

OKALİPTUS (*Eucalyptus camaldulensis* DEHNH.), DEFNE
(*Laurus nobilis* L.) VE MERSİN (*Myrtus communis* L.)'DEN
ELDE EDİLEN UÇUCU YAĞLARIN, α -AMİLAZ İLE
 α -GLUKOZİDAZA ETKİSİ VE ANTİOKSİDAN
ÖZELLİKLERİ

Serap ŞAHİN BAŞAK
DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI
2008

CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

OKALİPTUS (*Eucalyptus camaldulensis* DEHNH.), DEFNE (*Laurus nobilis* L.)
VE MERSİN (*Myrtus communis* L.)'DEN ELDE EDİLEN UÇUCU YAĞLARIN,
 α -AMİLAZ İLE α -GLUKOZİDAZA ETKİSİ VE ANTIOKSİDAN ÖZELLİKLERİ

Serap ŞAHİN BAŞAK
DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI
SİVAS- 2008

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Bu çalışma, Jürimiz tarafından, Kimya Anabilim Dalı'nda Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan:

Üye:

Üye:

Üye:

Üye

ONAY

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

.../.../2008

Prof. Dr. Hasan Hüseyin BAŞIBÜYÜK
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

OKALİPTUS (*Eucalyptus camaldulensis* DEHNH.), DEFNE (*Laurus nobilis* L.)
VE MERSİN (*Myrtus communis* L.)'DEN ELDE EDİLEN UÇUCU YAĞLARIN,
 α -AMİLAZ İLE α -GLUKOZİDAZA ETKİSİ VE ANTIOKSİDAN ÖZELLİKLERİ

Serap ŞAHİN BAŞAK

DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI
SİVAS- 2008

Danışman
Doç. Dr. Ferda CANDAN

Bölüm Ünvanı
Biyokimya-Doç.Dr.

İmza

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosunun 05.01.1984 tarihli toplantısında kabul edilen ve daha sonra 30.12.1993 tarihinde C.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğünce hazırlanan ve yayınlanan "Yüksek Lisans ve Doktora tez yazım Kılavuzu" adlı yönergeye göre hazırlanmıştır.

Projenin yürütülmesi için maddi destek sağlayan C.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (CÜBAP) teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER	i
ÖZET	iii
SUMMARY	v
TEŞEKKÜR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
KISALTMALAR DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1. Bitkilerle Tedavi	1
1.2. Bitkisel Kaynaklı Etkin Madde Grupları	2
1.3. Uçucu Yağlar	3
1.4. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Türleri (ROT)	5
1.5. Diyabet	8
1.6. Oksidatif Stres ve Diyabet	9
1.6.1. Glukozun oto-oksidasyonu ve süperoksit üretimi	10
1.6.2. Proteinlerin glikozilasyonu ve ilerlemiş glikozilasyon son ürünleri (AGE) oluşumu	11
1.6.3. Polioliol yolu	11
1.7. Diyabette Tedavi	12
1.8. Diyabette Alternatif Tedavi	14
1.9. α -amilaz ve α -glukozidaz	14
1.10. Okaliptus Yapracağı (<i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh.)	16
1.11. Defne Yapracağı (<i>Laurus nobilis</i> L.)	17
1.12. Mersin yaprağı (<i>Myrtus communis</i> L.)	18
1.13. Amaç	20
2. MATERYAL ve YÖNTEM	21
2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	21
2.2. Bitkilerin Elde edilmesi	21
2.3. Bitki Materyalinden Uçucu Yağ Elde Edilmesi	21
2.4. Uçucu Yağların GC-MS Analizleri	21
2.5. Toplam Fenol İçeriğinin Ölçümü	22
2.6. Toplam Flavanoid İçeriğinin Saptanması	22
2.7. Toplam Antioksidan Kapasitenin Saptanması	23

2.8. DPPH Radikalini Temizleme Özelliği	23
2.9. Hidroksil Radikalini Temizleme Özelliği	24
2.10. Süperoksit Radikalini Temizleme Özelliği	25
2.11. Hidrojen Peroksit Temizleme Özelliği	25
2.12. Lipid Peroksidasyon İnhibisyon Özelliği	26
2.13. α -amilaz Çalışmaları	26
2.14. α -amilaz İnhibisyonu Kinetiği	28
2.15. α -glukozidaz Çalışmaları	29
2.16. α -glukozidaz Kinetiğinin İncelenmesi	30
3. BULGULAR	31
3.1. Bitkilerin Uçucu Yağ Verimleri	31
3.2. Uçucu Yağların GC-MS Analizleri	31
3.2.1. Okaliptus yaprağı uçucu yağının GC-MS analizi	31
3.2.2. Defne yaprağı uçucu yağının GC-MS analizi	32
3.2.3. Mersin yaprağı uçucu yağının GC-MS analizi	34
3.3. Okaliptus, Defne ve Mersin Yapraklarından Elde Edilen Uçucu Yağların Toplam Fenol, Flavanoid Miktarı ve Toplam Antioksidan Kapasitesi	35
3.4. DPPH Radikalini Temizleme Özelliği	35
3.5. Hidroksil Radikalini Temizleme Özelliği	38
3.6. Süperoksit Radikalini Temizleme Özelliği	43
3.7. Hidrojen Peroksit Temizleme Özelliği	46
3.8. Lipid Peroksidasyonu İnhibisyon Özelliği	50
3.9. α -amilaz Çalışmaları	53
3.10. α -amilaz İnhibisyon Kinetiği	57
3.11. α -glukozidaz Çalışmaları	67
3.12. α -glukozidaz İnhibisyon Kinetiği	70
4. TARTIŞMA ve SONUÇ	81
5. KAYNAKLAR	96
6. ÖZGEÇMİŞ	111

ÖZET
DOKTORA TEZİ

Okaliptus (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.), Defne (*Laurus nobilis* L.) ve Mersin (*Myrtus communis* L.)’den Elde Edilen Uçucu Yağların, α -amilaz ile α -glukozidaz’a Etkisi ve Antioksidan Özellikleri

Serap ŞAHİN BAŞAK

Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ferda CANDAN

Bu çalışmada halk arasında diyabet tedavisi amacıyla kullanılan Okaliptus (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.), Defne (*Laurus nobilis* L.) ve Mersin (*Myrtus communis* L.) yapraklarından elde edilen uçucu yağların antioksidan ve antidiyabetik özellikleri araştırıldı.

Uçucu yağların biyolojik aktiviteleri, içeriklerindeki kimyasal bileşenlerle bağlantılı olduğundan öncelikle her bir uçucu yağın GC-MS analizleri yapılarak kimyasal içerikleri belirlendi. Okaliptus uçucu yağının % 99.10’una karşılık gelen 30 bileşen saptanarak, ilk üç ana bileşenin p-simen (% 68.43), 1,8-sineol (% 13.92) ve 1-(S)- α -pinen (% 3.45) olduğu gözlemlendi. Defne uçucu yağının % 99.18’ine karşılık gelen 29 bileşenden ilk üç ana bileşenin 1,8-sineol (% 68.82), 1-(S)- α pinen (% 6.94) ve R-(+)-limonen (% 3.04) olduğu belirlendi. Mersin uçucu yağının ise % 96.44’üne karşılık gelen 19 bileşen saptanıp, ilk üç ana bileşenin 1,8-sineol (% 40.32), 1-(S)- α -pinen (% 28.04) ve eugenol (% 9.04) olduğu gözlemlendi.

Her bir uçucu yağın toplam fenol, flavonoid ve antioksidan aktiviteleri incelendiğinde; toplam fenol ve toplam flavonoid miktarları ile toplam antioksidan aktivitenin; mersin, defne ve okaliptus uçucu yağları sıralamasıyla arttığı bulundu.

Diyabette serbest radikaller yüksek olduğundan, bitki uçucu yağlarının serbest radikallere etkisi araştırıldı. Bu amaçla, bitki uçucu yağlarının ve ilk üç ana bileşenlerinin hidroksil, süperoksit ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türleri ile sentetik radikal olan DPPH'ı süpürme özellikleriyle beraber lipid peroksidasyonuna etkisi incelendi.

Ayrıca uçucu yağlar ve ilk üç ana bileşenlerinin antidiyabetik özellikleri araştırıldı. Bu amaçla yapılan çalışmada uçucu yağların ile ana bileşenlerinin karbohidrat sindiriminde görev alan α -amilaz ve α -glukozidazı inhibe ettiği saptanarak, inhibisyon türleri belirlendi.

Sonuç olarak; okalıptus, defne ve mersin yapraklarından elde edilen uçucu yağların hem reaktif oksijen türlerini ve lipid peroksidasyonunu inhibe ederek gösterdikleri antioksidan etkiyle, hem de α -amilaz ve α -glukozidazı inhibe ederek diyabet tedavisinde etkili olabilecekleri saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., *Laurus nobilis* L., *Myrtus communis* L., antioksidan aktivite, antidiyabetik aktivite, α -amilaz, α -glukozidaz

SUMMARY

PhD Thesis

The Effects of Volatile Oils Obtained from Eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.), Laurel (*Laurus nobilis* L.) and Myrte (*Myrtus communis* L.), which are, on α -amylase and α -glucosidase and Their Antioxidant Properties

by

Serap ŞAHİN BAŞAK

Cumhuriyet University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry

Supervisor: Dr. Ferda CANDAN

In this study the antioxidant and antidiabetic properties of the volatile oils obtained from the leaves of Eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.), Laurel (*Laurus nobilis* L.) and Myrte (*Myrtus communis* L.) which are traditionally used for the treatment of diabetes are examined.

Since the biological activities of the volatile oils are connected to the chemical components of their contents, first the chemical contents of each volatile oil are determined through its GC-MS analysis. Determining the 30 components corresponding to % 99.10 of Eucalyptus volatile oil, it is observed that the first three main components are p-cymen (% 68.43), 1,8-cineole (% 13.92) and 1-(S)- α -pinene (% 3.45). It is determined that the first three main components of the 29 components corresponding to % 99.18 of Laurel volatile oil are 1,8-cineole (% 68.82), 1-(S)- α pinene (% 6.94) and R-(+)-limonene (% 3.04). Determining the 19 components corresponding to % 96.44 of Myrte volatile oil, it is observed that the first three main components are 1,8-cineole (% 40.32), 1-(S)- α -pinene (% 28.04) and eugenol (% 9.04).

When the phenol, flavonoid and antioxidant activities of each volatile oil are examined, it is discovered that the quantities of total phenol and total flavonoid, and the

total antioxidant activity increase by the order of myrte, laurus and eucalyptus volatile oils.

Because the free radicals are high in diabetes, the effects of plant volatile oils on free radicals is researched. For this reason, the effects of plant volatile oils and of their first three main components on reactive oxygen types such as hydroxyl, superoxyde and hydrogen peroxide and on lipid peroxydation together with its properties of sweeping DPHH which is synthetic radical is studied.

The antidiabetic properties of the volatile oils and their first three main components are examined as well. In the study conducted with this objective, it is determined that the volatile oils and their main components inhibit α -amylase and α -glucosidase which are used in the digestion of carbohydrate, and the types of inhibition are confirmed.

In conclusion, it is determined that the volatile oils obtained from the leaves of eucalyptus, laurus and myrte can be effective in the treatment of diabetes, both through their antioxidant effect by inhibiting the reactive oxygen types and lipid peroxydation, and by inhibiting α -amylase and α -glucosidase.

Keywords: *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., *Laurus nobilis* L., *Myrtus communis* L., antioxidant activity, antidiabetic activity, α -amylase, α -glucosidase

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans Tezime başlayan ve Doktora tezime devam eden bu uzun sürecin her aşamasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, anne sabrı ve özverisi için Tez Danışman Hocam Sayın Doç.Dr. Ferda CANDAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Uzakta olmasına rağmen her daim hissettiğim manevi desteği, saygı, özveri ve hoşgörüsü için Eşim Serden BAŞAK'a çok teşekkür ederim. Hiçbir konuda desteklerini esirgemeyen, bu yorucu süreçte hep bana destek olan ailelerime sonsuz teşekkür ederim.

Tez izleme komitesindeki Hocalarım Prof. Dr. Sevtap BAKIR ve Doç. Dr. H. Nursevin ÖZTOP ile Kimya Bölümü'nün tüm Öğretim Üyelerine teşekkür ederim.

Tüm paylaşımlarımı sabırla dinleyen ve her zaman yanımda olan arkadaşım Arş. Gör. Neslihan ŞAHİN'e teşekkür ederim.

Danıştığım her konuda göstermiş olduğu karşılık beklemez yardımseverliği ve emek esirgemezliği için Yrd. Doç. Dr. Yavuz SİLİĞ'e çok teşekkür ederim.

Bilgisayar deneyimlerinden yararlandığım ve tüm yardımları için Yrd. Doç. Dr. Selçuk ŞİMŞEK'e ve deneylerimde kullandığım bitkileri adlandıran Yrd. Doç.Dr. Erol DÖNMEZ'e teşekkür ederim.

Destile su sağlamadaki yardımları için Temel Tıp Bölümü Biyokimya Laboratuvarı Teknisyeni Murat ERTEMUR'a teşekkür ederim.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.4.1. Reaktif oksijen türlerinin oluşumu	6
Şekil 1.10.1. Okaliptus yaprağı	16
Şekil 1.11.1. Defne yaprağı	17
Şekil 1.12.1. Mersin yaprağı	19
Şekil 3.2.1.1. Okaliptus yaprağının uçucu yağ kromatogramı	32
Şekil 3.2.2.1. Defne yaprağının uçucu yağ kromatogramı	33
Şekil 3.2.3.1. Mersin yaprağının uçucu yağ kromatogramı	34
Şekil 3.4.1. DPPH radikali inhibisyonunun okaliptus uçucu yağ derişimleriyle değişimi	36
Şekil 3.4.2. DPPH radikali inhibisyonunun defne ve mersin uçucu yağ derişimleriyle değişimi	36
Şekil 3.4.3. a) Eugenol, b) R-(+)-limonen, c) 1,8-sineol, d) 1-(S)- α -pinen e) p-simen'in DPPH radikali inhibisyonları	38
Şekil 3.5.1. Hidroksil radikali inhibisyonunun okaliptus, defne ve mersin uçucu yağ derişimleriyle değişimi	39
Şekil 3.5.2. Ana bileşenlerin hidroksil radikali inhibisyonları	42
Şekil 3.6.1. Süperoksit radikali inhibisyonunun okaliptus, defne ve mersin uçucu yağ derişimleriyle değişimi	43
Şekil 3.6.2. Ana bileşenlerin süperoksit radikali inhibisyonları	45
Şekil 3.7.1. Hidrojen peroksit inhibisyonunun okaliptus, defne ve mersin uçucu yağ derişimleriyle değişimi	46
Şekil 3.7.2. a) 1,8-sineol, b) R-(+)-limonen, c) p-simen, d) Eugenol, e) 1-(S)- α -pinen'in hidrojen peroksit inhibisyonları	49
Şekil 3.8.1. Lipid peroksidasyonu inhibisyonunun okaliptus, defne ve mersin uçucu yağ derişimleriyle değişimi	50
Şekil 3.8.2. a) p-simen b) Eugenol, c) R-(+)-limonen d) 1,8-sineol, e) 1-(S)- α -pinen'in lipid peroksidasyon inhibisyonları	52
Şekil 3.9.1. α -amilaz inhibisyonunun okaliptus, defne, mersin uçucu yağ derişimleriyle değişimi	53
Şekil 3.9.2. Ana bileşenlerin α -amilaz inhibisyonları	56
Şekil 3.10.1. α -amilazın okaliptus uçucu yağı ile etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği	57

Şekil 3.10.2. α -amilazın defne uçucu yağı ile etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği	58
Şekil 3.10.3. α -amilazın mersin uçucu yağı ile etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği	59
Şekil 3.10.4. α -amilazın 1,8-sineolün farklı derişimleriyle etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği	61
Şekil 3.10.5. α -amilazın 1-(S)- α -pinenin farklı derişimleriyle etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği	62
Şekil 3.10.6. α -amilazın p-simenin farklı derişimleriyle etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği	63
Şekil 3.10.7. α -amilazın R-(+)-limonenin farklı derişimleriyle etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği	64
Şekil 3.10.8. α -amilazın eugenolün farklı derişimleriyle etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği	65
Şekil 3.11.1. α -glukozidaz inhibisyonunun okaliptus, defne, mersin uçucu yağ derişimleriyle değişimi	67
Şekil 3.11.2. Ana bileşenlerin α -glukozidaz inhibisyonları	70
Şekil 3.12.1. α -glukozidazın okaliptus uçucu yağı ile etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği	71
Şekil 3.12.2. α -glukozidazın defne uçucu yağı ile etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği	72
Şekil 3.12.3. α -glukozidazın mersin uçucu yağı ile etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği	73
Şekil 3.12.4. α -glukozidazın 1,8-sineolün farklı derişimleriyle etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği	75
Şekil 3.12.5. α -glukozidazın 1-(S)- α -pinenin farklı derişimleriyle etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği	76
Şekil 3.12.6. α -glukozidazın p-simenin farklı derişimleriyle etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği	77
Şekil 3.12.7. α -glukozidazın R-(+)-limonenin farklı derişimleriyle etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği	78
Şekil 3.12.8. α -glukozidazın eugenolün farklı derişimleriyle etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği	79
Şekil 4.1. Flavonoidlere metallerin bağlanma yerleri	82

Şekil 4.2. Flavonoidler tarafından ROT'nin süpürülmesi	83
Şekil 4.3. Uçucu yağlarda bulunan ana bileşenlerin kimyasal yapıları	84

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1.1. Okaliptus, defne ve mersin yapraklarının uçucu yağ verimleri	31
Çizelge 3.2.1.1. Okaliptus yaprağının uçucu yağ bileşenleri	32
Çizelge 3.2.2.1. Defne yaprağının uçucu yağ bileşenleri	33
Çizelge 3.2.3.1. Mersin yaprağının uçucu yağ bileşenleri	34
Çizelge 3.3.1. Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının toplam fenol ve flavonoid miktarları ile toplam antioksidan kapasiteleri	35
Çizelge 3.4.1. Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının ve pozitif kontrollerin en yüksek DPPH radikali inhibisyon yüzdeleri ve DPPH radikalini %50 inhibe eden derişimleri	36
Çizelge 3.4.2. Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının içerdikleri ilk üç ana bileşen miktarlarının deney ortamı derişimleri ve DPPH radikali inhibisyon yüzdeleri	37
Çizelge 3.4.3. Ana bileşenlerin uçucu yağ içindeki derişimlerinden oluşan üçlü karışımlarının DPPH radikalini inhibe eden yüzdeleri	38
Çizelge 3.4.4. Ana bileşenlerin, DPPH radikalini temizlemede sahip oldukları en yüksek inhibisyon yüzdeleri ve bu yüzdelerdeki derişimleri ile IC ₅₀ değerleri	39
Çizelge 3.5.1. Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağları ve pozitif kontrollerin hidroksil radikali oluşumu inhibisyonundaki en yüksek inhibisyon yüzdeleri ile hidroksil radikali oluşumunu %50 inhibe eden derişimleri	40
Çizelge 3.5.2. Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağların içerdikleri ilk üç ana bileşen miktarlarının deney ortamı derişimleri ve hidroksil radikali oluşum inhibisyon yüzdeleri	40
Çizelge 3.5.3. Ana bileşenlerin uçucu yağ içerisindeki derişimlerinden oluşan üçlü karışımlarının hidroksil radikali oluşumunu inhibe eden yüzdeleri	41
Çizelge 3.5.4. Ana bileşenlerin hidroksil radikali inhibisyonunda sahip oldukları en yüksek inhibisyon yüzdeleri ve bu yüzdelerdeki derişimleri ile IC ₅₀ değerleri	42
Çizelge 3.6.1. Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağları ile pozitif kontrollerin en yüksek süperoksit radikali oluşumu inhibisyon yüzdeleri ve süperoksit radikali oluşumunu %50 inhibe eden derişimleri	43

Çizelge 3.6.2. Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının içerdikleri ana bileşen miktarlarının deney ortamı derişimleri ve süperoksit radikali inhibisyon yüzdeleri	44
Çizelge 3.6.3. Uçucu yağ içerisindeki ana bileşenlerin derişimlerinden oluşan üçlü karışımlarının süperoksit radikalini inhibe eden yüzdeleri	45
Çizelge 3.6.4. Ana bileşenlerin süperoksit radikali oluşumu inhibisyonunda sahip oldukları en yüksek inhibisyon yüzdeleri ve bu yüzdelerdeki derişimleri ile IC ₅₀ değerleri	46
Çizelge 3.7.1. Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının ve pozitif kontrollerin en yüksek hidrojen peroksit inhibisyon yüzdeleri ve hidrojen peroksidi %50 inhibe eden derişimleri	47
Çizelge 3.7.2. Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının içerdikleri ana bileşen miktarlarının deney ortamı derişimleri ve hidrojen peroksit inhibisyon yüzdeleri	47
Çizelge 3.7.3. Uçucu yağ içerisindeki ana bileşenlerin derişimlerinden oluşan üçlü karışımlarının hidrojen peroksit inhibe eden yüzdeleri	48
Çizelge 3.7.4. Ana bileşenlerin en yüksek hidrojen peroksit inhibisyon yüzdeleri ve buna karşın gelen derişimleri ile IC ₅₀ değerleri	49
Çizelge 3.8.1. Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağları ile pozitif kontrollerin en yüksek lipid peroksidasyon inhibisyon yüzdeleri ve lipid peroksidasyonunu %50 inhibe eden derişimleri	50
Çizelge 3.8.2. Okaliptus, Defne ve Mersin uçucu yağlarının içerdikleri ana bileşen miktarlarının deney ortamı derişimleri ve lipid peroksidasyonu inhibisyon yüzdeleri	51
Çizelge 3.8.3. Uçucu yağ içerisindeki ana bileşenlerin derişimlerinden oluşan üçlü karışımlarının lipid peroksidasyonunu inhibe eden yüzdeleri	52
Çizelge 3.8.4. Ana bileşenlerin lipid peroksidasyonu inhibisyonunda sahip oldukları en yüksek inhibisyon yüzdeleri ve bu yüzdelerdeki derişimleri ile IC ₅₀ değerleri	53
Çizelge 3.9.1. Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının α -amilaz inhibisyon yüzdeleri ve bu yüzdeye karşın gelen derişimleri ile IC ₅₀ değerleri	54

Çizelge 3.9.2. Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının içerdikleri ana bileşen miktarlarının deney ortamı derişimleri ve α -amilaz inhibisyon yüzdeleri	54
Çizelge 3.9.3. Uçucu yağ içerisindeki ana bileşenlerin derişimlerinden oluşan üçlü karışımlarının α -amilazı inhibe eden yüzdeleri	55
Çizelge 3.9.4. Ana bileşenlerin α -amilaz inhibisyonunda sahip oldukları en yüksek inhibisyon yüzdeleri ve bu yüzdelerdeki derişimleri ile IC_{50} değerleri	56
Çizelge 3.10.1. α -amilaz ile okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının farklı derişimlerinin etkileşiminde V_m ve K_m değerleri	60
Çizelge 3.10.2. Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının ana bileşenlerinin, α -amilaz ile etkileşimlerinde V_m ve K_m değerleri	66
Çizelge 3.11.1. Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının α -glukozidaz inhibisyon yüzdeleri ve bu yüzdelerdeki derişimleri ile IC_{50} değerleri	68
Çizelge 3.11.2. Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının içerdikleri ana bileşenlerin deney ortamı derişimleri ve bu derişimlerin α -glukozidaz inhibisyon yüzdeleri	68
Çizelge 3.11.3. Uçucu yağ içerisindeki ana bileşenlerin derişimlerinden oluşan üçlü karışımlarının α -glukozidazı inhibe eden yüzdeleri	69
Çizelge 3.11.4. Ana bileşenlerin α -glukozidaz inhibisyonunda sahip oldukları en yüksek inhibisyon yüzdeleri ve bu yüzdeleri sağlayan derişimleri ile IC_{50} değerleri	70
Çizelge 3.12.1. α -glukozidazın okaliptus, defne ve mersin uçucu yağları ile etkileşiminde V_m ve K_m değerleri	74
Çizelge 3.12.2. Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağların ana bileşenlerinin α -glukozidaz ile etkileşimlerinde V_m ve K_m değerleri	80

KISALTMALAR DİZİNİ

AGE	İlerlemiş glikozilasyon son ürünleri
ATP	Adenozin trifosfat
BHA	Bütillenmiş hidroksi anizol
BHT	Bütillenmiş hidroksi toluen
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPPH	2,2-difenilpikril hidrazil
DM	Diyabet
3,5-DNS	3,5-dinitrosalisilik asit
EDTA	Etilendiamin tetra asetik asit
GP_x	Glutasyon peroksidaz
K_m	Maksimum hızın yarısındaki substrat derişimi
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
MDA	Malondialdehit
NADH	Nikotinamid adeninin dinükleotit
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NBT	Nitroblu tetrazolim
NO	Nitrik oksit
PNP	para-nitrofenol
PNP-G	para-nitrofenil- α -D-glukopranozit
RI	Alıkonma indeksi
ROT	Reaktif oksijen türleri
RT	Alıkonma zamanı
SOD	Süperoksit dizmutaz
TBA	Tiyobarbütirik asit
TCA	Trikarboksilik asit
UV	Ultraviyole
V_m	Maksimum hız

GİRİŞ

1.1. Bitkilerle Tedavi

Bitkilerin tedavi amaçlı kullanımı çok eski tarihlere dayanmakta olup, M.Ö. 1500 yıllarına ait Ebers Papiruslarında, Mısır'daki bitkisel tedaviler anlatılmıştır (Pushparaj ve Ark., 2000). Yunan Tıbbının önemli isimlerinden Eskulap ve Hipokrat, kitaplarında 400'e yakın bitkisel ilaçtan bahsetmiş; Bizans döneminde Dioscorides, 'İlaçlar Bilgisi' adlı kitabı yazmış, bu kitapta Anadolu ve Doğu Ülkelerinin tıbbi bitkileri hakkında bilgilere yer vermiştir (Dubick, 1986). İslam Uygarlığı döneminde, 200'e yakın şifalı bitkiden bahseden Kitab-al Saydalafi al Tıp adlı kitabı yazan Ebu Reyhan; 1650' li yıllara kadar referans kitap olarak kabul edilen 800 bitkisel tedaviden bahseden 'Tıp Kanunu' adlı eseri yazan İbn-i Sina (Avicenna) ve Al Gafini bitkisel tıp konusunda önemli eserlere imza atmışlardır (Baytop, 2000).

Bitkileri kullanarak hastalıkları tedavi edebilme yaklaşımı şeklinde açıklanabilen "fitoterapi" terimi ilk kez, 1870'li yıllarda kullanılmış ve 19. yüzyılın ikinci yarısına kadar ilaç yapımında kullanılan en büyük kaynağı bitkiler oluşturmuştur (Gilani ve Rahman, 2005; Dasgupta ve Bernard, 2006).

19. ve 20. yüzyıllarda kimya ve biyokimya bilimlerindeki gelişmeler, ilaç sanayisine büyük bir ivme kazandırmış, bu sayede etkinlik, zararsızlık ve kalite prensipleri benimsenerek analitik, toksikolojik, farmakolojik ve klinik çalışmalar sonucu, laboratuvarlarda tıbbın ihtiyaçlarına cevap veren pek çok ilaç geliştirilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre: dünya üzerinde halen 300.000 kayıtlı bitki türünün 4000'i yoğun olmak üzere yaklaşık 20.000 türünden tıbbi amaçla yararlanılmaktadır (WHO, 2002).

Son yıllarda, sentetik ilaçların ciddi yan etkilerinden dolayı oluşan medikal ve ekonomik sorunlar, endüstrileşmiş ülkelerdeki çevre kirliliğinin güçlendirdiği ekolojik dengesizlikler, tedavileri henüz mümkün olmayan bir çok kronik hastalığın oluşturduğu tehditler, doğallığın her zaman etkili olduğu ve yan etkiden arınmış olduğu düşüncesi gibi nedenlerle bitkisel tedavi tekrar popüler hale gelmiştir (Zhang, 2002; Dooley, 2007; Kemper ve Shannon, 2007).

Bitkilerin etkinliğini kesin olarak ortaya koyan birçok bilimsel çalışma, uluslararası kabul görmüş dergilerde yayımlanmaktadır (Koudou ve Ark., 2005; McKay ve Blumberg, 2006; Lu ve Ark., 2007).

Ancak, unutulmamalıdır ki, doğal olan her zaman güvenli olan demek değildir. Pek çok bitki yüksek derecede toksiktir ve diğer tamamlayıcı tedavi yöntemleri içinde fitoterapi, yan etki ve toksisite yönünden çok daha fazla risk taşıyabilmektedir (Ikegami ve Ark., 2006). Kullanılan şifalı bitkilerin bir kısmının hepatotoksik (karaciğere toksik) olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Willet ve Ark., 2004; Furbee ve Ark., 2006).

Amerika ve diğer bazı Avrupa ülkelerinde, çeşitli kuruluşlar bu denli toksik olabilen ve bir o kadar da rağbet gören şifalı bitkilere belli standartlar getirmeye ve fitoterapiyi bir "ototerapi" (kendi kendine tedavi) olma şeklinden çıkarmaya çalışmışlardır. Patoloji, biyokimya, farmakoloji, farmakognozi, fizyoloji, botanik, beslenme, klinik tanı ve diğer tamamlayıcı tedavi yöntemlerini kapsayan dört senelik bir kurs düzenlenmekte ve mezunlarına tüm ülkede geçerli herbalist diploması verilmektedir (Perez, 2003).

1.2. Bitkisel Kaynaklı Etkin Madde Grupları

Şifalı bitkilerin, gelişim süreleri boyunca bünyelerinde oluşturarak depoladıkları çeşitli etkin maddeler vardır. Bu etkin maddelerden biri veya birkaçı, bitkinin hangi hastalığa karşı kullanılması gerektiğinin belirlenmesinde başlıca rolü oynar. Bitkilerdeki etkin maddeleri, şifalı bitkinin tedavi etme gücünü ne oranda etkilediğinin saptanabilmesi, ancak bitkinin etkin maddesinin izole edilmesi sonucunda belirlenebilir (Jahaniani ve Ark., 2005; Kim ve Ark., 2005b; Lu ve Ark., 2007).

Bir şifalı bitkinin etkin maddeleri, bitkinin tüm organlarına eşit oranda dağılmaz. Bazen çiçekte, yaprakta veya kökte, bazen de tohumda, meyvede veya kabukta depolanmış olabilir. Bitkinin yetiştiği ortama, toplama biçimine ve kullanıma hazırlanışına göre, içerdiği maddelerin etkinliğinde değişimler olabilmektedir (Chorianopoulos ve Ark., 2006).

Kurutularak veya başka işlemlerden geçirilerek kullanıma hazırlanmış bitki organları veya preparatları drog olarak tanımlanmaktadır. Drogların içerdikleri maddelerin etkinlik alanlarının saptanabilmesi için, etkin madde gruplarının özelliklerinin bilinmesi gerekir. Etkin maddeler aşağıdaki gibi gruplandırılmaktadır (Baytop, 2000).

- 1) **Alkaloidler:** Yapılarında azot bulunan bazik karakterli bileşiklerdir. Katı ve genellikle renksiz maddeler olup, asitlerle tuz oluştururlar. Alkoloidler düşük

dozlarda kuvvetli etki gösteren bileşiklerdir. İlk elde edilen alkaloid morfin olup kodein, kafein, atropin ve kokain alkaloidler grubunda yer alan bileşiklerdir.

- 2) **Glikozitler:** Enzim veya seyreltik asitlerin etkisiyle şeker olmayan bir kısım ile bir veya daha fazla şeker molekülüne ayrılabilen bileşiklerdir. Şeker olan kısım bu maddenin suda çözünürlüğünü sağlarken, şeker olmayan kısım ise tedavi etkisine katkıda bulunmaktadır. Bitkilerde bulunan glikozitlerden pek çoğunun tedavi yönünden bir önemi bulunmamakla birlikte bazıları yüksek farmakolojik etkiye sahiptirler. İlk elde edilen glikozit salisin'dir.
- 3) **Organik asitler:** Bitkilerde karbohidratların oksidasyonu ile oluşan organik bileşikler olup serbest veya tuz halinde bulunmaktadırlar. Ekşi lezzetli, katı veya sıvı maddelerdir. Önemli tedavi etkileri bulunmamaktadır.
- 4) **Tanenler:** Antiseptik etkilere sahip bileşikler olan tanenler, fenol yapısında katı bileşiklerdir ve suda çözünürler. Bitkilerde yaygın bir şekilde özellikle kabuklarda bol miktarda bulunmaktadır.
- 5) **Vitaminler:** Genellikle insan vücudunda sentezlenemeyen ancak sağlıklı yaşam için gerekli bileşiklerdir. Noksanlıklarında sağlık problemleri ortaya çıkmaktadır.
- 6) **Reçineli bileşikler:** Karmaşık kimyasal yapıları katı veya sıvı maddelerdir. Suda çözünmezler ancak organik çözücülerde kolaylıkla çözünürler.
- 7) **Antibiyotikler:** Mikroorganizmalar sebebiyle oluşan hastalıkların tedavisinde kullanılan maddelerdir.
- 8) **Sabit yağlar:** Gliserol ve yağ asitlerinin esterleşmesi sonucunda oluşan bileşiklerdir. Sıvı veya katı halde bulunurlar. Suda çözünmezler ancak organik çözücülerde çözünürler. Özellikle meyve ve tohumlarda bulunmaktadırlar.

1.3. Uçucu Yağlar

Uçucu yağlar birçok bitkide bulunan doğal türlerdir. Bitkisel kaynaklı uçucu yağlar çok kompleks yapıya sahip olup; yapıları gereği uçucu, suda çok az veya hiç çözünmeyen, keskin ve genellikle hoş kokulu türlerdir (Tanker ve Tanker, 2003).

Uçucu yağlar bitkilerin yaprak, çiçek, kök, gövde gibi farklı kısımlarında bulunurlar ve bitkinin özel yağ hücrelerinde, yağ geçitlerinde depolanırlar (Sangwan ve Ark., 2001). Uçucu yağlar bitkilerden genel olarak çeşitli damıtma yöntemleriyle elde edilirler (Tanker ve Tanker, 2003). Isı, ışık ve oksijen gibi etkenler uçucu yağların çabuk bozulmalarına sebep olduğundan, elde edildikten sonra iyi koşullarda saklanmaları

gerekmektedir. Uçucu yağlar, bitkilerden elde edildiklerinde kimyasal olarak saf olmayıp birçok bileşen içermektedirler. Bazen bir uçucu yağ türünde 100 ayrı madde saptanabilmektedir (Sotomayor ve Ark., 2004).

Her uçucu yağ taşıyan bitkinin kendine özgü kokusu ve aromaterapik özellikleri, o uçucu yağı oluşturan maddelerin kombinasyonu ve derişimlerine bağlıdır (Carrapiso ve Ark., 2002). Uçucu yağların en önemli kısımları terpenik bileşikler ve bu bileşiklerin yüksek homologlarıdır. Monoterpenler 10 karbon atomu içerirken, bunların yüksek homologları olan seskuiterpenler 15, diterpenler 20, triterpenler ise 30 karbon atomu içermektedirler. Tüm bu moleküllerin oluşumundaki yapıtaşı ise 5 karbona sahip izopren'dir (Caldefie-Chezet ve Ark., 2006).

Bitkilerden elde edilen uçucu yağların teropatik amaçla kullanıldığı ve fitoterapinin bir dalı olan aromaterapi, günümüzde hızla yaygınlaşan bir doğal terapi şeklidir (Delgado, 2005). Aromaterapinin günümüze kadar olan gelişimi, elini yakan ve yanık üzerine lavender uçucu yağını sürerek yaranın düzeldiğini gören Fransız kimyacı Rene-Maurice Gattefosse'ye atfedilmektedir. Gattefosse uçucu yağların olası terapatik etkileri üzerinde çalışmış ve böylece 1937'de aromaterapi keşfedilmiştir (Ernst, 2001).

Bitkilerden elde edilen uçucu yağlar; özellikle ilaç, gıda ve kozmetik sektörlerinin vazgeçilmez bir parçasıdır. Uçucu yağların büyük bir kısmı parfümeride koku maddesi olarak kullanılırken, gıda sanayinde de tat verici olarak kullanılmaktadır. Baharatın besinlere verdiği tat ve koku dışında, koruyucu bir etkisi de vardır. Bu etki baharatlarda bulunan uçucu yağdan ileri gelmekte ve uçucu yağların antiseptik etkisi sayesinde bakterilerin üremesi yavaşlamakta, besinlerin bozulması gecikmektedir. Boya hazırlanmasında çözücü olarak, madencilikte maden filizlerini yüzdürerek saflaştırmada da yararlanılmaktadır. Bununla beraber ilaç yapımında, gerek koku verici gerekse ilaç hammaddesi olarak kullanılırken, başka ilaç hammaddelerinin de yarı sentez yoluyla elde edilisinde de kullanılmaktadır. Genel olarak uçucu yağların içeriklerinin onlara tedavi edici değerini kazandıran çeşitli alkoller, esterler, terpenler, aldehitler, kumarinlerden oluştuğu belirtilmiştir (Tanker ve Tanker, 2003). Bu maddeler uçucu yağlara; ağrı kesici, yara iyileştirici, sakinleştirici, mikrop ve mantar öldürücü, ferahlatıcı, stres giderici, zihin açıcı, uyutucu etkiler sağlamakla birlikte ayrıca, kasılma ve spazmların önlenmesinde, sindirim ve solunum sistemlerinin düzenlenmesinde, cilt hastalıklarının iyileştirilmesinde de katkıda bulunabilmektedir (Hajhashemi ve Ark., 2000; Backhause ve Ark., 2001).

Uçucu yağlar birçok biyolojik aktiviteye sahip olup, bunlardan bazıları antibakteriyel (Cha ve Ark., 2007), antifungal (Pyun ve Shin, 2006) ve antioksidan (Kim ve Ark., 2004a; Singh ve Ark., 2006) özellikleridir.

Uçucu yağların bileşiminde yer alan terpenik bileşiklerin, kimyasal yapılarından dolayı potansiyel antioksidan aktiviteye sahip oldukları bilinmekte olup (Battino ve Ark., 2002; Shyamala ve Ark., 2007), uçucu yağların kimyasal yapılarındaki farklılıklardan dolayı, antioksidan aktiviteleri de oldukça değişiklik göstermektedir (Wei ve Shibamoto, 2007).

Bitkilerden elde edilen uçucu yağların antioksidan özelliği, özellikle DPPH radikali temizleme ve linoleik asit yöntemleri ile bakılmaktadır. Reaktif oksijen radikallerini temizleme özelliği ise yok denecek kadar azdır (Candan ve Ark., 2003).

1.4. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Türleri (ROT)

Serbest radikaller, dış yörüngesinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron taşıyan organik veya inorganik moleküllerle tepkimeye girebilme yeteneğine sahip yüksek oranda reaktif kısa ömürlü bileşiklerdir.

Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu meydana gelirler. Serbest radikaller pozitif yüklü veya elektriksel olarak nötral olabilirler. Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Mo^{5+} gibi geçiş metallere eşleşmemiş elektronları olduğu halde serbest radikal olarak kabul edilmezler. Fakat bu iyonlar tepkimeleri katalizlediklerinden, serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar (Akkuş, 1995).

Serbest radikaller hücrelerimizde sürekli bir oluşum halindedir ve bu oluşum yollarını üç grupta toplanabilir (Halliwell ve Gutteridge, 1989; Halliwell, 1994).

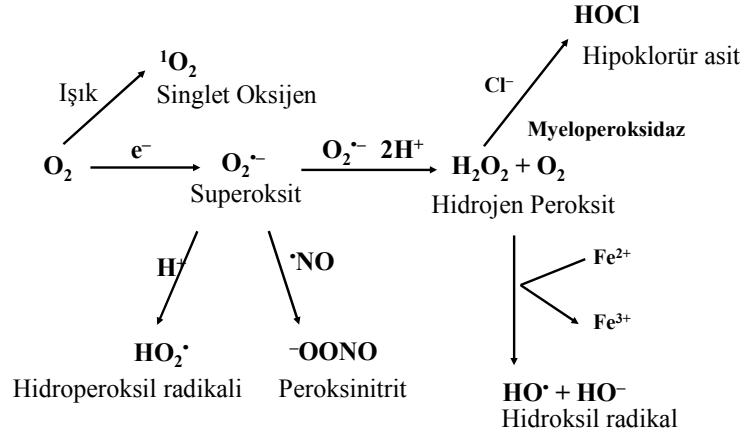
a) Normal hücre metabolizması sırasındaki oksijen içeren biyokimyasal tepkimelerde (trikarboksilik asit döngüsü gibi),

b) Enfeksiyonların neden olduğu olaylarda, fagositler tarafından hücre içine alınan bakteri ve diğer canlıların öldürülmesi amacı ile,

c) İyonize radyasyon, UV, çevre kirliliği, sigara dumanı, hiperoksi, aşırı egzersiz ve iskemi sırasında.

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşan radikallerdir. Aerob canlılar yaşamlarının devamı için oksijene gereksinim duyarlar. Ancak yüksek derişimlerdeki oksijen hücre hasarına yol açmaktadır (Halliwell, 1991).

Moleküler oksijenin toksik oluşunun nedeni, oksijenden kaynaklanan süperoksit, hidroksil, alkoksil, peroksil gibi reaktif oksijen radikalleridir (Şekil 1.4.1.).



Şekil 1.4.1. Reaktif oksijen türlerinin oluşumu

Canlılarda oluştuğu ilk gösterilen radikal olan süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$); indirgeyici özellikteki biyomoleküller oksijene tek elektron verip kendileri oksitlenirken, birçok enzimin katalitik etkileri sırasında veya mitokondrideki enerji metabolizması sırasında ve aktive edilen fagositik lökositlerce olmak üzere başlıca dört mekanizma ile üretilmektedir. Süperoksit radikali, hem hidrojen peroksidin öncülü olduğundan hem de metalleri indirgediğinden, proteinlere bağlı metallerin serbest kalmasına ve böylece enzimlerde aktivite kaybına yol açmaktadır. Oksijenin enzimatik olarak iki elektronla indirgenmesiyle veya süperoksidin dizmutasyonu ile oluşan hidrojen peroksit (H_2O_2), paylaşılmamış elektron içermediğinden radikal özelliği taşımamaktadır. Ancak, Cu ve Fe gibi metal iyonların varlığında hidroksil radikalının öncülü olarak davrandığından oksitleyici tür olarak bilinmektedir. Biyolojik ve kimyasal sistemlerde üretilen hidroksil radikali ($\cdot OH$); iyonlaştırıcı radyasyon ile sulu ortamda ve hidrojen peroksidin indirgenmesiyle oluşmaktadır. Süperoksit ve askorbik asit gibi indirgeyici türlerin bulunduğu ortamlarda hidrojen peroksitten hidroksil radikali üretimi sürekli duruma gelmektedir. Her tür hidroksil radikalının hedefi ise de, özellikle elektronca zengin bileşikler, seçilen tercihli hedeflerdir. Hidroksil radikalının başlıca hedefi zardaki yağ asitleridir. Zar lipidlerinin peroksidasyonu ise hücre ölümlerine yol açmaktadır. Oksijenin enerjetik olarak uyarılmasıyla singlet oksijen (1O_2) oluşmaktadır. Vücutta başlıca; pigmentlerin oksijenli ortamda ışığı absorblamalarıyla, hidroperoksitlerin metaller varlığında yıkım tepkimeleriyle veya kendiliğinden dizmutasyon tepkimeleriyle ve ayrıca

bazı sitokrom P450 tepkimeleriyle oluşmaktadır. Singlet oksijen özellikle karbon-karbon çift bağlarıyla tepkimeye girmekte ve doymamış yağ asitleriyle doğrudan tepkimeye girerek, hidroksil radikali kadar etkin lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir (Kılınç ve Kılınç, 2002).

Hidrojen peroksit, singlet oksijen, hidroksil ve süperoksit radikallerini içeren reaktif oksijen türlerinden (ROT) bazılarının in vivo sistemde enerji üretiminde, fagositozda, hücre içi sinyal iletiminde ve hücre büyümesinin düzenlenmesinde veya biyolojik önemli bileşiklerin sentezinde pozitif rolleri bulunmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1989; Halliwell, 1994). Bununla birlikte reaktif oksijen türleri hücre zarlarındaki lipidlere, dokudaki proteinlere, enzimlere, karbohidratlara, DNA'ya saldırarak DNA'da ve zarlarda hasara ve protein modifikasyonuna neden olmaktadır (Cerutti, 1994; Dean ve Ark., 1993; Diplock ve Ark., 1994). Miyokard enfarktüs gibi kardiyolojik hastalıklar, nörolojik hastalıklar, astım, diyabet, romatoid artrit gibi romatolojik hastalıklar, kanser ve yaşlanma dahil birçok hastalığın oksidatif stres ile ilişkisi gösterilmiştir (Parejo ve Ark., 2002).

Reaktif oksijen türevlerinin vücutta meydana getirdiği hasarları önlemek üzere vücutta görev yapan savunma sistemlerine antioksidan savunma sistemleri adı verilir. Antioksidanlar doğal (endojen) ve eksojen kaynaklı antioksidanlar veya enzimatik olan ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar. Enzim kaynaklı antioksidanlara örnek olarak mitokondrial sitokrom oksidaz, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon-S-transferaz ve hidroperoksidaz sayılabilir. Enzim olmayanların başında lipid fazda yeralan α -tokoferol (E vitamini), β -karoten ile suda çözünenler; askorbik asit (C vitamini), melatonin, sistein, seruloplazmin, hemoglobin, bilirubin v.b sayılabilir (Lee ve Ark., 2001).

Antioksidanlar etkilerini başlıca iki şekilde gösterirler (Memişoğulları, 2005);

- 1) Serbest radikal oluşumunun önlenmesi:
 - a. Başlatıcı reaktif türevleri uzaklaştırıcı etki,
 - b. Oksijeni uzaklaştırıcı veya derişimini azaltıcı etki,
 - c. Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırıcı etki.
- 2) Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesidir.

Bu amaçla, antioksidanların oksidan moleküllere karşı etkileri için genel olarak aşağıdaki gibi sınıflandırma da yapmak mümkündür (Memişoğulları, 2005).

- a. Süpürücü (Scavenging) etki gösterenler: Yeni radikal oluşumunu engellerler ve oluşmuş olan radikalleri daha az zararlı hale getirirler. Örnek olarak; Süperoksit dizmutaz (SOD) ve Glutasyon peroksidaz (GPx) gibi enzimleri ve metal bağlayıcı bazı proteinleri verebiliriz.
- b. Söndürücü (Quencher) etki gösterenler: Oksidanlarla etkileşip, onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini söndüren ve inaktif hale getiren bileşiklerdir. Örnek olarak, vitaminler; A vitamini (β -karoten), C vitamini (askorbat), E vitamini (α -tokoferol), flavonoidler, mannitol ve antosiyanidinler verilebilir.
- c. Zincir kırıcı (Chain breaking) etki gösterenler: Zincirleme olarak devam eden tepkimeleri belli yerlerinden kırarak, oksidan etkiyi durdururlar. Örnek olarak bazı vitaminler, ürik asit, bilirubin ve albumin gösterilmektedir.
- d. Tamir edici (Repair) etki gösterenler: Bu grupta DNA tamir enzimleri, metionin sülfoksit redüktaz sayılabilir.

Gıda katkı maddesi olarak kullanılan bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) ve bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) gibi bileşiklerin antioksidan özelliğini gösteren birçok çalışma mevcut olmasına karşın bunların, karaciğer hasarına sebep oldukları ve karsinojenik özellik gösterdikleri saptanmıştır. Bu nedenle doğal antioksidanlara olan ilgi son yıllarda artmaktadır (Wanasundara ve Shahidi, 1998).

1.5. Diyabet

Diyabet (Diabetes mellitus (DM)), insülinin tamamen veya kısmi eksikliğine bağlı olarak gelişen ve yüksek kan şekeri (hiperglisemi) ile karakterize edilen bir hastalıktır. İnsülin eksikliğinin yanı sıra insüline karşı gelişen direnç, diyabet gelişiminde rol oynamakta; karbohidrat, lipid ve protein metabolizmasını da etkilemektedir (Abou-Seif ve Youssef, 2004).

Kontrol altına alınmamış ve yüksek seyreden kan şekeri; kalp-damar hastalıkları, böbrek yetmezliği ile sonuçlanan nefropati, sinir sistemi hastalığı (nöropati), körlüğe kadar götüren retinopati ve ayak ülserleri gibi uzun vade komplikasyonları sonucu felç, kangren veya kroner hastalıkların meydana gelme riskini artırmaktadır (Zimmet ve Ark., 2001).

Diyabet, dünya nüfusunun yaklaşık %5-10'nu etkileyen kronik hastalıklardan birisi olup, 2010 yılında dünya nüfusunda 239 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir (Dwarakanathan, 2006).

Diyabet, Tip I ve Tip II olarak iki başlık altında incelenmektedir. İnsuline bağımlı diyabet, “Tip I” şeklinde ifade edilmektedir. Başlıca özelliği; pankreastaki Langerhans adacıklarında toplanmış beta hücrelerinin yıkım derecesine bağlı olarak, ya hiç insülin salgılamaması ya da yok denecek kadar az salgılama yapmasıdır (Burns ve Ark., 2006).

Tip I diyabet, her yaşta ortaya çıkabilse de, genelde gençlerde görülmekte ve kalıtım faktörleri çok önemli bir role sahip olmamaktadır. Yapılan gözlemler, çevresel faktörlerin (virüs ya da bakteri etkenli hastalıklar, otoimmün nedenlerle, ruhsal ya da fiziksel travmalar, aşırı stres vb.) ön plana çıktığını göstermiştir (Katona-Durekovic, 2007).

Şeker hastalığının diğer tipi, insüline bağımlı olmayan diyabet, “Tip II” şeklinde ifade edilmektedir. Burada, Tip I diyabetin tersine, insülin eksikliği söz konusu değildir. İnsülin bazen normal, hatta yüksek miktarda salgılanmaktadır. Ancak bu defa pankreasın insülin üretimi, ihtiyacı karşılamamakta ve insülin etkisiz kalmaktadır. Yani, sorun insülinin yetersizliği ya da etkisizliği olarak tanımlanabilir (Quinn, 2001).

Hastaların %80’inden fazlası 40 yaşından sonra bu hastalığa yakalanmaktadır ve şişmanlık bu hastalığın çoğunda belirgin bir özelliktir. Bu yüzden ‘şişman diyabet’, genellikle 35-40 yaşından sonra ortaya çıktığı için de ‘yaşlılık diyabeti’ gibi adlar alır. Tip II diyabet oldukça yaygın bir hastalıktır.

1.6. Oksidatif Stres ve Diyabet

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların giderilme hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da giderilme hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olur. ‘Oksidatif stres’ olarak adlandırılan bu durum özetle; serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır (Gumieniczek ve Ark., 2002).

Diyabette reaktif oksijen türlerinin rolü 1980’li yıllardan beri geniş çapta tartışılan bir konu olmuş ve son zamanlarda oksidatif stres, diyabet ve diyabetik komplikasyonlar arasındaki bağlantıların mekanizmaları ile ilgili çalışmalar yoğunluk kazanmıştır (Evans ve Ark., 2002; Pop-Busui ve Ark., 2006). Diyabette oksidatif stresin artmasından dolayı serbest radikal oluşumunun arttığı ve serbest radikal oluşumunun artmasına rağmen antioksidan üretiminin azaldığı gözlenmiştir. Böylece, artmış olan serbest radikal

derişimi, diyabetin önemli komplikasyonlarından birisi olarak kabul edilmektedir (Maritim ve Ark., 2003).

Süperoksit dizmutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin ve antioksidan kapasitenin karaciğer, böbrek, iskelet kası ve adipoz doku gibi diğer dokularla kıyaslandığında, pankreas adacık hücrelerinde en düşük düzeyde olduğu bilinmektedir. Bu nedenle diğer dokulara göre oksidatif strese en duyarlı yapılardan biri olduğu bilinen beta hücrelerinde gözlenen hasarın hipergliseminin toksik etkilerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Beppu ve Ark., 2003).

Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, diyabetik olguların plazma lipoproteinlerinde, eritrosit zar lipitlerinde ve çeşitli dokularda lipid peroksidasyonunun arttığını göstermiştir (Mahbood ve Ark., 2005; Peerapatdit ve Ark., 2006a; 2006b). Hem Tip I hem de Tip II diyabette, lipidlere ilave olarak protein oksidasyonunda da artış görülmektedir (Çakatay ve Ark., 2000; Telci ve Ark., 2000). Zar kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikaller ile tepkimeye girerek peroksidasyon oluştururlar. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüz olup oldukça zararlıdır. Lipid peroksidasyon ürünlerinden malondialdehit, zar bileşenlerinin çapraz bağlanmasına ve polimerizasyonuna sebep olur. Bu da, deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi zar özelliklerini değiştirir. Bu özellikleri ile malondialdehit, mutajenik kültür hücreleri için genotoksik ve karsinogeniktir (Akkuş, 1995; Köse ve Doğan, 1992; Onat ve Emerk, 1998).

Hiperglisemi aracılı ROT üretimi başlıca üç mekanizma ile açıklanmaktadır.

1.6.1. Glukozun oto-oksidasyonu ve süperoksit üretimi

Bir geçiş elementinin varlığında glukoz, ketoaldehitlere dönüşürken süperoksit anyonu oluşmaktadır. Süperoksit radikalinin hidrojen peroksit üzerinden hidroksil radikaline dönüşmesi sonrası, insülin reseptör sinyal sistemi üzerinde etkili olduğu ve insülin tarafından reseptör aracılığı ile düzenlenen sinyal iletim yollarında anahtar bir rol oynayabileceği düşünülmektedir. Hücre içi glukoz oksidasyonu NADH'nin açığa çıkmasına yol açar. NADH solunum zincirinde oksidatif fosforilasyon yolu ile ATP üretimi için gerekli enerjiyi sağlamak üzere kullanılır. Solunum zincirindeki bu tepkime sırasında süperoksit radikali açığa çıkmaktadır. Yüksek glukoz derişimi varlığında bu yolla süperoksit radikal üretimi artmaktadır. Normal solunum zinciri olayları sırasında sürekli olarak süperoksit radikali oluşmakta ve mitokondriyel solunum zinciri, başlıca

hücre içi ROT üretim kaynağı olmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, diyabetteki patolojilerin bir çoğunun artmış mitokondriyal ROT üretimi ile ilgili olduğunu göstermektedir (Rolo ve Palmeira, 2006).

1.6.2. Proteinlerin glikozilasyonu ve ilerlemiş glikozilasyon son ürünleri (AGE) oluşumu

Glukoz ve proteinlerin amino grupları arasında kendiliğinden gelişen enzimatik olmayan glikozilasyon tepkimeleri yoluyla önce Schiff bazları, sonrasında daha kararlı olan Amadori ürünleri oluşur. Amadori ürünlerinin oluşumundan sonra ileri glikozilasyon son ürünleri (AGE) meydana gelir. AGE'ler, kompleks biyokimyasal mekanizmalarla serbest radikal üretebilme kapasitesine sahiptirler. Proteinler, yüksek glukoz derişimleri ile karşılaştıklarında, glukoz bir enzimin aracılığına gereksinim duymadan proteine bağlanarak kontrolsüz glikozilasyon tepkimelerine neden olmaktadır. Glikozilasyona uğramış protein, moleküler oksijene bir elektron vererek serbest oksijen radikali oluşumuna yol açmaktadır. Glikozilasyon aracılı serbest radikal üretiminin insülinin gen transkripsiyonunu azalttığını ve beta hücre apoptozuna yol açtığını gösteren çalışmaların bulguları bu görüşü destekler niteliktedir (Ahmed, 2005).

1.6.3. Polioli yolu

Yüksek derişimdeki glukoz, polioli yolu ile sorbitol üretimine neden olmaktadır. Bu yoldaki aldoz redüktaz enzim aktivitesi için NADPH kullanıldığından, hücre içi NADPH tüketilmektedir. Yükseltgenmiş glutatyonun indirgenmiş forma çevrilebilmesi ve nitrik oksit (NO) sentezi için NADPH gerekmektedir. Bu nedenle sorbitol yolunun aktif olması ve sonuçta NADPH'in yokluğu hücrenin antioksidan kapasitesinin sınırlanması anlamına gelmektedir. İndirgenmiş glutatyonun ve NO sentezinin azalması diyabetin vasküler komplikasyonlarının ortaya çıkışında rol oynamaktadır (Obrosova, 2005).

1.7. Diyabette Tedavi

Diyabetin günümüzdeki terapileri; diyet, egzersiz gibi yaşam stilindeki modifikasyonları ve farklı farmakolojik ajanların kullanılmasını içermektedir. Bu ajanların amacı; insülin salınımı ve insülin duyarlılığını arttırmak, hepatik glukoz üretimini azaltmaktır (Mayer-Devis ve Costacou, 2001). Diyabetin tedavisinde asıl amaç olan

glisemik kontrol; kardiyovasküler hastalıkları, retinopati, nefropati ve nöropati'yi içeren diyabetik komplikasyonların önlenmesi veya geciktirilmesiyle ilgili olup hedef; kan glukoz düzeyinin sürekli olarak normal değerler aralığında tutulmasıdır (American Diabetes Association, 2002).

Son araştırmalarda tokluk kan şekerinin yüksek olmasının, değişik proteinlerin enzimatik olmayan glikozilasyonuna yol açarak, diyabetteki kronik komplikasyonların ilerlemesine sebep olduğu bildirilmiştir (McCue ve Ark., 2004). Diyabetik komplikasyonların önlenmesinde tokluk glukoz kontrolünün önemli olduğu, bu nedenle tokluk plazma glukoz oranı kontrolü, diyabetin erken tedavisinde ve kronik vasküler komplikasyonların azaltılmasında kritik öneme sahip olacaktır (Hanefeld ve Temelkova-Kurkschiev, 2002; Fonseca, 2003).

Tip I diyabetin tedavisi hastaya enjeksiyonla insülin vermeye dayanmaktadır (Yadav ve Parakh, 2006). Hiperglisemi ile karakterize edilen Tip II diyabette, bozulmuş insülin salınımı ve insülin direncine karşı kullanılacak birçok antidiyabetik ilaç bulunmaktadır. Oral antidiyabetik ilaçlar (ODİ) etki mekanizmalarına göre üç gruba ayrılırlar (Lebovitz, 2004);

a) Sülfonilüreler: Bu ilaçlar pankreası uyararak daha fazla insülin üretimini ve salınımını sağlarlar. Ayrıca hepatik glukoz üretimini azaltırlar ve periferik glukoz kullanımını arttırlar. Böylece kan şekeri düzeylerini kontrol altında tutarlar.

b) Biguanidler: Karaciğerde depolanan glukozun salınımını azaltırlar. Amino asit ve yağlardan glukoz üretimini azaltır ve glukozun vücutta kullanımını artırır.

c) α -glukozidaz İnhibitörleri: Bu grup ilaçlar ince barsaktaki α -glukozidaz enzimini tersinir olarak inhibe ederek, bağırsaklardan nişasta ve sukroz sindirimini ve emilimini yavaşlatarak kan şekerini düşürürler.

Diyabet tedavisinde antidiyabetiklere ek olarak antioksidan maddelerin veya antioksidan özellikleri olan antidiyabetiklerin kullanılması oksidatif stresle başa çıkabilmek için tavsiye edilmektedir. Diyabette kullanılan ekzojen antioksidan maddeler aşağıda verilmiştir (Memişoğulları, 2005);

1) Melatonin; Lipofilik bir antioksidandır. Yapılan çalışmalarda diyabette artmış oksidatif stresi azalttığı belirtilmektedir. Bilinen en reaktif radikal olan hidroksil radikali ile tepkimesi sonucu indolil katyon radikali oluşturur. Bu radikal de ortamdaki süperoksid radikali tutarak etkisizleştirir.

2) Anjiyotensin konvertaz enzim inhibitörleri; Bu ilaçlar aynı zamanda antioksidan aktiviteye sahip ilaçlardır. Yapılan bir çalışmada bu grup ilaçların diyabetli böbrekte SOD aktivitelerini artırdığı ve MDA seviyelerini azalttığı da gösterilmiştir.

3) Sülfanilüreler; Glibenklamid'in katalaz ve SOD aktivitesini artırdığı bulunmuştur. Glipizid'de antioksidan aktivite gösteren başka bir sülfanilüre türevi antidiyabetiktir. Gliklazid genel bir serbest radikal temizleyici ve ikinci jenerasyon sülfanilüre grubu bir antidiyabetiktir ve LDL oksidasyonunu azalttığı gösterilmiştir.

4) Metformin; Biguanid grubu bir antidiyabetiktir. Metforminin örneğin eritrosit, karaciğer ve kan glutatyonunu artırdığı, lipid peroksidasyonunu ise azalttığı belirtilmektedir. Aynı zamanda demir ve bakır gibi metallerle şelat yaparak onların toksik etkilerini yok ettiği için de antioksidan özellik gösterir.

5) Lipoik Asid; Antioksidan özelliği kendisinin dihidro lipoik aside indirgenirken, serbest radikalleri temizlemesinden ve metal iyonlarıyla şelat yapmasından kaynaklanmaktadır. Hücrelerin glukoz kullanımını artırdığı için diyabet tedavisinde de kullanılmaktadır.

6) Allopurinol; Hem ksantin oksidaz ve hem de ksantin dehidrogenaz hipoksantini ksantine ve ksantini de ürik aside dönüştürür. Allopurinol ksantin oksidazı inhibe eder ve aynı zamanda da lipid peroksidasyonunu ve hemoglobin glikasyonunu azalttığı bildirilmektedir. Ancak antioksidan olarak bilinen ürik asit düzeylerini de azalttığı için diyabette allopurinolün etkisinin diğer antioksidanlara göre daha zayıf kalacağı belirtilmektedir.

7) Pentoksifilin; Pentoksifilin diyabette lipid peroksidasyonunu azalttığı belirtilmektedir.

Oral antidiyabetik ilaçlarla kan şekeri düzeyleri kontrol altında tutulamayan bazı Tip II diyabetlilerde insulin enjeksiyonun gerektiği bildirilmiştir (Mudaliar ve Edelman, 2001).

Bu ilaçlar, sentetik olmaları ve yüksek dozlarda, riskli karaciğer fonksiyon bozukluklarda etkili olmaları nedeniyle negatif yan etkilere sahiptirler. Bu nedenle antidiyabetik tedavide hiperglisemiye karşı etkili olacak doğal ajanların geliştirilmesi üzerine araştırmalar yoğunlaşmıştır (Mudaliar ve Edelman, 2001; Carroll ve Ark., 2003).

1.8. Diyabette Alternatif Tedavi

Diyabetin tedavisi amacıyla bitkilerin kullanımı, Ebers papirüslerinden edinilen bilgilere göre M.Ö. 1500 yıllarına kadar gitmektedir (Pushparaj ve Ark., 2000).

Dünyanın pek çok yerinde çeşitli bitkiler, diyabetin tedavisi için kullanılmakta olup (Elder, 2004), özellikle geleneksel Çin ve Hint tıbbında, bitki ve herbal özütlerden antidiyabetik ajanlar olarak uzun zamandan beri yararlanılmaktadır (Chen ve Ark., 2001; Grover ve Ark., 2002). Etnobiyolojik bilgilere göre; 800'den fazla bitki şeker hastalığının geleneksel tedavisinde kullanılmaktadır (Eidi ve Ark., 2005). Kullanılan bu geleneksel bitki tedavilerinin bir kısmı bilimsel çevrelerce dikkate alınmakta ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) bu alandaki çalışmaları desteklemektedir (WHO, 2002). Farklı kültürler tarafından kullanılan geleneksel bitkisel ilaçların kullanım amaçlarına uygun olup olmadıklarının bilimsel temelini oluşturmak için ve Tip II diyabetle ilgili semptomların tedavisi amacıyla yeni terapatik ilaçların keşfi için bilimsel çalışmalar artmaktadır (Lebovitz, 2002).

Modern tıpta diyabetin tedavisinde insülin ve oral antidiyabetikler kullanılsa da özellikle gelişmekte olan ülkelere bu ilaçların sağlanması, saklanması ve ilaçların yan etkileri gibi nedenlerden dolayı alternatif olarak yeni, doğal veya sentetik antidiyabetik ilaç arayışlarına yönelim başlamıştır (Hamdan ve Afifi, 2004).

Ülkemizin çeşitli bölgelerinde de diyabet tedavisi için geleneksel bitki tedavilerine başvurulduğu; kandaki şeker düzeyini düşüren bitkilerin ise; yaban mersini yaprağı, ısırganotu, zeytin yaprağı, böğürtlen yaprağı, bezelye, arpa, yulaf, ginseng, ökseotu, ıspanak, pelinotu, enginar yaprağı, havuç, hindiba, fasulye kabuğu, çiğ lahana, çiğ soğan, adaçayı, kara üzüm yaprağı, ökaliptus yaprağı, maydanoz, pırasa olduğu bilinmektedir (Baytop, 2000).

1.9. α -amilaz ve α -glukozidaz

Tokluk kan şekerinin düşürülmesi için terapatik yaklaşımlardan birisi, sindirim organlarındaki α -amilaz ve α -glukozidaz gibi karbohidrat hidroliz enzimlerinin inhibisyonuyla glukoz emilimini geciktirmektir (McCue ve Ark., 2005). Bu nedenle, yeni farmokolojik ajanlar geliştirmek için yapılan çalışmalar, α -amilaz ve α -glukozidaz inhibisyonu üzerinedir (Kim ve Ark., 2000; Johnston ve Ark., 2002). α -amilaz (E.C

3.2.1.1) ve α -glukozidaz (E.C 3.2.1.20), karbohidrat sindiriminde görev alan anahtar enzimlerdir.

α -amilazlar (α -1,4-glukan-4-glukanohidrolaz); glikojen, amilopektin ve amilozdaki α -D-(1,4) glikozid bağlarını hidrolizleyen enzimler sınıfına ait olup birçok ototrof ve hetotrof organizmada yaygın bir şekilde bulunmakta ve karbohidrat metabolizmasında önemli rol almaktadırlar. α -amilaz (α -1 \rightarrow 6) glikozit bağlarına etkili değildir. Karbohidrat sindirimi ağızda başlamakta ve tükürükte bulunan α -amilaz nişastanın iç glikozit bağlarını hidrolizleyerek, kısa polisakkarit parçalarını veya oligosakkaritleri üretmektedir. Midede, tükürük α -amilazı düşük pH'da inaktifleşmekte fakat, pankreastan ince bağırsağa salgılanan α -amilazın ikinci bir şekli kırma işlemine devam etmektedir. Pankreatik α -amilaz, başlıca maltoz, dekstrin oligosakkaritleri ve (α -1 \rightarrow 6) dallanma noktaları içeren amilopektin parçacıklarını açığa çıkarmaktadır (Yoon ve Robty, 2003).

Birçok farklı materyalden α -amilaz saflaştırılarak amino asit dizileri saptanmıştır. Nakajima ve arkadaşları (1986), domuz pankreas, insan tükürük, fare tükürük ve pankreas ile bazı mikroorganizma α -amilazlarının özelliklerini karşılaştırılmışlardır. Brayer ve arkadaşları (1995), insan tükürük ve pankreas α -amilazlarının birincil yapılarının çok yüksek benzerlik gösterdiklerini, fonksiyonel farklılıkların ise bazıları önerilen aktif bölgelerde yer alan 15 amino asidin farklılığından kaynaklandığını bildirilmişlerdir. İnsan pankreas α -amilazı, 496 amino asit içeren tek bir polipeptid zincir oluşmaktadır. α -amilazın aktif bölgesi Asp 197, Glu 233 ve Asp 300 amino asitlerinden içermektedir. α -amilaz Ca^{2+} iyonu gerektiren bir metalloenzimdir ve Ca^{2+} yokluğunda aktivitesini kaybetmektedir. Ca^{2+} iyonu Asn 100, Arg 158, Asp 167 ve His 201 amino asitlerine bağlanırken, aktivatör olarak rol alan Cl^- iyonu ise Arg 165, Asn 298 ve Arg 337 amino asitlerinden bağlanmaktadır (Brayer ve Ark., 1995).

α -amilaz inhibisyonunun, karbohidrat toleransına, tokluk hissi, kilo kaybı ve uzun süreli gastrik boşalmaya neden olduğundan, α -amilaz inhibitörlerinin obezite ve Tip II diyabet tedavisinde etkili olabilecekleri bildirilmiştir (Gerrard ve Ark., 2000; Conforti ve Ark., 2005).

Karbohidrat sindiriminde önemli olan bir diğer enzim olan α -glukozidaz ise, ince bağırsak epitelyumunda zar-bağlı enzim olup oligosakkaritler ve disakkaritleri glukoz birimlerine hidrolizlemektedir. α -glukozidaz, karbohidratların sindiriminin son basamağında görev aldığından, bu enzimin inhibitörleri, karbohidratların tamamen sindirilme sürelerini uzatarak, sindirimini geciktirmektedirler (Kim ve Ark., 2005a). Bu nedenle α -glukozidaz inhibitörleri, karbohidratların hidrolizini ve emilimini yavaşlatarak

tokluk kan şekeri yüksekliğini baskılayabilmektedirler. α -glukozidaz inhibitörleri, glukoz emilim hızının azalmasına ve artmış olan tokluk kan glukoz oranının düşmesine sebep olduklarından, α -glukozidaz inhibisyonunun, Tip II diyabetin düzenlenmesinde önem kazanmaktadır (Ali ve Ark., 2006; Hamdan ve Afifi, 2004).

1.10. Okaliptus Yaprığı (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.)

Myrtaceae (Mersingiller) familyasına ait bir bitkidir. Güney Anadolu'da yetişen okaliptus ağacı 'Adana okaliptusu' olarak bilinmektedir. Çalışmamızda kullanılan tür, *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. (*Myrtaceae*) türünün yapraklarıdır. Yaprakları 15-30 cm uzunluğunda, 2-5 cm genişlikte, sert, gevrek ve sarımsı yeşil renklidir (Baytop, 2000).



Şekil 1.10.1. Okaliptus yaprağı

Su buharı distilasyonu ile elde edilen uçucu yağı renksiz veya hafif sarı renkli olup, başlıca kullanım alanları tıbbi ve farmasötik amaçlıdır (Giamakis ve Ark., 2001). Dr. Kubler ve Dr. Zembert, yapraklarından elde edilen yağın psikiyatride kullanıldığını, uçucu olan bu yağın etkisinin terementine benzediğini bildirmişlerdir. Okaliptus yağı, kafur kokusunda olması nedeniyle sinir sistemini etkileyerek rahatlama sağlamaktadır. Bunun yanında lokal olarak kanamaların durdurulmasında, masaj yoluyla migren ve baş ağrısı gidermede, solunum yolları tıkanıklığında, kronik bronşitte, öksürükte, tüberkülozda, yapraklarının çignenmesi yoluyla dişeti ve ağız hastalıklarında, sıtmada, pansuman maddesi olarak yaralanma ve iltihaplarda kullanılmaktadır. Okaliptus

yapraklarından elde edilen okaliptol (1,8-sineol), ilaç kodeksine girmiş olup günümüzde de kullanılmaktadır (Baytop, 2000; Gökçe ve Karlıkaya, 2002).

Çalışmamızda kullanılan *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. (*Myrtaceae*) türüyle ilgili çalışma az olup, daha çok uçucu yağ bileşenlerinin saptanmasına yönelik çalışmalar bulunmaktadır. Okaliptus türlerinde uçucu yağların % 25 - % 90 aralığında en çok yapraklarda bulunduğu ve en fazla bulunan 1,8-sineolün yanı sıra, monoterpen hidrokarbonların ilk üç ana bileşen olduğu, seskuiterpen hidrokarbonları ve oksijenlenmiş monoterpenleri ise daha az miktarlarda içerdikleri bildirilmiştir (Pagula ve Ark., 2000). da Cruz Francisco ve arkadaşları (2002), bitkinin hidrodistilasyon ve süper kritik karbondioksit özütlemesiyle elde edilen uçucu yağlarını çalışarak, ilk üç ana bileşenin 1,8-sineol, α -pinen ve p-simen olduğunu saptamışlardır.

1.11. Defne Yaprığı (*Laurus nobilis* L.)

Lauraceae familyasına ait bir bitkidir. Çalışmamızda kullanılan tür, *Laurus Nobilis* L. (*Lauraceae*) türünün yapraklarıdır. Bu tür 3-10 m yüksekliğinde, kışın yapraklarını dökmeyen ve sarı çiçekli bir ağaç olup, yapraklar 5-10 cm uzunluğunda, 2-5 cm genişliğinde, sert ve kısa saplı, yeşil renkli; meyveleri ise küçük zeytin tanesi biçimindedir. Avrupa'da yaygın bir şekilde bulunmakla birlikte, ülkemizde de Ege, Akdeniz ve Karadeniz bölgelerinin sahil kısımlarında bulunmaktadır (Baytop, 2000).



Şekil 1.11.1. Defne yaprağı

Antiseptik, antiromatizmal, diüretik, kulak ve mide ağrılarını giderici olarak geleneksel tedavi amaçlı; kuru meyveleri besinlerde tatlandırıcı olarak, kuru yaprakları çay olarak, uçucu yağı ise sabun yapımında, besin ve kozmetik endüstrisinde koku verici olarak kullanılmaktadır (Baytop, 2000). Bitkiden elde edilen uçucu yağın antimikrobiyal, antifungal, haşarat uzaklaştırıcı, analjezik, antiinflamatuvar, antitümöral, asetilkolin esteraz inhibisyon aktivitesi ve antikonvülfiz özellikleri bildirilmiştir (Sayyah ve Ark., 2002; Chericoni ve Ark., 2005; Ferreira ve Ark., 2006; Soylu ve Ark., 2006; Loizzo ve Ark., 2007). Bitkiden elde edilen uçucu yağın antioksidan aktivitesi ise, sadece DPPH süpürme özelliği araştırılarak incelenmiştir (Conforti ve Ark., 2006). Yapılan farklı çalışmalarda defne uçucu yağının ana bileşenlerini 1,8-sineol, sabinen, α -pinen, linalool ve α -terpinil asetat olduğu saptanmıştır (Caredda ve Ark., 2002; Simic ve Ark., 2004; Özcan ve Chalchat, 2005). Dadaloğlu ve Evrendilek'de (2004), defne uçucu yağının antibakteriyel özellik gösterdiğini, ana bileşenlerinin 1,8-sineol, α -terpinen ve sabinen olduğunu bildirmişlerdir.

1.12. Mersin yaprağı (*Myrtus communis* L.)

Myrtaceae familyasına ait bir bitkidir. Çalışmamızda kullanılan tür, Mersin yaprağı (*Myrtus communis* L.) (*Myrateceae*) türünün yapraklarıdır. Bu tür 1-3 m yüksekliğinde, kışın yapraklarını dökmeyen ve beyaz çiçekli bir ağaç olup; yapraklar 1-3 cm uzunluğunda, 0.5-1 cm genişliğinde, sivri uçlu, tüysüz ve derimsi, meyveleri ise nohut büyüklüğünde, siyahımsı mor renklidir. Akdenize özgü bir bitki olup Güney ve batı Anadolu'da da yaygın biçimde bulunmaktadır. Hipoglisemik etkisi için mersin yağının günde 10 damla kullanılması önerilmektedir (Baytop, 2000).

Mersin (*Myrtus communis* L.) bitkisi ülkemizde genellikle 'mersin' olarak bilindiği halde özellikle, Güney sahillerinde 'murt', 'hambeles', 'adi mersin' ve 'bahar' adlarıyla bilinmektedir. Yapraklarının yanında daha az oranda meyve ve çiçeklerinden de elde edilebilen uçucu yağlar, parfümeride, kolonya sanayinde koku verici olarak, çeşitli içeceklerde, şekerlemelerde, çeşni karışımlarında, soslarda, dondurmalarda ve fırıncılık ürünlerinde yaygın biçimde kullanılmaktadır. Yapraklarından elde edilen uçucu yağların bileşimi, orjinine göre farklılıklar göstermekle birlikte, Akdeniz çevresindeki ülkelerden toplanan örneklerden elde edilen uçucu yağların bileşimindeki başlıca maddelerin; mirtenol, limonen, mirtenil asetat, α -terpinol, α -pinen, 1,8-sineol (okaliptol) ve linalool olduğu bildirilmiştir (Oğur, 1994).



Şekil 1.12.1. Mersin Yaprağı

Ivorra ve arkadaşları (1989), mersinin hidroalkolik özütünün, streptozotosinle farede oluşturulan hipergliseminin akut fazını önlediğini göstermişlerdir. Ayrıca streptozotosinden 48 saat sonra uygulandığında hiperglisemiye azaltmış ve bu etkisi doz tekrarlandığı sürece devam etmiştir. Kan şekeri normal olan deney hayvanlarına karşı herhangi bir etki göstermemiştir. Bitki özütünün antikanserojen ve antigenotoksik özellik gösterdiği bildirilmiştir (Alwa ve Ark., 1990; Hayder ve Ark., 2004). Antioksidan özelliği ise DPPH inhibisyonu ile açıklanmıştır (Hayder ve Ark., 2004).

Mersin uçucu yağının ana bileşenlerinin 1,8-sineol, α -pinen, limonen ve linalool olduğu bildirilmiş olup, uçucu yağın antifungal, insektisidal, antibakteriyel, antimikrobiyal ve antiinflamatuvar özellikleri içerdiği bulunmuştur (Garg ve Dengre, 1988; Traboulsi ve Ark., 2002; Bonjar, 2004; Yadegarinia ve Ark., 2006; Deriu ve Ark., 2007).

1.13. Amaç

Çalışma kapsamında; diyabette gözlenen yüksek kan şekerinin düşürülmesi amacıyla, ülkemizde halk arasında yaygın olarak kullanılan okaliptus (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.), defne (*Laurus nobilis* L.) ve mersin (*Myrtus communis* L.) bitki yapraklarından elde edilen uçucu yağların, diyabete sebep olduğu düşünülen reaktif oksijen türlerini temizleyerek mi yoksa karbohidrat metabolizmasında etkin olan α -amilaz ve α -glukozidaz'ı inhibe ederek mi diyabet tedavisinde etkin olup olamayacaklarının bilimsel temellere dayandırılması amaçlandı.

Bu amaçla ilk olarak, bitki uçucu yağlarının kimyasal içerikleri GC-MS ile belirlenerek, bitki uçucu yağlarının toplam fenol ve toplam flavonoid içerikleri ile toplam antioksidan özellikleri saptandı. Ayrıca uçucu yağlar ve ana bileşenlerinin, reaktif oksijen türleri (hidroksil ve süperoksit radikalleri, hidrojen peroksit ve lipit peroksit) ve sentetik radikal olan DPPH radikallerini temizleme özellikleri çalışılarak, farklı yöntemlerle antioksidan özellikleri araştırıldı. Son olarak, uçucu yağ ve ana bileşenlerinin karbohidrat metabolizmasında etkin iki enzim olan α -amilaz ve α -glukozidaz' a etkileri incelendi.

2. MATERYAL ve YÖNTEM

2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

α -glukozidaz, PNP-G, ksantin oksidaz, Gallik asit Sigma-Aldrich firmasından, 1,8-sineol ve p-simen Fluka'dan alındı. α -amilaz, PNP, eugenol, R-(+)-limonen, 1-(S)- α pinen, Kuersetin, α -tokoferol asetat, 3,5-DNS, glukoz ve diğer tüm kimyasallar Merck firmasından alındı.

2.2. Bitkilerin Elde Edilmesi

Çalışmada, kullanılan Defne yaprakları (*Laurus nobilis* L.) İstanbul Acıbadem semtinden, mersin yaprakları (*Myrtus communis* L.), Mersin'in Bozyaka İlçesi'nden, okaliptus yaprakları (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.) ise Adana'dan Haziran 2006'da toplandı ve gölgede kurutuldu. Her üç bitkide Cumhuriyet Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden Yrd. Doç. Dr. Erol Dönmez tarafından tanımlandı.

2.3. Bitki Materyalinden Uçucu Yağ Elde Edilmesi

Gölgede kurutulan ve toz haline getirilen 100 g bitki örnekleri Clevenger cihazında 500 mL su ile 3 saat süresince su buharı distilasyonu yöntemiyle özütlendi. Elde edilen uçucu yağlar + 4 °C'de saklandı.

2.4. Uçucu Yağların GC-MS Analizleri

Uçucu yağların GC-MS analizleri TÜBİTAK-MAM (Gebze-Kocaeli)'de Terma GC-MS sistemiyle yapıldı. Trace-GC-ultra sistemi, Agilen Innovak kapiler kolonla (uzunluk=60m, iç çap=0.25mm ve film kalınlığı=50 μ m) desteklenen FINNIGAN Trace-DSQ Mass spektrometre ile birleştirilmiştir. Analizlerde 1mL uçucu yağ örnekleri kullanıldı Akış hızı 1 mL dk⁻¹ olan helyum gazı taşıyıcı gaz olarak kullanıldı. Sıcaklık programlaması 50-250 °C aralığında yapıldı. 50 °C'ta 2 dakika beklendikten sonra sıcaklık, dakikada 5 °C artırılarak 250 °C'a ulaşıldı ve bu sıcaklıkta 5 dakika beklendi. Enjeksiyon ve iyon kaynağı sıcaklıkları sırasıyla, 200 °C ve 250 °C'a, detektör voltajı 70 eV' a ayarlandı ve m/z=50-450 aralığı tarandı. Bileşiklerin saptanmasında rölatif

alikonulma zamanlarından, NIST ve Wiley kütle spektrum haritaları ile alikonma indekslerinden yararlanıldı.

2.5. Toplam Fenol İçeriğinin Ölçümü

Uçucu yağların toplam fenol içeriklerinin saptanmasında Folin-Ciocalteu belirteci kullanıldı (Taga ve Ark., 1984). Metanol:su (60:40, v/v) ile hazırlanmış olan % 0.3'lük HCl ile seyreltilmiş 150 µL uçucu yağ örneklerine 3 mL % 2'lik Na₂CO₃ eklendi. 2 dakika sonra 150 µL Folin-Ciocalteu belirteci (1:1, v/v distile su ile seyreltilmiş) ilave edilerek, 30 dk oda sıcaklığında inkübe edildi ve örneklerin absorbanları 765 nm dalga boyunda kontrol örneğe (150 µL metanol, 150 µL Folin-Ciocalteu belirteci ve 3 mL Na₂CO₃) karşı okundu. Standart eğrinin hazırlanması için metanol: su (50:50, v/v)'da hazırlanan gallik asit çözeltileri kullanıldı. Uçucu yağların toplam fenol içerikleri aşağıdaki hesaplama sonucu, mg g⁻¹ yağ şeklinde gallik asit eşdeğeri olarak verildi.

$$C = \frac{c \times V}{m}$$

Burada: C – Toplam fenolik derişimi, mg g⁻¹

c – Gallik asit derişimi, mg mL⁻¹

V – Seyreltilmiş örnek hacmi, 0.150 mL

m – Uçucu yağın kütlesi, g

2.6. Toplam Flavanoid İçeriğinin Saptanması

Okalıptus, defne ve mersin uçucu yağlarının metanolde çözülerek hazırlanan örneklerin 1 mL'sine 1mL % 2'lik metanolik AlCl₃ çözeltisi eklendi ve tepkime karışımı 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Örneklerin absorbanları 394 nm dalga boyunda kontrol örneğe (1 mL metanol, 1 ml % 2'lik AlCl₃) karşı okundu (Lamaison ve Ark., 1990). Flavanoid derişimi kuersetin standart eğrisi çizilerek hesaplandı ve uçucu yağların toplam flavanoid miktarları, mg g⁻¹ yağ şeklinde kuersetin eşdeğeri olarak verildi.

2.7. Toplam Antioksidan Kapasitenin Saptanması

Yöntemin temeli Mo (VI)'nın Mo (V)'e indirgenmesiyle asidik pH'ta yeşil renkli fosfat/Mo (V) kompleksinin oluşmasına dayanmaktadır (Prieto ve Ark.,1999). Okalıptus, defne ve mersin uçucu yağlarının metanolde çözülmesiyle hazırlanan örneklerden 0.2 mL alındı ve 2 mL belirteç çözeltisi (0.6 M sülfürik asit, 28 mM sodyum fosfat ve 4 mM amonyum molibdat) eklendikten sonra 95 °C'ta 90 dakika inkübe edildi. Örnekler buz banyosunda oda sıcaklığına soğutuldu ve 695 nm dalga boyunda kontrol örneğe (0.2 ml metanol, 2 mL belirteç çözeltisi) karşı okundu. Toplam antioksidan kapasite, α -tokoferol asetat standart eğrisi çizilerek hesaplandı ve uçucu yağların toplam antioksidan kapasiteleri mM α -tokoferol asetat g⁻¹ yağ şeklinde verildi.

2.8. DPPH Radikalini Temizleme Özelliği

Bu test yöntemi, kararlı serbest radikal 2,2-difenilpikrilhidrazil (DPPH)'in elektron veya hidrojen atomları veren antioksidan kimyasalların varlığında, bu kimyasallar tarafından süpürülmesi (temizlenmesi) ile karakteristik mor renginin açılmasının spektrofotometrik olarak belirlenmesi temeline dayanır (Cuendet ve Ark., 1997).

Okalıptus, defne ve mersin uçucu yağlarının, DPPH radikalini temizleme özelliğini belirlemek için, metanolle seyreltilerek hazırlanan uçucu yağların farklı derişimlerdeki çözeltilerine metanolde hazırlanan DPPH çözeltisinden (% 0.004) 5 mL eklenerek 30 dakika inkübe edildi. Örneklerin absorbsansları 517 nm dalga boyunda kontrol örneğe (5 mL DPPH çözeltisi) karşı okundu.

Aynı deneysel yöntem, uçucu yağların ve ana bileşenlerinin metanolde seyreltilerek hazırlanan örnekleri için yapıldı. Herbir uçucu yağın ve ana bileşenlerinin inhibisyon yüzdeleri aşağıdaki eşitlikten hesaplandı.

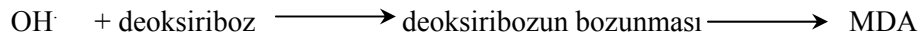
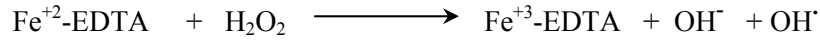
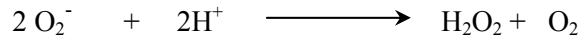
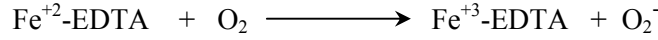
$$\% \text{ inhibisyon} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$$

Elde edilen % inhibisyon değerleri, uçucu yağların derişimlerine karşı grafiğe geçirilerek uçucu yağların DPPH radikalini % 50 inhibe eden değerleri (IC₅₀), hesaplandı. Yağların ana bileşenlerinin DPPH radikalini inhibe eden değerleri ile IC₅₀ değerleri de aynı şekilde hesaplandı.

Pozitif kontrol olarak, antioksidan besin katkı maddesi olarak kullanılan bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) ve antioksidan bir bitki bileşeni olan kurkumin ve antioksidan vitamin olan askorbik asit kullanıldı.

2.9. Hidroksil Radikalini Temizleme Özelliği

Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının hidroksil radikalini temizleme özelliği, Fe³⁺/askorbat/EDTA/H₂O₂ sistemi (Kunchandy ve Rao, 1990) ile oluşturulan hidroksil radikallerinin, deoksiribozu bozundurmasıyla açığa çıkan tiyobarbitürik asit reaktif ürünlerinin ölçümü ile belirlendi (Ohkawa ve ark.,1979).



Bu amaçla 3 mL'lik deney ortamına uçucu yağların n-hekzanda seyreltilerek hazırlanmış farklı derişimlerdeki çözeltilerine, 100 µL 3.0 mM deoksiriboz, 100 µL 1 mM FeCl₃, 100 µL 1 mM EDTA, 100 µL 1 mM askorbik asit ve 100 µL 1 mM H₂O₂ eklenerek son hacim 20 mM fosfat tampon (pH 7.4) ile 1 mL'ye tamamlandı. Tepkime karışımı 37 °C 'ta 1 saat inkübe edildi. 1 mL % 1'lik tiyobarbitürik asit (TBA) ve 1 mL % 2.8'lik trikloroasetik asit (TCA) eklenerek 30 dakika kaynatıldı. Açığa çıkan malondialdehitin, TBA ile oluşturduğu renkli kompleksin 532 nm dalga boyundaki absorbansı kontrol örneğe (100 mL deoksiriboz, 2.9 mL pH 7.4 fosfat tampon) karşı okundu.

Bitkilerden elde edilen uçucu yağların ana bileşenlerinin hekzanda seyreltilerek hazırlanan örneklerinin de hidroksil radikali oluşum inhibisyonları çalışıldı. % inhibisyon değerleri DPPH radikali temizleme özelliğindeki gibi hesaplandı.

Elde edilen % inhibisyon değerleri, uçucu yağlar ve ana bileşenlerin derişimlerine karşı grafiğe geçirilerek, IC₅₀ değerleri hesaplandı.

BHT, ve kurkumin pozitif kontrol olarak kullanılırken, askorbik asit deney ortamında bulunduğundan pozitif kontrol olarak kullanılmadı.

2.10. Süperoksit Radikalini Temizleme Özelliği

Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının süperoksit radikalini temizleme özelliği ise ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile oluşturulan süperoksit radikalinin nitroblue tetrazoliumu (NBT) indirgenmesi metodu ile belirlendi (Robak ve Gryglewski, 1988).

Bu amaçla 2 mL'lik deney ortamına okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının ve uçucu yağların ana bileşenlerinin hekszanda seyreltilerek hazırlanmış farklı derişimlerdeki çözeltilerine, 100 µL 2 nM ksantin, 100 µL 12 nM NBT, 100 µL 1.0 U mL⁻¹ ksantin oksidaz ve 0.1 M fosfat tamponu (pH 7.4) eklendi. 25 °C'ta 10 dakika inkübe edildikten sonra 560 nm dalga boyunda örneklerin absorbansları kontrole (100 µL NBT, 1.9 mL tampon) karşı okundu.

Üç bitkiden elde edilen uçucu yağların ve ana bileşenlerinin inhibisyon yüzdeleri ile IC₅₀ değerleri DPPH radikalini temizleme özelliğindeki gibi hesaplandı. Pozitif kontrol olarak BHT, kurkumin ve askorbik asit kullanıldı.

Elde edilen % inhibisyon değerleri, uçucu yağlar ve ana bileşenlerinin derişimlerine karşı grafiğe geçirilerek her bir uçucu yağın IC₅₀ değerleri hesaplandı.

2.11. Hidrojen Peroksit Temizleme Özelliği

Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının hidrojen peroksit süpürme aktiviteleri, Ruch ve arkadaşları (1989), tarafından tanımlanan yöntemle yapıldı. Bu amaçla; uçucu yağların metanolde seyreltilerek hazırlanmış farklı derişimlerdeki 0.6 mL çözeltilerine 0.17 M fosfat tamponu (pH 7.4) ile hazırlanmış olan 2 mM hidrojen peroksit çözeltisinden 0.6 mL eklendi. Örnekler, 10 dk oda sıcaklığında inkübe edilerek 230 nm dalga boyundaki absorbansları kontrol örneğe (0.6 mL 2 mM H₂O₂, 0.6 mL metanol) karşı okundu.

Aynı deneysel yöntem, uçucu yağların ana bileşenlerinin metenolde seyreltilerek hazırlanan örnekleri için tekrarlandı.

Uçucu yağların ve ana bileşenlerinin inhibisyon yüzdeleri DPPH radikalini temizleme özelliğindeki gibi hesaplandı. Pozitif kontrol olarak BHT, kurkumin ve askorbik asit kullanıldı.

Elde edilen % inhibisyon değerleri, uçucu yağların ve yağ ana bileşenlerinin derişimlerine karşı grafiğe geçirilerek, her bir örneğin IC₅₀ değerleri hesaplandı.

2.12. Lipid Peroksidasyon İnhibisyon Özelliği

Lipit peroksidasyonu sıçan karaciğer homojenatında enzimatik olmayan yöntemle ölçüldü. Bu metod lipit peroksidasyonu sonucu açığa çıkan spesifik ürün olan malondialdehitin (MDA), tiyobarbitürik asit ile tepkimeye girerek 532 nm dalga boyunda, maksimum absorbands veren renkli bir kompleks oluşturması esasına dayanmaktadır (Ohkawa ve Ark.,1979).

Lipid peroksidasyon ölçümleri Houghton ve arkadaşlarının (1995) tanımladıkları yöntemde bazı modifikasyonlar yapılarak araştırıldı. Sıçan karaciğeri (25 % (w/v)), 40 mM Tris-HCl tamponu (pH 7.0) ile üç vuruşta homojenize edildi. Homojenatın 10.000g de 120 dakika santrifüj edilmesiyle elde edilen dökelti deneysel çalışmalar için kullanıldı. 1.0 mL'lik deney ortamına, 100 µL uçucu yağların hezanda çözülmüş farklı derişimlerdeki örneklerinden, 100 µL dökelti ile 20 µL 1 mM FeCl₃ ve 20 µL 1 mM askorbik asit ilave edildi. Tepkime karışımı 37 °C'ta 1 saat inkübe edildi. Daha sonra 1 mL, % 1'lik TBA ve 1 mL % 2.8'lik TCA eklenerek 100 °C'ta 20 dakika kaynatıldı. 2.5 mL n-bütanol eklenerek 3500 rpm'de 5 dk santrifüjlendi. Açığa çıkan malondialdehitin, TBA ile oluşturduğu renkli kompleksin 532 nm deki absorbandsı kontrole karşı okundu. % inhibisyon değerleri, DPPH radikalini temizleme metodundaki eşitlikten hesaplandı. Pozitif kontrol olarak BHT ve kurkumin kullanıldı.

Elde edilen % inhibisyon değerleri, uçucu yağların derişimlerine karşı grafiğe geçirilerek her bir uçucu yağın IC₅₀ değerleri hesaplandı. Yağların ana bileşenlerinin lipid peroksidasyonunu inhibe eden değerleri ve IC₅₀ de aynı şekilde hesaplandı.

2.13. α- Amilaz Çalışmaları

Okalıptus, defne ve mersin uçucu yağlarının α-amilaza etkisi, 3,5-dinitrosalisilik asidin 3-amino-5-dinitrosalisilik aside (3,5-DNS) indirgenmesiyle belirlendi. Tepkime, çözelti renginin turuncu-sarıdan kırmızıya değişmesiyle 540 nm dalga boyunda izlenebilmektedir (www.sigma-aldrich.com). α-amilaz inhibitörlerinin bulunması durumunda, maltoz indirgenmekte ve absorbands değeri düşmektedir.

Uçucu yağ deneyleri:

Hazırlanan Çözeltiler ve Deneysel İşlemler:

- 1) % 0.5 (w/v) nişasta çözeltisi: Nişastanın, 20 mM sodyum fosfat tamponuyla (pH 6.9) 65 °C'ta 15 dk karıştırılmasıyla elde edildi.
- 2) Kolorimetrik belirteç: 12 g sodyum potasyum tartaratın 8 mL 2 M NaOH içinde çözülerek hazırlanan çözelti ile 20 mL 96 mM 3,5-DNS çözeltisi karıştırılarak son hacim distile su ile 40 mL'ye tamamlandı.
- 3) İnkübasyon çözeltisi; 2 mL 50 mM sodyum fosfat tamponuna (pH 6.9), uçucu yağların hekzan seyreltilerek hazırlanan değişik derişimlerdeki çözeltilerinden 0.04 mL ve α -amilaz çözeltisinden (0.0253 g α -amilaz 100 mL⁻¹ buzlu soğuk su) 0.10 mL eklenerek 25 °C'ta 30 dk inkübe edildi.

1 mL % 0.5 (w/v) nişasta çözeltisine, 0.5 mL destile su eklendi ve 20 °C'de inkübe edildi. Daha sonra, hazırlanan inkübasyon çözeltisinden 0.5 mL eklenerek, tekrar 20 °C'ta 3 dk inkübe edildi. 1 mL kolorimetrik belirteç eklenerek, tüpler parafilmle kapatılıp 15 dk kaynatıldıktan sonra buz banyosunda oda sıcaklığına soğutuldu. Tüplere 9 mL su eklenerek, 540 nm dalga boyunda absorbanları okundu.

Standart eğri: % 0.2 (w/v)'lik maltoz standart çözeltisi hazırlandı. Ardışık seyreltme yapılarak hazırlanan farklı derişimlerdeki stok maltoz çözeltilerine (0.05 – 1.00 mg mL⁻¹). 1 mL kolorimetrik belirteç eklenerek tüpler parafilmle kapatıldı ve 15 dk kaynatıldıktan sonra buz banyosunda oda sıcaklığına soğutuldu. 9 mL çift destile su eklenerek 540 nm dalga boyunda örneklerin absorbanları okundu.

Aynı çalışmalar, üç bitkinin uçucu yağlarının ana bileşenlerinin hekzanda seyreltilerek hazırlanmasıyla elde edilen değişik derişimlerdeki ana bileşen için de yapıldı. Uçucu yağlarla birlikte ana bileşenlerinin inhibisyon değerleri aşağıdaki eşitlikten hesaplandı.

$$\% \text{ Tepkime} = (\text{maltoz})_{\text{test}} / (\text{maltoz})_{\text{kontrol}} \times 100$$

$$\% \text{ inhibisyon} = 100 - \% \text{ tepkime}$$

Elde edilen % inhibisyon değerleri, uçucu yağlar ve ana bileşenlerinin derişimlerine karşı grafiğe geçirilerek α -amilaz inhibisyon yüzdeleri bulundu.

2.14. α - Amilaz İnhibisyon Kinetiği

Okalıptus, defne ve mersin uçucu yağlarının, α - amilaz inhibisyon kinetiklerinin araştırılmasında Deshpande ve arkadaşları (1982), tarafından tanımlanan yöntem kullanıldı.

Hazırlanan Çözeltiler ve Deneysel İşlemler:

- 1) % 1'lik DNS Belirteç çözeltisi: 1 L destile suda, 10 g DNS, 0.5 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ve 10 g NaOH çözülerek hazırlandı.
- 2) 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$ α - amilaz çözeltisi: 0.006 M NaCl içeren 0.2 M sodyum fosfat tamponda (pH 7.0) hazırlandı.
- 3) 1-50 g L^{-1} nişasta çözeltileri: 0.2 M sodyum fosfat tamponda (pH 7.0) hazırlandı.

Standart eğri : 0.625-10 g L^{-1} aralığındaki derişimlerde hazırlanan glukoz çözeltilerinin 3 mL'sine 3 mL % 1'lik DNS belirteci eklendi. Tüpler parafilm ile kapatılarak kırmızı - kahverengi renk oluşana kadar 10 dk kaynatıldı. 1 mL % 40'luk sodyum potasyum tartarat eklendikten sonra, tüpler suyla soğutularak, örneklerin 575 nm dalga boyunda absorbansları okunup, glukoz standart eğrisi çizildi.

Kontrol deneyi : Tüm çözeltiler 37 °C'lik su banyosunda 15 dk inkübe edildi. 0.5 mL 1-50 g L^{-1} derişim aralığında hazırlanan stok nişasta çözeltilerine, 0.25 mL 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$ α - amilaz çözeltisi ile 0.25 mL 0.2M fosfat tampon (pH 7.0) tampon eklendi. Karışımlar 20 °C'ta 3 dk inkübe edildikten sonra, 2 ml %1'lik DNS belirteci ilave edilerek, 10 dk kaynatıldı. Daha sonra, 1 mL % 40'luk sodyum potasyum tartarat çözeltisi eklenip, tüpler suyla soğutularak örneklerin 575 nm dalga boyunda absorbansları okundu.

Uçucu yağ deneyleri: Kontrol deneyinden farklı olarak ilk önce, hekszanda çözülerek hazırlanan farklı derişimlerdeki uçucu yağların 0.25 mL'sine, 0.25 mL α - amilaz çözeltisi eklenerek, 37 °C'ta 15 dk inkübe edildi. Daha sonra nişasta çözeltileri ve tampon çözeltisi eklenerek kontrol deneyinde yapılan işlemler sırasıyla tekrarlandı.

Aynı çalışmalar, uçucu yağların ana bileşenlerinin farklı derişimleri içinde yapıldı.

Standart eğriden bulunan glukoz derişimlerinden yararlanılarak uçucu yağların ve ana bileşenlerinin, Michealis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizilerek, inhibisyon türleri belirlenip, V_{max} ve K_m değerleri hesaplandı.

2.15. α -Glukozidaz Çalışmaları

Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının α -glukozidaza etkisi, Honda ve Hara (1993), tarafından tanımlanan yöntemle yapıldı.

Hazırlanan Çözeltiler ve Deneysel İşlemler:

- 1) 2 mM p-nitrofenil- α -D-glukopranozid (PNP-G) çözeltisi; 50 mM fosfat tamponunda (pH 6.9) hazırlandı.
- 2) 0.01 U α -glukozidaz çözeltisi; 100 mM NaCl içeren 50 mM fosfat tamponunda (pH 6.9) hazırlandı.
- 3) 0.1 M Na₂HPO₄ çözeltisi

Standart eğri: % 0.5 (w/v)'lik para-nitrofenol (PNP) standart çözeltisi hazırlandı. Ardışık seyreltme yapılarak hazırlanan farklı derişimlerdeki stok para-nitrofenol çözeltilerine ($4.00 \times 10^{-4} - 0.018 \text{ mg mL}^{-1}$) 1 mL 0.1 M Na₂HPO₄ eklenerek tepkime sonlandırıldı. Örnekler 10 dk kaynatılarak, 400 nm dalga boyunda absorbansları okundu. PNP standart eğrisi çizildi.

Uçucu yağ deneyleri: Tüm çözeltiler 15 dk 37 °C'ta inkübe edildi. 0.2 mL 0.01 U enzim çözeltisine, uçucu yağların heksanda hazırlanan farklı derişimlerdeki çözeltilerinden 0.1 mL eklenerek, 15 dk 37 °C'ta inkübe edildi. Daha sonra, 0.2 mL 2 mM p-nitrofenil glukopranozid çözeltisinden ilave edilip, 30 dk 37 °C'ta tekrar inkübe edildi. 1 mL 0.1 M Na₂HPO₄ eklenmesiyle tepkime sonlandırılıp, karışım 10 dk kaynatıldı. Örneklerin 400 nm dalga boyunda kontrole karşı absorbansları okundu.

Yağların ana bileşenlerinin heksanda seyreltilerek hazırlanan çözeltileri için aynı deneyler tekrarlandı. % inhibisyon değerleri aşağıdaki eşitlikten hesaplandı.

$$\% \text{ Tepkime} = (\text{paranitrofenol})_{\text{test}} / (\text{paranitrofenol})_{\text{kontrol}} \times 100$$

$$\% \text{ inhibisyon} = 100 - \% \text{ tepkime}$$

Elde edilen % inhibisyon değerleri, uçucu yağlar ve ana bileşenlerin derişimlerine karşı grafiğe geçirilerek her bir uçucu yağın ve ana bileşenlerin, α -glukozidazı %50 inhibe eden değerleri (IC₅₀) hesaplandı .

2.16. α -Glukozidaz İnhibisyon Kinetiği

Enzimatik aktivite, Shim ve arkadaşları tarafından (2003) tanımlanan yöntemde bazı değişiklikler yapılarak, pNPG'ten salınan PNP'ün ölçümüyle saptandı

Standart eğri : Yukarıdaki α -Glukozidaz çalışmalarındaki gibi çizildi.

Kontrol deneyi : Tüm çözeltiler 37 °C'lik su banyosunda 15 dk inkübe edildi. 0.125 – 2 mM derişim aralığında hazırlanan stok PNP-G çözeltilerinden 0.2 mL alınarak sırasıyla 0.2 mL 0.01 U enzim çözeltisi ve 0.1 mL tampon eklendi. 3 dk inkübe edildikten sonra, 1 mL 0.1 M Na₂HPO₄ eklenerek tepkime sonlandırıldı. Karışımlar 10 dk daha kaynatılıp, 400 nm dalga boyunda absorbansları okundu.

Uçucu yağ deneyleri: Hekzanda çözülerek hazırlanan uçucu yağların farklı derişimlerdeki çözeltilerine 0.1 mL'sine, 0.2 mL 0.01 U enzim çözeltisi eklenip, 37 °C'ta 15 dk inkübe edildi. Karışıma farklı derişimlerdeki pNPG çözeltilerinden 0.2 mL eklenerek tekrar 3 dk inkübe edildi. Daha sonra tepkime ortamına 1 mL 0.1 M Na₂HPO₄ eklenerek tepkime sonlandırıldı. Karışımlar 10 dk kaynatılarak, 400 nm dalga boyunda absorbansları okundu.

Aynı deneyler, uçucu yağların ana bileşenleri içinde tekrarlandı. Standart eğriden bulunan PNP derişimlerinden yararlanılarak uçucu yağlar ve ana bileşenleri için, Michealis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizildi. İnhibisyon türleri belirlenerek, V_m ve K_m değerleri hesaplandı.

Araştırma kapsamında yapılan bütün deneysel çalışmalar üç tekrarlı yapıлып, sonuçlar standart sapmalarıyla birlikte verilmiştir. Ayrıca tüm grafikler, Sigma Plot grafik ve istatistik programı kullanılarak çizilip, 't' regrasyon testi uygulandı. Anlamlılık için p< 0.01 seçildi.

3. BULGULAR

3.1. Bitkilerin Uçucu Yağ Verimleri

Okaliptus (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.), Defne (*Laurus nobilis* L.) ve Mersin (*Myrtus communis* L.) yapraklarının uçucu yağ verimleri, mL yağ / 100g kuru bitki şeklinde Çizelge 3.1.1’de verildi. En fazla uçucu yağ mersin yaprağından, daha sonra defne yaprağından ve en az uçucu yağ ise okaliptus yaprağından elde edildi.

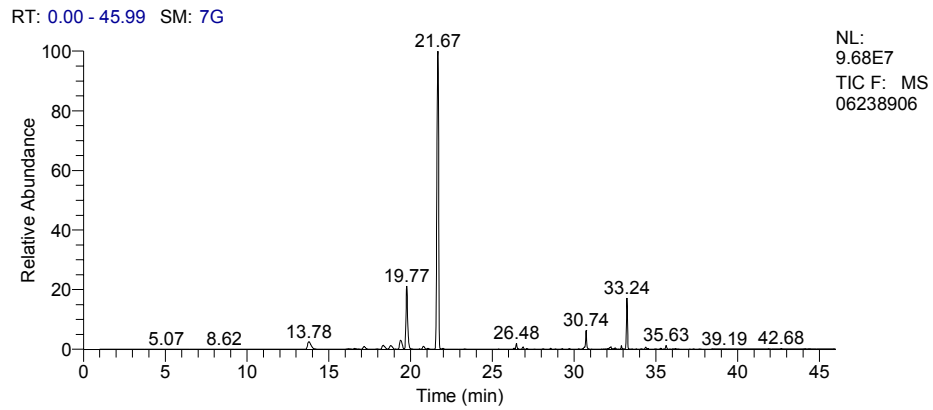
Çizelge 3.1.1. Okaliptus, defne ve mersin yapraklarının uçucu yağ verimleri

Örnekler	% (v/w)
Okaliptus yaprağı	0.254 ± 0.007
Defne yaprağı	0.856 ± 0.018
Mersin yaprağı	0.992 ± 0.014

3.2. Uçucu Yağların GC-MS Analizleri

3.2.1. Okaliptus yaprağı uçucu yağının GC-MS analizi

Okaliptus uçucu yağının GC-MS analizi sonucu elde edilen kromatogram Şekil 3.2.1.1.’de gösterilmiştir. Çizelge 3.2.1.1.’de ise uçucu yağın bileşenleri, alıkonma zamanları (RT), alıkonma indeksleri (RI) ve bağlı bulunma oranları verilmiştir.



Şekil 3.2.1.1. Okaliptus yaprağının uçucu yağ kromatogramı

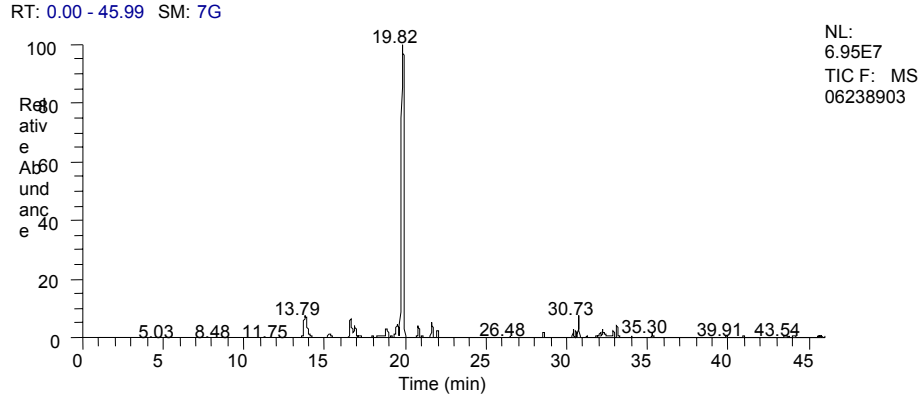
Çizelge 3.2.1.1. Okaliptus yaprağının uçucu yağ bileşenleri

No	Bileşen	RT	RI	Bileşim
1	5-amino-4-siyano-3-(4-etilamino butil) pyrazol	8.62	785.3786	0.01
2	1-(S)-α-pinen	13.78	915.493	3.45
3	Trans-oksobisiklo[3.3.0]okt-7-en-2-on,4-metoksi-7-metil	14.62	932.3944	0.03
4	α -metil-benzenmetanol	16.22	964.5875	0.24
5	2- α -pinen	16.60	972.2334	0.24
6	bisiklo[3.1.0]hek-2-en, 4-metilen-1-(1-metiletil)	17.15	1237.143	0.84
7	l- fellandren	18.33	1006.518	1.35
8	α -terpinen	18.78	1014.898	1.30
9	R-(+)-limonen	19.40	1026.443	2.84
10	1,8-sineol	19.77	1033.333	13.92
11	γ -terpinen	20.78	1052.142	0.77
12	2-metilprop-1-enil-siklohekza-1,5-dien	21.05	1057.169	0.21
13	p-simen	21.67	1068.715	68.43
14	α -terpinolen	21.98	1074.488	0.19
15	p-ment-1-en-3,8-diol	23.30	1099.069	0.09
16	3-metil 2-(2-pentenil)siklopentanon	25.39	1138.491	0.03
17	linalool oksit fraksiyonu (2)	26.33	1156.226	0.18
18	α -thujon	26.87	1166.415	0.34
19	linalool oksit fr(1)	27.12	1171.132	0.10
20	α -kamfolen aldehit	28.11	1189.811	0.07
21	L-linalool	28.56	1198.302	0.13
23	trans-siklohekzanon, 5-metil-2-(1-metiletenil)	29.27	1112.253	0.08
24	2-siklohekzen-1-on, 6-metil-3-(1-metiletil)	29.71	1220.949	0.09
25	(R)-2-siklohekzen-1-on, 2-metil-5-(1-metiletenil)	30.28	1232.213	0.04
27	4-(1-metiletiliden)siklohekzanon	30.63	1239.130	0.31
27	1,4-terpineol	30.74	1241.304	2.56
28	trans-pinokarveol	32.23	1270.751	0.77
29	p-ment-1-en-8-ol	32.89	1283.794	0.45
30	Trans-pinokarvilasetat	33.00	1296.451	0.04
	Toplam			99.10

Okaliptus uçucu yağının % 99.10'una karşılık gelen 30 bileşen saptandı. İlk üç ana bileşenin p-simen (% 68.43), 1,8-sineol (% 13.92) ve 1-(S)- α -pinen (% 3.45) olduğu gözlemlendi.

3.2.2. Defne yaprağı uçucu yağının GC-MS analizi

Defne uçucu yağının GC-MS analizi sonucu elde edilen kromatogramı Şekil 3.2.2.1.'de; uçucu yağın bileşenleri, alıkonma zamanları (RT), alıkonma indeksleri (RI) ve bağıl bulunma oranları ise Çizelge 3.2.2.1.'de verilmiştir.



Şekil 3.2.2.1. Defne yaprağının uçucu yağ kromatogramı

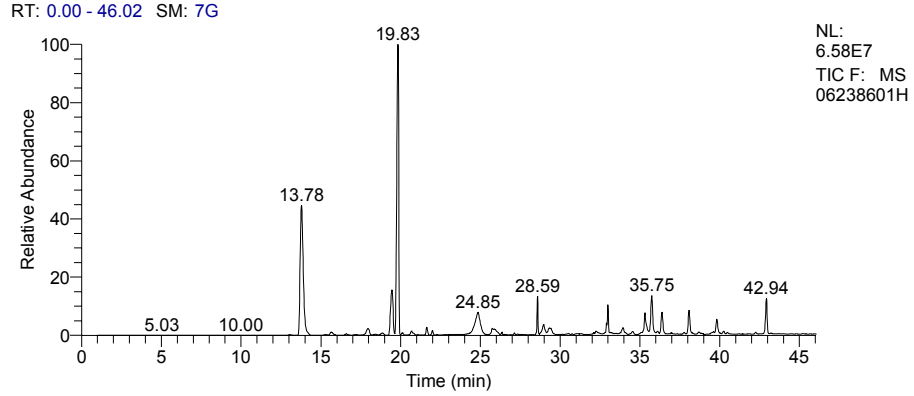
Çizelge 3.2.2.1. Defne yaprağının uçucu yağ bileşenleri

No	Bileşen	RT	RI	Bileşim
1	5,5-dimetilsiklopentadien	11.94	872.0627	0.06
2	1-(S)-α-pinen	13.79	915.6942	6.94
3	Kamphen	15.27	945.4728	1.01
4	2- α -pinen	16.61	972.4346	1.70
5	Sabinen	16.86	977.4648	2.10
6	l- fellandren	18.42	1008.194	0.74
7	α - terpinen	18.85	1016.201	2.02
8	R-(+)-limonen	19.50	1028.305	3.04
9	1,8-sineol	19.82	1034.264	68.82
10	γ -terpinen	20.79	1052.328	1.61
11	(2-metilprop-1-enil)-siklohekza-1,3-dien	21.07	1057.542	0.14
12	Izomyrisenol	21.27	1061.266	0.02
13	p-simen	21.64	1068.156	2.04
14	α -terpinolen	21.98	1074.488	0.83
15	5,9,9-trimetil-spiro[3.5]non-5-en-1-on	22.26	1079.702	0.03
16	p-ment-1-en-3,8-diöl	23.30	1099.069	0.04
17	3-hekzen-1-öl	24.37	1119.245	0.06
18	Üre	26.24	1154.528	0.09
19	benzen, 4-etenil-1,2-dimetil	26.48	1159.057	0.11
20	α -kamfolen aldehit	28.11	1189.811	0.03
21	L-linalool	28.57	1198.491	0.43
22	endobornil asetat	30.39	1234.387	0.71
23	Pinokarvon	30.57	1237.945	0.53
24	1,4-terpineol	30.73	1241.107	1.77
25	bisiklo[3.1.1]hep-2-en-2-karboksi aldehit, 6,6-dimetil	31.84	1263.043	0.11
26	trans-pinokarveol	32.23	1270.751	0.98
27	2(1H)-naftalenon, oktahidro-8a-hidroksi-4a-metil (cis)	32.32	1272.53	0.40
28	Geosmin	32.72	1280.435	0.22
29	p-ment-1-en-8-öl	32.90	1283.992	0.60
	Toplam			99.18

Defne uçucu yağının % 99.18'ine karşılık gelen 29 bileşen gözlemlendi. Uçucu yağın ilk üç ana bileşeninin 1,8-sineol (% 68.82), 1-(S)- α pinen (% 6.94) ve R-(+)-limonen (% 3.04) olduğu saptandı.

3.2.3. Mersin yaprağı uçucu yağının GC-MS analizi

Mersin uçucu yağının GC-MS analizi sonucu elde edilen kromatogramı Şekil 3.2.3.1.'de verildi. Mersin uçucu yağının bileşenleri ile alıkonma zamanları (RT), alıkonma indeksleri (RI) ve bağıl bulunma oranları ise Çizelge 3.2.3.1.'de verilmiştir.



Şekil 3.2.3.1 Mersin yaprağının uçucu yağ kromatogramı

Çizelge 3.2.3.1. Mersin yaprağının uçucu yağ bileşenleri

No	Bileşen	RT	RI	Bileşim %
1	2,4-dimetil-3-pentanon	13.01	900.000	0.11
2	1-(S)-α-pinen	13.78	915.493	28.04
3	Kamphen	15.29	945.8753	0.14
4	Propiyonik asit, 2-metil-2-metilpropil ester	15.64	952.9175	0.64
5	2- α -pinen	16.59	972.0322	0.21
6	α -terpinen	18.85	1016.201	0.39
7	R-(+)-limonen	19.46	1027.561	7.92
8	1,8-sineol	19.83	1034.451	40.32
9	5,6,6-trimetil-bisiklo[3.1.1]hep-2-en	20.09	1039.292	0.23
10	3-karen	20.67	1050.093	0.69
11	p-simen	21.64	1068.156	0.79
12	α -terpinolen	22.00	1074.86	0.40
13	Eugenol	24.85	1128.302	9.04
14	metil-izoeugenol	25.75	1145.283	1.90
15	linalool oksit fr(1)	26.34	1156.415	0.15
16	α -metil- α -[4-metil-3-pentenil]oksiran metanol	27.13	1171.321	0.13
17	I-linalool	28.59	1198.868	2.58
18	2-metil-4-84-pirazol)-3-bütün-2-ol	28.96	1206.126	2.06
19	p-ment-1-en-8-ol	32.91	1284.19	0.73
	Toplam			96.44

Mersin uçucu yağının % 96.44'üne karşılık gelen 19 bileşen saptanarak, ilk üç ana bileşenin 1,8-sineol (% 40.32), 1-(S)- α -pinen (% 28.04) ve eugenol (% 9.04) olduğu gözlemlendi.

Üç bitkinin uçucu yağlarında, en yüksek oranda bulunan ilk üç ana bileşen dikkate alındığında; 1,8-sineol ve 1-(S)- α -pinenin her üç uçucu yağda ana bileşen olduğu saptandı. 1,8-sineol ve 1-(S)- α -pinen, defne ve mersin uçucu yağında ilk iki ana bileşen şeklinde bulunurken, okaliptusta ikinci ve üçüncü ana bileşenler olduğu gözlemlendi. Ortak olmayan ana bileşenler ise p-simen, R-(+)-limonen ve eugenol olup, okaliptusun ilk ana bileşeni p-simen iken, R-(+)-limonen ve eugenolun ise sırasıyla; defne ve mersinde üçüncü ana bileşen olduğu bulundu.

3.3. Okaliptus, Defne ve Mersin Yapraklarından Elde Edilen Uçucu Yağların Toplam Fenol, Flavanoid Miktarı ve Toplam Antioksidan Kapasitesi

Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının toplam fenol ve flavonoid miktarları ile toplam antioksidan kapasiteleri Çizelge 3.3.1’de verilmiştir.

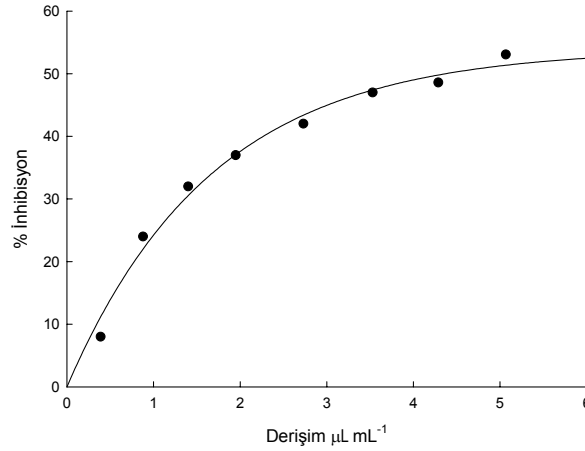
Çizelge 3.3.1. Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının toplam fenol ve flavonoid miktarları ile toplam antioksidan kapasiteleri

Örnekler	Toplam fenol (mg gallik asit g ⁻¹ yağ)	Toplam Flavonoid (mg kuersetin g ⁻¹ yağ)	Toplam antioksidan kapasite (mM α -Tokoferol asetat g ⁻¹ yağ)
Okaliptus uçucu yağı	34.00 \pm 6.11	1.488 \pm 0.061	526.21 \pm 4.19
Defne uçucu yağı	27.52 \pm 2.50	0.362 \pm 0.054	470.43 \pm 6.53
Mersin uçucu yağı	11.50 \pm 3.01	0.257 \pm 0.014	423.17 \pm 4.03

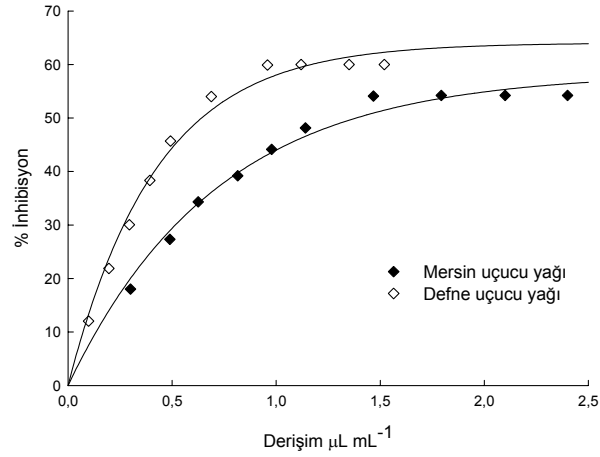
Çizelgedeki sonuçlara göre; toplam fenol ve toplam flavonoid miktarları ile toplam antioksidan aktivitenin; mersin, defne ve okaliptus uçucu yağları sıralamasıyla arttığı bulundu.

3.4. DPPH Radikalini Temizleme Özelliği

Antioksidan türlerin varlığında DPPH’nin karakteristik mor rengi açılmaktadır. Metanolde çözülerek hazırlanan uçucu yağların, % 0.004’lük DPPH çözeltisinin rengini açma özellikleri spektrofotometrik olarak izlenerek, DPPH radikalini süpüren yüzdeleri saptandı. Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının derişimlerine karşılık inhibisyon yüzdeleri sırasıyla Şekil 3.4.1, Şekil 3.4.2’de verildi.



Şekil 3.4.1. DPPH radikali inhibisyonunun okaliptus uçucu yağ derişimiyle değişimi



Şekil 3.4.2. DPPH radikali inhibisyonunun defne ve mersin uçucu yağ derişimleriyle değişimi

Yapılan çalışmalar sonucu okaliptus, defne ve mersin uçucu yağları ile pozitif kontrollerin en yüksek DPPH radikali inhibisyon yüzdeleri ile DPPH radikalini % 50 inhibe eden derişim değerleri (IC_{50}) Çizelge 3.4.1'de verildi.

Çizelge 3.4.1. Okaliptus, defne, mersin uçucu yağlarının ve pozitif kontrollerin en yüksek DPPH radikali inhibisyon yüzdeleri ile DPPH radikalini %50 inhibe eden derişimleri

Örnek	% İnhibisyon	IC_{50} (µL mL ⁻¹)
Okaliptus uçucu yağ	53.07 ± 1.13	4.096 ± 0.724
Defne uçucu yağ	59.99 ± 0.18	0.575 ± 0.060
Mersin uçucu yağ	54.20 ± 0.03	1.308 ± 0.040
BHT	57.12 ± 0.50	23.750 ± 0.500
Kurkumin	81.37 ± 1.21	9.60 ± 0.461
Askorbik asit	67.00 ± 1.06	17.57 ± 2.864

Uçucu yağların DPPH radikalini süpürme aktivitelerinin; okaliptus, mersin ve defne uçucu yağı sıralamasıyla arttığı, pozitif kontrollerde ise DPPH radikalini süpürme aktivitesinin; kurkumin > askorbik asit >BHT şeklinde azaldığı bulundu. Uçucu yağların DPPH radikalini süpürme aktivitelerinin pozitif kontrollerden daha yüksek oldukları gözlemlendi.

Ana bileşenlerin, DPPH radikalini inhibisyonlarını incelemek amacıyla yapılan çalışmalarda GC-MS sonuçlarından yararlanılarak, yağların içerdikleri ilk üç ana bileşen miktarlarının deney ortamındaki derişimleri ($\mu\text{L mL}^{-1}$) hesaplandı. Bu derişimlerin sebep olduğu DPPH radikalini inhibisyon yüzdeleri Çizelge 3.4.2’de verildi.

Çizelge 3.4.2. Okaliptus, defne, mersin uçucu yağlarının içerdikleri ilk üç ana bileşen miktarlarının deney ortamı derişimleri ve DPPH radikalini inhibisyon yüzdeleri

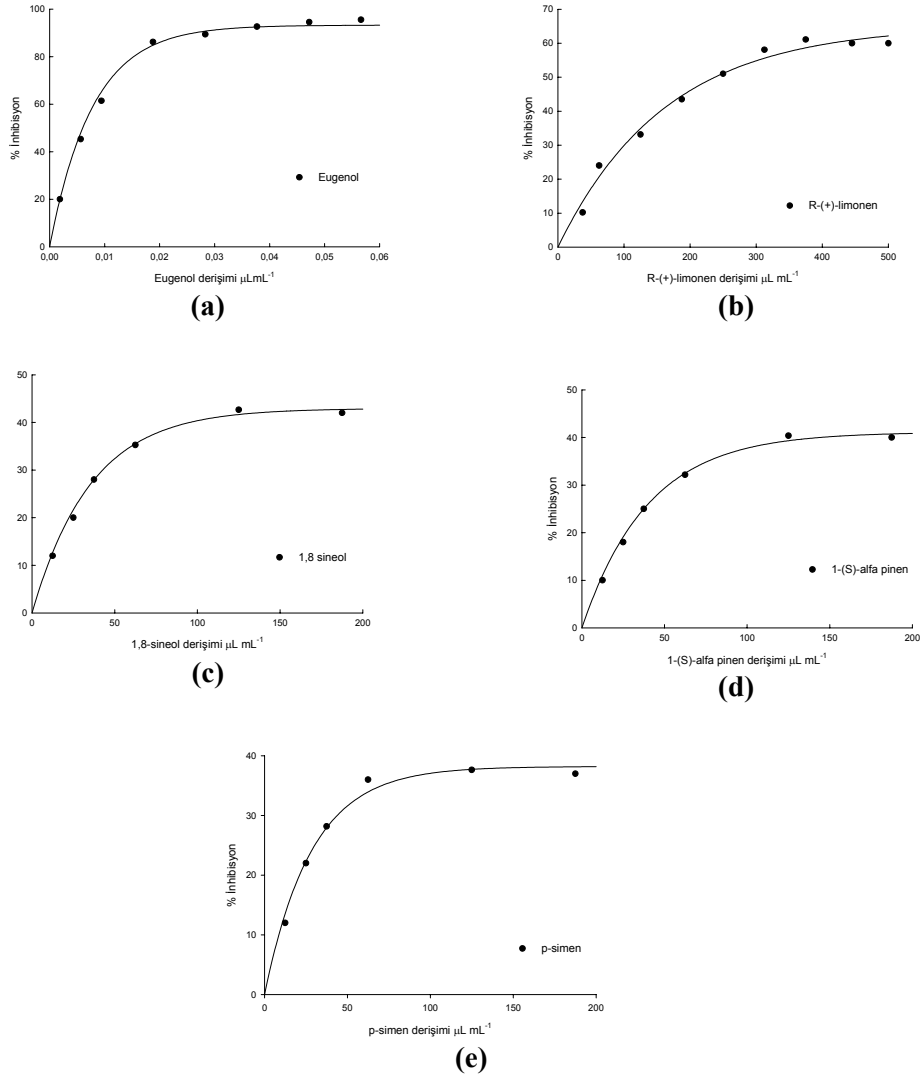
Ana bileşen	Okaliptus uçucu yağı		Defne uçucu yağı		Mersin uçucu yağı	
	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhibisyon	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhibisyon	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhibisyon
1,8-sineol	5.768	5.46 ± 0.04	6.882	6.98 ± 0.05	8.604	8.85 ± 0.02
1-(S)- α -pinen	1.38	1.42 ± 0.03	0.694	0.68 ± 0.02	5.608	5.62 ± 0.03
p-simen	27.37	35.93 ± 0.71				
R-(+)-limonen			0.304	2.03 ± 0.01		
eugenol					1.802	100.00 ± 1.53

Yağların içerdikleri ana bileşen miktarlarından, eugenolün DPPH radikalini % 100 ± 1.53 inhibe ettiği, p-simenin % 35.93 ± 0.71 inhibisyonla ikinci sırada geldiği, diğer ana bileşenlerin ise, DPPH radikalini temizlemede çok düşük değerlere sahip oldukları bulundu. Eugenol dışındaki ana bileşenlerin yağlar içerisindeki miktarları, DPPH radikalini % 50 inhibe edecek aktiviteye sahip olmadıklarından IC_{50} değerleri gözlenmedi. Yağların DPPH radikalini süpürmede etkin olmasına karşın, ana bileşenlerin yağ içerisindeki miktarlarının etkin olmaması bizde acaba 3’lü karışımlarının DPPH inhibisyonuna etkisinin olup olmayacağını araştırmamıza neden oldu. Bu yüzden, bu ana bileşenlerin uçucu yağlar içinde bulunan miktarlarının karıştırılmasıyla elde edilen 3’lü karışımların inhibisyon yüzdeleri çalışıldığında, üçlü karışımların tümünün zayıf DPPH radikalini süpürme aktivitesine sahip oldukları ve IC_{50} değerlerinin olmadığı bulundu (Çizelge 3.4.3.).

Çizelge 3.4.3. Ana bileşenlerin uçucu yağ içerisindeki derişimlerine göre hazırlanan üçlü karışımların DPPH radikalini inhibe eden yüzdeleri

Bitki uçucu yağı	Üçlü ana bileşen karışımları	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhibisyon
Okaliptus	p-simen / 1,8-sineol / 1-(S)- α -pinen	27.37 / 5.768 / 1.380	17.27 ± 0.56
Defne	1,8-sineol / 1-(S)- α -pinen / R-(+)-limonen	6.882 / 0.694 / 0.304	-
Mersin	1,8-sineol / 1-(S)- α -pinen / eugenol	8.604 / 5.608 / 1.802	14.56 ± 0.01

Çalışmada ayrıca ana bileşenlerin yağ içerisindeki miktarlarından farklı olarak, değişik derişim aralıklarındaki ana bileşenlerle çalışılarak, IC_{50} değerlerinin olup olmadığı araştırıldı. Ana bileşenlerin farklı derişimlerde sahip oldukları DPPH radikalini inhibisyon yüzdeleri Şekil 3.4.3.'de görülmektedir.



Şekil 3.4.3. a) Eugenol, b) R-(+)-limonen, c) 1,8-sineol, d) 1-(S)- α -pinen d) p-simen'in DPPH radikalini inhibisyonları

Ana bileşenlerin gözlenen en yüksek inhibisyon yüzdeleri ve bu inhibisyonu sağlayan derişimleri ile IC₅₀ değerleri ise Çizelge 3.4.4.'de verildi.

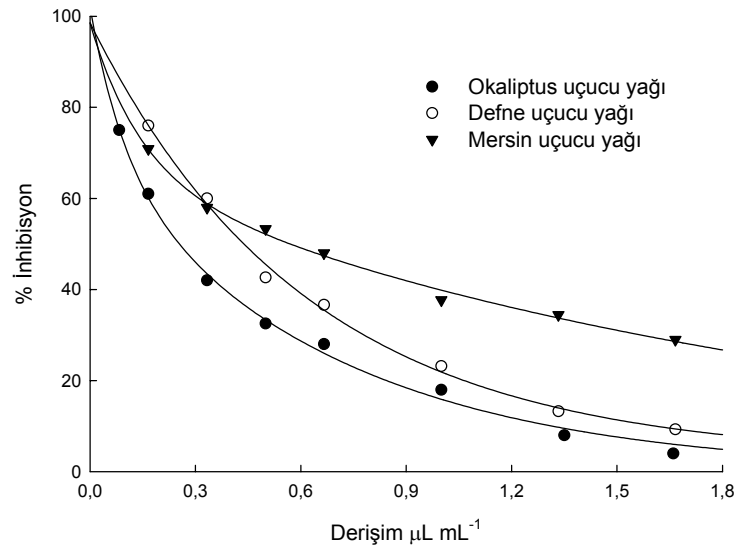
Çizelge 3.4.4. Ana bileşenlerin, DPPH radikalini temizlemede sahip oldukları en yüksek inhibisyon yüzdeleri ve bu yüzdelerdeki derişimleri ile IC₅₀ değerleri

Örnek	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhibisyon	IC ₅₀ ($\mu\text{L mL}^{-1}$)
eugenol	0.057	95.53 \pm 1.20	0.0060 \pm 0.0002
R(+)-Limonen	375.0	61.07 \pm 1.53	283.62 \pm 2.87
1,8-sineol	125.0	42.65 \pm 2.52	–
1-(S)- α -pinen	125.0	40.37 \pm 2.08	–
p-simen	125.0	37.65 \pm 2.52	–

DPPH radikali süpürmede en yüksek aktivite, eugenolde, en düşük aktivite ise p-simende gözlemlendi. Diğer ana bileşenlerin aktivitelerinin ise; R-(+)-limonen, 1,8-sineol ve 1-(S)- α -pinen sıralamasıyla azaldığı bulundu. Ana bileşenlerin değişik derişimleri çalışılmış olmasına rağmen, DPPH radikali süpürmede en aktif ilk iki ana bileşen olan eugenol ve R-(+)-limonen dışındaki ana bileşenlerin IC₅₀ değerleri gözlenemedi.

3.5. Hidroksil Radikalini Temizleme Özelliği

Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının derişimlerine karşı hidroksil radikali oluşumunun % inhibisyon grafikleri Şekil 3.5.1 gösterilmiştir.



Şekil 3.5.1. Hidroksil radikali inhibisyonunun okaliptus, defne ve mersin uçucu yağ derişimleriyle değişimi

Çizelge 3.5.1.'de ise uçucu yağlar ile pozitif kontrollerin, hidroksil radikali oluşumu inhibisyonunda sahip oldukları en yüksek inhibisyon yüzdeleri ile hidroksil radikali oluşumunu %50 inhibe eden derişimleri verilmiştir.

Çizelge 3.5.1. Okalıptus, defne, mersin uçucu yağları ve pozitif kontrollerin hidroksil radikali oluşumu inhibisyonundaki en yüksek inhibisyon yüzdeleri ile hidroksil radikali oluşumunu %50 inhibe eden derişimleri

Örnek	% İnhibisyon	IC ₅₀ (µL mL ⁻¹)
Okalıptus uçucu yağı	77.02 ± 0.16	0.268 ± 0.015
Defne uçucu yağı	76.00 ± 0.52	0.398 ± 0.028
Mersin uçucu yağı	74.25 ± 1.25	0.584 ± 0.027
BHT	56.32 ± 0.96	32.00 ± 1.607
Kurkumin	58.65 ± 0.65	13.56 ± 1.190

IC₅₀ değerlerine göre; hidroksil radikali süpürmede en yüksek aktivite okalıptus uçucu yağında, daha sonra defne uçucu yağında gözlenirken, en düşük aktivite ise mersin uçucu yağında gözlendi. Pozitif kontroller karşılaştırıldığında; kurkuminin hidroksil radikali süpürme aktivitesinin, BHT'den daha fazla olduğu ve her üç uçucu yağın hidroksil radikali süpürmede kontrollerden daha etkin oldukları görüldü.

Yağlarda bulunan ana bileşenlerin yağ içindeki miktarlarının hidroksil radikali oluşumunu inhibe edip etmedikleri araştırılarak, ana bileşenlerin deney ortamı derişimleri ve bu derişimlerde sahip oldukları inhibisyon yüzdeleri Çizelge 3.5.2.'de verilmiştir.

Çizelge 3.5.2. Okalıptus, defne, mersin uçucu yağların içerdikleri ilk üç ana bileşen miktarlarının deney ortamı derişimleri ve hidroksil radikali oluşum inhibisyon yüzdeleri

Ana bileşen	Okalıptus uçucu yağı		Defne uçucu yağı		Mersin uçucu yağı	
	Derişim (µL mL ⁻¹)	% İnhibisyon	Derişim (µL mL ⁻¹)	% İnhibisyon	Derişim (µL mL ⁻¹)	% İnhibisyon
1,8-sineol	2.32	51.32 ± 0.54	11.47	60.35 ± 0.12	6.720	61.52 ± 0.69
1-(S)-α-pinen	0.575	12.82 ± 0.15	1.156	20.05 ± 0.20	4.673	28.92 ± 0.73
p-simen	11.44	9.65 ± 0.11				
R-(+)-limonen			0.506	10.75 ± 0.48		
eugenol					1.501	63.48 ± 1.31

Çizelge 3.5.2.'deki sonuçlara göre; üç bitki uçucu yağında ortak ana bileşen olan 1,8-sineolün; deney ortamı derişimleri mersin, defne ve okalıptus sıralamasına göre

6.720, 11.47 ve 2.32 $\mu\text{L mL}^{-1}$ olup, bu derişimlerdeki hidroksil radikalının yüzde inhibisyon değerleri sırasıyla; % 61.52 ± 0.69 , % 60.35 ± 0.12 ve % 51.32 ± 0.54 olarak bulundu. Benzer olarak üç yağda ortak ana bileşen olarak saptanan 1-(S)- α -pinenin; mersin, defne ve okaliptus uçucu yağlarındaki deney ortamı derişimleri sırasıyla; 4.673 1.156 ve 0.575 $\mu\text{L mL}^{-1}$ olup, bunların sebep oldukları inhibisyon yüzdeleri ise sırasıyla; % 28.92 ± 0.73 , % 20.05 ± 0.20 ve % 12.82 ± 0.15 'dir. Üç uçucu yağda ortak olmayan ana bileşenlerin hidroksil radikali temizleme özellikleri karşılaştırıldığında ise; mersinde bulunan eugenolde % 63.48 ± 1.31 'le en yüksek inhibisyon gözlenirken, R-(+)-limonende % 10.75 ± 0.48 inhibisyon gözlemlendi. En düşük hidroksil radikali süpürme aktivitesi % 9.65 ± 0.11 ile p-simende gözlemlendi.

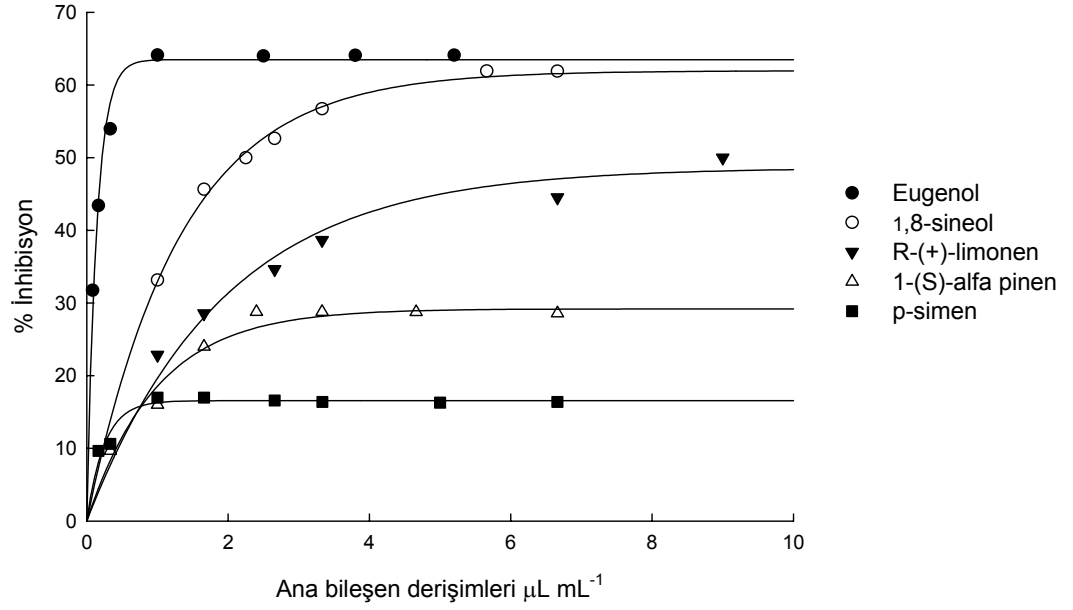
Ana bileşenlerin yağlar içerisindeki miktarlarının 3'lü karışımlarının hidroksil radikali süpürme etkisine bakıldığında, mersinde bulunan 1,8-sineol/1-(S)- α -pinen/eugenol ana bileşen karışımının hidroksil radikali oluşumunu % 50'den daha fazla inhibe ederken, okaliptusun üçlü karışımı olan p-simen/1,8-sineol/1-(S)- α -pinen ile defnede bulunan 1,8-sineol/1-(S)- α -pinen/R-(+)-limonen ana bileşen karışımlarının ise hidroksil radikali oluşumunu % 50'den daha düşük oranda inhibe ettikleri bulundu (Çizelge 3.5.3.).

Çizelge 3.5.3. Ana bileşenlerin uçucu yağ içerisindeki derişimlerine göre hazırlanan üçlü karışımların hidroksil radikali oluşumunu inhibe eden yüzdeleri

Bitki uçucu yağı	Üçlü ana bileşen karışımları	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhibisyon
Okaliptus	p-simen / 1,8-sineol / 1-(S)- α -pinen	11.44 / 2.32 / 0.575	31.25 ± 1.07
Defne	1,8-sineol / 1-(S)- α -pinen / R-(+)-limonen	11.47 / 1.156 / 0.506	48.22 ± 1.52
Mersin	1,8-sineol / 1-(S)- α -pinen / eugenol	6.720 / 4.673 / 1.501	89.21 ± 0.51

Yağ içerisindeki derişimlerinden farklı olarak ana bileşenlerin değişik derişimlerde sahip oldukları hidroksil radikali inhibisyon yüzdelerini gösteren grafik Şekil 3.5.2'de verildi.

Ana bileşenlerin hidroksil radikali oluşumu inhibisyonunda sahip oldukları en yüksek inhibisyon yüzdeleri ile bu yüzdelerdeki derişimleri ve IC_{50} değerleri ise Çizelge 3.5.4'de verilmiştir.



Şekil 3.5.2. Ana bileşenlerin hidroksil radikali inhibisyonları

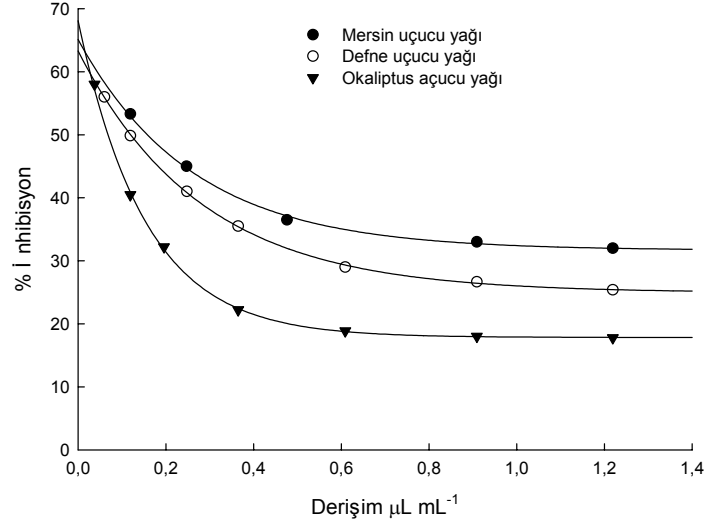
Çizelge 3.5.4. Ana bileşenlerin, hidroksil radikali inhibisyonunda sahip oldukları en yüksek inhibisyon yüzdeleri ve bu yüzdelerdeki derişimleri ile IC_{50} değerleri

Örnek	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhibisyon	IC_{50} ($\mu\text{L mL}^{-1}$)
eugenol	0.952	64.13 ± 2.94	0.25 ± 0.02
1,8-sineol	5.55	61.93 ± 3.12	2.25 ± 0.12
R(+)-Limonen	8.95	50.00 ± 2.02	8.95 ± 0.34
1-(S)- α -pinen	2.42	28.78 ± 3.16	–
p-simen	1.11	16.98 ± 0.36	–

Çizelgeye göre; mersin uçucu yağının üçüncü ana bileşeni olan eugenol, hidroksil radikali oluşumu inhibisyonunda en aktif (% 64.13) bileşen iken, okaliptus uçucu yağının ilk ana bileşeni olan p-simenin en düşük aktiviteye (% 16.98) sahip olduğu gözlemlendi. Diğer ana bileşenlerin aktivitelerinin; 1,8-sineol, R-(+)-limonen ve 1-(S)- α -pinen sıralamasıyla azaldığı bulundu. Ana bileşenlerin çok farklı derişimlerinde çalışılmasına rağmen, en düşük hidroksil radikali süpürme aktivitesine sahip olan p-simen ve 1-(S)- α -pinenin IC_{50} değerleri gözlenemedi.

3.6. Süperoksit Radikalini Temizleme Özelliği

Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağ derişimlerinin, süperoksit radikali oluşumunu inhibe eden yüzdeleri Şekil 3.6.1.'de verildi.



Şekil 3.6.1. Süperoksit radikali inhibisyonunun okaliptus, defne ve mersin uçucu yağ derişimleriyle değişimi

Çizelge 3.6.1'de ise uçucu yağlar ile pozitif kontrollerin süperoksit radikal oluşumu inhibisyonunda sahip oldukları en yüksek inhibisyon yüzdeleri ile süperoksit radikali oluşumunu % 50 inhibe eden derişimleri verildi.

Çizelge 3.6.1. Okaliptus, defne, mersin uçucu yağları ile pozitif kontrollerin en yüksek süperoksit radikali inhibisyon yüzdeleri ve süperoksit radikali oluşumunu %50 inhibe eden derişimleri

Örnek	% İnhibisyon	IC ₅₀ (µL mL ⁻¹)
Okaliptus uçucu yağı	58.26 ± 1.16	0.069 ± 0.006
Defne uçucu yağı	55.85 ± 0.26	0.141 ± 0.004
Mersin uçucu yağı	53.25 ± 0.04	0.233 ± 0.025
BHT	54.12 ± 0.26	62.301 ± 0.903
Kurkumin	59.05 ± 0.06	8.655 ± 0.222
Askorbik asit	50.98 ± 2.05	92.45 ± 4.143

Süperoksit radikali süpürmede en yüksek aktivite okaliptus uçucu yağında, daha sonra defne uçucu yağında, en düşük aktivite ise mersin uçucu yağında gözlemlendi. Pozitif

kontrollerde ise; askorbik asit, BHT ve kurkumin, sıralamasıyla süperoksit radikali süpürme aktivitesinin artmış olmasına rağmen, uçucu yağların süperoksit radikali süpürme aktivitelerinin her üç kontrolden daha yüksek olduğu bulundu.

Yağların içerdikleri ana bileşen miktarlarının süperoksit radikali olumşunu inhibe edip etmedikleri çalışıldığında, elde edilen sonuçlar ise Çizelge 3.6.2.'de verildi.

Çizelge 3.6.2. Okaliptus, defne, mersin uçucu yağlarının içerdikleri ana bileşen miktarlarının deney ortamı derişimleri ile süperoksit radikali inhibisyon yüzdeleri

Ana bileşen	Okaliptus uçucu yağı		Defne uçucu yağı		Mersin uçucu yağı	
	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhibisyon	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhibisyon	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhibisyon
1,8-sineol	1.74	41.15 \pm 0.23	8.60	37.56 \pm 0.34	5.04	40.18 \pm 0.89
1-(S)- α -pinen	0.431	24.82 \pm 0.20	0.860	25.50 \pm 1.13	3.505	22.38 \pm 1.57
p-simen	8.553	25.62 \pm 0.45				
R-(+)-limonen			0.380	35.62 \pm 0.52		
eugenol					1.126	44.02 \pm 0.81

Çizelge 3.6.2.'ye göre; 1,8-sineol okaliptustaki derişimi olan $1.74 \mu\text{L mL}^{-1}$ karşın gelen inhibisyon yüzdesi 41.15 ± 0.23 iken, defne ve mersindeki derişimleri sırasıyla; 8.60 ve $5.04 \mu\text{L mL}^{-1}$ olup, bu derişimlerde süperoksit radikali inhibisyon yüzdeleri ise 37.56 ± 0.34 ve 40.18 ± 0.89 olarak bulundu. Okaliptus, defne ve mersinde bulunan 1-(S)- α -pinenin deney ortamı derişimleri sırasıyla; 0.431 , 0.860 ve $3.505 \mu\text{L mL}^{-1}$ olup bunlara karşın gelen % inhibisyonları ise; % 24.82 ± 0.20 , % 25.50 ± 1.13 ve % 22.38 ± 1.57 'dir. R-(+)-limonenin $0.380 \mu\text{L mL}^{-1}$ deney ortamı derişimde % 35.62 ± 0.52 inhibisyon gözlenirken, eugenolün $1.126 \mu\text{L mL}^{-1}$ olan deney ortamı derişiminde ise % 44.02 ± 0.81 inhibisyon gözlendi. p-simenin $8.553 \mu\text{L mL}^{-1}$ olan deney ortamı derişimde ise % 25.62 ± 0.45 süperoksit radikali inhibisyonu gözlendi. Tüm ana bileşenler % 50'nin altında süperoksit radikali inhibisyonu gösterdikleri için, IC_{50} değerlerinin olmadığı bulundu.

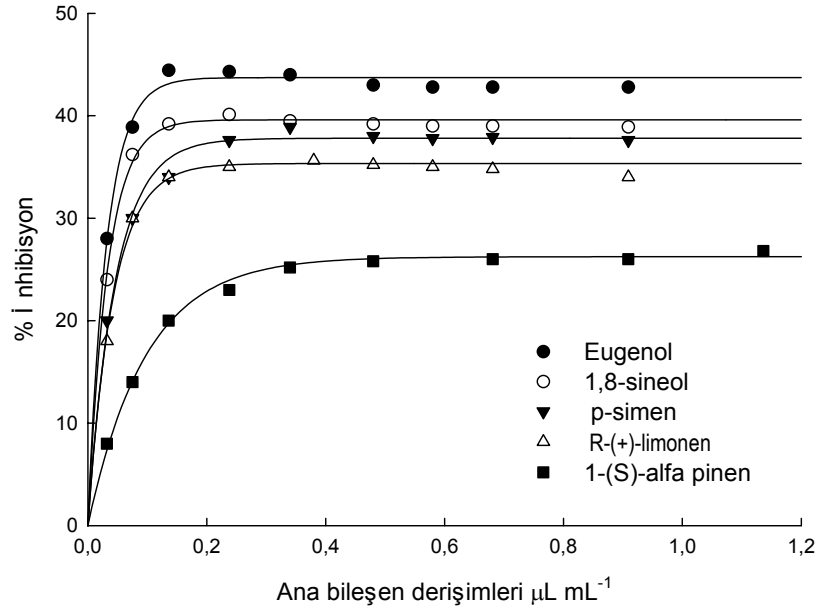
Ana bileşenlerin yağlar içerisindeki miktarlarının 3'lü karışımlarının süperoksit radikali inhibisyon özellikleri incelendiğinde; üçlü karışımların tümünün süperoksit radikali % 50'den daha küçük yüzdelerde inhibe ettikleri bulundu. Okaliptusta bulunan p-simen/1,8-sineol/1-(S)- α -pinen ana bileşen karışımının % 45.25 ± 1.02 'le en yüksek inhibisyonu oluşturduğu daha sonra % 39.18 ± 1.00 'le defnede bulunan 1,8-sineol/R-(+)-limonen/1-(S)- α -pinenin geldiği ve son olarak mersinde bulunan 1,8-sineol/1-(S)- α -

pinen/eugenol ana bileşen karışımının % 30.12 ± 0.66 'yle en düşük süperoksit radikali inhibisyonuna sahip olduğu bulundu (Çizelge 3.6.3.).

Çizelge 3.6.3. Uçucu yağ içerisindeki ana bileşenlerin derişimlerine göre hazırlanan üçlü karışımların süperoksit radikalini inhibe eden yüzdeleri

Bitki uçucu yağı	Üçlü ana bileşen karışımları	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhibisyon
Okalıptus	p-simen / 1,8-sineol / 1-(S)- α -pinen	8.553 / 1.74 / 0.431	45.25 ± 1.02
Defne	1,8-sineol / 1-(S)- α -pinen / R-(+)-limonen	8.60 / 0.860 / 0.38	39.18 ± 1.00
Mersin	1,8-sineol / 1-(S)- α -pinen / eugenol	5.04 / 3.505 / 1.126	30.12 ± 0.66

Ana bileşenlerin farklı derişimleri hazırlanarak, IC_{50} değerlerinin olup olmadığını belirlemek amacıyla yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen verilere göre çizilen ana bileşen derişimlerine karşılık süperoksit radikali inhibisyon yüzdelerini gösteren grafik, Şekil 3.6.2'de verilmiştir.



Şekil 3.6.2. Ana bileşenlerin süperoksit radikali inhibisyonları

Şekil 3.6.2.'ye göre hesaplanan uçucu yağların ana bileşenlerinin en yüksek inhibisyon yüzdeleri ile bu inhibisyonu sağlayan derişimleri Çizelge 3.6.4'de verilmiştir.

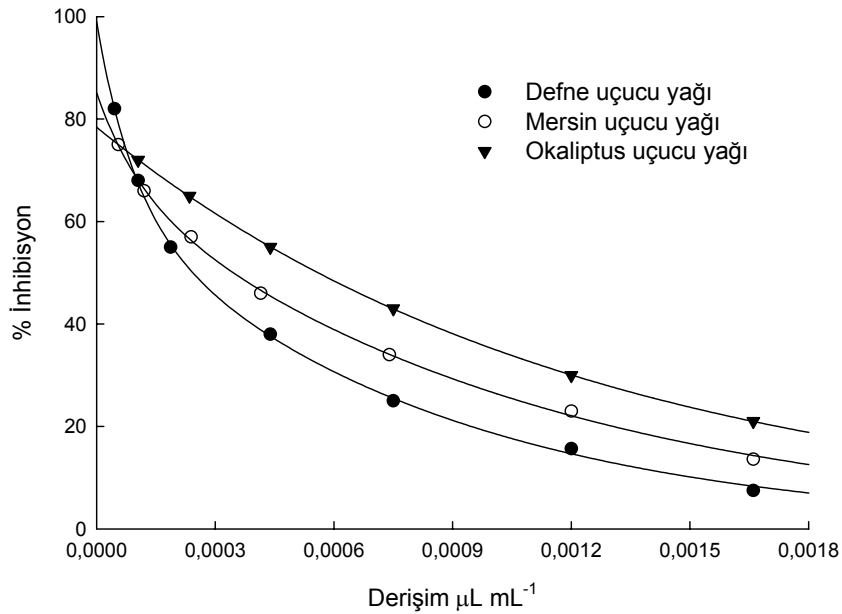
Çizelge 3.6.4. Ana bileşenlerin süperoksit radikali inhibisyonunda sahip oldukları en yüksek inhibisyon yüzdeleri ve bu yüzdelerdeki derişimleri ile IC₅₀ değerleri

Örnek	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhibisyon	IC ₅₀ ($\mu\text{L mL}^{-1}$)
eugenol	0.136	44.43 \pm 1.12	–
1,8-sineol	0.238	42.20 \pm 1.70	–
p-simen	0.340	38.88 \pm 1.63	–
R(+)-Limonen	0.380	35.62 \pm 1.24	–
1-(S)- α -pinen	1.136	26.67 \pm 1.51	–

Süperoksit radikali süpürmede en aktif ana bileşenin, mersin uçucu yağının ana bileşeni olan eugenol iken okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının ortak ana bileşeni olan 1-(S)- α -pinenin ise en düşük aktiviteye sahip olduğu bulundu. Diğer ana bileşenlerin aktivitelerinin; 1,8-sineol, p-simen ve R-(+)-limonen sıralamasıyla azaldığı gözlenmiş olup, ana bileşenlerin süperoksit radikalini % 50 inhibe eden derişim değerleri gözlenememiştir.

3.7. Hidrojen Peroksit Temizleme Özelliği

Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının metanolde hazırlanan farklı derişimlerine karşı hidrojen peroksidin % inhibisyon grafikleri Şekil 3.7.1.'de verildi.



Şekil 3.7.1. Hidrojen peroksit inhibisyonunun, okaliptus, defne ve mersin uçucu yağ derişimleriyle değişimi

Çizelge 3.7.1.'de ise, uçucu yağların ve pozitif kontrollerin en yüksek hidrojen peroksit inhibisyon yüzdeleri ile hidrojen peroksidi % 50 inhibe eden derişimleri verildi.

Çizelge 3.7.1. Okaliptus, defne, mersin uçucu yağlarının ve pozitif kontrollerin en yüksek hidrojen peroksit inhibisyon yüzdeleri ile hidrojen peroksidi %50 inhibe eden derişimleri

Örnek	% İnhibisyon	IC ₅₀ x10 ⁴ (µL mL ⁻¹)
Okaliptus uçucu yağı	70.02 ± 0.54	5.612 ± 0.220
Defne uçucu yağı	82.00 ± 0.86	2.421 ± 0.136
Mersin uçucu yağı	74.12 ± 0.02	3.445 ± 0.191
BHT	59.02 ± 0.18	6.984 ± 0.337
Kurkumin	59.65 ± 0.38	3.70 ± 0.10
Askorbik asit	58.25 ± 1.12	11.20 ± 0.56

Uçucu yağların hidrojen peroksit süpürme aktiviteleri IC₅₀ değerlerine göre karşılaştırıldığında; en yüksek aktivite defne uçucu yağında (2.421 µL mL⁻¹), daha sonra mersin uçucu yağında (3.445 µL mL⁻¹) ve en düşük aktivite ise okaliptus uçucu yağında (5.612 µL mL⁻¹) gözlemlendi. Pozitif kontrollerinde IC₅₀ değerleri karşılaştırıldığında; askorbik asit, BHT ve kurkumin sıralamasıyla azaldığı bulundu. Azalan IC₅₀ değeri, bileşenlerin hidrojen peroksidi süpürmede daha etkin olduğunu göstermektedir. Kurkuminin IC₅₀ değeri (3.70 ± 0.10 µL mL⁻¹), defne ve mersin uçucu yağlarından yüksek olup, okaliptus uçucu yağından daha düşüktür.

Ana bileşenlerin hidrojen peroksit inhibisyonlarını incelemek amacıyla yapılan çalışmalarda; yağların içerdiği ana bileşenlerin deney ortamı derişimleriyle çalışılmış olup, bu derişimler ve bu derişimlerdeki hidrojen peroksit inhibisyon yüzdeleri Çizelge 3.7.2.'de verilmiştir.

Çizelge 3.7.2. Okaliptus, defne, mersin uçucu yağlarının içerdikleri ana bileşen miktarlarının deney ortamı derişimleri ile hidrojen peroksit inhibisyon yüzdeleri

Ana bileşen	Okaliptus uçucu yağı		Defne uçucu yağı		Mersin uçucu yağı	
	Derişimx10 ³ (µL mL ⁻¹)	% İnhibisyon	Derişimx10 ³ (µL mL ⁻¹)	% İnhibisyon	Derişimx10 ³ (µL mL ⁻¹)	% İnhibisyon
1,8-sineol	1.028	26.48 ± 0.52	1.830	24.43 ± 1.40	1.680	25.12 ± 0.78
1-(S)-α-pinen	0.254	8.45 ± 0.60	0.185	6.75 ± 0.35	1.168	19.12 ± 0.91
p-simen	5.05	23.05 ± 0.72				
R-(+)-limonen			0.081	3.45 ± 0.58		
eugenol					0.375	20.65 ± 0.06

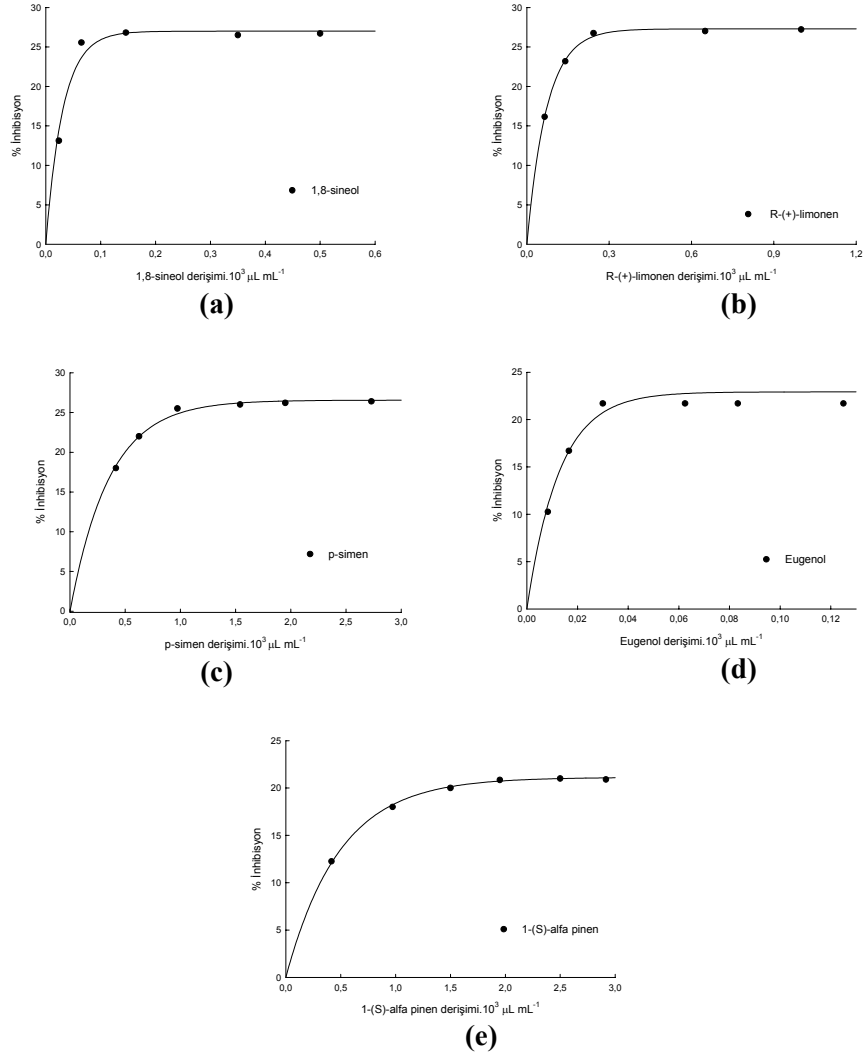
Çizelge 3.7.2.'deki sonuçlara göre; üç bitki uçucu yağında ortak ana bileşen olan 1,8-sineolün; deney ortamı derişimleri okalıptus, mersin ve defne sıralamasına göre 1.028×10^{-3} , 1.680×10^{-3} ve $1.830 \times 10^{-3} \mu\text{L mL}^{-1}$ olup, bu derişimlerdeki hidrojen peroksit yüzde inhibisyon değerleri sırasıyla; $\% 26.48 \pm 0.52$, $\% 25.12 \pm 0.78$ ve $\% 24.43 \pm 1.40$ olarak bulundu. Benzer olarak üç yağda ortak ana bileşen olarak saptanan 1-(S)- α -pinenin; mersin, okalıptus ve defne uçucu yağlarındaki deney ortamı derişimleri sırasıyla; 1.168×10^{-3} , 0.254×10^{-3} ve $0.185 \times 10^{-3} \mu\text{L mL}^{-1}$ olup, bunların sebep oldukları inhibisyon yüzdeleri ise sırasıyla; $\% 19.12 \pm 0.91$, $\% 8.45 \pm 0.60$ ve $\% 6.75 \pm 0.35$ 'dir. Üç uçucu yağda ortak olmayan ana bileşenlerin hidrojen peroksit inhibisyon yüzdeleri karşılaştırıldığında ise; okalıptusta bulunan p-simen ($5.05 \mu\text{L mL}^{-1}$) $\% 23.05 \pm 0.72$, mersinde bulunan eugenolde ($0.375 \mu\text{L mL}^{-1}$) $\% 20.65 \pm 0.06$, defnede bulunan R-(+)-limonen ($0.081 \mu\text{L mL}^{-1}$), $\% 3.45 \pm 0.58$ hidrojen peroksidi inhibe ettiği gözlemlendi. Uçucu yağ ana bileşenlerinin, hidrojen peroksidi $\% 50$ inhibe edecek aktiviteye sahip olmadıklarından IC_{50} değerleri de gözlenemedi.

Ana bileşenlerin yağlar içerisindeki miktarlarının 3'lü karışımlarının hidrojen peroksit inhibisyon etkisine bakıldığında; defnede bulunan 1,8-sineol/1-(S)- α -pinen/R-(+)-limonen ana bileşen karışımının hidrojen peroksidi $\% 50$ 'den daha fazla (62.15 ± 0.45) inhibe ederken, okalıptusun üçlü karışımı olan p-simen/ 1,8-sineol/1-(S)- α -pinen'in $\% 46.75 \pm 0.98$ ve mersinde bulunan 1,8-sineol/1-(S)- α -pinen/eugenol ana bileşen karışımının ise 40.16 ± 1.26 inhibe ettikleri bulundu (Çizelge 3.7.3.).

Çizelge 3.7.3. Uçucu yağ içerisindeki ana bileşenlerin derişimlerine göre hazırlanan üçlü karışımların hidrojen peroksit inhibe eden yüzdeleri

Bitki uçucu yağı	Üçlü ana bileşen karışımları	Derişim $\times 10^3$ ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhibisyon
Okalıptus	p-simen / 1,8-sineol / 1-(S)- α -pinen	5.05 / 1.028 / 0.254	46.75 ± 0.98
Defne	1,8-sineol / 1-(S)- α -pinen / R-(+)-limonen	1.830 / 0.185 / 0.081	62.15 ± 0.45
Mersin	1,8-sineol / 1-(S)- α -pinen / eugenol	1.680 / 1.168 / 0.037	40.16 ± 1.26

Ana bileşenlerin, yağ içerisindeki miktarlarından farklı derişimleriyle çalışıldığında; ana bileşen derişimlerine karşın çizilen $\%$ inhibisyon grafikleri Şekil 3.7.2.'de verildi. Bu grafiklerden yararlanılarak ana bileşenlerin hidrojen peroksidi en yüksek inhibe eden yüzdeleri ve bu yüzdeler karşın gelen ana bileşen derişimleri Çizelge 3.7.4.'de verilmi



Şekil 3.7.2. a) 1,8-sineol b) R-(+)-limonen, c) p-simen, d) Eugenol, e) 1-(S)- α -pinen 'in hidrojen peroksit inhibisyonları

Çizelge 3.7.4. Ana bileşenlerin en yüksek hidrojen peroksit inhibisyon yüzdeleri ve buna karşın gelen derişimleri ile IC_{50} değerleri

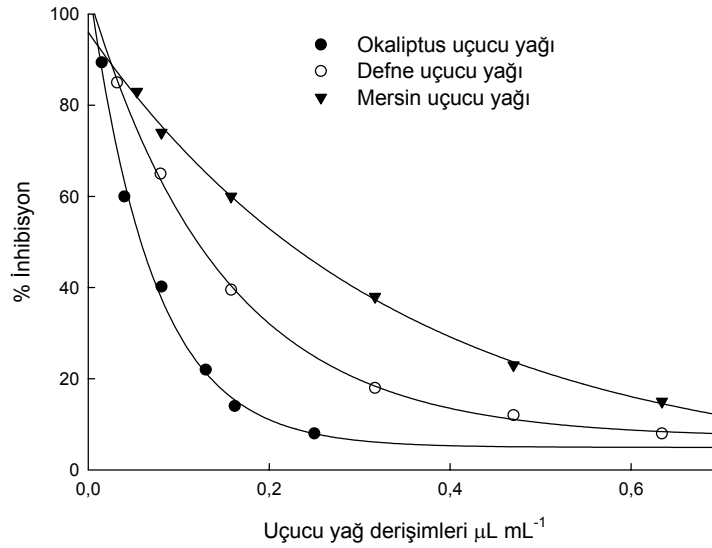
Örnek	Derişim $\times 10^3$ ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhisyon	IC_{50} ($\mu\text{L mL}^{-1}$)
1,8-sineol	0.122	26.81 ± 1.37	-
R(+)-Limonen	0.243	26.74 ± 2.65	-
p-simen	0.974	25.51 ± 1.90	-
eugenol	0.030	21.70 ± 2.03	-
1-(S)- α -pinen	1.950	20.85 ± 2.16	-

Mersin, defne ve okaliptus uçucu yağlarının ortak ana bileşenleri olan 1,8-sineol, hidrojen peroksit süpürmede en yüksek aktiviteye sahip (% 26.81) iken, 1-(S)- α -pinenin en düşük aktiviteye (% 20.85) sahip bileşen olduğu bulundu. Diğer ana bileşenlerin

hidrojen peroksidi inhibe eden değerlerine göre aktiviteleri ise; R-(+)-limonen, p-simen, ve eugenol sıralamasıyla azaldığı bulundu. İnhibisyonları % 50'yi geçmediğinden ana bileşenlerin IC₅₀ değerleri saptanamamıştır.

3.8. Lipid Peroksidasyonu İnhibisyon Özelliği

Şekil 3.8.1.'de farklı derişimlerdeki okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının lipid peroksidasyonunu inhibe eden yüzdeleri, Çizelge 3.8.1.'de ise uçucu yağların ve pozitif kontrollerin en yüksek lipid peroksidasyonu inhibisyon yüzdeleri ve lipid peroksidasyonunu % 50 inhibe eden değerleri verilmiştir.



Şekil 3.8.1. Lipid peroksidasyonu inhibisyonunun okaliptus, defne ve mersin uçucu yağ derişimleriyle değişimi

Çizelge 3.8.1. Okaliptus, defne, mersin uçucu yağları ile pozitif kontrollerin en yüksek lipid peroksidasyon inhibisyon yüzdeleri ile lipid peroksidasyonunu %50 inhibe eden derişimleri

Örnek	% İnhibisyon	IC ₅₀ (µL mL ⁻¹)
Okaliptus uçucu yağı	89.42 ± 0.48	0.055 ± 0.004
Defne uçucu yağı	84.22 ± 1.12	0.124 ± 0.003
Mersin uçucu yağı	81.15 ± 0.05	0.220 ± 0.003
BHT	56.51 ± 0.79	3.022 ± 1.346
Kurkumin	58.48 ± 0.01	1.220 ± 2.013

Lipid peroksidasyonu inhibisyonunda en yüksek aktivite okaliptus uçucu yağında, daha sonra defne uçucu yağında, en düşük aktivite ise mersin uçucu yağında gözlemlendi.

Pozitif kontrollerde ise; kurkuminin lipid peroksidasyonu inhibe etme özelliğinin, BHT'den daha yüksek olduğu gözlemlendi. Uçucu yağların lipid peroksidasyonu inhibisyonlarının kontrollerden yüksek olduğu gözlemlendi.

Yağların içerdikleri ana bileşen miktarlarının lipid peroksidasyonunu inhibe edip etmedikleri çalışılarak, elde edilen sonuçlar Çizelge 3.8.2.'de verildi.

Çizelge 3.8.2. Okaliptus, defne, mersin uçucu yağlarının içerdikleri ana bileşen miktarlarının deney ortamı derişimleri ile lipid peroksidasyonu inhibisyon yüzdeleri

Ana bileşen	Okaliptus uçucu yağı		Defne uçucu yağı		Mersin uçucu yağı	
	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhibisyon	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhibisyon	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhibisyon
1,8-sineol	0.58	-	5.735	-	3.36	-
1-(S)- α -pinen	0.143	45.12 \pm 0.23	0.577	56.35 \pm 0.50	2.333	-
p-simen	2.85	74.16 \pm 2.13				
R-(+)-limonen			0.253	66.18 \pm 0.31		
eugenol					0.75	-

^{a-c} Lipid peroksidasyon inhibisyonu gözlenmedi

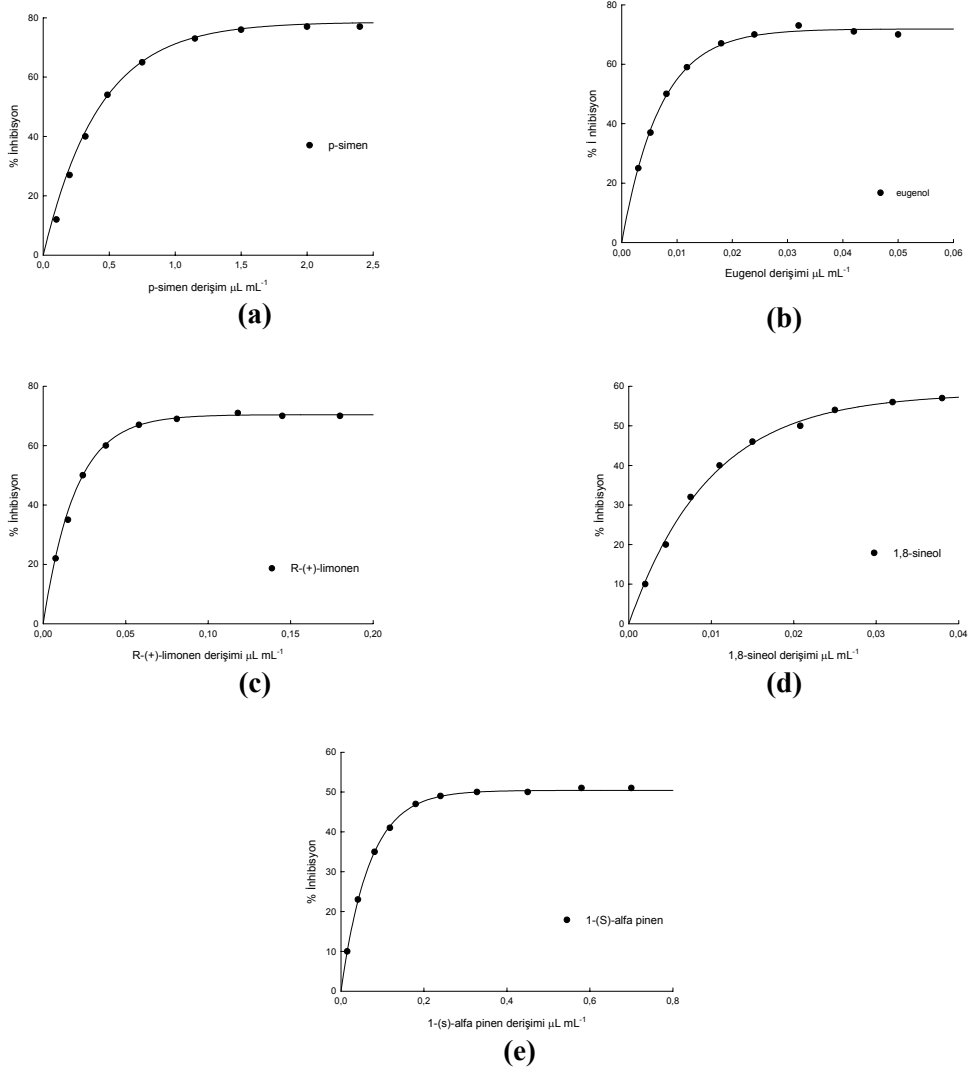
Çizelge 3.8.2.'ye göre; 1,8-sineolün okaliptus, defne ve mersindeki derişimleri sırasıyla; 0.58, 5.735 ve 3.36 $\mu\text{L mL}^{-1}$ olup, bu derişimlerde lipid peroksidasyon inhibisyonu gözlenmedi. 1-(S)- α -pinenin okaliptustaki derişimi olan 0.143 $\mu\text{L mL}^{-1}$ karşın gelen inhibisyon yüzdesi 45.12 \pm 0.23 iken, defnedeki derişimi 0.577 $\mu\text{L mL}^{-1}$ olup, inhibisyon yüzdesi 56.35 \pm 0.50'dir. Mersindeki 2.333 $\mu\text{L mL}^{-1}$ derişiminde ise lipid peroksidasyonu inhibisyonu olmadığı bulundu. p-simenin 2.85 $\mu\text{L mL}^{-1}$ olan deney ortamı derişimde % 74.16 \pm 2.13 lipid peroksidasyon inhibisyonu gözlenirken; R-(+)-limonenin 0.253 $\mu\text{L mL}^{-1}$ deney ortamı derişimde % 66.18 \pm 0.31 inhibisyon bulundu. Eugenolün 0.75 $\mu\text{L mL}^{-1}$ olan deney ortamı derişiminde ise inhibisyon gözlenmedi.

Ana bileşenlerin yağlar içerisindeki miktarlarının 3'lü karışımlarının lipid peroksidasyonu inhibisyon özellikleri incelendiğinde; üçlü karışımların tümünün lipid peroksidasyonunu % 50'den daha küçük yüzdelerde inhibe ettikleri bulundu. Okaliptusta bulunan p-simen/1,8-sineol/1-(S)- α -pinen ana bileşen karışımının % 48.25 \pm 0.03'le en yüksek inhibisyonu oluşturduğu bulundu. Defnede bulunan 1,8-sineol/R-(+)-limonen/1-(S)- α -pinenin karışımının lipid peroksidasyonunu % 41.18 \pm 0.67'le inhibe ederken, mersinde bulunan 1,8-sineol/1-(S)- α -pinen/eugenol ana bileşen karışımının % 30.68 \pm 0.46'le ile en düşük lipid peroksidasyonu inhibisyonuna sahip olduğu bulundu (Çizelge 3.8.3.).

Çizelge 3.8.3. Uçucu yağ içerisindeki ana bileşenlerin derişimlerine göre hazırlanan üçlü karışımların lipid peroksidasyonunu inhibe eden yüzdeleri

Bitki uçucu yağı	Üçlü ana bileşen karışımları	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhibisyon
Okaliptus	p-simen / 1,8-sineol / 1-(S)- α -pinen	2.85 / 0.58 / 0.143	48.25 \pm 0.03
Defne	1,8-sineol / 1-(S)- α -pinen / R-(+)-limonen	5.735 / 0.577 / 0.253	41.18 \pm 0.67
Mersin	1,8-sineol / 1-(S)- α -pinen / eugenol	3.36 / 2.333 / 0.75	30.68 \pm 0.46

Ana bileşenlerin lipid peroksidasyonunu % 50 inhibe eden değerlerinin belirlenmesi amacıyla, ana bileşenlerin yağ içerisindeki derişimlerinden farklı derişimlerle çalışıldığında elde edilen, lipid peroksidasyon inhibisyon yüzdeleri Şekil 3.8.2’de, verildi.



Şekil 3.8.2. a) p-simen b) Eugenol, c) R-(+)-limonen d) 1,8-sineol, e) 1-(S)- α -pinen 'in lipid peroksidasyon inhibisyonları

Ana bileşenlerin en yüksek lipid peroksidasyon inhibisyon yüzdeleri ile bu inhibisyonu sağlayan derişimleri ise Çizelge 3.8.4’de

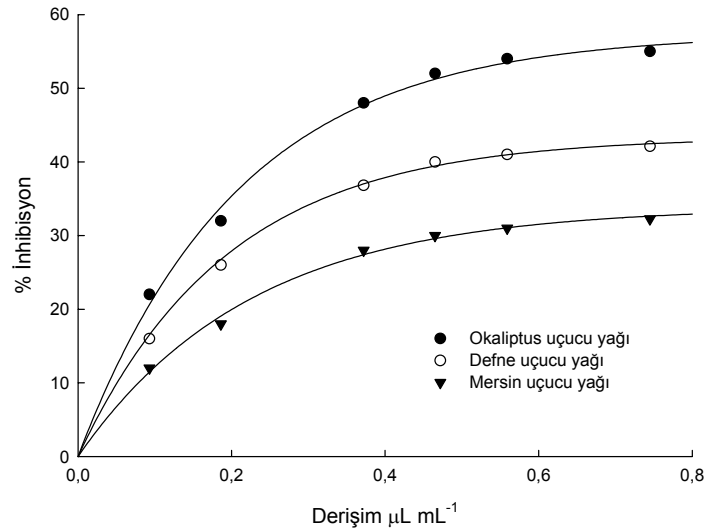
Çizelge 3.8.4. Ana bileşenlerin lipid peroksidasyonu inhibisyonunda sahip oldukları en yüksek inhibisyon yüzdeleri ve bu yüzdelerdeki derişimleri ile IC_{50} değerleri

Örnek	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhibisyon	IC_{50} ($\mu\text{L mL}^{-1}$)
p-simen	1.530	78.02 ± 1.12	0.422 ± 0.16
eugenol	0.032	72.12 ± 1.70	0.008 ± 1.22
R(+)-Limonen	0.118	70.85 ± 1.63	0.024 ± 0.58
1,8-sineol	0.033	57.12 ± 1.24	0.020 ± 0.22
1-(S)- α -pinen	0.580	51.96 ± 1.51	0.328 ± 0.78

Çizelge 3.8.4.’de görüldüğü gibi, lipid peroksidasyonu inhibisyonunda IC_{50} değerlerine göre en aktif ana bileşenin; $0.008 \mu\text{L mL}^{-1}$ ile eugenol iken en düşük lipid peroksidasyon inhibisyonuna sebep olan ana bileşen ise $0.422 \mu\text{L mL}^{-1}$ ile p-simendir. Diğer ana bileşenlerin lipid peroksidasyonunu % 50 inhibe eden derişimlerine göre ise; 1,8-sineol, R(+)-limonen ve 1-(S)- α -pinen sıralamasıyla azaldığı gözlemlendi.

3.9. α -amilaz Çalışmaları

Hekzanda farklı derişimlerde hazırlanan okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının α -amilaz’a etkisi çalışıldığında, enzimin inhibe olduğu gözlemlendi. Farklı derişimlerdeki yağ çözeltilerine karşılık gözlenen inhibisyon yüzdeleri ise Şekil 3.9.1.’de verildi.



Şekil 3.9.1. α -amilaz inhibisyonunun, okaliptus, defne ve mersin uçucu yağ derişimleriyle değişimi

Bu grafikten yararlanılarak hesaplanan uçucu yağların α -amilaz inhibisyonunda sahip oldukları en yüksek inhibisyon yüzdeleri ile bu inhibisyonlara karşın gelen yağ derişimleri ve IC_{50} değerleri Çizelge 3.9.1’de verildi.

Çizelge 3.9.1. Okaliptus, defne, mersin uçucu yağlarının α -amilaz inhibisyon yüzdeleri ve bu yüzdeye karşın gelen derişimleri ile IC_{50} değerleri

Örnek	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhibisyon	IC_{50} ($\mu\text{L mL}^{-1}$)
Okaliptus uçucu yağı	0.752 ± 0.017	55.00 ± 2.00	0.435 ± 0.003
Defne uçucu yağı	0.650 ± 0.021	42.12 ± 2.36	–
Mersin uçucu yağı	0.610 ± 0.016	32.25 ± 2.08	–

α -amilaz inhibisyonunun; mersin, defne ve okaliptus uçucu yağı sıralamasıyla arttığı bulundu. Okaliptus yaprağı uçucu yağının IC_{50} değerinin $0.435 \mu\text{L mL}^{-1}$ olduğu gözlenirken, defne ve mersin yaprakları uçucu yağları, alfa-amilazı % 50’den daha az inhibe ettiğinden IC_{50} değerleri gözlenmedi.

Uçucu yağların içerdikleri ana bileşen miktarlarının deney ortamı derişimleri ve bu derişimlerdeki α -amilaz inhibisyonları çalışılarak elde edilen sonuçlar Çizelge 3.9.2.’de verildi.

Çizelge 3.9.2. Okaliptus, defne, mersin uçucu yağlarının içerdikleri ana bileşen miktarlarının deney ortamı derişimleri ile α -amilaz inhibisyon yüzdeleri

Ana bileşen	Okaliptus uçucu yağı		Defne uçucu yağı		Mersin uçucu yağı	
	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhibisyon	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhibisyon	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhibisyon
1,8-sineol	0.570	40.42 ± 1.03	2.821	–	1.653	–
1-(S)- α -pinen	0.141	31.12 ± 1.03	0.284	30.00 ± 2.00	1.149	–
p-simen	2.805	–				
R-(+)-limonen			0.124	16.61 ± 0.58		
eugenol					0.369	37.12 ± 1.05

– α -amilaz inhibisyonu gözlenmedi

Çizelge 3.9.2.’ye göre; 1,8-sineolün okaliptusda bulunan deney ortamı derişimi $0.570 \mu\text{L mL}^{-1}$ miktarına karşın, % 40.42 ± 1.03 enzim inhibisyonu gözlenirken, defnedeki $2.821 \mu\text{L mL}^{-1}$ ve mersindeki $1.653 \mu\text{L mL}^{-1}$ derişimlerinde enzim inhibisyonu gözlenmedi. 1-(S)- α -pinenin, okaliptusdaki $0.141 \mu\text{L mL}^{-1}$ miktarına karşın, % $31.12 \pm$

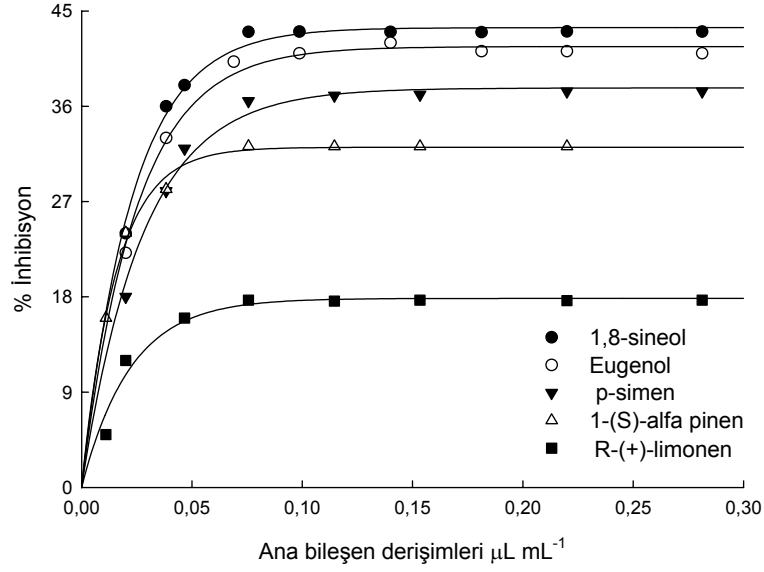
1.03 enzim inhibisyonu gözlenirken, defne'deki 0.284 $\mu\text{L mL}^{-1}$ derişiminde % 30.00 \pm 2.00 inhibisyon gözlendi. 1-(S)- α -pinenin, mersin uçucu yağında yapılan çalışmalardaki deney ortamı derişiminde (1.149 $\mu\text{L mL}^{-1}$) ise, α -amilaz inhibisyonu gözlenmedi. R-(+)-limonenin ve eugenolün sırasıyla; 0.124 $\mu\text{L mL}^{-1}$ ve 0.369 $\mu\text{L mL}^{-1}$ olan deney ortamı derişimlerinde % 16.61 \pm 0.58 ve % 37.12 \pm 1.05 inhibisyon gözlenirken, p-simende α -amilaz inhibisyonu gözlenmedi. Ana bileşenlerin tümü % 50'nin altında α -amilaz inhibisyonuna sahip olduğundan, IC₅₀ değerleri de hesaplanamadı.

Ana bileşenlerin yağlar içerisindeki miktarlarının 3'lü karışımlarının α -amilaz inhibisyon özellikleri incelendiğinde ise üçlü karışımların tümünde % 50'den daha az α -amilaz inhibisyonu gözlendi. Okalıptusta bulunan p-simen/1,8-sineol/1-(S)- α -pinen ana bileşen karışımının % 35.16 \pm 1.78 ile en yüksek inhibisyonu oluşturduğu daha sonra % 24.05 \pm 1.11 inhibisyonla defnede bulunan 1,8-sineol/R-(+)-limonen/1-(S)- α -pinenin geldiği ve son olarak mersinde bulunan 1,8-sineol/1-(S)- α -pinen/eugenol ana bileşen karışımının % 10.06 \pm 0.35 ile en düşük α -amilaz inhibisyonuna sahip olduğu bulundu (Çizelge 3.9.3.).

Çizelge 3.9.3. Uçucu yağ içerisindeki ana bileşenlerin derişimlerine göre hazırlanan üçlü karışımların α -amilazı inhibe eden yüzdeleri

Bitki uçucu yağı	Üçlü ana bileşen karışımları	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhibisyon
Okalıptus	p-simen / 1,8-sineol / 1-(S)- α -pinen	2.805 / 0.570 / 0.141	35.16 \pm 1.78
Defne	1,8-sineol / 1-(S)- α -pinen / R-(+)-limonen	2.821 / 0.284 / 0.124	24.05 \pm 1.11
Mersin	1,8-sineol / 1-(S)- α -pinen / eugenol	1.653 / 1.149 / 0.369	10.06 \pm 0.35

Ana bileşenlerin IC₅₀ değerlerinin saptanması amacıyla ana bileşenlerin yağ içindeki derişimlerinden farklı derişimlerde bir seri çözeltiler ile çalışıldı. Elde edilen sonuçlara göre; ana bileşenlerin farklı derişimlerde gösterdiği α -amilaz inhibisyon yüzdelerini gösteren grafik Şekil 3.9.2.'de verildi.



Şekil 3.9.2. Ana bileşenlerin α-amilaz inhibisyonları

Çizelge 3.9.4’de ise ana bileşenlerin en yüksek inhibisyon yüzdeleri ile bu inhibisyonu sağlayan derişimleri verilmiştir. Çizelgede de görüldüğü gibi, ana bileşenlerin farklı derişimlerinde çalışılmasına rağmen inhibisyonları % 50’den yüksek bulunmadığından ana bileşenlerin IC₅₀ değerleri gözlenemedi.

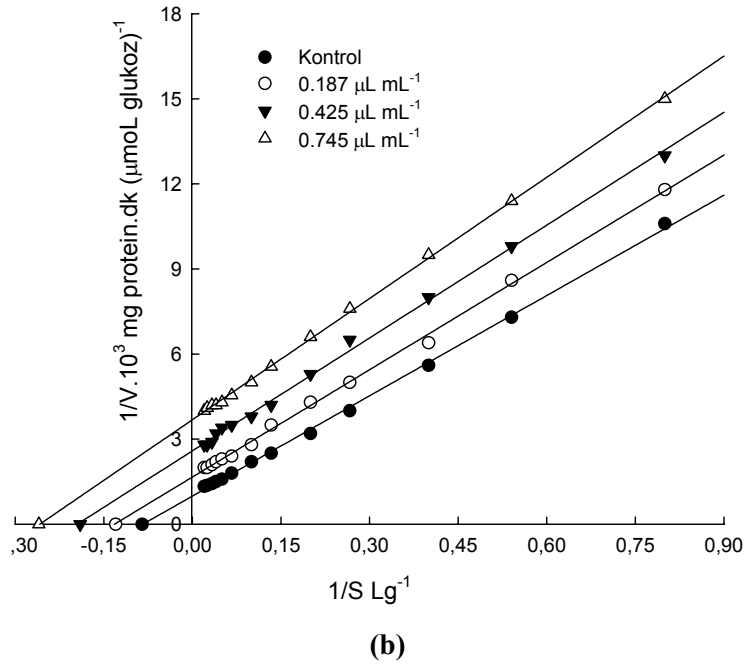
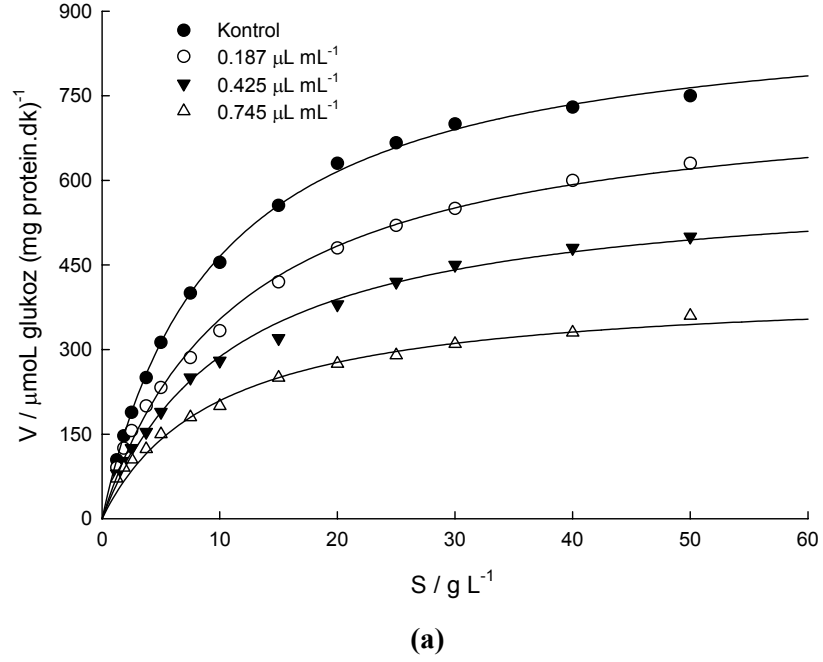
Çizelge 3.9.4. Ana bileşenlerin α-amilaz inhibisyonunda sahip oldukları en yüksek inhibisyon yüzdeleri ve bu yüzdelerdeki derişimleri ile IC₅₀ değerleri

Örnek	Derişim (µL mL ⁻¹)	% İnhibisyon	IC ₅₀ (µL mL ⁻¹)
1,8-sineol	0.0756	43.23 ± 2.57	–
eugenol	0.0690	40.21 ± 2.01	–
p-simen	0.1151	36.50 ± 1.50	–
1-(S)-α-pinen	0.0756	32.22 ± 1.73	–
R(+)-Limonen	0.0756	17.70 ± 1.80	–

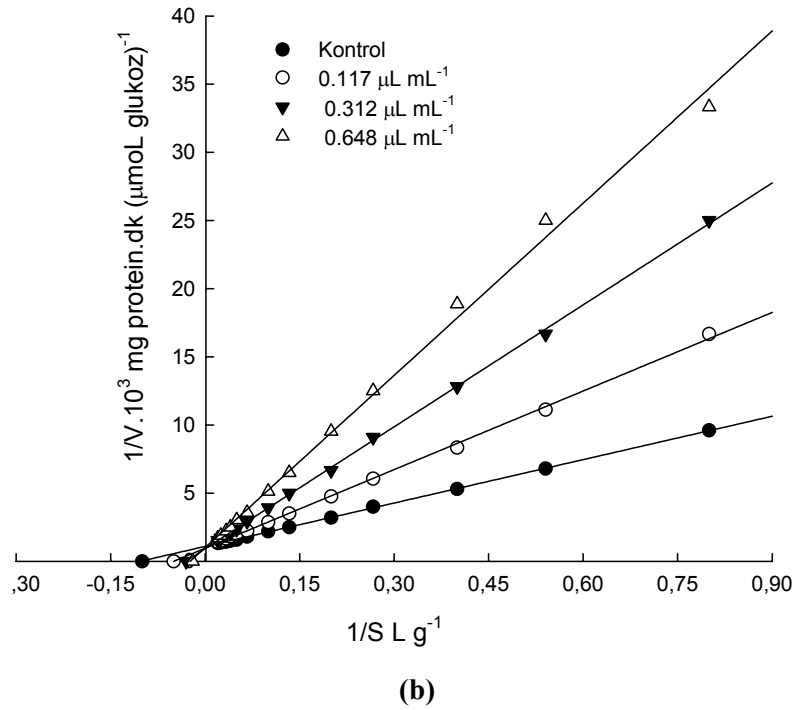
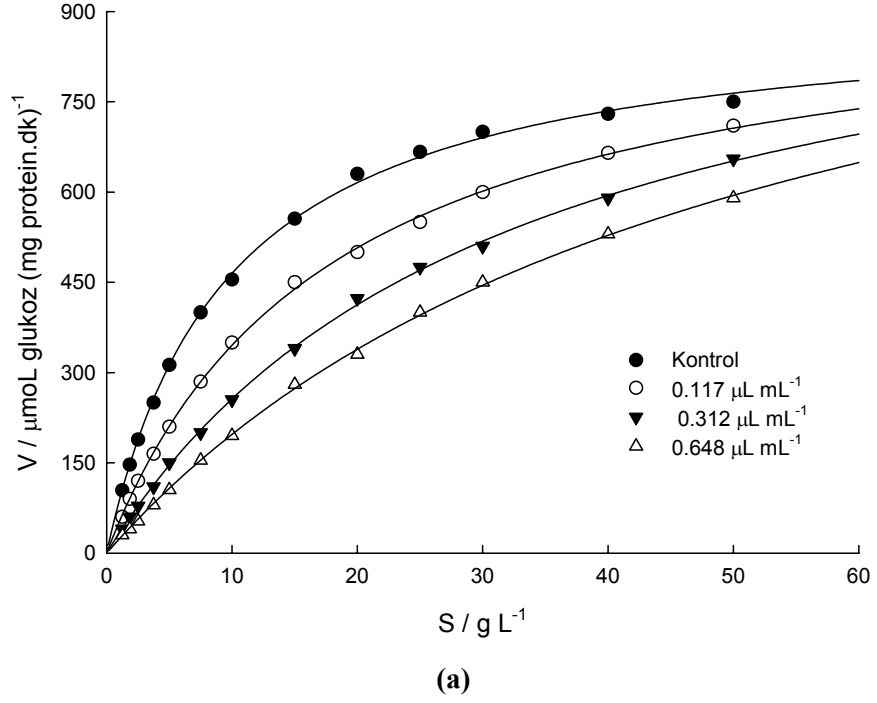
Çizelgedeki sonuçlara göre; α-amilaz inhibisyonunda en aktif ana bileşen, üç bitkinin uçucu yağlarının ortak ana bileşenlerinden olan 1,8-sineol iken, en düşük aktiviteye sahip olan bileşenin ise defne uçucu yağının ana bileşenlerinden olan R(+)-limonen olduğu bulundu. Diğer ana bileşenlerin aktivitelerinin; eugenol, p-simen ve 1-(S)-α-pinen, sıralamasıyla azaldığı gözlemlendi.

3.10. α -amilaz İnhibisyon Kinetiği

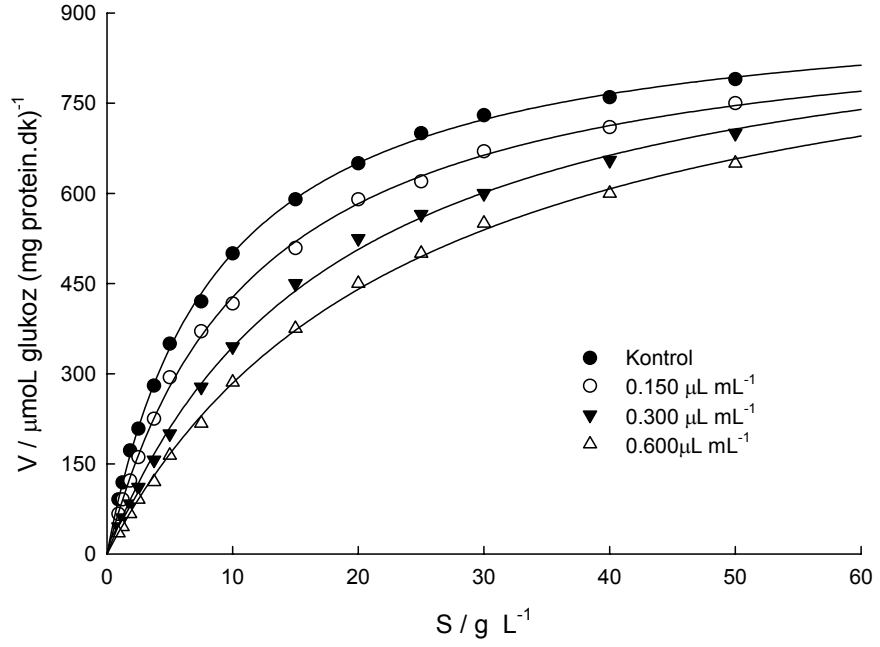
Okalıptus, defne ve mersin uçucu yağlarının inhibisyon kinetikleri çalışılarak, Michealis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri çizildi (Şekil 3.10.1., Şekil 3.10.2. ve Şekil 3.10.3.).



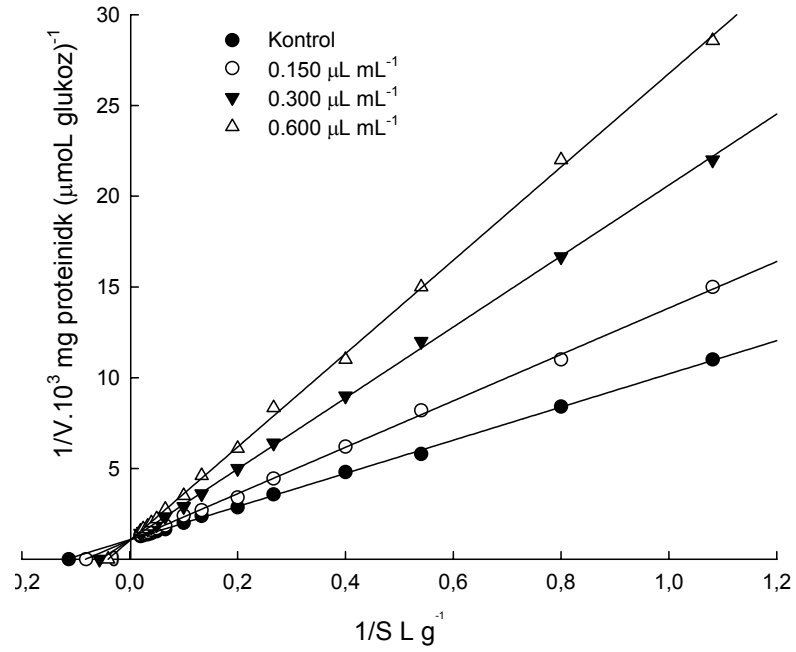
Şekil 3.10.1. α -amilazın, okalıptus uçucu yağı ile etkileşiminde (a)Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği



Şekil 3.10.2. α -amilazın, defne uçucu yağı ile etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği



(a)



(b)

Şekil 3.10.3. α -amilazın, mersin uçucu yağ ile etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği

Çizelge 3.10.1.'de, inhibisyon türünü belirlemek amacıyla çizilen Lineweaver-Burk grafiğinden hesaplanan maksimum hız (V_m) ve maksimum hızın yarısındaki substrat derişimi (K_m) değerleri verildi.

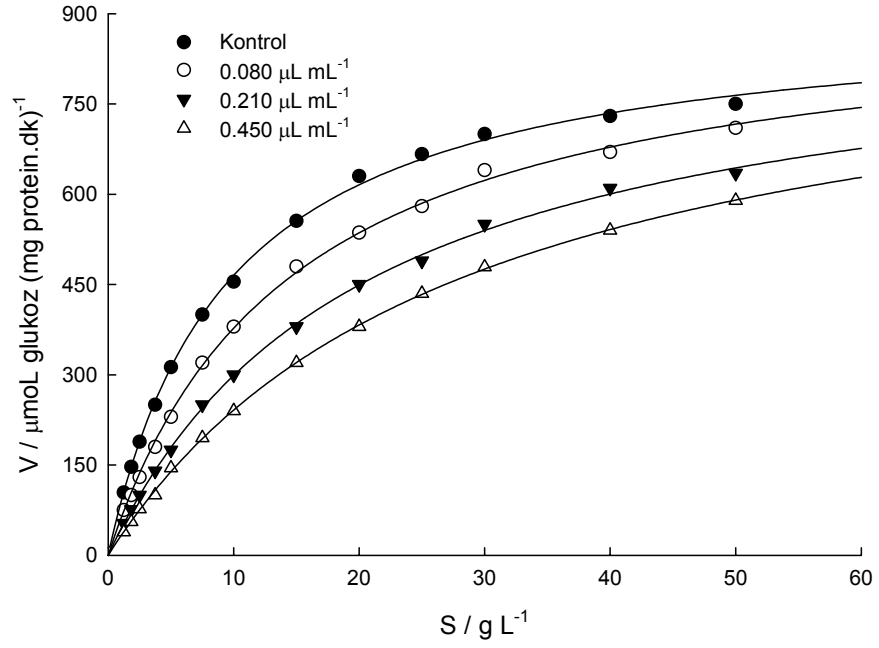
Çizelge 3.10.1. α -amilaz ile okalıptus, defne ve mersin uçucu yağlarının farklı derişimlerinin etkileşiminde V_m ve K_m değerleri

Uçucu yağlar	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	V_m $\mu\text{molglukoz (mg protein.dk)}^{-1}$	K_m (g L^{-1})
Okalıptus	Kontrol	1000.00 ± 4.11	11.76 ± 0.106
	0.187	588.23 ± 2.15	7.692 ± 0.709
	0.425	384.62 ± 4.17	5.263 ± 0.073
	0.745	270.27 ± 7.61	3.846 ± 0.057
Defne	Kontrol	975.12 ± 1.73	9.565 ± 0.025
	0.117	975.12 ± 3.05	19.982 ± 0.051
	0.312	975.12 ± 1.53	26.323 ± 0.125
	0.648	975.12 ± 1.00	38.216 ± 0.115
Mersin	Kontrol	978.53 ± 3.53	8.580 ± 0.126
	0.150	978.53 ± 2.05	11.478 ± 0.108
	0.300	978.53 ± 5.78	17.908 ± 0.322
	0.600	978.53 ± 1.74	24.438 ± 1.114

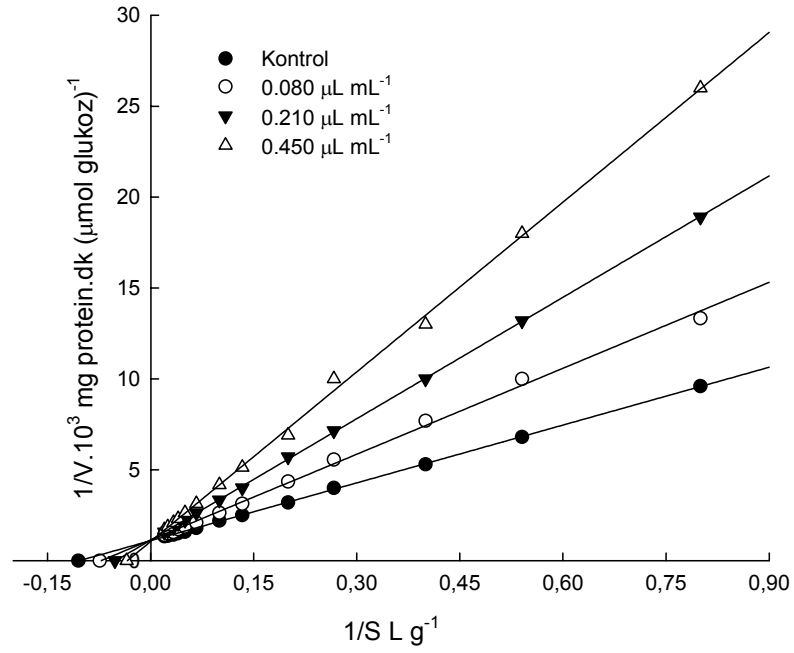
Okalıptus uçucu yağının değişik derişimlerinde hem V_m hem de K_m değerleri azaldığından inhibisyon türünün; hiç yarışmasız (unkompetitif) inhibisyon olduğu saptandı. Defne ve mersin uçucu yağlarında ise maksimum hız değişmezken, K_m değeri artmış olup, inhibisyon türünün; yarışmalı (kompetitif) inhibisyon olduğu gözlemlendi.

Unkompetitif inhibisyon gösteren okalıptus uçucu yağı derişimlerine karşılık $1/V_{\text{max (gözleneren)}}$ değerleri ile kompetitif inhibisyon gösteren defne ve mersin uçucu yağlarının derişimlerine karşılık K_m değerleri En Küçük Kareler Yöntemiyle' grafiğe geçirildiğinde elde edilen I_{50} derişimleri (K_i) sırasıyla; 0.29 ± 0.15 , 0.34 ± 0.02 , $0.42 \pm 0.57 \mu\text{L mL}^{-1}$ şeklinde saptandı.

Uçucu yağların ana bileşenlerinin α -amilaz inhibisyon kinetikleri çalışılıp, Michealis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri (Şekil 3.10.4., Şekil 3.10.5., Şekil 3.10.6., Şekil 3.10.7. ve Şekil 3.10.8.) çizilerek, Lineweaver-Burk grafiklerinden bulunan V_m ve K_m değerleri Çizelge 3.10.2.'de verildi.

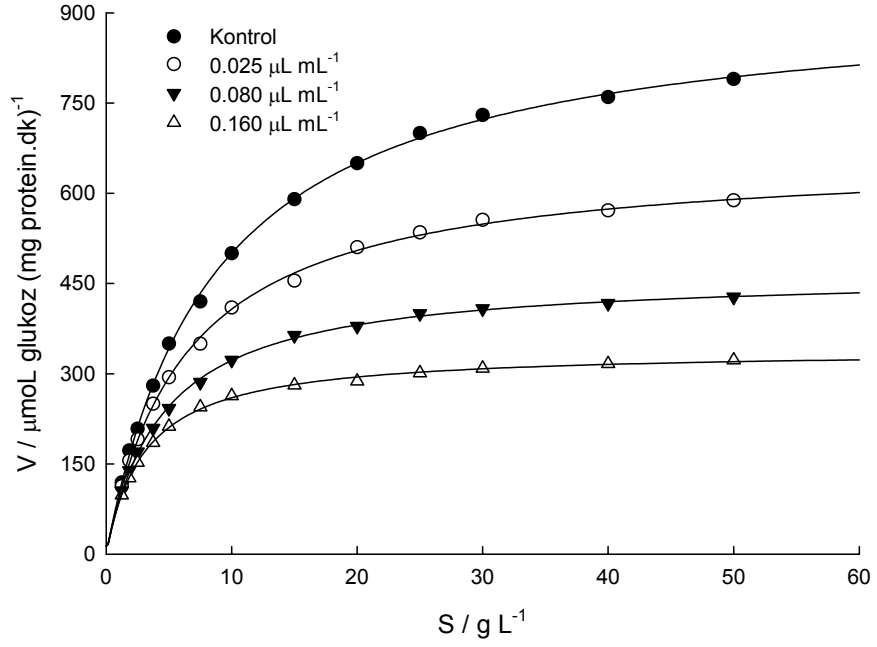


(a)

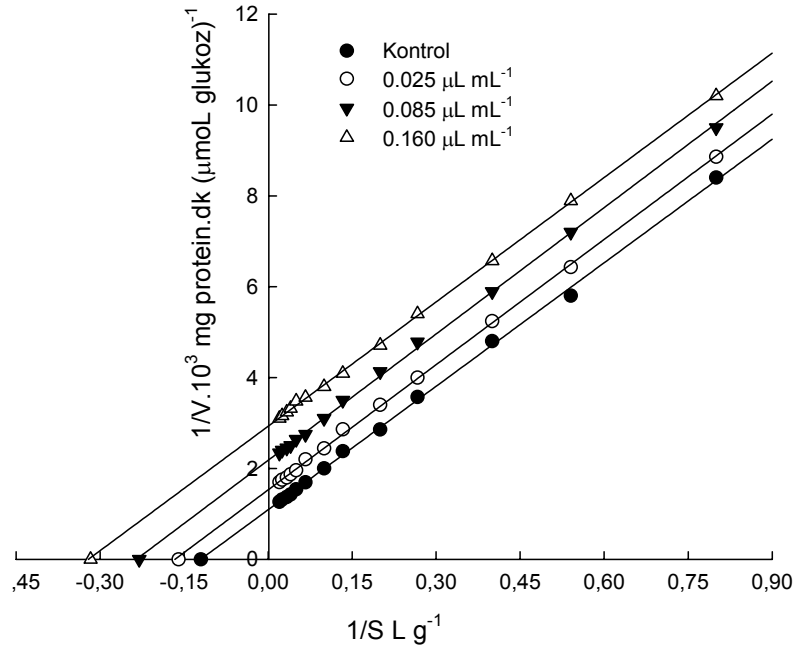


(b)

Şekil 3.10.4. α -amilazın, 1,8-sineolün farklı derişimleriyle etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği

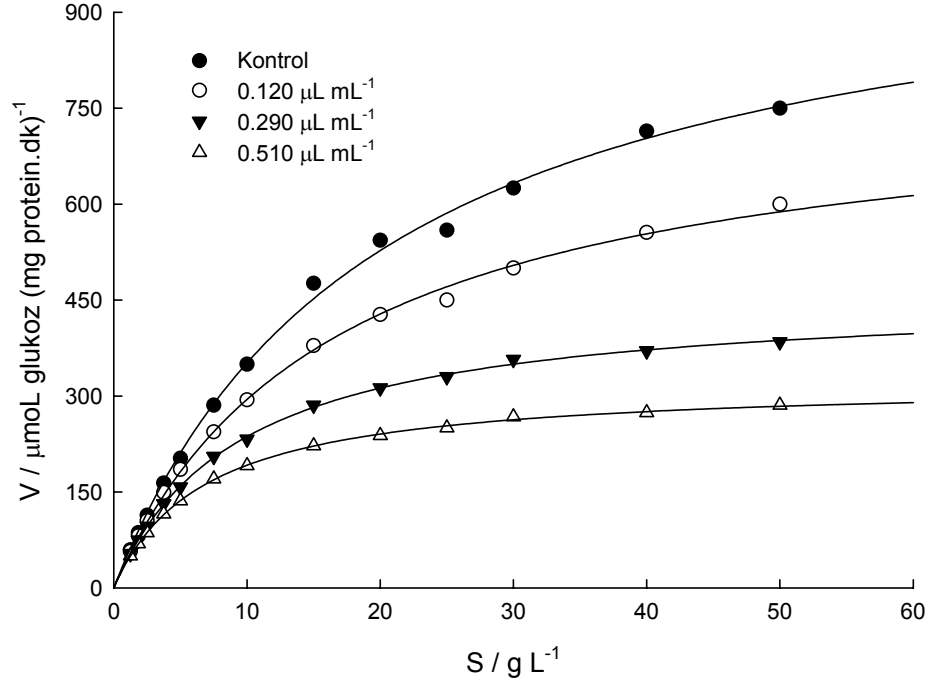


(a)

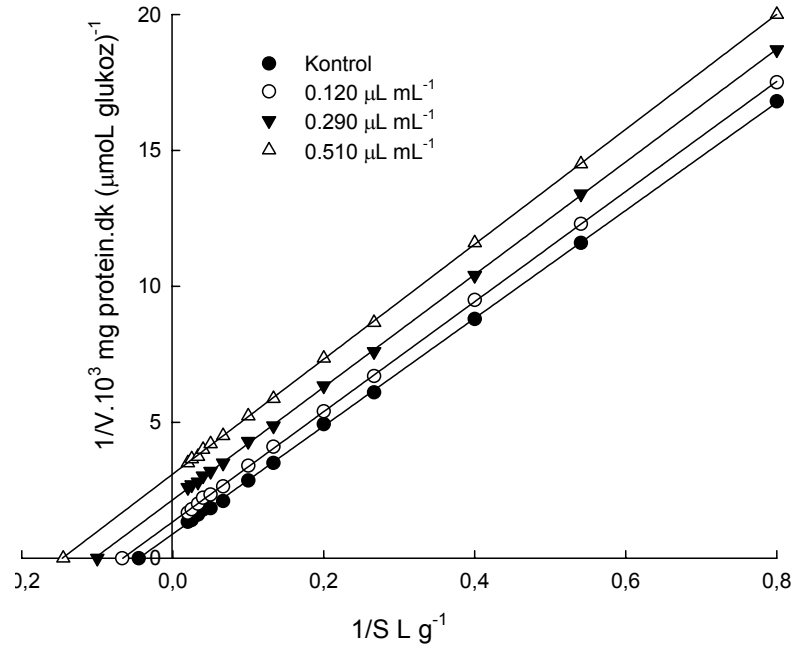


(b)

Şekil 3.10.5. α -amilazın, 1-(S)- α -pinen'in farklı derişimleriyle etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği

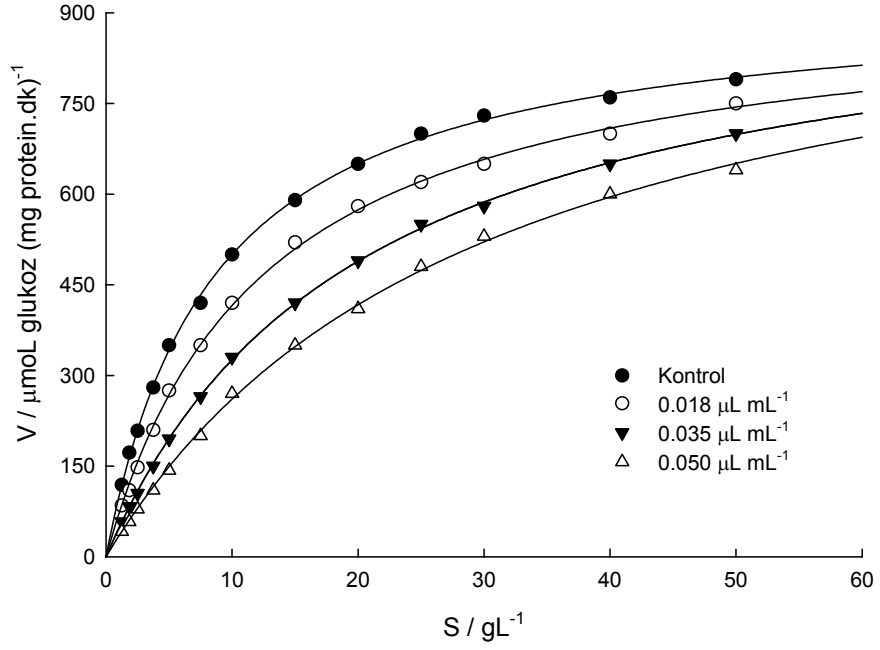


(a)

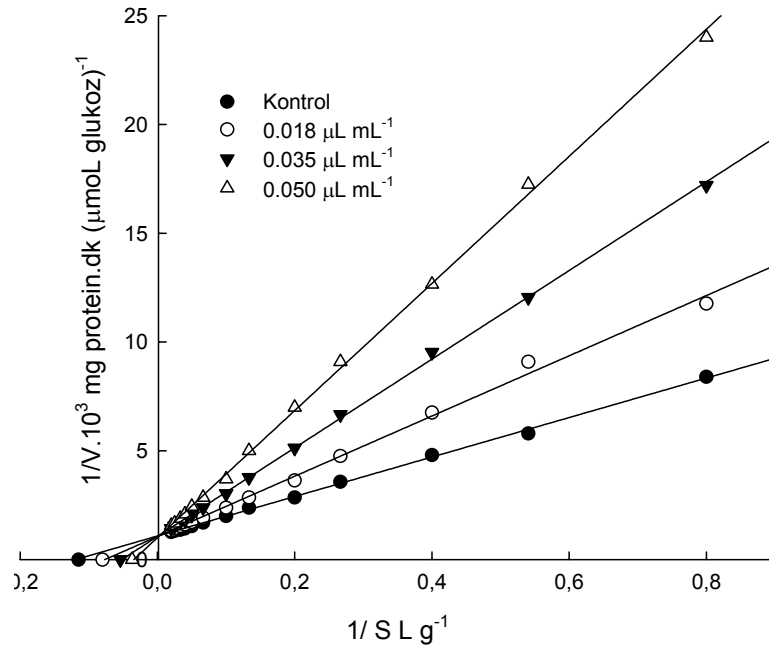


(b)

Şekil 3.10.6. α -amilazın, p-simen'in farklı derişimleriyle etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği

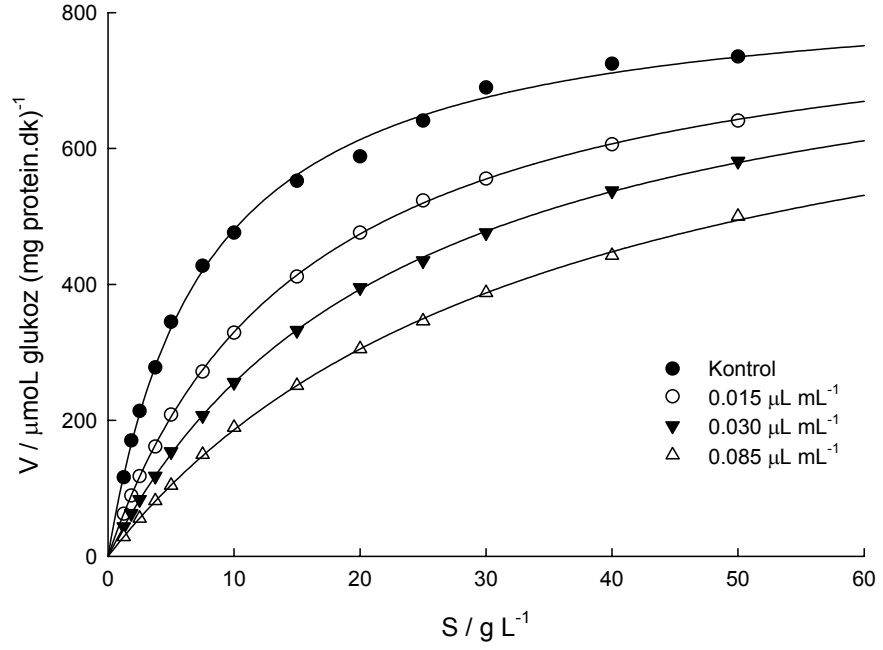


(a)

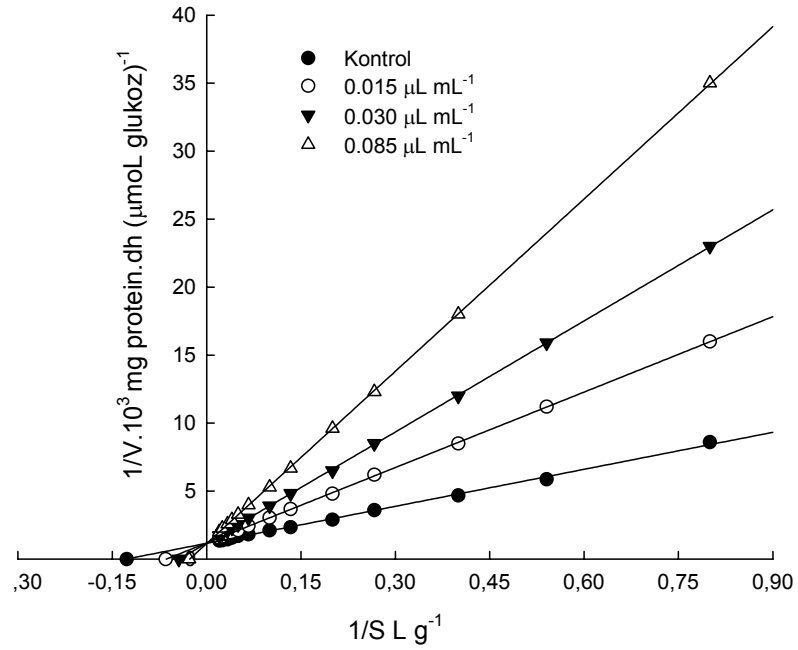


(b)

Şekil 3.10.7. α -amilazın, R-(+)-limonen'in farklı derişimleriyle etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği



(a)



(b)

Şekil 3.10.8. α -amilazın, eugenol'ün farklı derişimleriyle etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği

Çizelge 3.10.2. Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının ana bileşenlerinin, α -amilaz ile etkileşimlerinde V_m ve K_m değerleri

Ana bileşenler	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	V_m $\mu\text{molglukoz (mg protein.dk)}^{-1}$	K_m (g L^{-1})
1,8-sineol	Kontrol	915.73 \pm 1.15	9.58 \pm 0.14
	0.080	915.73 \pm 0.58	14.48 \pm 0.23
	0.210	915.73 \pm 2.08	20.28 \pm 0.10
	0.450	915.73 \pm 1.53	28.30 \pm 1.35
1-(S)- α -pinen	Kontrol	909.09 \pm 2.08	8.88 \pm 0.31
	0.025	666.66 \pm 3.00	6.25 \pm 0.52
	0.080	454.54 \pm 1.15	4.35 \pm 0.21
	0.160	344.82 \pm 1.82	3.12 \pm 0.05
p-simen	Kontrol	1111.12 \pm 2.08	22.22 \pm 0.15
	0.120	769.23 \pm 2.08	14.92 \pm 0.16
	0.290	476.19 \pm 3.05	9.72 \pm 0.15
	0.510	333.23 \pm 2.08	6.89 \pm 0.13
R-(+)-limonen	Kontrol	909.10 \pm 2.88	8.69 \pm 0.36
	0.018	909.10 \pm 3.00	12.50 \pm 0.40
	0.035	909.10 \pm 1.00	18.52 \pm 1.00
	0.050	909.10 \pm 3.51	27.02 \pm 0.51
Eugenol	Kontrol	833.35 \pm 1.73	7.87 \pm 0.15
	0.015	833.35 \pm 2.52	15.38 \pm 0.16
	0.030	833.35 \pm 1.53	22.72 \pm 0.11
	0.085	833.35 \pm 3.21	35.71 \pm 0.15

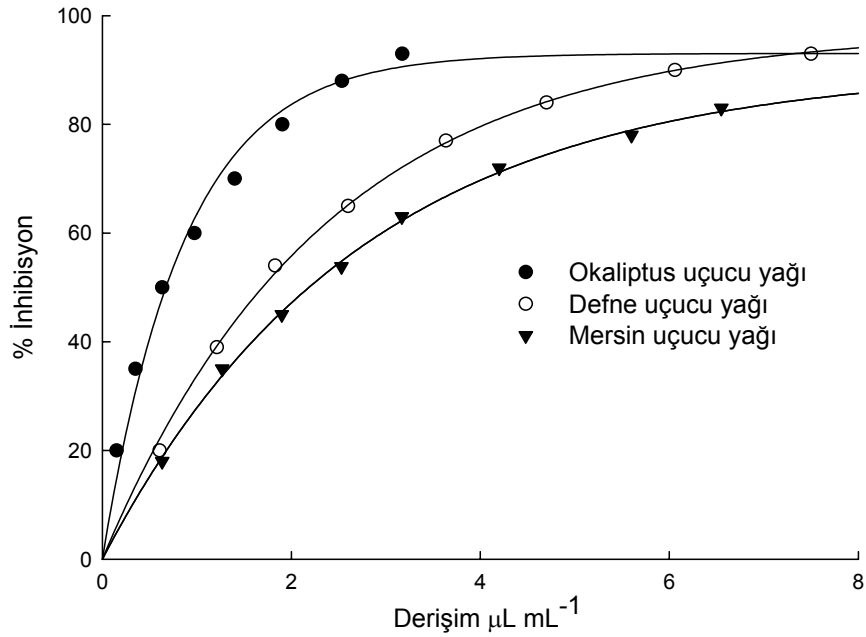
Çizelge 3.10.2.'de görüldüğü gibi; p-simen ve 1-(S)- α -pinenin değişik derişimlerinde V_m ve K_m değerlerinin her ikisinde azaldığından, inhibisyon türünün; hiç yarışmasız (unkompetitif) inhibisyon olduğu saptandı. R-(+)-limonen, 1,8-sineol ve eugenolde ise maksimum hız değişmezken K_m değeri arttığından, inhibisyon türünün; yarışmalı (kompetitif) inhibisyon olduğu gözlemlendi.

Unkompetitif inhibisyon gösteren 1-(S)- α -pinen ve p-simenin derişimlerine karşılık $1/V_{\max}$ (gözlenen) değerleri, 'En Küçük Kareler Yöntemi'yle garfiğe geçirildiğinde elde edilen I_{50} derişimleri (K_i) sırasıyla; $0.12 \pm 0.18 \mu\text{L mL}^{-1}$ ve $0.20 \pm 1.12 \mu\text{L mL}^{-1}$ olarak

saptandı. Kompetitif inhibisyon gösteren 1,8-sineol, R-(+)-limonen ve eugenolün derişimlerine karşılık K_m değerleri, 'En Küçük Kareler Yöntemi'yle garfiğe geçirildiğinde ise elde edilen I_{50} derişimleri (K_i) sırasıyla; 0.32 ± 0.01 , 0.01 ± 0.18 , $0.05 \pm 0.27 \mu\text{L mL}^{-1}$ olarak bulundu.

3.11. α -glukozidaz Çalışmaları

Hekzanda farklı derişimlerde hazırlanan okalıptus, defne ve mersin uçucu yağlarının α -glukozidaz'a etkisi çalışıldığında, enzimin inhibe olduğu gözlenmiş olup, farklı derişimlerdeki yağ çözeltilerine karşılık gözlenen inhibisyon yüzdeleri Şekil 3.11.1.'de verilmiştir.



Şekil 3.11.1. α -glukozidaz inhibisyonunun okalıptus, defne ve mersin uçucu yağ derişimleriyle değişimi

Uçucu yağların bu grafikten yararlanılarak bulunan α -glukozidaz inhibisyonunda sahip oldukları en yüksek inhibisyon yüzdeleri ile bu inhibisyonları oluşturan derişimleri ve IC_{50} değerleri saptanarak Çizelge 3.11.1.'de verildi.

Çizelge 3.11.1. Okaliptus, defne, mersin uçucu yağlarının α -glukozidaz inhibisyon yüzdeleri ve bu yüzdelerdeki derişimleri ile IC_{50} değerleri

Örnek	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhibisyon	IC_{50} ($\mu\text{L mL}^{-1}$)
Okaliptus uçucu yağı	3.175 ± 0.175	93.25 ± 2.64	0.548 ± 0.006
Defne uçucu yağı	7.520 ± 0.300	92.85 ± 1.01	1.748 ± 0.021
Mersin uçucu yağı	6.552 ± 0.250	83.20 ± 1.36	2.187 ± 0.028

Çizelge 3.11.1’de verilen sonuçlara göre; α -glukozidaz inhibisyonu; mersin, defne ve okaliptus yaprağı uçucu yağı sıralamasıyla arttığı gözlemlendi. Okaliptus uçucu yağının diğer yağlara göre daha düşük derişimlerde ($3.175 \pm 0.175 \mu\text{L mL}^{-1}$) en yüksek inhibisyona (%93) sahip olduğu bulundu ve IC_{50} değeri $0.548 \pm 0.006 \mu\text{L mL}^{-1}$ olarak hesaplandı. Defne uçucu yağının ise $7.250 \pm 0.300 \mu\text{L mL}^{-1}$ ile α -glukozidazı % 92.85 ± 1.01 inhibe ettiği ve IC_{50} değerinin $1.748 \pm 0.021 \mu\text{L mL}^{-1}$ olduğu bulundu. En düşük inhibisyon ise, $6.552 \pm 0.250 \mu\text{L mL}^{-1}$ derişiminde $83.20 \pm 1.36 \alpha$ -glukozidaz inhibisyonu gerçekleştiren mersin uçucu yağında gözlenmiş olup, IC_{50} değeri $2.187 \pm 0.028 \mu\text{L mL}^{-1}$ bulunmuştur.

Uçucu yağların içerdikleri ana bileşen miktarlarının α -glukozidaz inhibisyon aktiviteleri çalışıldığında elde edilen sonuçlar Çizelge 3.11.2.’de verildi.

Çizelge 3.11.2. Okaliptus, defne, mersin uçucu yağlarının içerdikleri ana bileşenlerin deney ortamı derişimleri ve bu derişimlerin α -glukozidaz inhibisyon yüzdeleri

Ana bileşen	Okaliptus uçucu yağı		Defne uçucu yağı		Mersin uçucu yağı	
	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhibisyon	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhibisyon	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhibisyon
1,8-sineol	4.64	81.85 ± 0.12	45.88	–	26.88	–
1-(S)- α -pinen	1.15	49.52 ± 0.38	4.626	58.20 ± 0.76	18.69	–
p-simen	22.81	–				
R-(+)-limonen			2.02	62.10 ± 1.32		
eugenol					6.00	80.12 ± 1.52

– α -glukozidaz inhibisyonu gözlenmedi

Çizelgedeki sonuçlara göre; yağlar içerisindeki ana bileşenlerden okaliptusta bulunan p-simende, α -glukozidaz inhibisyonu gözlenmedi. 1,8-sineol ve 1-(S)- α -pinen ile yapılan çalışmalarda düşük derişimlerde α -glukozidaz inhibisyonu gözlenirken, yüksek derişimlerde inhibisyon gözlenmemektedir. Okaliptusta bulunan 1,8-sineolün deney ortamındaki $4.64 \mu\text{L mL}^{-1}$ derişimde % $81.85 \pm 0.12 \alpha$ -glukozidaz inhibisyonu

gözlenirken, defne ve mersinde bulunan $45.88 \mu\text{L mL}^{-1}$ ve $26.88 \mu\text{L mL}^{-1}$ derişimlerinde inhibisyon gözlenmemiştir. Okaliptus ve defnede $1.15 \mu\text{L mL}^{-1}$ ve $4.626 \mu\text{L mL}^{-1}$ derişimlerde bulunan 1-(S)- α -pinenin ise α -glukozidaz inhibisyon yüzdeleri ise sırasıyla; 49.52 ± 0.38 ve 58.20 ± 0.76 iken, 1-(S)- α -pinenin, mersin uçucu yağındaki deney ortamı derişimi olan $18.69 \mu\text{L mL}^{-1}$ 'de ise inhibisyon gözlenmemiştir. Diğer ana bileşenlerden R-(+)-limonenin $2.02 \mu\text{L mL}^{-1}$ deney ortamı derişimde $\% 62.10 \pm 1.32$ α -glukozidaz inhibisyonu gözlenirken, eugenolün $6.00 \mu\text{L mL}^{-1}$ olan deney ortamı derişiminde $\% 80.12 \pm 1.52$ α -glukozidaz inhibisyonu gözlendi.

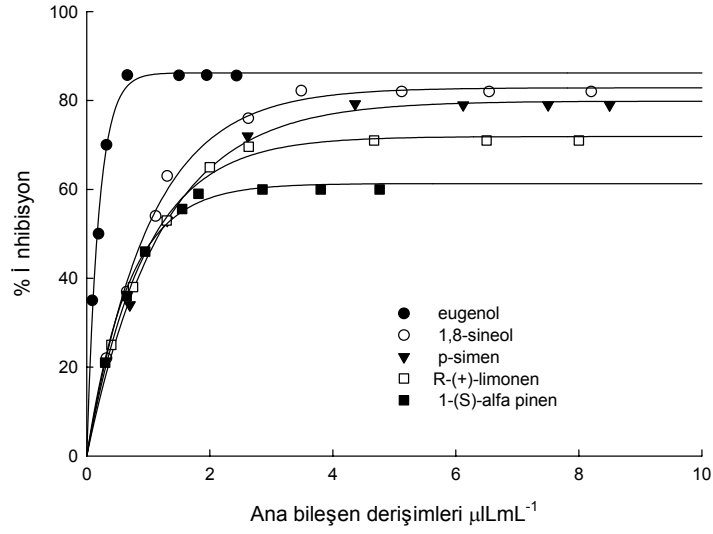
Ana bileşenlerin yağlar içerisindeki miktarlarının 3'lü karışımlarının α -glukozidaz inhibisyon özellikleri incelendiğinde; üçlü karışımların tümünde $\% 50$ 'den daha küçük α -glukozidaz inhibisyonuna sahip oldukları bulundu. Okaliptus uçucu yağında en yüksek α -glukozidaz inhibisyonu gözlenmiştir ve okaliptusta bulunan p-simen/1,8-sineol/1-(S)- α -pinen ana bileşen karışımının da $\% 44.19 \pm 0.51$ ile en yüksek inhibisyonu oluşturduğu bulundu. α -glukozidaz inhibisyonunda ikinci sırada bulunan defne uçucu yağı gibi, $\% 40.78 \pm 0.20$ inhibisyonla defnede bulunan 1,8-sineol/R-(+)-limonen/1-(S)- α -pinen karışımı da ikinci sıradadır. Mersin uçucu yağının kendisi gibi, 1,8-sineol/1-(S)- α -pinen/eugenolden oluşan ana bileşenlerinin karışımında $\% 30.06 \pm 1.03$ ile en düşük α -glukozidaz inhibisyonuna sahip olduğu bulundu (Çizelge 3.11.3.).

Çizelge 3.11.3. Uçucu yağ içerisindeki ana bileşenlerin derişimlerine göre hazırlanan üçlü karışımların α -glukozidazı inhibe eden yüzdeleri

Bitki uçucu yağı	Üçlü ana bileşen karışımları	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhibisyon
Okaliptus	p-simen / 1,8-sineol / 1-(S)- α -pinen	22.81 / 4.64 / 1.15	44.19 ± 0.51
Defne	1,8-sineol / 1-(S)- α -pinen / R-(+)-limonen	48.88 / 4.626 / 2.02	40.78 ± 0.20
Mersin	1,8-sineol / 1-(S)- α -pinen / eugenol	26.88 / 18.09 / 6.00	30.06 ± 1.03

Ana bileşenlerin yağlar içerisindeki derişimlerinden farklı olarak, değişik derişimlerdeki ana bileşenlerin sebep oldukları α -glukozidaz inhibisyon yüzdeleri Şekil 3.11.2.'de verilmiştir.

Ana bileşenlerin α -glukozidaz inhibisyonunda sahip oldukları en yüksek inhibisyon yüzdeleri ile bu inhibisyonu sağlayan derişimleri ve IC_{50} değerleri ise Çizelge 3.11.4'de verilmiştir.



Şekil 3.11.2. Ana bileşenlerin α -glukozidaz inhibisyonları

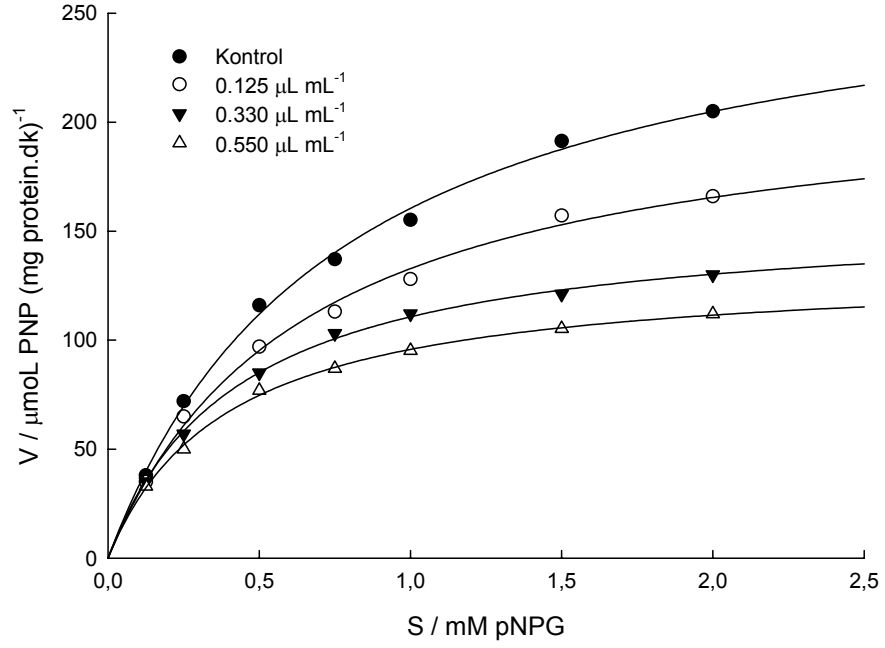
Çizelge 3.11.4. Ana bileşenlerin α -glukozidaz inhibisyonunda sahip oldukları en yüksek inhibisyon yüzdeleri ve bu yüzdeleri sağlayan derişimleri ile IC_{50} değerleri

Örnek	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	% İnhibisyon	IC_{50} ($\mu\text{L mL}^{-1}$)
eugenol	0.660	85.71 ± 1.48	0.255 ± 0.018
1,8-sineol	3.489	82.20 ± 1.70	1.118 ± 0.024
p-simen	4.361	79.22 ± 3.19	1.308 ± 0.005
R(+)-Limonen	2.633	70.25 ± 1.32	1.300 ± 0.015
1-(S)- α -pinen	1.815	60.02 ± 1.74	1.420 ± 0.062

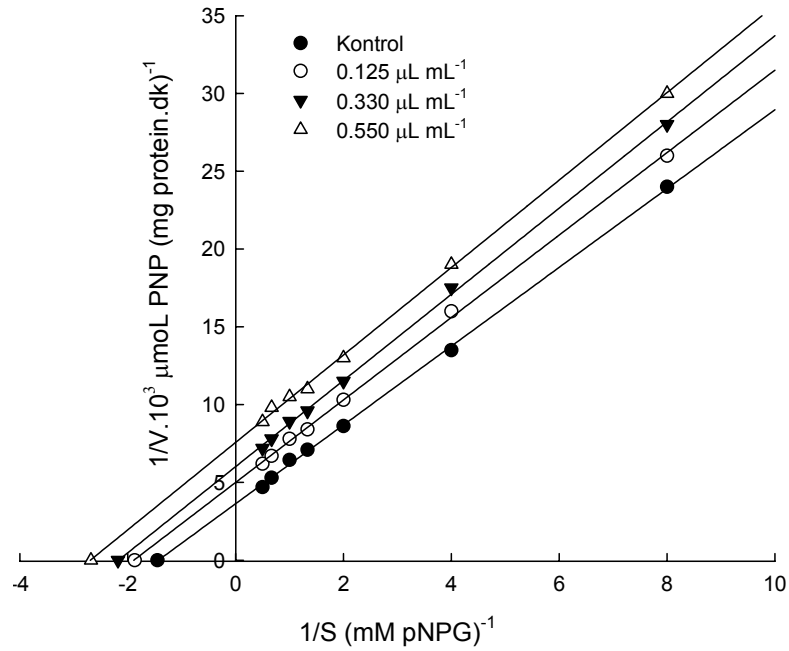
α -glukozidaz inhibisyonunda en aktif ana bileşenin mersin uçucu yağının üçüncü ana bileşeni olan eugenol iken, en düşük aktiviteye sahip olan bileşenin ise okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının ilk üç ana bileşeninden olan 1-(S)- α -pinen olduğu bulundu. Diğer ana bileşenlerin aktivitelerinin ise; 1,8-sineol, p-simen ve R-(+)-limonen sıralamasıyla azaldığı bulundu.

3.12. α -glukozidaz İnhibisyon Kinetiği

Okaliptus defne ve mersin edilen uçucu yağlarının inhibisyon türlerinin bulunması amacıyla çizilen, Michealis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri Şekil 3.12.1., Şekil 3.12.2 ve Şekil 3.12.3'te verildi. Grafiklerde görüldüğü gibi, α -glukozidaz'ın substrat derişimi arttırıldığında hızın hiperbolik olarak arttığı ve enzimin Michealis-Menten kinetiğine uyduğu bulundu.

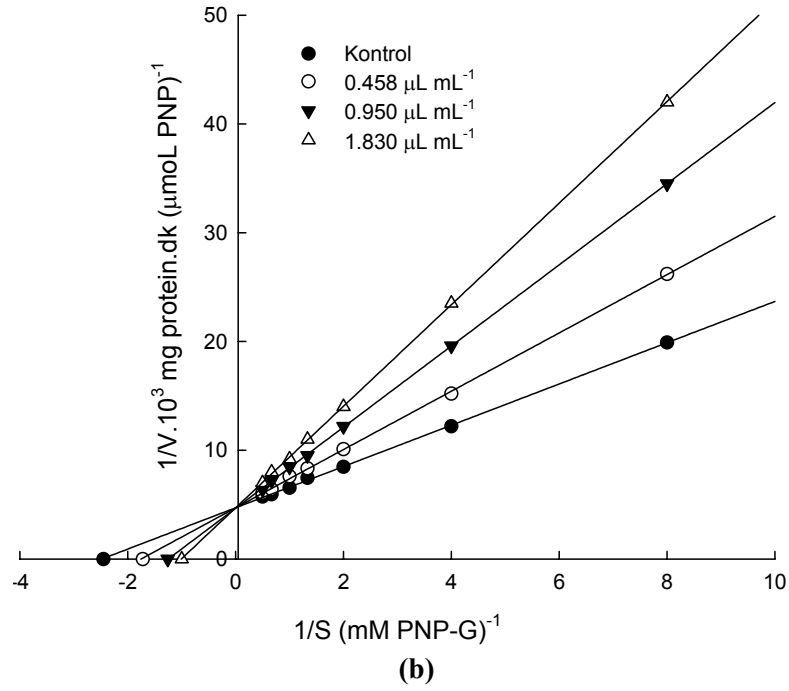
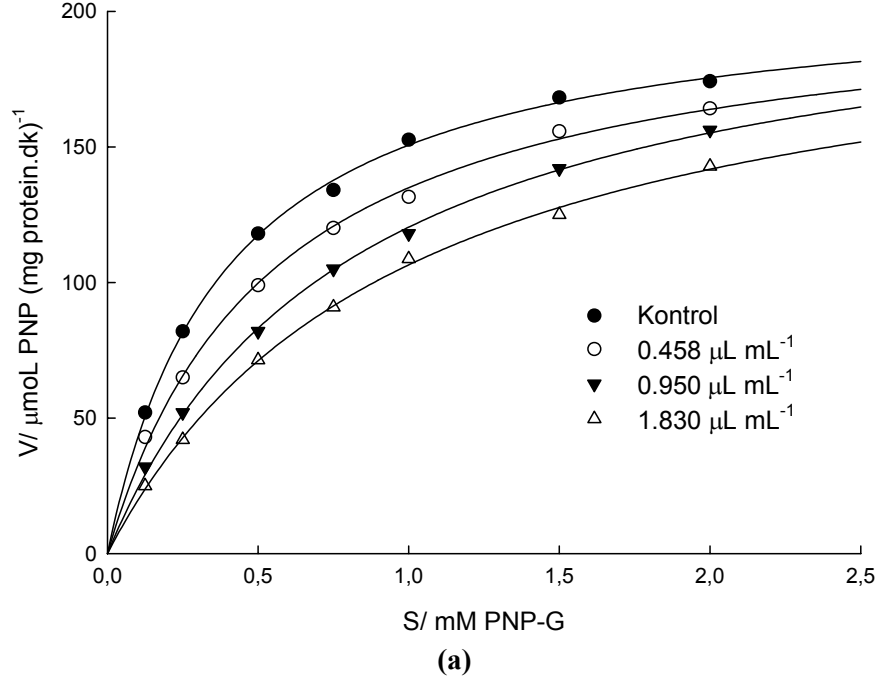


(a)

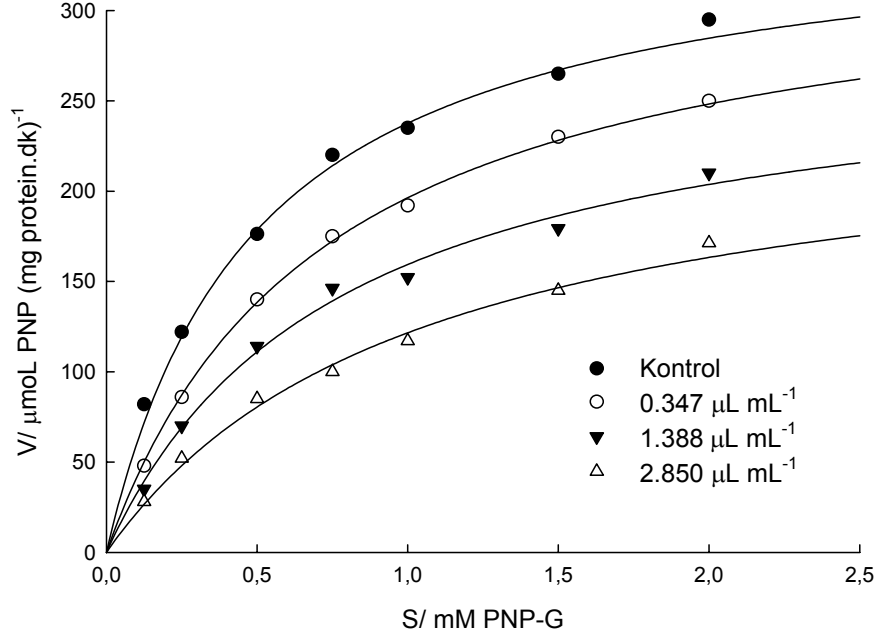


(b)

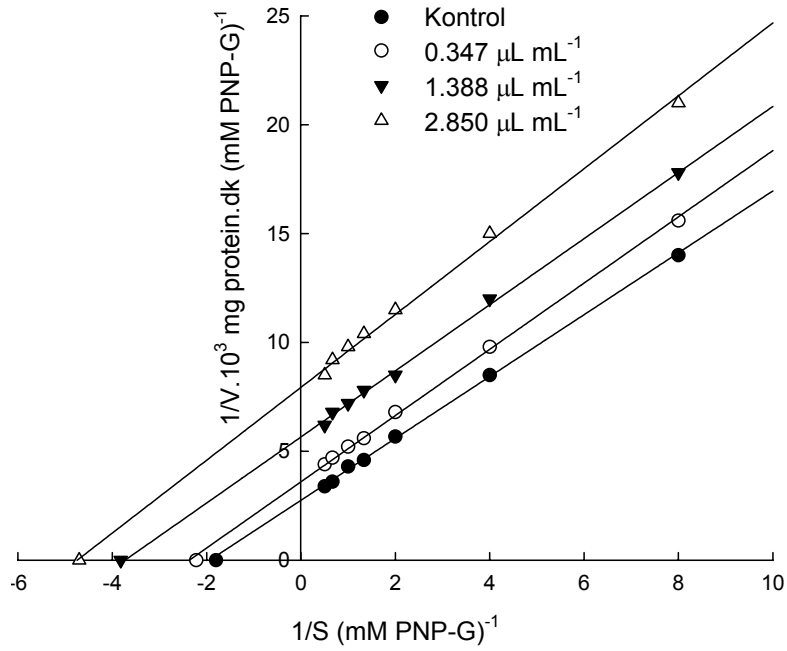
Şekil 3.12.1. α -glukozidazın, okaliptus uçucu yağı ile etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği



Şekil 3.12.2. α -glukozidazın, defne uçucu yağı ile etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği



(a)



(b)

Şekil 3.12.3. α -glukozidazın, mersin uçucu yağı ile etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği

α -glukozidaz'ın Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının farklı derişimleri ile etkileşimi sonucu çizilen lineweaver-Burk grafiğinden bulunan V_m ve K_m değerleri Çizelge 3.12.1.'de verildi.

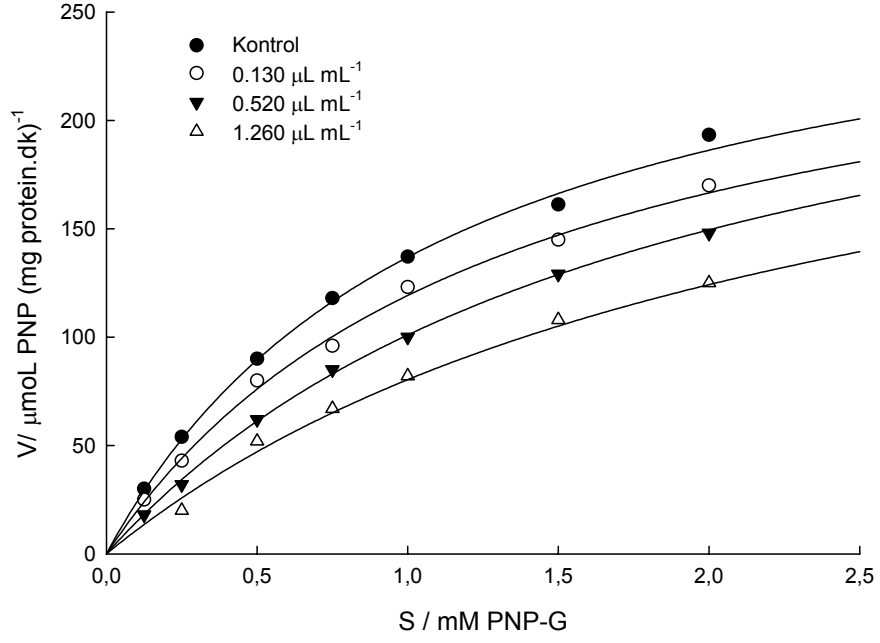
Çizelge 3.12.1. α -glukozidazın okaliptus, defne ve mersin uçucu yağları ile etkileşiminde V_m ve K_m değerleri

Uçucu yağlar	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	V_m ($\mu\text{mol PNP (mg protein.dk)}^{-1}$)	K_m (mM pNPG)
Okaliptus	Kontrol	270.27 ± 2.00	0.689 ± 0.010
	0.125	200.00 ± 3.05	0.534 ± 0.015
	0.330	163.93 ± 3.21	0.458 ± 0.015
	0.550	131.57 ± 3.51	0.373 ± 0.011
Defne	Kontrol	212.76 ± 2.64	0.408 ± 0.021
	0.458	212.76 ± 2.00	0.581 ± 0.031
	0.950	212.76 ± 0.577	0.793 ± 0.038
	1.830	212.76 ± 2.31	1.000 ± 0.150
Mersin	Kontrol	370.37 ± 3.05	0.550 ± 0.042
	0.347	285.71 ± 3.21	0.454 ± 0.010
	1.388	175.43 ± 3.05	0.261 ± 0.015
	2.850	126.43 ± 2.08	0.212 ± 0.022

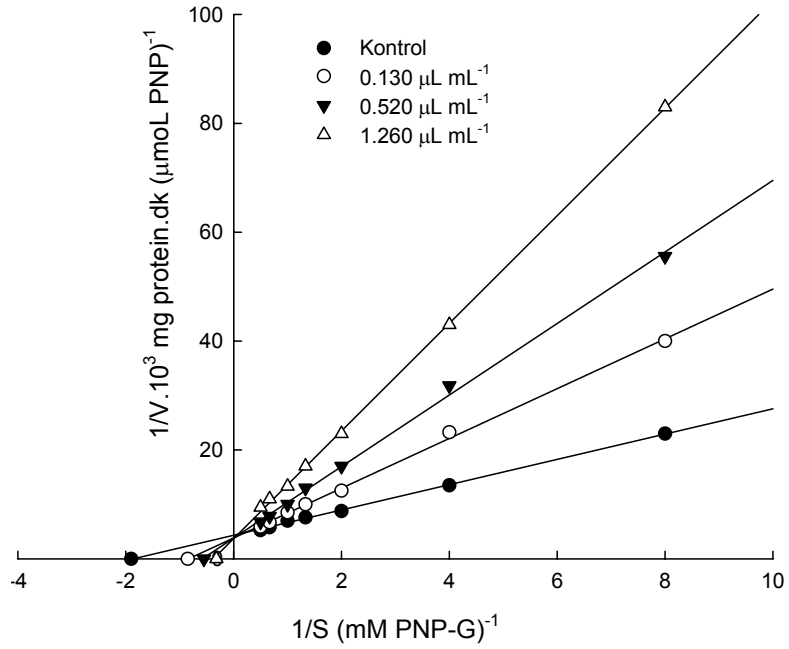
Çizelge 3.12.1.'de görüldüğü gibi; okaliptus ve mersin uçucu yağları ile yapılan çalışmalar sonucunda V_m ve K_m değerleri artan yağ derişimleri ile azaldığı bu yüzden inhibisyon türünün hiç yarışmasız (unkompetitif) inhibisyon olduğu saptandı. Defne uçucu yağıyla yapılan çalışmalarda ise, V_m değişmezken K_m değerleri arttığından inhibisyon türünün yarışmalı (kompetitif) inhibisyon olduğu gözlemlendi.

Unkompetif inhibisyon gösteren okaliptus ve mersin uçucu yağları derişimlerine karşılık $1/V_{\text{max (gözlennenen)}}$ değerleri ile, kompetif inhibisyon gösteren defne uçucu yağının derişimlerine karşılık K_m değerleri 'En Küçük Kareler Yöntemiyle' grafiğe geçirildiğinde elde edilen I_{50} derişimleri (K_i) sırasıyla; 0.48 ± 0.05 , 1.78 ± 0.07 ve 1.53 ± 0.71 olarak bulundu.

Uçucu yağların ana bileşenlerinin farklı derişimlerinin alfa-glukozidaza etkisi incelenerek, inhibisyon türleri saptandı ve Şekil 3.12.4, Şekil 3.12.5, Şekil 3.12.6, Şekil 3.12.7. ve Şekil 3.12.8.'de Michealis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri verildi.

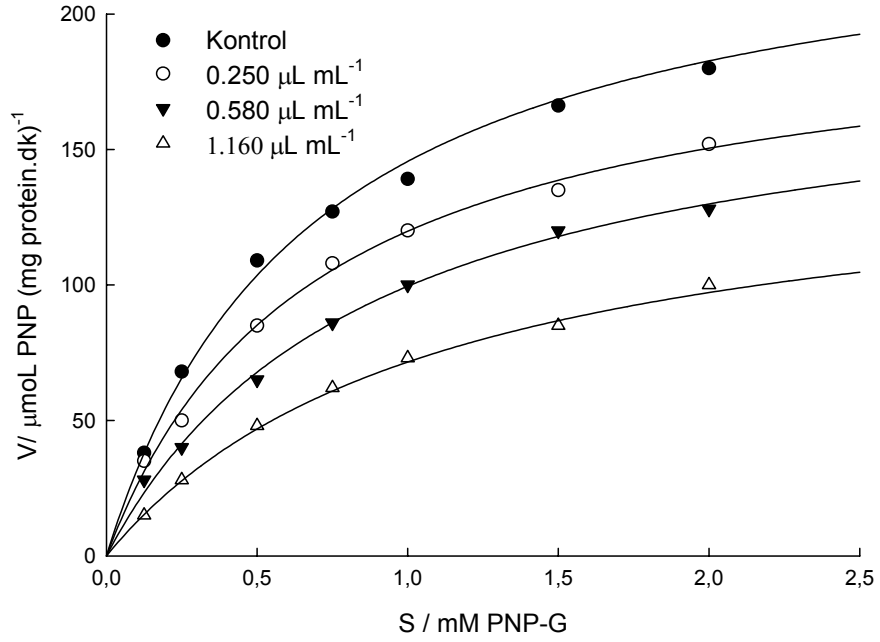


(a)

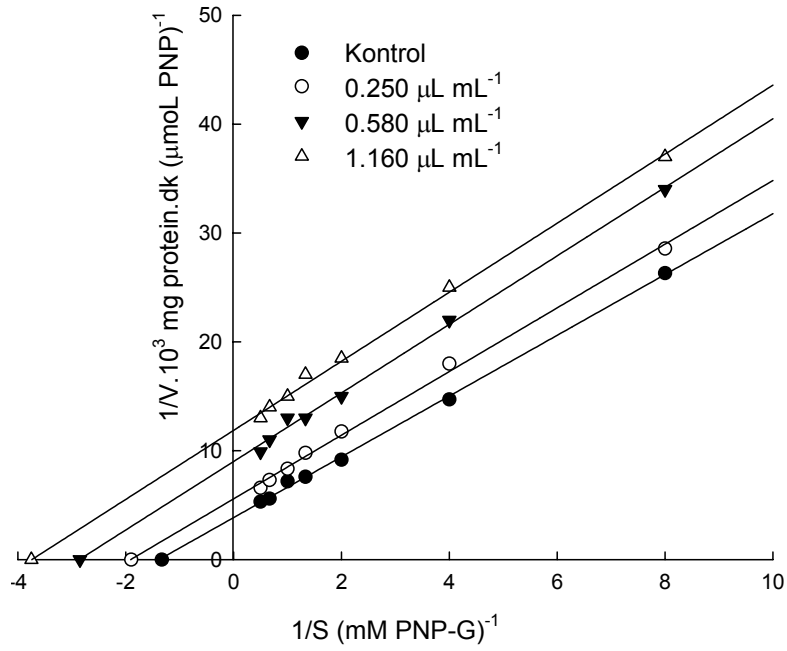


(b)

Şekil 3.12.4. α -glukozidazın, 1,8-sineolün farklı derişimleriyle etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği

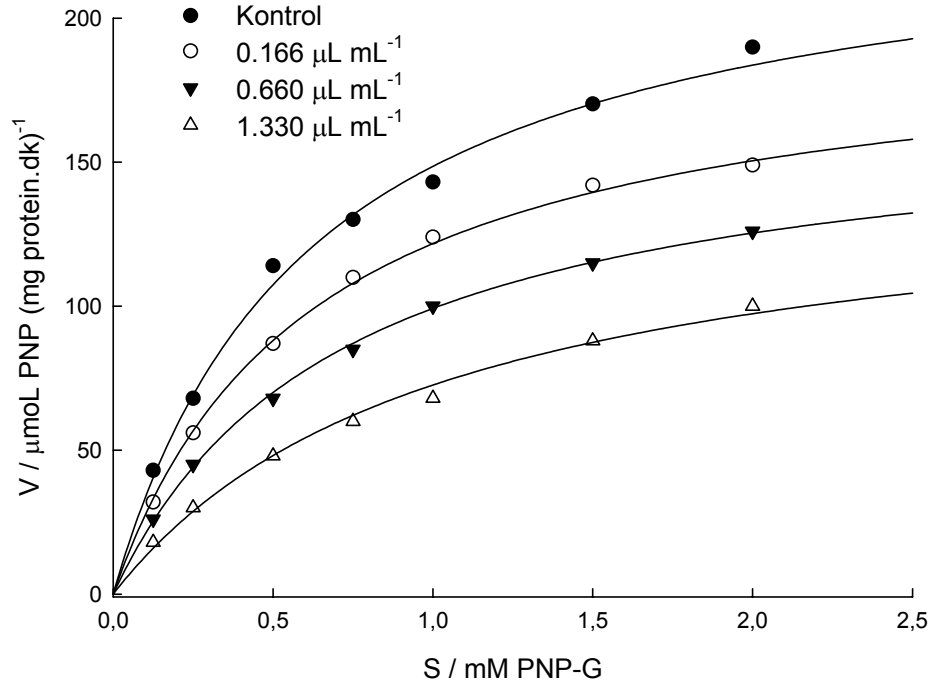


(a)

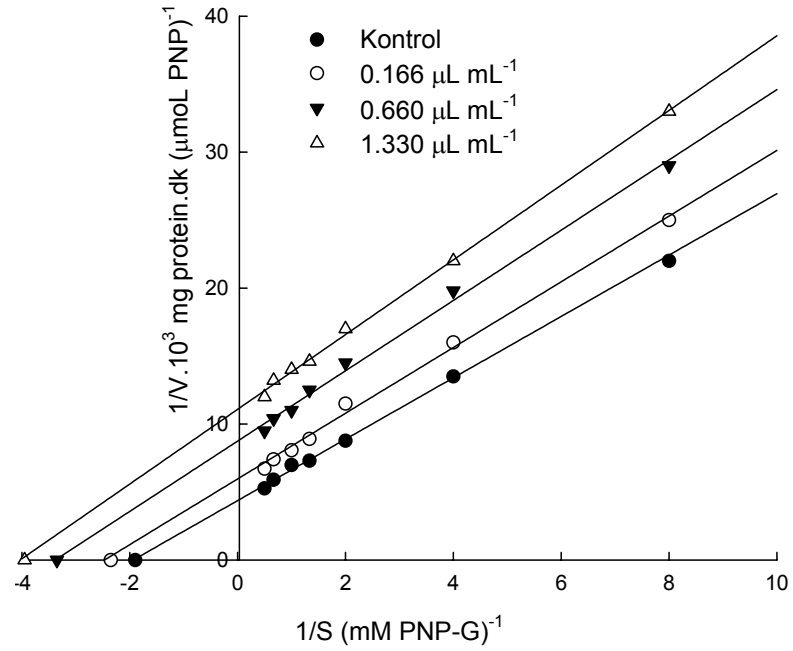


(b)

Şekil 3.12.5. α -glukozidazın, 1-(S)- α -pinenin farklı derişimleriyle etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği

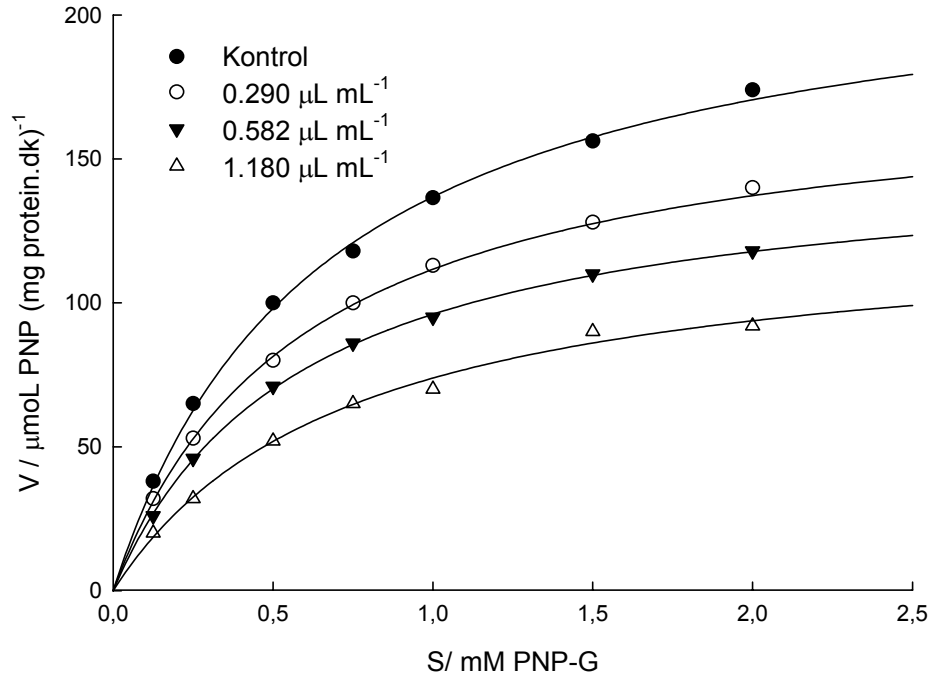


(a)

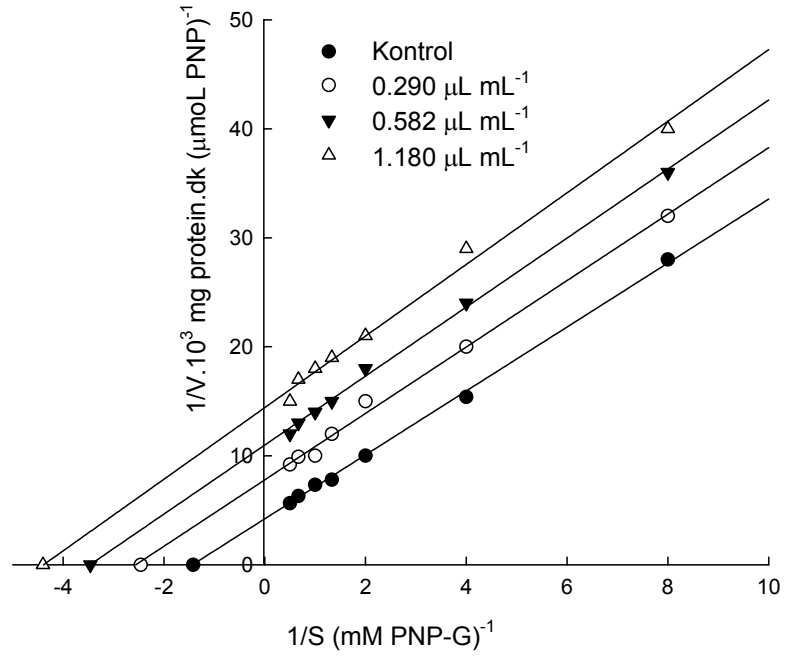


(b)

Şekil 3.12.6. α -glukozidazın, p-simenin farklı derişimleriyle etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği

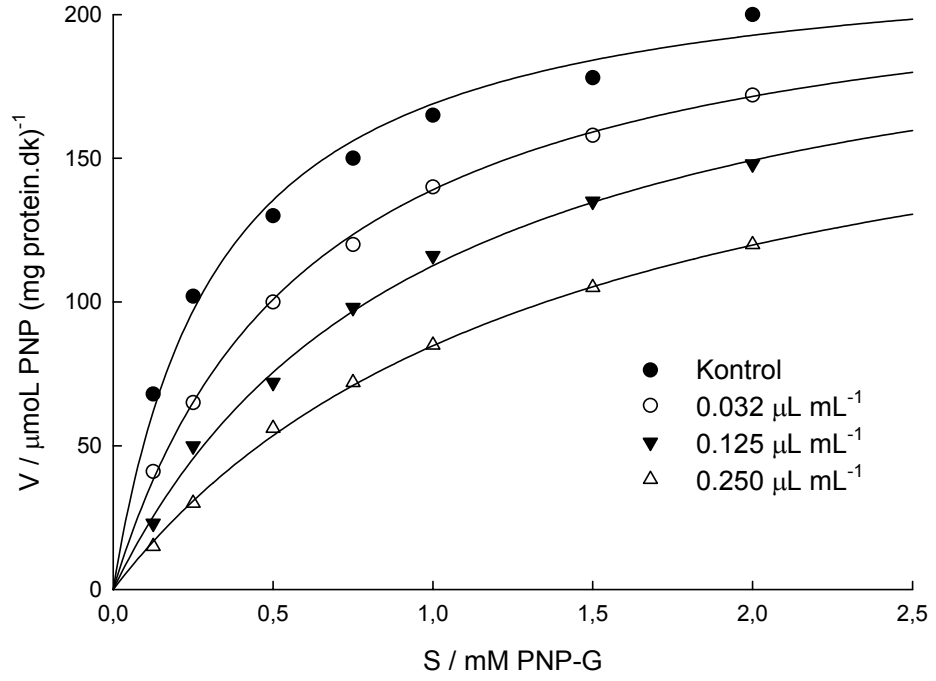


(a)

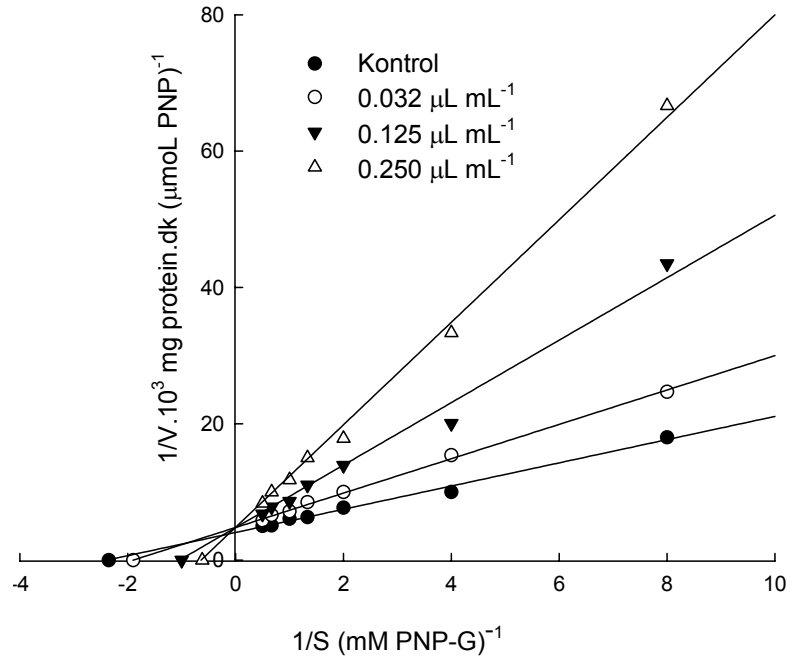


(b)

Şekil 3.12.7. α -glukozidazın, R-(+)-limonenin farklı derişimleriyle etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği



(a)



(b)

Şekil 3.12.8. α -glukozidazın, eugenolün farklı derişimleriyle etkileşiminde (a) Michealis-Menten grafiği (b) Lineweaver-Burk grafiği

Ana bileşenlerin farklı derişimlerinde α -glukozidaz hızına etkileri incelenerek, maksimum hız ve K_m değerleri Çizelge 3.12.2.'de verildi.

Çizelge 3.12.2. Okalıptus, defne ve mersin uçucu yağların ana bileşenlerinin α -glukozidaz ile etkileşimlerinde V_m ve K_m değerleri

Ana bileşenler	Derişim ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	V_m $\mu\text{mol PNP (mg protein.dk)}^{-1}$	K_m (mM pNPG)
1,8-sineol	Kontrol	256.41 \pm 1.52	0.819 \pm 0.031
	0.130	256.41 \pm 2.52	1.176 \pm 0.021
	0.520	256.41 \pm 0.58	1.818 \pm 0.061
	1.260	256.41 \pm 2.10	3.125 \pm 0.100
1-(S)- α - pinen	Kontrol	256.41 \pm 2.65	0.751 \pm 0.020
	0.250	178.56 \pm 1.00	0.526 \pm 0.023
	0.580	111.12 \pm 1.53	0.350 \pm 0.024
	1.160	84.03 \pm 1.73	0.266 \pm 0.010
p-simen	Kontrol	227.27 \pm 2.52	0.526 \pm 0.023
	0.166	166.62 \pm 2.30	0.425 \pm 0.026
	0.660	114.94 \pm 2.32	0.298 \pm 0.017
	1.330	90.09 \pm 2.65	0.250 \pm 0.012
R-(+)-limonen	Kontrol	217.39 \pm 2.00	0.588 \pm 0.020
	0.290	128.20 \pm 2.66	0.406 \pm 0.014
	0.582	90.90 \pm 4.34	0.290 \pm 0.036
	1.180	69.44 \pm 2.08	0.220 \pm 0.021
Eugenol	Kontrol	280.33 \pm 3.52	0.272 \pm 0.012
	0.032	280.33 \pm 2.52	0.526 \pm 0.010
	0.125	280.33 \pm 1.15	1.000 \pm 0.064
	0.250	280.33 \pm 2.65	1.612 \pm 0.026

Okalıptus, defne ve mersin yapraklarından elde edilen uçucu yağların ana bileşenlerinden; 1-(S)- α - pinen, p-simen ve R-(+)-limonenin farklı derişimlerinde V_m ve K_m değerleri azaldığından inhibisyon türü hiç yarışmasız (unkompetitif) inhibisyon olarak saptandı. 1,8-sineol ve eugenolün farklı derişimlerinde ise V_m değişmezken ise K_m değerleri arttığından; inhibisyon türünün yarışmalı (kompetitif) inhibisyon olgusu gözlemlendi.

Unkompetitif inhibisyon gösteren 1-(S)-alfa pinen, p-simenin ve R-(+)-limonenin derişimlerine karşılık $1/V_{\max}$ (gözlenen) değerleri ile kompetitif inhibisyon gösteren 1,8-sineol ve eugenolün derişimlerine karşılık K_m değerleri, 'En Küçük Kareler Yöntemiyle' grafiğe geçirildiğinde elde edilen I_{50} derişimleri (K_i) sırasıyla; 0.70 ± 0.05 , 0.63 ± 0.03 ve $0.20 \pm 0.030 \mu\text{L mL}^{-1}$, 0.55 ± 0.27 ve $0.18 \pm 0.02 \mu\text{L mL}^{-1}$ olarak saptandı.

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Çok eski yıllardan beri hastalıkların tedavisinde bitkilerden yararlanılmakta olup, günümüzde bitki içerikli ilaçlara yönelim artmıştır. Sentetik ürünlerin sağlığa zararlı yan etkileri ve bitkilerin kolay elde edilebilir olmaları, bu yönelimin başlıca sebepleri olarak görülmektedir. Halk arasında değişik hastalıkları tedavi etmek amacıyla kullanılan birçok bitkinin, kullanım amacına uygun olup olmadıklarının saptanması amacıyla tüm dünyada çok sayıda bilimsel çalışma yapılmaktadır. Bu çalışmayla ülkemizde halk arasında diyabet tedavisi amacıyla kullanılan okalıptus, defne ve mersin yapraklarından elde edilen uçucu yağlarının diyabet tedavisinde önemli enzimler olan α -amilaz ile α -glukozidaz'a etkileri ve antioksidan özellikleri değerlendirilerek bilime katkıda bulunulması amaçlanmıştır.

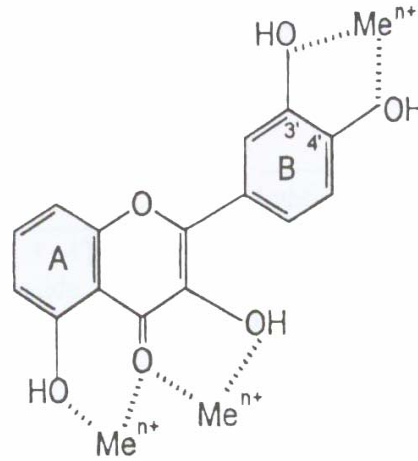
Bu amaçla deneysel çalışmalara ilk olarak uçucu yağ eldesiyle başlandı. Çizelge 3.1.1.' de görüldüğü gibi 100 g kuru bitki örneklerinden en fazla uçucu yağ 0.992 ± 0.014 mL ile mersin yaprağından elde edildi. Daha sonra, defne yaprağından 0.856 ± 0.018 mL uçucu yağ elde edilirken, en az uçucu yağ eldesi 0.254 ± 0.007 mL ile okalıptus yaprağında gözlemlendi.

Çalışmada kullanılan her üç uçucu yağın toplam antioksidan aktiviteleri ile toplam fenol ve toplam flavonoid içerikleri incelendiğinde, mg gallik asit g^{-1} yağ şeklinde verilen toplam fenol içeriğinin, mersin (11.50 ± 3.01), defne (27.52 ± 2.50) ve okalıptus (34.00 ± 6.11) yaprakları uçucu yağları sıralamasıyla arttığı bulundu. mg kuersetin g^{-1} yağ şeklinde verilen toplam flavonoid miktarı ise yine; mersin (0.257 ± 0.014), defne (0.362 ± 0.054) ve okalıptus (1.488 ± 0.061) sıralamasıyla arttığı saptandı. Toplam antioksidan aktivite mM α -Tokoferol asetat g^{-1} yağ eşdeğeri olarak verilerek, toplam fenol ve flavonoid miktarları ile paralel olarak aynı sıralamayla; mersin (423.17 ± 4.03) defne (470.43 ± 6.53) ve okalıptus (526.21 ± 4.19) yaprakları uçucu yağları şeklinde arttığı gözlemlendi (Çizelge 3.3.1.). Toplam antioksidan aktivitenin, toplam fenol ve toplam flavonoid içerikle, pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (Zheng ve Wang, 2001). Çalışmamızda da literatürdekilere benzer korelasyon gözlenmiştir. Bitkilerde bulunan fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteye sahip oldukları bilinmektedir (Skerget ve Ark., 2005). Bu bileşiklerin içerisinde en fazla bulunanları flavonoidler, fenolik asitler ve fenolik terpenlerdir (Javanmardi ve Ark., 2002). Fenolik bileşiklerin antioksidan etkisi, serbest radikallerden elektron veya hidrojen atomu alarak zincir tepkimelerini sonlandırarak serbest radikalleri temizleme (Rice-Evans ve Ark., 1995; Pekkarinen ve

Ark., 1999), içerdikleri karboksilik asit grubuyla radikal üretiminde önemli bileşikler olan geçiş metalleriyle bileşik oluşturma (metal şelatlama) ve singlet oksijen oluşumunu engelleme veya azaltma (Rice-Evans ve Ark., 1995) gibi özelliklerinden kaynaklanmaktadır.

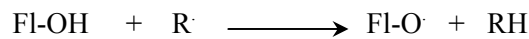
Flavonoidler, ksantin oksidaz ve protein kinaz gibi süperoksit anyonu üretiminden sorumlu enzimleri inhibe etmektedir. Ayrıca bütün reaktif oksijen türlerinin oluşumunda ilgili siklooksigenaz, hipoksigenaz, mikrozomal oksijenaz, glutatyon S-transferaz, mitokondrial süksinoksidaz ve NADH oksidazı da inhibe ettiği gösterilmiştir.

Flavonoidlerde eser elementler için ileri sürülen bağlanma yerleri B halkasının katekol kısmı, heterosiklik halkadaki 3-hidroksil, 4-okso grupları ve A halkası ile heterosiklik halka arasındaki 4-okso, 5-hidroksil gruplarıdır (Şekil 4.2) (Pietta,2000).

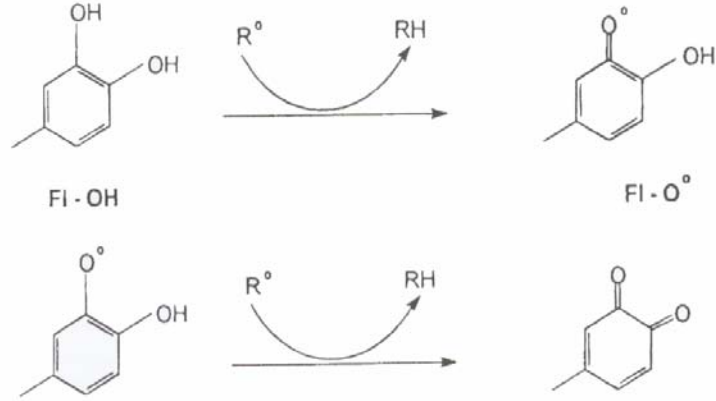


Şekil 4.1. Flavonoidlere metallerin bağlanma yerleri

Fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesi onların redoks özelliklerinden dolayıdır. Flavonoidlerin düşük redoks potansiyeline sahip olmasından dolayı ($0.23 < E_1 < 0.75V$), redoks potansiyelleri 2.13-1.0 V arasında olan okside olmuş süperoksit, peroksil, alkoksil ve hidroksil radikalleri gibi serbest radikallere ($R\cdot$), H-atomu vererek onları termodinamik olarak indirgeyebilirler.



Aroksil radikali ($Fl-O\cdot$) ikinci radikalle tepkime verebilir ve kararlı kinon yapısı elde edilir (Şekil 4.3) (Pietta,2000).



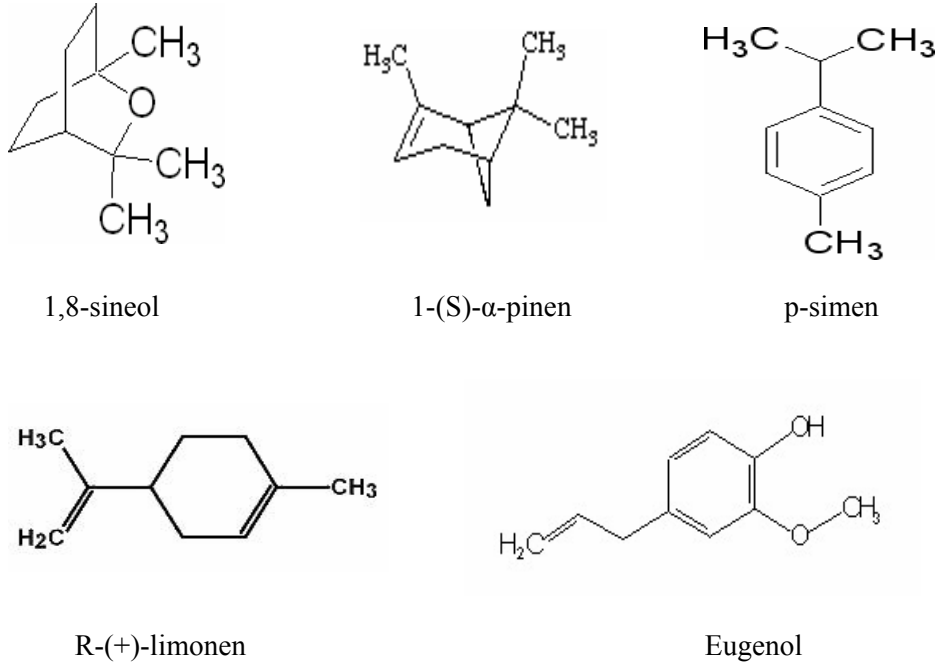
Şekil 4.2. Flavonoidler tarafından ROT[•]'nin süpürülmesi

Bu bileşikler, lipidlerin ve diğer biyomoleküllerin (protein, karbohidrat, nükleik asit) serbest radikallerle okside olmalarını engellemek için, aromatik halkalarındaki hidroksil gruplarında bulunan hidrojeni verebilmektedirler (Burda ve Oleszek, 2001). Flavonoidlerin antiallerjik, antiviral, antitümör ve antioksidan aktivite gibi birçok biyolojik fonksiyona sahip oldukları bildirilmiştir (Middleton ve Ark., 2000).

Uçucu yağların sahip oldukları biyolojik aktivitelerin yağ içerisinde bulunan bileşiklerden kaynaklandığı bilinmektedir. Bitkilerden elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimlerini saptamak amacıyla GC-MS analizleri yapıldığında, okaliptus uçucu yağının % 99.10'una karşılık gelen 30 bileşen belirlendi. İlk üç ana bileşen, p-simen (% 68.43), 1,8-sineol (% 13.92) ve 1-(S)- α -pinen (% 3.45) olarak saptandı (Çizelge 3.2.1.1.). Defne uçucu yağının % 99.18'ine karşılık gelen 29 bileşenden, ilk üç ana bileşenin 1,8-sineol (% 68.82), 1-(S)- α -pinen (% 6.94) ve R-(+)-limonen (% 3.04) olduğu bulundu (Çizelge 3.2.2.1.). Mersin uçucu yağının ise % 96.44'üne karşılık gelen 19 bileşen belirlenip, ilk üç ana bileşenin ise 1,8-sineol (% 40.32), 1-(S)- α -pinen (% 28.04) ve eugenol (% 9.04) olduğu gözlemlendi (Çizelge 3.2.3.1.).

GC-MS analizleri sonucunda; her üç uçucu yağın ilk üç ana bileşenleri göz önüne alındığında, 1,8-sineol ve 1-(S)- α -pinen'in ortak ana bileşenler oldukları gözlemlendi. Defne ve mersinde miktar bakımından 1,8-sineol ve 1-(S)- α -pinen ilk iki ana bileşen iken, okaliptusta ikinci ve üçüncü ana bileşendir. Uçucu yağların ilk üç ana bileşenlerinden olup ancak ortak ana bileşen olmayanlar ise p-simen, R-(+)-limonen ve eugenol'dür. p-simen okaliptus'un ilk ana bileşeni iken, R-(+)-limonen defnenin üçüncü ana bileşeni, eugenol ise mersin uçucu yağının üçüncü ana bileşeni olduğu gözlemlendi (Çizelge 3.2.1.1,

Çizelge 3.2.2.1, Çizelge 3.2.3.1). Bu ana bileşenlerin kimyasal yapıları Şekil 4.1.'de verilmiştir.



Şekil 4.3. Uçucu yağlarda bulunan ana bileşenlerin kimyasal yapıları

Bitkilerin uçucu yağlarında bulunan bu beş bileşik incelendiğinde; terpenik bileşiklerden olan, monotermen yapıda oldukları görülmektedir. Terpenler, monotermenleri de içeren sekonder metabolitlerin en büyük sınıfını oluşturmaktadırlar (Zunino ve Zygadlo, 2004). Bitki uçucu yağlarının kimyasal bileşimleri çoğunlukla terpenik bileşikler olan monotermenler, seskuiterpenler ve bunların oksijenlenmiş türevlerini içermektedirler (Russell ve Southwell, 2002; Rasooli ve Owlia, 2005). Düşük mol kütlelerine sahip (300 g mol^{-1} 'den küçük) olan bu bileşikler hücre zarlarından kolaylıkla geçebilmekte ve biyolojik etkinlik göstermektedirler (Chao ve Ark., 2005). Bitki kaynaklı uçucu yağların farklı biyolojik etkinliklere sahip oldukları ve bu etkinliklerin içeriklerinde esas bileşenler olan monotermenlerden kaynaklandığı bildirilmektedir (do Amaral ve Ark., 2007). 30.000'den fazla doğal monotermen saflaştırılmış olup; lineer, monosiklik ve bisiklik monotermenler olmak üzere üç gruba ayrılabilir (Van Der Werf., 2000).

Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarında ortak ana bileşen olan 1,8-sineol birçok bitkinin uçucu yağında bulunmaktadır. 1,8-sineol gıdalarda tatlandırıcı, aromaterapide cilt uyarıcı, bronşit, astım gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Santos ve Ark., 2004). Ayrıca 1,8-sineolün antiinflamatuvar, antimikrobiyal ve antitümöral aktivitelere sahip olduğu bilinmektedir (Santos ve Rao, 2000; Moteki ve Ark., 2002).

Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarında ortak ana bileşenlerinden olan 1-(S)- α -pinenin de antiinflamatuvar ve antibakteriyel özellikleri bildirilmiştir (Magwa ve Ark., 2006).

Okaliptus uçucu yağının ilk ana bileşeni olarak saptanan p-simen (Çizelge 3.2.1.1) monosiklik hidrokarbon monoterenler grubunda yer almaktadır. Yapılan çalışmalar da p-simenin, antibakteriyel, antifungal ve antiinflamatuvar özellik gösterdiği bildirilmiştir (Pichette ve Ark., 2006; Singh ve Ark., 2006).

Defne uçucu yağında bulunan R-(+)-limonen monosiklik monoteren olup, hoş kokusu nedeniyle meyve suları, içecekler, puding ve dondurmalarda koku verici olarak kullanılmakla birlikte, kozmetik, sabun ve diğer birçok temizlik ürünüde de kullanılmaktadır. R-(+)-limonenin de, antiinflamatuvar, antibakteriyel, antifungal, antitümöral ve antikanser gibi aktiviteleri de bildirilmiştir (Crowell ve Ark., 1996; Heuberger ve Ark., 2001; Magwa ve Ark., 2006; do Amaral ve Ark., 2007).

Mersin uçucu yağının üçüncü ana bileşeni olarak saptanan eugenol ise, kısa hidrokarbon zincirine sahip metoksifenoldür. Eugenol, güçlü kokusundan dolayı baharat olarak ve deterjan-benzeri etkisi nedeniyle dental antiseptik olarak (Chang ve Ark., 2002; Tai ve Ark., 2002) ve ayrıca geleneksel Asya tıbbında antiseptik, analjezik ve antibakteriyel olarak kullanılmaktadır. Eugenol'un Fe-bağlı lipid peroksidasyonu, Cu-bağlı düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonunu inhibe ettiği, geçiş metallerini indirgeme özelliğinin olduğu, antifungal, antimikrobiyal ve monoamin oksidaz inhibisyon aktivitesi gibi birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Ito ve Ark., 2005; Kabuto ve Ark., 2007; Park ve Ark., 2007).

Doğal antioksidanların kullanımında profilaktik etki göstererek, oksijen radikallerinin sebep olduğu (kanser, miyokard enfarktüs, inflamatuvar hastalıklar, diyabet gibi) hastalıkların oluşum riskini azalttığı bildirilmiş olup, son yıllarda potansiyel antioksidan etkili maddelerin saptanmasına ilişkin çalışmalar yoğun ilgi görmektedir (Prieto ve Pineda, 1999; Dorman ve Ark., 2000). Bitki özütlerinin hidroksil, süperoksit ve hidrojen peroksit gibi radikalleri temizleme özellikleri ve uçucu yağların ise DPPH

radikalini temizleme aktiviteleriyle ilgili çok sayıda literatür bulunmaktadır (Lee ve Ark., 2001; Kim ve Ark., 2004a; Parejo ve Ark., 2002). Ancak bitki uçucu yağlarının ROT'lara etkisi ile ilgili çok az çalışma bulunmakta (Burits ve Ark., 2001; Candan ve Ark., 2003) olup, okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının ROT'ne etkisi ile ilgili literatüre rastlanmamıştır. Serbest radikallerin diyabet komplikasyonlarındaki önemi bilindiğinden; halk arasında diyabet tedavisi amacıyla kullanılan okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının ve onların ilk üç ana bileşenlerinin antioksidan özelliklerinin daha detaylı incelenmesi amacıyla; bu uçucu yağların reaktif oksijen türlerini süpürme aktiviteleri çalışıldı.

Uçucu yağların DPPH radikali inhibisyon özellikleri, süpürme gücünün ölçüsü olan yüzde inhibisyon değerlerine göre incelendiğinde (Çizelge 3.4.1); % 59.99 ± 0.18 inhibisyonla DPPH radikali süpürmede en yüksek aktivite defne uçucu yağında, daha sonra % 55.20 ± 0.03 inhibisyonla mersin yaprağı uçucu yağında gözlenirken en düşük aktivite ise % 53.07 ± 1.13 inhibisyonla okaliptus yaprağı uçucu yağında gözlendi. Uçucu yağların DPPH'nin % 50'sini süpürdüğü derişimlere bakıldığında, en yüksek radikal süpürücü etki defne yağında ($0.575 \pm 0.060 \mu\text{L mL}^{-1}$) gözlenmiştir. Düşük IC_{50} değeri yüksek antioksidan etkiyi göstermektedir. Mersin ve okaliptusun IC_{50} değerleri sırasıyla; 1.308 ± 0.040 ve $4.096 \pm 0.724 \mu\text{L mL}^{-1}$ olarak bulundu (Çizelge 3.4.1.). Bu uçucu yağların DPPH radikali süpürme etkisi pozitif kontrollerle (BHT, kurkumin ve askorbik asit) karşılaştırıldığında ise, pozitif kontrollerin DPPH süpürme aktivitesinin yağlara göre çok daha zayıf olduğu bulunmuştur.

Yağlar DPPH süpürmede etkin olurken, yağların ana bileşenlerinin yağ içerisindeki derişimleriyle çalışıldığında, en yüksek DPPH inhibisyonu eugenolde (% 100 ± 1.53) gözlenmiş olup, eugenolü % 35.93 ± 0.71 inhibisyonla p-simen izlemektedir. Diğer ana bileşenlerin DPPH süpürmede (% 0.68 ± 0.02 - % 8.85 ± 0.02 inhibisyon aralığında) çok etkili olmadıkları gözlendi (Çizelge 3.4.2.). Bitki uçucu yağ ana bileşenlerinin 3'lü karışımlarının DPPH radikali süpürme etkisi incelendiğinde de, defne ana bileşenlerinin karışımı inhibisyon göstermezken, okaliptus ve mersin ana bileşen karışımlarının % 17.27 ± 0.56 ve % 14.56 ± 0.01 DPPH inhibisyonu göstererek çok zayıf bir radikal temizleyici oldukları gözlenmiştir (Çizelge 3.4.3.). Ana bileşenlerin yağ içerisindeki miktarları DPPH radikali % 50 inhibe eden değerlere ulaşmadığından saf ana bileşenlerin yağ içerisindeki derişimlerinde farklı derişimleriyle çalışıldığında inhibisyonun arttığı gözlenmiştir.

DPPH radikali inhibisyon aktivitetlerinin azalan IC₅₀ değerleriyle arttığı izelge 3.4.4.'de görülmektedir. Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının ana bileşenleri arasında en yüksek DPPH radikali süpürme aktivitesi; % 100 ± 1.53 inhibisyonla eugenolde, en düşük aktivite ise % 37.65 ± 2.52 inhibisyonla p-simende bulundu. R-(+)-limonen, 1,8-sineol, 1-(S)-α-pinende ise sırasıyla; 61.07 ± 1.53, 42.65 ± 2.52 ve 40.37 ± 2.08 inhibisyon yüzdeleriyle paralel olarak aktivite azalışı gözlendi. Eugenol ve R-(+)-limonenin IC₅₀ değerler sırasıyla; 0.0060 ± 0.0002 μL mL⁻¹ ve 283.62 ± 2.87 μL mL⁻¹ olarak bulunurken, diğer bileşenlerin DPPH radikali oluşumu % 50 inhibe edecek kadar aktif olmadığı için IC₅₀ değerleri gözlenemedi.

Uçucu yağlar ve içerdikleri ilk u ana bileşenlerin DPPH'ı inhibe etme özelliğine göre karşılaştıırma yapıldığında Defne > Mersin > Okaliptus ve Eugenol > R-(+)-limonen > 1,8-sineol > 1-(S)-α-pinen > p-simen şeklinde olduğu görülmektedir. Okaliptus uçucu yağının diğer uçucu yağlara göre DPPH'ı az inhibe etmesi yukarıdaki sıralamada da görüldüğü gibi, sahip olduğu 1,8-sineol, 1-(S)-α-pinen ve p-simenin de DPPH'ı süpürmede etkin olmamasından kaynaklanmaktadır. Mersin'deki eugenol DPPH'ı süpürmede en fazla etkin olan bileşen olmasına karşın, DPPH süpürmede defne uçucu yağı kadar etkin olmamıştır. Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarındaki u ana bileşenin yağ içerisindeki miktarlarının karışımları ise IC₅₀ değerleri olmasa da DPPH radikali süpürmede azda olsa etkin olması uçucu yağların, DPPH radikaliyle hızlı etkileşime giren ve radikal moleküllerinin büyük bir kısmını indirgeyen antioksidan olabilecek ilk u ana bileşen dışındaki diğer bileşenlerinden dolayı olabilir (Canadanovic-Brunet ve Ark., 2005).

Daha önce yapılan çalışmalarda da eugenolün antimikrobiyal, antikonvulsant, hipotermik özellikleri ve DPPH'ı süpürerek antioksidan özelliği belirtilmiştir (Wie ve Ark., 1997; Ramos ve Ark., 2003). Limonen, α-pinen ve 1-8-sineolnde antibakteriyel, antifungal ve antioksidan aktivitesinin olduğu belirtilmiştir (Magwa ve Ark., 2006). p-simenin antioksidan özelliğinin zayıf olduğu veya hiç olmadığına dair farklı çalışmalar bulunmaktadır (Vardar-nl ve Ark., 2003; Masotti ve Ark., 2003; Kim ve Ark., 2004a). Eugenolün antioksidan aktivitesinin α-pinen, p-simen ve limonenden daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Fenolik halkadaki serbest hidrosil grubunun eugenolün antioksidan aktivitesinden sorumlu olduğu ve p-simen de bu hidrosil grubunun bulunmamasının, p-simenin düşük antioksidan aktivitesini açıklamaktadır (Jukic ve Ark., 2006).

Uçucu yağların yüksek olan antioksidan aktiviteleri p-simen, terpinen, 1,8-sineol ve terpinen-4-ol gibi farklı antioksidan aktiviteye sahip bileşiklerin bulunmasına

atfedilmektedir. Bu bileşiklerin yağlar içerisindeki miktarlarının çok düşük olmasına rağmen, bu bileşiklerin olası sinerjik ve antagonist etkileri göz önünde bulundurulmalıdır (Obame ve Ark., 2007).

Uçucu yağlar kompleks ve saf olmayan karışımlar olduklarından, gösterdikleri biyolojik aktiviteler içerdikleri bileşenlere göre farklılık göstermekte; bileşenlerin bir araya gelmeleriyle, sinerjik etki ile daha güçlü biyolojik aktivite oluşabilirken, bazenda aktivite düşüşüne sebep olan antagonist etkide gözlenebilmektedir. (Saucier ve Waterhouse., 1999; Edris ve Farrag, 2003; Ramsewak ve Ark., 2003; Ahmad, 2007; Zhou ve Ark., 2007).

Canlı hücrelerde radyasyon ve hidrojen peroksidin indirgenmesiyle oluşan hidroksil radikali, biyolojik sistemlere en fazla zarar veren radikaldir. Amino asitler, nükleik asitler, organik asitler, fosfolipidler ve şekerler gibi biyokimyasal maddelerin bir çoğu ile tepkimeye girebilmektedir. Bu nedenle hidroksil radikalının temizlenmesi veya oluşumunun engellenmesi önemli olmaktadır.

Çalışmamızda okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının hidroksil radikali süpürmede pozitif kontrollerden daha etkin oldukları ve uçucu yağların hidroksil radikali inhibisyonlarının azalan IC₅₀ değerleriyle arttığı Çizelge 3.5.1.'de görülmektedir. Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının IC₅₀ değeri sırasıyla; 0.268 ± 0.015 , 0.398 ± 0.028 ve $0.584 \pm 0.027 \mu\text{L mL}^{-1}$ olarak bulundu. Okaliptus'un hidroksil radikali süpürmede diğer bitki uçucu yağlarına göre daha etkin olması, Çizelge 3.3.1.'de görüldüğü gibi; okaliptusun en yüksek fenol ve flavonoid içermesine bağlıdır. Daha öncede belirttiğimiz gibi flavonoidler, oksidatif stres ve serbest radikal hasarına karşı belirgin koruma sağlayan güçlü antioksidanlardır (Rice-Evans ve Ark., 1995).

Bitkilerin antioksidan aktivitesi yapısındaki sekonder bileşenlerin miktarlarıyla yakından ilişkili olup, bu bileşenlerin miktarı bireysel, genetik ve genom farklılıklarından dolayı bitkiden bitkiye değişmektedir (Ceylan, 1995). Ana bileşenlerin uçucu yağlar içerisindeki derişimleriyle çalışılıp % inhibisyon değerlerine bakıldığında, 1-8,sineol ve eugenolün hidroksil radikali temizlemede etkin oldukları, diğer ana bileşenlerin ise % inhibisyonlarının ($\% 9.65 \pm 0.11$ - $\% 28.92 \pm 0.73$) düşük oldukları gözlenmiştir (Çizelge 3.5.2.). Bu ana bileşenlerin yağ içerisindeki derişimlerinin 3'lü karışımları hazırlandığında ise mersinin üç ana bileşeni olan 1,8-sineol/1-(S)- α -pinen/eugenol karışımının $\% 89.20 \pm 0.51$ inhibisyonla hidroksil radikali temizlemede çok etkin olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.5.3.).

Farklı derişimlerdeki ana bileşenlerin hidroksil radikali süpürme aktiviteleri incelendiğinde de (Çizelge 3.5.4.); DPPH’da olduğu gibi % 64.13 ± 2.94 inhibisyonla eugenolün en yüksek aktiviteye sahip olduğu bulundu. 1,8-sineol, R-(+)-limonen, 1-(S)- α -pinen ve p-simende ise sırasıyla; % 61.93 ± 3.12 , % 50.00 ± 2.02 , % 28.78 ± 3.16 ve % 16.98 ± 0.36 inhibisyonlarla hidroksil radikali süpürme aktivitelerinde azalma gözlemlendi. 1-(S)- α -pinen ve p-simen bileşenlerinin aktiviteleri hidroksil radikalini % 50 inhibe edecek kadar yüksek olmadığından bu bileşenlerin IC₅₀ değerleri gözlenmedi. Eugenol, 1,8-sineol ve R-(+)-limonen IC₅₀ değerleri sırasıyla; $0.25 \pm 0.02 \mu\text{L mL}^{-1}$, $2.25 \pm 0.12 \mu\text{L mL}^{-1}$ ve $8.95 \pm 0.34 \mu\text{L mL}^{-1}$ olan saptandı.

Mersinde bulunan eugenol ve 1,8-sineol radikal temizlemede çok etkin olduğu gibi mersinin ilk üç ana bileşen karışımı olan 1,8-sineol/1-(S)- α -pinen/eugenol’ünde etkin olduğu bulunmuş ancak, mersin’in diğer bitki uçucu yağlarına göre az etkili olduğu gözlenmiştir. Buda yağın kimyasal bileşiminde bulunan diğer kimyasalların antogonist etkilerinden dolayı olabilmektedir.

Reaktif oksijen türlerinden olan süperoksit radikali, normal hücrel fonksiyonlarla en fazla üretilen radikal tür olmasının yanı sıra tüm radikallerin çıkış materyalini oluşturduğundan ve farklı hastalıkların oluşumundaki direk etkileri nedeniyle, bu radikalin inhibisyonu bitki özütlerinde oldukça fazla çalışılmıştır.

Uçucu yağların süperoksit radikali inhibisyon yüzdeleri karşılaştırıldığında (Çizelge 3.6.1.); 58.26 ± 1.16 inhibisyon yüzdesi ile okaliptus uçucu yağının en aktif yağ olduğu, bunu % 55.85 ± 0.26 inhibisyonla defne uçucu yağının izlediği ve son olarak 53.25 ± 0.04 inhibisyon yüzdesi ile de mersin uçucu yağının en düşük süperoksit radikali inhibisyon aktivitesine sahip olduğu bulundu. Okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının IC₅₀ değerleri ise sırasıyla; $0.069 \pm 0.006 \mu\text{L mL}^{-1}$, $0.141 \pm 0.004 \mu\text{L mL}^{-1}$ ve $0.233 \pm 0.025 \mu\text{L mL}^{-1}$ olarak hesaplandı (Çizelge 3.6.1). Bu sonuçlardan, uçucu yağların artan süperoksit radikali inhibisyon yüzdeleri ile azalan IC₅₀ değerleriyle paralel olduğu görülmektedir.

Ana bileşenlerin yağlar içerisindeki miktarlarına göre tekli ve 3’lü karışımlarının süperoksit radikalini inhibe ettikleri ancak, % 50 inhibisyon gerçekleştiremedikleri bulunmuştur (Çizelge 3.6.2. ve Çizelge 3.6.3.). Ana bileşenlerin farklı derişim aralıklarında da çalışılmış olmasına rağmen süperoksit radikalini % 50 inhibe edecek büyüklükte aktivitelerinin olmamasından dolayı IC₅₀ değerleri gözlenmedi (Çizelge 3.6.4.). Burada yağlar etkin ancak ana bileşenlerin o kadar etkili olmamaları, yağ içerisindeki diğer bileşenlerin sinerjik etkisinden kaynaklanmaktadır.

Çalışmada, üç bitki uçucu yağının hidrojen peroksidi temizleme etkisine de bakılmıştır. Hidrojen peroksidin kendisi çok reaktif olmamakla birlikte, en reaktif radikal olan hidroksil radikalinin oluşumunda etkili olmaktadır (Gülçin ve Ark., 2003). Hidrojen peroksidin inhibisyonu, hidroksil radikali oluşumu azalacağından, hidrojen peroksidin inhibisyonu, önem kazanmaktadır.

Uçucu yağların hidrojen peroksit inhibisyon yüzdeleri incelendiğinde (Çizelge 3.7.1.); 82.00 ± 0.86 inhibisyon yüzdesi ile defne uçucu yağının en aktif yağ olduğu, bunu $\% 74.12 \pm 0.02$ inhibisyonla mersin uçucu yağının izlediği ve son olarak 70.02 ± 0.54 inhibisyon yüzdesi sahip olan okaliptus uçucu yağının ise en düşük hidrojen peroksit temizleme aktivitesine sahip olduğu bulundu. Okaliptus, mersin ve defne uçucu yağlarının IC_{50} değerleri sırasıyla; $5.612 \times 10^{-4} \pm 0.220$, $3.445 \times 10^{-4} \pm 0.191$ ve $2.421 \times 10^{-4} \pm 0.136 \mu\text{L mL}^{-1}$ olarak hesaplandı (Çizelge 3.7.1.).

Ana bileşenlerin yağ içerisindeki miktarları hidrojen peroksidi $\% 50$ inhibe etmede yeterli olmadığı (Çizelge 3.8.3), 3'lü karışımlarında ise hidrojen peroksit inhibisyonunun arttığı ve hatta 1,8-sineol/1-(S)- α -pinen/R-(+)-limonen karışımının hidrojen peroksidi 62.15 ± 0.45 inhibe ettiği gözlenmiştir (Çizelge 3.7.3.). Ayrıca ana bileşenlerin yağ içerisindeki derişimlerinden farklı derişimlerde çalışıldığında da azalan inhibisyon sıralaması; 1,8-sineol ($\% 26.81 \pm 1.37$), R-(+)-limonen ($\% 26.74 \pm 2.65$), p-simen ($\% 25.51 \pm 1.90$), eugenol ($\% 21.70 \pm 2.03$) ve 1-(S)- α -pinen (20.85 ± 2.16) şeklindedir (Çizelge 3.7.4.). Hidrojen peroksit süpürmede ilk iki sırada defne uçucu yağının ana bileşenleri olan 1,8-sineol ve R-(+)-limonen bulunmaktadır. Bu da hidrojen peroksit süpürmede defnenin diğer bitki uçucu yağlarına göre aktif olmasını açıklamaktadır.

Diyabette serbest radikal aktivitesinde artış olduğunda ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıkların sıklığında artış gözlenmektedir. Lipit peroksitler, serbest radikaller ile oluşur ve aterosklerotik damar hastalıklarının gelişiminde önemli rol oynarlar. Diyabetik hastalarda hiperglisemi ve hiperlipidemi ile lipit peroksitlerin seviyesi arasında ilişki bulunmaktadır (Altomore., 1992; Kesavulu ve Ark., 2000).

Birçok hastalığın ortaya çıkışında lipid peroksidasyonunun önemli rol aldığı ve Tip I ile Tip II diyabette de lipid peroksidasyonunun artmış olduğu bilinmektedir (Çakatay ve Ark.,2000; Telci ve Ark., 2000;). Çalışmada, uçucu yağların lipid peroksidasyonunu inhibe etme özellikleride incelendiğinde; okaliptus, defne ve mersin uçucu yağlarının, lipid peroksidasyonunu $\% 50$ 'nin üzerinde inhibe ettikleri gözlenmiş olup, artan inhibisyon yüzdeleri ve azalan IC_{50} değerleriyle paralel olduğu görülmektedir. Okaliptus,

defne ve mersin uçucu yağlarının IC₅₀ değerleri sırasıyla; 0.055 ± 0.004 , 0.124 ± 0.003 ve $0.220 \pm 0.003 \mu\text{L mL}^{-1}$ olarak bulundu (Çizelge 3.8.1).

Çizelge 3.8.2. ve Çizelge 3.8.3.'de görüldüğü gibi, ana bileşenlerin yağ içerisindeki miktarları ile çalışıldığında lipid peroksidasyonu inhibisyonu fazla iken ana bileşenlerin üçlü karışımları ile çalışıldığında ise lipid peroksidasyonu inhibisyonlarının azaldığı gözlemlendi. Lipid peroksidasyonundaki bu azalmanın sebebi, ana bileşenlerin birbirleriyle antagonist etkilerinden dolayıdır. 1,8-sineol 0.58 , 3.36 . ve $5.735 \mu\text{L mL}^{-1}$ 'de lipid peroksidasyonu inhibisyonu gözlenmezken, Şekil 3.8.2'de görüldüğü gibi 0.002 ve $0.04 \mu\text{L mL}^{-1}$ arasında inhibisyon gözlenmiş ve IC₅₀ değerinin 0.033 olduğu bulunmuştur.

Lipid peroksidasyonunu % 50 inhibe eden ana bileşen derişimlerini saptamak için yağ içerisindeki derişimlerinden farklı derişimlerle yapılan çalışmalardan, ana bileşenlerin düşük derişimlerinde lipid peroksidasyonu inhibisyonunun arttığı gözlenmiştir (Çizelge 3.8.4.). Lipid peroksidasyonu inhibisyonunda IC₅₀ değerlerine göre en aktif ana bileşenin; $0.008 \pm 0.003 \mu\text{L mL}^{-1}$ ile eugenol iken en düşük lipid peroksidasyon inhibisyonuna sebep olan ana bileşen ise $0.422 \pm 0.011 \mu\text{L mL}^{-1}$ ile p-simendir. Diğer ana bileşenler olan 1,8-sineol, R-(+)-limonen, ve 1-(S)- α -pinenin IC₅₀ değerleri sırasıyla; 0.020 ± 0.220 , 0.024 ± 0.058 ve $0.328 \pm 0.078 \mu\text{L mL}^{-1}$ olarak bulundu (Çizelge 3.8.4.).

Lipid peroksidasyonunda en etkin olan uçucu yağ okalıptus iken, okalıptustaki ana bileşenlerin 3'lü karışımında da en yüksek lipid peroksidasyonu inhibisyonu gözlenmiştir (Çizelge 3.8.3.).

Pek çok çalışma diyabetik komplikasyonlar ve lipid peroksidasyonu arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur (Memişoğulları, 2005). Bu yüzden lipid peroksidasyonunun kontrolü çok önemlidir. Bu amaçla bitkilerin lipid peroksidasyonu inhibisyon özellikleri dikkat çekmektedir.

Singab ve ark., *Morus alba* kök kabuklarından hazırladıkları flavonoid bakımından zengin olan alkollü özütünün streptozotosinle diyabet yapılmış sıçanlarda insülin seviyesini arttırdığını ve lipid peroksidasyonunu azalttığını tespit etmişlerdir (2005). *Morus indica* L. üzerinde yapılan bir çalışmada, bitkinin yapraklarından hazırlanan metanol, aseton ve su özütlerinin total antioksidan kapasitesi, DPPH radikal süpürücü etki, lipid metabolizmasında rol oynayan demir sülfat nedenli oksidasyon üzerindeki etkileri araştırılmış ve total fenol miktarı en yüksek olan metanol özütünün kuvvetli antioksidan etkiye sahip olduğu bu çalışmada belirlenmiştir (Arabshahi-Delouee ve Urooj, 2006).

Antioksidanların oksidatif stres sonucu oluşan dejeneratif ve yaşla ilgili çeşitli hastalıkları önlemedeki rolü deneysel, klinik, epidemiyolojik çalışmalar ile ortaya konmaya başlandıkça, antioksidanlar gittikçe daha da önem kazanmaya başlamıştır. Ancak, sentetik antioksidanların karaciğer hasarına sebep oldukları ve karsinojenik özellik gösterdikleri saptandığından, doğal antioksidanlara eğilim artmıştır (Wanasundara ve Shahidi., 1998). Çalışmamızda da pozitif kontrol olarak sentetik antioksidan BHT ile doğal antioksidan olan kurkumin seçilmiş, ancak bunların antioksidan aktiviteleri, uçucu yağlardan daha düşük olmasına karşın, kurkuminin BHT'den daha etkin olduğu bulunmuştur.

Diyabet birçok hastalığın patolojisinde rol alan ve tüm dünyada oldukça yaygın bir şekilde bulunan hastalıktır. Yemek sonrası kan şekerinin kontrol altına alınması, diyabetik komplikasyonların engellenmesinde asıl amacı oluşturmaktadır. Bu nedenle karbohidrat sindirim enzimleri olan α -amilaz ve α -glukozidazın inhibisyonu önem kazanmaktadır.

Literatür taramalarında okaliptus, defne ve mersin uçucu yağları ile ana bileşenlerinin α -amilaz ve α -glukozidaz inhibisyonları ve inhibisyon kinetikleriyle ilgili literatüre rastlanmamıştır. Ancak, son iki yılda bitki özütlerinin α -amilaz inhibisyonu ile ilgili çalışmalar yayınlanmaktadır. *P. Granatum*, *M. Indica*, *Caulerpa racemosa*, *Cardamine battagliae* ve *Varthemia iphionoides* Boiss bitki özütünün de α -amilaz inhibisyonunda etkin oldukları bildirilmiş, inhibisyon türü çalışılmamıştır (Prashanth ve Ark., 2001; Teixeira ve Ark., 2007; Al-Dabbas ve Ark., 2006; Conforti ve Ark., 2008).

Diğer bir çalışmada Tundis ve arkadaşları (2007), Salsola türlerinin yapraklarından elde edilen özütlerin ve bazı flavonoid glikozitlerin in vitro α -amilazı inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Kotowaroo ve arkadaşları (2006), *Artocarpus heteophyllus* bitki özütünün α -amilazı yarışmalı inhibisyonla inhibe ettiğini göstermişlerdir.

Deneyimizin son aşamasında uçucu yağların ve ana bileşenlerinin α -amilaz ve α -glukozidaza etkileri incelenerek antidiyabetik etkileri çalışıldı. Daha sonra inhibisyon türleri saptandı.

Uçucu yağların α -amilaz inhibisyonları, Çizelge 3.9.1.'de verilen IC_{50} değerleri ve inhibisyon yüzdeleri göz önüne alınarak değerlendirildiğinde; okaliptus uçucu yağının 55.00 ± 2.00 inhibisyon yüzdesi ($IC_{50} = 0.435 \pm 0.003 \mu\text{L mL}^{-1}$) ile α -amilaz inhibisyonu en yüksek uçucu yağ olduğu; 42.12 ± 2.36 inhibisyon yüzdesiyle defne uçucu yağının izlediği ve son olarak mersin uçucu yağının 32.25 ± 2.08 inhibisyon yüzdesiyle en düşük

α -amilaz inhibisyonuna sahip olduğu bulundu. Defne ve mersin uçucu yağlarının, α -amilazı % 50 inhibe edecek aktiviteleri gözlenmediğinden IC_{50} değerleri gözlenemedi.

Uçucu yağların ana bileşenlerinin α -amilaz inhibisyonları, azalan sıraya göre; 1-8-sineol (% 43.23 ± 2.57), eugenol (% 40.21 ± 2.01), p-simen (% 36.50 ± 1.50), 1-(S)- α -pinen (% 32.22 ± 1.73) ve R-(+)-limonenin (% 17.70 ± 1.80) olarak bulundu (Çizelge 3.9.3.). Ana bileşenlerde α -amilazı % 50 inhibe edemediğinden IC_{50} değerleri gözlenmedi.

Her üç uçucu yağdada α -amilazı inhibe ettiğinden inhibisyon kinetiği çalışıldığında; Okaliptus uçucu yağının artan derişimleriyle birlikte, maksimum hız ve K_m değerlerinin her ikisinde azaldığından α -amilazı hiç yarışmasız (unkompetitif) inhibisyonla inhibe ettiği bulundu (Çizelge 3.10.1.). Unkompetitif inhibitörler serbest enzime bağlanmazlar, enzim-substrat kompleksine bağlanarak enzim-substrat-inhibitör kompleksini oluştururlar. Un-kompetitif inhibitör ve substrat, enzim üzerinde aynı bölgeye bağlanmak için yarışmadığından, substrat derişiminin arttırılması inhibisyonu önleyemez.

Defne ve mersin uçucu yağı derişimlerinin artmasıyla maksimum hız değişmeyip K_m değerleri arttığından, inhibisyon türlerinin yarışmalı (kompetitif) inhibisyon olduğu bulundu (Çizelge 3.10.1.).

Kompetitif inhibitörler, serbest enzimin aktif bölgesine bağlanmak için substratla yarışmakta ve enzim-inhibitör kompleksini oluşturarak inhibisyona neden olmaktadır. Bu nedenle substrat derişiminin arttırılmasıyla inhibisyon önlenmektedir.

Uçucu yağların ana bileşenlerinin α -amilaz inhibisyon kinetikleri çalışılarak elde edilen maksimum hız ve K_m değerleri incelendiğinde (Çizelge 3.10.2.); 1,8-sineol, R-(+)-limonen ve eugenolün derişimlerinin artmasıyla, maksimum hız değişmeyip K_m değerleri arttığından, inhibisyon türünün yarışmalı (kompetitif) inhibisyon olduğu bulundu. Başka bir çalışmada, 1,8-sineolün, tolbutamid hidroksilazı yarışmalı olarak inhibe ettiği bildirilmiştir (Liapis ve Ark., 2000).

1-(S)- α -pinen ve p-simenle yapılan çalışmalarda ana bileşenlerin artan derişimleriyle birlikte, maksimum hız ve K_m değerlerinin her ikisinde azaldığından α -amilazı hiç yarışmasız (unkompetitif) inhibisyonla inhibe ettikleri bulunmuştur (Çizelge 3.10.1.).

Karbohidrat sindiriminde görev alan bir diğer enzim olan α -glukozidazın inhibisyonuyla ilgili olarakta, çoğunlukla bitki özütlerinde olmak üzere son yıllarda çalışmalar yapılmaktadır. Hansawasdi ve Kawabata (2006), *Morus alba* yapraklarından hazırladıkları sulu özütün sindirim enzimleri olan α -glukozidaz, sakkaraz ve maltazı

kuvvetli oranda inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Wansi ve arkadaşları da (2007), *Terminalia superba*'nın α -glukozidazı inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Andrade-Cetto ve arkadaşları (2008) ise, Meksikada Tip II diyabet tedavisinde kullanılan bazı bitkilerin α -glukozidaz inhibisyon aktivitelerini saptamışlardır.

Uçucu yağların α -glukozidazı inhibe edip etmediğini araştırdığımızda; okaliptus uçucu yağının % 93.25 ± 2.64 inhibisyon yüzdesi ve $0.548 \pm 0.006 \mu\text{L mL}^{-1}$ IC₅₀ değeri ile α -glukozidazı en yüksek inhibe eden uçucu yağ olduğu, bunu % 92.85 ± 1.01 inhibisyon ve $1.748 \pm 0.021 \mu\text{L mL}^{-1}$ IC₅₀ değeri ile defne uçucu yağınının izlediği ve son olarak mersin uçucu yağının, % 83.20 ± 1.36 inhibisyon yüzdesi ve $2.187 \pm 0.028 \mu\text{L mL}^{-1}$ IC₅₀ değeri ile en düşük α -glukozidaz inhibisyonuna sahip olduğu bulundu (Çizelge 3.11.1.).

Uçucu yağ ana bileşenlerinin α -glukozidaz inhibisyon yüzdelere göre; büyükten küçüğe doğru sıralandığında; karşılaştırıldığında; % 85.71 ± 1.48 ile eugenol, 82.20 ± 1.70 ile 1,8-sineol, 79.22 ± 3.19 ile p-simen, 70.25 ± 1.32 ile R-(+)-limonen ve % 60.02 ± 1.74 ile 1-(S)- α -pinen şeklinde olduğu Çizelge 3.11.3.'de görülmektedir. Ana bileşenlerin hepsi α -glukozidaz inhibisyonunda etkin olduğu ve % 50'nin üzerinde inhibisyon göstererek IC₅₀ değerleri; eugenol, 1-(S)- α -pinen, 1,8-sineol, p-simen ve R-(+)-limonenin için sırasıyla; $0.255 \pm 0.018 \mu\text{L mL}^{-1}$, $1.118 \pm 0.024 \mu\text{L mL}^{-1}$, $1.308 \pm 0.005 \mu\text{L mL}^{-1}$, $1.300 \pm 0.015 \mu\text{L mL}^{-1}$ ve $1.552 \pm 0.040 \mu\text{L mL}^{-1}$ olarak saptandı. Okaliptus uçucu yağı ve ana bileşenlerinden 1,8-sineolün, α -amilaz inhibisyonunda etkin olduğu gibi α -glukozidaz inhibisyonunda da etkin olduğu bulunmuştur.

Her üç uçucu yağda α -glukozidazı inhibe ettiğinden, inhibisyon türünü belirlemek amacıyla yapılan çalışmalarda; Okaliptus ve mersin uçucu yağlarının derişimlerinin artmasıyla maksimum hız ve K_m değerleri azaldığı ve inhibisyon türünün hiç yarışmasız (unkompetitif) inhibisyon olduğu bulundu (Çizelge 3.12.1.).

Defne uçucu yağının ise derişiminin artmasıyla maksimum hız değişmeyip K_m değerleri arttığından, inhibisyon türünün yarışmalı (kompetitif) inhibisyon olduğu bulundu (Çizelge 3.12.1.). Literatürde farklı bitki özütlerinin α -glukozidaz inhibisyonu gösterdiği bulunmuştur. *Sophora flavescens*'ten izole edilen bazı flavonoidlerin α -glukozidazı hiç yarışmasız inhibisyonla (unkompetitif) inhibe ettikleri Kim ve arkadaşları (2006) tarafından bildirilmiştir. Kim ve arkadaşları (2004b), başka bir çalışmada pine özütünün α -glukozidazı yarışmasız (nonkompetitif) inhibe ettiğini göstermişlerdir.

Uçucu yağların ana bileşenlerinin α -glukozidaz inhibisyon kinetikleri çalışıldığında ise; 1,8-sineol ve eugenolün artan derişimleri ile, maksimum hız değişmeyip K_m değerleri arttığından, inhibisyon türlerinin yarışmalı (kompetitif) inhibisyon olduğu bulundu (Çizelge 3.12.2.).

1-(S)- α -pinen, p-simen ve R-(+)-limonenin ise, artan derişimleriyle birlikte maksimum hız ve K_m değerlerinin her ikisinde azaldığından α -glukozidazı hiç yarışmasız (unkompetitif) inhibisyonla inhibe ettikleri gözlendi (Çizelge 3.12.2.).

Yapılan tüm çalışmalar sonucunda; üç bitki uçucu yağının reaktif oksijen türleri ve enzim inhibisyonlarında etkin olduğu gözlenmiş olup, okaliptus uçucu yağının hidroksil radikali, süperoksit radikali, lipid peroksit süpürmede ve ayrıca α -amilaz ile α -glukozidazın inhibisyonunda en etkin uçucu yağ olduğu, defnenin ise hidrojen peroksit ve DPPH süpürmede etkin olduğu gözlenmiştir.

Diyabet, serbest radikallerin arttığı ve/veya antioksidan mekanizmaların inhibe olduğu oksidatif stres durumlarından birisidir. Diyabet tedavisinde antidiyabetiklere ek olarak antioksidan maddelerin veya antioksidan özellikleri olan antidiyabetiklerin kullanılması oksidatif stresle başa çıkabilmek için tavsiye edilmektedir. Çünkü, antioksidanlar büyük bir olasılıkla diyabette bozulan oksidatif stresin, protein glikolizasyonunun ve glukoz metabolizmasının düzeltilmesinde önemli etkiler oluşturmaktadırlar.

Tüm deneysel veriler; halk arasında diyabet tedavisi amacıyla kullanılan, okaliptus, defne ve mersin yapraklarından elde edilen uçucu yağların ve bunların ana bileşenleri olan 1,8-sineol, 1-(S)- α -pinen, p-simen, R-(+)-limonen ve eugenolün, hem reaktif oksijen türlerini süpürerek antioksidan etki gösterdiklerini, hemde α -amilaz ile α -glukozidazı inhibe ederek antidiyabetik etkiye sahip olduklarını göstermektedir. Serbest radikallerin diyabete neden oldukları bilindiğinden, bu bitkilerin sadece enzimlerin inhibisyonu ile değil, reaktif oksijen türlerini de süpürerek, diyabet tedavisinde etkin olabileceği gösterilmiştir. Tüm sonuçlar doğrultusunda bu bitkilerin tam olarak diyabette etkin olduklarının ispatlanabilmesi için in vivo çalışmalarla desteklenmelidir.

5. KAYNAKLAR

- Abou-Seif, M.A., Youssef, A.A., 2004. Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients. *Clin. Chim. Acta.*, 16;346(2):161-70.
- Ahmad, M., 2007. Potentiation/Antagonism of pyrethroids with organophosphate insecticides in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *J Econ Entomol.*, 100(3):886-93.
- Ahmed, N., 2005. Advanced glycation endproducts--role in pathology of diabetic complications. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 67(1):3-21. Review.
- Akkuş, İ., 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Selçuk Üniversitesi Yayınları , Konya;1:157.
- Al-Dabbas, M.M., Kitahara, K., Suganuma, T., Hashimoto, F., Tadera, K., 2006. Antioxidant and alpha-amylase inhibitory compounds from aerial parts of *Varthemia iphionoides* Boiss. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 70(9):2178-84.
- Ali, H., Houghton, P.J., Soumyanath, A., 2006. alpha-Amylase inhibitory activity of some Malaysian plants used to treat diabetes; with particular reference to *Phyllanthus amarus*. *J Ethnopharmacol.*, 11;107(3):449-55.
- Altomore, E., Veldemiale, D., Chicco, D., 1992. Increased lipid peroxidation in type 2 poorly controlled diabetic patients. *Diabetes Metab.*, 18:264-271.
- Alwan, A.H., Mahmoud, M.J., Adiba, N., 1990. Effects of Plant Extracts on Aryl Hydrocarbon Hydroxylase Activity and 3H-Benzo (a) pyrene Binding to DNA. *J Food Saf.*, 10(3):209-218
- American Diabetes Association., 2002. Standarts of medicinal care for patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care.*, 25: 213-229.
- Andrade-Cetto, A., Becerra-Jiménez, J., Cárdenas-Vázquez, R., 2008. Alfa-glucosidase-inhibiting activity of some Mexican plants used in the treatment of type 2 diabetes. *J Ethnopharmacol.*, 116(1):27-32.
- Arabshahi-Delouee, S., Urooj, A., 2006. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. *Food Chemistry.*, .102:1233-1240.
- Backhouse, C.N., Delporte, C.L., Negrete, R.E., Erazo, S., Zuñiga, A., Pinto, A., Cassels, B.K., 2001. Active constituents isolated from *Psoralea glandulosa* L. with antiinflammatory and antipyretic activities. *J. Ethnopharmacol.*, 78(1):27-31.
- Battino, M., Ferreiro, M.S., Fattorini, D., Bullon, P., 2002. In vitro antioxidant activities of mouthrinses and their components. *J Clin Periodontol.*, 29(5):462-7.
- Baytop, T., 2000. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. Nobel Tıp Kitabevleri. 3. Baskı; 13-31.

- Beppu, H., Koike, T., Shimpo, K., Chihara, T., Hoshino, M., Ida, C., Kuzuya, H., 2003. Radical-scavenging effects of *Aloe arborescens* Miller on prevention of pancreatic islet B-cell destruction in rats. *J Ethnopharmacol.*, 89(1):37-45.
- Bonjar, G.H., 2004. Antibacterial screening of plants used in Iranian folkloric medicine. *Fitoterapia.*, 75(2):231-5.
- Brayer, G.D., Luo, Y., Withers, S.G., 1995. The structure of human pancreatic alpha-amylase at 1.8 Å resolution and comparisons with related enzymes. *Protein Sci.*, 4(9):1730-42.
- Burda, S., Oleszek, W., 2001. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *J Agric Food Chem.*, 49: 2774-2779.
- Burits, M., Asres, K., Bucar, F., 2001. The antioxidant activity of the essential oils of *Artemisia afra*, *Artemisia abyssinica* and *Juniperus procera*. *Phytother Res.*, 15(2):103-8.
- Burns, C.J., Persaud, S.J., Jones, P.M., 2006. Diabetes mellitus: a potential target for stem cell therapy. *Curr Stem Cell Res Ther.*, 1(2):255-66.
- Caldefie-Chézet, F., Fusillier, C., Jarde, T., Laroye, H., Damez, M., Vasson, M.P., Guillot, J., 2006. Potential anti-inflammatory effects of *Melaleuca alternifolia* essential oil on human peripheral blood leukocytes. *Phytother Res.*, 20(5):364-70.
- Canadanovic-Brunet, J.M., Djilas, S.M., Cetkovic, G.S., 2005. Free-radical scavenging activity of wormwood (*Artemisia absinthum*) extracts. *J. Sci. Food and Agric.*, 85:265-272.
- Candan, F., Unlu, M., Tepe, B., Daferera, 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 Ethnopharmacol.*, 87(2-3):215-20.
- Caredda, A., Marongiu, B., Porcedda, S., Soro, C., 2002. Supercritical carbon dioxide extraction and characterization of *Laurus nobilis* essential oil. *J Agric Food Chem.*, 50(6):1492-6.
- Carrapiso, A.I., Jurado, A., Timón, M.L., García, C., 2002. Odor-active compounds of Iberian hams with different aroma characteristics. *J Agric Food Chem.*, 50(22):6453-8.
- Carroll, M.F., Gutierrez, A., Castro, M., Tsewang, D., Schade, D.S., 2003. Targeting postprandial hyperglycemia: a comparative study of insulinotropic agents in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.*, 88(11):5248-54.

- Cerutti, P., 1994. Oxy-Radical and Cancer: *Lancet* ., 344: 862-863.
- Ceylan, A., 1995. Tibbi bitkiler I. . E.Ü. Zir. Fak. Yayın no:312.
- Cha, J.D., Jung, E.K., Kil, B.S., Lee, K.Y., 2007. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oil from *Artemisia feddei*. *J Microbiol Biotechnol.*, 17(12):2061-5.
- Chang, S.T., Cheng, S.S., 2002. Antitermitic activity of leaf essential oils and components from *Cinnamomum osmophleum*. *J Agric Food Chem.*,50(6):1389-92.
- Chao, L.K., Hua, K.F., Hsu, H.Y., Cheng, S.S., Liu, J.Y., Chang, S.T., 2005. Study on the antiinflammatory activity of essential oil from leaves of *Cinnamomum osmophloeum*. *J Agric Food Chem.*, 7;53(18):7274-8
- Chen, H., Feng, R., Guo, Y., Sun, L., Jiang, J., 2001. Hypoglycemic effects of aqueous extract of *Rhizoma Polygonati Odorati* in mice and rats. *J Ethnopharmacol.*, 74(3):225-9.
- Chericoni, S., Prieto, J.M., Iacopini, P., Morelli, I., 2005. Essential oils of commonly used plants as inhibitors of peroxynitrite-induced tyrosine nitration. *Fitoterapia.*, 76(5):481-3.
- Chorianopoulos, N., Evergetis, E., Mallouchos, A., Kalpoutzakis, E., Nychas, G.J., Haroutounian, S.A., 2006. Characterization of the essential oil volatiles of *Satureja thymbra* and *Satureja parnassica*: influence of harvesting time and antimicrobial activity. *J Agric Food Chem.*, 54(8):3139-45.
- Conforti, F., Statti, G., Loizzo, M.R., Sacchetti, G., Poli, F., Menichini, F., 2005. In Vitro antioxidant effect and inhibition of alpha-amylase of two varieties of *Amaranthus caudatus* seeds. *Biol Pharm Bull.*, 28(6):1098-102.
- Conforti, F., Statti, G., Uzunov, D., Menichini, F., 2006. Comparative chemical composition and antioxidant activities of wild and cultivated *Laurus nobilis* L. leaves and *Foeniculum vulgare* subsp. *piperitum* (Ucria) coutinho seeds. *Biol Pharm Bull.*, 29(10):2056-64.
- Conforti, F., Vaccaro, A., Loizzo, M.R., Statti, G.A., Autelitano, G., Menichini, F., 2008. Effects on free radicals and inhibition of alpha-amylase of *Cardamine battagliae* (Cruciferae), an apoe endemic Calabrian (southern Italy) plant. *Nat. Prod. Res.*, 22(2):111-7.
- Crowell, P.L., Siar Ayoubi, A., Burke, Y.D., 1996. Antitumorogenic effects of limonene and perillyl alcohol against pancreatic and breast cancer. *Adv Exp Med Biol.*, 401:131-6. Review.

- Cuendet, M., Hostettmann, K., Potterat, O.H., 1997. Iridoid Glucosides with Free Radical Scavenging Properties from *Fagraea blumei*. *Helv. Chim. Acta.*, 80, 1144-1152.
- Çakatay, U., Telci, A., Salman, S., Satman, L., Sivas, A., 2000. Oxidative protein damage in type I diabetic patients with and without complications. *Endocr Res.*, 26(3):365-79.
- da Cruz Francisco, J., Järvenpää, E.P., Huopalahti, R., Sivik, B., 2001. Comparison of *eucalyptus camaldulensis* Dehn. oils from Mozambique as obtained by hydrodistillation and supercritical carbon dioxide extraction. *J Agric Food Chem.*, 49(5):2339-42.
- Dadalioglu, I., Evrendilek, G.A., 2004. Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurus nobilis*), Spanish lavender (*Lavandula stoechas* L.), and fennel (*Foeniculum vulgare*) on common foodborne pathogens. *J Agric Food Chem.*, 52(26):8255-60.
- Dasgupta, A., Bernard, D., 2006. Herbal remedies: effects on clinical laboratory tests. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 130(4):521-8.
- Dean, R.T., Giese, S., Davies, M.J., 1993. Reactive species and their accumulation on radical-damaged proteins. *Trends Biochem Sci.*, 18(11):437-41. Review.
- Delgado Ayza C., 2005. What is aromatherapy? *Rev. Enferm.*, 28(5):55-8, 61-4.
- Deriu, A., Branca, G., Molicotti, P., Pintore, G., Chessa, M., Tirillini, B., Paglietti, B., Mura, A., Sechi, L.A., Fadda, G., Zanetti, S., 2007. In vitro activity of essential oil of *Myrtus communis* L. against *Helicobacter pylori*. *Int J Antimicrob Agents.*, 30(6):562-3.
- Deshpande, S.S., Sathe, S.K., Salunkhe, D.K., Cornforth, D.P., 1982. Effects of dehulling on phytic acid, polyphenols and enzyme inhibitors of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) *J. Food Sci.*, 47:440-441.
- Diplock, A.T., Rice-Evans, C.A., Burdon, R.H., 1994. Is There a Significant Role for Lipid Peroxidation in The Causation of Malignancy and for Antioxidants in Cancer Prevention? *Cancer Res.*, 54(7 Suppl):1952s-1956s.
- do Amaral, J.F., Silva, M.I., Neto, M.R., Neto, P.F., Moura, B.A., de Melo, C.T., de Araújo, F.L., de Sousa, D.P., de Vasconcelos, P.F., de Vasconcelos, S.M., de Sousa, F.C., 2007. Antinociceptive effect of the monoterpene R-(+)-limonene in mice. *Biol Pharm Bull.*, 30(7):1217-20.
- Dooley, M., 2007. Integration of traditional and complementary therapies. *Menopause Int.*, 13(4):195.

- Dorman, H.J.D, Figueiredo,A.C., Barraso, J.G., Deans, S.G., 2000. In vitro evaluation of antioxidant activity of essential oils and their components. *Flavour and Fragrance.*, 15:12-16.
- Dubick, M.A., 1986. Historical perspectives on the use of herbal preparations to promote health. *J Nutr.*, 116(7):1348-54.
- Dwarakanathan, A., 2006. Diabetes update. *J Insur. Med.*, 38(1):20-30. Review.
- Edris, A.E., Farrag, E.S., 2003. Antifungal activity of peppermint and sweet basil essential oils and their major aroma constituents on some plant pathogenic fungi from the vapor phase. *Nahrung.*, 47(2):117-21.
- Eidi, M., Eidi, A., Zamanizadeh, H., 2005. Effect of *Salvia officinalis* L. leaves on serum glucose and insulin in healthy and streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol.*, 4;100(3):310-3.
- Elder, C., 2004. Ayurveda for diabetes mellitus: a review of the biomedical literature. *Altern Ther Health Med.*, 10(1):44-50. Review.
- Ernst, E (Ed.), 2001. Aromatherapy. In The desktop guide to complementary and alternative medicine. An evidence-based approach (pp.33-35). Edinburg, United Kingdom: Harcourt Publishers Limited.
- Evans, J.L., Goldfine, I.D., Maddux, B.A., Grodsky, G.M., 2002. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocr Rev.*, 23(5):599-622. Review.
- Ferreira, A., Proença, C., Serralheiro, M.L., Araújo, M.E., 2006. The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *J Ethnopharmacol.*, 108(1):31-7.
- Fonseca, V., 2003. Clinical significance of targeting postprandial and fasting hyperglycemia in managing type 2 diabetes mellitus. *Curr Med Res Opin.*, 19(7):635-41. Review.
- Furbee, R.B, Barlotta, K.S, Allen, M.K, Holstege, C.P., 2006. Hepatotoxicity associated with herbal products. *Clin Lab Med.*, 26(1):227-41. Review.
- Garg,, S.C., Dengre, S.I., 1988. Antifungal Activity of ten Essential Oil of *Myrtus Communis* var. *Microphylla*, *Herba Hungarica.*, 27 (2-3): 123-125.
- Gerrard, J.A., Prince, M.J., Abell, A.D., 2000. Kinetic characterisation of ene-diol-based inhibitors of alpha-amylase. *Bioorg Med Chem Lett.*, 10(14):1575-6.

- Giamakis, A., Kretsi, O., Chinou, I., Spyropoulos, C.G., 2001. *Eucalyptus camaldulensis*: volatiles from immature flowers and high production of 1,8-cineole and beta-pinene by in vitro cultures. *Phytochemistry.*, 58(2):351-5.
- Gilani, A.H, Rahman, A.U., 2005, Trends in ethnopharmacology. *J. Ethnopharmacol.*, 100(1-2):43-49.
- Gökçe, N., Karlıkaya, E., 2002. Okaliptüs (Eucalyptus Globulus): Sıtma Ağacı Eucalyptus (*Eucalyptus Globulus*): Malaria Tree. *Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi.*, 19(3-4):189-194.
- Grover, J.K., Yadav, S., Vats, V., 2002. Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. *J Ethnopharmacol.*, 81(1):81-100. Review.
- Gumieniczek, A., Hopkała, H., Wójtowicz, Z., Nikolajuk, J., 2002. Changes in antioxidant status of heart muscle tissue in experimental diabetes in rabbits. *Acta. Biochi. Pol.*, 49(2):529-35.
- Gülçin, I., Büyükokuroglu, M.E., Oktay, M., Küfrevioğlu, O.I., 2003. Antioxidant and analgesic activities of turpentine of *Pinus nigra* Arn. subsp. *pallsiana* (Lamb.) Holmboe. *J Ethnopharmacol.*, 86(1):51-8.
- Hajhashemi, V., Sadraei, H., Ghannadi, A.R., Mohseni, M., 2000. Antispasmodic and anti-diarrhoeal effect of *Satureja hortensis* L. essential oil. *J. Ethnopharmacol.*, 71(1-2):187-92.
- Halliwell, B., 1991. Reactive Oxygen Species in Living Systems: Source, Biochemistry, and Role in Human Disease. *Am. J. Med.*, 91(3C):14S-22S.
- Halliwell, B., 1994. Free Radicals, Antioxidants, and Human Disease: Curiosity, Cause, or Consequence? *Lancet.*, 344(8924):721-4.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1989. Free Radicals in Biology and Medicine. Clarendon Press: Oxford, pp.23-30.
- Hamdan, I.I., Afifi, F.U., 2004. Studies on the in vitro and in vivo hypoglycemic activities of some medicinal plants used in treatment of diabetes in Jordanian traditional medicine. *J Ethnopharmacol.*, 93(1):117-21.
- Hanefeld, M., Temelkova-Kurktschiev, T., 2002. Control of post-prandial hyperglycemia-an essential part of good diabetes treatment and prevention of cardiovascular complications. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.*, 12(2):98-107. Review.
- Hansawasdi, C., Kawabata, J., 2006. Alpha-glucosidase inhibitory effect of mulberry (*Morus alba*) leaves on Caco-2. *Fitoterapia.*, 77(7-8):568-73.

- Hayder, N., Abdelwahed, A., Kilani, S., Ammar, R.B., Mahmoud, A., Ghedira, K., Chekir-Ghedira, L., 2004. Anti-genotoxic and free-radical scavenging activities of extracts from (Tunisian) *Myrtus communis*. *Mutat Res.*, 564(1):89-95.
- Heuberger, E., Hongratanaworakit, T., Böhm, C., Weber, R., Buchbauer, G., 2001. Effects of chiral fragrances on human autonomic nervous system parameters and self-evaluation. *Chem Senses.*, 26(3):281-92.
- Honda, M., Hara, Y., 1993. Inhibition of rat small intestinal sucrase and alpha-glucosidase activities by tea polyphenols. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 57, 123-124.
- Houghton, P.J., Zarka, R., de la Heras, B., Hoult, J.R.S. 1995. Fixed oil of *Nigella sativa* and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation. *Planta Med.*, 61, 33-36.
- Ikegami, F., Sumino, M., Fujii, Y., Akiba, T., Satoh, T., 2006. Pharmacology and toxicology of Bupleurum root-containing Kampo medicines in clinical use. *Hum Exp Toxicol.*, 25(8):481-94. Review.
- Ito, M., Murakami, K., Yoshino, M., 2005. Antioxidant action of eugenol compounds: role of metal ion in the inhibition of lipid peroxidation. *Food Chem Toxicol.*, 43(3):461-6.
- Ivorra, M.D., Payá, M., Villar, A., 1989. A review of natural products and plants as potential antidiabetic drugs. *J Ethnopharmacol.*, 27(3):243-75. Review.
- Jahaniani, F., Ebrahimi, S.A., Rahbar-Roshandel, N., Mahmoudian, M., 2005. Xanthomicrol is the main cytotoxic component of *Dracocephalum kotschyii* and a potential anti-cancer agent. *Phytochemistry.*, 66(13):1581-92.
- Javanmardi, J., Khalighi, A., Kashi, A., Bais, H.P., Vivanco, J.M., 2002. Chemical characterization of basil (*Ocimum basilicum* L.) found in local accessions and used in traditional medicines in Iran. *J Agric Food Chem.*, 50(21):5878-83.
- Johnston, B.D., Ghavami, A., Jensen, M.T., Svensson, B., Pinto, B.M., 2002. Synthesis of selenium analogues of the naturally occurring glycosidase inhibitor salacinol and their evaluation as glycosidase inhibitors. *J Am Chem Soc.*, 124(28):8245-50.
- Jukić, M., Politeo, O., Miloš, M., 2006. Chemical Composition and Antioxidant Effect of Free Volatile Aglycones from Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt.) Compared to Its Essential Oil. *Croatica Chemica Acta.*, 79; No.2: 209 – 21.

- Kabuto, H., Tada, M., Kohno, M., 2007. Eugenol [2-methoxy-4-(2-propenyl)phenol] prevents 6-hydroxydopamine-induced dopamine depression and lipid peroxidation inductivity in mouse striatum. *Biol Pharm Bull.*, 30(3):423-7.
- Katona-Dureković, A., 2007. The role of virus infections in the pathogenesis of type 1 diabetes--a case report. *Med Pregl.*, 60(7-8):397-400.
- Kemper, K.J., Shannon, S., 2007. Complementary and alternative medicine therapies to promote healthy moods. *Pediatr Clin North Am.*, 54(6):901-26. Review.
- Kesavulu, M.M., Gýrý, R., Kameswara, B., 2000. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels in type 2 diabetics with microvascular complications. *Diabetes and Metabolism.*, 26:387-392.
- Kılınc, K., Kılınc, A., 2002. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi.* 33(2):110-118.
- Kim, J.S., Kwon, C.S., Son, K.H., 2000. Inhibition of alpha-glucosidase and amylase by luteolin, a flavonoid. *Biosci Biotechnol Biochem.*, 64(11):2458-61.
- Kim, H.J., Chen, F., Wu, C., Wang, X., Chung, H.Y., Jin, Z., 2004a. Evaluation of antioxidant activity of Australian tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil and its components. *J Agric Food Chem.*, 52(10):2849-54.
- Kim, Y.M., Wang, M.H., Rhee, H.I., 2004b. A novel alpha-glucosidase inhibitor from pine bark. *Carbohydr Res.*, 339(3):715-7.
- Kim, Y.M., Jeong, Y.K., Wang, M.H., Lee, W.Y., Rhee, H.I., 2005a. Inhibitory effect of pine extract on alpha-glucosidase activity and postprandial hyperglycemia. *Nutrition.*, 21(6):756-61.
- Kim, S.S., Son, Y.O., Chun, J.C., Kim, S.E., Chung, G.H., Hwang, K.J., Lee, J.C., 2005b. Antioxidant property of an active component purified from the leaves of paraquat-tolerant *Rehmannia glutinosa*. *Redox Rep.*, 10(6):311-8.
- Kim, J.H., Ryu, Y.B., Kang, N.S., Lee, B.W., Heo, J.S., Jeong, I.Y., Park, K.H., 2006. Glycosidase inhibitory flavonoids from *Sophora flavescens*. *Biol Pharm Bull.*, 29(2):302-5.
- Kotowaroo, M.I., Mahomoodally, M.F., Gurib-Fakim, A., Subratty, A.H., 2006. Screening of traditional antidiabetic medicinal plants of Mauritius for possible alpha-amylase inhibitory effects in vitro. *Phytother Res.*, 20(3):228-31.
- Koudou, J., Abena, A.A., Ngaissona, P., Bessière, J.M., 2005. Chemical composition and pharmacological activity of essential oil of *Canarium schweinfurthii*. *Fitoterapia.*, 76(7-8):700-3.

- Köse, K., Doğan, P., 1992. Lipid Peroksidasyonu. *Erciyes Tıp dergisi.*, Ek sayı:340-350.
- Kunchandy, E., Rao, M.N.A., 1990. Oxygen Radical Scavenging Activity of Curcumin. *Int. J. Pharmacol.*, 58 :237-240.
- Lamaison, J.L., Carnat, A., Petitjean-Freytet, C., 1990. Tannin content and inhibiting activity of elastase in Rosaceae. *Ann Pharm.*, 48(6):335-40.
- Lebovitz, H.E., 2002. Treating hyperglycemia in type 2 diabetes: new goals and strategies. *Cleve Clin J Med.*, 69(10):809-20. Review
- Lebovitz, H.E., 2004. Oral antidiabetic agents: 2004. *Med Clin North Am.*, 88(4):847-63. Review.
- Lee, S.E., Ju, E.M., Kim, J.H., 2001. Free radical scavenging and antioxidant enzyme fortifying activities of extracts from *Smilax china* root. *Exp Mol Med.*, 33(4):263-8.
- Liapis, P., Pass, G.J., McKinnon, R.A., Stupans, I., 2000.Characterisation of tolbutamide hydroxylase activity in the common brushtail possum, (*Trichosurus vulpecula*) and koala (*Phascolarctos cinereus*): inhibition by the eucalyptus terpene 1,8-cineole. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.*, 127(3):351-7.
- Loizzo, M.R., Tundis, R., Menichini, F., Saab, A.M., Statti, G.A., Menichini, F., 2007. Cytotoxic activity of essential oils from labiatae and lauraceae families against in vitro human tumor models. *Anticancer Res.*, 27(5A):3293-9.
- Lu, Y., Hu, Y.L., Kong, X.F., Wang, D.Y., 2007. Selection of component drug in activating blood flow and removing blood stasis of Chinese herbal medicinal formula for dairy cow mastitis by hemorheological method. *J Ethnopharmacol.*, Nov 26
- Magwa, M.L., Gundidza, M., Gweru, N., Humphrey, G., 2006. Chemical composition and biological activities of essential oil from the leaves of *Sesuvium portulacastrum*. *J Ethnopharmacol.*, 103(1):85-9..
- Mahboob, M., Rahman, M.F., Grover, P., 2005. Serum lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels in male and female diabetic patients. *Singapore Med J.*, 46(7):322-4.
- Maritim, A.C., Sanders, R.A., Watkins, J.B., 2003. 3rd.Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J Biochem. Mol. Toxicol.*, 17(1):24-38. Review.
- Masotti, V., Juteau, F., Bessièrè, J.M., Viano, J., 2003. Seasonal and phenological variations of the essential oil from the narrow endemic species *Artemisia molinieri* and its biological activities. *J Agric Food Chem.*, 51(24):7115-21.
- Mayer-Davis, E.J., Costacau, T., 2001. Obesity and sedentary lifestyle:modifiable risk factors for prevention of type 2 diabetes. *Curr. Diab. Rep.*, 1(2):170-6. Review.

- McCue, P., Vattem, D., Shetty, K., 2004. Inhibitory effect of clonal oregano extracts against porcine pancreatic amylase in vitro. *Asia Pac J Clin Nutr.*, 13(4):401-8.
- McCue, P., Kwon, Y.I., Shetty, K., 2005. Anti-diabetic and anti-hypertensive potential of sprouted and solid-state bioprocessed soybean. *Asia Pac J Clin Nutr.*, 14(2):145-52.
- McKay, D.L., Blumberg, J.B., 2006. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). *Phytother Res.*, 20(8):619-33.
- Memişoğulları, R., 2005. Dayabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkileri. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi.*, 3:30-39.
- Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, T.C., 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol Rev.*, 52(4):673-751. Review.
- Moteki, H., Hibasami, H., Yamada, Y., Katsuzaki, H., Imai, K., Komiya, T., 2002. Specific induction of apoptosis by 1,8-cineole in two human leukemia cell lines, but not a in human stomach cancer cell line. *Oncol Rep.*, 9(4):757-60.
- Mudaliar, S., Edelman, S.V., 2001. Insulin therapy in type 2 diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am.*, 30(4):935-82. Review.
- Nakajima, R., Imanaka, T., Aiba, S., 1986. Comparison of amino acid sequences of eleven different α -amylases. *App. Micro. Biotech.*, 23(5):355-360.
- Obame, L.C., Koudou, J., Chalchat, J.C., Bassolé, I., Edou, P., Ouattara, A.S., Traore, A., 2007. Volatile components, antioxidant and antibacterial activities of *Dacryodes buettneri* H. J. Lam. essential oil from Gabon. *Scientific Research and Essay* 2., (11), 491-495.
- Obrosova, I.G., 2005. Increased sorbitol pathway activity generates oxidative stress in tissue sites for diabetic complications. *Antioxid Redox Signal.*, 7(11-12):1543-52. Review.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., 1979. Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. *Anal. Biochem.*, 95:351-358.
- Oğur, R., 1994. Mersin Bitkisi (*Myrtus Communis* L.) Hakkında Bir İnceleme. *Gata Tıp Fakültesi Çevre Dergisi.*, Ocak-Şubat-Mart; Sayı 10.
- Onat, T., Emerk, K., 1998. Temel Biyokimya, Radikal Kavramı ve Oksijen Radikalleri. Saray Medikal Yayıncılık, 2. Baskı C.2, pp.520-528.
- Özcan, M., Chalchat, J.C., 2005. Effect of different locations on the chemical composition of essential oils of laurel (*Laurus nobilis* L.) leaves growing wild in Turkey. *J Med Food. Fall.*, 8(3):408-11.

- Pagula, P.F., Baser, K.H.C., Kürkçüoğlu, M., 2000. Essential oil composition of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. from Mozambique. *J. Essent. Oil Res.* 12: 333–335.
- Parejo, I., Viladomat, F., Bastida, J., Rosas-Romero, A., Flerlage, N., Burillo, J., Codina, C., 2002. Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled mediterranean herbs and aromatic plants. *J Agric Food Chem.*, 50(23):6882-90.
- Park, M.J., Gwak, K.S., Yang, I., Choi, W.S., Jo, H.J., Chang, J.W., Jeung, E.B., Choi, I.G., 2007. Antifungal activities of the essential oils in *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. Et Perry and *Leptospermum petersonii* Bailey and their constituents against various dermatophytes. *J Microbiol.*, 45(5):460-5.
- Peerapatdit, T., Likidlilid, A., Patchanans, N., Somkasetrin, A., 2006a. Antioxidant status and lipid peroxidation end products in patients of type 1 diabetes mellitus. *J Med Assoc Thai.*, 89 Suppl 5:S141-6.
- Peerapatdit, T., Patchanans, N., Likidlilid, A., Poldee, S., Sriratanasathavorn, C., 2006b. Plasma lipid peroxidation and antioxidant nutrients in type 2 diabetic patients. *J Med Assoc Thai.*, 89 Suppl 5:S147-55.
- Pekkarinen, S.S., Stöckmann, H., Schwarz, K., Heinonen, I.M., Hopia, A.I., 1999. Antioxidant activity and partitioning of phenolic acids in bulk and emulsified methyl linoleate. *J Agric Food Chem.*, 47(8):3036-43.
- Perez, C., 2003. Clinical aromatherapy. Part I: An introduction into nursing practice. *Clin J Oncol Nurs.*, 7(5):595-6.
- Pichette, A., Larouche, P.L., Lebrun, M., Legault, J., 2006. Composition and antibacterial activity of *Abies balsamea* essential oil. *Phytother Res.*, 20(5):371-3.
- Pietta, P.G., 2000. Flavonoids as Antioxidant. *J. Nat. Prod.*, 63, 1035-1042
- Pop-Busui, R., Sima, A., Stevens, M., 2006. Diabetic neuropathy and oxidative stress. *Diabetes Metab Res Rev.*, 22(4):257-73. Review.
- Prashanth, D., Padmaja, R., Samiulla, D.S., 2001. Effect of certain plant extracts on alpha-amylase activity. *Fitoterapia.*, 72(2):179-81.
- 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.*, 269(2):337-41.

- Pushparaj, P., Tan, C.H., Tan, B.K., 2000. Effects of *Averrhoa bilimbi* leaf extract on blood glucose and lipids in streptozotocin-diabetic rats. *J Ethnopharmacol.*, 72(1-2):69-76.
- Pyun, M.S, Shin, S., 2006. Antifungal effects of the volatile oils from *Allium* plants against *Trichophyton* species and synergism of the oils with ketoconazole. *Phytomedicine.*, 13(6):394-400.
- Quinn, L., 2001. Type 2 diabetes: epidemiology, pathophysiology, and diagnosis. *Nurs. Clin. North. Am.*, 36(2):175-92, v. Review
- Ramos, A., Visozo, A., Piloto, J., García, A., Rodríguez, C.A., Rivero, R., 2003. Screening of antimutagenicity via antioxidant activity in Cuban medicinal plants. *J Ethnopharmacol.*, 87(2-3):241-6.
- Ramsewak, R.S., Nair, M.G., Stommel, M., Selanders, L., 2003. In vitro antagonistic activity of monoterpenes and their mixtures against 'toe nail fungus' pathogens. *Phytother Res.*, 17(4):376-9.
- Rasooli, I., Owlia, P., 2005. Chemoprevention by thyme oils of *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin production. *Phytochemistry.*, 66(24):2851-6.
- Rice-Avans, C.A., Miller, N.J., Bolwell, P.G., Bramley, P.M., Pridham, J.B.- 1995. the relative antioxidant activities of plant-derived polyphenol flavonoids. *Free Radical Research.*, 22 (4): 375-383.
- Robak, J., Gryglewski, R.J., 1988. Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochem. Pharmacol.*, 37: 837-41.
- Rolo, A.P., Palmeira, C.M., 2006. Diabetes and mitochondrial function: role of hyperglycemia and oxidative stress. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 212(2):167-78. Review.
- 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.*, 10, 1003-1008.
- Russell, M., Southwell, I., 2002. Monoterpenoid accumulation in *Melaleuca alternifolia* seedlings. *Phytochemistry.*, 59(7):709-16.
- Sangwan, N., S., Farooqi, A.H.A., Shabih, F., Sangwan, R.S., 2001. Regulation of essential oil production in plants. *Plant growth Regul.*, 34:3-
- Santos, F.A., Silva, R.M., Campos, A.R., De Araújo, R.P., Lima Júnior, R.C., Rao, V.S., 2004. 1,8-cineole (eucalyptol), a monoterpene oxide attenuates the colonic damage in rats on acute TNBS-colitis. *Food Chem Toxicol.*, 42(4):579-84.

- Santos, F.A., Rao, V.S., 2000. Antiinflammatory and antinociceptive effects of 1,8-cineole a terpenoid oxide present in many plant essential oils. *Phytother Res.*, 14(4):240-4.
- Saucier, C.T., Waterhouse, A.L., 1999. Synergetic activity of catechin and other antioxidants. *J Agric Food Chem.*, 47(11):4491-4
- Sayyah, M., Valizadeh, J., Kamalinejad, M., 2002. Anticonvulsant activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* against pentylenetetrazole- and maximal electroshock-induced seizures. *Phytomedicine.*, 9(3):212-6.
- Shim, Y.J., Doo, H.K., Ahn, S.Y., Kim, Y.S., Seong, J.K., Park, I.S., Min, B.H., 2003. Inhibitory effect of aqueous extract from the gall of *Rhus chinensis* on alpha-glucosidase activity and postprandial blood glucose. *J Ethnopharmacol.*, 85(2-3):283-7.
- Shyamala, B.N., Naidu, M.M., Sulochanamma, G., Srinivas, P., 2007. Studies on the antioxidant activities of natural vanilla extract and its constituent compounds through in vitro models. *J Agric Food Chem.*, 55(19):7738-43.
- Simić, A., Soković, M.D., Ristić, M., Grujić-Jovanović, S., Vukojević, J., Marin, P.D., 2004. The chemical composition of some Lauraceae essential oils and their antifungal activities. *Phytother Res.*, 18(9):713-7.
- Singab, A.N.B., El-Beshbishy, H., Yonekawa, M., Nomura, T., Fukai, T., 2005. Hypoglycemic effect of Egyptian *Morus alba* root bark extract: Effect on diabetes and lipid peroxidation of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacology.*, 100:333-338
- Singh, G., Marimuthu, P., de Heluani, C.S., Catalan, C.A., 2006. Antioxidant and biocidal activities of *Carum nigrum* (seed) essential oil, oleoresin, and their selected components. *J Agric Food Chem.*, 54(1):174-81
- Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hras, A.R., Simonic, M., Knez, Z. 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food-chemistry.*, 89(2): 191-198.
- Sotomayor, J.A., Martínez, R.M., García, A.J., Jordán, M.J., 2004. *Thymus zygis* subsp. *Gracilis*: watering level effect on phytomass production and essential oil quality. *J Agric Food Chem.*, 52(17):5418-24.
- Soylu, E.M., Soyly, S., Kurt, S., 2006. Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora infestans*. *Mycopathologia.*, 161(2):119-28.

- Taga, M.S., Miller, E.E., Pratt, D.E., 1984. Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 61:928-931.
- Tai, K.W., Huang, F.M., Huang, M.S., Chang, Y.C., 2002. Assessment of the genotoxicity of resin and zinc-oxide eugenol-based root canal sealers using an in vitro mammalian test system. *J Biomed Mater Res.*, 59(1):73-7.
- Tanker, M., ve Tanker, N., 2003. Farmokoloji. Ankara Üniversitesi Eczacılık fakültesi yayınlar, Cilt 2. No:65: pp. 296-297.
- Teixeira, V.L., Rocha, F.D., Houghton, P.J., Kaplan, M.A., Pereira, R.C., 2007. Alpha-amylase inhibitors from Brazilian seaweeds and their hypoglycemic potential. *Fitoterapia.*, 78(1):35-6.
- Telci, A., Cakatay, U., Kayali, R., Erdoğan, C., Orhan, Y., Sivas, A., Akçay, T., 2000. Oxidative protein damage in plasma of type 2 diabetic patients. *Horm Metab Res.*, 32(1):40-3.
- Traboulsi, A.F., Taoubi, K., el-Haj, S., Bessiere, J.M., Rammal, S., 2002. Insecticidal properties of essential plant oils against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). *Pest Manag Sci.*, 58(5):491-5.
- Tundis, R., Loizzo, M.R., Statti, G.A., Menichini, F., 2007. Inhibitory effects on the digestive enzyme alpha-amylase of three *Salsola* species (Chenopodiaceae) in vitro. *Pharmazie.*, 62(6):473-5.
- Van Der Werf, M.J., 2000. Purification and characterization of a Baeyer-Villiger monooxygenase from *Rhodococcus erythropolis* DCL 14 involved in three different monocyclic monoterpene degradation pathways. *Biochem L.*, 347 Pt 3: 693-701
- Vardar-Unlü, G., Candan, F., Sökmen, A., Daferera, D., Polissiou, M., Sökmen, M., Dönmez, E., Tepe, B., 2003. Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. et Mey. Var. *pectinatus* (Lamiaceae). *J Agric Food Chem.*, 51(1):63-7.
- Wanasundara, U.N., Shahidi, F., 1998. Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extract in marine oils. *Food Chem.* 63:335-342.
- Wansi, J.D., Lallemand, M.C., Chiozem, D.D., Toze, F.A., Mbaze, L.M., Naharkhan, S., Iqbal, M.C., Tillequin, F., Wandji, J., Fomum, Z.T., 2007. alpha-Glucosidase inhibitory constituents from stem bark of *Terminalia superba* (Combretaceae). *Phytochemistry.*, 68(15):2096-100.
- Wei, A., Shibamoto, T., 2007. Antioxidant activities and volatile constituents of various essential oils. *J Agric Food Chem.*, 55(5):1737-42.

- WHO., 2002. Traditional medicine. Executive Board. 111th Session Provisional agenda item 5.7. World Health Organization. Report by the Secretariat. (EB111/9, 12 Aralık)
- Wie, M.B., Won, M.H., Lee, K.H., Shin, J.H., Lee, J.C., Suh, H.W., Song, D.K., Kim, Y.H., 1997. Eugenol protects neuronal cells from excitotoxic and oxidative injury in primary cortical cultures. *Neurosci Lett.* Apr 4;225(2):93-6.
- Willett, K.L., Roth, R.A., Walker, L., 2004. Workshop overview: Hepatotoxicity assessment for botanical dietary supplements. *Toxicol Sci.*, 79(1):4-9.
- www.sigma.aldrich.com
- Yadav, S., Parakh, A., 2006. Insulin therapy. *Indian Pediatr.*, 43(10):863-72. Review.
- Yadegarinia, D., Gachkar, L., Rezaei, M.B., Taghizadeh, M., Astaneh, S.A., Rasooli, I., 2006. Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. *Phytochemistry.*, 67(12):1249-55.
- Yoon, S.H., Robyt, J.F., 2003. Study of the inhibition of four alpha amylases by acarbose and its 4IV-alpha-maltohexaosyl and 4IV-alpha-maltododecaosyl analogues. *Carbohydr Res.*, 338(19):1969-80.
- Zhang, X., 2002. WHO Traditional Medicine Strategy 2002-2005. World Health Organization: Geneva, Switzerland.
- Zheng, W., Wang, S.Y., 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J Agric Food Chem.*, 49(11):5165-70.
- Zhou, F., Ji, B., Zhang, H., Jiang, H., Yang, Z., Li, J., Li, J., Ren, Y., Yan, W., 2007. Synergistic effect of thymol and carvacrol combined with chelators and organic acids against Salmonella Typhimurium. *J Food Prot.*, 70(7):1704-9.
- Zimmet, P., Alberti, K.G., Shaw, J., 2001. Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature.*, 414(6865):782-7. Review.
- Zunino, M.P., Zygadlo, J.A., 2004. Effect of monoterpenes on lipid oxidation in maize. *Planta.*, 219(2):303-9.

6. ÖZGEÇMİŞ

21.02.1979'da Sivas'ta doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Sivas'ta tamamladı. 1997 yılında Cumhuriyet Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'ne kaydoldu ve 2001 yılında mezun oldu. Aynı yıl Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalında yüksek lisans başlandı. 2003 yılında yüksek lisans programından mezun oldu ve aynı yıl, Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalında doktora programına başladı.

Halen Cumhuriyet Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Biyokimya Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmakta olup evlidir.