromatogramlar Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8 ve Şekil 4.9’da ayrı ayrı verilmiştir.



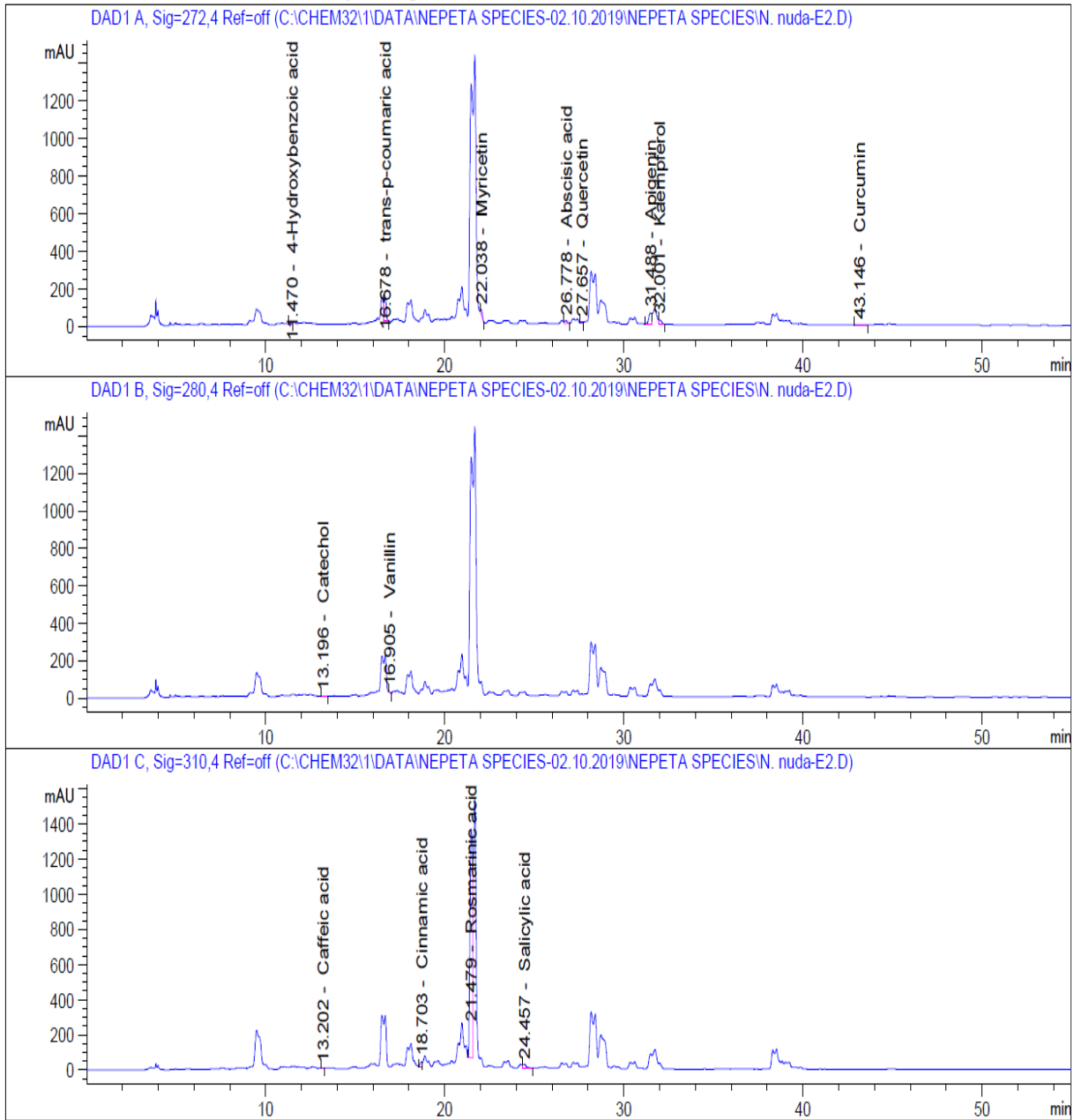
Şekil 4.6. *Nepeta fissa* etanol ekstresi 272, 280 ve 310 nm’de elde edilen fenolik bileşik HPLC kromatogramları

Şekil 4.6’daki HPLC kromatogramlarından görüldüğü gibi *Nepeta fissa* etanol ekstresinde kullanılmış olan toplam 17 standart bileşikten başta apigenin, katekol ve trans-p-kumarik asit olmak üzere 14 bileşik tespit edilmiştir.



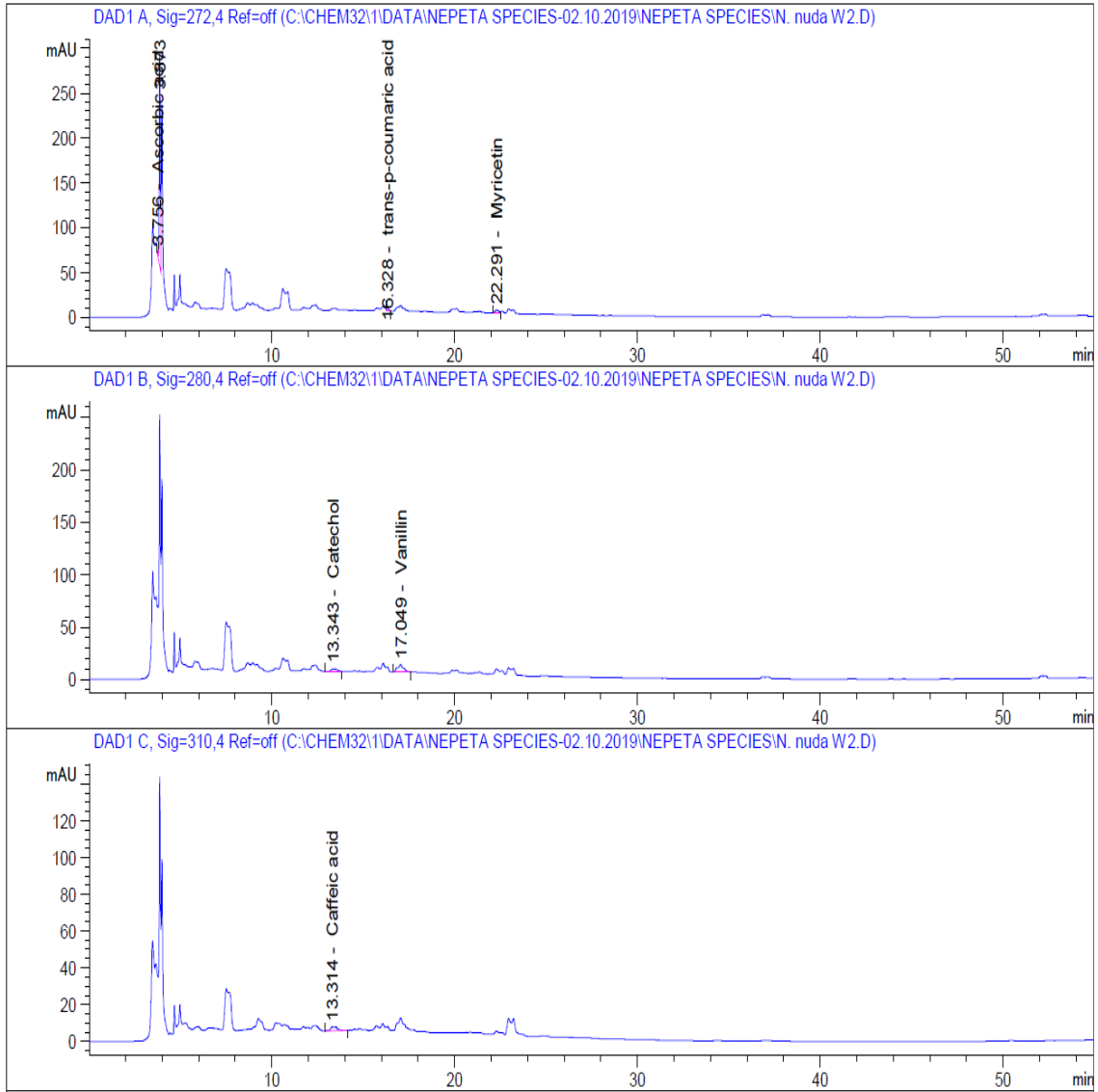
Şekil 4.7. *Nepeta fissa* su ekstresi 272, 280 ve 310 nm’de elde edilen fenolik bileşik HPLC kromatogramları

Şekil 4.7’deki HPLC kromatogramlarından görüldüğü gibi *Nepeta fissa* su ekstresinde kullanılmış olan 17 standart bileşikten başta katekol, trans-p-kumarik ve kafeik asit olmak üzere 10 bileşik tespit edilmiştir.



Şekil 4.8. *Nepeta nuda* etanol ekstresi 272, 280 ve 310 nm'de elde edilen fenolik bileşik HPLC kromatogramları

Şekil 4.8'deki HPLC kromatogramlarından görüldüğü gibi *Nepeta nuda* etanol ekstresinde kullanılmış olan toplam 17 standart bileşikten başta rosmarinik asit, apigenin ve quersetin olmak üzere 14 bileşik tespit edilmiştir.



**Şekil 4.9.** *Nepeta nuda* su ekstresi 272, 280 ve 310 nm’de elde edilen fenolik bileşik HPLC kromatogramları

Şekil 4.9’deki HPLC kromatogramlarından görüldüğü gibi *Nepeta nuda* su ekstresinde kullanılmış olan toplam 17 standart bileşikten başta mirisetin olmak üzere 6 farklı bileşik tespit edilmiştir. Bu çalışma sonuçlarına göre *Nepeta fissa* ve *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* bitkilerinin her ikisinde de etanol ekstresi hem kalitatif hem de kantitatif olarak belirgin olarak su ekstresinden fazla fenolik içeriğe sahip olduğu bulunmuştur. Ayrıca, apigenin diğer standartlara göre daha çok miktarda bulunan fenolik bileşik olmuştur. Ayrıca rosmarinik asit iki bitki türü ekstrelerinin içerisinde en fazla miktarda bulunan bileşik olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.2 ve 4.3.). Bitki kaynaklı doğal antioksidanlarda etken madde analizi için fenolik bileşik içeriği tespiti çok önemlidir. Bu yüzden fenolik bileşik içeriği tespiti yüksek biyolojik aktivite ile

yakından ilişkilidir. Bu çalışmada da fenolik bileşik içerikleri ile antioksidan aktivite sonuçlarının bir korelasyona sahip olduğu bulunmuştur.



## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışma bitkilerinin liyofilize su ve etanol ekstralarının antioksidan özelliklerini belirlemek için yaptığımız çalışmalarda FRAP yöntemine göre  $Fe^{3+} - Fe^{2+}$ ye dönüşümü indirgeme kapasitesi, CUPRAC metoduna göre kuprik iyonlarını ( $Cu^{2+}$ ) kuproz iyonlarına ( $Cu^+$ ) indirgeme kapasitesi, DPPH serbest radikali ve ABTS katyon radikali giderme aktiviteleri ile ferrik tiyosiyanat metoduna göre toplam antioksidan aktivite tayini gibi farklı metotlar kullanılarak farklı konsantrasyonlardaki ekstraların antioksidan aktiviteleri ayrı ayrı belirlenmiştir. Kullanılan antioksidan ve antiradikal yöntemlerde bitkilerin su ve etanol ekstralarının aktiviteleri standart antioksidan olarak kabul edilen BHA, BHT, troloks, tokoferol ve askorbik asit ile karşılaştırmaları yapılmıştır.

Daha önce yapılmış birçok çalışma fenolik içerik ve antioksidan aktivite arasında ilişki olduğunu ortaya koymuş ve pekçok bilim insanı da fenolik içerik ile antioksidan aktivite arasında kuvvetli bir korelasyon tespit etmişlerdir (Kuskoski ve ark. 2005, Mahattanatawee ve ark. 2006, Silva ve ark. 2007), bazıları da aralarında herhangi bir korelasyon tespit edememişlerdir (Imeh ve Khokhar 2002; Ismail Marjan ve Foong 2004). Birçok kanıt C vitamininin meyve ve sebzelerde kuvvetli bir antioksidan olduğunu göstermektedir. Diyet askorbik asit alımı yüksek olan kişilerin sürekli olarak gelişen kanser ile arasında düşük bir risk ile ilişkili bulunmuştur (Leong ve Shui 2002).

Çalışmamızda antioksidan aktivite ölçümlerinin konsantrasyona bağlı değişkenliğinin hesaplanabilmesi için her bir ekstreten beş ayrı numune (10, 20, 30, 40 ve 50  $\mu\text{g/ml}$ ) konsantrasyonları ayrı ayrı hazırlanmıştır. ABTS haricindeki metotlarda, genellikle ekstraların artan konsantrasyon miktarı ile orantılı olarak antioksidan aktivitelerinde de artma görülmüş ve bu anlamda bir korelasyon olduğu gözlemlenmiştir. Sadece ABTS yönteminde 20  $\mu\text{g/ml}$ 'den daha yüksek konsantrasyonlarda dikkate değer bir etki gözlenmemiştir. Bu sonuçlardan anlaşıldığı üzere konsantrasyon miktarının artışı ile etken madde miktarının da arttığı yorumlanabilir. Ortaya çıkan bu korelasyonun nedeni bitkilerin ihtiva ettiği antioksidan özelliği olan fenolik bileşikler (fenolik asit, flavonoidler), azotlu bileşikler (alkaloidler, aminler) ve vitaminler gibi birçok radikal giderici bileşik olabilir.

Ekstrelerin farklı yöntemlerle yapılan antioksidan tayinleri arasında ilişki bulunabilir. Örneğin bir bileşiğin indirgen olması o bileşiğin antioksidan etkinlik

göstermesinde önemli bir neden olabilir. Antioksidan aktivite farklı yol ve mekanizma ile gerçekleşebilir. Örneğin, oksidasyona geçiş metallerinin sebep olduğu bir durumda, antioksidan maddenin indirgen özelliği, antioksidan etki açısından pek önemli olmayabilir. Bir ekstre ya da bileşik serbest radikal giderme aktivitelerden herhangi birine sahipse, örneğin yalnızca sadece metal şelatlama özelliğine sahip olması bile böyle bir sistemde oksidasyon hızında yavaşlamaya sebep olacaktır. Metal şelatlama özelliğine sahip bir ekstre ya da bileşiğin antioksidan aktivitesi, onun indirgeme kuvveti veya ihtiva ettiği hidroksil (-OH) gruplarından çok ortamda mevcut metalleri uzaklaştırma özelliğiyle de alakalıdır. Oksidasyona singlet oksijenin neden olduğu durumlarda ise etkin antioksidanlar singlet oksijenini giderici maddelerdir. Karotenoidler bu duruma örnek olarak gösterilebilir (Halliwell ve ark., 1989). Antioksidan maddeler antioksidatif etkinliklerini peroksitleri parçalama, geçiş metallerini bağlama, radikal giderme ve hidrojen koparılmasını engelleme gibi yollarla ortaya koyabilirler (Diplock, 1997).

$H_2O_2$  molekülünün çeşitli metal tuzları ile reaksiyona girmesi sonucu hidroksil radikalleri oluşur. Bu reaksiyonlarda bahsi geçen metal iyonu genellikle demirdir. Bunun yanı sıra bu tarz reaksiyonları bakır da verebilir. Bu şekilde gerçekleşen ve sonucunda  $H_2O_2$  molekülü oluşan reaksiyonlara Fenton reaksiyonları denir. Oksidatif stres sonucu intaselüler serbest  $Ca^{+2}$ 'nin ve Fe(III)'ün konsantrasyonlarının arttığı ispatlanmıştır. Ayrıca oksidatif stres sonucu ferritinden Fe(III)'ün mobilizasyonu artar. Dolayısıyla bir Haber-Weiss ya da Fenton reaksiyonu sonucu hidroksil radikalının oluşumu oksidatif strese bağlı olarak artar (Bursal, 2009).

Ferröz ( $Fe^{2+}$ ) iyonu gibi iyonik türler, organizmada serbest radikal ve reaktiflerin üretimini arttırdığı için bu metallerin etkisi minimize edilmelidir. Bunu sağlamak için ise metal iyonlarının şelatlanması önemli bir yoldur. Metallerin katalizlediği oksidasyon tepkimelerini tamamen durdurmak ya da yavaşlatmak için metal şelatlama aktivitesi sıklıkla kullanılan yöntemlerden birisidir. Demir, canlı organizmalar için diyetle alınan bir mineraldir, fakat alınan aşırı miktar demir hücre hasarına sebep olabilir. Bir geçiş metali olan ve bu grubun tüm karakteristik özelliklerine sahip demir atomu yüksek derecedeki aktivitesinden dolayı lipitleri oksitleyen en önemli oksitleyici metal olarak bilinir. Demir iyonlarından olan ferröz iyonları ( $Fe^{2+}$ ), bilinen en önemli prooksidan iyonlardandır. Fenton tepkimelerinde peroksitlerin ortamda mevcut olmasıyla ferrik iyonlar ( $Fe^{3+}$ ) da meydana gelebilir fakat ferröz iyonları ( $Fe^{2+}$ ) ferrik iyonlarından ( $Fe^{3+}$ )



on kat daha fazla reaktiftirler. Bu tepkimeler neticesinde peroksitlerden daha reaktif olan hidroksil radikalleri de oluşmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1984; Gülçin, 2007).

Ferrik iyonlarını ( $Fe^{3+}$ ) ferröz iyonlarına ( $Fe^{2+}$ ) indirgeme metodunda;  $K_3Fe(CN)_6$  (potasyum ferrisiyanat) bileşiği antioksidan kapasitesi olan bir madde eşliğinde  $Fe(CN)_6^{-4}$  (ferrosiyanata) dönüşmektedir. Burada ferrik iyonları ( $Fe^{3+}$ ) ferröz iyonlarına ( $Fe^{2+}$ ) indirgenmektedir.

Kalitatif veya kantitatif indirgenme tayini için ortama  $FeCl_3$  ilave edilir. İndirgenmiş ürüne  $Fe^{3+}$  ilavesi, 700 nm'de güçlü absorbansa sahip olan Prussian mavisi renginde bir kompleks olan  $Fe_4[Fe(CN)_6]_3$  oluşumuna yol açar. Absorbansdaki artış, kompleksin oluşumundan kaynaklanan artışı dolayısıyla indirgenme kapasitesini göstermektedir (Gülçin ve ark., 2005).

Çalışmada analiz edilen *Nepeta fissa* ve *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* bitkileri etanol ve su ekstralarının indirgeme kapasiteleri de standart antioksidanlar gibi artan ekstre konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak artmakta fakat artış miktarlarının nisbeten az olduğu anlaşılmaktadır. Ekstrelerin indirgeme potansiyeli farklı konsantrasyonlardaki (10–50  $\mu g/ml$ ) çözeltilerinin 700 nm'deki absorbansları ölçülerek belirlenmiştir. BHA, BHT askorbik asit, tokoferol ve trolox standartları benzer indirgeme özellikleri sergilemiştir. BHA diğer standart antioksidanlara göre daha etkin bir indirgeme kapasitesine sahip olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca bitkilerin etanol ekstraları su ekstralarına göre daha etkili indirgeme aktivitesi göstermiş olup bu durum etanol çözücüsünde sekonder metabolitlerin daha iyi çözünerek daha etkili antioksidan etki yaptığı şeklinde yorumlanabilir. Bu bağlamda elde edilen HPLC sonuçlarında da her iki bitkinin etanol ekstralarında fenolik bileşiklerin hem kalitatif hem de kantitatif olarak su ekstralarından fazla olduğu tespit edilmiş olup antioksidan sonuçlarını desteklemektedir.

Serbest radikaller, insan vücudundaki biyolojik moleküllerin oksidatif hasarının en temel nedenidir. Yaşlanma, kanser, Alzheimer ve koroner kalp hastalığı ile ilişkili oldukları düşünülmektedir (Hu ve ark., 2010).

DPPH istikrarlı bir serbest radikaldir ve proton radikal süpürücülerine maruz kaldıktan sonra önemli ölçüde azalır. Antioksidanlar DPPH radikale bir elektron veya bir proton transfer ederler. Böylece radikal karakterlerini yok ederler. DPPH metodu gıdalarda ve biyolojik sistemlerde indirgeyici maddeleri ölçmek için yaygınca kullanılır (Leong ve Shui., 2002).

DPPH metodu antioksidan aktiviteyi tayin etmek için kullanılan en eski metoddur. İlk olarak 1950’de doğal materyallerdeki H-donörlerini bulmak için önerilmiştir. Sonraları hem fenolik bileşiklerin hem de besinlerin biyolojik açıdan önemli kısımlarının antioksidan potansiyellerini tayin etmek için kullanılmaya başlanmıştır. Bu test, fenolik bileşiklerdeki H-donörlerinin, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) serbest kararlı radikali ile tepkime kapasitesi temeline dayanmaktadır. DPPH görünür bölgede (517 nm) oldukça şiddetli absorpsiyon verir, böylece UV-vis spektroskopisi ile kolayca tayin edilebilir.

DPPH genellikle serbest radikal temizleme etkinliğini belirlemek için kullanılır (Abbès ve ark., 2013). DPPH metoduna göre; kullanılan serbest radikal (DPPH•) organik yapılı bir maddedir. Bu serbest radikal antioksidan maddeler ile kimyasal tepkimeye girerek, radikal olmayan DPPH-H molekülüne dönüşmektedir. DPPH serbest radikalleri ortamda azaldığı için absorbans miktarında azalmalar oluşmakta ve bu olaydan faydalanarak antioksidan aktivite miktarı hesaplanabilmektedir.

DPPH istikrarlı bir serbest radikaldir ve radikal süpürücü protona maruz kaldıktan sonra önemli ölçüde azalır. Antioksidanlar DPPH’a hem elektron hemde hidrojen atomu transfer ederek serbest radikal olma özelliğini giderir. DPPH gıda ve biyolojik sistemlerde indirgeyici maddeleri belirlemek için yaygın olarak kullanılan bir serbest radikaldir. DPPH radikali giderme aktivitesi çalışmasında azalan absorbans arta kalan DPPH• çözeltisi miktarını yani serbest radikal giderme aktivitesini vermektedir.

Serbest radikallerin organizmadan süpürülmesi birçok biyomolekül için çok hayati bir önem arz eder. Çünkü radikalik zincir tepkimelerin başlamasına ve gelişmesine serbest radikaller sebep olmaktadır. Böyle bir durumda lipidlerin, proteinlerin, monosakkaritlerin ve DNA gibi hayati önem arz eden biyomoleküllerin stabilitesi bozulmakta kalp krizleri, damar tıkanıkları gibi birçok hastalığa ve yaşlanma gibi birçok biyolojik sürece neden olduğu bilinmektedir (Halliwell, 1989).

Bu çalışmada diğer standart antioksidanlara kıyaslandığında kullanılan bitkilerin ekstrelerinin radikal temizleme aktivitesine sahip olduğu gözlenmiştir. Fakat grafik değerleri, bitkilerin ekstrelerinin standartlara nisbeten daha az radikal söndürücülere sahip olmalarıyla açıklanabilir. Artan konsantrasyonlarda bağlı olarak ekstrelerin etkinliği karşılaştırıldığında her farklı konsantrasyonda azda olsa gittikçe artan bir antioksidan kapasiteye sahip olduğu saptanmıştır. 517 nm’de absorbansın gittikçe azalması geriye kalan DPPH• çözeltisi miktarını yani serbest radikal giderme aktivitesini vermektedir. Bitkilerin etanol ve su ekstrelerinin standart antioksidanlar

benzer DPPH radikali giderme aktivitesi sergilediği tespit edilmiştir. Dolayısıyla çalışmada kullanılan bitkilerin su ve etanol ekstreleri muhtemel başka etkileri ile beraber vücutta hasara neden olan serbest radikallerden olan DPPH• serbest radikalini kısmen giderdiği anlaşılmaktadır.

ABTS kation radikali (ABTS<sup>•+</sup>) 734 nm'de absorbans verir ve renkli görünümü sahip bir maddedir. ABTS<sup>•+</sup> antioksidan özellik gösteren maddeler ile kimyasal tepkimeye girer ve kendisine bir elektron alarak radikal olmayan ABTS maddesine dönüşümü gerçekleşir. Bu nedenle 734 nm dalga boyundaki absorbans değerinin azalması antioksidan aktivitenin belirlenmesi ve hesaplanmasında kullanılır.

Çalışmada kullanılan bitkilerin liyofilize su ve alkol ekstrelerinin ABTS<sup>•+</sup> giderme aktivitelerini belirlemek için öncelikle ABTS çözeltisine, potasyum persülfat ilave edilerek ABTS<sup>•+</sup> radikal çözeltisi oluşturulur (Gülçin, 2007). Radikalın doğru hazırlanması metodun uygulanabilirliği noktasında kilit öneme sahiptir. Bunun için kontrol çözeltisinin 734 nm'de  $0.8 \pm 0.2$  absorbansa sahip olması sağlanır. ABTS radikal katyonu çeşitli oksidan maddelerle hazırlanabilir. Oksidan madde olarak tercihe  $K_2S_2O_8$  kullanılabilir gibi  $Mn_2O_3$  maddesi de kullanılabilir.  $K_2S_2O_8$  veya  $Mn_2O_3$  eşliğinde ABTS'den ABTS<sup>•+</sup> meydana gelebilmektedir.

Yaptığımız çalışmamızdaki ABTS<sup>•+</sup> giderme gücü testi verilerimize göre bitki ekstrelerinin radikal giderme aktivitelerine bakıldığında kullanılan bitkilerin etanol ve su ekstrelerinin aktivitelerinin standart antioksidanlara göre daha düşük miktarda ABTS<sup>•+</sup> radikali giderme aktivitesi sergilediği çalışma bulgularından anlaşılmaktadır. Yapmış olduğumuz ABTS yönteminde bitki ekstrelerinin standartlardan farklı olarak 20 µg/ml'den daha yüksek konsantrasyonlarda dikkate değer bir etki gözlenmemiştir. Bu durum belirtilen konsantrasyonda ekstrelerin radikal giderme doygunluğuna ulaştığı şeklinde yorumlanabilir.

Çalışmalarımızda uyguladığımız bir diğer metod CUPRAC metodu son zamanlarda indirgeme gücü analizi için geliştirilen ve sıklıkla kullanılan diğer bir önemli metottur. Bu metod, düşük maliyeti ile beraber hızlı ve kararlı bir metottur. Ayrıca indirgeyici ajanın tipine veya hidrofiliğine bakılmaksızın, farklı antioksidanlar için uygulanabilir bir metottur. Bu metodun esası bir kromojenik redoks reaksiyonu olup fizyolojik pH'ya yakın bir ortamda (pH: 7.0) gerçekleştirilir (Apak ve ark., 2007). Bu metod, glutatyon gibi tiyol gurubu içeren antioksidanların aktivitelerinin ölçümünde sıklıkla kullanılabilir (Huang ve ark., 2005). Bu metod verilerine göre etanol ekstreleri su ekstrelerinden yüksek indirgeme aktivitesi göstermişlerdir.

Doğal fenolik bileşiklerin kuprik iyonlarını indirgeme kapasiteleri, bileşiklerin konsantrasyonu ile orantılı olarak değişmektedir. Çalışma bitkilerinin ekstrelerinin farklı konsantrasyonlardaki (10-50 µg/ml) kuprik iyonlarını indirgeme kapasiteleri numunelerin 450 nm'deki absorbansları ölçülerek belirlendi. *Nepeta nuda* ve *Nepeta fissa* bitkilerinden elde edilen su ve etanol ekstrelerinin kuprik iyonlarını indirgeme kapasiteleri standartlar gibi konsantrasyonu artışı ile yükseldiği tespit edilmiştir. Numunelerinin indirgeme gücü standart antioksidanlardan düşük fakat orta düzeyde antioksidan kapasitelerinin olduğu belirlenmiştir.

Ferrik tiyosiyanat yöntemine göre antioksidan aktivite tayini en çok kullanılan yöntemlerden biridir. Ferrik tiyosiyonat metodu, linoleik asit peroksidasyonu boyunca üretilen peroksitin seviyesini ölçer. Bu biyoanalitik yöntemde moleküler oksijen tarafından oksitlenen ve linoleik asidin emülsiyonunun oksidasyonu sonucu oluşan hidroperoksitler de ölçülmüş olur. Bu yöntemin esası linoleik asit emülsiyonun oksidasyonu sonucu oluşan hidroperoksidin tespitinin 500 nm'de spektrofotometre ile absorbansının ölçülmesine dayanır. Artan absorbans seviyesi oluşan peroksit miktarının yüksek seviyesini gösterir. Oluşan hidroperoksit ise Fe<sup>2+</sup>'yi Fe<sup>3+</sup>'e yükseltir. Oluşan Fe<sup>3+</sup> amonyum tiyosiyanat ile oluşturduğu kompleksin 500 nm'de absorbansı ölçülmesi ile antioksidan miktar tespit edilir. Bu çalışma sonuçlarına göre *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* bitkilerinden temin edilen su ve etanol ekstrelerinin BHA ile birlikte yüksek miktarda antioksidan özellik gösterdiği tespit edilmiştir.

HPLC çalışmaları ile bitkilerin fenolik içerik analizleri yapılmıştır. Katekol bileşiği *Nepeta fissa* su ekstresinin en fazla bulunan fenolik bileşiği iken apigenin ve rosmarinik asit *Nepeta fissa* etanol ekstresinin en fazla bulunan fenolik bileşikler olduğu bulunmuştur. Diğer taraftan mirisetin bileşiği *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* su ekstresinin en fazla bulunan fenolik bileşiği iken apigenin ve quersetin *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* etanol ekstresinin en fazla bulunan fenolik bileşiği olduğu bulunmuştur. Bu bileşiklerin kimyasal yapıları polifenolik yapıdadır. Bu kimyasal yapılarında bulunan aromatik halkalardaki fenol gruplarından dolayı elektron vererek radikalleri gidermesinden dolayı antioksidan özellikler göstermiştir.

Son yıllarda yapılan birçok çalışmada antioksidan özellik ile fenolik bileşikler arasında pozitif korelasyon olduğu anlaşılmıştır. Žugić ve ark. (2014) içinde *Nepeta* türünde bulunduğu 10 adet bitki üzerinde yaptıkları çalışmada fenolik bileşikler ve antioksidan etki arasında pozitif korelasyon olduğu yönünde bulgulara ulaşmışlardır. Pacifico ve ark. (2015) *Nepeta calamintha* bitkisinin biyoaktif polifenoller içerdiklerini

ve antioksidan ve anti-inflamatuar özelliklere sahip olduklarını belirlemişlerdir. Vinokur ve ark. (2006), gül yaprağındaki radikal süpürücü aktivitenin çoğunlukla içerdikleri yüksek fenolik içeriğe bağlı olduğunu öne sürmüşlerdir.

Fenolik bileşikler, gıda kalitesi üzerindeki etkileri ve belli kanser türlerinin patojenezinde koruyucu ve önleyici rolleri nedeniyle özellikle bilim insanlarının, üreticilerin ve tüketicilerin ilgisini çekmektedir (Bursal, 2013).

Bu çalışmalar ışığında yapılan analiz sonuçlarına göre kuinik asit, kafeik asit, rosmarinik asit, kaempferol ve apigenin gibi fenolik bileşikleri içeren *Nepeta nuda* ve *Nepeta fissa* bitkisinin antioksidan, antimikrobiyal ve anti-inflamatuar etki göstermelerinin bu fenolik bileşiklerle alakalı olduğu yönünde birçok çalışma mevcuttur.

Çalışmada kullanılan bitkilerin içerdiği bileşiklerden biri olan rosmarinik asit bileşiği fare akut akciğer hasarı modelinde güçlü bir anti-inflamatuar etki yaptığını, bu nedenle rosmarinik asitin bir fare atığı astımı modelinde potansiyel terapötik etkilere sahip olabileceği ayrıca, inflamatuvar hücre birikimini etkili bir şekilde inhibe ettiği Liang ve ark (2016) tarafından ileri sürülmüştür.

He ve ark.(2016), apigenin ön-muamelesinin, antioksidan ve anti-inflamatuar etkiler yoluyla sisplatine bağlı böbrek hasarını belirgin derecede zayıflattığının anlaşıldığını öne sürmüşlerdir.

Çalışmada incelenen bitki alternatif tıpta tedavi amaçlı kullanılmakla beraber, üzerinde yeterince klinik çalışmalar yapılmamış olması bu bitkinin kimyasal özelliğinin ve biyolojik etkilerinin tam bilinmemesi nedeniyle araştırmaya açık bir alan olduğu düşünülmektedir. Literatürde yapılan araştırmalarda çalışma materyali olan *Nepeta nuda* ve *Nepeta fissa* bitkileri ile ilgili daha önce yapılan fenolik içerik analizi ve antioksidan aktivite tayini çalışmalarına rastlanılmamıştır. Bu nedenle sonuçların literatüre katkı sağlayacağı beklenmektedir.

## KAYNAKLAR

- Abbès, F., Kchaou, K., Blecker, C., Ongena, M., Lognay, M., Attia, H. and Besbes, S. 2013. Effect of processing conditions on phenolic compounds and antioxidant properties of date syrup. *Industrial Crops and Products*, 44, 634–642.
- Acar, M., Öcan, T., Satıl, F. and Dirmenci, T. 2011. A comparative anatomical study on two endemic *Nepeta* L. species (*N. baytopii* and *N. sorgerae*). *Biological Diversity and Conservation*, 4(3), 58-70.
- Acar, M., Satıl, F., Dirmenci, T. 2010. Nadir Endemik bir tür olan *Nepeta baytopii* Hedge & Lamond (*Lamiaceae*) üzerinde anatomik çalışmalar 20. *Ulusal Biyoloji Kongresi*, Denizli.
- Ames, B.M., Shigena, M.K. and Hagen, T.M. 1993. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of ageing. *Proceedings of National Academy of Sciences USA*, 90, 7915-7922.
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B. and Özyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12(7), 1496-1547.
- Arslan, B.N. 2007. *Viburnum opulus* ve *V. orientale* bitki ekstraktlarının kimyasal bileşimi ve biyolojik aktiviteleri, Yüksek Lisans Tezi, *Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Trabzon.
- Aras, A., Dogru, M. and Bursal, E. 2016. Determination of antioxidant potential of *Nepeta nuda* subsp. *lydiae*. *Analytical Chemistry Letters*, 6(6), 758-765.
- Aras, A. 2016, Türkiye'de yetişen endemik (*Nepeta nuda* subsp. *lydiae*) bitkisine ait farklı ekstrelerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi ve fenolik bileşik içeriklerinin ile analizi. Doktora Tezi, *Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Diyarbakır.
- Aras, A., Bursal, E., Alan, Y., Turkan, F., Alkan, H. and Kilic, O. 2018. Polyphenolic contents, antioxidant potential and antimicrobial activity of *Satureja boissieri*. *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 37 (6), 209-219.
- Baser, K.H.C., Kirimer, N., Kurkcuoglu, M., and Demirci, B. 2000. Essential oils of *Nepeta* species growing in Turkey. *Chemistry of Natural Compounds*, 36(4), 356-359
- Baytop, T. 1999, Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi, *Nobel Tıp Kitabevleri*, İstanbul, 480.
- Baykal, A. 1998, Serbest radikaller, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları*, Kars.

- Bingol, M.N. and Bursal, E. 2018. LC-MS/MS analysis of phenolic compounds and in vitro antioxidant potential of *Stachys lavandulifolia* Vahl. var. *brachydon* Boiss. *International Letters of Natural Sciences*, 72.
- Boğa, R. 2013, Muş ilindeki saplı meşe (*Quercus robur* subsp. *pedunculiflora*) yaprak ve palamudu ile bu ağaçtan elde edilen gezo pekmezinin antioksidan aktivitelerinin tayini. Yüksek Lisans Tezi, *Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Muş.
- Bursal, E. 2009, Kivi meyvesinin (*Actinidia deliciosa*) antioksidan ve antiradikal aktivitelerinin belirlenmesi, karbonik anhidraz enziminin saflaştırılması ve karakterizasyonu. Doktora Tezi, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum.
- Bursal, E. and Gülçin, İ. 2011. Polyphenol contents and in vitro antioxidant activities of lyophilised aqueous extract of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *Food Research International*, 44 (5), 1482-1489.
- Bursal, E., Aras, A., Kılıç, Ö., Taslimi, P., Gören, A.C. and Gülçin, İ. 2019. Phytochemical content, antioxidant activity, and enzyme inhibition effect of *Salvia eriophora* Boiss. & Kotschy against acetylcholinesterase,  $\alpha$ -amylase, butyrylcholinesterase, and  $\alpha$ -glycosidase enzymes. *Journal of Food Biochemistry*, 43(3):e12776.
- Bursal, E., Köksal, E., Gülçin, İ., Bilsel, G. and Gören, A.C. 2013. Antioxidant activity and polyphenol content of cherry stem (*Cerasus avium* L.) determined by LC-MS/MS. *Food Research International*, 51, 66-74.
- Cemeroğlu, B., Yemenicioğlu, A. ve Ozkan, M. 2004, Meyve ve sebzelerin bileşimi, meyve sebze işleme teknolojisi, In Ed. B. Cemeroğlu, meyve sebze teknolojisi. 2. Baskı, Başkent Matbaacılık, Sayfa:1-174. Ankara.
- Chang, J. 2000. Medicinal Herbs: Drugs or Dietary Supplement? *Biochemical Pharmacology*, 59: 211-19.
- Çakir, Z. 2011, *Nepeta* L. cinsi *Oxynepete* seksiyonuna dahil olan taksonlar üzerinde karşılaştırmalı anatomik çalışmalar, Yüksek Lisans Tezi, *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Balıkesir.
- Çelenk, S. 2006, Türkiye *Nepeta* L. (*Labiata*) cinsinin polen morfolojisi, Doktora Tezi, *Uludağ Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü*, Bursa.
- Davis P. 1975, Flora Of Turkey And The East Aegean Islands, Vol. 5, Edinburgh Univ. Pres, *Edinburgh*.
- Diplock, A.T. 1997. Will the good fairies please prove us that vitamin E lessens human degenerative disease? *Free Radical Researc.* 27, 511-532.

- Dirmenci, T. 2003. *Nepeta cadmea* Boiss ile *Nepeta sulfuriflora* P.H Davis türlerini morfolojik karşılaştırılması, *BAÜ Fen Bil. Enst. Dergisi*, 5(2) 38-46.
- Ercan, S. 2008, Doğumsal kalp hastalığı olan çocuklarda total oksidan ve antioksidan ile oksidatif stres indeks düzeyleri. Uzmanlık Tezi, *Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi*, Şanlıurfa.
- Fabricant, D.S. and Farnsworth, N.R. 2001. The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environmental Health Perspectives*, 109 (Suppl 1): 69-75.
- Gök, V. 2006, Antioksidan kullanımının fermente sucukların bazı kalite özellikleri üzerine etkileri. Doktora Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara.
- Gutteridge, J.M.C. 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage, *Clinical Chemistry*, 41(12), 1819-1828.
- Gülçin İ. 2010. Antioxidant properties of resveratrol: A structure-activity insight. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11, 210–218.
- Gülçin, İ. 2007. Comparison of in vitro antioxidant and antiradical activities of L-tyrosine and L-Dopa, *Amino Acids*, 32, 431–438.
- Gülçin, İ., Beydemir, Ş., Şat, İ.G. and Küfrevioğlu, Ö.İ. 2005. Evaluation of antioxidant activity of cornelian cherry (*Cornus mas L.*). *Acta Alimentaria*, 34, 193-202.
- Gülçin, İ., Büyükokuroğlu, M.E., Oktay, M. and Küfrevioğlu, Ö.İ. 2003. Antioxidant and analgesic activities of turpentine of *Pinus nigra Arn.* subsp. *pallsiana* (Lamb.) Holmboe, *Journal of Ethnopharmacology*, 86 (1), 51-58.
- Gülçin, İ., Oktay, M., Kireççi, E. and Küfrevioğlu, Ö.İ. 2003. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum L.*) seed extracts, *Food Chemistry*, 83, 371–382.
- Gülçin, İ., Topal, F., Öztürk, S.B., Bursal, E., Bilsel, G. and Gören, A.C. 2011. Polyphenol contents and antioxidant properties of medlar (*Mespilus germanica L.*). *Records of Natural Products*, 5(3), 158-175.
- Gümüştas, M.K. ve Atukeren, P. 2008, Türkiyede karşılaşılan psikiyatrik hastalıklar. *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum dizisi* No:62, İstanbul.
- Güzel, E., Boğa, R. and Bursal, E. 2013. Determination of antioxidant activities of *Asphodelus aestivus*. *Muş Alparslan University Journal of Science*, 1 (1), 17-25.
- Haigh, R. 1986. Safety and necessity of antioxidants: EEC approach. *Food and Chemical Toxicology*, 24, 1031-1036.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. 1984. Oxygen toxicology, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical Journal*, 219, 1-4.



- He, X., Li, C., Wei, Z., Wang, J., Kou, J. and Liu, W. 2016. Protective role of apigenin in cisplatin-induced renal injury. *European Journal of Pharmacology*, 789, 215-221.
- Herron, S. 2003. Catnip, *Nepeta cataria*, a morphological comparison of mutant and wild type specimens to gain an ethnobotanical perspective. *Economic Botany*, 57(1), 135.
- Hu, W., Yu, L. and Wang, M.H. 2010. Antioxidant and antiproliferative properties of water extract from *Mahonia bealei* (Fort.) Carr. leaves. *Food Chemical Toxicology* 49, 799-806.
- Huang, D., Ou, B. and Prior, R.L. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53; 1841-1856.
- Imeh, U. and Khokhar, S. 2002. Distribution of conjugated and free phenols in fruits: antioxidant activity and cultivar variations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (22), 6301-6306.
- Ismail, A., Marjan, Z. M. and Foong, C.W. 2004. Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. *Food Chemistry*, 87 (4), 581-586.
- Jamzad, Z., Ingrouille, M. and Simmonds, M. 2003. Three new species of *Nepeta* (*Lamiaceae*) from Iran" *Taxon*, 52, 93-98.
- Joy, P.P., Thomas, J., Mathew, S. and Skaria, B.P. 2001. Tropical Horticulture, Vol. 2, Chap. 4. *Medicinal Plants*. (Editors: T. K. Bose, J. Kabir, P. Das, P. P. Joy). Naya Prokash, West Bengal, India. 771.
- Kılıç, Ö. 2014, A morphological study on *Nepeta fissa* C.A. Mey (*Lamiaceae*) from Bingöl (Turkey), *Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, 59-56.
- Kılınç, K. ve Kılınç, A. 2002. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen Radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 33 (2), 110-118.
- Kohno, Y., Egawa, Y., Itoh, S., Nagaoka, S., Takahashi, M. and Mukai, K. 1995. Kinetic study of quenching reaction of singlet oxygen and scavenging reaction of free radical by squalene in n-butanol. *Biochemica and Biophysica Acta*, 1256, 52-56.
- Kuntal, M., Kakalı, M., Arunava, G., Haja, N.A., Bishnu, P.S. and Pulok, K.M. 2005. Enhanced therapeutic benefit of quercetin-phospholipid complex in carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats: a comparative study. *Iranian Journal of Pharmacology Therapeutics*, 4, 84-90.
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A.M., Mancini-Filho, J. and Fett, R. 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25 (4), 726-732.

- Larson, R.A. 1998. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, 27, 969–978.
- Leong, L. P. and Shui, G. 2002. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chemistry*, 76 (1), 69–75.
- Mahattanatawee, K., Manthey, J.A., Luzio, G., Talcott, S.T., Goodner, K. and Baldwin, E.A. 2006. Total antioxidant activity and fiber content of select Florida-Grown tropical fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (19), 7355–7363.
- Mitsuda, H., Yasumoto, K. and Iwami, K. 1966. Antioxidativ action of indole compounds during the autoxidation of linoleic acid. *Eiyoto Shokuryo*, 19, 210–214.
- Nelson, D.L. and Cox, M.M. 2004. Lehninger Principles of Biochemistry, Fourth edition. W.H. Freeman and Company, New York. USA.
- Özaydın, S. and Dirmenci, T. 2016. Endemik *Nepeta nuda* subsp. *Lydiae* P.H. Davis alt türünün morfoloji ve karyolojisinin incelenmesi, *Balikesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6(1), 26-32.
- Özcan, T. 2018. Micromorphological comparison of *Nepeta viscida*, *N. nuda* subsp. *nuda* and their putative hybrids *N. tmolea*, *Balikesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 21(1), 30-42.
- Oyaizu, M. 1986. Antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine, *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307-315.
- Pacifico, S., Galasso, S., Piccolella, S., Kretschmer, N., Pan, S., Marciano, S., Bauer, R. and Monaco, P. 2015. Seasonal variation in phenolic composition and antioxidant and anti-inflammatory activities of *Calamintha nepeta* (L.) Savi. *Food Research International*, 69, 121-132.
- Padayatty, S.J., Katz, A., Wang, Y.H., Eck, P., Kwon, O. and Lee, J.H. 2003. Vitamin C as an antioxidant: Evaluation of its role in disease prevention. *Journal of the American College of Nutrition*, 22, 18–35.
- Pinchuk, I. and Lichtenberg, D. 2002. The mechanism of action of antioxidants against lipoprotein peroxidation, evaluation based on kinetic experiments. *Progress in Lipid Research*, 41, 279-314.
- Pratt, D.E. and Hudson, B.J.F. 1990. Natural antioxidants not exploited commercially in food antioxidants. Hudson B.J.F, Ed.; 17-192, Elsevier; Amsterdam, Netherlands.
- Rucker, RB. and Steinberg, F. 2004. Vitamin C. *Encyclopedia of Biological Chemistry*, 4, 367-371.
- Rates, S.M.K. 2001. Plants as source of drugs. *Toxicon*, 39, 603-613.

- Robinson, M.M. and Zhang, X. 2011, The world medicines situation 2011 (Traditional medicines: global situations, issues and challenges). Third edition. *World Health Organization (WHO)*, Geneva, Italy. 12.
- Sen, C.K. 2001. Antioxidant and redox regulation of cellular signaling: Introduction. *Medicine Science in Sports Exercise*, 33, 368–70.
- Shahidi, B.H. 2004. Evaluation of antimicrobial properties of Iranian medicinal plants against *Micrococcus luteus*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumonia* and *Bordetella bronchoseptica*. *Asian Journal of Plant Science*, 3, 82-86.
- Silinsin, M. 2016, *Inula graveolens* L. bitki türüne ait su ve etanol ekstraktlerinin antioksidan aktivitelerinin değişik in vitro metotlar ile belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Muş.
- Silva, E.M., Souza, J.N.S., Rogez, H., Rees, J.F. and Larondelle, Y. 2007. Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. *Food Chemistry*, 101 (3), 1012-1018.
- Sefidkon, F., Dabiri, M. and Alamshahi, A. 2002. Analysis of the essential oil of *Nepeta fissa* CA Mey from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, 17(2), 89-90.
- Şerbetçi, H. 2007, Meyan (*Glycyrrhiza glabra* L.) bitkisinin antioksidan kapasitesinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum.
- Talebi, S.M., Nohooji, M.G. and Yarmohammadi, M. 2017. Intraspecific variations in essential oil compositions of *Nepeta fissa* from Iran. *Nusantara Bioscience*, 9(3), 318-321.
- Talebi, S.M., Nohooji, M.G., Yarmohammadi, M., Khani, M. and Matsyura, A. 2019. Effect of altitude on essential oil composition and on glandular trichome density in three *Nepeta* species (*N. sessilifolia*, *N. heliotropifolia* and *N. fissa*). *Mediterranean Botany*, 40(1), 81-93.
- Tang, S.Y. and Halliwell, B. 2010. Medicinal plants and antioxidants: What do we learn from cell culture and *Caenorhabditis elegans* studies? *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 394, 1-5.
- Temple, J. 2000. Antioxidant and disease: More question than answers Norman. *PhD Nutrition Research*, 20, 3.
- Tohma, H., Koksall, E., Kilic, O, Alan, Y., Yılmaz, M.A., Gulcin, I, Bursal, E. and Alwasel, S. 2016. RP-HPLC/MS/MS analysis of the phenolic compounds, antioxidant and antimicrobial activities of *Salvia* L. species. *Antioxidants*, 5 (4), 38.
- TÜBİVES-1. Türkiye Bitkileri Veri Servisi.  
[http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax\\_id=7817](http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=7817).  
 [Erişim tarihi: 15/11/2019].

TÜBİVES-2. Türkiye Bitkileri Veri Servisi.

[http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax\\_id=7837](http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=7837).

[Erişim tarihi: 15/11/2019].

Valko, M., Leibfritz, D., Monocol, J., Corinin, M. and Mazur, M. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39, 44-84.

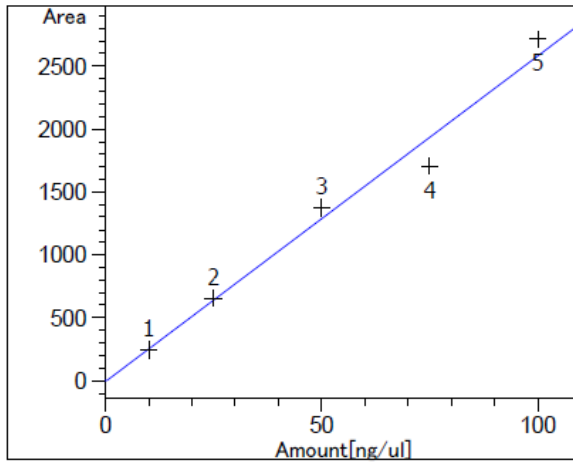
Vinokur, Y., Rodov, V., Reznick, N., Goldman, G., Horev, B., Umiel, N. and Friedman, H. 2006. Rose petal tea as an antioxidant-rich beverage: Cultivar effects. *Journal of Food Science*, 71(1), 542–547.

Žugić, A., Đorđević, S., Arsić, I., Marković, G., Živković, J., Jovanović, S. and Tadić, V. 2014. Antioxidant activity and phenolic compounds in 10 selected herbs from Vrujci Spa, Serbia. *Industrial Crops and Products*, 52, 519-527.



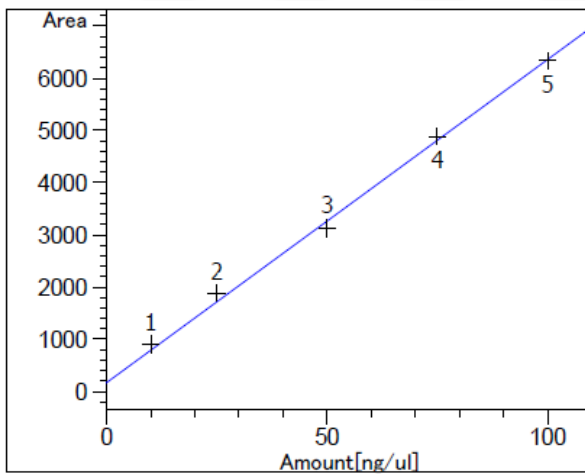
## EKLER

### Ek-1. HPLC Analizlerinde Kullanılan Fenolik Bileşiklerin Standart Grafikleri



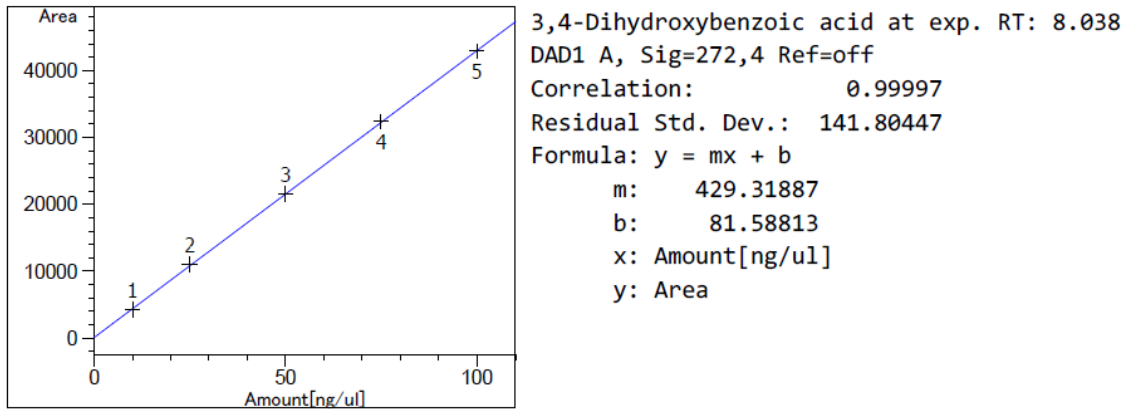
Ascorbic acid at exp. RT: 3.779  
 DAD1 A, Sig=272,4 Ref=off  
 Correlation: 0.99229  
 Residual Std. Dev.: 141.10148  
 Formula:  $y = mx + b$   
 m: 25.94352  
 b: -9.52503  
 x: Amount[ng/ul]  
 y: Area

Standart grafik 1. Askorbik asit

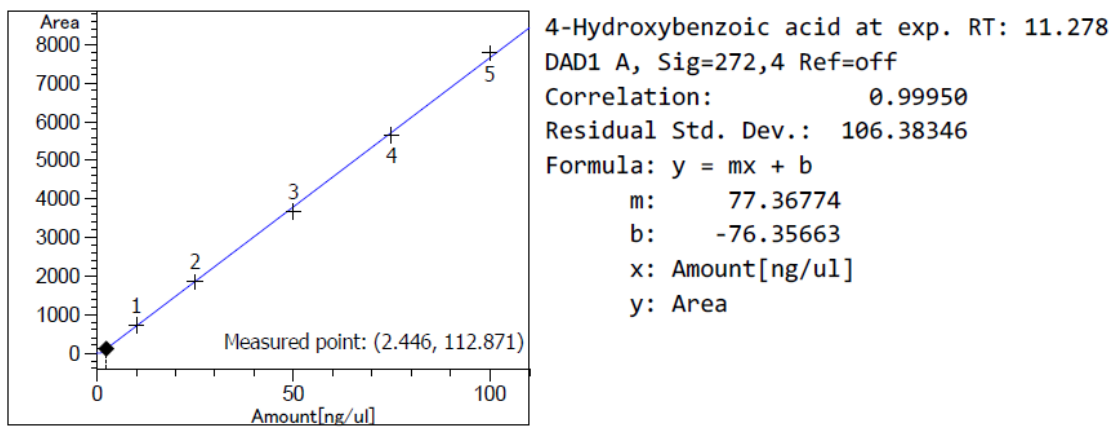


Gallic acid at exp. RT: 5.412  
 DAD1 A, Sig=272,4 Ref=off  
 Correlation: 0.99838  
 Residual Std. Dev.: 153.85918  
 Formula:  $y = mx + b$   
 m: 61.91877  
 b: 174.74617  
 x: Amount[ng/ul]  
 y: Area

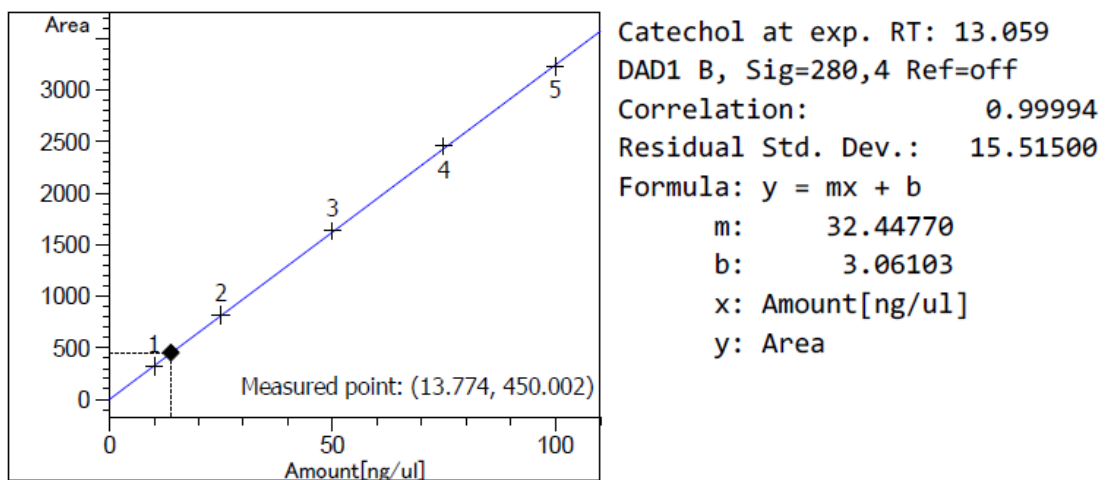
Standart grafik 2. Gallik asit



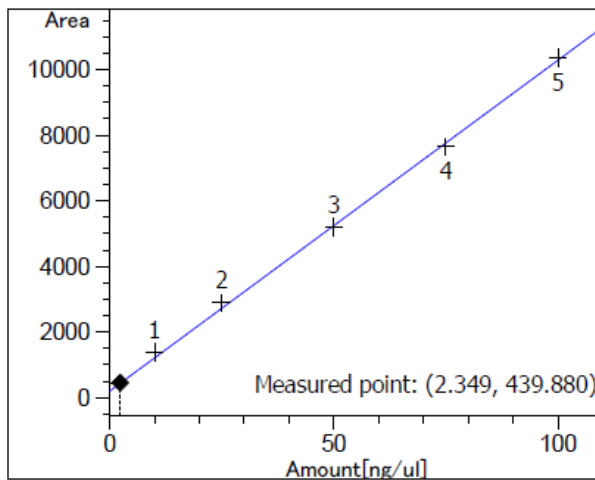
Standart grafik 3. Dihidroksi benzoik asit



Standart grafik 4. Hidroksi benzoik asit

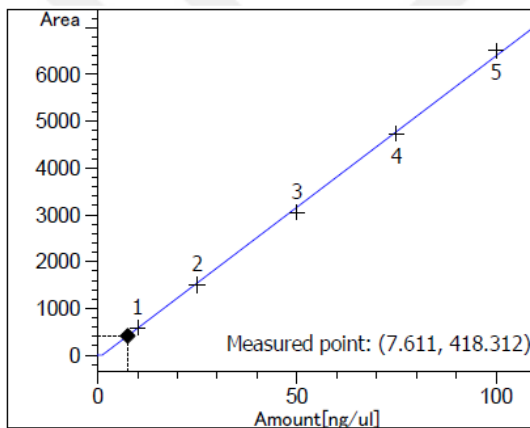


Standart grafik 5. Katekol



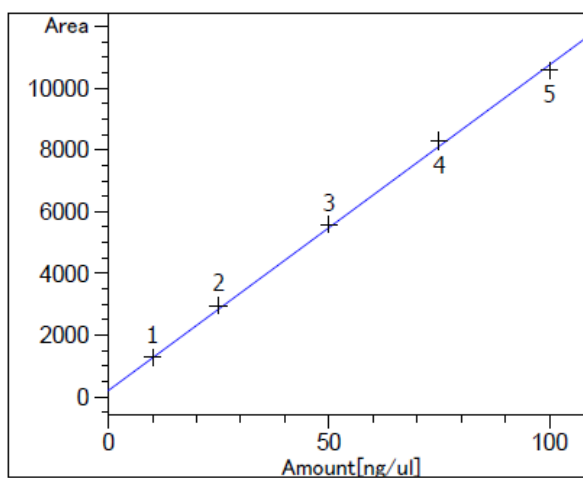
Caffeic acid at exp. RT: 13.060  
 DAD1 C, Sig=310,4 Ref=off  
 Correlation: 0.99927  
 Residual Std. Dev.: 167.58981  
 Formula:  $y = mx + b$   
 m: 100.99333  
 b: 202.65537  
 x: Amount[ng/ul]  
 y: Area

Standart grafik 6. Kafeik asit



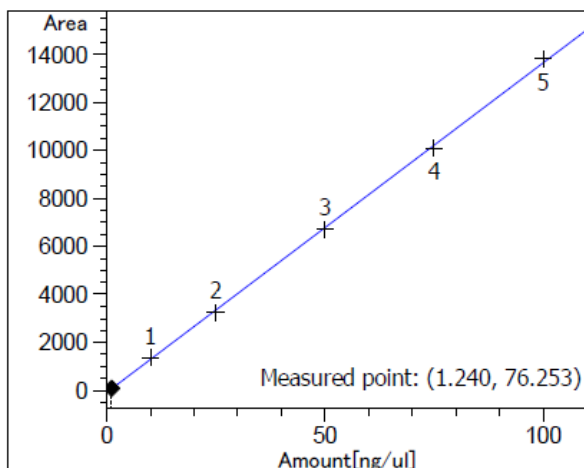
trans-p-coumaric acid at exp. RT: 16.616  
 DAD1 A, Sig=272,4 Ref=off  
 Correlation: 0.99949  
 Residual Std. Dev.: 89.89059  
 Formula:  $y = mx + b$   
 m: 64.75064  
 b: -74.51458  
 x: Amount[ng/ul]  
 y: Area

Standart grafik 7. Trans-p-kumarik asit



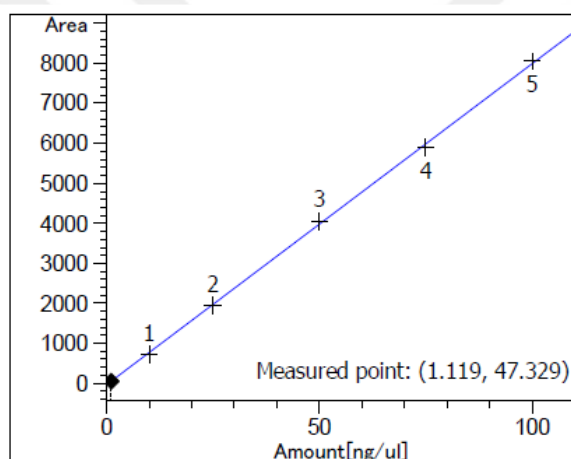
Vanillin at exp. RT: 16.972  
 DAD1 B, Sig=280,4 Ref=off  
 Correlation: 0.99924  
 Residual Std. Dev.: 179.91478  
 Formula:  $y = mx + b$   
 m: 105.74677  
 b: 199.87411  
 x: Amount[ng/ul]  
 y: Area

Standart grafik 8. Vanillin



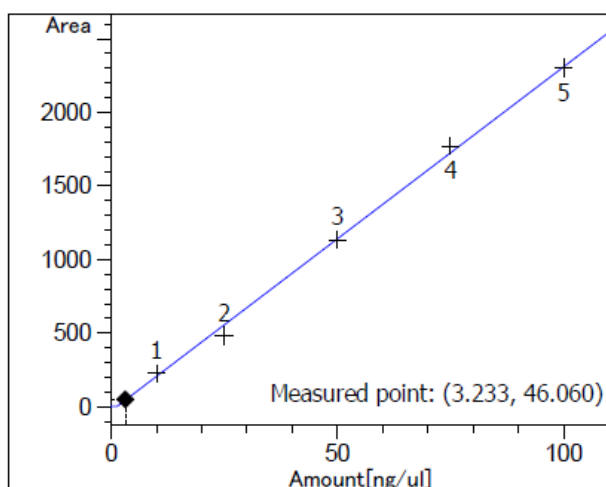
Cinnamic acid at exp. RT: 18.604  
 DAD1 C, Sig=310,4 Ref=off  
 Correlation: 0.99974  
 Residual Std. Dev.: 137.58955  
 Formula:  $y = mx + b$   
 m: 137.59392  
 b: -94.42597  
 x: Amount[ng/ul]  
 y: Area

Standart grafik 9. Sinamik asit



Rosmarinic acid at exp. RT: 21.534  
 DAD1 C, Sig=310,4 Ref=off  
 Correlation: 0.99976  
 Residual Std. Dev.: 76.03845  
 Formula:  $y = mx + b$   
 m: 80.42518  
 b: -42.65380  
 x: Amount[ng/ul]  
 y: Area

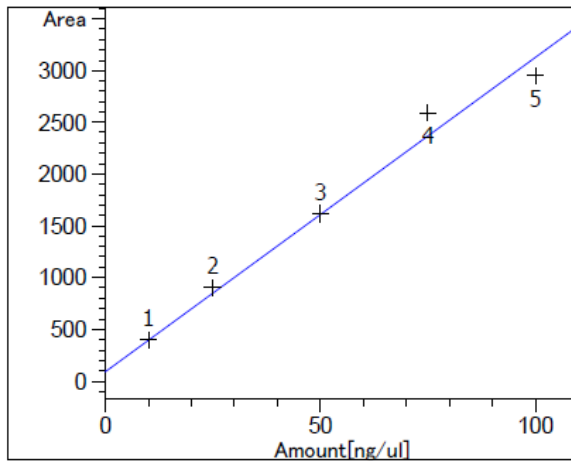
Standart grafik 10. Rosmarinik asit



Myricetin at exp. RT: 21.932  
 DAD1 A, Sig=272,4 Ref=off  
 Correlation: 0.99895  
 Residual Std. Dev.: 46.71561  
 Formula:  $y = mx + b$   
 m: 23.42317  
 b: -29.65549  
 x: Amount[ng/ul]  
 y: Area

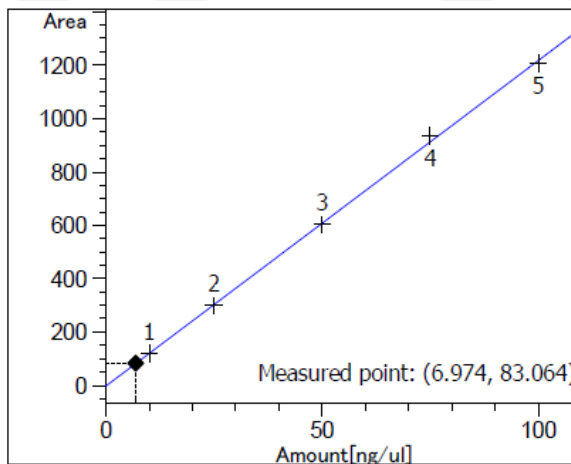
Standart grafik 11. Mirisetin





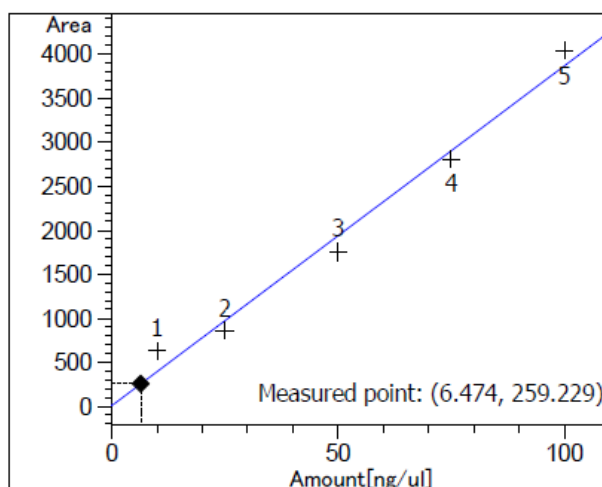
Salicylic acid at exp. RT: 24.587  
 DAD1 C, Sig=310,4 Ref=off  
 Correlation: 0.99344  
 Residual Std. Dev.: 152.24817  
 Formula:  $y = mx + b$   
 m: 30.36983  
 b: 94.37347  
 x: Amount[ng/ul]  
 y: Area

Standart grafik 12. Salisilik asit



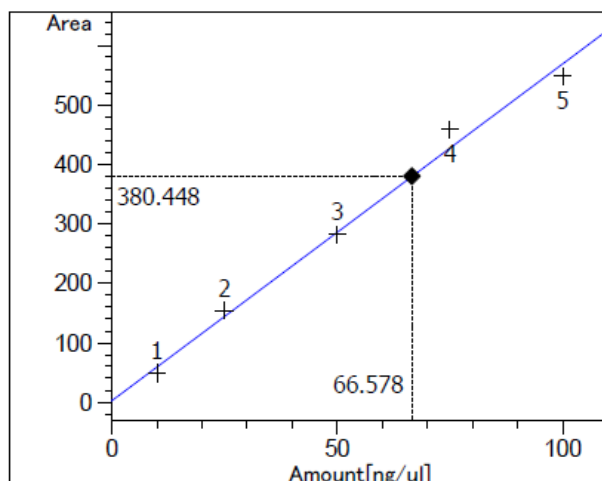
Abscisic acid at exp. RT: 26.739  
 DAD1 A, Sig=272,4 Ref=off  
 Correlation: 0.99970  
 Residual Std. Dev.: 13.04950  
 Formula:  $y = mx + b$   
 m: 12.21654  
 b: -2.13430  
 x: Amount[ng/ul]  
 y: Area

Standart grafik 13. Absisik asit



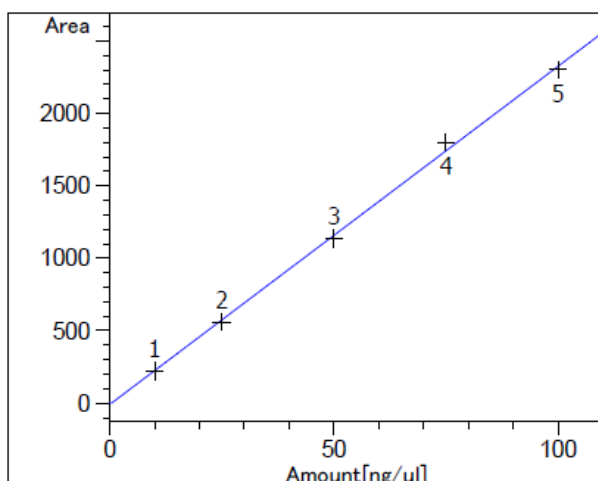
Quercetin at exp. RT: 27.628  
 DAD1 A, Sig=272,4 Ref=off  
 Correlation: 0.99405  
 Residual Std. Dev.: 184.29542  
 Formula:  $y = mx + b$   
 m: 38.63902  
 b: 9.08940  
 x: Amount[ng/ul]  
 y: Area

Standart grafik 14. Quersetin



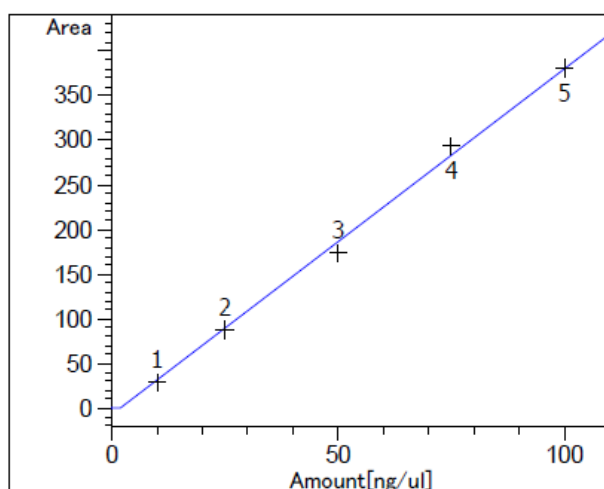
Apigenin at exp. RT: 31.573  
 DAD1 A, Sig=272,4 Ref=off  
 Correlation: 0.99672  
 Residual Std. Dev.: 20.04162  
 Formula:  $y = mx + b$   
 m: 5.67121  
 b: 2.87235  
 x: Amount[ng/ul]  
 y: Area

Standart grafik 15. Apigenin



Kaempferol at exp. RT: 32.596  
 DAD1 A, Sig=272,4 Ref=off  
 Correlation: 0.99939  
 Residual Std. Dev.: 35.62875  
 Formula:  $y = mx + b$   
 m: 23.39466  
 b: -11.86681  
 x: Amount[ng/ul]  
 y: Area

Standart grafik 16. Kaempferol



Curcumin at exp. RT: 43.030  
 DAD1 A, Sig=272,4 Ref=off  
 Correlation: 0.99852  
 Residual Std. Dev.: 9.20041  
 Formula:  $y = mx + b$   
 m: 3.88272  
 b: -7.82811  
 x: Amount[ng/ul]  
 y: Area

Standart grafik 17. Kurkumin

Ek-2

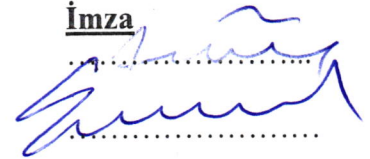
Kontrol Edilecek Hususlar	Evet	Hayır
Sayfa yapısı uygun mu?	✓	
Şekil ve çizelge başlık ve içerikleri uygun mu?	✓	
Denklem yazımları uygun mu?	✓	
İç kapak, onay sayfası, tez bildirimi, özet, abstract, önsöz ve/veya teşekkür uygun yazıldı mı?	✓	
Tez yazımı; Giriş, Kaynak Araştırması, Materyal ve Yöntem (veya Teorik Esaslar), Araştırma Bulguları ve Tartışma, Sonuçlar ve Öneriler sıralamasında mıdır?	✓	
Kaynaklar soyadı sırasına göre verildi mi?	✓	
Kaynaklarda verilen her bir yayına tez içerisinde atıfta bulunuldu mu?	✓	
Kaynaklar açıklanan yazım kuralına uygun olarak yazıldı mı?	✓	
Tez içerisinde kullanılan şekil ve çizelgelerde kullanılan ifadeler Türkçe'ye çevrilmiş mi? (Latince ve Özel kelimeler hariçtir)	✓	
Tezin içindekiler kısmı, tez içerisinde verilen başlıklara uygun hazırlanmış mı?	✓	
*Tez Önerisi Formunun (FBE Form 22) ilk sayfası ile birlikte materyal ve yöntem kısımlarını içeren sayfaların fotokopisini tezinizin içindekiler sayfasından önce telli zımbalı formda koydunuz mu?	✓	

Yukarıdaki verilen cevapların doğruluğunu kabul ediyorum.

Tez tesliminde tezinin tamamının enstitü web sayfası veri tabanında yayınlanmasına **izin veriyorum**

**Öğrenci:** Unvanı Adı SOYADI  
İbrahim TEBER

**Danışman:** Prof. Dr. Ercan BURSAL

**İmza**  


Fen Bilimleri Enstitüsü Onayı

Bu tez MŞÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygundur.

**Onaylayan Adı SOYADI**  
Dr. Mustafa Öneri Harun ÖNLÜ

**Tarih**  
29.11.2019...

**İmza**  


\*Seminer, Yüksek Lisans ve doktora tezleri FBE tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmalıdır. Tezler FBE'ne teslim edilmeden önce yukarıdaki kontrol listesi öğrenci ve danışman tarafından imzalanmalıdır. Bu sayfa tez teslimi esnasında en üst sayfa olarak verilmelidir.

\*Tez ilk savunmaya sunulduğunda spiral cilt veya clip dosya formunda FBE teslim edilmelidir.

†Bu bilgi Jüri Önerisi Formu (FBE Form 8) ile birlikte Enstitüye verilen nüshada da olmalıdır. Ayrıca, görevlendirilen Jüri Üyelerine de gönderilmelidir.

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

<b>Adı Soyadı</b>	: İbrahim TEBER
<b>Uyruğu</b>	: T.C.
<b>Doğum Yeri ve Tarihi</b>	: Tekirdağ 27/05/1993
<b>Telefon</b>	: 05462751160
<b>Faks</b>	:
<b>e-mail</b>	: İteber25@gmail.com

### EĞİTİM

<b>Derece</b>	<b>Adı, İlçe, İl</b>	<b>Bitirme Yılı</b>
Lise	: Tekirdağ Lisesi	<b>15/06/2011</b>
Üniversite	: Balıkesir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü	<b>05/06/2015</b>
Yüksek Lisans	: Muş Aparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya anabilim dalında	<b>22/11/2019</b>
Doktora	:	

### İŞ DENEYİMLERİ

<b>Yıl</b>	<b>Kurum</b>	<b>Görevi</b>
2017	<b>Final Temel Lisesi</b>	<b>Kimya Öğretmeni</b>
2019	<b>Birey Anadolu Lisesi</b>	<b>Kimya Öğretmeni</b>

### PROJELER

1. Bursal E., Teber, İ. *Nepeta fissa* ve *Nepeta nuda* subsp. *albiflora* bitkilerinin su ve etanol ekstratlarının *in vitro* antioksidan kapasitelerinin karşılaştırmalı olarak belirlenmesi ve fenolik bileşik içeriklerinin HPLC ile analizi. Muş Aparslan Üniversitesi, (BAP-18-SYO-4902-01)

### YAYINLAR\*

1. Bursal Ercan, Aras Abdülmelik, Teber İbrahim (2018). Phenolic content analysis of some natural *Nepeta* species by using HPLC. Iğdır International Conference On Multidisciplinary Studies, 1, 551-554. (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:4543224)