

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

**TUNCELİ SARIMSAĞININ (*Allium tuncelianum*) ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİ
OKSİDATİF DNA HASARI VE PROTEİN OKSİDASYONU ÖNLEYİCİ
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

HAZIRLAYAN: Mehmet Selim GÜN
DANIŞMAN: Prof.Dr. Halit DEMİR

VAN-2018

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

**TUNCELİ SARIMSAĞININ (*Allium tuncelianum*) ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİ
OKSİDATİF DNA HASARI VE PROTEİN OKSİDASYONU ÖNLEYİCİ
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

HAZIRLAYAN: Mehmet Selim GÜN

VAN-2018

KABUL VE ONAY SAYFASI

Kimya Anabilim Dalı'nda Prof.Dr. Halit DEMİR danışmanlığında, Mehmet Selim GÜN tarafından sunulan "Tunceli Sarımsağının (*Allium tuncellianum*) Antioksidan Aktivitesi, Oksidatif DNA Hasarı ve Protein Oksidasyonu Önleyici Etkisinin Araştırılması" isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince 29/02/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile başarılı bulunmuş veDoktora..... tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof.Dr .Nihat MERT

İmza:

Üye: Prof.Dr. Halit DEMİR

İmza:

Üye: Prof.Dr. İbrahim YÖRÜK

İmza:

Üye: Doç.Dr .Müslüm KUZU

İmza:

Üye: Yrd.Doç.Dr. Hatice

KIZILTAŞ

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 02/03/2018 tarih ve 2018/12-1 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Selim GÜN İmza
Enstitü Müdürü
Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Mehmet Selim GÜN



ÖZET

TUNCELİ SARIMSAĞININ (*Allium tuncelianum*) ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİ OKSİDATİF DNA HASARI VE PROTEİN OKSİDASYONUNUN ÖNLEYİCİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

GÜN, Mehmet Selim
Doktora Tezi, Kimya Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Halit DEMİR
Şubat 2018, 75 sayfa

Bu çalışmada Diyarbakır da ve Tunceli-Ovacıkta yetişen ayrıca Dicle Üniversitesinde Tarla Bitkileri bölümünde kültür olarak yetiştirilen Tunceli Sarımsağı (*Allium tuncelianum*) etanol ekstraktının antioksidan aktivitesi ve oksidatif DNA hasarı ile protein oksidasyonu önleyici etkisi incelendi.

Çalışmada *Allium tuncelianum* etanol ekstraktının toplam fenolik ve flavanoid bileşen miktarları saptandı. Standart fenolik olarak gallik asit ve standart flavonoid olarak quercetin kullanıldı. Etanol ekstraktının 0.5 mg/ml'nin içerdiği toplam fenolik bileşen miktarı 16.70 ± 1.21 µg gallik aside eş değer ve toplam flavonoid bileşen miktarı 6.73 ± 0.11 µg quercetine eş değer olarak bulundu. *Allium tuncelianum* etanol ekstraktının FeCl₂-H₂O₂ sisteminde lipit peroksidasyonunu önleme aktivitesinin yüksek ve en düşük değeri % 69.6 ± 0.2 - 57.6 ± 0.3 olarak ölçüldü. *Allium tuncelianum* etanol ekstraktının DPPH radikalini söndürme aktivitesi 2000 µg/ml konsantrasyonda % 89.7 ± 0.3 olarak bulunurken *Allium tuncelianum* etanol ekstraktının H₂O₂/Fe³⁺/Askorbik asit sistemi ile Bovin Serum Albumin (BSA) proteininde meydana getirilen oksidatif hasarı, 50-1000 µg /ml konsantrasyon aralıklarında en düşük ve en yüksek değerler % 61.88 ± 2.50 – 76.23 ± 3.14 olarak bulundu. Ayrıca ekstraktın, 50-1000 µg/ml konsantrasyon aralıklarında prooksidan olarak davrandığı görülmüştür. *Allium tuncelianum* etanol ekstraktının iyi bir antioksidan olduğu, ayrıca DNA hasarında prooksidan aktivitesinin çok iyi olduğu tez çalışmaları sonucunda görüldü.

Anahtar kelimeler: *Allium tuncelianum*, Antioksidan aktivite, Lipit peroksidasyonu, Oksidatif DNA hasarı, Protein oksidasyonu, Prooksidan etki, Serbest radikaller.

ABSTRACT

STUDY OF ANTIOXIDANT ACTIVITY, OXIDATIVE DNA DAMAGE AND PROTEIN OXIDATION INHIBITION EFFECT OF TUNCELI GARLIC (*Allium tuncelianum*)

GÜN, Mehmet Selim
Ph. D Thesis, Chemistry Department
Supervisor: Prof. Dr. Halit DEMİR
February 2018, 75 pages

In this study, antioxidant activity and oxidative DNA damage and protein oxidation inhibition effect of the ethanol extract of cultivated garlic *Allium tuncelianum* were investigated that is grown Ovacık district of Tunceli province.

In this study the total amount of phenolic and flavanoid components of the ethanol extract of *Allium tuncelianum* was investigated. Gallic acid was used as the standard phenolic and quercetin was used as the standard flavonoid. It was found that the total phenolic component content of the ethanol extract at 0.5 mg / ml was equivalent to 16.70 ± 1.21 µg gallic acid and the total flavonoid component content was equivalent to 6.73 ± 0.11 µg quercetin. *A. tuncelianum* ethanol extract was found to have the activity of inhibiting lipid peroxidation in the $\text{FeCl}_2\text{-H}_2\text{O}_2$ system. While the extinguishing activity of the DPPH radical of the ethanol extract of garlic was found to be 89.7 ± 0.3 at 2000 µg/ml concentration, The oxidative damage induced by *Allium tuncelianum* ethanol extract in the $\text{H}_2\text{O}_2 / \text{Fe}^{3+} / \text{ascorbic acid}$ system and Bovine Serum Albumin (BSA) protein was found to be between $61.88 \pm 2.50 - 76.23 \pm 3.14$ in the concentration range of 50-1000 µg / ml. It was seen as a result of thesis studies that the ethanol extract of *Allium tuncelianum* garlic is a good antioxidant and the activity of protein oxidation and DNA damage inhibition are very good.

Keywords: *A. tuncelianum*, Antioxidant Activity, Free Radicals, Lipid Peroxidation, Oxidative DNA Damage, Protein Oxidation, Prooksidan activity.



ÖN SÖZ

Bu tez çalışmasında, her türlü ilgi ve yardımlarını esirgemeyen danışmanım Sayın Prof.Dr. Halit DEMİR ve Prof.Dr. Murat KIZIL'a ve Tez İzleme komisyonunda bulunan ve yardımlarını esirgemeyen Prof.Dr. Nihat MERT ve Prof.Dr. İbrahim Hakkı YÖRÜK'e teşekkür ederim. Ayrıca Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoorganik laboratuvarında her türlü destek sunan Prof. Dr. Göksel KIZIL, Dr. Bircan ÇEKEN TOPTANCI, Dr. Sevil EMEN TANRIKUT, Dr. Hayrettin DİNÇ ve Nesrin İNCEÖREN'e teşekkürlerimi sunarım. Hayatımın her evresinde bana duydukları güven ve sonsuz desteklerini esirgemeyen çok değerli eşim Seval Aşkın GÜN, Çocuklarım Şerna, Ozan ve Roşna'ya ve bu süreçte yanımda olan tüm dostlarıma sevgilerimi ve teşekkürlerimi sunmayı borç bilirim

2018

Mehmet Selim GÜN



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖN SÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ	9
2.1. Reaktif Oksijen Türleri ve Etkileri (ROS).....	9
2.1.1. Hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$).....	10
2.1.2. Nitrik oksit ($\text{NO}\cdot$).....	11
2.1.3. Peroksil radikali ($\text{ROO}\cdot$).....	11
2.2. Serbest Radikallerin DNA'ya Etkileri	11
2.2.1. Serbest radikallerin lipitlere etkileri (Lipit peroksidasyonu)	12
2.2.2. Serbest radikallerin proteinler üzerindeki etkisi (Protein oksidasyonu)	14
2.3. Antioksidantlar.....	15
2.3.1. Doğal antioksidantlar	16
2.3.1.1. Askorbik asit (Vitamin C)	16
2.3.1.2. Tokoferoller	17
2.3.1.3. Flavonoidler.....	19
2.3.1.4. Fenolik asitler	21
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	23
3.1. Materyal	23
3.2. Yöntem.....	26
3.2.1. Bitkinin etanol ekstraktinin hazırlaması.....	26
3.2.2. Toplam fenolik bileşen miktar tayini	28
3.2.3. Toplam flavonoid bileşen miktar tayini	29
3.2.4. DPPH radikalini söndürme aktivitesi	31
3.2.5. Lipit peroksidasyonunu önleme aktivitesi.....	32

	Sayfa
3.2.6. Protein oksidasyonu önleme aktivitesi-sds-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE)	33
3.2.7. DNA oksidasyonu önleme aktivitesi-agaroz jel elektroforezi	34
4. BULGULAR	37
4.1. Toplam Fenolik Bileşen Miktarı	37
4.2. Toplam Flavonoid Bileşen Miktarı	37
4.3. DPPH Radikalini Söndürme Aktivitesi	38
4.4. Lipit Peroksidasyonunu Önleme Aktivitesi	38
4.5. Protein Oksidasyonu Önleme Aktivitesi- SDS-Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE)	40
4.6. DNA Oksidasyonu Önleme Aktivitesi-Agaroz Jel Elektroforezi	42
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	49
KAYNAKLAR	61
ÖZ GEÇMİŞ	75

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Reaktif oksijen türleri (ROS), reaktif azot türleri ve serbest radikal olmayan türler.....	10
Çizelge 3.1. Kullanılan kimyasal maddeler.....	25
Çizelge 3.2. Kullanılan cihazlar ve markaları	26
Çizelge 3.3. Protein oksidasyonunda elektroforez kuyucuklar içerisindeki reaksiyon koşulları.	33
Çizelge 3.4. DNA jel elektroforez kuyucuklar içerisindeki reaksiyon koşulları.....	35
Çizelge 3.5. DNA jel elektroforez bakır varlığında veya yokluğunda kuyucuklar içerisindeki reaksiyon koşulları.	36
Çizelge 4.1. <i>Allium tuncelianumun</i> etanol ekstraktının DNA hasarı üzerine olan etkisinin incelenmesi.	44
Çizelge 4.2. <i>Allium tuncelianumun</i> su ve etanol ekstraktının bakır varlığında DNA hasarı üzerine olan etkisinin incelenmesi.	46

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Tunceli sarımsağının (<i>A. tuncelianum</i>) Munzur Dağları'nda arazideki görünümü (Fotograf: Ruhsar Yanmaz).	3
Şekil 2.1. İkincil oksidasyon ürünlerinin oluşumu ve lipit peroksidasyonunun önerilen mekanizması.....	13
Şekil 2.2. Tokoferol ve tokotrienolün yapısı.	17
Şekil 2.3. Tokoferol'ün kimyasal yapısı.....	18
Şekil 2.4. Flavonoidin kimyasal yapısı.....	19
Şekil 2.5. Flavonoidlerin metal bağlama bölgeleri.....	20
Şekil 2.6. Benzoik asit ve sinnamik asidin kimyasal yapıları.	21
Şekil 3.1. Tunceli sarımsağının çiçekli hali.....	24
Şekil 3.2. Tunceli sarımsağının kuru hali.	25
Şekil 3.3. Sarımsağın manyetik karıştırıcı ile karıştırma işlemi.....	27
Şekil 3.4. Evaporatör ile etanolü ayırma işlemi.....	28
Şekil 3.5. Gallik asit.	29
Şekil 3.6. Toplam fenolik miktar tayini grafiği.....	29
Şekil 3.7. Quarcetin.	30
Şekil 3.8. Toplam flavonoid miktar tayini grafiği.	31
Şekil 3.9. DPPH.....	32
Şekil 3.10. Tiyobarbitürik asit (TBA).	32
Şekil 3.11. Plazmid DNA'nın formları.....	34
Şekil 4.1. <i>Allium tuncelianum</i> etanol ekstraktının düşük konsantrasyonu için farklı konsantrasyonlardaki DPPH radikali üzerindeki söndürücü etkisi.	38
Şekil 4.2. <i>Allium tuncelianum</i> etanol ekstraktının yüksek konsantrasyonda lipit peroksidasyonunu önleme aktivitesinin grafiği. BHA pozitif kontrol olarak kullanıldı.....	39

Şekil	Sayfa
Şekil 4.3. BHA'nın BSA'yı oksidatif hasardan koruyucu etkisinin sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) ile incelenmesi.....	41
Şekil 4.4. Sarımsak (<i>A.tuncellianum</i>) bitki ekstraktının BSA'yı oksidatif hasardan koruyucu etkisinin sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) ile incelenmesi.....	42
Şekil 4.5. Farklı konsantrasyonlardaki <i>A. tuncelianumun</i> (A.t) ekstraktının supercoiled DNA'yı H ₂ O ₂ fotolizi sonucu oluşan OH radikaline karşı koruyucu etkisinin Agaroz Jel Elektroforezi.....	43
Şekil 4.6. <i>Allium tuncelianum</i> bitkisinin su ve etanol ekstraktının bakır varlığında DNA üzerine etkisinin incelenmesi.....	45
Şekil 4.7. <i>A. tuncelianum</i> bitkisinin etanol ekstraktının supercoiled DNA'yı H ₂ O ₂ fotolizi sonucu oluşan OH radikaline karşı koruyucu etkisinin Agaroz Jel Elektroforezi.....	47
Şekil 4.8. <i>A. tuncelianum</i> su ve etanolekstraktının DNA üzerine etkisinin incelenmesi.....	48

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
$O_2^{\cdot -}$	Süperoksit
$\cdot OH$	Hidroksil
$ROO\cdot$	Peroksil
$RO\cdot$	Alkoksil
$NO\cdot$	Nitrik oksit
$HOCl$	Hipoklorit asit
H_2O_2	Hidrojen peroksit
Fe	Demir
Cu	Bakır
Zn	Çinko
Co	Kobalt
Cr	Krom
Mn	Mangan
Ni	Nikel
Mo	Molibden
$ONOO^-$	Peroksinitrit
A°	Absorbans
μg	Mikrogram
g	Gram
mg	Miligram
ml	Mililitre
μl	Mikrolitre

Kısaltmalar

Açıklama

DNA	Deoksiribo nükleik asit
ROT	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksit dismütaz
UV	Ultraviyole
MDA	Melon dialdehit
GPx	Glutasyon peroksidaz
GSH	Glutasyon
GSSH	Yükseltgenmiş glutasyon
BHT	Bütillenmiş hidroksi toluen
BHA	Bütillenmiş hidroksi anisol
PG	Propil galat
TBHQ	Tersiyer bütül hidro kinon
NDGA	Nordihidroguareyetik asit
A.t.	<i>Alium tuncelianum</i>
<i>A. tuncelianum</i>	<i>Allium tuncelianum</i>
TAE	Tris asetat
DPPH	2,2-Difenil-1-picrilhidrazin
SDS-PAGE	Sodyum dodesilsülfat poliakrilamid jel
BSA	Bovin serum albümin
F-C	Folin-Ciocalteu
CAT	Katalaz
HS	<i>Hypericum scabroides</i>
HT	<i>Hypericum triquetrifolium</i>
TCA	Trikloroasetik asit
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit

1. GİRİŞ

Doğal bir antioksidan kaynağı olan bitkiler üzerine son dönemde antioksidan özelliklerinin belirlenmesi ile ilgili çalışmalar hızla artmaktadır. Özellikle halk arasında tıbbi amaçlı kullanılan bitkiler ile gıda sektöründe kullanılan bazı bitkiler antioksidan çalışmaların odak noktasını teşkil etmektedir. Ülkemizdeki endemik bitki türlerinin bazıları Tunceli yöresinde yetişmekte olup en önemlilerinden biri de Tunceli sarımsağı (*Allium tuncelianum*)'dır. Sarımsak (*Allium sativum* L.), antik zamanlardan beri yetiştirilmiş olup, atalarının birçok türü öne sürülmüştür ancak henüz türünün tüm özellikleri tanımlanamamıştır (Fritsch ve ark., 2000) Türkiye'nin doğu bölgesinde yetişen sarımsak *Allium tuncelianum*'un Türkiye'deki sarımsağın vahşi atası olabilir. Üç tür bitki olan *A. sativum*, *A. longicuspis* ve *A. tuncelianum*, koku, çiçek kökünün anthesis öncesi sarılması, solgun renkli, küçük, zararlı, oldukça dar perianth segmentleri ve zararsız filamentler gibi bazı ortak özelliklerini paylaşır (Mathew, 1996; Etoh ve Simon, 2002). Tunceli sarımsağı beyaz ve mor çiçekli tek yaprağı olan kremalı-beyaz soğanları olan bir bitkidir. Türkiye'nin doğusunda özellikle Tunceli ve çevresindeki Munzur dağlarında endemiktir (Bakır, 2005; Yanmaz ve ark., 2010). Tunceli sarımsağı, yayılım için kullanılabilecek bereketli siyah tohumları taşır (Arslan, 2013). Ampuller, aseptik olarak propagül olarak üretilirler (diğer bir deyişle, ana ampulün ana gövdesine bağlı vejetatif olarak üretilen toplar); Bununla birlikte, onların çoğalması ve yayılması nispeten yavaştır. Tohum yoluyla çoğalma, 2-3 yıl sonra olgun bitkiler üretebilir. Tunceli sarımsağı, biyolojik açıdan aktif organik sülfür bileşiği olan allikini (tiyo-2-propen-1-sülfonik asit Sallyl esteri) içerir. Allisin'in antikoagülan, anti-hipertansif, antimikrobik, anti-biyotik, anti-parazitik, anti-mikotik, anti-viral, anti-tümör, antioksidan ve yaşlanma karşıtı aktivitelere sahip olduğu bildirilmiştir (Jacob, 2006; Özkan ve ark., 2013).

A. tuncelianum üzerinde yapılan sitolojik çalışmalardan biride *Allium* türlerinin çoğuyla aynı sayıda kromozom olan $2n = 16$ kromozomlu diploid olduğunu göstermiştir (Ozhatay, 2002). Sarımsak (*A. tuncelianum*), mükemmel antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteye sahip bir takım kükürt ve fenolik bileşikler içerir (Lanzotti, 2006; Corzo-Martinez ve ark., 2007). Kükürt içeren bileşikler, sarımsağın, özellikle alliin ve allisin'in

en belirgin unsurlarıdır. Aminoasit, alliin, taze sarımsakta en temsili kükürt bileşiğidir ve sarımsak ezildiğinde allilaz ile aliline dönüştürülür (Itakura ve ark., 2001).

Serbest radikaller, herhangi bir biyokimyasal süreç için esastır ve Aerobik yaşamın ve metabolizmamızın önemli bir bölümünü temsil eder. Vücudun solunum ve bazı hücrel bağışıklık fonksiyonları gibi normal oksijen kullanımı ile sürekli olarak üretilirler. Doğal olarak, vücutta oluşan serbest radikallerin miktarı ile onları söndürmek ve / veya temizlemek ve vücutlarını zararlı etkilerinden korumak için antioksidanlar arasında dinamik bir denge vardır. Vücuttaki temel homeostatik denge olgusunun bozulması nedeniyle çok faktörlü doğanın hastalıklarının kaynağı bugün anlaşılıyor Ateroskleroz, hipertansiyon, iskemik hastalıklar, Alzhemier hastalığı, parkinsonizm, kanser, diyabet ve enflamatuvar durumlar gibi hastalık koşullarının çoğunluğunun nedeni öncelikle prooksidan ve antioksidan homeostaz arasındaki dengesizlikten kaynaklanmaktadır. Doğal kaynaklardan gelen antioksidan ilkeler, faaliyetlerinin büyüklüğü ve çok yönlülüğe sahiptirler ayrıca dengesizliğin düzeltilmesinde muazzam bir kapsama sahiptirler. Halk arasında, sarımsak bronşit ve solunum problemleri, gastrointestinal problemler, kan dökmesi, cüzam, adet krampları, yüksek tansiyon, şeker hastalığını tedavi eder. Son zamanlarda, bilim bazılarını onaylamaya başlamıştır. Sarımsakların uzun zamandır devam eden tıbbi kullanımları vardı. Sarımsak, çalışmalar ve klinik araştırmalarda kan kolesterolü, kan basıncını ve şekerini düşürmekte ve anti-kanser, anti bakteriyel, anti-fungal ve anti-oksidan etkileri olduğunu göstermiştir. Taze *A. tuncelianum* (sarımsak) antioksidan aktivitesi iyi bilinmektedir ve esas olarak kararsız ve tahriş edici organosülfür bileşiklerinden kaynaklanmaktadır. Uzun süre ekstrakte edilen taze sarımsak serbest radikalleri süpürerek oksidatif hasarı önleyen, kararlı ve suda çözünür organosülfür bileşikleri içeren kokusuz yaşlanmış sarımsak özütü üretir. Sarımsak (*Allium sativum*), Alliaceae (Zambakgiller) familyasına dahil *Allium* cinsinden bir soğanlı bitki türüdür ve yapraklarında, saplarında ve toprak altındaki soğanında kokulu bir yağ bulunur. Sarımsak yıllık bir bitki olup soğan, yabani soğan, zambak ve pırasa ile akraba olduğu bilinmektedir. Germanyum ve selenyum bakımından zengin topraklarda yetişen sarımsak iyi kaliteye sahiptir. Bir baş sarımsakta %84.09 su, %13.38 organik madde, %1.53 inorganik madde bulunmaktadır. İçeriğinde ayrıca, 33 çeşit kükürt bileşiği, 17 çeşit aminoasit, germanyum, çinko, A, B₁ ve C vitaminleri bulunmaktadır Sarımsağın ilk çağlardan bu yana bir yiyecek bitkisi olarak

kullanılması yanında büyük efor harcamaları nedeniyle Mısır Piramitlerinin yapımında çalışanlarla birlikte Romalı savaşçılara verildiği bilinmektedir. Özellikle çiğ olarak tüketilmesi durumunda, içerdği 200'den fazla kimyasal madde sayesinde insan vücudunu birçok hastalıktan koruma kapasitesine sahiptir



Şekil 1.1. Tunceli sarımsağının (*A. tuncelianum*) Munzur Dağları'nda arazideki görünümü (Fotograf: Ruhsar Yanmaz).

Sarımsağın çok geniş bir yelpazede kullanım alanı bulunmaktadır. Bunlardan en önemlileri ve yapılan araştırmalar sonucu sağladığı faydaları aşağıdaki gibi özetlemek mümkündür.

Yüksek kan basıncı, yüksek kolesterol ve trigliserit seviyelerini düşürerek kalp hastalıklarına karşı koruma sağlamaktadır.

İmmün sistemi mobilize ederek tümör oluşumuna neden olan karsinojenleri bünyesindeki allinaz ve diğer bazı maddeler yardımıyla yok edebilirler. İçerdği allisin bileşikleri yardımıyla kan şekerini önemli ölçüde düşürme etkisine sahiptir. Hatta sarımsağın kükürt ihtiva eden bileşiklerinden bazıları, özel bir şekildeşeker metabolizmasını regüle etme kabiliyetine sahip olduklarından hem yüksek, hem de düşük kan şekeri vakalarında sarımsağın olumlu etki ettiği tespit edilmiştir. Mikropları yok ettiğinden dolayı kuvvetli ve doğal bir antiseptiktir.

Sarımsak dişinin dövülmesinden yaklaşık 20 saniye sonra ortaya çıkan allisinden dolayı etkili ve doğal bir antibiyotiktir. Allisin protozoa, bakteri ve virüsler üzerinde etkili bir antimikrobiyaldir.

Kandaki fibrin ve plakçık oluşumunu düşürerek kalp krizi riskini önemli ölçüde azalttığı, hatta bu konuda aspirinden daha etkili olduğu ileri sürülmektedir. Bağışıklık sisteminin etkinliğini artırdığı düşünülen kükürt ihtiva eden aminoasitler ve diğer bileşiklerce zengindir.

Tedavisi güç olan virüsler ve fungal enfeksiyonlar için kullanılan ilaçlar genelde toksiktir ve uzun dönemde ilaca karşı direnç geliştirebilir. Buna karşın allisin ihtiva eden sarımsağın ise mikroorganizmalara karşı etkin bir doğal antifungal madde olduğu tespit edilmiştir (Artık ve Poyrazoğlu, 1994; Agarwal, 1996).

Özellikle son yıllarda adından çok sık bahsedilen antioksidan kavramı, hücrelerimize zarar verme potansiyeline sahip oksidasyon ajanlarına veya serbest radikallere karşı selenyum gibi maddeleri içermektedir. Yapısında genellikle fenolik fonksiyon taşıyan antioksidanlar, serbest radikal oluşmasını engellemek veya yok etmek suretiyle hücrenin zarar görmesini engellemektedirler. Vücutta bir kalkan görevi gören bu bileşikler kendi elektronlarını vererek serbest radikalleri nötralize edebilme ve bu esnada serbest radikal haline gelmeme özelliğine sahiptirler (Kahkönen ve ark., 1999; Prior ve Cao, 2000).

Doğal antioksidanlar, bitki ve hayvan dokularında bulunan ve ekstrakte edilebilen ya da gıda işlenmesi sırasında açığa çıkan bileşenlerdir. En önemli doğal antioksidanlar, tokoferoller, flavonoidler, fenolik asitler, vitamin C, karotenoidler, polifenoller ve selenyumdur (Doğmuş ve Durucasu, 2013). Günümüzde kullanılmakta olan bütillendirilmiş hidroksianisol (BHA), bütillendirilmiş hidroksitoluen (BHT), tersiyerbütül hidrokinon (TBHQ) ve propil gallat (PG) gibi sentetik antioksidanların kanserojen oldukları düşünülmekte ve bu nedenle de gıda kimyası ve tıp alanında doğal antioksidanlara karşı olan ilgi yoğun bir şekilde artmaktadır (Madhavi ve ark., 1996).

Türkiye, barındırdığı bitki türleri bakımından dünyanın en zengin ülkelerinden biridir. Farklı iklim koşulları, yer şekilleri ve zengin toprak özellikleri bakımından birçok bitkinin yetişmesi için uygun şartlara sahip olan ülkemiz 174 familyaya ait 1251 cins ve 12.000'den fazla tür ve tür altı taksonu (alt tür ve varyete) ile oldukça zengin bir bitki örtüsüne sahiptir (Erik ve Tarıkahya, 2004). Türkiye'de tıbbi olarak kullanılan

bitkilerin sayısı kesin olarak bilinmemekle birlikte, 500 civarında olduğu tahmin edilmekte; yaklaşık 200 tıbbi ve aromatik bitkinin ihraç potansiyelinin olduğu belirtilmektedir (Kendir ve Güvenç, 2010). Son yıllarda, bilim insanlarının hastalıklara karşı doğal bir antioksidan kaynağı olan bitkilerin antioksidan özelliklerinin belirlenmesi ile ilgili çalışmalar büyük bir ivme ile artmaktadır. Özellikle halk arasında tıbbi amaçlı kullanılan bitkiler ile gıda sektöründe kullanılan bazı bitkiler antioksidan çalışmaların odak noktasını teşkil etmektedir. Ülkemizdeki endemik bitki türlerinin bazıları Tunceli yöresinde yetişmektedir. Bu endemik bitkilerden biri de Tunceli sarımsağı (*Allium tuncelianum*)'dır. Dünya'da sadece Tunceli ilinde ve özellikle Munzur dağları eteklerinde yer alan Ovacık ve Pülümür ilçelerinde yaygın olarak bulunan endemik bir bitki türüdür. Bölgede yaptığımız incelemelerde bitkinin Munzur Dağı'nın Erzincan yönüne bakan yamaçlarında da bulunduğu belirlenmiştir. Bitki endemik olması ve 'Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı'nda zarar görebilir olması nedeniyle korunması gereken bitkiler içinde değerlendirilmektedir (Ekim ve ark., 2000).

Tunceli sarımsağı, tek dişli, üzerindeki kabukların arasında küçük diş benzeri oluşumlar bulunan, bilinen sarımsak aromasına sahip, diğerinden farklı olarak çiçeklenip tohum verebilen bir türdür. Tek dişli olması, kabuk sayısının kültür sarımsağından az (1-2 adet) olması ve başların 18-20 °C'de uzun süre saklanabilmesi gibi özellikleri nedeniyle tüketim amacıyla olduğu gibi, endüstride de kullanım şansı bulunmaktadır. Yörede de dağlardan toplanarak 'Kaya sarımsağı' adı altında satılmakta ve ticari mal olarak kullanılmaktadır. Endemik bir bitki olmasına rağmen Tunceli sarımsağının korunmasına ve kültüre alınmasına ilişkin bir çalışmaya rastlanmamıştır. Tunceli sarımsağının çoğaltılmasıyla ilgili olarak, doğal ortamında tek dişli başlar ürettiği ve yöreden temin edilen örneklerde yapılan gözlemlere göre başlar üzerinde henüz fonksiyonları tam olarak anlaşılmamış minik diş benzeri yapılar bulunduğu dışında bir bilgi bulunmamaktadır. Türün tanımlanmasında bitkinin 25- 60 cm uzunluğunda çiçek sapı oluşturduğu, çiçeklendiği ve kapsül şeklinde meyveye sahip olduğu, tohumlarının 1-2 mm çapında 3 köşeli ve üzerinin buruşuk olduğu belirtilmekte ise de, tohumlarının varlığı ve özellikleri ile ilgili bir değerlendirme yapılmamıştır (Özhatay ve Şiraneci, 1992). Bununla birlikte bitkinin doğal ortamında nasıl çoğaldığını ve kültüre alma koşullarını belirlemek amacıyla ulaşılabilir Yaşam Derneği aracılığı ile Tunceli sarımsağının kültüre alınma çalışmaları başlatılmış; Tunceli, Ankara ve Yalova

koşullarında başlardan, dişlerden ve tohumdan üretme çalışmaları ile hızlı çoğaltma amacıyla *in vitro* çoğaltma çalışmaları devam etmektedir. Doğal antioksidanlar, bitki ve hayvan dokularında bulunan ve ekstrakte edilebilen ya da gıda işlenmesi sırasında açığa çıkan bileşenlerdir. En önemli doğal antioksidanlar, tokoferoller, flavonoidler, fenolik asitler, vitamin C, karotenoidler, polifenoller ve selenyumdur (Doğmuş ve Durucasu, 2013).

Kuvvetli bir doğal antioksidan olan sarımsağın bünyesinde hücreleri serbest radikallerin zararından korumaya yardımcı olan sistein, glutamin, izolösin ve metionin gibi aminoasitler bulunmaktadır. Yapılan araştırmalar sarımsağın antioksidan özelliğinden dolayı, vücutta nötralize edilmesi oldukça zor olan kurşun, civa, kadmiyum, arsenik ve bakırlı kirleticilerden kaynaklanan ağır metal zehirlenmelerine karşı vücudu etkin bir şekilde koruduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma ile; Tunceli Sarımsağının Etanol ekstraktının antioksidant aktivitesini incelemek ve bu ekstraktın Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS) neden olduğu protein ve DNA hasarını önleme kapasitesini test etmektir. Canlıların yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmeleri için enerjiye ihtiyaçları bulunmaktadır. Bu enerji de glukoz ve yağ asitleri gibi moleküllerin oksidasyonu ile elde edilmektedir. Ancak oksidasyon reaksiyonları sonucunda reaktif oksijen formları (ROS, Reactive Oxygen Species) olarak adlandırılan ve yapısında oksijen içeren serbest radikaller oluşmaktadır. Bu radikaller, aralarında kanser ve kardiyovasküler hastalıkların da bulunduğu birçok kronik hastalığın başlamasına neden olmaktadır. Bu serbest radikaller, doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek lipitlerin peroksidasyonuna ve protein ve DNA'ların (Deoksiribonükleik asit; Deoxyribonucleic acid) zarar görmesine neden olarak hücrenin inaktivasyonuna neden olmaktadır (Murthy ve ark, 2002). Bu nedenle hücrelerdeki lipit peroksidasyonunu önleyen doğal antioksidanlar son yıllarda büyük önem kazanmıştır. Antioksidanlar oksidatif zincir reaksiyonlarının (chain-breaking) başlama (initiation) veya gelişmesini (propagation) inhibe ederek, lipitlerin veya diğer moleküllerin oksidasyonunu engelleyen veya geciktiren bileşiklerdir (Javanmardi ve ark., 2003). Antioksidanlar, oksidatif zincir reaksiyonlarının “başlamasını önleyen primer antioksidanlar” ve “gelişimini önleyen ikincil veya koruyucu (preventive) antioksidanlar” olmak üzere 2 ana başlık altında incelenmektedir (Halliwell, 1990). Bu reaksiyonlar sonucunda, antioksidanlar, ya lipit radikali (R·) ile reaksiyona girerek lipit oksidasyonunun

başlamasını ya da peroksi (ROO·) veya alkoksi (RO·) radikaller ile reaksiyona girerek oksidasyonunun gelişimini önlerler. Diğer yandan, ikincil antioksidanlar ise, lipidlerin oksidasyonunu geciktirerek etkilerini gösterirler. Örneğin, antioksidanlar metallerle kelat oluşturarak, ferro demirin (Fe²⁺) katıldığı Fenton tipi reaksiyonların oluşumu önlenmekte ve böylece bu reaksiyon sonucu reaktif hidroksi radikalinin (·OH) oluşumu da önlenmektedir.

Oksijen tüketen organizmaların tümünde; lipid, protein ve DNA gibi biyolojik moleküllerin oksidasyonunu önleyen enzimatik veya enzimatik olmayan çeşitli antioksidan bileşikler bulunmaktadır. Süperoksit dismutaz (SOD, Superoxide dismutase), glutatyon peroksidaz (GSHPx, Glutathione peroxidase) ve katalaz en önemli antioksidan enzimlerdir. Enzimatik olmayan antioksidan bileşikler ise; başta askorbik asit, E vitamini, karotenoidler, fenolik bileşikler olmak üzere, indirgenmiş glutatyon, albumin, seruloplazmin ve ferritinden oluşmaktadır (Guo ve ark., 2003). Askorbik asit, E vitamini ile provitamin A aktivitesi gösteren β-karoten, oksijenin reaktif formlarını inaktive etmek suretiyle antioksidan etki göstermektedir. Buna karşın fenolik maddeler ise, serbest radikalleri bağlayarak, metallerle kelat oluşturarak ve lipoksigenaz enzimini inaktive etmek suretiyle bu etkiyi göstermektedir (Frankel, 1999). Fenolik bileşikler arasında antioksidan aktivite gösterenler; fenolik asitler, flavonoidler ve fenolik diterpenlerdir. Fenolik asitlerden, kafeik asit esterlerinin (örneğin klorojenik asit) yüksek düzeyde antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmektedir (Koca ve Karadeniz, 2005). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, bazı flavonoid bileşiklerin de önemli düzeyde antioksidan aktivite gösterdiği saptanmıştır (Gorinstein ve ark., 2004). Bu grupta flavonoller, flavonlar, flavanonlar, kateşinler ve antosiyaninler bulunmaktadır. Bu bileşiklerin, yapılarındaki hidroksil gruplarının sayısına ve pozisyonuna bağlı olarak antioksidan aktivite gösterdikleri belirlenmiştir (Miller ve Rice-Evans, 1997).



2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

2.1. Reaktif Oksijen Türleri ve Etkileri (ROS).

Sarımsağın içeriğinde çok yüksek miktarda sülfürlü bileşikler mevcuttur. Bunun yanında sülfürlü olmayan birçok bileşikte mevcuttur. Bunlar; steroidal glikositler, esansiyel yağlar, flavonoidler, anthosiyantinler, lektinler, prostaglandinler, fruktan, pektin, adenozin, vitamin B₁, B₂, B₆, C ve E, biotin, nikotik asit, yağ asitleri, glikolipitler, fosfolipitler, esansiyel amino asitler (sistein, glutamin, izolösin ve metionin) ve selenyum gibi mineraller bulunmaktadır (Erol ve Alpsoy., 2007; Bozin ve ark., 2008). Bu bileşiklerin kükürtlü bileşikler ile birlikte sinerjistik etki gösterdikleri düşünülmektedir (Amagase, 2006). Bir serbest radikal bir veya daha fazla çiftleşmemiş elektrona sahip kendiliğinden var olabilen kimyasal türler olarak tanımlanır. Serbest radikaller oldukça kararsız moleküllerdir. Süperoksit (O₂⁻), hidroksil (·OH), peroksil (ROO·), alkoksil (RO·) ve nitrik oksiti (NO·) kapsayan oksijen merkezli serbest radikal örnekleri ve singlet oksijen (¹O₂), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve hipoklorit (HOCl) gibi radikal olmayan türler reaktif oksijen türleri (ROS) olarak bilinir (Çizelge 2.1) (Pietta., 2000). ROS'lar ya en az bir çiftleşmemiş elektron içeren radikallerdir ya da biyomolekülleri oksitleme yeteneğine sahip olabilen reaktif radikal olmayan bileşiklerdir. Bu nedenle bu araürünler ayrıca oksidant veya pro-oksidant olarak adlandırılır (Halliwell ve Gutteridge, 1989; Sies, 1991). ROS'lar normal fizyolojik olaylar boyunca sürekli olarak üretilirler ve lipid peroksitlerin birikmesine neden olan membran lipidlerinin peroksidasyonunu kolaylıkla başlatabilirler (Elmastaş ve ark., 2006; Gülçin, 2010). Fizyolojik konsantrasyonlardaki ROS'lar normal hücre fonksiyonları için gerekli olabilir. Ancak yüksek konsantrasyonlardaki ROS'lar hücrel bileşenler tarafından etkili bir şekilde söndürülmezlerse proteinler, lipidler ve nükleik asitler gibi hücrel biyomoleküllere hasar verici serbest-radikal zincir reaksiyonlarını uyarabilirler ve en sonunda hastalık koşullarına yol açabilirler. Ayrıca mutasyonlara yol açabilen DNA hasarına da neden olabilirler (Halliwell ve Gutteridge, 1990). Oluşan bu hasarlar yaşlanma, kanser, inflamasyon, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar gibi hastalıklara neden olur (Aruoma, 1994).

ROS'un endojen oluşumu için biyolojik yollar onların üretim yollarıdır. Organizmalar aynı zamanda dış kaynaklardan da ROS'a maruz kalmaktadır. ROS'un eksojen kaynakları tütün dumanını, belirli kirleticileri, organik çözücülerini ve pestisitleri kapsar (Halliwell ve Gutteridge, 1989).

Çizelge 2.1. Reaktif oksijen türleri (ROS), reaktif azot türleri ve serbest radikal olmayan türler.

Reaktif oksijen türleri		Serbest radikal olmayan türler	
Süperoksit radikali	$O_2^{\cdot-}$	Hidrojen peroksit	H_2O_2
Hidroksil radikali	$\cdot OH$	Singlet oksijen	1O_2
Hidroperoksil radikali	$HOO\cdot$	Ozon	O_3
Lipit radikali	$L\cdot$	Lipit hidroperoksit	$LOOH$
Lipit peroksil radikali	$LOO\cdot$	Hipoklorit	$HOCl$
Peroksil radikali	$ROO\cdot$	Proksinitrit	$ONOO^-$
Lipid alkoksil radikali	$LO\cdot$	Dizot trioksit	N_2O_3
Azot dioksit	$NO_2\cdot$	Nitröz asit	HNO_2
Nitrik oksit	$NO\cdot$	Nitril klorür	NO_2Cl
Nitrozil katyonu	NO^+	Nitroksil anyonu	NO^-
Thiyl radikali	$RS\cdot$	Peroksinitröz asit	$ONOOH$
Protein radikali	$P\cdot$	Nitröz oksit	N_2O

2.1.1. Hidroksil radikali ($\cdot OH$)

Hidroksil iyonunun (OH^-) nötral formudur. Bu radikal yaklaşık tahmin edilen 10^{-9} sn yarılanma süresiyle en reaktif tür olarak bilinir. Hidroksil radikali, metal-katalizli süreçte yer alan endojen H_2O_2 'den veya vucüt sıvısının hemolitik bölünmesiyle yüksek enerjili radyasyon üzerinden *in vivo* olarak oluşabilir. UV ışığı bölünmüş suda enerjik olarak yetersizdir; fakat hidroksil radikalının iki molekülünü üretmede H_2O_2 'i ayırabilir. Bu radikalın yüksek reaktivitesi üretildiği yerde hemen bir reaksiyonu beraberinde getirmesiyle gözlenir (Diplock ve ark., 1998).

2.1.2. Nitrik oksit (NO·)

Nitrik oksit memelilerde önemli bir sinyal molekülüdür. Bu önemli hücresel haberci molekül çoğu fizyolojik ve patolojik süreçlere karışır (Hou ve ark. 1999). Nitrik oksit radikali (NO·) arjininden enzimatik olarak oluşturulan sinyal bileşimidir ve kan-damar duvarlarındaki düz kasları düşürülmüş kan basıncı sonucu gevşetir. Nitrik oksit aynı zamanda primer bağışıklık savunma sistemine katkıda bulunan aktive edilmiş makrofajlar tarafından üretilir. Nitrik oksit radikalının (NO·) aşırısı sitotoksiktir. Nitrik oksit radikali, peroksinitrit (ONOO·) oluşturmak için biyomoleküllerle doğrudan veya O_2^- ile birleşerek reaksiyona girebilir. Peroksinitrit lipoproteinlerdeki lipit peroksidasyonunu başlatma yeteneğine sahiptir; fakat aynı zamanda proteinlerdeki tirozin kalıntılarını nitratlamayla hücresel sinyalleşmeye müdahale edebilir (Beckman, 1996; Packer, 1996).

2.1.3. Peroksil radikali (ROO·)

Biyolojik sistemlerde önemli ölçüdeki bir difüzyon yoluyla nispeten uzun süreli bulunur. Peroksil radikali çoklu doymamış yağ asitlerinden bir H atomunun çıkarılmasıyla başlatılan lipit peroksidasyonu sürecinden elde edilebilir. Hidroksil radikali bu reaksiyon dizisini başlatma yeteneğine sahiptir. (Esterbauer ve ark. 1992, Reaven ve Witztum 1996). Lipit peroksidasyonu ile üretilen ilave ürünler alkoksil radikalleri (RO·) ve organik hidroperoksitlerdir (ROOH). İkincisi aldehitleri elde etmek için ayrılan endoperoksit ara ürünlere yeniden düzenlenebilir. Proteinlerin amin gruplarıyla aldehitlerin reaksiyonu lipoproteinlerin protein kısmının modifikasyonunu kapsayan bir mekanizmadır (Diplock ve ark., 1998).

2.2. Serbest Radikallerin DNA'ya Etkileri

Aerobik organizmalarda oksijen kullanımının doğal sonucu olarak reaktif oksijen türleri (ROS) meydana gelmektedir. Başta mitokondriyal elektron taşıma olmak üzere ksenobiyotik metabolizması, fagositik aktivasyon, çeşitli sentez ve degradasyon reaksiyonlarında ROS oluşmakta ve prooksidan/antioksidan dengenin prooksidanlar lehine kayması sonucunda gelişen oksidatif stres, çeşitli mekanizmalar ile biyomoleküllere hasar vermektedir (Cooke ve ark., 2003; Evans ve Cooke., 2004).

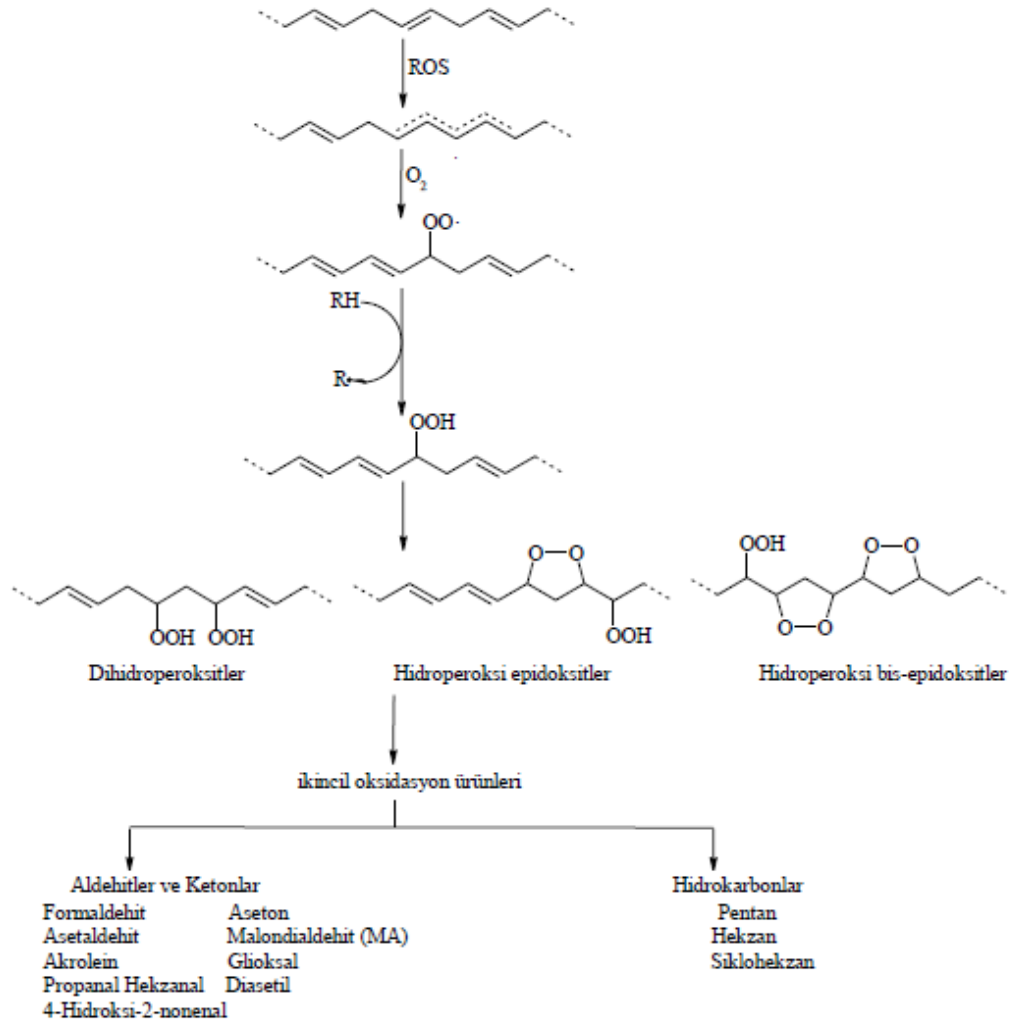
Kararlı bir molekül olan DNA'da lipitler, karbohidratlar ve proteinler gibi spontan kimyasal oksidatif hasara uğrayabilmektedir. İnsan vücudunun her hücresinde DNA'nın günde 103 kez oksidatif hasara maruz kaldığı öne sürülmüştür (Halliwell ve Gutteridge., 1999). ROS oluşumundaki artma, antioksidan enzim düzeylerindeki azalma ve DNA onarım mekanizmalarının defekt olması oksidatif DNA hasarının artmasına yol açmaktadır. (Cooke ve ark., 2003; Evans ve Cooke, 2004). Oksidatif hasara bağlı olarak DNA'da, tek ve çift sarmal kırıkları, baz modifikasyonları (baz katılımı veya bazlarda yeniden düzenlenme), şeker hasarı meydana gelebilir veya DNA ile protein arasında çapraz bağlanma olabilir (Cooke ve ark., 2003; Evans ve Cooke., 2004).

DNA çok sayıda negatif yüklü fosfat grupları içerdiğinden, çeşitli katyonları bağlama yeteneğine sahip büyük bir anyondur. $Fe^{+2/+3}$ ve $Cu^{+1/+2}$ iyonları negatif yüklü DNA'da sürekli bağlı bulunabildikleri gibi oksidatif stres altında hücre içinde bulunan demirli ve bakırlı proteinlerden serbestleşerek de DNA'ya bağlanabilmektedirler. Redoks aktif geçiş metal iyonlarının bağlanmaları DNA molekülünü H_2O_2 'in hedefi haline getirmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1999). DNA'ya bağlı metal iyonları ile H_2O_2 'in DNA üzerinde reaksiyona girmesinden oluşan hidroksil radikalleri ($\cdot OH$), hidroksil radikal söndürücüleri tarafından uzaklaştırılamamaktadır. Ayrıca, hidroksil radikal söndürücülerin oluşturduğu radikaller de DNA'ya hasar verebilmektedir (Milligan ve Ward, 1994). Bu tür DNA hasarlanmaları, DNA'nın çoğaltılmasının engellenmesine neden olabildiği gibi çok çeşitli mutasyonlarla yanlış ürün ya da hiç ürün üretmemeye de neden olabilmektedir. DNA'nın bu şekilde kararlılığının bozulması hücre ölüm programının aktivasyonuna neden olmaktadır.

2.2.1. Serbest radikallerin lipitlere etkileri (Lipit peroksidasyonu)

Serbest radikaller, savunma mekanizmalarını aşacak oranlarda oluştuğları zaman organizmada çeşitli bozukluklara yol açarlar. Biyomoleküllerin büyük bir kısmı serbest radikaller tarafından etkilenir fakat lipitler en hassas olanıdır. Lipit molekülleri hücre membranını ve çeşitli hücresel organel membranlarını oluşturmaktadır. Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipit peroksidasyonu olarak bilinir ve oldukça zararlıdır. Çünkü kendi kendini

devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler. Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür.



Şekil 2.1. İkincil oksidasyon ürünlerinin oluşumu ve lipit peroksidasyonunun önerilen mekanizması.

Lipit peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur özellikle hücre içi ve hücreler arası molekül trafiğini ciddi şekilde bozmaktadır. Hücre membranının oksidasyonu lipit radikalının hidrofobik karakterinden dolayı doğrudan hücre geçirgenliğini etkilemektedir. Peroksidasyonla oluşan malondialdehit, membran bileşenlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna sebep olur. Bunun sonucu deformasyon, iyon geçişi, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi farklı şekillerde membran özelliklerini değiştirir.

Lipit peroksidasyonu, organizmada oluşan serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan çoklu doymamış yağ asidi zincirinden bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlar. Bunun sonucu yağ asidi zinciri bir lipit radikali niteliği kazanır. Oluşan lipit radikali dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Molekül içi çift bağların pozisyonlarının değişmesiyle konjuge di enleri ve daha sonra lipit radikalının moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipit peroksit radikali meydana gelir. Lipit peroksit radikalleri, membran yapısındaki diğer çoklu doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipit radikallerinin oluşumuna yol açarken, kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipit peroksitlerine dönüşürler. Böylece olay kendi kendine katalizlenerek zincir reaksiyonları şeklinde devam eder (Şekil 2.1) (Braughler ve ark., 1987; Burton, 1989).

2.2.2. Serbest radikallerin proteinler üzerindeki etkisi (Protein oksidasyonu)

Proteinler oksidatif hasarın majör hedefleri olarak tanımlanmaktadır. ROS ile proteinin ana yapısının reaksiyonu, amino asidin α -karbonundan bir H atomunun hidroksil radikaline ($\cdot\text{OH}$) bağlanarak ayrılması ve H_2O oluşturması ile başlar (Stadtman ve Levine., 2003). H atomunun hidroksil radikaline ($\cdot\text{OH}$) bağlanarak ayrılması karbon merkezli radikalın oluşumuna neden olur. Karbon merkezli radikal karbon-karbon çapraz bağlı türevleri üretmek üzere bir başka karbon merkezli radikal ile reaksiyona girebilir.

Proteinlerin serbest radikaller tarafından hasarlanması, proteinin fonksiyonunun bozulmasına, eğer bir enzim ise enzimatik aktivitesinin azalmasına, eğer yapısal bir protein ise yapısal görevini yerine getirmemesine neden olmaktadır. Fonksiyonu ve yapısı bozulan proteinler hücresel yıkım sistemleri tarafından yıkılmaktadır. Fakat burada bir denge söz konusudur. Yeteri kadar hızlı yıkılmayan proteinler hücre içerisinde ve hücreler arasında birikmeye neden olmaktadır. Birikmeye başlayan proteinler daha fazla proteini kendi bünyesine çekmektedir. Ayrıca ağır metaller ve çok çeşitli artık metabolitler bu birikimlere dahil olmaktadır. Bu durumda hiçbir hücresel artık temizleme mekanizması bu artığı temizleyememekte ve birikim giderek hızlanarak çok çeşitli patolojilere neden olmaktadır. Alzheimer hastalığı böyle bir patolojinin ürünüdür (Dalle-Donne ve ark., 2003).

2.3. Antioksidantlar

Normal bir hücrede uygun bir pro-oksidant-antioksidant dengesi vardır. Ayrıca bu denge oksijen türlerinin üretiminde büyük bir artış olduğu zaman veya antioksidantların seviyeleri azaldığı zaman pro-oksidantlara doğru kayabilir. Bu durum oksidatif stres olarak adlandırılır. (Sies, 1997) oksidatif stres kavramını pro-oksidant-antioksidant dengenin bozulması olarak tanımlamıştır. Başka bir tanıma göre, oksidatif stres reaktif oksijen türlerinin oluşması ve üretilmesi arasındaki dengesizliği temsil eder ve meydana gelen hasarı tamir etme veya reaktif ara ürünleri kolaylıkla arındırma biyolojik sistemin kapasitesiyle ilgilidir.

Bir antioksidant diğer moleküllerin oksidasyonunu önleme yeteneğine sahip bir moleküldür. Gıda açısından bir antioksidant düşük konsantrasyonlarda oksitlenebilir bir substratı önemli ölçüde geciktiren veya bu substratın oksidasyonunu önleyen herhangi bir madde olarak tanımlanır (Halliwell ve Gutteridge., 1989; Sies, 1993; Halliwell, 1995). Şekil 2.2'de gösterildiği gibi antioksidant bileşikler serbest radikalleri söndürebilir ve gıda ve farmasötik ürünlerin işleme ve depolama süreci boyunca bozunmasına neden olan lipit peroksidasyonu sürecini geciktirerek raf ömrünü uzatırlar (Halliwell, 1997). Antioksidantlar ayrıca ROS'un etkilerinden ve serbest radikallerden insan vücudunu korurlar. Son yıllarda özellikle bitki kökenli doğal antioksidantlar için araştırma yapmaya ve besinsel antioksidatların alternatif doğal ve güvenli kaynaklarını belirlemeye yönelik büyük bir ilgi vardır. Gıda bileşenlerinin antioksidant yeteneğinin belirlenmesi için antioksidant aktivite ve antioksidant kapasite terimleri sıklıkla birbirinin yerine kullanılabilir, ancak onların farklı anlamlara sahip olduğu kabul edilmelidir. Aktivite spesifik bir antioksidant ve spesifik bir oksidant arasındaki bir reaksiyonun sabit bir oranını ifade eder. Kapasite verilen serbest radikalın bir örnek tarafından söndürülme miktarının ölçüsüdür (MacDonald-Wicks ve ark., 2006).

Epidemiyolojik çalışmalar meyve ve sebze alımının onların antioksidant aktivitesine bağlı olarak koroner kalp hastalığı ve kanser gibi yaşa bağlı hastalıkların neden olduğu ölüm oranı arasında ters bir ilişki olduğunu göstermiştir (Eberhardt ve ark., 2000; Ganesan ve ark., 2011). Bu doğal kaynakların en önemli biyoaktif bileşikleri sağlığa olumlu yönde katkıda bulunan fenolikler ve flavonoidlerdir (Bocco ve ark., 1998).

Bir serbest radikal reaktif bir türdür. Çünkü çiftleşmemiş bir elektrona sahiptir. Serbest radikalın reaktivitesi bir elektron veren antioksidant A tarafından azaltılır ve reaktif bir türe dönüşen antioksidant A ikinci bir antioksidant B tarafından tekrar eski haline dönüştürülür.

2.3.1. Doğal antioksidantlar

İnsan besini sahip olduğu antioksidant aktivitelerin veya onların yapısal özelliklerine göre ROS söndürmede ileri sürülen farklı bileşiklerin bir dizisini içerir. Besinsel antioksidantların en önemli temsilcileri vitamin C, tokoferoller, karotenoidler ve flavonoidlerdir. Vitamin C'nin dışında bu antioksidantların her bir grubu çok sayıda yapısal olarak farklı bileşikler içerir. Örneğin; 600'den fazla farklı karotenoidler zamanla tespit edilmiştir ve onların yaklaşık %50'si insan besininde meydana gelebilir (Sies ve Stahl, 1995).

2.3.1.1. Askorbik asit (Vitamin C)

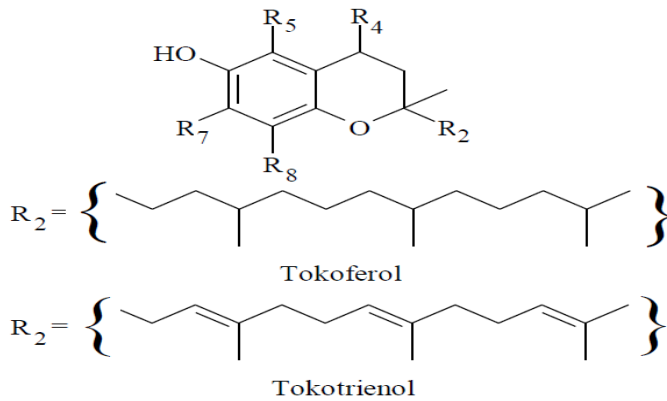
Askorbik asit en güçlü doğal antioksidantlardan biri olarak düşünülebilir ve en az toksik olan doğal antioksidanttır (Bendich ve ark., 1986). Askorbik asit suda çözünebilir bir vitamindir ve çoğu besinsel gıda veya bitkilerde yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Genellikle oksidantlarla reaksiyona girer. Askorbik asit elektron transferiyle radikal zincir reaksiyonlarını sonlandırabilir. Askorbik asit özeldir. Çünkü bir tek elektron transfer edebilir. Askorbik asit etkili bir indirgendir. Askorbik asit konjuge sistem oluşturan bağ yapmamış hidroksil grubu, karbonil çift bağı ve çift bağıdaki elektronların olduğu vinillog karboksilik asit olarak davranır. Askorbik asidin protonlanmamış konjuge bazı iki temel rezonans yapısıyla stabilize edildiğinden askorbik asitteki hidroksil grubu tipik hidroksil grubundan çok daha asidiktir. Diğer bir deyişle, protonlanmamış formun olduğu bir enol olarak düşünülebilen askorbik asit enolatla stabilize edilebilir. Aynı zamanda insan plazması yaklaşık 60 µmol askorbat içerir. ROS'la etkileşiminde askorbik asit, ara ürün askorbil serbest radikali yoluyla dehidro-askorbata yükseltgenir. Dehidroaskorbat, dehidroaskorbat redüktaz enzimiyle askorbik asite geri dönüştürülür. Böylece

dehidroaskorbat, askorbatla karşılaştırıldığında yalnızca çok düşük seviyelerde bulunur. (Weber ve ark., 1996).

ROS'un bir söndürücüsü olarak, askorbik asit süperoksit radikal anyonu, H_2O_2 hidroksil radikali ve singlet oksijene karşı etkili olarak gösterilmektedir. Sulu çözeltilerde, askorbik asit ayrıca reaktif nitrojen oksit türlerini etkili bir şekilde söndürür. Besindeki askorbik asidin temel kaynakları özellikle narenciye, kivi, kiraz, karpuz gibi meyveler ve domates, yeşil yapraklar, brokoli, karnabahar ve lahana gibi sebzelerdir. (Rock ve ark., 1996). Askorbat ayrıca *in vivo* bir pro-oksidan olarak davranabilir. Serbest geçiş metal iyonları ve askorbatın varlığında, hidroksil radikali ($\cdot OH$) üretilebilir ve lipid peroksidasyonunun başlaması meydana gelebilir. Serbest geçiş metallerinin miktarları *in vivo* olarak çok azdır. Çünkü onlar proteinlere de etkili bir şekilde bağlanır. (Rice-Evans ve Miller, 1996)

2.3.1.2. Tokoferoller

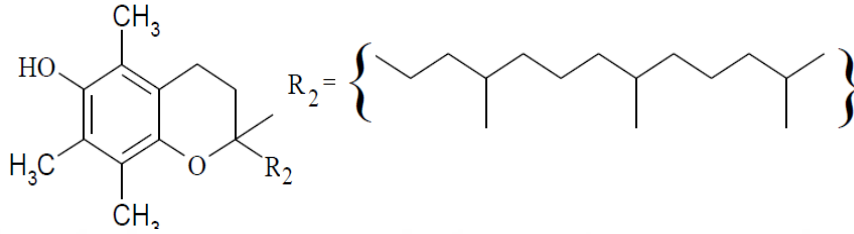
Tokoferoller E vitamini aktivitesine sahip olan çoğu kimyasal bileşiğin bir sınıfıdır (Gülçin ve ark., 2005; Aras, Hisar ve ark., 2004). Tokoferoller iyi bilinen ve en yaygın olarak kullanılan antioksidantlardır (Pokorny, 1987). Tokoferoller ve tokotrienoller olarak sınıflandırılırlar Şekil 2.2'de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Tokoferol ve tokotrienolün yapısı.

Tokoferoller aşağı yukarı tüm gıda materyallerinde en az miktarlarda bulunurlar. Genellikle vitamin E'nin en yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu gıda kaynakları tüm tahıl tohumları ve kabuklu yemişlerle birlikte sebze yağlarıdır. Bu grubun en önemli antioksidantı diğer tokoferollerden yenilebilir yağlarda (sofra yağı) daha düşük

antioksidant aktiviteye sahip olan şekil 2.3’de gösterilen α -tokoferoldür. α -Tokoferol yağda çözülebilir bir antioksidanttır. Lipit peroksidasyonunu azaltmanın yanında α -tokoferol hücre içi etkilerde kullanılabilir. α -Tokoferol hücre organelleri ve hücrenin dış membranında bulunan yağda çözünebilir bir vitamindir. α -Tokoferol zincir kırıcıdır ve aşırı olan oksidasyondan membranları korur (Godbout ve ark., 2005).



Şekil 2.3. Tokoferol’ün kimyasal yapısı.

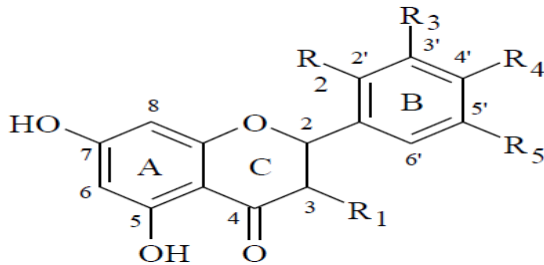
α -Tokoferol bileşiği gıda ürünlerine eklenebilen tokoferolün yaygın bir formudur. Tokoferoller lipit peroksil radikaline hidroksil grubunun hidrojenini vererek antioksidant olarak davranır. Bir tokoferolden oluşan radikal aromatik halka yapısı üzerindeki tek elektronun dekalizasyonu yoluyla stabilize edilir. Bileşiklerin bu grubu oldukça lipofiliktir ve lipoprotein veya membranlarda aktiftir. Onların en önemli antioksidant fonksiyonu bir tokoperoksil radikalini ve lipit hidroperoksizla üretilen lipit peroksil radikallerini söndürmeyle, lipit peroksidasyonunu önlemede görülür (Diplock ve ark., 1998). Bu radikal tokokinonlara ve tokoferol dimerlere indirgenebilen kararlı peroksidazları içeren radikal olmayan ürünleri oluşturur.

α -Tokoferol hidroperoksizazların ayrışmasını geciktirmeyle ilişkilendirilir (Frankel, 1996) Etminan ve ark., 2005). α -Tokoferol Parkinson hastalığına karşı koruyucu etkiye sahiptir. Tokoferollerin eksikliği spinoserebellar ataksi ve miyopatiler gibi nörolojik problemlere neden olur. (Brigelius-Flohé ve Traber, 1999). Katı yağlar, sıvı yağlar ve lipoproteinlerdeki tokoferollerin hidrojen verme gücü $\delta > \beta = \gamma > \alpha$ sıralamasında olur (Timmermann, 1990). Katı triaçilgliserollerdeki α -tokoferolün antioksidant gücünün γ -tokoferolünkinden çok daha az olduğu bulunmuştur (Lampi ve Piironen., 1998). Doğal antioksidantlar hemen hemen tüm bitkiler, mikroorganizmalar, mantarlar ve hatta hayvan dokularında bulunur (Pokorny, 1999). Fenolik bileşikler ikincil bitki metabolitleridirler ve bitki kökenli gıda ürünlerini de içeren hemen hemen tüm bitki materyallerinde doğal olarak bulunurlar. Bu bileşiklerin insan ve hayvan

besinlerinin ayrılmaz bir parçası olduğu düşünülür (Gülçin, 2006). Doğal antioksidantların büyük çoğunluğu fenolik bileşiklerdir ve doğal antioksidantların en önemli grupları tokoferoller, flavonoidler ve fenolik asitlerdir.

2.3.1.3. Flavonoidler

Flavonoidler bitkilerin yaygın bileşenleridir. 4.000'inin üzerinde flavonoid içeren çeşitli bitki türlerinde tanımlanmış 8.000'den fazla polifenolik, bitkinin yaprak, kök, gövde, meyve ve tohum gibi hemen hemen tüm kısımlarından izole edilmiştir (Harborne ve ark., 1999). Temel flavonoid yapısı A, B ve C ile isimlendirilen üç halkada (C₆-C₃-C₆) bulunan on beş (15) karbon atomundan oluşmuş flavon çekirdeğidir. A, B ve C olarak belirlenen üç halkayı içeren bu bileşiklerin genel yapısı şekil 2.4'de gösterilmiştir. Pironil halka C'deki bir hidroksil grubu, bir karbonil grubu ve bir çift bağ varlığı onların çeşitli alt sınıf ve sınıflar içinde sınıflandırılması için kullanılır. Hidroksil gruplarıyla A ve B halkalarının süstitüyonu her bir sınıfın üyelerini tek tek ayırır (Musialik ve ark., 2009). Flavonoidler doğal olarak meydana gelen bitki fenoliklerinin büyük bir grubunu teşkil eder. C₆-C₃-C₆ karbon iskeletiyle karakterize edilirler.

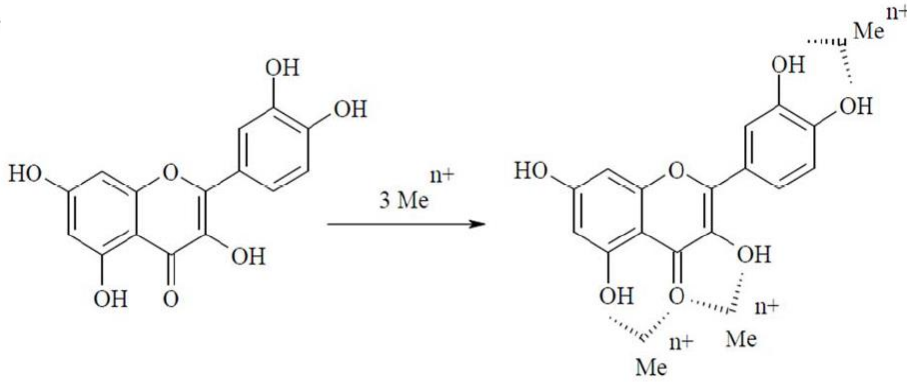


Şekil 2.4. Flavonoidin kimyasal yapısı.

Flavonoidler çok etkili antioksidantlardır ve flavonoidlerin düşük yoğunluklu lipoproteinlerin oksidasyonunu azaltmayla kardiyovasküler hastalığa karşı koruyucu olduğu önerilir. Ayrıca flavonoidler besinlerimizin temel antioksidant bileşenleridir (Dragsted ve ark., 1997). Flavonoidler genellikle yiyeceklerden zayıf bir şekilde absorbe edilir. Flavonoidlerin en önemli faydaları oksidatif hastalıklara karşı koruması, çeşitli enzimlerin aktivitesini modüle etme yeteneği (Middleton ve Kandaswami, 1993) ve spesifik reseptörlerle etkileşimleridir (Williams ve ark., 2004). Genellikle flavonoidlerin etkili antioksidant yeteneği bazı faktörlere bağlıdır. Bunlar molekül

çevresindeki hidroksil ve karbonil grubunun düzenlenmesine sıkı bir şekilde bağlı olan metal- şelatlama potansiyeline, hidrojen veya elektron veren sübstitüentlerin varlığında serbest radikalleri azaltabilme yeteneğine ve kararlı bir fenoksi radikalının oluşumunu önleyen çiftleşmemiş elektronu dekokalize eden flavonoid yeteneğine bağlıdır.

Flavonoidlerde metaller için önerilen bağlanma bölgeleri B halkasındaki katekol parçası, heterosiklik halkadaki (C halkası) 3-hidroksil, 4-okso grupları ve heterosiklik halka ve A halkası arasındaki 4-okso, 5-hidroksil gruplarıdır (Şekil 2.5) (Pietta, 2000).



Şekil 2.5. Flavonoidlerin metal bağlama bölgeleri.

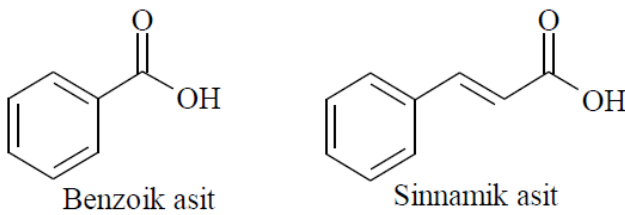
Flavonoid yarımından üretilen radikalın kararlılığı ortaklanmamış elektron içeren oksijen ve hidroksil arasında oluşan hidrojen bağına dayanır. 4-okso grubuyla konjuge edilmiş karbon ve C halkasındaki C=C çift bağının varlığı çiftleşmemiş elektronun delokalizasyonu için büyük önem taşır. Ayrıca antioksidant aktivite 3 ve 5 pozisyonlarındaki hidroksil grubunun varlığıyla sağlanır. Bir 4-okso gruptaki bir iç hidrojen bağı bu pozisyonlara kinetik olarak eşdeğer haldedir (Bors ve ark., 1990). Ayrıca, fenolik antioksidantların hidrojen atom transferi (HAT) ve proton transferiyle devam edilen tek-elektron transferi (SET-PT) olarak adlandırılan kabul edilmiş iki genel mekanizması vardır (Wright ve ark., 2001). Hidroksil gruplarının var olmasının bir sonucu olarak, çoğu flavonoid biyolojik sistemlerin su fazında çoğunlukla yer alır.

Serbest hidroksil gruplarıyla flavonoidler serbest radikal söndürücü olarak davranır ve çoklu hidroksil gruplarıyla özellikle B halkasındaki gruplarla, flavonoidlerin antioksidant aktivitesi artar. B halkasındaki hidroksiller oksidasyon zincirini önleyen birincil aktif bölgedir (Jovanoic ve ark., 1994). Flavonoidler antioksidant özelliklere sahiptirler ve koroner kalp hastalığını önleyebilirler (Gülçin ve ark., 2011).

Flavonoidlerin biyolojik ve antioksidant aktiviteleri onların kimyasal yapısına bağlıdır. Flavonoidlerin serbest radikal söndürme aktivitesi ve antioksidant aktivitesini belirlemeden sorumlu üç yapısal grup vardır. Bunlar; B halkasının katekol kısmı C halkasındaki 3-hidroksil grubunun varlığında karbonil grubunun 4-okso fonksiyonuyla konjugasyondaki 2, 3-çift bağı ve A halkasındaki 3 ve 5 pozisyonlarındaki hidroksil gruplarının varlığı Quercetin üç yapısal grubun hepsine sahiptir B halkasında 5' pozisyonundaki bir hidroksil grubunun varlığı antioksidant potansiyeli önemli ölçüde artırır.

2.3.1.4. Fenolik asitler

Fenolik asitler üzerine ilginin son odağı koroner kalp hastalığı, felç ve kanser (Gülçin ve ark. 2010) ve antiglokem (Çoban ve ark., 2007, Innocenti ve ark., 2010 Öztürk, Sarıkaya ve ark., 2010; Şentürk ve ark., 2011) gibi oksidatif hasar hastalıklarına karşı meyve ve sebzelerin yenmesi yoluyla onların potansiyel koruyucu rolünden kaynaklanır. Fenolik asitler bitkilerde serbest ve bağlı formlarının varlığında besinsel fenoliğin yaklaşık %30'unu oluşturur (Robbins, 2003). Fenolik asitler, sinnamik asit grubu ve benzoik asit grubundan meydana gelen aromatik karboksilik asitlerin hidroksi türevleridir. Sinnamik asit türevleri benzoik asit türevlerinden daha aktif antioksidantlardır (Cuvelier ve ark., 1992; Marinova ve Yanishlieva, 1994; Chen ve Ho, 1997).



Şekil 2.6. Benzoik asit ve sinnamik asidin kimyasal yapıları.

Fenolik asitlerin ve onların türevlerinin antioksidant aktivitesi aromatik halkaya bağlı hidroksil gruplarının yeri ve sayısı, bağlanma bölgesi ve aromatik halkadaki hidroksil gruplarının karşılıklı sübstitüentlerin yeri ve türüne bağlıdır (Rice-Evans ve ark., 1996; Sroka ve Cisowski, 2003). Şekil 2.6 de gösterildiği gibi fenolik asitlerin hidroksibenzoik asit ve hidrosisinnamik asit olmak üzere iki temel grubu vardır.

Hidroksisinnamik asidin hidroksi benzoik asitten önemli ölçüde daha yüksek antioksidant aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Sınnamik asitlerdeki $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{COOH}$ grubunun varlığı benzoik asitteki COOH grubundan daha fazla antioksidant kapasite sağlar (Cuppett ve ark., 1997). Fenol omurga yapısındaki farklı süstitüentlerin varlığı onların antioksidant özelliğini özellikle onların hidrojen verme kapasitesini modüle eder. Genellikle süstitüe edilmemiş fenol hidrojen verici olarak inaktiftir ve monofenol, polifenolden daha az etkili bir antioksidanttır. Orto ve para konumundaki hidroksil grubu gibi elektron verici grubun yer alması fenol ve fenolik asidin antioksidant aktivitesini arttırır (Pokorny, 1988; Chimi ve ark., 1991). Bir molekülün antioksidant aktivitesi karbonil grubunun aromatik halkadan ayrılmasıyla artar. Sınnamik asit, benzoik asit ile karşılaştırıldığında bir antioksidan olarak daha etkilidir

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışmanın materyalini oluşturan (*Allium tuncelianum*) Tunceli sarımsağı Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Süleyman KIZIL tarafından kültürü yapılarak Diyarbakır'da yetiştirilmiş olan sarımsak ve Tunceli'nin Ovacık ilçesinin dağlarından toplanan sarımsak kullanıldı. Sarımsak (*Allium tuncelianum*), mükemmel antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteye sahip bir takım kükürt ve fenolik bileşikler içerir (Corzo-Martinez ve ark., 2007) Kükürt içeren bileşikler, sarımsağın, özellikle alliin ve allisin'in en belirgin unsurlarıdır. Aminoasit, alliin, taze sarımsakta en temsili kükürt bileşiğidir ve sarımsak ezildiğinde allilaz ile alliline dönüştürülür (Itakura ve ark., 2001). Tunceli sarımsağı (*Allium tuncelianum*) beyazdan mor çiçekli saz çiçekleri ile tek yaprağı olan kremalı-beyaz soğanları, Türkiye' nin doğusunda özellikle Tunceli'ye ve çevresindeki Munzur dağlarına endemiktir. Beyazdan mor çiçekli saz çiçekleri ile tek yaprağı olan kremalı-beyaz soğanları, Doğu Türkiye'ye, özellikle Tunceli'ye ve çevresindeki Munzur dağlarına endemiktir (Bakır., 2005; Yanmaz ve ark., 2010). Tunceli sarımsağı, yayılım için kullanılabilir bereketli siyah tohumları taşır (Arslan, 2013). Ampuller, aseptik olarak propagül olarak üretilirler (diğer bir deyişle, ana ampulün ana gövdesine bağlı vejetatif olarak üretilen toprak); Bununla birlikte, onların çoğalması ve yayılması nispeten yavaştır. Tohum yoluyla çoğalma, 2-3 yıl sonra olgun bitkiler üretebilir. Tunceli sarımsağı, biyolojik açıdan aktif organik sülfür bileşiği olan allikini (tiyo-2-propen-1-sülfonik asit Sallil esteri) içerir. Allicin'in anti-hipertansif, anti-mikrobik, anti-parazitik, anti-viral, anti-tümör, antioksidan ve yaşlanma karşıtı aktivitelere sahip olduğu bildirilmiştir (Jacob, 2006; Özkan ve ark., 2013) Allicin'in ağır metalleri detoksifiye ettiği, hipo-lipidemik (yani, lipid düşürücü), antikarsinogenik ve anti-mutajenik olduğu bilinmektedir (Munchberg ve ark., 2007) *Allium tuncelianum* endemik bir yabani sarımsak türü olup; Sivas, Erzincan ve Tunceli'de özellikle Munzur dağlarının eteklerinde doğal yayılış göstermekte, 1000-1500 metre yüksekliklerde, taşlı/çakıllı ve eğimli yerlerde yetişmektedir. Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı'nda zarar görebilir (VU) listesinde olup, korunması gereken bitkiler içerisinde değerlendirilmektedir.

Tunceli sarımsağının en önemli özelliği çok yıllık ve soğanlarının sarımsak gibi çok dişli olmayıp, bilinen kültür soğanı gibi tek, bilhassa çiçekli bitkilerde olmak üzere nadiren iki dişli olmasıdır. Soğan çapı, soğanın yaşına ve yetiştirme şartlarına göre 0.5 - 3.5 cm arasında değişmektedir. Kültür şartlarında çapı 5-6 cm olan soğanlar elde edilmiştir. Soğanların kabuk sayısı bilinen kültür sarımsağından azdır. Bitki oldukça uzun 3-6 adet yaprak oluşturmakta; Dört veya daha sonraki yıllardan itibaren de çiçeklenmektedir. Bu özelliği ile de kültür sarımsağından önemli ölçüde ayrılmaktadır. Zira kültür sarımsağı nadir olarak çiçeklenir ve çiçek açsa bile steriliteden dolayı çok zor tohum bağlar. Bitkinin çiçek sapı uzunluğu 80-110 cm olup, çiçeklerin taç yaprak rengi beyaz, açık mor veya mor olabilmektedir. Çiçekleri diğer Liliaceae familyası türlerinde olduğu 6 adet erkek, üç gözlü 1 adet dişî organa sahiptir. Haziran temmuz aylarında çiçek açmaktadır. Tohumları üç köşeli, kırışık yüzeyli ve siyah renkli olup, 1000 tohum ağırlığı 3.0-3.4 g kadardır.



Şekil 3.1. Tunceli sarımsağının çiçekli hali.

Sarımsak, insan beslenmesi yönünden önemli olan birçok vitamin ve mineral maddesi içermesinin yanında, önemli bir tıbbi bitkidir. Dünya sarımsak üretimi 2005 yılı verilerine göre 14. 500. 000 ton olup 11. 093. 500 ton ile Çin ilk sırada, Türkiye ise 99 500 ton ile 12.sırada yer almaktadır (Anonim, 2005).



Şekil 3.2. Tunceli sarımsağının kuru hali.

Çizelge 3.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Malzeme	Marka
Agaroz	Sigma
Bovin Serum Albumin	Sigma
1, 1- difenil-2-pikril hidrazin (DPPH)	Sigma
Glasiyel asetik asit	Sigma
Sodyum Dodesil Sülfat (SDS)	Sigma
Bromofenol blue	Sigma
Gallik Asit (3, 4, 5- trihidroksibenzoik asit)	Sigma
Glisin	Sigma
Sülfürik asit (H_2SO_4)	Merck
Hidroklorik asit (HCl)	Sigma
Etanol (CH_3CH_2OH)	Sigma
Deoksiriboz	Sigma
Trikloroasetik asit (TCA)	Merck
Bütillenmiş hidroksi anisol (BHA)	Sigma
Potasyum asetat (CH_3COOK)	Merck
Folin ciocalteu's fenol reaktifi	Merck
Trikloroasetik asit (TCA)	Merck
Askorbik asit	Merck
β -merkaptto etanol	Fluka
Bütillenmiş hidroksi anisol (BHT)	Merck
Alüminyum nitrat ($Al(NO_3)_3$)	Sigma-Aldrich

Çizelge 3.1. Kullanılan kimyasal maddeler (Devamı)

Malzeme	Marka
Ferrozin	Fluka
2-tiyobarbütirik asit (TBA)	Fluka
Etil asetat	Carlo-Erba
Quercetin dihidrat	Fluka
Dihidrojen potasyum fosfat (KH ₂ PO ₄)	Fluka
Dipotasyum hidrojen fosfat (K ₂ HPO ₄)	Fluka
Dimetil sülfoksit (DMSO)	Carlo-Erba
Sodyum Karbonat (Na ₂ CO ₃)	Sigma-Aldrich
Etilendiamintetra astik asit (EDTA)	Sigma-Aldrich

Çizelge 3.2. Kullanılan cihazlar ve markaları

Cihaz	Marka
Cary 100 Bio model UV-VIS Spektrofotometre	Varian
RE-100B model Evaporatör	Bibby Strilin
Jel Görüntüleme Sistemi	Bio Rad Gel Doc XR
Terazi	Metler Toledo
Elektroforez	Bio Rad mini protean
Derin dondurucu	Sanyo marka
Sterilizatör	Heraus
Mikroalgı fırın	Arçelik
Otoklav	Hiramaya
Laborota 4000 model, Soxhlet	Heidolph
Universal 320 R model, Santrifüj	Hettich
Buzdolabı	Arçelik
pH –metre	Metler Toledo
Çalkalayıcı	Memmert
Mikropipet	Ependorf
Membran filtresi	Schleicher-Schvell
Vortex	Heidolph

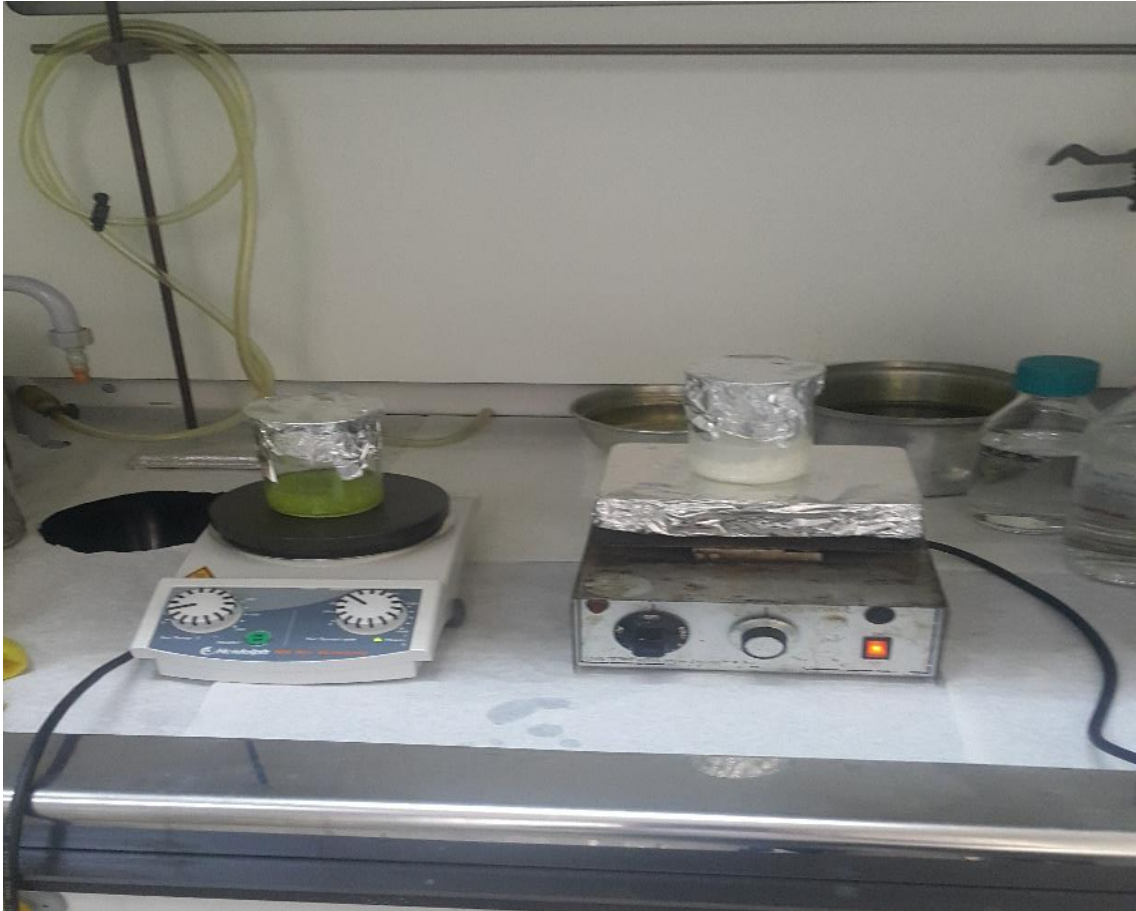
3.2. Yöntem

3.2.1. Bitkinin etanol ekstraktinin hazırlaması

Bu çalışmanın materyalini oluşturan (*Allium tuncelianum*) Tunceli Sarımsağı Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Süleyman KIZIL tarafından kültür ortamında Diyarbakır'da yetişen ve Tunceli'nin Ovacık ilçesinin dağlarından toplanan sarımsak türleri kullanıldı. Üç ortamdan alınan

sarımsak türlerinin ekstraksiyon işlemi etanole hazırlandı bir gün süreyle beherde üstü kapatılarak magnet ile karıştırıldı. Elde edilen çözeltinin çözücüsü evaporatörde uçuruldu. Daha sonra sıvı azot ile dondurularak liyofilize edilip, etanol ekstraktı 4 °C'de renkli cam şişelerde saklandı. Dicle Üniversitesinde tarla bitkileri bölümünde elde edilen sarımsak kültürü çok iyi sonuç vermediği için deneylerde kullanılmadı.

Tunceli-Ovacık dağlarından toplanan ve Diyarbakır -Çermikte toplanan 215'er gr sarımsak havanda dövülerek 800 ml Etanol ile 24 saat manyetik karıştırıcı ile karıştırılıp bekletildi (Şekil 3.3). Daha sonra 1000 ml lik beherlerden Süzgeç kağıdı ile ayırma işlemi yapıldı. Elde edilen çözeltiden etanol evaporatör yardımıyla uzlaştırıldı (Şekil 3.4). Bu işlem 2 defa tekrarlandı.Elde edilen 11.7 g *A.tuncelianum* ve 10.4 g Çermik sarımsağı ayrı ayrı tüplere konulup sıvı azotla dondurularak liyofilize edildi. Elde edilen ekstrakt +4 °C'de bir kap içerisinde muhafaza edildi.



Şekil 3.3. Sarımsağın manyetik karıştırıcı ile karıştırma işlemi.



Şekil 3.4. Evaporatör ile etanolü ayırma işlemi.

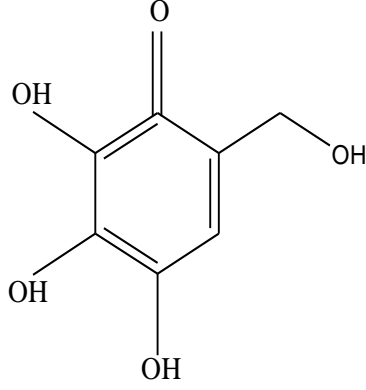
3.2.2. Toplam fenolik bileşen miktar tayini

Allium tuncelianium (Tunceli Sarımsağının) ekstraktının toplam fenolik bileşik tayini Folin-Ciocalteus (Singleton ve ark., 1999) yöntemi ile belirlendi. Öncelikli olarak derişimi 0.5 mg/ml olan gallik asit çözeltisinden derişimi 500, 1000, 1500 ve 2000 µg/ml olan dört farklı konsantrasyonda etanol çözeltisi hazırlandı. Aynı şekilde bu çalışmada kullanılan *Allium tuncelianium* ekstraktının da 0.5 mg/ml olan derişiminden, çözeltisi beş farklı konsantrasyonda etanol çözeltisi içerisinde hazırlandı. Hazırlanan bu çözeltilerden hem gallik asit hemde *Allium Tuncelianium* ekstraktından ayrı ayrı 40 µl alındı, üzerlerine 1160 µl saf su ilave edildi ve bunların üzerine 200 µl 2 N folin reaktifi ilave edildi. Bu karışım oda sıcaklığında 5 dakika karıştırıldıktan sonra üzerlerine 600 µl % 20'lik Na₂CO₃ çözeltisi ilave edilip iyice karışması için oda sıcaklığında 2 saat boyunca çalkalandı. Bu işlem bittikten sonra UV' de 765 nm'de absorbans değerleri okundu.

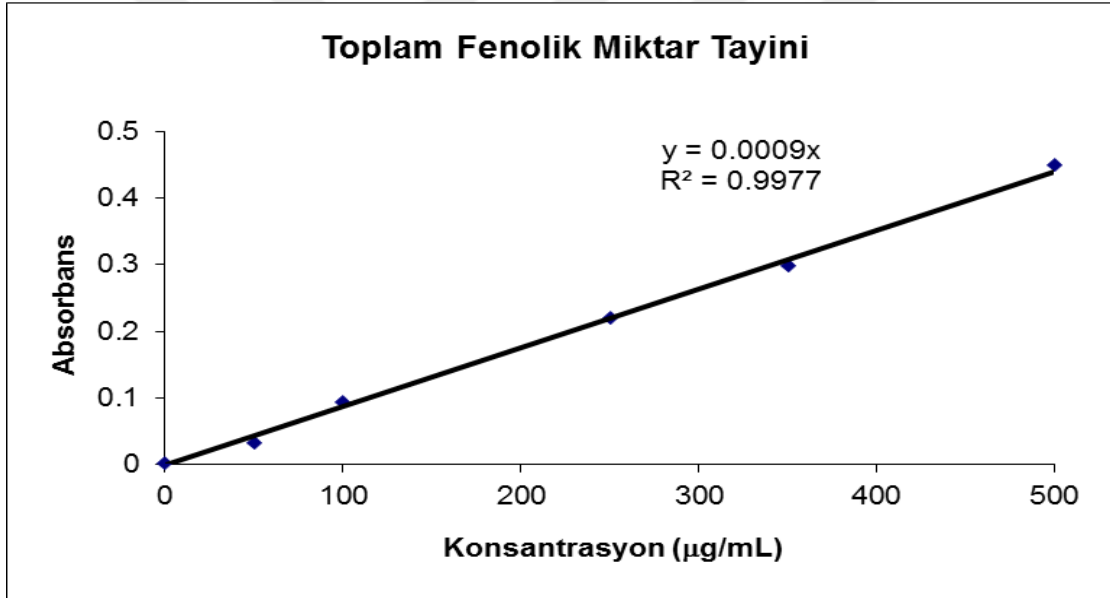
Gallik asit artan absorbans değerine karşı (Eş.3.1) absorbans değerleri grafiğe geçirildi ve aşağıdaki grafik elde edildi (Şekil 3.5).

$$\text{Absorbans (A)} = 0.0009 \times \text{gallik asit } (\mu\text{g}) \quad (R^2=0.9977) \quad (3.1)$$

Bu eşitlik kullanılarak *Allium Tuncelianium* ekstraktının toplam fenolik bileşen içeriği gallik asit baz alınarak hesaplandı.



Şekil 3.5. Gallik asit.



Şekil 3.6. Toplam fenolik miktar tayini grafiği.

3.2.3. Toplam flavonoid bileşen miktar tayini

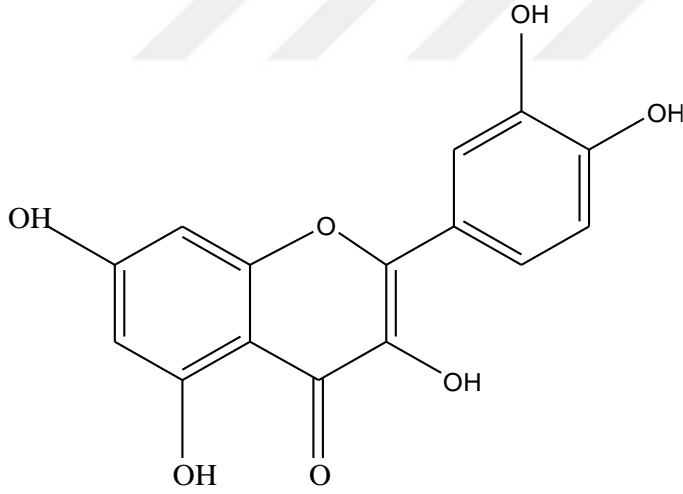
Allium tuncelianium etanol ekstraktının toplam flavonoid bileşen tayini daha önce bu yöntemi tayin eden (Zhishen ve ark., 1999) çalışmasından esinlenerek yapıldı. Standart olarak quercetin kullanıldı. Buradaki temel hedef quercetin artan konsantrasyonlarındaki flavonoid bileşen miktarından yararlanarak bizim ekstraktımız olan *Allium Tuncelianium* içerisindeki Toplam Flavonoid bileşen miktarını tayin etmektir.

Quercetin'in etanol içindeki 100 µg/ml'lik stok çözeltisinden 500, 1000, 1500, 2000 µg/ml'lik konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlandı. Çalışmanın konusu olan *Allium Tuncelianium* etanol ekstraktından da 0.5 µg/ml'lik çözeltiside aynı zamanda hazırlandı. Daha sonra bu çözeltiler üzerine 0.1 ml % 10'luk $Al(NO_3)_3$, 0.1 ml 1M CH_3COOK ve 3.8 ml metanol ilave edildi. Bu işlemden sonra hazırlanmış olan tüplere quercetin çözeltisinden 1 ml quercetin tüpüne, 1 ml ekstrakt çözeltisinden de ekstraktın olduğu tüpe ilave ettikten sonra iyice karıştırıldı. Elde edilen bu karışımlar 25 °C'de 40 dakika su banyosunda inkübasyona bırakıldı. Son olarak da bu işlem bittikten sonra UV'de 425 nm'de absorpsanları okundu.

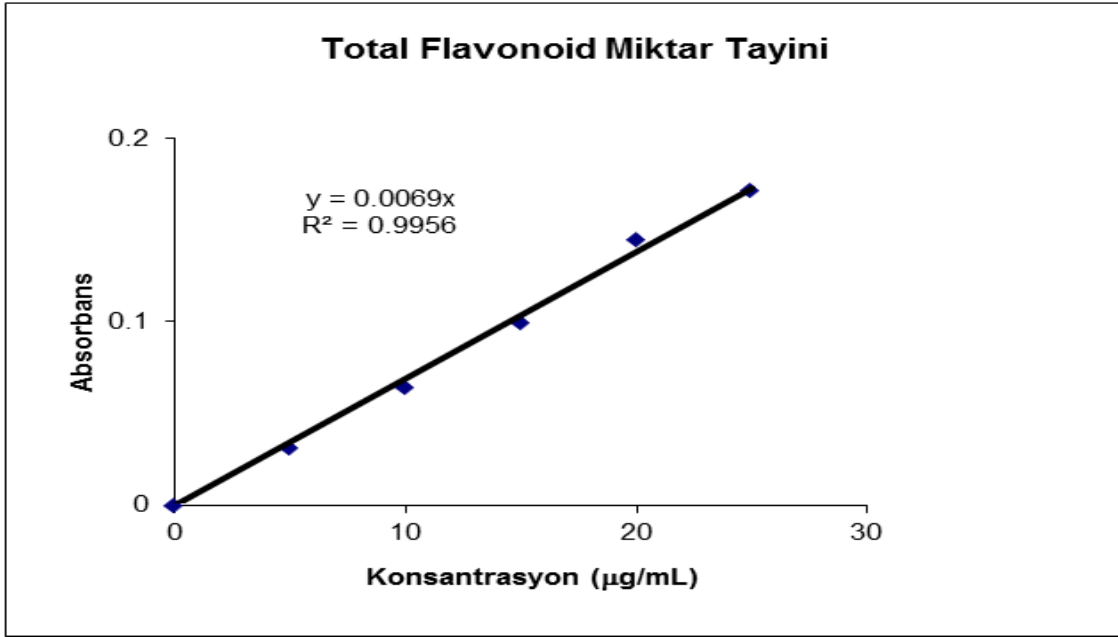
Quercetin'in artan konsantrasyonuna karşın *Allium Tuncelianium* etanol ekstraktının değerleri grafiğe taşınmıştır. Bu grafik sonucunda aşağıdaki (Eş. 3.2) eşitlik elde edildi (Şekil 3.7).

$$\text{Absorbans (A)} = 0.0069 \times \text{quercetin } (\mu\text{g}) \quad (R^2 = 0.9956) \quad (3.2)$$

Bu eşitlik baz alınarak Quercetin içerisindeki toplam fenolik bileşik oranından yararlanarak *Allium Tuncelianium* etanol ekstraktının toplam flavonoid bileşik içeriği hesaplandı.



Şekil 3.7. Quercetin.



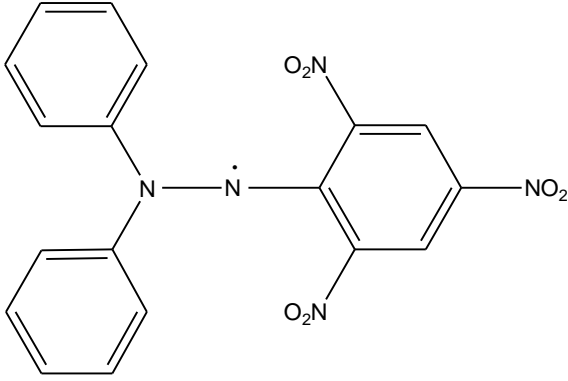
Şekil 3.8. Toplam flavonoid miktar tayini grafiği.

3.2.4. DPPH radikalini söndürme aktivitesi

Çalışma konusunun ekstraktı olan *Allium tuncelianium* DPPH söndürme aktivitesini, daha önce bulunmuş olan yöntem (Blois., 1958) kullanılarak hesaplandı. Bu işlemde pozitif kontrol olarak BHA kullanıldı. Deney iki ayrı konsantrasyonda yapıldı. Farklı konsantrasyonda ekstraktın etkisini anlayabilmek için 1 mg/ml DPPH çözeltisi de ve 0.1 mg/ml DPPH metanol çözeltisi kullanılarak deney yapıldı. 1 mg/ml DPPH ve aynı oran da ekstrak çözeltileri 4 ayrı tüplerde farklı konsantrasyonlarda 500, 1000, 1500 ve 2000 µg/ml olarak hazırlandı. *Allium tuncelianium* etanol ekstraktı ve pozitif kontrol 3'er ml alınarak üzerlerine 1 mM DPPH çözeltisi ilave edildi. Tüpler içerisinde oluşan karışımlar 30 dk karanlıkta ve oda sıcaklığında inkübasyonaya bırakıldı. Bu süre sonunda 517 nm'de absorbans değerleri okundu.

Bu işlemlerin sonucu olarak artan DPPH etanol konsantrasyonuna karşın *Allium tuncelianium* etanol konsantrasyonunun grafiği elde edilmiştir. Bu grafik aşağıdaki eşitlik kullanılarak elde edildi (E.ş .3.3).

$$\% I = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}}] \times 100 \quad (3.3)$$



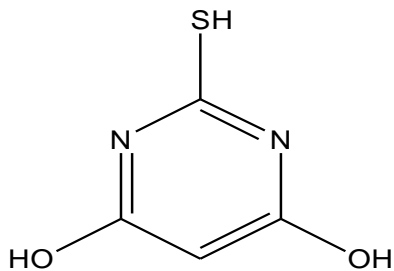
Şekil 3.9. DPPH.

3.2.5. Lipit peroksidasyonunu önleme aktivitesi

Allium tuncelianiumun etanol ekstraktının lipit peroksidasyonu önleme aktivitesi tiyobarbitürik asit (TBA) metodu kullanılarak bulundu (Lo ve ark., 2005). Bu deneyde pozitif kontrol olarak BHA kullanıldı. BHA % 97' lik etanol çözeltisinde 30 mg/10 ml çözeltisi aynı şekilde bizim ekstraktımızda %70' lik etanol çözeltisi içerisinde 4 ayrı konsantrasyonlarda 500, 1000, 1500 ve 2000 µg/ml hazırlandı. Hazırlanan bu çözeltiler üzerine önceden hazırlanmış olan karaciğer homojenatından 200 µl ve sırayla 200 µl ekstrak, 200 µl, FeCl₃, 200 µl EDTA, 200 µl H₂O₂, 200 ml askorbik asit sonrasında vortex ile iyice karıştırıldı. Daha sonra 37 °C'de 1.5 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra karışımın üzerine 1200 µl % 28 lik TCA ilave edildi. 3000 rpm'de 15 dk santrifüj edildi. Süpernatantlar alındıktan sonra üzerine 1200 µl TBA ilave edildi ve 100 °C 10 dk bekletildikten sonra örnekler buz içerisinde alınarak UV'de 532 nm de absorbans değerleri okundu.

Sonuçlar artan ekstrakt absorbans değerlerine karşın % inhibisyon değerleri grafiğe aktarılmıştır. Grafik aşağıdaki E.ş 3.4'e göre çizildi.

$$I = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}}] \times 100 \quad (3.4)$$



Şekil 3.10. Tiyobarbitürik asit (TBA).

3.2.6. Protein oksidasyonu önleme aktivitesi-sds-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE)

Allium tuncelianium etanol ekstraktının protein oksidasyonu önleme aktivitesi H_2O_2/Fe^{3+} /askorbik asit sisteminin Bovine serum albumin (BSA) proteininde meydana getireceği zararları koruyucu özelliği araştırıldı. Çalışma dikey elektroforez yöntemi kullanılarak yapıldı. Bu çalışmada pozitif kontrol olarak BHT kullanıldı. Çalışmada *Allium Tuncelianium* etanol ekstraktından ve BHT için ayrı ayrı 60 mg/ml'lik konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlandı. Bu stok çözeltilerden 500, 1000, 1500 ve 2000 µg/ml'lik 4 ayrı konsantrasyonlarda seyreltik çözeltiler hazırlandı. Bu deneyde kullanılmak üzere hazırlanan BSA 20 mM potasyum fosfat tamponu (pH=7.4) içinde çözüldü. Deney tüpüne sırasıyla 200 µl potasyum fosfat tamponu (pH=7.4) veya ekstrakt ve pozitif kontrolün konsantrasyona bağlı seyreltik çözeltileri, 200µl BSA, 200 µl 1.0 mM $FeCl_3$, 200 µl 3.0 mM EDTA, 200 µl 2.5 mM H_2O_2 ve 200 µl 1.0 mM askorbik asit ilave edildi. Toplam hacmi 1.2 ml olacak şekilde karışım 37 °C'de 3 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. Bu işleminden sonra inkübe edilen reaksiyon karışımı Laemli's (1970) metodu kullanılarak %10' luk sodyum dodesilsülfat poliakrilamid jel (SDS-PAGE) içinde elektroforez işlemi gerçekleştirildi. Çalışılan örnekler tamponla (Tris HCl pH= 6.8, %2 SDS, %5 2-merkapt etanol, % 10 sükröz ve % 0.002 bromofenol blue) eşit hacimde karıştırıldı. Daha sonra bu karışım 5 dakika 100 °C'de ısıtıldı. Bu süre sonunda her bir örnekten 10 µl elektroforez kuyucuklarına yüklendi. Kuyucuklar 6 farklı şekilde ve konsantrasyonda hazırlandı (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. Protein oksidasyonunda elektroforez kuyucuklar içerisindeki reaksiyon koşulları.

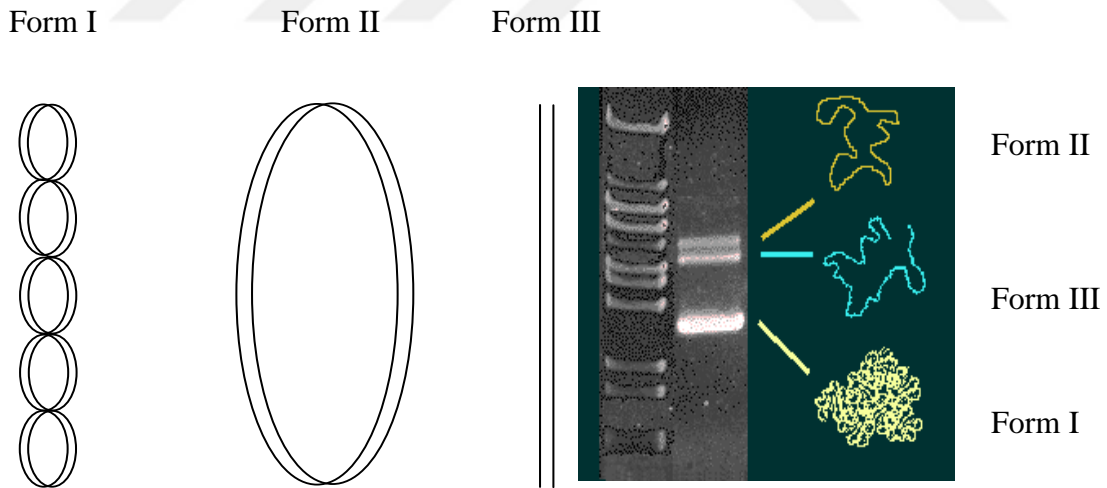
Kuyucuklar	Reaksiyon Koşulları
1.Kuyucuk	BSA
2.Kuyucuk	BSA+ Fe^{3+} / H_2O_2 /Asc
3.Kuyucuk	BSA+ Fe^{3+} / H_2O_2 /Asc + 500 µg/ml Sarımsak
4.Kuyucuk	BSA+ Fe^{3+} / H_2O_2 /Asc + 1000 µg/ml Sarımsak
5.Kuyucuk	BSA+ Fe^{3+} / H_2O_2 /Asc + 1500 µg/ml Sarımsak
6.Kuyucuk	BSA+ Fe^{3+} / H_2O_2 /Asc + 2000 µg/ml Sarımsak

Elektroforez cihazı Jel BioRad 1.000/500 güç kaynağı kullanılarak minijel için 25 mAmp sabit bir değer ve maximum voltajda yürütücü tamponla (Tris HCl pH= 6.8,

% 2 SDS, %5 2-merkapto etanol, %10 sükröz ve %0.002 bromofenol blue) BioRad tankında yürütüldü. Yürütme işleminden sonra jeller %15'lik Coomassie parlak mavi R-250 boyası ile 2 saat boyunca renklendirildi. Renklendirme işleminden sonra boya çıkarma işlemi saf su, etil alkol yardımıyla jellerden çıkarıldı. Son olarak elde edilen jeller jel görüntüleme sistemiyle dijital olarak fotoğrafları çekilip görüntü net bir şekilde elde edildi.

3.2.7. DNA oksidasyonu önleme aktivitesi-agaroz jel elektroforezi

DNA'nın; süper kıvrımlı çembersel DNA (Form 1; DNA zincirinde herhangi bir kırık yok), tek bir kırık içeren çembersel DNA (Form 2; DNA zincirlerinden bir tanesinde kırık vardır), doğrusal DNA (form 3; çift sarmallı DNA zincirlerinde bir ya da birden fazla kırık vardır) olmak üzere üç formu vardır (Şekil 3.11). Bu formlar agaroz jel içerisinde farklı hızlarla hareket etmektedir. Form1'de yoğunluk fazla hacim küçük olduğundan jelde en hızlı hareket eden formdur. Form 2'de yoğunluk form 1'e göre daha düşük olduğu için jelde biraz daha yavaş hareket eder. Form 3 ise hız olarak form-1 ve form-2 arasında bir hıza sahiptir (Boyer ve ark., 1993).



Şekil 3.11. Plazmid DNA'nın formları.

Öncelikli olarak elektroforez için agaroz jel hazırlandı. 1 g agaroz ve 100 ml tris asetat tamponu (40 mM tris asetat, 1mM EDTA, pH 8.2) karıştırıldı. Daha sonra mikrodalga fırınında kaynatıldı ve 60 °C' ye soğutuldu. Bu işleminden sonra çözeltinin üzerine 1.5 µL etidyum bromür (10 mg/mL) ilave edildi ve karıştırıldı. Çözelti kenarları otoklav bandı ile sarılmış ve tarak yerleştirilmiş cam tabakaya döküldü. Son olarak da

jelin donması için oda sıcaklığında 1 saat bekletildi. Bu işlem devam ederken hazırlanan DNA çözeltileri farklı konsantrasyonlardaki sarımsak ekstratının olduğu ve olmadığı ependroflar içerisinde toplam konsantrasyonları 10 mg/ml olacak şekilde çözeltiler hazırlandı. Bu işlem iki ayrı çalışma şeklinde gerçekleştirildi. Bir çalışmada Cu^{2+} 'nin olduğu ve olmadığı diğer çalışmada H_2O_2 ve UV varlığında ya da yokluğunda DNA kesiminin nasıl etkilendiği tespit edildi. 1. deney için bazı ependroflarda herhangi bir işlem görmemiş DNA yalnızca UV uygulanmış ya da yalnızca H_2O_2 eklenmiş plazmit DNA kontrol olarak kullanılmıştır. Burada DNA kesimini görmek için jel elektroforezinde, 13 ayrı kuyucuk hazırlandı (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. DNA jel elektroforez kuyucukları içerisindeki reaksiyon koşulları.

Kuyucuklar	Reaksiyon Koşulları
1. Kuyucuk	DNA,
2. Kuyucuk	DNA + H_2O_2 ,
3. Kuyucuk	DNA + UV
4. Kuyucuk	DNA + H_2O_2 + UV
5. Kuyucuk	DNA + <i>A.t</i> (250 $\mu\text{g/ml}$) + UV
6. Kuyucuk	DNA + H_2O_2 + UV + <i>A. tunc.</i> (50 $\mu\text{g/ml}$)
7. Kuyucuk	DNA + H_2O_2 + UV + <i>A. tunc.</i> (100 $\mu\text{g/ml}$)
8. Kuyucuk	DNA + H_2O_2 + UV + <i>A. tunc.</i> (250 $\mu\text{g/ml}$)
9. Kuyucuk	DNA + H_2O_2 + UV + <i>A. tunc.</i> (350 $\mu\text{g/ml}$)
10. Kuyucuk	DNA + H_2O_2 + UV + <i>A. tunc.</i> (500 $\mu\text{g/ml}$)
11. Kuyucuk	DNA + H_2O_2 + UV + <i>A. tunc.</i> (750 $\mu\text{g/ml}$)
12. Kuyucuk	DNA + H_2O_2 + UV + <i>A. tunc.</i> (1000 $\mu\text{g/ml}$)
13. Kuyucuk	DNA

İkinci deney için ise Cu^{2+} varlığında ya da yokluğunda DNA kesim etkileri analiz etmek için çalışılmıştır. Burada 16 ayrı kuyucuk oluşturulmuştur (Çizelge 3.5).

Çizelge 3.6. DNA jel elektroforez bakır varlığında veya yokluğunda kuyucuklar içerisindeki reaksiyon koşulları.

Kuyucuklar	Reaksiyon Koşulları
1. Kuyucuk	DNA
2. Kuyucuk	DNA + <i>A. tunc</i> (50 µg/ml),
3. Kuyucuk	DNA + <i>A. tunc</i> (100 µg/ml)
4. Kuyucuk	DNA + <i>A. tunc</i> (250 µg/ml)
5. Kuyucuk	DNA + <i>A. tunc</i> (350 µg/ml)
6. Kuyucuk	DNA + <i>A. tunc</i> (500 µg/ml)
7. Kuyucuk	DNA <i>A. tunc</i> (750 µg/ml)
8. Kuyucuk	DNA + <i>A. tunc</i> (1000 µg/ml)
9. Kuyucuk	DNA + CuCl ₂
10. Kuyucuk	DNA + CuCl ₂ (50 µg/ml)
11. Kuyucuk	DNA + CuCl ₂ (100 µg/ml)
12. Kuyucuk	DNA + CuCl ₂ (250 µg/ml)
13. Kuyucuk	DNA + CuCl ₂ (350 µg/ml)
14. Kuyucuk	DNA + CuCl ₂ (500 µg/ml)
15. Kuyucuk	DNA + CuCl ₂ (750 µg/ml)
16. Kuyucuk	DNA + CuCl ₂ (1000 µg/ml)

Jel kullanıma hazır hale geldikten sonra otoklav bandı açıldı ve tarak çıkarıldı. Hazırlanan DNA karışımları uygun bir pipet ile kuyucuklara aktarıldı. Jel 200 mL tris asetat tomponu (40 mM tris asetat, 1mM EDTA, pH 8.2) içeren elektroforez tankına yerleştirildi. Tankın kapağı kapatıldı ve elektrik bağlantıları yapıldı. Elektroforez 40 V'ta 500 mA akım uygulanarak 90 dakika süreyle yürütüldü. Elektrik akımı kesildikten sonra kapak çıkarıldı. Daha sonra jelin fotoğrafı Jel Görüntüleme Sistemi ile çekildi. DNA zincir kesiminin % inhibisyonu (Fukuhara ve Miyata., 1998) hesaplandı.

$$\%I = 1 - [(S_{m+a} - S_c) / (S_m - S_c)] \times 100$$

Buradaki formülde; S_c =Kesilmemiş kontrol DNA'daki supercoiled formunun yüzdesi, S_m =DNA'nın kesimini önleyen madde dışındaki reaksiyon karışımıyla etkileştirilmesi sonucu geriye kalan supercoiled formunun yüzdesi ve S_{m+a} =DNA'nın kesimini önlediği düşünülen maddenin varlığındaki reaksiyon karışımıyla etkileştirilmesi sonucu geriye kalan supercoiled formunun yüzdesidir.

4. BULGULAR

4.1. Toplam Fenolik Bileşen Miktarı

Tunceli Sarımsağı (*Allium tuncelianum*) etanol ekstraktının 0.5 mg/ml lik toplam fenolik bileşen içeriği Folin-Ciocalteus yöntemine göre gallik asite eşdeğer olarak hesaplandı. Gallik asit ve *Allium tuncelianum* bitkisinin etanol ekstraktı 500, 1000, 1500, 2000 µg/ml olarak beş farklı konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlanmıştır. Bu aralıktaki konsantrasyonların yukarıda da belirtildiği gibi belirli işlemler yapıldıktan sonra, 765 nm dalga boyunda absorbans değerleri okundu.

$$\text{Absorbans (A)} = 0.0009 \times \text{gallik asit } (\mu\text{g})$$

Bu denklem kullanılarak *Allium tuncelianum* etanol ekstraktının toplam fenolik bileşen içeriği gallik asite eşdeğer olarak hesaplandı. Tunceli sarımsağı (*Allium tuncelianum*) etanol ekstraktının toplam fenolik bileşen miktarı $16.70 \pm 1,21$ µg olarak gallik aside eşdeğer olarak bulundu.

4.2. Toplam Flavonoid Bileşen Miktarı

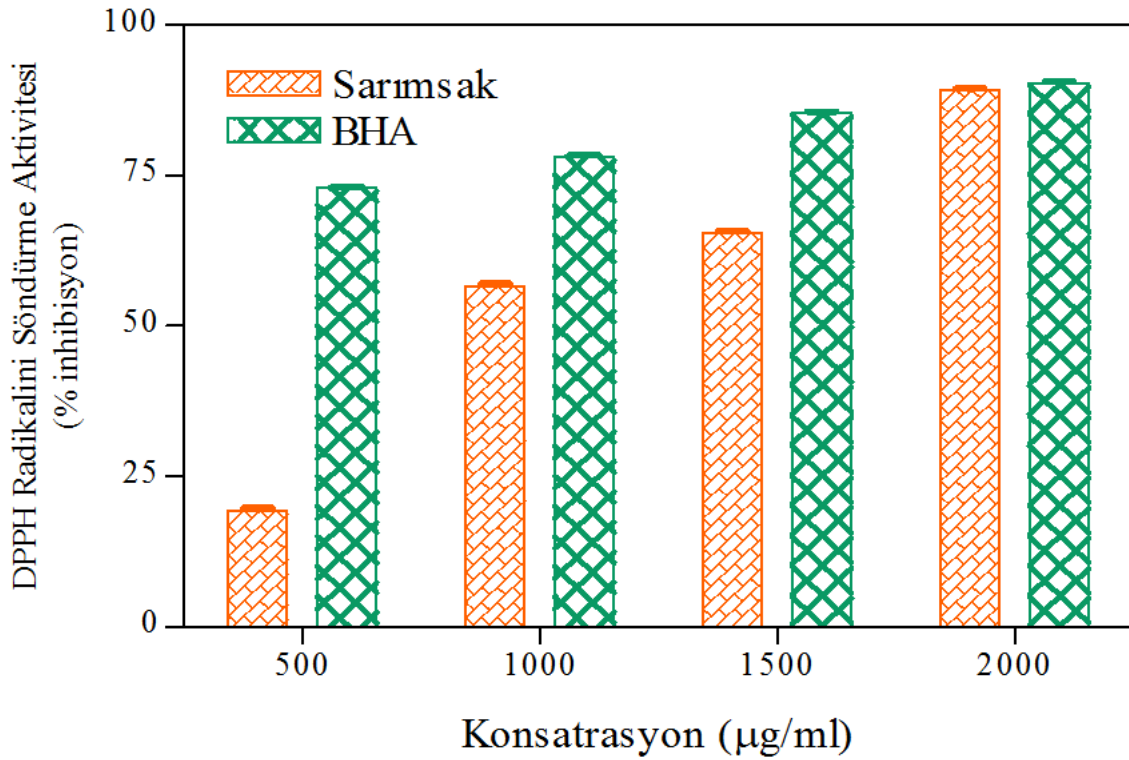
Sarımsak (*Allium tuncelianum*) etanol ekstraktının toplam flavonoid bileşen içeriği quercetine eşdeğer olarak hesaplandı (Zhishen ve ark., 1999). Tez çalışması kapsamında çalışılan sarımsak ekstraktı ve standart olarak kullanılan quercetin çözeltilerinin her ikisinden 5, 10, 15, 20 ve 25 µg/ml'lik farklı 5 konsantrasyonda çözeltiler hazırlandı. Hazırlanan bu konsantrasyonlar bulgular kısmında belirtildiği üzere belirli işlemler yapıldıktan sonra 415 nm'de absorbans değerleri okundu. Daha sonra okunan bu değerler aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplandı.

$$\text{Absorbans (A)} = 0.0069 \times \text{quercetin } (\mu\text{g})$$

Bu ifade kullanılarak *Allium tuncelianum* ekstraktındaki toplam flavonoid bileşen içeriği quercetine eşdeğer olarak hesaplandı. *Allium tuncelianum* etanol ekstraktının toplam flavonoid bileşen miktarı 6.73 ± 0.11 µg olarak quercetine eşdeğer olarak hesaplandı.

4.3. DPPH Radikalini Söndürme Aktivitesi

Sarımsağın (*Allium tuncelianum*) etanol ekstraktının DPPH radikalini söndürme aktivitesi Blois metodu kullanılarak belirlendi. Bu metotta BHA pozitif kontrol olarak kullanıldı. Pozitif kontrolün vesarımsak ekstraktının 1 mg/ml'lik stok çözeltilerinden 500, 1000, 1500 ve 2000 µg/ml'lik konsantrasyon aralığındaki çözeltiler hazırlandı. 517 nm'de absorbans ölçüldü ve ölçülen değerler aşağıdaki eşitlik kullanılarak % inhibisyon olarak hesaplandı. Artan ekstrakt konsantrasyonuna karşı % inhibisyon değerleri grafiğe geçirildi (Şekil 4.1). % I = [(Akontrol-Aörnek) / Akontrol] × 100 DPPH radikalini söndürme aktivitesi incelenirken 500-2000 µg/ml konsantrasyon aralığında çalışıldı. Bu aralıkta *Allium Tuncelianum* 19.4 ± 0.7 – 897 ± 0.3 arasında pozitif kontrol olan BHA 73.0±1.21 – 90.4±0,4 arasında % inhibisyon gösterdi (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. *Allium tuncelianum* etanol ekstraktının düşük konsantrasyonu için farklı konsantrasyonlardaki DPPH radikali üzerindeki söndürücü etkisi grafiği.

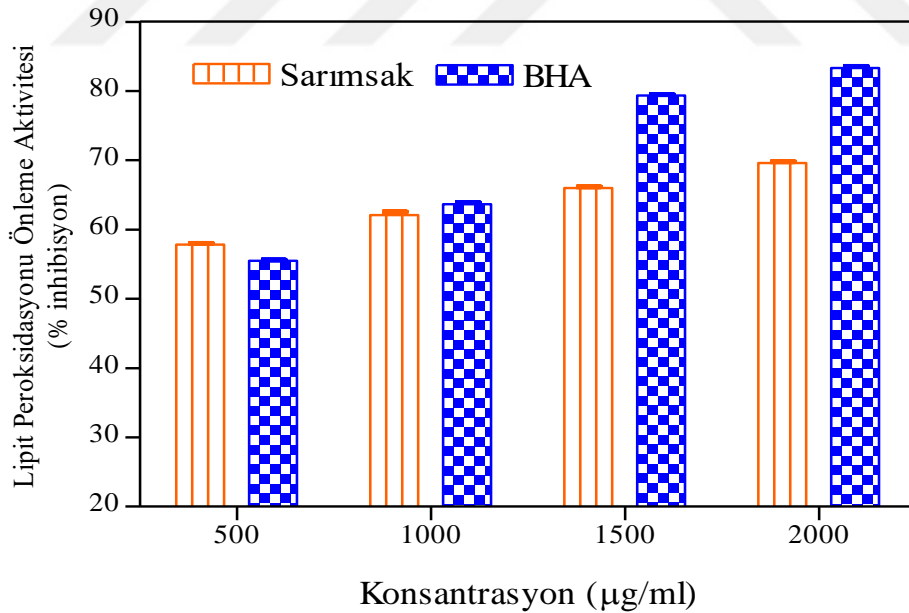
4.4. Lipit Peroksidasyonunu Önleme Aktivitesi

Allium tuncelianumun etanol ekstraktının lipit peroksidasyonu önleme aktivitesini hesaplamak için TBA metodu kullanıldı (Lo ve ark., 2005). Bu metota göre

pozitif kontrol olarak BHA kullanıldı. Sarımsak ekstraktı ve pozitif kontrol olarak kullanılan BHA 0.5 mg/ml lık çözeltileri için 500, 1000, 1500, 2000 µg/ml'lik dört ayrı seyreltik konsantrasyon hazırlandı ve çalışıldı. Hazırlanan çözeltilere belirli işlemler yapıldıktan sonra 532 nm de UV'de absorbans değerleri okundu. Bu deney için ayrı ayrı absorbans değerleri için % inhibisyon hesaplamaları yapıldıktan sonra grafiksel olarak da ayrı ayrı ifade edilmiştir. % inhibisyon hesabı aşağıdaki denkleme göre yapıldı.

$$\% I = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}}] \times 100$$

Allium tuncelianumun etanol ekstraktının ve pozitif kontrol olan BHA'nin hazırlanan 500-2000 arasındaki farklı konsantrasyonlardaki % inhibisyon değerleri hesaplandıktan sonra standart sapma değerleride hesaplandı. Hesaplama yapıldıktan sonra elde edilen değerler grafiksel olarak ifade edilmeye çalışıldı. Mevcut çalışmadaki meyve ekstraktının ve BHA için yapılan çalışmada; *Allium tuncelianum* etanol ekstraktının düşük konsantrasyonda ki en yüksek ve en düşük standart sapma aralığı % $69.6 \pm 0.2 - 57.6 \pm 0.3$ aralığında değişirken (Şekil 4.2), BHA için bu değerler: % $83.4 \pm 0.3 - 55.72 \pm 0.2$ aralığında olduğu görülmüştür.

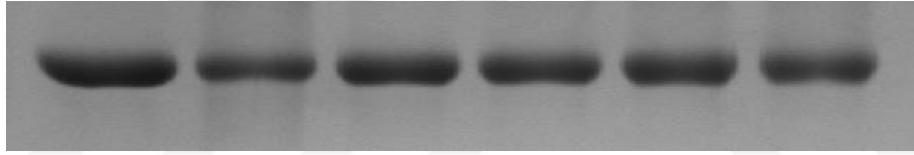
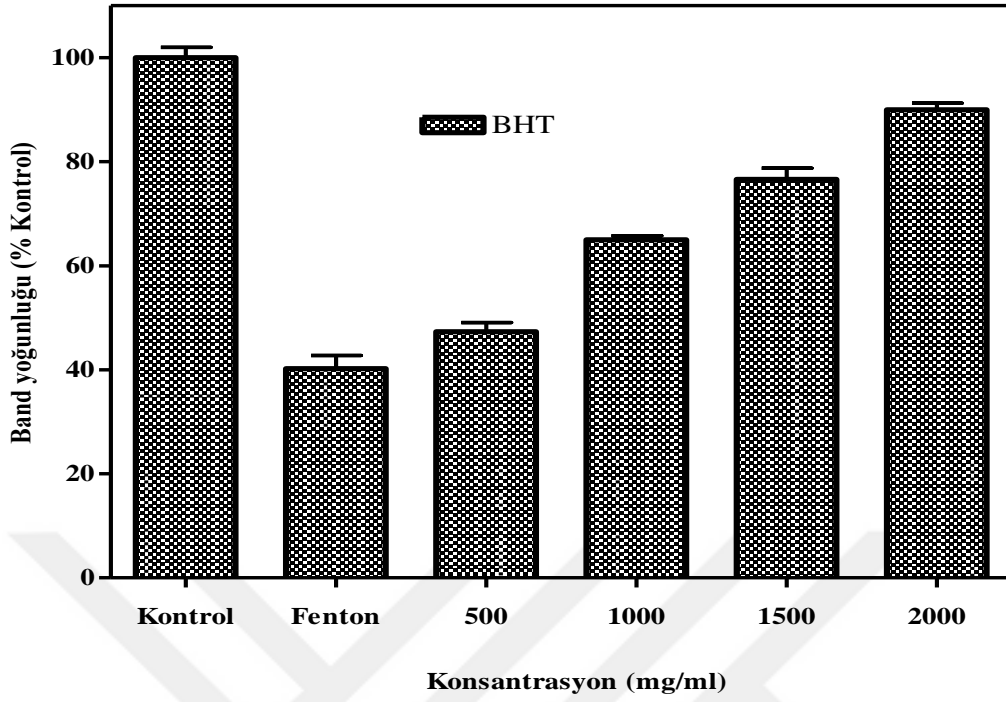


Şekil 4.2. *Allium tuncelianum* etanol ekstraktının yüksek konsantrasyonda lipit peroksidasyonunu önleme aktivitesinin grafiği. BHA pozitif kontrol olarak kullanıldı.

4.5. Protein Oksidasyonu Önleme Aktivitesi- SDS-Poliakrilamid Jel Elektrofrezisi (SDS-PAGE)

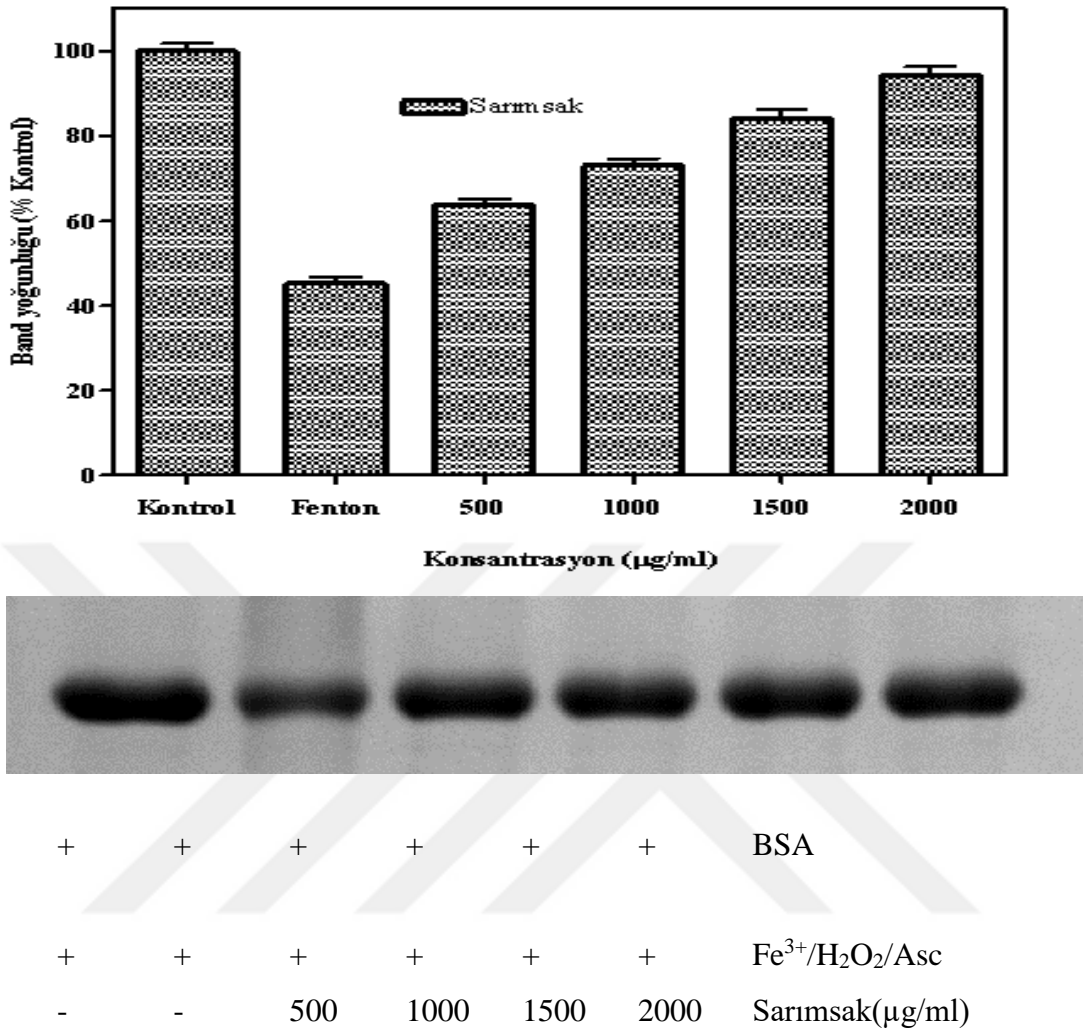
Protein oksidasyonu tayini çalışmasında kullanılan *Allium tuncelianumun* etanol ekstraktının protein oksidasyonu önleme etkisi daha Önce yapılmış olan Laemmli's (1970) metoduna göre belirlenmeye çalışıldı. BHT pozitif kontrol olarak kullanıldı. Bu çalışmada *Allium tuncelianumun* ekstraktının ve pozitif kontrol olan BHT için 60 mg/ml'lik konsantrasyonlarda stok çözeltiler 500-2000 µg/ml konsantrasyon aralığında dört ayrı seyreltik çözeltileri hazırlandı. *Allium tuncelianumun* etanol ekstraktının protein oksidasyonu önleme aktivitesi H₂O₂/Fe⁺³/askorbik asit sisteminin Bovine serum albumin (BSA) proteininde meydana getirdiği zararları koruyucu özelliği yapılan çalışma ile belirlenmeye çalışıldı. Grafiksel olarak ifade edilmeye çalışıldı.

Bu deneyin sonucunda protein oksidasyonu önleme aktivitesi incelenirken 500-2000 µg/ml dört farklı konsantrasyon aralığındaki *Allium tuncelianumun* protein oksidasyonunu önleme aktivites % 61.88 ± 2.50 – 76.23 ± 3.14 arasında (Şekil 4.2) pozitif kontrol olan BHT için bu değerler 47.23 ± 3.09 – 90.40 ± 2.17 arasında (Şekil 4.3) olduğu görüldü.



+	+	+	+	+	+	BSA
+	+	+	+	+	+	Fe ³⁺ /H ₂ O ₂ /Asc
-	-	500	1000	1500	2000	BHT(μg/ml)

Şekil 4.3. BHA'nın BSA'yı oksidatif hasardan koruyucu etkisinin sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) ile incelenmesi 1.Kuyucuk: BSA 2. Kuyucuk: BSA + Fe³⁺ / H₂O₂ / Asc 3.Kuyucuk: BSA + Fe³⁺ / H₂O₂ / Asc + 500 μg / ml A.t 4. Kuyucuk: BSA +Fe₃₊ / H₂O₂ / Asc + 1000 μg / ml A.t 5. Kuyucuk: BSA + Fe³⁺ / H₂O₂ / Asc + 1500μg / ml A.t 6.Kuyucuk: BSA + Fe³⁺/ H₂O₂/ Asc + 2000 / ml A.t



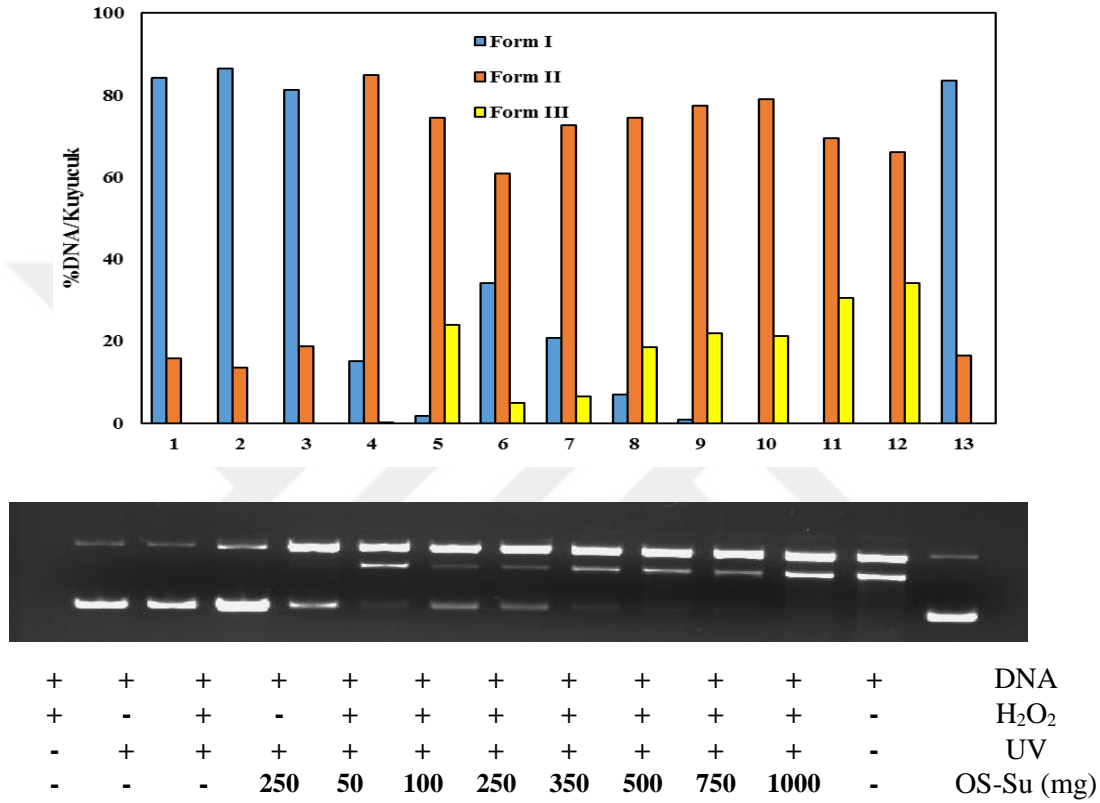
Şekil 4.4. Sarımsak (*A.tuncellianum*) bitki ekstraktının BSA'yı oksidatif hasardan koruyucu etkisinin sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) ile incelenmesi. 1.Kuyucuk: BSA 2.Kuyucuk: BSA + Fe³⁺ / H₂O₂ / Asc 3.Kuyucuk: BSA + Fe³⁺ / H₂O₂ / Asc + 500 µg / ml A.t 4. Kuyucuk: BSA + Fe³⁺ / H₂O₂ / Asc + 1000 µg / ml A.t 5.Kuyucuk: BSA + Fe³⁺ / H₂O₂ / Asc + 1500µg / ml A.t 6.Kuyucuk: BSA + Fe³⁺ / H₂O₂ / Asc + 2000 / ml A.t.

4.6. DNA Oksidasyonu Önleme Aktivitesi-Agaroz Jel Elektroforezi

Allium tuncelianumun etanol ekstraktının DNA'yı H₂O₂'nin fotolizi sonucu oluşan OH radikaline karşı koruyucu etkisini Agaroz jel elektroforezi yöntemi kullanılarak tespit edilmeye çalışıldı. Bu çalışma yapılırken plazmit DNA varlığında *Allium tuncelianumun* etanol ekstraktının farklı konsantrasyonlardaki çözeltileri H₂O₂ + UV işlemi ile okside edilerek jel elektroforezinde DNA kesiminin olup olmadığı tespit edilmeye çalışıldı. *Allium tuncelianumun* etanol ekstraktı 50-1000 mg/ml aralığında yedi

farklı konsantrasyon da seyreltik çözeltileri hazırlanmıştır.

Bu çalışmada plazmit DNA varlığında bazı kuyucuklarda yalnız UV uygulanmış ya da yalnız H₂O₂ varlığında kuyucuklar oluşturuldu. Bazı kuyucuklarda H₂O₂ UV ve *Allium tuncelianumun* ekstraktının farklı konsantrasyonlarda olduğu 13 kuyucuk oluşturularak DNA kesimi görülmeye çalışıldı (Şekil 4.5).

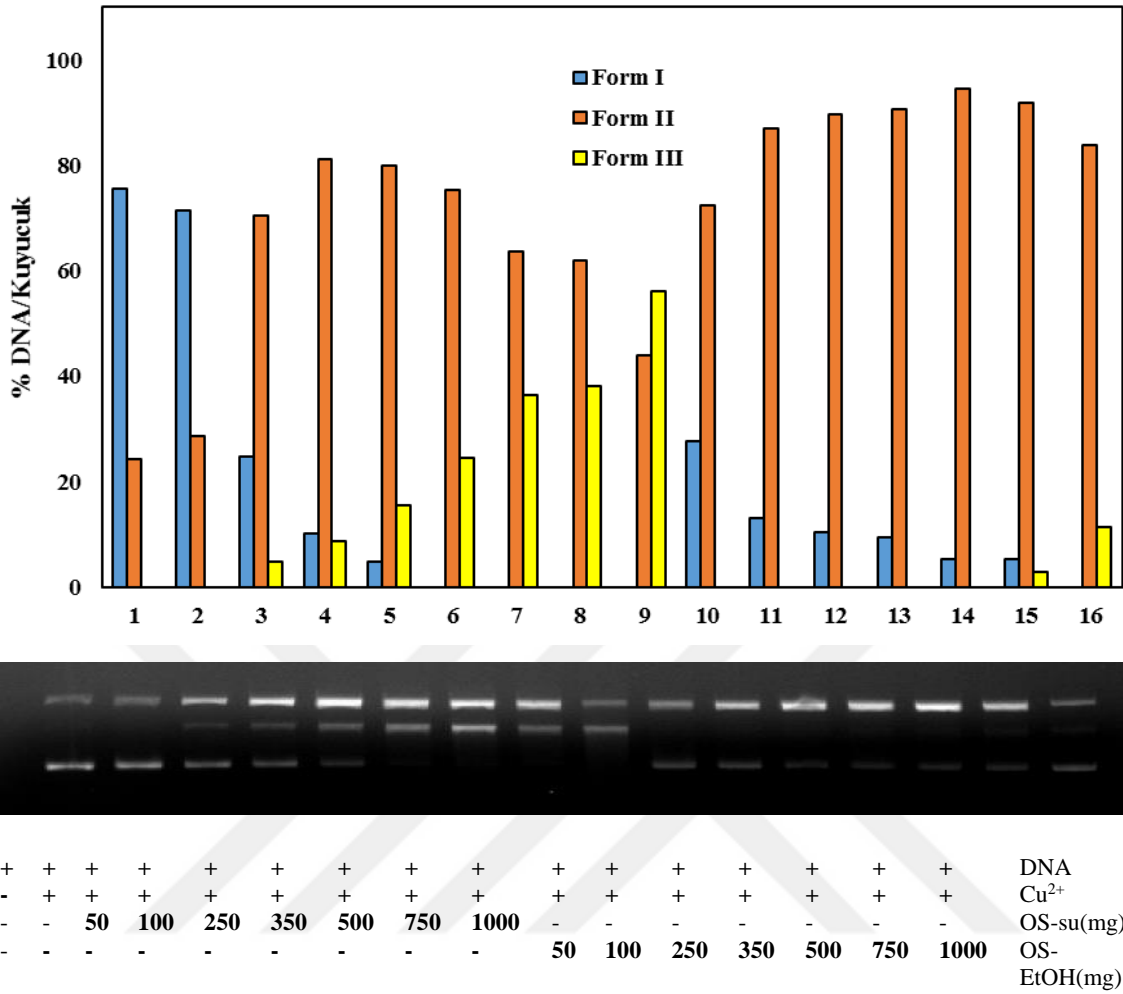


Şekil 4.5. Her kuyucuktaki pBR322 plazmit DNA'nın sc-DNA (Form I), oc-DNA (Form II) ve l-DNA (Form III) yüzdeleri. Farklı konsantrasyonlardaki *A. tuncelianumun* (A.t) ekstraktının supercoiled DNA'yı H₂O₂ fotolizi sonucu oluşan OH radikaline karşı koruyucu etkisinin Agaroz Jel Elektroforezi. Elektroforez, etidyum bromür (10 mg/mL) içeren % 1 Agaroz jelde, 1 saat 90 V 500 mA akım uygulanarak gerçekleştirildi. Elektroforez tamponu: TAE (40 mM Tris asetat, 1 mM EDTA, pH 8.2); Jellerin fotoğrafı Bio Rad Gel Doc XR (BioRad, Hercules, CA, USA) görüntüleme sistemi ile çekildi ve % kesim hesaplamaları Quantity Oneprogramıyla (4.5.2 versiyonu, BioRad Co.) hesaplandı. 1. Kuyucuk: DNA; 2. Kuyucuk: DNA + H₂O₂; 3. Kuyucuk: DNA + UV; 4. Kuyucuk: DNA + H₂O₂ + UV; 5. Kuyucuk: DNA + UV + 250 µg / ml A.t; 6. Kuyucuk: DNA + H₂O₂ + UV + 50 µg / ml A.t; 7. Kuyucuk: DNA + H₂O₂ + UV + 100 µg / ml A.t; 8. Kuyucuk: DNA + H₂O₂ + UV + 250 µg / ml A.t; 9. Kuyucuk: DNA + H₂O₂ + UV + 250 µg / ml A.t; 10. Kuyucuk: DNA + H₂O₂ + UV + 350 µg / ml A.t; 11. Kuyucuk: DNA + H₂O₂ + UV + 500 µg / ml A.t; 12. Kuyucuk: DNA + H₂O₂ + UV + 750 µg / ml A.t; 13. Kuyucuk: DNA + H₂O₂ + UV + 1000 µg / ml A.t.

Çizelge 4.1. *Allium tuncelianumun* etanol ekstraktının DNA hasarı üzerine olan etkisinin incelenmesi.

Kuyucuk	Reaksiyon Koşulları	Form (%)		
		form-1	form-2	form-3
1	DNA	84,26	15,74	
2	DNA + H ₂ O ₂	86,48	13,52	
3	DNA + UV	81,24	18,76	
4	DNA + H ₂ O ₂ + UV	15,11	15,11	15,11
5	DNA + UV + 250 µg/ml A.t.	1,68	74,51	23,81
6	DNA + H ₂ O ₂ + UV + 50 µg/ml A.t.	34,21	60,82	4,97
7	DNA + H ₂ O ₂ + UV + 100 µg/ml A.t.	20,86	72,56	6,58
8	DNA + H ₂ O ₂ + UV + 250 µg/ml A.t.	6,92	6,92	6,92
9	DNA + H ₂ O ₂ + UV + 350 µg/ml A.t.	0,77	77,4	21,83
10	DNA + H ₂ O ₂ + UV + 500 µg/ml A.t.	0	78,9	21,1
11	DNA + H ₂ O ₂ + UV + 750 µg/ml A.t.	0	69,53	30,47
12	DNA + H ₂ O ₂ + UV + 1000 µg/ml A.t.	0,00	65,97	34,03
13	DNA	83,47	16,53	

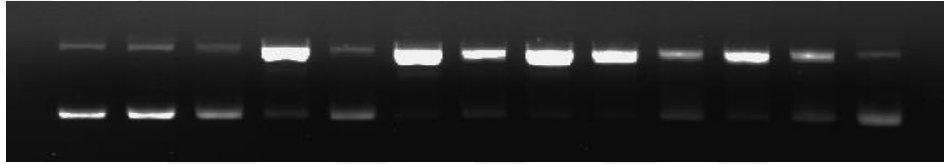
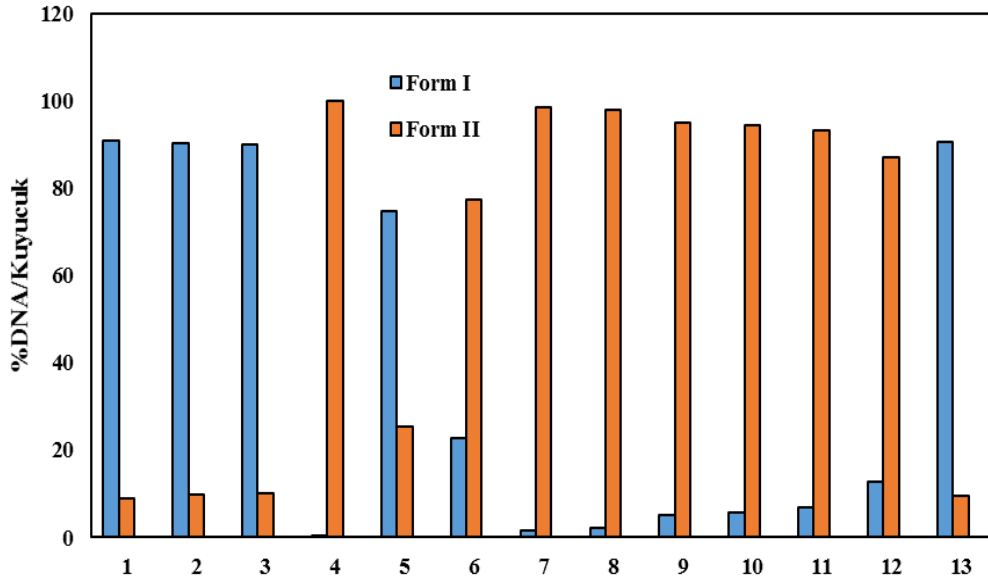
Diğer bir çalışmada plazmit DNA'nın olduğu kuyucukların bazılarında sadece farklı konsantrasyonlarda meyve ekstraktı varken, diğerlerinde ekstradan Cu⁺² metalı ilave edilerek 16 farklı kuyucuktan oluşan DNA kesim etkisi araştırıldı. Burada'da DNA kesim % inhibisyon yukarıda metod kısmında belirtilen eşitlik kullanılarak hesaplandı ve bu değerler grafiksel olarak ifade edilmeye çalışıldı (Şekil 4.6). Bu çalışma sonucunda elde edilen grafikte Cu⁺² iyonunun 50 mg/ml den 1000 mg/ml doğru artan konsantrasyonunda DNA'yı kestiği çok açık bir şekilde görüldü. Aynı grafikte mevcut çalışmada kullanılan *Allium tuncelianumun* etanol ekstraktının yine 50-1000 mg/ml aralığında artan konsantrasyon miktarına göre DNA kesimini artırdığı çok açık bir şekilde görülmektedir.



Şekil 4.6. *Allium tuncelianum* bitkisinin su ve etanol ekstraktının bakır varlığında DNA üzerine etkisinin incelenmesi. Elektroferez, etidyum bromür (10 mg/mL) içeren % 1 Agaroz jelde, 1 saat 90 V 500 mA akım uygulanarak gerçekleştirildi. Elektroferez tamponu: TAE (40 mMTris asetat, 1 mM EDTA, pH8.2); Jellerin fotoğrafı BioRad Gel Doc XR (BioRad, Hercules, CA, USA). Görüntüleme sistemi ile çekildi ve % kesim hesaplamaları QuantityOne programıyla (4.5.2 versiyonu, BioRadCo.) hesaplandı. 1. Kuyucuk: DNA; 2. Kuyucuk: DNA+50 µg/ml *A.t.*; 3. Kuyucuk: DNA + 100 µg/ml *A.t.*; 4. Kuyucuk: DNA + 250 µg / ml *A.t.*; 5. Kuyucuk: DNA + 350 µg/ml *A.t.*; 6. Kuyucuk: DNA + 500 µg/ml *A.t.*; 7. Kuyucuk: DNA + 750 µg / ml *A.t.*; 8. Kuyucuk: DNA + 1000 µg / ml *A.t.*; 9. Kuyucuk: DNA + Cu²⁺; 10. Kuyucuk: DNA + Cu²⁺ + 50 µg / ml *A.t.*; 11. Kuyucuk: DNA + Cu²⁺ + 100 µg / ml; *A.t.* 12. Kuyucuk: DNA + Cu²⁺ + 250 µg / ml *A.t.*; 13. Kuyucuk: DNA + Cu²⁺ + 350 µg / ml *A.t.*; 14. Kuyucuk: DNA + Cu²⁺ + 500 µg / ml *A.t.*; 15. Kuyucuk: DNA + Cu²⁺ + 750 µg / ml *A.t.*; 16. Kuyucuk: DNA + Cu²⁺ + 1000 µg / ml *A.t.*

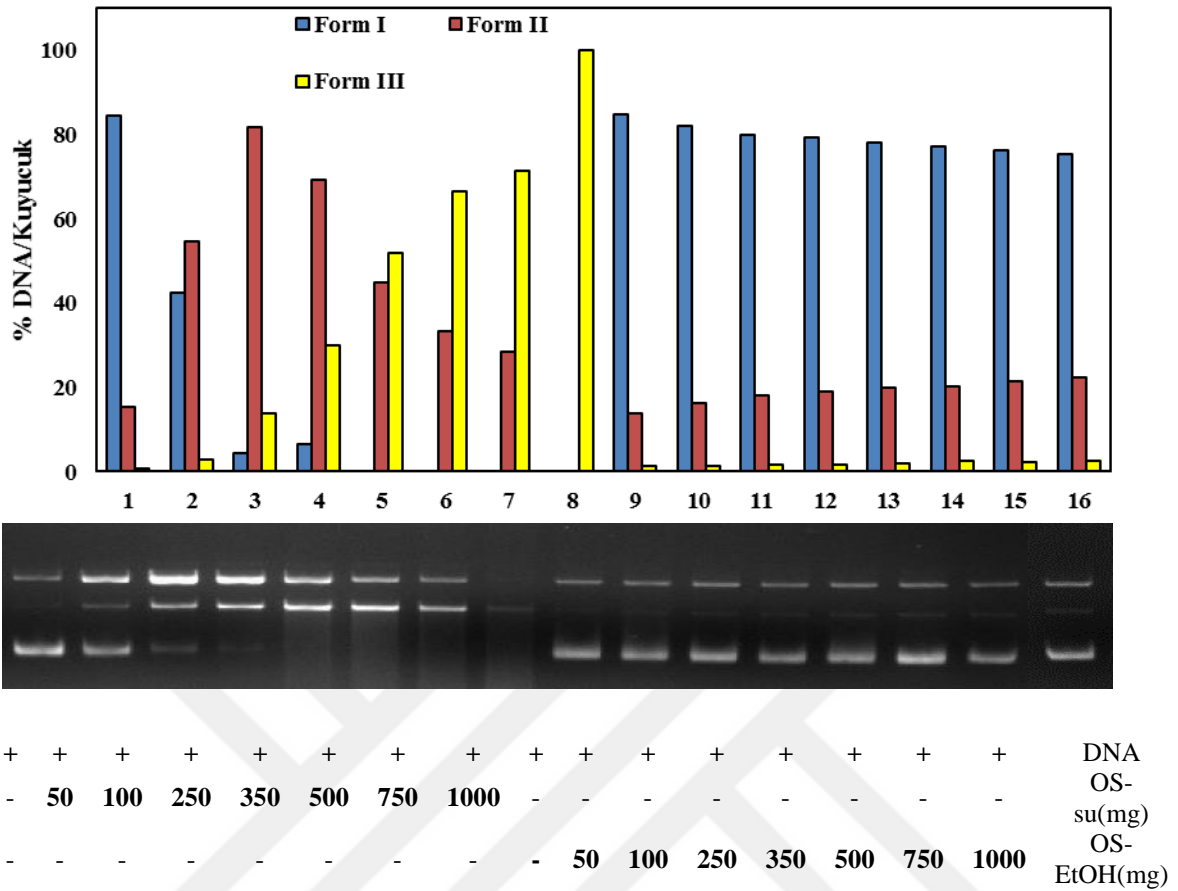
Çizelge 4.2. *Allium tuncelianumun* su ve etanol ekstraktının bakır varlığında DNA hasarı üzerine olan etkisinin incelenmesi.

Kuyucuk	Reaksiyon	Form (%)		
		form-1	form-2	form-3
1	DNA	75.66	24.84	
2	DNA + 50 µg/ml A.t.	71.36	28.63	
3	DNA + 100 µg/ml A.t.	24.72	70.44	4.84
4	DNA + 250 µg/ml A.t.	10.19	81.23	8.58
5	DNA + 350 µg/ml A.t.	4.71	79.84	15.45
6	DNA + 500 µg/ml A.t.	0	75.42	24.58
7	DNA + 750 µg/ml A.t.	0	63.63	36.37
8	DNA + 1000 µg/ml A.t.	0	61.83	38.19
9	DNA + Cu ⁺²	0	61.83	56.01
10	DNA + 50 µg/ml Cu ⁺²	27.52	72.48	0
11	DNA + 100 µg/ml Cu ⁺²	13.05	86.95	0
12	DNA + 250 µg/ml Cu ⁺²	10.42	89.58	0
13	DNA + 350 µg/ml Cu ⁺²	9.28	90.72	0
14	DNA + 500 µg/ml Cu ⁺²	5.32	94.65	0
15	DNA + 750 µg/ml Cu ⁺²	5.18	91.18	2.94
16	DNA + 1000 µg/ml Cu ⁺²	4.94	83.82	11.24



+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	DNA
-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	H ₂ O ₂
-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	UV
-	-	-	-	250	50	100	250	350	500	750	1000	-	OS-EtOH(mg)

Şekil 4.7. Her kuyucuktaki Pbr 322 plazmid DNA'nın sc-DNA (Form I), oc-DNA (Form II) ve l-DNA (Form III) yüzdeleri. Farklı konsantrasyonlardaki *A. tuncelianum* bitkisinin etanol ekstraktının supercoiled DNA'yı H₂O₂ fotolizi sonucu oluşan OH radikaline karşı koruyucu etkisinin Agaroz Jel Elektrofrez. Elektrofrez, etidyum bromür (10 mg/mL) içeren % 1 Agaroz jelde, 1 saat 90 V 500 mA akım uygulanarak gerçekleştirildi. Elektrofrez tamponu: TAE (40 mMTris asetat, 1 mM EDTA, pH8.2); Jellerin fotoğrafı BioRad Gel Doc XR (BioRad, Hercules, CA, USA). Görüntüleme sistemi ile çekildi ve % kesim hesaplamaları QuantityOne programıyla (4.5.2 versiyonu, BioRadCo.) hesaplandı.



Şekil 4.8. *A. tuncelianum* su ve etanolekstraktının DNA üzerine etkisinin incelenmesi. Elektroforez, etidyum bromür (10 mg/mL) içeren % 1 Agaroz jelde, 1 saat 90 V 500 mA akım uygulanarak gerçekleştirildi. Elektroforez tamponu: TAE (40 mM Tris asetat, 1 mM EDTA, pH8.2); Jellerin fotoğrafı BioRad Gel Doc XR (BioRad, Hercules, CA, USA). Görüntüleme sistemi ile çekildi ve % kesim hesaplamaları QuantityOne programıyla (4.5.2 versiyonu, BioRadCo.) hesaplandı.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Serbest radikaller oldukça dayanıksızdırlar ve aynı zamanda reaktif moleküllerdir. Serbest radikallerin ortaklanmamış elektronları hücredeki diğer moleküllerle reaksiyon oluşturarak oksidatif hasara neden olurlar. Serbest radikaller normal metabolizmada oluşabildiği gibi, farklı dış etkenler aracılığı ile de meydana gelebilir. Organizmadaki pro-oksidan ve anti-oksidan dengenin bozulması oksidatif stres, olarak tanımlanmaktadır. Serbest radikaller; lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi temel molekülleri hasara uğrattırır. Oluşan bu hasar kanser, ateroskleroza, amiloidoza, yaşa bağlı olarak, senil demans ve hipertansiyon gibi çeşitli hastalıklar ile ilişkili olduğu ve biyolojik yaşlanma sürecinde rol oynadığı bilinmektedir. (Çakatay, ve ark., 2006).19. yüzyılın sonlarına doğru H. J. H. Fentonun büyük çabalarıyla oksidatif stres ve Serbest radikal teorisi aydınlanmaya başlamıştır. H. J. H. Fenton 1876 yılında, ilk adım olarak hidrojen peroksit ile Fe^{++} iyonlarının varlığında tartarik asitin oksidasyonunu keşfini gerçekleştirmiştir. Denham Harman ise bu kapsamında serbest radikalleri Pandora'nın "Felaketler kutusuna" benzetmiştir. Biyokimyasal oksidasyonlar sonucunda serbest radikallerin hücre hasarı oluşur ve ayrıca doku ve organ yaşlanmasına da yol açtığını bildirmiştir. Serbest radikallerin büyük oranda DNA hasarına, mutageneze, kansere ve dejeneratif yaşlanma sürecinden sorumlu olabileceği görüşünü savunmuştur. İnsan vücudu, sürekli olarak oluşmakta olan ROS'un zararlı etkilerine karşı koruma mekanizmaları vardır. Bu savunma sistemleri, doğadaki bitkilerde bulunan antioksidanlar olup, oldukça reaktifolan bu bileşiklerle stabilize edilmeleridir. Bazı gıdaların pro-oksidan aktiviteye sahip olması oksidatif stresinin ROS'un oluşturulması ya da antioksidan sistemlerin inhibisyonu yoluyla pro-oksidan ajanlardan indüklenebileceği gerçeğine bağlıdır (Puglia ve ark., 1984). Bitkilerde birçok antioksidan bulunduran moleküler fenolik bileşikler veya polifenol bileşiklerdir. Bu moleküler bitkilerin bütün kısımlarında bulunabilirler. Fenol bileşiklerin yanısıra bitkilerde en fazla bulunan antioksidan bileşenler flavonoidler, bazı aminoasitler, karoteonidler, A ve C vitamini, organik asitler, terpenler, glukonadlar, kumarinler, sülfidlar, fitatlar, melonoidler ligninler, izotiyosiyanatlar ve indoller dir (Nagy ve Attaway, 1992). Yapılan çok sayıda çalışma göstermiştir ki oksidatif strese neden olan serbest radikallerin ve serbest radikallerin sebep olduğu hastalıkların oluşmasını

engelleyen moleküllerin çoğunun bitkilerde mevcut olan antioksidan bileşikler olduğu görülmüştür (Chen ve ark., 2007). Fenolik bileşikler güçlü zincir kırıcı antioksidanlar olarak bilinir (Shahidi ve ark., 1992). Fenoller, hidroksil gruplarına çok kolay bağlanabildikleri için çok önemli bitkilerdir. (Hatano ve ark., 1989). Doğal antioksidanlar, bitki ve hayvan dokularında bulunurlar veya gıda işlenmesi sırasında da açığa çıkabilen bileşenlerdir. En önemli doğal antioksidanlar, flavonoidler, tokoferoller, fenolik asitler, C vitamini, karotenoidler ve selenyumdur (Doğmuş ve Durucasu, 2013). Güçlü bir doğal antioksidan olan sarımsağın bünyesinde sistein, glutamin, izolösin ve metionin gibi aminoasitler bulunmaktadır. Bu aminoasitler hücreleri serbest radikallerin hasarından korumaya yardımcı olurlar. Yapılan araştırmalar sarımsağın antioksidan özelliğe sahip olması vücutta tolare edilmesi zor olan ağır metal zehirlenmelerine karşı (kurşun, civa, kadmiyum, arsenik ve bakırlı kirleticilerden) vücudu etkin bir şekilde koruduğu tespit edilmiştir. Ayrıca sarımsağın yapısında bulunan Polifenol ya da fenol bileşenleri ve bu bileşenlerin DNA, protein, lipit gibi yapılara bağlanabilme özelliklerinden dolayı bu yapıları serbest radikallerin hasarlarına karşı koruyabilmektedir (Kafkas ve ark., 2006). Fenolik bileşiklerde bulunan hidroksil grupları serbest radikal hasarını süpürme özeliğinden dolayı en önemli bitkisel bileşenlerdir (Hatano ve ark., 1980). Fenolik bileşenler antioksidan aktiviteye doğrudan katkıda bulunurlar (Duh ve ark., 1999). Günümüzde gıdalardaki fenolik bileşiklerin antioksidan özelliklerinin incelenmesi giderek önem kazanmaktadır (El ve ark., 1999). Geniş bir aile olan fenolik bileşiklerin ayrı ayrı grub analizleri mümkün olsa da gıdalardaki toplam fenolik bileşiklerin tayini yapılmak istenen önemli bir analizdir. Fenolik bileşikler doğal antioksidanlar olarak kabul edilirler. Belirli bir derişimde konjuge dienlerin oluşum hızlarını önemli oranda azaltırlar. Gıda endüstrisi açısından oldukça ilgi çekicidirler çünkü lipidlerin oksidatif bozulumunu geciktirirler. Ayrıca besinlerin, besin değerini ve kalitesinide geliştirmektedirler. Kastamonu sarımsağındaki minerallerin büyükten küçüğe doğru sıralaması K, Ca, P, Mg, Na ve Zn ile Tunceli sarımsağında ki sıralama K, Ca, Mg, P, Na, Fe ve Zn bu şekildedir (GTHİM, 2011; Artık ve Poyrazoğlu., 1994). Sıralamada 1.00 mg/kg değerinden yüksek olan değerler dikkate alınmıştır. Kastamonu sarımsağında Fe miktarı 1.00 mg/kg değerinin altında iken Tunceli sarımsağında Fe miktarının 1.00 mg/kg nin üstünde olması ve ayrıca Zn miktarından daha fazla olması dikkate değerdir. Bu tez kapsamında yapılan çalışmada A.

tuncelianum bitkisinin etanol ekstraktı için yapılan deney sonucunda toplam fenolik bileşen içeriği 16.70 ± 1.21 μg olarak gallik aside eşdeğer olarak hesaplanmıştır (Ağbaş ve ark., 2013). Yapılan araştırmada *A. tuncelianum* bitkisinin etanol ekstraktı için yapılan çalışmada Fenolik bileşen içeriği 16.21 ± 0.85 μg olarak ölçülmüştür. Ayrıca Kastamonu Sarımsak bitkisinin Etanol ekstraktı için Fenolik bileşen içeriği 4.01 ± 0.09 olarak ölçülmüştür. 2012 yılında Kozan G.ve ark., tarafından yapılan araştırmada Kastamonu sarımsağının fenolik bileşen içeriği 5.418 μg olarak ve Denizli sarımsağının Fenolik bileşen içeriği ise 4.499 μg olarak ölçülmüştür. Toplam fenolik madde içeriği ile ilgili Chen ve ark. (2007) antioksidan aktivite çalışmalarını dört farklı bitki yaprağının su ekstraktlarıyla çalışma yapmışlardır. (Wong ve ark., 2006) ise 30 farklı medisinal bitki ile çalışmaları bulunmaktadır (Stolova ve ark., 2006). Zencefil bitkisinin etanol ekstraktının, toplam fenolik bileşenin içeriği 871 mg/g gallik asit edeğeri olarak bulunmuştur. Bu tez kapsamında *A. tuncelianum* bitkisiyle yaptığımız Toplam Fenolik bileşen içeriği 16.70 ± 1.21 μg olup diğer sarımsak türlerinden daha iyi aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Bitki fenollerini genellikle fenolik yapıya bağlı olan karbon atomlarının sayısı esas alınarak farklı gruplara ayrılmışlardır. Bu gruplar şunlardır: Basit fenoller, stilbenler, sinnamik asitler, flavonoidler, fenolik asitler, ligninler ve biflavonoidlerdir. Fenolik bileşikler, enfeksiyon, yaşlanma, UV ışınları, radyasyon gibi stres koşullarına cevap olarak bitkinin normal gelişimi sırasında sentezlenmektedir. Flavonoidler kimyasal yapıları ve biyolojik fonksiyonları itibarıyla çeşitliliği en fazla olan en önemli Fenolik bileşikleridir. Flavonoidler yeteri kadar antioksidan ve şelatlama özelliklerine sahip difenilpropanoidlerdir. Çoğunlukla bitkilerde bulunmaktadır. Flavonoidler için farklı sınıflandırmalar bulunmaktadır. Genel olarak 6 temel flavonoid sınıfı vardır. Bunlar; flavonlar, flavononlar, flavonoller, antosiyaninler isoflavonoidler ve flavanlardır. Flavonoidler bitki dünyasında değişik rolleri vardır. Örneğin, meyvelerdeki ve çiçeklerdeki sarıdan- kırmızıya- mora kadar farklı renklerden sorumludurlar. Ayrıca, flavonoller, flavonlar ve antosiyaninler renklerinden dolayı polinasyon için gerekli olan görünür sinyaller olarak görev yapmaktadırlar. Flavonoidler serbest radikal süpürücü etkiye sahiptirler ayrıca enzim aktivitelerini düzenleyici, antibiyotik ve antiallerjen özellik taşıyıcıları, ülseri engelleyen ve iltihabı önleyen ilaç gibi görev alırlar (Hudson, 1990). Flavonoidler bitkisel besinlerde yaygın olarak bulunmaktadır. Bu bileşiklere olan ilginin sebebi Koroner kalp

hastalıkları ve kanser gibi hastalıkların engellenmesinde rol oynamalarıdır. Günümüze kadar 4000'in üzerinde farklı flavonoid çeşidi belirlenmiştir. Flavonoidler genellikle aglikon veya glikozitler şeklinde bulunmakla beraber şekere bağlı (glikozit) hali daha yaygındır. Flavondan türetilen, suda çözünebilen, %70 etilalkol ile ekstrakte edilebilen ve bazik çözeltide renkleri değişen ikincil metabolitlerin önemli bir sınıfıdır. Çiçeklere ve meyvelere renk verirler, serbest radikallerin etkisini düşürürler ve zararlı mikroorganizmalardan koruyan, virüsleri etkisiz hale getiren, bağışıklık sistemini güçlendirirler, C vitamininin emilimini artırırlar, kanserli hücrelerle savaşır, bazı hastalıklara karşı ilaç gibi davranırlar, enzim aktivitesini etkin hale getirirler ve alerjik reaksiyonlara karşı etki gösterirler (Yeşilioğlu ve ark., 2011). Serçe, (2012) yılında yapmış olduğu tez çalışmasında Meryama Diken (*Silybum marianum* L. Gaertner) tohumunun toplam flavonoid içeriği 19.00 µg/ml quercetine eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Bu değer *A. Tuncelianum* etanol ekstraktının toplam flavonoid değeri olan 6.73 µg/ml daha iyi ve etkin bir değer olduğu görüldü (Serçe., 2012). Bazı çalışmalar flavonoidlerin mutajen (Fieschi ve ark., 1989) ve kanserojen olduğunu göstermesine karşın başka bir çalışmada ise tersine elde edilen bulgular flavonoidlerin antimutajen ve antikanserojen olduğunu göstermektedir (Hertog ve ark., 1992; Shahidi ve Nacz, 1995). Cemeroğlu ve Cemeroğlu, 1998; Wanasundara ve Shahidi., 1998). İşlenmiş ürünlerdeki flavonoidlerin içeriği kullanılan meyve ve sebzelerin cinsine, iklim koşullarına meyvenin büyüklüğüne, olgunluk düzeyine veya işlemden uygulanan sıcaklık, hava ya da ışığa varlığı bağlı olduğu görülmektedir. Bunun yanında, analiz için uygulanan metotlar ve ekstraksiyon yöntemlerinin farklılık göstermesi de sonuçların farklılığında rol aldığı görülmüştür. Ekstraksiyon işleminin etkinliği ise meyvenin olgunluk düzeyi, meyvenin yapısal özelliği ve genotipi ile ilgilidir (Pellegrini ve ark., 2007) Toplam antioksidan kapasitesi, farklı ekstraksiyon yöntemlerinden ve ekstraksiyonda kullanılan çözücülerden etkilendiğini yapılan araştırmalar göstermiştir. Bu durum, işlemlerin anlaşılmasını daha da karmaşık hale getirmektedir. Farklı çalışmalar arasında tutarsız sonuçlara sebep olabilmektedir. Meyve ve sebzelerin antioksidan içeriği C ve E vitaminleri ile α -karotenden daha çok flavon, izoflavon, antosiyanin, kateşin ve izokateşin gibi flavonoidlerden kaynaklanmaktadır. Oksijen radikallerini söndürme aktivitesi bakımından oniki meyve ve beş ticari meyve suyunun incelendiği başka bir çalışmada Oksijen radikallerini söndürme aktivite değeri en

yüksek meyvelerin çilek ve eriktir. Daha sonra ise portakal ve siyah üzümün gelmektedir. Ticari meyve suları arasında üzüm suyunun Serbest oksijen radikallerini söndürme kapasiteleri değerinin maksimum olduğu saptanmıştır. Meyvelerin antioksidan değerlerinin meyve yapısında bulunan flavonoid içeriğinden kaynaklandığı belirtilmiştir (Wang ve ark., 1996). Flavonoidler besinlerde genellikle glikozitler şeklinde bulunurlar, suda kolay çözünürler ve dayanıklıdırlar. Besinlerdeki flavonoidler; yağların antioksidasyondan, vitaminlerin parçalanmasından ve enzim inhibisyonundan sorumlu olan bileşenlerdir. Fakat lipitlerde çözünürlüklerin az olması ise dezavantajlı bir durumdur (Justesen ve ark., 1998; Peterson ve Dwyer., 1998).

Bu tez kapsamında kullanılan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikali, ticari olarak üretilen ve yapısında azot bulunan kararlı radikallerden bir tanesidir. DPPH radikali mor renkli olup, 515 nm'de maksimum absorbans vermektedir. DPPH radikali, antioksidan maddenin hidrojeni ile etkileşerek, tek elektronu indirgenmiş DPPH-H'i oluşturmaktadır ve bu sırada DPPH radikalinin 515 nm'deki molar absorpsiyon katsayısı 9660'tan 1640'a düşmekte ve rengi de mordan sarıya dönüşmektedir (Prakashve ark., 2001) Serbest Oksijen radikallere elektron veren antioksidanlar, DPPH radikallerini etkisizleştirerek meydana gelebilecek birçok hastalık ve hasarlara karşı koruyucu etki gösterebilir (Gülçin ve ark., 2007).

Ağbaş ve ark., (2013) *A.tuncelianum* ve bazı sarımsak türleriyle ilgili yapılan çalışmada Tunceli sarımsağı etanol ekstraktında 83.69 ± 1.06 Tunceli sarımsağı su ekstraktı 59.44 ± 1.1 Kastamonu sarımsağının etanol ekstraktı 80.35 ± 1.37 Kastamonu sarımsağının su ekstraktı 45.70 ± 1.24 BHT 81.74 ± 1.51 değerleri ölçülmüştür. Bu tez kapsamında ölçülen DPPH değerleri ise en küçükten en büyüğüne doğru *A.tuncelianum* 19.4 ± 0.7 - 89.2 ± 0.3 BHA ise 73.0 ± 0.3 - 90 ± 0.4 olarak hesaplanmış olup oldukça etkin ve yüksek bir değerdedir. Başka bir çalışmada ise, nar kabuğu ve nar tohumunun ekstraktlarında in vitro modeli kullanılarak DPPH metodu ile aktivitesi belirlenmeye çalışılmıştır. 50 ppm de nar kabuğunun metanol ekstraktının antioksidan aktivitesi %81 olarak belirlenmiş 100 ppm de nar tohumunun metanol ekstraktının antioksidan aktivitesi % 23.2 olarak belirlenmiştir (Singh ve ark., 2002). (Aviram ve ark., 1999) ise nar suyunun oksidatif stresi engelleme çalışmalarını DPPH metodu ile ölçmüşler ve nar suyunun antioksidan aktivitesini E vitamini eşdeğeri olarak 50 mmol E vit/L olarak bulmuşlardır. Troloks'un E vitamini analogu olduğu düşünülecek olursa,

bu çalışmada taze nar suyu için bulunan 52,12 $\mu\text{mol TE/g}$ değerinin Aviram ve ark., (1999)'nin bulduğu değerlerden daha yüksek olduğu görülmektedir. Literatür de mevcut diğer bazı çalışmalar incelendiğinde, (Miller ve ark., 2000). Farklı meyvelerde DPPH metodu ile antioksidan aktivitesini kırmızı elma için 14 $\mu\text{mol TE/g}$, kırmızı üzüm için 17 $\mu\text{mol TE/g}$, muz için 11 $\mu\text{mol TE/g}$, kivi için 10 $\mu\text{mol TE/g}$, armut için 6 $\mu\text{mol TE/g}$, domates için 2 $\mu\text{mol TE/g}$ olarak ölçmüştür. Sonuçlar göz önüne alındığında, *A. tuncelianum*'un çalışmada analizlenen tüm örneklerden kırmızı elma, kırmızı üzüm, kivi, muz, armut ve domatesten daha yüksek antioksidan aktivitesine sahip olduğu görülmektedir. Yapılan başka bir çalışmada ise; Ciğertaze Otu (*Nigella Sativa*) bitkisinin etanol ekstraktının farklı ekstraktlarının DPPH süpürme etkisi sırayla metanol ekstraktı % 90.89 etil asetat ekstraktı % 90.48 etanol ekstraktı % 86.31 ve aseton ekstraktı % 84.78 olarak bulunmuştur (Arıdurdu ve Arabacı, 2012). Bulunan bu değerlerin *A. tuncelianum*'un DPPH % inhibisyon değerlerine çok yakın olduğu görülmektedir. Membran lipidlerinin oksidatif hasara uğramasına lipid peroksidasyonu adı verilmektedir. Hücre membranında bulunan kolesterol ve yağ asitlerin doymamış olan bağları serbest radikallerle tepkimesi peroksidasyona neden olmaktadır. Lipid peroksidasyonunu kan da teşhis edebilmek için genellikle kan plazmasında aranan molekül malonaldehiditir (MDA) (Tufan, 2008). MDA molekülü üç veya dört çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu oluşan ve membraanlarda iyon akışını bozarak membranlardaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına neden olur ve iyon geçişini engeller. Enzim aktivitesine de olumsuz olarak etki eder. Bu özelliğinden dolayı DNA da istenmeyen bazı reaksiyonlara neden olarak mutajenik hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojenik etkiye neden olurlar (Taş, 2006).

Literatürdeki çalışmalara bakıldığında bu metot ile yapılmış çalışmaya az rastlanılmıştır. Karşılaştırma yapmak amacı ile (Gülçin, 2005)'in kafeik asitte antioksidan etki incelendiğinde oniki saatin sonunda yapılan ölçümlerde kafeik asitin linoleik asit inhibisyonunu sırasıyla 20 $\mu\text{g/ml}$ ve 10 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda bulunmuş % 75.8 - % 68.2 olarak da ölçülmüştür. Standart olarak kullanılan BHA, BHT, α tokoferol ve Troloks için ise 20 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda linoleik asit inhibisyonunu sırasıyla % 74.4, % 71.2, % 54.7, % 20.1 olduğu görülmüştür. Que ve ark., (2006)'nin yapmış olduğu çalışmada ise, linoleik asit sistemi içerisinde 100 μl olarak bulunan sarı renkli şarap örneğinde, 120 saat sonunda linoleik asit inhibisyonunun % 97.99 olarak

ölçülmüştür. Aynı çalışmada 1 g/L α tokoferol ve 1 g/L BHA referans standart maddelerinin 100 μ l'si için linoleik asit inhibisyonu için sırasıyla %77.1 ve % 98.35 olarak bulunmuştur. (Mathew ve Abraham., 2006) ise 48. saat içinde yapılan başka bir ölçümde 200 μ g/ml tarçın kabuğu ekstraktı ve 200 μ g/ml BHA için sırasıyla inhibisyon değerleri % 93.3 ve % 89.8 olarak ölçülmüştür. Serçe, A' un 2012 yılında yapmış olduğu çalışmada ise meryema dikenli (*Silybum marianum* L. Gaertner) tohumunun lipid peroksidasyonu önleme aktivitesi 50-250 mg/ml konsantrasyon aralıklarında en düşük ve en yüksek değer % 26.14 ve % 5.87 olarak bulunmuştur (Serçe, 2012). Bu tez kapsamında çalışmış olduğumuz *A. tuncelianum* bitkisinin etanol ekstraktı için düşük ve yüksek konsantrasyon olmak üzere farklı iki konsantrasyonda çalışma, TBA yöntemi kullanılarak yapıldı. 500-2000 μ g/ml konsantrasyon aralığında BHA pozitif kontrol olarak kullanıldı. Düşük konsantrasyondaki lipid peroksidasyonu önleme aktivitesi % 57.2 - 69.6 aralığında bulundu. BHA için bu değer % 55.72 – 83.4 bandındadır. Yaptığım bu tez çalışmasında ise *A. tuncelianum* bitkisinin etanol ekstraktının hem yüksek konsantrasyondaki hemde düşük konsantrasyondaki lipid peroksidasyonu önleme aktivitesi daha yüksek olduğu görüldü.

Protein oksidasyonuna 20. yüzyılın sonlarına doğru ilgi artmıştır. Oksidasyon Reaksiyonları sonucu oluşan ürünlerinin in vivo oksidatif hasar çalışmalarında, spesifik bir gösterge olarak kullanılması ise ancak son yıllarda olmuştur. Bunun nedeni ürün yapısının bilinmemesidir. Protein oksidasyonunun protein- karbonil göstergeleri *in vivo* protein oksidasyonunda bir gösterge olarak kullanılması ise daha uzun bir geçmişi bulunmaktadır. Oksidatif protein hasarının önemi 1983 yılında ilk defa Rodney Levine tarafından ortaya konulmuştur. 1987'de Oliver ve ark., ise, sağlıklı bireylerin fibroblast kültürlerinde yaşlanma ile beraber protein karbonil göstergelerinin yükseldiğini kayıt altına almışlardır. Stadtman ve ark., 1988 yılında bazı hastalıkların gelişiminde ve yaşlanma sürecinde protein oksidasyonunun önemli olduğu fikrini öne sürmüşlerdir.

Günümüzde Western Blom tekniğinin kullanılmasıyla, bazı özel proteinlerin oksidasyonunun görülmesi mümkün olmuştur. DNA'daki *in vivo* oksidatif hasar ise 1980'li yıllara kadar kullanılamamıştır. 1981 yılında Frenkel ve ark. ince tabaka kromatografisi tekniğini ile fare karaciğerinin nükleus-DNA'sında oksidatif hasar sonucu timidin glikolünü saptamışlardır. Floyd ve ark., ise (1986) yılında başka bir oksidatif DNA hasarı markırı olan, 8-okso-2-deoksi guanozini (oxo-8dG), HPLC

yöntemi ile elektrokimyasal olarak analiz etmişlerdir ve bu alandaki çalışmalara katkı sağlamışlardır. (Richter ve ark., 1986) oxo8dG'yi fare karaciğer mitokondri DNA'sında (mtDNA) saptamışlar ve mtDNA'da meydana gelen oksidatif hasarın, nükleus DNA'sına (nDNA) göre onaltı kat daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Dizdaroğlu ve Gajewski'nin gaz kromatografisi/kütle spektroskopisi (GC/MS) tekniğini bu alanda kullanılmış önemli bir tekniktir. Genom'daki DNA bazlarının oksidasyonlarını açıklamada önemli bir katkı sağlanmıştır. Proteinlerin oksidatif hasarları sonucunda birçok hastalığın ilerlemesinde ya da ortaya çıkmasında önemli rolleri vardır. Oksidatif hasara uğramış aminoasit ya da bu aminoasitlerin türevleri belirli yöntemlerle araştırılarak protein oksidasyonun boyutu ortaya çıkarılabilmektedir Protein karbonil içeriği en çok kullanılan belirteç iken 3-Nitrotirozinin peroksinitrit belirteç olarak kullanımı nisbeten düşük olanlar arasındadır. Bu belirteçler kullanılarak mevcut protein oksidasyonu tespit edilmesi etkili antioksidan tedavisi ya da başka tedavi yöntemleri ile protein oksidasyonu önlenabilir.

Bu tez çalışmasında *A. tuncelianum* etanol ekstraktının protein oksidasyonu önleme aktivitesi H_2O_2/Fe^{+3} /askorbik asit sisteminin Bovin serum albumin (BSA) proteininde meydana getirdiği zararları koruyucu aktivitesi 500-2000 mg/ml lik konsantrasyonlar aralığında çalışıldı. Sonuç olarak, *A. tuncelianum* etanol ekstraktının BSA'yı % $61.88 \pm 2.50 - 76.23 \pm 3.14$, kullanılan pozitif kontrol olan BHA'nin ise BSA'yı $47.23 \pm 3.09 - 90,40 \pm 2.17$ koruduğu hesaplanmıştır. Bu değerlere göre *A. Tuncelianum* protein oksidasyonu önleme aktivitesi pozitif kontrol ile karşılaştırıldığında kayda değer olduğu görülebilmektedir. Bu protein oksidasyonu önleme aktivitesi sarımsak ekstraktında bulunan polifenolik bileşik oranının fazla olduğu anlamına gelebilmektedir.

Hadi ve arkadaşları, Cu^{2+} iyonları varlığında bitki ekstraktları tarafından DNA kesim mekanizmasında aromatik çekirdeklerin oksijenlenmesinin rol aldığını ve bunun sonucunda oluşan katekol ve katekolün Cu^{2+} ile koordinasyon yaptığını yaptıkları çalışmalarda gözlemlemişler. Oluşan bu koordinasyon bileşiği di oksijeni daha reaktif türlere indirgedikten sonra katekolün Cu^{2+} iyonu ile koordinasyonu sonucu oksidasyona uğradığını tespit etmişlerdir. Önceki çalışmalarda antioksidant ve antimikrobiyal aktiviteleri taşıyan bazı bitki ekstraktlarında bulunan flavonoidlerin Cu^{2+} ile kompleks oluşturarak DNA'yı kestiğini belirtmişler (Shoa ve ark., 2010).

İran’da yetişen bir badem türü olan *Prunus dulcis* badem meyvesinin kabukları ile ilgili yapılan çalışmada antioksidan özelliklerinin yanı sıra protein oksidasyonu önleme aktivitesine de bakılmıştır. Çalışma sonucunda *Prunus dulcis* meyve kabuğunun özütünün oksidatif stres kaynaklı protein oksidasyonunun önleyip önlemediği, SDS-PAGE kullanılarak analiz edilmeye çalışılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda aseton ekstraktının protein oksidasyonunu ciddi bir şekilde engellediğini ortaya konulmuştur (Meshkini, 2016). Bu tez kapsamında *A. tuncelianum* bitkisinin etanol ekstraktının protein oksidasyonunu önleme aktivitesi de çok iyi olduğu görüldü.

Hindistan’da yetişen ve çay olarak tüketilen *Helicteres isora L.* bitkisinin serbest radikallere karşı DNA hasarı, Protein oksidasyonu ve Lipid peroksidasyonu önleme aktivitesi araştırılmış. Çalışmada *H. isora* bitkisi için farklı çözücüler ile ekstraksiyon yapılmış. Çalışma sonucunda farklı çözücülerden elde edilen ekstraktların protein oksidasyonunu önleme aktivitesi jel görüntüleme sisteminde çok iyi bir şekilde görüldüğünü tespit etmişlerdir (Kumar ve ark., 2013).

2012 de yapılan çalışmada meryema dikenini (*Silybum marianum L. Gaertner*) tohumunun protein oksidasyonu önleme aktivitesi bitkinin etanol ekstraktı 50-1000 mg/ml konsantrasyonları arasındaki en düşük ve en yüksek değerler; % 75.74 ± 2.9 – 92.92 ± 3.3 olarak hesapladığı görüldü (Serçe, 2012). Bu literatür sonuçlarına göre elde edilen değerler mevcut çalışmadaki *A. tuncelianum a* göre daha yüksek olduğu görülmektedir.

2014 yılında yapılan bir çalışmada *Achillea millefolium* bitkisinin protein oksidasyonu önleme aktivitesi H_2O_2/Fe^{+3} /askorbik asit üçlü yapının BSA proteininde meydana gelebilecek hasarı önleme aktivitesi SDS-PAGE protein elektroforez yöntemi kullanılarak hesaplamışlardır. Aynı çalışmada elde edilen sonuçlar 50-500 mg/ml konsantrasyon aralığında % 66 ± 1.7 - 92 ± 2.6 sonuçlarını elde etmişlerdir (Emen ve ark., 2014). Elde edilen sonuçlara göre değerler *A. tuncelianum* bitkisine göre daha yüksek olduğu görüldü.

Canlılarda özellikle de insanlarda, DNA da meydana gelebilecek hasarlar bir sonraki nesillere aktarıldığı için genetik bilginde değişimine sebep olabilmektedir. Normalde DNA yapı olarak kendisi de oluşan hasarı tamir edebilecek özelliğe sahiptir. Fakat bu hasar ciddi boyuta ulaştığı zaman DNA bu hasarı tamir edemeyecek hale gelebilir. Meydana gelen hasarlar kontrol altına alınamazsa ya da engellenmez ise

beraberinde bazı ciddi sorunlar ortaya çıkabilir. Diyetle alınan bazı besin kaynakları DNA hasarına neden olurken, alınan bazı gıdalarda bunun aksine DNA hasarını önleme anlamında çok ciddi bir öneme sahiptirler. Son zamanlarda DNA'da oluşabilecek hasarları önlemek amacıyla çok fazla çalışmalar yapılmaktadır. Çalışmaların çoğunda bitkilerin sahip oldukları bazı kimyasal bileşenlerin yüksek antioksidan özelliklerinden yararlanılmaktadır. Bitkilerde mevcut olan bu kimyasal bileşenlerin özellikle de polifenollerin fotokimyasal yapılarının DNA hasarını önleme anlamında çok ciddi bir öneme sahip olduğu birçok çalışmada ıspatlanmıştır (Capecka ve ark., 2004).

Tez çalışmamızda *A. tuncelianum* etanol ekstraktının DNA'yı H₂O₂'nin fotolizi sonucunda oluşan OH⁻ radikaline karşı koruyucu etkisi 500-2000 mg/ml konsantrasyon aralığında % inhibisyon değeri 1000 mg/ml konsantrasyonda % 50.26 olarak bulundu. Bu çalışmada kullanılan bitkinin konsantrasyonu artırıldığında DNA' da oluşabilecek hasarı daha iyi önlediğini çok rahat bir şekilde görebilmekteyiz. 2009 yılında yapılan bir çalışmada *Hypericum scabroides* (HS) ve *Hypericum triquetrifolium* (HT) bitkilerinin etanol ekstraktlarının DNA'yı H₂O₂'nin fotolizi sonucunda oluşabilecek hasara karşı koruma etkisi araştırılmıştır. 400 µg/ml lik konsantrasyonda bu bitkilerin DNA kesimini önleme yüzdeleri sırasıyla, % 97.00 ± 2.6 - 95.61 ± 2.6 olarak bulmuşlardır. Elde edilen sonuçlara göre bu bitkilerin DNA kesimini önleme aktiviteleri mevcut çalışmamızdaki bitkinin etanol ekstraktına göre daha iyi sonuç verdiği görüldü (Kızıllı ve ark., 2009).

2010 yılında yapılan bir çalışmada sarımsak ve çörek otunun DNA hasarına karşı koruyucu özelliği araştırılmıştır. Bu çalışmada bitkiler farklı konsantrasyonlarda değerlendirilmiştir. Bu bitkilerden sarımsak, 6.25 - 12.5 mg/dl konsantrasyon aralığında DNA kesimini daha iyi önlediğini diğerinde ise, 1.56 - 3.12 mg/dl konsantrasyon aralığında DNA kesimini daha iyi önlediğini bulunmuştur (İbrahim B., 2010). Bu çalışmadaki sonuçlar *A. tuncelianum* ile kıyaslandığında, *A. tuncelianum* bitkisinin etanol ekstaktının DNA hasarını önleme aktivitesinden daha iyi bir sonuç verdiğini söylemek mümkündür.

Yapılan farklı bir çalışmada *mentha longifolia* bitkisinin DNA hasarını önleme aktivitesi araştırılmıştır. Aynı çalışmada bahsedilen bitkinin DNA kesimini önlemediği araştırma sonucunda bulunmuştur (Güzel ve ark., 2014). Fakat *A. tuncelianum* bitkisinin DNA kesimini artırma aktivitesinin çok iyi olduğu çalışma sonucunda görülebilmektedir. Malatya'da yetişen farklı iki tür kayısı ile 2012 yılında yapılan bir

çalışmada, Şekerpare ve Kaba aşı denilen türdeki kayısıların etanol ekstraktlarının DNA'yı H₂O₂'nin fotolizi sonucunda oluşabilecek hasara karşı koruma aktivitesi bir tez kapsamında çalışılmıştır. Araştırma sonucunda Şekerpare ve Kaba aşı için 2.5 mg/ml konsantrasyonunda DNA kesimini önleme aktiviteleri sırasıyla, % 11.16 - 27.94 olarak bulunmuştur (Topal, 2012). Bu çalışma sonucunda elde edilen sonuçlar;

A. tuncelianum bitkisinin etanol ekstraktı ile karşılaştırıldığında *A. tuncelianum* bitkisinin DNA kesimini önleme aktivitesinden çok daha iyi olduğu görüldü.

Birçok metalin özellikle ağır metallerin eksikliğinde ya da fazlalığında insan sağlığı üzerine olumsuz etkileri yapılan birçok çalışmada saptanmıştır. İnsan sağlığına olumsuz etkileri yanı sıra birçok canlıya da özellikle bitkilere zararları olduğu binmektedir. Doğayı kirleten ağır metaller bununla birlikte doğada yaşayan birçok canlıya da dolaylı olarak etki etmektedir. Doğayı kirleten bu metaller bitkilerin vejetatif organlarını fizyolojik olarak etkilemektedir. Bu ağır metaller arasında çinko (Zn), kurşun (Pb), kadmiyum (Cd), krom (Cr), civa (Hg) v.b. gibi birçok metalide sayabiliriz. Bu metallerin özellikle DNA hasarı üzerine olan etkileri de bilinmektedir. Bu metallerin çoğu karsinogenik özelliğe sahiptirler karsinogenik özelliğe sahip olan birçok madde özellikle DNA ya zarar verdiği çalışmalarla kanıtlanmıştı. Bakır (Cu) insanlarda ve diğer canlılarda belirli oranlarda olması gereken bir metaldir. Fazlası ya da eksigi insanlarda ve bitkilerde ciddi sıkıntılara neden olabilmektedir. Özellikle fazlalığı da insanlarda bakır zehirlenmesi bitkiler de ihtiyacından fazla bulunması halinde DNA 'nın hasar görmesine sebep olabilmektedir (Okçu ve ark., 2009).

Mevcut çalışmadaki *A. tuncelianum* etanol ekstraktının Cu⁺² iyonu varlığında ya da yokluğunda DNA'ya kesim etkisi araştırıldı. Çalışmada Bakır (Cu⁺²) iyonunun DNA kesimini artırdığı *A. tuncelianum* etanol ekstraktı ise bu kesimi artırdığı çok açık bir şekilde görüldü.

Yaptığım çalışmayı özetlersem; Çalışmada kullandığımız *A. tuncelianum* etanol ekstraktının antioksidan aktivitesinin birçok bitki ve meyve ile karşılaştırıldığında *A. tuncelianum* bitkisinin vücuda zarar verebilecek radikallere karşı koruma aktivitesi oldukça iyi olduğunu gördüm. DPPH radikalini söndürme aktivitesi, lipid peroksidasyonunu önleme aktivitesinin yine karşılaştırılan birçok bitki ve meyveye göre oldukça iyi sonuçlar verdiği gözlemlerim. H₂O₂'nin fotolizi sonucu oluşan DNA hasarını artırdığı prooksidan aktivite gösterdiğini deneylerle tespit edildi. İlk çağlardan

beri bitkiler hastalıklarının tedavilerinde kullanılmaktadır. Bitkilerin hastalıkları tedavi edebilme özellikleri içerilerinde barındırdıkları özel moleküllerden kaynaklanmaktadır. Bilim insanları günümüze kadar sürekli bu molekülleri keşfetmeye çalışmıştır. Yirmibirinci yüzyılda reaktif oksijen türleri biyokimyasal açıdan önemli molekülerdir. Ayrıca bir disiplin olarak gelişmiş ve tıbbi bilimler arasındaki önemi artmıştır. Günümüzde birçok hastalığın bir dereceye kadar oksidatif strese bağlı olduğu artık kabul edilmektedir. Bu çalışmada Tunceli sarımsağının ekstraktının toplam antioksidan özelliklerine bakıldı. Yapılan çalışma kapsamında sarımsak ekstraktında önemli antioksidan moleküllerden olan toplam fenolik ve flavonoid miktarını belirledik. Aynı zamanda DPPH radikal söndürme aktivitesi, protein oksidasyon ve lipid peroksidasyon önleme aktivitelerine bakıldı. Elde edilen sonuçlara göre; Tunceli sarımsağının etanol ve su ekstraktının önemli ölçüde antioksidan aktiviteye sahip olduğu görüldü. Ayrıca DNA hasarını önleme aktivitesi de bu çalışmada değerlendirilmiş olup Tunceli sarımsağının etanol ve su ekstraktının DNA'yı H₂O₂ nin fotolizi sonucu oluşan koruyucu etkisi 500-2000 mg/ml konsantrasyon aralığında çalışıldı. Sonuç olarak Tunceli sarımsağının DNA'yı korumadığı, DNA hasarını önemli ölçüde artırdığı ve prooksidan olarak davrandığı tesbit edildi.

KAYNAKLAR

- Adefeghe, S.A., Oboh, G., Oyeleye S.I., Ejakpovi, I., Ganiyu, O., Sunday, I.O., ve Isac, E., 2016. Elektrogenetic, antihypertensive, antidiabetic, antioxidativ properties and phenolic compositions of almond fruit (*Terminalia CatappaL.*) parts (Null and Drupe)- *in vitro*. **Journal of Biochemistry**, **18**: 1745 - 4524.
- Agarwal, Kailash C., 1996. Therapeutic actions of garlic constituent. **Medicinal Research Reviews** **16**(1):111-24.
- Akilliođlu, H.G., Karakaya, S., 2009. Effect of some domestic cooking methods on antioxidant activity, total phenols and total flavonoid content of common beans. **Akademik Gıda**, **7**(6): 6-12
- Aktay, G., Deliorman, D., Ergun, E., Ergun, F., Yeşilada, E., Çevik, C., 2000. Hepatoprotective effects of Turkish folk remedies on experimental liver injury. **Journal of Ethnopharm**, **73**: 121-129.
- Akkuş, İ., 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. **5. Sağlık Dizisi, Mimoza Yayınlar**. Konya No:38
- Alsberg, C., Schwartz, E. W., 1989. Pharmacological action of cadmium. **Journal of Pharmacol Experimental Therapeutics**, **20**: 504-506.
- Altınışik, M., 2000. **Serbest Oksijen Radikalleri ve Antioksidanlar**. F.Ü.Sağ. Bil. Vet. Derg, **28** (1): 49 – 56
- Amagase, H., 2006. Clarifying the real bioactive constituents of garlic. **J. Nutr.** 2006; **136**:716 25S.
- Ames, BN., Magaw, R., Gold, LS., 1987. Ranking possible carcinogenic hazards. **Science**, **236**: 271-280
- Anonim., 2008. Tunceli Sarımsağı (*Allium tuncelianum* Kollman, Özhatay, Matthew, Şiraneci) Tohumlarındaki Çimlenme Probleminin Çözülmesi Üzerine Araştırma. <http://www.agri.ankara.edu.tr/bahce/1097/1183723932.doc>
- Anonim., 2008. <http://www.karmabilgi.net/mutasyon-nedir-mutasyon-ornekleri>. (Erişimtarihi: 16,11,2017)
- Anonim., 2016. <https://tunceli.tarim.gov.tr/Haber/170/Ovacik-Ilcemizde-Tunceli-Sarimsagi-Hasat-Etkinligi> (Erişim tarihi:16.11.2017)
- Arslan, N., Kiralan, M., Bayrak, A., Amir, R., 2013. Volatiles in an endemic *Allium* specie: *Allium tuncelianum* by headspace solid phase microextraction. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, **16**: 417-420.
- Aras, Hisar, Ş., Hisar, O., Beydemir, Ş., Gülçin, İ., Yanık, T., 2004. Effect of vitamin E on carbonic anhydrase enzyme activity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) erythrocytes in vitro and in vivo. **Acta Veterinaria Hungarica**, **52** (4): 413-422.
- Artık, N. ve Poyrazoğlu, E.S., 1994; Agarwal, 1996; Atmaca., 2003. Kastamonu sarımsağının (*Allium sativum* L.) kimyasal bileşimi. Gıda Tec. Der. 19: 1-8.
- Arcan, İ., 2005. **Characterization and Modification of Antioxidant Proteins from Plant Materials**. Yüksek lisans tezi, İzmir yüksek teknoloji enstitüsü fen bilimleri enstitüsü, İzmir, Türkiye, 8-12.
- Ardağ, A., 2005. **Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemlerinin Analitik Açıdan Karşılaştırılması**. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın, Türkiye. 6-14
- Arıdurur, R., Arabacı, G., 2012. Ciğertaze Otu (*Salvia Officinalis*) Bitkisinin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi. **Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi**, **17**: (2).

- 241-246.
- Aruoma., 1994. *In vivo* and *in vitro* concepts AOCS. Press, Champaign, Illinois, ***Antioxidant Methodology***: 241-243
- Aruoma, O. I., 1998. Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease. ***Journal of The American Oil Chemists Society***, **75**(2): 199- 212.
- Aruoma, OI. 1994. Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants. ***Food Chem Toxicol***, **62**: 671–683.
- Attaguile, G., Russo, A., Campisi, F., Savoca, F., Acquaviva, R., Ragusa, N., Vanella, A., 2000. Antioxidant activity and protective effect on DNA cleavage of extracts from *Cistus ancanus* L. and *Cistus monspeliensis* L. ***Cell Biol Toxicol***, **16**: 83 – 90.
- Bajpai, V. K., Sharma, A., Kang, S.C., ve Beak, K.H., 2014. Antioksidant, Lipid Peroksidation inhibition and free radical scanenging efficacy of a diterpenoid compound sugiol izolated from metasequoia glyptostroboides. ***Asian Pacific Journal of Tropical Medicine***. 9-15
- Bakır., 2005. Sarıkamış ,G., Yanmaz ,R., Ermiş, S., Bakır, M., Yüksel, C., 2010. Genetic characterization of pea (*Pisum sativum*) germplasm from Turkey using morphological and SSR markers. ***Genet. Mol. Res.*** **9** (1): 591-600.
- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S., 2006. Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. ***Food Chemistry***, **99**: 191– 203.
- Başer, KHC., 1990. Tıbbi Bitkiler ve Baharatların Dünya’da ve Türkiye’deki Ticareti ve Talep Durumu, ***Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Dergisi***, **53**: 18–21.
- Baytop, T., 1984. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi, ***İstanbul Üniv. Yay.*** No. 3637, Eczacılık Fakültesi, **40**: 240–376.
- Baytop, T., 1999. Türkiye’de Bitkilerle Tedavi-Geçmişte ve Bugün. ***Nobel Tıp Basımevi***: İstanbul: 198.
- Beckman., 1996; Packer., 1996. Oxidative damage and tyrosine nitration from peroxynitrite. ***Chem Res Toxicol***, **9**: 836–844.
- Bendich, A., Machlin, LJ., Scandurra, O., Burton, GW., Wayner, DDM., 1986. The antioxidant role of vitamin C. ***Free Radical Bio Med***, **2**: 419–444.
- Blois, M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free Radical. ***Scientific Research Nature***. **26**: 1199–1200.
- Bocco, A., Cuvelier, ME., Richard, H., Berset, C., 1998. Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. ***J Agric Food Chem***, **46**: 2123–2129.
- Bors, W., Heler, W., Michel, C., Saran, M., 1990. Flavonoids as antioxidants: determination of radical-scavenging efficiencies. ***Methods Enzymol***, **186**: 343–355.
- Boyer, J., Pascolo, S., Richard GF., Dujon, B.,1993. Sequence of a 7.8 kb segment on the left arm of yeast chromosome XI reveals four open reading frames, including the CAP1 gene, an intron-containing gene and a gene encoding a homolog to the mammalian UOG-1 gene. ***Yeast***, **9**(3): 279-87
- Brand-Williams, W., Cuvelier, ME., Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. ***Lebensm Wissen Technol***, **28**: 25–30.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, ME., Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. ***Lebensm Wissen Technol***, **28**: 25–30.

- Bruce, A., 1987. Deletary recommendation in cancer prevention Ann. *Clinical Resesearch*, **19**: 313-320.
- Buonocore, G., Perrone, S., Tataranno, M. L., 2010. Oxygen Toxicity: Chemistry and biology of reactive oxygen species. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*, **15**: 186-190.
- Burk, R.F., Nishiki, K., Lawrence, R.A., Chance, B., 1978. Peroxide removal by selenium-dependent and selenium-independent glutathione peroxidases in hemoglobin-free perfused rat liver. *The Journal of Biological Chemistry*, **253**(1): 43-46
- Cadenas, E., Packer, L., 2002. *Handbook of Antioxidants*, Marcel Dekker, New York-Basel, 0-8247-0547-5.
- Capecka, E.A., Mareczek, M., Leja., 2004. Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some lamiaceae species. *Food in Chemistry*, **93**: 223-226.
- Carlberg, I., Mannervik, B., 1981. Purification and characterization of glutathione reductase from calf liver. *Glutathione Reductase Assays. Methods in Enzymology*, **113**: 484-495.
- Cemeroğlu, A.P., Cemeroğlu, B.S., 1998. Sağlık açısından gıda fenolikleri. *Gıda Teknolojisi*, **3** (9): 52-55.
- Che Othman, S.f., Idid, S.Z., Koya, M.S., Rehan, A.M ve Kamarudin, K.R., 2011. Antioxidant study and Red Onion: A comparative study.pertanika. *Journal of Tropical Agricultural Science*, **34** (2): 253-261.
- Chen, H.Y., Lin, Y.C., Hsieh, C.L., 2007. "Evaluation of antioxidant activity of aqueous extract of some selected nutraceutical herbs". *Food Chemistry*, **104**: 1418-1424.
- Chen, JH., Ho, CT., 1997. Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds. *J Agric Food Chem*, **45**: 2374-2378.
- Chimi, H., Cillard, J., Cillard, P., Rahmani, M., 1991. Peroxyl and hydroxyl radical scavenging activity of some natural phenolic antioxidants. *J. Am Oil Chem Soc*, **68**: 307-312.
- Cook, N.C., Saman, S., 1996. Flavonoids- Chemistry, Metabolism, Cardioprotective Effects, And. Diatary sources. *Nutr. Biochem*, **7**: 66-76. 4
- Cooke, M. S., R. Rozalski., 2003; Evans ve Cooke., 2004. Analysis of DNA damage in sea lamprey (*Petromyzon marinus*) spermatozoa by UV, hydrogen peroxide, and the toxicant bisazir *Aquatic Toxicology* **73**: (2) 128-138
- Corzo-Martinez M, Corso N, Villamiel M., 2007. Biological properties of onions and garlic. Trends in Food Science, Technology. **18**: 609-625.
- Choi, S.I., Lee, J.S., Lee, S., Lee, J.H., Yang, H.S., Yeo, J., Kim, J.Y., Lee, B.Y., Ka I.J, ve Lee, O.H., 2017. Radical scavenging-linked anti-adipogenic activity of alnus firma extracts. *International Journal of Molecular Medicine. Doi*, **10** 3892/3221
- Cornelli, U., 2009. Antioxidant use in nutraceuticals. *Clinics in Dermatology* .175-94.
- Cuppett, S., Schnepf, M., Hall, C., 1997. Natural antioxidant-are they a reality? Natural antioxidants: chemistry, health effects, and applications. *AOCS Press*, 12-24. Champaign.
- Cuvelier, ME., Richard, H., Berst, C., 1992. Comparison of the antioxidative activity of some acid-phenols: structure-activity relationship. *Biosci Biotech Biochem*, **56**: 324-325.
- Çakatay, U., Kayalı, R., 2004. The clinical importance of protein oxidation. *Cerrahpaşa Journal of Medicine*, **35**: 140-149.

- Çakatay, U., Kayali, R., Sivas, A., Tekeli, F., 2006. Prooxidant activities of alpha-lipoic acid on oxidative protein damage in the aging rat heart muscle. **Arch Gerontol Geriatr**, **40**: 231–240.
- Çakır, A., Mavi, A., Kazaz, C., Yıldırım, A., Küfrevioğlu, O.İ., 2005. Antioxidant Activities of the Extracts and Components of *Teucrium orientale* L. **Turkish Journal of Chemistry**, **30**: 483 – 494.
- Çetin, Ç., 2011. **Koroner Arter Ektazi Hastalarda Oksidatif DNA Hasarı, Lipid Peroksidasyonu ve Bazı Antioksidant Enzimler**. Yüksek lisans tezi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Çoban, TA., Beydemir, Ş., Gülçin, İ., Ekinci, D. 2007. Morphine inhibits erythrocyte carbonic anhydrase in vitro and in vivo. **Biol Pharm Bull**, **30**: 2257–2261.
- Dalle-Donne, I., Guistraini D., Colombo, R., Rossi, R., Milzani A., 2003. **Trends in Molecular Medicine-Elsevier**, **9** : 169-176.
- Dalle-Donne, I., Guistraini, D., Colombo, R., Rossi, R., Milzani, A., 2003. Trends in Molecular Medicine-Elsevier, **9**: 169-176.
- Di, Mascio, P., Kaiser, S., Sies, H., 1989. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. **Arch Biochem Biophys**, **274**: 532–538.
- Dehmlow, C., Murawski, N., Groot, H., G, Muzes G., Lang, I., Nekam, K., Gonzalez-Cabello, R., Gergely, P., 1996. Scavenging of reactive oxygen species and inhibition of arachidonic acid metabolism by silibinin in human cells. **Life Sci**. **58**: 1591-600.
- Dilas, S.M., 2012. Canadanovic-Brunet JM. Antioxidants in food. **Chemistry & Industry** **56** (3): 105-112.
- Diplock, AT., Charleux, JL., Crozier-Willi, G., Kok, FJ., Rice-Evans, C., Roberfroid, M., Stahl, W., Viña-Ribes, J., 1998. Functional food science and defence against reactive oxidative species. **Brit J Nut**, **80**: 77–112.
- Doğmuş, D., Durucasu, İ., 2013. Keten tohumu çeşitlerinin n-bütanol fraksiyonlarının fenolik bileşenlerinin antioksidan aktivitesi. **C.B.U. Journal of Science**, **9** (1): 47 – 56
- Dragsted, LO., Strube, M., Leth, T., 1997. Dietary levels of plant phenols and other non-nutritive components: could they prevent cancer? **Eur J. Cancer Prev**, **6**: 522–528.
- Duh, Pd., Tu, Yy., Yen, Gc., 1999. Antioxidant activity of aqueous extract of harn jyr (Chrysanthemum morifolium Ramat). **Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie**, **32**: 269–277.
- Eberhardt, MV., Lee, CY., Liu, RH., 2000. Antioxidant activity of fresh apples. **Nature**, **405**: 903–904.
- Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytaç, Z., Adıgüzel, N. (2000). **Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı**. **59**, 459-466 Doğal Hayatı Koruma Derneği, Ankara
- El, Bardai, S., Lyoussi, B., Wibo, M., Morel, N. (2004): Comparative study of the antihypertensive activity of marrubium vulgare and of the dihydropyridine calcium antagonist amlodipine in spontaneously hypertensive. **Rat. Clin. Exp. Hypertens**. **26**, 465- 474
- Elmastas, M., Gülçin, I., Öztürk, L., Gökçe, I., 2005. Investigation of antioxidant properties of spearmint (*Mentha spicata* L.). **Asian Journal of Chemistry**, **17**: 137
- Elmastaş, M., Gülçin, İ., Beydemir, S., Küfrevioğlu, Öİ., Aboul-Enein HY., 2006. A study on the in vitro antioxidant activity of juniper (*Juniperus communis* L.) seeds extracts. **Anal Lett**, **39**: 47–65.

- Emen, S., 2006. *C.Niveum Bitkisinin Farklı Polariteye Sahip Çözücüler ile Hazırlanan Ekstraktlarının Antioksidan ve DNA'yi Serbest Radikallere Karşı Koruma Aktivitelerinin Araştırılması*. Yüksek lisans tezi. Dicle Üniv. Fen Bilimleri Enst.
- Emen, S., Kızıl, M., Kızıl, G., Altaş, S., 2014. *Achillea millefolium* Bitkisinin antioksidan, radikal söndürücü ve protein oksidasyonunu önleme aktivitesinin araştırılması. **2. İlaç Kimyası, Üretimi, Teknolojisi ve Standardizasyonu Kongresi**. P-505. Erzincan
- Erik, S., Tarıkahya, B., 2004. Türkiye florası üzerine. *Kebikeç İnsan Kaynakları Araştırmaları Dergisi*. **17**: 139-163.
- Esterbauer, H, Gebicki J, Puhl H, Jürgens G., 1992. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Rad Biol Med*, **13**: 341–390.
- Etminan, M., Gill, SS., Sami, A., 2005. Intake of vitamin E, vitamin C, and carotenoids and the risk of Parkinson's disease: a metaanalysis. *Lancet Neurol*, **4**: 362–365.
- Evans, MD., Cooke, MS., 2004. Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance. Department of Clinical Biochemistry, University of Leicester, Leicester Royal Infirmary, University Hospitals of Leicester NHS Trust. *Bio Essays*, **26**: 533-542.
- H. J. H. Fenton., 2011. Direct colorimetric detection of hydrogen peroxide using 4-nitrophenyl boronic acid or its pinacol ester. *Journal of the Chemical Society*, **65**: 899-910. doi:10.1039/ct8946500899
- Frankel, EN., Meyer, A.S., 2000. The problems of using onedimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **80**: 1925-1941.
- Frankel, R.B., Schüler, D., 1999. Bacterial magnetosomes: microbiology, biomineralization and biotechnological applications. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **52** (4): 464–473.
- Fraschini, F., Demartini, G., Esposti, D., 2002. Pharmacology of Silymarin. *Medscape Clin Drug Invest.* **22**(1). 36-54
- Fritsch, O., Burkhalter, MD., Kais, S., Sogo, JM., Schär, P., 2000. DNA ligase 4 stabilizes the ribosomal DNA array upon fork collapse at the replication fork barrier. *DNA Repair* .**9** (8): 879 -888
- Fukuhara, K., Miyata, N., 1998. Resveratrol as a new type of DNA-cleaving agent. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **8**: 3187-3192
- Ganesan, K., Kumar, KS., Rao, PVS., 2011. Comparative assessment of antioxidant activity in three edible species of green seaweed, Enteromorpha from Okha, Northwest coast of India. *Innov Food Sci Emerg*, **12**: 73–78.
- Genestra, M., 2007. Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. Review. *Cell Signal*, **19**: 1807-19.
- Godbout, J.P., Berg, B.M., Kelley, K.W., Johnson, RW., 2004. Tocopherol reduces lipopolysaccharide-induced peroxide radical formation and interleukin-6 secretion in primary murine microglia and in brain. *Journal of Neuroimmunol*, **149**: 101–109.
- Guo., H.L, Yi., X.M, Pang Cheng, Y.J., W.W., 2003. An efficient protocol for genomic dna extraction from citrus species. *Plant Molecular Biology Reporter* **21**: 177–177
- Guo, M., Aston, C., Burchett, SA., Dyke, C., Fields, S., Rajarao, SJ., Uetz, P., Wang, Y., Young, K., Dohlman, HG., 2003. The yeast G protein alpha subunit Gpal

- transmits a signal through and RNA binding effector protein Scp160. *Mol Cell*, **12**(2): 517-24
- Gupta, R.K., Patel, A.K., Kumar, R., ve ark., 2012. Interactions between oxidative stress, lipid profile and antioxidants in breast cancer. a case control study. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, **13**: 6295-8.
- Güçlü, K., Sözen, K., Tütem, E., Özyürek, M., Apak, R., 2005. Spectrophotometric determination of ascorbic acid using copper(II)-neocuproine reagent in beverages and pharmaceutical. *US National Library of Medicine, National Institutes of Health: Talanta*, **65** (5): 1226-1232.
- Gülbahar, Ö., 2007. Protein oksidasyonun mekanizması, önemi ve yaşlılıkla ilgisi. *Turkish Journal of Geriatrics*, **10** (1): 43-48.
- Gülçin, İ., Elmastas, M., Aboul-Enein, H.Y., 2007. Determination of antioxidant and radical scavenging activity of basil (*Ocimum basilicum*) assayed by different methodologies. *Phytotherapy Research*, **21**: 354-361.
- Güzel, V., Çeken B., Ertaş, A., Kızıl M., 2014. Aromatik amin-bazlı ilaçlardan oluşan fenol radikallerinin meydana getirdiği DNA hasarı üzerine mentha longifolia bitkisinin koruyucu özelliğinin araştırılması. 2. *İlaç Kimyası Üretimi, Teknolojisi ve Standardizasyonu Kongresi*. S-504.
- Godbout, J.P., Berg, B.M., Kelley, K.W., Johnson, R.W., 2004. a-Tocopherol reduces lipopolysaccharide-induced peroxide radical formation and interleukin-6 secretion in primary murine microglia and in brain. *Journal Neuroimmunol*, **149**: 101–109.
- Gülçin, İ., Büyükkuroğlu, M.E., Oktay, M., Küfrevioğlu, Ö.İ., 2002. On the in vitro antioxidant properties of melatonin. *Journal Pineal Res*, **33**: 167–171.
- Gülçin, İ., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A., Elias, R., 2004. Antioxidant activity of saponins isolated from ivy: a-hederin, hederasaponin c, hederacolchiside-e and hederacolchiside f. *Planta Med*, **70**: 561–563.
- Gülçin, İ., Berashvili D., Gepdiremen A., 2005. Antiradical and antioxidant activity of total anthocyanins from *Perilla panchinensis* decne. *Journal Ethnopharmacol*, **101**: 287– 293.
- Gülçin, İ., 2007. Comparison of in vitro antioxidant and antiradical activities of L-tyrosine and L-Dopa. *Amino Acids*, **32**: 431–438.
- Gülçin, İ., 2010. Antioxidant properties of resveratrol: a structureactivity insight. *Innov Food Sci Emerg*, **11**: 210–218.
- Gülçin, İ., Bursal, E., Şehitoğlu, H.M., Bilsel, M., Gören, A.C., 2010. Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey. *Food Chem Toxicol*, **48**: 2227–2238.
- Gülçin, İ., Topal, F., Çakmakçı, R., Gören, A.C., Bilsel, M., Erdoğan, U. 2011. (*Prunus amygdalus* L.) hulls and shells. *Turk J. Biol*, **34**: 165-173
- Gülçin, İ., Topal, F., Oztürk Sarıkaya, S.B., Bursal, E., Gören, A.C., Bilsel, M., 2011b. biomedical systems, deoxyribose degradation and aromatic hydroxylation, *Meth Biochem Anal*, **33** : 59-90.
- Halliwell, B., Gutteridge J.M.C., 1990; Sies., 1991. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys* **280**: 1–8
- Halliwell, B., Gutteridge J.M.C., 1989 Oxygen toxicity, oxygen radicals, transitional metals and disease. *Biochem. J.* **219**: 1–14.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.C.M., 1990. Methods for the measurements of hydroxyl radicals in biomedical systems, deoxyribose degradation and aromatic hydroxylation, *Meth Biochem Anal*, **33**: 59-90.

- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1999. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 3rd ed. *Oxford University Press*. Inc, London 1999.
- Halliwell, B., 1990. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. *Journal Methods in Enzymology*, **186**: 1-85
- Halliwell, B., 1990. The characterization of antioxidants, *Food Chemistry*, **33**, 601-617.
- Halliwell, B., 1995. Antioxidant characterization; methodology and mechanism. *Biochem Pharmacol*, **49**: 1341–1348.
- Halliwell, B., 1997. Antioxidants in human health and disease. *Ann Rev Nut*, **16**: 33-50.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1989. *Free radicals in biology and medicine*, 2nd edn. Clarendon Press, Oxford. *Biochem J*, **219**: 1–14
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1990. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Meth Enzymol*, **186**: 1–85.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., Auroma, OI., 1987. The deoxyribose method: A simple “test tube” assay for determination of rate constants for reaction of hydroxyl radicals. *Anal Biochem*, **165**: 215 - 219
- Harborne, J.B., Baxter, H., Moss G.P., 1999. Phytochemical dictionary: handbook of bioactive compounds from plants, 2nd edn. *Journal Nutr Biochem*, **13**: 572-584.
- Hatano, T., Kagawa H., Yasuhara T., 1989. Antioxidant activity of polyphenolic extracts of *Ichnocarpus frutescens* *Saudi J Biol Sci*. **19**(3): 349–355.
- Hem, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J., 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **13** (10): 572-584.
- Heller, W., Forkmann, G., 1993. Biosynthesis of flavonoids, The flavonoids. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology* **4**(3):499-535
- Heves, M.D., 2008. Heves, M. D., 2008, *Akyıldız (Ornithogalum Sigmoideum Freyn et Sint.)’in Antioksidan Aktivesi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Hou YC, Janczuk A, Wang PG., 1999. Current trends in the development of nitric oxide donors. *Curr Pharm Des*, **5**: 417–441.
- Isfahlan, A.J., Mahmoodzadeh, A., Hassanzadeh, A., Heidarı, R., Jameı, R., 2008. Antioxidant and antiradical activities of phenolic extracts from Iranian almond (*Prunus amygdalus* L.) hulls and shells. *Turk J Biol* **34** 165-173, TÜBİTAK.
- İbrahim, B., 2010. *Hücre Kültürü Ortamında Çörek Otu (Nigella Sativa) ve Sarımsak (Allium sativum) Ekstraktlarının DNA Hasarı Üzerine Etkisinin Araştırılması*. Yüksek lisans tezi. Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Şanlıurfa.
- Itakura, Y., Imai, J., Ide, N., Nagae, S., Moriguchi, T., Matsuura, H., 2010. Antioxidant and scavenging effect of aged garlic extract and its constituents. *Planta Med*, **60**: 417-420
- Jacob, 2006; Özkan, F., Gündüz, S.G., Berköz, M., Özlüer, Hunt, A., 2013. Effects of dietary selenium of organic form against lead toxicity on the antioxidant system in *Cyprinus carpio*. *Fish Physiology and Biochemistry* **40**(2): 355–363
- Johnson, E.J., Hammond, B.R., Yeum, K.J., Qin, J., Wang, X.D., Castaneda, C., Snodderly, D.M., Russell, R.M., 2000. Relation among serum and tissue concentrations of lutein and zeaxanthin and macular pigment density. *Am Journal Clin Nutr*, **71**: 1555–1562.
- Jovanovic, S.V., Stenken, S., Tosic, M., Marjanovic, B., Simic, M.G., 1994. Flavonoids as antioxidants. *Journal Am Chem Soc*, **116**: 4846–4851.
(Hemocuprein). *The Journal of Biological Chemistry*, **244** (22): 6049-6055.

- Boiss.et.** Hausshn. İn Turkey İstanbul Eczacılık fakültesi Mcc.26-28, 31
- Justesen, Julia., J. Petersona., Gary R. Beecherb., Seema A. Bhagwa., 1998. Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diodearray and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, **799**: 101-110
- Kafkas, E., Bozdoğan, A., Burgu,t A., TüremiÇ, N., Kargı, S.P., Cabaroğlu, T., 2006. Bazı üzümü meyvelerde toplam fenol ve antosiyanin içerikleri. 2. *Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyomu*,14-16.09.2016. Konya.
- Kahkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S. and Heinonen, M. (1999); Prior ve Cao., 2000. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Food Chem*, **47** (10), 3954–3962
- Karaman, S., Tütem, E., Başkan, K.S., Apak, R., 2009. Comparison of total antioxidant capacity and phenolic composition of some apple juices with combined HPLC-CUPRAC assay. *Food Chem*, **120**: 1201–1209
- Kargutkar, S., Brijesh, S., 2017. Anti-inflammatory evaluation and characterization of leaf extract of Ananas comosus. *Inflammopharmacology*. *Doi*; 10.1007/s10787-017-0379-3.
- Kendir, G., Güvenç, A., 2010, Etnobotanik ve Türkiye’de Yapılmış Etnobotanik Çalışmalara Genel Bir Bakış, *Hacettepe Ü. Eczacılık Fak. Dergisi*, **30** (3), 49-80.
- Keser, S., Çelik S., Türkoğlu, S., Yılmaz, Ö., Türkoğlu, İ., 2013. Antioxidant activity, total phenolic and Flavonoid content of water and ethanol extracts from *achillea millefolium l.* *Turkish Journal of Pharmacty Science*, **10** (3): 385-392.
- Keser, S., Demir, E., ve Yılmaz, Ö., 2014. Phytochemicals and antioxidant aktivty of the almond kernel (*prunus dulcis mill.*) from Turkey. *Journal of Chemistry Societyof Pakistan*, **36**(3): 45
- Kılınç, K., Kılınç, A., 2002. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*, **33**(2): 110-118.
- Kızıl, G., Kızıl, M., Çeken, B., 2009. Protective ability of ethanol extracts of *hypericum scabrum l.* and *hypericum retusumaucher* against the protein oxidation and dna damage. *International Journal of Food Properties* **14** (4).
- Kızıl, G., Kızıl, M., Çeken, B., 2009. Protective ability of ethanol extracts of *hypericum scabroides* robson & poulter and *hypericum triquetrifolium* turra aganist protein oxidation and DNA damage. *Food Science and Biotechnology*, **18**: 130-136.
- Kızıl, M., Yılmaz, EL., Pirinccioğlu, N., Aytekin, C., 2003. DNA cleavage activity of diazonium salts : Chemical nucleases. *Turk Journal Chem*, **27**: 539-544.
- Kızıl, M., Yılmaz, EL., Pirinccioğlu, N., Aytekin, C., 2003. DNA cleavage activity of diazonium salts: chemical nucleases. *Turk J Chem*, **27**: 539-544.
- Koca, N. ve Karadeniz, F. 2003. Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve antioksidan savunma sistemleri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, **16**: 32-37
- Kopani, M., Celec, P., Danisovic, L., Michalka, P., Biró, C., 2006. Oxidative stress and electron spin resonance. *Clinica Chimica Acta*, **364**: 61-66.
- Kozan, G., 2012. *Allium sativum L. (Kastamonu ve Denizli yerel) Bitkisinin Uçucu Yağlarının Kimyasal Bileşimi, Antibakteriyel ve Antioksidan Aktivitesinin Karşılaştırılması*. Yüksek lisans tezi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Köksal, E., Gülçin, İ., 2008. Antioxidant activity of cauliflower (*Brassica oleracea L.*).
- Köksal, E., Gülçin, İ., 2008. Antioxidant activity of cauliflower (*Brassica oleracea L.*).
- Krishnadev, N., Meleth, AD., Chew, EY., 2010. Nutritional supplements for age-related macular degeneration. *Curr Opin Ophthalmol*, **21** :184–189.

- Krishnadev, N., Meleth, AD., Chew, EY., 2010. Nutritional supplements for age-related macular degeneration. *Curr Opin Ophthalmol*, **21** :184–189.
- Krishnadev, N., Meleth, AD., Chew, EY., 2010. Nutritional supplements for age-related macular degeneration. *Curr Opin Ophthalmol*, **21** :184–189.
- Kron, PA., Williamson, G., 1999. Hydroxycinnamates in plants and food: current and future perspectives. *J Sci Food Agric*, **79**: 355–361.
- Kron, PA., Williamson, G., 1999. Hydroxycinnamates in plants and food: current and future perspectives. *J Sci Food Agric*, **79**: 355–361.
- Kron, PA., Williamson, G., 1999. Hydroxycinnamates in plants and food: current and future perspectives. *J Sci Food Agric*, **79**: 355–361.
- Kulaksız, G., Sancar A., 2007. Nükleotid eksizyon onarımı ve kanser. *Turkish Journal of Biochemistry*, **32** (3): 104-111.
- Kumar, A., Chattopadhyay, S. 2007. DNA damage protecting activity and antioxidant potential of pudina extract. *Food Chem.*, **100**: 1377-1384.
- Kumar, A., Chattopadhyay, S., 2007. DNA damage protecting activity and antioxidant potential of pudina extract. *Food Chem*, **100**: 1377-1384.
- Kumar, SV., Kumar, AT., Sureshwer, SP., Chandra, PM., Ravindra, NM., 2003. Micronutrients, antioxidants, and carcinoma of the gallbladder. *Journal of Surgical Oncology*, **84**: 31–35.
- Kumar, V., Sharma, M., Lemos, M., ve Shriram, V., 2013. Efficacy of *Helicteres isora* L. against free radicals, lipid peroxidation, protein oxidation and DNA damage. *Journal of Farmacy Research*, **6**: 620-625.
- Kvasnicka, F., Biba, B., Sevic, R., Voldrich, M. Kratka, J., 2003. Analysis of the active components of silymarin. *Journal Chromatog.* **990**, 239-245.
- Kvasnicka, F., Biba, B., Sevic, R., Voldrich, M., Kratka, J., 2003. Analysis of the active components of silymarin. *J. Chromatog.* **990**: 239-245.
- Lampi, A.M., Piironen, V., 1998. and c-Tocopherols as efficient antioxidants in butter oil triacylglycerols. *Fett/Lipid*, **100**: 292–295.
- Li, Y., Xue, Q., Chen, L., ve ark., 2004. Research on relationships of gastric cancer with serum trace elements, *Helicobacter pylori* and COX-2 in gastric tissue. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi*, **21**: 107–110.
- Lin, J.T., Liu, S.C., Hu, C.C., Shyu, Y.S., Hsu, C.Y., ve Yang, D.J., 2016. Effects of roasting temperature and duration on fatty acid composition, phenolic composition, Maillard reaction degree and antioxidant attribute of almond (*Prunus dulcis*) kernel. *Food Chemistry*, **190**: 520-528.
- Lo, KM., Cheung, CK., 2005. Antioxidant activity of extracts from the fruiting bodies of *Agrocybe aegerita* var. *Alba*. *Food Chemistry*, **85**: 533–539
- Mac, Donald-Wicks, LK., Wood, LG., Garg, ML., 2006. Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review. *J Sci Food Agric*, **86**: 2046– 2056.
- Malayoğlun, H.B., 2010. The Antioxidant Effect of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) *Hayvansal Üretim*, **51**(2): 59-67.
- Malo, C., Wilson, J.X., 2000. “Glucose modulates vitamin c transport in adalthuman small intestinal brush border membrane vesicles”. *Journal of Nutrition*, **130**: 63-69.
- Marinova, EM., Yanishlieva, NV., 1994. Effect of lipid unsaturation on the antioxidative activity of some phenolic acids. *J Amer Oil Chem Soc*, **71**: 427–434.

- Mathew, B., 1996; Etoh, T., Simon, P.W., 2002. Genetic characterization of *Allium tuncelianum*: An endemic edible *Allium* species with garlic odor. *Scientia Horticulturae* **115**: 409-41.
- McCord, J.M., Fridovich, I., 1969. An enzymic function for erythrocyte peroxidase
- Meshkini, A., 2015. Acetone extract of almond hulls provides protection against oxidative damage and membrane protein degradation. *Journal of Acupuncture Meridian Study*, **9**(3): 134-142
- Middleton, E.J.R., Kandaswami, C., 1993. In the flavonoids advances in research since 1986. In: Harborne JB (ed) Chapman & Hall/CRC, New York.
- Miller, A., Rice, E., 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds *Biochem. Soc. Trans.* 1997; **24**: 790–795
- Milligan, J.R., Ward, J.F., 1994. Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. **437**:1-9
- Mortensen, A., Skibsted, L.H., 1997. Importance of carotenoid structure in radical
- Murthy, U. G. K., Prasad, J. R., 2002. Evaluation of legume hay based complete rations in sheep. *Indian J. Anim. Nutr*, **19** (4): 315-319
- Musialik, M., Litwinienko, G., 2005. Scavenging of DPPH radicals by vitamin E is accelerated by its partial ionization: the role of sequential proton loss electron transfer. *Org Lett*, **7**: 4951–4954.
- Nagy, S., Attaway, J.A., 1992. Anticarcinogenic activity of phytochemicals in citrus fruit and their juice products. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, **105**: 162-165
- Novilla, A., Nawawi, A., Sugihartina, G., Widowati, W., 2014. Antioxidative and antibacterial activities of Indonesian Propolis Extracts Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Vitro. *Çukurova Medical Journal*, **39**(2): 224-233
- Okcu, M., Tozlu, E., Kumlay, A.M., Pehlivan, M., 2009. Ağır Metallerin Bitkiler Üzerine Etkileri. *Alınleri Dergisi*, **17**: 14- 26
- Okçu, M., Tozlu, E., Kumlay, M.A. Pehlivan, M., 2009. Ağır metallerin bitkiler üzerine etkileri. *Alınleri Dergisi*, **17**(B): 14-26.
- Ozhatay, N., 2002; Mathew, B., 1996. Diversity of bulbous monocots in Turkey with special reference. Chromosome numbers. *Pure Appl. Chem.* **74**: 547–555.
- Özhatay, N., Şiraneci, Ş., 1992. *Comparative morphological, Anatomical and*
- Öztürk, Sarıkaya, S.B., Gülçin, İ., Supuran, C.T. 2010. Carbonic anhydrase inhibitors. Inhibition of human erythrocyte isozymes I and II with a series of phenolic acids. *Chem Biol Drug Design*, **75**: 515–520.
- Öztürk, Sarıkaya, S.B., Topal, F., Şentürk, M., Gülçin, İ., Supuran, C.T., 2011. In vitro
- Packer, L., 1996. Nitric oxide. part A: sources and detection of NO; NO synthase. *Method Enzymol*, **268**: 331–340.
- Preliminary Chemical Studies on Two Subspecies of Allium macrochaetum* scavenging reactions. *J Agric Food Chem*, **45**: 2970–2977. *Turk J Agric For*, **32**: 65–78.
- Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Rio D.D., Salvatore S., Bianchi M., Brighenti F. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different *in vitro* assays. *J. Nutr*, **133**: 2812–2819.
- Peterson, D., 1998; Hudson., 1990. Recovery of phenolic antioxidants from wine Industry by-products. *Nutr. Res*, **18**: 201-208.
- Pietta, P.G., 2000. Flavonoids as antioxidants. *J. Nat Prod*, **63**: 1035–1042.

- Pillia, G.R., 2004. Induction of Apoptosis in Human Lung Cancer Cells by Curcumin. *Cancer Letters*, **208**: 163-170.
- Pokorny, J., 1988. Autoxidation of unsaturated lipids. In: Chan H (ed) Academic press, London, p 141. Pokorny, J. 1999. Antioxidants in food preservation'. In: Shafiur rahman m (ed) handbook of food preservation. *Marcel Dekker*, New York, 309–337.
- Prior, RL., Wu, XL., Schaich, K., 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric Food Chem*, **53**: 4290–4302.
- Reaven, PD., Witztum, JL., 1996. Oxidized low density lipoproteins in atherogenesis: role of dietary modification. *Ann Rev Nut*, **16**: 51–71.
- Refik, K., Ufuk, Ç., 2004. Protein oksidasyonunun ana mekanizmaları. *istanbul üniversitesi Dergisi*, **35**: 2-5.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga G., 2012. Structure- antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology & Medicine*, **20**(7): 933-956.
- Riccioni, G. 2009. Carotenoids and cardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep*, **11**: 434–439.
- Rice-Evans, CA., Miller NJ., 1996. Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food. *Biochem Soc T*, **24**: 790–795. ,
- Robbins, RJ., 2003. Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. *J Agric Food Chem*, **51**: 2866–2887.
- Rock, C.L., Jacob, RA., Bowen, PE., 1996. Update on the biological characteristics of the antioxidant micronutrients: vitamin C, vitamin E, and the carotenoids. *J Am Diet Assoc*, **96**: 693–702.
- Saldamlı, İ., 2007. Gıda kimyası. *Hacettepe Üniversitesi Yayınları*. Ankara. 463-492
- Schreck, R., Baeuerle, PA., 1994. Assessing oxygen radicals as mediators in activation of inducible eukaryotic transcription factor NF-KB. *Method Enzymol*, **234**: 151–163.
- Sen, CK., Packer L., 1996. Antioxidant and redox regulation of gene transcription. *FEBS Lett*, **10**: 709–720.
- Serçe, A., 2012. *Meryama Dikeni (Silybum marianum L. Gaertner) Tohumunun Antioksidant Aktivitesi, Oksidatif DNA Hasarı ve Protein Oksidasyonu Önleyici Etkisinin Araştırılması*. Doktora tezi. Dicle Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.Diyarbakır.
- Shacter, E., 2000. Protein oxidative damage. *Methods Enzymology*, **319**: 428-436.
- Shacter, E., 2000. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metabolism Reviews*, **32**: 307-32.
- Shahidi, F., Naczki, M., 1995. Phenolic compounds in cereals and legumes. In: Food Phenolics: *Sources, Chemistry, Effects, Applications*. *Technomic Publ. Co. Inc., Lancaster PA*: 13–18
- Sherwin, ER., 1990. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *J. Agric. Food Chem*, **51**: 2144–2155.
- Sies, H., 1991. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med*, **91**: 31–39.
- Sies, H., 1993. Strategies of antioxidant defence. *Eur J Biochem*, **215**: 213–219.
- Sies, H., 1997. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol*, **82**: 291–295.

- Sinclair, A.J., Bernad, A.H., Lunec, J., 1990. Free radicals and antioxidant systems in health and disease. *British Journal of Hospital Medicine*, **43**: 334-334.
- Singh, J., Upadhyay, A.K., Bahadur, A., Singh, B., Singh, K.B., Rai, M., 2006. "Antioxidant Phytochemicals in Cabbage (*Brassica oleracea* L. Var. Capitata), *Scientia Horticulturae*, **108**: 233-237.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela Raventos, R.M., 1999. Analysis of total. Phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, **299**: 15 –178.
- Sroka, Z., Cisowski, W., 2003. Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and antiradical activity of some phenolic acids. *Food Chem Toxicol*, **41**: 753–758.
- Stadtman, E.R., Levine, R.L., 2003. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in protein. *Amino Acids Journal*, **25**: 207-218.
- Stahl, W., Sies, H. 1993. Physical quenching of singlet-oxygen and cis-trans isomerization of carotenoids. *Ann NY Acad Sci*, **691**: 10–19.
- Stahl, W., Sies, H., 1993. Physical quenching of singlet-oxygen and cis-trans isomerization of carotenoids. *Ann NY Acad Sci*, **691**: 10–19.
- Stahl, W., Sies, H., 1993. Physical quenching of singlet-oxygen and cis-trans isomerization of carotenoids. *Annals of New York Academy of Sciences*, **691**: 10–19.
- Stahl, W., Sies, H., 2003. Antioxidant activity of carotenoids. *Mol Asp Med*, **24**: 345–351.
- Susan, D., Arnum, V., 1998. Vitamin A in Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology. *Wiley*, New York, 99–107.
- Şentürk, M., Gülçin İ., Beydemir, Ş., Küfrevioğlu, Ö.İ., Supuran, C.T., 2011. In vitro inhibition of human carbonic anhydrase I and II isozymes with natural phenolic compounds. *Chem Biol Drug Des*, **77**: 494-499.
- Taş, M., 2006. *Futbolcularda Sürat Ekzersizlerinin Serum Süperoksit, Katalaz ve Malondialdehit Düzeylerine Etkisi* (Yüksek lisans tezi). Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Beden Eğitimi ve Spor Anabilim Dalı. Erzurum.
- Tekman, S., Oner, N., 1998. Genel biyokimya dersler. *İstanbul Üniversitesi Yayınları*. No: 3773, Eczacılık fakültesi, No: 67, Emek Matbaacılık, İstanbul.
- Timmermann, T.V., 1990. Tocopherole-antioxidative Wirkung bei Fetten und Ölen. *Fat Sci Technol*, **92**: 201–206.
- Todd, A.R., Dekker, C. A., Michelson, A. M., 1953. Nucleotides. part XIX. pyrimidine deoxyribonucleoside diphosphates. *Journal of Chemistry. Soc*: 947-951.
- Topal, N., 2012. *Malatya'da Yetişen Kayısı Meyvesi ve Ekstraktlarının Antioksidan Kapasitesi ve Oksidatif DNA Hasarı Üzerine Etkisinin İncelenmesi*. Yüksek lisans tezi. İnönü Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü. Malatya. *Türk J Agric For*, **32**: 65–78.
- Tufan, A., 2008. *Buzağı Koksidiyozisinde Lipit Peroksidasyon Düzeyi ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri* (yüksek lisans tezi). Veteriner iç hastalıkları ana bilim dalı, Kayseri.
- Valenzuela, A.B., Nieto, S.K. 1996. Synthetic and natural antioxidants: food quality protectors. *Grasas y Aceites*, **47**: 186–196.
- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., ve ark., 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico - Biological Interactions*, **160**: 1-40.

- Wong, J.W., Hashimoto, K., Shibamoto, T. 1996. Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants, *Food Chemistry*, **99**: 775-783
- Weber, P., Bendich, A., Schalch, W., 1996. Vitamin C and human health a review of recent data relevant to human requirements. *Int J Vit Nut Res*, **66**: 19-30.
- Williams, R.J., Spencer, J.P., Rice-Evans, C., 2004. Flavonoids: antioxidants or signalling molecules? *Free Radical Biol Med*, **36**: 838-849.
- Wright, J.S., Johnson, E.R., DiLabio, G.A., 2001. Predicting the activity of phenolic antioxidants: theoretical methods, analysis of substituent effects, and application to major families of antioxidants. *J Am Chem Soc*, **123**: 1173-1183
- 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





ÖZ GEÇMİŞ

1974 yılında Diyarbakır'da doğdu. İlkokulu Dallıdağ köyünde, ortaokulu Ergani Ortaokulunda, liseyi Ergani Anadolu Öğretmen Lisesinde bitirdi. 1998 yılında Dicle Üniversitesi Eğitim Fakültesi Kimya Öğretmenliğinden mezun oldu. 2010 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesi Fizikokimya Ana Bilim Dalında yüksek lisans yaptı. Halen Diyarbakır Bilim Sanat Merkezinde Kimya Öğretmenliği yapmaktadır.



T.C
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU

Tarih: 22/03/2018

Tez Başlığı / Konusu: **Tunceli Sarımsağının (*Allium Tuncelianum*) Antioksidan Aktivitesi Oksidatif DNA Hasarı ve Protein Oksidasyonu Önleyici Etkisinin Araştırılması**

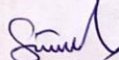
Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 64 sayfalık kısmına ilişkin, 22/03/2018 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin .intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezin benzerlik oranı % 18 (onsekiz) dir.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit inatch size to 7 words)

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.


Tarih ve İmza
27.03.2018

Adı Soyadı: Mehmet Selim GÜN

Öğrenci No: 149102022

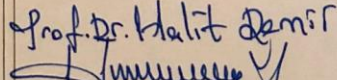
Anabilim Dalı: KİMYA

Programı: BİYOKİMYA

Statüsü: Y. Lisans

Doktora

DANIŞMAN ONAYI
UYGUNDUR


(Unvan, Ad Soyad, İmza)

ENSTİTÜ ONAYI
UYGUNDUR


(Unvan, Ad Soyad, İmza)