



**T. C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ACHILLEA SİPİKORENSİS HAUSSKN.& BORNM. VE
ACHILLEA TERETİFOLIA WİLLD.'İN REAKTİF OKSİJEN
TÜRLERİNİ TEMİZLEME ÖZELLİĞİ VE ANTIENFLAMATUAR
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Selvi CİNGÖZ
(201592011008)**

**Biyokimya Ana Bilim Dalı
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ferda CANDAN**

**SİVAS
ARALIK 2017**

Selvi CİNGÖZ 'ın hazırladığı ve “ACHİLLEA SİPIKORENSİS HAUSSKN. & BORNM. VE ACHİLLEA TERETİFOLIA WİLLD.'İN REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİNİ TEMİZLEME ÖZELLİĞİ VE ANTIENFLAMATUAR ÖZELLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI ” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı **Prof. Dr. Ferda CANDAN**
Cumhuriyet Üniversitesi
Jüri Üyesi **Prof. Dr. H. Nursevin ÖZTOP**
Cumhuriyet Üniversitesi
Jüri Üyesi **Doç Dr. Nalan ÖZDEMİR**
Erciyes Üniversitesi

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. İdris ZORLUTUNA
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 20.08.2014 tarihli ve 7 sayılı kararı ile kabul edilen Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırlanmıştır.

*Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (CÜBAP) Komisyonu tarafından **F-501** Nolu proje kapsamında desteklenmiştir.*



Bütün hakları saklıdır.
Kaynak göstermek koşuluyla alıntı ve gönderme yapılabilir.

© Selvi CİNGÖZ, 2017

Çalışma sırasında bana destek olan aileme ve tüm arkadaşlarıma...

ETİK

Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- ✓ Bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- ✓ Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- ✓ Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere, bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- ✓ Bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- ✓ Tezin herhangi bir bölümünü, Cumhuriyet Üniversitesi veya bir başka üniversitede, bir başka tez çalışması olarak sunmadığımı; beyan ederim.

21.12.2017

Selvi CİNGÖZ

KATKI BELİRTME VE TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca bilgilerinden yararlandığım, insani ve ahlaki değerleri ile örnek aldığım, yanında çalışmaktan onur duyduğum ve ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabrından dolayı değerli tez danışmanı hocam Sayın Prof. Dr. Ferda CANDAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans tezimin laboratuvar çalışmalarının her aşamasında ve tezimin araştırma aşamasında bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren Sayın Arş. Gör. Emre KOÇ'a yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Cumhuriyet Üniversitesi Biyokimya Bölümü öğretim üyelerine teşekkür ederim.

Tez çalışmamda kullandığım bitki özütlerinin adlandırılmasında yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Aşkın AKPULAT'a teşekkür ederim.

Her konuda sabırla yardımcı olan, beni daima destekleyen ve bu günlere gelmemde büyük pay sahibi olan aileme ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

ABSTRACT

REACTIVE OXYGEN SPECIES SCAVENGING ACTIVITIES OF *ACHILLEA* *SIPIKORENSIS* HAUSSKN. & BORNM. AND *ACHILLEA TERETIFOLIA* WILLD. AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITIES

Selvi CİNGÖZ

Master of Science Thesis

Department of Biochemistry

Supervisor: Prof. Dr. Ferda CANDAN

2017, 75+xv pages

In this study, methanol extracts of *Achillea sipikorensis* Hausskn. & Bornm. and *Achillea teretifolia* Willd. Plants on total flavonoids content, total phenolic content and antioxidant capacity and free radical scavenging activity such as hydroxyl, süperoxide, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazy (DPPH)radicals and hydrogen peroxide nonradical were investigated using in vitro methods. In addition, antiinflammatory properties of these extracts were studied by enzymatic and non-enzymatic methods.

The ability of the extracts of the *Achillea* in exhibiting their total antioxidative capacities follow the order *Achillea sipikorensis* > *Achillea teretifolia*. The same order is followed in their phenolic content, whereas in case of flavonoid content it becomes *Achillea teretifolia* > *Achillea sipikorensis*. Miscellaneous results were observed in the scavenging of reactive oxygen species by the plant extracts, *Achillea teretifolia* > *Achillea sipikorensis* for hydroxyl and superoxide radicals, and *Achillea sipikorensis* > *Achillea teretifolia* for hydrogen peroxide. The antioxidant and radical scavenging abilities of *Achillea sipikorensis* and *Achillea teretifolia* as an antioxidant and ROS scavenger; which may be due to the presence of phenolic and flavonoid compounds. This study was investigated to evaluate the anti-inflammatory activity of methanolic extract of *Achillea sipikorensis* Hausskn. & Bornm. and *Achillea teretifolia* Willd. By Human Red Blood Cell Membrane Stabilisation Method, inhibition of protein denaturation and inhibition of MPO enzyme activity, using different extract concentrations. All results are compared with standard diclofenac. The

antiinflammatory activity values of both plant extracts were found to parallel to the scavenging activities of the hydroxyl and superoxide radicals of these plant extracts.

Key Words: *Achillea sipikorensis* Hausskn. & Bornm., *Achillea teretifolia* Willd., Reactive Oxygen Species, Inflammation



ÖZET

ACHILLEA SİPİKORENSİS HAUSSKN. & BORNM. AND ACHILLEA TERETİFOLIA WİLLD'İN REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİNİ TEMİZLEME ÖZELLİĞİ VE ANTİENFLAMATUAR ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Selvi CİNGÖZ

Yüksek Lisans Tezi

Biyokimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ferda CANDAN

2017, 75+xv sayfa

Bu çalışmada *Achillea sipikorensis* Hausskn. & Bornm. ve *Achillea teretifolia* Willd. bitkilerinin metanol özütlerinin in vitro yöntemler kullanılarak toplam antioksidan kapasite, toplam flavonoid içerik, toplam fenol içerik ve hidroksil, süperoksit, 2,2-difenil-1-pikrikhidrazil (DPPH) radikalleri ve hidrojen peroksit nonradikalinin serbest radikalleri giderme aktivitesi araştırıldı. Ek olarak bu özütlerin antienflamatuar özellikleri enzimatik ve non-enzimatik yöntemlerle çalışıldı. *Achillea* özütlerinin toplam antioksidan kapasitesi, *Achillea sipikorensis* > *Achillea teretifolia* şeklindedir. Aynı düzen fenolik içerikte izlenirken flavonoid içerik bakımından ise *Achillea teretifolia* > *Achillea sipikorensis* olduğu belirlendi.

Hidroksil, süperoksit ve DPPH radikal giderme aktiviteleri için *Achillea teretifolia* Willd. > *Achillea sipikorensis* Hausskn.& Bornm. ve hidrojen peroksit giderme aktivitesi için *Achillea sipikorensis* Hausskn. & Bornm. > *Achillea teretifolia* Willd. olduğu gözlemlendi. *Achillea sipikorensis* ve *Achillea teretifolia*'nın bir antioksidan ve ROS temizleyici olarak antioksidan ve radikal giderme aktiviteleri fenolik ve flavonoid bileşiklerin varlığına bağlı olabilir.

Bu çalışma *Achillea sipikorensis* Hausskn. and Bornm. and *Achillea teretifolia* Willd.'ın metanol özütlerinin antienflamatuar aktivitesi farklı özüt derişimleri kullanılarak HRBC (Human Red Blood Cell, İnsan Kırmızı Kan Hücreleri) membran stabilizasyonu, protein denatürasyonunun inhibisyonu ve MPO enzim aktivitesinin inhibisyonu kullanılarak araştırıldı. Tüm sonuçlar standart diklofenak sodyumla karşılaştırıldı. Her iki bitki

özütünün antienflamatuar aktivite değerleri bu bitki özütlerinin hidroksil ve süperoksit radikallerini giderme aktivitelere paralel olduğu bulundu.

Anahtar kelimeler: Achillea sipikorensis Hausskn. & Bornm., Achillea teretifolia Willd., Reaktif Oksijen Türleri, İnflamasyon



İÇİNDEKİLER

ABSTRACT	vi
ÖZET	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
KISALTMALAR DİZİNİ	xv
1.GİRİŞ	1
1.1. Serbest radikaller	3
1.1.1.Reaktif Oksijen Türleri (ROS)	4
1.1.1.1.Hidroksil Radikali (OH [•])	5
1.1.1.2. Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)	5
1.1.1.3. Süperoksit radikali (O ₂ ^{•-})	6
1.1.1.4. Singlet oksijen (¹ O ₂)	7
1.1.1.5. Hipoklorik asit (HClO)	8
1.1.1.6. Peroksil radikali	8
1.1.1.7. Alkoksil radikali	9
1.1.1.8. Diğer Reaktif Oksijen Türleri	9
1.1.2. Serbest Radikal Kaynakları	9
1.1.3. Serbest Radikallerin Etkileri	10
1.2. Antioksidan Sistem	11
1.3. İnflamasyon	14
1.3.1.Miyeloperoksidaz (MPO)	18
1.4. Botanik Bilgiler	23
1.4.1. <i>Achillea</i> L. Cinsi	23
1.4.2. Çalışmada Kullanılan <i>Achillea</i> Türleri	28
2. MATERYAL ve YÖNTEM	31
2.1. Bitkilerin Toplanması	31
2.2. Bitki Materyalinin Özütlenmesi	31
2.3. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi	31
2.4. Toplam Fenol İçeriğinin Belirlenmesi	31
2.5. Toplam Antioksidan Aktivite Tayini	32
2.6. Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) Temizleme Aktivitesi	32
2.7. Hidroksil Radikal Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi	33
2.8. Süperoksit Radikal Temizleme Özelliği	33
2.9. DPPH Radikal Temizleme Aktivitesinin Belirlenmesi	34

2.10. Antienflamatuar Aktivitenin Belirlenmesi.....	34
2.10.1. Albumin Denatürasyon Yöntemi	34
2.10.2. HRBC Membran Stabilizasyon Yöntemi.....	35
2.10.3. Miyeloperoksidaz İnhibisyon Yöntemi.....	36
3. BULGULAR	37
3.1. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi.....	37
3.2. Toplam Fenolik Bileşik İçeriğinin Belirlenmesi.....	38
3.3. Toplam Antioksidan Aktivite Tayini	39
3.4. Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) Temizleme Aktivitesi	40
3.5. Hidroksil Radikal Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi.....	41
3.6. Süperoksit Radikal Temizleme Özelliği	42
3.7. DPPH Radikal Temizleme Aktivitesinin Belirlenmesi.....	43
3.8. Antienflamatuar Aktivitenin Belirlenmesi.....	44
3.8.1. Albumin Denatürasyon Yöntemi	44
3.8.2. HRBC Membran Stabilizasyon Yöntemi.....	45
3.8.3. Miyeloperoksidaz Aktivitesinin Ölçümü	46
4. TARTIŞMA ve SONUÇ	49
KAYNAKLAR	63
ÖZGEÇMİŞ.....	74

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.3.1.1.	Miyeloperoksidazın halojenasyon ve peroksidaz döngüleri ile hem demirinin yükseltgenme döngüsü	19
Şekil 1.3.1.2.	MPO-H ₂ O ₂ sisteminin ve ürünlerinin şematik gösterimi.....	20
Şekil 1.3.1.3.	Miyeloperoksidaz ürünü hipokloröz asitten türetilen reaktif oksijen ve azot türünün oluşumu	21
Şekil 1.4.2.1.	<i>Achillea sipikorensis</i> Hausskn. & Bornm.....	29
Şekil 1.4.2.2.	<i>A. teretifolia</i> Willd.....	29
Şekil 3.1.	Standart kuersetin grafiği.....	37
Şekil 3.2.	Standart gallik asit grafiği.....	38
Şekil 3.3.	Standart α-tokoferol asetat grafiği.....	39
Şekil 3.4.	<i>Achillea sipikorensis</i> (■) ve <i>Achillea teretifolia</i> (◆) özütlerinin derişim değerlerine karşı hidrojen peroksiti giderebilen % inhibisyon değerleri.....	40
Şekil 3.5.	<i>Achillea sipikorensis</i> (◆) ve <i>Achillea teretifolia</i> (■) özütlerinin derişim değerlerine karşı hidroksil radikal giderebilen % inhibisyon değerleri.....	41
Şekil 3.6.	<i>Achillea sipikorensis</i> (◆) ve <i>Achillea teretifolia</i> (■) özütlerinin derişim değerlerine karşı süperoksit radikal giderebilen % inhibisyon değerleri.....	42
Şekil 3.7.1.	<i>Achillea sipikorensis</i> bitkisinin derişim değerlerine karşı DPPH radikal giderebilen % inhibisyon grafiği.....	43
Şekil 3.7.2.	<i>Achillea teretifolia</i> bitkisinin derişim değerlerine karşı DPPH radikal giderebilen % inhibisyon grafiği.....	43
Şekil 3.8.3.1.	<i>Achillea sipikorensis</i> (◆) ve <i>Achillea teretifolia</i> (■) özütlerinin derişimlerine karşı miyeloperoksidazın % inhibisyon grafiği.....	47
Şekil 3.8.3.2.	Kuersetinin derişimine karşı miyeloperoksidazın % inhibisyon grafiği.....	47
Şekil 4.	Kuersetin.....	51

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1. Biyolojik öneme sahip bazı serbest radikaller ve nonradikaller.....	4
Çizelge 3.1. <i>Achillea sipikorensis</i> , <i>Achillea teretifolia</i> bitki özütlerinin toplam flavonoid içeriği.....	37
Çizelge 3.2. <i>Achillea sipikorensis</i> , <i>Achillea teretifolia</i> bitki özütlerinin toplam fenolik bileşik içeriği.....	38
Çizelge 3.3. <i>Achillea sipikorensis</i> , <i>Achillea teretifolia</i> bitki özütlerinin toplam antioksidan içeriği.....	39
Çizelge 3.4. <i>Achillea sipikorensis</i> , <i>Achillea teretifolia</i> bitki özütleri ile pozitif kontrol BHT ve kurkuminin hidrojen peroksiti % 50 temizleyebilen derişim değerleri.....	40
Çizelge 3.5. <i>Achillea sipikorensis</i> , <i>Achillea teretifolia</i> bitki özütleri ve pozitif kontrol BHT ve kurkuminin hidroksil radikalini % 50 temizleyebilen derişim değerleri.....	41
Çizelge 3.6. <i>Achillea sipikorensis</i> , <i>Achillea teretifolia</i> bitki özütleri ve pozitif kontrol olarak kullanılan BHT ve kurkuminin süperoksit radikalini % 50 inhibe eden derişim değerleri....	42
Çizelge 3.7. <i>Achillea sipikorensis</i> , <i>Achillea teretifolia</i> bitki özütleri ile BHT'nin DPPH radikalini % 50 temizleyebilen derişim değerleri.....	44
Çizelge 3.8.1. <i>Achillea sipikorensis</i> , <i>Achillea teretifolia</i> bitki özütleri ve diklofenak sodyumun sığır serum albümini denatüre eden % inhibisyon değerleri.....	45
Çizelge 3.8.2. <i>Achillea sipikorensis</i> ve <i>Achillea teretifolia</i> özütlerinin ve pozitif kontrol olarak kullanılan diklofenak sodyumun derişim değerlerine karşı HRBC membran stabilize edebilen % inhibisyon değerleri.....	46
Çizelge 3.8.3. <i>Achillea sipikorensis</i> ve <i>Achillea teretifolia</i> 'nın metanolik özütleri ile kuersetinin miyeloperoksidazı % 50 inhibe eden derişimleri.....	48
Çizelge 4.1. <i>Achillea</i> türlerinin metanol özütlerinin total flavonoid içerik (TFC), total fenolik içerik (TPC) ve total antioksidan kapasite (TAC) değerleri.....	51
Çizelge 4.2. <i>Achillea</i> türlerinin metanol özütlerinin reaktif oksijen türlerini ve DPPH radikalini giderebilen IC ₅₀ (µg mL ⁻¹) değerleri.....	56
Çizelge 4.3. <i>Achillea sipikorensis</i> ve <i>Achillea teretifolia</i> türlerinin metanol özütlerinin antiinflamatuvar aktiviteleri.....	62

KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS	: Azino-di-[3-etil-benzotiazolin 6 sülfonat]
BHA	: Bütillenmiş Hidroksi Anisol
BHT	: Bütillenmiş Hidroksi Tolüen
BSA	: Bovine Serum Albumin, Sığır Serum Albumin
COX	: Siklooksijenaz
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
EDTA	: Etilendiamin tetra asetik asit
Fe²⁺	: Ferröz demir
Fe³⁺	: Ferrik demir
G-6-PD	: Glukoz-6 fosfat dehidrogenaz
GPx	: Selenyum bağımlı glutatyon peroksidaz
GR	: Glutatyon redüktaz
GSH	: Glutatyon
GST	: Glutatyon-S-transferaz
HDL	: Yüksek yoğunluklu lipoprotein
HOCl	: Hipoklorik asit
HRBC	: Human Red Blood Cell (İnsan Kırmızı Kan Hücresi)
IC₅₀	: % 50 İnhibisyon Gösteren Derişim
kDa	: kilo dalton
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
LOX	: Lipoksijenaz
MDA	: Malonaldialdehit
MPO	: Miyeloperoksidaz
NADH	: Nikotinamid adenin dinükleotit
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NBT	: Nitroblue tetrazolium
NSAİİ	: Non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar
PG	: Propil gallat
PGE	: Prostoglandin E
PUFA	: Poli unsaturated fatty acid
R[•]	: Organik radikaller
RO[•]	: Alkoksi radikali
ROO[•]	: Hidroksiperoksil radikali
ROOH[•]	: Organik peroksitler
RNS	: Reaktif Azot Türleri
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RS[•]	: Tiyil radikali
SAİİ	: Steroidal antiinflamatuvar ilaçlar
SOD	: Süperoksit dismutaz
TAC	: Total antioksidan kapasite
TBA	: Tiyobarbitürik asit
TCA	: Tiyokloroasetik asit
TFC	: Total flavonoid içerik
TPC	: Total fenolik içerik
VLDL	: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein
XO	: Ksantin oksidaz

1.GİRİŞ

Ülkemiz, coğrafi konumu ve görülen iklim değişikliklerinin etkisi ile bitki topluluklarının dağılışı çeşitlilik göstermekte olup, Avrupa'ya göre endemik bitki türü sayısı açısından daha zengin bir konumdadır (Özdemir, 2010). Bu doğal kaynaklar, insanlık tarihinin çok eski dönemlerinden bu yana hem hastalıkların tedavisinde hem de hastalıklara karşı korunmada önemli bir role sahiptir. Dolayısıyla tüm dünyada doğal yaşam, sağlıklı ve daha uzun yaşama isteğine paralel olarak tıbbi bitkisel ürünlerin, gıda desteklerinin ve bitkisel ilaçların kullanımı gittikçe önem kazanmıştır.

İlaç sanayisinde sentetik olarak elde edilen ilaçların istenmeyen yan etkilerinin olması ve sadece tek bir etkiye sahip olmaları, doğal ilaçların ise birden fazla etkiye sahip olması günümüzde insanları tekrar bitkisel ilaçları kullanmaya yöneltmiştir. Ülkemiz florasında yaklaşık olarak 10.000 kadar bitki türü yetişmekte olup bunların 650 kadarı halk hekimliğinde tedavi amacıyla kullanılmaktadır.

Bitkilere ait birçok bileşiğin özellikle antioksidan etki bakımından önemli ve farklı biyolojik aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir.

Antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olup doğrudan ve dolaylı olarak ksenobiyotiklerin, ilaçların, kanser yapıcı maddelerin ve serbest radikallerin istenmeyen etkilerine karşı organizmayı savunan maddelerdir.

Organizmada antioksidan savunma sistemleri ile serbest radikaller ve bunların zararlı etkilerine karşı doğal bir denge bulunmaktadır (Deng ve ark., 2011). Bu dengenin serbest radikaller lehinde değişmesi oksidatif stresle sonuçlanır (Özcan ve ark., 2015).

Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, düşük mol kütleli moleküllerdir (Mercan, 2004). Serbest radikaller, radikal olmayan bir atom veya molekülden bir elektronun çıkarılmasıyla veya radikal olmayan bir atom ve moleküle bir elektron ilave edilmesiyle oluşur. Serbest radikaller organizmada normal metabolik yollar sırasında üretilebildiği gibi çeşitli dış etkenlerle de oluşabilir (Inglett ve ark, 2011). Serbest radikaller hücrede proteinler, lipitler, karbohidratlar ve nükleik asitler üzerine etki edebilmektedir. Serbest radikaller üzerinde yapılan çalışmalarda, inflamasyon, kardiyovasküler hastalıklar,

nörodejeneratif hastalıklar, kanser, diyabet, gut, böbrek hastalıkları, solunum sistemi hastalıkları ve sindirim sistemi hastalıklarında etkisi olduğu belirlenmiştir.

Moleküler düzeyde, kronik inflamasyon sırasında oluşan serbest radikaller ve aldehitler (malondialdehit gibi), zararlı gen mutasyonlarına ve kanserle ilgili anahtar proteinlerin translasyon sonrası değişiklik geçirmesine neden olur (Hofseth ve Wargovich, 2007).

Son yüzyılda gıda endüstrisinde koruyucu amaçla kullanılan sentetik antioksidanların kanserojenik etkileri olduğu yönündeki çalışmalar sonucunda sentetik antioksidan kullanımına yasal sınırlamalar getirilmesi hem gıda endüstrisinin hem de farmasötik tıbbın bitkisel kökenli doğal antioksidanlara ilgisini artırmıştır (Eryiğit, 2006).

Bitki dokuları eksojen ve endojen kaynaklı serbest radikallerin neden olduğu oksidatif strese maruz kaldıklarından birçok antioksidan savunma sistemi geliştirmişlerdir. Bitkilerdeki önemli redoks potansiyeline sahip antioksidan bileşenler flavonoidler, fenolik asitler, karotenoidler ve fenolik diterpenlerdir. Fenolik asitler genellikle serbest radikalleri yakalama özelliğine sahipken, flavonoidler radikalleri temizleyerek ve metallerle bağ yaparak radikal oluşumunu engellerler (Brewer M.S., 2011). Ancak diyetle alındığında koruyucu etki sağlayan bu bitki metabolitlerinin gıdalardaki biyolojik miktarının ve günlük ne kadar alınması gerektiğinin bilinmesi önem arz etmektedir (Eryiğit, 2006). Çünkü bitkilerle tedavi bilinenin-inanılanın aksine pek çok sağlık sorununa da yol açabilir. Kullanılan şifalı bitkilerin bir kısmının hepatotoksik olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Willet ve ark., 2004; Furbee ve ark., 2006).

Dünyada en çok satılan modern fitoterapotiklerden birisi de, *Achillea* türleridir. *Achillea* türlerinin endemik tür sayısının oldukça fazla olması, halk arasında kullanımının yaygın olması ve pek çok farmakolojik etkiye sahip olmasından dolayı eczacılık ve endüstriyel alanlarda geniş yer almaktadır. Ancak *Achillea sipikorensis* Hausskn & Bornm.'un ve *Achillea teretifolia* Willd.'in reaktif oksijen türlerin giderme aktivitesi ve antienflamatuar özellikleri araştırılmamıştır.

Çalışmamızda *Achillea sipikorensis* ve *Achillea teretifolia*'nın metanol özütlerinin toplam flavonoid, toplam fenolik bileşik, toplam antioksidan içerikleri ile hidroksil radikali, hidrojen peroksit (H₂O₂) ve DPPH giderme aktiviteleri ve ayrıca in vitro

enzimatik ve non-enzimatik yöntemler kullanılarak antiinflamatuvar etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

1.1.Serbest radikaller

Serbest radikaller, son yörüngelerinde bir veya daha fazla sayıda ortaklanmamış elektron içeren atom veya moleküllerdir (Floyd, 1993; Fridovich, 1978).

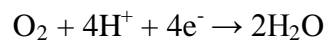
Serbest radikallerin oluşumu için 3 temel yol bulunmaktadır:

1. Kovalent bağın homolitik bölünmesiyle; kovalent bağlı molekülün homolitik bölünmesi sonucu bağı oluşturan her bir atomda bir eşleşmemiş elektron kalır.
2. Normal bir molekülden elektron kaybedilmesiyle; nonradikal bir bileşikten tek bir elektronun kaybedilmesiyle dış orbitalinde bir tane eşleşmemiş elektron bulunan bir radikal elde edilir.
3. Normal bir molekülün elektron kazanmasıyla; nonradikal bir molekül bir elektron transferiyle dış orbitalinde ortaklanmamış elektron içeren bir radikal forma dönüşür (Cheeseman ve Slater, 1993; Wu ve Cederbaum, 2003).

Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en çok elektron transferi sonucu oluşmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1999). Biyolojik sistemlerdeki serbest radikaller, reaktif oksijen türleri (ROS), reaktif azot türleri (RNS) ve diğer reaktifler olmak üzere temel olarak 3'e ayrılırlar (Song, 2004).

Canlı organizmalardaki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Oksijenin indirgenme ara ürünleri; bağımsız, kısa ömürlü, reaktif atom ve moleküller serbest oksijen radikalleri olarak tanımlanır. Serbest oksijen radikali biyokimyasının kilit molekülleri; oksijen, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metal iyonları ve hidroksil radikalidir. Bunlardan ilk dördü çeşitli tepkimelerle hidroksil radikalini oluşturur.

Oksijenin içerdiği eşleşmemiş dört elektron, basamaklar halinde indirgenerek su formuna dönüşür (McCord, 1992)



Moleküler oksijen bir elektron aldığı anda süperoksit radikali ($\text{O}_2^{\bullet-}$) oluşur. İki elektronun transfer edilmesi sonucu oluşan ürün radikal olmayan fakat kuvvetli oksidan bir madde olan hidrojen peroksittir. İki'den fazla elektron alması sonucu son

derece sitotoksik ürünler açığa çıkar. Ferröz demirin (Fe^{2+}) hidrojen peroksit'e üçüncü elektronunu vermesi sonucu iki oksijen atomu arasındaki bağ kırılır ve sonuç olarak su ve OH^{\bullet} meydana gelir. Oluşan bu reaktif ara ürünlerin hepsi radikal olmadığından serbest oksijen radikalleri yerine reaktif oksijen türleri teriminin kullanılması daha uygundur. Reaktif oksijen türleri tanımı içerisinde singlet oksijen ve nötrofil miyeloperoksidaz (MPO) tarafından hidrojen peroksitten üretilen hipoklorik asit (HOCl) de verilebilir (Koch ve ark., 2004)

Radikal olan ve olmayan oksijen türevleri Çizelge 1.1'de verilmiştir.

Çizelge 1.1. Biyolojik öneme sahip bazı serbest radikaller ve nonradikaller (Mattila ve ark., 2015)

Radikaller	Non-radikaller
Süperoksit, $O_2^{\bullet-}$	Hidrojen peroksit, H_2O_2
Hidroksil, OH^{\bullet}	Hipokloröz asit, HOCl
Peroksil, RO_2	Ozon, O_3
Alkoksil, RO	Singlet oksijen, 1O_2
Perhidroksil, HO_2^{\bullet}	Peroksinitrit, $ONOO^-$
Nitrik oksit, NO^{\bullet}	Alkil peroksinitrit, ROONO

1.1.1.Reaktif Oksijen Türleri (ROS)

Moleküler oksijen (O_2) dış orbitalinde paralel spin durumlu iki ortaklanmamış elektron nedeniyle bir diradikaldir. Diradikal yapıli oksijenin herhangi bir molekülle etkileşmesi için benzer yapıya sahip olması gerekir. Ancak atom ve moleküller orbitallerinde elektronları antiparalel ve eşleşmiş olarak içerirler veya paylaşılmamış elektronlar kovalent bağlara katılmıştır. Bu durum spin kısıtlaması olarak bilinir ve bu durumun aşılabilmesi geçiş metalleri varlığında mümkündür (Akkoc, 2008).

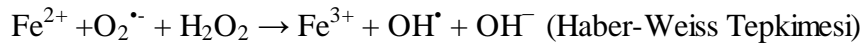
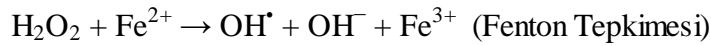
Organizmada geçiş metallerini (Fe^{2+} , Cu^+ gibi metaller) içeren enzimler aracılığıyla moleküler oksijene tek elektron aktarılmasıyla yükseltgenme tepkimeleri oluşur. Moleküler oksijen diradikal olması nedeniyle yüksek derecede ROS oluşturma eğilimindedir. Moleküler oksijen radikal olmayan maddelerle yavaş tepkime verirken diğer serbest radikallerle daha hızlı tepkimeye girer.

ROS, çeşitli serbest radikalleri oluşturabilen serbest radikal zincir tepkimelerini başlatabilir. Hücrede karbon merkezli organik radikaller, peroksit radikalleri, alkoksi radikalleri, tiyol radikalleri gibi pek çok serbest radikalin oluşumuna neden olur (Akkuş, 1995). Oluşan serbest radikalin yarılanma ömrü ne kadar kısa ise reaktivitesi o oranda yüksek olup radikalin sabit derişimini düşürür. Yarılanma ömrü reaktif türlere ve atomlara göre farklılık göstermekle birlikte radikallerin toksisitesi ile doğru orantılı olduğundan radikalin potansiyel gücü açısından önemlidir.

Serbest radikaller hücre metabolizması sırasında oluşan enzimatik tepkimelerde enzim aktif bölgesinde devamlı oluşur. Ara ürün olan reaktif oksijen türleri ve reaktif azot türleri, bazı enzimlerin aktif bölgesinden sızarak moleküler oksijenle etkileşir ve serbest oksijen radikallerini oluşturur. Kararlı hale gelmek isteyen ROS, çeşitli hücrelere saldırır ve hücre bileşenlerine zarar vererek çeşitli hastalıklara neden olur (Sezer ve Keskin, 2014).

1.1.1.1.Hidroksil Radikali (OH^{*})

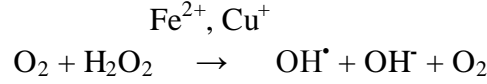
Hidroksil radikali, biyolojik sistemlerde yaklaşık olarak 10⁻⁹ saniyelik yarılanma ömrüne sahip olması nedeniyle son derece güçlü bir oksidandır. Hidroksil radikali lipitler, proteinler ve nükleik asitler de dahil hemen hemen bütün biyolojik molekülleri oksitleyebilir (Fantel, 1996). Biyomoleküllerle olan güçlü aktivitesinden dolayı hidroksil radikali diğer reaktif oksijen türlerine nazaran biyolojik sistemlere çok daha fazla hasar verebilir (Betteridge, 2000). Hidroksil radikali temel olarak 3 yolla oluşmaktadır. Bunlar; hidrojen peroksitin geçiş metalleri varlığında indirgenmesi (Fenton tepkimesi), hidrojen peroksitin süperoksit radikali ile tepkimesi (Haber-Weiss tepkimesi) ve suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması durumudur (Cheeseman ve Slater, 1993; Halliwell, 1999; Song, 2004).



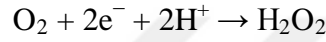
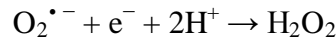
1.1.1.2. Hidrojen peroksit (H₂O₂)

Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri içerisinde yer alır ve serbest radikal biyokimyasında önemli rol oynar. Bunun nedeni ise süperoksit, Fe²⁺ ve Cu²⁺ gibi geçiş metalleri ve radikal türleriyle kolayca tepkime verebilmesidir (Özdemir, 2010). Hidrojen peroksit intraselüler iletişim molekülü olarak görev alması açısından önemlidir. İnsan metabolizmasında bir saat içerisinde

yaklaşık 3×10^9 toksik hidrojen peroksit oluşmaktadır (Wickens, 2001). Süperoksit radikali, hidrojen peroksit ile katalizörlü veya katalizörsüz oluşabilen Haber-Weiss tepkimesini vererek en reaktif ve zarar verici serbest radikal olan hidroksil radikaline yıkılabilir. Demirle katalizlenen Fenton tepkimesinde ise $O_2^{\bullet -}$ ve H_2O_2 etkileşir ve oldukça reaktif bir radikal olan OH^{\bullet} radikali oluşur (Özdemir, 2010).



Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksit anyonunun bir elektron alması sonucu peroksit radikali oluşur. Peroksit molekülü de iki hidrojen atomuyla birleşerek hidrojen peroksiti meydana getirir.



Hidrojen peroksit ayrıca kendiliğinden veya süperoksit dismutaz enzimi tarafından katalizlenen dismutasyon tepkimesi ile oluşur. İki süperoksit molekülüne iki proton ilave edilmesi sonucu hidrojen peroksit ve moleküler oksijen oluşturur.

SOD-Spontan



Kendiliğinden gerçekleşen dismutasyon için optimum pH 4,8 iken süperoksit dismutaz tarafından katalizlenen tepkimeler için pH aralığı geniştir. Hidrojen peroksit birçok bileşiği oksitleyen bir nonradikaldir. Proteinleri, tiyol grubunu içeren enzimleri, fosfolipitleri, karbohidratları ve deoksiribonükleoik asit (DNA)'i hedef olarak Fenton tepkimesi aracılığıyla hasara neden olabilmektedir. Hidroksil ve hipokloröz başta olmak üzere birçok oksidanın oluşumuna neden olur (Winterbourn, 1995).

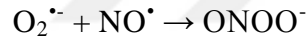
1.1.1.3. Süperoksit radikali ($O_2^{\bullet -}$)

Temel olarak oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucunda oluşan reaktif oksijen türüdür. Hemen hemen oksijen kullanabilen bütün hücrelerde oluşabilen süperoksit radikalının en önemli kaynağı elektron taşınım zinciridir. Serbest radikal olmasına rağmen çok reaktif olmayan süperoksit radikali lipid membranın geçirgenliğini azaltarak üretildiği yerde çevrili olarak kalır (Halliwell, 1999; Halliwell ve Gutteridge, 1990).

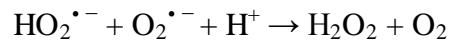
Süperoksit radikali başlıca 4 farklı yolla oluşabilir;

- İndirgeyici özelliğe sahip olan biyomoleküller oksijene tek elektron verip kendileri yükseltgenirken süperoksit radikalini oluştururlar.
- Çeşitli dehidrogenazlar ve oksidazlar olmak üzere enzimlerin katalitik aktiviteleri sırasında ürün olarak oluşabilir.
- Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında kullanılan oksijene NADH dehidrogenaz ve koenzim A gibi elektron taşıyıcılarından elektron aktarımından dolayı tüketilen oksijenin % 1-5 kadarı süperoksit radikaline dönüşür.
- Aktif hale geçen fagositik lökositler antibakteriyel etki için gerekli olan süperoksit radikali üreterek fagozomlar içine ve buldukları ortama verilirler. Daha reaktif türlerin oluşumu da katalizlenir (Bast ve ark., 1991).

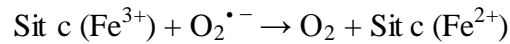
Süperoksit radikali zayıf bir oksidan olup tek başına hücre hasarına neden olmaz. Bu radikal hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olması nedeniyle oldukça önemlidir. Fizyolojik olarak serbest bir radikal olan nitrik oksit ile birleşmesi sonucu doğrudan proteinlere zarar verebilen ve reaktif oksijen türevlerinden biri olan peroksinitrit meydana gelir. Bu durum nitrik oksit radikalinin normal etkisini inhibe edebilir.



Hem oksitleyici hem de redükleyici özelliğe sahip olan süperoksit radikali oksidan olarak görev aldığı anda hidrojen peroksite indirgenir (Özdemir, 2010). Bu özelliği sayesinde adrenalin, askorbat, dopamin veya hidroksil amini oksitler, nitroblue tetrazolium veya sitokrom c'yi indirgeyebilir.



Sitokrom c' yi indirgemesi süperoksit dismutaz enzimi tarafından inhibe edilmektedir. Bu tepkimeden yararlanılarak SOD aktivitesi ve fagositer hücreler tarafından üretilen süperoksit radikal tayini yapılabilir (Akkuş, 1995).



1.1.1.4. Singlet oksijen (1O_2)

Singlet oksijen, oksijenin eşleşmemiş elektronlarından birinin verilen enerji sonucunda bulunduğu orbitalden başka bir orbitale kendi spiniyle ters yönlü olacak şekilde yer değiştirmesi sonucu oluşur. Serbest radikal tepkimeleri sonucu oluşabildiği gibi serbest radikal tepkimelerinin başlamasına da neden olabilir (Akkuş,

1995; Halliwell ve Gutteridge, 1990). Singlet oksijen, hücre membranında yer alan poliansatüre yağ asitleriyle doğrudan tepkimeye girerek lipid peroksidlerin oluşumuna yol açar (Çavdar ve ark., 1997). Diğer moleküllerle etkileşime girdiğinde ya içerdiği enerjiyi aktarır ya da kovalent tepkimeye girer. Singlet oksijenin tepkimeye girdiği bağlar özellikle karbon-karbon çift bağlarıdır (Özdemir, 2010).

İn vivo ortamda singlet oksijen sitokrom P450, endoperoksid sentetaz ve miyeloperoksidaz tepkimeleriyle oluşabilmesinin yanı sıra iyonize radyasyon etkisiyle de meydana gelebilir (Bast ve ark., 1991). Porfiria gibi konjenital metabolizma bozukluklarında singlet oksijen oluşumunda artış görülebilir (Akkuş, 1995).

1.1.1.5. Hipoklorik asit (HClO)

Hipoklorik asit bir serbest radikal olmamakla beraber potansiyel bir klorlama ve oksitleme ajanıdır. Miyeloperoksidaz tarafından H₂O₂ ve Cl⁻ iyonunun tepkimesi sonucu oluşur.



HOCl, demire bağımlı ve demire bağımlı olmayan tepkimelerle hidroksil radikali oluşumunu artırır. Bağışıklık sistemine ait fagositik olan nötrofil ve makrofajlar tarafından enzimatik olarak bakterileri öldürmek amacıyla üretilmektedir (Murray ve ark., 1996). Ancak dokularda hasar oluşturabilen güçlü bir oksidandır (Kutter ve ark., 2000).

1.1.1.6. Peroksil radikali

Peroksil radikallerinin oluşumu proteinler gibi nonlipit sistemlerde ve lipid peroksidasyonunda ana zincirde oluşan bir adımdır. Geçiş metal iyonlarının ilavesiyle ya da ısıtma ile hem lipid hem de protein peroksidlerin dekompozisyonu peroksil ve alkoksil radikallerini oluşturabilir. Peroksil radikalleri kolaylıkla karbon merkezli radikaller ve moleküler oksijen varlığında üretilebilir.

Peroksil radikali lipid peroksidasyonu, DNA bölünmesi, protein omurganın modifikasyonu ve ayrıca gıda bozulmalarını da içeren biyolojik sistemlerde çok önemlidir (Gupta, 2015).

1.1.1.7. Alkoksil radikali

Alkoksil radikali, lipitlerin ya da lipit peroksidasyonunun oksidatif bozunması sonucu alkoksil radikalleri bir Fenton tepkimesi, bir elektron verilmesi ya da iki peroksil radikalinin birleşmesi gibi non enzimatik yollarla üretilir. Alkoksil radikalleri yüksek derecede oksitleyicidir ve DNA mutasyonları ve apoptoza neden olabilir (Gupta, 2015).

1.1.1.8. Diğer Reaktif Oksijen Türleri

Tüm bu reaktif oksijen türlerine ek olarak organik peroksitler (ROOH^{*}) ve bunların homolitik yıkım ürünleri olan alkoksi (RO^{*}) ve hidroksiperoksil (ROO^{*}) veya indirekt olarak hidro ve semikinonlar veya nitroaromatlar da bulunmaktadır. Bunların yanı sıra karbon merkezli organik radikaller (R^{*}) ve tiyil radikalleri (RS^{*}) gibi radikaller de bulunmaktadır (Kayış, 2010).

1.1.2. Serbest Radikal Kaynakları

Hücre organellerinin her biri farklı miktarda radikal oluşumuna neden olur. Serbest radikaller organizmada gerçekleşen yükseltgenme ve indirgenme tepkimeleri sırasında oluşabildiği gibi çeşitli dış kaynakların etkisiyle de meydana gelebilir. Serbest radikal oluşturan kaynaklar endojen ve eksojen kaynaklar olmak üzere temel olarak 2'ye ayrılır (Karabulut ve Gülay, 2016).

Endojen kaynaklar

- Mitokondride aerobik solunum sırasında elektron transport sistemi tarafından katalize edilen oksijenler serbest radikalleri yan ürün olarak üretirler.
- Yangı durumunda sitokinler serbest bırakılır ve bunun sonucunda nötrofiller ve makrofajlar serbest radikalleri üretmeye başlar.
- Serbest radikaller lipit peroksidasyonu, ksantin oksidaz ve mitokondriyel sitokrom oksidaz gibi çeşitli kaynaklardan oluşabilir.
- Düz kas hücreleri, plateletler ve araşidonik asit metabolizması tarafından serbest radikaller üretilebilir.
- Otooksidasyon tepkimeleri sırasında ksantin oksidaz (XO), nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz, nötrofil miyeeloperoksidaz (MPO) gibi enzimlerle endoplazmik retikulumda sitokrom P450 sisteminde meydana gelen elektron kaçaklarından oluşabilir.

- Zihinsel stres veya vücut yorgunluğundan kaynaklanan stres toksik yan ürün olarak serbest radikal üretebilir. Ayrıca kortizol ve kateşolamin gibi hormonlar vücutta stres tepkimelerine yol açarlar. Aynı zamanda bu hormonların kendileri de serbest radikallere dönüşebilirler.
- İmmun sistem hücreleri patojenlere yanıt olarak ROS ve oksiradikaller üretebilir.

Eksojen kaynaklar

- UV ışınlar, X ışınları, gamma ışınları, mikrodalga ışınları,
- Pişirme sırasında organik maddelerin yakılması,
- Orman yangınları, volkanik faaliyetler,
- Asbest, benzen, karbonmonoksit, formaldehit, ozon ve toluen gibi hava kirleticiler,
- Temizlik ürünleri, tutkal, boya, tiner, parfümler ve böcek ilaçları gibi kimyasallar,
- Kloroform ve diğer trihalometanlar gibi su kirletici maddeler,
- Alkol ve sigara kullanımı, sigara dumanı, egzoz dumanıdır

1.1.3. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikallerin iç ve dış etkenlerden kaynaklı olarak üretimlerinde meydana gelen artış ve antioksidan sistemdeki yetersizlik başta membran lipitleri olmak üzere DNA, karbohidrat ve proteinlere önemli zararlar verir. Serbest radikallerin oluşturduğu bu zararlar hücrenin cinsine, maruz kalınan stres ve şiddetine bağlı olarak toksik, mutajenik ve karsinojenik olabilir (Xanthopoulou ve ark., 2010).

Karbohidratlarla etkisi: Hidroksil radikali gibi serbest radikaller bir karbon merkezli radikal üreterek, karbon atomlarının birinden bir hidrojen atomunu rastgele çıkartma yoluyla karbohidratlarla etkileşebilir. Bu durum hiyalüronik asit gibi önemli moleküllerde zincir kırılmalarına neden olur. Eklemi çevreleyen sinoviyal sıvıda inflamasyon boyunca nötrofillerin kümelenmesi ve aktivasyonu romatoit artritle ilişkili olan önemli miktarda oksiradikal üretir (Sivanandham, 2011).

DNA oksidasyonu: DNA'nın oksidatif hasarı hücre için oldukça tehlikeli olabilir. Çünkü hücre döngüsünü etkiler ve mutasyonlara ve kansere neden olur. Hidroksil

radikali tarafından guaninin 8-hidroksi-2 deoksiguanozine yükseltgenmesi DNA replikasyonu sırasında GC → TA transversiyonlarına yol açar. DNA'daki bu değişikliklerin kısmen yaşlanma, diyabet, inflamatuvar hastalıklar ve karaciğer hastalıklarıyla ilişkili olduğu öne sürülmektedir (Sivanandham, 2011).

Protein oksidasyonu: ROS ve RNS tarafından proteinlerin oksidatif modifikasyonu çeşitli hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynar. Özellikle spesifik bir proteinin aktif bölgesindeki hasar belirli bir biyokimyasal işlevde ilerleyici bir kayba neden olabilir. Protein modifikasyonlarına neden olan ROS'nin çeşitli tipleri sülfidril gruplarının kaybı, karbonillerin oluşumu, disülfid çapraz bağlanma, metiyonin sülfoksit, ditirozin çapraz bağları, nitrotirozin ve glioksidasyon ve lipit peroksidasyonuna neden olur. Sinyal transdüksiyon mekanizmaları, transport sistemleri ve enzim aktivitelerinde değişikliklere neden olur (Stadtman ve Levine, 2000; Stadtman, 1990). Protein oksidasyonu aterosklerozis, kanser şekilleri, iskemi-reperfüzyon hasarı ve yaşlanmadan sorumludur (Stadtman, 1992).

Lipit peroksidasyonu: Hızlı bir şekilde yağ asiti radikali oluşturan PUFA oksidasyonu, zincir tepkimelerine yol açan yağ asiti peroksil radikallerinin oluşturmak için oksijen ekler. Lipit hidroperoksitler MDA gibi aldehitler, lipit peroksil, lipit alkoksil gibi radikal türleri oluşumuna neden olan başka PUFA moleküllerini oksitleyebilir. PUFA'nın oksidatif yıkımı lipit peroksidasyonu olarak adlandırılır. Bu metabolik yan ürünler doğrudan membran yapısını bozabilir veya dolaylı olarak DNA, RNA, protein ve enzim gibi diğer hücresel yapılara zarar verebilir. MDA düzeyi ölçülerek lipit peroksidasyonu ile ilişkili olan doku hasarının direkt indeksi belirlenebilir (Ohkawa ve ark., 1979).

1.2. Antioksidan Sistem

Canlı hücrelerdeki biyomoleküllerin yükseltgenmesini önleyen ve geciktirebilen, düşük derişimlerde bile oksidan denen substratlara karşı etkili olan maddelere antioksidan ve bu olaya da antioksidan savunma denir (Çavdar ve ark., 1997; Ekici ve Sağdıç, 2008). Organizmanın sağlıklı bir yaşam sürdürebilmesi için pro-oksidan/antioksidan dengesinin kurulması çok önemlidir (Göksel ve Yeğen, 2009).

Antioksidanlar etkilerini temel olarak iki şekilde gösterirler;

1. Serbest radikal oluşumunun önlenmesi;
 - a) Başlatıcı reaktif türlerin uzaklaştırılması,

- b) Oksijenin uzaklaştırılması veya derişiminin azaltılması,
 - c) Katalitik metal iyonlarının uzaklaştırılmasıdır.
2. Oluşan serbest radikallerin zararsız hale getirilmesi;
- a) Toplayıcı etki; ROS'ni tutarak veya daha az reaktif başka moleküllere dönüştürerek yapılan etkidir. Bu etkiyi enzimatik antioksidanlar oluşturur.
 - b) Bastırıcı etki; ROS'ne flavonoidler veya çeşitli vitamin antioksidanlar tarafından bir proton verilmesiyle aktivitelerinin engellendiği etkidir.
 - c) Zincir kırıcı etki; ROS'ni oluşturacak zincir tepkimelerini başlatan diğer maddeleri kendilerine bağlayarak zincir tepkimesini kırma yoluyla aktivitelerini engellemedir. Bu etkiyi hemoglobin, seruloplazmin gibi proteinler, mineraller ve antioksidan vitaminler oluşturmaktadır.
 - d) Onarıcı etki; durdurulamayan radikallerin hücreye verdiği hasarın onarıcı antioksidanlar tarafından onarılması veya hasarlı hücrenin yenilenmesidir (Kayış, 2010; Akyüz, 2014; Stocker, 2016).

Antioksidanlar enzimatik ve enzimatik olmayanlar, endojen ve eksojen kaynaklı olanlar, suda ve yağda çözünenler, intraselüler ve ekstraselüler olanlar olmak üzere farklı şekillerde sınıflandırılabilirler (Karafakıoğlu, 2007).

1) Enzimatik Antioksidanlar

- A) Birinci derecede etkili olanlar:
 - Süperoksit Dismutaz (SOD)
 - Katalaz
 - Selenyum bağımlı Glutasyon Peroksidaz (GPx)
 - Glutasyon-S-Transferaz (GST)
 - Glutasyon Redüktaz (GR)
- B) İlişkili olanlar:
 - NADPH-Kinon Oksidoredüktaz
 - Epoksit Hidrolaz
 - UDP-Glukronil Transferaz
 - Sulfonil Transferaz
 - Glukoz-6-Fosfat Dehidrojenaz (G-6-PD)
 - &-Fosfoglukonat Dehidrojenaz

2) Enzimatik Olmayan Antioksidanlar:

- Glutasyon
- Vitamin C

- Vitamin E
- Vitamin A
- Flavonoidler
- Melatonin
- Ürik Asit
- Albümin
- Haptogloblin
- Sistein
- Seruloplazmin
- Transferrin ve Laktoferrin
- Ferritin
- Bilirubin
- Mannitol
- Lipoik asit
- Hemopeksin

Genel olarak enzimatik antioksidanlar hücre içinde, enzimatik olmayanlar ise hücre dışında daha fazla etkilidir (İstisnası: GSH hücre içi güçlü antioksidandır).

Sentetik antioksidanların çoğu fenolik yapıda olup, antioksidan aktivitedeki farklılık kimyasal yapıdan kaynaklanmaktadır. Günümüzde gıda katkı maddesi olarak kullanılan bütillenmiş hidroksi toluen (BHT), bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) ve propil gallat (PG) gibi bileşiklerin, antioksidan özelliğini gösteren çalışmaların yanı sıra bunların, karaciğer hasarına sebep oldukları ve karsinojenik özellik gösterdikleri saptanmıştır (Kahl ve Kappus, 1993). Bu nedenle, son yıllarda bitkisel kaynaklı olan yüzlerce madde antioksidan olarak kullanılabilirlik açısından test edilmektedir. Bunların antioksidan aktiviteleri C vitamini, fenolik bileşikler, flavonoidler, karotenoidler ve tokoferoller gibi bileşiklerden kaynaklanmaktadır.

Bitkilerdeki fenolik bileşikler güçlü antioksidan aktiviteye ve içerdikleri hidroksil gruplarından dolayı radikal giderme yeteneğine sahiptirler. Hücreleri, serbest radikallerinin neden olduğu süperoksit anyonu, singlet oksijen, lipid peroksi radikalleri ve serbest radikallerin stabilizasyonunu içeren oksidatif hasara karşı koruduğu belirlenmiştir (Liu ve ark., 2008; Meral ve ark., 2012). Yapılan birçok in vitro çalışmaya göre fenolikler, vitamin ve karotenoidlerden daha yüksek antioksidan aktivite göstermektedir. Bu antioksidan kapasite esas olarak, indirgeyici olarak görev almalarına izin veren redoks özelliklerine, hidrojen verilerine, singlet oksijen

bastırıcılarına veya metal şelatörlerine bağlıdır. Antioksidan işlevine ek olarak antialerjik, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antitrombotik, kardioprotektif ve vazodilatör etkiler gibi geniş çaplı tıbbi özelliklere sahiptirler (Podsedeck, 2007).

Flavonoidler, canlı sistemlerde antioksidan aktivitelerine ek olarak antitümör, antiviral, antitrombotik, antialerjik ve vazodilatasyon etkisine sahiptir (Kahraman ve ark., 2002). Aynı zamanda fosfolipaz-A2, siklooksijenaz ve lipoksijenaz enzimlerini inhibe ederek vücutta iltihap giderici etki gösterirler (Özdemir, 2010).

Antioksidanların oksidatif strese karşı koruyuculukları, reaktif oksijen türlerine karşı reaktivitelerine bağlıdır. İn vitro çalışmalarda flavonoidler, basit fenolik asitler ve karotenoidler gibi doğal bileşiklerin çok etkili serbest reaktif oksijen süpürücüleri olduğu ancak bunların kendilerinin de reaktif sekonder radikaller olabileceğine ilişkin bulgular elde edilmiştir. Bu sekonder radikaller hücre içine ulaşarak burada lipitler, proteinler ve DNA gibi kritik hedeflerde sitotoksik ve genotoksik etkilere yol açabilecek değişiklikler yapabilir (Breinholt ve ark 2003).

1.3. İnflamasyon

İnflamasyon, dokuların her türlü canlı, cansız yabancı etkene veya meydana gelebilecek içsel/dışsal hasara karşı başlattığı doğal savunma cevabıdır. İnflamasyonun tetiklenmesi enfeksiyöz (gram-pozitif ve gram negatif bakteriler, virüs, mantar vb.) ya da enfeksiyöz olmayan (travma, yanık, yabancı cisim, iskemi vb.) birçok nedenle meydana gelebilir. Bu uyarılara karşı dokular, çok iyi şekilde kontrol edilen, uyumlu işleyen hücresel, humoral ve vasküler bir dizi yanıt oluştururlar. Bu yanıtta temel amaç, inflamasyonu meydana getiren nedeni yok etmek, etkisini hafifletmek ve/veya doku tamir sürecine yardımcı olmaktır (Çelebioğlu ve Özer, 2004; Júnior ve ark., 2015). İnflamasyon akut ve kronik olarak sınıflandırılabilir.

Akut inflamasyon; şişme, kızarıklık, ağrı, ısı, işlev kaybı ve dokuların plazma ve lökositler tarafından infiltrasyona bağlı klasik iltihap belirtileriyle karakterize edilen kısa vadeli bir süreçtir. Akut inflamasyon bir taraftan hücre zedelenmesine yol açan etkeni ortadan kaldırmaya çalışırken, bir taraftan da zedelenme sonucu oluşan nekrotik hücre ve dokuların ortadan kaldırılması için gerekli olan koruyucu bir mekanizma olarak görev alır. Akut inflamasyon süreci hasar gören dokudaki kan damarları tarafından başlatılır ve bu da plazma proteinlerinin ve sıvısının

eksudasyonu (damar dışına sızması/ödem) ve nötrofillerin göçü şeklinde seyrederek. Dokuya artan sıvı akışı iltihapla ilişkili karakteristik şişmeye neden olur. Bölgeye artan kan akışı, bölgenin kızarmasına ve ısınmasına neden olur. Daha sonra hücreler, uyarı alanını kaldırmaya ve dokuyu onarmaya çalışabilecekleri yaralanma bölgesine ulaşmak için bir gradyan boyunca göç ederler (Akinwunmi ve Oyodepo, 2015; Muruganatham ve ark., 2016). Akut inflamasyon genellikle birkaç dakika veya birkaç saat süren kısa bir süreçtir.

Kronik inflamasyon ise makrofajlar, lenfositler ve plazma hücreleri gibi mononükleer hücrelerin infiltrasyonu, doku yıkımı ve doku onarımının birlikte bulunduğu bir tepkimedir. İnatçı enfeksiyonlar, potansiyel toksik ajanlara (ROS dahil) uzun süre maruz kalma ve otoimmün hastalıklar nedeniyle kronik inflamasyon oluşabilir. Kronik inflamasyon birkaç gün, ay veya hatta yıllar sürebilir. (Akinwunmi ve Oyodepo, 2015).

Birçok inflamatuvar bozuklukta bir membran değişikliği, protein denatürasyonu, vasküler geçirgenliğin artması, serbest radikallerin üretimi ve fagositlerin aşırı aktivasyonu vardır (Murugan ve Parimelazhagan, 2014). Bu nedenle inflamasyon oksidatif stres ile iç içe geçmiştir (Kibiti ve Afolayan, 2015). Doku hücreleri zarar gördüğünde kininleri, prostoglandinleri ve histaminleri salarlar. Bu durum kılcal damarların geçirgenliğinin ve vazodilatasyonun artmasına ve yaralı bölgeye artan kan akışına neden olur. Bu maddeler ayrıca kemotaksis olarak bilinen bir mekanizma ile vücudun doğal savunma hücrelerinin bazılarını harekete geçiren kimyasal haberciler gibi görev alır (Samu ve ark., 2014).

Serbest radikaller özellikle ROS hücrelerde oksidatif stres oluşturarak inflamasyona neden olur. Konakçı savunma mekanizmasında önemli rol oynayan mononükleer hücreler (makrofaj ve lökositler) ve polimorfonükleer lökositleri (nötrofiller, eozinofiller) içeren fagositik hücreler aşırı miktarda ROS üretir. Savunmada görev almalarının yanı sıra bu aşırı üretilen ROS hücresel işlevleri düzensizleştirir ve hücre ve doku hasarına neden olarak inflamasyon durumunun gelişmesine neden olur (Shaikh ve ark., 2015).

ROS'nin antioksidanlar tarafından nötralize edilmesi inflamasyonu hafifletebilir. Bu antioksidan moleküller sayesinde hücreler protein denatürasyon ajanlarını inhibe

ederek ve membran lizisine karşı koruma yoluyla iltihaba karşı da koruma sağlar (Kibiti ve Afolayan, 2015).

İnflamatuvar hastalıkların tedavisinde steroid al antiinflamatuar ilaçlar (SAİİ) ve nonsteroidal antiinflamatuar ilaçlar (NSAİİ) kullanılır.

Steroid al antiinflamatuar ilaçlar (SAİİ) astım, romatoid artrit, kronik bağırsak hastalığı, oto-immün hastalıklar gibi kronik inflamatuar hastalıkların tedavisinde sık kullanılmaktadır (Barnes, 1998). Steroidler bilinen en güçlü antiinflamatuar ajanlardır. Bunlar antiinflamatuar etkilerini;

- Hücresel düzeyde, granülositlerin dağılımını yeniden yapılandırır, sirkülasyonlarını artırır aynı zamanda lenfopeniye neden olarak,
- Damarlarda, damar düz kas hücrelerinin noradrenaline sensitizasyonunu artırarak adrenalin benzeri etki ile vazokonstriksiyona ve PGE ve bradikinin sentezinin bloke edilmesine bağlı olarak vazodilatasyonun inhibisyonuna neden olarak,
- Araşidonik asit sentezinde görevli fosfolipaz A2 enziminin aktivitesini inhibe ederek inflamasyonda önemli rolleri olan prostaglandinler, tromboksanlar ve lökotrienlerin oluşumunu engelleyerek gösterirler (Greaves, 1976).

Nonsteroidal antiinflamatuar ilaçlar (NSAİİ), siklooksijenaz (COX) enzimini inhibe ederek antiinflamatuar etki göstermektedirler. Bu etkileri doza bağımlı olup, COX enziminin iki ayrı formu olan COX-1 ve COX-2'ye afiniteleri, klinik olarak terapötik etkinliklerindeki ve yan etkilerindeki farklılıkları ortaya çıkartmaktadır (Vane ve Botting, 1998). COX-1 yapısal olarak vücutta bulunurken COX-2 inflamasyon durumunda indüklenen bir enzimdir. Etkinliğini COX-1 üzerinden gösteren NSAİİ'lar buna bağılı olarak daha fazla yan etki oluşmasına neden olurken, selektif olarak COX-2'yi inhibe eden NSAİİ'lar yan etkileri daha az göstermektedirler (Kuralay ve Çavdar, 2006).

Sentetik kaynaklı birçok terapötik ajan uzun vadede faydalarını kısıtlayan çeşitli dezavantajlara sahiptir. Benzer şekilde NSAİİ mide ülseri, kanama ülseri, böbrek fonksiyon bozukluğu, kabızlık, baş dönmesi ve baş ağrısı gibi birçok yan etkiye işaret eder (Uğla, 2013). Bu dezavantajları nedeniyle güvenlik ve etkinlik açısından daha aktif doğal kökenli antiinflamatuar ajanların geliştirilmesi gerekmektedir (Chataut ve ark., 2015).

İnflamatuvar süreçlere ROS'nin katılımı göz önüne alındığında antioksidan bileşiklerin de dolayısıyla potansiyel antienflamatuvar etki gösterdiği anlaşılabilir (Júnior ve ark., 2015). Bitkilerin antioksidan, antimikrobiyal ve antienflamatuvar etkileri yapılarındaki fenolik bileşik ve flavonoid içerikleri nedeniyle (Kibiti ve Afolayan, 2015).

Sentetik antienflamatuvar ajanların, zararlı etkileri göz önüne alındığından bunların yerine geçebilecek doğal antioksidan kaynaklarının belirlenmesine yönelik çalışmalarda çok çeşitli kimyasal metotlar kullanılmaktadır. Bu metotların bir kısmı yeni ilaç veya doğal bileşenlerin in vivo antienflamatuvar aktivitelerini araştırmak için sıçanlarda karragenin ile oluşturulan inflamasyonlu pençe ödeminde ya da in vitro antienflamatuvar etkinlik için protein denatürasyonu, HRBC membran stabilizasyonu ve siklooksigenaz (COX), lipoksigenaz (LOX) ve miyeloperoksidaz gibi enzimlerin aktivitesine bakılmaktadır (Maswadeh ve ark., 2006; Murugan ve Parimelazhagan, 2014; Xanthopoulou ve ark., 2010; Nastasijević ve ark., 2012; Strugala ve ark., 2016).

Protein denatürasyonu inflamasyonun iyi bilinen nedenlerinden biridir. Bazı artrit hastalıklarda otoantijenlerin üretimi protein denatürasyonundan kaynaklanır (Rani ve ark., 2014).

Basit ve uygulanabilir bir yöntem olan protein denatürasyon yöntemi kullanılarak son yıllarda pek çok bitki (*Cassia auriculata*, *Semecarpus anacardium*, *Osbeckia parvifolia*, *Myxopyrum smilacifolium* Blume gibi) özütünün antienflamatuvar özelliği belirlenmiştir (Rani ve ark., 2014; Kumar ve ark., 2013; Murugan ve Parimelazhagan, 2014; Samu ve ark., 2014).

Eritrosit membranı lizozomal membrana homologtur. Lizozomal membranların stabilizasyonu hücre dışı salınım üzerine daha fazla doku iltihabı ve zarara neden olan bakteriyel enzimler ve proteazlar gibi aktive edilmiş nötrofillerin lizozomal bileşenlerinin salınmasını önleyerek inflamatuvar yanıtın sınırlandırılması açısından önemlidir. İnflamasyon sırasında lizozomal salınma çeşitli bozuklukları üretebilir. İnflamasyon sırasında salınan lizozomal enzimler ve oluşan radikaller membranlarda lipid peroksidasyonunu başlatarak hücrelerin ve hücre organellerinin zar yıkımına neden olur ve makromoleküllere zarar vererek doku hasarına yol açan çeşitli bozukluklar üretir. Bu enzimlerin ekstraselüler aktivitesinin akut veya kronik

inflamasyonla ilişkili olduğu söylenir. Reaktif oksijen ve azot türlerine ek olarak çeşitli inflamatuvar hastalıklarda dokuların artmış tahribatına neden olan birkaç proteazı aktive ettiği bilinmektedir (Kumar ve ark., 2013).

Nonsteroidal ilaçlar ya bu lizozomal enzimleri inhibe ederek veya lizozomal membranı stabilize ederek etki eder (Samu ve ark., 2014). Bu nedenle eritrosit membranının kullanımı tıbbi bitki özütlerinin koruyucu etkisini incelemek için iyi bir modeldir.

Ximenia americana, *Rhizopora mucronata*, *Actinodaphne madraspatana* Bedd, *Mimusops elengi* gibi bitki özütlerinin protein denatürasyon metodu ve HRBC membran stabilizasyon metodu ile antienflamatuvar etkisi belirlenmiş ve elde edilen sonuçlardan özütlerin, standart diklofenak sodyum ile kıyaslandığında daha yüksek aktivite gösterdiği açıklanmıştır. (Shettar ve ark., 2015; Kumari ve ark., 2015; Saravanan ve Asharani, 2016). Kar ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bitki özütlerinin flavonoid, tanen saponin, terpenoid ve fenolik bileşik içeriği bakımından zengin olmasının yani antioksidan kapasitesinin yüksekliğinin in vitro antienflamatuvar aktiviteden sorumlu olabileceği gösterilmiştir.

Bulbine abyssinica ile yapılan çalışmada ise flavonoidlerin bir dizi bağışıklık sistemi inflamatuvar mediyatörünü inhibe edebildiği ve antienflamatuvar aktiviteye katkı sağladığı belirlenmiştir (Kibiti ve Afolayan, 2015).

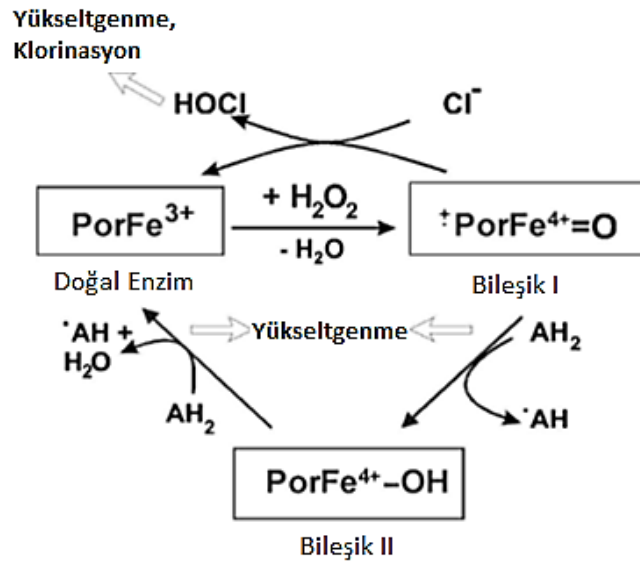
Chataut ve arkadaşlarının *Ocimum sanctum* bitkisinin farklı iklim koşullarına sahip iki bölgede yetişmesinin antienflamatuvar kapasitesine etkisi olup olmadığını incelemişlerdir. Farklı iklim koşullarında yetişmiş *O. sanctum* bitki özütünün protein denatürasyon metodu ile antienflamatuvar aktivitelerinde belirgin bir farklılık olmadığı belirlenmiştir (Chataut ve ark., 2015).

1.3.1.Miyeloperoksidaz (MPO)

Miyeloperoksidaz enzimi (MPO; donör H₂O₂ oksidoredüktaz, (EC 1.11.1.7) polimorfonükleer lökositlerin antibakteriyel etkilerinde rol alan başlıca enzimlerden biridir. MPO, H₂O₂ bağımlı olarak başta klor iyonu olmak üzere diğer halojenlerin (F⁻, Br⁻, I⁻) iyonlarını ve bazı inorganik bileşiklerin (tiyosiyanat, nitrit) reaktif türlere yükseltgenmesini katalizler. Bu reaktif türler, MPO enziminin genel olarak toksik; özel olarak da antibakteriyel etkilerinin araçlarıdır.

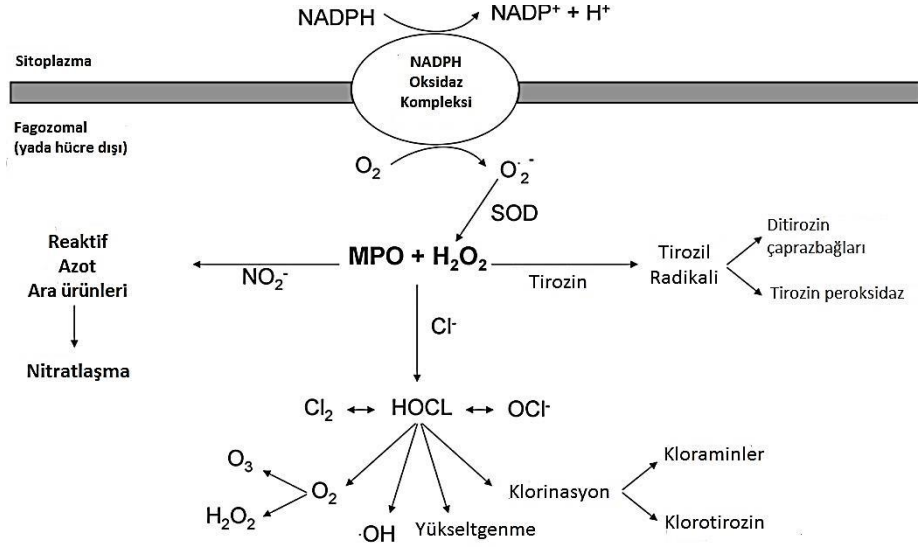
Miyeloperoksidaz enzimi 146 kDa mol kütesine sahip, tetramerik yapıda bir glikoprotein ve hemoproteindir. Protoporfirin yapı içeren enzim yeşil renge sahiptir. Enzim nötrofil ve monositlerin primer granüllerinde bulunur. Nötrofil ve monositlerin kuru kütlelerinin sırasıyla % 5 ve % 1-2'sini oluşturmaktadır. Bağışıklık sisteminin bir parçası olarak bakterisidal enzim olarak da görev alır (Oğuz, 2009). Bu hemoprotein çeşitli agonistlerle lökositlerin aktivasyonu sonucu hücre dışı alana ve fagolizozomal kompartmana salınır.

Tipik olarak fagosit aktivasyonu ve MPO sekresyonuna, NADPH'nin yükseltgenmesi ile beraber süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) ve hidrojen peroksitin (H_2O_2) oluşumunda artma şeklindeki bir oksidatif patlama (oxidative burst; respiratory burst) eşlik eder (Davies, 2011). Miyeloperoksidaz fizyolojik koşullarda halojenasyon ve peroksidaz aktiviteleri olmak üzere başlıca iki tür aktiviteye sahiptir. Her iki aktivitesi de H_2O_2 bağımlıdır. Bu tepkimeler sırasında hem demirinin yükseltgenmesi seviyesindeki değişimler Şekil 1.3.1.1.'de verilmiştir (J. Arnhold., 2004).



Şekil 1.3.1.1. Miyeloperoksidazın halojenasyon ve peroksidaz döngüleri ile hem demirinin yükseltgenme döngüsü

MPO- H_2O_2 sistemi, $HOCl$, kloraminler, hidroksil radikalleri (OH^{\cdot}), singlet oksijen (1O_2), ve ozon (O_3) olmak üzere yükseltgenebilen kofaktörlerden oluşur (Şekil 1.3.1.2.).



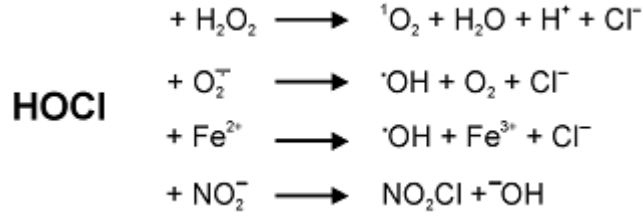
Şekil 1.3.1.2. MPO-H₂O₂ sisteminin ve ürünlerinin şematik gösterimi

Polimorfonükleer lökositlerin aktivasyonunu izleyen NADPH oksidaz ve MPO kaynaklı reaktif/oksitleyici kimyasal türler, aynı zamanda konakçı için de çeşitli toksik etkilere sahiptirler. Örneğin bu reaktif türler, proteinler, lipidler, amino asitler ve DNA gibi biyomoleküllerle tepkimeye girerek yapı ve fonksiyonlarında değişimlere neden olabilirler (Davies, 2011). MPO, immün sistemde önemli role sahip olmakla birlikte iltihaplı bölgelerde yüksek derişimlerde bulunur (Cao ve Smith, 1989).

İnsan lökositlerinde MPO-H₂O₂ sistemi bakteri, mantar, virüs gibi patojenlerin ve tümör hücrelerinin inaktivasyonu ve öldürülmesinde görev alan bir savunma sistemidir. Bu antimikrobik sistemin başlıca fizyolojik substratları klor ile fagozom içinde üretilen hidrojen peroksittir. Bu sistemde demir ferrik formda (MPO-Fe (III)) bulunur. H₂O₂ varlığında oksitlenir ve HOCl oluşur (Şekil 1.3.1.2) (Oğuz, 2009; Van der Veen ve ark., 2009).

Hipokloröz asit mikroorganizmaların fagozom içerisinde yok edilmesini sağlar. MPO enziminin biyolojik önemi, bu enzim eksikliği olan kişilerde net olarak görülmektedir. MPO enzim eksikliği bulunan kişilerin nötrofilleri normal olarak fagositoz yapabilmektedir. Ancak fagosite edilen ajanı öldüremezler ve bu nedenle kronik bakteriyel enfeksiyonlara son derece yatkındırlar (Nauseef ve ark., 1988). Ancak hipokloröz asit bazı tepkimeler ile doku hasarı için yüksek potansiyelli daha ileri reaktif oksijen türlerinin oluşumuna yol açar. Hipokloröz asit, tekli oksijen

oluşumu üzerine hidrojen peroksit ile tepkimeye girer. Hidroksil radikaller sadece Fenton tepkimesi sonucunda oluşmazlar. Bunlar ya süperoksit anyon radikalleriyle ya da Fe^{2+} tepkimesi ile hipokloröz asitten türetilirler. Hipokloröz asit aynı zamanda nitril ile tepkimeye girerek güçlü klorlayıcı ve nitrasyon yapan bileşik olan NO_2Cl 'yi üretir. Hipokloröz asit tepkimelerine genel bir bakış Şekil 1.3.1.3.'de verilmiştir (J. Arnhold., 2004).



Şekil 1.3.1.3. Miyeloperoksidaz ürünü hipokloröz asitten türetilen reaktif oksijen ve azot türünün oluşumu

MPO tarafından kullanılmayan H_2O_2 ise glutatyon peroksidaz ya da katalaz tarafından indirgenir (Kolaç, 2014). Zhang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre MPO tarafından üretilen HOCl'nin endotelial nitrik oksit sentaz aktivitesini etkilediği, NO biyoyararlanımını azalttığı ve vasküler disfonksiyona neden olduğu belirlenmiştir. Bazı çalışmalarla HOCl'nin çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL), düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) gibi lipoproteinleri oksitleyerek makrofajlar tarafından kolesterol ester alımını kolaylaştırdığı ve aterosklerozisin ilerlemesine katkı sağladığı gösterilmiştir (Antwerpen ve ark., 2008; Oğuz, 2009)

MPO, VLDL'e bağlanabilir ve özellikle pro-aterojenik bir faktör olan apolipoprotein B-100'ü aktive edebilir. Okside LDL endotel hücrelerde ve monositlerde proinflamatuvar yanıtlara neden olur. Ayrıca MPO, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL)'nin en önemli apoproteini olan apolipoprotein A1'i oksitleyebilir ve bu da kolesterol akışında azalmaya neden olur (Antwerpen ve ark., 2008).

MPO, nitrik oksit miktarını azaltarak kan damarlarının esnekliğini azaltmaktadır (Eiserich ve ark., 2002). Bazı proteinler ise MPO'nun inaktivasyonunu sağlar, örneğin MPO'nun seruloplazmine bağlanması MPO'nun inhibisyonuna neden olmaktadır (Govorova ve ark., 1989).

MPO enzimi inflamatuvar doku hasarıyla ilişkilidir. Eklem kondrositleri kendileri reaktif oksijen türlerini üretebilir. Romatoid artritte olduğu gibi inflamatuvar bölgede

geçiş metallerinin birikmesi hidroksil radikallerinin oluşumuna ve daha fazla doku hasarına yol açabilir (Ne`ve ve ark., 2001).

MPO'nun çok sayıdaki hastalıkların patogenezi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Lökositlerin iltihaplı dokularda toplanması, bu dokularda MPO'nun bulunmasını açıklar. MPO aktivitesi, ateroskleroz plaklarında, Alzheimer ve Parkinson hastalarının beyin dokusunda, multiplskleroz lezyonlarında, romatoid artrit hastalarının sinoviyal sıvısında, membran glomerulonefrit hastalarının glomerüllerinin bazal membranında, lökosit kaynaklı karaciğer hastalıklarında, kanser, barsak ve böbrek hastalıklarında tespit edilmiştir. Serumda yüksek MPO seviyesi kalp ve damar hastalıklarında risk faktörü olarak kabul edilir (Van der Veen ve ark., 2009).

Çok sayıdaki steroid ve antiinflamatuvar ilaçlar, MPO'yu reversibl olarak inhibe eder. MPO'yu inhibe eden antiinflamatuvar ilaçlara ek olarak, kuarsetin, epigallokateşin gallat, epikateşin gallat, kurkumin, gallik asit ve kafeik asit gibi fenoliklerin MPO'nun güçlü inhibitörleri olduğunu ve buna bağlı iltihaplanma insidansını azalttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Kato ve ark., 2003; Nastasijević ve ark., 2012).

Son yıllarda, MPO inhibisyonu ile antiinflamatuvar aktivitenin belirlenmesine yönelik birçok çalışma yapılmaktadır;

Tabart ve arkadaşlarının 2012 yılında yaptıkları çalışmada *Ribes nigrum* bitkisinin farklı kısımlarının MPO inhibe edebilme özelliği araştırılmıştır. Yapılan ölçümler sonucu özütün içerdiği bazı moleküller nötrofiller tarafından üretilen ROS'ni ve enzim kompleksinin aktivasyonunda görev alan hücre içi yolu veya zar elemanlarıyla olan enzim aktivasyonunu gidererek enzimi inhibe edebildiğini göstermiştir.

Yapılan diğer bir çalışmada bitkilerdeki flavonoidlerin, arterlerdeki LDL'lerin yükseltgenmesinden sorumlu olan MPO aktivitesini inhibe ederek kardiyovasküler hastalıkları giderebileceği gösterilmiştir (Tabart ve ark., 2012).

Gentiana lutea bitkisi ile yapılan çalışmada ise bitkinin, MPO'nun güçlü bir inhibitörü olduğunu bulmuşlar ve bitkideki farmakolojik aktif fenolik bileşikler olan gentiopikrosid, izovitektin ve amarogantin MPO inhibisyonuna etkisi araştırılmıştır. Sırasıyla en yüksek inhibisyon etkisine sahip olan fenolik bileşiklerin gentiopikrosid, izoviteksin ve amarogentin olduğu belirlenmiştir (Nastasijević ve ark., 2012).

Peganum harmala bitki özütündeki total alkaloidlerin ve bitkinin farklı kısımlarının MPO'ı inhibe etme yüzdeleri karşılaştırılmış ve en yüksek inhibe etme özelliği tohum kısmı > toprak üstü kısmı > kök kısmı olarak belirlenmiştir. *Peganum harmala* bitkisinin yapısında harmin, harmalin, harmalol, harmane ve harmol gibi birçok alkaloid bulunmaktadır. Taurin kloramin testi ile MPO inhibe etme kapasiteleri incelendiğinde harmalinin daha aktif olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma sonucunda yapısal olarak incelendiklerinde indol halkasında bir metoksi grubuna sahip olan bileşikler polar gruplar olmaksızın daha aktiftir. 5-hidroksi-triptamin gibi, indol halkasında bir OH grubuna sahip alkaloidler, MPO'ya karşı bir etkinliğe sahip değildir. Bitkinin tohum ve toprak üstü kısımlarının harmalin içeriğinin yüksek olması nedeniyle MPO inhibe etme kapasitesinin daha yüksek olduğu ancak harmin içeriği bakımından zengin kök kısmının ise MPO inhibisyonunda oldukça düşük aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Bensalem ve ark., 2014).

1.4. Botanik Bilgiler

1.4.1. *Achillea* L. Cinsi

Achillea L. genellikle ılıman kuşakta bulunan, *Asteraceae* (*Compositae*) familyasına ait çok yıllık bir cinstir. İlyada Destanı kahramanlarından Achilles tarafından yaralarının iyileştirilmesinde kullanıldığı için bu bitkiler mitolojik bir geçmişe de sahiptirler. *Achillea* L. cinsinin tanımlanmış tür sayısının yaklaşık 140 olduğu belirtilmiştir. Türkiye'deki *Achillea* cinsi beş seksiyondan oluşan ve 23'ü Anadolu'ya endemik olan toplam 46 türe (52 takson) sahiptir (Huber-Morath, 1975; Duman, 2000).

Halk arasında “civanperçemi, baytaran, pireotu, yılan çiçeği, ebülmülük, tilki kuyruğu, ayı danası, kurt otu” gibi isimlerle bilinen *Achillea* türleri çeşitli hastalıklar için halk ilacı olarak kullanılması nedeniyle etnofarmakolojik bir öneme de sahiptir. Ülkemizde *Achillea* türleri halk arasında diüretik, iştah açıcı, karminatif, yara iyi edici, üriner antiseptik, öksürük kesici, ödem söktürücü, emenagog olarak kullanılmaktadır. Bitkinin toprak üstü kısımları dekoksasyon ve infüzyon halinde menstrüasyon ve doğum sonrası ağrılarda kullanılmaktadır. *Achillea millefolium* infüzyonları dahilen iştah açıcı, gaz söktürücü ve yara iyileştirici olarak, *Achillea aleppica*, *Achillea armenorum*, *Achillea biebersteini*'nin çiçek kısımları iştah açıcı olarak ve Elazığ bölgesinde pirelere karşı kullanılmaktadır. *Achillea kotschyi*,

Achillea multifida, *Achillea nobilis*, *Achillea setacea* yapraklarının ezilmesiyle elde edilen lapa yara iyileştirici olarak kullanılır. *Achillea wilhelmsii*'nin çiçekli kısımları böcek uzaklaştırıcı olarak kullanılmaktadır (Baytop, 1999).

Achillea türleri çok amaçlı bitkiler olarak düşünülür. Tıbbi uygulamaların yanı sıra, tıbbi olmayan kullanımların çeşitli alanları da belirtilmiştir. Bitkiler, geleneksel tören dumanı, içecek ve baharat olarak kullanılmasının yanı sıra vücut bakımında şampuan, saç durulama maddeleri, merhemler uygulanmaktadır. Bazı türler (ör. *A. filipendulina*, *A. millefolium*) genellikle bahçe dekorasyonu veya kesme çiçek olarak yetiştirilmektedir (Nemeth ve Bernath, 2008).

Yapılan bilimsel araştırmalar sonucunda bu türün antioksidan, antidiyabetik, antimikrobiyal, antiproliferatif, analjezik, antinosiseptif, antienflamatuar, östrojenik, koleretik, antiülserojenik, hepatoprotektif, antispazmodik etkileri olduğu belirlenmiştir (Newall ve ark.,1996; Nemeth ve Bernath, 2008; Bali, 2012; Sevindik, 2015).

Achillea antibakteriyel ve antifungal etkileri en çok araştırılan alanlardan biridir. Candan ve arkadaşları, *A. millefolium subsp. millefolium* Afan.'ın metanol özütlerinin ve uçucu yağlarının antimikrobiyal etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda metanol özütlerinin suda çözünmeyen kısımlarının ya çok düşük antimikrobiyal etki gösterdiğini ya da hiç etki göstermediğini belirlemişlerdir. Buna rağmen uçucu yağın antimikrobiyal özellik gösterdiğini saptamışlardır (Candan, ve ark., 2003).

Barış ve arkadaşları, *A. biebersteinii* Afan. (Asteraceae) bitkisinin metanol özütü ve uçucu yağının antimikrobiyal etkilerini araştırmışlardır. Buna göre uçucu yağın 6 bakteri (*Acinetobacter baumannii*-A8, *Bacillus macerans*-A199, *Bacillus subtilis*-A57, *E coli*-A1, *S. aureus*-A215, *S. aureus*-ATCC-29213), 14 mantar ve *Candida albicans*-A117 mayasına karşı antimikrobiyal etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Metanol özütünde ise antimikrobiyal etki gözlememişlerdir (Barış ve ark., 2006).

Tajik ve arkadaşları, *A. millefolium* L.'nin çeşitli kısımlarının alkolik özütlerinin bazı mikroorganizmalar üzerindeki inhibitör fonksiyonun potansiyelini değerlendirmişler ve bu potansiyeli penisilin ailesinden bazı antibiyotiklerle kıyaslamışlardır. Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar deneyde iki kategoriye ayrılmıştır. Kontrol (*S. aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhimurium* ATCC1730, *E. coli* ATCC 25922)

ve klinik olarak izole edilen mikroorganizmalar (*S. aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus mirabilis*) ve 2 mantar (*Aspergillus niger* ve *C. albicans*) deneyde çalışılmıştır. Özütlere karşı en hassas mikroorganizmanın *S. aureus* suşları olduğunu tespit etmişlerdir (Tajik ve ark., 2008).

Literatür verilerine göre, *Achillea* türlerinin flavonoid ve terpenik yapıdaki bileşikler bakımından zengin olduğu belirlenmiş ve türlerin örnekleminde ortalama olarak 50-60 bileşik tespit edilmiştir. Uçucu yağlarında mono- ve seskiterpenoidlerin yanı sıra diterpenoidler, fenilpropanoidler, karotenoid ve yağ asiti türevi bileşikler bulunmaktadır. Bileşenlerin en geniş spektrumu *A. millefolium*, *A. pannonica* ve *A. collina*'nın uçucu yağlarında bulunmuştur. Her taksonun özel bir bileşimi olmasına rağmen, bazı genel düzenlilikler de gözlemlenebilir. *Achillea*'ların uçucu yağlarında bulunan monoterpenler arasında, 1,8-sineol ana bileşen olup, araştırılan örneklerin yaklaşık üçte birinde bulunur. Kamfor ve borneol gibi bileşikler, *Achillea*'ların en sık tespit edilen ikinci ve üçüncü ana bileşikler olarak tanımlanmaktadır. (Nemeth, 2005; Nemeth ve Bernath, 2008).

Elazığ'da yetişen *Achillea wilhelmsii* ve *A. schischkinii* türünden elde ettikleri uçucu yağların GC ve GC/MS ile analizleri sonucunda, sırasıyla otuz iki ve otuz altı bileşen tanımlanmıştır. *Achillea wilhelmsii* de ana bileşenler, kamfen (% 7.9), 1,8-sineol (% 6.6), kamfor (% 48.2), borneol (% 10.3) ve 3-sikloheksan-1-ol (% 14.2), *A. schischkinii* de ise, 1,8-sineol (% 14.5), linalool L (% 8.9), kamfor (% 12.9), isosiklositral (% 7.6), borneol (% 10.9) ve karyofilen oksit (% 6.3) olduğu tespit edilmiştir (Bacı ve ark., 2008). *A. teretifolia* bitkisinin uçucu yağının etken maddeleri piperiton (% 21,37), linalool (% 18,99) ve 1,8-sineol (% 6,79) olarak saptanmıştır (Aslan ve ark., 2009).

Achillea türlerinin en çok araştırılan etkilerinden biri de antioksidan özellikleridir.

Achillea wilhelmsii C. Koch ve *Achillea tenuifolia* Lam. türlerinin linoleik asit peroksidasyonuna etkisi bakılarak antioksidan aktivite gösterdikleri belirlenmiştir (Souri ve ark., 2004).

Achillea pachycephalla, *Achillea aucherii* ve *Achillea kellalensis* yapraklarından hazırlanan metanol özütlerinin antioksidan etkileri incelenmiş olup en yüksek

aktivitenin *Achillea aucherii* bitkisine ait özütte gözlendiğini ve diğer türlerin de belirgin antioksidan kapasiteye sahip olduğunu belirlemişlerdir (Sevindik, 2015).

Conforti ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *Achillea ligustica* All.'un çiçekli kısımlarından elde edilen metanol özütünün antioksidan aktivitesi, DPPH testi ve lipozom lipid peroksidasyonu ile belirlenmiştir. Bu çalışma sonucu bitkinin yüksek radikal süpürücü etkiye sahip olduğunu bulmuşlardır (Conforti ve ark., 2005).

Diğer bir çalışmada *Achillea biebersteinii* bitkisinin çiçekli kısımlarından hazırlanan su ve alkol özütlerinin antioksidan aktiviteleri araştırılmış ve her iki özütün DPPH ve ABTS radikal giderici etki gösterdiği ancak alkol özütünün daha fazla radikal giderici aktiviteye sahip belirlenmiştir. (Hammad ve ark., 2013).

Chrysanthemum parthenium, *Achillea millefolium*, *Malva sylvestris* ve *Anthemis nobilis*'in metanol özütlerinin DPPH radikal giderme aktiviteleri kıyaslamak için yapılmış bir çalışmada ise en yüksek radikal giderme aktivitesinin *Achillea millefolium*'a ait olduğu belirlenmiştir (Park ve ark., 2012).

Diğer bir çalışmada ise *Achillea collina* ve *Achillea pannonica* bitkilerinin uçucu yağlarının lipid peroksidasyonu ve DPPH radikal giderme aktiviteleri araştırılmıştır. Bu çalışmada *Achillea pannonica* uçucu yağları yüksek DPPH radikali giderme aktivitesine sahipken *Achillea collina* uçucu yağları ise lipid peroksidasyonu üzerinde oldukça etkilidir (Bozin ve ark., 2008).

Nickavar ve arkadaşlarının 2006 yılında yaptıkları çalışmada İran'da yetişen 6 *Achillea* türünün (*A. micrantha*. Willd. Asteraceae, *A. filipendula*. Lam., *A. millefolium*. L., *A. tenuifolia* Lam., *A. vermicularis* Trin. ve *A. wilhelmsii* C. Koch.) etanol özütlerinin antioksidan etkileri araştırılmış ve bu bitkiler arasından *Achillea micrantha* ve *Achillea millefolium* türlerinin doğal radikal giderici aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Nickavar ve ark., 2006).

Türkiye'de yayılış gösteren 15 *Achillea* türüyle yapılan bir diğer çalışmada ise infüzyon yoluyla hazırlanan özütlerin insan eritrosit ve lökositlerinde peroksit kaynaklı oksidatif hasara karşı koruyucu etkileri araştırılmış ve hepsinin antioksidan enzim sistemleri üzerine etkili olduğunu belirlenmiştir. Bitki infüzyonları incelendiğinde *Achillea crithmifolia* ve *Achillea nobilis* subsp. *neilrechii*, katalaz enzimine karşı en yüksek aktiviteyi göstermiştir. *Achillea millefolium* subsp. *pannonica*, süperoksit dismutaz; *Achillea teretifolia*, glutasyon peroksidaz ve

Achillea nobilis subsp. *siplea* ise lipit peroksidasyona karşı en yüksek aktiviteyi göstermiştir (Konyaloğlu ve Karamenderes, 2005).

Türkiye için endemik bir tür olan *A. hamzaoglu*'nin toprak üstü kısımlarından su distilasyonu ile elde edilen uçucu yağın ve metanol özütünün antioksidan aktivitesi, total antioksidan kapasitesi ve DPPH radikal süpürücü aktivite yöntemleri ile incelenmiştir. Metanol özütü DPPH radikalini pozitif kontrol olarak kullanılan BHT'ye yakın bir oranda inhibe etmiştir. Uçucu yağ bu yöntemlerde çok etkili bulunamamıştır (Türkmenoğlu ve ark., 2015).

Achillea alexandri-regis bitkisinden hazırlanan bütanol ve etil asetat özütlerinin süperoksit ve hidroksil radikallerinin miktarları üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu bitkinin süperoksit radikali süpürücü kapasitelerini sadece hemolize kanda gösterdiği belirlenmiştir (Kundakovic ve ark., 2005).

Achillea biebersteini'nin toprak üstü kısmının metanol özütünün DPPH, süperoksit ve hidroksil radikalleri ile lipit peroksidasyonu üzerine etkileri araştırılmış ve oldukça aktif bulunmuştur (Sökmen ve ark., 2004).

Achillea biebersteinii (Ağrı), *Achillea biebersteinii* (Dumluca), *Achillea vermicularis* (Van-Muradiye) ve *Achillea teretifolia* (Dumluca) bitkilerinin toprak üstü kısımlarındaki uçucu yağların DPPH radikali süpürücü kapasiteleri araştırılmış ve sırasıyla % 58,61, % 63,41, % 80,46 ve % 89,92 inhibisyonla α -tokoferolden daha yüksek aktivite göstermiştir (Polatoğlu ve ark., 2013).

Çeşitli *Achillea* türlerinin antienflamatuar aktiviteleri genellikle in vivo yöntemler kullanılarak araştırılmıştır.

Achillea türlerinin antienflamatuar etkilerini araştırmak amacıyla yapılan birçok deneyde sıçanlarda ve farelerde karagenen ile indüklenen arka pençe ödemi yöntemi kullanılarak *Achillea* türlerinin belirgin antienflamatuar etki gösterdiği saptanmıştır. *Achillea wilhelmsii*, *Achillea setacea*, *Achillea vermicularis*, *Achillea phrygia* ve *Achillea sipikorensis*'in antienflamatuar etkisi farelerde oluşturulmuş karagenen indüklü arka pençe ödemi modeli ile araştırılmıştır. *A. wilhelmsii*, *A. setacea* ve *A. vermicularis*'un etanol özütleri oral olarak verildiğinde 500 mg kg⁻¹ dozda hiçbir gastrik hasar ve akut toksisite göstermeksizin güçlü antienflamatuar etki gösterdiği *Achillea sipikorensis*'in ise bunlara oranla daha az antienflamatuar etki gösterdiği belirlenmiştir (Küpeli ve ark., 2007). Aynı test modeli kullanılarak yapılan başka bir

çalışmada % 6 *A. fragrantissima* etanol ekstresini içeren jel topikal kullanım ile diklofenak sodyum içerikli jel ile benzer antienflamatuar aktivite (sırasıyla % 48,1 ve % 47) göstermiştir (Maswadeh ve ark., 2006).

A. ageratum bitkisinin kloroformla özütlenmiş toprak üstü kısımlarından öncelikle stigmasterol ve β -sitosterol izole edilmiştir. Yapılan çalışmada ekstrakte ve izole edilen bileşikler sıçanlarda oluşturulan akut ve kronik inflamasyonların üzerindeki farklı dozlarda (0.5, 1, 3, 5 mg/kulak) etkileri topikal olarak test edilmiştir. Akut inflamasyonda 5 mg/kulak dozda % 82, kronik inflamasyonda ise yine aynı dozda % 26 oranında inhibisyon göstermiştir (Gomez ve ark., 1999).

A. schischkinii ve *A. aleppica* subsp. *Aleppica* bitkilerinin toprak üstü kısımlarından su destilasyonu ile elde edilen uçucu yağlarının antienflamatuar etkileri incelendiğinde en aktif olanın *A. aleppica* olduğu belirlenmiştir (İşcan G. ve ark., 2006).

Achillea türlerinden (*A. nana* L., *A. ageratifolia* Boiss, *A. biebersteinii* Afan., *A. spinulifolia* Fenzl ex Boiss., *A. millefolium* L., *A. wilhelmsii* C.Koch ve *A. crithmifolia* Waldst. Kit) izole edilen poli doymamış alkamitlerin, in vitro olarak siklooksijenazın aktivitesini ve bazılarının da 5-lipoksijenazın aktivitesini inhibe ettiğini saptamışlar ve antienflamatuar etkinin araşidonik asit metabolizması ile bağlantılı olduğunu desteklemişlerdir (Müller-Jakic ve ark., 1994; Sosa ve ark., 2007).

1.4.2. Çalışmada Kullanılan *Achillea* Türleri

***Achillea sipikorensis* Hausskn. & Bornm.**

Achillea sipikorensis Hausskn. & Bornm., step, alçıtışı tepesi, serpantin tepesinde ve 1450–1800 m yüksekliklerde yetişir. Çiçeklenme zamanı Haziran-Temmuz aylarıdır. Erzincan, Kayseri, Sivas'da yayılış gösterir ve İran-Turan elementine ait endemik bir türdür. 10-20 cm boyunda, 8–10 adet, 6-8 mm'lik çiçeklere sahip, çok yıllık bir bitkidir (IUCN 2001; Aytaç ve ark., 2016). Bu bitki ile yapılmış antioksidan ve antimikrobiyal çalışma bulunmayıp, bitkinin kromozom sayıları, detaylı kromozom ölçümleri ve 4C DNA değerleri gibi sitolojik özellikleri rapor edilmiştir (Türkoglu ve Akpulat, 2004).



Şekil 1.4.2.1. *Achillea sipikorensis* Hausskn. & Bornm.

***Achillea teretifolia* Willd.**

Dünya’da İran-Turan’da, Türkiye İç ve Güney Anadolu’da step, kayalık yamaçlar, konifer ormanları, subalpin çayırarda ve 900-2150 m yüksekliklerde yetişen endemik bir bitkidir. 20-50 cm boyunda, tabanı ince yaklaşık 1.5 mm çapında, yükselici, çok sayıda, uzun steril sürgünlü, dallanmamış, sık yapraklı, silindirik, boyuna çizgili bir gövdeye sahip, parçalı yaprakları olan bir bitkidir. Haziran-Temmuz aylarında çiçeklenir ve 12-50 arası küçük çiçeğe sahiptir (Davis, 1975; Ertekin, 2002).



Şekil 1.4.2.2. *A. teretifolia* Willd.

Endemik bir tür olan *Achillea teretifolia* Willd. ile yapılan çalışmalar genellikle bitkilerinin toprak üstü kısımları uçucu yağ bileşimleri ve çeşitli biyolojik aktiviteleri

yönünden incelenmiştir. Aslan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *A. teretifolia* uçucu yağında başlıca bileşik olarak piperiton (% 21,37), linalool (%18,99), 1,8-sineol (% 6,79), α -terpineol (% 5,88), ve borneol (% 4,29) belirlenmiştir (Aslan ve ark., 2009). Diğer bir çalışmada ise *A. teretifolia* uçucu yağında 1,8-sineol (% 34), kamfor (% 11), terpinen-4-ol (% 8), α -tuyon (% 5) başlıca bileşikler olarak tayin edilmiştir. Uçucu yağların in vitro mikrodilüsyon teknikleri kullanılarak antimikrobiyal aktivitesi ve aynı zamanda genel antioksidan aktivite değerlendirilmesinde gösterge olan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikallerini süpürücü kapasitesi incelenmiştir. Uçucu yağın, referanslarla karşılaştırıldığında test edilen insan patojeni mikroorganizmalara ve DPPH karşı aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (Demirci ve ark., 2009 ve 2011).

2. MATERYAL ve YÖNTEM

2.1. Bitkilerin Toplanması

Çalışmada kullanılan; *Achillea sipikorensis* Hausskn. & Bornm. ve *Achillea teretifolia* Willd. bitkileri 2012 yılında Gürün-Sivas' da Temmuz ayında toplanıp, gölgede kurutuldu.

2.2. Bitki Materyalinin Özütlenmesi

Gölgede kurutulan ve toz haline getirilen 100 g bitki örneği Soxhlet cihazında 60 °C' de 1L metanol ile 4 saat süresince özütlendi. Özüt, filtre edilerek vakum altında 45 °C' de kurutulup, 4 °C' de liyo filize edilerek karanlıkta saklandı.

2.3. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi

A. sipikorensis ve *A. teretifolia*'nin flavonoid içeriklerinin saptanması için farklı derişimlerde bitki özütü ve % 2'lik AlCl₃ (1/1: v/v, metanol-glacial asetik asit) çözeltileri karıştırıldı. Tepkime karışımı oda sıcaklığında 10 dk inkübe edildi. Örneklerin absorbanları 364 nm dalga boyunda kontrol örneğe karşı alındı. Ölçümler üçer tekrarlı olarak yapıldı (Lamaison ve ark., 1990). Flavonoid içeriği kuersetin standart eğrisi çizilerek belirlendi. Bitki özütlerinin toplam flavonoid madde içeriği 2.1 bağıntısından hesaplanarak mg g⁻¹ kuru kütle şeklinde kuersetin eşdeğeri olarak verildi.

$$C = \frac{c \times V}{m} \quad [2.1]$$

Bu eşitlikte;

C: Toplam flavonoid madde derişimi, mg g⁻¹

c: Kuersetin derişimi, mg L⁻¹

V: Bitki özütünün hacmi, 100 mL

m: Bitki örneğinin kütlesi, g

2.4. Toplam Fenol İçeriğinin Belirlenmesi

Bitkilerin metanol özütlerindeki toplam fenol içerikleri Folin-Ciocalteau belirteci kullanılarak belirlendi (Mc Donald ve ark., 2001). Farklı derişimlerde bitki özütü (1:10, v/v), Folin-Ciocalteau belirteci (1:10, distile su ile seyreltilmiş) ve 1M Na₂CO₃

kullanılarak hazırlanan tepkime karışımı 45 °C sıcaklıkta 15 dk ısıtıldı. Örneklerin absorbansları 765 nm dalga boyunda kontrol örneğe karşı okundu. Standart eğrinin hazırlanması için metanol:su (50/50, v/v) içerisinde 50,100, 200, 300, 400, 500 mg L⁻¹ derişimlerinde gallik asit çözeltileri kullanıldı. Her bir ölçüm üçer tekrarlı olarak yapıldı ve bitkilerin toplam fenol içerikleri 2.1 bağıntısından yararlanılarak mg gallik asit g⁻¹ kuru kütle olarak verildi.

2.5. Toplam Antioksidan Aktivite Tayini

Kullanılan yöntemin temeli asidik Mo (VI)'nın Mo (V)'e indirgenmesiyle asidik pH'ta yeşil renkli fosfat/Mo (V) kompleksinin oluşmasına dayanmaktadır (Prieto ve ark., 1999). Özüt çözeltisi (0,1 mg mL⁻¹ metanol) ve belirteç çözeltisi (0,6 M sülfürik asit, 28 mM sodyum fosfat ve 4 mM amonyum molibdat) cam vida kapaklı deney tüplerine konuldu ve kapakları kapatıldıktan sonra 37 °C sıcaklıkta 90 dakika inkübe edildi. Örnekler oda sıcaklığında buz banyosunda soğutuldu ve kontrol örneğe karşı 695 nm dalga boyunda üçer tekrarlı olarak okundu. Bitki özütlerinin toplam antioksidan kapasitesi 2.1 bağıntısı ile yapılan hesaplamalar sonucu mM α -tokoferolasetat g⁻¹ kuru kütle şeklinde verildi.

2.6. Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Temizleme Aktivitesi

A. sipikorensis ve *A. teretifolia* metanol özütlerinin hidrojen peroksit giderme aktiviteleri bazı modifikasyonlar doğrultusunda belirlendi (Ruch ve ark., 1989). Farklı derişimlerdeki özüt çözeltilerine 42 mM H₂O₂ çözeltisi eklendi. Hazırlanan örnekler oda sıcaklığında 10 dk inkübe edildi. Absorbansları 230 nm dalga boyunda kontrol örneğe karşı üçer tekrarla okundu. Özütlerin yüzde inhibisyon değerleri 2.2 bağıntısı kullanılarak hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = 100 - \left(\frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100 \right) \quad [2.2]$$

Bu eşitlikte;

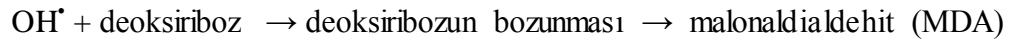
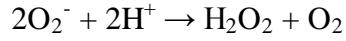
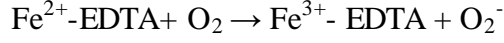
A kontrol : Kontrol örneğin absorbans değeri

A örnek : Bitki örneğinin absorbans değeri

Bitki özütleri ve pozitif kontrol olarak kullanılan BHT ve kurkumin için yapılan hesaplamalar sonucu bulunan % inhibisyon değerleri derişim değerlerine karşı grafiğe geçirildi ve her bir örneğin IC₅₀ değeri belirlendi.

2.7. Hidroksil Radikal Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi

A. sipikorensis ve *A. teretifolia* metanol özütlerinin hidroksil radikal giderme aktiviteleri Fe^{3+} /askorbat/EDTA/ H_2O_2 sistemiyle (Kunchandy ve Rao, 1990) oluşturulan hidroksil radikallerinin deoksiribozu bozundurmaya açığa çıkan tiyobarbitürik asit (TBA) reaktif ürünlerinin ölçümüyle belirlendi (Ohkawa ve ark., 1979).



Bitki özütlerinin farklı derişimlerdeki çözeltilerine 3 mM deoksiriboz, 1mM $FeCl_3$, 1 mM EDTA, 1 mM askorbik asit ve 1 mM H_2O_2 eklendi ve son hacim pH=7,4 20 mM fosfat tamponu ile 1 mL'ye tamamlandı. Tepkime karışımı 37 °C' de 1 saat inkübe edildikten sonra % 1'lik TBA ve % 2,8'lik tiyokloroasetik asit (TCA) ilave edilerek 30 dk kaynatıldı. Tepkime sonucu açığa çıkan MDA'nın TBA ile oluşturduğu renkli kompleksin 532 nm dalga boyundaki absorbanısı kontrol örneğe karşı üçer tekrarla okundu.

Bitkilerin metanol özütlerinin ve pozitif kontrol olarak kullanılan BHT ve kurkuminin % inhibisyon değerlerine karşı derişimleri grafiğe geçirilip her bir örneğin IC_{50} değeri 2.2 bağıntısı yardımıyla hesaplandı.

2.8. Süperoksit Radikal Temizleme Özelliği

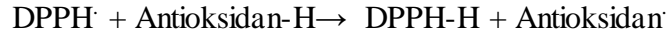
A. sipikorensis ve *A. teretifolia*'nın metanol özütlerinin süperoksit temizleme özelliği ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile oluşturulan süperoksit radikallerinin nitroblue tetrazoliumu (NBT) indirgemesi yöntemiyle belirlendi (Robak ve Gryglewski, 1988).

Deney ortamına bu amaçla bitki örneklerinin farklı derişimlerdeki çözeltileri 2 mM ksantin, 12 mM NBT, 1 U mL⁻¹ ksantin oksidaz ve 0,1 M pH=7,4 fosfat tamponu eklendi. Hazırlanan örnekler 25 °C sıcaklıkta 10 dakika inkübe edildikten sonra 560 nm dalga boyunda absorban değerleri kontrol örneğe karşı üçer tekrarla okundu.

Bitkilerden elde edilen özütlerin ve pozitif kontrol olarak kullanılan BHT, ve kurkumin % inhibisyon değerleri ile IC_{50} değerleri hidroksil radikal temizleme yöntemindeki gibi hesaplandı.

2.9. DPPH Radikal Temizleme Aktivitesinin Belirlenmesi

A. sipikorensis ve *A. teretifolia*'nın metanol özütlerinin DPPH radikal temizleme özelliği mor renkli kararlı bir radikal olan 2,2-Difenil-pikrillhidrazil'in sarı renkli difenilpikril hidrazine indirgenmesi yöntemi ile belirlendi (Braca ve ark., 2002).



Bitkilerin farklı derişimlerdeki çözeltilerine, % 0,0004 DPPH eklenip oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi. Tepkime sonucu açığa çıkan sarı renkli difenilpikril hidrazin derişimi 517 nm dalga boyunda kontrol örneğe karşı üçer tekrarlar okundu. Pozitif kontrol olarak BHT tercih edildi.

Bitki özütlerinin % inhibisyon değerleri 2.2 bağıntısı kullanılarak hesaplandı. Yapılan hesaplamalar sonucu elde edilen % inhibisyon değerleri özütlerin derişimine karşı grafiğe geçirilerek her bir özütün IC₅₀ değeri hesaplandı.

2.10. Antienflamatuar Aktivitenin Belirlenmesi

2.10.1. Albumin Denatürasyon Yöntemi

Bitki özütlerinin antienflamatuar aktiviteleri sığır serum albumin (BSA) kullanılarak protein denatürasyon metodu ile belirlendi (Williams ve ark., 2008).

Bitki özütlerinin metanolde çözüldürülmesiyle hazırlanmış farklı derişimlerdeki çözeltilerine 2850 µL % 0,2 BSA (pH 6,8 Tris-asetat tamponunda) çözeltisi eklenip, deney tüplerinin kapakları kapatıldıktan sonra doğrudan güneş ışığından korunarak oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildi. Daha sonra test tüpleri 72 °C su banyosunda 4 dakika daha inkübe edildi. Su banyosundan çıkarılan tüpler oda sıcaklığında 20 dk inkübe edilerek soğutuldu. Kontrol örnek olarak metanol ve % 0,2 BSA çözeltisi içeren tepkime karışımı kullanıldı. Tepkime karışımlarının absorbansı köre karşı 660 nm'de okundu.

Bitki özütlerinin ve pozitif kontrol olarak kullanılan diklofenak sodyumun yüzde inhibisyon değerleri 2.3. bağıntısı kullanılarak hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = 100 - \left(\frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100 \right) \quad [2.3]$$

Bu eşitlikte;

A_{kontrol} : Kontrol örneğın absorbans değeri

$A_{\text{örnek}}$: Bitki örneğının absorbans değeri

Bitki özütleri ve pozitif kontrol için yapılan hesaplamalar sonucu bulunan % inhibisyon değeri derişim değerlerine karşı grafiğe geçirildi ve her bir örneğın IC₅₀ değeri belirlendi.

2.10.2. HRBC Membran Stabilizasyon Yöntemi

Kan örnekleri, Cumhuriyet Üniversitesi Araştırma Hastanesi'nden sağlıklı gönüllülerden temin edildi. Alınan kan örneklerinin hacmi kadar Alsever çözeltisi (% 2 dekstroz, % 0,8 sodyum sitrat, % 0,05 sitrik asit ve su içerisinde % 0,42 sodyum klorit) ilave edildi. Tüm kan örnekleri kullanılmadan önce 24 saat boyunca 4 °C'de depo edildi. Tepkime karışımı 2500 rpm de 5 dakika santrifüj edilerek, süpernatant uzaklaştırıldı. Hücre süspansiyonu steril salin çözeltisi (% 0,9 w/v NaCl) ile yıkandı ve tekrar 2500 rpm'de 5 dakika süreyle santrifüj edildi. Süpernatant berrak olana kadar bu işlem üç kez tekrarlandı ve renksiz ve paketlenmiş hücre hacmi ölçüldü. Hücre bileşeni, fosfat tamponlu salin (10 mM, pH 7,4) ile % 40'lık bir süspansiyona (v/v) haline getirilerek kullanıldı. 1 mL 0,2 M fosfat tamponu ve 0,5 mL % 10 HRBC süspansiyonu, 0,5 mL % 0,25 hiposalin içerisinde farklı derişimlerdeki 1mL bitki özütü 37 °C'de 30 dakika inkübe edilerek 3000 rpm'de 20 dk santrifüjlendi. Süpernatantın hemoglobin içeriğı 560 nm'de spektrofotometrede ölçüldü. Diklofenak standart olarak kullanıldı. Kontrol olarak % 100 hemoliz üretmek için bitki özütünün olmadığı ve hiposalin yerine de distile suyun kullanıldığı bir tüp hazırlandı. Bitkilerin HRBC membran stabilizasyonu 2.3 bağıntısı kullanılarak hesaplandı (Bougandoura ve ark., 2016).

$$\% \text{ Stabilizasyon} = 100 - \left(\frac{A_{\text{örnek}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100 \right) \quad [2.3]$$

Bu eşitlikte;

$A_{\text{örnek}}$: Bitki örneğının absorbans değeri

A kontrol : Kontrol örneğın absorbands değeri

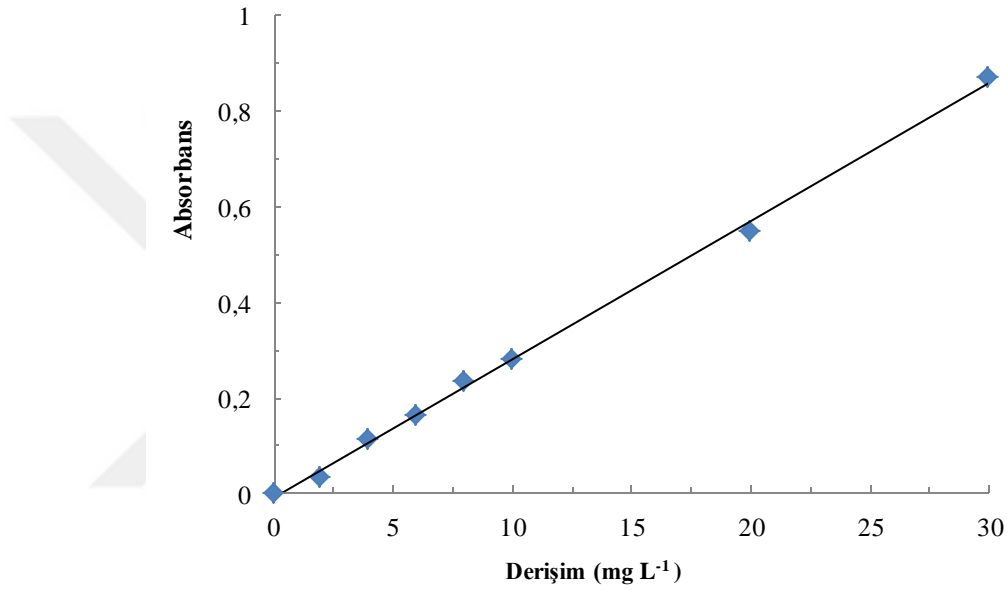
2.10.3. Miyeloperoksidaz İnhibisyon Yöntemi

Peroksidaz enzim aktivitesi o-dianisidin testi ile 25 °C'de izlendi. İnhibisyon deneylerinde son hacim 3 mL olacak şekilde ayarlandı. Deneyde ilk önce 3 nM MPO ile 50 mM pH 6,0 fosfat tamponu karıştırıldı. Daha sonra farklı derişimlerde bitki özütleri ilave edilerek, MPO ile termostat kontrollü bir su banyosunda 25 °C'de 15 dakika inkübe edildi. Deney seti enzim substratı 0,53 mM o-dianisidin eklenerek 5 dakika daha inkübe edildi. Tepkime 0,15 mM hidrojen peroksit ilavesi ile başlatıldı. Spektrofotometrik ölçümler, 460 nm'de yapılarak 1 dakika boyunca izlendi (Bradley ve ark. 1982).

3. BULGULAR

3.1. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi

Achillea sipikorensis Hausskn. & Bornm. ve *Achillea teretifolia* Willd. bitkilerinin metanolik özütlerindeki toplam flavonoid içeriğinin belirlenmesi için öncelikle standart flavonoid bileşik olan kuersetinin farklı derişimlerinin 364 nm dalga boyunda verdiği absorbans verileri kullanılarak standart bir grafik çizildi (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. Standart kuersetin grafiği

Bu grafikten yararlanarak hesaplanılan *A. sipikorensis* ve *A. teretifolia*'nın metanol özütlerinin 1 gramında bulunan toplam flavonoid miktarları Çizelge 3.1. de verilmiştir.

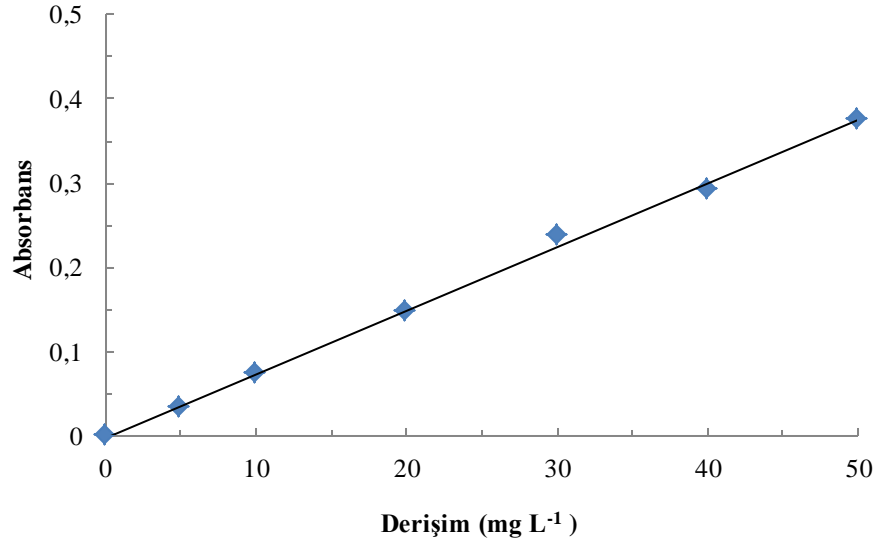
Çizelge 3.1. *Achillea sipikorensis*, *Achillea teretifolia* bitki özütlerinin toplam flavonoid içeriği

Örnek	mg kuersetin g ⁻¹ kuru kütle
<i>Achillea sipikorensis</i>	16,61 ± 0,72
<i>Achillea teretifolia</i>	23,18 ± 1,40

Çizelge 3.1.' de görüldüğü üzere toplam flavonoid içeriği bakımından en zengin bitki özütü *A. teretifolia*'dır.

3.2. Toplam Fenolik Bileşik İçeriğinin Belirlenmesi

A. sipikorensis ve *A. teretifolia* bitkilerinin metanolik özütlerinin toplam fenolik bileşik içeriğinin belirlenmesi için öncelikle standart fenolik bileşik olan gallik asitin farklı derişimlerinin 765 nm dalga boyunda verdiği absorbans verileri kullanılarak standart bir grafik çizildi (Şekil 3.2). Bu grafikten faydalanılarak özütlerde bulunan toplam fenolik bileşik içeriği, 2.1 bağıntısı ile mg g^{-1} kuru kütle olarak belirlendi.



Şekil 3.2. Standart gallik asit grafiği

A. sipikorensis ve *A. teretifolia* bitkilerinin metanol özütlerininin 1 gramında bulunan toplam fenolik bileşik miktarları Çizelge 3.2. de verilmiştir.

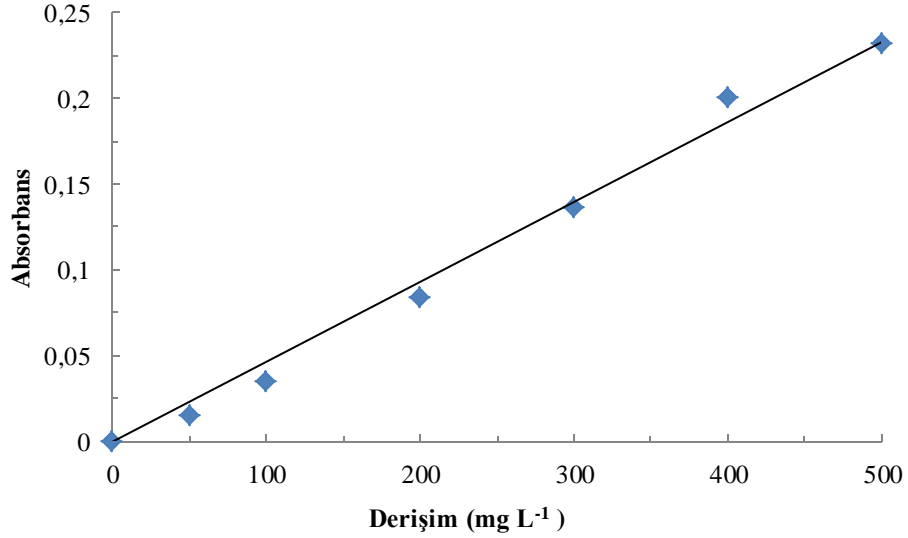
Çizelge 3.2. *Achillea sipikorensis*, *Achillea teretifolia* bitki özütlerininin toplam fenolik bileşik içeriği

Örnek	mg gallik asit g ⁻¹ kuru kütle
<i>Achillea sipikorensis</i>	136,93 ± 3,39
<i>Achillea teretifolia</i>	87,60 ± 2,47

Çizelge 3.2. de görüldüğü üzere toplam flavonoid içeriği yüksek olan *Achillea teretifolia* Willd. bitkisininin toplam fenolik bileşik içeriğininin *Achillea sipikorensis* Hausskn. & Bornm. bitki özütüne göre daha az olduğu bulundu.

3.3. Toplam Antioksidan Aktivite Tayini

A.sipikorensis ve *A. teretifolia* bitkilerinin metanolik özütlerinin toplam antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi için, standart antioksidan bileşik olan α -tokoferol asetatın farklı derişimlerinin 695 nm dalga boyunda verdiği absorbans verileri kullanılarak çizilen standart grafikten yararlanıldı (Şekil 3.3.).



Şekil 3.3. Standart α -tokoferol asetat grafiği

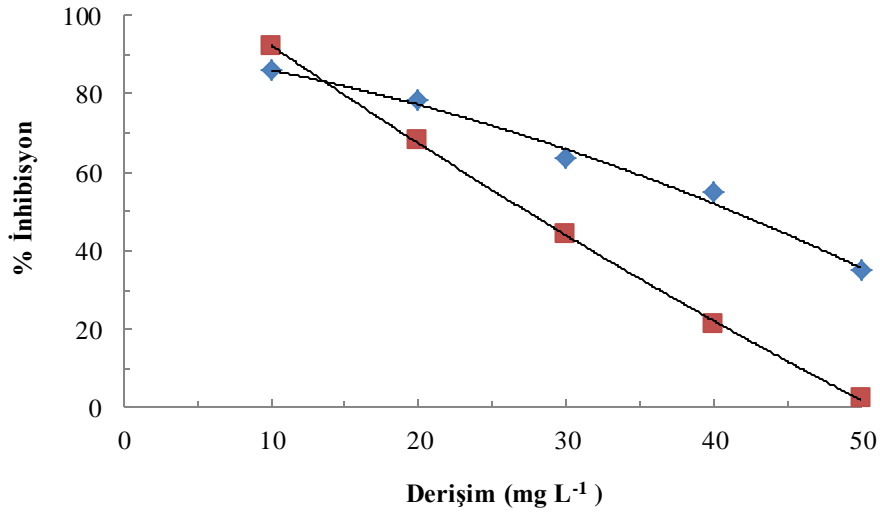
Bu grafik kullanılarak hesaplanan bitki özütlerinin toplam antioksidan kapasiteleri kıyaslandığında toplam fenol içeriğine paralel olarak *Achillea sipikorensis*' in *Achillea teretifolia*'ya göre antioksidan içerik bakımından daha zengin olduğu belirlendi (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. *Achillea sipikorensis*, *Achillea teretifolia* bitki özütlerinin toplam antioksidan içeriği

Örnek	mM α -tokoferol asetat g ⁻¹ kuru kütle
<i>Achillea sipikorensis</i>	363,05 ± 22,01
<i>Achillea teretifolia</i>	111,39 ± 6,46

3.4. Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Temizleme Aktivitesi

Bitkilerin metanolik özütlerinin hidrojen peroksit giderme aktivitelerini belirlemek için her bir bitki örneğinin farklı derişimlerinde verdiği % inhibisyon değerleri grafiğe (Şekil 3.4) geçirilerek hidrojen peroksiti % 50 inhibe eden IC₅₀ değeri hesaplandı (Çizelge 3.4).



Şekil 3.4. *Achillea sipikorensis* (■) ve *Achillea teretifolia* (♦) özütlerinin derişim değerlerine karşı hidrojen peroksiti giderebilen % inhibisyon değerleri

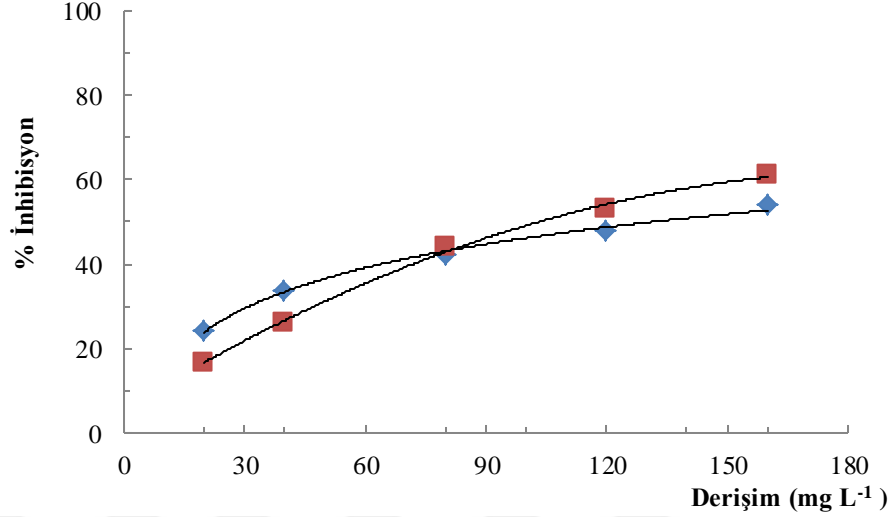
Çizelge 3.4. *Achillea sipikorensis*, *Achillea teretifolia* bitki özütleri ile pozitif kontrol BHT ve kurkuminin hidrojen peroksiti % 50 temizleyebilen derişim değerleri

Örnek	IC ₅₀ (µg mL ⁻¹)
<i>Achillea sipikorensis</i>	40,25 ± 0,63
<i>Achillea teretifolia</i>	27,53 ± 0,55
BHT	36,85 ± 1,52
Kurkumin	19,58 ± 0,77

Achillea sipikorensis özütünün hidrojen peroksit giderme aktivitesi *Achillea teretifolia* özütü ile karşılaştırıldığında *Achillea teretifolia*'nın daha etkin bir rol oynadığı gözlemlendi. Pozitif kontrol olarak kullanılan doğal antioksidan olan kurkuminin, hem sentetik antioksidan BHT'ye hem de özütlere göre hidrojen peroksit gidermede daha etkin olduğu belirlendi.

3.5. Hidroksil Radikal Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi

Achillea sipikorensis ve *Achillea teretifolia* bitkilerinin hidroksil radikallerini giderebilen % inhibisyon değerlerine karşı derişim değerleri Şekil 3.5.' te verilmiştir.



Şekil 3.5. *Achillea sipikorensis* (♦) ve *Achillea teretifolia* (■) özütlerinin derişim değerlerine karşı hidroksil radikal giderebilen % inhibisyon değerleri

Çizelge 3.5.'te *Achillea sipikorensis* ve *Achillea teretifolia* bitki özütlerinin ve pozitif kontrol olarak kullanılan BHT ve kurkuminin hidroksil radikal giderebilen IC₅₀ değerleri Şekil 3.5.'ten yararlanılarak hesaplanmıştır.

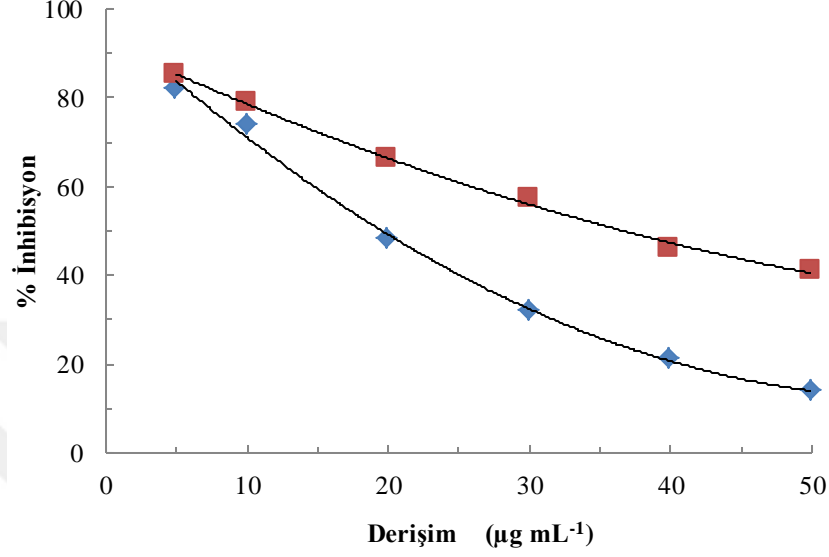
Çizelge 3.5. *Achillea sipikorensis*, *Achillea teretifolia* bitki özütlerinin ve pozitif kontrol BHT ve kurkuminin hidroksil radikalini % 50 temizleyebilen derişim değerleri

Örnek	IC ₅₀ (µg mL ⁻¹)
<i>Achillea sipikorensis</i>	131,08 ± 1,12
<i>Achillea teretifolia</i>	101,50 ± 1,02
BHT	47,65 ± 1,13
Kurkumin	17,67 ± 1,42

Çizelge 3.5. de görüldüğü üzere hidroksil radikalini giderebilen en yüksek aktiviteye sahip olan bitki özütünün toplam flavonoid içeriğinin de yüksek olmasına paralel olarak *Achillea teretifolia* Willd. olduğu belirlenmiştir. Doğal bir antioksidan olan kurkuminin diğer pozitif kontrol olan BHT ve bitki özütleri ile karşılaştırıldığında hidroksil radikalini giderebilmesi açısından daha aktif olduğu belirlenmiştir.

3.6. Süperoksit Radikal Temizleme Özelliği

Achillea sipikorensis ve *Achillea teretifolia* bitkilerinin süperoksit radikallerini giderebilen % inhibisyon değerlerine karşı derişim değerleri Şekil 3.6.' da verilmiştir.



Şekil 3.6. *Achillea sipikorensis* (♦) ve *Achillea teretifolia* (■) özütlerinin derişim değerlerine karşı süperoksit radikal giderebilen % inhibisyon değerleri

Çizelge 3.6.'te ise *Achillea* bitki özütlerinin ve pozitif kontrol BHT ve kurkuminin süperoksit radikali oluşumu %50 inhibe eden derişimleri verilmiştir.

Çizelge 3.6. *Achillea sipikorensis*, *Achillea teretifolia* bitki özütleri ile BHT ve kurkuminin süperoksit radikalini % 50 inhibe eden derişim değerleri

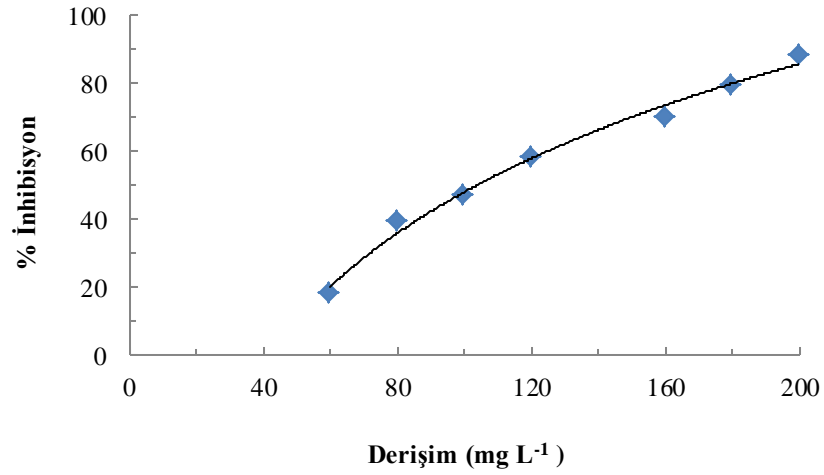
Örnek	IC ₅₀ (µg mL ⁻¹)
<i>Achillea sipikorensis</i>	36,69 ± 3,42
<i>Achillea teretifolia</i>	19,58 ± 0,32
BHT	84,60 ± 1,58
Kurkumin	11,28 ± 0,95

Çizelge 3.6.'da görüldüğü üzere süperoksit radikalini giderebilen en yüksek aktiviteye sahip olan bitki özütünün toplam flavonoid içeriği ve hidroksil radikali giderme aktivitesi de yüksek olan *Achillea teretifolia* Willd. olduğu belirlenmiştir.

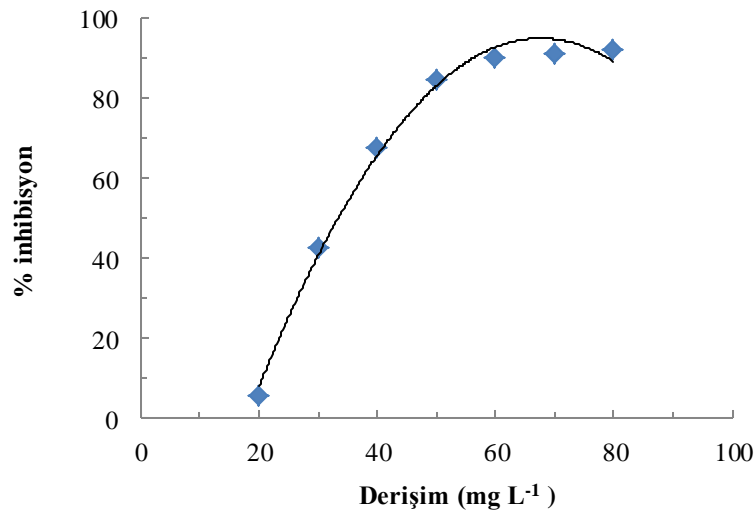
Doğal bir antioksidan olan kurkuminin de hidroksil giderme aktivitesinde olduğu gibi süperoksit radikal giderme açısından daha aktif olduğu belirlenmiştir.

3.7. DPPH Radikal Temizleme Aktivitesinin Belirlenmesi

A. sipikorensis ve *A. teretifolia* bitki özütlerinin DPPH radikal giderebilen % inhibisyon değerlerine karşı derişim değerleri Şekil 3.7.1. ve Şekil 3.7.2.' de verilmiştir.



Şekil 3.7.1. *Achillea sipikorensis* bitkisinin DPPH radikal giderebilen % inhibisyon değerlerine karşı derişim grafiği



Şekil 3.7.2. *Achillea teretifolia* bitkisinin DPPH radikal giderebilen % inhibisyon değerlerine karşı derişim grafiği

Çizelge 3.7.'de *A.sipikorensis* ve *A. teretifolia* bitki özütleri ile pozitif kontrol olarak kullanılan BHT'nin, DPPH radikal giderebilen IC₅₀ değerleri Şekil 3.7.1. ve Şekil 3.7.2.' den yararlanılarak hesaplanmıştır.

Çizelge 3.7. *Achillea sipikorensis*, *Achillea teretifolia* bitki özütleri ile BHT'nin DPPH radikalini % 50 temizleyebilen derişim değerleri

Örnek	IC ₅₀ (µg mL ⁻¹)
<i>Achillea sipikorensis</i>	107,50 ± 2,72
<i>Achillea teretifolia</i>	32,00 ± 3,11
BHT	28,65 ± 1,90

Çizelge 3.7.'de görüldüğü gibi hidroksil ve süperoksit radikalleri temizleme aktivitesi yüksek olan *A. teretifolia*'nın DPPH radikalini temizlemede de aktif olduğu belirlenmiştir. Sentetik bir antioksidan olan BHT'nin DPPH radikalini giderebilmesi açısından her iki bitki özütüne göre daha aktif olduğu belirlenmiştir.

3.8. Antienflamatuvar Aktivitenin Belirlenmesi

3.8.1. Albumin Denatürasyon Yöntemi

Protein denatürasyonuna inflamatuvar süreç sırasında sıklıkla karşılaşılır ve derişime bağlı olarak değışkenlik gösterir. Bu nedenle bitki özütlerinin antienflamatuvar aktivitesini belirlemek amacıyla özütlerin protein denatürasyonunu inhibe etme özellikleri araştırılmıştır.

A. sipikorensis ve *A. teretifolia* bitki özütleri ile pozitif kontrol olarak kullanılan diklofenak sodyumun protein denatürasyonunu giderebilen % inhibisyon değerlerine karşı derişim değerleri Çizelge 3.8.1.' de verilmiştir.

Çizelge 3.8.1. *Achillea sipikorensis*, *Achillea teretifolia* bitki özütlerinin ve diklofenak sodyumun sığır serum albümini denatüre eden % inhibisyon değerleri

Test örneği	Derişim ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	% İnhibisyon
<i>Achillea sipikorensis</i>	100	20,75 \pm 2,78
	200	32,35 \pm 0,64
	400	45,68 \pm 1,63
	600	67,29 \pm 1,24
	800	84,13 \pm 2,50
<i>Achillea teretifolia</i>	100	21,84 \pm 1,65
	200	39,20 \pm 1,02
	400	51,50 \pm 0,93
	600	85,42 \pm 1,53
	800	91,78 \pm 1,31
Diklofenak sodyum	100	92,81 \pm 4,50
	200	98,92 \pm 3,48

Yapılan çalışma sonucunda her iki bitki özütünün protein denatürasyonunu inhibe etme de etkili oldukları ancak pozitif kontrol olarak kullanılan diklofenak sodyuma göre bu aktivitenin daha düşük olduğu belirlenmiştir. % İnhibisyon değerleri maksimum 800 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 'de *A. sipikorensis* için % 84,13 \pm 2,50 iken *A. teretifolia* için 92,80 \pm 1,31 bulunmuştur. Aynı derişimde protein denatürasyonunun inhibisyonu aktiviteleri kıyaslandığında *A. teretifolia*'nın *A. sipikorensis*'e göre daha aktif olduğu belirlenmiştir. Diklofenak sodyum için ise, 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 'de % 92,81 \pm 4,50, 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 'de maksimum inhibisyonu % 98,92 \pm 3,48 göstermiştir (Çizelge 3.8.1).

3.8.2. HRBC Membran Stabilizasyon Yöntemi

İnflamasyon sürecinde lizozomal bileşiklerin salınması bu sürecin hızlanmasına neden olmaktadır. Bu nedenle antienflamatuar yanıtın oluşturulmasında bu bileşiklerin salınımının stabilize edilmesi önemlidir. Bu amaçla lizozomal membrana benzerlik açısından en yakın olan HRBC kullanılarak bitki özütlerinin antienflamatuar aktiviteleri araştırılmıştır.

A. sipikorensis ve *A. teretifolia* bitki özütlerinin ve pozitif kontrol diklofenakın HRBC membranını stabilize eden % inhibisyon değerlerine karşı derişim değerleri Çizelge 3.8.2.' de verilmiştir.

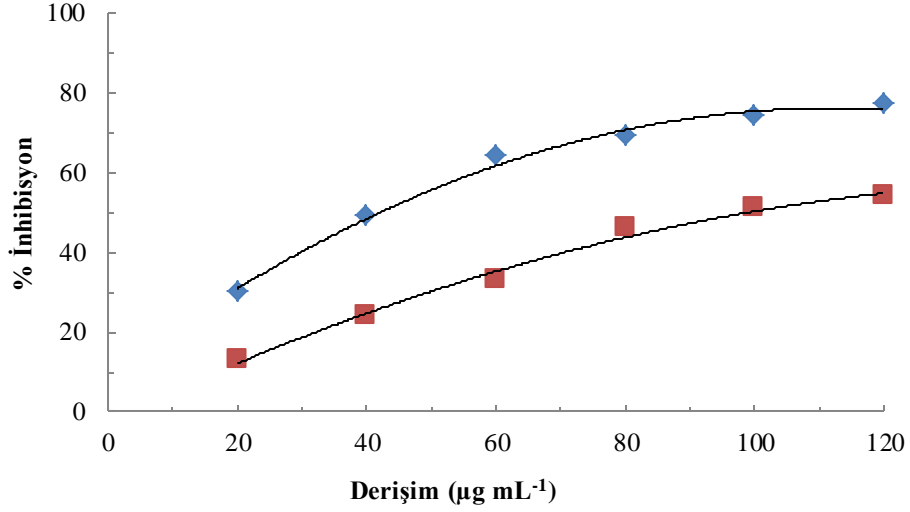
Çizelge 3.8.2. *Achillea sipikorensis* ve *Achillea teretifolia* özütlerinin ve pozitif kontrol olarak kullanılan diklofenak sodyumun derişim değerlerine karşı HRBC membran stabilize edebilen % inhibisyon değerleri

Test örneği	Derişim ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	% İnhibisyon
<i>Achillea sipikorensis</i>	100	25,81 \pm 2,23
	200	31,47 \pm 3,19
	400	43,14 \pm 1,15
	800	51,07 \pm 1,24
	1000	56,43 \pm 1,37
<i>Achillea teretifolia</i>	100	38,76 \pm 5,00
	200	43,84 \pm 4,10
	400	58,08 \pm 1,83
	800	69,72 \pm 0,23
	1000	87,41 \pm 1,51
Diklofenak sodyum	100	64,94 \pm 3,12
	200	78,12 \pm 2,71
	400	86,53 \pm 2,50
	800	94,51 \pm 3,11
	1000	99,53 \pm 2,23

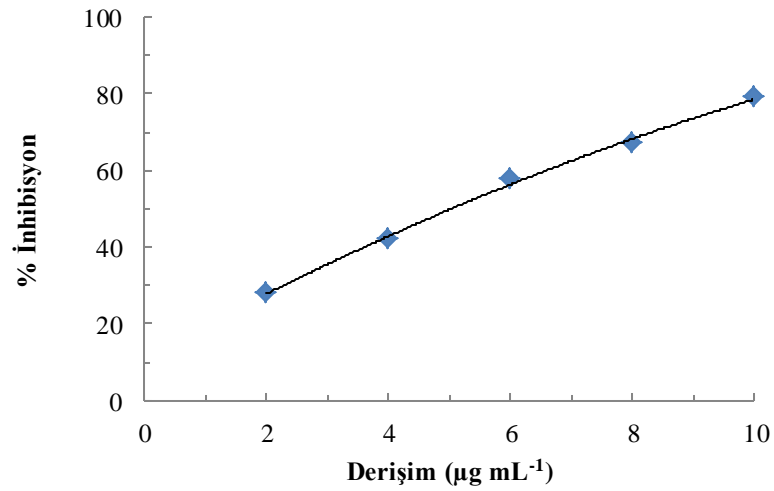
Achillea sipikorensis ve *Achillea teretifolia* özütlerinin HRBC membran stabilizasyon aktivitesi diklofenak sodyuma kıyasla daha düşük kalmıştır. Bitki özütleri kendi aralarında kıyaslandığında *Achillea teretifolia*'nın daha aktif olduğu belirlenmiştir. Diklofenak sodyum 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ derişiminde % inhibisyon değeri 64,94 \pm 3,12 iken *Achillea teretifolia* bitkisinin aynı derişimde % inhibisyon değeri 38,76 \pm 5,00, *Achillea sipikorensis* ise 25,81 \pm 2,23 olarak bulunmuştur.

3.8.3. Miyeloperoksidaz Aktivitesinin Ölçümü

Fenolik ve flavonoidlerin MPO'ı inhibe ettiğini gösteren çalışmalar olduğundan bitki özütlerinin MPO inhibisyon yüzdesi, kuersetin ile karşılaştırıldı. *Achillea sipikorensis* ve *Achillea teretifolia* özütlerinin farklı derişimleri ile MPO inhibisyon yüzdeleri arasındaki ilişkiyi gösteren grafik Şekil 3.8.3.1. de, kuersetin ile MPO inhibisyon yüzdeleri arasındaki ilişkiyi gösteren grafik ise Şekil 3.8.3.2. de verilmiştir.



Şekil 3.8.3.1. *Achillea sipikorensis* (■) ve *Achillea teretifolia* (◆) özütlerinin derişimlerine karşı miyeloperoksidazın % inhibisyon grafiği



Şekil 3.8.3.2. Kuersetinin derişimine karşı miyeloperoksidazın % inhibisyon grafiği

Her bitki özütünün de miyeloperoksidaz inhibisyonunda etkili olduğu bulunmuştur. *Achillea teretifolia* için miyeloperoksidaz inhibisyonunun IC_{50} değeri $42,18 \pm 0,05 \mu\text{g mL}^{-1}$ iken bu değer *Achillea sipikorensis* için $98,90 \pm 0,11 \mu\text{g mL}^{-1}$ olarak gözlenmiştir. Ancak referans olarak seçilen ve bir flavonoid olan kuersetin için IC_{50} değerı $5,02 \pm 0,01 \mu\text{g mL}^{-1}$ olarak hesaplanmış ve bitki özütleriyle karşılaştırıldığında MPO üzerinde daha etkili olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.8.1).

Çizelge 3.8.3. *Achillea sipikorensis* ve *Achillea teretifolia*'nın metanolik özütleri ile kuersetinin miyeloperoksidazı % 50 inhibe eden derişimleri

Test örneği	MPO inhibisyon IC ₅₀ (µg mL ⁻¹)
<i>Achillea sipikorensis</i>	98,90 ± 0,11
<i>Achillea teretifolia</i>	42,18 ± 0,05
Kuersetin	5,02 ± 0,01

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Dünya’da son yıllarda bitkisel kaynaklı ürünlere karşı artan ilgiden dolayı bitkilerden ilaç ham maddesi geliştirme konusu oldukça ilgi çekici hale gelmiştir. Bu nedenle araştırmacılar tarafından uzun yıllardır Anadolu’daki halk ilacı kayıtları kaynak alınarak birçok bitki üzerinde biyolojik aktivite çalışmaları yapılmaktadır. Anadolu’da pek çok hastalığın tedavisinde halk ilacı olarak kullanılan *Achillea* türleri (Asteraceae) araştırmamızın konusunu oluşturmuştur. Halk arasında “Boz yavşan, civan perçemi beyazı, sırçanotu, yavşan otu” gibi isimlerle bilinen *Achillea* türlerinden *Achillea teretifolia* toprak üstü kısımları özellikle Niğde çevresinde hormonal bozukluklarda ve karın ağrısında kullanılmaktadır (Özdemir ve Alpinar, 2015). *Achillea sipikorensis* ise özellikle Konya İli ve çevresinde şeker hastalığına karşı kullanılmaktadır (Oral, 2007). Bu bitkiler ile yapılan araştırmalar, genelde uçucu yağ bileşenlerinin belirlenmesi amacıyla yapılmış ve sınırlı sayıda olması sebebiyle bu çalışmada, endemik iki *Achillea* türü üzerinde ayrıntılı biyolojik aktivite çalışmaları ve fitokimyasal araştırmalar yapılmıştır. Bu amaçla *A. sipikorensis* ve *A. teretifolia* ile yapılan çalışma iki kısımda değerlendirilerek birinci kısımda bitkilerin antioksidan aktiviteleri ikinci kısımda ise antiinflamatuvar özellikleri incelenmiştir. Her iki bitki özütünden elde edilen veriler birbirleriyle kıyaslanarak sonuçlar değerlendirilmiştir.

Yapılan çalışmada ilk olarak bitkilerin metanol özütlerinin flavonoid ve fenolik madde miktarları ve toplam antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi, DPPH, süperoksit ve hidroksil radikali ile hidrojen peroksit giderme aktivitelerinin belirlenmesi yoluyla antioksidan kapasiteleri ayrıntılı olarak incelenmiştir.

Fenolik bileşikler, bir aromatik halkaya bağlı fonksiyonel türevleri de dahil bir veya daha fazla sayıda hidroksil grubu içeren maddelerdir (Güleşçi ve Aygül, 2016). Fenolik bileşikler, hidrojen veya elektron verebilen, konjuge halka yapısına ve hidroksil grubuna sahip maddeler olup reaktiviteleri ve metal iyonu kenetleme özellikleri ile kararlı bileşikler oluşturarak belirgin serbest radikal giderme aktivitesi gösterirler (Ardestani ve Yazdanparast, 2007; Samad ve ark., 2014; Liu ve ark., 2008). Diyet antioksidanları askorbat, tokoferoller, karotenoidler ve biyoaktif bitki fenollerini içerir (Dimitrios, 2006).

Fenolik asitler mono ve polisakkaritler ile konjuge olmuş, bir ya da daha fazla fenolik gruba bağlı veya ester ve metil esterlerin fonksiyonel türevleri halinde bulunabilirler. Fenolik asitler; kimyasal olarak, benzoik ve sinamik asitlerin hidroksillenmiş türevleridirler. En yaygın olarak bulunanlar hidrokisinasimik asit türevleri p-kumarik, kafeik, klorojenik ve ferulik asitlerdir (Tuncel ve Yılmaz, 2010).

Doğal özütlerin kalitesi ve antioksidatif performansları yalnızca orijinal bitkinin kalitesi, coğrafi kökeni, iklim koşulları, hasat zamanı ve depolanmasına bağlı değildir aynı zamanda antioksidan aktivitelerini etkileyen çevresel ve teknolojik faktörlere bağlıdır (Moure ve ark., 2001).

Bitkilerde bulunan polifenolik bileşikler ve fitokimyasallar insan diyetinin önemli bileşenleridir. Fitokimyasallar diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar gibi stresle ilgili kronik hastalıkların tedavisinde ve yükseltgenmesinin giderilmesinde etkilidir. Flavonoidler ve fenolik bileşiklerin koruyucu etkisi patojenler üzerinde inhibitör etkisi gösteren toksik bileşikleri üreterek serbest radikallerin giderilmesi etkisiyle doğrudan ilişkilidir (Shettar ve ark., 2015). Özellikle fenoller ve polifenoller, bir bitkide antioksidan veya serbest radikal süpürücü olarak görev yapan ana sekonder metabolitlerdir (Nitha ve ark., 2007). Fenollerin ayrıca antienflamatuvar, anti-tümör ve antioksidan aktiviteler gibi çeşitli biyolojik aktiviteleri olduğu bilinmektedir (Shettar ve ark., 2015).

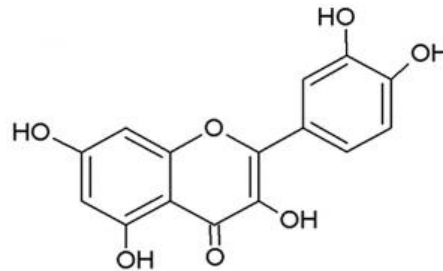
Bazı çalışmalar bitkinin polifenol içeriği ile antioksidan aktivitesi arasında korelasyon bulurken bazıları böyle bir ilişki bulamamışlardır. Yapılan bir çalışmada *Pangium edule*'nin çimlenmesi sırasında fenol içeriği ve antioksidan aktivite arasında paralel bir artış bulmuşlardır (Andarwulan ve ark., 1999). Aynı şekilde başka bir çalışmada da fenolik bileşikler, peptitler/amino asitler ve fosfolipidler gibi bu aktiviteden sorumlu diğer bileşikler ile acı bakla tohumu ununun antioksidan aktivitesinde bir artış gözlemlenmiştir (Tsaliki ve ark., 1999). Diğer taraftan maltlarda, antioksidan aktivite ile fenolik içerik arasında herhangi bir korelasyon bulunmamıştır çünkü diğer bileşikler antioksidan aktiviteden sorumludur (Maillard ve Berset, 1995). Turunçgil kalıntılarında, üzümde, meyve şaraplarında veya bitki özütlerinde de antioksidan aktivite ile fenolik içerik arasında korelasyon bulunamamıştır (Bocco ve ark., 1998; Heinonen ve ark., 1998; Káhkönen ve ark., 1999).

Çalışmamızda, *A. sipikorensis* bitkisinin metanol özütünün toplam fenolik bileşik miktarı $136,93 \pm 3,39$ mg gallik asit g^{-1} kuru kütle, *A. teretifolia* bitkisinin toplam fenolik bileşik miktarı ise $87,60 \pm 2,47$ mg gallik asit g^{-1} kuru kütle olarak belirlenmiş ve *Achillea sipikorensis*'in toplam fenol içeriği bakımından daha zengin olduğu gözlenmiştir. Çizelge 4.1. de görüldüğü üzere, çalışılan bitki özütlerinin fenolik içerikleri ve antioksidan aktiviteleri arasında pozitif bir korelasyon tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. *Achillea* türlerinin metanol özütlerinin total flavonoid içerik (TFC), total fenolik içerik (TPC) ve total antioksidan kapasite (TAC) değerleri

Bitki Örnekleri	TFC (mg kuersetin g^{-1} kuru kütle)	TPC (mg gallik asit g^{-1} kuru kütle)	TAC (mM α -tokoferol asetat g^{-1} kuru kütle)
<i>Achillea sipikorensis</i>	$16,61 \pm 0,72$	$136,93 \pm 3,39$	$363,05 \pm 22,01$
<i>Achillea teretifolia</i>	$23,18 \pm 1,40$	$87,60 \pm 2,47$	$111,39 \pm 6,46$

Bitkilerde bulunan diğer bir antioksidan özellik gösteren bileşikler ise flavonoidlerdir. Flavonoidlerin antioksidan özelliklerinin yapılarında bulunan 3 gruptan kaynaklandığı ileri sürülmektedir. Bunlar; B halkasındaki o-dihidroksi grubu (radikal hedef yeri), C halkasındaki 4-okso grubu ile 2-3 çift bağı (elektron delokalizasyonu için gerekli) ve 3 ve 5 hidroksil grupları (maksimum radikal yakalama ve metal şelatlama için gerekli) dir. Bu üç fonksiyonel grup bir flavonoid olan kuersetinde bulunmaktadır. Üç grubun hepsine sahip olan flavonoidler maksimum antioksidan aktiviteye sahiptir (Kahraman ve ark., 2002).



Şekil 4. Kuersetin

Achillea sipikorensis Hausskn. & Bornm. ve *Achillea teretifolia* Willd. bitkilerinin toplam flavonoid miktarı kuersetin eşdeğeri olarak verildi. Çizelge 4.1' de verildiği gibi *Achillea sipikorensis* bitkisinin flavonoid içeriği kuersetin eşdeğeri olarak $16,61 \pm 0,72$ mg kuersetin g^{-1} kuru kütle iken *Achillea teretifolia* bitkisinin flavonoid içeriği $23,18 \pm 1,40$ mg kuersetin g^{-1} kuru kütle olarak hesaplandı. Bu sonuçlara göre flavonoid içeriği en zengin bitkinin *Achillea teretifolia* olduğu belirlendi.

Achillea sipikorensis Hausskn. & Bornm. ve *Achillea teretifolia* Willd. bitkilerinin metanolik özütlerinin toplam antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi için standart antioksidan bileşik olan α -tokoferol asetat kullanıldı. Çizelge 4.1' de görüldüğü gibi *Achillea sipikorensis*'in toplam antioksidan içeriği $363,05 \pm 22,01$ mM α -tokoferol asetat g^{-1} kuru kütle iken *Achillea teretifolia*'nın ise $111,39 \pm 6,46$ mM α -tokoferol asetat g^{-1} kuru kütle olarak bulundu.

Her özütün toplam antioksidan aktivitesinin, mevcut olan her fenolik bileşiğin bireysel etkinliklerinin toplamı olduğu ve bu bileşiklerin sinerjik özelliklere sahip olabileceği bilinmektedir. Buna bağlı olarak bitki özütlerinin toplam antioksidan kapasiteleri kıyaslandığında toplam fenol içeriğine paralel olarak *Achillea sipikorensis*'in *Achillea teretifolia*'ya göre antioksidan içerik bakımından daha zengin olduğu belirlendi.

DPPH serbest radikal giderme aktivitesinin belirlenmesi deneyinde;

DPPH serbest radikal giderme aktivitesi, doğal bileşiklerin veya bitki özütlerinin in vitro antioksidan aktivitesini test etmek için kolay ve yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir (Kumar ve ark., 2013). DPPH, kararlı bir diamanyetik molekül olabilmek için bir elektron veya hidrojen radikali alır. Bitkilerin DPPH radikal giderme aktiviteleri, bitkilerde bulunan antioksidan bileşiklerin hidrojen verme yeteneğine bağlıdır (Ardestani ve Yazdanparast, 2007).

Bitki özütlerinin DPPH radikal temizleme aktiviteleri IC_{50} değerleri kıyaslanarak değerlendirildi. Pozitif kontrol olarak BHT kullanıldı. *Achillea sipikorensis* metanol özütü DPPH radikallerini temizleyebilen IC_{50} değeri $107,5 \pm 2,72$ $\mu g mL^{-1}$ iken *Achillea teretifolia*'nın IC_{50} değeri $32,00 \pm 3,11$ $\mu g mL^{-1}$ olarak hesaplandı. BHT'nin DPPH radikalini giderebilen IC_{50} değeri $28,65 \pm 1,90$ $\mu g mL^{-1}$ olarak hesaplandı. Bitki özütlerinin DPPH radikali giderebilen IC_{50} değerleri azaldıkça antioksidan

aktivitesi artmaktadır. Buna göre DPPH radikal giderme aktiviteleri sırasıyla BHT > *Achillea teretifolia* > *Achillea sipikorensis* olarak belirlendi.

Türkoğlu ve arkadaşları *Achillea schischkinii* Sosn. ve *Achillea teretifolia* Willd. türlerinin in vitro DPPH giderme aktivitelerini incelemişlerdir. *A. schischkinii*, *A. teretifolia* bitkilerinin metanol özütü ve standart olarak kullanılan α -tokoferolün DPPH giderme aktiviteleri karşılaştırıldığında en aktifikten başlayarak α -tokoferol > *A. teretifolia* metanol özütü > *A. schischkinii* şeklinde olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda olduğu gibi *Achillea teretifolia* Willd.'ın oldukça aktif bir şekilde DPPH radikallerini giderebildiği belirlenmiş ancak BHT ve α -tokoferol gibi standartlar kadar etkin olmadığı gözlenmiştir (Türkoğlu ve ark., 2010).

Başka bir çalışmada Barış ve arkadaşları aynı cins bitkinin farklı türleri olan *Achillea aleppica* D.C. subsp. *Aleppica*, *Achillea aleppica* D.C. subsp. *Zederbaueri* (Hayek) Hub.-Mor ve *Achillea biebersteinii* Afan. türlerinin etanol özütlerinin DPPH giderme aktivitelerini araştırmışlardır. DPPH radikal giderme aktiviteleri için hesaplanan IC₅₀ değerleri sırasıyla 33, 33 ve 32 $\mu\text{g mL}^{-1}$ olarak bulmuşlardır. Bu bitkilerinde kendi çalışmamızda kullandığımız *Achillea teretifolia* ve *Achillea sipikorensis* IC₅₀ değerleri ile karşılaştırıldığında *Achillea teretifolia* ile yaklaşık aynı sonuç verirken *Achillea sipikorensis*'in ise DPPH giderme aktivitesinin daha düşük olduğu gözlenmiştir (Barış ve ark., 2011).

Bu sonuçlardan *Achillea* özütlerinin önemli oranda serbest radikal giderici aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Bunun da içerdikleri fenolik maddelere bağlı olduğu düşünülmektedir. Çünkü DPPH aktivitesi ve fenolik içerik arasında literatürdeki bazı çalışmalarla benzer şekilde pozitif bir korelasyon olduğu belirlenmiştir (Konyalıoğlu ve Karamenderes, 2004, Giorgi ve ark., 2009, Asgarirad ve ark. 2010).

Hidrojen peroksit giderme aktivitesinin belirlenmesi deneyinde;

Canlı organizmalarda hidrojen peroksit, süperoksit dismutaz gibi birçok enzim tarafından oluşturulabilir. Zarları geçebilir ve bileşiklerin yavaş yavaş oksitlenmesine neden olabilir (Praba ve Vasantha, 2011). Hidrojen peroksit çok reaktif değildir, fakat hücrede serbest radikallerin artmasına sebep olduğundan dolayı zamanla hücre için toksik olabilir. Hidrojen peroksit, hücre kültürüne ilave edildiğinde geçiş metal iyonları varlığında oksidatif DNA hasarlarına sebep olan hidroksi iyonlarının

oluşmasına sebep olur. Hidrojen peroksit, birçok hücre tipinde 20-50 mg'ın üzerinde toksisiteye sebep olabilir. Bütün bunlardan dolayı farmasötik ve gıda sistemlerini oksidatif hasardan korumak için bu sistemlerden hidrojen peroksiti uzaklaştırmak oldukça önemlidir (Doğmuş ve Durucasu, 2013).

Achillea sipikorensis Hausskn. & Bornm. ve *Achillea teretifolia* Willd. metanol özütleri ile pozitif kontrol olarak kullanılan BHT ve kurkuminin, hidrojen peroksit temizleme özelliği incelendiğinde *A. sipikorensis* metanol özütü için IC₅₀ değeri 40,25 ± 0,63 µg mL⁻¹ iken *A. teretifolia* için IC₅₀ değeri ise 27,53 ± 0,55 µg mL⁻¹ olarak hesaplandı. Yüksek IC₅₀ değerine sahip olan *A. sipikorensis*'in *A. teretifolia* bitkisinden daha az hidrojen peroksit giderme aktivitesine sahip olduğu gözlenmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan BHT için IC₅₀ değeri 36,85 ± 1,52 µg mL⁻¹ iken kurkumin IC₅₀ değeri ise 19,58 ± 0,77 µg mL⁻¹ olarak hesaplandı. Dolayısı ile Kurkuminin her iki bitki özütünden ve BHT'den daha aktif hidrojen peroksit temizlediği belirlenmiştir.

Hidroksil radikali giderme aktivitesinin belirlenmesi deneyinde;

Biyolojik sistemlerde bulunan en güçlü serbest radikal ve radyasyonun canlılardaki toksik etkisinden sorumlu kimyasal türdür. Biyolojik ve kimyasal sistemlerde üretilen hidroksil radikali canlılarda iyonlaştırıcı radyasyonun etkisiyle su moleküllerinin iyonlaşması ve hidrojen peroksitin eksik indirgenmesi ile oluşabilir (Özdemir, 2010).

Hidroksil radikali, çoklu doymamış yağ asitleri, proteinler, karbohidratlar ve DNA gibi duyarlı gıdalar ve biyolojik açıdan ilgili substratlar ile hızla tepkime verebilen ve bozunabilen, biyolojik açıdan önem taşıyan ve aşırı reaktif oksijen türleridir. Biyomoleküllerle olan güçlü aktivitesinden dolayı hidroksil radikali diğer reaktif oksijen türlerine nazaran biyolojik sistemlere çok daha fazla hasar vermektedir (Kayış, 2010).

Achillea sipikorensis Hausskn. & Bornm. bitkisinin hidroksil radikal temizleme aktivitesini belirlemek için IC₅₀ değeri 131,08 ± 1,12 µg mL⁻¹ olarak hesaplandı. *Achillea teretifolia* Willd. metanol özütünün ise 101,50 ± 1,02 µg mL⁻¹ olarak hesaplandı. Bu sonuçlara bağlı olarak *Achillea teretifolia* Willd. bitkisinin hidroksil radikal temizleme aktivitesinin daha iyi olduğu belirlendi. Pozitif kontrol olarak

kullanılan BHT ve kurkumin için IC_{50} değerleri $47,65 \pm 1,13 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve $17,67 \pm 1,42 \mu\text{g mL}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Hidroksil radikal giderme aktiviteleeri en yuğsekten en duişuk aktiviteye doğru kurkumin > BHT > *Achillea teretifolia* > *Achillea sipikorensis* şeklinde sıralanmaktadır.

Daha önce yapılan bir çalışmada *Achillea millefolium subsp. millefolium* metanol özütünün hidroksil radikali giderme aktivitesi pozitif kontrol olarak BHT'nin kullanılmasıyla ölçülmüştür. Bitki ztnn ve BHT'nin hidroksil radikalini giderebilen IC_{50} değerleeri sırasıyla $407,30 \pm 4,05 \mu\text{g mL}^{-1}$, $32,00 \pm 1,20 \mu\text{g mL}^{-1}$ olarak ölçülmüştür (Candan ve ark., 2003). Bu çalışmada da bizim çalışmamızda olduğu gibi BHT'nin *Achillea*'lara göre hidroksil radikalini temizlemede daha aktif olduğu belirlenmiştir.

Achillea'ların hidroksil radikali giderme aktivitesi araştırmak için yapılan diğer bir çalışmada Irak'tan toplanmış olan *Achillea santolina*'nın toprak üstü kısımlarından elde edilen sulu alkollü özütünün hidroksil giderme aktivitesi araştırılmış ve IC_{50} değeri 768 mg mannitol eşdeğeri olarak hesaplanmıştır (Ardestani ve Yazdanparast, 2007).

Süperoksit radikali giderme aktivitesinin belirlenmesi deneyinde;

Süperoksit, tek elektronlu indirgenmiş moleküler oksijen frmu olup, oldukça zayıf bir oksidandır. Ancak hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve singlet oksijen gibi biyolojik makromoleküller ile tepkimeye girme ve dolayısıyla doku hasarı oluştırma potansiyeline sahip diğer ROS'ın öncüsüdür. (Ardestani ve Yazdanparast, 2007; Liu ve ark., 2008).

Bitki ztleerinin ve pozitif kontrol olarak kullanılan BHT ve kurkuminin süperoksit radikal temizleme özelliğini belirlemek için IC_{50} değerleeri hesaplandı. *Achillea sipikorensis*'in metanol özütünün süperoksit anyonlarını giderebilen IC_{50} değeri $36,69 \pm 3,42 \mu\text{g mL}^{-1}$ iken *Achillea teretifolia*'nın IC_{50} değeri ise $19,58 \pm 0,32 \mu\text{g mL}^{-1}$ olarak hesaplandı. Süperoksit anyon giderilmesinde duişuk IC_{50} değerine sahip olan *A. teretifolia* ztnn, *A. sipikorensis*'den daha aktif olduğu belirlenmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan BHT için IC_{50} değeri $84,60 \pm 1,58 \mu\text{g mL}^{-1}$ olarak belirlendi. Sentetik antioksidan olan BHT her iki bitki özütüne göre daha zayıf radikal giderici etkiye sahiptir. Doğal antioksidan olan kurkuminin IC_{50} değeri 11,28

$\pm 0,95 \mu\text{g mL}^{-1}$ olup her iki bitki özütü ve BHT'ye göre en yüksek radikal giderme aktivitesine sahiptir.

Çalışmamızda olduğu gibi *Achillea*'ların süperoksit radikali giderme aktivitesine sahip olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Irak'tan toplanmış olan *A. santolina* bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen sulu alkollü ekstrenin süperoksit radikali giderme aktivitesi araştırılmış ve IC_{50} değeri 305 mg askorbik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır (Ardestani ve Yazdanparast, 2007).

A. schischkinii ve *A. teretifolia* metanol özütü ile yapılan çalışmada özütlerin, α - tokoferolden yüksek süperoksit radikal temizleme aktivitesine sahip olduğu bulunmuş ve örneklerin süperoksit radikal temizleme aktivitesi $\text{BHA} > \text{BHT} > \text{A. teretifolia} > \text{A. schischkini} > \alpha$ - tokoferol olarak belirlenmiştir (Türkoğlu ve ark., 2010).

Diğer bir çalışmada da *Achillea millefolium subsp. millefolium* metanol özütünün süperoksit radikal giderme aktivitesi araştırılmış ve % 50 inhibisyon veren derişim değeri $304 \pm 5,10 \mu\text{g mL}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan askorbik asite göre oldukça aktif olduğu belirlenmiştir (Candan ve ark., 2003).

Sonuç olarak *A. sipikorensis* ve *A. teretifolia* metanol özütlerinin reaktif oksijen türlerini ve DPPH radikalini temizleme özellikleri karşılaştırıldığında Çizelge 4.2. görüldüğü gibi *A. teretifolia*'nın *A. sipikorensis*'e göre daha iyi olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.2. *Achillea* türlerinin metanol özütlerinin reaktif oksijen türlerini ve DPPH radikalini giderebilen IC_{50} ($\mu\text{g mL}^{-1}$) değerleri

Bitki Örnekleri	Hidrojen peroksit	Hidroksil radikali	Süperoksit radikali	DPPH Radikali
<i>Achillea sipikorensis</i>	40,25 \pm 0,63	131,08 \pm 1,12	36,69 \pm 3,42	107,50 \pm 2,72
<i>Achillea teretifolia</i>	27,53 \pm 0,55	101,50 \pm 1,02	19,58 \pm 0,32	32,00 \pm 3,11
BHT	36,85 \pm 1,52	47,65 \pm 1,13	84,60 \pm 1,58	28,65 \pm 1,90
Kurkumin	19,58 \pm 0,77	17,67 \pm 1,42	11,28 \pm 0,95	-

Antienflamatuar etkinin belirlenmesi amacıyla yapılan deneylerde;

Fenoliklerin ve flavonoidlerin mükemmel antienflamatuar ajan olarak rol oynadığı gösterilmiştir. Flavonoidlerin antienflamatuar etkinliklere sahip olduğu ve bir dizi bağışıklık sistemi inflamatuvar mediyatörünü inhibe ederek hareket ettiği bildirilmektedir (Kibiti ve Afolayan, 2015). Birçok çalışma inflamatuvar hastalıklar ve flavonoid üretimi arasında ters orantı olduğunu göstermiştir (Júnior ve ark., 2015; Nijveldt, R.J. ve ark., 2001). Alkaloidler, araşidonik asit metabolizmasının siklooksigenaz ve lipoksigenaz metabolik yollarını bloke ederek de iltihabı inhibe edebilir (Kibiti ve Afolayan, 2015).

Achillea sipikorensis ve *Achillea teretifolia*'nın anti inflamasyon özelliğini araştırmak için "Protein Denatürasyon Metodu" uygulanmıştır.

Protein denatürasyonu, proteinlerin üçüncül yapısını ve sekonder yapısını, kuvvetli asit veya baz, derişik inorganik tuz, organik bir çözücü veya ısı gibi dış stres veya bileşik uygulaması ile kaybettiği bir süreçtir. Çoğu biyolojik protein, denatüre edildiğinde biyolojik işlevlerini kaybeder. Protein denatürasyonu, inflamasyonun iyi bilinen nedenlerinden biridir. Bazı inflamatuvar hastalıklarda otoantijenlerin üretimi protein denatürasyonuna bağlı olabilir ve denatürasyon mekanizması ile proteinler muhtemelen elektrostatik, hidrojen, hidrofobik ve disülfid bağında değişikliğe uğrar (Kumar ve ark., 2013).

Protein denatürasyonunun inhibe edilmesi antienflamatuar aktivitenin belirlenmesinde kullanılan önemli kriterlerden biridir. Antienflamatuar ilaçlarla yapılan çalışma protein denatürasyon inhibisyonunun ilaç dozuna bağımlı olarak değiştiğini göstermektedir (Karthik ve ark., 2013). Antienflamasyon aktivitesinin mekanizması üzerine yapılan araştırmanın bir parçası olarak bitki özütünün protein denatürasyonunu engelleme yeteneği araştırılmıştır.

Aegle marmelos ve *Ocimum sanctum* bitkilerinin su özütlerinin IC₅₀ değerleri sırasıyla 95,64 µg mL⁻¹ ve 42,17 µg mL⁻¹ olarak belirlenmiştir. Toplam fenolik madde bakımından zengin olan *Aegle marmelos* bitkisinin antienflamatuar aktivitesinin düşük olduğu gözlemlenmiştir (Reshma ve ark., 2014).

Asystasia dalzelliana metanol özütünün protein denatürasyonunu inhibe eden 250 µg/0,5 mL derişim değerinde % 69 inhibisyon göstermiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan diklofenak sodyum aynı derişimde % 94 inhibisyona sebep olduğundan

bitki özütünün diklofenak sodyuma göre daha düşük inhibisyona sahip olduğu bulunmuştur (Kumar ve Kumar, 2011).

Çalışmamızın sonuçlarına göre *A. sipikorensis* ve *A. teretifolia* özütlerinin farklı derişimlerde albümin denatürasyonunu inhibe etmede etkili olduğu belirlendi. *A.sipikorensis* ve *A.teretifolia*'nın metanol özütlerinin 100-800 µg mL⁻¹ derişim aralığında % inhibisyon değerleri incelenmiştir. *A.sipikorensis* için maksimum inhibisyon değeri 800 µg mL⁻¹ derişiminde % 84,13 ± 2,50, *A.teretifolia* için ise aynı derişim değerinde maksimum inhibisyon değeri % 91.78 ± 1,31 olarak hesaplandı. Pozitif kontrol olarak kullanılan standart antienflamatuar ilaç olan diklofenak sodyum ise daha aktif olup 100 µg mL⁻¹ derişiminde % 92,81 ± 4,50 inhibisyon göstermiştir.

Sonuçta, *A. sipikorensis* ve *A. teretifolia* özütlerinin, oto antijen üretimini kontrol edebildiği ve buna bağlı olarak proteinlerin denatürasyonunu inhibe edebildiği söylenebilir.

Achillea sipikorensis ve *Achillea teretifolia*'nın anti inflamasyon özelliğini araştırmak için diğer bir metod olan HRBC membran stabilizasyonu incelendi.

Lizozomal membranın stabilize edilmesi, bakterisidal enzimler ve proteazlar gibi aktive edilmiş nötrofilin lizozomal bileşenlerinin salınmasını önleyerek inflamatuvar cevabı sınırlamakta önemlidir. Çünkü hücre dışı salınım artarsa doku iltihabı ve hasar meydana getirir. Lizozomal membranın stabilizasyonu reaktif türlere bağlı iltihaplanma tepkisinin sınırlandırılması için önemlidir. Eritrosit membranı yapısal olarak lizozomal membrana benzemektedir. Bu nedenle eritrosit zarının kullanılması tıbbi bitki özütlerinin koruyucu etkisini incelemek için önemlidir (Kumar ve ark., 2013).

Yapılan araştırmalar, çeşitli bitkisel preparatların, kırmızı kan hücresi zarını stabilize edebildiği ve antienflamatuar etkinliği gösterebildiklerini ortaya koymuştur. *Aegle marmelos* ve *Ocimum sanctum* bitkilerinin su özütlerinin IC₅₀ değerleri sırasıyla 405,6 µg mL⁻¹ ve 58,64 µg mL⁻¹ olarak belirlenmiştir (Reshma ve ark., 2014).

Başka bir çalışmada ise *Asystasia dalzelliana* metanol özütünün 250 µg 0,5 mL⁻¹ derişim değerinde % 75 inhibisyon gösterdiği, pozitif kontrol olarak kullanılan diklofenak sodyumun ise aynı derişimde % 83,41 inhibisyon gösterdiği

belirlenmiştir. Çalışılan bitkinin antienflamatuar aktivitesinin diklofenak sodyumla kıyaslandığında oldukça etkin olduğu söylenebilir (Kumar ve Kumar, 2011).

Semecarpus anacardium'un metanolik özütü 1000 µg mL⁻¹'de maksimum etkinliği % 69,89, IC₅₀ değeri 250 µg mL⁻¹ iken, diklofenak sodyumun 1000 µg mL⁻¹ 'deki koruyucu aktivitesinin % 72,92 olduğu ve IC₅₀ değerinin ise 220 µg mL⁻¹ olduğu belirlenmiştir (Kumar ve ark., 2013).

Çalışmamızda *A.sipikorensis* ve *A. teretifolia*'nın metanolik özütlerinin HRBC'nin sıcaklığa bağlı olarak hemolizini farklı derişimlerde inhibe etmede etkili olduğu gözlemlendi. *A. sipikorensis* ve *A. teretifolia* metanol özütlerinin maksimum inhibisyon değerleri 1000 µg mL⁻¹ derişim değerinde sırasıyla % 56,43 ± 1,37 ve % 87,41 ± 1,51 olarak hesaplandı. Pozitif kontrol olarak kullanılan nonsteroidal antienflamatuar ilaç olan diklofenak sodyumun ise aynı derişim değerinde % 99,53 ± 2,23 inhibisyon gösterdiği belirlendi.

Sonuçlar, *A. teretifolia* ve *A. sipikorensis*'ın metanol özütlerinin eritrosit zarını hipotonik kaynaklı lize karşı koruduğunu, ancak *A. teretifolia*'nın *A. sipikorensis*'e göre daha aktif olduğunu göstermiştir. Bu araştırmada özütlerin yüksek membran stabilize edici aktivitesi, yüksek flavonoid ve fenolik içeriklerinden kaynaklanıyor olabilir. Çünkü fenolik bileşiklerin, flavonoidler, taninler ve saponinlerin katyonları ve diğer biyomolekülleri bağlama ve eritrosit zarını stabilize etme yeteneğine sahip oldukları diğer çalışmalarda da belirtilmiştir (Murugan ve Parimelazhagan, 2014; Rani ve ark., 2014).

Miyeloperoksidaz aktivitesinin belirlenmesi deneyinde;

Miyeloperoksidaz, polimorfonükleer lökositlerde bol miktarda bulunur. Aktive olmuş polimorfonükleer lökositler ise MPO gibi çeşitli enzimleri ve serbest oksijen radikallerini salıverirler ve buna bağlı olarak hasarı daha da şiddetlendirirler (Dawson ve ark., 1993). Aynı zamanda salıverilen MPO, klorür iyonlarının varlığında hidrojen peroksiti hipoklorik aside indirger. Hipoklorik asit, birçok biyolojik moleküle kolayca tepkimeye girebilen ve şiddetli doku hasarına yol açabilen bir oksidandır (Korthuis ve Granger, 1993). MPO, peroksidasyondan sorumlu bir lökosit enzimidir ve nötrofil aktivasyonu sonucu salgılanması nedeniyle inflamasyonla ilişkilidir. Bu nedenle, nötrofillerin ve MPO'nun azalan oksidan

aktivitesi, iltihap ile ilişkili hastalıkların tedavisi için yararlı olabilir (Tabart ve ark., 2012).

MPO'nun inhibisyonu birçok çalışmanın konusu olup, flavonoidler, melatonin, aromatik hidroksamik asitler, bazı antiinflamatuvar ilaçlar, triptaminler ve bitki özleri gibi birçok bileşiğin MPO'yu inhibe ettiği gösterilmiştir (Boufadi ve ark, 2014).

Flavonoidlerin antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri, inflamatuvar sürecin modülasyonuna katkıda bulunabilir. Reaktif oksijen türlerinin aşırılığının inflamasyon yoluyla yakından ilişkili olması, çeşitli proinflamatuvar sitokinler ve kemokinlerin salınmasına yol açması, birçok inflamatuvar hastalığın vasküler hasarına katkıda bulunan vazokonstriksiyona yol açması iyi bilinmektedir.

Çalışmamız da da her bitki özütünün de miyeloperoksidaz inhibisyonunda etkili olduğu bulunmuştur. *Achillea teretifolia* için miyeloperoksidaz inhibisyonunun IC₅₀ değeri 42,18 ± 0,05 µg mL⁻¹ iken bu değer *Achillea sipikorensis* için 98,90 ± 0,11 µg mL⁻¹ olarak gözlenmiştir. Bu değerlerden *Achillea teretifolia* özütlerinin, MPO inhibisyonun da *Achillea sipikorensis*'e göre daha etkin olduğu anlaşılmaktadır. Ancak referans olarak seçilen ve bir flavonoid olan kuersetin için IC₅₀ değeri 5,02 ± 0,01 µg mL⁻¹ olarak hesaplanmış ve bitki özütleriyle karşılaştırıldığında MPO in inhibisyonunda çok daha etkili olduğu bulunmuştur. Bitki özütlerinin flavonoid ve fenolik bileşik içeriği bakımından zengin olmasının ve antioksidan kapasitesinin yüksekliğinin in vitro antiinflamatuvar aktiviteden sorumlu olabileceği gösterilmiştir.

Her iki bitki özütünün antiinflamatuvar aktivitelerini incelemek amacıyla yapılan protein denatürasyonunun inhibisyonu ve HRBC membran stabilizasyonu deneylerinin sonuçlarında da görüldüğü gibi antiinflamatuvar aktivite bakımından en etkin bitki özütünün *Achillea teretifolia* olduğu, MPO inhibisyonu yöntem ile de gösterilmiştir. *Achillea sipikorensis* ve *Achillea teretifolia* türlerinin metanol özütlerinin antiinflamatuvar aktivitelerini gösteren bu sonuçları Çizelge 4.3. de verilmiştir.

Çizelge 4.3. *Achillea sipikorensis* ve *Achillea teretifolia* türlerinin metanol özütlerinin antiinflatuar aktiviteleri

Örnek	Derişim ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	% İnhibisyon		MPO İnhibisyonu IC_{50} ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
		HRBC Membran Stabilizasyonu	Albumin Denatürasyonu	
<i>Achillea sipikorensis</i>	800	51,07 \pm 1,24	84,13 \pm 2,50	98.90 \pm 0,11
<i>Achillea teretifolia</i>	800	69,72 \pm 0,23	91.78 \pm 1,31	42.18 \pm 0,05
Diklofenak Sodyum	200	99.53 \pm 2.23	98.92 \pm 3.48	-
Kuersetin	-	-	-	5.02 \pm 0,01

Her iki bitki özütünün antiinflatuar aktivite değerlerinin, Çizelge 4.2. de verildiği gibi bu bitki özütlerinin hidrojen peroksit ve hidroksil, süperoksit ile DPPH radikallerini giderme aktiviteleriyle paralel olduğu gözlenmiştir.

Bu sonuçlara göre, *Achillea sipikorensis* ve *Achillea teretifolia* özütlerinin, radikal temizleme ve MPO inhibisyonu üzerinde aktiviteye sahip olduğunu ancak en yüksek aktiviteyi *A.teretifolia*'nın gösterdiği gözlenmiştir. Bitki özütlerinin flavonoid ve fenolik bileşik içeriği bakımından zengin olmasının yani antioksidan kapasitesinin yüksekliğine bağlı olarak in vitro antiinflatuar aktiviteden de sorumlu olabileceği gösterilmiştir.

Çalışmamız, araştırma sonucunda elde edilen bulgular ile bitkinin toprak üstü özütlerinin sentetik maddelere alternatif doğal antioksidan ve antiinflatuar kaynaklar olarak kullanılabileceğini ve gerek sağlık, gerekse endüstriyel alanlara katkı sağlayabilecek tıbbi bitkiler arasına girebileceğini göstermiştir. Ancak bitkinin kimyasal bileşiklerinin izolasyonu ve saflaştırılmasını içeren daha ileri çalışmalara gerek vardır. Böylece biyokimyasal yollardaki araştırmalarla daha iyi terapötik indeks ve düşük toksisiteye sahip güçlü bir antiinflatuar ajanın geliştirilmesine yardımcı olabilir.



KAYNAKLAR

- Akinwunmi, K.F., Oyedapo, O.O.** (2015). In vitro Anti-inflammatory Evaluation of African Nutmeg (*Monodora myristica*) Seeds. *European Journal of Medicinal Plants*, Volume 8, Issue 3, 167-174.
- Akkoç, H.** (2008). Miyokardiyal İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Dicle Tıp Dergisi*, Cilt 35, Sayı: 3, 211-215.
- Akkuş, İ.** (1995). Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, *Mimoza yayınları*, Konya.
- Akyüz, Ö.** (2014). Antioksidan Kullanımının ve Farklı Sürelerde Yüzme Egzersizinin Kas Dokusu Üzerine Etkisinin İncelenmesi. *Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Doctoral Dissertation.
- Andarwulan, N., Fardiaz, D., Wattimena, G. A., Shetty, K.** (1999). Antioxidant activity associated with lipid and phenolic mobilization during seed germination of *Pangium edule* Reinw. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 47, 3158-63.
- Antwerpen, P.V., Pre'vost, M., Boudjeltia, Z.K., Babar, S., Legssyer, I., Moreau, P., Moguevsky, N., Vanhaeverbeek, M., Ducobu, J., Nève, J., Dufrasne, F.** (2008). Conception of myeloperoxidase inhibitors derived from flufenamic acid by computational docking and structure modification. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16, 1702-1720.
- Ardestani, A., Yazdanparast, R.** (2007). Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chemistry*, Volume 104, Issue 1, 21-29.
- Asgarirad, H., Pourmorad, F., Hosseinimehr, S.J., Saeidnia S., Ebrahimzadeh, M.A., Lotfi, F.** (2010). In vitro antioxidant analysis of *Achillea tenuifolia*. *Afr. J. Biotechnol.*, Volume 9, 3536-3541.
- Aslan, S., Evren, H., Konuklugil, B., Turkoglu, I., Kartal, M.** (2009). Essential oil composition of *Achillea teretifolia* from Turkey. *Chemistry of Natural Compounds*, Volume 45, No. 2.
- Aytaç, Z., Duman, H., Ekici, M.** (2016). Two new *Achillea* L. (Asteraceae) species from Turkey. *Turkish Journal of Botany*, Volume 40, 373-379.
- Bagcı, E., Koçak, A., Yüce, E.** (2008). *Achillea wilhelmsii* C. Koch ve *Achillea schischkinii* Sosn. Türlerinin Uçucu Yağ Kompozisyonu. *Science and Eng. J of Fırat Univ.*, Volume 20, Issue 2, 251-255.
- Bali, E. B.** (2012). *Achillea teretifolia* Willd. özütlerinin antimikrobiyal, antioksidan ve sitotoksik etkilerinin incelenmesi. *Gazi Üniv., Fen Bilimleri Enstitüsü*, (Doktora Tezi), Ankara.
- Barış, D., Kızıl, M., Aytakin, Ç., Kızıl, G., Yavuz, M., Çeken, B., Ertekin, A.S.** (2011). In vitro antimicrobial and antioxidant activity of ethanol extract of three *Hypericum* and three *Achillea* species from Turkey. *Int. J. Food Prop.*, Volume 14, 339-355.
- Barış, Ö., Güllüce, M., Şahin, F., Özer, H., Kılıç, H., Özkan, H., Sökmen, M., Özbek, T.** (2006). "Biological activities of the essential oil and methanol extract of *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae)". *Turk J. Biol.*, Volume 30, 65-73.
- Barnes, P.J.** (1998). Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: Molecular mechanisms. *Clin. Sci. (Lond.)*, Volume 94, Issue 6, 557-72.

- Bast, A., Haenen, G.R.M.M., Doelman, C.J.A.** (1991). Oxidants and Antioxidants: State of the Art. *Am. J. Med.*, 91, Suppl., 3C, 2-13.
- Baytop, T.** (1999). Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün). İstanbul, *Nobel Tıp Kitabevleri*.
- Bensalem, S., Soubhye, J., Aldib, I., Bournine, L., Nguyen, A.T., Vanhaeverbeek, M., Rousseau, A., Boudjeltia, K.Z., Sarakbi, A., Kauffmann, J.M., Nève, J., Prévost, M., Stévigny, C., Maiza-Benabdesselam, F., Bedjou, F., Antwerpen, P.V., Duez, P.** (2014). Inhibition of myeloperoxidase activity by the alkaloids of *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, Volume 154, 361-369.
- Betteridge, D.J.** (2000). What is Oxidative Stress?. *Metabolism*, 49, 3-8.
- Bocco, A., Cuvelier, M. E., Richard, H., Berset, C.** (1998). Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Volume 46, 2123-2129.
- Boufadi, Y.M., Soubhye J., Riazi A., Rousseau A., Vanhaeverbeek M., Nève J., Boudjeltia, K.Z., Antwerpen, P.V.** (2014). Characterization and Antioxidant Properties of Six Algerian Propolis Extracts: Ethyl Acetate Extracts Inhibit Myeloperoxidase Activity. *Int. J. Mol. Sci.* Feb, Volume 15, Issue 2, 2327-2345.
- Bougandoura A., D'abrosca B., Ameddah S., Scognamiglio M., Mekkiou, R., Fiorentino, A., Benayache, S., Benayache, F.** (2016). Chemical constituents and in vitro anti-inflammatory activity of *Cistanche violacea* Desf. (Orobanchaceae) extract. *Fitoterapia*, Volume 109, 248-253.
- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Bogavac, M., Suvajdzic, L., Simin, N., Samojlik, I., Couladis, M.** (2008). Chemical composition, antioxidant and antibacterial properties of *Achillea collina* Becker ex Heimerl s.l. and *A. pannonica* Scheele essential oils. *Molecules*, Volume 13, 2058-68.
- Braca, A., Sortino, C., Politi, M., Morelli, I., Mendez, J.** (2002). Antioxidant activity of flavonoids from *Licania licaniaeflora*. *J. Ethnopharmacol.*, Volume 79, 379-381.
- Bradley, D.A. Priebat, R.D. Christensen, G. Rothstein.** (1982). Measurement of cutaneous inflammation: Estimation of neutrophil content with an enzyme marker. *J. Invest. Dermatol.*, Volume 78, 206-209.
- Breinholt, V.M., Mølck, A.-M., Svendsen, G.W., Daneshvar, B., Vinggaard, A.M., Poulsen, M., Dragsted, L.O.** (2003). Effects of dietary antioxidants and 2- amino-3-methylimidazo [4, 5-f]-quinoline (IQ) on preneoplastic lesions and on oxidative damage, hormonal status, and detoxification capacity in the rat. *Food and chemical toxicology*, Volume 41, Issue 10, 1315-1323.
- Brewer, M. S.** (2011). Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Volume 10, Issue 4, 221-247.
- Candan, F., Ünlü, M., Tepe, B., Deferera, D., Polissiou, M., Sökmen, A., Akpulat, H. A.** (2003). Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). *J. Etnopharmacol.*, Volume 87, 215-220.
- Cao, C.F., Smith, Q.T.** (1989). Crevicular fluid myeloperoxidase at healthy, gingivitis and periodontitis sites. *J. Clin. Periodontol.*, Volume 16, Issue 1, 17-20.
- Chataut, S., Sharma S., Sah S. K., Shrestha P., Nepali, S., Mallik, S.K., Poudel, B., Bhusal, R.P.** (2015). Evaluation and comparative in vitro and in vivo

- analysis of anti-inflammatory potential of *Ocimum sanctum* extracts from tropical and Alpine regions of Nepal. *International Journal of Preventive Medicine Research*, Volume 1, No 4, 201-206.
- Cheeseman, K.H., Slater, T.F.** (1993). An Introduction to Free Radical Biochemistry. *Br. Med. Bull., Jul.*, Volume 49, Issue 3, 481-93.
- Conforti, F., Loizzo, M. R., Statti, G. A., Ve Menichini, F.** (2005). Comparative radical scavenging and antidiabetic activities of methanolic extract and fractions from *Achillea ligustica* All. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, Volume 28, Issue 9, 1791-94.
- Çavdar, C., Sifil, A., Çamsarı, T.** (1997). Reactive Oxygen Particles and Antioxidant Defence. *Journal of the Turkish Nephrology*, 3-4, 92-95.
- Çelebioğlu, B., Özer, E.** (2004). Kardiyopulmoner by-pass ve sistemik antienflamatuar yanıt. *Hacettepe Tıp Dergisi*, Volume 35, 18-26.
- Davies, M.J.** (2011). Myeloperoxidase-derived oxidation: Mechanisms of biological damage and its prevention. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, Volume 48, No 1, 8-19.
- Davis, P.H.** (1975). "Flora of Turkey and the East Aegean Islands". *Edinb. Un. Press*, Edinburgh, 224-252.
- Dawson, T.L., Gores G.J., Nieminen A.L., Herman B., Lesmasters J.J.** (1993). Mitochondria as a Source of Reactive Oxygen Species During Reductive Stress in Rat Hepatocytes. *American Journal Of Physiology*, Volume 264, 961-967.
- Demirci, F., Demirci B., Gürbüz İ., Yeşilada E, Başer H.C.** (2009). Characterization and Biological Activity of *Achillea teretifolia* Willd. and *A. nobilis* L. subsp. *neilreichii* (Kerner) Formanek Essential Oils. *Türk J. Biol.*, Volume 33, 129-136.
- Demirci, F., Kıyan, H. T., Demirci, B., Baser, K.H.C.** (2011). The in vivo angiogenic evaluation of *Achillea biebersteinii* Afan. and *Achillea teretifolia* Willd. essential oils. *Planta Medica.*, Volume 77, Issue 12, 1391-1391.
- Deng, J., Cheng, W., Yang, G.** (2011). A novel antioxidant activity index (AAV) for natural products using the DPPH assay. *Food Chemistry*, Volume 125, 1430-1435.
- Dimitrios, B.** (2006). Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science & Technology*, Volume 17, 505-512.
- Doğmuş, D., Durucasu, İ.** (2013). Keten tohumu çeşitlerinin N-Bütanol fraksiyonlarının fenolik bileşenlerinin antioksidan aktivitesi. *C.B.Ü. Fen Bilimleri Dergisi*, Volume 9, Issue 1, 47-56.
- Duman, H., "Achillea L"** . in Güner A., Özhatay N., Ekim T., Başer K.H.C. (Editors), 2000, Flora of Turkey and the East Aegean Islands, *University Press*, Edinburgh, Volume 11, Supplement 2, 158- 159.
- Eiserich, J.P., Baldus, S., Brennan, M.L., Ma, W., Zhang, C., Tousson, A., Castro, L., Lasis, A.J., Nauseef, W.M., White, C.R., Freeman, B.A.** (2002). Myeloperoxidase, a leukocyte-derived vascular NO oxidase. *Science*, Volume 296, Issue 5577, 2391-2394.
- Ekici, L. Ve Sağdıç O.** (2008). Free Radicals and Their Inhibitions with Antioxidant Foods. *Erciyes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Gıda*, Volume 33, Issue 5, 251-260.
- Ertekin, S.** (2002). "Karacadağ Bitki Çeşitliliği". *Sürdürülebilir Kırsal ve Kentsel Kalkınma Derneği Raporu*, Diyarbakır, 58.
- Eryiğit, F.** (2006). *Mentha pulegium* L. ve *Salvia tomentosa* Miller Bitkilerinin Metanol Özütlelerinin İn Vitro Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi.

- Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, (Yüksek Lisans Tezi), Isparta.*
- Fantel, A.G.** (1996). Reactive Oxygen Species in Developmental Toxicity: Review and Hypothesis. *Teratology*, Volume 53, 96–217.
- Floyd, R.A.** (1993). Basic Free Radical Chemistry, Free Radical In Aging. *Edited By B.P.Yu Boca Raton, F.L:Crc P. 39-55.*
- Fridovich, I.** (1978). The Biology of Oxygen Radicals. *Science wash*, 201, 875 880.
- Furbee, R.B., Barlotta, K.S, Allen, M.K, Holstege, C.P.** (2006). Hepatotoxicity associated with herbal products. *Clin. Lab. Med.*, Volume 26, Issue 1, 227-41.
- Giorgi, A., Bombelli, R., Luini, A., Speranza, G., Cosentino, M., Lecchini, S., Cocucci, M.** (2009). Antioxidant and cytoprotective properties of infusions from leaves and inflorescences of *Achillea collina* Becker ex Rchb. *Phytother. Res.*, Volume 23, 540-545.
- Gomez M. A., Saenz, M. T., Garcia, M. D., Fernandez, M. A.** (1999). Study of the topical anti-inflammatory activity of *Achillea ageratum* on chronic and acute inflammation models. *Zeitschrift für Naturforschung C-A Journal of Biosciences*, Volume 54, 937-941.
- Govorova, N., Sharonov, B.P., Lyzlova, S.N.** (1989). Erythrocyte oxidative damage by myeloperoxidase, The protective action of serum proteins. *Biull. Eksp. Biol. Med.*, Volume 107, Issue 4, 428-430.
- Göksel, Ş., Yeğen, Ç.B.** (2009). İskemi reperfüzyon hasarı. *Klinik Gelişim Dergisi*, Volume 22, Issue 3, 5-13.
- Greaves, M. W.** (1976). Anti-inflammatory action of corticosteroids. *Postgraduate Medical Journal*, Volume 52, Issue 612, 631-633.
- Gupta, D.** (2015). Methods for Determination of Antioxidant Capacity: A Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, Vol. 6, Issue 2, 546-566.
- Güleşçi N., Aygül İ.** (2016). Beslenme Yer Alan Antioksidan Ve Fenolik Madde İçerikli Çerezler. *Gümüşhane University Journal of Health Sciences*, Volume 5, Issue 1.
- Hammad, H.M., Albu, C., Matar, S.A., Litescu, S.C., Jaber, H.I.A., Abualraghib, A.S., Affi, F.U.** (2013). Biological activities of the hydro-alcoholic and aqueous extracts of *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae) grown in Jordan. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, Volume 7, 1686-1694.
- Hallwell, B.** (1999). Antioxidant Defence Mechanisms: From the beginning to the end (of the beginning). *Free Radic. Res.*, Volume 31, 261-272.
- Hallwell, B., Gutteridge, J.M.C.** (1990). Role of Free Radicals and Catalytic Metal Ions in Human Disease. *Methods Enzymol.*, Volume 280, 1-85.
- Hallwell, B., Gutteridge, J.M.C.** (1999). Free Radicals in Biology and Medicine. Third Edition. *Oxford University Pres. Inc.*, New York, 936s.
- Heinonen, M., Lehtonen, P.J., Hopia, A.L.** (1998). Antioxidant activity of berry and fruit wines and liquors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Volume 46, 25-31.
- Hofseth, L.J., Wargovich M.J.** (2007). Inflammation, cancer, and targets of ginseng. *The Journal of Nutrition*, Volume 137, 183S-185S.
- Huber-Morath, A. "Achillea L". In Davis P.H., (Ed.)** (1975). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. *University Press, Edinburgh*, Volume 5, 224-252.

- Inglet, G. E., Chen, D., Berhow, M., Lee, S.** (2011). Antioxidant activity of commercial buck wheat flours and their free and bound phenolic compositions. *Food Chemistry*, 125, 923-929.
- IUCN.** (2001). International Union for Conservation of Nature and Natural Resources, IUCN Species survival commission, International Union for Conservation of Nature and Natural Resources, *IUCN red list categories*, Gland, Switzerland.
- İşcan, G., Kirimer, N., Kürkçüoğlu, M., Arabacı, T., Küpeli, E., Baser K.H.C.** (2006). Biological activity and composition of the essential oils of *Achillea schischkinii* Sosn. and *Achillea aleppica* DC. subsp. *aleppica*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Volume 54, 170-173.
- J. Arnhold.** (2004). Properties, Functions, and Secretion of Human Myeloperoxidase. *Biochemistry (Moscow)*, Volume 69, No 1, pp. 4-9.
- Júnior, S. Q., Carneiro, V.H.A., Fontenelle, T.P.C., Chaves, L.D.S., Mesquita, J.X., Brito, T.V.D., Prudêncio, R.S., Oliveira, J.S.D., Medeiros, J.V.R., Aragão, K.S., Ribeiro, R.D.A., Barbosa, A.L.D.R., Freitas, A.L.P.** (2015). Antioxidant and anti-inflammatory activities of methanol extract and its fractions from the brown seaweed *Spatoglossum schroederi*. *J. Appl. Phycol.*, Volume 27, 2367–2376.
- Káhkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J-P., Pihlaja, K., Kujala, T.S., Heinonen, M.** (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Volume 47, 3954-3962.
- Kahl, R., Kappus, H.** (1993). Toxicology of the synthetic antioxidants BHA and BHT in comparison with the natural antioxidant vitamin E. *Z Lebensm Unters Forsch.*, Volume 196 Issue 4, 329-38.
- Kahraman, A., Serteser, M., Köken T.** (2002). Flavonoids. *The Medical Journal of Kocatepe*, Volume 3, 1-8.
- Kar, B., Kumar, R.B.S., Karmakar, I., Dolai, N., Bala, A., Mazumder, A.K., Haldar P.K.** (2012). Antioxidant and in vitro anti-inflammatory activities of *Mimusops elengi* leaves. *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine*, 5976-5980.
- Karabulut, H., Gülay, M.Ş.** (2016). Serbest Radikaller. *MAKÜ Sağ. Bil. Enst. Derg.*, Volume 4, Issue 1, 50-59, Hatay.
- Karafakioğlu, Y.S.** (2007). Nonilfenol Toksikasyonuna Maruz Bırakılan Ratlarda Taurinin Malondialdehit, Glutasyon, Süperoksit dismutaz ve Nitrik oksit Üzerine Etkilerinin Araştırılması. *Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Biyokimya Ana Bilim Dalı*, (Doktora Tezi), Afyon.
- Karthik, K., Kumar, B.R., Priya, R.V., Kumar, K.S., Rathore, R.S.B.** (2013). Evaluation Of Anti-Inflammatory Activity Of *Canthium Parviflorum* By In-Vitro Method. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, Volume 1, Issue 5, 729-731.
- Kato, Y., Nagao, A., Terao, J., Osawa, T.** (2003). Inhibition of myeloperoxidase-catalyzed tyrosylation by phenolic antioxidants in vitro. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, Volume 67, Issue 5, 1136–1139.
- Kayış, T.** (2010). Diazinon'un Subletal Konsantrasyonlarının *Pimpla turionellae* L.'nin Eşey Oranı ve Bazı Biyokimyasal Parametreleri Üzerine Etkileri. *Çukurova Üniversitesi, Biyoloji Ana Bilim Dalı*, (Doktora Tezi), Adana.
- Kibiti, C.M., Afolayan, A.J.** (2015). Preliminary phytochemical screening and biological activities of *Bulbine abyssinica* used in the folk medicine in the

- eastern cope province. *South Africa, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, pages 12.
- Koch, O.R., Pani, G., Borrello, S., Colavitti, R., Cravero, A., Fare, S., Galeotti, T.** (2004). Oxidative stress and antioxidant defenses in ethanol-induced cell injury. *Mol. Asp. Med.*, Volume 25, 191-198.
- Kolaç, U.K.** (2014). *Salvia officinalis* ekstresinin deneysel inflamasyon ve antioksidan sistem üzerine etkisi. *Eskişehir Osmangazi Üniv., Tıbbi biyoloji anabilim dalı*, (Yüksek Lisans Tezi), Eskişehir.
- Konyalıoğlu, S., Karamenderes, C.** (2005). The protective effects of *Achillea* L. species native in Turkey against H₂O₂ induced oxidative damage in human erythrocytes and leucocytes. *Journal of Ethnopharmacology*, Volume 102, Issue 2, 221-227.
- Korthuis, R.J., Granger, D.N.** (1993). Reactive Oxygen Metabolites, Neutrophils, and the Pathogenesis of Ischemic-Tissue/Reperfusion. *Clinical Cardiology*, Volume 16, 119-126.
- Kumar, A.D.N., Bevara, G.B., Laxmikoteswaramma K., Malla R.R.** (2013). Antioxidant, Cytoprotective And Antiinflammatory Activities Of Stem Bark Extract Of *Semecarpus Anacardium*. *Asian Journal Pharmacology Clinical Research*, Volume 6, Suppl 1, 2013, 213-219.
- Kumar, S., Kumar, V.S.** (2011). In Vitro Antiarthritic Activity Of Isolated Fractions From Methanolic Extract Of *Asystasia dalzelliana* Leaves. *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, Volume 4, Issue 3, 52-53
- Kumari, C.S., Yasmin, N., Hussain, M.R., Babuselvam, M.** (2015). In vitro anti-inflammatory and anti-arthritic property of *Rhizopra mucronata* leaves. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, Volume 6, No.3, 482-485.
- Kunchandy, E., Rao, M.N.A.** (1990). Oxygen Radical Scavenging Activity of Curcumin. *Int. J. Pharmacol.*, Volume 58, 237-240.
- Kundakovic, T., Dukic, N.M., Kovacevic, N.** (2005). Free radical scavenging activity of *Achillea alexandri-regis* extracts. *Fitoterapia*, Volume 76, 574-576.
- Kuralay, F., Çavdar, Z.** (2006). İnflamatuar medyatörlere toplu bir bakış. *Genel Tıp Dergisi*, Volume 16, Issue 3, 143-152.
- Kutter, D., Devaquet, P., Vanderstocken, G., Paulus, J.M., Marchal, V., Gothot, A.** (2000). Consequences of total and subtotal myeloperoxidase deficiency: Risk or benefit?. *Acta Haematologica*, Volume 104, 10–15.
- Küpeli, E., Orhan, I., Küsmenoğlu, S., Yeşilada, E.** (2007). Evaluation of anti-inflammatory and antinociceptive activity of five Anatolian *Achillea* species. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, Volume 4, 89-100.
- Lamaison, J.L., Carnat, A., Petitjean-Freytet, C.** (1990). Tannin content and inhibiting activity of elastase in Rosaceae. *Ann. Pharm.*, Volume 48, Issue 6, 335-340.
- Liu X., Zhao, M., Wang, J., Yang, B., Jiang, Y.** (2008). Antioxidant activity of methanolic extract of emblica fruit (*Phyllanthus emblica* L.) from six regions in China. *Journal of Food Composition and Analysis*, Volume 21, 219–228.
- Maillard, M. N., Berset, C.** (1995). Evolution of antioxidant activity during kilning, role of insoluble bound phenolic acids of barley and malt. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Volume 43, 1789-1793.
- Maswadeh, H. M., Semreen, M. H., Naddaf, A. R.** (2006). Anti-inflammatory Activity Of *Achillea* And *Ruscus* Topical Gel on Carrageenan-Induced Paw Edema in Rats. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, Volume 63, Issue 4, 277-280.

- Mattila, H., Khorobrykh, S., Havurinne, V., Tyystjärvi E.** (2015). Reactive oxygen species: Reactions and detection from photosynthetic tissues. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 176–214.
- Mccord, J.M.** (1992). Human disease, free radicals and oxidant balance. *Clinical Biochemistry*, Volume 26, 351-357.
- Mc Donald, S., Prenzler, P. D., Antolovich, M., Robars, K.** (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, Volume 73, Issue 1, 73-84.
- Meral, R., Doğan, İ.S., Kanberoğlu, G.S.** (2012). Fonksiyonel Gıda Bileşeni Olarak Antioksidanlar. *Iğdır Univ. J. Inst. Sci. & Tech.*, Volume 2, Issue 2, 45-50.
- Mercan, U.** (2004). Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. *Yüziüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, Volume 15, Issue 1-2, 91-96.
- MOURE, A., Cruz, J.M., Franco, D., Dominguez J.M., Sineiro, J., Dominguez, H., Nunez, M.J., Parajo, J.C.** (2001). Natural antioxidants from residual sources: A review. *Food Chemistry*, Volume 72, 145-171.
- Murray, R. K., Granner, D.K., Mayes, P.A., Rodwell, V.W.** (1996). Harper'ın Biyokimyası. 24. baskı, (Çev: Dikmen N., Özgünen T.), *Barış Kitabevi*, İstanbul.
- Murugan, R., Parimelazhagan, T.** (2014). Comparative evaluation of different extraction methods for antioxidant and anti-inflammatory properties from *Osbeckia parvifolia* Arn.–An in vitro approach. *Journal of King Saud University*, Volume 26, Issue 4, 267–275.
- Muruganantham, N., Solomon, S., Senthamilselvi, M.M.** (2016). Anti-Oxidant And Anti-Inflammatory Activity Of *Cucumis Sativas* (Cucumber) Flowers. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, Volume 7, Issue 4, 1740-1745.
- Müller-Jakic, B., Breu, W., Pröbstle, A., Redl, K., Greger, H., Bauer, R.** (1994). In vitro inhibition of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase by alkaloids from *Echinacea* and *Achillea* species, *Planta Med.*, Volume 60, 37-40.
- Nastasijević, B., Lazarevic-Pasti, T., Dimitrijevic-Brankovic, S., Pasti, I., Vujacic, A., Joksic, G., Vasic, V.** (2012). Inhibition of Myeloperoxidase and Antioxidative Activity of *Gentiana lutea* extracts. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Volume 66, 191-196.
- Nauseef, W.M., Olsson, I., Arnjölts, K.** (1988). Biosynthesis and processing of myeloperoxidase - A marker for myeloid cell differentiation. *Eur. J. Haematol.*, Volume 40, 97-110.
- Ne`Ve, J., Parij, N., Moguilevsky, N.** (2001). Inhibition of the myeloperoxidase chlorinating activity by non-steroidal anti-inflammatory drugs investigated with a human recombinant enzyme. *European Journal of Pharmacology*, Volume 417, 37–43.
- Nemeth, E.** 2005, Essential oil composition of species in the genus *Achillea*, *J. Essent. Oil Res.*, Volume 17, 501-12.
- Nemeth, E., Bernath, J.,** 2008, Biological Activities of Yarrow Species (*Achillea* spp.), *Current Pharmaceutical Design*, Volume 14, Issue 29, 3151-3167.
- Newall, C.A., Anderson, L.A., Phillipson, J.D.** (1996). Herbal Medicines. *The Pharmaceutical Press*, London, p.271.
- Nickavar, B., Kamalinejad, M., Haj-Yahya, M., Shafaghi, B.** (2006). “Comparison of the free radical scavenging activity of six Iranian *Achillea* species”. *Pharm. Biol.*, Volume 44, Issue 3, 208-212.

- Nijveldt, R.J., Nood, E., Hoorn, D.E.C., Boelens, P.G., Van Norren, K., Van Leeuwen, P.A.M.** (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am. J. Clin. Nutr.*, Volume 74, 418–425.
- Nitha, B., Meera, C.R., Janardhanan, K.K.** (2007). Anti-inflammatory and antitumour activities of cultured mycelium of morel mushroom, *Morchella esculenta.*, *Curr. Sci.*, Volume 92, 235-239.
- Oğuz, D.** (2009). Koroner Kollateral Arter Gelişimi İle İnflamatuar Belirteçler Arasındaki İlişki. *Ankara Üniv. Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi*, Ankara.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K.** (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, Volume 95, 351-358.
- Oral, Ç.** (2007). Konya İlinde Kullanılan Halk İlaçları Üzerinde Etnobotanik Araştırmalar. *Gazi Üniversitesi, (Yüksek Lisans Tezi)*, Ankara.
- Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G., Yönden, Z.** (2015). Oxidative stress and its impacts on intracellular lipids, proteins and DNA. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, Volume 6, Issue 3, 331-336.
- Özdemir, A.,** (2010). Ratlara farklı çözücülerde hazırlanarak verilen *Mentha spicata* Lamiaceae nane ekstreleri ile kuru tozunun kanda, β - karoten, A, C vitaminleri, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, malondialdehid, süperoksit dismutaz enzimleri ve total antioksidan kapasite üzerine etkilerinin araştırılması. *Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, (Yüksek Lisans Tezi)*, Afyon.
- Özdemir, E., Alpınar, K.** (2015). An ethnobotanical survey of medicinal plants in western part of central Taurus Mountains:Aladağlar (Niğde-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, Volume 166, 53-65.
- Park, H.W., Jang, K.H., Hussain, M., Lee, D.J.** (2012). Evaluation of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging effect, cytotoxicity and tyrosinase inhibition activities in 4 species of herb plants. *Journal of Applied Biological Chemistry*, Vol. 55, 201-205.
- Podsedek, A.** (2007). “Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review”. *L.W.T.*, Volume 40, 1–11.
- Polatoğlu, K., Karakoç, O.C., Gören, N.** (2013). Phytotoxic, DPPH scavenging, insecticidal activities and essential oil composition of *Achillea vermicularis*, *A. teretifolia* and proposed chemotypes of *A. biebersteinii* (Asteraceae). *Industrial Crops and Products*, Volume 51, 35-45.
- Praba, M.R., Vasantha K.** (2011). Antioxidant, Cytotoxicity and Polyphenolic Content of *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. Flowers. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, Volume 1, Issue 7, 136-140.
- Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M.** (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal. Biochem.*, Volume 269, Issue 2, 337-341.
- Rani, A.A, Punitha, S.M.J., Rema, M.** (2014). Anti-inflammatory Activity Of Flower Extract Of *Cassia auriculata* – An In-Vitro Study. *International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences (IRJPAS)*, Volume 4, Issue 1, 57-60.
- Reshma, Arun, K. P., Brindha, P.** (2014). In Vitro Anti-inflammatory, Antioxidant And Nephroprotective Studies On Leaves Of *Aegle Marmelos* And *Ocimum Sanctum*. *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, Volume 7, Issue 4, 121-129.

- Robak, J., Gryglewski, R.J.** (1988). Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochemical Pharmacology*, Volume 37, 837-841.
- Ruch, R.J., Cheng, S.J., Klaunig, J.E.** (1989). Prevention of cytotoxicity and inhibition of intracellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogenesis*, Volume 10, 1003-1008.
- Samad, N.B., Debnath, T., Ye, M., Hasnat, Md. A., Lim, B.O.** (2014). In vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of Korean blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) extracts. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, Volume 4, Issue 10, 807-815.
- Samu, J., Siju, E.N., Minil, M., Rajalakshmi, G.R.** (2014). In vitro Anti-inflammatory Activity Of *Myxopyrum smilacifolium* Blume (Oleaceae). *World Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*, Volume 3, Issue 6, 1822-1828.
- Saravanan, D., Asharani, I.W.** (2016). HPTLC analysis and in vitro antioxidant, anti-inflammatory and anti-diabetic activities of ethanol extract of leaves of *Actinodaphne madraspatana* Bedd., *Pak. J. Pharm. Sci.*, Volume 29, No. 1, 193-200.
- Sevindik, H. G.** (2015). Bazı *Achillea* Türleri Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar. *Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, (Doktora Tezi), Erzurum.
- Sezer, K., Keskin, M.** (2014). Serbest Oksijen Radikallerinin Hastalıkların Patogenezisindeki Rolü. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, Volume 28, Issue 1, 49-56.
- Shaikh, R. U., Pund, M.M., Gacche, R. N.** (2016). Evaluation of Anti-inflammatory Activity of Selected Medicinal Plants Used in Indian Traditional Medication System in vitro as well as in vivo. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, Volume 6, Issue 4, 355-361.
- Shettar, A. K., Kotresha, K., Kaliwal, B.B., Vedamurthy, A.B.** (2015). Evaluation of in vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of *Ximenia americana* extracts. *Asian Pasific Journal of Tropical Diseases*, Volume 5, Issue 11, 918-923.
- Sivanandham, V.** (2011). Free radicals in health and diseases- a mini review. *Pharmacologyonline*, Volume 1, 1062-1077.
- Song, O.** (2004). Oxidative Stress: A Theoretical Model or Biological Reality?. *C.R. Biologies.*, Volume 327, 649-662.
- Sosa S., Pace, R., Bornanciny, A., Morazzoni, P., Riva, A., Tubaro, A., Loggia, R.D.** (2007). Topical anti-inflammatory activity of extracts and compounds from *Hypericum perforatum* L., *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, Volume 59, Issue 5, 703-709.
- Souri, E., Amin, G., Dehmobed-Sharifabadi, A., Nazifi, A., Farsam, H.** (2004). Antioxidative activity of sixty plants from Iran.. *Iran J. Pharm Res.*, Volume 3, 55-59.
- Sökmen, A., Sökmen, M., Daferera, D., Polissiou, M., Candan, F., Ünlü, M., Akpulat, H.A.** (2004). The in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and methanol extracts of *Achillea biebersteinii* Afan.(Asteraceae). *Phytotherapy Research*, Vol. 18, 451-456.
- Stadtman, E.R., Le Vine R.C.** (2000). Protein Oxidation. *Ann. New York Acad. Sci.*, Volume 899, 191-208.

- Stadtman, E.R.** (1990). Metal Ion-Catalyzed Oxidation Of Proteins: Biochemical Mechanism And Biological Consequences. *Free Rad. Biol. Med.*, Volume 10, 249-253.
- Stadtman, E.R.** (1992). Protein Oxidation And Aging. *Science*, Vol. 257, 1220-1224.
- Stocker, R.** (2016). Antioxidant defenses in human blood plasma and extra-cellular fluids. *Achieves of Biochemistry and Biophysics*, Volume 595, 136-139.
- Strugala, P., Cyboran-Mikolajczyk, S., Dudra, A., Mizgier, P., Kucharska, A.Z., Olejniczak, T., Gabrielska, J.** (2016). Biological Activity of Japanese Quince Extract and Its Interactions with Lipids, Erythrocyte Membrane, and Human Albumin. *The Journal of Membrane Biology*, Volume 249, Issue 3, 393–410.
- Tabart J., Frank T., Kevers C., Pincemail, J., Serteyn, D., Defraigne, J.O., Dommes, J.** (2012). Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of *Ribes nigrum* extracts. *Food Chemistry*, Volume 131, 1116-1122.
- Tajik, H., Jalali, F.S.S., Sobhani, A., Shahbazi, Y., Zadeh, M.S.** (2008). In vitro assessment of antimicrobial efficacy of alcoholic extract of *Achillea millefolium* in comparison with penicillin derivatives. *J. Anim.Vet. Adv.*, Volume 7, Issue 4, 508-511.
- Tsaliki, E., Lagouri, V., Doxastakis, G.** (1999). Evaluation of the antioxidant activity of lupin seed flour and derivatives (*Lupinus albus* ssp. Graecus). *Food Chemistry*, Volume 65, 71-75.
- Tuncel, N.B., Yilmaz, N.** (2010). Kaz Dağları'ndan Toplanan Bazı Bitkilerin Fenolik Asit Kompozisyonlarının Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi İle Belirlenmesi. *Akademik Gıda*, Volume 8, Issue 3, 18-23.
- Türkmenoğlu, F. P., Agar, O. T., Akaydın, G., Hayran, M., Demirci, B.** (2015). Characterization of volatile compounds of eleven *Achillea* species from Turkey and biological activities of essential oil and methanol extract of *A. hamzaoglui* Arabacı & Budak. *Molecules*, Volume 20, Issue 6, 11432-11458.
- Türkoğlu, İ., Türkoğlu, S., Çelik, S., Kahyaoğlu, M.** (2010). Antioxidant and antimicrobial activities of Turkish endemic *Achillea* species. *Afr. J. Microbiol. Res.*, Volume 4, 2034- 2042.
- Türkoglu, Ş., Akpulat H.A.** (2004). Chromosome numbers, karyotypes and 4C DNA contents of *Achillea sipikorensis* Hausskn. and Bornm. and *Achillea sintenisii* Hub.-Mor.(Asteraceae). *Caryologia*, Volume 57, No. 3, 244-249.
- Ugla, M.N.M.** (2013). Synthesis, Characterization and Evaluation of Topical Antiinflammatory Activity of Dimethyl 4-Oxo-2,6-diphenylcyclohexane-1,1-dicarboxylate. *Asian Journal of Chemistry*, Vol. 25, No. 5, 2366-2368.
- Van Der Veen, B. S., Menno, P. J., De Winther, Heeringa P.** (2009). Myeloperoxidase: Molecular Mechanisms of Action. *Antioxidants & Redox Signaling*, Volume 11, Number 11, 2900-2924.
- Vane, J.R., Botting, R.M.**, (1998). Anti-inflammatory drugs and their mechanism of action. *Inflammation Research*, Volume 47, Suppl 2, 78-87.
- Wickens, A.P.** (2001). Ageing and Free Radical Theory. *Respiration Physiology*, Volume 128, 379–391.
- Willett, K.L., Roth, R.A., Walker, L.** (2004). Workshop overview: Hepatotoxicity assessment for botanical dietary supplements, *Toxicological Sciences*, Vol.79, Issue 1, 4-9.
- Williams, L.A., O'connar, A., Latore, L., Dennis, O., Ringer, S., Whittaker, J.A., Conrad, J., Vogler, B., Rosner, H., Kraus, W.** (2008). The *in vitro* anti-denaturation effects induced by natural products and non-steroidal compounds

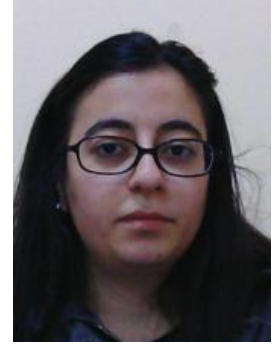
in heat treated (immunogenic) bovine serum albumin is proposed as a screening assay for the detection of anti-inflammatory compounds, without the use of animals, in the early stages of the drug discovery process, *West Indian Med. J.*, Volume 57, Issue 4, 327-31.

Winterbourn, C.C. (1995). Toxicity of Iron and Hydrogen Peroxide: The Fenton Reaction. *Toxicol. Lett.*, 82–83, 969–974.

Wu, D., Cederbaum, A.I. (2003). Alcohol, Oksidative Stres and Free Radical Damage. *Alcohol Res. Health.*, Volume 27, Issue 4, 277–284.

Xanthopoulou, M. N., Fragopoulou, E., Kalathara, K., Nomikos, T., Karantonis H.C., Antonopoulou, S. (2010). Antioxidant and anti-inflammatory activity of red and white wine extracts. *Food Chemistry*, Volume 120, 665–672.





ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Adı Soyadı	Selvi Cingöz
Doğum Yeri ve Tarihi	Erzincan, 05.01.1994
Medeni Hali	Bekar
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Cumhuriyet Üniversitesi Biyokimya Bölümü 58140 Sivas
E-posta Adresi	selvi.cingoz@gmail.com

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	Kocaali Anadolu Lisesi, 2007
Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, 2011
Yüksek Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, 2015

İş Tecrübesi

Yayınlar

Kongreler ve Bildiriler

Uluslararası	1.Uluslararası Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Kongresi, 2017
--------------	---

Ödüller, Teşvikler ve Üyelikler

2011-2012; Bahar Dönemi	Yüksek Onur Belgesi
-------------------------	---------------------

2012-2013 Güz ve Bahar Dönemi	Yüksek Onur Belgesi
2013-2014 Güz ve Bahar Dönemi	Yüksek Onur Belgesi
2014-2015 Güz Dönemi	Yüksek Onur Belgesi
2014-2015	Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Fakülte Birinciliği
2014-2015	Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyokimya Bölüm Birinciliği

