

ERZİNCAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ziziphora Clinopodioides Lam. BİTKİSİNİN FARKLI
EKSTRELERDE FENOLİK İÇERİĞİ VE ANTİOKSİDAN
AKTİVİTE ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ VE
ESANSİYEL YAĞ BİLEŞENLERİNİN BELİRLENMESİ

Ertuğrul CEYRAN

Danışman: Doç. Dr. Ekrem KÖKSAL

KİMYA ANABİLİM DALI

ERZİNCAN

2017

Her Hakkı Saklıdır.

Kabul ve Onay Sayfası

Doç. Dr. Ekrem KÖKSAL danışmanlığında, Ertuğrul CEYRAN tarafından hazırlanan bu çalışma 29.06.2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından KİMYA Anabilim Dalı Kimya Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul oybirliği/oy çokluğu (3/3) ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Ö. İrfan KÜFREYOĞLU

İmza: 

Danışman : Doç. Dr. Ekrem KÖKSAL

İmza: 

Üye : Yrd. Doç. Dr. Ahmet ALTAY

İmza: 

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulunun 04/07/2017 tarih ve 21/...3..... nolu kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Paşa YALÇIN
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, şekil, ve tabloların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

Bilimsel Etiğe Uygunluk Sayfası

“*Ziziphora Clinopodioides* Lam. BİTKİSİNİN FARKLI EKSTRELERDE FENOLİK İÇERİĞİ VE ANTIOKSİDAN AKTİVİTE ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ VE ESANSİYEL YAĞ BİLEŞENLERİNİN BELİRLENMESİ” isimli “Yüksek Lisans” tezim tarafımda intihal tespit programı ile incelenmiştir. Buna göre tezimde bilimsel etik ihlali ve intihal olarak nitelendirilebilecek herhangi bir durum olmadığını taahhüt ederim.

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir biçimde elde edildiğini; aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi beyan ederim. 04/07/2017

Ertuğrul CEYRAN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

***Ziziphora Clinopodioides* Lam. BİTKİSİNİN FARKLI EKSTRELERDE FENOLİK İÇERİĞİ VE ANTIOKSİDAN AKTİVİTE ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ VE ESANSİYEL YAĞ BİLEŞENLERİNİN BELİRLENMESİ**

Ertuğrul CEYRAN

Erzincan Üniversitesi
Fen Edebiyat Fakültesi
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ekrem KÖKSAL

Bu çalışmada, *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisinin antioksidan aktivitesi, fenolik içeriği ve esansiyel yağ profil değerlerinin incelenmesi amaçlanmıştır. *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisi Erzincan ili, Ergan Dağının 1740 m yüksekliğindeki eteklerinden toplandı ve güneşsiz bir ortamda kurutuldu. Ekstrelerin antioksidan aktiviteleri, sırasıyla DPPH• serbest radikalini giderme, ABTS⁺ radikalini giderme ve metal iyonlarını şelatlama kapasitelerine göre değerlendirildi. Ekstrelerin toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları sırasıyla folin ciocalteu ve alüminyum klorür kolorimetri metodlarıyla belirlendi. Ekstrelerin fenolik içerikleri ise ters faz HPLC sistemi ile 19 adet standart kullanılarak oluşturulan standart kromatogram ile belirlendi. Ayrıca, hekzan ekstresi ile, bitkinin esansiyel yağ profili belirlendi.

Ziziphora Clinopodioides Lam. bitkisinden elde edilen farklı ekstrelerle yapılan antioksidan aktivite testlerinde yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu görüldü. DPPH• ve ABTS⁺ radikallerini giderme ve metal şelatlama kapasite testlerinde en yüksek aktivite metanol ekstresinde gözlemlendi. Antioksidan sonuçlara paralel olarak en yüksek fenolik ve flavonoid içerik yine metanol ekstresinde gözlemlendi. Yapılan HPLC analizi sonucunda *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisinin yapısında bol miktarda Rosmarinik asit, t-Ferulik asit, Pirogallol, Vanilin tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra eser miktarlarda 6 farklı yapı da miktarlarıyla birlikte tespit edilmiştir. Ayrıca *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisinin hekzan ekstresinde yapılan GC-MS analizi ile en bol yapıların linolenik asit (%30,44), ökaliptol (%17,73), lineloik asit (%9,96) ve isopulegon (%8,99) olduğu tespit edilmiştir.

2017, 107 sayfa

Anahtar Kelimeler: Antioksidan Aktivite, Esansiyel Yağ İçeriği, GC-MS, HPLC, *Ziziphora Clinopodioides* Lam.

ABSTRACT

Master Thesis

INVESTIGATION OF PHENOLIC CONTENT, ESSENTIAL OIL COMPONENTS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF DIFFERENT EXTRACTS OF *Ziziphora Clinopodioides* Lam

Ertuğrul CEYRAN

Erzincan University
Faculty of Sciences and Arts
Department of Chemistry

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ekrem KÖKSAL

In this study, it was aimed to examine the antioxidant activity, phenolic content and essential oil profile values of the plant *Ziziphora clinopodioides* Lam. For his purpose, the plant material was collected from the foothills of Ergan Mountain, Erzincan province at 1740 m height and dried in a dark room. After dry plants were ground to fine powder, their extractions were performed by hexane, ethylacetate, methanol and water solvents, respectively. The antioxidant capacities of the extracts were evaluated by DPPH· free radical scavenging activity, ABTS⁺ radical scavenging activity and metal chelating activity tests, respectively. Total phenolic and flavonoid amounts of the extracts were determined by Folin-Ciocalteu and Aluminium Chloride colorimetric methods, respectively. Phenolic contents of the extracts were identified and quantified by Reversed Phase-High Performance Chromatography (RP-HPLC). In addition, the essential oil profile of the plant was determined with hexane extract.

In the antioxidant activity assays performed with different extracts from *Ziziphora clinopodioides* Lam, it was observed that the plant have a noteworthy antioxidant activity. In DPPH· and ABTS⁺ radical scavenging and metal chelating activity tests, methanol extract showed the highest activity in all extracts. In parallel with antioxidant results, the highest phenolic and flavonoid content was observed in methanol extract. As a result of the HPLC analysis, rosmarinic acid, t-ferulic acid, pyrogallol, vaniline were found in abundance in the structure of the plant. Moreover, trace amounts of 6 different phenolic compounds were identified and quantified. As a result of GC-MS analysis, it was determined that the most abundant oils in the plant were linolenic acid (30.44%), eucaliptol (17.73%), lineloic acid (9.96%) and isopulegon (8.99%), respectively.

2017, 107 pages

Keywords: Antioxidant activity, Essential Oil Component, GC-MS, HPLC, *Ziziphora Clinopodioides* Lam.

TEŞEKKÜR

Yapmış olduğum bu çalışmada bana her türlü desteği sağlayan, maddi manevi ilgi ve yardımlarını esirgemeyen, değerli hocam Sayın Doç. Dr. Ekrem KÖKSAL'a, maddi manevi yardımlarını esirgemeyen Kimya bölümü öğretim üyelerinden Sayın Yrd. Doç. Dr. Ahmet ALTAY'a, Kimya bölümü öğretim üyelerinden Sayın Yrd. Doç. Dr. Hatice TOHMA'ya ve Biyoloji bölümü öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Ali KANDEMİR'e teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca laboratuvar çalışmalarımızda vermiş olduğu tüm desteklerden dolayı arkadaşım Yakup ULUTAŞ'a, arkadaşım Ahmet ÖNDER'e, Erzincan Üniversitesi Temel Bilimler Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarındaki iş arkadaşlarıma minnet ve şükranlarımı sunarım.

Üzerimde büyük emeğe sahip olan sevgili aileme yapmış oldukları tüm fedakârlıklarından dolayı minnettarım.

Çalışmamın her aşamasında yanımda olan, sabır ve desteğini eksik etmeyen sevgili eşime her türlü desteğinden dolayı minnettarım.

Ertuğrul CEYRAN
Haziran, 2017

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
TABLolar LİSTESİ.....	xi
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	xii
1.GİRİŞ	1
2.KAYNAK ÖZETLERİ.....	2
2.1.Serbest Radikaller	2
2.2. Antioksidanlar.....	12
2.2.1.Enzimatik antioksidanlar	13
2.2.1.1.Süperoksit Dismutaz	13
2.2.1.2.Katalaz.....	14
2.2.1.3.Glutasyon Peroksidaz	14
2.2.2.Non-enzimatik Antioksidanlar	18
2.2.2.1.Vitamin A.....	18
2.2.2.2.Vitamin C	20
2.2.2.3.Vitamin E	22
2.2.2.4. Karotenler.....	24
2.2.2.5. Likopen	27
2.2.2.6. Koenzim Q10	29
2.2.2.7.Polifenoller.....	30

2.3. Lipitler	46
2.3.1. Yağ Asitleri	47
2.3.2. Nötral yağlar	49
2.3.3. Fosfolipitler	50
2.3.4. Glikolipitler	51
2.3.5. Mumlar	51
2.3.6. Steroidler	52
2.3.7. Terpenler	54
2.4. Esansiyel Yağlar	55
2.4.1. Yağ Asitleri	56
2.4.2. Terpen Türevleri	56
2.4.3. Fenilpropanoidler	57
2.4.4. Sülfürlü ve Azotlu Bileşikler	57
2.4.5. Esansiyel Yağların Biyolojik Fonksiyonları	58
2.5. Ziziphora Clinopodioides Lam. Bitkisi	58
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	61
3.1. Materyal	61
3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler	61
3.1.2. Yararlanılan malzeme, alet ve cihazlar	62
3.1.3. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanması	63
3.1.3.1. Toplam fenolik miktarı tayini	63
3.1.3.2. Toplam flavonoid tayini	63
3.1.3.3. DPPH* radikal giderme aktivitesi	63
3.1.3.4. ABTS ⁺ radikal giderme aktivitesi	64
3.1.3.5. Metal şelatlama kapasite tayini	64
3.2. Yöntem.....	64

3.2.1. <i>Ziziphora Clinopodioides</i> Lam. bitkisinin toplanması ve kurutulması	64
3.2.2. <i>Ziziphora Clinopodioides</i> Lam. bitkisinin metanol, etilasetat, su ve hekzan ekstralarının hazırlanması.....	65
3.2.3. Antioksidan Aktivite Tayin Metotları	65
3.2.3.1. Toplam fenolik miktarı tayini	65
3.2.3.2. Toplam flavonoid miktarı tayini	66
3.2.3.3. DPPH• radikalini giderme aktivitesi tayini	66
3.2.3.4. ABTS ⁺ radikal giderme aktivitesi tayini	66
3.2.3.5. Metal şelatlama kapasite tayini	67
3.2.4. <i>Ziziphora Clinopodioides</i> Lam. Bitkisinin Farklı Ekstrelerde Fenolik İçeriğinin HPLC ile belirlenmesi	67
3.2.5. <i>Ziziphora Clinopodioides</i> Lam. Bitkisinin Hekzan Ekstresinde Esansiyel Yağ Profilini GC-MS ile belirlenmesi.....	68
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	70
4.1. <i>Ziziphora Clinopodioides</i> Lam. Bitkisinin Antioksidan Aktivite Araştırma Bulguları.....	70
4.1.1. Toplam fenolik miktarı bulguları.....	70
4.1.2. Toplam flavonoit miktarı bulguları.....	71
4.1.3. DPPH• radikal giderme aktivitesi bulguları.....	72
4.1.4. ABTS ⁺ radikal giderme aktivitesi bulguları.....	74
4.1.5. Metal şelatlama kapasite tayini bulguları.....	75
4.2. <i>Ziziphora Clinopodioides</i> Lam. Bitkisinin HPLC Analiz Bulguları	76
4.3. <i>Ziziphora Clinopodioides</i> Lam. Bitkisinin GC-MS Analiz Bulguları	83
5. SONUÇ ve TARTIŞMA	86
KAYNAKLAR	92
ÖZGEÇMİŞ	108

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Serbest radikal ve reaktiflerin oluşumu	7
Şekil 2.2. Otooksidasyon basamakları	9
Şekil 2.3. Araşidonik asidin otooksidasyonu mekanizması	10
Şekil 2.4. Antioksidanların yapılarına göre sınıflandırılması	13
Şekil 2.5. Glutasyon peroksidaz-glutasyon redüktaz enzim sistemi	15
Şekil 2.6. Glutasyon kompleksinin oluşumu, antioksidan aktivitesi ve rejenerasyonu	17
Şekil 2.7. (a) 13-cis-retinoik asit, (b) 13-cis-retinol, (c) 13-cis-retinal	18
Şekil 2.8. β -karotenin yapısı ve biyodönüşümleri.....	19
Şekil 2.9. Askorbik asitin moleküler yapısı	20
Şekil 2.10. Askorbik asitin biyosentezi.....	21
Şekil 2.11. Askorbik asitin indirgenme – yükseltgenme mekanizmaları.....	21
Şekil 2.12. Doğal bir antioksidan olan tokoferollerin moleküler yapıları.....	22
Şekil 2.13. α -Tokoferolün lipit serbest radikallerini söndürdükten sonra tokoferoksil radikale dönüşmesi ve tekrar C vitamini tarafından rejenere edilmesi	23
Şekil 2.14. α -tokoferolün pro-oksidan aktivitesi.....	24
Şekil 2.15. Karotenoidlerin radikal aktivitesini önleme yolları	25
Şekil 2.16. Oksijen konsantrasyonu ile karotenoidin antioksidan etkisi arasındaki ilişki	26
Şekil 2.17. Likopenin yapısı	28
Şekil 2.18. Koenzim Q10 (Ubikinon 10) 'in yapısı	29
Şekil 2.19. Ubikinon (1.), Semikinon (2.), Ubikinol (3.) dönüşümleri	29
Şekil 2.20. Basit fenol yapısı ve pozisyonları	30
Şekil 2.21. Fenollerin rezonans kararlılığı	31
Şekil 2.22. Polifenollerin sınıflandırılması	32

Şekil 2.23. İkincil metabolitlerin oluşumu.....	34
Şekil 2.24. Fenil Benzopiran.....	35
Şekil 2.25. Kalkonlar (a) ve Dihidrokalonlar (b).....	35
Şekil 2.26. Bütein (a) ve Floridzin (b)'in yapıları.....	36
Şekil 2.27. Auron'un yapısı.....	36
Şekil 2.28. Apigenin (a), Luteolin (b), Krisin (c).....	37
Şekil 2.29. Kaemferol (a) , Quercetin (b) ,Myricetin (c) yapıları.....	37
Şekil 2.30. Daidzein (a), Genistein (b) ve Daidzin (c) yapıları.....	38
Şekil 2.31. Kateşin (a), Epikateşin (b), Epigallokateşin (c).....	38
Şekil 2.32. Kateşin gallat (a), Epikateşin gallat (b), Epigallokateşin gallat (c).....	39
Şekil 2.33. Eriodiktol (a), Naringenin (b), Hesperetin (c), Naringin (d), Hesperidin (e).....	39
Şekil 2.34. Pelargonidin (a), Siyanidin (b), Delphinidin (c).....	40
Şekil 2.35. Fenolik asitlerin esterleşme reaksiyonları ile yeni yapıların oluşumu.....	42
Şekil 2.36. trans/cis resveratrol türevleri (a-b) ve trans/cis-resveratrol-3-O-glukozitleri (c-d).....	43
Şekil 2.37. p-kumaril alkol (a), koniferil alkol (b) ve sinapil alkol (c) yapıları.....	43
Şekil 2.38. p-kumaril alkolün radikal elektronu delokalizasyonu.....	44
Şekil 2.39. Koniferaldehid (a), Sinapaldehid (b), Dihidrokoniferil Alkol (c), 5-Hidroksikoniferil Alkol (d), Tiramın Ferulat (e), p-Hidroksi-3-Metiloksibenzaldehit (f), p-Hidroksibenzoat (g).....	45
Şekil 2.40. Meşe ağacına ait lignin için muhtemel bir lignin polimer modeli.....	46
Şekil 2.41. Lipitlerin sınıflandırılması.....	47
Şekil 2.42. Yağ asiti yapısı.....	47
Şekil 2.43. Doymuş ve doymamış yağ asitleri.....	48
Şekil 2.44. Doymuş ve doymamış yağ asitlerinin konformasyonu. (a) Doymuş, (b) Cis-çift bağ, (c) Trans-çift bağ.....	49

Şekil 2.45. Nötral yağların oluşum reaksiyonları.....	50
Şekil 2.46. Fosfatidiletanolamin yapısı.....	51
Şekil 2.47. Glukosilserebrosit (a) ve Galaktosilserebrosit (b) yapıları	51
Şekil 2.48. Steroid çekirdek yapısı.....	52
Şekil 2.49. Kolesterol' ün yapısı	53
Şekil 2.50. Kolesterolün hücre membranındaki fosfolipitlerle yaptığı lokalizasyon	53
Şekil 2.51. Kolik asitin yapısı	53
Şekil 2.52. Steroid hormonları; testosteron, oestrojen ve progesteron	54
Şekil 2.53. Skualen'in yapısı.....	54
Şekil 2.54. İsoptenildifosfat ve izomeri dimetil allildifosfat yapıları.....	57
Şekil 2.55. Estragol ve Metil Eugenol'ün yapıları	57
Şekil 2.56. <i>Ziziphora clinopodioides</i> Lam.	59
Şekil 2.57. <i>Ziziphora clinopodioides</i> Lam. türünün Türkiye'deki yayılış alanları	59
Şekil 3.1. Triaçilgliserollerin esterifikasyonu	69
Şekil 4.1. Standart fenolik bileşik olarak kullanılan Gallik asit	70
Şekil 4.2. Gallik asit standart eğrisi	70
Şekil 4.3. Standart flavonoid olarak kullanılan Kuersetin'in açık yapısı.....	71
Şekil 4.4. Kuersetin standart eğrisi	72
Şekil 4.5. Trolox'un açık yapısı	72
Şekil 4.6. Bir antioksidan tarafından DPPH radikalinin giderilmesi	73
Şekil 4.7. Trolox ve ekstraların grafiksel kıyaslaması	73
Şekil 4.8. ABTS ^{•+} radikalinin antioksidan yapılar tarafından nonreaktif hale getirilmesi	74
Şekil 4.9. Trolox ve ekstraların grafiksel kıyaslaması	75
Şekil 4.10. Etilen Diamin Tetraasetik Asit 'in açık yapısı ve metal şelatlama aktivitesi	76

Şekil 4.11. Standart Kromatogram.....	77
Şekil 4.12. <i>Ziziphora Clinopodioides</i> Lam. bitkisinin metanol ekstresi kromatogramı	78
Şekil 4.13. <i>Ziziphora Clinopodioides</i> Lam. bitkisinin su ekstresi kromatogramı.....	79
Şekil 4.14. <i>Ziziphora Clinopodioides</i> Lam. bitkisinin etilasetat ekstresi kromatogramı	80
Şekil 4.15. <i>Ziziphora Clinopodioides</i> Lam. bitkisinin hekzan ekstresinin GC-MS kromatogramı	83
Şekil 4.16. <i>Ziziphora Clinopodioides</i> Lam. bitkisinin hekzan ekstresi içerisinde en bol bulunan yapılar.....	83

TABLULAR LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 2.1. Serbest radikal kaynakları.....	3
Tablo 2.2. Reaktif Oksijen ve Azot türleri.....	5
Tablo 2.3. Sinamik asit ve benzoik asit türevi fenolik asitler	41
Tablo 3.1. HPLC Analizi için kullanılan kimyasallar	61
Tablo 3.2. GC-MS Analizi için kullanılan kimyasallar	61
Tablo 3.3. Antioksidan aktivite analizlerinde kullanılan kimyasallar	61
Tablo 3.4. Kullanılan cihaz ve malzemeler.....	62
Tablo 4.1. <i>Ziziphora Clinopodioides</i> Lam. bitkisinin metanol, su ve etilasetat ekstralarının toplam fenolik bileşik miktarı	71
Tablo 4.2. <i>Ziziphora Clinopodioides</i> Lam. bitkisinin metanol, su ve etilasetat ekstralarının toplam flavonoid bileşik miktarı	72
Tablo 4.3. <i>Ziziphora Clinopodioides</i> Lam. bitkisinin metanol, su ve etilasetat ekstraları ve Trolox'un radikal süpürme kapasiteleri.....	74
Tablo 4.4. <i>Ziziphora Clinopodioides</i> Lam. bitkisinin su, metanol ve etilasetat ekstraları ve Trolox'un radikal süpürme kapasiteleri.....	75
Tablo 4.5. <i>Ziziphora Clinopodioides</i> Lam. bitkisinin su, metanol ve etilasetat ekstraları ve EDTA'nın metalşelatlama kapasiteleri	76
Tablo 4.6. <i>Ziziphora Clinopodioides</i> Lam. bitkisinin metanol ekstresinin HPLC sonucu	81
Tablo 4.7. <i>Ziziphora Clinopodioides</i> Lam. bitkisinin su ekstresinin HPLC sonucu .	82
Tablo 4.8. <i>Ziziphora Clinopodioides</i> Lam. bitkisinin etilasetat ekstresinin HPLC sonucu	82
Tablo 4.9. <i>Ziziphora Clinopodioides</i> Lam. bitkisinin esansiyel yağ profili	84

SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

<i>ABTS</i> ⁺	2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit) radikali
<i>ATP</i>	Adenozin trifosfat
<i>CAR</i>	Karotenoid
<i>CAT</i>	Katalaz
<i>DMAPP</i>	Dimetil Allildifosfat
<i>DNA</i>	Deoksiribonükleik asit
<i>DPPH</i> [•]	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikali
<i>FADH</i> ₂	İndirgenmiş flavin adenin dinükleotit
<i>GSH</i>	Glutatyon
<i>GSSG</i>	Okside Glutatyon
<i>GSSG-Rx</i>	Glutatyon Redüktaz
<i>İPP</i>	İsopentenildifosfat
<i>L</i> [•]	Yağ Asiti Radikali
<i>MAD</i>	Malondialdehit
<i>NADH</i>	İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit
<i>NADPH</i>	İndirgenmiş nikotinamid adenin Dinükleotit Fosfat
<i>NO</i> [•]	Nitrik Oksit radikali
<i>O</i> ₂ [•]	Süper oksit radikali
<i>OH</i> [•]	Hidroksi Radikali
<i>ONOO</i> [•]	Peroksinitrit
<i>RO</i> [•]	Alkoksi Radikali
<i>ROO</i> [•]	Peroksit Radikali
<i>SH</i>	Sülhidril

Kısaltmalar

ETS	Elektron Transport Zinciri
GAE	Gallik Asit Ekvivalent
POD	Peroksidaz
RA	Romatoit Artrit
RNS	Reaktif Azot Türleri
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SLE	Sistemik Lupus Etrrmotozusta
SOD	Süperoksit Dismutaz
QE	Kuersetin Ekvivalent
Z.E.E.	Ziziphora C. Etilasetat ekstresi
Z.H.E.	Ziziphora C. Hekzan ekstresi
Z.M.E.	Ziziphora C. Metanol ekstresi
Z.S.E.	Ziziphora C. Su ekstresi

1.GİRİŞ

Tıbbi ve aromatik bitkiler asırlardan beri gıda, çeşni ve şifa vermek amacıyla kullanılmaktadır. Bu nedenle kekik, kimyon, haşhaş, anason gibi bazı bitkilerin tarımı tarih öncesi devirlerden beri devam etmektedir. 20. yüzyılın başlarında listelenen ilaçların % 40'ından fazlası bitkisel orijinli olmasına rağmen 1970' li yılların ortasında bu oran % 5' ten daha aşağıya düşmüştür. Ancak özellikle 1990' lı yıllardan sonra, tıbbi ve aromatik bitkilerin yeni kullanım alanlarının bulunması, doğal ürünlere olan talebin artması; bu bitkilerin kullanım hacmini her geçen gün arttırmaktadır (Kumar, 2009).

Bütün bitki metabolizmalarında, ikincil metabolit olarak bulunan ve bitkilerin kendilerini bazı zararlılara karşı korumada rolleri olduğu sanılan çok sayıda farklı nitelik ve miktarlarda fenolik bileşikler bulunmaktadır (Saldamlı, 2007). Bitkilerin ikincil metabolitleri olan polifenollerin bitkilerin normal gelişimine önemli katkıları vardır. Patojenlerin saldırılarına veya ultraviyole ışıklara karşı bitkileri savunurlar (Manach vd., 2004; Kahkönen vd., 1999).

Ziziphora Clinopodioides Lam. bitkisi Türkiye ve Ortadoğu ülkelerinde gıda ve tedavi amaçlı olarak yüzyıllardır kullanılmaktadır. Uygur tıbbında damar sertliğini önleme ve antihipertansif özelliklerinden dolayı sıklıkla kullanılmıştır (Senejoux vd., 2012). Sakinleştirici etkisinin yanı sıra mide ağrısı ve gastrit önleyici, balgam sökücü, enfeksiyonel hastalıklara karşı koruyucu ve gaz gidericidir. Bitkinin toprak üstü kısımları soğuk algınlığı ve öksürüğe karşı tedavi için kullanılmaktadır. Günlük gıda ürünlerinde zengin aroması ile tat verici özelliği de mevcuttur (Branch, 2011).

Ziziphora Clinopodioides Lam. bitkisinin tarihine bakıldığında bir çok medeniyet tarafından ilaç ve gıda olarak kullanıldığı görülmüştür. Bu çalışmamızda *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisinin antioksidan aktivitesi, sahip olduğu fenolik içerik ve esansiyel yağ bileşenleri araştırılmıştır.

2.KAYNAK ÖZETLERİ

2.1.Serbest Radikaller

Oksidasyon canlı organizmalar için çok önemli bir prosestir. Oksijen ise hem yaşamın ve hem de ölümün molekülü olarak bilinmektedir. Oksijen insanların hayatlarını devam ettirebilmeleri için çok önemli bir moleküldür. Oksijen anaeroplara için öldürücü ya da gelişimi durdurucu etkiye sahiptir. Bacteroides fragilis gibi bazı anaeroplara düşük oksijen konsantrasyonunda yaşayabilirlerken Clostridia gibi türler ancak oksijenin hiç olmadığı ortamlarda yaşayabilirler. Oksijenin anaeroplara üzerine zararlı etkisi, anaeroplara önemli hücre bileşenlerinin oksijen ile oksidasyonundan kaynaklanmaktadır. Oksijenin eksik indirgenmesi ayrıca reaktif oksijen türlerinin de (ROS) oluşmasına sebep olmaktadır. Hücreye zarar veren bu reaktif oksijen türleri, antioksidan savunma sistemlerinin yetersiz kaldığı durumlarda hücre ölümüne sebep olmaktadır. Oksijenin bu yükseltgeyici özelliğinden anaeroplara yanısıra aeroplara da zarar görmektedirler. %40'lık oksijen konsantrasyonunda protein agregatları birikimi, proteaz aktivitesi artışı ve yaşlanmada hızlanma görülmüştür (Davies, 2000; Köksal, 2007).

Oksijen insanların hayatlarını devam ettirebilmeleri için çok önemli bir moleküldür. Fakat oksijenin eksik indirgenmesi sonucu hücreye zarar veren reaktif oksijen türleri oluşmaktadır (Davies, 2000).

Moleküller oksijen, iki tane ortaklanmamış elektrona sahiptir ve radikal olmayan maddelerle yavaş diğer serbest radikallerle hızlı tepkime verirler. Oksidasyon reaksiyonları, geçiş metalleri içeren enzimlerin bu geçiş metallerindeki bir elektronu moleküller oksijene vermesiyle gerçekleşmektedir (Gülçin, 2012).

Atom veya moleküllerdeki elektronlar çekirdeğin etrafında orbital olarak tanımlanan bölgelerde hareket ederler. Her orbitalde birbirine zıt yönde hareket eden en fazla iki elektron bulunur. Bir atom veya molekül dış orbitallerinde bir veya daha fazla ortaklanmamış (eşleşmemiş) elektron bulunduruyorsa "serbest radikal" olarak

tanımlanır. Bu tip moleküller, ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktiftirler (Halliwell, 1990).

Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, ömürleri kısa, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olarak bilinir. Kadmiyum ve kurşun gibi bazı çevre kirleticilerine uzun süre maruz kalmak oksidatif strese sebep olabilir ki bu, biyolojik sistemlerde istenmeyen bir durumdur (Abdollahi vd., 2003).

Metabolizmadaki serbest radikallerin en büyük kaynağı reaktif oksijen türleridir. Reaktif oksijen türlerinin oluşum kaynakları elektron transport sistemi, bazı enzimatik reaksiyonlar, oksidasyon reaksiyonları gibi metabolik proseslerden, UV ışınları, radyasyon, ilaç yan etkileri, sigara, yanlış beslenme ve kanserojen maddeler en önemli dış kaynaklarıdır. Bunlar serbest radikallerin endojen ve ekzojen kaynakları olarak bilinir (Aksoy, 2002).

Tablo 2.1. Serbest radikal kaynakları

Endojen Kaynaklar	Ekzojen Kaynaklar
Mitokondrial elektron transport zinciri	Diyet faktörleri
Redoks reaksiyonları	Sigara dumanı
Fagositik ve endotelyal hücrelerdeki oksidatif reaksiyonlar	Zararlı ışınlar (x-ray, UV)
Otooksidasyon reaksiyonları	Ksenobiyotikler
Araşidonik asit metabolizması	İlaçlar
Enzimler (Ksantin oksidaz, NADPH oksidaz)	Pestisitler

Serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu meydana gelir. Serbest radikaller organik veya inorganik moleküller şeklinde pozitif yüklü, negatif yüklü veya nötral olabilirler. Cu^{2+} , Fe^{3+} ve Mn^{2+} gibi geçiş metalleri, ortaklanmamış elektronları olduğu

halde serbest radikal olarak kabul edilmezler. Ancak bu iyonlar, reaksiyonları katalize ettikleri için serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar (Akkuş,1995).

Organizmada serbest radikal oluşturan olayların başlıcaları, mitokondriyal elektron transportu, heksoz monofosfat yolu, ksenobiyotiklerin metabolizması, doğal uyararla fagositik hücrelerin aktivasyonu, biyosentetik ve biyokimyasal yıkım reaksiyonlarıdır (Öztürk vd., 2001).

Reaktif türlerin zararlı etkilerinin temel sebebi radikal olmaları, radikal oluşumuna sebep olabilmeleri veya yükseltgenme potansiyallerinin daha yüksek olmalarından kaynaklanmaktadır. Oksidatif stres sürecinde meydana gelen reaktif oksijen türleri nükleik asitleri, proteinleri ve lipitleri oksitleyebilir (Şerbetçi, 2007).

Oksijen aerobik organizmanın yaşamı için kesinlikle gereklidir; ancak yüksek konsantrasyonda bulunduğu yerlerde ya da başka faktörlerin etkisiyle serbest radikal kaynağı olan reaktif oksijen türlerini (ROS) oluşturabilmekte ve toksik olabilmektedir (Mandal, 2009). Reaktif oksijen türlerinin yanı sıra bazı reaktif azot türleri de (RNS) vücutta meydana gelmektedir. Reaktif oksijen ve reaktif azot türleri oksidatif strese en çok sebep olan önemli faktörlerdendir. (Aruoma ve Cuppett, 1997; Köksal, 2007).

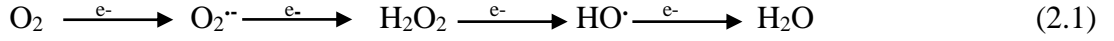
Çeşitli azot oksitler yaygın çevresel kirleticilerden üretilir ve bazıları hücrelerde oluşturulur. Nitrik oksit ($\text{NO}\cdot$) ve azot dioksit (NO_2) fotokimyasal sistemin ortak bileşenleridir (Kerr, 1976). Ancak nitrik oksit, fizyolojik bir damar genişetici olarak memeli dokularında nitrik oksit sentaz enzimi tarafından oluşturulur (Moncada vd., 1991). $\text{NO}\cdot$ ya direkt olarak ya da peroksinitrit (ONOO-) gibi türler üreterek hücrelerimizde oksidatif strese sebep olabilmektedir (Beckman vd., 1990; Radi, 1990; Sun vd., 1994).

Tablo 2.2. Reaktif Oksijen ve Azot türleri (Aruoma ve Cuppett, 1997)

Reaktif Oksijen Türleri		Reaktif Azot Türleri	
Radikaller	Radikal Olmayanlar	Radikaller	Radikal Olmayanlar
Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$)	Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	Azot Oksit (NO^{\cdot})	Nitröz Asit (HNO_2)
Hidroksi (HO^{\cdot})	Hipokloröz Asit ($HOCl$)	Azot dioksit (NO_2^{\cdot})	Nitrozil Katyonu (NO^+)
Peroksi (RO_2^{\cdot})	Hipobromik Asit ($HOBr$)		Nitroksi Anyonu (NO^-)
Alkoksi (RO^{\cdot})	Ozon (O_3)		Diazot tetraoksit (N_2O_4)
Hidroperoksi (HO_2^{\cdot})	Singlet Oksijen ($^1\Delta_g \ ^1O_2$)		Diazot trioksit (N_2O_3)
			Peroksinitrit ($ONOO^-$)
			Peroksinitröz Asit ($ONOOH$)
			Nitronyum Katyonu (NO_2^+)
			Alkilperoksi nitritler ($ROONO$)

Reaktif oksijen türlerinin ana kaynağının süperoksit radikali olduğu, onun da kaynağının mitokondri olduğu düşünülmektedir (Dawn vd., 1996). Çünkü mitokondride oksijene her seferinde sadece bir elektron transfer edilebilmesinden dolayı, elektron transferi sırasında süperoksit radikali oluşumu kaçınılmazdır. Yüksek

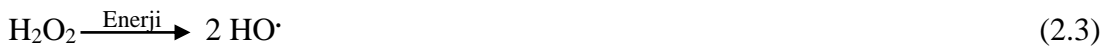
indirgeme potansiyeline sahip elektronlar, mitokondri iç membranında elektron transport sistemi ile moleküler oksijene (O_2) transfer edilir. Mitokondrial elektron transport sisteminde, elektronların O_2 'ye transferi sırasında oksijenin kısmi indirgenmiş ürünleri (Bkz Eş.2.1) oluşur. (Keha ve Küfrevioğlu, 2000)



Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) radikali, süperoksit dismutasyon reaksiyonu ile başka reaktif oksijen türlerinin oluşumuna ön ayak olan H_2O_2 'i (Bkz Eş.2.2) oluşturur. H_2O_2 ise toksik özelliğinden çok, reaktivitesi yüksek olan OH^{\cdot} radikali oluşturma potansiyeline sahiptir. Mitokondride yaşla beraber sabit bir şekilde $O_2^{\cdot-}$ ve H_2O_2 üretim hızı da artar (Sohal, 2002).



Hidrojen peroksidin aktivitesi zayıftır. Bu sebeple lipid, DNA ve protein gibi biyolojik molekülleri kolayca oksitleyemez. Ancak bazı enzimlerin sülfhidril gruplarını ($-SH$) oksitleyerek doğrudan inaktive eder. Gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz bunlardan biridir. Bir radikal olmamasına rağmen, H_2O_2 'in tehlikeli oluşu, onun hücre membranından kolayca difüze olabilmesi ve OH^{\cdot} radikaline dönüşmeye her an hazır olmasından kaynaklanır (Asad vd., 2004). Çünkü H_2O_2 'in ultraviyole ışık veya geçiş metallerinin iyonlarıyla etkileşmesi (Fenton reaksiyonu) sonucu OH^{\cdot} radikali oluşturur (Bkz Eş.2.3) (Gutteridge, 1989; Halliwell vd., 2000; Köksal, 2007). Hidrojen peroksitteki O-O bağı nispeten zayıf olduğu için kolaylıkla parçalanabilir. Bu bağın homolitik parçalanmasından aktivitesi çok yüksek olan OH^{\cdot} radikali oluşur.



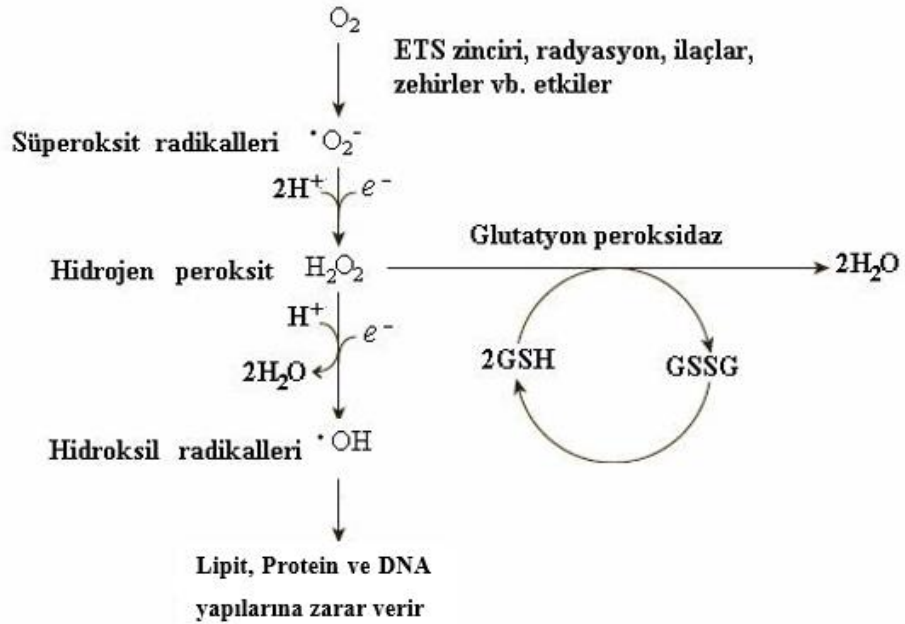
Bu homolitik parçalanma Eşitlik 2.4' de gösterildiği gibi Fe^{+2} tarafından da gerçekleştirilebilmektedir (Gutteridge, 1989; Halliwell ve Gutteridge, 1990).



Benzer reaksiyon Eşitlik 2.5' de gösterildiği gibi Cu^+ varlığında da meydana gelmektedir (Gaetke ve Chow, 2003; Köksal, 2007).



Bu reaksiyon sırasında oluşan $OH\cdot$, yeni radikallerin oluşumunda ve böylece de DNA hasarında önemli bir rol oynamaktadır (Henle ve Linn, 1997).



Şekil 2.1. Serbest radikal ve reaktiflerin oluşumu (Bursal, 2009)

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma 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 ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına sebebiyet verir. Oksidatif stres olarak adlandırılan bu durum özetle; serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuç olarak doku hasarına yol açmaktadır (Toshima ve Yonezawa, 1998).

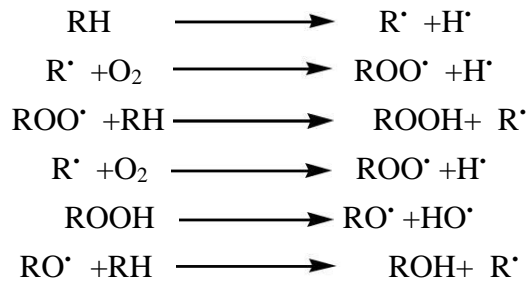
Oksidatif stres, oksijen açısından zengin bir ortamda yaşamın kaçınılmaz sonucudur. Aerobik organizmalar için oksijen hem hayati hem de tehlikelidir. Bu paradoks oksijenin atomik serbest radikal formu ve moleküler bi-radikal formu bulunan kimyasal yapılarından kaynaklanmaktadır. Atomik oksijenin dış valans kabuğunda bir eşleşmemiş elektron bulunur. İki oksijen atomu moleküler oksijen oluşturmak üzere bir araya geldiklerinde, dış değerlik kabuğunda elektron-çifti oluşturmaz, iki eşleşmemiş elektron olarak kalırlar. Radikal bir atom ya da molekülün dış değerlik kabuğunda bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron içermesi olarak tanımlanmaktadır. Bu nedenle, moleküler oksijen gerçek bir bi-radikalidir (Chance vd., 1979; Mccord ve Fridovich, 1988; Pryor, 1986).

Oksidatif stres, reaktif oksijen türleri veya diğer serbest radikaller ile antioksidan sistem arasında oluşan dengesizliktir ve bu dengesizlik hücreler, dokular veya organizmalar da protein, lipid, karbohidrat, nükleik asit gibi önemli moleküllerin hasarına neden olabilir (Gülçin, 2012).

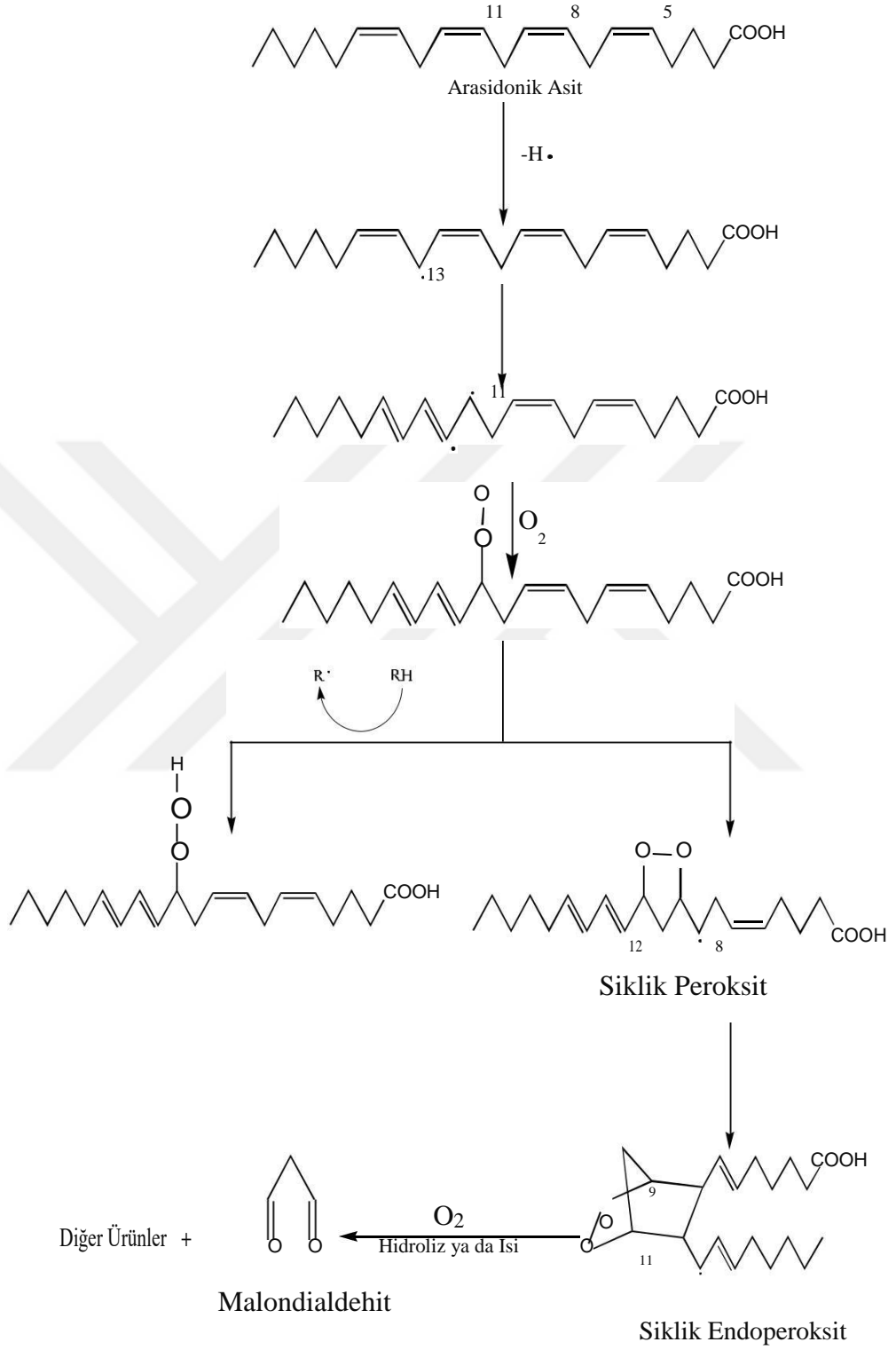
Serbest radikallerin aşırı oluşumu metabolizma için tehlike oluşturur. Ancak vücudun işlevlerini görebilmesi ve hastalıklardan korunabilmesi için de gereklidirler. Serbest radikaller vücudun hastalıklara karşı direncini, vücudu saran organizmaları yok ederek arttırırlar. Buna karşın fazla üretildiklerinde metabolik hasara neden olarak birçok hastalığa yol açarlar. Serbest radikallerin hücrelerde protein, lipit, karbohidrat ve nükleik asitler üzerinde önemli etkileri vardır. Proteinlerin karbonil türevleri ve oksidasyon ürünleri aminoasit yan zincirlerinin modifikasyonuna sebebiyet

vermektedir. Proteindeki karbonil gurupları serbest radikallerin açık hedefi durumundadır. Serbest radikaller peptit bağlarını koparabilir ve hücre membranında bulunan proteinleri yıkararak hücrenin ölümüne sebep olabilirler. Enzimler de protein yapısında oldukları için serbest radikallerden etkilenerek fonksiyonları bozulabilir. Örneğin hücredeki iyon transportunu bozarak hücrenin membran potansiyeline hasar verebilmektedirler (Loecke, 1999).

Reaktif oksijen türleri tarafından en fazla etkilenen moleküllerin, hücre membranının ana bileşeni olan lipitler olduğu düşünülmektedir. Organizmada yeterli miktarda reaktif atom ya da molekül varlığında lipit peroksidasyonu kolaylıkla başlayabilir. Oksijenin sebep olduğu lipit peroksidasyonu tipik bir radikalik zincir reaksiyonudur (Aruoma ve Cuppett, 1997). Lipit peroksidasyonu, hücrenin hayati fonksiyonları içinde zararlıdır (Davies, 2000). Yağ asitlerinin oksidasyonu metilen karbonundan hidrojen atomunun çıkarılması ile başlar ve yağ asidi radikali (L[•]) oluşur. İlerleme aşamasında yağ asidi radikaline hızlı bir şekilde oksijen eklenerek peroksil radikali (LOO[•]) oluşur. Lipit peroksil radikalleri zincir reaksiyonlarının başlatıcılarıdır. Bunlar diğer çoklu doymamış yağ asidi moleküllerinden hidrojen atomlarını çıkartarak yeni reaksiyonları başlatırlar. Sonlanma aşamasında ise lipit hidroperoksitleri yıkılarak daha reaktif radikal türleri oluşturur. Peroksi radikaller ayrıca siklo endoperoksitleri de oluşturabilmektedir. Ortamda bulunan demir ve bakır tuzları lipid hidroperoksitlerinin yıkılımını hızlandırır ve oluşan peroksi ve alkoksi radikalleri ise lipit peroksidasyonlarını uyarırlar (Kneepkens, 1994; Loecke, 1999).



Şekil 2.2. Otooksidasyon basamakları (Reische vd., 2002)



Şekil 2.3. Araşidonik asidin otooksidasyonu mekanizması (Gülçin, 2002)

Malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyonunda peroksit seviyelerinin belirlenmesinde kullanılır. Genel olarak kanda ve idrarda ortaya çıkar. Bu nedenle varlığı önem arz eder. Lipid peroksidasyonu membran yapısına hasar verdiğiinden ve ürettiği reaktif aldehyitlerle çok zararlı bir zincir reaksiyonu olduğundan dolayı doku hasarına ve birçok hastalığa sebep olmaktadır (Şehitoğlu, 2012).

Proteinler serbest radikallere karşı yağ asitleri kadar hassas değildirler ancak serbest radikal hasarından etkilenme derecesi aminoasit dizilimlerine bağlıdır. Triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi aminoasitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bu etki sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşur. Prolin ve lizin ROS üreten reaksiyonlara maruz kaldıklarında nonenzimatik hidroksilasyona uğrayabilirler. Hemoglobin gibi hem içeren proteinler de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobinin O_2^- veya H_2O_2 ile reaksiyonu methemoglobin oluşumuna neden olur (Altınışık, 2000; Şehitoğlu, 2012).

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Hidroksil radikali (OH^*) deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit (H_2O_2) membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir. Süperoksit (O_2^-) maruz kalan DNA molekülleri hayvanlara enjekte edildiklerinde daha fazla antijenik özellik gösterirler ki bu oldukça önemli bir etkidir, çünkü otoimmün bir hastalık olan sistemik lupus eritematozusta (SLE) ve romatoid artrit (RA) dolaşımında anti-DNA antikörler bulunur (Kıyak, 2013).

Serbest radikallerin karbohidratlara etkisiyle çeşitli ürünler meydana gelir ve bunlar, çeşitli patolojik süreçlerde önemli rol oynarlar. Diyabet, koroner kalp hastalıkları, hipertansiyon, romatizma, behçet hastalığı, deri ve göz hastalıkları, kanser gibi birçok

hastalıkta ve yaşlılıkta serbest radikal üretiminin arttığı, antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu gösterilmiştir (Altınışik, 2000; Şehitoğlu, 2012).

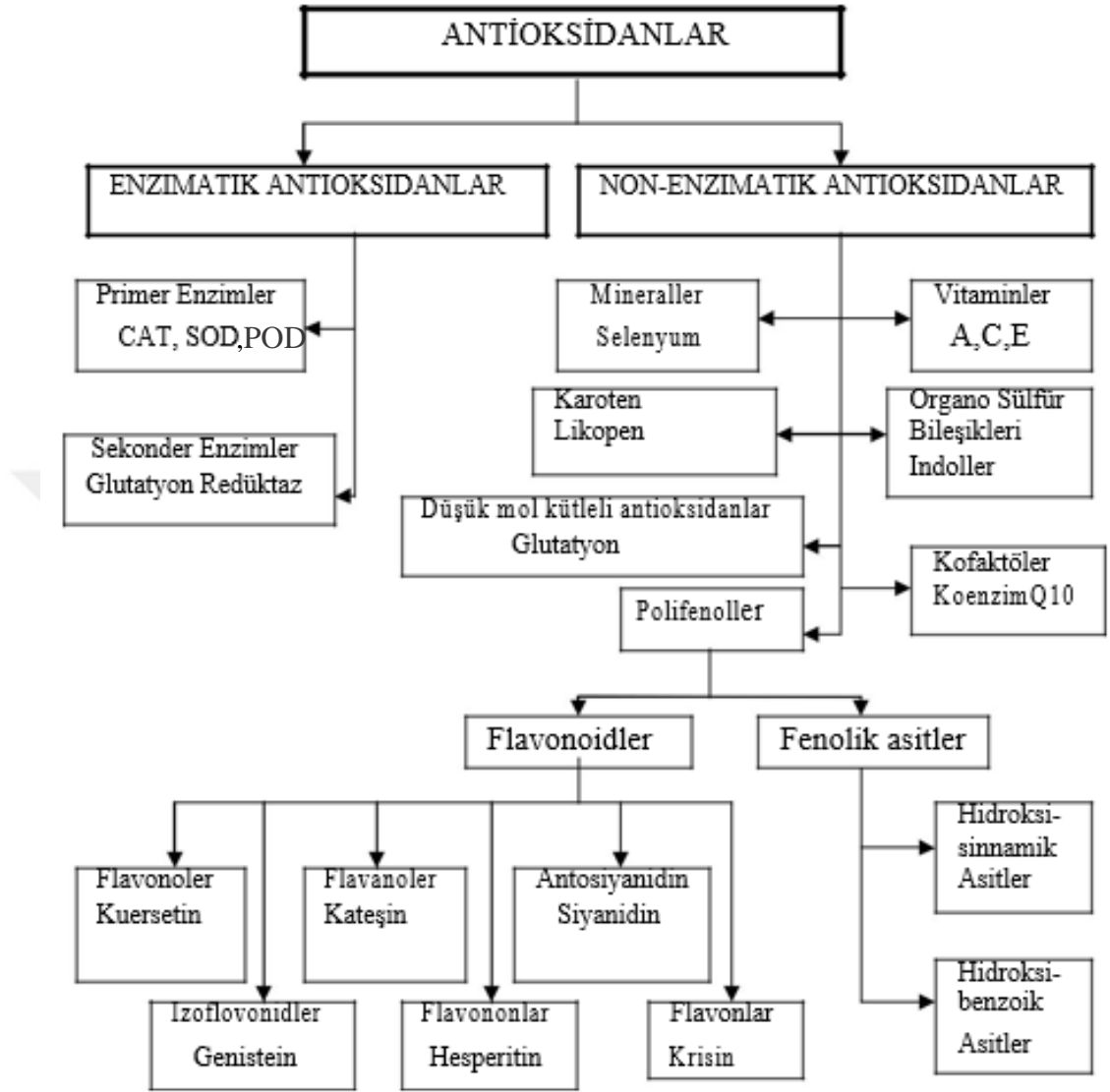
2.2. Antioksidanlar

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizması geliştirilmiştir. Bunlar 'antioksidan savunma sistemleri' ya da kısaca 'antioksidanlar' olarak bilinirler. İnsan da dâhil olmak üzere tüm aerobik organizmalar, oksidatif hasara karşı korunmak için bir dizi antioksidan savunma sistemine sahiptir (Aksoy, 2016; Quintanilha vd., 1982).

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler (Şehitoğlu, 2012).

- Toplayıcı etki: Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutarlar veya daha az reaktif bir moleküle çevirirler. Antioksidan enzimler bu tip etki gösterirler.
- Bastırıcı etki: ROS ile etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürürler. Vitaminler, flavanoitler bu tarz bir etkiye sahiptirler.
- Zincir kırıcı etki: ROS' u bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki gösterirler. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.
- Onarıcı etki: Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması onarıcı etkidir.

Antioksidanlar, yapılarına göre enzimatik ve non-enzimatik olmak üzere 2 grupta sınıflandırılabilirler. Enzimatik olmayan antioksidanların birçoğu dışarıdan diyetle alınır. Bunlar; albumin, glutatyon, askorbik asid, α -tokoferol, β -karoten, koenzim Q10, lutein, ürik asid, bilirubin ve birçok polifenolik bileşiklerdir. Enzimatik olan antioksidanlar ise süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR) ve katalaz (CAT) gibi enzimleri içerirler (Sroka ve Cisowski, 2003).

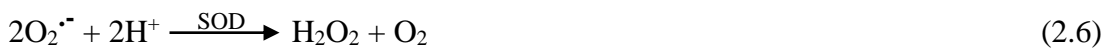


Şekil 2.4. Antioksidanların yapılarına göre sınıflandırılması (Ratnam vd., 2006)

2.2.1. Enzimatik antioksidanlar

2.2.1.1. Süperoksit Dismutaz

Aerobik organizmalar oksidatif hasarı en aza indirmek için çok sayıda antioksidan enzim sentezlerler. Bu enzimler arasında en iyi bilinen süperoksit dismutaz (Bkz Eş.2.6) enzimidir (Fridovich, 1976; Pryor, 1986).



SOD ailesinin tüm üyeleri aktif bölgelerinde metal iyonu bulundurlar. SOD'un genetik silinmesinin alt organizmalarda ölümcül mutasyona sebep olduğu gösterilmiştir (Fridovich, 1989).

2.2.1.2.Katalaz

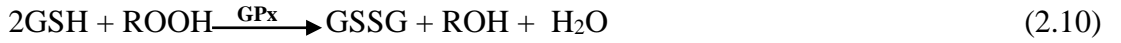
Oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonlarında rol oynayan enzimlere oksidoredüktazlar denir ve katalaz, oksidoredüktazların (oksidazlar, dehidrojenazlar, hidroperoksidazlar, oksijenazlar) bir grubu olan hidroperoksidazlar sınıfında yer alır. Hidroperoksidazlar, substrat olarak hidrojen peroksit veya diğer organik peroksitleri kullanırlar, aynı zamanda canlıyı zararlı peroksitlere karşı korurlar. Peroksitlerin birikmesi serbest radikallerin ortaya çıkmasına, membran yapısının bozulmasına ve muhtemelen kanser oluşumuna neden olur (Halliwell ve Gutteridge, 1990). Katalaz enzimi, toksik hidrojen peroksiti hücrelerden uzaklaştırmada önemli bir rol oynamaktadır. Bu amaçla, hücrelerin aktiviteleri sonucu oluşan hidrojen peroksiti vücut dokularına dağılmadan önce su ve moleküler oksijene ayrıştırırlar (Bkz Eş.2.7 ve Eş.2.8). Katalaz enzimi aynı zamanda fenoller, formik asit, formaldehid ve alkoller gibi bileşikler üzerinde peroksidatif aktivite de gösterir. Bu reaksiyonda düşük molekül ağırlıklı alkoller, bir elektron donör görevi yaparlar (Shahidi, 1996).



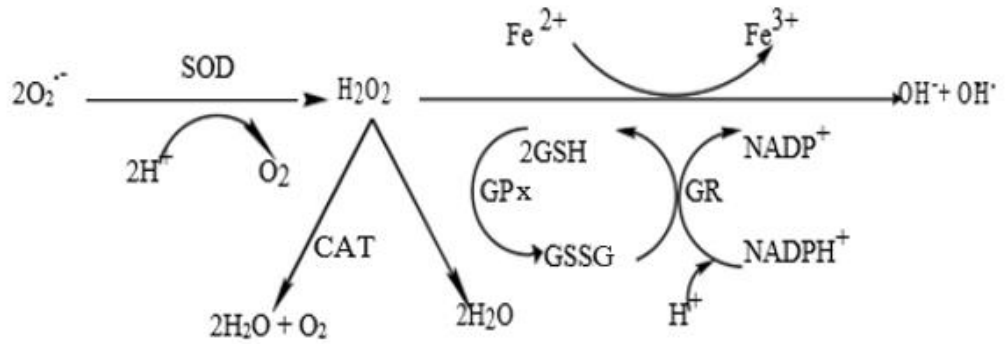
2.2.1.3.Glutatyon Peroksidaz

Glutatyon peroksidaz, hidrojen peroksiti ve büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerin indirgenmesini katalize eder (Bkz. Eş.2.9 ve Eş.2.10). Hidrojen peroksiti suya dönüştürerek detoksifiye etmiş olur. Glutatyon peroksidaz enzimi dört protein alt ünitesinden oluşan tetramerik bir yapıda olup her ünite aktif bölgesinde bir atom Se

elementi içerir. Enzim başlıca eritrositlerin hücre membranları içinde bulunur (Halliwell, 1999; Turgut, 2000).



Glutasyon peroksidaz, glutasyonun indirgeyici gücünü kullanarak hidrojen peroksitin ve doymamış yağlardan meydana gelen organik hidroperoksitlerin deaktivasyonunu katalizler. Peroksitlerin indirgenmesini katalizleyen glutasyon peroksidaz enzimi hücredeki indirgenmiş glutasyonu (GSH) yükseltgenmiş glutatyona (GSSG) dönüştürmektedir. Glutasyon peroksidaz glutasyonu hidrojen donör olarak kullanarak hidrojen peroksiti elimine etmektedir. Bu reaksiyonlar, canlı organizmada oksidatif stresin zararlı etkilerinden hücrel membranları korumaya yarar (Hall vd., 1998).

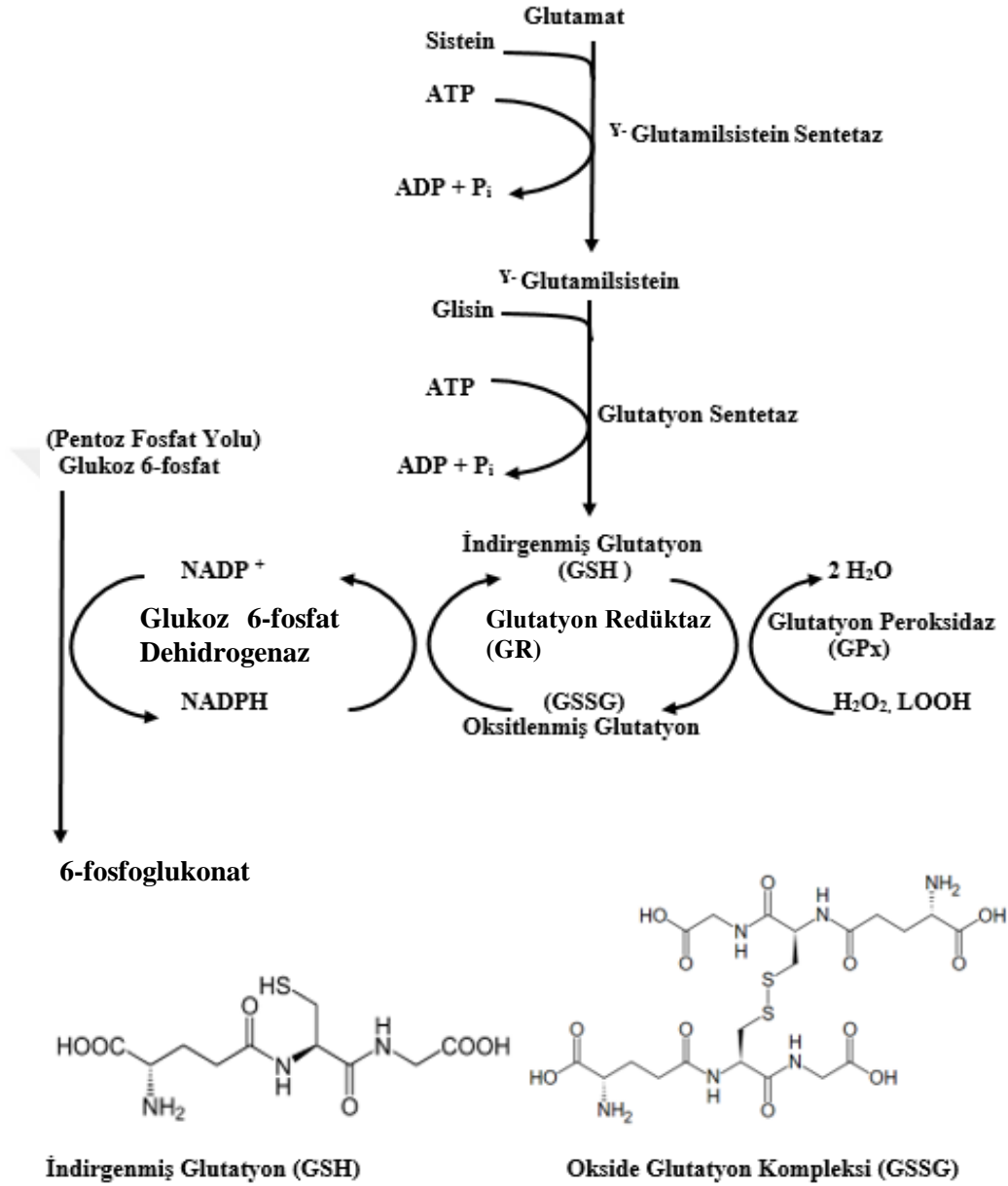


Şekil 2.5. Glutasyon peroksidaz-glutasyon redüktaz enzim sistemi (SOD: Superoksit dismutaz, GR: Glutasyon redüktaz, CAT: Katalaz, GPx: Glutasyon peroksidaz) (Gürbüz, 2008)

Glutasyon, yapısında bulunan $-\text{SH}$ grupları ile oksitleyici ajanların bozucu etkilerine karşı hücreyi korumaktadır. Dolayısıyla glutasyonun düşük konsantrasyonunda bazı metabolik olumsuzluklar meydana gelebilir. Glutasyonun belirlenen görevlerinden bazıları şunlardır:

- Serbest radikallerin ve reaktif oksijen ürünlerinin inaktivasyonu,
- Hemoglobin, spektrin gibi membran proteinlerini ve çeşitli enzim proteinlerinin tiyol gruplarının korunması,
- Ksenobiyotiklerin, bazı antineoplastik ilaçların ve bazı metabolik son ürünlerin konjugasyonla detoksifikasyonu,
- DNA ve protein sentezi,
- Amino asit transportu,
- İnsülin gibi bazı proteinlerin disülfür bağlarının koparılması ve böylece proteinlerin konformasyonunun değişmesi,
- Hücre içerisinde sistein deposu olarak bulunması ve bazı enzimlerin reaksiyonlarında rol oynamasıdır (Demir, 1994; Knapen vd., 1999).
- Ayrıca eritrositlerde Fe⁺² formunu koruma görevinde üstlenmektedir (Keha ve Küfrevioğlu, 2004).

Eritrositlerde glutatyonun yükseltgenmesi, ortamda oluşan H₂O₂ ve diğer organik peroksitlerin indirgenmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu reaksiyonun enzimi, glutatyon peroksidazdır. Okside glutatyonu indirgenmiş forma ise glutatyon redüktaz dönüştürmekte ve yüksek GSH/GSSG oranı sağlamaktadır. Bu dönüşüm reaksiyonları glutatyon redoks çevrimi olarak adlandırılmaktadır (Fujiwara vd., 1989; Keha ve Küfrevioğlu, 2004).



Şekil 2.6. Glutatyon kompleksinin oluşumu, antioksidan aktivitesi ve rejenerasyonu (Douglas, 1987; Keha ve Küfrevioğlu, 2004; John vd., 2013)

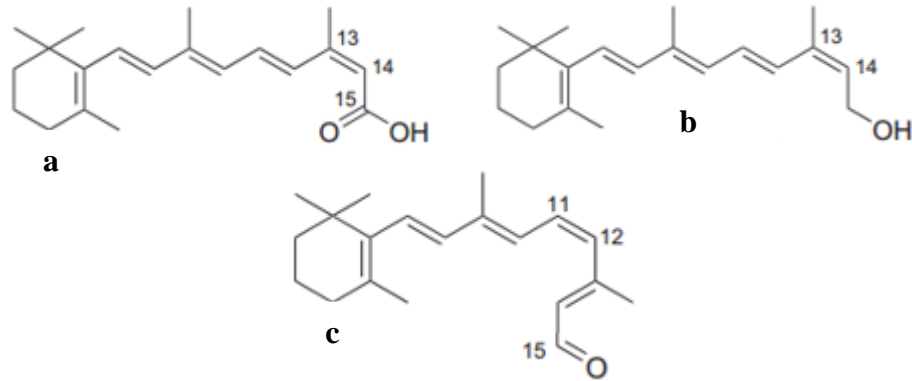
Enzimin kendi substratı olan NADPH'a ilgisinin yüksek olduğu belirlenmiştir. GR'nin katalizlediği reaksiyon dönüşümlüdür. Fakat reaksiyonun ters yönde ilerlemesi için ortamda yüksek konsantrasyonda GSH ve NADP^+ olmalıdır. İn vitro şartlarda NADH az bir afinite ile elektron ve proton sağlayıcı olarak kullanılabilirse de NADPH fizyolojik şartlarda aktiviteyi sağlayan tek koenzimdir. Fizyolojik şartlarda reaksiyon esas olarak tek yönlüdür ve GR bu yolla hücre içerisinde GSH/GSSG oranının yüksek

tutulmasını sağlar (Açan, 1990; Douglas, 1987). Glutasyon peroksidaz, her birinde selenosistein içeren 4 alt birimden oluşur. Redükte glutasyonu yükseltirken H_2O_2 'i de suya çevirir ve böylece membran lipidlerini ve hemoglobini oksidan strese karşı korur. (Akkuş vd, 1996). Ayrıca glutasyon peroksidaz yetersizliği selenyum eksikliği sonucu olabilir. Çünkü selenyum bu enzimin bir integral parçasıdır (Jialal ve Grundy, 1993).

2.2.2.Non-enzimatik Antioksidanlar

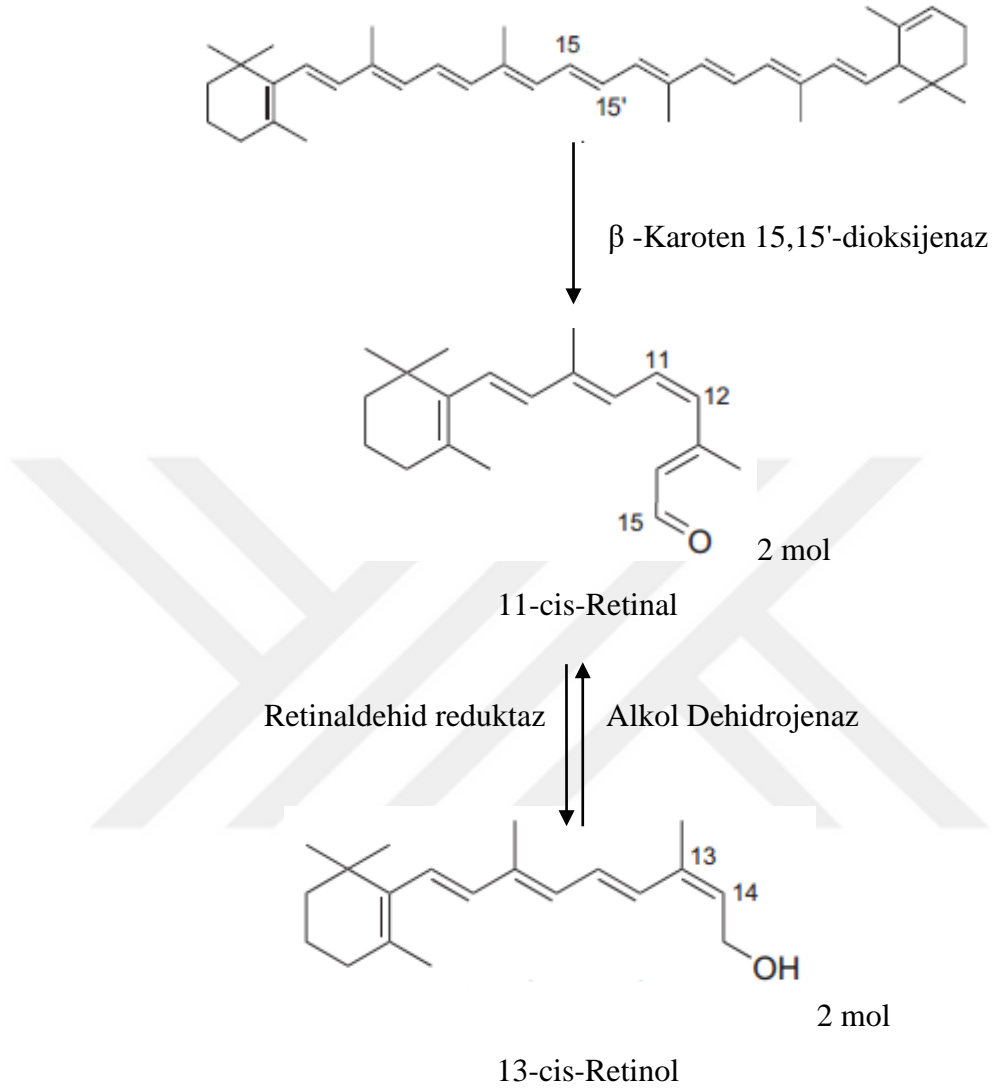
2.2.2.1.Vitamin A

Vitaminler vücutta metabolik olayların normal bir şekilde meydana gelmesi ve sağlıklı durumun sürdürülmesi için gerekli olan, vücutta sentez edilemeyen veya yetersiz derecede sentez edilen ve besinler içinde çevreden ufak miktarda alınması zorunlu organik maddelerdir (Akkan, 1999).



Şekil 2.7. (a) 13-cis-retinoik asit, (b) 13-cis-retinol, (c) 13-cis-retinal

Retinol (alkol), retinal (aldehit) ve retinoik asit; A vitamininin ön maddesi olarak bilinmektedir. Retinal, vücutta; gen transkripsiyonunu etkileyen A vitamininin retinoik asit formuna dönüşmektedir. Retinol, retinal, retinoik asit ve bunlarla ilgili bileşikler retinoidler olarak bilinmektedir.

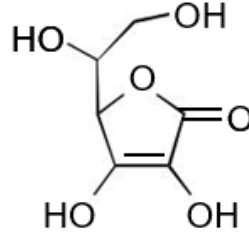


Şekil 2.8. β -karotenin yapısı (Köksal, 2007) ve biyodönüşümleri (Gerald vd., 2017)

β -karoten ve diğer karotenoidler vücutta retinole dönüşmektedir ve provitamin A karotenoidi olarak adlandırılmaktadır (Woutersen vd., 1999). A vitaminine metabolize olan yaklaşık 50 farklı karotenoidten β -karoten, en yüksek provitamin A aktivitesine sahiptir. Bunun nedeni yapısında bulunan 2 adet β -iyonon halkası ile açıklanmaktadır (Von Elbe ve Schwartz, 1996).

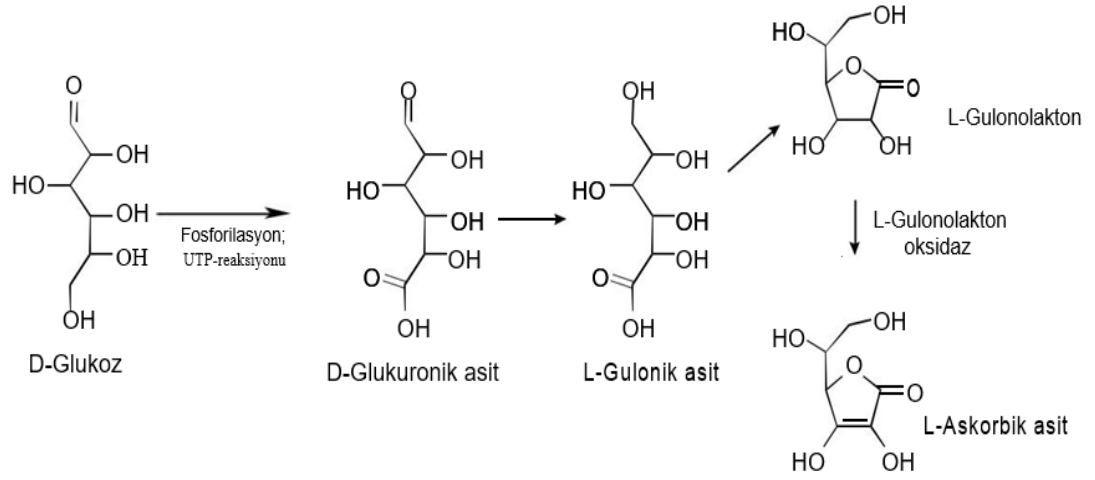
2.2.2.2.Vitamin C

C vitamini insanlar için esansiyel (diyetle alınan) bir vitamin olup önemli bir antioksidandır. C vitamini lipidler, DNA ve proteinler gibi makromoleküllerin oksidatif hasarına yol açan reaktif oksijen türlerinin olumsuz etkilerini azaltarak kardiyovasküler hastalıklar, kanser, felç, nörodejeneratif hastalıklar ve katarakt oluşumu gibi kronik hastalıkların oluşumunu da azaltır (Halliwell ve Gutteridge, 1999).



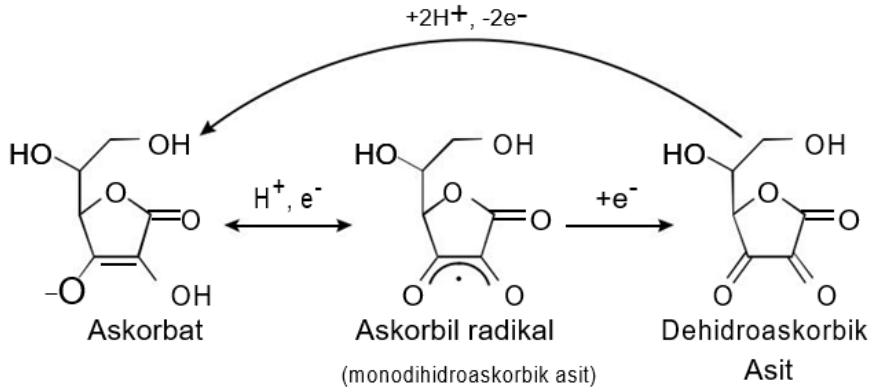
Şekil 2.9. Askorbik asitin moleküler yapısı(Gerald vd., 2017)

C vitamini veya L-askorbik asid suda çözünebilir ve birçok fizyolojik şartlarda indirgenmiş halde bulunur. Hücre dışı sıvılarda en önemli antioksidandır (Stocker ve Frei, 1991) ve antioksidan özelliğinin yanı sıra birçok hücrel aktiviteye sahiptir. C vitamininin süperoksidi, hidrojen peroksidi, hipokloridi, hidroksi radikalini, peroksi radikallerini ve singlet oksijeni etkin bir şekilde yakalayabildiği görülmüştür (Sies ve Stahl, 1995). Askorbik asit bitkiler ve birçok memeli tarafından karaciğerde glukozdan sentezlenir. Mikroorganizmalarda askorbik asit yoktur. İnsanda ise esansiyeldir. Askorbik asit, kolayca hidrojen atomu vererek dehidroaskorbik asite dönüşen kuvvetli bir indirgeyici ajandır. Dehidroaskorbik asit de aynı zamanda antioksidan etkiye sahiptir. (Arrigoni ve De Tullio, 2002; Keha ve Küfrevioğlu, 2000; Padayatty vd., 2003). Ayrıca Askorbik asit vücut proteinlerinin yaklaşık üçte birini oluşturan kollagenin sentezinde önemli bir rol oynar (Akhilender ve Naidu, 2003).



Şekil 2.10. Askorbik asitin biyosentezi (Gerald vd., 2017)

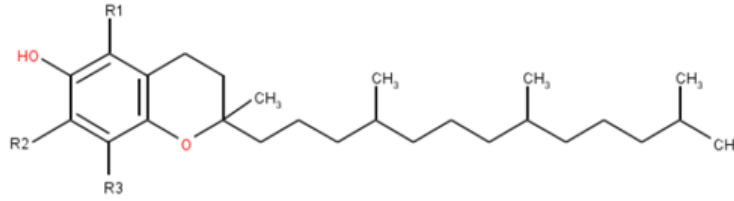
Bir molekülün indirgeme kapasitesi onun antioksidan potansiyelinin bir göstergesidir. Oksidasyona uğrayan moleküller, indirgeme potansiyellerinin yüksek olmalarından dolayı askorbik asit tarafından indirgenebilirler. Bu sebeple askorbik asit antioksidan kapasite sergilemektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1989).



Şekil 2. 11. Askorbik asitin indirgenme – yükseltgenme mekanizmaları (Gerald vd., 2017)

2.2.2.3. Vitamin E

Doğal antioksidanlardan α -tokoferol (E vitamini), yağda çözünen önemli bir antioksidandır. Hücre zarları ve lipoproteinlerde önemli işlevler görmektedir. Lipit peroksil radikalleri, diğer doymamış yağ asitleri ile tepkimeye girerek zincirleme lipit peroksidasyon reaksiyonları oluştururlar. α -Tokoferol, hücre membran fosfolipitlerinde bulunan doymamış yağ asitlerini, reaktif oksijen türlerinin olumsuz etkilerine karşı korur. α -Tokoferol, lipit peroksil radikalleri (LOO[•]) ile tepkimeye girerek bunların reaktifliğini giderir. Böylece zincir kırıcı etki yaparak lipit peroksidasyonunu engeller (Bursal, 2009).



α -tokoferol: R₁, R₂, R₃: CH₃

β -tokoferol: R₁, R₃: CH₃; R₂: H

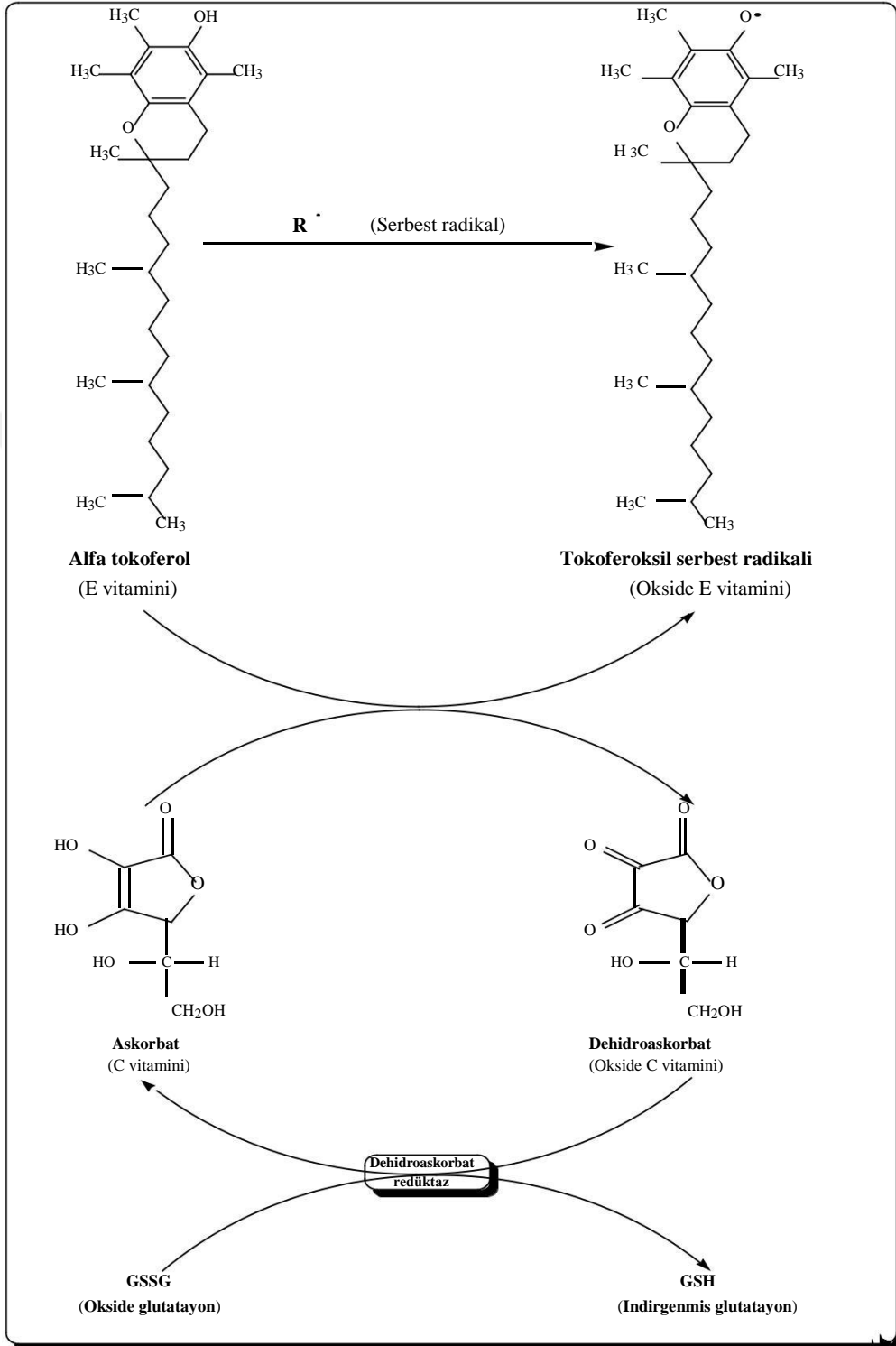
γ -tokoferol: R₃, R₂: CH₃; R₁: H

δ -tokoferol: R₃: CH₃; R₂, R₁: H

Şekil 2.12. Doğal bir antioksidan olan tokoferollerin moleküler yapıları.

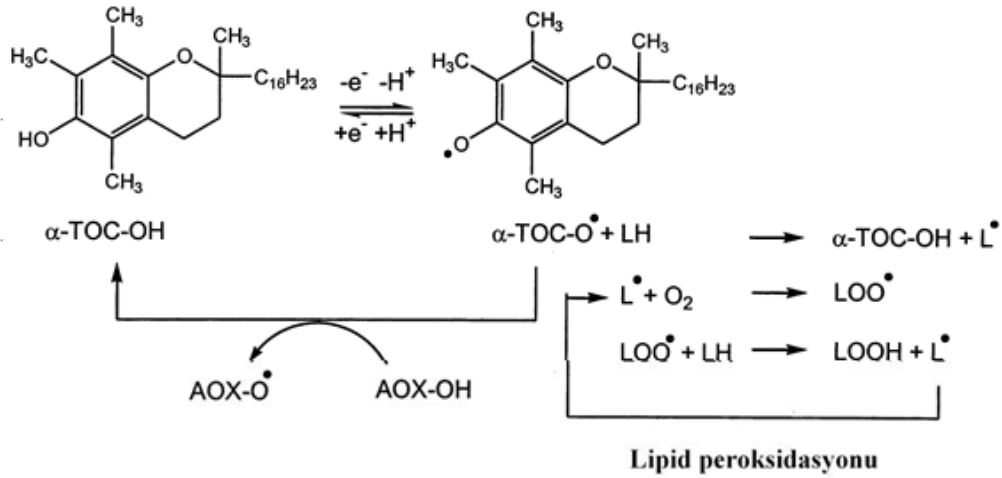
Mitokondri membranında yaklaşık 2000 fosfolipid başına bir α -tokoferol bulunmaktadır. E vitamini eksikliğinde birçok canlıda bazı olumsuz etkiler görülmüştür. Bu etkiler ise ekzojen antioksidanlar tarafından tolere edilmektedir. Bu durum, E vitamininin in vivo olarak lipit peroksidasyonunu önleyici bir rol üstlendiğini göstermektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1989).

Serbest radikallere karşı glutatyon peroksidaz ile E vitamini birbirlerine tamamlayıcı etki gösterirler. Enzim peroksitleri yok ederken, E vitamini peroksitlerin sentezini engeller (Halliwell ve Gutteridge 1999).



Şekil 2.13. α -Tokoferolün lipit serbest radikallerini (R^\bullet) söndürdükten sonra tokoferoksil radikale dönüşmesi ve tekrar C vitamini tarafından rejenere edilmesi (Gülçin, 2002; Köksal, 2007).

Tokoferoller antioksidan olarak bilinmelerine rağmen her koşulda koruyucu etki göstermezler (Frankel, 1980). Oksidatif stres koşullarında artan oranlarda α - tokoferol varlığında lipid peroksidasyonunu başlatabilen α -tokoferol radikalleri oluşur. Organizmada antioksidan oranı dengede olduğu durumlarda, diğer antioksidanlar tarafından α -tokoferol radikalleri tekrar α -tokoferole indirgenir ve pro-oksidan aktivitesi durdurulur (Rietjens vd., 2002). Ancak artan oksidatif stres koşulları altında, artan miktarda α -tokoferol ile meydana gelen α -tokoferol radikalleri daha fazla oluşacaktır ve organizmadaki diğer antioksidanlar bu radikalleri durdurmaya yeterli gelmeyecektir. E vitamini yaygın olarak güneş kremleri ve cilt kozmetiklerinde bulunduğundan kullanımına dikkat edilmelidir. Aşırı kullanımında cilt kanserlerine yol açtığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Mitchel ve Mccann, 1993).

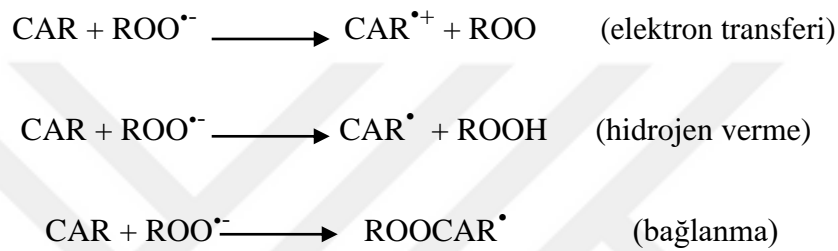


Şekil 2.14. α -tokoferolün pro-oksidan aktivitesi (Frankel, 1980)

2.2.2.4. Karotenler

Yüksek bitkilerde kloroplastlarda bulunan karotenoidler, genellikle klorofil ile maskelenmektedir. Sonbaharda bitkinin yaşlanmasıyla kloroplastlar parçalanmakta ve sarı-portakal renkteki karotenoidler ortaya çıkmaktadır. Plastidlerde ise yarı-kristal yapılar halinde bulunan karotenoidler tetraterpen olarak da sınıflandırılmaktadır. Nitekim bütün terpenler 5. karbona bağlanmış izopentandan oluşmaktadır (Kopsell ve Kopsell, 2006).

Karotenler hücreyi ışık, hava ve diğer foto sensitizasyon etkilerinden koruyan ve bu ortamlarda antioksidan olarak görev yapan bileşiklerdir (Krinsky, 1989). Skualen ise bir serbest radikal söndürücüsü olmakla beraber aynı zamanda singlet oksijen kuençeri olarak da görev yapmaktadır (Kohno vd., 1995). Karotenoidler, aktif radikalleri elektron transfer ederek, hidrojen vererek ya da radikale bağlanarak inhibe edebilmektedir (Simpson, 1985).

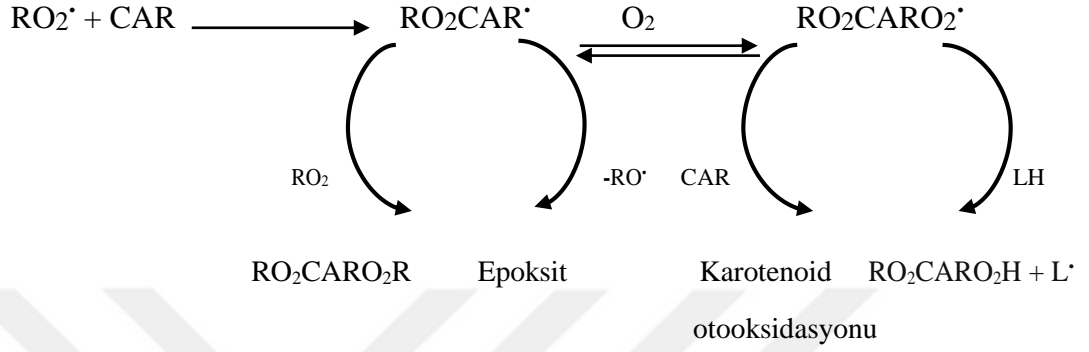


Şekil 2.15. Karotenoidlerin radikal aktivitesini önleme yolları (Erge, 2007).

β -karotenin peroksil radikallerine konjuge çift bağ sistemi ile bağlanarak peroksil karotenoid radikallerini oluşturduğu (ROOCAR \cdot) bildirilmektedir. Karotenoidlerin kendi hidrojenini vererek radikalleri önleme reaksiyonunun ise daha az rastlanır bir mekanizma olduğu aktarılmaktadır (Erge, 2007).

β -karotenin çok etkili bir zincir kırıcı antioksidan olarak fonksiyon gösterdiği, ancak oksijen basıncının artmasıyla β -karotenin antioksidan etkisinin azaldığı belirtilmektedir. Oksijen konsantrasyonunun karotenoidin antioksidan aktivitesi üzerine önemli etkisi bulunmaktadır. Oksijen konsantrasyonu ile karotenoidin antioksidan aktivitesi arasında ters bir ilişkinin bulunduğu bilinmektedir. Yüksek oksijen konsantrasyonunda eşitlik $\text{RO}_2\text{CARO}_2\cdot$ oluşumuna kaymaktadır. Bu bileşik, karotenoid ile reaksiyona girerek otooksidasyonu veya lipitlerle reaksiyona girerek sürekli lipit peroksidasyonuna neden olabilmektedir. Ancak, düşük oksijen konsantrasyonunda eşitlik $\text{RO}_2\text{CAR}\cdot$ a doğru kaymaktadır. Bu bileşik de diğer bir RO_2 ile reaksiyona girebilmekte veya alkoksil radikal eliminasyonu ile epoksit

oluşturabilmektedir. Oksijen konsantrasyonu dokudan dokuya farklılık gösterdiğinden karotenoidler farklı dokularda farklı rol oynayabilmektedir (El-Agamey vd., 2004).



Şekil 2.16. Oksijen konsantrasyonu ile karotenoidin antioksidan etkisi arasındaki ilişki (Erge, 2007)

Karotenoidlerin düşük oksijen kısmi basıncında (<150 torr) antioksidan özellik gösterdiği; ancak yüksek oksijen konsantrasyonunda bu etkisini kaybettiği veya prooksidan olabildiği belirtilmektedir. Nitekim yüksek oksijen kısmi basıncında β -karotenin prooksidan etki gösterdiği bilinmektedir (Von Elbe ve Schwartz, 1996). Karotenoidlerin *in vivo* ve *in vitro*'da düşük kısmi oksijen basıncında tekli oksijene karşı koruyuculuğunun yanında lipit peroksidasyonunu da önlediği belirtilmektedir (Burton, 1989). Benzer olarak karotenoid konsantrasyonu da antioksidan kapasitesini etkileyebilmektedir. Yüksek konsantrasyonda karotenoidlerin antioksidan aktivitesinin azalabildiği veya prooksidan etki gösterebildiği ileri sürülmektedir. Yüksek dozda β -karoten verilen sıçanların akciğerlerinde kansere neden olan sitokrom P 450 enzimlerinde artış saptandığı bildirilmektedir. Nitekim β -karoten ile teşvik edilen sitokrom P 450 enzimlerinin aktivitesi ile süperoksit radikal oluşumu arasında da önemli bir ilişki saptanmıştır (Paolini vd., 1999). *In vivo*'da antioksidan aktivite; karotenoid konsantrasyonunun yanısıra karotenoidin yapısına da bağlıdır. Siklik yapıdaki karotenoidlerin antioksidan aktivitesi; halkadaki 5,6 ve 5',6' pozisyonundaki karbon atomları arasındaki çift bağın tekli oksijen ($^{1/2}O_2$) ile epoksidasyona uğrayabilmesinden kaynaklanmaktadır. Likopen gibi halka içermeyen

karotenoidlerin potansiyel antioksidan aktivitesinde ise yapısında bulunan fazla sayıdaki konjuge dienler rol oynamaktadır (Kopsell ve Kopsell, 2006).

Karotenoidler düşük yoğunluklu lipoproteinler üzerinde taşındığından, düşük yoğunluklu lipoproteinleri oksidasyondan korumak suretiyle kalp-damar hastalıklarının oluşum riskini azaltmaktadırlar (Duthie vd., 1989; Basu vd., 2001). Göz retinasında bulunan lutein ve zeaksantin, gözü serbest radikallerden ve ışığın zararlı etkilerinden koruyarak (Bernstein, 2002; Deming ve Erdman, 1999; Mozaffarieh vd., 2003) katarakt ve yaşa bağlı makula bozuklukları gibi göz hastalıklarının oluşumunu engellemektedir (Sommerburg vd., 1998).

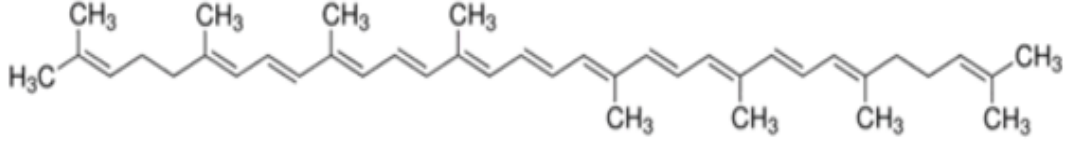
Karotenoidler, doğada yaygın olarak *all-trans* formunda bulunmaktadırlar (Von Doering vd., 1995). Ancak, *all-trans* karotenoidler ısı, ışık ve kimyasal izomerizasyona duyarlıdır. Bununla birlikte yüksek bitkilerde bulunan izomeraz enziminin de *cis-trans* dönüşümünü düzenlediği bilinmektedir. *Cis* izomerlerin özellikle klorofil içeren bitkilerde bulunduğu dair yeterli kanıt olduğu aktarılmaktadır (Chandler ve Schwartz, 1987; Chen ve Chen, 1993).

Karotenoidler, ikincil bitki pigmentleridir ve 40 karbonlu izoprenoid polien yapıdan oluşmaktadır. Karotenoidler; lutein, zeaksantin, violaksantin gibi oksijen içeren ksantofiller ile β -karoten, α -karoten, likopen gibi hidrokarbon karotenler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Simpson, 1985). Ksantofiller, yapılarında en az bir OH grubu içermekte ve karotenlerden daha fazla polarite göstermektedirler (Krinsky ve Johnson, 2005). Karotenler; petrol eteri, hekzan ve toluende çözünürken, ksantofiller metanol ve etanolde daha iyi çözünmektedir (Erge, 2007).

2.2.2.5. Likopen

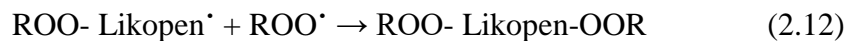
Likopen; simetrik düzlemde alifatik, yani düz zincirli, bir hidrokarbondur. Tetraterpen ($C_{40}H_{64}$) yapıda olup, 8 tane izopren (C_5H_8) ünitesinin birleşmesinden meydana

gelmektedir. Likopen, yapısında 11 tane konjuge ve 2 tane konjuge olmayan toplam 13 tane çift bağ ve β -iyonon halkası içermemektedir (Sevindik, 2007).



Şekil 2.17. Likopenin yapısı (Sevindik, 2007)

Likopen, hücreleri serbest radikal hasarından korumasının yanı sıra, hücreler arasındaki bağları güçlendirmekte ve hücre metabolizmasını geliştirmektedir. Yağda çözünen yapısı nedeniyle ciltte de antioksidan-koruyucu etki gösterir. Ultraviyole ışınlarına karşı koruma sağlar. Aynı zamanda kolesterol düşürücü özelliği vardır. Göğüs, rahim, karaciğer, prostat kanserlerinden koruyan, Alzheimer hastalığını önleyen, kalp damar hastalıkları, kemik ve cilt sağlığı açısından koruyucu etkisi bulunan likopen, antioksidan özelliğiyle yaşlanma sürecini yavaşlatmaktadır (Boileau vd., 2001; Mashima *et al.*, 2001; Neyestani vd., 2007a). Likopenin antioksidan aktivitesi için bir diğer mekanizma Eş.2.11 ve Eş.2.12 de gösterildiği gibi serbest radikaller ile reaksiyondur (Krinsky, 1998). Bu reaksiyonlarda oluşan karbon-merkezli karotenoid radikaller uzun polien zinciri tarafından resonant olarak stabilize edilirler. Elektron dansitesi zincir boyunca uniform değildir ve sonlara doğru daha büyük olup, bu yüzden reaksiyon için tercih edilen bölgelerdir. Bu nedenle, bir tek likopen molekülü birden fazla serbest radikalın etkinliğini giderebilmektedir (Krinsky, 1992).

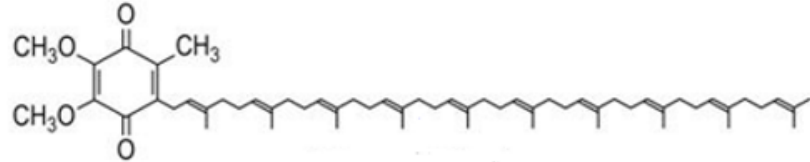


İnsanlar 50 den fazla diyetle bağlı karotenoidi absorbe ve metabolize edebilir. α -karoten, β -karoten, β -kriptoksantin, lutein ve likopen insan kanında en bol bulunan

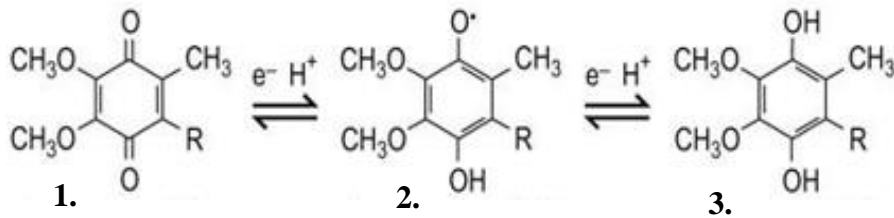
karotenoidlerdir. Likopen, insan metabolizmasında en baskın karotenoiddir. Likopen seviyeleri, çeşitli biyolojik durumlarda ve yaşam şartlarında etkilidir. Likopen, özellikle yağdan zengin dokular olan deride, karaciğerde, testisler ve prostatta bol miktarda bulunur (Dorgan vd., 2000; Erhardt vd., 2003; Giovannucci, 1999). Ayrıca, likopenin vitamin E ve vitamin C radikallerini onararak in vivo bir antioksidan olarak davranabileceği de bildirilmiştir (Bast vd., 1998).

2.2.2.6. Koenzim Q10

Koenzim Q10 mitokondrilerde aerobik koşullarda yükseltgenmiş kinon (ubikinon 10), anaerobik koşullarda ise indirgenmiş kinol (ubikinol 10) halinde bulunur. Koenzim Q10 sentezi endoplazmik retikulumda başlar ve golgide tamamlanır, buradan hücredeki diğer lokalizasyonlara dağılır. Koenzim Q10 en çok iç mitokondriyal membranda bulunur. Sınırlı miktardaki koenzim Q10 fazlalığı plazma membranından kana geçer ve plazma lipoproteinlere bağlanır (Altekin, 1999).



Şekil 2.18. Koenzim Q10 (Ubikinon 10) 'in yapısı (Altekin, 1999)



Şekil 2.19. Ubikinon (1.), Semikinon (2.), Ubikinol (3.) dönüşümleri (Altekin, 1999)

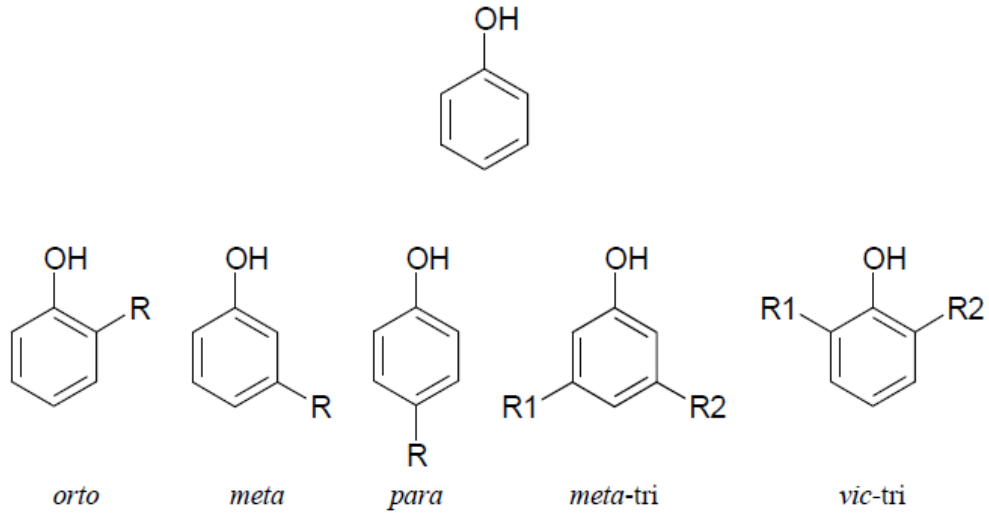
Koenzim Q10 mitokondride solunum zincirinin elektron taşıyıcısı olarak görev alır (Frei vd., 1990; Long vd., 1999). Koenzim Q10 elektron transport zincirinde yükseltgenme-indirgenme tepkimelerinde görev yapan bazı enzimler için koenzimdir.

Koenzim olarak görev yaparken taşımakla görevli olduğu elektron ve protonları ($2H^+ + 2e^-$) yapısındaki kinon halkasına katarak hidrosikinona dönüşür. Yapısındaki kinon grubu koenzim Q10'a elektron taşıyıcısı özelliğini kazandırır (Turunen vd., 2004). Koenzim Q10 bu dönüşüm ile elektron transfer/proton translokasyon görevini de gerçekleştirmiş olur (Kayapınar, 2002; Overvad vd., 1999).

Koenzim Q10 oksijen kaynaklı radikaller ve singlet oksijen ile etkileşerek lipid peroksidasyonunun başlamasını ve biyomoleküllerin zarar görmesini engeller (Bonakdar and Guarneri, 2005; Yamashita ve Yamamoto, 1997). Serbest radikallerle ara ürün olarak görev yapar ve elektron redüksiyon reaksiyonuna maruz kalır. Stabil karakterli olmayan serbest radikaller ubikinondan gelen bir elektronla stabil hale gelir. Koenzim Q10 bu özelliğiyle önemli bir antioksidandır (Candan, 2007; Turunen vd., 2004).

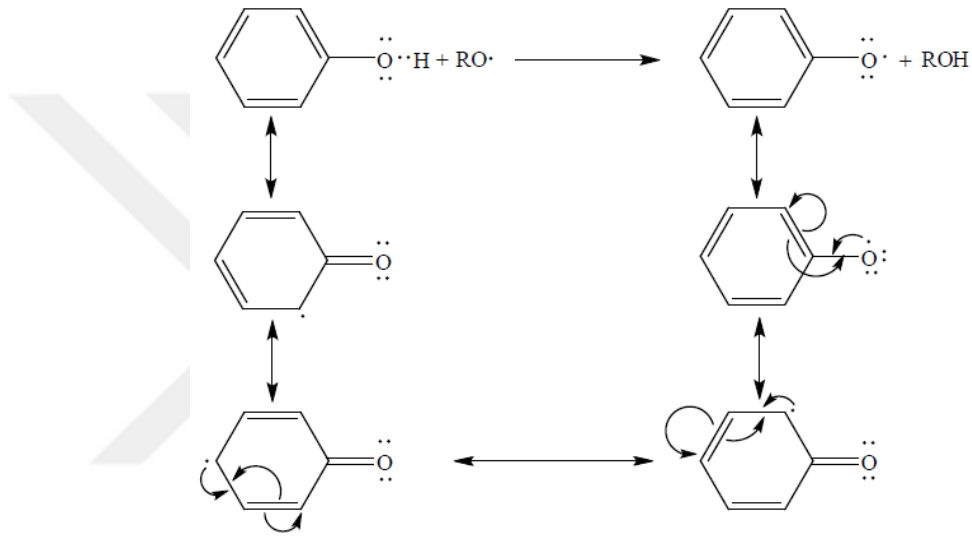
2.2.2.7. Polifenoller

Basit fenolik maddeler, substitue fenollerdir. Benzen halkasında bulunan hidroksil grubuna göre farklı fonksiyonel gruplar; *orto* (1,2-), *meta* (1,3-) ve *para* (1,4-) konumlarında benzen halkasına bağlanabilirler. Eğer üç fonksiyonel grup 1,3,5 konumlarında benzen halkasına bağlanırsa *meta*-tri; 1,2,6, konumunda bağlanırsa *vic*-tri şeklinde isimlendirilir.



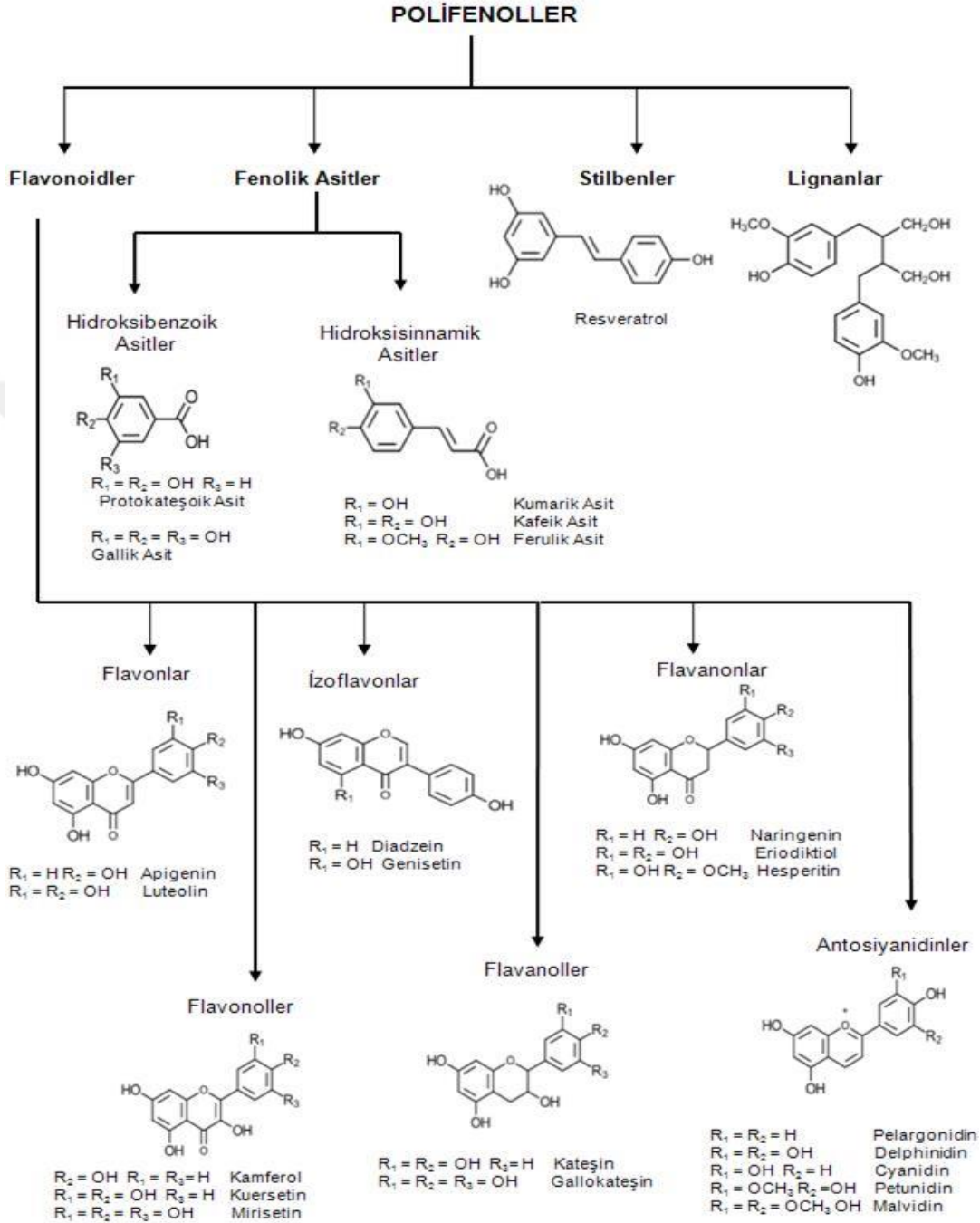
Şekil 2.20. Basit fenol yapısı ve pozisyonları

Fenolik bileşikler rezonans kararlılıklarından dolayı antioksidan aktivite gösterirler. Fenolik bileşiklerin antioksidan etkisi, serbest radikalleri giderme (Pekkarinan vd., 1999; Rice-Evans vd., 1995), metal iyonları bağlama (metal şelatlama) ve singlet oksijen oluşumunu engelleme veya azaltma (Rice-Evans vd., 1995) gibi özelliklere sahiptirler. Bu özellikler fenol radikalinin rezonans kararlılığından kaynaklanmaktadır.



Şekil 2.21. Fenollerin rezonans kararlılığı (Şehitoğlu, 2012)

Bütün bitki metabolizmalarında, ikincil metabolit olarak bulunan ve bitkilerin kendilerini bazı zararlılara karşı korumada rolleri olduğu sanılan çok sayıda farklı nitelik ve miktarlarda fenolik bileşik bulunur. (Saldamlı, 2007). Bitkilerin ikincil metabolitleri olan polifenollerin bitkilerin normal gelişimine önemli katkıları vardır. Patojenlerin saldırılarına veya ultraviyole ışınlar karşı bitkileri savunurlar (Kahkönen vd., 1999; Manach vd., 2004). Yapısal olarak, fenolik bileşikler, aromatik halka ihtiva eden, bir ya da daha fazla hidroksil grubu taşıyan polimerize bileşiklerdir (Bravo, 1998). Yapısal farklılıklarına rağmen, bu bileşikler genellikle 'polifenoller' olarak adlandırılır. En çok doğal olarak meydana gelen fenolik bileşikler, mono- ve polisakaritlerin bir ya da daha fazla fenolik grup ile oluşturduğu konjugatlarıdır (Harborne vd., 1999; Shahidi ve Nacz, 1995). Bu yapısal farklılık, fenolik bileşiklerin doğada geniş bir yelpazede bulunmasını sağlamaktadır.



Şekil 2.22. Polifenollerin sınıflandırılması (Avan, 2014)

Polifenoller çok sayıda hidroksil grubu içerir, bu ise bileşiğe potansiyel metal şelatlama özelliği kazandırır ve böylece zararlı bileşenleri yakalayabilir, eksik elektronlarını doyurabilir veya reaksiyon zincirini kırabilir. Yapılan çalışmalar

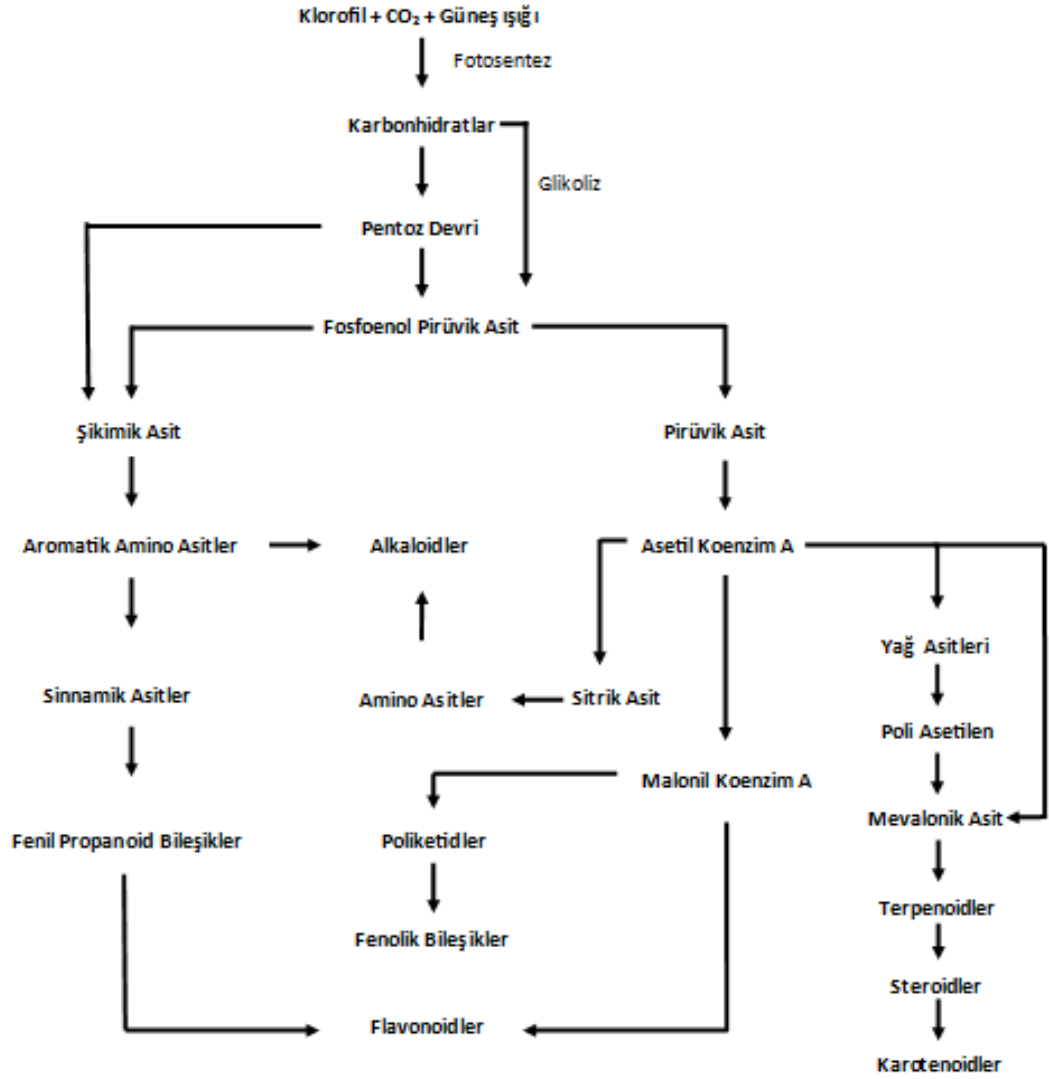
göstermiştir ki, polifenoller E ve C vitamininin göstermiş olduğu antioksidan özelliğın çok daha fazlasına sahiptir (Shahidi vd., 1990; Uzelag vd., 2005). Bu nedenle polifenollerin antioksidan özellikleri ve bu özelliklerin artırılmasına yönelik çalışmalar önemlidir.

Polifenolik bileşikler bitkilerde aromatik aminoasit metabolizması sırasında sentezlenen yan bileşiklerden oluşan ikincil metabolitler olup doğada yaygın olarak bulunurlar (Shahidi vd., 1990). Bunlar meyveler, sebzeler, içecekler ve tahıllarda antioksidan aktivite, duyuşal ve beslenme kalitesine katkıda bulunurlar. Genellikle meyvelerde polifenolik bileşikler sebzelerden daha fazla bulunur (Bilaloğlu, 1999).

Epidomolojik çalışmalarda polifenollerce zengin gıdaların tüketiminin kanser, felç, koroner kalp damar ve kemik hastalıkları riskini azalttığı belirlenmiştir. Polifenoller indirgen maddelerdir ve C vitamini, E vitamini ve karotenoidler gibi diğer indirgenlerle beraber vücut dokularını oksidatif streşten kaynaklanan hastalıklardan korurlar (Steinmetz vd., 1996).

Polifenoller güçlü antioksidanlardır ve aktiviteleri kimyasal yapılarına bağlıdır (Acker vd., 1996; Miller vd., 1995; Miller vd., 1996). Bitki polifenolleri çok fonksiyonlu olup hidrojen atomu verici, singlet oksijeni süpürücü ve indirgeyici olarak davranır (Cadenas ve Packer, 2002). Bazı polifenoller ise antioksidan özelliklerini metal iyonlarını şelatlama özelliklerine borçludurlar (Brown vd., 1998). Bir polifenolün antioksidan olarak tanımlanabilmesi için iki temel özelliğın sağlanması gerekmektedir. Birincisi okside olabilen substratlara oranla düşük konsantrasyonlarda bulduklarında, otooksidasyonu veya serbest radikal merkezli oksidasyonu erteleyebilmeli, geciktirebilmeli veya önleyebilmelidir. İkincisi ise süpürme sonunda oluşan radikal, oksidasyon zincir reaksiyonunu kesmekte kararlı olmalıdır. (Cadenas ve Packer, 2002; Halliwell, 1990).

Polifenolik bileşikler ve flavonoidler, çıkış maddeleri fenol olan, güneş ışığı yardımıyla bitkilerin yaprak, dal, meyve ve çiçeklerinde fotomorfojeniz reaksiyonları sonucu oluşan organik bileşiklerdir (Jung vd., 2005).

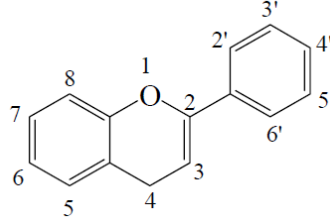


Şekil 2.23. İkincil metabolitlerin oluşumu (Tedder vd., 1972)

Flavonoidler

Flavonoidler, iki benzen halkası ve bu halkaları birbirine bağlayan, oksijen içeren piran veya piron halkasından oluşan C15 (C6-C3-C6) yapısına sahip bileşiklerdir. Flavonoidler bitkilerde en fazla glikozit türevleri halinde bulunmalarına rağmen

aglikonlar olarak da bulunurlar. Hidroksil gruplarının her biri çeşitli fenolik ve alifatik asitlerle açillenebilir ve bazı karbonlar bir ya da daha fazla farklı basit karbonhidratla yer değiştirebilir. Bitkilerde, flavonoidler hidroksilleme, metilleme ve en önemlisi glikolizleme sonucu çeşitli yapılar da bulunabilirler (Robards ve Antolovich, 1997).

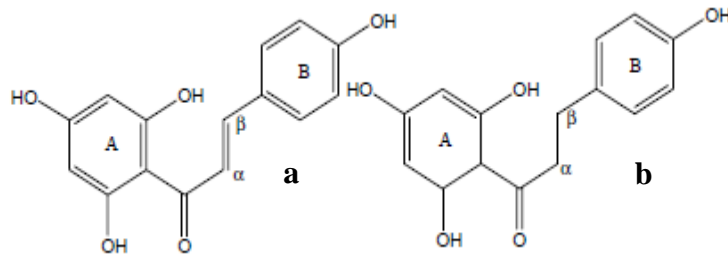


Şekil 2.24. Fenil Benzopiran

Flavonoitler bitkilerin fotosentezle oluşturdukları ve hayati gereksinimleri için kullandıkları karbohidrat, amino asitler gibi birincil metabolitlerden türetilirler (Geissman ve Crout, 1969). Biyosentez araştırmalarından elde edilen bulgulara göre fenil alanin gibi amino asitlerin enzimatik deaminasyonlarından oluşan sinamik asit türevleri malonil koenzim A ile kondanse olarak flavonoitleri oluştururlar (Geissman ve Crout, 1969; Harborne vd., 1975).

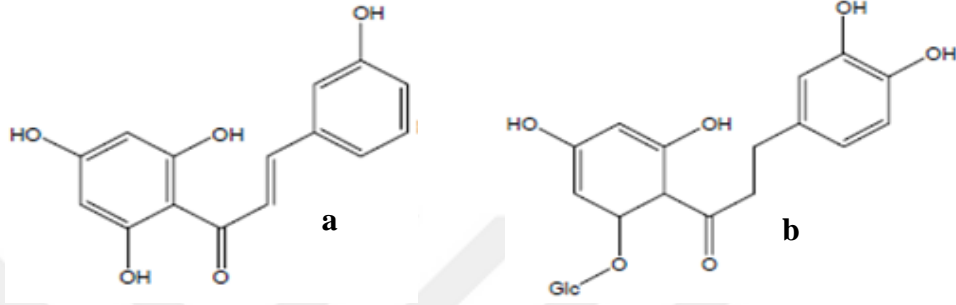
Kalkonlar

Kalkonlar ve dihidrokalkonlar iki benzen halkası ve C3 zincirine sahiptir. Kalkonlarda bulunan C3 zinciri üzerinde bir çift bağ bulunurken dihidrokalkonlarda bulunan zincir doygundur (Vermerris ve Nicholson, 2006).



Şekil 2.25. Kalkonlar (a) ve Dihidroalkonlar (b)

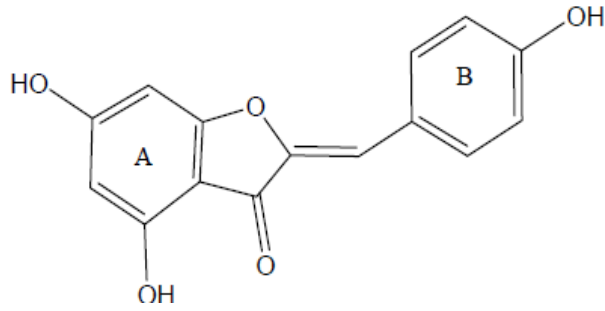
Butein gibi kalkonlar bitkilerde bulunan sarı renge sahip pigmentlerdir. Ayrıca dihidrokalkonlara bir örnek ise floridzin (phloretin-2'-O-D-glucoside) elma yapraklarından izole edilmiştir ve yapılan çalışmalarda anti-tümör aktiviteye sahip olduğu ortaya konulmuştur (Nelson ve Falk, 1993).



Şekil 2.26. Butein (a) ve Floridzin (b)'in yapıları

Auronlar

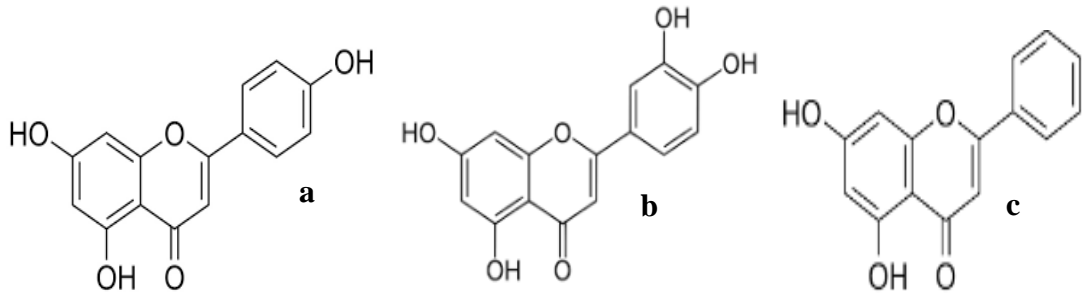
Auronlar kalkonların siklizasyonlarından meydana gelir ve meta-hidroksil grup α -karbonu ile beş üyeli bir heterosiklo yapısına dönüşür. Bu yapı yine çiçeklerdeki sarı renkli pigmentlerdendir (Vermerris ve Nicholson, 2006).



Şekil 2.27. Auron'un yapısı

Flavonlar

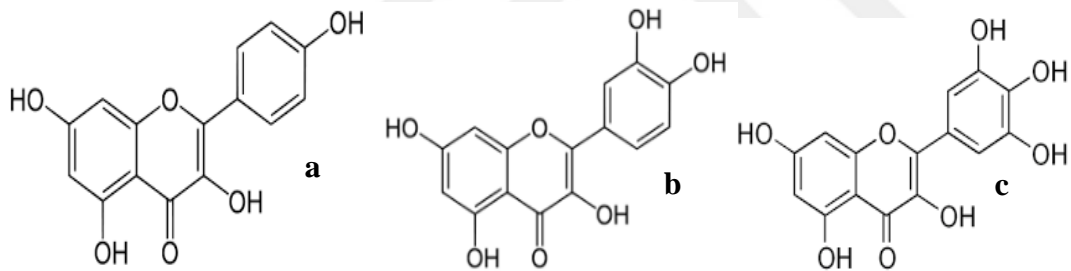
Yapısında bir keton birimi bulunduran flavonlar sınıfına ait temel bileşikler apigenin, luteolin ve krisindir. Yüksek derişimlerde bulduklarında ya da metal iyonları ile kompleks oluşturdıklarında bitkiye renk vermekteler (Peterson vd., 1998).



Şekil 2.28. Apigenin (a), Luteolin (b), Krisin (c)

Flavonoller

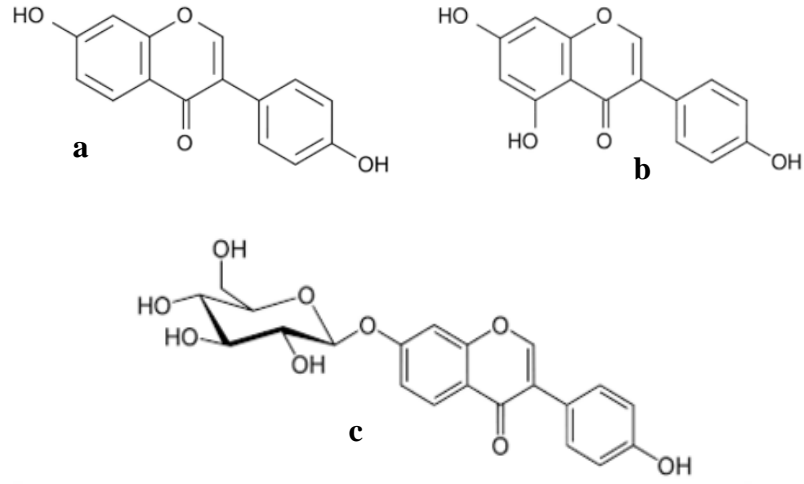
Heterosiklü yapıya sahip olan flavonlar yapısında bir keton ve doymamış bir karbon-karbon bağına sahiptir. Flavlonlar Angiospermlerde oldukça yaygındır. Doğada en yaygın bulunan flavonlar ise şöyledir: Kaemferol, Quercetin ve Myricetin (Vermerris ve Nicholson, 2006).



Şekil 2.29. Kaemferol (a) , Quercetin (b) ,Myricetin (c) yapıları

İzoflavonlar

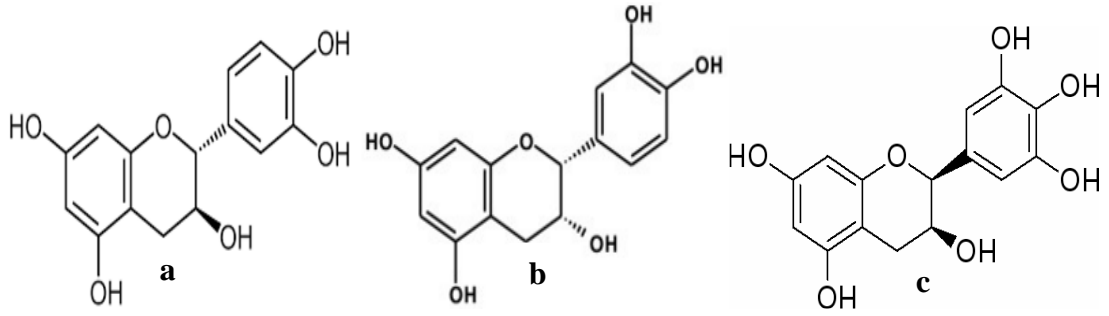
İzoflavonların yapılarında temel olarak iki adet benzen halkası vardır ve bunlar birbirlerine heterosiklik pıran halkası ile bağlanmıştır. Ayrıca her iki benzen halkasına birer tane hidroksil (-OH) grubu bağlıdır. İzoflavonlar bitkilerde doğal olarak ozlarla konjuge yapılar olan glukozit halinde bulunurlar. Doğada en çok raslanan izoflavonlar şunlardır; Daidzein, Genistein ve Daidzin (Erçetin, 2007) .



Şekil 2.30. Daidzein (a), Genistein (b) ve Daidzin (c) yapıları

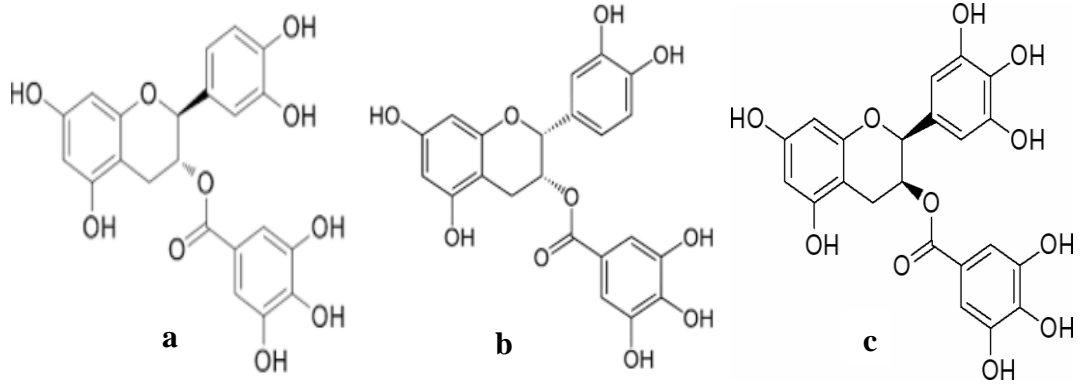
Flavanoller

Flavonollerin piron halkasında bulunan çifte bağlı oksijen atomunun yerine $-CH_2$ grubu geldiğinde *flavanol* oluşur. Flavonların indirgenmiş türevleridir. En önemlileri kateşin ve epikateşin' dir (Apak vd., 2005; Tütem vd., 1991; Whitehead vd., 1992).



Şekil 2.31. Kateşin (a), Epikateşin (b), Epigallokateşin (c)

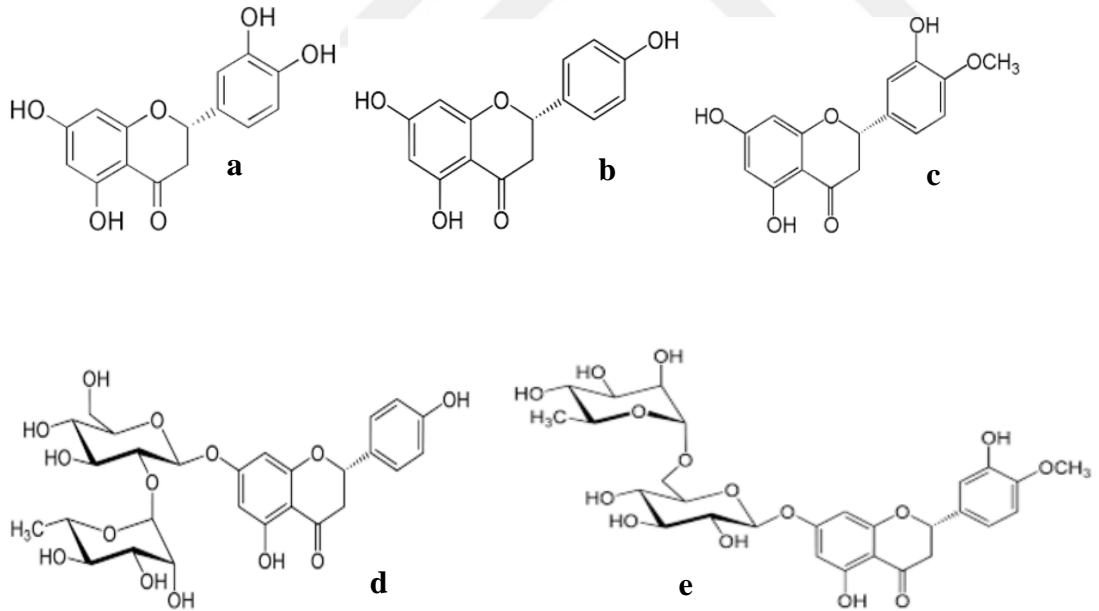
Kateşin ve epikateşinin gallik asitle kombinasyonları sonucu kateşin ve epikateşin gallatlar meydana gelir.



Şekil 2.32. Kateşin gallat (a), Epikateşin gallat (b), Epigallokateşin gallat (c)

Flavanonlar

Flavonların dihidro türevleri ise flavanonlardır. En önemlileri eriodiktol, naringenin, naringin, hesperidin ve hesperetin'dir. Naringin naringenin'in, hesperidin ise hesperetin'in glikozitidir.

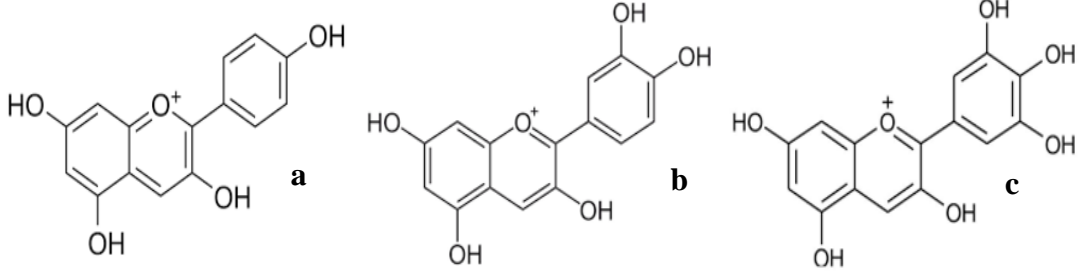


Şekil 2.33.Eriodiktol (a), Naringenin (b), Hesperetin (c), Naringin (d), Hesperidin (e)

Antosiyanidinler

Doğada serbest halde bulunmazlar, şekerlerle glikozidik halde bulunurlar ve antosiyanin adını alırlar. Antosiyaninler meyve ve sebzelerin pembe, kırmızı ve mor

tondaki çeşitli renklerini veren suda çözünebilir nitelikteki pigmentleridir (Cemeroğlu, 2004). En yaygın olarak bitkilerde bulunan antosiyanidinlerin yapıları şunlardır; Pelargonidin, Siyanidin, Delphinidin (Shahidi ve Nacz, 1995).



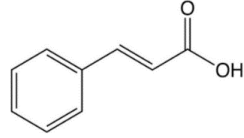
Şekil 2.34. Pelargonidin (a), Siyanidin (b), Delphinidin (c)

Fenolik asitler

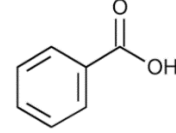
Bitkilerde çok miktarda bulunan fenolik asitler, diğer ismiyle fenil propanoidler, hidroksi sinamik ve hidroksi benzoik asitleri içeren iki gruptan oluşur. Fenolik asitlerin çoğunu hidroksi sinamik asitler oluşturur (Cadenas ve Packer, 2002). L- fenil alanin veya L- tirozinden p-kumarik, ferulik, kafeik, sinapik ve klorojenik asit meydana gelir. Yapılarındaki $-CH=CH-COOH$ gruplarının varlığı, hidrojen verebilme yeteneklerini arttırmakla birlikte benzoik asitlere göre radikalleri daha kararlı hale getirebilirler. Benzoatlardan daha etkilidirler. Hidroksi benzoik asitler yapılarındaki hidroksi ve metoksi gruplarının yerleşimi ve sayılarına göre çeşitlenirler. Bunlardan birkaçı; gallik asit, vanilik asit, şiringik asit, resorsilik, protokateşuik asit'dir.

Mono hidroksi benzoatlar etkili hidroksil radikal süpürücülerdir. Çünkü hidroksillenmeye ve hidroksil radikallere yüksek reaktivite göstermeye eğilimlidirler. Fenolik halka ile karboksilat grubu arasına metilen grubu girmesiyle oluşan fenil asetik asitlerde orto ve meta hidroksi türevleri 1 mM'a yakın antioksidan aktivite gösterirler. Dihidroksi benzoik asit türevlerinin antioksidan aktiviteleri hidroksil gruplarının pozisyonlarına bağlı olup, o-p pozisyonlarında aktivite yüksek olurken, m-p pozisyonlarına sahip olanlarda aktivite düşer (Evans vd., 1996).

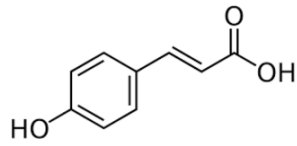
Tablo 2.3. Sinamik asit ve benzoik asit türevi fenolik asitler (Vermerris ve Nicholson, 2006)



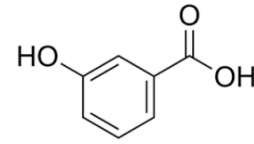
Sinamik asit



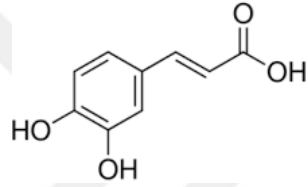
Benzoik asit



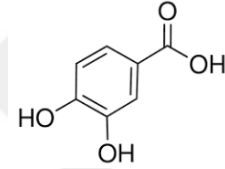
Kumarik asit (m-o-p)



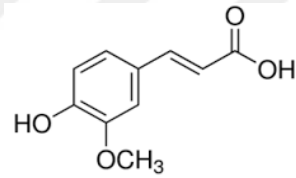
Hidroksibenzoik asit(m-o-p)



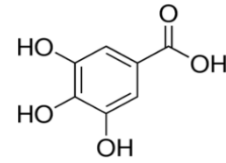
Kafeik asit



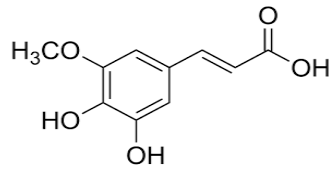
Prokateşuik asit



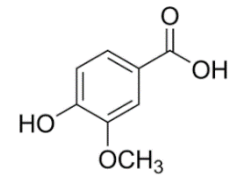
t-Ferulik asit



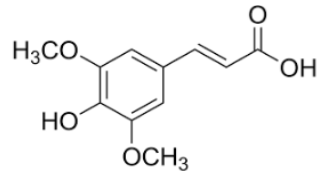
Gallik asit



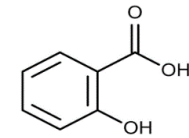
5-Hidroksi ferulik asit



Vanillik asit

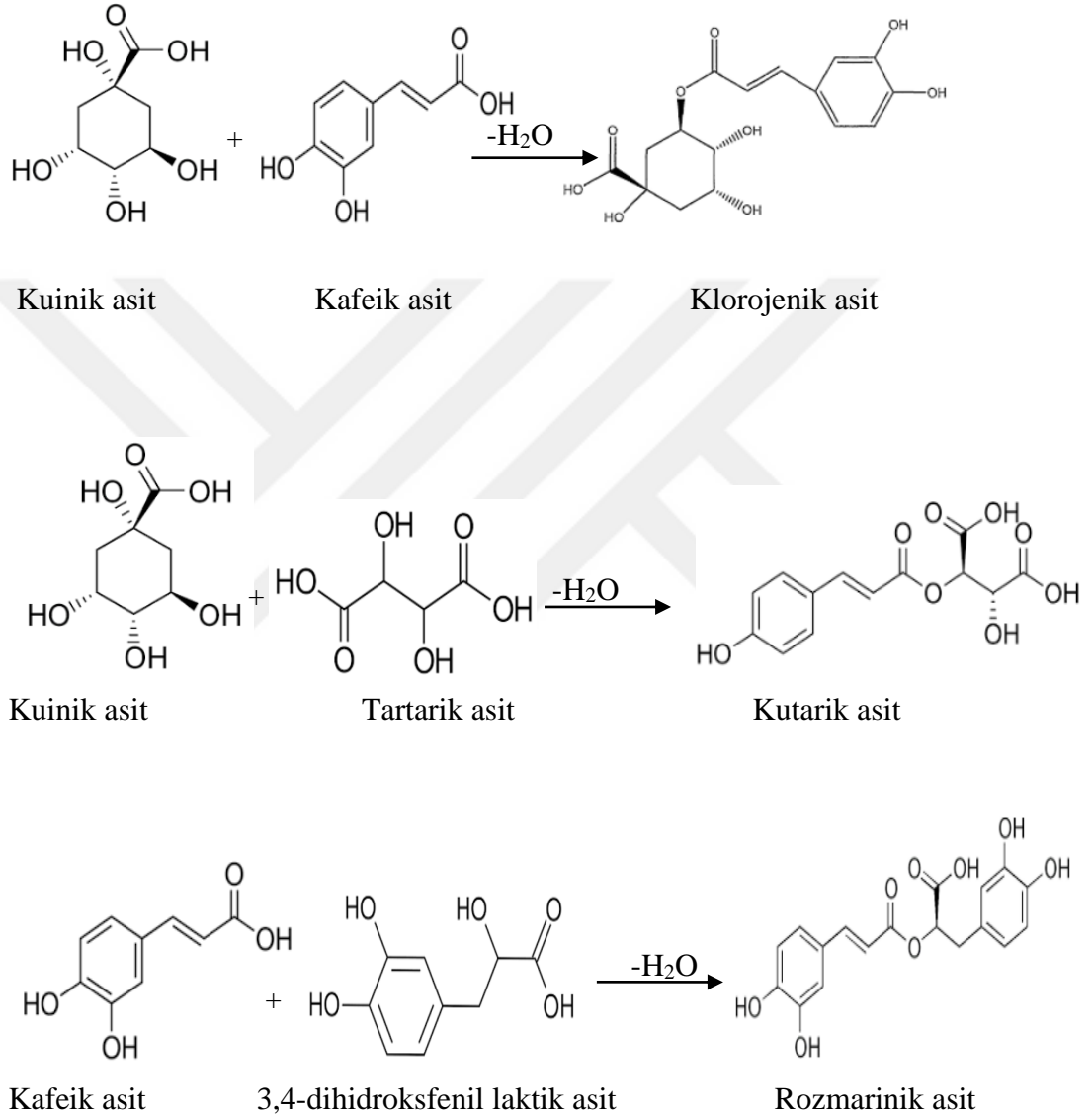


Sinapik asit



Salisilik asit

Ayrıca sinnamik asitler, genellikle bitkilerde kuinik, şikimik ve tartarik asitlerin esterleri halinde bulunurlar. Klorojenik asitin kafeik ve kuinik asitin esteri olması buna örneklerden biridir (Evans vd., 1996).

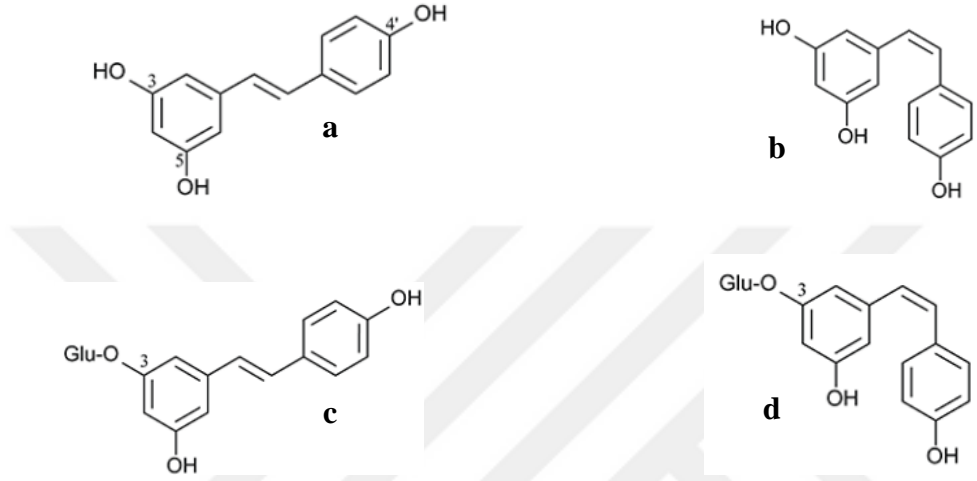


Şekil 2.35. Fenolik asitlerin esterleşme reaksiyonları ile yeni yapıların oluşumu (Vermerris ve Nicholson, 2006)

Stilbenler

Stilbenler C6–C2–C6 yapısına sahip polifenolik bileşiklerdir. Stilbenler mantar, bakteri ve viral patojenlere karşı savunmadan sorumlu olan ve bitkiler tarafından

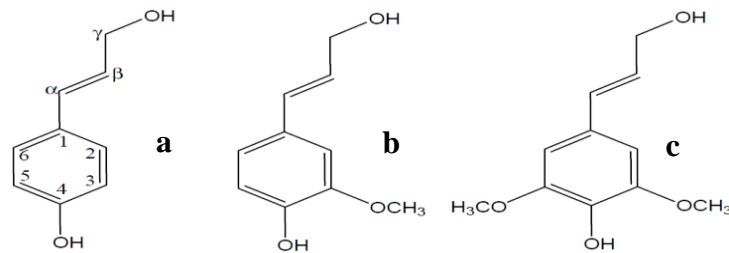
üretileen fitoaleksinlerdir. Bu bileşiklerin en çok bilinen ve en yaygın türü Resveratroidür. Resveratrol cis ve trans izomerleri halinde bulunur ve genel olarak bitki dokularında piceid ve polidatin olarakda bilinen cis ve trans-resveratrol-3-O-glukozit halinde mevcuttur (Crozier ve Ashihara, 2006).



Şekil 2.36. trans/cis resveratrol türevleri (a-b) ve trans/cis-resveratrol-3-O-glukozitleri (c-d)

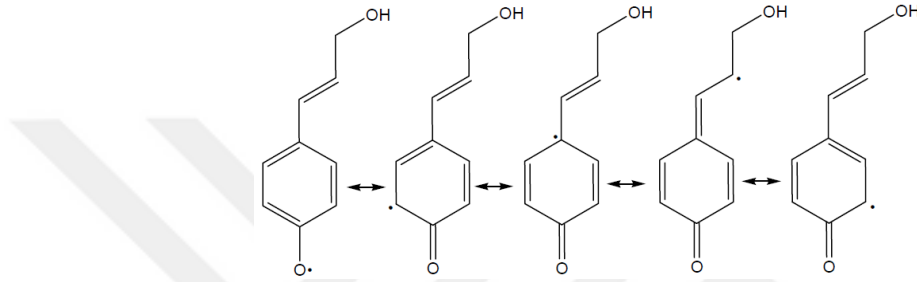
Lignanlar

Lignanlar p-kumaril alkol, koniferil alkol ve sinapil alkolden oluşan monolignollerin meydana getirdikleri dimerler veya oligomerlerdir. Bitkilerin odunsu gövdelerinde bulunmaktadır ve böceklere karşı koruyucu role sahiptir. Bu bileşiklerin bazıları ise tıbbi özellikteki moleküller olup aynı zamanda östrojen 20 yapıdaki antioksidanlardır (Vermerris ve Nicholson, 2006).p-kumaril alkolden türevlendirilmiş bir monolignol radikalleri Şekil 1.37. de gösterilmektedir.



Şekil 2.37. p-kumaril alkol (a), koniferil alkol (b) ve sinapil alkol (c) yapıları

Lignan biyosentezleri monolignol radikallerin reaksiyonları ile ortaya çıkmaktadır. Aşağıda verilen örnekte bir monolignol olan p-kumaril alkol hücre duvarına bağlı peroksidazların aktive edilmesiyle fenol üzerindeki para-hidroksil grubuna bağlı proton elimine edilir ve radikal enzimatik olarak oluşturulur. Radikal elektron hem fenol halkasında hemde propan zincirinde delokalize olabilir (Vermerris ve Nicholson, 2006).

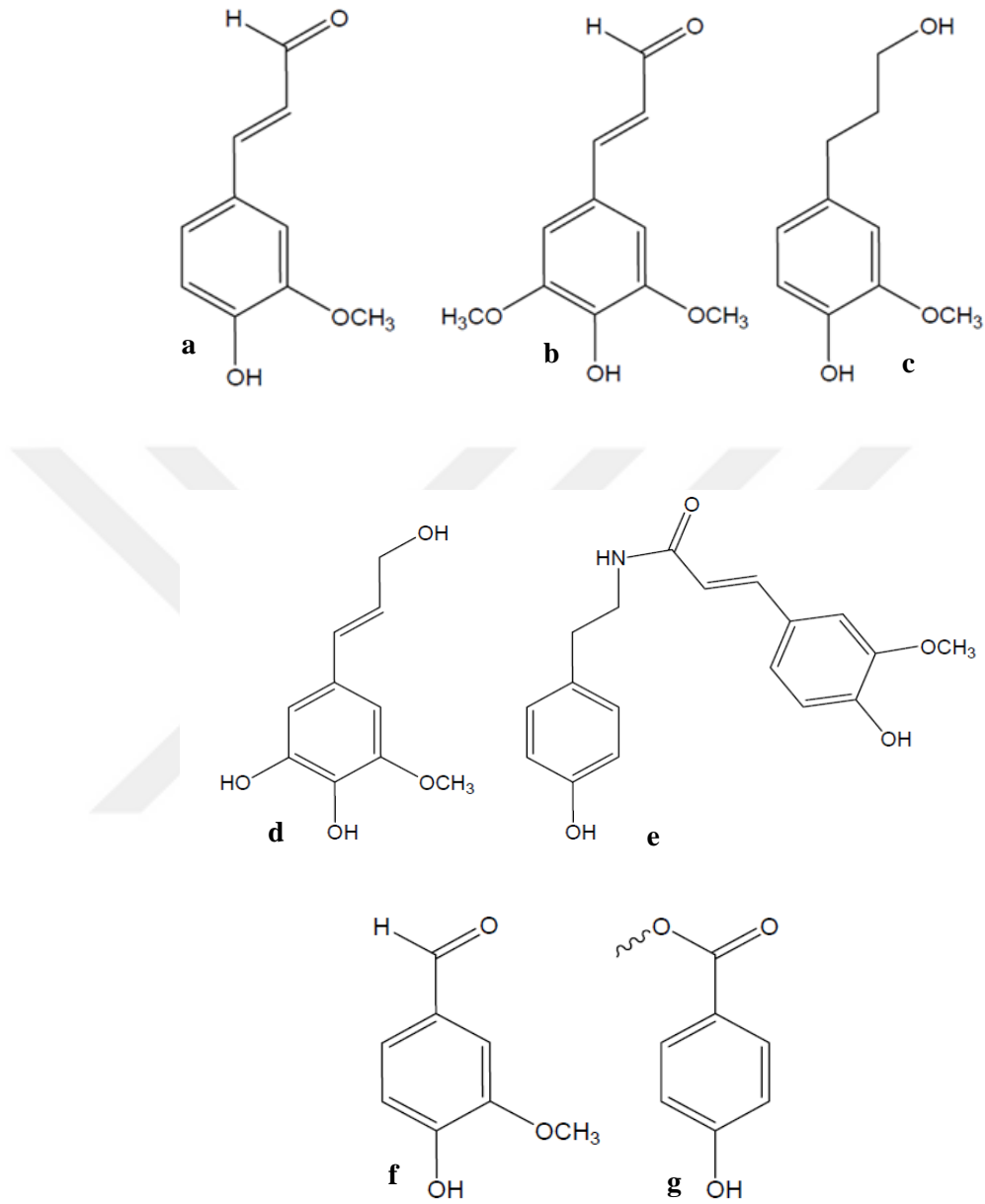


Şekil 2.38. p-kumaril alkolün radikal elektronu delokalizasyonu (Vermerris ve Nicholson, 2006)

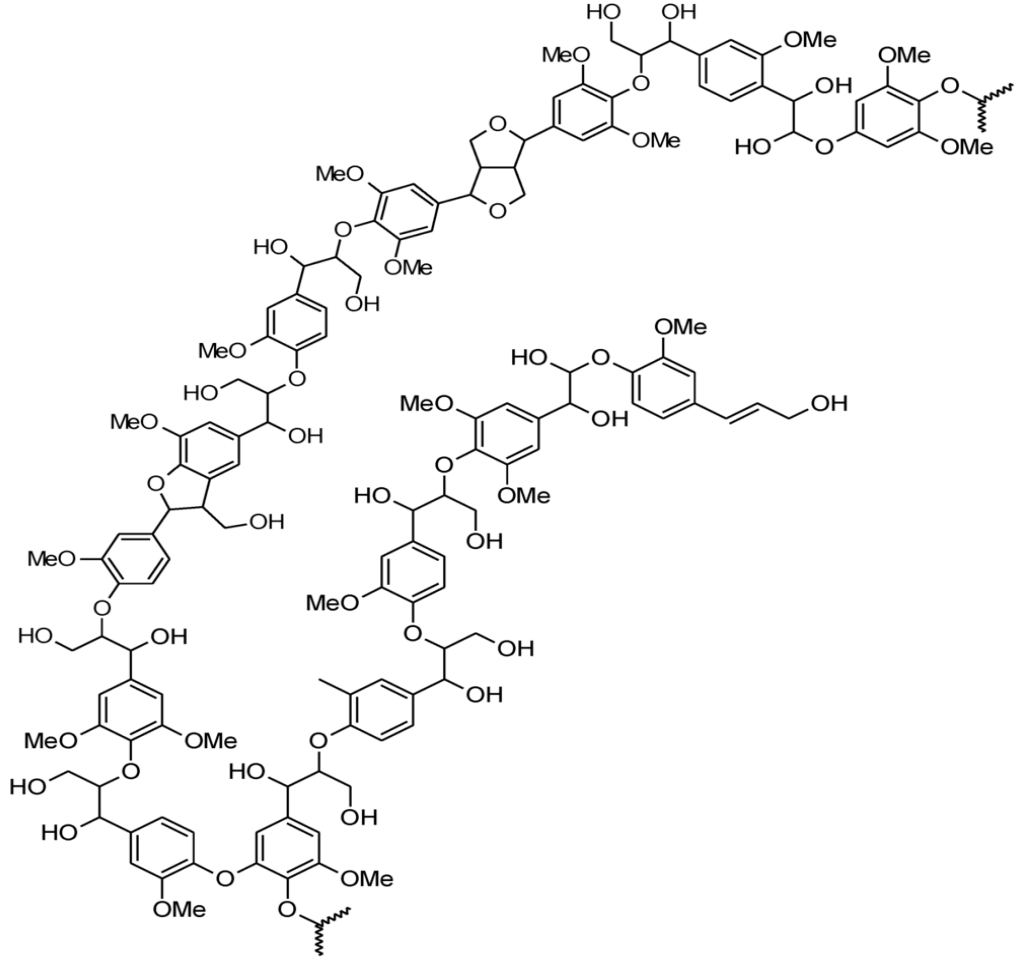
Ligninler

Ligninler fenolik polimerlerdir. Selülozden sonra dünyada en bol bulunann ikinci biyopolimerlerdir ve bitkilere yapısal destek sağlamakta önemli role sahiptirler. Mantar ve böceklere karşı bariyer görevi görür. Ayrıca yapılarında sahip oldukları hidrofobiklik vasküler dokulardaki su transferini hafifletmektedirler (Vermerris ve Nicholson, 2006).

Lignanlarda olduğu gibi Ligninlerde p-kumaril alkol, koniferil alkol ve sinapil alkolden meydana gelir. Bu bileşiklere ek olarak; koniferaldehid, sinapaldehid, dihidrokoniferil alkol, 5-hidroksikoniferil alkol, tiramin ferulat, p-hidroksi-3-metiloksibenzaldehit, p-hidroksibenzoat bileşikleride içerir (Vermerris ve Nicholson, 2006).



Şekil 2.39. Koniferaldehid (a), Sinapaldehid (b), Dihidrokoniferil Alkol (c), 5-Hidroksikoniferil Alkol (d), Tiramın Ferulat (e), *p*-Hidroksi-3-Metiloksibenzaldehit (f), *p*-Hidroksibenzoat (g) (Vermerrıs ve Nicholson, 2006)



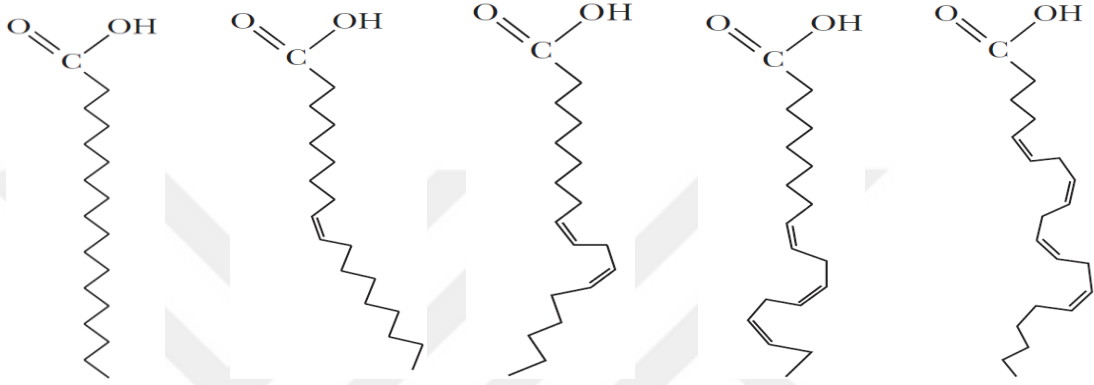
Şekil 2.40. Meşe ağacına ait lignin için muhtemel bir lignin polimer modeli (Ralph vd., 2011)

2.3. Lipitler

Lipitler; apolar çözücülerde yüksek çözünürlükte olan ancak suda çok düşük çözünürlüklere sahip olan bir biyolojik moleküller sınıfıdır. Büyük ölçüde hidrokarbon olan moleküller olarak, lipidler oldukça indirgenmiş karbon formlarını temsil ederler ve metabolizma içindeki oksidasyon üzerine büyük miktarda enerji verirler. Lipitler bu yüzden metabolik enerjinin depolanması için seçilmiş moleküllerdir (Garrett ve Grisham, 2017).

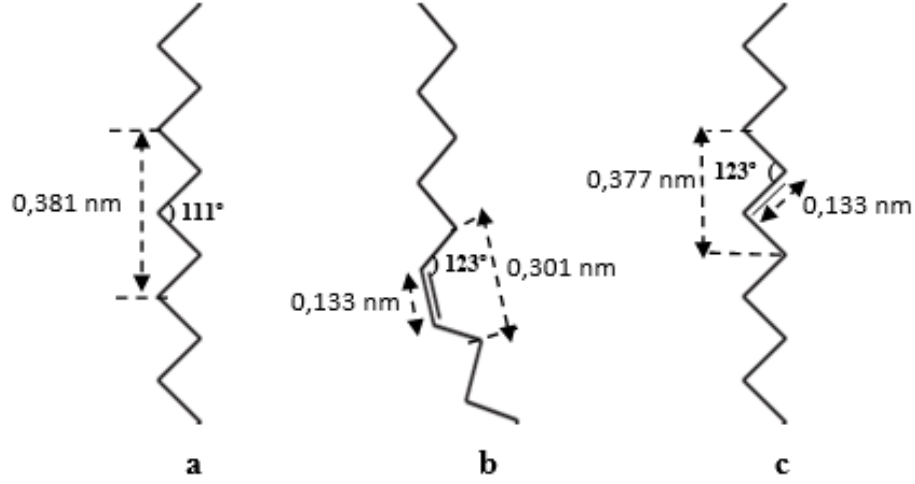
Lipitler membranların anahtar bileşenleridir ve ayrıca biyolojik sistemde sinyal molekülleri olarak sayısız rollere sahiptirler. Hücresel fonksiyonların ve hücreler arası

Doğada bulunan yağ asitlerinin genellikle 14-24 karbon atomlu zincirlere sahiptir. Ancak belirli deniz organizmaları yüksek miktarda karbon atomu içeren zincirlere sahip yağ asitleri içerirler. Yağ asitleri hem doymuş (yani karbon- karbon arasında tekli bağ olan) hemde doymamış (yani karbon- karbon arasında çift bağ olan) olabilir (Garrett ve Grisham, 2017).



Şekil 2.43. Doymuş ve doymamış yağ asitleri (Sırasıyla Stearik asit, Oleik asit, Linoleik asit, α -Linolenik asit, Araşidonik asit) (Garrett ve Grisham, 2017)

Doymuş ve doymamış yağ asitleri yapısal konformasyon yönünden birbirlerinden önemli derecede farklılıklar göstermektedir. Doymuş yağ asitlerinde hidrokarbon zinciri sınırsız sayıda konformasyona sahip olabilirler, çünkü omurgadaki her bir tekli bağ tam dönme serbestisine sahiptir. Bunların en az enerji ve en muhtemel konformasyonu uzanmış halidir. Doymamış yağ asitlerinde de dönme serbestisi olmayan çift bağda, eğer cis ise, 30° 'lik bir bükülme vardır. Trans şekli ise, aynen doymuş yağ asitlerine benzerler. Cis şekilleri, trans şekillerine göre daha az kararlıdır ve biri diğerine bazı katalizörlerle çevrilebilmektedir. Birden fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerindeki cis konfigürasyonu, bükülmelerden dolayı hidrokarbon zincirini kısaltır. Doymamış yağ asitlerindeki bu tip konfigürasyonu özellikle membranlarda biyolojik önemi vardır. Çünkü cis-izomeri olan yağ asitlerindeki bükülmeden dolayı hidrokarbon zincirleri birbirleri üzerine istiflenemediklerin, aralarındaki Van der Waals çekimi, doymuş veya trans-izomeri doymamış yağ asitlerine göre daha azdır. Bunun sonucu olarak erime noktaları daha düşüktür (Keha ve Küfrevioğlu, 2000).

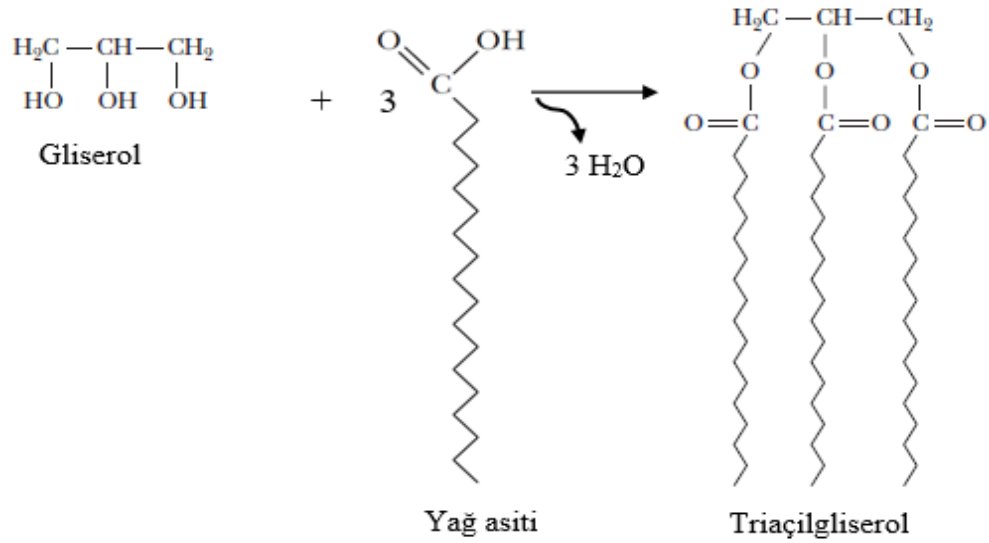


Şekil 2.44. Doymuş ve doymamış yağ asitlerinin konformasyonu. (a) Doymuş, (b) Cis-çift bağ, (c) Trans-çift bağ (Keha ve Küfrevioğlu, 2000)

2.3.2. Nötral yağlar

Açılgliseroller veya gliseridler olarak bilinen bu bileşikler, yağ asitlerinin gliserolle meydana getirdikleri esterlerdir. Hayvan ve bitki hücrelerindeki yağ depolarının özellikle hayvandaki adipoz dokunun başlıca bileşenleridir (Keha ve Küfrevioğlu, 2000).

Gliserolün üç hidroksil grubunu yağ asitleriyle esterleştiği bileşikler triaçil gliseroller olarak bilinir. Bu lipitler tabiatta nötral yağların en bol miktarda bulunan kısmıdır. Öte yandan monoaçılgliseridler ve diaçılgliseridler de mevcuttur (Keha ve Küfrevioğlu, 2000).

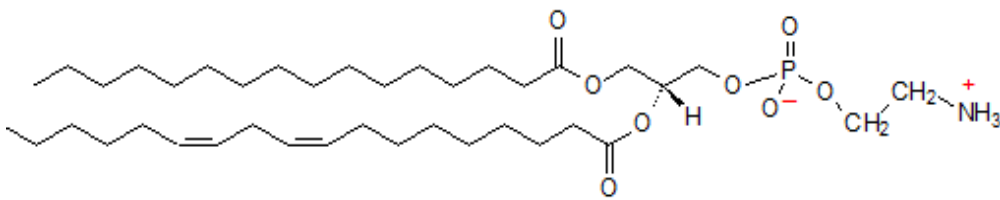


Şekil 2.45. Nötral yağların oluşum reaksiyonları (Garrett ve Grisham; 2017)

2.3.3.Fosfolipitler

Fosfolipitler biyolojik membranların en önemli bileşenleridir. Genel olarak gliserol alkolü ve sfingozin alkolü türevleridir. Gliserolden türeyen fosfolipitlere fosfogliseridler denir. Bir fosfogliserid, bir gliserol iskeletii iki yağ asiti ve bir fosforillenmiş bir alkolden oluşmaktadır. (Keha ve Küfrevioğlu, 2000).

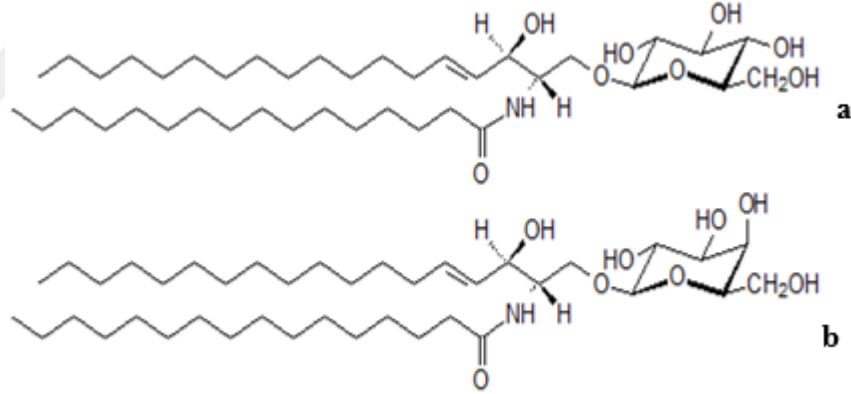
Fosfogliseridlerde gliserolün 1 ve 2 nolu karbon atomlarındaki hidroksil grubu, iki yağ asitinin karboksil gruplarıyla, 3 nolukarbon hidroksil grubuda fosforik asit ile esterleşmiştir (Keha ve Küfrevioğlu, 2000). Oluşan fosfatidat yapısında ki fosfat grubu üzerine çeşitli alkollerin hidroksil gruplarıyla esterleşmesi sonucu fosfogliseridler ortaya çıkar. Bu alkollerin en yaygınları serin amino asiti, etanolamin, kolin, gliserol ve inositoldür (Garrett ve Grisham, 2017).



Şekil 2.46. Fosfatidiletanolamin yapısı (AOCS Lipid Library; 2017)

2.3.4. Glikolipitler

Glikolipitler; isminden de anlaşılacağı üzere, şeker içeren lipitlerdir. Tüm hücre membranlarında yaygın olarak bulunan glikolipitler, hücreler arası iletişimde çok önemli rollere sahiptirler. Sfingomielin gibi, hücre membranlarında bulunan glikolipitler de sfingosinden türetilir. Sfingosinin temel yapısındaki amin gurubu, sfingomielinde olduğu gibi bir yağ asiti tarafından açillenir. Glikolipitler sfingomielinden farklı olarak sfingosin iskeletinin birincil hidroksil gurubuna bir ya da daha fazla şeker birimi bağlıdır. En basit glikolipit, tek bir şeker (glukoz ya da galaktoz) ihdiva eden serebrosit (monoseramidler olarakta bilinir) yapısıdır (John vd., 2013).



Şekil 2.47. Glukosilserebrosit (a) ve Galaktosilserebrosit (b) yapıları (AOCS Lipid Library; 2017)

2.3.5. Mumlar

Mumlar, yağ asitleri ile uzun zincirli monohidroksilik alkollerin yapmış oldukları esterlerdir. Bu bileşikler deri, kürk ve tüylerin koruyucu örtüsünü teşkil ederken, yüksek bitkilerin meyve ve yapraklarının ve birçok böceğin kutiküllerinin dışyüzeylerinde yer alır. Bal mumunun başlıca bileşenleri, uzun zincirli alkollerle palmitik asidin esterleridir. Yaprak mumları ise 26-34 karbon atomlu alkollerle yağ asitlerinin ester bağı ile birleşmesi sonucu oluşmuştur (Keha ve Küfrevioğlu, 2000).

2.3.6. Steroidler

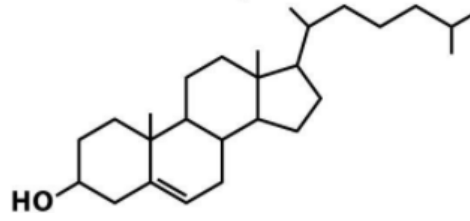
Steroidler, biyolojik sistemlerdeki yüksek etkisinden dolayı ilaç endüstrisiyle yakından ilgili yağ bileşenleridir. Steroidler önemli fizyolojik etkilere sahip düzenleyicilerdir. Kadın ve erkek cinsiyet hormonları, adrenokortikal hormonlar, D vitamini önemli örnekleridir. Diğer lipit sınıflarının aksine steroidler halkasal bir yapıya sahiptir. Tüm steroidler (steroid çekirdek yapısı) bir tetrasiklo halka yapısına sahiptir. Bu yapı üç sikloheksan ve bir siklopentan yapısı içerir. Biyolojik öneme sahip tüm steroidler bu temel yapının türevleridir (John vd., 2013).



Şekil 2.48. Steroid çekirdek yapısı

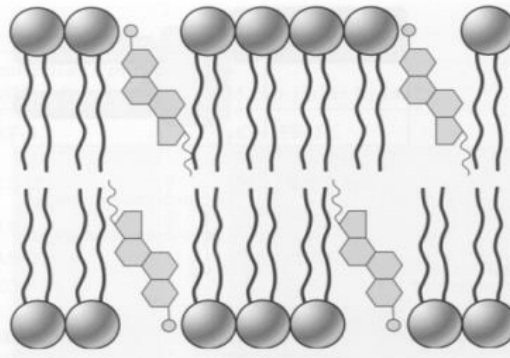
Kolesterol en yaygın steroid hormonlarından biridir ve birçok biyokimyasal aktif steroidlerinde öncü bileşenidir. Taşıma, sinyal aktarımı gibi birçok membran işlevi membran lipitlerinin akışkanlığına, yani yağ asitlerinin zincir özelliklerine bağlıdır. Daha öncede bahsedildiği üzere yağ asitlerinin erime noktası, yapısında bulunan çift bağ sayısına ve zincir uzunluğuna bağlıdır. Bütün bu kimyasal özelliklerin etkileri membranların akışkanlıkları içinde geçerlidir. Membran tabakalarında bulunan yağ asiti zincirleri sert yapıda ve sıralı ya da nisbeten düzensiz sıralanmış akışkan yapılabılır. Sert yapıdan akışkan hale geçiş erime noktası üzerine çıkan sıcaklıkla birlikte aniden yer alır. Bütün bu dönüşüm yağ asitlerinin yapısında bulunan çift bağ sayısına yani doymamışlık derecesine ve zincir uzunluğuna bağlıdır(John vd., 2013).

Bakteriler membranlarının akışkanlıklarını yağ asitlerinin değişken çift bağ sayısı ve zincir uzunlukları tarafından düzenliyorlar. Hayvanlarda ise membran akışkanlığının anahtar düzenleyici yapısı kolesterol'dür. Kolesterol bir steroid çekirdeği ile bir hidroksil grup ve esnek bir hidrokarbon zinciri içerir (John vd., 2013).



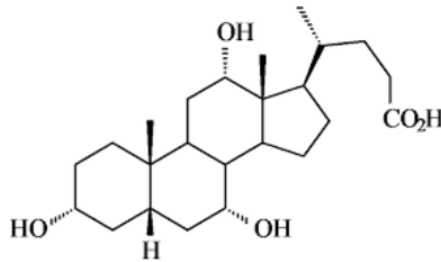
Şekil 2.49. Kolesterol' ün yapısı

Kolesterol uzun dikey ekseni ile membran tabakasının iç düzlemine girer. Hidroksil grubu fosfolipit baş grubun karbonil oksijeni ile hidrojen bağı kurar iken hidrokarbon zinciri ise membran tabakasının polar olmayan iç kısmına yerleşir (John vd., 2013).



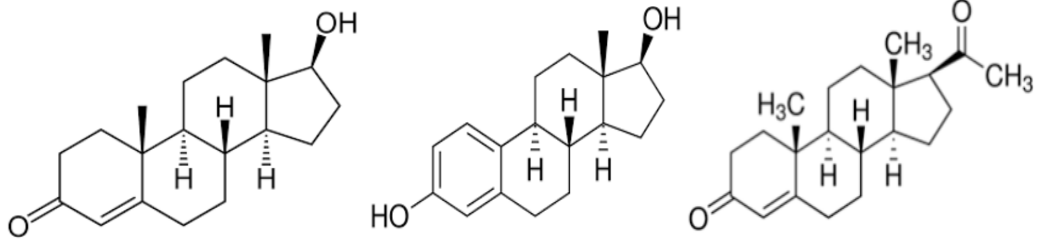
Şekil 2.50. Kolesterolün hücre membranındaki fosfolipitlerle yaptığı lokalizasyon

Karaciğerde kolesterolde sentezlenen safra asitleri içinde, insan safrasında en çok bulunan kolik asit, deoksikolik asit ve kenodeoksikolik asittir. Safra asitleri glisin ve taurine bağlı olarak salgılanır. Bunlara konjuge safra asitleri ve tuzları denir ve suda kolayca çözünebildikleri gibi, diğer lipitleri emülsiyon haline getirerek ince bağırsakta sindirilmelerini sağlarlar (Keha ve Küfrevioğlu, 2000).



Şekil 2.51. Kolik asitin yapısı

Steroid hormonlarına en bilindik örnekler cinsiyet hormonlarıdır. Erkeklik hormonu testosteron, dişi cinsiyet hormonları ise östrojen ve progesteron hormonlarıdır (Keha ve Küfrevioğlu, 2000).

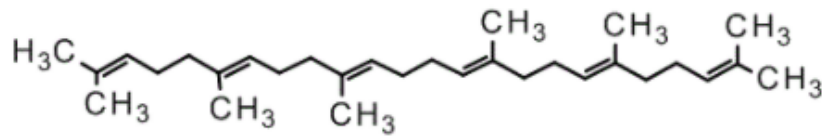


Şekil 2.52. Steroid hormonları; testosteron, oestrojen ve progesteron

2.3.7. Terpenler

Terpenler iki ya da daha fazla 2-metil-1,3-butadien (izopren) molekülünden oluşan bir lipit sınıfıdır. Bir monoterpen (C_{10}) iki izopren biriminden, bir seskiterpen (C_{15}) üç izopren biriminden, bir diterpen (C_{20}) dört izopren biriminden, bir triterpen (C_{25}) beş izopren biriminden, tetraterpen (C_{30}) altı izopren biriminden oluşur. İzopren birimleri düz zincir ya da siklomoleküllere bağlanabilir (John vd., 2013).

Bitkilerde dört veya dahafazla izopren birimi ihtiva eden reçine asitleri bulunur. Kauçuk da izoprenin bir polimerizasyon ürünüdür. Klorofilde bulunan porfirin halkasıyla birleşmiş olarak yer alan fitol, izopren biriminin yanısıra son karbon atomunda bir primer alkol ihtiva eder. Altı izopren birimi ihtiva eden skualen ise hayvan organizmasında meydana gelen bir terpen olup, kolesterolün biyosentezinde bir ara bileşiktir. Steroidlerle terpenlerin yakınlığı buradan gelmektedir (Keha ve Küfrevioğlu, 2000).



Şekil 2.53. Skualen'in yapısı

Ayrıca önceki bölümlerde bahsedildiği üzere karotenler sekiz izopren halkası ihtiva eden terpenlerdir. İzopren birimlerinden oluşan zincirleri ihtiva eden, çeşitli biyolojik aktivite ve fonksiyonlara sahip çok sayıda bileşik vardır. K vitamini, koenzim Q10, likopen bunlardan birkaçıdır (Keha ve Küfrevioğlu, 2000).

2.4. Esansiyel Yağlar

Eterik yağlar ya da uçucu yağlar olarak bilinen esansiyel yağlar, bitkilerde tohum, meyve, çiçek, kök ve yaprak gibi kısımlardan hidrodistilasyon, soğukta sıkma, çözücü ekstraksiyonu ya da sıvılaştırılmış gazlarla ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen sekonder metabolitlerdir (Bozari, 2012; Hussain, 2009). Bu metabolitlerin biyosentezi ise karbohidrat, protein ve yağların bitkide metabolize olmaları suretiyle asetat veya şikimik asit yollarıyla gerçekleşir (Bozari, 2012; Sampietro vd., 2009). Bu maddeler lipofilik maddeler olduğundan hücre zarından kolaylıkla geçebilirler ve sentezlendikleri bölgelerden bitkinin diğer organlarına floemle taşınırlar. Bitkide savunma aracı olarak kullanılan bu bileşikler, floemi hedef olarak seçen afid gibi parazit canlıları doğrudan etkilemek suretiyle bitkiyi koruyabilirler ya da taşıdıkları yaprak veya primer gövde kısımlarının heterotrof canlılar tarafından tüketilmesine karşı benzer şekilde koruma sağlayabilirler. Ancak bitkiler bu kimyasalları sadece bünyelerinde bulundurarak savunma yapmazlar. Yapraklardan ya da kökten salıverme yoluyla uçucu yağların eksüdasyonu sağlanabilir. Bir kısmı aromatik olan bu bileşenler bir yandan çekici özellikleriyle hayvanları cezbederken diğer yandan yakınında bulunan bitkilere, köklerine yakın yaşayan bakterilere, mantarlara veya bitkilere karşı tehdit oluşturmak suretiyle kendilerini korurlar. Bu etki allelopatik etkidir. Bitkilerin köklerinden toprağa bıraktıkları kimyasallarla diğer bitkilerin çimlenmesi ve gelişmelerini engellemeleri olayına allelopati denir (Bozari, 2012).

Esansiyel yağlar basit bileşikler ya da birkaç bileşiğin karışımları değildirler. Birçoğu 20 ile 60 arasında olmasına rağmen onlar yaklaşık 100 bileşen içerebilirler (Dung vd., 2008; Kirimer vd., 2005; Langenheim, 1994; Pengelly, 2004). Esansiyel yağlarda

çeşitli kimyasal sınıflardan bulunan bileşenler baskın olarak terpenlerdir, fakat fenilpropanoidler, yağ asitleri ve diğer bileşenler her zaman olmasa da mevcuttur. Bu hidrokarbonlar ve oksijenli türevleridir ve ayrıca azot ve kükürt içerebilirler. Bu bileşikler genel olarak düşük kütleli moleküllerdir ve sudaki çözünürlükleri sınırlıdır (Griffin vd., 1999; Weidenhamer vd., 1993)

Esansiyel yağların sınıflandırılması ve adlandırılması, çoğunun sistematik kimyasal sınıflandırılmasından önce izole edildiği ve çalışıldığından dolayı karmaşıktır. Sonuç olarak birçoğu sistematik olmayan, sıradan ya da yaygın olarak bilinen isimleri ile tanınırlar (Obst, 1998).

2.4.1.Yağ Asitleri

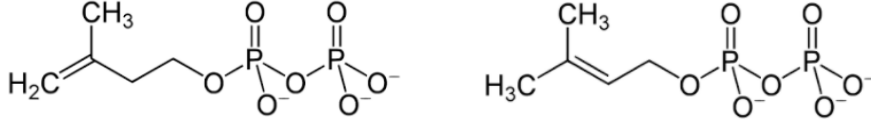
Yağ asitleri biyolojik sistemlerde geniş yer tutmasına rağmen serbest halde çok nadir olarak bulunurlar. Onlar tipik olarak gliserol veya buna benzer temel yapıların esterleri halinde bulunurlar (Garrett ve Grisham, 2017).

2.4.2.Terpen Türevleri

Terpenler doğal bileşiklerin en geniş grubudur ve 30.000 'den fazla terpen yapısı bilinmektedir (Breitmaier, 2006; Dubey vd., 2003). Terpen ismi bu sınıfın ilk tanımlanan üyelerinin izole edildiği, monoterpenlerce zengin çam (*Pinus spp.*) reçinesinden elde edilen Turpentine'den gelir (Breitmaier, 2006).

Terpenler bitkilerde sentezlenmesi, iki farklı, çoğunlukla bölümsel olarak ayrılmış, biyolojik yollarla gerçekleşir (Dubey vd., 2003). Mevalonik asit yolu ilk önce tarif edilmiştir ve ağırlıklı olarak sitoplazma, endoplazmik retikulum ve mitokondride seskiterpenleri, steroller ve ubikinonları ağırlıklı olarak üretir. Dikkat çekici bir şekilde, ikinci yolun varlığı ve rolü nispeten doğrulanmış ve karakterize edilmiştir. Metabolik olmayan asit veya metil-eritritol fosfat yolu olarak bilinen bu yol, karotenoidler ve klorofil fitoller gibi esansiyel yağlarda bulunmayan diğer yüksek

terpenlere ilaveten çok yönlü hücreler ve karbondioksitin sentezini sağlar. Her iki yol da, terpenlerin temel yapı taşları olan isopentenildifosfat (IPP) ve izomeri dimetil allildifosfat (DMAPP) üretmektedir (Croteau vd., 2000; Keszei vd., 2008; Thormar, 2011).

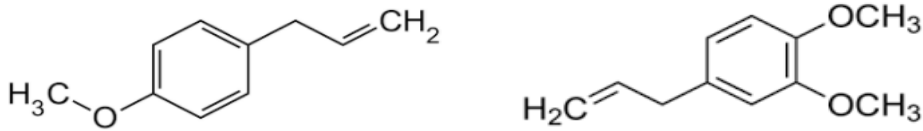


Şekil 2.54. İsoptenildifosfat (IPP) ve izomeri dimetil allildifosfat (DMAPP) yapıları

Farklı oranlarda birleştirildiğinde, bu prekürsörler sırasıyla mono-, sesqui- / tri- ve di- / tetraterpenlerin ön işaretçileri olan geranil difosfat (DMAPP + IPP), farnesil difosfat (DMAPP + 2IPP) ve geranilgeranildifosfat (DMAPP + 3IPP) üretirler (Bohlmann ve Keeling, 2008; Bouvier vd., 2005; Croteau vd., 2000; Keszei vd., 2008).

2.4.3. Fenilpropanoidler

Şimdiye dek yaklaşık 50 fenilpropanoid tanımlanmıştır. Fenilpropanoidler uçucu yağlarda daha az sıklıkla ve genellikle terpenoidlerden daha az şekilde bulunur. Önemli fenilpropanoidler, hidroksisinnamik asitler, anhetol, chavicol, eugenol ve metilatlı türevleri, estragol (metil chavicol) ve metil eugenol ve yaygın olarak dağıtılan sinnamaldehydleri kapsar (Thormar, 2011).



Şekil 2.55. Estragol ve Metil Eugenol'ün yapıları

2.4.4. Sülfürlü ve Azotlu Bileşikler

Nadiren, uçucu yağlarda bulunan bir veya daha fazla kükürt veya azot molekülü içeren bileşiklerdir. Kükürtün varlığı güçlü ve karakteristik bir koku verir. Kükürt ve azot

içeren bileşikler ağırlıklı olarak aglikonlar, glukosinolatlar ya da izotiyosiyanatları içeren parçalanma ürünleri olarak bulunurlar. Aglikonlar bir glikozitin şeker olmayan kısımlarıdır (Thormar, 2011).

2.4.5. Esansiyel Yağların Biyolojik Fonksiyonları

Başlangıçta zorunlu olmayan bitki metabolitleri olarak kabul edilmelerine rağmen, esansiyel yağlar ve onların bileşenlerinin birçoğu belirli biyolojik fonksiyonlara sahip oldukları anlaşılmıştır. Uçucu yağlardaki bileşiklerin çeşitliliği ve karmaşıklığı, birçok biyolojik sistemi etkileme kapasitesine sahip oldukları için şaşırtıcı değildir. En büyük ilgi sağlık, tarım, kozmetik ve gıda endüstrileri uygulamaları etrafında toplanmıştır. Sağlık ve tıp alanında ise şimdiye dek birçok faaliyet karakterize edilmiş ve çok çeşitli biyolojik özellikler dizisi tespit edilmiştir. Antimikrobiyal, Antikanser, Analjezik, Antioksidan, Antiinflamatuvar, İmmünomodülatör, Antiplatelet, Antitrombotik etki özellikleri bunlardan birkaçıdır (Thormar, 2011).

Sonuç olarak bu çalışmada metinde anlatılan biyoaktivite özellikleri, çeşitli kültürlerde gıda olarak kullanılan *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisinin fenolik içerikleri, esansiyel yağ içerikleri ve antioksidan aktivitesi incelenmiştir.

2.5. Ziziphora Clinopodioides Lam. Bitkisi

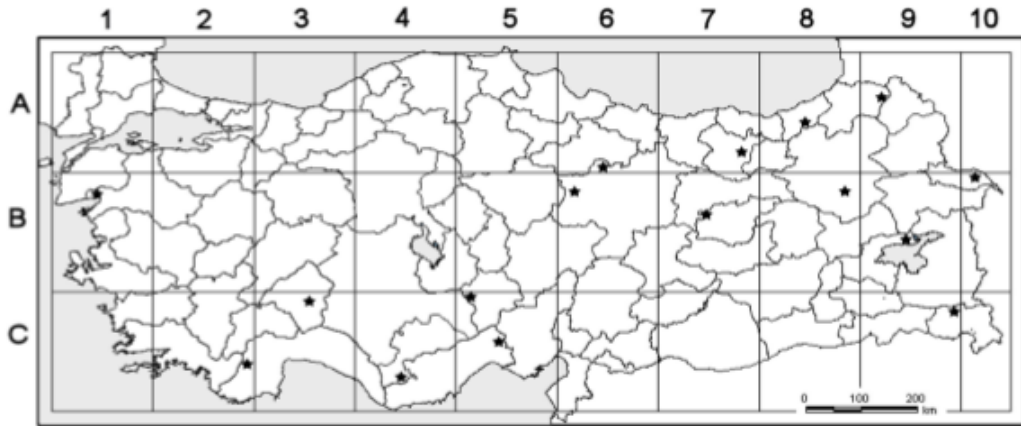
Ziziphora L. (Lamiaceae) cinsi ülkemizde *Ziziphora clinopodioides* Lam, *Ziziphora capitata* L., *Ziziphora taurica* Bieb, *Ziziphora persica* Bunge ve *Ziziphora tenuior* L. olmak üzere beş türle temsil edilmektedir. *Ziziphora taurica*; *Ziziphora taurica* subsp. *cleonioides* (Boiss.) ve *Ziziphora taurica* M. Bieb. subsp. *taurica* olmak üzere iki alt türe sahiptir. *Ziziphora clinopodioides* Lam. dışındaki tüm *Ziziphora* üyeleri tek yıllıktır. Çoğunlukla aromatik özellik gösterirler. Bu özellikleriyle Anadolu’ da halk arasında “nane ruhu” gibi isimlerle çay olarak kullanılmaktadır. Bu sebepten dolayı birçok kimyasal çalışmaya da konu olmuşlardır (Deniz, 2007).

Diğer ismiyle dağ kekiği olan *Ziziphora clinopodioides* Lam. türünün çiçekli dalları vardır. Bu tür kekik görünüşünde, tüylü, pembe çiçekli, özel ve kuvvetli kokulu bir bitkidir. Doğu ve Güney Anadolu dağlarının kurak ve çıplak dağlarında yetişir. İştah açıcı, gaz söktürücü ve antiseptik olarak kekik yerine kullanılır (Baytop, 1999).



Şekil 2.56. *Ziziphora clinopodioides* Lam.

Ziziphora clinopodioides Lam. bitkisi yarı çalimsı, genellikle sık dokulu bir oluşumlu ve çok yıllıktır. Gövdesi yatık ile dik arasında değişir. Birçoğu tabandan itibaren dallanmış, 30 cm, tüysüz veya tüylü olabilmektedir. Yapraklar şekil ve büyüklük açısından oldukça farklılık gösterir. Çiçek düzeni yoğun bir uç baş şeklindedir (Deniz, 2007).



Şekil 2.57. *Ziziphora clinopodioides* Lam. türünün Türkiye'deki yayılış alanları (Deniz, 2007)

Ziziphora clinopodioides Lam. bitkisinin ülkemiz ve yakın coğrafyası üzerinde rastlanan bölgeler; Güney ve İç Anadolu (Kuzeybatı Anadolu' da), Sivas: Yıldız da., 1800-2300 m, Gümüşhane: Kelkit' ten Gümüşhane' ye doğru, Yukarı Köse, 1750 m, Rize:1500 m, Kars: Yalnızçam Da., Yukarı Yalnızçam, 2100-2300 m, Balıkesir: Baba Da., Kaz dağı' nın Kuzeydoğu' su 1100 m, Nigde: Aksaray, Hasan Da., 1720 m., Sivas: Ak Da. 2100 m, Tunceli: Munzur Da., Aksu De., Yukarı Ovacık, 1700 m, Erzurum: Karakaya Da., Hınıs' in kuzeyi, 2250 m., Van: Süphan Da., 4100 m., B10 Ağrı: Ağrı Da., 2200 m, Antalya: Ak Da., 1700 m., Isparta: Dedegöl Da., 760 m., Konya: Sara, Ermenek. Niğde: Gülek- Maden, Hakkâri: Kara Da. , 2745 m. Kafkasya, Kuzey Irak, İran (Güney İran hariç), Afganistan ve Orta Asya'dır (Deniz, 2007; Davis, 1982).

Bu çalışmada kullanılan *Ziziphora Clinopodioides* Lam bitkisi 20.07.2016 tarihinde Ergen Dağı 1740 m rakımlı eteklerinde 39° 36'59" K - 39° 29'43" D koordinatlarında bulunan bölgeden toplanmıştır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Tablo 3.1. HPLC Analizi için kullanılan kimyasallar (HPLC Grade)

Kimyasal	Marka	Kimyasal	Marka
Pirogallol	Sigma-Aldrich	t-Ferulik asit	Sigma-Aldrich
Gallik asit	Sigma-Aldrich	Sinapik asit	Sigma-Aldrich
p-Hidroksibenzoik asit	Sigma-Aldrich	Resveratrol	Sigma-Aldrich
Kateşin	Sigma-Aldrich	Rutin	Sigma-Aldrich
Kafeik asit	Sigma-Aldrich	Rosmarinik asit	Sigma-Aldrich
Klorojenik asit	Sigma-Aldrich	Kuersetin	Sigma-Aldrich
Sirincik asit	Sigma-Aldrich	Luteolin	Sigma-Aldrich
Epigallokateşin Gallat	Sigma-Aldrich	Apigenin	Sigma-Aldrich
p-Kumarik asit	Sigma-Aldrich	Epikateşin	Sigma-Aldrich
Vanilin	Sigma-Aldrich	Metanol	Sigma-Aldrich

Tablo 3.2. GC-MS Analizi için kullanılan kimyasallar (GC Grade)

Kimyasal	Marka
KOH	Sigma-Aldrich-German
Hekzan	Sigma-Aldrich-German

Tablo 3.3. Antioksidan aktivite analizlerinde kullanılan kimyasallar

Kimyasal	Marka
Na ₂ CO ₃	Sigma-Aldrich-Germany
Folin Ciocalteu reaktifi	Merck-Germany

NaOH	Merck-Germany
AlCl ₃	Sigma-Aldrich-Germany
NaNO ₂	Sigma-Aldrich-Germany
Gallik asit	Sigma-Aldrich-Germany
Trolox	Sigma-Aldrich-Germany
DPPH· radikali	Sigma-Aldrich-Germany
Etanol	Sigma-Aldrich-Germany
Etilen Diamin tetraasetik asit (EDTA)	Fluka, Switzerland
K ₂ S ₂ O ₈	Merck-Germany
ABTS· Radikali	Sigma, USA

3.1.2. Yararlanılan malzeme, alet ve cihazlar

Tablo 3.4. Kullanılan cihaz ve malzemeler

Cihaz/Malzeme	Marka
HPLC	Thermo Scientific- Dionex Ultimate 3000
GC-MS	Thermo Scientific- Trace 1310 MS: ISQ
Microplate Reader	Biotek Epoch
Liyofilizatör	Scanvac Coolsafe
Hassas terazi	Shimadzu Atx-224
Magnetik karıştırıcı	Daihan Msh20a
Saf su cihazı	Z Süper M Upe
Evaporatör	Heidolph
Vorteks	Velp
Ultrasonik banyo	İsolab
0,45µm filtre	Millex

3.1.3. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanması

3.1.3.1. Toplam fenolik miktarı tayini

1. Kütlece % 2'lik Na_2CO_3 çözeltisi: 2 g Na_2CO_3 100 mL'lik balon jodede bir miktar saf suda çözüldü ve hacmi yine saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.
2. Folin-Ciocalteu Reaktifi: % 20'lik Folin-Ciocalteu reaktifi hazır olarak kullanıldı.

3.1.3.2. Toplam flavonoid tayini

1. Kütlece %5'lik NaNO_2 çözeltisi: 5 g NaNO_2 alınıp bir miktar saf suda çözüldü ve hacmi yine saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.
2. Kütlece %10'luk AlCl_3 çözeltisi: 10 g AlCl_3 alınıp bir miktar saf suda çözüldü ve hacmi saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.
3. 1 M NaOH çözeltisi: 4 g NaOH alınıp bir miktar saf suda çözüldü ve hacmi yine saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

3.1.3.3. DPPH' radikal giderme aktivitesi

1. 5 mg DPPH' Radikal çözeltisi: 5mg DPPH' Radikali alındı ve 100 ml etanol içerisinde çözüldü. Daha sonra karanlık bir ortamda oda sıcaklığında iki saat çalkalandı.

3.1.3.4. ABTS^{•+} radikal giderme aktivitesi

1. 20 mL 7 mM ABTS çözeltisi: 76,8 mg ABTS safsuda çözündü ve toplam hacmi 20 mL'ye saf suyla tamamlandı.
2. 20 mL 2,45 mM K₂S₂O₈ çözeltisi: 13,25 mg K₂S₂O₈ safsuda çözündü ve toplam hacmi 20 mL'ye saf suyla tamamlandı.
3. ABTS^{•+} serbest radikal çözeltisi: 20 mL 7 mM ABTS ve 20 mL 2,45 mM K₂S₂O₈ 1:1 oranında karıştırıldı ve 734 nm'de yaklaşık 0,70 birim absorbans verinceye kadar (yaklaşık 1/120 oranında) metanol ile seyreltildi.

3.1.3.5. Metal şelatlama kapasite tayini

1. 50 mL 2 mM FeCl₂x4H₂O çözeltisinin hazırlanması: 19,8 mg FeCl₂x4H₂O tartılıp safsuda çözündü ve toplam hacmi 50 mL'ye safsuyla tamamlandı.
2. 50 mL 5 mM Ferrozin çözeltisinin hazırlanması: 123 mg Ferrozin safsuda çözündü ve toplam hacmi 50 mL'ye safsuyla tamamlandı.

3.2. Yöntem

3.2.1. *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisinin toplanması ve kurutulması

Bu çalışmada kullanılan *Ziziphora Clinopodioides* Lam bitkisi 20.07.2016 tarihinde Ergen Dağı 1740 m rakımlı eteklerinde 39° 36'59" K - 39° 29'43" D koordinatlarında bulunan bölgeden toplanmıştır. Toplanan örnekler Erzincan Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Prof.Dr. Ali KANDEMİR tarafından teşhis edildi. Örnekler daha sonra oda sıcaklığında güneş ışığıyla temassız

bir şekilde kurutuldu. Kurutulan örnekler biyoaktivite çalışmaları boyunca +4 °C' de buzdolabında muhafaza edildi.

3.2.2. *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisinin metanol, etilasetat, su ve hekzan ekstralarının hazırlanması

Ziziphora Clinopodioides Lam. bitkisinin ekstralarının oluşturulması için basit solvent ekstraksiyon yöntemi kullanıldı. Kurutulmuş bitki örneği sıvı azot ile havanda dövülerek toz haline getirildi. Daha sonra 20'şer gramlık numuneler halinde 4 ayrı balon içerisine alındı. Balonlara sırasıyla 400'er mL hekzan, metanol, etilasetat ve su eklendi ve manyetik karıştırıcı ile 24 saat karıştırıldı. Ekstreler süzgeç kâğıdında süzüldü. Çözücüler evaporatörde uzaklaştırıldı. Son olarak -80 °C buzdolabında dondurulan ekstralar 48 saat liyofilizatörde bekletilerek nemleri uzaklaştırıldı.

3.2.3. Antioksidan Aktivite Tayin Metotları

3.2.3.1. Toplam fenolik miktarı tayini

Ziziphora Clinopodioides Lam. bitkisinin toplam fenolik bileşik miktarı tayini Singleton ve Rossi (1965) metodunun bazı modifikasyonları ile gerçekleştirildi. 96 well microplate içerisine 200 µL %2'lik Na₂CO₃ eklendi. Üzerine 0,031-1mg/mL konsantrasyonları arasında hazırlanan (metanol, su ve etilasetat) ekstrelerden 10 µL (blank için 10 µL metanol) eklendi. 3 dakika oda sıcaklığında inkübasyondan sonra 10 µL % 20'lik Folin-Ciocalteu reaktifi eklendi. 30 dakika oda sıcaklığında inkübasyondan sonra 750 nm'de Microplate Reader' da absorbans okuması gerçekleştirildi. Standart olarak Gallik asit kullanıldı ve oluşturulan Gallik asit kalibrasyon eğrisi grafiğinden ekstraların sahip olduğu toplam fenolik miktarı tespit edildi. Toplam fenolik miktarı mg GAE/g Eks olarak ifade edildi. Sonuçlar tekrarlanarak standart sapmalarla birlikte verildi.

3.2.3.2. Toplam flavonoid miktarı tayini

Ziziphora Clinopodioides Lam. bitkisinin toplam flavonoid miktarı tayini Zhishen ve arkadaşları (1999) tarafından tanımlanmış olan Alüminyum klorür kolorimetrik metoduna göre bazı modifikasyonlar ile gerçekleştirildi. 96 well microplate içerisine 128 µL safsu konuldu. Üzerine 0,25-2mg/mL konsantrasyonları arasında hazırlanan (metanol, su ve etilasetat) ekstreden 10 µL (blank için 10 µL metanol) eklendi. 6 µL %5 NaNO₂ eklendikten sonra 5 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. 6 µL %10 AlCl₃ eklendikten sonra tekrar 6 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. Son olarak 40 µL 1 M NaOH eklendi ve 415 nm'de Microplate Reader' da absorbans okuması gerçekleştirildi. Standart olarak kuarsetin kullanıldı ve oluşturulan kuarsetin kalibrasyon eğrisi grafiğinden ekstrelerin sahip olduğu toplam flavonoid miktarı tespit edildi. Toplam flavonoid bileşik miktarı mg QE/g Eks olarak ifade edildi. Sonuçlar tekrarlanarak standart sapmalarla birlikte verildi.

3.2.3.3. DPPH[•] radikalini giderme aktivitesi tayini

DPPH[•] radikal giderme aktivitesi tayini Blois metodunda (1958) bazı modifikasyonlar ile gerçekleştirildi. Serbest radikal olarak DPPH[•]'in 0,1 mM'lık çözeltisi kullanıldı. 96 well microplate içerisine 210 µL DPPH[•] radikali eklendi. Üzerine (metanol, su ve etilasetat) ekstreden 15 µL (blank için 15 µL metanol) eklendi. 30 dakika oda sıcaklığında inkübasyondan sonra 517 nm'de Microplate Reader' da absorbans okuması gerçekleştirildi. Azalan absorbans geriye kalan DPPH[•] çözeltisi miktarını yani serbest radikal giderme aktivitesini verdi. Standart olarak Trolox kullanıldı. Sonuçlar Trolox ve ekstrelerin IC₅₀ değerleri olarak ifade edildi.

3.2.3.4. ABTS^{•+} radikal giderme aktivitesi tayini

ABTS^{•+} radikal giderme aktivitesi tayini Re ve arkadaşlarının (1999) geliştirdiği metotta bazı modifikasyonlar ile gerçekleştirildi. İlk olarak ABTS^{•+} radikali

oluşturmak için 7 mM ABTS çözeltisi 2,45 mM potasyum persulfat ($K_2S_2O_8$) çözeltisi 1:1 oranında karıştırılarak reaksiyona sokuldu. Karışım kullanımdan önce 16 saat karanlıkta oda sıcaklığında tutuldu. Bu çalışmada standart olarak Trolox kullanıldı. 96 well microplate içerisine her bir ekstre veya standarttan 2,5 μ L ve üzerine seyreltilmiş $ABTS^{+}$ radikalinden 250 μ L eklendi ve karıştırıldı. 6 dakika oda sıcaklığında inkübasyondan sonra 734 nm'de Microplate Reader' da absorbans okuması gerçekleştirildi. Sonuçlar IC_{50} değerleri olarak ifade edildi.

3.2.3.5.Metal şelatlama kapasite tayini

Metal şelatlama kapasite tayini Dinis ve arkadaşlarının (1994) metoduna göre gerçekleştirildi. Bu metotta EDTA 0,35-25 μ g aralığında standart olarak kullanıldı. 96 well microplate içerisine 50 μ L ekstre/EDTA eklendi. Üzerine 185 μ L saf su ve 5 μ L 2 mM $FeCl_2$ eklendi ve 5 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. Daha sonra 10 μ L 5 mM Ferrozin eklendi.10 dakika oda sıcaklığında inkübasyondan sonra 562 nm'de Microplate Reader' da absorbans okuması gerçekleştirildi. Sonuçlar EDTA ve ekstrelerin IC_{50} değerleri olarak ifade edildi.

3.2.4. *Ziziphora Clinopodioides* Lam. Bitkisinin Farklı Ekstrelerde Fenolik İçeriğinin HPLC ile belirlenmesi

Analizde kullanılan sistem ters faz-yüksek performanslı sıvı kromatografisidir. Kolon olarak 250mm x 4,6mm x 5 μ m ebatlarında C18 Zorbax kullanıldı. Dedektör olarak DAD (diode array detector) kullanıldı. Mobil faz olarak % 50 metanol çözeltisi ve %2 asetik asit çözeltisi kullanıldı. Kolon sıcaklığı 30 °C'de sabit kılındı. Enjeksiyon hacmi 25 μ L olarak belirlendi. Absorbans ölçümü 278 nm'de gerçekleştirildi. Analiz uygulaması artan gradient sistem olarak belirlendi.

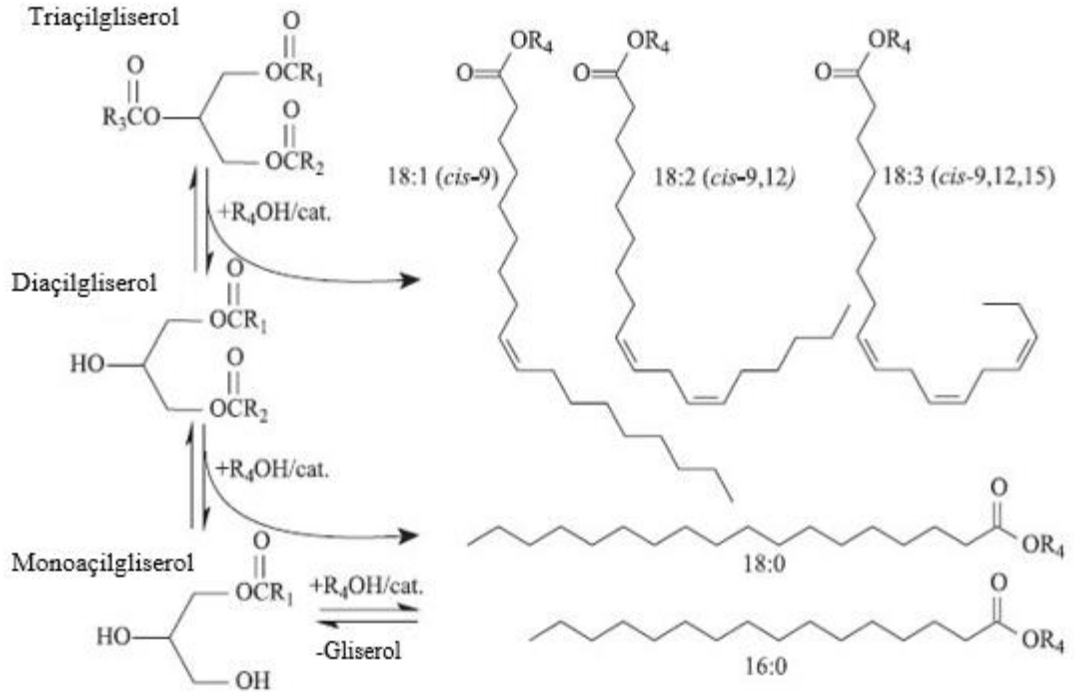
Ziziphora Clinopodioides Lam. bitkisinin fenolik içeriği hazırlanmış olan metanol, su ve etilasetat ekstrlerinde gerçekleştirildi. 19 standarttan oluşturulan standart

kromatogram ile sistemde analiz edilen ekstre kromatogramları kıyaslanarak ve UV spektrumları çakıştırılarak fenolik içerikler tespit edildi. Analiz edilen ekstre konsantrasyonları 10 mg/mL olarak gerçekleştirildi. Sonrasında tespit edilen bileşenlerin miktarlarının tayini için standart kalibrasyon eğrileri oluşturuldu ve sonuçları mg/kg cinsinden ifade edildi.

3.2.5. *Ziziphora Clinopodioides* Lam. Bitkisinin Hekzan Ekstresinde Esansiyel Yağ Profilini GC-MS ile belirlenmesi

Analizde kullanılan sistem gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi sistemidir. Kolon olarak 15m x 0,25mm x 0,25µm film kolon kullanıldı. Dedektör olarak MS- Electron İmpact dedektör kullanıldı. Sistem aplikasyonu 40-320 °C sıcaklık aralığında 5 °C/dk artacak şekilde sıcaklık gradienti oluşturuldu.

Yağ karışımı içeren *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisinin hekzan ekstresi Uluslararası Yağ Komisyonu (IOOC) ve IUPAC tarafından yayınlanan trans esterifikasyon prosesi raporlarına göre trevlendirilerek metil esterlerine dönüştürüldü (Paquat *et al.*, 1992). Bu prosedüre göre 5 mL'lik bir vidalı kapaklı test tüpü içerisine yaklaşık olarak 0,1 g kuru hekzan ekstresi kondu. 2 mL hekzan eklenip sallayarak hekzan ekstresi czld. Daha sonra oda sıcaklığında 0,2 mL 2M Metanolik KOH eklenip kapağı kapatıldı ve 30 saniye vorteksenerek homojenize edildi. st faz berraklaşıncaya kadar fazlar ayrılmaya bırakıldı. Metil esterleri içeren st kısım dekantasyon ile alındı ve GC-MS ile analiz edildi.



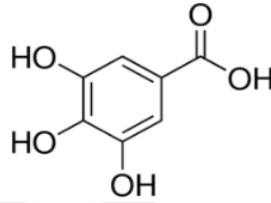
Şekil 3.1. Triaçilgliserollerin esterifikasyonu: R₁, R₂ ve R₃ alifatik karbon zinciri, R₄ ise Metanol. Metilesterler; palmitik (16:0), estearitik (18:0), oleik (18:1), linoleik (18:2), linolenik (18:3). Katalizör: KOH (Freedman vd., 1986)

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. *Ziziphora Clinopodioides* Lam. Bitkisinin Antioksidan Aktivite Araştırma Bulguları

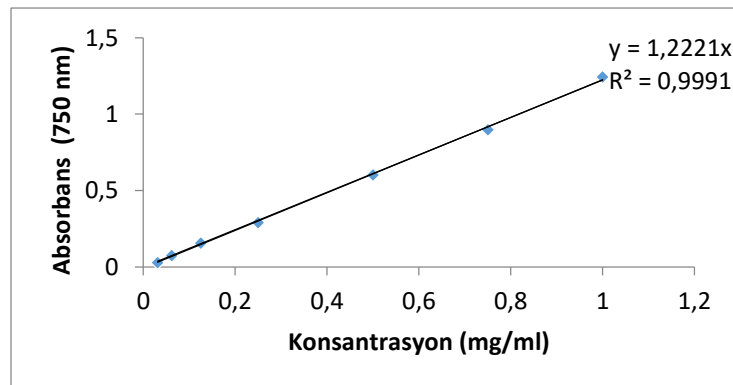
4.1.1. Toplam fenolik miktarı bulguları

Ziziphora Clinopodioides Lam. bitkisinin su, metanol ve etilasetat ekstralarının toplam fenolik bileşik miktarı tayini için standart fenolik bileşik olarak kullanılan gallik asitin açık yapısı Şekil 4.1.' de görülmektedir.



Şekil 4.1. Standart fenolik bileşik olarak kullanılan Gallik asit (Köksal, 2007)

Toplam fenolik bileşik miktarını tayin etmek için ilk olarak gallik asit standart kalibrasyon eğrisi; ortalama kör absorbans değerinden farkı alınmış ortalama absorbans değerine karşılık konsantrasyon grafiği oluşturuldu. Elde edilen $y=mx+n$ formülünden her bir ekstrenin sahip olduğu fenolik bileşik miktarını gallik asit eşdeğer miktarı (GAE) olarak ifade edildi.



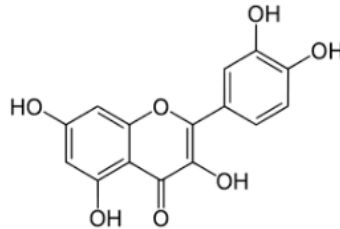
Şekil 4.2. Gallik asit standart eğrisi

Tablo 4.1. *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisinin metanol, su ve etilasetat ekstralarının toplam fenolik bileşik miktarı

Ekstreler	Ekivalent Gallik asit değeri (mg GAE/g eks.)
Z.M.E	226,5±2,1
Z.S.E	219,5±3,5
Z.E.E	192,7±1,7

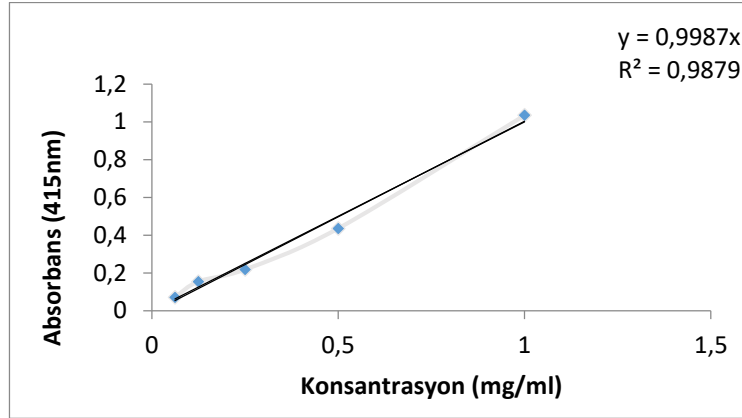
4.1.2. Toplam flavonoid miktarı bulguları

Ziziphora Clinopodioides Lam. bitkisinin su, metanol ve etilasetat ekstralarının toplam flavonoid bileşik miktarı tayini için standart fenolik bileşik olarak kullanılan Kuersetin' in açık yapısı Şekil 4.3.' de görülmektedir.



Şekil 4.3. Standart flavonoid olarak kullanılan Kuersetin'in açık yapısı (Köksal, 2007)

Toplam flavonoid bileşik miktarını tayin etmek için ilk olarak Kuersetin standart kalibrasyon eğrisi; ortalama kör absorpsiyon değerinden farkı alınmış ortalama absorpsiyon değerine karşılık konsantrasyon grafiği oluşturuldu. Elde edilen $y=mx+n$ formülünden her bir ekstrenin sahip olduğu flavonoid bileşik miktarını Kuersetin eşdeğer miktarı (QE) olarak ifade edildi.



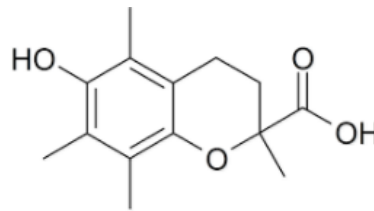
Şekil 4.4. Kuersetin standart eğrisi

Tablo 4.2. *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisinin metanol, su ve etilasetat ekstrelerinin toplam flavonoid bileşik miktarı

Ekstreler	Ekivalent Kuarsetin değeri (mg QE/g ext.)
Z.M.E	250,5±2,1
Z.S.E	205,5±3,5
Z.E.E	316,0±2,8

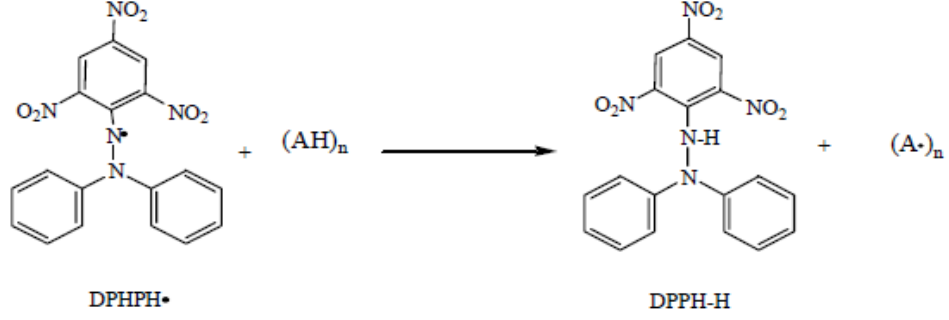
4.1.3. DPPH• radikal giderme aktivitesi bulguları

Ziziphora Clinopodioides Lam. bitkisinin su, metanol ve etilasetat ekstrelerinin DPPH• serbest radikalini giderme aktivitesini tesbiti için yapılan çalışmada Trolox standart antioksidan bileşik olarak kullanıldı.



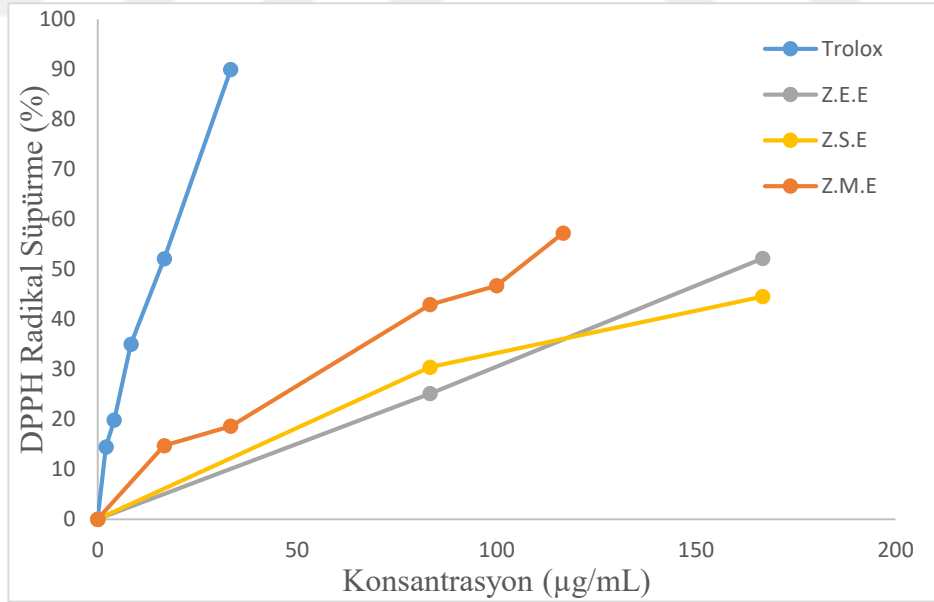
Şekil 4.5. Trolox'un açık yapısı

DPPH• radikalinin antioksidan bileşik tarafından nonreaktif hale getirilmesi Şekil 4.6.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.6. Bir antioksidan tarafından DPPH radikalinin giderilmesi (Köksal, 2007)

Şekil 4.7.'de ekstrelerin ve standart trolox'un % DPPH gidermeleri grafiksel olarak verilmiştir. Ayrıca ekstrelerin ve standart trolox'un IC₅₀ değerleri Tablo 4.3' de gösterilmiştir.



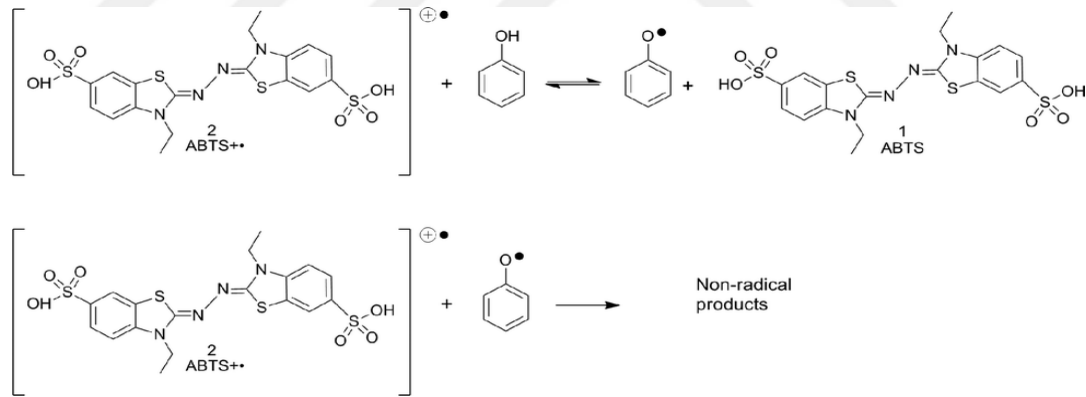
Şekil 4.7. Trolox ve ekstrelerin grafiksel kıyaslaması

Tablo 4.3. *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisinin metanol, su ve etilasetat ekstreleri ve Trolox'un radikal süpürme kapasiteleri

Ekstreler	IC ₅₀ (µg/ml)
Trolox	21,68
Z.M.E	106,05
Z.S.E	234,01
Z.E.E	193,36

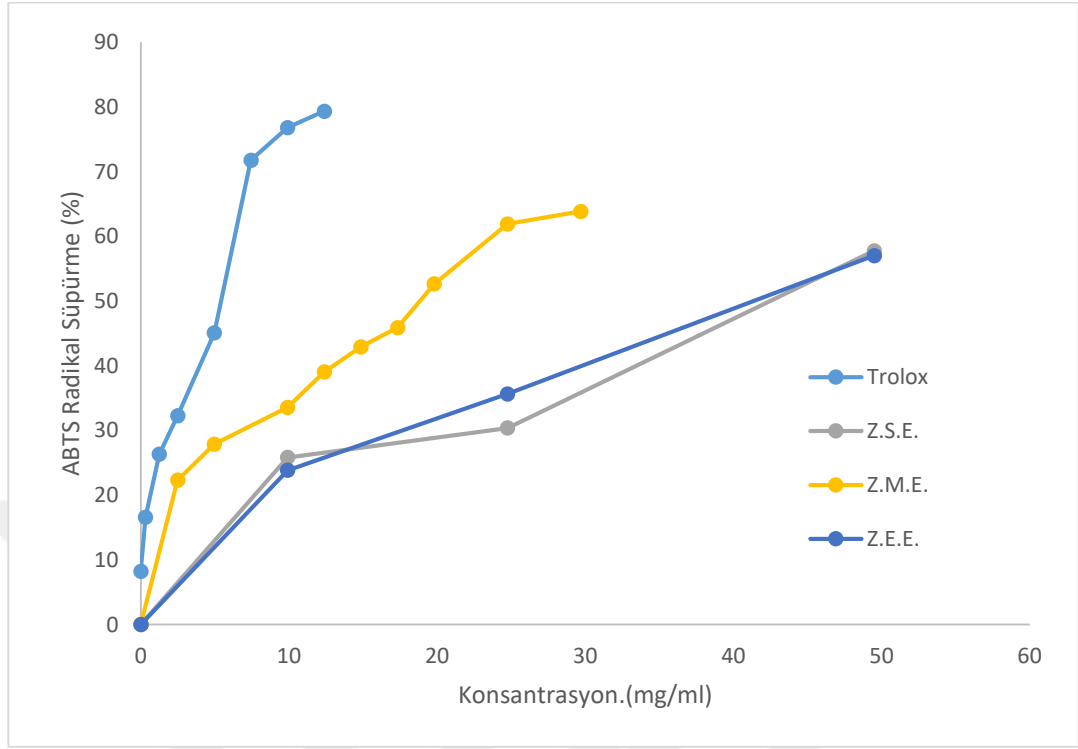
4.1.4. ABTS⁺ radikal giderme aktivitesi bulguları

Ziziphora Clinopodioides Lam. bitkisinin su, metanol ve etilasetat ekstrelerinin ABTS⁺ kation radikalini giderme aktivitesini tesbiti için yapılan çalışmada Troloks standart antioksidan bileşik olarak kullanıldı.



Şekil 4.8. ABTS⁺ radikalinin antioksidan yapılar tarafından nonreaktif hale getirilmesi (Eshtaya vd., 2016)

Şekil 4.9.'de ekstrelerin ve standart trolox'un %ABTS⁺ gidermeleri grafiksel olarak verilmiştir. Ayrıca ekstrelerin ve standart trolox'un IC₅₀ değerleri Tablo 4.4' de gösterilmiştir.



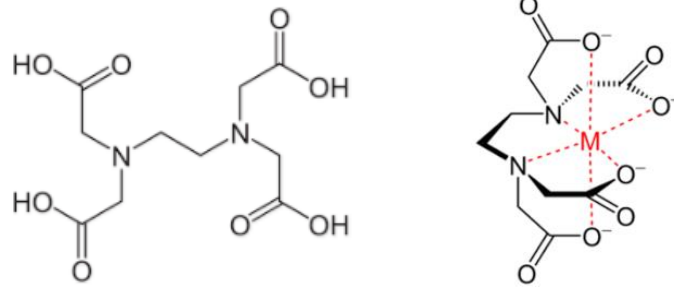
Şekil 4.9. Trolox ve ekstrelerin grafiksel kıyaslaması

Tablo 4.4. *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisinin su, metanol ve etilasetat ekstreleri ve Trolox'un radikal süpürme kapasiteleri

Ekstreler	IC ₅₀ (µg/ml)
Trolox	7,79
Z.M.E	19,20
Z.S.E	43,67
Z.E.E	51,17

4.1.5. Metal şelatlama kapasite tayini bulguları

Ziziphora Clinopodioides Lam. bitkisinin su, metanol ve etilasetat ekstrelerinin metal şelatlama kapasiteleri Etilen Diamin Tetraasetik Asit (EDTA) ile kıyaslaması yapıldı. Sonuçları IC₅₀ değerleri ile ifade edildi.



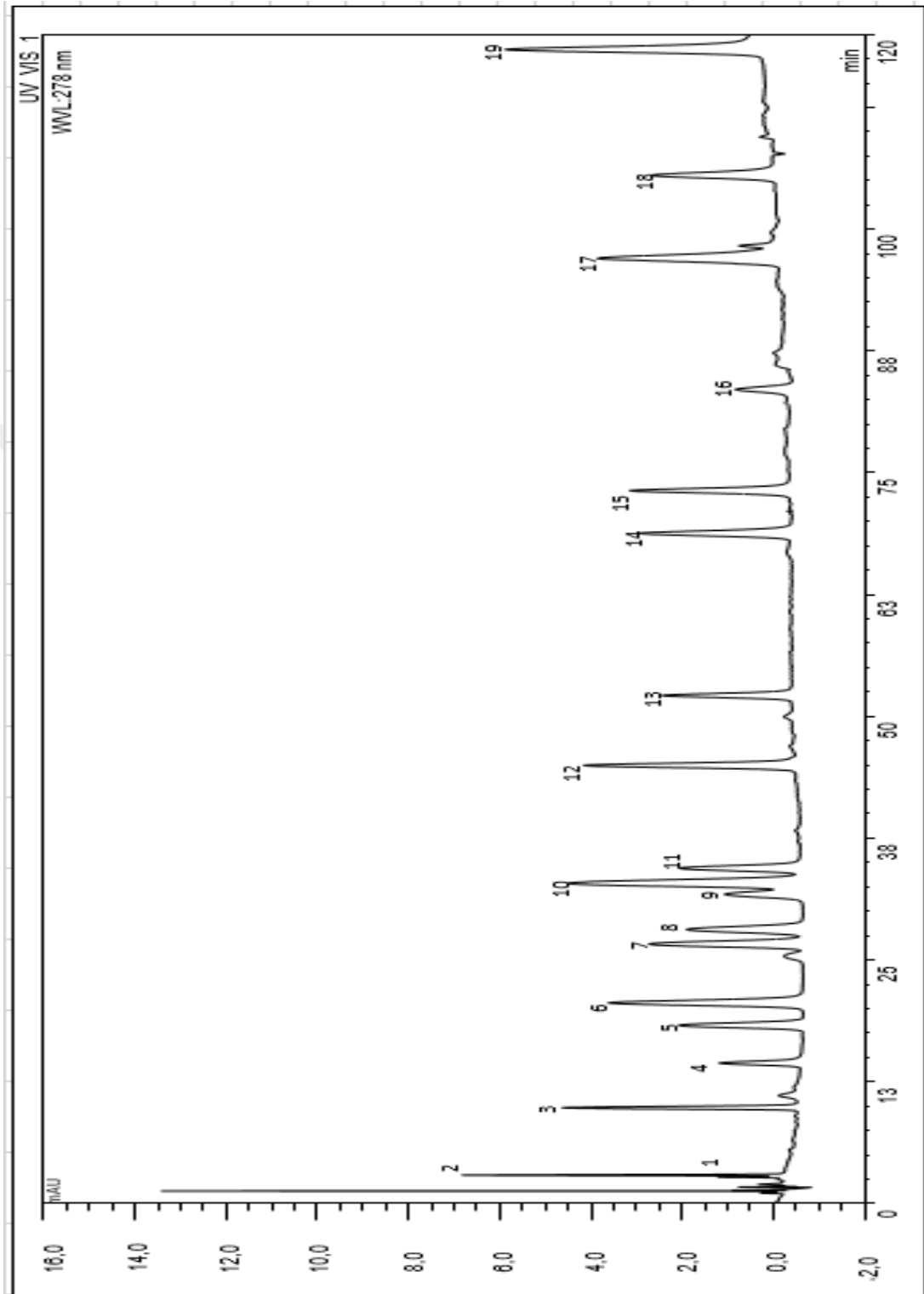
Şekil 4.10. Etilen Diamin Tetraasetik Asit 'in açık yapısı ve metal şelatlama aktivitesi

Tablo 4.5. *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisinin su, metanol ve etilasetat ekstreleri ve EDTA'nın metalşelatlama kapasiteleri

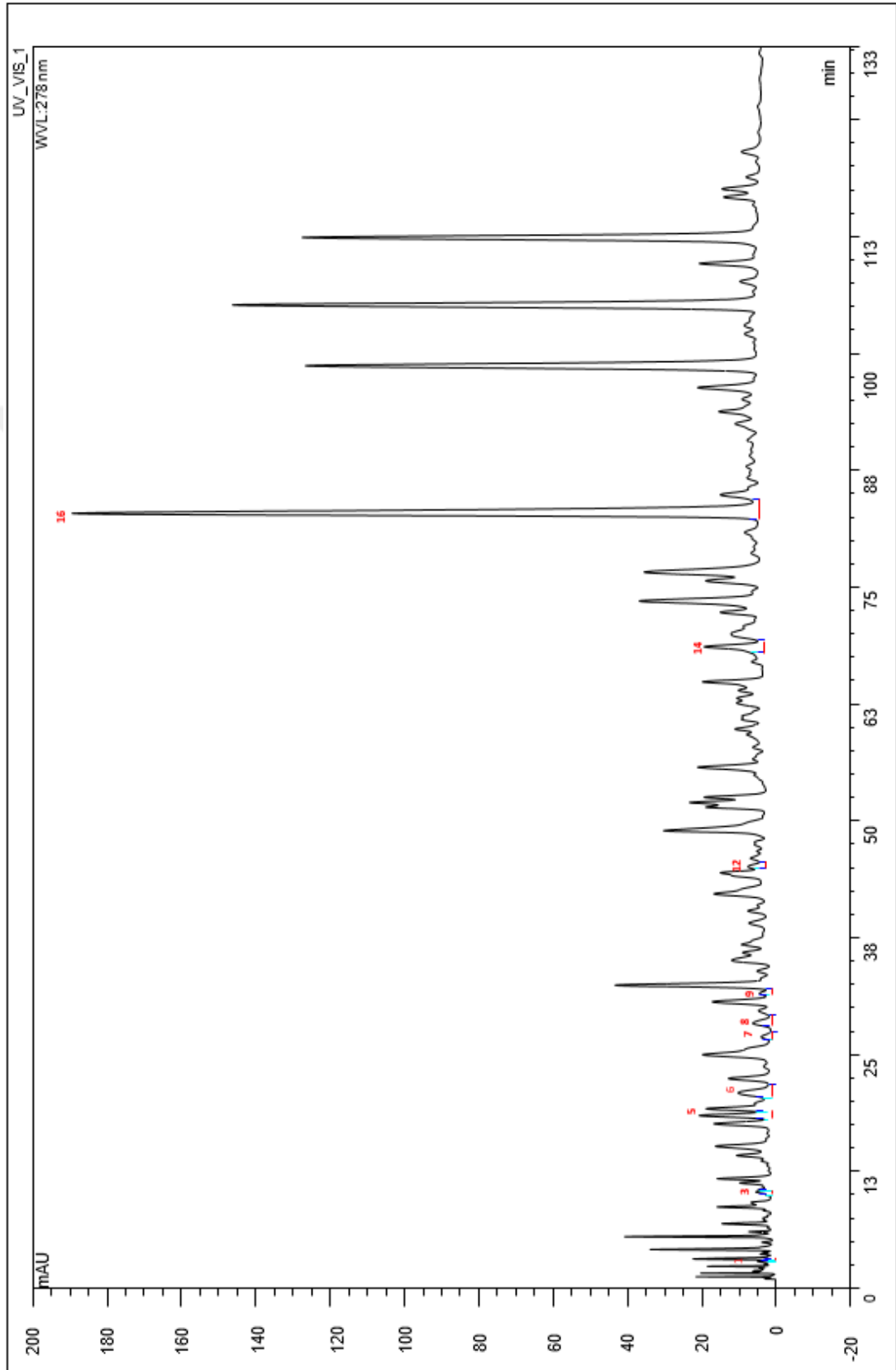
Ekstreler	IC ₅₀ (µg/ml)
EDTA	11,73
Z.M.E	1140,0
Z.S.E	1180,0
Z.E.E	—

4.2. *Ziziphora Clinopodioides* Lam. Bitkisinin HPLC Analiz Bulguları

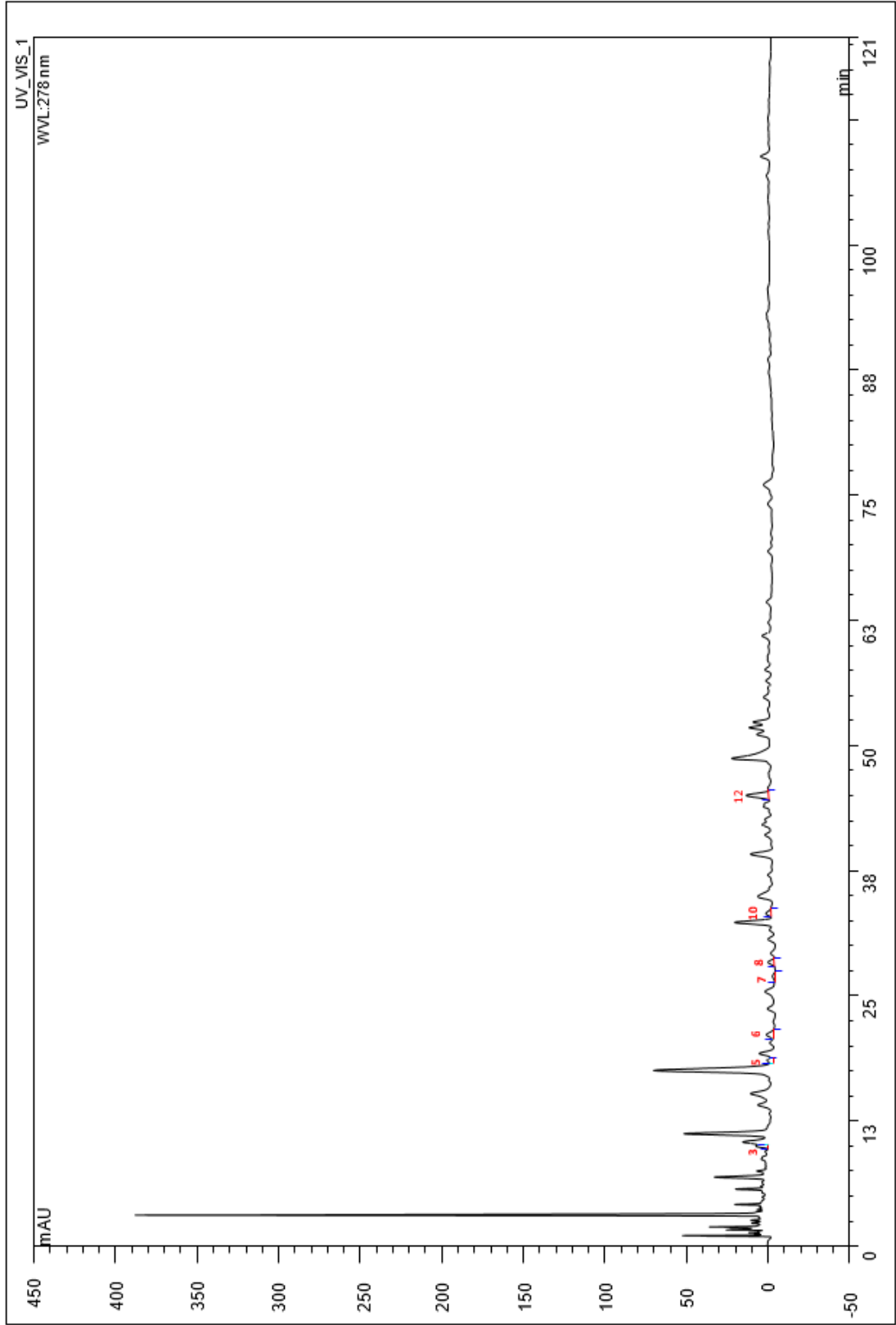
HLPC analizinde ilk olarak kalitatif tayin yapmak için Pirogallol (1), Gallik asit (2), p-Hidroksibenzoik asit (3), Kateşin (4), Kafeik asit (5), Klorajenik asit (6), Vanilin (7), Sirincik asit (8), Epigallokateşin (9), p-Kumarik asit (10), Epikateşin (11), t-Ferulik asit(12), Sinapik ast (13),Resveratrol (14), Rutin (15), Rosmarinik asit (16), Kuersetin (17), Luteolin (18) ve Apigenin (19) standartlarından oluşan standart kromatogram oluşturuldu. Daha sonra *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisinin metanol, su ve etilasetat ekstreleri 10 mg/mL'lik konsantrasyonlar ile oluşturulan aplikasyonda analiz edildi.



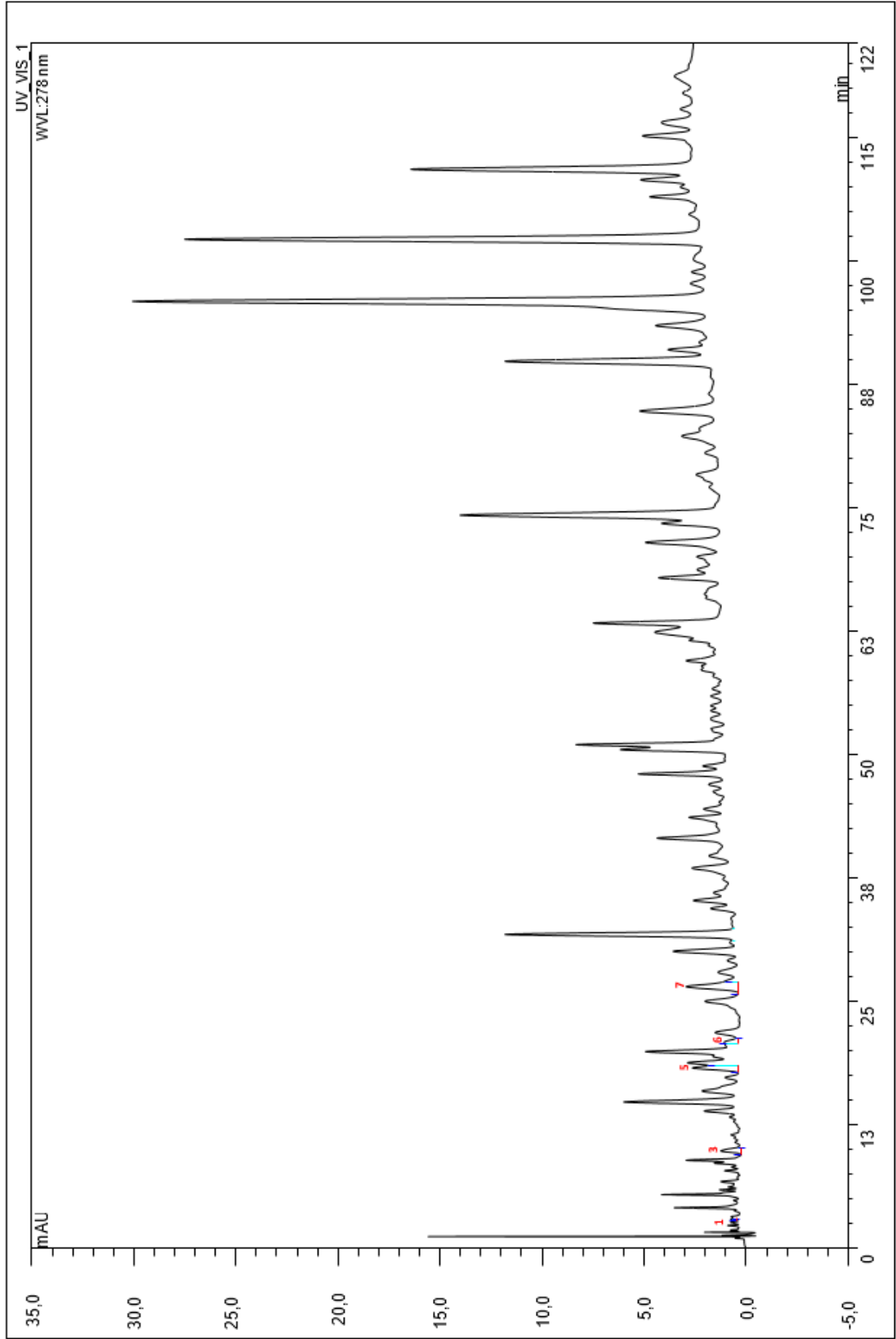
Şekil 4.11. Standart Kromatogram; Pirogallol (1), Gallik asit (2), p-Hidroksibenzoik asit (3), Kateşin (4), Kafeik asit (5), Klorajenik asit (6), Vanilin (7), Sirincik asit (8), Epigallokateşin (9), p-Kumarik asit (10), Epikateşin (11), t-Ferulik asit (12), Sinapik asit (13), Resveratrol (14), Rutin (15), Rosmarinik asit (16), Kuersetin (17), Luteolin (18), Apigenin (19).



Şekil 4.12. *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisinin metanol ekstresi kromatogramı



Şekil 4.13. *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisinin su ekstresi kromatogramı



Şekil 4.14. *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisinin etilasetat ekstresi kromatogramı

Elde edilen kromatogramlar standart kromatogram ile kıyaslandı ve aynı alıkonma süresine sahip piklerin UV spektrumları karşılaştırılarak tayin gerçekleştirildi. Bu şekilde üç kez tekrar elde edilen analiz sonuçları **Tablo 4.6.**, **Tablo 4.7.** ve **Tablo 4.8.**'de verilmektedir.

Tablo 4.6. *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisinin metanol ekstresinin HPLC sonucu

Metanol Ekstresi						
No	Bileşik adı	RT	Miktar (ppm)	LOD (ppm)	LOQ (ppm)	R ²
1	Pirogallol	2,713	1,85±0,005	0,002	0,006	0,9996
2	p-Hidroksibenzoik asit	9,917	0,09±0,003	0,003	0,01	0,9977
3	Kafeik asit	18,440	0,78±0,007	0,002	0,008	0,9913
4	Klorajenik asit	20,677	0,39±0,03	0,001	0,004	0,9991
5	Vanilin	26,273	1,20±0,01	0,002	0,008	0,9996
6	Sirincik asit	28,233	0,29±0,007	0,002	0,009	0,9996
7	Epigallokateşin	31,807	0,39±0,01	0,0009	0,003	0,9984
8	t-Ferulik asit	45,020	1,77±0,006	0,002	0,007	0,9964
9	Resveratrol	68,463	0,55±0,02	0,003	0,01	0,9971
10	Rosmarinik asit	82,937	18,19±0,04	0,001	0,005	0,9998

LOD: 3*Gürültü/Eğim

LOQ: 10*Gürültü/Eğim

Tablo 4.7. *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisinin su ekstresinin HPLC sonucu

Su Ekstresi						
No	Bileşik adı	RT	Miktar (ppm)	LOD (ppm)	LOQ (ppm)	R ²
1	p-Hidroksibenzoik asit	9,917	0,14±0,002	0,003	0,01	0,9977
2	Kafeik asit	18,440	0,03±0,003	0,002	0,008	0,9913
3	Klorajenik asit	20,677	0,47±0,005	0,001	0,004	0,9991
4	Vanilin	26,273	0,09±0,007	0,002	0,008	0,9996
5	Sirincik asit	28,233	0,18±0,006	0,002	0,009	0,9996
6	p-Kumarik asit	33,245	0,14±0,009	0,004	0,01	0,9991
7	t-Ferulik asit	45,020	7,84±0,005	0,002	0,007	0,9964

LOD: 3*Gürültü/Eğim
LOQ: 10*Gürültü/Eğim

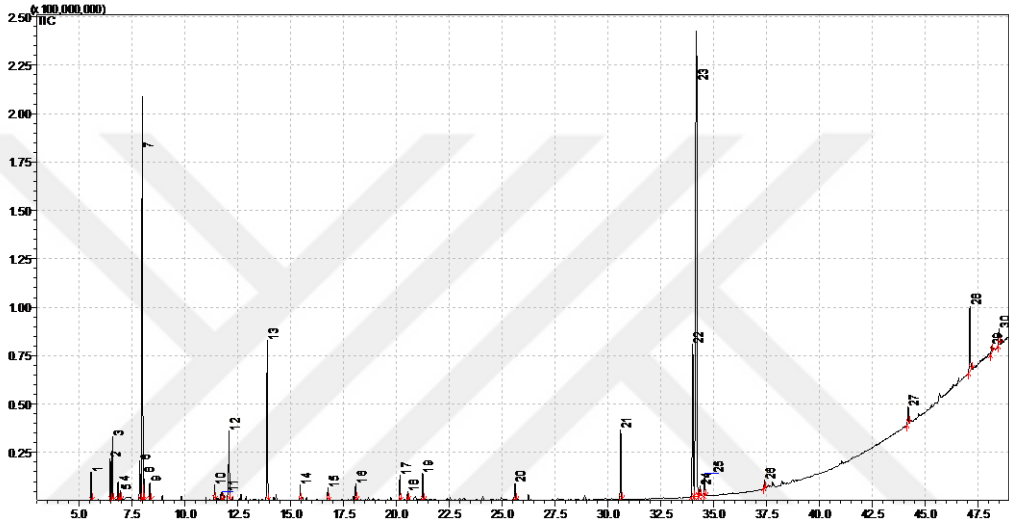
Tablo 4.8. *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisinin etilasetat ekstresinin HPLC sonucu

Etilasetat Ekstresi						
No	Bileşik adı	RT	Miktar (ppm)	LOD (ppm)	LOQ (ppm)	R ²
1	Pirogallol	2,713	0,10±0,004	0,002	0,006	0,9996
2	p-Hidroksibenzoik asit	9,917	0,02±0,001	0,003	0,01	0,9977
3	Kafeik asit	18,440	0,09±0,004	0,002	0,008	0,9913
4	Klorajenik asit	20,677	0,04±0,004	0,001	0,004	0,9991
5	Vanilin	26,273	0,16±0,005	0,002	0,008	0,9996

LOD: 3*Gürültü/Eğim
LOQ: 10*Gürültü/Eğim

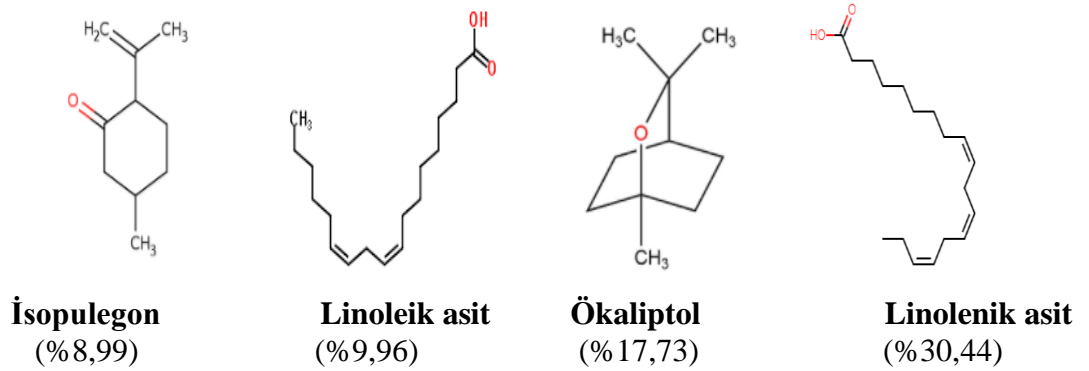
4.3. *Ziziphora Clinopodioides* Lam. Bitkisinin GC-MS Analiz Bulguları

Ziziphora Clinopodioides Lam. Bitkisinin hekzan ekstresinin GC-MS kromatogramı **Şekil 4.15.** 'de sunulmaktadır. Bu kromatogramdan elde edilen analiz sonuçları Tablo 4.9.' da verilmektedir. Bazıları eser miktarda bazıları ise yüksek miktarda olmak üzere toplamda ekstrede 30 tane bileşen tespit edilmiştir.



Şekil 4.15. *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisinin hekzan ekstresinin GC-MS kromatogramı

Yapılan esterifikasyon sonrasında *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisinin hekzan ekstresi içerisinde en bol bulunan yapılar **Şekil 4.16.**'da gösterilmiştir.



Şekil 4.16. *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisinin hekzan ekstresi içerisinde en bol bulunan yapılar

Tablo 4.9. *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisinin esansiyel yağ profili

Pik No	Bileşik Adı	RT	% Bolluk	Kapalı Formül	Türü
1	(-)- α -Pinene	5,558	1,06	C ₁₀ H ₁₆	Monoterpen
2	Sabinen	6,462	1,63	C ₁₀ H ₁₆	Monoterpen
3	β -Pinen	6,562	2,66	C ₁₀ H ₁₆	Monoterpen
4	β -Mircen	6,833	0,68	C ₁₀ H ₁₆	Monoterpen
5	3-Oktanöl	6,950	0,33	C ₈ H ₁₈ O	Alkol
6	(D)-Limonen	7,859	2,05	C ₁₀ H ₁₆	Monoterpen
7	Ökalyptöl	7,998	17,73	C ₁₀ H ₁₈ O	Siklo Eterik Monoterpen
8	cis-Ocimene	8,043	0,94	C ₁₀ H ₁₆	Monoterpen
9	(Z)- β -Ocimene	8,329	0,74	C ₁₀ H ₁₆	Monoterpen
10	Isomenthon	11,394	0,72	C ₁₀ H ₁₈ O	Monoterpen-on
11	Borneöl	11,758	0,38	C ₁₀ H ₁₈ O	Monoterpen-öl
12	Neois(1s)öpilegöl	12,075	3,63	C ₁₀ H ₁₈ O	Monoterpen-öl
13	Isöpilegon	13,885	8,99	C ₁₀ H ₁₆ O	Monoterpen-on
14	7-metoksi-3,7-dimetiloktanal	15,441	0,72	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	Aldehit
15	Piperitenon	16,754	0,62	C ₁₀ H ₁₄ O	Monoterpen-on
16	cis-2- (2-Hidroksietil) sikloheksanol	18,066	0,83	C ₈ H ₁₈ O	Alkol
17	BHT-OH	20,156	1,24	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	Organik bileşik
18	Germacrene-D	20,252	0,4	C ₁₅ H ₂₄	Seskiterpen
19	BHT	21,231	1,36	C ₁₅ H ₂₄ O	Organik bileşik
20	Allo-aromadendren oksit-(1)	25,593	0,95	C ₁₅ H ₂₄ O	Organik bileşik

21	Palmitik asit-metil ester	30,591	3,7	$C_{17}H_{34}O_2$	Yağ asiti
22	(9-12)Linoleik acid-metil ester	34,001	9,96	$C_{19}H_{34}O_2$	Yağ asiti
23	(9-12-15)Linolenik asit-metil ester	34,193	30,44	$C_{19}H_{32}O_2$	Yağ asiti
24	Fitol	34,34	0,58	$C_{20}H_{40}O$	Diterpen-ol
25	Stearatik asit-metil ester	34,562	1,18	$C_{19}H_{38}O_2$	Yağ asiti
26	α -(9-12-15)Linolenik asit –metil ester	37,395	0,37	$C_{19}H_{32}O_2$	Yağ asiti
27	Tetrakontan	44,179	1,00	$C_{40}H_{82}$	Yüksek Alkan
28	Tetrakontan	47,098	3,75	$C_{40}H_{82}$	Yüksek Alkan
29	Oktadecan, 1-iyodo	48,73	0,42	$C_{18}H_{37}I$	İyodo-alkan
30	Hekzatriakontan	48,475	0,94	$C_{36}H_{74}$	Yüksek Alkan

5. SONUÇ ve TARTIŞMA

Ziziphora Clinopodioides Lam. bitkisinin metanol, su ve etilasetat ekstreleri ile yapılan toplam fenolik ve flavonoid miktar tayinleri sonucu *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisinin antioksidan aktiviteye sahip olduğu gözlemlenmiştir. DPPH[·] ve ABTS^{·+} radikal giderme aktivitesinde standart olarak kullanılan Trolox'a en yakın değerler metanol ekstresinde gözlemlenmiştir. Bu durum yapısında bulunan antioksidan aktiviteye sahip bileşenlerin büyük çoğunluğunun metanol polaritesinde daha fazla çözüldüğünü göstermiştir. Ancak metal şelatlama kapasitesi tayininde su ve metanol ekstrelerinin aktivitesi kullanılan EDTA standartına nazaran düşük çıkarken etilasetat ekstresinde aktivite gözlemlenmemiştir.

2006 yılında (Ünal, 2006) yapılan çalışmada *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisinin çeşitli ekstrelerinde DPPH[·] radikal süpürme aktivitesi çalışmasında 50 µg/mL konsantrasyonla yaklaşık %20 DPPH[·] radikal süpürme kapasitesine sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu durum bu çalışmada ki DPPH[·] radikal süpürme aktivitesi ile yakın bir uyum içerisinde (Bkz **Şekil 4.7.**). Ancak toplam fenolik bileşik miktar çalışmalarında daha yüksek miktar (130 GAE mg/g aseton ekstresi - 226,5 GAE mg/g metanol ekstresi) tesbit edilmiştir.(Bkz **Tablo 4.1.**) Bu durum kullanılan çözücü polaritesi (Aseton polaritesi:5,4- metanol polaritesi: 6,6) ya da bitkilerin toplanmış olduğu çevre veya mevsimler ile alakalı olabileceği düşünülmektedir.

Ziziphora Clinopodioides Lam. bitkisinin metanol, su ve etilasetat ekstreleri ile yapılan HPLC analizinde bol ve eser miktarda 11 farklı yapı tespit edildi. Ekstreler içerisinde en bol içeriğe sahip olan metanol ekstresi olmuştur. Tespiti gerçekleştirilen bu yapılar içerisinde en bol bulunan bileşik Rosmarinik asit (18,19 mg/kg metanol eks.) olmuştur.

Rosmarinik asit *Artemisia capillaris*, *Calendula officinalis*, *Melissa officinalis*, *Salvia officinalis* gibi birçok bitkide bulunan doğal polifenolik bir bileşiktir. Bugüne kadar çeşitli dokularda yapılan incelemeler neticesinde rosmarinik asitin antioksidan, antiviral ve anti-inflamatuar etkileri bulunduğu tespit edilmiştir. Bu özellikleri göz önünde bulundurularak nörodejeneratif süreçlerdeki moleküler değişimlere etki ederek koruyucu olabileceği öne sürülmüştür. Nitekim rosmarinik asitin sivrisinek kaynaklı viral bir hastalık olan Japon ensefalitinde anti-inflamatuar etki gösterdiği bulunmuştur (Gök, 2016; Swarup vd., 2007).

Alzheimer hastalığında artan reaktif oksijen türlerinin bir ara aşaması olan kognitif zayıflama ve nöronal kayıpta etkili olduğunu gösteren bulgular dikkate alınarak, rosmarinik asitin bu patolojik değişiklikler üzerine etkisi çeşitli invitro çalışmalarda araştırılmıştır. Rosmarinik asitin PC12 hücrelerinde reaktif oksijen türleri oluşumunu ve lipid peroksidasyonu doz bağımlı olarak azalttığı, hücre ölümünü önlediği tespit edilmiştir.(Gök,2016; Iuvone vd., 2006),

Resveratrol ilk kez Japonya’da 1940 yılında akçöpleme bitkisinden (*Veratrum grandiflorum*) izole edilmiştir. Eski zamanlardan beri, bu madde *Polygonum cuspidatum* bitkisinin ekstresi şeklinde Ayurveda alternatif tıbbında ve geleneksel Çin tıbbında kullanılmıştır. Doksanlarda ‘Fransız paradoksu’nu, kırmızı şarabın aktif maddesinin resveratrol olmasıyla açıklayan hipotezler ortaya çıkmıştır. Son yıllarda resveratrol, kemoprevantif ve antineoplastik etkinliğinden dolayı bilim dünyasında çok ilgi çekmektedir (Chachay vd., 2001).

Ungvari ve ark. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada, resveratrolün vasküler oksidatif stres direncini arttırdığı saptanmıştır. Bu etkisi resveratrolün serbest radikallerden H₂O₂’i bağlayarak, oksidatif stres tarafından uyarılan epitel hücre apoptozunu engellenmesine bağlı olarak gösterdiği kabul edilmiştir. Bunun yanı sıra, resveratrolün UV ile uyarılmış DNA hasarını glutatyon peroksidaz, katalaz ve oksijenaz-1 ekspresyonunu arttırarak oluşturduğu gösterilmiştir. Bu bulgular

resveratrolün kardiyovasküler sistem üzerindeki olumlu etkileri antiapoptotik ve antioksidan aktivitesine bağlı olduğunu göstermektedir.

Ziziphora Clinopodioides Lam. bitkisinin hekzan ekstresi ile yapılan esansiyel yağ analizi sonucunda ekstre içerisinde en bol halde bulunan bileşikler; İso-pulegon (%8,99), Linoleik asit (%9,96), Ökalyptol (%17,73) ve Linolenik asit (%30,44) olduğu tespit edilmiştir. Bu açıdan bu bileşiklerin biyoaktif özelliklerinin araştırıldığı çalışmalar ve yapılan tespitler bu bölümde incelenmiştir.

Cis- ve trans-İso-pulegon, Kuzey Amerika'da yabancı olarak yetişen *M. arvensis* bitkilerinin uçucu yağlarının ana bileşenleri olarak bildirilmiştir (Gill vd., 1973; Lawrence, 1978).

İso-pulegon hakkında yapılan çalışmalarda isopulegon'un aktif olarak antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar, (-)-isopulegon'un lipit biyomoleküllerinin in vitro ortamda koruyucu bir antioksidan etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Ancak muhtemel olarak isopulegonun bir serbest radikalle olan reaksiyonunda elektron donörü olarak hareket ettiği ve böylece serbest radikalın daha az reaktif türlere dönüştüğü düşünülse de, antioksidan potansiyelini yönlendiren olası etki mekanizmalarını aydınlatmak için daha fazla çalışma gerekmektedir (Silvave vd., 2012).

1,8-Cineole, Cineole, ya da Ökalyptol Okalyptus yapraklarından elde edilen esansiyel yağın ana bileşenlerindedir. Ökalyptol'un varlığı birkaç bitki türünde belirlenmiş ve α -terpineol'un izomerizasyonundan da sentezlenmesi mümkün olmuştur (Leão Lana vd., 2006).

NF- κ B (NF- κ B tüm hücre tiplerinde bulunan bir transkripsiyon faktörüdür.) aktivitesinin inhibisyonu iltihaplanma ve antitümör aktiviteler arasındaki etkileşimde

gerçekleşir. Anti-inflamatuar aktivitelere sahip birçok ilaç da antitümör aktiviteye sahiptir (Sousa, 2015). Greiner ve arkadaşları (2013) ilk önce ökaliptol'ün U373 yani glioblastoma (primer kötü huylu beyin tümörü) ve HeLa kanseri hücresi hatlarında hücre yaşayabilirliğini önemli ölçüde azalttığını açıklamıştır. NF- κ B aktivitesi lipopolisakkarit bağımlı NF- κ B aktivasyonundan sonra bile ökaliptol tarafından indirgenmiştir. 90 dakika sonra ökaliptol, I κ B'nin (I κ B hücreyel yanıtı iltihaba yaymakla görevli bir enzim kompleksidir) ve NF- κ B'nin hedef genlerinin ekspresyonunu azaltmıştır. Bu aktivite doğrudan ökaliptol'ün anti-tümöral etkisi ile ilgilidir (Sousa, 2015).

Ökaliptol genel olarak solunum yolu ve iltahaplama üzerine tedavi özellikleri geçmişte rapor edilmiştir. Uzun vadeli bir sistematik tedavi sonucunda astım, sinüzit ve üst solunum hastalıklarında normalleştirici terapötik etkiye sahip olması muhtemeldir (Juergens vd., 2003).

Ayrıca ökaliptol, diş macunu, sabun ve kremler gibi farklı kozmetik ürünlerde, hava spreyi ve temizlik ürünleri gibi ev ürünlerinde kullanılır (Kirsch vd., 2012). Madde renksiz bir sıvı olup, taze, kafur benzeri bir kokuya sahiptir. Ökaliptol'ün uygun şekilde işlenmesiyle toksik etkiler göstermesi beklenemez, ancak yüksek konsantrasyonlarda kullanılması kan basıncının düşmesi, merkezi sinir sistemi rahatsızlığı ve uyuşukluk gibi sistematik etkilere neden olabilir (Datenblatt, 2012).

İnsan vücudu, ihtiyaç duyduğu birçok yağ asitlerini kendi sentezleyebilir. İnsan vücudunda üretilmeyen linoleik asit ve α -linolenik asit ise bitki ve balık yağlarında bol miktarda bulunur. Bu yağ asitleri vücutta yapılmadıkları ve besin yoluyla alınmaları gerektiğinden esansiyel yağ asitleri olarak adlandırılırlar. Esansiyel yağ asitleri, hücrenin bir uyarıya verdiği yanıtta hücre zarlarından salınan biyoaktif mediyatörler olarak tanımlanan eikosanoidlerin sentezinde görev alırlar (Sertoğlu, 2012; Montgomery vd., 2000). Eikosanoidler kan basıncı, kan pıhtılaşması, kan lipid seviyelerinin korunması, bağışıklık ve enfeksiyonlara karşı inflamasyon yanıtlarının

denetlenmesi gibi işlevlere sahiptirler. Ayrıca ω -3 yağ asitleri bu işlevlerine bağlı olarak, inflamatuvar ve otoimmün hastalıklar, kalp ve damar hastalıkları, romatoid artrit, meme, kolon, prostat kanserleri, astım, alzheimer gibi birçok hastalığın önlenmesi ve tedavisinde büyük bir öneme sahiptir. Ayrıca bebeklerde retina ve beyin gelişiminde de etkin rol oynamaktadırlar (Calder 2007; Ertek ve Karatan, 2004; Laurizen vd., 2001; Sertoğlu, 2012; Sijben vd., 2007).

Urumçi -Sincan Uygur Özerk- Çin bölgesinden toplanan *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisinin esansiyel yağ analizlerinde (Ma vd., 2016) isopulegon, pulegon, limonen, borneol gibi yapıların bolluk derecesinde farklılıklar göstermesine karşın tespit edilmesi çalışmamızın bu bitki ile yapılan çalışmalarda paralellik gösterdiğini ortaya koymuştur. Miktarlarına bağlı değişiklikler ise bitkilerin sahip olduğu farklı çevresel etkenlere karşı kendi savunma sisteminden kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

Bölgesel olarak yakınlık gösteren bir diğer çalışmada (Öztürk S. ve Ercişli S., 2006) Erzurum- Palandöken (Türkiye) bölgesinden toplanan *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisinin esansiyel yağ analizlerinde α -Pinen, Sabinen Limonen, Ökalyptol (1,8 Cineole), Pulegon, Piperitenon, Germacren- β , β - Miricen gibi yapılar benzerlik göstermiş olup aynı zamanda miktarlarda da yakınlık göstermiştir. Bu durum iki komşu şehirde toplanan bitkilerin yakın bir çevresel etkiye sahip olduğunda göstermiştir.

Ziziphora Clinopodioides Lam. bitkisi Türkiye ve Ortadoğu ülkelerinde gıda ve tedavi amaçlı olarak yüzyıllardır kullanılmaktadır. Uygur tıbbında da damar sertliğini önleme ve antihipertansif özelliklerinden dolayı sıklıkla kullanılmıştır (Senejoux vd., 2012). Sakinleştirici etkisinin yanı sıra mide ağrısı ve gastrit önleyici, balgam sökücü, enfeksiyonel hastalıklara karşı koruyucu ve gaz gidericidir. Bitkinin toprak üstü kısımları soğuk algınlığı ve öksürüğe karşı tedavi için kullanılmaktadır. Günlük gıda ürünlerinde zengin aroması ile tat verici özelliği de mevcuttur (Branch, 2011).

Ayrıca *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisine ait ekstrelerin HPLC kromatogramları incelendiğinde de polifenolik yapıların su ekstresinden ziyade metanol ekstresinde çoğunlukta olduğunu göstermiştir. Bu durumda *Ziziphora Clinopodioides* Lam. bitkisinin bitkisel çay olarak tüketilmesinden ziyade gıdalarda ham halde kullanılması ve böylece biyoaktif faydalarından daha çok istifade edilmesinin mümkün olacağı düşünülmektedir.

Türkiye’de dağ kekiği, İran’da mavi nane çalısı (Blue Mint Bush) olarak adlandırılan latince ismi *Ziziphora Clinopodioides* Lam. olan bu kekik türü yapılan antioksidan aktivite analizleri, belirlenen bol polifenolik içeriği ve önemli miktarlardaki zengin esansiyel yağ profili ile tüketilmesi oldukça faydalı bir bitki olduğunu göstermiştir.

KAYNAKLAR

- Abdollahi, M., Bahreini-Moghadam, A., Emmami, B., Fooladian, F., Zafariet, K., (2003) ‘‘Increasing intracellular cAMP and cGMP inhibits cadmium-induced oxidative stress in rat submandibular saliva’’, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 135, 331-336.
- Açan, L., (1990) ‘‘Koyun beyni glutasyon redüktazının saflaştırılması ve bazı özelliklerinin incelenmesi’’, Doktora Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara,10-55.
- Akkan G., A., (1999) ‘‘Vitaminler’’ *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Akılcı ilaç Kullanımı Sempozyumu*, İstanbul, 45-57.
- Akkuş İ., Kalak S, Vural H, ağlayan O, Menekşe E, Can G, Durmuş B.,(1996) ‘‘ Leukocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and serum and leukocyte vitamin c levels of patients with type II diabetes mellitus’’ *Clinica Chimica Acta*. 244:221- 227.
- Akkuş İ., (1995) ‘‘Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri’’, *Mimoza Yayınları*, Konya 10-80.
- Aksoy, M., (2016) ‘‘Bazı flavonoidlerin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi ve insan eritrositlerinden saflaştırılan glutasyon s-transferaz enzim aktivitesi üzerine inhibisyon etkilerinin incelenmesi’’, Doktora Tezi, *Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü* 9 -10.
- Aksoy, Y., (2002) ‘‘Antioksidan mekanizmada glutasyonun rolü’’, *Klinik Tıp Bilimleri*, 22, 442-448.
- Alan C., Ashihara H., (2006) ‘‘ Plant Secondary Metabolites Occurrence’’, *Structure and Role in the Human Diet* 200-217.
- Altekin, E., (1999) ‘‘HMG CoA Redüktaz İnhibitörlerinin Plazma Ubikinon, ATP Düzeyi ve Total Antioksidan Kapasite Üzerine Etkilerinin İncelenmesi’’, Uzmanlık Tezi, *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı*, İzmir, 76.
- Altınışık, M., (2000) ‘‘Serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar’’, *Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi Biyokimya A.B.D.* Aydın 50-100.
- AOCS Lipid Library 2017, <http://lipidlibrary.aocs.org/index.cfm> (15.05.2017)
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E., Altun, M., (2005) ‘‘Total antioxidant capacity assay of human serum using copper (II)- neocuproine as chromogenic oxidant: The CUPRAC Method’’, *Free Radical Research*, 39, 949-961.

- Arrigoni, O., De Tullio, M.C., (2002) "Ascorbic acid: much more than just an antioxidant", *Biochimica et Biophysica Acta-General Subjects*, 1569, 1-9.
- Aruoma OI, Cuppett SL. (1997) "Antioxidant Methodology in vivo and in vitro Concept", *Champaign, Illinois, American Oil Company Press*, 241.
- Asad, N.R., Asad, L.M.B.O., Bonacossa de Almeida, C.E., Felzenszwalb, I., Cabral-Neto, J.B., Leitão, A.C., (2004) "Several pathways of hydrogen peroxide action that damage the E. coli genome" ,*Genetics and Molecular Biology*, 27 (2), 291- 303.
- Avan, A.N., (2014) "Polifenollerin Tiyoller Ve Proteinlerle Etkileşiminin Bazı Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemlerine Etkisi", Yüksek Lisans Tezi *İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü* 3 .
- Bast, A., Haenen, G. R., van den Berg, R., and van den Berg, H. (1998) " Antioxidant effects of carotenoids", *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 68: 399-403.
- Basu H.N., Del Vecchio A.J., Flider F. and Orthoefer F.T., (2001) "Nutritional and potential disease prevention properties of carotenoids", *Journal of the American Oil Chemistry Society*, 78, 665 675.
- Baytop, T., (1999) "Türkiyede Bitkiler ile Tedavi Geçmişte ve Bugün", *Nobel Tıp Kitapevleri*, İstanbul 10-60.
- Beckman, J. S., T. W. Beckman, J. Chen, P. A. Marshall and B. A. Freeman (1990) "Apparent Hydroxyl Radical Production by Peroxynitrite - Implications for Endothelial Injury from Nitric Oxide and Superoxide" ,*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87(4): 1620-1624 .
- Bernstein, P.S., (2002) "New insights into the role of the macular carotenoids in age-related macular degeneration. Resonance Raman studies", *Pure and Applied Chemistry*, 74, 1419–1425.
- Bilaloğlu G., M., (1999) "Harmandar Flavonoidler", *Aktif Yayınevi*, , 382.
- Blois M.S., (1958) "Antioxidant determinations by the use of a stable free radical" *Nature*. 181:1199–1200.
- Bohlmann, J. and Keeling, C.I. (2008) " Harnessing plant biomass for biofuels and biomaterials", *Terpenoid biomaterials. Plant Journal*, 54, 656–669.
- Boileau TW, Clinton SK, Zaripheh S, Monaco MH, Donovan SM, Erdman JW Jr.(2001) "Testosterone and food restriction modulate hepatic lycopene

- isomer concentrations in male F344 rats”, *Journal Of Nutrition*, 131 (6), 1746-1752.
- Bonakdar, R.A. and Guarneri, E. (2005) “Coenzyme Q10”, American Family Physician, www.aafp.org/afp, Volume 72, Number 6.
- Bouvier, F., Rahier, A. and Camara, B. (2005) “ Biogenesis, molecular regulation and function of plant isoprenoids”, *Progres In Lipid Research*, 44, 357–429.
- Bozari S. (2012) “Lamiaceae Familyasına Ait Farklı Türlerden Elde Edilen Allelopatik Potansiyele Sahip Esansiyel Yağların Genotoksik Etkilerinin Belirlenmesi”, Doktora Tezi, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum 1-35.
- Branch G.K. (2011) “The Evaluation of Medicinal Properties of Ziziphora clinopodioides”, *World Applied Sciences Journal* 12 (9): 1635-1638.
- Bravo, L., (1998) "Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance." *Nutrition Reviews* 56 (11): 317-333 .
- Breitmaier, E. (2006) “Terpenes. Flavors, Fragrances, Pharmaca, Pheromones”, *Wiley-VCH, Weinheim*, Germany, 220.
- Brown, J. A., Khodr, H., Hider, R. C., Rice-Evans, C. (1998) “Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions: implications for their antioxidant properties”, *Biochemical Journal*, 330, 1173-1178.
- Bulkley I.B. (1953) “ The role of free oxygen radicals in human disease processes” *Surgery*, 94, 407 411 .
- Bursal E. (2009) “Kivi Meyvesinin (*Actinidia deliciosa*) Antioksidan ve Antiradikal Aktivitelerinin Belirlenmesi, Karbonik Anhidraz Enziminin Saflaştırılması ve Karakterizasyonu” Doktora Tezi, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü* Erzurum, 6-9 .
- Bursal E. (2009) “Kivi Meyvesinin (*Actinidia deliciosa*) Antioksidan ve Antiradikal Aktivitelerinin Belirlenmesi, Karbonik Anhidraz Enziminin Saflaştırılması ve Karakterizasyonu” Doktora Tezi, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum, 6-9.
- Burton, G.W. (1989) “Antioxidant action of carotenoids”, *J. Nutr.*, 119; 109-111.
- Cadenas, E., Packer, L. (2002) “Handbook of Antioxidants”, Marcel Dekker, *New York-Basel*, 0-8247 0547-5.
- Candan, Ö, (2007) “ Streptozotosin ile Deneysel Olarak Diabet Oluşturulan Ratlarda Koenzim Q10’un Bazı Kan Parametrelerine Etkileri”, Yüksek Lisans Tezi,

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara, 77.

- Cemeroğlu, B. (2004). Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi. *Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları* No: 35, Ankara, 1. Cilt 77-88 .
- Chachay VS, Kirkpatrick CM, Hickman IJ, Ferguson M, Prins JB, Martin JH. (2011) ‘‘Resveratrol--pills to replace a healthy diet? *British Journal of Clinical Pharmacology*, 72(1):27-38
- Chance, B., H. Sies and A. Boveris (1979) ‘‘Hydroperoxide Metabolism in Mammalian Organs.’’ *Physiological Reviews*, 59 (3): 527-605.
- Chandler, L.A. and Schwartz, S.J. (1987) ‘‘HPLC separation of *cis-trans* carotene isomers in fresh and processed fruits and vegetables’’ *Journal Of Food Science*.52; 669- 672.
- Chen, H.E., Peng, H.Y. and Chen, B.H. (1996) ‘‘Stability of carotenoids and vitamin A during storage of carrot juice’’, *Food Chemistry*., 57; 497-503.
- Croteau,R.,Kutchan, T.M. and Lewis, N.G (2000) ‘‘Natural products (secondarymetabolites), in Biochemistry and Molecular Biology of Plants’’ (eds B. Buchanan, W. Gruissem, and R. Jones), *American Society of Plant Biologists*, Rockville, MD, USA, pp. 1250–1268.
- Sousa P.D., Fernandes J. (2015) ‘‘Bioactive Essential Oils and Cancer’’ *Antitumor - Monoterpenes* , 180.
- Davies, K.J.A., (2000) ‘‘Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems’’, *International Union of Biochemistry and Molecular Biology Life*, 50, 279-289.
- Davis, P.H. (1982). "Flora of Turkey and the East Aegean Islands", *Edinburgh Universty Press*, Edinburgh, 7, 395.
- Dawn B.M., Allan D.M., Colleen M.S., (1996) ‘‘Basic Medical Biochemistry a Clinical Approach’’, *Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore*, Maryland, 150.
- Deming, D.M. and Erdman, J.W. (1999) ‘‘.Mammalian carotenoid absorption and metabolism’’, *Pure and Applied Chemistry*, 71, 2213–2223.
- Demir, E.,. (1994) ‘‘Diabetlerde eritrosit glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz aktivitelerinin glikolize hemoglobin ve lipid peroksidasyonu ile değişimlerinin incelenmesi’’, Doktora Tezi, , *Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*. Erzurum, 1-50.

- Deniz G. (2007) "Türkiye'de Yetişen Zızıphora L. (Lamiaceae) Taksonlarının Moleküler Sistematiği" *Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir Üniversitesi-Balıkesir* 3,4.
- Dinis T.C.P., Madeira V.M.C., Almeida .LM. (1994) "Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and peroxy radical scavengers", *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 315 (1), 161-169.
- Dorgan JF, Sowell A, Swanson CA, Potischman N, Miller R, Schussler N, Stephenson HE Jr (2000) "Dose-response effects of lycopene on selected drug metabolizing and antioxidant enzymes in the rat" *Cancer Letters*, 154, 201-210.
- Douglas, K.T., (1987) "Mechanism of glutathione-dependent enzymes", Meister, A.,(ed). Avdan. Enzymol., *John Wiley & Sons.*, New York. 59, 103-167.
- Dubey, V.S. (2003) "Bhalla, R. and Luthra, RAn overview of the non-mevalonate pathway for terpenoid biosynthesis in plants", *Journal of Biosciences* 28, 637-646.
- Dung,N.T.,Kim,J.M.andKang,S.C (2008) "Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and the ethanol extract of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) ",Merr and Perry buds. *Food Chemistry. Toxicol.*, 46, 3632-3639 19.
- Duthie, G.G., Wahle, K.W.J. and James, W.P.T. (1989) "Oxidants, antioxidants and cardiovascular disease", *Nutrition Research Reviews*, 2, 51-62.
- El-Agamey, A., Lowe, G.M., McGarvey, D.J., Mortensen, A, Philip, D.M., Truscott, T.G. and Young, A.J. (2004) "Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties", *Arch. Biochem. Biophys.*, 430; 37-48.
- Erçetin, T., (2007) "Tetraploid *Trifolium pratense* L. (Çayır Üçgülü) Kalluslarında Bazı İzoflavonların (fitoöstrojen) Analizi", Yüksek Lisans Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 1-50.
- Erge H.S.. (2007) "Domateste (*Lycopersicum esculentum*) Karotenoid Madde Dağılımı , *Antioksidan Aktivite* 96;24-25-26
- Erhardt JG, Meisner C, Bode JC, (2003) "Lycopene, beta-carotene and colorectal adenomas" *Am J Clin Nutr*, 78, 1219-1224.
- Ertek S, Karatan O. (2004) "Böbrek hastalıklarının tedavisinde omega-3 yağ asitlerinin yeri", *Ankara Üniv Tıp Fak Mecmuası* –Ankara;57(4):249-255.
- Frankel, E.N. (1980) "Lipid oxidation, A review, *Progress in Lipid Research*, 19, 1-22.

- Freedman, B.; Kwolek, W. F.; Pryde, E. H.; (1986) Oil Chem. Soc. *J. Am.*, 63, 1370.
- Frei, B., Kim, M.C. and Ames, B.N. (1990) ‘Ubiquinol-10 is an effective lipid-soluble antioxidant at physiological concentrations’, *Proc. Natl. Acad. Sci. Medical Sciences*, USA, Vol. 87, 4879-4883.
- Fridovich, I. (1976) "Oxygen radicals, hydrogen peroxide, and oxygen toxicity" *Academic Press 1*: 239-277.
- Fridovich, I. (1989) "Superoxide Dismutases - an Adaptation to a Paramagnetic Gas." *Journal of Biological Chemistry* 264(14): 7761-7764.
- Fujiwara, y., Kondo, T., Murakami K. and Kavakami, Y., (1989) ‘Decrease of the inhibition of lipid peroxidation by glutathion-dependent system in erythrocytes of non insulin dependent diabetes’ *The Wiener klinische Wochenschrift*, 67, 336-341.
- Gaetke, L.M., Chow C.K., (2003) ‘Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients’, *Toxicology*, 189, 147–163.
- Geissman TA, Crout DHG. (1969) ‘Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism’ California: Freeman, *Cooper and Company*; pp.: 4, 217, 241, 291, 293, 300,305, 309.
- Gerald F. Combs, Jr., Ph.D., James P. McClung, Ph.D. *The Vitamins Fundamental Aspects in Nutrition and Health* 612;117 (2017).
- Gill LS, Lawrence BM, Morton JK Variation in *Mentha arvensis* L. (Labiatae). I. The North American populations, *The Botanical Journal Of The Linnean Society*, 67:213-23 (1973).
- Gill S., Darren A.W, George Z. Chen and Anna K. (2016) ‘Developing energy efficient lignin biomass processing towards understanding mediator behaviour in ionic liquids’ 200-300.
- Giovannucci E. (1999) ‘Tomatoes, tomato-based products, lycopene and cancer, review of the epidemiologic literature’, *The Journal Of The National Cancer Institute*, 91, 317-331.
- Gök D.K., (2016) ‘Deneysel Alzheimer Modelinde Olaya İlişkin Potansiyeller Ve Oksidan Stres Değişikliklerine Rosmarinik Asidin Etkileri Ve Mekanizması’, *Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı*, Antalya, 1-50.
- Grabmann, J. (2005) ‘Terpenoids as Plant Antioxidants’, *Vitamins and Hormones*, 72, 505-535.

- Greiner JF, Müller J, Zeuner MT, Hauser S, Seidel T, Klenke C, Grunwald LM, Schomann T, Widera D, Sudhoff H, Kaltschmidt B, Kaltschmidt C. (2013) "1,8-Cineol inhibits nuclear translocation of NF- κ B p65 and NF- κ B-dependent transcriptional activity", *Biochim Biophys Acta* 1833(12):2866–2878.
- Griffin, S.G., Wyllie, S.G., Markham, J.L. and Leach, D.N. (1999) "The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity", *Flavour Fragrance J.*, 14, 322–332.
- Gutteridge, J.M.C., (1994) "Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection", *Chemico-Biological Interactions*, 91, 133–140.
- Gutteridge, J.M.C., (1989) "Iron and oxygen: A biologically damaging mixture", *Acta Paediatrica Scandinavica, Supplement*, 361, 78–85.
- Gülçin, İ., (2002) "Isırgan otunun (*Urtica dioica*) antioksidan aktivitesinin belirlenmesi, oksidatif enzimlerinin karakterizasyonu ve bazı *in vivo* etkilerinin incelenmesi", *Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, 114.
- Gülçin, İ., (2012) "Antioxidant activity of food constituents: an overview", Review, *Archives of Toxicology*, 86, 345-391.
- Gürbüz, D.G., (2008) "Demir Eksikliği Anemisinde İntravenöz Demir Tedavisinin Total Antioksidan Kapasite Üzerine Etkisi", *Uzmanlık Tezi, Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi*, İstanbul ,50.
- Hall, L., Williams, K., Perry, A.C.F., Frayne, J., Jury, J.A., , (1998) "The majority of glutathione peroxidase type 5 (GPx5) transcripts are incorrectly spliced: implications for the role of GPx5 in the male reproductive tract" *Biochemical Journal.*, 333, 5-9.
- Halliwell B., Gutteridge JMC., (1990) "Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview." In: *Methods in Enzymology*, 186, 1-85.
- Halliwell, B. (1990). "How to characterise a biological antioxidant", *Free Radical Research Communication*, 9, 1-32.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. (1999) "Free Radicals in Biology and Medicine", 3rd ed., *Oxford University Press*, Newyork,: 246-351.
- Halliwell, B., Gutteridge J.M.C. (1989) "Free Radicals in Biology and Medicine" *Clarendon Press*, Oxford, 543.
- Harborne JB, Mabry TJ, Mabry H. (1975) "The Flavonoids", *London-New York: Chapman and Hall*; pp.:35-37, 865-867.

- Harborne, J. B., H. Baxter and G. P. (1999). "Moss Phytochemical dictionary : *a handbook of bioactive compounds from plants*. London, Taylor & Francis, 250-600.
- Henle, E.S., Linn, S. (1997) "Formation, prevention, and repair of DNA damage by iron/hydrogen peroxide.", *The Journal of Biological Chemistry*, 272, 19095– 19098 .
- Hussain, A. I., (2009) "Characterization and Biological Activities of Essential Oils of Some Species of Lamiaceae." PhD, *University of Agriculture, Department of Chemistry*, Pakistan ,10-35.
- Iuvone T, De Filippis D, Esposito G, D'Amico A, Izzo AA: (2006) "The spice sage and its active ingredient rosmarinic acid protect PC12 cells from amyloid-beta peptide-induced neurotoxicity", *Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics*, 317(3):1143- 1149.
- Jialal I, Grundy SM, (1993) "Effect of combined supplementation with alpha-tocopherol, ascorbate, and beta carotene on low-density lipoprotein oxidation", *Circulation*. 88: 2780-2786.
- John L. Tymoczko, Jeremy M. Berg, Lubert Stryer (2013). " *Biochemistry a short course*" 2013 Second Edition, 181-200
- Juergens UR, Dethlefsen U, Steinkamp G, Gillissen A, Reppes R, Vetter H (2003), "Antiinflammatory activity of 1.8-cineol (eucalyptol) in bronchial asthma: a double-blind placebocontrolled trial" *Respiratory Medicine*, 97(3):250–256
- Jung, K.A., Song, T.C., Han, D.S., Kim, I.H., Kim, Y.E., Lee, C.H., (2005) "Cardiovascular protective properties of kiwifruit extracts in vitro", *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28, 1782 1785.
- Kahkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., (1999).. "Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds", *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 47, 3954-62.
- Kayapınar, D., (2002)., "Akut koroner sendromlu olgularda Koenzim Q10 Düzeyleri", Biyokimya (Eczacılık) Programı Yüksek Lisans Tezi, *Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, İzmir, 61.
- Keha, E., Küfrevioğlu, Ö. İ. (2000), "Biyokimya", *Aktif Yayınevi*, Erzurum, 150-200
- Kerr, J. A., Calvert, J.G. and Demerjian, (1976).K.L. *Free Radicals in Biology* (Pryor, W.A., ed.) 2: 159-179
- Keszei,A.,Brubaker,C.L.andFoley,W.J (2008). "A molecular perspective on terpene variation in Australian", *Myrtaceae. Aust. J. Bot.* .1-200.

- Kıyak, G. (2013) “*Solanum nigrum* L. (solanaceae) bitkisinin yağ asidi kompozisyonu ve *solanum dulcamara* L. (solanaceae) bitkisinin diklormetan/metanol ekstraktlarının antioksidan aktivitesinin belirlenmesi” Yüksek lisans, **Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü**, 15
- Kirimer G.,N.,Kurkcuoglu,M .and BasöK.H.C. .(2005). “Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two endemic species from Turkey: *Sideritis cilicica* and *Sideritis bilgerana*”, **Chemistry Of Natural Compounds**, 41, 679–682. 18.
- Kirsch F, Beauchamp J, Buettner (2012) “ Time-dependent aroma changes in breast milk after oral intake of a pharmacological preparation containing 1,8-cineole”, **Clinical Nutrition**, 1-50.
- Knapen, M. F.C.M., Zusterzeel, P.L.M., Peters, W.H.M. and Steegers, E.A.P., (1999). “Glutathione and glutathione-related enzymes in reproduction”, **EÜropean Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, 82, 171-184.
- Kneepkens, C. M.; Lepage, G.; Roy, C. C.”, (1994) “The potential of the hydrocarbon breath test as a measure of lipid peroxidation”, **Free Radical Biology and Medicine**, 17:127–160.
- Kohno, Y., Egawa, Y., Itoh, S., Nagagaoka, S., Takahashi, M., Mukai, K.. (1995) “Kinetic study of quenching reaction of singlet oxygen and scavenging reaction of free radical by squalene in *n*-butanol”, **Biochemica and Biophysica Acta**, 1256, 52 56.
- Kopsell, D.A. and Kopsell, D.E. (2006). “Accumulation and bioavailability of dietary carotenoids in vegetable crops”. **Trends In Plant Sciences**, 11; 499-507.
- Köksal E., (2007). ‘Karnabahar (*Brassica oleracea* L.) peroksidaz enziminin saflaştırılması ve karakterizasyonu, antioksidan ve antiradikal aktivitesinin belirlenmesi’,Doktora Tezi, **Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı**, Erzurum, 1-50.
- Krinsky, N. I. (1998). “The antioxidant and biological properties of the carotenoids”, **Annals of the New York Academy of Sciences**, 854: 443-447.
- Krinsky, N.I. and Johnson, E.J. (2005).”Carotenoid actions and their relation to health and disease”, **Mol. Aspects Med.**, 26; 459-516.
- Krinsky, N.I. (1989) “Antioxidant function of carotenoids”, **Free Radical Biology and Medicine**, 7, 617 635.
- Krinsky, N.I. (1992) “Mechanism of action of biological antioxidants”, **Proceedings Of The Society For Experimental Biology And Medicine**, 200: 248-254.

- Kumar, S.A. 2009. "Plants-based Medicines in India", *Environ Health Perspect*, 12-17.
- Langenheim, J.H. (1994) "Higher plant terpenoids: a phytocentric overview of their ecological roles", *Journal Of Chemical Ecology*, 20, 1223–1280 6 .
- Last, J. A., W. M. Sun, Witschi H.(1994). "Ozone, NO, and NO₂: oxidant air pollutants and more." *Environ Health Perspect* 102 Suppl 10: 179-184.
- Laurizen L, Hansen HS, Jorgensen MH et al. (2001). "The essentiality of long chain n-3 fatty acids in relation to development and function of the brain and retina", *Progress In Lipid Research*, 40:1-94.
- Lawrence BM (1978). "A study of the monoterpene interrelationship in the genus *Mentha* with special reference to the origin of pulegone and menthofuran", Thesis, *Groningen State University*, Groningen 1-50.
- Leão Lana EJ, da Silva Rocha KA, Kozhevnikov IV, Gusevskaya EV (2006) "Synthesis of 1,8 cineole and 1,4-cineole by isomerization of α -terpineol catalyzed by heteropoly acid", *Journal Of Molecular Catalysis A Chemical*, 259-99–102.
- Loecke, L., De zwart, John H. vd (1999).,"Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in human", *Free Radical Biology & Medicine*, 26,202-226.
- Long, Y., Yu, Z. and Chen, H., (1999) "Determination of coenzyme Q10 by in situ EPR spectroelectrochemistry" *Electrochemistry Communications* 1, 195-196.
- Ma B-X., Ban X-Q., He J., Huang B., Hong Zeng H., Jun Tian J., Chen Y-X., Wang Y.W., (2016) "Antifungal activity of *Ziziphora clinopodioides* Lam. essential oil against *Sclerotinia sclerotiorum* on rapeseed plants" (*Brassica campestris* L.) *Crop Protection* 89, 289-295.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C.,. (2004) "Polyphenols:food sources and bioavailability",*The American Journal Of Clinical Nutrition* , 79, 727-747.
- Mandal, S., Yadav, S., Yadav, S. ve Nema, R.K., (2009) "Antioxidants: A Review", *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 1, 1, 102-104.
- Mashima R, Witting PK, Stocker R. (2001) "Oxidants and antioxidants in atherosclerosis", *Curr Opin Lipidol*, 12 (4), 411-418.
- Mccord, J. M. and Fridovich I. (1988). "Superoxide-Dismutase - the 1st 20 Years (1968-1988)." *Free Radical Biology and Medicine* 5(5-6): 363-369 .

- Merck D., Datenblatt Merck's (2012). "1,8-cineole data sheet" 3-5.
- Miller C. A, Rice-Evans, N. J., Paganga, G., (1996) "Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids", *Free Radical Biology & Medicine*, 20, 933-956.
- Miller C.A, Rice-Evans., N. J., Bolwell, P.G., Bramley, P. M., Pridham, J. B., , (1995) "The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids" *Free Radical Research*, 22, 375-383.
- Mitchel, R.E.J., Mccann, R., (1993), " Vitamin E is a complete tumor promotor in mouse skin", *Carcinogenesis*, 14(4), 659-662.
- Moncada, S., R. M. J. Palmer and Higgs E. A. (1991) "Nitric-Oxide - Physiology, Pathophysiology, and Pharmacology." *Pharmacological Reviews* 43(2): 109-142.
- Montgomery R, Conway T, Spector A, Chappell D. (2000) "Biyokimya Olgu Sunumlu Yaklaşım", 6. Baskı, *Palme Yayıncılık* 6. Baskı, Ankara,1-50.
- Mozaffarieh, M., Sacu, S. and Wedrich, A. (2003) "The role of the carotenoids, lutein, zeaxanthin, in protecting against age-related macular degeneration: a review based on controversial evidence", *Nutrition Journal*, 11, 20–28.
- Nelson, J. A., and Falk, R. E., , The efficacy of phloridzin and phloretin on tumor cell growth, *Anticancer Res.* 13: 2287-2292. (1993).
- Neyestani TR, Shariatzadeh N, Gharavi A, Kalayi A, Khalaji N.(2007) "Physiological dose of lycopene suppressed oxidative stress and enhanced serum levels of immunoglobulin M in patients with Type 2 diabetes mellitus: a possible role in the prevention of long-term complications", *J Endocrinol Invest*, 30 (10), 833-838.
- Obst,J.R. (1998) "Special (secondary) metabolites from wood,in Forest Products Biotechnology eds A. Bruce and J.W. Palfreyman, *Taylor & Francis*, London, pp. 151–165.
- Oskar A., Oliveira F.R., Lima T.C., Sousa D.P., Souza,A..A, Freitas R.M., (2012) "Evaluation of the antioxidant effects in vitro of the isopulegone" *Universidade Federal do Piauí, Departamento de Química*, 35-70.
- Overvad, K., Diamant, B., Holm, L., Hülmer, G., Mortensen, S.A. and Stender, S. (1999) "Review Coenzyme Q10 in health and disease", *European Journal of Clinical Nutrition*, 53, 764-770.
- Öztürk M., Güzelhan Y., Sayar K., Tüzün U., (2001). "Yaygın gelişimsel bozukluğu olan çocuklarda plazma malondialdehit ve glutatyon düzeylerinin araştırılması", *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, 11:3 155-159.

- Öztürk, M *Micromeria C.* ve *Juliana M.* (2008). Türlerinde Antioksidan Bileşiklerin HPLC İle Analizi Ve Yapılarının Aydınlatılması, *Sağlık Bilimleri Enstitüsü. İstanbul Üniversitesi*, 28-200.
- Öztürk S., Ercisli S., (2006) ‘‘Antibacterial activity and chemical constitutions of *Ziziphora clinopodioides*’’, *Food Control* 18 534-540.
- Padayatty, S.J., Katz, A., Wang, Y.H., Eck, P., Kwon, O., Lee, J.H., Chen, S.L., Corpe, C., Dutta, A., Dutta, S.K., Levine, M., (2003). ‘‘Vitamin C as an antioxidant: Evaluation of its role in disease prevention’’, *Journal of the American College of Nutrition*, 22, 18-35.
- Paolini, M., Cantelli-Forti, G., Perocco, P., Pedulli, G.F., Abdel-Rahman, S.Z. and Legator, M.S. (1999) ‘‘Co-carcinogenic effect of β -carotene’’ *Nature*, 398; 760-761.
- Paquat, C. And Hautfenne A. (1992) ‘‘International Union of Pure and Applied Chemistry’’, *Blackwell Scientific Publications*, London.1-50.
- Pekkarinan, S.S., Heinonen, I.M., Hopia, A.I.,. (1999). ‘‘Flavonoids quercetin, myricetin, kaemferol and (+)-catechin as antioxidants in methyl linoleate’’ *Journal of the Science and Food Agriculture*, 79, 499-506.
- Pengelly, A. (2004). ‘‘The Constituents of Medicinal Plants’’, 2nd ed, *Allen & Unwin, Sydney*, Australia 3.
- Peterson, J., Dwyer, J. (1998). ‘‘Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity’’. *Nutrition Research*, 18.
- Pryor, W. A. (1986). "The Radical View." *Advances in Free Radical Biology and Medicine* 2(2): 281-282 .
- Pryor, W. A. (1986). "The Radical View." *Advances in Free Radical Biology and Medicine* 2(2): 281 282.
- Quintanilha, A. T., L. Packer, J. M. S. Davies, T. L. Racanelli and K. J. A. Davies (1982)."Membrane Effects of Vitamin-E-Deficiency - Bioenergetic and Surface-Charge Density Studies of Skeletal-Muscle and Liver-Mitochondria." *Annals of the New York Academy of Sciences* 393(Sep): 32-47.
- Radi, R., Beckman, J.S., Bush, K.K.M. and Freeman, B.A. (1990) "Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide." *Arch Biochem Biophys.* 288: 481-487.
- Ralph, J.; Brunow, G.; Boerjan, L. W.. (2011). In *Encyclopedia of Life Sciences*; John Wiley & Sons, Ltd.: Hoboken, NJ, USA, 2007; Available online: www.els.net (accessed on 8 November 2011).

- Ratnam D.V., Ankola, D.D., Bhardwaj, V., Sahana, D.K., Kumar, M.N.V.R., (2006). "Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective", *Journal of Controlled Release*, 113, 189-207.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. (1999) "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay", *Free Radical Biology and Medicine*. 1231-1237.
- Reginald H. G., Charles Grisham M. (2017) "Biochemistry" University of Virginia With molecular graphic images by Michal Sabat, *University of Virginia* - 2013 s 245-263.
- Reische DW, Lillard DA, Eitenmiller RR. Oxidation. İçinde. Akoh CC, Min DB. editör. (2002) "Food Lipids Chemistry", *Nutrition and Biotechnology*, New York: Marcel Dekker Inc; pp.: 335-542.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Paganga, G., (1996) "Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids", *Free Radical Biology & Medicine*, 20, 933-956.
- Rietjens, I.M.C.M., Boersma, M.G., Haan, L., Spenkeink, B., Awad, H.M., cnudden, N.H.P., Zanden, J.J., Woude, H., Alnk, G.M., Koeman, J.H., (2002) "The pro-oxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids", *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 11, 321-333.
- Robards, K., Antolovich, M.. (1997) "Analytical chemistry of fruit bioflavonoids: a review", *Analyst*, 122: 11R-34R.
- Sa . F. O'Keefe (2002) "Nomenclature and Classification of Lipids" in C.C. Akoh and D.B.Min (Ed.) *Food Lipids, Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*, Marcel Dekker, Inc. NewYork, Basel, 1-4.
- Saldamlı, İ. (2007). "Gıda Kimyası". *Hacettepe Üniversitesi Yayınları*. Ankara, 463-492.
- Sampietro, D. A., Catalan, C. A. N. and Vattuone, M. A., (2009). "Isolation, identification and characterization of allelochemicals/natural products". *Science Pub Inc*. 1-300.
- Senejoux F., Demougeot C., Kerram P., Aisa H.A., Berthelot A., Bévalot F., Girard-Thernier C. (2012) "Bioassay-guided isolation of vasorelaxant compounds from *Ziziphora clinopodioides* Lam. (Lamiaceae)", *Fitoterapia* 83, 377-382.
- Sertoğlu E. (2012). "Serum Ve Eritrosit Membran Yağ Asitlerinin Gaz Kromatografisi Alev İyonizasyon Dedektörü İle Ölçümü Ve Klinik Kullanımı" *Genelkurmay Başkanlığı Gülhane Askeri Tıp Akademisi*

- Askeri Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanlığı*, Ankara, 1-50.
- Seven, A., Candan G. (1996). "Antioksidan Savunma Sistemleri", *Cerrahpasa Journal of Medicine*, **27**, 41-50.
- Sevindik H. (2007) "Pembe Greyfurt Suyu ve Domates Pulpunda Likopen ve β -Karotenin Isıl Stababiliteleri", Yüksek Lisans Tezi, *Ankara Üniversitesi; Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 1-50.
- Shahidi, F., (1996). "Natural Antioxidants, Chemistry, Health Effects and Applications", *AOCS Press, Champaign, Illinois*, 0-935315-77-2.
- Shahidi, F. Naczki M., (1995) "Food Phenolics, Sources Chemistry Effects". *Application, Technomic*, USA., 20-450.
- Sies, H., Stahl, W., , Vitamins E and C, (1995) " β -carotene, and other carotenoids as antioxidants", *The American Journal of Clinical Nutrition*, **62**, 1315-1321.
- Sijben JW, Calder PC. (2007). "Differential immunomodulation with long-chain n-3 PUFA in health and chronic disease". *The Proceedings Of Nutrition Society* **66**(2):237-59.
- Simpson, K.L. (1985). "Chemical changes in natural food pigments", In: *Chemical changes in food during processing*. Richardson, T. and Finley, J.W. (eds), 409-443.
- Singleton VL., Rossi J.A. (1965). "Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents", *American Journal of Enology and Viticulture*, **16**, 3 144- 158.
- Sohal R.S., (2002). "Role of Oxidative Stress and Protein Oxidation in the Aging Process", *Free Radical Biology and Medicine*, **33**: 37-44.
- Sommerburg, O., Keunen, J.E.E., Bird, A.C. and van Kuijk, F.J.G.M. (1998). "Fruits and vegetables that are sources for lutein and zeaxanthin: the macular pigment in human eyes". *British Journal of Ophthalmology*, **82**, 907-910.
- Sroka, Z., Cisowski, W., (2003). "Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti-radical activity of some phenolic acids", *Food and Chemical Toxicology*, **41** 753-758.
- Steinmetz K.A.E, J.D. Potter, Vegetables, Fruit and Cancer Prevention (1996) "A Review", *Journal of the American Dietetic Association*, **96**: 1027-1039.

- Stocker, R., Frei, B, (1991) "Endogenous antioxidant defense in human blood plasma", *Oxidative stress: oxidants and antioxidants*, London, Academic Press, 213-243.
- Swarup V, Ghosh J, Ghosh S, Saxena A, Basu A. (2007) "Antiviral and antiinflammatory effects of rosmarinic acid in an experimental murine model of Japanese encephalitis", *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 51(9):3367-3370.
- Şehitoğlu, M (2012) "Bazı fenolik doğal bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi ve insan karbonik anhidraz izoenzimleri (hCa-1 ve hCa-11) üzerine inhibisyon etkilerinin incelenmesi" Doktora Tezi, *Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, 22.
- Şerbetçi H. (2007) "Meyan (*Glycyrrhiza glabra* L.) Bitkisinin Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi", Yüksek Lisans Tezi, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum, 1-50.
- Tedder JM Nechvatal A, Murray AW, Carnduff J. (1972) "Basic Organic Chemistry, Belfast", *Universities Press*; 219.
- Thormar H. (2011). "Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agent" *A John Wiley and Sons, Ltd., Publication*, 205-220
- Toshima N., Yonezawa T., (1998) "Bimetallic nanoparticles—novel materials for chemical and physical applications", *New Journal of Chemistry*, 22: 1179–1201.
- Turgut K. (2000). "Veteriner Klinik Laboratuvar Teshis", *Bahçivanlar*, Genisletilmiş ikinci Baskı, Konya; ss 305-311.
- Turunen, M., Olsson, J. and Dallner, G., (2004) "Metabolism and function of coenzyme Q", *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, Biomembranes; 1660(1-2): 171-199.
- Tütem, E., Apak, R., (1991) "Simultaneous spectrophotometric determination of cystine and cysteine in amino acid mixtures using copper(II)-neocuproine reagent", *Analytica Chimica Acta*, 255, 121-125.
- Ungvari Z, Orosz Z, Rivera A, Labinsky N, Xiangmin Z, Olson S, Podlutzky A, Csiszar A. (2007) "Resveratrol increases vascular oxidative stress resistance", *American Journal Of Physiology Heart And Circulatory Physiology*;292(5):H 2417-24.
- Uzelag V.D., Delonga KLevaj., B., Djakovic S., Pospisil J., (2005) "Phenolic profiles of raw apricots, pumpkins, and their purees in the evaluation of apricot nectar and jam authenticity", *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53 4836–4842.

- Ünal E. (2006) ‘‘Türkiye Florasında Doğal Olarak yetişen bazı bitki türlerinin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin incelenmesi’’, Yüksek lisans tezi *Fen Bilimleri Enstitüsü, Atatürk Üniversitesi*, Erzurum, 1-50.
- Van Acker, S., Van-Den Berg, D. J., Tromp, M.N., Griffioen, D. H., Van Beek, W.P., Van Der, W.J.F., Bast, A., (1996) ‘‘Structural aspects of antioxidants activity of flavonoids’’, *Free Radical Biology & Medicine*, 20, 331-342.
- Vermerris W., Nicholson R., (2006) ‘‘Phenolic Compound Biochemistry’’, *Springer, Dordrecht*, Netherlands, 285 .
- Von Doering, W.E., Sotiriou-Leventis, C. and Roth, W.R. (1995) ‘‘Thermal interconversions among 15 *cis*, 13-*cis*, and all-*trans*- β -carotene: Kinetics, Arrhenius parameters, thermochemistry, and potential relevance to anticarcinogenicity of all-*trans*- β -carotene’’, *Journal Of American Chemical Society*, 117; 2747-2757.
- Von Elbe, J.H. and Schwartz, S.J. (1996) ‘‘Colorants. In: Food Chemistry’’, *O. R. Fennema (ed), Marcel Dekker*, New York. pp. 651-765.
- Weidenhamer, J.D., Macias, F.A., Fischer, N.H. and Williamson, G.B. (1993) ‘‘Just how insoluble are monoterpenes?’’ *Journal Of Chemical Ecology*, 19, 1799–1807.
- Whitehead, T. P., Thorpe, G. H. G., Maxwell, S. R. J., (1992). ‘‘Enhanced chemiluminescent assay for antioxidant capacity in biological fluids’’, *Analytica Chimica Acta*, 266, 265-277.
- Woutersen, R.A., Wolterbeek, A.P.M., Appel, M.J., Van der Berg, H., Goldbohm, R.A. and Feron, V.J. (1999). ‘‘Safety evaluation of synthetic β -carotene’’, *Critic Reviews Toxicology*, 29; 515-542.
- Yamashita, S. and Yamamoto, Y., (1997) ‘‘Simultaneous Detection of Ubiquinol and Ubiquinone in Human Plasma as a Marker of Oxidative Stress’’, *Analytical Biochemistry*, 250, 66–73.
- Zhishen J., Mengcheng T. et al. (1999). ‘‘The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals’’, *Food Chemistry* 64(4), 555-559.

ÖZGEÇMİŞ

1988 yılında Erzurum’ da doğdu. İlk ve ortaöğretimini Erzurum’da tamamladı. 2008 yılında Atatürk Üniversitesi Bayburt M.Y.O Kimya Teknolojileri Bölümünden mezun oldu. 2013 yılında Erzincan Üniversitesi Temel Bilimler Uygulama ve Araştırma Merkezine (EUTAM) atandı. 2014 yılında Erzincan Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü’nden mezun oldu. 2014 yılında Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya A.B.D’ da Tezli yüksek lisans programına başladı. 2016 yılında evlenmiş olup halen EUTAM bünyesinde görev yapmakta ve yüksek lisans programına devam etmektedir.