



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**LABADA (*Rumex cristatus* DC)'NİN
ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİ**

**Sibel KAHRAMAN
Kimya Anabilim Dalı
Biyokimya Programı**

**Danışman
Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ**

Aralık, 2009

İSTANBUL



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**LABADA (*Rumex cristatus* DC)'NİN
ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİ**

**Sibel KAHRAMAN
Kimya Anabilim Dalı
Biyokimya Programı**

**Danışman
Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ**

Aralık, 2009

İSTANBUL

Bu alışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin T-812 /27122005 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Bu çalışma 14.01.2010 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı Biyokimya programında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.


Tez Jürisi


Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ (Danışman)

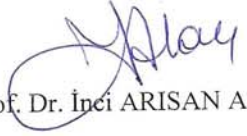
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi
Kimya Bölümü Biyokimya Anabilim Dalı


Prof. Dr. Nuriye AKEV


İstanbul Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı


Prof. Dr. Ayşen YARAT

Marmara Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
Biyokimya Bilim Dalı


Prof. Dr. İnci ARISAN ATAÇ

Yıldız Teknik Üniversitesi
Fen Edebiyat Fakültesi
Kimya Bölümü
Biyokimya Anabilim Dalı


Prof. Dr. Ayşe YUSUFOĞLU

İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi
Kimya Bölümü Organik Kimya Anabilim Dalı

ÖNSÖZ

Doktora öğrenimim sırasında, bu tezin konusunun belirlenmesinde, yürütülmesi ve değerlendirilmesi esnasındaki yardım ve destekleri için danışman hocam Sayın Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ'a gönülden teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Özlem Özsoy SAÇAN'a, Araştırma Görevlisi arkadaşlarım M. Mutluhan DÖĞER, Bertan Boran BAYRAK ve İ. Burcu TÜRKYILMAZ'a çok teşekkür ederim. Ayrıca arkadaşlarım Yrd. Doç. Dr. Sevim TUNALI ve Ar. Gör. Dr. Berat İLHAN CEYLAN'a da çalışmam boyunca ihtiyacım olduğunda her an yanımda oldukları ve her konuda bana destek oldukları için çok teşekkür ederim.

Doktora tez izleme komitesi üyeleri, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyelerinden Prof. Dr. Nuriye AKEV'e ve Marmara Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi Öğretim Üyelerinden Prof. Dr. Ayşen YARAT'a katkılarından dolayı teşekkürü bir borç bilirim.

Tüm öğrenimim boyunca bana destek olan aileme de sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamda kullandığım labada bitkisinin teşhisini yapan İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi emekli Öğretim Üyesi, Prof. Dr. Kerim ALPINAR'a teşekkür ederim.

T-812 / 27122005 sayılı proje kapsamında, çalışmama maddi destek sağlayan İstanbul Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine'de teşekkürlerimi sunarım.

Aralık, 2009

Sibel KAHRAMAN

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	İ
İÇİNDEKİLER.....	İİ
ŞEKİL LİSTESİ.....	V
TABLO LİSTESİ.....	Vİİ
DENKLEM LİSTESİ.....	Vİİİ
SEMBOL LİSTESİ.....	İX
ÖZET.....	Xİ
SUMMARY.....	Xİİ
1.GİRİŞ.....	13
2.GENEL KISIMLAR.....	15
2.1. SERBEST RADİKALLER.....	15
2.1.1. Serbest Radikal Kaynakları.....	16
2.1.2. Hücrede Reaktif Oksijen Türleri (ROT) Kaynağı	17
2.1.3. Eksojen Kaynaklar	20
2.2. Serbest Radikal Türleri	21
2.2.1. Reaktif Oksijen Türleri.....	22
2.2.1.1. Süperoksid Radikali	22
2.2.1.2. Hidroksil Radikali	23
2.2.1.3. Hidrojen Peroksid	24
2.2.1.4. Singlet Oksijen	25
2.2.1.5. Peroksil ve Alkoksil Radikalleri.....	25
2.2.2. Reaktif Azot Türleri.....	26
2.2.2.1. Nitrik Oksid ve Nitrik dioksid.....	26
2.2.2.2. Peroksinitrit.....	26
2.3. OKSİDATİF STRES.....	27
2.3.1. Lipid Peroksidasyonu.....	28
2.3.2. Protein Oksidasyonu.....	29
2.3.3. DNA Hasarı.....	30
2.4. ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ ve ANTİOKSİDANLAR.....	31
2.4.1. Enzimatik Savunma.....	32

2.4.1.1. Süperoksid Dismutaz.....	32
2.4.1.2 Mangan Süperoksid Dismutaz	32
2.4.1.3 Cu/Zn Süperoksid Dismutaz.....	33
2.4.1.4. Ekstrasellüler Süperoksid Dismutaz.....	33
2.4.1.5. Nikel Süperoksid Dismutaz.....	33
2.4.1.6. Katalaz.....	33
2.4.1.7. Glutasyon Peroksidaz.....	34
2.4.1.8. Glutasyon Transferaz.....	34
2.4.1.9. Glutasyon Redüktaz.....	34
2.4.2. Non-Enzimatik Antioksidan Savunma (Doğal Antioksidanlar).....	35
2.4.2.1. Tokoferoller ve Tokotrienoller.....	35
2.4.2.2. Askorbik Asid.....	36
2.4.2.3. Karotenoidler.....	37
2.4.2.4. Polifenoller.....	39
2.4.2.5. Flavonoidler.....	41
2.4.2.6. Glutasyon.....	44
2.4.2.7. Albumin.....	45
2.4.2.8. Bilirubin.....	45
2.4.2.9. Ürik Asid.....	44
2.4.2.10. Selenyum.....	45
2.4.2.11. Lipoik Asid.....	45
2.4.3. Sentetik Antioksidanlar.....	45
2.4.3.1. Butillenmiş Hidroksianizol.....	45
2.4.3.2. Butillenmiş Hidroksitoluen	46
2.4.3.3. Tersiyer Butilhidrokinon.....	47
2.4.3.4. Propil Gallat	47
2.4.3.5. Nordihidroguayeretik Asid.....	48
2.5. LABADA	49
3. MALZEME ve YÖNTEM.....	55
3.1. DENEYLERDE KULLANILAN ALETLER.....	55
3.2. DENEYLERDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER.....	56
3.3. BİTKİ MATERYALİ	57
3.3.1. Sulu Ekstrenin Hazırlanması.....	57

3.3.2. Etil Alkollü Ekstrenin Hazırlanması.....	58
3.3.3. Etil Asetatlı Ekstrenin Hazırlanması	58
3.4. ANTİOKSİDAN AKTİVİTE DENEYLERİ	58
3.4.1. Toplam Fenolik Bileşik Miktarı Tayini	58
3.4.2. Total Flavonoid Miktarı Tayini	59
3.4.3. Askorbik Asid (C vitamini) Miktarı	60
3.4.4. β -Karoten (Provitamin A) Miktarı.....	61
3.4.5. İndirgeme Gücü.....	61
3.4.6. DPPH Radikal Giderme Aktivitesi.....	62
3.4.7. Hidroksi Radikali Giderme Aktivitesi	63
3.4.8. ABTS Radikal Giderme Aktivitesi	63
3.4.9. DMPD Radikali Giderme Aktivitesi	65
4. BULGULAR.....	66
4.1. TOPLAM FENOLİK BİLEŞİK MİKTARI TAYİNİ	68
4.2. TOTAL FLAVONOİD MİKTARI TAYİNİ.....	70
4.3. ASKORBİK ASİD (C VİTAMİNİ) MİKTAR TAYİNİ.....	72
4.4. β - KAROTEN MİKTARI.....	72
4.5. İNDİRGEME GÜCÜ.....	72
4.6. DPPH RADİKAL GİDERME AKTİVİTESİ.....	75
4.7. HİDROKSİ RADİKALİ GİDERME AKTİVİTESİ.....	81
4.8. ABTS RADİKAL GİDERME AKTİVİTESİ.....	82
4.9. DMPD RADİKALİ GİDERME AKTİVİTESİ.....	84
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	87
KAYNAKLAR.....	93
ÖZGEÇMİŞ.....	107

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1	: Singlet oksijenin moleküler orbitalleri ve süperoksid anyonu	25
Şekil 2.2	: Oksidatif hasarın biyogöstergeleri.....	28
Şekil 2.3	: Lipid peroksidasyonu	29
Şekil 2.4	: Serbest radikallerin oluşturduğu DNA hasarı	31
Şekil 2.5	: α -Tokoferol ve tokotrienollerin genel yapısı.....	36
Şekil 2.6	: C vitamininin kimyasal yapısı.....	36
Şekil 2.7	: Tokoferolün lipid serbest radikallerini söndürdüktan sonra tokoferoksil radikaline dönüşmesi	37
Şekil 2.8	: β -Karoten, likopen, lutein ve zeaksantin'in kimyasal yapısı.....	38
Şekil 2.9	: Flavonoidlerin genel yapısı.....	41
Şekil 2.10	: Flavonoidlerin kimyasal yapıları.....	42
Şekil 2.11	: Apigenin ve luteolinin kimyasal yapısı.....	42
Şekil 2.12	: Kuersetin ve kamferolün kimyasal yapısı.....	43
Şekil 2.13	: Daidzein ve genisteinin kimyasal yapısı.....	43
Şekil 2.14	: Hesperidinin kimyasal yapısı.....	44
Şekil 2.15	: Apigenin ve siyanidinin kimyasal yapısı.....	44
Şekil 2.16	: BHA'nın kimyasal yapısı.....	46
Şekil 2.17	: BHT'nin kimyasal yapısı.....	46
Şekil 2.18	: TBHQ'nun kimyasal yapısı.....	47
Şekil 2.19	: Propil gallat'ın kimyasal yapısı.....	48
Şekil 2.20	: NDGA molekülünün kimyasal yapısı.....	48
Şekil 2.21	: Labada (<i>Rumex crispatus</i> DC).....	53
Şekil 2.22	: Labadanın çeşitli görünüşleri.....	54
Şekil 3.1	: Pirokateşolün kimyasal yapısı	59
Şekil 3.2	: Kateşinin kimyasal yapısı.....	60
Şekil 3.3	: Diklorindofenol boyasının indirgenmesi.....	60
Şekil 3.4	: DPPH radikalinin indirgenmesi.....	62
Şekil 3.5	: 2,2-Azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) amonyum tuzunun persülfatla oksidasyonu sonucu radikal oluşumu	64
Şekil 3.6	: Troloksun kimyasal yapısı.....	64
Şekil 4.1	: Nisan ayına ait sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerin UV-görünür spektrumları.....	66
Şekil 4.2	: Mayıs ayına ait sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerin UV-görünür spektrumları.....	67
Şekil 4.3	: Haziran ayına ait sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerin UV-görünür spektrumları.....	67
Şekil 4.4	: Aralık ayına ait sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerin UV-görünür spektrumları.....	68
Şekil 4.5	: Labadanın sulu ekstrelerinin ve α -Tokoferol asetatın (E vitamini) indirgeme güçleri	73
Şekil 4.6	: Labadanın etil alkollü ekstrelerinin ve α -Tokoferol asetatın (E vitamini) indirgeme güçleri.....	74
Şekil 4.7	: Labadanın etil asetatlı ekstrelerinin ve α -Tokoferol asetatın (E vitamini) indirgeme güçleri	74
Şekil 4.8	: Labadanın Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık aylarına ait sulu ekstrelerinin çeşitli konsantrasyonlarının 5,10,30 ve 60. dakikalardaki % DPPH radikali giderme aktiviteleri	77
Şekil 4.9	: Labadanın Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık aylarına ait etil alkollü ekstrelerinin çeşitli konsantrasyonlarının 5, 10, 30 ve 60. dakikalardaki % DPPH radikali giderme aktiviteleri.....	78
Şekil 4.10	: Labadanın Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık aylarına ait etil asetatlı ekstrelerinin çeşitli konsantrasyonlarının 5, 10, 30 ve 60. dakikalardaki % DPPH radikali giderme aktivitesi.....	79
Şekil 4.11	: Labadanın etil alkollü ekstrelerinin konsantrasyonlarına göre % hidroksi radikali giderme aktiviteleri.....	81
Şekil 4.12	: Labadanın etil asetat ekstrelerinin konsantrasyonlarına göre % hidroksi radikali giderme aktiviteleri.....	82
Şekil 4.13	: Labadanın Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık aylarına ait sulu ekstrelerinin konsantrasyonlarına göre ABTS radikal giderme aktiviteleri.....	83

Şekil 4.14: Labadanın Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık aylarına ait etil alkollü ekstralarının konsantrasyonlara göre ABTS radikal giderme aktiviteleri.....	83
Şekil 4.15: Labadanın Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık aylarına ait etil asetatlı ekstralarının konsantrasyonlara göre ABTS radikal giderme aktiviteleri.....	84
Şekil 4.16: Labadanın Nisan ayına ait sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarının DMPD radikali giderme aktivitesi.....	85
Şekil 4.17: Labadanın Mayıs ayına ait sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarının DMPD radikali giderme aktivitesi.....	85
Şekil 4.18: Labadanın Haziran ayına ait sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarının DMPD radikali giderme aktivitesi.....	86
Şekil 4.19: Labadanın Aralık ayına ait sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarının DMPD radikali giderme aktivitesi.....	86

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1. Serbest radikal kaynakları	17
Tablo 2.2. Serbest radikal türleri ile radikalik özellik gösteren bazı metabolitler.....	21
Tablo 2.3. Serbest radikallerin neden olduğu bazı hastalıklar.....	22
Tablo 2.4. Fenolik bileşenlerin sınıfları.....	40
Tablo 4.1. Labadanın Nisan ayı sulu, etil alkollü, etil asetatlı Nisan ekstrelerinin fenolik bileşik miktarlarının pirokateşol ekivalenti olarak değerlendirilmesi (µg/mL).....	69
Tablo 4.2. Labadanın Mayıs ayı sulu, etil alkollü, etil asetatlı Nisan ekstrelerinin fenolik bileşik miktarlarının pirokateşol ekivalenti olarak değerlendirilmesi (µg/mL).....	69
Tablo 4.3. Labadanın Haziran ayı sulu, etil alkollü, etil asetatlı Nisan ekstrelerinin fenolik bileşik miktarlarının pirokateşol ekivalenti olarak değerlendirilmesi (µg/mL).....	69
Tablo 4.4. Labadanın Aralık ayı sulu, etil alkollü, etil asetatlı Nisan ekstrelerinin fenolik bileşik miktarlarının pirokateşol ekivalenti olarak değerlendirilmesi (µg/mL).....	70
Tablo 4.5. Labadanın sulu Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık ayı ekstrelerinin flavonoid miktarlarının kateşin ekivalenti olarak değerlendirilmesi (µg/mL).....	70
Tablo 4.6. Labadanın etil alkollü Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık ayı ekstrelerinin flavonoid miktarlarının kateşin ekivalenti olarak değerlendirilmesi (µg/mL).....	71
Tablo 4.7. Labadanın etil asetatlı Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık ayı ekstrelerinin flavonoid miktarlarının kateşin ekivalenti olarak değerlendirilmesi (µg/mL).....	71
Tablo 4.8. Labadanın sulu, etil alkollü, etil asetatlı Nisan, Mayıs, Haziran, ve Aralık ekstrelerinin askorbik asid miktarı (µg/g).....	72
Tablo 4.9. Labadanın etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerinin β-karoten içeriği (mg/100 mL).....	72

DENKLEM LİSTESİ

Denklem 2.1 : Elektron transferi	15
Denklem 2.2 : Homolitik parçalanma	15
Denklem 2.3 : Heterolitik parçalanma	16
Denklem 2.4 : Süperoksid anyonu	23
Denklem 2.5 : Peroksinitrit oluşumu.....	23
Denklem 2.6 : Hidrojen peroksitten hidroksi radikalinin oluşumu	23
Denklem 2.7 : Haber-Weiss reaksiyonu.....	23
Denklem 2.8 : Süperoksid ve singlet oksijenden hidrojen peroksit oluşumu.....	24
Denklem 2.9 : Süperoksidden SOD dismutaz ile hidrojen peroksit oluşumu	24
Denklem 2.10 : Alkoksil ve Peroksil radikali oluşumu.....	26
Denklem 2.11 : Süperoksid radikalinden peroksinitrit oluşumu	27
Denklem 2.12 : Süperoksid radikalinden SOD dismutaz katalizöründe hidrojen peroksit oluşumu ..	32
Denklem 2.13 : Katalaz aktivitesi.....	33
Denklem 2.14 : Hidrojen peroksitlerin glutatyonla indirgenmesi.....	34
Denklem 3.1 : DMPD radikali giderilmesi	65

SEMBOL LİSTESİ

ADP	: Adenozin difosfat
ATP	: Adenozin trifosfat
ABTS	: 2,2'-Azino-bis (3-etilbenzenothiazoline-6-sülfonik asid)
BHA	: Butillenmiş hidroksianisol
BHT	: Butillenmiş hidroksitoluen
cAMP	: Siklik adenozin monofosfat
CAT	: Katalaz
CoA	: Koenzim A
CCl₃•	: Triklormetil radikali
CCl₄	: Karbon tetraklorür
CCl₃O₂•	: Peroksil radikali
DCIP	: Diklorindofenol
DCIPH₂	: İndirgenmiş diklorindofenol
DMPD	: N,N-Dimetil-1,4-fenilen diamonyum diklorid
DNA	: Deoksiribonükleik asid
DPPH	: 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
EDTA	: Etilen diamin tetraasetik asid
FAD	: Flavin adenin dinükleotid
Fe-SOD	: Demir süperoksid dismutaz
GP_x	: Glutatyon peroksidaz
GST	: Glutatyon-S-transferaz
GSH	: İndirgenmiş glutatyon
GSSG	: Okside glutatyon
Hem	: Hem grubu
HNE	: 4-Hidroksi-2-nonenal
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
LOOH	: Lipid hidroperoksid
Mn-SOD	: Mangan süperoksid dismutaz
MPO	: Miyeloperoksidaz
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NADH	: İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid
NADP⁺	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NADPH+H⁺	: İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NDGA	: Nordihidroguareyetik asid
Ni-SOD	: Nikel süperoksid dismutaz
NOS	: Nitrik oksid sentaz
8-OHdG	: 8-Hidroksi-2'-deoksi guanozin
PG	: Propil gallat
PGA	: Prostaglandin A
PGE	: Prostaglandin E
p450	: Sitokrom p450 enzim sistemi
RAT	: Reaktif azot türleri

RNA	: Ribonükleik asid
ROOH	: Organik hidroperoksidler
ROT	: Reaktif oksijen türleri
SOD	: Süperoksid dismutaz
TBHQ	: Tersiyer butil hidrokinon
Troloks	: 6-Hidroksi-2,5,7,8-tetrametil kroman-2- karboksilik asid
UV	: Ultraviyole

ÖZET

LABADA (*Rumex cristatus* DC)'NİN ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİ

Labada (*Rumex cristatus* DC) Türkiye’de günlük diyetle yaygın bir şekilde kullanılan bir bitkidir.

Bu çalışmada, labada’nın antioksidan özelliği olup olmadığı ve bitkinin çeşitli gelişme evrelerinde (Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık aylarında) antioksidan aktivitelerinde farklılık olup olmadığı araştırıldı. Labada yapraklarından hazırlanan sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstraların antioksidan aktiviteleri indirgeme gücü, serbest radikal giderme aktivitesi (DPPH), hidroksi radikali giderme aktivitesi, ABTS radikal giderme aktivitesi, DMPD radikali giderme aktivitesi gibi çeşitli antioksidan testleri ile tayin edildi. Elde edilen sonuçlar α -tokoferol asetat, butillenmiş hidroksianisol, butillenmiş hidroksitoluen ve Troloks gibi doğal ve sentetik antioksidanlarla karşılaştırıldı. Ekstrelerin total fenolik bileşik ve flavonoid miktarları da tayin edildi. Bunun yanı sıra labada yapraklarında beta karoten içeriği ve askorbik asid tayinleri de yapıldı. Antioksidan aktivitenin ekstraların konsantrasyonuyla doğru orantılı olarak arttığı bulundu.

Rumex cristatus DC’nin antioksidan aktivitesinin bitkinin çeşitli gelişme evrelerinde farklılık gösterdiği ve en yüksek aktivitenin Haziran ayı ekstresinde olduğu saptandı.

Ekstrelerde yapılan bütün testlerde antioksidan aktivite gözlemlendiğinden ve antioksidan özellik gösteren fenolik bileşikler, flavonoidler, beta karoten ve askorbik asid bakımından zengin bir bitki olduğu saptandığından, labada ekstralarının doğal bir antioksidan kaynağı olabileceği sonucuna varıldı.

SUMMARY

ANTIOXIDANT ACTIVITY of *Rumex cristatus* DC

Rumex cristatus DC is widely used in daily diet in Turkey.

In our study, the antioxidant capacity of *Rumex cristatus* DC as well as the dependence of this capacity on different maturing stages of the plant was investigated. The antioxidant activity of water, ethyl alcohol and ethyl acetate extracts of *Rumex cristatus* was investigated by different antioxidant tests such as DPPH radical scavenging activity, ABTS radical scavenging activity, DMPD radical scavenging activity, hydroxyl radical scavenging activity and reducing power. All results were compared with natural antioxidants; α -tocopherol acetate and synthetic antioxidants such as BHA, BHT and Trolox. Total phenolic and flavonoid contents of all extracts as well as β -caroten and ascorbic acid contents of the extracts were determined. It is found out that antioxidant activity of the extracts increased with increasing concentration.

It is observed that antioxidant activity of *Rumex cristatus* DC depends on different maturing stages of plant. Generally, June extracts of *Rumex cristatus* DC showed maximum antioxidant activity.

It is concluded that *Rumex cristatus* DC is a fine natural antioxidant source because it has high antioxidant activity and phenolic compounds, flavonoids, beta caroten and ascorbic acid contents.

1.GİRİŞ

Yaşam formlarının pek çoğu için esansiyel bir molekül olan oksijenin yaşayan dokular için toksik etkisi olduğu yeni yeni anlaşılmaktadır. Oksijenin toksik etkisi, oksidasyon tepkimeleri sonucu oluşan serbest radikaller ve diğer reaktif oksijen türlerinden kaynaklanmaktadır. Yapısında eşleşmemiş elektron içeren ve son derece reaktif olan bu moleküller, başka moleküllerle reaksiyona girerek onların yapısını bozmaktadırlar. Fazla miktarda serbest radikal oluşumu membran lipidleri, hücresel proteinler, DNA ve enzimlerin oksidasyonuna neden olarak yıkıcı ve öldürücü hücresel etkilere neden olmaktadır [1]. 35 yaş üstü insanlarda görülen patolojilerin, % 95'i serbest radikal oluşumu ve birikimiyle ilgilidir [2].

Serbest oksijen radikallerinin potansiyel zararlarına çok sayıda hücre koruyucu enzimler ile karşı koyulur ve antioksidan maddeler ile radikal hasarı sınırlandırılmaya çalışılır. Vücüttaki hücre içi antioksidan enzimler, antioksidan maddeler ve serbest radikallerin birbirleri arasındaki ilişki bir denge oluşturmaktadır [3]. Oksidanlar ve prooksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine kaymasıyla oksidatif stres oluşmaktadır. Oksidatif stres süresince üretilen reaktif türlerin yaşlanmaya sebep olduğu da bilinmektedir. Çünkü yaşlanmayla beraber reaktif oksijen türlerinin biyomoleküller üzerindeki oksidatif hasarında bir artış söz konusudur [4].

Gıdalardaki yağların oksidasyonu gıdanın tadının bozulmasına ve kötü kokulara yol açar. Bu durumda oluşan sekonder ve muhtemelen toksik olan bileşikler, gıdanın kalitesinde bozulmaya neden olur [5]. Gıdalardaki bozunmayı önlemek amacıyla doğal ve sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır. Gıdalarda en çok kullanılan sentetik antioksidanlar; butillenmiş hidroksianizol, butillenmiş hidroksitoluen, propil gallat ve tersiyer butil hidrokinondur. Sentetik antioksidanlar ucuz olmaları, yüksek stabiliteleri ve güçlü antioksidan etki göstermeleri nedeniyle tercih edilmektedirler [6]. Fakat sentetik antioksidanların toksik etki göstermeleri ve tüketicilerde gıda katkılarına olan bilincin artması sebebiyle alternatif doğal antioksidanlara gerek duyulmaktadır.

Bitkilerde antioksidan özellik gösteren fenolikler, flavonoidler ve vitaminler (A, C, E) bulunmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalar yüksek oranda fenolik bileşik içeren meyve ve sebzelerin tüketilmesinin kalp-beyin damar hastalıklarını ve kanseri önleyebileceğini göstermiştir [7]. Son yıllarda doğal beslenmenin yanında bitkilerle tedavi de önem kazanmıştır. Bu amaçla halkın gıda maddesi olarak kullandığı ve ayrıca halk arasında çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan bitkilerin biyokimyasal etkileri incelenerek, bu kullanımlarının bilimsel kaynağı olup olmadığı araştırılmaktadır. Bitkilerin diabet, midevi rahatsızlıklar, kalp hastalıkları gibi hastalıkları iyileştirici etkilerinin doğal antioksidanlardan ileri geldiğine dair bilgiler literatürde mevcuttur. Doğal antioksidanların antibakteriyel, antiviral, antimutajenik [8], antialerjik [9], antiülserojenik etkileri [10] olduğu da çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir.

Halk arasında alternatif tıpta yaygın kullanımı olan bitkilerin antioksidan aktiviteleri araştırılmaktadır. Bu nedenle halk arasında yaygın olarak çeşitli amaçlarla kullanılan bitkilerin antioksidan aktivitelerinin ve bu aktiviteden sorumlu bileşiklerin yapılarının aydınlatılması ile ilgili çalışmalar hız kazanmıştır.

Çalışmamızda kullanılan labada bitkisinin ülkemizde sebze olarak yaygın kullanımı vardır. Bu çalışmada, labada (*Rumex cristatus* DC)'nın antioksidan içeriğe sahip olup olmadığı, farklı polaritedeki çözücülerde ekstraktları hazırlanarak DPPH radikal giderme, ABTS radikal giderme, DMPD radikal giderme, hidroksil radikali giderme, ve indirgeyici güç denemeleri ile tayin edildi. Ayrıca bitkide antioksidan aktiviteden sorumlu olduğu düşünülen toplam fenolik bileşik ve total flavonoid miktarları saptandı. Bunun yanı sıra bitkilerde bulunan doğal antioksidanlardan olan, askorbik asid ve β -karoten miktarları saptandı. Çalışmada labadanın farklı olgunlaşma dönemlerinde, Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık aylarında antioksidan aktivitesinin, fenolik ve flavonoid bileşen içeriğinin, içerdiği askorbik asid ve β -karoten miktarlarının farklılık gösterip göstermediği incelendi. Bunun için Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık ayları gibi farklı dönemlerde toplanan bitkinin sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstraktları hazırlandı. Elde edilen veriler standart antioksidanlar ile karşılaştırılarak labadanın iyi bir antioksidan kaynağı olup olmadığı tartışıldı.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. SERBEST RADİKALLER

Bir ya da daha fazla sayıda eşleşmemiş elektron içeren atom veya moleküllere serbest radikaller denir. Bu tip maddeler, eşleşmemiş elektronları nedeniyle oldukça kararsız ve çok reaktiftirler. Biyolojik sistemlerde serbest radikaller önemli role sahiptirler. Serbest radikaller herhangi bir etkileşime girerek elektron alırlar ve elektron verirler. Serbest radikaller anyonik, katyonik ve nötral olabilirler. Serbest radikal reaksiyonları hayvanlar ve bitkiler için çok zararlı olan dallanmış zincir reaksiyonlarını başlatabilmek için çok az enerjiye gereksinim duyar [11].

İnsanlarda ve hayvanlarda çeşitli koşullarda oluşan reaktif oksijen türleri (ROT), reaktif azot türleri (RAT) ve reaktif klor türleri organizmadaki başlıca serbest radikallerdir.

Serbest radikaller 3 yolla ortaya çıkabilirler [12, 13]:

1. Elektron Transferi

Radikal özelliği bulunmayan bir moleküle bir elektron eklenmesi veya molekülden bir elektron çıkarılması ile dış orbitalinde eşleşmemiş elektron bulunması sonucu serbest radikal meydana gelir.



2. Homolitik Parçalanma

Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık (500-600°C) kimyasal bağların kırılmasına neden olur. Kırılma sırasında kovalent bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalıyorsa homolitik yıkım meydana gelir.



3. Heterolitik Parçalanma

Radikal özelliği bulunmayan bir molekülden tek bir elektronun kaybı sırasında dış yörüngede eşleşmemiş elektron kalıyorsa radikal formu oluşur. Örneğin; moleküler oksijenin tek elektron ile indirgenmesi, radikal formu olan süperoksid anyon radikalinin oluşumuna neden olur. Organik moleküllerdeki bağların heterolitik parçalanması durumunda zıt yüklü iyon çiftleri oluşur ve bu türler de reaktiftir.



2.1.1. Serbest Radikal Kaynakları

Moleküler oksijen elektron konfigürasyonu dolayısıyla reaktif değildir. Oksijen elektron vererek veya enerjiyle aktive olur. Bunu takip eden elektron kayıpları enerjiye bağımlı değildir ve kendiliğinden olabilir. Uygun bir e^- / H^+ donörü gereklidir. Canlı sistemlerde geçiş metal iyonları (Fe^{2+} , Cu^{2+}) ve semikinonlar e^- donörü gibi davranabilirler. Oksijenin solunum elektron transport zincirinde 4 e^- olarak indirgenmesinin yanı sıra kısmen 1-3 e^- da alabilir. Bu da reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumuna neden olur. ROT terimi sadece süperoksid ve hidrosil radikali gibi serbest radikalleri değil, hidrojen peroksit, singlet oksijen ve ozonu da kapsar. Süperoksid ve hidroperoksil radikali kendiliğinden bozulup H_2O_2 oluşturur.

ROT'ların biyolojik sistemlerde oluşum mekanizmaları enzimatik ve non-enzimatik reaksiyonlarla olur.

ROT'lar, aynı zamanda kloroplastlarda, mitokondride ve plazma membranındaki elektron transport zincirinde yan ürünler olarak meydana gelebilirler [14].

Oksijenli ortamda yaşam, oksidatif fosforilasyonla adenozintrifosfat (ATP) üretimi açısından önemli ölçüde yarar sağlarken birtakım tehlikeleri de beraberinde getirmektedir. Serbest radikal kaynakları biyolojik, hücre içi sıvısı veya toksik maddeler olabilir. Bu kaynaklar endojen ve eksojen olmak üzere iki genel başlık altında sınıflandırılabilir (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Serbest radikal kaynakları [15]

ENDOJEN KAYNAKLAR	EKSOJEN KAYNAKLAR
<ul style="list-style-type: none"> • Mitokondriyal elektron transport zinciri • Mikrozomal elektron transport zinciri • Kloroplast elektron transport zinciri • Oksidan enzimler • Proteinler • Araşidonik asid döngüsünün aktivasyonu • Oksidatif stres • Peroksizomlar • Plazma membranı • Transizyon metalleri • Fagositik hücreler • Endojenik bileşiklerin otooksidasyon reaksiyonları • Egzersiz 	<ul style="list-style-type: none"> • Çözücüler • Anestezikler • İlaçlar • İyonize radyasyon • X-Işını • Güneş ışığı (UV) • Isı şoku • Ozon • Sigara dumanı • Kirleticiler • Egsoz gazları • Glutasyonu okside eden maddeler - Asetaminofen - kokain • Metal iyonları

2.1.2. Hücrede Reaktif Oksijen Türlerinin (ROT) Kaynağı [16-18]

Hücrede normal metabolik yollardaki enzimatik reaksiyonlarda enzimlerin aktif yerinde ara ürünler olarak devamlı şekilde serbest radikaller oluşabilir. Bazen bu serbest radikal ara ürünler enzimlerin aktif yerinden sızarlar, moleküler oksijenle etkileşirler ve sonuçta serbest oksijen radikalleri oluşur.

- Normalde hücrelerde en büyük serbest oksijen radikali kaynağı mitokondriyal elektron transport zincirindedir. Mitokondri iç zarında yerleşmiş

oksidatif fosforilasyon zinciri bileşenleri büyük oranda indirgendiği zaman mitokondriyal süperoksit radikal üretimi artar.

- Endoplazmik retikulum ve nükleer membranda serbest radikal üretimi, membrana bağlı sitokromların oksidasyonundan kaynaklanır.
- Araşidonik asit metabolizması da reaktif oksijen metabolitlerinin önemli bir kaynağıdır. Fagositik hücrelerin uyarılması, fosfolipaz ve protein kinazın aktivasyonuna ve plazma membranından araşidonik asidin serbestleşmesine yol açar. Araşidonik asidin enzimatik oksidasyonu da çeşitli serbest radikal ara ürünleri meydana gelirler.

Araşidonik asit metabolizması sonucu serbest radikal üretimine "enzimatik lipid peroksidasyonu" denir.

- Serbest radikallerle prostaglandin metabolizması birbiriyle yakından ilişkilidir. Reaktif oksijen metabolitleri, fosfolipaz aktivasyonu yoluyla prostaglandin E_2 , prostaglandin F_2 , 6-keto prostaglandin $F_{1\alpha}$ ve tromboksan B_2 sentezini sağlarlar. Prostaglandin E_2 ve I_2 (prostasiklin) de adenilat siklazı aktive ederek cAMP sentezini artırırılar. PGA, PGE_1 ve PGE_2 'nin burun mukozası damarlarında vazokonstriksiyona neden olduğu bilinmektedir.
- Özellikle demir ve bakır olmak üzere geçiş metalleri, fizyolojik şartlarda elektron alışverişi şeklinde gerçekleşen oksido-redüksiyon reaksiyonlarında görev alırlar. Geçiş metalleri bu özellikleri nedeniyle serbest radikal reaksiyonlarını hızlandıran katalizör vazifesi görürler. Demir ve bakır, tiyollerden tiyil sentezini H_2O_2 ve O_2^- – den OH^- sentezini katalizlerler.

Mn^{2+} nın O_2^- – tarafından oksidasyonu Mn^{3+} veya Mn-Oksijen kompleksinin oluşumunu sağlar, bunlar da O_2^- –den daha çok oksitleyicidirler.

Metal iyonlarının serbest radikal reaksiyonlarındaki asıl önemi lipid peroksidasyonundaki etkileriyle ilgilidir. Geçiş metalleri lipid peroksidasyonunu başlatmaktan çok, sentezlenmiş olan lipid hidroperoksitlerinin (LOOH) parçalanmalarını ve lipid peroksidasyonunun zincir reaksiyonlarını katalize ederler. Böylece daha az zararlı olan radikalleri daha zararlı hale getirirler.

- Aktive olmuş makrofajlar, nötrofiller ve eozinofillerde fagositik solunumsal patlama sırasında da çeşitli serbest radikaller oluşur. Fagositik hücreler, enfeksiyona karşı vücudun hücre sel cevabını başlatan hücrelerdir. Bu hücreler:

nötrofiller, monositler ve makrofajlar, eozinofiller, lenfositler, endotelial hücrelerdir. Fagosit hücreler, fagositoz sırasında bakterileri öldürmek için hidrojen peroksit veya hipokloröz asit meydana getirirler. Bu işlemleri önemli iki tür mekanizma ile gerçekleştirirler [19]:

1) MPO (miyeloperoksidaz) sistemi

2) NADPH (indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat) oksidaz sistemi

- Bazı yabancı toksik maddeler hücrede serbest radikal üretimini artırır. Bu maddeler ya doğrudan serbest radikal üretirler ya da serbest radikallerin ortadan kaldırılmasını sağlayan antioksidan aktiviteyi düşürürler. Bu tip maddeler dört grupta toplanabilirler:

1) Toksinin kendisi bir serbest radikaldir. Örneğin kirli havanın koyu rengini veren azot dioksit gazı (NO_2^*) böyle bir maddedir. Azot dioksit (NO_2^*) etkili bir lipid peroksidasyonu başlatıcısıdır.

2) Toksin bir serbest radikale metabolize olur. Örneğin kuru temizlemede kullanılan toksik bir madde olan karbon tetraklorür (CCl_4), karaciğerde sitokrom P450 tarafından triklorometil serbest radikale (CCl_3^*) dönüştürülür. Triklorometil serbest radikali de moleküler oksijenle (O_2) etkileşerek peroksil serbest radikali (CCl_3O_2^*) oluşturur.

Triklorometil serbest radikali (CCl_3^*) ve peroksil serbest radikali (CCl_3O_2^*) kuvvetli lipid peroksidasyonu başlatıcısıdır. Böylece reaktif serbest radikal üretimi karaciğerde antioksidan savunmaları aşar, hücre zarlarında oksidatif yıkım ve ciddi doku hasarı meydana gelir.

3) Toksinin metabolizması sonucu serbest oksijen radikali meydana gelir. Örneğin özellikle karaciğerde biriken parakuat, bir serbest radikale indirgenikten sonra tekrar yükseltgenerek rejenere edilirken, oksijen indirgenir ve böylece bol miktarda süperoksit radikali (O_2^-) üretilmiş olur.

4) Toksin antioksidan aktiviteyi düşürür. Örneğin parasetamolün karaciğerde sitokrom P450 tarafından metabolizması antioksidan aktivitede önemli yeri olan glutatyonla reaksiyona giren bir ürün oluşturarak sonuçta glutatyon miktarını azaltır.

2.1.3. Eksojen Kaynaklar

2.1.3.1. İlaçlar

Herbisidler, pestisidler, parasetamol, aminotriazol, asetaminofen, bleomisin, doksorubisin, hiperbarik oksijen, klonazin, klosapin, 3,4- metilendioksimetamfetamin, nitrofurantoin, siprofloksasin, siklosporin, trisiklik antidepresanlar ve troglitazon serbest radikal oluşumuna yol açan ilaçlardır [20].

2.1.3.2. Metal İyonları

Demir, bakır, kadmiyum, nikel, krom ve civa iyonları serbest radikal oluşumuna neden olurlar [20].

2.1.3.3. Kirleticiler

Asbest lifleri, mineral tozlar, ozon, karbonmonoksit, nitrik oksit, azot dioksit, silika, bazı çözücüler, toksinler, hipoklorit, kükürt dioksit, parakuat, dikuat, plumbagin, juglon gibi kirleticiler serbest radikal kaynaklarındandır [20].

2.1.3.4. Radyasyon

Ultraviyole ışık, X ışını, gamma ışını da radikal oluşumuna neden olurlar [20].

2.2. Serbest Radikal Türleri

Serbest radikal türleri ile radikal özellik gösteren bazı metabolitler Tablo 2.2'de verilmiştir.

Tablo 2. 2. Serbest radikal türleri ile radikal özellik gösteren bazı metabolitler [21]

Serbest Radikaller	Radikal Olmayan Reaktif Türler
Reaktif Oksijen Türleri	Reaktif Oksijen Türleri
Singlet Oksijen (O_2^1)	Ozon (O_3)
Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot -}$)	Hidrojen Peroksit (H_2O_2)
Hidroksi Radikali (HO^{\cdot})	Organik Peroksitler ($ROOH$)
Alkoksil Radikali (RO^{\cdot})	Peroksinitrit Radikali ($ONOO^{\cdot}$)
Peroksil Radikali (ROO^{\cdot})	Peroksinitrik asit ($ONOOH$)
Hidroperoksil Radikali (HO_2^{\cdot})	Peroksonitrat (O_2NOO^{\cdot})
Karbonat Radikali ($CO_3^{\cdot -}$)	Peroksomono karbonat ($HOOCO_2^{\cdot -}$)
Karbondiyoksit Radikali ($CO_2^{\cdot -}$)	Hipobromik asit ($HOBr$)
Reaktif Klorür Türleri	Reaktif Klorür Türleri
Klor radikali (Cl^{\cdot})	Hipoklorik Asit ($HOCl$) Klor gazı (Cl_2) Nitril klorit (NO_2Cl) Brom klorür ($BrCl$) Kloraminler Klordioksit (ClO_2)
Reaktif Brom Türleri	Reaktif Brom Türleri
Brom radikali (Br^{\cdot})	Hipobromik Asit ($HOBr$) Brom gazı (Br_2) Brom klorür ($BrCl$)
Reaktif Azot Türleri	Reaktif Azot Türleri
Azot Dioksit (NO_2^{\cdot})	Nitrik asit (HNO_2); Peroksinitrat (O_2NOO^{\cdot})
Diazot Trioksit ($N_2O_3^{\cdot}$)	Nitrosil katyonu (NO^+) Peroksinitrik asit ($ONOOH$)
Nitrat Radikali (NO_3^{\cdot})	Nitrosil anyonu ($NO^{\cdot -}$) Nitronyum katyonu (NO_2^+)
Nitrik Oksit (NO^{\cdot})	Dinitrojen tetraoksit (N_2O_4) Alkil peroksinitritler ($ROONO$) Dinitrojen trioksit (N_2O_3) Alkil peroksinitratlar(RO_2ONO) Peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$) Nitril klorit (NO_2Cl) Peroksiasetil nitrat [$CH_3C(O)OONO_2$]

2.2.1. Reaktif Oksijen Türleri

Reaktif oksijen türleri, radikal olan ve olmayan oksijen merkezli türler olmak üzere ikiye ayrılabilir. Radikal olanlar süperoksid anyonu (O_2^-), hidroksi radikali (OH \cdot), alkoksi radikali (RO \cdot) ve peroksi (ROO \cdot) radikalidir. Radikal olmayanlar ise singlet oksijen (1O_2) ve hidrojen peroksiddir (H_2O_2). Diğer reaktif türler ise nitrik oksid (NO \cdot), nitrik dioksit (NO $_2\cdot$) ve peroksinitrit (OONO \cdot) gibi azot bileşikleridir [22, 23]. Singlet oksijen ve hidrojen peroksit gibi biyolojik sistemlerdeki reaktif oksijen türleri, radikal olmasalar bile serbest radikallerle ilintilendirilmiştir. Serbest radikal, atomik veya moleküler orbitalinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içerir. Serbest radikaller genellikle stabil olmayan, yüksek reaktivite gösteren, enerji yüklü moleküllerdir. Biyolojik sistemlerde reaktif oksijen türleri veya serbest radikaller prooksidatif enzim sistemleri, lipid peroksidasyonu, irradyasyon, enflamasyon, sigara içilmesi, hava kirlenmeler ve glikoksidasyon sonucu oluşabilir [24, 25]. Reaktif oksijen türlerinin çeşitli doku ve organlarda neden olduğu hastalıklar ve hasarlar Tablo 2.3'de belirtilmektedir.

Tablo 2.3. Serbest radikallerin neden olduğu bazı hastalıklar

1. Kalp hastalıkları	9. Alzheimer hastalığı
2. Bulaşıcı hastalıklar; sıtma, AIDS	10. Down sendromu
3. Şeker hastalığı	11. Astım
4. Kanser - Akciğer, Lösemi, Deri, Prostat, - Karaciğer v.b.	12. Romatizmal hastalıklar
5. Yaşlanma	13. Şok
6. Parkinson hastalığı	14. İltihabi durumlar
7. İskemi; beyin, kalp	15. Epilepsi
8. Anoksia	16. Mide mukozası ülserleri

2.2.1.1. Süperoksid Radikali (O_2^-)

Doğal oksijen molekülünün başka bir molekülden elektron almış hali olan O_2^- mitokondriyal elektron transfer zincirinde indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid (NADH)'ın, okside nikotinamid adenin dinükleotid (NAD)'a okside olması ile üretilir.

Süperoksit anyonu mitokondriyal elektron transport sistemlerindeki başlangıç serbest radikalidir.



Süperoksit anyonu canlılarda hidrojen peroksit, hidroksi radikali veya singlet oksijen gibi diğer reaktif oksijen türlerinin oluşumunda önemli bir rol oynar. Süperoksit anyonu nitrik oksitle reaksiyona girerek hidroksi radikali ve nitrik dioksit gibi bileşikler oluşturan peroksinitriti meydana getirir [24].



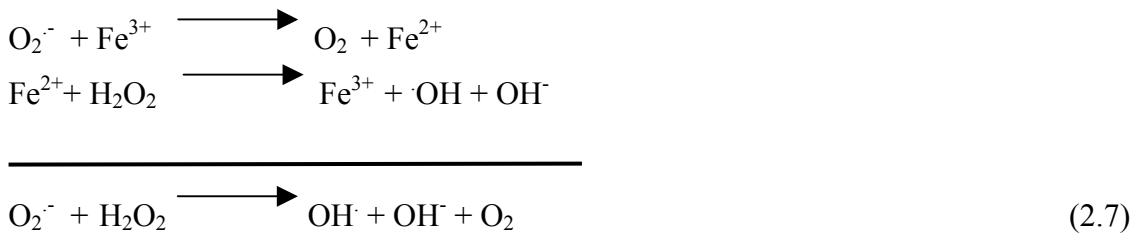
2.2.1.2. Hidroksil Radikali (OH[·])

Hidroksil radikali Fe ve Cu gibi metal iyonları varlığında süperoksit anyonu ve hidrojen peroksitten oluşabilen en reaktif radikal türüdür.



Hidroksil radikalleri lipidler, polipeptidler, proteinler ve DNA (özellikle tiamin ve guanozin) ile reaksiyona girerler [26].

Hidroksil radikali son derece reaktif bir radikal olmasından dolayı hücre bileşenleri ile difüzyona gerek kalmadan tepkimeye girer. Bu tepkimeye Haber-Weiss reaksiyonu denir ve tepkime katalizörsüz ortamda oldukça yavaşken, demir katalizörlüğünde oldukça hızlıdır [27].



2.2.1.3. Hidrojen Peroksid (H_2O_2)

Hidrojen peroksid, süperoksidin çevresindeki moleküllerden bir elektron alması veya moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması sonucu oluşan peroksidin iki proton ile birleşmesi sonucu meydana gelir.



Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi, süperoksidin süperoksid dismutaz tarafından dismutasyonu sonucu oluşur.



Hidrojen peroksid bir serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri kapsamına girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir yer tutar. Çünkü Fe^{2+} veya diğer geçiş metallere varlığında Fenton reaksiyonu sonucu, süperoksid radikali varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucu en reaktif ve en zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturur.

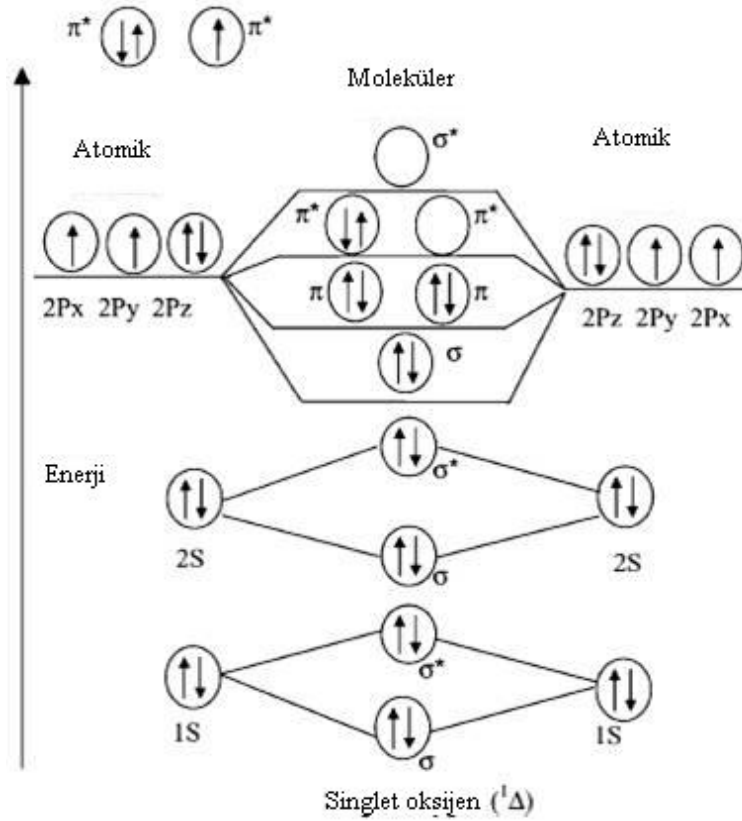
Amino asid oksidaz ve ksantin oksidaz gibi enzimler de süperoksid anyonundan hidrojen peroksid açığa çıkarabilirler. Hidrojen peroksid kolaylıkla difüze olup plazma membranlarından geçebilir.

Hidrojen peroksid reaktif oksijen türleri arasında en az reaktif olanıdır ve metal iyonları bulunmadığında, fizyolojik pH ve sıcaklıkta stabildir. Hidrojen peroksid zayıf bir yükseltgeyici ve indirgeyici ajan olması nedeniyle reaktivitesi düşük olarak kabul edilmektedir [28].

Hidrojen peroksid süperoksid anyonu, HOCl ve kloraminlerle reaksiyona girerek singlet oksijen oluşturabilir [25, 29]. Hemoglobin gibi bazı hem proteinlerini demir açığa çıkarmak üzere bozundurabilir.

2.2.1.4. Singlet Oksijen ($O_2\downarrow$)

Biradikal oksijenin elektronlarından birisinin enerji alarak spini değişmesi ile singlet oksijen oluşur. Singlet oksijen eşleşmemiş elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Enerji verilmek suretiyle meydana gelebilen oksijenin oldukça reaktif şekli olan singlet oksijen serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olması açısından önem taşımaktadır [13, 30]. Singlet oksijenin moleküler orbitalleri Şekil 2.1’de gösterilmiştir. Diğer radikal türleriyle karşılaştırıldığında memeli hücrelerinde zararsızdır ve toksik değildir. Singlet oksijen kolesterolün oksidasyonuna katılır [31]. Singlet oksijen hücre ve dokularda süperoksit anyonu, HOCl ya da kloraminlerle etkileşen hidrojen peroksit tarafından oluşturulabilir. İnsan organizmasında, singlet oksijen mikroplar, virüsler ve kanser hücrelerine karşı olan iyileştirici potansiyeli nedeniyle hem bir silahtır, hem de bir sinyaldir [25].



Şekil 2.1. Singlet oksijenin moleküler orbitalleri ve süperoksit anyonu

2.2.1.5. Peroksil ve Alkoksil Radikalleri

Peroksil radikalleri ($ROO\cdot$), oksijenin alkil radikalleri ($R\cdot$) ile reaksiyonu sonucunda oluşur. Lipid radikalleri ve oksijen arasındaki reaksiyon buna bir örnektir. Alkil

peroksidlerinin (ROOH) dekompozisyonu sonucunda da peroksil (ROO·) ve alkoksil (RO·) radikalleri oluşabilir. UV ışınının irradasyonu veya ortamda geçiş metallerinin bulunması peroksil ve alkoksil radikallerinin oluşumuna yol açan peroksidlerin hemolizine yol açabilir [32].



2.2.2. Reaktif Azot Türleri

Azotun oksidleri ve peroksi nitrit gibi reaktif azot türleri nitrik oksidin oksijen ve süperoksitle reaksiyonundan meydana gelirler [33]. Reaktif azot türlerinin aşırı üretimi nitrosatif stres olarak adlandırılır. Nitrosatif stres proteinlerin yapısını değiştirip onların normal fonksiyonlarını inhibe eden nitrolizasyon reaksiyonlarına yol açar [34-36].

2.2.2.1. Nitrik oksid (NO) ve Nitrik dioksid (NO₂)

Nitrik oksid çiftlenmemiş bir elektron içeren serbest bir radikaldir ve bu nedenle RAT olarak kabul edilir. Nitrik oksid sentaz (NOS) tarafından L-argininden oluşur [37]. Nitrik oksid kendi başına çok reaktif bir serbest radikal değildir fakat aşırı üretimi iskemi-reperfüzyon, nörodejeneratif ve romatoid artrit ve iltihaplı bağırsak hastalığı gibi kronik iltihaplı hastalıkların oluşumunda rol oynar. İnsan plazmasında açığa çıkan nitrik oksid, askorbik asit ve ürik asit konsantrasyonunu düşürüp lipid peroksidasyonunu başlatabilir [38]. Nitrik oksid, sitotoksik, mikrobisidal ve mikrobiostatik aktivitelerde bir savunma molekülüdür [39]. Ayrıca nörotransmisyon, kan basıncı düzenlenmesi, savunma mekanizması, düz kas gevşemesi ve immun savunma gibi çeşitli fizyolojik fonksiyonlarda önemli bir oksidatif biyolojik sinyal molekülüdür [11, 36].

Nitrik dioksid, peroksil radikali ve NO'nun reaksiyonundan, hava kirliliği, sigara içme gibi nedenlerle oluşur [40]. Askorbik asidi yükseltger [41].

2.2.2.2. Peroksinitrit(ONOO·)

NO ve süperoksid radikalinin reaksiyonu peroksinitrit oluşumuna yol açabilir.



Peroksinitrit sitotoksik bir türdür ve düşük yoğunluklu lipoproteinleri (LDL) oksitler.

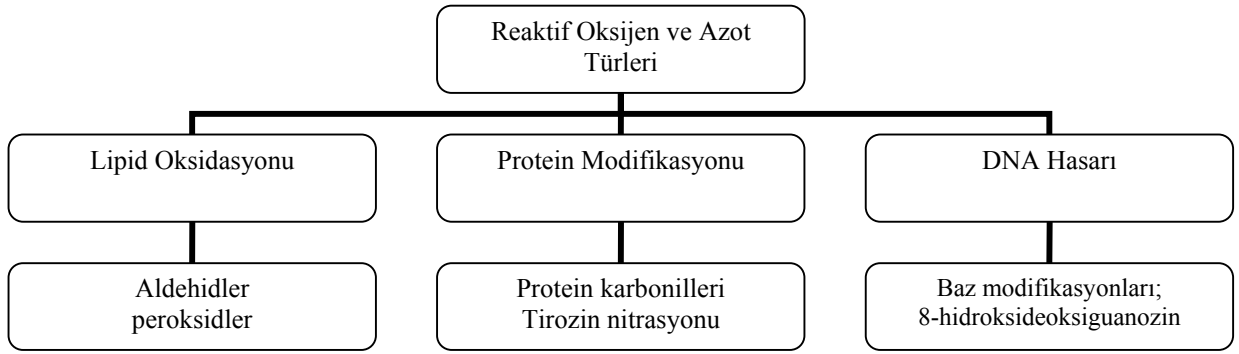
2.3. OKSİDATİF STRES

Organizmada sürekli reaktif oksijen ve azot türleri (ROT ve RAT) üretilmekte, buna karşılık antioksidan sistem tarafından istenilmeyen bu etkiler giderilmektedir. Bu durum bir denge halinde süreklilik arz eder. Bu dengenin oksidanlar lehine bozulması durumu ise “Oksidatif Stres” olarak değerlendirilir. Oksidatif stres durumunda reaktif oksijen ve azot türlerinin miktarında artış olur ve dolayısıyla bu ürünlerin reaksiyon hızları artar. Bu durumdan başta lipidler, proteinler ve nükleik asitler olmak üzere metabolizmadaki birçok sistem olumsuz etkilenir [42]. Olumsuz etkilenen bu sistemler, diğer periferik sistemleri de etkilerler. Bu durum zincirleme olarak, radikalik zincir reaksiyonu sonlanıncaya kadar antioksidan sistem tarafından sürecin bir yerinde devam eder. Aksi durumda bu reaktif türler hücrenin doğrudan ya da dolaylı olarak ölümüne sebep olurlar [43].

Yüksek konsantrasyonlarda reaktif oksijen türleri hücre yapıları, nükleik asitler, lipidler ve proteinlerdeki hasarın önemli bir işaretçisi olabilirler [44]. Hidroksil radikalının DNA molekülünün tüm bileşenleriyle reaksiyona girdiği ve purin ve pirimidin bazlarına ve aynı zamanda deoksiriboz iskelete de zarar verdiği bilinmektedir [45]. Son yıllarda yapılan çalışmalarda oksidatif DNA hasarının göstergesi olarak baz hasarları gösterilmektedir. Cu^{2+} iyonları DNA’da G-C’den zengin bölgelerde bulunduğundan oksidatif hasara en fazla maruz kalan baz guanindir. Bu nedenle en fazla ölçülen baz hasarı 8-hidroksi-2’-deoksiguanozindir (8-OHdG). 8-OHdG oksidatif DNA baz hasarının bir biyogöstergesi olarak kabul edilmektedir [46]. Oksidatif hasar sonucu genetik materyalin kalıcı hasarı, mutajenez, karsinojenez ve yaşlanmanın ilk adımıdır (Şekil 2.2).

Metal indüksiyonlu ROT’lar, yalnızca DNA’ya değil oksidasyona son derece duyarlı olan çoklu doymamış yağ asitleri ve fosfolipid kalıntıları gibi diğer hücrenel komponentlere de saldırırlar [47]. Lipid peroksidasyonunun majör aldehid ürünü

malondialdehiden çok 4-hidroksi-2-nonenal (HNE)'dir. Malondialdehid bakteri ve memeli hücrelerinde ve sıçanlarda karsinojenik özellik gösteren bir maddedir. HNE zayıf mutajenik özellik gösterir, fakat lipid peroksidasyonunun ana toksik ürünüdür.

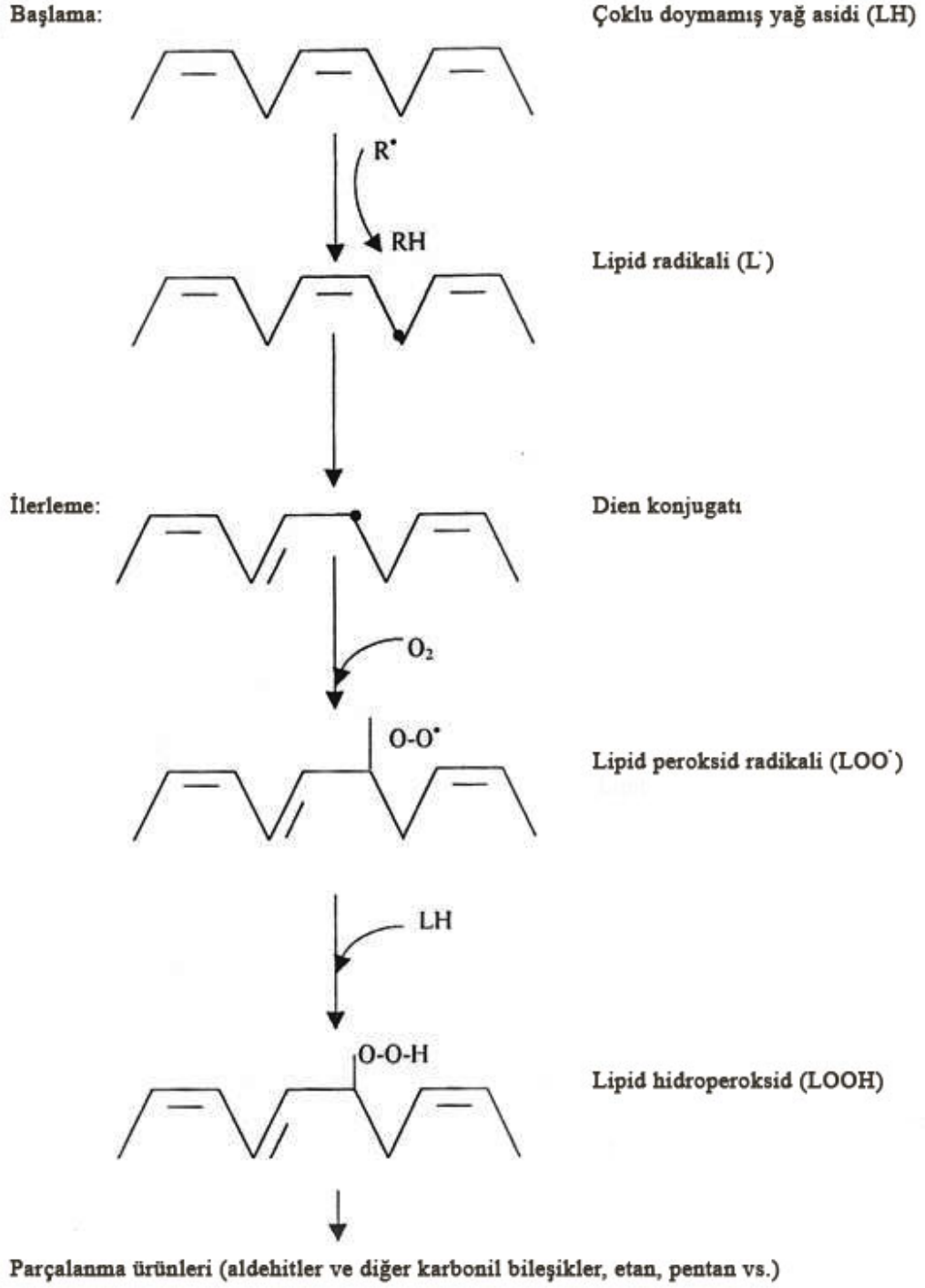


Şekil 2.2. Oksidatif hasarın biyogöstergeleri

Oksidatif stresin neden olduğu hasarları başlıca 3 başlık altında toplamak mümkündür:

2.3.1. Lipid Peroksidasyonu

Lipid peroksidasyonu bir serbest radikal zincir reaksiyonudur ve reaktif oksijen türleri bu reaksiyonu hızlandırabilir. Hücre membranları dışında proteinler bulunan fosfolipid çift tabakalardan oluşur ve lipid oksidasyonunun direkt hedefidir [48]. Hücre membranlarının lipid oksidasyonu arttıkça, lipid faz yüzey yükünün polaritesi ve protein oligomerlerinin oluşumu artarken lipidlerin moleküler mobilitesi, SH gruplarının sayısı ve termodenatürasyona karşı dayanıklılığı azalır. Malondialdehid lipid oksidasyonunun bir ürünüdür ve proteinlerle, fosfolipidlerle ve nükleik asitlerle reaksiyona girerek immun sistemin disfonksiyonuna yol açan yapısal değişikliklere neden olur. Lipid oksidasyon ürünlerinin artması diabet, aterosklerozis, karaciğer hastalığı, apopleksi ve inflamasyon durumlarında görülür [49]. Lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonları, iki lipid peroksid radikali etkileşinceye kadar devam etmekte ve siklik peroksid oluşumu ile sonlanmaktadır (Şekil 2.3) [50]. Oksidasyonun ilk ürünü peroksidlerdir ve kokusuzdurlar, fakat daha sonra hidrokarbonlar, aldehidler, ketonlar, alkoller ve organik asidlere parçalanırlar [51, 52].



Şekil 2.3. Lipid Peroksidasyonu

2.3.2. Protein Oksidasyonu

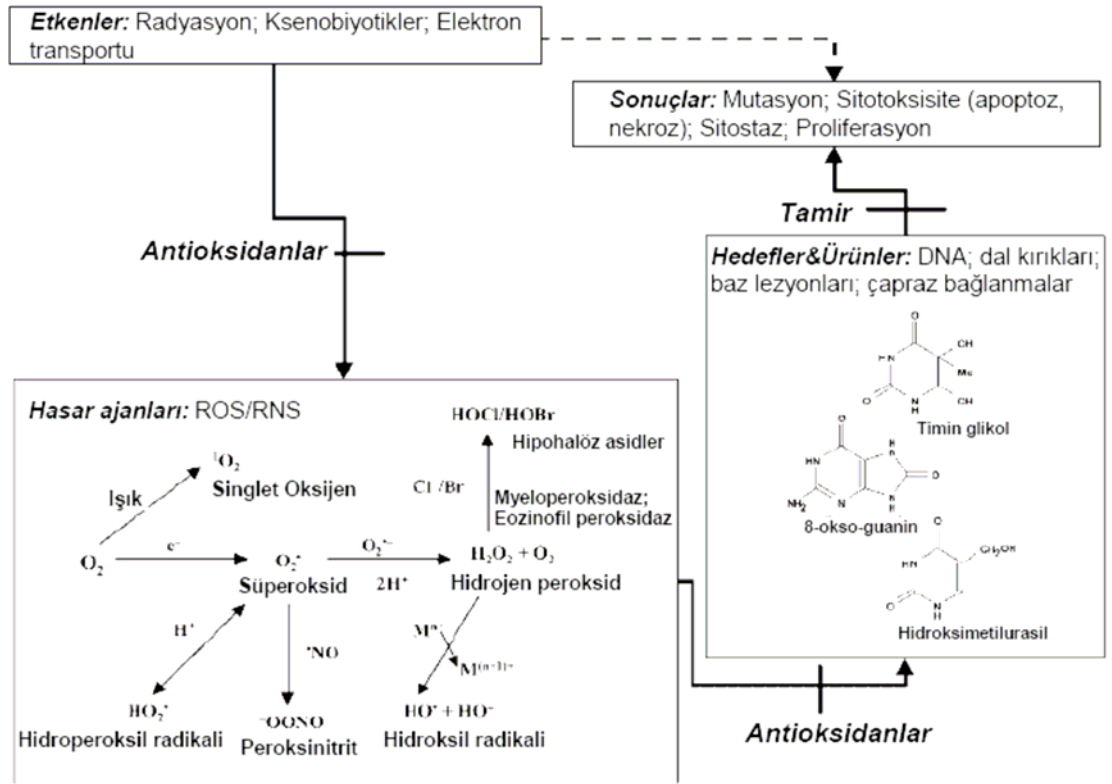
Reaktif oksijen türleri proteinlere saldırarak karboniller ve metiyonin sülfoksid, 2-oksohistidin ve protein peroksidler de dahil olmak üzere diğer amino asid

modifikasyonlarına yol açarlar [53]. Proteinlerin serbest radikallerden etkilenme dereceleri amino asid kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikaller reaktivitesi yüksek olduğundan triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin, sistein gibi amino asidlere sahip proteinler serbest radikallerden kolayca etkilenirler. Özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller meydana gelir. Bu reaksiyon sonucu immunoglobulin G ve albumin gibi fazla sayıda disülfid bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapıları bozular. Böylece normal fonksiyonlarını yerine getiremezler [54].

2.3.3. DNA Hasarı

Her türlü radyasyon (U.V., görünür ışık, ısı ve X ışınları v.b.) hücrelerde iyonların, serbest radikallerin ve enerji kazanmış moleküllerin oluşmasına neden olur (Şekil 2.4). Hidroksil radikalleri, DNA'daki heterosiklik bazlarla ve deoksiriboz-fosfatlarla reaksiyon verirler. Reaksiyon sonucu, DNA bazlarını modifiye eder ve riboz-fosfat zincirinin kırılmasına yol açar. İn vitro olarak sulu çözeltilerde yapılan çalışmalarda, OH radikalinin, deoksi-riboz ve tetrasiklik bazlarla kolaylıkla reaksiyon verdiği gözlenmiştir. Fakat, çift zincirli DNA molekülünde, heterosiklik bazlar OH radikallerine karşı sterik olarak çok iyi korunmuşlardır. Ayrıca, enzimatik radikal yakalayıcılar, öncü OH radikallerinin konsantrasyonunu düşürerek DNA'yı korurlar [55].

Oksidatif hasara bağlı olarak DNA'da, tek ve çift dal kırıkları, abazik alanlar, baz modifikasyonları (baz katılımı, bazlarda yeniden düzenlenme), şeker hasarı meydana gelebilir veya DNA ile protein arasında çapraz bağlanma olabilir [56, 57]. Bu lezyonlardan bazıları fizyolojik koşullarda da oluşabilmektedir. Örneğin purin kaybı ile apuridik alanların oluşması insan genomunda gün içinde 10^4 kez meydana gelebilmektedir. Oksidatif modifikasyon sonucunda DNA antijenik karakter kazanmakta ve anti DNA antikorları oluşmaktadır [45].



Şekil 2.4. Serbest radikallerin oluşturduğu DNA hasarı [58]

2.4. ANTIÖKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ ve ANTIÖKSİDANLAR

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı azaltan bileşiklere antioksidanlar adı verilir [59]. Reaktif oksijen türlerinin üretimi ve çeşitli antioksidan savunma sistemleri arasındaki dengesizlik, antioksidanların yetersizliğinden ve/veya reaktif oksijen türlerinin üretiminden doğan oksidatif stresle sonuçlanır [37]. Antioksidanlar organizmada üretildikleri gibi gıda yolu ile de vücuda alınabilmektedirler. Ayrıca antioksidanlar, gıdalarda doğal olarak buldukları gibi gıda endüstrisinde ürünlerin kalitesini korumak ve besin değerlerini muhafaza etmek amacıyla gıdalara sonradan da ilave edilirler, örneğin yağlarda, havadaki oksijenin sebep olduğu otooksidasyonu yavaşlatmak için kullanılmaktadırlar.

Memeli hücrelerinde antioksidan savunma çeşitli yollarla gerçekleşmektedir. Oksidanların organizmadaki düzeylerini arttırıcı etkenlerin ve risk faktörlerinin belirlenmesi ve bunlardan uzak durulması ilk yapılması gereken girişim olmalıdır. İkincisi ise reaktif oksijen partikülleriyle tetiklenen biokimyasal reaksiyonları bir ya da

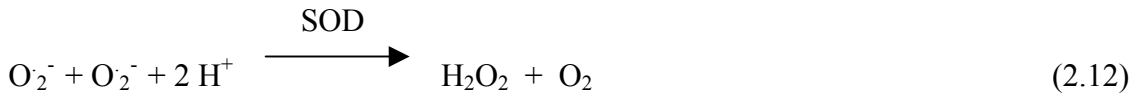
birkaç basamağında kırmaktır. Üçüncü savunma yolu, oluşan mediyatörlerle aktive olan inflamatuvar hücrelerin lezyon yerine hücumunu ve orada aşırı birikmesini önlemektir. Oksidan moleküllere karşı savunmada esas rol ise belirli düzeyi aşmış oksidanlara direkt etki edip onları inaktif hale getiren antioksidanlardadır [60].

2.4.1. Enzimatik Savunma

Hücre içinde oksijenin metabolize edildiği her yerde, antioksidanlar oksijen ara metabolitlerini azaltmak için hızlı ve spesifik olarak çalışırlar. Antioksidan savunmada öncelikli etkili olanlar enzimatik antioksidanlardır. Bunlar süperoksid dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz gibi enzimlerdir [16].

2.4.1.1. Süperoksid Dismutaz (SOD)

Süperoksid dismutaz (EC 1.15.1.1), reaktifliği yüksek olan süperoksid serbest radikalini daha sonra katalaz ve glutatyon peroksidaz tarafından yok edilebilsin diye daha az reaktif olan hidrojen perokside dönüştürür.



Süperoksid dismutazın başka bir görevi ise dehidratazları (dihidroksi asid dehidrataz, akonitaz, 6-fosfoglukano dehidrataz ve fumaraz A ve B) süperoksid serbest radikali tarafından inaktivasyonuna karşı korumaktır [61].

Süperoksid dismutazlar kofaktörlerine göre dinükleer Cu, Zn içeren ve mononükleer Mn, Fe ve Ni içerenler olmak üzere dört sınıfa ayrılmıştır [62]. Cu/Zn SOD ağırlıklı olarak ökaryotların sitosollerinde, kloroplastlarda ve bazı bakteri türlerinde, Mn SOD ökaryot mitokondrisinde ve prokaryotlarda , Fe SOD ise prokaryotlarda bulunur [63].

2.4.1.2. Mangan Süperoksid Dismutaz (Mn-SOD)

Mn-SOD her bir altbiriminde bir mangan atomu içeren homotetramer (96 kDa) bir moleküldür. Süperoksidin iki aşamalı bozunması esnasında önce Mn^{+3} , Mn^{+2} 'ye , sonra

da tekrar Mn^{+2} , Mn^{+3} 'e dönüşür. Mitokondrideki solunum zinciri oksijen radikallerinin başlıca kaynağıdır. Mn-SOD süperoksid radikalini çıkarmada görev yapan nükleer olarak kodlanmış primer bir antioksidandır [64]. Hücresel Mn-SOD içeriği kalp, beyin, karaciğer, böbrek gibi yüksek metabolik aktivitesi olan dokularda daha fazladır.

2.4.1.3. Cu/Zn Süperoksid Dismutaz (Cu-Zn SOD)

Cu-Zn SOD, 32 kDa ağırlığında olup memelilerde en çok karaciğer, böbrek, eritrosit ve santral sinir sisteminde bulunur. İki protein altbirimi içerir ve her bir altbirimde Cu ve Zn atomları bulunur [65, 66].

2.4.1.4. Ekstrasellüler Süperoksid Dismutaz (Ekstrasellüler SOD)

Ekstrasellüler SOD, tetramerik yapıda, Cu ve Zn içeren bir glikoproteindir. Heparin ve heparan sülfat gibi bazı glikozaminoglikanlara yüksek affinitesi vardır. Dokularda ve ekstrasellüler sıvılarda bulunarak, plazma, lenf ve sinovyal sıvılardaki SOD aktivitesinin önemli bir kısmını oluşturur [67].

2.4.1.5. Nikel Süperoksid Dismutaz (Ni-SOD)

Ni-SOD, *Streptomyces sp.* ve *Streptomyces coelicolor*'un sitosolik fraksiyonlarından saflaştırılmıştır. Herbiri 13.4 kDa'luk dört alt birimden oluşmuştur. 70°C'ye kadar ve pH: 4.0-8.0 arası stabildir. Amino asid kompozisyonu Fe-SOD, Mn-SOD ve Cu,Zn-SOD'dan farklılık gösterir [68].

2.4.1.6. Katalaz (CAT)

Katalaz (EC 1.11.1.6), 60 kDa'luk 4 altbirimden oluşan, hem grubu içeren tetramerik bir enzimdir. Bu nedenle, her bir molekülünde 4 ferriprotoporfirin içerir ve molekül ağırlığı 240 kDa'dur. Katalaz bilinen en etkin enzimlerdendir [69]. Peroksizomlarda bulunur ve SOD'un oluşturduğu H_2O_2 'i, katalaz peroksidazlarla beraber su ve moleküler oksijene parçalar. Katalaz aktivitesi eritrosit, böbrek ve karaciğerde yoğundur [70].



2.4.1.7. Glutasyon Peroksidaz (GPx)

Glutasyon peroksidaz (EC 1.11.1.19), selenyum içeren ve çeşitli hidroperoksidlerin glutasyon ile indirgenmesini katalizleyerek, memelileri oksidatif strese karşı koruyan bir enzimdir.



Glutasyon peroksidazın H_2O_2 'e karşı K_m 'i katalaza göre daha düşüktür. Düşük konsantrasyonlarda H_2O_2 'i, glutasyon peroksidaz parçalar, yüksek konsantrasyonlarda ise katalaz aktivite gösterir [70].

2.4.1.8. Glutasyon -S- Transferaz (GST)

Glutasyon-S-transferazlar (EC 2.5.1.18), detoksifikasyon enzimlerinin önemli bir sınıfıdır. GST'ler bir tripeptid olan glutasyonun lipofilik bileşiklerin elektrofilik merkezlerine konjugasyonunu katalizleyerek, çözünürlüğünün artmasına ve hücreden salgılanmasına yardım eder. Oksidatif stres esnasında, makromoleküllerin in vivo yıkılma ürünleri olarak oluşan reaktif doymamış karboniller, reaktif DNA bazları, epoksidler ve organik hidroperoksidler gibi endojen substratları da içeren geniş bir substrat spesifitesine sahiptirler. Glutasyon transferazlar dokuları oksidatif hasarlara ve oksidatif strese karşı korumada hayati önem taşırlar.

2.4.1.9. Glutasyon Redüktaz

Glutasyon redüktaz (EC 1.8.1.7), yükseltgenmiş glutasyonu indirgenmiş hale çeviren 2 altbirimden oluşan bir dimerdir. Her bir altünite NADPH bağlayan alan, FAD bağlayan alan ve arayüz alan olmak üzere 3 yapısal alan içerir. Glutasyonun indirgenme reaksiyonu sırasında elektronlar sıklıkla NADPH'tan FAD'ye transfer edilir [71]. Bu nedenle NADPH serbest radikal hasarına karşı gereklidir ve majör kaynağı pentoz fosfat yoludur [72].

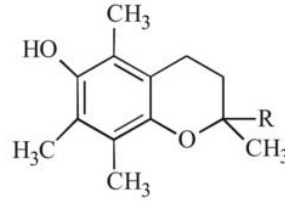
2.4.2. Non-Enzimatik Antioksidan Savunma (Doğal Antioksidanlar)

Non-enzimatik antioksidan savunmada esansiyel mikronutrient bileşiklerin önemli payı vardır. Bu bileşikler doğal antioksidanlardır. Doğal antioksidanlar hemen hemen bütün bitkilerde, meyvalarda, sebzelerde, mikroorganizmalarda ve mantarlarda ve hatta bütün hayvansal dokularda bulunmaktadır. Bu antioksidanların en önemlileri tokoferol asetat (E vitamini) ve askorbik asittir (C vitamini). Son yıllarda sentetik antioksidanların kendilerinin ya da buldukları ortamda oluşturdukları çeşitli yan ürünlerin karaciğerde harabiyet oluşturduğu, hatta kanserojen etki gösterdiği literatürde pek çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir [73,74]. Bu nedenle doğal kaynaklı olan antioksidanlara karşı eğilim gittikçe artmaktadır.

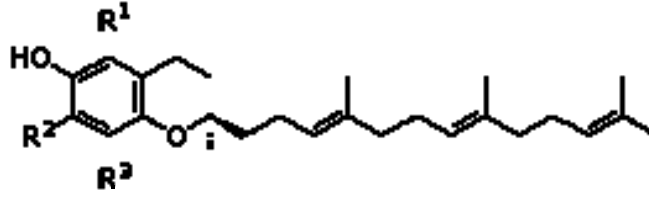
2.4.2.1. Tokoferoller ve Tokotrienoller (E vitamini)

Tokoferoller bir kroman halkası ve uzun doymuş bir fitil zincirinden oluşurlar. Biyolojik membranların doğal bileşenlerindendirler. Membranlarda oksijen radikallerinin ana temizleyicisidirler. Tokoferoller membranda ve LDL'deki çoklu doymamış yağ asitlerini koruyabilir ve düz kas hücrelerinin çoğalmasını ve protein kinaz C aktivitesini inhibe edebilirler.

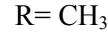
E vitamini ilk olarak Evans tarafından 1938 yılında bulunmuştur. Tokoferoller yağda çözünen vitamin olduğu için hem sellüler hem de subsellüler membranlarda ve lipoproteinlerde bulunurlar. En aktif formu α -tokoferoldür (Şekil 2.5). α -Tokoferol, zincir kırıcı antioksidan olarak görev yapar. Hidrofobik kısmına hidrojenini kolaylıkla verebilen OH grubu bağlıdır. Bu yüzden lipid peroksidasyonu sırasında oluşan peroksil ve alkoksil radikalleri yağ asidi yerine α -tokoferolle birleşerek reaksiyon zinciri kırılmış olur [70]. Membranlarda tokoferoller lipid peroksil radikalleriyle reaksiyona girerek relatif stabilite gösteren lipid hidroperoksil radikalleri oluşturur ve tokoferoksil radikali, radikal reaksiyon zincirini kırmış olur. Böylelikle lipid peroksidasyonuna karşı koruma sağlanmış olur. Aslında, E vitamini plazma ve kırmızı kan hücrelerinde lipidleri peroksidatif hasara karşı koruyan yağda çözünen bir antioksidandır [75]. Tokoferoller başlıca bitkisel ürünlerde, özellikle bitkisel yağlarda bulunmaktadır.



α -Tokoferol



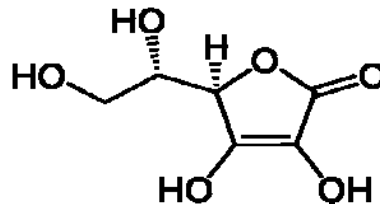
Tokotrienollerin genel yapısı



Şekil 2.5. α -Tokoferol ve tokotrienollerin genel yapısı

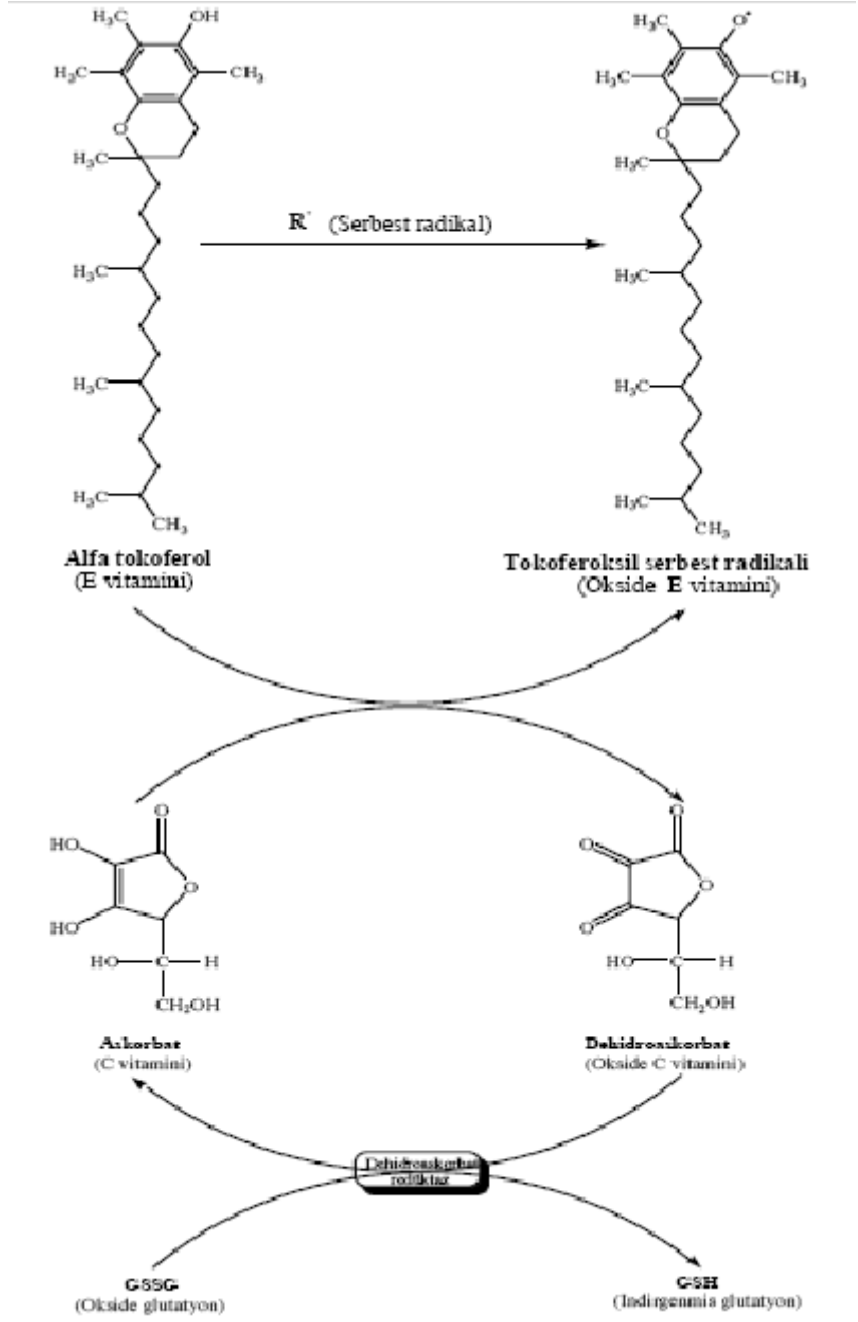
2.4.2.2. Askorbik Asid (Vitamin C)

C vitamini veya L-askorbik asid suda çözünebilir ve birçok fizyolojik şartlarda indirgenmiş halde bulunur (Şekil 2.6). Hücre dışı sıvılarda en önemli antioksidandır [76] ve antioksidan özelliğinin yanı sıra birçok hücrel aktiviteye sahiptir. C vitamininin süperoksidi, hidrojen peroksidi, hipokloridi, hidroksi radikalini, peroksi radikallerini ve singlet oksijeni etkin bir şekilde yakalayabildiği görülmüştür [75].



Şekil 2.6. C vitamininin kimyasal yapısı

Askorbik asid tokoferoksil radikalinin tekrar tokoferole dönüşmesini sağlar (Şekil 2.7). Bu esnada kendisi de dehidroaskorbata okside olur. Süperoksid dışında Fe⁺³'ü Fe⁺²'ye indirgeyen başka bir ajandır. Bu şekilde demiri Fenton reaksiyonuna girmeye uygun hale getirir. Böylece plazma düzeyleri düşük olduğu zaman süperoksid üretimine katkıda bulunur.

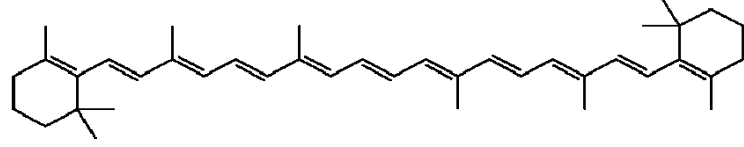


Şekil. 2.7. Tokoferolün lipid serbest radikallerini söndürdükten sonra tokoferoksil radikaline dönüşmesi [77]

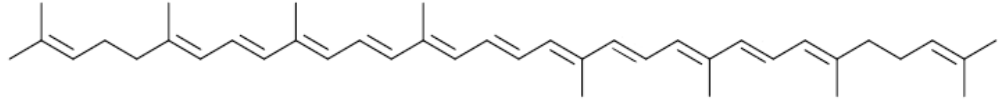
2.4.2.3. Karotenoidler

Karotenoidler bitkiler ve mikroorganizmalar tarafından sentezlenebilen, hayvanlarda sentezlenemeyen doğal pigmentlerdir. İki sınıf karotenoid vardır; karotenler ve ksantofiller. Karotenler hidrokarbon karotenoidlerdir, ksantofillerse hidroksil, metoksil,

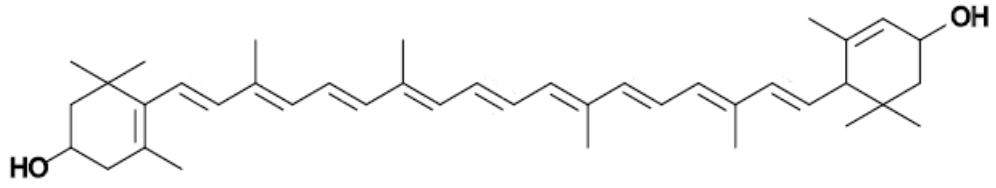
karboksil, keto veya epoksi grupları şeklinde oksijen içerirler. Likopen ve β -karoten tipik karotenlerdir. Yeşil yapraklardaki lutein ve mısırdaki zeaksantin ise ksantofildirler (Şekil 2.8).



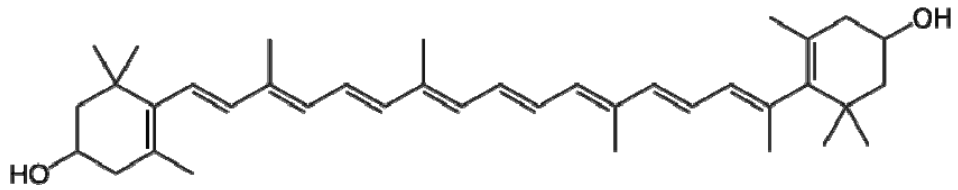
β -Karoten



Likopen



Lutein



Zeaksantin

Şekil 2.8. β -Karoten, likopen, lutein ve zeaksantin'in kimyasal yapısı

Karotenoidlerin arteroskleroz, katarakt, yaşa bağlı kas dejenerasyonları ve multipl skleroz gibi çeşitli radikal kaynaklı hastalıkları önlediği bildirilmiştir.

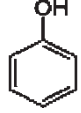
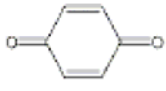
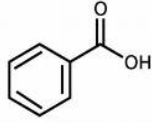
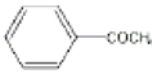
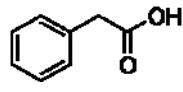
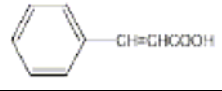
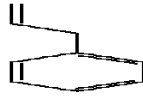
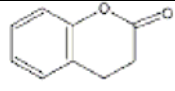
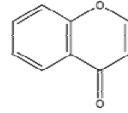
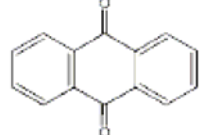
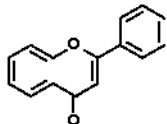
Karotenoidlerin antioksidan aktivitelerinin peroksil radikallerini ve singlet oksijeni tutmalarından kaynaklanmaktadır [78]. Likopen, doğal karotenoidler arasında en etkili singlet oksijen tutucularındandır [79]. β -karoten özellikle düşük oksijenden kaynaklı gerilimlerde peroksil radikali tutucusudur. β -karoten, α -tokoferolden daha düşük antioksidan aktiviteye sahiptir.

Karotenoidler renkli meyve ve sebzelerde bulunmaktadırlar. Şeftali, havuç, bal kabağı ve patates α ve β -karoten içerir. Domates, kavun ve greyfurt ise likopen kaynağıdır [80].

2.4.2.4. Polifenoller

Bitkilerde, fenolik bileşikler veya polifenollerin 8000 den fazla türü bulunmaktadır. Fenolik bileşiklerin antioksidan, antimutajenik ve serbest radikal giderme etkilerinin olduğu bildirilmiştir [32]. Antioksidan aktiviteleri kimyasal yapılarına bağlıdır [81,82]. Bitki fenollerini çok fonksiyonlu olup, hidrojen atomu verici, singlet oksijen süpürücü ve indirgeyici olarak davranır. Bazı polifenoller ise antioksidan özelliklerini metal iyonlarını kelatlama özelliklerine borçludurlar [83]. Epidemiyolojik çalışmalar yüksek oranlarda fenolik bileşiklerin tüketilmesinin, kardiyovasküler hastalıkları ve belli kanser türleri riskini azalttığını göstermiştir [32]. Fenolik bileşenler çeşitli sınıflara ayrılırlar (Tablo 2.3).

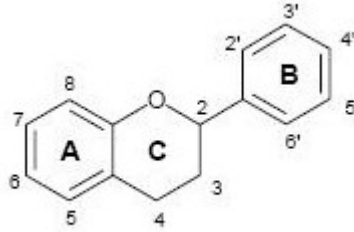
Tablo 2.4. Fenolik bileşenlerin sınıfları

Sınıf	Temel İskelet	Temel Yapı
Basit fenoller	C_6	
Benzokinonlar	C_6	
Fenoik asidler	$C_6 - C_1$	
Asetofenonlar	$C_6 - C_2$	
Fenil asetik asidler	$C_6 - C_2$	
Hidroksisinamik asidler	$C_6 - C_3$	
Fenil propenler	$C_6 - C_3$	
Kumarinler	$C_6 - C_3$	
Kromonlar	$C_6 - C_3$	
Antrakinonlar	$C_6 - C_2 - C_6$	
Flavonoidler	$C_6 - C_3 - C_6$	

2.4.2.5. Flavonoidler

Flavonoidler insan sağlığı üzerinde olumlu etkileri olan, bitkilerde doğal bir Şekilde oluşan bileŐiklerdir. İnsan metabolizmasında sentezlenemezler. Bitkilerin yaprak, tohum, kabuk ve çiŐek kısımlarında 4000'den fazla farklı yapıda flavonoid belirlenmiştir [84].

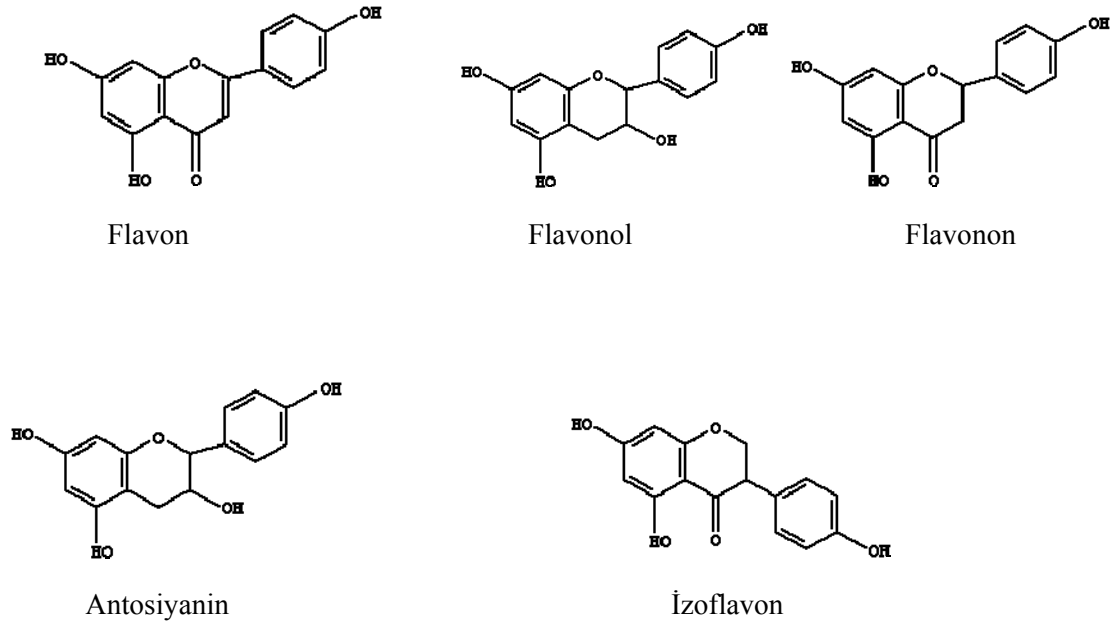
Moleköl yapıları aromatik A halkası yanında bulunan heterosiklik C halkası ve bu halkaya bağlı ikinci aromatik B halkasından oluşurlar (Şekil 2.9). Bu halkalara bağlanan ŐeŐitli fenolik hidroksil grupları, bu yapıların antioksidan aktivite göstermelerini sağlar. Flavonoidlerin kimyasal yapıları Şekil 2.10'da gösterilmiştir.



Şekil 2.9. Flavonoidlerin genel yapıısı

Flavonoidlerin ve metabolitlerinin antioksidan aktiviteleri aromatik halkalara bağlı olan fonksiyonel grupların yerleŐmesine bağlıdır. Flavonoidlerin antioksidan aktiviteleri yapıdaki hidroksillenme derecesine gÖre artar. Yapıya bağlanan Őekere ve Şeker cinsine gÖre de azalır [85].

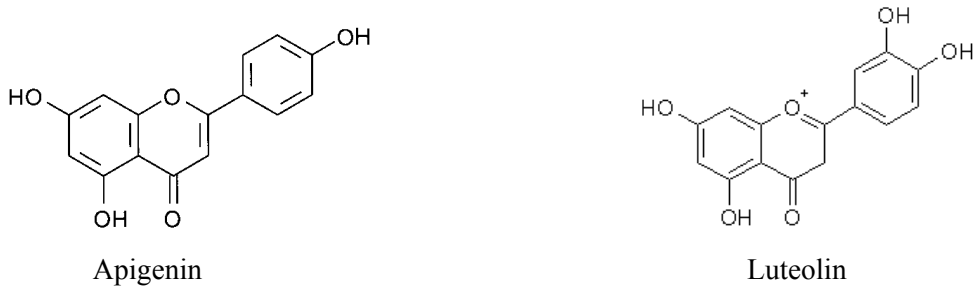
Flavonoidler, yapısal olarak genellikle difenil propan ($C_6C_3C_6$) karbon iskeletiyle karakterize edilirler. Aglikon veya glikozid Şeklinde bulunabilirler.



Şekil 2.10. Flavonoidlerin kimyasal yapıları

Flavonoidler, reaktif oksijen ve azot türlerini yakalama özelliğine sahiptirler. Flavonoidler, reaktif oksijen türlerinin oluşumunu azaltmada mitokondriyal süksin oksidaz, NADH-oksidad ve araşidonik asid metabolizmasına katılan enzimler gibi indirgenme-yükseltgenme reaksiyonlarını katalizleyen enzimleri etkileyerek aktif rol oynarlar [86]. Flavonoidlerin aterosklerozda önemli rol oynayan LDL peroksidasyonunu önlediği bildirilmiştir.

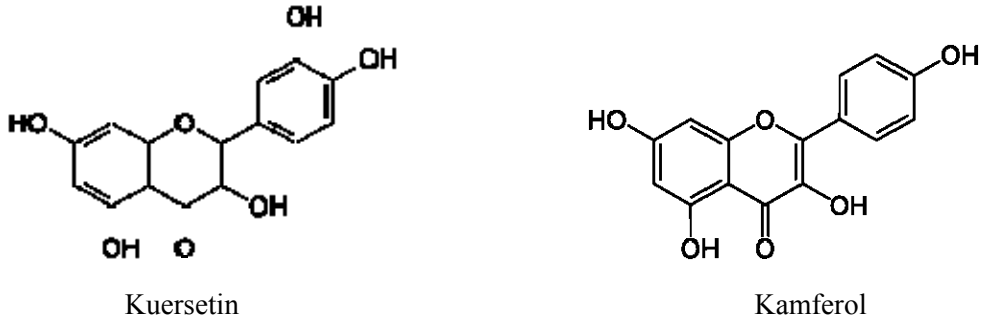
Flavonlar, meyvelerde çok bulunmalarına rağmen tahıl ve otlarda bulunurlar. En çok bilinenleri apigenin ve luteolindir. Apigenin maydanozda bulunmaktadır. Luteolin ise tahıllarda ve otlarda bulunmaktadır (Şekil 2.11).



Şekil 2.11. Apigenin ve luteolinin kimyasal yapısı

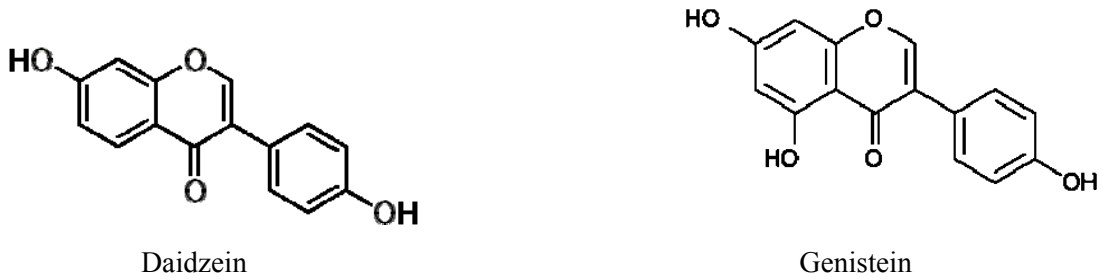
Flavonlar, yüksek konsantrasyonlarda veya metal iyonlarıyla kompleks oluşturdıklarında bitki dokusunun rengine katkıda bulunurlar. Lezzete de katkıda bulunurlar.

Flavonollerin, en önemli bileşikleri kuersetin ve kamferoldür (Şekil 2.12). Kuersetin meyve ve sebzelerde bol miktarda bulunur.



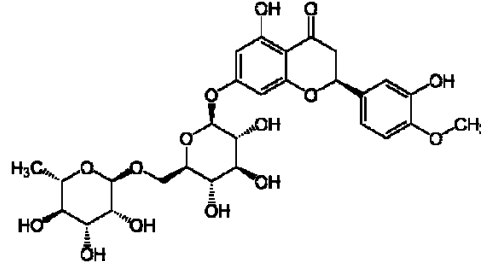
Şekil 2.12. Kuersetin ve kamferolün kimyasal yapısı

İzoflavonoidler, östrojenik aktiviteleriyle bilinirler. En önemli bileşikleri; daidzein ve genisteindir. En çok kuru baklagillerde bulunurlar. Soya fasulyesi önemli bir daidzein ve genistein kaynağıdır (Şekil 2.13).



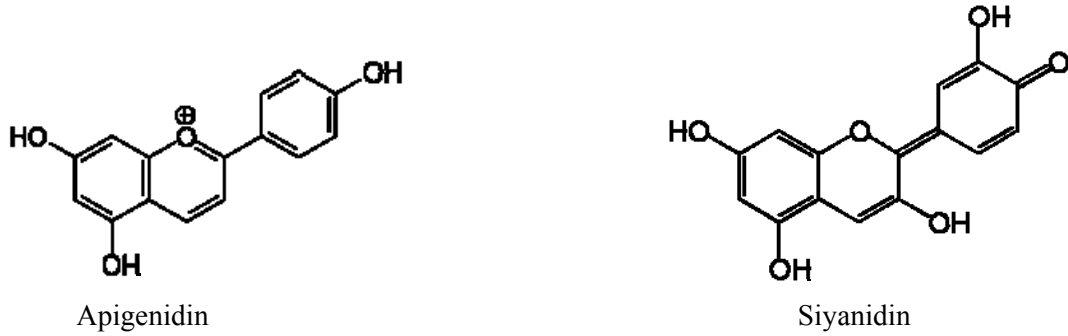
Şekil 2.13. Daidzein ve genisteinin kimyasal yapısı

Flavononlar, flavonların dihidro türevleridir. Flavononların ana kaynağı turuncgillerdir. Hesperidin kimyon ve nanede bulunur (Şekil 2.14).



Şekil 2.14. Hesperidin'in kimyasal yapısı

Antosiyanidinler doğal bitki pigmentleridirler ve glikozidleri antosiyaninler olarak bilinirler. Antosiyaninler, dut, kiraz, erik, kırmızı lahana, patlıcan ve turbun kırmızı ve mavi rengini verirler. Antosiyaninlerin renkleri pH'a bağlıdır. Meyvelerdeki antosiyanin içeriği meyve olgunlaştıkça genellikle artar. Antosiyaninler, içecek ve diğer gıdalarda renklendirici olarak kullanılırlar. En önemlileri; apigenidin, siyanidin, malvidin ve delfinidindir (Şekil 2.15).



Şekil 2.15. Apigenin ve siyanidin'in kimyasal yapısı

Flavanların yapıları ve isimlendirilmeleri karışıktır. Monoflavan, biflavan ve triflavan olarak bulunurlar. Monoflavanlar, olgun meyvelerde ve taze yapraklarda bulunurlar. Çayda önemli oranda flavan vardır. Biflavanlar ve triflavanlar, meyve ve tahıllarda bulunurlar. Elma, böğürtlen, kızılıcık, üzüm, şeftali ve çileklerde bulunurlar. Tahıllarda ise darı ve arpa tanelerinde bulunurlar [86].

2.4.2.6. Glutatyon (GSH)

Tripeptid yapısındaki GSH oksidatif strese ve radyasyona karşı hücrelerin korunmasında önemli rol oynar. Hücrelerin içinde toplanmış okside glutatyon ve GSH/GSSG oranı organizmadaki oksidatif stresin bir ölçümüdür [87,88]. GSSG'nin konsantrasyonunun çok yüksek olması oksidatif olarak birçok enzime zarar verebilir.

2.4.2.7. Albumin

Albumin vücutta birçok fonksiyonun ek olarak bakır iyonunu bağlama yeteneğine de sahiptir ve böylece bakır iyonuna bağlı lipid peroksidasyonunu ve hidroksil radikali oluşumunu inhibe eder [60].

2.4.2.8. Bilirubin

İn vivo ortamda bilirubin, lipid peroksidasyonunda antioksidan olarak rol oynar [60].

2.4.2.9. Ürik Asid

İnsanlarda purin nükleozidleri olan adenozin ve guanozin katabolizmasının temel ürünü ürik asidir. Metal bağlayıcı ve serbest radikal temizleyici olarak görev yapar [89].

2.4.2.10. Selenyum

Selenit ve selenometionin, UV ışınları ile oluşan oksidatif DNA hasarını önemli ölçüde indirgemektedir [90].

2.4.2.11. Lipoik Asid

Lipoik asid, ette, karaciğerde ve kalpte bulunur. Proteinlerin oksidatif hasarını önler. Kan glukoz konsantrasyonunu düşürmede önemli rol oynar [32].

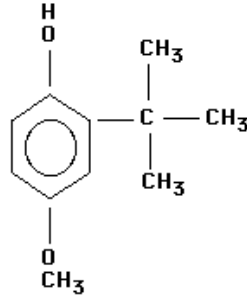
2.4.3. Sentetik Antioksidanlar

2.4.3.1. Butillenmiş Hidroksianizol (BHA)

Piyasada bulunan BHA, başlıca iki izomeri olan 3-terciyer butil-4-hidroksi anizol (% 85) ile 2-terciyer butil hidroksianizolün (% 15) karışımı halindedir. BHA beyaz, mumsu katı bir yapıya sahip, erime noktası yaklaşık 48-63°C olan ve hem hayvansal hem de bitkisel yağlarda çözünebilir ancak suda çözünmeyen bir antioksidan olarak tanımlanmaktadır (Şekil 2.16). Bu antioksidanın gıdalarda kullanımına ilk olarak 1948 yılında ABD'de izin verilmiş olup, günümüzde pek çok ülkede gıda olarak tüketilen katı ve sıvı yağlarda kullanılmaktadır. Bazı durumlarda terciyer butil grubunun, fenolik hidroksil (-OH) grubu üzerinde koruma meydana getirdiği ileri sürülmektedir. Bu durum molekülü dış reaksiyonlardan korumakta ve daha az uçucu ve daha çok yağda

çözünür forma dönüştürmektedir. Yapısındaki hidroksil gruba karşı orto veya meta pozisyonunda yer alan tersiyer butil grup nedeni ile BHA'ya "engelleyici fenol" adı verilmektedir. Bu sterik engelleme, tersiyer butil grubun fenolik yapının antioksidatif aktivitesi ile girişim meydana getirmesi ve bu nedenle BHA'nın bitkisel yağlarda etkisinin az olmasına neden olduğu öne sürülmektedir [91].

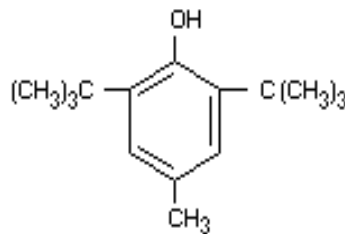
BHA, gıdalarda % 0.02 oranında kullanılır. Özellikle hayvansal yağlarla yapılan bisküvi, patates cipsi ve pastada etkili antioksidan olarak kullanılır [92].



Şekil 2.16. BHA'nın kimyasal yapısı

2.4.3.2. Butillenmiş Hidroksitoluen (BHT)

Butillenmiş hidroksitoluen (BHT) (Şekil 2.17), ($C_{15}H_{24}O$); 2,6-ditersiyer butil-4-metil fenol'un (Şekil 2.17), 1954 yılında gliseridler üzerinde etkili ve koruyucu bir antioksidan olduğunun belirlenmesi sonucunda gıda olarak tüketilen yağlarda ve diğer bazı gıdalarda kullanılmaya başlanmıştır. BHT'nin gösterdiği özellikler büyük ölçüde BHA'ya benzemektedir.



Şekil 2.17. BHT'nin kimyasal yapısı

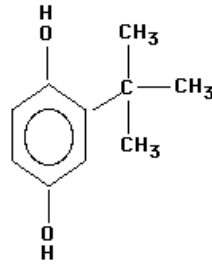
Erime noktası $69.7^{\circ}C$ 'dir. Suda çözünmez, yağlarda iyi çözünür. Bu madde BHA gibi bitkisel yağlarda düşük aktiviteye sahip olmasına karşın diğer antioksidanlar ile beraber

kullanıldığında yağın ilave edildiği gıdayı koruma özelliğinden yararlanılmaktadır. Yüksek sıcaklıklara dayanıklı değildir. Gıdalarda % 0.01 oranında kullanılır. Genellikle tahıl ve şekerli ürünlerde kullanılır [92].

2.4.3.3. Tersiyer Butil Hidrokinon (TBHQ)

TBHQ yağlarda orta derecede, suda ise çok az çözünür (Şekil 2.18). Beyaz ile sarımsı kahverengi arası renkte, kristal yapıda bir madde olup, erime noktasının 127°C olduğu belirtilmektedir. Yüksek sıcaklıklara dayanıklıdır. Gıdalara % 0.02 oranında katılır [92].

TBHQ'nun kullanımına ilk kez 1972 yılında izin verilmiştir. Monotersiyer butil hidrokinon yapısında olan bu antioksidan, beyaz, kristalimsi ve karakteristik kokusu olan bir maddedir. Son yıllarda özellikle gıdaların işlenmesinde ve insan beslenmesinde yer alan bitkisel yağlar oksidasyona karşı oldukça duyarlı oldukları için kuvvetli antioksidanlara olan gereksinimleri arttırmıştır. Günümüzde tersiyer butil hidrokinon (TBHQ)'un bitkisel yağlarda stabiliteyi arttırmak amacı ile kullanımına bir çok ülke tarafından izin verilmektedir. TBHQ'nun bitkisel yağlardaki antioksidatif etkisi diğer antioksidanlara göre daha fazladır. TBHQ doymamış bitkisel yağlarda ve birçok yenilebilir hayvansal yağlarda çok etkili bir koruyucudur. Fe metali varlığında bile rengi değişmez ve ilave edildiği materyalin rengini ve kokusunu değiştirmez [91].



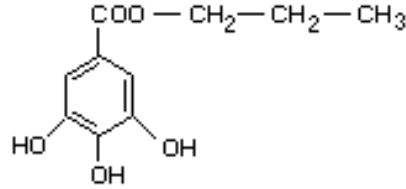
Şekil 2.18. TBHQ'nun kimyasal yapısı

Fındık ürünleri ve şekerleme imalatçıları tarafından da fazla miktarda kullanılan sentetik bir antioksidandır.

2.4.3.4. Propil Gallat (PG)

Propil gallat, ticari olarak gallik asidin propil alkol ile esterifikasyonu sonucu üretilir. Beyaz renkli kristal toz halinde bir madde olup suda az çözünür, erime noktası da

148°C' dir (Şekil 2.19). Propil gallat, demir iyonları ile mavi-siyah renkte bir kompleks oluşturur. Bunu önlemek için PG daima sitrik asitle birlikte kullanılır. Propil gallatlar, BHA ve BHT ile iyi sinerjistik etki gösterirler. PG, bitkisel ve hayvansal yağlarda, et ürünlerinde, taze ve dondurulmuş salam ve sosislerde antioksidan olarak kullanılır [91].

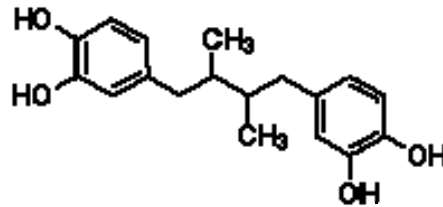


Şekil 2.19. Propil gallatın kimyasal yapısı

2.4.3.5. Nordihidroguayeretik Asid (NDGA)

NDGA, *Lurrea divaricata* bitkisinden elde edilen doğal bir antioksidandır (Şekil 2.20). Ayrıca yapay olarak üretilmektedir. Bu amaçla fırıncılık ürünlerinde, eterik yağlar, domuz yağı ve balık yağlarında kullanılmaktadır. ABD'deki uygulamalarda NDGA limon asidi, tartarik asid, askorbik asid gibi maddelerle birlikte kullanılmaktadır.

Nordihidroguayeretik asid (NDGA)'in en önemli özellikleri gallatlarda olduğu gibi ısıya karşı duyarlı olması ve kalıntı demir ile renk bozulmasına neden olabilmesidir [91]. Toksik etkisi yüksek olan bu maddenin gıdalarda kullanımına ülkemiz de dahil olmak üzere pek çok ülkede izin verilmemektedir. Gıdalara % 0.01 oranında katılır [92].



Şekil 2.20. NDGA'nın kimyasal yapısı

2.5. LABADA (*Rumex cristatus* DC)

Kuzukulağıgiller (*Polygonaceae*) familyasındandır. Kuzukulağıgiller (*Polygonaceae*), otsu, çalimsı bitkileri ve küçük ağaçcıkları içeren bir çiçekli bitkiler familyasıdır. Yaklaşık 50 cins ve 1120 türle temsil edilirler. Yapraklar almaçlı ve alternat dizilişli, gövdeleri çoğunlukla boğumludur [93].

Labada (*Rumex*) içerisinde 200 kadar bir yıllık, iki yıllık ve çok yıllık bitki türünü barındıran bir bitki cinsidir. Bazı türleri kuzukulağı adıyla anılır. Bu familyanın üyelerine oldukça çok ve sık rastlanır. Genellikle kuzey yarımkürede yetişmesine rağmen her yere yayılmış çok yıllık bitkilerdir. Bazıları zararlı otlar olup, bazıları da yenilebilen yaprakları için yetiştirilmektedir [94]. Anadolu'nun çoğu yerinde yetişmektedir. Haziran-Eylül ayları arasında yeşilimtrak renkli, küçük çiçekler açan, 50 cm-2 m boylarında, çok yıllık otsu bitkilerdir. Dağlık, orman ve çayırarda, ekilmemiş alanlarda yayılır. Gövdeleri dik, silindirik ve kırmızımsı renklidir. Alt yapraklar büyük, üst yapraklar küçüktür. Çiçekler gövdenin ucunda toplanmışlardır. Büyük kuzukulağı (*R. acetosa*) ve küçük kuzukulağı (*R. acetosella*) türleri bulunmaktadır [94].

Rumex türleri antrakinonların zengin kaynağıdır. Dünya çapında 200 farklı *Rumex* türü vardır. Türkiye florasında *Rumex*'in 25 türü bulunmaktadır [95]. Ayrıca 5 adet de hibridi bulunmaktadır [96].

Bunlardan en yaygını olan adi labada (*R. patienta*), sulak yerlerde kendiliğinden yetişen, aynı zamanda tarımı da yapılan ve 0.5-2 m. arasında boylanabilen, çok yıllık otsu bir bitkidir. Kazık kökü dallı olup dışı kahverengi ve içi sarıdır. Yuvarlak kesitli dik gövdesi, uzunlamasına çizgili ve genellikle kırmızımsı renklidir. Yaprakları almaşık dizili, saplı, uzunca, oval ya da elips biçimli ve kenarları hafif dalgalı olur. Yazın açan çiçekleri gövdenin tepesinde kırmızımsı yeşil renkli salkımlar halinde bulunur. Bitki, çiçeklerinden olgunlaşan meyvesindeki tohumlarla çoğalır.

Labadanın yapraklarında çeşitli mineral ve vitaminler; kazık köklerinde nişasta, şekerler, reçine ve antrakinon türevleri bulunur. Bunun yanı sıra C vitamini de içerir. Anadolu'nun bazı yerlerinde labada yapraklarıyla salata, sebze yemekleri ve 'efelek dolması' denilen özel etli yemeği yapılır. Meyvelerinin demlendirilmesiyle yapılan 'gıgış çayı' bazı yerlerde çay yerine içilir [97].

Rumex türleri geleneksel tıpta çeşitli tedavi edici amaçlar için kullanılmaktadır [98]. Kökleri, laksatif etkisi dolayısıyla kullanılmaktadır. Ayrıca kanamalara, akıntılara, ezik, yanık, şişme gibi bazı deri lezyonlarına karşı etkilidir. *Rumex* türlerinin yaprakları ve kökleri geleneksel tıpta iltihaplarda, kanı temizlemede ve kabızlıkta kullanılmaktadır. Yüksek oranda okzalik asid içerdiğinden özellikle çocuklarda okzalik asid zehirlenmelerine de neden olmaktadır [99]. Yanık ve su toplamalarına karşı basit bir pansuman olarak uygulanır. *Rumex* türleri ülkemizde sebze olarak tüketilmektedir. Yaprakları asidiktir ve salatalara çeşni olarak kullanılmaktadır [100,101].

Rumex acetosa L. Kore ve Japonya'da bulunan uzun ömürlü bir bitkidir. Halk arasında hafif müshil etkisi nedeniyle ve bunun yanı sıra deri hastalıklarında da kullanılmaktadır. Bu bitkinin kökleri antioksidan aktivite gösterir ve polisakkarid karışımlarının sarkomalı farelerde antitümör etki gösterdiği bildirilmiştir [102]. Akut ve kronik üst solunum yolları enfeksiyonlarında kullanılmaktadır [103]. Bitkinin yerin üstünde kalan kısımlarının rutin, hiperozid, kuersitrin, kuersetin-3-O-glukuronid, avikularin, viteksin, orientin, isorientin ve türevleri gibi flavonoidler, krizofanol ve 8-O-glukozidi, fizikon, fizikoantron, emodin ve 8-O-glukozidi, emodinantron, aloeemodin, asetoksilaleoemodin, okzalik asid, flavan-3-ol, kateşin ve epikateşin, gallik asid, pirokatekuik asid, ferulik asid ve p-kumarik asid gibi fenolik asidler ve ramnoglukturolaktan, arabinogalaktan tipi polisakkaridleri yüksek oranda içerdiği bildirilmiştir [104-107].

Rumex steudelii, Etiyopya'da geleneksel olarak antifertilite de kullanılan bir bitkidir. Bu bitkinin kökleri diğer bitkisel ilaçlarla karıştırılarak rektal prolapsus, hemoroid, yara iyileştirme, şişme, cüzzam, tonsilit, abdominal kolik ve *Tinea nigra*'da kullanılır, ayrıca kürtaj ve doğum kontrolünde de kullanılmaktadır [108]. Hidroalkolik kök ekstreleri saponinler, fitosteroller ve polifenollerden oluşmaktadır [109].

Rumex maritimus Linn. yaprakları yanıklarda, tohumları tonik olarak, sırt ağrılarını dindirmede ve afrodisyak olarak kullanılır. Bangladeş'in birçok bölgesinde ise bitkinin kökleri ishalde kullanılır [110]. Yapılan kimyasal araştırmalarda, *Rumex maritimus*'tan antrakinin, kromon ve flavon türevleri saflaştırılmıştır [111]. Ayrıca *Rumex*

maritimus'un metanol ekstraktlarının ishali kesmede önemli ölçüde etkili olduğu bulunmuştur [112].

Rumex nervosus akne ilacı, hipoglisemik ajan ve oftalmik antiseptik olarak kullanılmaktadır [113]. *R. abyssinicus* ile birlikte yara iyileştirmede, egzema da, tifüs ve kuduzda kullanılmaktadır [114]. *R. nervosus*'un yaprak, kök, gövde, kabuk kısımları ile *R. abyssinicus*'un köklerinin su, metanol ve kloroformdaki ekstrelerinin *S. aureus* ve *P. aeruginosa* gibi çeşitli bakterilere karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur [114,115]. *R. abyssinicus*'tan okzalik asid, krisofanik asid, krizofanol, emodin ve physcion daha önceki çalışmalarda izole edilmiştir [116]. *R. nervosus*'tan ise flavonoidler, steroidler, tanninler, tartarik ve sitrik asid izole edilmiştir [117,118].

Halk arasında *R. abyssinicus*, hipertansiyon, migren, romatizma, göğüs kanseri, mide şişkinliği, kulak ağrısı, karaciğer hastalıkları, hemoroid, tifüs ve kuduzda kullanılmaktadır [119]. *R. abyssinicus*'un diğer *Rumex* türlerinde olduğu gibi *Tinea nigra* ve *Tinea versicolor*'a karşı etkili olduğu bulunmuştur [120].

Rumex japonicus Houtt. (RJH) Kore, Japonya ve Çin'de atopik dermatiti de içeren çeşitli deri hastalıklarında kullanılmaktadır ve antioksidan etki gösterdiği bildirilmiştir. RJH'nin emodin, krizofanol ve fizikon gibi antrakinin türevleri içerdiği ve antibakteriyel, antifungal, antienflamatuvar, immunosupresif ve antiviral aktiviteleri olduğu bildirilmiştir [121]. Ayrıca kökleri Çin ilacı olarak ısı duyarlılığı, sarılık, kabızlık, uyuz ve döl yatağı kanamaları tedavisinde kullanılmaktadır [122]. Antioksidan, sitotoksik ve antimikrobiyal aktiviteler gibi çeşitli biyolojik ve farmakolojik aktivitelerinin olduğu bildirilmiştir.

Rumex crispus yaprakları halk arasında tedavi amaçlı kullanılmasının yanı sıra aynı zamanda besleyici bir gıdadır. *Rumex* türleri zengin hidroantrakinin kaynağıdır. Bitkideki hidroantrakinin türü ve miktarı genetik faktörlere ve çevresel koşullara bağlıdır. Başkan ve arkadaşları tarafından, *Rumex crispus*'tan 1,5-dihidroksi-3-metil antrakinin, 1,3,5-trihidroksi-6-hidroksimetil antrakinin ve 1,5-dihidroksi-3-metoksi-7-metil antrakinin bileşikleri izole edilmiştir [123].

İngiliz ıspanağı adıyla bilinen *Rumex patientia* özellikle Türkiye ve Hindistan olmak üzere dünyanın çeşitli bölgelerinde yeşil bir sebze olarak tüketilir. Yapılan fitokimyasal analizler bitkinin antrakinonlar, taninler ve naftalen türevlerince zengin olduğunu göstermiştir. Bitkiden izole edilen bileşiklerden bazıları; rumeksosid, labadozid ve oryantaloziddir. *Rumex patientia*, Türk halk tıbbında laksatif, diüretik, antipiretik, yara iyileştirici ve antienflamatuar olarak bilinmektedir. *Rumex patientia* Anadolu'da yaygın bir şekilde kullanılan bir sebzedir. Bu da bitkinin güvenli olduğunu göstermektedir [124,125]. *Rumex patientia*, fitokimyasal ve biyolojik olarak incelenmiş ve antienflamatuar, analjezik, antipiretik, mide koruyucu etki ve antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur [126]. *Rumex patientia* Türk geleneksel tıbbında diyabeti önlemede de kullanılmaktadır [127].

Birçok *Rumex* türlerinin biyolojik aktiviteleri çalışılmıştır. Bu çalışmalar sonucu vücuttaki ve serumdaki amino asit ve mineral düzeyini etkilediği [128], fizikofarmakolojik [129], müshil [130], antioksidan ve sitotoksik [131], antifertilite [132], antimikrobiyal ve iltihap önleyici [120], ishali kesici [112] ve antiviral [133] aktiviteleri açığa çıkmıştır .

Yaprakları, deri hastalıklarında etkilidir, çıbanları olgunlaştırır, yara ve egzamaları iyileştirir. Bu etkileri sağlamak üzere, labadanın yapraklarıyla yara lapası hazırlanır ve şikayet edilen yerlere dıştan uygulanır [97].

Rumex türlerinin dünyada ve ülkemizde sebze olarak ve hastalıkları iyileştirmede yaygın kullanımı vardır. Dolayısıyla bu türlerin antioksidan ve diğer tedavi edici özelliklerine dair araştırmalar yapılmıştır. Ülkemizde yetişmekte olan *Rumex*'in bir türü olan *Rumex cristatus* DC ile ilgili literatür çalışmasına rastlanmamıştır. Bu nedenle yurdumuzda yetişen ve sebze olarak kullanılan bu türün antioksidan aktivitesi çeşitli antioksidan deneylerle araştırılarak, antioksidan aktivitenin varlığı doğrulandı.



Şekil 2.21. Labada (*Rumex cristatus* DC) [97]



Şekil 2.22. Labadanın çeşitli görünümleri [134]

3. MALZEME ve YÖNTEM

3.1. DENEYLERDE KULLANILAN ALETLER

Buzdolabı	: Arçelik
Destile Su Cihazı	: Brand MonoDest 3000
Derin dondurucu	: Beko
Etüv	: Nüve FN500
Rota Evaporatör	: Bibby Rotary Vacum Evaporator
Fırın	: Heraus
pH Metre	: Beckman pH Meter H5
Santrifüj Cihazı	: Denley BS400
Spektrofotometre	: Shimadzu UV Visible UV-120-02
Sonikatör	: Bandelin Sonorex
Su Banyosu	: Bibby Waterbath RE100B
Su Banyosu	: Nüve BM 101
Su Banyosu	: Memmert
Terazi	: Mettler 110 Hassas Terazi
Terazi	: 1Gec Avery Terazi
Vorteks	: Fisons Whirlimixer

3.2. DENEYLERDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Labadanın etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarının hazırlanmasında etil alkol (% 96) ve etil asetat (teknik) gibi çözücüler kullanıldı.

Ekstrelerin toplam fenolik bileşik miktarı tayininde sodyum tungstat (Na_2WO_4 ; Merck 106673), sodyum molibdat (Na_2MoO_4 ; Merck 386021), derişik fosfat asidi (H_3PO_4 ; Merck 100563), derişik hidroklorik asid (HCl ; Merck 100314), lityum sülfat ($\text{Li}_2\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; Fluka 62609) ve brom (Merck) kullanılarak Folin reaktifi hazırlandı. Hazırlanan Folin reaktifi ile sodyum karbonat (Na_2CO_3 ; Merck 106398) kullanılarak ekstraların fenolik bileşik miktarları tayin edildi. Toplam fenolik bileşik tayininde standart olarak pirokateşol kullanıldı.

Total flavonoid miktar tayininde ise sodyum nitrit (NaNO_2 ; Merck 6544), aluminyum klorür (AlCl_3 ; Merck 1064) ve sodyum hidroksid (NaOH ; Merck 106498)'den yararlanıldı. Standart olarak kateşin kullanıldı.

Askorbik asid miktar tayini ise metafosfat asidi (HPO_3 ; Carlo Erba 407465) ve 2,4-diklorfenol-indofenol (Merck 3028) kullanılarak yapıldı.

β -Karoten içeriği denemesinde ise heksan (Merck 4368) ve aseton (Merck; 100013) kullanıldı.

DPPH radikal giderme aktivite deneyinde ise 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH; Sigma D9132) ve metanol (CH_3OH ; Riedel-de Haën 24229) kullanıldı. Standart olarak BHA ve BHT (Fluka 34750) kullanıldı.

İndirgeyici güç denemesinde sodyum dihidrojen fosfat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; Merck 106345) ve sodyum monohidrojen fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; Merck 106573) kullanılarak fosfat tamponu hazırlandı. Deneyde potasyum ferrisiyanür ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$; Riedel de Haën 12643), triklor asetik asid (TCA; Merck 100807), demir-3-klorür (FeCl_3 ; Merck 3948) ve standart olarak α -tokoferol asetat (Sigma T-3376) kullanıldı.

Hidroksi radikali giderme aktivitesi deneyinde ise, sodyum dihidrojen fosfat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; Merck 106345) ve sodyum monohidrojen fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; Merck 106573) kullanılarak fosfat tamponu hazırlandı. 2-deoksiriboz (Fluka 31170), demir sülfat-etilendiamin tetra asetik asiddeki çözeltisi ($\text{FeSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; Riedel de Haën 351859, EDTA; Merck 2604134), hidrojen peroksit (H_2O_2 ; Merck 108600), triklor asetik asid (TCA; Merck 100807), tiyobarbitürik asid (TBA; Fluka 88481) ve sodyum hidroksit (NaOH ; Merck 106498) kullanılarak aktivite tayini yapıldı.

ABTS radikal giderme aktivitesi deneyinde ise 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asid) (ABTS; Fluka 11557), potasyum persülfat ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$; Merck 12615), metanol (CH_3OH ; Merck 1006007) ve standart olarak Troloks (Calbiochem 648471) ve α -tokoferol asetat (Sigma 3765) kullanıldı.

DMPD radikali giderme aktivitesi deneyinde N,N-dimetil-1,4-fenilen diamonyum diklorid (DMPD, Merck 103067), demir-3-klorür (FeCl_3 , Merck 3948) ve sodyum asetat (CH_3COONa ; Merck 6265) kullanıldı. Standart olarak ise troloks (Calbiochem 648471) kullanıldı.

3.3. BİTKİ MATERYALİ

İstanbul Üniversitesi Avcılar Yerleşkesinden Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık aylarında toplanan labada (*Rumex cristatus* DC) yaprakları destile su ile yıkandı ve gölgede kurutuldu. Labadanın türünün teşhisi İ. Ü. Eczacılık Fakültesi emekli Öğretim Üyesi, Prof. Dr. Kerim ALPINAR tarafından yapıldı. Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık aylarında toplanan labadalardan sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstratlar hazırlandı. Ekstre hazırlanmasında bitkinin sadece yaprak kısmı kullanıldı.

3.3.1. Sulu Ekstrenin Hazırlanması

30 g bitki balona konularak üzerine 300 mL destile su ilave edildi. Karışım geri çeviren soğutucu altında 3 saat reflüks edildi. Elde edilen karışım soğutuldu ve süzgeç kağıdından süzüldü. Süzüntü, önceden darası alınan balona konuldu. Balon rota evaporatöre yerleştirildi ve karışımın suyu düşük basınçta uzaklaştırıldı. Elde edilen

ekstre miktarı 332 mg/g bitki olarak bulundu ve ekstre -20°C’de derin dondurucuda saklandı.

3.3.2. Etil Alkollü Ekstrenin Hazırlanması

25 g bitki tartıldı. Sokslet cihazının kartuşuna yerleştirildi. Kartuş Sokslet ekstraksiyon sistemine konuldu. Sokslet cihazının balonuna 250 mL % 96’lık etil alkol konularak karışım 4 saat ekstrakte edildi. Elde edilen karışım soğutularak süzgeç kağıdından süzüldü. Süzüntü önceden darası alınan balona konuldu. Balon rota evaporatöre yerleştirilerek düşük basınçta etil alkol karışımından uzaklaştırıldı. Elde edilen ekstre miktarı 84 mg/g bitki olarak bulundu. Ekstre -20°C’de derin dondurucuda saklandı.

3.3.3. Etil Asetatlı Ekstrenin Hazırlanması

25 g bitki Sokslet ekstraksiyon cihazı kartuşuna konuldu. Kartuş Sokslet sistemine yerleştirilerek, cihazın balonuna 250 mL teknik etil asetat ilave edildi. Karışım Sokslet cihazında 4 saat ekstrakte edildi. Elde edilen karışım soğutuldu ve süzgeç kağıdından süzüldü. Süzüntü önceden darası alınan balona konuldu. Balon rota evaporatöre yerleştirilerek düşük basınçta etil asetat karışımından uzaklaştırıldı. Elde edilen ekstre miktarı 18 mg/g bitkidir. Ekstre daha sonra kullanılmak üzere -20 °C’de derin dondurucuda saklandı.

Çalışmamızda, Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık aylarında hazırlanan tüm ekstrelerin UV görünür absorpsiyon spektrumları alındı.

3.4. ANTIOKSİDAN AKTİVİTE

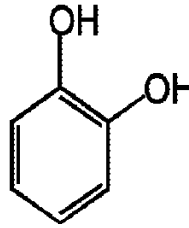
3.4.1. Toplam Fenolik Bileşik Miktarı Tayini

Ekstrelerdeki toplam fenolik bileşik miktarı Folin-Ciocalteau ayırıcı ile Slinkard ve Singleton’un geliştirdiği metoda göre tayin edildi [135]. CuSO₄ alkali ortamda protein veya antioksidanla kompleks oluşturur. Folin reaktifi ilave edildiğinde Folin reaktifi protein ile bağlanır. Protein veya antioksidanla Cu (II)’ nin reaksiyonundan açığa çıkan

Cu (I) molibdotungstat reaktifini heteropoli mavisine indirger ve rengi sarıdan maviye dönüşür.

Çalışmada standart fenolik bileşik olarak pirokateşol (Şekil 3.1) kullanıldı. Standart eğri çizmek için 25 mg pirokateşol 25 mL destile suda çözülerek (1 mg/mL) stok çözelti hazırlandı. Bu stok çözeltilerden 25, 50, 75 ve 100 µg/mL lik çözeltiler hazırlandı. Tüplere 0.1 mL standart çözeltilerden ilave edildi. Sonra tüplere sıra ile 4.5 mL distile su ve 0.1 mL Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edildi. 3 dakika sonra % 2'lik Na₂CO₃ çözeltisinden 0.3 mL ilave edildi. Tüpler vortekste karıştırıldı ve karışım 2 saat boyunca karanlıkta oda sıcaklığında bekletildi. Numuneler ve körde benzer şekilde hazırlandı. Köre standart veya numune yerine 0.1 mL distile su ilave edilerek aynı işlemler yapıldı.

Daha sonra standardın ve numunelerin absorbansı 760 nm'de köre karşı okundu. Numunelerin absorbans değerlerine karşılık gelen pirokateşol miktarı standart eğri yardımıyla hesaplandı ve sonuçlar pirokateşol ekivalenti şeklinde ifade edildi.



Şekil 3.1. Pirokateşolün kimyasal yapısı

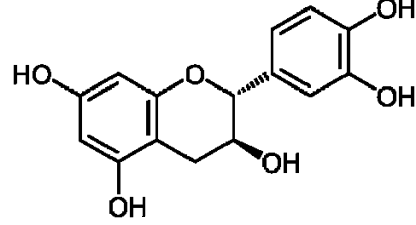
3.4.2. Total Flavonoid Miktarı Tayini

Bitki ekstralarında total flavonoid miktarı Zhishen, Mengcheng Jianming metoduna göre yapıldı [136].

Çalışmada standart flavonoid bileşik olarak kateşin (Şekil 3.2) kullanıldı. Standart eğri çizmek amacıyla 20, 40, 60, 80 mg/mL'lik kateşin çözeltileri hazırlandı. Kateşin çözeltilerinden ve bitki ekstralarının farklı derişimlerdeki çözeltilerinden (1000 - 4000 µg/mL) 0.25 mL alındı. Üzerine 1.25 mL destile su ve 75 µL % 5'lik NaNO₂ ilave edildi. 6 dakika oda temperaturünde bekletildi. Üzerine 150µL % 10'luk AlCl₃ çözeltisi ilave edilerek tekrar 5 dakika bekletildi. 0.5 mL 1 M NaOH çözeltisi ve 275 µL destile

su ilavesinden sonra tüpler vortekste iyice karıştırılarak meydana gelen rengin absorbansı 510 nm’de ayıraç körüne karşı okundu.

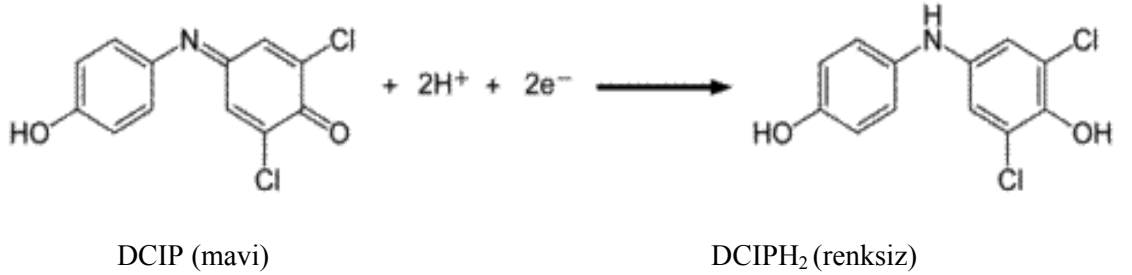
Ekstrelerin flavonoid miktarı μg kateşin/gram ekstre olarak ifade edildi.



Şekil 3.2. Kateşinin kimyasal yapısı

3.4.3. Askorbik Asit (C vitamini) Miktar Tayini

Askorbik asit miktar tayini Omaye ve arkadaşlarının [137] metoduna göre tayin edildi. Metod askorbik asidin, diklorofenol indofenol (DCIP) boyasını indirgemesi esasına dayanmaktadır. Metafosforik asit, mavi olan DCIP boyasını pembe renkli indirgenmiş şekline dönüştürmektedir (DCIPH). Oluşan bu DCIPH ise askorbik asit tarafından renksiz DCIPH_2 ’ye indirgenmektedir.



Şekil 3.3. Diklorindofenol boyasının indirgenmesi

5 mg ekstre, 5 mL % 1 m-fosfat asidi çözeltisinde oda sıcaklığında 45 dakika bekletildi ve süzüldü. Süzüntünün 2 mL’sine 0.1 mg/mL 2,6-diklorofenol indofenol çözeltisinden 1 mL ilave edildi ve 15 saniye sonra 520 nm’deki absorbansı köre karşı ölçüldü. Kör olarak % 1’lik m-fosfat asidi çözeltisi kullanıldı. Ekstrenin askorbik asit miktarı L-

askorbik asid (20-160 µg/mL) (Şekil 2.6) ile hazırlanan standart eğri yardımı ile hesaplandı.

Askorbik asid standart eğri denkleminin elde edilmesi için önce L-askorbik asidin % 1'lik m-fosforik asitteki 160 µM'lık çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltide yine % 1'lik m-fosfat asidi ile seyreltilerek 20, 40, 80, 120 ve 160 µg/mL konsantrasyonundaki standartlar elde edildi. Deney sonucunda 0 µM'lık çözeltinin absorbands değerinden standartlar için bulunan absorbands değerlerinin çıkarılmasıyla bulunan değerlere en küçük kareler yönteminin uygulanmasıyla askorbik asidin regresyon denklemi elde edildi.

3.4.4. β-Karoten Miktar Tayini

β-karoten (Şekil 2.8) miktarı Nagata ve Yamashita [138] metoduna göre tayin edildi. 25 mg'lık ekstreler 10 mL aseton–heksan karışımı (4:6) ile 1 dakika süreyle çalkalandı ve süzüldü. Süzüntülerin absorbandsı 435, 505 ve 663 nm'de ölçüldü. β-karoten miktarı aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\beta\text{-karoten (mg/100 mL bitki ekstresi)} = 0.216 A_{663} - 0.304 A_{505} + 0.452 A_{453}$$

3.4.5. İndirgeme Gücü

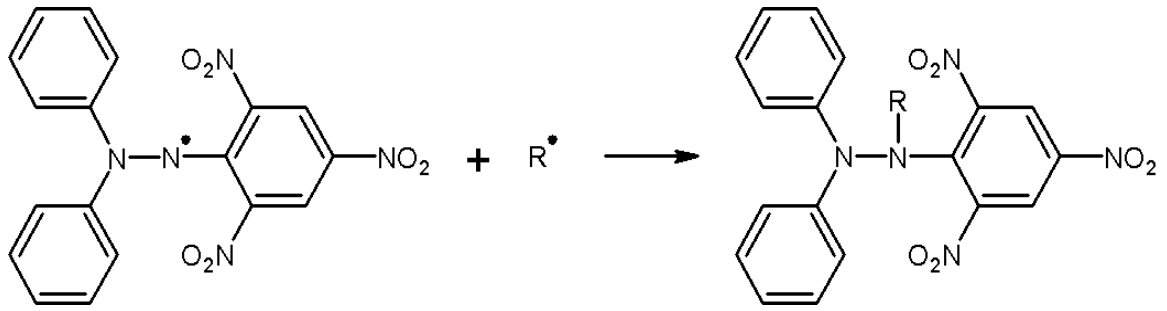
Ekstrelerin indirgeme gücü tayini Oyaizu metoduna göre yapıldı [139]. 50-200 µg/mL'lik standart ve bitki ekstresi çözeltileri hazırlandı. Standart olarak E vitamini kullanıldı. Üzerine pH= 6.6 olan 0.2 M fosfat tamponundan 2.5 mL ilave edildi. Daha sonra %1'lik K₃[Fe(CN)₆]'dan 2.5 mL ilave edilerek karışım su banyosunda 50°C'de 20 dakika inkübe edildi. Bu işlemden sonra reaksiyon karışımlarına 2.5 mL % 10'luk triklorasetikasid (TCA) ilave edildi. Tüpler karıştırıldı. 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Çözeltinin üst fazından 2.5 mL alındı. Üzerine 2.5 mL destile su ve 0.5 mL % 0.1'lik FeCl₃ ilave edildi. 10 dakika beklenildi. Spektrofotometrede 700 nm'de köre karşı absorbands değerleri ölçüldü. Körün hazırlanmasında 5 mL destile su alındı. Üzerine 2.5 mL FeCl₃ ilave edildi.

Ekstrelerin ve standardın indirgeyici güç eğrileri, konsantrasyon (50-200 µg/mL) ve bu konsantrasyonlara karşılık gelen absorbanslar arasında çizildi.

3.4.6. DPPH Radikal Giderme Aktivitesi

DPPH radikal giderme aktivitesi Brand-Williams metoduna göre 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikali (Şekil 3.4) kullanılarak yapıldı [140,141].

DPPH, bir serbest radikaldir. Bir elektron veya hidrojen radikali ile etkileşerek stabil diyamagnetik bir molekül olma eğilimindedir [142, 143].



Difenilpikrilhidrazil (serbest radikal)

Difenilpikrilhidrazilin (nonradikal)

Şekil 3.4. DPPH radikalının indirgenmesi

20 mg/L DPPH çözeltisi metanolde çözülerek günlük hazırlandı. Bu çözeltiden 1.5 mL alınarak üzerine farklı konsantrasyonlarda (12.5-50 µg/mL) hazırlanan bitki ekstraktlarından 0.75 mL ilave edildi. 5, 10, 30 ve 60. dakikalarda köre karşı absorbans değeri 517 nm'de spektrofotometrede ölçüldü. Kontrol olarak 0.75 mL metanol ve 1.5 mL DPPH çözeltisi kullanıldı. Kör olarak sadece metanol, standart olarak BHA ve BHT çözeltileri (12.5-50 µg/mL) kullanıldı. Azalan absorbans değeri geriye kalan DPPH çözelti miktarını yani DPPH radikal giderme aktivitesini verir.

DPPH radikal giderme aktivitesi aşağıdaki formül yardımı ile hesaplandı:

$$\text{DPPH Radikal Giderme Aktivitesi (\%)} = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100$$

A_0 =Kontrolün absorbans değeri

A_1 =Örnek ve standardın absorbans değeri

3.4.7. Hidroksi Radikali Giderme Aktivitesi

Hidroksi radikali giderme aktivitesi deoksiriboz metoduna göre yapıldı [144]. Genellikle deoksiriboz degradasyonunu inhibe eden moleküller Fe iyonlarını kelatlayabilirler. Bu sayede bu iyonların deoksiribozla kompleks oluşturmalarını engelleyip, onları Fenton reaksiyonu için inaktif hale getirir. Fenolik bileşiklerin radikal giderme aktiviteleri hidroksil gruplarındaki aktif H verebilme kapasitelerinden kaynaklanmaktadır[145].

450 µL 0.2 M sodyum fosfat (pH:7.0), 150 µL 10 mM 2-deoksiriboz, 150 µL 10 mM FeSO₄-EDTA, 525 µL bidistile su ve 75 µL örnek numune (100-400 µg/mL) çözeltisinden ibaret olan reaksiyon karışımına 150 µL 10 mM H₂O₂ ilave edilerek reaksiyon başlatıldı. 37°C'de 4 saat inkübasyondan sonra sırasıyla 750 µL % 2.8'lik TCA ve 50 mM NaOH'deki % 1'lik TBA çözeltisinden 750 µL ilave edildi ve tüpler 10 dakika kaynatıldı. Tüpler soğutulularak 520 nm'de absorbans değerleri okundu. Numune içermeyen reaksiyon karışımı kontrol olarak kullanıldı. Standart olarak, α-tokoferol asetat (100-400 µg/mL) ile çalışıldı.

Hidroksi radikal giderme aktivitesi (%) aşağıdaki formül yardımı ile hesaplandı:

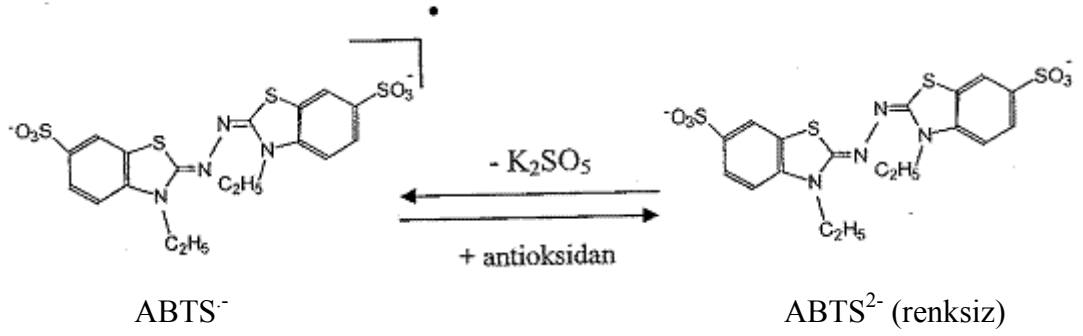
$$\text{Hidroksi Radikal Giderme Aktivitesi (\%)} = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100$$

A₀=Kontrolün absorbans değeri

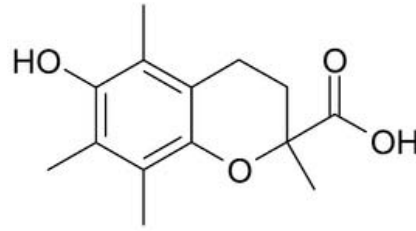
A₁=Örneğin ve standardın absorbans değeri

3.4.8. ABTS Radikal Giderme Aktivitesi

ABTS radikal giderme aktivitesi deneyi, antioksidanların dayanıklı bir radikal katyonu olan ABTS^{•+} radikalini giderme aktivitesinin belirlenmesi esasına dayanmaktadır (Şekil 3.5) [146,147]. Denemede standart olarak Troloks kullanılmaktadır (Şekil 3.6).



Şekil 3.5. 2,2-Azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) amonyum tuzunun persülfatla oksidasyonu sonucu radikal oluşumu [147]



Şekil 3.6. Troloksun kimyasal yapısı

1 mL destile suda 7.4 mM ABTS (2,2'-Azino-bis (3-etilbenzenothiazoline-6-sülfonik asid) çözüldü. Üzerine 2.6 mM $K_2S_2O_8$ 'den 1 mL ilave edilerek karıştırıldı ve 12-16 saat karanlıkta bekletildi. Daha sonra bu karışımın üzerine 60 mL metanol ilave edildi. Bu çözeltinin 734 nm'de spektrofotometrede absorbansı metanole karşı okundu. ABTS radikal katyonunun 734 nm' deki absorbansı 0.7 ± 0.02 dir. Her deney için bu karışım günlük olarak hazırlandı. Hazırlanan metanollü ABTS çözeltisinden 2.850 mL alındı. Üzerine 150 μL bitki ekstresi (250-1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) konuldu. 2 saat karanlıkta bekletildi. Spektrofotometrede 734 nm'de absorbans değeri okundu. Standart olarak Troloks ve α -tokoferol asetat (250-1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) kullanıldı. Kontrol olarak numune yerine metanol içeren reaksiyon karışımı kullanıldı. ABTS radikal giderme aktivitesi (%), aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı [148].

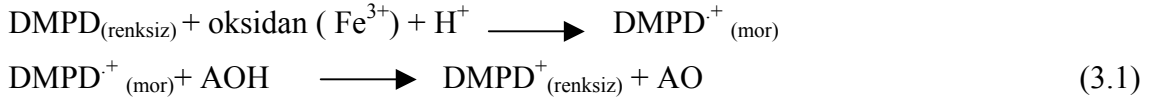
$$\text{ABTS radikal giderme aktivitesi (\%)} = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100$$

A_0 = Kontrolün absorbans değeri

A_1 = Örnek ve standardın absorbans değeri

3.4.9. DMPD Radikali Giderme Aktivitesi

DMPD radikali giderme aktivitesi Fogliano'nun [149] metoduna göre yapıldı. DMPD radikali giderme aktivitesi, asidik pH ve uygun bir oksidan çözeltinin varlığında DMPD'nin kararlı ve renkli bir radikal katyonu oluşturması esasına dayanır. DMPD 505 nm'de maksimum absorbanans değeri gösterir. DMPD'ye bir H atomu transfer edebilen antioksidanlar bu rengi giderir ve çözeltide bir renksizleşme meydana gelir.



DMPD radikalinin absorbanansı 505 nm'de maksimumdur. DMPD radikaline bir H atomu transfer edebilen antioksidan bileşikler rengi gidererek, konsantrasyonla doğru orantılı bir şekilde çözeltide renksizleştirme meydana getirirler. Bu reaksiyon hızlı gerçekleşir ve stabildir. Antioksidatif etkinliğin bir göstergesidir. Bu nedenle bu deneme radikal hidrojen donörünün DMPD'den single elektronu giderebilmesini gösterir [150].

209 mg DMPD radikali 10 mL bidistile suda çözüldü. Bu çözeltiden 1 mL alınarak 0.1 M pH:5.3 olan Na-asetat tamponunun 100 mL'sine ilave edildi. 0.05 M FeCl₃ çözeltisinden 0.2 mL ilave edilmesiyle renkli DMPD radikali katyonu elde edildi. Bu karışım stabilitesini ancak 12 saate kadar koruduğundan günlük olarak hazırlandı. Karışımın ilk hazırlandığı andaki absorbanansı 0.9 ± 0.1 olmalıdır. Karışımın 1 mL'si 0.5 mL standart (10-20-30-40 µg/mL) ve ekstre (10-20-30-40 µg/mL) çözeltilerine ilave edildi. 10 dakika sonra 505 nm'deki absorbanansları tampon çözeltiliye karşı okundu. Standart olarak Troloks kullanıldı ve sonuçlar DMPD radikali giderme aktivitesi (%) olarak ifade edildi. Sonuçlar aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı:

$$\text{DMPD radikali giderme aktivitesi (\%)} = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100$$

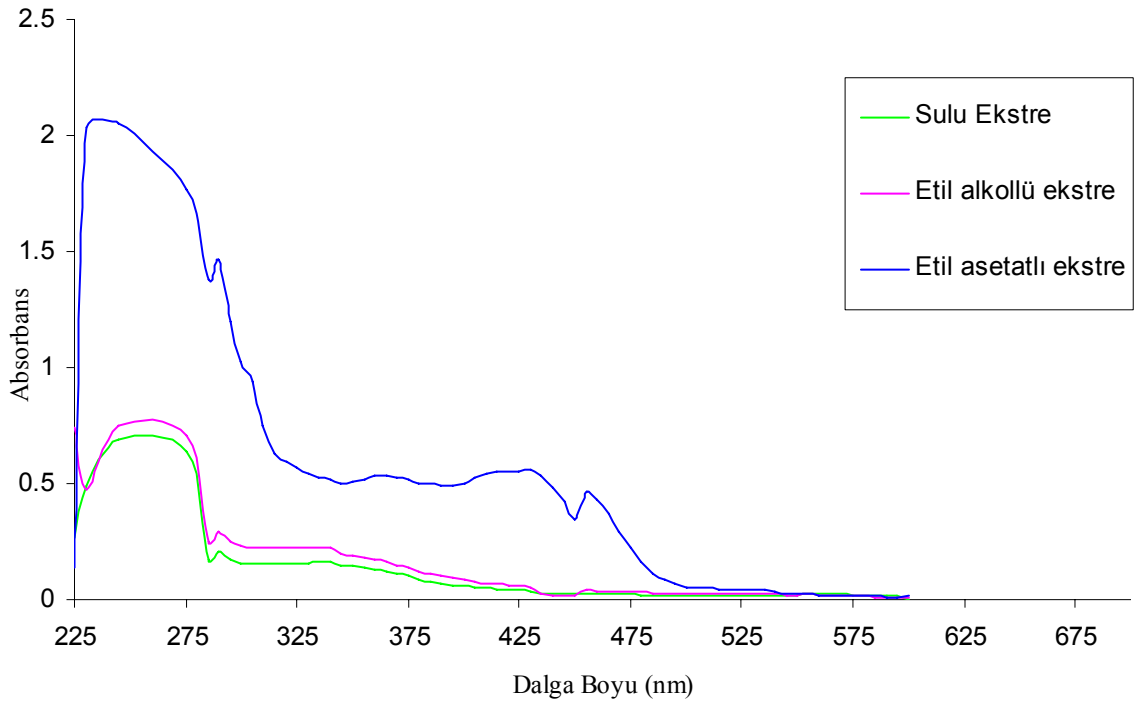
A₀ : DMPD başlangıç absorbanansı

A₁ : Numunenin absorbanansı

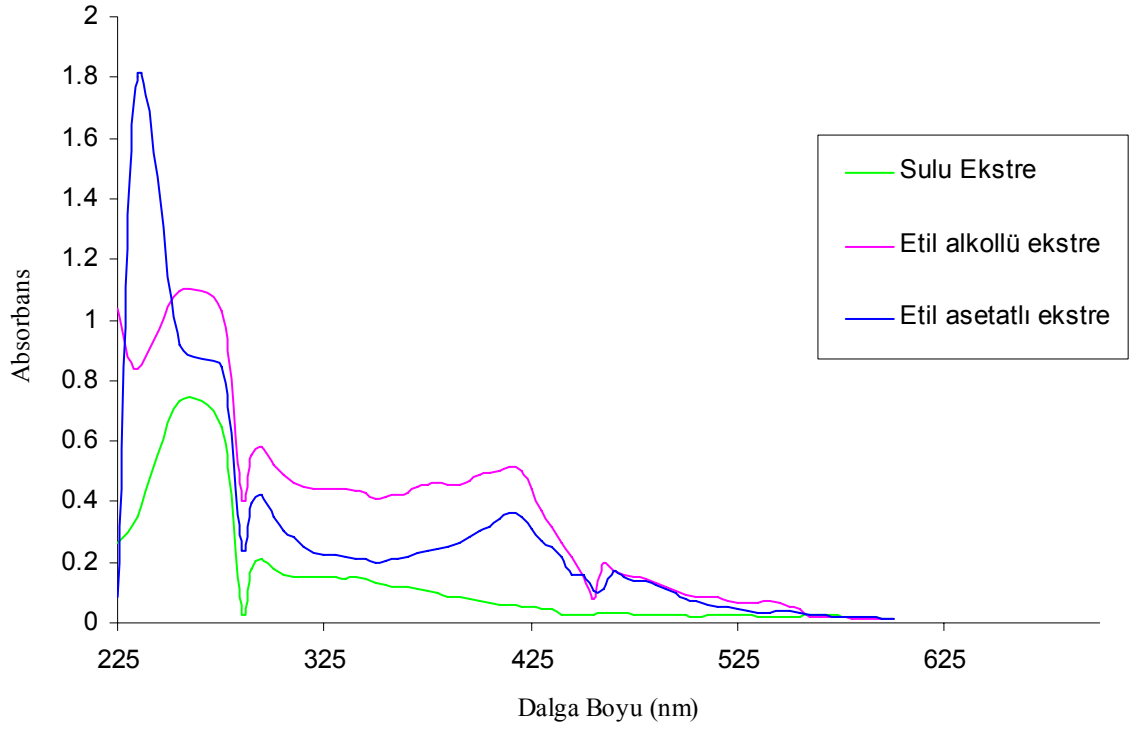
4. BULGULAR

Çalışmamızda fenolik bileşikler kalitatif olarak tayin etmek için UV-görünür absorpsiyon spektrofotometresi kullanıldı. Fenolik bileşikler UV-görünür absorpsiyon spektrofotometresinde 2 maksimum absorpsiyon bandı gösterirler. Birinci band 320-380 nm arasında, ikinci band ise 250-285 nm arasındadır. Bütün antosiyaninler ve flavon, flavanol türevleri 250-285 nm arasında spektrum verir [151-153]. Bitkinin Nisan, Mayıs, Haziran, ve Aralık aylarına ait sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarında birbirine benzer spektrumlar elde edildi.

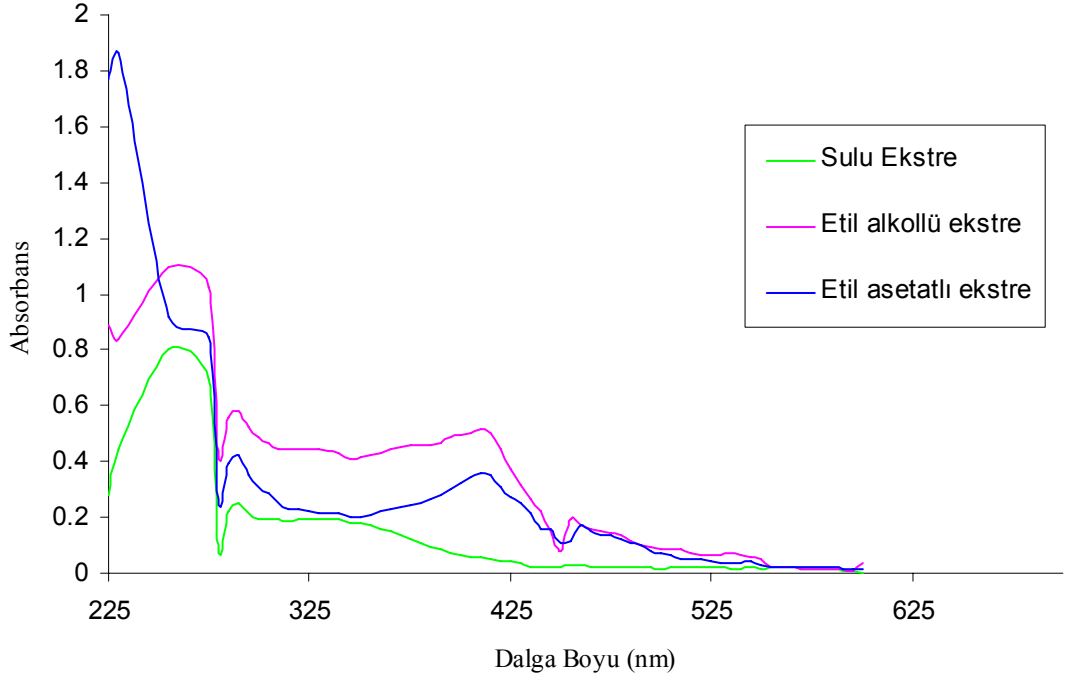
Elde edilen spektrumlarda 250-275 nm arasında yüksek absorpsiyonlar gözlemlendi. Maksimum absorpsiyon 200-210 nm'ler arasında görüldü. Bundan sonraki en yüksek absorpsiyonlar ise 250-275 nm'de elde edildi. Bu bulgu labadada fenolik bileşikler olduğunu göstermektedir.



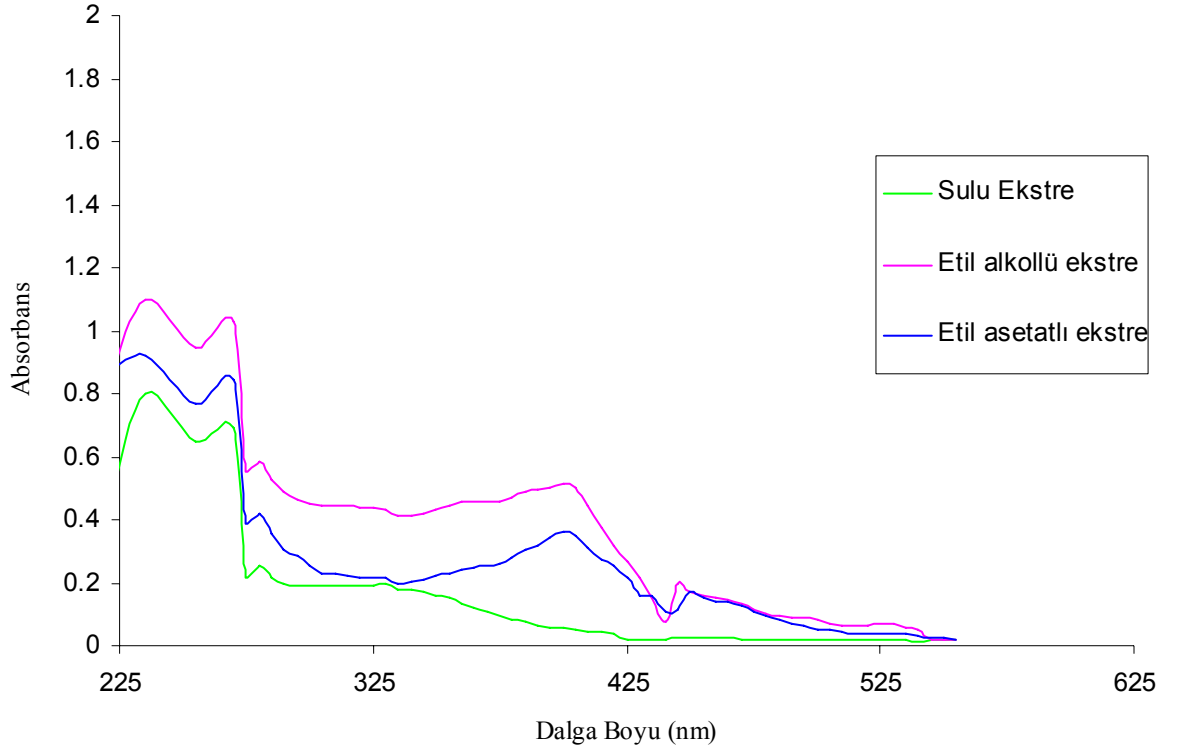
Şekil 4.1. Nisan ayına ait sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstraların UV-görünür spektrumları



Şekil 4.2. Mayıs ayına ait sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerin UV-görünür spektrumları



Şekil 4.3. Haziran ayına ait sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerin UV-görünür spektrumları



Şekil 4.4. Aralık ayına ait sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerin UV-görünür spektrumları

4.1. TOPLAM FENOLİK BİLEŞİK MİKTAR TAYİNİ

Toplam fenolik bileşik miktarı Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık ayındaki değişik polaritedeki çözücüler ile hazırlanan ekstrelerde tayin edildi. Toplam fenol içeriği pirokateşol ekivalenti olarak ifade edildi (Tablo 4.1-4.4).

Çalışmada en yüksek miktarda fenolik bileşik miktarı Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık aylarındaki etil asetatlı ekstrelerde tespit edildi. Ayrıca alınan ekstre miktarına bağlı olarak toplam fenolik bileşik miktarında da artış olduğu saptandı. Sulu ve etil alkollü ekstrelerin toplam fenolik madde içerikleri sırasıyla Haziran > Nisan = Mayıs olarak bulundu. Fenolik bileşik içeriğinin Aralık ayı ekstrelerinde ise hesaplanamayacak kadar düşük olduğu bulundu. Elde edilen verilerden, sulu ekstre nin toplam fenolik bileşik miktarının etil alkollü ekstrelerden daha yüksek olduğu saptandı. Etil asetatlı ekstrelerin toplam fenolik bileşik içeriği sırasıyla Mayıs = Haziran > Nisan > Aralık olarak bulundu (Tablo 4.1-4.4).

Tablo 4.1. Labadanın Nisan ayı sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarının fenolik bileşik miktarlarının pirokateşol ekivalenti olarak değeriendirilmesi ($\mu\text{g/mL}$)^{*}

Bitki ekstresi konsantrasyonu $\mu\text{g/mL}$	Sulu Ekstre ($\mu\text{g/mL}$)	Etil Alkollü Ekstre ($\mu\text{g/mL}$)	Etil Asetatlı Ekstre ($\mu\text{g/mL}$)
1000	7.69 \pm 2.7	11.22 \pm 5.44	11.86 \pm 3.73
2000	24.40 \pm 3.7	3.60 \pm 2.29	27.39 \pm 9.22
3000	35.65 \pm 4.6	24.36 \pm 5.77	57.93 \pm 14.97
4000	50.74 \pm 13.6	31.40 \pm 9.93	74.11 \pm 22.62

*Ortalama \pm sd

Tablo 4.2. Labadanın Mayıs ayı sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarının fenolik bileşik miktarlarının pirokateşol ekivalenti olarak değeriendirilmesi ($\mu\text{g/mL}$)^{*}

Bitki ekstresi konsantrasyonu $\mu\text{g/mL}$	Sulu Ekstre ($\mu\text{g/mL}$)	Etil Alkollü Ekstre ($\mu\text{g/mL}$)	Etil Asetatlı Ekstre ($\mu\text{g/mL}$)
1000	17.31 \pm 2.86	7.69 \pm 2.58	42.76 \pm 21.22
2000	26.94 \pm 3.08	22.10 \pm 6.74	92.14 \pm 19.29
3000	36.09 \pm 7.32	24.25 \pm 4.41	102.01 \pm 17.92
4000	46.04 \pm 4.42	32.22 \pm 5.34	128.83 \pm 19.85

*Ortalama \pm sd

Tablo 4.3. Labadanın Haziran ayı sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarının fenolik bileşik miktarlarının pirokateşol ekivalenti olarak değeriendirilmesi ($\mu\text{g/mL}$)^{*}

Bitki ekstresi konsantrasyonu $\mu\text{g/mL}$	Sulu Ekstre ($\mu\text{g/mL}$) [*]	Etil Alkollü Ekstre ($\mu\text{g/mL}$) [*]	Etil Asetatlı Ekstre ($\mu\text{g/mL}$) [*]
1000	26.95 \pm 7.48	9.63 \pm 3.89	32.50 \pm 10.20
2000	26.30 \pm 8.10	24.96 \pm 5.34	40.91 \pm 11.15
3000	52.09 \pm 5.95	37.03 \pm 8.74	102.74 \pm 32.98
4000	75.37 \pm 6.68	55.27 \pm 9.72	127.18 \pm 35.51

*Ortalama \pm sd

Tablo 4.4. Labadanın Aralık ayı sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarının fenolik bileşik miktarlarının pirokateşol ekivalenti olarak değerlendirilmesi ($\mu\text{g/mL}$)^{*}

Bitki ekstresi konsantrasyonu $\mu\text{g/mL}$	Sulu Ekstre ($\mu\text{g/mL}$)	Etil Alkollü Ekstre ($\mu\text{g/mL}$)	Etil Asetatlı Ekstre ($\mu\text{g/mL}$)
1000	nd	nd	nd
2000	nd	nd	0.56 ± 2.54
3000	0.99 ± 0.86	nd	10.65 ± 2.48
4000	7.75 ± 2.5	nd	20.79 ± 7.32

nd : Belirlenemedi

^{*}Ortalama \pm sd

4.2. TOTAL FLAVONOİD BİLEŞİK MİKTAR TAYİNİ

Labadanın sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarının total flavonoid miktarları Tablo 4.5, 4.6 ve 4.7’de verildi. Ekstrelerin flavonoid miktarları $\mu\text{g/mL}$ kateşin eşdeğeri olarak ifade edildi.

En yüksek total flavonoid bileşenin etil asetat ekstralarında olduğu tayin edildi. Sulu ekstralarının total flavonoid miktarları Tablo 4.5’de verildi. Sulu ekstralarının total flavonoid içeriği Haziran > Mayıs > Nisan > Aralık ayı şeklinde azalmaktadır. Ekstrelerin konsantrasyonuna bağlı olarak total flavonoid miktarı da artmaktadır.

Tablo 4.5. Labadanın sulu Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık ayı ekstralarının flavonoid miktarlarının kateşin ekivalenti olarak değerlendirilmesi ($\mu\text{g/mL}$)^{*}

Bitki ekstresi konsantrasyonu $\mu\text{g/mL}$	Nisan ($\mu\text{g/mL}$)	Mayıs ($\mu\text{g/mL}$)	Haziran ($\mu\text{g/mL}$)	Aralık ($\mu\text{g/mL}$)
1000	25.38 ± 10.20	44.81 ± 29.18	82.32 ± 21.40	1.10 ± 0.46
2000	78.60 ± 27.33	90.94 ± 34.99	119.04 ± 46.27	20.10 ± 2.27
3000	110.10 ± 21.59	145.29 ± 28.79	211.16 ± 27.91	35.46 ± 3.13
4000	126.14 ± 72.50	183.32 ± 18.45	290.69 ± 30.64	54.59 ± 2.62

^{*}Ortalama \pm sd

Tablo 4.6. Labadanın etil alkollü Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık ayı ekstralarının flavonoid miktarlarının kateşin ekivalenti olarak değerlendirilmesi ($\mu\text{g/mL}$)^{*}

Bitki ekstresi konsantrasyonu $\mu\text{g/mL}$	Nisan ($\mu\text{g/mL}$)	Mayıs ($\mu\text{g/mL}$)	Haziran ($\mu\text{g/mL}$)	Aralık ($\mu\text{g/mL}$)
1000	25.29 \pm 27.18	32.94 \pm 31.36	45.52 \pm 15.75	nd
2000	55.28 \pm 23.91	93.66 \pm 47.43	127.25 \pm 16.61	9.67 \pm 1.97
3000	112.52 \pm 19.82	128.96 \pm 24.48	214.15 \pm 56.57	21.79 \pm 4.41
4000	156.29 \pm 38.13	218.24 \pm 92.50	272.60 \pm 55.24	40.24 \pm 4.30

nd: Belirlenemedi

^{*}Ortalama \pm sd

Labadanın etil alkollü ekstralarında en yüksek flavonoid miktarı, sulu ekstralarda olduğu gibi Haziran ayı ekstresinde bulunmuştur. En düşük flavonoid miktarı ise Aralık ayı ekstralarında bulunmuştur.

Tablo 4.7. Labadanın etil asetatlı Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık ayı ekstralarının flavonoid miktarlarının kateşin ekivalenti olarak değerlendirilmesi ($\mu\text{g/mL}$)^{*}

Bitki ekstresi konsantrasyonu $\mu\text{g/mL}$	Nisan ($\mu\text{g/mL}$)	Mayıs ($\mu\text{g/mL}$)	Haziran ($\mu\text{g/mL}$)	Aralık ($\mu\text{g/mL}$)
200	52.96 \pm 27.17	44.26 \pm 27.10	38.57 \pm 38.09	23.53 \pm 5.75
300	74.02 \pm 30.10	65.60 \pm 28.74	65.27 \pm 23.33	27.15 \pm 5.40
400	94.26 \pm 31.11	99.19 \pm 52.27	77.69 \pm 39.61	41.85 \pm 5.48

^{*}Ortalama \pm sd

Etil asetatlı ekstralarda 1000-4000 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonlarda yüksek absorbans değeri bulundu. Bu nedenle 200-400 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonlar arasında çalışıldı. Bu ekstralarda ise en yüksek aktivite Nisan ayı ekstresinde görülürken, bunu sırasıyla Mayıs, Haziran ve Aralık ayı ekstraları takip etmiştir. Bu değerler etil asetatlı ekstralarda, 200-400 $\mu\text{g/mL}$ aralığında elde edilen değerlerdir.

4.3. ASKORBİK ASİD (C VİTAMİNİ) MİKTAR TAYİNİ

Çeşitli aylara ait ekstrelerde yapılan askorbik asid denemelerinde en yüksek askorbik asid içeriğinin sulu ekstrelerde olduğu görülmüştür. Etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerin askorbik asid içeriğinde ise önemli bir fark olmadığı görüldü (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. Labadanın sulu, etil alkollü, etil asetatlı Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık ayı ekstrelerinin askorbik asid miktarı ($\mu\text{g/g}$)^{*}

Aylar	Sulu Ekstre	Etil Alkollü Ekstre	Etil Asetatlı Ekstre
Nisan	134.85 \pm 7.30	115.86 \pm 7.95	113.27 \pm 4.78
Mayıs	125.82 \pm 9.07	114.53 \pm 5.58	113.27 \pm 4.82
Haziran	126.22 \pm 11.26	113.27 \pm 5.95	111.54 \pm 7.49
Aralık	133.99 \pm 4.28	114.46 \pm 4.43	111.68 \pm 5.39

^{*}Ortalama \pm sd

4.4. β -KAROTEN (PROVİTAMİN A) MİKTAR TAYİNİ

Bitki ekstrelerinde β -karoten miktar tayini Nagata ve Yamashita [138] metoduna göre yapıldı. Tablo 4.9'da görüldüğü gibi en yüksek β -karoten içeriği Haziran ayı etil asetat ekstresinde bulundu. Sulu ekstrelerdeki β -karoten değerleri çok düşük olduğundan ihmal edildi.

Tablo 4.9. Labadanın etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerinin β -karoten içeriği ($\text{mg}/100 \text{ mL}$)^{*}

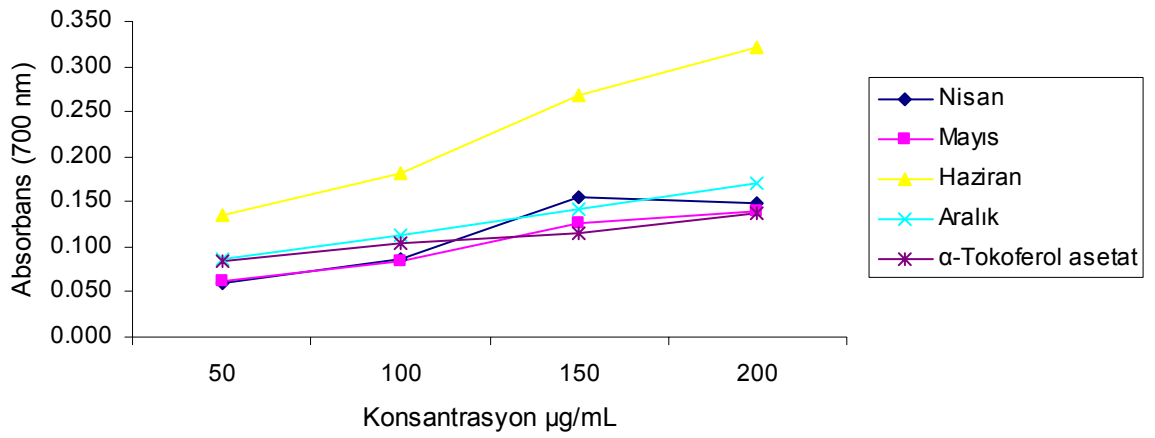
Aylar	Etil Alkollü Ekstre	Etil Asetatlı Ekstre
Nisan	0.69 \pm 0.04	0.62 \pm 0.06
Mayıs	0.66 \pm 0.05	0.67 \pm 0.05
Haziran	0.63 \pm 0.09	0.70 \pm 0.03
Aralık	0.34 \pm 0.31	0.58 \pm 0.06

^{*}Ortalama \pm sd

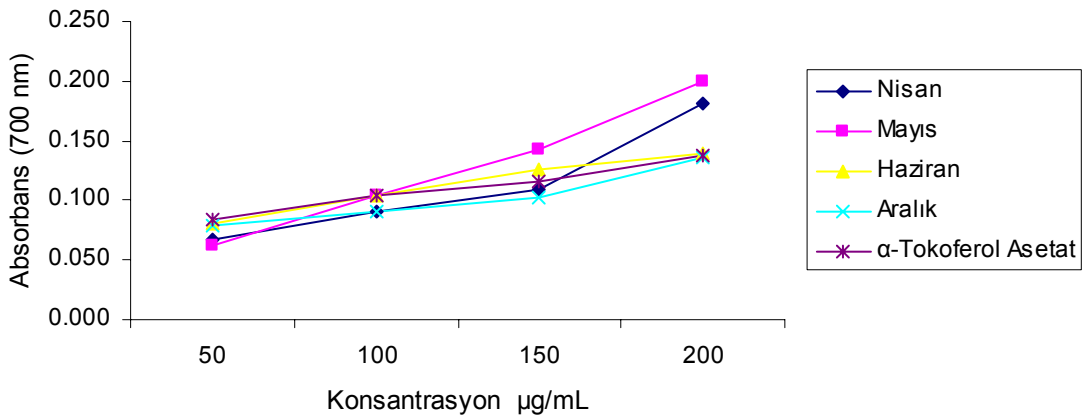
4.5. İNDİRGEME GÜCÜ

Maddelerin indirgeme gücü ile antioksidan aktivite arasında genellikle doğrusal bir bağlantı vardır. Bu nedenle indirgeme kapasitesinin belirlenmesi o maddenin antioksidan aktivitesi hakkında bize bilgi verebilir. Çalışmada kullanılan bütün ekstrelerin indirgeme kuvveti Oyaizu metoduna göre Fe^{+3} , ün Fe^{+2} , ye indirgenmesine

göre yapıldı [139]. Bir bileşik veya ekstrenin indirgenme kapasitesi o bileşik veya ekstrenin antioksidan aktivitesinin önemli bir indikatörü olarak bilinmektedir [154]. Çalışmada ekstrelerin indirgeme güçleri Şekil 4.5, 4.6 ve 4.7’de verilmiştir. Çalışmamızda labada ekstrelerinin indirgeme gücünün ekstre miktarına bağlı olarak arttı (Şekil 4.5, 4.6 ve 4.7). Sulu ekstrelerden en yüksek indirgeme gücüne Haziran ayı ekstresinin, en düşük indirgeme gücüne ise Mayıs ayı ekstresinin sahip olduğu Şekil 4.5’de görülmektedir. Standart olarak çalışılan α -tokoferol asetatın ise bitki ekstresinden daha düşük bir indirgeme gücüne sahip olduğu görülmektedir (Şekil 4.5).

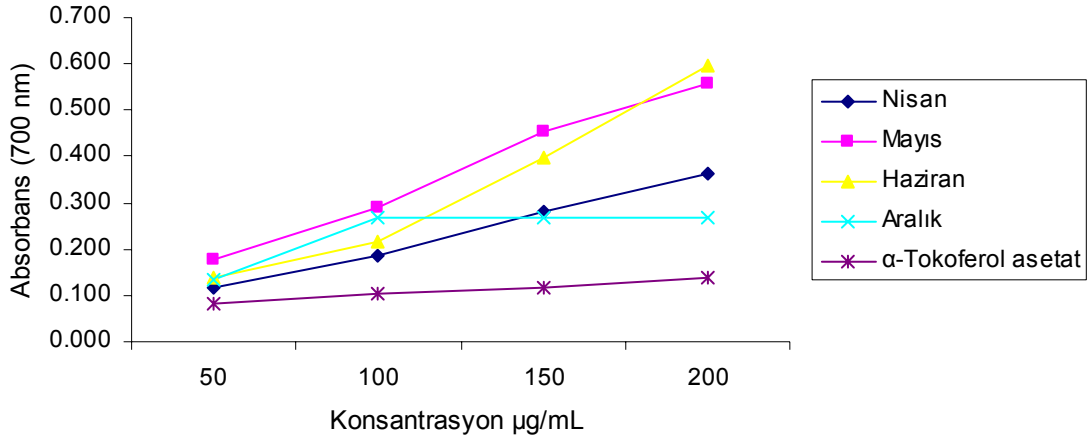


Şekil 4.5. Labadanın sulu ekstrelerinin ve α -tokoferol asetatın (E vitamini) indirgeme güçleri



Şekil 4.6. Labadanın etil alkollü ekstrelerinin ve α -tokoferol asetatın (E vitamini) indirgeme güçleri

Etil alkollü ekstrelerde yapılan indirgeyici güç denemesinde, en yüksek aktivite Mayıs ayı ekstresinde görülürken, onu sırasıyla Nisan ve Haziran ayı ekstreleri ve Aralık ayı ekstresi takip etmiştir. Standart olarak kullanılan α -tokoferol asetatın, Nisan, Mayıs ayı ekstrelerinden daha düşük bir indirgeme gücüne sahip olduğu bulunmuştur (Şekil 4.6).



Şekil 4.7. Labadanın etil asetatlı ekstrelerinin ve α -tokoferol asetatın (E vitamini) indirgeme güçleri

Etil asetatlı ekstrelerde ise tüm ekstrelerin indirgeyici güç aktivitesinin standart olarak çalışılan α -tokoferol asetatından yüksek olduğu görülmüştür. İndirgeyici güç aktivitesi etil asetatlı ekstrelerde sırasıyla Haziran, Mayıs, Nisan ve Aralık ayı ekstreleri şeklinde azalmaktadır (Şekil 4.7).

Labadanın toplam fenolik bileşik içeriği ile indirgeyici gücü arasında yüksek bir korelasyon bulunmuştur. Sulu ekstrelerde Nisan, Mayıs, Haziran aylarında bu değerler ($r^2 = 0.830, 0.947, 0.977$) olarak bulunurken, etil alkollü ekstrelerde ise ($r^2 = 0.822, 0.949, 0.982$) olarak gözlemlendi. Etil asetatlı ekstrelerde ise yine Nisan, Mayıs ve Haziran aylarında yüksek korelasyon ($r^2 = 0.996, 0.938, 0.978$) bulundu.

Yapılan birçok araştırmada indirgeyici güç ile fenolik bileşik içeriği arasında yüksek korelasyon bulunmuştur [155]. Bitkilerde bulunan fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesinin bir göstergesi olduğu ileri sürülmüştür. Bu nedenle bizim çalışmamızda da indirgeyici güç ile fenolik bileşik arasında bir ilişki olması antioksidan aktivitenin bu bitkide yüksek değerde olduğunu bize göstermektedir. Bitkilerde antioksidan aktivitenin

bitkinin çeşitli gelişme zamanlarına göre değiştiği literatürde belirtilmektedir [156]. Çalışmamızda sulu ekstrelerden en yüksek indirgeyici güç deneyinde en yüksek aktivite Mayıs ayında, en düşük indirgeme gücü aktivitesi de Aralık ayı ekstresinde görülmektedir. Buna göre çalışmada bitkinin gelişme, büyüme döneminde Haziran ayında indirgeme gücü fazla olup, Mayıs ayında ise bitki tam gelişme döneminde olması nedeni ile indirgeme gücünün diğer aylara göre sulu ekstrede düşük olduğu düşünülebilir.

Sulu, etil alkollü, etil asetatlı ekstrelerdeki indirgeme gücünün standart olarak kullanılan α -tokoferol asetatından yüksek olduğu görülmektedir. Bu da labadanın iyi bir antioksidan kaynağı olarak kullanılabileceğini bize göstermektedir.

Çalışmamızda etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerde en yüksek indirgeme gücü Mayıs ayında en düşük indirgeme gücü ise Aralık ayında görüldü. Bu durum, sıcaklığın ve bitkinin gelişme döneminin, indirgeme gücü üzerinde önemli bir etki yaptığını bize göstermektedir.

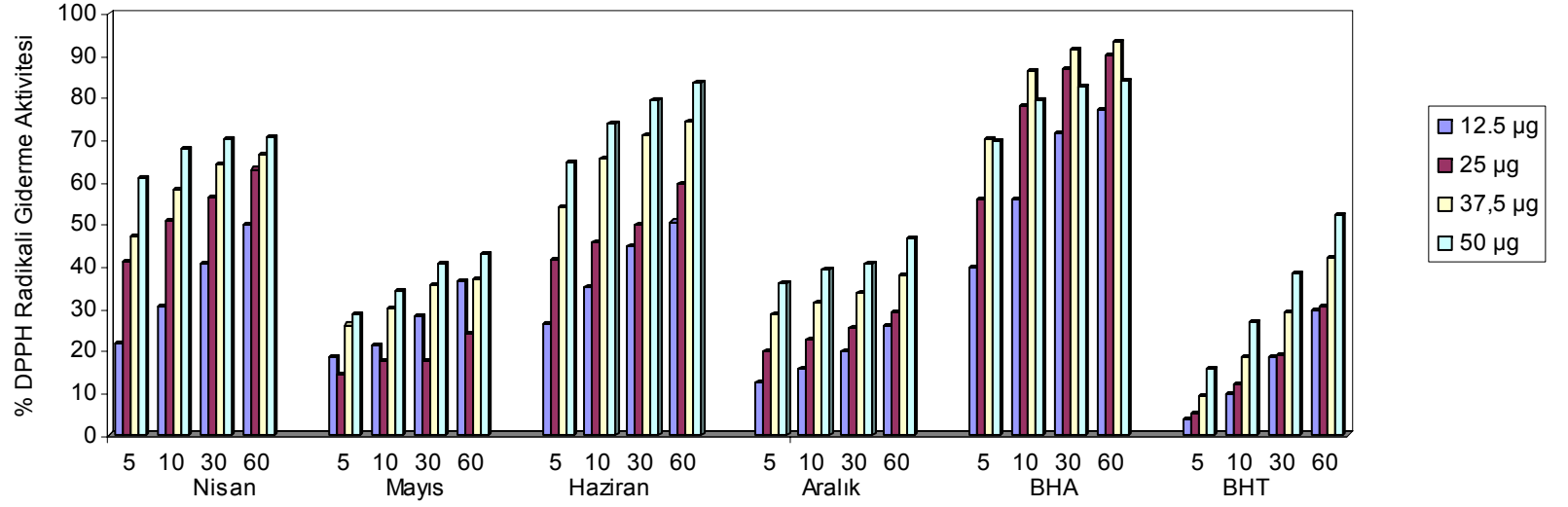
4.6. DPPH RADİKAL GİDERME AKTİVİTESİ

Genel olarak kimyasal maddelerin elektron verme yetenekleri lipid peroksidasyonuna karşı gösterdikleri antioksidan aktivitenin sonucudur. DPPH serbest radikal giderme aktivitesi hidrojen verme potansiyelinin araştırılması için en kısa ve en ucuz yöntemlerden biridir [157]. Vücuttan zararlı ve hastalık yapıcı serbest radikallerin uzaklaştırılması insan organizması için oldukça önemlidir. Bu amaçla azot merkezi stabil radikal olan DPPH radikali serbest radikallerin giderilmesi için kullanılmıştır [158]. Ekstrelerin, DPPH radikal giderme aktiviteleri Şekil 4.8, 4.9 ve 4.10'da verilmiştir.

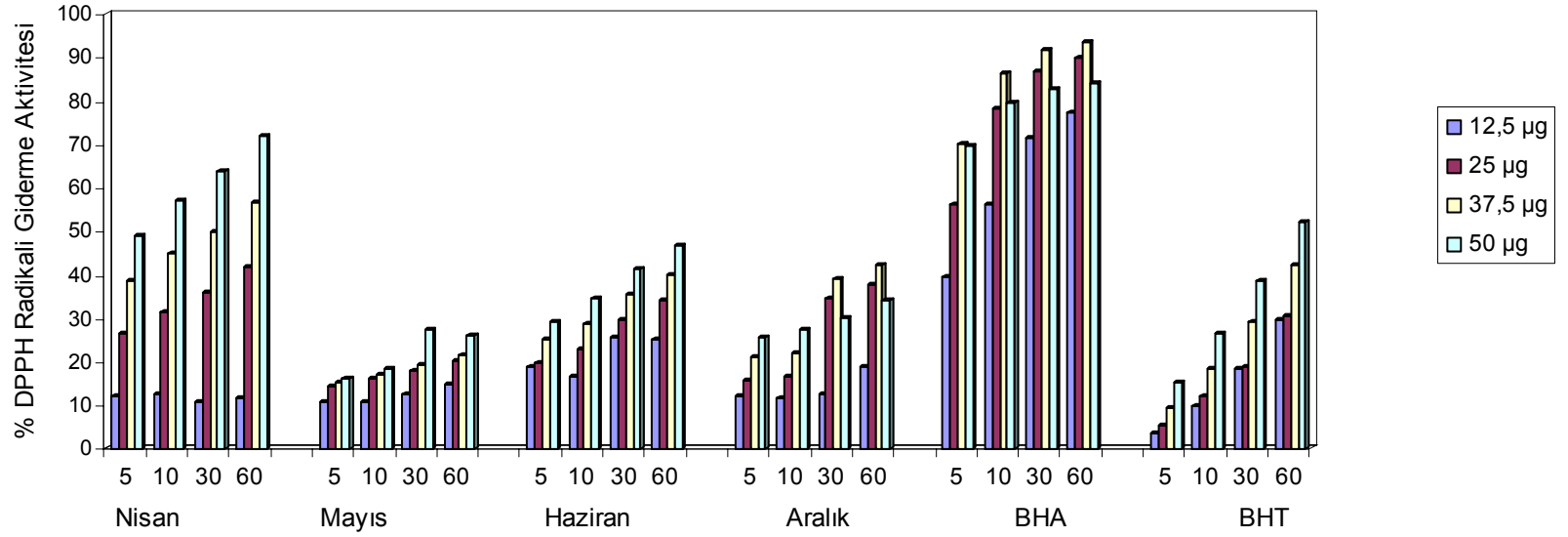
Çalışmada sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerin DPPH serbest radikal giderme aktiviteleri % inhibisyon olarak değerlendirildi ve sentetik antioksidan olan BHA ve BHT'nin serbest radikal giderme aktivite değerleri ile karşılaştırıldı (Şekil 4.8). Ekstrelerde, 12.5-25-37.5 ve 50 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonlarda çalışıldı. Test edilen madde konsantrasyonu ile antioksidan aktivitesinin birbiriyle doğru orantılı bir şekilde

arttığı görüldü. 5, 10, 30 ve 60. dakikalarda hesaplanan % inhibisyon değerleri 60. dakikada en yüksekti. En yüksek DPPH radikali giderme aktivitesinin sulu ekstrelerde olduğu bulundu. Sulu ekstrelerin 60. dakikadaki radikal giderme aktivitesinin (% 83.40), standart olarak çalışılan BHA'ya çok yakın (% 83.75), BHT'den ise daha yüksek (% 52.05) olduğu bulundu.

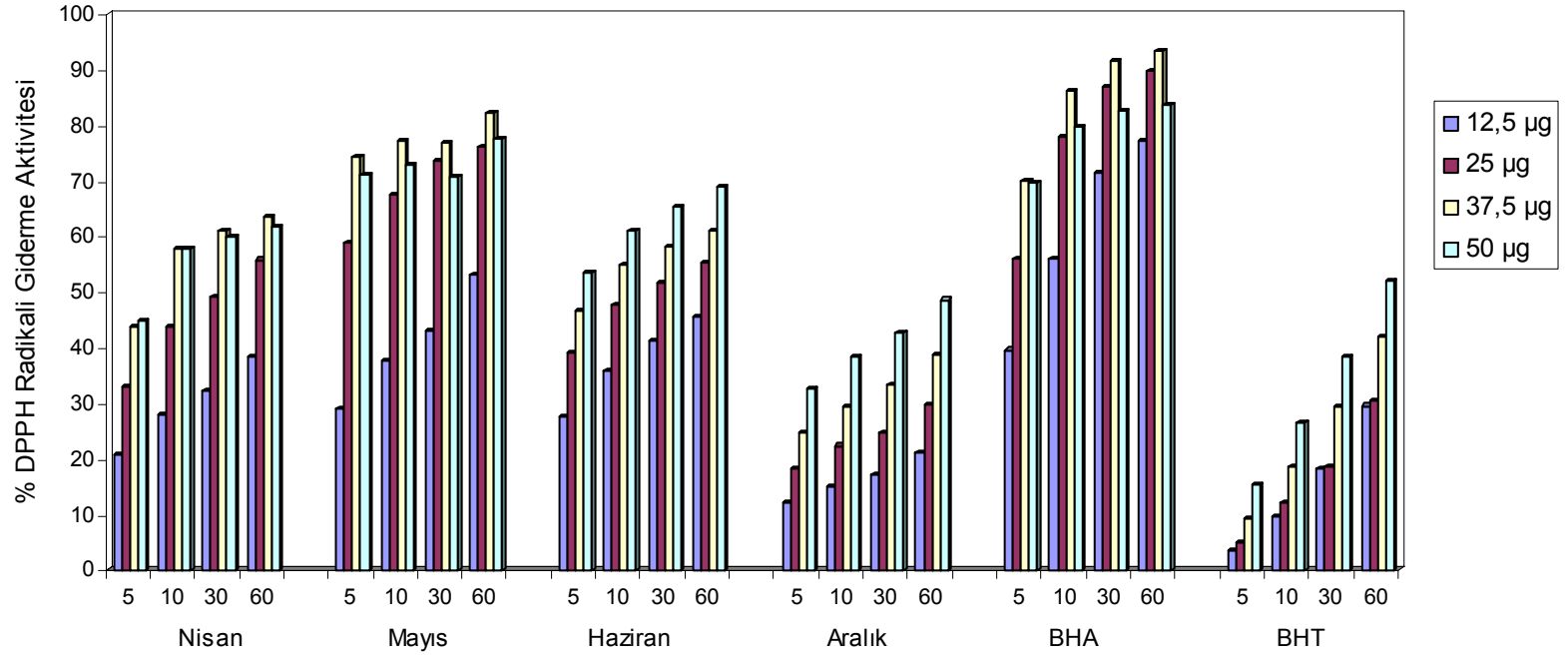
Sulu ekstrelerle ilgili çizilen grafiklerden de görüldüğü gibi en yüksek aktiviteyi Haziran ekstreleri göstermiştir. Bunu da sırasıyla Nisan, Mayıs ve Aralık ayı ekstreleri takip etmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Labadanın Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık aylarına ait sulu ekstralarının çeşitli konsantrasyonlarının 5, 10, 30 ve 60.dakikalardaki % DPPH radikali giderme aktiviteleri



Şekil 4.9. Labadanın Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık aylarına ait etil alkollü ekstralarının çeşitli konsantrasyonlarının 5, 10, 30 ve 60. dakikalardaki % DPPH radikali giderme aktiviteleri



Şekil 4.10. Labadanın Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık aylarına ait etil asetatlı ekstrelerinin çeşitli konsantrasyonlarının 5, 10, 30 ve 60. dakikalardaki % DPPH radikali giderme aktiviteleri

Etil alkollü ekstrelerle yapılan denemelerde en yüksek aktiviteyi Nisan ayı ekstreleri gösterirken onu sırasıyla Haziran, Mayıs ve Aralık ayı ekstreleri takip etmiştir (Şekil 4.9). Etil asetatlı ekstrelerle yapılan denemelerin sonucunda en yüksek aktivite Mayıs ayı ekstrelerinde görülürken en düşük aktivite Aralık ayı ekstrelerinde görülmüştür (Şekil 4.10).

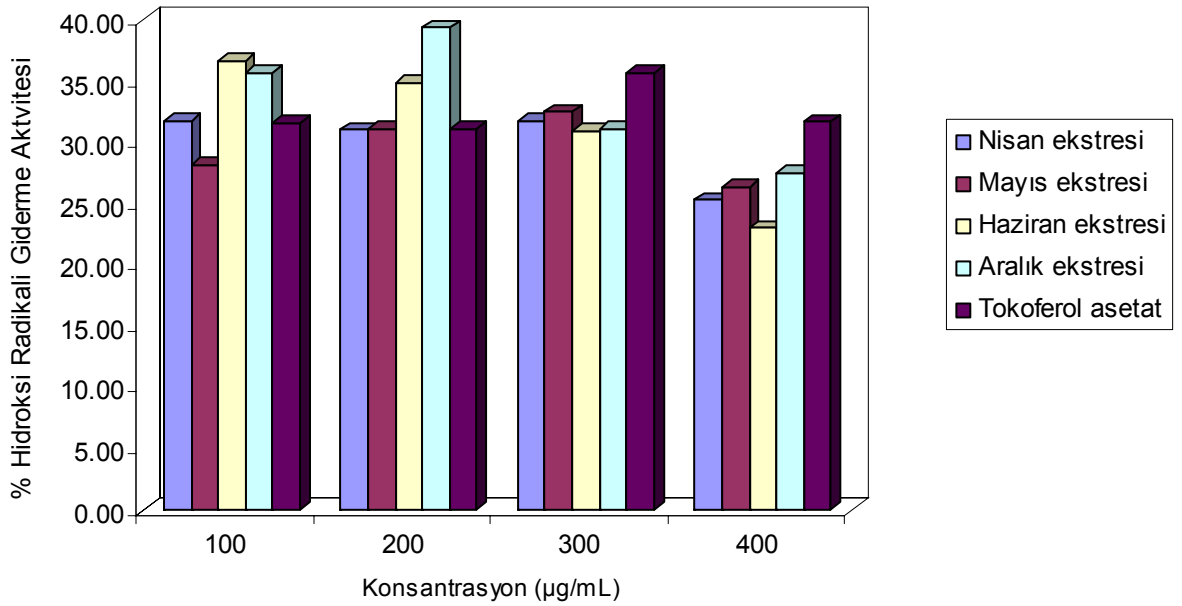
Sulu ekstrelerin toplam fenolik bileşik içeriği ile DPPH radikal giderme aktiviteleri arasında yüksek korelasyon gözlenmiştir. Nisan ayına ait sulu ekstrelerin korelasyon değerleri 5, 10, 30 ve 60. dakikalara göre sırasıyla ($r^2= 0.992, 0.985, 0.982$ ve 0.961) olarak bulundu. Mayıs ayı sulu ekstrelerinde bu değerler ($r^2= 0.817, 0.859, 0.712$ ve 0.527) olarak bulunurken, Haziran ayı ekstrelerinde ise ($r^2= 0.915, 0.943, 0.969$ ve 0.955) olarak bulunmuştur (Şekil 4.8).

Etil alkollü ekstrelerde de yine sulu ekstrelerde olduğu toplam fenolik bileşen içeriği ile DPPH radikal giderme aktivitesi arasında yüksek korelasyon bulunmuştur. Nisan ayı ekstrelerinde 5, 10, 30 ve 60. dakikalardaki değerler ($r^2= 0.803, 0.783, 0.750$ ve 0.732) olarak bulunurken, Mayıs ayı ekstrelerinde ($r^2= 0.978, 0.988, 0.951$ ve 0.992) olarak bulunmuştur. Haziran ayı ekstrelerinde ise yine aynı sıralama ile ($r^2= 0.972, 0.997, 0.995$ ve 0.995) değerleri elde edilmiştir (Şekil 4.9).

Etil asetatlı ekstrelerin toplam fenolik bileşen içeriği ile DPPH radikal giderme aktiviteleri arasında yüksek korelasyon değerleri gözlenmiştir. Bu değerler 5, 10, 30 ve 60. dakikalarda Nisan ayında sırasıyla ($r^2= 0.955, 0.943, 0.922$ ve 0.862) olarak bulunurken, Mayıs ayında ($r^2= 0.946, 0.931, 0.869$ ve 0.905) olarak bulunmuştur. Haziran ayında ise bu değerler yine aynı sıralamayla ($r^2= 0.937, 0.925, 0.932$ ve 0.935) olarak bulunmuştur (Şekil 4.10).

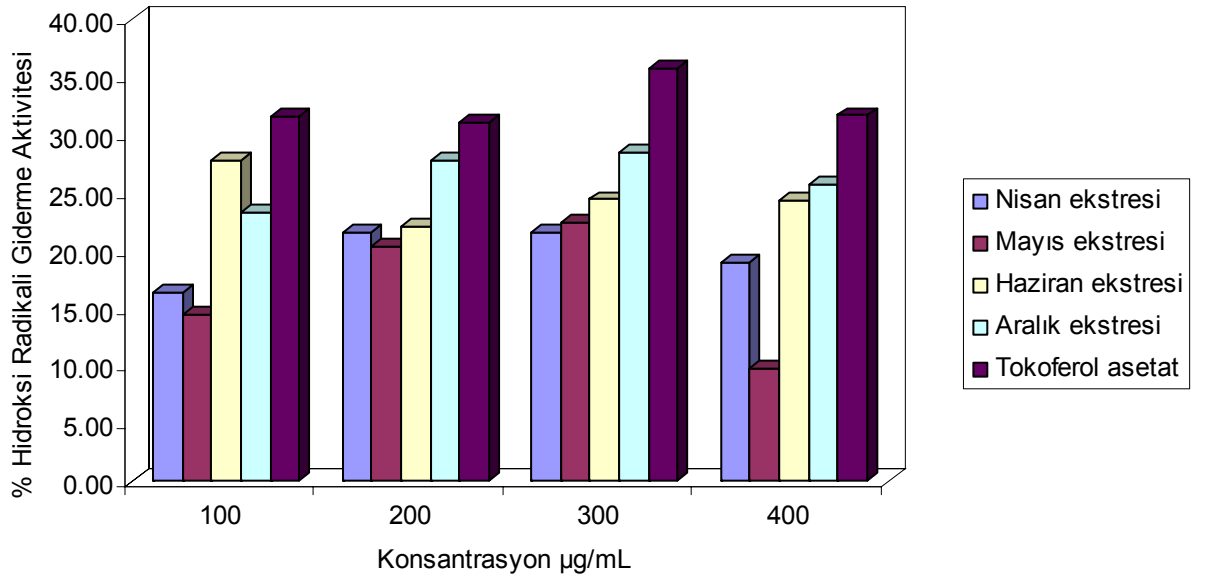
4.7. HİDROKSİ RADİKALİ GİDERME AKTİVİTESİ

Labadanın etil alkollü ekstrelerinin hidroksi radikali giderme aktivitesinin konsantrasyonla doğru orantılı olarak artmadığı görüldü (Şekil 4.11). En yüksek aktiviteyi gösteren ekstrenin Aralık ayı ekstresi olduğu bulundu. Onu da sırasıyla Haziran, Nisan ve Mayıs ayı ekstreleri takip etti. Nisan ve Mayıs aylarına ait etil alkollü ekstrelerin hidroksi radikali giderme aktiviteleri arasında önemli bir fark görülmedi. 100-200 µg/mL'lik konsantrasyonlarda Haziran ve Aralık ayı ekstrelerinin hidroksi radikali giderme aktivitelerinin daha yüksek olduğu bulundu. 300-400 µg/mL'lik konsantrasyonlarda ise α-tokoferol asetatın hidroksi radikali giderme aktivitesinin tüm etil alkollü ekstrelerden yüksek değerde olduğu görüldü.



Şekil 4.11. Labadanın etil alkollü ekstrelerinin konsantrasyonlarına göre % hidroksi radikali giderme aktiviteleri

Etil asetatlı ekstrelerde de aynen etil alkollü ekstrelerde olduğu gibi en yüksek aktivite Aralık ayı ekstresinde bulundu (Şekil 4.12). Bunu da Haziran ayı ekstresi takip ederken, Nisan ve Mayıs ayı ekstrelerinin aktivitelerinin birbirine çok yakın olduğu bulundu. Standart olarak çalışılan α - tokoferol asetatın hidroksi radikal giderme aktivitesinin tüm etil asetatlı ekstrelerden daha yüksek değerde olduğu bulundu.

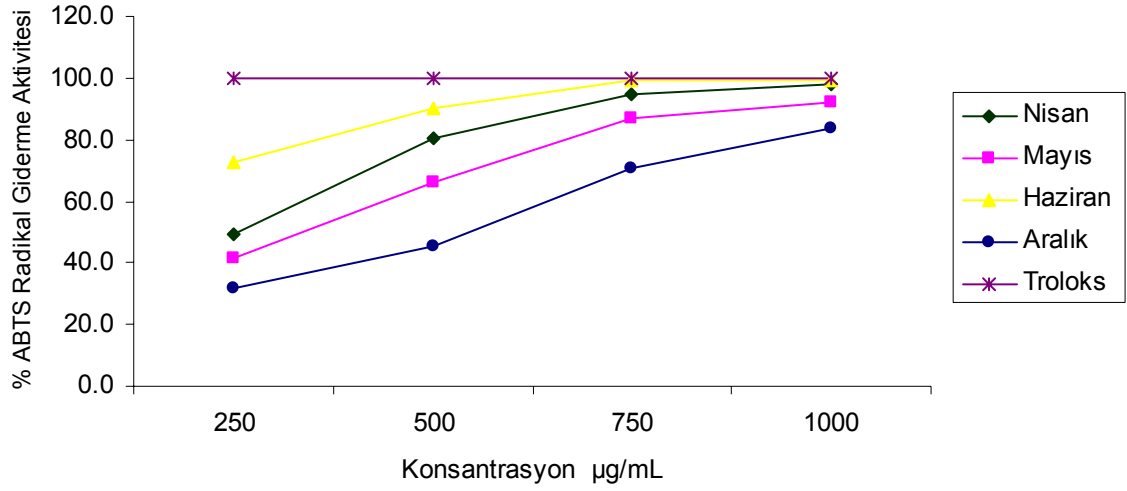


Şekil 4.12. Labadanın etil asetat ekstrelerinin konsantrasyonlarına göre % hidroksi radikal giderme aktiviteleri

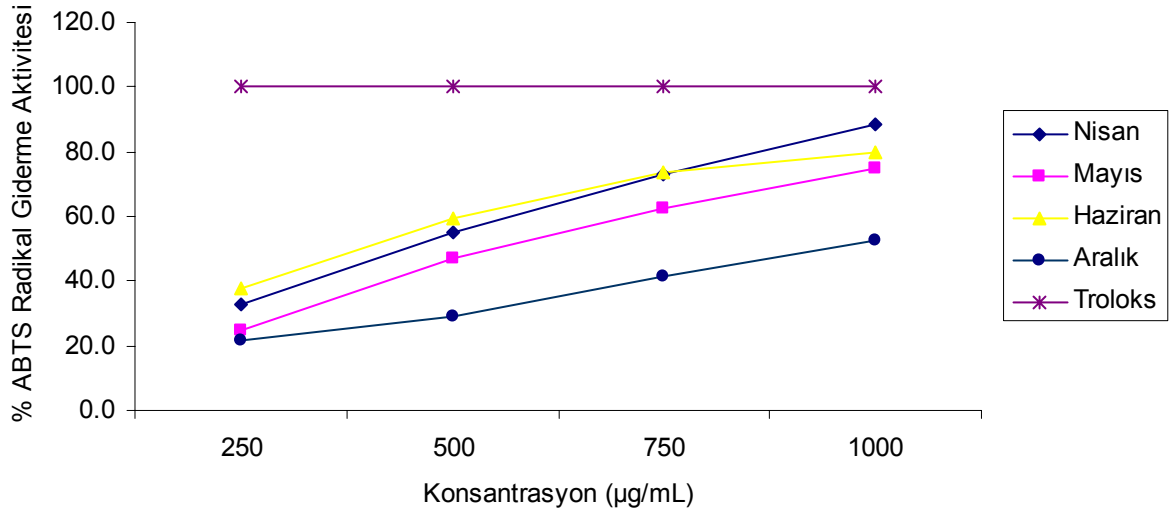
Sulu ekstrelerde ise hidroksi radikal giderme aktivitesi çalışılan konsantrasyonlarda tayin edilemedi. Ayrıca, labadanın hidroksi radikal giderme aktivitesi ile toplam fenolik bileşen içeriği arasında bir korelasyon bulunamadı.

4.8. ABTS RADİKAL GİDERME AKTİVİTESİ

Sulu ekstreler için ABTS radikal giderme aktivitesi yöntemine göre elde edilen değerler Şekil 4.13' de verilmektedir. Bu yöntemle aylık ekstrelerin aktivite sıralaması Haziran > Nisan > Mayıs > Aralık ayı şeklindedir. Konsantrasyon artışına bağlı olarak ABTS radikal giderme aktivitesinde de artış görülmektedir (Şekil 4.13).

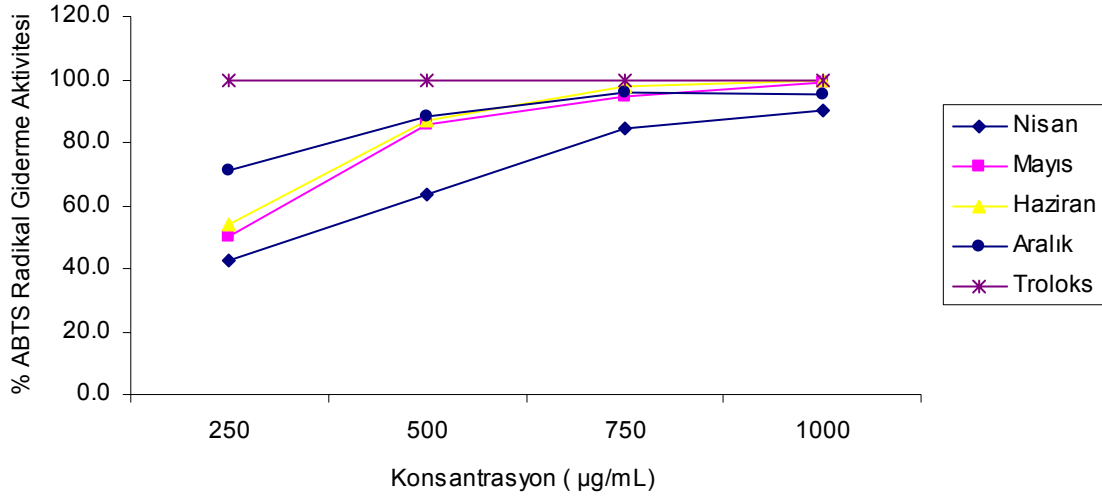


Şekil 4.13. Labadannın Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık aylarına ait sulu ekstralarının konsantrasyonlara göre ABTS radikal giderme aktiviteleri



Şekil 4.14. Labadannın Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık aylarına ait etil alkollü ekstralarının konsantrasyonlara göre ABTS radikal giderme aktiviteleri

Etil alkollü ekstralarda en yüksek aktivite Haziran ayına ait ekstrede görülürken, Nisan ayına ait olan ekstre nin de ona çok yakın değerde olduğu bulunmuştur (Şekil 4.14). Daha sonra sırasıyla Mayıs ve Aralık ekstraları gelmektedir.



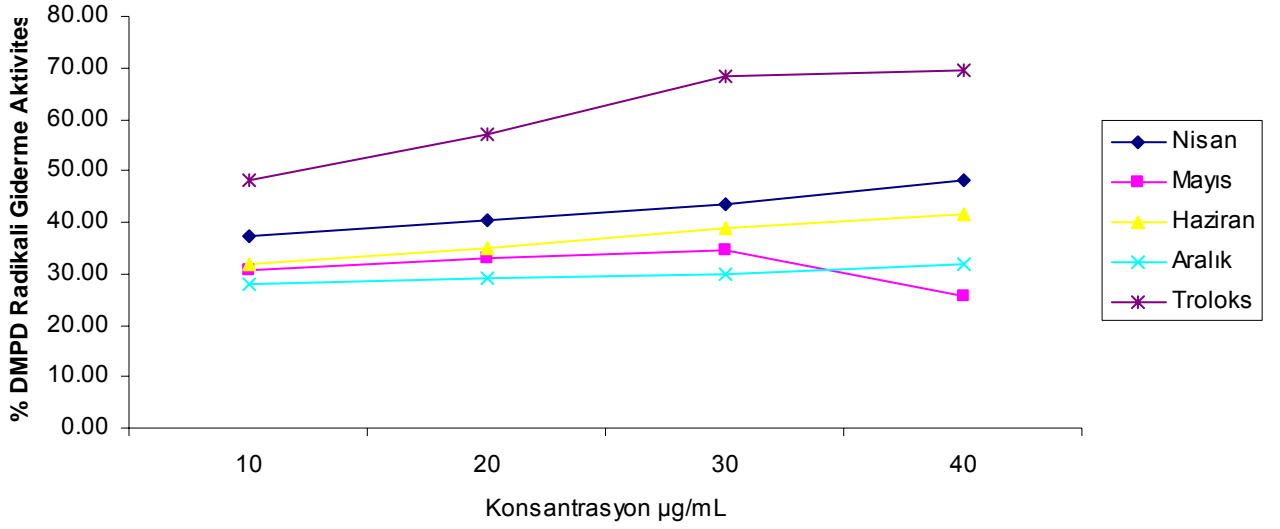
Şekil 4.15. Labadanın Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık aylarına ait etil asetatlı ekstralarının konsantrasyonlara göre ABTS radikal giderme aktiviteleri

Etil asetatlı ekstralarda, diğer ekstralardan farklı olarak en yüksek aktivite Aralık ayı ekstresinde gözlemlendi. En düşük aktivite ise Nisan ayı ekstresinde gözlemlendi. Haziran ekstresinin radikal giderme aktivitesi Aralık ayı ekstresine çok yakın değerde olduğu bulundu (Şekil 4.15).

Toplam fenolik bileşen içeriği ile ABTS radikal giderme aktivitesi arasında da yüksek korelasyon bulunmuştur. Sulu ekstralarla toplam fenolik bileşen içeriği arasındaki korelasyon Nisan, Mayıs, Haziran aylarında sırasıyla ($r^2 = 0.992, 0.857, 0.973$) olarak bulunmuştur. Etil alkollü ekstralarda ise bu değerler, ($r^2 = 0.816, 0.998, 0.999$) olarak sıralanmaktadır. Etil asetatlı ekstralarının korelasyon değerleri ise yine aynı sıralama ile ($r^2 = 0.969, 0.966$ ve 0.985) olarak bulunmuştur. Bu da ekstraların ABTS radikal giderme aktivitelerinin bitkinin içerdiği fenolik bileşenlerden kaynaklanabileceğini göstermektedir.

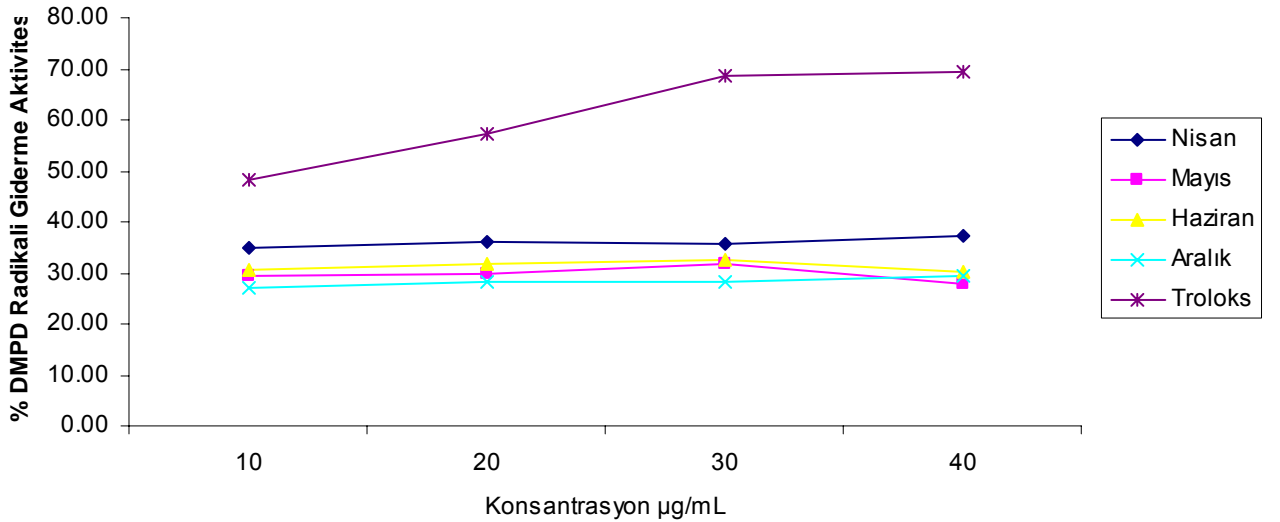
4.9. DMPD RADİKAL GİDERME AKTİVİTESİ

Labadanın sulu, etil alkollü ve etil asetatlı ekstralarının Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık aylarına ait DMPD radikali giderme aktivitesi Şekil 4.16, 4.17 ve 4.18’de görülmektedir.



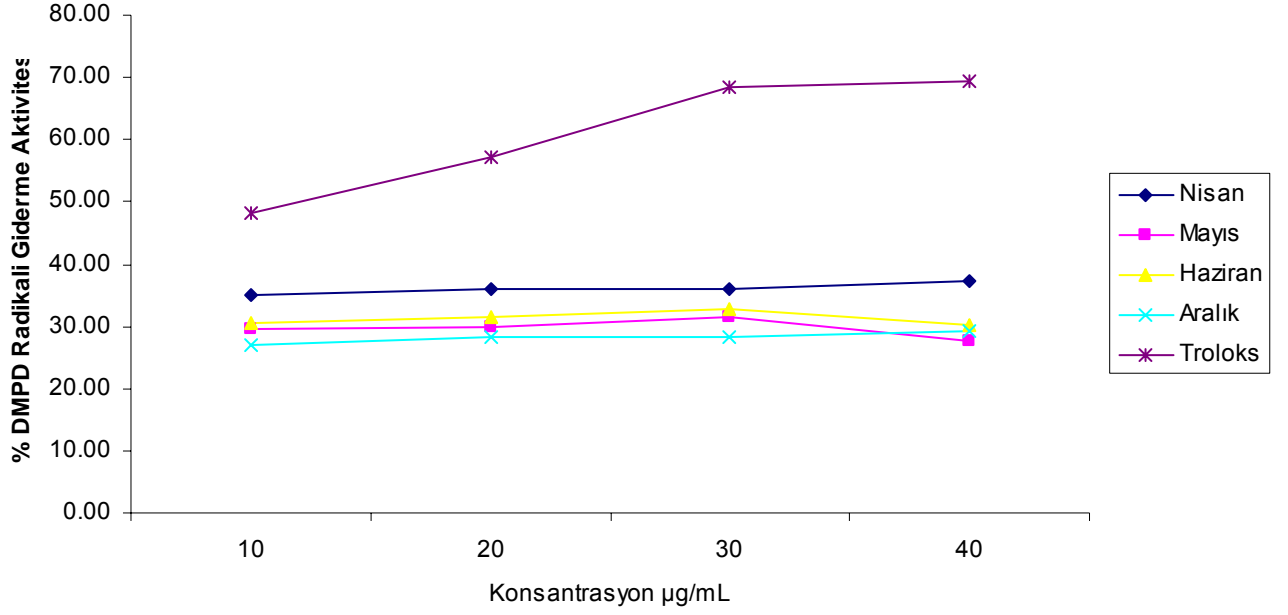
Şekil 4.16. Labadanın Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık aylarına ait sulu ekstralarının ve Troloksun konsantrasyonlarına göre DMPD radikali giderme aktiviteleri

Labadanın sulu ekstralarında en yüksek DMPD radikali giderme aktivitesi Nisan ayına ait ekstrada bulunurken, en düşük aktivite ise Aralık ve Mayıs ayına ait ekstralarda bulundu (Şekil 4.16).



Şekil 4.17. Labadanın Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık aylarına ait etil alkollü ekstralarının ve Troloksun konsantrasyonlarına göre DMPD radikali giderme aktiviteleri

Etil alkollü ekstrelerde de en yüksek DMPD radikali giderme aktivitesi Nisan ayında görülürken en düşük aktivitenin ise sulu ekstrelerle aynı şekilde Aralık ve Mayıs ekstrelerinde olduğu görüldü (Şekil 4.17).



Şekil 4.18. Labadanın Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık aylarına ait etil asetatlı ekstrelerinin ve Troloksun konsantrasyonlara göre DMPD radikali giderme aktiviteleri

Etil asetatlı ekstrelerde de % DMPD radikali giderme aktivitesi sıralaması değişmedi. En yüksek aktivite Nisan ayına ait ekstrede görülürken, bunu sırasıyla Haziran, Aralık ve Mayıs ayı ekstreleri takip etti. Standart olarak çalışılan Troloksun DMPD radikali giderme aktivitesinin çalışılan tüm ekstrelerden daha yüksek olduğu bulundu.

Toplam fenolik bileşen içeriği ile DMPD radikali giderme aktivitesi arasında bir korelasyon bulunamadı.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Beslenmenin çeşitli hastalıkların önlenmesindeki rolü olduğu bilinmekte olup, bu konu ile yapılan çalışmalarda besinsel faktörlerin çeşitli mekanizmalarla oksidatif stresi azaltıkları tespit edilmiştir [159]. Antioksidanlar lipid oksidasyonunu engellemekte veya geciktirmektedir. Böylece hem gıdaların kalitesi korunmakta hem de bu gıdaların raf ömrü uzamaktadır. Oksidasyonu önlemek veya ortadan kaldırmak amacıyla gıdalara antioksidanlar ilave edilmekte ve bu amaçla antioksidan olarak BHT, BHA, TBHQ gibi sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır [160].

Meyve ve sebzeler, hem yüksek antioksidan aktiviteye sahip olmaları hem de iyi bir antioksidan karışımı ve kombinasyonunu temsil etmeleri açısından çok önemli doğal antioksidan kaynakları arasında sayılmaktadır. Meyve ve sebzeler E vitamini, C vitamini, karotenoid gibi bileşiklere ilaveten güçlü antioksidan aktiviteye sahip flavon, kateşin, antosiyanin, izoflavon gibi fenolik bileşikler de içermektedir [84]. Bazı çalışmalarda kalp hastalıklarına bağlı ölüm oranının azalmasının C vitamini alımı ile ilişkili olduğu belirlenmiştir [161]. Bu ve buna benzer yapılan çalışmalarda kalp hastalıkları ile antioksidanların tüketimi arasında bir ilişki olduğu belirlenmiş ve antioksidan alımının kardiovasküler hastalıkların azalmasına neden olabileceği ileri sürülmüştür [162]. Beslenme ile alınan antioksidanların rolü sadece kalp hastalıkları ile sınırlı değildir. Antioksidan kanser arasındaki ilişkiyi incelemek için yapılan çalışmalar, antioksidanlarca zengin sebze ve meyvelerin alımının azalmasının karaciğer, akciğer, pankreas ve daha birçok organda kanserin gelişmesinde major bir risk olduğunu göstermiştir [163].

Bitkilerin çeşitli biokimyasal ve farmakolojik etkilerinin antioksidanlarla ilgili olduğu son yıllarda öne sürülmekte ve bu ilişki tartışılmaktadır. Polifenolik bileşikler doğal antioksidanların en önemli gruplarını oluşturmaktadırlar. Fenolik bileşikler içerisinde en fazla bulunanlar flavonoid ve fenolik asidlerdir [81,164].

Fenolik bileşikler ve flavonoidler yaygın olarak bitkilerde bulunan ve biyolojik membrandaki lipid peroksidasyonunu inhibe eden doğal antioksidan yapılarıdır. Fenolik bileşikler ve flavonoidlerin antioksidan aktivitesi serbest radikalleri giderme, metal

iyonlarla bileşik oluşturma ve singlet oksijen oluşumunu engelleme veya azaltma gibi özelliklerinden kaynaklandığı öne sürülmüştür [165]. Antioksidanlar hidrojen atomu vericisi olarak etki gösterirler ve zincir oluşturan radikalleri daha az reaktif türlere dönüştürürler. Bu şekilde oluşan antioksidan radikali, oksijen atomu ile aromatik halka üzerindeki çiftleşmemiş elektronun yer değiştirmesi ile stabilize olur. Bu nedenle antioksidan moleküler yapılarında genellikle fenolik fonksiyon taşırlar. Çalışmamızda labada bitkisinde en yüksek toplam fenolik bileşen içeriği Mayıs ayı etil asetat ekstralarında $128.83 \pm 19.85 \mu\text{g/mL}$ pirokateşin ekivalenti olarak bulundu. Total flavonoid bileşen içeriği ise Haziran ayı sulu ekstralarında $290.69 \pm 30.64 \mu\text{g/mL}$ kateşin ekivalenti olarak bulundu. *Rumex tuberosus* bitkisi ile yapılan çalışmada ise toplam fenolik bileşen içeriği 12.92 mg/g gallik asid ekivalenti olarak, total flavonoid içeriği ise 7.42 mg/g rutin ekivalenti olarak bulunmuştur [166]. Bunun yanı sıra labada bitkisinde toplam fenolik bileşen içeriği ve total flavonoid bileşenlerin tayin edilmesi bitkinin gösterdiği indirgeyici güç, DPPH radikali giderme, ABTS radikali giderme, hidroksi radikali giderme, DMPD radikali giderme gibi antioksidan aktivitelerinin bitkide bulunan fenolik ve flavonoid bileşiklerden kaynaklandığının bir göstergesidir.

Fenolik bileşikler gıdalarda buruk (prosiyanidinlerin 6-8 monomerli olanları) ve acı tadın kaynağı olup proteinlerle kompleks yaparak tortu oluşturlar ve berraklığı olumsuz etkilerler [167]. Çalışmamızda labada bitkisinde buruk bir tadı bulunmaktadır. Bu da labadanın fenolik bileşikler açısından zengin bir bileşik olduğunu bize göstermektedir.

Askorbik asid bitkilerin antioksidan aktivitesine katkıda bulunan bileşenlerdendir. C vitamini süperoksid, hidrojen peroksid, hipoklorit, hidroksil ve peroksil radikalleri ile singlet oksijen formundaki aktif oksijenlerin temizlenmesinde en etkili antioksidandır [168]. Askorbik asidin suda çözünen bir vitamin olması nedeni ile çalışmamızda labadanın askorbik asid içeriğinin sulu ekstralarda olduğu bulunmuştur. Çalışmamızda labadanın askorbik asid içeriğinde en yüksek değer sulu ekstralarda 0.134 mg/g olarak bulundu. *Rumex vesicarius* bitkisinde ise askorbik asid değeri ortalama olarak 253 mg/100g kuru ağırlık olarak bulunmuştur [169]. Literatürde başka bir bitkide ise askorbik asid içeriği bizim bulduğumuz değere yakın olarak 0.191 mg/g olarak bulunmuştur [170]. Askorbik

asid içeriğinin fazla olması antioksidan aktivitenin yeşil bir bitki olan labadada fazla miktarda olduğunu göstermektedir.

Karotenoidler meyve ve sebzelerde bulunarak onların sarıdan kırmızıya renk almasını sağlayan doğal pigmentlerdendir. İnsan sağlığındaki önemleri ise provitamin A, antioksidan, hücre farklılaşma ve çoğalmasını düzenleyici, hücrelerin birbiriyle bağlantısını uyarıcı, immun fonksiyon ve karsinojen metabolizma modülatörü, mavi ışık filtreleyici etkileri ile ilgilidir. Yapılan birçok araştırma karotenoid alımının, immun sistemin iyileşmesi, kanser, kalp-beyin damar hastalıkları ve katarakt gibi bazı hastalıkların oluşum riskinin azalması ile ilgili olduğunu göstermiştir [171,172].

β -karoten antioksidan özelliğini singlet oksijen aktivitesi (vücudun ışığa hassasiyet reaksiyonu) ve peroksil köklerine karşı göstermektedir [168]. Bu çalışmada, sulu ekstrelerde β -karoten miktarı çok düşük bulunmuştur. Bu bulgunun da β -karotenin suda çözünmemesi ilgili olduğu düşünülmüştür. Bitkinin Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık ayı ekstrelerinde yapılan β -karoten miktar tayininde etil asetatlı ekstrelerde daha yüksek sonuçlar bulunmuştur. Aralık ayı etil alkollü ve etil asetatlı ekstrelerinde ise diğer aylara nazaran daha düşük sonuçlar elde edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar bitkinin toplam fenolik bileşik ve total flavonoid bileşik miktarlarıyla uygunluk göstermektedir. Başka bir bitkide ise metanol ve etil asetat ekstrelerinde, β -karoten miktarı 0.37-1.24 mg/g kuru ağırlık olarak bulunmuştur [170].

Polygonaceae familyası üyelerinin flavonoid glikozidleri, antrakınonlar, tanninler gibi biyolojik aktivite gösteren sekonder metabolitler ürettikleri bilinmektedir [98]. *Rumex*'i de içeren Polygonaceae familyası eski geleneksel tıpta ve günümüzde tedavi edici amaçlarla kullanılmaktadır. *Rumex* köklerinin hafif laksatif etkisi vardır [173]. Kanama, akıntı ve ezik, yanık, şişme gibi bazı deri lezyonlarına karşı etkilidirler [99]. *Rumex nepalensis* Spreng kökleri halk arasında müshil ve bağırsak solucanlarını öldürücü etkileri için kullanılmaktadır [174]. Aynı zamanda bakteriyel enfeksiyonlara karşı da etkili olduğu bulunmuştur. *Rumex nepalensis*'in yaprakları sebze olarak pişirilmektedir. Yapraklarından hazırlanan infüzyon adet sancılarında ve mide ağrılarında kullanılmaktadır. Çeşitli patojenlere karşı etkili olduğu bildirilmiştir [175]. Köklerinin ise geleneksel tıpta

karaciğeri koruyucu, ateş düşürücü, analjezik, temizleyici ve bağırsak solucanlarını öldürücü etkisi olduğu iddia edilmektedir. Ghosh ve arkadaşları tarafından *R. nepalensis*'in geleneksel tıbbi destekler şekilde temizleyici etkisi olduğu ortaya konmuştur [130]. Ayrıca antibakteriyel etkisi olduğu da bulunmuştur [176]. *R. nepalensis* Spreng. köklerinden, bir antrakinon olan aloe-emodin izole edilmiştir. Bu bileşiğin anti-bakteriyel etkisi olduğu bildirilmiştir [177]. Dolayısıyla *R. nepalensis*'in antibakteriyel etkisi aloe-emodinden kaynaklanıyor olabilir. Kalitatif testlerle köklerinde steroidler, indirgen şekerler, tanninler, saponin ve zamklarında varlığı belirlenmiştir [176].

Rumex patientia kök ekstrelerinin polifenollerce zengin olduğu ve indirgeyici gücünün yüksek olduğunun bulunması potansiyel olarak antioksidan aktivitesinin olduğunu göstermektedir [124]. *Rumex patientia*'dan emodin-6-O-beta-D-gluko piranozid, 6-kloro kateşin ve kateşin gibi bazı polifenolik bileşikler izole edilmiştir [178]. Elde edilen bu sonuçlara göre *Rumex patientia* yapraklarının polifenollerce zengin olduğu görülmektedir. Çalışmamızda *Rumex cristatus*'un diğer türlerde olduğu gibi antioksidan özellik göstermesi yapısında yüksek oranda polifenol bileşiklerinin olması nedeniyledir.

Flavonoidlerin, anti-enflamatuar, antioksidan, anti-allerjik, karaciğeri koruyucu, anti-trombotik, antiviral ve anti-karsinojenik aktivitelerinin olduğu bilinmektedir. Ayrıca flavonoidlerin anti-enflamatuar aktivitesi tedavi edici ajan olarak kullanılabileceğini gösterir [179].

İndirgeyici güç, bitkinin potansiyel antioksidan aktivitesinin önemli bir göstergesidir. *Rumex crispus*'un etil alkollü ekstrelerinde indirgeyici güç, yüksek toplam fenolik bileşen içeriğiyle doğru orantılı olarak yüksek bulunmuştur. Ayrıca ekstre miktarı arttıkça indirgeyici güç aktivitesinde de artış gözlenmiştir [180]. Bu çalışmada da *Rumex cristatus*'un indirgeyici gücünün yüksek fenolik bileşen içeriğiyle uygunluk gösterdiği buna uygun olarak ekstreler arasında en yüksek fenolik bileşen içeriğine sahip olan etil asetat ekstrelerinin, en yüksek indirgeyici güce sahip olduğu bulundu. *Rumex japonicus*'ta da bu çalışmaya benzer olarak en yüksek total fenolik içeriği (200.4 mg/g gallik asid ekvivalenti) etil asetat ekstrelerinde bulunmuştur. Yine bizim çalışmamızla paralel olarak en yüksek fenolik bileşik içeriği tayin edilen etil asetat ekstrelerinin en yüksek indirgeyici

güce sahip olduğu bulunmuştur [181]. Bizim çalışmamızda *Rumex japonicus*'a benzer şekilde [181], ekstrelerin indirgeyici gücünün standart olarak çalışılan α - tokoferol asetatından daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada çalışılan aylık ekstreler arasında sulu ekstrelerde en yüksek absorbans değeri Haziran ayı ekstresinde bulunmuştur. Etil alkollü ekstrelerde en yüksek değer Mayıs ayı ekstresinde bulunurken, etil asetatlı ekstrelerde yine sulu ekstrelerde olduğu gibi Haziran ayı ekstresinde en yüksek değer bulunmuştur.

DPPH radikali antioksidanların serbest radikal giderme aktivitesini ölçmede yaygın bir şekilde kullanılan stabil serbest bir radikaldir [182]. Çalışmada tüm ekstrelerin DPPH serbest radikal giderme aktiviteleri konsantrasyonla doğru orantılı olarak arttı. *Rumex crispus*'un çalışılan ekstrelerinden, etil alkollü ekstrelerinin DPPH içeriği toplam fenolik bileşen içeriğiyle doğru orantılı olarak yüksek bulunmuştur [180]. Fakat bu çalışmada *Rumex cristatus*'un en yüksek DPPH radikali giderme aktivitesinin, en yüksek toplam fenolik bileşen içeriğine sahip etil asetat ekstrelerinden farklı olarak sulu ekstrelerde olduğu bulundu. *Rumex patientia*'nın etil alkol ekstreleri için % DPPH radikal giderme aktivitesi 5, 10, 25 ve 50 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarda sırasıyla % 72.4, 43, 12.5 ve 0.0 olarak bulunmuştur [124]. *Rumex crispus* yapraklarının % DPPH radikal giderme aktivitesi literatürde sulu ve etil alkollü ekstreleri için sırasıyla % 12 ve % 4 olarak bildirilmiştir [180].

Hidroksil radikali oksijen radikalleri arasında en reaktif olanıdır ve biyomoleküllerde önemli hasarlara yol açar. *Rumex patientia*'nın etil alkollü ekstresinin hidroksi radikali giderme aktivitesinin 50 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonundaki ekstrede % 58.4 olduğu bildirilmiştir [124]. Bu çalışmada ise çalışılan konsantrasyonlarda sulu ekstrelerde hidroksi radikali giderme aktivitesi gözlemlenemezken, etil alkollü ekstrelerde 400 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda en yüksek hidroksi radikali giderme aktivitesi Aralık ayına ait ekstrede gözlenmiştir. Etil asetatlı ekstrelerde de buna paralel olarak Aralık ayı ekstresinde en yüksek hidroksi radikali giderme aktivitesi % 27.5 olarak bulunmuştur.

ABTS radikal giderme aktivitesi ekstrelerin etkili antioksidan kapasitelerinin bir ölçümüdür. Bu metod uzun ömürlü bir radikal katyonu olan ABTS kromoforunun oluşumu

ve bunun bir antioksidan tarafından giderilmesine dayanır. Bu değerin yüksek olması antioksidan aktivitenin de yüksek olduğunu gösterir. Labadanın ABTS radikal giderme aktivitesinin çalışılan üç ekstrede en yüksek oranda Nisan, Mayıs, Haziran, Aralık ayı etil asetat ekstralarında sırasıyla % 89.87, 99.27, 99.54 ve 95.27 olarak bulundu. Labadanın ABTS radikal giderme aktivitesinin sulu, etil alkollü ve etil asetat ekstralarının tümünde konsantrasyona bağlı olarak arttığı bulundu. *Rumex acetosa* bitkisinde ABTS radikal giderme aktivitesi Troloks ekivalenti cinsinden 0.88 mmol/g kuru ağırlık olarak bulunmuştur [183]. *Rumex hymenosepalus* bitkisinde bu değer yine Troloks ekivalenti cinsinden 672 µmol/g kuru ağırlık olarak bulunmuştur [184]. Başka bir literatürde ise *Polygonaceae* ailesinin bir üyesi olan *Polygonum aviculare* bitkisinde ABTS radikal giderme aktivitesi yine Troloks ekivalenti cinsinden 19.2 µM/100 g kuru ağırlık olarak bildirilmiştir [185].

DMPD radikal giderme aktivitesi deneyi ile antiradikal aktivite tayin edilmiştir. DMPD radikal giderme aktivitesinin prensibi uygun bir oksidan çözelti varlığında ve asidik pH'ta DMPD'nin stabil ve renkli bir radikal katyonu olan $DMPD^{+}$ yi oluşturabilmesi esasına dayanır. Bu reaksiyon hızlı ve stabildir. Antioksidan kapasitenin bir ölçüsü olarak kabul edilir. Bu nedenle bu deneme radikal hidrojen donörlerinin $DMPD^{+}$ den single elektron yakalama kapasitesini gösterir [149]. Pazı bitkisinin sulu ekstralarında DMPD radikal giderme aktivitesi 10 µg/mL konsantrasyonda % 34.05, 50 µg/mL konsantrasyonda ise 47.51 olarak bulunmuştur. Standart olarak çalışılan Troloks için ise 50 µg/mL konsantrasyonda bu değer % 96.53 olarak bulunmuştur [186]. Bu çalışmada, 10 µg/mL konsantrasyonda sulu ekstralarda en yüksek DMPD radikal giderme aktivitesi Nisan ayı ekstresinde % 37.19 olarak bulunurken, etil alkollü ekstralarda % 34.89 olarak bulunmuştur. Etil asetatlı ekstralarda de yine diğer ekstralarla paralel olarak bu konsantrasyon için en yüksek değer Nisan ayı ekstresinde % 33.84 olarak bulunmuştur. Standart olarak çalışılan Troloksun DMPD radikal giderme aktivitesi, 10 µg/mL konsantrasyonda çalışılan tüm ekstralardan daha yüksek olduğu % 48.24 bulunmuştur.

Rumex cristatus'la yapılan 5 farklı antioksidan denemesi sonuçlarına göre bu bitkinin iyi bir antioksidan kaynağı olabileceği sonucuna varılmıştır. Elde ettiğimiz bulgular halk arasında çeşitli tedavi edici amaçlarla ve sebze olarak yaygın kullanımı olan labadanın bu

kullanımını doğrular niteliktedir. Ayrıca Nisan, Mayıs, Haziran ve Aralık aylarında toplanan labadalardan yapılan denemeler sonucu, bitkinin antioksidan aktivitesinin bitkinin çeşitli olgunluk dönemlerine göre farklılık gösterdiği bulunmuştur. Genellikle, toplam fenolik bileşik içeriğinin de yüksek bulunduğu Haziran ayı ekstreleri en yüksek antioksidan aktiviteyi göstermiştir. Buradan bitkide bulunan çeşitli fenoliklerin antioksidan aktiviteye yol açabileceği sonucuna varılmıştır. En düşük aktivite ise bitkinin kış aylarındaki ekstresi olan Aralık ayı ekstresinde rastlanmıştır. Bu ekstrede fenolik bileşik ve flavonoid içeriği de düşük olduğundan antioksidan aktivitenin bitkinin bileşiminde bulunan fenolik ve flavonoidlerden kaynaklandığı görüşünü desteklemiştir. Daha sonraki çalışmalarla labadadan bu bileşikler çeşitli yöntemlerle ayrıştırılıp izole edilebilir.

KAYNAKLAR

1. ANTOLOVICH, M., PRENZLER, P. D., PATSALIDES, E., MCDONALD, S., ROBARDS, K., Methods for testing antioxidant activity, 2002, *Analyst*, 127, 183-192.
2. GORDON, M. H., 1996, Dietary antioxidants in disease prevention, *Natural Product Reports*, 13, 265-273.
3. OZAN, E., KOYUTÜRK, L., SAPMAZ, T., 2004, Böbrek iskemi-reperfüzyon hasarında antioksidan olarak prostaglandin E1 (PGE1) kullanımının incelenmesi, *Fırat Tıp Dergisi*, 9, 67-71.
4. STADTMAN, E. R., 2002, Importance of individuality in oxidative stress and aging, *Free Radical Biology and Medicine*, 33, 597-604.
5. SHERWIN, E. R., 1990, *Antioxidants*, Food antioxidants, New York, Marcel Dekker Inc.
6. BANDONIENE, D., VENSKUTONIS, P. R., GRUZDIENE, D., MURKOVIC, M., 2002, Antioxidative activity of sage (*Salvina officinalis* L.) savory (*Satureja hortensis* L.) and borage (*Borage officinalis* L.) extracts in rapeseed oil, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104, 286-292.
7. PRASAD, K. N., YANG, B., YANG, S., CHEN, Y., ZHAO, M., ASHRAF, M., JIANG, Y., 2009, Identification of phenolic compounds and appraisal of antioxidant and antityrosinase activities from litchi (*Litchi sinensis* Sonn.) seeds, *Food Chemistry*, 116, 1-7.
8. IKKEN, Y., MORALES, P., MARTINEZ, A., MARIN, M. L., HAZA, A. I., CAMBERO, M. I., 1999, Antimutagenic effect of fruit and vegetable ethanolic extracts against N-nitrosamines evaluated by the Ames test, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3257-3264.
9. NOGUCHI, Y., FUKUDA, K., MATSUSHIMA, A., HAISHI, D., HIROTO, M., KODERA, Y., NISHIMURA, H., INADA, Y., 1999, Inhibition of Df-protease associated with allergic diseases by polyphenol, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 2969-2972.
10. SAITO, H., ISHIHARA, K., 1997, Antioxidant activity and active sites of phospholipids as antioxidants, *Journal of American Oil Chemists' Society*, 74, 1531-1536.
11. BERGENDI, L., BENES, L., DURACKOVA, Z., FERENCIK, M., 1999, Chemistry, physiology and pathology of free radicals, *Life Sciences*, 65, 1865-1874.
12. HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J. M. C., 2001, *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3rd Ed., Oxford Science publications, 22-24.

13. KILINÇ, K., KILINÇ, A., 2002, Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri, *Hacettepe Tıp Dergisi*, 33, 110-118.
14. BLOKHINA, O., VIROLAINEN, E., FAGERSTEDT, K. V., 2003, Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress:a review, *Annals of Botany*, 91, 179-194
15. HEVES, M. D., 2008, *Akyıldız (Ornithogalum Sigmoidum Freyn Et Sint.)'in antioksidan aktivitesi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı.
16. AKKUŞ, I., 1995, *Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri*, Mimoza Yayınları, 5. Sağlık Dizisi.
17. www.mustafaaltinisik.org.uk [Ziyaret edilme tarihi: 20.06.2009]
18. DAWN, B. M., ALLAN, D. M., COLLEEN M. S., 1996, *Basic medical biochemistry a clinical approach*, Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore, Maryland
19. KILICOGLU-AYDIN B., *Aspirin ve E vitamini verilmiş ratlarda karaciğerde yapılan İskemi/Reperfüzyon sonrası kanda radikal süpürücü enzimlerin aktivitelerindeki değişikliklerin araştırılması*, Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Samsun.
20. ABDOLLAHI, M., RANJBAR, A., SHADNIA, S., NIKFAR, S., REZAIE, A., 2004, Pesticides and oxidative stress: A review, *Medical Science and Monitoring*, 10, 141-147.
21. ÇANDÖKEN, E., 2008, *Aloe vera L. Burm. Fil (Sarısabır) ekstresinin ve bu ekstreten saflaştırılan lektinin antioksidan aktivitesinin karşılaştırılması olarak incelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biokimya Anabilim Dalı.
22. HALLIWELL, B., MURCIA, M. A., CHIRICO, S., ARUOMA O. I., 1995, Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35, 7-20.
23. SIMON, H. U., HAJ-YEHIA, A., LEVI-SCHAFFER, F., 2000, Role of reactive oxygen species (ROS) in the apoptosis induction, *Apoptosis*, 5, 415-418.
24. HALLIWELL, B., 1997, Antioxidants and human disease: a general introduction, *Nutrition Reviews*, 55, 544-549.
25. STIEF, T. W., 2003, The physiology and pharmacology of singlet oxygen, *Medical Hypotheses*, 60, 567-572.
26. ASHOK, B., ALI, R., 1999, The aging paradox: Free radical theory of aging, *Experimental Gerontology*, 34, 293-303.
27. CASTRO, L., FREEMAN, B. A., 2001, Reactive oxygen species in human health and disease, *Nutrition*, 170, 161-165.

28. LEE, J. H., ÖZÇELİK B., MIN D. B., 2003, Electron donation mechanisms of β -carotene as a free radical scavenger, *Journal of Food Science*, 68, 861-865.
29. STIEF, T. W., 2000, The blood fibrinolysis/deep sea analogy: a hypothesis on the cell signals singlet oxygen/photons as natural antithrombotics, *Thrombosis Research*, 99, 1-20.
30. HALLIWELL, B., 2006, Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life, *Plant Physiology*, 141, 312-322.
31. GROTTI A. W., KORYTOWSKI W., 2000, Cholesterol as a singlet oxygen detector in biological systems, *Methods in Enzymology*, 319, New York, Academic Press, 85-100.
32. LEE, J., KOO, N., MIN, D. B., 2004, Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals, *Comprehensive Reviews in Food Science and Safety*, 3, 21-33.
33. SALEEM, M., OHSHIMA, H., Xanthine oxidase converts nitric oxide to nitroxyl that inactivates the enzyme, 2004, *Biochemical & Biophysical Research Communication*, 315, 455-462.
34. VALKO, M., DIETER, L., MONCOL, J., CRONIN, M. T. D., MAZUR M., TELSER J., 2007, Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39, 44-84.
35. KLATT, P. ve LAMAS, S., 2000, Regulation of protein function by S-glutathiolation in response to oxidative and nitrosative stress, *European Journal of Biochemistry*, 267, 4928-4944.
36. RIDNOUR, L. A., THOMAS, D. D., MANCARDI, D., ESPAY, M. G., MIRANDA, K. M., PAOLOCCI, N., 2004, The chemistry of nitrosative stress induced by nitric oxide and reactive nitrogen oxide species. Putting perspective on stressful biological situations, *The Journal of Biological Chemistry*, 385, 1-10.
37. FANG, Y. Z., YANG, S., WU, G., 2002, Free radicals, antioxidants, and nutrition, *Nutrition*, 18, 872-879.
38. HALLIWELL, B., 1996, Uric acid: An example of antioxidant evaluation, *Handbook of Antioxidants*, New York, Marcel Dekker, 243-256.
39. YEN, G. C., DUH, P. D., SU, H. J., YEH, C. T., WU, C. H., 2006, Scavenging effect of lotus seed extracts on reactive nitrogen species, *Food Chemistry*, 94, 596-602
40. NOGUCHI, N., NIKI, E., 1999, Chemistry of active oxygen species and antioxidants, *Antioxidant status, diet, nutrition and health*, Boca Raton, CRC Press, 3-20.
41. PAPAS, A. M., 1999, Determinants of antioxidant status in humans, *Antioxidant status, diet, nutrition and health*, Boca Raton, CRC Press, 21-36.

42. LAMBETH, J. D., 2004. Nox enzymes and the biology of reactive oxygen, *Nature Reviews Immunology*, 4, 181–189.
43. MOLDOVAN, L., MOLDOVAN, N.I., 2004, Oxygen free radicals and redox biology of organelles, *Histochemistry and Cell Biology*, 122, 395-412.
44. VALKO, M., RHODES, C. J., MONCOL, J., IZAKOVIC, M., MAZUR, M., 2006, Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer, *Chemico-Biological Interactions*, 160, 1-40.
45. HALLIWELL, B, GUTTERIDGE, J. M. C., 1999, *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3rd Ed., Oxford University Press.
46. ARUOMA, O. I., 1998, Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75, 199-212.
47. SIEMS, W. G., GRUNE, T., ESTERBAUER, H., 1995, 4-Hydroxynonenal formation during ischemia and reperfusion of rat small-intestine, *Life Sciences*, 57, 785-789.
48. GIROTTI, A., 1998, Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems, *Journal of Lipid Research*, 39, 1529-1542.
49. FREI, B., 1995, Cardiovascular disease and nutrient antioxidants: role of low density lipoprotein oxidation, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35, 83-98.
50. ISLEKEL, S., ISLEKEL, H., GUNER, G., OZDAMAR, N., 1999, Evaluation of lipid peroxidation, cathepsin L and acid phosphatase activities in experimental brain ischemia–reperfusion, *Brain Research*, 843, 18-24
51. ÖNENÇ, S. S., AÇIKGÖZ, Z., 2005, Aromatik bitkilerin hayvansal ürünlerde antioksidan etkileri, *Hayvansal Üretim*, 46, 50-55.
52. ÇAKMAK, B., 2003, Yemlik yağlarda oksidasyon ve korunma yöntemleri, *NRA Bülteni*, Haziran, 28.
53. BERLETT, B. S., STADTMAN, E. R., 1997, Protein oxidation in aging, disease and oxidative stres, *The Journal of Biological Chemistry*, 272, 20313-20316.
54. ÖZEN, T., 2003, *Bazı bitkilerin antioksidan aktivitesinin in vitro ve in vivo araştırılması*, Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Samsun.
55. AKPOYRAZ, M., DURAK, İ., 1995, Serbest radikallerin biyolojik etkileri, *Ankara Tıp Mecmuası*, 48, 253-262.
56. COOKE, M. S., EVANS, M. D., DIZDAROGLU, M., LUNEC, J., 2003, Oxidative DNA damage: Mechanisms, mutation, and disease, *The FASEB Journal*, 17, 1195-1214.

57. EVANS, M. D., COOKE, M. S., 2004, Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids, *BioEssays*, 26, 533-542.
58. BURÇAK, G., ANDİCAN, G., 2004, Oxidative DNA damage and aging, *Cerrahpaşa Journal of Medicine*, 35, 159-169.
59. HALLIWELL, B., 1991, DNA damage by oxygen-derived species, *FEBS Letters*, 281, 9-19.
60. ÇAVDAR, C., SİFİL, A., ÇAMSARI, T., 1997, Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma, *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 3-4, 92-95.
61. BENOVA, L., FRIDOVICH, I., 1998, Growth on an iron enriched medium partially compensates *Escherichia coli* for the lack of manganese and iron superoxide dismutase, *The Journal of Biological Chemistry*, 273, 10313-10316.
62. WHITTAKER, M., WHITTAKER, J. W., 1998, A glutamate bridge is essential for dimer stability and metal selectivity in manganese superoxide dismutase, *The Journal of Biological Chemistry*, 273, 22188-22193.
63. RAHA, S., ROBINSON, B. H., 2000, Mitochondria oxygen free radicals, disease, and aging, *Trends in Biochemical Sciences*, 25, 502-508.
64. GUAN, Y., HICKEY, M. J., BORGSTAHL, G. E., HALLEWELL, R. A., LEPOCK, J. R., O'CONNOR, D., HSIEH, Y., NICK, H. S., SILVERMAN, D. N., TAINER, J. A., 1998, Crystal structure of Y734F mutant human mitochondrial manganese superoxide dismutase and the functional role of tyrosine 34, *Biochemistry*, 37, 4722-4730.
65. KINNULA, V. L., PAAKKO, P., SOINI, Y., 2004, Antioxidant enzymes and redox regulating thiol proteins in malignancies of human lung, *FEBS Letters*, 569, 1-6.
66. KINNULA, V. L., CRAPO, J. D., 2004, Superoxide dismutases in malignant cells and human tumors, *Free Radical Biology and Medicine*, 36, 718-744.
67. ADACHI, T., WANG, X. L., 1998, Association of extracellular-superoxide dismutase phenotype with the endothelial constitutive nitric oxide synthase polymorphism, *FEBS Letters*, 433, 166-168.
68. YOUN, H., KIM, E. J., ROE, J. H., HAH, C. Y., KANG, S. O., 1996, A novel nickel containing superoxide dismutase from *Streptomyces spp.*, *Biochemical Journal*, 318, 889-896.
69. LLEDIAS, F., RANGEL, P., HANSBERG, W., 1998, Oxidation of catalase by singlet oxygen, *The Journal of Biological Chemistry*, 273, 10630-10637.
70. MEMİŞOĞULLARI, R., 2006, Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi, *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 3, 30-39.

71. CHERUBINI, A., RUGGIERO, C., POLIDORI, M. C., MECOCCHI, C., 2005, Potential markers of oxidative stress in stroke, *Free Radical Biology and Medicine*, 39, 841-852.
72. ÖZKAN, A., FIŞKIN, K., 2004, Serbest oksijen radikalleri, karsinogenez ve antioksidant enzimler, *Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi*, 14, 52-60.
73. GRICE, H. C., 1986, Safety evaluation of butylated hydroxytoluene (BHT) in the liver, lung and gastrointestinal tract, *Food and Chemical Toxicology*, 24, 1127-1130.
74. SHERWIN, E. R., 1990, *Food Additives*, Marcel Dekker Incorporation, New York, 139-193.
75. SIES, H., STAHL, W., 1995, Vitamins E and C, β -carotene, and other carotenoids as antioxidants, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 62, 1315-1321.
76. STOCKER, R., FREI, B., 1991, Endogenous antioxidant defense in human blood plasma, *Oxidative stress: oxidants and antioxidants*, London, Academic Press, 213-243.
77. KÖKSAL, E., 2007, *Karnabahar (Brassica oleracea L.) peroksidaz enziminin saflaştırılması ve karakterizasyonu, antioksidan ve antiradikal aktivitesinin belirlenmesi*, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Erzurum.
78. STAHL, W., SIES, H., 1996, Lycopene: a biologically important carotenoid for humans?, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 336, 1-9.
79. KRINSKY, N. I., 1998, Overview of lycopene, carotenoids, and disease prevention, *Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 218, 95-97.
80. LESSIN, W. J., CATIGANI, G. I., SCHWARTZ, S. J., 1997, Quantification of cis-trans isomers of provitamin A carotenoids in fresh and processed fruits and vegetables, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 3728-3732.
81. RICE-EVANS, C. A., MILLER, N. J., BOLWELL, P. G., BRAMLEY, P. M., PRIDHAM, J. B., 1995, The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids, *Free Radical Research*, 22, 375-383.
82. RICE-EVANS, C. E., MILLER, N. J., PAGANGA, G., 1996, Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids, *Free Radical Biology and Medicine*, 20, 933-956.
83. BROWN, J. A., KHODR, H., HIDER, R. C., RICE-EVANS, C., 1998, Structural dependence of flavonoid interactions with Cu^{2+} ions: implications for their antioxidant properties, *Biochemical Journal*, 330, 1173-1178.
84. PETERSON J., DWYER, J., 1998, Flavonoids, Dietary occurrence and biochemical activity, *Nutrition Research*, 18, 1995-2018.

85. SHAHIDI, F., WANASUNDARA, P. K. J., 1992, Phenolic Antioxidants, *Critical Reviews of Food Science and Nutrition*, 32, 67-103
86. PIETTA, P., SIMONETTI, P., 1999, *Dietary flavonoids and interaction with physiological antioxidants*, Antioxidant Food Supplements in Human Health, Academic Press, London.
87. NOGUEIRA, C. W., ZENI, G., ROCHA, J. B. T., 2004, Organoselenium and organotellurium compounds: Toxicology and Pharmacology, *Chemical Reviews*, 104, 6255-6285.
88. JONES, D. P., CARLSON, J. L., MODY, V. C., CAI, J. Y., LYNN, M. J., STERNBERG, P., 2000, Redox state of glutathione in human plasma. *Free Radical Biology and Medicine*, 28, 625-635.
89. BECKER, M. A, ROESSLER, B. J., 1995, Hyperuricemia and Gout. In Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, New York: 7th Ed. McGraw-Hill, 1655-1677.
90. RAFFERTY, T. S., GREEN, M. H. L., LOWE, J. E., ARLETT, C., HUNTER, J., A. A., BECKETT G. J., MCKENZIE, R. C., 2003, Effects of selenium compounds on induction of DNA damage by broadband ultraviolet radiation in human keratinocytes, *British Journal of Dermatology*, 148, 1001-1009.
91. <http://www.kimyaevi.org> [Ziyaret tarihi: 20.11.2009]
92. KESKIN, H., ERKMEN, G., 1987, *Besin Kimyası*, Güryay Matbaacılık, 5. basım, İstanbul.
93. <http://tr.wikipedia.org/> Polygonaceae [Ziyaret tarihi: 20.11.2009]
94. <http://tr.wikipedia.org/> Rumex [Ziyaret tarihi: 20.11.2009]
95. DAVIS, P. H., 1967, *Flora of Turkey and East Aegean Islands*, 2, Edinburgh University Press, 281-293.
96. BAYTOP, T., 1963, *Medicinal and poisonous plants of Turkey*, Akgün Press, University of Istanbul, Istanbul, 315.
97. www.bilgikutum.com/labada [Ziyaret tarihi: 12.06.2009]
98. KEREM, Z., SHOSHANI, G. R., FLAISHMAN, M. A., SIVAN, L., 2003, Resveratrol and two monomethylated stilbenes from Israeli *Rumex bucephalophorus* and their antioxidant potential, *Journal of Nature Products*, 66, 1270-1272.
99. NEWALL, C. A., ANDERSON, L. A., PHILLIPSON, J. D., 1996, *Herbal Medicines-Guide for Healthcare Professionals*, The Pharmaceutical Press, London, 274.

100. STEINER, R. P., 1986, *Folk Medicine*, American Chemical Society, Washington DC, 34-35.
101. GRIEVE, M., 1977, *In a Modern Herbal*, Penguin Books, Harmondsworth, 258-260.
102. YAO, Z., DIAN, D. C., 1985, *Encyclopedia of Traditional Chinese Medicinal Substances*, Jiangu College of New Medicine, Tokyo, 990.
103. GUO, R., CANTER, P. H., ERNST, E., 2006, Herbal medicines for the treatment of rhinosinusitis: A systematic review, *Otolaryngology Head and Neck Surgery*, 135, 496-506.
104. KATO, T., MORITA, Y., 1990, C-glycosylflavones with acetyl substitution from *Rumex acetosa* L., *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 38, 2277-2280.
105. SHARMA, M., RANGAWAMI, S., 1977, Chemical components of the roots of *Rumex acetosa*, *Indian Journal of Chemistry*, 15, 884-885.
106. FAIRBAIRN, F. J. W., EL-MUHTADI, F. J., 1972, Chemotaxonomy of anthraquinones in *Rumex*: Isolation of ω -Acetoyaloe-emodin, a new 1-8-dihydroxyanthraquinone derivative, *Phytochemistry*, 11, 263-268.
107. STOGGL, W. M., HUCK, C. W., BONN, G. K., 2004, Structural elucidation of catechin and epicatechin in sorrel leaf extracts using liquid-chromatography coupled to diode array-, fluorescence-, and mass spectrometric detection, *Journal of Separation Science*, 27, 524-528.
108. ABEBE, D., AYEHU, A., 1993, *Medical Plants and Enigmatic Health Practice of Northern Ethiopia*, B. S. P. E., Addis Ababa.
109. GEBRIE, E., MAKONNEN, E., ZERIHUN, L., DEBELLA, A., 2005, The possible mechanism for the antifertility action of methanolic root extract of *Rumex steudelii*, *African Health Sciences*, 5, 119-125.
110. KIRTIKAR, K. R., BASU, B. D., 1980, *Indian Medicinal Plants 2nd edition*, B. Singh, India.
111. AHMED, M., DATTA, B. K., SHAMSUR, R. A. S., 1991, Anthraquinone, chromone and flavone derivatives from *Rumex maritimus*, *Die Pharmazie*, 46, 542-549.
112. ROUF, A. S. S., ISLAM, M. S., RAHMAN, M. T., 2003, Evaluation and anti-diarrhoeal activity *Rumex maritimus* root, *Journal of Ethnopharmacology*, 84, 307-310.
113. FLEURENTIN, J., PELT, J. M., 1982, Repertory of drugs and medicinal plants of Yemen, *Journal of Ethnopharmacology*, 6, 85-108.
114. DESTA, B., 1993, Ethiopian traditional herbal drugs. Part II: Antimicrobial activity of 63 medicinal plants, *Journal of Ethnopharmacology*, 39, 129-139.

115. GEBRE-MARIAM, T., MURTHY, P. N., RANGANATHAN, P., HYMETE, A., DAKA, K., 1993, Antimicrobial screening of *Rumex abyssinicus* and *Rumex nervosus*, *The Eastern Pharmacist*, 20, 131-133.
116. MUNAVUM, M. R., MUDAMBA, L. O., OGUR, J. A., 1984, *Planta Medica*, 50, 111.
117. AL-MESHAL, I. A., MOSSA, J. S., AL-YAYA, M. A., KHATIBI, A., HAMMOUDA, Y., 1982, Phytochemical and biological screening of Saudi medicinal plants. Part I, *Fitoterapia*, 53, 79-85.
118. WALL, M. E., TAYLOR, H., AMBROSIO, L., DAVIS, K., 1969, Plant antitumor agents III: A convenient separation of tannins from other plant constituents, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 58, 839-841.
119. ABEBE, D., DEBELA, A., URGU, K., 2003, *Medicinal Plants and Other Useful Plants of Ethiopia*, Camerapix Publisher, Nairobi.
120. GETIE, M., GEBRE-MARIAM, T., RIETZ, R., HOHNE, C., HUSCHAKA, C., SCHMIDTKE, M., ABATE, A., NEUBERT, R., 2003, Evaluation of antimicrobial and anti inflammatory activities of the medicinal plants *Dodonea viscosa*, *Rumex nervosus* and *Rumex abyssinicus*, *Fitoterapia*, 74, 139-143.
121. LEE, H. S., KIM, S. K., HAN, J. B., CHOI, H. M., PARK, J. H., KIM, E. C., CHOI, M. S., AN, H. J., UM, J. Y., KIM, H. M., MIN, B. I., 2006, Inhibitory effects of *Rumex japonicus* Houtt. on the development of atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice, *British Journal of Dermatology*, 155, 33-38.
122. JANG, D. S., KIM, J. M., KIM, J., YOO, J. L., KIM, Y. S., KIM, J. S., 2008, Effects of compounds isolated from the fruits of *Rumex japonicus* on the protein glycation, *Chemistry and Biodiversity*, 5, 2718-2723.
123. BAŞKAN, S., DAUT-ÖZDEMİR, A., GÜNAYDIN, K., ERİM, F. B., 2007, Analysis of anthraquinones in *Rumex crispus* by micellar electrokinetic chromatography, *Talanta*, 71, 747-750.
124. LONE, I. A., KAUR, G., ATHAR, M., ALAM, M. S., 2007, Protective effect of *Rumex patientia* (English spinach), roots on ferric nitrilotriacetate (Fe-NTA) induced hepatic oxidative stress and tumor promotion response, *Food and Chemical Toxicology*, 45, 1821-1829.
125. GÜRBÜZ, İ., ÖZKAN, A. M., YEŞİLADA, E., KUTSAL, O., 2005, Anti-ulcerogenic activity of some plants used in folk medicine of Pınarbaşı (Kayseri, Turkey), *Journal of Ethnopharmacology*, 101, 313-318.
126. SÜLEYMAN, H., DEMİREZER, L. Ö., KURUÜZÜM, A., 2004, Effects of *Rumex patientia* root extract on indomethacine and ethanol induced gastric damage in rats, *Pharmazie*, 59, 147-149.

127. DEĞİRMENCİ, İ., ÜSTÜNER, M. C., KALENDER, Y., KALENDER, S., GÜNEŞ, H. V., 2005, The effects of acarbose and *Rumex patientia* L. On structural and biochemical changes of pancreatic B cells in streptozotocin-induced diabetic rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 97, 555-559.
128. LADEJI, O., OKOYE, Z. S. C., WAIDU, Z., 1995, Effect of supplementetion of laboratory chow with leaf of *Rumex acetosa* (sorrel) on body weight and serum levels amino acid and minerals in rats, *Food Chemistry*, 59, 15-17.
129. GHOSH, L., ARUNACHALAM, G., MURUGESAN, T., PAL, M., SAHA, B. P., 2002, Studies on the physcopharmacological activities of *Rumex nepalensis* Spreng. root extract in rats and mice, *Phytomedicine*, 9, 202-206.
130. GHOSH, L., GAYEN, J. R., MURUGESAN, T., SINHA, S., PAL, M., SAHA, B. P., 2003, Evaluation of purgative activity of roots of *Rumex nepalensis*, *Fitoterapia*, 74, 372-374.
131. DEMİREZER, L. Ö., KURUÜZÜM-UZ, A., BERGERE, I., SCHIEWE, H.-J., ZEEK, A., 2001, The structures of antioxidant and cytotoxic agents from natural source: Anhraquinones and tannins from roots of *Rumex patientia*, *Phytochemistry*, 58, 1213-1217.
132. GEBRIE, E., MAKONNEN, E., DEBELLA, A., ZERIHUN, L., 2004, Phytochemical screening and pharmacological evaluations for the antifertility effect of the methanolic root extract of *Rumex steudelii*, *Journal of Ethnopharmacology*, 96, 139-143.
133. COS, P., HERMANS, N., BRUYNE, T., DE APERS, S., SINDAMBIWE, J. S., WITVROUW, M., CLERCQ, E., DE BERGHE, D. V., PIETERS, L., VLIETINCK, A. J., 2002, Antiviral activity of Rwandan medicinal plants against human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1), *Phytomedicine*, 9, 62-68.
134. <http://www.josepmguasch.com/flora.html> [Ziyaret tarihi:20.11.2009]
135. SLINKARD, K., SINGLETON, V. L., 1977, Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods, *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, 49-55.
136. ZHISHEN, J., MENGCHENG, T., JIANMING, W., 1999, The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals, *Food Chemistry*, 64, 555-559.
137. OMAYE, S. T., TURNBULL, J. D., SAUBERLICH, H. E. , 1971, Selected methods for the determination of ascorbic acid in animal cells, tissues and fluids, *Methods in Enzymology*, 62, 3-11.
138. NAGATA, M., YAMASHITA, I., 1992, Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit , *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology*, 39, 925-928.

139. OYAIZU, M., 1986, Studies on products of browning reaction: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine, *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307-315.
140. BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E., BERSET, C., 1995, Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie/Food Science and Technology*, 28, 25-30.
141. TAKASHIRA M., OHTAKE, Y., 1998, A new antioxidative 1,3-benzodioxole from *Melissa officinalis*, *Planta Medica*, 64, 555-558.
142. SOARES, J. R., DINS, T. C. P., CUNHA, A. P., AMEIDA, L. M., 1997, Antioxidant activity of some extracts of *Thymus zygis*, *Free Radical Research*, 26, 469-478.
143. GULCIN, I., OKTAY, M., KUFREVIÖGLU, O.I., ASLAN, A., 2002, Determination of antioxidant activity of *Lichen cetraria islandica* (L). *Ach, Journal of Ethnopharmacology*, 79, 325-329.
144. NAGAI, T., MYODA, T., NAGASHIMA, T., 2005, Antioxidative activities of water extract and ethanol extract from field horsetail (*tsukushi*) *Equisetum arvense* L., *Food Chemistry*, 91, 389-394.
145. SMITH, C., HALLIWELL, B., ARUOMA, O.I., 1992, Protection by albumin against the pro-oxidant actions of phenolic dietary components, *Food and Chemical Toxicology*, 30, 483-489.
146. PEREZ-JIMENEZ, J., SAURA-CALIXTO, F., 2006, Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays, *Food Research International*, 39, 791-800.
147. HUANG, D., OU, B., PRIOR, R. L., 2005, The chemistry behind antioxidant capacity assays, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.
148. OSMAN, A. M., WONG, K. K. Y., FERNYHOUGH, A., 2006, ABTS radical driven-oxidation of polyphenols: Isolation and elucidation of covalent adducts, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 346, 321-329.
149. FOGLIANO V., VERDE, V., RANDAZZO, G., RITIENI, A., 1999, Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 1035-1040.
150. GÜLÇİN, İ., 2008, Measurement of antioxidant ability of melatonin and serotonin by the DMPD and CUPRAC methods as trolox equivalent, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 23, 871-876.
151. GIUSTI, M. M., WROLSTAD, R. E., 2000, Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopy, *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, New York.

152. CHUNG, Y. C., CHEN, S. J., HSU, C. K., CHANG, C. T., CHOU, S. T., 2005, Studies on the antioxidative activity of *Groptapetalum paraguayense* E. Walther, *Food Chemistry*, 91, 419-424.
153. MATTHAUS, B., 2002, antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 50, 3444-3452.
154. YILDIRIM, A., MAVI, A., KARA, A. A., 2003, Antioxidant and antimicrobial activities of *Polygonum cognatum* Meissn extracts, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 64-69.
155. OZSOY, N., CAN, A., YANARDAG, R., AKEV, N., 2008, Antioxidant activity of *Similax excelsa* L. leaf extracts, *Food Chemistry*, 110, 571-583.
156. HU, Q., XU, J., HU, Y., 2003, Evaluation of antioxidant potential of *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) extracts, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 7788-7791.
157. CHEN, C. W., HO, C. T., 1995, Antioxidant properties of polyphenols extracted from green and black tea, *Journal of Food Lipids*, 2, 35-46.
158. KIKUZAKI, H., HISAMOTO, M., HIROSE, K., AKIYAMA, K., TANIGUCHI, H., 2002, Antioxidant properties of ferulic acid and its related compounds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2161-2168.
159. SERAFINI, M., GLISELL, A., FRREO-LUZZI, A., 1996, In vivo antioxidant effect of green and black tea in man, *European Journal of Clinical Nutrition*, 50, 28-32.
160. MOURE, A., CRUZ, J. M., FRANCO, D., DOMINGUEZ, J. M., SINEIRO, J., DOMINGUEZ, H., NUNEZ, M. J., PARAJO, J. C., 2001, Natural antioxidants from residual sources, *Food Chemistry*, 72, 145-171.
161. GORDON, M. H., 1996, Dietary antioxidants in disease prevention, *Natural Product Reports*, 13, 265-273.
162. GAZIANO, M. J., HENNEKENS, C. H., 1993, The role of beta carotene in the prevention of cardiovascular disease, *Annals of New York Academy of Science*, 691, 148-155.
163. TRIBBLE, D. L., FRANK, E., 1994, Dietary antioxidants, cancer and atherosclerotic heart disease, *West Journal Medicine*, 161, 605-613.
164. VAN ACKER, S., VAN-DEN BERG, D. J., TROMP, M. N., GRIFFIOEN, D. H., VAN BEBEEKOM, W. P., VAN DER, W. J. F., BAST, A., 1996, Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids, *Free Radical Biology & Medicine*, 20, 331-342.
165. COOK, N. C., SAMMAN, S., 1996, Flavonoids-Chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources, *Nutritional Biochemistry*, 7, 66-76.

166. MOTAMED, S. M., NAGHIBI, F., 2010, Antioxidant activity of some edible plants of Turkmen Sahra region in northern Iran, *Food Chemistry*, 119, 1637-1642.
167. EKŞİ, A., KARADENİZ, E., 2002, Fenoliklerin gıda bileşeni olarak önemi, *Dünya Gıda*, 6, 79-82.
168. SİVRİTEPE, N., 2000, Asma, üzüm ve şaraptaki antioksidanlar, *Dünya Gıda*, 5, 73-78.
169. ALFAWAZ, M., A., 2006, Chemical composition of hummayd (*Rumex vesicarius*) grown in Saudi Arabia, *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 552-555.
170. OZSOY, N., YILMAZ, T., KURT, O., CAN, A., YANARDAG, R., 2009, *In vitro* antioxidant activity of *Amaranthus lividus* L., *Food Chemistry*, 116, 867-872.
171. COOPER, D. A., 2004, Caratenoids in health and disease: recent scientific evaluations, research recommendations and the consumer, *Journal of Nutrition*, 134, 221-224.
172. KRINSKY, N. L., JOHNSON, E. J., 2005, Caratenoid actions and their relation to health and disease, *Molecular Aspects of Medicine*, 26, 459-516.
173. TYLER, V. E., 1993, *The Honest Herbal*, Hawort Press, Binghamton, New York.
174. RAI, L. K., SHARMA E., 1994, *Medicinal Plants of Sikkim Himalaya*, Mahendra Singh, Dehradun- India.
175. SHARMA, R. S., MISHRA, V., SINGH, R., SETH, N., BABU, C. R., 2008, Antioxidant activity of some Himalayan medicinal palnts and cultivated ornamental species, *Fitoterapia*, 79, 589-591.
176. GHOSH, L., GAYEN, J. R., SINHA, S., PAL, S., PAL, M., SAHA, B. P., 2003, Antibacterial effects of *Rumex nepalensis* Spreng. roots, *Phytotherapy Research*, 17, 558-559.
177. HATANO, T., UEBAYASHI, H., ITO, H., SHIOTA, S., TSUCHIYA, T., YOSHIDA, T., 1999, Phenolic constituents of *Cusia* seeds and antibacterial effects of some naphtalenes and anthraquinones on methicillin-resistant *Staphylococcus Aeureus*, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 47, 1121-1127.
178. DEMIREZER, O., KURUUZUM, A., BERGERE, I., SCHIEWE, H. J., ZEECK, A., 2001, Five naphtalene glycosides from the roots of *Rumex patientia*, *Phytochemistry*, 56, 399-402.
179. LEWIS, D. A., 1989, Anti-inflammatory drugs from plant, marine sources, *Agents and Actions Supplement*, 27, 3-373.

180. YILDIRIM, A., MAVI, A., KARA, A. A., 2001, Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4083-4089.
181. ELZAAWELY, A. A., XUAN, T. D., TAWATA, S., 2005, Antioxidant and antibacterial activities of *Rumex japonicus* Houtt. aerial parts, *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 28, 2225-2230.
182. SANCHEZ-MORENO, C., 2002, Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems, *Foods Science and Technology International*, 8, 121-127.
183. MANTLE, D., EDDEB, F., PICKERING, A. T., 2000, Comparison of relative antioxidant activities of British medicinal plant species in vitro, *Journal of Ethnopharmacology*, 72, 47-51.
184. VANDERJAGT, T. J., GHATTAS, R., VANDERJAGT, D. J., CROSSEY, M., GLEW, R. H., 2002, Comparison of the total antioxidant content of 30 widely used medicinal plants of New Mexico, *Life Sciences*, 70, 1035-1040.
185. WOJDYLO, A., OSZMIANSKI, J., CZEMERYYS, R., 2007, Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs, *Food Chemistry*, 105, 940-949.
186. SACAN, Ö., YANARDAĞ, R., 2010, Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of chard (*Beta vulgaris* L. var. cicla), *Food and Chemical Toxicology*, xx, xxx-xxx

ÖZGEÇMİŞ

Sibel KAHRAMAN 1978 tarihinde İstanbul'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Bakırköy'de tamamladı. 1999 yılında İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Bölümü'nden mezun oldu. 2003 yılında İstanbul Üniversitesi Kimya Bölümü Biokimya A.B.D.'de yüksek lisansını tamamladı. İş hayatına yüksek lisans öğrenimi esnasında bir devlet okulunda sözleşmeli öğretmenlik yaparak başladı. 2 yıl bu görevini sürdürdü. 2003 yılı Ekim ayında aynı bölümde Doktora öğrenimine başladı. 2004 yılında bir kimya firmasında Ar-Ge ve teknik servis sorumlusu olarak çalışmaya başladı ve bir yıl kadar bu görevde kaldı. 2006 yılında bir sakız firmasında çalışmaya başladı. Halen 2006 yılında bir sakız firmasında başladığı Malzeme Giriş Kontrol Şefi pozisyonunda çalışmaya devam ediyor.