

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

***ARTEMİSİA TAURİCA* WILLD. ve *SALVIA KRONENBURGİİ* RECH.FİL.  
BİTKİLERİNİN UÇUCU YAĞLARININ ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİ VE KSANTİN  
OKSİDAZ ENZİMİNE ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Mahire BAYRAMOĞLU  
DANIŞMAN : Doç.Dr. Ferda CANDAN

VAN-2009

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

***ARTEMİSİA TAURICA* WILLD. ve *SALVIA KRONENBURGII* RECH.FİL.  
BİTKİLERİNİN UÇUCU YAĞLARININ ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİ VE KSANTİN  
OKSİDAZ ENZİMİNE ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Mahire BAYRAMOĞLU  
DANIŞMAN : Doç.Dr. Ferda CANDAN

VAN-2009

## KABUL VE ONAY SAYFASI

Kimya Anabilim Dalı'nda Doç.Dr. Ferda CANDAN danışmanlığında, Mahire BAYRAMOĞLU tarafından sunulan “*Artemisia taurica Willd. ve Salvia kronenburgii Rech.Fill.* Bitkilerinin Uçucu Yağlarının Antioksidan Özellikleri ve Ksantin Oksidaz Enzimine Etkileri” isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ve Fen Bilimleri Enstitüsü Yönergesi'nin hükümleri gereğince 05 / 01 / 2009 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Doç. Dr. Ferda CANDAN

İmza:

Üye: Doç. Dr. Vedat TÜRKOĞLU

İmza:

Üye: Yrd. Doç. Dr. Suat EKİN

İmza:

Üye:

İmza:

Üye:

İmza:

Fen bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 12/01/2009 Gün ve 2009 / 1–XVIII sayılı kararı ile onaylanmıştır.

.....  
Enstitü Müdürü

## ÖZET

### ***ARTEMİSİA TAURİCA* WİLLD. ve *SALVİA KRONENBURGİİ* RECH.FİL. BİTKİLERİNİN UÇUCU YAĞLARININ ANTIOKSİDAN ÖZELLİKLERİ VE KSANTİN OKSİDAZ ENZİMİNE ETKİLERİ**

BAYRAMOĞLU, Mahire

Yüksek Lisans Tezi, Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ferda CANDAN

Ocak -2009, 67 sayfa

Bu çalışmada *Artemisia Taurica* Willd. ve *Salvia Kronenburgii* Rech.Fil. bitkilerinin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağların antioksidan özellikleri ve ksantin oksidaz enzimine etkileri araştırıldı. Her bir uçucu yağın GC-MS analizleri yapılarak kimyasal içerikleri belirlendi. *Artemisia* uçucu yağının % 99.42'sine karşılık gelen 9 bileşen tanımlanarak, ilk üç ana bileşenin kamfor (%37.68), 1.8-sineol (%35.57) ve karyofillen (%13.95) olduğu gözlemlendi. *Salvia* uçucu yağında ise % 99.37'sine karşılık gelen 40 bileşen tanımlandı. İlk üç ana bileşenin 1.8-sineol (%24.74), limonen (%20.62) ve geranil asetat (%12.67) olduğu belirlendi. Her bir uçucu yağın toplam fenol ve toplam flavonoid miktarları ile toplam antioksidan kapasiteleri belirlendi ve bu değerler arasında pozitif korelasyon olduğu gözlemlendi.

Uçucu yağların, reaktif oksijen türlerini inhibe etmede etkin oldukları, ksantin-ksantin oksidaz sistemi ile oluşturulan süperoksit radikalini ve Fe<sup>+3</sup>-askorbat-EDTA-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sistemi ile oluşturulan hidroksil radikalini temizledikleri bulundu. Ayrıca her iki uçucu yağ örneğinin de kararlı bir serbest olan DPPH'ı indirgedikleri belirlendi.

*Artemisia taurica* ve *Salvia kronenburgii* uçucu yağlarının ksantin oksidaz enzimini de inhibe ettikleri, *Artemisia* uçucu yağının bu enzimi inhibe etmede *Salvia* uçucu yağından daha etkin olduğu belirlendi. İnhibisyon kinetikleri incelendiğinde ise inhibisyon türlerinin sırasıyla; *Artemisia taurica* için kompetitif inhibisyon, *Salvia kronenburgii* için unkompetitif inhibisyon olduğu gözlemlendi.

**Anahtar Kelimeler:** *Artemisia taurica* Willd., *Salvia kronenburgii* Rech.Fil, Antioksidan aktivite, Serbest radikal, Ksantin oksidaz.

## ABSTRACT

### THE ANTIOXIDANT PROPERTIES OF VOLATILE OILS OBTAINED FROM THE *ARTEMISIA TAURICA* WILLD. AND *SALVIA KRONENBURGII* RECH. FIL. PLANTS AND THEIR EFFECTS ON XANTHINE OXIDASE

BAYRAMOĞLU, Mahire

Msc Thesis, Department of Chemistry

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ferda CANDAN

January 2009, 67 pages.

In this study, the Antioxidant properties of volatile oils obtained from above earth parts of the *Artemisia Taurica* Willd. and *Salvia Kronenburgii* Rech. Fil. Plants and their effects on Xanthine Oxidase enzyme were studied. The chemical contents of each volatile oil was determined by applying GC-MS analysis. 9 components corresponding to the % 99.42 of the *Artemisia* volatile oil was defined, observing that the first three components were camphor (% 37.68), 1.8-cineol (% 35.57) and caryophyllene (% 13.95). And 40 components corresponding to the % 99.37 of the *Salvia* volatile oil were defined, observing that the first three components were 1.8-cineol (% 24.74), limonen (%20.62) and geranyl acetate (% 12.67). The total fenol and flavonoid amounts of each volatile oil and the total antioxidant capacities were determined and it was observed that there was a positive correlation among these values.

It was found out that the volatile oils were effective on inhibiting the reactive oxygen kinds and that they scavenged the superoxide radical made up with xanthine-xanthine oxidase system and the hydroxyl radical made up with  $\text{Fe}^{+3}$ -acrobate-EDTA- $\text{H}_2\text{O}_2$  system. Moreover, it was observed that both volatile oil samples reduced the DPPH, a determined independent.

It was also found out that *Artemisia taurica* and *Salvia kronenburgii* volatile oils inhibited the Xanthine Oxidase enzyme and that *Artemisia* volatile oil was more effective on inhibiting this enzyme than *Salvia* volatile oil. When the inhibition kinetics were studied, it was observed that the inhibition kinds were successively competitif inhibition for *Artemisia taurica* and uncompetitive inhibition for *Salvia kronenburgii*.

**Key words:** *Artemisia taurica* Willd, *Salvia kronenburgii* Rech.Fil, Antioxidant activity, free radical, Xanthine oxidase.

## ÖNSÖZ

Değişen yaşam koşulları, çevre kirliliği, endüstri atıkları, güneş ışınları, X ışınları egzoz gazları, ağır metaller, sigara, alkol, ozon ve çeşitli kimyasallar günümüz insanının kaçamayacağı unsurlardır. Bu olumsuzluklar serbest radikallerin oluşumuna sebep olur. Bu olumsuzlukların yanı sıra daha birçok sebebe bağlı olarak artan ROT miktarına karşın antioksidan metabolizmanın koruyucu etkisi çoğu zaman yetersiz kalabilmektedir. Bu mekanizmalara alternatif olarak son yıllarda ilaç, gıda ve kozmetik başta olmak üzere ilgili endüstriyel alanlarda tıbbi ve aromatik bitkilerin antioksidan olarak değerlendirilmesine büyük önem verilmektedir. Bitki ve baharatlardan elde edilen uçucu yağlar üzerindeki çalışmalar da birçok fonksiyonel özelliklerinin keşfedilmesi nedeniyle popülerlik kazanmaktadır. Bu nedenle konuyu bana Yüksek Lisans tez konusu olarak öneren, çalışmalarım esnasında gerek bilimi, gerekse bilimsel ahlakı ile son derece mükemmel bir insan olan, hayatıma yeni ufuklar kazandırıp, benden yardımlarını ve desteğini esirgemeyen, çalışmalarım süresince her yönüyle örnek aldığım ve alacağım çok değerli hocam Sayın Doç. Dr. Ferda CANDAN'a sonsuz teşekkürü borç bilirim. Deneysel çalışmalarım sırasında laboratuvar olanaklarından faydalanmamı sağlayan Cumhuriyet Üniversitesi Fen-Edb. Fakültesi Kimya Bölüm elemanlarına, özellikle yardımlarından dolayı Arş.Gör. Serap ŞAHİN BAŞAK'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince gerekli kolaylığı sağlayan Kimya Bölüm Başkanımız Sayın Prof. Dr. Hasan CEYLAN'a, çalışmamın her aşamasında elinden gelen yardımı esirgemeyen danıştığım her konuda gösterdiği yardımseverliği ve sabrından dolayı kıymetli Hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Nilüfer SELÇUK'a, bitkilerin toplanmasında ve tanımlanmasında çok büyük desteği olan değerli arkadaşım İbrahim DEMİR'e, çalışmalarım boyunca yakın ilgi ve desteğini eksik etmeyen Arş.Gör. Gülşah SOYDAN KANBEROĞLU'na teşekkür ederim.

Bu yorucu süreçte her zaman yanımda olan aileme; özellikle manevi desteği, özveri ve hoşgörüsü için biricik babam Şakir BAYRAMOĞLU'na şükranlarımı sunarım.

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Serbest Radikaller	1
1.2. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri	2
1.3. Serbest Radikallerin Kaynakları	8
1.3.1. Endojen serbest radikal kaynakları	8
1.3.2. Eksojen serbest radikal kaynakları	10
1.4. Serbest Radikallerin Etkileri	10
1.5. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Türlerine Karşı Antioksidan Savunma Sistemleri	13
1.5.1. Endojen (Doğal) antioksidanlar	15
1.5.2. Eksojen antioksidanlar	16
1.6. Ksantin Oksidaz Enzimi	17
1.7. Uçucu Yağlar	18
1.8. Uçucu Yağların Kimyasal Bileşimi	19
1.9. Uçucu Yağların Elde Edilmesi	19
1.10. Su Destilasyonu Yöntemi	21
1.11. Botanik Bilgiler	21
1.11.1. Labiatae familyası	21
1.11.2. Salvia cinsi	22
1.11.3. Salvia kronenburgii Rech.Fil.	22
1.11.4. Salvia türlerinin halk arasındaki kullanılışı ve farmakolojik etkileri	23
1.11.5. Asteraceae familyası	23
1.11.6. Artemisia cinsi	24

1.11.7. <i>Artemisia taurica</i> Willd.	24
1.11.8. <i>Artemisia</i> türlerinin halk arasındaki kullanılışı farmakolojik etkileri	24
1.12. Araştırmanın amacı	25
2. KAYNAK BİLDİRİMLERİ	26
3. MATERYAL YÖNTEM	28
3.1. Kullanılan Kimyasal Madde ve Malzemeler.	28
3.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar	28
3.3. Kullanılan Bitkisel Materyal	28
3.4. Bitki Materyalinden Uçucu Yağ Elde Edilmesi	29
3.5. Uçucu Yağların GC-MS Analizleri	29
3.6. Toplam Fenol İçeriğinin Saptanması	29
3.7. Toplam Flavonoid İçeriğinin Saptanması	30
3.8. Toplam Antioksidan Kapasitenin Saptanması	30
3.9. DPPH Radikalini Temizleme Özelliği	31
3.10. Hidroksil Radikalini Temizleme Özelliği	31
3.11. Süperoksit Radikalini Temizleme Özelliği	32
3.12. Ksantin Oksidaz Çalışmaları	32
4. BULGULAR	34
4.1. Bitkilerin Uçucu Yağ Verimleri	34
4.2. Uçucu Yağların GC-MS Analizleri	35
4.2.1. <i>Salvia kronenburgii</i> Rech.Fill. uçucu yağının GC-MS analizi	35
4.2.2. <i>Artemisia Taurica</i> Willd. uçucu yağının GC-MS analizi	37
4.3. Uçucu Yağların Toplam Fenol, Flavonoid Miktarı ve Antioksidan Kapasitesi	38
4.4. DPPH Radikalini Temizleme Özelliği	39
4.5. Hidroksil Radikalini Temizleme Özelliği	41
4.6. Süperoksit Radikalini Temizleme Özelliği	43
4.7. Ksantin Oksidaz Çalışmaları	44
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	49
KAYNAKLAR	57
ÖZ GEÇMİŞ	67



## ŞEKİLLERİN DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Şekil 1.1. Moleküler oksijenin suya indirgenmesi ve oluşan radikaller.	2
Şekil 4.1. <i>Salvia kronenburgii</i> Rech.Fil. uçucu yağ kromotogramı .	35
Şekil 4.2. <i>Artemisia taurica</i> Willd. uçucu yağ kromotogramı.	37
Şekil 4.3. DPPH radikali inhibisyonunun <i>Artemisia taurica</i> uçucu yağ derişimleriyle değişimi.	39
Şekil 4.4. DPPH radikali inhibisyonunun <i>Salvia kronenburgii</i> uçucu yağ derişimleriyle değişimi.	40
Şekil 4.5. Hidroksil radikali inhibisyonunun <i>Artemisia taurica</i> uçucu yağ derişimleriyle değişimi.	41
Şekil 4.6. Hidroksil radikali inhibisyonunun <i>Salvia kronenburgii</i> uçucu yağ derişimleriyle değişimi.	41
Şekil 4.7. Süperoksit radikali inhibisyonunun <i>Artemisia taurica</i> uçucu yağ derişimleriyle değişimi.	43
Şekil 4.8. Süperoksit radikali inhibisyonunu <i>Salvia kronenburgii</i> uçucu yağ derişimleriyle değişimi.	43
Şekil 4.9. Ksantin oksidaz inhibisyonunun <i>Artemisia taurica</i> ve <i>Salvia kronenburgii</i> uçucu yağ derişimleriyle değişimi.	45
Şekil 4.10. Ksantin oksidaz'ın, <i>Artemisia taurica</i> uçucu yağı ile etkileşiminde (A) Michealis-Menten grafiği, (B) Lineweaver-Burk grafiği.	46
Şekil 4.11. Ksantin oksidaz'ın <i>Salvia kronenburgii</i> uçucu yağı ile etkileşiminde (A) Michealis-Menten grafiği, (B) Lineweaver-Burk grafiği.	47
Şekil 5.1. Uçucu yağlarda bulunan ana bileşenlerin kimyasal yapıları.	52

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Çizelge 3.1. Ksantin oksidaz ölçümündeki işlem basamakları	33
Çizelge 4.1. Uçucu Yağ Verimleri	34
Çizelge 4.2. <i>Salvia kronenburgii</i> uçucu yağının bileşenleri	36
Çizelge 4.3. <i>Artemisia taurica</i> uçucu yağının bileşenleri	38
Çizelge 4.4. <i>Artemisia taurica</i> ve <i>Salvia kronenburgii</i> uçucu yağlarının toplam fenol ve toplam flavonoid miktarları ile toplam antioksidan kapasiteleri	38
Çizelge 4.5. <i>Artemisia</i> ve <i>Salvia</i> uçucu yağlarının ve pozitif kontrollerin en yüksek DPPH radikali inhibisyon yüzdeleri ile DPPH radikalini % 50 inhibe eden derişimleri	40
Çizelge 4.6. <i>Artemisia</i> ve <i>Salvia</i> uçucu yağları ve pozitif kontrollerin hidroksil radikali oluşumunu en yüksek inhibe eden yüzdeleri ile hidroksil radikali oluşumunu % 50 inhibe eden derişimleri	42
Çizelge 4.7. <i>Artemisia</i> ve <i>Salvia</i> uçucu yağları ile pozitif kontrollerin en yüksek süperoksit radikali inhibisyon yüzdeleri ve süperoksit radikali oluşumunu % 50 inhibe eden derişimleri	44
Çizelge 4.8. <i>Artemisia</i> ve <i>Salvia</i> uçucu yağlarının ksantin oksidaz inhibisyon yüzdeleri ve IC <sub>50</sub> değerleri	45
Çizelge 4.9. Ksantin oksidaz ile farklı derişimlerdeki <i>Artemisia taurica</i> ve <i>Salvia kronenburgii</i> uçucu yağlarının etkileşiminde V <sub>max</sub> ve K <sub>m</sub> değerleri	48

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler

cm	Santimetre
°C	Santigrat derece sıcaklığı
dk	Dakika
eV	Elektrovolt
g	Gram
km	Kilometre
lt	Litre
m	Metre
M	Molarite
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
nm	Nanometre
nM	Nanomolar

### Kısaltmalar

ATP	Adenozin trifosfat
BHA	Bütillenmiş hidroksi anizol
BHT	Bütillenmiş hidroksi toluen
DNA	Deoksiribo nükleik asit
DPPH	2,2-difenilpikril hidrazil
3,5-DNS	3,5-Dinitrosalisilik asit
EDTA	Etilendiamin tetra asetik asit
FADH <sub>2</sub>	Flavin Adenin dinükleotid
GPx	Glutatyon peroksidaz

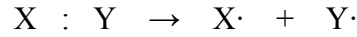
GR	Glutasyon redüktaz
GST	Glutasyon-S-Transferaz
Km	Maksimum hızın yarısındaki substrat derişimi
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
MDA	Malondialdehit
NADH	Nikotinamid adenin dinükleotit
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NBT	Nitroblue tetrazolium
NO	Nitrik oksit
ROT	Reaktif oksijen türleri
RT	Alıkonma zamanı
SOD	Süperoksit dismutaz
TBA	Tiyobarbütirik asit
TCA	Trikarboksilik asit
UV	Ultraviyole
Vm	Maksimum hız

# 1. GİRİŞ

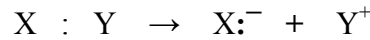
## 1.1. Serbest Radikaller

Canlı hücrelerin yapı taşlarını oluşturan moleküllerin atomları kovalent bağlarla birbirlerine bağlıdır. Bu tip bağlar paralel olmayan yörüngelere sahip iki komşu atomun arasındaki elektronun ortaklaşa kullanılmasına dayanmaktadır. Yeterli enerji kaynağı ile (radyan ısı ve çoğu kez kimyasal etkiler) bu bağ kopabilir. Bu tip bir veya daha fazla eşlenmemiş elektrona sahip kısa ömürlü, kararsız, kimyasal reaktiviteleri yüksek molekül veya atomlar serbest radikal olarak adlandırılırlar. Serbest radikaller bu eşlenmemiş elektronları nedeniyle oldukça reaktiftirler (Günaydın ve Çelebi, 2003). Radikal eşlenmemiş elektronun atomik yada moleküler orbitali kendi başına işgal etmesidir. Sembolün üzerine bir nokta konur, bu serbest radikal türlerine özgü bir işarettir (Akkuş, 1995). Serbest radikaller üç yolla meydana gelirler.

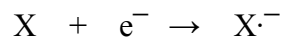
1. Kovalent bağlı normal bir molekülün her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalarak homolitik bölünmesi (Homolitik ayrılma ile radikal oluşumu).



2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi. Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron atomların birinde kalır. Böylece serbest radikal değil iyonlar meydana gelir.



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi veya transferi (Elektron transferi ile radikal oluşumu).



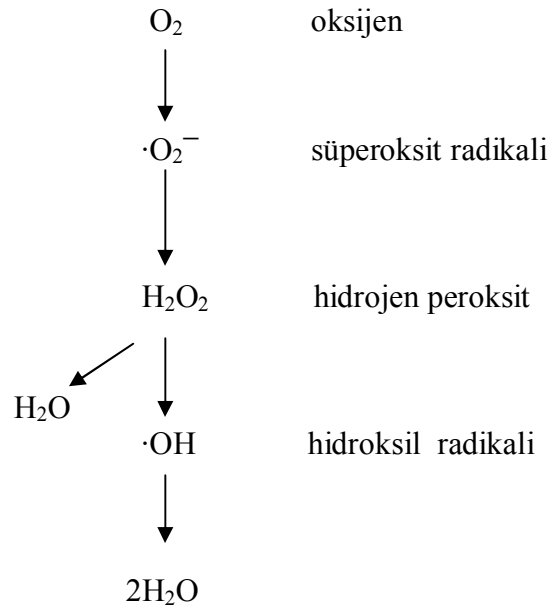
Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu meydana gelirler. Serbest radikaller pozitif yüklü negatif yüklü veya elektriksel olarak nötral olabilirler.  $Cu^{+2}$ , Fe, Mn ve Mo gibi geçiş metallerinde ortaklanmamış elektron olduğu halde serbest radikal olarak kabul edilmezler. Fakat bu iyonlar reaksiyonları katalize ettiklerinden dolayı serbest radikal oluşumunda

önemli rol oynarlar (Akkuş, 1995). Serbest radikallerdeki çiftlenmemiş elektronlar kararlı duruma geçmek ister ve kararlı halde bulunan bir bileşikten elektron alarak bu bileşiği yeni bir serbest radikal haline dönüştürür. Serbest radikallerin başlattığı bu zincirleme tepkimeler dizisi antioksidanlar tarafından durduruluncaya kadar devam eder (Gökpınar ve ark., 2006).

## 1.2. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşmuş radikallerdir (Mercan, 2004).

Oksijen atomunun dış yörüngesini oluşturan p orbitalinde iki elektron eksik olmasından dolayı 'diradikal' olarak değerlendirilir. Bu özelliği onun diğer serbest radikallerle kolayca tepkimeye girmesini sağlar. Radikal olmayan maddelerle ise daha yavaş tepkime verir. Oksijen, elektron alıcısı olarak aerob mikroorganizmaların yaşamı için gerekli bir maddedir. Memeliler, hücrelerindeki ATP üretiminin büyük bir kısmını mitokondrial elektron transport sisteminde oksijenin dört elektronunun su oluşturmak üzere indirgenmesiyle elde ederler. Fakat bu süreçte oksijenin tamamı suya dönüşmez ve ara ürün olarak Şekil 1.1.'de görüldüğü gibi serbest oksijen radikalleri ve bunlarında çeşitli tepkimeleri ile reaktif oksijen türleri (ROT) meydana gelir (Olanow, 1992; Cheeseman ve Slater, 1993; Akkuş, 1995).



Şekil 1.1. Moleküler oksijenin suya indirgenmesi ve bu basamaklarda oluşan radikaller.

ROT ailesi moleküler oksijenin indirgenmesinden kaynaklanan kısa ömürlü molekülleri içerir. Yaygın reaktif oksijen ürünlerinden bazıları hidrojen peroksit, süperoksit anyonu ve hidroksil radikali (Valko ve ark., 2007). Reaktif oksijen türleri metabolizmaya zarar verebilecek bir dizi tepkimeyi başlatır ve bunlar canlılar için aynı zamanda bir tehdit unsuru haline gelir. Organizmada serbest radikaller gerek normal metabolik faaliyetlerin bir yan ürünü olarak ve gerekse radyasyon ilaçları ve diğer zararlı kimyasalların etkisi ile oluşur. Metabolizma yan ürünleri olarak süperoksit anyonları, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali gibi mutajenler meydana gelir. Ayrıca NADPH oksidaz gibi bazı enzimler küçük miktarlarda ROT üretirler. Hücre içi ROT'un %90'dan fazlası aerobik solunum reaksiyonları zincirinde mitokondriumun iç membranında üretilir (Wei ve Pang, 2005). Bu radikaller hücredeki diğer moleküllerle kolayca etkileşime girerek oksidatif stres meydana getirirler. Bunlar düşük dozlarda arabulucu gibi rol oynarken yüksek dozlarda hücrel hasara yol açarlar (Tekelli ve Sezgin, 2007).

Reaktif oksijen türlerinin bazılarının in vivo sistemde enerji üretiminde, fagositozda, hücrenin büyümesinin düzenlenmesinde veya biyolojik önemli bileşiklerin sentezinde pozitif rolleri bulunmaktadır (Hallivell, 2003). Bununla beraber reaktif oksijen türleri hücre zarındaki lipidlere dokulardaki protein ve enzimlere, karbohidratlara ve DNA'ya saldırarak DNA ve zarlarda hasara ve ayrıca protein modifikasyonuna sebep olurlar (Tarin ve ark., 1998). Bu oksidatif hasarlarda hücrelerin ölümüne neden olarak yaşlanma, diabet, kanser gibi kronik hastalıkları başlatırlar (Ebrahimzadeh ve ark., 2008).

### **Süperoksit radikali ( $O_2^{\cdot-}$ )**

Moleküler oksijen dış orbitalinde paylaşılmamış iki elektron içerir. Bu elektronlar paylaşılmadığında, ayrı ayrı orbitallerde bulduklarında ve spinleri aynı yöne olduğu zaman en düşük enerji seviyesindedirler. Bu dış orbitallerden her biri birer elektron daha kabul edebilir. Bu orbitallerin tek elektron alması ile süperoksit anyonu (süperoksit radikali,  $O_2^{\cdot-}$ ), iki elektron alması ile de peroksi anyonu ( $O_2^{2-}$ ), oluşur (Li ve Jackson, 2002).

Hem çevresel etkenler, hemde organizmadaki enzimatik ve enzimatik olmayan tepkimelerde en çok ve en kolay oluşan oksijen radikali süperoksit radikali. Serbest süperoksit radikal anyonu hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu meydana gelir (Jialal ve Fuller, 1993). Süperoksit radikali normalde mitokondrial solunum esnasında oluşmaktadır. Mitokondrilerde kullanılan oksijenin % 2'si süperoksit haline gelir. Oksijen mitokondride redükte

olduğunda primer ürün sudur. Su, sitokrom oksidaz moleküler oksijene 4 elektron eklediğinde oluşan nontoksik bir moleküldür (Ferrari ve ark., 1991).

Hücre membranındaki siklooksijenaz enzimleri lökosit membranındaki, NADH oksidaz enzimi, stoplazmadaki ksantin oksidaz ve triptofan dehidrogenaz enzimleri aracılığıyla da süperoksit radikali oluşmaktadır (Çakır, 1997). Canlılarda süperoksit radikallerinin oluşumuna neden olan olayları iki grupta toplayabiliriz:

1. Çeşitli çevresel etkilerle (fiziksel ve kimyasal) süperoksit radikali oluşabilir. Örneğin yüksek enerjili ışıklardan beta, gama ve X ışınları süperoksit radikalleri yanında diğer radikallerin oluşumunu da gerçekleştirebilirler.

2. Canlı sistemler radikal oluşumuna neden olan çevre koşullarından tümüyle izole edilseler bile; eğer moleküler oksijeni metabolize ediyorsa, canlı sistemindeki yükseltgenme-indirgenme tepkimeleri sırasında süperoksit radikali üretebilirler. Örneğin, hidrokinonların, lökoflavinlerin, oksijen radikalleri üretilebildiği gibi, ksantin oksidaz, thidroorolat dehidrogenaz, bir grup flavoprotein dehidrogenaz, bazı oksidaz ve hidroksilaz enzimlerinin katıldığı tepkimelerde, ara ürün olarak oksijen radikalleri üretilebilir (Kılınç, 1985).

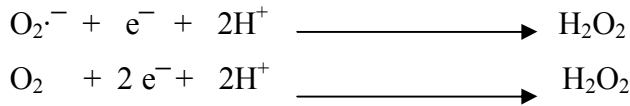
Süperoksit radikali hemen tüm aerobik hücrelerde oluşan indirgen ve orta derecede yükseltgen olan bir ajandır. Esas önemi hidrojen perokside kaynaklık etmesi ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Uzun bir yarı ömre sahip olup, lipofilik özellik gösterir. Bu özelliğinden dolayı da oluştuğu yerden uzak bölgelere difüzyonla yayılabilmektedir. Ancak doğrudan doğruya hasar yapıcı etkisi çok fazla değildir. En çok mitokondri, endoplazmik retikulum ve kloroplast gibi hücreyel organellerde elektron trasport zincirinin çeşitli komponentlerinden  $O_2$ 'e elektron sızması ile oluşur (Ünal, 1999; Dikici, 1999). Mitokondrial elektron trasport sisteminden elektron iki yerde sızar. Birincisi, NADH-dehidrogenaz basamağı, ikincisi ise koenzim Q yada ubikinon basamağıdır. En son basamakta elektronların  $O_2$ 'e taşınmasından sorumlu olan sitokrom oksidaz enzimi oksijenin %97-99'unu harcayarak suya indirger. Fakat,  $O_2$ 'nin %1-3'ünden transport zincirinden sızan elektronlarla  $O_2^{\cdot-}$  oluşur. Buda yaklaşık olarak insan vücudunda her yıl iki kg'dan fazla  $O_2^{\cdot-}$  yapıldığı anlamına gelir (Fırat, 1997). Süperoksit radikali düşük pH'larda daha etkili bir radikal olan perhidroksil ( $HO_2^{\cdot}$ ) radikali meydana getirir. Fizyolojik pH'larda ise sadece % 1 kadarı protonlanmış haldedir (Cheeseman ve Slater, 1993; Dikici, 1999).

$O_2^{\cdot-}$  ayrıca geçiş metallerinin otooksidasyonu sonucunda da meydana gelebilir. Bu reaksiyonlar redoks reaksiyonları olduğu için tersinede dönebilir.

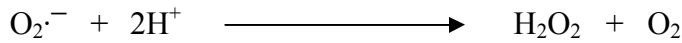


## Hidrojen Peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

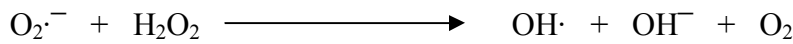
Oksidan fakat reaktif olmayan hidrojen peroksit, moleküler oksijenin, çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksidin bir elektron alması sonucu peroksitin meydana gelmesiyle, bu peroksit molekülünde iki hidrojen atomu ile birleşmesi sonucunda oluşur (Fırat, 1997; Günaydın ve Çelebi 2003).



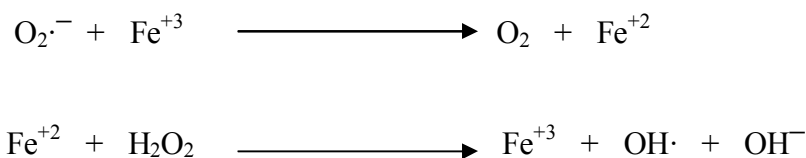
Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksitin asıl üretimi süperoksidin dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar. Tepkime sonucu radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden bu bir dismutasyon tepkimesi olarak bilinir.



Hidrojen peroksit kendisi bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Geçiş metal iyonları varlığında daha da hızla gerçekleşen bir tepkimeyle süperoksit anyon radikali, hidrojen peroksit ile birlikte en reaktif radikal olan hidroksil radikalini oluşturur (Gutteridge, 1995).



Bu tepkimeye Haber-Weiss tepkimesi adı verilir. Haber-Weiss tepkimesi katalizörlü veya katalizörsüz oluşabilir. Fakat katalizörsüz tepkime oldukça yavaş ilerler. Katalizör olmayınca ortamdaki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve O<sub>2</sub><sup>·-</sup> antioksidanlar tarafında kolayca kaldırılır (Ünal, 1999). Demir gibi geçiş metalleri ile katalizlenen ikinci şekli ise çok hızlıdır. Bu tepkimede önce ferri demir (Fe<sup>+3</sup>) süperoksit tarafından ferro demire (Fe<sup>+2</sup>) indirgenir. Sonra bu ferro demir kullanılarak 'Fenton Tepkimesi' hidrojen peroksitten OH<sup>-</sup> ve OH<sup>·</sup> üretilir. Tepkimenin mekanizması aşağıdaki gibidir (Bast ve ark., 1997; Yaybeyi, 1999).

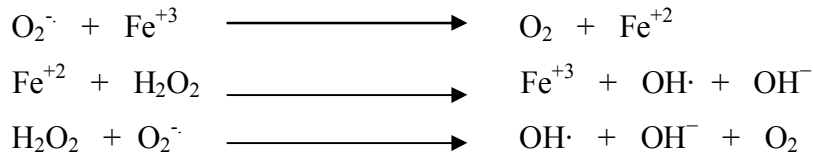


H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretimi, birçok bakteri türünde fagositik hücrelerde, hücrelerde ise mitokondride, mikrozomlarda ve kloroplastlarda olur. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin üretimi sınırlıdır ancak diğer oksijen ürünlerinin, geçebilecekleri bir anyon kanalı olmadıkça çok yavaş geçebileceği biyolojik membranlardan geçebilir. Eritrosit membranı, vasküler endotel hücre membranı böyle bir kanala sahiptir. Bununla beraber peroksizomlar çok önemli hücre içi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynağıdır. (Oyanagiu, 1991; Yanbeyi, 1999).

### Hidroksil radikali (OH<sup>·</sup>)

Hidroksil radikali, kimyada en aktif radikal olarak bilinir. Bu nedenle in vivo oluşan bir ·OH radikali hemen her moleküle saldırır ve oluştuğu yerde de büyük hasara neden olur. Nonradikal biyolojik moleküllerle zincirleme reaksiyonları başlatır (Cheeseman ve Slater, 1993; Jialal ve Fuller, 1993).

Hidroksil radikali, hidrojen peroksitin geçiş metalleri varlığında indirgenmesi ile (Fenton tepkimesi) oluşan son derece reaktif bir radikaldir. Ayrıca hidrojen peroksitin süperoksit radikali ile tepkimesi sonucunda da (Haber-Weiss tepkimesi) meydana gelir. Bu tepkime katalizörsüz çok yavaş olduğu halde Fe<sup>+3</sup> katalizörlüğünde çok hızlı oluşur (Cheeseman ve Slater, 1993; Akkuş, 1995).



Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda da hidroksil radikali oluşur. Biyolojik sistemlerin tanıdığı en reaktif tür olan ·OH su dahil ortamda rastladığı her biyomoleküle tepkimeye girer. Hidroksil radikalının tepkimeleri başlıca: elektron transfer tepkimeleri, hidrojen çıkarma tepkimeleri, katılma tepkimeleri olarak sıralanabilir. Bütün bu tepkimeler, ·OH'ın paylaşılmamış elektron içeren dış orbitaline elektron alma ilgisinden kaynaklanır.

Bir hidroksil radikali yüzlerce yağ asidini ve yan zincirini lipid hidroperokside çevirebilir. Bu oluşan hidroperoksitler birikerek membran bütünlüğünü bozar ve hücrenin zarar görmesine neden olur. Ayrıca bu hidroperoksitlerden son ürün olarak toksik ve reaktif olan aldehitlerde oluşabilir. Bunların en önemlilerinden biride MDA'dır.

Elektronca zengin bileşikler ·OH'ın en önemli hedefidir. Nükleik asitler, proteinler ve lipidlerde başlatılan radikalik tepkimelerde binlerce farklı ara ürün oluşabilir. Proteinler üzerinde

oluşan oksidasyonlar yapı değişimine neden olacağından proteinleri proteolitik yıkıma götürür. DNA ile tepkimesi sonucu baz modifikasyonları, zincir kırılmaları gerçekleşebilir. İleri derecedeki DNA hasarları tamir edilemediğinden hücre ölümüne neden olur (Burger ve ark., 1980). Zar lipidlerinin peroksidasyonu ile de zarın yapısı bozulur ve geçirgenliği artar yine hücre ölümüne neden olabilir. Toksik etkilerinin yanı sıra  $\cdot\text{OH}$  üretimi, fagositoz ve birçok enzimatik tepkimeleri içeren normal biyolojik fonksiyonlar için de gereklidir (Konukoğlu, 2000).

### Singlet oksijen ( $^1\text{O}_2$ )

Singlet oksijen, ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Oksijenin yüksek enerjili mutajenik formudur (Piette, 2000).

Oksijenin eşleşmemiş elektronlarından birinin verilen enerji sonucu bulunduğu orbitalden başka bir orbitale veya kendi spininin ters yönünde yerdeğiştirmesiyle oluşur (Ames ve ark., 1993; Fırat, 1997). İki elektron aynı orbitalde ise delta singlet oksijen, farklı orbitallerde ise sigma singlet oksijen olarak adlandırılır ve her iki formunda spinleri birbirine zıttır. Sigma formunun enerjisi daha fazladır ve sulu çözeltilerde yarı ömrü  $10^{-11}$  saniyedir. Delta formunun yarı ömrü ise  $2 \times 10^{-6}$  kadardır. Bu nedenle gözlenen kimyasal reaktivitelerden delta formunun sorumlu olduğu kabul edilmektedir. Singlet oksijen, uyarılmış elektronların daha düşük enerji seviyelerine inmesiyle ışık yayar (Di Mascio ve ark., 1991; Kuzuya ve ark., 1993; Akkuş, 1995). Oksijenin enerjetik olarak uyarılan bu formunda reaktivite çok yüksektir. Aldığı enerjiyi çevreye dalga enerjisi şeklinde verip yeniden oksijene dönebilir. Başlıca şu mekanizmalarla vücutta oluşabilir:

1. Pigmentlerin (örneğin flavin içeren nükleotidler, retinal, bilirubin) oksijenli ortamda ışığı absorblamasıyla,
2. Hidroperoksitlerin metaller varlığındaki yıkım tepkimelerinde,
3. Kendiliğinden dismutasyon tepkimeleri sırasında,
4. Prostaglandin endoperoksit sentaz, sitokrom p450 tepkimeleri, miyelo/kloro/laktoperoksidaz enzimlerinin etkileri sırasında

Singlet oksijende hidroksil radikali gibi çok reaktiftir ve düşük derişimlerde bile canlılar için toksik etki gösterir. Singlet oksijenin üretimi ortamdaki  $\text{O}_2^-$  ve  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'nin birikmesine bağlıdır. Bu iki bileşiğin ortamdaki hemen uzaklaştırılmaması  $^1\text{O}_2$  ve  $\text{OH}\cdot$  üretimi için yeterlidir (Halliwell ve Gutteridge, 2001).

## **Diğer Radikaller**

Serbest oksijen radikallerinin etkisi sonucu karbon merkezli radikaller ( $R\cdot$ ), peroksil radikalleri ( $ROO\cdot$ ), alkoksil radikalleri ( $RO\cdot$ ), tiyol radikalleri ( $RS\cdot$ ) gibi önemli serbest radikallerde mevcuttur. Bunlardan özellikle poliansature yağ asitlerinden meydana gelen peroksil radikali yarı ömrü uzun olan bir radikaldir. Tiyol radikalleri ise oksijenle tekrar tepkimeye girip sülfenil ( $RSO\cdot$ ) veya Thiyl peroksil ( $RSO_2\cdot$ ) gibi radikalleri meydana getirirler (Akkuş, 1995).

### **1.3. Serbest Radikallerin Kaynakları**

Biyolojik sistemlerde serbest radikal oluşumu, normal metabolik olayların seyri sırasında meydana gelebildiği gibi organizmada bazı yabancı maddelerin metabolize edilmesi sırasında ve organizmanın radyasyon gibi dış etkenlere maruz bırakılmasıyla da meydana gelebilir. Bu nedenle serbest radikal oluşturan mekanizmalar endojen ve ekzojen olarak ikiye ayrılmaktadır (Fırat, 1997; Yanbeyi, 1999).

#### **1.3.1. Endojen serbest radikal kaynakları**

Normal metabolizma sırasında çeşitli basamaklarda serbest radikal yapısına sahip ara ürünler meydana gelmektedir. Metabolik prosesin ilerleyebilmesi için bu bileşiklerin ara ürün olarak oluşmaları kaçınılmazdır (Fırat, 1997).

#### **Küçük moleküllerin otooksidasyonu**

Nötral ortamda tiyoller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavinler, tetrahidrobiyopterin gibi pek çok bileşik otooksidasyon ile serbest radikalleri oluşturur. Tüm bu bileşikler ilk önce  $O_2\cdot^-$ , daha sonra  $O_2\cdot^-$ 'nin tepkimeleri ile diğer radikaller oluşur.

## **Oksidan enzimler**

Birçok enzimin katalitik siklusları sırasında da serbest radikaller açığa çıkar. Ksantin oksidaz, aldehit oksidaz ve triptofan dioksijenaz böyle enzimlerden olup  $O_2\cdot^-$  oluşumuna sebep olurlar.

## **Mitokondriyal elektron transferi**

Mitokondriyal solunum zinciri sırasında NADPH;  $FADH_2$  gibi indirgeyicilerin elektronlarının moleküler oksijene aktarılması sırasında, solunum zinciri taşıyıcılarının indirgenmesi sonucu serbest radikal yapısına sahip ürünler oluşmaktadır (Çavdar ve ark., 1997).

İskemi, hemorji, travma, enfeksiyonlar, radyoaktivite etkisi veya alerjik durumlarda mitokondriyelerdeki oksidatif fosforilasyon dengesi etkilenir ve elektron taşıma sisteminden elektron kaçakları daha fazla olur bu sebeple oksidan moleküllerin düzeyi artar (İşlekel ve ark., 2000).

## **Plazma membranı**

Fagositik hücre membranının NADPH oksidaza bağlı serbest radikal üretimi serbest radikallerin önemli bir kaynağıdır. Fagositik hücrelerin uyarılması fosfolipaz ve proteinkinazın aktivasyonuna ve plazma membranında araşidonik asidin salınımına yol açar. Araşidonik asidin enzimatik oksidasyonu da çeşitli serbest radikal ara ürünler meydana gelebilir. Mikrozoal ve plazma membranı tarafından radikal üretiminin önemli enzimleri olan lipoksijenaz ve siklooksijenaz (araşidonik asit metabolizması) aktivitesi, serbest radikaller için önemli bir kaynaktır (Akkuş, 1995).

## **Mikrozoal membran elektron transferi zincirleri**

Endoplazmik retikulum ve golgi kompleksinin yer aldığı mikrozoal membran sistemi birçok sentez ve yıkım enzimleri yanında, flavoprotein (NADH-sit c redüktaz ve NADH-sit b5 redüktaz) ve hemoprotein (sitb5, sit p450)'lerin rol aldığı iki elektron transport sistemini içerir.

Mikrozomlarda yer alan bu elektron transport sistemleri, bir yandan normal metabolizma sonucu oluşan nonpolar bileşikleri hidroksillenmiş türevlerine dönüştürüp bunlara daha polar özellik

kazandırırken diğ er yandan organizmaya yabancı maddeleride metabolize eder. Elektron transport sistemlerinin aktivitesi sırasında sadece oksijen türevi radikaller meydana gelirken, ksenobiyotiklerin metabolizması sırasında ek olarak yüksek toksisiteye sahip karbon merkezli radikallerde meydana gelebilir (Cheeseman ve Slater, 1993; Fırat, 1997).

## **Peroksizomlar**

Çok önemli hücre iç i hidrojen peroksit kaynağıdır lar. Bu organeldeki D-aminoasit oksidaz, urat oksidaz, L-hidroksilizin oksidaz ve yağ asidi açıl CoA oksidaz gibi oksidazlar  $O_2^{\cdot-}$  üretmeden bol miktarda  $H_2O_2$  üretimine sebep olurlar (Akkuş, 1995).

### **1.3.2. Ekzojen serbest radikal kaynakları**

Organizmanın doğasından kaynaklanmayan sadece dış etkenlerin varlığında oluşan tepkimeler sonucunda da serbest radikaller açığa çıkabilir. Bunlar; antineoplastik ajanlar, radyasyon, alışkanlık yapan maddeler (Alkol ve uyuşturucular), çevresel ajanlar (hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, pestisitler, sigara dumanı, solventler), anestezi maddeler, aromatik hidrokarbonlar ve strestir (Guemouri ve ark., 1991).

## **1.4. Serbest Radikallerin Etkileri**

Serbest radikaller hücrenin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi temel hücresel bileşenlerinde hasara yol açma özelliğine sahiptirler (Çakatay ve Kayalı, 2006). Süperoksit radikali ve hidroksil radikali stoplazma, mitokondri, nükleus ve endoplazmik retikulum membranlarında lipid peroksidasyonunu başlatır. Membranlarda lipid peroksidasyonu meydana gelmesi sonucu membran permeabilitesi artar. Serbest radikallerin etkisiyle proteinlerdeki sistein sülfhidril grupları ve diğ er aminoasit kalıntıları okside olarak yıkılır. Nükleer ve mitokondrial DNA okside olur.

Serbest oksijen radikallerinin tüm bu etkilerinin sonucunda hücre hasarı olur. Hücrede reaktif oksijen türlerinin ve serbest radikallerin artışı hücre hasarının önemli bir nedenidir. Serbest radikallerin neden olduğu hücre hasarının birçok kronik hastalığın komplikasyonlarına katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Aterogenez, bronşit, parkinson hastalığı, duchenne tipi musküler

distrofi, alkolik karaciğer hastalığı, down sendromu, serviks kanseri, akut renal yetmezlik, yaşlanma, serebrovasküler bozukluklar vs. gibi durumlarda serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hücre hasarı söz konusudur.

### **Nükleik asitlere ve DNA'ya etkileri**

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Hidroksil radikali (OH<sup>•</sup>) deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar. Aktivite olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir (Halliwell, 1997).

Hidroksil radikali, nükleik asitlerde doymuş karbon atomlarından hidrojen çıkarır veya çift bağlara katılma tepkimeleriyle sonuçlanan tepkimelere girer. Singlet oksijenin nükleik asitlerle tepkimeye girme yeteneği daha sınırlıdır. Süperoksit anyonu güçlü bir oksitleyici olduğundan guanin gibi yüksek elektron yoğunluklu bölgeler içeren moleküllerle daha kolay tepkimeye girer. Reaktif oksijen türleri DNA'nın oksidatif hasarı sonucu karsinogenesis hastalıklar ve yaşlanmada önemlidir (Frei, 1994).

### **Proteinlere etkileri**

Proteinler, serbest radikallere karşı lipidlerden daha az hassastır. Etkilenme dereceleri içerdikleri aminoasit kompozisyonuna bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren aminoasitlerden (triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin vs.) meydana gelmiş proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Karbon merkezli radikaller ve sülfür radikalleri meydana gelir. Bu karbon merkezli radikallerden karbonillerin ölçülmesi ile proteinlerin oksidatif hasarı ölçülebilir. Serbest radikallerin meydana getirdiği hasar sonucunda, enzim aktivitesinde azalma, protein fonksiyonlarının kaybı, protein agregasyonu, çapraz bağlanmalar meydana gelir (Mathers ve ark., 2004).

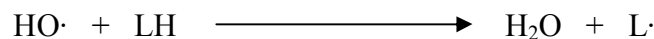
### **Karbonhidratlar üzerine etkileri**

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerinede önemli etkileri vardır. Glukoz, mannoz ve deoksi şekerler fizyolojik şartlarda otooksidasyona uğrayarak süperoksit ve hidrojen peroksiti meydana getirirler. Monosakkaritlerin otooksidasyonunun protein çapraz bağlanmalarına yol açarak agrega olmalarına sebep olduğu gibi bazal membran kalınlaşmasına ve sonuçta katarakt, mikroanjyopati gelişimine de sebep oldukları ileri sürülmektedir. Serbest radikaller bu etkilerinden dolayı çok çeşitli hastalıkların patogenezinde önemli rol oynarlar. Diabet ve diabet komplikasyonlarının gelişimi, koroner kalp hastalığı, hipertansiyon, behçet hastalığı, çeşitli deri, kas ve göz hastalıkları, kanser ve yaşlılık gibi birçok hastalıktada serbest radikal üretiminin arttığı ve antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu gösterilmiştir (Ames ve ark., 1993; Maxwell, 1995; Halliwell, 2003).

### **Membran lipidlerine etkileri (Lipid Peroksidasyonu)**

Lipidler serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle kolayca tepkimeye girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar.

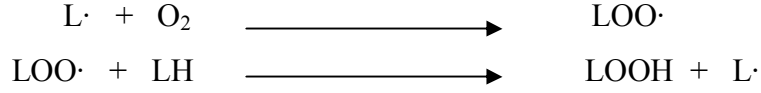
Poliansature yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipid peroksidasyonu olarak bilinir. Lipid peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir tepkimesi şeklinde ilerler ve oldukça zararlıdır. Hücre membranlarında lipid serbest radikalleri ( $L^{\cdot}$ ) ve lipid peroksit radikallerinin ( $LOO^{\cdot}$ ) oluşması, reaktif oksijen türlerinin neden olduğu hücre hasarının önemli bir özelliği olarak kabul edilir. Serbest radikallerin sebep olduğu lipid peroksidasyonuna nonenzimatik lipid peroksidasyonu denir. Hücre membranlarında lipid peroksidasyonuna uğrayan başlıca yağ asitleri poliansature yağ asitleridir. Lipid peroksidasyonu genellikle yağ asitlerindeki konjuge çift bağlardan bir elektron içeren hidrojen atomlarının çıkarılması ve bunun sonucunda yağ asidi zincirinin lipid radikali niteliği kazanmasıyla başlar (Halliwell ve Chirico, 1993).



İlerleme safhasında, oluşan lipid radikaline  $O_2$  ilavesi ile devam eder ve lipid peroksit radikali ( $LOO^{\cdot}$ ) oluşur. Lipid peroksit radikalleri zar yapısındaki diğer poliansature yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken kendileride açığa çıkan hidrojen

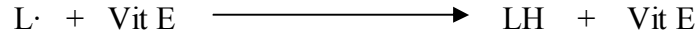


atomlarını alarak, lipid hidroperoksitlerine (LOOH) dönüştürürler. Böylece olay kendi kendine katalizlenerek devam eder.



Yıkım safhası olarak bilinen safha tek elektron üzerinden yeniden yapılanma lipidin parçalanması ile sonuçlanır. Burada ürünlerin başlıcaları malondialdehit, 4-hidroksinonenal, 4-hidroksi-2,3-transnonenaldır (Onat ve Emerk, 1998).

Bu zincir tepkimeleri sonlanma safhası adı verilen safhada antioksidanlar tarafından sonlandırılabilirler.



Lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir tepkimesidir. Direk olarak membran yapısına ve indirek olarak reaktif aldehytler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Lipid peroksitlerin derişimi arttıkça zarların akışkanlıkları da azalır ve kalsiyum gibi iyonların hücre içine geçişi kolaylaşır. Böylece hücre fonksiyonlarında bozukluklara, doku hasarına ve birçok hastalığa sebep olur. Lipid radikallerinin hidrofobik yapıda olması nedeniyle tepkimelerin çoğu membrana bağlı moleküllerle meydana gelir. Membran permeabilitesi ve mikroviskositesi ciddi şekilde etkilenir. Peroksidasyonla oluşan malondialdehit membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna sebep olur. Buda deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzeyi bileşenlerinin agregasyonu gibi membran özelliklerini değiştirir. Bu etkilerde malondialdehitin niçin mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu açıklar (Köse ve Doğan, 1992; Akkuş, 1995).

### 1.5. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Türlerine Karşı Antioksidan Savunma Sistemleri

Serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı organizmada koruyucu mekanizmalar vardır. Bu mekanizmalardan bir kısmı serbest radikal oluşumunu bir kısmı ise oluşmuş serbest radikallerin zararlı etkilerini önler. Bu işlevleri yapan radikaller ve bunların etkilerini önlemeye çalışan maddelerin tümüne birden genel olarak antioksidanlar denir (Fidan ve Dündar, 2007).

Antioksidanlar peroksidasyon zincir tepkimesini engelleyerek ve reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. Antioksidanlar, endojen (doğal kaynaklı) ve

eksojen kaynaklı antioksidanlar olmak üzere başlıca iki ana gruba ayrılabilirdiği gibi serbest radikalın meydana gelişini önleyenler, mevcut olanları etkisiz hale getirenler yada enzim olanlar ve olmayanlar şeklinde de sınıflandırılırlar. Hücrelerin hem sıvı hem de membran kısmında bulunabilirler (Akkuş, 1995; Yanbeyi, 1999).

Antioksidanlar etkilerini başlıca iki şekilde gösterirler:

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

Antioksidanlar başlıca dört yolla oksidanları etkisiz hale getirirler.

- a) **Süpürme Etkisi (Scavenging):** Oksidanları daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürerek etkisizleştirir ve radikalleri daha az zararlı bir hale getirirler. Antioksidan enzimler ve mikromoleküller bu yolla etki ederler.
- b) **Söndürme Etkisi (Quenching):** Oksidanlarla etkileşip, onlara bir hidrojen aktararak aktiviteilerini söndüren ve inaktif hale getiren bileşiklerdir. Örnek olarak vitaminler; A vitamini, C vitamini, E vitamini, flavonoidler, mannitol ve antosiyanidinler verilebilir.
- c) **Zincir Tepkimelerini Kırma Etkisi (Chain Breaking):** Oksidan etkiyi durdurması zincirleme olarak devam eden tepkimeleri belli yerlerinden kırmalarıyla gerçekleşir. Hemoglobin serüloplazmin ve ağır mineraller oksidanları kendilerine bağlar ve inaktive eder.
- d) **Onarma Etkisi (Repair):** Oksidatif hasar görmüş biyomolekül onarılır. Bu grupta DNA tamir enzimleri, metionin sayılabilir.

Antioksidanlar oksidatif hasara karşı dokuları veya hücreleri koruyucu özellikleri göz önüne alındığında, yaşlanmaya, doku hasarlarına ve toksik ajanlar ile zehirlenmeye karşı koruyucu ajanlar olarak gösterilmektedir (Ito ve Hirose, 1989). Hücrelerin sağlıklı bir şekilde fonksiyonlarını yerine getirebilmeleri oksidan ve antioksidan maddeler arasındaki dengeye bağlıdır. Oksidanların düzeyinde meydana gelen artışların veya antioksidanların sistemdeki dengesizliklerin başta kalp hastalıkları ve kanserler olmak üzere göz, kas ve akciğer hastalıklarında büyük role sahip oldukları da bilinmektedir. Düzgün çalışan bir metabolizmada mitokondriyal sitokrom sistemi sitozoldeki organelleri, oksidanların zararlı etkilerinden korur. Bu sistemin yetersiz kaldığı durumlarda doğal enzimler devreye girer. Enzimlerce etkisiz hale getirilemeyen oksidanlar ilk olarak hücre membranındaki lipidleri etkileyerek lipid peroksidasyonunu başlatır ve sonuçta ortaya çıkan biyoaktif aldehitler hücre hasarına neden olur. Peroksidasyon sırasında yeterli düzeyde Vit-C ve Vit-E

gibi antioksidan vitaminlerin bulunması halinde bu tip hücrel hasarların önüne geçilebilir (Gökpınar ve ark., 2006).

### **1.5.1. Endojen (Doğal) Antioksidanlar**

Endojen antioksidanlar enzim ve enzim olmayan antioksidanlar olarak ikiye ayrılırlar.

#### **Enzim olan antioksidanlar**

- Süperoksit Dismutaz (SOD)
- Katalaz
- Selenyum bağımlı Glutasyon Peroksidaz (GPx)
- Glutasyon-S-Transferaz (GST)
- Glutasyon Redüktaz (GR)
- Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi
- Hidroperoksidaz

#### **Enzim olmayan antioksidanlar**

- Glutasyon
- Melatonin
- Seruloplazmin
- Transferin
- Bilirubin
- Sistein
- Ürat
- Albumin
- Miyoglobin
- Laktoferrin
- Metiyonin,
- Hemoglobin

### 1.5.2. Eksojen Antioksidanlar

Eksojen antioksidanlar; vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları şeklinde sınıflandırılabilirler.

#### Vitamin eksojen antioksidanlar

- Vitamin C
- Vitamin E
- Vitamin A

#### İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar

- Ksantin oksidaz inhibitörleri (Allopürinol, Oksipürinol, Pterin aldehit, Tungsten)
- NADPH oksidaz inhibitörleri (Adenozin, Lokal anestezipler, Nonsteroid antiinflatuvar ilaçlar).
- Rekombinant süperoksit dismutaz
- Trolox-C (Vitamin E analogu).
- Endojen antioksidan aktiviteyi arttıranlar (GSH-Px aktivitesini arttıran ebselan ve asetilsistein)
- Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (Mannitol, Albumin)
- Demir şelatörleri ve Sitokinler

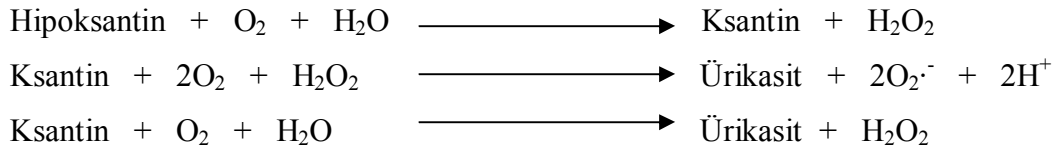
#### Gıdalardaki eksojen antioksidanlar

- Butillenmiş hidroksi toluen (BHT)
- Butillenmiş hidroksi anisol (BHA)
- Sodyum benzoat
- Propil galat
- Etoksikuin

## 1.6. Ksantin Oksidaz Enzimi

Ksantin Oksidaz (XO) (EC. 1.1.3.2) enzimi oksidoredüktazlar sınıfına giren ve Mo içeren bir flavoproteindir (Pei ve Li, 2000; Çete ve ark., 2005).

Ksantin oksidaz, çok önemli serbest oksijen radikali olan süperoksit anyon radikalinin, en önemli kaynaklarından birisidir. Bu enzim tüm çekirdekli hücrelerde yer alan metaloflavoproteindir. Purinlerin hidroksilasyonunun katalizlenmesinde molibden, demir ve flavinin hidroksilasyonunda görev yapan enzim grubunun üyesi olarak bilinir ve pürin nükleotidi metabolizmasında hız kısıtlayıcı enzim olarak görev yapar. Ksantin oksidoredüktaz, ksantin dehidrogenaz ve ksantin oksidaz olarak birbirine dönüşebilir iki formda bulunur (Cai ve Herrison, 2000). Ksantin dehidrogenaz, hem  $\text{NAD}^+$ 'yi hemde oksijeni indirgerken XO ise sadece  $\text{O}_2$ 'yi indirger ve bunun sonucundada  $\text{O}_2^{\cdot-}$  ve  $\text{H}_2\text{O}_2$  oluşturur. Her iki enzimde, hipoksantin ksantine, ksantini ise ürik aside dönüşümünü katalizler. Ürik asit insanlarda pürin yıkımının son ürünüdür (Champe ve Harvey, 1997). Bu esnada moleküler oksijen indirgenerek süperoksit anyonuna dönüştürülür (Li ve Jackson, 2002).



XO enziminin çok araştırıldığı konulardan biri iskemi-reperfüzyon (iskemik dokunun yeniden kanlanması) hasarıdır. Dokular oksijensiz kaldığında hasara uğrar ve belli bir periyottan sonra hasar geri dönüşümsüz hale gelir. İskemi nedeniyle ortamın asitleşmesi, hasarlı hücrelerden demir iyonlarının salınımı, mitokondrial solunun zincirindeki aksamalar, ksantin oksidaz enziminin etkisi ile dokularda reaktif oksijen partiküllerinin sentezi uyarılır. Kan akımı tekrar sağlandığında ortama oksijenin ulaşmasıyla hasar daha da artar (Çavdar ve ark., 1997).

Hipoksantin analogu olan allopurinol kuvvetli bir ksantin oksidaz dehidrogenaz inhibitörüdür. Ksantin oksidazı inhibe ederek hipoksantin ve ksantin birikimine yol açar fakat bunlar ürik aside kıyasla daha kolay çözünen maddelerdir (Champe ve Harvey, 1997). Allopurinol, ürik asit oluşumunu engelleyen ve hiperürisemi tedavisinde kullanılan bir antioksidandır. Allopurinolün, ksantin oksidazı inhibe ettiği ve aynı zamanda da lipid peroksidasyonunu ve hemoglobin glikasyonunu azalttığı bilinmektedir (Descro ve ark., 2002). Ancak antioksidan olarak bilinen ürik asit düzeylerini de azalttığı için diyabette allopurinolün etkisinin diğer antioksidanlara göre daha zayıf kalacağı belirtilmektedir.

Ksantin oksidaz enzimi daha çok tıpta ve gıda endüstrisinde kullanılır. Ksantin oksidazın tıptaki uygulamalarında enzim aktivitesindeki artıştan yararlanır. Gut hastalığının teşhis ve tedavisi bu uygulamalardan biridir. Ksantin oksidazın gıda endüstrisinde de kullanımı vardır. İmmobilize ksantin oksidaz içeren sensörlerden balık tazeliği teşhisinde faydalanılmaktadır. Çalışmanın esası balık etindeki nükleotitlerin bozunmasına dayanır. Bu bozunma balık tazeliği tayininde belirteç görevi görür (Hu ve Liu, 1998).

### 1.7. Uçucu Yağlar

Bitkiler aleminde yaygın olarak bulunan, kendine has koku, tat, renk ve görünümünün yanı sıra uçucu özelliğe sahip olan maddeler uçucu yağ diye adlandırılmaktadır. Oda sıcaklığında sıvı halde olan bazen donabilen kolaylıkla kristalleşebilen uçucu, kuvvetli kokulu, su buharı ile sürüklenebilen yağimsı karışımlardır. Su ile karışmayıp su yüzeyinde bir tabaka oluşturduklarından dolayı ‘yağ’ adıyla anılırlar. Ancak sabit yağlarla aralarında önemli farklar vardır. Sabit yağlar gliserin ile yağ asitlerinin esterleşmesi sonucu meydana gelen bileşiklerdir. Uçucu yağlar halk arasında ‘etrik yağ’ ve güzel kokularından dolayı ‘esans’ gibi isimlerle anılırlar. Bu karışımlarda terpenik hidrokarbonlar ve bunların oksijenli türevleri; organik asitler, alkoller, fenoller, ketonlar ve esterler bulunur (Çelik ve Yuvalı, 2007).

Uçucu yağ taşıyan bitkiler daha çok sıcak iklim bölgelerinde yetişmektedir. Akdeniz bölgesi uçucu yağ taşıyan bitkiler açısından zengin bölgelerden biridir. Uçucu yağlar bitkinin herhangi bir organında (salgı tüylerinde, salgı ceplerinde, salgı kanallarında ve salgı hücrelerinde) bulunabilmektedir. Uçucu yağın bitkide protoplazmada bulunduğu yada hücre duvarının reçinemsî tabakasının bozunması ile meydana geldiği ileri sürülmektedir. Uçucu yağlar genellikle sıvı olmalarına rağmen katı reçinemsî halde de bulunabilirler. Yağların pek çoğu renksiz olduğu halde kırmızı ve mavi renkli olanları da vardır. Ancak zamanla oksitlenebilir, reçineleşebilir ve renkleri koyulaşabilir. Uçucu yağların çoğu sudan hafiftir. Su ile karışmadığından suyun üstünde toplanır yağlı bir tabaka oluşturur. Ancak uçucu yağlar kokularının suya geçmesine yetecek oranda da olsa suda çözünür ve bu özelliğe dayanarak aromatik sular hazırlanır (Tanker ve Tanker, 2003).

Uçucu yağlar petrol eteri, benzen, eter, etanol gibi organik çözücülerde çözünürler. Uçucu yağları sabit yağlardan ayıran en önemli özelliklerden biri sulu etanolde çözünebilmesidir. Uçucu yağlar su buharı ile sürüklenebilirler ve süzgeç kağıdı üzerinde leke bırakmazlar. Sabit yağlar ise su buharı ile sürüklenmezler ve süzgeç kağıdı üzerinde yağlı bir leke bırakırlar. Bu özellik uçucu yağları sabit yağlardan ayırır.

## 1.8. Uçucu Yağların Kimyasal Bileşimi

Uçucu yağların en önemli kısımları terpenik bileşikler ve onların yüksek homologlarıdır. Bu bileşikler terpenik hidrokarbonlar (alifatik, monosiklik, bisiklik ve seskiterpen) ve bunların oksijenli türevleridir (alkol, aldehit, keton). Terpenik maddelerden oksijensiz olanlar kolay uçucu olduklarından düşük derecelerde bile sıvı halde kalırlar.

Terpenlerin oluşumundaki yapı taşı izoprendir ve karbon sayısına göre isimlendirilirler. İzopren beş karbon yapısına sahip bir moleküldür. Monoterpenler ( $C_{10}H_{16}$ ) 10 karbon atomu yada iki izopren molekülünden, seskiterpenler ( $C_{15}H_{24}$ ) onbeş karbon atomu yada üç izopren molekülünden, diterpenler ( $C_{20}H_{32}$ ) yirmi karbon atomu yada dört izopren molekülünden, triterpenler ( $C_{30}H_{48}$ ) otuz karbon atomu yada altı izopren molekülünden meydana gelirler. Uçucu yağlarda monoterpenler ile seskiterpenler ana etken madde sınıfları olarak bulunurlar. Diterpenler ise çok az uçucu yağ çeşidinde ve az miktarda bulunur. Uçucu yağı oluşturan bileşenlerin % 90'ı monoterpenik ve seskiterpenik yapıdadır (Caldefie-Chezet ve ark., 2006). Kimyasal bileşimleri yönünden uçucu yağlar çok farklılık göstermesine rağmen genel olarak büyük çoğunluğu bütün canlı organizmalarda mevcut olan ve biyolojik önemi bulunan terpenoid maddelerden oluşmuştur. Uçucu yağlarda bulunan maddeleri dört grup altında toplayabiliriz.

1. Terpenoid maddeler
2. Aromatik maddeler
3. Düz zincirli hidrokarbonlar
4. Azot ve kükürt taşıyan bileşikler

## 1.9. Uçucu Yağların Elde Edilmesi

Uçucu yağlar bitkilerden; ısı ve suya hassasiyetleri, yoğunlukları ve sudaki çözünürlüklerine bağlı olarak farklı yöntemlerle elde edilebilirler. Uçucu yağ eldesinde kullanılan başlıca yöntemler:

- 1) Mekanik (Sıkma) Yöntem
- 2) Ekstraksiyon Yöntemi
  - a) Organik çözücülerle ekstraksiyon
  - b) Sabit yağlarla ekstraksiyon
  - c) Sıvılaştırılmış gazlarla ekstraksiyon

### 3) Destilasyon Yöntemi

- a) Su Destilasyonu (Hidrodestilasyon)
- b) Buhar Destilasyonu
- c) Buhar-Su Destilasyonu
- d) Kuru Destilasyon
- f) Hidrodifüzyon

### **Mekanik yöntem**

Bazı uçucu yağlar destilasyon yöntemi ile bozunmaktadır. Bu gibi yağların elde edilebilmesi için sıkma yada benzeri mekanik yollar uygulanır. Limon esansı elde edilirken meyve, üzeri yeterince keskin ve çıkıntılı bir kesenin iç çeperlerinde yuvarlanır. Böylece uçucu yağ taşıyan salgı çeperleri parçalanmış olur. Sıkılmış kabukların su ile yıkanması sonucu ayrılan yağ-su emülsiyonu da bir kaptan toplanır. Bu emülsiyon santrifüj edilerek uçucu yağ elde edilir. Birçok narenciye esansı bu yöntemle elde edilir. Ayrıca presleme sonucunda elde edilen ürünleri berraklaştırmak için süzme, santrifüj, alkol ile seyreltme, ısıtma gibi işlemler uygulanır (Toroğlu ve Çenet, 2006).

### **Ekstraksiyon yöntemi**

Bazı bitkilerin esansları su buharıyla bozunabilir veya bazı bitkilerin uçucu yağı çok az olduğundan esanslarını destilasyonla çıkarmak güçtür. Bu gibi hallerde ekstraksiyon metodu kullanılır. Bu metot ile uçucu yağ uygun çözücüler yardımıyla bitkiden alınır. Çözücüye geçen esans destilasyon yolu ile çözücünden ayrılır. Ekstraksiyon işlemi benzen, petrol eteri, hegzan gibi çözücülerle yapılabildiği gibi sabit yağlarla yada sıvılaştırılmış gazlarla da yapılabilmektedir. Bu yöntemin en belirgin özelliği işlem sırasında sıcaklığın belli derecede sabit tutulabilmesidir. Bitkisel ve hayvansal droglardan etken maddeleri çıkarmak amacıyla çok çeşitli ekstraksiyon yöntemleri kullanılmaktadır (Başer ve ark, 2000).



## **Destilasyon yöntemi**

Uçucu yağların su buharı ile sürüklenebilme özelliğinden yararlanılarak destilasyonla elde edilmeleri mümkündür. Su destilasyonu, buhar destilasyonu, su-buhar destilasyonu, kuru destilasyon, ve hidrodifüzyon uygulanan en önemli destilasyon yöntemleridir. Bizim çalışmalarımızda uçucu yağ eldesi için belirtilen destilasyon yöntemlerinden sadece su destilasyonu yöntemi kullanılmış olup bu yöntem hakkında açıklamalar yapılmıştır.

### **1.10. Su Destilasyonu Yöntemi**

Uçucu bileşiklerin eldesinde yaygın olarak kullanılan geleneksel bir yöntemdir. Küçük ölçekli üretimlerde Clevenger tipi aparatla yapılan destilasyon, endüstriyel uygulamalarda büyük destilasyon kazanlarında gerçekleştirilmektedir. Yöntemin esası; soğutucu ile itibatlandırılan bir cam kolon içerisinde su ve bitki materyalinin 2-8 saat süre ile kaynatılarak su buharı ile birlikte hareket eden yağ moleküllerinin yoğunlaştırılıp sudan ayrıştırılmasına dayanmaktadır (Linkers ve Jackson, 1997). Kullanılacak olan su miktarı kullanılan bitkisel droğu örtecek kadardır. Eğer su miktarı az olursa materyal aşırı ısınmadan dolayı kavrulabilir. Sistem dışarıdan ısıtılır ve dokulara nüfuz ederek önce kuvvetli polar maddeleri çözer. Düşük polariteye sahip maddeler ise daha sonra destillenir. Karışım hücre cidarından difüzyona uğrar ve ısı etkisiyle buharlaşır. Buharlaşan su ve beraberindeki yağ soğutucuda yoğunlaştırılır ve buradan ayırma kabına gelir. Ayırma kabında yağ ve su yoğunluk farkı esasına dayanılarak ayrılır.

### **1.11. Botanik Bilgiler**

#### **1.11.1. Labiate (Lamiaceae) familyası**

Labiate; adaçayı, dağçayı, nane, kekik gibi birçok faydalı bitkileri içine alan yaklaşık 200 cins ve 3000 türle geniş bir ailedir. Ülkemizde bu familyanın 45 cinsi, 558 türü ve 742 taksonu var olup, endemizm oranı % 42'dir. Bu familya tıbbi ve aromatik bitkiler yönünden büyük öneme sahiptir (Satıl ve ark., 2007).

Labiata familyası, bir yada çok yıllık genellikle salgı tüylü ve kokulu otsu veya çalimsı bitkileri içermektedir. Familya için karakteristik özelliklerin başlıcaları, gövde dört köşeli, yapraklar stipulasız, çoğu zaman basit bazen parçalı dizilişlidir. Çiçekler her nodusta vertisillastrum durumundadır. Uçucu yağ, sapı tek başı sekiz hücreli ve pul şeklindeki Labiate türü salgı tüylerindedir. Bu familya bitkileri başlıca Akdeniz ve Ege havzasında yaygındır. Özellikle *Micromeria*, *Origanum*, *Salvia*, *Thymus* ve *Thymbra* bu bölgelerde yetişen aromatik Labiate üyeleri olup uçucu ve aromatik yağ içermelerinden dolayı farmakoloji ve parfümeri sanayisinde önemlidir (Tanker ve ark., 2004).

### 1.11.2. *Salvia* cinsi

*Salvia* L. cinsi Labiate familyasına ait en çok çalı ve otsu formları içeren ve dünyada ılıman kuşaktan sıcak kuşağa kadar doğal yayılış gösteren en yaygın cinslerden biridir. Bu cins Labiate familyasının en önemli ve en geniş cinsidir. Dünya üzerinde yaklaşık 900 tür içerir. Bu cins, Türkiye’de 89 tür, 94 takson şeklinde tanımlanmış ve bunların %50’sinin ise endemik olduğu rapor edilmiştir (Başer, 2002).

*Salvia* cinsinin çiçekleri bariz iki dudaklıdır ve dört adet stamen bulunur. Stamenlerin ise özel yapıları vardır.

### 1.11.3. *Salvia kronenburgii* Rech.Fil.

*Salvia Kronenburgii* Vangölü havzasına özgü 1500-2500 metre yüksekliğinde yetişen bir endemiktir. Vangölü havzası bitki coğrafyası açısından İran-Turan foloristik bölgesinde yer almaktadır. *Salvia Kronenburgii* türünün toplandığı lokalitelerde kahverengi ve kestane rengi topraklar hakimdir. Bitkiler dik, eğimli, sığ taşlı ve şiddetli erozyonlu topraklarda toplanmıştır. Küme formunda, yarı çalimsı, kazık ve oldukça derine uzanan bir köke sahip olan türün gövdesi tüylü, dört köşeli dik ve yükselidir. Yaprakları alt ve üst yüzde tüylü olup ağsı damarlanma mevcuttur. Çiçekleri ise zigomar simetrlili vertisillat dizilişlidir (Çiriğ ve Seçmen, 1990).

#### 1.11.4. *Salvia* türlerinin halk arasındaki kullanılışı ve farmakolojik etkileri

*Salvia* türleri uçucu yağ bakımından oldukça zengindir. Bu türe ait çok sayıda bitkinin biyolojik aktivitelerinden dolayı tedavi amaçlı, gıda endüstrisinde, aromatik özelliklerinden dolayı koku ve tat verici ayrıca süs bitkisi olarak kullanımı oldukça eski zamanlara kadar dayanmaktadır (Demirci ve ark., 2003).

*Salvia* türlerinden elde edilen birçok diterpenoidin antioksidant, antifeedant, antidiyabetik, antibakteriyel, yada sitotoksik özellik gösterdikleri belirlenmiştir (Perry ve ark., 2003). Türkiye’de yetişen kırkın üstünde *Salvia* türünde yapılan çalışmalarda antibakteriyel antitümör (Topçu ve ark., 1997). ve antitüberkilos bileşikler elde edilmiştir ayrıca *Salvia multicaulis* Vahl.’dan izole edilen 16 terpenoidal bileşiğin oldukça yüksek antitüberküler aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Ulubelen ve ark., 1997).

Yapılan bir araştırmada, üzerinde çalışılan *Salvia* türlerinden, *Salvia syriaca* L., *Salvia amplexicaulus* Lam. ve *Salvia eriophora* Boiss’dan kardiyookatif, *Salvia viridis* L., *Salvia ceratophylla* L.’dan antibakteriyel bileşikler izole edilmiştir ( Ulubelen, 2003).

*Salvia triloba* ‘Anadolu adaçayı’ ve ‘Dağelması’ olarak bilinir. Gaz ve idrar söktürücü, sindirim düzenleyici, ter kesici özellikleri vardır. ‘Misk adaçayı’ olarak bilinen *Salvia sclarea*, mide rahatsızlıklarında, kabızlık giderici, terlemeyi azaltıcı ve yatıştırıcı olarak kullanılmaktadır. Uçucu yağı ise parfümeri, gıda ve eczacılık alanlarında kullanılmaktadır.

Ülkemizde adaçayı, dişotu ve meryemiye isimleriyle tanınan *Salvia officinalis* ve *Salvia fruticosa* gibi türleri gıda, parfümeri ve kozmetik sektöründe oldukça büyük bir öneme sahiptir. Tıbbi kullanımlarında spazmolitik, antiseptik, kanamayı durdurucu gibi oldukça geniştir (Ayan ve ark., 2006).

#### 1.11.5. Asteraceae familyası

Yeryüzünde 1000’e yakın cins ve 20.000 kadar türle temsil edilen çiçekli bitkilerin en zengin familyası olarak bilinir. Türkiye’de 130 kadar cins ve 1130’dan fazla türü bulunmaktadır (Bağcı ve ark., 2008).

Bitkilerin çoğu iki yada çok yıllık, otsu bir kısmı çalı veya ağaç formundadır. Yapraklar, basit yada bileşik, veya hepsi tabandadır. Çiçekler konik yada küresel erdişi veya tek eşeylidirler. Meyva tepesinde bir papus, bir kaliks artığı veya tepede böyle bir organı olmayan bir akendir. Familya bitkilerinin çoğu salgı tüyü ve örtü tüyleri taşır. Bu familyada uçucu yağ, inülin, ve lateks

en sık rastlanan bileşiklerdir. İçerdikleri bu bileşikler nedeniyle bitkilerin çoğu eczacılıkta, gıda endüstrisinde ve diğer sanayi alanlarında kullanılmaktadır (Seçmen ve ark., 1998; Tanker ve ark., 2004).

#### **1.11.6. *Artemisia cinsi***

Genellikle aromatik, bir, iki veya çok yıllık otsular ve çalılardır. Yapraklar almaşlı ve genellikle parçalıdır. Kapitula küçük, homogram veya heterogamdır. Çiçeklerin hepsi tüpsü, çiçek tablası çıplak veya bazen piloz tüylüdür. Çoğunluğu Kuzey Yarım Kürede yayılış gösteren 250'ye yakın türü vardır. Ülkemizde bilinen 22 türü bulunmaktadır. Kuzey, İç ve Güney Anadolu'da su kenarlarında tarlalarda, yamaçlarda ve stepelerde yayılış gösteren kokulu, çalimsı türleri ihtiva eder (Seçmen ve ark., 1998).

#### **1.11.7. *Artemisia taurica* Willd.**

Bu tür genellikle 900-1900 m yükseklikte, kuru çayırlarda ve step alanlarda yayılış göstermektedir. Gövdesi dik ve dallanmış 60 cm ye kadar yükselebilen, tabanda odunlaşmış yapraklar mevcut, yukarı kısımları yoğun beyaz tüylü, yapraklar parçalı her iki yüzeyi beyaz tüylü çok yıllık bir artemisia türüdür (Davis, 1975).

#### **1.11.8. *Artemisia* türlerinin halk arasındaki kullanılışı ve farmakolojik etkileri**

*Artemisia* türleri genel olarak, ilaç, parfümeri, tat ve lezzet endüstrisinde kullanılırlar (Scora ve Kumamoto, 1984). Halk arasında iştah açıcı, kuvvetlendirici ve uyarıcı olarak kullanılır. Ayrıca ateş düşürücü özellikleri vardır (Baytop, 1991).

*Artemisia absinthium* çok eski tarihlerden beri kullanılan bir bitkidir. Hipokrat tarafından sarılığa karşı kullanılmıştır. İştah açıcı, ateş düşürücü ve kuvvetlendirici olarak % 5'lik çözeltileri halinde verilmiştir. Aynı bitkinin halk arasında dahilen dizanteri ve vereme karşı, haricen çıbanları iyileştirici olarak kullanıldığı kayıtlıdır (Dülger ve ark., 1999). *Artemisia herba alba*, mide rahatsızlıklarının tedavisi için, karın krampları ve vücudun dış yüzeyindeki yaraların iyileştirilmesi amacıyla kullanılır. Ayrıca bitkiden elde edilen uçucu yağın soğuk algınlığı ve öksürüğe karşı etkisi

gözlenmiştir (Abid ve ark., 2007). *Artemisia annua* ihtiva ettiği artemisinden dolayı sıtmaya karşı etkili bir bitkidir. Buna ilave olarak antimikrobik olduğu, ayrıca dermatolojide mantara karşı etkili olduğu gösterilmiştir.

*Artemisia dracunculus*'un yaprakları Mısır'da yemeklere baharat olarak katılır. Uçucu yağı sofraya sosu, salata mayonezi, konserve, çorba ve likörlerde tatlandırıcı olarak kullanılır (Graven ve ark., 1990). *Artemisia vulgaris* mide kuvvetlendirici, spazm çözücü ve kurt düşürücü etki gösterir. Çin'de 'Ai Hao' adıyla bilinen meşhur ilaç bu bitkiden yapılmaktadır. Diyare ve kanamalar için etkilidir. *Afrika Artemisia*'sı, Güney Afrika'da birçok hastalığı özellikle bronşlar ve solunum sistemiyle ilgili rahatsızlıkları tedavi etmek amacıyla kullanılır (Graven ve ark., 1990).

*Artemisia absinthium*'un uçucu yağı fazla miktarda tujon ihtiva eder. Bu ketonun güzel kokusundan sabun, parfüm, losyon ve deterjan yapımında yararlanır (Libbey ve Sturts, 1989). Yine *Artemisia*'nın bir türünden elde edilen ve acı pelin yağı adı verilen uçucu yağ şeker hastalığına karşı kullanılmaktadır. Şeker hastalığının bazı durumları üzerine iyi bir etkisi olmakla beraber, kan ve idrardaki şeker miktarı üzerine açık bir etkisi görülmemiştir.

## 1.12. Araştırmanın Amacı

Değişen yaşam koşulları, çevre kirliliği, endüstri artıkları, güneş ışınları, X ışınları, egzoz gazları, ağır metaller, sigara, alkol, ozon ve çeşitli kimyasallar günümüz insanının kaçamayacağı unsurlardır. Bu olumsuzluklar serbest radikallerin oluşumuna sebep olur. Bu olumsuzlukların yanı sıra daha birçok sebebe bağlı olarak artan ROT miktarına karşın antioksidan metabolizmanın koruyucu etkisi çoğu zaman yetersiz kalabilmektedir. Bu mekanizmalara alternatif olarak son yıllarda ilaç, gıda ve kozmetik olmak üzere ilgili endüstriyel alanlarda tıbbi ve aromatik bitkilerin antioksidan olarak değerlendirilmesine büyük önem verilmektedir. Doğal antioksidanların kullanımının profilaktik etki göstererek oksijen radikallerinin neden olduğu pek çok hastalığın oluşum riskini azalttığı gösterilmiştir. Bitkisel organizmalarda metabolizma ürünleri olarak meydana gelen fenolik yapıları terpenik bileşikler kimyasal yapılarından dolayı potansiyel antioksidan aktiviteye sahiptirler. Uçucu yağlarda 2000'den fazla kimyasal bileşik bulunduğu gösterilmiştir ve bunların en önemlileri terpenler, fenilpropanlar vs.dir (Dorman ve ark., 2000; Candan ve ark., 2003). Bu amaçla günümüzde adını sıkça duyduğumuz aromaterapide (bitkisel yağlarla tedavi), uçucu yağların yeni kullanım alanlarından biri haline gelmiştir.

Farklı bitki ve baharatlardan elde edilen uçucu yağların bioaktif ilkeleri üzerindeki çalışmalar, uçucu yağların antimikrobiyal, antioksidan ve antikanser aktivitesi gibi birçok

fonksiyonel özelliğinin keşfedilmesi nedeniyle popülerlik kazanmaktadır (Candan ve ark., 2003; Vardar ve ark., 2003).

Son yıllarda doğal kaynaklı ilaçlarda görülmeyen veya az olan yan etkilerin sentetik ilaçlarda dikkati çekecek kadar fazla olması insanları tekrar bitkilerle tedaviye yöneltmiştir. Bu çalışmada *Artemisia Taurica* Willd. ve *Salvia Kronenburgii* Rech.Fil. bitkilerinin yapraklarının uçucu yağlarının kimyasal analizi ve bu bitkilerden elde edilen yağların serbest radikalleri (süperoksit, hidroksil ve DPPH) temizleyerek antioksidan özellik gösterip göstermediğinin ayrıca Ksantin Oksidaz Enzimine etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Böylece hem halkın bitkiyi bilinçli olarak tüketmesi, hem bu bitki üzerinde yapılacak daha sonraki farmakolojik çalışmalara ışık tutması sağlanabilir.

## 2. KAYNAK BİLDİRİMLERİ

Günümüzde doğal florada bulunan birçok bitki ihtiva ettiği etkili maddeler yönünden hem halk arasında ilaç olarak kullanılmakta hemde üzerinde tıbbi çalışmalar yapılmaktadır. Özellikle uçucu yağlar en eski tarihlerden beri tedavide kullanılan ilaçlar içerisinde yer almıştır. Uçucu yağlar kimya bakımından organik heterosiklik, hidroaromatlı ve kokulu bileşimlerdir. Uçucu yağ içeren tüm bitkiler deri tahrişlerinde, iltihap giderici, idrar söktürücü, olarak kullanıldığı gibi birçok sindirim sistemi rahatsızlıklarında da kullanılmaktadır. Uçucu yağ içeren droglar ve bunlardan elde edilen uçucu yağlar tıbbi olarak kullanılabilirdiği gibi günümüzde gıda sanayisinde ve kozmetik sanayisinde de geniş çaplı kullanılmaktadır (Baytop, 1999).

*Salvia* (Adaçayı) yaprakları ilk çağlardan beri tedavi amacı ile kullanılmaktadır. Orta çağda bu bitkiler her derde deva ilaç olarak kabul ediliyordu. Anadolu'da 90 kadar adaçayı türü bulunmaktadır. %3 oranında uçucu yağ, triterpenler ve flavon türevleri bulunmaktadır. Batı ve Güney Anadolu'da bitkinin yapraklarından hazırlanan çaylar fazla miktarda kullanılmaktadır. Türkiye'nin ihraç ürünüdür (Baytop, 1999). *Salvia* türleri en çok üzerinde araştırma yapılan bitkilerden biridir.

Fellah ve ark., *Salvia officinalis*'in antioksidan özellikleri ve kimyasal kompozisyonu üzerine yaptıkları çalışmada ana bileşenlerin 1,8-sineol ve alfa tujon olduğunu buna karşılık az miktarda da beta thujone bulunduğunu ve güçlü antioksidan özelliklere sahip olduklarını

bildirmektedirler (Fellah ve ark., 2006). Diğer bir çalışmada *Salvia cryptantha* (Montbret et Aucher ex Benth.) ve *Salvia multicaulis* (Vahl.)'nin antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerine bakılmıştır (Tepe ve ark., 2004). Kocabaş ve ark., *Salvia fruticosa* Mill.'in uçucu yağ oranı ve bu oran üzerine çeşitli gübrelerin etkilerini incelemişlerdir (Kocabaş ve ark., 2007). Gülçin ve arkadaşları, *Salvia sclarea* L.'nin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini değerlendirmişler (Gülçin ve ark., 2004). yine başka bir çalışmada *Salvia palaestina* Bentham ve *S. Tomentosa* Miller türlerinin uçucu yağ kompozisyonuna bakılmıştır (Bağcı ve Koçak, 2008). *Salvia* türlerinden, *Salvia syriaca* L., *Salvia amplexicaulus* Lam. ve *Salvia eriophora* Boiss'den kardiyooaktif, *Salvia viridis* L., *Salvia ceratophylla* L.'dan antibakteriyel bileşikler izole edilmiştir ( Ulubelen, 2003). Ayrıca *Salvia multicaulis* Vahl.'dan izole edilen 16 terpenoidal bileşiğin oldukça yüksek antitüberküler aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Ulubelen ve ark., 1997).

Çalışma kapsamında yer alan *Salvia kronenburgii* ile ilgili literatür taramasında ise bitkinin terpenoidlerinin incelendiği (Topçu ve ark., 2004). ve bitkinin uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesinin çalışıldığı görülmüştür (Altun ve ark., 2007). Başka çalışmalara rastlanmamıştır.

*Artemisia* türleride eski mısırlılar döneminden beri tedavide kullanılmaktadır. Anadolu'da 20 kadar *Artemisia* türü yetişmekte ve bunların bir kısmı değişik adlar altında tedavi amacıyla kullanılmaktadır (Baytop, 1999).

Çeşitli *Artemisia* türlerinin antimikrobiyal aktiviteleri üzerine birçok çalışma bulunmaktadır. *Artemisia absinthium* L.'un etanolik ekstraksiyonunun antipiretik etki gösterdiği kanıtlanmıştır (Ikram ve ark., 1977). Dülger ve ark., *Artemisia absinthium* üzerine yaptıkları antimikrobiyal aktivite çalışmalarına göre çeşitli çözenlerle hazırlanan ekstratların çeşitli Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı bir antimikrobiyal etki oluşturduğunu belirtmişlerdir. *Artemisia annua* üzerine yapılan bir başka çalışmada bitkinin uçucu yağında pinen, sineol tuyen, tuyil alkol ve geraniol bulunduğu saptanmıştır (Dülger ve ark., 1999; Ma ve ark., 2007). Bu uçucu yağın çeşitli bakteri ve funguslara karşı antimikrobiyal etkisi de incelenmiştir (Juteau ve ark., 2002). *Artemisia herba alba*, mide rahatsızlıklarının tedavisi için, karın krampları ve vücudun dış yüzeyindeki yaraların iyileştirilmesi amacıyla kullanılır. Ayrıca bitkiden elde edilen uçucu yağın soğuk algınlığı ve öksürüğe karşı etkisi gözlenmiştir (Abid ve ark., 2007). *Artemisia* türlerinin bir çoğunun uçucu yağlarında ise antifungal, antibakteriyel ve antioksidan özelliklerine bakılmış (Burits ve ark., 2001; Sayyah ve ark., 2004; Kordali ve ark., 2005) ancak *Artemisia taurica* ile ilgili literatür taraması sonucu, sadece yağ içeriğine bakıldığı (Kozhina ve ark., 1969) ve bitkideki farklı komponentlerin incelendiği görülmüştür (Safarova ve Serkerov, 1998).

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Malzemeler

Çalışmada kullanılan; gallik asit, kuersetin, allopurinol, TBA, NBT, ksantin, ksantin oksidaz, Sıgma (USA) şirketinden, EDTA, TCA, FeCl<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NaHPO<sub>4</sub>, AlCl<sub>3</sub>, BHT, hidrojen peroksit, folin belirteci, askorbik asit, metanol, hekzan, HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> kimyasalları Merck (Germany) şirketinden, Deoksiriboz Aldrich-Chem. Firmasından temin edildi.

#### 3.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar

- Otomatik pipetler: Socorex, Acord
- Spektrofotometre: Pharmacia/Pharmacia LKB-Nova Spec.II
- Spektrofotometre: Unicam UV/VIS SpectrometerUV2
- pH metre: Jenway 3010 pH meter
- Magnetik karıştırıcı: Elektro Mag
- Su banyosu: Memmert
- Hassas Terazî: Gec Avery
- Karıştırıcı (vorteks): Mixer VM 20
- Ceketli Isıtıcı: Labor Alliance
- Clevenger Aleti: Çalışkan Cam Ankara
- Karıştırıcılı Isıtıcı: Termal Laboratuar Aletleri

#### 3.3. Kullanılan Bitkisel Materyal

Çalışmada kullanılan *Salvia Kronenburgii* Rech.Fil. bitkisinin toprak üstü kısımları, Van, Gürpınar'ın kuzeybatısı Kurubaş Geçidi mevkiinde, eğimli yamaçlardan Mayıs 2008 tarihinde, *Artemisia Taurica* Willd. bitkisinin toprak üstü kısımları ise Van'ın Gürpınar ilçesi, Zerneç Barajı kuzey yamaçlarından Ağustos 2007 tarihinde toplandı. Her iki bitkide Yüzüncü Yıl Üniversitesi Biyoloji Bölümünden Yrd.Doç.Dr. Nilüfer Selçuk tarafından tanımlandı.



### 3.4. Bitki Materyalinden Uçucu Yağ Elde Edilmesi

Gölgede kurutulan ve toz haline getirilen 100 g bitki örnekleri Clavenger cihazında 500 mL su ile 3 saat süresince su buharı destilasyonuna tabi tutuldu. Elde edilen uçucu yağlar + 4°C'de saklandı.

### 3.5. Uçucu Yağların GC-MS Analizleri

Uçucu yağların kalitatif ve kantitatif analizleri Adana Çukurova Üniversitesinde Thermo Finnigan-Trace GC-MS ile oto sampler kullanılarak yapıldı. 1µL örnek hacmi split metot kullanılarak, 50 split oranında enjekte edildi. Kromatografik ayırma, TR-MS kapiler kolon (%5-fenil %95-dimetilpolisiloksan, uzunluk= 60 m iç çap=0.25 mm ve film kalınlığı 25µm ) kullanılarak 50 split oranıyla split mod enjeksiyonuyla yapıldı. Analiz 1mL/dk akış hızı ile taşıyıcı gaz helyum kullanılarak yapılmıştır. Kolon sıcaklığı 50-250 °C arasında 3 °C/dak artışıyla programlandı. Enjeksiyon ve iyon kaynağı sıcaklıkları sırasıyla 250 °C ve 200 °C iyonlaştırma voltajı 70 eV, kütle aralığı 41-400 a.m.u. uygulandı. Ayrılan bileşenler NIST ve Wiley kütle spektrum kütüphanesi veri sonuçları karşılaştırılarak belirlendi.

### 3.6. Toplam Fenol İçeriğinin Ölçümü

Uçucu yağın toplam fenol içeriğinin belirlenmesinde Folin-Ciocalteu belirteci kullanıldı (Gamez-Meza ve ark., 1999). Methanol:su (60:40, v/v) içerisinde hazırlanmış olan %0.3'lük HCl ile, seyreltilmiş 150 µL uçucu yağ örneklerine 3 mL %2'lik Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> eklendi. 2 dk. sonra 150 µL Folin belirteci (1:1, destile su ile seyreltilmiş) eklendi ve 30 dk. oda sıcaklığında inkübe edilerek, örneklerin absorbansları 765 nm dalga boyunda kontrol örneğe (150 µL methanol, 150 µL Folin belirteci ve 3 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ) karşı okundu. Standart eğrinin hazırlanması için methanol:su (50:50, v/v) içerisinde hazırlanan gallik asit çözeltileri kullanıldı. Uçucu yağların fenol içerikleri aşağıdaki hesaplama sonucu mg g<sup>-1</sup> yağ şeklinde gallik asit eşdeğeri olarak verildi.

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

Burada: C – Toplam fenolik derişimi, mg g<sup>-1</sup>

c –Gallik asit derişimi, mg mL<sup>-1</sup>

V – seyreltilmiş örnek hacmi, 150 µL

m – uçucu yağın kütlesi, g

### 3.7. Toplam Flavanoid İeriğinin Saptanması

*Artemisia Taurica* Willd. ve *Salvia Kronenburgii* Rech.Fil. toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağların flavanoid ieriğinin saptanmasında metanolde çözünmüş olan uçucu yağların 1 mL'sine 1 mL %2'lik metanolik AlCl<sub>3</sub> çözeltisi eklendi ve tepkime karışımı 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Örneklerin absorbensları 394 nm dalga boyunda kontrol örneğe ( 1mL metanol, 1 mL %2'lik AlCl<sub>3</sub>) karşı okundu (Lamaison, ve ark., 1990). Flavanoid derişimi kuersetin kalibrasyon eğrisi çizilerek hesaplandı ve uçucu yağların toplam flavanoid miktarları, mg g<sup>-1</sup> yağ şeklinde kuersetin eşdeğeri olarak verildi.

### 3.8. Toplam Antioksidan Kapasitenin Saptanması

Yöntemin temeli asidik Mo (VI)'nın Mo (V)'e indirgenmesiyle asidik pH'ta yeşil renkli fosfat/Mo (V) kompleksinin oluşmasına dayanmaktadır (Prieto ve ark., 1999). Elde edilen uçucu yağların metanolde çözünmesiyle hazırlanan örneklerden 0.2 mL alındı ve 2 mL belirteç çözeltisi (0.6 M sülfürük asit, 28 mM sodyum fosfat ve 4mM amonyum molibdat) eklendikten sonra 95°C'de 90 dk inkübe edildi. Örnekler buz banyosunda oda sıcaklığına soğutuldu ve 695 nm dalga boyunda kontrol örneğe (0.2 mL metanol, 2 mL belirteç çözeltisi) karşı okundu. Toplam antioksidan kapasite α-takofeol asetat standart eğrisi çizilerek hesaplandı ve uçucu yağların toplam antioksidan kapasiteleri mM α-takofeol asetat g<sup>-1</sup> yağ şeklinde verildi.

### 3.9. DPPH Radikalini Temizleme Özelliği

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

Elde edilen uçucu yağların DPPH radikalini temizleme özelliğini belirlemek için, metanolla seyreltilerek hazırlanan uçucu yağların farklı derişimlerdeki çözeltilerine, metanolde hazırlanan DPPH çözeltilisinden (% 0.004) 5 mL eklenerek 30 dk. inkübe edildi. Örneklerin absorbanları 517 nm dalga boyunda kontrol örneğe (5 mL DPPH çözeltilisi) karşı okundu. Herbir uçucu yağın inhibisyon yüzdeleri aşağıdaki eşitlikten hesaplandı.

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

Elde edilen % inhibisyon değerleri uçucu yağların derişimine karşı grafiğe geçirilerek uçucu yağların DPPH radikalini % 50 inhibe eden değerleri (IC<sub>50</sub>) hesaplandı.

Pozitif kontrol olarak, antioksidan besin katkı maddesi olarak kullanılan butillenmiş hidroksi toluen (BHT) ve antioksidan vitamin olan askorbik asit kullanıldı.

### 3.10. Hidroksil Radikalini Temizleme Özelliği

Elde edilen uçucu yağların hidroksil radikalini temizleme özelliği Fe<sup>+3</sup>/askorbat/EDTA/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sistemi ile oluşturulan hidroksil radikallerinin deoksiriboza bozundurmasıyla açığa çıkan tiyobarbitürik asit reaktif ürünlerinin ölçümü ile belirlendi (Kunchandy ve Rao., 1990).

Bu amaçla 3 mL'lik deney ortamına bitkilerden elde edilen uçucu yağların n-hezanda seyreltilerek hazırlanmış farklı derişimlerdeki çözeltilerine 100 µL 3.0 mM deoksiriboz, 100 µL 1 mM FeCl<sub>3</sub>, 100 µL 1 mM EDTA, 100 µL 1 mM askorbik asit ve 100 µL 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eklenerek son hacim 20 mM fosfat tamponu ile (pH 7.4) 1 mL' ye tamamlandı. Tepkime karışımı 37° C de 1 saat inkübe edildi. 1 mL % 1'lik tiyobarbitürik asit (TBA) ve 1 mL % 2.8'lik triklorasetik asit (TCA) eklenerek 30 dk kaynatıldı. Açığa çıkan malondialdehitin, TBA ile oluşturduğu renkli kompleksin

532 nm dalga boyundaki absorbansı kontrol örneğe (100 µL deoksiriboz, 2.9 mL pH=7.4 fosfat tamponu) karşı okundu.

% inhibisyon değerleri DPPH radikali temizleme özelliğindeki gibi hesaplandı. Elde edilen % inhibisyon değerleri uçucu yağların derişimine karşı grafiğe geçirilerek IC<sub>50</sub> değerleri hesaplandı. Pozitif kontrol olarak BHT kullanıldı.

### 3.11. Süperoksit Radikalini Temizleme Özelliği

*Salvia* ve *Artemisia* uçucu yağlarının süperoksit radikalini temizleme özelliği ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile oluşturulan süperoksit radikalinin nitroblue tetrazoliumu (NBT) indirgenmesi metodu ile belirlendi (Robak ve Gryglewski., 1988; Lee ve ark., 2002).

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

Elde edilen % inhibisyon değerleri, uçucu yağların derişimlerine karşı grafiğe geçirilerek her bir uçucu yağın IC<sub>50</sub> değerleri hesaplandı. Pozitif kontrol olarak BHT ve askorbik asit kullanıldı.

### 3.12. Ksantin Oksidaz Çalışmaları

Ksantin oksidaz (XO) (EC. 1.1.3.2.) aktivitesi Prajda ve Weber'in yöntemine göre, ksantinden ürik asit oluşumu esasında 293 nm'de absorbans artışının spektrofotometrik olarak ölçümü prensibi ile tayin edildi (Prajda ve Weber, 1975). Bu yöntemin esası; numunenin, ksantin içeren bir tamponla ksantin oksidaz eşliğinde ürik asit oluşumunun spektrofotometrik olarak takip edilerek belirlenmesine dayanır.

#### Ksantin Oksidaz tayininde kullanılan Çözeltiler

*0.1 M Fosfat Tamponu* : 4.354 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 3.404 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 250 mL distile suda çözülerek pH 7.4 olacak şekilde ayarlandı..

*Ksantin Çözeltisi*: 12.20 mg (Ma= 174.199 g mol<sup>-1</sup>) ksantin pH 7.4 olan fosfat tamponuyla ile 100 mL'ye tamamlandı. (birkaç damla 0.25 M NaOH kullanılarak)

*Allopurinol* : 1.36 mg allopurinol ( $M_a=136.1 \text{ g mol}^{-1}$ ) tartılarak pH 7.4 olan fosfat tamponuyla 1000 mL tamamlandı. Ksantin oksidaz inhibitörü olarak bilinen allopurinol % inhibisyon çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanıldı.

*Ksantin Oksidaz*: 0.01 U/mL olacak şekilde fosfat tamponunda hazırlandı.

Numuneler ve diğer tüpler Çizelge 3.1.'de belirtildiği gibi hazırlanarak işlemler sırasıyla yapıldı. Absorbansları 293 nm dalga boyunda okundu. Ksantin oksidaz % inhibisyon değerleri ise  $(1-B/A) \times 100$  eşitliğinden yararlanılarak hesaplandı. (A değeri = kontrol  $Ab_{\text{enzimli}}$  - kontrol  $Ab_{\text{enzimsiz}}$ , B değeri = numune  $Ab_{\text{enzimli}}$  - numune  $Ab_{\text{enzimsiz}}$ ).

Enzim kinetik çalışmalarında 1 ünite XO, 37°C'de pH 7.4'te 1 dk'da oluşan ürik asit olarak tarif edildi ve aşağıdaki eşitlik kullanılarak  $\mu\text{mol dk}^{-1}$  olarak hesaplandı.

$$\frac{V_{\text{toplam}}}{\epsilon \cdot d \cdot V_{\text{enzim}} \cdot C_{\text{protein}}} \times \frac{\Delta A}{\Delta t}$$

$V_{\text{toplam}}$  – Toplam hacim

$\epsilon$  - Molar soğurum katsayısı

$\Delta A$  - Absorbanslar arasındaki fark

d - Küvet kalınlığı

$\Delta t$  - Tepkime süreleri arasındaki fark

$C_{\text{protein}}$  – protein miktarı

$V_{\text{enzim}}$  – Enzim hacmi

Çizelge 3.1. Ksantin oksidaz ölçümündeki işlem basamakları

	Numune Körü	Numune	Kontrol Körü	Kontrol
Tampon (pH=7.4)	100 $\mu\text{L}$	70 $\mu\text{L}$	150 $\mu\text{L}$	120 $\mu\text{L}$
Ksantin oksidaz	-	30 $\mu\text{L}$	-	30 $\mu\text{L}$
Numune	50 $\mu\text{L}$	50 $\mu\text{L}$	-	-
	37°C 5 dk. inkübasyon	37°C 5 dk. inkübasyon	37°C 5 dk. inkübasyon	37°C 5 dk. inkübasyon
Ksantin	50 $\mu\text{L}$	50 $\mu\text{L}$	50 $\mu\text{L}$	50 $\mu\text{L}$
	37°C 10 dk inkübasyon	37°C 10 dk inkübasyon	37°C 10dk inkübasyon	37°C 10 dk inkübasyon

Araştırma kapsamında yapılan tüm deneysel çalışmalar üç tekrarlı yapıp sonuçlar standart sapmalarıyla birlikte verilmiştir. Ayrıca tüm grafikler Sigma Plot grafik ve istatistik programı kullanılarak çizilmiştir, 't' regresyon testi uygulanarak anlamlılık için  $p < 0.01$  seçildi.

## 4.BULGULAR

### 4.1. Bitkilerin Uçucu Yağ Verimleri

*Artemisia Taurica* Willd. ve *Salvia kronenburgii* Rech. Fil. bitkilerinin toprak üstü kısımlarının uçucu yağ verimleri mL yağ / 100 g kuru bitki şeklinde Çizelge 4.1.'de verildi. Bitkilerin 100 gram toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağ miktarı, *Artemisia taurica* için  $0.590 \pm 0.065$  mL, *Salvia kronenburgii* için  $0.716 \pm 0.035$  mL, olduğu gözlemlendi.

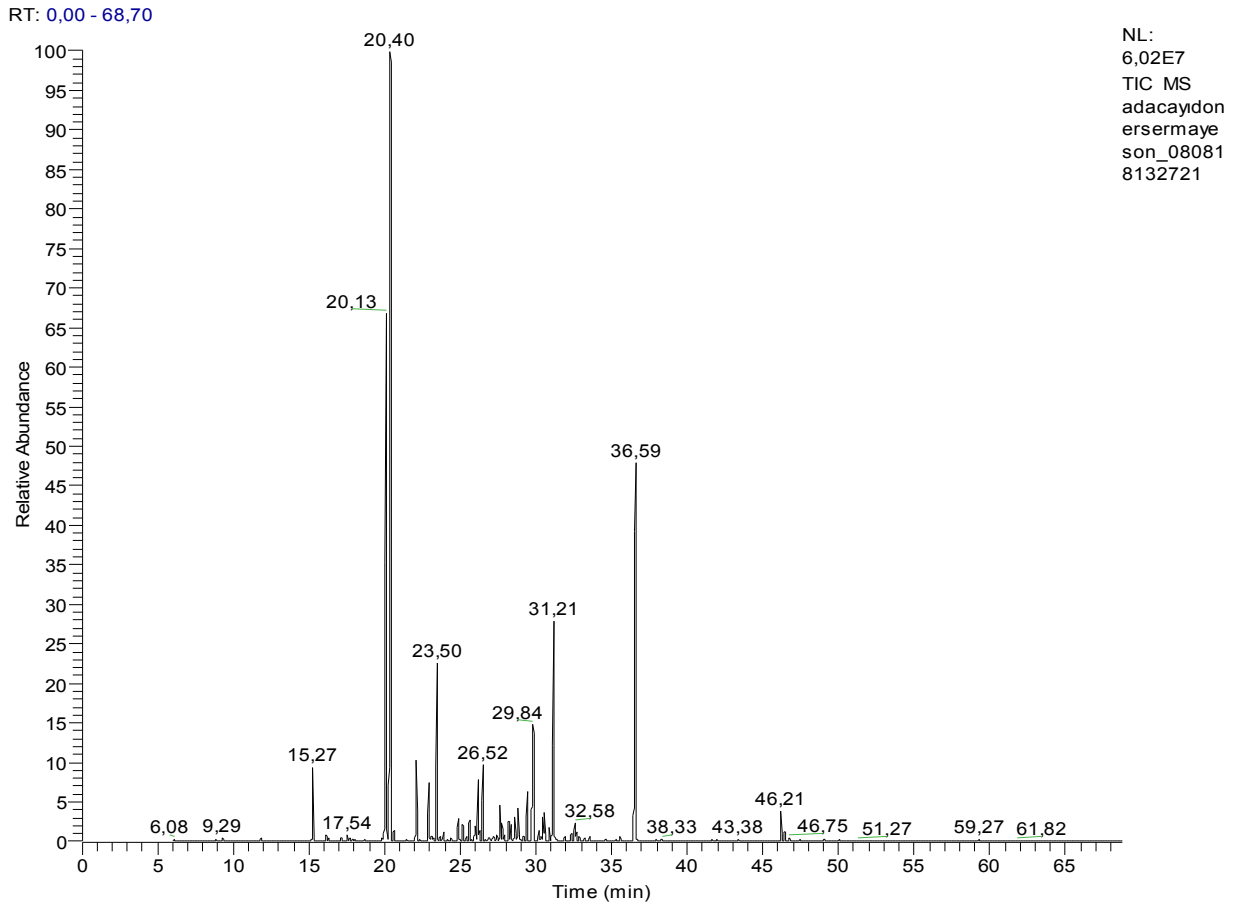
Çizelge 4.1. Uçucu Yağ Verimleri

Örnekler	% (v/w)
<i>Artemisia Taurica</i> Willd.	$0.590 \pm 0.065$
<i>Salvia Kronenburgii</i> Rech.Fil.	$0.716 \pm 0.035$

## 4.2. Uçucu Yağların GC-MS Analizleri

### 4.2.1. *Salvia Kronenburgii* Rech.Fil. uçucu yağının GC-MS analizi

*Salvia* uçucu yağının GC-MS analizi sonucu elde edilen kromotogram Şekil 4.1.'de gösterilmiştir. Uçucu yağın bileşenleri, alıkonma zamanları (RT), alanları ve bağıl bulunma yüzdeleri ise Çizelge 4.2.'de verilmiştir.



Şekil 4.1. *Salvia kronenburgii* Rech. Fil. uçucu yağ kromotogramı.

Çizelge 4.2. *Salvia kronenburgii* uçucu yağının bileşenleri

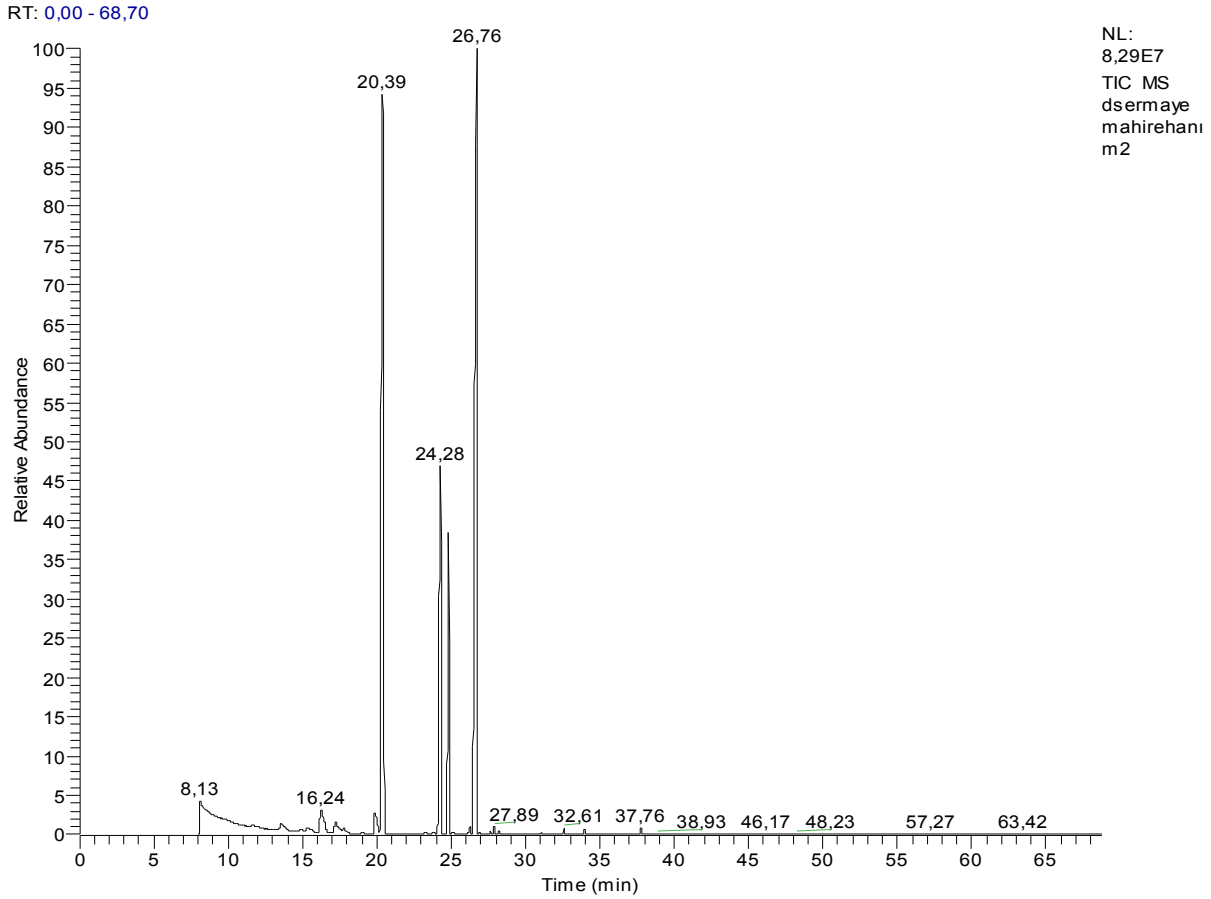
No	Bileşen	RT	Alan	Bileşim
1	$\alpha$ -Pinen	15.27	15909137	1.58
2	Kamphen	16.17	1296833	0.13
3	$\beta$ -Pinen	17.54	1327824	0.13
4	o-Simen	19.86	1430258	0.14
<b>5</b>	<b>DL-Limonen</b>	<b>20.13</b>	<b>207236972</b>	<b>20.62</b>
<b>6</b>	<b>1.8-sineol</b>	<b>20.4</b>	<b>248721241</b>	<b>24.75</b>
7	(E)- $\beta$ -osimen	20.62	2181889	0.22
8	Linalool oksit trans	22.12	21507022	2.14
9	Linalool oksit cis	22.93	16966827	1.69
10	Linalool	23.5	58134949	5.78
11	6-Metil-hepta-3,5-dien-2-one	23.9	2284962	0.23
12	$\alpha$ -Kamfenolenik aldehit	25.17	3880727	0.39
13	2,6-dimetil-1,3,5,7-oktatetraen	25.63	6846047	0.68
14	trans- Pinokarveol	26.03	6963486	0.69
15	(E)-3-Karen-2-ol	26.21	21725354	2.16
16	$\beta$ -Terpineol	26.29	2586624	0.26
17	L(-)-Kamfor	26.52	22545951	2.24
18	Dihidrokarveol	27.21	2073294	0.21
19	$\alpha$ -Terpinenol	27.4	2106112	0.21
20	Borneol	27.64	8431329	0.84
21	cis-p-mentha-2,8-dien-1-ol	27.77	4510259	0.45
22	4-Karvomenthenol	27.84	2084334	0.21
23	p-mentha-6,8-dien-2-ol	28.22	6065094	0.60
24	o-Asetiltoluen	28.36	4193256	0.42
25	$\alpha$ -Terpinenol	28.61	7963446	0.79
26	1,2-dimetil-3-vinyl-1,4-cyclohezaen	28.83	9375753	0.93
27	Terpinilasetat	29.2	1793994	0.18
28	1-Verbenon	29.44	12813970	1.28
29	L-Karveol	29.84	48806273	4.86
30	Isobornil format	30.2	2739070	0.27
31	cis-Karveol	30.46	6631774	0.66
32	Geraniol format	30.57	8710832	0.87
33	Cis-Geraniol	30.88	3210580	0.32
34	Karvon	31.21	83426017	8.30
35	p-Mentha-1,8-dien-3-on	32.34	1671112	0.17
36	cis-Karvon oksit	32.58	4545397	0.45
37	p-mentha-1,8-dien-7-al	32.69	2775185	0.28
<b>38</b>	<b>Geranil Asetat</b>	<b>36.59</b>	<b>127360711</b>	<b>12.67</b>
39	Dehidroaromadendrene	46.21	6966524	0.69
40	Ledene oksit	46.46	2327805	0.23
<b>Toplam</b>				<b>99.37</b>



*Salvia* uçucu yağının % 99,37'sine karşılık gelen 40 bileşen saptandı. İlk üç ana bileşenin 1.8- sineol (%24,75), DL-Limonen (% 20,67) ve Geranil asetat (%12,67) olduğu belirlendi.

#### 4.2.2. *Artemisia Taurica* Willd. uçucu yağının GC-MS analizi

*Artemisia* uçucu yağının GC-MS sonucu elde edilen kromatogramı Şekil 4.2.'de verilmiştir. Uçucu yağın bileşenleri, alıkonma zamanları (RT) ve bağıl bulunma oranları ise Çizelge 4.3.'de verilmiştir.



Şekil 4.2. *Artemisia taurica* Willd. uçucu yağ kromatogramı.

Çizelge 4.3. *Artemisia taurica* uçucu yağının bileşenleri

No	Bileşen	RT	Alan	Bileşim
1	Santolina trien	13.58	13138504	0.58
2	$\alpha$ - Pinen	15.34	8123008	0.36
3	Kamphen	16.24	39954195	1.75
4	Sabinen	17.23	11457823	0.50
5	o-Simen	19.88	27318607	1.20
6	<b>1.8-sineol</b>	<b>20.39</b>	<b>810254681</b>	<b>35.57</b>
7	<b>Trans-karyofillen</b>	<b>24.28</b>	<b>317842287</b>	<b>13.95</b>
8	Tujon	24.84	178052243	7.82
9	<b>Kamfor</b>	<b>26.76</b>	<b>858268028</b>	<b>37.68</b>
<b>Toplam</b>				<b>99.42</b>

*Artemisia* uçucu yağının % 99.42'sine karşılık gelen 9 bileşen saptanarak, ilk üç ana bileşenin Kamfor (% 37.68), 1.8- sineol (% 35.57) ve Trans-karyofillen (%13.95) olduğu belirlendi.

#### 4.3. Uçucu Yağların Toplam Fenol ve Toplam Flavanoid Miktarı ile Toplam Antioksidan Kapasitesi

Elde edilen uçucu yağların toplam fenol ve flavanoid miktarları ile toplam antioksidan kapasiteleri Çizelge 4.4.'de verilmiştir.

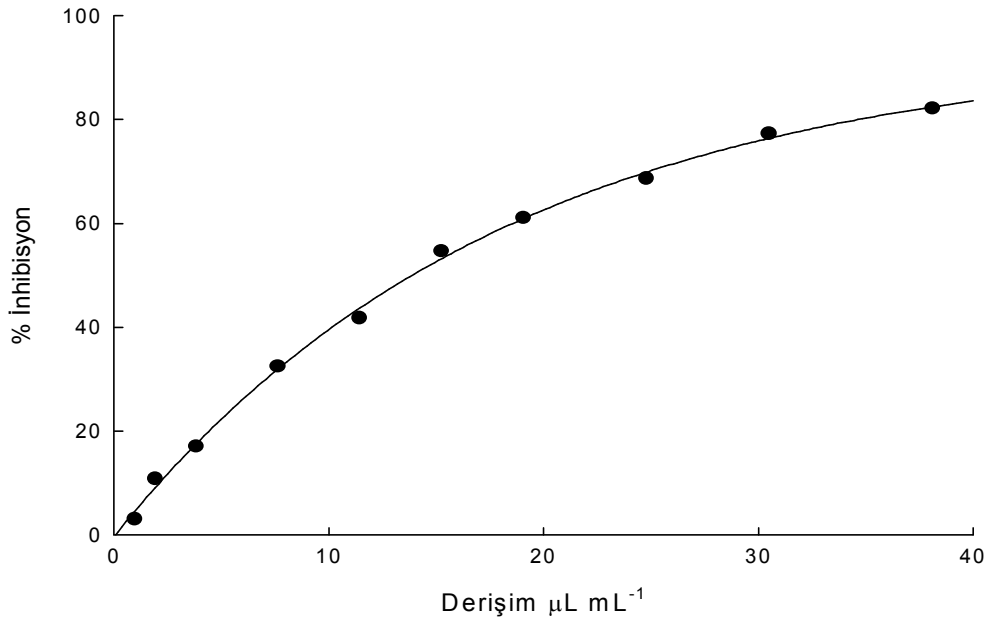
Çizelge 4.4. *Artemisia taurica* ve *Salvia kronenburgii* uçucu yağlarının toplam fenol ve toplam flavanoid miktarları ile toplam antioksidan kapasiteleri

Örnekler	Toplam fenol (mg gallik asit g <sup>-1</sup> yağ)	Toplam Flavanoid (mg kuersetin g <sup>-1</sup> )	Toplam antioksidan kapasite (mM $\alpha$ -Takoferol asetat g <sup>-1</sup> )
<i>Artemisia</i> uçucu yağı	5.137 $\pm$ 0.050	7.984 $\pm$ 0.233	438.4 $\pm$ 4.198
<i>Salvia</i> uçucu yağı	10.848 $\pm$ 0.077	12.600 $\pm$ 0,224	818.4 $\pm$ 7.563

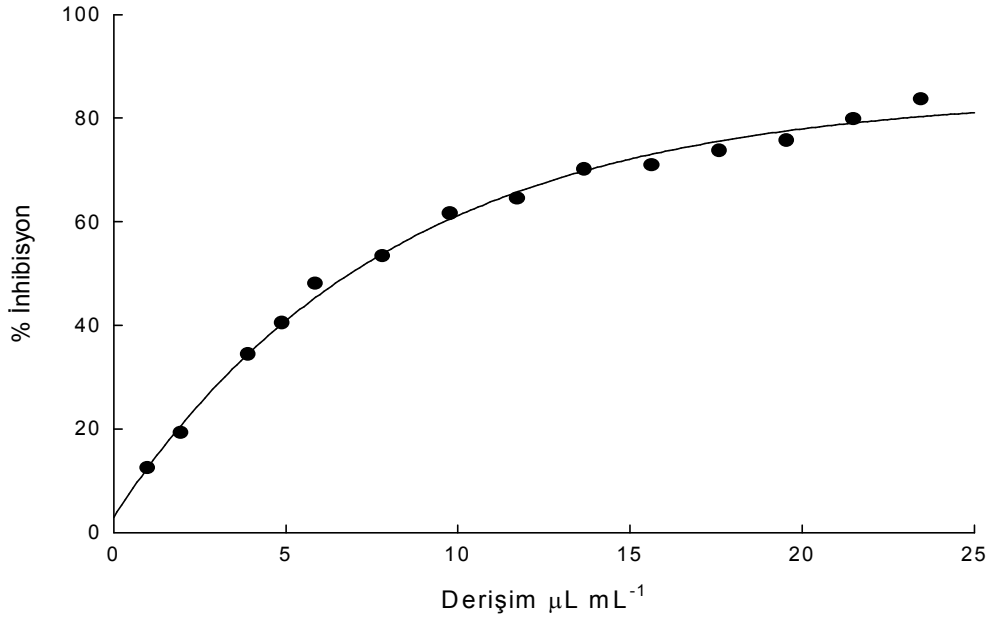
Çizelgedeki sonuçlara göre; *Artemisia* ve *Salvia* uçucu yağlarının toplam fenol, flavonoid miktarları ile toplam antioksidan aktiviteleri karşılaştırıldığında, *Salvia* uçucu yağının daha yüksek değerlere sahip olduğu bulundu.

#### 4.4. DPPH Radikalini Temizleme Özelliği

Antioksidan türlerin varlığında DPPH'nin karakteristik mor rengi açılmaktadır. Metanolde çözülerek hazırlanan uçucu yağların %0.004'lük DPPH çözeltisinin rengini açma özellikleri spektrofotometrik olarak izlenerek DPPH radikalini süpüren yüzdeleri saptandı. *Artemisia* ve *Salvia* uçucu yağlarının derişimlerine karşılık gelen inhibisyon yüzdeleri sırasıyla Şekil 4.3. ve Şekil 4.4.'de verildi.



Şekil 4.3. DPPH radikali inhibisyonunun *Artemisia taurica* uçucu yağ derişimleriyle değişimi.



Şekil 4.4. DPPH radikali inhibisyonunun *Salvia kronenburgii* uçucu yağ derişimleriyle değişimi.

Yapılan alışmalar sonucunda bitkilerin uçucu yağları ile pozitif kontrollerin en yüksek DPPH radikali inhibisyon yüzdeleri ile DPPH radikalini % 50 inhibe eden derişim değerleri ( $IC_{50}$ ) hesaplanarak izelge 4.5.'de verildi.

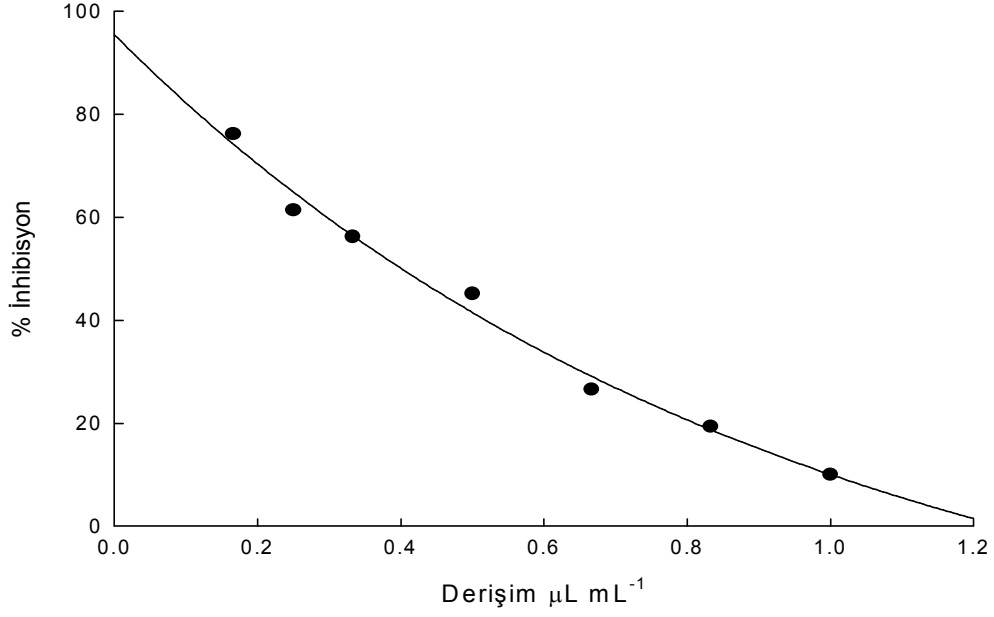
Çizelge 4.5. *Artemisia* ve *Salvia* uçucu yağlarının ve pozitif kontrollerin en yüksek DPPH radikali inhibisyon yüzdeleri ile DPPH radikalini % 50 inhibe eden derişimleri

Örnekler	% İnhibisyon	$IC_{50}$ (µL mL <sup>-1</sup> )
<i>Artemisia</i> uçucu yağı	82.175 ± 0.366	14.238 ± 0.129
<i>Salvia</i> uçucu yağı	83.712 ± 0.408	7.438 ± 0.100
BHT	52.420 ± 0.990	24.210 ± 0.926
Askorbik asit	60.000 ± 1.699	16.752 ± 0.804

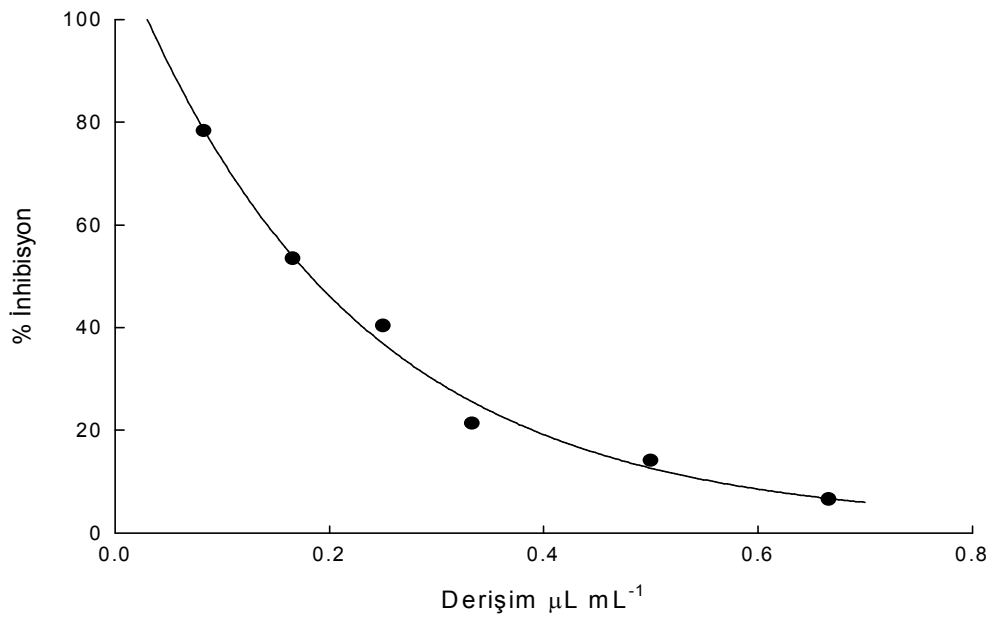
Uçucu yağların DPPH radikalini süpürme aktiviteleri karşılaştırıldığında *Salvia* uçucu yağının, *Artemisia* uçucu yağından daha aktif olduğu gözlenirken, pozitif kontrollerde ise askorbik asitin, BHT'ye göre daha aktif olduğu gözlemlendi. Ancak uçucu yağların DPPH radikali süpürme aktivitelerinin pozitif kontrollerden daha yüksek oldukları belirlendi.

#### 4.5. Hidroksil Radikalini Temizleme Özelliği

*Artemisia* ve *Salvia* uçucu yağlarının derişimlerine karşı % inhibisyon grafikleri Şekil 4.5. ve Şekil 4.6.'da gösterilmiştir.



Şekil 4.5. Hidroksil Radikalini inhibisyonunun *Artemisia taurica* uçucu yağ derişimleriyle değişimi.



Şekil 4.6. Hidroksil Radikalini inhibisyonunun *Salvia kronenburgii* uçucu yağ derişimleriyle değişimi.

Çizelge 4.6.'da ise uçucu yağlar ile pozitif kontrollerin, hidroksil radikali oluşumu inhibisyonunda sahip oldukları en yüksek inhibisyon yüzdeleri ile hidroksil radikali oluşumunu % 50 inhibe eden derişimleri verilmiştir.

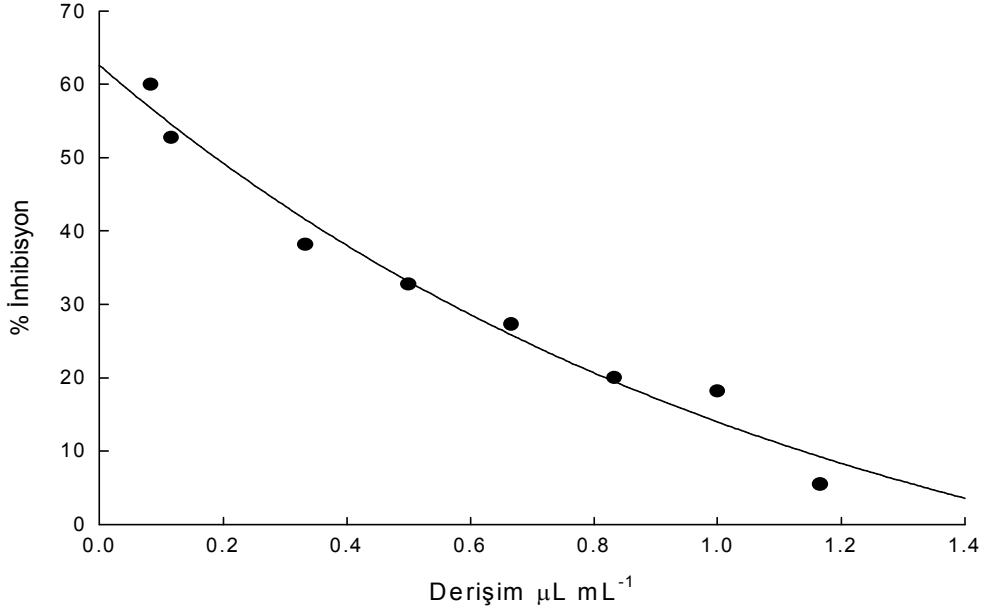
Çizelge 4.6. *Artemisia* ve *Salvia* uçucu yağları ve pozitif kontrollerin hidroksil radikali oluşumu en yüksek inhibe eden yüzdeleri ile hidroksil radikali oluşumunu % 50 inhibe eden derişimleri

Örnekler	% Inhibisyon	IC <sub>50</sub> (µL mL <sup>-1</sup> )
<i>Artemisia</i> uçucu yağı	76.206 ± 0.344	0.404 ± 0.016
<i>Salvia</i> uçucu yağı	78.275 ± 1.503	0.192 ± 0.001
BHT	58.212 ± 0.276	29.984 ± 1.149

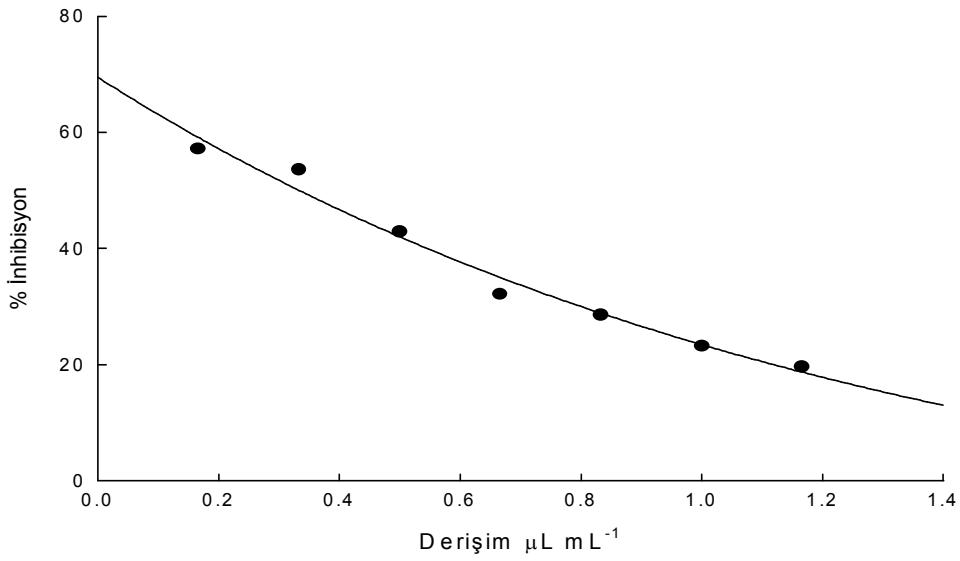
Hidroksil radikali oluşumunu % 50 inhibe eden derişimlere göre en yüksek aktivite *Salvia* uçucu yağında daha sonra *Artemisia* uçucu yağında gözlemlendi. Pozitif kontrol olan BHT ile karşılaştırıldıklarında her iki uçucu yağın hidroksil radikalini temizlemede pozitif kontrolden daha etkin oldukları görüldü.

#### 4.6. Süperoksit Radikalini Temizleme Özelliği

*Artemisia* ve *Salvia* uçucu yağların farklı derişimlerinin, süperoksit radikali oluşumunu inhibe eden yüzdeleri sırasıyla Şekil 4.7. ve Şekil 4.8.'de verilmiştir.



Şekil 4.7. Süperoksit radikali inhibisyonunun *Artemisia taurica* uçucu yağ derişimleriyle değişimi.



Şekil 4.8. Süperoksit radikali inhibisyonunun *Salvia kronenburgii* uçucu yağ derişimleriyle değişimi.

Uçucu yağların ve pozitif kontrollerin süper oksit oluşumu inhibisyonunda sahip oldukları en yüksek inhibisyon yüzdeleri ile süperoksit radikali oluşumunu % 50 inhibe eden derişimleri Çizelge 4.7.'de verildi.

Çizelge 4.7. *Artemisia* ve *Salvia* uçucu yağları ile pozitif kontrollerin en yüksek süperoksit radikali inhibisyon yüzdeleri ve süperoksit radikali oluşumunu % 50 inhibe eden derişimleri

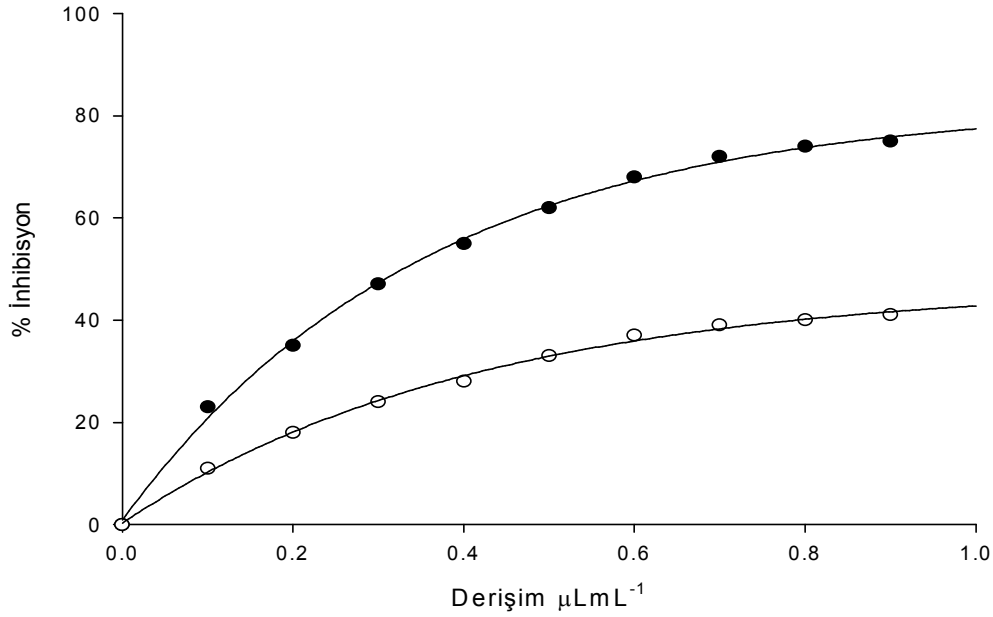
Örnekler	% Inhibisyon	IC <sub>50</sub> (µL mL <sup>-1</sup> )
<i>Artemisia</i> uçucu yağı	60.000 ± 4.810	0.205 ± 0.047
<i>Salvia</i> uçucu yağı	57.142 ± 3.092	0.335 ± 0.045
BHT	52.891 ± 0.858	55.242 ± 1.196
Askorbik asit	50.217 ± 0.716	82.512 ± 3.854

Süperoksit radikali gidermede %60 inhibisyon ile en yüksek aktivite *Artemisia* uçucu yağında gözlenirken %57 inhibisyonla *Salvia* uçucu yağı ikinci sırada yer almaktadır. Uçucu yağların süperoksit radikali süpürme aktiviteleri pozitif kontrollerle kıyaslandığında ise yağların, süperoksit radikali oluşumunu % 50 inhibe eden derişimleri her iki kontrolden daha yüksek olduğu bulundu. Pozitif kontrollerde ise BHT' nin, askorbik asite göre süperoksit radikali temizlemede daha aktif olduğu gözlemlendi.

#### 4.7. Ksantin Oksidaz Çalışmaları

Hekzanda farklı derişimlerde hazırlanan *Artemisia* ve *Salvia* uçucu yağlarının ksantin oksidaz enzimine etkileri çalışıldığında enzimin inhibe olduğu gözlemlendi. Farklı derişimlerdeki yağ çözeltilerine karşılık gözlenen inhibisyon yüzdeleri Şekil 4.9.'da verildi. Bu grafikten yararlanılarak hesaplanan uçucu yağların ksantin oksidaz inhibisyonunda sahip oldukları en yüksek inhibisyon yüzdeleri ve IC<sub>50</sub> değerleri ise Çizelge 4.8.'de verildi.





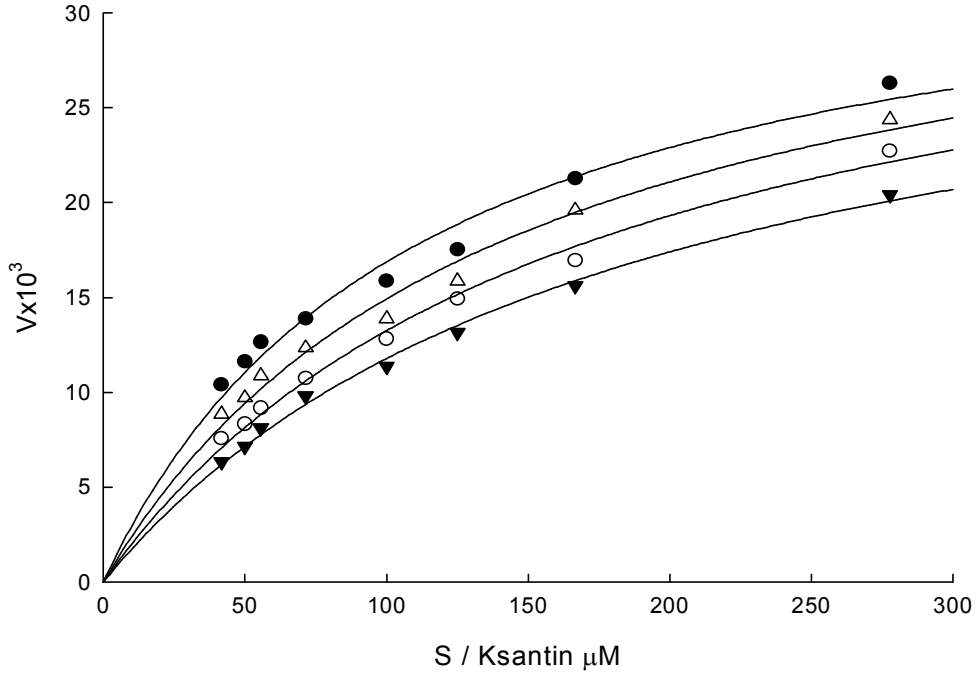
Şekil 4.9. Ksantin oksidaz inhibisyonunun *Artemisia taurica* (●) ve *Salvia kronenburgii* (o) uçucu yağ derişimleriyle değişimi.

Çizelge 4.8. *Artemisia* ve *Salvia* uçucu yağlarının ksantin oksidaz inhibisyon yüzdeleri ve IC<sub>50</sub> değerleri

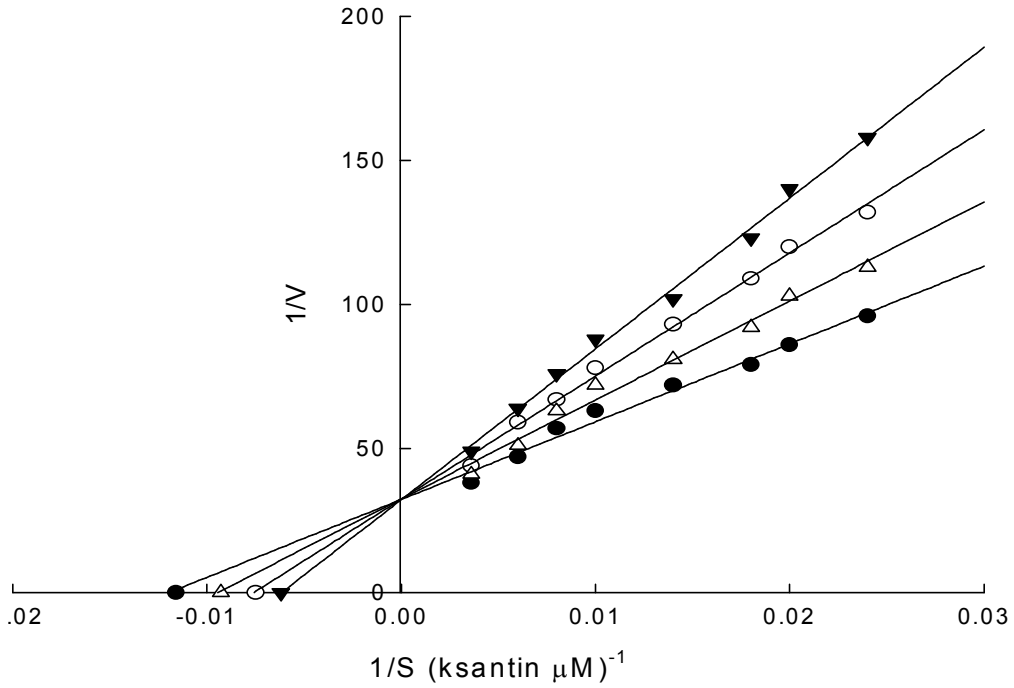
Örnekler	% Inhibisyon	IC <sub>50</sub> (µL mL <sup>-1</sup> )
<i>Artemisia</i> uçucu yağı	75.29 ± 0.1	0.321 ± 0.3
<i>Salvia</i> uçucu yağı	41.03 ± 0.7	—

Şekil 4.10.'da görüldüğü gibi ksantin oksidaz enzimini en yüksek inhibe eden uçucu yağ *Artemisia taurica* olarak belirlendi. *A.Taurica* uçucu yağının ksantin oksidazı % 50 inhibe eden IC<sub>50</sub> değerinin 0.321 ± 0.3 µL mL<sup>-1</sup> olduğu gözlenirken, *S.Kronenburgii* uçucu yağının ksantin oksidazı % 50 den daha az inhibe etmesinden ötürü IC<sub>50</sub> değeri gözlenmedi.

*Artemisia taurica* ve *Salvia kronenburgii* uçucu yağlarının inhibisyon kinetikleri çalışılıp, inhibisyon türlerinin bulunması amacıyla çizilen Michealis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri Şekil 4.10. ve Şekil 4.11.'de verildi.

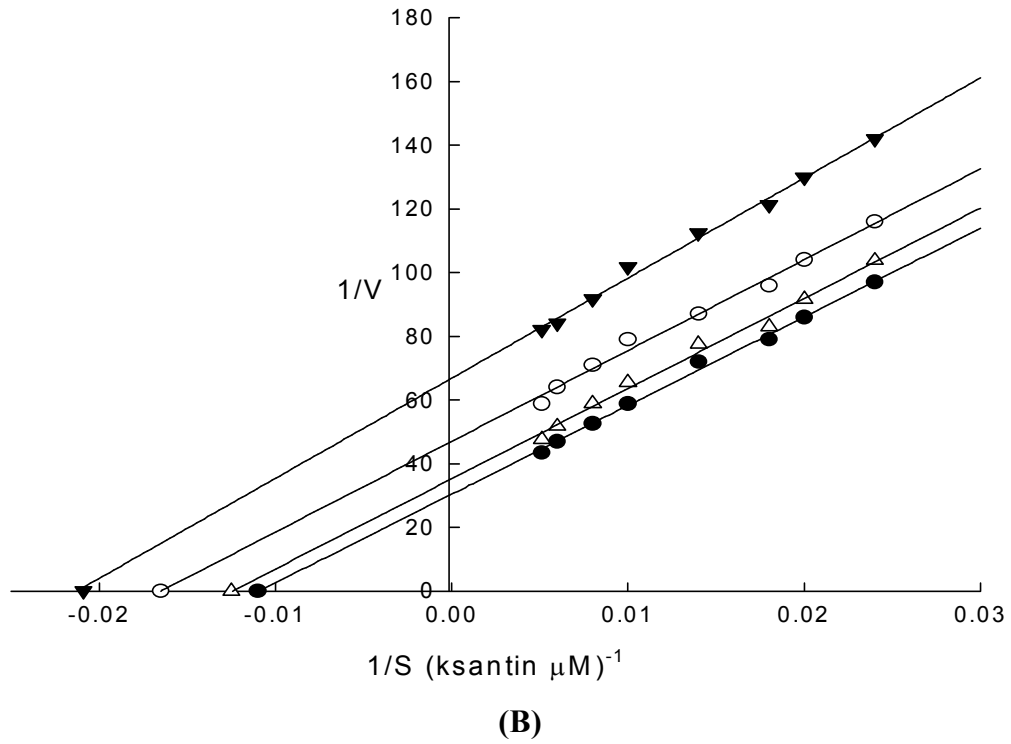
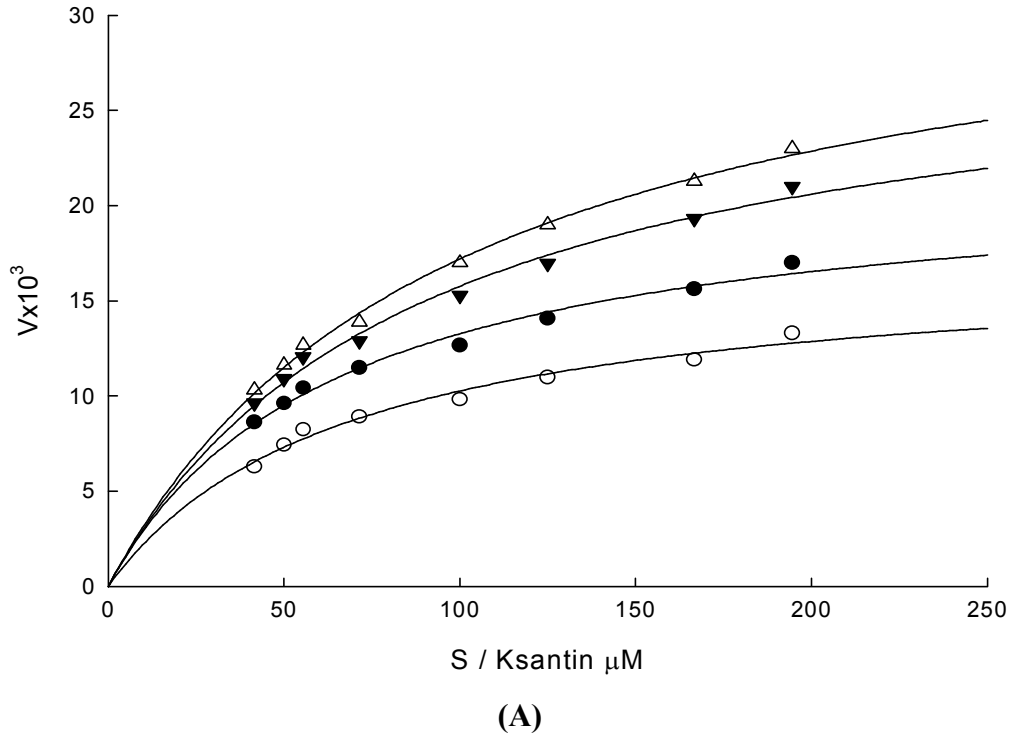


(A)



(B)

Şekil 4.10. Ksantin oksidaz'ın, *Artemisia taurica* uçucu yağı ile etkileşiminde (A) Michealis-Menten grafiği, (B) Lineweaver-Burk grafiği. (●: kontrol, *Artemisia Taurica*'nın derişimleri ▼: 0.64, ○: 0.32, ◇: 0.156  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ).



Şekil 4.11. Ksantin oksidaz'ın, *Salvia kronenburgii* uçucu yağı ile etkileşiminde (A) Michealis-Menten grafiği (◇: kontrol, *Salvia kronenburgii* 'nin derişimleri ●: 0.8 ▼: 0.3 ○: 1  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ). (B) Lineweaver-Burk grafiği (●: kontrol, *Salvia kronenburgii* 'nin derişimleri ▼: 1.0, ○: 0.8, ◇: 0.3  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ).

İnhibisyon türünü belirlemek amacıyla çizilen Lineweaver-Burk grafiğinden hesaplanan maksimum hız ( $V_{max}$ ) ve maksimum hızın yarısındaki substrat konsantrasyonu derişimi ( $K_m$ ) Çizelge 4.9.'da verildi.

Çizelge 4.9. Ksantin oksidaz ile farklı derişimlerdeki *Artemisia taurica* ve *Salvia kronenburgii* uçucu yağlarının etkileşiminde  $V_{max}$  ve  $K_m$  değerleri

Uçucu yağlar	Derişim ( $\mu\text{L mL}^{-1}$ )	$V_{max}$ ( $\mu\text{mol dk}^{-1}$ )	$K_m$ ( $\mu\text{M}^{-1}$ )
<i>Artemisia taurica</i>	Kontrol	0.0309	90.91
	0.64	0.0309	161.29
	0.32	0.0309	133.33
	0.156	0.0308	107.52
<i>Salvia kronenburgii</i>	Kontrol	0.0329	90.91
	0.3	0.0284	80.00
	0.8	0.0213	60.61
	1.0	0.0149	47.85

*Artemisia taurica* uçucu yağının enzim kinetik çalışmalarında, maksimum hız değişmezken,  $K_m$  değeri artmış olup, inhibisyon türünün; kompetitif (yarışmalı) inhibisyon olduğu gözlemlendi. *Salvia kronenburgii* uçucu yağının değişik derişimlerinde ise hem  $V_{max}$  hem de  $K_m$  değerleri azaldığından inhibisyon türünün; unkompetitif (yarişma dışı) inhibisyon olduğu saptandı.

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

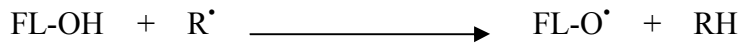
Günümüzde doğal florada bulunan birçok bitki ihtiva ettiği etkili maddeler yönünden hem halk arasında ilaç olarak kullanılmakta hemde üzerinde tıbbi çalışmalar yapılmaktadır. Özellikle uçucu yağlar eski tarihlerden beri tedavide kullanılan ilaçlar içerisinde yer almıştır. Farklı bitki ve baharatlardan elde edilen uçucu yağların bioaktif ilkeleri üzerindeki çalışmalar, bu yağların antimikrobiyal, antioksidan, antikanser aktivitesi gibi birçok fonksiyonel özelliğinin keşfedilmesi ayrıca doğal kaynaklı ilaçlarda görülmyen veya az olan yan etkilerin sentetik ilaçlarda dikkati çekecek kadar fazla olması nedeniyle popülerlik kazanmaktadır (Candan ve ark., 2003; Vardar ve ark., 2003). Bu çalışmada; *Artemisia taurica* Willd. ve *Salvia kronenburgii* Rech.Fil. bitkilerinin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağların kimyasal analizi ve serbest radikalleri (hidroksil, süperoksit ve DPPH) temizleyerek antioksidan özellik gösterip göstermediği ayrıca Ksantin oksidaz enzimine etkileri değerlendirilerek bitki üzerinde yapılacak daha sonraki farmakolojik çalışmalara ışık tutması amaçlanmıştır.

Deneysel çalışmalarımıza ilk olarak uçucu yağ eldesiyle başlandı. Bitkililerin uçucu yağ verimleri mL yağ / 100 g kuru bitki şeklinde Çizelge 4.1.'de verildi. 100 g kuru bitki örneklerinden en fazla uçucu yağ *Salvia kronenbugi* toprak üstü kısımlarından ( $0.716 \pm 0.035$  mL) elde edildi. *Artemisia taurica* uçucu yağının verimi ise  $0.590 \pm 0.065$  mL olarak belirlendi.

Çalışmamızda kullanılan her iki uçucu yağın toplam antioksidan aktiviteleri ile toplam fenol ve flavonoid içerikleri incelendi. mg gallik asit  $g^{-1}$  olarak verilen toplam fenol içeriğinin *Artemisia taurica* uçucu yağında  $5.137 \pm 0.050$  mg  $g^{-1}$ , *Salvia kronenburgii* uçucu yağında  $10.848 \pm 0.079$  mg  $g^{-1}$  olduğu belirlendi. mg kuersetin  $g^{-1}$  yağ şeklinde verilen toplam flavonoid içeriğinin ise *Artemisia taurica* uçucu yağı ( $7.984 \pm 0.233$  mg  $g^{-1}$ ), *Salvia kronenburgii* uçucu yağı ( $12.600 \pm 0.224$  mg  $g^{-1}$ ) sıralamasıyla arttığı bulundu. Toplam antioksidan aktivite mM  $\alpha$ -Tokoferol asetat  $gr^{-1}$  olarak verilerek *Artemisia taurica* uçucu yağı için  $438.4 \pm 4.198$  mM  $g^{-1}$ , *Salvia kronenburgii* uçucu yağı için  $818.4 \pm 7.563$  mM  $g^{-1}$  olarak belirlendi. Üzerinde çalıştığımız uçucu yağlarda toplam antioksidan aktivite ile toplam fenol ve flavonoid miktarları arasında doğru orantının olduğu görülmektedir. Bu durum bugüne kadar birçok bilimcinin ortaya koyduğu fenolik madde artışı ile antioksidan kapasitenin artması arasındaki doğru orantıyı birkez daha göstermektedir (Vinson ve ark., 1998; Yıldırım ve ark., 2000). Daha önceki çalışmalarda bazı araştırmacılar bitkilerdeki fenol ve flavonoid miktarı ile antioksidan aktivite arasında böyle bir pozitif korelasyon bulurken (Vinson ve ark., 1998; Gülçin ve ark., 2001) bazıları ise bu iki belirleme arasında böyle bir ilişki bulunmadığını (Maillard ve ark., 1995; Bacco ve ark., 1998) belirtmişlerdir. Buradanda toplam

antioksidan aktivitenin her zaman fenolik madde miktarına bağlı olmadığı ancak antioksidan aktivite belirlemede önemli bir parametre olduğunu söyleyebiliriz.

Bitkiler, doğal antioksidan bileşiklerin başlıca kaynağını oluşturmaktadır. Meyve ve sebzeler, baharatlar, bitkisel yağlar ve tohumların içermiş oldukları antioksidan bileşikler pek çok araştırmaya konu olmuş, antioksidan etkilerinin de fenolik bileşiklerden ve özellikle flavonoid yapısından kaynaklandığı gösterilmiştir (Dapkevicius ve ark., 1998; Merken ve ark., 2001). Fenolik bileşikler bitkilerde en fazla miktarda bulunan meyve ve çiçeklere renklerini veren, çevresel stres faktörlerine karşı bitkilerde koruma sağlayan fitokimyasallardır. Kimyasal yapı ve şekillerinden kaynaklanan farklılıklar nedeniyle fenolik bileşiklerin biyolojik sistemlerdeki etkileride farklıdır. Bitkilerde bulunan fenolik asitler, flavonoidler, izoflavonoidler ve tokoferoller başlıca fenolik bileşiklerdendir (Fidan ve Dündar, 2007). Fenolik bileşiklerin antioksidan etkisi; serbest radikallerin elektron veya hidrojen atomunu alarak, zincir tepkimelerini sonlandırarak serbest radikalleri temizleme, geçiş metalleriyle bileşik oluşturma, singlet oksijen atomunu engelleme veya azaltma gibi özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Fonksiyonel besinlerden biri olan flavonoidler antioksidan özellikleri olan önemli bileşenlerdendir. Birçok kronik hastalığın gelişmesinde serbest oksijen radikallerinin rolü olduğundan, antioksidan aktiviteye sahip olan flavonoidler daha da önem kazanmaktadır (Cotelle, 2001). Flavonoidler antioksidatif aktivitelerini ksantin oksidaz, lipoksigenaz ve siklooksijenaz gibi enzimleri inhibe ederek, metal iyonları ile şelat oluşturarak, diğer antioksidanlarla etkileşime girerek, süperoksit anyonları, lipid peroksil radikalleri ve hidroksil radikalleri gibi serbest radikalleri yakalayarak göstermektedirler. Flavonoidlerin antioksidan etkilerinin yanı sıra antiviral, antialerjik, antitümör gibi pek çok özellikleride bulunmaktadır. Fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesi onların redoks özelliklerinden dolayıdır. Flavonoidlerin düşük redoks potansiyeline sahip olmalarından dolayı ( $0.23 < E_T < 0.75$ ) redoks potansiyelleri 2.13-1.0 arasında olan okside olmuş süperoksit, hidroksil radikalleri gibi serbest radikallere hidrojen atomu vererek onları indirgeyebilirler.



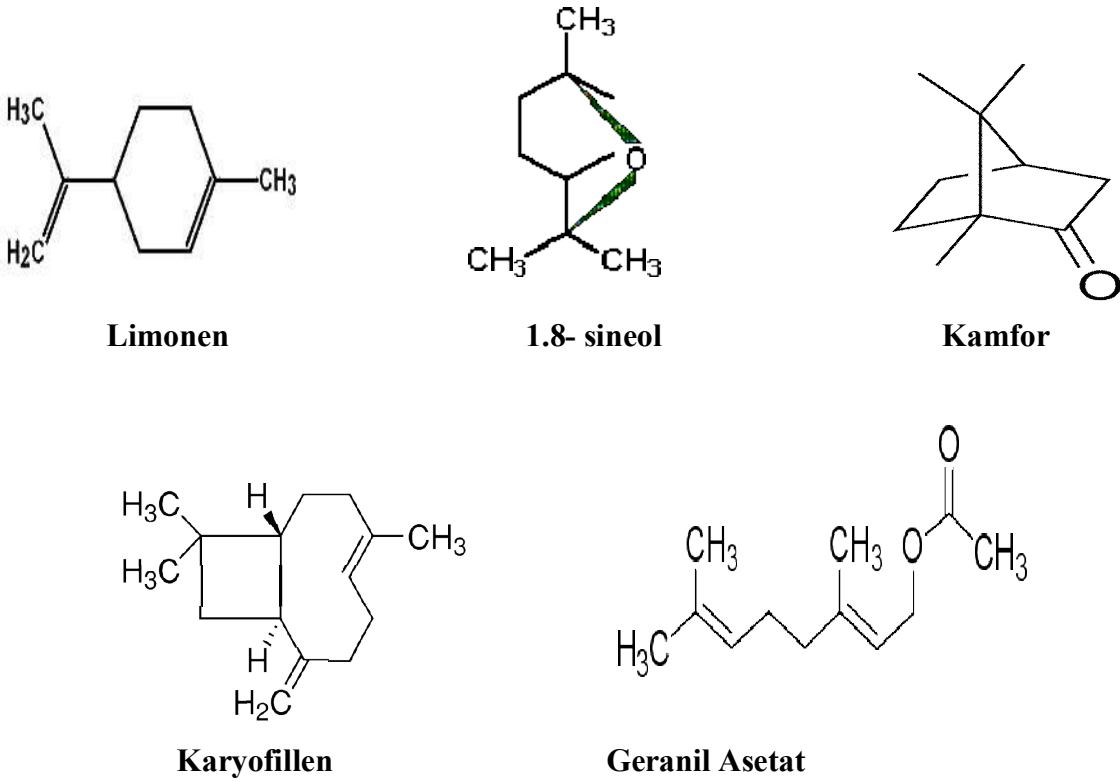
FL-O<sup>•</sup> radikali ikinci bir radikalle tepkime verebilir ve kararlı kinon yapısı elde edilir (Piette, 2000).

Çalışmamızda bitkilerden elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimini saptamak amacıyla GC-MS analizleri yapıldı. Yapılan analizler sonucunda; *Artemisia* uçucu yağında 9 bileşen tanımlandı ve bu bileşenlerinde toplam yağın % 99.42'sini oluşturduğu belirlendi. *Artemisia taurica* uçucu yağında ilk üç ana bileşen; kamfor (% 37.68), 1,8-sineol (% 35.57) ve trans karyofillen (%

13.95) olarak saptandı. Kozhina ve arkadaşlarının *Artemisia taurica* uçucu yağı üzerine yapmış oldukları çalışmada yağın ana bileşenleri, kamfor ve 1.8- sineol olarak belirlenmiştir (Kozhina ve ark., 1969). Bu literatür, aynı bitkinin toprak üstü kısımlarının uçucu yağlarının analiz edildiği çalışmamızdaki sonuçlara yakın benzerlik göstermektedir. Farklı *Artemisia* türlerinin uçucu yağ içeriklerine ilişkin birçok çalışma mevcuttur. *Artemisia alfa* uçucu yağının ana bileşenleri; kamfor (% 26.8), davanon (% 16.6), bornil asetat (% 3.8) olarak belirlenmiştir (Burst ve ark., 2001). Yine *Artemisia santanicum*, *Artemisia spicigera* ve *Artemisia absinthium* uçucu yağların da kamfor, 1.8- sineol, borneol, limonen, *Artemisia dracuncululus* uçucu yağında anethol, osimen ve limonen, *Artemisia annua* uçucu yağında ise kamfor, karyofillen ve selinen ana bileşenler olarak belirlenmiştir (Juteau ve ark., 2002; Sayyah ve ark., 2004; Kordali ve ark., 2005).

Van yöresine endemik bir tür olan *Salvia kronenburgii* uçucu yağının GC-MS analizi sonucunda yağın % 99.37'sine karşılık gelen 40 bileşen tanımlandı. İlk üç ana bileşen 1.8-sineol (% 24.75), limonen (% 20.62) ve geranil asetat (% 12.67) olarak belirlendi. Çalışmamız sonucunda belirlenen bu bileşenler Altun ve arkadaşlarının bitkinin uçucu yağ içeriğini belirlemek amacıyla yapmış oldukları çalışmanın sonuçlarıyla da benzerlik göstermiştir (Altun ve ark., 2007). *Salvia L.* cinsinin farklı türleriyle yapılan araştırmalarda *Salvia candidissima*'da  $\beta$ -pinen, *Salvia furitcosa* ve *Salvia tomentosa*'da 1.8-sineol, *Salvia officinallis*'de kamfor ana bileşenler olarak tesbit edilmiştir (Bayrak ve Akgül, 2001). Yine Demirci ve arkadaşlarının Türkiye'de endemik olarak yetişen *Salvia caespitosa*, *Salvia divaricota*, *Salvia hyporgeia* ve *Salvia pilifero* üzerine yaptıkları çalışmada ana bileşenler olarak pinen, limonen, 1.8-sineol ve thymol belirlenmiştir (Demirci ve ark., 2003). Görüldüğü gibi aynı bitki türünden elde edilen uçucu yağlarda kimyasal kompozisyon ve biyolojik aktiviteler yönünden farklılıklar bulunması bitkinin genetik yapısına, uçucu yağın elde edildiği organa ve çevresel etmenlerin değişimine bağlanabilmektedir (Karaman ve ark., 1999; Perry ve ark., 1999).

GC-MS analizleri sonucunda her iki uçucu yağın ilk üç ana bileşenleri göz önüne alındığında 1.8-sineol'ün ortak bileşen olduğu, *Salvia* uçucu yağında miktar olarak ilk ana bileşen iken *Artemisia* uçucu yağında ikinci ana bileşen olduğu görülmektedir. Uçucu yağlarda ana bileşen olupta ortak olmayan diğer bileşenler *Salvia* uçucu yağı için limonen ve geranil asetat; *Artemisia* uçucu yağı için kamfor ve trans karyofillen şeklindedir. Bu ana bileşenlerin kimyasal yapıları Şekil 5.1.'de verilmiştir.



Şekil 5.1. Uçucu yağlarda bulunan ana bileşenlerin kimyasal yapıları.

Bitkilerin uçucu yağlarında bulunan bu bileşenler incelendiğinde, 1.8-sineol, limonen, kamfor ve geranil asetat bileşiklerinin monoterpene yapıda oldukları, trans karyofillen'in ise seskiterpen olduğu görülmektedir.

Uçucu yağlarda bugüne kadar 2000'den fazla bileşenin bulunduğu gösterilmiştir (Toroğlu ve Çenet, 2006). Uçucu yağların kimyasal yapılarının en büyük grubunu terpenler oluşturmaktadır. Bununla birlikte az miktarda alkoller, aldehytlar, esterler, fenoller, azot ve kükürt içeren bileşikler bulunmaktadır (Kılıç, 2008). Terpenler hidrokarbonların geniş ve çeşitli bir sınıfıdır. Bitkilerde ve hayvanlarda birçok farklı işlevleri bulunurken gıdalarda aroma bileşenleri olarak önemlidirler. Terpenler izopren birimlerinden türetilirler. Bundan dolayı da terpenler izopren ( $C_5H_8$ ) birimlerine dönebilen doğal ürünler olarak tanımlanırlar. Monoterpenler, seskiterpenler, diterpenler, sesterpenler, tri ve tetra terpenler olarak incelenirler. Monoterpenler iki izopren ünitesinin bağlanmasıyla oluşan on karbonlu bileşiklerdir. Monoterpenler antispazmotik, antibakteriyel, antifungal ve hatta antikanser özellikleri nedeni ile geniş bir kullanım alanına sahiptirler. Seskiterpenler ise birçok farklı organizmada rastlanan büyük bir madde grubudur. Seskiterpenler fizyolojik etkileri yönünden incelendiklerinde taşıdıkları bileşiklerden ileri gelen fitotoksik ve antibiyotik özellikleri olduğu görülmüştür (Beal, 1991).



*Artemisia* ve *Salvia* uçucu yağlarında ortak ana bileşen olarak bulunan 1.8-sineol antibakteriyel, antialerjik, sedatif (sakinleştirici), antilaryngitic (ses tellerinde oluşan enfeksiyonlara karşı), hypotensive (tansiyon düşürücü) gibi özellikleri olan ve antiinflatuvar etkisi nedeniyle astım ve bronşit gibi hastalıkların tedavisinde kullanılan bir monoterpendir (Juergens ve ark., 2003; Faleiro ve ark., 2003).

*Salvia* uçucu yağının ikinci ana bileşeni olan DL-limonen ise turunçgillerin ve diğer birçok bitki türünün yapısında yaygın olarak bulunan bir monoterpendir. Kokusu nedeniyle kozmetik sanayisinde ve temizlik ürünlerinde kullanılmaktadır. Çalışmalar; limonenin antiinflamatuvar, antikanser, antimikrobiyal etkisinin olduğunu, hayvanlar üzerinde yapılan deneylerde de antitümör etkiye sahip olduğunu kanıtlamıştır. Bu etkilerinin yanı sıra kalp ve damar tıkanıklıklarında etkilidir (Mazzanti ve ark., 1998; Sever ve Özbek., 2005; Özbek ve ark., 2007). *Salvia* uçucu yağının üçüncü ana bileşeni olan geranil asetatın sedatif, antibakteriyel, antivirütik ve ferahlatıcı etkileri tanımlanmıştır (Lima ve ark., 1996; Duarte ve ark., 2006).

*Artemisia* uçucu yağının ilk ana bileşeni olarak belirlenen kamfor tabiatta birçok bitkinin yapısında bulunan bisiklik monoterpendir. Kan dolaşımını kuvvetlendirici, kalp yetmezliğini giderici, akciğer hastalıklarını giderici ve antibakteriyel özelliklere sahiptir (Baricevic ve ark., 2001; Mirva ve ark., 2001; Copek ve ark., 2003). *Artemisia* uçucu yağının % 19.95'lik kısmını oluşturan üçüncü ana bileşeni karyofillenin ise antiinflamatuvar (iltahap giderici) özellik gösterdiği bildirilmiştir (Kamatou ve ark., 2005; Duarte ve ark., 2006).

Doğal antioksidanlar, oksidatif hasara karşı dokuları veya hücreleri koruyucu özellikleri göz önüne alındığında yaşlanmaya, doku hasarına, toksik ajanlar ile zehirlenmeye ve birçok hastalığa karşı koruyucu ajanlar olarak gösterilmektedirler (Ito ve Hirose, 1989). Bu nedenle son yıllarda antioksidan özellik gösteren bileşikler hakkındaki araştırma ve uygulamalar gittikçe güncellik kazanmaktadır. Bitkiler, bitki özütleri ve esansiyel yağlarının değişen derecelerde antimikrobiyal, antioksidan, antifungal vs. gibi etkilere sahip oldukları tarihin eski dönemlerinden beri bilinmektedir. Tıbbi bitkilerden elde edilen ekstraktların gıdalarda koruyucu olarak, eczacılıkta, tıpta, parfüm ve kozmetik gibi birçok alanda kullanılan hammaddeler olmaları nedeniyle çok sayıda araştırma ele alınmış ve antioksidan etkilerinin olduğuna dair önemli sonuçlar elde edilmiştir (Nielson ve Rios, 2000; Karanika ve ark., 2001). Bitki özütlerinin hidroksil, süperoksit, hidrojen peroksit gibi serbest radikalleri temizleme özellikleri ve bu özütlerin DPPH radikali üzerine etkileri ile ilgili çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Dülger ve ark., 1999; Koşar ve ark., 2002; Parejo ve ark., 2002; Karanika ve ark., 2001; Abid ve ark., 2007). Ancak bitki uçucu yağlarının reaktif oksijen türlerine (ROT) etkisi ile ilgili çok az çalışma mevcuttur (Candan ve ark., 2003; Vardar ve ark., 2003; Kordali ve ark., 2005). Çalışmamızda kullanılan *Artemisia taurica* ve *Salvia kronenburgii*

uçucu yağlarının ROT'lara etkisi ile ilgili literatüre rastlanmamıştır. ROT'ların yaşlanma, diyabet, kanser gibi birçok kronik hastalığın oluşumunda önemli oldukları bilindiğinden, çalışmamızda *Artemisia* ve *Salvia* uçucu yağlarının antioksidan özelliklerinin daha detaylı incelenmesi amacıyla bu yağların reaktif oksijen türlerini süpürücü aktiviteleri incelendi.

Uçucu yağların DPPH radikali inhibisyon özellikleri; % inhibisyon değerlerine göre incelendiğinde  $83.712 \pm 0.408$  inhibisyonla DPPH radikalini süpürücü en yüksek aktivite *Salvia* uçucu yağında gözlemlendi. *Artemisia* uçucu yağının % inhibisyon değeri ise  $82.175 \pm 0.366$  olarak belirlendi. Uçucu yağların DPPH radikalinin % 50 sini süpürdüğü derişimlere bakıldığında yüksek radikal süpürücü etki, % inhibisyon değerine paralel olarak *Salvia* uçucu yağında ( $7.438 \pm 0.100 \mu\text{L mL}^{-1}$ ) gözlemlendi. *Artemisia* uçucu yağında ise radikal süpürücü etkinin ( $14.238 \pm 0.129 \mu\text{L mL}^{-1}$ ) daha düşük olduğu belirlendi. Bilindiği gibi düşük  $\text{IC}_{50}$  değeri yüksek antioksidan kapasiteyi göstermektedir. Elde edilen uçucu yağların DPPH radikalini süpürücü etkisi pozitif kontrollerle karşılaştırıldığında (BHT ve askorbik asit), pozitif kontrollerin bu radikali süpürmede yağlara göre daha zayıf oldukları belirlendi.

Hidroksil radikali; DNA bazı, lipidler, aminoasitler ve karbohidratlar gibi canlı hücrelerde bulunan moleküller için en zararlı olan serbest radikal türüdür.  $\text{Fe}^{+3}$ /askorbat/EDTA/ $\text{H}_2\text{O}_2$  sistemi ile oluşturulan hidroksil radikali ile deoksiribozun bozunmasının, çalışılan yağ örnekleriyle inhibe edildiği bulunmuştur. Çalışmamızda *Artemisia* ve *Salvia* uçucu yağlarının hidroksil radikalini süpürmede pozitif kontrollerden daha etkin oldukları belirlendi. *Artemisia* ve *Salvia* uçucu yağlarının  $\text{IC}_{50}$  değerleri sırasıyla  $0.404 \pm 0.016 \mu\text{L mL}^{-1}$  ve  $0.192 \pm 0.001 \mu\text{L mL}^{-1}$  olarak bulundu. Bu değerler süpürme gücünün bir ölçüsü olan % inhibisyon değerleriyle de uygunluk gösterdi. *Salvia* uçucu yağında hidroksil radikalini süpürme aktivitesinin daha yüksek bulunması içermiş olduğu fenol ve flavanoid miktarına bağlanabilir.

Bilindiği gibi süperoksit radikali hem çevresel etkenler, hemde organizmadaki enzimatik ve enzimatik olmayan tepkimelerde en çok ve en kolay üretilen reaktif oksijen türüdür. Uzun bir yarı ömre sahip olup bu özelliğinden dolayıda olduğu bölgelerden daha uzak bölgelere taşınabilir. Bu nedenle biyolojik sistemlerde önemli bir yere sahip olan radikaldir. Çalışmamızda uçucu yağların süperoksit radikali inhibisyon yüzdeleri karşılaştırıldığında %  $60.00 \pm 4.810$  inhibisyon yüzdesiyle *Artemisia* uçucu yağının *Salvia* uçucu yağına göre (%  $57.142 \pm 3.092$ ) daha etkin olduğu bulundu. Yağların süperoksit radikalinin % 50'sini süpürdüğü  $\text{IC}_{50}$  değerleride; *Artemisia* uçucu yağında  $0.189 \pm 0.049 \mu\text{L mL}^{-1}$ , *Salvia* uçucu yağında ise  $0.335 \pm 0.045 \mu\text{L mL}^{-1}$  olarak belirlendi. Bu sonuçlardan uçucu yağların artan süperoksit radikali inhibisyon yüzdeleri ile azalan  $\text{IC}_{50}$  değerlerinin paralel olduğu görülmektedir. Yine elde edilen uçucu yağların süperoksit radikali

inhibisyon etkileri pozitif kontrollerle karşılaştırıldığında (BHT ve askorbik asit), pozitif kontrollerin yağlara göre daha zayıf oldukları belirlenmiştir.

Deneyimizin son aşamasında uçucu yağların ksantin oksidaz enzimine etkileri incelendi. Bilindiği gibi ksantin oksidaz enzimi süperoksit anyon radikalinin en önemli kaynaklarından birisidir. Hipoksantini ksantine, ksantini ise ürik aside dönüştüren tepkimeleri katalizler. Bu esnada moleküler oksijen indirgenerek süperoksit anyonuna dönüştürülür. Bitki özütlerinin ksantin oksidaz enzimi inhibisyonu ve inhibisyon kinetiği ile ilgili birçok çalışma mevcuttur (Sweeney ve ark., 2001; Candan, 2003; Filha ve ark., 2006; Lin ve ark., 2008). Chrysin, luteolin, flavon, kuersetin gibi birçok flavonoidin de ksantin oksidaz inhibisyonuna sebep oldukları belirlenmiştir (Nagao ve ark., 1999). Literatür taramalarımız sonucunda *Artemisia taurica* ve *Salvia kronenburgii* uçucu yağlarının ksantin oksidaz inhibisyonu ve inhibisyon kinetiği ile ilgili literatüre rastlanmamıştır.

Uçucu yağların inhibisyonları Çizelge 4.8.'de verilen  $IC_{50}$  değerleri göz önüne alınarak değerlendirildiğinde *Artemisia* uçucu yağının % 75 inhibisyon yüzdesi ( $IC_{50} = 0.321 \pm 0.3 \mu L mL^{-1}$ ) ile ksantin oksidaz inhibisyonunda en etkin uçucu yağ olduğu gözlemlendi. *Salvia* uçucu yağının % 41 inhibisyon yüzdesine sahip olduğu belirlendi, ksantin oksidazı % 50 inhibe edecek aktivite göstermediğinden  $IC_{50}$  değeri gözlenmedi.

Uçucu yağların, toplam antioksidan aktivite ve DPPH ile hidroksil radikali temizleme özelliklerinin, toplam fenol ve flavonoid miktarları arasında doğru orantının olduğu gözlenmişti. Ancak uçucu yağların süperoksit radikallerini temizlemesi ile fenol ve flavonoid miktarları arasında doğru orantının olmadığı gözlemlendi. Uçucu yağlarla toplam fenol, flavonoid miktarları ile toplam antioksidan aktiviteleri karşılaştırıldığında, *Salvia* uçucu yağının daha yüksek değerlere sahip olduğu bulunmuş olmasına rağmen süperoksit radikali gidermede %60 inhibisyon ile en yüksek aktivite *Artemisia* uçucu yağında gözlemlendi. Bu da süperoksit radikalini üreten mekanizmanın yani ksantin oksidaz inhibisyonunun *Artemisia* uçucu yağında daha fazla olmasıyla açıklanabilir.

Çalışmamızda uçucu yağların ksantin oksidaz enzimi için inhibitör madde içerdiği görülünce tepkimenin inhibisyon türünü saptamak amacıyla inhibisyon kinetikleri çalışıldı. İnhibisyon türlerini belirlemek amacıyla Lineweaver-Burk grafiği çizildi ve tepkimeler için  $V_{max}$  ve  $K_m$  değerleri tesbit edildi. *Artemisia* uçucu yağının artan derişimleriyle birlikte  $V_{max}$  değişmeyip  $K_m$  değeri arttığından inhibisyon türünün kompetitif (yarışmalı) inhibisyon olduğu belirlendi. Kompetitif inhibitörler serbest enzimin aktif bölgesine bağlanmak için substratla yarışmakta ve enzim- substrat kompleksini oluşturarak inhibisyona neden olmaktadır. Substrat derişimi arttırılarak inhibisyon önlenabilir.

*Salvia kronenburgii* uçucu yağının artan derişimlerine karşın hem  $V_{max}$  hemde  $K_m$  değeri azaldığından inhibisyon türünün unkompetitif (yarışma dışı) inhibisyon olduğu saptandı. Unkompetitif inhibitörler, serbest enzime değil, enzim-substrat kompleksine bağlanarak, enzim-

substrat-inhibitör kompleksini oluştururlar. Unkompetitif inhibitör ve substrat enzim üzerinde aynı bölgeye bağlanmak için yarışmadığından substrat derişiminin arttırılması inhibisyonu önlemez.

Yapılan tüm in-vitro çalışmalar sonucunda; *Artemisia taurica* ve *Salvia kronenburgii* uçucu yağlarının reaktif oksijen türleri ve ksantin oksidaz enzimi inhibisyonunda etkin oldukları gözlemlendi. *Artemisia* uçucu yağının süperoksit radikali ve ksantin oksidaz enzimi inhibisyonunda *Salvia* uçucu yağına oranla daha etkin olduğu, *Salvia* uçucu yağının ise hidroksil radikalini ve DPPH'ı süpürmede etkin olduğu belirlendi. Tüm sonuçlar doğrultusunda bu bitkilerin, antioksidan oldukları gözlenmiş ve reaktif oksijen türlerinin sebep olduğu bir çok hastalığın tedavisinde ve hatta ksantin oksidaz inhibitörü olan allopurinol gibi gut hastalıklarının tedavisinde kullanılabileceği düşünülebilir. Ancak bu olası fikirlerin in vivo çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

- Adid, Z. B., Feki, M., Hedhili, A., Hamdaovi, M. H., 2007. Artemisia herba-alba Asso equivalent effects to green and black tea decoctions on antioxidant parameters in rats. *Annals of Nutrition and Metabolism*, **51** (3): 216-222.
- Akkuş, İ., 1995. *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*. Selçuk Üniversitesi Yayınları, Konya.
- Altun, M., Ünal, M., Kocagöz, T., Gören, A. C., 2007. Essential oil compositions and antimicrobial activity of Salvia species. *Journal of essential oil-Bearing Plants*, **10** (3): 251-258.
- Ames, B. N., Shigenaga, M. K., Hagen, T. M., 1993. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **90** (17): 7915-7922.
- Ayan, A. K., Çalışkan, Ö., Çırak, C., 2006. Economical Importance of Stinging Nettle (*Urtica* spp). And Its Cultivation. *J. of Fac. of Agric.*, **21** (3): 357- 363.
- Bacco, A., Cuvelier, M. E., Richard, H., Berset. C., 1998. Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**: 2123-2129.
- Bağcı, E., Koçak, A., 2008. Composition of Essential oils of *Salvia palaestina* Bentham and *S. Tomentosa* Miller species, a chemataxonomical approach. *Science and Eng. J. Firat Univ.*, **20** (1): 35-41.
- Baricevic, D., Sosa, S., Loggia, R.D., Tubaro, A., Simorovska, B., Kransa, A., Zupannic, A., 2001. Tropical antiinflammatory activity of *Salvia officinallis* L. *J. Ethnopharmacol.*, **75**: 125-132.
- Bast, A., Haenen, G. R. M. M., Cees, J. A. D., 1997. Oxidants and antioxidants. *The American Journal of Medicine*, 91-135.
- Başer, H. K. C., Gülbaba, A. G., Azcan, N., Kara, M., Kırımer, N., Küçüköğlü, M., Özerk, T., Özkurt, N., 2000. Türkiye’de yetiştirilen bazı okaliptüs türlerinin uçucu yağ verim bileşimlerinin ve üretim teknolojilerinin belirlenmesi. *Orman Bakanlığı Dergisi*, Yayın No: 11.
- Başer, H. K. C., 2002. Aromatic biodiversity among the flowering plant taxa of Turkey. *Pure Appl. Chem.*, **4** (74): 527-545.
- Bayrak, A., Akgül, A., 2001. Composition of essential oils from Turkish *Salvia* species *Phytochemistry*, **26**: 846-847.
- Baytop, A., 1991. *Farmasotik Botanik Ders Kitabı*. İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Yayınları, No: 58, İstanbul. 255-256.

- Baytop, T., 1999. *Türkiyede Tıbbi Bitkiler ile Tedavi*. İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Yayınları, ikinci baskı, İstanbul. 275-350.
- Beal, M. H., 1991. Biosynthesis of C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub> Terpenoid Compounds. *Nat. Prod. Rep.*, 441-454.
- Burger, M. R., Berkowitz, R. A., Peisach, J., Horvitz, B., 1980. Origin of Malondialdehyde from DNA Degraded by Fe(II) Bleomycin. *The Journal of Biological Chemistry*, **225** (24): 11832-11838.
- Burits, M., Asres, K., Bucar, F., 2001. The antioxidant activity of the essential oils of *Artemisia afra*, *Artemisia abyssinica* and *Juniperus procera*. *Phytotherapy Research*, **15**: 103-108.
- Caı, H., Harrison, D.G., 2000. Endothelial Dysfunction in Cardiovascular Diseases : The Role of Oxidant Stres. *American Heart Association, Inc. Circ Res.*, **87**: 840-844.
- Caldefie-Chezet, F., Fusillier, C., Jarde, T., Laroye, H., Damez, M., Vasson, M.P., Guillot, J., 2006. Potential anti-inflammatory effects of *Melaleuca alternifolia* essential oil in human peripheral blood leukocytes. *Phytotherapy Res.*, **20**: 364-370.
- Candan, F., 2003. Effect of *Rhus coriaria* L. (Anacardiaceae) on Superoxide Radical Scavenging and Xanthine Oxidase Activity. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, **18** (1): 59-62.
- Candan, F., Unlu, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Somken, A., Akpulat, H., 2003. Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). *J. Ethnopharmacol.*, **87** (2-3): 215-20.
- Capek, P., Hribalova, V., Suondova, E., Ebringerova, A., Sasinkova, V., Massorova, C., 2003. Characterization of immunomodulatory polysaccharides from *Salvia officinalis* L. *Int. J. Biol. Macromol.*, **33**: 113-119.
- Champe, P. C., Harvey, R. A., 1997. *Purin Nükleotidlerinin Yıkımı*. (Editörler: Tokullugil, A., Dirican, E., Ulukaya, E.) Lippincott's Illustrated Reviews Biyokimya. İkinci baskı Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul. 348-351.
- Cheeseman, K. H., Slater, T. F., 1993. An Introduction to free Radical Biochemistry. *Br. Med. Bull.*, **49** (3): 481-493.
- Cotelle, N., 2001. Role of Flavanoids In Oxidative Stress. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, **1**: 569-590.
- Cuendet, M., Hostettmann, K., Potterat, O., 1997. Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. *Helv. Chim. Acta.*, **80**: 1144-1152.
- Çakatay, U., Kayalı, R., 2006. The Evulation of Free Radical Biochemistry in Historical Perspective. *Cerrahpaşa J. Med.*, **37**: 162-167.

- Çakır, M., 1997. *Aspirin ve vitamin E'nin farelerde karaciğer total süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitelerine etkileri* (Yüksek Lisans Tezi). Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı. Samsun.
- Çavdar, C., Sifil, A., Çamsarı, T., 1997. Reactive Oxygen Particles and Antioxidant Defence. *Journal of the Turkish Nephrology*, **4**: 92-95.
- Çelik, E., Yuvalı, G., 2007. Bitki Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Özellikleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, **2** (5): 1-6.
- Çete. S., Arslan, F., Yaşar, A., 2005. Investigation of antimicrobial effects against some microorganisms of Aloe Vera and Nerium Oleander Also examination of the effects on the xantine oxidase activity in liver tissue treated with cyclosporin. *G. U. Journal of Science*, **18** (3): 375-380.
- Çiriğ, N., Seçmen, Ö., 1990. Salvia Kronenburgii Rech.Fill. Türü Üzerinde Morfolojik Taksomik ve Ekolojik Çalışmalar. *Ulusal Biyoloji Kongresi Botanik Bildirileri*. 18-20 Temmuz 1990. Erzurum. 325-330.
- Dapkevicius, A., Venskotonis, R., Beek, T. A., Linssen, J. P. H., 1998. Antioxidant Activity, of Extracts Obtained by Different Isolation Procedures from Some Aromatic Herbs Grown in Lithuania. *J. Sci. Food Agric.*, **77**: 140-146.
- Davis, P. H., 1975. *Flora of Turkey and East Aegan Islands*. Edinburg at the university press. Vol: 5. 323.
- Demirci, B., Başer, K. H., Yıldız, B., Bahcecioğlu, Z., 2003. Composition of the essential oils of six endemic Salvia spp. From Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*, **18**: 116-121.
- Desco M. C., Asensi, M., Marquez R., 2002. Xanthine Oxidase is involved in free radical production in type I diabetes : protection by allopurinol. *Diabetes*. **51** (4): 1118-24.
- Dı Mascio, P., Murphy, M. E., Sies, H., 1991. Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols and triols. *Am. J. Clin. Nutr.*, **53**: 194-200.
- Dikici, İ., 1999. *Akut viral hepatitlerle interferon tedavisi görmüş kronik kronik viral hepatitlerde oksidatif stresin araştırılması* (Uzmanlık Tezi). Selçuk Üniversitesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Konya.
- Duarte, M. C., Leme, E. E., Delarmelina, C., Soares, A. A., Figueira, G. M., Sartora, A., 2006. Activity of essential oils from Brazilian medicinal plants on Escherichia coli. *J. Ethnopharmacol*, **111** (2): 197-201.
- Dülger, B., Ceylan, M., Alıtsaous, M., Uğurlu, E., 1999. Artemisia absinthium L.'nin Antimikrobiyal Aktivitesi. *Tr. J. Of Biology*, **23**: 377-384.

- Dorman, H. J. D., Surai, P., Deans, S. G., 2000. Aromatic & Med Plant Grp, Auchincruive KA6 5HW, Scotland. *In vitro* antioxidant activity of a number of plant essential oils and phytoconstituents. ***J. Essent. Oil Res.***, **12** (2): 241-248.
- Ebrahimzadeh, M. A., Pourmorad, F., Hafezi, S., 2008. Antioxidant Activites of Iranian Corn Silk. ***Turk J. Biol.***, **32**: 43-49.
- Faleiro, M. L., Migvel, M. G., Ladeiro, F., Venancio, F., Tavares, R., Brito, J. C., Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Pedro, L. G., 2003. Antimicrobial activity of essential oils isolated from Portuguese Endemic Species of Thymus. ***Lett Appl Microbiol.***, **36** (1): 35-40.
- Fellah, S., Diouf, P. N., Petrissans, M., Perin, D., 2006. Chemical composition and antioxidant properties of *Salvia officinalis* L. Oil from two culture sites in Tunisia. ***Journal of Essential Oil Research: JEO.***, Sept/Oct .
- Ferrari, R., Ceconi, K., Curello, S., Cargnoni, A., Alfieri, O., Pardini, A., Marzollo, P., Visioli, O., 1991. Oxygen free radicals and myocardial damage protective role of thiol containing agents. ***Am. J. Med.***, **91**: 95-105.
- Fırat, S., 1997. ***Kobaylarda radyasyonla oluşan akciğer hasarında doku glutatyon, glutatyon peroksidaz, glutatyon-S-Transferaz düzeyleri ve N-asetil sisteinin bu sistem üzerindeki etkisi*** (Uzmanlık Tezi). Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara.
- Fidan, A. F., Dündar, Y., 2007. *Yucca Schidigera* ve İçerdiği Saponinler İle Fenolik Bileşiklerinin Hipokolesterolemik ve Antioksidan Etkileri. ***Lalahan Hay. Araşt. Derg.***, **47** (2): 31-39.
- Filha-Feraz, Z., Vitolo, I. F., Fietto, L. G., Lombardi, A. J., Guimaraes, D., 2006. Xanthine oxidase inhibitory activity of *Lychnophora* species from Brazil (Arnica). ***Journal of Ethnopharmacology.*** **107**: 79-82.
- Frei, B., 1994. Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: Mechanisms of Action. ***The American Journal of Medicine.*** **97**: 26-55.
- Gamez-Meza, N., Noriega-Rodriguez, J.A., Medina-Juarez, L.A., Ortega-Garcia, J., Cazarez-Casanova, R., Argulo-Guerreo, O., 1999. Antioxidant Activity in Soybean Oil of Extracts from Thompson Grape Bagasse. ***Jaocs.*** **76**: 1445-1447.
- Gökpinar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., Durmaz, Y., 2006. Algal Antioksidanlar. ***EÜ. Su Ürünleri Dergisi.*** **23**: 85-89.
- Graven, E. H., Webber, L., Venter, M., Gardner, J. B., 1990. The Development of *Artemisia afra* as a.
- Guemouri, L., Artur, Y., Herbeth, B., Jeandel, C., Cuny, G., Slest, G., 1991. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in blood. ***Clin. Chem.***, **37** (11): 1932-1937.



- Gutteridge, J. M. C., 1995. Lipid Peroxidation and Antioxidants as Biomarkes of Tissue Damage. *Clin. Chem.*, **41**:1819.
- Gülçin, İ., Oğuz, M. T., Beydemir, Ş., Küfrevioğlu, Ö. İ., 2004. Evaluation of the Antioxidant ve Antimicrobial Activites of Clary Sage. *Turk J. Agric For.*, **28**: 25-33.
- Günaydın, B., Çelebi, H., 2003. Genel Anesteziklerin Serbest Radikaller ve Antioksidanlarla İlişkileri. *Anestezi Dergisi*, **11** (2): 87-98.
- Halliwell, B., Chirico, S., 1993. Lipid Peroxidation: Its mechanism, measurement and significance. *Am. J. Clin. Nutr.*, **57**: 715-724.
- Halliwell, B. G., 1997. Antioxidants and human diseases: a general introduction. *Nutr. Rev.*, **55**: 44-52.
- Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C., 2001. *Free radicals in biology and Medicine*. Oxford University Pres. Oxford.
- Halliwell, B., 2003. Oxidative stress in cell culture: an under appreciated problem? *Febs Letters*, **540**: 3-6.
- Hu, S., Liu, C. C., 1998. Amperometric sensor or fish freshness based on immobilized multi-enzyme modified electrode. *Electroanalysis*, **9**: 1229-1231.
- Ikram, M., Shafi, N., Mir, J., Do, M., Naguyen, P., Le Quesne P. W., 1977. 24-Zeta Ethylcholesta-7, 22-dien-36 eta-ol; apossibly antipyretic Contituent of Artemisia absinthium. *Planta Med.*, **53**: 389-395.
- Ito, N., Hirose, M., 1989. Antioxidants carcinogenic and chemopreventive properties. *Adv. Cancer Res.* **53**: 247-302.
- İşlekel, H., İşlekel, S., Güner, G., 2000. Biochemical Mechanism and Tissue Injury of Cerebral Ischemia and Reperfusion. *Journal of Neurological Sciences*, **17**: 2-12.
- Jalal, I., Fuller, C. J., 1993. Oxidized LDL and antioxidants. *Clin. Cardiol.*, **16** (4): 6-9.
- Juergens, U. R., Dethlefsen, U., Steinkamp, G., Gillissen, A., Repges, R., Vetter, H., 2003. Antiinflamatory activity of 1,8- cineol in broncihial asthma: a double blind-placebo controlled trial. *Respir Med.*, **97** (3): 250-256.
- Juteau, F., Masotti, V., Bessiere, J.M., Dherbomez, M., Viano, J., 2002. Antibacterial and antioxidant activites of Artemisia annua essential oil. *Fitoterapia*, **73**: 532-535.
- Kamatou, G. P., Viljoen, A., Gano-Blowyo, A. B., Vuuren, S. F., Lourens, A.C. Başer, H. Demirci, B., Lindsey, K. L., Van Staden, J., Steen Kamp, P., 2005. The in vivo pharmacolocial activites and chemical investigation of three South African Salvia species. *J. Ethnopharmacol*, **102** (3): 382-390.

- Karaman, S., Digrak, M., Ravid, U., Ilcim, A., 2001. Antibacterial and Antifungal Activity of the Essential Oils of *Thymus revolutus* Celak from Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, **76**: 183-186.
- Karanika, M. S., Komaitis, M., Aggelis, G., 2001. Effect of Aqueous Extract of Some Plants of Lamiaceae Family on the Growth of *Yarrowia Lipolytia*. *Int. Journal of Food Mic.*, **64**: 175-181.
- Kılıç, A., 2008. Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, **10** (3): 37-45.
- Kılınç, K., 1985. Serbest oksijen radikallerinin biyokimyasal etkileri ve metabolizması. *Biyokimya Dergisi*, **2**: 60-89.
- Kocabaş, I., Sönmez, İ., Kalkan, H., Kaplan, M., 2007. Farklı organik gübrelerin adaçayının uçucu yağ oranı ve bitki besin maddeleri içeriğine etkileri. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, **20** (1): 105-110.
- Konukoğlu, D., 2000. *Tus'a Hazırlık Biyokimya*. Nobel Tıp Kitapevleri, Alemdar Ofset. İstanbul.
- Kordali, S., Kotan, R., Mavi, A., 2005. Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisia absinthium*, *A.dracunculus*, *Artemisia santonicum*, and *Artemisia spicigera* essential oils. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, **53** (24): 9452-9458.
- Koşar, M., Bozan, B., Temelli, F., Başer, H. C. K., 2002. Sumak (*Rhus Coriaria*)'ın Fenolik Bileşikleri ve Antioksidan Etkileri. *14. Bilimsel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildirileri*. 29-31 Mayıs. Eskişehir. 113-124.
- Kozhina, I. S., Kovaleva, V. I., Bukreeva. T. V., 1969. A study of the essential oil of *Artemisia taurica*. *Chemistry of Natural Compound*, **4** (1): 144.
- Köse, K., Doğan, P., 1992. Lipid Peroxidasyonu. *Erciyes Üniv. Tıp Dergisi*, Ek sayı, 340-350.
- Kunchandy, E., Rao, M. N. A., 1990. Oxygen radical scavenging activity of curcumin. *Int. J. Pharmacog.*, **58**: 237-240.
- Kuzuya, T., Hoshida, S., Kim, Y., Hori, M., Kamada, T., Tada, M., 1993. Free radical generation coupled with arachidonate lipoxygenase reaction relates to reoxygenation induced myocardial cell injury. *Cardiovasc. Res.*, **27** (6): 1056-1060.
- Lamason, J. L., Carnat, A., Petitjean, C., 1990. Tannin Content and Inhibiting Activity of Elastase in Rosaceae. *Ann. Pharm.*, **48** (6): 335-340.
- Lee, J. C., Kim, H., Kim, J., Jang, Y. S., 2002. Antioxidant activity of ethanol extract of the stem of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**: 6490-6496.

- Li, C., Jackson, R. M., 2002. Reactive species mechanism of cellular hypoxia-reoxygenation injury. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, **282** (2): 227-241.
- Libbey, L. M., Sturts, G., 1989. Unusual Essential oils Grown in Oregon II *Artemisia annua* L. *J. Ess. Oil Res.*, **1**: 201-202.
- Lima, M. A., Silverio, E. R., Margues, M. S. Santos, R. H., Gombordela, M. T., 1996. Biological activite flavanoids and terpenoids from *Egletes viscosa*. *Phytochemistry*, **41** (1): 217-23.
- Lin, S, Y., Wang, C, C., Lu, Y. L., Wu, W. C., Hou, W. C., 2008. Antioxidant, anti-semicarbazine sensitive amine oxidase and anti hypertensie activites of geraniin isolated from *Phyllanthus urinaria*. *Food and chemical Toxicology*, **46**: 2484-2492.
- Linkers, H. F. Jackson, F., 1997. *Modern Methots of Plant Analysis*. Springer, Germany. 12.
- Ma, C., Wang, H., Lu, X., Li, H., Liu, B., Xu, G., 2007. Analysis of *Artemisia annua* L. volatile oil by comprehensive two-dimensional gas cromatography time-of-flight mass spectrometry. *J. Chromatogr A.*, **25**: 50-53.
- Maillard, M. N., Berset, C., 1995. Evolation of antioxidant activity during kilning, role of insolube bound phenolic acids of barley and malt. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **43**: 1789-1793.
- Mathers, J., Fraser, J. A., Mc Mahan, M., Saunders, R. D., Hayes, J., 2004. Antioxidant and cytoprotective responces to redox stres. *Biochem. Soc. Symp.*, **71**: 157-176.
- Maxwell, S. R., 1995. Prospects for the use of antioxidant therapies. *Drugs*, **49** (39): 345-361.
- Mazzanti, G., Barttinelli, L., Salvatore, G., 1998. Antimicrobial Properties of the Linanol Rch Essential Oil of *Hyssopos officinalis* L. Var. (Lamiaceae). *Flavour and Fragrance Journal*, **13**: 289-294
- Mercan, U., 2004. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. *YYÜ. Vet. Fak. Derg.*, **15** (1): 91-96.
- Merken, H. M., Merken, C. D., Beecher, G. R., 2001. Kinetics Method for the Quantitation of Anthocyanins, Flavonols, and Flavones in Food. *J. Agric. Food Chem.*, **49**: 2727-2732.
- Mivra, K., Kikuzaki, H., Nakatani, N., 2001. Apianane terpenoins from *Salvia officinallis*. *Phytochemistry*, **58**: 1171-1175.
- Nagao, A., Seki, M., Kobayashi, H., 1999. Inhibition of Xanthine Oxidase by Flavonoids. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **63** (10): 1787-1999.
- Nielson, P. V., R10s, R., 2000. Inhibition of Fungal Growth on Bread by Volatile Components from Spices and Herb and the Possible Aplication in Active Packaging with Special Emphas on Mustard Essential Oil. *International Journal of Food Microbiology*, **60**: 219-229.
- Olanow, C. W., 1992. An Introduction to the Free Radical Hyptesis in Parkinson's Disease. *Ann. Neulsrol.*, **32**: 2-9.

- Onat, T., Emerk, K., 1998. *Temel Biyokimya, Radikal Kavramı ve Oksijen Radikalleri*. Saray Medikal Yayıncılık. 2. Baskı. 520-528.
- Oyanagui, Y., 1991. Active oxygen research of today future. *The Journal of Toxicological Sciences*, **16**: 65-69.
- Özbek, H., Bahadır, Ö., Kaplanoğlu, V., Öntür, H. 2007. Reyhan (*Ocimum basilicum* L.) uçucu yağının antienflamatuvar etkisinin araştırılması. *Genel Tıp Dergisi*, **17** (14): 201-204.
- Pei, J., Li, X., 2000. Xanthine and hypoxantine sensors based on xanthine oxidase immobilized on a  $\text{CuPtCl}_6$  chemically modified electrode and liquid chromatography electrochemical detection. *Analytica Chimica Acta*, **414**: 205-229.
- Perry, N.B., Anderson, R.E., Brennan, N.J., Douglas, M.H., Heaney, A.J., McGimpsey, J.A., Smallfield, B.M., 1999. Essential Oils from Dalmation Sage (*Salvia officinalis*): Variations among Individuals, Plant Parts, Seasons and Sites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**: 2048-2054.
- Perry, N., Bollen, C., Perry, E. K., Ballard, C., 2003. *Salvia* for dementia therapy: review of pharmacological activity and pilot tolerability clinical trial. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **75**: 651-659.
- Piette, P.G., 2000. Flavonoids as antioxidant. *J. Nat. Prod.*, **6**: 1035-1042.
- Prajda, N., Weber, G., 1975. Malign transformation-linked imbalance: decreased XO activity in hepatomas. *Febs, Lett.*, **59**: 245-249.
- Prieto, P. M., Pineda, M., Aguilar, M., 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem.*, **269** (2): 337-341.
- Ricci, D., Fraternali, D., Giamperi, L., Bucchini, A., Epifano, F., Burini, G., Curini, M., 2005. Chemical composition antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of *Teucrium marum* (Lamiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, **98**: 195-200.
- Robak, J., Gryglewski, R. J., 1988. Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochem. Pharmacol.*, **37**: 837-841.
- Safarova, A. G., Serkerov, S. V., 1998. New Components Of *Artemisia Taurica*. *Chemistry of Natural Compounds*, **34** (2): 197.
- Satıl, F., Ünal, M., Hopa, E., 2007. Comparative Morphological and Anatomical Studies of *Hymenocrater bituminosus* Fisch. C.A.Mey. (Lamiaceae) in Turkey. *Turk J. Bot.*, **31**: 269-275.

- Sayyah, M., Nadjafnia, L., Kamalinejad, M., 2004. Anticolvulsant Activity and Chemical Composition of *Artemisia dracunculus* L. Essential Oil. *Journal of Ethnopharmacology*, **94**: 283-287.
- Scora, R.W., Kumamoto, J., 1984. Ontogenetic Variation and Diurnal Study in the Composition of Essential Oil of *Artemisia Douglasiana*. *Journal of Natural Products*, **47** (2): 279-284.
- Seçmen, Ö., Gemici, Y., Leblebici, E., Bekat, L., 1998. *Tohumlu Bitkiler Sistematiği*. Ege Üniv. Fen Fak., Yayın no: 116, Beşinci Baskı. İzmir. 394.
- Sever, B., Özbek, H., 2005. (R)- (+) Limonene'nin total doz düzeyleri ile antiinflamatuvar aktivitesinin fare ve sıçanlar üzerinde araştırılması. *Türk Farmakoloji derneği 18. Ulusal Farmakoloji Kongresi*. 28 Eylül-1 Ekim. 119.
- Sweeney, A. P., Wyllie, S. G., Shalliker, J. L., 2001. Xanthine oxidase inhibitory activity of selected Australian native plants. *Journal of Ethnopharmacology*, **75**: 273-277.
- Tanker, M., Tanker, N., 2003. *Farmakognozi*. Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Yayınları, No: 65, Ankara. 275.
- Tanker, N., Koyuncu, M., Coşkun, M., 2004. *Farmasötik Botanik*. Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Yayınları, No: 88, Ankara.
- Tarin, J. J., Brincs, J., Cano, A., 1998. Serbest radikaller, antioksidanlar ve infertilite ile klinik ilişkiler. *Hum. Reprod.*, **13** (9): 2371-2376.
- Tekelli, Y., Sezgin, M., 2007. Determination of Antioxidant Activity of *Centaurea Carduiformis*. *SDÜ. Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi*, **2** (2): 204-209.
- Tepe, B., Donmez, E., Unlu, M., 2004. Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* (Montbret et Aucher ex Benth.) and *Salvia multicaulis* (Vahl). *Food Chemistry*, **84** (4): 519-525.
- Topçu, G., Tan, N., Gökdil, G., Ulubelen, A., 1997. Terpenoids from *Salvia Glutinosa*. *Phytochemistry*, **45** (6): 1293-1294.
- Topçu, G., Türkmen, Z., Ulubelen, A., Schilling, K., Kingston, I. G., 2004. Highly Hydroxylated Triterpenes from *Salvia kronenburgii*. *J. Nat. Prod.*, **67**: 118-121
- Toroğlu, S., Çenet, M. 2006. The Methods Used to Determine Antimicrobial Activity of The Plants and Their Application Area. *Journal of Science and Engineering*, **9** (2): 12-20.
- Ulubelen, A., Topçu, G., Bozok, C., 1997. Norditerpenoids and diterpenoids from *Salvia multicaulis* with antituberculous activity. *J. Nat. Prod.*, **60**, 1275-1280.
- Ulubelen, A., 2003. Cardioactive and antibacterial terpenoids from some *Salvia* species. *Phytochemistry*, **64**: 395-399.
- Ünal, D., 1999. Serbest radikaller. *Sendrom*, 68-80.

- Wei, Y. H., Pang, C. Y., 2005. The Role of Mitochondria in Human aging process. *Biotech. International*, **17**: 8-13.
- Valko, M., Leibfirtz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., Telser, J., 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem.*, **39**: 1054-1065.
- Vardar, G. U., Candan, F., Somken, A., Daferera, D., Polissiou, M., Dönmez, E., Tepe, B., 2003. Antimicrobial and Antioxidant Activity of the Essential Oil and Methanol Extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. et Mey. Var. *pectinatus* (Lamiaceae). *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, **51** (1): 63-67.
- Vinson, J. A., Hao, Y., Su, X., Zubik, L., 1998. Phenol antioxidant quantity and quality in food: Vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chem.*, **46**: 3630-3634.
- Yıldırım, A., Mavi, A., Oktay, M., Kara, A. A., Algur, Ö. F., Bilaloğlu, V., 2000. Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of *Tilia* (*Tilia argentea* Desf Ex DC), sage (*Salvia triloba* L.) and black tea extracts. *J. Agric. Food Chem.*, **48**: 5030-5034.
- Yaybeyi, S., 1999. *Aspirin ve antioksidant butylated hydroxyanisole'ün tavşanlarda eritrosit total katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri üzerine etkileri* (Doktora Tezi). Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Samsun.

## ÖZGEÇMİŞ

Mahire BAYRAMOĞLU, 1982 yılında Van'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Van'da tamamladı. 2001 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünü kazandı. 2005 yılında Kimya Bölümünden bölüm birincisi ve Fen-Edebiyat Fakültesinden fakülte ikincisi olarak mezun oldu. Aynı yıl Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen-Edb. Fakültesi Kimya Bölümü Biyokimya Ana Bilim Dalına akademisyen olarak atandı. Halen aynı üniversitede akademisyenliği ve aynı bilim dalında öğrenimini sürdürmektedir.