

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

***CONVOLVULUS L. CİNSİNE AİT BAZI TÜRLERİN ANTIOKSİDAN
AKTİVİTESİNİN VE HAYVAN DOKULARINA ETKİSİNİN
İNCELENMESİ***

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ESRA ERCİYES

DENİZLİ, MART 2014

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**



***CONVOLVULUS* L. CİNSİNE AİT BAZI TÜRLERİN
ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİNİN VE HAYVAN
DOKULARINA ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ESRA ERCİYES

DENİZLİ, MART 2014

KABUL VE ONAY SAYFASI

Esra ERCİYES tarafından hazırlanan “*CONVOLVULUS L. CİNSİNE AİT BAZI TÜRLERİN ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİNİN VE HAYVAN DOKULARINA ETKİSİNİN İNCELENMESİ*” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 10/03/2014 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Prof. Dr. Ramazan RAMAMMADOV
Pamukkale Üniversitesi

Üye
Prof. Dr. Yakup KASKA
Pamukkale Üniversitesi

Üye
Yard. Doç. Dr. Candan AYKURT
Akdeniz Üniversitesi

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
30/04/2014 tarih ve 19/11..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Orhan KARABULUT

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

**Bu tez alışması Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Başkanlığı tarafından
2012FBE027 nolu proje ile desteklenmiştir.**

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.

ESRA ERCİYES



ÖZET

**CONVOLVULUS L. CİNSİNE AİT BAZI TÜRLERİN ANTIOKSİDAN
AKTİVİTESİNİN VE HAYVAN DOKULARINA ETKİSİNİN
İNCELENMESİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
ESRA ERCİYES
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. RAMAZAN MAMMADOV)

DENİZLİ, MART 2014

Bu çalışmada ülkemizde yayılış gösteren ve *Convolvulus* (Convolvulaceae) cinsi içinde sınıflandırılan *C. phrygius*, *C. galaticus* ve *C. aucheri* türlerinin antioksidan aktiviteleri ve hayvan dokusu (kan dokusu) üzerine etkileri incelenmiştir. Bu türlerin metanollü, etanollü, benzenli ve asetonlu ekstraksiyonlarının antioksidan aktivitelerini belirlemek için DPPH ve β -karoten-Linoleik asit yöntemleri kullanılmıştır. En yüksek antioksidan aktivite (%66,88 \pm 0,8), *C. aucheri* türünün etanollü ekstresinde tespit edilmiş olup, en düşük antioksidan aktivite (%17,48 \pm 3,02), *C. galaticus* türünün benzenli ekstresinde görülmüştür. DPPH yöntemiyle elde edilen sonuçlara göre en yüksek serbest radikal giderim aktivitesi (%59,50 \pm 1,2), *C. aucheri* türünün %1'lik konsantrasyonda hazırlanmış etanollü ekstresinde tespit edilmiştir. En düşük serbest radikal giderim aktivitesi (%9,83) *C. galaticus* türünün 0,2 mg/ml konsantrasyonda hazırlanmış asetonlu ekstresinde gözlenmiştir. Çalışılan türlerin fenolik madde miktarları Folin-Ciocaltaeu yöntemiyle, gallik aside (GAE) eşdeğer olarak belirlenmiştir. Fenolik madde miktarı en yüksek olan *C. aucheri* türünün etanollü ekstresi (23,03 mg/g GAE), en düşük olanın *C. galaticus* türünün asetonlu ekstresi (5,35 mg/g GAE) olduğu tespit edilmiştir. Bunlara ilaveten aynı türlerin etanol ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarının (%1'lik ve %0,5'lik) sıçanların kan dokusu üzerindeki etkileri de değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre *C. phrygius* ve *C. aucheri* türlerinin %1'lik bitki ekstraktı verilen gruplarında ALT artış göstermiştir. Aynı zamanda *C. phrygius* türünün %1'lik ve *C. aucheri* türünün %1'lik ve %0,5'lik bitki ekstraktı verilen grubunda AST artışı tespit edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELER: *Convolvulus phrygius*, *Convolvulus galaticus*, *Convolvulus aucheri*, antioksidan aktivite, fenolik madde, kan dokusu

ABSTRACT

INVESTIGATION OF SOME OF THE PLANT SPECIES BELONGING TO THE GENUS *CONVOLVULUS* L. ANTIOXIDANT ACTIVITY AND EFFECT ON ANIMAL TISSUES

MSC THESIS

ESRA ERCİYES

PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
DIVISION OF BIOLOGY

(SUPERVISOR: PROF. DR. RAMAZAN MAMMADOV)

DENİZLİ, MARCH 2014

In this research, antioxidant activity and histological effects on animal tissue (blood tissue) of some plant (*C. phrygius*, *C. galaticus*, *C. aucheri*) of the genus *Convolvulus* (Convolvulaceae) which are distributed in our country, were examined. DPPH and β -carotene-Linoleic acid methods were used for determinate antioxidant activity of the plant species extracts with ethanol, methanol, acetone and benzen. The highest antioxidant activity ($66,88 \pm 0,8$), was obtained from *C. aucheri* of ethanol extract. The lowest antioxidant activity ($17,48 \pm 3,02$), was seen of the *C. galaticus* extracts with benzen. According to the results of the experiment performed by using DPPH method, the highest free radical removal activity ($59,50 \pm 1,2$), was found in *C. aucheri* ethanolic extract which prepared with 1 mg/ml concentration. The lowest free radical removal activity ($9,83$), was determined *C. galaticus* in acetonic extract with 0,2 mg/ml concentration. In addition, total phenolic contents in all extracts were determined as gallic acid (GAE) equivalents Folin Ciocalteu method. The highest phenolic amount was of *C. aucheri* ethanolic extract (23,03 mg/g GAE), the lowest of the *C. galaticus* acetonic extract (53,5 mg/g GAE) was observed. The effects on rat blood tissues of ethanolic extracts which prepared with different concentrations ($0,5$ and 1) obtained from studied species were determined. According to the results, *C. phrygius* and *C. aucheri* species of 1 plant extract treated group increased ALT was obtained. Also *C. phrygius* of 1 and *C. aucheri* of 1 and $0,5$ plant extract treated group increased AST was detected.

KEYWORDS: *Convolvulus phrygius*, *Convolvulus galaticus*, *Convolvulus aucheri*, Antioxidant activity, Phenolic Contents, blood tissue

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
TABLO LİSTESİ.....	vi
SEMBOL LİSTESİ.....	vii
KISALTMALAR	viii
ÖNSÖZ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Serbest Radikaller	7
1.1.1 Serbest Radikal Türleri	8
1.1.1.1 Reaktif Oksijen Türleri (ROS).....	8
1.1.1.2 Serbest Radikallerin Etkileri.....	10
1.1.2 Oksidatif Stres	11
1.2 Antioksidanlar	14
1.2.1 Antioksidanların sınıflandırılması	16
1.2.1.1 Doğal Antioksidanlar:	17
1.2.1.2 Sentetik Antioksidanlar	23
1.2.2 ANTIOKSİDAN AKTİVİTE TAYİN YÖNTEMLERİ	24
1.2.2.1 HAT – Hidrojen Atomu Transferi Esasına Dayanan Yöntemler.....	25
1.2.2.2 ET- Elektron Transferi Esasına Dayanan Yöntemler	26
1.3 Kan.....	29
1.4 Serumda Bulunan Enzimler	30
1.4.1 Aspartat transaminaz (AST).....	30
1.4.2 Alanin aminotransferaz (ALT)	31
1.4.3 Gamma glutamil aminopeptid transferaz (GGT)	31
1.5 ÜRE	31
1.6 <i>Convolvulus</i> ile Yapılan Kimyasal Çalışmalar.....	32
1.7 Tezin Amacı.....	33
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	34
2.1 Materyal	34
2.1.1 Bitkisel Materyal	34
2.2 Yöntemler.....	36
2.2.1 Antioksidan aktivite analiz yöntemleri	36
2.2.1.1 Toplam antioksidan aktivitenin belirlenmesi	36
2.2.1.2 DPPH serbest radikal giderim aktivitenin belirlenmesi yöntemi.....	36
2.2.2 Toplam fenolik bileşik miktarının belirlenmesi	37
3. BULGULAR.....	40
3.1 Antioksidant Aktivitenin Belirlenmesi	40
3.1.1 Toplam antioksidant aktivitenin belirlenmesi	40
3.1.2 Serbest radikal giderim aktivite sonuçları.....	42
3.1 Toplam fenolik madde miktarı	45
3.2 Histolojik Çalışma Sonuçları	46
4. TARTIŞMA ve SONUÇ	51
5. KAYNAKLAR	58
6. ÖZGEÇMİŞ	67

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1: <i>C. aucheri</i>	4
Şekil 1.2: <i>C. phrygius</i>	5
Şekil 1.3: <i>C. galaticus</i>	6
Şekil 1.4: <i>C. galaticus</i> , <i>C. phrygius</i> ve <i>C. aucheri</i> türlerinin Türkiye üzerindeki yayılışı.....	7
Şekil 1.5: Oksidan miktarı ile antioksidan sistemler arasındaki denge.....	12
Şekil 1.6: Antioksidanların Sınıflandırılması.....	16
Şekil 1.7: α -tokoferol"ün kimyasal yapısı.....	19
Şekil 1.8: β - Karoten"ın kimyasal yapısı.....	20
Şekil 1.9: Flavonoidin kimyasal yapısı.....	21
Şekil 1.10: Flavonoidlerin klasik antioksidan kapasitelerini belirlemede önemli olan özellikleri gösteren kimyasal yapı.....	22
Şekil 1.11: Flavonoidlerin genel yapıları.....	23
Şekil 1.12: Kandan plazma eldesi, kan ve plazma oranları.....	29
Şekil 2.1: Ekstraksiyon işlemleri.....	35
Şekil 2.2: Rotary-evaporatör cihazı	35
Şekil 2.3: Freeze dryer cihazı.....	35
Şekil 2.4: Deney Hayvanlarının gruplandırılması.....	38
Şekil 2.5: Kan alma işlemi.....	38
Şekil 3.1: <i>C. galaticus</i> , <i>C. phrygius</i> ve <i>C. aucheri</i> türlerinin sırasıyla metanol, etanol, aseton ve benzen ile hazırlanan ekstraktlarının β -karoten-linoleik asit stemiyle belirlenen antioksidan aktivite değerleri.....	41
Şekil 3.2: β -Karoten-Linoleik asit yönteminde <i>C. aucheri</i> türünün hazırlanan etanol, metanol, benzen, aseton ekstraktların absorbands grafiği.....	41
Şekil 3.3: β -Karoten-Linoleik asit yönteminde <i>C. phrygius</i> türünün hazırlanan etanol, metanol, benzen, aseton ekstraktların absorbands grafiği.....	42
Şekil 3.4: β -Karoten-Linoleik asit yönteminde <i>C. galaticus</i> türünün hazırlanan etanol, metanol, benzen, aseton ekstraktların absorbands grafiği.....	42
Şekil 3.5: DPPH yöntemi ile <i>C. aucheri</i> türünün etanollü, metanollü, asetonlu ve benzenli ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarda serbest radikal giderim kapasiteleri.....	43

Şekil 3.6: DPPH yöntemi ile <i>C. phrygius</i> türünün etanollü, metanollü, asetonlu ve benzenli ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarda serbest radikal giderim kapasiteleri.....	44
Şekil 3.7: DPPH yöntemi ile <i>C. galaticus</i> türünün etanollü, metanollü, asetonlu ve benzenli ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarda serbest radikal giderim kapasiteleri.....	45

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1: Oksidatif strese neden olan reaktif türler.....	13
Tablo 2.1: Bitki Türlerinin toplandığı lokaliteler.....	34
Tablo 3.1: <i>C. galaticus</i> , <i>C. phrygius</i> ve <i>C. aucheri</i> türlerinin sırasıyla metanol, etanol, aseton ve benzen ile hazırlanan ekstraktlarının β -karoten-linoleik asit sistemiyle belirlenen antioksidan aktivite değerleri.....	40
Tablo 3.2: DPPH <i>C. aucheri</i> türünün bitki ekstraktının DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri.....	43
Tablo 3.3: DPPH <i>C. phrygius</i> türünün bitki ekstraktının DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri.....	44
Tablo 3.4: DPPH <i>C. galaticus</i> türünün bitki ekstraktının DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri.....	45
Tablo 3.5: <i>C. aucheri</i> , <i>C. phrygius</i> , <i>C. galaticus</i> ekstraktlarının 765 nm'de absorbansları ve gallik aside eşdeğer konsantrasyonları.....	46
Tablo 3.6: Türlerin ALT, AST, GGT ve ÜRE değerlerindeki anlamlı farklılıkları ve farklılıkların dereceleri	49
Tablo 3.7: ALT, AST, GGT ve ÜRE değerlerindeki anlamlı farklılıkların genel olarak değerlendirilmesi.....	49
Tablo 3.8: <i>C. aucheri</i> , <i>C. galaticus</i> ve <i>C. phrygius</i> türlerinin %0,5 ve %1 ekstratları verilen sıçan gruplarının ALT, AST, GGT ve ÜRE değerlerinin minimum \pm maksimum, ortalama \pm standart sapma değer tablosu.....	50

SEMBOL LİSTESİ

°C : Santigrat derece

gr : Gram

M : Molarite

mg : Miligram

mL : Mililitre

mm : Milimetre

µg : Mikrogram

µl : Mikrolitre

% : Yüzde

nm : Nanometre

KISALTMALAR

AAPH	: 2,2' azobis(2-amidinopropan)hidroklorür
ABAP	: 2,2' azobis(2-metilpropiyonamid)dihidroklorür
ABTS	: 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolin-6-sülfonat)
ALT	: Alanin aminotransferaz
AST	: Aspartat transaminaz
BH	: Hidroksi anisol
BT	: Bütillenmiş hidroksitoluen
BŞ	: Deneyin başlangıcı
CAA	: <i>C. aucheri</i> aseton
CAB	: <i>C. aucheri</i> benzen
CAE	: <i>C. aucheri</i> etanol
CAM	: <i>C. aucheri</i> metanol
CAT	: Katalaz
CGA	: <i>C. galaticus</i> aseton
CGB	: <i>C. galaticus</i> benzen
CGE	: <i>C. galaticus</i> etanol
CGM	: <i>C. galaticus</i> metanol
Cl	: Atomik klor
CPA	: <i>C. phrygius</i> aseton
CPB	: <i>C. phrygius</i> benzen
CPE	: <i>C. phrygius</i> etanol
CPM	: <i>C. phrygius</i> metanol
CuSO₄	: Bakır(II) sülfat
DPPH	: 1,1-difenil-2-pikril hidrazil
ET	: Elektron transferi reaksiyonu
FC	: Folin Ciocalteu
FCR	: Folin-Ciocalteu reaktifi
FRAP	: Ferrik iyonu indirgeme antioksidan gücü
GAE	: Gallik Asit
GGT	: Gamma glutamil aminopeptit transferaz
GPS	: Global Positioning System
GR	: Glutasyon Redüktaz
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
GSSG	: Okside glutasyon
GST	: Glutasyon-S-Transferaz
GT	: gama- transferaz
HAT	: Hidrojen atomu transferi reaksiyonu
HNO₂	: Nitroz asit
HOB_r	: Hipobromöz asit
HOCl	: Hipokloröz Asit
HO₂[•]	: Hidroperoksil Radikali
H₂O₂	: hidrojen peroksit
İP	: İntraperitoneal
L[•]	: Lipid radikalleri,
LC	: (Asgari endişe): Yaygın bulunan türler.
LO[•]	: Lipit alkoksil
LO₂¹	: Lipit peroksil
LOO[•]	: Peroksil radikalleri

PG	: Propil gallat
LOOH	: Lipit peroksit
N₂O₃	: Diazot trioksit
N₂O₄	: Diazot tetraoksit
NO•	: Nitrit oksit
NO	: Nitrozil anyonu
NO⁺	: Nitrozil katyonu
NO₂	: Azot dioksit
NO₂⁺	: Nitril katyonu
NO₂⁺	: Nitronyum iyonu
NO₂Cl	: Nitril Klorür
NO₂Cl	: Nitril klorür
NT	: Neredeyse tehdit altında
O₃	: Ozon
O₂•⁻	: Süperoksit anyonu
OH•	: Hidroksil radikali
ONOO⁻	: Peroksi nitrit
ONOO⁻	: Peroksi nitrit
ONOOH	: Peroksinitröz asit
ORAC	: Oksijen radikal absorbans kapasitesi
PE	: β-fikoeritrin
RCS	: Reaktif klorür türleri
RNS	: Reaktif Azot Türleri
ROONO	: Alkil peroksinitritler
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SGOT	: Serum glutamic oksaloasetik transferaz
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBA	: Tiyobarbitürik asit
TBHQ	: Ter-bütil hidrokinon
TCA	: Trikloroasetik asit
TEAC	: Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite
TRAP	: Total radikal yakalama antioksidan kapasitesi
WHO	: Dünya Sağlık Teşkilatı
2HFT	: Deneyin 2 hafta sonrası
4HFT	: Deneyin 4 hafta sonrası

ÖNSÖZ

“*Convolvulus* L. cinsine ait bazı türlerin antioksidan aktivitesinin ve hayvan dokularına etkisinin incelenmesi ” adlı yüksek lisans tez çalışmamda yardımlarını ve hoşgörüsünü hiçbir zaman esirgemeyen, tez çalışmam boyunca bir çok engelle karşılaşmama rağmen yapıcı tavrıyla, manevi desteği ile çalışmamı daha kolay yürütebilmemi ve bitirebilmemi sağlayan, sadece bilgisi ile değil, hayat görüşü ve duruşu ile de çok dersler aldığım danışmanım sayın Prof. Dr. Ramazan MAMMADOV’a, tez süresince arazi çalışmalarım kapsamında ve bitki türlerinin tanıtılmasında yardım eden Yard. Doç. Dr. Candan AYKURT’a, bilgisinden faydalandığım Prof. Dr. Yakup KASKA’ya ve lisansım ve yüksek lisansım boyunca verdikleri emeklerden dolayı Pamukkale Üniversitesi tüm bölüm hocalarına, dostlarım Çiğdem AYDIN, Hesna YAKA ve Gülten TAŞDELEN’e teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca çalışmayı maddi yönden destekleyen Pamukkale Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Başkanlığı’na teşekkürlerimi sunarım. Bu tezin hazırlanmasında bana maddi ve manevi en büyük desteği sağlayan tez çalışmamın her aşamasında göstermiş oldukları sonsuz sabır, özveri ve destek için başta eşim İsmail ERCİYES’e ve ismini burada sayamayacağım diğer aile fertlerine ve bana yüksek lisansa başlamam için ilk desteği ve cesareti veren annem Esmâ YARIM’a en içten teşekkürlerimi sunarım.

1. GİRİŞ

Bitkiler insanlığın var oluşundan beri, hayatın vazgeçilmez temel kaynaklarından biri olmuştur. İlkçağlardan bugüne insanlar bitkileri çeşitli amaçlar için kullanmışlar, tanımış ve tanıtmaya çalışmışlardır [1]. Bitkiler geçmişten günümüze çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmış ve halen de kullanılmaya devam etmektedir [2]. Günümüzde hala bazı tıp çevrelerince, bitkilerin tıbbi yararlarının oranlarının büyüklüğü reddedilse de; insanoğlunun var olduğu günden bu güne vücudunda hissettiği herhangi bir rahatsızlığı gidermek için çare aradığı yer doğa ve özellikle de bitkilerdir [3].

Tüm dünya ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de tıbbi açıdan önemli bulunan bitkiler hastalıkların tedavisinde yüzyıllardan beri halk arasında kullanılmaktadır. Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO)'nın 91 ülkenin farmokopelerinde (kodeks) ve tıbbi bitkiler üzerine yapılmış olan bazı yayınlara dayanarak hazırladığı araştırmaya göre tedavi amacıyla kullanılan bitki türü sayısı 20.000 civarındadır. Bunların 500 kadarının tarımsal üretiminin yapıldığı, ayrıca değişik amaçla kullanılan bitkilerin çok azının farmokopelerde kayıtlı olduğu bildirilmektedir. Türk kodeksinde kayıtlı tedavi amacı ile kullanılan bitki sayısı ise 140 civarındadır. Oysa, Türkiye'de tıbbi amaçla tüketilen bitki sayısının çok daha fazla olduğu bilinmektedir, hatta bazı yayınlarda bunun en az 500 civarında olduğu kaydedilmiştir [4].

Türkiye, coğrafi konumu, iklimi, bitki çeşitliliği, tarımsal potansiyeli ve geniş yüzölçümü gibi özelliklerinden dolayı, dünyada tıbbi ve aromatik bitkiler ticaretinde önde gelen ülkelerden biridir. Bulunduğu coğrafyada bitki çeşitliliği ile daha özel niteliklere sahip olan Anadolu'da, her geçen gün bitki örtüsü içinde bilimsel anlamda yeni türler tanımlanmaktadır ve bu bitkilerin sayısı da oldukça fazladır [5].

Tıbbi bitkiler ve tıbbi bitkilerden elde edilen ekstre, drog vb. ürünler tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de çeşitli hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, tıbbi bitkilerden elde edilen ekstrelerin çoğunun biyolojik etkileri ve etki mekanizmaları hakkındaki bilimsel veriler hala yetersizdir. Bu nedenle, tıbbi bitkiler ve tıbbi bitkilerden elde edilen ürünlerin biyolojik etkilerinin bilimsel olarak araştırılmasına olan ilgi her geçen gün artmaktadır. Tıbbi

bitkilerden farmakolojik olarak aktif bileşiklerin izolasyonu ve tanımlanması günümüzde de devam etmektedir [6, 7]. Özellikle, vücudu serbest radikallerin yol açtığı hasara karşı koruma yeteneğinde olan maddelerin keşfedilmesine yönelik yoğun bir ilgi vardır [8].

Yeryüzünde bulunan çiçekli bitkilerin sayısı hakkında çeşitli fikirler ileri sürülmekle beraber 280.000 civarında olduğu belirtilmektedir. Bu türlerin dağılışı yeryüzünde eşit olmadığı gibi, aynı kuşaktaki coğrafi bölgelerde de farklılık göstermektedir. Tropik bölgeler tür çeşitliliği bakımından en zengin yerlerdir ve kutuplara doğru gidildikçe tür sayısı azalır. Tür sayısı bakımından en zengin yerler Güney Amerika'nın kuzey kesimleri ile Endonezya takımadalarıdır. Ülkelerin biyolojik çeşitliliği açısından değerlendirilmesinde barındırdıkları tür sayısı yanında endemik tür sayısı da büyük öneme sahiptir [9].

Ülkemizde bulunan bitki türleri, dünyadaki bitki türlerinin yaklaşık %3,6'sını teşkil etmektedir. Türkiye'nin yüzölçümü ise dünya kara yüzölçümünün ancak %0,53 kadardır. Bu oranlar da tür zenginliğimizin başka bir göstergesidir [9].

Floramızın bu kadar zengin olmasının başlıca sebepleri olarak; Türkiye'nin birbirinden hem iklim hem de bitki örtüsü yönünden, dolayısıyla floristik yapısı bakımından farklı üç bitki coğrafya bölgesinin kesiştiği bir konumda olması (Bunlar: Kuzey Anadolu'da Avrupa-Sibirya, Batı ve Güney Anadolu'da Akdeniz, İç ve Güney Doğu Anadolu'da yer alan İran-Turan fitocoğrafik bölgeleridir), Anadolu'nun Avrupa ve Asya kıtası arasında köprü konumunda olması ve buna bağlı olarak iki kıta arasında karşılıklı bitki göçleri ile çeşitliliğin artması, birçok cins ve türün farklılaşma merkezinin Anadolu oluşu ve edafik (topraksal) faktörlerin oldukça çeşitlilik göstermesi sayılabilir [5].

Çiçekli bitkiler bakımından oldukça zengin olan ülkemizde, Angiosperm (kapalı tohumlu bitkiler) türlerini içeren yaklaşık 145 familya bulunmaktadır. Angiospermilerin, Magnoliopsida sınıfının Solanales takımı içinde sınıflandırılan Convolvulaceae familyası dünya üzerinde yaklaşık 58 cins ve yaklaşık 2000 türle temsil edilmektedir. Convolvulaceae familyasına ait türlere, tropikal yağmur ormanlarından savanlara ve çöllere kadar uzanan geniş bir aralıkta rastlanabilmektedir. Convolvulaceae, özellikle tropikal kuşağa endemik çok sayıda cins içeren bir familyadır ve bu familyaya ait dört cins ülkemizde yayılış göstermektedir [10, 11].

Aykurt ve arkadaşları [13] yapmış oldukları çalışmada Convolvulaceae familyasının dilimizde “Tarla sarmaşığigiller” veya “Kahkaha çiçeğigiller” olarak isimlendirildiğini ve bu familya üyelerine “Çadır çiçeği”, “Gündüz sefası”, “Kaplumbağa otu”, “Koyun otu”, “Mahmude”, “Mamıza”, “Mamuza” ve “Tarla sarmaşığı” gibi farklı isimler verildiğini belirtmişlerdir [1, 12, 13].

Convolvulaceae familyasına ait cinsler içinde tür sayısı zenginliği bakımından ikinci sırada yer alan *Convolvulus*, oldukça kozmopolit bir cins olup, dünya üzerinde yaklaşık 250 türle temsil edilmektedir [14].

Türkiye’de *Convolvulus* cinsi içinde 35 tür (3’ü hibrit 39 takson) yayılış göstermektedir [15]. Aykurt [15] çalışmasında bu türleri özellikle habit özelliklerini göz önüne alarak iki grup altında toplanabileceğini belirtmiştir. İlk grup genellikle tabanda odunsu yapılı dik veya yatık duruşlu çalı veya yarı çalılar ile öbek oluşturan çok yıllıkları içermekte; ikinci grup ise tipik olarak genellikle çok yıllık sarılıcı ve sürünücü formdaki türleri kapsamaktadır. Bu çalışmada morfolojik olarak habit özelliği birbirinden farklı türlerin seçilmesine özen gösterilmiştir. Seçilen türlerden *C. phrygius* tabanda odunsu yapılı öbek oluşturan çalimsılar; *C. aucheri* odunsu yapılı dikduruşlu tabanda çok yıllıklar; *C. galaticus* ise tipik sarılıcı ve sürünücü formdaki çok yıllıklardır. Seçilen türlerden *C. phrygius* ülkemize endemiktir; *C. aucheri* türü ise ülkemizdeki yayılış alanı oldukça dar olup Hatay İli sınırlarından toplanmıştır. *C. galaticus* türü Türkiye Florası’nda endemik kategorisinde yer almaktadır; ancak Aykurt tarafından farklı ülke floralarındaki kayıtlar belirtilmiş ve endemik olarak değerlendirilmemiştir [15].

Bu çalışmada Türkiye’de yayılış gösteren *Convolvulus* cinsine ait *C. phrygius*, *C. galaticus* ve *C. aucheri* türlerinin antioksidan kapasiteleri belirlenmiştir. Bu türler üzerinde konu ile ilgili daha önce herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma ile ilgili literatüre katkı sağlanması ve daha ileri düzeydeki farmakolojik çalışmalara temel teşkil etmesi amaçlanmaktadır.

Convolvulus aucheri Choisy

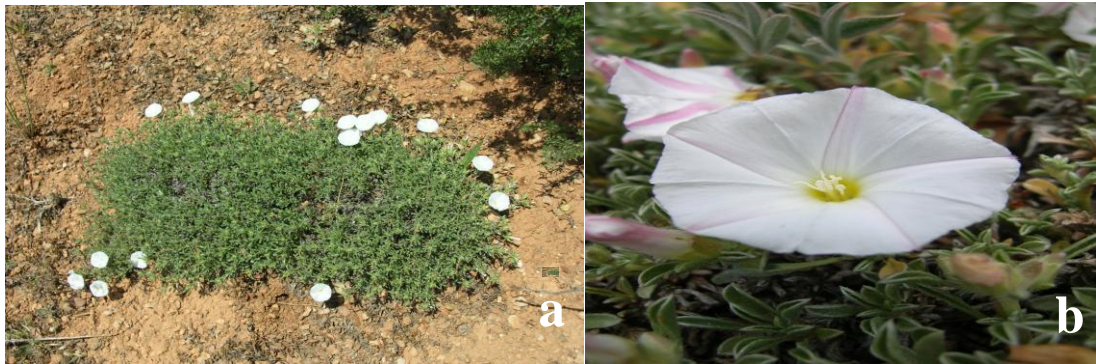
Tabanda odunsu yapılı, yoğun villoz, keçemsi tüylü, gri görünümlü çok yıllıklar. Gövde dik duruşlu, dikey-yayık dallanmış, 30–80 cm, villoz, keçemsi tüylü. Yapraklar eliptik-mızraksı biçimli, 8–40 x 4–15 mm, sivri uçlu, sapsız, kesik tabanlı, uzun villoz, keçemsi tüylü; tabandaki yapraklar derimsi, ters mızraksı biçimli, 20–30 x 4–6 mm, tabanda kısmen gövdeyi sarıcı, seyrek basık tüylü, kenarlarda hafifçe keçemsi tüylü. Çiçekler durumu yaprak koltuklarında 2–5 çiçekli; pedisel 5–20 mm, meyveli halde daha kalın ve uzun. Sepaller çiçekli ve meyveli dönemde dik duruşlu; dış sepaller yumurtamsı biçimli, 7,5–8,5 x 3,5–4,5 mm, uzun sivri uçlu, villoz. Orta sepal genişçe ters yumurtamsı biçimli, 7,5–8,5 x 3,5–4,5 mm, uzun sivri uçlu, villoz, bir taraf kenara doğru zarsı yapılı, zarsı kısım tüysüz veya seyrek tüylü. İç sepaller genişçe ters yumurtamsı biçimli, 7,5–8,5 x 3,5–4,5 mm, uzun sivri uçlu, villoz, kenarlara doğru zarsı yapılı, zarsı kısımlar tüysüz veya seyrek tüylü. Korolla beyaz renkli, 20–25 x 20–25 mm boyunda, dıştaki şeritler villoz tüylü (tabanda 1/4'lük kısım tüysüz), açık pembe renkli; korolla boğazı sarı renkli, korolla ağzı tüysüz. Kapsül genişçe yumurtamsı-küresel biçimli, kaliksten kısa, 3,5–4 x 3,5–4 mm, uç kısma doğru uzun yumuşak tüylü, taban kısmı tüysüz, 2 lokuluslu, olgun tohum 1 adet, perikarp derimsi, sert yapılı. Tohumlar yumurtamsı-dikdörtgensel biçimli, 3,5–4 x 2,5–3 mm, kahverengi, yumuşak seyrek beyaz tüylü. Çiçeklenme, Mayıs-Haziran. Meyvelenme, Haziran-Temmuz. Doğu Akdeniz elementi (Şekil 1.1) [15].



Şekil 1.1: *C. aucheri*: a-Bitkinin genel görünüşü, b- Çiçeğin makro görüntüsü (Fotoğraf: Candan AYKURT)

***Convolvulus phrygius* Bornm. (Endemik)**

Bodur, genellikle öbek oluşturan tabanda odunsu yapılı çalimsılar. Gövde yükselici veya yatık duruşlu, 0,5–12 cm, tabandan dallanmış, basık ipeksi tüylü. Yapraklar şeritsi-mızraksıdan şeritsi-kaşıkıya kadar değişen biçimlerde, 8–25 x 2–5 mm, sivri uçlu veya mukrolu nadiren küt uçlu, sapsız, tabana doğru daralıcı, basık ipeksi ve seyrek, uzun piloz tüylü. Tabandaki yapraklar 4–30 x 1–4 mm, küt veya sivri uçlu, tabanda kısmen gövdeyi saran zarımsı kenarlı. Çiçek durumu gövde ucunda ve yaprak koltuklarından çıkan kimözler halinde, pedunkul 3–15 mm, kimözler 1–5 çiçekli, pedisel genellikle 0.5–3 mm, bazen yok. Sepaller çiçekli ve meyveli dönemde dik duruşlu; dış sepaller dikdörtgensi biçimli, 5,5–11 x 1,5–3,5 mm, sivri uçlu veya mukrolu, yeşil bazen yeşil-morumsu renkli, basık ipeksi veya hem basık ipeksi hem de dağınık piloz tüylü. Orta sepal dikdörtgensi biçimli, 5,5–10 x 1,5–3,5 mm, sivri uçlu veya mukrolu, basık ipeksi veya hem basık ipeksi hem de dağınık piloz tüylü, bir taraf kenara doğru zarsı yapılı, zarsı kısım tüysüz. İç sepaller dikdörtgensi biçimli, 5–10 x 1,5–3,5 mm, sivri uçlu veya mukrolu, basık ipeksi veya hem basık ipeksi hem de dağınık piloz tüylü, kenarlara doğru zarsı yapılı, zarsı kısımlar tüysüz. Korolla beyaz renkli, 15–25 mm boyunda, dış kısımdaki şeritler ipeksi tüylü (tabanda 1/4'lük kısım tüysüz), açık pembe-pembe renkli, korolla boğazı sarı renkli, korolla ağzı tüylü. Kapsül yumurtamsı-dar yumurtamsı biçimli, kaliksten kısa, 4–4,5 x 2–3 mm, uç kısma doğru uzun yumuşak tüylü, taban kısmı tüysüz, 2 lokuluslu, olgun tohum 2–3 adet; perikarp derimsi, hafifçe zarsı yapılı, kırılğan. Tohumlar yumurtamsı-eliptik biçimli, 3–3,5 x 2–2,5 mm, koyu kahverengi-siyah renkli, kadifemsi-ipeksi yüzeyli. Çiçeklenme, Mayıs-Haziran. Meyvelenme, Haziran-Temmuz. İran- Turan elementi (Şekil 1.2) [15].



Şekil 1.2: *C. phrygius*: a-Bitkinin genel görünüşü, b- Çiçeğin makro görüntüsü (Fotoğraf: Candan AYKURT)

Convolvulus galaticus Rotsan ex Choisy

Sarılcı veya sürünücü, parlak-kadifemsi tüylü çok yıllıklar. Gövde yatık duruşlu, 20–60 cm, tabandan dallanmış, kadifemsi tüylü. Yapraklar yumurtamsıdan genişçe yumurtamsıya kadar değişen biçimlerde, 20–40 x 15–30 mm, sivri uçlu veya uçta küçük-sivri çıkıntılı, kenarlar dişli ve dalgalı, saplı (5–15 mm), tabanda kalpsi, parlak-kadifemsi tüylü; tabandaki yapraklar gövde yapraklarına benzer, çoğunlukla daha uzun saplı. Çiçek durumu salkım, çiçekler yaprak koltuklarında, 1–3 adet kimözler halinde; pedunkul 15–40 mm; pedisel 5–15 mm; meyveli halde daha uzun ve kalın (10–20 mm), geri kıvrık. Sepaller meyveli dönemde açılıcı; dış sepaller genişçe yumurtamsı biçimli, 8–10 x 5–7 mm, sivri uçlu ve uçta küçük-sivri çıkıntılı, keçemsi tüylü, genellikle siyah lecekikli. Orta sepal genişçe yumurtamsı biçimli, 8–10 x 4–6 mm, sivri uçlu ve uçta küçük-sivri çıkıntılı, genellikle dalgalı kenarlı, kenarlar zarsı yapılı, orta damar boyunca tüylü, zarsı kısımlar tüysüz. İç sepaller yumurtamsı biçimli, 7–9 x 3–5 mm, uçta sivri çıkıntılı, dalgalı kenarlı, zarsı yapılı, orta damar üzerinde uca doğru seyrek tüylü. Korolla pembe, pembe-mor renkli, 20–30 mm uzunluğunda, dıştaki şeritler genellikle korolladan daha koyu renklerde ve tüylü (tabanda 1/3'lük kısım tüysüz), korolla boğazı beyaz renkli, korolla ağzı şeritler haricinde tüysüz. Tohumlar genişçe yumurtamsı biçimli, 3,5–4,4 x 3–3,5 mm, kahverengi renkli, yumrucuklu-pürüzlü. Çiçeklenme; Mayıs-Ağustos. Meyvelenme; Temmuz-Eylül (Şekil 1.3) [15].



Şekil 1.3: *C. galaticus*: a-Bitkinin genel görünüşü, b- Çiçeğin makro görünüşü (Fotoğraf: Candan AYKURT)

hücrel antioksidanlar, radikal türlere tek elektron verip radikalleri indirgerken, kendilerinin radikal formu oluşur.

iii.) Normal bir moleküle elektron transferi ile: Radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek elektron transferi ile dış orbitalinde paylaşılmamış elektron oluşuyorsa bu tür indirgenme radikal oluşumuna neden olabilir ($X+e\rightarrow X^{\cdot-}$). Örneğin; moleküler oksijenin tek elektron ile indirgenmesi, radikal formu olan süperoksit anyon radikalinin oluşumuna neden olur. Süperoksit anyon radikalinin yapımındaki artış ise, oksijenin diğer radikal türlerinin ve diğer atom merkezli radikallerin oluşumu için öncüdür [17].

1.1.1 Serbest Radikal Türleri

Oksijen yaşam için gereklidir ancak vücut üzerinde zararlı etkileri de vardır [18]. Aerobik metabolizmasındaki canlılar için ise (örneğin memeliler), serbest radikallerin en önemli kaynaklarından birisi oksijendir [19]. Birçok radikal türü olmasına karşın, biyolojik sistemlerde en çok görülen oksijenden oluşan ve ortak olarak reaktif oksijen türleri (ROS) olarak adlandırılan radikallerdir [20, 21].

Serbest radikal içinde reaktif oksijen radikalleri, reaktif nitrojen radikalleri, reaktif sülfür radikalleri gibi birçok aile bulunur [22]. Reaktif radikallerden fizyolojik olaylarda ve oksidatif streste en fazla rol alanı reaktif oksijen radikalleridir. Bu grupta süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) ve hidroksil ($OH^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), singlet O_2 , hipoklorik asit (HOCl), peroksinitrit ($ONOO^-$), hidroperoksil (HO_2^{\cdot}), lipid peroksit (LOOH), nitrik oksit (NO^{\cdot}) ve nitrojen dioksit (NO_2^{\cdot}) bulunmaktadır [23].

1.1.1.1 Reaktif Oksijen Türleri (ROS)

Canlı yapılarda yaygın olarak bulunan oksijenin dış yörüngesinde iki adet eşleşmemiş elektron bulunur. Bu nedenle oksijen, bir “biradikal” olarak da nitelendirilmektedir ve organizmada gerçekleşen kimyasal reaksiyonlarda rol alan elementlerin başında gelmesi nedeniyle bir serbest radikale dönüşmeye her zaman aday görünmektedir. Moleküler oksijen üzerindeki değişiklikler ile meydana gelen “serbest oksijen radikalleri” veya diğer adıyla “reaktif oksijen türevleri” (ROT)

serbest radikaller içerisinde karşımıza oldukça sık çıkan bir sınıfı oluşturmaktadır. Bu şekilde oluşabilen başlıca ROT'lar, süperoksit anyonu ($O_2^{\bullet -}$), hidrojenperoksit (H_2O_2) ve hidroksil radikalidir (OH^{\bullet}) [18].

Süperoksit Radikali ($O_2^{\bullet -}$)

Hemen hemen tüm aerobik hücrelerde, oksijenin bir elektron alarak indirgenmesiyle $O_2^{\bullet -}$ meydana gelir. Süperoksit, nitrik oksitle reaksiyona girerek azot dioksit (NO_2), hidroksil radikalı (OH^{\bullet}), nitronyum iyonu (NO_2^+) gibi toksik ürünlere dönüşebilen peroksinitriti ($ONOO^-$) oluşturur. Süperoksit indirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyon reaksiyonu ile de oluşabilmektedir. Bu reaksiyonlar geri dönüşümlüdür [22].

Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya peroksidin bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü iki hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksidi (H_2O_2) meydana getirir. H_2O_2 membranlardan kolayca geçebilen uzun ömürlü bir oksidandır [23].

Hidroksil Radikali (OH^{\bullet})

Hidroksil radikalı; Haber-Weiss: ($H_2O_2 + O_2^{\bullet -} \rightarrow OH^{\bullet} + OH^- + O_2$) ($O_2^{\bullet -}$ varlığında) veya Fenton: ($Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^{\bullet} + OH^-$) (Fe^{+2} veya geçiş metalleri varlığında) reaksiyonları sonucu peroksitten üretilir. Spesifik antioksidanı yoktur ve her tür organik maddeyi oksitleyebilir [24].

Singlet Oksijen

Oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak kendi spininin ters yönünde olan başka bir orbitalle yer değiştirmesiyle oluşur. Enerji absorpsiyonu ile uyarılan oksijenin paylaşılmamış dış elektronları spinlerini değiştirerek ayrı ayrı ya da aynı orbitali işgal edebilir. Bu iki forma singlet oksijen adı verilmektedir. Singlet oksijen, uyarılmış elektronların daha düşük enerji seviyelerine inmesiyle ışık yayar [16].

Hidroperoksil Radikali (HO₂')

H₂O₂'in üretimi süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile olmaktadır. H₂O₂ radikal değildir. Süperoksit ile reaksiyona girerek, en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir [25].

Hipokloröz Asit (HOCl)

Enzimatik olarak nötrofiller tarafından üretilir, güçlü bir oksidandır. Aktive olan nötrofiller, makrofajlar ve eozinofiller süperoksit üretirler. Özellikle nötrofiller, içerdikleri myeloperoksidaz enzimi aracılığı ile süperoksitin dismutasyonu ile oluşan hidrojen peroksiti klorür iyonu ile birleştirerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan HOCl'e dönüştürür [26].

1.1.2 Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest oksijen radikalleri mitokondrial oksidasyon, hemoglobin tarafından oksijen transportu, sitokrom P450 aktivitesi, hücresel haberciler olarak veya redoks durumu üzerinden hücresel sinyallerin iletimi veya hücrelerin biyogenezinde rol alırlar. Aynı zamanda detoksifikasyon ve glikojen depolanmasında, enzim aktivasyonunda, immün sistemde antijenlerin ortadan kaldırılmasında özellikle de fagositozda, kas kasılması gibi birçok fizyolojik reaksiyonlarda rolleri olduğu gibi organizmaya zararlı etkileri de olmaktadır [27].

1.1.2.1 Lipitlere Etkisi

Reaktif oksijen türlerine en hassas molekülün, hücre membranının ana bileşeni olan lipitler olduğu düşünülmektedir. Canlı organizmada yeterli miktarda bulunan reaktif bir ajan, lipit peroksidasyonunu başlatabilir. Reaktif ajan yağ asidinin hidrojenlerinden birini kopararak radikal oluşumuna ve oluşan bu radikalde komşu yağ asitlerinden birinin protonunun koparır ve yeni bir radikal oluşumuna sebep olur. Bu şekilde devam eden reaksiyonlar sonucunda ortamdaki radikal konsantrasyonu artar ve sonuç olarak da lipit peroksidasyonu meydana gelir [28].

1.1.2.2 Proteinlere Etkisi

Proteinlerin serbest radikal hasarından etkilenme derecesi amino asit kompozisyonlarına bağlıdır. Protein oksidasyonu, özellikle histidin, tirozin, fenilalanin gibi amino asitlerde karbonil gruplarının oluşumu şeklindedir. Proteinlerde fragmantasyon ve çapraz bağlanmalar meydana gelir. Protein fonksiyonlarında (kataliz, transport, reseptör gibi) bozulmalar ve immun sistemi uyarabilecek antijenik değişiklikler oluşabilir [29].

1.1.2.3 DNA'ya Etkisi

İyonize radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücrede değişime ve ölüme yol açarlar. DNA yapısındaki pürin ve pirimidin bazlarında parçalanma ve yıkım sonuçta DNA'nın denatürasyonuna neden olur. Oksidatif hasar dal kırıkları, baz çifti değişimleri, yeniden düzenlenme gibi yapısal değişimlere neden olmaktadır. DNA, serbest radikallerden kolay zarar görebilir önemli bir hedeftir [18, 30, 31]. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucunda peroksitler, hidrojen peroksit, glioksal ve okzoaldehitler meydana gelirler. Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanarak antimitotik etki gösterirler. Böylece kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar. Yine bağ dokunun önemli mukopolisakkariti olan hiyalüronik asit, hidrojen peroksit ve süperoksit radikalinin etkisi altında parçalanmaktadır. Bu durumda hiyalüronik asidin bol bulunduğu yerlerde patolojik lezyonlar meydana gelir [18, 22].

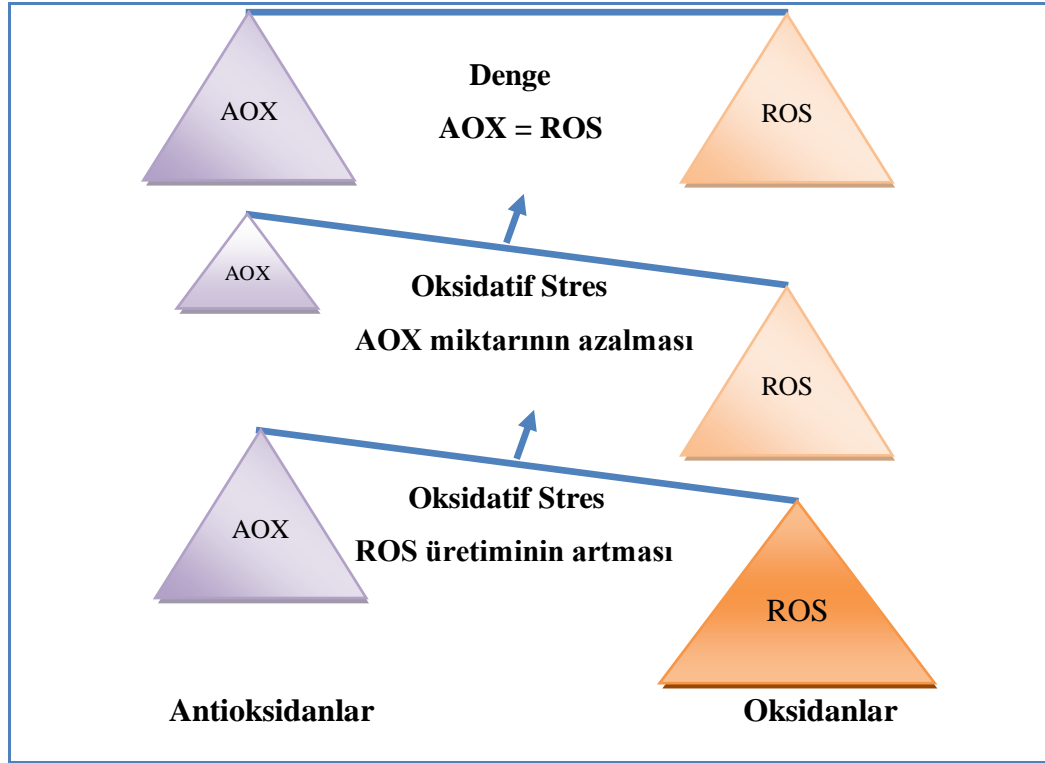
1.1.3 Oksidatif Stres

Oksidatif stres, oksidan oluşumu ve antioksidan savunma arasındaki dengenin oksidanlar yönünde bozulması durumudur. Ancak bu denge reaktif oksijen türlerinin üretiminin artması veya antioksidan miktarındaki azalma nedeniyle pro-oksidanlar yönüne kaymaktadır.

Oksidatif strese başlıca iki mekanizma neden olmaktadır.

- (1) Antioksidan konsantrasyonunun azalması (örneğin; antioksidan enzimlerin mutasyona uğramasından ötürü, toksinler veya doğal antioksidan alımının azalması)

(2) Aktif fagositlerden türeyen reaktif oksijen/nitrojen/karbon türlerinin sayısının artmasıdır (Şekil 1.5) [32].



Şekil 1.5: Oksidan miktarı ile antioksidan sistemler arasındaki denge [32].

Tablo 1.1: Oksidatif strese neden olan reaktif türler (18)

RADİKALLER	RADİKAL OLMAYANLAR
<i>Reaktif oksijen türleri (ROS)</i>	Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)
Süperoksit (O ₂ ^{•-})	Hipobromöz asit (HOBr)
Hidroksil (OH [•])	Ozon (O ₃)
Hidroperoksil(HO ₂ [•])	Singlet oksijen (O ₂ ¹)
Lipit peroksil (LO ₂ ¹)	Lipit peroksitler (LOOH)
Lipit alkoksil (LO [•])	Maillard reaksiyonu ürünleri
<hr/>	
<i>Reaktif klorür türleri (RCS)</i>	Hipokloröz asit (HOCl)
Atomik klor (Cl [•])	Nitril Klorür (NO ₂ Cl)
<hr/>	
<i>Reaktif Azot Türleri (RNS)</i>	Nitröz asit (HNO ₂)
Nitrit oksit (NO [•])	Nitrozil katyonu (NO ⁺)
Azotdioksit (NO ₂ [•])	Nitrozil anyonu (NO ⁻)
	Diazot tetraoksit (N ₂ O ₄)
	Diazot trioksit (N ₂ O ₃)
	Peroksinitrit (ONOO ⁻)
	Peroksinitröz asit (ONOOH)
	Nitril katyonu (NO ₂ ⁺)
	Alkil peroksinitritler (ROONO)
	Nitril klorür (NO ₂ Cl)

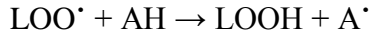
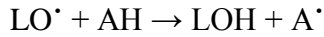
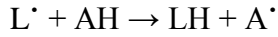
1.2 Antioksidanlar

Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek veya mevcut radikalleri süpürerek hücrenin zarar görmesini engelleyen ve yapısında genellikle fenolik fonksiyon taşıyan moleküllerdir [33, 34]. Antioksidanlar, serbest radikallerle reaksiyona girerek hücre zararını ve tümör gelişimini önlerler; böylece sağlıklı ve yaşlılık etkilerinin minimum olduğu kaliteli bir yaşam sağlarlar [35]. Antioksidanlar; serbest radikal oluşturan tepkimeleri sonlandırarak, radikal oluşumunu sınırlandırarak, ortaya çıkan radikalleri detoksifiye ederek veya oksidatif hasara maruz kalmış maddelerin onarımını sağlayarak etki gösterirler [24]. Organizmada oluşan anabolik ve katabolik olayları ve tüm metabolizmayı etkileyen ve bir kısmı enzimlerin aktif gruplarında yer alan, yokluğu ve yetersizliği fizyolojik fonksiyonların durmasına ya da önemli ölçüde azalmasına neden olan antioksidan maddelere karşı ilgi artmış ve bilimsel araştırmalara konu olmuştur [31]. Normal fizyolojik koşullarda hücreler, serbest radikal ürünleri ve peroksitler gibi moleküllerin neden olabileceği oksidatif hasara karşı, antioksidan savunma sistemleri tarafından korunur [36].

Antioksidanlar kompleks bir yapıya sahiptirler ve iki çeşit mekanizmada etki gösterirler. Bunlar, direkt antioksidanlar ve indirekt antioksidanlar olarak tanımlanırlar. Direkt antioksidanlar (glutatyon, fenolik bileşikler, tokoferoller, askorbik asit ve karotenoidler gibi) fizyolojik, biyokimyasal veya hücresel proseslerde yer alarak serbest radikalleri inaktive ederler veya serbet radikaller tarafından başlatılan kimyasal reaksiyonları önlerler [37]. Direkt antioksidanların aynı zamanda pro-oksidan etkilerinin olduğu da deneysel olarak saptanmıştır. Ancak bu reaksiyonların in vivo olarak önemli olup olmadığı henüz çok kesin değildir. İndirekt antioksidanlar ise serbest radikal veya redoks reaksiyonlarının engellenmesinde rol oynamazlar. Bunlar hücrenin antioksidan kapasitesini güçlendirirler. Bunun nedeni insan vücudunda bulunan bir grup enzimin (glutatyon transferaz, kinon redüktaz, epoksit hidrolaz) elektrofilik türlerin detoksifikasyonuna neden olmasıdır. Antioksidanlar yükseltgenen maddeler olduğundan zincir reaksiyonlarını (örneğin lipidlerin oksidatif parçalanmasına yol açan radikalik zincir reaksiyonunu) koparmaları sırasında kendileri yükseltgenerek bozunurlar. Bu nedenle antioksidanlar yükseltgenen maddeyi (örneğin biyolojik makromolekülleri) yalnız sınırlı bir zaman için koruyabilir ve belli bir noktadan

sonra madde ortamda hiç antioksidan yokmuş gibi yükseltgenmeye devam eder. Antioksidanların kimyasal aktiviteleri, diğer bir deyişle, hidrojen veya elektron donör araçları olarak indirgeme potansiyelleri genellikle onların serbest radikal tutucu olarak göstermiş oldukları potansiyel ile ifade edilir [38]. Zincir koparıcı antioksidan aktivitenin değerlendirilmesinde antioksidanın hem molekül başına verebildiği elektron ya da giderebildiği serbest radikal sayısı (yani reaksiyon stokiyometrisi), hem de reaksiyon hızı (kinetik) önemlidir [36].

Zincir koparıcı antioksidan aktivite şu mekanizma ile gerçekleşir:



Radikalik reaksiyonun başlaması veya uzaması antioksidan molekül (AH) tarafından inhibe edilmektedir. Burada L[·] lipid, LO[·] alkoksil, LOO[·] ise peroksil radikallerini simgelemektedir. Bu mekanizma üzerinden etkinlik gösteren antioksidanlar ‘primer antioksidanlar’ olarak adlandırılırlar.

Diğer yandan “sekonder antioksidanlar” olarak adlandırılan bileşikler ise oksidasyon hızını düşürürler ve genellikle Fenton-tipi reaksiyonları inhibe etmeye çalışırlar [39]. Fenton reaksiyonu hidroksil radikallerinin oluşmasına neden olan bir reaksiyondur [40].



Bir antioksidanın aktivitesi şu faktörler ile belirlenir:

1. Hidrojen veya elektron donör aracı olarak gösterebildiği reaktivite (Genelde indirgeme potansiyeline bağlıdır).
2. Antioksidandan türeyen radikalın akıbeti.
3. Diğer antioksidanlarla etkileşim yeteneği.
4. Geçiş metali şelatlama potansiyeli [36].

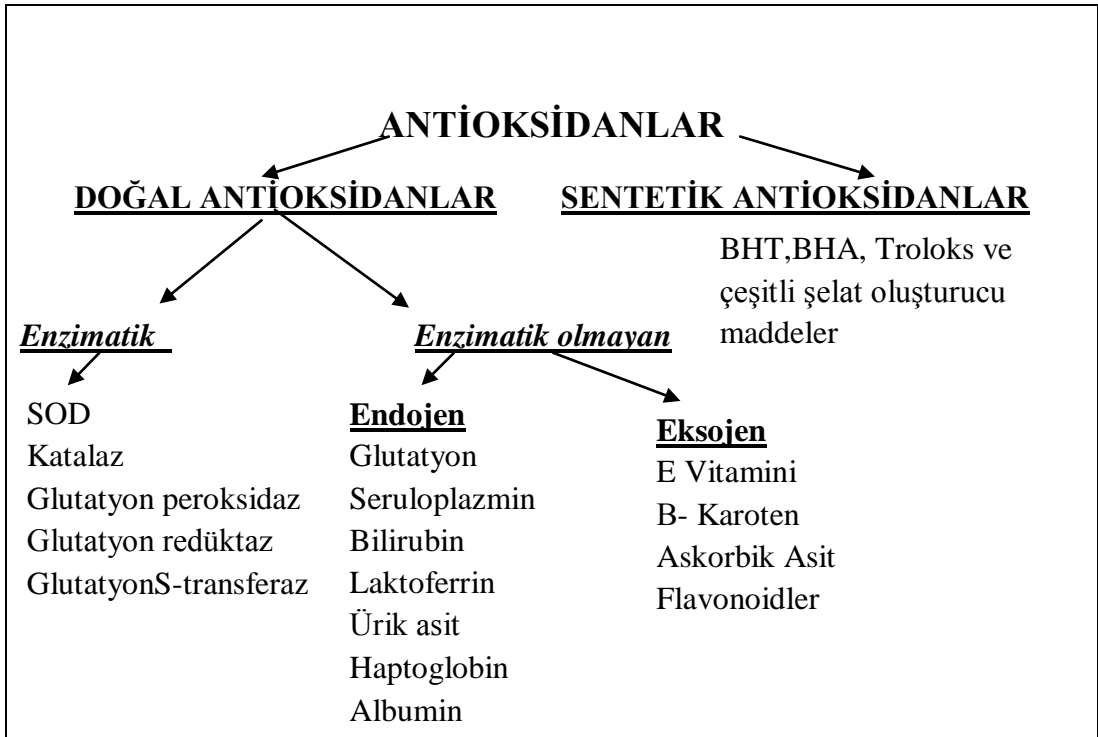
Ayrıca antioksidan aktivite, ekstraksiyon çözücüsünün polaritesine ve türüne, izolasyon tekniklerine ve aktif bileşiklerin saflığına bağlıdır [41].

Antioksidanlar 4 farklı mekanizma ile oksidanların zararlarını önlerler;

1. **Temizleme etkisi:** Enzimler tarafından oksidan molekülleri zayıf hale getirilip oksijen ile reaksiyona girerek oksijen konsantrasyonunu azaltırlar.
2. **Baskılama etkisi:** Vitaminler ve flavonoidler tarafından oksidanlara bir hidrojen atomu verilerek hidroksil radikali yapısında yer alan hidrojen atomları ile bağ oluşturabilecek yapıdaki ürünleri temizleyip peroksidasyonun başlamasını önlerler.
3. **Onarma etkisi:** Serbest radikallerin oluşturduğu hasarları onarırlar.
4. **Zincir Koparma etkisi:** Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleyebilirler. Zincir kırıcı antioksidanlar arasında fenoller, aromatik aminler ve en yaygın olan α - tokoferoller yer almaktadır [42].

1.2.1 Antioksidanların sınıflandırılması

Antioksidan savunma sistemleri endojen ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olmak üzere iki guruba ayrılabilir (Şekil 1.6) [3].



Şekil 1.6: Antioksidanların Sınıflandırılması

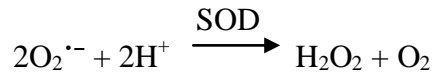
1.2.1.1 Doğal Antioksidanlar:

Enzimatik antioksidanlar:

Hücre içinde çeşitli mekanizmalarla oluşan radikaller bazı enzimler tarafından giderilir. Pek çok enzim doğrudan veya dolaylı olarak serbest radikalleri giderme mekanizmasına katkıda bulunursa da bunların içinde en önemlilerinin çalışma mekanizmaları aşağıdaki gibidir:

Süperoksit Dismutaz (SOD) :

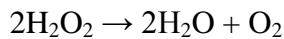
Süperoksit dismutaz (E.C.1.15.1.1) süperoksitin hidrojen peroksit ve oksijene tek elektronlu dismutasyonunu katalizler [43] .



İnsan hücrelerinde özellikle sitozolde bulunan bakır ve çinko iyonu içeren Cu-Zn- SOD ile manganez iyonu içeren mitokondrial Mn-SOD olmak üzere SOD'un iki izoenzimi bulunur.

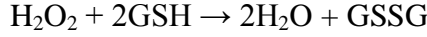
Katalaz (CAT):

Katalaz (E.C.1.11.1.6) enzimi dört alt üniteden oluşmuş, her bir alt ünitesinde bir hem [Fe(III)-protoporfirin] grubu bulunduran 240,000 dalton molekül ağırlığında tetramerik yapıya sahip bir proteindir. Her aerobik hücre bu enzimi bulundurur. Karaciğer, böbrek, miyokard, çizgili kaslar ve eritrositler katalazın en fazla aktivite gösterdiği yerlerdir. CAT, %80 oranında peroksizomlarda ve %20 oranında sitozolde bulunur [44] .



Glutasyon peroksidaz (GSH-Px):

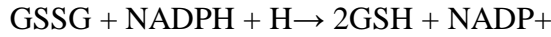
Glutasyon peroksidaz, H₂O₂ ve lipid peroksidlerin detoksifikasyonunda görev alır. İndirgenmiş glutatyonun ihtiyacı duyar. Peroksidten su oluşumunu sağlayan tepkimeyi katalize eder:



H₂O₂'nin düşük konsantrasyonlarında katalaz, yüksek konsantrasyonlarında glutasyon peroksidaz daha aktiftir [23].

Glutasyon Redüktaz (GR) :

Glutasyon redüktaz (E.C.1.8.1.7), GPx vasıtasıyla hidroperoksidlerin indirgenmesi sonucu oluşan okside glutatyonun (GSSG) tekrar indirgenmiş glutatyonun (GSH) dönüşümünü katalize eder [45].



Glutasyon-S-Transferaz (GST):

Glutasyon transferaz araşidonik ve linoleik asit hidroperoksidleri başta olmak üzere lipid peroksidlerin detoksifikasyonunda görev alır [23].

Non- Enzimatik (Enzimatik Olmayan) Antioksidanlar

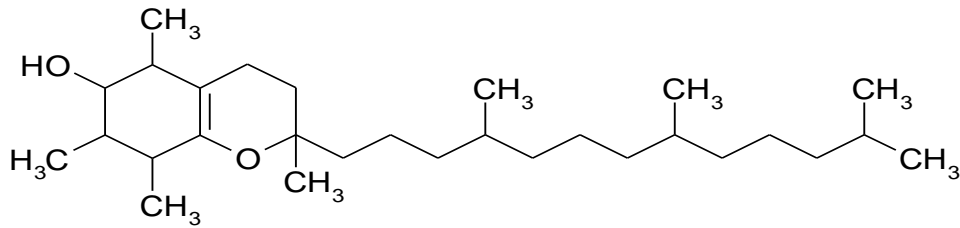
Enzim yapısında olmayan doğal antioksidanlar, bitki veya hayvan dokularında bulunan ya da bitkisel veya hayvansal kaynaklı bileşiklerin pişirilmesi veya işlem görmesi sonucu oluşan maddelerdir. Hemen hemen tüm bitkilerde, mikroorganizmalarda ve bazı hayvansal dokularda bulunurlar [46]. Antioksidanların çoğu fenolik bileşiklerdir ve en önemlileri arasında askorbik asit, tokoferoller, karotenoidler ve flavonoidler bulunmaktadır [47].

C Vitamini

C vitamini (askorbik asit, askorbat) bitkilerde yaygın olarak bulunan, suda çözünen bir vitamindir. Altı karbonlu lakton yapısına sahiptir. Özellikle çilek, papaya, portakal, kivi, greyfurt, kavun, mango gibi meyvelerde, brokoli, brüksel lahanası, kırmızı veya yeşil biber, domates, lahana, patates, karnıbahar gibi sebzelerde, portakal suyu, domates suyu gibi meyve sularında bol miktarda bulunmaktadır [48]. İnsan vücudu tarafından sentez edilmediğinden dolayı bu vitamini dışarıdan alma zorunluluğu vardır [49]. Vücutta depolanmadığından, her gün düzenli olarak alınması gerekir [18]. C vitamini, reaktif oksijen (süperoksit, peroksil radikalleri, singlet oksijen, ozon), reaktif azot (peroksinitrit, azot dioksit) ve reaktif klor (hipoklorik asit) türlerini kolayca süpürür ve bu suretle diğer substratları oksidatif hasardan korur [50].

Vitamin E (α -tokoferol)

Doğada yan zincirlerinin doygunluğu ve metilasyonu bakımından birbirinden farklı α , β , γ , ve δ -tokoferol ile α , β , γ , ve δ - tokotrienol isminde 8 tip Vitamin E bulunur. Plazmada baskın olarak bulunan ve en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olanı ise α - tokoferoldür (Şekil 1.7).



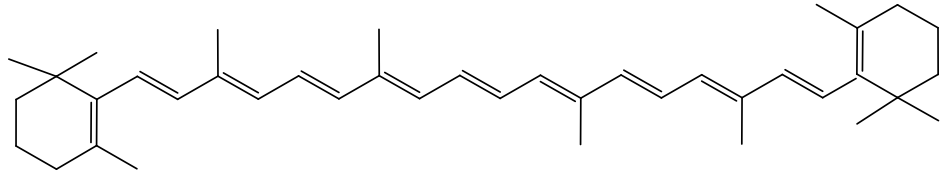
Şekil 1.7: α -tokoferol"ün kimyasal yapısı

Vitamin E, insan vücudu için esansiyel olan bir antioksidan bileşiktir ve bu nedenle dışarıdan alınması gerekir. Hücre membranının yapısı ve fonksiyonu açısından önemli olan doymamış yağ asitlerinin korunmasında rol oynar [51].

Hayvan organizması pek az miktarda içerir. Özellikle bitkisel yağlarda, yeşil yapraklı sebzelerde, baklagillerde, ceviz, fındık, süt, yumurtada bulunurlar [50].

Karotenoidler

Bitkilerde ve hayvansal dokularda bulunan kırmızı-sarı pigmentlerdir. Karotenoidlerin bitkilerde çiçek ve meyvelere rengini verme ve fotosenteze yardımcı pigment olmak üzere iki ana fonksiyonu vardır. Karotenoidler oldukça kompleks yapıya sahiptir, sekiz tane beş karbonlu izoprenoid biriminin bir araya gelmesiyle oluşan 40 C'lu polienlerdir. Doğada karotenoidlerin çoğu antioksidan aktivite göstermektedir (Şekil 1.8) [52].



β-karoten

Şekil 1.8: β-Karoten'in kimyasal yapısı

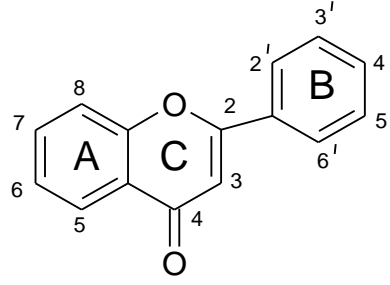
Fenolik Bileşikler

Fenolik maddeler doğal antioksidanların en önemli gruplarını oluştururlar. Antioksidanların en önemlileri polifenoller ve bunların türevleridir. Polifenolik bileşikler; kimyasal yapıları basit bileşiklerden yüksek polimerleşmiş maddelere kadar çeşitlenebilen bitkisel maddelerdir. Polifenoller güçlü antioksidanlardır ve aktiviteleri kimyasal yapılarına bağlıdır. Bitki polifenoller çok fonksiyonlu olup, indirgeme aracı, hidrojen atomu verici ve singlet oksijen söndürücü olarak davranırlar [36, 50].

Besin fenolikleri; flavonoidler, fenolik asitler, fenolik polimerler (tanenler) olmak üzere üç sınıfa ayrılır.

Flavonoidler

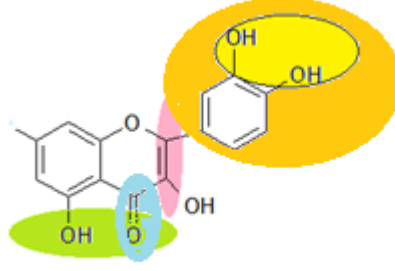
Flavonoidler; önemli antioksidan ve kelatlama özelliğine sahip, düşük molekül ağırlıklı ve en geniş bitki fenolikleri sınıfıdır. Doğada, birçoğu yaprak, çiçek ve kökte bulunan 4000'den fazla flavonoid çeşidi mevcuttur. Meyve, sebze, şarap, kakao ve çayda bol miktarda bulunurlar [53]. Flavonoidler, sebzelerde, kuru yemişlerde, meyvelerde, çay, kahve ve kırmızı şarap gibi içeceklerde ve tıbbi bitkilerde bulunan fenolik bileşiklerdir (Şekil 1.9) [54].



Şekil 1.9: Flavonoidin kimyasal yapısı

A, B ve C halkalarından oluşan halka yapısında çeşitli hidroksil, metoksi ve glikozid yan grupları içerirler. Halkalar arasındaki yapısal değişiklikler flavonoidleri çeşitli sınıflara ayırmaktadır [36]. Flavonoidler, serbest radikalleri temizleme özelliğinin yanı sıra metal iyonlarıyla kompleks oluşturarak metallerin sebep olduğu peroksidasyonu azaltarak antioksidan özellik gösterirler [55]. Bu halkalara bağlanan çeşitli fenolik hidroksil grupları, bu yapıların antioksidan aktivite göstermelerini sağlarlar [36].

Flavonoidlerin antioksidan etkileri hidroksillenme derecesine göre artarken, yapıya bağlanan şekere ve cinsine göre de azalır [17]. B halkası hidroksil konfigürasyonu; reaktif oksijen (ROS) ve reaktif azot (RNS) türlerinin süpürülmesinde en önemli öğedir. B halkasındaki hidroksil grupları; hidroksil, peroksil ve peroksinitrit radikallerine hidrojen ve elektron vererek onları kararlı hale getirirler [56]. Şekil 1.10'da, çok güçlü bir antioksidan olan kuersetinin kimyasal yapısı üzerinde antioksidan kapasitesini belirleyen özellikleri incelediğimizde, bu özelliklerden en önemlisi daha önce belirtildiği gibi turuncu renkle gösterilen kateşol veya orto-dihidroksillenmiş B halkasıdır. Diğer önemli özellikler; C halkasında pembe renkle gösterilmiş olan doymamış yapı, mavi renkle gösterilen 4-okso fonksiyonunun varlığıdır. Kateşol grubu ve diğer fonksiyonlar (yeşil renkli) demir ve bakır gibi transizyon metallerini kelatlama yeteneği sağlar [57].



Şekil 1.10: Flavonoidlerin klasik antioksidan kapasitelerini belirlemede önemli olan özellikleri gösteren kimyasal yapı

Flavonoidler; antosiyaninler ve antoksantinler şeklinde gruplandırılır. Antoksantinler; flavonlar, flavonoller, flavanonlar ve izoflavonlar olmak üzere 4 gruba ayrılırlar [36].

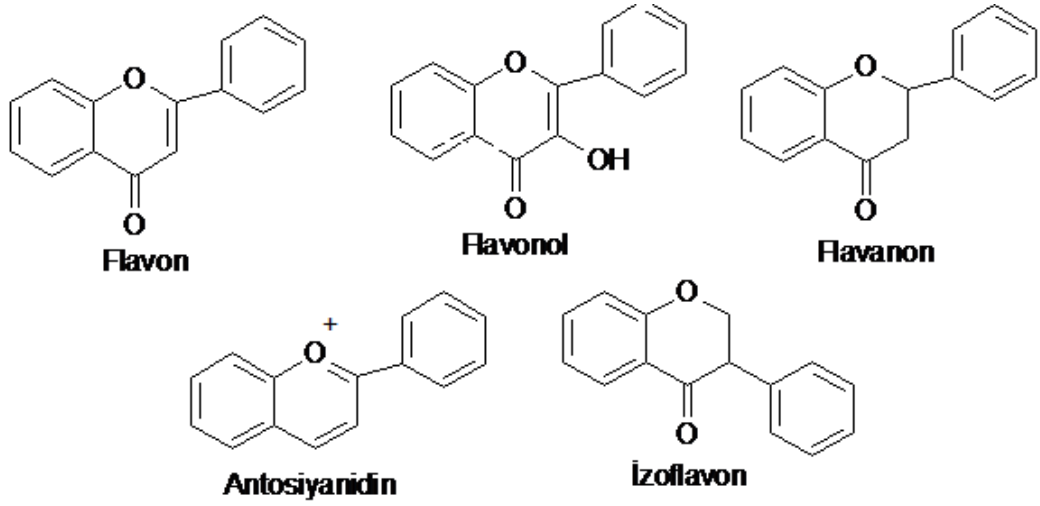
Antosiyaninler, flavanollerin B aromatik halkasına bir hidroksil grubunun bağlanmasıyla meydana gelir. Aglikonları antosiyanidinler'dir. En önemlileri; apigenidin, siyanidin, malvidin ve delfinidin'dir. Renkli meyvelerde özellikle kırmızı ve mor renkli meyvelerde bol miktarda bulunur [50].

Antoksantinler, renksiz veya beyazdan sarıya dönük renkte olurlar ve flavonol, flavanol, flavon, flavanon ve izoflavonlar olarak sınıflandırılırlar [32].

Flavon sınıfına ait temel bileşikler apigenin, luteolin ve krisindir. Maydanoz, kereviz ve zeytinde bol miktarda bulunmaktadır. Yüksek derişimlerde bulduklarında ya da metal iyonları ile kompleks oluşturduklarında bitkiye renk vermektedir.

Flavonoller (3-hidroksiflavon), flavonun 3. karbon atomuna bağlı bir hidroksil grubu taşırlar. Flavonoidlerin bitkilerde en yaygın olarak bulunan sınıfıdır. En önemli flavonoller kuersetin, mirisetin, fisetin ve kaempferol'dur. Kuersetin flavonoidlerin en önemli bileşiği ve bitkilerin temel fenolik bileşenidir. Soğanda, elmada ve lahanada bol miktarda bulunur [36].

Flavonoidlerin genel yapıları Şekil 1.11'de verilmiştir.



Şekil 1.11: Flavonoidlerin genel yapıları

Flavonollerin C halkasında bulunan çifte bağlı oksijen atomunun yerine CH_2 grubu geldiğinde flavanol oluşur. Flavonların indirgenmiş türevleridir. En önemlileri kateşin ve epikateşin'dir. Kateşin ve epikateşinin gallik asitle kombinasyonları sonucu kateşin ve epikateşin gallatlar meydana gelir. Bu bileşikler çoğunlukla yeşil ve siyah çayda, kırmızı ve beyaz şarapta, şeftalide ve elmada bol miktarda bulunurlar. Flavonların izomeri olan izoflavonların en bilinen bileşikleri genistein ve daidzein olup baklagiller ve soya fasülyesinde fazla miktarda bulunmaktadır [50].

1.2.1.2 Sentetik Antioksidanlar

Gıdalarda bulunan bitkisel ve hayvansal yağların oksidatif yıkımı sonucu sekonder potansiyel toksik bileşikler oluşmakta bu durum ise besin kalitesini ve güvenilirliğini düşürmekte besinin tat ve kokusunda bozunmalara neden olmaktadır. Antioksidanların ilavesi besinlerin lezzetini, rengini korumada ve vitaminlerin yıkımının engellenmesi için gereklidir. Gıdaların korunumunda yaygın olarak sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır. Bunlara örnek olarak bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), Propil gallat (PG) ve ter-bütül hidrokinon (TBHQ) verilebilir [58, 59].

BHA (Bütillenmiş hidroksianisol)

Sentetik bir antioksidan olan BHA, (2- tersiyer-bütül-4-hidroksianisol ve 3- tersiyer-butül-4-hidroksianisol karışımı; C₁₁H₁₆O₂), beyaz, mumsu katı bir yapıya sahip, hem hayvansal hem de bitkisel yağlarda çözünebilen ancak suda çözünemeyen bir antioksidan olarak tanımlanmaktadır [60].

BHT (Bütillenmiş hidroksitoluen)

Bütillenmiş hidroksitoluen en çok kullanılan antioksidanlardandır. BHT ilk defa soya yağının otoksidasyonunda bozunma ürünleri tayin edilerek fark edilmiştir. [45]. Bütillenmiş hidroksi toluen hayvansal yağlarda ve etlerde çok, bitkisel yağlarda az etkilidir. BHA ile benzer özelliklere sahiptir [61].

1.2.2 ANTIOKSİDAN AKTİVİTE TAYİN YÖNTEMLERİ

Tek bir analiz yöntemi ile ölçülen “antioksidan aktivite” o yöntemde uygulanan spesifik koşullardaki kimyasal reaktiviteyi yansıttığından verileri “total antioksidan aktivitenin” göstergesi olarak genellemek uygun olmayabilir ve yanıltıcıdır. Bu nedenle “aktivite” terimi yerine farklı deneylerde elde edilen sonuçları “kapasite” olarak sunmak önerilmektedir. Ya da “peroksil radikal süpürücü kapasite”, “süperoksit süpürücü kapasite”, “demir iyonu indirgeme kapasitesi” gibi ölçüm yöntemini daha spesifik olarak belirten terimlerin kullanılması da önerilmektedir [62].

Antioksidan kapasite tayin yöntemleri, kullanılan kimyasal reaksiyon açısından temel olarak iki sınıfta toplanabilir.

1. Hidrojen atomu transferi reaksiyonuna dayananlar (HAT)
2. Elektron transferi reaksiyonlarına dayananlar (ET)

HAT reaksiyonuna dayanan analiz yöntemlerinin çoğu azot bileşiklerinin bozunması sonucu oluşan peroksi radikallerinin antioksidan ve substrat tarafından yarışmalı bir şekilde giderilmesi prensibine dayanır.

- a) İndüklenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein otooksidasyonu,
- b) Oksijen radikal absorbans kapasitesi (ORAC),
- c) Total radikal yakalama antioksidan kapasitesi (TRAP),
- d) Crocin bleaching deneyleri olarak sıralanabilir.

ET temelli analiz yöntemleri antioksidan maddenin, indirgendiğinde renk değiştiren bir oksidan maddeyi, indirgeme kapasitesinin ölçümüne dayanır. Renk değişiminin derecesi örneğin antioksidan derişimi ile bağlantılandırılır.

ET temelli analiz yöntemleri;

- a) Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile toplam fenolik madde analizi
- b) Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) ölçümü
- c) Ferrik iyonu indirgeme antioksidan gücü (FRAP) ölçümü
- d) Cu (II) kompleksini oksidan olarak
- e) DPPH kullanarak “toplam antioksidan potansiyel” ölçüm yöntemleri olarak sıralanabilir.

Çalışmalarda en fazla kullanılan yöntemler ise:

- Toplam fenol miktar tayini (folin-ciocaltaeu assay)
- Ransimat yöntemi ile lipit peroksidasyon etki tayini
- DPPH ile serbest radikal süpürücü etki tayini
- Demir-tiyosiyonat metodu
- Tiyobarbitürik asit metodu (TBA)
- β -Karoten-linoleik asit yöntemi (total antioksidan aktivite) [63].

HAT – Hidrojen Atomu Transferi Esasına Dayanan Yöntemler

TRAP (Toplam Radikal Tutma Parametresi) Yöntemi

TRAP yönteminde 2,2' azobis (2-metilpropiyonamid) dihidroklorürden (ABAP) peroksil radikali üretilir. ABAP ilave edildikten sonra, oksitlenebilen maddelerin oksidasyon reaksiyonu sırasında tüketilen oksijenin ölçülmesi ile takip edilir. Oksidasyon antioksidanlar tarafından yavaşlatılır [64]. Aktivitesi, zamanla antioksidanların tükenmesi yani okside olmuş prob maddenin görülme süresinin uzaması ile belirlenir. TRAP metodu genellikle glutatyon, askorbik asit, tokoferol, β -karoten gibi enzimatik olmayan antioksidanları ölçtüğü için çoğunlukla serum ve plazmanın antioksidan kapasitesini ölçmek amacıyla kullanılır [65].

ORAC (Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi) Yöntemi

ORAC yönteminde AAPH (2,2' azobis(2-amidinopropan)hidroklorür) peroksil radikalini oluşturmak için, Cu^{2+} - H_2O_2 ise hidroksil radikalini oluşturmak için kullanılır.

Ayrıca yükseltgenebilen substrat olarak β -fikoeritrin (PE) veya floressein kullanılmaktadır. Bu yöntem peroksil radikalinin neden olduğu oksidasyonun antioksidan tarafından inhibisyonunu temel almaktadır. Bu da floresans yoğunluğundaki azalma ile belirlenebilir. Floresan madde peroksil radikalleri tarafından yükseltgenerek floresans özellik göstermeyen bir ürüne dönüşür. Reaksiyon ilerledikçe floresein veya β -PE tüketilir. Antioksidan varlığında AAPH radikalleri giderilir ve floresans azalması inhibe edilir. ORAC sonuçları μM Trolox eşdeğeri olarak belirtilir [64, 66].

ET- Elektron Transferi Esasına Dayanan Yöntemler

Bu elektron transfer bazlı yöntemler, reaksiyon karışımında iki bileşen içerirler, antioksidanlar ve oksidanlar (problar). Aşağıdaki elektron transfer reaksiyon temeline dayanırlar;



Prob antioksidanlardan elektron alır ve bunun sonucunda indirgenmiş probun rengi değişir. Renklerdeki değişim derecesi başlangıç örneğindeki toplam antioksidan konsantrasyonu ile orantılıdır [67].

TEAC (Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite)/ ABTS Yöntemi

Yöntem ilk defa Miller ve arkadaşları tarafından bulunmuştur. Yöntem 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolin-6-sülfonat) (ABTS) bileşiğinden radikal katyonu oluşturarak, bu katyonun antioksidanlar tarafından giderilmesine dayanmaktadır.

ABTS radikali, H₂O₂ ve HRP (Horse Radish Peroksidaz) varlığında enzimatik sistemlerde oluşturulabilir. Bu ABTS radikali (ABTS^{•+}); renklidir, oda sıcaklığında kararlı olmasına rağmen 35 °C'nin üzerinde ve pH 7,5 üzerinde kararsızdır [68].

Folin Ciocalteu (FC) Yöntemi

Doğal ürünlerde toplam fenolik madde ölçümü olarak kullanılmıştır. Ancak aynı zamanda temel mekanizma yükseltgenme/indirgenme reaksiyonlarına dayandığı için TAC yöntemlerinden biri olarak kullanılabilir [69]. Folin-Ciocalteu (FC) reaktifi sadece fenolik bileşenlere özgü değil, pek çok fenolik yapıda olmayan bileşenleri de indirgeme yeteneğine sahiptir. FC temelli yöntem, gerçekte örneğin indirgeme kapasitesini tayin etmektedir. Bu yöntemde kullanılan CuSO₄ (bakır(II) sülfat) alkali ortamda protein veya antioksidanla kompleks yapar. Folin fenol reaktifi (fosfomolibdik fosfotungstik asit) eklendiğinde, folin reaktifi proteine bağlanır. Protein veya antioksidanla Cu(II)'nin reaksiyonundan açığa çıkan Cu(I) olasılıkla molibdatotungstat ayıracını heteropoli mavisine indirger ve rengi sarıdan maviye dönüşür [22]. Reaksiyon tamamlanınca 750 nm'de örnek absorbansları ölçülür [33].

CUPRAC (Bakır(II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite) Yöntemi

Bakır(II)-neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) reaktifi (Cu(II)-Nc) kullanılarak polifenolik bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin tayini için geliştirilen spektrofotometrik CUPRAC yöntemi antioksidan bileşikler varlığında Cu(II)-Neokuproin kompleksinin renkli Cu(I)-Nc kelatına indirgenmesi ve bu kelatın maksimum ışığı soğurduğu 450 nm'de absorbans değerlerinin ölçülmesi esasına dayanmaktadır [33, 24].

FRAP (Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü) Yöntemi

FRAP yöntemine göre, demir (III) tripridiltriazin (Fe^{3+} -TPTZ) kompleksi antioksidan vasıtasıyla düşük pH ortamında demir (II) tripridiltriazin (Fe^{2+} -TPTZ) kompleksine indirgenir. Meydana gelen Fe^{2+} -TPTZ kompleksinin rengi kuvvetli mavidir ve 593 nm'de maksimum absorbans vermektedir. Düşük pH (pH:3,6)'larda demirin indirgenmesi demirli tripridiltriazin kompleksinin oluşmasına neden olur [76, 23] .

Ransimat yöntemi ile lipit peroksidasyon etki tayini

BHT ve çalışmada elde edilen ekstraların lipit peroksidasyonuna karşı etkileri, yağlarda bulunan doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu oluşan bozunma ürünlerinin su içine absorbe edilerek suyun iletkenliğinin değişmesi prensibine göre çalışan Ransimat cihazı ile test edilmesidir [71] .

Tiyobarbitürik asit metodu (TBA)

Hazırlanan örnek ekstresine trikloroasetik asit (TCA) ve tiyobarbitürik asit (TBA) çözeltileri ilave edilerek karıştırılıp, 532 nm'de spektrometrede absorbansı okunma esasına dayanmaktadır.

Demir-tiyosiyonat metodu

Uygun çözücü içerisinde hazırlanan örnek çözelti üzerine amonyum tiyosiyonat çözeltisi ilave edilmiştir. Bu karışım üzerine (0,1 ml %3,5'lik) hidroklorik asit çözeltisi içerisinde hazırlanmış (2×10^{-2} M) demir iki klorür çözeltisi konulup bir süre sonunda 500 nm de spektrofotometrede absorbansı okunmuştur.

β -Karoten-linoleik asit yöntemi (total antioksidan aktivite)

β -Karoten renk açılım yöntemi iki şekilde uygulanabilir: Agar difüzyon ve spektroskopik yöntem. Her iki yöntem de linoleik asit oksidasyonundan ileri gelen

konjuge dien hidroperoksitlerin inhibisyonunun ölçülmesine dayanmaktadır. Reaksiyon sonunda çözeltide β -karotenin kaybolan karakteristik sarı renginin absorbanansı 470 nm'de UV–spektrofotometrede kaydedilerek sonuçlar standart olarak kullanılan sentetik antioksidanlar ile karşılaştırılarak verilmektedir [50, 23].

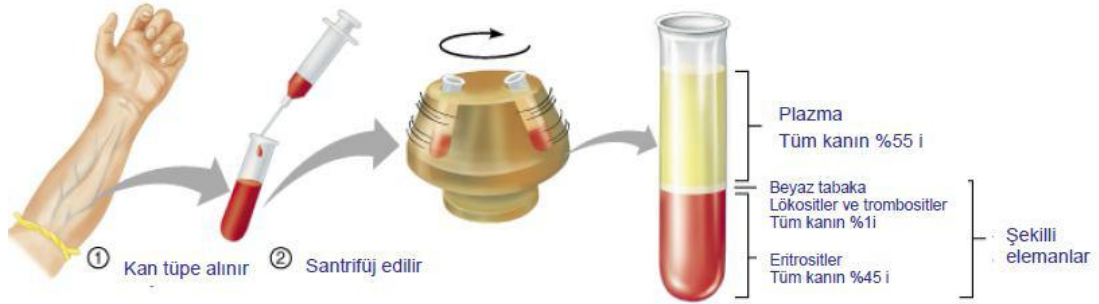
DPPH süpürücü antioksidan aktivite tayin yöntemi

Bu yöntem ilk kez Blois (1958), [72] tarafından 1,1-difenil-2-pikril hidrazil (DPPH) radikallerinin antioksidan moleküllerin tayininde kullanılabileceğinin önerilmesi ile ortaya çıkmıştır. Antioksidan aktivite ölçümlerinin yoğunlaştığı yıllarda Brand-Williams ve arkadaşları [7] yöntemi geliştirmiş ve bu yöntem pek çok araştırmacı tarafından referans olarak kullanılmıştır. Yöntemin esası; antioksidanların kararlı bir organik azot radikali olan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikalini süpürücü etkilerini ölçmeye dayalı bir yöntemdir. Bu radikal hidrojen donörlerle etkileştiğinde hidrazine indirgenir. Kırmızı renkli DPPH radikali 515 nm'de maksimum absorpsiyon verir. DPPH çözeltisine antioksidanın ilave edilmesiyle absorbansta düşüş meydana gelir ve antioksidanların varlığıyla radikalın rengi kırmızıdan sarıya döner. Bu yöntem antioksidanların radikal süpürme kabiliyetlerini değerlendiren kolay ve geçerli bir yöntem olarak bilinmektedir. Antioksidan etkinliği araştırılmak istenen bitkisel ekstraların DPPH radikalini temizleyici etkisi ve bu ekstraların DPPH ile oluşturdukları rengin 517 nm de ölçümüne ve standart madde ile karşılaştırılmasına dayanmaktadır [73].

1.3 Kan

Kan, hücrelerden ve plazma adı verilen bir sıvıdan oluşmaktadır. Hücreler eritrositler (kırmızı kan hücreleri), lökositler (beyaz kan hücreleri) ve trombositlerdir (kan pulcukları). Hücrelerin %99'undan fazlasını eritrositler oluşturmaktadır. Eritrositler kanın oksijen taşıyan hücreleridir. Lökositler vücudu enfeksiyonlara ve kansere karşı koruyan hücrelerdir. Trombositler ise kanın pıhtılaşmasında görev alırlar [74].

Damardan alındıktan sonra antikoagulan (kanın pıhtılaşmasına engel olan madde) ilavesi ile pıhtılaşması engellenmiş kan özel bir tüpe alınıp 10 dk santrifüj edildiği zaman, tüpün alt tarafında hücresel elementlerin, üst tarafında sarı renkte plazmanın ayrıldığı görülür [75]. Kandan plazma eldesi, kan ve plazma oranları Şekil 1.12’de gösterilmektedir.



Şekil 1.12: Kandan plazma eldesi, kan ve plazma oranları

1.4 Serumda Bulunan Enzimler

Hastalık durumlarında, hastalığın teşhisi için enzim değerlerinin belirlenmesi çok önemlidir. Serum ve plazmadaki pek çok enzim değişimleri dolayısıyla aktiviteleri, bir dokunun hücreleri tahrip olduğunda, enzimlerin hücre dışına sızmaları artacağından yükselir.

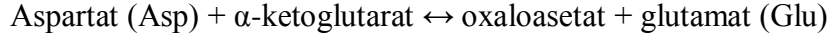
Serum enzimlerini kökenleri ve işlevlerine göre üç gruba toplamak mümkündür. 1- Plazmaya özgü enzimler, 2- Salgılanmış enzimler, 3- Hücresel enzimler

Hücre ve salgı enzimlerinin serumdaki aktivitelerinin yükselmesi, çoğunlukla bozulan hücre membranı geçirgenliğinin değişimi sonucunda, hücre içerisinden kana geçmesi ile olmaktadır. Bu durum doku ve organlarda bir takım patolojik değişikliklerin meydana geldiğinin bir göstergesidir.

1.4.1 Aspartat transaminaz (AST)

Aspartat amino transferaz, serum glutamik oksaloasetik transferaz (SGOT) olarak da isimlendirilir. AST önemli bir amino asit metabolizmasında önemli bir

enzimdir. AST aspartat ve glutamat arasındaki bir α -amino grubunun geri döndürülebilir transferini katalize eder. AST, karaciğer, kalp, iskelet kası, böbrek, beyin ve kırmızı kan hücrelerinde bulunur [76].



AST'nin iki tane izoenzimi vardır. Bunlardan anyonik olan hücre sitoplazmasında , katyonik olan mitokondride bulunur .

1.4.2 Alanin aminotransferaz (ALT)

Alanin transaminaz veya serum glutamik-piruvik transaminaz olarak da isimlendirilir. ALT hücre sitoplazmasında bulunur [77].

ALT L-glutamat ve α -ketoglutarat arasındaki amino grubunun geri döndürülebilir transferini katalize eder [76].

1.4.3 Gamma glutamil aminopeptit transferaz (GGT)

Gama glutamil pepti, amino-asit-gama-glutamik transferaz, gama- transferaz (GT) diğer isimleridir. GGT düzeyinin belirlenmesi, kolestatik hepatik hastalıklar için hassas ve spesifik bir testtir [77]. GGT, gama glutamil grubunun peptidler arasında veya L-amino asitlere veya bu alıcıya geri dönüşümlü olarak tranferini katalize eden bir enzimdir. Sitozolde bulunmasına ilaveten hücre membranında da önemli oranda yer alır [78]. GGT aminoasit transportuna ve glutatyon ile diğer peptitlerin yapısına katılır, aminoasit ve peptitlerin hücre membranından hücre içerisine gama glutamil şeklinde taşınmasını sağlar [79].

1.5 ÜRE

Üre karbon, nitrojen, oksijen ve hidrojenden oluşan küçük organik bir molekül olup kan ve diğer vücut sıvılarının ortak bir unsurudur. Gama glutamil pepti, amino-asit-gama-glutamik transferaz, gama (GT) diğer isimleridir. GGT düzeyinin belirlenmesi, kolestatik hepatik hastalıklar için hassas ve spesifik bir testtir [77].

GGT, gama glutamil grubunun peptidler arasında veya L-amino asitlere veya bu alıcıya geri dönüşümlü olarak tranferini katalize eden bir enzimdir. Sitozolde bulunmasına ilaveten hücre membranında da önemli oranda yer alır [78]. GGT aminoasit transportuna ve glutatyon ile diğer peptitlerin yapısına katılır, aminoasit ve peptitlerin hücre membranından hücre içerisine gama glutamil şeklinde taşınmasını sağlar [79].

1.6 *Convolvulus* ile Yapılan Kimyasal Çalışmalar

Tezimizin konusu *Convolvulus* cinsine ait olan *C. phrygius*, *C. galaticus* ve *C. aucheri* türlerinin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi ve farklı dokular üzerindeki histolojik etkilerinin incelenmesidir.

C. arvensis bitkisi üzerine yapılmış bir çalışmada bu bitki yapraklarından elde edilen asetik asit fraksiyonları, total fenolik ve total flavon antioksidan aktivite tayini için hazırlanmıştır. Total fenolik ve total flavon antioksidan tayini, gallik asit ve rutine eşdeğer olarak hesaplanmıştır. DPPH ve B-karoten yöntemi ile antioksidan aktivitesi ölçülmüş, içerik tayini için GC-MS ve HPLC analizi yapılmış bu analizlerle p-hidroksibenzoik asit, syringik asit, vanilin benzoik asit, fenolik asit tespit edilmiştir. Bu çalışmada yüksek fenolik içeriği bulunmuş, güçlü antioksidan aktivite tespit edilmiştir. Bu tespitler neticesinde *C. arvensis* bitkisinin gıda sanayinde kullanıma uygun olduğu tespit edilmiştir [80].

C. pluricaulis bitkisinin sinir sistemi üzerindeki koruyucu etkisi skopolamin ajanı ile indüklenmiş dişi sıçan beyin kabuğuna etkileri incelenerek belirlenmeye çalışılmıştır. Aynı zamanda ekstraktların nörokimyasal enzimler üzerindeki etkilerine bakılmış ve *in vivo* olarak antioksidan ve serbest radikal süpürücü etkilerine de bakılmıştır. Tüm ölçüm parametreleri standart olarak kullanılan rivastigmin tetraol ölçüm parametreleri ile karşılaştırılmıştır. Beyin kabuğu ve hipokampus bölgesindeki asetilkolinesteraz enzimi etkisi ekstraktlar tarafından önemli ölçüde indüklenmiştir. Ekstraktlardaki skopolamin, korteks ve hipokampus içindeki glutatin redüktaz, süperoksitdismutaz ve uyarılmış glutatin aktivitelerini azaltmıştır. Tüm bunlar dikkate alınarak *C. pluricaulis* bitkisinden elde edilen ekstraktların anti-AChE ve antioksidan

faaliyetleri arttırıcı özelliğinin olduğu ve sinir sistemi üzerinde koruyucu özelliği olduğu söylenebilir [81].

Yapılmış olan bir çalışmada da *C. pluricaulis*, *Envolvulus alsinoides* bitki türlerinin notropik etkileri karşılaştırılmıştır. Bu bitkilerden elde edilen ekstraktlar ve standart olarak kullanılan prisetamlar ratlara oral yolla verilmiştir. Elde edilen bulgular sonucundan *E. alsinoides* bitkisinin daha yüksek antioksidan etki gösterdiği bulunmuştur [82].

Yeni fenolik bileşikler olan doryknik asit ve vanilik asi , scopolin, kamferol 3-rutinosid, scopoletin, metil kafeat, *C. dorycnium* L. bitkisinin çiçeklerinden izole edilmiştir. Bu yapılar spektroskopik yöntemlerle elde edilmiştir. Bu altı bileşiğin antioksidan aktivitesi DPPH yöntemi ile belirlenmiştir. Bu bileşiklerin içinde en yüksek antioksidan akitive gösteren bileşiğin doriknik asit olduğu belirlenmiştir [83].

Her bir bitkinin yapısında olan aktif bilşenler etkili olabilecek maddelerdir. Bundan dolayı üzerinde deney yapılacak bitkinin hangi aktif bileşenleri içerdiği yapılan deneylerde yol haritasının belirlenmesi için çok önemlidir.

Özbekistan'da yapılan çalışmada *C. subhirsutus*'un yerüstü kısımlarında bazı alkaloidler ve convolinine olarak adlandırılan bir alkaloid formu bulunmuştur. Bu yapının N-Hidroksietil türevi olduğu ve yapısının da spektral verilere ve X-Ray kristal yapı analizine dayanarak 3a-(3,4-dimethoksibenzol)-N-Hidroksietilnortropan olduğu tespit edilmiştir [84].

1.7 Tezin Amacı

Bu çalışma, daha önce bu tür bir çalışmaya konu olmamış *C. phrygius*, *C. galaticus* ve *C. aucheri* türlerini içermiştir. Bitkilerin fenolik içerik miktarları tayin edilmiştir. Bu türlerin antioksidan kapasiteleri ölçülmüş ve bu sayede tedavi edici etkileri belirlenmiştir. Hazırlanan solisyonlar yaklaşık beş hafta boyunca sıçanlara içirilecek, başlangıçta, ikinci haftada ve üçüncü haftada kan örnekleri alınarak ALT (alanin amino transferaz), AST (aspartat amino transferaz), GGT (gama-glutamil transferaz) ayrıca böbrek fonksiyonlarını kontrol etmek için ÜRE değerindeki değişim izlenmiştir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1 Materyal

2.1.1 Bitkisel Materyal

Bu çalışmada kullanılan bitki materyalleri, arazi ortamından Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Yard. Doç. Dr. Candan AYKURT öncülüğünde toplanmıştır. *C. phrygius*, *C. aucheri* ve *C. galaticus* türlerine ait yeterli miktarda örnek (0,3–0,5 kg yaş kitle), türlerin çiçeklenme dönemlerinde yayılış gösterdikleri alanlardan toplanmış ve her türü temsilen herbaryum tekniklerine uygun biçimde hazırlanan herbaryum materyalleri AKDU Herbaryum koleksiyonuna dahil edilmiştir. Tablo 2.1’de türlerin toplandığı lokasyon kayıtları görülmektedir.

Tablo 2.1: Bitki Türlerinin toplandığı lokaliteler

TÜR	İSTASYON
<i>C. aucheri</i>	C6 Hatay: NATO Radar İstasyonu Kisecik, sepentine yamaçlar, 885 m, 7.vi.2009, C. Aykurt (2665), N. Kemaloğlu (AKDU).
<i>C. phrygius</i> (endemik)	C3 Antalya: Korkuteli, Korkuteli-Fethiye eski yol Ağa Dağ, yamaçlar, step, 1215 m, 22.vi.2009, C. Aykurt (2815) (AKDU).
<i>C. galaticus</i>	B3 Afyon: Emirdağ, Kırkpınar Köyü, yol kenarları ve nadas alanları, 920 m, 7.vi.2008, C. Aykurt (2183), N. Kemaloğlu (AKDU). Afyon: Sandıklı, Sandıklı, yol kenarlarında ve nadas alanları, 1040 m, 15.vi.2009, C. Aykurt (2703), N. Kemaloğlu, (AKDU) 8 km. Eskişehir: Eskişehir ve Seyitgazi, 2 Derbent km, yol kenarlarında ve nadas alanları, 950 m, 7.vi.2008, C. Aykurt (2170), N. Kemaloğlu (AKDU) arasında. Eskişehir: Sivrihisar, yol kenarları, yamaçlar, 1040 m, 16.vi.2009, C. Aykurt (2725), N. Kemaloğlu (AKDU.)

Toplanan bitkiler direkt güneş ışığı almayan ve hafif hava akımının olduğu bir ortamda kurutulmuştur. Kuruyan ve toz haline getirilen bitki örnekleri 20-25 gr kadar tartılıp üzerlerine 200 ml çözücü (etanol, metanol, benzen, aseton için

terkrarlandı) eklenerek 6 saat süreyle çalkalamalı su banyosunda 50 °C'de iki kez ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur (Şekil 2.1, 2.2, 2.3).



Şekil 2.1: Ekstraksiyon işlemi



Ekstraksiyon sonucu elde edilen karışım filtre kâğıdından süzölmüştür. Elde edilen çözeltildeki çözücünün uzaklaştırılma işlemi için rotary evaporatör cihazı kullanılmış çözücü 50 °C'de uçurulmuştur. Ekstrede kalan su Freeze Dryer cihazında dondurularak çekilmiştir. Geride kalan ekstratler -20 C' de saklanmıştır.



Şekil 2.2: Rotary evaporatör



Şekil 2.3: Freeze dryer

2.2 Yöntemler

2.2.1 Antioksidan aktivite analiz yöntemler

2.2.1.1 Toplam antioksidan aktivitenin belirlenmesi

Ekstraktların antioksidan aktivitesi β -karoten-linoleik asit sistemiyle belirlenmiştir [85]. β -karoten çözeltisi için, 0,2 mg β -karotenin 1 ml kloroformda çözülmesiyle hazırlanmıştır. Bu çözeltinin 1 mililitresine cam balon içinde 0.02 ml linoleik asit ve 0,2 ml (%100) Tween 20 ilave edilmiştir. Bu karışımdaki kloroform rotary evaporatörde 40 °C' de 10 dk buharlaştırılmış daha sonra 100 ml dH₂O ilave edilerek seyreltilmiştir. Hazırlanan bu emülsiyondan 4,8 ml alınarak içerisinde 0,2 mg örnek içeren 0,2 ml ekstrakt çözeltileri bulunan test tüplerine aktarılmıştır. Kontrol için test tüpüne β -karoten olmaksızın ekstrakt yerine sadece 0,2 ml çözücü (metanol, etanol, aseton ve benzin) konulmuştur. Emülsiyon test tüplerine ilave edilmez spektrofotometre (Shimadzu UV-1601, Japon) kullanılarak başlangıç absorbansları 470 nm' de ölçülmüştür. Tüpler 50 °C' de inkübasyona bırakılarak absorbans ölçümlerine yarım saat aralıklarla 2 saat boyunca β -karotenin rengi kayboluncaya kadar devam edilmiştir (120 dakika). Toplam antioksidan aktivite AA: $[1 - (A_0 - A_t / A_0^\circ - A_t^\circ)] \times 100$ formülü ile hesaplanmıştır. Burada A₀: örneğin ilk absorbansı, A_t: kontrolün ilk absorbansı, A₀[°]: örneğin 120 dk sonraki absorbansı, A_t[°]: kontrolün 120 dk sonraki absorbansıdır [86].

2.2.1.2 DPPH serbest radikal giderim aktivitenin belirlenmesi yöntemi

Hazırlanan tüm özütlerin antioksidan aktiviteleri literatürde tanımlanan yöntem izlenerek yapılmıştır [87]. Bu yöntem, kararlı serbest radikal 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)'in, elektron veya hidrojen atomları veren antioksidan kimyasalları tarafından süpürülmesi (temizlenmesi) ile karakteristik mor renginin açılmasının, spektrofotometrik olarak belirlenmesi temeline dayanmaktadır. Bu yöntemde 4 mL %0,004'lük (w/v) metanolik DPPH çözeltisi ile 1 ml (0,2-1,0 mg) ekstrakt çözeltileri karıştırılmıştır. 30 dakikalık karanlık ortamda ve oda sıcaklığında

inkübasyondan sonra, örneklerin absorbanı 517 nm'de ölçülmüştür. Pozitif kontrol olarak BHT kullanılmıştır.

Özütlerin absorbanı değerleri kullanılarak % inhibisyon değerleri %
İnhibisyon = $\frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$ olarak hesaplanmıştır:

Elde edilen % inhibisyon değerleri, mg/ml olarak belirlenen özüt derişimlerine karşı grafiğe geçirilmiştir. Pozitif kontrol olarak BHT kullanılmıştır.

2.2.2 Toplam fenolik bileşik miktarının belirlenmesi

Ekstraktların toplam fenolik madde miktarları Folin-Ciocalteu Reaktifi (FCR) kullanılarak gallik asite eşdeğer olarak belirlenmiştir [88]. 1 mg ekstrakt 1 mL metanolde çözülmüştür. 46 mL dH₂O ve 1 mL FCR ekstrakt ile karıştırıldıktan 3 dk. sonra %2'lik Na₂CO₃'dan 3 mL eklenmiştir. 2 saat süresince oda sıcaklığında inkübasyona bırakılıp periyodik aralıklarla çalkalanmıştır. Süre sonunda çözeltilerin absorbanları UV Spektrofotometresi'nde 760 nm'de okunarak toplam fenolik madde miktarları; gallik asitle çizilen kalibrasyon eğrisinden, mg olarak gallik asite eşdeğer olacak şekilde hesaplanmıştır.

2.2.3 Histolojik Yöntemler

Keskin ve arkadaşlarının 2012 yılında yapmış oldukları çalışmadaki [89] histolojik yöntemler izlenerek yürütülen çalışmada, türlerin etanollü ekstratlarının %0,5'lik ve %1'lik konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlanmıştır ve her grupta 6 sıçan olacak şekilde yedi grup sıçan kullanılmıştır. Bir grup kontrol, diğer 6 grup deney grubu olarak ayrılmıştır. Toplamda deneyde 42 sıçan kullanılmıştır.

Sonuçlar Minitab paket programında değerlendirilmiştir. Varyans analiz testi (ANOVA) ile gruplar (kontrol, %1'lik ve %0,5'lik) ve deney zamanları (Başlangıç, 2. hafta ve 4. hafta) karşılaştırılmıştır. Anlamlı farklılık tespit edilenlerde, farklılığı meydana getiren grubu belirlemek için Tukey testi kullanılmıştır.

Gruplar

Grup 1: Kontrol grubu A: Fizyolojik su verilmiştir.

Grup 2: *C. galaticus* %0,5 konsantrasyonda solisyon verilmiştir.

Grup 3: *C. galaticus* %1 konsantrasyonda solisyon verilmiştir.

Grup 4: *C. aucheri* %0,5 konsantrasyonda solisyon verilmiştir.

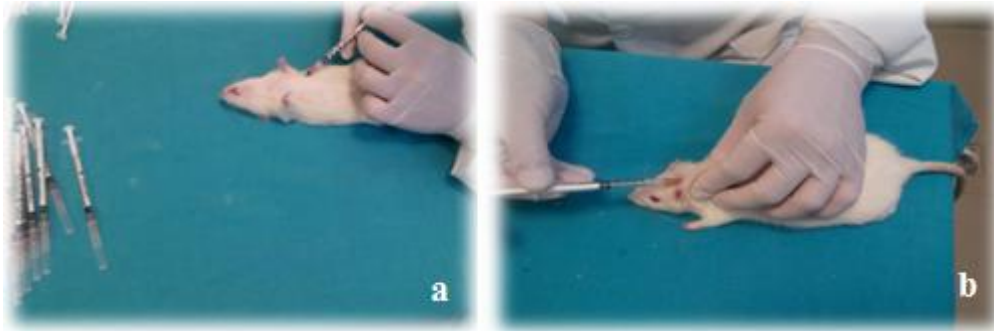
Grup 5: *C. aucheri* %1 konsantrasyonda solisyon verilmiştir.

Grup 6: *C. phyrigus* %0,5 konsantrasyonda solisyon verilmiştir.

Grup 7: *C. phyrigus* %1 konsantrasyonda solisyon verilmiştir.



Şekil 2.4: Deney hayvanlarının gruplandırılması



Şekil 2.5: Kal alma işlemi; a: Kardiyaktan kan alınması, b: Deri altına serum fizyolojik enjeksiyonu

Kan alma işlemi solisyonlar içirilmeye başlanmadan önce, içirilmeye başlandıktan 15. gün ve 30. gün sonunda olmak üzere üç kez tekrarlanmıştır.

Ratlara yapılan cerrahi müdahale öncesi ratların hepsinin aynı tür ve 300-340 gr ağırlığında olmasına, ayrıca dişi bireyler seçilmesine özen gösterilmiştir. Anestezik olarak Alfazin (50 ml) ve Ketamin (10 ml) kullanılmıştır. 40 cc Ketamin 60 cc Xylazine (Alfazine) bir enjektöre çekilerek karıştırılmıştır. Her bir rata hazırlanan karışımdan intraperitoneal (İP) bölgesinden enjektörle 30cc anestezik madde verilmiştir. Ratlarda anestezikler etkisini gösterene kadar beklenmiş kardiyaktan enjektör yardımıyla 10 cc kan alınmıştır ve santrifüj

edilmiştir. Kalan serumda; karaciğer enzimlerinin belirleyici değerlerini bulmak için Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Labratuvarında ALT (alanin amino transferaz), AST (aspartat amino transferaz), GGT (gama-glutamil transferaz) ayrıca böbrek fonksiyonlarını kontrol etmek için ÜRE değerine bakılmıştır.

Bu çalışmada belirlenen türlerin %1 ve %0,5 ekstraktlarının kan dokusu üzerindeki olası etkileri histolojik yöntemlerle incelenerek ALT (alanin amino transferaz), AST (aspartat amino transferaz), GGT (gama-glutamil transferaz) ayrıca böbrek fonksiyonlarını kontrol etmek için ÜRE değeri takip edilerek meydana gelecek değişim belirlenmeye çalışılmıştır.

3. BULGULAR

3.1 Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

3.1.1 Toplam antioksidan aktivitenin belirlenmesi

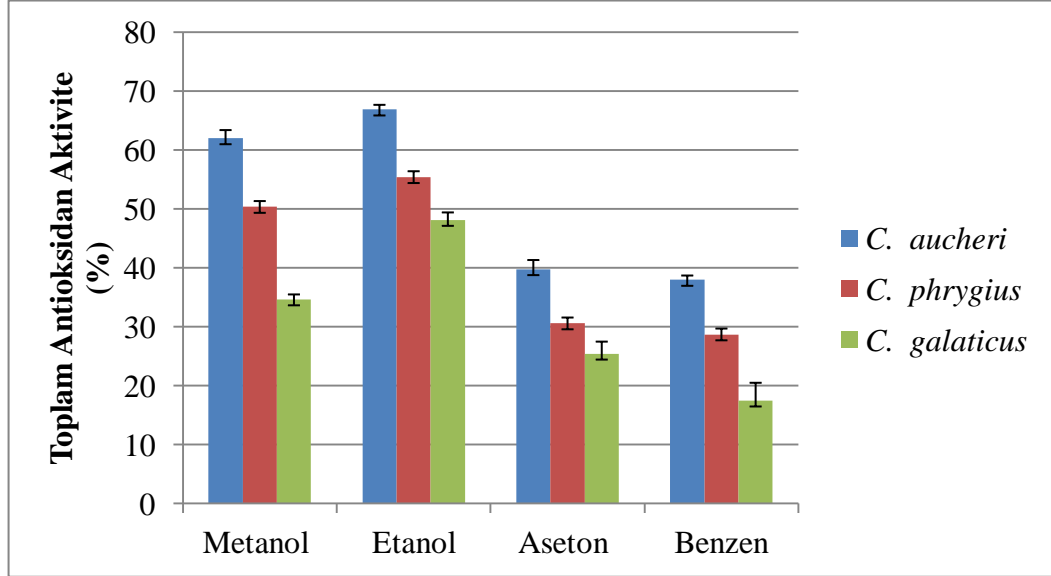
C. galaticus, *C. phrygius* ve *C. aucheri* türlerinin sırasıyla metanol, etanol, aseton ve benzen ile hazırlanan ekstraktlarının β -karoten-linoleik asit sistemiyle antioksidan aktivite değerleri belirlenmiştir. En yüksek antioksidan aktivite *C. aucheri* türünün etanollü ekstrelerinde tespit edilmiş olup ($66,88 \pm 0,8$), en düşük antioksidan aktivite ($17,48 \pm 3,02$), *C. galaticus* türünün benzenli ekstresinde görülmüştür.

C. galaticus, *C. phrygius*, *C. aucheri* türlerini sırasıyla metanol, etanol, aseton ve benzen ile hazırlanan ekstraktlarının β -karoten-linoleik asit sistemiyle antioksidan aktivite değerleri Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1: *C. galaticus*, *C. phrygius* ve *C. aucheri* türlerinin sırasıyla metanol, etanol, aseton ve benzen ile hazırlanan ekstraktlarının β -karoten-linoleik asit sistemiyle belirlenen antioksidan aktivite değerleri

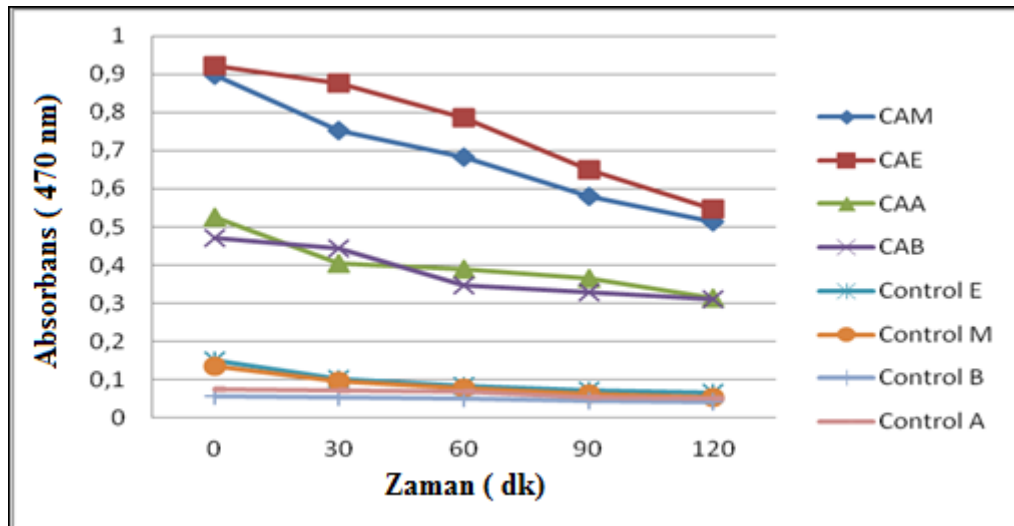
Bitki Ekstraktları	Toplam Antioksidan Aktivite (%)			
	Metanol	Etanol	Aseton	Benzen
<i>C. aucheri</i>	$62,00 \pm 1,4$	$66,88 \pm 0,8$	$39,78 \pm 1,56$	$37,96 \pm 0,75$
<i>C. phrygius</i>	$50,35 \pm 1,25$	$55,41 \pm 0,5$	$30,58 \pm 2,3$	$28,71 \pm 1,24$
<i>C. galaticus</i>	$34,65 \pm 0,85$	$48,14 \pm 1,28$	$25,44 \pm 2,05$	$17,48 \pm 3,02$

C. galaticus, *C. phrygius* ve *C. aucheri* türlerinin sırasıyla metanol, etanol, aseton ve benzen ile hazırlanan ekstraktlarının β -karoten-linoleik asit sistemiyle belirlenen antioksidan aktivite değerleri Şekil 3.1’de verilmiştir.

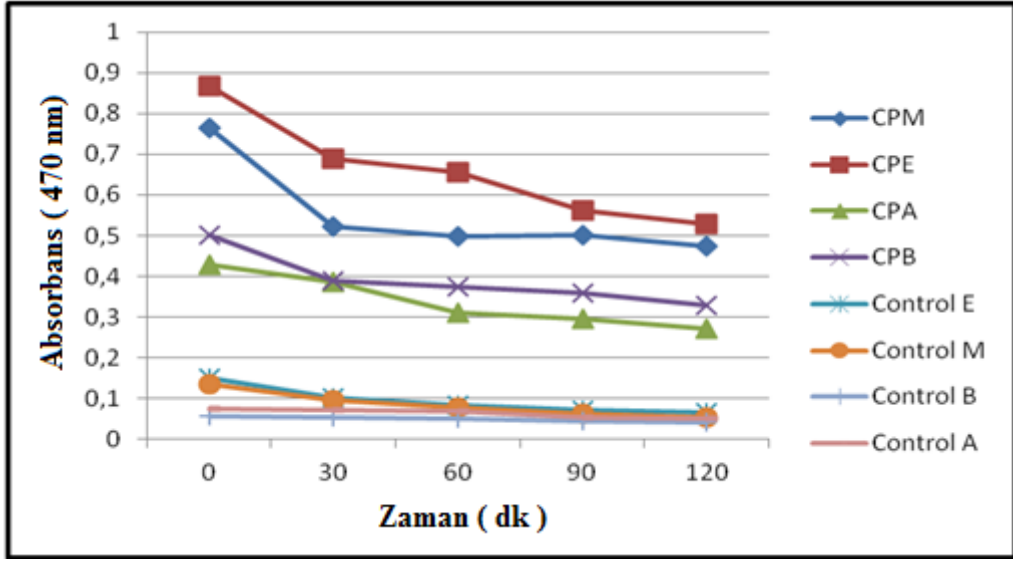


Şekil 3.1: *C. galaticus*, *C. phrygius* ve *C. aucheri* türlerini sırasıyla metanol, etanol, aseton ve benzen ile hazırlanan ekstraktlarının β -karoten-linoleik asit sistemiyle belirlenen antioksidan aktivite değerleri

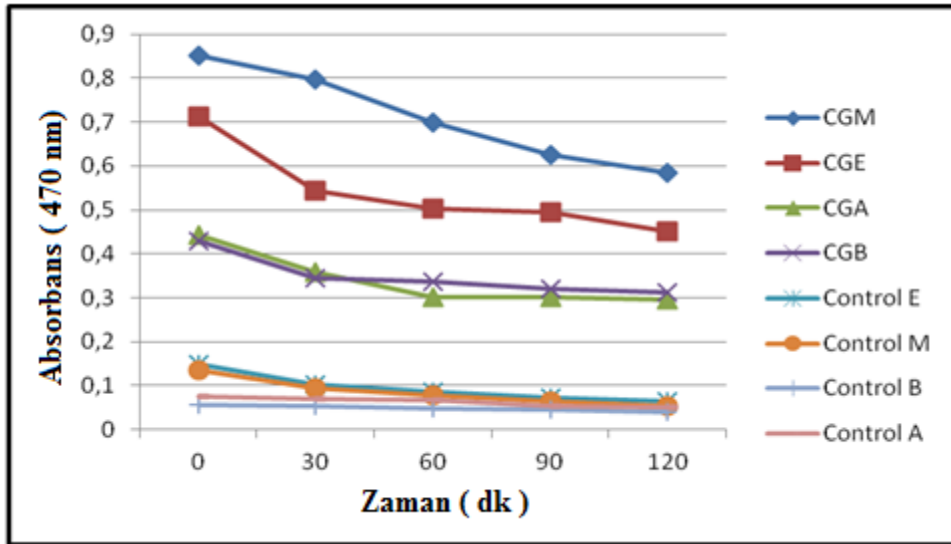
C. galaticus, *C. phrygius* ve *C. aucheri* türlerinin sırasıyla etanol, metanol, aseton ve benzen özütlerinin β -karoten-linoleik asit sistemiyle belirlenen 30, 60, 90, 120 dk absorbans değerleri, Şekil 3.2, 3.3 ve 3.4’de verilmiştir.



Şekil 3.2: β -Karoten-Linoleik asit yönteminde *C. aucheri*'nin hazırlanan etanol, metanol, benzen, aseton ekstraktların absorbans grafiği.



Şekil 3.3: β -Karoten-Linoleik asit yönteminde *C. phrygus*'un hazırlanan etanol, metanol, benzen, aseton ekstraktların absorbans grafiği.



Şekil 3.4: β -Karoten-Linoleik asit yönteminde *C. galaticus*'un hazırlanan etanol, metanol, benzen, aseton ekstraktların absorbans grafiği.

3.1.2 Serbest radikal giderim aktivite sonuçları

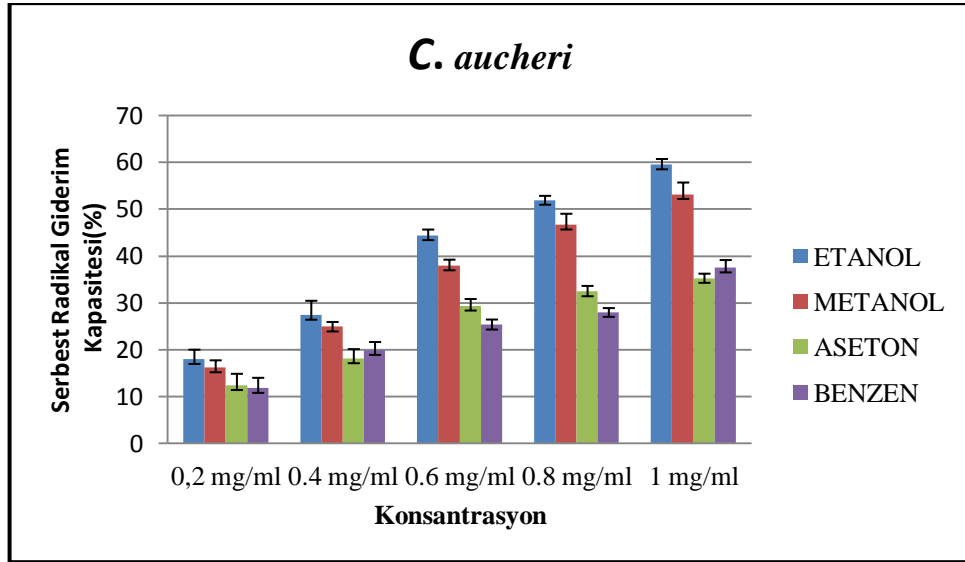
DPPH serbest radikal giderim aktivite belirleme yöntemini kullanılarak yaptığımız çalışmada en yüksek serbest radikal giderim aktivitesi *C. aucheri* türünün 1 mg/ml konsantrasyonda hazırlanmış etanollü ekstresinde tespit edildi ($59,50 \pm 1,2$). En düşük serbest radikal giderim aktivitesi *C. galaticus* türünün 0,2 mg/ml konsantrasyonda hazırlanmış asetonlu ekstresinde tespit edilmiştir.

C. galaticus, *C. phrygius* ve *C. aucheri* türlerinin DPPH serbest radikal giderim aktivite değerleri sırasıyla Tablo 3.2, 3.3, 3.4'te belirlenmiştir.

C. galaticus, *C. phrygius* ve *C. aucheri* türlerinin DPPH serbest radikal giderim aktivite değerleri sırasıyla Şekil 3.5'te gösterilmiştir.

Tablo 3.2 : DPPH *C. aucheri* türünün bitki ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri

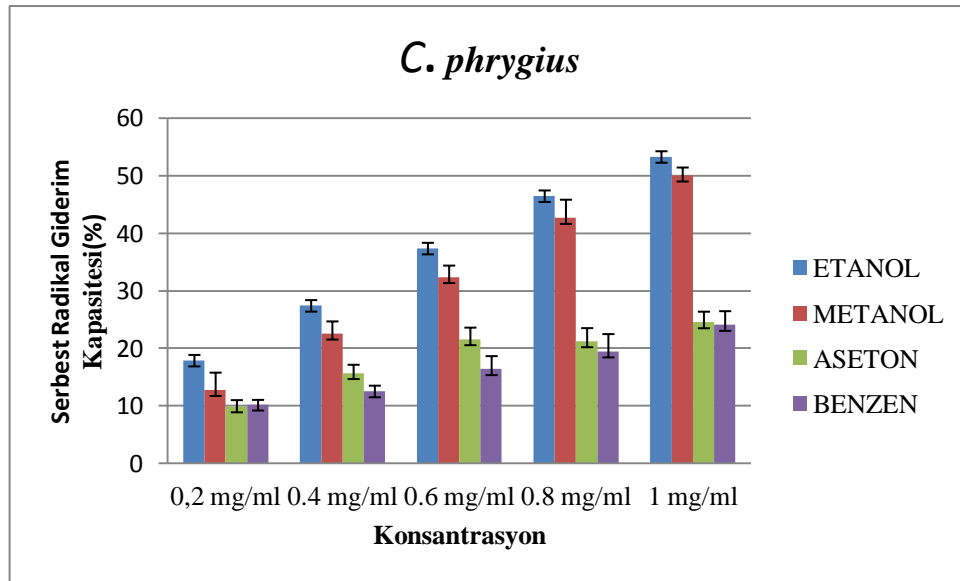
DPPH (%)				
<i>C. aucheri</i>	ETANOL	METANOL	ASETON	BENZEN
0,2 mg/ml	17,99 ± 2,04	16,22 ± 1,54	12,43 ± 2,46	11,82 ± 2,21
0,4 mg/ml	27,42 ± 3,04	24,92 ± 1,02	18,15 ± 2,0	19,92 ± 1,75
0,6 mg/ml	44,40 ± 1,25	37,96 ± 1,27	29,38 ± 1,46	25,33 ± 1,13
0,8 mg/ml	51,95 ± 0,89	46,66 ± 2,36	32,43 ± 1,20	28,03 ± 0,87
1 mg/ml	59,50 ± 1,2	53,18 ± 2,50	35,29 ± 0,95	37,51 ± 1,64
BHT	96,12			



Şekil 3.5: DPPH yöntemi ile *C. aucheri*'nin etanolü, metanollü, asetonlu ve benzenli ekstraktlarının farklı konsantrasyonlardaki serbest radikal giderim kapasiteleri.

Tablo 3.3: *C. phrygius* türünün bitki ekstraktının DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri.

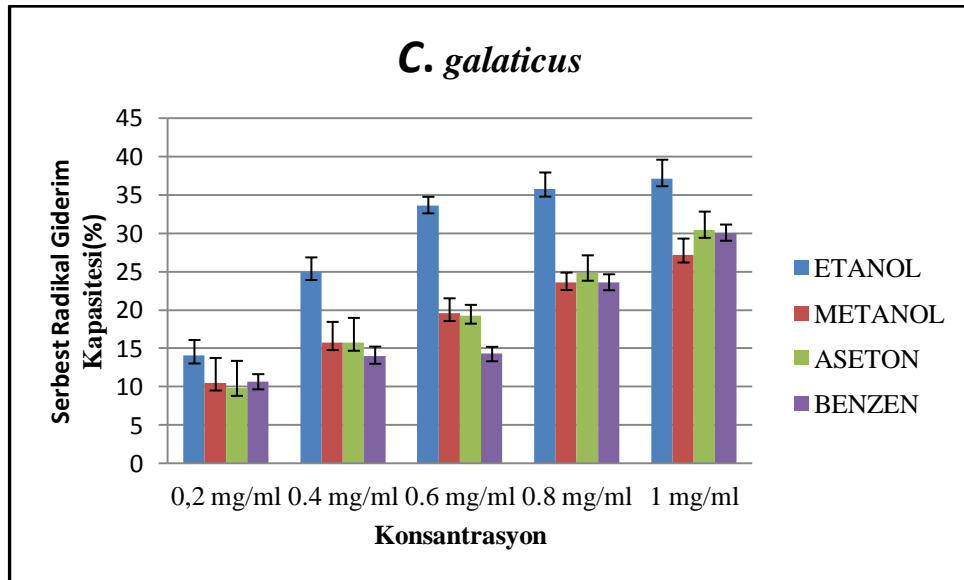
DPPH (%)				
<i>C. phrygius</i>	ETANOL	METANOL	ASETON	BENZEN
0,2 mg	17,9 ± 3,6	12,77 ± 3,05	09,93 ± 1,12	10,24 ± 0,85
0,4 mg/ml	27,42 ± 2,57	22,57 ± 2,15	15,71 ± 1,48	12,54 ± 1,02
0,6 mg/ml	37,37 ± 1,98	32,38 ± 2,04	21,59 ± 2,05	16,39 ± 2,30
0,8 mg/ml	46,47 ± 1,56	42,66 ± 3,2	21,24 ± 2,31	19,47 ± 3,05
1 mg/ml	53,28 ± 2,01	50,02 ± 1,43	24,53 ± 1,88	24,08 ± 2,42
BHT	96,12			



Şekil 3.6: DPPH yöntemi ile *C. phrygius*'un etanollü, metanollü, asetonlu ve benzenli ekstraktlarının farklı konsantrasyonlardaki serbest radikal giderim kapasiteleri.

Tablo 3.4: *C. galaticus* türünün bitki ekstraktının DPPH serbest radikal giderim aktiviteleri.

DPPH (%)				
<i>C. galaticus</i>	ETANOL	METANOL	ASETON	BENZEN
0,2 mg/ml	14,05 ± 2,06	10,53 ± 3,24	9,83 ± 3,56	10,68 ± 0,98
0,4 mg/ml	24,92 ± 1,95	15,79 ± 2,68	15,71 ± 3,28	14,01 ± 1,24
0,6 mg/ml	33,61 ± 1,15	19,58 ± 1,96	19,24 ± 1,45	14,34 ± 0,88
0,8 mg/ml	35,79 ± 2,14	23,62 ± 1,27	24,83 ± 2,31	23,59 ± 1,08
1 mg/ml	37,14 ± 2,46	27,20 ± 2,12	30,42 ± 2,42	30,04 ± 1,11
BHT	96,12			



Şekil 3.7: DPPH yöntemi ile *C. phrygius*'ün etanolü, metanolü, asetonlu ve benzenli ekstraktlarının farklı konsantrasyonlardaki serbest radikal giderim kapasiteleri.

3.1 Toplam fenolik madde miktarı

Gallik asit derişimlerine karşı absorbanlar ölçülerek bir standart çalışma grafiği oluşturuldu. Örneklerin toplam fenolik bileşik miktarı değerleri gallik asit eşdeğeri olarak hesaplandı. Sonuçlara göre fenolik madde miktarı en yüksek olan *C. aucheri* türünün etanolü ekstresi (23,03 mg/g GAE), en düşük olanın *C. galaticus* asetonlu ekstresi (5,35 mg/g GAE) olduğu tespit edildi. *C. aucheri*, *C. phrygius* ve

C. galaticus ekstraktlarının 765 nm’de absorbanları ve gallik aside eşdeğer konsantrasyonları tablo 3.5’te gösterilmiştir.

Tablo 3.5: *C. aucheri*, *C. phrygius* ve *C. galaticus* türlerinin bitki ekstraktlarının 765 nm’de absorbanları ve gallik aside eşdeğer konsantrasyonları

ÇÖZÜCÜ	TÜR	Toplam fenolik madde (mg GAE /g)^a
ETANOL	<i>C. aucheri</i>	23,03
	<i>C. phrygius</i>	21,52
	<i>C. galaticus</i>	18,99
METANOL	<i>C. aucheri</i>	15,45
	<i>C. phrygius</i>	11,82
	<i>C. galaticus</i>	10,20
ASETON	<i>C. aucheri</i>	10,81
	<i>C. phrygius</i>	10,10
	<i>C. galaticus</i>	05,35
BENZEN	<i>C. aucheri</i>	09,80
	<i>C. phrygius</i>	10,91
	<i>C. galaticus</i>	08,79

3.2 Histolojik Çalışma Sonuçları

C. phrygius, *C. galaticus* ve *C. aucheri*’nin etanollü ekstrelerinin %0,5’lik ve %1’lik konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlanmıştır ve her grupta 6 sıçan olacak şekilde yedi grup sıçan kullanılmıştır. Hazırlanan solisyonlar hayvanların sularına eklenerek, 30 (otuz) gün süresince içirilmiştir. Deneyin başlangıcında, ikinci haftasında ve dördüncü haftasında alınan kan örnekleri tahlile gönderilerek tüm grupların ALT, AST, GGT ve URE değerleri tespit edilmiştir.

Tablo 3.8’de görüleceği gibi hemen hemen tüm sonuçlarda rakamsal olarak farklılıklar mevcuttur. Fakat sadece istatistiksel olarak anlamlı bulunan farklılıklar

değerlendirmeye alınmıştır. Kaydedilemeyen sonuçlar “ND” olarak gösterilmiş ve değişimleri dikkate alınmamıştır.

C. aucheri'nin ALT değerinde, %1'lik grupta, diğerlerine (%0,5 ve kontrol) göre anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($F=16,29$, $SD=2,45$, $p<0,001$). Aynı zamanda başlangıç ve 4. hafta deneylerinin ALT sonuçlarında istatistiksel olarak farklılık bulunmuştur ($F= 4,93$, $SD=2,45$, $p<0,05$). Bu farklılıklar incelendiğinde, %1'lik grubun ortalama ALT değerinin başlangıçta $40,07 \pm 2,21$ iken, 4. hafta sonunda $70,87 \pm 5,31$ olduğu gözlenmiştir.

AST değerine bakıldığında, kontrol verilerinin, diğerlerine göre (%1'lik ve %0,5'lik) farklı olduğu sonucu ile karşılaşılmıştır ($F=8,90$, $SD=2,45$, $p<0,01$) ve kontrol grubunda AST değeri 4. hafta sonunda anlamlı bir düşme gösterirken diğer ikisinde aksine bir yükselme gözlenmiştir.

GGT değerlerinde gruplar arasında anlamlı bir farklılık yokken genel olarak deney zamanlarında başlangıç ile 4. hafta arasında anlamlı bir farklılık mevcuttur ($F=5,75$, $SD=2,45$, $p<0,01$). İncelendiğinde genel olarak değerlerin düştüğü gözlenmektedir.

ÜRE değerlerinde %0,5'lik grubun, diğer gruplardan farklı olduğu istatistiksel olarak tespit edilmiştir. ($F= 11,52$, $SD=2,45$, $p<0,001$). Değerlerin 4. hafta sonunda diğer gruplara göre artış gösterdiği görülmüştür ve bu artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($F=17,40$, $SD=2,45$, $p<0,001$).

C. galaticus'un ALT'sinde gruplar ve deney zamanları arasında anlamlı bir farklılık istatistiksel olarak gözlenmemiştir.

AST'sine bakıldığında %1'lik grubun diğer iki gruba göre farklı olduğu tespit edilmiştir ($F=6,34$, $SD=2,45$, $p<0,01$), aynı zamanda 4. hafta verilerinde anlamlı bir farklılık da belirlenmiştir ($F=3,24$, $SD=2,45$, $p<0,05$). %0,5'lik ve kontrol grubunda 4. Hafta değerlerde bir artış görülürken, %1'lik grupta anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir.

C. phrygius'un ALT değeri gruplar arasında incelendiğinde; %1'lik grubun anlamlı farklılık taşıdığı görülmüştür ($F=58,93$, $SD=2,45$, $p<0,001$) ve değerlerinin 4. hafta sonunda diğer iki gruba göre yükseldiği sonucuna ulaşılmıştır.

AST'si %0,5'lik ve kontrol grubu verilerinde anlamlı farklılık göstermektedir ($F=5,25$, $SD=2,45$, $p<0,01$). % 0,5'lik ve kontrol gruplarında AST değerleri düşüş gösterirken, % 1'lik grupta artış gösterdiği gözlenmiştir.

Veriler genel olarak incelendiğinde (Tablo 3.7) ALT bakımından, *C. aucheri*'nin diğer gruplara göre farklı olduğu görülmüştür ($F= 5,85$, $SD=2,135$, $p<0,01$) bakıldığında rakamsal farklılıkların daha belirgin olduğu kaydedilmiştir.

Genellikle %1'lik gruplarda anlamlı bir farklılık olduğu istatistiksel olarak onaylanmıştır ($F= 40,51$, $SD=2,135$, $p<0,001$) ve özellikle %1'lik grpta anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3.8).

AST'ye bakıldığında türler arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Kontrol grubu verilerinin diğerlerine göre anlamlı bir farklılık taşıdığı görülmüştür ($F=11,95$, $SD=2,135$, $p<0,001$) ve genellikle 2. hafta verilerinde farklılık tespit edilmiştir ($F=3,69$, $SD=2,135$, $p<0,05$). Rakamsal olarak AST değerlerinde 2. hafta sonunda büyük artış veya azalışlar olduğu görülmüştür.

GGT genel olarak değerlendirildiğinde türler arasında anlamlı farklılık olduğu tespit edilmiştir ($F=3,59$, $SD=2,135$, $p<0,05$) ve *C. galaticus* ve *C. phrygius* türlerinin birbirlerinden farklı sonuçlar verdiği gözlenmiştir. Gruplar arasında belirgin bir fark tespit edilmemişken, 2. hafta verilerinde anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($F=2,50$, $SD=2,135$, $p<0,001$).

ÜRE değerleri incelendiğinde, türler arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemişken, tüm gruplarda ($F=4,88$, $SD=2,135$, $p<0,001$) ve tüm deney zamanlarında ($F=32,18$, $SD=2,135$, $p<0,01$) istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur.

Tablo 3.6: Türlerin ALT, AST, GGT ve ÜRE değerlerindeki anlamlı farklılıklar ve farklılıkların dereceleri B: Başlangıç deneyi, 2H: 2. Hafta deneyi, 4. Hafta deneyi, ***, p<0,001, **, p<0,01, *, p<0,05

		<i>C. aucheri</i>			
		ALT	AST	GGT	ÜRE
GRUP	0,5%				***
	1%	***			
	Kontrol		**		
ZAMAN	B	*		**	***
	2H				***
	4H	*		**	***
		<i>C. galaticus</i>			
		ALT	AST	GGT	ÜRE
GRUP	0,5%				
	1%		**		
	Kontrol				
ZAMAN	B		*		
	2H			***	
	4H		*		***
		<i>C. phrygius</i>			
		ALT	AST	GGT	ÜRE
GRUP	0,5%		**	*	
	1%	***			
	Kontrol		**		
ZAMAN	B				
	2H			**	**
	4H				

Tablo 3.7: ALT, AST, GGT ve ÜRE değerlerindeki anlamlı farklılıkların genel olarak değerlendirilmesi B: Başlangıç deneyi, 2H: 2. Hafta deneyi, 4. Hafta deneyi, ***, p<0,001, ** ; p<0,01, *, p<0,05

		ALT	AST	GGT	ÜRE
TÜR	<i>C. aucheri</i>	**		*	
	<i>C. galaticus</i>				
	<i>C. phrygius</i>			*	
GRUP	0,5%				**
	1%	***			**
	Kontrol		*		**
ZAMAN	B	*	**		***
	2H		**	*	***
	4H	*			***

Tablo 3.8: *C. aucherii*, *C. galaticus*, *C.phrygius* türlerinin 0,5 mg ve 1mg ekstratları verilen sıçan gruplarının ALT, AST, GGT ve ÜRE değerlerinin minimum±maksimum, ortalama±standart sapma değer tablosu, B; deneyin başlangıcı, 2H; deneyin 2 hafta sonrası, 4H; deneyin 4 hafta sonrası,

ür	Doz (%)	zaman	ALT Ort ± SH (Min- Max)	AST Ort ±SH (Min- Max)	GGT Ort ± SH (Min- Max)	ÜRE Ort ± SH (Min- Max)
<i>c. aucherii</i>	0,5	B	49,43 ± 3,65 (41,30-60,60)	130,40 ±14,84(99,40-176,40)	0,17 ± 0,33 (0-1,10)	55,93 ± 3,59 (49,20-67,20)
<i>c. aucherii</i>	0,5	2H	41,23 ± 2,76 (32,60-46,70)	115,90 ±13,42(76,00-148,40)	0,50 ± 0,35 (0-1,60)	43,33 ± 1,33 (40,80-47,50)
<i>c. aucherii</i>	0,5	4H	45,10 ± 5,44 (29,00-58,40)	156,27 ±10,79 (127,20-186,30)	(ND)	75,33 ± 4,12 (67,90-88,30)
<i>c. aucherii</i>	1	B	40,07 ± 2,21 (35,40-46,90)	94,43 ± 4,48 (84,40-108,10)	0,13 ± 0,12 (0-0,50)	42,23 ± 1,14 (38,90-45,10)
<i>c. aucherii</i>	1	2H	56,77 ± 4,06 (46,70-68,70)	150,87 ±18,10 (121,20-208,10)	0 ± 0,57 (0-1,60)	41,13 ± 2,63 (34,10-48,50)
<i>c. aucherii</i>	1	4H	70,87 ± 5,31 (54,70-82,90)	140,37 ±1,10 (137,10-143,00)	0 ± 0,40 (0-1,00)	57,30 ± 5,85 (40,10-71,80)
<i>c. aucherii</i>	kontrol	B	41,75 ± 0,34 (41,00-42,50)	109,20 ±1,70 (105,40-113,00)	0,60 ± 0,18 (0,20-1,00)	52,30 ± 1,48 (49,00-55,60)
<i>c. aucherii</i>	kontrol	2H	37,70 ± 2,33 (32,50-42,90)	116,00 ±2,82 (109,70-122,30)	0 ± 0,02 (ND)	46,05 ± 3,82 (37,50-54,60)
<i>c. aucherii</i>	kontrol	4H	40,40 ± 1,92 (36,10-44,70)	80,50 ±5,05 (69,20-91,80)	0,00 ± 0,09 (0-0,20)	44,45 ± 1,81 (40,40-48,50)
<i>c. galaticus</i>	0,5	B	47,37 ± 1,77 (42,60-52,30)	101,10 ± 2,35 (96,80-108,50)	0,23 ± 0,02 (0,20-0,30)	43,77 ± 2,30 (37,60-50,20)
<i>c. galaticus</i>	0,5	2H	42,30 ± 3,45 (31,40-48,10)	97,17 ± 8,14 (72,30-115,40)	0 ± 0,12 (0-0,10)	46,00 ± 2,73 (38,00-52,80)
<i>c. galaticus</i>	0,5	4H	36,37 ± 4,26 (26,00-49,00)	113,27 ± 11,15 (80,00-140,00)	0,03 ± 0,38 (0-1,10)	66,37 ± 9,79(42,00-95,10)
<i>c. galaticus</i>	1	B	41,75 ± 0,34 (41,00-42,50)	109,20 ± 1,70 (105,40-113,00)	0,60 ± 0,18 (0,20-1,00)	52,30 ± 1,48(49,00-55,60)
<i>c. galaticus</i>	1	2H	37,70 ± 2,33 (32,50-42,90)	116,00 ± 2,82 (109,70-122,30)	(ND)	46,05 ± 3,82 (37,50-54,60)
<i>c. galaticus</i>	1	4H	40,40 ± 1,92 (36,10-44,70)	80,50 ± 5,05 (69,20-91,80)	0,00 ± 0,09 (0-0,20)	44,45 ± 1,81 (40,40-48,50)
<i>c. galaticus</i>	kontrol	B	40,07 ± 2,21 (35,40-46,90)	94,43 ± 4,48 (84,40-108,10)	0,13 ± 0,12 (0-0,50)	42,23 ± 1,14 (38,90-45,10)
<i>c. galaticus</i>	kontrol	2H	41,90 ± 1,14 (38,30-43,80)	128,83 ± 16,89(97,10-181,90)	(ND)	40,53 ± 1,34 (36,50-43,70)
<i>c. galaticus</i>	kontrol	4H	56,73 ± 7,39 (45,00-80,10)	221,47 ± 48,87 (143,70-376,00)	0,10 ± 0,10 (0-0,40)	71,27 ± 6,72 (58,90-92,40)
<i>c. phrygius</i>	0,5	B	44,63 ± 2,71 (38,80-53,00)	130,17 ± 20,00(86,80-191,70)	0 ± 0,66(0-0,20)	50,40 ± 1,08(48,40-53,80)
<i>c. phrygius</i>	0,5	2H	36,33 ± 2,48 (30,50-43,80)	177,83 ± 33,11 (112,20-281,30)	0 ± 2,09 (ND)	43,27 ± 0,55 (42,40-45,00)
<i>c. phrygius</i>	0,5	4H	27,37 ± 2,11 (21,30-32,80)	113,83 ± 14,85 (70,40-151,00)	0 ± 0,12 (ND)	49,13 ± 2,98 (39,80-55,00)
<i>c. phrygius</i>	1	B	44,70 ± 2,11 (40,20-51,20)	112,23 ± 10,11 (88,20-142,50)	0,63 ± 0,24 (0,00-1,30)	53,03 ± 1,44 (48,70-56,40)
<i>c. phrygius</i>	1	2H	51,17 ± 1,66(48,40-56,40)	125,57 ± 8,27(101,40-146,30)	0 ± 0,53(0-0,50)	40,97 ± 3,19(30,90-46,70)
<i>c. phrygius</i>	1	4H	62,13 ± 0,19 (61,70-62,70)	140,97 ± 6,66 (120,00-153,10)	0 ± 0,10 (0-0,10)	57,23 ± 2,19 (50,50-62,00)
<i>c. phrygius</i>	kontrol	B	41,75 ± 0,34 (41,00-42,50)	109,20 ± 1,70 (105,40-113,00)	0,60 ± 0,18 (0,20-1,00)	52,30 ± 1,48 (49,00-55,60)
<i>c. phrygius</i>	kontrol	2H	37,70 ± 2,33 (32,50-42,90)	116,00 ± 2,82 (109,70-122,30)	(ND)	46,05 ± 3,82 (37,50-54,60)
<i>c. phrygius</i>	kontrol	4H	40,40 ± 1,92 (36,10-44,70)	80,50 ± 5,05(69,20 - 91,80)	(ND)	44,45 ± 1,81(40,40-48,50)

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada *C. aucheri*, *C. phrygus* ve *C. galaticus* türlerinin etanol, metanol, benzen ve aseton ekstraktlarının toplam antioksidan aktiviteleri, β -karoten-linoleik asit model sistemiyle belirlenmiştir. Böyle bir sistemde linoleik asit inkübasyonu sağlanmaktadır ve bu tepkime sırasında peroksitli ürünler oluşmaktadır. Bu peroksitli ürünler serbest radikaller olup β -karotenle etkileşerek, β -karotenin karakteristik sarı rengini gidermekte ve böylece sistemde meydana gelen absorbans değişimi spektroskopik olarak takip edilebilmektedir. β -karotenin antioksidansız ortamda sarı rengi açılmakta ve absorbans değeri düşmektedir. Bu sisteme, türlerimizin ekstraktı ile oluşturulan solisyon ilave edildiğinde β -karotenin karakteristik sarı rengi daha çok korunmaktadır. Dolayısıyla örneklerin daha yüksek absorbansı daha yüksek antioksidan aktiviteyi göstermektedir. En yüksek absorbans değeri *C. aucheri* türünün etanollü ekstresinde tespit edilmiş olup, hesaplanan antioksidan aktivite $66,88 \pm 0,8$ 'dir. *C. aucheri* türünün metanolik ekstraktının antioksidan aktivitesi $62,00 \pm 1,4$, *C. galaticus* metanolik ekstraktının antioksidan aktivitesi $50,35 \pm 1,25$, *C. phrygus* türünün metanolik ekstraktının antioksidan aktivitesi $55,41 \pm 0,5$ olarak bulunmuştur. En düşük antioksidan aktivite *C. galaticusun* benzenli ekstresinde bulunmuş ve $17,48 \pm 3,02$ olarak hesaplanmıştır.

Ekstraktların, serbest radikal giderim aktivitesi ekstrakt içerisindeki antioksidan bileşiklerin hidrojenlerini verebilmelerine ve bileşiğin yapısal konformasyonuna bağlı olmaktadır [90]. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) 517 nm de dalga boyu maksimumuna sahiptir ve bazı doğal bileşiklerin antioksidan aktivitesinin belirlenmesinde serbest radikal olarak kullanılmaktadır. DPPH serbest radikali, aşağıdaki tepkime gereği kararlı bir molekül olabilmek için antioksidan moleküllerden bir elektron ya da hidrojen radikalini kolaylıkla alabilmektedir [91].



Bir serbest radikal olan DPPH'nin karakteristik mor rengi, bu tepkime gereği açılmaktadır. Burada sistemin absorbansının düşmesi ekstraktların serbest radikal süpürme yeteneğinin varlığını göstermektedir. Çalışmada en yüksek serbest radikal giderim aktivitesi *C. aucheri* türünün 1 mg/ml konsantrasyonda hazırlanmış etanollü ekstresinde tespit edilmiştir ($59,50 \pm 1,2$). En düşük serbest radikal giderim aktivitesi ($9,83$) *C. galaticus* türünün 0,2 mg/ml konsantrasyonda hazırlanmış

asetonlu ekstresinde gözlenmiştir. Üzerinde çalıştığımız türler, BHT'ye göre nispeten daha zayıf olmasına rağmen, yinede güçlü bir radikal süpürme etkisi göstermektedir. Aynı zamanda bu sistemde, tür ekstraktları farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış olup, konsantrasyon arttıkça serbest radikal giderim aktivitesinin de arttığı görülmüştür.

Nacef ve arkadaşlarının (2010) yapmış oldukları çalışmada, *Convolvulus* türlerinde tropan alkaloidlerinin bulunmasının, bunların kemotaksonomik sınıflandırmalarında önemli bir özellik olarak kullanıldığını bildirmişlerdir. Çalışmalarında [83], *C. dorycnium* türünün içerik analizini yapmışlar ve ikisi yeni olmak üzere altı adet bileşen tespit etmişlerdir (doriknik asit, vanilik asit, skopolin, kamferol, skopoletin, metil kafeat). Öncelikle bu türün antioksidan aktivitesini DPPH yöntemi ile belirlemişler, EtOAc (etilasetat) ile hazırlanan ekstrelerde IC₅₀ değeri 3,2, n-BuOH (butanol) ile hazırlanan ekstrenin IC₅₀ değeri 6.9 mg/mL, olarak tespit etmişler. Aynı zamanda belirlenen bileşenlerin antioksidan aktivitesi de DPPH yöntemi ile saptamışlar ve en yüksek antioksidan aktiviteyi doriknik asitten elde etmişlerdir. (IC₅₀ değeri 31.5 µM).

Yine bazı araştırmacılar tarafından *Convolvulus* cinsine ait bazı türlerin bir kısmı antioksidan aktiviteleri yönünden incelenmiştir. *C. hystrix* [92], *C. althaeoides* [93], *C. pluricaulis* [94], *C. fatmensis* [95], ve *C. arvensis* türlerinin [96], fenolik içerikleri ile bağlantılı olarak antioksidan özellik gösterdikleri tespit edilmiştir.

Bu çalışmada da *C. aucheri*, *C. phyrigus* ve *C. galaticus* türlerinin antioksidan aktiviteleri %50'den fazla olduğu için, antioksidan aktivitesi yüksek türler oldukları sonucuna ulaşılmıştır.

Çalışılan türlerin herbiri için 4 farklı çözücü kullanılarak ekstraktlar hazırlanmış ve bu ekstraktlar birbirlerinden çok farklı antioksidan aktivite göstermişlerdir. Bunun sebebi, çözücülerin polarite farklılığı olarak düşünülebilir. Gerçekleştirdiğimiz antioksidan aktivite çalışmaları sonucunda, bütün türlerin etanollü ekstrelerinin daha yüksek antioksidan aktivite gösterdikleri, benzenli veya asetonlu ekstrelerinin ise düşük olduğu gözlenmiştir. Bitkisel örnekler içerik olarak yapısal farklılıklar göstermektedir ve bu nedenle ekstraksiyon yöntemlerinde her örnek için tek bir çözücü kullanmak mümkün olmamaktadır. Elde edilen sonuçların da açıkça ortaya koyduğu gibi, analizlerde farklı çözümlerle çalışılarak tür için en

uygun çözen seçilebilmektedir. Bu sayede, bitkilerin antioksidan kapasitesi hakkında doğru ve yüksek sonuçlar elde edilebilmektedir.

C. aucheri, *C. phyrigus* ve *C. galaticus* türlerinin toplam fenolik madde içeriği mg/ml gallik asit cinsinden hesaplanmıştır. En yüksek *C. aucheri* türünün etanollü ekstresinin (23,03 mg/g GAE), *C. galaticus* asetonlu ekstresinin ise en düşük (5,35 mg/ml GAE) olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada en yüksek antioksidan aktivite ve fenolik içerik miktarı *C. aucheri* türünde tespit edilmiştir. Bu anlamda fenolik içerik miktarı yüksek olması, antioksidan aktivitesinin güçlü olmasıyla paralellik gösterse de bunu söylemek doğru olmamaktadır.

Elzaaely ve Tawata (2012) yapmış oldukları çalışmalarında [80], *C. arvensis* türünün yapraklarından elde edilen asetik asit fraksiyonlarını, total fenolik ve total flavon antioksidan aktivite tayini için hazırlamışlardır. DPPH ve β -karoten yöntemi ile antioksidan aktivitesini ölçmüşler ve güçlü bir antioksidan aktivite tespit etmişlerdir. *C. arvensis* türünün yapraklarının asidik etil asetatlı ekstrelerinin toplam fenolik içerik miktarı Folin- Ciocalteu yöntemi ile belirlemişler ve $244,6 \pm 2,9$ mg/g GAE g olarak hesaplamışlardır. DPPH yöntemi ile radikal süpürme aktivitesi hesaplanmış (IC_{50} değeri $66,9 \pm 0,1$ μ g/mL), β -karoten-linoleik asit model sistemiyle toplam antioksidan aktivitesinin de güçlü olduğunu belirlemişlerdir [55]. Elzaaely ve Tawata'nın çalışması ile çalışmamız kıyaslandığında, çalışmamızda, en yüksek fenolik içerik *C. aucheri* türünün etanollü ekstresinde 23,03 mg/g GAE olarak bulunmuştur. Elzaaely ve Tawata yapmış oldukları çalışmalarında ise *C. arvensis* türünün fenolik içerik miktarını $244,6 \pm 2,9$ mg/g GAE g olarak bulmuşlardır ve çalışmamızda kullandığımız türlerde, *C. arvensis*'e göre çok düşük fenolik içerik miktarı tespit edilmesine rağmen *C. arvensis* türünün antioksidan aktivitesine çok yakın değerlerde antioksidan aktivite belirlenmiştir.

Metin ve arkadaşlarının (2013) yaptıkları çalışmada [97], *Cyclamen graecum* türünün fenolik içerik miktarı Folin coicalteu yöntemi ile araştırılmış ve en yüksek fenolik içeriğin yaprak kısımlarının etanollü ekstrelerinde bulunduğu tespit edilmiştir. Fenolik içerik miktarı $33,73 \pm 0,69$ mg/g GAE olarak bulunmuştur. Antioksidan aktivitesi β - karoten yöntemi ile belirlenmiştir. En yüksek antioksidan aktivite yaprak kısmının etanollü ekstraktında $97,3 \pm 0,55$ olarak kaydedilmiştir. Çalışmamızda *C. aucheri* türünün antioksidan aktivitesi $66,88 \pm 0,8$, fenolik içerik miktarı 23,03 mg/g GAE değeri ile en yüksek hesaplanmıştır. Bu türlerin fenolik

içerik miktarı, *Cyclamen graecum* [97] türünün fenolik içerik miktarı ile yakın değerlerde bulunmuştur. Fakat, *Cyclamen graecum* türünün çok daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği görülmektedir. Bu durumu şu şekilde açıklamak mümkündür: Fenolik maddeler doğal antioksidanların en önemli gruplarını oluşturmaktadır. Ancak bu durum tüm fenolik bileşen miktarı yüksek olan ekstraktların güçlü antioksidan aktivite göstereceği anlamına gelmemektedir. Aksine, antioksidan aktivite toplam fenolik bileşen miktarından değil; yalnızca gücü tam açığa çıkmış olan aktif fenolik bileşen miktarından kaynaklanmaktadır. Dolayısıyla, bir maddenin antioksidan etki yönünden kuvvetli olmasının, içerdiği fenolik madde miktarına bağlı olmadığı fakat, fenolik madde miktarının, antioksidan aktivite belirlemede önemli bir parametre olduğu söylenebilmektedir.

Çalışmamızda *C. phrygius*, *C. galaticus* ve *C. aucheri* türlerinin %0,5 ve %1 konsantrelik etanollü ekstraktları, her grupta altı rat olmak üzere toplam 30 (otuz) gün süresince hayvanların içme sularına eklenerek oral yollarla iştirilmiştir. Deneyin başlangıcında, ikinci haftasında ve dördüncü haftasında hayvanlarda kan örnekleri alınmış ve ALT, AST, GGT ve ÜRE değerleri tespit edilmiştir.

Değerlendirmelerin sonucunda sadece istatistiksel olarak anlamlı bulunan sonuçlar değerlendirilmiştir. *C. aucheri*'nin ALT değerinin başlangıçta $40,07 \pm 2,21$ iken, 4. hafta sonunda $70,87 \pm 5,31$ 'e çıktığı gözlenmiştir. Kontrol grubunda AST değeri 4. haftanın sonunda anlamlı bir düşme gösterirken, diğer ikisinde (%0,5 ve %1) AST değerinde artış gözlenmektedir. GGT değerleri incelendiğinde ise genel olarak değerlerin düştüğü gözlenmektedir. ÜRE değerlerin 4. hafta sonunda başlangıç ve 2. hafta değerlerine göre artış gösterdiği görülmüştür ($55,93 \pm 3,59$ → $75,33 \pm 4,12$)

C. galaticus'un AST değerlerine bakıldığında %0,5'lik ve kontrol grubunun 4. hafta değerlerinde artış görülürken, %1'lik grupta anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir.

C. phrygius'un ALT değeri farklı gruplar arasında incelendiğinde; %1'lik grubun ALT değerlerinin 4. hafta sonunda diğer iki gruba göre arttığı sonucuna ulaşılmıştır. Bu türün AST değeri %0,5'lik gruplarda ve kontrol grubu verilerinde anlamlı farklılık göstermektedir ($F=5,25$, $SH=2,45$, $p<0,01$). % 0,5'lik ve kontrol gruplarında AST değerleri azalırken, % 1'lik grupta arttığı gözlenmiştir.

Çalışma sonucunda elde edilen veriler genel olarak incelendiğinde (Tablo 3.7) *C. aucheri* türünün ALT değeri bakımından, diğer türlere göre rakamsal farklılıkların daha belirgin olduğu gözlenmiştir ($F= 5,85$, $SH=2,135$, $p<0,01$). Bu türün ALT değerinin çalışmada kullanılan diğer türlere göre artış miktarının daha fazla olduğu görülmüştür. Genellikle %1'lik gruplarda anlamlı bir farklılık olduğu istatistiksel olarak onaylanmıştır ($F= 40,51$, $SH=2,135$, $p<0,001$) ve özellikle %1'lik grupta anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3.8). ALT değerindeki artışın konsantrasyonla paralellik gösterdiği sonucuna varılmıştır.

AST değerlerinde ise türler arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

GGT genel olarak değerlendirildiğinde, türler arasında anlamlı farklılık olduğu tespit edilmiştir ($F=3,59$, $SH=2,135$, $p<0,05$) ve *C. galaticus* ve *C. phrygius* türlerinin birbirlerinden farklı sonuçlar verdiği gözlenmiştir. %0,5'lik, %1'lik ve kontrol grupları arasında belirgin bir fark tespit edilmemişken, 2. hafta verilerinde anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($F=2,50$, $SH=2,135$, $p<0,001$). GGT'nin çoğunun sonucu, kaydedilemeyen veri (ND) olarak kabul edildiğinden tam olarak değerlendirmek mümkün olmamıştır.

ÜRE değerleri genel olarak incelendiğinde, türler arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir.

Özmen ve arkadaşlarının (1998) çalışmalarında [98], transaminazların, hepatositlerin direkt hasara uğraması sonucu, kan dolaşımına geçmesi ile serum ALT ve AST değerlerinde artışın olduğunu belirtmişlerdir. Bu görüşe göre *C. aucheri* ve *C. phrygius* türlerinin %1'lik gruplarında ALT değerinde artış tespit edilmesi, bu türlerin bitki ekstraktlarının %1'lik dozu, dokuda toksik etki yarattığı sonucuna ulaştırmıştır ve ALT'nin karaciğere spesifik bir enzim olmasından dolayı karaciğer harabiyetine neden olduğu kanısını uyandırmıştır. Ayrıca ALT değerleri genel olarak incelendiğinde *C. aucheri* türünün diğer türlere göre daha fazla artış gösterdiği bulunmuştur ve böylece bu türün dokuda daha toksik olduğunu söylemek mümkün olmuştur. Aynı zamanda *C. aucheri*'nin %0,5'lik ve %1'lik gruplarında ve *C. phrygius* türünün %1'lik grubunda AST miktarında artış gözlenmektedir.

Uygun ve Polat (2009), çalışmalarında [99], AST değerlerinde artış tespit edildiğinde, bunun karaciğer kökenli olup olmadığına karar vermek için, AST ve ALT değerlerinin birlikte değerlendirilmesi gerektiğini vurgulamışlardır. AST

değerlerinde artış meydana geldiğinde, ALT değerlerinde de artış oluşuyorsa bunun karaciğer kökenli olduğu sonucunu destekleyeceğini belirtmişlerdir. Bu çalışmaya göre, çalışmamızda *C. aucheri* ve *C. phrygius*'ün %1'lik grupta gözlenmiş olan ALT ve AST düzeyinin birlikte artışı, dokuda yüksek olasılıkla karaciğer harabiyetinin meydana geldiği kanısına ulaştırmıştır.

Aynı zamanda *C. aucheri*'nin ÜRE miktarı 4. hafta sonunda artış göstermiştir. Bu türün böbrek fonksiyonuna da olumsuz etki gösterdiği tespit edilmiştir.

C. galaticus türünde dikkate değer bir sonuç çıkmamakla birlikte sadece AST miktarı %0,5 ve kontrol gruplarına göre %1'lik grupta bir düşüş tespit edilmiştir. Bu sonuç yine olası toksik bir etkinin habercisi olma niteliği taşımaktadır.

Genel itibari ile GGT verilerinde kaydedilemeyen veri (ND) çok olduğu için değerlendirmeye alınamamıştır.

Keskin ve arkadaşlarının (2012) yapmış oldukları çalışmada [89], *Crataegus aronia* var. *dentata* Browicz türünün sıçan karaciğeri üzerindeki etkilerine bakılmış ve ALT ve AST değerlerinin düştüğü tespit edilmiş ve hepatositlerin apoptazında olumlu etkileri bulunduğu bildirilmiştir. Yapılan çalışmayla kıyaslandığında *C. phrygius* ve *C. aucheri* türünün ALT ve AST'yi arttırıcı etki gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır.

Bu çalışmada kullanılan türler Aykurt (2010)'a göre habit özelliklerini göz önüne alındığında iki grup altında toplanabilmektedir. İlk grup genellikle tabanda odunsu yapılı dik veya yatık duruşlu çalı veya yarı çalılar ile öbek oluşturan çok yıllıkları içermekte olup, ikinci grup tipik olarak genellikle çok yıllık sarılcı ve sürüncü formdaki türleri kapsamaktadır. Bu çalışmada seçilen türlerden *C. phrygius* tabanda odunsu yapılı öbek oluşturan çalimsılar; *C. aucheri* odunsu yapılı dikduruşlu tabanda çok yıllıklar; *C. galaticus* ise tipik sarılcı ve sürüncü formdaki çok yıllıklardır. Bu nedenle çalışmamız, habit özellikleri bakımından farklı olan üç türün, antioksidan aktiviteleri ve fenolik içerik miktarının kıyaslandığı ilk örneklerdir. Çalışmada kullanılan türler içerisinde, odunsu yapılı dikduruşlu tabanda çok yıllıklar grubunda yer alan *C. aucheri* türü , antioksidan aktivitesi, serbest radikal süpürücü etkisi ve fenolik içerik miktarı en yüksek çıkan tür olarak bulunmuştur.

Bu çalışma genel görünüş açısından birbirinden oldukça farklı olan ve cins içindeki morfolojik farklılıkları temsil eden üç türün seçilerek antioksidan aktivite ve fenolik içeriklerinin kıyaslandığı örnek bir çalışma konumundadır.

Ayrıca seçilen türlerden *C. phrygius* ülkemize endemiktir, endemik bir türün yapılan çalışmada yer alması çalışmanın değerini artırıcı niteliktedir.

Çalışma sonucunda *C. phrygius* ve *C. aucheri* türlerinde yüksek antioksidan aktivite ve toksik etkiler tespit edilmiştir. Bu durum, türler için kimyasal içerik çalışmalarının ve doku hasarlarının ileri düzey araştırıldığı çalışmaların yapılması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

5. KAYNAKLAR

- [1] BAYTOP, T., “*Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi*”, Nobel Tıp Kitabevleri Yayını, İstanbul, 480 , (1999).
- [2] ÇUBUKÇU B., MERİÇLİ AH., MAT A., SARIYAR G., SÜTLÜPINAR N., MERİÇLİ F., *Fitoterapi Yardımcı Ders Kitabı*, İstanbul Üniv. : 4311, Eczacılık Fak. Yayın :79, (2002).
- [3] KONUKOĞLU, D., “*Biyokimya*”, Nobel tıp kitabevi, İstanbul, (2000).
- [4] BAYTOP, T., “*Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi*”, İstanbul Üniv. Yay. No:3255, İstanbul, (1984).
- [5] ERİK, S., TARIKAHYA, B., “*Türkiye Florası Üzerine*”, *Kebikeç*:17, 139-163, (2004).
- [6] BALUNAS, M.J. AND KINGHORN, A.D. “Drug discovery from medicinal plants”, *Life Sciences*:78, 431-441, (2005).
- [7] BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E., & BERSET, C., “Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity”, *Lebensmittel isenschaftund Technologie*:28, 25-30, (1995).
- [8] COULADİS, M., TZAKOU, O., VERYKOKİDOU, E. AND HARVALA, C. “Screening of some Grek aromatic plants for antioxidant activity”, *Phytotherapy Research*:17, 194-195, (2003).
- [9] ARSLAN, N., “Doğal Bitkilerin Kültüre Alınması”, *TürktarımDergisi*, Ocak-Şubat : 155, 27-29. Ankara, (2004).
- [10] AUSTIN, D. F., “Parallel and convergent evolution in the Convolvulaceae”, (eds: P. Mathews & M. Sivadasan), “*Biodiversity and taxonomy of tropical flowering plants*”, Mentor Books, 201–234, (1998).
- [11] STAPLES, G. W. and YANG, S. Z., “Convolvulaceae. In: Editorial Committee of the Flora of Taiwan (Editors), Department of Botany, National Taiwan University, Taipei, Taiwan, *Flora of Taiwan* (2nd Edition):4, 341–384, (1998).

- [12] SOMOGYI, A., ROSTA, K., PUSZTAI, P., TULASSAY, Z., NAGY, G., “Antioxidant measurements”, *Physiological Measurement*: 28, 41-55, (2007).
- [13] BAYTOP, T., “*Türkçe Bitki Adları Sözlüğü*”, Türk Dil Kurumu Yayınları: 578, Ankara, 508, (1994).
- [14] AYKURT, C., DENİZ, İ. G. ve SÜMBÜL, H.. “*Korkuteli'nin Sessiz Dünyası*”, Dumat Ofset, Ankara, 180 , (2009).
- [15] CRONQUIST, A.,”*An Integrated System of Classification of Flowering Plants*”, Columbia University Press, NewYork, (1981).
- [16] AYKURT, C., “Türkiye’de Yayılış Gösteren Convolvulus L. (Convolvulaceae) Türleri Üzerine Taksonomik Bir Araştırma”, Doktora tezi, *Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Biyoloji Ana Bilim dalı, Antalya, (2010).
- [17] CHEESEMAN, K,H., SLATER, T,F., “An Introduction to Free Radical Biochemistry”, *Br. Med. Bull*: 49(3), 479-480, (1993).
- [18] SHAHIDI, F., WANASUNDARA, P.K.J., “Phenolic antioxidants”, *Critical Review of Food Science and Nutritional*: 32, 67-103, (1992).
- [19] HALLİWELL, B., GUTTERRIDGE, J,M,C., CROSS, C,E, “Free radicals, antioxidants and human disease: where are we now?”, *J Lab Clin Med*: 119(6), 598-613, (1993).
- [20] HARMAN D. , “Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry”, *J Gerontol*, 11: 298-300, (1956).
- [21] BOĞA, M., “*Türkiye’de Yetişen Vinca Türlerinin Antioksidan Aktivitelerinin Tayini*”, İstanbul Üniversitesi, *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Analitik Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, (2007).
- [22] DAĞDELEN, Ş., “Otlı Peynire Katılan Önemli Ot Türlerinin Antimikrobiyal, Antioksidan Etkileri, Aroma Profili ve Bazı Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi”, İnönü Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, (2010).
- [23] AKKUŞ, İ., “*Serbest Radikaller ve Fizyolojik Etkileri*”, Mimoza yayınları, 134, (1995).
- [24] MARKESBERY, W,R., “Oxidative Stress Hypothesis in Alzheimerı s Disease”, *Free Radical Biology And Medicine*: 23(1),134-147, (1997).
- [25] BENZIE, I., “Evolution of antioxidant defence mechanisms”, *Eur. J. Nutr.*: 39, 53-61, (2000).

- [26] KLEBANOFF SJ., "Oxygen metabolism and the toxic properties of phagocytes", *Annals of internal medicine*:93(3), 480-489, (1980)
- [27] SOUTHORN PA, POWIS G., "Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions", *Mayo Clinic proceedings Mayo Clinic*::63(4), 381-389, (1988).
- [28] KAVAS G., Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri, *Türkiye Klinikleri Fizyoloji*, 9, 1-8., (1989).
- [29] İBADOVA, S., "Bazı *hypericum* türlerinin fenolik bileşimi ile antioksidan ve serbest radikal süpürücü etkileri", Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, (2006).
- [30] SİMONİAN, N.A., COYLE, J.T., "Oxidative stress in neurodegenerative diseases", *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol*:36, 83-106, (1996).
- [31] WINROW, V.R., WINYARD, P.G., MORRIS, C.J., BLAKE, D.R., "Free radicals in inflammation: Second messengers and mediators of tissue destruction", *Dr MED Bull.*: 49, 506-522, (1993).
- [32] YILDIZ, M., ÇİÇEK, E., "İyonize radyasyonun biyolojik etkileri", (Baskıda), (2004).
- [33] SOMOGYI, A., ROSTA, K., PUSZTAI, P., TULASSAY, Z., NAGY, G., "Antioxidant measurements", *Physiological Measurement*: 28, 41-55, (2007).
- [34] KAHKÖNEN, M. P., HOPIA, A. I., VUORELA, H. J., RAUHA, J. P., PİHLAJA, K., KUJALA, T. S. AND HEINONEN, M., " Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds", *Journal of Agricultural and Food Chemistry* :47, 3954-3962, (1999).
- [35] NAGAI, T., MYODA, T. AND NAGASHIMA T., "Antioxidative activities of water extract and ethanol extract from field horsetail (tsukushi) *Equisetum arvense*", *Food Chemistry*: 91, 389-394, (2005).
- [36] BASER, K.H.C., " Fonksiyonel gıdalar ve nutrasötikler", Bitkisel ilaç hammaddeleri Toplantısı, 29-31 Mayıs 2002, Eskisehir, (2002).
- [37] RICE-EVANS, C.A., MILLER, N.J., PAGANGA, G., "Antioxidant properties of phenolic compounds", *Trends in Plant Science*:2, 152-159, (1997).
- [38] PAPETTI, A. , DAGLIA, M., GRISOLI, P., DACARRO, C., GREGOTTI, C., GAZZANI, G., "Anti- and pro-oxidant activity of Cichorium

genusvegetables and effect of thermal treatment in biological systems”, *Food Chemistry*, 97, 157-165, (2006).

- [39] GÜÇLÜ, K., ALTUN, M., ÖZYÜREK, M., KARADEMİR, S.E., APAK, R., “Antioxidant capacity of fresh, sun- and sulfited-dried malatya apricot (*Prunus Armeniaca*) assayed by CUPRAC, ABTS/TEAC and Folin methods”, *International Journal of Food Science & Technology*:41, 76-85, (2006).
- [40] APAK, R., GÜÇLÜ, K., ÖZYÜREK, M., KARADEMİR, S., “ Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using ion CUPRAC method”, *J Agric Food Chem*: 52(26), 7970-7981, (2004).
- [41] GRAF, E., MAHONEY, J.R., BRYANT, R.G., EATON, J.W., ”Iron-catalyzed hydroxyl radical formation”, *The Journal of Biological Chemistry*:259, 3620-3624, (1984).
- [42] MEYER, A.S., HEINONEN, M., & FRANKEL, E. N., “Antioxidant interactions of Catechin, Cyanidin, Caffeic acid, Quercetin and ellagic acid on human LDL oxidation”, *Food Chemistry*:61, 71-75, (1998).
- [43] KELEŞTEMUR, G. T., ÖZDEMİR, Y., “Balıklarda antioksidan savunma ve oksidatif stres”, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*: 4(1), 69-73, (2011).
- [44] CHAUDIERE, J. FERRARI-İLİOU, R.,” Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms”, *Food Chem. Toxicol.*, 37(9-10), 949-962, (1999).
- [45] ÖZKAN, A., GÜNDÜZ, G., ÇIPLAK, B., FIŞKIN, K., “Kimyasal mücadele uygulanmış *Dociostaurus Maroccanus* epidemik popülasyonundan alınan örneklerde antioksidan enzim aktiviteleri”, *Turkish Journal of Biology*:24, 141-149, (2000).
- [46] PEKTAŞ, İ., “Bitki Gelişim Düzenleyicilerinin Antioksidan Enzimler Üzerindeki Etkisinin Araştırılması”, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir, (2009).
- [47] GÖRÜNMEZOĞLU, Ö. “Kayısı ve İncir Meyvelerinin Antioksidan Kapasitelerinin Karşılaştırılması”, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, (2008).
- [48] ANTMEN, E., “ Beta Talasemide Oksidatif Stres”, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana, (2005).
- [49] CADENAS, E., PACKER, L. (Eds.), “*Handbook of Antioxidants*”, Marcel Dekker, New York-Basel, 0-8247-0547-5, (2002).

- [50] TEKMAN, Ş., ÖNER, N., “*Genel Biokimya Dersleri*”, Fakülteler Matbaası, İstanbul, (1994).
- [51] KESKİN, H., ERKMEN G., “*Besin Kimyası*”, Güryay Matbaacılık:5, İstanbul, (1987).
- [52] ÇAYLAK, E., “Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar”, *Tıp araştırmaları Dergisi*:9, 73-83, (2011).
- [53] ÇÖLLÜ, Z., “*Urtica Pilulifera L.* Bitkisinin Antioksidant Aktivitesinin Araştırılması”, Ondokuz Mayıs Üniversitesi *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Yüksek Lisans Tezi, Samsun, (2007).
- [54] HEIM, K.E., TAGLIAFERRO, R., BOBILYA, D. J., “Flavonoid antioxidants: hemistry, metabolism and structure-activity relationships”, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 572-584, (2002).
- [55] MOON YJ, WANG X, MORRIS ME., “Dietary flavonoids”, Effects on xenobiotic and carcinogen metabolism, *Toxicology in Vitro*:20, 187-210, (2006).
- [56] BENALLAL EL ARMANİ F, PERELL L, BORRGTS J, TORTES L. “Development of novel DNA cleavage systems based on copper complexes. synthesis and characterisation of Cu(II) complexes of hydroxyflavones”, *Metal Based Drugs*: 7, 365-371, (2000).
- [57] CAO, G., SOFIC, E., PRIOR, R.L., “Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships”, *Free Radical Biology & Medicine*: 22, 749-760, (1997).
- [58] WILLIAMS, R.J., SPENCER, J.P.E., RICE-EVANS, C., “Flavonoids: Antioxidants or Signalling Molecules?”, *Free Radical Biology and Medicine*, 36, 838-849, (2004).
- [59] SHERWIN, E. R., “Oxidation and antioxidants in fat and oil processing”, *Journal of the American Oil Chemists’ Society*: 55:, 809-814, (1978).
- [60] WANASUNDRA, U. N., SHAHİDİ, F., “Antioxidant and pro-oxidant activity of gren tea extracts in marine oils”, *Food Chemistry*: 63, 335-342, (1998).
- [61] EKEN, S., “Bazı Materyallerde Antioksidan Tayinleri”, Yıldız Teknik Üniversitesi *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, (2007).
- [62] KARADEMİR, S.E., “Bazı Polifenolik Bileşiklerin Antioksidan Aktivitelerinin Tayini”, İstanbul Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, (2005).

- [63] KOLEVA, I. I., VAN BEEK, A. T., LINSSEN, J. P. H., DE GROOT, A. AND EVSTATİEVA L. N., “Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods”, *Phytochemical Analysis*: 13, 8-17, (1980)
- [64] TUNALIER, Z., KOŞAR, M., KÜPELİ, E., ÇALIŞ, İ., BAŞER, H.C. “Antioxidant, anti-inflammatory, anti-nociceptive activities and composition of *Lythrum salicaria* L. Extracts”, *Journal of Ethnopharmacology*: 110, 539-547, (2004).
- [65] SANCHEZ-MORENO, C., Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems, *Food Science and Technology International*, 8, 121-139, (2002).
- [66] ÖZTAN, T., “Mor havuç konsantresi, şalgam suyu, nar suyu ve nar ekşisi ürünlerinde antioksidan aktivitesi tayini ve fenolik madde profilinin belirlenmesi”, yüksek lisans tezi, İstanbul Teknik Üni. *Fen Bilimleri Enstitüsü*, (2006).
- [67] ALBAYRAK, S., SAĞDIÇ, O., AKSOY, A., “Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler”, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*:26(4), 401-409, Kayseri, (2010).
- [68] HUANG, D., OU, B., PRIOR, R. L., The chemistry behind antioxidant capacity assays, *J. Agric. Food Chem*: 53, 1841-1856, (2005).
- [69] KARA, N., “Serumda toplam antioksidan kapasitenin modifiye cuprac (bakır(II) indirgeme esaslı antioksidan kapasite) metoduyla belirlenmesi”, Yüksek lisans tezi, İ. Ü. *Fen Bilimleri Enstitüsü*, (2011).
- [70] ERDEN, M., “Serbest radikaller”, *T. Klin. Tıp Bilimleri Dergisi*:12, 201-207, (1992).
- [71] ÖZYÜREK, M., BEKTAŞOĞLU, B., GÜÇLÜ, K., APAK, R., , “Hydroxyl radical scavenging assay of phenolics and flavonoids with a modified cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC) method using catalase for hydrogen peroxide degradation”, *analytica chimica acta*:616, 196–206, (2008).
- [72] TEKMAN, Ş., ÖNER, N., “*Genel Biokimya Dersleri*”, Fakülteler Matbaası, İstanbul, (1994).
- [73] BLOIS, M.S., “Antioxidant Determination By The Use Of A Stable Free Radical”, *Nature*:181, 1199-1200, (1958).
- [74] BİHAQİ S., WASEEM S., TİWARİ M., “İnvivo investigation of the neuroprotective property of *Convolvulus pluricaulis* in scopolamine induced cognitive impairments in wistar rat”, *Indian Journal of Pharmacology*: 43-5, 120-125, (2011).

- [75] MATRESCU, J., OANCEA, S., RAPA, A., ARIRÎNEÎ, A., Spectrophotometric Analysis Of The Blood Plasma for Different Mammals, *Romanian J., Biophys*: 16, 3, 215-220, (2006).
- [76] TUNÇEL, N., AYDIN, S. ve ZEYTİN M., “İnsan Anatomisi Ve Fizyolojisi”, Anadolu Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi, Eskişehir, 67-81, (2004).
- [77] KİRSCH JF, EİCHELE G, FORD G, VİNCENT MG, JANSONİUS JN, GEHRİN H et al “Mechanism of action of aspartate aminotransferase proposed on the basis of its spatio structure”, *J Mol Biol* :174 (3), 497-525, (1984).
- [78] BOYD JW., “Serum enzymes in the diagnosis of disease of in man and animal”, *J. Comp Path*:96, 381-404, (1988).
- [79] HORİUCHİ S, INOUE M, MORİNO Y., “Gama glutamyl transpeptidase. Sidedness of its active site on renal brush border membrane”, *Eur. J. Biochem*, (1978).
- [80] MENĞİ A., “Biyolojik ve stres faktörlerinin sıçan karaciğerindeki gamma glutamil transpeptidaz (γ -GT) aktivitesine tesiri”, VI. Bilim Kongresi Veteriner ve Hayvancılık Araştırma Grubu Tebliğleri, 287-292, (1979).
- [81] ELZAAELY A.A., TAWATA S., “Antioxidant activity of phenolic Rich Fraction Obtained from *Convolvulus arvensis* L. Leaves Grown in Egypt”, *Asian Journal of Crop Science*: 4-1, 1-9, (2012).
- [82] BİHAQİ , S., SHARMA, M., SİNGH A., TİWARİ M., “Neuroprotective role of *Convolvulus pluricaulis* on aluminium induced neurotoxicity in rat brain”, *Journal of Ethnopharmacology*, 124, (2009).
- [83] KATHİYAL R., PREETİ M.S.M., “Comparative nootropic effect of *Evolvulus alsinoides* and *Convolvulus pluricaulis*”, *international journal of Pharma&Bio Sciences*:2-1, 616-621, (2011).
- [84] NACEF S., JANNET H., ABREU P., MİGHİRİ Z., “Phenolic constituents of *Convolvulus dorycnium* flowers”, *Phytochemistry Letters* , 66-69, (2010).
- [85] CAPPAROV A.M., ARİPOVA S.F., TASHKHODZHAEV B., LEVKOVİCH M.G., ARİPOV O., “Convolute a new alkaloids from *Convolvulus subhirsutus* of Uzbekistan flora”, *Chemistry of Natural Compounds*: 46, (2010).
- [86] AMİN, İ., TAN, SH., “Antioxidant activity of selected commercial seaweeds”, *Malays. J. Nutr.*:8, 167-17, (2002).

- [87] AMİN, İ., ZAMALİAH, MM., CHİN, WF. “Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables”, *Food Chem.*:87, 581–586, (2004).
- [88] WU, C., CHEN, F., WANG, X., KIM, H., HE, G., HALEY-ZITLIN, V., HUANG, G., “Antioxidant constituents in feverfew (*Tanacetum parthenium*) extract and their chromatographic quantification” , *Food Chemistry*:96, 220–227, (2006).
- [89] SLİNKARD, K. AND SİNGLETON, V.L. Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. *American J. Enology and Viticulture*, 28 (1):49-55, (1977).
- [90] KESKİN, N., MAMMADOV, R., İLİ, P., “*Crataegus aronia* var. *dentata* Browicz ekstraktının dalak üzerindeki etkilerinin araştırılması: histokimyasal çalışma” *Pam Tıp Derg.*:5(2), 68-74, (2012).
- [91] FUKUMOTO, L.R., MAZZA, G., “Assesnsing Antioksidant And Prooxidant Activities Of Phenolic Compounds”, *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*:48,3597-3604, (2000).
- [92] YEN, W., CHANG, L., DUH, P., “ Antioxidant activity of peanut seed testa and its antioxidative component, ethyl protocatechuate”, *LWT*:38, 193–200, (2005).
- [93] EL-ASKARY, H.I., ABOU-HUSSEİN, D.R., SHEHAB, N.G., SLEEM, A.A., ‘Bioactive caffeoylquinic acid derivatives from *Convolvulus hystrix*’, *Vahl. Bull. Fac. Pharm. (Cairo University)*:44, 127–134, (2006).
- [94] TAWAHA, K., ALALİ, F.Q., GHARAİBEH, M., MOHAMMAD, M., EL-ELİMAT, T., “Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species”, *Food Chem.* :104, 1372–1378, (2007).
- [95] RAVİCHANDRA V.D., RAMESH C., SRİDHARA K.A., “Hepatoprotective potentials of aqueous extract of *Convolvulus pluricaulis* against thioacetamide induced liver damage in rats”, *Biomedicine & Aging Pathology*:3, 131–135, (2013).
- [96] ATTA, A.H., MOHAMED, N.H., NASR, S.M., MOUNEİR, S.M., “Phytochemical and pharmacological studies on *Convolvulus fatmensis*” *Ktze. J. Nat. Remed.*:7, 109– 119, (2007).
- [97] KRZACZEK, T., BOGUCKA-KOCKA, A., RYN, D., ‘Chromatographical analysis of phenolic compounds in herb *Convolvulus arvensis* L.’ *Herba Polon*: 50, 17–22., (2004).

- [98] METİN H., AYDIN Ç, ÖZAY C., MAMMADOV R.,, “Antioxidant Activity of the Various Extracts of *Cyclamen graecum* Link Tubers and Leaves from Turkey”, *J.Chem.Soc.Pak.*: 35,. 5, 1332, (2013).
- [99] ÖZMEN, D., ERSÖZ, B., BAYINDAR, O., MENTES, G., ERLAÇİN, S., “Alkolizm ve alkolik karaciger sirosunda gamma-glutamil transpeptidazın değeri”, *Ege Üniv. Tıp Fak. Derg.*; 27, (3), 821-825, (1988).
- [100] UYGUN, A., POLAT Z., “Viral Hepatit Dışı Serum Transaminaz Düzeyinde Artışa Neden Olan Hastalıklar”, Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Gastroenteroloji Kliniği, Ankara, *güncel gastroenteroloji*:3/4, (2009).

6. ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad : Esra ERCİYES

Doğum Yeri ve Tarihi : Torbalı /1986

Lisans Üniversite : Pamukkale Üniversitesi

Elektronik Posta : esrayarim@gmail.com

İletişim Adresi : Kurtuluş mah., Nazilli Cad., 56/4
Sultanhisar/AYDIN