

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

KİMYA ANABİLİM DALI

**BAZI TIBBİ AROMATİK BİTKİSEL ÜRÜNLER VE ARI ÜRÜNLERİNİN
NİTRİK OKSİT SENTAZ (NOS) İNHİBİSYONLARI İLE ANTİOKSİDAN
ÖZELLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Fatma BAKIRHAN

**MART 2021
TRABZON**



KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

**BAZI TIBBİ AROMATİK BİTKİSEL ÜRÜNLER VE ARI ÜRÜNLERİNİN
NİTRİK OKSİT SENTAZ (NOS) İNHİBİSYONLARI İLE ANTİOKSİDAN
ÖZELLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

FatmaBAKIRHAN

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünce
"YÜKSEK LİSANS (KİMYA)"
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 17 / 02 / 2021

Tezin Savunma Tarihi : 16 / 03 / 2021

Tez Danışmanı : Dr. Öğr. Üyesi Fatma YAYLACI KARAHALİL

Trabzon 2021

ÖNSÖZ

Nitrik Oksit Sentaz özellikle makrofajlarda önem taşıyan bir enzimdir ve inflamasyon olgusunda önemi yüksektir. Bu nedenle bu çalışmada öncelikle NOS enziminin doğal ürünler aracılığıyla inhibisyonunun araştırılması hedeflenmiştir. Aynı zamanda kullanılan doğal ürünlerin aktioksidan özellikleri incelenmiştir.

Yüksek lisans tezi olarak yapılan bu çalışma “Bazı Tıbbi Aromatik Bitkisel Ürünler ve Arı Ürünlerinin Nitrik Oksit Sentaz (NOS) İnhibisyonları ile Antioksidan Özelliklerinin Karşılaştırılması” başlıklı KTU BAP yüksek lisans tez projesi (Proje Kodu: BAP:FYL-2019-7998) kapsamında desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı KTÜ Rektörlüğüne teşekkür ederim.

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam boyunca karşılaştığım zorlukları bilgi ve tecrübesi ile aşmamda yardımcı olan, literatür araştırmalarım, deneysel çalışmaların yönlendirilmesinde, elde edilen verilerinin analiz edilmesinde ve tezin yazım aşamasında yardımlarını esirgemeyen değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Fatma YAYLACI KARAHALİL’e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yine çalışmalarım boyunca her türlü bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Prof. Dr. Sevgi KOLAYLI ve Prof. Dr. Oktay YILDIZ’a, laboratuvar analizlerinde yardımlarından dolayı Araş. Gör. Yakup KARA’ya, ilgisini ve önerisini göstermekten kaçınmayan, bana yol gösterip sürekli destek olan değerli arkadaşım Doç. Dr. Şule CEYLAN’a teşekkür ederim.

Çalışmalarım ve hayatım boyunca attığım her adımda maddi-manevi desteğini esirgemeyen sevgili aileme ve bu süreçte bana gösterdikleri destek ve sabırlarından dolayı eşim Ersen BAKIRHAN, oğlum Boğaçhan BAKIRHAN ve kızım Beren Büke BAKIRHAN’a teşekkür eder, şükranlarımı sunarım.

Fatma BAKIRHAN
Trabzon 2021

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum “Bazı Doğal Ürünlerin Nitrik Oksit Sentaz İnhibisyonunun Araştırılması” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Fatma YAYLACI KARAHALİL’in sorumluluğunda tamamladığımı, örnekleri kendim topladığımı, deneyleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri, metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 16/03/2021

Fatma BAKIRHAN

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	III
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET	VII
SUMMARY.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	IX
TABLolar DİZİNİ.....	X
SEMBOLLER DİZİNİ	XI
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Enzimler ve Genel Özellikleri	3
1.3. Enzimlerin Adlandırılması ve Sınıflandırılması.....	5
1.4. Enzim Aktivitesi	6
1.5. Enzim Aktivitesini Etkileyen Faktörler.....	6
1.6. Enzim İnhibisyonu	6
1.6.1. Reversibl (Geri Dönüşümlü) Enzim İnhibisyonu.....	7
1.6.1.1. Kompetitif (Yarışmalı) Enzim İnhibisyonu.....	7
1.6.1.2. Nonkompetitif (Yarışmasız) Enzim İnhibisyonu	7
1.6.1.3. Ankompetitif (Yarı Yarışmalı) Enzim İnhibisyonu.....	7
1.6.2. İrreversibl (Geri Dönüşümsüz) Enzim İnhibisyonu	8
1.7. Nitrik Oksit Sentaz.....	8
1.8. Nitrik Oksit Biyosentezi.....	9
1.8.1. Nöronal NOS (nNOS).....	11
1.8.2. Endotelyal NOS (eNOS)	12
1.8.3. İndüklenebilir NOS (iNOS)	12
1.9. Antioksidanlar	13
1.10. Kullanılan Tıbbi Aromatik Bitkisel Ürünler ve Arı Ürünleri.....	14
1.10.1. Bal	14
1.10.2. Polen	16

1.10.3.	Propolis	17
1.10.4.	İhlamur (<i>Tilia</i>).....	19
1.10.5.	Çay (<i>Camellia sinensis</i>)	20
1.10.6.	Kestane çiçeği (<i>Castanea sativa</i> Mill.)	22
1.10.7.	Sarı çiçekli orman gülü (<i>Rhododendron luteum</i>)	23
1.10.8.	Reyhan (Fesleğen) (<i>Ocimum basilicum</i> L.)	24
1.10.9.	Mersin (Murt/Hambelez) Meyvesi (<i>Myrtus communis</i> L.)	25
1.10.10.	Kokulu Üzüm (İzabella Üzümlü) (<i>Vitislabrusca</i> L.).....	26
1.10.11.	Yaban Mersini (Ligarba) (<i>Vaccinium myrtillus</i>)	28
1.10.12.	Aronya (Chokeberry) (<i>Aronia melanocarpa</i>)	29
2.	MATERYAL VE METOD	30
2.1.	Çalışmada Kullanılan Cihaz ve Gereçler	30
2.2.	Kimyasal Madde ve Malzemeler.....	30
2.3.	Çalışmada Kullanılan Arı Ürünleri ve Bitkisel Ürünler.....	31
2.4.	Ekstraktların Hazırlanışı.....	32
2.5.	Antioksidan Tayinler.....	33
2.5.1.	Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini	33
2.5.2.	FRAP (Fe^{3+} İndirgeme Antioksidan Güç) Tayini.....	34
2.5.3.	DPPH• Radikal Temizleme (Süpürme) Aktivitesi Tayini	35
2.6.	HPLC-UV ile Fenolik Bileşenlerin Tayini.....	36
2.7.	Nitrik Oksit Sentaz Aktivite Tayini	37
3.	BULGULAR	40
3.1.	Antioksidan Aktivite Çalışmaları.....	40
3.1.1.	Toplam Fenolik Madde Testi Sonucu	40
3.1.2.	FRAP Testi Sonucu	41
3.1.3.	DPPH• Testi Sonucu	42
3.2.	HPLC-UV ile Fenolik Bileşen Tayini Sonucu	44
3.3.	Nitrik Oksit Sentaz Enzim İnhibisyonu Sonucu.....	50
4.	TARTIŞMA	52
5.	SONUÇLAR VE ÖNERİLER	60
6.	KAYNAKLAR	63
7.	EKLER.....	80

ÖZGEÇMİŞ

Yüksek Lisans

ÖZET

BAZI TIBBİ AROMATİK BİTKİSEL ÜRÜNLER VE ARI ÜRÜNLERİNİN NİTRİK OKSİT SENTAZ (NOS) İNHİBİSYONUNLARI İLE ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Fatma BAKIRHAN

Karadeniz Teknik Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Fatma YAYLACI KARAHALİL

2021,79 Sayfa, 6 Sayfa Ek

Bu tez çalışmasında bazı arı ürünleri, çay olarak tüketilen bazı bitkiler, bazı üzüksü meyveler; antioksidan, fenolik kompozisyon ve Nitrik Oksit Sentaz İnhibisyonu açısından incelenmiştir. Özellikle doğala olan ilginin her geçen gün arttığı günümüzde, pek çok doğal ürün bir arada değerlendirmeye çalışıldı. Yapılan çalışmada antioksidan aktivite tayinleri DDPH, FRAP ve Toplam fenolik madde analizleriyle gerçekleştirildi. Yapılan analizler sonucunda propolis, orman gülü çiçeği, *camelliasinensis* çayı ve kestane çiçeğinin antioksidan özelliklerinin yüksek olduğu tespit edildi. HPLC ile yapılan fenolik bileşen analizi sonucunda tüm örneklerde major bileşen farklı olarak tespit edildi. İhlamur ve kokulu üzüm örneklerinde yüksek oranlarda farklı fenolik bileşen bulunması, diğer örneklerden ayırt edici bir özellik olarak karşımıza çıkmaktadır. İçerisinde en fazla fenolik bileşen içeren örnek kestane çiçeği olurken en az fenolik bileşen çeşidi içeren örnek ise reyhan bitkisi olmuştur. Bunun yanı sıra tüm örneklerde miktarca en fazla tespit edilen fenolik bileşen protokatekuik asit olurken en az gözlenen bileşen ise kateşin olmuştur. Ektraktların ve standart bileşenlerin NOS kiti kullanılarak enzim inhibisyonları incelenmiştir. Standart olarak kullanılan bileşenlerden kateşin en iyi inhibisyon etkisi gösterirken, örneklerden 3 numaralı deli bal örneğinin aktiviteyi en fazla düşürdüğü 0,42 mU/mg değeriyle en iyi inhibisyon değerine sahip olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Nitrik oksit (NO), Nitrik oksit sentaz (NOS), Antioksidan aktivite, Aromatik bitkiler, Arı ürünleri

Master Thesis

SUMMARY

COMPARING THE NITRIC OXIDE SYNTHASES (NOS) INHIBITIONS AND THE ANTIOXIDANT PROPERTIES OF SOME MEDICINAL AND AROMATIC HERBAL PRODUCTS AND BEE PRODUCTS

Fatma BAKIRHAN

Karadeniz Technical University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Chemistry Graduate Program
Supervisor: Dr. Öğr. Üyesi Fatma YAYLACI KARAHALİL
2021, 79 Pages, 6 Pages Appendix

In this thesis, bee products, some plants consumed as tea, some berries; was examined in terms of antioxidant, phenolic composition and Nitric Oxide Synthase Inhibition. Especially nowadays, when the interest in nature is increasing day by day, natural products have been studied to be evaluated together. Antioxidant activity determinations were made by DDPH, FRAP and Total Phenolic Matter analyzes. As a result of the analyzes, it was found that the antioxidant properties of propolis, rhododendron flower, *camellia sinensis* tea and chestnut flower were high. As a result of phenolic component analysis performed by HPLC, major component was determined differently in all samples. The presence of high levels of different phenolic components in linden and scented grape samples are a distinctive feature from the other samples. While the sample containing the most phenolic component was the chestnut flower, the sample containing the least type of phenolic component was the basil plant. In addition, while the most detected phenolic component in all samples was protocatechuic acid, the least observed component was catechin. Enzyme inhibition of extracts and standard components were studied using the NOS kit. While catechin, one of the components used as a standard, showed the best inhibition effect, it was seen that the mad honey sample number 3 among the samples decreased the activity the most with 0.42 mU/mg value.

Key Words: Nitricoxide (NO), Nitricoxidesynthase (NOS), Antioxidant activity, Aromatic plants, Bee products

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Bileşik enzimin yapısı	4
Şekil 2. Enzim substrat ilişkisi.....	5
Şekil 3. NO'un L-arjinin'den sentez aşamaları.....	9
Şekil 4. Endotel ve düz kas hücrelerinde NOS'un aktive edilmesi NO'e dönüşümü	10
Şekil 5. NOS enziminin yapısı (Cardiovascular DRG, 2006).....	11
Şekil 6. Bal	15
Şekil 7. Polen.....	16
Şekil 8. Polene bulanmış bal arısı ve arının arka bacaklarındaki polenler	17
Şekil 9. Bal arısı ve propolis	18
Şekil 10. İhlamur (<i>Tilia</i>)	19
Şekil 11. Çay (<i>Camellia sinensis</i>).....	20
Şekil 12. Kestane çiçeği (<i>Castanea sativa</i> Mill.).....	22
Şekil 13. Sarı çiçekli orman gülü (<i>Rhododendron luteum</i>).....	23
Şekil 14. Reyhan (<i>Ocimum basilicum</i> L.).....	25
Şekil 15. Mersin (<i>Myrtus communis</i> L.)	26
Şekil 16. Kokulu üzüm (<i>Vitis labrusca</i> L.).....	27
Şekil 17. Yaban Mersini (<i>Vaccinium myrtillus</i>)	28
Şekil 18. Aronya (<i>Aronia melanocarpa</i>)	29
Şekil 19. Süzgeç kağıdından süzölmüş metanolik süzöntöler	32
Şekil 20. Analizlerde kullanılan ekstraktlar	32
Şekil 21. Demir (III)'ün indirgenme reaksiyonu	34
Şekil 22. 2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil	36
Şekil 23. Çözöcüsü uçurulmuş ekstraktlar	36
Şekil 24. Filtreden geçirilen metanolik ekstraktlar	37
Şekil 25. Griess reaksiyonu	38
Şekil 26. Nitrik oksit sentaz aktivite tayini çalışması.....	38
Şekil 27. Toplam fenolik madde kalibrasyon grafiğı.....	40

Şekil 28.	FRAP kalibrasyon grafiğı.....	41
Şekil 29.	Fenolik kalibrasyon bileşikleri.....	47



TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Kullanılan cihaz ve gereçler, marka/modelleri.....	30
Tablo 2. Kullanılan arı ürünlerinin numune adı, kodu ve temin edildiği yer	31
Tablo 3. Kullanılan bitkisel ürünlerin numune adı, kodu ve temin edildiği yer.....	31
Tablo 4. Toplam polifenol tayininde yapılan pipetleme işlemleri	33
Tablo 5. FRAP tayininde kullanılan pipetleme işlemleri.....	35
Tablo 6. DPPH• yöntemi için yapılan pipetleme işlemleri	35
Tablo 7. Arı ürünlerinin antioksidan aktivite sonuçları	43
Tablo 8. Bitkisel ürünlerin antioksidan aktivite sonuçları	43
Tablo 9. HPLC analizinde standart olarak kullanılan fenoliklerin kimyasal yapıları .	44
Tablo 10. HPLC-UV 'de ölçülen fenolik bileşen analiz sonuçları	48
Tablo 11. Arı ürünlerinin NOS aktivitesi (mU/mg) sonuçları.....	51
Tablo 12. Bitkisel ürünlerin NOS aktivitesi (mU/mg) sonuçları.....	51
Tablo 13. Standart bileşiklerin NOS aktivitesi (mU/mg) sonuçları.....	51

SEMBOLLER DİZİNİ

BH ₄	: Tetrahidrobiopterin
Ca ⁺²	: Kalsiyum
CaM	: Kalmodulin
CAPE	: Kafeik Asit Fenil Ester
CAT	: Katalaz
cGMP	: Siklik guanin monofosfat
cNOS	: Yapısal nitrik oksit sentaz
CUPRAC	: Cu (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite
C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	: L-arjin
DPPH•	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
EDRF	: Endotel kaynaklı gevşetici faktör
eNOS	: Endotelial nitrik oksit sentaz
FAD	: Flavon adenin dinükleotit
FeCl ₃	: Demir (III) klorür
FMN	: Flavon adenin mononükleotit
FRAP	: Demir (III) İyonu İndirgeme Gücü
GAE	: Gallik Asit Eşdeğeri
GC	: Guanil siklaz
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: Redükte glutasyon
GTP	: Guanin trifosfat
Hem	: Hemoglobinde bulunan demirli-porfirin proteini
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
LPS	: Lipopolisakkaritler
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NADP	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NADPH	: Nikotinamin adenin dinükleotit fosfat
nm	: Nanometre

NO•	: Nitrik oksit radikali
NO ₂ ⁻	: Nitrit
NO ₂ ⁺	: Nitronyum iyonu
NO ₃ ⁻	: Nitrat
NOS	: Nitrik oksit sentaz
nNOS	: Nöronal nitrik oksit sentaz
N ^o	: Guanido nitrojeni
O ₂	: Oksijen
O ₂ ⁻ •	: Süperoksit radikali
OH•	: Hidroksil radikali
OH-L-arg	: N ^o -hidroksi-L-arjinin
ONOO ⁻ •	: Peroksinitrit radikali
ORAC	: Oksijen radikal absorplama kapasitesi
<i>p</i> -	: Para pozisyon
pH	: Hidrojenin gücü
SC ₅₀ / IC ₅₀	: % 50 İnhibisyon konsantrasyonu
SOD	: Süperoksit dismutaz
TEAC	: Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite
TPTZ	: Tripridiltiazı
TRAP	: Toplam radikal tutucu antioksidan parametre
TSE	: Türk Standardları Enstitüsü
UV-VIS	: Ultraviyole-görünür bölge spektroskopisi

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Kimyasal reaksiyonları hızlandıran bileşikler katalizörlerdir. Biyokimyasal reaksiyonları hızlandıran moleküller ise enzimlerdir. Enzimler biyolojik katalizörlerdir. Canlı sistemlerdeki biyolojik reaksiyonların yüksek verimde, ılımlı koşullar altında, çok hızlı ve spesifik olarak gerçekleşmesi enzimler aracılığıyla olur. Katalitik RNA molekülleri hariç enzimler protein yapılı olup proteinlerin de en özelleşmiş grubunu oluşturmaktadırlar (Keha ve Küfrevioğlu, 2000). Hücre içerisinde meydana gelen binlerce tepkimenin hızı ve özgüllüğü enzimler tarafından düzenlenmektedir. Canlılarda solunum, sindirim, büyüme, kas kasılması, sinir iletimi vs. gibi birçok reaksiyonun gerçekleşmesini sağlarlar ve bu nedenle her bir metabolit diğer bir metabolite dönüşmek için özel bir enzime ihtiyaç duyar.

Nitrik oksit (NO) önemli bir mesajcı molekül olup, kardiyovasküler sistem ve beyindeki sinir hücrelerinde önemli fizyolojik fonksiyonlara sahiptir ve hemen hemen tüm doku ve organlarda fizyolojik süreçleri etkileyen kısa ömürlü bir serbest radikaldir. (Silverman vd., 2006). NO vasküler sistemde, ilk zamanlar endotel kaynaklı gevşeme faktörü (EDRF) olarak tanımlanmış olup L argininden NO sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla sentezlendiği bilinmektedir (Çekmen vd., 2001).

NOS enziminin iki yapısal, bir indüklenabilir olmak üzere üç izoformu vardır. Bunlar yapısal nitrik oksit sentaz (cNOS) olarak bilinen; endotel kaynaklı nitrik oksit sentaz (eNOS) ve nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS) ile indüklenabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) enzimleridir. eNOS kan damarlarında NO üretir ve vasküler fonksiyonun düzenlenmesinde rol oynar. nNOS merkezi sinir sisteminde NO üretir ve hücre iletişimi ve bilgi depolamada rol oynar. Diğer izoformların aksine, iNOS oksidatif stres koşulları altında de novo (kalıtsal olmayan, yeni görülmüş bir anomali) olarak ifade edilir ve vücudun savunma mekanizmasının bir parçası olarak büyük miktarlarda NO üretir. Normal fizyolojik süreçlerde cNOS ile üretilen NO'ya gereksinim varken, zedelenme ve doku hasarı gibi vakalarda ise iNOS ile üretilen NO'ya gereksinim vardır. Akut enflamatuvar vakalarda iNOS ile üretilen miktarlar hem zarar verici hem de koruyucu olabilmektedir (Kuyumcu vd., 2004).

Enzimlerin, hücre içindeki ve hücre dışındaki aktivitelerinin bir kısım bileşikler tarafından azaltılmasına hatta tamamen yok edilmesine “inhibisyon” adı verilmektedir. Bu olaya sebep olan bileşiklere de “inhibitör” denir (Beygiç, 2019).

Enzim inhibisyonu çağımızda farmakolojik açıdan önemli bir araştırma dalıdır. Doğal ürünler enzimlerle reaksiyona sokularak enzim aktivitesi kontrol edilebilmektedir. Fizyolojik durumlarda ilaç olarak kullanılabilmeleri enzim inhibitörlerinin en önemli özelliklerinden birisidir (Amtul vd., 2002).

Son yıllarda tıbbi bitkiler ve bunların üzerindeki çalışmalara karşı duyulan ilgi çok artmıştır. Bu ilginin artmasının nedenlerinden başlıcaları, sentetik ilaçların çok pahalı olmaları, birçok yan etkilerinin bulunması ve her hastalığı tedavi etme niteliğine sahip olmayışlarıdır (Özata, 2006). Bitkiler pek çok farmakolojik özelliğe sahip bileşeni yapısında barındırmaktadır. Bu tür kaynaklar genelde iyi birer antioksidan olarak değerlendirilmekte ve bu özellikleri farmakolojik karakterlerini de desteklemektedir (Al-hallaq vd., 2015).

Antioksidanlar, vücudun ürettiği serbest radikallerin etkilerinin azaltılması veya yok edilmesinde oldukça önemli maddelerdir (Zengin vd., 2011). Doğal ürün olarak alınan sebzeler, meyveler ve bitkiler antioksidan bakımından en zengin bileşenlerdir. Doğal ürünlerin içeriğinde bulunan fenolik bileşenler, flavonoidler, flavonlar, antosiyaninler, A, C, E vitaminleri, selenyum, çinko gibi bazı mineraller antioksidan mekanizma için önemli bileşenlerdir (Sen vd., 2010). Maddelerin antioksidan özelliği, yapılarında az miktarda bulunan sekonder metabolitler sayesinde gerçekleşir ve bu metabolitler aynı zamanda biyolojik aktiviteden sorumludur.

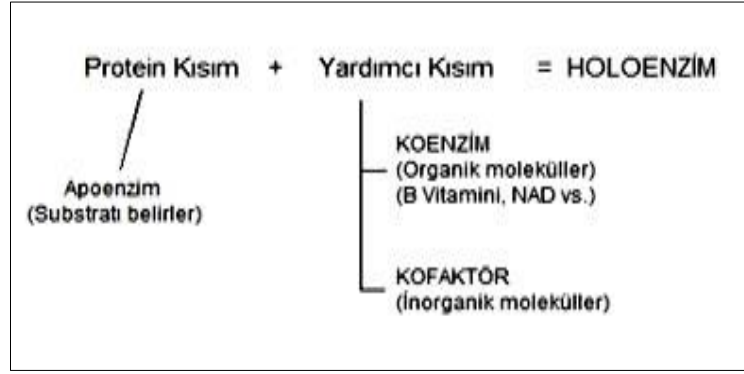
Bu tez çalışması doğal ürünlerin fenolik içeriklerinin HPLC ile tespiti, antioksidan kapasite tayinlerini ve NOS enzim inhibisyon tayinlerini içermektedir. Doğal ürün olarak ıhlamur, yeşil çay, reyhan, mersin, kokulu üzüm, aronya, kestane çiçeği, sarı çiçekli orman gülü, yaban mersini, arı ürünlerinden bal, polen, propolis ekstraktları, standart fenolik bileşen olarak gallik asit, kafeik asit, kateşin kullanılmış olup NOS kiti ile tayin gerçekleştirilmiştir. Doğal ürünlerin standartlarla karşılaştırmalı olarak değerlendirilerek inhibisyon potansiyellerinin belirlenmesi ve bu tarz doğal ürünlerin ayrıca ileriye yönelik NOS enzim inhibisyonu açısından da değerlendirilmesi, geniş anlamda yeni çalışmaların önünü açarak, sürdürülebilir bir çalışma alanı oluşturulmak istenmiştir. Beklenen çıktı sonuçlarından da literatüre olumlu katkılar sağlanarak, bilgi birikiminin artırılması hedeflenmiştir.

1.2. Enzimler ve Genel Özellikleri

Enzimler, metabolik reaksiyonları hızlandıran protein yapısındaki (Katalitik RNA molekülleri hariç) biyokimyasal katalizörlerdir. Hücrelerde sindirim, kas kasılması, organik maddelerin yapılması ve yıkılması, hücre solunumu vb. önemli fizyolojik faaliyetler enzimlerin katalitik etkisiyle mümkün olmaktadır. Enzimler reaksiyonları katalizlemenin yanı sıra ılımlı şartlar altında, reaksiyonların çok yüksek verimde, yüksek reaksiyon spesifikliğinde gerçekleşmesini de sağlamaktadırlar. Ayrıca regülasyonu sağlayıcı pek çok özellikleri de bulunmaktadır (Voet ve Voet, 2003).

Tarihten önceki devirlerde de peynir yapılması, şarabın sirkeleşmesi, şekerlerden alkol üretimi ve idrarda amonyak oluşumu gibi enzimatik olaylar bilinmektedir. İlk enzim çalışmaları 1760-1825 yılları arasında sindirime ilişkin enzimlerin araştırılmasıyla başlamıştır. İlk olarak Berzelius 1825 yılında, nişastanın sindiriminde etkili bitkisel enzimler üzerinde çalışmış daha sonra 1860 yıllarında Pasteur fermantasyon enzimleri üzerinde araştırmalar yapmıştır. Fermantasyon olayı ile ilişkilerinden dolayı başlangıçta ferment olarak adlandırılmış ancak 1878 yılında Kühne tarafından Yunanca'da "maya içinde" anlamına gelen enzim ismi ile değiştirilmiştir (Onat vd., 2002).

Enzimler protein kısım ve yardımcı kısımdan oluşmaktadır. Bazı enzimler sadece protein kısımdan oluşurken (pepsin, tripsin, üreaz ve diğer hidrolaz sınıfı enzimler), bazıları da proteinin yanında protein olmayan bir kısım içerirler. Enzimlerin protein kısmına "apoenzim" denir. Bu kısım, enzimin hangi maddeye etki edeceğini saptar. Apoenzim ısı ile kolayca denatüre olur. Yardımcı kısımların yapısı organik veya inorganik olabilir. Organik yapıdaki yardımcı kısımlara (Vitamin, NAD, FAD, NADP gibi) koenzim, inorganik yapıdaki yardımcı kısımlara (metal iyonları gibi) kofaktör (Cu^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , K^+ , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+}) denilmektedir. Koenzim ve kofaktör substratı etkiler yani enzimleri aktifleştirir. Koenzimi ile birleşik halde bulunan Apoenzim-Koenzim bütününe ise "holoenzim" adı verilir (Şekil 1).



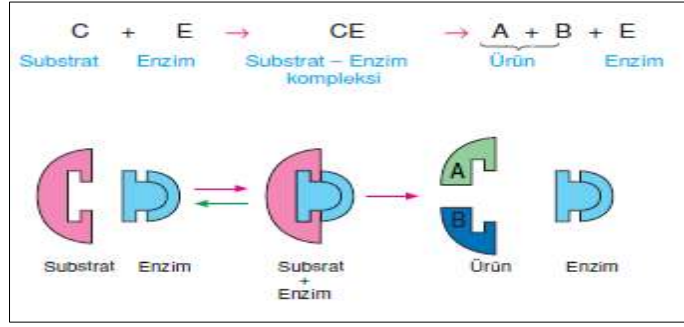
Şekil 1. Bileşik enzimin yapısı

Koenzim, enzimde işlev gören ve esas iş yapan kısımdır. Protein kısma göre daha küçük moleküllu ve çok defa fosfattan meydana gelmiş olan kısımdır. Bazı koenzimler nukleotid yapısındadırlar. Koenzim içeren enzimlere nikotinamid nukleotidli enzimler örnek verilebilir. Örneğin, nikotinamid adenin dinukleotid (NAD^+), nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (NADP^+) ve birleşik nukleotid olan koenzim A.

Koenzimler, apoenzimden kolaylıkla ayrılabilir fakat tek başlarına katalitik etki göstermezler. Koenzim, apoenzim kısmına kuvvetlice (kovalent bağ) bağlanmışsa, bu sıkı bağlanan kısma "prostetik grup" denir. Nukleotid yapısında olan prostetik gruplar da vardır. Örneğin, flavin adenin dinukleotid (FAD) ve flavin mononukleotid (FMN) (Can, ve Akev, 2008).

Enzimlerin katalitik etki gösteren kısmı; enzimin belirli bir bölgesinde amino asitlerin oluşturduğu polipeptit zinciridir. Protein zincirinin bu kısmı "aktif bölge" olarak tanımlanır. Substrat ve eğer varsa koenzim bu merkeze bağlanır. Enzimin özgül olarak etki ettiği maddeye veya madde karışımına bu enzimin "substratı" denir. Reaksiyon sonunda meydana gelen maddeye ise "ürün" adı verilir. Bir enzimatik reaksiyonda prostetik grup veya koenzim, enzimin etki edeceği kimyasal reaksiyonu belirlerken, apoenzim hangi substrata etki edeceğini belirler. Başka bir deyişle enzimin substrat özgüllüğünü belirler.

Enzimlerin katalizlemiş olduğu tepkimeler enzim substrat arasında bir enzim substrat (ES) kompleksi oluşumu üzerinden ilerler (Şekil 2). Bağlanma aktif bölgede meydana gelmektedir. Enzimlerin ve diğer katalizörlerin görevleri tepkimenin aktivasyon enerjisini düşürerek tepkimenin hızını artırmaktır. Enzimler bir reaksiyonun tepkime hızını 10^5 - 10^{17} kat artırabilen olağanüstü katalizörlerdir. Enzimatik hız artışında kullanılan enerji, enzim substrat arasındaki zayıf etkileşimden kaynaklanmaktadır.



Şekil 2. Enzim substrat ilişkisi

1.3. Enzimlerin Adlandırılması ve Sınıflandırılması

Enzimler ilk yıllarda üzerinde etki gösterdikleri substratlara “-az” takısı getirilerek isimlendirilmişlerdir. Örneğin nişastayı hidroliz edenlere amilazlar, proteinleri hidroliz edenlere proteazlar ve yağı hidroliz edenlere lipazlar denilmiştir. Bunun yanında enzimler etkili olduğu substratın sonuna “litik” eki getirilerek de isimlendirilirler. Örneğin proteinleri parçalayan enzimlere “proteazlar” denildiği gibi “proteolitik enzimler”, lipidleri veya lipoidleri parçalayan enzimlere ise “lipolitik enzimler” denilebilir. Bu çeşit adlandırmalar daha çok geniş enzim sınıfları için kullanılırlar. Bu adlandırmalardan kısa bir süre sonra benzer reaksiyonları katalizleyen enzimlere, katalizledikleri kimyasal reaksiyonun niteliğine göre isimler verilmiştir. Bunlar dekarboksilazlar, oksidazlar, dehidrojenazlar, açılazlar vb. diye isimlendirilmişlerdir.

Uluslararası Biyokimya Birliği, Enzim Komisyonu 1961 komisyon raporuna göre enzimler, kataliz ettikleri genel reaksiyon tipinin sonuna “-az” eki getirmek suretiyle 6 ana sınıfa ayrılmıştır;

1. Oksidoredüktazlar : Redoks reaksiyonlarını
2. Transferazlar : Bir molekülerden diğerine grup transferlerini
3. Hidrolazlar : Kimyasal bağın hidrolizini
4. Liyazlar : Hidrolitik olmayan yoldan çifte bağ oluşumu
5. İzomerazlar : İzomerleşme reaksiyonlarını
6. Ligazlar : Sentez reaksiyonlarını katalizler.

1.4. Enzim Aktivitesi

Bir enzimin aktivitesi, o enzim tarafından katalizlenen enzimatik tepkimenin hızının, enzim etkisiyle optimum koşullarda belirli sürede ürüne dönüştürülen substrat miktarına göre ifadesidir. Etkinliği veya aktivitesi fazla olan bir enzim, belirli bir süre sonunda daha fazla substrat molekülünü ürün haline dönüştürür.

1.5. Enzim Aktivitesini Etkileyen Faktörler

Enzim reaksiyonlarının aktivitesi, reaksiyon hızını yansıtır. Enzimatik gerçekleşen reaksiyonların hızı üzerine, enzim ve substrat konsantrasyonlarının, sıcaklığın, ortamın pH'ının, zamanın, iyon şiddetinin, reaksiyon ürünlerinin, hormonların, ışığın, aktivatör ve inhibitör varlığının etkisi bulunmaktadır.

1.6. Enzim İnhibisyonu

Enzim inhibisyonu, enzimatik gerçekleşen bir tepkimede reaksiyon hızının “inhibitor” adı verilen bazı maddeler tarafından etkisinin azaltılması veya tamamen durdurulmasıdır. Herhangi bir etken, bir enzimi inhibe ederek enzimin katalize ettiği kimyasal olayı bozabilir veya bu yolla birçok hastalığı tedavi edebilir. Enzimlerin etkilerini önleyen bu maddelere “enzim inhibitörleri” denir.

Enzimlerin inhibisyonu başlıca iki şekilde meydana gelir:

1. Reversibl (Geri Dönüşümlü) Enzim İnhibisyonu
 - Kompetitif (Yarışmalı) Enzim İnhibisyonu
 - Nonkompetitif (Yarışmasız) Enzim İnhibisyonu
 - Ankompetitif (Yarı Yarışmalı) Enzim İnhibisyonu
2. İrreversibl (Geri Dönüşümsüz) Enzim İnhibisyonu

1.6.1. Reversibl (Geri Dönüşümlü) Enzim İnhibisyonu

1.6.1.1. Kompetitif (Yarışmalı) Enzim İnhibisyonu

Kompetitif inhibisyonda, enzimin substratına yapı olarak çok benzeyen bir madde, enzimin aktif merkezine bağlanarak kendi substratının bağlanmasını önler. Bu çeşit inhibisyona “kompetitif inhibisyon” denir. Bu inhibisyona örnek olarak suksinat dehidrojenaz’ın, malonik asitle inhibisyonunu gösterilebilir. Enzimin inhibitör madde ile birleşmesi geriye dönüşümü olabilen bir reaksiyondur. İnhibitör maddenin etkisi bu inhibisyonda substrat konsantrasyonu artırılarak önlenabilir (Albert, 1988).

1.6.1.2. Nonkompetitif (Yarışmasız) Enzim İnhibisyonu

Nonkompetitif enzim inhibisyonunun substrat konsantrasyonu ile ilgisi yoktur. Hem substrat hem de inhibitör madde aynı zamanda enzime bağlanmaktadır. Nonkompetitif inhibitör, kimyasal yapı yönünden substrata benzemez. Burada inhibitör, enzim üzerinde substratın bağlandığı aktif yerden ayrı bir yere reversibl olarak bağlanır; enzime inhibitörün bağlanması substrat bağlanmasını engellemez, substrat bağlanması da inhibitörün bağlanmasını engellemez. İnhibitörün enzimin aktif yeri dışında bir yere bağlanması ile, o enzimin substratla reaksiyona girme hızında bir düşüş meydana gelmektedir (Altınışık, 2009).

1.6.1.3. Ankompetitif (Yarı Yarışmalı) Enzim İnhibisyonu

Ankompetitif enzim inhibisyonunda inhibitör, nonkompetitif inhibisyonda görüldüğü gibi, enzim üzerinde substratın bağlandığı aktif yerden başka bir yere reversibl olarak bağlanır. Burada farklı olarak, nonkompetitif inhibisyonda inhibitör, serbest enzime veya ES kompleksine bağlanabildiği halde ankompetitif inhibisyonda inhibitör, yalnızca ES kompleksi oluşuktan sonra enzimin substratın bağlı olduğu aktif yerden başka bir yerine reversibl bağlanarak enzimi inaktive eder ve böylelikle ankompetitif inhibitör, ES konsantrasyonunu azaltır (Altınışık, 2009).

1.6.2. İrreversibl (Geri Dönüşümsüz) Enzim İnhibisyonu

İrreversibl enzim inhibisyonunda, inhibitör enzim üzerinde bulunan ve aktivite için gerekli olan bir fonksiyonel grubu yıkması veya onunla irreversible olarak birleşmesi sonucu meydana gelir. Bu tip inhibisyonlarda aktif bölgeye kovalent olarak bağlanan inhibitör, enzim yapısını bozduğu için geri dönüşüm olmamaktadır (Altınışık, 2009).

Tersinmez inhibitörler genel olarak belli bir enzim sınıfına özgüdür ve tüm proteinleri inaktive etmezler. Bu inhibitörler protein yapısını bozarak değil, hedeflerinin aktif bölgesini spesifik olarak değişime uğratarak çalışırlar. Örneğin; sinir gazlarından diizopropil fosfofluoridat, asetil kolin isimli nörotransmittörü parçalayan asetilkolin esteraaz'ın tersinmez inhibitörüdür.

1.7. Nitrik Oksit Sentaz

İlk olarak 1986 yılında Dr. Furchgott EDRF (endotel kaynaklı gevşetici faktör) ve NO (nitrik oksit)'nin davranışlarındaki benzerliklerinden dolayı EDRF'nin NO olabileceğini bildirmiştir. 1987'de EDRF'nin NO molekülü olduğu, 1988'de de NO'nun L-arginin aminoasidinden sentezlendiği öğrenilmiştir (Moncada, 1991).

Günümüzde pek çok memelide hücre ve doku fonksiyonlarını düzenleyen nitrik oksit endotelden salınan en önemli fizyolojik vazodilatör (damar genişletici)'dür. Özellikle arterlerden salınmaktadır. Mesajcı molekül olup, kardiyovasküler sistem ve beyindeki sinir hücrelerinde önemli fizyolojik fonksiyonlara sahiptir (Silverman vd., 2006).

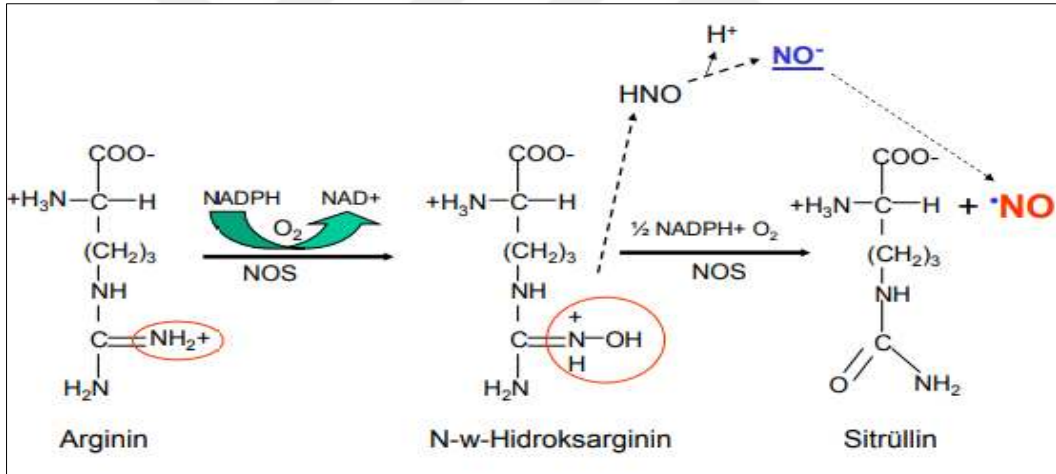
Nitrik oksit hemen hemen tüm doku ve organlarda fizyolojik süreçleri etkileyen kısa ömürlü (3-5 saniyelik bir yarı ömre sahiptir), difüzyon yolu ile membranlardan geçebilen, serbest radikal özellikte olan ve suda çözünebilen renksiz bir gazdır (Olsson ve Karila, 1995). L-arjininden üç NO sentaz (NOS) izoformu aracılığıyla enzimatik olarak sentezlenmektedir (Li ve Billiar, 1999).

NOS Türleri:

1. Nöronal NOS (beyinde) : nNOS
2. Endotelyal NOS (venlerde) : eNOS
3. İndüklenebilir NOS (makrofajlarda) : iNOS

1.8. Nitrik Oksit Biyosentezi

Nitrik oksit, nitrik oksit sentaz enzimleri tarafından L-arjin ($C_6H_{14}N_4O_2$) aminoasitinden sentezlenerek oluşmaktadır (Rosselli vd., 1996). L-arjininden NO sentezi iki aşamada gerçekleşir. Birinci aşamada L-arjininin bir molekülü, nikotinamin adenin dinükleotit fosfat (NADPH) ve oksijen varlığında, ara ürün olan N^0 -hidroksi-L-arjinin (OH-L-arg) oluşturmak için oksitlendirilmektedir. Son aşamada ise OH-L-arg bir kademe daha oksitlenerek, bir molekül L-sitrülinin ve NO oluşması sağlanmaktadır (Stuehr vd., 1991; Knowles, 1997; Stuehr 1999). Oluşan NO ortaya çıktıktan sonra ya hızlı bir şekilde hemoglobin ve süperoksit anyonu tarafından nötralize edilmekte ya da yaklaşık on saniye içerisinde nitrit (NO_2^-) ve nitrata (NO_3^-) okside olmaktadır (Norman ve Cameron, 1996) (Şekil 3).

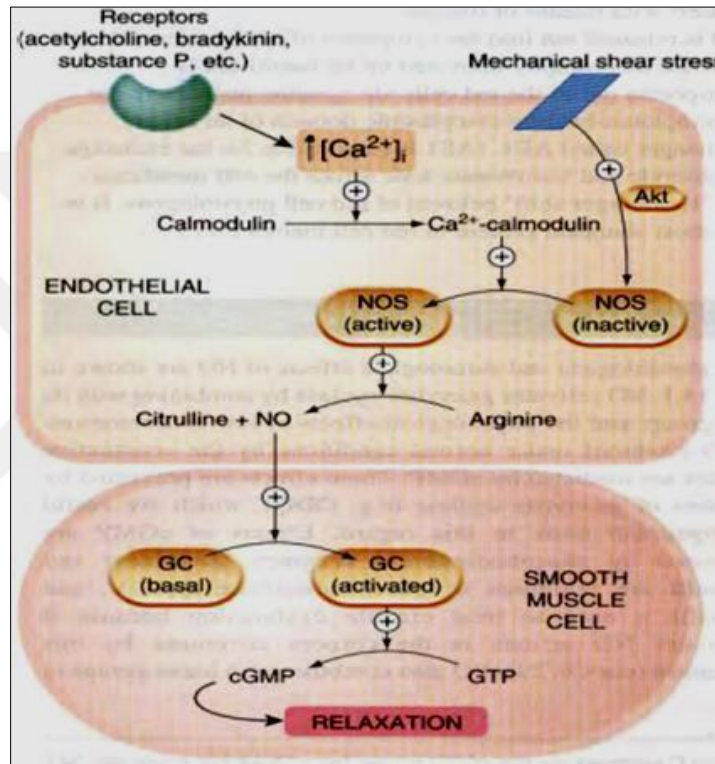


Şekil 3. NO'un L-arjinin'den sentez aşamaları

Genelde NOS enzimi yapısal NOS (cNOS) ve indüklenebilir NOS (iNOS) olmak üzere ikiye ayrılır. cNOS'un alt grupları ise eNOS ve nNOS'dur. cNOS hücresel sinyali de içeren Ca^{2+}/CaM (kalsiyum/kalmodulin)'e bağımlı tipi iken, iNOS Ca^{2+}/CaM bağımsız tipidir (fakat kalmodülin bağlanma bölgesi vardır) (Nen-Tommiska, 2008).

Bütün NOS izoformları kalmoduline bağlanır. nNOS ve eNOS kalmodüline bağlanması hücre içi kalsiyum Ca^{2+} artışı ile gerçekleşir. Kalmodülinin NOS afinitesi arttığı zaman NADPH'den elektronların transferi kolaylaşır. iNOS ise, farklı bir kalmodülin bağlayıcı bölgeye sahip olduğu için çok düşük intraselüler Ca^{2+}

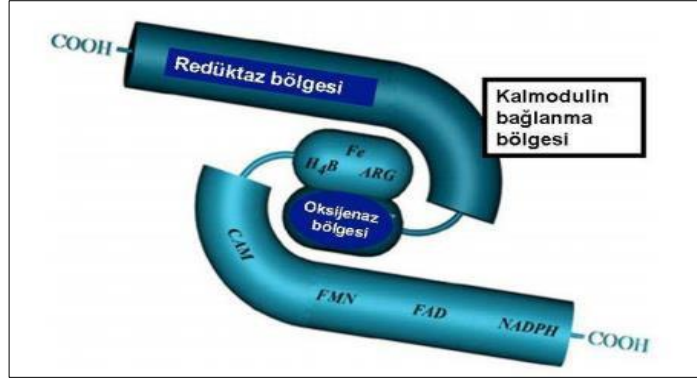
konsantrasyonunda bile kalmodüline bağlanır. Fazla miktarda Ca^{2+} varlığına gerek duymadan yüksek miktarlarda NO üretir (Morris ve Billiar, 1994). Nitrik oksit sentaz tarafından sentezlenen NO çözünebilir guanil siklaz aktivasyonuna ve siklik guanin monofosfat (cGMP) oluşumuna neden olur. Hücrelerde cGMP konsantrasyonunun artmasıyla birlikte bir veya daha fazla protein kinaz aktive edilmiş olur. Aktive protein kinazlar damar dilatasyonu (genişleme) ve düz kas relaksasyonundan sorumludur (Görmüş ve Özmen, 2005) (Şekil 4).



Şekil 4. Endotel ve düz kas hücrelerinde NOS'un aktive edilmesi NO'e dönüşümü

Nitrik oksit sentazın katalitik merkezi iki alt birimden oluşmaktadır. Bunlar C-terminal redüktaz ve N-terminal oksijenaz bölgesidir. N-ucu bölgesindeki oksijenaz bölgeleri birbirlerine benzerlik gösterirken, C-ucu redüktaz bölgesi farklılık gösterir. C uç olarak gösterilen bölgedeki farklılığa dayanarak NOS'un üç farklı izoformu tanımlanmıştır.

NOS'un C- terminal ucu redüktaz domaini FMN, FAD ve NADPH bağlar, N terminal ucu oksijenaz domaini heme, BH_4 (Tetrahidro biyopiterin) ve substrat olarak L-Arginin bağlar (Abu-Soud vd., 1997) (Şekil 5).



Şekil 5. NOS enziminin yapısı (Cardiovascular DRG, 2006)

NOS katalizi için beş kofaktör (FAD, FMN, NADPH, BH₄ ve hem) gerekir. Redüktaz domaini enzimatik aktivite için oksijenaz domainine elektron transfer edebilir. Bu iki alt birim kalsiyum-kalmodulin demetinin bağlanması aracılığıyla birbirine bağlanır (Feldman vd., 1993). Elektronlar bir alt birimden diğerine NADPH' dan FMN ve FAD'ye doğru akarlar (Silverman, 2009).

1.8.1. Nöronal NOS (nNOS)

Nöronal NOS (nNOS) insan geninin 12. kromozomu üzerinde bulunur ve beyinde spesifik nöronlarda yapısal olarak sentezlenir. Enzim aktivitesi Ca²⁺ ve kalmodülin tarafından düzenlenir. Beyin nNOS'u hücrelerde özellikle çözünabilir formda bulunur. Beyin dokusuna ek olarak immünohistokimyasal olarak omurilikte, sempatik gangliyonlarda, adrenal bezlerde, birçok organda epitel hücrelerinde, böbrek makula densa hücrelerinde, pankreas adacık hücrelerinde ve vasküler düz kasta varlık gösterirler. Ayrıca memelilerde iskelet kası da nNOS bakımından zengindir (Förstermann vd., 1994; Nakane vd.,1993).

Nöronal NOS öğrenme, koku alma, görme, ağrıyı algılama, hafıza ve nörojenez gibi çeşitli fizyolojik fonksiyonlara sahiptir. Merkezi sinir sisteminde nNOS uzun süreli sinaptik iletide (uzun süreli potansiyasyon, uzun süreli inhibisyon) rol oynar ve nNOS inhibisyonunun hayvan modellerinde öğrenmeyi bozduğu ve amnezi yaptığı görülmüştür (Izumi ve Zorumski,1993; Bohme vd.,1993).

Ayrıca nNOS aktif değişimi, Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı, Huntington hastalığı, AIDS, iskemi ve inmenin temelini oluşturan nronların tahrip olayının nedenlerinden birini oluşturur (Guix vd., 2005).

1.8.2. Endotelyal NOS (eNOS)

Endotelyal NOS (eNOS) insan geninin 7. kromozomu üzerinde bulunur ve çoğunlukla endotel hücrelerinde eksprese edilir. Bunun yanında trombositlerde, kardiyak miyositlerde, bazı nronlarda, plasentada ve böbrek tüböl epitel hücrelerinde de varlığı tespit edilmiştir. Nöronal NOS'a benzer biçimde Ca^{2+} ile aktive olan kalmodülin, eNOS aktivitesinin düzenlenmesinde de önem taşır. Endotelyal NOS aktivitesi intraselüler Ca^{2+} miktarına bağlı olarak pulsatil (vuruşlu salınım) bir tarza sahiptir. Ca^{2+} kalmodülinin enzime bağlanmasını indükler (Förstermann ve Sessa, 2012).

Kardiyovasküler sistemde, eNOS tarafından üretilen NO, vazodilatör olarak görev yaparak kan basıncını ve akışını düzenlemektedir. Ayrıca eNOS, beyin kan akışını korur ve beyine kanın az gitmesini önler (Huang ve Lo, 1998).

1.8.3. İndüklenebilir NOS (iNOS)

İndüklenebilir NOS (iNOS) insan geninin 17. kromozomu üzerinde bulunur. Sadece inflamasyon sürecinde indüklenen (uyarılan) iNOS enzimi normal olarak vücutta sentezlenmez, lipopolisakkaritler (LPS) ve sitokinler ile indüklendiği zaman aktif hale geçer ve özellikle makrofaj (nötrofil, monosit, hepatosit ve diğerleri) ve damar endotel hücrelerinde sentezlenmeye başlar. Bir kere uyarıldığında uzun süre ve fazla miktarda NO üreten, Ca^{2+} 'den bağımsız bir sistemdir (Förstermann vd., 1994).

Özellikle yüksek konsantrasyonda lipopolisakkaritler veya bakteri lipopolisakkaritleri ile uyarılan makrofajlar fazla miktarda NO üreterek yabancı hücrelerde (tümör hücresi, bakteri, parazit,) sitostatik (hücre bölünmesini durduran) veya sitotoksik (hücrelerin ölümüne neden olan) etki meydana getirirler. Uzun süreli fazla miktarda NO sentezi makrofaj ve diğer dokularda da harabiyete yol açar (Türköz ve Özerol, 1997). NO kanda hızlı ve spontan olarak kararlı anyonlar, nitrit (NO_2^-) ve nitrat (NO_3^-) oluşturmak için triplet oksijen ($3O_2$) ile reaksiyona girer (Miles vd., 1996).

NO'nun süperoksit ($O_2^{\bullet-}$) anyonuyla reaksiyona girmesi sonucu oluşan peroksinitrit ($ONOO^{\bullet-}$)'in hasar oluşturuıcı etki yaptığı belirtilmiştir (Takahashi, 2003).

Peroksinitrit, azot dioksit ($NO_2^{\bullet-}$) radikali, hidroksil radikali ($OH^{\bullet-}$) ve nitronyum iyonu (NO_2^+) gibi toksik ürünlerin oluşumundan sorumludur. Oluşan toksik ürünler DNA bazlarının mutagenezine ve deaminasyonuna neden olmaktadır (Miwa vd., 1987).

İndüklenebilir NOS tarafından aşırı NO üretimi septik şok tablosunda da önemli rol oynar. Bu tabloda ortaya çıkan vazodilatasyon ve hipotansiyon NO'nun aşırı üretimine bağlıdır (Lange vd, 2009).

iNOS'un flavonoidler, kumarinler ve anti oksidatif tanenler gibi NO üretimini inhibe eden doğal inhibitörleri bulunmaktadır (Ishii vd, 1999; Wang vd, 1999).

1.9. Antioksidanlar

Oksijen canlılar için çok önemli bir molekül olup vücuda alınan tüm besin molekülerinin yakılmasında kullanılan tek moleküldür. Oksijenli solunum yapan canlılarda çeşitli etkenlerden dolayı oksijenden daha yüksek oksitleyici özelliklere sahip reaktif oksijen türleri oluşur. Oksijenin tam olarak indirgenmesi sonucu su molekülü oluşurken eksik indirgenmesi sonucunda serbest oksijen radikalleri (hidrojen peroksit, süperoksit, hidroksil radikalleri) oluşmaktadır.

Serbest radikaller, dış orbitallerinde tek sayıda elektron bulunduran reaktif özellik gösteren, kısa ömürlü atom veya moleküllerdir. Vücutta biriken reaktif oksijen, organizmada bulunan veya gıdalarla alınan antioksidanlarla dengelenmediği durumda, "oksidatif stres" oluşturur ve bu olay hücrede lipid, protein ve DNA gibi birçok biyolojik materyale zarar verir. Bunun yanı sıra yaşlanma, kanser, şeker hastalığı, damar tıkanıklığı, bağışıklık sistemi hastalıkları gibi birçok hastalığa da sebep olmaktadır.

Oksidasyonu engelleyen veya geciktiren her türlü molekül, enzim, protein antioksidan olarak adlandırılır. Antioksidanlar, serbest radikallerin olumsuz etkilerini büyük oranda azaltabilen bileşiklerdir. Antioksidan maddeler enzimatik ve enzimatik olmayan türleri ile canlı hücrelerdeki, membran, lipit, şeker, protein ve nükleik asitleri oksidasyona karşı koruyan moleküller olup, endojenik (organizma tarafından sentezlenen) veya eksojenik (dışarıdan besinlerle alınan) kaynaklı olabilirler.

Endojen antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak ikiye ayrılır (Jerry vd., 2000).

- Enzimatik antioksidanlar; katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon redüktaz (GR) ve glutatyon peroksidaz (GPx)

- Enzimatik olmayan antioksidanlar; redükte glutatyon (GSH), albumin, bilirubin, ferritin, melatonin, sistein, metiyonin, seruloplazmin, laktoferrin, transferrin, haptoglobülin ve ürik asit örnek verilebilir.

Eksojen antioksidan ise daha çok bitkiler tarafından sentezlenen çeşitli vitamin [α - tokoferol (Vitamin E), β -karoten (Vitamin A), askorbik asit (Vitamin C), folik asit (Vitamin B9)] ve polifenolik moleküller olup dışarıdan organizmaya alınarak etki gösterirler (Kolaylı ve Keha 1999; Şahin, 2014).

Antioksidanların en önemlileri polifenoller ve bunların türevleridir. Genellikle bitkilerde bulunurlar ve bitkilerin renklenmelerinden sorumludurlar. Polifenolik bileşikler; kimyasal yapıları basit bileşiklerden yüksek polimerleşmiş maddelere kadar çeşitlenebilen güçlü antioksidanlardır ve aktiviteleri kimyasal yapılarına bağlıdır.

İn vitro olarak yapılan antioksidan tayin yöntemlerinden bazıları tek elektron transferine dayalı olan (Toplam fenolik madde miktarı, FRAP, DPPH, TEAC, CUPRAC vb.) yöntemler ve hidrojen atomunun transferine dayalı (TRAP, ORAC vb.) yöntemleridir (Büyüktuncel vd., 2001; Şahin, 2014).

1.10. Kullanılan Tıbbi Aromatik Bitkisel Ürünler ve Arı Ürünleri

1.10.1. Bal

Bal, TSE 3036 Bal Standardı'na göre; “Bitkilerin çiçeklerinde ya da diğer canlı kısımlarında bulunan nektar bezlerinden salgılanan nektarın ve bitki üzerinde yaşayan bazı böceklerin, bitkilerin canlı kısımlarından yararlanarak salgıladığı tali maddelerin, bal arıları (*Apis mellifera*) tarafından toplanması, vücutlarında bileşimlerinin değiştirilip petek gözlerine depo edilmesi ve buralarda olgunlaşması sonucunda meydana gelen tatlı bir ürün” olarak tanımlanmaktadır (Anonim, 2010) (Şekil 6).



Şekil 6. Bal

Balın bileşimi çevresel koşullara ve arıların nektar topladığı bitkilerin türüne göre değişim göstermektedir (Anklam, 1998). Balın bileşimi yaklaşık % 82 karbonhidrat, % 17 su, % 0.7 mineral, % 0.3 protein, organik asit, fenolik bileşikler, vitamin ve serbest aminoasit gibi makro ve mikro bileşenlerden oluşmaktadır. Ancak balın esas kalitesini belirleyen faktör, balın biyolojik değeri olan ve balda % 1-2 oranında bulunabilen, çeşitli uçucu bileşenler ile fenolik maddelerdir.

Balın fenolik bileşen miktarı coğrafî ve ekolojik şartlar ile nektar kaynağına bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Açık renkli bal örneklerinde bulunan fenolik bileşen içeriğinin koyu renkli ballara oranla genellikle daha düşük oranlarda olduğu bilinmektedir (Karadal ve Yıldırım, 2012; Escuredo vd., 2012). Balın kalite parametrelerinden bir tanesi de bu anlamda balın koyu renkli olmasıdır da denilebilir.

Bal yapısında bulunan ve sekonder metabolit ajan olarak da adlandırılan polifenolik bileşikler, enzimler, vitaminler ve mineraller nedeniyle antioksidan, antimikrobiyal, anti-tumoral, antiviral, anti-İnflamatuar gibi pek çok biyolojik aktif özelliği bünyesinde barındırır (Russel, 1983; Bogdanov, 1984; Cook ve Samman, 1996). Bu sayede günümüzde apiterapi yani arı ürünlerinin sağlık amacıyla kullanımı alternatif tedavi olarak daha da önem kazanmaya başlamıştır.

Balın mide-barsak hastalıkları, astım, yaraların iyileşmesi, çeşitli enfeksiyonlar, deri ülseri gibi hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bildirilmektedir (Al-Mamary vd., 2002; Orhan vd., 2003; Lusby vd., 2002). Ayrıca göz hastalıkları ve kanser tedavisi içinde çeşitli çalışmalar yapılmaktadır.

Gharzouli ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada bal, glukoz, fruktoz, maltoz ve sukroz oral yolla farelere verildikten sonra yapılan histopatolojik incelemelerde, mide

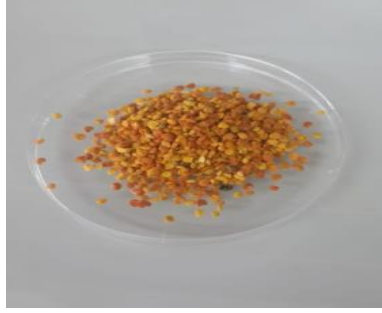
asit içeriğinin düzenlendiği ve kanlı mide lezyonlarında büyük oranda iyileşme sağlandığı tespit edilmiştir (Gharzouli vd., 1998).

Alcaraz ve Kelly'nin çalışmalarında ise balın bacaklarda mikrobiyal enfeksiyon sonucu meydana gelen ülserlere karşı, patojen bakterilerin ortamda üreme ve gelişmesini engellemesi sayesinde, etkili olduğu tespit edilmiştir (Alcaraz ve Kelly, 2002).

Hamzaoglu ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir başka çalışmada ise deney farelerinde tümör oluşumu sağlandıktan sonra, gelişme gösteren tümörlerin üzerine sürülen balın tümör gelişimine karşı yavaşlatıcı etki gösterdiği görülmüştür (Hamzaoglu vd., 2000).

1.10.2. Polen

Polen, çiçekli bitkilerde, çiçeklerin erkek üreme organlarının (stamen) üst kısmında bulunan antenlerin içindeki keseciklerde yer alan, erkek hücre taşıyan buruşuk, dikenli, yağlı ve yapışkan yapıdaki, bal arısı tarafından toplanan kurutulmuş çiçek tozları olup bitkinin erkek gametini (bu nedenle erkek DNA) dişi gamete taşıyan bitkisel yapıdır (TSE, 1989) ve harika bir gıda maddesi olarak da kabul edilmektedir (Krell, 1996) (Şekil 7).



Şekil 7. Polen

Polenler arılar tarafından bitkilerden toplanırken genellikle bir miktar ağız salgısı ile karıştırılır, kısmen sindirilmiş bal ile yoğurularak yapışkanlık kazandırılır ve renkli pellet (topak) halini alması sağlanır. Oluşan bu yeni ürüne “arı poleni” adı verilmektedir (Konar vd., 2010; Erdoğan ve Dodologlu, 2005) (Şekil 8).



Şekil 8. Polene bulanmış bal arısı ve arının arka bacaklarındaki polenler

Polen ekstraktlarının yapısında bulunan fenolik asitler ve flavonoidlerin, potansiyel antioksidan olarak, süperoksit anyonları ve lipid peroksit radikallerini temizledikleri ve serbest radikaller ile ilişkili olaylarda hidrojenasyon veya kompleks yapılar oluşturarak okside edici ajanları stabilize edebildikleri gösterilmiştir. Polen, kanser ve çeşitli hastalıkların oluşumunda rol alan oksidan yapıları yok ederek, antioksidan enzimlerin aktivitelerini stimule ederek, intraselüler oksidatif stresi azaltarak, nitrik oksit ve peroksit radikallerini temizleyerek etkisini göstermektedir (Moreira vd., 2008; Eraslan vd., 2008; Jo Bright vd., 2008).

Polen antimikrobiyal , antibakteriyel, antifungal, antiviral özellikleri nedeniyle de ön plana çıkmaktadır. Polenin *Escherichia coli*, *Proteus*, *Salmonella* ve diğer koliform türlerine karşı etkili olduğu tespit edilmiştir. Polenin bu antimikrobiyal özelliğinin yapısında bulunan Quercetin, Mirisetin, Kaempferol gibi bileşiklerden kaynaklandığı ifade edilmektedir (Bayrak, 2005; Liebelt vd., 1994; Snowdon ve Clier, 1996).

1.10.3. Propolis

İşçi arılar (*Apis mellifera* L.) bitkilerin ağaç kabukları, yaprak, filiz, dal ve tomurcuklarının koruyucu reçinelerini, alt çeneleriyle kazıyarak toplar, bu reçineleri ön bacaklarını kullanarak arka bacaklarındaki polen sepetine aktarırlar. Polen sepetçiklerinde biriktirdiği reçineleri tükürük enzimleriyle biyokimyasal değişikliğe uğratıp balmumu ile karıştırarak kovan içerisinde rengi koyu sarıdan kahverengiye kadar değişebilen reçinemsi, yapışkan, suda az çözünen, viskoz, keskin ve güzel kokulu organik bir ürün oluştururlar. Oluşturulan bu ürün propolistir (Atik ve Gümüş, 2017) (Şekil 9).



Şekil 9. Bal arısı ve propolis

Propolisi ilk olarak 11.yy'da Mısırlılar ve Yunanlılar antiseptik olarak kullanmışlardır. 12.yy'dan itibaren de Avrupada boğaz enfeksiyonu, ağız yaraları ve cilt rahatsızlıklarında kullanılmış olup 15.yy'da Romalılar, 17.yy'da Londra ve 18.yy'da ise Fransızlar tarafından yaraları iyileştirmek amacıyla kullanılmıştır (Öztürk, 2010; Silici, 2015). Diğer arı ürünlerinde olduğu gibi çok uzun yıllardan beri propolisten de faydalanılmaya devam edilmekte ve her geçen gün bu ürüne olan ilgi daha da artmaktadır.

Propolis elde edilen bitki kaynağına göre farklılık göstermekle birlikte ortalama % 50 reçineli bileşik ve balzam, % 30 bal mumu, % 10 aromatik yağlar ve % 5 arı poleni içerir (Yücel vd., 2014). Kalan % 5'lik kısımda ise aminoasitler, vitaminler ve flavonoidler bulunmaktadır.

Propolis, sağlık açısından çok önemli bir üründür ve antioksidan, antibakteriyel, antiviral, antienflamatuar, antifungal, antiülseratif, antikaryojenik (çürük önleyici), anestezik, immünomodülatör, hepatoprotektif, antitümöral, nöroprotektif, radyoprotektif ve antiproliferatif gibi pek çok biyoaktif özelliğe sahip olduğu için birçok hastalığa karşı koruyucu olarak da kullanılmaktadır (Bors vd., 1990).

Propolis kullanılarak gerçekleştirilen apiterapik yaklaşımlar, kardiovasküler ve kan dolaşım sistemi (anaemia), diş sağlığı, solunum yolları enfeksiyonları, deri lezyonlarının tedavisi (doku yenileme, ülser, egzama), mukoz zar enfeksiyonları ve lezyonları tedavisi, yara tedavileri özellikle yanık yaraları (mycosis), kanser tedavisi, sindirim rahatsızlıklarının tedavisi, bağışıklık sistemi tedavisi ve sağlığı gibi alanları içine almaktadır (Krell, 1996).

Propolisin en fazla kullanıldığı alanlardan biri de dermatolojik ve kozmetik uygulamalardır. Propolisin hücre yenileme ve onarma özelliği bu konuda oldukça fazla çalışmaya sebep olmuştur. Ayrıca propolisin bakteri ve mantar öldürücü özelliği kozmetik alanda birçok uygulamaya yarar sağlamıştır (Lejeune vd., 1988; Cho vd., 2011).

1.10.4. İhlamur (*Tilia*)

Tükettiğimiz bazı bitkisel gıdaların hastalıklara karşı tedavi edici ve koruyucu etkisinin olduğu bilinmektedir. Ülkemizde ve dünyada özellikle sonbahar ve kış mevsim geçişlerinde önemli bir tüketim maddesi olan ıhlamur bu özelliğinden dolayı en çok tercih edilen bitkilerdendir. Düzenli olarak tüketildiğinde bazı sağlık sorunlarının giderilmesine yardımcı olan ıhlamur, bilinen en yaygın çaylar arasında yer alır ve yüzyıllardır kullanılmaktadır.

İhlamur, ıhlamurgiller (*Tiliaceae*) ailesinden, *Tilia* cinsini oluşturan ağaçların 30 alt türünün ortak adıdır. Dünya üzerinde daha çok kuzey yarım kürenin ılıman ve savan (subtropik) iklim bölgelerinde yayılım gösterir (Uslu, 2004) (Şekil 10).



Şekil 10. İhlamur (*Tilia*)

İhlamur değişik *Tilia* türlerinin kurutulmuş çiçekleridir ve yapısında şeker, yağ, gallik asit, kateşin, tanen, organik asit, polifenolik bileşikler, amino asit, vitamin (yağda çözünen A ve E vitamini ve suda çözünen C vitamini), mineral, tuz, uçucu yağ ve sterol gibi birçok farklı molekül içerir. Bu çiçekler tamamen açılmadan önce, sapları ile birlikte toplanır ve gölgede kurutulur daha sonra çayı hazırlanarak tüketilir. İhlamur çayı bekletildiğinde içinde bulunan aktif maddeler kaybolduğu için taze olarak demlenip, içilmelidir. Bitki çayları yüksek oranda antioksidan madde (özellikle fenolik bileşikler) içermesi sebebiyle insan sağlığı üzerinde olumlu etkilere sahiptir ve bu ürünlerin tüketimi her geçen gün daha da artmaktadır (Ivanova vd., 2005).

Şifalı bitkilerden birisi olan ıhlamur, alternatif tıp denilen ve bitkilerle tedavi (fitoterapi) amacıyla eczacılıkta, tıpta, biyoloji ve kimya alanlarında gittikçe daha fazla önem kazanmaktadır. İhlamurun değişik oranlarda hazırlanan infüzyonu; bağırsak kurdu ve

sancılarını gidermede, idrar söktürücü, göğüs yumuşatıcı, gargara, balgam söktürücü, yara temizleme, saç bakımı, histeri, hipokondri, uykusuzluk, migren, soğuk algınlığı, spazmlar, hazımsızlık, karaciğer ve safra kesesi hastalıkları gibi birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (Duke, 1987). Bazı hastalıkları tedavi etme amacının yanı sıra rahatlatıcı ve sakinleştirici etkisi nedeniyle de tüketilmektedir.

1.10.5. Çay (*Camellia sinensis*)

Çaygiller (*Theaceae*) ailesine ait *Camellia sinensis*, yaprak ve tomurcukları içecek maddesi üretmekte kullanılan bir tarım bitkisidir. İlk olarak uzakdoğu ülkelerinde kullanılmaya başlanan, zamanla Amerika, Avrupa ve diğer ülkelere de yayılan *Camellia sinensis* L. (O) Kuntze olarak bilinen çay, dünyada sudan sonra en çok tüketilen içecektir (Weisburger, 1997) (Şekil 11).



Şekil 11. Çay (*Camellia sinensis*)

Çay, işleme yöntemlerine göre çok çeşitli şekillerde adlandırılır. Bunlardan bazıları; yeşil çay (fermente edilmemiş-okside edilmemiş), siyah çay (tam fermente edilmiş-tam okside edilmiş) ve oolong (yarı fermente edilmiş-yarı okside edilmiş) çayıdır. Antioksidan özellik gösteren polifenoller, çay bileşenleri arasında önemli bir yer tutar ve kuru çayın ortalama % 36'sını oluşturur. İçerik bakımından birbirine benzeyen siyah ve yeşil çaylar, antioksidan etkilerini değişik maddelerle gösterirler (Kuroda ve Hara, 1999).

Taze yeşil çay yaprağında bulunan bileşenler kafein, florür, karoten, amino asitler, vitaminler (A, B, C, K vitamini), proteinler, lipidler, karbonhidratlar ve minerallerdir. Çay bunlara ek olarak fenolik asit ve flavonoidler gibi polifenoller de içerir. Bu antioksidan

özellikleri sayesinde serbest radikalleri nötralize edebilirler (Yogeshwer, 2007; Ilgaz vd., 2006).

Siyah çayın içeriğinde ise kateşinler, flavonoller, amino asitler, fenolik asitler, depsidler, metilksantinler, mineraller, proteinler, karbonhidratlar ve uçucu maddeler bulunur (Graham, 1992).

Yapılan birçok çalışmada çayın sağlık üzerine olumlu etkileri ortaya konmuştur. Çaydaki antioksidan etkinin, tearubijinlerin, teaflavinlerin ve kateşinler gibi polifenollerden kaynaklandığı ifade edilmektedir. Yapılan çalışmalarla çayın, antienflamatuvar, antioksidatif, antimutajenik, antikarsinojenik, antiobezite, antianjiyojenik, apoptotik, antiaterosklerotik, hipokolesterolemik, antidiyabetik, antiviral, antibakteriyal, ve yaşlanma geciktirici gibi farklı farmakolojik etkiler gösterdiği tespit edilmiştir (Çelik 2006).

Thielecke ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, yeşil çayda bulunan kateşinlerinin metabolik sendrom üzerindeki yararları araştırılmıştır. EGCG (Epigallocateşin gallat) bakımından zengin yeşil çay veya yeşil çay ekstralarının kilo kontrolünde ve kardiyovasküler risk faktörlerinden korunmada etkili olduğu gözlenmiştir (Thielecke ve Boschmann, 2009).

Camellia sinensis'ten elde edilen siyah, yeşil ve farklı bitkisel çayların polimerik olmayan fenolik ve polimerik tanen bileşenlerinin rolünün araştırıldığı bir çalışma örneğinde bu bileşenlerin güçlü antioksidan ve antibakteriyel özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir (Chan vd., 2011).

Farelerle yapılan bir çalışmada yeşil çay polifenol desteğinin kemik sağlığında olumlu etkiler yaptığı tespit edilmiştir. Yeşil çayın antioksidan kapasiteyi artırarak ve inflamasyonu baskılayarak bu etkiyi gösterdiği düşünülmektedir (Shen vd., 2012).

Başka bir çalışmada ise yeşil çay kateşinlerinin influenza virüs replikasyonu inhibisyonu ile antiviral etki gösterebildiği tespit edilmiştir (Song vd., 2005).

Y. Karahalil ve Can'ın yapmış olduğu başka bir çalışmada da çay çiçeğinin ana fenolik bileşiğın kateşin olduğunu gözlenmiş ve antimikrobiyal aktiviteye bakıldığında ise çay çiçeğinin gram pozitif bakteri olan *Micrococcus luteus*'a karşı duyarlı olduğu tespit edilmiştir (Yaylacı Karahalil ve Can, 2019).

1.10.6. Kestane Çiçeği (*Castanea sativa* Mill.)

Kestane, içerdği zengin besin maddeleri nedeniyle insanların beslenmesi açısından önemli bir meyvedir. Anadolu kestanesi (*Castanea sativa* Mill.) kayıngiller (*Fagacea*) ailesinin *Castanea* cinsi *Castanea spp* türünü oluşturan ağaçlarına, çiçeklerine ve bunun yanında bu ağaçların yenilebilen meyvelerine verilen isimdir (Bozkurt vd., 1982) (Şekil 12).



Şekil 12. Kestane çiçeği (*Castanea sativa* Mill.)

Kestane ağacı Mayıs ayı sonu Haziran ayı başından itibaren çiçek açar. Kestane ağacının çiçeği erkek ve dişi olmak üzere 2 çeşittir ve bu çiçek çeşitli amaçlar için kullanılmaktadır. Özellikle çok çiçek açması ve çiçeklenme döneminde zengin bal özü içeriğine sahip olması nedeniyle arıcılık için çok önemlidir. Balları hafif acımtırak ve koyu renklidir. Bunun yanında kestane çiçeği taze veya kurutulmuş haliyle çay olarak da tüketilir.

Kestane çiçeği Eylül Ayı'ndan itibaren kestane meyvesine dönüşür. Kestane içeriğinde bulunan vitaminler, amino asitler, mineraller, tanenler ve antioksidan özellik gösteren fenolik bileşiklerden dolayı insanlar için besin değeri ve sağlığa yararlı etkileri sebebiyle önemlidir. İçerisinde çok miktarlarda bakır, arginin, potasyum, fosfor, demir, klor, kalsiyum, sodyum ve magnezyum bulunur (Conner, 1997; Künsch vd., 1999; Morini ve Maga, 1995; Yılmaz, 2010).

Literatür verilerinde kestanenin değişken kimyasal özelliklerinin olduğu görülmektedir. Kestane bulunduğu çevre ve büyüme koşullarına göre fenolik bileşenler bakımından değişiklik gösterir ayrıca kestanenin protein içeriği de yetiştiği toprağın cinsine göre değişiklik göstermektedir (Ferreira-Cardoso vd., 1999).

Kestane ve çiçeği vücuda enerji ve kuvvet verir, cinsel gücü artırır. Zihinsel ve bedensel yorgunluğu giderir. Hastalarda iyileşme sürecini hızlandırır. Kan dolaşımını düzenler ve kan akışını hızlandırır. Kandaki kolesterol oranını düşürür. Varis ve hemoroid şikâyetlerini azaltır, ishali keser. Mideye ve karaciğere de faydalıdır (URL-1, 2007).

1.10.7. Sarı Çiçekli Orman Güllü (*Rhododendron luteum*)

Bitkiler aleminin, tohumlu bitkiler bölümünde yer alan orman gülleri, Fundagiller (*Ericceae*) ailesine bağlı 800 kadar tür içeren *Rhododendron* cinsine ait olan odunsu, çiçekli bitkilerin ortak adıdır. Farklı çiçek ve yaprak yapıları olan orman güllerinin yaprak döken veya yaprak dökmeyen türleri mevcuttur. Türkiye’de doğal olarak yetiştiği bilinen orman gülleri arasında kışın yaprağını döken tek tür *Rhododendron luteum* (Sarı çiçekli orman güllü)’dur (Küçük, 2005a). Halk arasında “zifin, sarı ağ, çifin, eğri çiçeği,” olarak da isimlendirilmektedir (Avcı, 2004) (Şekil 13).



Şekil 13. Sarı çiçekli orman güllü (*Rhododendron luteum*)

Orman gülleri; türlerinin bol çiçek taşıması, uzun bir çiçeklenme dönemine sahip olması ve bol nektarlı olmasının yanında yaprak, nektar ve polenlerinde bulunan mineraller, fenolik bileşikler ve grayanotoksinler nedeniyle bal üretimi açısından oldukça önemli bir bitkidir (Çeter ve Güney, 2011).

Orman güllü nektarı içerdiği grayanotoksin maddesinden dolayı zehirlidir. Zehirlenmeler nadiren de olsa gerçekleşir ve “rhododendron zehirlenmesi, grayanotoksin zehirlenmesi veya bal zehirlenmesi” diye adlandırılır. Arılar bal üretimi esnasında bitkinin çiçek kısmından aldığı zehirli “Andromedotoksin” türevlerini polen ve nektar ile birlikte

bala taşırlar. Bu bala halk arasında “tutar bal, acı bal, deli bal” denir ve toksik etkisinden dolayı zehirlidir (Küçük, 2005b).

Deli bal, uygun bir dozda alındığı takdirde, yapısında yüksek oranda fenolik madde içeriğinden dolayı güçlü antioksidan, antimikrobiyal etki gösterir ve mide ağrısı, bağırsak bozukluğu, şeker hastalığı, yüksek tansiyon, kronik kalp rahatsızlıkları gibi bazı hastalıklara karşı alternatif tıpta kullanılır. Ayrıca cinsel açıdan uyarıcı etkisinin olduğu da sanılmaktadır (Dilber vd., 2002; Gunduz vd., 2006). Buna karşılık fazla yenildiğinde şuur bozukluğu, tansiyon düşüklüğü, iştahsızlık, bulantı, kusma, ishal ve halsizlik gibi zehirlenme belirtileri gösterir (Baytop vd., 1989). Hatta ölümlü sonuçlanan vakalar dahi mevcuttur.

Bazı ormangülü ballarının fenolik içerik kompozisyonu hakkında yapılan bir çalışmada, tüm bal örneklerinde *p*-hidroksi benzoik asit bileşenine rastlanmış ve bu bileşen major bileşen olarak değerlendirilmiştir (Şahin vd., 2017).

Deli balın (*R. ponticum*) streptozosin ile uyarılmış diyabetik ratlarda yara iyileşmesi üzerine antioksidan ve anti-enflamatuar etkilerinin incelendiği başka bir çalışmada ise deli balın yara dokusunda inflamasyonu ve oksidatif stresi azalttığı, ayrıca kollajen sentezi ve epitel oluşumunu hızlandırarak yara iyileşmesine katkıda bulunduğu gözlenmiştir (Malkoç vd., 2016).

Orman gülü bitkisi güçlü antiseptik özellik gösterir. Ancak tehlikeli ve zehirli olduğu için haricen kullanılması önerilir. Bitkinin yapraklarının suda kaynatılmasıyla elde edilen karışım yara ve iltihaplı yerlerin tedavisinde pansuman amaçlı kullanılır. (Karadeniz, 2004).

1.10.8. Reyhan (Fesleğen) (*Ocimum basilicum* L.)

Reyhan (*Ocimum basilicum* L.) bitkisi *Lamiaceae* (Ballıbabagiller) ailesi *Ocimum* cinsine ait daha çok baharat olarak tercih edilen, uçucu yağı kıymetli aromatik bir bitkidir. *Ocimum basilicum* türleri Türkiye’de reyhan veya fesleğen olarak bilinmektedir (Baytop, 1999).

Reyhan fenolik bileşenler bakımından zengin bir bitkidir. Yapılan araştırmalarda, Türkiye’deki Reyhan bitkisi genotiplerinin taze ve kuru yapraklarının gallik asit, rosmarinik asit ve sisorik asit gibi fenolik maddeler bakımından zengin olduğu ve bu

sayede antioksidan aktivitelerinin yüksek olduğu belirlenmiştir (Telci vd., 2005) (Şekil 14).



Şekil 14. Reyhan (*Ocimum basilicum* L.)

Reyhanın uçucu yağı, kozmetik, parfüm, şampuan, sabun ve diş temizlik ürünlerinin yanı sıra gıda endüstrisinde ve hatta geleneksel tıpta da yaygın olarak kullanılmaktadır (Simon vd., 1999).

Reyhan ile ilgili yapılan çalışmalarda fonksiyonel olarak birçok faydası olduğu tespit edilmiştir. Bitkinin çiçekli dallarından elde edilen uçucu yağ, tıpta balgam söktürücü, idrar söktürücü, gaz söktürücü, yatıştırıcı, idrar yolları antiseptiği, mide rahatsızlıklarında ağrı dindirici, solucan düşürücü, öksürük kesici, sakinleştirici, ağız ve diş şikayetlerinde, solunumla ilgili rahatsızlıklarda, ishal ve kronik dizanteride ve mantar hastalığının tedavisinde etkilidir. Kabızlığı önler, burun kanamasını keser, yorgunluk ve uykusuzluğa iyi gelir. Sara, migren, felç, sürmenaj ve nefes yolları hastalıklarında kullanılır (Asımgil, 1996). Ayrıca geleneksel olarak anne sütünü artırma amaçlıda kullanılmaktadır (Amrani vd., 2006).

1.10.9. Mersin (Murt/Hambelez) Meyvesi (*Myrtus communis* L.)

Myrtaceae ailesine ait Mersin (*Myrtus communis* L.) Akdeniz bölgesinde kendiliğinden yetişen tıbbi bir bitkidir ve antik çağlardan günümüze kadar insanlar tarafından gıda endüstrisinde ve tıbbi amaçlı olarak kullanılmıştır (Atzei, 2003).

Myrtus communis ülkemizde çoğunlukla “Mersin” adıyla biliniyor olmasına rağmen özellikle güney sahillerinde “murt”, “hambeles” ve “adi mersin” adlarıyla da anılmaktadır ve bazı yörelerde ise yaprağına “bahar” denilmektedir (Oğur, 1994) (Şekil 15)



Şekil 15. Mersin (*Myrtus communis* L.)

Mersin bitkisi yapısında fazla miktarda fenolik bileşik bulundurur. Araştırmalara göre mersin meyvesi ve ekstraktlarının yapısında bulunan fenolik bileşiklerin antosiyaninler ve flavonoidler olduğu belirlenmiştir. Flavonoidler içerisinde de flavanol (kamferol, mirisetin, kuersetin) türü bileşiklerin ve bu bileşiklerin glikozitlerinin fazla miktarda olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında fenolik asit (ellajik asit, gallik asit) ve flavanol (kateşin, epikateşin ve türevleri) türü bileşiklerin de bulunduğu tespit edilmiştir (Montoro vd., 2006). Meyve kısmında ayrıca uçucu yağ, şekerler, tanen ve organik asitler (malik ve sitrik asit) de bulunmaktadır. Mersin bitkisinin yaprakları ise; uçucu yağ (% 0.3-0.5), tanen (% 14-19), flavonoidler ve acı maddeler içermektedir (Baytop, 1999).

Mersin bitkisinin yaprakları ve genç dalları kullanılarak gerçekleştirilen infüzyonlar, sedef hastalığı, egzama, astım, ishal, idrar yolu enfeksiyonları ve gastrointestinal bozuklukların tedavisinde kullanılır (Ziyyat vd., 1997). Yaprakları kaynatılarak, solunum yolu hastalıklarında, lavmanlarda ve vajinal yıkamada kullanılırken (Marchini ve Maccioni, 1998), meyveler kaynatılarak antidiyareik, antihemoroidal ajanlar ile ağız ve göz hastalıklarının tedavisinde kullanılır (Ziyyat vd., 1997). Çiçekleri ise varise karşı kılcal losyonlar yapmak için kullanılır (Le Floch, 1983).

1.10.10. Kokulu Üzüm (İzabella Üzümlü) (*Vitislabrusca* L.)

Üzüm, şarap yapımında kullanılan, taze ve kuru olarak tüketilebilen dünyanın en önemli meyvelerinden birisidir. “Kokulu üzüm, kokulu kara üzüm, izabella, çilek üzümü, siyah üzüm, Amerikan üzümü” gibi isimlerle anılan *Vitis labrusca* L., Karadeniz bölgesinin sahil kesiminde yetişmektedir. Serin ve nemli iklim tipine sahip bölgelerde doğal olarak yetişmektedir (Abe vd., 2007) (Şekil 16)



Şekil 16. Kokulu üzüm (*Vitis labrusca* L.)

Bizanslılar döneminde şarap yapımında kullanılan üzüm, günümüzde en fazla taze olarak tüketilmekle birlikte; meyve suyu, şıra, pepeçura, reçel, pekmez, marmalet yapımlarında kullanılmaktadır (Çelik, 2004).

Kokulu üzümün meyvesi ve yaprakları üzerinde yapılan çalışmalarda bu bitkinin organik asitler, fenolik bileşikler, lipidler, vitaminler (B, C), mineraller, monosakkaritler ve türevleri, terpenik bileşikler, azotlu bileşikler, enzimler, tanenler, antosiyaninler ve flavonoidlerce zengin olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Abe vd., 2007; Aburjai ve Natsheh, 2003; Vaudano vd., 2004; Luan vd., 2005). Bunlardan fenolik bileşikler oldukça önemlidir. Pigment ve tanenler kokulu üzümün başlıca fenolik gruplarıdır. Bu gruplar meyve kabuğu hücrelerinde bulunurlar ve meyvenin renginin ve tadının belirlenmesinde önemlidir. Kokulu üzümde bulunan fenolik bileşiklerin, antiradikal ve antioksidan etkilerinin çok olmasının yanı sıra insanlar üzerinde etkili olan bakterilere karşı antibakteriyal etkilerinin olduğu da tespit edilmiştir (Jayaparakasha vd., 2003; Baydar vd., 2006; Baydar vd., 2007).

Kokulu üzüm başta astım olmak üzere birçok solumum yolu enfeksiyonlarında etkilidir. Antikoagülan etki göstererek kılcal damarlarda yağlı bileşiklerin birikmesini önler, kalp krizi riskini ve meme kanseri riskini azaltır, sindirim sistemi hastalıklarında kullanılır (Wulf ve Nagel, 1978; Murthy vd., 2002; Jayaparakasha vd., 2003; Baydar vd., 2006; Abe vd., 2007). Bu etkilerin yanında kokulu üzümün kabuklarında bulunan resveratrol adındaki maddenin başta lösemi olmak üzere kanser vakalarında etkili olduğu gözlenmiştir (Güder, 2012)

1.10.11. Yaban Mersini (Ligarba) (*Vaccinium myrtillus*)

Dünyada organik madde ve asit bakımından zengin toprağa sahip ılıman iklim koşullarında yetişen yaban mersini, *Ericaceae* (fundagiller) ailesine ait *Vaccinium* cinsi bitkilerdendir (Çelik ve Odabaş, 2007) (Şekil 17)



Şekil 17. Yaban Mersini (*Vaccinium myrtillus*)

İngilizce’de “blueberry” şeklinde isimlendirilen Yaban mersini Karadeniz Bölgesinde Rize’de likapa, kaskanaka, dal likapası, yer likapası, nsela, ançela; Artvin’de motsvi, mahabak, morsvi, merhauk; Trabzon’da ligarba, lifos, lifor; Ordu ve Giresun çevresinde dağ çileği veya çalıçileği; Ardahan’da çoban üzümü, ayı üzümü ve göğen şeklinde de adlandırılmıştır.

Meyvenin mavi-mor renkli olmasının nedeni içerdiği fenolik bileşik olan antosiyaninlerdir (Ağaoğlu, 1986). Bitki fenolik asitler (ellajik asit, hidoksinnamik asit ve benzoik asit) ve flavonoidler (flavan-3- ol, flavonol, proantosiyanin ve antosiyanin) bakımından zengindir (Howell vd., 2010). Ayrıca bitkinin meyve ve yapraklarında meyve asitleri; sitrik asit, kinik asit, malik asit ve diğer meyve asitleri; tanenlerden de özellikle kateşin tanenleri, kuersetin, gallik asit, mirisetin ve diğer asit türevlerinin yanında en fazla C vitamini olmak üzere vitamin çeşitleri bulunmaktadır (Nakajima vd., 2004).

En yüksek oranda antioksidan madde içeren Yaban mersini vücudu kansere karşı korur, kalp krizi olasılığını azaltır, vücuttan yağlı bileşiklerin atılmasını sağlar, taze tüketilmesi durumunda kanı temizler, kan şekeri ve kandaki kolesterol oranını düşürür, bağırsak faaliyetlerini düzenler, gözlerde görme kabiliyetini artırır ve göz yorgunluğunu giderir, hemeroit ve varisi iyileştirir. Kabızlık, mide krampları, bulantı ve ülseri önler. İltihapları temizler, idrar yolu hastalıklarına iyi gelir (Anonymous, 2002; Çelik, 2005; Batu ve Kırmacı, 2006)

1.10.12. Aronya (Chokeberry) (*Aronia melanocarpa*)

Ülkemizde fazla tanınmayan Aronya meyvesi üzüksü bir meyvedir. Aronya *Rosaceae* ailesine ait *Aronia* cinsi bitkiler içerisinde yer almaktadır. Aronya zengin içeriğinin yanında insanların sağlığına ve beslenmesine katkısından ötürü “süper meyve” adıyla da bilinmektedir (Fidancı, 2015) (Şekil 18).



Şekil 18. Aronya (*Aronia melanocarpa*)

Doğal koruyucu ve şifa kanağı olarak bilinen Aronya meyvesi birçok kimyasal bileşen içermektedir. Kimyasal olarak neoklorogenik, klorogenik, sitrik, malik, tartarik asit gibi organik asitler bakımından zengindir. Meyvesi çok yüksek düzeyde antosiyanin ve polifenol içermektedir. Oldukça fazla miktarda K, Zn minerelleri bulunur, bunun yanında Na, Ca, Mg, Fe gibi diğer minerelleri de içerir, vitamin olarak A, B1, B2, B6, C, E, K, ve folik asit içerir. İçerdiği tanenler sayesinde virüslere karşı koruyucu özelliğindedir. Aronyanın ORAC (oksijen radikalleri absorbans kapasitesi) değeri diğer ürünlerden çok daha yüksektir. Doğal antosiyanin bakımından en zengin meyvedir. Antosiyaninler sağlık bakımından çok önemlidir.

Aronya, yüksek oranda biyolojik aktivite göstermesi sebebiyle Rusya’da tıbbi bir bitki olarak görülür. Soğuk algınlığı, karaciğer, bağırsak, safra kesesi ve mide hastalıkları içerisinde olmak üzere bir çok hastalığın tedavisinde ve radyasyon zehirlenmesinde kullanılmaktadır (Tolic, 2017). Ayrıca Aronya; kan basıncını ayarlar, kan şekeri seviyesini düzenler, bağışıklığı güçlendirerek gribal enfeksiyonlar ve soğuk algınlığına karşı metabolizmayı güçlendirir (Hannan, 2013; Fidancı, 2015). Parkinson gibi sinir sistemi hastalıklarında, hücre yenileme özelliği göstererek bu hastalıkları tedavi edebileceği düşünülmektedir.

2. MATERYAL VE METOD

2.1. Çalışmada Kullanılan Cihaz ve Gereçler

Yapılan analizlerde kullanılan cihazlar marka/model olarak Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Kullanılan cihaz ve gereçler, marka / modelleri

Cihaz Adı	Marka / Model
HPLC	IKA, China
Evaporatör	Elite LaChrom, Hitachi, Japonya
Çalkalayıcı	Heidolph
96 well plate	Thermo Fisher
Mikroplate okuyucu	Specra Max M2(Molecular Devices)
UV-VIS Spektrofotometre	Spectrophotometer, USA
Etüv	Binder ED 53, Germany
Karıştırıcı Su Banyosu	Nüve, ST402, Ankara, Türkiye
Manyetik Karıştırıcı	IKA, China
Vorteks Karıştırıcı	Labnet VX 100, Inc. NJ, USA
Yarı otomatik Pipet	Eppendorf
Hassas Terazî	IKA, China

2.2. Kimyasal Madde ve Malzemeler

Çalışmada kullanılan çözücüler analitik saflıkta olup, Sigma-Aldrich firmasından temin edildi. Metanol, asetonitril, dietileter, glacial asetik asit ve etil asetat Merck, Darmstadt, Almanya’dan temin edildi. Çalışmada kullanılan tüm fenolik standartlar, gallik asit, protokatekuik asit, *p*-OH benzoik asit, kateşin, mirisetin, kafeik asit, şiringik asit, kuersetin, epikateşin, ferulik asit, rutin ve kafeik asit fenil ester Sigma-Aldrich Chemie, Almanya’dan temin edildi. Çalışmada kullanılan kimyasallar, TPTZ, FeSO₄, Folin

Ciocalteu reaktifi, Troloks Merck'den temin edildi. Nitrik oksit sentaz aktivite tayin kiti ise Bio Vision firmasından temin edildi.

2.3. Çalışmada Kullanılan Arı Ürünleri ve Bitkisel Ürünler

Yapılan analizlerde kullanılan ürünler Tablo 2 ve Tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 2. Kullanılan arı ürünlerinin numune adı, kodu ve temin edildiği yer

Numune		
Kodu	Numune Adı	Temin Edildiği Yer
1	Kestane balı	Ardeşen, Rize
2	Çiçek balı	Kırıkkale
3	Deli bal	Fındıklı, Rize
4	Deli bal	Rize
5	Polen	Ardeşen, Rize
6	Polen	Genek, Gümüşhane
7	Propolis	Erzurum

Tablo 3. Kullanılan bitkisel ürünlerin numune adı, kodu ve temin edildiği yer

Numune		
Kodu	Numune Adı	Temin Edildiği Yer
8	Ihlamur (<i>Tilia</i>)	Akçaabat, Trabzon
9	Kestane çiçeği (<i>Castanea sativa</i> Mill.)	Trabzon
10	Çay (<i>Camellia sinensis</i>)	Hemşin, Rize
11	Aronya (<i>Aronia melanocarpa</i>)	Trabzon
12	Kokulu üzüm (<i>Vitislabrusca</i> L.)	Maçka, Trabzon
13	Mersin (<i>Myrtus communis</i> L.)	Mersin
14	Yaban Mersini (<i>Vaccinium myrtillus</i>)	Tonya, Trabzon
15	Sarı çiçekli orman gülü (<i>Rhododendronluteum</i>)	Trabzon
16	Reyhan (<i>Ocimum basilicum</i> L.)	Malatya

2.4. Ekstraktların Hazırlanışı

Mersin, Aronya, Yaban Mersini, Kokulu üzüm , Polen (Genek)ve Bal örnekleri yaş halde direk kullanılırken, Reyhan, Çay, Kestane çiçeği, sarı çiçekli orman gülü, Ihlamur, Polen (Ardeşen) ve Propolis gibi örnekler kurutularak kullanılmıştır.

Belirli bir miktarda tartılan numuneler için metanolik ekstraktlar hazırlanmıştır. Uygun miktarda tartılan örnekler 24 saat boyunca çalkalayıcıda tutulduktan sonra, öncelikle kaba süzgeç kağıdından daha sonra Whatman mavi bant süzgeç kağıdından süzölmüş ve bu süzöntüler antioksidan ve enzim aktivite tayinlerinde kullanılmak üzere cam şişelere konularak +4 °C’ de analizlere kadar muhafaza edilmiştir (Şekil 19) (Şekil 20).



Şekil 19. Süzgeç kağıdından süzölmüş metanolik süzöntüler



Şekil 20. Analizlerde kullanılan ekstraktlar

2.5. Antioksidan Tayinler

2.5.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

Analiz Slinkard ve Singleton (1977) metoduna göre gerçekleştirildi. Toplam fenolik madde tayininin esası fenolik bileşiklerin bazik ortamda Folin-Ciocalteu ayracını indirgeyip kendilerinin oksitlenmiş forma dönüştüğü redoks reaksiyonuna dayanmaktadır. Folin-Ciocalteu ayracı burada oksitleyici bileşik olarak rol almaktadır. Reaksiyon sonucunda indirgenmiş ayracın oluşturduğu mavi rengin absorbandsının ölçülmesiyle, analizi yapılan örnekteki fenolik bileşiklerin toplam miktarlarının hesaplanması mümkün olmaktadır. Oluşan kompleksin renk şiddeti fenolik maddelerin konsantrasyonu ile doğru orantılı olup, 760 nm’de absorbands verir. Pipetlemeler Tablo 4’deki gibidir.

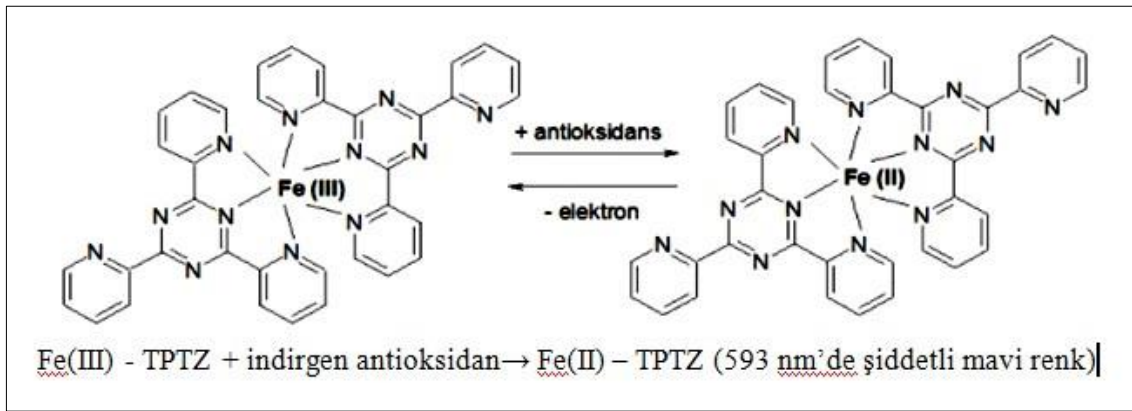
Tablo 4. Toplam polifenol tayininde yapılan pipetleme işlemleri

	Kör	Standart	Numune
Destile Su	0,7 mL	-	-
Standart (değişik kons.)	-	0,68 mL	-
Numune	-	-	0,68 mL
0,2 N Folin Reaktifi	0,4 mL	0,4 mL	0,4 mL
Tüpler karıştırılıp, 3 dakika bekledikten sonra			
%10 Na ₂ CO ₃	0,4 mL	0,4 mL	0,4 mL
2 saatlik inkübasyondan sonra 760 nm’de absorbands okunur.			

Standart olarak fenolik birbileşik olan gallik asit kullanıldı (Slinkard ve Singleton, 1977; Singleton ve Rossi, 1965). Gallik asidin metanolle farklı konsantrasyonları (1-0,5-0,25- 0,125- 0,0625- 0,03125 mg/mL) hazırlanıp 760‘nm de absorbandsları okundu. Konsantrasyona karşı absorbands grafiği çizildi. Numunenin 100 gramı başına, mg gallik asit eşdeğeri [mg GAE (Gallik Asit Eşdeğeri)/100g] olarak fenolik madde miktarı hesaplandı.

2.5.2. FRAP (Fe^{3+} İndirgeme Antioksidan Güç) Tayini

Bu tayinin esas Fe(III) kompleksinde yer alan Fe(III) iyonunun antioksidan bir madde varlığında indirgenmesi olayıdır. Düşük pH'da ferrik tripiridil triazin kompleksi (Fe^{3+} -TPTZ = 2,4,6-tris (2-pyridily)-S-triazin) antioksidanların etkisiyle mavi renkli ferröz kompleksine (Fe^{2+} -TPTZ) indirgenir (Şekil 21). Oluşan kompleksin 593 nm'de absorbanası ölçülür. Bu metotta elektron vermenin antioksidanların toplam indirgeme kapasitesiyle lineer olduğu varsayılır (Benzie ve Strain, 1996).



Şekil 21. Demir (III)'ün indirgenme reaksiyonu

Arı ürünleri ve doğal ürünlerin antioksidan kapasitesinin ölçülmesinde FRAP (Ferric reducing antioxidant power) yöntemi çok kullanılan bir yöntemdir (Benzie ve Strain, 1996). Kalibrasyon için Troloks'un değişen konsantrasyonları (31,25- 62,5- 125- 250- 500- 1000 μM) kullanılarak çalışma eğrisi hazırlandı. 100 μL numune üzerine 3mL FRAP reaktifi [300 mM pH 3,6 asetat tamponu: 10 mM TPTZ: 20 mM FeCl_3 (10: 1: 1)] eklendi. 4 dakika sonra 593 nm'de absorbanlar okundu. Sonuçlar aynı şartlarda test edilmiş standart Troloks' la karşılaştırılmalı olarak bulundu ve $\mu\text{molTE/g}$ numune eşdeğeri antioksidan güç olarak ifade edildi. Pipetlemeler Tablo 5'deki gibidir.

Tablo 5. FRAP tayininde kullanılan pipetleme işlemleri

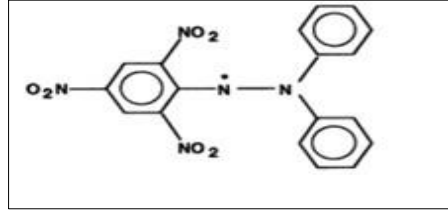
	Reaktif Tanık Tüpü	Numune Renk Tanık Tüpü (Metanol)	Numune Renk Tanık Tüpü (Su)	Standart	Numune
FRAP Reaktifi	3 mL	-	-	3 ml	3 mL
Numune	-	100 µL	100 µL	-	100 µL
Troloks (Değişen kons.)	-	-	-	100 µL	-
Destile Su	0,1 mL	-	3 mL	-	-
4 dk sonra 593 nm’de absorbens okunur.					
Renk Körü test(met): Metanolde çözünen numune için renk körü					

2.5.3. DPPH• Radikal Temizleme (Süpürme) Aktivitesi Tayini

DPPH• radikali (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) (Şekil 22) sentetik olarak üretilen bir radikal olup (Cuendet vd., 1997) çalışmalarımızda bu radikalin 4 mg/100 ml metanolik çözeltisi kullanılmıştır. Eşit hacimde (750 µL) DPPH• çözeltisi ve numune çözeltileri karıştırılıp oda sıcaklığında 50 dakika inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda DPPH•’ın maksimum absorbens verdiği 517 nm’de absorbanlar okundu. Kör olarak DPPH• çözeltisi ve numunenin çözüldüğü çözücü kullanıldı. Bulunan absorbanlara karşılık gelen konsantrasyonlar grafiğe geçirilerek maksimum absorbensı yarıya indiren numune konsantrasyonu SC₅₀ değerleri mg/mL cinsinden hesaplandı. Pipetleme işlemi Tablo 6’daki gibidir.

Tablo 6. DPPH• yöntemi için yapılan pipetleme işlemleri

	Numune Tanık Tüpü	Reaktif Tanık Tüpü	Numune Tüpü
Numune (Değişik kons.)	750 µL	-	750 µL
Metanol	750 µL	750 µL	-
DPPH• (100 µM)	-	750 µL	750 µL
50 dk. Süre sonunda 517 nm’de absorbens okunur.			

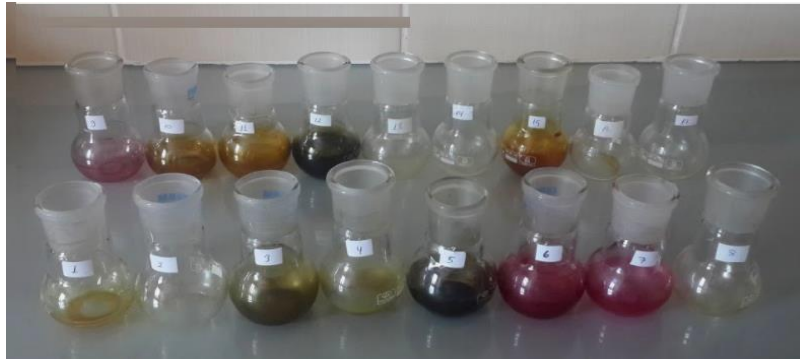


Şekil 22. 2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil

2.6. HPLC-UV ile Fenolik Bileşenlerin Tayini

Bu tayin için tartılan örnekler %99'luk metanolde 24 saat ekstrakte edildi. Bunun için çalkalayıcıda 24 saat metanolde ekstraksiyona tabi tutuldu, metanolik faz süzgeç kağıdı ile süzüldü, süzütünün çözücüsü döner buharlaştırıcıda uçuruldu ve kalan ekstrakt kalıntısı, pH'sı 2 olan 10 mL saf suda çözöldü. Daha sonra 3'er defa 5 mL'lik hacimle önce dietileter sonra etilasetat ile ekstraksiyon işlemi gerçekleştirildi.

Ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen ekstraktlar evaporatör balonlarına alındı ve çözücüler 45 °C'deki döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı (Şekil 23). Balon içeriği 2 mL metanolle çözülerek ekstraktlar 0,45 µm filtreden geçirilip HPLC-UV ile fenolik bileşen analizleri yapıldı (Şekil 24).



Şekil 23. Çözücüsü uçurulmuş ekstraktlar



Şekil 24. Filtreden geçirilen metenolik ekstraktlar

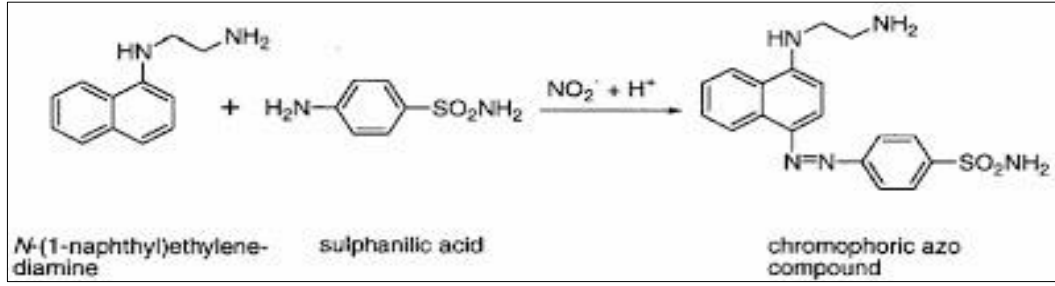
HPLC-UV analizi 280-315 nm dalga boyunda UV-VIS dedektör ile donanımlı (Elite LaChrom Hitachi, Japonya) HPLC sisteminde yapılmıştır. Analizler ters faz C₁₈ kolonu (150 mm x 4,6 mm, 5µm; Fortis) kullanarak ve asetronitril, su ve asetik asitle gradient program uygulanarak gerçekleştirildi.

A rezervuarında %2 asetik asit (saf suda) ve B rezervuarında %70-30 asetronitril–saf su bulunan gradient program kullanılmıştır. Ayrıca numune ve standartların enjeksiyon hacmi 20 µL’ye, mobil faz akış hızı 0.75 mL.dk⁻¹’ya ve kolon sıcaklığı kolon fırınında 30 °C’ye ayarlanarak çalışma optimizasyonu sağlanılmıştır (Can, 2015).

2.7. Nitrik Oksit Sentaz Aktivite Tayini

NOS enzimleri aracılığı ile oluşan NO• serbest radikali biyolojik dokularda bir dizi reaksiyona girer ve ürün olarak nitrit ve nitrat’a dönüşür. Nitrit ölçümü için kullanılabilecek yöntemlerden birtanesi de spektroskopik Griess yöntemidir ve ilk kez 1879’da Griess tarafından açıklanmıştır.

Griess yöntemi, nitritin asidik ortamda primer bir aromatik amin ile (sülfanilamit) diazotizasyonu ve N-(1-naftil) etilendiamin hidroklorit ile mor renkli bir azo ürünü oluşturması esasına dayanır (Green vd., 1982) (Şekil25).



Şekil 25. Griess reaksiyonu

Bu çalışmada saf olarak satın alınmış enzim kullanılmıştır.

50 μM standart çalışma solüsyonu elde etmek için 5 μl seyreltilmiş 10 mM nitrit standardından 995 μl Assay buffer'a eklendi, iyice karıştırıldı. 0, 250, 500, 750, 1000 ve 1250 pmol/kuyu Nitrit Standardı oluşturmak için 96-kuyucuklu bir plaka içinde bir dizi kuyucuk içine standart çalışma çözeltisinden 0, 5, 10, 15, 20 ve 25 μl eklendi (Şekil 26).



Şekil 26. Nitrik oksit sentaz aktivite tayini çalışması

NOS test tamponu ile hacmi 60 μl /kuyucuğa ayarlandı. NOS aktivitesi için 96 kuyucuklu bir plakada istenen kuyulara 30-60 μl (200-400 μg) enzim eklendi. Belirlenen kuyulara seyreltilmiş NOS enziminden 5-10 μl eklendi. Numune hacmi kuyucuklarının hacmi NOS Assay Buffer ile 60 μl /kuyucuk şeklinde tamamlandı.

Analiz edilecek kuyu sayısı (standartlar ve numune) için yeterli reaksiyon karışımı hazırlandı. Her kuyucuk için 45 μl reaksiyon karışımı hazırlandı.

Dilue NOS Kofaktör 1 - 10 μl

NOS Kofaktör 2 (1X) - 20 μl

NOS Substrat - 5 μl

Nitrat Redüktaz - 5 μl

Reaksiyon karışımının 40 µl'si standart ve numune kuyucuklarına eklendi ve iyice karıştırıldıktan sonra 1 saat 37 ° C' de inkübe edildi. İnkübasyondan sonra, NOS Assay Buffer' dan 95 µl, standart ve örnek kuyucuklarına eklendi ve ardından her bir kuyucuğa 5 µl enhancer eklendi. 10 dakika boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı ve inkübe edildi.

Griess Reaktifi 1'in 50 µl ve Griess Reaktifi 2'nin 50 µl' si standart ve numune kuyularına eklendi ve 10 dakika karıştırılarak inkübe edildi. Bir mikropilaka okuyucusu kullanarak absorbansı (540 nm) okundu ve nitrit standart eğrisi çizildi ve bu grafikten faydalanılarak örneklerdeki nitrit miktarı hesaplandı.



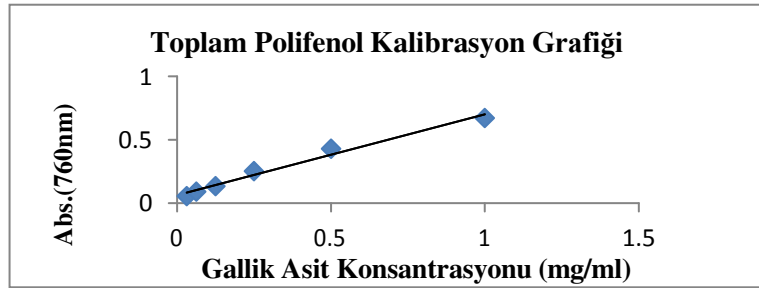
3. BULGULAR

3.1. Antioksidan Aktivite Çalışmaları

Bu tez çalışmasında 16 ayrı örnek için yapılan analizler sonucunda antioksidan aktivite seviyeleri belirlenmiştir. Bu testlerde UV spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır. Örneklerin metanole ekstraksiyonları sonucunda hesaplanan toplam polifenol mgGAE/100g olarak, FRAP değeri $\mu\text{molTE/g}$ olarak ve DPPH• değeri SC_{50} , mg/mL olarak hesaplanmış ve sonuçları Tablo 7 ve Tablo 8’de verilmiştir.

3.1.1. Toplam Fenolik Madde Testi Sonucu

Analizler için bazı doğal örneklerin metanolik ekstraktları hazırlanarak toplam fenolik madde miktarı gallik asit standardı kullanılarak belirlenmiştir. Elde edilen 760 nm’deki absorbans değerleri y-ekseninde ve konsantrasyon değerleri x-ekseninde olacak şekilde bir standart çalışma grafiği hazırlandı. Elde edilen standart çalışma grafiğinde absorbans konsantrasyonla doğru orantılı olup, elde edilen doğru denklemi $y = 0,637x + 0,062$ ve R^2 değeri 0,982 olarak tespit edildi (Şekil 27). Hazırlanan standart çalışma grafiği kullanılarak 100 g örneğin içerdiği fenolik madde içeriği mg cinsinden gallik asit eşdeğeri olarak belirlendi.

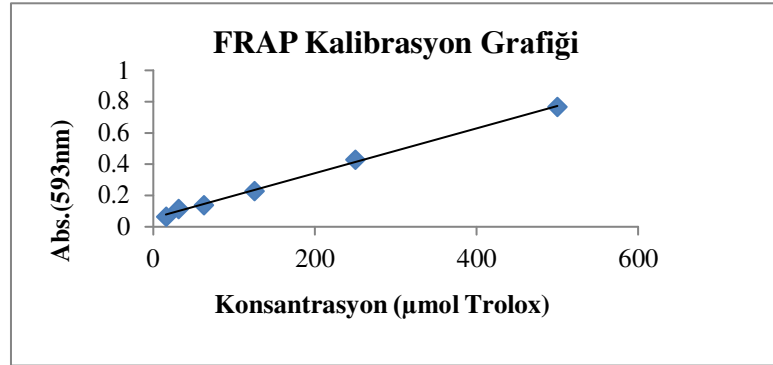


Şekil 27. Toplam fenolik madde kalibrasyon grafiği

Yapılan toplam polifenol analizi sonuçları Tablo 7 ve Tablo 8’de görüldüğü gibidir. Tüm örnekler arasında sarı çiçekli orman gülünün $4241,15 \pm 41$ mgGAE /100g numune değeri ile en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Arı ürünleri içerisinde en yüksek antioksidan aktivite değeri ise $3859,06 \pm 192,17$ mgGAE /100g numune değeri ile propolis (Erzurum) örneğine aittir. Bal örnekleri arasında $150,48 \pm 1,76$ mgGAE /100g numune değeri ile deli bal (Rize), polen örnekleri arasında ise $1552,26 \pm 111,76$ mgGAE /100g numune değeri ile polen (Ardeşen, Rize) örneğinin daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Örnekler içerisinde en düşük antioksidan aktivitenin ise $22,24 \pm 0,65$ mgGAE /100g numune değeri ile çiçek balı’na ait olduğu görülmüştür.

3.1.2. FRAP Testi Sonucu

FRAP, “Ferric Reducing Antioxidant Power” yöntemi olarak adlandırılan yöntemde Fe(III)-TPTZ kompleksinin indirgeme potansiyelleri ölçüldü ve bu yöntem ile 1 mmol.L^{-1} Troloks eşdeğeri, demir(III) indirgeme yeteneğine sahip antioksidan konsantrasyonu belirlendi. Kalibrasyon için troloksun farklı konsantrasyonları kullanılarak oluşturulan standart çalışma grafiği aşağıda verilmektedir (Şekil 28).



Şekil 28. FRAP kalibrasyon grafiği

Örneklerin FRAP testi sonuçları Tablo 7 ve Tablo 8’deki gibidir. Tablolarda görüldüğü gibi yapılan FRAP analizi sonucunda en yüksek aktivitenin $309,71 \pm 2,79$ µmolTE/g numune değeri ile propolis (Erzurum) örneğine ait olduğu gözlenmiştir. Bal örnekleri arasında $1,15 \pm 0,13$ µmolTE/g numune değeri ile deli bal (Rize), polen örnekleri

arasında ise $17,83 \pm 0,72$ $\mu\text{molTE/g}$ numune değeri ile polen (Ardeşen, Rize) örneğinin daha yüksek antioksidan etkiye sahip olduğu görülmüştür. Bitkisel örneklerle bakıldığında ise en yüksek antioksidan aktiviteye $127,76 \pm 2,08$ $\mu\text{molTE/g}$ numune değeri ile çay örneğinde rastlanmıştır. Örnekler içerisinde en düşük antioksidan aktivitenin ise $0,42 \pm 0,01$ $\mu\text{molTE/g}$ numune değeri ile çiçek balı'na ait olduğu görülmüştür.

3.1.3. DPPH• Testi Sonucu

DPPH• radikali (2,2-difenil-1-pikhidrazil) ticari olarak satın alınabilinen bir radikal olup, radikal temizleme aktivitesinde çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun için örneğin x-ekseninde artan numune konsantrasyonuna karşı, y-ekseninde 517 nm'deki absorbans değerleri grafiğe geçirildi. Bu grafikten faydalanılarak maksimum absorbansın yarısına karşılık gelen numune konsantrasyonu SC_{50} değeri olarak ifade edildi. Buradan antioksidan aktivite, numunelerin mg/mL cinsinden SC_{50} değerleri belirlenerek karşılaştırma yapılmıştır.

DPPH• radikali temizleme aktivitesi tayininde küçük SC_{50} değeri yüksek radikal temizleme kapasitesini göstermektedir. Aslında ne kadar az örnekle ne kadar fazla radikal temizlenebiliyorsa örneğin antioksidan gücünün o kadar fazla olduğu anlamına gelmektedir. Örneklerin DPPH• testi sonuçları Tablo 7 ve Tablo 8'deki gibidir ve bu örneklerin DPPH• testi sonuçlarına bakıldığında en yüksek radikal temizleme aktivitesi $0,005 \pm 0,00$ mg/mL değeri ile propolis (Erzurum) örneğinde tespit edilmiştir. Bal örnekleri arasında $0,061 \pm 0,00$ mg/mL değeri ile çiçek balı'nın, polen örnekleri arasında ise $0,61 \pm 0,02$ mg/mL değeri ile polen (Ardeşen, Rize) örneğinin daha yüksek radikal temizleme aktivitesine sahip olduğu görülmüştür. Bitkisel örneklerle bakıldığında ise en yüksek radikal temizleme aktivitesi $0,077 \pm 0,00$ mg/mL değeri ile reyhan örneğinde tespit edilmiştir. Örnekler içerisinde en düşük radikal temizleme aktivitenin ise $24,77 \pm 1,02$ mg/mL değeri ile kestane balı'na ait olduğu görülmüştür.

Tablo 7. Arı ürünlerinin antioksidan aktivite sonuçları

Numune Kodu	Numune Adı	Toplam Polifenol (mgGAE/100g)	FRAP ($\mu\text{molTE/g}$)	DPPH• ($\text{SC}_{50\text{mg/mL}}$)
1	Kestane balı (Ardeşen, Rize)	85,00 $\pm$ 0,09	0,76 $\pm$ 0,01	24,77 $\pm$ 1,02
2	Çiçek balı (Kırıkkale)	22,24 $\pm$ 0,65	0,42 $\pm$ 0,01	0,061 $\pm$ 0,00
3	Deli bal (Fındıklı, Rize)	49,28 $\pm$ 0,33	0,47 $\pm$ 0,05	3,93 $\pm$ 0,11
4	Deli bal (Rize)	150,48 $\pm$ 1,76	1,15 $\pm$ 0,13	1,14 $\pm$ 0,14
5	Polen (Ardeşen, Rize)	1552,26 $\pm$ 111,76	17,83 $\pm$ 0,72	0,61 $\pm$ 0,02
6	Polen (Genek, Gümüşhane)	492,40 $\pm$ 51,72	2,65 $\pm$ 0,13	3,79 $\pm$ 0,09
7	Propolis (Erzurum)	3859,06 $\pm$ 192,17	309,71 $\pm$ 2,79	0,005 $\pm$ 0,00

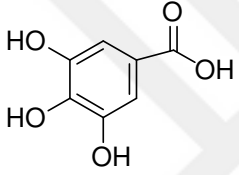
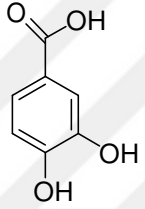
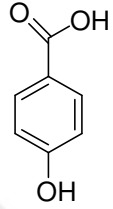
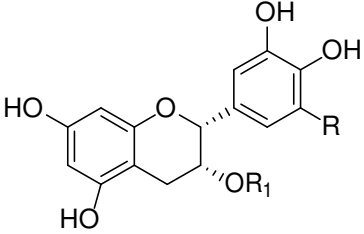
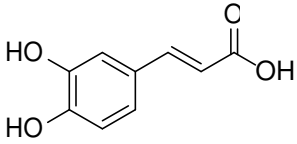
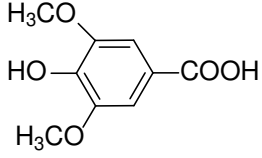
Tablo 8. Bitkisel ürünlerin antioksidan aktivite sonuçları

Numune Kodu	Numune Adı	Toplam Polifenol (mgGAE/100g)	FRAP ($\mu\text{molTE/g}$)	DPPH• ($\text{SC}_{50\text{mg/mL}}$)
8	Ihlamur (Akçaabat, Trabzon)	645,63 $\pm$ 46,58	52,62 $\pm$ 1,02	0,23 $\pm$ 0,01
9	Kestane Çiçeği (Trabzon)	3834,99 $\pm$ 126,71	94,91 $\pm$ 0,73	0,16 $\pm$ 0,01
10	Çay (Hemşin, Rize)	3946,47 $\pm$ 8,37	127,76 $\pm$ 2,08	0,35 $\pm$ 0,01
11	Aronya (Trabzon)	3041,66 $\pm$ 92,18	60,87 $\pm$ 1,55	0,292 $\pm$ 0,00
12	Kokulu Üzüm (Maçka, Trabzon)	993,40 $\pm$ 6,31	9,056 $\pm$ 0,15	1,91 $\pm$ 0,03
13	Mersin (Mersin)	328,14 $\pm$ 9,35	5,63 $\pm$ 0,39	3,15 $\pm$ 0,01
14	Yaban Mersini (Tonya, Trabzon)	512,78 $\pm$ 9,46	6,40 $\pm$ 0,49	2,52 $\pm$ 0,06
15	Orman Güllü (Trabzon)	4241,15 $\pm$ 41,39	69,70 $\pm$ 0,68	0,173 $\pm$ 0,00
16	Reyhan (Malatya)	1521,80 $\pm$ 4,36	27,24 $\pm$ 0,97	0,077 $\pm$ 0,00

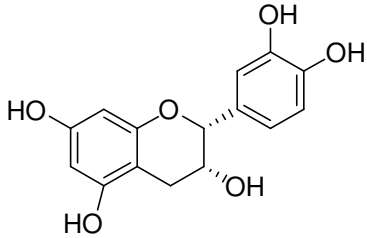
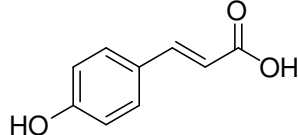
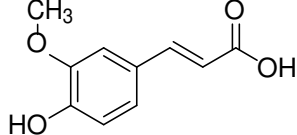
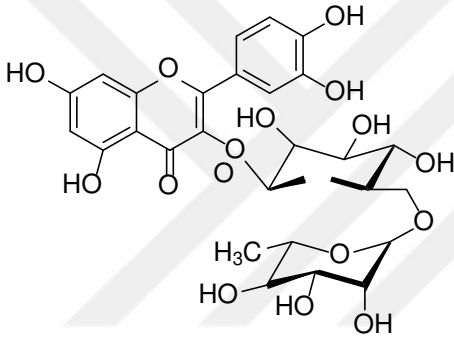
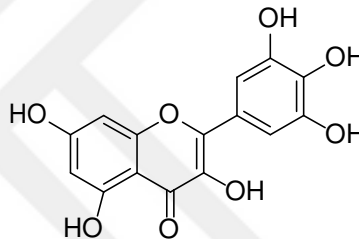
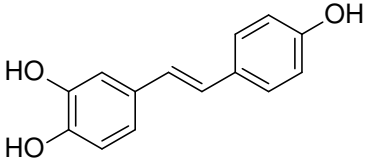
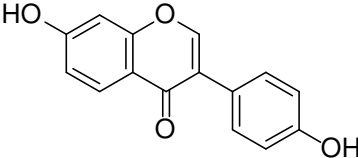
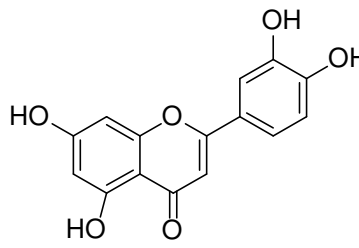
3.2. HPLC-UV ile Fenolik Bileşen Tayini Sonucu

Örneklerin metanolik ekstraktları dietil eter ve etil asetat ile ekstrakte edildikten sonra geri kalan kalıntı kısmı metanolde çözüldü ve HPLC-UV cihazında yürütüldü. Mobil faz olarak asetonitril, su ve asetik asit kullanılarak kolonu terk etme zamanları olan elüsyon değerleri Tablo 9’da verilen 19 adet standart fenolik bileşiğin elüsyon değeri ile karşılaştırıldı. Standartlara ait kromatogram aşağıda verilmektedir (Şekil 29).

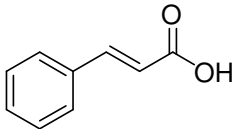
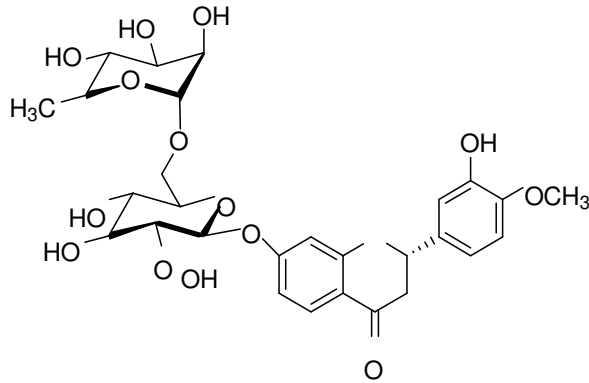
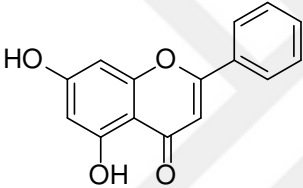
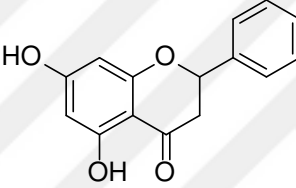
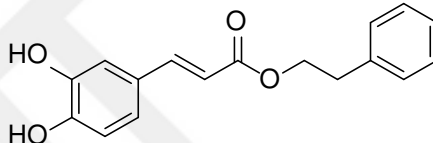
Tablo 9. HPLC analizinde standart olarak kullanılan fenoliklerin kimyasal yapıları

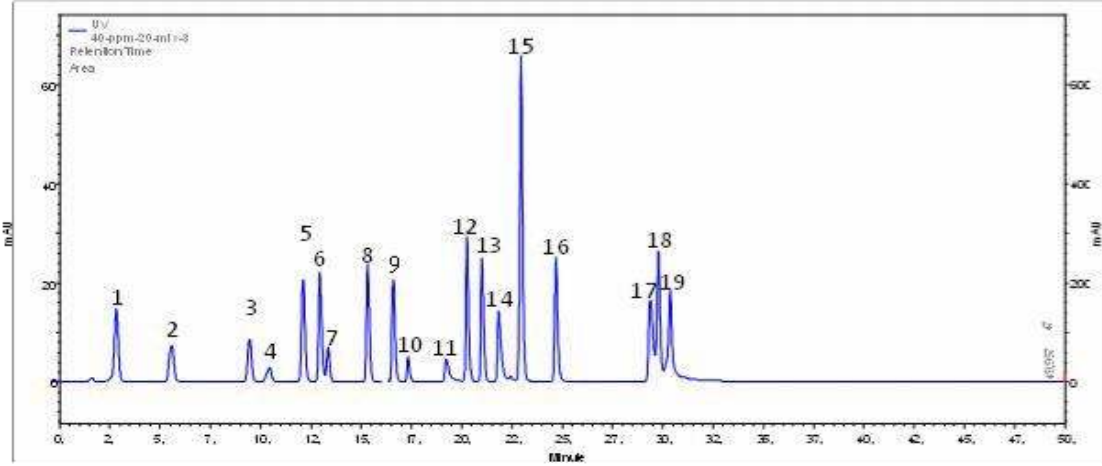
 Gallik Asit	 Protokatekuikasid	 p-OH benzoik asit
 Kateşin	 Kafeik asit	 Şiringik asit

Tablo 9'un devamı

		
Epikateşin	<i>p</i> -Kumarik asit	Ferulik asit
		
Rutin	Mirisetin	
		
Resveratrol	Daidzein	Luteolin

Tablo 9'un devamı

		
<i>t</i> -Sinamik asit	Hesperidin	
		
Krisin	Pinosembrin	CAPE (kafeik asit fenil ester)



Şekil 29. Fenolik kalibrasyon bileşikleri [1. Gallik asit, 2. Protokatekuik asit, 3. *p*-OH benzoik asit, 4. Kateşin, 5. Kafeik asit, 6. Şiringik asit, 7. Epikateşin, 8. *p*-Kumarik asit, 9. Ferulik asit, 10. Rutin, 11. Mirisetin, 12. Resveratrol, 13. Daidzein, 14. Luteolin, 15. *t*-Sinnamik asit, 16. Hesperidin, 17. Krisin, 18. Pinosembrin, 19. CAPE (kafeik asit fenil ester)]

Tablo 10’da 19 standart kullanılarak yapılan fenolik bileşen analiz sonucu görülmektedir. Bu sonuçlara bakıldığında tüm bal örneklerinde bulunan fenolik bileşenler *p*-OH benzoik asit, şiringik asit, *p*-kumarik asit, pinosembrin ve CAPE (kafeik asit fenil ester)’dir. Mirisetin bileşenine ise hiçbir bal örneğinde rastlanmamıştır. Tabloda polen örneklerine bakıldığında protokatekuik asit, *p*-kumarik asit, daidzein ve luteolin bileşenlerinin her iki polen örneğinde de bulunduğu gözlenirken kateşin, şiringik asit, epikateşin, ferulik asit, rutin ve pinosembrin bileşenlerine rastlanmamıştır. Propolis örneğine bakıldığında ise CAPE majör bileşen olarak tespit edilirken kateşin, epikateşin, daidzein ve rutin fenolik bileşenlerine rastlanmamıştır.

Tabloya bakıldığında içerisinde en fazla fenolik bileşen içeren örnek kestane çiçeği olurken en az fenolik bileşen içeren örnek ise reyhan bitkisi olmuştur, ayrıca orman gülü örneğinde *p*-OH benzoik asit major fenolik bileşen olarak tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra örneklerde en fazla tespit edilen fenolik bileşen protokatekuik asit olurken en az gözlenen bileşen ise kateşin olmuştur. Örneklerin fenolik kalibrasyon grafikleri Ek 1’ de verilmiştir.

Tablo 10. HPLC-UV 'de ölçülen fenolik bileşen analiz sonuçları (µg fenolik/g ekstrakt)

Standartlar	1) Kestane Balı	2) Çiçek Balı	3) Deli bal	4) Deli bal	5) Polen	6) Polen	7) Propolis
Gallik asit	75.25	109.83	1283.35	t.e.	25.18	t.e.	15.79
Protokatekuik asit	68.12	198.08	t.e.	t.e.	81.33	61.29	17.82
<i>p</i> -OH benzoik asit	193.90	414.38	839.68	461.65	51.81	t.e.	39.39
Kateşin	1507.92	t.e.	2448.47	1692.51	t.e.	t.e.	t.e.
Kafeik asit	116.26	248.80	521.02	t.e.	44.49	t.e.	2482.48
Şiringik asit	38.22	130.15	199.67	1663.88	t.e.	t.e.	127.26
Epikateşin	t.e.	217.70	t.e.	t.e.	t.e.	t.e.	t.e.
<i>p</i> -Kumarik asit	254.77	215.03	467.14	277.42	663.83	66.71	3030.16
Ferulik asit	258.41	t.e.	1451.05	1079.69	t.e.	t.e.	3218.71
Rutin	6086.98	1088.41	2040.91	t.e.	t.e.	t.e.	t.e.
Mirisetin	t.e.	t.e.	t.e.	t.e.	t.e.	1122.31	785.66
Resveratrol	113.66	t.e.	812.00	539.68	750.79	t.e.	1987.82
Daidzein	75.90	t.e.	349.81	227.93	818.82	370.25	t.e.
Luteolin	t.e.	215.33	t.e.	t.e.	2659.46	4526.52	200.29
<i>t</i> -Sinnamik asit	46.44	t.e.	186.47	99.92	t.e.	178.10	595.58
Hesperidin	t.e.	t.e.	t.e.	107.52	132.00	t.e.	127.32
Krisin	366.55	t.e.	1309.34	5993.65	112.72	t.e.	10769.8
Pinosembrin	143.41	304.54	240.31	280.83	t.e.	t.e.	5824.42
CAPE	97.18	185.58	148.48	2242.53	643.53	t.e.	14911.31

t.e. : tespit edilemedi.

Standartlar	8) Ihlamur	9)Kestane Çiçeği	10) Çay	11) Aronya	12) Kokulu Üzüm	13) Mersin	14) Yaban Mersini	15) Orman Gülü	16) Reyhan
Gallik asit	10237.05	10233.33	5610.83	t.e.	639.62	15902.85	199.79	87.95	t.e.
Protokatekuik asit	4114.51	817.93	682.89	5163.94	5205.44	t.e.	218.51	1065.97	616.14
<i>p</i> -OH benzoik asit	5135.80	t.e.	t.e.	120.33	10729.27	2499.18	t.e.	28352.98	t.e.
Kateşin	3966.95	t.e.	1172.84	t.e.	2304.31	t.e.	t.e.	t.e.	t.e.
Kafeik asit	744.32	595.44	583.86	139.23	437.21	4197.92	t.e.	550.78	t.e.
Şiringik asit	1540.01	47.93	t.e.	77.09	509.35	643.94	t.e.	330.69	t.e.
Epikateşin	486.26	743.33	12175.24	1755.16	4539.67	565.53	4918.12	1435.00	t.e.
<i>p</i> -Kumarik asit	t.e.	908.88	308.51	1479.90	194.23	2123.00	t.e.	t.e.	t.e.
Ferulik asit	t.e.	t.e.	10184.7	t.e.	1789.68	22208.83	t.e.	t.e.	156.20
Rutin	2305.91	3950.27	t.e.	4038.22	t.e.	t.e.	1157.43	5363.19	t.e.
Mirisetin	1163.01	294.20	716.38	382.73	1110.64	t.e.	1659.91	484.23	1197.49
Resveratrol	306.19	802.20	t.e.	186.24	569.84	t.e.	206.77	274.59	215.91
Daidzein	t.e.	182.99	727.34	279.94	t.e.	136.47	t.e.	40.56	t.e.
Luteolin	t.e.	207.35	647.24	1535.80	t.e.	t.e.	4115.96	289.15	t.e.
<i>t</i> - Sınnamik asit	106.70	573.02	t.e.	t.e.	t.e.	144.31	t.e.	t.e.	t.e.
Hesperidin	218.39	78.32	219.61	t.e.	t.e.	t.e.	157.06	t.e.	t.e.
Krisin	t.e.	157.00	t.e.	306.97	719.07	1280.01	387.68	632.53	4242.17
Pinosembrin	t.e.	115.88	t.e.	t.e.	271.23	478.99	t.e.	t.e.	t.e.
CAPE	t.e.	2825.06	611.76	t.e.	757.34	933.25	t.e.	t.e.	t.e.

t.e. : tespit edilemedi.

Tablo 10'un devamı

3.3. Nitrik Oksit Sentaz Enzim İnhibisyonu Sonucu

Analizler için numunelerin metanolik ekstraktları kullanılmıştır. 16 numune örneği ve gallik asit, kateşin, kafeik asit olmak üzere toplamda 19 adet numunenin enzim aktivitesinin nasıl değiştiği NOS kiti kullanılarak belirlendi. 540 nm’de mikro plate okuyucuyla absorbanslar okunarak Nitrik Oksit Sentaz spesifik aktivitesi formüle göre hesaplandı. Nitrit standart eğrisi çizildi. B değeri pmol nitrit miktarı buradan hesaplandı (Formül 1).

$$\text{Nitrik Oksit Spesifik Aktivite} = \frac{B}{T \times C} = \text{pmol/min/}\mu\text{g} = \mu\text{U/}\mu\text{g} \quad (1)$$

B, Standart eğriden (pmol) gelen örnekteki nitrit miktarı

T, Reaksiyon süresi (dk) = 60 dak

C, Örneğin konsantrasyonu

Yapılan çalışmada elde edilen veriler Tablo 11, Tablo 12 ve Tablo 13’de verilmektedir. Örneklerin enzim inhibisyonu sonuçlarına bakıldığında 0,42 mU/mg değeriyle deli bal (Fındıklı, Rize) örneğinin aktiviteyi en fazla düşürdüğü en iyi inhibisyon değerine sahip olduğu görülmüştür. Daha sonrasında mersin örneği 0,84 mU/mg değeriyle onu takip etmektedir. Örneklerin hepsine bakıldığında yaban mersini (ligarba), mersin, kokulu üzüm, kestane balı, polen ve deli ballarda enzim inhibisyonunun daha yüksek olduğu görülmüştür.

Tablo 11. Arı ürünlerinin NOS aktivitesi (mU/mg) sonuçları

Numune Kodu	Numune Adı	NOS Aktivitesi (mU/mg)
1	Kestane balı (Ardeşen, Rize)	34,67
2	Çiçek balı (Kırıkkale)	12,13
3	Deli bal (Fındıklı, Rize)	0,42
4	Deli bal (Rize)	1,75
5	Polen (Ardeşen, Rize)	66,82
6	Polen (Genek, Gümüşhane)	26,68
7	Propolis (Erzurum)	398,62

Tablo 12. Bitkisel ürünlerin NOS aktivitesi (mU/mg) sonuçları

Numune Kodu	Numune Adı	Numune Latince Adı	NOS Aktivitesi (mU/mg)
8	Ihlamur (Akçabat, Trabzon)	<i>Tilia</i>	272,06
9	Kestane çiçeği (Trabzon)	<i>Castanea sativa</i> Mill.	247,88
10	Çay (Hemşin, Rize)	<i>Camellia sinensis</i>	252,04
11	Aronya (Trabzon)	<i>Aronia melanocarpa</i>	207,65
12	Kokulu üzüm (Maçka, Trabzon)	<i>Vitislabrusca</i> L.	1,56
13	Mersin (Mersin)	<i>Myrtus communis</i> L.	0,84
14	Yaban mersini (Tonya, Trabzon)	<i>Vaccinium myrtillus</i>	12,23
15	Orman gülü (Trabzon)	<i>Rhododendron luteum</i>	263,78
16	Reyhan (Malatya)	<i>Ocimum basilicum</i> L.	113,65

Tablo 13. Standart bileşiklerin NOS aktivitesi (mU/mg) sonuçları

Numune Kodu	Numune Adı	NOS Aktivitesi (mU/mg)
17	Kateşin	9,96
18	Gallik asit	57,52
19	Kafeik asit	1655,97

6. TARTIŞMA

Nitrik oksitin (NO) endotel kaynaklı bir gevşeme faktörü ve diğer sinyal molekülleri gibi protein yapılı bir madde olduğu düşünülürken, üzerinde yapılan pek çok çalışma ve 1998 yılındaki Nobel ödülüyle aslında çok reaktif bir gaz olduğu keşfedilmiş oldu. Nitrik oksidin nörotransmisyon, bağışıklık savunması, hücre ölümünün düzenlenmesi (apoptoz) ve hücre hareketliliği de dahil olmak üzere çeşitli biyolojik süreçlerde rol oynadığı gösterilmiştir.

Çeşitli fizyolojik ve hücresel süreçleri düzenlemek için birçok dokuda görev yapan önemli bir sinyal molekülü olan NO, nöronal iletim, kardiyovasküler, gastrointestinal, genitoüriner, solunum, antipatojenik ve antitümör yanıtlarından sorumlu olan, endotelden türetilen gevşetici bir faktördür. NO'nun her yerde bulunabilen doğası nedeniyle, bu medyatörün uygun olmayan şekilde serbest bırakılması, bir dizi hastalık durumunun patogenezi ile ilişkilidir. Bu durum, NO konsantrasyonlarını seçici olarak modüle eden tedavilerin tasarımı için önem taşır (Hobbs vd., 1999). Bu tasarımlar, NO oluşumundan sorumlu enzim olan NO sentazın inhibitörleri ile gerçekleştirilebilir; bu tür ajanlar, septik şok, nörodejeneratif bozukluklar ve enflamasyon dahil NO'in aşırı üretimi ile bağlantılı durumların tedavisinde potansiyel olarak faydalıdır. Aynı zamanda serbest radikal olan NO üretimi, L-argininin (substrat) NADPH'ye bağlı oksidasyonunun katalizi yoluyla nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından gerçekleştirilir (Vallance ve Leiper, 2002; Yamamoto vd., 1998). NO, küçük bir molekül olduğu için, hücre zarı boyunca hızla yayılabilir ve koşullara bağlı olarak, birkaç yüz mikrondan fazla mesafeye diffüze olabilir. NO'nun biyolojik etkilerine, NO'in hem grupları, sistein kalıntıları ile demir ve çinko kümeleri gibi bir dizi hedefle reaksiyonu, aracılık eder (Conforti, 2012).

Günümüzde halk arasında ve bilim çevrelerinde sentetik ürünlere oranla daha az zarar verdiği düşünülen doğal ürünlere olan ilginin arttığını söylemek mümkündür. Buradan yola çıkılarak bu tez çalışmasında, bitki ekstraktları ve arı ürünleri gibi bazı doğal ürünlerin NOS inhibisyonu araştırılmıştır.

Bitkiler, meyveler veya bazı biyoaktif bileşenleri barındıran gıda kaynaklarının insan sağlığına olan potansiyel olumlu etkileri yadsınamaz bir gerçektir. Bu gıdalar makro besin elementlerini içermelerinin yanında içerisinde barındırdıkları biyoaktif bileşenler, sekonder metabolitlerle daha da popüler olmaktadır. Bitki kaynaklı bu tür bileşenlerin değeri,

içerdikleri sekonder metabolitler diye ifade edilen miktar olarak az ancak tür olarak fazla sayıda bulunan biyoaktif bileşenler sayesinde. Bu yönüyle bakıldığında doğal ürünlerin geniş çapta bir potansiyelinin olduğunu (Wang vd., 2006) ve özellikle hem antioksidan (Eastwood, 1999) kaynak olarak hem de NO inhibitör kaynağı olarak değerlendirilebileceği görülmüştür.

Literatüre bakıldığında doğal ürünlerin, klinik ürünlere dönüştürülebilecek geniş bir NO inhibitörü havuzu sağladığını söylemek mümkündür. Örneğin sarımsaktaki (*Allium sativum* L.), biyoaktif ana bileşik olan allisin, sitokinin indüklediği NO sentaz (iNOS) tarafından nitrik oksit (NO) üretimini inhibe eder (Schwartz vd., 2002). Turunçgil kabuğu ekstresi iNOS gen ekspresyonunda başlıca NO baskılayıcı mekanizmadır (Hove Lin, 2008). Yine çok yaygın kullanımı olan pirinç (*Oryza sativa* L.) nitrik oksit sentaz inhibitörünü göstermektedir (Xia vd., 2003). Doğal ürünler çok farklı biyolojik aktivite potansiyeline sahip yararlı bileşenler içermesi nedeniyle, nitrik oksit üretimini engelleyen pek çok bileşeni de yapısında barındırmaktadır. Bu bileşenlerin in vitro çalışmalarla tespit edilerek in vivo uyarlamalarının yapılması amacıyla yaptığımız tez çalışması önem taşımaktadır. Yapılan tez çalışmasında 16 örnek ile beraber kateşin, gallik asit ve kafeik asit standart bileşiklerinde nitrik oksit sentaz inhibisyonuna bakılmıştır. Örnekler içerisinde 0,42 mU/mg değeriyle deli bal (Fındıklı, Rize) örneğinin aktiviteyi en fazla düşürdüğü ve en iyi NOS inhibisyon değerine sahip olduğu görülmüştür. Daha sonrasında mersin örneği 0,84 mU/mg değeriyle onu takip etmektedir. Örneklerin hepsine bakıldığında yaban mersini (ligarba), mersin, kokulu üzüm, kestane balı, polen ve deli ballarda enzim inhibisyonunun daha yüksek olduğu görülmüştür.

Geleneksel tıp sisteminde, antiinflamatuvar etki için kullanılan birçok bitkinin NO üretimini inhibe ederek hareket ettiği bildirilmektedir. Yenmeyen bir mantardan (*Albatrellus caeruleoporus*) ekstrakte edilen dört farnesil fenolünün (grifolinon A ve B, grifolin ve neogrifolin); NO'yu inhibe ederek antiinflamatuvar etki ortaya çıkardığı

(sırasıyla IC_{50} =23.4, 22.9, 29.0 ve 23.3 μ M) ve sentetik iNOS inhibitörü olan L-NMA'dan (IC_{50} =88.4 μ M) önemli ölçüde daha yüksek inhibisyona sahip olduğu tespit edilmiştir ve bu bileşiklerdeki fenolik hidroksil ve konjuge keton gruplarının aktivite için önemli olduğu ortaya konulmuştur (Quang vd., 2006). Geleneksel olarak Manolya türlerinin çiçek tomurcukları antiinflamatuvar, antialerjik, antiromatoidartrit ve antianjiyojenik aktiviteleri için kullanılmakta olup (Kimuravd., 1985; Kobayashivd., 1998) Kim ve arkadaşlarının (2009) yılındaki çalışmalarında, dört lignan türevini (eudesmin, mangolin, yangabin,

epimangolin B; 12-15) *Magnolia fargesii*'den izole etmişler ve bunların NOS'u (sırasıyla IC_{50} =30.0, 20.5, 28.6 ve 10.9 μ M) inhibe ettiğini bulmuşlardır. Başka bir çalışmada maun ağacından (*Swietenia mahagoni*) izole edilen bazı limonoidlerin, NO inhibitör aktivitesi sergilediği tespit edilmiştir (IC_{50} =16.5 μ M). Bir diğer çalışmada ise patlıcan (*Solanaceae*) familyasına ait bitkilerde meydana gelen sekondermetabolitler olan vitanolidlerin, NO'in (IC_{50} =0.32 μ M) inhibisyonuna neden olduğu tespit edilmiştir (Park vd., 2019). Başka çalışma örneklere bakıldığında ise yenilebilir bir mantardan (*Taiwanofungus camphoratus*) izole edilen benzocamphorin H, güçlü bir NO inhibitörü (IC_{50} =15.09 μ M) olarak tanımlanır ve nörodejeneratif bozuklukların tedavisinde yararlı olduğu ileri sürülmektedir (Liao vd., 2012). Bir ahududu keton (*Rheosmin*), pinusdensifloranın küçük iğnelerinden izole edilen bir fenolik bileşik olup NO ve prostaglandin E2 (PGE2) üretimini inhibe

ederken, iNOS ve COX-2 ekspresyonunu bloke etmektedir (Jeong ve Jeong, 2010). Curcumin, iyi bilinen bir iNOS ekspresyonu ve proinflatuarsitokin inhibitörüdür (Chan vd.,1998). Resveratrol, üzümelerde ve diğer bitkilerde bulunan bir başka doğal polifenolstilbendir ve çeşitli inflamatuvar hastalıklarda kullanılmaktadır (Tsai vd.,1999). Ebegümeçigiller (*Wikstroemia indica* (*Thymelaeaceae*)), sümbülgiller (*Nardostachys chinensis*), zencefilgiller (*Curcuma phaeocaulis*), hoşmeyve, beauty berry (*Callicarpa kwangtungensis*), pelinotu (*Artemisia austroyunnanensis*), pıtrak (*Xanthiumstrumarium*), maun (*Swietenia mahagoni*), kökboyasıgiller (*Nauclea officinalis*), mantar (*Calvatia nipponica*) gibi pek çok bitkinin nitrik oksit inhibisyonu olduğu tespit edilmiş ve içeriklerinde terpen, terpenoid, diterpen, flavonoid, alkaloid, fenolik bileşik ve yağ asidi metil ester sınıfı maddelerle bu özelliklerini kazandıkları ifade edilmiştir (Sang-ngern vd., 2016; Park vd., 2019; Song vd., 2020). Flavonlar, izoflavonlar, azaisoflavonlar ve tiyoflavonlar gibi birçok doğal ve sentetik flavonoidin NO üretimini ve iNOS ekspresyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir (Minhas vd., 2020). Ayrıca tüm aktif bileşiklerin, etkili konsantrasyonlarında hiçbir sitotoksiste göstermedikleri de önem taşımaktadır (Liu vd., 2010).

NOS inhibitörleri, enflamatuvar, kardiyovasküler ve nörolojik hastalıklarda terapötik role sahip olabilmesinin yanında, farelerde yapılan bir çalışmada nNOS inhibitörünün (7-nitroindazole (7-NI) 50 mg/kgip) uygulanmasından hemen sonra farelerde önemli agresif davranış gözlenmiş, bu tür farmakolojik ajanların olumsuz davranışsal sekelleri ile ilgili endişeleri ortaya çıkardığını ifade etmişlerdir (Benencia vd., 2001).

Birkaç klinik ve klinik öncesi çalışma, duyuşsal bozukluklar ve anksiyete bozukluklarında NO sinyal yolunun rol oynadığını düşündürmektedir (Wegener ve Volke, 2010). Ayrıca serotonin, glutamat ve GABA dahil olmak üzere birçok geleneksel nörotransmitter, NO tarafından yakından düzenlenir ve farklı antidepresan sınıflarının, in vivo olarak hipokampal NO seviyesini modüle ettiği bulunmuştur. Bu nedenle NO sistemi, akut tedavide antidepresan ve anksiyolitik ilaç etkisi için potansiyel bir hedef olarak görülmekte ve yapılan bu literatür çalışmasında NO sentezini modüle eden ilaçların anksiyete ve depresyondaki etkisi araştırılmıştır. Aynı şekilde arı ürünlerin NOS inhibisyonunda olduğu gibi, mono amin oksidaz (MAO) ile ilgili inhibisyon çalışmalarında bu ürünlerin MAO'yu da inhibe ettiği sonucu ortaya çıkarılmıştır (Yıldız vd., 2014).

Bal, polen, propolis gibi arı ürünleri yapısında pek çok biyoaktif bileşeni içeren doğal kaynaklardır. Propolis, bal arıları *Apis mellifera* tarafından çeşitli bitki kaynaklarından toplanan doğal, reçinemi bir üründür. Propolis ; Polifenoller, fenolik asitler, sekiterpen-kinonlar, kumarinler, amino asitler, steroidler ve inorganik bileşiklerden oluşan, neredeyse 300 doğal bileşiği yapısında barındıran; antimikrobiyal, antioksidan, antiinflamatuvar, immünomodülatör, antitümör, antikanser, ülser önleyici, hepatoprotektif, kardiyoprotektif ve nöroprotektif özellikleri içerisinde barındıran geniş biyolojik ve farmakolojik özellik gösteren kompleks bir yapıdır (Cauich-Kumul ve Campos, 2019).

Propolisin anti-enflamatuar aktivitesi, içeriğinde bulunan bileşenlerle ilişkilendirilmektedir (Braakhuis, 2019). Bunlar flavonoidler, fenolik asitler ve bunların esterleri, terpenoidler, steroidler, amino asitler ve CAPE'tir. Propolisin anti-enflamatuar aktivitesinin altında yatan ana mekanizmalar şunları içerir: (1) siklooksijenazın (COX) inhibisyonu ve bunun sonucunda prostaglandin biyosentezinin inhibisyonu, (2) serbest radikal süpürme, (3) nitrik oksit sentezinin engellenmesi, (4) enflamatuar sitokinlerin konsantrasyonunda azalma ve (5) immünosupresif aktivite. Propolis, anti-enflamatuar ve iyileştirici bir ajan olarak başarılı bir şekilde kullanılmasındaki temel bileşenler başta flavonoidler ve fenolik asitler olmak üzere çok çeşitli doğal fenolik bileşiklerdir. Krisin, luteolin, pinosemprin gibi flavonoidler içeren propolisin NOS inhibisyonu ve inflamasyonda önemi belirtilmektedir (Liv d., 2005). Yaptığımız çalışmada propolis (Erzurum) örneğinin NOS inhibisyon değeri kafeik asitten daha yüksektir. Propolisin daha yüksek değere sahip olmasının nedeninin NOS inhibisyonunda etkili olan kafeik asit fenil esterini (CAPE) ve krisini yüksek oraranda içermesinden ötürü olabileceği düşünülmektedir. Krisin, kuersetin, galangin gibi fenolik asitler ve flavonoidlerin

proinflamatuar enzimlerin aktivitesini baskılayabilen özellikleri olduğu bilinmektedir (Candiracci vd., 2012). Örneklerimizin hepsi de bu tür bileşenleri içermesi nedeniyle NOS inhibisyonu için gerçekçi örneklerdir.

Propolis ve içeriğindeki flavonoid bileşenlerinin, antioksidan, antiinflamatuvar ve immünomodülatör etkileri yoluyla in vitro ve in vivo çalışmalarda nöroprotektif özellikler sergilediği çeşitli kaynaklarda bildirilmiştir (Farooqui ve Farooqui, 2010; Mirzoeva ve Calder, 1996; Woo vd., 2005): Apigenin (antiinflamatuvar; Ha vd., 2008), CAPE (antioksidatif, antiinflamatuvar, immünomodülatör; Noelker vd., 2005; Montpied vd., 2003), luteolin (antioksidatif, antiinflamatuvar; Chen vd., 2008), krisin (antiinflamatuvar), kuersitin (antioksidatif), pinocembrin (antioksidatif; Liuvd, 2008), kampeferol (antioksidatif, antiapoptotik; Filomeni vd., 2012) olarak çeşitli kaynaklarda bildirilmiştir.

Propolis, en yüksek oranda polifenol içeren doğal kaynaklarından biridir ve esas olarak flavonoidler, fenolik asitler ve bunların esterlerini içerir (Banskotavd., 1998; Bankovavd., 2000; Bankova, 2005). Propolisteki başlıca flavonoidler: flavonlar, flavonoller ve flavanonlardır. Propolisteki flavonlar krisin, apigenin, luteolin ve rutin gibi bileşikler içerir. Flavonol sınıfı, galangin, kuersitin, kaempferol ve ramnazin gibi bileşikler içerir. Flavanon olarak adlandırılan flavonoidler pinostrobin, pinosembrin, hesperitin ve pinobanksin içerir. Propolisin en önemli flavonoidleri apigenin, galangin, krisin, kuersitin, CAPE, luteolin, pinosembrin, pinobanksin, acacetin ve kaempferoldür. Propolis ayrıca vanilin, *p*-kumarik asit, kinikasıit, sinnamik alkol, sinnamik asit türevleri, kafeik asit, ferulik asit ve izoferulik asit gibi diğer fenolikleri de içerir (Farooqui ve Farooqui, 2012). Yapılan çalışmada propolis örneğinde literatüre uyumlu olarak kafeik asit, *p*-kumarik asit, ferulik asit, luteolin, sinnamik asit, hesperitin, krisin, pinosembrin ve CAPE fenolik bileşenlerinin yanı sıra gallik asit, protokatekuik asit, *p*-OH benzoik asit, şiringik asit, mirisetin ve resveratrol bileşenleri de tespit edilmiş, kateşin, epikateşin, rutin ve daidzein bileşenleri ise tespit edilememiştir.

Bal örneklerine baktığımızda NOS inhibisyonlarının yüksek olduğu görülmektedir. Balın, anti-inflamatuar sitokinlerin ekspresyonunu önemli ölçüde engelleme yeteneğine sahip olması da bunu doğrular niteliktedir (Tonks vd., 2001). Enflamatuar yanıtta, bal tarafından H₂O₂ üretiminin, enflamatuar hasarı onarmak için fibroblastların ve epitel hücrelerinin büyümesini uyardığı görülmüştür. Balın bu anti-enflamatuar etkisi, onu bir hastalığı modüle etmek için yeni bir ajan yapar (Gupta vd., 2011). NOS değerlendirildiğinde pek çok ayrı mekanizmanın beraberce hareket ettiği antioksidan

etkinin önemli olduğu ve bu etkiyi sağlayan çeşitli flavonoid ve fenolik içerikli bileşenlerin radikal oluşumunu engellediği ve enflamasyonda önem taşıdığını ifade etmek doğru olmaktadır.

İnsanoğlu için önemli bir besin kaynağı olan balın gerçek kalite parametrelerini, biyoaktif bileşenlerinin varlığı, çeşitliliği ve miktarları belirler, bu parametreleri değiştiren etkenler yine balın üretildiği bölgenin florasını, coğrafi özellikleri ve çiçek yapısıdır (Can vd., 2015). Yapılan araştırmalar balın biyoaktif bileşiklerinin büyük çoğunluğunun fenolik asitler, flavonoidler, prosiyanidinler ve antosiyaninler gibi fenolik yapılara sahip moleküllerden oluştuğunu göstermektedir (Küçük vd., 2007; Sahin vd., 2011; Tezcan vd., 2011). Bal ile ilgili fenolik bileşen analizi, antioksidan ve antiinflamatuvar analizleri üzerine yapılan in vitro bir çalışmada balın, diyetle dahil edildiğinde sağlığa yarar sağlayabilecek, antiinflamatuvar ve antioksidan etki sunan önemli bir doğal bileşik kaynağı olabileceği ifade edilmektedir (Biluca vd., 2020). Yapılan tez çalışmasında bitki, meyve ve arı ürünü ekstraktlarının DPPH, FRAP ve toplam polifenol analizleri ile antioksidan kapasiteleri belirlenmiştir. Ayrıca HPLC ile 19 adet standart bileşen kullanılarak fenolik bileşen analizi yapılmıştır.

Yapılan çalışmada DPPH radikal temizleme aktivitesine bakıldığında Propolis (Erzurum) örneği $SC_{50}=0,005\pm0,00$ mg/mL en düşük DPPH değeri ile karakterize edilmiş olup örnekler arasında en yüksek aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir. En düşük aktiviteye ise $SC_{50}=24,77\pm1,02$ mg/mL değeri ile kestane balı (Ardeşen, Rize) örneğinin sahip olduğu görülmüştür. Kestane balı örnekler arasında en düşük aktiviteye sahip olduğu anlamına gelmekteyken literatürle 20.05 ± 5.42 mg/mL (Can vd., 2015) değeriyle uyumlu; 43.77 ± 1.22 mg/mL (Gül ve Pehlivan, 2018) değerine göre daha yüksek temizleme aktivitesine sahiptir. Total fenolik içeriğe bakıldığında kestane balı Ardeşen örneği $85,00\pm0,09$ mgGAE/100g değeri ile literatürdeki 27.60 ± 0.88 mg/100 g GAE (Gül ve Pehlivan, 2018) değerine göre daha yüksek fenolik içeriğe sahipken, 98.26 ± 17.77 mg/100 g GAE (Can, vd., 2015) çalışmasındaki değere göre daha düşük bir fenolik içeriğe sahiptir. Gül ve Pehlivan (2018) çalışmasındaki 408.35 ± 4.71 mg/100 g GAE toplam fenolik içerik değerine göre, çalışmamızdaki deli bal örneklerinin, Deli Bal (Fındıklı, Rize) $49,28\pm0,33$ mgGAE/100g ve Deli Bal (Rize) $150,48\pm1,76$ mgGAE/100g değerleriyle daha düşük toplam fenolik değerine sahip olduğu, Silici ve ark. (2010) çalışmasındaki 0.24 ± 0.15 – 41.99 ± 0.48 mgGAE/100g bal değer aralığı ile kısmen uyumlu; Can ve ark. (2015) çalışmasına göre ise 23.55 ± 10.22 mgGAE/100g oldukça yüksek olduğu görüldü. Yine

DPPH değerleri deli balda değerlendirildiğinde aynı çalışmadaki 78.06 ± 28.65 mg/mL değerine göre yapılan tez çalışmasındaki değerin oldukça düşük olduğu yani daha iyi temizleme yeteneğine sahip olduğu söylenebilir.

Türkiye’deki iek ballarıyla ilgili 20 bal rneği ile yapılan bir çalışmadaki sonuçlar fenolik içerik açısından değerlendirildiğinde sadece  daha yüksek, diğerlerinin bizim alışmamızdaki Kırıkkale iek balına $22,24 \pm 0,65$ mgGAE/100g oranla oldukça düşük değerlere sahip olduğu görülmüştür (Tornukvd., 2013). Polen (Ardeşen, Rize) rneğinin toplam fenolik içeriğine $1552,26 \pm 111,76$ mgGAE/100g bakıldığında 10 adet polen rneği ile yapılmış literatürdeki çalışmada (Kalaycıoğlu, vd., 2017) 1746 ± 120 ve 1742 ± 153 mgGAE/100g kestane polen sonucu dışındaki bütün örneklerden daha yüksek toplam fenolik içeriğe sahip olduğu görülmüştür.

Mersin (Mut) (*Myrtuscommunis*) Myrtaceae ailesine ait, tıbbi amaçlı, gıda ve baharat olarak eski zamanlardan beri kullanılan bir bitkidir. Aksay (2016)’da yaptığı çalışmada mersin bitkisinden hazırladığı metanolik ekstraktın fenolik içeriğini (38000 mgGAE/kg) bulmuş, yaptığımız çalışmadaki $328,14 \pm 9,35$ mgGAE/100g değerine göre daha yüksek olarak tespit etmiştir. *Myrtuscommunis* L. esansiyel yağının, zayıf bir antioksidan etki sergilediğini, ancak apoptozla ilgili bir mekanizma tarafından dikkate değer sitotoksik aktiviteye sahip olduğunu ve bununda biyoaktif bileşiklerin doğal antikanser bileşikleri olarak olası bir uygulamasının olabileceğini önermiştir (Harassi vd., 2019).

Reyhan (fesleğen), *Laminaceae* familyasına ait olan *Ocimumbasilicum* L. başta Akdeniz lkeleri olmak üzere dünya çapına dağıtılan aromatik bir bitkidir (Keisandokht, vd., 2018). Reyhan, parfüm, gıda, kozmetik, ilaç ve aromaterapi endüstrilerinde çeşitli uygulamaları olan önemli bir ekonomik üründür (Livd., 2019; Pirmoradi vd., 2013). Reyhanın yapısında bulunan fenolikler maddeler antiviral, antiinflamatuvar, antibakteriyel, anti-alerjik ve antioksidan biyolojik aktivitelere sahip bileşenlerdir (Kwee vd., 2011). Bu nedenlerle, farmasötik kullanım için *O. basilicum*’dan fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu büyük ilgi görmüştür. Fesleğen baş ağrısı, öksürük ve soğuk algınlığı tedavisi için geleneksel tıpta kullanılmakta olup, ayı dizanteri, mide bulantısı, gaz tedavisi için ve ayrıca anti-konvlsan, anti-hiperlipidemik ve anti-enflamatuvar olarak endikedir ve *O. basilicum* ayrıca çorbalar, peynirler, sirke ve yağ gibi gıdalarda aroma maddesi olarak, aromaterapi, gıda koruma ve parfümeri endüstrilerinde kullanılmaktadır (Diniz vd., 2020). Diniz (2020) yaptığı çalışmada, uçucu bileşenlerin DPPH analiz sonucunu $IC_{50}=11.23$ mg/mL-55.15 mg/mL arasında bulmuştur. Buna göre bizim çalışmamızda kullanılan

Reyhan örneğinde $IC_{50}=0,077\pm0,00$ mg/mL değeri oldukça düşük elde edilmiş olup daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

Yaban mersini (ligarba) (*Vaccinium myrtillus*), yüksek biyoaktif bileşik içeriği nedeniyle “işlevsel gıda” veya “süper gıda” olarak bilinir ve sayısız gıda takviyesine dahil edilir (Ancillottivd., 2016). Son yıllarda, çoğunlukla yaban mersini (*Vaccinium myrtillus*) olmak üzere çileklerdeki antosiyanin ve flavonoid içeriği ve bunların in vitro antioksidan aktiviteleri ve diğer biyolojik aktivitelerini ve kimyasal yapılarını değerlendiren çalışmalar bulunmaktadır (Colak vd., 2016; Stefkov vd., 2014; Su, 2012; Wangvd., 2014). Giresun Espiye’de yapılan etnobotanikal çalışmada Yaban mersininin (*V. myrtillus*), halk arasında kabızlık ve diyabet hastalığında kullanıldığı belirtilmiştir (Polat, vd., 2015). Yaptığımız çalışmada yaban mesrsininin total fenolik içeriği $512,78\pm9,46$ mgGA/100g olarak bulunurken literatürdeki çalışmada meyve tozundaki fenolik içerik değeri 15.91 ± 1.54 mgGA/g şeklinde ifade edilmiştir (Ungurianu vd., 2019). Aynı çalışmada rutin, saflaştırılmış ekstrakt ve meyve tozunda tespit edilememişken bizim çalışmamızda 1157.43 µgfenolik/g ekstrakt şeklinde tespit edilmiştir.

Kokulu üzüm (*Vitislabrusca* L.)’deki fenolik içeriğe bakıldığında protokatekuik asit 5205.44 µgfenolik/g ekstrakt; *p*-OH benzoik asit 10729.27 µgfenolik/g ekstrakt; kateşin 2304.31 µgfenolik/g ekstrakt; epikateşin 4539.67 µgfenolik/g ekstrakt şeklinde tespit edilmiş olup, hidroksibenzoik asit içeriğiyle ilişkili olarak, *V. vinifera* L. üzümlerinin değerlendirildiği çalışmada, Bordo taksonu en yüksek içeriği 1117.3 µg/100 g, ardından Merlot 1099.3 µg/100 g ve Concord 904.7 µg/100g olarak taksonlar sıralanmıştır (Burinvd., 2014). Bizim çalışmamızdaki değerlere bakıldığında *p*-OH Benzoik asit µgfenolik/g ekstrakt olarak oldukça yüksek bir değere sahiptir.

Yapılan tüm çalışmaları özetlediğimizde bitki, meyve ve arı ürünleri ekstraktlarında kit kullanılarak NOS inhibisyonu, DPPH radikal temizleme aktivitesi, FRAP güç analizi, toplam fenolik madde tayini, HPLC ile fenolik bileşen analizleri yapılmış ve KTU BAP yüksek lisans tez projesi (Proje Kodu: BAP:FYL-2019-7998) kapsamında desteklenen çalışma “Bazı Tıbbi Aromatik Bitkisel Ürünler ve Arı Ürünlerinin Nitrik Oksit Sentaz (NOS) İnhibisyonları ile Antioksidan Özelliklerinin Karşılaştırılması” isimli proje desteği ile bu tez tamamlanmıştır.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Günümüzde doğal ürünlere olan ilgi her geçen gün artmaktadır. Özellikle çok fazla tüketimi olan bitki çayları, arı ürünleri gibi biyoaktif değeri yüksek olan maddeler sayesinde yaşlanma ve yaşlanmanın dejeneratif etkilerine sebep olan serbest radikallerin aktivasyonu azaltılır ve aynı zamanda da bu tür takviyeler pek çok hastalıkta koruyucu ve tedavi edici özellikleriyle halk arasında kullanılır.

Yapılan bu yüksek lisans tezi ile bazı doğal ürünlerin hem antioksidan kapasiteleri, hem fenolik içerikleri, hem de nitrit oksit sentaz enzimi üzerine inhibisyon potansiyelleri belirlenmiştir. Çalışmada Türkiye'nin değişik bölgelerinden temin edilen, 16 farklı bitki ve arı ürününün belirlenen yöntemlerle ekstraktları hazırlanarak antioksidan aktivite tayinleri yapılmıştır. Örneklerin Toplam Fenolik Madde, Fe^{3+} İndirgeme Antioksidan Güç (FRAP) ve DPPH• Radikal Temizleme aktivitesi incelendiğinde örnekler içerisinde sarı çiçekli orman gülünün $4241,15 \pm 41$ mgGAE /100g numune değeri ile en yüksek miktarda fenolik madde içerdiği görülmüştür. Yapılan FRAP analizi sonucunda en yüksek aktivitenin $309,71 \pm 2,79$ μ molTE/g numune değeri ile propolis (Erzurum) örneğine ait olduğu gözlenmiştir. DPPH• testi sonuçlarına bakıldığında ise en yüksek radikal temizleme aktivitesi $0,005 \pm 0,00$ mg/mL değeri ile yine propolis (Erzurum) örneğinde ait olduğu tespit edilmiştir.

HPLC ile 19 standart kullanılarak yapılan fenolik bileşen analiz sonucunda en fazla fenolik bileşen içeren örnek kestane çiçeği olurken en az fenolik bileşen içeren örnek ise reyhan bitkisi olmuştur, ayrıca orman gülü örneğinde *p*-OH benzoik asit major fenolik bileşen olarak tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra örneklerde en fazla tespit edilen fenolik bileşen protokatekuik asit olurken en az gözlenen bileşen ise kateşin olmuştur. Analiz sonuçlarında mersin örneğinde çok yüksek oranda 15902.85 μ g fenolik/g ekstrakt gallik asit (3,4,5-trihidroksibenzoik asit) tespit edilmiştir. Ihlamur 10237.05 μ g fenolik/g ekstrakt ve kestane çiçeğinde 10233.33 μ g fenolik/g ekstrakt de yüksek oranda gallik asit tespit edilmiştir. Gallik asit, farklı nörodejenerasyon, nörotoksosite ve oksidatif stres modellerinde nöroprotektif etkilere sahip iyi bilinen bir antioksidan bileşiktir (Daglia vd., 2014). Ferulik asit (4-hidroksi-3-metoksisinnamik asit) mersin meyvesinde majör bileşen olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu bileşen, düşük toksisiteli bir fenolik asittir; insan vücudunda absorbe edilebilir ve kolaylıkla metabolize edilebilir. Ferulik asidin,

antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, anti-tromboz ve anti-kanser aktiviteleri dahil olmak üzere birçok fizyolojik işlevi olduğu bildirilmiştir. Ayrıca koroner hastalığa karşı korur, kolesterolü düşürür ve sperm canlılığını artırır. Bu özellikleri ve düşük toksisitesi nedeniyle, ferulik asit artık gıda ve kozmetik endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Buradan yola çıkılarak mersin tüketiminin teşvik edilmesi veya topikal uygulamalarının denenmesinin önü de açılabilir. Her iki polen örneklerinde luteolin değeri major bileşen olarak yüksek bir değerde görülmüş olup, bu flavonoid bileşenin anti-oksidatif, anti-tümör ve anti-inflamatuvar özelliklere sahip olduğu ayrıca in vitro ve in vivo kardiyak koruyucu etkilerinin görüldüğü bildirmiştir (Luo vd., 2017). Polenin sağlığa yararları doğrultusunda günlük diyetlere eklenebileceği önerilebilir.

Yapılan antioksidan analizler sonucunda örneklerin toplam polifenol içeriğine bakıldığında orman gülü $4241,15 \pm 41,39$ mgGAE/100g, çay $3946,47 \pm 8,37$ mgGAE/100g, propolis $3859,06 \pm 192,17$ mgGAE/100g ve kestane çiçeği $3834,99 \pm 126,71$ mgGAE/100g tespit edilmiş ve bu örneklerin yüksek polifenol içeriğe sahip olduğu görülmüştür. Polifenolce zengin bir diyet, insan vücudunu hastalıklardan koruyan, serbest radikallere karşı koruyucu bir zırh gibi çevreleyen bir mekanizmadır. Bu nedenle diyetimize bu tarz bileşenleri içeren gıdalar eklemek antioksidan mekanizmaya da katkı sağlayacaktır.

Propolis, aronya, orman gülü, çay ve kestane çiçeği yüksek FRAP değerleriyle sonuçlanmıştır. Özellikle propolis örneği $309,71 \pm 2,79$ $\mu\text{molTE/g}$ yüksek FRAP değerleriyle öne çıkmaktadırlar. Bitkiler içerisinde ise $127,76 \pm 2,08$ $\mu\text{molTE/g}$ değeriyle çayın demir indirgeme antioksidan gücü daha yüksektir. DPPH radikali temizleme aktivitesine bakıldığında ise en iyi aktiviteye sahip örneğin yine düşük $SC_{50} = 0,005 \pm 0,00$ mg/mL değeri ile propolis (Erzurum) örneği olduğu görülmektedir.

Yapılan tez çalışmasında hepsi doğal ürün olan arı ürünlerinden; bal, polen, propolis, çeşitli meyve türlerinden; ligarba, mersin, yaban mersini, kokulu üzüm, çay olarak tüketilen; reyhan, camellia sinensis çayı, ihlamur, kestane çiçeği ve sarı çiçekli orman gülü olmak üzere 16 örnekte ve kateşin, gallik asit ve kaffeik asit standart bileşiklerinde NOS aktivitesine bakılmıştır. Öncelikle standart olarak nitrit konsantrasyonuna bağlı grafik çizilerek her bir ürün için inhibisyon tespit edilmiştir. Kullanılan bütün örnekler NOS inhibisyonu göstermekte olup bu örneklerden deli bal (Fındıklı, Rize) örneğinin aktiviteyi en fazla düşürdüğü, $0,42$ mU/mg değeriyle en iyi inhibisyon değerine sahip olduğu görülmüştür. Daha sonrasında mersin örneği $0,84$ mU/mg değeriyle onu takip etmektedir.

Örneklerin hepsine bakıldığında yaban mersini (ligarba), mersin, kokulu üzüm, kestane balı, polen ve deli ballarda enzim inhibisyonunun daha yüksek olduğu görülmüştür.

Geleneksel tıp sisteminde, antiinflamatuvar etki için kullanılan birçok bitkinin NO üretimini inhibe ederek hareket ettiği bildirilmektedir. Ayrıca sentetik olarak elde edilen ilaçların yan etkilerinin çok fazla olduğu bilinmektedir. Bu amaçla daha az yan etkili doğal ürünlerle, NOS inhibitörlerinin deney hayvanları üzerinde de denenerek ilaç öncüllerin oluşturulabilmesinin önü açılabilir. Bu nedenle elde edilen verilerin ışığında NOS inhibitörleri ilaç öncül maddesi olarak tıbbi açıdan değerlendirilebilir.

Genelde NOS inhibisyonu ile ilgili in vitro çalışmalara rastlanırken, in vivo çalışmalar çok fazla bulunmamaktadır. Bu yönüyle bakıldığında literatürde çok fazla yer almayan doğal ürünlerle NOS inhibisyonu önem taşımaktadır. Özellikle mutajenik etki ve inflamasyon olgularındaki önemi dolayısıyla indüklenebilir nitrik oksit sentaz enziminin inhibisyonuna dair daha fazla çalışma yapılabilir.

6. KAYNAKLAR

- Abe, L., T., Da Mota, R., V., Lajolo, F., M. ve Genovese, M., I., 2007. Phenolic compounds and antioxidant activity of *Vitis labrusca* and *Vitis vinifera* cultivars, Ciência e Tecnologia de Alimentos, 27, 2, 394-400.
- Abu-Soud, H., M., Presta, A., Mayer, B. ve Stuehr, D., J., 1997. Analysis of Neuronal NO Synthase under Single-Turnover Conditions: Conversion of Nomega-Hydroxyarginine to Nitric Oxide and Citrulline, Biochemistry, 36, 10811-10816.
- Aburjai, T. ve Natsheh, F., M., 2003. Plants used in cosmetics, Phytotherapy Research, 17, 987-1000.
- Ağaoğlu, Y., S., 1986. Üzümsü Meyveler, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları, No:984 Ankara, 290 s.
- Aksay, S., 2016. Total phenolic content and antioxidant properties of various extracts of myrtle (*Myrtus communis* L.) berries, J. Agric. Food Sci., 31, 43-50.
- Alcaraz, A. ve Kelly, J., 2002. Treatment of an infected venous leg ulcer with honey dressing, Br. Journal. Nurs., 11,13, 859-870.
- Albert, L., 1988. Lehninger Biochemistry, Worth Publishers Inc., New York.
- Al-hallaq, E., K., Litescu, S., C., Kasabri, V., Abdul razzak, K., K., Abaza, I., M. ve Afifi, F., U., 2015. Hypocholesterolemic effects of *Adiantum capillus veneris* L. aqueous extract in high cholesterol diet-fed rates and HPLC-MS determination on its polyphenolics, Academia Romana, 60,4, 357-365.
- Al-Mamary, M., Al-Meer, A. ve Al-Habori, M., 2002. Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey, Nutrition Res., 22, 1041–1047.
- Altınışık, M., 2009. Enzimler, Ders sunumları, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi. [http:// www.mustafaaltinisik.org.uk](http://www.mustafaaltinisik.org.uk).
- Amrani, S., Harnafi, H., El Houda Bouanani, N., Aziz, M., Caid, H., S., Manfredini, S., Besco, E., Napolitano, M. ve Bravo, E., 2006. Hypolipidaemic activity of aqueous *Ocimum basilicum* extract in acute hyperlipidaemia induced by triton WR-1339 in rats and its antioxidant property, Phytother. Res., 20, 1040 -1045.
- Amtul, Z., Siddiqui, R., A. ve Choudhury, M., I., 2002. Chemistry and mechanism of urease inhibition, Current medicinal chemistry, 9,14, 1323-1348.
- Ancillotti, C., Ciofi, L., Pucci, D., Sagona, E., Giordani, E., Biricolti, S., Gori, M., Petrucci, W., A., Giardi, F., Bartoletti, R., Chiuminatto, U., Orlandini, S., Mosti, S. ve Del Dubba, M., 2016. Polyphenolic profiles and antioxidant and antiradical

activity of Italian berries from *Vaccinium myrtillus* L. and *Vaccinium uliginosum* L. subsp. *gaultherioides* (Bigelow) SB Young, Food Chemistry, 204, 176-184.

Anklam, E., 1998. A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey, Food Chem., 63,4, 549-62.

Anonim, 2010. TSE 3036 Bal Standardı, 19 Ocak 2010 Kabul Tarihli Bal Standardı, Ankara.

Anonymous, 2002. The Effect of Wild Blueberry Consumption on Postprandial Serum Antioxidant Status in Human Subjects, British J. of Nutrition, 88, 389- 397.

Asımgil, A., 1996. Şifalı Bitkiler, Timaş Yayınları, İstanbul, 352 s.

Atik, A. ve Gümüş, T., 2017. Propolisin Gıda Endüstrisinde Kullanım Olanakları, Akademik Gıda, 15, 60-65.

Atzei, A., D., 2003. Le piante nella tradizione popolare della Sardegna Carlo Delfino Editore, Sassari, İtalya, 331-323 s.

Avcı, M., 2004. Orman gülleri (*Rhododendron* L.) ve Türkiye'deki doğal yayılışı. Coğrafya Dergisi, 12, 13-29.

Bankova, V., S., de Castro, S., L. ve Marcucci, M., C., 2000. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin, Apidologie, 31,1, 3-15.

Bankova, V., 2005. Recent trends and important developments in propolis research, Evidence-based complementary and alternative medicine, Evidence-based complementary and alternative medicine, 2,1, 29-32.

Batu, A. ve Kırmacı, B., Yaban Mersininin İnsan Sağlığı Bakımından Önemi ve Gıda Sanayinde Değerlendirme Olanakları. II. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu, 14-16 Eylül 2006, Tokat, 32-35.

Baydar, N., G., Sağdıç, O., Özkan, G. ve Çetin, S., 2006. Determination of antibacterial effects and total phenolic contents of grape (*Vitis vinifera* L.) seed extracts, International Journal of Food Science and Technology, 41, 799-804.

Baydar, N., G., Özkan, G. ve Yaşar, S., 2007. Evaluation of the antiradical and antioxidant potential of grape extracts, Food Control, 18, 1131-1136.

Baytop, T., Baytop, A., Mat, A. ve Sun, S., 1989. Türkiye'de Zehirli Bitkiler, Bitki Zehirlenmeleri ve Tedavi Yöntemleri, İst. Üniv. Eczacılık Fak. Yayınları, No: 54 İstanbul.

Bayrak, N., 2005. Arı Ürünlerinin (Bal, arı sütü, polen ve propolis) Mikrofloralarının ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniv. FBE, Elazığ.

- Benencia, F., Courrèges, M., C., Gamba, G., Cavalieri, H. ve Massouh, E. J., 2001. Effect of aminoguanidine, a nitric oxide synthase inhibitor, on ocular infection with herpes simplex virus in Balb/c mice, Investigative ophthalmology & visual science, 42,6, 1277-1284.
- Benzie I.F.F. ve Strain J.J., 1999. Ferric Reducing/Antioxidant Power Assay: Direct Measure of Total Antioxidant Activity of Biological Fluids and Modified Version for Simultaneous Measurement of Total Antioxidant Power and Ascorbic Acid Concentration, In Methods in Enzymology, 299, 15–27.
- Beygiç, T., 2019. Laktoperoksidaz Enziminin Bazı Çözücülerle İn Vitro Etkisinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Biluca, F., C., da Silva, B., Caon, T., Mohr, E., T., B., Vieira, G., N., Gonzaga, L., V., Vitali, L., Micke, G., Fett, R., Dalmarco, E., M. ve Costa, A., C., O., 2020. Investigation of phenolic compounds, antioxidant and anti-inflammatory activities in stingless bee honey (Meliponinae), Food Research International, 129, 108756.
- Bogdanov S., 1984. Characterization of antibacterial substances in honey, Lebensmittel Wissenschaft und Technologie, 17,2, 74–76.
- Bohme, G., A., Bon, C., Lemaire, M., Reibaud, M., Piot, O., Stutzmann, J., M., Doble, A. ve Blanchard, J., C., 1993. Altered synaptic plasticity and memory formation in nitric oxide synthase inhibitor-treated rats, Proc Natl Acad Sci USA, 90, 9191–94.
- Bors, W., Heller, W., Michel, C. ve Saran, M., 1990. Flavonoids as antioxidants: Determination of radical-scavenging efficiencies, In Methods in enzymology, 186, 343-355.
- Bozkurt, Y., Yaltırık, F. ve Özdönmez, M., 1982. Türkiye’de orman yan ürünleri, İÜ Orman Fakültesi Yayınları, No:2845, OF Yayın No: 302, İstanbul.
- Braakhuis, A., 2019. Evidence on the health benefits of supplemental propolis, Nutrients, 11,11, 2705.
- Burin, V., M., Ferreira-Lima, N., E., Panceri, C., P., ve Bordignon-Luiz, M., T., 2014. Bioactive compounds and antioxidant activity of Vitis vinifera and Vitis labrusca grapes: evaluation of different extraction methods, Microchemical Journal, 114, 155-163.
- Büyüktuncel, B., Yemenicioğlu, A. ve Özkan, M., 2001. Fenolik Bileşikler. Meyve ve Sebzelerin Bileşimi, Soğukta Depolanmaları, Gıda Teknolojileri Derneği Yayınları, 24, 78.
- Can, A. ve Akev, N., 2008. Eczacılık Fakültesi Öğrencileri İçin Biyokimya Dersleri, 978-975-404-820-9, İstanbul Üniversitesi Basım ve Yayınevi Müdürlüğü, İstanbul.

- Can, Z., Yildiz, O., Sahin, H., Turumtay, E., A., Silici, S. ve Kolayli, S., 2015. An investigation of Turkish honeys: their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles, Food Chemistry, 180, 133-141.
- Candiracci, M., Piatti, E., Dominguez-Barragán M., Garcia-Antras, D., Morgado, B., Ruano, D., Gutierrez, J., F., Parrado, J. ve Castano, A., 2012. Anti-inflammatory activity of a honey flavonoid extract on lipopolysaccharide-activated N13 microglial cells, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 60, 50, 12304–12311.
- Cauich-Kumul, R. ve Campos, M., R., S., 2019. Bee Propolis: Properties, Chemical Composition, Applications, and Potential Health Effects, In *Bioactive Compounds*, Woodhead Publishing, Sawston / Cambridge, İngiltere, 227-243 s.
- Chan, E., W., C., Soh, E., Y., Tie, P., P. ve Law, Y., P., 2011. Antioxidant and antibacterial properties of green, black, and herbal teas of *Camellia sinensis*, Pharmacognosy Research, 3, 4, 266.
- Chan, M., M., Y., Huang, H., I., Fenton, M., R. ve Fong, D., 1998. In vivo inhibition of nitric oxide synthase gene expression by curcumin, a cancer preventive natural product with anti-inflammatory properties, Biochem Pharmacol, 55, 12, 1955-1962.
- Chen, H., Q., Jin, Z., Y., Wang, X., J., Xu, X., M., Deng, L. ve Zhao, J. W., 2008. Luteolin protects dopaminergic neurons from inflammation-induced injury through inhibition of microglial activation, Neuroscience letters, 448, 2, 175-179.
- Cho, E., Deuk Lee, J. ve Hyun Cho, S., 2011. Systemic Contact Dermatitis from Propolis Ingestion Systemic Contact Dermatitis from Propolis, Ingestion Ann Dermatol, 23, 1-10.
- Colak, N., Torun, H., Gruz, J., Strnad, M., Subrtova, M., Inceer, H. ve Ayaz, F., A., 2016. Comparison of phenolics and phenolic acid profiles in conjunction with oxygen radical absorbing capacity (ORAC) in berries of *Vaccinium arctostaphylos* L. and *V. myrtillus* L, Polish journal of food and nutrition sciences, 66, 2, 85-92.
- Conforti, F., 2012. Natural Products, Especially Fruits and Vegetables are an Excellent Source of Chemical Structures with a Wide Variety of Biological Activity, Including Inhibition of Nitric Oxide Production, Biochem & Pharmacol, 1, 3, 1-2.
- Conner, W., E., 1997. The beneficial effects of omega-3 fatty acids: Cardiovascular disease and neuro-development, Current Opinion in Lipidology, 8, 1–3. doi:10.1097/00041433- 19970200.
- Cook, N., C. ve Samman S., Flavonoids: chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources, Journal of Nutritional Biochemistry, 7, 21, 66–76.
- Cuendet M., Hostettmann K., Potterat O. ve Dyatmiko W., 1997. Iridoid Glucosides with Free Radical Scavenging Properties from *Fagraea blumei*, *Helvetica Chimica Acta*, 80, 1144-1152.

- Çekmen, M., B., Turgut, M., Türköz, Y., Denizmen, A., A. ve Gözükar, E., M., 2001. Nitrik Oksit (No) Ve Nitrik Oksit Sentaz (Nos)' Infizyolojik ve Patolojik Özellikleri, Türkiye Klinikleri J Pediatr., 10,4 , 226-35.
- Çelik, H., 2004. Kanser ve Kalp Krizine Karşı Doğal Koruyucu: Karadeniz Bölgesi'ndeki Kokulu Kara Üzüm, Doğa, Çevre ve Kültür Dergisi, Ekoloji Magazin, 3, 54-61.
- Çelik, H., 2005. Yaban Mersini (Likapa) Yetiştiriciliği, Hasad Yayıncılık, 128 s.
- Çelik, H., Odabaş, F., 2007. Yüzyılın Meyvesi, Maviyemiş (Yaban Mersini, Likapa) (*Vaccinium corymbosum* L.). V. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Eylül, Erzurum, Bildiriler Kitabı 1(Meyvecilik): 339-342.
- Çelik, F., 2006. Çay (*Camellia sinensis*); İçeriği, Sağlık Üzerindeki Koruyucu Etkisi ve Önerilen Tüketimi, Türkiye Klinikleri Journal of Medical Science, 26, 642-648.
- Çeter, T. ve Güney, K., 2011. Ormangülü ve Deli Bal, Uludağ Arıcılık Dergisi, 11,4, 124-129.
- Daglia, M., DiLorenzo, A., Nabavi, S., F., Talas, Z., S. ve Nabavi, S., M., 2014. Polyphenols: wellbeyondtheantioxidantcapacity: gallicacidandrelatedcompounds as neuroprotectiveagents: youarewhatyoueat! Curr. Pharm. Biotechnol., 15,4, 362-72.
- Dilber, E., Kalyoncu, M., Yarış, N. ve Okten, A., 2002. A Case of mad honey poisoning presenting with convulsion: intoxication instead of alternative therapy, Turk. J. Med. Sci., 32,4, 361–362.
- Diniz do Nascimento, L., Moraes, A., A., B., D., Costa, K., S., D., Pereira Galúcio, J., M., Taube, P., S., Costa, C., M., L., Cruz, J., N., Andrade, E., H., D.,A. ve Faria, L., J., G., D., 2020. Bioactive natural compounds and antioxidant activity of essential oils from spice plants: New findings and potential applications, Biomolecules, 10,7, 988.
- Duke, A., J., 1987. CRC Hmıdbook of Medicinal Herbs, CRC Press, Florida, 485-486s.
- Eastwood, M., A., 1999. Interaction of dietary antioxidants in vivo: how fruit and vegetables prevent disease?, Qim, 92,9, 527-530.
- Eraslan, G., Kanbur, M. ve Silici, S., 2008. Effect of carbaryl on some biochemical changes in rats: The ameliorative effect of bee pollen, Food Chem Toxicol, 47, 86-91.
- Erdogan, Y. ve Dodologlu, A., 2005. Bal Arısı (*Apis Mellifera* L.) Kolonilerinin Yaşamında Polenin önemi, Uludağ Arıcılık Dergisi, 5,2, 79-84.
- Escuredo, O., Silva, L., R., Valentão, P., Seijo, M., C. ve Andrade, P., B., 2012. Assessing Rubus honey value: Pollen and phenolic compounds content and antibacterial capacity, Food Chemistry, 130,3, 671- 678.

- Farooqui, T. ve Farooqui, A., A., 2012. Beneficial effects of propolis on human health and neurological diseases, Front Biosci (Elite Ed), 4, 779-793.
- Feldman, P., L., Griffith, O., W. ve Stuehr, D., J., 1993. The surprising life of nitric oxide, Chem. Eng. News, 71, 26-38.
- Ferreira-Cardoso, J. V., Sequeira C., A., Rodrigues L. ve Gomes E., F., 1999. Lipid composition of *Castanea sativa* Mill, fruits of some native portuguese cultivars, Acta Horticulturae, 494, 133–138.
- Fidancı, A., 2015. Türkiye İçin Yeni Bir Minör Meyve: Aronia Bitkisi ve Yetiştirme Teknikleri.VII. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Ağustos, Çanakkale, 1177-1180.
- Filomeni, G., Graziani, I., De Zio, D., Dini, L., Centonze, D., Rotilio, G. ve Ciriolo, M. R., 2012. Neuroprotection of kaempferol by autophagy in models of rotenone-mediated acute toxicity: possible implications for Parkinson's disease, Neurobiology of aging, 33,4, 767-785.
- Förstermann, U., Closs, E., I., Pollock, J., S., Nakane, M., Schwarz, P., Gath, I. ve Kleinert, H., 1994. Nitric oxide synthase isozymes, Characterization, purification, molecular cloning, and functions, Hypertension, 23, 1121–31.
- Förstermann, U. ve Sessa, W.C., 2012. Nitric oxide synthases: regulation and function, Eur. Heart. J., 33,7, 829-37
- Gharzouli, K., Gharzouli, S., M. ve Khennouf, S., 1998. Prevention of ethanol-induced gastric lesions in rats by natural honey and glucose-fructose-sucrose-maltose mixture, Pharmacological Research, 39,2, 151-156.
- Görmüş, U. ve Özmen, D.,2005. cGmp ve klinik önemi, J Med Sci, 25,5, 678-687.
- Graham H., N., 1992. Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry, Prev. Med., 21,3, 334-50.
- Green, L., C., Wagner, D., A., Glogowsk, J., Skipper, P., L., Wishnok, J., S. ve Tannenbaum, S., R., 1982. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] nitrate in biological fluids, Anal. Biochem., 126, 131-138.
- Guix, F., X., Uribealago, I., Coma, M. ve Munoz, F., J., 2005. The physiology and pathophysiology of nitric oxide in the brain, Progress in Neurobiology, 76,2, 126-152.
- Gunduz, A., Turedi, S., Uzun, H. ve Topbas. M., 2006. Mad honey poisoning, Am. J. Emerg. Med., 24, 595-598.
- Gupta, S., S., Singh, O., Bhagel, P., S., Moses, S., Shukla, S. ve Mathur, R. K., 2011. Honey dressing versus silver sulfadiazenedressing for wound healing in burn patients: a retrospectivestudy, Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery, 4,3, 183–187.

- Güder, A., 2012. Vitis labrusca L.'nin (Kokulu Üzüm) Antioksidan Aktivitesi, Resveratrolün İzolasyonu Ve Karakterizasyonu. Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Gül, A. ve Pehlivan, T., 2018. Antioxidant activities of some monofloral honey types produced across Turkey, Saudi journal of biological sciences, 25,6, 1056-1065.
- Ha, S., K., Lee, P., Park, J., A., Oh, H., R., Lee, S., Y., Park, J., H., Lee, E., H., Ryu, J., H., Lee, K., R. ve Kim, S., Y., 2008. Apigenin inhibits the production of NO and PGE2 in microglia and inhibits neuronal cell death in a middle cerebral artery occlusion-induced focal ischemia mice model, Neurochemistry international, 52,4-5, 878-886.
- Hamzaoglu, I., Saribeyoglu, K., Durak, H., Karahasanoglu, T., Bayrak, I., Altug, T., Sirin, F. ve Sariyar, M., 2000. Protective covering od surgical wounds with honey impedes tumor implantation, Arch. Surg, 135,12, 1414-7.
- Hannan, J. M., 2013. Aronia Berries, Iowa State University Extension and Outreach, Commercial Horticulture Field Specialist.
- Harassi, Y., Tilaoui, M., Idir, A., Frédéric, J., Baudino, S., Ajouaoui, S., Mouse, H., A. ve Ziad, A., 2019. Phytochemical analysis, cytotoxic and antioxidant activities of Myrtus communis essential oil from Morocco, Journal of Complementary and Integrative Medicine, 16,3, <https://doi.org/10.1515/jcim-2018-0100>
- Ho, S., C. ve Lin, C., C., 2008. Investigation of heat treating conditions for enhancing the anti-inflammatory activity of citrus fruit (Citrus reticulata) peels, J Agric Food Chem., 56,17, 7976-7982.
- Hobbs, A., J., Higgs, A., ve Moncada, S., 1999. Inhibition of nitric oxide synthase as a potential therapeutic target, Annual review of pharmacology and toxicology, 39,1, 191-220.
- Howell, A., B., Botto, H., Combescure, C., Blanc-Potard, A., B., Gausa, L., Matsumoto, T., Tenke, P., Sotto, A. ve Lavigne, J., P., 2010. Dosage effect on uropathogenic Escherichia coli anti-adhesion activity in urine following consumption of cranberry powder standardized for proanthocyanidin content: a multicentric randomized double blind study, BMC Infectious Diseases, 10,1, 1-11.
- Huang, P., L. ve Lo, E., H, 1998. Genetic analysis of NOS isoforms using nNOS and eNOS knockout animals, Progress in Brain Research, 118, 13-25.
- İlgaz, A.,Ş., Kalcıoğlu, Z. ve İslamoğlu, E., 2006. Türk Beyaz Çayı Üretim Yönetiminin Optimizasyonu ve Türk Beyaz Çayının Kalite Parametrelerinin Belirlenmesi, Çaykur Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü Atatürk Çay ve Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü Teknoloji Kısım Müdürlüğü, Rize, 1-37.

- Ishii, R., Saito, K., Horie, M., Shibano, T., Kitanaka, S. ve Amano, F., 1999. Inhibitory effects of hydrolyzable tannins from *Melastoma dodecandrum* Lour. on nitric oxide production by a murine macrophage-like cell line, RAW264.7, activated with lipopolyysaccharide and interferon-gama, Biol. Pharm. Bull., 22,6, 647-53.
- Ivanova, D., Geroval, D., Chervenkov, T. ve Yankova, T., 2005. Polyphenols and Antioxidant Capacity of Bulgarian Medicinal Plants, Journal of Ethnopharmacology, 96, 145- 150.
- Izumi, Y. ve Zorumski, C., F., 1993. Nitric oxide and long-term synaptic depression in the rat hippocampus, Neuroreport, 4, 1131–34.
- Jayaparakasha, G., K., Selvi, T. ve Sakariah, K., K., 2003. Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts, International Food Research, 36, 117–122.
- Jeong, J., B. ve Jeong, H. J., 2010. Rheosmin, a naturally occurring phenolic compound inhibits LPS-induced iNOS and COX-2 expression in RAW264, 7 cells by blocking NF- κ B activation pathway, Food and chemical toxicology, 48,8-9, 2148-2153.
- Jerry, P., Liu, L., Zeng, M. ve Stamler, J., S., 2000. An Apoptotic Model for Nitrosative Stress, Biochemistry, 39, 1040-1047.
- Jo Bright Simon, J., Hiscock, P., E. ve James, J., T., 2009. Hancock Pollen generates nitric oxide and nitrite: a possible link to pollen-induced allergic responses, Plant Physiol Biochem, 47, 1-49.
- Kalaycıoğlu, Z., Kaygusuz, H., Döker, S., Kolaylı, S., ve Erim, F., B., 2017. Characterization of Turkish honeybee pollens by principal component analysis based on their individual organic acids, sugars, minerals, and antioxidant activities, LWT - Food Sci Technol, 84, 402-408.
- Kanbur, E., D., Yuksek, T., Atamov, V. ve Ozcelik, A., E., 2021. A comparison of the physicochemical properties of chestnut and highland honey: The case of Senoz Valley in the Rize province of Turkey, Food Chemistry, 345, 128864.
- Karadal, F. ve Yıldırım, Y., 2012. Balın kalite nitelikleri, beslenme ve sağlık açısından önemi, Erciyes Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 9,3, 197-209.
- Karadeniz, T., 2004. Şifalı Meyveler (Meyvelerle Beslenme ve Tedavi Şekilleri), Burcan Ofset ve Matbaacılık, Ordu, 208 s.
- Keha, E. ve Küfrevioğlu, İ., 2000. Biyokimya, İkinci Baskı, Aktif Yayınevi, 634 s.
- Keisandokht, S., Haddad, N., Gariepy, Y., ve Orsat, V., 2018. Screening the microwave-assisted extraction of hydrocolloids from *Ocimum basilicum* L. seeds as a novel extraction technique compared with conventional heating-stirring extraction, Food Hydrocolloids, 74, 11-22.

- Kim, J., Y., Lim, H., J., Kim, J., S., Lee, H., J., Kim, H., D., Jeon, R., ve Ryu, J., H. 2009. In vitro anti-inflammatory activity of lignans isolated from *Magnolia fargesii*, Bioorganic & medicinal chemistry letters, 19,3, 937-940.
- Kimura, M., Suzuki, J., Yamada, T., Yoshizaki, M., Kikuchi, T., Kadota, S., ve Matsuda, S., 1985. Anti-inflammatory effect of neolignans newly isolated from the crude drug "Shin-i"(Flos magnoliae), Planta medica, 51,04, 291-293.
- Knowles, R., G., 1997. Nitric oxide biochemistry, Biochem Soc, 25, 895-901.
- Kobayashi, S., Kobayashi, H., Matsuno, H., Kimura, I. ve Kimura, M., 1998. Inhibitory effects of anti-rheumatic drugs containing magnosalin compound from *Artemisia princeps* on human synovial cells in rheumatoid arthritis models, Immunopharmacol, 39,2, 139-149.
- Kolaylı, S. ve Keha, E., 1999. A Comparative Study of Antioxidant Enzyme Activities in Freshwater and Seawater Adapted Rainbow Trout, Journal of Biochemical and Molecular Toxicology, 13, 6, 334-337.
- Konar, V., Özdemir, F., A. ve Karatag, F., 2010. Ticari arı polenlerinde b vitamini miktarlarının araştırılması, Fırat Univ. Journal of Science, 22, 61- 64.
- Krell, R., 1996. Value-added products from beekeeping, FAO Agricultural Services Bulletin No. 124 Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome.
- Kuroda, Y. ve Hara, Y., 1999. Antimutagenic and Anticarcinogenic Activity Of Tea Polyphenols, Mutation Research, 436, 69-97.
- Kuyumcu, A., Düzgün A., P., Özmen, M., M. ve Besler, H., T., 2004. Travma ve enfeksiyonda nitrik oksidin rolü, Ulus Travma Derg., 10,3, 149-159.
- Küçük, M., 2005a. Çevre ve İnsan Dergisi, T.C. Çevre ve Orman Bakanlığı Yayınları, 63, 21-22.
- Küçük, M., 2005b. Türkiye'nin Doğal Ormangülleri, Çevre ve İnsan, 62, 23-31. Ankara.
- Küçük, M., Kolaylı, S., Karaoglu, E., Ulusoy, E., Baltacı, C. ve Candan, F., 2007. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia, Food Chemistry, 100, 2, 526–534.
- Künsch, U., Scharer, H., Patrian, B., Hurter, J., Conedera, M., Sassella, A. ve Jelmini, G., 1999. Quality assessment of chestnut fruits, Acta Horticulturae, 494, 119–127.
- Kwee, E., M. ve Niemeyer, E., D., 2011. Variations in phenolic composition and antioxidant properties among 15 basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars, Food Chemistry, 128,4, 1044-1050.
- Lange, M., Enkhbaatar, P., Nakano, Y. ve Traber, D., L., 2009. Role of nitric oxide in shock: the large animal perspective, Front Biosci., 14, 1979–89.

- Le Floch, E., 1983. Flore Tunisienne'in Etiyopya Etkenlerine Katkısı, Imprimerie Officielle de la Republique Tunus., Tunus.
- Lejeune, B., Pourrat, A. ve Dehmouche, H., 1988. Propolis Utilisation en Dermocosmetologie, Parfums, Cosmetiques, Aromes, 8,2, 73- 77.
- Li, J. ve Billiar, T., R., 1999. Nitric Oxide, IV. Determinants of nitric oxide protection and toxicity in liver, Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 276,5, 1069-73.
- Li, X., Kim, J., K. ve Park, S., U., 2019. Molecular cloning and characterization of rosmarinic acid biosynthetic genes and rosmarinic acid accumulation in *Ocimum basilicum* L. Saudi journal of biological sciences, 26,3, 469-472.
- Li, Y., J., Lin, J., L., Yang, C., W. ve Yu, C., C. 2005. Acute renal failure induced by a Brazilian variety of propolis, Am. J. Kidney Dis., 46,6, e125–e129.
- Liao, Y., R., Kuo, P., C., Huang, S., C., Liang, J., W. ve Wu, T., S., 2012. An efficient total synthesis of Benzocamphorin H and its anti-inflammatory activity, Tetrahedron Letters, 53,46, 6202-6204.
- Liebelt, R., A., Lyle, D. ve Walker, J., 1994. Effects of a bee pollen diet on Su and Growth of Inbred Strains of Mice, Amer Bee J., 134, 615-620.
- Liu, R., Gao, M., Yang, Z., H. ve Du, G., H., 2008. Pinocembrin protects rat brain against oxidation and apoptosis induced by ischemia–reperfusion both in vivo and in vitro, Brain research, 1216, 104-115.
- Liu, G., B., Xu, J., L., Geng, M., Xu, R., Hui, R., R., Zhao, J., W., Xu, Q., Xu, H., X. ve Li, J. X., 2010. Synthesis of a novel series of diphenolic chromone derivatives as inhibitors of NO production in LPS-activated RAW264, 7 macrophages, Bioorganic & medicinal chemistry, 18,8, 2864-2871.
- Luo, Y., Shang, P. ve Li, D., 2017. Luteolin: A flavonoid that has multiple cardio-protective effects and its molecular mechanisms. Frontiers in Pharmacology, 8, 692.
- Luan, F., Mosandl, A., Münch, A. ve Wüst, M., 2005. Metabolism of geraniol in grape berry mesocarp of *Vitis vinifera* L. cv. Scheurebe: demonstration of stereoselective reduction, E/Z– isomerization, oxidation and glycosylation, Phytochemistry, 66, 295-303.
- Lusby, P., E., Coombes, A. ve Wilkinson J., M. 2002. Honey: A Potent Agent for Wound Healing?, J.Wocn., 29,6, 295–300.
- Malkoç, M., Livaoğlu, M., Kural, B., Yıldız, O., Örem, A., Mungan, S. ve Kolaylı, S., 2016. Deli Balın (R. Ponticum) Streptozosin Ile Uyarılmış Diyabetik Ratlarda Yara İyileşmesi Üzerine Antioksidan Ve Anti-Inflamatuar Etkilerinin İncelenmesi, Doi: <https://app.trdizin.gov.tr/publication/project/detail/TVRnMk5EUTA>

- Marchini , G. ve Maccioni S., 1998. Liguria şartlı tahliye, La bassa Val di Magra Sagep Genova .
- Miles, A., M., Bohle, D., S., Glassbrenner, P., A., Hansert, B., Wink, D., A. ve Grisham, M., B., 1996. Modulation of superoxide-dependent oxidation and hydroxylation reactions by nitric oxide, J.Biol. Chem., 271,1, 40-47.
- Mirzoeva, O., K. ve Calder, P., C., 1996. The effect of propolis and its components on eicosanoid production during the inflammatory response, Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, PLEFA, 55,6, 441-449.
- Miwa, M., Stuehr, D., J., Marletta, M., A., Wishnok, J., S. ve Tannenbaum, S., R., 1987. Nitrosation of amines by stimulated macrophages, Carcinogenesis, 8,7, 955-958.
- Moncada, S., Palmer, R., M. ve Higgs, E., A., 1991. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology, Pharmacol. Rev., 43,2, 109-42.
- Montoro, P., Tuberoso, C., I., G., Piacente, S., Perrone, A., De Feo, V., Cabras, P. ve Pizza, C., 2006. Stability and antioxidant activity of polyphenols in extracts of *Myrtus communis* L. berries used for the preparation of myrtle liqueur, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 41,5, 1614-1619.
- Montpied, P., de Bock, F., Rondouin, G., Niel, G., Briant, L., Courseau, A. S., Lerner-Natoli, M. ve Bockaert, J., 2003. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) prevents inflammatory stress in organotypic hippocampal slice cultures, Molecular brain research, 115,2, 111-120.
- Moreira, L., Dias, L., G., Pereira, J., A. ve Estevinho, L., 2008. Antioxidant properties, total phenols and pollen analysis of propolis samples from Portugal, Food Chem Toxicol., 46, 3482-3485.
- Morini, G. ve Maga, J., A., 1995. Changes in the fatty acid composition of roasted and boiled Chinese (*Castanea molissima*) and Italian (*C. sativa*) chestnuts grown in the same location. In G. Charalambous Ed., Food flavour: Generation, analysis and process influence Amsterdam: Elsevier Science, 37, 563–568.
- Morris, S., M. ve Billiar, T., R., 1994. New insights into the regulation of inducible nitric oxide synthesis, Am J Physiol, 266, 829-39.
- Murthy, K., N., C., Singh, R., P. ve Jayaprakasha, G., K., 2002. Antioxidant activity of grape (*Vitis vinifera*) pomace extracts, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, 5909-5914.
- Nakajima, J., I., Tanaka, I., Seo, S., Yamazaki, M. ve Saito, K., 2004. LC/PDA/ESI-MS Profiling and Radical Scavenging Activity of Anthocyanins in Various Berries, BioMed Research International, 5, 241-247.

- Nakane, M., Schmidt, H., H., Pollock, J., S., Förstermann, U. ve Murad, F., 1993. Cloned human brain nitric oxide synthase is highly expressed in skeletal muscle, FEBS Lett., 316, 175–80.
- Nen-Tommiska, M., H., V., I., 2008. Nitric oxide in the human uterine cervix: Endogenous ripening factor, Department of Obstetrics and Gynecology, 40,1, 45-55.
- Noelker, C., Bacher, M., Gocke, P., Wei, X., Klockgether, T., Du, Y. ve Dodel, R., 2005. The flavanoid caffeic acid phenethyl ester blocks 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity, Neuroscience letters, 383,1-2, 39-43.
- Norman, J., E. ve Cameron, I., T., 1996. Nitric oxide in the human uterus, Rev Reprod, 1, 61-68.
- Oğur, R., 1994. Mersin bitkisi (*Myrtus communis* L.) hakkında bir inceleme, Çevre Dergisi, 10, 21-25.
- Olsson, C. ve Karila, P., 1995. Coexistence of NADPH-diaphorase and vasoactive intestinal polypeptide in the enteric nervous system of the Atlantic cod (*Gadus morhua*) and the spiny dogfish (*Squalus acanthias*), Cell Tissue Res., 280, 297-305.
- Onat, T., Emerk, K. ve Sözmen, E.Y., 2002. İnsan Biokimyası, Sayfa: 979-975-862-420-2, Palme Yayıncılık.
- Orhan, F., Sekerel, B., E., Kocabas, C., N., Sackesen, C., Adalioğlu, G. ve Tuncer, A., 2003. Annals of Allergy, Asthma & Immunology, 90,6, 611–615.
- Ou, S. ve Kwok, K., C., 2004. Ferulic acid: pharmaceutical functions, preparation and applications in foods. Journal of the Science of Food and Agriculture, 84,11, 1261-1269.
- Ozdal, T., Ceylan, F., D., Eroglu, N., Kaplan, M., Olgun, E., O. ve Capanoglu, E., 2019. Investigation of antioxidant capacity, bioaccessibility and LC-MS/MS phenolic profile of Turkish propolis, Food Research International, 122, 528-536.
- Özata, N., 2006. Fitoterapi ve Aromaterapi, Arıtan Yayınları, İstanbul, 1-8 s.
- Öztürk, O., 2010. Arı Ürünlerinin Sağlık Üzerine Etkileri, İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı.
- Park, E., J., Sang-Ngern, M., Chang, L., C. ve Pezzuto, J., M., 2019. Physalactone and 4 β -Hydroxywithanolide E Isolated from *Physalis peruviana* Inhibit LPS-Induced Expression of COX-2 and iNOS Accompanied by Abatement of Akt and STAT1, Journal of natural products, 82,3, 492-499.
- Pirmoradi, M. R., Moghaddam, M. ve Farhadi, N., 2013. Chemotaxonomic analysis of the aroma compounds in essential oils of two different *Ocimum basilicum* L. varieties from Iran, Chemistry & biodiversity, 10,7, 1361-1371.

- Polat, R., Cakilcioglu, U., Kaltalioglu, K., Uluhan, M., D. ve Turkmen, Z., 2015. An ethnobotanical study on medicinal plants in Espiye and its surrounding (Giresun-Turkey), Journal of ethnopharmacology, 163, 1-11.
- Quang, D., N., Hashimoto, T., Arakawa, Y., Kohchi, C., Nishizawa, T., Soma, G., I. ve Asakawa, Y., 2006. Grifolin derivatives from *Albatrellus caeruleoporus*, new inhibitors of nitric oxide production in RAW 264.7 cells, Bioorganic & medicinal chemistry, 14,1, 164-168.
- Rosselli, M., Dubey, R., K., Rosselli, M., A., Macas, E., Fink, D., Lauper, U., Keller, P., J. ve Imthurn, B., 1996. Identification of nitric oxide synthase in human and bovine oviduct, Mol Hum Reprod, 2, 607-12.
- Russel K., M., 1983. The antibacterial properties of honey, M.Sc. Thesis, University of Waikato, New Zealand.
- Sahin, H., Aliyazicioglu, R., Yildiz, O., Kolayli, S. ve Supuran, C., T., 2011. Honey, polen, and propolis extracts show potent inhibitory activity against the zincmetalloenzyme carbonic anhydrase, Journal of Enzyme Inhibition and Medicine, 26, 440-444.
- Sang-ngern, M., Youn, U., J., Parki, E., J., Kondratyuk, T., P., Simmons, C., J., Duvari, M., M., Ruf, M., Lorch, S., E., Leong, E., Pezzuto, J., M. ve Chang, L. C., 2016. Withanolides derived from *Physalis peruviana* (Poha) with potential anti-inflammatory activity, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 26,12 , 2755-2759.
- Schwartz, I., F., Hershkowitz, R., Iaina, A., Gnessin, E., Wollman, Y., Chernichowski, T., Blum, M., Levo, Y. ve Schwartz, D., 2002. Garlic attenuates nitric oxide production in rat cardiac myocytes through inhibition of inducible nitric oxide synthase and the arginine transporter CAT-2 (cationic amino acid transporter-2), Clin Sci (Lond), 102,5, 487-493.
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y., S., R. ve De, B., 2010. Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect, International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 3,1, 91-10.
- Shen, C., L., Cao, J., J., Dagda, R., Y., Chanjaplammoatil, S., Lu, C., Chyu, M., C. ve Yeh, J., K., 2012. Green tea polyphenols benefits body composition and improves bone quality in longterm high-fat diet-induced obese rats, Nutrition Research, 32,6, 448-457.
- Singleton, V., L. ve Rossi, J., A., 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents, Am J Enol Vitic, 16, 144-158.
- Silici, S., 2015. Propolis Üzerine Ön Klinik Araştırmalar, Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Fen Bilimleri Dergisi, 31,3, 185-191.

- Silverman, R., B., Roman, L., J., Martasek, P., Gomez-Vidal, J., A. ve Ji, H., 2006. Conformationally restricted dipeptide amides as potent and selective neuronal nitric oxide synthase inhibitors, Journal of Medicinal Chemistry, 49, 6254-63
- Silverman, R., B., 2009. Design of selective neuronal nitric oxide synthase inhibitors for the prevention and treatment of neurodegenerative diseases, Accounts of Chemical Research, 42,3, 439-451.
- Simon, J., E., Morales, M., R., Phippen, W., B., Viera, R., F. ve Hao, Z., 1999. Basil: A source of aroma compounds and a popular culinary and the ornamental herb., American Society for Horticultural Science Press, 34, 499- 505.
- Silici, S., Sagdic, O. ve Ekici, L., 2010. Total phenolic content, antiradical, antioxidant and antimicrobial activities of Rhododendron honeys, Food Chemistry, 121,1, 238-243.
- Slinkard, K. ve Singleton, V., L., 1977. Total Phenol Analyses: Automation and Comparison with Manual Methods, American Journal of Enology and Viticulture, 28, 49-55.
- Snowdon, J., A. ve Clier, D., O., 1996. Microorganisms in honey, Int. J Food Microbiology, 31, 1-26.
- Song, J., M., Lee, K., H. ve Seong, B., L., 2005. Antiviral effect of catechins in green tea on influenza virus, Antiviral Research, 68, 2, 66-74.
- Song, S., Liu, P., Wang, L., Li, D., Fan, H., Chen, D. ve Zhao, F., 2020. In vitro anti-inflammatory activities of naucleoffeine H as a natural alkaloid from *Nauclea officinalis* Pierre ex Pitard, through inhibition of the iNOS pathway in LPS-activated RAW 264.7 macrophages, Natural product research, 34,18, 2694-2697.
- Stefkov, G., Hristovski, S., Stanoeva, J. P., Stefova, M., Melovski, L. ve Kulevanova, S., 2014. Resource assessment and economic potential of bilberries (*Vaccinium myrtillus* and *Vaccinium uliginosum*) on Osogovo Mtn., R. Macedonia, Industrial Crops and Products, 61, 145-150.
- Stuehr, D., J., Cho, H., J., Kwon, N., S., Wiese, M., F. ve Nathan, C., F., 1991. Purification and characterization of the cytokine-induced macrophage nitric oxide synthase: an FAD-and FMN-containing flavoprotein, Proc Natl Acad Sci USA, 88, 7773-77.
- Stuehr, D., J., 1999. Mammalian nitric oxide synthases, Biochim Biophys Acta, 1411,2-3, 217-230.
- Su, Z., 2012. Anthocyanins and flavonoids of *Vaccinium* L., İlaç Bitkileri, 3,1.
- Şahin, H., Can, Z. ve Kolaylı, S., 2017. Bazı Ormangülü Ballarının Fenolik İçerik Kompozisyonu, Arıcılık Araştırma Dergisi , 9, 2, 40-46.

- Şahin H., 2014. Ormangülü Balı ve Bitkisindeki GTX-III İzoformunun LC- MS/MS ile Aydınlatılması, Doktora Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Takahashi, T., 2003. Pathophysiological significance of neuronal nitric oxide synthase in the gastrointestinal tract, Journal of gastroenterology, 38,5, 421-430.
- Telci, İ., Bayram, E., Yılmaz, G. ve Avcı A., B., 2005. Türkiye’de Kültürü Yapılan Yerel Fesleğen (*Ocimum Spp*) Genotiplerinin Morfolojik, Agronomik ve Teknolojik Özelliklerinin Karakterizasyonu ve Üstün Bitkilerin Seleksiyonu (Sonuç Raporu), TOGTAG-3102 No’lu Proje. TÜBİTAK.
- Tezcan, F., Kolaylı, S., Şahin, H., Ulusoy, E. ve Erım, F., B., 2011. Evaluation of organic acid, saccharidae composition and antioxidant satatus of certified and uncertified Turkey’s honeys, International Journal of Food Properties, 13, 599-607.
- Thielecke, F. ve Boschmann, M., 2009. The potential role of green tea catechins in the prevention of the metabolic Syndrome-A review, Phytochemistry, 70, 1-24.
- Tsai, S., H., Lin, Shian, S., Y. ve Lin, J., K., 1999. Suppression of nitric oxide synthase and the down-regulation of the activation of NFkB in macrophages by resveratrol, British journal of pharmacology, 126,3, 673-680.
- Tolic, M., 2017. Effects of Weather Conditions on Phenolic Content and Antioxidant Capacity in Juice of chokeberries (*Aronia melanocarpa* L.), Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, 67,1, 67-74.
- Tonks, A., Cooper, R., A., Price, A., J., Molan, P., C. ve Jones, K., P., 2001. Stimulation of TNF- α release in monocytes byhoney, Cytokine, 14,4, 240–242.
- Tornuk, F., Karaman, S., Ozturk, I., Toker, O., S., Tastemur, B., Sagdic, O., Dogan, M. ve Kayacier, A., 2013. Quality characterization of artisanal and retail Turkish blossom honeys: Determination of physicochemical, microbiological, bioactive properties and aroma profile, Industrial Crops and Products, 46, 124-131.
- TSE, 1989. Polen, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Türköz, Y. ve Özerol, E., 1997. Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi, 4, 453-461.
- Ungurianu, A., Şeremet, O., Gagniuc, E., Olaru, O., T., Guţu, C., Grădinaru, D., Ionescu-Tirgovişte, C., Margina, D. ve Dănciulescu-Miulescu, R., 2019. Preclinical and clinical results regarding the effects of a plant-based antidiabetic formulation versus well established antidiabetic molecules, Pharmacological Research, 150, 104522.
- URL-1, <https://www.meleklermekani.com/threads/meyveler-ve-faydalari.30921/.25> Temmuz 2020.
- Uslu, J., 2004. İhlamur sektörü profili, İstanbul Ticaret Odası, Bilgi ve Doküman Yönetimi Şubesi, 22 s.

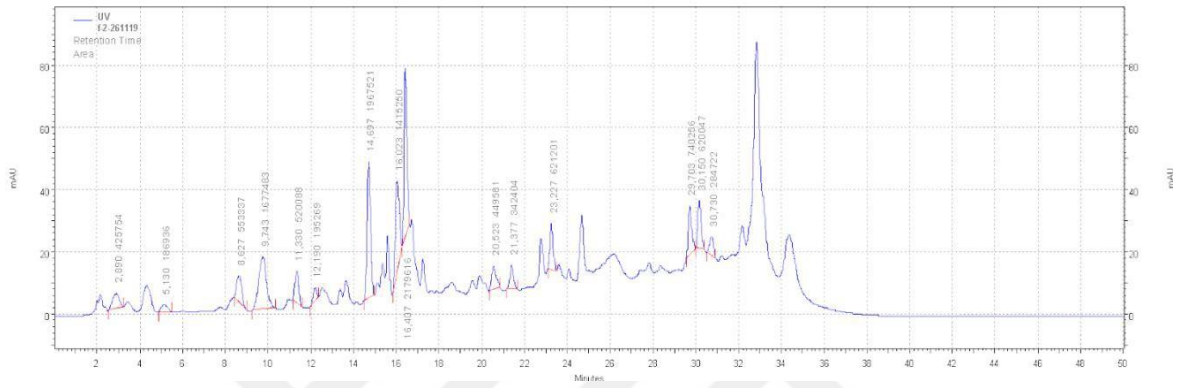
- Vallance, P. ve Leiper, J., 2002. Blocking NO synthesis: how, where and why?, Nat. Rev. Drug Discov., 1,12, 939-950.
- Vaudano, E., Moruno, E., G. ve Di Stefano, R., 2004. Modulation of geraniol metabolism during alcohol fermentation, Journal of The Institute of Brewing, 110, 213–219.
- Voet, D. ve Voet, J., G., 2003. Biochemistry, ed. John Wiley & Sons, Inc, 3rd., P.459, USA.
- Wang, C., C., Chen, L., G. ve Yang, L., L., 1999. Inducible nitric oxide synthase inhibitor of the Chinese herb *I. Saposchnikovia divaricata*(Turcz.) Schischk, Cancer Lett, 145,1-2, 151-157.
- Wang, L., Tu, Y., C., Lian, T., W., Hung, J., T., Yen, J., H. ve Wu, M., J., 2006. Distinctive antioxidant and antiinflammatory effects of flavonols, J. Agric. Food. Chem., 54,26, 9798-804.
- Wang, L., J., Su, S., Wu, J., Du, H., Li, S., S., Huo, J., W., Zhang, Y. ve Wang, L., S., 2014. Variation of anthocyanins and flavonols in *Vaccinium uliginosum* berry in Lesser Khingan Mountains and its antioxidant activity, Food chemistry, 160, 357-364.
- Weisburger, J., H., 1997. Tea and health: a historical perspective, Cancer Letters, 114, 315-317.
- Woo, K., J., Jeong, Y., J., Inoue, H., Park, J., W. ve Kwon, T., K., 2005. Chrysin suppresses lipopolysaccharide-induced cyclooxygenase-2 expression through the inhibition of nuclear factor for IL-6 (NF-IL6) DNA-binding activity, FEBS letters, 579,3, 705-711.
- Wulf L., W. ve Nagel, C., W., 1978. High pressure liquid chromatographic separation of anthocyanins of *Vitis vinifera*, American Journal of Enology Viticulture, 29, 42–49.
- Xia, M., Ling, W., H., Ma, J., Kitts, D., D. ve Zawistowski, J., 2003. Supplementation of diets with the black rice pigment fraction attenuates atherosclerotic plaque formation in apolipoprotein e deficient mice, J. Nutr., 133,3, 744-51.
- Yamamoto, T., Sawada, Y., Katayama, I. ve Nishioka, K., 1998. Increased production of nitric oxide stimulated by interleukin-1beta in peripheral blood mononuclear cells in patients with systemic sclerosis, Br. J. Rheumatol., 10, 1123-5.
- Yaylacı- Karahalil, F. ve Can, Z., 2019. Investigation of biochemical usefulness of tea (*Camellia sinensis*) flower, Journal of Apitherapy and Nature/Apiterapi ve Doğa Dergisi, 2,1, 21-29.
- Yildiz, O., Karahalil, F, Can, Z., Sahin, H. ve Kolaylı, S., 2014. Total monoamine oxidase (MAO) inhibition by chestnut honey, pollen and propolis, Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry, 29,5, 690-694.

- Yılmaz İ., T., 2010. Antioksidan içeren bazı gıdalar ve oksidatif stres, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 17,2, 143- 153.
- Yogeshwer, S., 2007. Tea and Cancer Chemoprevention: A Comprehensive Review, Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 8, 155-166.
- Yücel, B., Topal, E., Akçiçek, E. ve Kösoğlu, M., 2014. Propolisin İnsan Sağlığına Etkileri, Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi, 24,2, 41-49, 20.
- Zengin, G., Arkan, T., Aktumsek, A., Guler, G., O. ve Cakmak, Y.. S., 2011. A study on antioxidant capacities and fatty acid compositions of two Daphne species from turkey: new sources of antioxidants and essential fatty acids, Journal of Food Biochemistry, 37,6, 646-653.
- Ziyyat, A., Legssyer, A., Mekhfi, H., Dassouli, A., Serhrouchni , M. ve Benjelloun, W., 1997. Doğu Fas'ta hipertansiyon ve diyabet fitoterapi, J Ethnopharmacol, 58, 45-5.

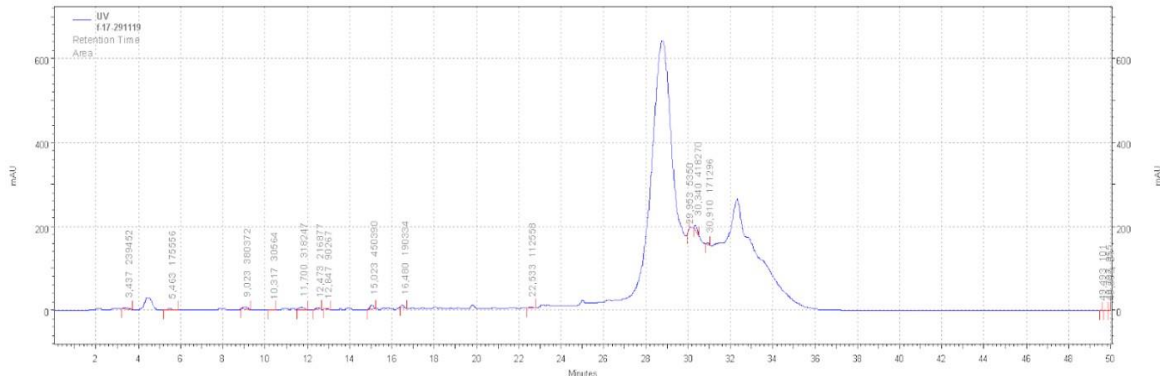
7. EKLER

Ek 1. Örneklerin HPLC-UV kromatogramları

1. Kestane Balı (Ardeşen, Rize)

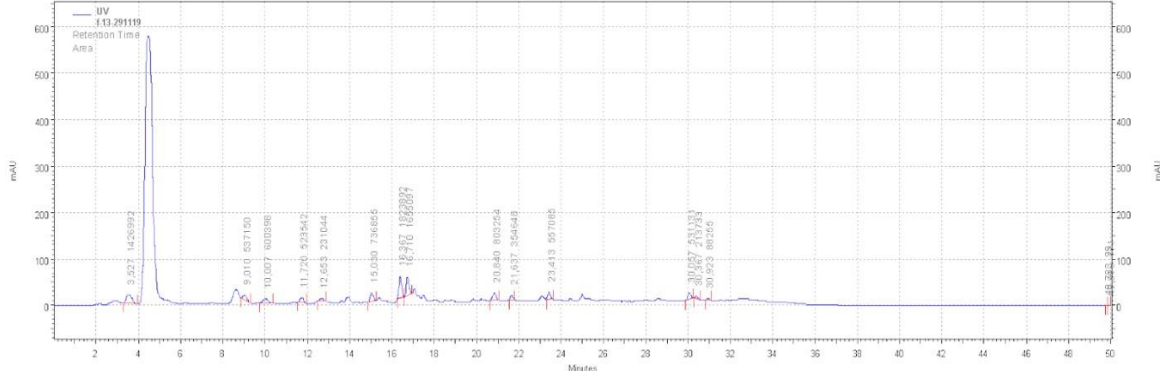


2. Çiçek balı (Kırıkkale)

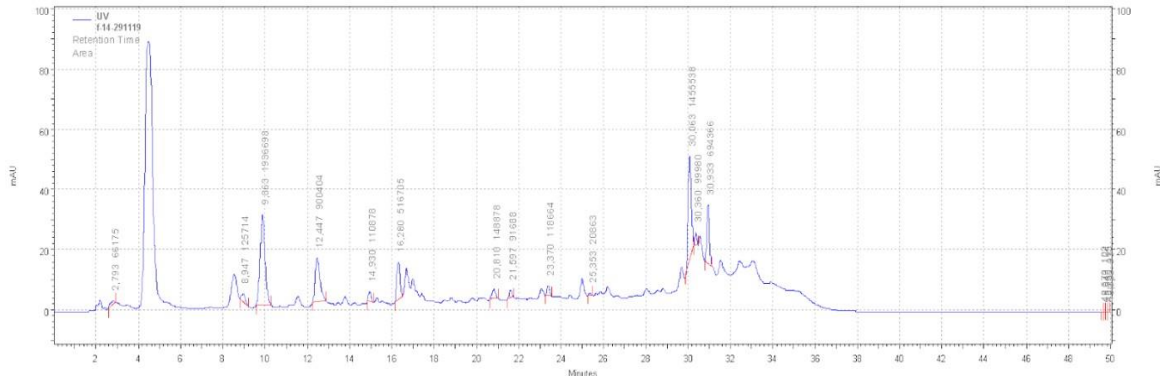


Ek 1'in devamı

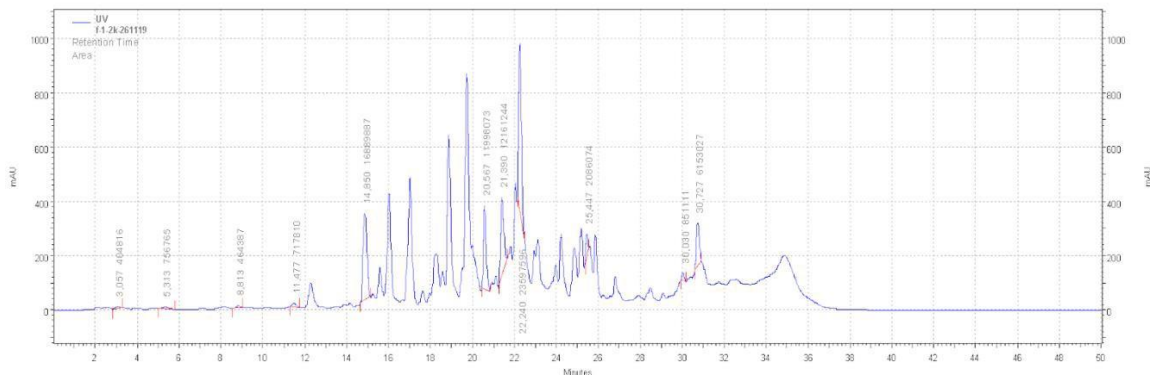
3. Delibal (Fındıklı, Rize)



4. Delibal (Rize)

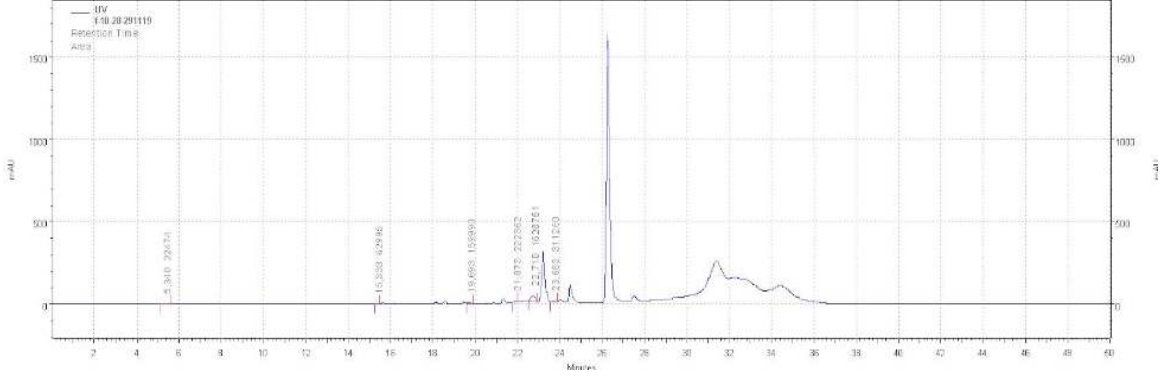


5. Polen (Ardeşen, Rize)

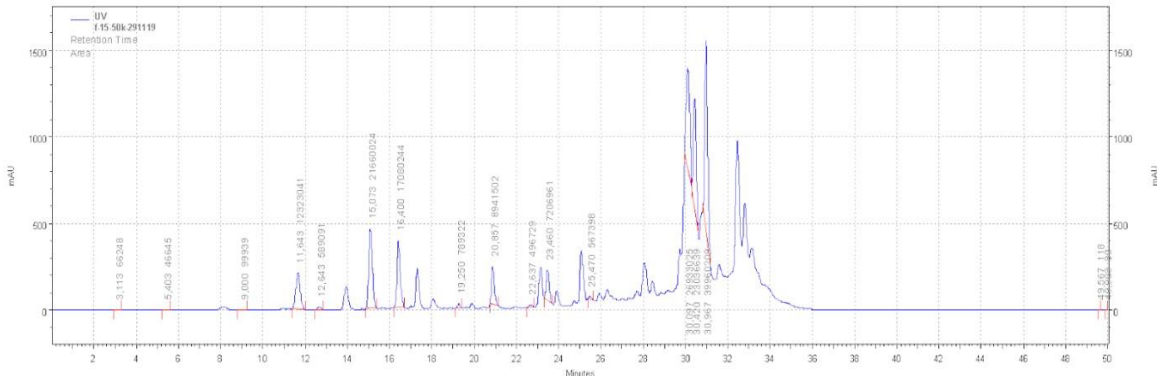


Ek 1'in devamı

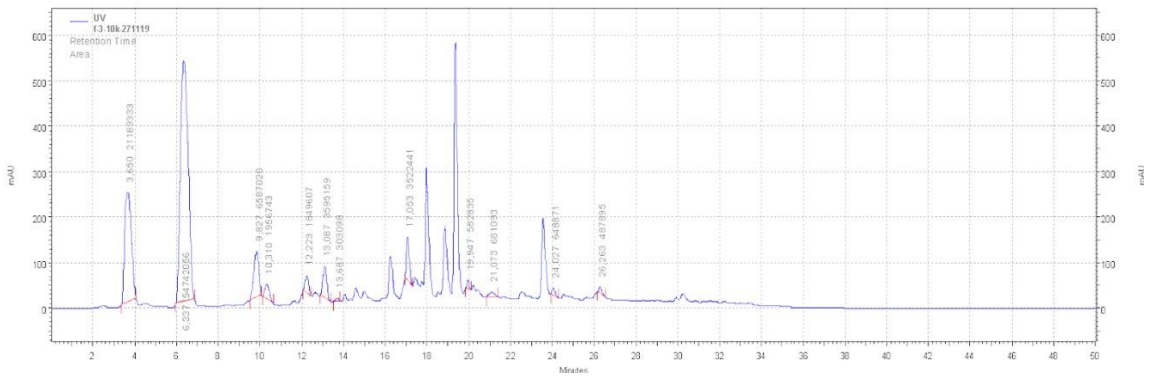
6. Polen (Genek, Gümüşhane)



7. Propolis (Erzurum)

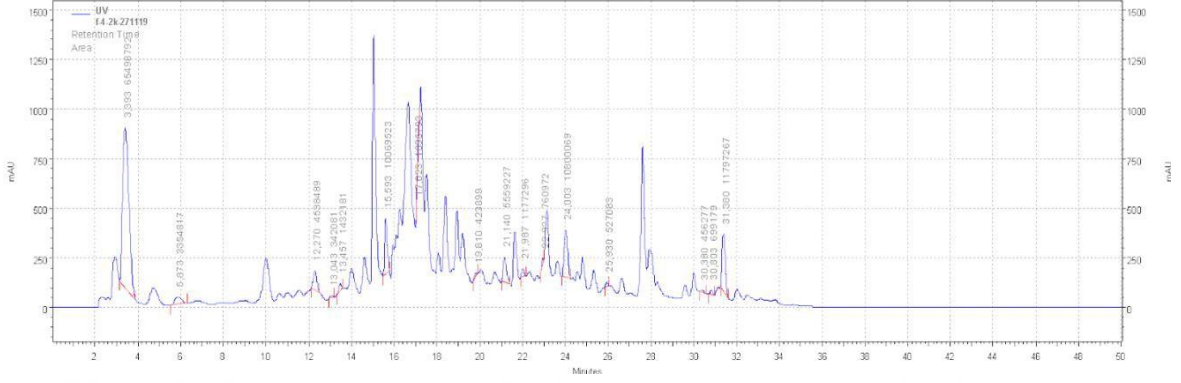


8. Ihlamur (Akçaabat, Trabzon)

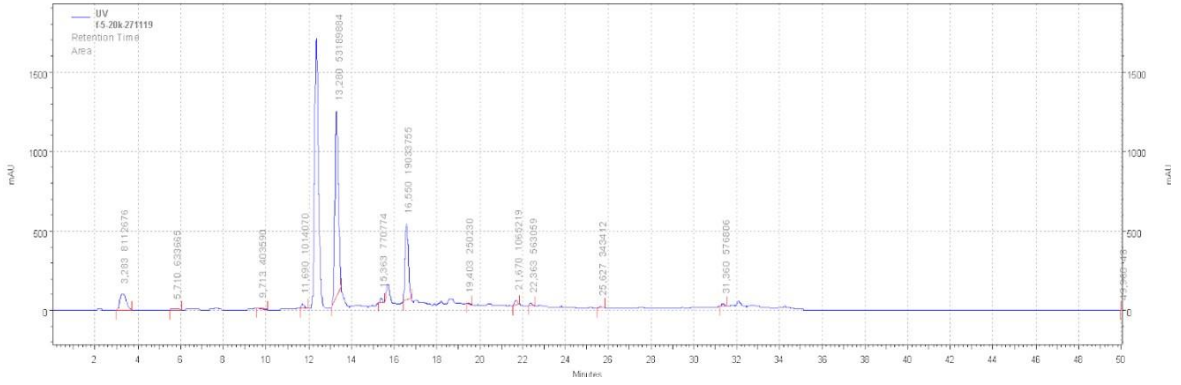


Ek 1'in devamı

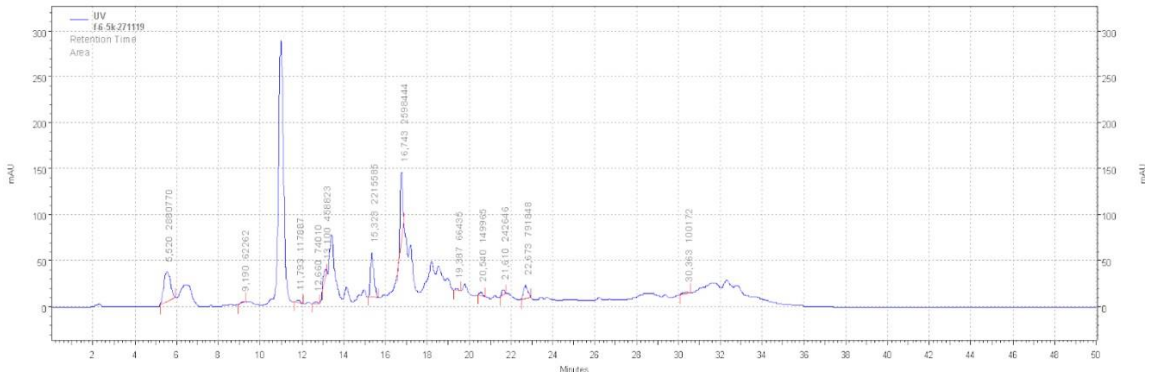
9. Kestane çiçeği (Trabzon)

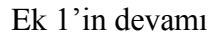


10. Çay (Hemşin, Rize)



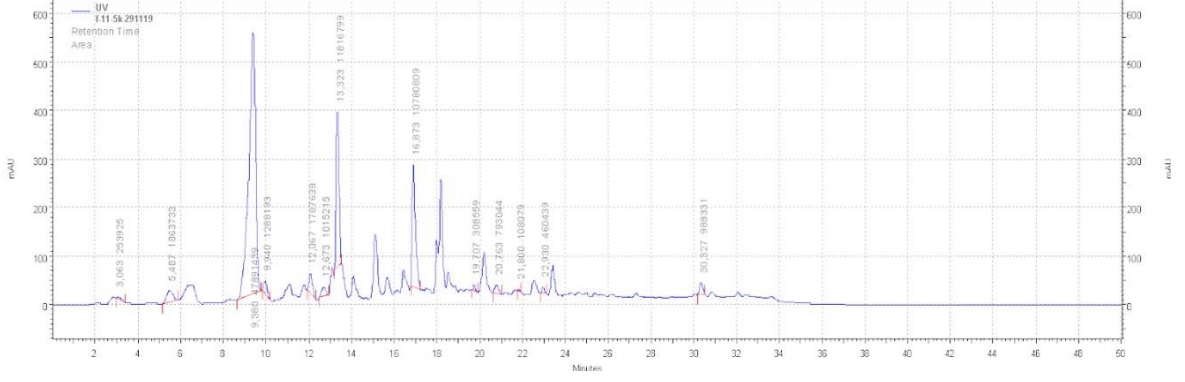
11. Aronia (Trabzon)



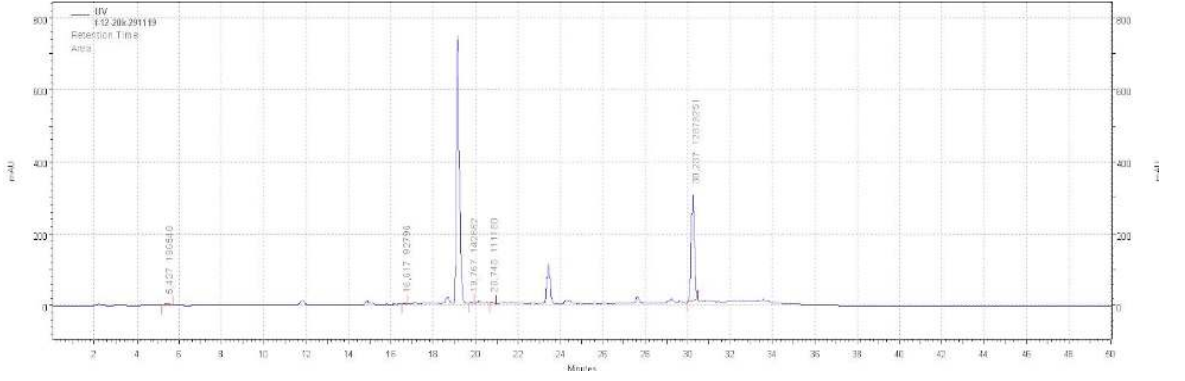


Ek 1'in devamı

15. Sarı çiçekli orman gülü (Trabzon)



16. Reyhan (Malatya)



ÖZGEÇMİŞ

Görelle Lisesi'nden mezun oldu. Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü lisans programını bitirdi. 2004-2013 Yılları arasında özel sektörde öğretmenlik, sorumlu yönetici ve ürün tescil sorumlusu olarak görev yaptı. 2013 yılında C sınıfı İş Sağlığı ve Güvenliği Uzmanlığı'na hak kazandı. Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim dalında yüksek lisansını tamamladı.

Evli ve iki çocuk annesi olup, yabancı dili ingilizcedir.