



T.C.
SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Origanum Hypericifolium Ekstraktlarının
Antioksidan Etkisinin Araştırılması

MUHAMMED SUFİ

YÜKSEK LİSANS
BİYOKİMYA
ANABİLİM DALI

Sivas 2019

T.C.
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***Origanum Hypericifolium* Ekstraktlarının**
Antioksidan Etkisinin Araştırılması

MUHAMMED SUFİ

YÜKSEK LİSANS
BİYOKİMYA
ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Dr.Öğr. Üyesi CEYLAN HEPOKUR

Sivas 2019

“*Origanum Hypericifolium* Ekstraktlarının Antioksidan Etkisinin Araştırılması” adlı **Yüksek Lisans** Tezi, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Tıp Fakültesi** Biyokimya Ana Bilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Prof.Dr. Sevtap BAKIR

Üye

Doç.Dr. _____

Üye (Danışman)

Dr.Öğr. Üyesi Ceylan HEPOKUR

ONAY

Bu tez çalışması, Tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zübeyda AKIN POLAT
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MÜDÜRÜ

Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 18.02.2015 tarihli ve 4/4 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır.

ÖZET

Origanum Hypericifolium Ekstraktlarının Antioksidan Etkisinin Araştırılması

MUHAMMED SUFİ

YÜKSEK LİSANS, BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Dr. Öğr. Üyesi Ceylan HEPOKUR

2019, 47 sayfa

Serbest radikaller hücre ve dokularda birçok hasara yol açmaktadır. Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbonhidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin serbest radikaller tarafından oksidasyonunu önleyen / geciktirebilen maddelere antioksidan ve bu olayada antioksidan savunma sistemi denir. Vücudumuzda antioksidan savunma görevi yapan birçok enzim vardır.

Origanum hypericifolium, Akdeniz ülkelerinde yayılım gösteren, Lamiaceae ailesine ait olan endemik bir türdür. *Origanum hypericifolium* p-cymene, carvakrol, timol ve γ -terpenler gibi monoterpenleri içerir. Monoterpenler antifungal, antibakteriyel, antioksidan, antikanser, antispazmodik ve hipotansiyon etkiye sahiptirler.

Bu çalışmanın amacı endemik bir bitki olan *Origanum Hypericifolium*'un farklı ekstraktlarının antioksidan kapasitesini incelemektir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, Serbest Radikaller, *Origanum Hypericifolium*

ABSTRACT

Investigation of the Antioxidant Effects of *Origanum Hypericifolium* Extracts

MUHAMMED SUFİ

Master Thesis, DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY

Supervisor: Dr.Öğr.Üyesi Ceylan HEPOKUR

2019, 47 pages

Free radicals cause many damage to cells and tissues. Antioxidant substances that prevent / delay the oxidation of oxidizing substances such as proteins, lipids, carbohydrates and DNA in living cells by antioxidants and in this case antioxidant defense system. There are many enzymes in our body that act as antioxidant defense.

Origanum hypericifolium is an endemic species of the Lamiaceae family, spreading in the Mediterranean countries. *Origanum hypericifolium* includes monoterpenes, such as p-cymene, carvacrol, thymol and γ -terpenes. Monoterpenes have antifungal, antibacterial, antioxidant, anticancer, antispasmodic and hypotension effects.

The aim of this study was to investigate the antioxidant capacity of different extracts of *Origanum Hypericifolium* that is an endemic plant.

Key words: Antioxidants, Free radicals, *Origanum hypericifolium*

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen danışman hocam Dr.Öğr. Üyesi Ceylan HEPOKUR'a,

Çalışmalarım boyunca bana başarabileceklerimin fazlasını hissettiren, hep pozitif düşünmemi sağlayan çok değerli hocam sayın Dr.Öğr. Üyesi Sema MISIR.

Her zaman yanımda bulunan, sonsuz destek veren başta babam Ömer Sufi olmak üzere, annem Maha Sufi, tüm kardeşlerime, Gamze Tüzün, Hale Yıldız, sevgili eşim Elif ' e

Bu çalışmaya katkı veren tüm meslektaşlarıma
Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK.....	i
ONAY.....	iii
YÖNERGE.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
TABLolar DİZİNİ.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Problemin Tanımı ve Önemi.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. <i>Origanum hypericifolium</i>	3
2.2. Serbest Radikaller.....	4
2.2.1. Serbest Radikal Oluşum Nedenleri.....	5
2.2.1.1. Endojen kaynaklar.....	5
2.2.1.2. Eksojen kaynaklar.....	6
2.2.2. Serbest Radikallerin Genel Reaksiyonları.....	6
2.2.3. Serbest Radikal Türleri.....	7
2.2.3.1. Süperoksit Radikalleri ($O_2^{\cdot-}$).....	7
2.2.3.2. Hidroksil Radikalleri (OH^{\cdot}).....	7
2.2.3.3. Hidrojen Peroksit (H_2O_2).....	8
2.2.3.4. Hipoklorik Asit ($HOCl$).....	8
2.2.3.5. Peroksil Radikali (ROO^{\cdot}).....	9
2.2.3.6. Nitrik Oksit (NO^{\cdot}).....	9
2.2.4. Serbest Oksijen Radikallerinin Etkileri.....	9
2.2.4.1. Serbest Radikallerin Lipitler üzerine etkisi.....	10
2.2.4.2. Serbest Radikallerin Proteinler üzerine etkisi.....	10
2.2.4.3. Serbest Radikallerin DNA üzerine etkisi.....	11
2.2.4.4. Serbest Radikallerin Karbonhidratlar üzerine etkisi.....	11
2.2.5. Oksidatif Stres.....	11
2.2.6. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	12

2.2.6.1.Antioksidan Etki Mekanizmaları.....	13
2.2.6.2.Antioksidanların Sınıflandırılması.....	13
2.2.6.2.1.Süperoksit dismutaz(SOD).....	14
2.2.6.2.2.Katalaz (CAT).....	14
2.2.6.2.3.Glutatyon peroksidaz (GSH-Px).....	15
2.2.6.2.4.Glutatyon Redüktaz (GR).....	15
2.2.6.2.5.Askorbik asit (C Vitamini).....	15
2.2.6.2.6.Tokoferoller (E Vitamini).....	15
2.2.6.2.7.Flavonoidler.....	16
2.2.6.2.8.Karotenoidler.....	16
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	17
3.1.Etanolik <i>Origanum Hypericifolium</i> (EOH) Ekstraktını Hazırlanması	17
3.2. <i>Origanum Hypericifolium</i> GC-MS analizi.....	17
3.3.DPPH Radikal Temizleme Aktivitesinin Belirlenmesi.....	17
3.4.Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi.....	18
3.5.Toplam Flavonoid İçerik Tayini.....	20
3.6.FRAP Antioksidan Gücünün Belirlenmesi.....	21
3.7.Oksidan Olarak Cu (II) Kullanılan Toplam Antioksidan Kapasite Yöntemi (CUPRAC).....	22
3.8.Toplam Antioksidan Statü (Total Antioxidant Status-TAS)Tayini...	23
3.8.Toplam Oksidan Statü (TOS)Tayini.....	24
4. BULGULAR.....	26
4.1. HPLC ANALİZİ.....	26
4.2.DPPH Radikal Temizleme Aktivitesinin Belirlenme Sonuçları.....	26
4.3.Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenme Sonuçları.....	28
4.4.Toplam Flavonoid İçerik Tayin Sonuçları.....	29
4.5.FRAP Antioksidan Gücünün Belirlenme Sonuçları.....	30
4.6.Oksidan Olarak Cu (II) Kullanılan Toplam Antioksidan Kapasite belirlenme Sonuçları.....	31

4.7. Toplam Antioksidan Statü Tayin Sonuçları.....	32
4.8. Toplam Oksidan Statü (TOS) Tayin Sonuçları.....	32
5. TARTIŞMA.....	34
6. SONUÇLAR.....	37
KAYNAKLAR.....	38



TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1.	Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türleri.....	5
Tablo 2.	Antioksidan sistem.....	14
Tablo 3.	DPPH tayini için deney esnasında yapılan pipetlemeler.....	18
Tablo 4.	Toplam polifenolik içerik tayini pipetlemeleri.....	19
Tablo 5.	Toplam falvonoid içerik tayini pipetlemeleri.....	21
Tablo 6.	Etanol ekstraktlarında demir (Fe ⁺³)indirgeyici güç tayini.....	22
Tablo 7.	TAS ölçümü kit prosedürü.....	24
Tablo 8.	TOS ölçümü kit prosedürü.....	24
Tablo 9.	DPPH IC50 değerleri.....	28
Tablo 10.	Polifenol değerleri.....	29
Tablo 11.	Flavonoid değerleri.....	30
Tablo 12.	FRAP değerleri.....	31
Tablo 13.	CUPRAC değerleri.....	32
Tablo 14.	Toplam Antioksidan (TAS) değerleri.....	32
Tablo 15.	Toplam Oksidan(TOS) değerleri.....	33

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	O. hypericifolium. a: Doğadaki görüntüsü, b: çiçekleri.....	3
Şekil 2.	Hücre ve dokularda ROS'un etkisi.....	9
Şekil 3.	Oksidatif stres durumu.....	12
Sekil 4.	Etil asetat çözeltide DPPH radikalinin kalibrasyon eğrisi.....	26
Sekil 5.	Etil asetat çözeltide DPPH radikalinin kalibrasyon eğrisi.....	27
Sekil 6.	N- hekzan çözeltide DPPH radikalinin kalibrasyon eğrisi.....	27
Sekil 7.	Askorbik asit standart grafiği.....	28
Sekil 8.	Gallik asit kalibrasyon egrisi grafiği.....	29
Sekil 9.	Kuersetin standart grafiği.....	30
Sekil 10.	Troloks standart grafiği.....	31

1. GİRİŞ

1.1. Problemin Tanımı ve Önemi

Türkiye, Lamiaceae ailesi için önemli bir gen merkezi olarak kabul edilmektedir. Bu aile, Türkiye'de 45 cins, 546 tür ve 730 taksonla temsil edilmektedir. Ailede endemizm oranı % 44,2'dir (Baser ve ark., 1994). *Origanium hypericifolium* Lamiaceae ailesi içinde yer almaktadır. *Origanum* L. (Lamiaceae) *Origanium hypericifolium*u da içererek 15 farklı endemik türle Türkiye'de temsil edilmektedir. Bu familya üyeleri başlıca Akdeniz havzası ülkeleri olmak üzere Avustralya, Güney Batı Asya ve Güney Amerika'ya kadar yayılış göstermektedir. *Origanium hypericifolium* uçucu yağı p-cymene, carvakrol, timol ve γ -terpenler gibi monoterpenleri içerir. Monoterpenler, antifungal, antibacterial, antioksidant, anticancer, antispasmodic, hypotensive ve vasorelaxant etkiye sahiptir. Uçucu yağların kimyasal bileşimi iklimsel, mevsimsel ve coğrafi koşullara, hasat süresine ve damıtma tekniğine bağlıdır (Marino ve ark., 2001; Özcan ve ark., 2001). *Origanum* türlerinin esansiyel yağ bileşimine ilişkin araştırma raporları sınırlıdır (Aslım ve ark., 2008; Baser ve ark., 1998) ve *O. hypericifolium*'un antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri daha önce hiç incelenmemiştir. Flavonoidler, triterpenoidler ve monoterpenler, özellikle çiçek ve yapraklarda, bitkilerin hava kısımlarında çoğunlukla dağıtılırken, fenolik asitler ve diterpenoidler esas olarak köklerde bulunur (Topçu, 2006). Bu bileşikler, sekonder bitki metabolitleri olduğu için, insanlar tarafından sentezlenemezler ve insan diyetinin önemli bir bölümünü oluşturmaktadırlar (Ivona Jasprica ve ark., 2007). Fenolik bileşikler, pek çok bitkide renk, koku ve tattan sorumlu olarak önemli duyuşal özellikler içermenin yanı sıra, oksidatif stres ile ilişkilendirilmiş çeşitli hastalıkların önlenmesinde de anahtar rol oynarlar. Bu bileşenlerin antioksidan aktivitesi özellikle radikal temizleme etkisine dayanmaktadır (Kanbur ve ark., 2009). Oksidatif stres, oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine bozulmasıyla hasarlara yol açarak insanda pek çok hastalığın oluşmasını sağlayan durum olarak tanımlanır (Polidori ve ark., 2001). Serbest radikaller hücre ve dokularda DNA'nın tahrip olması, enzim aktivitelerinde ve lipid metabolizmasındaki değişiklikler, lipid peroksidasyonu, membran proteinlerinin tahribi gibi birçok zarara yol açmaktadır (Dinçer ve

ark.,2000). Canlı hücrelerde bulunan protein, lipit, karbohidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin serbest radikaller tarafından oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidan ve bu olaya antioksidan savunma denir (Berköz ve ark.,2009). En önemli antioksidan enzimler; süperoksit anyonunu hidrojen peroksite dönüştüren süperoksit dismutaz (SOD), organik peroksitleri detoksifiye eden glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve hidrojen peroksiti suya indirgeyen katalaz (CAT) dır. Bu endojen antioksidan enzimler serbest radikalleri zararsız hale getirirler. Böylece organizma serbest radikaller ve aktif oksijen türlerinden etkilenmez (Harris, 1992). Endemik tür olan *O. hypericifolium*'un antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri dair literatürde snırlı sayıda çalışma vardır.

Bu çalışmanın amacı endemik bir bitki olan *Origanum Hypericifolium*'un farklı ekstraktlarının antioksidan kapasitesini incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Origanum hypericifolium*

Antik çağlardan beri Lamiaceae ailesi tıbbi amaçlı kullanılmaktadır. Bu aileye ait türlerin kullanıldığına dair ilk kayıtlara antik dönemdeki mezarların yazı ve resimlerinde rastlanır (Kütükcü, 2016).

Türkiye, Lamiaceae ailesi için önemli bir gen merkezi olarak kabul edilmektedir. Bu aile, Türkiye'de 45 cins, 546 tür ve 730 taksonla temsil edilmektedir. Bu familyaya ait endemik oran % 44,2'dir (Baser ve ark., 1994). *Origanum hypericifolium* bitkisi Lamiaceae familyasına ait bir türdür (Şekil 1). Lamiaceae familyası *Origanum hypericifolium*u da içeren 15 farklı endemik türle Türkiye'de yer almaktadır. Bu familya üyeleri başlıca Akdeniz havzası ülkeleri olmak üzere Avusturalya, Güney Batı Asya ve Güney Amerika'ya kadar yayılış göstermektedir.

Origanum hypericifolium carvakrol, timol ve γ -terpenler gibi monoterpenleri içerir. Monoterpenler, antifungal, antibakteriyal, antioksidan antikanser ve hipotensiv gibi etkilere sahiptir. Bu bitkilerin kimyasal bileşimi iklimsel ve coğrafi koşullara, hasat süresine ve ekstraksiyon yöntemlerine göre değişebilmektedir (Marino ve ark., 2001; Özcan ve ark., 2001).



Şekil 1. *O. Hypericifolium*. **a.** Doğadaki görüntüsü **b.** Çiçekleri.

Flavonoidler, triterpenoidler ve monoterpenler, özellikle çiçek ve yapraklarda, bitkilerin hava kısımlarında yer alırken, fenolik asitler ve diterpenoidler esas olarak köklerde bulunur (Topçu, 2006). Bu bileşikler, sekonder bitki metabolitleri olduğu için, insanlar tarafından

sentezlenemezler ve insan diyetinin önemli bir bölümünü oluşturmaktadırlar (Ivona Jasprica ve ark.,2007).

Fenolik bileşikler, pek çok bitkide renk, koku ve tattan sorumlu olarak önemli duyuşal özellikler içermenin yanı sıra, oksidatif stres ile ilişkilendirilmiş çeşitli hastalıkların önlenmesinde de önemli rol oynarlar. Bu bileşenlerin antioksidan aktivitesi özellikle radikal temizleme etkisine dayanmaktadır (Kanbur ve ark., 2009).

2.2. Serbest Radikaller

Serbest radikaller teorisi Denham Harman tarafından 1954 yılında ileri sürülmüştür. 1956'da Serbest Radikallerin oluşturduğu hücre hasarı ile kanseri arasında ilişki olduğu belirtilmiştir (Droge, 2002).

Serbest radikaller, dış orbitlerinde eşlenmemiş bir elektrona sahip moleküller olarak tanımlanır. Bu moleküller genellikle kararsız olup, yüksek aktivite gösterirler. Serbest radikallere süperoksit, hidroksil, peroksil (RO₂), alkoksil (RO) ve hidroperoksil (HO₂) gibi moleküller örnek verebilir (Fang ve ark., 2002).

Reaktif Oksijen Türleri (ROS) ve Reaktif Azot Türleri (RNS) normal hücreşel metabolizmanın ürünleridir. ROS ve RNS canlı sistemler için zararlı ya da faydalı olabilirler (Valko ve ark., 2007). ROS tüm aerobik organizmalar tarafından oluşturulur ve indirgenir. Normal hücre fonksiyonu için gerekli moleküllerdir. Aşırı miktarlarda oluştuğunda oksidatif strese yol açmaktadır (Gill ve ark., 2010). UV ışığı, çevresel faktörler, toksinler ve metabolik süreç sonucunda ROS ve RNS üretilebilmektedir (Valko ve ark., 2006). Reaktif oksijen ve nitrojen türleri Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo1. Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türleri (Özden, 2006 ; Ekici ve ark., 2008)

Reaktif Oksijen Türleri	
Radikaller	Radikal olmayan
Süperoksit, $O_2^{\cdot-}$	Hidrojen peroksit, H_2O_2
Hidroksil, OH^{\cdot}	Hipokloröz asit, $HOCL$
Peroksil, RO_2^{\cdot}	Ozon, O_3
Alkoksil, RO^{\cdot}	Singlet Oksijen, 1O_2
Perhidroksil, HO_2^{\cdot}	Peroksinitrit, $ONOO^-$
	Hidroperoksit, $L(R)OOH$

Reaktif Nitrojen Türleri	
Radikaller	Radikal olmayan
Nitrik oksit, NO^{\cdot}	Nitrosil, NO^+
Nitrogen dioksit, NO_2^{\cdot}	Nitrikoksit, NO^-
	Nitroz asit, HNO_2
	Dinitrojen trioksit, N_2O_3
	Dinitrojen tetraoksit, N_2O_4
	Nitronyum iyonu, NO_2^+
	Peroksinitrit, $ONOO^-$
	Alkil peroksinitrit, $ROONO$

Fe^{3+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} ve Mo^{5+} benzeri olan geçiş metalleri eşleşmemiş e^- içermesine rağmen serbest radikal sayılmazlar, fakat serbest radikal oluşumunda rol oynarlar (Mısır 2013).

2.2.1. Serbest Radikal Oluşum Nedenleri

Serbest radikal oluşumu endojen ve ekzojen kaynaklı olarak iki farklı yoldan olabilir (Karabulut ve ark., 2016; Nagendrappa, 2005).

2.2.1.1. Endojen kaynaklar

- Mitokondride aerobik solunumda,
- İnflamasyon, yangı halinde,
- Lipit peroksidasyonu, ksantin oksidaz ve mitokondriyel sitokrom oksidaz tarafından,
- Endoplazmik retikulumda sitokrom p450 sistemi tarafından,

➤ İmmun sistem hücreleri patojenlere cevap olarak reaktif oksijen türleri ve oksijen radikallerini meydana getirebilirler (Mısır, 2013).

2.2.1.2. Eksojen kaynaklar

- UV ışınlar, gamma ışınları,
- Benzen, Asbest, karbonmonoksit, ozon, tolüen ve formaldehit gibi atmosfer kirleticiler,
- Temizlik imalatları, boya, tutkal, tiner, böcek ilaçları ve parfümler gibi kimyasal maddeler,
- Egzoz dumanı, sigara, alkol, eksojen kaynaklar olarak serbest radikal üretimine katkıda bulunabilirler (Mısır, 2013).

2.2.2. Serbest Radikallerin Genel Reaksiyonları

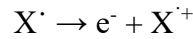
Serbest radikaller diğer formlarla birçok şekilde etkileşime girer.

I. İki serbest radikal bir araya geldiğinde, elektronları kovalent bir bağ oluşturmak üzere birleşir (Mısır, 2013).

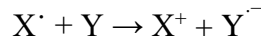


II. Serbest radikaller, radikal olmayan bir bileşik ile etkileşime girdiğinde, yeni bir radikal meydana gelir (Halliwell, 1994):

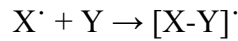
a) Okside edici radikal: Radikal, eşlenmemiş elektronunu eşlemek üzere radikal olmayan başka bir bileşikten elektron alabilir.



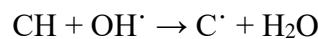
b) Redükte edici radikal: Radikal, eşlenmemiş elektronunu radikal olmayan bir bileşiğe verebilir.



c) Radikal, radikal olmayan bir bileşiğe birleşebilir.



d) Radikal, C-H bağından bir hidrojen atomu ayırabilir.

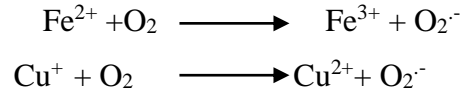


2.2.3. Serbest Radikal Türleri

2.2.3.1. Süperoksit Radikalleri (O₂⁻)

Aerobik hücrelerin hayatta kalması için oksijen şarttır (Flitter ve ark.,1983). Süperoksit radikali (O₂⁻), hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşan bir moleküldür.

İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu süperoksit radikali getirir.



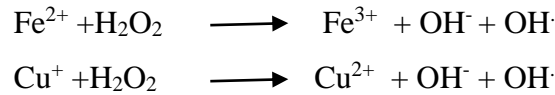
Süperoksit radikali ve perhidroksi radikali birbirleriyle reaksiyona girer biri okside olurken diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonunda oksijen ve hidrojen peroksit ortaya çıkar (Akyol, 2007).



O₂⁻ radikalleri hücrelerde redükte elektron taşıyıcılarının otooksidasyonu ile bulunmaktadır. O₂⁻ oluşumu; elektron transportunun redoks durumuna ve ortamdaki oksijen konsantrasyonu ile ilişkilidir. Uzun bir yarı ömre ve yağ seven özelliklere sahiptir. Bu yüzden oluştuğu yerden uzak alanlara difüzyonla hareket etmektedir (Turan, 2012).

2.2.3.2. Hidroksil Radikalleri (OH[·])

Hidroksil radikali (OH[·]), en güçlü serbest radikaldir. Hidrojen peroksitten hidroksil radikali (OH[·]), Haber-Weiss reaksiyonu ve Fenton reaksiyonu sonucunda hidroksil radikali oluşur. Üstelik, suyun yüksek enerjili iyonlaştırıcı radyasyona maruz kalması sonucunda oluşur (Mısıır, 2013).



OH[·] radikali çok reaktiftir, yarılanma ömrü kısadır. Bulunduğu yerde yağ asitler ve tiyoller gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak karbon merkezli radikaller (R[·]), tiyil radikalleri (RS[·]), organik peroksitler (RCOO[·]) benzeri yeni radikaller meydana çıkar ve bunun sonucunda büyük hasar meydana gelir (Akyol, 2007). Hidroksil radikalleri protein, lipid, ve nükleik asitlerle (DNA ve RNA) reaksiyona girip, ciddi hasarlar

oluşturabilmektedirler. DNA' nın baz ve şeker yapılarında OH•radikali zincir kırıkları oluşturabilmektedir. Hasar çok şiddetli ise, hücrel koruma sistemleri tarafından tamir edilemez ve hücrelere zarar verebilir (Halliwell, 1994).

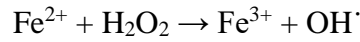
2.2.3.3. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Moleküler oksijenin etrafındaki moleküllerden iki elektron alır veya süperoksitten bir elektron alır. Sonuçta peroksit ortaya çıkar. Peroksit molekülü de iki hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksit meydana getirir (Mısıır, 2013). H₂O₂, süperoksit dismutaz tarafından katalizlenen dismutasyon reaksiyonu sonucu meydana gelir. İki süperoksit molekülü iki proton alarak H₂O₂ ve moleküler oksijen oluşturur. Reaksiyon sonucu radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden bu bir dismutasyon reaksiyonu olarak tanımlanır (Gutteridge, 1995; Tekkeş, 2006).

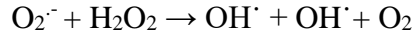


H₂O₂ tamamen serbest radikal değildir, ancak biyolojik membranlara kolayca nüfuz edebileceği için çok önemlidir (Gutteridge, 1995).

Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türlerinden sayılır. Çünkü geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu, O₂⁻ radikalinin varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucu yüksek reaktif ve zararlı serbest oksijen radikali olan OH• radikali ortaya çıkar (Özden, 2006).



Fenton Reaksiyonu



Haber – Weiss Reaksiyonu

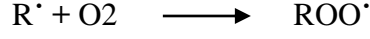
2.2.3.4. Hipoklorik Asit (HOCl)

Nötrofiller, stoplazmada bulunan myeloperoksidaz (MPO) enziminin katalizlediği reaksiyonla güçlü oksidatif hipokloridi ortay çıkarırlar (Hawkins ve ark.,2003).



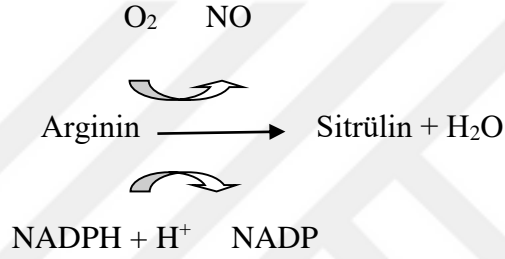
2.2.3.5. Peroksil Radikali (ROO[•])

R[•] radikalleri hızlı bir şekilde oksijen ile etkileşime girerek ROO[•]i oluşturur. ROO[•] lipid peroksidasyonunu başlatan bu radikallerdir (Valko ve ark., 2004).



2.2.3.6. Nitrik Oksit (NO[•])

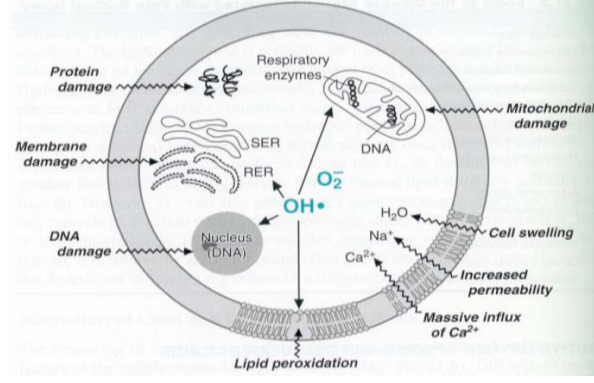
Memeli hücrelerinde NO başlıca NOS' un (NO-Sentaz) aktivitesi sonucunda sentezlenir. NOS, oksijen kullanarak L-argininden sitrülün ve NO molekülerinin oluşmasını sağlar (Mayer ve ark.,1997).



Ortaklanmamış elektronu sebebiyle bir serbest radikal grubu olarak bazı memeli hücre türlerinde üretilen NO; platelet agregasyonunda, lökosit adezyonunda, hücre aracılı immün sitotoksitesinde, sinaptik geçirgenlikte sinyal molekülü olarak önemli rol oynar (Mayer ve ark.,1997).

2.2.4.Serbest Oksijen Radikallerinin Etkileri

Yapılan çalışmalarda, serbest radikaller proteinler, lipitler, karbonhidratlar ve nükleotitlere zarar verebileceği açıkça görülmüştür (Devasagayam ve ark., 2003). Bu nedenle, vücudumuzdan savunma sistemleri yeterli bir şekilde çalışmaz ise; serbest radikaller çeşitli metabolik ve hücrel rahatsızlıklar oluşturur. Hücre ve dokularda ROS'un etkisi şekil 1' de gösterilmiştir.



Şekil 1. Hücre ve dokularda ROS'un etkisi (Tokaç, 2007).

2.2.4.1. Serbest Radikallerin Lipitler Üzerine Etkisi

Hücrelerdeki organellerin membranlarında bulunan lipitler, serbest radikal hasarına karşı oldukça duyarlıdır. Serbest radikaller lipitler ile etkileşime girdiğinde, oluşan lipit peroksidasyonu zararlı etkilere neden olur. Lipit peroksidasyonu sonucu çok miktarda toksik yan ürün üretilir (Devasagayam ve ark., 2003). Hücre membranının akışkanlığı ve geçirgenliği lipit peroksidasyonu sonucunda bozulur ve hücre membranında tahribata nede olur. Lipit peroksidasyonu serbest radikallerin etkisiyle başlayabilir. Oluşan karbon radikalleri kaskadı başlatarak lipit peroksil ($LOO\cdot$) ve lipit hidroperoksit radikallerini ($LOOH$) meydana getirirler (Karabulut ve ark., 2016; Devasagayam ve ark., 2003; Valko ve ark., 2007). Oluşan lipit hidroperoksit radikallerini ($LOOH$) geçiş metalleri iyon katalizörlüğünde yıkımı gerçekleşir. $LOOH$ yıkıldığında aldehitler meydana gelir. Bu aldehitler hücrede ya metabolize olurlar ya da hasar oluştururlar. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucunda malondialdehit (MDA) ortaya çıkar. Malondialdehit idrarda ve kanda ortaya çıkar. Yağ asidi oksidasyonu için niceliksel bir gösterge olmamakla beraber lipit peroksidasyonunun derecesini gösterir. Bu yüzden malondialdehit ölçülmesi lipit peroksit düzeyinin. indikatörü olarak kullanılabilir. Lipit peroksidasyonu zararlı bir zincir reaksiyonudur. Membran yapısına, hücre bileşenlerine zarar verir ve doku hasarını meydana getirirler (Karabulut ve ark., 2016; Devasagayam ve ark., 2003; Valko ve ark., 2007).

2.2.4.2. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkisi

Proteinler serbest radikallere karşı lipitlere göre daha az hassasiyet gösterirler. Proteinlerin serbest radikallerden etkilenme derecesi içerdiği amino asit kompozisyonuna göre değişmektedir. Sülfür ve doymamış bağ molekülleri (histidin, triptofan, fenil alanin tirozin, metionin ve sistein) içeren proteinler serbest radikallerle daha kolay reaksiyona girerler (Devasagayam ve ark., 2003). Serbest radikaller yapısal proteinlerin aktivitesini inhibe ederek birçok proteine zarar verebilirler. Reaktif oksijen türleri ve reaktif azot türlerinin neden olduğu protein oksidasyonu sonucunda, protein hidroperoksitler gibi kararlı ve yüksek derecede reaktif ürünler ortaya çıkar. Çeşitli hastalıkların yanı sıra yaşlanma ile ilgili hasarlara da neden olurlar (Devasagayam ve ark., 2004; Sarma ve ark., 2010).

2.2.4.3. Serbest Radikallerin DNA Üzerine Etkisi

Reaktif oksijen türleri ve reaktif azot türleri DNA ile reaksiyona girerek oksidatif hasar oluşumuna neden olurlar. Serbest radikaller DNA ile etkileşime girer şeker yapısından hidrojen atomu kaybına veya eklenmesine neden olabilir. Özellikle, pirimidinin C4-C5 çift bağı hidroksil radikalının saldırılarına karşı duyarlıdır. Bu saldırılar sonucunda urasil glikol, timin glikol, 5-hidroksideoksiüridin, üre kalıntısı, 5-hidroksideoksisitidin ve hidantoin gibi oksidatif pirimidin hasar ürünleri oluşur. Pürinler, hidroksil radikal saldırılarına karşı çok hassastır. Bu saldırılar 8-hidroksi deoksiguanozin ve 8-hidroksi deoksiadenozin formamidopirimidin ürünlerini meydana getirir. Serbest radikal saldırıları bununla birlikte poli sentetaz enziminin (ADP-riboz) aktivasyonuna sebep olur. Bu enzimin aktivasyonu apoptoz ve DNA'nın parçalanması sağlayabilir (Karabulut ve Gülay, 2016; Devasagayam ve ark., 2004; Fang ve ark., 2002; Sarma ve ark., 2010; Kuraoka ve ark., 2001).

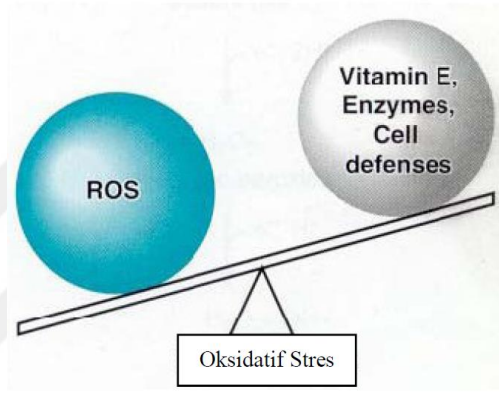
2.2.4.4. Serbest Radikallerin Karbonhidratlar Üzerine Etkisi

Birçok ürün serbest radikallerin karbonhidratlar üzerindeki etkisinden kaynaklanır ve bu ürünler birçok hastalığa neden olur. Serbest

radikallerden dolayı; diyabet, koroner kalp hastalığı, hipertansiyon, kanser gibi birçok hastalık oluşur (Karabulut ve ark., 2016).

2.2.5. Oksidatif Stres

Vücuttaki serbest radikallerin oluşumu ve antioksidan savunma sistemi tarafından bu radikallerin ortadan kaldırılmasında bir denge söz konusudur. Eğer bu denge pozitif durumda ise vücut serbest radikallerden etkilenmez. Serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin serbest radikaller lehine kayması sonucunda hücre hasarları meydana gelebilmektedir (Sies, 2000).



Şekil 2. Oksidatif stres durumu (Akagün, 2009).

Oksidatif stres hücre hasarıyla birçok kronik hastalığın komplikasyonlarına katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Oksidatif stressin kanser, ateroskleroz, kronik inflamasyon hastalıkları, diyabet, santral sinir sistemi bozuklukları, yaşlanma ve hücresel yıkım, hücre hasarı ve hücre ölümü gibi pek çok biyolojik sürecin patogeneğinde rol oynadığı düşünülmektedir (Mazlum, 2009).

2.2.6. Antioksidan Savunma Sistemleri

Serbest radikallerin hücresel yapılara vereceği hasarı engellemek veya onarılmak için antioksidan sistemler vardır. Hücre içi ve dışı ortamda farklı antioksidan savunma sistemleri vardır (Gürsoy, 2008).

İnsan hücrelerin bulunan en önemli antioksidanlar SOD, CAT ve GPx enzimleridir. Süperoksit dismutazın yapısında çinko, bakır manganez; GPx'de ise selenyum iyonu olduğundan bu enzimler metaloenzim olarak da isimlendirirler. Hücre dışı sıvılarda enzimatik antioksidan sistemin aktivitesi

sınırlıdır. Bu yüzden hücre dışında önemli olarak E vitamini, askorbik asit, transferrin, seruloplazmin, haptoglobin, albumin, β -karoten, bilirubin, ürik asit, sistein, glukozdur (Demir 2010; Halliwell, 1991).

Yapılan çalışmalarda, basit fenolik asitler, flavonoidler ve karotenoidler gibi doğal bileşiklerin serbest reaktif oksijen temizleyicilerde oldukça etkili olduğu gösterilmiştir, ancak bunların kendilerinin de reaktif sekonder radikaller olabileceğine ilişkin sonuçlar bulunmaktadır. Bu radikaller hücre içine girerek proteinler, lipidler ve DNA'ya sitotoksik ve genotoksik meydana getirebilirler (Breinholt ve ark., 2003).

Gıdalardaki anti-kanser bileşiklerinin antioksidan özelliklere sahip olduğu bilinmektedir. Kansere karşı antioksidan etkinin koruyucu rolü henüz açıklığa kavuşturulmamıştır (Breinholt ve ark., 2003).

2.2.6.1. Antioksidan Etki Mekanizmaları

Koruma için kullanılan antioksidanlar dört ana gruba ayrılır. Bunlar;

- **Toplayıcı etki:** Serbest radikallerin tutarak ya da daha zayıf bir moleküle dönüştürerek etkileme işlemidir.
- **Bastırıcı etki:** Serbest radikallerin etkileşime giren ve onları hidrojene dönüştüren, aktivitelerini azaltan ve aktif olmayan forma dönüştüren bir mekanizmadır.
- **Onarıcı etki:** Serbest radikallerin neden olduğu hasar üzerinde onarıcı bir etkiye sahiptirler.
- **Zincir kırıcı etki:** Serbest oksijen radikallerin bağlanarak zincirlerini kırar ve fonksiyonlarını önleyen bir mekanizmadır (Valko ve ark., 2004; Demir 2010; Vercruysse ve ark., 2009; Çakıroğlu, 2010).

2.2.6.2. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanların sınıflandırılmasında doğal ve sentetik antioksidanlar olarak ikiye ayrılırlar. Tablo 2'de doğal ve sentetik antioksidan sistemde görevli moleküller gösterilmektedir.

Tablo 2. Antioksidanların sistemi (Yavaşer, 2011).

Doğal antioksidanlar		Sentetik antioksidanlar	
Enzimatik	Enzimatik olmayan		
SOD	Glutasyon	E Vitamini	BHT
Katalaz	Serüloplazmin	β-Karoten	BHA
Glutasyon peroksidaz	Bilirubin	Askorbik Asit	Troloks
Glutasyon redüktaz	Ferritin	Flavonoidler	
Glutasyon-S-transferaz	Laktoferrin		
	Ürik asit		
	Haptoglobinler		
	Albumin		

2.2.6.2.1.Süperoksit dismutaz (SOD)

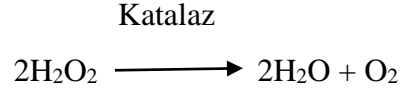
Süperoksit dismutaz süperoksitin hidrojen peroksit ve oksijene tek elektronlu dismutasyonunu katalizler.



İnsanda süperoksit dismutazın üç izomer tipi bulunmaktadır. Cu-Zn SOD (SOD1) sitozolde bulunur, Cu ve Zn içerir. Mn SOD (SOD2) mitokondride bulunur, Mn içerir. Ekstrasellüler süperoksit dismutaz (EC SOD) hücre dışı sıvılarda bulunur. SOD'ın fizyolojik işlevi oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının ($O_2^{\cdot-}$) lipid peroksidasyonu gibi zararlı tesirlerine karşı korumaktır (Chaudiere ve ark., 1999).

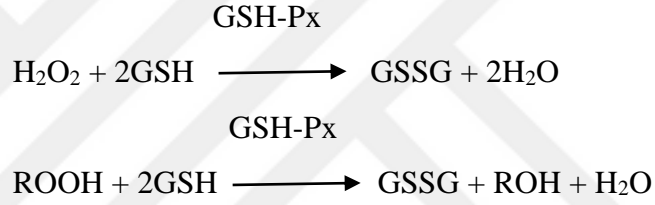
2.2.6.2.2.Katalaz (CAT)

Katalaz enzimi aerobik hücrede bulundurur. Böbrek, miyokard, karaciğer, eritrositler ve çizgili kaslar da katalaz en fazla olarak bulunur. Katalaz enzimi, hidrojen peroksidi suya ve oksijene dönüştürür. Süperoksit dismutaz aktivitesinden oluşan Hidrojen peroksit bir radikal olmamasına rağmen reaktif tür olan Hidroksil radikalının kaynağı olduğu için oksidatif hasar meydana getirebilir. Katalaz enzimi hidrojen peroksitin iki elektronunun su ve oksijene dismutasyonunu katalizleyerek hidrojen peroksit konsantrasyonunu azaltır (Yavaşer, 2011).



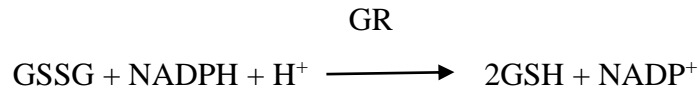
2.2.6.2.3. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px)

Glutatyon peroksidaz enzimi sitozolde bulunan bir enzimdir, 4 selenyum atomu içerir. Glutatyon peroksidaz, hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. Selenoenzimler türlerinden biri olan Glutatyon peroksidaz, Hidrojen peroksit varlığında hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumludur. Organik hidroperoksitler, alkole, H_2O_2 ve suya indirgenir, aynı zamanda glutatyon (GSH) glutatyona (GSSG) yükseltgenir (Yavaşer, 2011; Chaudiere ve ark., 1999).



2.2.6.2.4. Glutatyon Redüktaz (GR)

Glutatyon redüktaz, **Glutatyon peroksidaz** aracılığıyla hidroperoksitlerin indirgenmesi sonucu oluşan okside glutatyonun (GSSG) yeniden indirgenmiş glutatyona (GSH) değişimi katalizeler (Pektaş, 2009).



2.2.6.2.5. Askorbik asit (C Vitamini)

Askorbik asit düşük molekül kütleli, suda çözünen bir vitamindir. Bu yüzden idrarla atılır ve vücutta depolanmaz bu nedenle her gün dışarıdan alınması gerekmektedir. Bu antioksidan kollajen sentezi, demir absorpsiyonu ve hücrelerin indirgenmiş durumunun korunmasında kullanılmaktadır (Yavaşer, 2011).

2.2.6.2.6.Tokoferoller (E Vitamini)

Tokoferoller doğada 4 (α , β , γ , δ) şekilde bulunur. En yaygın E vitamini d- α tokoferoldür. Tokoferoller yağda çözünen vitaminlardır. E vitamini oksijen bulunmayan ortamlarda asit ve sıcaklığa dayanıklıdır. Eşleşmemiş elektronlarla tepkimeye girebilir. Radikal reaksiyonları esnasında zincir kırıcı etki gösterirler. Yapılarında indirgeyebilir hidroksil grubu bulunmaktadır (Antmen, 2005).

2.2.6.2.7.Flavonoidler

Flavonoidler bitki aleminde geniş bir dağılıma sahiptir ve en önemli grubu fenolik bileşiklerdir. Genellikle halka yapısı ve özel hidroksil grupları içerirler (Rice Evans ve ark., 1996). Flavonoidler kimyasal olarak güçlü antioksidan özelliklere sahiptir. Redoks reaksiyonlarına girebilirler çünkü aromatik halkada bulunan hidroksil grupları hidrojen verebilirler. Bu yüzden serbest radikalleri engeleyebilirler (Naczki ve ark., 2004).

2.2.6.2.8.Karotenoidler

Bitkilerde ve hayvansal dokularda bulunan bileşiklerdir. Karotenoidler iki fonksiyonlu sahiptir. Bitkilerde çiçek; meyvelerde rengini vererek fotosenteze yardımcı bileşiklerdir. Karotenoidler kompleks yapılu moleküllerdir. Antioksidan aktivite özellikleri gösterirler (Çöllü, 2007).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1.Etanolik *Origanum Hypericifolium* (EOH) Ekstraktının

Hazırlanması

C2 Muğla; Köyceğiz, Sandras Mountain, 1410 m, clearings of *Pinus nigra* (black pineormanı), 16.09.2017, M. Çiçek 2017-7-1 (Herb. M.Çiçek) tarafından toplandı. 55 g *Origanum Hypericifolium* bitkisinden alınarak 1000 mL Etanol, etil asetat ve n-hekzan içine ilave edilerek 45 dk boyunca 45°C'de, 150 rpm'de sonikasyon yapıldı. Bu işlem iki kez tekrar edildi. Elde edilen örnekler evaporatörde uçurularak ekstraktlar deney süresine kadar -20°C de bekletildi.

3.2.*Origanum Hypericifolium* HPLC analizi

Örnekler 0.20 µm boyutlu filtrelerden geçirilip DAD detektöre (Diode-Array Detektör; Perkin Elmer Model Flexar, ABD) sahip Perkin Elmer yüksek basınç sıvı kromatografisi (HPLC) sisteminde Brownlee Analitik C18 (4.6 x 250mm, 5µm) kolonu (Perkin Elmer) ile analiz edilmiştir. Ortofosforik asit ile pH'sı 2.5'e ayarlanan su Solvent A, asetonitril ise Solvent B olarak kullanılmıştır. (Demir ve ark., 2019) Örnekler 25 °C'de ve 0.8 mL/dk akış hızı ile %100-%57 su içinde asetonitril gradienti ile kolondan elüt edilmiştir (0- 10 dk %100 A, 8 dk %100-91 A, 10 dk %91-87 A, 8 dk %87-67 A, 14 dk %67-57 A).

3.3.DPPH Radikal Temizleme Aktivitesinin Belirlenmesi

DPPH tayini Cuendet ve ark. tarafından geliştirilen yönteme göre gerçekleştirildi. DPPH' radikali (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ticari olarak satın alınabilen bir radikal olup, bu radikalın 100 µM'lık etanolik çözeltisi kullanıldı. Bu yönteme göre; numune DPPH' radikali ile muamele edildi ve 50 dk süreyle karanlıkta bekletildi, sonrasında 517 nm'de spektrofotometrede absorban ölçümü yapıldı (Berköz ve ark., 2009). (Standart olarak askorbik asit kullanıldı).

Kullanılan çözeltilerin hazırlanışı

0,1 mM DPPH çözeltisi: 3,94 mg DPPH tartılmıştır, etanol ile çözülüp hacmi 100 mL' ye tamamlandı.

Askorbik asit çözeltisi: 4,40 mg askorbik asit 5 mL saf su ile çözülerek 50000µM'lik askorbik asit standartı elde edilmiştir. Bu çözeltilerden

25 kat dilüsyon ile 200 µM' lik standartı elde edilmiştir bundan da 7 seri dilüsyon yapılarak askorbik asit konsantrasyonları oluşturulmuştur.

Ekstraktlar: 1000 µg/mL konsantrasyonlarda stok çözeltilerden 96-kuyucuklu mikrotitrasyon plaklarının kuyucuklarına sırasıyla 100'er µL aktarılmıştır ve her ekstre kendi çözücüsü ile iki katlı 7 seri dilüsyon yapılarak seyreltilmiştir.

Deneyin yapılışı

Hazırlanan bitki ekstralarının DPPH radikalini süpürücü etkilerini belirlemek amacıyla yapılan pipetlemeler Tablo 3 'te gösterilmiştir. Pozitif kontrol olarak hazırlanan askorbik asit çözeltisi konsantrasyonları ve ekstraktlardan hazırlanan konsantrasyonlar ve negatif kontrol olarak çözücüler ve kör olarak da etanolden 500'er µL bulunan tüplerin kör hariç hepsine hazırlanan DPPH çözeltisinden 500'er µL eklenmiştir. Mikroplaklara hazırlanan tüm bu çözeltilerden 200'er µL alınmıştır ve 50 dakika süreyle karanlık bir ortamda inkübasyona bırakılmıştır. UV absorbans 517 nm'de mikroplate spektrofotometre kullanılarak oda sıcaklığında okunmuştur. Sonuçlar, ortalama ± standart sapma (n=3) olarak ifade edilmiş ve doğal antioksidan olarak kullanılan askorbik asit ile karşılaştırılmıştır. Numuneler ve standartların radikal süpürücü aktivitesi negatif kontrole oranla % olarak verilmektedir ve Eşitlik 1'e göre hesaplanmaktadır (Yu ve Haley ve Perret ve Harris ve Wilson ve Qian, 2002).

$$\% \text{ RSP} = \frac{\text{kontrol absorbansı} - \text{numune absorbansı}}{\text{kontrol absorbansı}} \times 100 \quad (\text{Eşitlik 1})$$

Tablo 3. DPPH tayini için deney esnasında yapılan pipetlemeler

	Kontrol	Numune	Standart
Çözücüler	500 µL	-	-
DPPH çözeltisi	500 µL	500 µL	500 µL
Ekstraktlar (değişik konsantrasyonlarda)	-	500 µL	-
Standart (değişik konsantrasyonlarda)	-	-	500 µL

3.4. Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi

Toplam fenolik madde tayini Horzic ve ark tarafından modifiye edilmiş Folin-Ciocalteu metoduna göre spektrofotometrik olarak belirlendi. Metod, fosfotungstik asitin ($H_3P[W_3O_{10}]_4$) bazik çözeltide fosfotungstik mavisine indirgenmesi esasına dayanır. Bu yönteme göre; numune Folin-Ciocalteu reaktifi ve % 20' lik Na_2CO_3 çözeltisi muamele edildi ve oda sıcaklığında, karanlıkta 30 dakika inkübe edilip ve 700 nm' de absorbans ölçümü yapıldı. Oluşan fosfotungstik mavisinin absorbansı aromatik fenolik grupların sayısı ile orantılıdır ve toplam polifenol içeriğinin belirlenmesi amacıyla standart olarak gallik asit kullanıldı (Dinçer ve ark., 2000).

Kullanılan çözeltilerin hazırlanışı

%20'lik Na_2CO_3 çözeltisi: 10 g Na_2CO_3 tartılmıştır, saf su ile çözülüp hacmi 50 mL'ye tamamlanmıştır.

1:10 Folin-Ciocalteu reaktifi: 1 mL 2 N Folin-Ciocalteu reaktifi, 9 mL saf su eklenerek 1.10 oranında seyreltilmiştir. Analiz öncesi hazırlanarak taze olarak kullanılmıştır.

Standartlar: 10 mg gallik asit 1 mL saf su ile çözülerek 10000 $\mu g/mL$ 'lik gallik asit standartı elde edilmiştir. Bundan 1000 $\mu g/mL$ 'lik standart hazırlanarak saf su ile çözülmüştür. 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.5625 $\mu g/mL$ 'lik gallik asit standartları seri dilüsyon ile oluşturulmuştur.

Ekstraktlar: Ekstrelerden 1000 $\mu g/mL$ konsantrasyonlarda stok çözeltileri hazırlanmıştır. 1000 $\mu g/mL$ konsantrasyonunda hazırlanan bitki ekstraktları 1:50 oranında seyreltilerek 20 $\mu g/mL$ konsantrasyonlar oluşturulmuştur.

Deneyin yapılışı

Tablo 4 'te belirtilen pipetlemeler 96 kuyucuklu mikropakta yapılmıştır. Mikropaklar oda sıcaklığında karanlıkta 30 dakika inkübe edilmiştir. 700 nm'de absorbans ölçülmüştür. Her örnek için ölçümler üç kere tekrarlanmıştır (n=3). Sonuçlar gallik asit standart grafiğinden yararlanılarak $\mu g/mL$ olarak hesaplanmıştır (Slinkard ve ark., 1977).

Tablo 4. Toplam polifenolik içerik tayini pipetlemeleri

	Kör	Numune	Standart
Çözücüler	12.5 µL	-	-
Ekstraktlar	-	12.5 µL	-
Standart	-	-	12.5 µL
1:10 Folin-Ciocalteu reaktifi	62.5 µL	62.5 µL	62.5 µL
%20'lik Na₂CO₃ çözeltisi	125 µL	125 µL	125 µL

3.5. Toplam Flavonoid İçerik Tayini

Ekstraktların toplam flavonoid içeriği Chang ve ark tarafından geliştirilen yöntemle göre gerçekleştirildi. Metodun prensibi, AlCl₃'ün flavonlar ve flavonollerin C-4 keto grubu ve C-3 veya C-5 hidroksil grupları ile asitte kararlı kompleksler oluşturması esasına dayanmaktadır. Bu yöntemde %80 lik etanol, %10 Al(NO₃)₃ çözeltisi ve 1 M KCH₃COO çözeltisi eklenerek örnekle muamele edildi. Oda sıcaklığında, karanlıkta 40 dakika inkübe edilip ve 415 nm de ölçümü yapıldı. Bu metoda göre standart olarak kuersetin kullanıldı (Lima ve ark., 2006).

Kullanılan çözeltilerin hazırlanışı

%80'lik etanol çözeltisi: 80 mL'lik saf etanolün hacmi saf su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

1 M KCH₃COO çözeltisi: 2.454 g KCH₃COO tartılıp saf su ile çözülerek hacmi 25 mL'ye tamamlanmıştır.

%10'luk Al(NO₃)₃ çözeltisi: 2.5 g Al(NO₃)₃ tartılıp saf su ile çözülerek hacmi 25 mL'ye tamamlanmıştır.

Standartlar: 10 mg kuersetin 800 µL saf etanol ile çözülerek hacmi saf su ile 1000 µL'ye tamamlanmıştır ve böylelikle 10000 µg/mL'lik kuersetin standartı elde edilmiştir. Bu ana stoktan 1:10 dilüsyon ile 1000 µg/mL'lik standart hazırlanarak %80'lik etanol ile çözülmüş ve 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 ve 1.5625 µg/mL'lik kuersetin standartları seri dilüsyon ile oluşturulmuştur.

Ekstraktlar: 1000 µg/mL konsantrasyonlarda stok çözeltilerden 1:20 oranında seyreltilerek 50 µg/mL konsantrasyonlar oluşturulmuştur.

Deneyin yapılışı

Hazırlanan bitki ekstralarının toplam flavonoid içeriklerini belirlemek amacıyla 96 kuyucuklu mikroplate yapılan pipetlemeler Tablo 5 'te gösterilmiştir. Pipetlemeler sonrası mikroplate oda sıcaklığında, karanlıkta 40 dakika inkübe edilmiştir. 415 nm'de mikroplate okuyucuda absorbanslar ölçülmüştür. Sonuçlar kuersetin standart grafiğinden yararlanılarak $\mu\text{g/mL}$ olarak hesaplanmıştır (Chang ve ark., 2002).

Tablo 5. Toplam falvonoid içerik tayini pipetlemeleri

	Kör	Numune	Standart
Çözücüler	20 μL	-	-
Ekstraktlar	-	20 μL	-
Standart	-	-	20 μL
%80'lik Etanol	172 μL	172 μL	172 μL
%10'luk $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$	4 μL	4 μL	4 μL
1M KCH_3COO	4 μL	4 μL	4 μL

3.6.FRAP Antioksidan Gücünün Belirlenmesi

FRAP [Demir (III) indirgeme antioksidan güç] tayini Benzie ve Strain tarafından geliştirilen yönteme göre gerçekleştirildi. Bu yönteme göre; FRAP reaktifi denilen 0,2 M PH:6.6 Fosfat Tamponu (2.137 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve 1.121 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ kullanılarak hazırlanmış), %1'lik $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, %10' luk TCA ve %0.1'lik FeCl_3 çözeltileri karıştırıldıktan sonra numune ile muamele edildi ve 20 dakika süreyle karanlıkta bekletildi, sonrasında 700 nm'de spektrofotometrede absorbans ölçümü yapıldı (Harris, 1992).(Standart olarak troloks kullanıldı).

Kullanılan çözeltilerin hazırlanışı

0.2 M PH:6.6 Fosfat Tamponu: 2.137 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve 1.121 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartılarak karıştırılmıştır. Saf su eklenerek 90 ml'ye kadar çözüldü. Daha sonra pH' sı 6.6'ya ayarlanarak hacmi saf su ile 100' ml tamamlanmıştır.

%1'lik $K_3Fe(CN)_6$ çözelti: 1 g $K_3Fe(CN)_6$ tartıldı, saf su ile çözülüp hacmi 100 mL'ye tamamlanmıştır.

%10' luk TCA çözelti: 5 g TCA tartıldı, saf su ile çözülüp hacmi 50 mL'ye tamamlanmıştır.

%0.1'lik $FeCl_3$ çözelti: 0.1 g $FeCl_3$ tartıldı, saf su ile çözülüp hacmi 100 mL'ye tamamlanmıştır.

Standartlar: 0.001 g troluks 1 mL saf su ile çözülerek 10000 $\mu g/mL$ 'lik troluks standartı elde edilmiştir. Bundan 1000 $\mu g/mL$ 'lik standart hazırlanarak saf su ile çözülmüştür. 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.5625 $\mu g/mL$ 'lik troluks standartları seri dilüsyon ile oluşturulmuştur.

Deneyin yapılışı

Ekstraktlar ve körler 1:100 oranında saf su ile seyretildi. Deney modifiye edilerek spektrofotometrik kuvvetler yerine tablo 6' deki pipetlemelerin ilk altı aşaması 1,5 ml'lik ependroflarda, sonraki aşamalar ise 96 kuyucuklu mikroplyette yapıldı (Oyaizu, 1986).

Tablo 6. Etanol ekstraktlarında demir (Fe^{+3})indirgeyici güç tayini

	Kör	Numune	Standart
Etanol	40 μL		
Ekstrakt		40 μL	
Standart			40 μL
0.2M PH:6.6Fosfat	100 μL	100 μL	100 μL
Tamponu			
%1'lik $K_3Fe(CN)_6$	100 μL	100 μL	100 μL
50 ⁰ C 20 dakika inkübe edildi ve soğutuldu			
%10' luk TCA	100 μL	100 μL	100 μL
Üstteki fazlalardan 100'er μL alınarak 96 kuyucuklu mikroplyette aktardı.			
Saf su	100 μL	100 μL	100 μL
%0.1'lik $FeCl_3$	20 μL	20 μL	20 μL

Oda sıcaklığında, karanlıkta 5 dakika inkübe edildi.

700 nm' de mikroplyet okuyucuda absorbans ölçüdü.

3.7.Oksidan Olarak Cu (II) Kullanılan Toplam Antioksidan

Kapasite Yöntemi (CUPRAC)

Cuprac iyon indirgeme antioksidan kapasite tayini Apak vd. (2004)'a göre yapıldı. 10^{-2} M CuCl_2 , 7.5×10^{-3} M neokuproin çözeltileri ve 1 M Sodyum asetat tamponundan (pH =7) 1'er mL alındı. Üzerine son hacim 4.1 mL olacak şekilde saf su ilave edildi. 30 dakika süreyle karanlıkta bekletildi, sonrasında 450 nm'de spektrofotometrede absorbans ölçümü yapıldı (Arkan, 2011).

Kullanılan çözeltilerin hazırlanışı

10-2 M Cu(II) klorür çözeltisi: CuCl_2 'den 0.33 g tartılarak su ile 250 ml'ye tamamlanarak hazırlandı.

Sodyum asetat tamponu: 1 M (pH=7). NaAc'dan 0.77 g tartılarak su ile 10 ml'ye tamamlanarak hazırlandı.

Neokuproin çözeltisi: 7.5×10^{-3} M, Neokuproin (2.9 dimethyl 1-10 phenantroline)'den 0.039 g tartılarak %96'lık etil alkolle 25 ml'ye tamamlanarak hazırlandı.

Deneyin yapılışı

Bitki ekstraktlarının 50 mg/ml ile 400µg/ml arasındaki beş farklı konsantrasyonları kullanıldı. Metotta öncelikle her bir deney tüpüne 1 ml 10nM CuCl_2 , 1 ml 7.5 mM neokuproin, 1 ml (1M, pH 7.0) Na Ac tamponu çözeltisi eklenir. Daha sonra her bir tüpe farklı konsantrasyonlardaki ekstraktlardan 0.5 ml eklenip, toplam hacim 4.1 mL olacak şekilde saf su ilave edildi. Tüpler ağızları kapalı bir biçimde oda sıcaklığında karanlıkta 30 dakika beklendi. Bu süre sonunda absorbansları 450 nm'de okundu (Arkan, 2011).

3.8.Toplam Antioksidan Statü (TAS)Tayini

Toplam antioksidan statüyü belirlemek amacıyla Rel Assay Diagnostics tarafından üretilen ticari kit kullanıldı. Bu metoda göre, örnekteki antioksidanlar koyu mavi-yeşil renkli ABTS radikal şeklinden, renksiz indirgenmiş ABTS formuna indirgenir. 660 nm' de absorbansın değişimi örneğin toplam antioksidan kapasitesi ile ilişkilidir. Tayin, vitamin E analogu olan ve Troloks eşdeğeri (Troloks Equivalent) olarak adlandırılan kararlı standart antioksidan çözelti olarak kullanılan referans madde ile

kalibre edildi. TAS ölçümü kit prosedürüne uygun olarak aşağıdaki tablo 7’de yapılmıştır.

Tablo 7. TAS ölçümü kit prosedürü

Örnek veya standart	9 µL
Reagent 1(Buffer solution,Acetate Buffer)	150 µL
Karıştırılıp absorbans (A1) 660 nm okundu	
Reagent 2(Prochromogen Solution, ABTS)	225 µL
37 ⁰ C 5 dk inkübasyondan sonra absorbans (A2) 660 nm okundu	

Hesaplama

$A_2 - A_1 = \Delta A$ Absorbanslar arası fark alındıktan sonra aşağıda verilen eşitlik 2’ye göre hesaplanır.

$$x = \frac{\Delta A(\text{örnek})}{\Delta A(\text{standart})} \times 20 \quad (\text{Eşitlik 2})$$

3.8.Toplam Oksidan Statü (TOS)

TOS tayini Erel tarafından geliştirilen yöntemle gerçekleştirildi. Bu yöntemde, R1 reaktifi (H₂SO₄) içerisinde ksilenol orange ve NaCl çözünür (pH=1.75 ayarlanır) ve gliserol ilavesi ile hazırlanır, R2 reaktifi (H₂SO₄) içerisinde demir amonyum sülfat heksahidrat ve o-dianizidin dihidroklorür çözünmesiyle hazırlanarak kullanıldı. Örnek R1 reaktifiyle muamele edilip ve 530 nm de absorbans ölçümü yapıldı. Sonrasında R2 reaktifi ilave edilerek, 5 dk oda sıcaklığında inkübasyona bırakılıp ve 530 nm de absorbans ölçümü yapıldı. TOS ölçümü kit prosedürüne uygun olarak aşağıdaki tablo 8’ yapılmıştır.

Tablo 8. TOS ölçümü kit prosedürü

Örnek veya standart	15 µL
Reagent 1(Buffer solution, H ₂ SO ₄)	100 µL
Karıştırılıp absorbans (A1) 530nm okundu	
Reagent 2(Substrate solution, H ₂ SO ₄ ,Ferrousion,O-dianisidine)	5 µL
37 ⁰ C 5 dk inkübasyondan sonra absorbans (A2) 530nm okundu	

Hesaplama

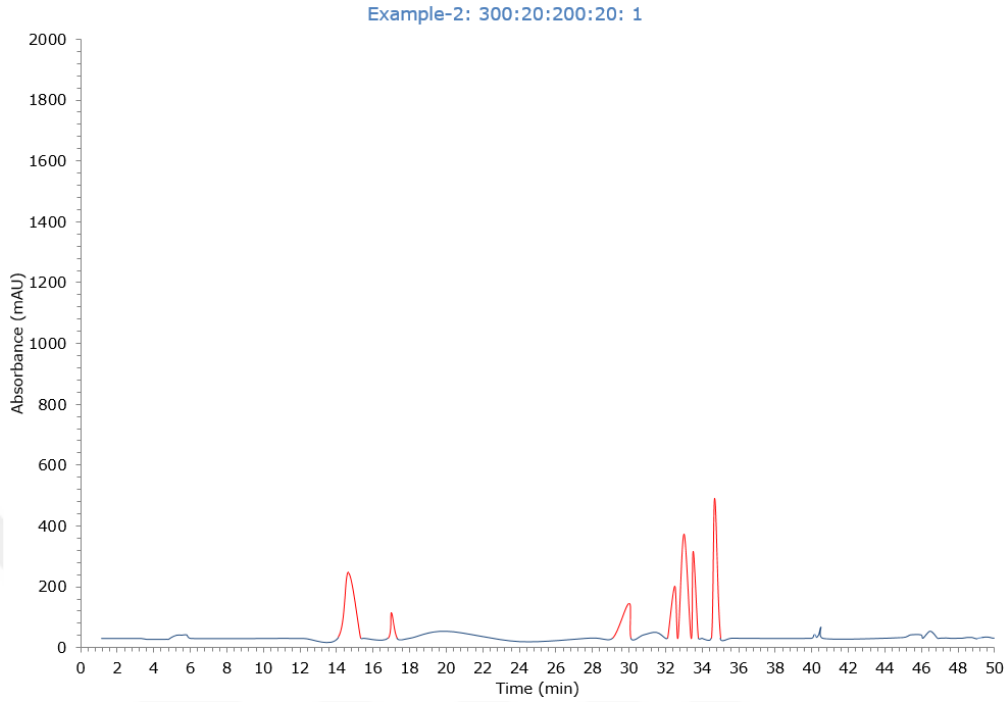
$A_2 - A_1 = \Delta A$ Absorbanslar arası fark alındıktan sonra aşağıda verilen eşitlik 3'ye göre hesaplanır.

$$x = \frac{\Delta A(\text{örnek})}{\Delta A(\text{standart})} \times 20 \quad (\text{Eşitlik 3})$$



4. BULGULAR

4.1. HPLC ANALİZİ



exam-2	R.T.	Stand.	mg /g plant
1	14,6	Naringenin	90,4626
2	17,1	Rosmarinic asit	287,3615
3	30	Karvakrol	141,0442
4	32,4	Thymol	173,4577
5	33	Kafeik asit	204,5225
6	33,8	Kumarik asit	696,1726
7	34,7	Myricetin	539,198

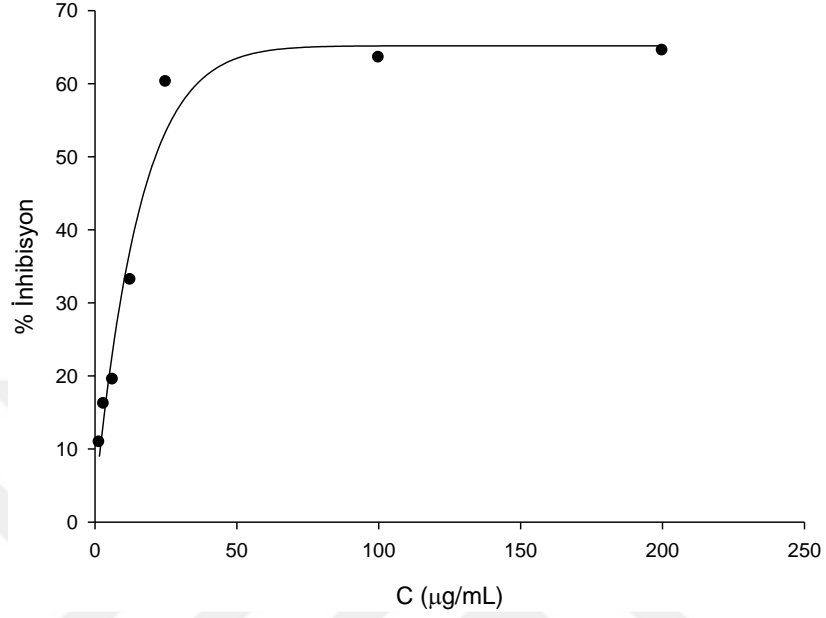
Yapılan HPLC analizi sonucunda Etanol ekstraktın da Karvakrol, Timol, Kafeik asit, Kumarik asit ve Mirisetin ana bileşenlerine bol miktarda rastlanmıştır.

4.2.DPPH Radikal Temizleme Aktivitesinin Belirlenme

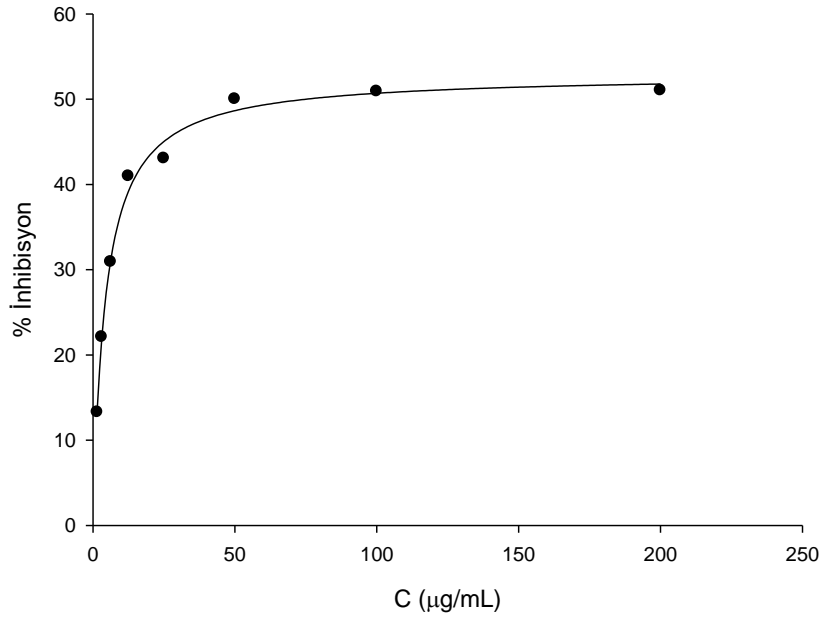
Sonuçları

DPPH radikali doğal antioksidanların serbest radikal temizleme aktivitesini belirlemek için kullanılır. *Origanum Hypericifolium* farklı çözücülere ait ekstraktlarının serbest radikal süpürücü etkileri DPPH radikaliyle tayin edildi. DPPH çözeltisi mor renklidir. Antioksidan bir bileşik ile etkileştiğinde yapısı değişerek sarı bir renk oluşturur ve yeni bir bileşik meydana getirir. Renk değişikliğinin oranı, antioksidanın derişimi ile orantılıdır. Çalışmadaki *Origanum Hypericifolium* ekstraktların DPPH

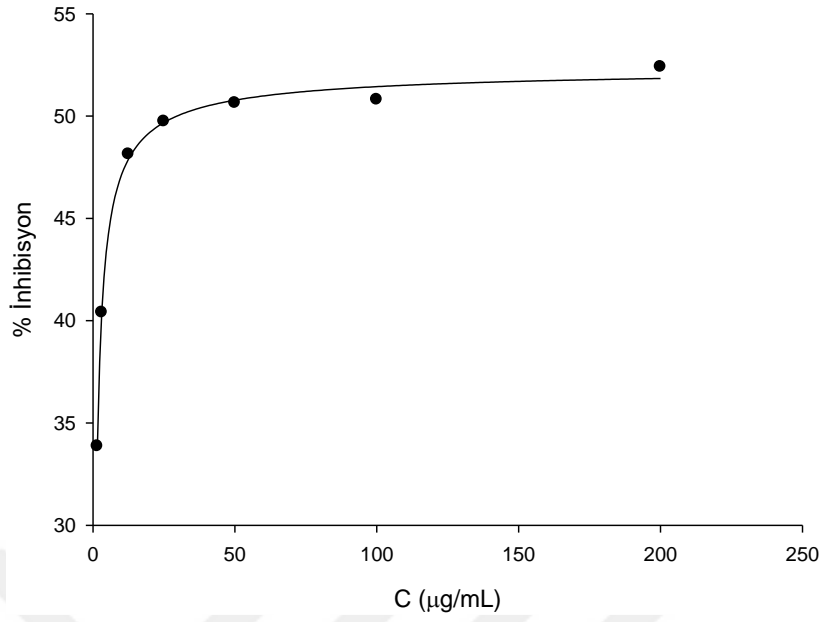
serbest radikali temizleme aktivitelerine ait derişim(C)-% inhibisyon grafikleri Şekil (4-6)'da gösterilmektedir. Standart olarak askorbik asit kullanıldı (Şekil 7).



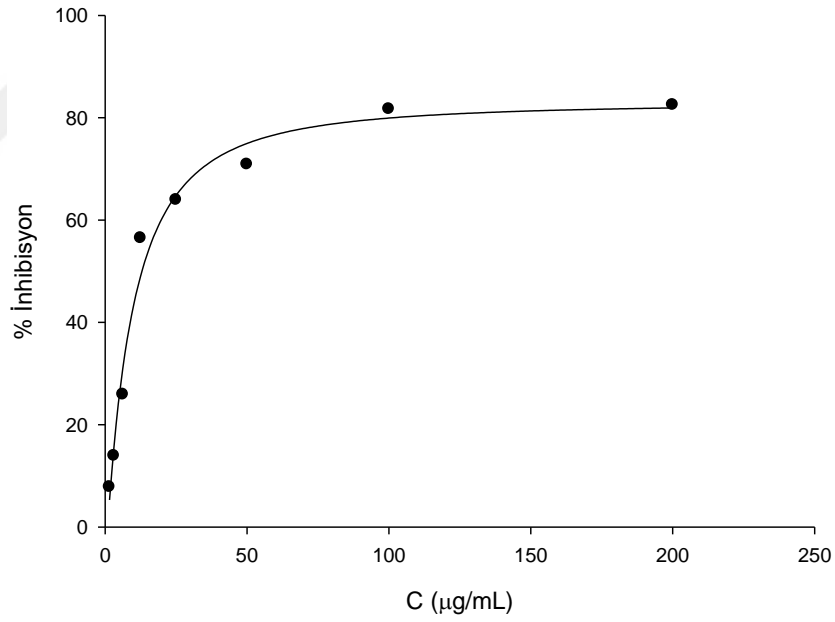
Şekil 4. Etanol ekstrağında DPPH radikalinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 5. Etil asetat ekstrağında DPPH radikalinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 6. n- hekzan ekstraktında DPPH radikalinin kalibrasyon eğrisi



Şekil 7. Askorbik asit standart grafiği

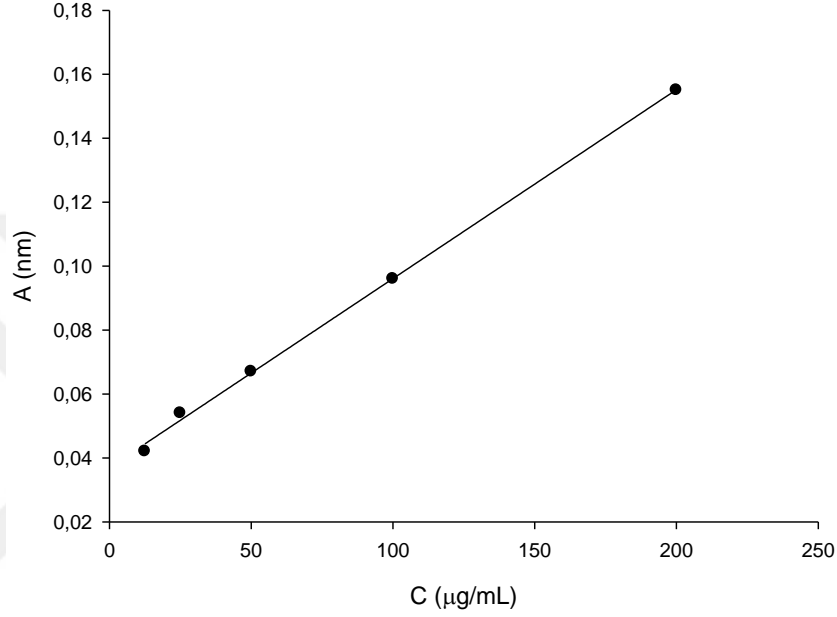
Origanum Hypericifolium etanol, etil asetat ve n- hekzan ekstraktlarının DPPH radikal süpürücü aktivitesi sonuçları tablo 9' de gösterilmiştir.

Tablo 9. DPPH IC₅₀ değerleri

IC ₅₀ (µg/mL)	Etanol	Etil asetat	n-Hekzan	Askorbik asit
	14.70±0.98	13.71±0.54	3.09±0.01	11.07±0.75

4.3. Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenme Sonuçları

Toplam fenolik madde miktarı *Origanum Hypericifolium*'un farklı çözücülere ait ekstraktlarının Folin Ciocalteu metoduna göre yapılan analizinde toplam fenolik madde miktarları Gallik asit eşdeğeri olarak hesaplandı. Standart olarak gallik asit kullanıldı (Şekil 8).



Şekil 8. Gallik asit kalibrasyon eğrisi grafiği $y=0.0370+0.0006x$ ($R^2=0.9993$)

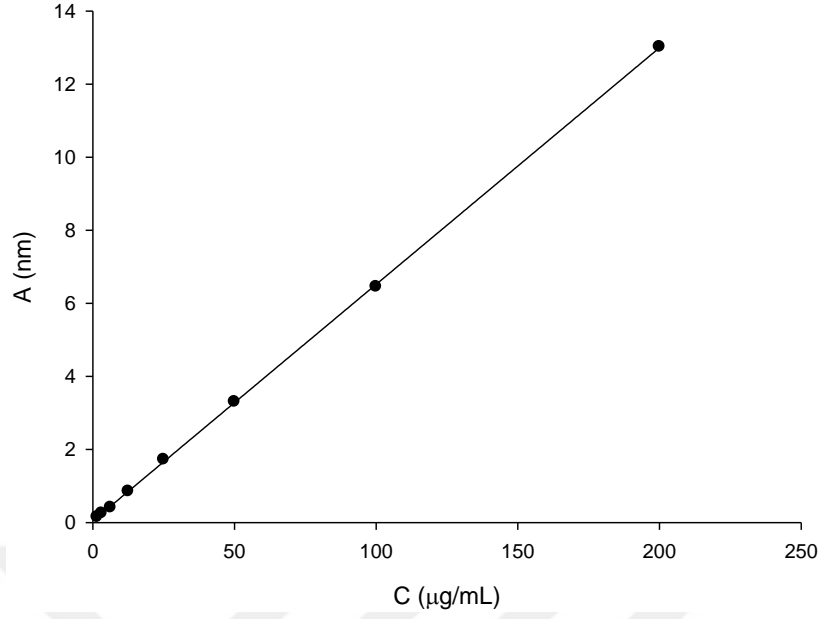
Origanum Hypericifolium etanol, etil asetat ve n-hekzan ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarının sonuçları tablo 10' da gösterilmiştir.

Tablo 10. Polifenol değerleri

	etanol	etil asetat	n-hekzan
(µg GAE /g)	30.50±1.08	138.94±1.78	144.00±1.89

4.4. Toplam Flavonoid İçerik Tayin Sonuçları

Toplam flavonoid madde miktarı *Origanum Hypericifolium*'den farklı çözücülere ait ekstraktlarının Chang ve ark metoduna göre yapılan analizinde toplam fenolik madde miktarları kuersetin eşdeğeri olarak hesaplandı. Standart olarak kuersetin kullanıldı (Şekil 9).



Sekil 9. Kuersetin standart grafiği $y=0.0433+0.0648x$ ($R^2=0.9999$)

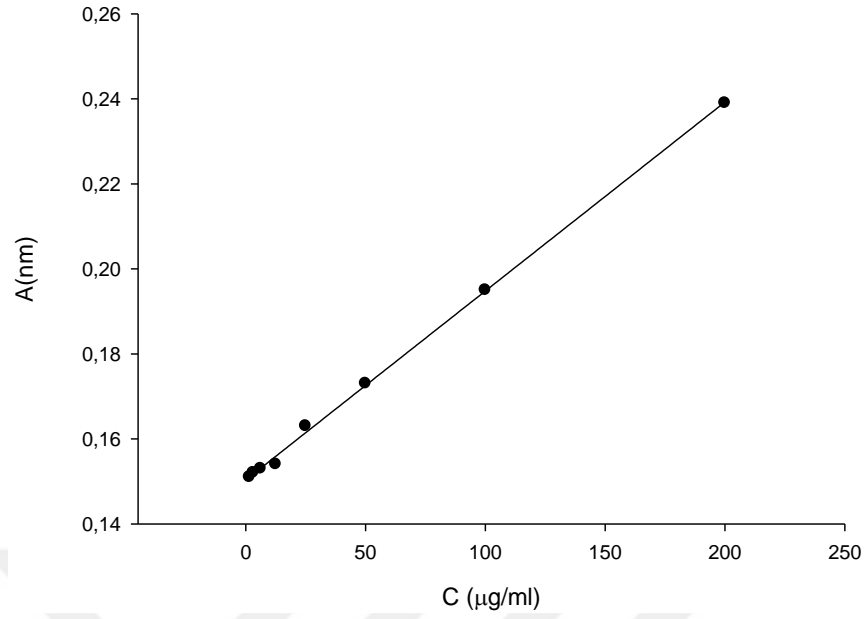
Origanum Hypericifolium etanol, etil asetat ve n-hekzan ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarının sonuçları tablo 11’ de gösterilmiştir.

Tablo 11. Flavonoid değerleri

	Etanol	Etil asetat	n-Hekzan
(µg CE /g)	17.08±0.85	15.69±0.66	7.09±0.47

4.5.FRAP Antioksidan Gücünün Belirlenme Sonuçları

FRAP antioksidan gücünün miktarı *Origanum Hypericifolium*’den farklı çözücülere ait ekstraktlarının Benzie ve Strain metoduna göre yapılan analizinde FRAP antioksidan gücünün miktarları troloks eşdeğeri olarak hesaplandı. Standart olarak troloks kullanıldı (Şekil 10).



Sekil 10. Troloks standart grafiği $y=0.1511+0.0005x$ ($R^2=0.8772$)

Origanum Hypericifolium etanol, etil asetat ve n-hekzan ekstraktlarının FRAP antioksidan g¼c¼n¼n sonuçları tablo 12’ de g¼sterilmiřtir.

Tablo 12. FRAP değerleri

	Etanol	Etil asetat	n-Hekzan
(µg TE /g)	683.11±1.76	942.46±1.89	200.46±1.01

4.6.Oksidan Olarak Cu (II) Kullanılan Toplam Antioksidan Kapasite Tayini Sonuçları (CUPRAC)

Katı ¼rneklerde troloks eşdeğerleri toplam antioksidan kapasite değerleri hesaplanması; aşağıda verilen eşitlik 4 kullanılarak yapılmaktadır. Toplam antioksidan kapasite değerleri farklı bir antioksidan eşdeğerleri olarak hesaplanmak istendiğinde ilgili antioksidan bileşiğin molar absorplama katsayısı form¼lde kullanılmalıdır.

$$TAC(mmoll\frac{TR}{g} - \text{örnek} = \frac{A}{\epsilon} \times \frac{Vt}{V} \times S.f. \times \frac{Ve}{m} \quad (\text{Eşitlik 4})$$

A: 450 nm’de ¼l¼len ¼rnek absorbansı

ε: TR bileşiğinin CUPRAC yöntemindeki molar absorplama katsayısı (16700 L mol⁻¹.cm⁻¹)

Vt: CUPRAC ¼l¼m çözeltisinin toplam hacmi (4.1 mL)

Vö: Örnek hacmi (mL)

S.f.: Seyreltme faktörü (seyreltme yapılmayacak ise bu faktör “1” alınır)

Ve: Hazırlanan ekstrenin hacmi (mL)

m: Ekstraksiyon işleminde alınan örnek miktarı (g)

Origanum Hypericifolium etanol, etil asetat ve n-hekzan ekstraktlarının oksidan olarak Cu (II) sonuçları tablo 13’ de gösterilmiştir.

Tablo 13. CUPRAC değerleri

	Etanol	Etil asetat	n-Hekzan
(mmol TE/g)	1.64±0,09	2.54±0.01	1.35±0.06

4.7. Toplam Antioksidan Statü Tayin Sonuçları

Toplam antioksidan miktarı sonuçları *Origanum Hypericifolium*’den farklı çözücülere ait ekstraktlarının Rel Assay Diagnostics metoduna göre yapılan analizinde toplam antioksidan madde miktarları aşağıda gösterilen eşitlik 5’e göre hesaplandı.

$$x = \frac{\Delta A(\text{örnek})}{\Delta A(\text{standart})} \times 20 \quad (\text{Eşitlik 5})$$

Origanum Hypericifolium etanol, etil asetat ve n-hekzan ekstraktlarının toplam antioksidan statü sonuçları tablo 14’ de gösterilmiştir.

Tablo 14. Toplam Antioksidan (TAS) değerleri

	Etanol	Etil asetat	n-Hekzan
(mmol TE/L)	4.86±0.46	4.92±0.65	4.94±0.72

4.8. Toplam Oksidan Statü (TOS) Tayin Sonuçları

Toplam oksidan miktarı sonuçları *Origanum Hypericifolium*’den farklı çözücülere ait ekstraktlarının Erel metoduna göre yapılan analizinde toplam oksidan madde miktarları aşağıda gösterilen eşitlik 6’a göre hesaplandı.

$$x = \frac{\Delta A(\text{örnek})}{\Delta A(\text{standart})} \times 20 \quad (\text{Eşitlik 6})$$

Origanum Hypericifolium etanol, etil asetat ve n- hekzan ekstraktlarının toplam oksidan statü sonuçları tablo 15’ de gösterilmiştir.

Tablo 15. Toplam Oksidan(TOS) değerleri

	Etanol	Etil asetat	n-Hekzan
(μmol $\text{H}_2\text{O}_2/\text{L}$)	2.10 \pm 0.06	2.18 \pm 0.08	2.25 \pm 0.09



5. TARTIŞMA

Tıbbi bitkiler eski çağlardan beri birçok hastalığın/rahatsızlığın tedavisi için kullanılmaktadır. Günümüzde bu bitkilerden elde edilen en az 132 farklı etken madde şu anda kullanımda olup, önemli ilaçlar olarak kabul edilmektedir (Emine, 2013). Türkiye’de *Origanum* cinslerinin anatomik, morfolojik, sitotaksonomik, palinolojik, biyosistematik, korolojik ve kimyasal özelliklerini araştıran bazı incelemeler vardır (Azize, 2010).

Origanum hypericifolium uçucu yağı p-cymene, carvakrol, timol ve γ -terpenler gibi monoterpenleri içerir. Yapılan HPLC analizinde etanol ekstraktında Karvakrol, Timol, Kafeik asit, Kumarik asit ve Mirisetin bol miktarda bulunmuştur. Karvakrol ve timol monoterpen; kafeik asit fenolik grup iken; kumarik asit ve mirisetin polifenol grubunda bulunmaktadır. Monoterpenler, antifungal, antibakterial, antioksidant, anticancer, antispasmodic, hypotensive ve vasorelaxant etkiye sahiptir (Marino ve ark., 2001; Özcan ve ark., 2001).

Doğal ürün ekstraktlarının antioksidan aktivitesini belirlemek için çeşitli in vitro analizler kullanılabilir (Jin ve ark., 2010). Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi (ORAC) Yöntemi, Toplam Radikal Yakalayıcı Parametre (TRAP) Yöntemi, Krosin Beyazlatma Yöntemi, Toplam Oksiradikal Söndürme Kapasite (TOSC) Yöntemi, Troloks Eşiti Antioksidan Kapasite (TEAC veya ABTS) Yöntemi, 2,2.-Difenil-1-pikrihidrazil (DPPH) Radikal Söndürücü Kapasite Yöntemi, Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Yöntemi, Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü (FRAP) Yöntemi, Folin-Ciocalteu Ayracı (FCR) ile Toplam Fenolik Yöntemi, gibi yöntemler kullanılmaktadır (Okan ve ark., 2013).

Yaptığımız çalışma sonucunda endemik bir bitki olan *Origanum Hypericifolium*’un farklı ekstraktlarının antioksidan özelliklerini belirlemek için toplam polifenolik, toplam flavonoid içerik, demir indirgeme gücü, kuprik iyon indirgeme kapasitesi ve radikal süpürücü aktivite tayini gerçekleştirildi. Ayrıca TAS ve TOS düzeyleri incelendi.

Çalışmamızda *Origanum Hypericifolium* bitkisinin etanol ekstraktının toplam polifenol içeriği 30.50 ± 1.08 , etil asetat 138.94 ± 1.78 , n-hekzan 144.00 ± 1.89 $\mu\text{g GAE} / \text{g}$ bulunmuştur. Çelik A. ve arkadaşları

Sandras dağından toplayarak çalıştıkları *Origanum Hypericifolium* esansiyel yağında su çözücünde toplam polifenolik içeriği 1.2480 ± 0.03 mmol GAE / L belirtilmektedir (Celik ve ark., 2010). Fakir H. ve arkadaşları Denizli Honaz Dağından toplanan *Origanum Hypericifolium* esansiyel yağında su çözücünde toplam polifenolik içeriği 104.928 ± 2.389 mg GAE/g belirtilmektedir (Fakir ve ark., 2015). Sökmen M. ve arkadaşları *Origanum* türlerinde çalıştıkları metanol, dichloromethane, hexane ekstraktlarında toplam polifenolik içeriği sırayla 151.5 ± 12.0 , 154.0 ± 9.6 ve 1.9 ± 0.4 $\mu\text{g}/\text{mg}$ belirtilmektedir (Sökmen ve ark., 2004). Roby ve arkadaşları *Origanum* türlerinde çalıştıkları methanol, etanol, diethyl ether, hexane ekstraktlarında toplam polifenolik içeriği sırayla 24.66 ± 3.90 , 14.80 ± 200 , 10.30 ± 2.08 , 4.21 ± 2.65 mg GAE/g belirtilmektedir (Roby, ve ark., 2013). Cervato, G. ve arkadaşları *Origanum Vulgare*de çalıştıkları Methanol ekstraktlarında toplam polifenolik içeriği 5 ± 0.1 μg GAE /g belirtilmektedir (Cervato ve ark., 2000). Hossain, M. ve arkadaşları *Origanum* türlerinde çalıştıkları Methanol ekstraktlarında toplam polifenolik içeriği 11.87 $\mu\text{g}/\text{g}$ belirtilmektedir (Hossain ve ark., 2012).

Çalışmamızda *Origanum Hypericifolium* etanol ekstraktının DPPH radikalini süpürme aktivitesi bulunmuştur. DPPH radikali süpürme aktivitesinin IC_{50} değeri 14.70 ± 0.98 , etil asetat 13.71 ± 0.54 , n-hekzan 3.09 ± 0.01 $\mu\text{g}/\text{ml}$ bulunmuştur. Standart olarak askorbik asit kullanılmış ve IC_{50} değeri 11.07 ± 0.75 $\mu\text{g}/\text{ml}$ olarak bulunmuştur. Antalya, Korkuteli ilçesi, kuru kireçtaşı yamaçlarında toplanan *Origanum Hypericifolium* esansiyel yağında DPPH radikali süpürme aktivitesinin IC_{50} değeri 4.88 mg/ml olarak belirlenmektedir. Hossain, M. ve arkadaşları *Origanum* türlerinde çalıştıkları Methanol ekstraktlarında DPPH radikali süpürme aktivitesinin IC_{50} değeri 20.10 $\mu\text{g}/\text{g}$ belirtilmektedir (Hossain ve ark., 2012). Sökmen M. Ve arkadaşları *Origanum* türlerinde çalıştıkları metanol, dichloromethane (DCM) ekstraktlarında DPPH radikali süpürme aktivitesinin IC_{50} değeri sırayla 18.0 ± 2.0 , 49.5 ± 3.5 $\mu\text{g}/\text{mg}$ belirtilmektedir (Sökmen ve ark., 2004). Roby, M. ve arkadaşları *Origanum* türlerinde çalıştıkları Methanol, etanol, Diethyl ether, Hexane ekstraktlarında DPPH radikali süpürme

aktivitesinin IC₅₀ değeri sırayla 11.00±0.1, 13.00±0.1 ,13.00±0.2, 22.00±0.5 mg GAE/g belirtilmektedir (Roby ve ark., 2013).

Origanum Hypericifolium etanol ekstraktının toplam antioksidan Statü tayini çalışmamızda yapılarak 4.86±0.46, etil asetat 4.92±0.65, n-hekzan 4.94±0.72 mmol TE/L ekstrakt belirtilmektedir. Celik A. ve arkadaşları Sandras dağından toplayarak çalıştıkları Origanum Hypericifolium esansiyel yağında su çözücünde toplam antioksidan içeriği 1.5358±0.06 mmol GAE / L belirtilmektedir (Celik ve ark., 2010). Fakir H. ve arkadaşları Denizli Honaz Dağından toplanan Origanum Hypericifolium esansiyel yağında su çözücünde toplam antioksidan içeriği 9.979±0.309 mg GAE/g belirtilmektedir (Fakir ve ark., 2015).

Origanum Hypericifolium bitkisinin etanol ekstraktının toplam oksidan Statü tayini çalışmamızda yapılarak 2.10±0.06, etil asetat 2.18±0.08, n-hekzan 2.25±0.09 µmol H₂O₂ / L ekstrakt belirtilmektedir. Celik A. ve arkadaşları Sandras dağından toplayarak çalıştıkları Origanum Hypericifolium esansiyel yağında su çözücünde toplam antioksidan içeriği 95±2 µmol H₂O₂ / L belirtilmektedir (Celik ve ark., 2010).

Çalışmamızda Origanum Hypericifolium bitkisinin etanol ekstraktının toplam flavonoid içeriği 17.08±0.85, etil asetat 15.69±0.66, n-hekzan 7.09±0.47 µg CE / g bulunmuştur. Özkan, G.ve arkadaşları, Origanum türlerinde çalıştıkları hekzan ve etil asetat ekstraktlarında toplam flavonoid içeriği 716.86±1.17 - 1291.69±1.67 µg CE/g arasında belirtilmektedir (Özkan ve ark., 2007). Kaurinovic, B. ve arkadaşları, Origanum türlerinde çalıştıkları etil asetat ve Kloroform ekstraktlarında toplam flavonoid içeriği sırayla 9.37 ± 0.06 - 13.12 ± 0.05 mg /g belirtilmektedir (Kaurinovic ve ark., 2011).

Çalışmamızda Origanum Hypericifolium bitkisinin etanol ekstraktının CUPRAC iyon indirgeme kapasitesi tayini çalışmamızda yapılarak 1.64±0,09, etil asetat 2.54±0.01, n-hekzan 1.35±0.06 mmol TE/g bulunmuştur. Yılmaz, H.ve arkadaşları Origanum türlerinde çalıştıkları etanol ekstraktlarında CUPRAC iyon indirgeme kapasitesi 0.9 mmol /g belirtilmektedir (Yılmaz ve ark.,2017). Sarikurkcü, C. ve arkadaşları Origanum türlerinde çalıştıkları esansiyel yağında su çözücünde CUPRAC

iyon indirgeme kapasitesi 46.64 ± 0.37 mg /g belirtilmektedir (Sarikurcu, ve ark., 2015).

Çalışmamızda *Origanum Hypericifolium* bitkisinin etanol ekstraktının demir indirgeyici güç tayini çalışmamızda yapılarak 683.11 ± 1.76 etil asetat 942.46 ± 1.89 , n-hekzan 200.46 ± 1.01 µg TE /g bulunmuştur. Baddal, M.ve arkadaşları *Origanum* türlerinde çalıştıkları hekzan, diklormetan, kloroform, aseton, metanol ekstraktlarında demir indirgeyici gücü tayinleri sırayla 0.117 ± 0.010 , 1.237 ± 0.033 , 0.343 ± 0.008 , 1.272 ± 0.001 , 1.583 ± 0.110 mg CE/mg belirtilmektedir (Baddal ark., 2010). Sarikurcu, C. ve arkadaşları *Origanum* türlerinde çalıştıkları esansiyel yağında su çözücünde demir indirgeyici gücü 17.18 ± 0.27 mg /g belirtilmektedir (Sarikurcu ve ark., 2015).

Literatür incelendiğinde *Origanum Hypericifolium* farklı ekstraktları ile yaptığımız çalışma da; toplam polifenol, flavonoid, demir indirgeyici güç (FRAP), radikal süpürücü aktivite (DPPH), Cuprac, TAS ve TOS analizleri sonuçlarının literatürle uyumlu olduğu gözlenmektedir. *Origanum Hypericifolium* etkilerini belirlemek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

6. SONUÇLAR

Tedavi amaçlı kullanılan ilaçların yaklaşık %50'si bitkiseldir. Bitkilerin biyolojik olarak aktif moleküllerin zengin kaynakları olmasına rağmen, sadece birkaçı biyolojik etkinliklerini değerlendirilmiştir. Etkin biyoaktif ajanlara olan gereksinim nedeniyle, etnobotanik yaklaşıma dayalı olarak bitkilerin fitokimyasal ve biyoaktivite özelliklerine yönelik araştırmalar da hız kazanmıştır (Elhardallou, 2011). Çeşitli bitkisel ürünler genellikle düşük risk taşır çünkü insanlık tarihi boyunca kullanılırlar. Bununla birlikte, farklı bitki özleri veya bazı saf bileşikler insanlar için toksik olabilir. Bu yüzden, bitkisel ürünlerin in vitro ve in vivo tarama testleri bitkisel ürünlerin hem faydalı hem de toksik etkilerini göstermek önemlidir (Taraphdar ve ark., 2001).

Sonuç olarak, *Origanum Hypericifolium* yüksek antioksidan özelliğe sahip olduğu gözlemlenmiştir. Bu bitkilerde aktif bileşiklerin saflaştırılması ve tanımlanması, ilgili koruyucu mekanizmaların daha iyi anlaşılması ve gıda endüstrisinde ve tıpta olası uygulama için gereklidir.

7.KAYNAKLAR

Akagün, G. (2009). Alabaş (*Brassica oleracea* var. *Gongylodes*) bitkisinin antioksidan aktivitesinin incelenmesi (Master's thesis, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).

Akyol MA (2007). Tavşan modelinde laparoskopik iskemik prekondisyon manevrasının oksidatif stres üzerine etkisinin araştırılması. Uzmanlık Tezi , Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Afyonkarahisar.

Antmen, E. (2005). Beta Talasemide Oksidatif Stres. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana

Arkan, T. (2011). *Daphne oleoides* subsp. *oleoides* ve *Daphne sericea*'nın farklı çözücülerle antioksidan özellikleri (Doctoral dissertation, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).

Aslım B, Yücel N, (2008). In vitro antimicrobial activity of essential oil from endemic *Origanum minutiflorum* on ciprofloxacin-resistant *Campylobacter* spp, *Food Chemistry* 107(2):602-606

Baddal, M. K. (2010). *Origanum Minutiflorum* bitkisinin antioksidan özelliklerinin incelenmesi (Doctoral dissertation, SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü).

Baser K. H.C., Ermin N., Kürkçüoğlu M., Tümen G.(1994). Essential Oil of *Origanum hypericifolium* O. Schwarz et P. H. Davis, 6, (6), 1994, 631-633.

Baser KHC, Duman H, (1998), Composition of the Essential Oils of *Origanum boissieri* letswaart and *O. bargyli* Mouterde, *Journal of Essential Oil Research* 10(1):71-72

Baser KHC, Ozek T, Demirci B, Duman H,(1998). Composition of the essential oil of *Prangos heyndiae* H. Duman et M.F. Watson, a new endemic from Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*,15(1)

Berköz M, Yalın S (2009). Normal ve preeklampatik gebelerde lipid peroksidasyonu ve antioksidan aktivite. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi* 10: 52-58

Breinholt VM, Molck AM, Svendsen GW, Daneshvar B, Vinggaard AM Poulsen M, Dragst ed LO (2003). Effects of dietary antioxidants and 2-amino-3-methylimidazole(4,5-f)-quinoline (IQ) on preneoplastic lesions and

on oxidative damage, hormonal status, and detoxification capacity in the rat. *Food Chemical Toxicology*, 41: 1315-1323.

Celik, A., Nur Herken, E., Arslan, İ., Zafer Özel, M., & Mercan, N. (2010). Screening of the constituents, antimicrobial and antioxidant activity of endemic *Origanum hypericifolium* O. Schwartz & PH Davis. *Natural product research*, 24(16), 1568-1577.

Cervato, G., Carabelli, M., Gervasio, S., Cittera, A., Cazzola, R., & Cestaro, B. (2000). Antioxidant properties of oregano (*Origanum vulgare*) leaf extracts. *Journal of Food Biochemistry*, 24(6), 453-465.

Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC(2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J Food Drug Anal.* 10(3):178-82

Chaudiere, J., Ferrari-Iliou, R., (1999). Intracellular Antioxidants: From chemical to biochemical mechanisms. *Food and Chemical Toxicology*, 37: 949-962.

Çakıroğlu TN (2010). Çeşitli çözücülerde Türk propolisinin çözünürlüğünün incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.

Çöllü, Z. (2007). *Urtica Pilulifera* L. Bitkisinin Antioksidant Aktivitesinin Araştırılması. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Samsun.

Demir S (2010). Propolis ekstraktlarının fibroblast hücre serilerinde H₂O₂ ile uyarılmış DNA hasarı (genotoksisite) üzerine etkisinin comet assay yöntemi ile araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.

Devasagayam TPA, Boloor KK, Ramsarma T. 2003. Methods for estimating lipid peroxidation: Analysis of merits and demerits (minireview). *Indian J. Biochem. Biophys.* 40(5), 300-308.

Devasagayam TPA, Tilak JC, Boloor KK, ve ark. 2004. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Physicians India.* 52, 794-804.

Dinçer Y ve Akçay T (2000). DNA Hasarı. *Türk Biyokimiya Dergisi* 25(2): 73-79

Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*, 82(1), 47-95.

Dünder, Y. (2000). *Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar*. Afyon Kocatepe Üniversitesi.

Ekici, L., & Sağdıç, O. (2008). Serbest radikaller ve antioksidan gıdalarla inhibisyonu. *GIDA*, 33(5), 251-260.

Fakir, H., Us, A. A., Sagdic, M., & Tornuk, F. (2015). Essential Oil Composition, Antimicrobial and Bioactive Properties of *Origanum hypericifolium*, An Endemic Plant Species grown in Turkey. *Research Journal of Biotechnology* Vol, 10, 11.

Fang YZ, Yang S, Wu G. 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*. 18(10), 872-879.

Fang, Y. Z., Yang, S., & Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18(10), 872-879.

Flitter, W., Rowley, D. A., & Halliwell, B. (1983). Superoxide-dependent formation of hydroxyl radicals in the presence of iron salts: What is the physiological iron chelator?. *FEBS letters*, 158(2), 310-312.

Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 48(12), 909-930.

Gutteridge JM (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem. Dec*; 41(12 Pt 2):1819-28.

Gürsoy Ş (2008). Düzenli spor yapan öğrenci gruplarında egzersizin total antioksidan kapasite ve serum lipid profili üzerine etkisi. *Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü , Malatya*.

Halliwell B (1991). Drug antioxidant effects. *Drugs*. 42(4): 569 – 605.

Halliwell B (1994). Free radicals and antioxidants: A personal view. *Nutrition Reviews*, 52: 253-265.

Harris ED (1992). Regulation of antioxidant enzymes. *The FASEB Journal* 6: 2675- 2683.

Hawkins CL, Pattison DI, Davies MJ (2003). Hypochlorite-induced oxidation of amino acids, peptides and proteins. *Amino Acids*, 25:259-274.

Hossain, M. B., Brunton, N. P., Patras, A., Tiwari, B., O'donnell, C. P., Martin-Diana, A. B., & Barry-Ryan, C. (2012). Optimization of ultrasound assisted extraction of antioxidant compounds from marjoram

(*Origanum majorana* L.) using response surface methodology. *Ultrasonics sonochemistry*, 19(3), 582-590.

Ivona Jasprica I, Mornar A, Debeljak Z, Smolic-Bubalo A, Medic-Saric M, Mayer L, Romic Z, Bucan K, Balog T, Sobocanec S, Sverko V (2007). In vivo study of propolis supplementation effects on antioxidative status and red blood cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 110: 548–554.

İli, P. (2012). *Origanum hypericifolium*'un deride ultraviyole radyasyonu hasarları üzerindeki sitolojik ve histokimyasal etkilerinin araştırılması.

Jin D, Mumper RJ (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*. 15(10): 7313-52.

Kanbur M, Eraslan G, Silici S (2009). Antioxidant effect of propolis against exposure to propetamphos in rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 909-915.

Karabulut H, Gülay MŞ. 2016. Serbest radikaller. *MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg.* 4(1): 50-

Kaurinovic, B., Popovic, M., Vlasisavljevic, S., & Trivic, S. (2011). Antioxidant capacity of *Ocimum basilicum* L. and *Origanum vulgare* L. extracts. *Molecules*, 16(9), 7401-7414.

Kuraoka I, Robins P, Masutani C, ve ark. 2001. Oxygen free radical damage to DNA. Translesion synthesis by human DNA polymerase eta and resistance to exonuclease action at cyclopurine deoxynucleoside residues. *J Biol Chem.* 276(52), 49283-49288

Kütükcü, Z. M. (2016). Deneysel diyabetik dişi sıçan genital sisteminde *Origanum Hypericifolium* Esansiyel yağının etkilerinin ince yapı düzeyinde araştırılması (Master's thesis, Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü).

Lima CF, Fernandes-Ferreira M, Pereira-Wilson C (2006). Phenolic compounds protect HepG2 cells from oxidative damage: Relevance of glutathione levels. *Life Sciences*, 79:2056-2068.

Marino M1, Bersani C, Comi G.(2001). Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae, *Int J Food Microbiol.* 5;67(3):187-95.

Mayer B, Hemmens B (1997). Biosynthesis and action of nitric oxide in mammalian cells. *TIBS*, 22:477-481.

Mazlum T (2009). Hiperkkolesterolemik bireylerde fındık tüketiminin serum ve plazmada oksidan- antioksidan dengeye etkisinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.

Mısır, s(2013). Türk propolisinin farklı çözücülerdeki ekstraktlerinin radikal yakalama ve demir şeletlama aktivitesininincelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Trabzon.

Naczki, M., Shahidi, F., (2004), Extraction and analysis of phenolics in food, *Journal of the Chromatography*, 1054, 95-111.

Nagendrappa CG. 2005. An appreciation of free radical chemistry - 3. free radicals in diseases and health. *Resonance*. 10, 65-74.

Oyaizu M(1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Jpn J Nutr*. 44(6): 307-315

Özcan M, Erkmen O, (2001). Antimicrobial activity of the essential oils of Turkish plant spices, *European Food Research and Technology* 212(6):658-660.

Özden S (2006). Bazı pestisidlerin oksidatif stres oluşturma potansiyellerinin ve antioksidan sistemler üzerine etkilerinin sıçanlarda araştırılması. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Özkan, G. (2007). Türkiye'de Lamiaceae (Labiatae) familyasına ait baharat veya çeşni olarak kullanılan bazı bitkilerin fenolik bileşenleri ile antioksidan ve antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi (Doctoral dissertation, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).

Pektaş, İ. 2009. Bitki Gelişim Düzenleyicilerinin Antioksidan Enzimler Üzerindeki Etkisinin Araştırılması. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir.

Polidori MC, Stahl W, Eichler O, Niestroj I and Sies H (2001).Profiles ofantioxidants in human plasma, *Free Rad. Bio. & Med.*, Vol.30, No.5, 456- 462.

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Paganga, G., (19969, Structure antioxidant activity relationships of favonoids and phenolic acids, *Free Radical Biology and Medicine*, 20(7), 933-956.

Roby, M. H. H., Sarhan, M. A., Selim, K. A. H., & Khalel, K. I. (2013). Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic

compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Industrial Crops and Products*, 43, 827-831.

Sarikurcu, C., Zengin, G., Oskay, M., Uysal, S., Ceylan, R., & Aktumsek, A. (2015). Composition, antioxidant, antimicrobial and enzyme inhibition activities of two *Origanum vulgare* subspecies (subsp. *vulgare* and subsp. *hirtum*) essential oils. *Industrial Crops and Products*, 70, 178-184.

Sarma AD, Mallick AR, Ghosh AK. 2010. Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview. *Int J Pharm Sci Res.* 1(3), 185-192.

Sies, H. (2000). What is oxidative stress?. In *Oxidative stress and vascular disease* (pp. 1-8). Springer, Boston, MA.

Slinkard K, Singleton VL(1977). Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods. *Am J Enol Viticult.* 28(1): 49-55

Sökmen, M., Serkedjieva, J., Daferera, D., Gulluce, M., Polissiou, M., Tepe, B., ... & Sokmen, A. (2004). In vitro antioxidant, antimicrobial, and antiviral activities of the essential oil and various extracts from herbal parts and callus cultures of *Origanum acutidens*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(11), 3309-3312.

Tekkeş Y (2006). Streptozotosin ile diabet oluşturulmuş farelerde aspirin ve E vitaminin dokularda lipid peroksidasyonu ve antioksidan sisteme etkisinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.

Tokaç D (2007). Bitkisel kaynaklı fenolik bileşiklerin oksidatif DNA hasarına etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Topçu G (2006) Bioactive triterpenoids from *Salvia* species. *J Nat Prod* 69: 482–487.

Turan İ (2012). Türk propolis ekstraktlarının fibroblast hücre serilerinde genotoksisite üzerine etkisinin DNA tamir enzimleri vasıtasıyla incelenmesi. Doktora Tezi, K.T.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.

Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry* 266:37-56.

Valko M, Leibfritz D, Moncola J, ve ark. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 39, 44-84.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84.

Valko, M., Rhodes, C., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.

Vercruyse L, Smaghe G, Beckers T, Camp JV (2009). Antioxidative and ACE inhibitory activities in enzymatic hydrolysates of the cotton leafworm, *Spodoptera littoralis*. *Food Chemistry*, 114: 38-43.

Yavaşer, R. (2011). Doğal ve sentetik antioksidan bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması (Master's thesis, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).

Yılmaz, H., Çarıkçı, S., Kılıç, T., Dirmenci, T., Arabacı, T., & Gören, A. C. (2017). Screening of chemical composition, antioxidant and anticholinesterase activity of section *Brevifilamentum* of *Origanum* (L.) species. *Records of Natural Products*, 11(5).

Yu L, Haley S, Perret J, Harris M, Wilson J, Qian M(2002). Free radical scavenging properties of wheat extracts. *J Agric Food Chem.* 50(6):1619-24.

Elhardallou, S. B. (2011). Cytotoxicity and biological activity of selected Sudanese medicinal plants. *Research Journal of Medicinal Plant*, 5(3), 201-29.

Taraphdar AK, Roy M, Bhattacharya RK (2001). Natural products as inducers of apoptosis: Implication for cancer therapy and prevention. *Curr Sci* 80: 1387-1396.

Emine F. (2013). Isparta ve Afyon illerinde tıbbi ve aromatik amaçlı kullanılan bitkilerin satılma, toplanma ve kullanılma durumları. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Azize T. (2010). Türkiye’de yetişen *Origanum* L. (Labiatae) cinsi üzerinde epidermal incelemeler. Yüksek lisans tezi. İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü.

Okan, O. T., VARLIBAŞ, H., Mehmet, Ö. Z., & DENİZ, İ. (2013). Antioksidan analiz yöntemleri ve doğu Karadeniz bölgesinde antioksidan kaynağı olarak kullanılabilir odun dışı bazı bitkisel ürünler. Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 13(1), 48-59.

Demir, T., Akpınar, Ö., Kara, H., & Güngör, H. (2019). Nar (*Punica granatum* L.) Kabuğunun İn Vitro Antidiyabetik, Antienflamatuvar, Sitotoksik, Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivitesi. Akademik Gıda, 17(1), 61-71.



8. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Adı Soyadı	Muhammed SUFİ
Doğum Yeri ve Tarihi	HALEP-1990
Medeni Hali	Evli
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Şeyh Şamil Mahallesi.47-91 Sokak. Doymuş Apt. B Blok. NO:1. İç kapı NO: 21 Sivas/Merkez.
E-posta Adresi	Soufi1990ha@gmail.com

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	Bassam Al omar Lisesi, 2008
Lisans	Halep Üniversitesi, 2013
Yüksek Lisans	
Ünvan	Yüksek lisan öğrenci